

我国进境植物检疫性菌物检疫鉴定标准浅析

李雪莲^{1,2} 张慧丽^{1,2} 吕燕¹ 段维军^{1,2*}

(1.宁波检验检疫科学技术研究院 浙江宁波 315012; 2.宁波海关)

A brief analysis for standards of detection and identification of quarantine fungi. Li Xuelian^{1,2}, Zhang Huili^{1,2}, Lü Yan¹, Duan Weijun^{1,2*} (1.Ningbo Academy of Inspection and Quarantine, Ningbo 315012, China; 2.Ningbo Customs District)

Abstract The Chinese list of plant quarantine pests currently includes 130 fungi. In this paper, we summarized and analyzed the identification of standards for quarantine fungi on their history, current state, discussed the characteristics of these standards, suggestions were made for upgrading the standards of quarantine fungi identification in China.

Keywords quarantine fungi; standard; problem; suggestion

摘要 我国现行进境植物检疫性有害生物名录中共收录 130 种检疫性菌物。本研究在收集整理现行检疫性菌物检疫鉴定标准基础上,对该类标准的历史、现状进行了分析,探讨了检疫性菌物标准的特点,针对我国植物检疫性菌物检疫鉴定标准的发展与完善提出了建议。

关键词 检疫性菌物;标准;问题;建议

中图分类号 S41 **文献标识码** A **DOI**:10.19662/j.cnki.issn1005-2755.2021.01.002

植物病原菌物是引起植物病害的重要病原物,由菌物侵染引起的植物病害约占植物病害种类的 70%~80%^[1]。植物病原菌物中的检疫性菌物是一类严重危害植物健康的有害生物,如在美国加利福尼亚州 10 年间由检疫性菌物栎树猝死病菌(*Phytophthora ramorum*)危害所造成的经济损失高达近百亿美元^[2]。检疫性菌物的检测与防控一直是植物检疫过程中的难点和热点问题^[3]。为防止危险性植物有害生物传入我国,根据《中华人民共和国动植物检疫法》的规定,原农业部和原国家质检总局于 2007 年共同发布了《中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录》(中华人民共和国农业部公告第 862 号)^[4]。涉及病虫害共计 435 种(属),其中菌物 128 种。后又增加向日葵黑茎病菌(*Plenodomus lindquistii*)及白蜡鞘胞菌(*Chalara fraxinea*),检疫性菌物增加到 130 种^[5]。

标准是国家法律法规在技术上的补充。植物检疫相关的法律法规只对宏观的工作及主要的方面作了规定,难以兼顾技术、管理等具体细节问题^[6]。法律法规主要应对宏观性的管理问题,标准主要应

对技术问题^[7]。植物检疫标准化是通过制定和实施标准,对植物检疫的全过程规范化和系统化,达到最佳的防控效果。通过植物检疫标准的制修订,可以完善、补充进出境动植物检疫法及其条例在技术上的有关规定,强化国门生物安全和生态安全。我国口岸众多,各海关实验室设备配置和检疫执行人员的技术水平参差不齐,制定统一的植物检疫标准,使植物检疫工作按照包括检疫程序、取样方法、鉴定方法以及除害方法等在内的标准进行操作,在加强检疫管理和人员管理、规范检疫行为、维护检疫执法秩序、体现相关法律法规的内涵和内容等方面具有重要作用^[8],对提升执法把关质量,意义十分重大,是我国国门生物安全保障的重要技术基础和技术依据。

植物检疫性菌物类检疫鉴定方法标准是以检疫性菌物为检测目标的一类方法类标准,由于菌物不同于细菌、线虫、病毒等病原生物,具有其特有的形态特点和分子生物学特征,这类标准通常基于菌物特有特点而制定。本文目的在于分析我国现行检疫性菌物鉴定方法类标准现状,归纳其特点,进而对未来该类标准发展提供参考,以期促进植物检疫性菌

基金项目:国家重点研发计划(2016YFF0203201);浙江省公益技术研究项目(LGF20C140001);海关总署科研项目(2020HK162);中国科学院战略生物资源计划(KFJ-BRP-009);宁波市科研项目(2019A610411)

