

肖熙鸥, 林文秋, 陈卓, 等. 马铃薯抗青枯病育种研究进展[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(5): 1344-1351.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.05.033

马铃薯抗青枯病育种研究进展

肖熙鸥^{1,2,3}, 林文秋³, 陈卓³, 金辉³, 司怀军^{1,2,4}

(1. 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省干旱生境作物学省部级重点实验室培育基地, 甘肃 兰州 730070; 3. 中国热带农业科学院南亚热带作物研究所, 广东 湛江 524091; 4. 甘肃农业大学生命科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 由茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)引起的青枯病是危害马铃薯产业的重要病害, 抗病品种的选育与推广是防控马铃薯青枯病最有效、经济的手段。国内外研究人员通过多种方法对马铃薯种质资源进行了青枯病抗性鉴定, 结果表明马铃薯四倍体栽培种中缺乏青枯病抗源, 但在马铃薯野生种中存在丰富的抗性种质资源。通过远缘杂交、体细胞融合、转基因以及诱变等技术创制了一批抗青枯病资源, 为马铃薯新品种选育奠定了良好的基础。针对马铃薯抗青枯病资源缺乏的瓶颈, 未来的研究重点应集中在筛选抗青枯病种质资源和通过多种途径创制抗青枯病材料, 为马铃薯抗青枯病品种选育奠定基础。同时建立马铃薯青枯病分子标记辅助育种体系, 提高抗青枯病品种选育的效率。

关键词: 马铃薯; 抗青枯病; 种质资源

中图分类号: S532 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2021)05-1344-08

Research advances in potato breeding for bacterial wilt resistance

XIAO Xi-ou^{1,2,3}, LIN Wen-qiu³, CHEN Zhuo³, JIN Hui³, SI Huai-jun^{1,2,4}

(1. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2. Gansu Provincial Key Laboratory of Aridland Crop Science, Lanzhou 730070, China; 3. South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Zhanjiang 524091, China; 4. College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* is one of the most important diseases affecting potato industry. The most effective and economic method for preventing and controlling the bacterial wilt in potatoes are breeding and popularizing resistance cultivars. Researchers at home and abroad have tried many ways to identify the resistance of potato germplasm resources to bacterial wilt. The results showed that, there were limited bacterial wilt resistant germplasms in tetraploid potato cultivars, but there were abundant resistant germplasms in wild potato cultivars. Some germplasms with resistance to bacterial wilt were created through technologies such as distant hybridization, somatic hybridization, transgene and mutation. Those works laid a good foundation for the breeding of new potato varieties. As the lack of bacterial wilt resistant potato varieties has become a bottleneck, the main research in the future should focus on screening the bacterial wilt resistant potato germplasms and creating bacterial wilt resistant potato germplasms by multiple approaches, so as to lay the foundation for breeding bacterial wilt resistant potato germplasms. Meanwhile, molecular marker assisted breeding system for potato bacterial wilt can be established to improve the breeding efficiency of bacterial wilt resistant cultivars.

Key words: potato; resistant to bacterial wilt; germplasm resources

收稿日期: 2021-03-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31872117); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金项目(1630062017014、1630062017016); 甘肃农业大学“伏羲人才”计划项目(FXRC20130102)

作者简介: 肖熙鸥(1988-)男, 湖南龙山人, 博士, 助理研究员, 研究方向为作物遗传育种。(E-mail) xiao-forlearning@163.com

通讯作者: 司怀军, (E-mail) hjsi@gsau.edu.cn

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是中国四大粮食作物之一, 其栽培面积仅次于小麦、水稻和玉米^[1]。据世界粮农组织(FAO)统计, 2019年全球马铃薯产量达到368 247 077 t(<http://www.fao.org/home/en/>)。马铃薯在生产中易遭受多种病虫害的危害,

如病毒病、晚疫病、青枯病等^[1]。马铃薯青枯病是仅次于马铃薯晚疫病的马铃薯第二大病害,在世界范围内的马铃薯主要栽培地区和国家均有马铃薯青枯病危害的报道^[2]。如在埃塞俄比亚的 Chench 地区,97%的马铃薯有青枯病^[3]。在中国的 11 个省(市)马铃薯产区都分离出青枯菌,并且北迁趋势严峻^[2,4],严重威胁马铃薯产业的发展。根据我们对雷州半岛马铃薯生产基地的调查,发现所有基地的马铃薯均有青枯病发生,由青枯病造成的损失在 20%以上,严重的损失达到 50%以上,并且青枯病发病逐年加重(图 1)。由于目前尚无化学药剂对马铃薯青枯病进行有效防控,抗青枯病品种的选育与推广是防控马铃薯青枯病最有效的手段^[1]。

