

# 温光敏两系杂交小麦杂交种纯度的表型和标记检测比较

李宏生<sup>1</sup> 李绍祥<sup>1</sup> 杨忠慧<sup>1</sup> 杨家李<sup>2</sup> 刘琨<sup>1</sup>  
熊世安<sup>3</sup> 李富乾<sup>1</sup> 郭辉<sup>1</sup> 杨木军<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>云南省农业科学院粮食作物研究所, 650205, 云南昆明; <sup>2</sup>云南农业大学农学院, 650201, 云南昆明; <sup>3</sup>镇雄县种子管理站, 657200, 云南昭通)

**摘要** 杂交种纯度鉴定是温光敏两系杂交小麦杂交种生产和应用的关键环节, 目前主要通过田间种植杂交种进行表型鉴定, 该方法耗时较长。以田间种植表型鉴定和 SSR 荧光标记分析 2 种方法同时对 2 个优良组合 K64S/20Y4-5 和 K64S/MR1238 的杂交种进行纯度鉴定, 比较 2 种方法对纯度的鉴定效果。结果表明, 2 个杂交种的田间种植表型鉴定纯度分别为 98.84% 和 97.93%; 从 8 对 SSR 荧光标记中筛选出 3 对标记 (*barc164*、*gwm161* 和 *gwm610*) 在双亲间存在多态性, 用 *barc164* 检测 2 个杂交种的纯度分别为 97.73% 和 97.21%, 略低于田间种植表型鉴定结果, 两者差异不明显。此外, SSR 荧光标记不仅能区分杂交种中混杂的温光敏不育系自交单株和父本单株, 还能准确鉴定父本不纯和制种中父本间“串粉”等导致的伪杂种。因此, SSR 荧光标记检测可代替田间种植表型鉴定, 可快速准确地鉴定温光敏两系杂交小麦杂交种的纯度。

**关键词** 小麦; 温光敏不育系; 杂交种; 纯度; SSR

杂种优势利用是进一步提高作物单产的有效途径之一<sup>[1-5]</sup>。小麦温光敏两系法具有无需保持系、恢复源广且制种程序简单的优点, 已成为我国小麦杂种优势利用的主要途径<sup>[6-9]</sup>。两系杂交小麦品种在示范推广中表现出丰产、节水、抗旱和耐瘠等优势, 尤其在中低产田, 增产可达 20% 以上<sup>[10-12]</sup>。对杂交种进行纯度鉴定是杂交种生产和应用中必不可少的环节<sup>[13]</sup>。常用的纯度鉴定方法是田间种植杂交种, 抽穗后对植株表型进行检测, 该方法鉴定时间长, 且准确性易受环境影响<sup>[14-16]</sup>。近年来, SSR 标记已成功应用于核心种质基因型分析<sup>[17-19]</sup>、小麦区域试验品系 DUS 测试<sup>[20-23]</sup>以及构建小麦 DNA 指纹图谱<sup>[24-26]</sup>等。基于荧光标记 SSR 的毛细管电泳检测法可得到目标 DNA 片段的准确大小, 具有稳定、准确和高效等特点, 已广泛用于大批量品种的鉴定和指纹图谱检测分析<sup>[27-29]</sup>。

为探索荧光标记 SSR 在温光敏两系杂交小麦杂交种纯度检测中应用的可行性, 本研究对 2 个温光敏两系组合的杂交种采用田间种植表型鉴定和荧光标记 SSR 进行了纯度分析, 比较 2 种方法

