

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.51060

小麦-华山新麦草二体异代换系 16DH25-7 的分子细胞遗传学及抗病性鉴定

王粤生 葛冬冬 程兰斐 陈春环 王长有 刘新伦 李停栋 邓平川
吉万全* 赵继新*

西北农林科技大学农学院, 陕西杨凌 712100

摘 要: 华山新麦草(*Psathyrostachys huashanica* Keng; $2n = 2x = 14$, NsNs)作为小麦三级基因库的重要野生资源, 对白粉病和条锈病等生物胁迫表现出明显抗性, 在小麦遗传改良中具有重要应用价值。本研究在小麦-华山新麦草七倍体材料 H8911 与硬粒小麦 D4286 的杂交后代中筛选获得兼抗小麦白粉病和条锈病的衍生系 16DH25-7。为解析该材料的遗传特性, 运用细胞遗传学分析、荧光原位杂交(FISH)、液相芯片技术及分子标记方法, 对其染色体组成进行了鉴定, 并对其农艺性状与抗病表型进行了系统评价。细胞遗传学分析表明, 16DH25-7 的染色体数目为 $2n = 42$ 。FISH 检测显示, 该材料携带 2 条华山新麦草 Ns 染色体, 同时缺失 2 条小麦 5D 染色体。分子标记与 SNP 芯片联合分析证实, 缺失的 5D 染色体被华山新麦草 5Ns 染色体替代, 表明 16DH25-7 为小麦-华山新麦草 5Ns (5D)二体异代换系。农艺性状调查表明, 16DH25-7 表现出株高降低、分蘖数增多等优良特性; 抗病性鉴定显示其高抗小麦条锈病和白粉病。16DH25-7 作为优异抗病种质资源, 为小麦抗病育种及遗传改良提供了新的候选种质。

关键词: 小麦; 华山新麦草; 原位杂交; 分子标记; 抗病性鉴定

Molecular cytogenetic and disease resistance characterization of the wheat-*Psathyrostachys huashanica* disomic substitution line 16DH25-7

Wang Yue-Sheng, Ge Dong-Dong, Cheng Lan-Fei, Chen Chun-Huan, Wang Chang-You, Liu Xin-Lun, Li Ting-Dong, Deng Ping-Chuan, Ji Wan-Quan*, and Zhao Ji-Xin*

College of Agriculture, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China

Abstract: *Psathyrostachys huashanica* Keng ($2n = 2x = 14$, NsNs), a valuable germplasm resource in the tertiary gene pool of wheat, exhibits remarkable resistance to biotic stresses such as powdery mildew and stripe rust, making it highly valuable for wheat genetic improvement. In this study, a derivative line, 16DH25-7, exhibiting resistance to both powdery mildew and stripe rust, was selected from the progeny of the wheat-*P. huashanica* heptaploid H8911 and durum wheat D4286. To elucidate the genetic background of this material, cytogenetic analysis, fluorescence *in situ* hybridization (FISH), liquid-phase chip technology, and molecular marker analysis were used to characterize its chromosomal composition. Cytogenetic analysis revealed that 16DH25-7 had a chromosome number of $2n = 42$. FISH analysis showed that it carried two *P. huashanica* Ns chromosomes and simultaneously lacked both wheat 5D chromosomes. Combined analysis using molecular markers and SNP chip data confirmed that the missing 5D chromosomes were replaced by *P. huashanica* 5Ns chromosomes, indicating that 16DH25-7 is a wheat-*P. huashanica* 5Ns (5D) disomic substitution line. Agronomic evaluation demonstrated that 16DH25-7 possesses desirable traits such as reduced plant height and increased tiller number. Disease resistance assessments confirmed its high resistance to both

本研究由杨凌种业创新中心“小麦远缘杂交与种质创新研发”项目(ylzy-xm-02)资助。

This study was supported by the Project “Research and Development on Wheat Distant Hybridization and Germplasm Innovation” (ylzy-xm-02) of Yangling Seed Industry Innovation Center.

* 通信作者(Corresponding authors): 吉万全, E-mail: jiwantuan2008@126.com; 赵继新, E-mail: zhjx881@163.com

第一作者联系方式: E-mail: wangyuesheng2022@126.com

Received (收稿日期): 2025-06-16; Accepted (接受日期): 2025-10-30; Published online (网络出版日期): 2025-11-12.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20251111.1823.006>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

stripe rust and powdery mildew. In conclusion, 16DH25-7 represents an elite disease-resistant germplasm that holds great potential for wheat resistance breeding and genetic improvement.

Keywords: wheat; *Psathyrostachys huashanica*; *in situ* hybridization; molecular markers; disease resistance evaluation

小麦白粉病(*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*)和条锈病(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*)是全球小麦生产中最具破坏性的 2 种叶部病害。气候变化导致这 2 种病害的流行范围和危害程度显著加剧^[1]。根据国际农业研究磋商组织(consultative group for international agricultural research, CGIAR)统计,全球每年因这 2 种病害导致的小麦产量损失分别达 10%~15% 和 5%~20%^[2]。在中国,条锈病在西南和西北麦区流行频率高达 70%,而白粉病在黄淮海麦区的发病率近年也呈显著上升趋势^[3-4]。一般情况下,小麦品种在生产上使用 3~5 年便“丧失”其抗性^[5]。因此,持续创制新抗源、培育抗病新品种是防治病害最为经济、有效且环保的措施。20 世纪,李振声院士团队通过远缘杂交创制出的小偃麦系列品种被广泛推广^[3],这些品种对条锈病和白粉病表现出稳定抗性,开创了利用野生近缘种拓宽小麦遗传基础的育种新途径^[6]。

小麦野生近缘种含有丰富的抗病基因,通过远缘杂交技术能够突破种间生殖隔离障碍,将小麦野生近缘种中的优异基因导入到普通小麦中,创制新的抗病种质材料^[7]。华山新麦草作为小麦的野生近缘种,具有极强的分蘖能力和多种抗逆性,其对盐碱、干旱、低温等非生物胁迫及白粉病、锈病、赤霉病等生物胁迫均表现出优异抗性^[8],已成为小麦遗传改良的优异基因供体。小麦与华山新麦草的远缘杂交研究始于 20 世纪,陈漱阳等^[9]于 1996 年首次成功实现普通小麦 7182 与华山新麦草的属间杂交,获得 F₁ 代杂种 H811。随后以 H811 为母本与 7182 回交,培育出七倍体中间材料 H8911。以 H8911 为亲本,与普通小麦、硬粒小麦、缺体小麦等材料进行杂交,研究者已经创制出了一大批小麦-华山新麦草衍生后代,将华山新麦草的抗条锈病、抗白粉病、早熟、矮秆、优质等优异性状或基因导入到了普通小麦中^[10]。小麦-华山新麦草 2Ns (2D) 异代换系 H139 表现出全蚀病抗性^[11];小麦-华山新麦草 3Ns (3D) 异代换系 DH109 表现出白粉病和赤霉病抗性^[12];小麦-华山新麦草 5Ns 异附加系 H4122 表现出条锈病抗性^[13];这些异代换系为小麦遗传改良提供了新的基因资源。

本课题组前期在七倍体材料 H8911 与硬粒小麦

D4286 的杂交后代中获得了一份抗病衍生系 16DH25-7,研究通过利用细胞学镜检(核型鉴定)、原位杂交技术(*In situ* hybridization, ISH)、液相芯片(GenoBaits WheatplusPh)和分子标记(expressed sequence tags, ESTs; PCR-based landmark unique gene, PLUG; sequence characterized amplified regions, SCAR)等技术,对其染色体组成进行了鉴定,并对其田间农艺性状进行了调查和抗病性评价,以期全面了解该材料的遗传背景和育种价值,为进一步研究和利用华山新麦草优异基因提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

本研究的试验材料包括:普通小麦 7182 (*Triticum aestivum* L., $2n = 6x = 42$, AABBDD)、华山新麦草(*Psathyrostachys huashanica* Keng, $2n = 2x = 14$, NsNs)、硬粒小麦 D4286 (*Triticum durum*, $2n = 4x = 28$, AABB),以及小麦-华山新麦草衍生系 16DH25-7,以上每个材料种植 2 行,行长 1 m,株距 10 cm,行距 25 cm,其中,16DH25-7 是小麦-华山新麦草七倍体材料 H8911 与硬粒小麦 D4286 的杂交后代。此外,以陕优 225 和辉县红分别作为白粉病和条锈病鉴定的感病对照材料。所有材料均保存于西北农林科技大学农学院。

