

小麦背景中黑麦遗传物质的快速检测方法

张蔚,熊自颖,段延玲,罗涛,罗杰,唐宗祥,符书兰

(四川农业大学农学院/四川农业大学植物遗传育种省级重点实验室,四川成都 611130)

摘要: 黑麦(*Secale cereale* L.)基因资源在小麦(*Triticum aestivum* L.)品种改良方面具有很大的利用潜力。建立一种高效鉴定小麦背景中黑麦染色体的细胞学标记方法,有利于黑麦优良基因/遗传物质的追溯和高效利用。本研究利用核仁组织区(NOR)核糖体DNA(rDNA)串联重复序列,开发了一种新的寡核苷酸探针Oligo-1RNOR。非变性荧光原位杂交(ND-FISH)试验表明,该探针可专化性识别黑麦1R染色体的NOR区域,并产生强于Oligo-5BL.46的信号。同时,为了提高外源遗传物质细胞学鉴定的效率,建立了一种快速、简便制备小麦间期细胞的方法。利用基于Oligo-1RNOR、Oligo-pSc200和Oligo-pSc250探针的ND-FISH对制备的间期细胞滴片进行分析,结果与中期染色体细胞滴片的FISH结果相同,均能够清楚地判定材料中是否含有黑麦染色体。该方法无需制备中期染色体,叶片和根尖均可用于制备间期细胞,避免了常规细胞学根尖组织制片的预处理和固定程序,为检测小麦背景中的黑麦遗传物质或小麦-黑麦易位染色体提供了更方便的技术手段。本研究建立的方法不足之处在于,要求小麦背景中的黑麦片段必须含有高拷贝数的串联重复序列。

关键词: 小麦;黑麦;易位染色体;寡核苷酸探针

中图分类号: S512.1;S330

文献标识码: A

文章编号: 1009-1041(2023)02-0157-07

A Quick and Convenient Method to Detect Genetic Materials of Rye in Wheat Background

ZHANG Wei, XIONG Ziying, DUAN Yanling, LUO Tao,

LUO Jie, TANG Zongxiang, FU Shulan

(College of Agronomy, Sichuan Agricultural University/Provincial Key Laboratory for Plant Genetics and Breeding, Sichuan Agricultural University, Chengdu, Sichuan 611130, China)

Abstract: Genes from rye(*Secale cereale* L.) have great potential in improvement of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars. An efficient method based on cytological marker for identifying rye chromosomes in wheat background is beneficial to trace and utilize the elite genes of rye. Ribosomal DNA tandem repeats in nucleolar organizer region(NOR) were used to develop a new oligonucleotide(oligo) probe Oligo-1RNOR. Non-denaturing fluorescence in situ hybridization(ND-FISH) analysis indicated that this probe can specifically identify the NOR of rye 1R chromosome, and its signal was stronger than that of Oligo-5BL.46. Meanwhile, in order to improve the efficiency of identifying alien chromatin in wheat, a rapid and simple method for the preparation of wheat interphase cells was established. ND-FISH using Oligo-1RNOR, Oligo-pSc200 and Oligo-pSc250 as probes was used to analyze interphase and metaphase cells, and rye chromosomes in both of the two kinds of cells can be clearly distinguished. In this method, both leaves and roots can be used to prepare interphase cells; The

收稿日期:2022-01-15

修回日期:2022-04-10

基金项目:国家自然科学基金项目(31770373,32070373);四川省重点研发计划项目(2021YFYZ0002)

第一作者 E-mail:2020301088@stu.sicau.edu.cn

通讯作者:符书兰(E-mail:fushulan@sicau.edu.cn)

preparation of metaphase cells is not necessary, and the procedures of preprocessing and fixation of root tip tissue are also omitted. It provides a more convenient technique for the detection of rye chromatin or wheat-rye translocation chromosomes in wheat background. The limitation of the method in this study is that only the rye segments containing tandem repeats with a high copy number can be detected in wheat background.

