

秦碧霞,李战彪,谢慧婷,等. 水稻品种抗南方水稻黑条矮缩病人工接种鉴定技术规程[J]. 江苏农业科学,2021,49(18):103-105.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.18.016

水稻品种抗南方水稻黑条矮缩病人工接种鉴定技术规程

秦碧霞¹,李战彪¹,谢慧婷¹,周彤²,黄所生¹,崔丽贤¹,李丹婷³,蔡健和¹,农保选³,兰莹²

(1. 广西壮族自治区农业科学院植物保护研究所/广西作物病虫害生物学重点实验室,广西南宁 530007;

2. 江苏省农业科学院植物保护研究所,江苏南京 210014;3. 广西壮族自治区农业科学院水稻研究所,广西南宁 530007)

摘要:南方水稻黑条矮缩病是我国一类农作物病虫害,严重威胁水稻生产和粮食安全。种植抗(耐)病品种是防控该病害的有效措施,但对水稻品种的抗病性评价至今尚未有具体操作规程可循。针对水稻品种抗病鉴定评价及抗源筛选的迫切需求,作者在多年实践的基础上,总结制定了抗南方水稻黑条矮缩病人工接种鉴定技术及评价规程,包括有关术语定义,人工接种鉴定流程、结果调查和抗病性评价等,为规范开展水稻品种抗病性鉴定提供指导和参考。本标准适用于水稻品种及育种材料抗南方水稻黑条矮缩病性状的鉴定与评价。

关键词:南方水稻黑条矮缩病;接种;抗性鉴定;规程;抗病性评价;人工接种鉴定技术

中图分类号:S435.111.4⁺9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)18-0103-03

南方水稻黑条矮缩病病原为南方水稻黑条矮缩病毒(Southern rice black-streaked dwarf virus,简称SRBSDV),属呼肠孤病毒科(Reoviridae)斐济病毒属(*Fijivirus*);主要由迁飞性害虫白背飞虱以持久增殖的方式进行传播;水稻各生育期均能感染危害,感病后植株矮缩,叶片浓绿卷曲,茎秆出现蜡条等,严重的无法正常抽穗结实,产量损失30%~50%。该病2001年在广东省阳江市阳西县首次被发现,短短几年,已给我国南方稻区及越南北部等水稻生产造成极大损失。2009年,广西壮族自治区、广东省、海南省等9个省区普遍发病,约33.33万hm²晚稻严重受害,基本失收面积0.67万hm²。2010年,病区继续向长江以南扩散,全国累计发病面积超过120万hm²^[1-5],2017年该水稻黑条矮缩病又一次严重危害广西壮族自治区、广东省等地的晚稻,造成严重损失。2020年,农业农村部将南方水稻黑条矮缩病列为我国一类农作物病虫害。

推广种植抗(耐)病品种是防控南方水稻黑条矮缩病的重要措施之一。由于该病害出现时间不长,尚缺乏统一的抗病性鉴定技术操作规程对水稻

品种进行抗病性评价。人工接种鉴定条件可控,基本不受外界因素影响,能确保鉴定的准确性、可比性及试验操作的平行性和可重复性,且能克服田间鉴定中难以规避的问题,拓宽鉴定时间。周彤等建立了水稻黑条矮缩病人工接种抗性鉴定方法^[6],并比较了田间鉴定和人工鉴定的结果,表明人工接种能真实反映水稻品种抗病性^[7],其研究结果为南方水稻黑条矮缩病的人工接种鉴定提供了很好的借鉴。曹杨等明确了白背飞虱的获毒时间、循环期、接毒时间等白背飞虱传播SRBSDV的特性^[8],黄所生等对白背飞虱传播SRBSDV的效率进行了研究,发现不同接虫密度、不同水稻生育期和白背飞虱的饲毒时间、传毒时间均影响传毒效率^[9],秦碧霞等进行了98份水稻品种的人工接种抗病性鉴定试验,初步建立人工接种抗病性鉴定方法^[10]。农保选等用人工接种方法对广西壮族自治区核心稻种资源进行南方水稻黑条矮缩病抗性鉴定及全基因组关联分析,检测到8个抗病相关基因^[11-12],这些研究结果说明人工接种在抗病基因筛选等研究中的重要性。研究团队在开展水稻品种抗南方水稻黑条矮缩病人工接种筛选鉴定的基础上,不断探索优化传毒介体白背飞虱的饲养传毒条件和鉴定体系,并参考相关文献^[6-12],确定了人工接种最佳饲毒时间、最适接种苗龄、接种时长、接毒强度等关键技术指标,研究制定出“水稻品种抗南方水稻黑条矮缩病人工接种鉴定技术规程”,为规范开展水稻品种抗病性鉴定评价提供参考,为加快抗病育种进程和