1.2 方法

1.2.1 细胞学观察 根尖体细胞染色体制片与观察:将 16DH25-7 种子置于湿润滤纸上萌发,待根尖生长至适宜时期后切取分裂期部分,置于离心管中。经氧化亚氮处理后,用 90% 乙酸固定 10 min,用 ddH₂O 清洗 3 次,随后保存于-20℃的 70% 乙醇中备用。采用纤维素酶(R-10,日本养乐多)与果胶酶(Y-23,日本养乐多)混合液(两者比例 2:1)于 37℃ 酶解 55 min,参照 Han 等^[14]的方法制备根尖染色体悬液。使用 Olympus BX-43 显微镜观察并记录根尖染色体数目及构型。

1.2.2 原位杂交 选用根尖细胞分裂相清晰的载玻片,使用 Spectrolinker XL-1500 紫外辐射仪于 1250 kJ cm⁻² 强度下照射 60 s;采用荧光素-12-dUTP 标记的华山新麦草全基因组 DNA 作为 GISH 探针,使用 6-FAM 标记的寡核苷酸探针 Oligo-pSc119.2 和

Tamra 标记的 Oligo-pTa535 作为 FISH 探针, GISH、FISH 及连续 FISH-GISH 分析参照 Tang 等^[15]的方法并略作调整。GISH 杂交液 9 μL , 包含 0.3 μL 探针 DNA 和 8.7 μL 由 $2\times\text{SSC}/1\times\text{TE}$ 的 GISH 缓冲液, FISH 杂交液 9 μL , 包含 0.3 μL Oligo-pSc119.2、0.3 μL Oligo-pTa535 和 8.4 μL 由 $2\times\text{SSC}/1\times\text{TE}$ 的 FISH 缓冲液; 杂交液加样后 GISH 分析制片置于 100°C 烘箱变性 4.5 min, 置于 42°C 烘箱复性 16 h, 取出制片用 DAPI 进行复染^[16], 在 Olympus BX-53 荧光显微镜下观察并采集荧光信号。

1.2.3 分子标记分析 采用分布于小麦 7 个同源群的 72 个 EST-STS 标记和 131 个 PLUG 标记对 16DH25-7 进行外源染色体同源群归属鉴定, 标记由北京奥格泰生物科技有限公司合成(标记信息参见 https://wheat.pw.usda.gov/SNP/new/pcr_primers.shtml)^[17-18]。对普通小麦 7182、硬粒小麦 D4286、华山新麦草及小麦-华山新麦草衍生系 16DH25-7 进行 PCR 扩增, PCR 扩增体系及方法按照 Tan 等^[19]的报道进行, 扩增产物采用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳进行分离, 利用凝胶成像仪照相留存。

1.2.4 小麦-华山新麦草液相芯片分析 采用靶向测序基因分型技术对 16DH25-7 进行外源染色体检测, 该技术基于探针与靶序列互补捕获原理^[20-21]。所用 GenoBaits WheatplusPh 液相芯片由石家庄博瑞迪生物科技有限公司开发, 包含华山新麦草 80K 探针混合液及配套杂交捕获试剂; 其中探针混合液涵盖 49K 个华山新麦草全基因组寡核苷酸探针位点(总计 80K 条液相靶向捕获探针), 可高效检测小麦遗传背景中华山新麦草染色体及片段组成。

芯片检测流程如下: 测序数据经 FastQC 完成质控后, 采用 BWA 软件比对到参考基因组^[22], 通过 bamdst v1.0.6 工具(<https://github.com/shiquan/bamdst>)计算探针捕获效率, 本研究捕获效率由 DPM (deep per million mapped fragments) 表示, $\text{DPM} = \text{芯片总区间数} / (\text{每百万捕获 reads 数} \times \text{测序深度})$, 当 $\text{DPM} = 0$ 时, 则为未捕获; 当 $0 < \text{DPM} < 1$ 时, 则为低质量捕获; 当 $\text{DPM} \geq 1$ 时, 则为高质量捕获; 最后基于 R 语言的 ChIPseeker、clusterProfiler、RIdeogram、ggplot2 等软件包进行图谱分析与数据可视化。

1.2.5 特异分子标记开发 采集 16DH25-7 株系幼叶组织并提取基因组 DNA, 经 HaeIII 限制性内切酶酶切消化后构建测序文库, 进行高通量测序。测序数据过滤标准如下: (1) 剔除含有接头序列的读

段; (2) 去除 N 碱基占比超过 10% 的读段; (3) 筛除 Q10 质量值占比 $\leq 50\%$ 的读段。采用 Burrows-Wheeler-Alignment (BWA V0.1.17) 和 BLAST V2.10.1 软件进行序列比对^[23], 筛选与中国春 (IWGSC-RefSeq-v1.1) 相似度为 0%, 但与华山新麦草基因组高度同源的序列用于开发分子标记。使用 Primer Premier 5.0 软件设计特异性引物, PCR 扩增产物经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳分离后, 检测目标条带。

1.2.6 农艺性状调查 本研究于 2022—2023 年和 2023—2024 年度连续 2 年收获供试材料, 对普通小麦 7182、硬粒小麦 D4286 及 16DH25-7 的株高、分蘖数、穗长、小穗数、穗粒数、千粒重和芒性等农艺性状进行测定, 每年度随机挑选 10 个植株进行测量, 采用 SPSS 软件进行统计分析。

1.2.7 条锈病和白粉病抗性评估 2023—2024 年 3 月中下旬小麦拔节期, 于傍晚采用抖粉法对 16DH25-7 进行条锈病抗性鉴定, 接种前先对供试材料喷水处理, 将条锈菌生理小种 CYR32、CYR33 和 CYR34 与滑石粉按 1:20 比例混合后均匀接种于小麦叶片, 接种后套袋保湿 24 h, 待感病对照辉县红充分发病后进行调查, 每隔 3 d 记录 1 次发病情况, 直至病情稳定。采用 0~4 级分级标准记载试验材料的反应型^[24]。

成株期白粉病鉴定在西北农林科技大学白粉病抗性鉴定圃中进行。待 16DH25-7 在田间长到分蘖期时, 将白粉菌生理小种 E09 侵染且充分发病的小麦繁苗移栽至诱发材料陕优 225 旁边进行接种, 待诱发材料充分发病时, 于抽穗期和开花期进行抗性调查, 按照 0~9 级分级标准调查叶片反应型^[25]。

2 结果与分析

2.1 细胞学观察结果

2022—2023 年和 2023—2024 年连续 2 年对小麦衍生系 16DH25-7 的根尖体细胞 (root tip cells, RTCs) 有丝分裂中期染色体进行了细胞学观察。共镜检 146 个细胞, 其中 136 个细胞 (93.15%) 具有完整的 42 条染色体, 未发现染色体片段或长度异常情况 (图 1-a); 此外, 5 个细胞 (3.42%) 含 41 条完整染色体, 另有 5 个细胞 (3.42%) 含 43 条完整染色体, 表明其遗传基本稳定。

2.2 原位杂交鉴定结果

以华山新麦草全基因组 DNA 为探针, 对衍生系 16DH25-7 进行了基因组原位杂交鉴定。结果显示,

16DH25-7 的 42 条染色体中有 2 条显示绿色荧光信号, 40 条显示蓝色荧光信号(图 1-b)。表明 16DH25-7 含有 2 条华山新麦草 *Ns* 染色体和 40 条小麦染色体, 其染色体组成为 $2n = 42 = 40 \text{ Ta} + 2 \text{ Ph}$ (Ta 表示小麦染色体, Ph 表示华山新麦草染色体)。

采用 Oligo-pSc119.2 (绿色荧光)和 Oligo-pTa535 (红色荧光)探针对 16DH25-7 进行连续 FISH-GISH 分析。FISH 结果显示, 16DH25-7 的 40 条染色体具有典型的普通小麦荧光带型, 与小麦亲本 7182 的带型模式(图 1-f)基本一致, 带型比对发现其缺失了 2 条小麦 5D 染色体。同时发现其中有 2 条染色体未显示明显的荧光信号, 连续 GISH 鉴定结果显示, 2 条

无明显带型的染色体为华山新麦草 *Ns* 染色体(图 1-c, 图 1-d)。此外, 通过比较衍生系 16DH25-7 与其小麦亲本 7182 的带型发现, 16DH25-7 的 2BS 末端缺失 Oligo-pSc119.2 绿色信号, 而 7182 的 2BS 末端则呈现明显绿色信号; 16DH25-7 的 1DS 末端显示 Oligo-pSc119.2 绿色信号, 而 7182 的 1DS 末端无绿色信号, 但具有强的 Oligo-pTa535 红色信号, 且 16DH25-7 的 1DS 红色信号强度高于 7182; 16DH25-7 的 5A 长臂中部存在强的 Oligo-pSc119.2 绿色信号, 而 7182 未检测到该信号(图 1-e), 表明在 16DH25-7 中, 华山新麦草 *Ns* 染色体的存在, 可能引起了小麦 1D、2B 和 5A 染色体的结构变异。