Key words: Wheat; Rye; Translocation chromosome; Oligo probe

黑麦 (*Secale cereale* L.) 是小麦 (*Triticum aestivum* L.) 品种改良的重要基因源。小麦-黑麦 1BL·1RS 易位染色体在小麦育种中已得到了广泛的应用。虽然 1RS 染色体上的白粉病和条锈病抗性基因已经丧失抗性,但许多小麦品种仍含有 1BL·1RS 易位染色体^[1-2]。除黑麦 1RS 染色体臂外,其他黑麦染色体也含有可用于小麦品种改良的基因,如黑麦 4R、5R 和 6R 染色体含有白粉病和条锈病抗性基因^[3-7],黑麦 7RL 染色体含有条锈病、白粉病和赤霉病抗性基因^[8]。培育遗传稳定且农艺性状优良的小麦-黑麦易位系,将含有有利的外缘染色体或外缘染色体片段引入到新的小麦背景中,可培育新的小麦品种。如将洛夫林 10 的小麦-黑麦 1BL·1RS 易位染色体转移到不同的小麦背景中,育成了一系列优良的小麦品种^[9]。对小麦背景中黑麦染色体的鉴定是有效利用黑麦优异基因的前提。目前鉴定小麦背景中黑麦染色体的常用方法主要包括基因组原位杂交 (genomic in situ hybridization, GISH)、荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 和特异分子标记。将 GISH、FISH 和黑麦染色体特异分子标记相结合,能有效鉴定新创制的小麦-黑麦 1BL·1RS 易位系以及小麦-黑麦附加系中的黑麦染色体^[10-12]。此外,基于寡核苷酸探针的非变性荧光原位杂交 (ND-FISH) 也用于鉴定小麦中的黑麦染色体^[4, 13]。这些方法都各有优缺点,都存在进一步改进的余地。为了提高小麦-黑麦易位染色体在小麦育种中的应用效率,本研究建立了一种快速、简便检测小麦-黑麦易位染色体的方法。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

川农 17 (含有小麦-黑麦 1BL·1RS 易位染色体^[14])、小麦-黑麦 5RS^{Ku}·5BL 易位系 237-2^[7] 和 7BS·7BL-4RL^{Ku} 易位系 17T159-45^[15]、小麦-黑麦 6DL/6RL^{Kumil19} 小片段易位系 19T188-

11^[4], 用于开展小麦背景中的黑麦 1RS 染色体和其他黑麦染色体片段的检测验证。此外,4 个黑麦材料 [Kustro (PI 392065), Petkus (PI 428373), 荆州黑麦, 山地黑麦 D-1064 (PI 401404)]、大麦 MoreX、簇毛麦 H85-630 (PI 598390) 以及普通小麦中国春用于验证新开发的探针对 1RS 染色体的特异性。黑麦 Kustro、黑麦 Petkus、山地黑麦 D-1064 和簇毛麦 H85-630 由美国种质资源库 (GRIN) 提供, 大麦 MoreX 由电子科技大学杨足君教授提供, 荆州黑麦、川农 17、中国春以及供试不同易位系均由本实验室保存。

1.2 黑麦 1RS 染色体特异性寡核苷酸探针的开发

因为黑麦染色体中仅 1RS 染色体含有核仁组织区 (NOR), 为了开发既能区分黑麦 1RS 染色体与其他染色体, 又能区分黑麦 1RS 染色体与小麦染色体的探针, 以 pTa71 载体 (包含小麦 rDNA) 中 A 重复序列家族的 135 bp 重复单元 (GenBank 登录号 X07841.1)^[16] 为输入序列, 利用 WheatOmics 1.0 (<http://202.194.139.32/>) 中的 Blast 工具, 与黑麦 Lo7 的 1R 染色体全序列^[17] 进行比对。从比对到的序列中截取一段序列作为寡核苷酸探针, 再将该探针与小麦基因组序列 (Chinese Spring Refseq v2.1) 和黑麦基因组序列 [rye (cv. Lo7)] 进行比对, 初步判断所选探针的特异性。

1.3 中期染色体的制备

将小麦种子置于铺有潮湿滤纸的培养皿中, 待根长至 1~2 cm 时, 按照 Han 等^[18] 的方法制备根尖中期染色体。

1.4 间期细胞的制备

小麦发芽后, 待根长至 2 cm 或叶片长至 4 cm 时, 剪取 1~2 条 5 mm 左右的根尖和 5 mm 左右的叶片, 分别放入 0.5 mL 离心管中, 加入 100 μ L 70% 的乙醇, 用 G50 电动组织研磨器 (上海生工生物工程股份有限公司) 或直径为 0.35 mm 的自制铁质研磨棒在室温条件下将根尖或叶片研磨 20~30 s, 丢弃粗大的残渣, 在室温条件下

4 000~5 000 rpm 离心 30 s, 弃上清, 向沉淀中加入 10~20 μL 100% 的冰醋酸, 涡旋后用微量移液器取 10~12 μL 悬液滴到载玻片上, 待冰醋酸挥发完毕, 根尖或叶片间期细胞制备完成。

