

植原体侵染对甜樱桃叶片结构功能的影响

谭钺*, 朱东姿*, 魏海蓉, 王甲威, 宗晓娟, 陈新, 徐丽, 刘庆忠**

山东省果树研究所/山东省果树生物技术育种重点实验室, 山东泰安271000

摘要: 植原体侵染甜樱桃后引起叶片黄化、变小等症状, 危害叶片功能。本研究旨在通过观察显微结构、测定光合作用相关参数和激素含量, 明确植原体侵染对甜樱桃叶片结构和功能的影响。结果表明, 甜樱桃被植原体危害后栅栏组织发育受阻, 叶片变薄, 光合色素减少, 气孔导度降低, 光合功能严重受损, 但淀粉积累增加。病叶中玉米素核苷、脱落酸、水杨酸、茉莉酸、茉莉酸甲酯等含量均显著变化, 激素平衡被打破, 可能是引起叶片形态、功能改变的重要原因。

关键词: 植原体; 甜樱桃; 显微结构; 光合作用; 激素

植原体(*Candidatus* genus *Phytoplasma*)属软壁菌门(Tenericutes)柔膜菌纲(Mollicutes), 是一类没有细胞壁的植物病原细菌(Sugio等2011)。植原体主要寄生在植物韧皮组织, 可危害一千多种植物(Marcone 2014)。我国危害严重的枣疯病(田国忠等2002)、小麦蓝矮病(张秦风等1993)、泡桐丛枝病(张春立等1994)、桑树萎缩病(张和禹等2010)等均由植原体引起。

甜樱桃(*Prunus avium*)成熟期早、风味好, 是一种重要的温带果树。课题组近年在山东省多个地区发现甜樱桃丛枝病症, 经鉴定由榆树黄化组B亚组(16SrV-B)植原体引起(王甲威等2014), 进一步观察发现, 植原体还引起花变叶、韧皮部坏死、植株死亡等病症。对比枣、桑、泡桐等木本植物, 植原体对甜樱桃生产的潜在威胁非常巨大。

叶片是植物光合作用的主要场所, 也是植原体危害的主要部位之一。植原体危害桑树后, 可破坏叶肉细胞中细胞核和叶绿体结构, 诱导叶绿体内积累淀粉粒和嗜钨颗粒(徐均焕等1998)。葡萄、苹果受植原体危害后, 叶片光合色素减少、光合酶活性下降, 光合作用受抑制(Bertamini等2002a, b)。甜樱桃被植原体侵染后, 叶片的形态、结构和功能也发生改变。本研究从形态结构、光合作用和激素平衡三方面分析了植原体对甜樱桃叶片结构和功能的影响, 将为揭示病害发生机理、制定病树治疗方案提供参考。

材料与方法

1 植物材料

本试验于2016年进行, 试验用树栽植于山东省泰安市南王庄生产园。病树与健康树同时定植,

均为六年生, 品种为‘萨米脱’(*Prunus avium* L. cv. Summit), 栽培管理方式一致。病树局部发生典型的丛枝症状, 经鉴定已确认受16SrV-B组植原体侵染(王甲威等2014); 健康树生长发育正常, 未检测到植原体感染。采集新鲜的病树丛枝枝条和健康树一年生新梢, 将基部插入清水中以保持枝叶生理状态, 立即带回山东省果树研究所实验室进行固定、液氮速冻等处理。所有分析均选择枝条上部第4、5片成熟叶进行。

2 叶片显微结构观察

取新鲜叶片, 在中部主脉旁1 cm左右切取0.5 cm×0.5 cm小片, 立即用FAA固定液固定, 经酒精、二甲苯氯仿系列脱水、透明后, 进行浸蜡和石蜡包埋, 制作成厚度2~3 μm的切片, 42°C烘烤48 h, 4°C保存备用。石蜡切片经二甲苯、酒精复水后使用1%番红和0.5%固绿染色, 60°C烘干后使用中性和树胶封片。使用Nikon Eclipse Ci进行镜检, Nikon DS-U3图像采集。