收稿日期:2021-01-18

基金项目:国家重点研发计划(编号:2018YFD0200302);国家自然科学基金(编号:32060605);广西农业科学院科技发展基金(编号:桂农科2020ZX13);广西农业科学院基本科研业务专项(编号:桂农科2021YT071)。

作者简介:秦碧霞(1968—),女,广西桂林人,研究员,主要从事植物病毒学研究。E-mail:qbx33@163.com。

进行病害绿色防控提供技术支撑。

1 范围

本标准规定了水稻品种抗南方水稻黑条矮缩病(病原:南方水稻黑条矮缩病毒, Southern rice black-streaked dwarf virus, SRBSDV)人工接种鉴定的技术规范及抗性评价标准。

本标准适用于水稻品种及育种材料抗南方水稻黑条矮缩病性状的鉴定与评价。

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。其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件:《NY/T 2631—2014 南方水稻黑条矮缩病测报技术规范》;《NY/T 2918—2016 南方水稻黑条矮缩病防治技术规程》

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 南方水稻黑条矮缩病(southern rice black-streaked dwarf disease)

由南方水稻黑条矮缩病毒(southern rice black-streaked dwarf virus, 简称 SRBSDV)侵染引起的水稻病毒病。

3.2 病株(Infected plants)

感染南方水稻黑条矮缩病毒并表现相应症状的水稻植株(病害鉴定调查标准见“4.4.2”节)。

3.3 发病率(rate of infected plants)

病株占调查水稻总植株数的百分比。

3.4 无毒白背飞虱(non-viruliferous white-backed planthopper)

不携带南方水稻黑条矮缩病毒的白背飞虱[*Sogatella furcifera* (Horváth)]。

4 人工接种鉴定

4.1 接种用白背飞虱的准备

4.1.1 白背飞虱的采集和饲养 白背飞虱若虫或成虫采集自田间,在养虫室内用感虫水稻品种 TN1 连续饲养。养虫室条件:温度(26 ± 1)℃,相对湿度 80%~90%,光一暗周期为 12 h—12 h。

4.1.2 无毒白背飞虱群体的获得 选取白背飞虱喜食的水稻种子(如 TN1)用清水常温浸种 24 h 后,纱布保湿,恒温箱(32 ± 2)℃催芽 24~48 h,选取出

芽整齐一致的种子 25~30 粒,点播到装有育苗基质的塑料杯中(内径 80~110 mm,下同),常规管理,6~7 d 后,水稻苗长至 1.5 叶期时,把待产的单头白背飞虱雌成虫移入杯中的水稻苗上产卵,3 d 后取出成虫,立即进行带毒性检测或 -20 ℃保存待检。稻苗继续培养 7~10 d,孵化出白背飞虱后代若虫群体,每群体取 10~20 头 2 龄或 3 龄若虫进行带毒性检测。白背飞虱带毒性检测按 NY/T 2631 中附录 C 或 NY/T 2918 中附录 A 的规定进行,产卵成虫及其后代若虫均不带毒的群体定义为无毒白背飞虱群体。

4.2 毒源准备

4.2.1 病株采集 田间采集表现南方水稻黑条矮缩病疑似症状的分蘖期水稻植株,种植在防虫网笼中的塑料桶中。

4.2.2 病株检测确定 采病株叶片按 NY/T 2631 中附录 C 或 NY/T 2918 中附录 A 的规定进行检测,确认感染南方水稻黑条矮缩病毒则作为毒源保存在防虫笼中。

4.2.3 病株纯化扩繁 隔离条件下白背飞虱在“4.2.2”节病株上饲毒后接种水稻秧苗,纯化并扩繁病株。

4.3 接种鉴定

4.3.1 参鉴水稻苗的准备 参鉴品种(含感病对照 TN1)经“4.1.2”节方法浸种、催芽;各选取 30 粒左右发芽整齐一致的种子,分别点播于盛有育苗基质的塑料杯中,每个品种重复 3 次。

4.3.2 白背飞虱饲毒 将经检测确认感染 SRBSDV 的病株种于大烧杯中,土面覆盖滤纸,将 1~2 龄无毒白背飞虱移入杯中,用 60 目防虫网覆盖杯口。饲毒 2 d 后将虫移入塑料杯(预先育有白背飞虱喜食品种如 TN1 的秧苗)中饲养,度过循环期(11 d)后,每批随机取出 30 头白背飞虱高龄若虫或成虫,按 NY/T 2631 中附录 C 或 NY/T 2918 中附录 A 的规定检测白背飞虱群体带毒情况,计算白背飞虱群体的带毒率。