的准确性, 建立快速鉴定杂交种纯度的方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为小麦温光敏核不育系 K64S、恢复系 20Y4-5、组合 K64S/20Y4-5 和 K64S/MR1238 的杂交种, 均由云南省农业科学院粮食作物研究所提供; 恢复系 MR1238 由绵阳市农业科学研究院选育提供。不育系 K64S、恢复系 20Y4-5、组合 K64S/20Y4-5 和 K64S/MR1238 的杂交种均为春性品种, 在昆明均可常年种植并正常抽穗; 2 个杂交种均来自 1334m<sup>2</sup> (2 亩) 的小规模制种试验。K64S、20Y4-5 和 MR1238 在昆明常年种植的株高分别为 60~65cm、75~80cm 和 90~95cm, 杂交种的株高介于双亲之间。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 材料种植** 试验材料于 2021 年 5 月 21 日播种于云南省农业科学院昆明嵩明试验基地, 该地海拔 1920m, 春性小麦材料全年均可种植, 并可正常抽穗收获。行长 1.2m, 采用点播, 株行距 10cm×25cm, 每个杂交种播种 1500 粒, 每 20 行

作者简介: 李宏生, 主要从事小麦遗传育种研究, E-mail: lhsyaas@163.com; 李绍祥为共同第一作者, 研究方向为小麦遗传育种与品种推广, E-mail: lxxnky@163.com

杨木军为通信作者, 主要从事小麦遗传育种研究, E-mail: ynlxxm@163.com

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金项目 (32160473); 云南省财政部门预算重大专项—粮食安全种业支撑专项 (530000210000000013809)

收稿日期: 2022-03-21; 修回日期: 2022-04-06; 网络出版日期: 2023-03-30

种植 1 行父本和 1 行母本作为表型鉴定对照。

1.2.2 田间表型鉴定 因不育系与恢复系间株高差异明显，植株抽穗扬花后到成熟期，以株高结合穗部性状判断每个单株表型，与不育系相同记为“1”，与恢复系相同记为“2”，不同于双亲的记为“3”（即为杂交种）。

1.2.3 SSR 标记基因型鉴定 基因组 DNA 提取：杂交种及其双亲生长到 3 叶期，从 2 个组合所有杂交种行区各随机选 574 个单株（加上 2 个亲本共计 576 个单株，96 孔 PCR 仪刚好运行 6 次）挂

牌编号、取叶片，同时取对应不育系、恢复系植株叶片，用植物基因组 DNA 提取试剂盒[天根生化科技（北京）有限公司]提取待检测样品基因组 DNA；用 Nanodrop one 检测 DNA 浓度，用超纯水将 DNA 稀释为 10ng/μL 备用。取样的杂交种植株于抽穗后逐株记录表型纯度鉴定结果。

从行业标准《NY/T 3749-2020 普通小麦品种纯度鉴定 SSR 分子标记法》推荐的 10 对引物中选取 8 对引物，筛选父母本间有多态性的引物，引物信息见表 1。

表 1 SSR 标记引物序列  
Table 1 Primer sequences of SSR markers

引物名称 Primer name	染色体分布 Chromosome location	引物序列（5'-3'） The sequence of primer (5'-3')
<i>barc324</i>	3A	F: CCAATTCTGCCCATAGGTGA R: GAGGAAATAAGATTCAGCCAACTG
<i>barc164</i>	3B	F: TGCAAATAATCACCAGCGTAA R: CGCTTTCTAAACTGTTCTGGGATTCTAA
<i>cfa2028</i>	7A	F: TGGGTATGAAAGGCTGAAGG R: ATCGCGACTATTCAACGCTT
<i>cfa2123</i>	7A	F: CGGTCTTTGTTTGTCTAAACC R: ACCGGCCATCTATGATGAAG
<i>gwm155</i>	3A	F: CAATCATTTCCCCCTCCC R: AATCATTGGAAATCCATATGCC
<i>gwm161</i>	3D	F: GATCGAGTGATGGCAGATGG R: TGTGAATTACTTGGACGTGG
<i>gwm304</i>	5A	F: AGGAAACAGAAATATCGCGG R: AGGACTGTGGGGAATGAATG
<i>gwm610</i>	4A	F: AGGAAACAGAAATATCGCGG R: AGGACTGTGGGGAATGAATG

