

255份马铃薯种质晚疫病广谱 *Rpi* 基因标记检测 及抗性田间验证

李 锐¹, 郭华春^{1,2}

(¹云南农业大学薯类研究所, 昆明 650201; ²云南省薯类生物育种与良种繁育工程研究中心, 昆明 650201)

摘要: 马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是云南省的第三大粮食作物, 晚疫病严重威胁马铃薯的生产, 防治晚疫病最好的策略是种植抗性品种。本研究对255份马铃薯种质检测已报道的6个广谱 *Rpi* 基因分子标记, 并鉴定田间晚疫病抗性。结果表明, 含 *R8*、*RB*、*Rpi-blb2*、*Rpi-sto1*、*Rpi-sto1*、*Rpi-vnt1.1* 基因的材料分别有69、53、51、12、23、75份; 81份材料聚合了多个广谱 *Rpi* 基因, 其中77份来源于国际马铃薯中心(CIP)。田间抗性鉴定结果表明: 255份材料中, 高抗、中抗、中感和高感材料分别有67、31、67、90份, 高抗与中抗材料分别有58份和29份源于CIP。国内种质与CIP种质相比, 缺乏抗病与聚合多个广谱 *Rpi* 基因的种质。结果还表明, *R8* 基因在晚疫病田间抗性中起主要贡献, *R8* 分子标记田间抗性符合程度较高, 并在聚合其他广谱 *Rpi* 基因时, 符合程度与抗性会随之提高。本研究检测了255份材料的6个广谱 *Rpi* 基因分子标记组成, 筛选出一批抗性材料, 证明了 *R8* 分子标记具有较高的晚疫病田间抗性符合程度, 可用于选择抗性材料或单株, 能为抗病育种与分子标记辅助选择育种提供科学依据。

关键词: 马铃薯; 晚疫病; 田间抗性; 广谱抗性基因; 分子标记

Detection of Late Blight Broad-spectrum *Rpi* Gene Markers and Field Verification of Resistance in 255 Potato Germplasms

LI Kun¹, GUO Hua-chun^{1,2}

(¹Tuber and Root Crop Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201; ²Yunnan Engineering Research Center of Tuber and Root Crop Bio-breeding and Healthy Seed Propagation, Kunming 650201)

Abstract: Potato (*Solanum tuberosum* L.) is the third most important food crop in Yunnan province, China. Late blight has always been a devastating disease in potato production. Use of resistant varieties is the most fundamental and effective way to control the disease. In this study, screening of broad-spectrum *Rpi* genes using molecular markers and evaluation of late blight resistance upon field inoculation were conducted in 255 potato genotypes. The results showed that 69, 53, 51, 12, 23 and 75 varieties (lines) were detected with resistance genes *R8*, *RB*, *Rpi-blb2*, *Rpi-sto1*, *Rpi-sto1* and *Rpi-vnt1.1*, respectively. Eighty-one of the varieties (lines) were found stacking multiple *Rpi* genes, and 77 of them were collected from CIP. Gained from field resistance tests, 67, 31, 67 and 90 varieties (lines) were observed with high resistance, medium resistance, medium sensitivity and high sensitivity, respectively. The domestic germplasm was found with lower resistance and rare cases on stacking multiple *Rpi* genes. The gene *R8* largely contributed to the field resistance against late blight. *R8* via stacking with other *Rpi* genes can improve the degree of resistance compliance and field resistance. This study demonstrated that *R8* has a high degree of compatibility with field resistance to late blight and could be

收稿日期: 2022-12-04 修回日期: 2023-01-10 网络出版日期: 2023-01-20

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20221204002>

第一作者研究方向为马铃薯遗传育种, E-mail: 2976568099@qq.com

通信作者: 郭华春, 研究方向为薯类作物学研究, E-mail: ynghc@126.com

基金项目: 云南省科技计划项目重大科技专项(202102AE090018); 国家产业技术体系(CARS-09-15P)

Foundation projects: Major Science and Technology Project of Yunnan Province (202102AE090018); National Industrial Technology System of China(CARS-09-15P)

used for marker assisted selection, which has implication for the future popularization and application of new varieties (lines) and resistance breeding in Yunnan province.

Key words: potato; late blight; field resistance; broad-spectrum resistant gene; molecular marker

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是重要的非谷类粮食作物,已在世界各国广泛种植。我国已成为全球第一马铃薯生产大国,种植面积和产量均稳居世界第一。马铃薯在我国各个生态区域均有种植,尤其是在贫困地区的种植面积较大,在保障粮食安全和脱贫攻坚战中发挥了重要作用^[1]。晚疫病是马铃薯生产中的毁灭性病害,潜在产量损失在20%~30%,严重年份高达50%以上,部分地区甚至绝收,已成为马铃薯产业发展的重要限制因素之一^[2]。

目前,晚疫病防治仍以化学药剂防治为主,不仅增加生产成本,还威胁人类健康和污染环境^[3]。防治晚疫病最优策略是种植抗性品种,育种家们最初使用来自墨西哥六倍体野生种*S. demissum*的抗性(*Rpi*, resistance *Phytophthora infestans*)基因*R1~R11*作为抗性来源,并开发了*R1*、*R2*、*R3a*、*R3b*、*R8*、*R10*的分子标记用于晚疫病分子标记辅助选择(MAS, marker-assisted selection)育种^[4-7]。*R1~R11*中除*R8*为广谱*Rpi*基因外,其余均为主效*Rpi*基因,随着病原小种快速变化,主效*Rpi*基因均已被克服^[6,8]。为此,育种家们开始聚焦于广谱*Rpi*基因,并从*S. bulbocastanum*克隆了第一个广谱*Rpi*基因*RB/Rpi-blb1*,随后陆续从*S. bulbocastanum*克隆了广谱*Rpi*基因*Rpi-blb2*、*Rpi-blb3*,从*S. stoloniferum*克隆了*Rpi-sto1*,从*S. venturii*克隆*Rpi-vnt1.1*,它们均为广谱*Rpi*基因^[8-13]。随后开发了它们的分子标记,并用于分子标记辅助选择,极大提高了晚疫病抗性育种效率^[14-15]。

马铃薯为云南省第三大粮食作物,云南独特的气候条件使得马铃薯周年均可种植,但晚疫病发病情况严重,同时病原群体变异快、致病性强,大部分主栽品种已经丧失晚疫病抗性^[16-17]。因此,选育和

推广新的抗性品种对云南省马铃薯产业发展至关重要。此前,我们已对140份省内外品种(系)及地方品种进行了*R1*、*R2*、*R3b*基因的分子标记筛选,并选出多抗亲本用于育种^[18]。此后,又从国际马铃薯中心(CIP, International Potato Centre)引进了一批新种质,也选出一批新品种(系),极大丰富了种质资源。据报道*R8*基因具有较强田间抗性,能够显著延迟晚疫病发病时间,国内外大部分抗性材料均含*R8*基因;*RB*能够延缓晚疫病的病斑发展,对多种病原小种具有抗性,且对国内材料贡献了较高晚疫病抗性;*Rpi-blb2*具有较强田间抗性,特别是与*RB*基因结合时;*Rpi-blb3*、*Rpi-sto1*和*Rpi-vnt1.1*的Desiree转基因植株对我国大部分晚疫病病原小种具有抗性;*R8*、*RB*、*Rpi-blb2*、*Rpi-vnt1.1*对我国的两个“超级小种”(HB1501与HN1602)具有抗性^[12,19-22]。本研究选择这6个广谱*Rpi*基因已报道的分子标记,分析它们在255份材料中的组成分布,结合田间晚疫病抗性鉴定,明确这些分子标记的抗性符合程度并筛选出抗病种质,可为后期新品种的推广、布局,及抗性育种提供理论依据,此外还可为挖掘新的抗病相关基因提供新的研究材料。

1 材料与方法

1.1 试验材料及取样

供试材料为云南农业大学薯类研究所收集引进的255份马铃薯种质(表1),来源包括国际马铃薯中心、地方品种、云南省主栽品种及自育品系。试验种薯为供试材料组培苗于2021年繁殖,2022年4月种植于云南农业大学后山试验地,每份材料种植5株,以大西洋为感病对照。供试材料组培苗用于DNA提取。