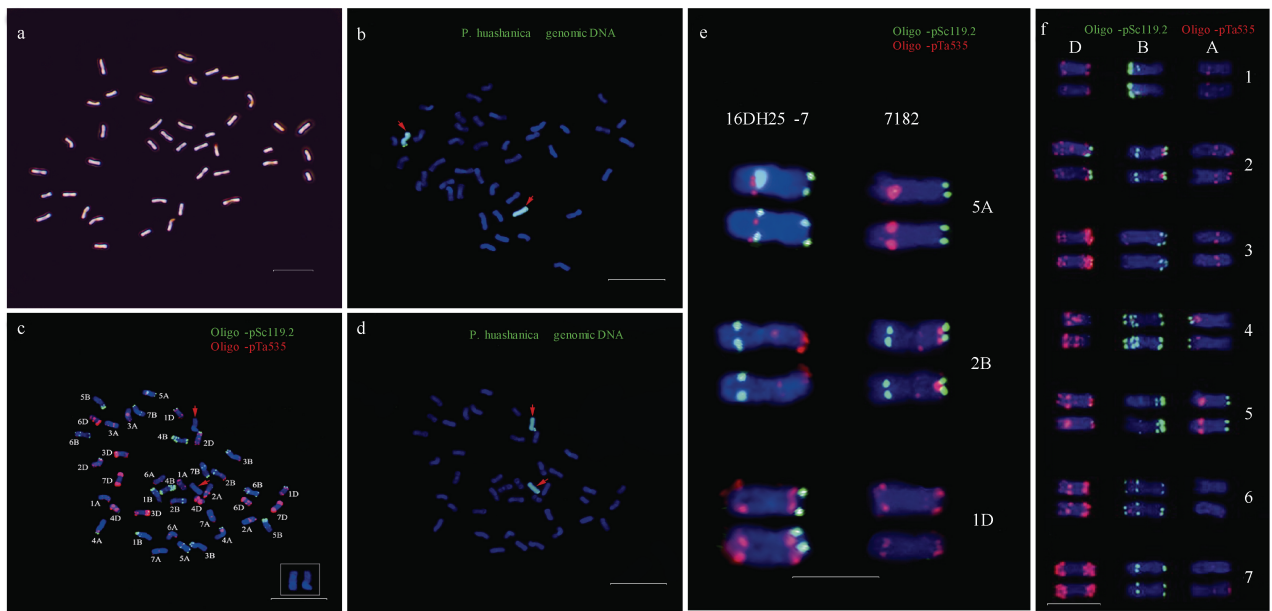


图 1 16DH25-7 的细胞学观察与原位杂交鉴定

Fig. 1 Cytological observation and *in situ* hybridization analysis of 16DH25-7

a: 根尖细胞在有丝分裂中期的染色体; b 和 d: 使用华山新麦草基因组 DNA 作为探针针对 16DH25-7 进行 GISH 分析(红色箭头表示华山新麦草染色体); c: 使用 Oligo-pSc119.2 探针(绿色)和 Oligo-pTa535 探针(红色)对 16DH25-7 进行 Mc-FISH 分析; e: 7182 和 16DH25-7 染色体 2B、1D 和 5A 荧光信号的比较; f: 使用 Oligo-pSc119.2 探针(绿色)和 Oligo-pTa535 探针(红色)对 7182 进行 Mc-FISH 分析。染色体用 DAPI (蓝色)复染。标尺为 10 μm 。

a: somatic chromosomes at mitotic metaphase in root tip cells ($2n = 42$); b and d: genomic *in situ* hybridization (GISH) analysis of 16DH25-7 using *P. huashanica* genomic DNA as probe (the red arrows indicate the chromosomes of *P. huashanica*); c: multi-color fluorescence *in situ* hybridization (Mc-FISH) analysis of 16DH25-7 using Oligo-pSc119.2 (green) and Oligo-pTa535 (red) probes; e: comparative FISH signal patterns of chromosomes 2B, 1D and 5A between common wheat 7182 and 16DH25-7; f: Mc-FISH analysis of 7182 using Oligo-pSc119.2 (green) and Oligo-pTa535 (red) probes. All chromosomes were counterstained with DAPI (blue). Scale bar = 10 μm .

2.3 分子标记分析结果

利用小麦同源群的 EST 和 PLUG 标记, 对衍生系 16DH25-7 及其亲本材料(普通小麦 7182、硬粒小麦 D4286 和华山新麦草)进行分子标记分析, 结果显示, 来源于第 5 部分同源群的 6 个特异性 PLUG 标记(TNAC1624-Taql/HaeIII、TNAC1575-Taql/HaeIII 和 TNAC1567-Taql/HaeIII)、3 个 EST 标记(BF293016-

5AS/5BS/5DS、CD452608-5AS/5BS/5DS、BG607512-5AL/5BL/5DL)和 2 个华山新麦草特异性 SCAR 标记(RHS103-5Ns、RHS141-5Ns)在华山新麦草及其衍生系 16DH25-7 均能扩增出预期目标条带, 而普通小麦 7182 和硬粒小麦 D4286 中均未扩增出相应产物(表 1 和图 2)。表明 16DH25-7 中的外源染色体归属于第 5 部分同源群。

表 1 16DH25-7 中与华山新麦草染色体连锁的特异分子标记
Table 1 Specific molecular markers linked to *P. huashanica* chromosomes in 16DH25-7

标记 Marker	类型 Type	引物序列 Sequence of primer (5'-3')		染色体 Chromosome	退火温度 T _m (°C)
		正向引物 Forward primer	反向引物 Reverse primer		
BF293016	ESTs	CGTCCTCAAGTCCCTCCTCT	GAACAGCTCAGCAGAATACGG	5AS, 5BS, 5DS	60
CD452608	ESTs	TGATGTCTTGTCGTGGTCGT	TTTTGGATGCAGCAAGACAG	5AS, 5BS, 5DS	58
BG607512	ESTs	ATTGTCGAGGTGGTTCAAGG	CAGTCTGCCACCTCCTCTTC	5BL, 5DL, 5AL	58
TNAC1624	PLUG	TTCTCCTCGAGAAGTTTGACAG	CCTCGTCACCAACTTCCTCTAC	4AL, 5BL, 5DL	58
TNAC1575	PLUG	CAGCTCTAGCGAAAGACAAGG	AGCGATATTACGCCTTCCACT	4AL, 5BL, 5DL	58
TNAC1567	PLUG	ATGTTGGCTTTATACCAATGC	AGGTGCGGCTTCACTATCTTT	5AL, 5BL, 5DL	58
RHS103	SCAR	TCCGCATACCCGATAAT	TCCGCATACCACCTGTT	5Ns	58
RHS141	SCAR	CTCGGCACCATAAACTAT	CTCGGCACTAGAGGAAAC	5Ns	58

ESTs: 表达序列标签; PLUG: 基于 PCR 的特异性单拷贝基因; SCAR: 序列表征扩增区域。
ESTs: expressed sequence tags; PLUG: PCR-based landmark unique gene; SCAR: sequence characterized amplified regions.