荧光 PCR 扩增体系 10μL，包括基因组 DNA 1μL、上、下游引物 0.3μL、2×Taq PCR Master Mix 5μL、超纯水补足至 10μL。反应程序为 95℃预变性 5min；95℃变性 30s，62℃~52℃退火 30s，72℃延伸 30s，运行 10 个循环；95℃变性 30s，52℃退火 30s，72℃延伸 30s，运行 25 个循环；最后 72℃延伸 20min。然后上机检测，取 3μL 荧光 PCR 扩增产物，用 2%琼脂糖凝胶电泳检测荧光 PCR 扩增条带是否正常，并参照标准 DNA Marker 将荧光 PCR 产物稀释至相同浓度，分别取每个稀释后的荧光 PCR 产物 1μL 加入 7μL 混有 4% Liz 500 内标的去离子甲酰胺，上 ABI 3730XL 测序仪进行毛细管电泳检测。

用峰图分析软件 GeneMarker 2.0 读取荧光 PCR 扩增片段大小。

1.3 纯度鉴定

通过表型鉴定和基因型鉴定分别计算杂交种

纯度。计算公式如下。

田间杂交种纯度（%）=表型为“3”的植株数/播种杂交种总株数×100；

分子标记杂交种纯度（%）=父母本杂合带植株数/检测杂交种总株数×100。

1.4 数据处理

采用 SPSS 21.0 对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 田间表型纯度鉴定

组合 K64S/MR1238 和 K64S/20Y4-5 的杂交种分别播种 1500 粒，各出苗 1467 和 1448 株。不育系 K64S 平均株高 62.3cm，变幅为 61.2~63.1cm；恢复系 MR1238 平均株高 88.6cm，变幅为 87.8~90.2cm；恢复系 20Y4-5 平均株高 75.6cm，变幅为 74.3~76.9cm；K64S/MR1238 杂交种平均株高 74.7cm，变幅为 62.5~88.9cm；K64S/20Y4-5 杂交

种平均株高 69.3cm，变幅为 62.4~74.4cm。2 个杂交种与其双亲间株高均差异明显，以株高差异结合穗部性状对 2 个杂交种的纯度进行表型鉴定，结果见表 2。

表 2 杂交种株高表型鉴定  
Table 2 Phenotyping identification in plant height of hybrids

杂交种 Hybrid	鉴定株数 Number of tested plants	表型“1”株数 Number of plants with phenotype “1”	表型“2”株数 Number of plants with phenotype “2”	表型“3”株数 Number of plants with phenotype “3”	纯度 Purity (%)
K64S/MR1238	1467	8	9	1450	98.84
K64S/20Y4-5	1448	23	7	1418	97.93

K64S/MR1238 的杂交种中伪杂交种 17 株，其中 8 株为不育系，9 株为恢复系 MR1238，纯度为 98.84%。

K64S/20Y4-5 的杂交种中伪杂交种 30 株，包括 23 株自交不育系和 7 株恢复系，纯度为 97.93%。

2.2 SSR 标记筛选

8 对引物中,3 对引物在恢复系 20Y4-5、MR1238 与不育系 K64S 间表现出多态性（表 3，图 1），可用于 2 个杂交种的纯度鉴定。其中 *barc164* 在 3 个亲本间分别扩增出 211、199 和 208bp 片段；*gwm161* 扩增出 192、195 和 174bp 片段；*gwm610* 在 2 个恢复系 20Y4-5 和 MR1238 上均分别扩增出 189、189bp 片段，在不育系 K64S 扩增出 193bp 片段，仍可用于纯度鉴定，但如果制种中 2 个组合相邻种植，该标记不能区分杂交种中混杂的恢复系来源。因此，3 对引物中 *barc164* 和 *gwm161* 的检测效果更好。

