

植原体病害及其相关植物激素研究进展

刘俊男¹, 王柱华¹, 赵宇¹, 蔡红^{1*}, 郭乔优²

(1. 云南农业大学云南省植物病理重点实验室, 昆明 650201; 2. 云南省建水植保植检站, 云南 建水 654300)

摘要:植原体(phytoplasma)是一类重要的植物细菌性病原,在世界范围内广泛分布,给林业、果树、经济作物等造成了巨大的危害。由于植原体不能体外培养,给研究带来了很大困难。目前,国内外通过对激素的检测研究其致病机理、生理生化特性等,对目前国内外感染植原体的植株内源激素(生长素、分裂素、赤霉素和脱落酸)的研究进展进行了综述。

关键词:植原体;植物激素;研究进展

中图分类号:S432.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1673-1891(2018)02-0001-05

Research on Phytoplasma Diseases and Related Plant Hormones

LIU Jun-nan¹, WANG Zhu-hua¹, ZHAO Yu¹, CAI Hong^{1*}, GUO Qiao-you²

(1. Key Laboratory for Plant Pathology of Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Plant Protection and Plant Quarantine Station of Jianshui County, Yunnan Province, Jianshui, Yunnan 654300, China)

Abstract: Phytoplasmas are a kind of important bacterial pathogens, distributed in the world widely and caused serious yield losses for economical crops, forestry and orchard. Because phytoplasma cannot be cultured in vitro, it has brought a lot of difficulties to research. Currently, the physiological and biochemical characteristics of the pathogenic mechanism are studied at home and abroad. In this paper, the research progress at home and abroad of endogenous hormones (auxin, mitogen, gibberellin and abscisic acid) of infected plants is to be discussed.

Keywords: phytoplasmas; phytohormones; research progress

植原体(phytoplasma),原称类菌原体(mycoplasma-like organism,简称MLO),是一类无细胞壁、迄今不能人工培养的植物病原细菌^[1]。植原体在世界范围内对许多经济作物造成减产,例如油菜、小麦、椰子、枣树等^[2]。植原体的主要传播方式是通过叶蝉、飞虱等具有刺吸式口器的昆虫取食植株韧皮部汁液进行传播^[3],其他还可通过嫁接、菟丝子传播。Neimark等^[4]采用脉冲场电泳分析方法,从寄主植物中首次分离出完整的植原体,发现植原体的染色体呈环形,之后的研究发现也有线形染色体存在^[5],大小在640~1 185 kb之间。随后,Marcone等^[6]全面对植原体大小进行了准确测定,发现最小的染色体为530 kb,并且有的样品不只存在一条植原体染色体。植原体染色体的G+C含量偏低,在24%~35%之间^[5]。

植原体侵染造成寄主植物表现丛枝(茎、枝和叶增殖)、花变绿(没有绿色组织的花变成绿色)、花变叶(花器官返祖转变成叶)、小叶、矮化、黄化、节

间缩短等症状^[7]。植原体侵染造成寄主植物表现各类症状与激素之间关系的研究尚不全面,目前对生长素的研究较多。

植原体存在于寄主植物韧皮部筛管细胞中^[8]。植物生理学证明,韧皮部是营养物质运输的通道,植株各部位的韧皮部中营养成份及其含量存在差异,而植原体对营养物质、渗透压、pH等条件的要求非常苛刻,植原体会随着营养物质在韧皮部中的运输而移动,因此,可以很好地理解植原体在病株体内分布不均^[9]。此外,植原体的存在可能受到温度的影响。刘秉胜等^[10]在实验中发现桑树生长初期各部位的植原体含量都很低,随着寄主植物的生长,植原体含量增加,症状表现也更加明显,在夏季7、8月份的高温季节达到顶端。而在寒冷的季节,只能在桑树病株的根部检测到植原体,而茎部检测不到。

