

文章编号:1000-8551(2019)01-0001-06

# 利用 SSR 标记和 SNP 芯片对小麦 EMS 突变体进行真实性鉴定

耿皆飞<sup>1</sup> 王 娜<sup>1</sup> 蒋宏宝<sup>1</sup> 刘录祥<sup>2</sup> 许喜堂<sup>1</sup> 魏红升<sup>1</sup>  
王成社<sup>1,\*</sup> 谢彦周<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>西北农林科技大学农学院/旱区作物逆境生物学国家重点实验室,陕西 杨凌 712100;

<sup>2</sup>中国农业科学院作物科学研究所,北京 100081)

**摘要:**为鉴定 EMS 突变的真实性,本研究利用 SSR 标记和 90 K SNP 芯片对小麦品系 H261 及其 EMS 突变体进行检测。SSR 检测结果表明,H261 与 LF2010 和 LF2099 的差异 SSR 标记为 0 个,但与 LF2100 的差异 SSR 标记为 10 个,多态性比例为 47.62%。SNP 芯片分析结果表明,H261 与 LF2010 和 LF2099 之间的差异位点分别为 66 和 12 个,分别占总数的 0.0809% 和 0.0147%,2 个突变体与 H261 的纯合差异 SNP 数目均为 0;而 H261 与 LF2100 之间的差异位点为 2 846 个,占总数的 3.4879%,二者之间纯合差异 SNP 为 784,占总数的 0.9608%。综上所述,LF2010 和 LF2099 突变体与亲本 H261 的遗传背景高度一致,是 H261 经过 EMS 诱变的后代,而 LF2100 是天然异交或机械混杂产生的假突变体。本研究结果为更好地发挥小麦突变体在遗传改良和功能基因组研究奠定了一定的理论基础。

**关键词:**普通小麦;90 K 基因芯片;SSR 标记;突变体;真实性鉴定

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2019.01.0001

1928 年美国科学家 Stadler<sup>[1]</sup>首次报道了 X 射线对大麦具有诱变效应,开启了植物诱发突变研究。据统计,截至 2017 年 12 月,世界上已有 60 多个国家利用诱发突变技术在 170 多种植物上育成和推广了 3 200 个突变品种,其中包括 286 个小麦品种。目前诱发突变技术已广泛应用于农作物新材料创制和优良新品种培育,在解决世界粮食安全与营养供给方面发挥了重要作用,但对于突变体的真实来源和应用价值也引起了越来越多的质疑<sup>[2]</sup>。如 Caldecott 等<sup>[3]</sup>认为很多选择的突变体可能只是田间异源花粉杂交的后代而不是由于辐射诱变产生的真正突变。Knott<sup>[4]</sup>认为突变尤其在数量性状方面的突变在作物育种中的价值并不高。此外,诱发突变后代的结实率通常会显著下降,即使像小麦这样严格的自花授粉作物,也难以避免受串粉造成的天然异交混杂,且诱变后代通常难以做到

严格套袋自交,只要能产生优良变异,在一定程度上可以不区分突变体变异的来源。但对于遗传研究而言,必须区分突变体的变异来源,因此,对诱变后代进行遗传变异评价,区分真实突变体和假突变体,对于更好地发挥突变体在遗传改良和功能基因组研究中的作用具有重要意义。

研究表明,利用表型鉴定通常难以鉴定诱变后代突变体的真实性,而利用 SSR 标记分析可以有效排除诱发突变体中的假突变体。如 Fu 等<sup>[5]</sup>利用 236~340 个 SSR 位点对亲本材料及  $\gamma$  射线诱变产生的突变体进行检测,发现亲本与突变体之间不存在多态性。李瑞清等<sup>[6]</sup>利用分布于水稻 12 条染色体上的 144 个 SSR 标记分析了突变体 G9 和亲本广占 63S,也未发现二者之间存在差异,说明该突变体是由诱发突变而来。但 SSR 标记会受方法和位点数量的限制,无法从全基