表 3 亲本间多态性引物筛选 Table 3 Polymorphic primer screening between parents								
亲本 Parent	<i>barc164</i>	<i>barc324</i>	<i>cfa2028</i>	<i>cfa2123</i>	<i>gwm155</i>	<i>gwm161</i>	<i>gwm304</i>	<i>gwm610</i>
20Y4-5	211	258	275	270	165	192	222	189
MR1238	199	264	277	270	147	195	222	189
K64S	208	264	277	270	147	174	222	193

2.3 杂交种单株基因型检测

根据上述 SSR 引物筛选结果，选择引物 *barc164* 对 2 个杂交种进行纯度检测，并与对应表型鉴定结果进行比较（表 4）。2 个组合杂交种随机取样的 574 株表型鉴定纯度分别为 98.43% 和 97.74%，对应的 SSR 标记检测纯度分别为 97.73% 和 97.21%，经卡方检验两种纯度间差异不显著， $\chi^2$  检测值分别为 0.55（ $P=0.51$ ）和 0.62（ $P=0.49$ ），说明分子标记鉴定与田间表型鉴定都可用于杂交种纯度鉴定，且两者间鉴定结果相近。574 株杂交种田间表型检测纯度分别为 98.43% 和 97.74%，全部 1467 株和 1448 株杂交种的表型鉴定纯度分别为

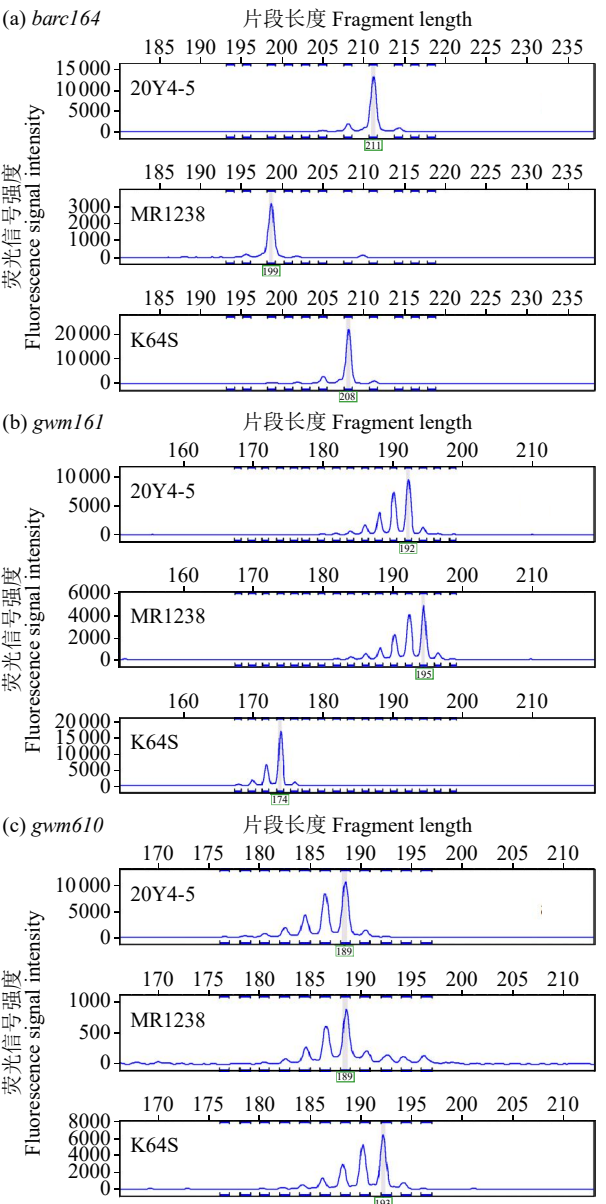


图 1 3 个亲本的多态性引物峰图  
Fig.1 The peak spectrum of polymorphic primers of three parents