3 光合色素含量测定

使用比色法测定叶片光合色素叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素含量(Arnold 1949)。取新鲜叶片0.5 g, 使用80%丙酮研磨, 过滤, 滤液稀释至25 mL, 分别在波长663、646和470 nm处检测吸光度(A)。3次生物学重复。按以下公式计算不同色素含量:

收稿 2017-03-10 修订 2017-06-01

资助 山东省农业科学院青年科研基金(2016YQN27)、“十二五”国家科技支撑计划(2013BAD02B03-3-2)和山东省现代农业产业技术体系果品创新团队(SDAIT-06-04)。

* 并列第一作者。

** 通讯作者(E-mail: qzliu001@126.com)。

叶绿素a含量 C_a [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)] $=(12.21A_{663}-2.81A_{646})\times 0.025/0.5$

叶绿素b含量 C_b [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)] $=(20.13A_{649}-5.03A_{663})\times 0.025/0.5$

类胡萝卜素含量 $C_{x,c}$ [$\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)] $=[(1\ 000A_{470}-3.27C_a-104C_b)/245]\times 0.025/0.5$

4 光合参数测定

在树冠外围向阳面选择一年生枝条上部第4、5片成熟叶,充分光适应后使用PP Systems CI-RAS-3便携式光合测定系统进行光合相关参数测定。设定测定条件为:光密度 $1\ 200\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, CO_2 浓度 $390\ \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$,温度 25°C 。净光合速率、胞间 CO_2 浓度、气孔导度、气孔限制值、蒸腾速率、水分利用效率、水蒸汽压亏缺等数据由仪器直接测定转换得到。6次生物学重复。

5 可溶性糖和淀粉测定

使用蒽酮法(邹琦1995)测定可溶性糖和淀粉含量。3次生物学重复。

6 激素测定

使用液质联用法测定叶片内源激素含量。准确称量约1.5 g叶片,在液氮中充分研磨,加入异丙醇/盐酸提取缓冲液10 mL, 4°C 震荡30 min;加入20 mL二氯甲烷, 4°C 震荡30 min; 4°C $16\ 000\times\text{g}$ 离心5 min,取下层有机相,避光条件下用氮气吹干并用200 μL 甲醇(0.1%甲酸)溶解;过0.22 μm 滤膜,进HPLC-MS/MS检测。3次生物学重复。

高效液相色谱仪为美国Aglient1290,色谱柱为Poroshell 120 SB-C18反相色谱柱;质谱仪为美国AB SCIEX-6500Qtrap。以甲醇(0.1%甲酸)为溶剂配制梯度为0.1~200 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的生长素(IAA)、脱落酸(ABA)、赤霉素3(GA_3)、赤霉素4(GA_4)、玉米素(Z)、玉米素核苷(ZR)、茉莉酸(JA)、茉莉酸甲酯(MeJA)、水杨酸(SA)、水杨酸甲酯(MeSA)标准溶液。

液相条件:柱温 30°C ;流动相A:B=(甲醇/0.1%甲酸):(水/0.1%甲酸);洗脱梯度:0~2 min A=20%,2~4 min A递增至50%,4~10 min A递增至80%,10~11 min A=80%,11~11.1 min A递减至20%,11.1~15 min, A=20%;进样体积:2 μL 。

质谱条件:气帘气压103.4 kPa,喷雾电压4 500 V,雾化气压力448.2 kPa,辅助气压力482.6 kPa,雾化温度 400°C 。

实验结果

1 植原体感染对甜樱桃叶片形态结构的影响

16SrV-B植原体感染甜樱桃引起典型的丛枝病症,具体症状包括枝条顶端优势不明显,枝叶丛生,节间变短,叶片变小、黄化、卷曲等(图1)。感病叶片的显微结构与健康叶片也有明显不同(图2)。与健康叶片相比,感病叶片变薄,第二层栅栏组织发育不完全。健康叶片表现出明显的极性,第一层栅栏组织细胞质呈现出明显的红色,第二层栅栏组织和海绵组织(叶片背面,背光)呈蓝绿色。感病叶片极性不明显,栅栏组织、海绵组织细胞质均呈现出明显红色。此外,感病叶片中表皮细胞染色程度也比健康叶片深。



