

水稻黑条矮缩病抗性遗传研究进展

刘 晴, 徐建龙

(中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要: 水稻黑条矮缩病 (RBSDVD, rice black-streaked dwarf virus disease) 是以灰飞虱为主要传毒介体, 由水稻黑条矮缩病毒 (RBSDV, rice black-streaked dwarf virus) 引起的一种水稻病毒性病害。介体灰飞虱一经染毒, 终身带毒, 但不能通过虫卵传毒。近十几年水稻黑条矮缩病在中国南方稻区广为流行, 造成了水稻的严重减产。目前主要通过使用农药来防治其传毒介体灰飞虱, 但由于灰飞虱种群数量大, 导致其防治效果不佳, 而且存在环境污染的忧患, 故培育和利用抗水稻黑条矮缩病的水稻品种是综合防治水稻黑条矮缩病的基础。本文对水稻黑条矮缩病的分布及危害、抗病种质资源、抗性鉴定方法、抗病基因/QTL 的定位、抗病分子机理及育种进行综述, 为开展水稻黑条矮缩病抗性遗传研究和品种选育提供参考。

关键词: 水稻黑条矮缩病; 水稻黑条矮缩病毒; 灰飞虱; 抗病基因; RNA 干扰; 抗病育种

Progress in Genetic Dissection of Resistance to Rice Black-Streaked Dwarf Virus Disease

LIU Qing, XU Jian-long

(Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: Rice black-streaked dwarf virus disease (RBSDVD), which is caused by *Rice black streaked dwarf virus* (RBSDV) and mainly transmitted by small brown planthopper (*Laodelphax striatellus* Fallén), is a severe viral disease in rice. Once infected, the vector small brown planthopper carries the virus for life, but it cannot be transmitted through eggs. In recent ten years, RBSDVD has been widely prevalent in rice areas of southern China, which caused serious yield reduction of rice. At present, pesticides are mainly used to control the virus vector small brown planthopper. However, due to the large population of small brown planthopper, the control effect is not good, and there are concerns about environmental pollution. Therefore, the cultivation and utilization of rice varieties resistant to RBSDVD is the optimal strategy. Within this article, we review the distribution and hazards of RBSDV, exploration of resistance germplasm resources, resistance identification methods, mapping of genes/QTLs for resistance to RBSDVD, resistance-conferring mechanism and breeding. We expect to provide insights in genetic dissection of the RBSDV resistance genes and their optimal use in rice resistance breeding.

Key words: rice black-streaked dwarf virus disease (RBSDVD); rice black-streaked dwarf virus (RBSDV); small brown planthopper (*Laodelphax striatellus* Fallén); resistance gene; RNA interference (RNAi); resistant breeding

水稻是主要的粮食作物之一, 全世界超过一半的人口以水稻为主食, 水稻生产直接关系到国家粮食安全、农民增收和农村稳定。然而, 水稻在生长过

程中受到各种昆虫和病原菌的侵害而导致减产, 这严重威胁粮食生产安全。水稻黑条矮缩病是一种主要以灰飞虱为传播媒介, 由水稻黑条矮缩病毒引起

收稿日期: 2021-10-24 修回日期: 2021-12-07 网络出版日期: 2022-01-21

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20211024001>

第一作者研究方向为水稻分子育种, E-mail: 773913582@qq.com

通信作者: 徐建龙, 研究方向为水稻分子育种, E-mail: xujianlong@caas.cn

基金项目: 国家自然科学基金广东联合基金 (U1901204)

Foundation project: National Natural Science Foundation of China & Guangdong Province (U1901204)

的病毒病。介体一经染毒,终身带毒,但不经卵传毒。近十几年水稻黑条矮缩病在我国南方稻区江苏、浙江、江西和福建等地广为流行,目前主要通过使用农药来防治其传毒介体灰飞虱,但由于灰飞虱种群数量大,导致其防治效果不佳,而且存在环境污染的忧患,故利用抗病基因培育抗病品种是最经济有效防治水稻黑条矮缩病的方法。因此,发掘抗水稻黑条矮缩病的种质资源、定位和克隆抗病基因已成为抗水稻黑条矮缩病育种的主要研究目标。

1 水稻黑条矮缩病的病毒及传播途径

我国水稻黑条矮缩病分普通水稻黑条矮缩病(RBSDVD, rice black-streaked dwarf virus disease)和南方水稻黑条矮缩病(SRBSDVD, southern rice black-streaked dwarf virus disease)两种,分别由水稻黑条矮缩病毒(RBSDV, rice black-streaked dwarf virus)和南方水稻黑条矮缩病毒(SRBSDV, southern rice black-streaked dwarf virus)引起,这两种病毒同属于呼肠孤病毒科(Reoviridae)斐济病毒属(*Fijivirus*),存在于寄主水稻植株的韧皮部筛管和伴胞内,不论在传毒特性、寄主载体、发病症状以及分子结构等方面都非常相似,在田间很难区分,故只能从病害流行区域来区分。黄河和淮河流域与黑条矮缩病相关的病毒是RBSDV,其传播介体是灰飞虱(*Laodelphax striatellus* Fallén),主要在华北、华东地区流行性爆发;而在华南地区与黑条矮缩病相关的病毒是SRBSDV,传播介体是白背飞虱(*Sogatella furcifera* Horváth),主要流行于广东、广西等华南地区^[1]。

2 水稻黑条矮缩病的分布及危害

2.1 发病概况

RBSDVD于1963年在我国浙江省余姚县首次爆发^[2]。随后在浙江、江苏和上海等地流行,20世纪70年代华东地区危害减轻,但从20世纪90年代以来,该病害在韩国、日本、泰国、越南、印度尼西亚等其他东南亚水稻主产国以及我国江苏、浙江、山东等地大面积发生,重病地区病株率超过50%,导致水稻等农作物产量骤减。尤其是2010年,多点成片田块颗粒无收,导致产量损失百万吨以上,对我国水稻生产造成巨大威胁^[3-7]。2013-2014年,RBSDVD在河南沿黄河部分稻区严重发生^[8]。SRBSDVD是周国辉等^[9]于2001年首次在广东省阳江市发现的一种新的水稻病毒病。SRBSDV最初在我国海南

和广东两省发现,近年来已传遍我国湖南、湖北、江西、浙江等南部地区以及越南、泰国等大部分东南亚国家。2009-2010年SRBSDVD给我国中、南部地区以及越南北部造成了严重的经济损失^[9]。目前种植的大多数水稻品种对RBSDVD和SRBSDVD抗性较差,水稻生产主要通过施用化学杀虫剂防治飞虱来协防黑条矮缩病。然而,化学杀虫剂的过度使用不仅会污染环境,杀死飞虱的天敌,还会诱发飞虱产生抗药性,从而导致飞虱的再猖獗^[10]。农药长期使用会导致防治效果下降,所以无法依靠特效农药来实现飞虱可持续治理的目标^[11-12],最终难以取得对黑条矮缩病理想的防控效果。

2.2 病害症状

RBSDVD的典型发病症状是植株出现严重矮缩,叶色浓绿僵硬,叶鞘、叶背和茎秆早期为蜡白色,后期变为黑褐色的短条纹不规则突起,分蘖增加,包颈穗、穗粒形变小甚至畸形,严重发病株不抽穗,最终显著影响经济产量。RBSDVD的流行具有爆发性、间歇性和毁灭性等特点,目前对该病无法有效防治,因而被喻为水稻“癌症”^[13-14]。而SRBSDVD的症状主要表现为植株矮缩,叶色深绿,叶片卷曲,上叶部有凹凸不平的褶皱,叶背和茎秆出现条状乳白色或深褐色的突起,地上节有高节位分蘖,茎基部倒生须根,感病植株根系不发达,严重时呈黄褐色^[15]。SRBSDVD与RBSDVD症状最明显的不同之处是前者病株有高位分蘖且基节部会形成倒生须根,这可以作为田间初步鉴别这两种病害的重要依据。

RBSDVD在水稻的各个生育期均可发病,但不同生育期其发病症状不同。苗期病株的叶色深绿,心叶短小且刚直,顶端呈螺旋状卷曲。分蘖期病株矮缩最明显,上部多个叶片的叶枕重叠,心叶突破下叶叶鞘伸出,或从下叶枕口呈螺旋状伸出,除新叶外,其他叶片的顶端也会出现螺旋状卷曲。抽穗期病株症状与分蘖期相似,严重发病的植株不抽穗,叶片呈瘤状或不规则凸起或凹陷。灌浆期感病较轻的植株能抽穗,但株高比健康植株矮10~15cm,茎基部节间有明显蜡白色隆起且呈线状排列的短条脉冲,重病植株则不能抽穗。RBSDVD与普通矮缩病(RDV, rice dwarf virus)较难区分,但RDV主要由叶蝉来传播,可通过田间的传播介体昆虫来区分。

3 黑条矮缩病抗性鉴定方法

发掘抗性基因和培育抗病水稻品种是防治黑条

矮缩病的根本策略。目前,黑条矮缩病研究的难点之一是对该病的抗性鉴定。该病的抗性鉴定从病害种类分为对 RBSDVD 抗性鉴定和对 SRBSDVD 抗性鉴定两种;从接种方法可分为病区田间自然接种和室内人工接种两种。人工抗性鉴定每个品种需采用带毒飞虱接种 30~40 株幼苗,重复 2~3 次,通过秧苗期诱发感病,移栽大田正常管理,接种 30 d 后观察发病症状以计算材料的发病率,每批苗接种时均需设感病对照。由于人工接种费时长、工作量大以及需要相关设施条件^[16],一般种质资源或分离群体的黑条矮缩病抗性鉴定采取的方法是田间自然接种鉴定。周彤等^[17]发现 RBSDVD 主要在苗期诱发,2 叶龄期最易感病,10 叶龄期以后则几乎不感病。田间自然鉴定通常将群体播种于河南开封 RBSDVD 重病区,在麦田中央选秧田播种,利用麦收后大量的灰飞虱迁飞到水稻秧苗上来诱发稻苗感病。为使稻苗充分感病,秧田应尽量靠近麦田;为了增加灰飞虱密度,在水稻幼苗期应将灰飞虱从麦田驱赶至水稻秧田中。王宝祥等^[18]建立了一套高效且具有一定鉴定规模的 RBSDVD 田间自然接种抗性鉴定体系,即灰飞虱密度为 800 万头/hm² 以上,带毒率大于 5%,在整个接种鉴定期间应定期隔赶虫,以增加灰飞虱的传毒效率。

