ICS 65.020.01
B 04

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 1303—2007

农作物种质资源鉴定技术规程　马铃薯

Technical Code for Evaluating Germplasm Resources—Potato
(*Solanum tuberosum* L.)

2007-04-17 发布　　2007-07-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前　言

本标准中附录A、附录B、附录C、附录D、附录E、附录F、附录G、附录H、附录I为资料性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出并归口。

本标准起草单位：黑龙江省农业科学院马铃薯研究所、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所。

本标准主要起草人：刘喜才、孙邦升、张文英、张丽娟、李军、宋继玲、刘卫平、钱永忠。

农作物种质资源鉴定技术规程　马铃薯

1　范围

本标准规定了马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)种质资源的鉴定技术要求和方法。

本标准适用于马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)种质资源的植物学特征、生物学特性、品质性状和抗病性的鉴定,其他种的鉴定参考此规程。

2　规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 5009.7　食品中还原糖的测定

GB/T 5009.9　食品中淀粉的测定

GB/T 6195　水果、蔬菜中维生素C含量测定法(2,6-二氯靛酚滴定法)

GB/T 8856　水果、蔬菜产品粗蛋白质的测定方法

3　要求

3.1　鉴定地点

鉴定地点的环境条件应能够满足马铃薯植株正常生长及其性状的正常表达。

3.2　样本采集

应在植株正常生长情况下采集样本。鉴定应连续进行2个～3个生长周期。

3.3　鉴定内容

鉴定内容见表1。

表1　马铃薯种质资源鉴定内容

植物学特征	幼芽形状、幼芽颜色、株型、茎翼形状、茎色、叶色、叶表面光泽度、叶缘、小叶着生密集度、顶小叶宽度、顶小叶形状、顶小叶基部形状、托叶形状、花冠形状、花冠大小、花冠颜色、重瓣花、花柄节颜色、柱头形状、柱头颜色、柱头长短、花药形状、花药颜色、薯形、皮色、芽眼深浅、芽眼色、芽眼多少、薯皮光滑度、肉色
生物学特性	株高、主茎数、分枝类型、植株繁茂性、茎粗、开花繁茂性、自然结实性、结薯集中性、块茎整齐度、块茎大小、块茎产量、休眠性、倍性、生育期、熟性、出苗期、现蕾期、开花期、成熟期
品质性状	干物质含量、淀粉含量、维生素C含量、粗蛋白含量、还原糖含量、食味
抗病性	马铃薯X病毒抗性、马铃薯Y病毒抗性、马铃薯A病毒抗性、马铃薯S病毒抗性、马铃薯卷叶病毒抗性、马铃薯植株晚疫病抗性、马铃薯块茎晚疫病抗性

4　鉴定方法

4.1　植物学特征

4.1.1　幼芽形状

随机选取块茎10个,放入简易培养箱中;在15℃左右的室温、5 lx～10 lx光照强度下培养,待芽长

2 cm～3 cm 时，按图 1 以最大相似原则确定幼芽基部形状。分为圆、椭圆、圆锥、宽圆柱、窄圆柱。

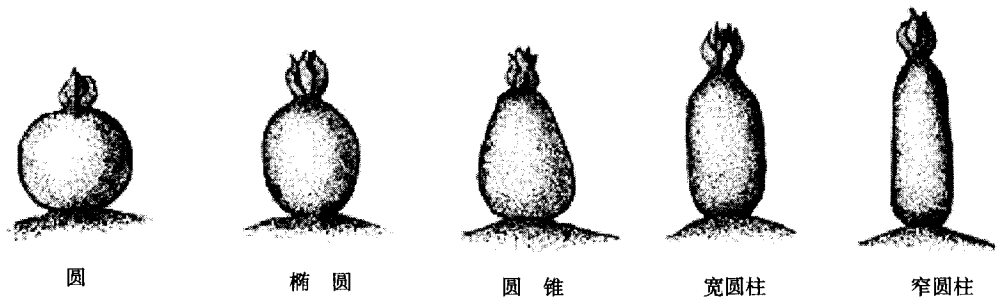

图 1 幼芽基部形状

4.1.2 幼芽颜色

采用 4.1.1 的样本，观察幼芽颜色。分为绿、浅红、红、深红、浅紫、紫、深紫、褐、蓝。

4.1.3 株型

在现蕾期，观察小区中间行连续 20 株，按图 2 观察植株地上部主茎。依据地上部主茎与地面夹角确定株型，株型分为直立（主茎与地面夹角为 90°）、半直立（45°≤主茎与地面夹角＜90°）、开展（主茎与地面夹角＜45°）。

