

# 不同玉米品种对瘤黑粉病抗性的初步鉴定

严理, 李智敏, 陈佳, 高春生, 余永廷, 严准\*

(中国农业科学院麻类研究所, 湖南 长沙 410205)

**摘要:** 选择 22 个玉米品种, 在苗期采用注射法人工接种玉米黑粉菌, 对玉米瘤黑粉病发病时间、发病率、病情指数进行统计分析, 以鉴定玉米品种对瘤黑粉病的抗病性。结果表明: 接种 8 d 后, 玉米品种陆续开始发病, 第 13 天进入发病增速期, 第 16 天达到发病高峰期, 第 18 天后病情基本稳定; 玉米品种间对瘤黑粉病的抗性存在差异, 其中 LD901、太平洋 891 表现为高抗, 京科 665、金糯 628 表现为中抗, 耐斯 1 号、京单 38、南美 1 号等 12 个品种表现为抗病, 糯 2000、太平洋 98、Golden Bautam、中彩甜糯 8 号、15H-09、绿色先锋 F1 表现为感病。

**关键词:** 玉米; 瘤黑粉病; 抗病性

中图分类号: S435.131.4<sup>+</sup>1

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2017)01-0042-05

## Primary identification of resistance in different maize varieties to *Ustilago maydis*

YAN Li, LI Zhimin, CHEN Jia, GAO Chunsheng, YU Yongting, YAN Zhun\*

(Institute of Bast Fiber Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410205, China)

**Abstract:** Maize seedlings from 22 of maize varieties were inoculated with *Ustilago maydis* by artificial injection, and disease resistance of these maize varieties were evaluated by onset of symptom, incidence rate and disease index. The results showed that the infection symptom was first observed at eight days post inoculation (dpi), the diseased maize of all varieties developed quickly since 13 dpi and become outbreak until 16 dpi and disease status become stable from 18 dpi. Disease resistance was different among maize varieties: varieties LD901 and TPY891 showed to be high resistant, varieties JK665 and JN628 showed to be middle resistant and 12 varieties of maize, such as NS1, JD38 and NM1 showed resistant to *Ustilago maydis* while varieties N2000, TPY98, Golden Bautam, ZCTN8, 15H-09 and LSXF F1 showed to be susceptible to *Ustilago maydis*.

**Keywords:** maize; *Ustilago maydis*; resistance

玉米瘤黑粉病病原菌为玉蜀黑粉菌(*Ustilago maydis*), 属于担子菌亚门<sup>[1]</sup>。玉蜀黑粉菌侵染植株的茎秆、果穗、雄穗、叶片的幼嫩组织<sup>[2-3]</sup>, 所形成的黑粉瘤消耗大量的养分, 导致植株空秆不结实, 造成严重减产<sup>[4-6]</sup>。鉴于玉米瘤黑粉病对玉米生产的威胁, 笔者对 22 个玉米品种进行了抗病性鉴定, 以期制定有效的防治措施, 指导品种的合理

应用, 为相关抗病育种提供参考。

### 1 材料与amp;方法

#### 1.1 材料

供试玉米品种 22 个: 6 个甜玉米品种(中甜 11F1、夏王 F1-Hybrid、甜玉四号、双色蜜玉、中彩甜糯 8 号、绿色先锋 F1); 3 个糯玉米品种(金糯

628、黑糯 301、晶晶糯); 4 个饲料用玉米品种(糯 2000、京科 665、京单 38、先玉 335); 6 个国外品种(太平洋 891、太平洋 98、太平洋 99、耐斯 1 号、南美 1 号、Golden Bautam); 3 个其他品种(LD901、15H-09、15H-26)。