98.84% 和 97.93%，经卡方检验两者间纯度差异不显著， $\chi^2$  检测值分别为 0.55（ $P=0.46$ ）和 0.07（ $P=0.79$ ），说明随机取样的 574 株杂交种的表型检测

表 4 574 株杂交种的表型和标记鉴定纯度比较  
Table 4 Comparison of the purity of 574 hybrids tested by phenotype and marker identification

组合 Combination	鉴定数 Number of tested plants	表型“1” 株数 Number of plants with phenotype “1”	表型“2” 株数 Number of plants with phenotype “2”	表型“3” 株数 Number of plants with phenotype “3”	表型纯度 Purity identified by phenotype (%)	母本基因 型数量 Number of female parent genotypes	父本基因 型数量 Number of male parent genotypes	杂合基因型 Heterozygous genotype	其他基因型 Number of other genotypes	标记纯度 Purity identified by the marker (%)
K64S/MR1238	574	4	5	565	98.43	4	5	561	4	97.73
K64S/20Y4-5	574	9	4	561	97.74	9	4	558	3	97.21

纯度与全部 1467 株和 1448 株杂交种的表型鉴定纯度相同。

标记检测发现，组合 K64S/MR1238 的杂交种中有 13 株伪杂种，包括 4 株不育系、5 株恢复系 MR1238 和 4 株其他基因型，其杂交种纯度为 97.73%（表 4）。4 株其他基因型伪杂种，其基因型为 224bp/208bp 杂合带型，MR1238 的 *barc164* 带型为 199bp（表 3），4 株伪杂种单株占总鉴定数（574 株）0.70%，可能来自 MR1238 中杂株。

组合 K64S/20Y4-5 的杂交种中有 16 株伪杂种，包括 9 株不育系、4 株恢复系 20Y4-5 和 3 株其他基因型，其杂交种纯度为 97.21%。3 株伪杂种基因型为 199bp/208bp 杂合带型，20Y4-5 的 *barc164* 带型为 211bp，MR1238 的 *barc164* 带型为 199bp，该组合的杂交种出现 199bp/208bp 杂合带型的原因可能是制种中与上一组合的父本 MR1238 发生“串粉”，因 2 个组合试制种时相邻种植，用吹风机辅助授粉时，少量 MR1238 花粉越过隔离布与邻田不育系 K64S 授粉，导致 K64S/20Y4-5 杂交种中出现 199bp/208bp 带型的杂交种。

3 讨论

温光敏两系法杂交种的纯度受恢复系纯度、不育系纯度和制种环境温光条件的影响。杂交种纯度直接影响杂种优势的表现，种子纯度每下降 1 个百分点可直接导致作物减产约 1%<sup>[30]</sup>，而且纯度不达标的杂交种不能进入市场销售。因此，杂交种在种子加工前必须进行纯度检测。

传统的杂交种田间种植表型纯度检测法，需在异地或异季耗时一个生长季节（3~4 个月），如果双亲与杂交种间表型差异较小，还会影响鉴定结果的准确度。SSR 荧光标记毛细管电泳技术能够检测 2bp 差异，分辨率较传统银染高<sup>[31-34]</sup>，本研究中也获得相同结果，引物 *cfa2028* 在父本 20Y4-5 和母本 K64S 间扩增出 275bp 和 277bp 片段，因此能精准

鉴定杂交种在该位点的来源。此外，本研究筛选出 3 个标记 *barc164*、*gwm161*、*gwm610* 可用于优势组合 K64S/MR1238 和 K64S/20Y4-5 的杂交种纯度检测，其中 *barc164* 和 *gwm161* 标记较好；不同杂交组合可能有不同的纯度检测分子标记，需另行筛选确定。

分子标记利用种子即可进行基因型鉴定，进行纯度估算。小麦温光敏两系杂交种分子标记检测纯度鲜有研究。为验证分子标记检测的适用性，本研究利用田间苗期取样，表型与基因型相互对应，从而使表型鉴定与标记鉴定为同一材料，降低因材料不同而产生的随机误差。

