

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 1272—2003



榆枯萎病菌检疫鉴定方法

Inspection and identification of *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier
and *Ophiostoma ulmi* (Buism.) Nannf.

2003-05-28 发布

2003-12-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准的附录 C 为规范性附录,附录 A 和附录 B 为资料性附录。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位:国家质量监督检验检疫总局动植物检疫实验所。

本标准主要起草人:吴品珊、严进。

本标准系首次发布的检验检疫行业标准。

榆枯萎病菌检疫鉴定方法

1 范围

本标准规定了进境植物检疫中榆枯萎病菌的检疫鉴定方法。

本标准适用于来自榆枯萎病菌有发生国家和地区(参见附录 A)的榆属(*Ulmus* L.)苗木、原木和木制品中榆枯萎病菌的入境检疫。

2 术语和定义

本标准采用下列术语和定义。

2.1

异宗配合 heterothallism

菌体在性的配合上有雌雄和(或)亲和力的分化,只有一定的异宗菌体(一般以+和-或 A1 和 A2 加以区别)才能配合。

2.2

传病介体 vector

对侵染性病害的病原体起转移作用并创造侵入条件的生物,如昆虫、线虫等。

3 原理

3.1 榆枯萎病菌的分类地位

英文名: pathogens of Dutch elm disease, pathogens of elm wilt disease

学名: *Ophiostoma novo-ulmi* Brasier

Ophiostoma ulmi (Buism.) Nannf.

主要异名: *Ceratocystis ulmi* (Buism.) Moreau

榆枯萎病菌属真菌界(Fungi)子囊菌门(Ascomycota),核菌纲(Pyrenomycetes),球壳目(Sphaeriales),长喙壳科(Ophiostomataceae),长喙壳属(*Ophiostoma* Sydow & Sydow)。此病菌是榆属树上的有害寄生真菌,可侵染各龄榆树,引致榆树干枯、死亡,称为榆枯萎病或荷兰榆病。

榆枯萎病菌由 *Ceratocystis* 属重新归入 *Ophiostoma*。英国的 Brasier 在 1991 年将病菌致病力强的侵袭性亚群(aggressive subgroup),提升为新种——*Ophiostoma novo-ulmi* Brasier; *Ophiostoma ulmi* (Buism.) Nannf. 则是原来的另一个亚群——致病力弱的非侵袭性亚群(non-aggressive subgroup)。

榆枯萎病菌的这两个种在菌落培养性状、生长的适宜温度、子囊壳的形态、致病性、毒素的生成和分子生物学等许多方面存在较大差异。

致病力强的 *Ophiostoma novo-ulmi* 种内又分为两个小种,欧亚小种 EAN(Eurasian race)和北美小种 NAN(North American race)。

3.2 寄主

榆枯萎病菌主要为害榆属(*Ulmus* L.)树木。以美洲榆(*U. americana*),荷兰榆(*U. hollandica*),山榆(*U. glabra*),英国榆(*U. procera*)等较为感病,人工接种可为害榉属(*Zelkova* S.)。

3.3 传播途径

榆枯萎病菌的主要自然传播方式是随传病介体——昆虫传播,也可通过根部接触传播。介体昆虫在濒于死亡的病树树皮内产卵,次年羽化出的成虫。这些成虫的体表和体内带有大量的病菌,取食健康的树木,使病菌传播扩散。已肯定的昆虫介体有 18 种,其中最主要的是欧洲榆小蠹(*Scolytus multist-*

riantus)、欧洲大榆小蠹(*Scolytus scolytus*),短体边材小蠹(*Scolytus pygmaeus*)和美洲榆小蠹(*Hylurgopinus rufipes*)。

3.4 鉴定原理

榆枯萎病菌的两个种(*Ophiostoma novo-ulmi*和*Ophiostoma ulmi*)均产生异宗配合的有性子囊孢子和三种类型的无性孢子。无性孢子第一类是发簇孢属(*Sporothrix*)的分生孢子;第二类是长在孢梗束上的束丝无性孢子,称粘束孢属(*Pesotum*);第三类是酵母状分生孢子(*Blastomyces* sp.)。