1.5 非变性荧光原位杂交 (ND-FISH) 分析

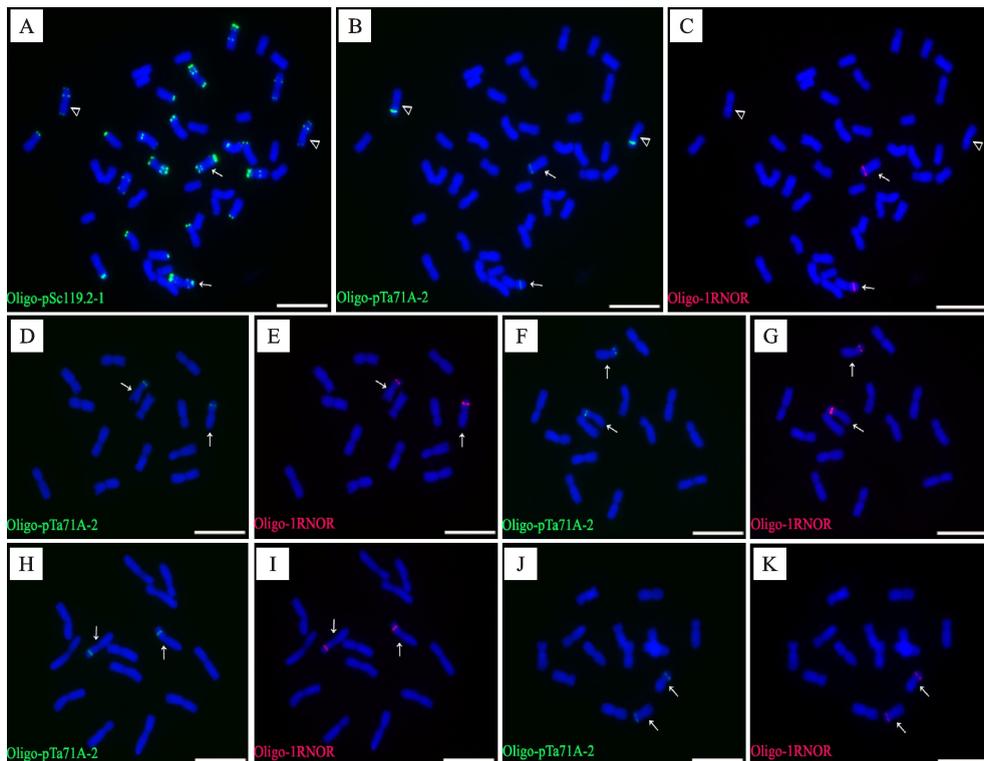
ND-FISH 分析参照 Fu 等^[19]描述的方法进行, 使用的寡核苷酸探针包括 Oligo-pSc119.2-1^[20]、Oligo-5BL.46^[15]、Oligo-pSc200^[19]、Oligo-pSc250^[19]、Oligo-Ku^[21]、Oligo-pTa71A-2^[21] 以及本研究新开发的 1RS 染色体特异性寡核苷酸探针 Oligo-1RNOR。

2 结果与分析

2.1 获得的 1RS 染色体寡核苷酸探针的分析

序列比对发现, 小麦 pTa71 载体中 135 bp 重复单元中 5~135 bp 区段与 1R 染色体 136 330

476~136 330 606 bp 区段的相似度达 76%。其中 136 330 507~136 330 535 bp 区段与 135 bp 重复单元序列的差异最大, 因此选用该区段作为寡核苷酸探针序列。该区段序列为 TTGCCG-GACGCCGTTTCTAAAGGAAGT, 命名为 Oligo-1RNOR。该序列与小麦基因组序列比对发现, 其 2~17 bp 区段只与小麦 7D 染色体的 623 249 940~623 251 131 bp 区段和 623 249 081~623 251 131 bp 区段相似度达 100%。与黑麦 Lo7 基因组序列比对发现, 该序列与黑麦 1R 染色体的 17 个区段相似度达 85%~100%, 与未知染色体的 30 个区段相似度达 90%~93%, 与 2R、3R、4R 和 5R 染色体的 2、3、12 和 5 个区段相似度分别达 85%~93%。这初步表明 Oligo-1RNOR 探针具有较强的 1R 染色体特异性, 可以用作细胞学鉴定。



A、B 和 C 为川农 17 同一细胞; D 和 E 为黑麦 Kustro 同一细胞; F 和 G 为荆州黑麦同一细胞; H 和 I 为黑麦 Petkus 同一细胞; J 和 K 为山地黑麦 D-1064 同一细胞。A、B 和 C 中三角形指示 6B 染色体, 箭头指示 1BL·1RS 易位染色体; D~K 中箭头指示 1R 染色体。染色体用 DAPI 染色(蓝色)。比例尺=10 μm 。图 2~4 同。

A, B and C are the same cell of Chuannong 17; D and E are the same cell of rye Kustro; F and G are the same cell of Jingzhou rye; H and I are the same cell of rye Petkus; J and K are the same cell of Shandi rye D-1064. In A, B and C, triangles indicate 6B chromosome, and arrows indicate 1BL·1RS translocation chromosome. Arrows in D-K indicate 1R chromosome. Chromosomes were counterstained with DAPI (blue). Scale bar=10 μm . The same in figures 2-4.

