



植物遗传资源学报

Journal of Plant Genetic Resources

ISSN 1672-1810, CN 11-4996/S

《植物遗传资源学报》网络首发论文

题目：马铃薯晚疫病水平抗性相关基因 SNP 位点检测与抗病育种值分析
作者：张朝辉，李永杰，白成娇，卢丽丽，包丽仙，赵志坚，白建明，杨静，潘哲超
DOI：10.13430/j.cnki.jpgr.20241030002
收稿日期：2024-10-30
网络首发日期：2025-03-04
引用格式：张朝辉，李永杰，白成娇，卢丽丽，包丽仙，赵志坚，白建明，杨静，潘哲超. 马铃薯晚疫病水平抗性相关基因 SNP 位点检测与抗病育种值分析 [J/OL]. 植物遗传资源学报. <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20241030002>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

马铃薯晚疫病水平抗性相关基因 SNP 位点 检测与抗病育种值分析

张朝辉^{1,2}, 李永杰^{1,2}, 白成娇^{1,2}, 卢丽丽¹, 包丽仙¹, 赵志坚¹, 白建明¹, 杨静², 潘哲超¹

(¹云南省农业科学院经济作物研究所, 昆明 650205; ²云南农业大学植物保护学院, 昆明 650000)

摘要: 马铃薯晚疫病水平抗性受微效多基因控制, 通过表型评价选择效率低下, 为创制马铃薯水平抗性种质资源, 本研究选用 8 个亲本材料杂交构建了 9 个杂交群体, 在基于离体叶片抗性鉴定评价晚疫病抗性的基础上, 结合 SNP 位点检测进行分子辅助选择。基于水平抗性基因 PCR 产物测序, 检测了 60 个抗、感杂交后代材料 8 个数量抗性基因的 19 个单核苷酸多态性 (SNP) 位点, 结果表明 *StAOS2-SNP691*、*StAOS2-SNP692*、*StGP28-SNP794*、*PLOX1-SNP8344* 有益 SNP 位点与抗性存在正向关联, 杂交后代群体中抗病材料的有益 SNP 纯合位点占比为 9.56%, 高于后代群体中的感病材料(5.65%), 同时高于亲本材料(7.89%), 联合 8 个基因 19 个 SNP 标记的系统发育分析可将 60 份材料聚类为 3 个抗病分支和 3 个感病分支。结合表型、育种系谱和水平抗性基因分子标记计算与抗晚疫病相关的育种值, 筛选出育种值高且具有 SNP 有益纯合位点的 PC2312-3、PC2312-15、PC2313-19 等优异单株, 为马铃薯水平抗性群体遗传改良提供了材料。

关键词: 马铃薯; 晚疫病; 水平抗性; SNP 位点; 育种值

Detection of SNP in Horizontal Resistance Genes and Breeding Values Analysis for Potato Late Blight Resistance

ZHANG Chaohui^{1,2}, LI Yongjie^{1,2}, BAI Chengjiao^{1,2}, LU Lili¹, BAO Lixian¹, ZHAO Zhijian¹,
BAI Jianming¹, YANG Jing², PAN Zhechao¹

(¹ Industrial Crops Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650205;

² College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650000)

Abstract: The horizontal resistance to potato late blight is controlled by minorgene with low efficiency through phenotype evaluation. In order to innovate potato germplasm resources with horizontal resistance, this study selected 8 parental materials for cross and constructed 9 hybrid populations. Combined with the late blight resistance evaluation by detached leaf assay, molecular assisted selection was performed on 60 resistant and susceptible hybrid offspring materials by horizontal resistance gene PCR sequencing, 19 single nucleotide polymorphism (SNP) sites of 8 resistance genes were detected. The results showed that *StAOS2-SNP691*、*StAOS2-SNP692*、*StGP28-SNP794*、*PLOX1-SNP8344* beneficial SNP loci was positively associated with late blight resistance. the proportion of beneficial SNP homozygous sites in disease resistant materials in the hybrid offspring population was 9.56%, which was higher than that in susceptible materials in the offspring population (5.65%) and higher than that in parental materials (7.89%). A phylogenetic analysis of 19 SNP markers in 8 genes cluster 60 materials into 3 resistant branches and 3 susceptible branches. By combining phenotype, breeding pedigree and molecular markers of horizontal resistance genes, breeding values related to resistance to late blight were calculated, and excellent individual plants such as PC2312-3, PC2312-15, and PC2313-19 with high breeding

收稿日期：2024-10-30

第一作者：张朝辉, 研究方向为资源利用与植物保护, E-mail: 1368140800@qq.com; 李永杰为共同第一作者

通信作者：潘哲超, 研究方向为马铃薯分子育种, E-mail: pzc@yaas.org.cn

基金项目：云南省农业联合专项重点基金(202101BD070001-022); 国家自然科学基金(32260505); 云南省后备人才项目(202305AC160032); 云南种子种业联合实验室项目(202205AR070001); 国家马铃薯产业技术体系(CARS-09-P03)

Foundation projects: Yunnan Agricultural Joint Program Key Fund (202101BD070001-022); National Natural Science Foundation of China (32260505); Yunnan Reserve Talent Project (202305AC160032); Yunnan Seed Industry Joint laboratory Program (202205AR070001); China Agriculture Research System-Grant (CARS-09-P03)

values and beneficial SNP homozygous loci were screened, providing materials for genetic improvement of potato horizontal resistance populations.

Key words: potato; late blight; horizontal resistance; SNP loci; breeding value

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 属于双子叶、茄科 (*Solanaceae*) 茄属 (*Solanum*) 一年生草本植物, 起源于南美洲安第斯山脉地区^[1]。发展至今马铃薯已经成为继水稻、小麦之后的世界第三大粮食作物, 中国第四大粮食作物^[2]。中国作为传统的种植大国, 马铃薯的种植面积和总产量均居世界第一, 在 2015 年 1 月中国开启马铃薯主粮化发展战略^[3]。由致病疫霉 (*Phytophthora infestans*) 引起的晚疫病是马铃薯生产中危害最为严重的病害, 在全球范围内造成了重大的经济损失^[4]。目前防治马铃薯晚疫病使用广泛的措施是喷施化学药剂、采取生物防治、栽培管理以及选用抗病品种, 但在众多的防控措施中, 种植广谱抗病品种是实现马铃薯产量稳定和经济效益最高的途径之一^[5]。

在早期, 育种家将野生种 *Solanum demissum* 中晚疫病抗病 *R* 基因 (*RI~RII*) 转入到马铃薯栽培种中, 但不久后大部分的 *R* 基因被克服, 含这些抗病基因的品种抗性往往丧失较快^[6]。20 世纪 90 年代国际马铃薯中心提出水平抗性育种策略, 中国约有 30% 的马铃薯品种有国际马铃薯中心的亲缘背景^[7]。马铃薯对晚疫病的水平抗性也被称作数量抗性 (QDR, quantitative disease resistance)、田间抗性。由数量抗性位点 (quantitative trait loci, QTL) 提供, 受一个到多个基因控制, 或者由多个基因相互作用而产生。相对于 *R* 基因的垂直抗性而言, 水平抗性由微效多基因控制, 对晚疫病菌的选择压小, 可延缓晚疫病菌的进化^[8]。拥有水平抗性的品种能够对多种晚疫病菌生理小种具有抗性, 减少了病原菌的选择压力, 具有广谱和稳定的特点, 对晚疫病的抗性更加持久。水平抗性机制复杂, 且与成熟期性状连锁, 德国马克斯·普朗克研究所开展了成熟期校正抗性的研究^[9], 2009 年, Pajerowska-Mukhtar 等^[10]通过 SNP 分析、环境效应分析、群体结构分析和关联分析等方法研究, 鉴定了 *StAOS2* 基因 SNP 标记, 它解释了近一半的马铃薯田间抗晚疫病的遗传变异。后在 2015 年, Muktar 等^[11]基于 SuperSAGE 分析、关联分析、连锁遗传等, 鉴定了 SNP 位点 (*BCCP*) 等与水平抗性也表现出关联。2016 年 Mosquera 等^[12], 综合茉莉酸途径、RNA-Seq、GWAS 三个途径来源的 9000 个 SNP 进行分析, 结果表明, *StAOS2*、*BCCP*、*HMGCR*、*STGP28*、*PLOX1*、*CYP71D11*、*Rpi-vnt1*、*TEF1*、*C3HL-TF* 和 *RBP50* 10 个基因的 SNP 与水平抗性显示出关联。本研究利用引自德国马克斯·普朗克研究所的水平抗性材料作为亲本, 通过构建杂交群体, 并结合晚疫病抗性鉴定与水平抗性基因 SNP 位点的检测分析, 以期获得更准确和可靠的遗传值预测, 为创制新的马铃薯晚疫病水平抗性材料提供基础。