图 2 株 型

4.1.4 茎翼形状

在现蕾期，观察植株主茎茎翼，按图 3 确定植株地上部主茎上茎翼形状。分为直形、微波状、波状。

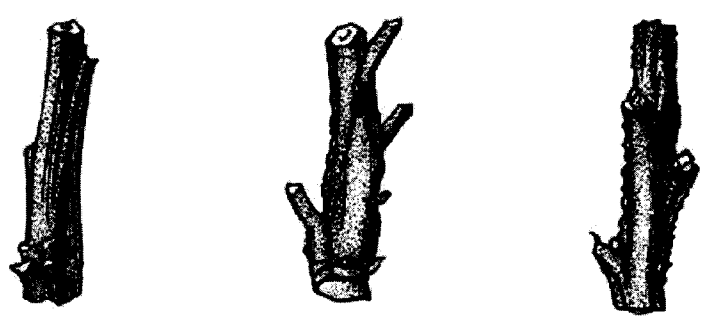

图 3 茎翼形状

4.1.5 茎色

在现蕾期，观察植株主茎颜色。颜色分为绿、褐、紫、深紫、局部有色。

4.1.6 叶色

在现蕾期，观察植株中部叶片正面颜色。颜色分为浅绿、绿、深绿。

4.1.7 叶表面光泽度

在现蕾期，观察植株中部叶片正面光泽，确定叶片光泽度。分为无光泽、中等、有光泽。

4.1.8 叶缘

在现蕾期，观察植株中部叶片叶缘，按图4确定植株叶缘形状。分为波状、微波状、平展。

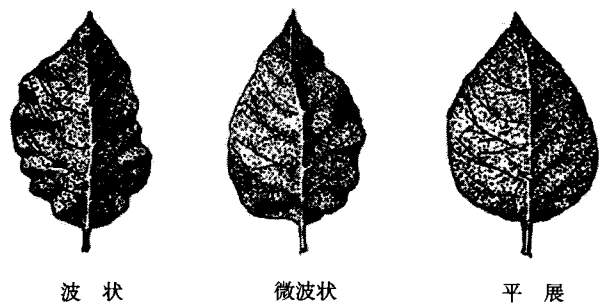

图4 叶 缘

4.1.9 小叶着生密集度

在现蕾期，观察植株主茎中部复叶侧小叶着生疏密状况，按图5确定小叶着生密集度类型。分为疏、中、密。

图5 小叶着生密集度

4.1.10 顶小叶宽度

采用4.1.9中的样本，测量主茎中部复叶顶小叶宽、长，计算宽长比。

根据宽长比值确定顶小叶宽度类型。分为窄(宽/长≤0.6)、中(0.6<宽/长≤0.7)、宽(宽/长>0.7)。

4.1.11 顶小叶形状

在现蕾期，观察植株主茎中部复叶顶小叶，按图6确定顶小叶形状。分为仄形、宽形、正椭圆形、卵形、倒卵形、戟形。

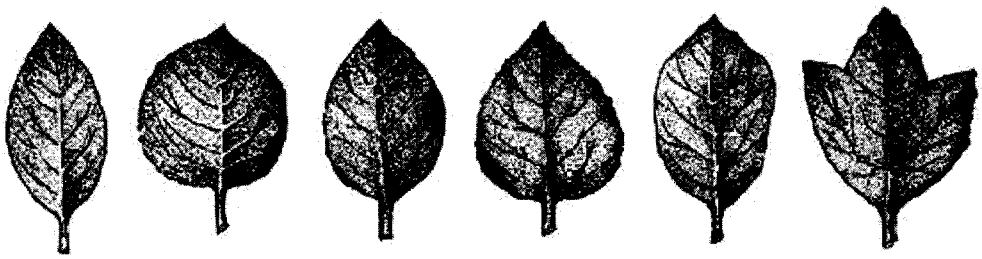

图 6 顶小叶形状

4.1.12 顶小叶基部形状

在现蕾期，观察植株主茎中部复叶顶小叶基部，按图 7 确定顶小叶基部形状。分为心形、中间形、楔形。

图 7 顶小叶基部形状

4.1.13 托叶形状

在现蕾期，观察植株主茎上复叶叶柄基部托叶形状，按图 8 确定托叶形状。分为镰刀形、中间形、叶形。

图 8 托叶形状

4.1.14 花冠形状

在开花期，观察新开放花朵，按图 9 确定花冠形状。分为星形、近五边形、近圆形。

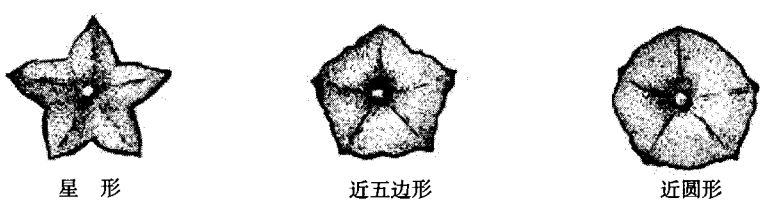

图 9 花冠形状

4.1.15 花冠大小

在开花期，于小区中间行连续选取 20 株，测量新开放花朵的花冠最大直径，结果以平均值表示，精确到 0.1 cm。

根据结果确定花冠大小，花冠分为小（不相邻两花瓣尖距离≤2.5 cm）、中（2.5 cm＜不相邻两花瓣尖距离≤3 cm）、大（不相邻两花瓣尖距离＞3 cm）。

4.1.16 **花冠颜色**

在开花期，在正常光照条件下，观察新开放花朵，花冠颜色分为白、浅红、红、浅紫、紫、蓝紫、蓝、黄。

4.1.17 **重瓣花**

在开花期，按图 10 观察全部植株新开放的花朵。确定是否有重瓣花。分为有、无。

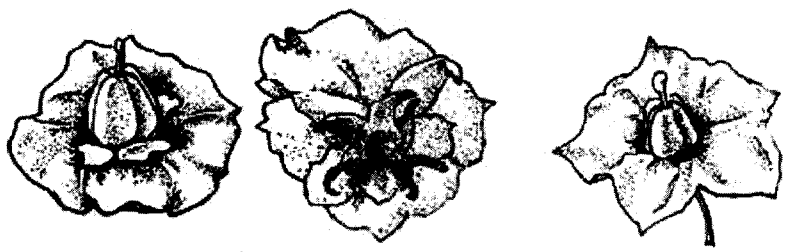

图 10 重瓣花

4.1.18 **花柄节颜色**

在开花期，正常光照条件下，观察花柄节颜色。分为有色(花柄节颜色比花柄颜色深或浅)、无色(花柄节与花柄同色)。

4.1.19 **柱头形状**

在开花期，按图 11 确定柱头形状。分为无裂、二裂、三裂。

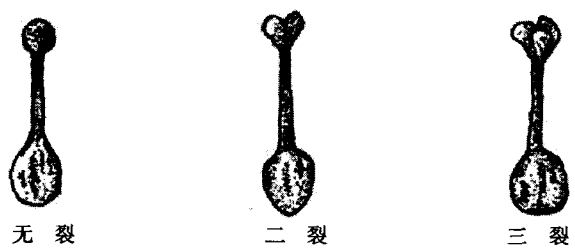

图 11 柱头形状

4.1.20 **柱头颜色**

在开花期，正常光照条件下，观察新开放花朵柱头颜色。颜色分为浅绿、绿、深绿。

4.1.21 **柱头长短**

在开花期，观察新开放花朵的柱头，按图 12 确定柱头的长短。分为短(柱头与花药齐)、中(只有柱头露于花药外部)、长(花柱及柱头均露于花药外部)。

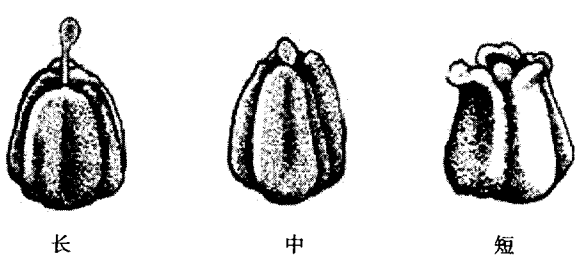

图 12 柱头长短

4.1.22 **花药形状**

在开花期，观察新开放花朵的花药，按图 13 以最大相似原则确定花药形状。分为锥形、圆柱形、畸形。

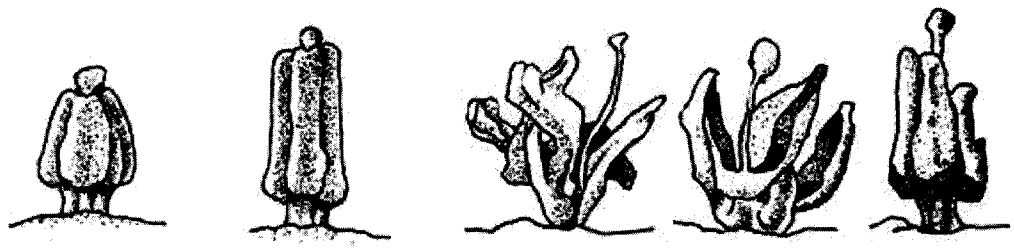

图 13 花药形状

4.1.23 花药颜色

在开花期，正常光照条件下，观察新开放花朵的花药颜色。颜色分为黄、橙、黄绿。

4.1.24 薯形

在收获当日，按图 14 以最大相似原则确定薯形。分为扁圆形、圆形、卵形、倒卵形、扁椭圆形、椭圆形、长方形、长筒形、长形、棒槌形、肾形、纺锤形、镰刀形、卷曲形、掌形、手风琴形、结节形。

