

# 《南方水稻黑条矮缩病毒免疫斑点检测方法》

## 编制说明

### 一、目的意义

水稻是我国重要的粮食作物之一。南方水稻黑条矮缩病是由迁飞性害虫白背飞虱以持久增殖型方式传播南方水稻黑条矮缩病毒（Southern rice black-streaked dwarf virus, SRBSDV）引起的一种恶性水稻病毒病。感染 SRBSDV 的水稻植株矮缩、不抽穗或抽包颈穗，减产严重，甚至绝收。自 2001 年在广东发现后的 8 年间其发病面积扩大了 10 万倍，仅 2011 年我国发生面积就达到 200 万公顷，当前是我国南部稻区危害最严重的水稻病害之一，2023 年、2024 年连续两年在江苏监测到 SRBSDV。因其伤害大、防控难，2020 年和 2023 年南方水稻黑条矮缩病被农业农村部列入《一类农作物病虫害名录》，是其中唯一的病毒病害。

白背飞虱一旦获毒，即终身带毒、传毒，我国 SRBSDV 初侵染源主要为春季迁入的携毒 SRBSDV 白背飞虱，在当地水稻、玉米等禾本科植物上取食后病毒在植物中进行扩繁。扩繁的病毒经二代白背飞虱传播侵染水稻秧苗及分蘖期稻株并造成严重危害。有时该病毒病害的暴发流行与白背飞虱的数量并没有直接关系，而是与白背飞虱的带毒率直接相关。适时检测田间水稻发病情况，白背飞虱带毒与否及准确的带毒率检测是实现南方水稻黑条矮缩病早期精准预测预报的关键。

因此，迫切需要制定南方水稻黑条矮缩病毒的快速、准确的检测方法，统一鉴定诊断标准，提高水稻田间南方水稻黑条矮缩病的测报水平。当前国内外尚无相关检测标准的制定和发布，因此，本规范无国际先进性参照标准，可填补该项技术的空白。为南方水稻

黑条矮缩病的发生区提供科学指导防治、保护生态环境，提高农作物产量和质量具有重要意义。

## 二、任务来源

项目来源文件：《省市场监管局关于下达 2024 年度江苏省地方标准制修订计划的通知》（苏市监标[2024]143 号）。

## 三、编制过程

### 1、申报立项

2023 年准备申报工作,2024 年 1 月 16 日至 2 月 20 日,根据《省市场监管局关于印发 2024 年度江苏省地方标准立项指南的通知》(苏市监标函[2024]14 号)要求,组织编写标准草案及项目申报书,并按时完成申报。2024 年 8 月 19 日,省市场监督管理局下发文件《省市场监管局关于下达 2024 年度江苏省地方标准制修订计划的通知》(苏市监标[2024]143 号),将本标准正式立项。

### 2、成立起草小组

2024 年 8 月 20 日根据《江苏省地方标准管理规定》要求,成立标准起草组,保证人员稳定,明确分工,分清责任;制定标准编制草案,列出标准制定的详细技术内容,严格按照计划进度安排;做好标准的验证工作,保证标准的科学性和可操作性,确保项目的顺利实施。

### 3、标准起草

标准制定小组从 2022 年开始对江苏省水稻田间南方水稻黑条矮缩病发生情况进行了系统监测,同时开展资料收集,在此基础上,于 2023 年 8 月至 2025 年 4 月,多次到市县植保部门调研了解水稻田白背飞虱发生量、带毒情况以及水稻田南方水稻黑条矮缩的发生情况,编制起草了本文件的初稿,经过内部讨论和综合意见,对标准草案进行了整理和修改并形成标准征求意见稿。

#### 4、标准公开征求意见及修改

2025 年 5 月 28 日江苏省农业科学院发布《关于对江苏省地方标准项目《南方水稻黑条矮缩病毒免疫斑点检测方法》征求意见的函》，向扬州大学、南京农业大学、南京师范大学、江苏沿海地区农业科学研究所、江苏丘陵地区镇江农业科学研究所、镇江市农业农村局、宜兴市物保护植物检疫站、江苏金色农业股份有限公司、盐城市大丰区植物保护站、建湖县农业技术综合服务中心等 10 个单位，广泛征求相关方意见，根据意见，进一步完善标准文本及编制说明，并对标准的技术内容进行必要的调查、分析、验证，提高标准质量，形成送审稿。本文件共收到 10 个单位回复，其中 1 个没有意见，视同同意；另有 9 个单位和个人反馈 35 条意见，采纳 27 条，部分采纳 2 条，不采纳 6 条，并对采纳、部分采纳和不采纳的理由做出了说明。

#### 5、标准审查

根据《江苏省地方标准管理规定》（苏市监规〔2023〕7 号），2025 年 12 月 20 日，江苏省市场监督管理局会在南京组织召开了《南方水稻黑条矮缩病毒免疫斑点检测方法》地方标准评审会。专家组听取了起草组关于标准制定的说明，审阅了标准送审材料，逐条审查了标准内容，评审专家组一致同意该标准通过审查，起草单位按照专家组意见对标准进行了修改，形成报批稿。