1. 材料与方法

1.1 实验材料与杂交组合

供试材料 YA39、YA346、YB128 引自德国马克斯-普朗克植物育种研究所，是在当地经田间抗性评价为抗病的马铃薯水平抗性研究材料，YE11、BA10 和 SM4 系课题组从德国马克斯-普朗克植物育种研究所引进实生种子组合中筛选的优异单株；YS802 是云南省农业科学院经济作物研究所马铃薯中心所选育的马铃薯品种；LBR11-11 由华中农业大学的田振东教授提供。利用这些材料，配制形成了 9 个组合，经杂交后代群体离体叶片抗性鉴定后，选择 60 个抗、感分离明显的材料进行后续 SNP 检测与分析，杂交组合见(表 1)。

表 1 9 个杂交群体信息

Table 1 9 cross population information

组合	母本	父本
Group	Female Parent	Male Parent
PC234	YA39	YB128
PC235	YA39	YA346
PC236	YA39	YE11
PC237	YA39	BA10
PC2310	LBR11-11	YA346
PC2311	LBR11-11	YE11
PC2312	YS802	SM4
PC2313	YS802	BA10
PC2316	YB128	YA346

1.2 马铃薯晚疫病抗性鉴定

试验用晚疫病菌株由云南省农业科学院经济作物研究所马铃薯疫病实验室提供，采用超级生理小种 202003408 (S 小种：1、2、3a、3b、4、5、6、7、8、9、10、11)、优势生理小种 202002511 (小种：1、2、3a、3b、4、5、6、7、9、10、11) 与 20200213A (小种：1、2、3a、3b、4、6、7、8、9、10、11) 进行等量混合接种，可以克服 *RI-RII* 晚疫病抗性基因，屏蔽垂直抗性基因对水平抗性的影响。菌株经黑麦培养基培养 14 d 后孢子囊等量混合，孢子囊的浓度为 5×10^5 个孢子囊/mL^[13]，每个材料接种 3 个来自植株不同复叶的单叶，每个叶片接种 10 μ L 孢子液，置 18 $^{\circ}$ C、16 h 光/8 h 暗培养箱培育。5~7 d 后，依马铃薯离体叶片晚疫病抗性鉴定标准评估发病情况并统计分析^[13-14]。

1.3 实验材料 DNA 提取

据晚疫病离体叶片抗性鉴定结果选取材料，用离心柱形高效植物基因组 DNA 提取试剂盒（北京天根）进行 DNA 的提取。得到的 DNA 经过检测后需要在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1.0，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值为 1.7~1.9 左右，浓度不低于 100 μg/μL。

1.4 抗病基因 SNP 检测

采用 *R1* (R1-1205、BA47f2、CosA、R1-76-2SF/R)、*R3* (R3-1380)、*R3a* (R3a-SHa-F/R)、*R3b* (R3b-F4/F5)、*R8* (R8-F/R、R8-Fd/Rd、R8-UTR-F/R)、*RB* (RB-629/638、RB-1223F/R、RB-CT88、RB-cf1/cr1、RB1-5/3-5) 引物检测亲本及子代垂直抗病基因标记^[15-17]。并采用 2 × M5 Taq HiFi PCR mix 试剂盒配（北京聚合美）进行抗性基因目标 SNP 区域 PCR 扩增，水平抗性基因目标 SNP 区域扩增引物序列信息如下(表 2)。PCR 产物在 1% 的琼脂糖凝胶上进行恒压电泳 (U=120 V、I=100 mA)，统计检测结果，送擎科生物公司进行测序。依据测序峰图进行的四倍体 SNP 识别。在杂峰的位置根据两个碱基的峰值比进行判断。测序进行正反两端测序，重复两次。

表 2 SNP 区域扩增引物序列

Table 2 Primer sequences were amplified in the SNP region

SNP 名称 SNP name	引物名称 Primer name	引物序列 (5'→3') Primer sequencing(5'→3')	退火温度 (°C)	参考文献
<i>BCCP</i>	<i>BCCP</i> -F	TGGGACGATCTGTTGCCTTC	59	[11]
	<i>BCCP</i> -R	AAAGTCATGAAATAGAGGTCTCGT		
<i>CYP71D11</i>	<i>CYP71D11</i> -F	TTCTTCTCACTGTCACACCAA	57	[12]
	<i>CYP71D11</i> -R	GGTCTTAGGTCAAAAATTGGAG		
<i>Rpi-vnt1</i>	<i>Rpi-vnt1</i> -F	GCCTACATGATCATATCGAGAAGT	65	[12]
	<i>Rpi-vnt1</i> -R	CCAAGACAAAATTGCTTGTTCAAGATT		
<i>STGP28</i>	<i>STGP28</i> -F	CAGAGACAATTCAAACAAGTG	55	[12]
	<i>STGP28</i> -R	GTACTTCGTTGCTCAATTTAAT		
<i>PLOX1</i>	<i>PLOX1</i> -F	CCCCTGAGCATGTAAACAAA	57	[12]
	<i>PLOX1</i> -R	TTCTTAATCGCGAAGAAACC		
<i>HMGCR</i>	<i>HMGCR</i> -F	CCTCTCACCGGAATCACCAT	57	[12]
	<i>HMGCR</i> -R	GTGAAAACACGGCTAAGGTAT		
<i>StAOS2</i>	<i>StAOS2</i> -F	TTGATGTTCTTCTTCTTTCTTC	57	[10]
	<i>StAOS2</i> -R	GCGGATTTTACTTCCGATCGGAT		
<i>StPK2</i>	<i>StPK2</i> -F	TGAATGTTGTATACCACTTCCTATTG	58	本研究开发
	<i>StPK2</i> -R	CCTTTTTTCGCAATCTGACACTTA		