供试病原菌为 *Ustilago maydis* 的 2 个菌株 FB<sub>1</sub> 和 FB<sub>2</sub>, 均来源于加拿大多伦多大学, -80 °C 冰箱长期甘油保存。接种前, 菌样在冰浴中解冻, 用无菌接种环粘取菌液在 YEPSL 固体培养基(1%酵母提取物、0.4%蛋白胨、0.4%蔗糖、1.5%琼脂粉)上多次划线, 28 °C 培养 3 d。挑取单菌落接种于 YEPSL 液体培养基中, 28 °C、180 r/min 振荡培养, 至 OD<sub>600 nm</sub> ≈ 1, 备用。

## 1.2 方法

### 1.2.1 试验设计

每个玉米品种保苗 40~50 株, 接种 23~38 株, 其他作为对照。6 叶 1 心时, 采用注射法<sup>[7]</sup>接种 FB<sub>1</sub> 和 FB<sub>2</sub> 的混合菌液。

按 1 : 1 比例混合菌液, 使菌体终浓度为 9 ~ 10 × 10<sup>8</sup> CFU。用 5 mL 注射器吸取混合菌液, 将针头刺入玉米植株茎秆的中下部, 每株注入菌液 1 mL 左

右, 见心叶中冒出菌液即可<sup>[8-10]</sup>; 对照苗注射等量的无菌水。接种后第 8、11、13、16、18 和 19 天记录玉米植株的发病时间、发病数量与发病程度。

### 1.2.2 数据处理与抗病性鉴定和评价标准

统计各品种发病时间、发病数量、发病等级, 计算发病率、病情指数<sup>[11]</sup>, 分析发病等级最高(4 级)株数与发病率、病情指数的相关性, 对发病率、病情指数、发病等级进行综合统计分析, 以确定品种的抗病性。

根据文献<sup>[12]</sup>, 将玉米品种对瘤黑粉病抗性评价标准划分为 5 级: 病情指数 0 ~ 15.0% 为高抗(HR); 15.1% ~ 30.0% 为中抗(MR); 30.1% ~ 50.0% 为抗病(R); 50.1% ~ 70.0% 为感病(S); 70.1% ~ 100.0% 为高感(HS)。

参照目前仅有的摩尔达维亚玉米高粱研究所关于玉米瘤黑粉病的分级评价<sup>[4]</sup>, 综合玉米其他病害的分级标准<sup>[13]</sup>, 根据玉米瘤黑粉病自身的发病程度与特征, 把玉米瘤黑粉病发病等级分为 4 级, 对不同级别的玉米株数进行统计。玉米瘤黑粉病的分级标准见表 1, 瘤黑粉病侵染症状分级见图 1。

表 1 玉米瘤黑粉病的分级标准

Table 1 Grading standard on corn smut

病级	表现症状	主要发病部位
1	轻微侵染, 叶片有零星变黄	叶
2	轻度侵染, 叶片有少量变黄、起皱扭曲	叶
3	中度侵染, 叶片、叶鞘、腋芽等部位扭曲短缩、畸形, 有少量凸起的瘤组织	叶、茎
4	重度侵染, 叶片、茎部或茎基严重畸形, 有较多、较大凸起瘤状物	叶、茎、茎基部



图 1 玉米瘤黑粉病症状分级

Fig.1 Typical symptom of different disease classification on corn smut

## 2 结果与分析

### 2.1 玉米接种黑粉菌后的发病率

从表2可见,6叶1心期的玉米苗在接种黑粉菌8d后,开始出现瘤黑粉病症状,发病率为38.71%~89.29%,其中京单38、夏王F1-Hybrid、中甜11F1较早感病。接种11d后,除双色蜜玉无症状外,其他都已发病,Golden Bautam发病率达39.29%;接种13d后,所有品种进入发病增速期,

