

# 抗南方水稻黑条矮缩病水稻光温敏核不育系的筛选和鉴定

余守武<sup>1,2</sup>, 范天云<sup>1,2</sup>, 杜龙岗<sup>1,2</sup>, 黄益峰<sup>1,2</sup>, 陈珊宇<sup>1,2</sup>, 葛 帅<sup>2</sup>, 麻人方<sup>2</sup>, 洪晓富<sup>1,2</sup>, 阮关海<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>浙江省农业科学院作物与核技术利用研究所, 杭州 310021; <sup>2</sup>浙江农科种业有限公司, 杭州 310021)

**摘要:**对东乡野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.) 3个生态群落株系及协青早 B//协青早 B/东乡野生稻的 BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub> 株系进行了南方水稻黑条矮缩病抗性鉴定, 筛选出抗性较好的种质资源。利用筛选到的协青早 B//协青早 B/东乡野生稻抗性株系, 与光温敏核不育系 C47S 杂交转育, 鉴定筛选到 6 份抗性较好的光温敏核不育系, 为选育抗南方水稻黑条矮缩病的两系杂交稻组合奠定了材料基础; 同时研究发现, 来源于东乡野生稻的对南方水稻黑条矮缩病的抗性可能由数量性状基因控制。

**关键词:** 水稻; 南方水稻黑条矮缩病; 抗源筛选; 光温敏核不育系

## Screening and Identification of Photo-Thermo-Sensitive Genic Male Sterile Lines against Southern Rice Black-Streaked Dwarf Virus

YU Shou-wu<sup>1,2</sup>, FAN Tian-yun<sup>1,2</sup>, DU Long-gang<sup>1,2</sup>, HUANG Yi-feng<sup>1,2</sup>,  
CHEN Shan-yu<sup>1,2</sup>, GE Shuai<sup>2</sup>, MA Ren-fang<sup>2</sup>, HONG Xiao-fu<sup>1,2</sup>, RUAN Guan-hai<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Crop Science and Nuclear Technology Utilization, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021;

<sup>2</sup>Zhejiang Nongke Seed Co., Ltd, Hangzhou 310021)

**Abstract:** Rice germplasm for the resistance to southern rice black streaked dwarf virus (SRBSDV) was screened from rice lines of three ecological populations of Dongxiang wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub> lines of the cross Xieqingzao B//Xieqingzao B/Dongxiang wild rice. A resistant line identified from the BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub> population was crossed to photo-thermo-sensitive genic male sterile line (PTGMS) C47S. Six PTGMS lines which were resistant or moderate resistant to SRBSDV were selected. It was also found that the SRBSDV resistance was normally distributed in the segregating populations, indicating that the resistance to SRBSDV in Dongxiang wild rice was controlled by quantitative trait loci.

**Key words:** rice; southern rice black-streaked dwarf virus; resistant germplasm; photo-thermo-sensitive genic male sterile line

由南方水稻黑条矮缩病毒 (SRBSDV, southern rice black-streaked dwarf virus) 引起的南方水稻黑条矮缩病是周国辉等<sup>[1-2]</sup>于 2001 年首次在广东省阳江市发现的一种新的水稻病毒病。该病主要由白背飞虱传播, 其病害症状与水稻黑条矮缩病不同, 即病株高位分蘖及茎节部形成倒生须根。南方水稻黑条矮

缩病扩散蔓延快且危害大, 截至 2009 年, 该病在湖南、湖北、江西和浙江等 9 省 (自治区) 水稻受害面积超过 30 万 hm<sup>2</sup><sup>[3-4]</sup>。长江中、下游及江淮稻区可能成为下一个南方水稻黑条矮缩病的常发、重发区<sup>[5]</sup>, 对水稻等作物的生产安全构成了严重威胁。因此, 加强对南方水稻黑条矮缩病的综合防治, 尤其

收稿日期: 2014-03-12 修回日期: 2014-04-08 网络出版日期: 2014-12-11

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20141211.2203.008.html>

基金项目: 浙江省公益性技术应用研究计划 (2012C22016)

