

邹晓威,夏 蕾,朱晓敏,等. 玉米黑粉菌单倍体菌株平板交配及其致病性分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(1):123–128.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2024.01.018

玉米黑粉菌单倍体菌株平板交配及其致病性分析

邹晓威,夏 蕾,朱晓敏,孟灵敏,隋 丽,姜兆远,郑 岩

(吉林省农业科学院植物保护研究所/吉林省农业微生物重点实验室/农业农村部东北作物有害生物综合治理
重点实验室/吉林省农业科学院,吉林公主岭 136100)

摘要:为验证玉米黑粉菌单倍体菌株平板交配现象可以明确不同交配型菌株的可行性,运用稀释纯化法分离纯化玉米黑粉菌单倍体菌株 10 个,将单倍体菌株两两混合后,运用划线法在固体培养基 YPDA 上培养 7 d,选取菌落表面形成白色菌丝、镜检明确平板交配的菌株。通过注射接种玉米植株幼苗,分析各菌株组合对玉米植株的致病性。结果表明,在 45 组菌株组合中出现平板交配现象的菌株组合有 9 种,因与同一单倍体菌株产生平板交配现象的菌株为相同交配型菌株,由此可知 3 号菌株、5 号菌株、8 号菌株及 9 号菌株为相同交配型菌株;1 号菌株、4 号菌株、6 号菌株、7 号菌株及 10 号菌株为相同交配型菌株。通过玉米侵染试验发现,在 45 组菌株组合中有 26 种组合可以引起玉米植株肿瘤,26 种组合中每组中的 2 个单倍体菌株为不同型单倍体菌株,进而明确 2 号菌株、3 号菌株、5 号菌株、8 号菌株及 9 号菌株为相同交配型菌株;1 号菌株、4 号菌株、6 号菌株、7 号菌株及 10 号菌株为相同交配型菌株。除 2 号菌株外,通过平板交配现象推导结果与玉米侵染试验获得的结果完全一致。本研究表明通过玉米黑粉菌单倍体菌株平板交配现象可以进行菌株的不同交配型鉴定。

关键词:玉米黑粉菌;平板交配;交配型鉴定;致病性

中图分类号:S435.131.4⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002–1302(2024)01–0123–05

玉米黑粉菌 (*Ustilago maydis*) 属黑粉菌目 (Ustilaginales) 黑粉菌科 (Ustilaginaceae), 可以侵染玉米植株的所有地上组织,并迅速引起玉米植物组织膨大,造成玉米植株特异性生长,并最终在玉米地上组织形成黑粉瘤^[1–2]。*U. maydis* 的整个生活史包含腐生生活的酵母型和寄生生活的菌丝型 2 种型态,由酵母型向菌丝型的转化是 *U. maydis* 成功侵染寄主植物的关键^[3–5]。*U. maydis* 侵染玉米植物组织的典型症状是诱导植物地上部分各类组织膨大形成含有黑色冬孢子的植物肿瘤^[6–7]。当膨大的植物组织破裂后,黑色冬孢子也会随之被释放,随风和水流扩散,在遇到合适条件后萌发,重新形

成酵母型单倍体细胞^[8]。

虽然黑粉菌的有性生殖需要寄主,但在人工培养基上也能获得快速生长。玉米黑粉菌的生命周期可分为单倍体孢子和双核菌丝体 2 个阶段^[9–10]。单倍体孢子可在特定的培养基上芽殖,菌体形态类似酵母状,但这种形式的单倍体孢子不具有致病力。只有当 2 个不同交配型的单倍体孢子通过 a 双等位基因座编码的信息素–受体体系相互识别并发生单倍体细胞间的融合形成双核菌丝体后,b 多等位基因座的 bE/bW (bEast/bWest) 异源二聚体触发包括多个转录因子基因和 38 个潜在效应基因在内的调控级联,从而调控双核菌丝的维持、致病性及有性生殖的完成^[11–13]。只有 2 个不同交配型的单倍体菌株交配结合形成双核菌丝体,才能形成玉米黑粉病的典型症状,因此筛选不同交配型的单倍体菌株对玉米黑粉菌与玉米互作研究至关重要。