1.5 抗病基因聚类与育种值分析

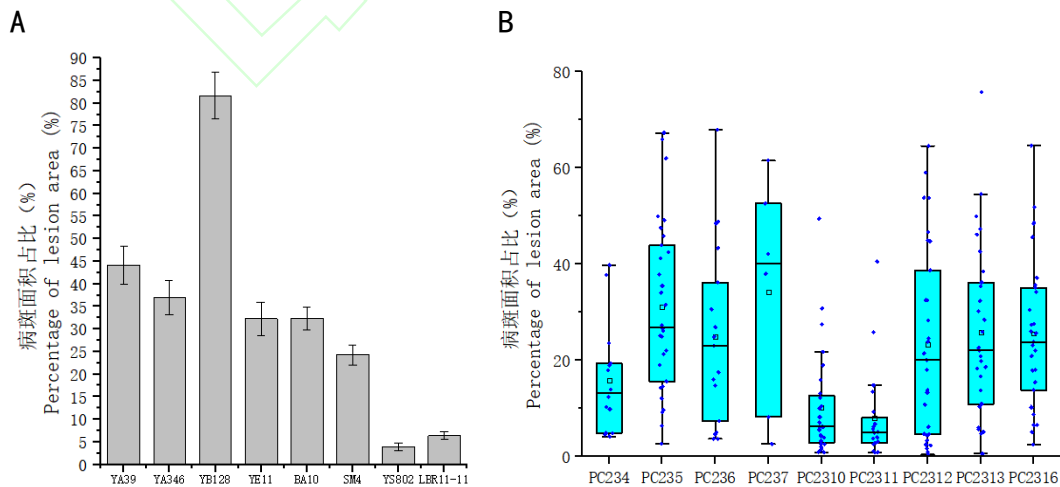
使用 Microsoft Excel 2017 软件进行数据统计及整理，SPSS（版本 23）进行表型数据分析，Origin 2021 进行图表绘制；使用 MEGA 11 进行水平抗性相关基因的序列聚类分析，联合建树时，将 SNP 位点转换为标记进行聚类分析。使用 Nbs 软件，基于分子标记、系谱、表型数据建立最优线性无偏预测（BLUP）模型，计算育种值。

2. 结果与分析

2.1 亲本与群体抗性鉴定评价

亲本材料中,抗病材料有 2 份,分别是 LBR11-11 和 YS802;中抗材料有 1 份,为 SM4;感病材料有 4 份,为 YA39、YA346、YE11 和 BA10;高感材料有 1 份是 YB128 (图 1 A),尽管德国引进的水平抗性研究材料在当地田间抗性评价抗病,其材料去除了与植株成熟期连锁的抗性 QTL 效应,加之云南晚疫病菌致病力较强,采用离体叶片抗性鉴定时,其材料表现中抗或感病。这些材料围绕与成熟期无关联的微效水平抗性位点进行遗传改良,仍具有一定程度的水平抗性。在群体材料中,PC234、PC235、PC236、PC237、PC2310、PC2311、PC2312、PC2313、PC2316 的平均病斑面积为 11.86%、31.05%、20.53%、29.46%、10.15%、8.01%、23.34%、25.89%、25.58%。其中 PC2310 (LBR11-11×YA346)、PC2311 (LBR11-11×YE11) 两个群体的平均病斑面积占比较低(图 1 B)。后代抗病材料主要来自于有抗病杂交亲本的组合,双方为感病材料时,杂交产生少数抗病材料,这可能源于碱基纯化率的提高及不同位点的组合,另杂交也有可能使控制成熟期的晚熟等位基因再次纯合,使得抗性增强。

对亲本 DNA 进行垂直抗病基因的检测, YA346 (感病) 和 YE11 (感病) 不含有所检测的垂直抗病基因标记,其它 6 个亲本都含有 *R3a* 基因标记,另 YA39 (感病) 含有 *R1*、*R3* 和 *R3b* 基因标记, SM4 (中抗) 含有 *R3* 以及 *R3b* 基因标记, YS802 (抗病) 含有 *R1* 以及 *R8* 基因标记, LBR11-11 (抗病) 含有 *RB* 基因标记。根据亲本 DNA 垂直抗病基因的检测结果,检测 9 个群体的后代,为减小垂直抗病基因对分析的影响,群体检测中排除含有 *R3b* 和 *R8* 基因标记的材料后,在入选的 60 份材料中,有 9 份材料含有 *R1* 基因,有 14 份材料含有 *R3* 基因标记,有 59 份材料含有 *R3a* 基因标记。



A: 亲本材料抗性鉴定; B: 群体材料抗性鉴定

A: Resistance identification of parent material; B: Resistance identification of population material

图 1 亲本材料和群体材料的抗性鉴定结果

Fig. 1 Results of resistance identification of parental material and population material

2.2 亲本与群体水平抗性 SNP 位点检测

基于水平抗病基因 PCR 产物测序, 在亲本和群体材料中检测了 8 个数量抗性基因的 19 个单核苷酸多态性 (SNP) 位点, 其中 *StAOS2-SNP691* 共有 37 份单株检测为纯合位点, 占所检测材料的 61.67%, *StAOS2-SNP692* 共有 38 份单株检测为有益纯合位点, 占所检测材料的 63.33%。*BCCP-SNP1121* 和 *BCCP-SNP1381* 共有 5 份单株为有益纯合位点, 占所检测材料的 8.33%, 分别是 PC235-18、PC235-2、PC235-27、PC236-1 以及 PC236-4; *CYP71D11-SNP752* 有 1 份单株为有益纯合位点, 其是 PC236-2; *StPK2-SNP1577* 有 1 份材料为有益纯合位点, 即亲本 YS802, *StPK2-SNP1577* 位点含 A 的马铃薯材料有 27 份, 其中抗病材料 15 份 (表 3)。

所有材料中共有 41 份单株检测到有与抗病有益的纯合位点存在, 虽然亲本 YA39、YA346、YB128、YE11 和 BA10 的离体叶片抗性鉴定结果表现出感病, 但其水平抗性有益位点都存在两个有益纯合位点。子代群体 PC235-27 和 PC236-1 这两个单株检测到 *BCCP-SNP1121*、*BCCP-SNP1381*、*StAOS2-SNP691* 以及 *StAOS2-SNP692* 这 4 个位点均为与抗病有益的纯合位点, 对晚疫病的抗病类型都为抗病 (R); PC236-2 检测到 *CYP71D11-SNP752*、*StAOS2-SNP691* 以及 *StAOS2-SNP692* 这 3 个位点均为与抗病有益的纯合位点, 对晚疫病的抗病类型为抗病 (R) (表 3)。

亲本材料中, 纯合位点的出现比例为 7.89%, 经过杂交之后, 抗病材料的有益纯合位点增多, 出现比例为 9.56%, 感病材料的有益纯合位点减少, 出现比例为 5.65%。如抗病单株 PC235-27、PC236-1 和 PC236-2 分别出现了 5、4、3 个有益纯合位点, 有益纯合位点数量均大于亲本, 且离体叶片抗性鉴定均表现为抗病。经过鉴定的抗病材料含有的有益纯合位点数多于感病材料, 最为明显的是 PC2313 群体, PC2313-28、PC2313-8、PC2313-15、PC2313-9 经过抗性鉴定表现为感病, 无任何有益的纯合位点, PC2313-3、PC2313-4、PC2313-11、PC2313-19 经过抗性鉴定表现为抗病, 都含有 2 个有益的纯合位点 (表 3)。

对于子代抗病池材料和感病池材进行有益碱基频率分析, 发现抗病池有益碱基频率在 *StAOS2-SNP691A*、*StAOS2-SNP692C*、*StGP28-SNP794A*、*PLOX1-SNP8344G*、*HMGCR-SNP636T*、*Rpi-vnt1-SNP544T*、*StPK2-SNP1577A* 等 6 个基因位点高于感病池, 其中 *StAOS2-SNP691A*、*StAOS2-SNP692C*、*StGP28-SNP794A*、*PLOX1-SNP8344G* 等位点在抗病池有益碱基频率比感病池平均高 0.45、0.36、0.54、0.25。