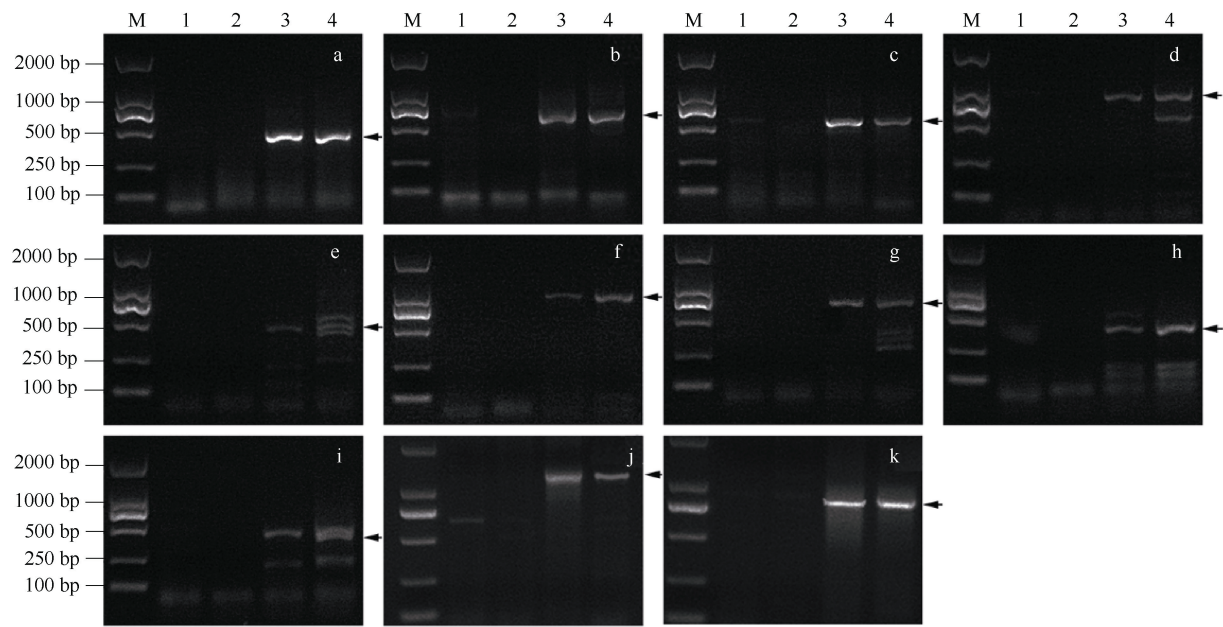


图 2 11 个多态性标记对 16DH25-7 及其亲本的凝胶电泳分析
Fig. 2 Electrophoresis analysis of 16DH25-7 and its parents using eleven polymorphic markers
M: DL2000; 1: 7182; 2: D4286; 3: 华山新麦草; 4: 16DH25-7. a: BF293016; b: CD452608; c: BG607512; d: TNAC1624-TaqI; e: TNAC1624-HaeIII; f: TNAC1575-TaqI; g: TNAC1575-HaeIII; h: TNAC1567-TaqI; i: TNAC1567-HaeIII; j: RHS103; k: RHS141. Arrow indicates specific band.
M: DL2000; 1: 7182; 2: D4286; 3: *P. huashanica*; 4: 16DH25-7. a: BF293016; b: CD452608; c: BG607512; d: TNAC1624-TaqI; e: TNAC1624-HaeIII; f: TNAC1575-TaqI; g: TNAC1575-HaeIII; h: TNAC1567-TaqI; i: TNAC1567-HaeIII; j: RHS103; k: RHS141. Arrow indicates specific band.

2.4 液相芯片分析结果

小麦-华山新麦草(GenoBaits WheatplusPh)液相芯片检测显示, 16DH25-7 中小麦 5D 染色体的检测信号强度极弱, 其余小麦染色体的信号强度高; 同时华山新麦草 5Ns 染色体呈现较强的检测信号, 而其他 Ns 染色体的信号强度极低。通过与亲本材料

7182 的信号分布模式对比分析(图 3-a), 推断 16DH25-7 中缺失小麦 5D 染色体; 基于华山新麦草 Ns 染色体的信号分布特征, 确定该材料携带华山新麦草的 5Ns 染色体(图 3-b, 图 3-c)。结合 GISH、连续 FISH-GISH 及分子标记分析结果, 确认 16DH25-7 为小麦-华山新麦草 5Ns (5D)二体异代换系。

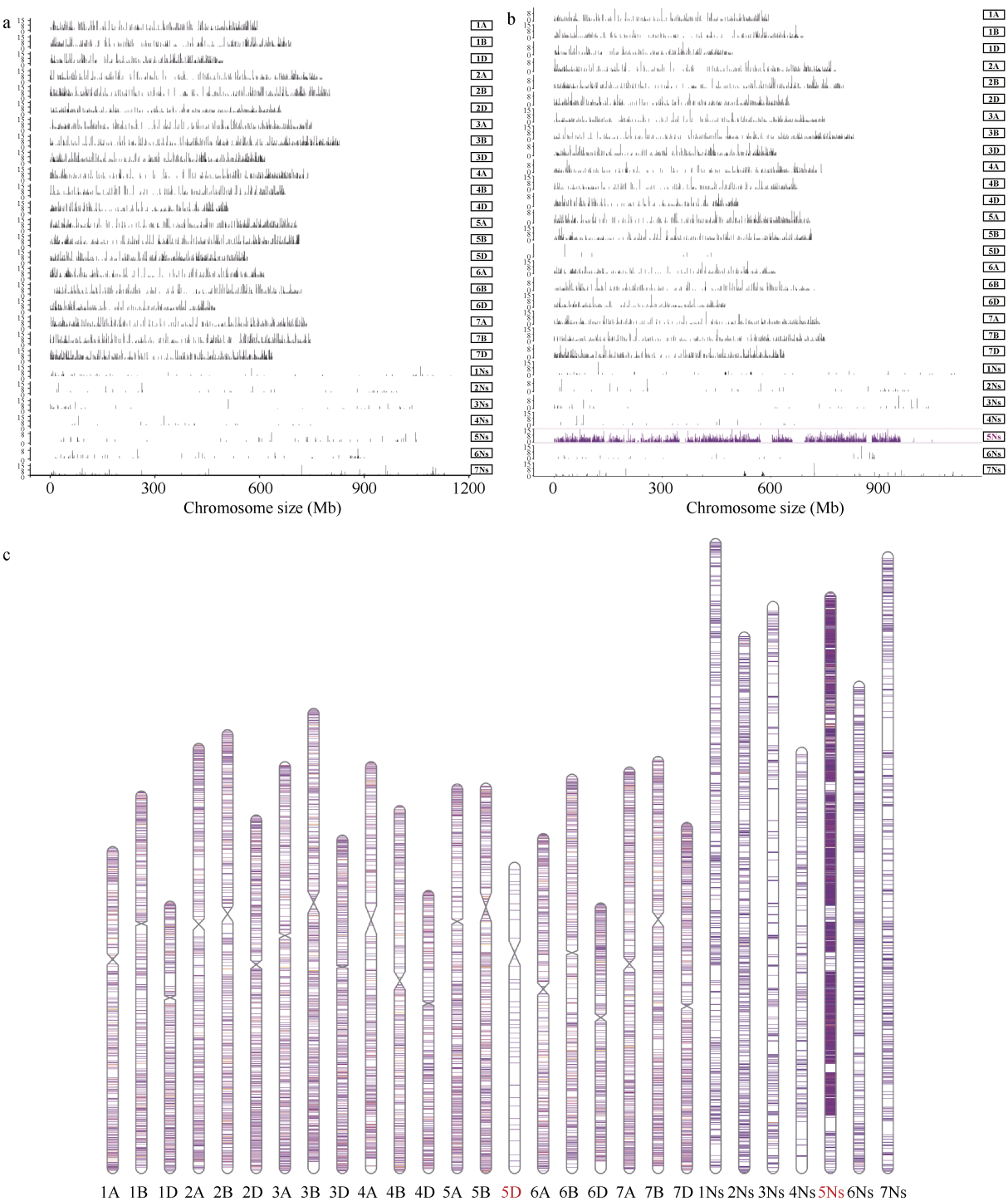


图 3 16DH25-7 的 SNP 芯片分析

Fig. 3 SNP chip analysis on 16DH25-7

a: 普通小麦 7182; b 和 c: 16DH25-7; 纵坐标为 DMP。

a: common wheat 7182; b and c: 16DH25-7; The ordinate is deep per million mapped fragments.

2.5 特异性分子标记开发结果

基于衍生系 16DH25-7 的 GenoBaits WheatplusPh 液相芯片靶向测序数据。经 FastQC (v0.11.9) 质控获得 9,628,655 条 reads, 平均 GC 含量(鸟嘌呤(G)和胞

嘧啶(C)所占的比率)为 49.5%, Q30 值达 94.6%。以中国春参考基因组(IWGSC-RefSeq-v2.1)为对照, 通过 BWA 和本地 BLAST+ 比对分析, 筛选得到 127,663 条相似度为 0% 的序列, 经筛选 E-value 值后

最终鉴定出 69,087 个华山新麦草特异性片段, 并设置与华山新麦草相似度 100% 和 *E*-value 最小等条件筛选序列, 进行标记开发。利用 Primer Premier 5.0 软件设计 30 对特异性引物, 并在 7182、D4286、黑麦、长穗偃麦草、华山新麦草、滨麦及衍生系中进行验证。结果显示, 8 对引物在华山新麦草、滨麦和

16DH25-7 中扩增出特异条带, 另有 8 对引物仅在华山新麦草和 16DH25-7 中成功扩增(表 2 和图 4), 引物成功率为 53.33%。这些特异性标记不仅能有效区分华山新麦草与滨麦的 Ns 染色体, 还可快速检测小麦背景中的 Ns 染色体衍生系, 显著提升了外源染色体的鉴定效率。

表 2 华山新麦草 5Ns 染色体分子标记在试验材料中的多态性分析

Table 2 Polymorphism analysis of molecular markers for the 5Ns chromosome of *P. huashanica* in experimental materials