收稿日期:2018-04-04 接受日期:2018-06-03

基金项目:国家重点研发计划项目(2016YFD0102101),国家自然科学基金项目(31101139),农业农村部麦类生物学与遗传育种综合性重点实验室开放课题,西北农林科技大学青年人才农业推广实践(TGZX2018-38)

作者简介:耿皆飞,男,主要从事作物生物技术研究。E-mail:gengjf1991@163.com

\* 通讯作者:王成社,男,教授,主要从事小麦育种新技术研究及新品种选育研究。E-mail:wangcs2008@126.com;

谢彦周,男,讲师,主要从事小麦诱发突变与分子育种研究。E-mail:Yanzhouxie@126.com。同为通讯作者。

基因组水平上对突变体进行高通量的真实性鉴定<sup>[7]</sup>。单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 是普遍存在于生物基因组中的一种新型分子标记, 具有在基因组中数量最多、分布密度高、无需电泳、可高通量自动化检测等特点<sup>[8-9]</sup>, 是继 SSR 标记之后最有前途的第三代分子标记。陈竹锋等<sup>[10]</sup> 利用 Illumina Infinium iSelect SNP (50 K) 芯片检测技术比较水稻品种黄华占及其突变体 osms55 之间的 SNP 位点差异, 发现突变体与亲本黄华占不同的纯合位点仅有 6 个, 由此判断该突变体的遗传背景与黄华占一致, 突变体材料来源于黄华占。

小麦 (*Triticum aestivum* L.) 是最重要的粮食作物之一, 随着小麦基因组测序的迅猛发展<sup>[11-13]</sup>, 诱变突变技术制备的突变体在小麦遗传改良和功能基因组学研究中发挥着重要作用<sup>[14-19]</sup>。目前国内外已经构建了多个小麦甲基磺酸乙烷 (ethane methyl sulfonate, EMS) 突变体库。并对突变体的分子变异进行了评估, 但关于利用分子标记对小麦突变体进行真实性鉴定的报道并不多见。吕兴娜等<sup>[7]</sup> 利用 21 对核心 SSR 标记对小麦品种兰天 15 和郑麦 9023 的航天诱变后代的抗条锈突变体进行鉴定, 发现兰天 15 的航天诱变衍生系可能存在异花授粉导致的遗传重组, 郑麦 9023 的航天诱变衍生系可能来自航天诱变。目前, 小麦中已经开发 9 K<sup>[20]</sup>、90 K<sup>[21]</sup>、660 K<sup>[22]</sup> 等 SNP 芯片, 但利用 SNP 芯片对小麦 EMS 突变体进行真实性鉴定尚未见报道。西北农林大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室前期利用 EMS 处理小麦品系 H261 种子并构建了突变体库。本研究利用 SSR 标记和 90 K SNP 芯片对其中 3 个突变体的真实性进行鉴定, 以期为更好地发挥小麦突变体在遗传改良和功能基因组研究奠定一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

LF2010、LF2099 和 LF2100 是小麦品系 H261 经过 EMS 诱变获得的, 经过连续多代自交后已遗传稳定。其中, LF2010 为类病斑突变体, 与 H261 相比, 其主要农艺性状严重下降<sup>[23]</sup>; LF2099 为叶片早衰突变体, 其主要农艺性状也严重下降; LF2100 为无芒突变体, 其主要农艺性状与亲本相差不大 (图 1)。所有材料均种植于西北农林科技大学北校区小麦试验田。

### 1.2 试验方法

1.2.1 DNA 的提取 待植株长至二叶一心时, 取小



Note: 1; H261. 2; LF2010. 3; LF2099. 4; LF2100.