最早在 1932 年的 Sleumer 以及之后的 Bowman (1946)、Rowell (1955) 均认为 2 个不同交配型的单倍体的交配反应可以在人工培养基上进行,他们在显微镜下观察到了亲和的单倍体细胞的融合,然而,这个融合产物没有进一步的发展,未形成冬孢子^[14–16]。也是在 1932 年,Bauch 报道了显微镜下

收稿日期:2023–02–20

基金项目:吉林省农业科学院基本科研经费项目(编号:KYJF2021ZR105);吉林省科技厅中央引导地方科技发展资金(编号:202002064JC)。

作者简介:邹晓威(1983—),女,吉林松原人,硕士,副研究员,从事玉米真菌病害研究,E-mail:zouxiaowei2008@126.com;共同第一作者:夏 蕾(1982—),女,吉林松原人,博士,副研究员,从事微生物研究,E-mail:fushun1020@yeah.net。

通信作者:郑 岩,博士,研究员,从事玉米真菌病害研究,E-mail:jlzhengyan@163.com。

的交配迹象^[17]。在麦芽培养基上,2 个亲和菌株的单菌落叠加在一起,便可以在菌落表面形成一层厚重的菌丝;非亲和的 2 个单倍体菌株保持着酵母状生长,并保持着正常的人工培养基上的生长模式。同时 Bauch 把这一现象叫作平板交配^[17]。在本研究中,将获得的 2 个单倍体菌株混合后在固体培养基 YPDA 上培养,出现了平板交配的现象,且国内未见报道。本研究发现出现平板交配现象的 2 个单倍体一定为不同型单倍体菌株。同时本研究对出现和未出现平板交配的 2 个单倍体菌株进行玉米致病性分析,从而明确菌株的不同交配型,验证了通过平板交配现象筛选菌株的不同交配型的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料

玉米黑粉菌菌瘤于 2020 年 8 月分别从吉林省双阳、公主岭 2 个地点采集,所采集样品由吉林省农业科学院植物保护研究所微生物重点实验室保存。

1.2 样品处理

将田间采集的玉米黑粉菌菌瘤用 70% 无水乙醇进行表面消毒 2 次,每次 3 min。在超净工作台内用无菌牙签刺入菌瘤内,挑取少量菌粉置于 3 mL 含有 Amp 抗生素的 YEPS 液体培养基中过夜培养。取接近试管底部的 1.5 mL 过夜培养液于 2 mL 离心管内进行菌体收集,倒掉上清,取沉淀进行冬孢子萌发观察。

1.3 单胞分离

根据上述冬孢子的萌发情况,采用稀释纯化法^[18]分离纯化单倍体菌株。准备适量洁净的硬琼脂培养基(琼脂占比为 3%),倒在培养皿中,待凝固后在培养皿的背面用记号笔画 4~5 mm 的小格;接着将菌体沉淀用 1 mL 无菌水回溶镜检观察其孢子浓度,直至稀释至 1 个视野内担孢子的个数在 30 个左右时,用无菌牙签蘸取浓度适当的孢子悬浮液,移在琼脂平板表面上所画的小格范围内,稍向下压,使培养基表面稍微下凹,但勿使表面破碎。而后,从培养皿的背面,用低倍镜检视小格内孢子数目,如格内只有 1 个孢子,就用无菌接种铲将这一小块培养皿取下,移植在 YPDA 培养基内培养。待形成菌落后再进行划线取单菌落摇菌进行菌种保存。分别从双阳、公主岭 2 个地点的玉米黑粉菌菌瘤内获得 10 株单倍体菌株。

1.4 单倍体菌株的平板交配

将获得的 10 株单倍体菌株进行摇菌过夜培养,

按照表 1 方式选取 2 个单倍体菌株培养液按 1:1 的比例混合,并收集菌体,用无菌牙签蘸取沉淀进行划线培养。于 28 ℃ 的培养箱内培养,划线培养基为 YPDA。待菌落长出后,进行显微镜观察,约 7 d 后,菌落平板表面长出透明菌丝或者白色菌丝,再次进行显微镜观察。

1.5 不同菌株组合致病性分析

将获得的 10 株单倍体菌株进行摇菌过夜培养,菌液 $D_{600\text{ nm}}$ 为 2.0 时,按照表 1 方式选取 2 个单倍体菌株再次按 1:1 的比例混合,收集菌体,并用无菌水进行回溶, $D_{600\text{ nm}}$ 为 2.0,注射接种玉米植株幼苗,观察发病情况并记录。

