

马铃薯抗晚疫病育种研究进展

李先平, 何云昆, 赵志坚, 孙茂林, 隋启君

(云南省农科院生物技术研究所, 昆明 650223)

摘要: 文章概述了近一个世纪以来马铃薯抗晚疫病育种的研究进展。对马铃薯晚疫病的传播与危害、马铃薯抗晚疫病育种的历史、马铃薯的抗病机制和抗病基因克隆等作了综述, 并介绍和评述了各种生物学技术在引进和创造马铃薯抗病资源中的应用。

关键词: 马铃薯育种; 晚疫病

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2001) 05-0290-06

1 马铃薯晚疫病的发生、传播与危害

马铃薯晚疫病是由马铃薯晚疫病菌 [*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary] 引起的一种真菌病害。晚疫病起源于墨西哥, 大约于 19 世纪传入欧洲大陆。1830 年在德国首先发现了马铃薯晚疫病^[1], 但当时并未引起人们的重视。1845 年, 比利时首次报道了晚疫病的发生, 随后该病在欧洲迅速传播开来, 在荷兰、丹麦、芬兰、法国、意大利、英格兰、苏格兰等国均有发生, 特别是在爱尔兰, 晚疫病的流行传播造成全部马铃薯几乎无收, 引起广大居民的饥荒^[2]。正如恩格斯所描述: 1847

收稿日期: 2001-06-21

作者简介: 李先平 (1973—), 男, 助研, 云南省农科院生物技术研究所马铃薯研究开发中心, 从事马铃薯抗晚疫病育种研究。

年由于晚疫病传播引起的饥荒, “使专吃或差不多专吃马铃薯的一百万爱尔兰人死亡, 使二百万逃亡海外^[3]”。

大约在 20 世纪 70 年代, 由于种薯贸易中带病块茎的传播, 使得马铃薯 A1 和 A2 交配型两种晚疫病菌再次从墨西哥传播到欧洲, 进而分散传播至世界各地, 据美国康乃尔大学 W.E Fry 等调查, A1、A2 两种交配型的晚疫病菌已传播到了除南极洲和澳洲以外的世界各大洲^[4]。A2 交配型晚疫病菌在世界各地的不断发现^[5~7], 引起了植物病理学家的高度重视, 由于新发现的 A2 交配型较之原有的 A1 交配型具有更强的适应性和侵染力, 因此 80 年代以来, 新侵入的晚疫病菌生理小种已经逐渐取代了原有的 A1 交配型生理小种, 且两种交配型的同时存在将导致具有厚壁和抗性的休眠卵孢子的产生^[8]。卵孢子经得起冻融、长时间保存, 可摆脱活

但是“新技术”说“薯自身养分消耗多, 促使生理功能减弱是导致马铃薯退化根本原因”, 及“与现在国际上马铃薯专家们的关于马铃薯低产(退化)的观点大相径庭”的提法欠妥。论据不足, 未免有点冒昧。病害的防治从某种程度上说, 实质上是一个生态学问题。马铃薯病毒与寄主之间在外界特殊条件下影响下是相互斗争、对立统一的两个方面。30 多种马铃薯病毒全是专性寄生物, 与其侵染植物的真细菌等病源相比, 其危害性相对要小, 往往是会对植物的组织或个体造成迅速致死, 而

是使植物的生长发育受到不同程度的干扰和抑制, 从而降低了产量和品质。“新技术”是从调整控制农田生态系统与子系统方面创造了有利于马铃薯的生长发育, 而战胜病毒的干扰活动, 制止病毒病的发展, 甚至不能呈现的条件。此时马铃薯品种起主导作用, 满足了其固有的需要, 从而达到不退化的目的, 它是一种预防手段, 而脱毒技术是治疗手段, 两者的目的是一致的, 并无矛盾之处, 所以不宜作出超越条件的解说。