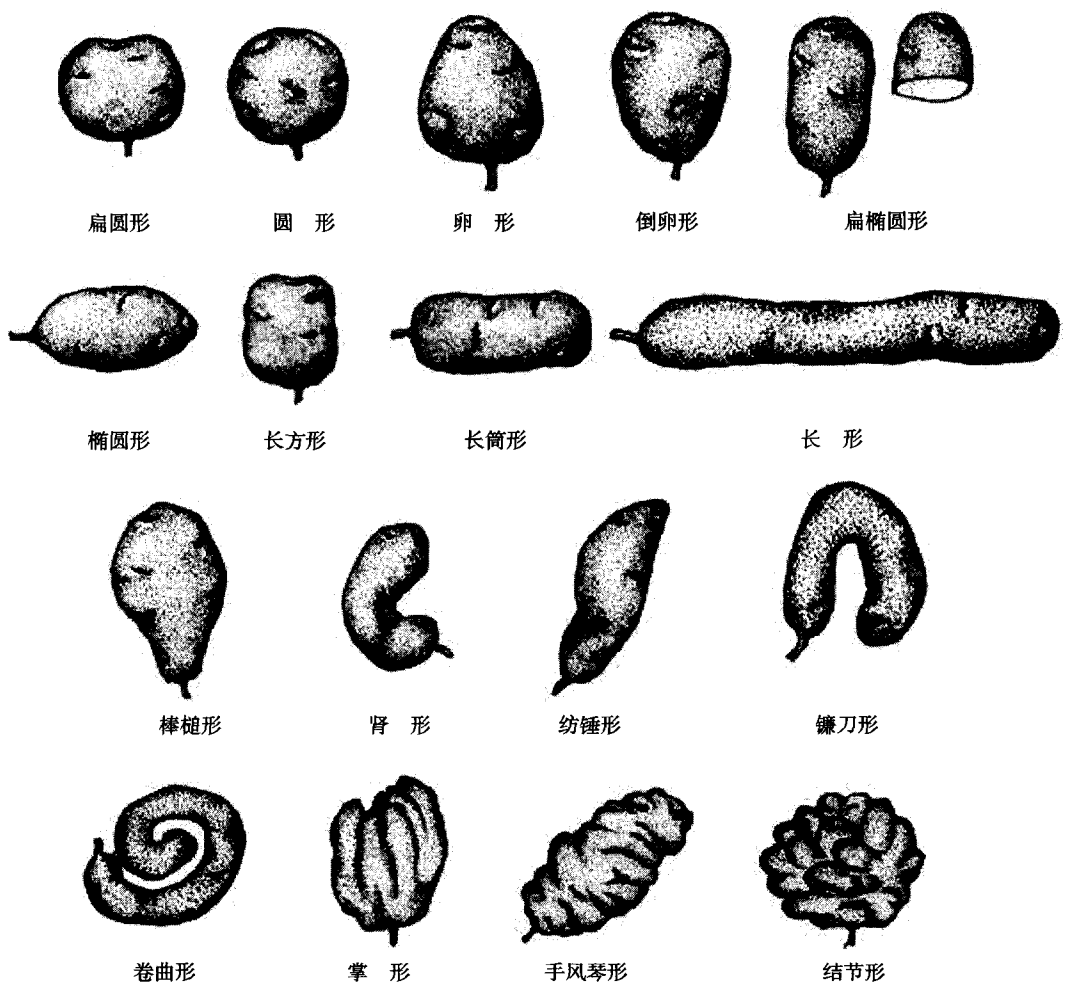

图 14 薯 形

4.1.25 皮色

在收获当日，观察未经日光晒过、健康块茎的表皮颜色。在正常光照条件下，按最大相似原则确定

薯皮颜色，颜色分为乳白、浅黄、黄、褐、浅红、红、紫、深紫、红杂色、紫杂色。

4.1.26 芽眼深浅

在收获当日，于小区内随机选取20个具有种质材料典型性的健康块茎，观察芽眼，分为凸起（芽眼凸出块茎表面）、浅（无明显凹陷）、中（有较明显凹陷）、深（有明显凹陷）。

4.1.27 芽眼色

在收获当日，观察块茎芽眼颜色。分为白、黄、粉红、红、紫。

4.1.28 芽眼多少

采用4.1.26的样本，计数每个块茎的芽眼数，结果以平均值表示，精确到整数位。芽眼多少分为少（芽眼数＜7）、中（7≤芽眼数≤12）、多（芽眼数＞12）。

4.1.29 薯皮光滑度

在收获当日，观察健康块茎的表皮。薯皮光滑度分为光滑（表皮光滑，无网纹）、中（表皮较光滑，有网纹）、粗糙（表皮粗糙，有重麻皮）。

4.1.30 肉色

采用4.1.26的样本，切开块茎，在正常光照条件下，观察块茎薯肉。按最大相似原则确定薯肉颜色，颜色分为白、奶油色、浅黄、黄、深黄、红、部分红、紫、部分紫。

4.2 生物学特性

4.2.1 株高

在现蕾期，于小区中间行连续取20株，测量植株最高主茎自地面至顶端的高度，结果以平均值表示，精确到0.1 cm。

在测量株高时，对于株型为半直立和开展型种质，应将其主茎拉直进行测量。

4.2.2 主茎数

采用4.2.1中的样本，计数由种薯芽眼中直接长出地面的茎（不包括地下匍匐茎形成的茎）数，结果以平均值表示，精确到整数位。

4.2.3 分枝类型

采用4.2.1中的样本，计数植株主茎上长10 cm以上分枝数，结果以平均值表示，精确到整数位。按其结果确定分枝类型，分为无（没有分枝）、少（1≤分枝数＜4）、多（分枝数≥4）。

4.2.4 植株繁茂性

采用4.2.1中的样本，观察植株地上茎叶繁茂状况。分为强（茎在叶内且见不到）、中（茎部分露出叶外面）、弱（茎全部露于叶外面）。

4.2.5 茎粗

采用4.2.1中的样本，选择植株地上部最粗的主茎，测量其距地面5 cm～10 cm处最大直径，结果以平均值表示，精确到0.1 cm。

4.2.6 开花繁茂性

在盛花期，于小区中间行连续取20株，计数每株花序总梗和分枝上的花朵数，结果以平均值表示，精确到整数位。

根据结果，开花繁茂状况分为少（花朵数＜6）、中（6≤花朵数＜10）、多（花朵数≥10）。

4.2.7 自然结实性

在成熟期，于小区中间行连续取20株，计数每株浆果数，结果以平均值表示，精确到整数位。根据结果，自然结实性分为无（果实数量为0）、弱（1≤果实数量≤5）、中（6≤果实数量≤8）、强（9≤果实数量≤11）、极强（果实数量≥12）。