第一作者研究方向为杂交水稻育种。E-mail: yusw08@163.com

通信作者: 阮关海, 研究方向为水稻良种繁育与推广。E-mail: ruanguanhai2008@163.com

是选育抗病的水稻品种,对于保证粮食生产安全具有重要的实际意义。

南方水稻黑条矮缩病自发现以来,主要集中于其病毒生物学特点、流行传播危害特点及综合防治等方面<sup>[6-8]</sup>。研究表明,不同水稻品种的抗性存在较大差异。潘风英等<sup>[9]</sup>对19份水稻雄性不育系的抗性进行鉴定,表明不同不育系的抗性存在显著差异,且筛选到4份抗性较强的核不育系。刘琳琳<sup>[10]</sup>对24个水稻品种的抗性进行评价,筛选出山东品种、岳优036和岳优137等3个抗性较好的水稻品种。然而,对于南方水稻黑条矮缩病抗性种质资源的鉴定及在育种上应用鲜有报道。本研究在对东乡普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)抗性鉴定筛选的基础上,将其抗性基因导入栽培稻,同时聚合光温敏核不育基因,以期选育抗南方水稻黑条矮缩病的水稻光温敏核不育系,为选育抗性杂交稻组合奠定材料基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

2011年夏于浙江省农业科学院衢州试验基地,利用光温敏核不育系C47S分别与协青早B/协青早B/东乡野生稻的4个BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub>株系S1、S2、S3和S4(由中国水稻研究所庄杰云研究员课题组提供)杂交,获得C47S/S1、C47S/S2、C47S/S3和C47S/S4等4个F<sub>1</sub>。2011年冬在海南陵水基地种植F<sub>1</sub>,并收获F<sub>1</sub>种子。

2012年秋,在华南农业大学植保系病毒室对下述水稻材料进行南方水稻黑条矮缩病抗性鉴定:协青早B/协青早B/东乡野生稻的BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub>株系S1~S4,东乡野生稻庵家山原位群落株系S5和S6,东乡野生稻樟塘原位群落株系S7和S8,东乡野生稻水桃树下原位群落株系S9和S10,亲本材料协青早B(S11),185、296及Co39等3个常规籼稻对照感病品种。根据抗性鉴定结果,选用2011年冬海南的C47S/S4 F<sub>1</sub>自交种子,于2012年冬在海南陵水基地,种植C47S/S4 F<sub>2</sub>群体2000株,利用海南2-3月份短日低温条件选择不育起点温度较低、柱头外露率高等开花习性好的不育单株共44个,编号为BS1~BS44,另外选择株叶形态、穗粒结构等综合性状较好的可育株54个,编号为BS45~BS98。

2013年秋在华南农业大学植保系病毒室对2012年冬海南中选的不育株BS1~BS44和可育株BS45~BS98及亲本(C47S和协青早B)共100份材

料,进行南方水稻黑条矮缩病抗性鉴定及光温敏核不育系材料的选育。同年冬在海南陵水基地,对经鉴定抗性较好、不育起点温度较低的不育株F<sub>3</sub>株系材料进一步选择株叶形态、不育起点温度较低和开花习性等综合性状较好的单株,并套袋收种。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 南方水稻黑条矮缩病鉴定** 于2012年和2013年秋,在华南农业大学五山试验基地分别对S1~S11和中选的光温敏核不育株系及可育株系材料进行南方水稻黑条矮缩病鉴定。育苗杯(直径12 cm,高16 cm的透明塑料杯)育苗,每个品种播种一个育苗杯(20~25株),重复3次。幼苗3~4叶期时接种带毒虫(分蘖期病株上扩繁的二代白背飞虱高龄若虫,RT-PCR检测带毒率70%以上),每杯接种10~20头,虫苗共培养48 h(期间振动育苗杯1~2次以驱动虫子在植株间转移),人工除虫。接毒苗继续培养至5~6叶期移栽,大田观察症状表现。