1 激素研究现状

植物内源激素是由植物自身代谢产生并运输

收稿日期:2017-12-06

基金项目:国家自然科学基金(31060239)。

作者简介:刘俊男(1993—),女,四川乐山人,硕士研究生,研究方向:植物植原体病害。

*通信作者:蔡红(1972—),女,云南宣威人,教授,博士,研究方向:植物病毒及类似病害。E-mail:caihong0623@126.com。

到各部位,这些含量极其微小但能产生明显生理效应的物质对植物的休眠萌发、生长衰老、开花结果、细胞的分裂分化以及植物的组织培养起着极其重要的作用^[11]。植株感染植原体后表现症状往往是多种激素的协同作用,具体作用机制有待进一步研究。

由于植物激素对植物的生长、发育、成熟、衰老等生理过程起着重要的作用,所以激素含量的检测是研究植物与病原互作过程中生理变化的重要方法^[12]。内源激素在植株体内含量极低且性质不稳定,易受细胞中其他物质的干扰,因此需要灵敏、有效的方法检测激素含量^[12]。传统的生物鉴定法由于专一性差、灵敏度低、时间长、重复性低等缺点已较少运用;RIA(放射免疫法)和ELISA(酶联免疫法)也由于重复性差、准确性低等原因较少使用;目前国内外将HPLC(高效液相色谱法)广泛地运用于激素(除乙烯外的植物内源激素)的定性定量测定。HPLC是一种高效纯化分离技术,具有高灵敏度和准确性^[11]。

由于植原体只能寄生在寄主植物或是介体昆虫体内^[13],因此给植原体的生理机制、代谢水平、致病机理等水平的研究带来很大困难。国内目前对于感染植原体植株内源激素的研究还不全面,且激素的研究主要集中在对激素含量的测定,还需要更进一步研究以明确植原体与激素的互作关系以及致病机理。从植物内源激素等生理生化的角度出发有助于植原体的进一步研究。

1.1 萎缩症状与激素的关系

植株受到植原体的侵染,导致内源激素分泌发生紊乱,同时表现出不同的症状。多年来,人们对感病植株的激素进行研究,探讨激素变化与植原体以及症状表达之间的关系。

刘秉胜等^[10]利用酶联免疫吸附分析(ELISA)对桑树萎缩病进行了研究。应用PCR(聚合酶链式反应)监测植株体内植原体的周年分布规律并与寄主激素水平进行探讨。发现病株生长素(IAA)、细胞分裂素(玉米素+玉米核苷,二氢玉米素+二氢玉米素核苷)及赤霉素(GA₃, GA₄)的含量都明显高于健株。虽然利用普通PCR检测植原体含量并不准确,但是初步探讨了植原体在病株体内含量的周年变化存在一定的规律性,并且与桑树萎缩病状的周期相吻合。推断出桑树表现出萎缩症状是由于生长素含量过高,抑制了根的生长,使根吸收营养物质的能力减弱,导致地上部分营养不足,产生小叶、黄化、节间缩短等萎缩症状。通过进一步组培实验表

明,赤霉素含量的升高在患病桑树中并没有表现出应有的生理效应,根据赤霉素与生长素之间的相互联系,推测赤霉素在病状形成过程中的作用可能是通过促进生长素含量升高实现的。

