



# 云南核桃丛枝病感病植株内源激素含量变化研究

韩颖<sup>1</sup>, 马建鹏<sup>2</sup>, 张静<sup>1</sup>, 梁晨<sup>1</sup>, 杨斌<sup>3</sup>, 赵宁<sup>1,3</sup>

(1. 西南林业大学 生命科学学院, 昆明 650224; 2. 大理白族自治州林业和草原有害生物防治检疫局, 云南大理 671000; 3. 西南林业大学 云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 昆明 650224)

**摘要** 为探讨云南核桃丛枝病感病植株内源激素含量的变化情况, 采用 LC-MS/MS 法测定云南核桃主产区楚雄、大理、临沧三地的感病和健康植株叶片中的 24 种内源激素的含量。共检测到 11 种内源激素, 含量变化最大的是细胞分裂素类激素, 该类激素在感病植株中的含量相对于健康植株均成倍增加, 其中增加最多的是 cZ, 3 个核桃主产区的感病植株 cZ 含量均为健康植株的 3 倍左右, 且 C/A 值在感病叶中均高于健康叶; 其次是 ABA, 感病植株 ABA 含量为健康植株的 2 倍左右; 赤霉素类的 GA<sub>7</sub> 仅仅在感病植株中被检测到。结果表明, 核桃感染丛枝病后植株内源激素含量发生明显变化, 表现为细胞分裂素增加, 从而导致丛枝、叶片卷曲变小、腋芽萌生等丛枝病症状。

**关键词** 云南核桃; 丛枝病; 内源激素; 液相色谱串联质谱法

**中图分类号** S432.4

**文献标志码** A

**文章编号** 1004-1389(2021)12-1898-07

核桃是云南省大力发展的林业产业之一, 种植规模、产量、产值均居全国首位, 是林农的致富树, 摇钱树, 为山区林农的脱贫致富奠定了基础。但是由于云南核桃种植树种单一, 管理不当, 导致病虫害频繁发生, 其中核桃丛枝病的危害较为严重, 给种植区造成严重的经济损失。

丛枝病(witche's broom), 又称鸟巢病, 感病植株表现为生理紊乱、内源激素平衡失调, 性状丛枝、叶片卷曲变小、腋芽萌生、巨芽、花果畸形等<sup>[1-3]</sup>。近年来, 国内学者对各种丛枝病的病原鉴定<sup>[4-6]</sup>、发生规律、传播途径、防治<sup>[7-10]</sup>等进行了深入的研究。但对丛枝病植株的内源激素含量变化的研究相对较少, 对云南核桃丛枝病的研究更是未见报道。

植物感染丛枝病后体内物质发生明显变化, 内源激素含量失调, 致使植株表现出病害症状。相关研究表明, 细胞分裂素类与生长素类比值(C/A 值)的变化是植原体引起泡桐等寄主表现丛枝病状的生理学基础<sup>[11-14]</sup>。何放亭等<sup>[13]</sup>通过研究 C/A 值与甘薯丛枝病症状的关系时发现, 症状的发生与细胞分裂素含量异常增高有关; 陈子

文等<sup>[15]</sup>研究发现造成枣丛枝病症状的原因是由于病株内源细胞分裂素异常增高和生长素含量下降所导致的; 万琼莲等<sup>[16]</sup>测定山黄麻丛枝病感病植株内源激素含量发现内源激素含量平衡失调。植物感染丛枝病后, 触发了植株的生理反应, 加快了植株丛枝病症状的表型, 这种生理变化是病原、内源激素及环境因子间共同作用的结果。不同激素通过复杂的调控网络协同作用于植物生长发育, 弄清内源激素的变化规律有助于阐述病原与寄主植物的互作关系。本研究通过液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)法定量检测云南核桃丛枝病植株内源激素含量的变化, 弄清感染丛枝病后寄主叶片内源激素含量的变化, 为云南核桃丛枝病的致病机理、发生规律及防治提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 样品采集地

样品采自云南 3 个核桃主产区, 分别为楚雄大姚县梁家山核桃基地(N25°44'47", E101°20'16")、大理漾濞县马场核桃基地(N25°39'36", E100°00'59")、临沧凤庆县三岔河核桃基地(N24°26'13", E99°