第一作者 E-mail: 43666974@qq.com; * 通信作者 E-mail: weijunduan@tom.com

收稿日期: 2020-05-22

物相关研究工作开展。

1 植物检疫性菌物标准的历史

我国早在 1928 年即在上海、广州和天津等口岸开始设立农产物检查所,实施植物检疫工作。

1949 年中央贸易部对外贸易司设立商品检验处负责进出口商品植物病虫害的检验工作。之后,制定了一系列输出入农产品检验方法、标准和规程。1951 年公布《输出入植物病虫害检验暂行办法》、《输出入病虫害检验标准》,1953 年公布《输出入植物检疫操作规程》,1954 年公布《输出输入植物检疫条例暂行办法》及《输出输入植物应施检疫种类与检疫对象名单》。1965 年,农业部主管进出口动植物检疫工作,加强了植物检疫操作规程和检疫标准的建设。1972 年制定了首个具体菌物检疫标准《小麦矮腥黑穗病检验方法》。

在改革开放和经济建设的大背景下,植物检疫事业开创了新局面,相关法规和规章制度得到了进一步完善。1982 年发布了《中华人民共和国进出口动植物检疫条例》,1983 年发布了《中华人民共和国进出口植物检疫条例实施细则》,1986 年修订了《中华人民共和国进出口植物检疫对象名单》,1991 年发布了《中华人民共和国进出境动植物检疫法》,1994 年制定了《小麦矮腥黑穗病菌检验方法和鉴定标准(试行)》。1998 年 3 月,根据国务院机构改革

方案,由原国家进出口商品检验局、原农业部动植物检疫局和原卫生部卫生检疫局合并组建为国家出入境检验检疫局,挂靠海关总署管理。2001 年 4 月,国务院决定将国家质量技术监督局、国家出入境检验检疫局合并,组建国家质量监督检验检疫总局,下辖国家标准化委员会和国家认证认可监督管理委员会。国家标准化委员会统一管理全国标准化工作,下设技术委员会,包括 TC271 植物检疫标准化技术委员会。检验检疫行业标准工作则由国家认证认可监督管理委员会管理。标准化工作有了专门的管理机构负责后,1998—2019 年,共制定发布植物检疫性菌物类标准 115 项。

2 植物检疫性菌物检疫鉴定类方法标准的现状

2.1 标准内容概况

植物检疫性菌物检疫鉴定类方法的标准内容主要包括该标准适用的范围,术语和定义,进境检疫性菌物的基本信息,鉴定方法及原理,器材、试剂和培养基,现场抽样,检验方法,鉴定特征,结果判定,菌株保存与处理等内容。

截至 2019 年 12 月底,我国进境植物检疫性菌物共有 130 种,已发布针对具体种类菌物的检疫鉴定方法类标准共有 115 项,其中国家标准 43 项,行业标准 72 项,共覆盖 115 种检疫性菌物,目前尚有 15 种检疫性菌物无对应标准(表 1)。

表 1 尚未发布标准的检疫性菌物

序号	学名	中文名
1	<i>Apiosporina morbosa</i> (Schweinitz) von Arx	李黑节病菌
2	<i>Chalara fraxinea</i> T.Kowalski	白蜡鞘孢菌
3	<i>Chrysomyxa arctostaphyli</i> Dietel	云杉帚锈病菌
4	<i>Cronartium coleosporioides</i> J.C.Arthur	油松孢锈病菌
5	<i>Cronartium comandrae</i> Peck	北美松孢锈病菌
6	<i>Endocronartium harknessii</i> (J.P.Moore) Y.Hir	松瘤锈病菌
7	<i>Gymnosporangium fuscum</i> R. Hedw.	欧洲梨锈病菌
8	<i>Leptosphaeria libanotis</i> (Fuckel) Sacc.	胡萝卜褐腐病菌
9	<i>Leucostoma cincta</i> (Fr.:Fr.) Hohn.	苹果溃疡病菌
10	<i>Monosporascus cannonballus</i> Pollack et Uecker	甜瓜黑点根腐病菌
11	<i>Mycosphaerella linicola</i> Naumov	亚麻褐斑病菌
12	<i>Mycosphaerella musicola</i> J.L.Mulder	香蕉黄条叶斑病菌
13	<i>Phytophthora fragariae</i> Hickman var. <i>rubi</i> W.F. Wilcox et J.M. Duncan	树莓疫霉根腐病菌
14	<i>Pyrenochaeta terrestris</i> (Hansen) Gorenz, Walker et Larson	洋葱粉色根腐病菌
15	<i>Uromyces transversalis</i> (Thümen) Winter	唐菖蒲横点锈病菌