表 1 10 株单倍体菌株两两组合

单倍体菌株	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	\	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	\	\	+	+	+	+	+	+	+	+
3	\	\	\	+	+	+	+	+	+	+
4	\	\	\	\	+	+	+	+	+	+
5	\	\	\	\	\	+	+	+	+	+
6	\	\	\	\	\	\	+	+	+	+
7	\	\	\	\	\	\	\	+	+	+
8	\	\	\	\	\	\	\	\	+	+
9	\	\	\	\	\	\	\	\	\	+

注:“+”表示组合方式;“\”表示已有组合,下表同。

2 结果与分析

2.1 显微镜观察

经无菌牙签刺入菌瘤内取菌粉过夜培养后,取沉淀进行显微镜观察时发现此时冬孢子萌发形成担子及担孢子(图 1)。

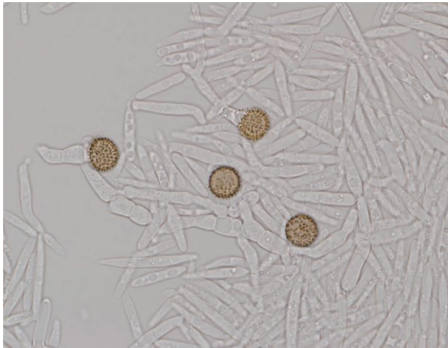


图1 玉米黑粉菌冬孢子萌发形成担子及担孢子

2.2 单倍体菌株的平板交配

将经单胞分离获得的单倍体菌株两两混合进

行摇菌,收集菌体进行划线培养。待菌落长出后,进行显微镜观察发现,有的担孢子出现分隔并伸长(图 2),而有的担孢子则未出现分隔(图 3);培养 7 d 后,可见平板内菌落表面有的形成白色菌丝(图 4),有的未形成白色菌丝,此时镜检发现菌丝,同时分隔的担孢子形成芽管(图 5),芽管结合形成菌丝,出现平板交配现象(图 6)。当 2 个单倍体出现平板交配现象时,说明 2 个单倍体是亲和的,属于真正意义上的细胞融合,因此这种互作叫作平板交配^[11]。镜检发现有的菌丝有分隔(图 7),有的菌丝没有分隔(图 8),均未观察到锁状联合。