表1 255份供试材料

Table 1 255 potato materials used in the study

序号 No.	材料名称 Accession	来源 Origin	序号 No.	材料名称 Accession	来源 Origin	序号 No.	材料名称 Accession	来源 Origin
1	300055.32	国际马铃薯中心	6	300137.31	国际马铃薯中心	11	301041.26	国际马铃薯中心
2	300063.9	国际马铃薯中心	7	301623.15	国际马铃薯中心	12	301044.36	国际马铃薯中心
3	300065.4	国际马铃薯中心	8	301624.95	国际马铃薯中心	13	301045.74	国际马铃薯中心
4	300135.14	国际马铃薯中心	9	301026.23	国际马铃薯中心	14	301055.53	国际马铃薯中心
5	300135.3	国际马铃薯中心	10	301037.85	国际马铃薯中心	15	301056.54	国际马铃薯中心

表 1 (续)

序号 No.	材料名称 Accession	来源 Origin	序号 No.	材料名称 Accession	来源 Origin	序号 No.	材料名称 Accession	来源 Origin
16	302498.70	国际马铃薯中心	61	392637.10	国际马铃薯中心	106	395109.29	国际马铃薯中心
17	303381.106	国际马铃薯中心	62	392639.34	国际马铃薯中心	107	395109.34	国际马铃薯中心
18	303381.30	国际马铃薯中心	63	392657.8	国际马铃薯中心	108	395111.13	国际马铃薯中心
19	304347.6	国际马铃薯中心	64	392821.1	国际马铃薯中心	109	395112.19	国际马铃薯中心
20	304349.8	国际马铃薯中心	65	393075.54	国际马铃薯中心	110	395112.32	国际马铃薯中心
21	304350.18	国际马铃薯中心	66	393077.159	国际马铃薯中心	111	395112.36	国际马铃薯中心
22	304350.78	国际马铃薯中心	67	393077.54	国际马铃薯中心	112	395112.6	国际马铃薯中心
23	304351.109	国际马铃薯中心	68	393079.24	国际马铃薯中心	113	395123.6	国际马铃薯中心
24	304351.31	国际马铃薯中心	69	393079.4	国际马铃薯中心	114	395169.17	国际马铃薯中心
25	304366.46	国际马铃薯中心	70	393083.2	国际马铃薯中心	115	395445.16	国际马铃薯中心
26	304368.22	国际马铃薯中心	71	393084.31	国际马铃薯中心	116	395446.1	国际马铃薯中心
27	304371.20	国际马铃薯中心	72	393220.54	国际马铃薯中心	117	395448.1	国际马铃薯中心
28	304371.58	国际马铃薯中心	73	393242.50	国际马铃薯中心	118	396004.225	国际马铃薯中心
29	304387.17	国际马铃薯中心	74	393248.55	国际马铃薯中心	119	396004.263	国际马铃薯中心
30	304387.92	国际马铃薯中心	75	393280.57	国际马铃薯中心	120	396004.337	国际马铃薯中心
31	304394.56	国际马铃薯中心	76	393280.82	国际马铃薯中心	121	396008.104	国际马铃薯中心
32	304399.15	国际马铃薯中心	77	393284.39	国际马铃薯中心	122	396009.240	国际马铃薯中心
33	304399.5	国际马铃薯中心	78	393339.242	国际马铃薯中心	123	396009.258	国际马铃薯中心
34	304405.42	国际马铃薯中心	79	393349.68	国际马铃薯中心	124	396012.266	国际马铃薯中心
35	304406.31	国际马铃薯中心	80	393371.157	国际马铃薯中心	125	396018.241	国际马铃薯中心
36	374080.5	国际马铃薯中心	81	800923	国际马铃薯中心	126	396023.109	国际马铃薯中心
37	377744.1	国际马铃薯中心	82	393371.58	国际马铃薯中心	127	396026.101	国际马铃薯中心
38	380011.12	国际马铃薯中心	83	393382.44	国际马铃薯中心	128	396026.103	国际马铃薯中心
39	380496.6	国际马铃薯中心	84	393385.39	国际马铃薯中心	129	396027.205	国际马铃薯中心
40	381178.14	国际马铃薯中心	85	393385.47	国际马铃薯中心	130	396031.108	国际马铃薯中心
41	381379.12	国际马铃薯中心	86	393399.7	国际马铃薯中心	131	396031.119	国际马铃薯中心
42	381381.9	国际马铃薯中心	87	393536.13	国际马铃薯中心	132	396033.102	国际马铃薯中心
43	381403.16	国际马铃薯中心	88	393617.1	国际马铃薯中心	133	396034.103	国际马铃薯中心
44	384321.3	国际马铃薯中心	89	394223.19	国际马铃薯中心	134	396034.268	国际马铃薯中心
45	384866.5	国际马铃薯中心	90	394223.9	国际马铃薯中心	135	396036.201	国际马铃薯中心
46	385558.2	国际马铃薯中心	91	394638.3	国际马铃薯中心	136	396037.215	国际马铃薯中心
47	387164.4	国际马铃薯中心	92	394895.7	国际马铃薯中心	137	396038.101	国际马铃薯中心
48	389746.2	国际马铃薯中心	93	394898.13	国际马铃薯中心	138	396038.105	国际马铃薯中心
49	391002.6	国际马铃薯中心	94	394899.5	国际马铃薯中心	139	396038.107	国际马铃薯中心
50	391011.17	国际马铃薯中心	95	394900.1	国际马铃薯中心	140	396043.226	国际马铃薯中心
51	391046.14	国际马铃薯中心	96	395011.2	国际马铃薯中心	141	396046.105	国际马铃薯中心
52	391065.81	国际马铃薯中心	97	395015.6	国际马铃薯中心	142	396063.1	国际马铃薯中心
53	391580.30	国际马铃薯中心	98	395017.14	国际马铃薯中心	143	396063.16	国际马铃薯中心
54	391585.179	国际马铃薯中心	99	395017.227	国际马铃薯中心	144	396180.22	国际马铃薯中心
55	391585.5	国际马铃薯中心	100	395017.229	国际马铃薯中心	145	396240.2	国际马铃薯中心
56	391691.96	国际马铃薯中心	101	395017.242	国际马铃薯中心	146	396240.23	国际马铃薯中心
57	392025.7	国际马铃薯中心	102	395037.107	国际马铃薯中心	147	396241.4	国际马铃薯中心
58	392285.72	国际马铃薯中心	103	395077.12	国际马铃薯中心	148	396244.12	国际马铃薯中心
59	392633.64	国际马铃薯中心	104	395084.9	国际马铃薯中心	149	396268.1	国际马铃薯中心
60	392634.49	国际马铃薯中心	105	395096.2	国际马铃薯中心	150	396268.9	国际马铃薯中心

表 1 (续)

