

# 小麦异源易位系诱致方法及应用研究进展

曹亚萍, 武银玉, 刘 博, 范绍强

(山西农业大学小麦研究所, 临汾 041000)

**摘要:** 小麦属内遗传基础狭窄和多样性种质资源匮乏是小麦遗传改良的瓶颈, 利用近缘物种有益基因拓宽小麦遗传资源, 是发掘小麦新种质的重要途径。染色体工程是将小麦外源靶向基因渗入小麦的有效方法, 部分同源重组诱导体系和电离辐射是创制小麦异源易位系的两种高效技术, 可以在短期内诱致大量染色体结构变异, 得到了广泛研究和应用。本文重点综述了中国春 *ph1b* 突变体和  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$  射线辐射两种常用的诱变方法及特点, 并简述了其在小麦种质创新上的应用进展。上述诱变技术与寡核苷酸探针 FISH 相结合将加快外源基因向小麦中的渐渗与精准鉴定, 提高染色体工程效率。本研究为进一步发掘和利用外源优异基因, 拓宽栽培小麦种质资源并开展相关遗传学和基因组学研究提供了重要参考。

**关键词:** 小麦; 小麦近缘植物; *ph1b* 诱变; 电离辐射; 寡核苷酸探针

## Progress on Induction and Application of Wheat Alien Chromosome Translocation Lines

CAO Ya-ping, WU Yin-yu, LIU Bo, FAN Shao-qiang

(Institute of Wheat Research, Shanxi Agricultural University, Linfen 041000)

**Abstract:** The narrow genetic basis is the major bottleneck for wheat genetic improvement. To broaden wheat genetic resources by using beneficial genes from related species is an important way to produce new wheat germplasm resource. Chromosome engineering is an effective approach to introgress wheat foreign targeted genes into wheat genomes. Homoeologous recombination and ionizing radiation are two high-effective techniques for inducing wheat alien chromosome translocations, both of which can induce chromosome structural variations in a short period of time and have been widely used in practice. This study briefly reviewed the progress of Chinese Spring *ph1b* mutant and  $^{60}\text{Co}$ - $\gamma$ -ray irradiation on mutagenesis characteristics and application in wheat germplasm innovation. Combination of oligonucleotide FISH will facilitate introgression and accurate identification of alien genes, as well as improve the efficiency of chromosome engineering. This study provides useful information for further mining and application of wheat alien genes via chromosome engineering for broadening genetic basis and promoting studies in genetics and genomics of wheat.

**Key words:** wheat; wheat relatives; *ph1b* mutagenesis; ionizing radiation; oligonucleotide probe

小麦 (*Triticum aestivum* L., AABBDD) 是世界上重要的粮食作物之一。现代品种的选育和推广显著提高了小麦产量, 但由于长期的人工选择和少数骨干亲本在育种中的利用, 育成品种的遗传相似度大幅提高、同质化严重, 小麦属内保留的遗传变异十分有限<sup>[1]</sup>, 现有种质遗传基础狭窄已成为小麦育种

取得突破性进展的主要瓶颈。小麦的一些野生近缘植物长期生长在恶劣环境下, 在进化过程中, 保留了栽培小麦不具有的重要性状, 蕴藏着丰富的优良基因, 包括对生物和非生物胁迫的抗性, 是小麦改良的重要基因资源<sup>[2-4]</sup>。许多野生近缘种的优异基因已经通过不同方案渗入小麦中<sup>[5-6]</sup>, 其中有些易位系携

收稿日期: 2022-01-14 修回日期: 2022-02-27 网络出版日期: 2022-03-18

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220114001>

第一作者研究方向为小麦种质创新与遗传育种, E-mail: cyping180@163.com

基金项目: 国家自然科学基金支持和培育项目 (YGJPY2003)

**Foundation project:** Support and Cultivate Projects for National Natural Science Foundation of China (YGJPY2003)

带的外源基因已经在生产上发挥了重要作用<sup>[7-8]</sup>,但有些易位系由于存在连锁累赘的问题,即除了有益基因外,还存在对小麦品质和产量等性状产生负效应的不良或有害基因,从而限制了其在育种中的应用。染色体工程旨在诱导携带靶向基因的外源染色体片段转移到小麦染色体上,打破连锁累赘,消除不利基因,以便在不丢失必不可少的小麦基因的情况下转移携带目标基因的最少外来染色质,易于小麦育种应用。目前采用的方法包括电离辐射、化学诱变、组织培养、部分同源重组诱导等。本研究重点综述了其中最高效的两种方法,即部分同源重组诱导和电离辐射的研究和应用进展。

## 1 *ph1b* 诱变

### 1.1 *Ph1* 基因和中国春 *ph1b* 突变体

普通小麦是异源六倍体, A、B、D 染色体组间具有较高的部分同源性,但在减数分裂中期 I 只有完全同源的染色体间发生配对,形成 21 个二价体,具有高度二倍体化特征,原因是小麦部分同源染色体配对主要受 5BL 上显性主基因 *Ph1* (*Pairing homoeologous*) 控制<sup>[9-10]</sup>,该基因与着丝粒之间的遗传距离约 50 cM<sup>[11]</sup>,其主要作用是抑制部分同源染色体配对<sup>[12]</sup>。Fan 等<sup>[13]</sup>研究表明,*Ph1* 基因可以识别 DNA 序列相似性,在非常相似的序列之间允许交叉,而在没有 *Ph1* 的情况下差异被忽略。因此,在 *Ph1* 存在时,外源染色体不会与小麦同源染色体配对;如果 *Ph1* 基因缺失或被抑制,小麦与外源物种部分同源染色体之间就会发生配对,产生染色体重组,从而将新的遗传性状引入小麦。

Sears<sup>[14]</sup>用 X 射线处理六倍体小麦品种中国春 (CS, Chinese Spring) 种子,得到 *Ph1* 基因缺失突变体 CS *ph1b*。综合 CS 和 CS *ph1b* 90K SNP 基因分型和 PCR 扩增分析,*ph1b* 缺失区段定位于 5BL 分子标记 Xwgc2023 和 Xwgc2090 之间 60014523 bp 基因组区域<sup>[15]</sup>。该突变体在纯合状态下,可以有效诱导小麦部分同源染色体间以及小麦与近缘物种部分同源染色体配对,是转移和利用小麦外源基因的重要工具。目前已经开发出多个可以追踪 *ph1b* 的分子标记<sup>[15]</sup>,通过 PCR 扩增,可以清晰识别 *ph1b* 纯合体,为有效追踪和利用 *ph1b* 突变体开展染色体工程提供了极大便利。

用含目标基因的小麦异染色体系与 CS *ph1b* 杂交,再自交或用 CS *ph1b* 回交,结合分子标记选择和细胞学鉴定,可筛选到 *ph1bph1b* 纯合基因型,进而

从其后代中鉴定部分同源染色体重组体。Koebner 等<sup>[16]</sup>利用这种方法诱导黑麦 1RL 与小麦染色体配对和重组,在 *ph1bph1b* 纯合基因型群体中重组率为 2.87%,而在 *ph1b* 杂合基因型的对照群体中未检测到重组体,首次阐明小麦和黑麦染色体部分同源重组的遗传证据;随后,将 2 个小麦-黑麦易位系 1DL-1RS 和 1BL-1RS 用 *ph1bph1b* 或 5B 缺体 (N5BT5A、N5BT5D) 进行诱导,发现两种背景下诱导效果相同<sup>[17]</sup>。Fan 等<sup>[13]</sup>分析了小麦-黑麦易位染色体 1BS-1RS·1BL 中短臂易位末端约 9.6~9.9 Mb 的小麦片段与 1B 染色体中对应片段的交叉频率,发现在 *Ph1* 背景下平均为 8.6%,而在 *ph1b* 背景中平均达 20.0%。Yu 等<sup>[18]</sup>用 CS 和 CS *ph1b* 分别与簇毛麦 (*Haynaldia villosa* (L.) Schur, VV) 杂交,两个组合配对染色体数目分别为 1.61 和 14.43。一系列研究表明,CS *ph1b* 能有效促进小麦和近缘物种部分同源染色体之间配对和重组,将小麦近缘有益基因转移至普通小麦遗传背景中。该突变体目前已成为诱导小麦与近缘物种部分同源染色体重组的有效工具。