图1 16SrV-B植原体感染甜樱桃引起的典型症状
Fig.1 Typical symptoms induced by 16SrV-B phytoplasma on sweet cherry

2 植原体感染对甜樱桃叶片光合作用的影响

比较甜樱桃健康叶片和发病叶片光合色素含量(图3)可见:病叶中叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素含量均大幅度降低,分别比健康叶减少63.2%、56.6%、53.6%。

甜樱桃病叶光合作用严重衰退(表1),其净光合速率仅为健康叶片的6.98%,气孔导度也降低了80.7%。受气孔导度降低影响,感病叶片蒸腾速率大幅下降,水蒸汽压亏缺升高。值得注意的是,虽然感病叶片气孔导度降低,但光合作用的气孔限制值并没有升高,反而由39.91%降低至20.94%。病叶中光合产物的积累也发生变化,可溶性糖含量降低,仅为健康叶的55.9%,但淀粉积累增加,接近达到健康叶的7倍(图4)。

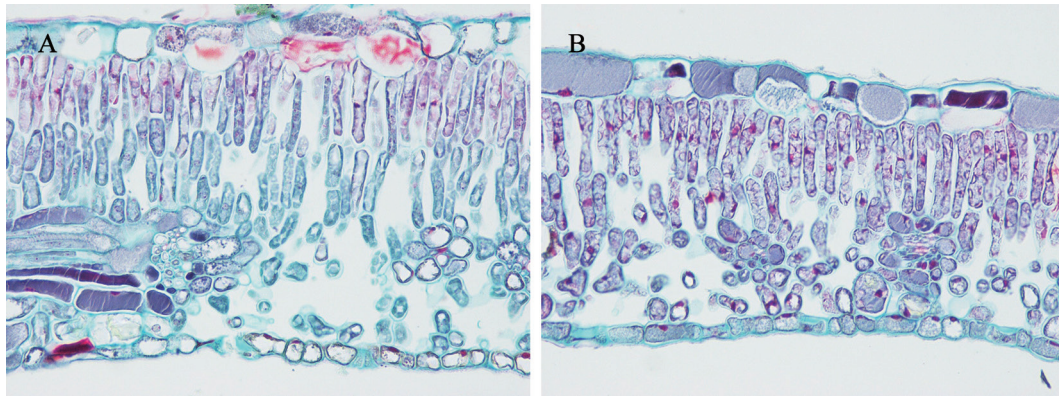


图2 甜樱桃健康叶(A)和病叶(B)显微结构

Fig.2 Microstructure of healthy (A) and diseased (B) sweet cherry leaves

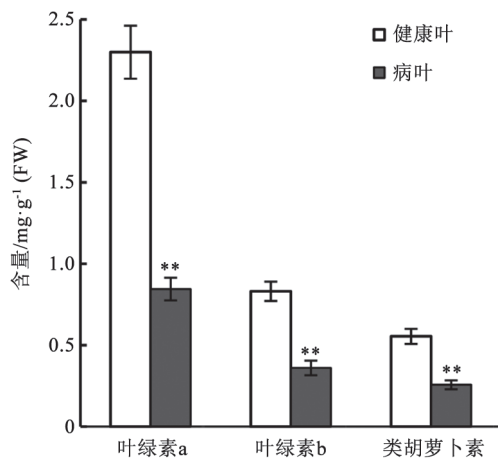


图3 甜樱桃健康叶和病叶叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素含量

Fig.3 Contents of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoids in healthy and diseased sweet cherry leaves