表2 不同玉米品种接种黑粉菌的发病率

品种	发病率/%				
	8 d	11 d	13 d	16 d	18~19 d
中甜 11F1	7.41	33.33	44.44	55.56	62.96
夏王 F1-Hybrid	8.70	30.43	30.43	39.13	65.22
甜玉四号	3.33	23.33	43.33	56.67	60.00
双色蜜玉	0.00	0.00	13.33	33.33	60.00
中彩甜糯 8号	3.33	30.00	50.00	76.67	83.33
绿色先锋 F1	4.35	21.74	34.78	56.52	78.26
金糯 628	3.57	14.29	17.86	32.14	57.14
黑糯 301	0.00	25.00	46.43	75.00	78.57
晶晶糯	0.00	14.81	51.85	74.07	77.78
糯 2000	4.17	33.33	62.50	79.17	83.33
京科 665	0.00	10.53	18.42	42.11	60.53
京单 38	9.68	29.03	29.03	67.74	74.19
先玉 335	6.67	23.33	33.33	56.67	76.67
太平洋 891	0.00	6.45	9.68	29.03	41.94
太平洋 98	0.00	20.69	51.72	82.76	86.21
太平洋 99	0.00	18.92	32.43	59.46	64.86
耐斯 1号	6.06	27.27	36.36	60.61	63.64
南美 1号	0.00	12.00	28.00	60.00	72.00
Golden Bautam	7.14	39.29	53.57	82.14	89.29
LD901	0.00	6.45	12.90	35.48	38.71
15H-09	7.14	25.00	35.71	67.86	89.29
15H-26	0.00	17.86	35.71	71.43	75.00

Golden Bautam、晶晶糯、太平洋 98 发病率分别达 53.57%、51.85%、51.72%;接种 16 d 后达到发病高峰期,太平洋 98、Golden Bautam 的发病率均超过 82%,发病最慢的太平洋 891 的发病率也达到 29.03%;18 d 后发病率基本稳定,截止到第 19 天,Golden Bautam、15H-09、太平洋 98 的发病率均已超过 86%,LD901、太平洋 891、金糯 628 的发病率均低于 60%。

### 2.2 玉米接种黑粉菌的发病症状

受黑粉菌侵染的叶片先变黄,在叶片正反两面或叶柄出现成串黄色珍珠点大的豆粒,豆粒随即慢慢长大连成一片,由黄变浅红,再变灰至黑色,渐渐隆起,使叶片扭曲、短缩、畸形萎蔫,或在茎部中间、茎基部形成明显的瘤状物,继而造成植株死亡。这与曹玖燕<sup>[14]</sup>、芦连勇等<sup>[15]</sup>研究结果一致。发生瘤变是受侵染部位如韧皮部、薄壁和厚壁等组织的细胞快速增大和增殖导致,同时也是黑粉病寄生菌丝在寄主细胞间隙不断增长,由营养生长向有性生殖转变的外部表现<sup>[16-18]</sup>。

### 2.3 玉米接种黑粉菌的发病等级与病情指数

对接种 19 d 后的植株(病情稳定期)进行发病等级与病情指数统计,结果(表3)表明:接种 19 d 后,不同玉米品种受瘤黑粉病菌的侵染程度各不相同,按发病等级与病情指数分析,4级发病程度最严重的是夏王 F1-Hybrid,其后依次为甜玉四号、Golden Bautam、太平洋 98。夏王 F1-Hybrid、甜玉四号 1、2、3 级发病数量不多,所以病情指数并不是最高的。Golden Bautam、太平洋 98 各等级发病数量居多,发病程度较轻的是 LD901、太平洋 891。说明病情指数与发病等级呈正相关,发病等级越高,病情指数也偏高,这与玉米品种的抗性分析结果基本一致。

表3 供试玉米的发病等级与病情指数及抗性类型

品种	接种数/株	发病株数				病情指数/%	抗性
		1级	2级	3级	4级		
中甜 11F1	27	3	3	5	6	44.44	R
夏王 F1-Hybrid	23	3	1	3	8	50.00	R
甜玉四号	30	2	2	6	8	46.67	R
双色蜜玉	30	4	3	5	6	40.83	R
中彩甜糯 8号	30	3	8	5	9	58.33	S
绿色先锋 F1	23	6	2	3	7	51.09	S

表 3(续)