4.2.8 结薯集中性

在收获当日，随机选取20株，测量最长匍匐茎长度，结果以平均值表示，精确到0.1 cm。以匍匐茎

长度确定结薯集中性，分为集中（匍匐茎长＜10 cm）、中（10 cm≤匍匐茎长≤15 cm）、分散（匍匐茎长＞15 cm）。

4.2.9 块茎整齐度

在收获当日，称重收获的薯块，按照薯块大小分级，级别分为大（单薯质量＞150 g）、中（50 g≤单薯质量≤150 g）、小（单薯质量＜50 g），计算每个级别的块茎质量占小区块茎总质量的比率，结果精确到0.1%。根据结果确定薯块整齐度，分为整齐（同一级别薯的比率＞80%）、中（60%≤同一级别薯的比率≤80%）、不整齐（同一级别薯的比率＜60%）。

4.2.10 块茎大小

采用4.2.9的样品，根据小、中、大薯的比率确定块茎的大小，分为小（小薯率≥80%）、中（中薯率≥80%）、大（大薯率≥80%）。

4.2.11 块茎产量

收获期（收获块茎的当日），称量小区收获的块茎，结果以平均值表示，精确到0.1 kg。再换算成每公顷产量，精确到整数位。

4.2.12 休眠性

收获当日，随机选取20个健康块茎，于20℃±2℃、相对湿度93%～95%的黑暗条件下贮存。记录75%的块茎幼芽萌动（芽长2 mm）的日期，计算收获至萌动的天数。结果以平均值表示，精确到整数位。休眠性分为无（收获后即可萌动发芽）、短（收获至萌动天数≤45 d）、中（46 d≤收获至萌动天数≤75 d）、长（收获至萌动天数≥76 d）。

4.2.13 倍性

参见附录H。

4.2.14 生育期

从出苗期至成熟期的天数。

4.2.15 熟性

根据生育期熟性分为极早熟（生育期≤60 d）、早熟（61 d≤生育期≤70 d）、中早熟（71 d≤生育期≤85 d）、中熟（86 d≤生育期≤105 d）、中晚熟（106 d≤生育期≤120 d）、晚熟（生育期＞120 d）。

4.2.16 出苗期

观察小区植株出苗情况，记录约有75%幼苗长出的时间。表示方法为月/日。

4.2.17 现蕾期

观察小区植株花蕾生长状况，记录约有75%植株出现花蕾的时间。表示方法为月/日。

4.2.18 开花期

观察小区植株开花状况，记录75%的植株第一花序1朵～2朵花开放的时间。表示方法为月/日。

4.2.19 成熟期

观察小区植株成熟状况，记录75%以上的植株全株有2/3以上叶片枯黄的时间。表示方法为月/日。

4.3 品质性状

4.3.1 干物质含量

参见附录I。

4.3.2 淀粉含量

在收获后2周内，随机选取有代表性的、无损伤、健康块茎10个，将样品块茎洗净，然后，将每个块茎纵切为厚度约0.5 cm的薄片，在每一半块茎中部与第一切口垂直方向切取另外二个薄片，将切下的薯片混合均匀，切碎后放于粉碎机中磨碎成糊状作为待测试样。按GB/T 5009.9执行。