2.2 标准现势性分析

标准发布的日期通常用来评价和分析标准的现势性。28.7%(33/115)的标准现势性较好,标准标龄在 5 年以内。57.4%(66/115) 的标准标龄在 5~10 年,另外还有 13.9%(16/115)标准标龄已超过 10 年(标准发布日期统计至 2019 年 12 月 31 日)。分析

其原因在于,2007 年以前,植物检疫性菌物检疫鉴定类方法标准发布较少,年均发布不到 2 个。2007 年随着《中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录》公布,检疫性有害生物数量大幅增加,大量标准开始制定。由于标准从下达任务到最终发布需要 3 年左右的时间,2011 年开始,大量标准发布,2013

年达到顶峰,该年发布了 24 项标准,2014 年开始标准发布呈回落态势(图 1)。

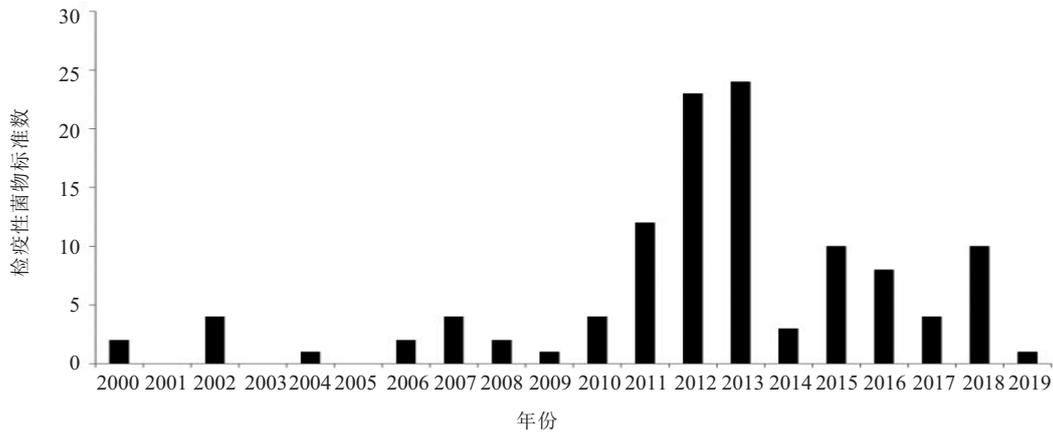


图 1 2000—2019 年发布的检疫性菌物标准

2.3 标准主持单位

从标准制定的单位来看,主持制定植物检疫性菌物鉴定类标准的单位主要为原检验检疫机构,占 98.3%(113/115),其中中国检验检疫科学研究院(18),原深圳局(16)、原天津局(11)、原宁波局(10)、原山东局(7)和原广东局(7)主持制定植物检疫性