榆枯萎病菌的形态特征,以及生物学特性和对寄主造成的症状特征是鉴定榆枯萎病菌的依据(参见附录B)。

4 仪器设备和试验用具

4.1 仪器设备

生物显微镜(具目镜测微尺),立体解剖镜,超净工作台,生物培养箱,振荡器,普通天平(感量1/100),分析天平(感量1/10 000),高压灭菌器,烧杯(5 mL和50 mL),三角瓶(250 mL),量筒(500 mL),试管(直径12 mm),培养皿(直径9 cm),载玻片(长×宽为76.2 mm×25.4 mm,厚0.8 mm),盖玻片(18 mm×18 mm),酒精灯。

4.2 试验用具

斧头,锯子,测量用尺子,医用手术刀、手术剪和镊子。

5 试剂、培养基和标准菌株

5.1 试剂

琼脂粉、麦芽提取物、蒸馏水、乙醇、永久封片剂。

5.2 培养基

5.2.1 基础培养基

采用Oxoid麦芽汁培养基(MEA),具体配制方法:33 g Oxoid麦芽提取物加10 g Oxoid纯净琼脂,溶于1 L水中,15磅15 min高压灭菌。

Oxoid麦芽汁培养基是鉴定病菌种和小种的重要培养基,主要用于病菌培养性状的观察测定以及菌种的保存。

5.2.2 选择性培养基

选择性培养基主要用于从病木上分离榆枯萎病菌。配制方法为:0.2 g放线菌酮溶于100 mL水,取50 mL加于1 L Oxoid麦芽汁培养基内,15磅15 min高压灭菌后,冷至45℃时加入10 mL 1%链霉素和青霉素混合液。制成后5℃暗处储藏,放线菌酮为剧毒品。

5.2.3 获得不同类型孢子的培养基

发簇孢属(*Sporothrix*)的孢子可在室温下大多数培养基上形成;

粘束孢属(*Pesotum*)的孢子最适于在ESA培养基上形成。ESA的配制方法为:将健康的榆树去掉树皮和枝条,切成直径0.5 cm的小块,取50 g加入15 g琼脂和500 mL的水中,15磅15 min高压灭菌。

酵母状分生孢子宜采用Tchernoff的改良培养液获得。配制方法为:20 g葡萄糖、2 g天门冬酰胺、1.5 g磷酸二氢钾、1 g硫酸镁、20 mg硫酸锌、10 mg三氯化铁、1 mg维生素B₁和1 mg维生素B₆,加入1 L蒸馏水中混合,15磅15 min高压灭菌。

子囊孢子在ESA培养基上较易形成。但需要A型和B型2种不同交配型的孢子进行异宗配合才能形成子囊壳。

5.3 标准菌株

Ophiostoma novo-ulmi Brasier 欧亚小种(EAN)A交配型(A mating type),雌性;B交配型(B mat-

ing type), 雄性。

Ophiostoma novo-ulmi Brasier 北美小种(NAN) A 交配型(A mating type), 雌性; B 交配型(B mating type), 雄性。

Ophiostoma ulmi (Buism.) Nannf. A 交配型(A mating type), 雌性; B 交配型(B mating type), 雄性。

标准菌株在动植检所保存。

6 抽查

对来自榆枯萎病菌有发生国家和地区的榆属苗木、原木和木制品, 按进口总量 0.5%~5% 的比例进行随机抽查。500 件以下抽查 3 件~5 件, 501 件~1 000 件抽查 6 件~10 件, 1 001 件~3 000 件抽查 11 件~20 件, 3 001 件以上, 每增加 500 件抽查件数增加 1 件。

7 检验方法

7.1 症状的检查

用斧头和锯子横切、纵切树干或枝条、剥去树皮、切开枝杈, 做外观检查。发现树干或枝条上有小蠹的蛀食槽痕迹、横断面上有深褐色斑点、条纹或断续褐色圆环的样品, 继续进行病菌的分离。