收稿日期:2021-01-22 修回日期:2021-04-15

基金项目:云南省林业科技创新项目[(2016) CX01]; 云南省林业科技推广项目(2018ts03)。

第一作者:韩颖, 女, 硕士研究生, 研究方向为资源微生物的开发与利用。E-mail: hanying@swfu.edu.cn

通信作者:赵宁, 男, 硕士生导师, 高级实验师, 研究方向为林业有害生物绿色防控。Email: lijianzhn@163.com

55'22.2")的核桃叶片,树龄均为 5 龄。

## 1.2 样品采集方法

每个调查点采取 5 点法调查取样,每样点随机选取 20 棵核桃树调查发病情况,共 100 棵,并对感病植株进行采样<sup>[17]</sup>。采样时,挑同一部位及同一方向的叶片进行采集。楚雄样点共有 17 株核桃感病,大理 10 株,临沧 6 株,每样树设 3 个重复采样,同时在每个基地分别采集健康样品 3 份。液氮冷冻保存带回实验室。

## 1.3 内源激素的测定

采用液相色谱串联质谱(LC-MS/MS)法进行内源激素含量的测定,测定激素包括脱落酸(ABA)、生长素类激素(IAA、ME-IAA、ICAId、ICA、IBA、IPA)、细胞分裂素类 CTK(cZ、tZ、tZR、IP、IPR、DZ、DHZ7G)和赤霉素类(GA<sub>1</sub>、GA<sub>3</sub>、GA<sub>4</sub>、GA<sub>7</sub>、GA<sub>9</sub>、GA<sub>15</sub>、GA<sub>19</sub>、GA<sub>20</sub>、GA<sub>24</sub>、GA<sub>53</sub>)。

1.3.1 样本前处理 (1)取液氮保存的感病与健康样品,用研磨仪研磨(30 Hz,1 min)至粉末状;(2)称取 50 mg 研磨后的样品,加入内标,用 1 mL V(甲醇):V(水):V(甲酸)=15:4:1,进行提取;(3)提取液浓缩后用 100 μL 80%甲醇/水溶液复溶,过 0.22 μm 滤膜,置于进样瓶中,用于 LC-MS/MS 分析。

1.3.2 色谱质谱采集条件 (1)色谱柱:Waters-ACQUITYUPLCHSST3C18 柱(1.8 μm,100 mm×2.1 mm);(2)流动相:A 相,超纯水(加入 0.04%的乙酸);B 相,乙腈(加入 0.04%的乙酸);(3)梯度洗脱程序:0 min A/B 为 95:5

(V/V),1.0 min A/B 为 95:5(V/V),8.0 min 为 5:95(V/V),9.0 min 为 5:95(V/V),9.1 min 为 95:5(V/V),12.0 min 为 95:5(V/V);流速 0.35 mL/min;柱温 40 °C;进样量 2 μL。

1.3.3 定性与定量测定 基于植物标准品构建 MWDB(Metware Database)植物激素数据库,对质谱检测的数据进行定性分析。利用三重四级杆质谱的多反应监测模式进行定量分析。获得不同样本的质谱分析数据后,对所有目标物的色谱峰进行积分,通过内标法进行定量分析。

## 1.4 数据分析

利用 SPSS 22.0 软件对试验数据进行统计分析和显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 脱落酸的含量变化

脱落酸(ABA)在植物的生长发育中起抑制作用,与促进类激素作用拮抗,促进植物器官的脱落、休眠及气孔关闭。研究表明,植物受到逆境胁迫时 ABA 含量会提高,以增强植物的抗逆性<sup>[18]</sup>。表 1 结果显示,ABA 的含量在 3 个样地的感病叶中明显升高,且较健康叶分别升高 1.21、1.23 和 1.18 倍。同一样地的健康叶和感病叶的 ABA 含量存在显著差异,其中种植基地大理的差异最大,感病株叶片中的 ABA 含量比健康株叶片中的含量高 189.43 ng/g,差异最小的样品是临沧,感病株叶片中的 ABA 含量比健康株叶片中的含量高 148.41 ng/g。

表 1 不同种植基地核桃丛枝病内源激素脱落酸含量变化

Table 1 Changes of the endogenous hormone abscisic acid content of walnut witches'

