

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2018)05-0257-09

遗传育种

马铃薯种质资源块茎晚疫病抗性鉴定

敖翔¹, 闵凡祥², 白雅梅³, 吕文河^{1*}

(1. 东北农业大学农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086;
3. 东北农业大学资源与环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要: 选育抗马铃薯晚疫病品种是防治晚疫病最为经济有效的方法。研究的目的是对利用国外种质资源创造的农艺性状优良且产量较高的马铃薯高世代无性系进行块茎晚疫病抗性评价。试验以‘荷兰15号’为感病对照, ‘克新18号’为抗性对照, 用5个不同菌株对13个马铃薯高世代无性系进行块茎晚疫病抗性评价。13个高世代无性系中, H17-54374受侵染面积最小(4.97%), H17-54071受侵染面积最大(75.15%)。5个菌株中, “超级毒力小种”MZ14-20致病力高于其他菌株, 平均侵染面积为49.02%。筛选出晚疫病高抗材料1份(H17-54374), 中抗材料2份(H17-44056和H17-54280)。选出的无性系可进一步进行田间试验, 评价其田间块茎晚疫病抗性和块茎产量的表现。

关键词: 马铃薯; 晚疫病; 块茎抗性

Identification of Tuber Late Blight Resistance in Potato Germplasm Resources

AO Xiang¹, MIN Fanxiang², BAI Yamei³, LU Wenhe^{1*}

(1. College of Agronomy, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China;

2. Virus-free Seedling Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150086, China;

3. College of Resources and Environmental Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

Abstract: Breeding potato varieties for late blight resistance is the most economical and effective way to control late blight. The purpose of this research was to evaluate the resistance to tuber late blight of advanced potato clones with good agronomic characters and high yield created using foreign germplasm resources. Five different isolates were used to evaluate the resistance to tuber late blight of 13 advanced clones of potato with 'Helan 15' as susceptible control and 'Kexin 18' as resistant control. Among the 13 tested clones, H17-54374 had the smallest infection area (4.97%) and H17-54071 had the largest infection area (75.15%). The pathogenicity of the super virulent isolate MZ14-20 was higher than that of other ones, with average infection area being 49.02%. One resistant clone (H17-54374) and two medium resistant clones (H17-44056 and H17-54280) were screened out for tuber late blight resistance. The selected clones could be further tested in the field to evaluate tuber late blight resistance and tuber yield.

Key Words: potato; late blight; tuber resistance

收稿日期: 2018-04-28

基金项目: 黑龙江省科技攻关计划项目(GC12B105); 黑龙江省科技计划重大项目(GA15B102-03); 黑龙江省马铃薯现代农业产业技术协同创新体系(HNWJZTX201701)。

作者简介: 敖翔(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向为马铃薯遗传育种。

*通信作者(Corresponding author): 吕文河, 教授, 研究方向为马铃薯遗传育种及栽培, E-mail: luwenhe60@163.com。

由致病疫霉菌(*Phytophthora infestans*)引起的晚疫病是马铃薯生产中一种极具毁灭性的病害。其最初起源于墨西哥, 首次发现在德国^[1]。1845年, 爱尔兰发生了恶名昭彰的“爱尔兰大饥荒”, 数年间病害造成了爱尔兰数百万人的死亡和迁移, 此次饥荒的罪魁祸首就是致病疫霉^[2]。随后, 晚疫病迅速传遍整个欧洲, 并在世界其他马铃薯主产区开始发病和流行, 对全球马铃薯的产量造成了严重的损失^[3]。2012年, 中国大面积爆发马铃薯晚疫病, 北方地区全面流行, 南方地区偏重流行, 全国发病面积达265.2万hm², 造成产量损失近300万t^[4]。