4.3.3 维生素C含量

采用4.3.2的待测试样，再按GB/T 6195执行。

4.3.4 粗蛋白含量

采用4.3.2的待测试样，按GB 8856执行。

4.3.5 还原糖含量

采用4.3.2的待测试样，按GB/T 5009.7执行。

4.3.6 食味

在收获期，随机选取有代表性的、无损伤、健康、未被晒绿的块茎30个，洗净后，将块茎直接放到蒸锅蒸煮，蒸熟后品尝。根据品尝结果确定食味品质，食味品质分为优(有香味、水分适当、质沙)、中(水分适当、无怪味)、劣(水分多、有怪味、口感差)。

4.4 抗病性

4.4.1 马铃薯X病毒抗性

参见附录A。

4.4.2 马铃薯Y病毒抗性

参见附录B。

4.4.3 马铃薯A病毒抗性

参见附录C。

4.4.4 马铃薯S病毒抗性

参见附录D。

4.4.5 马铃薯卷叶病毒病抗性

参见附录E。

4.4.6 马铃薯植株晚疫病抗性

参见附录F。

4.4.7 马铃薯块茎晚疫病抗性

参见附录G。

附 录 A
（资料性附录）
马铃薯 X 病毒抗性鉴定

A.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源对马铃薯 X 病毒抗性鉴定。

A.2 仪器设备

A.2.1 防虫温室。

A.2.2 花盆：口径 30 cm。

A.2.3 ELISA 全套仪器设备。

A.2.4 喷雾枪：1.5 kg/cm^2～2 kg/cm^2 压力。

A.3 试剂

A.3.1 ELISA 用所有试剂。

A.3.2 磷酸缓冲液：0.01 mol/L。

A.4 鉴定步骤

A.4.1 播种基质的准备

将蛭石和草炭按 1∶1 混合均匀，经高温蒸气灭菌后备用。

A.4.2 播种育苗

抗性鉴定试验设在防虫温室内进行，供试材料均采用脱毒健康原原种小薯整薯播。播前于室温 15℃左右散射光下催芽，待芽长 1 cm 时，将其播于口径 30 cm 的花盆内，每盆一个块茎，每品种重复 3 次，每重复 60 株苗。17℃～21℃温室内育苗。设抗病和感病对照品种。

A.4.3 接种液的制备

接种毒源马铃薯 X 病毒在普通烟上繁殖，温度 20℃～28℃，自然光照，约 20 d～25 d 后，采摘发病叶片，加入 5 倍于鲜病叶重量的 0.01 mol/L 磷酸缓冲液（pH＝7.0），捣碎后双层纱布过滤，滤液立即用于接种。

A.4.4 接种方法

于马铃薯第六片叶展开时将混有金钢砂的马铃薯 X 病毒毒源混悬液用 1.5 kg/cm^2～2 kg/cm^2 压力的喷雾枪距离植株 5 cm 左右处喷射接种，第一次接种 10 d 后，进行第二次接种。接种后，温室温度控制在 20℃～28℃，保证按时浇水，打药防虫。

A.5 病情调查与评价标准

在第一次接种 3 天后，开始调查发病情况。记录病株数及病级，对无症状表现的单株，采用 ELISA 法对植株中上部叶片进行病毒检测。收获后测定块茎产量，并采用 ELISA 法对块茎进行病毒检测。根据病症和病毒检测结果，抗性分六种类型：

0 免疫（无病症，叶片及块茎 ELISA 反应呈阴性）

1 过敏(侵染点处形成局部病斑,正常叶片及块茎 ELISA 反应呈阴性)
3 抗侵染(个别植株发病,症状轻微,块茎产量与对照无差异或差异很小,ELISA 反应呈阴性)
5 耐病(植株症状较轻或无症状,块茎产量与对照无明显差异,ELISA 反应呈阳性)
7 感病(植株症状较重,块茎产量明显低于对照)
9 高感(植株症状重,有的叶片坏死,下部复叶脱落,植株早衰)

附 录 B
（资料性附录）
马铃薯Y病毒抗性鉴定

B.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源对马铃薯Y病毒抗性鉴定。

B.2 仪器设备

B.2.1 防虫温室。

B.2.2 ELISA全套仪器设备。

B.2.3 花盆：口径30 cm。

B.2.4 喷雾枪：1.5 kg/cm^2～2 kg/cm^2 压力。

B.3 试剂

B.3.1 ELISA用所有试剂。

B.3.2 磷酸缓冲液：0.01 mol/L。

B.4 鉴定步骤

B.4.1 播种基质的准备

将蛭石和草炭按1:1混合均匀，经高温蒸气灭菌后备用。

B.4.2 播种育苗

抗性鉴定试验设在防虫温室内进行，供试材料均采用脱毒健康原原种小薯整薯播。播前于室温15℃左右散射光下催芽，待芽长1 cm时，将其播于口径30 cm的花盆内，每盆一个块茎，每品种重复3次，每重复60株苗。17℃～21℃温室内育苗。设抗病和感病对照品种。

B.4.3 接种液的制备

接种毒源马铃薯Y病毒在普通烟上繁殖，温度20℃～28℃，自然光照，约20 d～25 d后，采摘发病叶片，加入5倍于鲜病叶重量的0.01 mol/L磷酸缓冲液（pH=7.0），捣碎后双层纱布过滤，滤液立即用于接种。

B.4.4 接种方法

当马铃薯植株第六片叶展开时接种，将混有金钢砂的马铃薯Y病毒毒源混悬液用1.5 kg/cm^2～2 kg/cm^2 压力的喷雾枪距离植株5 cm左右处喷射接种，第一次接种10天，进行第二次接种。接种后，温室温度控制在20℃～28℃，保证按时浇水，打药防虫。

B.5 病情调查与评价标准

在第一次接种3天后，开始调查发病情况，记录病株数及病级，对无症状表现的单株，采用ELISA法对植株中上部叶片进行病毒检测。收获后测定块茎产量，并采用ELISA法对块茎进行病毒检测。根据病症和病毒检测结果，抗性分六种类型：

