果 树 学 报 2021，38（4）：560-568
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20200411

6个枣品种枣疯病抗性与枣疯植原体迁移特性差异研究

郝新迪[1]，路瑾瑾[1]，代丽珍[2]，张铁强[1]，王进忠[2]，
王 龙[2]，郭家洛[2]，任争光[2]，王建文[1*]

（[1]北京农学院植物科学技术学院，北京 102206；[2]北京农学院生物与资源环境学院，北京 102206）

摘 要：【目的】探究6个枣树品种枣疯病抗性差异以及枣树体内植原体迁移特性差异，为抗枣疯病枣树品种的选择利用以及枣疯病的防治提供基础数据。【方法】通过采集携带植原体的鸡心脆枣接穗，嫁接到健康枣树砧木上，采用田间调查与普通PCR技术相结合方法，比较不同品种抗枣疯病情况与植原体在不同枣树品种中迁移情况。【结果】不同枣树品种发病时间不同，发病率差异显著，蜂蜜罐枣、尜尜枣和猴头枣为抗病类型，冬枣、红螺脆枣和鸡心脆枣为感病类型。植原体在不同枣树品种中迁移速度不同，植原体在鸡心脆枣和冬枣内迁移速度最快，其后依次为蜂蜜罐枣、红螺脆枣、尜尜枣，在猴头枣内迁移速度最慢。【结论】6个枣树品种中蜂蜜罐枣、尜尜枣和猴头枣表现一定的抗病能力，初步确认了植原体在不同枣树品种体内迁移特征的差异，可为抗枣疯病品种的选择利用和枣疯病防治提供科学依据。

关键词：枣疯病；抗病性；嫁接传病；植原体；迁移

中图分类号：S665.1 **文献标志码：**A **文章编号：**1009-9980(2021)04-0560-09

Resistance of six varieties to witches-broom disease and difference in migration characteristics of phytoplasma in jujube

HAO Xindi[1], LU Jinjin[1], DAI Lizhen[2], ZHANG Tieqiang[1], WANG Jinzhong[2], WANG Long[2], GUO Jialuo[2], REN Zhengguang[2], WANG Jianwen[1*]

(*[1]College of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China; [2]School of Biology, Resources and Environment, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China*)

Abstract:【Objective】Jujube is a unique fruit crop in China with a long cultivation history. However, jujube witches- broom disease caused by phytoplasma seriously threatens the yield of jujube trees. Therefore, in this study, six main jujube varieties in Beijing area including Gagazao, Dongzao, Fengmiguan, Jixincuizao, Hongluocuizao and Houtouzao served as the test materials. This study aimed to explore the differences in resistance to jujube witches-broom disease and the phytoplasma migrating characteristics in six varieties, which would provide reliable basic reference for the development and utilization of resistant varieties and the prevention and treatment of jujube witches-broom disease.【Methods】By collecting Jixincuizao with phytoplasma and grafting it onto the healthy jujube rootstock, the disease incidence rate was investigated every 30 days from July to October 2016, and from 2017 to 2018. Phloem and leaves of 5 cm above the graft union, including the first, second and third branches, and 5 cm, 10 cm, 15 cm and 20 cm below the graft union were collected after they were grafted 39 d, 60 d, 90 d, 120 d and 300 d. In the summer of 2017 and spring of 2018, we collected leaves and phloem at 5 cm

收稿日期：2020-10-10 **接受日期：**2020-12-31

基金项目：北京市自然科学基金与北京市教育委员会科技计划重点项目（KZ201810020026）；北京市自然科学基金（6182002）；北京农学院枣树资源圃建设（5026016090）

作者简介：郝新迪，女，在读硕士研究生，研究方向为枣疯病防治。Tel：18811628539，E-mail：haoxindi1997@163.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail：wjwbuaf@126.com