晚疫病可发生于马铃薯整株, 不仅可以侵染植株地上部分, 还可使块茎发病。马铃薯抗晚疫病的鉴定方法有田间抗性鉴定和实验室抗性鉴定。在实验室抗性鉴定中, 目前多数学者利用离体叶片法来筛选抗病品种或材料^[5-7]。但有时马铃薯地上植株与地下块茎对晚疫病的抗病性表现并不一致^[8-11]。马铃薯晚疫病抗病性可分为植株抗性和块茎抗性。植株抗性表现为地上植株有较强抗病性, 但地下块茎却表现为感病, 易腐烂; 块茎抗性表现为地上植株容易发病, 而地下块茎则抗病, 不易受病菌侵染。长久以来, 育种家们将育种目标主要放在对马铃薯地上叶片抗性的筛选鉴定上, 而对地下块茎抗性的研究却较少。感病块茎无论在田间还是贮藏期, 一旦被侵染极易腐烂, 就会造成严重损失, 若作为种薯播种, 还会成为晚疫病初侵染源进一步扩散^[12]。本研究的目的是通过室内块茎抗性鉴定方法, 对利用国外种质资源创造的农艺性状表现优良且产量较高的马铃薯高世代无性系进行块茎晚疫病抗性评价, 进而筛选块茎抗晚疫病的材料, 以期马铃薯抗晚疫病育种提供新材料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株

块茎晚疫病抗性鉴定所用菌株为KS12-20(1.2.3.4.5.6.7.8.9.10.11)、SH13-7(1.3.4.7.10.11)、MZ14-20(1.2.3.4.5.6.7.8.9.10.11)、MZ15-30(1.3.4.7.9.10)和

NH12-9(1.4.6.7)共5个。菌株选择依据实验室前期试验结果, 前4个为2012~2015年黑龙江省当年的优势小种菌株, 第5个为毒力基因数目相对较少的菌株, 其中KS12-20和MZ14-20为“超级毒力小种”。

1.1.2 供试马铃薯种质资源

用于块茎晚疫病抗性鉴定的马铃薯材料共15份, 包括1个感病对照品种(‘荷兰15号’), 1个抗病对照品种(‘克新18号’), 13个马铃薯高世代无性系(H17-44049、H17-44056、H17-44057、H17-44107、H17-44114、H17-44121、H17-54374、H17-54316、H17-54071、H17-54113、H17-54229、H17-54280和K17-193)。在这13个马铃薯高世代无性系中, 除H17-54229(‘中薯3号’×‘Norland’)外, 其他无性系中至少一个亲本是荷兰品种或利用荷兰种质资源选育的品种或无性系。无性系H17-54229父本‘Norland’是一个美国品种。高世代无性系选择的标准是农艺性状表现优良, 产量特别是商品薯(≥75g)产量高。

1.2 试验方法

1.2.1 接种前准备

用于接种的马铃薯块茎为收获后存贮在8~9℃下2个月的无病无伤块茎。将块茎清洗干净, 用1%次氯酸钠溶液浸泡30min进行表面消毒, 再用灭菌水清洗3遍, 将残留次氯酸钠溶液消除。每个块茎横向切下2片厚11mm的块茎片, 用灭过菌的滤纸吸干表面水分, 将薄片放在有滤纸的培养皿中, 置于20℃光周期培养箱(16h光照, 8h黑暗)中愈伤24h^[13]。

1.2.2 接种培养

孢子悬浮液制备: 将待测菌株预培养10d, 在培养皿中加入适量灭菌水, 用涂布棒将孢子囊充分洗出, 过滤吸出液体即为孢子囊悬浮液, 4℃环境下2~3h待其释放游动孢子即为游动孢子悬浮液, 利用血球计数板将其浓度调至 5×10^4 个/mL备用。

将用于接种的晚疫病菌株制成孢子悬浮液, 取1滴滴在块茎片的中心, 置于保湿保鲜盒中, 18℃光周期培养箱高湿黑暗培养7d后开始调查。每个品种8次重复(4块茎×2片/块茎)。设置阴性对照, 将同等体积灭菌水滴在薯片中心, 放置在

相同环境中。

1.2.3 抗性评分

将单片块茎翻过来进行评分。将薯片下表面切掉薄薄一层, 以除去被空气氧化的褐色, 进而调

查统计组织发病情况。使用 DPS 7.31 软件对数据进行方差分析, 最后用度量感染面积的方法来确定抗病等级, 抗病等级参照唐洪明^[14]和王腾^[15]的标准(表 1)。

表 1 晚疫病菌块茎抗性鉴定标准
Table 1 Standard for identification of tuber resistance to *Phytophthora infestans*