虽然重病区田间自然接种鉴定方法最方便直接,但该方法易受田间灰飞虱密度、带毒率及灰飞虱与水稻感病敏感期吻合性等环境因素的影响,鉴定结果的重复性、准确性较差,需要多年、多点重复试验。与自然接种鉴定方法相比,人工接种鉴定更能反映试验水稻品种的真实抗性,但在具体操作上存在一定难度。其主要原因有:一是 RBSDV 传毒方式独特,需要通过人工饲毒使灰飞虱传毒;二是 SRBSDVD 和 RBSDVD 在实际农业生产中可能会在同一时间发生,但从发病症状方面很难对这两种病毒进行准确区分,获得携带 RBSDV 的灰飞虱可能会受 SRBSDV 的干扰;三是受到病毒侵染的水稻植株更易死亡,故难以获得充足且有效的毒源植株。这些因素决定了人工接种鉴定方法只适合小规模材料的鉴定,且一般采用苗期集团接种法。王宝祥等^[18]提出了最为合适的操作性强、稳定性好且具有重复性的 RBSDVD 人工接种抗性鉴定方法,将 1~2 虫龄的若虫饲毒 20 d,对每个 1 叶期稻苗植株接虫 10 头带毒灰飞虱。秦碧霞等^[19]的 SRBSDVD 人工接种鉴定方法也较为相似,即 3~4 叶期幼苗接种带毒 4~5 龄若虫或成虫(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),接种虫量为平均每苗 1.0~1.5 头白背飞虱成虫,每天赶虫 2 次,尽量保证被鉴定的稻苗获毒均匀,传毒 2 d 后,人工除虫,接毒苗移栽至大田观察症状表型。

4 水稻抗黑条矮缩病种质资源

水稻种质资源对 RBSDVD 抗性存在明显的差异。廖璇刚等^[20]发现水稻主栽品种中粳组合汕优 10 号为感病品种,粳稻品种祥湖 25 等为抗病品种,且品种的抗性水平随着灰飞虱数量的增加而下降。李爱宏等^[21]对不育系、中粳稻恢复系、粳稻恢复系和常规粳稻等不同类型的 175 份水稻种质资源进行了 RBSDVD 田间自然接种鉴定,经过聚类分析发现水稻种质对 RBSDVD 的抗性存在显著差异,主要分为高抗、抗、中抗、中感、感和高感 6 种类型,其中大多数三系早粳稻不育系为高感或感病型,绝大多数中粳稻恢复系为抗病型,粳粳杂交培育的粳稻恢复系为中感或感病型,而常规粳稻抗、中抗、中感、感和高感 5 种不同类型均有。王宝祥等^[22]对 365 份水稻种质资源进行重病区田间自然接种鉴定,发现来自日本的粳稻品种越光为抗 RBSDVD 品种,粳稻品种桂朝 2 号为感病品种。卢百关等^[23]对江苏 896 份水稻品种进行 RBSDVD 诱发鉴定,未发现对 RBSDVD 免疫的品种,共筛选出 16 个品种抗 RBSDVD,仅占有鉴定品种的 1.8%。刘延刚等^[24]对 50 份山东常规粳稻品种进行 RBSDVD 抗性鉴定,发现 7 份品种抗 RBSDVD,5 份中抗 RBSDVD。王宝祥等^[18]对 1240 份来自 20 多个国家的水稻品种进行多年多点鉴定,获得了 Kanyakumari 29、Vietnam 160 和 Madurai 25 3 个高抗品种。同期,王宝祥等^[25]还对来自于我国不同省份的 251 份水稻品种进行田间自然接种鉴定,未发现对 RBSDVD 免疫的品种,但结果显示粳稻品种对 RBSDVD 的抗性要优于粳稻品种。方先文等^[26]通过对 2000 多份水稻地方品种进行连续 2 年 2 点的 RBSDVD 田间自然接种抗性鉴定,对连续 2 年没有发病的 38 份资源中农艺性状较好的 6 份粳稻进行室内人工接种鉴定,获得了 1 份高抗 RBSDVD 的水稻品种五月谷,与感病对照相比,RBSDV 在抗病品种五月谷体内的表达量下降 71.5 倍,表明 RBSDV 在抗病品种体内的复制被明显地抑制。Sun 等^[27]自 2010-2016 年连续 6 年,在江苏省连云港市和河南省开封市等重病区对水稻资源的 RBSDVD

抗性进行筛选,发现籼稻品种 9194 在多年多点的鉴定中发病率均小于 5%,稳定高抗 RBSDVD,且 9194 抗病性经人工接种鉴定予以证实,而粳稻品种苏御糯平均发病率大于 75%,高感 RBSDVD。Liu 等^[28]通过对 1956 份水稻种质资源分别连续 3 年在同一地点进行 RBSDVD 自然田间接种抗性鉴定,筛选出 4 份优异的稳定抗 RBSDVD 水稻籼稻品种(猷改 B、CHIEM TONG NHAT 1、C 166-135 和 SAHEL 108),发现不同亚群对 RBSDVD 的抗性不同。大多数籼稻品种比粳稻品种更抗 RBSDVD,而在籼稻的 5 个亚群中发现,大部分抗病材料来源于 XI-1B 亚群,尽管 XI-1A 亚群与 XI-1B 亚群遗传关系密切,但大多 XI-1A 亚群的种质资源比 XI-1B 亚群明显易感病,甚至与粳稻亚群的 RBSDVD 感

病水平相似;XI-2 亚群的抗病性略高于 XI-1A,而 XI-3 和 XI-adm 的抗病性在 XI-1A 与 XI-1B 之间。李路路等^[29]对浙江省 20 个主栽水稻品种进行人工接种,发现籼稻品种深两优 5814 和 Y 两优 302 的抗性较强,而粳稻品种准 5 和秀水 14 的抗性较弱。

综上所述,一般籼稻和杂交稻较抗病,而粳稻普遍易感病(表 1)。需要指出的是,由于 RBSDVD 的传播特性,水稻对 RBSDVD 的抗性分为对 RBSDV 的抗性和对传播介体昆虫灰飞虱的抗性,其中对 RBSDV 的抗性更为重要。然而,以往多数种质资源对 RBSDVD 的抗性鉴定未区分是因为抗虫导致的所谓的抗病还是真正抗 RBSDV 表现出的抗病。

表 1 水稻 RBSDVD 田间自然诱发鉴定筛选的抗病种质资源

Table 1 Identification and screening of disease resistant germplasm resources by natural induction in rice fields

鉴定群体 Identification population	鉴定地点 Identification place	抗病种质 Disease resistant germplasm	参考文献 Reference
浙江兰溪和金华地区当前水稻主栽品种 Current main rice varieties in Lanxi and Jinhua, Zhejiang	浙江省兰溪市	祥湖 25	[20]
175 份水稻种质资源 175 rice accessions	江苏省里下河地区农业科学研究所湾头试验田	明恢 63、R13、HR15、扬稻 6 号、R24、HR17、HR26、HR28、特青、HR14、HR27、HR25、HR20、Gj146、R814、HR12、Gj134、HR16、HR19、R507、HR22、R621、HR21、Gj73、R520、Gj83、R542、HR18、Gj16、Gj119、HR23、Gj116	[21]
365 份水稻种质资源 365 rice accessions	连云港市农科院玉带河和东海县黄川试验田	越光	[22]
896 份水稻品种 896 rice varieties	连云港市农科院玉带河试验基地	光身粳等	[23]
50 份常规粳稻品种 50 rice conventional <i>Geng</i> varieties	山东省临沂市水稻研究所试验田	盐丰 47、临稻 18 号、圣稻 2572、临稻 16 号、大粮 203、徐稻 3 号、苏秀 867	[24]
1240 份水稻种质资源 1240 rice accessions	江苏省东海县黄川镇、赣榆县土城镇和灌云县东辛农场试验田	Kanyakumari 29、Vietnam 160 和 Madurai 25	[15]
251 份水稻种质资源 251 rice accessions	连云港市农科院玉带河和东海县黄川试验田	未发现对 RBSDVD 免疫的品种	[25]
2000 多份水稻地方品种 More than 2000 local rice varieties	江苏省农业科学院内和溧水基地	五月谷	[26]
9194 和 Suyunuo 的 F _{2,3} 群体 F _{2,3} population of 9194 and Suyunuo	江苏省连云港市和河南省开封市	9194(赣晚粳 19 号)	[27]
1956 份水稻种质资源 1956 rice accessions	河南省开封市	猷改 B、CHIEM TONG NHAT 1、C 166-135 和 SAHEL 108	[28]

5 水稻抗黑条矮缩病基因/QTL 的定位

RBSDVD 的抗病性研究相比粮食作物的其他病害研究相对较晚,由于人工接种难度大,自然鉴定的可靠性较差,从而制约了规模化的 RBSDVD 抗性鉴定和筛选,导致用于抗病基因/QTL 定位和抗病育种的理想抗源材料较少,目前利用遗传作图群体和自然群体定位到了一些重要抗病位点。