序号 No.	材料名称 Accession	来源 Origin	序号 No.	材料名称 Accession	来源 Origin	序号 No.	材料名称 Accession	来源 Origin
151	396269.14	国际马铃薯中心	186	398208.505	国际马铃薯中心	221	宣秀	地方品种
152	396269.16	国际马铃薯中心	187	398208.620	国际马铃薯中心	222	丽薯 6 号	云南省主栽品种
153	396272.12	国际马铃薯中心	188	398208.670	国际马铃薯中心	223	合作 88	云南省主栽品种
154	396272.18	国际马铃薯中心	189	399001.44	国际马铃薯中心	224	青薯 9 号	云南省主栽品种
155	396272.2	国际马铃薯中心	190	399004.19	国际马铃薯中心	225	大西洋	云南省主栽品种
156	396272.21	国际马铃薯中心	191	399048.24	国际马铃薯中心	226	滇薯 1418	自育品系
157	396272.37	国际马铃薯中心	192	399049.14	国际马铃薯中心	227	滇薯 1208	自育品系
158	396273.48	国际马铃薯中心	193	399049.16	国际马铃薯中心	228	滇薯 1428	自育品系
159	396285.1	国际马铃薯中心	194	399049.22	国际马铃薯中心	229	101-2	自育品系
160	397006.18	国际马铃薯中心	195	399053.11	国际马铃薯中心	230	1131	自育品系
161	397012.20	国际马铃薯中心	196	399053.15	国际马铃薯中心	231	1153	自育品系
162	397039.53	国际马铃薯中心	197	399062.118	国际马铃薯中心	232	1214	自育品系
163	397054.3	国际马铃薯中心	198	399067.14	国际马铃薯中心	233	14-12T19	自育品系
164	397060.19	国际马铃薯中心	199	399067.22	国际马铃薯中心	234	14-18A	自育品系
165	398098.205	国际马铃薯中心	200	399072.11	国际马铃薯中心	235	14-6T8	自育品系
166	398098.231	国际马铃薯中心	201	399072.28	国际马铃薯中心	236	162-2	自育品系
167	398098.570	国际马铃薯中心	202	399073.23	国际马铃薯中心	237	17-2	自育品系
168	398098.65	国际马铃薯中心	203	399075.32	国际马铃薯中心	238	19(2)-5D1	自育品系
169	398180.144	国际马铃薯中心	204	399075.7	国际马铃薯中心	239	2012-20-5D1	自育品系
170	398190.112	国际马铃薯中心	205	399078.11	国际马铃薯中心	240	21-1	自育品系
171	398190.200	国际马铃薯中心	206	399079.22	国际马铃薯中心	241	21-3	自育品系
172	398190.404	国际马铃薯中心	207	399083.4	国际马铃薯中心	242	27-1	自育品系
173	398190.523	国际马铃薯中心	208	399085.17	国际马铃薯中心	243	30-1	自育品系
174	398190.530	国际马铃薯中心	209	399085.23	国际马铃薯中心	244	34-2	自育品系
175	398190.571	国际马铃薯中心	210	399085.30	国际马铃薯中心	245	3S-133-01	自育品系
176	398190.605	国际马铃薯中心	211	694474.16	国际马铃薯中心	246	1520	自育品系
177	398190.615	国际马铃薯中心	212	694474.33	国际马铃薯中心	247	55-4A	自育品系
178	398190.735	国际马铃薯中心	213	720072	国际马铃薯中心	248	6-1	自育品系
179	398192.41	国际马铃薯中心	214	800048	国际马铃薯中心	249	DL3	自育品系
180	398192.553	国际马铃薯中心	215	I-1039	国际马铃薯中心	250	1002-1	自育品系
181	398192.592	国际马铃薯中心	216	I-1085	国际马铃薯中心	251	14013-28	自育品系
182	398193.158	国际马铃薯中心	217	黑美人	地方品种	252	14013-35	自育品系
183	398193.650	国际马铃薯中心	218	老鼠洋芋	地方品种	253	14013-66	自育品系
184	398201.510	国际马铃薯中心	219	格杂红	地方品种	254	14013-6-L1	自育品系
185	398208.29	国际马铃薯中心	220	红玫瑰	地方品种	255	14013-127	自育品系

1.2 基因组 DNA 提取及广谱 *Rpi* 基因分子标记检测

组培苗 30 d 苗龄时取顶部茎叶,采用 CTAB 法^[23]提取基因组 DNA。基因组 DNA 质量用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,样品保存于-20 ℃冰箱。

6 个广谱 *Rpi* 基因分子标记信息见表 2,由上海捷瑞生物工程有限公司合成。PCR 反应体系 10 μL: 5 μL 2×Hieff® PCR Master Mix, 0.4 μL 10 μmol/L 引物, 1 μL DNA 模板, ddH₂O 补足至 10 μL。PCR 扩增

程序: 94 ℃预变性 5 min; 94 ℃变性 30 s, 55~65 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 20~54 s, 30 个循环; 72 ℃延伸 10 min。PCR 产物 4 ℃保存,取 5 μL 产物与 2 μL 5× Loading Buffer 混匀,通过 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测,在紫外灯下观察并记录结果。

1.3 晚疫病田间抗性鉴定

采用田间病圃自然发病,病圃四周种植大西洋作为侵染源。所有植株进入花期后,每天观察晚疫病发病情况,采用病情指数法计算病情指数^[24]。计

计算公式为:病情指数 = Σ (各级病株数×相对病级数值)/(调查总株数×9)×100。分级标准:0级,无病斑;1级,病斑面积占整个叶面积5%以下;3级,病斑面积占整个叶面积6%~10%;5级,病斑面积占整个叶面积11%~20%;7级,病斑面积占整个叶面积21%~50%;9级,病斑面积占整个叶面积50%以上。当大西洋全部植株的病级达9级时开始调查,此后

每隔6d调查一次,共5次,病情指数以5次调查平均值计算。抗病性级别标准参照刘勋等^[25]的方法,病情指数低于30为高抗(HR, highly resistance),病情指数31~50为中抗(MR, moderately resistance),病情指数51~70为中感(MS, moderately susceptible),病情指数70以上为高感(HS, highly susceptible)。采用Excel 2019统计、分析数据。

表2 广谱 *Rpi* 基因分子标记

Table 2 Molecular markers of broad-spectrum *Rpi* gene

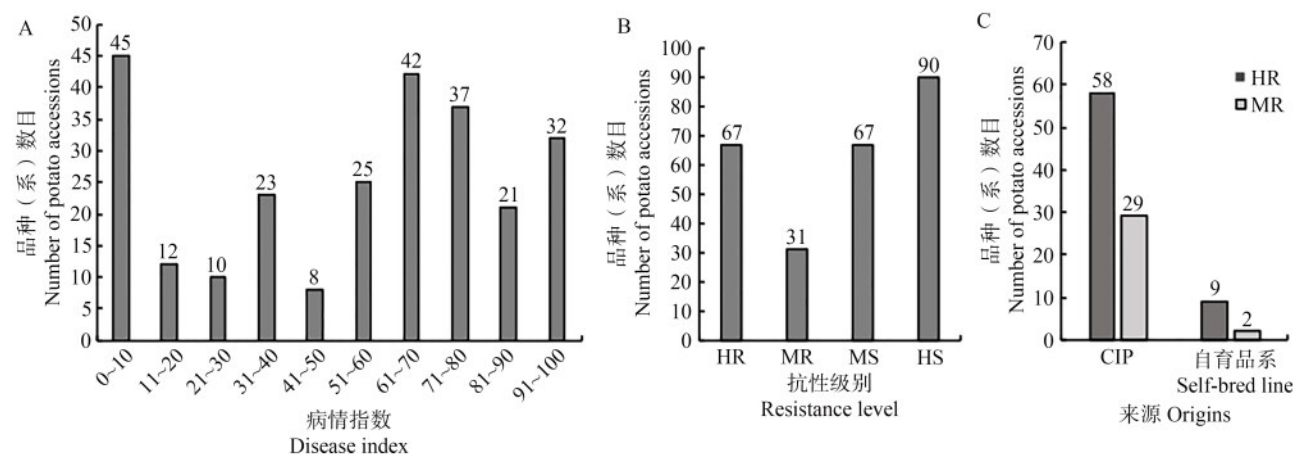
基因 Gene	标记名称 Marker name	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	退火温度(℃) Annealing temperature	产物大小(bp) Product size	参考文献 References
R8	R8-Fd	CTGGCGCTGGTTTGTCTATGC	59	682	[7]
	R8-Fd	TCTCTTCGACTTCTTCTTACGAGGTCTA			
RB	RB-629 F	GAATCAAATTATCCACCCCAACTTTTAAAT	55	629	[13]
	RB-629 R	CAAGTATTGGGAGGACTGAAAAGGT			
<i>Rpi-blb2</i>	BLB2F	GGACTGGGTAACGACAATCC	58	774	[11]
	BLB2R	GCATTAGGGGAACCTCGTGCT			
<i>Rpi-blb3</i>	Rpi-blb3 F	AGCTTTTGTAGTGTGTAATTGG	63.5	305	[12]
	Rpi-blb3 R	GTAAC TACGACTCGAGGG			
<i>Rpi-sto1</i>	Rpi-sto1 F	ACCAAGGCCACAAGATTCTC	65	890	[12]
	Rpi-sto1 R	CCTGCGGTTTCGGTTAATACA			
<i>Rpi-vnt1.1</i>	Rpi-vnt1.1 F	CCTTCCTCATCCTCACATTTAG	60	302	[12]
	Rpi-vnt1.1 R	CTCATCTAATAGATCCTCCAC			