图 1 H261 及其 EMS 突变体的表型

Fig.1 The phenotype of H261 and EMS mutants

麦叶片, 按照 CTAB 法<sup>[24]</sup> 提取基因组 DNA, 用 0.8% 琼脂糖电泳和 NanoDrop One 分光光度计 (Thermo, USA) 检测 DNA 质量和浓度。

1.2.2 SSR 标记分析 用小麦染色体上特异性和稳定性较好的 21 对核心 SSR 引物<sup>[25]</sup> 对突变体及其亲本进行检测。SSR 引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。PCR 反应体系为 10  $\mu$ L, 含 10 $\times$  PCR buffer 1  $\mu$ L, 10 mmol $\cdot$ L<sup>-1</sup> dNTP 0.15  $\mu$ L, 1.25  $\mu$ mol $\cdot$ L<sup>-1</sup> 引物 2  $\mu$ L, 2 U $\cdot$  $\mu$ L<sup>-1</sup> Taq DNA 聚合酶 0.25  $\mu$ L, 10 ng $\cdot$  $\mu$ L<sup>-1</sup> 模板 DNA 3  $\mu$ L, 超纯水 3.6  $\mu$ L。其中 10 $\times$  PCR buffer、dNTP 和 TaqDNA 聚合酶均购自上海赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司。反应程序: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 36 个循环; 72 $^{\circ}$ C 终延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物经 6% 聚丙烯酰胺变性凝胶电泳分离, 以 2 000 V 电压电泳 1.0~1.5 h。凝胶染色采用简化硝酸银染色法<sup>[26]</sup>。

1.2.3 SNP 芯片分析 委托北京康普森生物技术有限公司, 利用美国 Illumina 公司和美国堪萨斯州立大学共同开发的小麦 90 K 基因芯片对突变体及其亲本材料进行检测, 其多态性分析采用 Genomestudio v1.0 软件进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 突变体的 SSR 检测

SSR 分析结果表明, H261 与 CS 的差异标记为 14 个, 多态性比例高达 66.67%。H261 与 LF2010 和 LF2099 的差异 SSR 标记均为 0 个, 但与 LF2100 的差异 SSR 标记为 10 个, 多态性比例为 47.62% (表

1)。参照小麦纯度检测标准<sup>[27]</sup>, 差异标记  $\geq 3$  表示与亲本遗传相似性低, 存在异花授粉或机械混杂的可能性。LF2100 与亲本 H261 差异标记为 10 个, 由此推测 LF2100 是天然异交或机械混杂产生的假突变体, LF2010 和 LF2099 与亲本 H261 的差异标记均为 0 (图 2), 说明 LF2010 和 LF2099 2 个突变体与亲本 H261 的遗传背景高度一致, 是 H261 经过 EMS 诱变的后代。

表 1 小麦亲本材料与突变体之间的 21 个 SSR 标记多态性检测

Table 1 Polymorphism of 21 SSR markers between parent lines of wheat and mutant

SSR 标记 SSR marker	染色体位置 Chromosome LOC	H261 和 CS 之间的 多态性 Polymorphism between H261 and CS	H261 和 LF2010 之间的多态性 Polymorphism between H261 and LF2010	H261 和 LF2099 之间的多态性 Polymorphism between H261 and LF2099	H261 和 LF2100 之间的多态性 Polymorphism between H261 and LF2100
<i>Xcwm65</i>	1A	0	0	0	0
<i>Xbarc80</i>	1BL	1	0	0	1
<i>Xcfd72</i>	1D	0	0	0	0
<i>Xgwm294</i>	2AL	1	0	0	0
<i>Xgwm429</i>	2BS	1	0	0	1
<i>Xgwm261</i>	2DS	0	0	0	0
<i>Xgwm155</i>	3AL	1	0	0	0
<i>Xgwm285</i>	3BS	0	0	0	0
<i>Xgdm72</i>	3DL	0	0	0	0
<i>Xgwm610</i>	4AL	1	0	0	0
<i>Xksum62</i>	4B	1	0	0	1
<i>Xbarc91</i>	4DL	1	0	0	1
<i>Xcwem40</i>	5A	0	0	0	0
<i>Xgwm67</i>	5BS	0	0	0	0
<i>Xcfd29</i>	5DL	1	0	0	0
<i>Xgwm334</i>	6AS	1	0	0	1
<i>Xbarc198</i>	6BL	1	0	0	1
<i>Xcfd76</i>	6DL	1	0	0	1
<i>Xcfa2028</i>	7AS	1	0	0	1
<i>Xgwm333</i>	7BL	1	0	0	1
<i>Xgwm437</i>	7DL	1	0	0	1