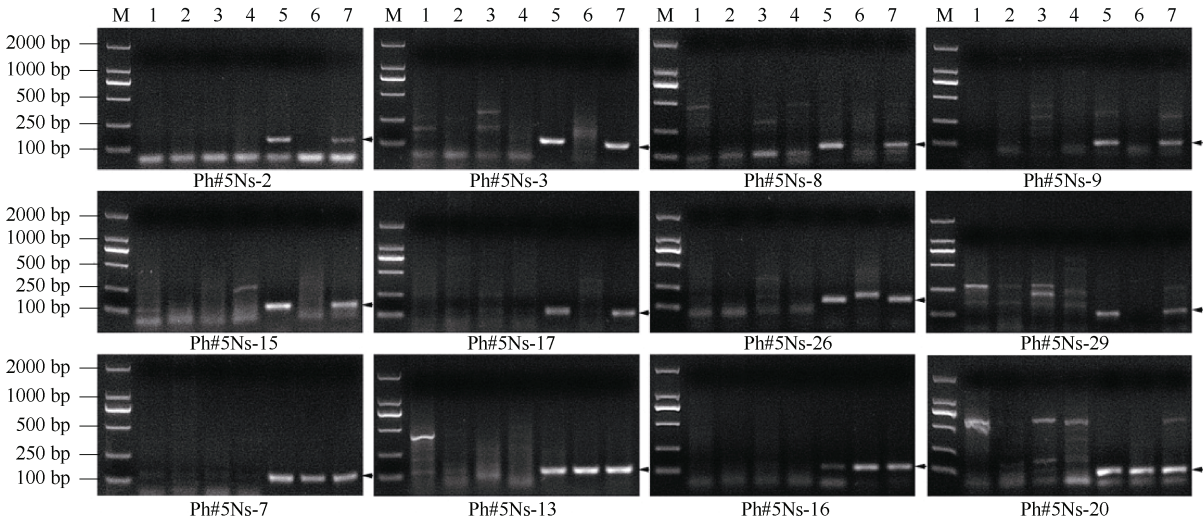
标记 Marker	物种 Species						引物序列 Sequence of primer (5'-3')	退火温度 T _m (°C)
	7182 D4286	黑麦 <i>Secale cereale</i>	长穗偃麦草 <i>Thinopyrum ponticum</i>	华山新麦草 <i>Psathyrostachys huashanica</i>	滨麦 <i>Leymus mollis</i>	16DH 25-7		
Ph#5Ns-1	+	+	+	+	+	+	F: ACACTCTGACGCAGTTGATG R: GAAACTGGCAGAAGAGGTCC	60
Ph#5Ns-2	-	-	-	+	-	+	F: CCGCCGTGTCTACTTATTCG R: CAGCAAACGCAACAGACAGG	62
Ph#5Ns-3	-	-	-	+	-	+	F: GGTAATGCCCTACTCTGTC R: ACACACGCACTGATACGGGA	62
Ph#5Ns-4	+	+	-	+	+	+	F: CTGCTCCCTCAAGTTCTCAA R: CAGAATGGTGGCAGCAATAC	60
Ph#5Ns-5	-	-	-	+	+	+	F: TCTTTCCTGAAGTTGGCTGG R: CAAATCCCAGAATCCGAGC	60
Ph#5Ns-6	-	+	+	+	+	+	F: AAGTGGTCGCACATTCCTCT R: TTCGTGACCTTGATGTTGGA	58
Ph#5Ns-7	-	-	-	+	+	+	F: GCCTGAAGACTTTCCTATCCT R: TGAAGACAATGTTATCAAAGCA	58
Ph#5Ns-8	-	-	-	+	-	+	F: CCCAAGGGTCTCCAATAAGG R: GAGTGGTCTTTGGTTTCTTGC	60
Ph#5Ns-9	-	-	-	+	-	+	F: CACCTAAGACGAGTAACCAA R: AGCATTATCTGTAAGCGGAG	58
Ph#5Ns-10	+	+	+	+	+	+	F: ACGAGCCAATCATCAGCATC R: CCAGCAAGGAAACTTCTACA	60
Ph#5Ns-11	+	+	+	+	+	+	F: GGTATGGCTTACGGGAGGTT R: CTGAAGGCTGCCCAAGAGAA	62
Ph#5Ns-12	-	-	+	+	+	+	F: TAATGGCGTGAGGTTGAGG R: CGGACACCATAAAGCACCAA	60
Ph#5Ns-13	-	-	-	+	+	+	F: GCCATACTGCGTTCTCCACA R: CTGCCCTCACGCTTCTCCTC	64
Ph#5Ns-14	+	+	-	+	+	+	F: TTGATGTGCCAAAGGAACTC R: CAACACTTACCTTGAATCCG	58
Ph#5Ns-15	-	-	-	+	-	+	F: ACCTTTAGCCGAGTAGTGGA R: CTCTCCAGCACAGCACTCAC	62
Ph#5Ns-16	-	-	-	+	+	+	F: AGTTTGAATACCGAGAGGAG R: ACCATTGATAAGATTGCTGC	56
Ph#5Ns-17	-	-	-	+	-	+	F: TGAAGAAGAACAGGGGCAAG R: TTCTCCCCTGAACCAAACTG	60

(续表 2)

标记 Marker	物种 Species						引物序列 Sequence of primer (5'-3')	退火温度 T _m (°C)
	7182 D4286	黑麦 <i>Secale cereale</i>	长穗偃麦草 <i>Thinopyrum ponticum</i>	华山新麦草 <i>Psathyrostachys huashanica</i>	滨麦 <i>Leymus mollis</i>	16DH 25-7		
Ph#5Ns-18	-	-	+	+	+	+	F: AAGTTTGCTTTTTTGTGCGT R: CGGCTAAGGGTTATTATCAG	56
Ph#5Ns-19	+	+	+	+	+	+	F: TGGAGCGAGATGGACTACGA R: TAACATCCTGTATGGCACCG	62
Ph#5Ns-20	-	-	-	+	+	+	F: CGCCTGAAGACAATACCACT R: CAACTTTTTTAGAGTGGGCA	58
Ph#5Ns-21	-	-	-	+	+	+	F: GTTTTGTTCACATTTTGGCG R: GCAACAGAGAAGGCAGAGCG	60
Ph#5Ns-22	-	-	-	+	+	+	F: TATCCGCTATGAGAATGCCT R: GCTGAGAATCTACCCAAACC	58
Ph#5Ns-23	-	-	-	+	+	+	F: TCCGTAGAAACAAGAGGCAA R: ACTCCTTACCCCTTCAAAA	58
Ph#5Ns-24	+	+	+	+	+	+	F: GGAGTCCGAGAGAGGAACCG R: TCGTTACCCTCAAACCCCC	64
Ph#5Ns-25	+	+	-	+	+	+	F: GCGTTGGTGGTTCCTTTCGT R: CCTACGGAAGAGAAACGGG	62
Ph#5Ns-26	-	-	-	+	-	+	F: TCAGGAATCTCTATCGTGGG R: CGGAAACCACAATGTCACTA	60
Ph#5Ns-27	-	+	-	+	-	+	F: CCCCCTCCCCTCTCCTATCC R: CTGCTGACCTTCACTCCCCG	62
Ph#5Ns-28	-	-	-	+	+	+	F: ATAAGAGGTCTGGCTGTGGT R: AAGTAATGTAAGAAGCGGCA	58
Ph#5Ns-29	-	-	-	+	-	+	F: CTTATTAGCGGGTCTTTGGT R: TCCTCGTCTGTGGGGTAGTC	62
Ph#5Ns-30	-	+	+	+	-	+	F: GAGTCGTCGGCACAACATCC R: ATCGTGCTCCTCATCTTCGC	62

“+”表示特异条带存在;“-”表示特异条带缺失。

“+” indicates the presence of specific bands;“-” indicates the absence of specific bands.



(图 4)

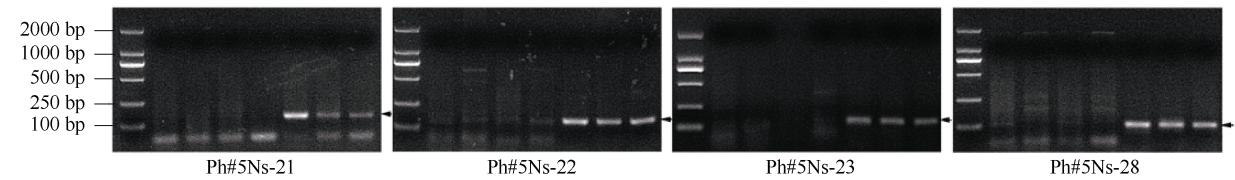


图 4 16 个特异性标记在试验材料中的凝胶电泳分析

Fig. 4 Electrophoretic analysis of 16 specific markers in experimental materials

M: DL2000; 1: 7182; 2: D4286; 3: 黑麦; 4: 长穗偃麦草; 5: 华山新麦草; 6: 滨麦; 7: 16DH25-7. 箭头指示特异条带。

M: DL2000; 1: 7182; 2: D4286; 3: *Secale cereale*; 4: *Thinopyrum ponticum*; 5: *Psathyrostachys huashanica*; 6: *Leymus mollis*; 7: 16DH25-7. Arrow indicates specific band.