表 3 SNP 位点判读结果
Table 3 SNP site interpretation results

名称 Name	抗性 Resistance	有益碱基 率 (%) Frequency of occurrence	有益碱基 纯合占比 (%) Proportion of pure com bination	SNP 检测结果 Results of SNP typing																		
				<i>StAOS2</i>	<i>StAOS2</i>	<i>BCCP</i>	<i>BCCP</i>	<i>CYP71 D11 346T</i>	<i>CYP71 D11 706G</i>	<i>CYP71 D11 752C</i>	<i>HMGCR</i>	<i>HMGCR</i>	<i>PLOX1</i>	<i>PLOX1</i>	<i>StGP28</i>	<i>StGP28</i>	<i>StGP28</i>	<i>Rpi-vnt1</i>	<i>Rpi-vnt1</i>	<i>Rpi-vnt1</i>	<i>Rpi-vnt1</i>	<i>StPK2</i>
YA39	感病	40.78	10.53	AAGG	CCGG	CCCC	CCCC	CCTT	AAGG	CCTT	CCGG	CCCC	AAAA	AAGG	AAGG	GTTT	GGTT	CTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCA
YA346	感病	19.73	10.53	AAAA	CCCC	NA	NA	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCT	AAAA	AAAA	AGGG	GTTT	GGGG	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
YB128	感病	22.36	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCT	AAAA	AAAA	GGGG	GTTT	GGGT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
YE11	感病	30.26	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCTT	AAGG	CCTT	CCCC	CCCT	AAAA	AAGG	GGGG	GTTT	GGGG	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
SM4	抗病	17.11	0.00	AAGG	CCCG	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCT	AAAA	AAGG	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCCC
BA10	感病	14.78	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCTT	AAAA	AAAA	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAAG	CCCC	CCCC
YS802	抗病	21.05	0.00	AAGG	CCGG	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	AAGG	TTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAG	CCCT	AAAA
LBR11-11	抗病	18.56	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCT	AAAA	AAAA	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAAG	CCCT	CCCC
PC234-9	感病	30.26	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAGG	GGGG	GGTT	GGTT	CTTT	GGGG	AGGG	CCCT	CCCA
PC234-12	抗病	27.63	10.53	AAAA	CCCC	CCCT	CCCT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCT	AAAA	AAAG	NA	NA	NA	CTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCA
PC235-8	感病	35.53	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCT	AAAG	CCTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAGG	AAGG	GTTT	GGTT	CTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC235-18	感病	40.78	10.53	AAGG	CCGG	CCCC	CCCC	CCTT	AAGG	CCTT	CCGG	CCTT	AAAA	AAGG	AGGG	TTTT	GTTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
PC235-29	感病	39.47	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCT	AAAA	AAGG	AAGG	GGTT	GGGT	TTTT	GGGG	AAAG	CCCC	CCCC
PC235-22	感病	28.95	0.00	AAGG	CCGG	CCCT	CCCT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCTT	AAAA	AAAG	AAGG	GTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC235-3	感病	19.74	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAG	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
PC235-20	抗病	36.84	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCT	AAAG	CCTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAGG	AAGG	TTTT	GGTT	CTTT	GGGG	AGGG	CCCC	CCCA
PC235-2	抗病	34.21	10.53	AAGG	CCCG	CCCC	CCCC	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCTT	AAAA	AAGG	NA	NA	NA	CTTT	GGGG	AGGG	CCCT	CCCA
PC235-9	抗病	30.26	0.00	AAGG	CCCG	CCCT	CCCT	CCCT	AAAG	CCTT	CCCG	CCCT	AAAA	AAGG	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC235-27	抗病	43.42	26.32	AAAA	CCCC	CCCC	CCCC	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCT	AAAA	AAGG	AAGG	GTTT	TTTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCTT	CCCC
PC235-30	抗病	19.73	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AGGG	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
PC236-23	感病	34.21	0.00	AAGG	CCCG	CCTT	CCTT	CCTT	AGGG	CCTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAGG	NA	GTTT	GGGT	CTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC236-27	感病	43.42	10.53	AAAA	CCCC	CCCT	CCCT	CCTT	AAAG	CCTT	CCGG	CCTT	AAAA	AGGG	GGGG	GTTT	GGGG	CCTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC236-3	感病	32.89	5.26	AAAG	CCCG	CCTT	CCTT	CCCC	AGGG	CCCT	CCCC	CCCC	AAAA	AAGG	AGGG	GTTT	GGGT	TTTT	GGGG	AAAG	CCCT	CCCC
PC236-1	抗病	46.05	21.05	AAAA	CCCC	CCCC	CCCC	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCTT	AAAA	AGGG	AAGG	GTTT	GGGT	CTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCA
PC236-2	抗病	39.47	15.79	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AGGG	CCCC	CCCG	CCTT	AAAA	AGGG	NA	NA	NA	CTTT	GGGG	AAGG	CCCT	NA
PC236-4	抗病	35.53	10.53	AAGG	CCCG	CCCC	CCCC	CCTT	AAGG	CCTT	CCCG	CCCC	AAAA	AGGG	AGGG	TTTT	GGGT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC237-4	感病	34.21	0.00	AAGG	CCCG	CCTT	CCTT	CCTT	AAAG	CCTT	CCCG	CCCT	AAAA	AAGG	GGGG	GGTT	GGGT	CTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCA
PC237-7	抗病	25.00	0.00	AAGG	CCCG	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAGG	AAGG	GTTT	GGGG	TTTT	GGGG	AGGG	CCCT	CCCC
PC2310-4	抗病	22.37	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCTT	AAAA	AAAA	AGGG	TTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAG	CCCT	CCCC
PC2310-7	感病	11.84	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAAA	CCCT	CCCC
PC2310-15	抗病	19.74	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC2310-19	感病	14.47	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC2310-22	抗病	22.37	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCT	AAAA	AAAA	AGGG	GTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAG	CCCT	CCCC
PC2310-23	抗病	15.78	15.79	AAAA	CCCC	TTTT	CCTT	NA	AAAA	NA	CCCC	CCCC	AAAA	AAAA	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAAA	CCCT	CCCC
PC2311-2	抗病	36.84	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	CCTT	CCTT	AAAG	CCTT	CCGG	CCCC	AAAA	AAGG	AAGG	GTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC2311-14	感病	30.26	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAGG	AGGG	GTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC2311-19	抗病	28.95	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCTT	AAAG	CCTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	AGGG	TTTT	GGGG	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC

表 3 (续)