注: “0”表示无多态性; “1”表示有多态性。CS: 中国春。下同。

Note: ‘0’ indicates no polymorphism. ‘1’ indicates polymorphism. CS: China Spring. The same as following.

### 2.2 突变体的 SNP 检测

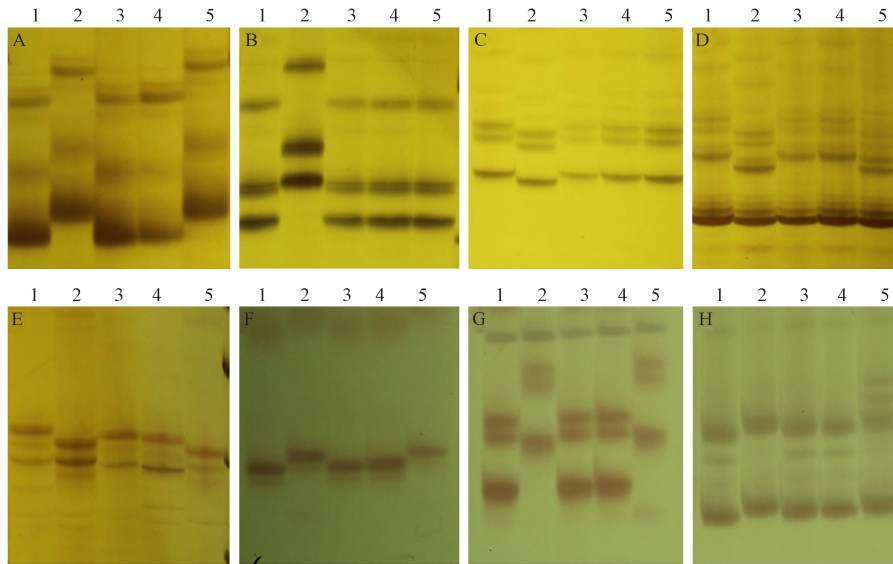
为了进一步探究突变体的遗传背景与亲本的关系, 利用 90 K 基因芯片的 81 597 个 SNP 标记对 H261 及其衍生的突变体进行多态性分析。结果表明, H261 与 CS 的差异位点仅 3 481 个, 占总数的 4.266 1%, 纯

合差异 SNP 为 1 469, 占总数的 1.800 3%; H261 与 LF2010 和 LF2099 之间的差异位点分别为 66 和 12 个, 这些差异 SNP 随机分布于除 2D、4D 和 6D 以外的染色体上, 分别占总数的 0.080 9% 和 0.014 7%, 2 个突变体与 H261 的纯合差异 SNP 均为 0; 而 H261 与



LF2100 之间的差异位点为 2 846 个, 占总数的 3.487 9%, 二者之间纯合差异 SNP 为 784, 占总数的 0.960 8%(表 2)。上述结果从分子水平上进一步证

明了突变体 LF2010 和 LF2099 的真实性, 且说明 LF2100 与亲本 H261 的遗传背景不一致, 不是 H261 经过 EMS 诱变的后代。



Note: A: *Xbarc80*. B: *Xgwm155*. C: *Xgwm610*. D: *Xksum62*. E: *Xbarc91*. F: *Xgwm334*. G: *Xcfd76*. H: *Xcfa2028*. 1: H261. 2: 中国春. 3: LF2010. 4: LF2099. 5: LF2100.