1 马铃薯抗青枯病资源鉴定

青枯病抗性鉴定方法对马铃薯种质资源青枯病抗性的评价影响较大。在人工建立的病菌圃或者青枯病发病较为严重的地块进行青枯病田间抗性鉴定是最简单的鉴定方法。该方法在自然条件下进行,能在全生育期内比较真实地反映马铃薯青枯病抗性。张长龄等^[5]通过田间青枯病病菌圃对 69 份国际马铃薯中心(CIP)种质资源进行青枯病抗性鉴定,评价出了 5 个抗性良好的无性系,其中 MS-42.3 和 MS-10.2 不仅对中国青枯菌优势菌系 3 号小种表现出很好的抗性,同时对 1 号小种也表现高抗。陈卓等^[6]通过田间鉴定,筛选了华薯 10、华薯 12 和华薯 15 抗青枯病品种。虽然田间鉴定准确性较高并且接近生产实际,但是该方法耗时长,需要大量的土地和特殊的病菌圃,因此不适宜高通量的抗性鉴定。因此利用组培苗进行人工接种鉴定青枯病抗性是目前最主要的鉴定方式^[7-8]。将组培苗练苗后移栽于温室中,然后进行人工土壤灌根接种,调查病情指数,根据病情指数进行抗性分级鉴定。但是该方法主要是根据叶片的萎蔫程度来判断抗性,并不能有效区分耐病、抗病和潜伏感染。利用标记基因追踪病原菌在植物体内的入侵、定殖等感染途径的方法得到越来越多的应用。目前在茄科雷尔氏菌中使用的标记基因有 *GFP*(绿色荧光蛋白)^[9]、*LUX*^[10] 和 *GUS*^[11] 等。标记的茄科雷尔氏菌能直观地反映病原菌在植物体内的位置,同时结合病情指数的调查,能够有效地区分耐病、抗病和潜伏感染(图 2)。Cruz 等^[12]建立了以 *LUX* 基因为报告基因的青枯病种质资源鉴定方法,利用该方法能够区分耐

病、抗病和潜伏感染。在此基础上,Wang 等^[13]以 *GFP* 和 *LUX* 标记的茄科雷尔氏菌为基础,建立了组培苗青枯病抗性鉴定体系,该方法可进一步节约鉴定过程的时间、空间和成本。然而已有的研究结果表明,马铃薯块茎存在青枯病潜伏感染^[14]。Priou 等^[15]连续 3 年对 60 份马铃薯种质资源进行田间抗性鉴定,结果表明即使 3 年植物萎蔫率为 0 的材料其马铃薯块茎仍有不同程度的潜伏感染。

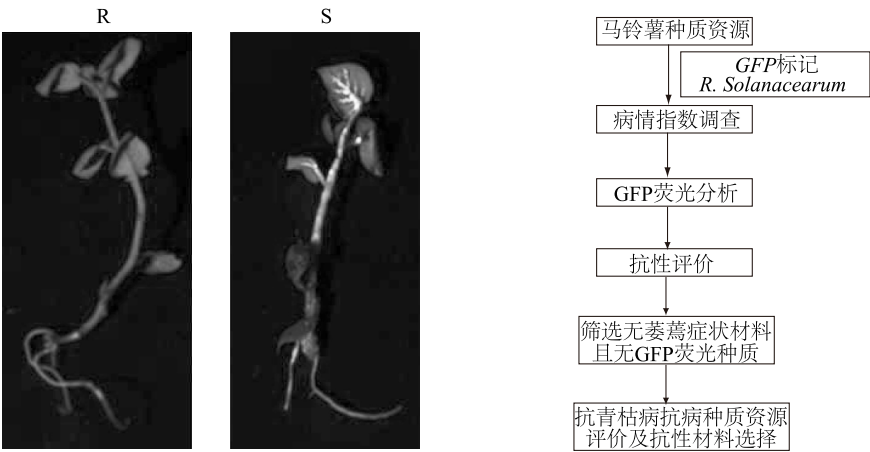


图 1 马铃薯青枯病田间危害及典型萎蔫症状

Fig.1 Harm of potato bacterial wilt and its typical wilting symptoms in the field

国内外对马铃薯青枯病抗性种质资源筛选的研究主要集中在 20 世纪 80 年代左右。已有的研究结果表明在马铃薯四倍体栽培种中缺乏抗源,而原始栽培种、二倍体野生种以及四倍体野生种等资源中存在青枯病的抗病或耐病资源。目前已经在马铃薯野生种和原始栽培种 *S. phureja*, *S. stenotomum*, *S. commersonii* Dun, *S. sucrense* 以及 *S. microdontum* 中鉴定出不同程度抗性的抗青枯病资源(表 1)。这些野生种和原始栽培种中的青枯病抗源,为通过远缘杂交和体细胞融合创新马铃薯抗青枯病资源提供了良好的抗源。

中国马铃薯抗青枯病研究约从 20 世纪 80 年代开始,主要从国际马铃薯中心(CIP)引进资源。张长龄等^[5]从 CIP 引进的马铃薯抗青枯病材料中筛选出了 5 个抗性良好的无性系,其中 MS-42.3 和 MS-10.2 对 1 号和 3 号小种表现出很好的抗性。何礼远^[16]从 CIP 引进的实生籽中选育了抗青枯病品种抗青 9-1。田祚茂等^[17-18]从 CIP 引进材料中筛选获得 12 份综合性状优良的马铃薯抗青枯病资源。黄勇^[8]使用 UW551 演化 II 型菌株对 316 份马铃薯资源进行鉴定,获得抗青枯病材料 6 份,中抗青枯病材料 34 份,其余 276 份均为感病材料,且抗病材料均为野生种或者原始栽培种(表 1)。Wang 等^[13]利用悬浮培养接种方法从 32 份材料中筛选出 3 份高抗青枯病材料。