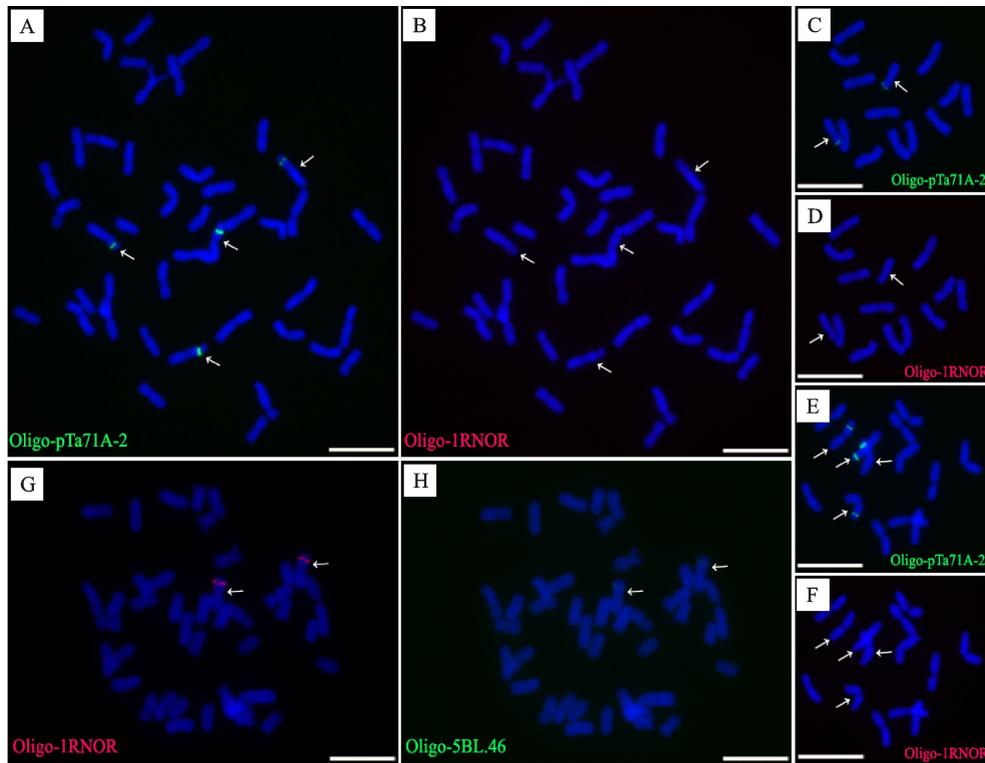
图 1 川农 17 及 4 个黑麦材料根尖中期染色体的 ND-FISH 分析

Fig. 1 ND-FISH analysis of root-tip metaphase chromosomes of Chuannong 17 and four rye materials

2.2 Oligo-1RNOR 探针的 1RS 染色体特异性和可靠性

鉴于小麦品种川农 17 已被证实含有 1BL·1RS 易位染色体^[14],且 1BL·1RS 易位染色体可以根据 Oligo-pSc119.2-1 的信号模式进行鉴定^[2],因此本研究利用探针 Oligo-1RNOR、Oligo-pSc119.2-1 和 Oligo-pTa71A-2 对小麦品种川农 17、4 个黑麦材料(Kustro、Petkus、荆州黑麦和山地黑麦 D-1064)、中国春、簇毛麦 H85-630 和大麦 MoreX 的根尖中期染色体进行 ND-FISH 分析。结果表明,在川农 17 中,仅 1 对染色体短臂可观察到 Oligo-1RNOR 信号(图 1C)。根据 Oligo-pSc119.2-1 的信号模式(图 1A),确定这对染

色体为 1BL·1RS 易位染色体。Oligo-1RNOR 信号与 Oligo-pTa71A-2 信号位置相同(图 1B 和 1C),因 Oligo-pTa71A-2 在小麦、黑麦、簇毛麦和大麦的 NOR 区域产生信号^[15],所以确定 Oligo-1RNOR 信号位于 1R 染色体的 NOR 区域,且该探针也仅在 4 个黑麦材料 1R 染色体的 NOR 区域产生信号(图 1D-1K),而在中国春、簇毛麦和大麦的染色体上没有观察到该探针的信号(图 2B、2D 和 2F)。由此可见,探针 Oligo-1RNOR 具有 1R 染色体特异性。此外,与已报道的 1RS 染色体 NOR 区域特异的寡核苷酸探针 Oligo-5BL.46 相比^[15],Oligo-1RNOR 探针的信号更强、更清晰(图 2G 和 2H)。



A 和 B 为中国春同一个细胞,箭头指示 1B 和 6B 染色体;C 和 D 为簇毛麦 H85-630 同一个细胞,箭头指示 1V 染色体;E 和 F 为大麦 MoreX 同一个细胞,箭头指示 5H 和 6H 染色体;G 和 H 为川农 17 同一个细胞,箭头指示 1BL·1RS 易位染色体。

A and B are the same cell of Chinese Spring, arrows indicate 1B and 6B chromosomes; C and D are the same cell of *Dasyphyrum villosum* H85-630, arrows indicate 1V chromosome; E and F are the same cell of barley MoreX, arrows indicate 5H and 6H chromosomes; G and H are the same cell of Chuannong 17, arrows indicate 1BL·1RS translocation chromosome.