1.2 丛枝症状与激素的关系

枣疯病^[14]是一种毁灭性的病害,感病植株典型症状是小叶、丛枝、矮化、花变异、枯死。目前国内对于枣疯病激素的研究比较多,但主要集中在丛枝症状与激素的关系方面。国内外提出的普遍观点是C/A(分裂素/生长素)比例失调引起的。何放亭等^[15]对甘薯丛枝病内源激素的C/A值进行分析,发现与健株相比,病株的分裂素(玉米素, Zeatin)一直处于较高水平,生长素只在块茎萌发时含量增高,其余时期无明显差异,而病株的C/A值恒高于健株。赵锦等^[16]用HPLC法分别对健株、病株和治疗转健的枣树中的生长素(吲哚乙酸, IAA)、细胞分裂素(玉米素, Zeatin)、赤霉素(GA₃)和脱落酸(ABA)进行亚周年检测,通过数据分析得知IAA, GA₃和ABA不管在根部还是叶片中含量一直没有显著变化,而细胞分裂素则呈上升趋势。通过不同患病程度的激素比较,发现患病程度越重, Zeatin/IAA(C/A)比值越高,说明植株受到植原体的侵染后,内源激素失衡,细胞分裂素相对含量升高,从而造成枣疯病的丛枝症状。2013年,杜绍华等^[17]用组培苗研究植原体侵染对枣树激素含量的影响,感病植株内源生长素(IAA)含量低于健康植株,内源玉米素(ZT)、赤霉素(GA)、脱落酸(ABA)含量有所提高,且与发病呈正相关。同时得出抗病品种较感病品种健康植株内源游离生长素、脱落酸含量水平高,玉米素、赤霉素含量水平低。结果表明植原体与枣树互作的过程中,吲哚乙酸氧化酶活性降低,导致IAA水平明显低于健株,从而导致植物节间缩短,顶端优势丧失,大量萌发侧芽,生根能力也降低,同时脱落酸的积累促进植株表现出黄化、小叶、矮化等症状,分裂素水平升高导致大量腋芽萌生。泡桐丛枝病造成严重的林木病害,每年给我国的林业造成严重的经济损失。对泡桐丛枝病的研究表明,该病是受逆境损伤后导致酶系统变化和内源调节物质——激素比例失衡引起器官、组织等异常分化^[18]。

1.3 巨芽症与激素的关系

赤霉素是一类重要的植物激素,调节种子萌发,茎伸长和花的形成^[19]。番茄植株感染土豆紫顶植原体(potato purple top, PPT)后产生巨芽症,植株体内赤霉素含量显著减少。巨芽症是一种异常的

花状结构,萼片扩大、融合,雌蕊、雄蕊、花瓣发育不全^[20]。Ding等^[21]通过实验发现赤霉素含量减少是由于GA代谢相关基因下调和植原体感染后激发GA生物合成反馈调节的敏感性降低。但植原体是如何引起GA负反馈调节的敏感性降低还不清楚。

2 植原体病害防治进展

多年来,对植原体病害的防治进行了许多尝试,包括抗生素治疗、抗性品种研究、组织培养技术结合热疗的脱毒培养等,而其中又主要集中于抗生素活性的研究。

四环素对植原体有抑菌作用^[22-23],但是将处理后的植株转移到无抗生素的培养基上症状又会出现。Bradel^[24]和Singh^[25]报导了四环素对一品红(*Euphorbia pulcherrima*)和长春花(*Catharanthus roseus*)的杀菌效果。用四环素处理感病一品红,几周后植株体内检测不到植原体,但经过长时间的生长且无抗生素处理后,大多数植株中再次出现植原体^[24]。用土霉素处理含有植原体的长春花茎尖外植体,两周后转移到不含抗生素的培养基上并进行6次连续的转移,选取新生的无症状茎进行继代培养,经PCR检测,50%的植株中检测不到植原体,并保持健康3年以上^[25]。杜强等^[26]通过组培对枣疯病治疗的康复药剂进行了筛选研究,结果表明,在3种抗生素药物处理中,以大环内酯类药物罗红霉素防治效果最好,虽然四环素、阿奇霉素都表现了能够完全治愈枣疯病的效果,但罗红霉素具有治疗速度快,且治愈率高的优点。此外,科学家们还研究了其他物质对植原体的杀菌效果, β -氨基-丁酸(β -amino-butyric acid, BABA)^[27]对感染了植原体的长春花无效。用多胺^[28]包括腐胺、亚精胺或精胺处理,超微结构发生了一些变化,比如细胞的变形和凝结,说明多胺处理造成植原体的繁殖和运动减缓。此外,还有尝试采用加热、热水处理或结合组织培养技术来消除不同寄主植物中的植原体。Wang和Hiruki等^[29]通过加热处理已感染了植原体的泡桐苗,从而培养出不含植原体的分生组织。Dai等^[30]利用茎培养来消除桑树中的植原体。Bianco和Tassart-Subirats(2003)等使用热水处理消除来自葡萄接穗上的植原体。Parmessur等^[31]利用组织培养技术成功地诱导出没有甘蔗黄化植原体的愈伤组织。Chalak等^[32]成功地运用组织茎切割培养结合热疗技术从两个杏仁品种中诱导出没有植原体的芽。