**1.2.2 病情调查和抗性水平划分** 在水稻生长的拔节期-抽穗期-灌浆期,进行南方水稻黑条矮缩病病情调查。病株分级标准:0级,健康植株,不表现任何发病症状;1级,叶色深绿,轻度矮化,有倒生须根或茎表瘤突;2级,植株明显矮化,但可抽穗(含包颈穗);3级,植株严重矮化,不能抽穗甚至死亡。以发病率(发病率=发病株数/总株数×100%)划分抗性水平,抗(发病率<25%);中抗(25%~35%);中感(35%~45%);感(>45%)。

**1.2.3 不育系育性鉴定及农艺性状考查** 于2013年冬,在海南陵水基地,种植抗性及其育性等综合性状优良的F<sub>4</sub>株系。为避开海南低温对育性观察的影响,根据材料播始历期(平均80d左右),株系材料于2013年2月15日播种。以C47S作为对照,开花时每株选取5个以上刚开的颖花混合取粉,1% I<sub>2</sub>-KI溶液进行花粉染色镜检,计算花粉不育度。同时每株系选10穗套袋,考查自交结实率。每株系选10株调查抽穗期,成熟后考查株高、剑叶长、穗数、穗长、每穗粒数等农艺性状。

## 2 结果与分析

### 2.1 东乡野生稻及后代材料南方水稻黑条矮缩病抗性鉴定

对东乡野生稻的不同群落(庵家山、樟塘和水桃树下)株系、协青早B及其杂交后代材料进行南方水稻黑条矮缩病抗性鉴定,结果见表1。东乡野生

表 1 东乡野生稻及其杂交后代材料南方水稻黑条矮缩病的发病率

Table 1 Resistant reaction to SRBSDV in Dongxiang wild rice and derived lines

编号 Code	材料名称 Materials name	发病率(%) Disease rate
S1	协青早 B//协青早 B/东乡野生稻 BC <sub>1</sub> F <sub>6</sub> 株系	43.8
S2	协青早 B//协青早 B/东乡野生稻 BC <sub>1</sub> F <sub>6</sub> 株系	48.4
S3	协青早 B//协青早 B/东乡野生稻 BC <sub>1</sub> F <sub>6</sub> 株系	37.9
S4	协青早 B//协青早 B/东乡野生稻 BC <sub>1</sub> F <sub>6</sub> 株系	26.7
S5	东乡野生稻庵家山株系	55.8
S6	东乡野生稻庵家山株系	11.8
S7	东乡野生稻樟塘株系	13.2
S8	东乡野生稻樟塘株系	2.5
S9	东乡野生稻水桃树下株系	24.3
S10	东乡野生稻水桃树下株系	11.0
S11	协青早 B	45.9
S12	185(CK)	49.6
S13	296(CK)	53.5
S14	C <sub>6</sub> 39(CK)	39.1

稻不同群落的株系的抗性各有差异,同一群落的不同株系抗性也不一致。其中,东乡野生稻庵家山群落株系 S6、樟塘群落株系 S7 和 S8、水桃树下群落株系 S9 和 S10 对南方水稻黑条矮缩病的抗性较好,其发病率分别是 11.8%、13.2%、2.5%、24.3% 和 11.0%,均达到中抗以上水平,表明东乡野生稻对南方水稻黑条矮缩病具有良好的抗性。协青早 B//协青早 B/东乡野生稻的 4 份株系材料抗性变异较大,但均强于轮回亲本协青早 B 或与协青早 B 相当,其中 S4 抗性最好,发病率为 26.7%,达中抗水平,而协