图 2 部分核心 SSR 引物在亲本材料及其突变体的电泳图

Fig.2 Electrophoretic map of some core SSR primers in parent materials and their mutants

表 2 小麦亲本材料与突变体之间的 SNP 标记多态性检测

Table 2 Polymorphism of SNP marker between wheat mutant and parent lines

材料 Materials	SNP 数量 Number of SNP	多态性(百分比) Polymorphic (percentage/%)	纯合位点多态性(百分比) Homozygous loci polymorphic (percentage/%)
H261 与 CS	81 597	3 481(4.266 1)	1 469(1.800 3)
H261 与 LF2010	81 597	66(0.080 9)	0(0)
H261 与 LF2099	81 597	12(0.014 7)	0(0)
H261 与 LF2100	81 597	2 846(3.487 9)	784(0.960 8)

### 3 讨论

王立新等<sup>[25]</sup>研究表明,不同的小麦品种之间核心 SSR 标记具有较高的多态性。本研究结果表明,在 H261 和中国春(CS)之间的多态性比例高达 66.67%。吕兴娜等<sup>[7]</sup>利用 21 对核心 SSR 引物对小麦品种兰天 15 和郑麦 9023 的航天诱变后代中筛选出抗条锈病突变体进行检测,结果表明兰天 15 的航天诱变衍生系与亲本间差异标记数量较多,推测可能存在异花授粉导致的遗传重组,而郑麦 9023 的航天诱变衍生系与亲本差异标记数量均不超过 2 个,推测成株期抗病性变异可能来自航天诱变。本研究利用相同的 21 对核心

SSR 引物对 H261 及其 EMS 突变体进行检测,结果发现,诱发突变体与亲本之间,不存在 SSR 标记多态性,与前人研究并不一致,其原因可能是本研究中的诱发突变体和亲本之间并未检测出任何 SSR 位点的差异,也有可能是所用标记数量较少导致的。但 Fu 等<sup>[5]</sup>关于水稻的研究发现,利用 236~340 个 SSR 位点进行检测,亲本材料及  $\gamma$  射线诱变产生的突变体之间未发现多态性。因此,本研究利用这 21 个核心 SSR 标记可以有效地排除小麦诱变突变体中由于各种原因造成的假突变体。

小麦 EMS 诱变产生的突变类型主要是点突变和部分缺失突变, Krasilev 等<sup>[16]</sup>研究发现,六倍体小麦每个 EMS 突变系平均含有 5 351 个 EMS 类型突变;而六

倍体小麦基因组的大小为 17 Gb, 即  $17 \times 10^9$  bp, 突变频率为  $315 \times 10^{-9}$ 。本研究仅采用 21 对 SSR 引物, 引物总长度为 879 bp, 在任何一个突变体中检测到某一个突变的概率约为  $2.77 \times 10^{-4}$ 。此外, 根据 SSR 标记的原理, 即使突变位点发生在 SSR 引物结合位点, 该突变位点也不一定被 SSR 标记检测出来。从理论上解释了本研究未能找到突变体与亲本的多态性的原因。然而, 在其他小麦 EMS 诱变后代的 SSR 标记检测结果中, 亲本与突变体之间却可以轻易检测出多态性<sup>[28-30]</sup>, 这暗示这些突变体可能是由于各种原因产生的假突变体, 当然, 也存在突变位点导致 SSR 位点变化的可能, 但这种可能性较低。