图 2 中国春、簇毛麦、大麦和川农 17 根尖中期染色体的 ND-FISH 分析

Fig. 2 ND-FISH analysis of root-tip metaphase chromosomes of Chinese Spring, *Dasyphyrum villosum*, barley and Chuannong 17

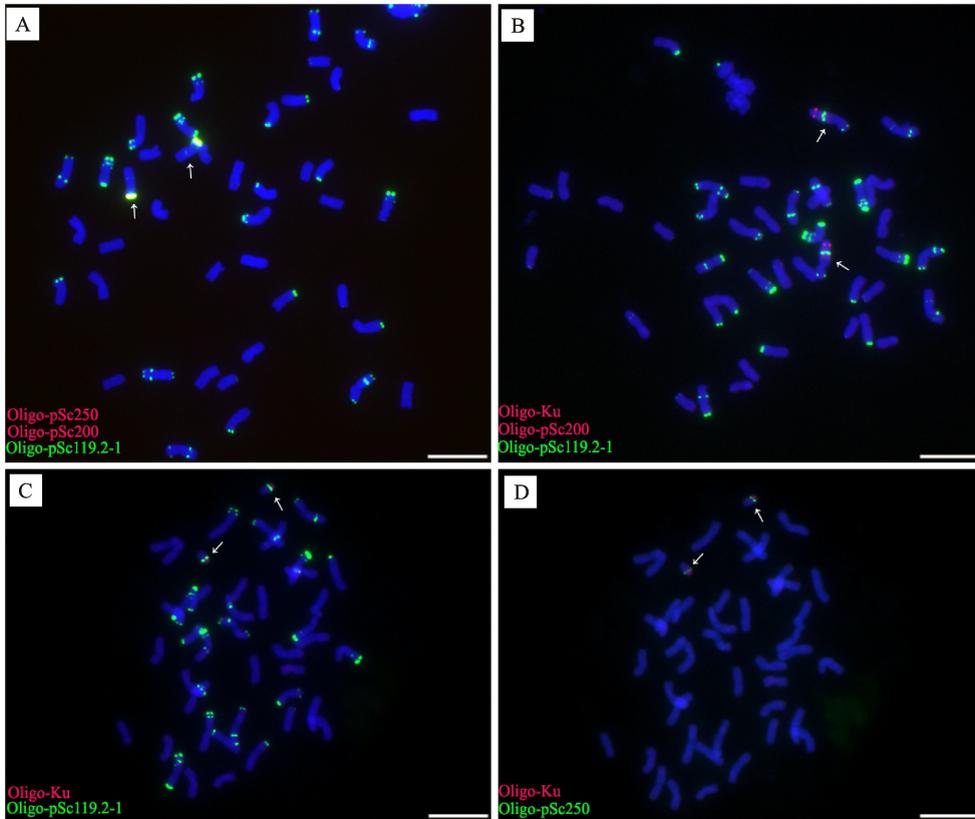
2.3 利用间期细胞和寡核苷酸探针快速检测小麦-黑麦易位染色体的效果

为了证实本研究建立的黑麦遗传物质快速鉴定方法的可靠性和稳定性,利用制备的川农 17 以

及易位系 237-2 (5RS^{Ku}·5BL)、17T159-45 (7BS·7BL-4RL^{Ku}) 和 19T188-11 (6DL/6RL^{Kumil19}) 的根尖中期细胞,对小麦背景中的黑麦 1RS 染色体臂和其他染色体片段进行检测验证,发现除川农 17

外,易位系 237-2、17T159-45 和 19T188-11 的根尖中期细胞中分别含有 5RS^{Ku}·5BL、7BS·7BL-4RL^{Ku} 和 6DL/6RL^{Kumi119} 易位染色体(图 3)。随后,用黑麦特异寡核苷酸探针 Oligo-pSc200、Oligo-pSc250、Oligo-5BL.46 和 Oligo-1RNOR 对这些材料的根尖和叶片间期细胞进行 ND-FISH 分析,发现在易位系 237-2、17T159-45 的根尖和叶片间期细胞中均可观察到清晰的 Oligo-pSc200 探针信号(图 4A-4D);在易位系 19T188-11 的根