4.3.3 接种方法 接种前随机抽取 50 头已饲毒且度过循环期的白背飞虱高龄若虫或成虫,测定带毒率,计算接虫数量后接入已育有参鉴品种的塑料杯中,接种苗龄为 1.5~2.0 叶龄,接种时间为 2 d,接种温度(26 ± 1)℃,每天上午、下午各赶虫 1 次,使白背飞虱分布均匀,2 d 后用杀虫剂喷杀接种用白背飞虱,将秧苗移出塑料杯,种植在防虫网室水田

池中,于 20 ~ 35 ℃ 条件下常规管理,定期观察植株发病情况。

人工接种鉴定的有效接种虫量用 IVS 表示,数值以头/株计,按公式(1)计算:

$$IVS = N \times PVS. \quad (1)$$

式中: IVS 为人工接种鉴定的有效接种虫量; N 为接种白背飞虱数量; PVS 为白背飞虱带毒率。当 IVS 值处于 1 ~ 2 头/株范围内,则试验有效。

4.4 调查

4.4.1 调查时间 接种 15 ~ 20 d 后,感病对照症状明显时调查发病情况,同时确定有效鉴定株数,间隔 7 d 调查 1 次,共调查 3 次。

4.4.2 调查标准 苗期发病症状:(1)秧苗叶色浓绿,叶片短小僵直,心叶扭曲,或现锯齿叶;(2)植株矮化不明显,叶背沿叶脉有纵向不规则蜡白色瘤状突起,后变黑褐色;(3)植株矮小,叶色稍浓绿。

出现(1)或(2)症状的植物直接记为病株;出现(3)症状的植株按 NY/T 2631—2014 中附录 C 或 NY/T 2918 中附录 A 的规定进行检测确认。

4.4.3 发病率计算 根据感病对照 3 次调查的最高发病率确定待鉴品种发病率的计算方式,感病对照 3 个重复 3 次调查中的最高发病率均超过 30%,则认定本次鉴定有效;若参鉴品种 3 个重复 3 次调查中的最高抗性级别差异均不超过 1 个等级,则认定本次鉴定准确。在鉴定有效且准确的前提下,取 3 个重复 3 次调查中的最高发病率确定品种的抗性级别。如果感病对照最高发病率小于 30%,则本次鉴定结果无效。

发病率用 R_i 表示,数值以%计,按公式(2)计算:

$$R_i = n_i / n_t \times 100\%。 \quad (2)$$

式中: R_i 为发病率; n_i 为病株数; n_t 为总株数。结果精确到小数点后 2 位。

5 水稻品种抗南方水稻黑条矮缩病性状的评价

5.1 抗性分级标准

抗性分级标准如下:0 级:发病率为 0,免疫;1

级:发病率为 0.1% ~ 5.0%,高抗;3 级:发病率为 5.1% ~ 15.0%,中抗;5 级:发病率为 15.1% ~ 30.0%,中感;7 级:发病率为 30.1% ~ 60.0%,感病;9 级:发病率大于等于 60.1%,高感。

5.2 抗性评价

当参鉴品种在不同年度间或不同批次间抗性鉴定结果不一致时,以发病率最高的抗性鉴定结果为准。

参考文献:

- [1] 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,2008,53(20):2500 - 2508.
- [2] 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为害趋势分析[J]. 植物保护,2010,36(1):144 - 146.
- [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] 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.
- [5] Hoang A T, Zhang H M, Yang J, et al. Identification, characterization, and distribution of southern rice black - streaked dwarf virus in Vietnam[J]. Plant Disease, 2011, 95(9):1063 - 1069.
- [6] 周 彤,王 英,吴丽娟,等. 水稻品种抗黑条矮缩病人工接种鉴定方法[J]. 植物保护学报,2011,38(4):301 - 305.
- [7] 中华人民共和国农业部. 水稻品种试验水稻黑条矮缩病抗性鉴定与评价技术规程:NY/T 2955—2016[S]. 北京:中国农业出版社,2016.
- [8] 曹 杨,潘 峰,周 倩,等. 南方水稻黑条矮缩病毒介体昆虫白背飞虱的传毒特性[J]. 应用昆虫学报,2011,48(5):1314 - 1320.
- [9] 黄所生,吴碧球,秦碧霞,等. 白背飞虱对南方水稻黑条矮缩病传毒效率的影响[J]. 西南农业学报,2016,29(12):2840 - 2844.
- [10] 秦碧霞,蔡健和,李战彪,等. 广西水稻品种抗水稻南方黑条矮缩病鉴定[J]. 南方农业学报,2014,45(1):38 - 42.
- [11] 农保选. 南方水稻黑条矮缩病苗期抗性基因的关联分析、精细定位及候选基因分析[D]. 南宁:广西大学,2018.
- [12] 农保选,秦碧霞,夏秀忠,等. 南方水稻黑条矮缩病苗期抗性的全基因组关联分析[J]. 分子植物育种,2019,17(4):1069 - 1079.