above the graft union and 20 cm below the graft union. The combination of field investigation and common PCR technology were used to compare the resistance of 6 varieties to jujube witches-broom disease and migration features of phytoplasma to different parts.【Results】The results showed that, 60 d after grafting, none of the 6 varieties of seedlings showed symptoms of jujube witches-broom disease; 90 d after grafting, Dongzao, Fengmiguanzao and Jixincuizao exhibited symptoms, and the incidence rates of the three varieties were: 13.8% (Jixincuizao), 11.6% (Dongzao), and 4.1% (Fengmiguanzao). However, 120 d after grafting except for Houtouzao, the other 5 varieties all showed symptoms, and the incidence rates were: 32.5% (Jixincuizao), 18.4% (Hongluocuizao), 29.0% (Dongzao), 8.4% (Gagazao) and 23.3% (Fengmiguanzao, respectively. After two years of grafting, all 6 varieties had symptoms of jujube witches-broom disease, and the incidence rates were: 79.3% (Jixincuizao), 69.6% (Hongluocuizao), 67.7% (Dongzao), 57.6% (Gagazao), 51.2% (Fengmiguanzao), and 49.0% (Houtouzao), respectively, indicating that none of the 6 jujube varieties was immune to phytoplasma, and different jujube varieties were differentially resistant to the disease and the difference was significant. According to the onset time and incidence rate, cultivars such as Houtouzao, Fengmiguanzao and Gagazao belonged to disease-resistant type, and Dongzao, Hongluocuizao and Jixincuizao belonged to susceptible type. After grafting with phytoplasma branches, the phytoplasma was first transferred to the trunk below the rootstock grafting interface, and then transferred to the trunk above the grafting interface, and finally spread to the whole plant branches. In addition, the migration speed of phytoplasma was different among different jujube varieties. Phytoplasma migrated fastest in Jixincuizao and Dongzao, followed by Fengmiguanzao, Hongluocuizao, and Gagazao, and the migration speed was the slowest in Houtouzao.【Conclusion】Among six varieties, Fengmiguanzao, Gagazao and Houtouzao showed a certain disease resistance, and the migration characteristics of phytoplasma in different jujube varieties were preliminarily confirmed, whose phytoplasma migrated fastest in Jixincuizao and Dongzao, followed by Fengmiguanzao，Hongluocuizao, and Gagazao, and the migration speed was the slowest in Houtouzao. However, due to the limitation of the sample number of jujube varieties, whether the migration speed of phytoplasma was positively correlated with the resistance of different jujube species needed deep research further.

Key words: Jujube witches-broom disease; Resistance; Graft transmission; Phytoplasma detection; Migration

枣树（*Ziziphus jujube* Mill.）是我国特有果树，栽培历史达4 000余年，品种达900余种[1-2]。因抗逆性强、适生区广、果实营养丰富、果品干鲜兼用，深受人们的喜爱。然而，由植原体引起的枣疯病在我国枣树种植区发生十分严重，随着枣树种植面积的扩大，该病害有流行和蔓延的趋势，每年因枣疯病致死枣树高达千万株，直接经济损失高达数亿元，所以，枣疯病已是枣树产业发展的首要障碍[3-4]。

枣疯病在自然界通过嫁接和媒介叶蝉等途径传播，枣园毁园现象时有发生[5-7]，北京市密云金丝小枣，因此病危害基本绝产，防治难度极大[8-9]。多年来，人们一直寻找有效地防治枣疯病的方法，其中，筛选抗病资源、提高品种的抗病性、选用抗病品种是防治枣疯病的重要途径。一些学者已对我国部分枣树品种进行了抗病性鉴定，筛选出了一些抗病品种和单株，为控制枣疯病危害、发展枣树生产进行了有益的探索[10-12]。因此，深入开展枣树品种抗病特性研究，对于预防枣疯病流行危害和促进枣树生产发展具有重要的实践意义。

植原体不能离体培养，给抗病性品种鉴定造成了很大困难。传统的自然感染抗病性鉴定工作，需要理想的抗枣疯病鉴定环境、大量的群体观察和多

年的监测和鉴定时间[13]。许多学者进行了抗性鉴定手段的探索，例如用组培苗嫁接进行传病试验，利用病树皮和病枝条进行嫁接进行枣树抗性鉴定[2,12]，利用这样的方法也筛选出来一些抗枣疯病新品种[13-14]。目前，对植原体在感染寄主植物中的迁移情况有一些了解[15-19]，但是，枣疯植原体通过嫁接或媒介昆虫传播局部感染植株后在整株枣树体内的迁移特性、迁移特性在品种间是否有差异，至今尚不清楚。枣疯植原体迁移特性的研究对于利用剪除病枝和树干输液治疗枣疯病具有重要的科学和实践价值。此外，枣疯植原体感染后在不同枣树品种体内迁移特性与枣树抗病性相关性仍缺乏认识，对此继续探索对于选择合适的枣树组织样品以生产无病的插条具有重要意义。本研究旨在为筛选抗枣疯病资源，探索抗性鉴定手段，以及抗枣疯植原体机制研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料与地点