7.2 病菌的分离

从病木的变色处切取直径为 0.5 cm 的样品, 放在供分离用的选择性培养基上(见 5.2.2 项), 20℃ 黑暗培养, 一旦出现菌丝立即转皿。

若发现传病媒介昆虫, 则须检查是否携带榆枯萎病菌。首先进行昆虫形态鉴定, 再将其肢解, 组织片用基础性培养基(见 5.2.1 项)分离培养。

7.3 病菌各种类型孢子的培养

分离出的菌丝转到 Oxoid 麦芽汁培养基上, 20℃ 培养, 以获得发簇孢属(*Sporothrix*)的分生孢子。

分离出的菌丝转到 ESA 培养基上, 20℃ 培养, 可获得粘束梗霉属(*Pesotum*)无性孢子。

分离出的菌丝接种于 Tchernoff 的改良培养液中, 室温下震荡培养, 可得酵母状分生孢子。

子囊孢子需在 A 型、B 型两种交配型同时存在的 ESA 培养基上才能形成。分别取 *Ophiostoma ulmi* 的标准菌株 A 和 B 交配型、*Ophiostoma novo-ulmi* 欧亚小种 EAN 的 A 和 B 交配型(北美小种 NAN 的 A 和 B 交配型也可), 接种于 ESA 培养基上部的左、右两侧, 再将分离出的病菌接种于下部, 使三个菌的接种点保持等距, 重复 3 皿, 20℃ 黑暗培养 7 d 后, 在室温漫射光下继续培养 14 d。

7.4 病菌两个种的鉴定测试(菌落性状的测试)

病菌菌落的形态、菌落的生长速度和生长的适宜温度, 是区分病菌两个种的主要指标。

取新鲜分离的在 Oxoid 麦芽汁培养基平板上培养的病菌菌块(2 mm 大小), 接在有 Oxoid 麦芽汁培养基的培养皿中央, 共接六皿。将其中的三皿置于 20℃ 黑暗培养, 另外的三皿置于 33℃ 黑暗培养。

20℃ 黑暗培养的菌落测试程序为: 菌落培养 48 h 后, 取出培养皿, 用尺子从培养皿背面按对角测量菌落的直径 D_0 , 作好记录; 将培养皿放回, 继续在 20℃ 黑暗条件下再培养 5 d, 再次测量菌落直径 D_1 , 按 $(D_1 - D_0)/5$ 计算待测菌 5 d 的平均辐射状生长速度(mm/d)。为观察菌落形态, 再将培养皿放置室内, 温度在 20℃~25℃, 漫射光继续培养 10 d。

33℃ 黑暗培养的菌落测试程序为: 菌落培养 48 h 后, 取出培养皿, 用尺子从培养皿背面按对角测量菌落的直径 E_0 , 作好记录; 将培养皿放回, 继续在 20℃ 黑暗条件下再培养 8 d, 再次测量菌落直径 E_1 , 按 $(E_1 - E_0)/8$ 计算待测菌在 8 d 的平均辐射状生长速度(mm/d)。然后将培养皿置于温度为 20℃~25℃ 的室内, 漫射光继续培养 10 d, 观察菌落形态。

7.5 欧亚小种 EAN 和北美小种 NAN 的鉴定培养

小种间的鉴定首先需测定病菌的交配型, 然后再进行产生子囊壳的交配培养, 从而确定病菌的

小种。

7.5.1 交配型的测定

与培养子孢子的方法相似。取标准菌株 EAN 的 A 和 B 交配型(NAN 的 A 和 B 交配型也可), 分别接种于 ESA 培养基上部的左、右两侧, 再将待测菌接种于下部, 使三个菌的接种点保持等距, 重复三皿, 20℃ 黑暗培养一周后, 在室温漫射光下继续培养两周。

7.5.2 A 交配型小种的鉴定培养

将标准菌株 NAN 的 B 交配型, 接种于 ESA 培养基上, 做为受体。置于 20℃ 黑暗培养 14 d 后, 再在漫射光下继续培养 7 d, 以使病菌 NAN 的 B 交配型布满平板; 然后切取在 Oxoid 麦芽汁培养基平板上培养的 A 交配型待测菌的分生孢子菌块(面积约 2 cm²)做为供体, 有菌面朝下贴放在受体 NAN 菌落表面的一侧, 另以标准菌株 NAN 和 EAN 的 A 交配型做为供体对照, 按同法分别置于受体的另外部位, 各重复三皿, 置室温 20℃~25℃ 漫射光下培养。10 d 后记录各个供体上每 1 cm² 面积上所生的子囊壳数目。