品种	接种数/株	发病株数				病情指数/%	抗性
		1 级	2 级	3 级	4 级		
金糯 628	28	6	6	3	1	27.68	MR
黑糯 301	28	4	10	5	3	45.54	R
晶晶糯	27	3	9	3	6	50.0	R
糯 2000	24	2	2	9	7	63.54	S
京科 665	38	14	7	2	0	22.37	MR
京单 38	31	6	13	4	0	35.48	R
先玉 335	30	2	11	4	6	50.00	R
太平洋 891	31	8	5	0	0	14.52	HR
太平洋 98	29	3	6	6	10	62.93	S
太平洋 99	37	3	8	9	4	41.89	R
耐斯 1 号	33	9	4	4	4	34.09	R
南美 1 号	25	5	8	5	0	36.00	R
Golden Bautam	28	4	7	4	10	62.50	S
LD901	31	9	2	0	1	13.71	HR
15H-09	28	5	6	8	6	58.04	S
15H-26	28	6	4	4	7	48.21	R

玉米瘤黑粉病的病情指数与发病率、发病 4 级株数呈极显著正相关关系, 相关系数分别为 0.888 与 0.863 ; 发病率与发病 4 级株数也呈极显著正相关, 相关系数为 0.596。发病率、发病等级越高, 病情指数也随着增高; 发病等级越高, 发病率就越高。

22 个品种中, LD901、太平洋 891 的发病率、发病等级与病情指数在所有品种中较低, 其次是京科 665、金糯 628, 另外 12 个品种耐斯 1 号、京单 38、南美 1 号、双色蜜玉、太平洋 99、中甜 11F1、黑糯 301、甜玉四号、15H-26、晶晶糯、先玉 335、夏王 F1-Hybrid 的病情指数为 30.1%~50.0%, 抗性评价为抗病(R)。Golden Bautam、太平洋 98、糯 2000、中彩甜糯 8 号、15H-09、绿色先锋 F1 的 3 项指标偏高, 病情指数为 50.1%~70.0%, 抗性评价为感病(S)。不同玉米品种对瘤黑粉病的抗性存在差异。

### 3 小结与讨论

试验结果表明, 在玉米 6 叶 1 心期, 用注射法接种 FB<sub>1</sub> 与 FB<sub>2</sub> 的玉米黑粉菌的混合液, 第 8 天开始陆续出现侵染症状, 第 11 天已基本发病, 第 13 天所有品种进入发病增速期, 第 15—16 天达到发病的高峰期, 第 18 天后病情基本稳定, 至第 19 天基本停止发病, 与黑粉病的发病进程有关, 玉米黑粉菌是双向型真菌, 其生命周期分为单倍体孢子和双

核菌丝体 2 个阶段<sup>[8]</sup>。单倍体担孢子时是“酵母相”, 以出芽方式无性繁殖, 接种后 2 种交配型担孢子交配形成的双核菌丝以“菌丝相”入侵玉米, 菌丝在寄主细胞间隙中不断增加, 影响植株的生长发育, 8 d 左右植株出现侵染症状, 13 d 左右受侵染部位细胞开始膨大, 组织出现瘤变, 第 15—16 天组织瘤变扩大, 瘤变部位黑粉病菌丝由营养生长逐渐向有性生殖转变, 第 17—18 天产生厚垣孢子<sup>[19]</sup>, 进入冬孢子发育时期, 19 d 后停止发病, 逐步完成有性生殖生命周期, 这一变化过程代表了黑粉病的生长周期。

玉米瘤黑粉病的病情指数与发病率、发病 4 级株数呈极显著正相关关系, 发病率、发病等级越高, 病情指数也随着增高。22 个品种中, 有高抗品种 2 个(LD901、太平洋 891), 占 9.1%; 中抗品种 2 个(京科 665、金糯 628), 占 9.1%; 抗病品种 12 个(耐斯 1 号、京单 38、南美 1 号、双色蜜玉、太平洋 99、中甜 11F1、黑糯 301、甜玉四号、15H-26、晶晶糯、先玉 335、夏王 F1-Hybrid), 占 54.5%; 感病品种 6 个(糯 2000、太平洋 98、Golden Bautam、中彩甜糯 8 号、15H-09、绿色先锋 F1), 占 27.3%。