体薯块而长期存活于土壤中成为新接种源, 因而作为有性生殖产物的卵孢子将进一步增加晚疫病对马铃薯的危害。目前, 已在墨西哥、荷兰、加拿大、芬兰、波兰、挪威、瑞典等国发现了 A1、A2 交配型之间发生有性生殖的证据^[9~13]。

在我国, 马铃薯生产亦一直受到晚疫病的危害, 特别在 50 年代到 60 年代初, 华北、东北和西北曾几次发生晚疫病大流行, 使马铃薯生产损失过半^[14], 在其后 20 年间, 晚疫病时有发生。进入 80 年代后, 在全国范围内, 特别是降水充沛的西南山区和北方部分潮湿产区, 晚疫病几乎每年都普遍发生, 因此产生的薯块产量损失达到 20%~80%^[15]。1996 年张志铭等在中国首次报道了交配型 A2 的存在^[16], 随后赵志坚等也在云南发现了晚疫病菌 A2 交配型^[17]。这将对我国控制本来就难以防治的晚疫病提出了新的挑战。

马铃薯晚疫病作为马铃薯生产中的头号敌人, 是所有引起粮食作物产量损失的病害中最严重的一种真菌病害。1996 年, 据 CIP 估计, 全球每年因此病害造成直接经济损失达到 170 亿美元, 发展中国家的损失是 53 亿美元, 而这些国家是以马铃薯为主要粮食和重要的经济作物, 他们所遭受到的打击比发达国家要重得多。在我国因晚疫病而发生的产量损失每年平均亦达到 10 亿美元左右^[18]。因此, 马铃薯晚疫病的防治已经成为当前世界马铃薯生产和育种中优先考虑的目标之一。

2 马铃薯晚疫病防治策略

长期以来, 人们采取了各种方法来控制马铃薯晚疫病的流行与危害:(1)采用各种栽培措施。如作物轮作、间套作、选用健康种薯、早播和适时割蔓等措施的合理应用在晚疫病防治中能起到一定的作用;(2)药剂防治。施用农药是当前马铃薯晚疫病的主要防治措施, 并在生产上取得了明显的效果, 但近年来随着晚疫病菌生理小种的不断变异产生了对杀菌剂的抗性, 同时由于化学药剂价格较高, 以及对环境的污染, 使得人们又再次对培育抗病品种寄予希望;(3)栽培抗病品种。这是防治马铃薯晚疫病最经济、最有效、最简便的方法, 也是国内外历史上使用最成功的措施。事实上, 在晚疫病 150 多年的防治工作中, 普遍应用和收效最显著的, 莫过于栽培抗

病品种。但是近年来新的晚疫病菌生理小种的发现与传播致使很多抗病品种逐渐丧失了原有的抗性, 如云南省 1998 年晚疫病的流行使得 CFK69.1、会-2 号、CIP24 等抗病品种亦因抗病性的逐渐丧失而大幅度减产。这就要求育种学家尽快培育出高抗、持久、稳定的抗病新品种以满足马铃薯生产的需要。

3 马铃薯对晚疫病的抗病机制

3.1 马铃薯的抗病类型

植物发病是寄主/病原物相互作用的结果, 发病表型的变异取决于寄主、病原物和环境条件三者之间的关系。1978 年范德普朗克(J.E.Vanderplank)根据寄主、病原物变异的关联性, 把植物病害的抗性区分为垂直抗性和水平抗性两类^[19]。在马铃薯/晚疫病菌互作中同样存在这两种抗病类型。垂直抗性是受单基因或少数基因控制的, 一般表现为高度抗性, 而在选种过程中抗、感界限明显, 便于对后代进行选择, 容易进入育种程序。因此在本世纪初从墨西哥马铃薯野生种 *S. demissum* 中把垂直抗性引入马铃薯栽培种 *S. tuberosum* 以来, 受到育种学家和植物病理学家的普遍重视。但由于其抗病性只针对一个或少数几个病原物生理小种, 所以随着小种的变化, 抗病性丧失的现象时有发生。根据有关资料, 许多高度抗病的品种只能维持 3~5 年。因此, 虽然垂直抗性在培育抗晚疫病的马铃薯新品种中起了较大作用, 但由于晚疫病菌的生理小种多变, 新的生理小种随着环境条件和新品种的出现而不断增加, 甚至抗晚疫病新品种刚投入生产, 有的品种随即受到了晚疫病新的小种的侵染而丧失其抗病力。因此, 单纯依靠垂直抗性已经不能完全解决品种对晚疫病的抗性, 必须寻求新的抗病类型。