抗病等级 Resistance grade	病斑症状 Disease symptom	孢子症状 Spore symptom	抗性类型 Resistance type
0 级 Grade 0	无任何病斑	无孢子产生	高抗
1 级 Grade 1	病斑面积小于 5%		
2 级 Grade 2	病斑面积 5%~10%		
3 级 Grade 3	病斑面积 10%~25%	有孢子产生	中抗
4 级 Grade 4	病斑面积 25%~50%		感病
5 级 Grade 5	病斑面积大于 50%		高感

2 结果与分析

2.1 不同晚疫病菌株对马铃薯块茎抗性鉴定

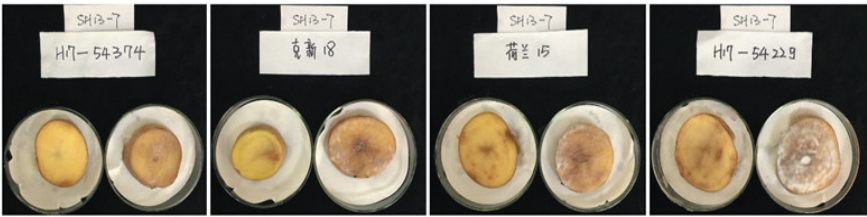
利用 5 个菌株对 13 个马铃薯无性系及 2 个马铃薯品种(对照)进行抗性鉴定, 所有阴性对照均未发病, 说明培养环境没有晚疫病菌和其他对试

验结果产生影响的菌。7 d 后对接种块茎进行侵染面积调查, 结果显示不同菌株对不同马铃薯种质资源侵染状况均不同, 且差异明显(表 2)。综合来说, H17-54374 侵染面积最小(4.97%), H17-54071 侵染面积最大(75.15%)。图 1 为 SH13-7 菌株对部分马铃薯块茎侵染症状。

表 2 不同晚疫病菌株对马铃薯块茎抗性鉴定结果

Table 2 Identification of late blight resistance of potato tubers inoculated with different *Phytophthora infestans* isolates

品种(无性系) Variety (clone)	侵染面积(%) Infested area					平均侵染面积(%) Average infested area
	KS12-20	SH13-7	MZ14-20	MZ15-30	NH12-9	
H17-54374	8.25	3.33	7.25	5.00	1.00	4.97
H17-44056	3.50	21.25	12.50	1.25	10.25	9.75
克新 18 号 Kexin 18	26.25	17.50	20.63	21.25	18.75	20.88
H17-54280	30.00	33.75	19.38	20.42	16.25	23.96
H17-44121	31.25	40.00	25.63	32.29	15.00	28.83
H17-44057	25.00	28.83	38.13	35.00	41.25	33.64
H17-44107	40.83	32.25	56.88	48.33	16.25	38.91
H17-44049	68.75	24.17	61.13	32.50	35.00	44.31
H17-54113	23.75	35.83	75.00	53.75	36.25	44.92
K17-193	38.75	55.00	25.63	53.75	52.50	45.13
H17-54316	60.00	33.33	84.38	40.63	73.75	58.42
荷兰 15 号 Helan 15	63.75	72.50	64.38	69.00	53.75	64.68
H17-44114	64.17	67.92	90.63	52.50	71.67	69.38
H17-54229	73.75	86.38	84.38	65.00	60.00	73.90
H17-54071	90.00	80.63	69.38	74.50	61.25	75.15
平均侵染面积(%) Average infested area	43.20	42.18	49.02	40.34	37.53	42.46



每个处理右面为试验薯片正面, 左面为削过薄片的试验薯片反面。试验侵染面积观测自薯片反面。

Right side for each treatment is the front side of test potato chips; left side is the opposite side with a thin slice removed. Infected area is measured on the opposite side.