菌物鉴定类标准数量较多,占目前已发布标准的 60.0%(69/115)(图 2)。

除检验检疫机构外的其他行政部门、国内高校或科研院所等主持制定此类标准仅占 1.7%(2/115),且均为全国农业推广服务中心主持制定。

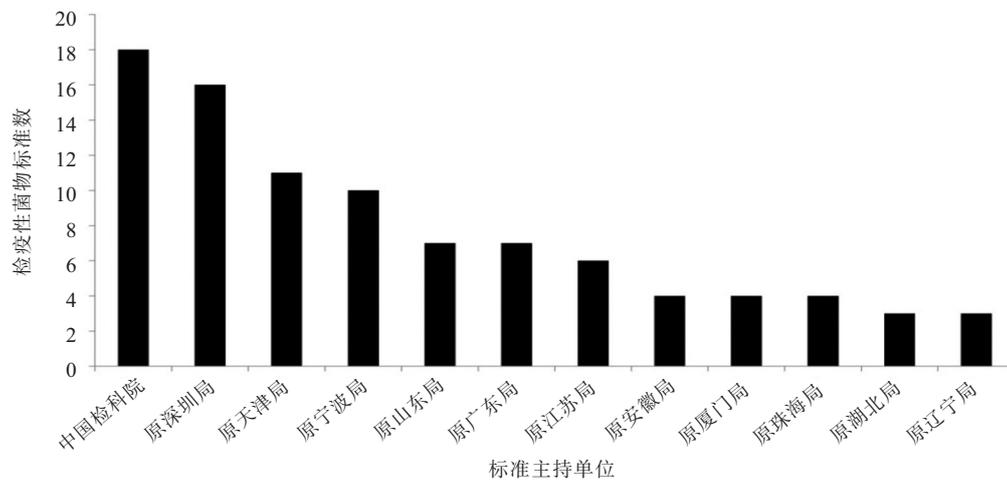


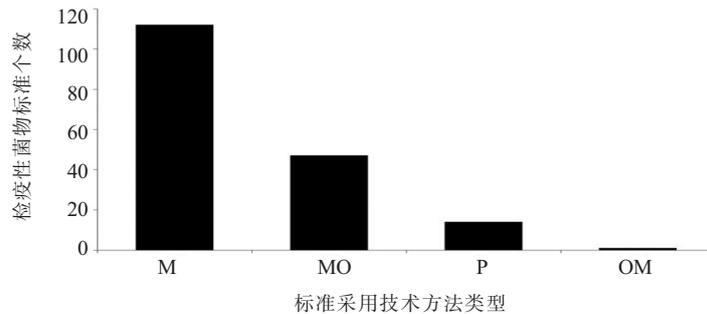
图 2 2000—2019 年主持制定检疫性菌物标准数量 3 个以上的单位

2.4 标准所采用的方法

对于植物检疫性菌物来说,主要采用形态学、分子生物学和致病性测定等方法进行鉴定。115 项标准中,有 112 项标准采用了形态学方法(M),47 项标准采用了分子生物学方法(MO),14 项标准采用了致病性测定方法(P),1 项标准采用了其他检测方法(OM)(图 3)。115 项标准中,有 57 项标准只采用形态学方法鉴定,3 项标准只采用分子生物学方法鉴定,8 项标准给出了形态学方法和分子生物学方法,但可采用其中一种方法进行鉴定,32 项标准采用了形态学方法和分子生物学方法共同鉴定,9 项标准采用了形态学方法和致病性测定共同鉴定,3

项标准既可通过形态学方法和致病性测定进行鉴定,也可通过形态学方法和分子生物学方法进行鉴定,2 项标准同时采用了形态学方法、分子生物学方法和致病性方法进行鉴定,1 项标准给出了形态学和其他方法可采用其中一种方法进行鉴定。

植物检疫性菌物采用的分子生物学方法主要包括普通 PCR 方法、巢式 PCR 方法和实时荧光 PCR 方法等。采用分子生物学方法的 47 项标准中,有 30 项标准采用普通 PCR 方法,9 项利用 ITS 通用引物 PCR 扩增后测序进行分析,18 项采用实时荧光 PCR 方法,5 项采用巢式 PCR 方法。



M.形态学方法; MO.分子生物学方法; P.致病性测定方法; OM.其他检测方法。

图3 检疫性菌物标准采用技术方法类型

2.5 标准判定依据

80.9%(93/115) 检疫性菌物标准明确要求必须基于获得活菌株进行判定, 但有 19.1%(22/115) 检疫性菌物标准不依赖活菌株即可进行判定: 如栎树猝死病菌和向日葵白锈病菌 (*Albugo tragopogi*) 可以通过提取 DNA 进行分子生物学检测, 根据检测结果直接判定; 部分难培养菌物, 如松疱锈病菌 (*Cronartium ribicola*)、美洲山楂锈病菌 (*Gymnosporangium globosum*) 等专性寄生菌, 通过病菌在寄主植物上的症状和病原菌的显微形态特征即可进行判定。

3 植物检疫性菌物标准存在的问题及建议

与杂草、昆虫等检疫对象不同, 检疫性菌物具有个体微小, 菌种采集、分离困难, 难以简单依靠形态特征进行划分等特点。对于一些需要分离培养的植物病原菌物, 通常需要较长时间的培养, 才能获取可供鉴定的形态学特征。然而, 并非所有的菌物都能够直接通过形态学特征进行鉴定, 如病菌孢子不典型, 子实体不成熟, 形态特征不完整等, 难以或无法应用形态学特征直接判定。同时, 形态学检测方法对鉴定者专业素养要求较高, 鉴定者需要有较系统的分类学知识和足够的鉴定经验。在实际检验检疫工作中, 检疫性菌物种类涉及分类地位跨度大, 形态多变, 在实际工作中检测方法难以统一, 存在一定的主观性, 缺乏行之有效的检测鉴定手段^[3], 因此长期以来, 检疫性菌物在我国出入境疫情截获有害物种中所占的比例一直较低。通过对现行标准分析发现, 存在以下一些问题。

3.1 方法类标准覆盖不全面

130 种植物检疫性菌物中, 尚有 15 种目前还没有发布相应的标准(表 1), 直接影响了口岸植物检疫工作的顺利开展。针对这 15 种植物检疫性菌物, 应尽快研究并尽早发布相应标准, 以解决口岸实际问题, 防范外来有害生物入侵。