### 四、主要内容技术指标确立

#### 1、斑点免疫检测方法的确定

为了明确南方水稻黑条矮缩病毒现有检测方法的最佳适用范围，选出适用于田间大批量样本快速检测的方法，对斑点免疫方法、RT-PCR、RT-LAMP 和 Real time RT-PCR 四种检测方法进行了比较研究。结果表明，灵敏性以 Real time RT-PCR 方法最高，其次为

RT-LAMP 方法，而普通 RT-PCR 方法灵敏性相对较低。四种检测方法都可以用来特异性检测寄主植物和昆虫介体体内 SRBSDV。Real time RT-PCR 方法实现了短时间内对 SRBSDV RNA 拷贝数的准确定量；RT-LAMP 方法全程恒温反应，不需要热循环仪，但气溶胶污染容易出现假阳性。斑点免疫检测方法适用于水稻和白背飞虱大量样品的快速检测，是一种适合基层快速检测的方法。

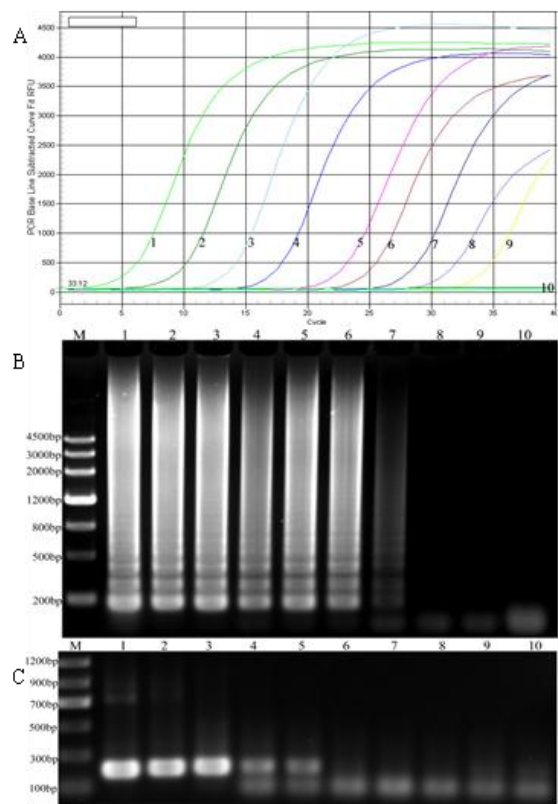


图 1 Real time RT-PCR (A)，RT-LAMP(B)及 RT-PCR(C)灵敏性比较图

2、抗体最适工作浓度的确定

用方阵试验确定检测玉米或水稻病叶以及白背飞虱的斑点免疫检测方法中单抗和酶标二抗的最适工作浓度，试验表明单抗及酶标二抗的最适工作浓度为 1:5 000 倍稀释。

以上述抗体的最适工作浓度建立检测感染 SRBSDV 植株病叶的免疫斑点方法,特异性分析检测结果表明,该单抗仅对感染 SRBSDV 水稻病叶汁有特异性反应，而与感染水稻条纹病毒（RSV）水稻病叶汁及健康水稻汁均无反应(图 2A)，说明以单抗为核心建立的检测

水稻的免疫斑点检测方法对感染 SRBSDV 的植物样品有很好的特异性。

以上述抗体的最适工作浓度建立检测白背飞虱体内 SRBSDV 的免疫斑点方法, 特异性分析检测结果表明携带 SRBSDV 的白背飞虱呈现蓝色斑点, 而无毒的白背飞虱和无毒的灰飞虱没有任何显色反应(图 2B), 即建立的免疫斑点方法能特异性地检测白背飞虱体内的 SRBSDV。