7.5.3 B 交配型小种的鉴定培养

参照上法。将标准菌株 EAN 的 A 交配型, 接种于 ESA 培养基上, 做为受体。置于 20℃ 黑暗培养 14 d 后, 再在漫射光下继续培养 7 d, 然后取 B 交配型待测菌的分生孢子做为供体, 放在受体 EAN 菌落表面, 面积约 2 cm², 另以标准菌株 NAN 和 EAN 的 B 交配型做为供体对照, 按同法分别置于受体的另外部位, 各重复三皿, 置室温 20℃~25℃ 漫射光下培养。10 d 后记录各个供体上每 1 cm² 面积上所生的子囊壳数目。

7.6 菌种的保藏

将病菌接在 Oxoid 麦芽汁培养基的斜面上, 待斜面表面布满菌丝后, 封好斜面的盖子, 置于 -20℃ 保存。

7.7 注意事项

分离出的榆枯萎病菌切不可进行诸如接种寄主植物、致病力测试等试验。虽然我国没有欧洲榆小蠹这样的传播介体, 但我国有另一传播介体腹脐小蠹(*Scolytus schevyrewi*) 的分布, 因此应避免进行寄主植物的接种试验, 以防介体对病菌进行传播扩散。

8 鉴定标准

8.1 外观症状

榆枯萎病菌的两个种引起的外观症状是一样的。在树干或枝条的横切面上, 可见靠近外面的年轮附近有深褐色斑点或条纹, 有时斑点密集, 可连成断续的深褐色圆环。去掉树皮, 木质部上有深褐色纵向条纹, 有时条纹不明显, 可轻削一层木质, 条纹便显现出来。这是由于病菌在木质部导管内大量生长和繁殖, 并产生一种植物毒素——cerato-ulmi 和肽聚糖, 参与了病菌的致病过程; 病菌还可产生纤维素酶和果胶酶降解植物细胞壁。

切开枝杈处, 常可找到小蠹的蛀食槽。

8.2 种的鉴定标准

8.2.1 *Ophiostoma novo-ulmi*

8.2.1.1 生物学特性和菌落性状

O. novo-ulmi 的适宜生长温度为 20℃~22℃, 因此它在 20℃ 条件下的生长速度较快。20℃ 欧亚小种 EAN 的生长速度为 3.1~(4.4~4.8) mm/d, 北美小种 NAN 为 3.2~(4.8~5.3) mm/d; 在 33℃ 时, EAN 的生长速度为 0 mm/d~0.1 mm/d, NAN 为 0.1 mm/d~0.5 mm/d。

O. novo-ulmi 欧亚小种 EAN 的菌落条纹较少, 花瓣状, 不等裂片, 晕环明显; 北美小种 NAN 的菌落纤维状、条纹状、花瓣状, 晕环明显。

8.2.1.2 有性态

病菌在遇到其相对的交配型、并在 ESA 培养基上时,可产生有性态。病菌的两个种在有性态——子囊壳的形态上有差异。

子囊壳在 ESA 培养基上表生到部分埋生,有褐色假根状菌丝附着在基质上。子囊壳基部球形、黑色,宽 $75\ \mu\text{m}\sim 140\ \mu\text{m}$,具稀少至中度刚毛,刚毛褐色至黑色、有隔 $130\ \mu\text{m}\times 3\ \mu\text{m}$;子囊壳颈部黑色,长 $230\sim(640\sim 1\ 070)\ \mu\text{m}$,颈基部直径为 $19\ \mu\text{m}\sim 36\ \mu\text{m}$,顶部 $9\ \mu\text{m}\sim 14\ \mu\text{m}$;颈长度与基部球宽度之比通常为 $1.5\sim 6.2$;孔口缘丝茂盛,透明、有隔、少分枝, $(20\ \mu\text{m}\sim 60\ \mu\text{m})\times(1\ \mu\text{m}\sim 2\ \mu\text{m})$;子囊薄壁、球形至卵形、易消解;子囊孢子透明、单胞桔瓣形, $(4.5\ \mu\text{m}\sim 6\ \mu\text{m})\times(1\ \mu\text{m}\sim 1.5\ \mu\text{m})$,聚生成奶白色粘性孢子滴。自然条件下产生的交配型 B 占优势,雌性交配型 A 强烈排斥 *O. ulmi* 的雄性交配型 B。

