

ICS XX. XXX. XX

CCS X XX

T/JSHS

团 体 标 准

T/JSHS X-202X

大豆抗菜豆普通花叶病毒病评价技术规程

Technical code of practice for evaluation of soybean resistance to Bean common
mosaic virus disease

202X—XX—XX 发布

202X—XX—XX 实施

江苏省园艺学会 发布

目 次

前 言.....	II
1 范围.....	1
2 规范性引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 接种体制备和保存.....	2
5 鉴定条件和试验设计.....	2
6 接种.....	3
7 病情调查.....	3
8 抗性评价.....	4
附录 A（资料性附录）菜豆普通花叶病毒病原和株系.....	5
附录 B（资料性附录）鉴定记载表格.....	7

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》给出的规则编写。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由江苏省园艺学会提出并归口。

本文件起草单位：江苏省农业科学院、中国农业科学院植物保护研究所。

本文件主要起草人：崔晓艳、朱宇翔、李方方、何浩、陈新。

大豆抗菜豆普通花叶病毒病评价技术规程

1 范围

本标准规定了菜豆普通花叶病毒株系的制备与保存、大豆抗菜豆普通花叶病毒病鉴定技术和抗性评价标准。

本标准适用于各类大豆种质资源、品种、品系和材料对菜豆普通花叶病毒病的抗性鉴定和抗性评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 19557.4-2018 植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南 大豆

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

菜豆普通花叶病毒病“**Bean common mosaic virus disease**”

由菜豆普通花叶病毒（BCMV）（参见附录 A 中的 A.1）所引起的以叶部花叶、皱缩、坏死、植株矮化或以上症状并存的大豆病毒性病害。

3.2

抗病性 **disease resistance**

植物体所具有的能够克服或减轻病原物致病作用的可遗传的性状。

3.3

抗病性鉴定 **identification of disease resistance**

通过适宜技术方法鉴别植物对其特定侵染性病害的抵抗水平。

3.4

致病性 **pathogenicity**

病原物侵染寄主植物引起发病的能力。

3.5

人工接种 **artificial inoculation**

在适宜条件下，通过人工操作将接种体接于植物体适当部位。

3.6

抗性评价 **evaluation of resistance**

根据采用的技术标准判别植物寄主对特定病虫害反应程度和抵抗水平的描述。

3.7

株系 strain

同种病毒的不同来源的、血清学相关的、对同一寄主的不同品种具有致病力差异的分离物。

3.8

鉴别寄主 differential host

用于鉴定和区分特定病原物的生理小种/致病性/株系的一套带有不同抗性基因的寄主品种、品系或材料。

3.9

接种体 inoculum

用于接种以引起病害的病原体或病原体的一部分。

3.10

病毒侵染性克隆 infectious clone

用于接种的含有定量接种体的液体。

3.11

病情级别 disease rating scale

定量植物个体或群体发病程度的数值化描述。

3.12

发病株率 percentage of infected plants

一定植株群体中发病植株所占的百分率。

3.13

病情指数 disease index

通过对植株个体发病程度（病情级别）数值的综合计算所获得的群体发病程度的数值化描述形式。

4 接种体制备和保存

采集田间典型菜豆普通花叶病毒病症状的植株叶片，人工汁液摩擦接种法在感病大豆（菜豆）品种上分离纯化菜豆普通花叶病毒分离物，分离物经血清学 and 全基因组测序鉴定，确认其为菜豆普通花叶病毒（Bean common mosaic virus, BCMV），对阳性大豆花叶病毒分离物进行致病性测定，根据在不同抗性的鉴别寄主品种引发的症状反应划分 BCMV 株系（参见 A.2.2），所用品种种子的质量要求按 GB 4404.2 的规定执行。病毒毒源在防虫温（网）室感病大豆品种 Willams82 上扩繁，将具有典型症状的病叶保存在 -80℃ 以下的超低温冰箱内或构建侵染性克隆载体。

5 鉴定条件和试验设计

5.1 鉴定所用仪器设备

紫外灯、植物组织研磨机、电子秤、烧杯、量筒、pH 计、研钵、研棒、接种刷、一次性 PE 手套等，防虫网室（防虫网规格为 60 目）。

5.2 鉴定环境

在防虫温室或田间防蚜网室进行人工接种鉴定，适宜温度在 $(25 \pm 3) ^\circ\text{C}$ 。

5.3 试验设计

鉴定材料随机排列，3 次重复，每份材料每次重复留苗 15 株-20 株。

5.4 试验对照品种

设置 1 个感病对照和 1 个抗病对照。感病对照要求高度感病，选择标准为规定接种量及适宜环境条件下病情指数能达到 50 左右，且感病性稳定；抗病对照选用抗菜豆普通花叶病毒病品种，规定接种量及适宜环境条件下病情指数在 10 以下，且抗病性稳定。为减缓抗病对照、感病对照的抗性变异，可将对照品种在无病地隔离繁殖，冷库保存，一次繁殖，供 5 年以上使用。