多数 RBSDVD 抗病位点是从抗感品种杂交分离群体中定位获得的。潘存红等^[30]发现珍汕 97B/明恢 63 重组自交系群体中明恢 63 对 RBSDVD 的抗性为数量性状,定位到的 6 个 QTL 的抗性等位基因均来自抗性亲本明恢 63,其中在 6、7、9 号染色体上的 4 个 QTL 在 2 个试验地点均能被检测到,特别是位于 6 号染色体的 2 个紧密连锁的 QTL (*qRBSVDV-6*) LOD 值分别为 12.09 和 9.77,贡献率分别为 20.20% 和 18.68%,是稳定表达的主效 QTL。李爱宏等^[31]验证了 *qRBSVDV-6^{MH}* 位于 6 号染色体标记 RM7158 与 RM587 区间内, Li 等^[32]进一步将 *qRBSVDV-6^{MH}* 定位在 6 号染色体的分子标记 *S18* 和 *S23* 间的 627.6 kb 区间里。王宝祥等^[22]利用 Koshihikari/桂朝 2 号的 RIL 群体,在 3 号染色体 RM7~RM5748 标记间定位了 1 个 RBSDVD 抗性 QTL (*qRBSVDV-3*),贡献率为 17.1%,源自日本的粳稻品种 Koshihikari (发病率约 7.5%) 的等位基因增强了 RBSDVD 的抗性。王英^[33]利用淮稻 5 号/Tetep 的 138 个 F_{2,3} 家系进行 RBSDVD 的人工接种鉴定,检测到 4 个抗病性 QTL,其中 5 号染色体位于 RM430~RM440 之间的 *qRBSVDV-2*,贡献率最高,达 24.58%,是主效 QTL。Zhou 等^[34]从同一群体检测出 2 个抗病 QTL, *qRBSVDV-3* 位于 3 号染色体的标记 RM5626~RM7097 之间,贡献率为 17.5%, *qRBSVDV-11* 位于 11 号染色体的 RM202~RM7120 之间,贡献率为 12.4%,两抗性基因均来自于抗病品种 Tetep。Zheng 等^[35]利用特青与 Lemont 杂交构建的双向回交导入系群体与 119 个种质资源自然群体为材料,从双向导入系群体中鉴定出 11 个 RBSDVD 的抗性 QTL,其中 7 个在种质资源群体中得到验证。进一步比较前人检测到的抗灰飞虱的 QTL 位置,发现位于 2、3 和 8 号染色体上的 3 个抗病 QTL 可能来自于抗虫性,而另 2 个 QTL 位点与潘存红等^[30]报道的 QTL 位点相接近。Zhang 等^[36]利用 L5494/IR36 RIL 群体 3 年鉴定数据定位到 12 个 RBSDVD 的抗性 QTL,分

别位于 1、6、8、9 号染色体上。Sun 等^[27]使用高抗品种 9194 与感病品种苏御糯配制的 F_{2,3} 群体,定位到了 4 个 QTL (*qRBSVDV3*、*qRBSVDV6*、*qRBSVDV9* 和 *qRBSVDV11*),其中 *qRBSVDV6*、*qRBSVDV9* 和 *qRBSVDV11* 2 年贡献率变幅分别为 10.3%~16.7%、8.3%~35.5% 和 20.0%~31.1%,分别定位在 6 号染色体的 RM20069~RM30, 9 号染色体的 YY-12~RM257, RM26073~RM26233 之间。Xu 等^[37]对 WR24 与苏御糯配制的 F_{2,3} 群体进行鉴定,发现了 5 个 RBSDV 抗性 QTL (*qRBSVDV3*、*qRBSVDV6*、*qRBSVDV7*、*qRBSVDV9* 和 *qRBSVDV11*),其抗病等位基因均来自 WR24。由于遗传群体大小和传统分子标记数量有限,上述这些 QTL 的定位结果很初步,大多数 QTL 的区间偏大,目前只有少数主效 QTL 被应用于水稻抗 RBSDV 分子育种。

近年来,由于基因组重测序和基因芯片技术的快速发展,全基因组关联研究 (GWAS, genome-wide association study) 成为复杂作物性状基因定位的有效方法。Feng 等^[38]利用 420 份水稻种质,通过 44000 个 SNP 标记阵列进行基因分型,在自然接种条件下检测到与 RBSDV 抗性相关的 2 个位点 *qRBSVDV-4.2* 和 *qRBSVDV-6.3*。Xiao 等^[39]基于自然接种条件下对 181 个家系的重组自交系群体进行抗病 QTL 定位,分别在第 5 和第 6 号染色体上各定位到 1 个抗性 QTL,随后对从 72 个国家或地区收集的 1070 份不同的水稻种质资源进行了 1 年田间自然接种 RBSDVD 抗性鉴定,关联分析定位验证了连锁分析定位到的一个显著位点 *qRBSVDV6*。Liu 等^[28]利用来自 3000 水稻基因组项目 (3K RGP) 中 1953 份不同的水稻种质资源多年自然鉴定结果,结合超高密度 SNP 数据以单位点方法检测了 10 个与 RBSDV 抗性相关的基因区域 (GRs, genomic regions),其中 5 个 GRs (*grRBSVDV-1.1*、*grRBSVDV-6.1*、*grRBSVDV-6.3*、*grRBSVDV-7.1* 和 *grRBSVDV-9.1*) 在多位点 GWAS 中重复被鉴定到, *grRBSVDV-6.1* 被定位到 118.66 kb 的区间内。

综上所述,利用传统的抗感分离群体定位与自然群体高通量 SNP 关联定位到共同的重要位点有 *qRBSVDV1*、*qRBSVDV4*、*qRBSVDV5*、*qRBSVDV6* 和 *qRBSVDV9*,其中 *qRBSVDV6* 被多个遗传作图群体和自然群体定位到,是稳定表达的重要主效 QTL (表 2)。虽然目前已鉴定了一些抗 RBSDVD 的 QTL,但由于抗 RBSDVD 表型鉴定困难,目前未有抗 RBSDVD 基因被克隆。

表 2 水稻中已定位到的抗水稻黑条矮缩病 QTLs

Table 2 QTLs identified for rice black-streaked dwarf virus (RBSDV) resistance in rice

位点 Locus	染色体 Chr.	区间(标记或物理位置(bp)) Interval (marker or physical position (bp))	群体 Population	参考文献 Reference
<i>qRBSDV1</i>	1	RM473A~M128	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV1-1</i>	1	RM6703~RM3738	L5494 和 IR36 RIL 群体	[36]
<i>qRBSDV1-2</i>	1	AP-39.6~RM104	L5494 和 IR36 RIL 群体	[36]
<i>qRBSDV-1.1</i>	1	2098423~2727493	420 份种质	[38]
<i>grRBSDV-1.1</i>	1	2677974~26807063	1953 份种质	[28]
<i>qRBSDV2</i>	2	RM324~RM341	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV-2.1</i>	2	19545113~29737544	420 份种质	[38]
<i>qRBSDV3a</i>	3	RM251~RM282	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV3b</i>	3	RM168~RM143	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV-3</i>	3	RM5626~RM7097	Tetep 和淮稻 5 号 F ₂ 群体	[34]
<i>qRBSDV-3</i>	3	RM7~RM5748	Koshihikari/ 桂朝 2 号 RIL 群体	[22]
<i>qRBSDV3</i>	3	RM7~RM282	WR24 和苏育糯 F _{2,3} 群体	[37]
<i>qRBSDV-3.1</i>	3	16421475~16550808	420 份种质	[38]
<i>qRBSDV-3.2</i>	3	29724621~29737544	420 份种质	[38]
<i>qRBSDV-3.3</i>	3	27699444~28028330	420 份种质	[38]
<i>qRBSDV4a</i>	4	RM261~RM119	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV4b</i>	4	RM252~RM470	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV-4.1</i>	4	1875972~1876773	420 份种质	[38]
<i>qRBSDV-4.2</i>	4	4172738~5255769	420 份种质	[38]
<i>qRBSDV5</i>	5	RM159~RM13	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV5-2</i>	5	RM430~RM440	淮稻 5 号 /Tetep 的 138 个 F _{2,3} 群体	[33]
<i>qRBSDVD5</i>	5	id5006085~id5007879	1070 份种质和 W5686 与苏育糯 RIL 群体	[39]
<i>qRBSDV6</i>	6	RM20069~RM30	9194 与苏御糯的 F _{2,3} 群体	[27]
<i>qRBSDV-6</i>	6	R2869~R3139	珍汕 97B 和明恢 63 RIL 群体	[30]
<i>qRBSDV-6</i>	6	R3139~Waxy	珍汕 97B 和明恢 63 RIL 群体	[30]
<i>qRBSDV-6^{MH}</i>	6	S18~S23	淮稻 5 号和明恢 63 NIL 群体	[31-32]
<i>qRBSDV6</i>	6	RM190~RM204	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV-6-1</i>	6	RM19234~CHR6-1	L5494 和 IR36 RIL 群体	[36]
<i>qRBSDV-6-2</i>	6	CHR6-1~CHR6-2	L5494 和 IR36 RIL 群体	[36]
<i>qRBSDV6</i>	6	RM19976~RM20069	WR24 和苏育糯 F _{2,3} 群体	[37]
<i>grRBSDV-6.1</i>	6	1090697~1209356	1953 份种质	[28]
<i>qRBSDV-6.1</i>	6	7835229~7840016	420 份种质	[38]
<i>qRBSDV-6.2</i>	6	10959905~11106570	420 份种质	[38]
<i>grRBSDV-6.3</i>	6	18017382~18139869	1953 份种质	[28]
<i>qRBSDV-6.3</i>	6	17993684~19865608	420 份种质	[38]
<i>qRBSDVD6</i>	6	id6000743~RM3414	1070 份种质和 W5686 与苏育糯 RIL 群体	[39]
<i>qRBSDV-7</i>	7	RG128~RG678	珍汕 97B 和明恢 63 RIL 群体	[30]
<i>qRBSDV7</i>	7	RM6776~RM542	WR24 和苏育糯 F _{2,3} 群体	[37]

表 2 (续)