2 结果与分析

2.1 田间晚疫病抗性鉴定结果

255份材料间平均病情指数差异显著(图1A)。平均病情指数0~10间材料份数较多,为45份;61~70间有42份,71~80间有37份,81~90间有21份,91~100间有32份,

51~60间有25份,31~40间有23份,81~90间有21份,11~20间有12份,21~30间有10份,41~50间有8份。抗性分级结果如图1B所示,高抗、中抗、中感及高感材料分别有67份(26.3%)、31份(12.1%)、67份(26.3%)和90份(35.3%)。



A: 病情指数分布; B: 田间抗性分级; C: 抗病材料来源; HR: 高抗; MR: 中抗; MS: 中感; HS: 高感; CIP: 国际马铃薯中心; 下同
A: Disease index distribution; B: Field resistance classification; C: Source of disease-resistant germplasm; HR: Highly resistance; MR: Moderately resistance; MS: Moderately susceptible; HS: Highly susceptible; CIP: International potato centre; The same as below

图1 晚疫病田间抗性鉴定结果

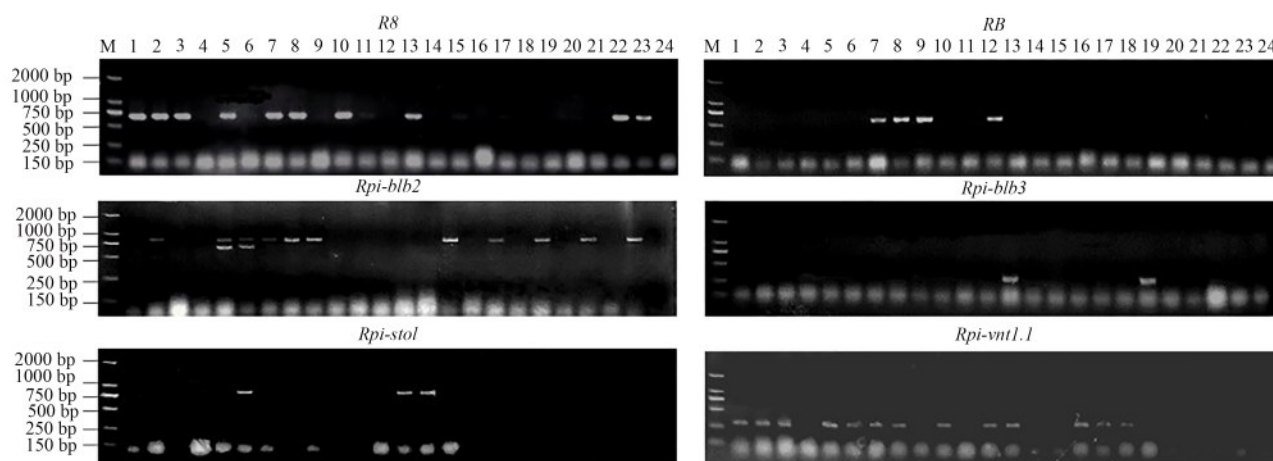
Fig.1 Evaluation results of field resistance to late blight

分析抗性材料来源(图1C),发现67份高抗材料中58份来源于国际马铃薯中心,9份为自育品系;31份中抗材料中29份来源于国际马铃薯中心,2份为自育品系;地方品种和云南主栽品种中均无抗性品种。表明国内晚疫病抗性种质缺乏,需引进国外高抗种质用于抗病育种。

2.2 广谱 *Rpi* 基因 *R8*、*RB*、*Rpi-blb2*、*Rpi-blb3*、*Rpi-vnt1.1*、*Rpi-sto1* 分子标记检测

用表2中的6对引物分别检测255份材料中

R8、*RB*、*Rpi-blb2*、*Rpi-blb3*、*Rpi-vnt1.1*、*Rpi-sto1* 分子标记(图2)。含 *R8* 分子标记材料可扩增出682 bp大小特异片段,含 *RB* 分子标记材料可扩增出629 bp大小特异片段,含 *Rpi-blb3* 分子标记材料可扩增出305 bp大小特异片段,含 *Rpi-sto1* 分子标记材料可扩增出890 bp大小特异片段,含 *Rpi-vnt1.1* 分子标记材料可扩增出302 bp大小特异片段。含 *Rpi-blb2* 分子标记材料可扩增出两个片段,上部条带为774 bp大小目标条带,下部条带为该材料中 *Rpi-blb2* 的同源基因。



M: BM 2000+ DNA Marker; 1~23: 检测的部分材料; 24: 阴性对照

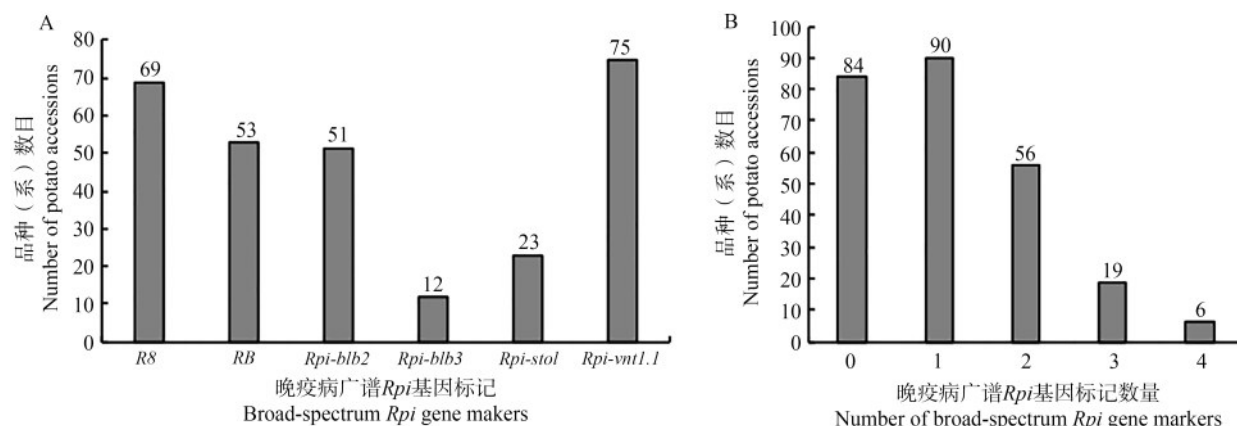
M: BM 2000+ DNA Marker; 1-23: Parts of genotypes; 24: Negative control

图2 马铃薯种质资源中6个广谱 *Rpi* 基因的标记检测

Fig.2 Detection of broad-spectrum *Rpi* gene marker in potato germplasm

从6个广谱 *Rpi* 基因分子标记检测结果来看(图3A),255份材料中,含 *Rpi-vnt1.1* 基因的材料最多,有75份;其后依次是含 *R8*、*RB*、*Rpi-blb2* 和 *Rpi-sto1* 基因的材料,分别有69份、53份、51份和23份;含 *Rpi-blb3* 基因的材料最少,仅12份。从含广谱

Rpi 基因分子标记数量来看(图3B),含单个或不含广谱 *Rpi* 基因的材料最多,分别有90份和84份,占比35.3%和32.9%;其次是含2个与3个广谱 *Rpi* 基因的材料,分别有56份和19份,占比22.0%和7.4%;含4个广谱 *Rpi* 基因的材料最少,仅6份,占2.4%。



A: 单个广谱 *Rpi* 基因分子标记分布; B: 广谱 *Rpi* 基因分子标记个数分布

A: Distribution of broad-spectrum *Rpi* gene markers; B: Distribution of broad-spectrum *Rpi* gene marker numbers

图3 马铃薯广谱 *Rpi* 基因分子标记检测

Fig.3 Molecular marker screening of broad-spectrum *Rpi* genes in potatoes

2.3 晚疫病田间抗性与广谱 *Rpi* 基因分子标记组成的关系

根据分子标记与田间抗性鉴定结果(表 3), 发现 6 个广谱 *Rpi* 基因分子标记在抗性(高抗+中抗)和感病材料(高感+中感)中均有分布。计算每一广谱 *Rpi* 基因分子标记的田间抗性符合程度(符合程度=含 *Rpi* 基因分子标记的抗病材料份数/含该 *Rpi* 基因分子标记的材料总份数×100%), 其中 *R8* 分子标记的田间抗性符合程度最高, 为 91.3%。其余分子标记的田间抗性符合程度均未达到 50%, *RB*、*Rpi-blb2*、*Rpi-blb3*、*Rpi-sto1*、*Rpi-vnt1.1* 分子标记分别为 39.6%、39.2%、25.0%、43.5%、34.7%。说明 *R8* 分子标记可用于分子标记辅助选择, 而其余分子标记吻合程度较差, 后期可进一步设计这些广谱 *Rpi* 基因的分子标记。