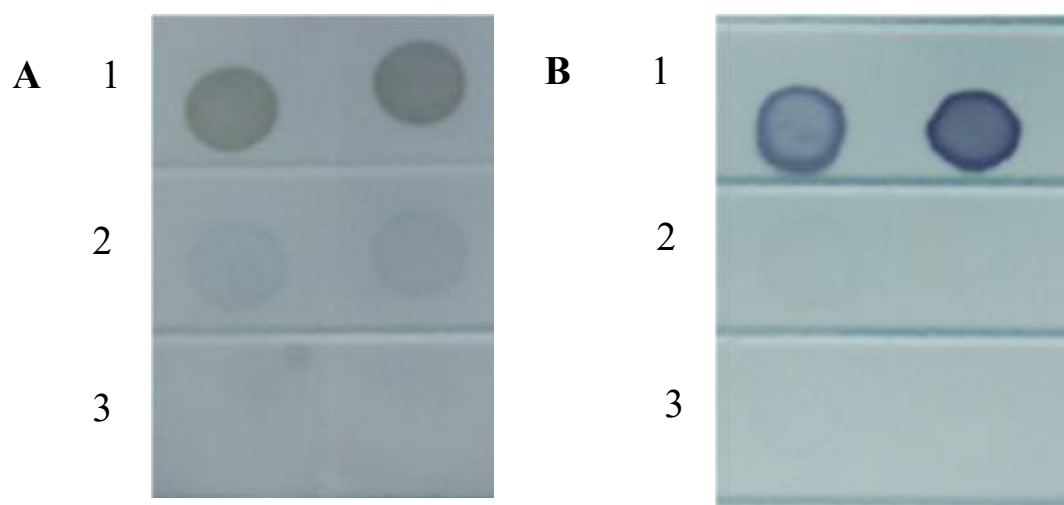


图 2 特异性检测结果图

A:1, 感染 SRBSDV 水稻植株; 2, 感染 RSV 水稻植株; 3, 健康水稻植株。

B: 1, 携带 SRBSDV 白背飞虱; 2, 携带 RSV 灰飞虱; 3, 无毒白背飞虱

### 3、白背飞虱检测龄期的确定

SRBSDV 主要由白背飞虱传播, 白背飞虱获取 SRBSDV 后, 病毒粒子在其体内增殖到一定数量后才能具备传毒能力。SRBSDV 在白背飞虱虫体内增值的这个过程所需时间即传毒循环期。在 26℃ 时, SRBSDV 在不同虫态 (初孵若虫、3 龄若虫、5 龄若虫、长翅型成虫和短翅型成虫) 的白背飞虱体内的循环期分别是 7~11、5~8、3~7、4~8 和 3~6 d。因此, 为保证检测结果的准确性, 本项目中的斑点免疫检测方法应选择 3 龄若虫以上的白背飞虱进行检测。

#### 4、检测方法适用性验证

宜兴市植物保护植物检疫站、盐城市大丰区植物保护站、常州市金坛区种植业技术推广中心三家单位，采用本项目中的南方水稻黑条矮缩病毒免疫斑点检测方法，对江苏省农业科学院提供的标样以及田间采集的疑似感染南方水稻黑条矮缩病毒的水稻、白背飞虱进行了检测，检测结果与江苏省农业科学院检测结果一致（证明见附件）。

#### 五、与相关法律法规和国家标准的关系

本规范涉及内容未违反任何相关的法律法规及强制性标准。

#### 六、重大分歧意见的处理过程和依据

本文件编制过程中无重大分歧意见。标准编制组与行业专家经过多次研讨，积极采纳了所提出的修改建议，形成送审稿。

#### 七、实施推广建议

1、本方法适合于全省各水稻种植区水稻、白背飞虱携带南方水稻黑条矮缩病毒的检测。使用对象主要包括涉农高校和科研院所、植保系统等相关职能部门等。

2、发挥政府的作用，在进行宣传的同时，通过技术人员做好本标准的宣传工作，组织专家团队，在全省适度规模以上水稻展示基地开展检测方法宣传、咨询、指导等服务，强化对《南方水稻黑条矮缩病毒免疫斑点检测方法》相关技术培训和指导，推进江苏省南方水稻黑条矮缩病预测预报技术的高效发展，解决基层植保人员对田间白背飞虱、南方水稻黑条矮缩病调查及发生程度掌握难、指导防控不及时的问题。

3、通过本标准的颁布和实施，有利于全省各地在预测预报过程中统一方法，减小测报误差，提高我省水稻田南方水稻黑条矮缩病测报和标准化水平，对保障水稻质量安全具有重大意义。

## 八、起草单位和起草人信息及分工

本标准起草单位为江苏省农业科学院（统一社会信用代码：123200004660052848）、江苏省植物保护植物检疫站（统一社会信用代码：12320000466001128U）。

起草小组人员信息及工作分工情况见下表：

本标准起草人员信息及工作分工情况表

序号	姓名	工作单位	职称	分工
1	周彤	江苏省农业科学院	研究员	全面主持、起草
2	朱凤	江苏省植物保护植物检疫站	推广研究员	起草标准及资料收集
3	杜琳琳	江苏省农业科学院	助理研究员	起草标准及资料收集
4	李晨羊	江苏省农业科学院	助理研究员	资料收集与技术研究
5	周晨	江苏省植物保护植物检疫站	农艺师	资料收集与技术研究
6	张海波	江苏省植物保护植物检疫站	农艺师	资料收集与技术研究
7	梁修成	江苏省植物保护植物检疫站	助理农艺师	资料收集与技术研究
8	许津铭	江苏省植物保护植物检疫站	助理农艺师	资料收集与技术研究
9	潘俚辰	江苏省植物保护植物检疫站	助理农艺师	资料收集与技术研究
10	赵忆宁	宜兴市植物保护植物检疫站	农艺师	资料收集
11	张玉	盐城市大丰区植物保护站	农艺师	资料收集
12	段云辉	常州市金坛区种植业技术推广中心	农艺师	资料收集