试验地点位于北京市昌平区亭自庄北京农学院农场。供试枣树品种均为不携带枣疯植原体的2年生尜尜枣、冬枣、蜂蜜罐枣、鸡心脆枣、红螺脆枣和猴头枣。将携带枣疯植原体的鸡心脆枣接穗嫁接到6个枣品种上。

1.2 供试品种和接穗选择

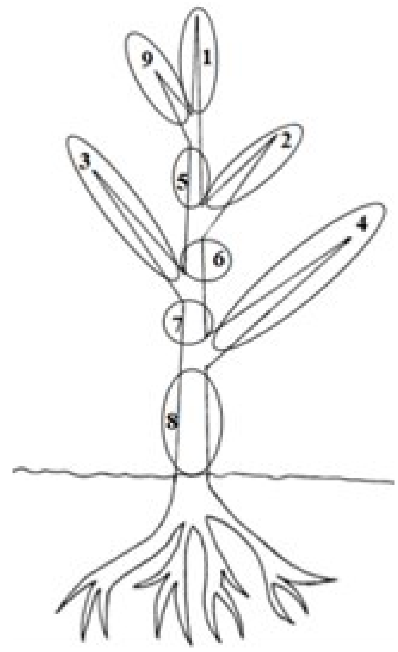
2016年5月底对每个品种选择长势均等的90株，挂牌标记。在每株顶部第一个新生枝条的基部摘取2枚完整叶片，带回冷冻并检测，确保每个植株不携带枣疯植原体。摘取已发病鸡心脆枣发病枝顶部的叶片，带回冷冻并检测，确保每个用于嫁接的枝条携带枣疯植原体。

1.3 发病率调查

2016年6月中旬，采用切接法，将选定好的携带枣疯植原体的接穗剪下后立即嫁接到健康植株上，分别在嫁接1个月(7月10日)、2个月(8月11日)、3个月(9月13日)、4个月(10月10日)和2 a(年)(2018年4月20日)时对6个枣树品种的发病情况进行调查，对6个枣树品种的发病率进行统计分析，并依据田国忠等[4]的分类方法进行抗性分类，发病率/%=发病株数/调查总株数×100。

1.4 植原体检测方法

1.4.1 样品采集 于嫁接后39、60、90 、120和300 d采集如图1所示位置的叶片和韧皮部，并于2017年7月1日、2018年4月20日和2018年10月17日采集嫁接口向上5 cm和嫁接口向下20 cm处叶片和韧皮部，装入密封袋，带回实验室，−80 ℃冰冻保存，检测感染植原体情况，植原体检出率/%=检出株数/检测总株数×100。



圆圈和编号表示取样部位：1. 嫁接口向上 5 cm 处；2. 嫁接口向下的第一个枝条；3. 嫁接口向下的第二个枝条；4. 嫁接口向下的第三个枝条；5. 嫁接口向下 5 cm 处；6. 嫁接口向下 10 cm 处；7. 嫁接口向下 15 cm 处；8. 嫁接口向下 20 cm 处；9. 接穗。

Circles and numbers indicate sampling positions: 1. 5 cm above the graft; 2. The first branch below the graft; 3. The second branch below the graft; 4. The third branch below the graft; 5. 5 cm below the graft; 6. 10 cm below the graft; 7. 15 cm below the graft; 8. 20 cm below the graft; 9. Scion.

图1 取样示意图

Fig. 1 Sampling diagram

1.4.2 样品总DNA的提取 采用CTAB法[20]提取植物DNA，略有修改。吸取上清液至1.5 mL离心管(新管)中，再次加入等体积24∶1的氯仿/异戊醇抽提，4 ℃，12 000 r · min^{-1}，离心15 min；异丙醇提前−20 ℃预冷，取上清液，加入等体积的异丙醇，放入−20 ℃冰箱等待约20 min，混匀，放入4 ℃的离心机中，12 000 r·min^{-1}，离心20 min。弃上清，用−20 ℃预冷的75%乙醇800 μL洗涤2次，在室温中干燥后加入80 μL双蒸水，使DNA充分溶解，保存于−20 ℃。

1.4.3 常规PCR检测 根据Deng等[21]报道的植原

体通用引物P1/P7用于JWB的检测，其中P1：5’-AAGAGTTTCCTGGCTCAGGATT- 3’，P7：5’-CGTCCTTCATCGGCTCTT-3’。