激素 Hormone	broom disease in different planting bases						ng/g
	种植地 Planting sites						
	楚雄 Chuxiong		大理 Dali		临沧 Lincang		
健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves		
脱落酸 ABA	815.53±6.75 A	990.33±2.05 B	829.90±3.51 A	1019.33±2.49 B	804.60±2.70 A	953.01±2.83 B	

注:数据为“平均值±标准差”,表中同行不同大写字母表示同一种植基地健康叶和感病叶的差异显著( $P<0.05$ )。

Note: The data in the table is “the average value±standard error”. The different capital letters in the same industry indicate that there is a significant difference between healthy leaves and diseased leaves in the same planting base ( $P<0.05$ ).

### 2.2 生长素类激素含量变化

生长素(IAA)是植物生长的主要调节因子,能调节植物细胞的分裂、伸长和分化。表 2 为生长素类激素及衍生物的含量,除楚雄样品的健康

叶和感病叶中的 ME-IAA 含量及临沧的 ICAId 含量无明显差异( $P>0.05$ ),其余样品中的健康叶和感病叶内的 IAA、ME-IAA 和 ICAId 的含量均存在显著差异,且感病叶片中的含量显著低于

健康叶片 ( $P < 0.05$ )。在同一样品中 IAA 的含量显著高于 ME-IAA, 是 ME-IAA 含量的 10 倍左右, 与 ICAld 的含量没有差异性。IAA 含量最

高的是大理的健康叶, 含量为 10.02 ng/g, 比感病叶片的含量高 89.41%。

表 2 不同种植基地核桃丛枝病内源激素生长素类含量变化

Table 2 Changes of endogenous hormone auxin content in different planting bases of walnut witches' broom disease

激素 Hormone	种植基地 Planting sites					
	楚雄 Chuxiong		大理 Dali		临沧 Lincang	
	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves
吲哚-3-乙酸 IAA	9.53±0.004 Aa	5.26±0.003 Ba	10.02±0.011 Aa	5.29±0.03 Ba	7.45±0.003 Aa	5.14±0.002 Ba
吲哚-3-乙酸甲酯 ME-IAA	0.99±0.002 Ab	0.65±0.005 Ab	1.01±0.004 Ab	0.75±0.003 Bb	0.77±0.003 Ab	0.44±0.003 Bb
吲哚-3-甲醛 ICAld	8.53±0.003 Aa	6.35±0.244 Ba	9.89±0.004 Aa	6.64±0.003 Ba	6.53±0.004 Aa	6.32±0.002 Aa

注: 数据为“平均值 ± 标准误”。同行不同大写字母表示同一种种植基地健康叶和感病叶的激素含量的差异显著 ( $P < 0.05$ ), 同列不同小写字母表同一种种植基地健康叶或感病叶激素含量的差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

Note: The data is “mean ± standard error”. Different capital letters in the same industry indicate that the hormone content of healthy leaves and diseased leaves in the same planting base is significantly different ( $P < 0.05$ ); different lowercase letters in the same column indicate that the hormone content of healthy leaves or diseased leaves in the same planting base is significantly different ( $P < 0.05$ ), the same below.

### 2.3 细胞分裂素类激素含量变化

细胞分裂素(CTK)是一类能促进细胞分裂、分化、促进种子和芽的萌发、解除植物顶端优势的植物激素, 较高含量能导致植株腋芽萌发, 生长分化, 形成丛枝<sup>[19]</sup>。表 3 结果显示, 7 种细胞分裂素中 cZ、tZ、IP、DHZ7G 在感病叶中明显升高, 其中含量最高的是 DHZ7G, 楚雄感病叶片中的含量比健康叶片的含量高 65.85%; 含量最低的是 cZ, 临沧感病叶片中的含量比健康叶片的含量高 166.67%。另外, 3 种细胞分裂素 tZR、IPR、DZ