进一步分析含 *R8* 基因的材料, 发现仅含 *R8* 基因的 31 份材料中有 2 份高感与 2 份中感材料; 含 *R8* 基因和其他 1 个广谱 *Rpi* 基因的 22 份材料中有 2 份中感材料; 而含 *R8* 基因和其他 2 个以上广谱 *Rpi* 基因的 16 份材料中除 1 份中抗外, 其余均为高抗材料。同时 14013-28、14013-35、14013-66、14013-6-

L1、14013-127 源于 1002-1 与日本引进品系 J2 的杂交, 可发现高抗 1002-1 含 *R8* 基因, 其后代含 *R8* 基因的 14013-28、14013-66、14013-127 均高抗晚疫病; 而 14013-35 与 14013-6-L1 不含 *R8* 基因则易感晚疫病。说明 *R8* 基因在田间晚疫病抗性中起主要贡献, 尤其是在与其他 *Rpi* 基因分子标记相结合时; *R8* 基因遗传给后代也能保持较高抗性, *R8* 分子标记可用来筛选出抗病种质与单株。

同时从供试材料广谱 *Rpi* 基因分子标记组成来看(表 3), 含 4 个广谱 *Rpi* 基因分子标记材料有 6 份, 均来源于国际马铃薯中心; 含 3 个广谱 *Rpi* 基因分子标记材料有 19 份, 17 份源于国际马铃薯中心, 2 份源于自育品系; 含 2 个广谱 *Rpi* 基因分子标记材料有 56 份, 54 份源于国际马铃薯中心, 2 份源于自育品系; 含单个广谱 *Rpi* 基因分子标记材料有 91 份; 84 份材料未检测到任何广谱 *Rpi* 基因分子标记。地方品种和云南主栽品种除合作 88 检测到 *RB* 分子标记外, 其余材料均未检测到任何广谱 *Rpi* 基因分子标记。说明国内大部分材料缺乏广谱 *Rpi* 基因, 而含多个广谱 *Rpi* 基因材料大部分来源于国际马铃薯中心。

表 3 广谱 *Rpi* 基因分子标记与田间抗性鉴定结果

Table 3 Identification results of broad-spectrum *Rpi* gene marker and field resistance

标记 Markers	份数 No.	比例(%) Ratio	抗性 Resistance	品种(系)名称 Name of variety (line)
无 <i>Rpi</i> No <i>Rpi</i>	84	32.94	高抗	396009.240, 396046.105, 512
			中抗	381379.12, 393083.2, 381381.9, 391691.96, 398208.505, 399001.44, 399048.24, 399072.11, 399075.32, 399075.7, 1153, 21-3
			中感	300137.31, 304347.6, 380011.12, 389746.2, 393242.50, 395448.1, 396031.119, 396038.101, 396063.16, 396244.12, 398190.605, 398192.592, 399085.17, 399085.23, 老鼠洋芋, 格杂红, 宣秀, 丽薯 6 号, 14-6T8, 2012-20-5D1, 21-1, 27-1, 30-1
			高感	304350.18, 304368.22, 304394.56, 304399.15, 381178.14, 800923, 393536.13, 394223.19, 394900.1, 395445.16, 395446.1, 396036.201, 396180.22, 396268.1, 396268.9, 396269.14, 396269.16, 396272.12, 396272.18, 396272.2, 396272.21, 396285.1, 397006.18, 397012.20, 397039.53, 398192.41, 398192.553, 398208.29, 694474.16, 694474.33, 720072, 800048, 黑美人, 红玫瑰, 青薯 9 号, 大西洋, 滇薯 1208, 1131, 1214, 162-2, 34-2, 3S-133-01, 55-4A, 6-1, DL3, 14013-6-L1
<i>R8</i>	31	12.15	高抗	391585.179, 392634.49, 392821.1, 393385.39, 393399.7, 395017.14, 395017.229, 395017.242, 395112.19, 395112.32, 395112.36, 395112.6, 395169.17, 396012.266, 396240.2, 396272.37, 398208.620, 398208.670, 滇薯 1418, 14-12T19, 14-18A, 1002-1, 14013-66
			中抗	394898.13, 398098.231, 395109.34, 398098.570
			中感	398098.65, 398190.112
			高感	396273.48, 398190.735
<i>RB</i>	11	4.31	高抗	398098.205, 398190.530, 398190.615
			中感	301026.23, 396018.241, 396031.108, 396038.105, 397060.19, 17-2

表3 (续)

标记 Markers	份数 No.	比例(%) Ratio	抗性 Resistance	品种(系)名称 Name of variety (line)
Rpi-blb2	20	7.84	高感	397054.3, 合作 88
			高抗	392025.7, 399062.118
			中抗	304351.109, 385558.2, 301055.53, 391065.81
			中感	304399.5, 391580.30, 393075.54, 393084.31, 393371.157
			高感	300135.14, 301041.26, 304349.8, 304387.92, 380496.6, 391046.14, 392639.34, 393339.242, 394899.5
Rpi-blb3	4	1.57	中感	399004.19, 399083.4, 399085.30, I-1085
Rpi-sto1	4	1.57	高抗	I-1039
			中感	19(2)-5D1
			高感	304366.46, 滇薯 1428
Rpi-vnt1.1	20	7.84	高抗	398180.144, 398190.200
			中抗	399079.22, 399072.28, 399078.11
			中感	301037.85, 395084.9, 396038.107, 399067.22
			高感	302498.70, 304371.20, 304371.58, 393077.54, 394638.3, 396004.263, 396004.337, 398193.158, 398193.650, 398201.510, 399067.14
			高感	392657.8, 393385.47, 396063.1, 396240.23, 398190.404
R8, RB	7	2.74	高抗	396026.103
			中抗	398190.523
			中感	391585.5, 393248.55, 387164.4, 392285.72, 393371.58, 395011.2
R8, Rpi-blb2	6	2.35	高抗	384321.3
R8, Rpi-sto1	1	0.39	高抗	301624.95, 395015.6, 395109.29, 395123.6, 396043.226
R8, Rpi-vnt1.1	8	3.14	高抗	393079.4, 395111.13
			中抗	398190.571
			中感	14013-35
RB, Rpi-sto1	1	0.39	中感	396026.101
RB, Rpi-vnt1.1	15	5.88	中抗	303381.106, 396009.258, 396004.225, 396027.205, 396033.102, 396034.103, 396034.268, 396037.215, 101-2
			中感	304405.42, 395017.227, 395037.107, 395096.2, 396241.4
			高感	301044.36
Rpi-blb2, Rpi-vnt1.1	10	3.92	高抗	300055.32, 300063.9, 301623.15, 384866.5
			中感	304387.17, 391002.6, 392633.64, 393077.159, 394223.9
			高感	381403.16
Rpi-blb3, Rpi-sto1	1	0.39	中抗	399049.16, 399073.23
Rpi-blb3, Rpi-vnt1.1	6	2.35	中抗	399053.11
			中感	399049.14, 399049.22, 399053.15
			高感	374080.5
Rpi-sto1, Rpi-vnt1.1	1	0.39	高感	393349.68, 393280.82, 14013-28, 14013-127
R8, RB, Rpi-sto1	4	1.57	高抗	303381.30, 396008.104, 396023.109
R8, RB, Rpi-vnt1.1	4	1.57	高抗	395077.12
			中抗	393079.24, 393617.1, 394895.7, 391011.17, 393284.39
			高抗	304351.31
R8, Rpi-blb2, Rpi-vnt1.1	5	1.96	中感	301056.54, 304350.78, 304406.31
RB, Rpi-blb2, Rpi-sto1	4	1.57	高感	301045.74
RB, Rpi-blb2, Rpi-vnt1.1	1	0.39	中感	300065.4
RB, Rpi-sto1, Rpi-vnt1.1	1	0.39	中感	392637.10, 393220.54
R8, RB, Rpi-blb2, Rpi-sto1	2	0.78	高抗	393280.57
R8, RB, Rpi-sto1, Rpi-vnt1.1	1	0.39	高抗	393382.44
RB, Rpi-blb2, Rpi-sto1, Rpi-vnt1.1	2	0.78	中感	300135.3
Rpi-blb2, Rpi-blb3, Rpi-sto1, Rpi-vnt1.1	1	0.39	高感	377744.1