3 激素与病害防治

对于植原体的治疗,补充外源生长素的尝试也很多。冯志敏等^[18]利用植物激素(NAA、IBA和ABA)处理感病的泡桐树,发现外源激素对泡桐的生长形态有改变,对症状有缓解作用,且NAA比相同浓度的IBA更有利于感病植株的生长,继代培养数越多,效果也更加明显。M. C' urkovic' Perica等^[33]用IAA和IBA处理感染不同候选种植原体(*Candidatus Phytoplasma*)的长春花花芽,发现这两种生长素都能使长春花症状恢复,且IBA处理的效果更好。

然而通过激素治疗的感病植株在症状恢复后体内仍然可能存在植原体。在一些重要的经济物种(苹果、葡萄、杏)中,植株的恢复并不意味着寄主体内没有植原体存在^[34]。在苹果树中,症状恢复后在树冠中未检测到植原体,但在根部仍然可以检测到^[35];恢复的葡萄树叶片中没有检测到*Candidatus Phytoplasma vitis*,但是在恢复症状的杏树叶中仍然检测到了*Ca. P. prunorum*的存在^[36]。感病长春花中,*Ca. P. pruni*和*Ca. P. asteris*对于生长素治疗很敏感,治疗后有的通过巢氏PCR检测不到,而有的则可在第2次的巢式PCR检测到。但是感染*Ca. P. solani*和*Ca. P. ulmi*植原体的长春花症状消除后还能检测到植原体的存在,且通过直接PCR就能检测到。C' urkovic' Perica等^[37]报道了利用体外培养实验,用IBA(indole-3-butyric acid)诱导感病长春花芽的恢复。通过培养感染3种植原体候选种植物的芽揭示了外源生长调节剂的改变可造成感病植株症状消退,从而更好地生长和进行光合作用。实验中获得没有*Candidatus Phytoplasma asteris*的长春花。即使感病症状已经恢复,仍可通过直接PCR检测到*Ca. P. ulmi*(phytoplasma strain EY-C)和*Ca. P. solani*(phytoplasma strain SA-I)。后期经过长期的IBA治疗,也不能诱导消除寄主植物中的植原体^[38]。相反,感染了*Ca. P. pruni*(phytoplasma strain KVI)植原体的芽在初步实验期间没有表现出任何植原体症状缓解,说明外源激素诱导时间和激素浓度主要取决于植原体候选种*Candidatus Phytoplasma*的种类和激素类型,植原体的敏感程度存在差异。

以上这些寄主植物植原体恢复的因素至今还不清楚。但是,这些诱导恢复的有效性取决于根,也就是说即使感病植株经过诱导处理后,表型恢复健康,但是否还有植原体存在,最终要检测根中有

无植原体。而且,恢复后的植物再次感染植原体的程度比没有感染过的植株小,M. C'urkovic' Perica等^[33]培养感染 *Ca. P. pruni* 植原体的长春花并用 IBA 进行处理,将恢复后的植株继代培养3代以后转移到含 BA 的培养基中进行培养,有80%的植株检测不到植原体。表明这是一种系统获得性抗性(SAR)可能参与植物的诱导恢复。

健康植株有效生根需要不同水平的植物生长调节剂,而感病长春花截然相反,因此假设感病长春花中的植原体可能阻止植物激素的运输并影响外源激素水平^[39]。感病植株中内源 IAA 浓度升高,用高浓度的外源生长素处理后的长春花,观察到细胞切片中植原体细胞数目减少了^[40]。这些实验都没有解释高浓度的外源生长素影响植株的机制,只是揭示了某种相互依赖关系。