### 1.2 *ph1b* 突变体诱变特点

**1.2.1 补偿性易位** CS *ph1b* 诱导的易位通常发生在部分同源染色体间,导入小麦的外源染色体片段取代对应的小麦染色体片段后遗传补偿能力好。Taketa 等<sup>[19]</sup>通过 5B 缺失诱导出小麦-大麦 5D-5H 补偿性易位,将大麦品种 New Golden 携有早抽穗基因的 5HL 染色体片段导入小麦;Klindworth 等<sup>[20]</sup>用 5D (5B) 代换系诱导出 Ti2BL-2SL-2BL·2BS 小片段插入易位系,将拟斯卑尔托山羊草 (*Aegilops speltoides* Tausch, SS) 2SL 上携带的抗秆锈病基因 *Sr47* 导入四倍体小麦,表现高抗并具有广谱性;Liu 等<sup>[21]</sup>用 *ph1b* 突变体诱导出 T2BS·2BL-2S<sup>s</sup>#1L 补偿性易位,将西尔斯山羊草 (*Aegilops searsii* Feldman & Kislev, S<sup>s</sup>S<sup>s</sup>) 2S<sup>s</sup>L 上的抗白粉病基因 *Pm57* 导入普通小麦,对混合菌种表现高抗。利用同样的方法,先后诱导了小麦与山羊草<sup>[22-23]</sup>、大麦<sup>[24]</sup>、簇毛麦<sup>[25]</sup>、偃麦草<sup>[26-27]</sup>等系列补偿性易位系,涉及的易位片段大小不一,充分证明了该方法的有效性。

**1.2.2 染色体端部重组** CS *ph1b* 诱导的减数分裂重组常发生在染色体端部区段,外源染色体近着丝粒区的基因很难通过该系统转移到小麦染色体上,因而近着丝粒区域为重组非热点区。Lukaszewski<sup>[28]</sup>在 CS *ph1b* 遗传背景下,分析了小麦 1A、1B、1D 和黑麦

1R 染色体, 以及拟斯卑尔托山羊草 (*Ae. Speltoides* Tausch) 7SL 和小麦 7AL 部分同源重组体易位断点的物理分布, 发现易位断点都集中在染色体臂的端部, 而在近着丝粒区域不存在重组。随后, 用 *ph1b* 突变体分别诱导 2RS·2BL、2BS·2RL 与 2B 染色体重组, 发现所有重组都是单断点易位, 14 个 2BS-2RS 重组发生于 FL 0.25~0.88 区段, 端部和着丝粒区域不存在重组, 这种分布是由于 2BS 和 2RS 存在不对称结构, 其端粒结构差异破坏了端粒配对起始; 而 28 个 2BL-2RL 重组分布于 FL 0.74~1.00, 充分显示了染色体端部重组的典型特征<sup>[29]</sup>。

**1.2.3 影响易位诱导频率的因素** CS *ph1b* 的诱导效率受外源染色体与小麦染色体配对重组能力的影响, 在小麦与亲缘关系较远的物种间诱导易位效果较差。用 CS *ph1b* 分别诱导小麦与 *Ae. speltoides* Tausch 和长穗偃麦草 (*Thinopyrum elongatum* (Host) D. R. Dewey, EE) 部分同源染色体重组, 结果 2B-2S 和 2B-2E 的重组率分别为 11.3% 和 7.6%<sup>[30]</sup>, 7B-7S 和 7B-7E 的重组率分别为 14.91% 和 5.59%<sup>[31]</sup>, S 染色体组与小麦 B 染色体组的平均重组率明显高于 E 染色体组, 说明 CS *ph1b* 诱导小麦与二级基因库物种间染色体易位较三级基因库物种效果好。

在小麦三级基因库中, 易位诱导频率除受基因型影响外, 还受外源染色体片段大小的影响。整条外源染色体、染色体臂或染色体片段, *ph1b* 突变体的诱导效率不同。如小麦-大麦代换系中 5H 和 7H 的易位诱导频率分别为 3.3% 和 7.5%<sup>[32]</sup>;

小麦-大麦罗伯逊易位系 7AS·7HL、7BS·7HL 和 7DS·7HL 经 *ph1b* 诱导的重组率分别为 0.48%、0.17% 和 0.14%<sup>[24]</sup>; 涉及 2RS 和 2RL 的小麦-黑麦部分同源染色体重组率分别为 0.62% 和 16.3%<sup>[29]</sup>; 涉及 4VS 和 6VL 的小麦-簇毛麦部分同源染色体重组率分别为 2.19%<sup>[25]</sup> 和 6.81%<sup>[33]</sup>。

### 1.3 *ph1b* 突变体的应用

外源抗病基因渗入与定位。提莫非维小麦 (*Triticum timopheevii* (Zhuk.) Zhuk., AAGG) 渐渗系 IGV1-465 含 37 Mb 的 2G 染色体片段, 将其与 CS *ph1b* 进行杂交再回交, 在 *ph1bph1b* 纯合基因型背景下, 提高了 2B 和 2G 部分同源染色体的重组率, 获得 2G 染色体小片段易位系, 用侧翼标记进行 2 轮筛选, 将提莫非维小麦 (*T. timopheevii* (Zhuk.) Zhuk.) 的抗白粉病基因 *Pm6* 定位到 2GL 上 0.9 Mb 物理区间<sup>[33]</sup>。对 Ug99 具有抗性的基因 *Sr43* 来源于彭梯卡偃麦草 (*Thinopyrum ponticum* (Podp.) Barkworth & D. R. Dewey), 其载体 KS10-2 为 7DS-7eL<sub>2</sub>S·7eL<sub>2</sub>L 易位系, 为了减少 *Th. ponticum* (Podp.) Barkworth & D. R. Dewey 染色质, Niu 等<sup>[34]</sup> 从 CS//CS *ph1b*<sup>2</sup>/KS10-2 诱变群体中获得两个 7eL<sub>2</sub>L 小片段重组体, 分别约占易位染色体的 17.5% 和 13.7%, 携带 *Sr43* 基因, 为小麦抗秆锈病提供了新的种质资源。目前, 采用 *ph1b* 诱变方法, 结合分子标记、GISH 检测、抗病性鉴定等多种辅助技术, 许多外源优异基因被导入小麦遗传背景中 (表 1), 并进行了物理定位, 为小麦抗病育种提供了新的种质资源。

表 1 基于 CS *ph1b* 诱导的部分外源抗病基因及其定位

Table 1 Location of some alien disease resistance genes induced by CS *ph1b*

基因 Gene	物种 Species	染色体 Chromosome	位置 Position	参考文献 Reference
<i>Pm56</i>	黑麦 <i>Secale cereale</i>	6RS	亚端粒区	[35]
<i>Pm57</i>	西尔山山羊草 <i>Aegilops searsii</i>	2S*#1L	FL 0.75~0.87	[21, 36]
<i>Sr26</i>	彭梯卡偃麦草 <i>Thinopyrum ponticum</i>	6Ae#1L	FL 0.90~1.00	[37]
<i>Sr32</i>	拟斯卑尔托山羊草 <i>Aegilops speltoides</i>	2S#1S	端部	[38]
<i>Sr39</i>	拟斯卑尔托山羊草 <i>Aegilops speltoides</i>	2S#2S	FL 0.75~0.84	[22]
<i>Sr43</i>	彭梯卡偃麦草 <i>Thinopyrum ponticum</i>	7eL <sub>2</sub> L	FL 0.82~1.00	[34]
<i>Sr52</i>	簇毛麦 <i>Dasypyrum villosum</i>	6V#3L	FL 0.92~1.00	[39]
<i>Sr53</i>	卵穗山羊草 <i>Aegilops geniculata</i>	5M <sup>e</sup> L	FL 0.16~0.33	[40]
<i>SrAes1t</i>	拟斯卑尔托山羊草 <i>Aegilops speltoides</i>	2S#1L	端部, 标记 Xabg72 和 Xabc252 之间	[38]
<i>H21</i>	黑麦 <i>Secale cereale</i>	2RL	FL 0.90~1.00	[41]
<i>Wss1</i>	簇毛麦 <i>Haynaldia villosa</i>	4VS	FL 0.78~1.00	[25]
<i>Wsm3</i>	中间偃麦草 <i>Thinopyrum intermedium</i>	7S#3L	FL 0.57~1.00	[26]
<i>Bdv2</i>	中间偃麦草 <i>Thinopyrum Intermedium</i>	7XL	端部	[42]
<i>Fhb7</i>	长穗偃麦草 <i>Thinopyrum elongatum</i>	7EL	端部	[27, 43]



小麦子粒硬度种质创新。小麦品种 WL711 同时具有野生型 *Pinb-D1a* 和突变的 *Pina* 等位基因, 是一种硬质小麦, 钩刺山羊草 (*Aegilops triuncialis* L.) 5U (5A) 代换系 BTC17 是一种软质子粒, 将 BTC17 与 Pavon *ph1bph1b* 杂交再用 Pavon *ph1bph1b* 回交, 选择 *ph1bph1b* 纯合体与 WL711 杂交, 诱导出 367 个 5U-5A 重组体, 于 BC<sub>2</sub>F<sub>4</sub> 获得纯合系, 测定谷物硬度指数变化幅度为 6%~67%, 创制出具有饼干制作质量的超软种质<sup>[44]</sup>。