8.2.1.3 无性态

发簇孢 *Sporothrix* 的形态特征:分生孢子梗多侧生, $10\sim(30\sim 50)\ \mu\text{m}$,分生孢子 $(4.5\ \mu\text{m}\sim 14\ \mu\text{m})\times(2\ \mu\text{m}\sim 3\ \mu\text{m})$ 全壁芽殖,生有 $0.5\ \mu\text{m}\sim 1\ \mu\text{m}$ 的细齿,单胞、透明,形态多变,椭圆形至长形,通常较细、微弯,连有一个小囊领。丝状分生孢子常常聚成粘性的微滴,酵母状芽殖。

粘束梗霉 *Pesotum* 的形态特征:*Pesotum* 的束丝无性态(synnematal anamorph)单个或多个,褐色到黑色,纤细, $1\ \text{mm}\sim 2\ \text{mm}$ 高;褐色假根状菌丝附着在培养基上,褐色有隔菌丝平行构成束状,顶部张开成喇叭形,成分枝透明的菌丝,透明菌丝上产生全壁芽殖、单胞、透明、卵形到椭圆形、大小为 $(2\ \mu\text{m}\sim 6\ \mu\text{m})\times(1\ \mu\text{m}\sim 3\ \mu\text{m})$ 的分生孢子,分生孢子聚集为奶白色粘性孢子滴。

酵母状分生孢子:在液体培养基中产生,单胞,像酵母状芽殖,孢子大小变化很大。

8.2.2 *Ophiostoma ulmi*

8.2.2.1 生物学特性和菌落性状

O. ulmi 的适宜生长温度较高,为 30°C ,因此它在 33°C 条件下的生长速度较快,为 $1.1\ \text{mm/d}\sim 2.8\ \text{mm/d}$;在 20°C 时,生长速度为 $(1.5\sim)2.0\sim 3.1(\sim 3.5)\ \text{mm/d}$ 。

由于 *O. ulmi* 的分生孢子常合生聚集,因此它的菌落光滑,呈现蜡质、细布状,具弱晕环。

8.2.2.2 有性态

O. ulmi 的有性态——子囊壳的形态与 *O. novo-ulmi* 有差异。

子囊壳在 ESA 培养基上表生到部分埋生,有褐色假根状菌丝附着在基质上。子囊壳基部球形、黑色,宽 $100\sim 150\ \mu\text{m}$,具稀少至中度刚毛。

刚毛褐色至黑色、有隔 $130\ \mu\text{m}\times 3\ \mu\text{m}$;子囊壳颈部黑色,长 $280\sim(420\sim 510)\ \mu\text{m}$,颈基部直径为 $18\ \mu\text{m}\sim 42\ \mu\text{m}$,顶部 $11\ \mu\text{m}\sim 16\ \mu\text{m}$;颈长度与基部球宽度之比通常为 $2.4\sim 3.5$;孔口周丝茂盛,透明、有隔、少分枝, $(20\ \mu\text{m}\sim 60\ \mu\text{m})\times(1\ \mu\text{m}\sim 2\ \mu\text{m})$;子囊薄壁、球形至卵形、易消解;子囊孢子透明、单胞桔瓣形, $(4.5\ \mu\text{m}\sim 6\ \mu\text{m})\times(1\ \mu\text{m}\sim 1.5\ \mu\text{m})$,聚生成奶白色粘性孢子滴。自然条件下产生的交配型 A 和 B 大致相等,雌性交配型 A 可接受 *O. novo-ulmi* 的雄性交配型 B。