名称	抗性	有益碱基频率 (%)	有益碱基纯合占比 (%)	SNP 检测结果 Results of SNP typing																		
				Resistance	Frequency of occurrence	Proportion of pure combination	<i>StAOS2</i>	<i>StAOS2</i>	<i>BCCP</i>	<i>BCCP</i>	<i>CYP71 D11</i>	<i>CYP71 D11</i>	<i>CYP71 D11</i>	<i>HMGCR</i>	<i>HMGCR</i>	<i>PLOX1</i>	<i>PLOX1</i>	<i>StGP28</i>	<i>StGP28</i>	<i>StGP28</i>	<i>Rpi-vnt1</i>	<i>Rpi-vnt1</i>
Name				691A	692C	1121C	1381C	346T	706G	752C	567G	636T	8089C	8344G	794A	811G	957T	440C	465T	539G	544T	1577A
PC2312-1	感病	21.05	0.00	AAGG	CCCG	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCT	AAAA	AAAA	GGGG	TTTT	GTTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCAA
PC2312-2	抗病	18.42	0.00	AAGG	CCCG	CTTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCC	AAAA	AAAA	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAAG	CCCT	CCAA
PC2312-3	抗病	34.21	10.53	AAAA	CCCC	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCC	AAAA	AAGG	AAGG	GGTT	GTTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCAA
PC2312-6	感病	23.68	0.00	AAGG	CCCG	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCC	AAAA	AAAG	AGGG	GTTT	GTTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCT	CCAA
PC2312-8	感病	19.73	0.00	AAGG	CCCG	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	GGGG	GGTT	GTTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCAA
PC2312-11	抗病	21.05	5.26	AAGG	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCC	CCCT	AAAA	AAGG	AGGG	GTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCT	CCAA
PC2312-12	抗病	18.42	0.00	AAGG	CCCG	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCT	AAAA	AAGG	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCAA
PC2312-15	抗病	27.63	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCT	AAAA	AAAA	GGGG	GTTT	GTTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCAA
PC2312-17	感病	19.73	0.00	AAGG	CCGG	CCTT	CCCT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	AGGG	TTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCAA
PC2312-18	感病	23.68	0.00	AAGG	CCGG	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCT	AAAA	AAAA	GGGG	GTTT	GGGT	TTTT	GGGG	AAAG	CCCC	CCAA
PC2312-22	抗病	22.36	0.00	AAGG	CCCG	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCC	AAAA	AAAA	AAGG	GGTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCAA
PC2312-23	抗病	28.94	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCT	AAAA	AAGG	AAGG	GGTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCT	CCAA
PC2312-26	抗病	21.05	0.00	AAGG	CGGG	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCC	AAAA	AAGG	AAGG	GGTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCAA
PC2313-3	抗病	15.79	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAAG	CCCC	CCAA
PC2313-4	抗病	26.31	10.53	AAAA	CCCC	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCTT	AAAA	AAAA	NA	NA	NA	TTTT	GGGG	AAAG	CCCT	CCAA
PC2313-8	感病	25.00	0.00	AAGG	CCCG	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	AAGG	GGTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCAA
PC2313-9	感病	25.00	0.00	AAGG	CCCG	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCTT	AAAA	AAAA	AAGG	GGTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAG	CCCT	CCAA
PC2313-11	抗病	26.31	10.53	AAAA	CCCC	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCC	CCCT	AAAA	AAAA	AAGG	GGTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCT	CCAA
PC2313-15	感病	26.31	0.00	AAGG	CCCG	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCTT	AAAA	AAAA	AGGG	GGTT	GTTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCAA
PC2313-19	抗病	23.68	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCTT	AAAA	AAAA	AGGG	GGTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCAA
PC2313-28	感病	19.74	0.00	AAGG	CCCG	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	AAGG	GGTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAG	CCCC	CCAA
PC2316-14	感病	23.68	10.53	AAAA	CCCC	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	AGGG	GTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC2316-30	感病	22.37	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	GGGG	TTTT	GGGT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC2316-7	感病	19.74	10.53	AAAA	CCCC	CTTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCC	CCCC	AAAA	AAAA	GGGG	TTTT	GTTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
PC2316-9	感病	25.00	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCT	AAAA	AAAA	AGGG	GGGT	GTTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
PC2316-11	感病	22.37	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCT	AAAA	AAAA	GGGG	GTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCCC
PC2316-3	抗病	17.11	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCC	CCCT	AAAA	AAAA	AGGG	GTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAAA	CCCC	CCCC
PC2316-22	抗病	21.05	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	CCTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCC	CCCC	AAAA	AAAA	AGGG	GTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
PC2316-29	抗病	19.74	10.53	AAAA	CCCC	CTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCTT	AAAA	AAAA	AGGG	TTTT	GGGG	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC
PC2316-17	抗病	30.26	10.53	AAAA	CCCC	CCTT	CTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCGG	CCCC	AAAA	AAAA	AGGG	GGGT	GTTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCT	CCCC
PC2316-20	抗病	22.37	10.53	AAAA	CCCC	TTTT	TTTT	CCCC	AAAA	TTTT	CCCG	CCCC	AAAA	AAAA	GGGG	TTTT	GGTT	TTTT	GGGG	AAGG	CCCC	CCCC

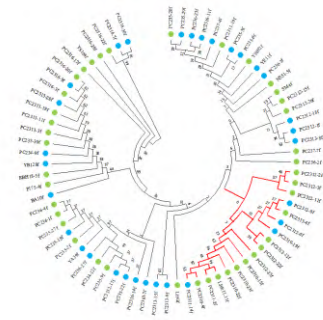
灰色背景标记为对晚疫病抗性有益 SNP 位点, 相同碱基: 等位基因该位点处于纯合状态; 不同碱基: 等位基因该位点处于杂合状态; NA 代表数据缺失

Note: The gray background marker is a SNP locus that is beneficial to late blight resistance, Same base: Allele is homozygous at the locus; Different bases: Allele is heterozygous at the locus; NA represents missing data

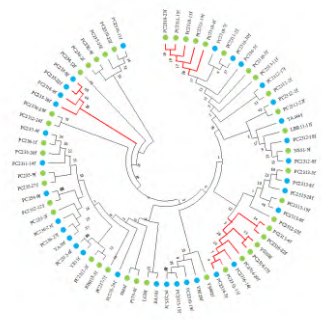
2.3 水平抗性基因的系统发育分析

由于在检测的基因序列中存在较多的 SNP，进一步对 68 份材料进行 8 个数量抗性基因的全长序列进行系统发育聚类分析，通过基因序列与表型的一致性进行分析，以识别核心 SNP 区域。依据基因序列聚类，将表型为抗病的材料占多数的聚类分支定义为抗病分支，将表型为感病的材料占多数的聚类分支定义为感病分支，研究发现基于单个数量抗性基因序列的系统发育聚类与 68 材料离体叶片的抗性具有部分一致性（图 2）。其中 *BCCP* 基因的聚类分析结果显示，材料 PC2312-2、2312-3、2312-11、2312-8、2312-4、2312-6、2312-19、2312-12、2312-22、2312-23、2310-15、2310-23、2310-22、2310-4、2311-2、2311-14 和 LBR11-11 组成了一个主要的抗病分支（图 2A）。*PLOX1* 基因的聚类分析结果显示，材料 PC2313-4、PC2316-22、PC2316-17、PC2316-20、PC2316-14、PC2312-11、PC2316-7 组成了一个抗病分支；PC2310-23、PC2312-15、PC2310-15、PC2311-19 和 PC2310-4 组成另外一个抗病分支，而 PC235-8、PC235-22、PC2316-9 和 PC235-18 组成了一个感病分支（图 2B）。*StAOS2* 基因的聚类分析结果显示，材料 PC2313-11、PC2313-19、PC2313-3、PC2312-3、PC235-27、PC2310-19、PC2313-4、PC2313-28 和 PC235-3 组成一个抗病分支；PC2316-22、PC236-4、PC2310-22、PC2316-17、PC236-2 和 PC236-27 组成另一个抗病分支；而 PC2313-15、PC2312-8、PC2312-18、PC2313-8、PC2312-17 和 YS802 组成一个感病分支（图 2C）。*STGP28* 基因的聚类分析结果显示，PC235-3、PC2312-12、PC235-2、PC2313-4、PC2313-3、PC2310-15、PC235-30、PC2310-23 和 PC2310-19 组成一个抗病分支；群体材料 PC2316-17、PC235-29、PC2312-3、PC2312-26、PC2312-23、PC2312-22、PC236-1 和亲本材料 SM4 组成另一个抗病分支；而 PC2316-7、PC2316-30、PC236-23、PC2312-1、PC2312-15、PC2312-8、PC2316-11、YA346 和 YB128 组成一个感病分支；PC2316-9、PC237-4、PC2313-15 和 PC234-9 组成另一个感病分支（图 2D）。*StPK2*、*CYP71D11* 基因的聚类分析各只鉴定出一个抗病分支，而 *HMGCR* 与 *Rpi-vnt1* 基因聚类分析结果与表型没有明显的一致性（图 2E、F、G、H）。