位点 Locus	染色体 Chr.	区间 (标记或物理位置 (bp)) Interval (marker or physical position (bp))	群体 Population	参考文献 Reference
<i>grRBSDV-7.1</i>	7	22870391~22992922	1953 份种质	[28]
<i>qRBSDV8</i>	8	RM25~RM72	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV8-1</i>	8	RM6356~RM5556	L5494 和 IR36 RIL 群体	[36]
<i>qRBSDV-8.1</i>	8	16332728~16524733	420 份种质	[38]
<i>qRBSDV-8.2</i>	8	19756382~19826236	420 份种质	[38]
<i>grRBSDV-9.1</i>	9	13077026~13096078	1953 份种质	[28]
<i>qRBSDV-9</i>	9	RM257~RM215	珍汕 97B 和明恢 63 RIL 群体	[30]
<i>qRBSDV9</i>	9	RM215~RM205	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV-9-1</i>	9	RM242~RM160	L5494 和 IR36 RIL 群体	[36]
<i>qRBSDV9</i>	9	RM160~RM24718	WR24 和苏育糯 F _{2,3} 群体	[37]
<i>qRBSDV9</i>	9	YY-12~RM257	9194 与苏御糯的 F _{2,3} 群体	[27]
<i>qRBSDV-10</i>	10	RM216~RM311	Tetep 和淮稻 5 号 F ₂ 群体	[34]
<i>qRBSDV11</i>	11	RM26073~RM26233	9194 与苏御糯的 F _{2,3} 群体	[27]
<i>qRBSDV11</i>	11	RM330A~RM224	Lemont 和特青 RIL 群体	[35]
<i>qRBSDV-11</i>	11	RM202~RM7120	Tetep 和淮稻 5 号 F ₂ 群体	[34]
<i>qRBSDV11</i>	11	RM536~RM202	WR24 和苏育糯 F _{2,3} 群体	[37]
<i>qRBSDV-11.1</i>	11	9028442~9075159	420 份种质	[38]

6 抗水稻黑条矮缩病的分子机理

在植物寄主与病毒长期的共进化过程中,病毒能够利用多种方法改变宿主的细胞环境,从而更有利于自身复制和传播。目前已知与水稻寄主互作的 RBSDV 蛋白有 5 个 (P5-1、P7-1、P7-2、P8、P10), 其中 2 个 (P7-1、P10) 与感病基因互作, 其他 3 个 (P5-1、P7-2、P8) 参与植物激素调控。为了应对病毒的侵染, 植物也建立了多种防御机制。

6.1 抗病与病毒之间的关系

植物抗病毒的防御机制是最直接有效的一种抗病分子机制, 主要分为 3 种: (1) 抑制病毒增殖: 当植物病毒侵入植物寄主细胞后, 需依赖植物寄主细胞内的核糖体、酶以及其他必需物质来进行自身复制, 但当植物复制和翻译系统中相关蛋白发生了功能丧失或构象发生了改变, 病毒则无法完成增殖, 从而植株产生对该病毒的抗性。 (2) 限制病毒移动: 病毒胞间移动需要许多寄主蛋白协助完成, 但当这些蛋白构象改变或功能缺失, 病毒在寄主体内的移动会被限制。R (Resistance) 基因介导的病毒抗性属于限制病毒移动的抗病机制, 植物能通过 R 蛋

白识别病毒编码的无毒效应子来主动识别病毒, 并启动防御机制, 引发过敏性坏死 (HR, hypersensitive response) 以限制病毒进一步侵染。 (3) RNA 沉默介导的抗病毒途径: 病毒在侵染植物过程中形成了病毒特异性的 dsRNA, 其被 Dicer 内切酶剪切、加工形成了 siRNA (Short interfering RNA), 然后与引导互补靶病毒 RNA 的特异性切割的 AGO 蛋白结合形成了 RNA 诱导沉默复合体 (RISC, RNA-induced silencing complex), 进而参与寄主植物中 RNA 沉默过程^[40]。

目前只有玉米中有 1 个抗 RBSDV 基因被克隆。Liu 等^[41]通过图位克隆的方法定位到 1 个编码囊泡运输关键的 RabGDI α (Rab GDP dissociation inhibitor alpha) 基因与抗玉米粗缩病有关。野生型的 *ZmGDI α* 为感病等位基因, 当 helitron 转座子插入到内含子 10 后转变成抗病等位基因 *ZmGDI α -hel*。helitron 转座子的插入会引起可变剪接, 使野生型中的外显子 10 被 helitron 转座子的一段序列所取代, 成为新的外显子 10, 其余编码序列不变。Rab GDP 解离抑制因子是囊泡运输所必需的。同时研究者还发现 RBSDV 编码的 P7-1 蛋白是病毒的致病因子, 病毒侵染玉米后, P7-1 蛋白与 ZmGDI α 蛋

白的外显子 10 和 C 端结合,利用寄主 ZmGDI α 的囊泡运输功能帮助病毒 P7-1 蛋白在胞内移动,从而有利于病毒的复制和通过胞间连丝通道在细胞间移动,最终导致感病(表 3)。相反,P7-1 蛋白与抗病 ZmGDI α -hel 蛋白中新的外显子 10 结合能力很弱,不利于 P7-1/ZmGDI α 移动复合体的组装,从而影响病毒复制和细胞间移动,达到部分抗病的目的。*ZmGDI α -hel* 的克隆,有利于发掘其他作物(如小麦,水稻等)类似的抗 RBSDV 基因,从而为作物的安全生产提供必要的保障。

6.2 抗病与抗虫的关系

由于 RBSDV 是由灰飞虱传播的病毒病,其抗性可分为对病毒的抗性、对传播介体灰飞虱的抗性和对两者的抗性。目前水稻中抗灰飞虱基因定位的报道较少。段灿星等^[42]从 25 份水稻品种中筛选到品种 Mudgo 抗灰飞虱,并发现 3 个抗灰飞虱的 QTL (*qSBPH2b*、*qSBPH3d* 和 *qSBPH12*),分别定位于 2、3 和 12 号染色体,但其贡献率均不高。Duan 等^[43]发现 Kasalath 籼稻品种含有 3 个趋避性 QTL 和 2 个抗性 QTL,分别定位于 2、3、8 和 11 号染色体,其中定位于 11 号染色体 S2260 和 G257 之间的 *qSBPH 11* 可能是 Kasalath 中抗灰飞虱的主效 QTL。Wang 等^[44]在籼稻品种 N22 中发现有 5 个分别定位于 2、3、5、7 和 11 号染色体的抗灰飞虱 QTL (*qSBPH2*、*qSBPH3*、*qSBPH5*、*qSBPH7* 和 *qSBPH11*),其中 *qSBPH7* 通过 3 种不同的表型鉴定方法,均定位在第 7 号染色体 RM234 与 RM429 之间,可能是 N22 中的抗灰飞虱主效位点。Zhang 等^[45]在水稻 3、7 和 12 号染色体上分别鉴定到 3 个抗灰飞虱的 QTL。

由于暂时没有抗灰飞虱基因被克隆,故相关抗灰飞虱的分子机制报道甚少。Huang 等^[46]发现灰

飞虱唾液中的 DNase II 抑制植物胍胍质形成和过氧化氢积累。而当食草昆虫攻击植物后也会激活茉莉酸(JA, jasmonic acid)防御机制。为了应对食草昆虫的挑战,植物进化出了复杂的防御系统,其中脂源性植物激素茉莉酸盐起着至关重要的作用。对昆虫局部和系统性攻击的感知引发茉莉酸盐的快速合成,F-box 蛋白 COII 感知茉莉酸盐以进一步招募 JA-ZIM 结构域蛋白(JAZ)抑制因子进行泛素化和降解,从而释放 JAZ 结合的 MYB 转录因子,来激活 JA 响应基因的表达,随后激活植物对昆虫攻击的防御^[47]。Ji 等^[48]发现灰飞虱分泌到水稻植株中卵黄生成素(Vg, vitellogenin)的 C 端多肽(VgC)是一种可减弱寄主水稻的防御能力的新型效应子,该蛋白通过与植物免疫调节剂的结合有效地削弱了 H₂O₂ 介导的植物防御,进而提高昆虫的取食性能。这些研究揭示了植物与昆虫互作的分子机制,为农作物抗虫育种提供了重要理论依据与新颖的思路。

6.3 抗病与一氧化氮的关系

Lu 等^[49]发现 RBSDV 侵染的水稻可显著诱导一氧化氮(NO)的产生。RBSDV 抗性植株 15HPO187 内源 NO 的含量较高,导致 RBSDV 发病率较低。而在水稻上施用 NO 释放化合物(即硝普钠和亚硝基谷胱甘肽)可降低 RBSDV 的发病率。总的来说,内源 NO 是水稻抗 RBSDV 的重要信号。

6.4 抗病与植物激素的关系

植物激素在植物免疫反应过程中具有重要作用,在不同的植物激素之间存在着广泛的协同或拮抗作用,精细调控植物响应外界胁迫反应。在水稻中,不同植物激素介导的 RBSDV-寄主植物相互作用的机制也不同(图 1),且植物成功抵御病原体入侵的能力依赖于不同激素信号通路之间的串扰。

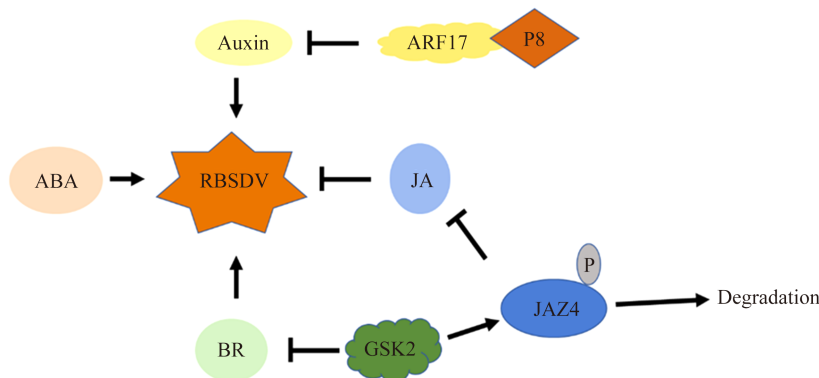


图 1 在水稻黑条矮缩病毒侵染时植物激素功能示意图

Fig. 1 Schematic representation of plant hormone function in RBSDV infection

脱落酸 (ABA, abscisic acid) 可介导植物对 RBSDV 的防御。倪海平等^[50]发现水稻日本晴和淮稻 5 号 2 个品种人工接种 RBSDV 后可能既影响了 ABA 合成也影响了 ABA 分解, 两者共同作用导致 ABA 含量增加。Xie 等^[51]发现 ABA 通过抑制 JA 途径和调节活性氧水平来调节水稻与 RBSDV 的相互作用, 首次说明了 ABA 会增加对植物病毒易感性。