目前生长素对于 IAA 的研究数据很丰富,但是对于 IBA 的研究还不太充分。IBA 作为一种天然的生长素可能直接或转化为 IAA 起作用,但比 IAA 更有效。感染不同植原体的长春花对于 IBA 处理的反应也不相同。

Pertot 等^[40]已经研究过外源生长素对 *Ca. P. trifolii* 和感病长春花的影响,报道了感病植株中 IAA 含量升高,他们假设生长素的增加是寄主植物面对植原体的侵染时产生的一种直接抵御机制。另外,他们还测试了外源 IAA, IBA, NAA (a-naphthaleneacetic acid) 或 2,4D (2,4-dichlorophenoxyacetic acid) 对感病植原体的影响。虽然这种处理并没有造成植原体超微结构的改变,但是使植原体在透射电镜下难以检测到,说明处理可造成感病芽中植原体细胞数目的减少。在没有处理过或用2,3,5-三碘苯甲酸(生长素迁移抑制剂, TIBA)处理过的感病植株的细胞中,植原体菌体数量非常多,但是用生长素处理过的感病植株中,却难以检测到植原体。同样说明生长素能妨碍以 *Ca. P.* 为寄主的植株中植原体的存在这一观点。

M. C'urkovic' Perica 等^[33]揭示了生长素诱导感染不同 *Ca. Phytoplasma* 的长春花芽的恢复,而且以相同的方式处理受生长素影响的候选种,意味着植原体对于 IAA 和 IBA 消除和生存的机制是共同的。植原体与寄主的致病相互作用过程中,外源的生长素的补充可能更多地影响内源激素的分布水平,触发基因表达的差异调节,导致代谢变化不利于植原体 *Ca. P. asteris* 和 *Ca. P. pruni* 的生长。测序发现两个植原体 *Ca. Phytoplasma* 缺乏许多代谢基因^[41],并且缺乏的代谢基因不同^[42]。

Jagoueix-Eveillard 等^[43]揭示了不同的 *Ca. P.* 解除寄主植物基因的表达不同。因此,不同的 *Ca. P.* 对生长素处理的反应不同。长春花产生的一种或多种生物碱对 *Ca. Phytoplasma* 有抑菌剂的作用。长春花合成大量的生物碱,它们的生物合成和代谢途径受到不同的激素调节(Rischer 等,2006)。感染植原体植物的叶片中游离腐胺和结合多胺的水平上升。此外,多胺的外源性供应引起植原体超微结构的各种改变,例如细胞的变形和凝集,这可能导致该病原体的增殖和移动减少,并且与未受感染的对照相比,多胺处理的枝条中症状推迟发展^[28]。

泡桐感染植原体后 IAA 含量下降与寄主体内过氧化物酶活性和 IAA 氧化酶活性增强有关,并且植原体存在的韧皮部与 IAA 氧化酶活性增强部位有关^[44]。有些寄主植物感染植原体后,IAA 水平会随着植物的生长而增高^[10],而有些寄主植物感染植原体后 IAA 水平不变。田国忠等^[44]认为仍有可能存在 IAA 的降解作用并推测病原与寄主相互作用引起 IAA 水平升高可能是寄主抗性的一种表现,而 IAA 水平降低则是一种致病的表现。

4 总结

植原体病害由于不能进行体外培养,因而给植原体病害致病机制的研究带来了一定的困难。通过目前从植物内源激素方面的研究,发现:(1)感染植原体病害的植株可以采用施加外源激素来缓解症状,但是一旦停止,症状又会恢复,表明植株里面仍然存在植原体,只是没有表现出症状,也说明激素与植原体之间并不是直接作用;(2)植原体不同候选种之间对激素的敏感性存在差异。某些植原体通过短时间的激素治疗,感病植株症状便可以消除,而有些植原体的治疗时间长达多年;(3)生长素之间也存在差异,不同的生长素治疗同一种寄主植物中的同一种植原体候选种,达到相同的效果需要的浓度不同;(4)激素治疗的有效性取决于根,治疗成功与否要通过检测根中是否存在植原体判断;(5)植原体在受到激素诱导后,细胞分子的超微结构会发生改变,比如细胞的凝集或变形,导致植原体的活动受到影响。