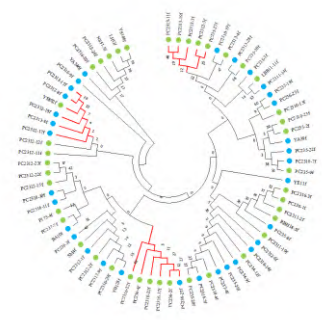
A: *BCCP* 基因



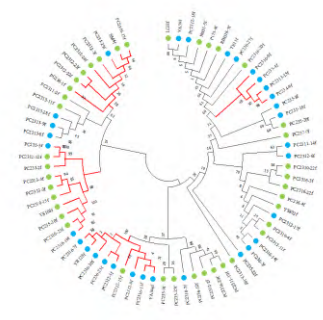
B: *PLOX1* 基因



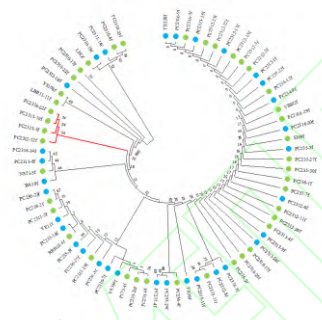
C: *StAOS2* 基因



D: *STGP28* 基因



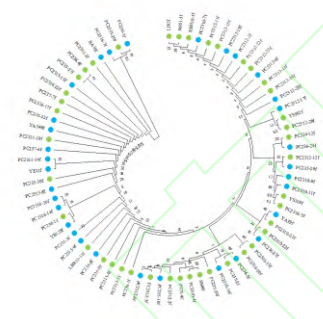
E: *CYP71D11* 基因



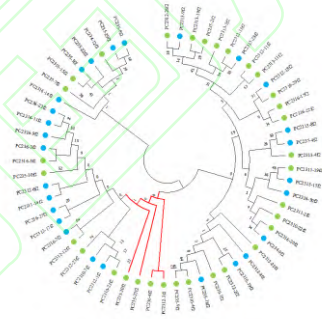
F: *HMGCR* 基因



G: *Rpi-vnt1* 基因



H: *StPK2* 基因



进化树中绿色标注代表抗病材料，蓝色标注代表感病材料

The green label in the evolutionary tree represents disease resistant material, and the blue label represents susceptible material.

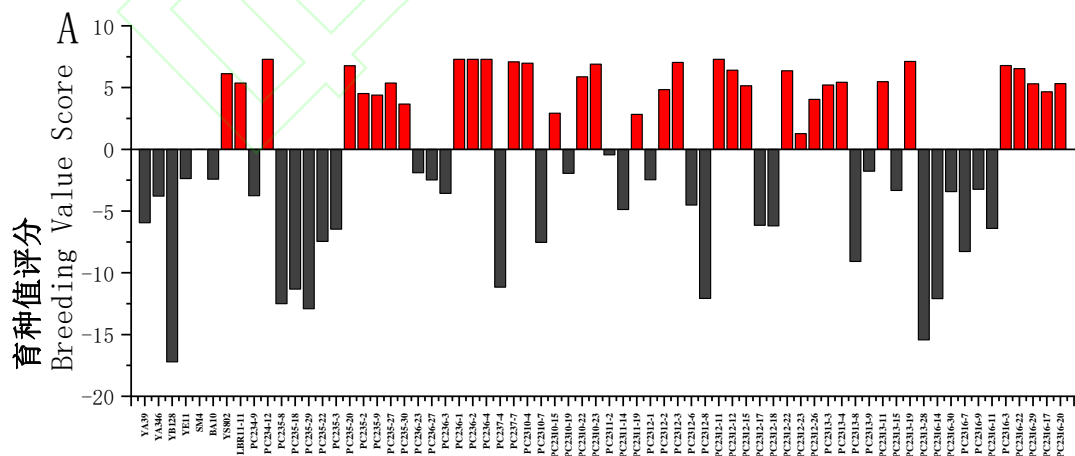
图 2 基于水平抗性基因序列的系统发育分析

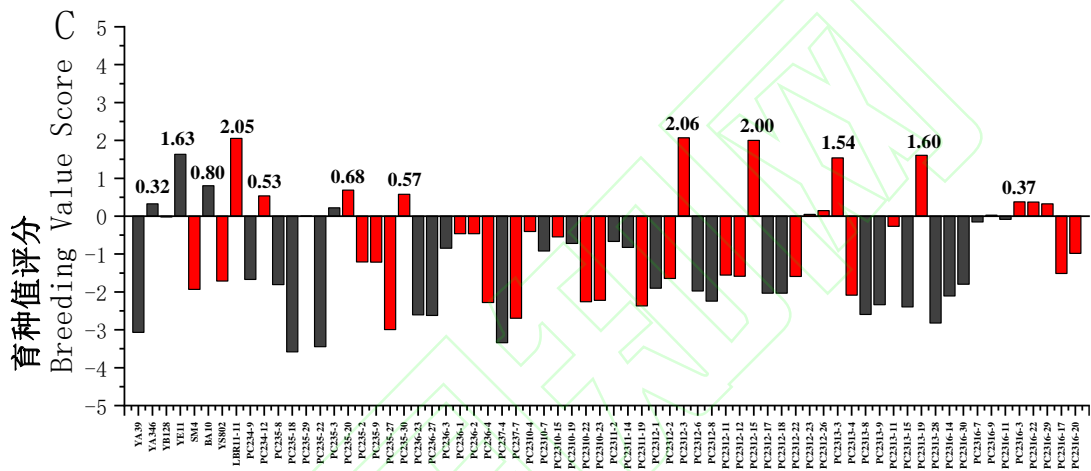
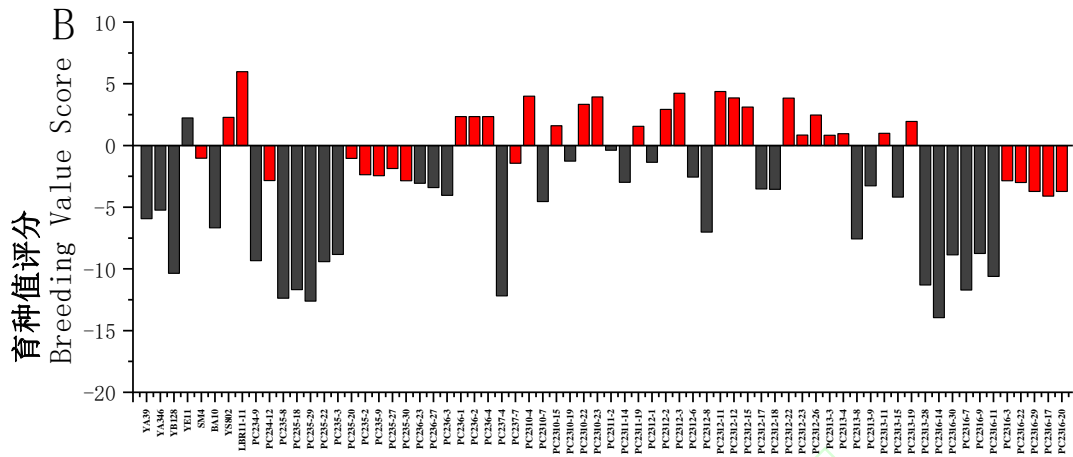
Fig. 2 Phylogenetic analysis based on horizontal resistance genes sequence