图 1 部分马铃薯薯片接种菌株SH13-7的症状
Figure 1 Symptoms of some potato chips inoculated with isolate SH13-7

表 3 品种和菌株对晚疫病菌块茎侵染面积影响方差分析
Table 3 Analysis of variance for effects of potato variety and isolate on infected area of potato chips inoculated with *Phytophthora infestans*

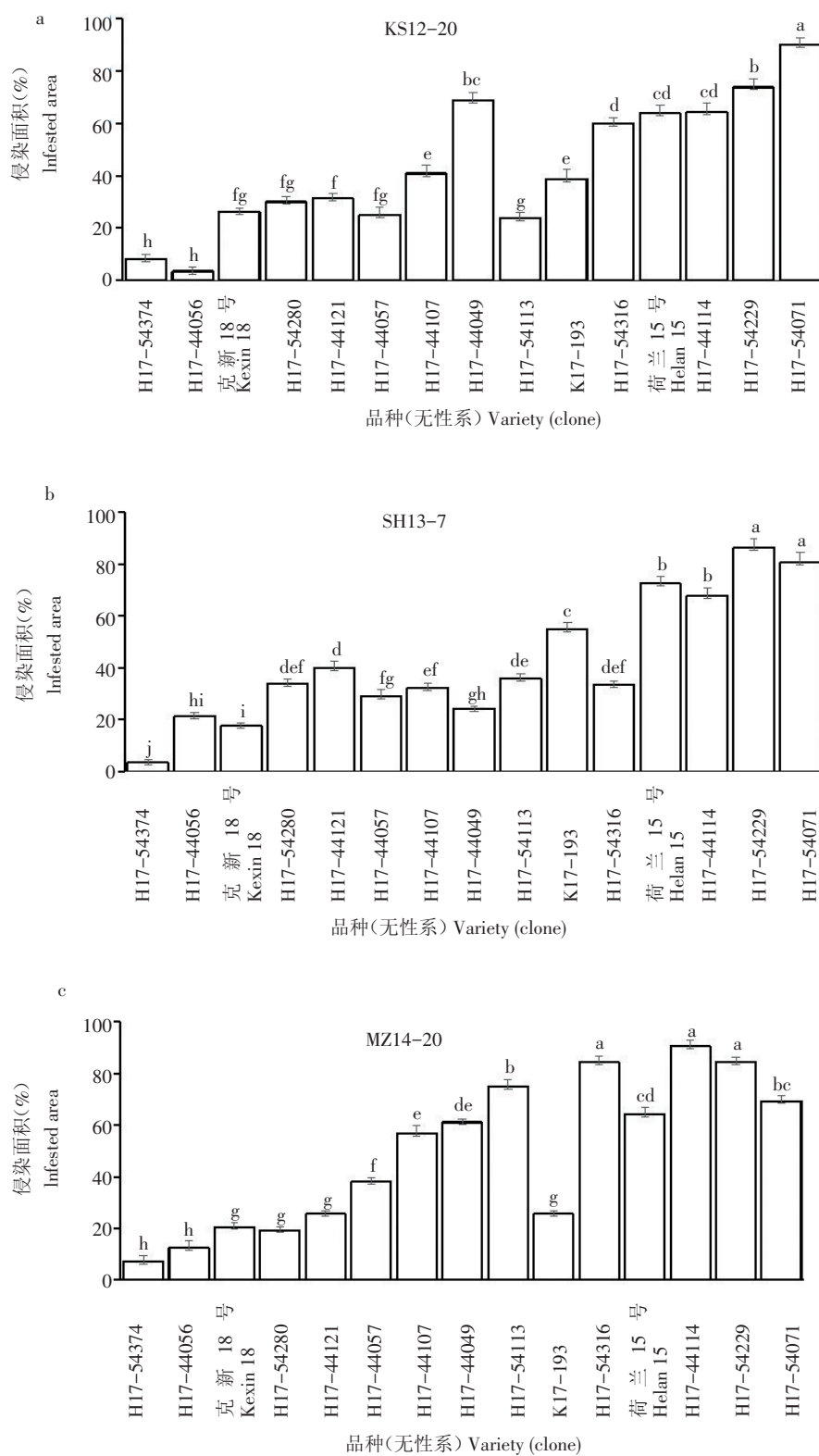
变异来源 Source	平方和 SS	自由度 DF	均方 MS	F 值 F value
品种 Variety	284 264.8	14	20 304.6	510.4**
菌株 Isolate	8 696.2	4	2 174.1	54.6**
品种 × 菌株 Variety × Isolate	68 447.4	56	1 222.3	30.7**
误差 Error	20 885.7	525	398.782 3	
总变异 Total	382 294.1	599		