*和**分别表示病叶与健康叶差异达到显著($P<0.05$)和极显著水平在($P<0.01$),下同。

3 植原体侵染对甜樱桃叶片激素含量的影响

被植原体侵染后,甜樱桃叶片中多种激素的含量发生改变(表3)。其中,ZR、ABA、SA、JA含量均大幅度升高,达到极显著水平,分别为健

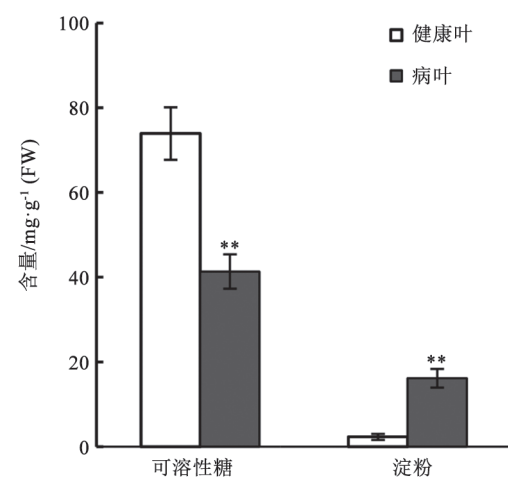


图4 甜樱桃健康叶和病叶可溶性糖和淀粉含量

Fig.4 Contents of soluble sugars and starch in healthy and diseased sweet cherry leaves

康叶的4.7、8.4、12.6、18.2倍。MeJA含量在病叶中也显著增加,为健康叶的2.4倍。IAA和GA₃的含量在健康叶片与感病叶片中没有显著差异。Z、GA₄、MeSA在健康叶和病叶中的含量较低,均未达到仪器最低检测浓度,数据未在表3中列出。

表1 甜樱桃健康叶和病叶光合参数

Table 1 Photosynthesis related parameters in healthy and diseased sweet cherry leaves

	净光合速率/ $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	气孔导度/ $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	胞间CO ₂ 浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$	气孔限制值/%	蒸腾速率/ $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	水蒸汽压亏缺/ hPa	水分利用效率/%
健康叶	14.62±0.621	138.83±7.669	234.33±3.023	39.91±0.775	2.74±0.103	2.18±0.027	5.32±0.096
病叶	1.02±0.112**	26.83±2.453**	308.33±6.080**	20.94±1.559**	0.74±0.065**	2.79±0.017**	1.37±0.133**

表2 甜樱桃健康叶和病叶激素含量

Table 2 Hormone contents in healthy and diseased sweet cherry leaves

	激素含量/ng·g ⁻¹						
	IAA	ZR	ABA	GA ₃	SA	JA	MeJA
健康叶	0.07±0.01	4.32±0.54	0.39±0.08	0.23±0.04	0.62±0.15	0.32±0.07	0.03±0.01
病叶	0.08±0.01	20.34±2.53**	3.26±0.51**	0.29±0.05	7.80±1.20**	5.81±0.79**	0.07±0.01*

讨 论

1 植原体感染引起甜樱桃叶片生长发育异常

叶是植物进行光合作用、制造养料、进行气体交换和水分蒸腾的基本器官,也是受植原体感染的主要部位之一。枣疯病(张丽君等2010)、小麦蓝矮病(张秦凤等1993)、泡桐丛枝病(田国忠等2010)等植原体病害的发生均对寄主植物叶片的形态功能产生严重影响。樱属植物受到16SrI、16SrII、16SrIII、16SrV等多组植原体的危害,叶片也是主要受害部位,产生的病症包括变小、失绿、黄化、红叶、卷叶、脱落等(Zirak等2010; Uyemoto和Luhn 2006; Navrátil等2001; Jomantiene等2011; Valiunas等2009)。本研究中,甜樱桃被16SrV-B植原体危害后,叶片表现出变小、失绿、卷曲等症状,这些症状符合植原体病害的典型特征。

进一步的观察还发现,被植原体危害的甜樱桃叶片,其栅栏组织发育不完全。栅栏组织是叶片进行光合作用的主要部位,其发育受阻可能是导致病叶光合作用减弱的重要原因。健康叶片和病叶在染色上也表现出明显差异。健康叶片的染色表现出极性,这与其正常的光合作用一致:第一层栅栏组织是光合作用最活跃的部位,光合产物(淀粉)积累也较多,因此染色较深。病叶的染色则未表现出极性,栅栏组织、海绵组织、甚至表皮细胞的染色程度均较深,这可能与其中淀粉的大量积累有关(见图2),也间接反映了病叶光合作用的异常,该现象将在今后的研究中做进一步分析。