2.5 育种值分析

基于马铃薯材料的表型分析时，68 份材料中离体叶片抗性鉴定的大小值与育种值大小相关，其材料的抗性越强育种值越大，相反则育种值越小。育种值为正值的有 34 份（2 份亲本+32 份群体子代材料），抗病材料平均育种值也为+5.65（图 4A）。基于马铃薯材料的表型和系谱分析时，育种值为正值的有 23 份（3 份亲本+20 份群体子代材料），抗病材料平均育种值为+0.73，若亲本材料中有抗病（YS802 和 LBR11-11）材料则群体材料中抗病材料的育种值较高（PC2310、PC2311、PC2312、PC2313），相反若亲本材料都为感病则其形成的群体材料的育种值较低。其中虽然亲本 YE11 表现为感病，但其及后代群体 PC236 有较高的育种值，YE11 的育种值由-2.37 增加至 2.23。以 YA346 作为父本的两个群体 PC235 和 PC2316 的育种值出现了明显的下降（图 4B）。

基于马铃薯材料的表型、系谱和水平抗性分子标记计算育种值发现抗病材料平均育种值为-0.61。在亲本材料和群体材料中只有 4 份亲本材料和 14 份群体材料 YA346、YE11、BA10、LBR11-11、PC2312-3、PC2312-15、PC2313-19、PC2313-3、PC235-20、PC235-30、PC234-12、PC2316-3、PC2316-22、PC2316-29、PC235-3、PC2312-26、PC2312-23、PC2316-9 等材料表现出正值，分别为 0.32、1.64、0.80、2.05、2.08、2.00、1.61、1.54、0.69、0.58、0.54、0.38、0.37、0.33、0.22、0.14、0.05、0.03。抗病亲本 LBR11-11 在亲本材料中表现出最高的育种值，而感病亲本 YE11 在 8 个亲本材料中也表现出较高的育种值（图 4C）。群体材料中，具有高育种值的材料 PC2312-3、PC2312-15、PC2313-19、和 PC2313-3 均来源于亲本 YS802 的杂交组合。





A: 根据表型计算育种值; B: 根据表型和系谱计算育种值; C: 根据表型、系谱和水平抗性分子标记计算育种值; 红色条形图为抗病材料, 黑色条形图为感病材料

A: Breeding values based on phenotype; B: breeding values based on phenotype and pedigree; C: breeding values based on phenotype, pedigree and horizontal resistance molecular markers. The red bars are the disease-resistant material, and the black bars are the susceptible material

图 4 68 份材料育种值评分

Fig. 4 68 material breeding values scores

3. 讨论

数量抗性基因存在多效性和微效性,在实际育种中较难验证与利用。马铃薯晚疫病抗性 QTL 位点在 12 条染色体上均有分布^[18],但仅位于 5 号染色体和 9 号染色体的 QTL 对环境表现较为稳定,位于 5 号染色体的 QTL 与成熟期性状连锁^[19-20],引进的德国水平抗性研究材料经成熟期校正抗性评价^[9],去除了这个位点效应,依靠其它微效水平抗性基因提供抗性贡献有限,表现仅为中抗或感病,但这些材料具有与成熟期无关联的微效水平抗性位点,仍具有一定程度的水平抗性,对于选育早熟抗病材料有重要意义。感病亲本杂交也可使子代有益碱基位点纯合比率增加,抗性得以提高,需要注意的是,感病亲本的晚熟等位位点也可能再次纯合,使受生育期影响的 QTL 发挥遗传效应。

位于 9 号染色体的 QTL 被认为由 *R8* 基因控制^[20],前期研究表明 *R3b+R8* 在抗性材料的组合占比较高^[15-16],因此本研究在群体检测中排除含有 *R3b* 和 *R8* 基因标记的材料后,屏蔽该位点对水平抗性的影响,只检测与成熟期无关联的晚疫病田间抗性 SNP^[9],这些微效多基因受遗传背景影响较大,对水平抗性确难获得较为一致的结果,在 Pajerowska-Mukhtar 等^[10]、Mukhtar 等^[11]的研究中,SNP 位点与抗病存在关联,但在聂佳惠等^[21]的研究中,发现部分马铃薯品种中可以检测到一些与田间抗性有关的 SNP 位点,但品种晚疫病抗性表现与 SNP 位点分布无明显关联,仅 *StGP28* 有益 SNP 位点与抗性存在正向关联。本研究发现 *StAOS2-SNP691A*、*StAOS2-SNP692C*、*StGP28-SNP794A*、*PLOX1-SNP8344G* 有益 SNP 位点与抗性存在正向关联,同样确认了前期研究表明贡献较大的 SNP 位点,重点对这些位点进行关联选择对有助于抗病育种效率提升。Pajerowska-Mukhtar 等^[10]报道等位基因的剂量效应会影响晚疫病的抗性,处于纯合基因型时,位点效应最强,本研究也发现杂交后代群体中抗病材料的有益 SNP 纯合位点占比为 9.56%,高于后代群体中的感病材料 (5.65%),同时高于亲本材料 (7.89%)。

虽然其它水平抗性基因位点有益碱基频率在抗感池不存在差异,但这些抗性基因序列存在较多的 SNP,基于水平抗性基因序列构建系统发育树,对 8 个亲本和 60 个后代的进行了聚类分析后,发现基于 *BCCP*、*PLOX1*、*StAOS2*、*STGP28* 和 *StPK2* 这几个水平抗性基因全长序列的系统发育聚类能将材料划分为几个分支,在部分分支上与对晚疫病抗性能取得一致性。数量抗性受多基因控制,个别位点的功能有限,理论上聚合多个有益 SNP 位点才能表现较好效果。本研究联合 8 个基因 19 个 SNP 标记的系统发育分析可将 68 份材料聚类为 3 个抗病分支和 3 个感病分支。尽管抗病分支和感病分支里仍分别存在抗病或感病的材料,但

采用多个水平抗性基因 SNP 联合分析则能获得与抗性表型较为一致的结果。通过抗性基因序列比对及联合多个 SNP 位点聚类分析的方法,进一步确证了微效水平抗性基因与抗性的关联,为微效 SNP 的利用及材料的分类筛选提供了参考。

马铃薯田间抗晚疫病种质资源拥有较丰富的单核苷酸多态性但在其选育过程中存在近交现象^[22],本研究中发现水平抗性基因的有益碱基大部分是群体材料中的稀有碱基,需要今后进行有针对性的遗传改良工作。本研究通过利用德国马克斯-普朗克植物育种研究所的马铃薯材料和实验室的材料杂交,获得获得主效水平抗性基因 *StAOS2-SNP692* 位点纯合单株 38 份,还有部分材料聚合了多个基因的纯合位点,但少数位点如 *PLOX1-SNP8089*、*Rpi-vnt1-SNP465* 为非有益碱基的纯合位点,在后续的研究中需要引入含有这几个位点有益碱基的材料进行杂交,以期获得与抗病性增益。而杂合位点材料可以继续利用,进一步创制出有益位点纯合的抗病材料。

水平抗性由微效多基因控制,受遗传背景影响,较难进行育种选择,本研究通过构建杂交群体,并结合晚疫病抗性鉴定与水平抗性基因 SNP 位点的检测进行选择,依据抗性表型评价,筛选出材料 34 份,基于马铃薯材料的表型、系谱和水平抗性分子标记进行 BLUP 分析,进一步鉴定出 14 份材料,含有水平抗性基因的 SNP 纯合位点的材料具有更高的育种值,分子标记辅助选择与育种值分析的结合,有效避免了传统方法的主观性,显著提高了抗病资源的筛选效率,创制了抗病的马铃薯新材料,为马铃薯晚疫病水平抗性育种工作提供了借鉴。