马铃薯对晚疫病的水平抗性是由微效多基因控制的数量性状, 虽然其抗病程度不及垂直抗性, 但由于它对病原菌不同小种都表现抗性, 且表现出多种保护机制, 如对晚疫病菌孢子侵入寄主细胞的抗性、对菌丝体侵入寄主后的抗性、抑制孢子囊的发育和形成和抑制孢子在单位感染面积上的形成能力等抗性^[20]。因此, 水平抗性所表现出的优点引起了育种学家的高度重视, 并使他们改变过去的育种策略转而从事对水平抗性的研究。

3.2 马铃薯抗晚疫病遗传研究

目前在马铃薯中已鉴定了 13 个控制马铃薯晚疫病菌生理小种专化性抗性的主效 R 基因。其中 R1—R11 来自马铃薯野生种 *S. demissum*^[21,22], R12 和 R13 来自于野生种 *S. berthaultii*^[23]。同时科学家们应用分子标记技术已将一些 R 基因定位在相应的染色体上;用 RFLP、AFLP 等技术已经将 R1 基因定位在染色体 5 上^[24];将 R3、R6、R7 基因定位在染色体 11 上,并证明这三个基因高度连锁^[25,26];将 R2 基因定位在染色体 4 上^[27];将 R12 和 R13 分别定位在染色体 10 和染色体 7 上^[23]。R 基因的定位、分离、克隆及其编码产物功能的确定将有助于我们深入了解马铃薯对晚疫病抗性的机制,进而寻找出培育马铃薯抗病品种的方法和途径。

4 马铃薯抗晚疫病育种进展

在马铃薯的原产地南美洲分布生长着许多马铃薯种。霍克斯(Hawkes, 1982)将这些马铃薯种划分为 18 个系,共包含 164 个种,其中有 8 个栽培种和 154 个野生种^[28]。由于所有已鉴定的马铃薯晚疫病抗性基因均来自于马铃薯野生种,因此,长期以来的马铃薯抗晚疫病育种实际上就是从野生种中把晚疫病抗性基因导入到栽培种中并加以驯化的过程。

4.1 马铃薯抗晚疫病育种的历史

19 世纪 80 年代欧洲马铃薯晚疫病的流行危害淘汰了全部感病品种,逐渐使人们意识到抗病品种的重要性,至 20 世纪初开始了抗晚疫病育种。从此育种家们一直致力于在野生种中寻找晚疫病抗性基因并将其导入栽培种中的研究。大约在上个世纪 20 年代英国和德国的育种家们在墨西哥发现了一批非常抗晚疫病的 *S. demissum* 野生种,利用这些种与普通栽培种 *S. tuberosum* 杂交和回交,育成了一些新的抗病品种投入生产,但种植不久,这些品种中有的丧失了抗病性。后来对这些抗性类型进行分析,发现来源于野生种 *S. demissum* 的抗病性是由一组显性基因所控制,在田间连续种植过程中,晚疫病菌由于突变或体细胞重组,产生了能侵染具有显性基因抗性的生理小种,使一些抗病品种失掉抗病性变为感病品种,这即是前已述及的垂直抗性。由