PCR反应体系[17]15 μL，其中包含7.5 μL 2×*Taq* PCR MasterMix（北京博尔优生物技术有限公司），上、下游引物各1 μL，1 μL DNA模板，4.5 μL ddH_2O。PCR扩增反应程序：95 ℃预变性5 min；94 ℃变性30 s，53 ℃退火30 s，72 ℃延伸2 min，共35个循环；最后72 ℃延伸10 min，扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳，在紫外透光仪下观察，凝胶成像仪上拍照记录。

1.5　数据分析

用Excel软件对各品种枣树田间发病率和植原体检出率进行统计分析。使用SPSS 23.0对各品种枣树的田间发病率和植原体检出率进行邓肯氏单因素方差分析。

2　结果与分析

2.1　不同枣树品种嫁接后发病情况

由表1可以看出，在嫁接60 d后，6个品种苗木均未出现枣疯病症状；在嫁接90 d后，冬枣、蜂蜜罐枣和鸡心脆枣出现枣疯病症状。在嫁接120 d后，除猴头枣外，其余5个品种均出现枣疯病症状，表明猴头枣抗性高于其余5个品种。嫁接2 a后，6个品种均出现枣疯病症状，表明6个枣树品种均不能对植原体免疫，不同枣树品种对枣疯病抗性差异性显著。根据发病早晚和发病率，将6个枣树品种分为两种类型，蜂蜜罐枣、尜尜枣和猴头枣为抗病类型，冬枣、红螺脆枣和鸡心脆枣为感病类型。

表1　主栽枣树品种嫁接后发病率

Table 1　The disease incidence of main jujube varieties after grafting

枣树品种 Jujube varieties	2016-09-13			2016-10-10			2018-04-20		
	总株数 Total number of plants	病株数 Number of diseased plants	发病率 Disease incidence/%	总株数 Total number of plants	病株数 Number of diseased plants	发病率 Disease incidence/%	总株数 Total number of plants	病株数 Number of diseased plants	发病率 Disease incidence/%
尜尜枣 Gagazao	83	0	0.0 d	83	7	8.4 e	59	34	57.6 c
冬枣 Dongzao	69	8	11.6 b	69	20	29.0 b	31	21	67.7 b
蜂蜜罐枣 Fengmiguanzao	73	3	4.1 c	73	17	23.3 c	41	21	51.2 d
鸡心脆枣 Jixincuizao	80	11	13.8 a	80	26	32.5 a	58	46	79.3 a
红螺脆枣 Hongluocuizao	76	0	0.0 d	76	14	18.4 d	46	32	69.6 b
猴头枣 Houtouzao	65	0	0.0 d	65	0	0.0 f	49	24	49.0 d

注：同列不同小写字母表示差异显著（$p < 0.05$）。

Note: Different lowercase letters in the same column represent significant difference at $p < 0.05$.

2.2　不同枣树品种中植原体检出率

由表2可以看出，2017年7月检测结果显示，6个枣树品种之间植原体检出率差异显著（$p > 0.05$），检出率由高到低依次为鸡心脆枣、蜂蜜罐枣、尜尜枣、红螺脆枣、猴头枣和冬枣。2018年4月检测结果显示，各枣树品种植原体检出率普遍极低，推测4月份枣树枝条萌发时，地上部位韧皮部植原体含量处于非常低的水平。2018年10月检测结果显示，6个枣树品种之间植原体检出率差异显著（$p > 0.05$），检出率由高到低依次为蜂蜜罐枣、红螺脆枣、鸡心脆枣、猴头枣、冬枣和尜尜枣。

由表2可知，尜尜枣2017年7月植株植原体检出率显著高于2018年10月植株植原体检出率（$p < 0.05$），推测尜尜枣存在一定抗病能力，砧木病症得以恢复，体内植原体浓度降低以致检测不到；冬枣蜂蜜罐枣、红螺脆枣和猴头枣2017年7月植株植原体检出率显著低于2018年10月植株植原体检出率（$p < 0.05$），表明其对植原体侵入有一定的阻碍机制，但随时间延长植原体侵染植株并在其体内积累；鸡心脆枣2017年7月植株植原体检出率与2018年

表2　不同枣树品种中植原体检出率

Table 2　The detection rate to the phytoplasma by PCR

枣树品种 Jujube varieties	2017-07-01			2018-04-20			2018-10-17		
	总株数 Total number of plants	检出株数 Number of positive	检出率 Positive rate/%	总株数 Total number of plants	检出株数 Number of positive	检出率 Positive rate/%	总株数 Total number of plants	检出株数 Number of positive	检出率 Positive rate/%
尜尜枣 Gagazao	28	14	50.0 c	39	2	5.1 b	27	12	44.4 f*
冬枣 Dongzao	28	5	17.9 f	27	2	7.4 a	15	8	53.3 e*
蜂蜜罐枣 Fengmiguanzao	30	20	66.7 b	39	0	0.0 d	36	27	75.0 a*
鸡心脆枣 Jixincuizao	24	17	70.8 a	31	1	3.2 c	18	12	66.7 c
红螺脆枣 Hongluocuizao	22	8	36.4 d	41	2	4.9 b	27	19	70.4 b*
猴头枣 Houtouzao	26	8	30.8 e	42	0	0.0 d	33	20	60.6 d*