0 免疫（无病症，叶片及块茎ELISA反应呈阴性）

1 过敏(侵染点处形成局部病斑,正常叶片及块茎 ELISA 反应呈阴性)
3 抗侵染(个别植株发病,症状轻微,块茎产量与对照无差异或差异很小,ELISA 反应呈阴性)
5 耐病(植株症状较轻或无症状,块茎产量与对照无明显差异,ELISA 反应呈阳性)
7 感病(植株症状较重,块茎产量明显低于对照)
9 高感(植株症状重,有的叶片坏死,下部复叶脱落,植株早衰)

附 录 C
（资料性附录）
马铃薯A病毒抗性鉴定

C.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源对马铃薯A毒病抗性鉴定。

C.2 仪器设备

C.2.1 防虫温室。

C.2.2 ELISA全套仪器设备。

C.2.3 花盆：口径30 cm。

C.2.4 喷雾枪：1.5 kg/cm^2～2 kg/cm^2 压力。

C.3 试剂

C.3.1 ELISA用所有试剂。

C.3.2 磷酸缓冲液：0.01 mol/L。

C.4 鉴定步骤

C.4.1 播种基质的准备

将蛭石和草炭按1:1混合均匀，经高温蒸气灭菌后备用。

C.4.2 播种育苗

抗性鉴定试验设在防虫温室内进行，供试材料均采用脱毒健康原原种小薯整薯播。播前于室温15℃左右散射光下催芽，待芽长1 cm时，将其播于口径30 cm的花盆内，每盆一个块茎，每品种重复3次，每重复60株苗。17℃～21℃温室内育苗。设抗病和感病对照品种。

C.4.3 接种液的制备

接种毒源马铃薯A病毒在普通烟上繁殖，温度20℃～28℃，自然光照，约20 d～25 d后，采摘发病叶片，加入5倍于鲜病叶重量的0.01 mol/L磷酸缓冲液（pH=7.0），捣碎后双层纱布过滤，滤液立即用于接种。

C.4.4 接种方法

当马铃薯植株第六片叶展开时接种，将混有金钢砂的马铃薯A病毒毒源混悬液用1.5 kg/cm^2～2 kg/cm^2 压力的喷雾枪距离植株5 cm左右处喷射接种，第一次接种10 d后，进行第二次接种。接种后，温室温度控制在20℃～28℃，保证按时浇水，打药防虫。

C.5 病情调查与评价标准

在第一次接种3天后，开始调查发病情况，记录病株数及病级，对无症状表现的单株，采用ELISA法对植株中上部叶片进行病毒检测。收获后测定块茎产量，并采用ELISA法对块茎进行病毒检测。根据病症和病毒检测结果，抗性分六种类型：

0 免疫（无病症，叶片及块茎ELISA反应呈阴性）

1 过敏(侵染点处形成局部病斑,正常叶片及块茎 ELISA 反应呈阴性)
3 抗侵染(个别植株发病,症状轻微,块茎产量与对照无差异或差异很小,ELISA 反应呈阴性)
5 耐病(植株症状较轻或无症状,块茎产量与对照无明显差异,ELISA 反应呈阳性)
7 感病(植株症状较重,块茎产量明显低于对照)
9 高感(植株症状重,有的叶片坏死,下部复叶脱落,植株早衰)

附 录 D
（资料性附录）
马铃薯S病毒抗性鉴定

D.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源对马铃薯S病毒抗性鉴定。

D.2 仪器设备

D.2.1 防虫温室。

D.2.2 ELISA全套仪器设备。

D.2.3 花盆：口径30 cm。

D.2.4 喷雾枪：1.5 kg/cm^2～2 kg/cm^2 压力。

D.3 试剂

D.3.1 ELISA用所有试剂。

D.3.2 磷酸缓冲液：0.01 mol/L。

D.4 鉴定步骤

D.4.1 播种基质的准备

将蛭石和草炭按1:1混合均匀，经高温蒸气灭菌后备用。

D.4.2 播种育苗

抗性鉴定试验设在防虫温室内进行，供试材料均采用脱毒健康原原种小薯整薯播。播前于室温15℃左右散射光下催芽，待芽长1 cm时，将其播于口径30 cm的花盆内，每盆一个块茎，每品种重复3次，每重复60株苗。17℃～21℃温室内育苗。设抗病和感病对照品种。

D.4.3 接种液的制备

接种毒源马铃薯S病毒在德伯尼烟上繁殖，温度20℃～28℃，自然光照，约20 d～25 d后，采摘发病叶片，加入5倍于鲜病叶重量的0.01 mol/L磷酸缓冲液（pH=7.0），捣碎后双层纱布过滤，滤液立即用于接种。

D.4.4 接种方法

当马铃薯植株第六片叶展开时接种，将混有金钢砂的马铃薯S病毒毒源混悬液用1.5 kg/cm^2～2 kg/cm^2 压力的喷雾枪距离植株5 cm左右处喷射接种，第一次接种10 d后，进行第二次接种。接种后，温室温度控制在20℃～28℃，保证按时浇水，打药防虫。

D.5 病情调查与评价标准

在第一次接种3天后，开始调查发病情况，记录病株数及病级，对无症状表现的单株，采用ELISA法对植株中上部叶片进行病毒检测。收获后测定块茎产量，并采用ELISA法对块茎进行病毒检测。根据病症和病毒检测结果，抗性分六种类型：

0 免疫（无病症，叶片及块茎ELISA反应呈阴性）

1 过敏(侵染点处形成局部病斑,正常叶片及块茎ELISA反应呈阴性)
3 抗侵染(个别植株发病,症状轻微,块茎产量与对照无差异或差异很小,ELISA反应呈阴性)
5 耐病(植株症状较轻或无症状,块茎产量与对照无明显差异,ELISA反应呈阳性)
7 感病(植株症状较重,块茎产量明显低于对照)
9 高感(植株症状重,有的叶片坏死,下部复叶脱落,植株早衰)

