

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2179—2012

农作物优异种质资源评价规范 马铃薯

Evaluating standards for elite and rare germplasm resources—
Potato (*Solanum tuberosum* L.)

2012-06-06 发布

2012-09-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部种植业管理司提出。

本标准起草单位：中国农业科学院茶叶研究所、黑龙江省农业科学院克山分院。

本标准主要起草人：刘喜才、张丽娟、江用文、李军、孙邦升、宋继玲、刘春生、来春苓。

农作物优异种质资源评价规范 马铃薯

1 范围

本标准规定了马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)优异种质资源评价的术语和定义、技术要求、鉴定方法和判定。

本标准适用于马铃薯优异种质资源的评价,其他种的评价参考此规范。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 5009.5 食品中蛋白质的测定

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 5009.86 蔬菜、水果及其制品中总抗坏血酸的测定(荧光法和2,4-二硝基苯肼法)

GB 18133 马铃薯脱毒种薯

NY/T 1303 农作物种质资源鉴定技术规程 马铃薯

3 术语和定义

NY/T 1303 中界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

优良种质资源 elite germplasm resources

主要经济性状表现好且具有重要价值的种质资源。

3.2

特异种质资源 rare germplasm resources

性状表现特殊、稀有的种质资源。

3.3

优异种质资源 elite and rare germplasm resources

优良种质资源和特异种质资源的总称。

4 技术要求

4.1 样本采集

按 NY/T 1303 的规定执行。

4.2 鉴定数据

每个性状至少在同一地点同一生长季进行3年的重复鉴定。鉴定结果取其平均值。

4.3 指标

4.3.1 优良种质资源指标

优良种质资源指标见表1。

表1 马铃薯优良种质资源指标

序号	性 状	指 标
1	块茎产量	在适宜种植区不低于当地同类型主栽品种
2	结薯集中性	集中
3	块茎整齐度	整齐
4	薯形	圆形、卵圆形、椭圆形、长形
5	芽眼深浅	浅
6	花粉育性	有效花粉率 $\geq 50\%$
7	天然结实性	弱或弱以上
8	淀粉含量	$\geq 15.0\%$ (早熟或中早熟); $\geq 20.0\%$ (中晚熟或晚熟)
9	还原糖含量	$< 0.2\%$ (收获时), $< 0.4\%$ ($4^{\circ}\text{C} \sim 9^{\circ}\text{C}$ 贮藏3个月后回暖处理)
10	马铃薯 X 病毒抗性	抗性类型为免疫、过敏、抗侵染(个别植株发病,症状轻微,块茎产量与对照无显著差异,块茎 ELISA 反应呈阴性)其中 1 种
11	马铃薯 Y 病毒抗性	抗性类型为免疫、过敏、抗侵染(个别植株发病,症状轻微,块茎产量与对照无显著差异,块茎 ELISA 反应呈阴性)其中 1 种
12	马铃薯 A 病毒抗性	抗性类型为免疫、过敏、抗侵染(个别植株发病,症状轻微,块茎产量与对照无显著差异,块茎 ELISA 反应呈阴性)其中 1 种
13	马铃薯 S 病毒抗性	抗性类型为免疫、过敏、抗侵染(个别植株发病,症状轻微,块茎产量与对照无显著差异,块茎 ELISA 反应呈阴性)其中 1 种
14	马铃薯 M 病毒抗性	抗性类型为免疫、过敏、抗侵染(个别植株发病,症状轻微,块茎产量与对照无显著差异,块茎 ELISA 反应呈阴性)其中 1 种
15	马铃薯卷叶病毒抗性	$DI < 20$
16	马铃薯植株晚疫病抗性	4 级以上(含 4 级)
17	马铃薯块茎晚疫病抗性	3 级以上(含 3 级)
18	马铃薯青枯病抗性	$DI < 35$