对于植原体与激素的研究还需要更多的实验及数据支持:(1)花变叶是植原体的另一个典型症状,是花器官的返祖现象,然而植株受到植原体侵染后,产生这种症状主要是由于哪一种或几种激素造成的,目前尚不明确。(2)目前对4种内源激素(生长素、分裂素、赤霉素和脱落酸)的研究主要集中在

对生长素的研究,而植株的生长、发育、分化往往是多种激素协同作用,研究其他激素对植原体症状的影响,将多种激素结合起来,可能会提高激素治疗

的有效性,缩短激素治疗时间。(3)植原体与激素的相互作用机制还需要进一步研究,明确各种激素的具体影响,以对植原体病害的激素防治做出指导。

参考文献:

- [1] 蔡红,杨根华,孔宝华,等.应用分子生物学方法检测植原体研究进展[J].云南农业大学学报,2002(2):188-191.
- [2] FIRRAO G,GARCIACHAPA M,MARZACHÍ C.Phytoplasmas: Genetics, Diagnosis and Relationships with the Plant and Insect Host[J]. Front Biosci,2007(12):1353-1375.
- [3] RASHIDI M,GALETTO L,BOSCO D, *et al.* Role of the Major Antigenic Membrane Protein in Phytoplasma Transmission by Two Insect Vector Species[J]. BMC Microbiology,2015,15(1):193.
- [4] NEIMARK H, KIRKPATRICK B C. Isolation and Characterization of Full-length Chromosomes From Non-culturable Plant-pathogenic Mycoplasma-like Organisms[J]. Molecular Microbiology,1993,7(1):21-28.
- [5] 杨毅,车海彦,曹学仁,等.植原体基因组学研究进展[J].植物保护,2014(6):1-6+24.
- [6] MARCONE C, NEIMARK H, RAGOZZINO A, *et al.* Chromosome Sizes of Phytoplasmas Composing Major Phylogenetic Groups and Subgroups[J]. Phytopathology,1999,89(9):805-810.
- [7] SUGIO A, MACLEAN A M, KINGDOM H N, *et al.* Diverse Targets of Phytoplasma Effectors: From Plant Development to Defense Against Insects[J]. Annual Review of Phytopathology,2011,49(1):175-195.
- [8] 车海彦,罗大全.植原体病害的检测方法研究进展[J].华南热带农业大学学报,2006(3):69-73.
- [9] 陈子文,陈永莹,陈泽安.枣疯病研究的进展[J].南京农业大学学报,1991(4):49-55.
- [10] 刘秉胜,戴群.桑树植原体含量的周年变化及其对寄主激素水平的影响[J].山东大学学报(自然科学版),1999(1):100-104.
- [11] 黄靖,刘艳芝,刘国伟,等.高效液相色谱法测定植物内源激素研究进展[J].山东农业科学,2011(8):101-103.
- [12] 李素梅,张自立,姚彦如.植物激素检测技术的研究进展[J].安徽农业大学学报,2003(2):227-230.
- [13] SIAMPOUR M, IZADPANAH K, GALETTO L, *et al.* Molecular Characterization, Phylogenetic Comparison and Serological Relationship of the Imp Protein of Several 'Candidatus Phytoplasma Aurantifolia' Strains[J]. Plant Pathology. 2013,62(2):452-459.
- [14] 郭建民,杨俊强,薛新平,等.枣疯病研究进展[J].山西农业科学,2017(8):1389-1392.
- [15] 何放亭,武红中,陈子文,等.C/A值与甘薯丛枝病症状发生的关系[J].植物病理学报,1997(1):44-47.
- [16] 赵锦,刘孟军,代丽,等.枣疯病病树中内源激素的变化研究[J].中国农业科学,2006(11):2255-2260.
- [17] 杜绍华,卜志国,刘洋.植原体浸染对枣树内源激素含量的影响[J].北方园艺,2013(13):12-15.
- [18] 冯志敏,汪新娥,万开军.泡桐丛枝病植原体研究综述[J].信阳农业高等专科学校学报,2007(4):126-128.
- [19] REBERS M, KANETA T, KAWAIDE H, *et al.* Regulation of Gibberellin Biosynthesis Genes During Flower and Early Fruit Development of Tomato[J]. Plant Journal,1999,17(3):241-250.
- [20] WU W, DING Y, WEI W, *et al.* Salicylic Acid-mediated Elicitation of Tomato Defence Against Infection by Potato Purple Top Phytoplasma[J]. Annals of Applied Biology,2012,161(1):36-45.
- [21] DING Y, WU W, WEI W, *et al.* Potato Purple Top Phytoplasma-Induced Disruption of Gibberellin Homeostasis in Tomato Plants[J]. Annals of Applied Biology,2013,162(1):131-139.
- [22] KAMINSKA M, SLIWA H. Effect of Antibiotics on the Symptoms of Stunting Disease of Magnolia Liliiflora Plants[J]. Journal of Phytopathology, 2003,151(1):59-63.
- [23] ANDERSEN M T, BEEVER R E, SUTHERLAND P W, *et al.* Association of Candidatus Phytoplasma Australiense with Sudden Decline of Cabbage Tree in New Zealand[J]. Plant Disease,2001,85(5):462-469.
- [24] BRADEL B G, PREIL W, JESKE H. Remission of the Free-branching Pattern of Euphorbia Pulcherrima by Tetracycline Treatment[J]. Journal of Phytopathology,2000(148):587-590.
- [25] SINGH S K, AMINUDDIN, SRIVASTAVA P, *et al.* Production of Phytoplasma-free Plants from Yellow Leaf Diseased *Catharanthus Roseus* L. (G.) Don[J]. Journal of Plant Diseases and Protection,2007,114(1):2-5.
- [26] 杜强.组培条件下枣疯病治疗康复药剂筛选研究[D].保定:河北农业大学,2006.
- [27] Ćurković Perica M, Šeruga Musić M. Effect of β -aminobutyric Acid on Phytoplasma-infected *Catharanthus Roseus* Shoots [J]. Journal of Plant Diseases and Protection,2005,112(6):544-549.
- [28] MUSETTI R, SCARAMAGLI S, VIGHI C, *et al.* The Involvement of Polyamines in Phytoplasma-infected Periwinkle (*Catharanthus Roseus* L.) Plants[J]. Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology,1999,133(1):37-45.