的含量感病叶片中明显降低 ( $P < 0.05$ ), 其中 tZR 的含量在大理感病叶片内比健康叶片中降低 22.75%。同一种种植基地的健康叶和感病叶中除 tZ 和 IP 外, 其余激素均存在显著性差异, 不同激素在同一种种植基地的健康叶或感病叶中存在显著性差异, 且 tZR 的含量最高, 显著高于其他激素的含量 ( $P < 0.05$ )。表 4 中感病叶 C/A 值均高与健康叶, 赵锦等<sup>[3]</sup>的研究表明植原体感染导致细胞分裂素含量的增加, 致使植物产生丛枝病症状。

表 3 不同种植基地核桃丛枝病内源激素细胞分裂素类含量变化

Table 3 Changes of endogenous hormones and cytokinins in walnut witches' broom disease in different planting bases

激素 Hormone	种植基地 Planting sites					
	楚雄 Chuxiong		大理 Dali		临沧 Lincang	
	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves
顺式玉米素 cZ	0.08±0.004 Bf	0.18±0.005 Ad	0.18±0.004 Af	0.21±0.006 Be	0.06±0.002 Bf	0.16±0.004 Af
反式玉米素 tZ	0.61±0.002 Ae	0.68±0.012 Ac	0.70±0.004 Ad	0.79±0.001 Ac	0.41±0.005 Ad	0.45±0.015 Ad
玉米素核苷 tZR	1.91±0.002 Aa	1.54±0.014 Bb	2.11±0.004 Aa	1.63±0.002 Ba	1.75±0.003 Aa	1.61±0.014 Bb
N6-异戊烯腺嘌呤 IP	0.09±0.004 Af	0.16±0.004 Ad	0.11±0.005 Ag	0.17±0.003 Af	0.08±0.002 Af	0.12±0.003 Af
异戊烯腺嘌呤核苷 IPR	0.87±0.003 Ac	0.69±0.004 Bc	0.95±0.003 Ac	0.71±0.004 Bd	0.54±0.033 Ac	0.46±0.003 Bc
二氢玉米素 DZ	0.62±0.002 Ad	0.15±0.003 Bd	0.45±0.004 Ae	0.17±0.005 Bf	0.32±0.002 Ae	0.22±0.025 Be
双氢玉米素-7-糖苷 DHZ7G	1.23±0.003 Bb	2.04±0.058 Aa	1.08±0.05 Bb	1.57±0.046 Ab	0.82±0.002 Bb	1.72±0.02 Aa

### 2.4 赤霉素类激素含量变化

赤霉素(GA)能促进细胞的伸长生长, 还能打破植物的休眠, 促进发芽和花的形成。通过 LC-

MS/MS 共检测出 4 种赤霉素(表 5), 3 个样地的健康叶片中均未检出 GA<sub>7</sub>, GA<sub>3</sub> 在 3 个样地的感病叶片和健康叶片中含量无差异 ( $P > 0.05$ ),

GA<sub>15</sub> 在 3 个样地的感病叶片高于健康叶片,除大理外,另外两地存在显著差异,GA<sub>24</sub> 在 3 个样地的感病叶片中含量低于健康叶片,差异显著( $P <$

0.05),在大理的健康叶片中检出量最高为 8.13 ng/g,比感病叶片高 124.59%。

表 4 健康叶与感病叶 C/A 比值变化

Table 4 Changes in C/A ratio between healthy and diseased plants

激素 Hormone	种植地 Planting sites					
	楚雄 Chuxiong		大理 Dali		临沧 Lincang	
	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves
C/A	0.28	0.44	0.27	0.41	0.27	0.40

表 5 不同种植基地核桃丛枝病内源激素赤霉素类含量变化

Table 5 Changes of gibberellins content of endogenous hormones of walnut witches' broom disease in different planting bases

激素 Hormone	种植地 Planting sites						ng/g
	楚雄 Chuxiong		大理 Dali		临沧 Lincang		
	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	健康叶 Healthy leaves	感病叶 Infected leaves	
赤霉素 GA <sub>3</sub>	0.70±0.005 Ab	0.78±0.002 Ab	0.82±0.004 Ab	0.89±0.002 Ab	0.61±0.007 Ab	0.66±0.004 Ab	
赤霉素 GA <sub>7</sub>	—	0.09±0.008	—	0.14±0.077	—	0.1±0.46	
赤霉素 GA <sub>15</sub>	0.42±0.004 Bb	0.68±0.002 Ab	0.57±0.004 Ab	0.77±0.02 Ab	0.29±0.003 Bb	0.46±0.004 Ab	
赤霉素 GA <sub>24</sub>	7.12±0.004 Aa	3.56±0.004 Ba	8.13±0.003 Aa	3.62±0.013 Ba	5.24±0.032 Aa	3.45±0.003 Ba	

注:“—”表示未检出。

Note:“—”means not detected.