由于利用 SSR 标记难以鉴定突变体和亲本材料之间的差异, 本研究尝试利用小麦 90 K 高通量 SNP 分析芯片对 H261 及其衍生的 EMS 突变体进行分析。结果表明, 突变体 LF2010 和 LF2099 与亲本 H261 之间的差异位点极少, 多态性比例分别为 0.080 9% 和 0.014 7%, 且纯合的差异位点均为 0, 进一步证明了 LF2010 和 LF2099 是由 H261 诱变而来。SNP 芯片克服了 SSR 无法从全基因组水平上进行高通量分析的缺点, 在未来的研究中可以逐步代替 SSR 标记, 用于检测小麦突变体的真实性, 尤其是在利用高通量测序技术对突变体进行深入研究之前, 突变体真实性鉴定显得尤为重要<sup>[7-8]</sup>。

## 4 结论

本研究结果表明, LF2010 和 LF2099 突变体与亲本 H261 的遗传背景高度一致, 是 H261 经过 EMS 诱变的后代, 而 LF2100 是天然异交或机械混杂产生的假突变体。SSR 标记和 SNP 芯片 2 种方法均可以有效鉴定 EMS 突变体的真实性, SNP 芯片由于可以进行高通量和全基因组水平的分析, 在小麦突变体的真实性鉴定方面显示出更大的应用潜力。本研究结果为更好地发挥小麦突变体在遗传改良和功能基因组研究中的作用奠定了一定的理论基础。

## 参考文献:

- [ 1 ] Stadler L J. Mutations in barley induced by X-rays and radium[J]. Science, 1928, 68(1765): 186-187
- [ 2 ] 刘录祥, 郭会君, 赵林妹, 李军辉, 古佳玉, 赵世荣, 王晶. 植物诱变突变技术育种研究现状与展望[J]. 核农学报, 2009, 23(6): 1001-1007
- [ 3 ] Caldecott R S, Stevens H, Robert B J. Stem rust resistant variants in irradiated populations—mutations or field hybrids[J]. Agronomy Journal, 1959, 51(7): 401-403
- [ 4 ] Knott D R. What determines the success of mutation breeding[R]. Austria: Vienna, 1991: 111-118
- [ 5 ] Fu H W, Li Y F, Shu Q Y. A revisit of mutation induction by gamma rays in rice (*Oryza sativa* L.); implications of microsatellite markers for quality control[J]. Molecular Breeding, 2008, 22(2): 281-288
- [ 6 ] 李瑞清, 武立权, 舒庆尧, 赵海军, 吴殿星, 王荣富. 一个新的水稻白化转绿突变体 G9 的特性研究[J]. 核农学报, 2010, 24(5): 881-886
- [ 7 ] 吕兴娜, 杜久元, 苏萍萍, 王琪琳, 吴建辉, 黄丽丽, 康振生, 韩德俊. 小麦航天诱变抗条锈病突变体的筛选与鉴定[J]. 麦类作物学报, 2016, 36(12): 1599-1604
- [ 8 ] Nasu S, Suzuki J, Ohta R, Hasegawa K, Yui R, Kitazawa N, Monna L, Minobe Y. Search for and analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in rice (*Oryza sativa*, *Oryza rufipogon*) and establishment of SNP markers[J]. DNA Research, 2002, 9: 163-171
- [ 9 ] 邹喻苹, 葛颂. 新一代分子标记-SNPs 及其应用[J]. 生物多样性, 2003, 11(5): 370-382
- [ 10 ] 陈竹锋, 严维, 王娜, 张文辉, 谢刚, 卢嘉威, 简智华, 刘东风, 唐晓燕. 利用改进的 MutMap 方法克隆水稻雄性不育基因[J]. 遗传, 2014, 36(1): 85-93
- [ 11 ] Uauy C. Wheat genomics comes of age[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2017, 36: 142-148
- [ 12 ] Zimin A V, Puiu D, Hall R, Kingan S, Clavijo B J, Salzberg S L. The first near-complete assembly of the hexaploid bread wheat genome, *Triticum aestivum* [J]. Gigascience, 2017, 6(11): 1-7
- [ 13 ] Avni R, Nave M, Barad O, Baruch K, Twardziok S O, Gundlach H, Hale I, Mascher M, Spannagl M, Wiebe K, Jordan K W, Golan G, Deek J, Ben-Zvi B, Ben-Zvi G, Himmelbach A, MacLachlan R P, Sharpe A G, Fritz A, Ben-David R, Budak H, Fahima T, Korol A, Faris J D, Hernandez A, Mikel M A, Levy A A, Steffenson B, Maccaferri M, Tuberosa R, Cattivelli L, Faccioli P, Ceriotti A, Kashkush K, Pourkheirandish M, Komatsuda T, Eilam T, Sela H, Sharon A, Ohad N, Chamovitz D A, Mayer K F X, Stein N, Ronen G, Peleg Z, Pozniak C J, Akhunov E D, Distelfeld A. Wild emmer genome architecture and diversity elucidate wheat evolution and domestication[J]. Science, 2017, 357(7): 93-97
- [ 14 ] Uauy C, Wulff B, Dubcovsky J. Combining traditional mutagenesis with new high-throughput sequencing and genome editing to reveal hidden variation in polyploid wheat[J]. Annual Review of Genetics, 2017, 51(1): 435-454
- [ 15 ] 闫智慧, 郭会君, 徐荣旗, 刘录祥. TILLING 技术的发展及其在不同植物中的应用[J]. 核农学报, 2014, 28(2): 224-233
- [ 16 ] Krasileva K V, Vasquez-Gross H A, Howell T, Bailey P, Paraiso F, Clissold L, Simmonds J, Ramirez-Gonzalez R H, Wang X, Borrill P. Uncovering hidden variation in polyploid wheat[J]. Proceeding of the National Academy of Science, 2017, 114(6): 913-921
- [ 17 ] 李明飞, 谢彦周, 刘录祥, 王超杰, 徐喜堂, 邹淑芳, 黄树伟, 贺小弟, 王成社. 叠氮化钠诱变普通小麦陕农 33 突变体库的构建和