R:抗病材料;S:感病材料。
图 2 利用 GFP 标记的茄科雷尔氏菌鉴定马铃薯青枯病抗性资源

Fig.2 Potato bacterial wilt resistant germplasms screened by green fluorescent protein (GFP) maked *Ralstonia solanacearum*

表 1 抗青枯病马铃薯种质资源
Table 1 Potato germplasms resistant to bacterial wilt

种类	种名	育种材料/品种	参考文献
野生种	<i>S.commersonii</i> Dun		[8]、[19]
	<i>S. sucrense</i>	G1451、G2084、G2368	[20]
	<i>S. acaule</i>		
	<i>S. albicans</i>		
	<i>S. berthaultii</i>		
	<i>S. boliviense</i>		
	<i>S. candolleianum</i>		
	<i>S. chomatophilum</i>		
	<i>S. demissum</i>		
	<i>S. leptophyes</i>		[8]
	<i>S. morelliforme</i>		
	<i>S. paucissectum</i>		
	<i>S. pinnatisectum</i>		
	<i>S. raphanifolium</i>		
	<i>S. stoloniferum</i>		
	<i>S. vernei</i>		
栽培种	<i>S.phureja</i>	C.C.C.1339、C.C.C1350、C.C.C.1386、C.C.C.1388、C.C.C. 1395、C.C.C. 1449	[21]
	<i>S.stenotomum</i>		[8]、[22]
		MS-42.3 和 MS-10.2	[5]
		07SF.3-79、07SF.6-8、07SF.6-5、07SF.13-29、07SF.13-40、07SF.3-75	[8]
		CIP800928、CIP800935、CIP3778b2. 2、IP381064. 8、CIP800938、BP88098-7、BP88176-1	[23]
	<i>S. tuberosum</i> 与野生种杂交后代	384415、BP8809、BP88105、BP88176、BP 88096-7	[24]
		CIP377835. 1、CIP382292. 99、CIP382293. 20、CIP282299. 103、CIP382303. 94、CIP382305.110、3822309.75、CIP382314.5	[18]
		CIP720118、CIP800212、CIP800223、CIP800224	[25]

2 马铃薯抗青枯病种质资源的创新

2.1 远缘杂交

远缘杂交方法是马铃薯抗青枯病种质资源创制的主要途径,相关工作主要由 CIP、威斯康星大学等研究机构进行,并且筛选了一批综合性状优良的抗青枯病品系。CIP 远缘杂交创制抗青枯病种质资源的抗源主要有 4 个来源:一是 *S. phure*,利用 *S. phure* 创制了 BR、MS、PSP 和 PSW 等一系列抗青枯病材料;二是从亚洲蔬菜中心(Asian Vegetable Research and Development Center)引进的抗青枯病种质资源 AVRDC-1287.19, AVRDC-1287.19 由 *S. chacoense* 和 *S. raphanifolium* 衍生而来,由于其后代具有较高含量的茄碱而逐渐被淘汰;三是 CRUZA148,其抗源可能包含 *S. chacoense* 和 *S. sparsipilum* 的青枯病抗源;四是由北卡罗莱纳州立大学通过二倍体栽培种 *S. stenotomum*、*S. phureja* 和 *S. gonioocalyx* 获得的抗性群体^[26]。将这些杂交后代通过染色体加倍以及与四倍体栽培种进行回交,获得综合性状优良的高抗青枯病材料。表 2 所示的 CIP 抗青枯病材料均是这些材料的后代,例如 CIP377835.1 是 BR63.65 9×Atlantic 的杂交后代,CIP382292.99 是 BR69.84 9×India 853 杂交后代,CIP282299.103 是 PSP30.10 9×BR68.84 杂交后代^[27]。与此同时,其他一些研究人员也开展了相关工作,如 Carputo 等^[28]从 26 份 *S. commersonii* 和 *S. tuberosum* 的杂交后代中筛选出 4 份抗性抗病材料,AFLP 分子标记鉴定结果表明,杂交后代的遗传组分更加接近于栽培种 *S. tuberosum*。

2.2 体细胞融合

体细胞融合能够有效地克服远缘杂交中花期不遇、杂交不亲和、杂交不育等障碍,是将野生种质导入栽培种中的重要手段和方法。马铃薯栽培种与野生种的对称/不对称体细胞融合技术较为成熟,通过与多个野生种/原始栽培种的体细胞杂交,创制了多个抗病材料^[29]。

通过体细胞融合创制马铃薯抗青枯病种质资源主要有 2 个途径。一是栽培种与野生种进行体细胞杂交,获得抗青枯病种质。国内外研究人员通过 *S. tuberosum* 与 *S. chacoense*、*S. phureja*、*S. commersonii* 和 *S. stenotomum* 等进行体细胞融合,创制了一批抗青枯病资源。对体细胞杂交后代人工接种青枯病进行抗性鉴定,结果表明杂种后代的青枯病抗性差异较大,一些杂种后代的抗性超过野生材料,一些杂种后代的抗性与