#### 1.4 *ph1b* 突变体利用存在的问题

*ph1b* 是诱导减数分裂部分同源配对 / 重组最有效的等位基因, 已被广泛用于从小麦野生近缘物种到小麦的基因渗入, 但是, 受背景 CS 的影响, CS *ph1b* 尽管具有较好的可交配性, 但其春性较强, 农艺性状较差, 高感多种病害, 仅局限于遗传研究, 不便于大田利用, 在小麦育种中受到极大限制。Li 等<sup>[45]</sup> 采用杂交和连续回交方法, 将 *ph1b* 基因从 CS 转移到栽培品种 SM126, 具有 SM126 的优良农艺性状, 随后以小麦 - 沙融山羊草 (*Ae. sharonensis* Eig) 衍生系 66-9-17 为母本, 分别与 CS *ph1b* 和 SM126 *ph1b* 杂交再自交, 减数分裂中期 I 配对结果表明, SM126 *ph1b* 和 CS *ph1b* 在诱导同源配对 / 重组方面具有相同的作用, 这将有利于小麦 - 外源染色体重组在小麦改良中的应用。因此, 通过染色体工程创制具有优良遗传背景的 *ph1b* 突变体, 是小麦种质创新的一项重要工作内容。

*Ph1* 基因的存在对于小麦遗传稳定性和育性具有重要作用。*Ph1* 基因座的缺失或 CS *ph1b* 使部分同源染色体配对相对容易发生, 包括小麦与外源物种部分同源染色体的配对和小麦 A、B、D 染色体间的配对, 因而在减数分裂中期 I 会出现多价体和部分同源联会, 进而积累大量染色体重排, 降低其遗传稳定性和育性<sup>[46]</sup>, 因此, *ph1b* 突变体使用期间要随时观察, 一旦育性降低, 必须对 *ph1b* 基因进行重新转育, 以保持 *ph1b* 的基因功能。

## 2 <sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线诱变

### 2.1 <sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线诱变原理与方法

$\gamma$  射线是一种核内电磁辐射, 是原子核能级跃迁蜕变时释放出的射线, 其辐射源是 <sup>60</sup>Co、<sup>137</sup>Cs 和核反应堆, 较 X 射线能量更高、穿透力更强。<sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线应用最广, 主要用于外照射, 农业上常用于辐射育种, 其作用原理是: 能量从辐射传递到生物体内, 导致物质分子发生电离和激发, 生物大分

子形成原初损伤, 产生化学性质活跃的自由原子或自由基; 自由原子或自由基相互作用并与周围物质发生反应, 特别是与 DNA 发生反应, 引起分子结构变化, 造成 DNA 损伤和染色体断裂。植物染色体具有自我修复机制, 在随后的复制和修复过程中产生各种变异, 包括双着丝粒、染色体片段缺失、易位、倒位等, 其中诱导产生的携带目标性状的小片段易位系在种质创新中具有重要的应用潜力。

<sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线照射是一种最常用且高效的诱变方法, 用于诱变的小麦组织可以是种子、植株、成熟花粉或雌配子等。Cao 等<sup>[47]</sup> 用 <sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线照射硬粒小麦 - 簇毛麦双倍体 (*T. durum*-*H. villosa*) 花粉, 授予母本 CS, 后代检测到植株 cyp06B1-30 在小麦背景中含 3 条完整的簇毛麦染色体、1 条端着丝粒染色体、2 条中间插入易位染色体、2 条大片段易位染色体和 5 条顶端易位染色体, 充分显示了这种方法的有效性。

### 2.2 <sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线诱变特点

**2.2.1 非补偿性易位** 利用电离辐射诱导染色体易位, 小麦和外源染色体的断裂和重接都具有随机性, 因而多为非补偿性易位, 外源染色体不能完全补偿小麦染色体。但是, 小麦为异源六倍体物种, A、B、D 染色体间具有补偿性, 可间接弥补易位染色体遗传补偿性差的缺陷, 因而大多数非补偿性易位可以保留下来并稳定遗传给后代。

冰草 (*Agropyron cristatum* (L.) Gaertn., PPPP) 是小麦改良的重要基因资源<sup>[48]</sup>, Jubault 等<sup>[49]</sup> 评估了 *Ph1* 基因缺失时 P 与 A、B、D 配对的潜力, 发现配对水平非常低, 认为创制小麦 - 冰草易位系应以电离辐射为主要方法。Li 等<sup>[50]</sup> 和 Lu 等<sup>[51]</sup> 分别用 <sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线 20 Gy (0.5 Gy/min) 对冰草二体附加系 DA2P 和 DA7P 的雌配子进行照射, 用普通小麦的新鲜花粉授粉, 在其后代中检测到 2P 或 7P 染色体与多条小麦染色体产生了易位, 包括 1A、2A、3A、4A、5A、6A、7A、3B、5B、7B、1D、3D、4D、6D 和 7D 染色体, 易位涉及 2P 或 7P 不同染色体片段, 覆盖了整条 2P 和 7P 染色体, 为小麦遗传学研究提供了新的种质资源。

Zheng 等<sup>[52]</sup> 用  $\gamma$  射线照射携带蓝粒基因的小麦 - 彭梯卡偃麦草 (*Th. ponticum* (Podp.) Barkworth & D. R. Dewey) 4Ag (4D) 代换系 Blue 58, 后代用 GISH 检测 4Ag 染色体, 用 pAs1 和 pSc119.2 多色荧光原位杂交 (FISH, fluorescence *in situ* hybridization) 识别小麦染色体, 共检测到 4Ag 与小麦染色体的 49



个易位,涉及小麦 1B、2D、3A、4A、5B、6B、6D 和 7A 染色体。Liu 等<sup>[53]</sup>在此基础上,构建了 4Ag 染色体的物理图谱,将蓝粒基因定位于 4AgL FL 0.75~0.89 区间,并开发了蓝粒基因分子标记和 FISH 探针。

**2.2.2 近着丝粒区域参与重组**  $\gamma$  射线致使染色体随机断裂的特性,使外源染色体近着丝粒区域有机会参与重组,有效弥补了 CS *ph1b* 诱导易位多发生于染色体端部区段的局限。Molnár 等<sup>[54]</sup>用  $\gamma$  射线诱导普通小麦 - 欧山羊草 (*Aegilops biuncialis* Vis.) 双倍体 (AABBDDU<sup>b</sup>U<sup>b</sup>M<sup>b</sup>M<sup>b</sup>),通过多色基因组原位杂交检测,U<sup>b</sup> 染色体的辐射敏感性主要归因于其着丝粒或近着丝粒区域的重组。

使用 <sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线照射 CS-*H. villisa* DS6V 近成熟期花粉,授粉给 CS,用 GISH 检测 122 粒杂交种,获得 20 种明显不同的易位染色体(图 1),易位断点涉及 6V 染色体不同部位,其中 6V-1、6V-2、6V-3、6V-6 涉及染色体端部,6V-4、6V-5、6V-6、6V-12、6V-13、6V-14、6V-15、6V-19 涉及染色体臂中部,6V-7、6V-9、6V-10、6V-11、6V-14、6V-16、6V-18 涉及染色体近着丝粒区域,6V-8、6V-17 涉及着丝粒处。

**2.2.3 易位诱导频率高**  $\gamma$  射线穿透力强,能够将 2 个紧密连锁的不良基因分开,打破性状连锁,通过染色体交换,促进遗传基因重组,诱发出自然界少有或没有或用常规方法难以获得的新性状、新类型,进而丰富小麦遗传资源。<sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线与 CS *ph1b* 相比,具有较高的小麦 - 外源易位诱导频率,频率大小不受外源物种与小麦亲缘关系远近的影响,取决于小麦遗传背景中外源染色体的多少。

整套外源基因组诱变。Bie 等<sup>[55]</sup>开发了一种诱导小麦 - 簇毛麦染色体易位的有效方法,即用 12 Gy <sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线照射硬粒小麦 - 簇毛麦 (*T. durum*-*H. villosa*) 花粉,而后授粉给 CS, GISH 结果表明,易位诱导率高达 72.1%。Cao 等<sup>[47]</sup>进一步研究表明,在 8~16 Gy 剂量范围内,随着辐射剂量的提高,易位诱导频率和染色体臂内断裂融合频率增加,用 16 Gy 照射后杂交结实率在 90% 以上, M<sub>1</sub> 发芽

率 87% 以上,易位诱导频率 96%,诱致的易位染色体有 70% 以上可以传递给后代,至 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> 即有纯合易位株出现<sup>[56]</sup>。