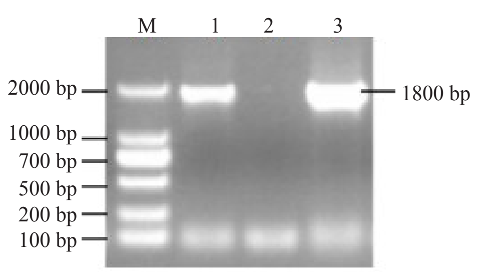
注：同一时期同列不同小写字母表示差异显著($p < 0.05$)；*表示同一品种2017年7月与2018年10月植株植原体检出率差异显著($p < 0.05$)。

Note: Different small letters in the same column during the same period indicate significant differences($p < 0.05$); * indicate significant differences between the same cultivar in summer 2017 and autumn 2018($p < 0.05$).

10月植株植原体检出率差异不显著($p > 0.05$)，表明鸡心脆枣对病原入侵有一定的阻碍机制。

2.3　植原体在不同时间不同枣树品种中的分布情况

为观察不同时间植原体在6个品种枣树内的分布情况，采用常规PCR方法对嫁接后39、60、90、120和300 d采集的枣树9个部位韧皮部和叶片进行植原体检测(图2)。在嫁接后39 d，6个品种仅在接穗中检测到植原体，推测这段时间为接穗愈合期，植原体还未侵染砧木。植原体在6个枣树品种中的迁移



M为2000 bp Marker；1. 阳性对照(1800 bp枣疯植原体的扩增产物条带)；2. 阴性对照，3. 检测样品。

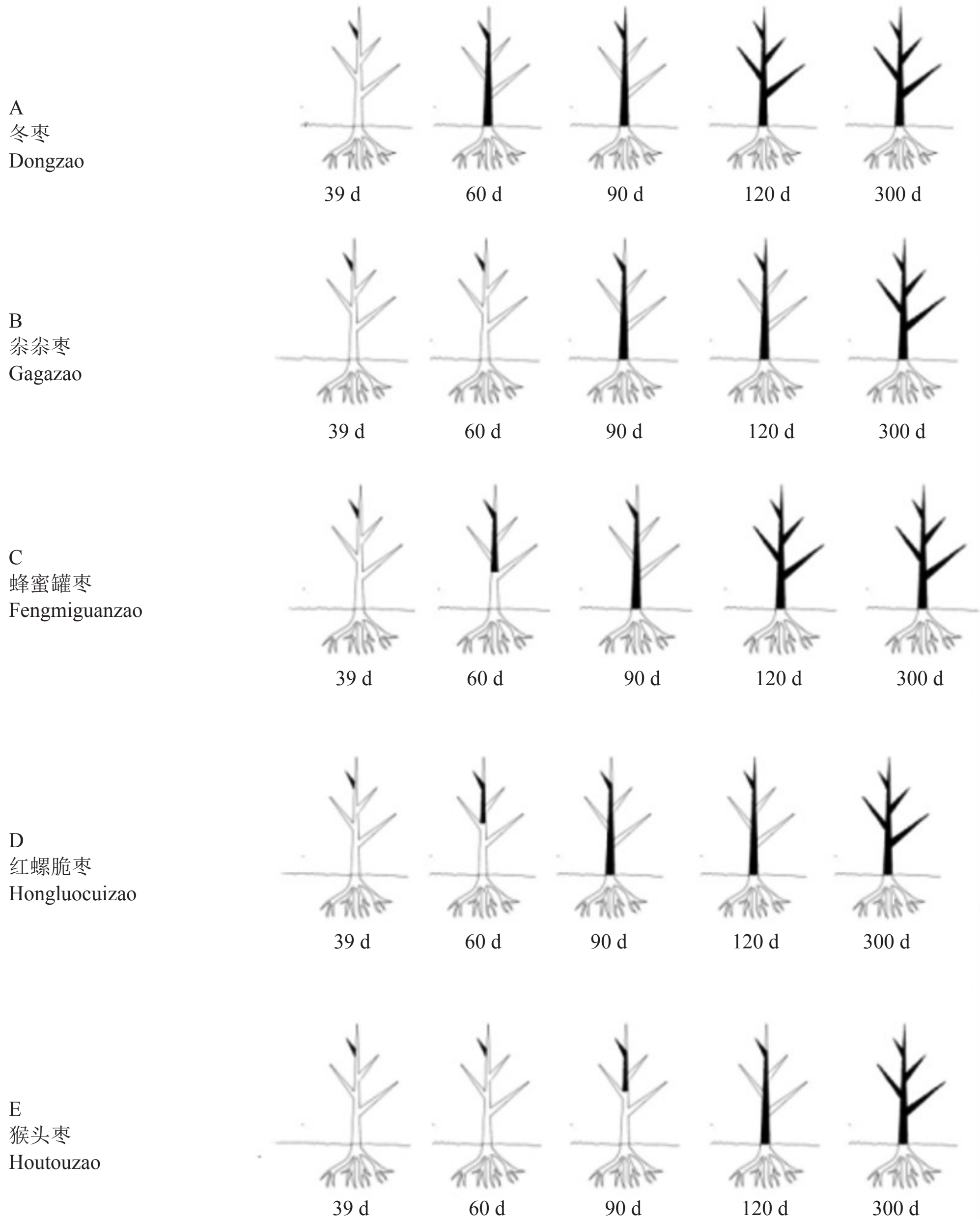
M. 2000 bp Marker; 1. Positive control, amplicon of Phytoplasma of jujube (1800 bp); 2. Negative control; 3 Samples.