8.2.2.3 无性态

O. ulmi 的三种分生孢子的形态与 *O. novo-ulmi* 基本一致,不再叙述,只是 *O. ulmi* 的发簇孢 *Sporothrix* 的丝状分生孢子和其出芽形成的分生孢子经常合生聚集像酵母状。

8.3 *Ophiostoma novo-ulmi* 的欧亚小种 EAN 和北美小种 NAN 的鉴定标准

8.3.1 交配型的鉴定标准

在交配型测试培养中,若待测菌与 B 交配型菌的交界处产生子囊壳,则待测菌为 A 交配型;反之,若待测菌与 A 交配型菌的交界处产生子囊壳,则待测菌为 B 交配型。

8.3.2 小种的鉴定标准

欧亚小种 EAN 的 A 交配型与欧亚小种 EAN 的 B 交配型交配,即 $\text{EAN}\times\text{EAN}$, (前者为 A 交配型,后者为 B 交配型,下同)可生成大量的子囊壳;北美小种 $\text{NAN}\times\text{NAN}$ 也可生成大量的子囊壳;而 $\text{EAN}\times\text{NAN}$ 的交配,则会产生繁殖障碍,所生的子囊壳数目较少,是 $\text{EAN}\times\text{EAN}$ 和 $\text{NAN}\times\text{NAN}$ 所

生子囊壳数目的 1/10 到 1/30;但是 NAN×EAN 的交配,所生子囊壳的数目却是大量的,与 EAN×EAN 和 NAN×NAN 的相近。以此做为小种的鉴定标准。

8.3.2.1 A 交配型小种的鉴定标准

经 A 交配型小种的鉴定培养(见 7.5.2),在受体是 NAN 的 B 交配型的培养皿上,供体对照菌 NAN 的 A 交配型可产生大量子囊壳(NAN×NAN),而供体对照菌 EAN 的 A 交配型所生的子囊壳(EAN×NAN)由于繁殖障碍的原因所生子囊壳数目少于 NAN×NAN,是 NAN×NAN 的 1/10 至 1/30。若待测菌与受体 NAN 所生的子囊壳数目同 NAN×NAN 的子囊壳数目大致相等,且较 EAN×NAN 的子囊壳数目多 10 到 30 倍,则待测菌为北美小种 NAN。反之,若待测菌与受体 NAN 所生的子囊壳数目较少,是 NAN×NAN 的 1/10 至 1/30,并与 EAN×NAN 相似,则待测菌为欧亚小种 EAN。

8.3.2.2 B 交配型小种的鉴定标准

经 B 交配型小种的鉴定培养(见 7.5.3),在受体是 EAN 的 A 交配型的培养皿上,供体对照菌 EAN 的 B 交配型可产生大量子囊壳(EAN×EAN),而供体对照菌 NAN 的 B 交配型所生的子囊壳数目(EAN×NAN)由于繁殖障碍的原因少于 EAN×EAN,是 EAN×EAN 的 1/10 至 1/30。若待测菌与受体 EAN 所生的子囊壳数目同 EAN×EAN 的子囊壳数目大致相等,且较 EAN×NAN 的子囊壳数目多 10 到 30 倍,则待测菌为欧亚小种 EAN。反之,若待测菌所生的子囊壳数目较少,是 EAN×EAN 的 1/10 至 1/30,并与 EAN×NAN 相似,则待测菌为北美小种 NAN。

9 结果判定

根据榆枯萎病菌的鉴定标准(见第 8 章),对分离物进行综合判定,如分离物的所有特性均与各鉴定指标吻合,可鉴定为榆枯萎病菌。否则,不视为榆枯萎病菌。

10 样品保存

10.1 菌样和病木的保存

按菌种保存法(见 7.6),将分离并鉴定为榆枯萎病菌的菌株和病木保存至少 12 个月,以备复验、谈判和仲裁。保存期满后,需经高温高压灭菌销毁处理。

10.2 传病昆虫保存

捕获的传病昆虫除用于分离病原菌外,其余的应使其存活至检验鉴定完成,然后制成标本。尽量保持其身体各部位的完整性。

10.3 检验报告与资料保存

检验报告内容包括:样品来源、种类、数量、实验日期、方法、结果等,并要有检验人员签字(见附录 C)。实验原始记录以及标本和照片等资料需保存完整,以便需要时复验、谈判和仲裁。