青早 B 的发病率为 45.9%,表现为感病。该结果表明,协青早 B//协青早 B/东乡野生稻后代株系材料对南方水稻黑条矮缩病的抗性有利基因来自于东乡野生稻。

## 2.2 水稻光温敏核不育系的选育及其南方水稻黑条矮缩病抗性鉴定

利用经南方水稻黑条矮缩病抗性鉴定表现较好的协青早 B//协青早 B/东乡野生稻 BC<sub>1</sub>F<sub>6</sub> 株系材料 S4 与光温敏核不育系 C47S 杂交,以期聚合光温敏核不育基因的同时选育抗南方水稻黑条矮缩病的水稻光温敏核不育系。2012 年冬在海南,利用海南 2-3 月份短日低温条件对 C47S/S4 的 F<sub>2</sub> 群体进行光温敏核不育系单株选择,共选择到不育起点温度较低、柱头外露率高、当天开花较集中等开花习性较好的 44 个不育单株 BS1 ~ BS44。同时,选择到株叶形态和穗粒结构等综合性状较好的 54 个可育单株 BS45 ~ BS98。对中选的 44 个不育单株和 54 个可育单株,收获 98 个单株自交种子,对衍生的 98 个 F<sub>3</sub> 株系进行南方黑条矮缩病抗性鉴定(图 1),结果显示,在 98 份 F<sub>3</sub> 株系材料中表现中抗以上的材料有 9 份,包括发病率低于 35% 的中抗可育株系 BS50、BS73 和 BS96 等 3 个和中抗不育株系 BS26、BS28、BS31 和 BS44 等 4 个,以及发病率低于 25% 表现为抗的不育株系 BS6 和 BS23 等 2 个(表 2,图 2)。利用这些抗性表现较好的可育株,可进一步筛选抗南方水稻黑条矮缩病育种中间材料。对抗性表现较好的不育株则可进一步加代纯合稳定,选育开花习性等综合性状较好的抗南方水稻黑条矮缩病光温敏核不育系,我们已将选育到的对南方水稻黑条矮缩病抗性较好的光温敏核不育系稳定加代至 F<sub>4</sub>。

表 2 C47S/S4 F<sub>3</sub> 群体南方水稻黑条矮缩病抗性较好株系的发病率

Table 2 Resistant reaction to SRBSDV in selected lines of C47S/S4 F<sub>3</sub> population

株系编号 Code of lines	总株数 Total plants	0 级病株数 No. of grade 0	1 级病株数 No. of grade 1	2 级病株数 No. of grade 2	3 级病株数 No. of grade 3	发病率(%) Disease rate
BS6	32	25	2	2	3	21.9
BS23	60	46	5	3	6	23.3
BS26	56	37	3	5	11	33.9
BS28	55	36	6	4	9	34.5
BS31	50	34	7	4	5	32.0
BS44	49	35	4	6	4	28.6
BS50	46	31	3	4	8	32.6
BS73	55	36	2	8	9	34.5
BS96	54	36	4	8	6	33.3



A: 正常植株; B: 南方水稻黑条矮缩病发病株  
A: Normal rice plant, B: SRBSDV-infected rice plant

图 1 抗南方水稻黑条矮缩病光温敏核不育系 F<sub>3</sub> 分蘖盛期特征

Fig. 1 Characteristics of SRBSDV disease at the tillering stage of PTGMS lines in F<sub>3</sub> population

由 98 个(协青早 B//协青早 B/东乡野生稻)/C47S F<sub>3</sub> 株系的南方水稻黑条矮缩病的发病率可见(图 2), (协青早 B//协青早 B/东乡野生稻)/C47S 的 F<sub>3</sub> 株系中的不育株系的发病率在 21.9% ~ 100% 的范围内, 可育株系的发病率在 32.6% ~ 100% 的范围内, 均呈连续性分布, 表明来自于东乡野生稻对南方水稻黑条矮缩病的抗性可能由数量性状基因控制。

表 3 抗南方水稻黑条矮缩病光温敏核不育系农艺性状表现

Table 3 Agronomic characters of photo-thermo-sensitive genic male sterile lines with resistant reaction to SRBSDV