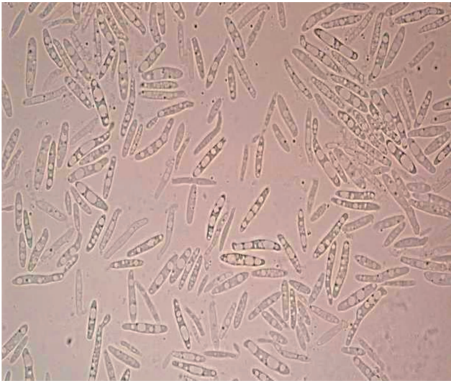


图2 玉米黑粉菌具有分隔的担孢子

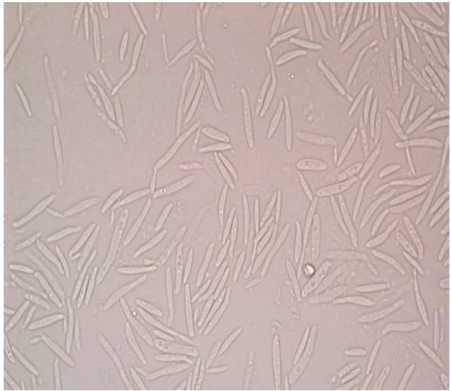


图3 玉米黑粉菌无分隔担孢子



图4 菌落表面形成白色菌丝

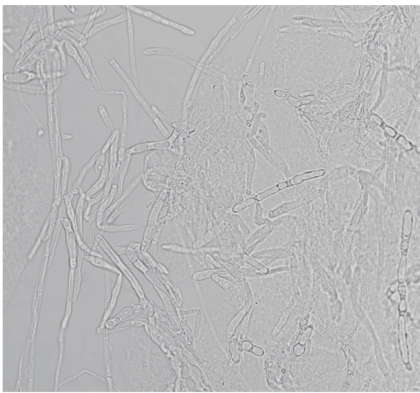


图5 玉米黑粉菌担孢子萌发形成芽管



图6 玉米黑粉菌的不同型单倍体菌株的平板交配

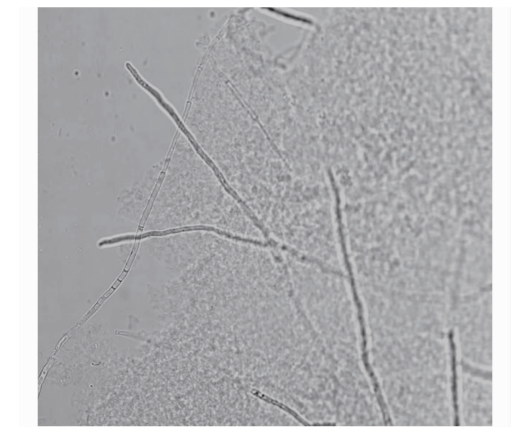


图7 玉米黑粉菌在平板内形成的具有分隔的菌丝

各菌株与其他菌株的 45 种组合中有 9 种组合观察到平板交配现象(表 2),1 号菌株与 5 号菌株、8 号菌株;3 号菌株与 7 号菌株、10 号菌株;4 号菌株与 5 号菌株、8 号菌株;5 号菌株与 1 号菌株、4 号菌株、10 号菌株;6 号菌与 8 号菌株、9 号菌株;7 号菌株与 3 号菌株;8 号菌株与 1 号菌株、4 号菌株、6 号菌株;9 号菌株与 6 号菌株;10 号菌株与 3 号菌株、5 号菌株。而 2 号菌株和其他菌株未出现平板交配现象。

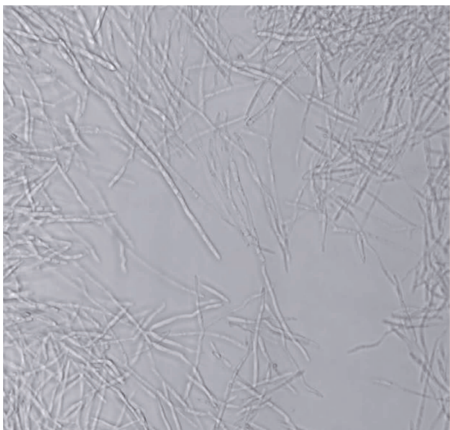


图8 玉米黑粉菌在平板内形成的无分隔菌丝

从菌株交配型关系可以推断,3 号菌株、5 号菌株、8 号菌株及 9 号菌株为相同交配型菌株;1 号菌株、4 号菌株、6 号菌株、7 号菌株及 10 号菌株为相同交配型菌株。

表 2 10 株单倍体菌株两两组合后出现平板交配情况统计

单倍体菌株	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	\	-	-	-	+	-	-	+	-	-
2	\	\	-	-	-	-	-	-	-	-
3	\	\	\	-	-	-	+	-	-	+
4	\	\	\	\	+	-	-	+	-	-
5	\	\	\	\	\	-	-	-	-	+
6	\	\	\	\	\	\	-	+	+	-
7	\	\	\	\	\	\	\	-	-	-
8	\	\	\	\	\	\	\	\	-	-
9	\	\	\	\	\	\	\	\	\	-

注: + 表示显微镜观察到平板交配现象; - 表示显微镜未观察到明显的平板交配现象。

2.3 不同菌株组合致病性分析

将不同组合的菌株注射接种玉米植株幼苗,分析各菌株组合致病性(图 9)。通常接种后 3 d 出现褪绿病斑,6 d 出现肿瘤。各菌株与其他菌株的 45 种组合中有 26 种组合可以引起玉米叶片肿瘤(表 3)。笔者发现出现平板交配的组合菌株,在玉米植株内一定会发生交配,并在玉米叶片上形成肿瘤,即这 2 个单倍体菌株为不同型的单倍体菌株;但未出现平板交配现象的组合菌株,在玉米植株内可能出现交配现象,在玉米叶片上形成肿瘤(表 3)。由表 3 可知,2 号菌株、3 号菌株、5 号菌株、8 号菌株及 9 号菌株为相同交配型菌株,1 号菌株、4 号菌株、6 号菌株、7 号菌株及 10 号菌株为相同交配型菌株,与平板交配结果基本一致。