11 复核

由国家质量监督检验检疫总局指定的单位或专家负责。主要复核分离到的菌种和捕获到传病昆虫鉴定的正确性,实验原始记录、标本和照片资料的完整性。

附录 A
(资料性附录)
榆枯萎病菌的世界分布

A.1 亚洲

印度、伊朗、土耳其、乌兹别克斯坦、塔吉克斯坦。

A.2 欧洲

丹麦、挪威、瑞典、波兰、捷克、斯洛伐克、匈牙利、法国、德国、奥地利、荷兰、瑞士、英国、比利时、西班牙、葡萄牙、意大利、南斯拉夫联邦共和国、罗马尼亚、保加利亚、希腊、爱沙尼亚、立陶宛、摩尔多瓦、乌克兰。

A.3 美洲

美国、加拿大。



附录 B
(资料性附录)
榆枯萎病菌形态示意图



图 B.1 榆枯萎病菌的子囊壳



图 B.2 榆枯萎病菌的粘束梗霉 *Pesotum*

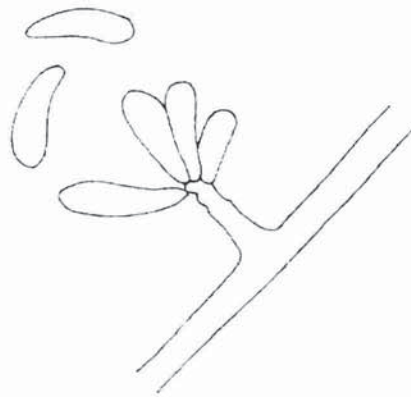


图 B.3 榆枯萎病菌的发簇孢 *Sporothrix*

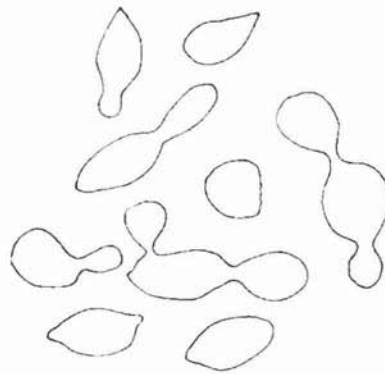


图 B.4 榆枯萎病菌酵母状孢子 *Blastomyces*

附 录 C
(规范性附录)
检疫鉴定报告单

样品

报验号	名称	品种	数量/质量	产地	审批号	取样时间
输出国家或地区：						
运输线路及方式：						
用途：			计划种植地区：			
检疫要求：						

鉴定结果

检验日期：	检验员：
检验方法：	
结果：	
实验室主任：	单位负责人：
日期： 年 月 日	(盖章) 日期： 年 月 日

参考文献

- [1] Brasier C. M. ,1991 *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov. ,Causative agent of current Dutch elm disease pandemics. *Mycopathologia* 115:115—161
- [2] Brasier C. M. ,Kirk S. A. ,Pipe N. D. and Buck K. W. ,1998 Rare interspecific hybrids in natural populations of the Dutch elm disease pathogens *Ophiostoma ulmi* and *O. novo-ulmi*. *Mycol. Res.* 102(1): 45—57
- [3] Hindal D. F. ,Harner E. J. ,and MacDonald W. L. ,1981 Cultural characteristics, pathogenicity predictions, and pathogenicity tests for some isolates of *Ceratocystis ulmi*. *Can. J. Bot.* 59: 2543—2549
- [4] Miller R. V. ,Sands D. C. and Strobel G. A. , 1981 Selective Medium for *Ceratocystis ulmi*. *Plant Disease* 65:147—149
- [5] Mitchell A. G. and Brasier C. M. , 1994 Contrasting structure of European and North American populations of *Ophiostoma ulmi*. *Mycol. Res.* 98(5):576—582
- [6] Compendium of Elm Diseases. 1981 Published by APS