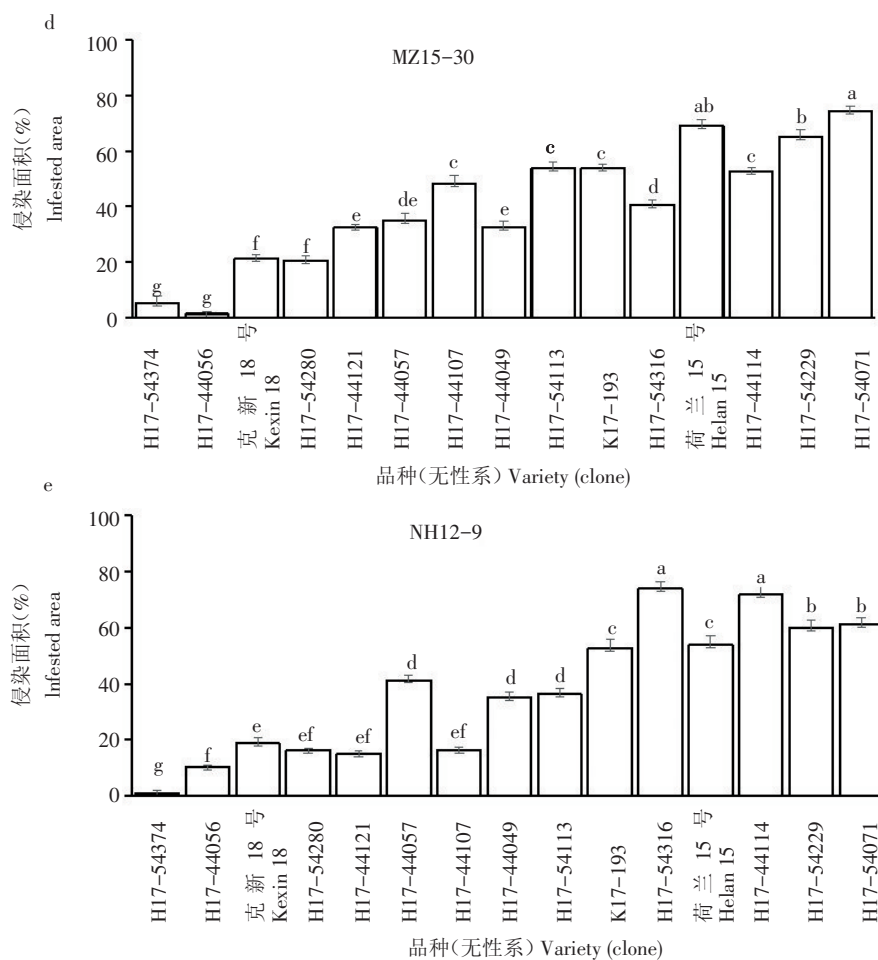
注: **表示在0.01水平显著。
Note: ** indicates significance at 0.01 level of probability.

抗性鉴定结果方差分析显示, 品种间、菌株间、品种与菌株间的互作效应均极显著(表3), 说明块茎侵染面积情况受薯块品种、侵染菌株以及薯块品种与侵染菌株互作效应影响。

用菌株 KS12-20 对块茎进行抗性鉴定, 块茎侵染面积为 3.50%~90.00%, 其中 H17-54374、H17-44056、H17-54113 和 H17-44057 受侵染面积低于抗病对照‘克新 18 号’, 但只有 H17-54374 和 H17-44056 与抗病对照差异显著; H17-54071、H17-54229、H17-44049 和 H17-44114 受侵染面积高于感病对照‘荷兰 15 号’, 但只有 H17-54071 和 H17-54229 与‘荷兰 15 号’差异显著(图 2a)。用菌株 SH13-7 对块茎进行抗性鉴定, 块茎侵染面积为 3.33%~86.38%, 只有 H17-54374 受侵染面积低于

抗病对照, 并差异显著; H17-54229 和 H17-54071 受侵染面积高于感病对照, 且差异显著(图 2b)。用菌株 MZ14-20 对块茎进行抗性鉴定, 块茎侵染面积为 7.25%~90.63%, 其中 H17-54374、H17-44056 和 H17-54280 受侵染面积低于抗病对照, 但只有 H17-54374 和 H17-44056 与抗病对照差异显著; H17-44114、H17-54316、H17-54229、H17-54113 和 H17-54071 受侵染面积高于感病对照, 其中除 H17-54071 外均与‘荷兰 15 号’差异显著(图 2c)。用菌株 MZ15-30 对块茎进行抗性鉴定, 块茎侵染面积为 1.25%~74.50%, H17-44056、H17-54374 和 H17-54280 受侵染面积低于抗病对照, 但只有 H17-44056 和 H17-54374 与抗病对照差异显著; H17-54071 受侵染面积高于感病对照,