4.3.2 特异种质资源指标

特异种质资源指标见表 2。

表2 马铃薯特异种质资源指标

序号	性 状	指 标
1	生育期	$\leq$ 东农 303 的生育期
2	块茎大小	小(单薯重 $\leq 75\text{ g}$,且块茎整齐)
3	薯肉色	橘黄、红、紫、蓝
4	休眠期	大于 150 d 或小于 45 d
5	淀粉含量	$\geq 16.0\%$ (早熟或中早熟), $\geq 22.0\%$ (中晚熟或晚熟)
6	维生素 C 含量	$\geq 30\text{ mg}/100\text{ g}$
7	粗蛋白含量	$\geq 3.0\%$
8	还原糖含量	$< 0.4\%$ ($4^{\circ}\text{C} \sim 9^{\circ}\text{C}$ 贮藏3个月)
9	马铃薯 X 病毒抗性	免疫或过敏
10	马铃薯 Y 病毒抗性	免疫或过敏
11	马铃薯 A 病毒抗性	免疫或过敏
12	马铃薯 S 病毒抗性	免疫或过敏
13	马铃薯 M 病毒抗性	免疫或过敏
14	马铃薯卷叶病毒抗性	$DI < 3$
15	马铃薯植株晚疫病抗性	2 级以上(含 2 级)
16	马铃薯块茎晚疫病抗性	1 级以上(含 1 级)
17	马铃薯青枯病抗性	$DI < 15$

5 鉴定方法

5.1 块茎产量

小区采用随机区组设计,4行区,行长6 m,行距0.7 m,株距0.3 m。鉴定方法按 NY/T 1303 的规定执行。

5.2 块茎大小

小区采用随机区组设计,4行区,行长6 m,行距0.7 m,株距0.3 m。鉴定方法按 NY/T 1303 的规定执行。

5.3 结薯集中性

小区采用随机区组设计,4行区,行长6 m,行距0.7 m,株距0.3 m。鉴定方法按 NY/T 1303 的规定执行。

5.4 块茎整齐度

小区采用随机区组设计,4行区,行长6 m,行距0.7 m,株距0.3 m。鉴定方法按 NY/T 1303 的规定执行。

5.5 薯肉色

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.6 薯形

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.7 芽眼深浅

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.8 花粉育性

采集当日开放的新鲜花朵,每小区取20株,每株3朵,测定时,将待测样本的小量花粉置于载玻片上,加1滴醋酸洋红溶液[洋红或胭脂红(Carmine)溶于45%冰醋酸中,加热至饱和量,将溶液用滤纸过滤],在酒精灯上轻微加热后,于显微镜下观察花粉染色状况和花粉粒形态(有效花粉均被染成红色,呈圆形而粒饱满,无效花粉不着色,形状不规则,粒瘪缩),计数每个视野中有效花粉粒数和总粒数,再按有效花粉粒数/总花粉粒数比值计算有效花粉率。

5.9 天然结实性

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.10 生育期

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.11 休眠期

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.12 淀粉含量

按 GB/T 5009.9 的规定执行。

5.13 维生素C含量

按 GB/T 5009.86 的规定执行。

5.14 粗蛋白含量

按 GB/T 5009.5 的规定执行。

5.15 还原糖含量

按 GB/T 5009.7 的规定执行。

5.16 马铃薯X病毒抗性

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.17 马铃薯 Y 病毒抗性

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.18 马铃薯 A 病毒抗性

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.19 马铃薯 S 病毒抗性

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.20 马铃薯 M 病毒抗性

按照附录 A 执行。

5.21 马铃薯卷叶病毒抗性

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.22 马铃薯植株晚疫病抗性

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.23 马铃薯块茎晚疫病抗性

按 NY/T 1303 的规定执行。

5.24 马铃薯青枯病抗性

按照附录 B 执行。

6 判定

6.1 优良种质资源

除同时符合表 1 中块茎产量、花粉孕性、天然结实性 3 项指标外,还应符合其他 2 项以上(含 2 项)性状指标者。

6.2 特异种质资源

符合表 2 中任何 1 项以上(含 1 项)指标者。

6.3 其他

具有除表 1、表 2 规定以外的其他特异性和优良性状指标的种质资源。

附 录 A
(规范性附录)
马铃薯 M 病毒(Paracrinkle)抗性鉴定

A.1 适用范围

本附录适用于马铃薯种质资源的马铃薯 M 病毒(Paracrinkle)抗性鉴定。

A.2 仪器设备

A.2.1 温室

A.2.2 花盆:口径 30.0 cm,高 30.0 cm。

A.2.3 ELISA 全套仪器设备:按 GB 18133 的规定执行。

A.2.4 喷雾枪:1.5 kg/cm²~2 kg/cm² 压力。

A.3 试剂

A.3.1 ELISA 用所有试剂:按 GB 18133 的规定执行。

A.3.2 磷酸缓冲液:0.01 mol/L。

A.4 鉴定步骤

A.4.1 基质的准备

市售蛭石和草炭按 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 1.0 cm 时,将其播于花盆内,每盆 1 个块茎,每材料重复 3 次,每重复 60 株苗。20℃(±2℃)温室内育苗。设 Alpha 为抗病对照,内薯 3 号为感病对照。