生长素也会介导植物抗 RBSDV 的防御。Zhang 等^[52]发现 RBSDV 侵染后生长素信号通路明显下调。过表达生长素信号抑制物 OsIAA20 和 OsIAA31 的突变体对 RBSDV 更敏感。生长素信号突变体抑制了 JA 途径基因对 RBSDV 的诱导, 表明 JA 途径的激活可能是生长素信号介导的水稻抗 RBSDV 防御的一部分。植物生长素反应因子 (ARF, auxin response factor) 是生长素信号传导中一类重要的关键转录调节因子, Zhang 等^[53]发现 RBSDV 的 P8 蛋白干扰 OsARF17 的二聚化并抑制其转录激活能力, 最终削弱了 OsARF17 介导的抗病毒防御。

JA 在植物与病毒相互作用中非常重要。SCF (Skp1/Cullin1/F-box) 复合物是许多细胞过程的关键调控因子, He 等^[54]发现 RBSDV 的非结构蛋白 P5-1 特异性影响 CSN 介导的 OsCUL1 去泛素化, 损害 SCF^{COI1} 复合体的完整性 (表 3)。表明 P5-1 通过与 OsCSN5A 的互作抑制了 SCF E3 连接酶的泛素化活性, 并阻止 CUL1 的糖基化 / 去糖基化, 从而抑制 JA 反应途径, 增强水稻对 RBSDV 的敏感性。油菜素甾醇 (BR, brassinosteroid) 参与调节植物防御系统对 RBSDV 的反应。Zhang 等^[55]发现外施油菜素甾醇 (BR) 使水稻对 RBSDV 更敏感, BR 缺陷型和不敏感型突变体都对 RBSDV 有抗性。BR 介导的易感性至少部分是由抑制防御激素水杨酸和 JA 的作用引起的, 阻止了过氧化物酶介导的氧化爆发的积累。He 等^[56]进一步研究发现 JA 和 BR 途径在 RBSDV 侵染水稻过程中发挥着不同作用。JA 途径在水稻抵抗 RBSDV 侵染过程中发挥正调控作用, 而 BR 途径发挥负调控作用, 同时 JA 途径诱导的水稻抗病性抑制 BR 途径诱导的水稻易感性。除此以外, 由于 OsGSK2 是 BR 信号传导的关键抑制因子, He 等^[57]利用转基因水稻发现 OsGSK2 一方面抑制了 BR 途径介导的 RBSDV 侵染敏感性, 另一方面, OsGSK2 与 OsJAZ4 互作, 促使 OsNINJA-OsJAZ4 和 OsJAZ-OsJAZ11 复合体解离, 游离的 OsJAZ11

和 OsJAZ4 通过 26S 蛋白酶体降解, 从而激活 JA 应答及 JA 途径介导的水稻抗病毒防卫反应。该研究揭示了 OsGSK2 通过整合 JA 和 BR 途径正调控水稻防御病毒的分子机制, 为今后挖掘、创制优良的抗性种质资源, 自源头控制 RBSDVD 的危害奠定基础。

此外, RBSDV 可能干扰不同的植物激素串扰途径, 以抵消植物免疫反应 (表 3)。GID2 是赤霉素 (GA, gibberellin) 信号通路的重要调节因子, 已被证实 RBSDV 编码的 P7-2 蛋白与水稻和玉米中的赤霉素不敏感矮秆 2 (GID2) 互作, 对调节 GA 信号通路至关重要^[58]。而 RBSDV 衣壳蛋白 P10 可能通过抑制水杨酸 (SA, salicylic acid) 和 JA 的应答基因而具有毒力功能^[59]。

表 3 与植物互作的水稻黑条矮缩病病毒蛋白

Table 3 Summary of RBSDV proteins in plant-virus interactions

RBSDV 蛋白	宿主互作因子	发病机制中的作用	参考文献
RBSDV Protein	Host interacting factor	Role in pathogenesis	Reference
P5-1	CSN5A	抑制 JA 介导的防御途径	[54]
P7-1	RabGDIa	利于病毒侵染	[41]
P7-2	GID2	在病毒侵染中可能调控 GA 途径	[58]
P8	OsARF17	削弱 OsARF17 介导的抗病毒防御途径	[53]
P10	-	抑制病毒侵染中某些防御相关基因 (DrG)	[59]

- 代表无数据

- represents data unavailable

病毒侵染植物后植物激素生物合成和信号通路的破坏极其复杂。目前在阐明病毒感染期间不同植物激素间串扰的分子生物学机制方面已经取得了重大进展。内源性植物激素水平的变化似乎是病毒侵染的直接后果, 并与病毒运动、复制、症状发展和防卫反应密切相关。劫持植物激素途径中的宿主成分也是一个常见的病毒发病机制的策略。植物激素信号网络与病毒侵染之间相互作用的演变是一个反复出现的主题。目前的研究正在扩展关于宿主操纵假说的知识, 以及病毒感染期间植物激素信号网络的改变、保守性和多元性。未来几年的挑战在于确定植物激素在植物-病毒互作中的作用以及不同激素途径之间的串扰, 并将模式物种获得的基本知识

应用在作物上。

7 水稻抗黑条矮缩病育种

由于该病害的传播特性,水稻对其抗性分为对病毒的抗性和对传播介体昆虫飞虱的抗性。从抗病育种效果来说,无论是抗介体昆虫还是抗病都能减轻黑条矮缩病对水稻的危害,但真正意义上的抗黑条矮缩病必须是抗黑条矮缩病病毒本身,对病毒的抗性更为重要,当然兼抗介体昆虫和病毒的双抗品种是首选。

水稻抗黑条矮缩病育种方法分为常规育种和分子育种,常规育种方法通过对育种材料在病圃自然抗性鉴定,选择抗病个体杂交、回交或复交培育抗病品种,其抗性鉴定和选择的效率和准确性较低。而分子育种方法利用与抗病表型相关的标记基因型信息来筛选个体,是在 DNA 水平上的遗传操纵,不受环境条件的影响,因而可以大大提高选择的准确性和可靠性,具有明显的优越性。分子育种方法主要包括分子标记辅助选择(MAS, marker-assisted selection)育种、基因编辑和 RNA 干扰转基因技术育种。

分子标记辅助选择育种是通过鉴定与抗病基因紧密连锁的分子标记基因型来筛选带有抗病基因的个体。Li 等^[32]以 6 号染色体上带有 *qRBSVD-6^{MH}* 主效 QTL 的 MH63 为供体,通过 MAS 将抗病基因导入高感粳稻品种淮稻 5 号,获得 7 个回交自交系,通过自然接种和人工接种发现所有的 BIL 的 RBSVD 抗性均显著高于轮回亲本。说明 *qRBSVD-6^{MH}* 是一个稳定的具有较高育种价值的主效抗病 QTL。Liu 等^[41]使用标记辅助回交策略,将玉米供体材料 1145 的 *ZmGDI α -hel* 导入众多精品近交系。与原来的同源 *ZmGDI α* 基因型 Chang7-2 相比,具有同源 *ZmGDI α -hel* 基因型的 Chang7-2 对 MRDD 的抗病力明显高。目前基于 MAS 的 RBSVD 育种的主要制约因素是稳定表达且效应大的主效抗病 QTL 太少,而且 QTL 的定位区间仍然偏大。

基因编辑技术是通过利用工程核酸酶来诱导基因产生 DNA 双链断裂,进而激活细胞内源修复机制,实现对目的基因的精确修饰(替换、插入或缺失)^[60]。其中 CRISPR/Cas9 系统可在特定位置切割 DNA 双链,诱导细胞进行自主修复,从而实现有效的定点基因编辑^[61]。目前可通过对感病基因的基因编辑获得具有遗传稳定性的材料,从而选育

出抗病性的水稻品种。Hu 等^[62]对 BRI1 激活突变体 *bril-D* 的水稻条纹病毒抗性进行了评价,与对照相比, *bril-D* 更具抗性,此材料可用于抗水稻纹枯病育种改良。Wei 等^[63]通过编辑 *Xa23* 基因启动子改良感病品种的白叶枯病抗性。利用 CRISPR/Cas9 介导的同源性定向敲除在其他易感 *xa23* 等位基因上 EBE_{AvrXa23} 基因,成功地将白叶枯病敏感水稻品种 Nipponbare 转化为白叶枯病抗性株系,建立了编辑广谱白叶枯病抗性水稻的新策略。由于水稻目前还没有克隆出 RBSVD 感病基因,因此迄今还没有基因编辑改良水稻黑条矮缩病的报道。

RNA 干扰(RNAi)能特异性地沉默目的基因的表达,因此通过 RNAi 可获得高抗 RBSVD 的转基因材料。对病毒自身基因进行 RNAi,以此来抑制病毒在宿主体内的表达,提升 RBSVD 抗性,通过 RNAi 高效特异性来实现植物抗病毒,该技术在分子抗病毒水稻育种中具有广泛应用的前景。Takumi 等^[64]对 RBSVD 的表达蛋白 P9-1 进行了干扰,共获得 5 个转基因株系,人工接种鉴定均表现为 RBSVD 高抗甚至免疫,且其农艺性状和野生型一致。尹鲜思等^[65]针对 RBSVD 核心粒子外壳蛋白基因(S8)构建 RNAi 载体,经农杆菌介导转化 RBSVD 高感材料武陵粳 1 号,获得高表达转基因纯系植株,人工接种发现转基因水稻材料对 RBSVD 具有一定抗性,为抗 RBSVD 育种和种质创新提供了新的抗病基因资源和种质材料,若结合无筛选标记基因技术,可创制安全的抗 RBSVD 新种质。Wang 等^[66]用 RBSVD 的 S1、S2、S6 和 S10 基因的部分编码序列构建了 RNAi 载体,并将其转入感病品种 Kitaake 中,获得了农艺性状与野生型无明显差异的 9 个转基因株系。转基因植株通过田间自然接种和室内人工接种鉴定表型均高抗 RBSVD。左示敏等^[67]以 RBSVD 的 S6 基因构建了 RNAi 载体,将其转入感病品种 WLJ1,发现 RNAi 转基因植株高抗 RBSVD,目前 S6 基因的 RNAi 结构已获得了专利授权。由于目标载体含有筛选标记抗潮霉素基因,为避免外源转基因产物对人体可能带来潜在的威胁,邹捷^[68]对获得的抗 RBSVD 的 RNAi 转基因材料采用无筛选标记基因技术,创制了具有育种价值的抗 RBSVD 转基因水稻新材料。Sun 等^[69]基于水稻 *osa-MIR528* 前体的结构构建了针对 RBSVD CP 基因近端部分的三聚体 amiRNA 前体表达载体,转基因水稻植株在低温下表现高抗 RBSVD。魏朗^[70]采用双 T-DNA 转