- 初步评估[J]. 麦类作物学报, 2015, 35(1): 22-29
- [18] Slade A J, Knauf V C. TILLING moves beyond functional genomics into crop improvement[J]. Transgenic Research, 2005, 14(2): 109-115
- [19] Uauy C, Paraiso F, Colasuonno P, Tran R K, Tsai H, Berardi S, Comai L, Dubcovsky J. A modified TILLING approach to detect induced mutations in tetraploid and hexaploid wheat[J]. BMC Plant Biology, 2009, 9(1): 115-129
- [20] Cavanagh C R, Chao S, Wang S, Huang B E, Stephen S, Kiani S, Forrest K, Saintenac C, Brown-Guedira G L, Akhunova A, See D, Bai G, Pumphrey M, Tomar L, Wong D, Kong S, Reynolds M, da Silva M L, Bockelman H, Talbert L, Anderson J A, Dreisigacker S, Baenziger S, Carter A, Korzun V, Morrell P L, Dubcovsky J, Morell M K, Sorrells M E, Hayden M J, Akhunova E. Genome-wide comparative diversity uncovers multiple targets of selection for improvement in hexaploid wheat landraces and cultivars [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(5): 8057-8062
- [21] Wang S, Wong D, Forrest K, Allen A, Chao S, Huang B E, Maccaferri M, Salvi S, Milner S G, Cattivelli L, Mastrangelo A M, Whan A, Stephen S, Barker G, Wieseke R, Plieske J, Lillmo M, Mather D, Appels R, Dolferus R, Brown-Guedira G, Korol A, Akhunova A R, Feuillet C, Salse J, Morgante M, Pozniak C, Luo M C, Dvorak J, Morell M, Dubcovsky J, Ganal M, Tuberosa R, Lawley C, Mikoulitch I, Cavanagh C, Edwards K J, Hayden M, Akhunova E. Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90000 single nucleotide polymorphism array [J]. Plant Biotechnology Journal, 2014, 12(6): 787-796
- [22] Cui F, Zhang N, Fan X L, Zhang W, Zhao C H, Yang L J, Pan R Q, Chen M, Han J, Zhao X Q, Ji J, Tong Y P, Zhang H X, Jia J Z, Zhao G Y, Li J M. Utilization of a Wheat 660K SNP array-derived high-density genetic map for high-resolution mapping of a major QTL for kernel number[J]. Scientific Report, 2017, 7(1): 3788
- [23] 杜丽芬, 李明飞, 刘录祥, 王超杰, 刘洋, 许喜堂, 邹淑芳, 谢彦周, 王成社. 一个化学诱变的小麦斑点叶突变体的生理和遗传分析[J]. 作物学报, 2014, 46(6): 1020-1026
- [24] 季伟, 王立新, 孙辉, 王茅雁, 赵昌平. 小麦 SSR 分析体系的简化[J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(5): 907-908
- [25] 王立新, 常利芳, 李宏博, 季伟, 刘丽华, 赵昌平. 小麦区试品系 DUS 测试的分子标记[J]. 作物学报, 2010, 36(7): 1114-1125
- [26] 许绍斌, 陶玉芬, 杨昭庆, 褚嘉佑. 简单快速的 DNA 银染和胶保存方法[J]. 遗传, 2002, 24(3): 335-336
- [27] 王立新, 常利芳, 李宏博, 葛玲玲, 信爱华, 高世庆, 季伟, 孙辉, 赵昌平. 小麦种子纯度的分子标记检测方法[J]. 麦类作物学报, 2009, 29(1): 1-8
- [28] 许云峰, 蒋方山, 郭营, 李瑞军, 李斯深. EMS 诱导小麦品种烟农 15 突变体的鉴定和 EST-SSR 分析[J]. 核农学报, 2008, 22(4): 410-414
- [29] 王瑾. 小麦抗旱突变体的离体诱发鉴定及 SSR 分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2005: 6-20
- [30] 来德娥, 赵平, 王敏, 张从宇. <sup>60</sup>Co- $\gamma$  射线诱变小麦品质突变体的筛选及分子标记检测[J]. 种子, 2012, 31(5): 1001-1005