2.5 核桃丛枝病植物内源激素相关性分析

相关性分析发现(表 6),ABA 与 IAA 及其衍生物、tZR、DZ 和 GA<sub>24</sub> 呈显著负相关,与 cZ、IP 和 DHZ7G 呈显著的正相关性,表明 ABA 抑制生长素类激素和赤霉素的合成。ABA 是抑制型激素,对生长促进型激素有拮抗作用<sup>[20]</sup>。生长素和

CTK 通过调节细胞周期组分来协同调节植物生长发育,且对 GA 的合成有促进作用,各自呈正向调节。云南核桃感染丛枝病后,叶片内的脱落酸和细胞分裂素含量显著升高,而生长素和赤霉素含量显著下降,激素的失调致使植株不能正常生长,出现典型的丛枝病症状。

表 6 不同种植基地核桃丛枝病内源激素含量相关性分析

Table 6 Correlation analysis of endogenous hormones in walnut witches' broom disease

	ABA	IAA	MEIAA	ICAla	cZ	tZ	tZR	IP	IPR	DZ	DHZ7G	GA <sub>3</sub>	GA <sub>15</sub>	GA <sub>24</sub>
ABA														
IAA	-0.862 **													
MEIAA	-0.650 **	0.899 **												
ICAla	-0.597 **	0.906 **	0.845 **											
cZ	0.761 **	-0.415	-0.242	-0.008										
tZ	0.440	0.043	0.387	0.338	0.698 **									
tZR	-0.763 **	0.958 **	0.855 **	0.956 **	-0.211	0.129								
IP	0.950 **	-0.706 **	-0.423	-0.396	0.847 **	0.654 **	-0.587 *							
IPR	-0.337	0.752 **	0.887 **	0.874 **	0.143	0.670 **	0.760 **	-0.095						
DZ	-0.826 **	0.918 **	0.778 **	0.776 **	-0.557 *	-0.077	0.818 **	-0.743 **	0.631 **					
DHZ7G	0.861 **	-0.729 **	-0.633 **	-0.483 *	0.627 **	0.328	-0.704 **	0.787 **	-0.250	-0.619 **				
GA <sub>3</sub>	0.394	0.478	0.264	0.517 *	-0.061	-0.058	0.429	-0.338	0.401	0.390	0.031			
GA <sub>15</sub>	0.372	-0.087	-0.050	0.185	0.603 **	0.492 *	-0.052	0.458	0.345	-0.193	0.649 **	0.671 **		
GA <sub>24</sub>	-0.821 **	0.994 **	0.896 **	0.942 **	-0.321	0.101	0.978 **	-0.651 **	0.785 **	0.886 **	-0.695 **	0.505 *	-0.021	

注: \* 表示在 0.05 水平上相关性显著, \*\* 表示在 0.01 水平上相关性显著。

Note: \* means significant correlation at the 0.05 level, \*\* means significant correlation at the 0.01 level.

### 3 讨论

本研究 3 个样地的核桃品种不同,楚雄是三台核桃,大理和临沧的是大泡核桃,研究结果表明,核桃丛枝病感病植株与健康植株相比内源激素发生了明显变化,而且不同样地、不同产品间均表现出相似的变化规律。相关文献报道,丛枝病症状的发生可能与细胞分裂素和生长素失调有关<sup>[13]</sup>,感病植株的叶片内细胞分裂素和生长素出现紊乱、失调的现象,因此丛枝的症状与内源激素含量水平关系密切。