野生种相似,而另外一些杂种后代却表现为感病^[23, 30-32]。这些杂种后代均表现出较强的生长势,具有潜在的利用价值。利用流式细胞仪对杂交后代的遗传组成进行分析,结果表明杂种后代的染色体出现了倍性分离,表明其融合过程的机理较为复杂。分子标记分析结果表明杂交后代的染色体、叶绿体、线粒体遗传组成均包含二者母本的遗传物质,证实杂交后代为真实体细胞杂种,但是亲本的遗传物质不相等,而是偏向于某一亲本,并且存在染色体的重组^[32-33]。复杂的遗传方式进一步丰富了杂交后代的遗传多样性。蔡兴奎^[34]利用 *S. tuberosum* +*S. chacoense* 原生质体融合获得了 154 个体细胞杂交后代株系,其中有 12.1%的株系比野生种 *S. chacoense* 更抗或更耐青枯菌生理小种 1 号菌株,39.4%的株系其抗性水平与野生种及 *S. chacoense* 没有显著差异。汪晶^[35]利用 *S. tuberosum* +*S. chacoense* 原生质体融合获得了 11 个体细胞杂交后代,3 个株系表现出比野生种亲本更强的抗病性,6 个株系的抗性水平与野生亲本没有显著差异。对杂交后代的叶绿体组成和青枯病抗性进行分析,结果表明杂种后代的线粒体类型和叶绿体类型与抗性之间没有直接的相关性,说明马铃薯青枯病抗性主要受核基因控制^[36]。陈琳^[30]将体细胞杂种进一步与栽培种进行回交,成功地将野生种的抗性转移到栽培种中。二是栽培种与茄子进行体细胞杂交创制新的抗青枯病种质资源。这一部分研究主要由华中农业大学谢从华团队进行。喻艳^[37]利用马铃薯二倍体材料 *S. chacoense* 与抗青枯病茄子进行对称融合获得了 34 个再生植株,青枯病抗性鉴定结果表明杂种后代中 9 个株系表现为抗青枯病,其中 1 份抗性显著高于抗病茄子亲本,其余 8 个抗性与其相当。刘婷^[38]对 36 份马铃薯和茄子非对称融合再生植株进行鉴定,结果表明有 6 株系与茄子抗性没有显著差异。王海波^[39]对 90 份马铃薯+茄子对称融合体细胞杂种进行青枯病抗性评价,获得了 6 份抗性达到了中抗及以上水平的材料,并且所有体细胞杂种均保留有全套马铃薯基因组。

2.3 转基因技术

转基因技术是抗病育种的重要手段。由于尚无抗青枯病基因,目前马铃薯抗青枯病转基因主要是转异源的抗病蛋白基因和抗病信号转导基因^[40]。WHD、P3 和 ShivazA 3 种抗菌肽过表达马铃薯对青枯病的抗性显著提高^[41-42]。将拟南芥 Elongation factor-Tu (EF-Tu) receptor 基因转化马铃薯,获得的

过表达马铃薯对青枯病抗性提高^[43]。邢仪^[44]将烟草 *NiLTP4* 基因转入马铃薯中提高了马铃薯对青枯病的抗性,并且青枯病抗性与 *NiLTP4d* 的表达量呈正相关关系。最近 Chang 等^[45]超表达 *StNACb4* 基因也能显著提高马铃薯对青枯病的抗性。

2.4 诱变育种

利用诱变技术创制抗青枯病种质资源的研究报道相对较少。何礼远^[46]通过在培养基中添加青枯病菌进行抗性筛选,获得了抗菌愈伤组织并且得到再生苗,其抗性比母体材料有显著提高。张永祥等^[47]也通过相同的方法获得了比母本材料更抗青枯病的突变体。

3 抗青枯病分子标记开发

开发与马铃薯青枯病抗性相关的基因对抗病基

因的克隆和分子标记辅助育种有着重要的意义。国内研究者进行了马铃薯抗青枯病遗传规律分析,定位了一些与抗病基因连锁的标记(表 2)。通过体细胞杂交后的分离开发了与青枯病抗性相关的标记^[23,30]。但是这些用于开发标记的群体较小,标记的密度不够,标记与抗性位点的距离较远。最近 Habe 等^[48]利用二倍体感抗材料构建了 F_1 代分离群体,鉴定了 5 个与青枯病抗性相关的 QTL(数量性状基因座),能够解释 9.3%~18.4% 的抗性变异,其中 3 个 QTL 位于抗病材料染色体,2 个 QTL 位于感病材料染色体,对 F_1 代后代进行分析,结果显示具有 5 个 QTL 的后代抗性高于抗病亲本。这些研究结果表明,马铃薯青枯病抗性由多个基因控制,可以通过聚合育种,将多个抗病基因进行聚合,选育高抗青枯病的马铃薯品种。