于垂直抗性易于为新的晚疫病生理小种所破坏,特别是最近几年晚疫病菌 A2 交配型的流行和传播使得马铃薯的垂直抗性更加脆弱而易于被克服,因此水平抗性育种又为育种学家所重视。由于水平抗性的持久性和稳定性,在上个世纪 80 年代末和 90 年代初,国际马铃薯中心(CIP)改变过去的抗病育种策略,在取得育成群体 A 的成就的基础上,又培育出一批不带 R 基因的纯属具有水平抗性的材料,称为群体 B。B 群体主要具有以下优点:(1)抗病性质完全属于水平抗性,对病原菌所有生理小种均具有有效抗性;(2)缺乏 R 基因,简化了实生苗筛选和田间检测过程,不再需要复合生理小种,筛选工作可以在任何生理小种条件下完成;(3)由于简化了晚疫病抗性筛选过程,能更加有效地与对其他病害的抗性相结合;(4)选出抗病性和块茎产量高度结合的株系,可以作为其它育种计划的亲本,并提供实生籽进行商业化生产^[8]。B 群体的开发与应用为马铃薯的抗晚疫病育种带来了新的希望。

在马铃薯的抗晚疫病育种中,利用最多的野生种资源是 *S. demissum*,在各国栽培的抗病品种中有 95% 以上都参与了该野生种的亲缘^[29]。除了 *S. demissum* 外,发现在其它许多墨西哥野生种如 *S. totoniferum*、*S. polyadenium*、*S. polytrichon*、*S. bullockianum*、*S. pinnatisectum* 等也都含有抗晚疫病的 R 基因和微效多基因^[29]。若把这些野生种的抗性基因导入栽培种中,将能有效扩大马铃薯的基因库(gene pool),加快马铃薯的抗晚疫病育种进程,培育出高抗晚疫病的新品种。

4.2 抗病育种方法研究

前已述及,在许多墨西哥马铃薯野生种中拥有丰富的晚疫病抗性资源。但由于野生种与栽培种之间存在严重的有性生殖障碍,使得野生种与栽培种杂交非常困难,甚至不能杂交成功。经过对马铃薯野生种与栽培种间生殖隔离机制(sexual isolating mechanisms)的深入研究发现,导致马铃薯种间杂交不亲和的原因大体可分为两类:即前合子生殖障碍(prezygotic barriers)和后合子生殖障碍(postzygotie barriers)^[30]。对于马铃薯的前合子生殖障碍,如花期不遇、花器官结构异常、花粉在相异的柱头上或花柱中不能正常生长和发育等原因导致杂交不亲和,可采取一些常规的方法解决,如在不同的环境条

件下进行大量授粉、进行正反交、选择优良授粉者、或者切除花柱, 直接对其胚珠进行授粉等措施。

后合子生殖障碍是马铃薯野生种与栽培种之间杂交不亲和的主要原因。它主要是由于胚乳败育引起的。对此, Johnston 等(1980)^[31]提出了胚乳平衡数(endosperm balance number, EBN)的理论, 用以预测种间杂交的可行性。该理论认为, 每个马铃薯种都有一个特定的 EBN, 它决定着各马铃薯种间的杂交可育性, 所有成功的种间杂交, 在其杂交种的胚乳中来自母本和父本的 EBN 的比例一定是 2:1。研究表明, 即使是两亲本间有了相匹配的 EBN, 许多种之间仍不易杂交成功, 而只有 1EBN 的马铃薯种则更加困难。针对马铃薯后合子生殖障碍的特点, 育种家利用了多种生物学技术来克服马铃薯的种间杂交不育性。

在马铃薯育种的早期阶段, 由于对生殖隔离机制还不了解, 育种家只能通过实践, 用杂交结实性强的马铃薯种作为桥梁品种, 与野生种进行杂交, 再用其杂交后代作为亲本材料与栽培种回交, 从而将野生种资源引入普通栽培种中。Hermans 等^[32, 33]利用该技术成功地获得了野生种 *S. bulbocastanum* 与栽培种 *S. tuberosum* 的杂交种。但由于种间生殖隔离机制的复杂性, 该法只对少数马铃薯种有用。