尖和叶片间期细胞中可观察到清晰的 Oligo-pSc250 信号(图 4E 和 4F);在川农 17 的根尖和叶片间期细胞核上都能产生两个清晰的 Oligo-1RNOR 探针信号,但未观察到 Oligo-5BL.46 探针的信号(图 4G-4J)。这些结果表明,Oligo-1RNOR 可用于快速检测小麦背景中的 1BL·1RS 易位染色体,寡核苷酸探针 Oligo-pSc200 和 Oligo-pSc250 能快速简便地鉴定其他小麦-黑麦易位染色体。



A 为易位系 237-2,箭头指示 5RS^{Ku}·5BL 易位染色体;B 为易位系 17T159-45,箭头指示 7BS·7BL-4RL^{Ku} 易位染色体;C 和 D 为易位系 19T188-11 同一细胞,箭头指示 6DL/6RL^{Kumi119} 易位染色体。

A is the cell of translocation line 237-2, arrows indicate 5RS^{Ku}·5BL translocation chromosome; B is the cell of translocation line 17T159-45, arrows indicate 7BS·7BL-4RL^{Ku} translocation chromosome; C and D are the same cell of translocation line 19T188-11, arrows indicate 6DL/6RL^{Kumi119} translocation chromosome.

图 3 小麦-黑麦易位系 237-2、17T159-45 和 19T188-11 根尖中期染色体的 ND-FISH 分析

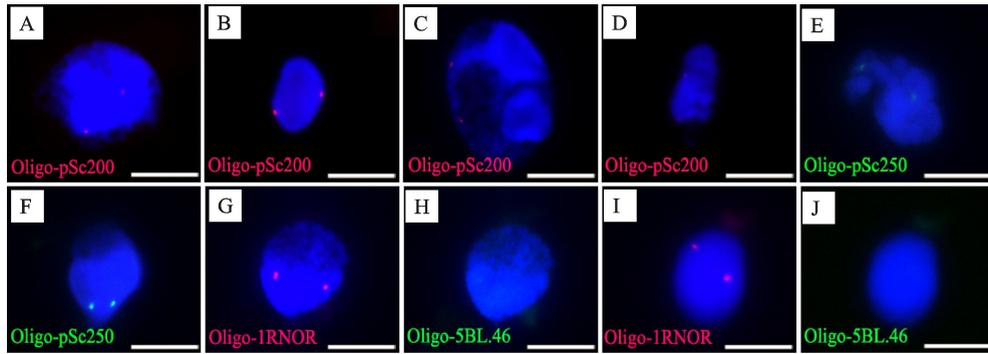
Fig. 3 ND-FISH analysis of root-tip metaphase chromosomes of wheat-rye translocation lines 237-2, 17T159-45 and 19T188-11

3 讨论

3.1 制备间期细胞与 ND-FISH 技术相结合检测小麦-黑麦易位染色体的优势

小麦-黑麦 1BL·1RS 易位染色体可提高小麦产量,在小麦育种中起着不可替代的作用。一

直以来,黑麦染色体特异分子标记和 FISH 技术常被用来鉴定小麦背景中的黑麦染色体^[22-26]。但这两种方法费时费力且繁琐,不适合大规模鉴定^[26]。而本研究建立的方法则省去了分子标记和 FISH 技术的繁琐过程。随着黑麦染色体或染色体片段特异探针的不断开发,利用本研究建立



A, C 和 E 分别为易位系 237-2、17T159-45 和 19T188-11 的根尖间期细胞; B、D 和 F 分别为易位系 237-2、17T159-45 和 19T188-11 的叶片间期细胞; G 和 H 为川农 17 根尖同一间期细胞; I 和 J 为川农 17 叶片同一间期细胞。237-2 (A、B) 和 17T159-45 (C、D) 中的 Oligo-pSc200 信号分别表示 5RS^{Ku}·5BL 和 7BS·7BL-4RL^{Ku} 易位染色体; Oligo-pSc250 和 Oligo-1RNOR 信号分别表示 6DL/6RL^{Kumi119} 和 1BL·1RS 易位染色体。H 和 J 中没有 Oligo-5BL.46 信号。

A, C, and E are interphase cells derived from roots of translocation lines 237-2, 17T159-45 and 19T188-11, respectively; B, D and F are interphase cells derived from leaves of translocation lines 237-2, 17T159-45 and 19T188-11, respectively; G and H are the same interphase cells derived from roots of Chuannong 17; I and J are the same interphase cells derived from leaves of Chuannong 17. The signals of Oligo-pSc200 in 237-2 (A, B) and 17T159-45 (C, D) indicate 5RS^{Ku}·5BL and 7BS·7BL-4RL^{Ku} translocation chromosomes, respectively, and signals of Oligo-pSc250 and Oligo-1RNOR indicate 6DL/6RL^{Kumi119} and 1BL·1RS translocation chromosomes, respectively. No signal of Oligo-5BL.46 was observed in H and J.