化方法,利用水稻绿色组织特异表达启动子 *OsrbcS* 驱动 *S6 RNAi* 表达,将其转化到感病粳稻品种淮稻 5 号中,获得 5 个 *OsrbcS::S6RNAi* 的无标记转基因系,可用作农艺性状较好的绿色组织特异表达的无标记抗黑条矮缩病转基因水稻育种新材料;并把获得的由组成型启动子 *Ubi* 驱动表达的 *Ubi::S6 RNAi* 高抗 *RBSDVD* 无标记转基因株系,与受体材料 *WLJ1* 杂交,经连续自交世代选育,获得了一批综合性状得到明显改善的改良系品种,这些成果对于进一步培育高抗 *RBSDVD* 转基因水稻提供了丰富的材料资源,具有重要的实际育种意义。

8 未来的挑战与展望

近年来,我国在 *RBSDVD* 种质资源的发掘创新、抗病基因定位、抗病机理和水稻抗黑条矮缩病育种方面取得了阶段性进展,但仍有许多问题需进一步解决,抗黑条矮缩病的研究还有更多的挑战。第一,对现有种质资源进行抗黑条矮缩病田间诱发鉴定,再结合人工接种验证,筛选出更多抗性资源;第二,对抗性基因进行定位,挖掘重要位点的优异抗病等位基因,为分子标记辅助选择和基因编辑育种提供优异抗病基因信息,加快抗黑条矮缩病育种进程;第三,对 *RBSDVD* 的抗病分子机理进行研究,更好地更有效地利用抗性资源。

目前水稻已完成了 3000 份种质资源材料的基因组重测序工作。高质量的基因组序列和 SNP 数据,为重要抗黑条矮缩病位点的优异等位基因挖掘提供了基础。全基因组关联分析可发现和挖掘更多种质资源群体中的抗病基因,进而分析抗病基因的等位变异和在种质群体中的分布,探索抗病基因起源和演化过程,这方面的工作还正在进行中。进一步阐明这些关键基因及其抗病分子机制,提供改良水稻抗病性的遗传调控新靶点,为通过基因编辑提高作物抗病性提供了一条新途径。抗黑条矮缩病基因编码的蛋白如何识别病毒,如何传递信号并启动抗病反应的具体分子和细胞过程,这些抗病的分子机理有待深入揭示。

参考文献

- [1] Zhou Y, Zhang X M, Wang D D, Weng J F, Di H, Zhang L, Dong L, Zhang H, Zu H Y, Li X H, Wang Z H. Differences in molecular characteristics of segment 8 in rice black-streaked dwarf virus and southern rice black-streaked dwarf virus. *Plant Dis*, 2018, 102(6): 1115-1123
- [2] 朱凤美,肖庆璞,王法明,陈毓苓. 江南稻区新发生的几种稻病. *植物保护*, 1964, 2(3): 100-102
- Zhu F M, Xiao Q P, Wang F M, Chen Y L. Several new rice diseases in Jiangnan rice region. *Plant Protection*, 1964, 2(3): 100-102
- [3] 陈声祥,张巧艳. 我国水稻黑条矮缩病和玉米粗缩病研究进展. *植物保护学报*, 2005, 32(1): 97-103
- Chen S X, Zhang Q Y. Advance in researches on rice black streaked dwarf disease and maize rough dwarf disease in China. *Journal of Plant Protection*, 2005, 32(1): 97-103
- [4] 单绪南,朱恩林,杨普云. 2008 年全国农作物病虫害发生概况、防治进展及 2009 年防控对策. *中国植保导刊*, 2009, 29(5): 16-18
- Shan X N, Zhu E L, Yang P Y. The occurrence, the progress of prevention in 2008 and control measures in 2009 of crop pests and diseases in China. *China Plant Protection*, 2009, 29(5): 16-18
- [5] 刘万才,刘振东,黄冲,陆明红,刘杰,杨清坡. 近 10 年农作物主要病虫害发生危害情况的统计和分析. *植物保护*, 2016, 42(5): 1-9
- Liu W C, Liu Z D, Huang C, Lu M H, Liu J, Yang Q P. Statistics and analysis of crop yield losses caused by main disease and insect pests in recent 10 years. *Plant Protection*, 2016, 42(5): 1-9
- [6] Normile D. Agricultural research. Reinventing rice to feed the world. *Science*, 2008, 321(5887): 330-333
- [7] Wang H D, Chen J P, Wang A G, Jiang X H, Adams M J. Studies on the epidemiology and yield losses from rice black-streaked dwarf disease in a recent epidemic in Zhejiang province, China. *Plant Pathology*, 2009, 58(5): 815-825
- [8] 卮军,张洪程,陆建飞. 江苏省水稻生产 30 年地域格局变化及影响因素分析. *中国农业科学*, 2012, 45(16): 3446-3452
- Nai J, Zhang H C, Lu J F. Regional pattern changes of rice production in thirty years and its influencing factors in Jiangsu province. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(16): 3446-3452
- [9] 周国辉,温锦君,蔡德江,李鹏,许东林,张曙光. 呼肠孤病毒科斐济病毒属一新种:南方水稻黑条矮缩病毒. *科学通报*, 2008, 53(20): 2500-2508
- Zhou G H, Wen J J, Cai D J, Li P, Xu D L, Zhang S G. A new species of *Fijivirus* of Reoviridae: Southern rice black streaked dwarf virus. *Science Bulletin*, 2008, 53(20): 2500-2508
- [10] Tanaka K, Endo S, Kazano H. Toxicity of insecticides to predators of rice planthoppers: Spiders, the mirid bug and the dryinid wasp. *Applied Entomology and Zoology*, 2000, 35(1): 177-187
- [11] 娄永根,程家安. 稻飞虱灾变机理及可持续治理的基础研究. *应用昆虫学报*, 2011, 48(2): 231-238
- Lou Y G, Cheng J A. Basic research on the outbreak mechanism and sustainable management of rice planthoppers. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2011, 48(2): 231-238
- [12] Heong K L, Escalada M M, Huan N H, Ba V K, Quynh P V, Thiet L V, Chien H V. Entertainment-education and rice pest management: A radio soap opera in Vietnam. *Crop Protection*, 2008, 27(10): 1392-1397
- [13] 阮义理,陈声祥,林瑞芬,蒋文烈,金登迪. 水稻黑条矮缩病的研究. *浙江农业科学*, 1984(4): 185-187
- Ruan Y L, Chen S X, Lin R F, Jiang W L, Jin D D. Studies