本研究中 2 个组合 K64S/MR1238 和 K64S/20Y4-5 杂交种的 SSR 标记检测纯度（97.73%和 97.21%）略低于田间表型鉴定纯度（98.84%和 97.93%），与匡猛等<sup>[35]</sup>和李倩等<sup>[36]</sup>在棉花和茄子杂交种的纯度检测结果一致，差异原因与 2 种方法对伪杂种的区分程度有关。本研究中伪杂种来自小麦温光敏不育系自交结实和父本的机械混杂或生物学混杂，SSR 荧光标记分析发现 K64S/20Y4-5 杂交种中有 3 株为母本 K64S 与邻田父本 MR1238 花粉“串粉”产生的杂交种，虽然正季种植时 2 个组合的杂交种株高相差约 5cm，但在本次夏播田间种植表型鉴定中未能区分出来，加之 2 个组合为同一母本，对表型鉴定有干扰，这也显示了分子标记检测纯度的优点。同一品种或组合，在异季、异地种植时其表型与正季种植相比有一定差异，进而影响纯度鉴定结果。

本研究同时用田间种植表型鉴定和 SSR 荧光标记 2 种方法对 2 个温光敏两系杂交小麦杂交种的纯度进行了测定，2 种方法的纯度鉴定结果在 2 个组合上都高度一致，无明显差异，证明 SSR 荧光标记不仅能准确检测小麦杂交种纯度，还能进一步鉴定伪杂种的来源，为制种中的防杂保纯提供参考依据，因此可以替代田间种植表型鉴定法。同时该检

测方法 7d 内即可获得纯度结果, 为后续种子加工、销售或新组合参加各种试验提供了充足时间。

在利用 SSR 荧光标记进行小麦杂交种纯度检测中, 检测样本大小无疑对结果的准确性有影响。本研究中用于标记分析的样本数约占田间种植总株数的 1/3 (574 株), 准确鉴定纯度所需最少样本数还需进一步研究确定。

## 4 结论

通过田间种植表型鉴定和标记基因型鉴定对 2 个小麦温光敏两系杂交种纯度进行鉴定, 发现分子标记鉴定不仅可区分杂交种中恢复系和不育系混杂, 还可以区分其他恢复系花粉“串粉”等造成的伪杂种, 且检测周期短, 可替代田间种植表型鉴定法。