图9 不同单倍体玉米黑粉菌菌株组合进行注射接种玉米植株幼苗形成的肿瘤

表 3 10 株单倍体菌株两两组合侵染玉米植株发病情况统计

单倍体菌株	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	\	+	+	-	+	-	-	+	+	-
2	\	\	-	+	-	+	+	-	-	+
3	\	\	\	+	-	+	+	-	-	+
4	\	\	\	\	+	-	-	+	+	-
5	\	\	\	\	\	+	+	-	-	+
6	\	\	\	\	\	\	-	+	+	-
7	\	\	\	\	\	\	\	+	+	-
8	\	\	\	\	\	\	\	\	-	+
9	\	\	\	\	\	\	\	\	\	+

注: + 表示玉米植株出现明显的肿瘤;“-”表示玉米植株未出现明显症状。

3 讨论与结论

本研究取玉米黑粉菌的菌包内菌粉培养,并进行单胞分离获得单倍体菌株,两两组合培养,出现平板交配的现象,该结果与 Sleumer 等的研究结果^[14-16]一致。同时,平板交配现象的出现也说明玉蜀黍黑粉菌的交配能够发生于体外。冬孢子萌发形成担孢子,2 个相互兼容的担孢子相遇后停止芽殖,细胞形成相向的结合管;单倍体细胞融合后,*U. maydis* 的细胞周期受到阻滞,形成具有侵染能力的双核的菌丝型;不断延伸的双核菌丝遇到植物表面合适位置后在末端膨大形成附着胞,帮助双核菌丝穿透植物表皮;穿透植物表皮后双核菌丝进一步在植物细胞间延伸并大量增殖,引起植物组织膨大。侵染晚期,植物营养逐渐被消耗,膨大组织内的部分双核菌丝开始出现核融合现象,形成双倍体菌丝。双倍体菌丝断裂、聚合后分化形成冬孢子,冬

孢子在植物组织破裂后被释放。冬孢子遇到合适条件后又开始萌发,首先经减数分裂形成先菌丝,然后先菌丝经有丝分裂形成酵母型单倍体担孢子^[19]。

本研究平板交配现象是在菌落长出后约 7 d,平板内菌落表面长出透明菌丝或者白色菌丝时观察到的平板交配。张修军等研究表明,担孢子向菌丝形态转化的决定因素是水分,即在环境变干、水分逐渐丧失的过程中转变为菌丝形态^[20]。本研究结果与之相一致,培养 7 d 的平板内培养基水分逐渐消失,平板内环境变干,担孢子完成了向菌丝形态的转化,故此平板内菌落表面长出透明菌丝或者白色菌丝。由于平板交配现象的出现说明玉蜀黍黑粉菌的交配能够发生于体外,因此本研究推测玉米黑粉菌侵入玉米植株存在 2 种侵染方式,一种为冬孢子萌发形成担孢子,当 2 个相互兼容的担孢子相遇后停止芽殖,细胞形成相向的结合管,单倍体细胞融合后形成具有侵染能力的双核菌丝,双核菌丝侵入玉米植株;另外一种为冬孢子萌发形成担孢子,担孢子萌发形成单核菌丝,单核菌丝侵入玉米植株,玉米植株内的单核菌丝交配形成双核菌丝,双核菌丝进一步在植物细胞间延伸并大量增殖,引起植物组织膨大,形成肿瘤。同时本研究发现,平板交配获得的同型单倍体菌株与玉米植株侵染试验获得的同型交配菌株结果基本一致。出现平板交配的 2 个单倍体菌株,在玉米植株内一定发生交配现象,并在叶片形成肿瘤,2 个单倍体菌株为不同型单倍体菌株;而未出现平板交配的 2 个单倍体菌株,部分组合菌株会在玉米植株内发生交配现象,在叶片上形成肿瘤。也就是说能够进行平板交配的一对菌株一定能够在玉米植株上形成肿瘤。该现象与 Puhalla 的研究结果^[21]相一致,尽管不能确定平板交配与在玉米植株内的真实交配的关系,但平板交配可以作为一种遗传工具,便于统计交配类型,并且节省时间和人力,同时,平板交配也可以用于研究不相容位点的基因研究中。Puhalla 在研究中发现,在培养基内加入 0.5% 的酪蛋白水解物或者均等氨基酸混合物会增加平板交配出现的频率^[21]。但在本研究中未加入该氨基酸,培养基为普通的固体培养基 YPDA。因此若想快速获得玉米黑粉菌不同型单倍体菌株可以在固体培养基内加入 0.5% 的酪蛋白水解物,增加平板交配现象的频率,进而获得不同交配型的单倍体菌株。