柱形图上方相同字母表示差异不显著(Duncan's法, $P = 0.05$), 误差线采用标准误差数据。下同。

Treatments with the same letter(s) indicate no significance at 0.05 level of probability as tested using Duncan's multiple range test method. Error bar is standard error. The same below.

图2 不同菌株对马铃薯块茎的侵染面积

Figure 2 Infested area of potato tubers inoculated with different isolates

但差异不显著(图2d)。用菌株NH12-9对块茎进行抗性鉴定, 块茎侵染面积为1.00%~73.75%, 其中H17-54374、H17-44056、H17-44121、H17-44107和H17-44280受侵染面积低于抗病对照, 但只有H17-54374和H17-44056与抗病对照差异显著; H17-54316、H17-44114、H17-54071和H17-54229受侵染面积高于感病对照, 且均与‘荷兰15号’差异显著(图2e)。虽然品种和菌株互作效应极显著, 但仔细考察图2中的数据可发现, 不同品种对被测株系反应总的趋势还是一致的, 特别是无性系H17-54374和H17-44056对接种5

个株系的反应均较抗病。

5个菌株中, MZ14-20和KS12-20致病力最强, 但KS12-20和SH13-7差异不显著。NH12-9致病力最弱(图3a)。13个无性系间, H17-54374和H17-44056受侵染面积低于抗病对照, 且与其差异显著; H17-54071、H17-54229和H17-44114受侵染面积高于感病对照, 且与其差异显著(图3b)。