单条外源染色体诱变。王从磊等<sup>[57]</sup>用 <sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线 12 Gy 辐照辉县红 - 荆州黑麦二体附加系 DA1R 花粉,采用 GISH 检测 1R 结构变异染色体,易位诱导率高达 30.3%。Pu 等<sup>[58]</sup>用 12 Gy 剂量照射小麦 - 百萨偃麦草 DA4J 的花粉和雌配子,共获得 74 个 4J 染色体结构变异体,其中花粉 (31.2%) 的畸变率高于雌配子 (21.3%),根据 4J 染色体畸变形态,构建了 4J 染色体物理图谱,并将蓝粒基因 *BaThb* 定位到 4J 染色体较小片段上。Song 等<sup>[59]</sup>照射 DA6P 植株,自交种子易位诱发频率为 37.83%,且 62.5% 的属间易位系生长正常,没有丢失易位染色体;其中 Ti1AS-6PL-1AS·1AL 是一个近着丝粒区域的中间插入易位,插入的 6P 染色体片段使易位个体的千粒重和穗长较非易位个体分别增加 2.5 g 和 0.7 cm,成为小麦遗传改良的优异种质资源<sup>[60]</sup>。

外源染色体臂诱变。Chen 等<sup>[61]</sup>报道了一种创建染色体小片段易位系的高效方法,开花前,用 <sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线 16 Gy、19.2 Gy、22.4 Gy (1.6 Gy/min) 照射 6VS·6AL 易位系雌配子,有 18.2% 的植株发生 6VS 染色体结构变异,就 22.4 Gy 剂量处理而言,中间插入、末端易位和缺失的诱导频率分别为 21.02%、14.01% 和 14.65%。李海风等<sup>[62]</sup>诱变小麦 - 长穗偃麦草整臂易位系 T7BS·7EL 的成熟花粉, M<sub>1</sub> 检测到涉及 7EL 的中间插入易位、顶端易位和缺失等结构变异,诱变频率为 15.62%。

### 2.3 <sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线诱变在种质创新上的应用

为转移和利用簇毛麦抗白粉病基因,南京农业大学在育成一批小麦 - 簇毛麦异染色体附加和代换系的基础上,进一步通过单价体诱导结合辐射诱变选育出著名的小麦 - 簇毛麦 6VS·6AL 易位系以及 6V 缺失系,将簇毛麦抗白粉病基因 *Pm21* 定位在 6VS FL 0.45~0.58<sup>[63-64]</sup>。该易位系高抗小麦白粉病,在我国小麦育种中广泛利用,迄今已经衍生出多个审定品种<sup>[7-8]</sup>。为了获得含 *Pm21* 的小

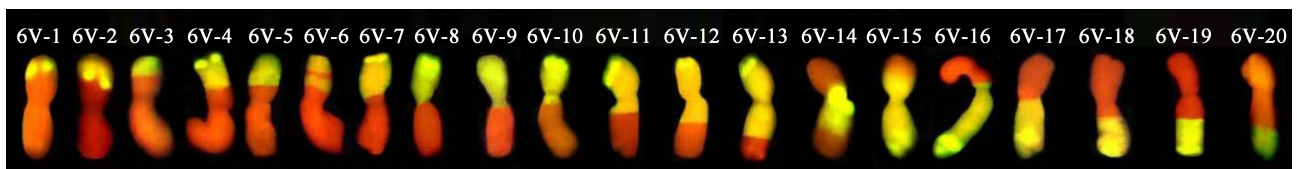


图 1 <sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线诱变的 6V 易位染色体

Fig.1 Translocation chromosomes of wheat-6V induced by <sup>60</sup>Co- $\gamma$

片段易位,用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线诱变 6VS·6AL 易位系雌配子, GISH 检测结合白粉病混合菌种幼苗接种鉴定,筛选出两个携带 *Pm21* 的小片段纯合易位系 T1AS·1AL-6VS 和 T4BS·4BL-6VS-4BL,均高抗白粉病<sup>[65-66]</sup>,目前这两个易位系已通过回交转育到优良小麦遗传背景中,并发放给育种家利用。

在优质基因发掘与创新方面, Cao 等<sup>[47]</sup>用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射硬粒小麦-簇毛麦 (*T. durum-H. villosa*) 花粉,在其后代中检测到 776 条易位染色体,对鉴定出的 1V 结构变异染色体进行品质分析,筛选出蛋白质和湿面筋含量均高的材料,可作为面包小麦改良的优异种质<sup>[67]</sup>;对其中一个补偿性易位 T5VS·5DL 分析发现, 5VS 上 *Dina/Dinb* 基因较普通小麦的 *Pina/Pinb* 软质胚乳特性更加明显,可作为小麦育种中调节胚乳质地性状的基因来源<sup>[68]</sup>。随后,用 $^{60}\text{Co}-\gamma$ 射线照射 T5VS·5DL 的成熟雌配子,诱导出 6 个具有 5VS 不同片段大小的纯合易位系,其中小片段易位系 5VS-6AS·6AL 对于改善小麦软粒品质具有重要价值<sup>[69]</sup>。Verma 等<sup>[70]</sup>将小麦-粘果山羊草 (*Aegilops kotschy* Boiss.) 2A (2S<sup>k</sup>) 代换系诱变后与普通小麦品种 WL711 杂交,逐代选择含 2S<sup>k</sup> 染色体片段且籽粒铁、锌含量高的材料,于 F<sub>4</sub> 获得目标种质,与优良小麦品种 WL711 相比,铁、锌含量分别增加 65% 以上和 54% 以上,表明诱致的易位系中 2S<sup>k</sup> 染色体片段有效且补偿性易位到小麦基因组中。

在种质鉴定与基因定位方面, Zhang 等<sup>[71]</sup>对诱变获得的 4 个 CS-2V 易位系进行鉴定和分析,开发了 2V 物理图谱,将光周期响应基因物理定位到 2VS 的 FL 0.33~0.53 区域,颖脊刚毛基因 (*Bgr-V1*) 被定位到 2VS FL 0.00~0.33,农艺性状分析表明, 2VS 还携带有产量相关基因,表现为较长的穗长、更多的小穗数和穗粒数,可作为小麦高产育种的新种质。Zhang 等<sup>[72]</sup>选用  $\gamma$  射线诱致的小麦-冰草 6P 系列缺失系和易位系进行农艺性状评价,将控制穗粒数的基因定位于 6PL 上 FL 0.27~0.51 区间,并用新诱致的易位系 T5BL·5BS-6PL (FL 0.35~0.42) 验证了定位结果。Zhuang 等<sup>[73]</sup>在辉县红-荆州黑麦 DA2R 诱变后代中鉴定出 19 个具有不同 2R 染色体片段的稳定品系,将 88 个 2R 特异标记物理定位到 2R 的 13 个不同区段,其中抗白粉病基因 *PmJZHM2RL* 被定位于与 2RL-7 相对应的染色体区段,其间 10 个标记来自在白粉病感染期间上调的基因。

### 3 小麦外源易位系鉴定

随着染色体诱变技术日趋成熟,可以在短期内诱致大量染色体结构变异,不同易位断点和染色体片段大小的差异,为外源优异基因的发掘与定位、染色体物理作图、基因组学和分子生物学研究等提供了重要遗传工具<sup>[58,74]</sup>。一些包含目标基因的小片段易位或渐渗系,减少了整条或大片段因遗传累赘造成的负效应,有望通过同源重组定向导入优良小麦遗传背景,成为小麦品种改良或优异基因聚合的重要基因元件。精准鉴定诱变创制的结构变异染色体尤其是非补偿性易位,识别参与易位的小麦和外源染色体是这些遗传材料得以进一步研究和利用的重要工作。

传统的染色体 C-分带、GISH 检测、以质粒为探针的 FISH 技术等在外源染色体鉴别中发挥着重要作用,但是这些技术存在着杂交程序复杂、成本高、专化性差、识别清晰度低等缺陷,尤其是小片段易位和非补偿性易位,难以准确鉴定,限制了这些新易位系的深入研究和应用。

寡核苷酸探针的开发促进了染色体工程的发展。Cuadrado 等<sup>[75-76]</sup>报道了一种简单重复序列探针和非变性原位杂交技术 (ND-FISH),这类探针是单核苷酸、双核苷酸、三核苷酸和四核苷酸基序的 SSR 寡核苷酸重复序列,对互补序列具有异常高的亲和力,能够结合非变性染色体上 SSR 靶序列,灵敏度和分辨率明显优于标准 FISH,并增加了原位杂交信号强度,荧光强度与 SSR 长度直接相关,即使探针间具有高达 75% 的同源性,也可以进行选择、基序特异性杂交。寡核苷酸是一类短的 DNA 和 RNA 序列,将其发展成为新的 FISH 探针,具有开发简单、容易修饰、成本低、效率高等特点,寡核苷酸探针和 ND-FISH 分析相结合能精准反映染色体上串联重复片段的分布和结构形态。

近年来,寡核苷酸探针开始广泛应用。Lei 等<sup>[77]</sup>基于 6VS 串联重复序列设计了 10 种寡核苷酸探针,用 oligo-6VS-35+oligo-6VS-1 构建了簇毛麦 (*H. villosa* (L.) Schur) 的 FISH 核型; Yu 等<sup>[78]</sup>用 28 种寡核苷酸探针对多年生簇毛麦 (*D. breviaristatum* (H. Lindb.) Fred.) 染色体进行核型分析,采用 ND-FISH 技术建立了 1V<sup>b</sup>~7V<sup>b</sup> 染色体的标准核型,揭示了多年生簇毛麦 (*D. breviaristatum* (H. Lindb.) Fred.) 与 *H. villosa* (L.) Schur 染色体之间的差异,有助于了解簇毛麦属内重复序列的进化。Wang