## Authenticity Identification of Mutants Induced by EMS in Wheat Using SSR Marker and SNP Chips

GENG Jiefei<sup>1</sup> WANG Na<sup>1</sup> JIANG Hongbao<sup>1</sup> LIU Luxiang<sup>2</sup> XU Xitang<sup>1</sup> WEI Hongsheng<sup>1</sup>  
WANG Chengshe<sup>1,\*</sup> XIE Yanzhou<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>State Key Laboratory of Crop Stress Biology in Aird Areas/College of Agronomy, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100; <sup>2</sup>Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100081)

**Abstract:** In order to identify the authenticity of EMS mutation, SSR markers and 90 K SNP chip were used to detect Wheat Strain H261 and its EMS mutants. SSR analysis showed that the difference of SSR markers between H261 and LF2010 or LF2099 was 0, but the difference of SSR markers between H261 and LF2100 was 10, and the polymorphism rate was 47.62%. SNP chip analysis showed that the differences between H261 and LF2010 and LF2099 were 66 and 12, accounting for 0.0809% and 0.0147% of the total SNPs, respectively. The homozygous differences between the two mutants and H261 were 0, while the differences between H261 and LF2100 were 2 846, accounting for 3.4879% of the total SNPs, and the homozygous differences between them were 784, accounting for the 0.9608%. The results showed the genetic background of LF2010 and LF2099 were highly consistent with that of genetic background of parents H261, and were the mutated offspring of H261 mutated by EMS, while LF2100 was a “pseudomutant” produced by natural outcrossing or mechanical hybridization. This study laid a theoretical foundation for the better use of wheat mutants in genetic improvement and functional genome research.

**Keywords:** common wheat, 90 K chip, SSR marker, mutants, authenticity identification