3 讨论

马铃薯是重要的粮蔬兼用作物,而晚疫病严重威胁着马铃薯生产,目前最好的预防措施是使用抗性品种。聚合多个 *Rpi* 基因,尤其是广谱 *Rpi* 基因,能够实现广谱抗性,如具有较强广谱抗性的材料 MaR8 含有 *R3a*、*R3b*、*R4*、*R8*, MaR9 含有 *R1*、*Rpi-abpt1*、*R3a*、*R3b*、*R4*、*R8*、*R9*、*R9a*, Sarpo Mira 含 *R3a*、*R3b*、*R4*、*Rpi-Smira1*、*Rpi-Smira2/R8*^[5,26]。目前已从马铃薯不同野生种中发现了超过 70 个 *Rpi* 基因,但大部分还未引入到栽培种中去,为此发掘和利用现有栽培种中的高抗种质对晚疫病抗性育种至关重要^[27]。同时育种周期长也是抗性品种选育的限制条件之一,随着较多 *Rpi* 基因(*R1*、*R2*、*R2family*、*R3a*、*R3b*、*R8*、*R10*、*RD*、*RB/Rpi-blb1*、*Rpi-blb2*、*Rpi-blb3*、*Rpi-sto1*、*Rpi-vnt1.1*、*Rpi-abpt*、*Rpi-phul*、*Rpi-ber1*、*Rpi-bt1* 等)^[6,28] 分子标记被开发,可通过分子标记辅助选择技术来缩短育种年限。

本研究对 255 份材料进行 6 个广谱 *Rpi* 基因分子标记检测,发现含 *Rpi-vnt1.1* 分子标记的材料有 75 份,含 *R8* 分子标记的材料有 69 份,含 *RB* 分子标记的材料有 53 份,含 *Rpi-blb2* 分子标记的材料有 51 份,含 *Rpi-sto1* 分子标记的材料有 23 份,含 *Rpi-blb3* 分子标记的材料有 12 份。大部分材料(174 份)不含或仅含 1 个广谱 *Rpi* 基因分子标记;含 2 个广谱 *Rpi* 基因标记的材料有 56 份,含 3 个或 4 个广谱 *Rpi* 基因分子标记的材料有 25 份。聚合多个广谱 *Rpi* 基因分子标记的材料较少,且大部分来自国际马铃薯中心。说明 *Rpi-vnt1.1* 和 *R8* 分子标记在供试材料中检出率较高,而 *Rpi-blb2* 和 *Rpi-sto1* 分子标记较少,国内种质缺乏广谱 *Rpi* 基因。此外,还检测了另一个广谱抗性基因 *Rpi-*chcl**^[29] 的分子标记,但未在任何材料中检测到。除这 6 个广谱 *Rpi* 基因分子标记,*R1*、*R2*、*R2family*、*R3a*、*R3b*、*R10*、*RD*、*Rpi-ber1*、*Rpi-abpt*、*Rpi-bt1* 等 *Rpi* 基因分子标记还未被检测,他们是否在晚疫病抗性中起作用还待进一步研究。同时利用无毒基因瞬时表达技术也可检测 *Rpi* 基因,目前已超 15 个无毒基因及其对应的 *Rpi* 基因被证明^[26,30]。

为给云南省马铃薯新品种的推广、布局和抗性育种提供更优良的种质,对这 255 份材料进行晚疫病田间抗性鉴定。其中有 67 份高抗材料、31 份中抗材料,这些材料可作为晚疫病抗性育种的基础材料。分析抗病种质来源,发现它们大部分来源于国

际马铃薯中心,小部分源于自育品系,云南主栽品种与地方品种已经丧失抗性。为此,引进国外高抗种质用于云南省马铃薯晚疫病抗性育种是不可或缺的。分析 *Rpi* 基因分子标记组成与田间晚疫病抗性间的关系,发现 *R8*、*RB*、*Rpi-blb2*、*Rpi-blb3*、*Rpi-sto1*、*Rpi-vnt1.1* 分子标记的抗性吻合度依次为 91.3%、39.6%、39.2%、25.0%、43.5%、34.7%。此前聂佳惠等^[7]发现该 *R8* 分子标记抗性符合程度在 62.5%,而娄树宝等^[31]发现为 93.0%,同样说明该标记具有较高准确性。Elena 等^[14]对多份马铃薯种间杂交后代检测了 *Rpi-blb2*、*Rpi-blb3*、*Rpi-sto1* 分子标记,其田间抗性符合程度分别为 82.3%、64%、85.7%。而 *Rpi-vnt1.1* 分子标记与 Elena 等^[14]的分子标记正向引物相同,而反向引物不同,但二者的准确率相差较大,Elena 等^[14]的 *Rpi-vnt1.1* 分子标记田间抗性符合程度有 83.3%,而本研究中仅 34.7%。Blossei 等^[32]对 52 份种间品系检测 *Rpi-blb3* 与 *Rpi-sto1* 分子标记,10 份含 *Rpi-blb3* 分子标记与 4 份含 *Rpi-sto1* 分子标记的材料均在田间表现出了良好晚疫病抗性。除 *R8* 分子标记外,其余标记的抗性符合程度均较低,可能为大量抗性基因同源物(RGA, resistance gene analogues)或其他机制干扰了分子标记检测的准确性,使其检测结果呈现假阳性^[20]。同时部分国际马铃薯中心材料晚疫病抗性已有报道,大部分材料的抗性鉴定结果同本研究一致,如 391585.179、392634.49 均抗病,720072 均感病;同时发现部分材料鉴定结果不一致,如 377744.1 和 393382.44(含 4 个 *Rpi* 基因分子标记)本研究鉴定为感病,但 377744.1 在 Kaila^[33]与王磊^[34]的报道中表现为抗病;393382.44 在 Kaila^[33]报道中为抗病,而王磊^[34]报道 393382.44 为感病,这可能与不同的鉴定环境相关。

69 份含 *R8* 分子标记材料中有 63 份抗病,当 *R8* 分子标记与其他 *Rpi* 基因分子标记聚合时,*R8* 分子标记的晚疫病田间抗性符合程度会随之增加。而 90 份高感材料中,仅 2 份含 *R8* 分子标记,说明 *R8* 基因在晚疫病田间抗性中起主要贡献。分析源于 14013 组合的 5 份高代品系及其亲本 1002-1,说明 *R8* 基因能遗传给后代,其后代也可获得较强晚疫病田间抗性。在此后的抗病育种工作中,可选择含 *R8* 基因的多抗材料作为亲本,通过分子标记辅助选择技术来选择含 *R8* 基因的株系,从而极大减少育种工作量。396009.240、396046.105、1520 同样高抗晚疫病,但未检测到任何标记,可能含有新的 *Rpi* 基因,