基于以上分析, 从 22 个品种中选择玉米瘤黑粉病的抗性品种, 应当首先选择 LD901、太平洋 891, 其次选择京科 665、金糯 628, 再次从其他 12 个抗病品种中选取。

## 参考文献:

- [1] 周联东, 张学舜, 刘经纬, 等. 玉米黑粉病发生原因及防治对策[J]. 作物杂志, 2004(1): 31-32.
- [2] 华南农学院, 河北农业大学. 植物病理学[M]. 北京: 农业出版社, 1983.
- [3] 陈三凤, 刘德虎, 李季伦. 玉米瘤黑粉菌的遗传交配型[J]. 微生物通报, 2000, 27(2): 146-148.
- [4] 鄂文弟, 王振华, 张立国, 等. 玉米瘤黑粉病的研究进展[J]. 玉米科学, 2006, 14(1): 153-157.
- [5] LUBBERSTEDT T, KLEIN D, MELCHINGER A E. Comparative QTL mapping of resistance to *Ustilago maydis* across four populations of European flint maize[J]. Tag Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97(8): 1321-1330.
- [6] 刘正坪, 赵占军, 张贵, 等. 玉米瘤黑粉病菌冬孢子生物学特性研究[J]. 现代化农业, 1998(1): 12-13.
- [7] 张春民, 刘玉英, 石洁, 等. 玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术研究[J]. 玉米科学, 2005, 13(3): 109-111.
- [8] 李智敏, 严理, 严准. 玉米瘤黑粉菌的寄生策略及调控机制[J]. 微生物学报, 2016, 56(9): 1385-1397.
- [9] 石菁, 张金文, 陆继有. 玉米瘤黑粉病抗性鉴定技术的评价[J]. 玉米科学, 2010, 18(1): 131-134.
- [10] 龚国淑, 徐琴, 张敏, 等. 一种简便的病原真菌单孢分离方法研究[J]. 玉米科学, 2010, 18(1): 126-127.
- [11] 伍南, 刘君昂, 闫瑞坤, 等. 基于地面高光谱数据的油茶炭疽病情指数反演[J]. 植物保护, 2012, 38(5): 22-26.
- [12] 石菁. 瘤黑粉菌生物学及玉米抗性鉴定研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
- [13] 邢光耀, 杜学林. 不同玉米品种对小斑病和弯孢霉叶斑病的抗性分析[J]. 西北农业学报, 2006, 15(1): 75-78.
- [14] 曹玖燕. 玉米黑粉病的发生及防治[J]. 科研农业科学, 2014, 11(下半年): 54.
- [15] 芦连勇, 宋长江, 刘智萍. 玉米瘤黑粉病的发生规律及防治措施[J]. 玉米科学, 2006, 14(增刊): 128-130.
- [16] PATAKY J, SNETSELAAR K. Common smut of corn (Syn. boil smut, blister smut)[J]. Plant Health Instructor, 2006. <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/fungi/Basidiomycetes/Pages/CornSmut.aspx>. DOI:10.1094/PHI-I-2006-0927-01.
- [17] BARRY K, JR G F, DOMÍNGUEZ J. Effect of maize genotype, developmental stage, and cooking process on the nutraceutical potential of huitlacoche (*Ustilago maydis*)[J]. Food Chemistry, 2010, 119(2): 689-697.
- [18] GAO L, KELLIHER T, NGUYEN L, et al. *Ustilago maydis* reprograms cell proliferation in maize anthers[J]. Plant Journal, 2013, 75(6): 903-914.
- [19] KRONSTAD J W, WÖSTEN H A B, BÖLKER M, et al. Insights from the genome of the biotrophic fungal plant pathogen *Ustilago maydis*[J]. Nature, 2006, 444: 97-101.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 罗维