



娄树宝,李风云,田国奎,等. 国际马铃薯中心引进资源及杂交后代晚疫病抗性鉴定与评价[J]. 黑龙江农业科学,2020(12):54-57.

# 国际马铃薯中心引进资源及杂交后代 晚疫病抗性鉴定与评价

娄树宝,李风云,田国奎,王海艳,王立春,王 辉

(黑龙江省农业科学院 克山分院/农业农村部马铃薯生物学与遗传育种重点实验室,黑龙江 齐齐哈尔 161005)

**摘要:**为扩大马铃薯育种遗传背景,丰富育种亲本,通过田间自然发病和人工接种鉴定两种方法,对 103 份从 CIP 引进的马铃薯资源进行晚疫病室内接种鉴定。结果表明:8 份材料表现高抗,12 份材料表现抗病。以 2 份抗病材料为亲本配制 5 个杂交组合,对 788 个  $F_1$  单株进行晚疫病抗性鉴定,结果显示抗晚疫病植株数占总株数的 59.65%,感晚疫病植株数占总株数的 40.35%。本试验筛选出的抗性资源可以作为抗病育种的重要亲本加以利用。

**关键词:**马铃薯;晚疫病;抗性;评价

马铃薯已超过玉米成为继水稻、小麦之后的世界第三大粮食作物<sup>[1]</sup>,在国民生产中起重要作用。马铃薯晚疫病是由致病疫霉(*Phytophthora infestans*)侵染引起的马铃薯生产上最重要的病害之一,一般年份造成产量损失 10%~30%,流行年份损失达 50%以上。目前对晚疫病的防控主要采用化学药剂,不仅增加生产成本,而且造成环境污染以及抗药性等问题。生产实践表明,选用抗病品种才是防治马铃薯晚疫病最经济有效的途径。随着晚疫病菌生理小种的日益复杂化,优势小种不断变化,品种抗性逐渐丧失,给马铃薯抗病品种选育和推广带来很大挑战<sup>[2]</sup>。然而,目前生产上的主栽品种亲本来源有限,导致遗传背景相对狭窄,抗病基因的种类和数量较少,抗性随着晚疫病生理小种的变化逐渐丧失,缩短了品种的使用年限<sup>[3]</sup>。为丰富育种亲本,黑龙江省农业科学院克山分院从国际马铃薯中心(CIP)引进了 103 份优异种质资源为试验材料,通过田间自然发病和人工接种鉴定方法,对引进资源进行晚疫病抗性评价,筛选出晚疫病抗性好的材料作为亲本配制杂交组合,对  $F_1$  进行晚疫病抗性鉴定,选出抗性较好,农艺性状和品质性状优良的组合后代,为马铃薯抗晚疫病优良品种选育提供材料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

国际马铃薯中心引进的 103 份马铃薯资源实生种子,5 个杂交组合(CIP388676.1×克新 23、CIP388676.1×尤金、395013.8×中薯 5 号、395013.8×早大白 395013.8×克新 32) $F_1$  共计 788 个单株,由黑龙江省农业科学院克山分院提供。

### 1.2 晚疫病田间调查

在田间首次发现晚疫病病斑后,每周调查晚疫病发生情况,计算病情指数<sup>[4]</sup>。

病情指数 =  $\frac{\sum(\text{各级病叶数} \times \text{相对病级数值})}{(\text{调查总叶数} \times 9)} \times 100$ 。

试验材料种植于黑龙江省农业科学院克山分院试验地,2016-2018 年连续 3 年进行田间晚疫病发生情况调查,统计各马铃薯品种(系)的病级,病情指数以 3 次调查的平均值计算。抗病性级别标准参照刘勋等的方法<sup>[5]</sup>。

### 1.3 晚疫病菌人工接种鉴定

采用田间分离的晚疫病菌株 KS09-7(生理小种 1.2.3.4.5.6.7.8.10.11)和 KS11-26(生理小种 3.4.6.7.8.11)混合接种。将晚疫病菌在 18℃ 黑暗培养 20 d,待菌丝布满培养皿,用无菌水反复冲洗,将洗下的游动孢子囊置于 4℃ 冰箱 2~3 h,用血球计数板将浓度调整到  $1 \times 10^5$  个·mL<sup>-1</sup>,待用。植株生长至现蕾阶段,采摘无

收稿日期:2020-09-10

基金项目:黑龙江省农业科学院青年基金(2019YYF017)。

第一作者:娄树宝(1981-),男,硕士,助理研究员,从事马铃薯遗传育种研究。E-mail:loushubao@163.com。

病斑、大小适中、叶面平整的叶片,背面朝上放在培养皿中,用移液枪吸取 20 μL 游动孢子悬浮液接种在叶片背面,每组马铃薯品种接种 4 片叶,重复 3 次。接种 5 d 后调查,测量病斑面积,连续统

计 3 d。根据马铃薯离体叶片的晚疫病抗性鉴定标准<sup>[6]</sup>(表 1)对鉴定的材料进行分级和统计分析。

表 1 马铃薯离体叶片的晚疫病抗性鉴定标准  
Table 1 Identification criteria for late blight resistance of potato leaves *in vitro*