可为挖掘新的 *Rpi* 基因和解析晚疫病抗性机制提供材料基础。

了解病原群体结构及其变化,有助于抗性品种选育与布局。杨艳丽等^[35]对云南15个县市的41个代表性菌株进行生理小种测定,共发现0、3、4、3.4共4种类型生理小种,以3号生理小种为优势小种。Ryu等^[36]发现1999-2000年从云南收集的134株菌株以A1交配型为主,以3.4号生理小种为优势小种。杨艳丽等^[37]对2003-2005年从云南省收集117株菌株进行生理小种测定,共检测出26个生理小种,以3.4.6.8.10.11为优势菌株,占全部菌株的28.69%。杨艳丽等^[38]从13个品种上采集了186株菌株,交配型仍以A1为主,共检测出100个生理小种类型,优势小种为1.2.3.4.5.6.7.8.9.10.11,占22.1%。梁静思等^[39]从云南省马铃薯主产区分离出19株菌株,有A2交配型15株,为主要优势群体;A1交配型和自育型较少,同时检测出1株A1A2交配型。钱红洁^[40]对2018-2020年从云南省11县区收集的118份菌株进行生理小种鉴定,发现1.2.3.4.5.6.7.8.9.10.11出现比例依次为26.7%、83.3%、87.3%。以上报道表明云南省晚疫病菌群体结构日益复杂,交配型优势群体已由最初的A1转变为A2,并且病原群体交配型更加复杂;生理小种类型更多,毒力更强,已有较多的能够克服 *R1*~*R11* 的“超级小种”出现。主效 *Rpi* 基因已不能满足晚疫病抗性需求,选育含广谱 *Rpi* 基因的新品种已迫在眉睫。即便有克服 *R8* 基因的“超级小种”出现,*R8* 基因仍具有较强抗性,娄树宝等^[31]的结果表明含 *R8* 分子标记的材料对KS09-7(1.2.3.4.5.6.7.8.10.11)和KS11-26(3.4.6.7.8.11)两个菌株具有抗性,这可能与 *R8* 基因广谱抗性有关。后期可将 *R8* 分子标记通过分子标记辅助选择技术进行多个 *Rpi* 基因的聚合育种,选育出抗病品种。

4 结论

晚疫病田间抗性鉴定结果表明255份材料有98份材料抗晚疫病,157份材料感晚疫病,且大部分抗性材料源于国际马铃薯中心。*R8* 基因在晚疫病田间抗性中起主要贡献,含 *R8* 基因的杂交后代与亲本同样具有抗性,*R8* 分子标记的田间抗性符合程度较高,可利用该 *R8* 分子标记来选择抗性材料与单株。

参考文献

[1] 卢肖平. 马铃薯主粮化战略的意义、瓶颈与政策建议. 华中农业大学学报: 社会科学版, 2015(3): 1-7

- Lu X P. Strategy of potato as staple food: Significance, bottlenecks and policy suggestions. Journal of Huazhong Agricultural University: Social Sciences Edition, 2015 (3): 1-7
- [2] 周阳, 赵中华, 杨普云, 王强. 近年马铃薯晚疫病发生特点与防控对策. 中国植保导刊, 2014, 34(6): 63-66
- Zhou Y, Zhao Z H, Yang P Y, Wang Q. Occurrence characteristics and control strategies of potato late blight in recent years. China Plant Protection, 2014, 34(6): 63-66
- [3] 徐进, 朱杰华, 杨艳丽, 汤浩, 吕和平, 樊明寿, 石瑛, 董道峰, 王贵江, 王万兴, 熊兴耀, 高玉林. 中国马铃薯病虫害发生情况与农药使用现状. 中国农业科学, 2019, 52(16): 2800-2808
- Xu J, Zhu J H, Yang Y L, Tang H, Lü H P, Fan M S, Shi Y, Dong D F, Wang G J, Wang W X, Xiong X Y, Gao Y L. Status of major diseases and insect pests of potato and pesticide usage in China. Scientia Agricultura Sinica, 2019, 52(16): 2800-2808
- [4] Agim B, Maria R E, Julia W, Khalid M, Christina A B, Petra O, Francesco S, Christiane G. The *R1* gene for potato resistance to late blight (*Phytophthora Infestans*) belongs to the Leucine zipper/NBS/LRR class of plant resistance genes. Plant Journal, 2022, 30(3): 361-371
- [5] Hyoun J K, Heung R L, Kwang R J, Mahdi M, Dirk J H, Bert E, Geert K, Richard G F V, Evert J, Jack H V. Broad spectrum late blight resistance in potato differential set plants *MaR8* and *MaR9* is conferred by multiple stacked R genes. Theoretical and Applied Genetics, 2012, 124(5): 923-935
- [6] 徐建飞, 金黎平. 马铃薯遗传育种研究: 现状与展望. 中国农业科学, 2017, 50(6): 990-1015
- Xu J F, Jin L P. Advances and perspectives in research of potato genetics and breeding. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(6): 990-1015
- [7] 聂佳惠, 李红军, 宋威武, 吴承金, 宋波涛, 田振东. 华薯和鄂薯系列马铃薯品种晚疫病抗病基因及水平抗性相关基因 SNP 位点检测. 中国马铃薯, 2021, 35(1): 9-18
- Nie J H, Li H J, Song W W, Wu C J, Song B T, Tian Z D. Detection of late blight resistance genes and SNPs of horizontal resistance related genes in Huashu and Eshu potato varieties. Chinese Potato Journal, 2021, 35(1): 9-18
- [8] Junqi S, James M B, Kristine S N, John A R, Susan M W, Geraldine T H, Jia L, Hanhui K, Sandra A P, Robin B, John P H, Jiming J. Gene *RB* cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100(16): 9128-9133
- [9] Edwin A G V, Jack G, Anne S, Marielle M, Doret W, Petra W, Andy P, Sjeffe A. The *Rpi-blb2* gene from *Solanum bulbocastanum* is an *Mi-1* gene homolog conferring broad-spectrum late blight resistance in potato. The Plant Journal, 2005, 44(2): 208-222
- [10] Tae-Ho P, Jack G, Anne S, Vivianne G V, Marielle M,