综上所述,本研究可得出如下结论:取玉米黑粉菌的菌包内菌粉培养,并进行单胞分离获得单倍体菌株,两两组合培养,采用普通的固体培养基 YPDA 培养,出现平板交配的现象。出现平板交配现象的 2 个单倍体一定为不同型单倍体菌株。玉米植株接种试验表明,出现平板交配现象的菌株可以引起玉米叶片肿瘤,而部分未出现平板交配现象的单倍体菌株组合也可使玉米叶片形成肿瘤,说明这 2 个单倍体菌株为不同型单倍体菌株。平板交配现象可以明确 2 个不同单倍体菌株为不同型单倍体菌株,但对于不存在平板交配型的菌株只能通过接种玉米植株才能够确定他们是否为不同型单倍体菌株。本研究表明,通过玉米黑粉菌单倍体菌株平板交配现象可以进行菌株的不同交配型鉴定。

参考文献:

- [1] Ferris A C, Walbot V. Understanding *Ustilago maydis* infection of multiple maize organs[J]. Journal of Fungi, 2020, 7(1): 8.
- [2] Kämper J, Kahmann R, Bölker M, et al. Insights from the genome of the biotrophic fungal plant pathogen *Ustilago maydis*[J]. Nature, 2006, 444(7115): 97–101.
- [3] Castanheira S, Mielnichuk N, Pérez – Martín J. Programmed cell cycle arrest is required for infection of corn plants by the fungus *Ustilago maydis*[J]. Development, 2014, 141(24): 4817–4826.
- [4] Castanheira S, Pérez – Martín J. Appressorium formation in the corn smut fungus *Ustilago maydis* requires a G2 cell cycle arrest[J]. Plant Signaling & Behavior, 2015, 10(4): e1001227.
- [5] Lanver D, Berndt P, Tollot M, et al. Plant surface cues prime *Ustilago maydis* for biotrophic development[J]. PLoS Pathogens, 2014, 10(7): e1004272.
- [6] Tanaka S, Brefort T, Neidig N, et al. A secreted *Ustilago maydis* effector promotes virulence by targeting anthocyanin biosynthesis in maize[J]. eLife, 2014, 3: e01355.
- [7] Banuett F, Herskowitz I. Discrete developmental stages during teliospore formation in the corn smut fungus, *Ustilago maydis*[J]. Development, 1996, 122(10): 2965–2976.
- [8] León – Ramírez C G, Cabrera – Ponce J L, Martínez – Espinoza A D, et al. Infection of alternative host plant species by *Ustilago maydis*[J]. New Phytologist, 2004, 164(2): 337–346.
- [9] 李智敏, 严理, 严准. 玉米瘤黑粉菌的寄生策略及其调控机制[J]. 微生物学报, 2016, 56(9): 1385–1397.
- [10] 陈三凤, 刘德虎, 李季伦. 玉米瘤黑粉菌的遗传交配型[J]. 微生物学通报, 2000, 27(2): 146–148.
- [11] Kahmann R, Schirawski J. Mating in the smut fungi: from the downstream cascades[M]//Sex in fungi. Washington D C, USA: ASM Press, 2014: 377–387.
- [12] Heimel K, Scherer M, Vranes M, et al. The transcription factor Rbfl is the master regulator for b – mating type controlled pathogenic

代文婷,刘战霞,陈伟君,等.脂氧合酶对甜瓜果实后熟软化生理及相关基因表达的影响[J].江苏农业科学,2024,52(1):128-133.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.01.019

脂氧合酶对甜瓜果实后熟软化生理 及相关基因表达的影响

代文婷²,刘战霞³,陈伟君¹,张强¹

(1.海南经贸职业技术学院,海南海口 571127; 2.海南省农业科学院农产品加工设计研究所,海南海口 571100;

3.新疆农垦科学院农产品加工研究所,新疆石河子 832000)