2.2 马铃薯种质资源的抗性类型划分

对13份马铃薯高世代无性系进行薯片抗性鉴定, 未发现0级材料, 发现1级材料1份、2级材料1份、3级材料1份、4级材料6份、5级材料4

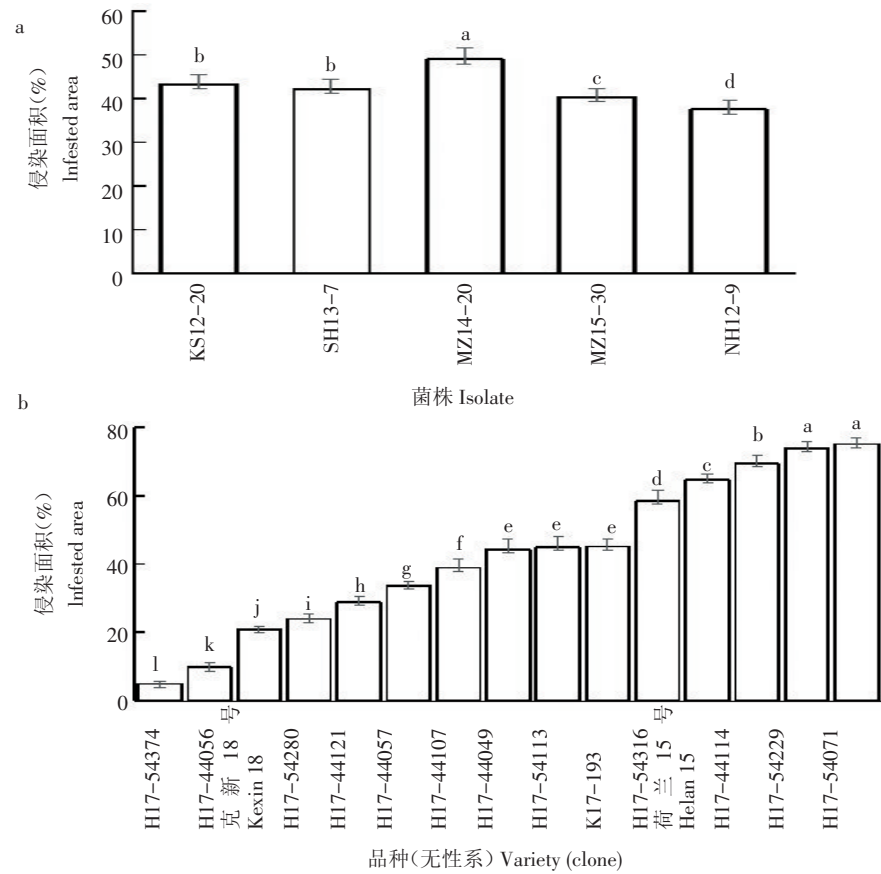


图3 不同菌株和不同品种(无性系)的平均侵染面积

Figure 3 Average infested area of different isolates and different varieties (clones)

表4 马铃薯种质资源的抗性类型划分

Table 4 Classification of resistance type of potato germplasm resources

品种(无性系) Variety (clone)	抗病等级 Disease resistance grade	抗性类型 Disease resistance type
H17-54374	1级	高抗
H17-44056	2级	中抗
克新 18 号 Kexin 18	3级	中抗
H17-54280	3级	中抗
H17-44121	4级	感病
H17-44057	4级	感病
H17-44107	4级	感病
H17-44049	4级	感病
H17-54113	4级	感病
K17-193	4级	感病
H17-54316	5级	高感
荷兰 15 号 Helan 15	5级	高感
H17-44114	5级	高感
H17-54229	5级	高感
H17-54071	5级	高感

份(表4)。其中抗病对照品种‘克新18号’抗病等级为3级, 感病对照品种‘荷兰15号’抗病等级为5级。对照抗性类型进行划分, 发现高抗材料1份(H17-54374), 中抗材料2份(H17-44056和H17-54280), 抗性材料占所有无性系的23.08%; 感病材料6份(H17-44121、H17-44057、H17-44107、H17-44049、H17-54113和K17-193), 占所有无性系的46.15%; 高感材料4份(H17-54316、H17-44114、H17-54229和H17-54071), 占所有无性系的30.77%。

3 讨论

培育抗晚疫病品种是防治晚疫病最经济有效的方法, 而筛选马铃薯种质资源是培育抗晚疫病品种的关键步骤。目前多数抗晚疫病种质资源筛选的研究均采取田间自然抗性或者室内离体叶片的方法进行鉴定, 对块茎抗性鉴定的报道较少。由于受不同基因控制, 有时马铃薯地上植株与地下块茎对晚疫病的抗病性经常表现不一致^[16], 如果马铃薯叶片对晚疫病表现抗性不一定就说明块茎也表现抗性。地下块茎是马铃薯的主要经济产量, 在植株叶片抗病的前提下, 利用块茎抗性鉴定方法来筛选种质资源更为直接、可靠。Dorrance和Inglis^[13]利用田间整薯抗性鉴定、室内整薯块茎鉴定和室内块茎薄片鉴定3种方法对不同马铃薯品种进行了抗性鉴定。有些学者利用室内块茎薄片鉴定方法鉴定块茎的抗病性, 部分原因是该方法可以忽视掉薯皮对致病疫霉的抗性活动, 这样可以更清晰的明确薯块抗性^[17,18]。

本研究采用的5个菌株中有4个为4年的优势小种, 且2年的优势小种为超级毒力小种, 另, 也包括了含有致病基因最少的小种。MZ14-20和KS12-20均是超级毒力小种, 两者的致病力均较强, 但MZ14-20致病力显著高于KS12-20的致病力, 说明不同的遗传背景可能会影响病原菌的致病力, 具体原因需进一步研究, 所以菌株的选择多样性会对抗性鉴定结果产生一定影响。

荷兰是马铃薯育种大国, 亦是种薯出口大国。荷兰马铃薯块茎均匀、芽眼浅, 多为椭圆形、卵圆形。例如‘Favorita’, 具有高产、优质等特点,

但抗病性, 如晚疫病抗性较差。本研究试验材料除一个无性系外, 其余材料双亲中至少有1个是荷兰马铃薯品种或用荷兰马铃薯种质资源选出的无性系, 但并没有对其块茎进行晚疫病抗性鉴定。本研究对2个马铃薯品种(‘克新18号’和‘荷兰15号’)和13个马铃薯高世代无性系进行块茎抗性鉴定, 其中2个马铃薯品种的鉴定结果与王腾^[15]的报道结果一致, 从13个马铃薯高世代无性系筛选出了3个作为抗晚疫病种质资源进行进一步的育种工作, 同时为挖掘新的抗晚疫病基因研究提供原材料。