2.6 农艺性状及抗病鉴定结果

农艺性状调查显示(附表 1), 与双亲材料 7182 和 D4286 相比, 16DH25-7 表现出明显的性状改良。在株高方面, 16DH25-7 较亲本均极显著降低($P < 0.01$); 分蘖数较亲本均极显著增加($P < 0.01$), 表现出极强的分蘖能力。穗部性状方面, 16DH25-7 的小

穗数和穗粒数均极显著高于双亲($P < 0.01$); 16DH25-7 的穗长介于双亲之间, 但其千粒重较 D4286 显著降低($P < 0.01$)。结果表明, 16DH25-7 通过综合改良株型结构和穗部性状, 在保持适当籽粒大小的同时, 显著提高了分蘖能力和穗粒数, 显示出优异的产量改良潜力(表 3 和图 5)。

表 3 16DH25-7 及其亲本的主要农艺性状比较

Table 3 Comparison of main agronomic traits between 16DH25-7 and its parents

材料 Material	株高 Plant height (cm)	分蘖数 Tiller number	穗长 Spike length (cm)	小穗数 Spikelets per spike	穗粒数 Kernels per spike	千粒重 Thousand-kernel weight (g)	芒性 Awn type
7182	79.0±2.49 Bb	10.3±1.42 Cc	11.41±0.71 Bb	21.7±0.95 Bb	53.8±4.02 Bb	38.13±0.58 Dd	长芒 Long
D4286	87.4±2.76 Aa	12.3±2.15 Bb	7.96±0.35 Dd	15.8±1.32 Ee	41.2±2.35 Cc	45.94±0.53 Bb	长芒 Long
华山新麦草 <i>P. huashanica</i>	62.0±0.92 Dd	簇 Clump	8.15±0.24 Dd	17.0±1.15 Dd	41.3±1.86 Cc	3.48±0.27 Ee	短芒 Short
16DH25-7	58.6±1.50 Ee	20.7±2.08 Aa	9.14±0.34 Cc	22.8±0.92 Aa	57.3±1.78 Aa	39.79±0.88 Cc	长芒 Long

同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著, 不同大写字母表示在 0.01 水平上差异显著。
Different lowercase letters within the same column indicate significant differences at the 0.05 probability level, while different uppercase letters indicate significant differences at the 0.01 probability level.

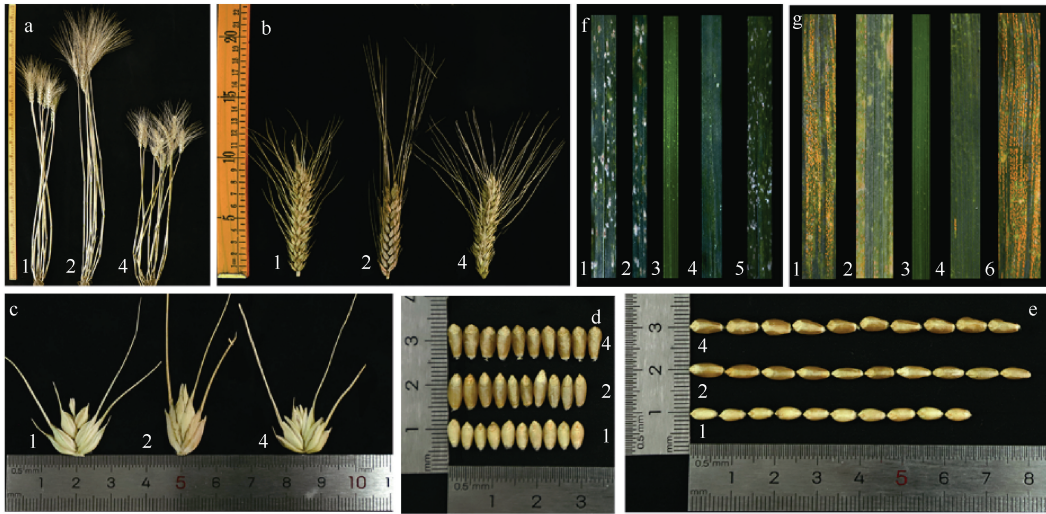


图 5 16DH25-7 及其亲本的农艺性状和白粉病、条锈病抗性鉴定表型

Fig. 5 Phenotypic evaluation of agronomic traits and disease resistance in 16DH25-7 and its parental lines

a: 株高; b: 穗长; c: 小穗; d: 粒宽; e: 粒长; f: 白粉病抗性表型; g: 条锈病抗性表型。1: 7182; 2: D4286; 3: 华山新麦草; 4: 16DH25-7; 5: 陕优 225; 6: 辉县红。

a: plant height; b: spike length; c: spikelets; d: kernel width; e: kernel length; f: powdery mildew resistance phenotype; g: stripe rust resistance phenotype. 1: 7182; 2: D4286; 3: *P. huashanica*; 4: 16DH25-7; 5: Shaanyou 225; 6: Huixianhong.

白粉病抗性鉴定结果显示, 16DH25-7 (IT = 1)与感病对照陕优 225 (IT = 9)、亲本 7182 (IT = 9)及 D4286 (IT = 7)存在不同, 抗性水平与华山新麦草 (IT = 0)相近 (图 5-f)。条锈病抗性鉴定显示, 16DH25-7 (IT = 1)明显优于感病对照辉县红 (IT = 4)、亲本 7182 (IT = 4)和 D4286 (IT = 3), 抗性表现与华山新麦草 (IT = 0)相当 (图 5-g)。抗病性鉴定表明, 16DH25-7 对白粉病和条锈病均表现高抗。

3 讨论

长期定向品种间杂交导致小麦遗传多样性显著衰减, 抗性基因库持续萎缩。而小麦远缘杂交技术通过突破种间生殖隔离屏障, 实现了野生近缘种优异基因向栽培小麦的定向转移。目前, 研究已鉴定出多种小麦-华山新麦草异代换系, 这些衍生材料各具优良性状: 例如, 1Ns (1D)异代换系 Wheat-Ph1D 兼具条锈病抗性、株高降低及千粒重增加的特性^[26]; 2Ns (2D)异代换系 DH2322 表现出穗长和穗粒数显著增加的优势^[27]; 3Ns (3D)异代换系 DH109 则对白粉病和赤霉病具有抗性, 同时千粒重提升^[12]。已有研究报道了小麦-华山新麦草 5Ns (5D)异代换系, 其来源于小新麦 H8911 与硬粒小麦 Trs-372 杂交后代, 表现出抗条锈病, 同时株高、穗粒数和千粒重等性状得到显著改良^[28]。本研究中, 在小新麦 H8911 与硬粒小麦 D4286 的杂交后代中, 鉴定出 1 个新的 5Ns (5D)异代换系, 其不仅抗条锈病, 而且还展现出抗白粉病和分蘖数的独特优势。该材料可作为优异基因挖掘的基础材料, 为解析抗病及优异性状的遗传机制提供重要支撑, 亦可为小麦抗病分子育种提供新的基因资源。

原位杂交技术是直观揭示外源染色体来源及核型特征的重要方法, 其中非变性荧光原位杂交 (ND-FISH)已广泛应用于小麦种质中外源染色体鉴定及结构变异检测^[29-30]。研究表明, 华山新麦草 Ns 外源染色体的导入可诱发小麦其他染色体的结构变异^[31-32], 推测 Ns 染色体的引入可能通过调控同源配对相关基因 (如 *Ph1* 基因)的表达, 干扰小麦染色体的正常联会行为, 进而诱导染色体结构变异的发生。本研究通过原位杂交技术联用, 证实 16DH25-7 携带的外源染色体源自华山新麦草 Ns 基因组; 进一步分析发现, 该材料中染色体 2B、1D 和 5A 的核型与普通小麦 7182 存在显著结构差异。

分子标记技术在植物外源基因组成鉴定及同源群归属分析中具有不可替代的作用^[33]。经典标记如简单序列重复 (simple sequence repeats, SSR)、表达序列标记和基于 PCR 的特异性单拷贝基因标记等已被广泛应用^[34]。近年来, 随着高通量测序技术的发展, 外源染色体特异性标记开发的策略逐渐成为研究主流^[35]。该方法通过大规模挖掘基因组多态性位点, 显著提升了外源染色体鉴定的效率与精准度, 为远缘杂交后代的遗传解析提供了强有力的技术支撑。本研究利用小麦-华山新麦草液相芯片 (GenoBaits WheatplusPh)及覆盖小麦 7 个部分同源群的分子标记, 对 16DH25-7 的染色体组成进行分析, 结果表明, 该材料缺失整条小麦 5D 染色体, 携带完整的华山新麦草 5Ns 染色体, 且开发的特异性标记可快速检测小麦背景中的华山新麦草 Ns 基因组。