图 4 小麦-黑麦易位系 237-2、17T159-45、19T188-11 和川农 17 根尖和叶片间期细胞的 ND-FISH 分析

Fig. 4 ND-FISH analysis of interphase cells from root and leaves of wheat-rye translocation lines 237-2, 17T159-45, 19T188-11 and Chuannong 17

的方法能快速方便地鉴定出小麦背景中所含的黑麦染色体或染色体片段。此外,不管是常规 FISH 技术还是 ND-FISH 技术,只有根尖才适合制备中期染色体^[19]。本研究建立的方法优势在于:快速制备的间期细胞可用于 ND-FISH 分析,并且根尖和幼嫩叶片都可用来制备间期细胞,在取材方面更具灵活性,克服了取材方面的局限性。

3.2 本研究建立的方法局限性

与分子标记鉴定和 FISH 技术相比,本研究建立的方法缺陷在于:(1)不能确定黑麦染色体在小麦背景中是否发生了易位。这也是分子标记鉴定方法的缺陷。(2)要求小麦背景中的黑麦染色体带有黑麦特异的、拷贝数较高的重复序列,这样探针产生的信号强,便于检测。如本研究中寡核苷酸探针 Oligo-5BL.46 也具有黑麦 1R 染色体 NOR 区域特异性^[15],但其信号弱,意味着该探针对应的重复序列拷贝数低,因而在川农 17 根和叶片间期细胞内未观察到该探针信号。因此,只有能够产生强信号的寡核苷酸探针,如 Oligo-1RNOR、Oligo-pSc200 和 Oligo-pSc250 等,才适用于本研究建立的方法。尽管如此,本研究建立的方法仍然可以用来解决实际问题。比如,可以快速判定小麦-黑麦杂交后代中,哪些植株含有黑

麦染色体以及含有哪条黑麦染色体。其次,对于许多已经明确了含有小麦-黑麦易位染色体的易位系,在对其杂交后代进行鉴定时,采用本研究建立的方法就能方便快速地判定哪些后代植株中含有小麦-黑麦易位染色体。随着黑麦参考基因组序列的公布,会有更多黑麦染色体特异的、具有高拷贝数的串联重复序列被发现,这也将弥补本研究建立的方法中可用探针较少的缺陷。

4 结论

寡核苷酸探针 Oligo-1RNOR 具有黑麦 1R 染色体 NOR 区域特异性,可用于检测小麦背景下的黑麦 1RS 染色体臂和小麦-黑麦 1BL·1RS 易位染色体。本研究建立的间期细胞制备方法,与寡核苷酸探针和 ND-FISH 技术相结合,能高效鉴定小麦背景中的黑麦染色体和小麦-黑麦易位染色体,克服了现有 FISH 技术中取材和制备根尖中期染色体的局限性,提高了小麦-黑麦易位染色体在小麦背景下的检测效率。

参考文献:

[1] GUO J, GAO D, GONG W, *et al.* Genetic diversity in common wheat lines revealed by fluorescence in situ hybridization [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2019, 305(3): 247.
[2] HU Z, LUO J, WAN L, *et al.* Chromosomes polymorphisms