ABA 能抑制植物生长,在植物受到病害等胁迫时,体内 ABA 含量增高,使植物在生理生化等方面发生变化。本研究 ABA 的含量在感病叶中显著高于健康叶,因此 ABA 的积累可能促使植株出现黄化、小叶、矮化等,表现出丛枝症状。杜绍华等<sup>[12]</sup>用组培苗研究枣树感染枣丛枝病后内源激素含量变化发现,感病植株内源 IAA 降低,GA 含量升高;冯志敏等<sup>[21]</sup>对泡桐丛枝病的研究表明,植物体受逆境损伤后内源激素比例失衡而引起组织、器官等分化异常,这与本研究的结果是相一致的。生长素含量降低,可能是健康核桃感病后使体内的 IAA 氧化酶活性增高导致的,也可能是激素与氨基酸及糖等交联作用降低了激素活性,或是过氧化氢酶的活性受到抑制降低了植物 IAA 的生物合成<sup>[22-24]</sup>,导致核桃枝节间缩短,侧芽萌发生长,出现典型丛枝症状。感病植株的 CTK 含量显著高于健康植株,较高含量的 CTK 可能促使腋芽大量萌发、生长和分化,从而形成丛枝<sup>[25]</sup>。何放亭等<sup>[13]</sup>对甘薯丛枝病病株内源激素含量进行分析,发现与健康株相比,病株的细胞分裂素一直处于较高水平,使 C/A 比值升高;赵锦等<sup>[3]</sup>测定枣丛枝病不同患病程度叶片中内源激素结果表明,患病程度越重,细胞分裂素越高,C/A 比值越高。本研究测试核桃叶片也发现,感病植株的 CTK 含量也显著高于健康植株,C/A 值均高于健康叶。CTK 含量的增加可能有利于腋芽的大量萌发,侧芽的生长,引起丛枝病或增值症状<sup>[21]</sup>。

大量的文献证明,植物感染丛枝病后内源激素含量会发生显著的变化,本研究的结果也证实了这一点。本研究结果表明,云南核桃感染丛枝病后代谢失调,内源激素含量发生显著变化,导致丛枝表型,可为云南核桃丛枝病的研究和防治提

供理论依据。

#### 参考文献 Reference:

- [1] 郭建民,杨俊强,薛新平,等. 枣疯病研究进展[J]. 山西农业科学,2017,45(8):1389-1392.  
GUO J M, YANG J Q, XUE X P, *et al.* Research progress of jujube madness[J]. *Shanxi Agricultural Sciences*, 2017, 45(8):1389-1392.
- [2] 雷启义,董志,周江菊,等. 泡桐丛枝病的分子生物学研究进展[J]. 安徽农业科学,2008,36(22):279-280.  
LEI Q Y, DONG ZH, ZHOU J J, *et al.* Progress in molecular biology of *Paulownia* witches' broom disease[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(22):279-280.
- [3] 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,2006,39(11):2255-2260.  
ZHAO J, LIU M J, DAI L, *et al.* Study on changes of endogenous hormones in jujube witches disease trees[J]. *Chinese Agricultural Sciences*, 2006, 39(11):2255-2260.
- [4] 高瑞,李向东,王洁,等. 绣线菊丛枝病原的分子鉴定[J]. 林业科学,2007,43(11):72-75.  
GAO R, LI X D, WANG J, *et al.* Molecular identification of the pathogen of *Spiraea* witches' broom disease[J]. *Forestry Science*, 2007, 43(11):72-75.
- [5] 李栋海. 泡桐丛枝病的鉴别与防治[J]. 安徽农业科学,2010,38(15):7904-7905.  
LI D H. Identification and control of *Paulownia* witches' broom disease[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(15):7904-7905.
- [6] 杨永刚,吴小芹. 竹丛枝病原研究进展[J]. 浙江农林大学学报,2011,28(1):144-148.  
YANG Y G, WU X Q. Research progress on the pathogen of bamboo witches' broom disease[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2011, 28(1):144-148.
- [7] 介大委. 丛枝病植原体在泡桐体内分布特点和周年变化规律的研究[D]. 郑州:河南农业大学,2009.  
JIE D W. Study on the distribution characteristics and annual changes of witches' broom disease phytoplasma in *Paulownia* [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2009.
- [8] 金开璇,付仓生,李振兰,等. 泡桐丛枝病原及传染途径的研究[J]. 林业科学,1978,14(4):1-4.  
JIN K X, FU C SH, LI ZH L, *et al.* Study on the pathogen and transmission route of *Paulownia* witches' broom disease[J]. *Forestry Science*, 1978, 14(4):1-4.
- [9] 秦西云,杨铭,段玉琪. 烟草丛枝病原及其在胞间传递方式和传播途径的研究[J]. 烟草科技,1998(1):42-43.  
QIN X Y, YANG M, DUAN Y Q. The transmission in cells of mycoplasma-like organisms on tobacco witches broom and its spreading way[J]. *Tobacco Science & Technology*, 1998(1):42-43.
- [10] 周志涛,张霞,丁建领. 泡桐丛枝病发生规律及防治技术