等<sup>[79]</sup>使用多个寡核苷酸探针,采用 ND-FISH 技术筛选 DS2V<sup>b</sup>(2D)种子诱变后代,共鉴定出 122 种染色体重排,包括小麦-2V<sup>b</sup>易位染色体。Cui 等<sup>[80]</sup>采用多重寡核苷酸探针,结合 GISH 鉴定技术,对小麦和中间偃麦草(*Th. Intermedium*(Host)Barkworth & D. R. Dewey, JJJ<sup>S</sup>J<sup>S</sup>StSt)染色体进行了精确分类和识别,尤其是 J 和 J<sup>S</sup>基因组染色体。

随着寡核苷酸探针和 ND-FISH 技术的发展和完善,偃麦草<sup>[81-82]</sup>、黑麦<sup>[83]</sup>、簇毛麦<sup>[84-85]</sup>、冰草<sup>[86]</sup>、山羊草<sup>[87]</sup>、大麦<sup>[88-89]</sup>等小麦近缘物种染色体得以清晰识别,小麦<sup>[90-92]</sup>3 个基因组和 7 个部分同源群染色体的高清核型已经建立;由南京农业大学组配成功的寡核苷酸探针套中,ONPM#4 可以同时区分小麦与簇毛麦全部染色体,ONPM#5 可以同时区分小麦与黑麦全部染色体,ONPM#7 可以同时区分小麦与百萨偃麦草全部染色体。寡核苷酸探针的开发为染色体工程提供了简单、经济、高效的检测工具,广泛用于部分染色体易位系鉴定、同源染色体鉴定、目标染色体或区段特异追踪、染色体多态性分析、核型分析、物种识别、染色体比较作图等研究。

## 4 问题与展望

小麦遗传基础日趋狭窄是小麦种业可持续发展的“卡脖子”问题,在小麦野生近缘植物中,存在着大量因物种进化而丢失的遗传变异<sup>[93-94]</sup>,这些变异可以通过染色体工程导入普通小麦,从而丰富小麦遗传资源。创制小麦异源易位系是外源有益基因导入的有效途径,在小麦-外源易位染色体诱致方法中,诱导易位效果最好的是 CS *ph1b* 诱导部分同源配对,产生的易位染色体具补偿性,遗传稳定性好;诱导易位频率最高的是 <sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线照射,可高效诱导中间插入易位和小片段易位,并且易位断点可涉及染色体不同部位。两种技术综合利用,可以取长补短,有效创制系列小麦异源易位系,不但为小麦育种创造新的种质,而且为小麦遗传研究提供重要的工具材料,促进外源有益基因的发掘和应用。迅速发展的寡核苷酸探针 FISH 技术及其多种组学技术,为准确鉴别易位染色体并开展相关遗传机制研究提供了有力的技术保障,必将大大推动小麦染色体工程的发展。

但是,目前的 *ph1b* 突变体背景为春性地方品种中国春,缺乏良好的农艺性状,因此利用 CS *ph1b* 突变体诱致的易位系由于遗传累赘难以直接利用,将 *ph1b* 转移进性状良好的栽培小麦是提高其利用效

率的有效途径,目前已经有不同科学家正在尝试将其导入不同的栽培小麦品种。虽然 *ph1b* 特异分子标记的开发和利用将加速其向栽培小麦中的转移和利用,但是常规方法周期长、效率低,且打破不利连锁难度大,因此 *ph1b* 候选基因的克隆和功能研究应该是目前研究工作的重点,该基因的克隆将会促进基因编辑技术创制系列新的 *Ph1* 基因突变体,打破目前 *ph1b* 与中国春不利性状的连锁,促进部分同源配对基因在小麦育种中的利用。电离辐射可以高效诱发染色体变异,但同时也会高效诱发基因突变,因此给外源基因的效应分析增加了难度,同时辐射诱变产生的易位绝大部分为非补偿性,因此难以在生产中直接利用,目前主要通过多次回交来克服背景变异的影响,但无疑会增加育种周期,如何开发更有效的染色体诱变特别是小片段诱变技术仍然值得大量研究。

## 参考文献

- [1] 白彦明,李龙,王绘艳,柳玉平,王景一,毛新国,吕小平,孙黛珍,景蕊莲. 蚂蚱麦和小白麦衍生系的遗传多样性分析. 作物学报, 2019, 45(10): 1468-1477  
Bai Y M, Li L, Wang H Y, Liu Y P, Wang J Y, Mao X G, Chang X P, Sun D Z, Jing R L. Genetic diversity assessment in derivative offspring of Mazhamai and Xiaobaimai wheat. Acta Agronomica Sinica, 2019, 45(10): 1468-1477
- [2] Feldman M, Sears E R. The wild gene resources of wheat. Scientific American, 1981, 244(1): 102-112
- [3] 汪晓璐,韩冉,宫文萍,程敦公,郭军,曹新有,翟胜男,李法计,訾妍,刘爱峰,李豪圣,宋健民,刘成,刘建军. 外源染色体导入对小麦主要农艺性状的影响. 植物遗传资源学报, 2020, 21(4): 834-845  
Wang X L, Han R, Gong W P, Cheng D G, Guo J, Cao X Y, Zhai S N, Li F J, Zi Y, Liu A F, Li H S, Song J M, Liu C, Liu J J. Effects of alien chromosome on main agronomic traits of wheat. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(4): 834-845
- [4] 陈士强,何震天,张容,王建华,王锦荣,陈建民,陈秀兰. 长穗偃麦草优异基因的染色体定位及应用. 植物遗传资源学报, 2015, 16(5): 1062-1066, 1072  
Chen S Q, He Z T, Zhang R, Wang J H, Wang J R, Chen J M, Chen X L. Chromosomal localization of excellent genes in *Thinopyrum elongatum* and *Thinopyrum ponticum* and their application in wheat improvement. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(5): 1062-1066, 1072
- [5] 蒋勃,张淑欣,王惠,史玥,李紫琪,朱蕾,宋维富,杨雪峰,宋庆杰,李新玲,张延明. 中间偃麦草种质改良及基因组学育种研究进展. 植物遗传资源学报, 2020, 21(6): 1385-1394  
Jiang B, Zhang S X, Wang H, Shi Y, Li Z Q, Zhu L, Song W F, Yang X F, Song Q J, Li X L, Zhang Y M. Genetic improvement and genomics-assisted breeding of the germplasm resource *Thinopyrum intermedium*. Journal of Plant Genetic Resources, 2020, 21(6): 1385-1394
- [6] Copete-Parada A, Palomino C, Cabrera A. Development and