附 录 E
（资料性附录）
马铃薯卷叶病毒抗性鉴定

E.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源对马铃薯卷叶病毒抗性鉴定。

E.2 仪器设备

E.2.1 防虫温室。

E.2.2 花盆：口径 30 cm。

E.3 试剂

E.3.1 杀虫剂：抗蚜威、乐果。

E.4 鉴定步骤

E.4.1 播种基质的制备

将蛭石和草炭按 1:1 混合均匀，经高温蒸气灭菌后备用。

E.4.2 播种育苗

抗性鉴定设在防虫温室内，材料均采用脱毒健康原原种小薯整薯。播前于室温 15℃左右散射光下催芽，待芽长 1 cm 时，将其播于口径 30 cm 的花盆内，每盆一个块茎，重复 3 次，每重复 60 株苗。17℃～21℃温室内育苗。设抗病和感病对照品种。

E.4.3 蚜虫培养

将饲养的无毒桃蚜用解剖针挑至试管中，饥饿 1 h～2 h，然后放在感染 PLRV 的马铃薯植株上，饲毒 3 h～4 h 后，供接种用。

E.4.4 接种方法

将每个供鉴定种质幼苗（具 6 片叶）放上带病毒蚜虫 25 头～30 头，放毒 3 d 后，将蚜虫消灭。

E.5 结果计算

E.5.1 病情调查

接种后 28 d～35 d 调查发病情况，记录病株数及病级。按表 E.1 逐一进行分级。

表 E.1 马铃薯种质资源对马铃薯卷叶病毒抗性分级

病 级	病 情 或 症 状
0	无任何症状
1	病株大小与健康植株相近，仅下部复叶由顶小叶开始沿边缘向上翻卷
3	病株大小与健康植株相近，下部叶片卷成匙状
5	病株比健康植株稍低，半数叶片卷成匙状，下部叶片严重卷成筒状，质脆易折

表 E.1（续）

病　级	病　情　或　症　状
7	病株矮小，绝大多数叶片卷成匙状，中下部叶片严重卷成筒状，有少数叶片干枯
9	病株极矮小，全株叶片严重卷曲成筒状，部分或大部分叶片干枯脱落

E.5.2　病情指数

按公式(E.1)计算病情指数：

$$DI = \frac{\sum(s_i n_i)}{9N} \times 100 \cdots\cdots (E.1)$$

式中：

DI ——病情指数；

s ——发病级别；

n ——相应发病级别的株数，单位为株；

i ——病情分级的各个级别；

N ——调查总株数，单位为株。

E.6　评价标准

评价标准见表 E.2。

表 E.2　马铃薯卷叶病毒病抗性鉴定评价标准

抗病级别	病情指数(DI)
高抗(HR)	$DI<3$
抗病(R)	$3\leqslant DI<20$
中抗(MR)	$20\leqslant DI<60$
感病(S)	$60\leqslant DI<80$
高感(HS)	$DI\geqslant 80$

附 录 F
（资料性附录）
马铃薯植株晚疫病抗性鉴定

F.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源植株晚疫病抗性鉴定。

F.2 仪器设备

F.2.1 显微镜：120 倍。

F.2.2 离心机：60 000 r/min。

F.2.3 血球计数板：0.000 25 mm^3。

F.3 鉴定步骤

F.3.1 材料制备

抗性鉴定设在晚疫病年年发生和流行的地区。设抗病和感病对照品种。田间设计采用随机区组法，3 行区，3 次重复，行长 6 m，株行距 30 cm×70 cm，供试材料及对照种薯均为脱毒原种一代健康种薯。每隔 4 份鉴定材料种植 1 份感病品种。试验田的管理采用与当地生产田一致的方法管理。

F.3.2 接种液的制备

接种鉴定用的菌种为当地混合菌种。在当地晚疫病初发期，广泛采集马铃薯病叶，然后接种到 5 mm 厚的男爵品种薯片上，接种的薯片置于底部垫有湿润的滤纸培养皿内，20℃黑暗培养 5 d～7 d 后，用冷蒸馏水冲洗下薯片上的孢子囊于烧杯中。离心 1 min，60 000 r/min，收集孢子囊，制成悬浮液，搅拌均匀后用血球计数板计数孢子囊数。接种浓度为 50 000 个孢子囊/mL，接种前在 12℃下静置培养 2 h 使其释放游动孢子，即可接种。

F.3.3 接种方法

当病圃内出现中心病株时，采用人工喷雾接种。接种时每株叶片的表面与背面均进行接种，接种后保证土壤处于较高湿度条件下，必要时进行田间灌溉。

F.4 结果计算

F.4.1 病情调查

接种后 5 d～7 d 调查发病情况。记录病株数及病级。按表 F.1 逐一进行分级。

表 F.1 马铃薯种质资源植株晚疫病病情分级

病 级	病 情 或 症 状
1	病叶率为 0
2	病叶率＜5%
3	5%≤病叶率＜15%
4	15%≤病叶率＜35%
5	35%≤病叶率＜65%

表 F.1（续）

病　级	病 情 或 症 状
6	65%≤病叶率<85%
7	85%≤病叶率<95%
8	95%≤病叶率<100%
9	病叶率为 100%

F.4.2　评价标准

评价标准见表 F.2。

表 F.2　马铃薯植株晚疫病抗性鉴定评价标准

抗病级别	病　级
高抗(HR)	1、2
抗病(R)	3、4
中抗(MR)	5
感病(S)	6
高感(HS)	7、8、9

附 录 G
（资料性附录）
马铃薯块茎晚疫病抗性鉴定

G.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源块茎晚疫病抗性的鉴定。

G.2 仪器设备

G.2.1 显微镜：120 倍。

G.2.2 离心机：60 000 r/min。

G.2.3 血球计数板：0.000 25 mm^3。

G.3 鉴定步骤

G.3.1 材料制备

收获时选择鉴定种质的健康块茎，洗净后，用漂白粉饱和溶液表面消毒处理，3 次重复，每重复 60 个块茎。设抗病和感病对照品种。待测试样材料及对照的块茎均为脱毒原种一代健康薯。