表 2 抗青枯病分子标记

Table 2 Molecular markers for bacterial wilt resistance

标记	标记类型	作图方法	群体	染色体/连锁图谱位置	参考文献
<i>qBWR-1</i>			抗病二倍体马铃薯 10-03-30×感病二倍体系 F1-1	染色体 1	[48]
<i>qBWR-2</i>				染色体 3	
<i>qBWR-3</i>	SNP(单核苷酸多态性)	QTL 作图		染色体 7	
<i>qBWR-4</i>				染色体 10	
<i>qBWR-5</i>				染色体 11	
<i>M32</i>	SRAP(相关序列扩增多态性)	QTL 作图	ED×CE		[49]
<i>ATG/C TC 307.0</i>				染色体 12	[50]
<i>ATG/C TC 246.0</i>				染色体 1	
<i>ATG/C TC 191.0</i>	AFLP(扩增片段长度多态性)	BSA(混合分组分析)	ED×CE	染色体 12	
<i>AAC/CAC 79.0</i>				染色体 1	
<i>OPA07446</i>	RAPD(随机扩增多态性 DNA 标记)	QTL 作图	ED×CE		[51]
<i>OPA12980</i>					
<i>STI0056.173</i>	SSR(串联重复序列标记)	关联分析	体细胞杂交后代		[30]
<i>STI0046.190</i>					
<i>STI0051</i>	SSR	关联分析	体细胞杂交后代		[23]
<i>STI0056</i>					
<i>STI0057</i>					

4 马铃薯青枯病抗性分子机制

马铃薯通过抑制茄科雷尔氏菌的侵染和繁殖产生抗性。首先青枯病菌大量黏附在其根系表面,并在皮层形成侵染点,或者通过根尖、侧根和根部伤口侵入植株根部(接种后 1 d),然后迅速进入根部

维管束组织(接种后 2~3 d),并向上侵染,进入茎部维管束组织和叶片(接种后 4~5 d),导致马铃薯导管堵塞,最终导致植株表现出萎蔫(接种后 6~7 d)^[11-12,52]。在侵染过程中,抗病/耐病马铃薯材料能够抑制 *R. Solanacearum*,证明马铃薯通过抑制茄科雷尔氏菌的侵染和繁殖产生抗性^[11-12,33]。进一步

的研究结果表明,马铃薯抗病材料通过在根、茎段积累更多的侵填体、木质素、胼胝质和活性氧等生理生化反应抑制茄科雷尔氏菌的侵染和繁殖^[33]。这些结果与其他作物中的研究结果基本一致^[53-55]。

马铃薯对青枯病的抗性严重依赖于茄科雷尔氏菌小种、马铃薯基因型以及茄科雷尔氏菌-马铃薯-环境条件的互作。目前的研究主要集中在马铃薯对R3BV2群体的抗性机理,不同试验得到的结果不一致甚至相反。当马铃薯受到茄科雷尔氏菌侵染后,马铃薯识别茄科雷尔氏菌的致病因子,激活植物的抗病信号,产生一系列的生理生化反应最终表现抗病。已有的研究表明,马铃薯对茄科雷尔氏菌的抗病反应主要集中在侵染的早期阶段(1 d)。对马铃薯与茄科雷尔氏菌互作早期受病菌诱导表达基因的差减EST文库进行分析,结果表明马铃薯对茄科雷尔氏菌的反应包括的生物学过程主要有防卫反应、转录调控、葡萄糖代谢和信号转导等。李广存^[56]和邵刚^[52]从总体上揭示了马铃薯对青枯病病菌防卫反应的生理过程,并且鉴定出一些关键的防卫基因,进一步分析鉴定到1个乙烯受体蛋白,可能参与对乙烯信号的识别^[56]。因此推测乙烯信号途径参与马铃薯对茄科雷尔氏菌的抗病信号途径。Narancio等^[57]利用基因芯片技术对野生种*S. commersonii*早期响应茄科雷尔氏菌基因表达进行分析,结果表明活性氧、乙烯和水杨酸途径可能参与了*S. commersonii*对青枯病的抗病信号转导。而最近利用RNA-seq对感抗材料接种茄科雷尔氏菌后进行分析,在感病材料中茉莉酸信号途径相关基因的表达量上升,在抗病材料中表达量没有变化,但是水杨酸途径信号相关基因的表达量在感、抗材料中均下降^[58]。在植物抗病信号网络中,茉莉酸信号途径与水杨酸信号途径相互拮抗,调控不同的抗性^[59]。因此推测在感病材料中,茄科雷尔氏菌通过诱导茉莉酸信号途径来抑制水杨酸信号途径使其丧失抗性。而在抗病材料中,茄科雷尔氏菌在前期通过抑制水杨酸信号途径进入马铃薯根部,因此推测水杨酸信号途径可能参与了上述抗病反应。上述研究从转录组水平研究了马铃薯抗青枯病机理,筛选了一些抗病相关基因,但是没有进一步的遗传学或者生理生化实验来证明上述信号途径或者关键基因的功能。张治飞^[11]对马铃薯RNAi转基因材料接种茄科雷尔氏菌后进行分析,结果表明与野生型相比,StCOL1沉默植株的发病率提高,发病时间提前,而StEIN2沉默

植株的发病时间、发病率变化不显著,因此推测茉莉酸信号途径参与了马铃薯青枯病抗性。虽然上述研究通过高通量技术在转录组水平上分析了马铃薯对青枯病的防卫反应,筛选到一些关键抗病基因,但是缺乏直接或者间接的生理生化验证,未能解释其抗病调控网络及其机理。因此需要采取更多的技术从不同的角度来解析马铃薯抗青枯病的分子机理。