- [J]. 安徽农学通报, 2015, 21(14): 103-104.  
ZHOU ZH T, ZHANG X, DING J L. Occurrence and control techniques of *Paulownia* witches' broom disease[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2015, 21(14): 103-104.
- [11] 范国强, 冯志敏, 翟晓巧, 等. 植物生长调节物质对泡桐丛枝病株幼苗形态和叶片蛋白质含量变化的影响[J]. 河南农业大学学报, 2006(2): 137-141.  
FAN G Q, FENG ZH M, ZHAI X Q, *et al.* Effects of plant growth regulators on the morphology and leaf protein content of *Paulownia* witches' broom diseased plants[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2006(2): 137-141.
- [12] 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, 37(13): 12-15.  
DU SH H, BU ZH G, LIU Y. The effect of phytoplasma dip on the content of endogenous hormones in jujube trees[J]. *Northern Horticulture*, 2013, 37(13): 12-15.
- [13] 何放亭, 戴 群. C/A 值与甘薯丛枝病症状发生的关系[J]. 植物病理学报, 1997, 27(1): 43-46.  
HE F T, DAI Q. The relationship between C/A value and symptoms of sweet potato witches' broom disease[J]. *Acta Phytopathology*, 1997, 27(1): 43-46.
- [14] 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.  
LIU B SH, DAI Q. Annual change of mulberry phytoplasma content and its effect on host hormone levels[J]. *Journal of Shandong University (Natural Science Edition)*, 1999(1): 100-104.
- [15] 陈子文, 陈永萱, 陈泽安. 枣疯病研究的进展[J]. 南京农业大学学报, 1991, 14(4): 49-55.  
CHEN Z W, CHEN Y X, CHEN Z A. Progress in the research on jujube madness[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 1991, 14(4): 49-55.
- [16] 万琼莲, 王连春, 巢凯翔, 等. 羽脉山黄麻丛枝病感病植株内源激素含量水平的变化[J]. 广东农业科学, 2020, 47(7): 121-127.  
WAN Q L, WANG L CH, CHAO K X, *et al.* Changes in levels of endogenous hormones in Yumaishan jute witches' broom susceptible plants[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2020, 47(7): 121-127.
- [17] 杨 晓, 胡海瑶, 王 宇, 等. 福建省葡萄果实病害调查及微生态制剂田间应用研究[J]. 中国南方果树, 2020, 49(6): 101-106.  
YANG X, HU H Y, WANG Y, *et al.* Investigation of grape berry diseases in Fujian province and field application of microecological preparations[J]. *South China Fruit Tree*, 2020, 49(6): 101-106.
- [18] 陆 敏, 陆贵清. 脱落酸与植物非生物逆境抗性研究进展[J]. 北方园艺, 2014(8): 184-188.  
LU M, LU G Q. Research progress on abscisic acid and plant abiotic stress resistance[J]. *Northern Horticulture*, 2014(8): 184-188.
- [19] 刘俊男, 王柱华, 赵 宇, 等. 植原体病害及其相关植物激素研究进展[J]. 西昌学院学报(自然科学版), 2018, 32(2): 1-5, 16.  
LIU J N, WANG ZH H, ZHAO Y, *et al.* Research progress on phytoplasma diseases and related plant hormones[J]. *Journal of Xichang College (Natural Science Edition)*, 2018, 32(2): 1-5, 16.
- [20] 王泳超.  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)调控盐胁迫下玉米种子萌发和幼苗生长的机制[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.  
WANG Y CH. Mechanism of  $\gamma$ -aminobutyric acid(GABA) regulating corn seed germination and seedling growth under salt stress[D]. Haerbin: Northeast Agricultural University, 2016.
- [21] 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, 17(4): 126-128.  
FENG ZH M, WANG X E, WAN K J. A review of studies on phytoplasma of *Paulownia* witches' broom disease[J]. *Journal of Xinyang Agricultural College*, 2007, 17(4): 126-128.
- [22] YUAN H M, LIU W C, LU Y T. CATALASE2 coordinates SA-mediated repression of both auxin accumulation and JA biosynthesis in plant defenses[J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 21(2): 143-155.
- [23] 原牡丹, 侯智霞, 翟明普, 等. IAA 分解代谢相关酶(IAAO、POD)的研究进展[J]. 中国农学通报, 2008, 24(8): 88-92.  
YUAN M D, HOU ZH X, ZHAI M P, *et al.* Research progress of IAA catabolism-related enzymes(IAAO, POD)[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2008, 24(8): 88-92.
- [24] 庄启国, 杨 静, 余应建, 等. 斑竹丛枝病过氧化物酶和多酚氧化酶的研究[J]. 四川农业大学学报, 2005, 23(3): 332-334.  
ZHUANG Q G, YANG J, YU Y J, *et al.* Study on peroxidase and polyphenol oxidase of bamboo witches' broom disease[J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2005, 23(3): 332-334.
- [25] 李妍芃. 基于异戊烯基转移酶基因 SNPs 的高甘草酸含量分子标记研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.  
LI Y F. Research on molecular markers of high glycyrrhizic acid content based on SNPs of prenyltransferase gene[D]. Beijing: Beijing University of Traditional Chinese Medicine, 2016.