图2　枣树样品DNA聚合酶链式反应扩增的琼脂糖凝胶电泳

Fig. 2　Agarose gel electrophoresis of PCR products obtained from DNA extracts of several jujube

速度存在差异，在嫁接后60 d，冬枣和鸡心脆枣中植原体迁移至砧木嫁接口下方主干20 cm处，蜂蜜罐枣中植原体迁移至砧木嫁接口下方主干15 cm处，红螺脆枣中植原体迁移至砧木嫁接口下方主干10 cm处，尜尜枣和猴头枣中植原体仍未侵染砧木；嫁接后90 d，冬枣和鸡心脆枣中植原体扩散至整个砧木主干，蜂蜜罐枣、红螺脆枣和尜尜枣中植原体迁移至砧木嫁接口下方主干20 cm处，猴头枣中植原体迁移至嫁接口下方主干10 cm处；嫁接后120 d，冬枣、蜂蜜罐枣和鸡心脆枣中植原体扩散至全株枝条，尜尜枣和红螺脆枣中植原体扩散至整个砧木主干，猴头枣中植原体迁移至砧木嫁接口下方主干20 cm处；嫁接后300 d，6个枣树品种中植原体分布于整个植株(图3)。结果表明，夏季嫁接携带植原体枝条后早期植原体首先向砧木嫁接口下方主干迁移，然后向嫁接口上方主干迁移，最后扩散至全株枝条，且植原体在不同枣树品种中迁移速度不同，植原体在鸡心脆枣和冬枣内迁移速度最快，其后依次为蜂蜜罐枣、红螺脆枣、尜尜枣，在猴头枣内迁移速度最慢。

由表3可知，2017年7月检测结果显示，嫁接口向上5 cm植原体检出率显著高于嫁接口向下20 cm植原体检出率($p < 0.05$)；2018年4月检测结果显示，除鸡心脆枣外嫁接口向上5 cm植原体检出率与嫁接口向下20 cm植原体检出率差异不显著($p >$



接穗为鸡心脆枣；填充区域表示植原体检出部位。

Scion in Jixincuizao; Filled areas denote where phytoplasma is detected.

图 3　北京主栽枣树品种中植原体迁移示意图

Fig. 3　Schematic representation of the proposed migration of phytoplasma in main jujube varieties in Beijing

0.05），鸡心脆枣嫁接口向上5 cm植原体检出率显著高于嫁接口向下20 cm植原体检出率（$p < 0.05$）；2018年10月检测结果显示，尜尜枣、红螺脆枣和猴头枣嫁接口向上5 cm植原体检出率显著高于嫁接口向下20 cm植原体检出率（$p < 0.05$），冬枣和鸡心脆枣嫁接口向上5 cm植原体检出率显著低于嫁接口向下20 cm植原体检出率（$p < 0.05$），蜂蜜罐枣嫁接口向上5 cm植原体检出率与嫁接口向下20 cm植原体检出率差异不显著（$p > 0.05$）。