2 植原体感染抑制甜樱桃叶片光合作用

抑制叶片光合作用是植原体感染后的主要特征之一,本研究发现,植原体对甜樱桃叶片光合作用产生的影响主要包括光合色素减少、气孔导度降低、光合产物积累以及光合速率下降(图3、4和表1)。这与植原体对苹果(Bertamini等2002a)、葡萄(Bertamini和Nedunchezian 2001)等植物叶片的

影响相似。叶绿素a、叶绿素b、类胡萝卜素等光合色素负责光能的吸收、转化以及进行光保护,是光合作用光反应的基础,其含量减少直接导致叶片光合能力降低。

叶片气孔导度降低通常伴随着植原体病害发生,被认为是引起光合速率降低的原因之一(Leon等1996; Matteoni和Sinclair 1983; Maust等2003)。本研究也观测到植原体引起甜樱桃叶片气孔导度降低,但进一步分析表明,病叶胞间CO₂浓度升高,气孔限制值反而降低(表1),这说明叶片CO₂同化能力的下降幅度更大,而气孔导度降低并不是病叶光合作用的限制因子。此外,病叶中淀粉的大量积累(图4)也可能对光合起到反馈抑制作用。课题组已利用转录组技术筛选到一系列受植原体影响的光合作用相关基因(尚未发表),光合作用降低的分子机理也将被进一步研究。

3 激素平衡与叶片结构功能变化的关系

激素是植物生长发育最重要的调节物质,植原体感染引起甜樱桃叶片多种激素含量发生变化,很可能与病症发生有关。细胞分裂素和ABA在叶片生长发育与衰老过程中作用相反:细胞分裂素促进叶片扩大、延缓衰老(Gan和Amasino 1995),而ABA抑制叶片生长、促进衰老(Dodd和Davies 1994)。在甜樱桃病叶中,ZR和ABA的含量均显著增加,但叶片表现出的变小、变薄、栅栏组织细胞减少等病症均与ABA的功能一致,说明ABA在病叶的生长发育调控中起到了主导作用。IAA和GA在叶片生长发育中也起到调控作用,但本研究并未发现植原体影响了甜樱桃叶片中这两种激素的含量,这与在枣疯病树上的检测结果一致(赵锦等2006),但不同于泡桐(田国忠等1994)和桑树(刘秉胜和戴群1999)。危害枣树和甜樱桃的植原体都属于16SrV-B组(陈妮等2015; 王甲威等2014),与泡桐和桑树不同,这说明不同种类植原体危害寄主叶片的机理存在差异。

ABA、SA、JA、MeJA都是植物抗性信号分子,参与植物对病原的防御反应,诱导植株产生系统获得性抗性。在甜樱桃病叶中,这些激素的含量均大量增加,说明甜樱桃对植原体侵染产生了防御反应。气孔关闭是植物限制病原菌入侵的防御性反应之一(Lee等1999),ABA(吕东等2005)、SA(Manthe等1992)、JA(Hossain等2014)、MeJA(Evans 2003)均能诱导气孔关闭,这与病叶气孔导度的降低相符。此外,ABA、JA能促进叶绿素降解和叶片衰老(Noir等2013; Jiang等2014),其含量增加可能是病叶叶绿素减少、光合作用降低的原因之一。其他由这些激素介导的对植原体的防御反应将在今后的试验中进一步研究。