## Changes of Endogenous Hormones Levels in Infected Plants Associated with *Juglans siggillata* Witches' Broom Disease

HAN Ying<sup>1</sup>, MA Jianpeng<sup>2</sup>, ZHANG Jing<sup>1</sup>, LIANG Chen<sup>1</sup>,  
YANG Bin<sup>3</sup> and ZHAO Ning<sup>1,3</sup>

(1. School of Life Science, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. Dali Bai Autonomous Prefecture Forestry and Grassland Pest Control and Quarantine Bureau, Dali Yunnan 671000, China; 3. Laboratory of Forest Disaster Warning and Control in Yunnan Province, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

**Abstract** In order to investigate the changes of endogenous hormones in susceptible *Juglans siggillata* infected by phytoplasma, twenty four endogenous hormone contents in the leaves of susceptible and healthy plants from three main *Juglans siggillata* producing areas (Chuxiong, Dali and Lincang) in Yunnan were determined by LC-MS/MS. Eleven kinds of endogenous hormones were detected, among which the content of cytokinin were the most variable. Compared with healthy *Juglans siggillata*, the content of cytokinin in susceptible *Juglans siggillata* increased exponentially. Among them, the most increased was cZ. The cZ content of susceptible plants in the three main producing areas is about three times that of healthy plants, and the C/A value of susceptible leaves is higher than that of healthy leaves. The content of abscisic acid (ABA) in susceptible plants was about twice that of healthy plants; GA<sub>7</sub> of gibberellins was only detected in susceptible plants. The results showed that the endogenous hormone content of *Juglans siggillata* infected with witches' broom disease changed significantly, which showed that the increase of cytokinin and led to witches' broom disease such as leaf curling and diminishing, and axillary bud sprouting.

**Key words** *Juglans siggillata*; Witches' broom disease; Endogenous hormones; Liquid chromatography tandem mass spectrometry

**Received** 2021-01-22

**Returned** 2021-04-15

**Foundation item** Funded by Yunnan Forestry Science and Technology Innovation Project[No. (2016) CX01]; Funded by Yunnan Forestry Science and Technology Extension Project(No. 2018ts03).

**First author** HAN Ying, female, master student. Research area: development and utilization of resource microorganisms. E-mail: hanying@swfu.edu.cn

**Corresponding author** ZHAO Ning, male, master supervisor, senior experimenter. Research area: forestry pest green prevention and control. E-mail: lijiaingzhn@163.com

(责任编辑:潘学燕 Responsible editor: PAN Xueyan)