参考文献:

[1] 雷波县杉树堡水库初步设计工程地质勘察报告[R].西昌:西昌大地勘察设计有限公司,2017.

[2] 昭觉县斯穆补约水库可行性研究报告[R].西昌:凉山州水电设计院设计咨询有限公司,2017.

[3] 何利,朱笑青,王富东.川南滇北含自然铜杏仁状玄武岩的矿物组合与成因[J].矿物学报,2017,36(7):717-724.

[4] 雷波县杉树堡水库工程初步设计阶段筑坝材料试验研究报告[R].成都:四川省水利水电勘测设计研究院水电科研所,2016.

[5] SL251—2015.水利水电工程天然建筑材料勘察规程[S].北京:中国水利水电出版社,2015.

[6] SL 237—1999,土工试验规程[S].北京:中国标准出版社,1999.

[7] GBT 50123—1999,土工试验方法标准[S].北京:中国建筑工业出版社,1999.

[8] GB 50021—2001,岩土工程勘察规范[S].北京:中国建筑工业出版社,2009.

(责任编辑:曲继鹏)

(上接第5页)

[29] WANG K, HIRUKI C. PCR (Polymerase Chain Reaction)-based Selection of Phytoplasma-free Clones of Paulownia Tissue Culture after Heat Treatment of Witches'-broom[J]. Proceedings of the Japan Academy Series B-physical and Biological Sciences,1996,72(3):44-47.