抗性类型 Resistance type	病级 Disease grade	发病程度 Degree of morbidity
高抗 Highly resistant	1	病斑面积小于 3%或无症状
抗病 Resistant	2	病斑面积在 3%~10%,形成过敏性枯死斑,周围无褪绿晕圈
中抗 Moderately resistant	3	病斑面积在 10%~30%,病斑水浸状且周围有褪绿晕圈,病斑表面可见到白色菌丝体
感病 Susceptible	4	病斑面积在 30%~60%,病斑周围有明显的褪绿圈,并有明显的白色霉层
高感 Highly susceptible	5	病斑面积大于 60%,病斑表面有大量的白色霉状物出现

2 结果与分析

2.1 国际马铃薯中心引进资源晚疫病抗性鉴定

由表 2 可知,通过室内离体叶片接种对 103 份国际马铃薯中心引进资源进行抗病性鉴定,有 8 份材料病斑面积小于 3%或无症状,抗性水平为高抗,病级为 1 级;有 12 份材料病斑面积占比在 3%~10%,或仅出现过敏性坏死病斑,表现为抗病,病级为 2 级。

2.2 杂交 F<sub>1</sub> 离体叶片抗性鉴定

以高抗材料 388676.1 为亲本配制 2 个杂交组合 CIP388676.1×克新 23(234 个单株)和 CIP388676.1×尤金(127 个单株);以抗病材料 395013.8 为亲本配制 3 个杂交组合,分别为 395013.8×中薯 5 号(122 个单株)、395013.8×早大白(165 个单株)、395013.8×克新 32(140 个单株)。

由表 3 可知,5 个组合中高抗晚疫病植株数占总株数的 9.85%,抗病植株数占总株数的百分率为 20.26%,中抗晚疫病植株数占总株数的 29.54%,感病植株数占总株数的百分率为 22.29%,高感晚疫病植株数占总株数的 18.06%,抗晚疫病植株数占总株数的 59.65%,感晚疫病植株数占总株数的 40.35%。结果表明,5 个组合后代群体中表现抗病的均占 50%以上,偏向母本遗传,可以利用 388676.1 和 395013.8 两份材料作为母本改良感病品种,再结合田间农艺性状和品质性状,选育出高产抗病优

质的马铃薯品种(系)。

表 2 马铃薯种质资源抗性鉴定结果  
Table 2 Identification results of potato germplasm resources resistance

名称 Name	病斑面积占比 Proportion of lesion area/%	抗性类型 Resistance type	病级 Disease grade
388676.1	0.6	HR	1
396033.102	1.0	HR	1
393615.6	1.1	HR	1
390663.8	1.1	HR	1
395037.107	1.5	HR	1
393617.1	1.6	HR	1
395109.29	2.4	HR	1
393077.54	2.4	HR	1
395112.9	3.1	R	2
39902.52	3.3	R	2
391011.17	4.3	R	2
392633.54	4.4	R	2
395434.1	4.6	R	2
398208.704	4.6	R	2
398098.119	5.7	R	2
395013.8	5.9	R	2
304405.47	6.5	R	2
395196.4	6.5	R	2
396311.1	7.2	R	2
388611.22	8.1	R	2

表 3 F<sub>1</sub> 离体叶片抗性鉴定结果  
Table 3 Identification results of resistance of F<sub>1</sub> leaves *in vitro*

组合 Combination	F <sub>1</sub> 单株数 Number of F <sub>1</sub>	高抗 HR/%	抗病 R/%	中抗 MR/%	感病 S/%	高感 HS/%
CIP388676.1×克新 23	234	10.68	20.51	26.07	24.36	18.38
CIP388676.1×尤金	127	8.66	21.26	30.71	20.47	18.90
395013.8×中薯 5 号	122	8.20	18.03	30.33	24.59	18.85
395013.8×早大白	165	10.30	23.64	32.73	20.61	12.73
395013.8×克新 32	140	11.43	17.86	27.86	21.43	21.43
合计/平均	788	9.85	20.26	29.54	22.29	18.06

2.3 田间自然发病和离体叶片接种鉴定比较

由表 4 可知,田间自然发病和离体叶片接种两种鉴定方法在各组合之间有一定差异,在 5%水平上,4 个组合的两种鉴定方法有显著的差异。造成差异的原因可能为:①供试材料在田间具有广谱抗性;②供试材料生长环境不同,可能造成抗性水平上的差异;③离体叶片接种鉴定发病普遍严重,可能是离体鉴定发病条件更适合;④人为因

素有时也会影响鉴定结果。

离体叶片接种鉴定在室内,温湿度条件可控,能创造最适合晚疫病发病的条件,鉴定结果比较准确。但鉴定结果在不同生理小种之间也会存在差异,所以应该使用当地存在的生理小种或优势小种,多次重复接种,再与田间自然发病相结合,鉴定结果可能更准确可靠。

表 4 两种鉴定方法比较  
Table 4 Comparison of two identification methods

组合 Combination	F <sub>1</sub> 单株数 Number of F <sub>1</sub>	田间鉴定抗病株率 Disease resistance rate of field identification/%	离体鉴定抗病株率 Disease resistance rate of <i>in vitro</i> identification/%
CIP388676.1×克新 23 号	234	77.65 a	57.26 b
CIP388676.1×尤金	127	63.44 a	60.63 a
395013.8×中薯 5 号	122	66.28 a	56.56 b
395013.8×早大白	165	67.42 a	56.56 b
395013.8×克新 32 号	140	70.38 a	57.14 b
合计/平均	788	69.03 a	57.63 b

注:不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。  
Note: Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level.