根据 EBN 的理论, 马铃薯育性主要决定于杂交种中亲本的 EBN 的比例, 而非染色体的倍性, 因此, 对野生种进行倍性操作不失为一个克服马铃薯种间杂交不亲和性有效手段。Domenico Carprto 等^[34]针对野生种 *S. commersonii* ($2n=2x=24$, 1EBN) 的情况, 通过体外倍性操作, 使其染色体加倍 ($2n=4x=48$, 2EBN), 从而变为具有 2EBN 的种, 再用它作为亲本与二倍体材料 (*S. Phureja* × *S. Tuberosum*) ($2n=2x=24$, 2EBN) 杂交, 得到 F1 代杂交种 ($2n=3x=36$, 2EBN), 由于 F1 可形成 $2n$ 卵, 因而能和普通栽培种 ($2n=4x=48$, 4EBN) 进行杂交, 将杂交产生的五倍体后代 ($2n=5x=60$, 4EBN) 与普通栽培种回交即可将野生种 *S. commersonii* 的有用基因导入育种材料中; 同样, 通过倍性操作, K. D. Adiwilaga 等^[35]将四倍体的墨西哥野生种资源 ($2n=4x=48$, 2EBN) 引入到马铃薯栽培种基因池中。

胚挽救法(embryo rescue)是针对杂交后因胚乳败育使合子不能正常发育的特点, 将授精后形成的

合子通过体外培养形成正常植株。Bob Hanneman 等^[36]利用该技术成功获得了用野生种 *S. pinnatisectum* 与普通栽培种的杂交后代, 并对其杂种进行抗病性鉴定, 发现其对晚疫病具有 100% 的抗病性, 为马铃薯抗晚疫病育种提供了非常有用的中间材料。

与上述各种方法相比, 体细胞杂交则是克服马铃薯种间各种有性生殖障碍的一种有效方法, 也是当前使用最多、研究最深入的技术。利用该技术已成功地将野生种中抗晚疫病、卷叶病毒病、线虫病害、软腐病等多种抗性的基因引入了抗病育种材料中。J. P. Helgeson 等^[37]通过体细胞杂交获得了野生种 *S. bulbocastanum* 和普通栽培种 *S. tuberosum* 的六倍体杂种, 再用其与马铃薯栽培品种 Katahdin 或 Atlantic 杂交和回交, 并通过 4 年的田间评价, 筛选到对晚疫病具有高度抗性的株系; U. Menke 等^[30]用野生种 *S. pinnatisectum* 与栽培种 *S. tuberosum* 品系进行体细胞杂交, 并通过 RFLP 鉴定证明获得两者的体细胞杂种植株。

4.3 基因工程在马铃薯抗晚疫病育种中的应用

在研究植物/病原互作的生物化学及分子生物学过程中, 人们首先发现若干与植物防卫反应有关的蛋白因子, 这些蛋白基因组成了目前通过遗传工程手段开发植物抗菌物病害新资源的物质基础。在马铃薯抗病基因工程育种中也大量使用了这些病程相关(PR)蛋白基因: 1994 年 Dong Liu 等^[38]首次报道了组成型表达烟草 Osmotin 蛋白的转基因马铃薯植株推迟了晚疫病病斑出现时间; 随后 Zhu 等^[39]发现组成型表达马铃薯 Osmotin-Like 蛋白的马铃薯转基因植株能降低 *P. infestans* 的侵染频率; 1999 年, 李汝刚等^[40]克隆了缺失 C 端信号肽序列(引导蛋白在细胞液胞内定位)、保留 N 端信号肽序列(引导蛋白分泌至胞外)的烟草 Osmotin 蛋白基因, 并证明 Osmotin 蛋白基因胞外分泌能够赋予转基因植株叶片抗晚疫病的能力; G. Wu 等^[41]报道葡萄糖氧化酶(GO)基因在转基因马铃薯中表达, H_2O_2 水平升高, 降低了晚疫病菌对马铃薯的侵染速度; 在国内, 甄伟和张立平等分别将 GO 基因导入栽培品种台湾红皮、大西洋(Atlantic)和夏波蒂(Shepody)中, 均获得对晚疫病具有明显抗性的株系^[42, 43]; 周思军等^[44]将菜豆几丁质酶基因导入马铃薯栽培品种“鲁