5 展望

5.1 建立高通量的马铃薯青枯病抗性鉴定体系

目前,青枯病抗性鉴定主要是在苗期进行人工接种,通过调查萎蔫症状来判断其抗性,容易受到人为主观因素的影响。对人工接种后无萎蔫症状的“抗病”材料进行GFP、LUX成像和根部浸出液平板培养等分析,结果表明根部均有大量茄科雷尔氏菌,“抗病”的真正原因是耐病^[12-13, 33]。茄科雷尔氏菌是否能够“抗病”种质的块茎中繁殖及其对块茎商品性的影响等尚无研究报道,未来应该加强相关研究。马铃薯野生种种质资源丰富,已经鉴定出的青枯病抗性材料相对较少,未来应该建立高通量的青枯病抗性鉴定方法,加强对野生种进行抗性鉴定,筛选抗病、免疫材料,为马铃薯青枯病抗病育种奠定基础。基于图像分析和机器学习的表型分析的表型组学在植物抗病鉴定中得到越来越广泛的应用,例如利用光谱成像分析植物的病害^[60]。利用叶绿素荧光相关参数鉴定植物的抗病性具有无损、快速且不受人为主观因素的影响,已经在多种作物上得到应用^[60-63]。Kim等^[64]在番茄上以叶绿素荧光相关参数为标准建立了番茄抗青枯病早期鉴定体系,为高通量筛选抗青枯病材料奠定了基础。Chen等^[65]利用无人机平台和高光谱特征实现了花生青枯病的田间早期诊断,极大地提高了效率。

5.2 建立分子标记辅助育种体系

分子标记辅助育种能够显著地提高选择效率,加速育种进程。由于马铃薯抗青枯病材料的缺乏,与青枯病抗性相关的分子标记研究很少。开发与抗青枯病基因紧密连锁、共分离的标记能够显著提高马铃薯远缘杂交和体细胞杂交后代抗病材料的筛选效率。同时为马铃薯抗青枯病聚合育种与分子设计育种奠定基础。

5.3 种质资源的创新

加强远缘杂交、体细胞融合的理论研究,提高远

缘杂交、体细胞融合的成功率,创制高抗和多抗青枯病的马铃薯种质资源。另外,马铃薯具有高效的遗传转化效率,为转基因育种奠定了良好的基础,可将异源抗青枯病基因如番茄、茄子的单个、多个抗性基因导入马铃薯中培育抗性品种。同时研究野生种或者近缘野生种的抗病基因,筛选调控抗病的关键基因,为通过转基因培育抗病品种奠定基础。

参考文献:

- [1] 徐进,朱杰华,杨艳丽,等. 中国马铃薯病虫害发生情况与农药使用现状[J]. 中国农业科学, 2019, 52(16): 2800-2808.
- [2] JIANG G, WEI Z, XU J, et al. Bacterial wilt in China: History, current status, and future perspectives[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1549.
- [3] ABDURAHMAN A, GRIFFIN D, ELPHINSTONE J, et al. Molecular characterization of *Ralstonia solanacearum* strains from Ethiopia and tracing potential source of bacterial wilt disease outbreak in seed potatoes[J]. *Plant Pathology*, 2017, 66(5): 826-834.
- [4] 王丽. 中国马铃薯青枯菌致病力和遗传多样性研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2016.
- [5] 张长龄,何礼远,华静月,等. 马铃薯青枯病抗源筛选[J]. 世界农业. 1995(11): 36.
- [6] 陈卓,王俊杰,邹华芬,等. 广东冬作区抗青枯病马铃薯新品种筛选[J]. 中国马铃薯, 2020, 34(6): 329-336.
- [7] 雷婷. 马铃薯青枯病抗性资源筛选与原生质体融合创制新种质[D]. 武汉:华中农业大学, 2011.
- [8] 黄勇. 马铃薯青枯病抗性资源的鉴定及效应蛋白突变体的筛选[D]. 武汉:华中农业大学, 2016.
- [9] 车建美,蓝江林,刘波. 转绿色荧光蛋白基因的青枯雷尔氏菌生物学特性[J]. 中国农业科学, 2008(11): 3626-3635.
- [10] MONTEIRO F, GENIN S, VAN DIJK I, et al. A luminescent reporter evidences active expression of *Ralstonia solanacearum* type III secretion system genes throughout plant infection[J]. *Microbiology*, 2012, 158(8): 2107-2116.
- [11] 张治飞. 青枯菌的基因标记及马铃薯青枯病抗性相关信号途径探究[D]. 武汉:华中农业大学, 2016.
- [12] CRUZ A P Z, FERREIRA V, PIANZZOLA M J, et al. A novel, sensitive method to evaluate potato germplasm for bacterial wilt resistance using a luminescent *Ralstonia solanacearum* reporter strain[J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2014, 27(3): 277-285.
- [13] WANG H, HU J, LU Y, et al. A quick and efficient hydroponic potato infection method for evaluating potato resistance and *Ralstonia solanacearum* virulence[J]. *Plant Methods*, 2019, 15: 145.
- [14] 谢从华,柳俊,张克顺. 马铃薯块茎青枯病菌潜伏侵染的酶联免疫学检测[J]. 中国马铃薯, 2000(3): 131-134.
- [15] PRIOU S, SALAS C, DE MENDIBURU F, et al. Assessment of latent infection frequency in progeny tubers of advanced potato clones resistant to bacterial wilt: A new selection criterion[J]. *Potato Research*, 2001, 44: 359-373.
- [16] 何礼远. 抗青枯病高产优质马铃薯新品种“抗青 9-1”[J]. 中国马铃薯, 2007(6): 381-382.
- [17] 田祚茂,滕建勋,王尔惠,等. CIP 抗晚疫病、抗青枯病种质资源材料的筛选与评价[J]. 马铃薯杂志, 1995(4): 206-210.
- [18] 田祚茂,赵迎春,程群. 国外马铃薯种质资源的引进、筛选与利用[J]. 中国马铃薯, 2001(4): 248-250.
- [19] SIRI M I, SIRI M I, GALVÁN G A, et al. Molecular marker diversity and bacterial wilt resistance in wild *Solanum commersonii* accessions from Uruguay[J]. *Euphytica*, 2009, 165(2): 371-382.
- [20] JAWORSKI C W R G R. Relative resistance of potato cultivars to bacterial wilt[J]. *Am Potato J*, 1980(57): 159-164.
- [21] THURSTON DH L J. Resistance to bacterial wilt of potatoes in Colombian clones of *Solanum Phureja*[J]. *American Potato Journal*, 1968, 45: 51-55.
- [22] FOCK I, COLLENNIER C, LUISETTI J, et al. Use of *Solanum stenotomum* for introduction of resistance to bacterial wilt in somatic hybrids of potato[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2001, 39(10): 899-908.
- [23] 李朋. 马铃薯体细胞杂种回交后代青枯病抗性鉴定及分子标记检测[D]. 武汉:华中农业大学, 2014.
- [24] 田祚茂,滕建勋,王尔惠,等. CIP 抗晚疫病、抗青枯病种质资源材料的筛选与评价[J]. 马铃薯杂志, 1995(4): 206-210.
- [25] MICHEL V V, MEW T W. Effect of a soil amendment on the survival of *Ralstonia solanacearum* in different soils[J]. *Phytopathology*, 1998, 88(4): 300-305.
- [26] MUTHONI J, SHIMELIS H, MELIS R. Conventional breeding of potatoes for resistance to bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*): Any light in the horizon? [J]. *Australian Journal of Crop Science*, 2020, 14(3): 485-494.
- [27] SPOONER D M, HIJMAN R J. Potato systematics and germplasm collecting, 1989-2000[J]. *American Journal of Potato Research*, 2001, 78(4): 237-268.
- [28] CARPUTO D, AVERSANO R, BARONE A, et al. Resistance to *Ralstonia solanacearum* of sexual hybrids between *Solanum commersonii* and *S. tuberosum* [J]. *American Journal of Potato Research*, 2009, 86(3): 196-202.
- [29] TIWARI J K, DEVI S, ALI N, et al. Progress in somatic hybridization research in potato during the past 40 years[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2018, 132(2): 225-238.
- [30] 陈琳. 马铃薯体细胞杂种及其回交和自交后代遗传组分分析与青枯病抗性评价[D]. 武汉:华中农业大学, 2013.
- [31] FOCK I I, COLLENNIER C, PURWITO A, et al. Resistance to bacterial wilt in somatic hybrids between *Solanum tuberosum* and *Solanum phureja* [J]. *Plant Science*, 2000, 160(1): 165-176.
- [32] LAFERRIERE L, HELGESON J, ALLEN C. Fertile *Solanum tuberosum* + *S. commersonii* somatic hybrids as sources of resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* [J]. *Theoretical*