- characterization of wheat-*Agropyron cristatum* introgression lines induced by gametocidal genes and wheat *ph1b* mutant. *Agronomy*, 2021, 11 ( 2 ): 277
- [ 7 ] 延荣, 耿妙苗, 李晓静, 安浩军, 温树敏, 刘桂茹, 王睿辉. 河北省小麦品种和种质资源抗白粉病鉴定与抗病基因分子标记检测. *植物遗传资源学报*, 2020, 21 ( 3 ): 683-694  
Yan R, Geng M M, Li X J, An H J, Wen S M, Liu G R, Wang R H. Phenotyping and marker-assisted gene identification of powdery mildew resistance in wheat commercial varieties and germplasm resources from Hebei province. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2020, 21 ( 3 ): 683-694
- [ 8 ] 吕国锋, 别同德, 王慧, 赵仁慧, 范金平, 张伯桥, 吴素兰, 王玲, 汪尊杰, 高德荣. 长江下游麦区新育成品种 ( 系 ) 3 种主要病害的抗性鉴定及抗病基因 /QTL 的分子检测. *作物学报*, 2021, 47 ( 12 ): 2335-2347  
Lv G F, Bie T D, Wang H, Zhao R H, Fan J P, Zhang B Q, Wu S L, Wang L, Wang Z J, Gao D R. Evaluation and molecular detection of three major diseases resistance of new bred wheat varieties ( lines ) from the lower reaches of the Yangtze River. *Acta Agronomica Sinica*, 2021, 47 ( 12 ): 2335-2347
- [ 9 ] Riley R, Chapman V. Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. *Nature*, 1958, 182: 713-715
- [ 10 ] Bhullar R, Nagarajan R, Bennypaul H, Sidhu G K, Sidhu G, Rustgi S, vonWettstein D, Gill K S. Silencing of a metaphase I-specific gene results in a phenotype similar to that of the pairing homeologous 1 ( *Ph1* ) gene mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, 111 ( 39 ): 14187-14192
- [ 11 ] Wall A M, Riley R, Gale M D. The position of a locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing. *Genetical Research*, 1971, 18 ( 3 ): 329-339
- [ 12 ] Martín A C, Rey M D, Shaw P, Moore G. Dual effect of the wheat *Ph1* locus on chromosome synapsis and crossover. *Chromosoma*, 2017, 126 ( 6 ): 669-680
- [ 13 ] Fan C, Hao M, Jia Z, Neri C, Chen X, Chen W, Liu D, Lukaszewski A J. Some characteristics of crossing over in induced recombination between chromosomes of wheat and rye. *The Plant Journal*, 2021, 105: 1665-1676
- [ 14 ] Sears E R. An induced mutant with homoeologous pairing in common wheat. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1977, 19: 585-593
- [ 15 ] Gyawali Y, Zhang W, Chao S, Xu S, Cai X. Delimitation of wheat *ph1b* deletion and development of *ph1b*-specific DNA markers. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132: 195-204
- [ 16 ] Koebner R M D, Shepherd K W. Induction of recombination between rye chromosome 1RL and wheat chromosomes. *Theoretical and Applied Genetics*, 1985, 71 ( 2 ): 208-215
- [ 17 ] Koebner R M D, Shepherd K W. Controlled introgression to wheat of genes from rye chromosome arm 1RS by induction of allosyndesis. *Theoretical and Applied Genetics*, 1986, 73 ( 2 ): 197-208
- [ 18 ] Yu M Q, Deng G B, Zhang X P, Ma X R, Chen J. Effect of *ph1b* mutant on chromosome pairing in hybrids between *Dasyphyrum villosum* and *Triticum aestivum*. *Plant Breeding*, 2001, 120 ( 4 ): 285-289
- [ 19 ] Taketa S, Awayama T, Ichii M, Sunakawa M, Kawahara T, Murai K. Molecular cytogenetic identification of nullisomy 5B induced homoeologous recombination between wheat chromosome 5D and barley chromosome 5H. *Genome*, 2005, 48 ( 1 ): 115-124
- [ 20 ] Klindworth D L, Niu Z, Chao S, Friesen T L, Jin Y, Faris J D, Cai X, Xu S S. Introgression and characterization of a goatgrass gene for a high level of resistance to Ug99 stem rust in tetraploid wheat. *Genes, Genomes, Genetics*, 2012, 2 ( 6 ): 665-673
- [ 21 ] Liu W X, Koo D H, Xia Q, Li C X, Bai F Q, Song Y L, Friebe B, Gill B S. Homoeologous recombination based transfer and molecular cytogenetic mapping of powdery mildew resistant gene *Pm57* from *Aegilops searsii* into wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2017, 130 ( 4 ): 841-848
- [ 22 ] Niu Z, Klindworth D L, Friesen T L, Chao S, Jin Y, Cai X, Xu S S. Targeted introgression of a wheat stem rust resistance gene by DNA marker-assisted chromosome engineering. *Genetics*, 2011, 187 ( 4 ): 1011-1021
- [ 23 ] Millet E, Manisterski J, Ben-Yehuda P, Distelfeld A, Deek J, Wan A, Chen X, Steffenson B J, Gustafson J P. Introgression of leaf rust and stripe rust resistance from Sharon goatgrass ( *Aegilops sharonensis* Eig ) into bread wheat ( *Triticum aestivum* L. ). *Genome*, 2014, 57 ( 6 ): 309-316
- [ 24 ] Danilova T V, Poland J, Friebe B. Production of a complete set of wheat-barley group-7 chromosome recombinants with increased grain  $\beta$ -glucan content. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132 ( 11 ): 3129-3141
- [ 25 ] Zhao R, Wang H, Xiao J, Bie T, Cheng S, Jia Q, Yuan C, Zhang R, Cao A, Chen P, Wang X. Induction of 4VS chromosome recombinants using the CS *ph1b* mutant and mapping of the wheat yellow mosaic virus resistance gene from *Haynaldia villosa*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126: 2921-2930
- [ 26 ] Danilova T V, Zhang G, Liu W, Friebe B, Gill B S. Homoeologous recombination-based transfer and molecular cytogenetic mapping of a wheat streak mosaic virus and *Triticum* mosaic virus resistance gene *Wsm3* from *Thinopyrum intermedium* to wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 130 ( 3 ): 549-556
- [ 27 ] Fedak G, Chi D, Wolfe D, Ouellet T, Cao W, Han F, Xue A. Transfer of fusarium head blight resistance from *Thinopyrum elongatum* to bread wheat cultivar Chinese Spring. *Genome*, 2021, 64 ( 11 ): 997-1008
- [ 28 ] Lukaszewski A J. Physical distribution of translocation breakpoints in homoeologous recombinants induced by the absence of the *Ph1* gene in wheat and triticales. *Theoretical and Applied Genetics*, 1995, 90 ( 5 ): 714-719
- [ 29 ] Lukaszewski A J, Rybka K, Korzun V, Malyshev S V, Lapinski B, Whitkus R. Genetic and physical mapping of homoeologous recombination points involving wheat chromosome 2B and rye chromosome 2R. *Genome*, 2004, 47 ( 1 ): 36-45
- [ 30 ] Zhang W, Zhu X, Zhang M, Chao S, Xu S, Cai X. Meiotic homoeologous recombination-based mapping of wheat chromosome 2B and its homoeologues in *Aegilops speltoides* and *Thinopyrum elongatum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131 ( 11 ): 2381-2395
- [ 31 ] Zhang M, Zhang W, Zhu X, Sun Q, Yan C, Xu S S, Fiedler J,