参考文献

- Arnon DI (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 24 (1): 1–15
- Bertamini M, Muthuchelian K, Grando M, Nedunchezian N (2002a). Effects of phytoplasma infection on growth and photosynthesis in leaves of field grown apple (*Malus pumila* Mill. cv. Golden Delicious). *Photosynthetica*, 40 (1): 157–160
- Bertamini M, Nedunchezian N (2001). Effects of phytoplasma [stolbur-subgroup (Bois noir-BN)] on photosynthetic pigments, saccharides, ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase, nitrate and nitrite reductases, and photosynthetic activities in field-grown grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay) leaves. *Photosynthetica*, 39 (1): 119–122
- Bertamini M, Nedunchezian N, Tomasi F, Grando MS (2002b). Phytoplasma [stolbur-subgroup (Bois noir-BN)] infection inhibits photosynthetic pigments, ribulose-1,5-bisphosphatecarboxylase and photosynthetic activities in field grown grapevine leaves. *Physiol Mol Plant Pathol*, 61 (6): 357–366
- Chen N, Liu Y, Qiu P, Liu W, Su W, Zhu X (2015). Molecular identification and sequence polymorphism of phytoplasma associated with jujube witches' broom in Shandong Province. *Acta Phytopathol Sin*, 45 (2): 113–120 (in Chinese with English abstract) [陈妮, 刘永光, 仇平平, 刘文浩, 苏文敏, 竺晓平(2015). 山东省枣疯病植原体的鉴定及分子变异分析. *植物病理学报*, 45 (2): 113–120]
- Dodd IC, Davies WJ (1994). Leaf growth-responses to ABA are temperature-dependent. *J Exp Bot*, 45 (276): 903–907
- Evans NH (2003). Modulation of guard cell plasma membrane potassium currents by methyl jasmonate. *Plant Physiol*, 131 (1): 8–11
- Gan SS, Amasino RM (1995). Inhibition of leaf senescence by auto-regulated production of cytokinin. *Science*, 270 (5244): 1986–1988
- Hossain MA, Ye W, Munemasa S, Nakamura Y, Mori IC, Murata Y (2014). Cyclic adenosine 5'-diphosphoribose (cADPR) cyclic guanosine 3',5'-monophosphate positively function in Ca²⁺ elevation in methyl jasmonate-induced stomatal closure, cADPR is required for methyl jasmonate-induced ROS accumulation NO production in guard cells. *Plant Biol*, 16 (6): 1140–1144
- Jiang Y, Liang G, Yang S, Yu D (2014). Arabidopsis WRKY57 functions as a node of convergence for jasmonic acid- and auxin-mediated signaling in jasmonic acid-induced leaf senescence. *Plant Cell*, 26 (1): 230–245
- Jomantiene R, Zhao Y, Lee IM, Davis RE (2011). Phytoplasmas infecting sour cherry and lilac represent two distinct lineages having close evolutionary affinities with clover phylloidy phytoplasma. *Eur J Plant Pathol*, 130 (1): 97–107
- Lee S, Choi H, Suh S, Doo IS, Oh KY, Choi EJ, Schroeder Taylor AT, Low PS, Lee Y (1999). Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. *Plant Physiol*, 121 (1): 147–152
- Leon R, Santamaria JM, Alpizar L, Escamilla JA, Oropeza C (1996). Physiological and biochemical changes in shoots of coconut palms affected by lethal yellowing. *New Phytol*, 134 (2): 227–234
- Liu B, Dai Q (1999). Anniversary variation of the phytoplasmal amounts in mulberry. *J Shandong Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 34 (1): 100–104 (in Chinese with English abstract) [刘秉胜, 戴群(1999). 桑树植原体含量的周年变化及其对寄主激素水平的影响. *山东大学学报(自然科学版)*, 34 (1): 100–104]
- Lü D, Zhang X, Jiang J, An G, Zhang L, Song C (2005). NO may function in the downstream of H₂O₂ in ABA-induced stomatal closure in *Vicia faba* L. *J Plant Physiol Mol Biol*, 31 (1): 62–70 (in Chinese with English abstract) [吕东, 张骁, 江静, 安国勇, 张玲瑞, 宋纯鹏(2005). NO可能作为H₂O₂的下游信号介导ABA诱导的蚕豆气孔关闭. *植物生理与分子生物学学报*, 31 (1): 62–70]
- Manthe B, Schulz M, Schnabl H (1992). Effects of salicylic acid on growth and stomatal movements of *Vicia faba* L.: evidence for salicylic acid metabolization. *J Chem Ecol*, 18 (9): 1525–1539
- Marcone C (2014). Molecular biology and pathogenicity of phytoplasmas. *Ann Appl Biol*, 165 (2): 199–221
- Matteoni J, Sinclair W (1983). Stomatal closure in plants infected with mycoplasma-like organisms. *Phytopathology*, 73 (3): 398–402
- Maust B, Espadas F, Talavera C, Aguilar M, Santamaria J, Oropeza C (2003). Changes in carbohydrate metabolism in coconut palms infected with the lethal yellowing phytoplasma. *Phytopathology*, 93 (8): 976–981
- Navrátil M, Válová P, Fialová R, Petrová K, Poncarová-Voráčková Z, Fránová J, Nebesárová J, Karesová R (2001). Survey for stone fruit phytoplasmas in Czech Republic. *Acta Hort*, 550: 377–382
- Noir S, Bömer M, Takahashi N, Ishida T, Tsui TL, Balbi V, Shahan H, Sugimoto K, Devoto A (2013). Jasmonate controls leaf growth by repressing cell proliferation and the onset of endoreduplication while maintaining a potential stand-by mode. *Plant Physiol*, 161 (4): 1930–1951
- Sugio A, MacLean AM, Kingdom HN, Grieve VM, Manimekalai R, Hogenhout SA (2011). Diverse targets of phytoplasma effectors: from plant development to defense against insects. *Annu Rev*