A.4.3 接种液的制备

接种毒源马铃薯 M 病毒在普通烟上繁殖,于温度 25℃(±2℃),自然光照培养 20 d~25 d 后,采摘发病叶片,加入 5 倍于鲜病叶质量的 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

马铃薯第 6 片叶展开时将混有金钢砂的马铃薯 M 病毒毒源混悬液用喷雾枪距植株 5.0 cm 处喷射接种,第 1 次接种 10 d 后,进行第 2 次接种。接种后,将温室温度控制在 25℃(±2℃),按时浇水以保持湿度,打药防虫。

A.5 病情调查与评价标准

在第 1 次接种 3 d 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按表 A.1 确定抗病性。

表 A.1 马铃薯 M 病毒(Paracrinkle)抗性评价标准

病级	抗病性	症 状
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 (规范性附录)

马铃薯青枯病(*Ralstonia solanacearum*)抗性鉴定

B.1 范围

本附录适用于马铃薯种质资源青枯病(*Ralstonia solanacearum* Yabuuchi et al.)抗性鉴定。

B.2 仪器及设备

B.2.1 普通显微镜。

B.2.2 分光光度计。

B.2.3 普通生化培养箱。

B.2.4 普通冰箱。

B.2.5 温室。

B.2.6 花盆:口径 30.0 cm,高 30.0 cm。

B.3 菌种培养与扩繁

将保存于灭菌去离子水中的青枯菌 3 号小种菌株在 TZC 平板(普通 NA 培养基附加 2,3,5-氯化三苯基四氮唑)上划线培养,30℃条件下培养 48 h。挑取典型的野生型青枯菌菌落(中央呈粉红色、外缘为白色奶油状,形状不规则)转移至 NA 培养平板或斜面上,30℃培养 48 h。

B.4 鉴定步骤

B.4.1 播种基质的准备

鉴定试验用的土、花盆经高温蒸气灭菌后,加入适当数量的肥料。

B.4.2 播种育苗

待测材料均采用脱毒原原种,播前于室温 15℃左右散射光下催芽,待芽长 1 cm 时,将其播于花盆内,每盆 1 个块茎,每份种质 60 株苗。20℃(±2℃)温室内育苗。设“895010”为抗病对照,克新 1 号为感病对照。

B.4.3 接种液制备

按照浊度计数法(方中达,1998),挑取按 B.3 步骤获得的纯培养供试菌株菌苔以灭菌水稀释成浓度为 3×10^8 cfu/mL 的菌悬液,作为接种体备用。

B.4.4 接种方法

当植株长至 7 片~8 片叶展开时,离植株 1 cm 处垂直向下切深 15 cm、宽 5 cm 的切口,自切口处灌入 30 mL 菌液。接种后保持温室室温 30℃(±2℃),空气相对湿度 70%以上,土壤湿度为土壤最大持水量的 60%。

B.5 结果计算

B.5.1 马铃薯青枯病分级

在接种后每天观察记录植株发病情况,连续观察 25 d。并按表 B.1 对病情进行分级。

表 B.1 马铃薯青枯病病情分级标准

病级	病 情
0	无症状
1	1片叶片萎蔫
2	2片~3片叶片萎蔫
3	4片以上叶片萎蔫
4	植株全部叶片萎蔫或死亡

B.5.2 病情指数

病情指数以 DI 表示,按式(B.1)计算:

$$DI = \frac{\sum (s_i n_i)}{4N} \times 100 \dots\dots\dots (B.1)$$

式中:

s_i ——发病级别;

n_i ——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。

计算结果表示到整数位。

B.6 评价标准

依据病情指数,按表 B.2 标准确定抗性级别。

表 B.2 马铃薯青枯病抗性鉴定评价标准

抗性级别	级别描述	病情指数 DI
1	高抗(HR)	$DI < 15$
3	抗(R)	$15 \leq DI < 35$
5	中抗(MR)	$35 \leq DI < 55$
7	感(S)	$55 \leq DI < 75$
9	高感(HS)	$DI \geq 75$