- on rice black streaked dwarf disease. Zhejiang Agricultural Science, 1984(4): 185-187
- [14] Shikata E, Kitagawa Y. Rice black-streaked dwarf virus: its properties, morphology and intracellular localization. Virology, 1977, 77(2): 826-842
- [15] 周国辉, 张曙光, 邹寿发, 许兆伟, 周志强. 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. 植物保护, 2010, 36(2): 144-146
Zhou G H, Zhang S G, Zou S F, Xu Z W, Zhou Z Q. Occurrence and damage analysis of a new rice dwarf disease caused by southern rice black-streaked dwarf virus. Plant Protection, 2010, 36(2): 144-146
- [16] 周彤, 王英, 吴丽娟, 范永坚, 周益军. 水稻品种抗黑条矮缩病人工接种鉴定方法. 植物保护学报, 2011, 38(4): 301-305
Zhou T, Wang Y, Wu L J, Fan Y J, Zhou Y J. Method of artificial inoculation identification of rice cultivar resistance to rice black-streaked dwarf. Journal of Plant Protection, 2011, 38(4): 301-305
- [17] 周彤, 吴丽娟, 王英, 程兆榜, 季英华, 范永坚, 周益军. 水稻对黑条矮缩病感病生育期研究初报. 华北农学报, 2010, 25(6): 128-131
Zhou T, Wu L J, Wang Y, Cheng Z B, Ji Y H, Fan Y J, Zhou Y J. Preliminary report on the susceptible growth stages of rice to rice black streaked dwarf disease. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2010, 25(6): 128-131
- [18] 王宝祥, 胡金龙, 孙志广, 宋兆强, 卢百关, 周振玲, 樊继伟, 秦德荣, 刘裕强, 江玲, 徐大勇, 万建民. 水稻黑条矮缩病抗性评价方法及抗性资源筛选. 作物学报, 2014, 40(9): 1521-1530
Wang B X, Hu J L, Sun Z G, Song Z Q, Lu B G, Zhou Z L, Fan J W, Qin D R, Liu Y Q, Jiang L, Xu D Y, Wan J M. An evaluation system for rice black-streaked dwarf virus disease and screening for resistant rice germplasm. Acta Agronomica Sinica, 2014, 40(9): 1521-1530
- [19] 秦碧霞, 蔡健和, 李战彪, 黄所生, 崔丽贤, 黄凤宽, 吴碧球, 高汉亮, 麦接超, 谢慧婷. 广西水稻品种抗水稻南方黑条矮缩病鉴定. 南方农业学报, 2014, 45(1): 38-42
Qin B X, Cai J H, Li Z B, Huang S S, Cu L X, Huang F K, Wu B Q, Gao H L, Mai J C, Xie H T. Resistance identification of rice cultivars to southern rice black-streaked dwarf disease in Guangxi. Journal of Southern Agriculture, 2014, 45(1): 38-42
- [20] 廖璇刚, 吴惠玲, 祝增荣. 不同水稻品种对黑条矮缩病发生的影响. 植物保护, 1999, 25(6): 15-17
Liao X G, Wu H L, Zhu Z R. Effects of different rice varieties on the occurrence of black streaked dwarf disease. Plant Protection, 1999, 25(6): 15-17
- [21] 李爱宏, 戴正元, 季红娟, 张小祥, 李育红, 潘存红, 张洪熙, 潘学彪. 不同基因型水稻种质对黑条矮缩病抗性的初步分析. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2008, 29(3): 18-22
Li A H, Dai Z Y, Ji H J, Zhang X X, Li Y H, Pan C H, Zhang H X, Pan X B. Preliminary analysis on resistance of rice black-streaked dwarf viral disease for germplasms with different gene-types. Journal of Yangzhou University: Agricultural and Life Science Edition, 2008, 29(3): 18-22
- [22] 王宝祥, 江玲, 陈亮明, 卢百关, 王琦, 黎光泉, 樊继伟, 程遐年, 翟虎渠, 徐大勇, 万建民. 水稻黑条矮缩病抗性资源的筛选和抗性 QTL 的定位. 作物学报, 2010, 36(8): 1258-1264
Wang B X, Jiang L, Chen L M, Lu B G, Wang Q, Li G Q, Fan J W, Cheng X N, Zhai H Q, Xu D Y, Wan J M. Screening of rice resources against rice black-streaked dwarf virus and mapping of resistant QTL. Acta Agronomica Sinica, 2010, 36(8): 1258-1264
- [23] 卢百关, 程兆榜, 秦德荣, 樊继伟, 刘燕, 潘学彪, 徐大勇. 江苏水稻主栽和候选品种抗黑条矮缩病鉴定. 南方农业学报, 2011, 42(12): 1481-1485
Lu B G, Cheng Z B, Qin D R, Fan J W, Liu Yan, Pan X B, Xu D Y. Identification of resistance to black streaked dwarf disease of main and candidate rice varieties in Jiangsu province. Journal of Southern Agriculture, 2011, 42(12): 1481-1485
- [24] 刘延刚, 陈军, 唐洪杰, 陈香艳, 刘德友, 刘丽娟, 王周亮, 王兰秋. 山东省主要粳稻品种对黑条矮缩病的抗性鉴定. 农业科技通讯, 2014(1): 78-80
Liu Y G, Chen J, Tang H J, Chen X Y, Liu D Y, Liu L J, Wang Z L, Wang L Q. Identification of resistance of main japonica rice varieties to black stripe dwarf disease in Shandong province. Agricultural Science and Technology Newsletter, 2014(1): 78-80
- [25] 王宝祥, 宋兆强, 刘金波, 卢百关, 周振玲, 樊继伟, 秦德荣, 徐大勇. 不同省份水稻品种抗黑条矮缩病鉴定与评价. 西南农业学报, 2014, 27(6): 2365-2369
Wang B X, Song Z Q, Liu J B, Lu B G, Zhou Z L, Fan J W, Qin D R, Xu D Y. Screening and evaluation of rice from different provinces against rice black-streaked dwarf virus disease. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2014, 27(6): 2365-2369
- [26] 方先文, 张云辉, 张所兵, 林静, 汪迎节. 抗黑条矮缩病水稻品种资源的筛选与鉴定. 植物遗传资源学报, 2015, 16(6): 1168-1171
Fang X W, Zhang Y H, Zhang S B, Lin J, Wang Y J. Screening and evaluation of rice resources resistance to rice black-streaked dwarf virus disease. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(6): 1168-1171
- [27] Sun Z G, Liu Y Q, Xiao S Z, Hu J L, Pan G, He J, Xu T T, Huang J, Qiu Z Y, Fan D J, Zhang L, Liu L L, Jiang L, Cheng X N, Zhai H Q, Wan J M. Identification of quantitative trait loci for resistance to rice black-streaked dwarf virus disease and small brown planthopper in rice. Molecular Breeding, 2017, 37(6): 72
- [28] Liu Q, Lan G F, Zhu Y J, Chen K, Shen C C, Zhao X Q, Zhang F, Xu J L, Li Z K. Genome-wide association study on resistance to rice black streaked dwarf disease caused by *Rice black-streaked dwarf virus*. Plant Disease, 2021(105): 607-615
- [29] 李路路, 侯士辉, 张合红, 孙宗涛, 檀根甲, 陈剑平. 水稻黑条矮缩病抗病品种的筛选及其抗病机制初探. 核农学报, 2020, 34(6): 1138-1143
Li L L, Hou S H, Zhang H H, Sun Z T, Tan G J, Chen J P. Screening of rice varieties and preliminary study on the mechanism of rice black-streaked dwarf virus disease resistance. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2020, 34(6): 1138-1143
- [30] 潘存红, 李爱宏, 陈宗祥, 吴林波, 戴正元, 张洪熙, 黄年生, 陈夕军, 张亚芳, 左示敏, 潘学彪. 水稻黑条矮缩病抗性 QTL 分析. 作物学报, 2009, 35(12): 2213-2217
Pan C H, Li A H, Chen Z X, Wu L B, Dai Z Y, Zhang H X, Huang N S, Chen X J, Zhang Y F, Zuo S M, Pan X B.

- Detection of QTL for resistance to rice black-streaked dwarf viral disease. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35 (12): 2213-2217
- [31] 李爱宏, 潘存红, 戴正元, 肖宁, 余玲, 李育红, 张小祥, 张洪熙, 潘学彪. 以标记辅助选择改良江苏主栽粳稻品种“淮稻 5 号”黑条矮缩病抗性. *作物学报*, 2012, 38 (10): 1775-1781
Li A H, Pan C H, Dai Z Y, Xiao N, Yu L, Li Y H, Zhang X X, Zhang H X, Pan X B. Using marker-assisted selection to improve the resistance to rice black-streaked dwarf viral disease of Huaidao 5, an elite *Japonica* rice cultivar in Jiangsu. *Acta Agronomica Sinica*, 2012, 38 (10): 1775-1781
- [32] Li A, Pan C, Wu L, Dai Z Y, Zuo S M, Xiao N, Yu L, Li Y H, Zhang X X, Xue W X, Zhang H X, Pan X B. Identification and fine mapping of *qRBSDV-6^{MH}*, a major QTL for resistance to rice black-streaked dwarf virus disease. *Molecular Breeding*, 2013, 32 (1): 1-13
- [33] 王英. 水稻对黑条矮缩病的抗性遗传分析及基因定位. 南京: 南京农业大学, 2011
Wang Y. Genetic analysis and molecular mapping of QTL for rice black-streaked dwarf virus disease resistance. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011
- [34] Zhou T, Du L, Wang L, Wang Y, Gao C Y, Lan Y, Sun F, Fan Y J, Wang G L, Zhou Y J. Genetic analysis and molecular mapping of QTLs for resistance to rice black streaked dwarf disease in rice. *Scientific Reports*, 2015, 5: 10509
- [35] Zheng T Q, Yang J, Zhong W G, Zhai H Q, Zhu L H, Fan F J, Ali A J, Yang J H, Wang J, Zhu J Y, Uzokwe V N E, Xu J L, Li Z K. Novel loci for field resistance to black-streaked dwarf and stripe viruses identified in a set of reciprocal introgression lines of rice (*Oryza sativa* L.). *Molecular Breeding*, 2012, 29 (4): 925-938
- [36] Zhang H G, Ge Y S, Wang M Y, Liu J N, Si H, Zhang L J, Liang G H, Gu M H, Tang S Z. Mapping QTLs conferring resistance to rice black streaked dwarf disease in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 2016, 212 (2): 323-330
- [37] Xu T T, Liu Y Q, Zhang L, Liu L L, Wang C M, Hu J L, Sun Z G, Pan G, Xiao S Z, He J, Huang J, Qiu Z Y, Fan D J, Jiang L, Cheng X N, Zhai H Q, Wan J M. Mapping of quantitative trait loci associated with rice black-streaked dwarf virus disease and its insect vector in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breeding*, 2018, 137 (5): 698-705
- [38] Feng Z M, Kang H X, Li M Y, Zou L H, Wang X Q, Zhao J H, Wei L, Zhou N N, Li Q Q, Lan Y, Zhang Y F, Chen Z X, Liu W D, Pan X B, Wang G L, Zuo S M. Identification of new rice cultivars and resistance loci against rice black-streaked dwarf virus disease through genome-wide association study. *Rice*, 2019, 12 (1): 49
- [39] Xiao S Z, Wang B X, Liu Y Q, Miao T H, Zhang H L, Wen P Z, He J, Huang J, Liu D M, Qiu Z Y, Liu L L, Liu S J, Jiang L, Cheng X N, Wang C M, Xu D Y, Wan J M. Genome-wide association study and linkage analysis on resistance to rice black-streaked dwarf virus disease. *Molecular Breeding*, 2019, 39 (5): 1-10
- [40] 孙志广. 水稻品种 9194 抗灰飞虱及其传播黑条矮缩病基因的定位. 南京: 南京农业大学, 2017
Sun Z G. Molecular mapping of gene for small brown planthopper and rice black-streaked dwarf virus disease resistance in rice variety 9194. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2017
- [41] Liu Q C, Deng S N, Liu B S, Tao Y F, Ai H Y, Liu J J, Zhang Y Z, Zhao Y, Xu M L. A *helitron*-induced RabGDI α variant causes quantitative recessive resistance to maize rough dwarf disease. *Nature Communications*, 2020, 11 (1): 495
- [42] 段灿星, 程治军, 雷才林, 翟虎渠, 万建民. 利用 Mudgo/ 武育梗 3 号 F₂ 群体分析水稻抗灰飞虱 QTL. *作物学报*, 2009, 35 (3): 388-394
Duan C X, Cheng Z J, Lei C L, Zhai H Q, Wan J M. Analysis of QTLs for resistance to small brown planthopper (*Laodelphax striatellus* Fallén) in rice (*Oryza sativa* L.) using an F₂ population from a cross between Mudgo and Wuyujing 3. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35 (3): 388-394
- [43] Duan C X, Su N, Cheng Z J, Lei C L, Wang J L, Zhai H Q, Wan J M. QTL analysis for the resistance to small brown planthopper (*Laodelphax striatellus* Fallén) in rice using backcross inbred lines. *Plant Breeding*, 2010, 129 (1): 63-67
- [44] Wang Q, Liu Y Q, Hu J L, Zhang Y X, Xie K, Wang B X, Tuyen L, Song Z Q, Wu H, Liu Y L, Jiang L, Liu S J, Cheng X N, Wang C M, Zhai H Q, Wan J M. Detection of quantitative trait loci (QTLs) for resistances to small brown planthopper and rice stripe virus in rice using recombinant inbred lines. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14 (4): 8406-8421
- [45] Zhang W L, Dong Y, Yang L, Ma B J, Ma R R, Huang F D, Wang C C, Hu H T, Li C S, Yan C Q, Chen J P. Small brown planthopper resistance loci in wild rice (*Oryza officinalis*). *Molecular Genetics and Genomics*, 2014, 289 (3): 373-382
- [46] Huang H J, Cui J R, Xia X, Chen J, Ye Y X, Zhang C X, Hong X Y. Salivary DNaseII from *Laodelphax striatellus* acts as an effector that suppresses plant defence. *New Phytologist*, 2019, 224: 860-874
- [47] Wang J, Wu D, Wang Y, Xie D. Jasmonate action in plant defense against insects. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70: 3391-3400
- [48] Ji R, Fu J M, Shi Y, Li J, Jing M F, Wang L, Yang S Y, Tian T, Wang L H, Ju J F, Guo H F, Liu B, Dou D L, Hoffmann A A, Zhu-Salzman K, Fang J C. Vitellogenin from planthopper oral secretion acts as a novel effector to impair plant defenses. *New Phytologist*, 2021, 232 (2): 802-817
- [49] Lu R F, Liu Z Y, Shao Y D, Su J C, Li X J, Sun F, Zhang Y H, Li S, Zhang Y L, Cui J, Zhou Y J, Shen W B, Zhou T. Nitric oxide enhances rice resistance to rice black-streaked dwarf virus infection. *Rice*, 2020, 13 (1): 24
- [50] 倪海平, 徐秋芳, 兰莹, 陈晴晴, 张金凤, 周益军. RBSDV 侵染对水稻 ABA 代谢相关基因表达的影响. *中国水稻科学*, 2015, 29 (3): 319-326
Ni H P, Xu Q F, Lan Y, Chen Q Q, Zhang J F, Zhou Y J. Effect of RBSDV infection on transcriptional expression of abscisic acid metabolism related genes in rice. *Chinises Journal of Rice Science*, 2015, 29 (3): 319-326
- [51] Xie K L, Li L L, Zhang H H, Wang R, Tan X X, He Y Q, Hong G J, Li J M, Ming F, Yao X F, Yan F, Sun Z T, Chen J P. Abscisic acid negatively modulates plant defence against rice black-streaked dwarf virus infection by suppressing the jasmonate pathway and regulating reactive oxygen species levels in rice.