性状 Traits	不育株系 Sterile lines						
	C47S	BS6	BS23	BS26	BS28	BS31	BS44
播始历期(d) Days from seeding to heading	77.3	76.4	75.6	76.4	79.5	83.2	78.4
株高(cm) Plant height	78.6	81.3	82.6	79.5	84.1	85.2	81.4
剑叶长(cm) Flag leaf length	35.6	36	33.5	32.7	36.1	35.7	37.2
每株穗数 No. of panicles per plant	7.6	8.1	8.3	7.6	8.7	8.4	8.6
穗长(cm) Panicle length	24.5	23.1	25.3	21.5	24.6	21.6	24.8
每穗粒数 No. of grains per panicle	168.6	185.5	186.7	197.4	193.2	187.6	195.3
花粉不育度(%) Percentage of abortive pollen	99.814	99.789	99.985	99.896	99.874	99.892	99.833
套袋结实率(%) Spikelet fertility of bagged panicles	0	0	0	0	0	0	0

### 3 讨论

东乡野生稻是我国现存的纬度最北的普通野生稻, 是水稻种质资源中重要天然基因库, 保存了栽培稻不具有的或已消失的许多优良遗传基因, 如对褐飞虱、稻瘟病等抗病(虫)性和耐寒性等<sup>[11-14]</sup>。本研究在对东乡野生稻庵家山、樟塘和水桃树下等 3 个

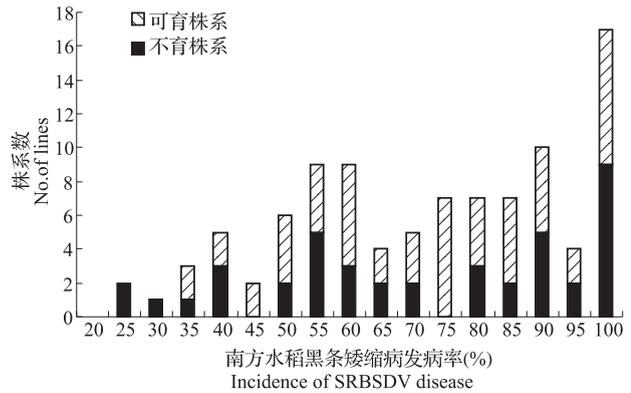


图 2 C47S/S4 F<sub>3</sub> 株系南方水稻黑条矮缩病发病率分布图

Fig. 2 Frequency distribution of incidence of SRBSDV disease

### 2.3 抗南方水稻黑条矮缩病光温敏核不育系的育性和农艺性状表现

根据 F<sub>3</sub> 群体的南方水稻黑条矮缩病抗性、开花习性和株叶形态等综合性状, 对中选的 6 个株系 (BS6、BS23、BS26、BS28、BS31 和 BS44) 进一步加代纯合, 并观察其田间育性等农艺性状表现。由表 3 可见, 这 6 个株系的花粉不育度在 99.8% 以上, 套袋自交结实率均为 0, 表明这 6 个株系的育性稳定性较好。新选育的抗南方水稻黑条矮缩病的不育系每穗粒数幅度为 185.5 ~ 195.3, 平均为 190.9, 比核不育基因供体亲本 C47S 的每穗粒数多, 其他性状与供体亲本 C47S 的差异不大。

不同群落的 6 个株系进行南方水稻黑条矮缩病的抗性鉴定, 筛选到 5 个抗性水平较好的株系, 表明从东乡野生稻中可以筛选到对南方水稻黑条矮缩病抗性较好的并可在水稻育种上加以利用的种质资源。

两系杂交水稻育种在保障我国粮食安全中具有重要的战略地位, 而选育优质且抗逆性好的光温敏核不育系是选配优良两系杂交稻组合的重要前提。

自我国开展两系杂交稻育种以后,已育成了一批实用型光温敏核不育系如培矮 64S、广占 63S 和 Y58S 等,但在生产上大面积应用且抗病性好的不育系并不多。其次,大多数光温敏核不育系的选育,由于受条件的限制,在选育不育系的同时有针对性地进行抗病性筛选鉴定的报道并不多,大多是基于现有光温敏核不育系的抗性改良<sup>[15-17]</sup>。本研究在对亲本材料南方水稻黑条矮缩病抗性鉴定基础上,选择对南方水稻黑条矮缩病抗性较好的不育系,筛选到了 4 份对南方水稻黑条矮缩病抗性较好的光温敏核不育系,为选育抗南方水稻黑条矮缩病的两系杂交稻组合奠定了重要的材料基础。同时对东乡野生稻的杂交后代 F<sub>3</sub> 株系的南方水稻黑条矮缩病的群体发病率分析表明,来源于东乡野生稻的对南方水稻黑条矮缩病的抗性由数量性状基因控制,这与黑条矮缩病的抗性由数量性状位点控制的结果一致<sup>[18-19]</sup>。

致谢:本研究部分实验在华南农业大学植保系周国辉教授课题组完成,谨致谢意!