引 1 号”和“鲁引 4 号”中亦获得成功;最近 Ali·G·S 等^[45] 将 *Arabidopsis thaumatin-like protein 1* (ATLP1) 基因导入马铃薯栽培种 Desiree 中, 证明组成型表达 ATLP1 基因的马铃薯对晚疫病具有一定抗性。

PR 蛋白基因在植物基因工程育种中得到广泛的应用, 并取得了明显的抗病效果。但同时 PR 蛋白本身也存在着一些不利因素。如它的抗病效果仅只是针对有限的病原菌种类, 并且单一的、专化的修饰活性很容易被病原菌所克服。对此, P·J·G·M·de Wit^[45] 作了有益的探索, 他根据基因对基因假说, 通过对番茄/*Cladosporium fulvum* 互作的分子基础研究, 提出了一个非专化的抗病双元系统 (two-component system for nonspecific resistance), 该系统认为, 把无毒基因 (*avr*) 和抗病基因 (R) 组装于同一细胞中, 在适合的启动子调控下, 将会引起寄主被侵染细胞的过敏性坏死, 从而限制病原菌的扩散, 达到抗病的目的。这个系统的关键是要选择一个适合的启动子, 这个启动子应该是病原侵染诱导型而非组成型表达的, 否则寄主的健康细胞亦会因转入基因的表达而受到伤害。Norbert Martini 等^[46] 等发现, 马铃薯 *prp1-1* 基因的启动子表达专一受 *P. infestans* 侵染诱导。Gunter Strittmatter 等^[47] 利用这个启动子的特点, 在含有 *barstar* 基因的马铃薯中导入由 *prp1-1* 启动子片段驱动的细菌核酸酶 (barnase) 基因, 结果表明在转基因后代中 *P. infestans* 的产孢率大大降低。受非专化的抗病双元系统的启发, 李汝刚提出利用植物病原细菌在非寄主诱导过敏性反应防治植物病害的基因工程设想^[48], 建构了由 *prp1-1* 启动子驱动的, 来自梨火疫病菌 (*Erwinia amylovora*) 的 Harpin 蛋白基因, 并将该基因转入二倍体马铃薯种 Linev 和 R2 中, 结果表明表达 Harpin 蛋白的转基因马铃薯植株降低了晚疫病的病斑生长率^[49]。本实验将 Harpin 基因导入马铃薯栽培种大西洋 (Atlantic) 中亦获得成功。

5 结语

经过一个世纪的马铃薯抗晚疫病育种实践, 育种家们培育出了一批在生产上大面积使用的抗病品种。但由于马铃薯/*P. infestans* 的协同进化, 加之 A2 交配型晚疫病菌在世界范围的广泛传播, 使得已

育成的抗病品种经受着严峻的考验。当前各种生物学技术在育种中的应用为马铃薯抗晚疫育种创造了许多优良的抗病材料, 但这些材料要在生产中应用还有大量的工作要做。如对这些材料的田间抗病性评价、野生性状的驯化以及对转基因材料的安全性评价等。因此, 在生物技术飞速发展的今天, 我们在应用这些先进技术的同时, 还得与传统的常规育种紧密结合起来, 才能加快马铃薯育种进程, 尽快培育出更多高产、丰产、优质的马铃薯新品种服务于生产。