### 参考文献

- [1] Zheng H, Wang R, Jiang Q, et al. Identification and functional analysis of a pollen fertility-associated gene *GhGLP4* of *Gossypium hirsutum* L.. Theoretical and Applied Genetics, 2021, 134(10): 1-11.
- [2] Yang W B, Qin Z L, Sun H, et al. Yield-related agronomic traits evaluation for hybrid wheat and relations of ethylene and polyamines biosynthesis to filling at the mid-grain filling stage. Journal of Integrative Agriculture, 2020, 19(10): 2407-2418.
- [3] Gupta P K, Balyan H S, Gahlaut V, et al. Hybrid wheat: past, present and future. Theoretical and Applied Genetics, 2019, 132: 2463-2483.
- [4] Murai K, Ohta H, Takenouchi Y, et al. Trials for hybrid seed production and estimation of wheat  $F_1$  hybrids produced by outcrossing using photoperiod-sensitive cytoplasmic male sterile (PCMS) system with elite lines. Journal of Agricultural and Crop Research, 2019, 7(7): 119-126.
- [5] Okada T, Jayasinghe J E, Eckermann P, et al. Effects of *Rht-B1* and *Ppd-D1* loci on pollinator traits in wheat. Theoretical and Applied Genetics, 2019, 132: 1965-1979.
- [6] 李罗江, 茹振刚, 高庆荣, 等. 小麦雄性不育系 BNS 及其杂种  $F_1$  的育性分析. 麦类作物学报, 2009, 29(4): 583-587.
- [7] 张建奎, 董静, 余国东, 等. 光照强度对温光敏细胞核雄性不育小麦育性的影响. 植物遗传资源学报, 2011, 12(2): 301-306.
- [8] 李绍祥, 顾坚, 田玉仙, 等. 云南杂交小麦制种技术研究进展. 种子, 2011, 30(7): 59-63.
- [9] 陶军, 李生荣, 周强, 等. 中国西南温光型两系杂交小麦研究进展. 中国农学通报, 2017, 33(32): 1-8.
- [10] 黄铁城. 杂种小麦研究进展. 北京: 北京农业大学出版社, 1990: 1-22.
- [11] 张胜全, 赵昌平. 春季限水灌溉对杂交小麦产量形成的影响研究. 中国作物学会学术年会, 2013.
- [12] Zhao Y S, Thorwarth P, Jiang Y, et al. Unlocking big data doubled the accuracy in predicting the grain yield in hybrid wheat. Science Advances, 2012, 7(24): 9106.
- [13] 刘军, 周晓慧, 庄勇. 茄子杂交品种种子纯度的 SSR 分子标记鉴定. 分子植物育种, 2013, 11(6): 790-794.
- [14] 王本勋, 刘玉春. 浅谈杂交水稻种子纯度田间小区种植鉴定. 种子, 2001(5): 60-61.
- [15] 张敏, 谈太明, 徐长城, 等. SSR 分子标记技术在茄子杂交种子纯度鉴定中的应用. 湖北农业科学, 2013, 52(8): 1959-1962.
- [16] 赖元洪. 杂交水稻种子真实性与纯度鉴定. 中国种业, 2015 (6): 19-21.
- [17] Liu S, Anderson J A. Marker assisted evaluation of fusarium head blight resistant wheat germplasm. Crop Science, 2003, 3: 760-766.
- [18] 张海萍, 常成, 游光霞, 等. 中国小麦微核心种质及地方品种籽粒休眠特性的分子标记鉴定. 作物学报, 2010, 36(10): 1649-1649.
- [19] 陈天青, 隋建枢, 张立异, 等. 贵州小麦育种核心种质的遗传多样性分析. 西南农业学报, 2015, 28(5): 1879-1887.
- [20] Noli E, Teriaca M S, Sanguinetti M C, et al. Utilization of SSR and AFLP markers for the assessment of distinctness in durum wheat. Molecular Breeding, 2008, 22(2): 301-313.
- [21] 张晗, 姚凤霞, 刘永杰, 等. EST-SSR 标记在冬小麦品种 DUS 测试中的应用. 麦类作物学报, 2010, 30(5): 801-806.
- [22] 韩凤龙, 李正玲, 胡琳, 等. 用于河南省小麦品种特异性和一致性鉴定的 SSR 分子标记研究. 中国农业科学, 2010, 43(18): 3698-3704.
- [23] 郑永胜, 张晗, 王雪梅, 等. 小麦 DUS 测试已知品种 DNA 指纹数据库构建及其应用. 植物遗传资源学报, 2019, 20(4): 845-853.
- [24] 李根英, Susanne D, Marilyn L W, 等. 小麦指纹图谱数据库的建立及 SSR 分子标记试剂盒的研发. 作物学报, 2006, 32 (12): 1771-1778.
- [25] Zhu Y, Hu J, Han R, et al. Fingerprinting and identification of closely related wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars using ISSR and fluorescence-labeled TP-M13-SSR markers. Australian Journal of Crop Science, 2011, 5(7): 846-850.
- [26] 李莉, 王俊峰, 颜廷进, 等. 基于 SSR 标记的山东省小麦 DNA 指纹图谱的构建. 植物遗传资源学报, 2013, 14(3): 537-541.
- [27] 郑永胜, 张晗, 王东建, 等. 基于荧光检测技术的小麦品种 SSR 鉴定体系的建立. 中国农业科学, 2014, 47(19): 3725-3735.
- [28] 王瑞, 张福耀, 程庆军, 等. 利用 SSR 荧光标记构建 20 个高粱品种指纹图谱. 作物学报, 2015, 41(4): 658-665.
- [29] 黄丹娟, 马建强, 马春雷, 等. 基于 SSR 荧光标记的 MCID 快速鉴定 13 个湖北茶树品种. 南方农业学报, 2018, 49(6): 1045-1052.
- [30] 赵欣欣, 于运国, 崔克艳. 玉米种子纯度室内检验方法的研究现状与应用展望. 种子科技, 2010, 28(1): 24-27.
- [31] 郝晨阳, 王兰芬, 贾继增, 等. SSR 荧光标记和银染技术的比较分析. 作物学报, 2005, 131(12): 144-149.
- [32] 易红梅, 王凤格, 赵久然, 等. 玉米品种 SSR 标记毛细管电泳荧光检测法与变性 PAGE 银染检测法的比较研究. 华北农学报, 2006, 21(5): 64-67.
- [33] 陈雅琼, 李凤霞, 李锡坤, 等. 烟草 SSR 荧光标记与毛细管电泳检测技术研究. 中国烟草科学, 2011(2): 72-76, 86.
- [34] 王燕龙, 单雷, 付春, 等. 不同 SSR 标记检测技术及其在花生栽培种遗传多样性分析中的应用. 植物遗传资源学报, 2014, 15(1): 96-105.
- [35] 匡猛, 杨伟华, 张玉翠, 等. 棉花杂交种纯度的 SSR 标记检测及其与田间表型鉴定的相关性. 作物学报, 2011, 37(12): 2299-2305.
- [36] 李倩, 汪端华, 杨建国. 两个茄子品种纯度 SSR 鉴定与田间检测分析. 分子植物育种, 2018, 16(1): 334-338.