- Cai X. Dissection and physical mapping of wheat chromosome 7B by inducing meiotic recombination with its homoeologues in *Aegilops speltoides* and *Thinopyrum elongatum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133 ( 12 ): 3455-3467
- [ 32 ] Rey M D, Calderón M C, Prieto P. The use of the *ph1b* mutant to induce recombination between the chromosomes of wheat and barley. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 160
- [ 33 ] Wan W, Xiao J, Li M, Tang X, Wen M, Cheruiyot A K, Li Y, Wang H, Wang X. Fine mapping of wheat powdery mildew resistance gene *Pm6* using 2B/2G homoeologous recombinants induced by the *ph1b* mutant. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133: 1265-1275
- [ 34 ] Niu Z, Klindworth D L, Yu G, Friesen T L, Chao S, Jin Y, Cai X, Ohm J B, Rasmussen J B, Xu S S. Development and characterization of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr43* derived from *Thinopyrum ponticum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2014, 127 ( 4 ): 969-980
- [ 35 ] Hao M, Liu M, Luo J, Fan C, Yi Y, Zhang L, Yuan Z, Ning S, Zheng Y, Liu D. Introgression of powdery mildew resistance gene *Pm56* on rye chromosome arm 6RS into wheat. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1040
- [ 36 ] Dong Z, Tian X, Ma C, Xia Q, Wang B, Chen Q, Sehgal S, Friebe B, Li H, Liu W. Physical mapping of *Pm57*, a powdery mildew resistance gene derived from *Aegilops searsii*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21 ( 1 ): 322
- [ 37 ] Dundas I, Zhang P, Verlin D, Graner A, Shepherd K. Chromosome engineering and physical mapping of the *Thinopyrum ponticum* translocation in wheat carrying the rust resistance gene *Sr26*. *Crop Science*, 2015, 55 ( 2 ): 648-657
- [ 38 ] Mago R, Verlin D, Zhang P, Bansal U, Bariana H, Jin Y, Ellis J, Hoxha S, Dundas I. Development of wheat-*Aegilops speltoides* recombinants and simple PCR-based markers for *Sr32* and a new stem rust resistance gene on the 2S#1 chromosome. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126 ( 12 ): 2943-2955
- [ 39 ] Li H, Dong Z, Ma C, Tian X, Qi Z, Wu N, Friebe B, Xiang Z, Xia Q, Liu W, Li T. Physical mapping of stem rust resistance gene *Sr52* from *Dasypyrum villosum* based on *ph1b*-induced homoeologous recombination. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20 ( 19 ): 4887
- [ 40 ] Liu W, Rouse M, Friebe B, Jin Y, Gill B, Pumphrey M O. Discovery and molecular mapping of a new gene conferring resistance to stem rust, *Sr53*, derived from *Aegilops geniculata* and characterization of spontaneous translocation stocks with reduced alien chromatin. *Chromosome Research*, 2011, 19 ( 5 ): 669-682
- [ 41 ] Ferrahi M, Friebe B, Hatchett J H, Guedira G, Gill B S. Two step transfer of rye-derived *Hessian fly*-resistance gene *H21* to *durum* wheat by compensating robertsonian translocation and induced homoeologous recombination. *International Journal of Advanced Research*, 2017, 5 ( 10 ): 262-270
- [ 42 ] Zhang Z, Xu J, Xu Q, Larkin P, Xin Z. Development of novel PCR markers linked to the BYDV resistance gene *Bdv2* useful in wheat for marker-assisted selection. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 109 ( 2 ): 433-439
- [ 43 ] Halder A, Tekieh F, Balcerzak M, Wolfe D, Lim D, Joustra K, Konkin D, Han F, Fedak G, Ouellet T. Introgression of *Thinopyrum elongatum* DNA fragments carrying resistance to fusarium head blight into *Triticum aestivum* cultivar Chinese Spring is associated with alteration of gene expression. *Genome*, 2021, 64 ( 11 ): 1009-1020
- [ 44 ] Sharma Y, Sheikh I, Sharma A, Yadav A N, Kumar K, Chhuneja P, Ram S, Kumar S, Vyas P, Dhaliwal H S. Transfer of grain softness from 5U-5A wheat-*Aegilops triuncialis* substitution line to bread wheat through induced homeologous pairing. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 2020, 29 ( 3 ): 407-417
- [ 45 ] Li Y, Li Q, Li Y, Lan J, Tang H, Qi P, Ma J, Wang J, Chen G, Pu Z, Li W, Li Z, Harwood W, Lan X, Deng M, Wei Y, Zheng Y, Jiang Q. Transfer of the *ph1b* gene of 'Chinese Spring' into a common wheat cultivar with excellent traits. *Cereal Research Communications*, 2020, 48: 283-291
- [ 46 ] Sánchez-Morán E, Benavente E, Orellana J. Analysis of karyotypic stability of homoeologous-pairing (*ph*) mutants in allopolyploid wheats. *Chromosoma*, 2001, 110: 371-377
- [ 47 ] Cao Y, Bie T, Wang X, Chen P. Induction and transmission of wheat-*Haynaldia villosa* chromosomal translocations. *Journal of Genetics and Genomics*, 2009, 36: 313-320
- [ 48 ] 杜丽媛, 刘伟华, 杨欣明, 李秀全, 李立会. 小麦-冰草新种质普冰 2011 姊妹系的育种效应分析. *植物遗传资源学报*, 2016, 17 ( 3 ): 395-403
- Du L Y, Liu W H, Yang X M, Li X Q, Li L H. Breeding achievement analysis of novel wheat-*Agropyron cristatum* germplasm sister lines Pubing2011. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17 ( 3 ): 395-403
- [ 49 ] Jubault M, Tanguy A M, Abélard P, Coriton O, Dusauroir J C, Jahier J. Attempts to induce homoeologous pairing between wheat and *Agropyron cristatum* genomes. *Genome*, 2006, 49 ( 2 ): 190-193
- [ 50 ] Li H, Lv M, Song L, Zhang J, Gao A, Li L, Liu W. Production and identification of wheat-*Agropyron cristatum* 2P translocation lines. *PLoS ONE*, 2016, 11 ( 1 ): e0145928
- [ 51 ] Lu M, Lu Y, Li H, Pan C, Guo Y, Zhang J, Yang X, Li X, Liu W, Li L. Transferring desirable genes from *Agropyron cristatum* 7P chromosome into common wheat. *PLoS ONE*, 2016, 11 ( 7 ): e0159577
- [ 52 ] Zheng Q, Li B, Zhang X, Mu S, Zhou H, Li Z. Molecular cytogenetic characterization of wheat-*Thinopyrum ponticum* translocations bearing blue-grained gene (*s*) induced by  $\gamma$ -ray. *Euphytica*, 2006, 152 ( 1 ): 51-60
- [ 53 ] Liu L, Luo Q, Li H, Li B, Li Z, Zheng Q. Physical mapping of the blue-grained gene from *Thinopyrum ponticum* chromosome 4Ag and development of blue-grain-related molecular markers and a FISH probe based on SLAF-seq technology. *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131: 2359-2370
- [ 54 ] Molnár I, Benavente E, Molnár-Láng M. Detection of intergenomic chromosome rearrangements in irradiated *Triticum aestivum*-*Aegilops biuncialis* amphiploids by multicolour genomic in situ hybridization. *Genome*, 2009, 52 ( 2 ): 156-165
- [ 55 ] Bie T D, Cao Y P, Chen P D. Mass production of intergeneric chromosomal translocations through pollen irradiation of *Triticum durum*-*Haynaldia villosa* amphiploid. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2007, 49 ( 11 ): 1619-1626
- [ 56 ] 曹亚萍, 别同德, 陈佩度, 范绍强, 周元成, 张妹敏. 小麦-簇毛麦属间染色体易位系的高效诱导. *植物遗传资源学报*,

- 2011, 12(3): 437-441
- Cao Y P, Bie T D, Chen P D, Fan S Q, Zhou Y C, Zhang S M. High induction of intergeneric chromosome translocation lines between wheat and *Haynaldia villosa*. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12(3): 437-441
- [57] 王从磊, 庄丽芳, 开增军. 辐射诱导荆州黑麦染色体 1R 结构变异的研究. 核农学报, 2012, 26(1): 28-31, 42
- Wang C L, Zhuang L F, Qi Z J. Structural variations of chromosome 1R from rye cultivar Jingzhouheimai induced by irradiation. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2012, 26(1): 28-31, 42
- [58] Pu J, Wang Q, Shen Y, Zhuang L, Li C, Tan M, Bie T, Chu C, Qi Z. Physical mapping of chromosome 4J of *Thinopyrum bessarabicum* using gamma radiation-induced aberrations. Theoretical and Applied Genetics, 2015, 128(7): 1319-1328
- [59] Song L, Jiang L, Han H, Gao A, Yang X, Li L, Liu W. Efficient induction of wheat-*Agropyron cristatum* 6P translocation lines and GISH detection. PLoS ONE, 2013, 8(7): e69501
- [60] Zhang J, Zhang J, Liu W, Han H, Lu Y, Yang X, Li X, Li L. Introgression of *Agropyron cristatum* 6P chromosome segment into common wheat for enhanced thousand-grain weight and spike length. Theoretical and Applied Genetics, 2015, 128(9): 1827-1837
- [61] Chen S W, Chen P D, Wang X E. Inducement of chromosome translocation with small alien segments by irradiating mature female gametes of the whole arm translocation line. Science in China Series C: Life Sciences, 2008, 51(4): 346-352
- [62] 李海凤, 罗贤磊, 段亚梅, 戴毅, 高勇, 张军, 张璐璐, 陈建民. 小麦-长穗偃麦草 T7BS·7EL 易位系鉴定及 7EL 小片段易位诱导. 麦类作物学报, 2018, 38(5): 513-520
- Li H F, Luo X L, Duan Y M, Dai Y, Gao Y, Zhang J, Zhang L L, Chen J M. Identification of wheat-*Thinopyrum elongatum* translocation line T7BS·7EL and induction of small fragment translocations involving 7EL chromosome. Journal of Triticeae Crops, 2018, 38(5): 513-520
- [63] 齐莉莉, 陈佩度, 刘大钧, 周波, 张守中, 盛宝钦, 向齐君, 段霞渝, 周益林. 小麦白粉病新抗源-基因 *Pm21*. 作物学报, 1995, 21(3): 257-262
- Qi L L, Chen P D, Liu D J, Zhou B, Zhang S Z, Sheng B Q, Xiang Q J, Duan X Y, Zhou Y L. The gene *Pm21*-a new source for resistance to wheat powdery mildew. Acta Agronomica Sinica, 1995, 21(3): 257-262
- [64] Chen P D, Qi L L, Zhou B, Zhang S Z, Liu D J. Development and molecular cytogenetic analysis of wheat-*Haynaldia villosa* 6VS/6AL translocation lines specifying resistance to powdery mildew. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 91: 1125-1128
- [65] Chen P, You C, Hu Y, Chen S, Zhou B, Cao A, Wang X. Radiation-induced translocations with reduced *Haynaldia villosa* chromatin at the *Pm21* locus for powdery mildew resistance in wheat. Molecular Breeding, 2013, 31(2): 477-484
- [66] 王海燕, 肖进, 袁春霞, 徐涛, 于春艳, 孙昊杰, 陈佩度, 王秀娥. 携带抗白粉病基因 *Pm21* 的小麦-簇毛麦小片段易位染色体在不同小麦背景中的传递率及遗传稳定性. 作物学报, 2016, 42(3): 361-367
- Wang H Y, Xiao J, Yuan C X, Xu T, Yu C Y, Sun H J, Chen P D, Wang X E. Transmission and genetic stability of no-homoeologous small fragment wheat-*Haynaldia villosa* translocation chromosomes with *Pm21* in various cultivar backgrounds of common wheat. Acta Agronomica Sinica, 2016, 42(3): 361-367
- [67] Zhang R, Zhang M, Wang X, Chen P. Introduction of chromosome segment carrying the seed storage protein genes from chromosome 1V of *Dasyphyrum villosum* showed positive effect on bread-making quality of common wheat. Theoretical and Applied Genetics, 2014, 127: 523-533
- [68] Zhang R, Cao Y, Wang X, Feng Y, Chen P. Development and characterization of a *Triticum aestivum*-*H. villosa* T5VS·5DL translocation line with soft grain texture. Journal of Cereal Science, 2010, 51(2): 220-225
- [69] Zhang R, Wang X, Chen P. Molecular and cytogenetic characterization of a small alien-segment translocation line carrying the softness genes of *Haynaldia villosa*. Genome, 2012, 55: 639-646
- [70] Verma S K, Kumar S, Sheikh I, Malik S, Mathpal P, Chugh V, Kumar S, Prasad R, Dhaliwal H S. Transfer of useful variability of high grain iron and zinc from *Aegilops kotschy* into wheat through seed irradiation approach. International Journal of Radiation Biology, 2016, 92(3): 132-139
- [71] Zhang R, Hou F, Feng Y, Zhang W, Zhang M, Chen P. Characterization of a *Triticum aestivum*-*Dasyphyrum villosum* T2VS·2DL translocation line expressing a longer spike and more kernels traits. Theoretical and Applied Genetics, 2015, 128: 2415-2425
- [72] Zhang Z, Han H, Liu W, Song L, Zhang J, Zhou S, Yang X, Li X, Li L. Deletion mapping and verification of an enhanced-grain number per spike locus from the 6PL chromosome arm of *Agropyron cristatum* in common wheat. Theoretical and Applied Genetics, 2019, 132(10): 2815-2827
- [73] Zhuang L, Liu P, Liu Z, Chen T, Wu N, Sun L, Qi Z. Multiple structural aberrations and physical mapping of rye chromosome 2R introgressed into wheat. Molecular Breeding, 2015, 35(6): 133
- [74] Li H H, Jiang B, Wang J C, Lu Y Q, Zhang J P, Pan C L, Yang X M, Li X Q, Liu W H, Li L H. Mapping of novel powdery mildew resistance gene(s) from *Agropyron cristatum* chromosome 2P. Theoretical and Applied Genetics, 2017, 130: 109-121
- [75] Cuadrado Á, Golczyk H, Jouve N. A novel, simple and rapid nondenaturing FISH (ND-FISH) technique for the detection of plant telomeres. Potential used and possible target structures detected. Chromosome Research, 2009, 17(6): 755-762
- [76] Cuadrado Á, Jouve N. Chromosomal detection of simple sequence repeats (SSRs) using nondenaturing FISH (ND-FISH). Chromosoma, 2010, 119: 495-503
- [77] Lei J, Zhou J, Sun H, Wan W, Xiao J, Yuan C, Karafiátová M, Doležel J, Wang H, Wang X. Development of oligonucleotide probes for FISH karyotyping in *Haynaldia villosa*, a wild relative of common wheat. The Crop Journal, 2020, 8: 676-681
- [78] Yu Z, Wang H, Jiang W, Jiang C, Yuan W, Li G, Yang Z. Karyotyping *Dasyphyrum brevistaratum* chromosomes with multiple oligonucleotide probes reveals the genomic divergence in *Dasyphyrum*. Genome, 2021, 64(8): 789-800