参 考 文 献

- [1] 黑龙江省农业科学院马铃薯研究所主编. 中国马铃薯栽培学 [M]. 中国农业出版社, 295.
- [2] Austin Bourke P·M. Emergence of potato blight, 1843—46. *Nature*, 1964, August 22, 203, 805—808.
- [3] C·M·布卡索夫等著·李克来等译. 马铃薯育种和良种繁育. 1983, 44—63.
- [4] Fry W·E·et al. Historical and Recent Migrations of *Phytophtora infestans*: Chronology, Pathways, and Implications Plant Disease, 1993, 77, 653—660.
- [5] J·Bakonyi and T·Ersek. First report of the A2 mating type of *Phytophtora infestans* on potato in Hungary. *Plant Disease*, 1997, 819, 1094.
- [6] S·K·Shrestha and K·Shrestha. First report of the A1 and A2 mating types of *Phytophtora infestans* on potato and tomato in Nepal. *Plant Disease*, 1998, 82, 9, 1064.
- [7] P·J·Oyarzun et al. First report of *Phytophtora infestans* A2 mating type in Ecuador. *Plant Disease*, 1997, 81, 3, 311.
- [8] 李汝刚等. 马铃薯晚疫病研究进展[J]. 马铃薯杂志, 1997, 11, 243—250.
- [9] Goodwin·S·B et al. Direct of gene flow and probable sexual reproduction of *Phytophtora infestans* in Northern North America. *Genetics*, 1995, 80, 4, 473—479.
- [10] Hermansen·A et al. variation in populations of *Phytophtora infestans* in Finland and Norway: mating type metalaxy1 resistance and virulence phenotype. *Plant Pathology*, 2000, 49, 11—22.
- [11] Drenth A et al. DNA fingerprinting uncovers a new sexually reproducing population of *Phytophtora infestans* in the Netherlands. *European Journal of Plant Pathology*, 1994, 100, 97—107.
- [12] Andersson et al. Indications of soil borne inoculum of *Phytophtora infestans*. *Potato Resarch*, 1998, 41, 305—310.
- [13] Sujkowski LS et al. Increased genotypic diversity via migration and possible occurrence of sexual reproduction of *Phytophtora infestans* in Poland occurrence of sexual reproduction of *Phytophtora infestans* in Poland. *Phytopathology*, 1994, 84, 201—207.
- [14] 唐洪明. 马铃薯育种—马铃薯抗晚疫病育种[J]. 马铃薯杂志, 1987, 1, 55—60.