- Sjefke A, Evert J, Richard V, Edwin V. The late blight resistance locus *Rpi-blb3* from *Solanum bulbocastanum* belongs to a major late blight *R* gene cluster on chromosome 4 of potato. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2005, 18 (7): 722-729
- [11] Miqia W, Sjefke A, Ronald G, Van D B, Vivianne G V, Edwin A G, van der V, Ben V. Allele mining in *Solanum*: Conserved homologues of *Rpi-blb1* are identified in *Solanum stoloniferum*. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116 (7): 933-943
- [12] Su X Z, Ying L, Jack H V, Richard G F V, Evert J. Functional stacking of three resistance genes against *Phytophthora infestans* in potato. *Transgenic Research*, 2012, 21(1): 89-90
- [13] 刘程, 王世尧, 史伟玲, 宋玉浩, 蒋锐, 赵勇, 莫世春, 吕典秋, 王季春, 刘勋. 马铃薯抗晚疫病基因 *R8*、*RB* 和抗病毒病基因 *Rx1*、*Ryadg* 的多重 PCR 检测. *园艺学报*, 2020, 48 (2): 389-396
- Liu C, Wang S Y, Shi W L, Song Y H, Jiang R, Zhao Y, Mo S C, Lü D Q, Wang J H, Liu X. Multiplex PCR detection for late blight resistant genes *R8*, *RB* and virus resistant genes *Rx1*, *Ryadg* in potato. *Acta Horticulturae Sinica*, 2020, 48 (2): 389-396
- [14] Elena V R, Mariya P B, Oksana A M, Mariya A K, Emil E K. Stacking resistance genes in multiparental interspecific potato hybrids to anticipate late blight outbreaks. *Agronomy*, 2021, 11(1): 115
- [15] Mariya P B, Nadezhda A C, Nadezhda M Z, Alena A G, Mariya A K, Miles A, Ingo H, Polina E D, Emil E K, Elena V R. Combination breeding and marker-assisted selection to develop late blight resistant potato cultivars. *Agronomy*, 2021, 11(11): 2192
- [16] 卢丽丽, 曹继芬, 潘哲超, 刘凌云, 赵志坚, 杨琼芬. 云南省马铃薯主要品种晚疫病抗性评价. *中国马铃薯*, 2016, 30 (6): 356-361
- Lu L L, Cao J F, Pan Z C, Liu L Y, Zhao Z J, Yang Q F. Resistance evaluation of main potato varieties to late blight in Yunnan province. *Chinese Potato Journal*, 2016, 30 (6): 356-361
- [17] 李亚红, 霍超, 曹继芬, 周媛春, 陈莹, 张君, 王德海, 赵志坚. 云南省不同季节马铃薯晚疫病发生流行及侵染规律研究. *西南农业学报*, 2022, 35(9): 2046-2053
- Li Y H, Huo C, Cao J F, Zhou A C, Chen Y, Zhang J, Wang D H, Zhao Z J. Epidemics and infection characteristics of potato late blight in different seasons in Yunnan province. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35 (9): 2046-2053
- [18] 白磊, 郭华春. 马铃薯多抗亲本的分子标记辅助筛选. *分子植物育种*, 2017, 15(1): 200-212
- Bai L, Guo H C. The molecular markers assisted screening of multiple resistance potato parents. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15(1): 200-212
- [19] Jack H V, Gert V A, Marjan B, Kwang R J, Evert J, Richard G F V. The *Solanum demissum* *R8* late blight resistance gene is an *Sw-5* homologue that has been deployed worldwide in late blight resistant varieties. *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 129(9): 1785-1796
- [20] Rui J, Jing C L, Zhen D T, Juan D, Miles A, Katie B, Joanne T L, Jack H V, Huan H, Leticia P, Jun Z, Merideth B, Ingo H, Hannele L K, Cong H X. Potato late blight field resistance from QTL *dPI09c* is conferred by the NB-LRR gene *R8*. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 69(7): 1545-1555
- [21] Marc G, Arinaitwe A B, Eric M, Anne N, Cristina R, María L M, José C T, Soledad G, Gregory A F, Jan F K, Alex B, Andrew K. Stacking three late blight resistance genes from wild species directly into African highland potato varieties confers complete field resistance to local blight races. *Plant Biotechnology Journal*, 2019, 17(6): 1119-1129
- [22] Fan Z, Han C, Xinjie Z, Chuyun G, Jie H, Li L, Danyu S, Luyao W, Chong H, Wenwu Y, Xiaobo Z, Yuanchao W, Jack H V, Suomeng D. Genome analysis of two newly emerged potato late blight isolates sheds light on pathogen adaptation and provides tools for disease management. *Phytopathology*, 2021, 111(1): 96-107
- [23] Moisan T M, Marhadour S K M C, Dessenne N P M, Gokelaere T, Le H Y. Potato cultivar identification using simple sequence repeats markers (SSR). *Potato Research*, 2005, 48(3): 191-200
- [24] 李文娟, Forbes Gregory A, 谢开云. 铃薯晚疫病发病程度田间观察记录标准的探讨. *中国马铃薯*, 2012, 26(4): 238-246
- Li W J, Forbes G A, Xie K Y. Observations on the standardization of field assessment of potato late blight severity. *Chinese Potato Journal*, 2012, 26(4): 238-246
- [25] 刘勋, 郑克邪, 张娇, 徐茜, 张蜀敏, 赵勇, 沈昱辰, 谢德斌, 唐道彬, 吕长文, 张凯, 任茂智, 王季春. 马铃薯晚疫病抗性基因分子标记检测及抗性评价. *植物遗传资源学报*, 2019, 20(3): 538-549
- Liu X, Zheng K X, Zhang J, Xu Q, Zhang S M, Zhao Y, Shen Y C, Xie D B, Tang D B, Lv C W, Zhang K, Ren M Z, Wang J C. Molecular marker screening of resistant genes and evaluation of resistance to late blight from 218 potato genotypes. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2019, 20 (3): 538-549
- [26] Hendrik R, Gerard B, Liliana M C, Heung R L, Jack H V, Evert J, Richard G F V, Sophien K, Vivianne G A A V. Qualitative and quantitative late blight resistance in the potato cultivar Sarpo Mira is determined by the perception of five distinct RXLR effectors. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2012, 25(7): 910-919
- [27] Paulina P, Jadwiga Ś, Zhimin Y. Late blight resistance genes in potato breeding. *Planta*, 2022, 255(6): 127
- [28] Islam S, Raihan A, Nahiyan A, Nahiyan A S M, Siddique M A, Lutfur R. Field screening and marker assisted selection of late blight resistant potato lines. *International Journal of Plant & Soil Science*, 2018, 25(5): 1-12

- [29] Daniel M L, Maarten N, Linda K, Sophien K, Hamed S, Kyrylo S, Remco S, Anoma L, Ahmed A, Richard G F V, Jack H V. Allelic variants of the NLR protein Rpi-chcl differentially recognize members of the *Phytophthora infestans* PexRD12/31 effector superfamily through the leucine-rich repeat domain. *The Plant Journal*, 2021, 107(1): 182-197
- [30] 周晶, 张子莹, 路远, 田振东, 谢从华. 利用晚疫病无毒基因瞬时表达技术鉴定马铃薯抗病基因. *中国马铃薯*, 2014, 28(4): 217-224
- Zhou J, Zhang Z Y, Lu Y, Tian Z D, Xie C H. Identification of late blight resistance *R* genes of potato by transient expressing of *Phytophthora infestans* avirulence genes using agro-infiltration. *Chinese Potato Journal*, 2014, 28(4): 217-224
- [31] 娄树宝, 李凤云, 田国奎, 王海艳, 田振东, 王立春, 刘喜才, 王辉. 马铃薯种质资源晚疫病抗性评价及分子标记辅助筛选. *作物杂志*, 2021(4): 196-201
- Lou S B, Li F Y, Tian G K, Wang H Y, Tian Z D, Wang L C, Liu X C, Wang H. Evaluation of germplasms for resistance to potato late blight and molecular markers assisted screening. *Crops*, 2021(4): 196-201
- [32] Blossei J, Uptmoor R, Thieme R, Nachtigall M, Hammann T. Insights into the genetic basis of the pre-breeding potato clones developed at the Julius Kühn Institute for high and durable late blight resistance. *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 2021, 19: 461-464
- [33] Kaila L. Inheritance and stability of late blight resistance in potato population B3 of the international potato center. Helsinki: University of Helsinki, 2015
- [34] 王磊. 198 份 CIP 马铃薯种质资源的表型性状和晚疫病抗性的遗传多样性研究. 兰州: 甘肃农业大学, 2021
- Wang L. Study on phenotypic traits and late blight resistance of 198 CIP potato germplasm resources. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2021
- [35] 杨艳丽, 罗文富, 国立耘. 云南马铃薯晚疫病病菌生理小种的研究. *植物保护*, 2001(4): 3-5
- Yang Y L, Luo W F, Guo L Y. Research on race of *Phytophthora infestans* on potato in Yunnan province. *Plant Protection*, 2001(4): 3-5
- [36] RYU K Y, 罗文富, 杨艳丽, 国立耘, 郭华春, 王毅, 陈海如. 云南省马铃薯晚疫病病菌的交配型、抗药性及生理小种分布的研究. *植物病理学报*, 2003(2): 126-131
- Ryu K Y, Luo W F, Yang Y L, Guo L Y, Guo H C, Wang Y, Chen H R. Mating type, fungicide sensitivity and physiological race of *Phytophthora infestans* collected from Yunnan province. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2003(2): 126-131
- [37] 杨艳丽, 胡先奇, 鲁绍凤, 罗文富, RYU K Y, 肖浪涛. 云南省马铃薯晚疫病病菌生理小种的组成与分布. *华中农业大学学报*, 2007(3): 297-301
- Yang Y L, Hu X Q, Lu S F, Luo W F, Ryu K Y, Xiao L T. Composition and distribution of physiological race of *Phytophthora infestans* in Yunnan province. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2007(3): 297-301
- [38] 杨艳丽, 王自然, 罗文富. 寄主对马铃薯晚疫病菌群体结构的影响研究. *植物保护*, 2008(6): 43-49
- Yang Y L, Wang Z R, Luo W F. Effects of the hosts on population structure of the potato late blight, *Phytophthora infestans*. *Plant Protection*, 2008(6): 43-49
- [39] 梁静思, 王伟伟, 单慧, 杨洋, 李灿辉, 唐唯. 马铃薯晚疫病病菌有性生殖发生对无毒基因 *Avr-blb1* 多样性及菌株毒性的影响. *西南农业学报*, 2019, 32(1): 30-35
- Liang J S, Wang W W, Shan H, Yang Y, Li C H, Tang W. Effects of sexual reproduction occurrence of *Phytophthora infestans* on diversity and pathogenicity characters of avirulent gene *Avr-Blb1*. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 32(1): 30-35
- [40] 钱红洁. 云南省马铃薯春作区晚疫病菌群体遗传多样性研究. 昆明: 云南农业大学, 2021
- Qian H J. Genetic diversity of late blight populations in potato spring cropping areas in Yunnan province. Kunming: Yunnan Agricultural University, 2021