- Phytopathol, 49 (1): 175–195
- Tian G, Huang Q, Yuan Q, Zhang X (1994). Relationship between metabolic changes and the nosogenesis in tissue cultured *Paulownia* seedlings infected with MLO. *Sci Chin (Ser B)*, 24 (5): 484–490 (in Chinese) [田国忠, 黄钦才, 袁巧平, 张锡津(1994). 感染MLO泡桐组培苗代谢变化和致病机理的关系. *中国科学(B辑)*, 24 (5): 484–490]
- Tian G, Li Y, Liang W, Piao C, Huang Q, Guo M (2010). Influence of paulownia witches'-broom phytoplasma infection on hydrogen peroxide produce in affected tissues of tissue-cultured paulownia plantlets. *Sci Silva Sin*, 46 (9): 96–104 (in Chinese with English abstract) [田国忠, 李永, 梁文星, 朴春根, 黄钦才, 郭民伟(2010). 丛枝病植原体感染对泡桐组培苗组织内H₂O₂产生的影响. *林业科学*, 46 (9): 96–104]
- Tian G, Zhang Z, Li Z, Shen Y, Guo J (2002). Dynamic of jujube witches' broom disease and factors of great influence at ecologically different regions in China. *Sci Silva Sin*, 38 (2): 83–91 (in Chinese with English abstract) [田国忠, 张志善, 李志清, 申艳普, 郭加虎(2002). 我国不同地区枣疯病发生动态和主导因子分析. *林业科学*, 38 (2): 83–91]
- Uyemoto JK, Luhn CF (2006). In-season variations in transmission of cherry X-phytoplasma and implication in certification programs. *J Plant Pathol*, 88 (3): 317–320
- Valiunas D, Jomantiene R, Ivanauskas A, Abraitis R, Staniene G, Zhao Y, Davis RE (2009). First report of a new phytoplasma subgroup, 16SrIII-T, associated with decline disease affecting sweet and sour cherry trees in Lithuania. *Plant Dis*, 93 (5): 550
- Wang J, Zhu D, Wei H, Zong X, Tan Y, Liu Q (2014). Molecular identification of witches'-broom disease on sweet cherry. *J Fruit Sci*, 31 (S1): 153–158 (in Chinese with English abstract) [王甲威, 朱东姿, 魏海蓉, 宗晓娟, 谭钺, 刘庆忠(2014). 甜樱桃丛枝病的形态及分子鉴定. *果树学报*, 31 (S1): 153–158]
- Xu J, Feng M, Zhu J, Shang H (1998). Ultrastructures of a mycoplasma-like organism causing mulberry dwarf disease. *Acta Microbiol Sin*, 38 (5): 386–389 (in Chinese with English abstract) [徐均焕, 冯明光, 朱家新, 商晗武(1998). 桑萎缩病的类菌原体病原物及其超微病变特征. *微生物学报*, 38 (5): 386–389]
- Zhang C, Lin M, Hu Q, Huang W (1994). Molecular cloning and sequence analysis of DNA in mycoplasma-like organism of the paulownia witches' broom. *Acta Bot Sin*, 36 (4): 278–282 (in Chinese with English abstract) [张春立, 林木兰, 胡勤学, 黄文晋(1994). 泡桐丛枝病类菌原体DNA的分子克隆与序列分析. *植物学报*, 36 (4): 278–282]
- Zhang H, Wang T, Bao X (2010). Research advances in mulberry dwarf disease. *China Seric*, 31 (1): 9–12 (in Chinese with English abstract) [张和禹, 汪泰初, 鲍先巡(2010). 桑树萎缩病的研究进展. *中国蚕业*, 31 (1): 9–12]
- Zhang L, Feng D, Wang Y, Zhao J, Wang A, Niu Q (2010). Preliminary study on the photosynthetic characteristics of jujube witches' broom trees. *J Shanxi Agric Univ (Nat Sci Ed)*, 30 (2): 129–132 (in Chinese with English abstract) [张丽君, 冯殿齐, 王玉山, 赵进红, 王爱喜, 牛庆霖(2010). 枣疯病病树光合特性的初步研究. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 30 (2): 129–132]
- Zhang Q, Zhang R, Ren Z, Ma Y, Zhu X (1993). Wheat blue dwarf disease caused by mycoplasma like-organism. *Acta Microbiol Sin*, 33 (5): 361–364 (in Chinese with English abstract) [张秦凤, 张荣, 任芝英, 马远莉, 朱象三(1993). 类菌原体引起的小麦蓝矮病. *微生物学报*, 33 (5): 361–364]
- Zhao J, Liu M, Dai L, Zhou J (2006). The variations of endogenous hormones in Chinese jujube infected with witches' broom disease. *Sci Agric Sin*, 39 (11): 2255–2260 (in Chinese with English abstract) [赵锦, 刘孟军, 代丽, 周俊义(2006). 枣疯病病树中内源激素的变化研究. *中国农业科学*, 39 (11): 2255–2260]
- Zirak L, Bahar M, Ahoonmanesh A (2010). Characterization of phytoplasmas related to '*Candidatus* Phytoplasma asteris' and peanut WB group associated with sweet cherry diseases in Iran. *J Phytopathol*, 158 (1): 63–65
- Zou Q (1995). *Guidebook of Plant Physiology and Biochemistry Experiment*. Beijing: China Agriculture Press, 53–56 (in Chinese) [邹琦(1995). *植物生理生化实验指导*. 北京: 中国农业出版社, 53–56]