5.5 株系选择

选择我国不同大豆生态区流行株系作为鉴定株系。

5.6 鉴定材料

精选待鉴定品种种子，剔除斑驳粒种子。种子质量需符合 GB/T 19557.4-2018 的要求。

6 接种

6.1 接种时期

大豆植株幼苗期真叶完全展开时接种。

6.2 接种方法

采用人工汁液摩擦接种法，从感病品种上采集已鉴定病毒株系的病叶，于灭过菌的研钵中加入病叶量 10 倍的 0.01 mol/L、pH 为 7.4 的磷酸缓冲液进行充分研磨，制备接种体悬浮液。利用紫外灯消毒的接种刷蘸取少量悬浮液，在展开的 2 片真叶上摩擦创造微伤口接种病毒，然后立即用清水冲洗掉多余的接种悬浮液。

6.3 接种前后管理

接种前后杂草及时拔除，温（网）室光照充足，温度控制在 20-28℃，正常防虫、浇水，保证植株正常生长。

7 病情调查

7.1 病情分级

苗期病情分级及相对应的描述见表 1。

表 1 大豆抗菜豆普通花叶病毒病鉴定病情级别划分

病情级别	症状描述
0	无症状反应
1	轻花叶、或部分非接种叶片微泛黄，植株正常生长
2	重花叶、叶片明显黄绿相间的斑驳或轻度皱缩，植株生长接近正常
3	叶片明显皱缩卷曲，明显花叶或黄化或坏死斑超过叶面积 1/2，植株生长不正常
4	叶片严重皱缩，植株矮化或叶片畸形或叶片因坏死脱落，植株停止生长

7.2 调查方法

接种 20 d 至 30d 后，待其症状稳定，根据发病症状，调查并记录每一植株被鉴定种质的病情级别与相应级别的植株数，按式（1）计算病情指数。根据此时的病情指数对待鉴定品种的抗性水平进行评价。

$$DI = \frac{\sum (s \times n)}{N \times S} \times 100 \quad (1)$$

式中:

DI: 病情指数;

s: 各病情级别代表数值;

n: 该病情级别相应植株数, 单位为株;

N: 调查总株数, 单位为株;

S: 最高病情级别代表数值。

8 抗性评价

8.1 抗性评价标准

根据所鉴定品种 3 次重复病情指数的平均值确定品种抗性水平, 划分标准见表 2。

表 2 大豆种质对菜豆普通花叶病毒病抗性的评价标准

抗性水平	病情指数 (DI)
高抗 (HR)	DI=0
抗病 (R)	0<DI≤20
中抗 (MR)	20<DI≤35
中感 (MS)	35<DI≤50
感病 (S)	50<DI≤70
高感 (HS)	DI>70

附录 A

(资料性附录)

菜豆普通花叶病毒病原和株系

A. 1 学名和理化特性

A.1.1 学名

菜豆普通花叶病毒，学名“*Bean common mosaic virus*”，缩写为 BCMV，属于马铃薯 Y 病毒科、马铃薯 Y 病毒属。

A.1.2 理化特性

菜豆普通花叶病毒颗粒呈弯曲线性，长 720-770 nm，宽 12-15 nm，感染的寄主细胞中有风轮状、长薄片状聚集体和圆柱状内含体。菜豆普通花叶病毒粒子由外壳蛋白及单链正义 RNA 组成，病毒颗粒中 RNA 分子量约 3.5×10^6 ，占 5%，蛋白质分子量 3.2×10^4 - 3.5×10^4 ，占 95%。菜豆普通花叶病毒根据不同的株系及环境条件稀释限点为 10^{-4} - 10^{-2} ，致死温度 50℃-65℃，常温下体外存活期 1 d-4 d。

A. 2 菜豆普通花叶病毒株系鉴定方法

A.2.1 鉴别寄主

菜豆普通花叶病毒株系鉴定选用了国内外广泛使用的 12 个大豆品种鉴别寄主：科丰 1 号、南农 1138-2、PI96983、Suweon97、York、Raiden、kwanggyo、Ogden、Marshall、PI507389、L29、V94-5152。

A.2.2 病毒株系

菜豆普通花叶病毒株系在鉴别寄主互作产生的不同症状，见表 A. 1。

表 A 1 菜豆普通花叶病毒不同株系在鉴别品种上的症状反应

株系	科丰 1 号			南农 1138-2			PI96983			Suweon97			York			Raiden			kwanggyo			Ogden			Marshall			PI507389			L29			V94-5152		
	症状	发病率	抗感	症状	发病率	抗感	症状	发病率	抗感	症状	发病率	抗感	症状	发病率	抗感	症状	发病率	抗感	症状	发病率	抗感	症状	发病率	抗感	症状	发病率	抗感	症状	发病率	抗感						
BCM V-RDO	—	0/10	R	M	11/11	S	M	7/14	S	M	4/17	S	M	4/13	S	—	0/11	R	—	0/9	R	M	4/10	S	M	4/8	S	—	0/16	R	M	10/16	S	—	0/12	R

附录 B
(规范性附录)
鉴定记载表格

大豆品种抗菜豆普通花叶病毒病鉴定结果记载表见表 B.1。

表 B 1 _____ 年大豆品种抗菜豆普通花叶病毒病鉴定结果记载表

材料编号	品种/材料名称	重复	病情级别 (株数)					病情指数	平均病情指数	抗性
			0	1	2	3	4			
		1								
		2								
		3								
		1								
		2								
		3								
播种日期 (月/日):					接种日期 (月/日):					
鉴定地点:					接种病毒株系:					
调查日期 (月/日):					鉴定单位:					

鉴定技术负责人 (签字):

江苏省园艺学会团体标准

《大豆抗菜豆普通花叶病毒病评价技术规程》

版权专有 不得翻印