## Comparison of Phenotype and Marker Detection in Seed Purity of Thermo-Photo Sensitive Two-Line Wheat Hybrids

Li Hongsheng<sup>1</sup>, Li Shaoxiang<sup>1</sup>, Yang Zhonghui<sup>1</sup>, Yang Jiali<sup>2</sup>,  
Liu Kun<sup>1</sup>, Xiong Shian<sup>3</sup>, Li Fuqian<sup>1</sup>, Guo Hui<sup>1</sup>, Yang Mujun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Food Crops, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205, Yunnan, China;

<sup>2</sup>College of Agriculture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan, China;

<sup>3</sup>Seed Management Station of Zhenxiong County, Zhaotong 657200, Yunnan, China)

**Abstract** The purity identification of hybrid seeds is one of key steps in the production and application of thermo-photo sensitive wheat hybrids. At present, seed purity is determined mainly by field phenotypic identification of planted hybrids in the field, which takes a long time. The purity of two elite combinations K64S/20Y4-5 and K64S/MR1238 were tested by phenotypic identification in field and SSR fluorescent marker screening. Meanwhile, the results of identification of two ways were compared. The results showed that the purity of two hybrids were 98.84% and 97.93% respectively through phenotypic identification in field. There were three pairs of primers (*barc164*, *gwm161* and *gwm610*) of eight pairs of primers showed polymorphism between parents. The purities of two hybrids were 97.73% and 97.21% using primer of *barc164*, respectively, slightly lower than those of phenotypic identification in field, but there was no significantly difference between two methods. In addition, SSR fluorescent marker could not only distinguish seeds including self-cross single plant of sterile line and mechanical mixture of male parent, but also accurately identify pseudo-hybrids caused by impure male parents and outcrossing with foreign pollens in hybrid seed production. Therefore, SSR fluorescent markers could be replaced phenotypic identification for quickly testing the purity of hybrids.

**Key words** Wheat; Thermo-photo sensitive genic male sterile line; Hybrid; Purity; SSR