- Plant, Cell & Environment, 2018, 41 (10): 2504-2514
- [52] Zhang H H, Tan X X, Li L L, He Y Q, Hong G J, Li J M, Lin L, Cheng Y, Yan F, Chen J P, Sun Z T. Suppression of auxin signalling promotes rice susceptibility to *Rice black streaked dwarf virus* infection. *Molecular Plant Pathology*, 2019, 20 (8): 1093-1104
- [53] Zhang H H, Li L L, He Y Q, Qin Q Q, Chen C H, Wei Z Y, Tan X X, Xie K L, Zhang R F, Hong G J, Li J, Li J M, Yan C Q, Yan F, Chen J P, Sun Z T. Distinct modes of manipulation of rice auxin response factor OsARF17 by different plant RNA viruses for infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2020, 117 (16): 9112-9121
- [54] He L, Chen X, Yang J, Zhang T Y, Li J, Zhang S B, Zhong K L, Zhang H M, Chen J P, Yang J. *Rice black-streaked dwarf virus*-encoded P5-1 regulates the ubiquitination activity of SCF E3 ligases and inhibits jasmonate signaling to benefit its infection in rice. *New Phytologist*, 2020, 225 (2): 896-912
- [55] Zhang H H, He Y Q, Tan X X, Xie K L, Li L L, Hong G J, Li J M, Cheng Y, Yan F, Chen J P, Sun Z T. The dual effect of the brassinosteroid pathway on rice black-streaked dwarf virus infection by modulating the peroxidase-mediated oxidative burst and plant defense. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2019, 32 (6): 685-696
- [56] He Y Q, Zhang H H, Sun Z T, Li J M, Hong G J, Zhu Q S, Zhou X B, MacFarlane S, Yan F, Chen J P. Jasmonic acid-mediated defense suppresses brassinosteroid-mediated susceptibility to *Rice black streaked dwarf virus* infection in rice. *The New Phytologist*, 2017, 214 (1): 388-399
- [57] He Y Q, Hong G J, Zhang H H, Tan X X, Li L L, Kong Y Z, Sang T, Xie K L, Wei J, Li J M, Yan F, Wang P C, Tong H N, Chu C C, Chen J P, Sun Z T. The OsGSK2 kinase integrates brassinosteroid and jasmonic acid signaling by interacting with OsJAZ4. *The Plant Cell*, 2020, 32 (9): 2806-2822
- [58] Tao T, Zhou C J, Wang Q, Chen X R, Sun Q, Zhao T Y, Ye J C, Wang Y, Zhang Z Y, Zhang Y L, Guo Z J, Wang X B, Li D W, Yu J L, Han C G. *Rice black streaked dwarf virus* P7-2 forms a SCF complex through binding to *Oryza sativa* SKP1-like proteins, and interacts with GID2 involved in the gibberellin pathway. *PLoS ONE*, 2017, 12 (5): e0177518
- [59] Zhang H H, Tan X X, He Y Q, Xie K, Li L L, Wang R, Hong G J, Li J, Li J M, Talianky M, MacFarlane S, Yan F, Chen J P, Sun Z T. Rice black-streaked dwarf virus P10 acts as either a synergistic or antagonistic determinant during superinfection with related or unrelated virus. *Molecular Plant Pathology*, 2019, 20 (5): 641-655
- [60] 张白雪, 孙其信, 李海峰. 基因修饰技术研究进展. *生物工程学报*, 2015, 31 (8): 1162-1174
Zhang B X, Sun Q X, Li H F. Advances in genetic modification technologies. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2015, 31 (8): 1162-1174
- [61] 周文甲, 田晓杰, 任月坤, 魏祥进, 高扬, 谢黎虹, 刘华招, 卜庆云, 李秀峰. 利用 CRISPR/Cas9 创造早熟香味水稻. *土壤与作物*, 2017, 6 (2): 146-152
- Zhou W J, Tian X J, Ren Y K, Wei X J, Gao Y, Xie L H, Liu H Z, Bu Q Y, Li X F. Breeding of early-maturity and fragrant rice via CRISPR/Cas9 mediated genome editing. *Soils and Crops*, 2017, 6 (2): 146-152
- [62] Hu J L, Huang J, Xu H S, Wang Y S, Li C, Wen P Z, You X M, Zhang X, Pan G, Li Q, Zhang H L, He J, Wu H M, Jiang L, Wang H Y, Liu Y Q, Wan J M. Rice stripe virus suppresses jasmonic acid-mediated resistance by hijacking brassinosteroid signaling pathway in rice. *PLoS Pathogens*, 2020, 16 (8): 1-2
- [63] Wei Z, Abdelrahman M, Gao Y, Ji Z Y, Mishra R, Sun H D, Sui Y, Wu C Y, Wang C L, Zhao K J. Engineering broad-spectrum resistance to bacterial blight by CRISPR-Cas9-mediated precise homology directed repair in rice. *Molecular Plant*, 2021, 14 (8): 1215-1218
- [64] Takumi S, Eiko N K, Fusamich A. Immunity to *Rice black streaked dwarf virus*, a plant reovirus, can be achieved in rice plants by RNA silencing against the gene for the viroplasm component protein. *Virus Research*, 2011, 150: 400-403
- [65] 尹鲜思, 王少岭, 崔益平, 陈秋红, 王国梁, 王志龙. 抗黑条矮缩病转基因材料的鉴定分析. *湖南农业大学学报: 自然科学版*, 2016, 42 (4): 380-385
Yin X S, Wang S L, Cui Y P, Chen Q H, Wang G L, Wang Z L. Identification and analysis of transgenic lines against rice black-streaked dwarf virus. *Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences*, 2016, 42 (4): 380-385
- [66] Wang F Q, Li W Q, Zhu J Y, Fan F J, Wang Jun, Zhong W G, Wang M B, Liu Q, Zhu Q H, Zhou T, Lan Y, Zhou Y J, Yang J. Hairpin RNA targeting multiple viral genes confers strong resistance to rice black-streaked dwarf virus. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016, 17 (5): 705
- [67] 左示敏, 潘学彪, 张亚芳, 陈宗祥, 吴林波, 薛文霞. 一种抗黑条矮缩病载体及抗黑条矮缩病转基因水稻的培育. ZL201310202564.9.2014-12-10
Zou S M, Pan X B, Zhang Y F, Chen Z X, Wu L B, Xue W X. A vector resistant to black streaked dwarf virus and cultivation of transgenic rice resistant to black streaked dwarf virus. ZL201310202564.9.2014-12-10
- [68] 邹捷. 抗黑条矮缩病转基因水稻育种新材料的创制. 扬州: 扬州大学, 2016
Zou J. The creation of the new transgenic rice breeding material with resistance to rice black-streaked dwarf virus disease. Yangzhou: Yangzhou University, 2016
- [69] Sun L, Lin C, Du J W, Song Y Z, Jiang M S, Liu H M, Zhou S M, Wen F J, Zhu C X. Dimeric artificial microRNAs mediate high resistance to RSV and RBSDV in transgenic rice plants. *Plant Cell*, 2016, 126: 127-139
- [70] 魏朗. 抗黑条矮缩病转基因水稻育种新材料的创制. 扬州: 扬州大学, 2019
Wei L. Development of transgenic rice lines with resistance to rice black-streaked dwarf virus disease. Yangzhou: Yangzhou University, 2019