3.2 不同菌物共用同一个检疫鉴定方法类标准

高粱霜霉病菌 (*Peronosclerospora sorghi*)、甘

蔗霜霉病菌 (*Peronosclerospora sacchari*)、菲律宾霜霉病菌 (*Peronosclerospora philippinensis*) 和爪哇霜霉病菌 (*Peronosclerospora maydis*) 共用 SN/T 1155-2002 《植物检疫 玉米霜霉病菌检疫鉴定方法》, 大豆南方茎溃疡病菌 (*Diaporthe phaseolorum* var. *meridionalis*) 和大豆北方茎溃疡病菌 (*Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*) 共用 SN/T 1899-2007 《大豆茎溃疡病菌检疫鉴定方法》和 SN/T 3399-2012 《大豆茎溃疡病菌检疫鉴定方法 -TaqMan MGB 探针实时荧光 PCR 检测方法》, 南美大豆猝死综合症病菌 (*Fusarium tucumaniae*) 和北美大豆猝死综合症病菌 (*Fusarium virguliforme*) 共用 GB/T 31796-2015 《南美大豆猝死综合症病菌和北美大豆猝死综合症病菌检疫鉴定方法》, 榆枯萎病菌 (*Ophiostoma ulmi*) 和新榆枯萎病菌 (*Ophiostoma novo-ulmi*) 共用 GB/T 28082-2011 《榆枯萎病菌检疫鉴定方法》。现有科学研究已经表明上述检疫性菌物是各自独立的物种, 考虑到后续标准修订工作的持续开展, 建议分别制定各自相应标准以完善标准体系。

3.3 同一种菌物对应多个检疫鉴定方法类标准

大豆疫霉病菌 (*Phytophthora sojae*) 相关标准包括 SN/T 1131-2002 《大豆疫霉病菌检疫鉴定方法》、SN/T 3579-2013 《大豆疫霉病菌活性检测方法》和 SN/T 2474-2010 《大豆疫霉病菌实时荧光 PCR 检测方法》。大豆茎溃疡病菌相关标准包括 SN/T 1899-2007 《大豆茎溃疡病菌检疫鉴定方法》和 SN/T 3399-2012 《大豆茎溃疡病菌检疫鉴定方法 -TaqMan MGB 探针实时荧光 PCR 检测方法》。美澳型核果褐腐病菌 (*Monilinia fructicola*) 相关标准包括 SN/T 1871-2007 《美澳型核果褐腐病菌检疫鉴定方法》和 SN/T 3581-2013 《美澳型核果褐腐病菌实时荧光 PCR 检测方法》。松纺锤瘤锈病菌 (*Cronartium fusiforme*) 相关标准包括 GB/T 36831-2018 《松纺锤瘤锈病菌检疫鉴定方法》和 SN/T 3428-2012 《松纺锤瘤锈病菌检疫鉴定方法》。棉花黄萎病菌 (*Verticillium dahliae*) 相关标准包括 GB/T 28084-2011 《棉

花黄萎病菌检疫检测与鉴定》和 SN/T 5138-2019《棉花黄萎病菌检疫鉴定方法》，建议对同一种对应多个标准的检疫性菌物标准进行统一归类整理，整合成一个标准，既便于使用，又便于后续修订工作开展。

3.4 标准可靠性有待进一步验证提高

随着人类认知自然水平和能力的不断提升，检疫性菌物学名变动较大，大量现行标准中菌物学名有待商榷^[5]。同时，尽管目前已有 115 种菌物建立了相应的标准，但是由于标准制修订人员、采用方法、实验材料等等因素都不尽相同，标准审定方式也有所差异，一些标准的可靠性还有待检验，方法的适用性还有待确认，截至 2017 年，我国口岸截获到的检疫性菌物仅 39 种，占我国对外检疫性菌物名录所列 130 种菌物的 30%^[3]。一些标准所采用的方法并不可靠，可重复性、特异性和灵敏度等均有待进一步验证或者提高。