- [ 79 ] Wang H, Yu Z, Li G, Yang Z. Diversified chromosome rearrangements detected in a wheat-*Dasypyrum breviaristatum* substitution line induced by Gamma-ray irradiation. *Plants*, 2019, 8 ( 6 ): 175
- [ 80 ] Cui Y, Zhang Y, Qi J, Wang H, Wang R R C, Bao Y, Li X. Identification of chromosomes in *Thinopyrum intermedium* and wheat *Th. intermedium* amphiploids based on multiplex oligonucleotide probes. *Genome*, 2018, 61 ( 7 ): 515-521
- [ 81 ] Xi W, Tang Z, Tang S, Yang Z, Luo J, Fu S. New ND-FISH-positive oligo probes for identifying *Thinopyrum* chromosomes in wheat backgrounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20 ( 8 ): 2031
- [ 82 ] Singh A K, Zhang P, Dong C, Li J, Singh S, Trethowan R M, Sharp P J. Development and molecular cytogenetic characterization of *Thinopyrum bessarabicum* introgression lines in hexaploid and tetraploid wheats. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133 ( 7 ): 2117-2130
- [ 83 ] Xi W, Tang S, Du H, Luo J, Tang Z, Fu S. ND-FISH-positive oligonucleotide probes for detecting specific segments of rye (*Secale cereale* L.) chromosomes and new tandem repeats in rye. *Crop Journal*, 2020, 8 ( 2 ): 171-181
- [ 84 ] Xiao Z, Tang S, Qiu L, Tang Z, Fu S. Oligonucleotides and ND-FISH displaying different arrangements of tandem repeats and identification of *Dasypyrum villosum* chromosomes in wheat backgrounds. *Molecules*, 2017, 22 ( 6 ): 973
- [ 85 ] Sun H, Song J, Lei J, Song X, Dai K, Xiao J, Yuan C, An S, Wang H, Wang X. Construction and application of oligo-based FISH karyotype of *Haynaldia villosa*. *Journal of Genetics and Genomics*, 2018, 45: 463-466
- [ 86 ] Said M, Hřibová E, Danilova T V, Karafiátová M, Čížková J, Friebe B, Doležel J, Gill B S, Vrána J. The *Agropyron cristatum* karyotype, chromosome structure and cross-genome homocology as revealed by fluorescence in situ hybridization with tandem repeats and wheat single-gene probes. *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131: 2213-2227
- [ 87 ] Liu C, Gong W, Han R, Guo J, Li G, Li H, Song J, Liu A, Cao X, Zhai S, Cheng D, Li G, Zhao Z, Yang Z, Liu J, Reader S M. Characterization, identification and evaluation of a set of wheat-*Aegilops comosa* chromosome lines. *Scientific Reports*, 2019, 9 ( 1 ): 4773
- [ 88 ] Tang S, Qiu L, Xiao Z, Fu S, Tang Z. New oligonucleotide probes for ND-FISH analysis to identify barley chromosomes and to investigate polymorphisms of wheat chromosomes. *Genes*, 2016, 7 ( 12 ): 118
- [ 89 ] Rey M D, Moore G, Martín A C. Identification and comparison of individual chromosomes of three accessions of *Hordeum chilense*, *Hordeum vulgare*, and *Triticum aestivum* by FISH. *Genome*, 2018, 61 ( 6 ): 387-396
- [ 90 ] 王丹蕊, 杜培, 裴自友, 庄丽芳, 亓增军. 基于寡核苷酸探针套 painting 的小麦“中国春”非整倍体高清图型及应用. *作物学报*, 2017, 43 ( 11 ): 1575-1587
- Wang D R, Du P, Pei Z Y, Zhuang L F, Qi Z J. Development and application of high resolution karyotypes of wheat “Chinese Spring” aneuploids. *Acta Agronomica Sinica*, 2017, 43 ( 11 ): 1575-1587
- [ 91 ] Tang S, Tang Z, Qiu L, Yang Z, Li G, Lang T, Zhu W, Zhang J, Fu S. Developing new oligo probes to distinguish specific chromosomal segments and the A, B, D genomes of wheat (*Triticum aestivum* L.) using ND-FISH. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 1104
- [ 92 ] Lang T, Li G, Wang H, Yu Z, Chen Q, Yang E, Fu S, Tang Z, Yang Z. Physical location of tandem repeats in the wheat genome and application for chromosome identification. *Planta*, 2019, 249: 663-675
- [ 93 ] 郭军, 卢明娇, 武智民, 李豪圣, 宫文萍, 王灿国, 程敦公, 刘爱峰, 曹新有, 刘成, 翟胜男, 杨足君, 刘建军, 孔令让, 赵振东, 宋健民. 1E<sup>e</sup> 染色体对小麦农艺和品质性状的影响研究. *植物遗传资源学报*, 2019, 20 ( 4 ): 854-860
- Guo J, Lu M J, Wu Z M, Li H S, Gong W P, Wang C G, Cheng D G, Liu A F, Cao X Y, Liu C, Zhai S N, Yang Z J, Liu J J, Kong L R, Zhao Z D, Song J M. Effects of *Thinopyrum elongatum* chromosome 1E<sup>e</sup> on wheat agronomical and quality related traits. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20 ( 4 ): 854-860
- [ 94 ] 齐珊珊, 白福强, 夏晴, 张玉丹, 郑雅月, 刘金燕, 刘文轩. 小麦亲缘种属添加系耐低磷胁迫性状鉴定与基因染色体定位. *植物遗传资源学报*, 2016, 17 ( 4 ): 710-718
- Qi S S, Bai F Q, Xia Q, Zhang Y D, Zheng Y Y, Liu J Y, Liu W X. Identification of tolerance to low phosphorus stress in wheat-relative addition lines and location of its related genes on chromosome. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17 ( 4 ): 710-718