#### 参考文献

- [1] 周国辉,许东林,李华平. 广东发生水稻黑条矮缩病病原分子鉴定[C]//中国植物病理学会 2004 年学术年会论文集. 北京:中国农业科学技术出版社,2004:210-212
- [2] 周国辉,温锦君,蔡德江,等. 呼肠孤病毒科斐济病毒属一新种:南方水稻黑条矮缩病毒[J]. 科学通报,2009,53(20):2500-2508
- [3] 刘万才,刘宇,郭荣. 南方水稻黑条矮缩病发生现状及防控对策[J]. 中国植保导刊,2010,30(3):17-18

- [4] 郭荣,周国辉,张曙光. 水稻南方黑条矮缩病发生规律及防控对策初探[J]. 中国植保导刊,2010,30(8):17-20
- [5] 钟天润,刘宇,刘万才. 2010 年我国南方水稻黑条矮缩病发生原因及趋势初析[J]. 中国植保导刊,2011,31(4):32-34
- [6] 周国辉,张曙光,邹寿发,等. 水稻新病害南方水稻黑条矮缩病发生特点及危害趋势分析[J]. 植物保护,2010,36(2):144-146
- [7] 章松柏,罗汉刚,张求东,等. 湖北发生的水稻矮缩病是南方水稻黑条矮缩病毒引起的[J]. 中国水稻科学,2011,25(2):223-226
- [8] 张松柏,张德咏,刘勇,等. 2009 年造成湖南省水稻大面积矮缩的是南方水稻黑条矮缩病[J]. 植物保护,2010,36(4):98-100
- [9] 潘凤英,廖咏梅,海博,等. 19 个水稻雄性不育系对南方水稻黑条矮缩病的抗性评价[J]. 南方农业学报,2011,42(4):399-402
- [10] 刘琳琳. 24 个水稻品种对南方水稻黑条矮缩病的抗性研究[D]. 福州:福建农林大学,2012
- [11] 黄瑞荣,曾小萍. 江西东乡野生稻对三种病害抗性的研究[J]. 作物品种资源,1990(4):36-37
- [12] 陈洁. 东乡野生稻抗稻飞虱 QTL 定位及其连锁累赘分析[D]. 合肥:安徽农业大学,2005
- [13] 黄得润,陈洁,赖凤香,等. 东乡野生稻抗褐飞虱 QTL 分析[J]. 作物学报,2012,38(2):210-214
- [14] 陈大洲,肖叶青,皮勇华,等. 东乡野生稻耐冷性的遗传改良初步研究[J]. 江西农业大学学报,2003,25(1):8-11
- [15] 董巍,李信,晏斌,等. 利用分子标记辅助选择改良培矮 64S 的稻瘟病抗性[J]. 分子植物育种,2010,8(5):853-860
- [16] 金素娟,柳武革,朱小源,等. 利用分子标记辅助选择改良温敏核不育系 GD-8S 的稻瘟病抗性[J]. 中国水稻科学,2007,21(6):599-604
- [17] 柳武革,王丰,金素娟,等. 利用分子标记辅助选择聚合 *Pi-1* 和 *Pi-2* 基因改良两系不育系稻瘟病抗性[J]. 作物学报,2008,34(7):1128-1136
- [18] 王宝祥,江玲,陈亮明,等. 水稻黑条矮缩病抗性资源的筛选和抗性 QTL 的定位[J]. 作物学报,2010,36(8):1258-1264
- [19] 潘存红,李爱宏,陈宗祥,等. 水稻黑条矮缩病抗性 QTL 分析[J]. 作物学报,2009,35(12):2213-2217