G.3.2 接种液的制备

接种鉴定用的菌种为当地混合菌种。在当地晚疫病发生初期，广泛采集马铃薯病叶，然后接种到 5 mm 厚的男爵品种薯片上，接种的薯片置于底部垫有湿润的滤纸培养皿内，在 20℃ 黑暗条件下培养 5 d～7 d 后，用冷蒸馏水冲洗下薯片上的孢子囊于烧杯中，离心 1 min，60 000 r/min，收集孢子囊，制成悬浮液，搅拌均匀后用血球计数板计数孢子囊数。接种浓度为 50 000 个孢子囊/mL，接种前在 12℃ 下静置培养 2 h，使其释放游动孢子，即可接种。

G.3.3 接种

将每个待测试样块茎从密布 2 mm～3 mm 长的大头针（相距 1 cm）纸板上滚过，使块茎表面产生约 2 mm～3 mm 深的伤口，然后向块茎表面均匀地喷洒晚疫病孢子悬浮液，接种后的块茎立即用浸湿报纸包裹 3 层装入塑料袋内，15℃ 条件下保湿 24 h，然后除掉报纸转入室温 18℃～22℃ 条件下保存。

G.4 病情调查

接种后 14 d 调查发病情况。记录感病块茎数及病级。按表 G.1 逐一进行分级。

表 G.1 马铃薯种质资源块茎晚疫病病情分级

病级	病情或症状
0	无任何症状
1	感病表面积占整薯表面积 5%以下
3	感病表面积占整薯表面积 5%～20%
5	感病表面积占整薯表面积 21%～50%
7	感病表面积占整薯表面积 51%～70%
9	感病表面积占整薯表面积 70%以上

G.5 评价标准

评价标准见表G.2。

表G.2 马铃薯块茎晚疫病抗性鉴定评价标准

抗病级别	病 级
高抗(HR)	0、1
抗病(R)	3
中抗(MR)	5
感病(S)	7
高感(HS)	9

附 录 H
（资料性附录）
马铃薯倍性鉴定

H.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源倍性鉴定。

H.2 实验步骤

H.2.1 取材

在马铃薯苗期，选取匍匐茎开始生长即伸长生长旺盛时的茎尖。

H.2.2 预处理

使用饱和的对二氯苯(P-Dichlorobenzene)水溶液，在室温条件下处理 3 h～5 h。

H.2.3 材料的固定和保存

将预处理后的匍匐茎尖用水冲洗 3 次～5 次后，用卡诺(Carnoy)固定液(乙醇:冰乙酸＝3:1)固定 4 h 以上，如不需要立即制片，可将固定好的材料转入 70％的乙醇中，在 4℃的条件下可保存数月。经长期保存的材料在观察前必须用固定液重新处理一次，时间以 4 h 以上为适。

H.2.4 材料的解离

将固定好的马铃薯匍匐茎尖放在 1 mol/L 盐酸溶液中，60℃条件下恒温处理 5 min～10 min，然后用水冲洗 3 次～5 次，将洗净盐酸后的材料置于 45％的冰乙酸水溶液中即可染色压片。

H.2.5 染色镜检

H.2.5.1 卡宝品红染液的制备

配制方法如下：

1) 原液 A:称取 3 g 碱性品红(Basic fuchsin)溶于 100 mL70％乙醇中(可永久保存)；
2) 原液 B:取 10 mL 原液 A，加入 90 mL 5％的苯酚水溶液，在 37℃条件下温育 2 h～4 h(该溶液不稳定，应在 2 周内使用)；
3) 原液 C:取 55 mL 原液 B，加入 6 mL 冰乙酸和 6 mL 甲醛，充分混匀；
4) 卡宝品红染液:取 10 mL～20 mL 原液 C，加入约 80 mL 45％的冰乙酸和 1 g 山梨醇(可永久保存)。

H.2.5.2 染色方法

将解离并洗净的马铃薯匍匐茎尖置于洁净的载玻片上，自茎尖处切下约 1 mm，滴上约 1/3 滴卡宝品红染液，盖上盖玻片，并用左手食指按住盖片左下角防止盖片滑动，用镊子头部垂直轻击盖片，使茎尖材料分散；然后用滤纸盖住盖片，用拇指垂直施与压力，使细胞内的染色体尽量在同一平面上，以便于染色体数目的统计。经染液处理后染色体很快即能着色，可以进行镜检和显微摄影。根据 20 个细胞的染色体的平均数并参照表 H.1，确定种质的倍性。

表 H.1 马铃薯倍性评价标准

倍性	二倍体	三倍体	四倍体	五倍体	六倍体
染色体数	24	36	48	60	72

附 录 I
（资料性附录）
马铃薯干物质含量测定

I.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源干物质含量测定。

I.2 仪器和设备

I.2.1 分析天平：感量 0.001 g。

I.2.2 电热恒温干燥箱：50℃～200℃

I.3 样品选取和制备

在收获后 2 周内，随机选取有代表性的、无损伤、健康块茎 30 个，将样品块茎洗净，然后，将每个块茎纵切为厚度约 0.5 cm 的薄片，在每一半块茎中部与第一切口垂直方向切取另外两个薄片，将切下的薯片混合均匀，切碎后作为待测试样。

I.4 测定步骤

I.4.1 称样：称取样品 5 g，准确至 0.001 g，放于烘干盒内。

I.4.2 样品的烘干：将盛有样品的烘干盒放在 100℃～105℃的恒温干燥箱内烘干 30 min，然后将温度降到 60℃～70℃，继续烘干，使样品达到恒重为止。称量样品干重。

I.5 结果计算

马铃薯干物质含量按下式计算。

$$干物质含量(\%)=\frac{B}{A}\times 100$$

式中：

A ——鲜样重；

B ——干样重。

I.6 结果表示

平行测定的数据用算术平均值表示，保留小数后两位。平行测定值之差不得超过 0.5%。