摘要:为探究甜瓜果实在采后贮藏过程中脂氧合酶对果实后熟软化生理及相关基因表达的影响,以西州蜜 17 号为试验材料,通过对甜瓜果实贮藏期间脂氧合酶活性、乙烯释放量、果实硬度、呼吸强度、果胶酶活性、淀粉酶活性以及相关基因表达量进行测定,研究甜瓜果实采后脂氧合酶代谢、乙烯产生、后熟软化生理及相关基因表达的作用关系。分别将甜瓜果实在 20℃贮藏(对照组)、经 1-MCP 处理后 20℃贮藏、2℃贮藏,分析甜瓜果实中 LOX 活性与乙烯释放量的变化趋势。结果表明,在甜瓜果实后熟软化过程中,LOX 活性上升先于乙烯释放量的增加,而在乙烯释放量与呼吸强度跃变后,LOX 活性逐渐下降。同时,果实中果胶酶与淀粉酶活性及其基因表达量在跃变现象发生后显著增加,果实硬度随之迅速下降,说明果胶酶与淀粉酶基因表达增强和酶活性升高是甜瓜果实发生软化的关键因素。此外,LOX 活性升高能够启动乙烯释放量的增加,促使果实发生呼吸跃变并进入后熟阶段,但乙烯对 LOX 却没有调控作用。由此可知,LOX 活性对果胶和淀粉的变化没有直接影响,而是通过启动乙烯的释放来调节果胶和淀粉的代谢反应,使果实发生软化。

关键词:脂氧合酶;甜瓜;后熟软化;细胞壁代谢;果胶酶;基因表达

中图分类号:S652.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)01-0128-06

甜瓜(*Cucumis melo* L.)是重要的园艺特色瓜果,其肉质松脆、风味浓郁,深受消费者青睐。海南是我国重要的甜瓜繁育基地,经多年培育和优化,已形成了诸多风味口感俱佳、果实大小适中、抗病

性强、商品性好的优良品种,如西州蜜 17 号、翠玉、金香玉等。甜瓜属于呼吸跃变型果实,果实采后贮藏过程中易发生后熟生理,表现为迅速软化并腐烂^[1],导致甜瓜的贮藏时间普遍较短。

脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)是植物体内脂肪酸代谢的重要酶^[2],广泛参与植物的生长发育、成熟、衰老等生理代谢过程。乙烯是促使果实发生后熟软化生理的关键物质^[3]。有研究表明,果实乙烯代谢速率的跃变由 LOX 的反应产物所启动。此外,用外源乙烯处理果实,可以使 LOX 活性增强,加速

收稿日期:2023-06-20

基金项目:海南省自然科学基金(编号:322QN422);海南经贸职业技术学院高层次人才科研启动金项目(编号:hjnmk2022303)。

作者简介:代文婷(1988—),女,新疆石河子人,硕士,助理研究员,研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail:1227008228@qq.com。

通信作者:张强,博士,副教授,主要从事食品科学研究。E-mail:821861127@qq.com。

development in *Ustilago maydi* [J]. PLoS Pathogens, 2010, 6 (8):e1001035.

[13]罗西,刘蒋琼,张申申,等.玉米黑粉菌致病的分子机制研究进展[J].植物科学学报,2020,38(6):853-861.

[14]Sleumer H O. Uber sexualitiit and zytologie von *Ustilago zeae* (Bechm.) [J]. Ungar Z Botan, 1932, 25:209-263.

[15]Bowman D H. Sporidial fusion in *Ustilago maydis* [J]. Agr Res, 1946, 72:233-243.

[16]Rowell J. Functional role of compatibility factors and an *in vitro* test for sexual compatibility with haploid lines of *Ustilago zeae* [J]. Phytopathology, 1955, 45:370-374.

[17]Bauch R. Die sexualitat von *Ustilago scorzonereae* and *Ustilago zeae* [J]. Phytopathol Z, 1932, 5:315-321.

[18]方中达. 植病研究方法 [M]. 3 版. 北京:中国农业出版社, 1998:130-138.

[19]夏文强,高丽丹,张雅芬,等.玉米黑粉菌效应因子研究进展 [J]. 农业生物技术学报, 2021, 29(11):2232-2247.

[20]张修军,Cooper R M. 玉蜀黍黑粉菌担孢子萌发及侵染过程的研究 [J]. 湖北农学院学报, 1993(3):189-193.

[21]Puhalla J E. Compatibility reactions on solid medium and interstrain inhibition in *Ustilago maydis* [J]. Genetics, 1968, 60(3):461-474.