4. 结论

对 8 个亲本材料和 60 个杂交后代群体材料进行水平抗性基因 PCR 产物测序,检测 8 个数量抗性基因的 19 个单核苷酸多态性 (SNP) 位点和对这 8 个基因进行序列比对构建系统发育树。结果表明 *StAOS2-SNP691A*、*StAOS2-SNP692C*、*StGP28-SNP794A*、*PLOX1-SNP8344G* 有益 SNP 位点与抗性存在正向关联,杂交后代群体中抗病材料的有益 SNP 纯合位点占比为 9.56%,高于后代群体中的感病材料 (5.65%),同时高于亲本材料 (7.89%),联合 8 个基因 19 个 SNP 标记的系统发育分析可将 60 份材料聚类为 3 个抗病分支和 3 个感病分支。结合表型、育种系谱和水平抗性基因分子标记计算与抗晚疫病相关的育种值,筛选出育种值高且具有 SNP 有益纯合位点的 PC2312-3、PC2312-15、PC2313-19 等优异单株,为马铃薯水平抗性群体遗传改良提供了基础材料。

参考文献

- [1] Hawkes J G. The potato: Evolution, biodiversity and genetic resources. London: Belhaven Press, 1990
- [2] 高明杰, 罗其友, 刘洋, 朱聪, 易晓峰, 张晴. 中国马铃薯产业发展态势分析. 中国马铃薯, 2013, 27(4): 243-247
Gao M J, Luo Q Y, Liu Y, Zhu C, Yi X F, Zhang Q. Analysis of the development trend of Chinese potato industry. Chinese Potato Journal, 2013, 27(4): 243-247
- [3] 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, 2015(3): 1-7
Lu X P. The significance, bottlenecks, and policy recommendations of the potato staple food strategy. Journal of Huazhong Agricultural University, 2015(3): 1-7
- [4] Yuen J. Pathogens which threaten food security: *Phytophthora infestans*, the potato late blight pathogen. Food Security. 2021, 13, 247-253
- [5] 袁军海. 我国马铃薯晚疫病的发生与防治. 南京农专学报, 2003(2): 46-50
Yuan J H. The occurrence and prevention of potato late blight in China. Journal of Nanjing Agricultural College, 2003(2): 46-50
- [6] Hein I, Gilroy E M, Armstrong M R, Birch P R. The zig-zag-zig in oomycete-plant interactions. Molecular Plant Pathology, 2009, 10(5): 717
- [7] 卢肖平, 谢开云. 国际马铃薯中心在中国: 30年友谊, 合作与成就. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2014
Lu X P, Xie K Y. The International Potato Center in China: 30 years of friendship, cooperation, and achievements. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2014
- [8] Solomon-Blackburn R M, Stewart H E, Bradshaw J E. Distinguishing major-gene from field resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) of potato (*Solanum tuberosum*) and selecting for high levels of field resistance. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 115(1): 141
- [9] Christiane G. Bridging the gap between genome analysis and precision breeding in potato. Trends in Genetics, 2013, 29(4): 248-256.
- [10] Pajeroska-Mukhtar K, Stich B, Achenbach U, Ballvora A, Lubeck J, Strahwald J, Tacke E, Hofferbert H R, Ilarionova E, Bellin D. Single Nucleotide Polymorphisms in the *Allene Oxide Synthase 2* Gene are associated with field resistance to late blight in populations of tetraploid potato cultivars. Genetics, 2009, 181(3): 1115-1127
- [11] Muktar M S, Lübeck J, Josef S, Christiane G. Selection and validation of potato candidate genes for maturity corrected resistance to *Phytophthora infestans* based on differential expression combined with SNP association and linkage mapping. Frontiers in Genetics, 2015, 6:294
- [12] Mosquera T, Alvarez M F, Jiménez-Gómez J M, Muktar M S, Paulo M J, Steinemann S, Li J, Draffehn A, Hofmann A, Lübeck J, Strahwald J. Targeted and untargeted approaches unravel novel candidate genes and diagnostic SNPs for quantitative resistance of the potato (*Solanum tuberosum* L.) to *Phytophthora infestans* causing the late blight disease. PLoS ONE, 2016, 11(6): e0156254
- [13] Zheng J Y, Duan S G, Armstrong M R, Duan Y F., Xu J F, Chen X W, Hein I G, Jin L P, Li G C. New findings on the resistance mechanism of an elite diploid wild potato species *JAMI-4* in response to a super race strain of *Phytophthora infestans*. Phytopathology, 2020, 110(8): 1375-1387
- [14] Vleeshouwers V G A A, Dooijeweert W V, Keizer L C P, Sijpkens L, Govers F, Colon L T A. Laboratory assay for *Phytophthora infestans* resistance in various *Solanum* species reflects the field situation. European Journal of Plant Pathology, 1999, 105(3): 241-250
- [15] 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, Lu C W, Zhang K, Ren M Z, Wang J C. Molecular markers of resistance genes and resistance evaluation in potato late blight. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(3): 538-549
- [16] 杨天丽, 高永嘉, 邵世豪, 张朝辉, 王颖, 卢丽丽, 蒋伟, 黄斌全, 隋启君, 潘哲超. 马铃薯晚疫病抗性材料的评价筛选与抗性基因分子标记检测. 分子植物育种, 2024, <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240514.1058.002>
Yang T L, Gao Y J, Shao S H, Zhang C H, Wang Y, Lu L L, Jiang W, Huang B Q, Sui Q J, Pang Z C. Evaluation and screening of

- potato late blight resistant materials and molecular marker detection of resistance genes. *Molecular Plant Breeding*, 2024, <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240514.1058.002>
- [17]Li G, Huang S, Guo X, Li Y, Yang Y, Guo Z, Kuang H, Rietman H, Bergervoet M, and Vleeshouwers V G. Cloning and characterization of *R3b*; members of the *R3* superfamily of late blight resistance genes show sequence and functional divergence, *Molecular Plant Microbe Interaction*, 2011, 24(10): 1132-1142
- [18]Oberhagemann P, Chatot-Balandras C, Schafer-Pregl R, Wegener D, Palomino C, Salamini F, Bonnel E, Gebhardt C. A genetic analysis of quantitative resistance to late blight in potato: Towards marker-assisted selection. *Molecular Breeding*, 1999,5(5): 399-415
- [19]Collins A, Milbourne D, Ramsay L, Meyer R, Chatot-Balandras C, Oberhagemann P, Jong WD, Gebhardt C, Bonnel E, Waugh R. QTL for field resistance to late blight in potato are strongly correlated with maturity and vigour. *Molecular Breeding*, 1999, 5(5): 387-398
- [20]Jiang R, Li J, Tian Z, Du J, Armstrong M, Baker K, Tze-Yin Lim J, Vossen J.H, He H, Portal L, Zhou J, Bonierbale M, Hein I, Lindqvist-Kreuzer H, Xie C. 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]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. SNP locus detection of late blight resistance genes and horizontal resistance related genes in Huashu and Eshu series potato varieties. *Chinese Potato Journal*, 2021, 35(1): 9-18
- [22]李晓川, 王朝海, 周平, 马维, 吴瑞, 宋治豪, 梅艳. 马铃薯品种(系)田间晚疫病抗性评价和全基因组遗传多样性分析. *中国农业科学*, 2022, 55(18): 3484-3500
Li X C, Wang C H, Zhou P, Ma W, Wu R, Song Z H, Mei Y. Deciphering of the genetic diversity after field late blight resistance evaluation of potato breeds. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(18): 3484-3500