- and Applied Genetics, 1999(98): 1272-1278.
- [33] FERREIRA V, PIANZZOLA M J, VILARÓ F L, et al. Interspecific potato breeding lines display differential colonization patterns and induced defense responses after *Ralstonia solanacearum* infection[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8:1424.
- [34] 蔡兴奎. 原生质体融合创造抗青枯病的马铃薯新种质及其遗传分析[D]. 武汉:华中农业大学, 2004.
- [35] 汪 晶. 二倍体马铃薯原生质体融合创制抗青枯病的新种质[D]. 武汉:华中农业大学, 2009.
- [36] 田伶俐. 马铃薯体细胞杂种胞质遗传组成及其与青枯病抗性的关系[D]. 武汉:华中农业大学, 2010.
- [37] 喻 艳. 马铃薯与茄子原生质体融合创制新资源研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2013.
- [38] 刘 婷. 马铃薯-茄子体细胞杂种遗传组分分析及青枯病抗性评价[D]. 武汉:华中农业大学, 2015.
- [39] 王海波. 马铃薯+茄子体细胞杂种的基因组组及其青枯病抗性的遗传基础[D]. 武汉:华中农业大学, 2020.
- [40] PATIL V U, GOPAL J, SINGH B P. Improvement for bacterial wilt resistance in potato by conventional and biotechnological approaches[J]. *Agricultural Research*, 2012, 1(4): 299-316.
- [41] 贾士荣, 屈贤铭, 冯兰香, 等. 转抗菌肽基因提高马铃薯对青枯病的抗性[J]. *中国农业科学*, 1998, 31(3): 5-12.
- [42] 梁远发, 何礼远, 冯兰香, 等. 马铃薯抗青枯病转基因植株抗性鉴定[C]//中国作物学会马铃薯专业委员会. 中国马铃薯学术研讨会与第五届世界马铃薯大会论文集. 昆明: 中国作物学会马铃薯专业委员会; 2004: 5.
- [43] BOSCHI F, SCHVARTZMAN C, MURCHIO S, et al. Enhanced bacterial wilt resistance in potato through expression of arabidopsis EFR and introgression of quantitative resistance from *Solanum commersonii*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8:1642.
- [44] 邢 仪. 转 *NiLTP4* 基因抗盐抗旱抗病马铃薯新材料的培育[D]. 泰安: 山东农业大学, 2019.
- [45] CHANG Y, YU R, FENG J, et al. NAC transcription factor involves in regulating bacterial wilt resistance in potato[J]. *Functional Plant Biology*, 2020, 47(10): 925.
- [46] 何礼远. 马铃薯抗青枯病体细胞变异体离体筛选研究初报[J]. *中国马铃薯*, 1990(1): 14-18.
- [47] 张永祥, 华静月, 何礼远, 等. 马铃薯叶盘愈伤组织再生苗抗青枯病变异株的筛选[J]. *中国马铃薯*, 1993(1): 22-26.
- [48] HABE I, MIYATAKE K, NUNOME T, et al. QTL analysis of resistance to bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* in potato[J]. *Breeding Science*, 2019, 69(4): 592-600.
- [49] 雷 剑, 柳 俊. 一个与马铃薯青枯病抗性连锁的 SRAP 标记筛选[J]. *中国马铃薯*, 2006(3): 150-153.
- [50] 邵 刚, 金黎平, 屈冬玉, 等. 马铃薯青枯病抗性的共性 AFLP 标记的初步定位[J]. *西北植物学报*, 2005, 25(2): 269-274.
- [51] 李林章. 二倍体马铃薯青枯病抗性的分离及分子标记鉴定[D]. 武汉:华中农业大学, 2004.
- [52] 邵 刚. 青枯菌诱导的马铃薯防卫相关基因克隆与表达[D]. 北京:中国农业科学院, 2008.
- [53] VASSE J F P T A. Microscopic studies of intercellular infection and protoxylem invasion of tomato roots by *Pseudomonas solanacearum*[J]. *Molecular Plant-Microbe Interaction*, 1995(8): 241-251.
- [54] VAILLEAU F, SARTOREL E, JARDINAUD M F, et al. Characterization of the interaction between the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum* and the model legume plant *Medicago truncatula*[J]. *Mol Plant Microbe Interact*, 2007, 20(2): 159-167.
- [55] DIGONNET C, MARTINEZ Y, DENANCÉ N, et al. Deciphering the route of *Ralstonia solanacearum* colonization in Arabidopsis thaliana roots during a compatible interaction: focus at the plant cell wall[J]. *Planta*, 2012, 236(5): 1419-1431.
- [56] 李广存. 马铃薯青枯病抗性相关基因的分离及其功能分析[D]. 北京:中国农业科学院, 2006.
- [57] NARANCIO R, ZORRILLA P, ROBELLO C, et al. Insights on gene expression response of a characterized resistant genotype of *Solanum commersonii* Dun. against *Ralstonia solanacearum* [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2013, 136(4): 823-835.
- [58] ZULUAGA A P, SOLÉ M, LU H, et al. Transcriptome responses to *Ralstonia solanacearum* infection in the roots of the wild potato *Solanum commersonii*[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16:246.
- [59] KACHROO A, KACHROO P. Salicylic Acid-, Jasmonic acid- and ethylenemediated regulation of plant defense signaling[M]. Boston, MA:Springer US, 2007: 28, 55-83.
- [60] MARTINEZ-FERRI E, ZUMAQUERO A, ARIZA M T, et al. Nondestructive detection of white root rot disease in avocado rootstocks by leaf chlorophyll fluorescence[J]. *Plant Dis*, 2016, 100(1): 49-58.
- [61] ROUSSEAU C, BELIN E, BOVE E, et al. High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis[J]. *Plant Methods*, 2013, 9(1): 17.
- [62] MAHLEIN A. Plant disease detection by imaging sensors-parallel and specific demands for precision agriculture and plant phenotyping[J]. *Plant Disease*, 2016, 100(2): 241-251.
- [63] ATTA B M, SALEEM M, ALI H, et al. Chlorophyll as a biomarker for early disease diagnosis[J]. *Laser Physics*, 2018, 28(6): 65607.
- [64] KIM J H, BHANDARI S R, CHAE S Y, et al. Application of maximum quantum yield, a parameter of chlorophyll fluorescence, for early determination of bacterial wilt in tomato seedlings[J]. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 2019, 60(6): 821-829.
- [65] CHEN T, YANG W, ZHANG H, et al. Early detection of bacterial wilt in peanut plants through leaf-level hyperspectral and unmanned aerial vehicle data[J]. *Computers and Electronics in Agriculture*, 2020, 177: 105708.

(责任编辑:张震林)