- of Sichuan wheat cultivars displayed by ND-FISH landmarks [J]. *Cereal Research Communications*, 2022, 50: 253.
- [3] DUAN Q, WANG Y Y, QIU L, *et al.* Physical location of new PCR-based markers and powdery mildew resistance gene(s) on rye (*Secale cereale* L.) chromosome 4 using 4R dissection lines [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1716.
- [4] DU H, TANG Z, DUAN Q, *et al.* Using the 6RL^{Ku} minichromosome of rye (*Secale cereale* L.) to create wheat-rye 6D/6RL^{Ku} small segment translocation lines with powdery mildew resistance [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(12): 3933.
- [5] AN D, MA P, ZHENG Q, *et al.* Development and molecular cytogenetic identification of a new wheat-rye 4R chromosome disomic addition line with resistances to powdery mildew, stripe rust and sharp eyespot [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132(1): 257.
- [6] LI J, DUNDAS I, DONG C, *et al.* Identification and characterization of a new stripe rust resistance gene *Yr83* on rye chromosome 6R in wheat [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133(4): 1095.
- [7] XI W, TANG Z, LUO J, *et al.* Physical location of new stripe rust resistance gene(s) and PCR-based markers on rye (*Secale cereale* L.) chromosome 5 using 5R dissection lines [J]. *Agronomy*, 2019, 9(9): 498.
- [8] REN T, SUN Z, REN Z, *et al.* Molecular and cytogenetic characterization of a wheat-rye 7BS. 7RL translocation line with resistance to stripe rust, powdery mildew, and Fusarium head blight [J]. *Phytopathology*, 2020, 110(10): 1713.
- [9] 徐鑫, 李小军, 李秀全, 等. 小麦骨干亲本“洛夫林 10 号”1BL/1RS 在衍生品种中的遗传分析 [J]. *麦类作物学报*, 2010, 30(2): 221.
- XU X, LI X J, LI X Q, *et al.* Inheritance of 1BL/1RS of founder parent Lovrin 10 in its progeny [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2010, 30(2): 221.
- [10] JUNG W J, SEO Y W. Development of subgenome-specific PCR markers in the short arm of wheat and rye chromosome 1 and their utilization in wheat-rye translocation breeding [J]. *Euphytica*, 2021, 217(7): 142.
- [11] QI W, TANG Y, ZHU W, *et al.* Molecular cytogenetic characterization of a new wheat-rye 1BL • 1RS translocation line expressing superior stripe rust resistance and enhanced grain yield [J]. *Planta*, 2016, 244(2): 405.
- [12] SCHNEIDER A, RAKSZEGI M, MOLNR-LÁNG M, *et al.* Production and cytomolecular identification of new wheat, perennial rye (*Secale cereale*) disomic addition lines with yellow rust resistance (6R) and increased arabinoxylan and protein content (1R, 4R, 6R) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 129(5): 1045.
- [13] HE H G, DU H N, LIU R K, *et al.* Characterization of a new gene for resistance to wheat powdery mildew on chromosome 1RL of wild rye *Secale sylvestre* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2021, 134(3): 887.
- [14] TANG Z X, FU S L, REN Z L, *et al.* Characterization of three wheat cultivars possessing new 1BL • 1RS wheat-rye translocations [J]. *Plant Breeding*, 2009, 128(5): 524.
- [15] XI W, TANG S, DU H, *et al.* ND-FISH-positive oligonucleotide probes for detecting specific segments of rye (*Secale cereale* L.) chromosomes and new tandem repeats in rye [J]. *The Crop Journal*, 2020, 8(2): 171.
- [16] BARKER R F, HARBERD N P, JARVIS M G, *et al.* Structure and evolution of the intergenic region in a ribosomal DNA repeat unit of wheat [J]. *Journal of Molecular Biology*, 1988, 201(1): 1.
- [17] RABANUS-WALLACE M T, HACKAUF B, MASCHER M, *et al.* Chromosome-scale genome assembly provides insights into rye biology, evolution and agronomic potential [J]. *Nature Genetics*, 2021, 53(4): 564.
- [18] HAN F P, LAMB J C, BIRCHLER J A. High frequency of centromere inactivation resulting in stable dicentric chromosomes of maize [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(9): 3238.
- [19] FU S, CHEN L, WANG Y, *et al.* Oligonucleotide probes for ND-FISH analysis to identify rye and wheat chromosomes [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5(1): 10552.
- [20] TANG Z, YANG Z, FU S. Oligonucleotides replacing the roles of repetitive sequences pAs1, pSc119. 2, pTa-535, pTa71, CCS1, and pAWRC. 1 for FISH analysis [J]. *Journal of Applied Genetics*, 2014, 55(3): 313.
- [21] XIAO Z, TANG S, QIU L, *et al.* Oligonucleotides and ND-FISH displaying different arrangements of tandem repeats and identification of *Dasyphyrum villosum* chromosomes in wheat backgrounds [J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 973.
- [22] YEDIAY F E, BALOCH F S, KILIAN B, *et al.* Testing of rye-specific markers located on 1RS chromosome and distribution of 1AL • RS and 1BL • RS translocations in Turkish wheat (*Triticum aestivum* L., *T. durum* Desf.) varieties and landraces [J]. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2010, 57(1): 119.
- [23] TABIBZADEH N, KARIMZADEH G, NAGHAVI M R. Distribution of 1AL • 1RS and 1BL • 1RS wheat-rye translocations in Iranian wheat, using PCR based markers and SDS-PAGE [J]. *Cereal Research Communications*, 2013, 41(3): 458.
- [24] ZHAI H, FENG Z, LI J, *et al.* QTL analysis of spike morphological traits and plant height in winter wheat (*Triticum aestivum* L.) using a high-density SNP and SSR-based linkage map [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1617.
- [25] LIU H, TANG H, DING P, *et al.* Effects of the 1BL/1RS translocation on 24 traits in a recombinant inbred line population [J]. *Cereal Research Communications*, 2020, 48(2): 225.
- [26] REN T, TANG Z, FU S, *et al.* Molecular cytogenetic characterization of novel wheat-rye T1RS • 1BL translocation lines with high resistance to diseases and great agronomic traits [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 799.