条锈病和白粉病是全球小麦生产面临的主要生物胁迫^[36]。尽管栽培小麦中已鉴定克隆多个抗病基因, 但由于病原菌小种的快速进化, 部分基因的抗性逐渐衰退^[37]。远缘杂交技术虽已创制出多种抗病小麦种质, 然而整条染色体的导入增加了基因精细定位的难度。因此, 在小麦与近缘种属杂交创制附加系和代换系的基础上, 需进一步利用 *Ph1b* 基因突变体诱导部分同源重组、辐射诱变及杀配子效应等技术, 创制易位系^[38-39]。后续研究可通过 ⁶⁰Co- γ 电离辐射结合 *Ph1b* 诱导部分同源重组的方法处理 16DH25-7, 诱导产生携带目标性状的小片段易位系, 再通过连续回交和自交, 创制新的抗病种质材料。

4 结论

本研究通过远缘杂交后代筛选, 从小麦-华山新麦草七倍体 H8911 与硬粒小麦 D4286 的杂交后代中获得兼抗白粉病和条锈病的衍生系 16DH25-7。综合细胞遗传学观察、原位杂交、分子标记检测及液相芯片分析证实, 16DH25-7 染色体数目为 $2n = 42$, 其小麦 5D 染色体被华山新麦草 5Ns 染色体完整替代, 为遗传稳定的小麦-华山新麦草 5Ns (5D)二倍体异代换系。农艺性状系统评价与抗病性鉴定表明, 该代换系对小麦白粉病和条锈病均表现高抗, 且同步聚合了株高降低、分蘖数增加等优良农艺性状。本研究不仅为小麦三级基因库中华山新麦草优异基因的高效转移利用提供了技术支撑, 更为小麦抗病基因精细定位及抗病品种培育提供了珍贵的种质材料。

References

- [1] 唐秀丽. 气候变化对我国小麦白粉病流行的影响. 中国农业大学博士学位论文, 北京, 2017.
Tang X L. Impacts of Climate Change on Epidemic of Wheat Powdery Mildew in China. PhD Dissertation of China Agricultural University, Beijing, China, 2017 (in Chinese with English abstract).
- [2] Bhavani S, Singh P K, Qureshi N, et al. Globally important wheat diseases: status, challenges, breeding and genomic tools to enhance resistance durability. *Genomic Designing for Biotic Stress Resistant Cereal Crops*. Switzerland: Springer International Publishing, 2021. pp 59–128.
- [3] 康振生, 王晓杰, 赵杰, 等. 小麦条锈菌致病性及其变异研究进展. *中国农业科学*, 2015, 48: 3439–3453.
Kang Z S, Wang X J, Zhao J, et al. Advances in research of pathogenicity and virulence variation of the wheat stripe rust Fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Sci Agric Sin*, 2015, 48: 3439–3453 (in Chinese with English abstract).
- [4] 曹世勤, 黄瑾, 孙振宇, 等. 2007–2015 年小麦品种(系)抗白粉病性鉴定及评价. *江苏农业科学*, 2018, 46(8): 89–92.
Cao S Q, Huang J, Sun Z Y, et al. Identification and evaluation of powdery mildew resistance in wheat varieties (lines) from 2007 to 2015. *Jiangsu Agric Sci*, 2018, 46(8): 89–92 (in Chinese with English abstract).
- [5] 陈万权, 康振生, 马占鸿, 等. 中国小麦条锈病综合治理理论与实践. *中国农业科学*, 2013, 46: 4254–4262.
Chen W Q, Kang Z S, Ma Z H, et al. Integrated management of wheat stripe rust caused by *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in China. *Sci Agric Sin*, 2013, 46: 4254–4262 (in Chinese with English abstract).
- [6] 李滨, 李振声. 中国小麦远缘杂交育种奠基人. *麦类作物学报*, 2022, 42: 518–649.
Li B, Li Z S. Founders of distant hybridization breeding in Chinese wheat. *J Triticeae Crops*, 2022, 42: 518–649 (in Chinese with English abstract).
- [7] 李振声. 我国小麦育种的回顾与展望. *中国农业科技导报*, 2010, 12(2): 1–4.
Li Z S. Retrospect and prospect of wheat breeding in China. *J Agric Sci Technol*, 2010, 12(2): 1–4 (in Chinese with English abstract).
- [8] 董玉琛. 小麦的近缘植物. *作物品种资源*, 1982(1): 18–26.
Dong Y C. Relatives of wheat. *Crop Germplasm Resour*, 1982(1): 18–26 (in Chinese with English abstract).
- [9] 陈漱阳, 张安静, 傅杰. 普通小麦与华山新麦草的杂交. *遗传学报*, 1991, 18: 508–512.
Chen S Y, Zhang A J, Fu J. Hybridization between common wheat and *Psathyrostachys huashanica*. *Acta Genet Sin*, 1991, 18: 508–512 (in Chinese with English abstract).
- [10] 冯艳, 任淑敏, 庞玉辉, 等. 小麦-华山新麦草染色体导入系研究进展. *农业生物技术学报*, 2025, 33: 1611–1625.
Feng Y, Ren S M, Pang Y H, et al. Research progress of wheat-*Psathyrostachys huashanica* chromosome introgression line. *J Agric Biotechnol*, 2025, 33: 1611–1625 (in Chinese with English abstract).
- [11] Bai S S, Zhang H B, Han J, et al. Identification of genetic locus with resistance to take-all in the wheat-*Psathyrostachys huashanica* Keng introgression line H148. *J Integr Agric*, 2021, 20: 3101–3113.
- [12] Li J C, Li J J, Cheng X N, et al. Molecular cytogenetic and agronomic characterization of the similarities and differences between wheat-*Leymus mollis* trin. and wheat-*Psathyrostachys huashanica* Keng 3Ns (3D) substitution lines. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 644896.
- [13] 张德时, 王斯文, 王长有, 等. 小麦-华山新麦草异附加系的细胞遗传学和分子标记辅助鉴定. *麦类作物学报*, 2020, 40: 12–20.
Zhang D S, Wang S W, Wang C Y, et al. cytogenetics and marker assisted identification of wheat-*Psathyrostachys huashanica* alien addition lines. *J Triticeae Crops*, 2020, 40: 12–20 (in Chinese with English abstract).
- [14] Han F P, Lamb J C, Birchler J A. High frequency of centromere inactivation resulting in stable dicentric chromosomes of maize. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 3238–3243.
- [15] Tang Z X, Yang Z J, Fu S L. Oligonucleotides replacing the roles of repetitive sequences pAs1, pSc_{119.2}, pTa-535, pTa71, CCS1, and pAWRC.1 for FISH analysis. *J Appl Genet*, 2014, 55: 313–318.
- [16] Feng X B, Du X, Wang S W, et al. Identification and DNA marker development for a wheat-*Leymus mollis* 2Ns (2D) disomic chromosome substitution. *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 2676.
- [17] Tiwari V K, Wang S C, Sehgal S, et al. SNP discovery for mapping alien introgressions in wheat. *BMC Genom*, 2014, 15: 273.
- [18] Liu L Q, Luo Q L, Teng W, et al. Development of *Thinopyrum ponticum*-specific molecular markers and FISH probes based on SLAF-seq technology. *Planta*, 2018, 247: 1099–1108.
- [19] Tan B W, Zhao L, Li L Y, et al. Identification of a wheat-*Psathyrostachys huashanica* 7Ns ditelosomic addition line conferring early maturation by cytological analysis and newly developed molecular and FISH markers. *Front Plant Sci*, 2021, 12: 784001.
- [20] Guo Z F, Wang H W, Tao J J, et al. Development of multiple SNP marker panels affordable to breeders through genotyping by target sequencing (GBTS) in maize. *Mol Breed*, 2019, 39: 37.
- [21] Guo Z F, Yang Q N, Huang F F, et al. Development of high-resolution multiple-SNP arrays for genetic analyses and molecular breeding through genotyping by target sequencing and liquid chip. *Plant Commun*, 2021, 2: 100230.
- [22] Li H. Exploring single-sample SNP and INDEL calling with whole-genome *de novo* assembly. *Bioinformatics*, 2012, 28: 1838–1844.
- [23] Li H, Durbin R. Fast and accurate long-read alignment with Burrows-Wheeler transform. *Bioinformatics*, 2010, 26: 589–595.
- [24] Kang Z S, Huang L L, Buchenauer H. Ultrastructural changes and localization of lignin and callose in compatible and incompatible interactions between wheat and *Puccinia striiformis*. *J Plant Diseases Protect*, 2002, 13: 25–37.
- [25] 侯富, 金银禹, 张婷, 等. 一个成株抗白粉病小麦-簇毛麦 T2DS•2V#6L 易位系的选育. *麦类作物学报*, 2024, 44: 827–834.
Hou F, Jin Y Y, Zhang T, et al. Development of a wheat-*Dasyphyrum villosum* T2DS•2V#6L translocation line with adult-plant resistance to powdery mildew. *J Triticeae Crops*, 2024, 44: 827–834 (in Chinese with English abstract).