3 结论与讨论

本研究从国际马铃薯中心引进资源中鉴定出 12 份抗病材料,利用其中两份材料作为母本配制杂交组合,对杂交后代进行晚疫病抗病性鉴定,表现抗病的个体所占比率较大,超过 50%,部分个体抗病性较高,表现超亲优势。本研究中筛选的抗性资源可以作为抗病育种的重要亲本加以利用,但含有的抗性基因类型和数目还不明确,需要利用分子标记等辅助手段进行检测,选育出多种抗性基因聚合的持久和广谱抗性品种。

田间自然发病鉴定受气候条件影响较大,鉴定结果在各年之间可能会有差异<sup>[7]</sup>,本研究连续 3 年对鉴定材料田间抗性进行调查,并且本地晚疫病常年发生,结果能够真实反映植株整株的抗病性。室内离体叶片接种的方法能够人为控制最适宜晚疫病发病的条件,鉴定结果比较准确,但是个别材料间也存在差异,可能是由于所使用的菌株不同所致。本研究调查的田间抗性高于室内,可能是由于整株侵染后,植株本身发生防御反应、产生系统获得性抗性,由于病原菌的侵入引起植

株防卫基因和抗病基因表达的结果<sup>[8]</sup>。

培育抗病品种是防控晚疫病最经济有效的手段,而抗病资源的筛选和利用则是抗病育种的基础和核心,国际马铃薯中心(CIP)具有丰富的种质资源,该中心基因库中保存的资源具有较强的抗逆性<sup>[9]</sup>,国际马铃薯中心引进的资源在我国得到广泛利用,不但促进了我国马铃薯产业的发展,还丰富了我国马铃薯育种亲本的遗传背景,使我国马铃薯育种工作取得很大进步,选育出一系列马铃薯品种。但是这些资源引种到本地也存在一些如生育期延长、匍匐茎长等缺点,还需要在长日照下加以驯化。

参考文献:

[1] 刘杰. 马铃薯种质资源的晚疫病抗性评价及转录组分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.

[2] 鲁绍凤, 杨艳丽, 胡先奇, 等. 云南省马铃薯主栽品种对晚疫病的抗性分析[J]. 云南农业大学学报, 2006, 21(5): 586-590.

[3] 金黎平, 屈冬玉, 谢开云, 等. 我国马铃薯种质资源和育种技术研究进展[J]. 种子, 2003(5): 98-100.

[4] 李文娟, Forbes G A, 谢开云. 马铃薯晚疫病发病程度田间观察记录标准的探讨[J]. 中国马铃薯, 2012(4): 238-246.

[5] 刘勋, 郑克邪, 张娇, 等. 马铃薯晚疫病抗性基因分子标记检测及抗性评价[J]. 植物遗传资源学报, 2019(3): 538-549.

[6] 娜仁, 张笑宇, 张之为, 等. 马铃薯不同品种(系)对晚疫病抗性鉴定[J]. 作物杂志, 2010(4): 59-62.

[7] 李爽, 熊樱, Ralf M, 等. 转录因子 6 和 1 在拟南芥胁迫记忆中的表达模式[J]. 植物研究, 2019, 39(5): 752-759.

[8] 张楷露. 引进马铃薯种质资源材料的综合分析评价[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2018.

[9] 胡诚. 马铃薯晚疫病水平抗病材料筛选[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003.

## Identification and Evaluation on Late Blight Resistance of Introduced Resources and Hybrid Progenies from International Potato Center

LOU Shu-bao, LI Feng-yun, TIAN Guo-kui, WANG Hai-yan, WANG Li-chun, WANG Hui

(Keshan Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Potato Biology and Genetics, Qiqihar 161005, China)

**Abstract:** In order to expand the genetic background of potato breeding and enrich breeding parents, 103 potato resources imported from CIP were inoculated and identified by natural disease and artificial inoculation. The results showed that 8 materials showed high resistance and 12 materials showed disease resistance. Five cross combinations were prepared with two resistant materials as parents, and the resistance of F<sub>1</sub> 788 individuals to late blight was identified, the results showed that the number of plants resistant to late blight accounted for 59.65% and 40.35% of the total plants. The resistant resources screened in this experiment could be used as important parents in disease resistance breeding.

**Keywords:** potato; late blight; resistance; evaluation

### 协办单位

黑龙江省农业科学院水稻研究所  
黑龙江省农业科学院克山分院  
黑龙江省农业科学院黑河分院  
黑龙江省农业科学院绥化分院  
黑龙江省农业科学院佳木斯分院  
黑龙江省农业科学院牡丹江分院  
内蒙古丰垦种业有限责任公司