- [15]何卫等.我国马铃薯晚疫病研究概况[M].中国马铃薯研究进展(1999):261—265.
- [16]张志铭等.中国发生马铃薯晚疫病菌A2交配型[J].河北农业大学学报,1996,19:62—66.
- [17]赵志坚等.云南省马铃薯晚疫病菌A2交配型初步研究[M].中国马铃薯研究进展(1999):272—276.
- [18]宋伯符,谢开云.CIP的全球晚疫病防治倡议与我国的参与[J].马铃薯杂志,1997,11:51—58.
- [19]王金生编著.分子植物病理学[M].中国农业出版社,1999,17—22.
- [20]孙慧生.马铃薯遗传与育种.全国《马铃薯遗传与育种》讲学班资料(1987):53.
- [21]Black W, Mastenbroek C, et al. A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. *Euphytica*, 1953, 2, 173—179.
- [22]Malcolmson JF, Black W. New R genes in *Solanum demissum* Lindl. and their complementary races of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. *Euphytica*. 1996, 15, 199—203.
- [23]Sanchez G. M. et al. Identification of two new R₁ genes to *Phytophthora infestans* from *Solanum berthaultii*. *Phytopathology*, 2000, 90, 68.
- [24]Leonards-Schippers C, et al. The R₁ gene conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in potato is located on potato chromosome V. *Mol Gen Genet*, 1992, 233, 278—283.
- [25]El-Kharbotly A, et al. Segregation analysis and RFLP mapping of the R₁ and R₃ alleles conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* in progeny of diploid potato parents. *Mol Gen Genet*, 1994, 242, 749—754.
- [26]El-Kharbotly A, et al. R₆ and R₇ alleles of potato conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary identified genetic loci clustering with the R₃ locus on chromosome XI. *Theor Appl Genet* 1996, 92, 880—884.
- [27]Li X, et al. Autotetraploids and genetic mapping using common AFLP markers: the R₂ allele conferring resistance to *Phytophthora infestans* mapped on potato chromosome 4. *Theor Appl Genet* 1998, 96, 1121—1128.
- [28]见参考文献 1.
- [29]见参考文献 20.
- [30]Menke U, et al. Somatic hybrids between the cultivated potato *Solanum tuberosum* L. and 1EBN wild species *Solanum pinnatisectum* Dum: morphological and molecular characterization. *Theor Appl Genet* 1996, 92, 617—626.
- [31]Johnston S. A, et al. The significance of genic balance to endosperm development in Interspecific crosses. *Theor Appl Genet* 1980, 57, 5—9.
- [32]Hermans JGTH. Crossability, fertility, and cytogenetics studies in *Solanum aculeate* x *Solanum bulbocastanum*. *Euphytica* 1966, 15, 149—155.
- [33]Hermans JGTH, Ramana MS. Double-bridge hybrids *Solanum bulbocastanum* and cultivars of *Solanum tuberosum*. *Euphytica* 1973, 22, 457—466.
- [34]Carputo Domenico et al. Endosperm balance number manipulation for direct in vivo germlasm introgression to potato from a sexually isolated relative (*Solanum commersonii* Dun.) PNAS, 1997, 94, 12013—12016.
- [35]Adiwilaga K. D. and Brown C. R. Use of 2n pollen-producing triploid hybrids to introduce tetraploid Mexican wild species germ plasm to cultivated tetraploid potato gene pool. *Theor Appl Genet* 1991, 81, 645—652.
- [36]Linda McGraw. Potatoes' resistance to late blight may be in their Mexican genes. *Agricultural Research* 2000, 9, 148.
- [37]Helgeson J. P. et al. Somatic hybrids between *Solanum bulbocastanum* and potato: a new source to late blight. *Theor Appl Genet*, 1998, 96, 738—742.
- [38]Liu Dong et al. Osmotin overexpression in potato delays development of disease symptoms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91, 1888—1892.
- [39]Zhu B, et al. Analysis of late-blight disease resistance and freezing tolerance in transgenic potato plants expressing sense and antisense genes for an osmotin-like protein. *Planta*, 1996, 198, 70—77.
- [40]李汝刚等.表达Osmotin蛋白的转基因马铃薯对晚疫病的抗性分析[J].生物工程学报,1999,15:135—140.
- [41]Wu G, et al. Disease resistance conferred by expression of gene encoding H₂O₂-generating glucos oxidase in transgenic potato plants. *The Plant Cell*, 1995, 7, 1357—1368.
- [42]甄伟等.转基因马铃薯中病原诱导GO基因的表达及其对晚疫病的抗性[J].科学通报,2000,45,1071—1075.
- [43]张立平等.表达葡萄糖氧化酶基因抗晚疫病马铃薯的培育[M].面向21世纪的中国马铃薯产业(2000).哈尔滨工程大学出版社,108—116.
- [44]周思军等.通过农杆菌介导将菜豆几丁质酶基因导入马铃薯[J].中国马铃薯,2000,14,70—22.
- [45]de Wit P. J. G. M. Molecular characterization of gene-for-gene systems in plant-fungus interactions and the application of avirulence genes in control of plant pathogens. *Annu Rev of Phytopathol*, 1992, 30, 391—418.
- [46]Martini Norbert, et al. Promoter sequences of a potato pathogenesis-related gene mediate transcriptional activation selectively upon fungal infection. *Mol Gen Genet*, 1993, 236, 179—186.
- [47]Strittmatter Gunter, et al. Inhibition of fungal disease development in plants by engineering controlled cell death. *Bio/Technology*, 1995, 13, 1085—1089.
- [48]李汝刚.植物—病原相互作用的分子基础与植物病害的控制策略[J].农业生物技术学报,1994,2(1):1—13.
- [49]李汝刚,范云六.表达Harpin蛋白的转基因马铃薯降低晚疫病班生长率[J].中国科学,1999,1