[26] Qu X J, Zhang D S, Zhang X Y, et al. Cytogenetic and marker assisted identification of a wheat-*Psathyrostachys huashanica* Keng f. ex P.C.Kuo alien substitution line conferring processing quality and resistance to stripe rust. *Genet Resour Crop Evol*, 2022, 69: 687–698.

[27] 王秀娟, 陈新宏, 庞玉辉, 等. 小麦-华山新麦草异代换系 DH2322 的分子细胞遗传学鉴定. *作物学报*, 2015, 41: 207–213.

Wang X J, Chen X H, Pang Y H, et al. Molecular cytogenetics identification of wheat-*Psathyrostachys huashanica* substitution line DH2322. *Acta Agron Sin*, 2015, 41: 207c213 (in Chinese with English abstract).

[28] Li J C, Yao X N, Yang Z J, et al. Molecular cytogenetic characterization of a novel wheat-*Psathyrostachys huashanica* Keng 5Ns (5D) disomic substitution line with stripe rust resistance. *Mol Breed*, 2019, 39: 109.

[29] Metzlaiff M, Troebner W, Baldauf F, et al. Wheat specific repetitive DNA sequences: construction and characterization of four different genomic clones. *Theor Appl Genet*, 1986, 72: 207–210.

[30] Patino T. Imaging DNA origami by fluorescence *in situ* hybridization. *Nat Nanotechnol*, 2024, 19: 1–2.

[31] Li J C, Zhao L, Cheng X N, et al. Molecular cytogenetic characterization of a novel wheat-*Psathyrostachys huashanica* Keng T3DS-5NsL•5NsS and T5DL-3DS•3DL dual translocation line with powdery mildew resistance. *BMC Plant Biol*, 2020, 20: 163.

[32] Pang J Y, Huang C X, Wang Y S, et al. Molecular cytological analysis and specific marker development in wheat-*Psathyrostachys huashanica* Keng 3Ns additional line with elongated glume. *Int J Mol Sci*, 2023, 24: 6726.

[33] 谢中艺, 党江波, 温国, 等. 植物外源基因组成成分鉴定方法的研究进展. *生物工程学报*, 2021, 37: 2703–2718.

Xie Z Y, Dang J B, Wen G, et al. Advances in identification methods of alien genomic components in plants. *Chin J Biotechnol*, 2021, 37: 2703–2718 (in Chinese with English abstract).

[34] Yang X F, Wang C Y, Chen C H, et al. Development and characterization of a wheat-*Leymus mollis* Lm#7Ns disomic addition line with resistance to stripe rust. *Cereal Res Commun*, 2020, 48: 467–476.

[35] 李欢, 张文洋, 田志强, 等. 高通量分子标记检测方法的研究进展. *玉米科学*, 2022, 30(3): 1–9.

Li H, Zhang W Y, Tian Z Q, et al. Research progress of high-throughput molecular marker detection methods. *J Maize Sci*, 2022, 30(3): 1–9 (in Chinese with English abstract).

[36] 李洪杰, 王晓鸣, 宋风景, 等. 中国小麦品种对白粉病的抗性反应与抗病基因检测. *作物学报*, 2011, 37: 943–954.

Li H J, Wang X M, Song F J, et al. Response to powdery mildew and detection of resistance genes in wheat cultivars from China. *Acta Agron Sin*, 2011, 37: 943–954 (in Chinese with English abstract).

[37] McDonald B A, Linde C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu Rev Phytopathol*, 2002, 40: 349–379.

[38] 贾子苗, 邱玉亮, 林志珊, 等. 利用远缘种属优良基因改良小麦研究进展. *作物杂志*, 2021(2): 1–14.

Jia Z M, Qiu Y L, Lin Z S, et al. Research progress on wheat improvement by using desirable genes from its relative species. *Crops*, 2021(2): 1–14 (in Chinese with English abstract).

[39] 曹亚萍, 武银玉, 刘博, 等. 小麦异源易位系诱致方法及应用研究进展. *植物遗传资源学报*, 2022, 23: 943–953.

Cao Y P, Wu Y Y, Liu B, et al. Progress on induction and application of wheat alien chromosome translocation lines. *J Plant Genet Resour*, 2022, 23: 943–953 (in Chinese with English abstract).

附表 1 小麦供试材料 2022–2023 和 2023–2024 年度农艺性状调查表
Table S1 Agronomic trait investigation table of wheat test materials (2022–2023 and 2023–2024)

材料 Material	2022–2023						2023–2024					
	株高 Plant height (cm)	分蘖数 Tiller number	穗长 Spike length (cm)	小穗数 Spikelets per spike	穗粒数 Kernels per spike	千粒重 Thousand- kernel weight (g)	株高 Plant height (cm)	分蘖数 Tiller number	穗长 Spike length (cm)	小穗数 Spikelets per spike	穗粒数 Kernels per spike	千粒重 Thousand- kernel weight (g)
7182	76	12	9.6	20	52	37.65	75	8	10.5	20	58	37.21
	78	12	11.7	23	55	38.12	79	9	11.4	21	58	37.68
	80	10	11.5	19	46	37.91	76	9	12.1	22	50	38.89
	81	9	12.3	22	47	38.24	80	12	11.7	21	48	39.08
	75	8	11.1	22	50	39.16	82	12	11.3	23	57	38.47
	79	10	12.5	23	61	38.51	77	12	11.0	22	52	38.33
	78	9	11.7	20	55	38.37	79	10	11.9	23	54	38.62
	79	9	11.4	22	56	37.55	83	11	11.6	22	53	37.95
	84	12	10.9	22	55	36.92	78	11	10.8	21	55	38.02
	80	11	10.7	20	58	37.76	81	10	12.4	22	56	38.15
D4286	90	9	7.6	14	44	45.65	91	13	7.5	15	43	46.32
	91	11	8.5	16	42	46.17	87	11	8.4	17	41	45.41
	85	14	8.7	16	39	46.26	87	16	7.6	14	40	46.55
	88	16	8.1	15	40	45.77	85	9	8.3	16	44	45.20
	87	11	7.9	18	45	46.12	90	11	8.2	18	38	46.01

(续附表 1)

材料 Material	2022-2023						2023-2024					
	株高 Plant height (cm)	分蘖数 Tiller number	穗长 Spike length (cm)	小穗数 Spikelets per spike	穗粒数 Kernels per spike	千粒重 Thousand- kernel weight (g)	株高 Plant height (cm)	分蘖数 Tiller number	穗长 Spike length (cm)	小穗数 Spikelets per spike	穗粒数 Kernels per spike	千粒重 Thousand- kernel weight (g)
D4286	90	11	7.7	17	43	45.11	89	15	7.8	15	42	45.93
	85	14	8.0	16	42	44.98	83	13	7.9	17	45	46.47
	86	10	8.0	15	40	45.63	86	10	8.0	16	39	45.76
	91	12	7.5	16	37	46.87	88	12	8.1	14	41	45.09
	81	14	7.4	14	39	46.28	88	14	7.9	16	39	46.24
华山新 麦草 <i>P.</i> <i>huashanica</i>	62	—	8.2	16	42	3.72	63	—	8.4	17	43	3.68
	63	—	8.0	18	41	3.44	61	—	7.8	19	40	3.21
	62	—	8.1	18	42	3.12	62	—	8.3	16	42	3.85
	61	—	8.5	17	39	2.96	63	—	8.1	15	41	3.05
	63	—	7.9	16	40	3.56	61	—	8.2	18	39	3.53
	62	—	8.1	16	45	3.91	62	—	7.9	17	44	3.37
	61	—	8.2	15	41	3.51	63	—	8.5	16	41	3.74
	60	—	8.2	18	42	3.62	61	—	8.1	18	43	3.18
	63	—	8.5	17	42	3.39	62	—	7.9	17	38	3.59
	63	—	7.7	17	38	3.72	62	—	8.4	17	42	3.45
16DH25-7	60	18	9.7	24	60	39.21	57	24	9.4	24	55	38.63
	58	24	9.5	24	57	40.43	60	22	9.0	24	60	40.88
	61	19	9.6	23	55	38.76	58	22	8.6	21	56	40.56
	57	24	8.7	22	56	41.65	59	19	9.6	22	58	39.72
	58	22	9.1	20	59	39.82	56	18	9.2	23	58	38.97
	56	20	8.9	22	61	39.16	61	20	8.7	22	59	39.94
	59	19	9.2	23	57	38.55	58	23	9.3	23	57	40.21
	58	21	9.3	24	56	39.84	59	20	8.9	23	57	41.10
	59	20	8.8	23	55	38.92	57	21	9.5	23	56	39.58
	60	17	8.9	22	56	40.61	60	21	8.8	23	58	39.25