3.5 标准所采用方法时效性问题

随着口岸通关时长的大幅缩减，对现行标准检测周期要求日益提高。目前检疫性菌物所采用 3 种主要检测方法中，致病性测定所需时间最长（有时需要长达数月才能完成），形态学观察方法次之，分子生物学方法所需时间最短。在实际标准应用过程中，分子生物学方法所采用标准最容易统一，而形态学方法或致病性测定工作由于涉及检测环节较多，操作程序往往不易加以统一。为提高标准实效性，在后续标准制修订过程中，应加大采用分子生物学等快速检测鉴定方法的力度，对标准中检测鉴定方法的特异性、灵敏度、重复性和准确性等性能特征进行仔细验证。同时，由于检疫性菌物较难获得，检疫性菌物分子标准物质的缺乏，已成为制约有害生物检测技术应用与发展的一个主要技术瓶颈，应开展配套检疫性菌物分子标准物质的研制。

3.6 标准修订周期问题

许多现行标准的制定时间较早，未能吸纳菌物学研究最新研究成果，在实际应用中存在一定困难，亟待尽早修订完善。如：国家标准 GB/T 18085-2000《植物检疫 小麦矮化腥黑穗病菌检疫鉴定方法》，制定已有近 20 年时间，采用的鉴定方法、判定标准等都存在可改进之处，建议尽早对此类标准予以修订。

3.7 标准制修订计划安排存在无序现象

目前，植物检疫标准体系框架虽已建立，但科学、系统、适合当前口岸植物检疫发展形势的标准体系还未建立，以致标准的制修订没有“体系”这一纲的规范，申报、制定和修订标准带有盲目性，缺乏系统性。如有些检疫性菌物检疫鉴定方法的标准名称和内容不统一；存在一些“不合群”标准；立项为国家

标准还是行业标准尚无清晰可遵循的规则；立项、修订先后次序上也缺乏统一的执行标准。

3.8 标准化工作人才队伍问题

目前，检疫性菌物标准化制修订项目中，中国检验检疫科学研究院、原深圳、天津、宁波、山东和广东检验检疫局牵头制定的标准占目前已发布标准的 60%，其他口岸、高等院校和科研院所等单位的科研人员参与较少；参与检疫性菌物标准化工作的人员水平不一，个别不是专门从事菌物鉴定工作的、个别缺乏标准制修订专业培训的，以至于部分制修订的标准不能很好地适用于实际检验工作。建议由口岸实验室、高校或科研院所等从事菌物鉴定专业工作人员更多地参与到检疫性菌物的标准化制定工作中来。

4 讨论

“口岸现场查验 + 实验室检测鉴定”模式是当前植物检疫推进的主要方向，今后植物检疫标准化工作也需要按照模块去设计标准或业务规范，一方面能缩短检疫周期，压缩通关时长，另一方面能提高检出率，截获更多的有害生物。在结合过去标准化工作实践的基础上，需要着力完善优化植物检疫性菌物标准涉及的制定、管理、实施等一系列流程，通过标准化评价体系等方法科学评价检疫鉴定方法类标准的实施效果，切实把检疫鉴定方法类标准化工作贯穿到植物检疫工作中。加强对标准的申报评审，严格组织标准审定，切实提高标准的质量。应定期对相关标准的应用效果进行筛查和评估，及时对相关标准进行修订、更新或废止。全面开展标准体系梳理研究，提出标准体系的理想化结构，加大标准专家队伍建设的力度，强化组织机构建设等，以进一步提高防范外来有害生物入侵的能力，提高我国应对国际贸易技术壁垒的水平，促进我国对外贸易和经济的发展。

参考文献

- [1] 谢联辉. 普通植物病理学. 北京: 科学出版社, 2006.
- [2] Kovacs K, Václavík T, Haight R G, et al. Predicting the economic costs and property value losses attributed to sudden oak death damage in California (2010-2020). *Journal of Environmental Management*, 2011, 92(4): 1292-1302.
- [3] 段维军, 严进 蔡磊 等. 我国进境植物检疫性菌物截获现状与展望. *菌物学报*, 2017, 36(10): 1311-1331.
- [4] 中华人民共和国农业部公告第 862 号. 中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录. 2007.
- [5] 段维军, 严进, 刘芳, 等. 我国进境检疫性菌物名录亟待修订完善. *菌物学报*, 2015, 34(5): 942-960.
- [6] 赵宇翔, 冉东亚, 宋玉双, 等. 林业植物检疫标准化工作的现状、问题及对策. *中国森林病虫*, 2007, 26(6): 45-47.
- [7] 朱水芳. 植物检疫学. 北京: 科学出版社, 2019.
- [8] 杜国兴, 杨晓耘, 周明华, 等. 植物检疫标准的现状及思考. *植物检疫*, 2004, 18(2): 56-59.