Effects of phytoplasma infection on structure and function of sweet cherry leaves

TAN Yue*, ZHU Dong-Zi*, WEI Hai-Rong, WANG Jia-Wei, ZONG Xiao-Juan, CHEN Xin, XU Li, LIU Qing-Zhong**
Shandong Institute of Pomology/Key Laboratory for Fruit Biotechnology Breeding of Shandong Province, Tai'an, Shandong 271000, China

Abstract: Phytoplasma infection induces small and yellow leaves in sweet cherry and disturbs leaf function. In order to clarify effects of phytoplasma infection on leaf structure and function of sweet cherry, microstructure, photosynthetic parameters and hormone contents were compared between healthy leaves and infected leaves. The results showed that the infected leaves got thinner and had incomplete palisade tissues, less photosynthetic pigments and declined stomatal conductance, leading to severe damage of the photosynthetic function. However, the content of starch increased in infected leaves. The contents of zeatin-riboside, abscisic acid, salicylic acid, jasmonic acid and methyl jasmonate also changed significantly in infected leaves, which could be partially responsible for the alteration of leaf structure and function.

Key words: phytoplasma; sweet cherry; microstructure; photosynthesis; hormone

Received 2017-03-10 Accepted 2017-06-01

This work was supported by Youth Foundation of Shandong Academy of Agricultural Science (Grant No. 2016YQN27), National Key Technology Support Program of China (Grant No. 2013BAD02B03-3-2), and Special Found for Fruit Innovation Team of Shandong Modern Agricultural Technology System (Grant No. SDAIT-06-04).

*Co-first authors.

**Corresponding author (E-mail: qzliu001@126.com).