[30] DAI Q, HE F T, LIU P Y. Elimination of Phytoplasma by Stem Culture from Mulberry Plants (*Morus Alba*) with Dwarf Disease[J]. Plant Pathology,1997,46(1):56-61.

[31] PARMESSUR Y, ALJANABI S M, SAUMTALLY S, *et al.* Sugarcane Yellow Leaf Virus and Sugarcane Yellows Phytoplasma: Elimination by Tissue Culture[J]. Plant Pathology,2002,51(5):561-566.

[32] CHALAK L, ELBITAR A, RIZK R, *et al.* Attempts to Eliminate Candidatus Phytoplasma Phoenicium from Infected Lebanese Almond Varieties by Tissue Culture Techniques Combined or Not with Thermotherapy[J]. European Journal of Plant Pathology,2005,112(1):85-89.

[33] CURKOVIC PERICA M. Auxin-treatment Induces Recovery of Phytoplasma-infected Periwinkle[J]. J Appl Microbiol,2008, 105(6):1826-1834.

[34] CARRARO L, ERMACORA P, LOI N, *et al.* The Recovery Phenomenon in Apple Proliferation-infected Apple Trees[J]. Journal of Plant Pathology,2004,86(2):141-146.

[35] MUSETTI R, di Toppi L, ERMACORA P, *et al.* Recovery in Apple Trees Infected with the Apple Proliferation Phytoplasma: An Ultrastructural and Biochemical Study[J]. Phytopathology,2004,94(2):203-208.

[36] MUSETTI R, TOPPI L S D, MARTINI M, *et al.* Hydrogen Peroxide Localization and Antioxidant Status in the Recovery of Apricot Plants from European Stone Fruit Yellows[J]. European Journal of Plant Pathology, 2005,112(1):53-61.

[37] PERICA M C, LEPEDUS H, MUSIC M S. Effect of Indole-3-Butyric Acid on Phytoplasmas in Infected *Catharanthus Roseus* Shoots Grown in Vitro[J].Fems Microbiology Letters,2007,268(2):171-177.

[38] CURKOVICPERICA M. Effect of Indole-3-Butyric Acid on Rooting of Phytoplasma-recovered and Healthy Periwinkle *Catharanthus Roseus* (L.) G. Don[J].Croatica Chemica Acta. 2008,81(4):641-646.

[39] CHANG C. Pathogenicity of Aster Yellows Phytoplasma and Spiroplasma Citri on Periwinkle[J]. Phytopathology,1998,88(12): 1347-1350.

[40] PERTOT I, MUSETTI R, PRESSACCO L, *et al.* Changes in Indole-3-Acetic Acid Level in Micropropagated Tissues of *Catharanthus Roseus* Infected by the Agent of the Clover Phyllody and Effect of Exogenous Auxins on Phytoplasma Morphology[J]. Cytobios,1998,95(378):13-23.

[41] OSHIMA K, KAKIZAWA S, NISHIGAWA H, *et al.* Reductive Evolution Suggested from the Complete Genome Sequence of a Plant-pathogenic Phytoplasma[J].Nature Genetics,2004,36(1):27-29.

[42] BAI X, ZHANG J, EWING A, MILLER S A, *et al.* Living with Genome Instability:The Adaptation of Phytoplasmas to Diverse Environments of Their Insect and Plant Hosts[J]. Journal of Bacteriology,2006,188(10):3682-3696.

[43] JAGOUEIXEVEILLARD S,TARENDEAU F,GUOLTER K,*et al.* *Catharanthus Roseus* Genes Regulated Differentially by Mollicute Infections[J].Molecular Plant-microbe Interactions,2001,14(2):225-233.

[44] 田国忠,李怀方,裘维蕃.植物激素与植物病害的相互作用[J].植物生理学通讯,1999(3):177-184.

(责任编辑:蒋召雪)