[参 考 文 献]

- [1] Goss E M, Tabima J F, Cooke D E, *et al.* The Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* originated in central Mexico rather than the Andes [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(24): 8791-8796.
- [2] Bourke P M A. Emergence of potato blight, 1843-46 [J]. *Nature*, 1964, 203(4947): 805-808.
- [3] Bourke P M A. 'The visitation of god?' The potato and the great Irish famine [J]. *Irish Economic and Social History*, 1993, 47(2): 230.
- [4] 黄冲, 刘万才. 近几年我国马铃薯晚疫病流行特点分析与监测建议 [J]. *植物保护*, 2016, 42(5): 142-147.
- [5] 韩彦卿. 马铃薯种质资源对晚疫病菌的抗性评价及致病疫霉SSR引物的开发 [D]. 保定: 河北农业大学, 2010.
- [6] 娄树宝, 李庆全, 田国奎, 等. 马铃薯种质资源晚疫病抗性鉴定与评价 [J]. *黑龙江农业科学*, 2012(12): 11-14.
- [7] 马红梅. 西北地区部分马铃薯主栽品种晚疫病抗性鉴定和抗病基因组成分析 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- [8] Davila E. Late blight infection of potato tubers [J]. *American Potato Journal*, 1964, 41(4): 103-112.
- [9] Inglis D A, Johnson D A, Legard D E, *et al.* Relative resistances of potato clones in response to new and old populations of *Phytophthora infestans* [J]. *Plant Disease*, 1996, 80(5): 575-578.
- [10] Thurston H D, Plaisted R L, Brodie B B, *et al.* Elba: A late maturing, blight resistant potato variety [J]. *American Potato Journal*, 1985, 62(12): 653-656.
- [11] Toxopeus H J. Some notes on the relations between field resistance to

- Phytophthora infestans* in leaves and tubers and ripening time in *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* [J]. *Euphytica*, 1958, 7(2): 123-130.
- [12] 王鹏, 李芳弟, 郭天顺, 等. 马铃薯品种(系)晚疫病抗性鉴定 [J]. 中国马铃薯, 2014, 28(5): 264-269.
- [13] Dorrance A E, Inglis D A. Assessment of laboratory methods for evaluating potato tubers for resistance to late blight [J]. *Plant Disease*, 1998, 82(4): 442-446.
- [14] 唐洪明. 马铃薯育种, 第二讲, 马铃薯抗晚疫病育种 [J]. 中国马铃薯, 1987, 1(1): 55-60.
- [15] 王腾. 黑龙江省马铃薯晚疫病菌群体结构研究及块茎抗病性鉴定 [D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2015.
- [16] 李先平, 何云昆, 赵志坚, 等. 马铃薯抗晚疫病育种研究进展 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15(5): 290-295.
- [17] Swiezynski K M, Zimnoch-Guzowska E. Breeding potato cultivars with tubers resistant to *Phytophthora infestans* [J]. *Potato Research*, 2001, 44(1): 97-117.
- [18] Darsow U. Sites of entry of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary into potato tubers in assessment of tuber blight resistance [J]. *Potato Research*, 2004, 47(3-4): 175-185.

拥有更好收获的关键小密码

AGROLEX 新加坡利农喷雾器

原装进口,
特别配有除草剂专用喷头,
扇形喷施, 避免漂移,
除草效果好, 更安全。
同时配备杀虫、杀菌专业喷头,
喷雾细致均匀、雾化好。
节水省药, 科学高效。
病虫害防治效果更有保障。

科学省力



关爱自己

AGROLEX 新加坡利农喷雾器,
您拥有更好收获的关键小密码!

AGROLEX AGROLEX 新加坡利农北京代表处

地址: 北京市朝阳区光华路甲 8 号和乔大厦 B 座 511A

电话: (010) 65816128 网址: www.agrolex.com.cn

手机: 13701052546

微信号: AGROLEXGoodlife



关注新加坡利农
请扫二维码
智慧植保! 安全优质!