3　讨　论

通过嫁接病枝观察发病状况对北京地区主栽枣树品种的抗枣疯病性状进行鉴定，其中首次嫁接接种鉴定的品种有鸡心脆枣、红螺脆枣和猴头枣，重新验证和评估已报道品种抗病能力的品种有尜尜枣、冬枣和蜂蜜罐枣[5,11,13]。本研究中2 a连续调查发病率结果显示6个枣树品种均不能对植原体免疫，且发病率随时间推移呈上升趋势。高抗性种质具有发

表3 不同品种枣树植株不同部位枣疯植原体检出率

Table 3 The detection rate of phytoplasma in different parts of jujube trees

%

枣树品种 Jujube varieties	2017-07-01		2018-04-20		2018-10-17	
	嫁接口向上5 cm 5 cm above the graft	嫁接口向下20 cm 20 cm below the graft	嫁接口向上5 cm 5 cm above the graft	嫁接口向下20 cm 20 cm below the graft	嫁接口向上5 cm 5 cm above the graft	嫁接口向下20 cm 20 cm below the graft
尜尜枣 Gagazao	25.0 a	17.9 b	2.6 a	2.6 a	14.8 a	0.0 b
冬枣 Dongzao	14.3 a	0.0 b	3.7 a	3.7 a	6.7 b	13.3 a
蜂蜜罐枣 Fengmiguanzao	43.3 a	16.7 b	0.0 a	0.0 a	16.7 a	19.4 a
鸡心脆枣 Jixincuizao	54.2 a	8.3 b	3.2 a	0.0 b	5.6 b	16.7 a
红螺脆枣 Hongluocuizao	22.7 a	9.1 b	2.4 a	2.4 a	40.7 a	7.4 b
猴头枣 Houtouzao	23.1 a	7.7 b	0.0 a	0.0 a	30.3 a	12.1 b

注：同行不同字母表示差异显著（$p < 0.05$）。

Note: Different letters of the same trade indicate significant differences at $p < 0.05$.

病率低，发病较晚，症状较轻或症状逐渐减轻的特征[22]，田间调查结果表明蜂蜜罐枣、尜尜枣和猴头枣为抗病类型，冬枣、红螺脆枣和鸡心脆枣为感病类型。该研究结果对北京地区枣疯病的防控和品种选择具有重要参考价值，如应避免种植冬枣、红螺脆枣和鸡心脆枣等易感病品种，可种植抗病品种蜂蜜罐枣、尜尜枣和猴头枣，这与田国忠等[5]研究结果一致。然而，抗病品种的抗病稳定性以及是否可用于重建病树树冠、用作中间砧或插条还需进一步观察研究。

通过普通PCR方法检测6个枣树品种中的植原体，结果表明蜂蜜罐枣中植原体检出率较高，这与发病率调查结果不一致，且在嫁接90 d后只有冬枣和鸡心脆枣在枝条中检测到植原体，但发病率调查结果显示除冬枣和鸡心脆枣外，蜂蜜罐枣也表现枣疯病症状，原因可能为普通PCR只能检测到较高浓度的植原体，而蜂蜜罐枣枝条和叶片中在嫁接前期植原体浓度较低，蜂蜜罐枣在早期为易感品种，而随着抗病反应的激发，具有了较强抗病性。研究结果显示2018年4月植株植原体检出率极低，原因可能为植原体浓度与温度呈正相关。4月份温度较低，枣树地上部位植原体浓度处于较低水平，无法通过普通PCR检测出枣疯植原体[20-21]，推测4月份为采集插条进行无性繁殖的最佳时期。

研究表明，在6个枣树品种中植原体向不同部位迁移的速度不同。冬枣和鸡心脆枣迁移速度最快，其后依次为蜂蜜罐枣、红螺脆枣、尜尜枣和猴头枣，推测植原体迁移速度可能取决于植物宿主种类。受枣树品种数量的限制，植原体迁移速度与不同枣树品种抗性是否呈正相关，还需进一步研究。

实验发现夏季嫁接携带植原体枣树枝条后早期植原体首先向砧木嫁接口下方主干迁移，然后向嫁接口上方主干迁移，最后扩散至全株枝条，这与Lee等[23]在长春花中植原体从接种后的接穗向下移动到主茎和根，并随着时间的推移继续向上移动到顶点的研究结果基本一致。此外，通过巢式PCR技术研究了茼蒿中植原体从接种的叶子到主茎，根，上层叶，然后是下层叶依次扩散的迁移规律[15]。利用实时荧光定量PCR技术检测到甘蔗中植原体在接种后第7天从接种叶扩散到主茎、顶叶和根，然后在14~28 d从底部扩散到顶部其他叶子，接种后35 d在整个甘蔗中检测到植原体[16]。通过比较同种植原体在不同枣树品种中的迁移和分布规律，可为今后植原体迁移规律的研究和不同枣树品种枣疯病最佳治疗时期的确定提供科学依据。

2017年7月检测结果显示，6个品种苗木嫁接口向上5 cm植原体检出率显著高于嫁接口向下20 cm植原体检出率；2018年10月检测结果显示，尜尜枣、红螺脆枣和猴头枣嫁接口向上5 cm植原体检出率显著高于嫁接口向下20 cm植原体检出率。原因可能为同一时期不同器官较幼嫩部位病原浓度高于较老部位，推测嫁接口向下5 cm主干韧皮部为较老部位，病原浓度低，无法通过普通PCR检测出植原体。在生产中可在夏季剪除发病枝以降低发病率。

2018年10月检测结果显示，蜂蜜罐枣嫁接口向上5 cm植原体检出率与嫁接口向下20 cm植原体检出率差异不显著。2018年10月检测结果显示冬枣和鸡心脆枣嫁接口向上5 cm植原体检出率显著低于嫁接口向下20 cm植原体检出率，推测主干韧皮部中植原体浓度较高，从而导致冬枣和鸡心脆枣出现严重枣疯病症状。

本研究通过田间调查发病率并结合普通PCR方法检测6个枣树品种的枣疯病抗性差异，为北京地区枣树品种选择提供参考。枣树植原体在枣树体内的迁移规律和分布可直接为枣疯病治疗时期的确定提供理论依据。

4 结　论

不同枣树品种发病时间不同，发病率差异显著，蜂蜜罐枣、尜尜枣和猴头枣为抗病类型，冬枣、红螺脆枣和鸡心脆枣为感病类型。植原体在不同枣树品种中迁移速度不同，植原体在鸡心脆枣和冬枣内迁移速度最快，其后依次为蜂蜜罐枣、红螺脆枣、尜尜枣，在猴头枣内迁移速度最慢。

参考文献 References:

[1] 曲泽州，王永蕙 . 中国果树志•枣卷[M]. 北京：中国林业出版社，1993: 3．
QU Zezhou, WANG Yonghui． Chinese Fruit Tree · Jujube Roll [M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1993: 3．

[2] 刘孟军，王玖瑞 . 新中国果树科学研究 70 年：枣[J]. 果树学报，2019, 36(10)：1369-1381.
LIU Mengjun, WANG Jiurui． Fruit scientific research in New China in the past 70 years: Chinese jujube[J]. Journal of Fruit Science, 2019, 36(10): 1369-1381.

[3] 刘孟军，赵锦，周俊义 . 枣疯病[M]. 北京：中国农业出版社，2010: 10．
LIU Mengjun, ZHAO Jin, ZHOU Junyi． Jujube witches’broom disease[M]． Beijing: China Agriculture Press, 2010: 10．

[4] 田国忠，张志善，李志清，申艳普，郭加虎 . 我国不同地区枣疯病发生动态和主导因子分析[J]. 林业科学，2002, 38(2)：83-91.
TIAN Guozhong, ZHANG Zhishan, LI Zhiqing, SHEN Yanpu, GUO Jiahu. Dynamic of witches’broom disease and factors of great influence at ecologically different regions in China[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2002, 38(2): 83-91.

[5] 田国忠，李志清，胡佳续，赵俊芳，张兆欣，谢守江，王振亮，张志善，宋传生，王东方，杨春梅，温秀军 . 我国部分枣树品种(系)的枣疯病抗性鉴定[J]. 林业科技开发，2013, 27(3)：19-25.
TIAN Guozhong, LI Zhiqing, HU Jiaxu, ZHAO Junfang, ZHANG Zhaoxin, XIE Shoujiang, WANG Zhenliang, ZHANG Zhishan, SONG Chuansheng, WANG Dongfang, YANG Chunmei, WEN Xiujun. Resistance evaluation of a collection of Chinese jujube cultivars(line) against jujube witches’broom phytoplasma in China[J]. Journal of Forestry Engineering, 2013, 27 (3): 19-25.

[6] 陈子文 . 枣疯病传病途径的研究[J]. 植物病理学报，1984, 149 (3)：142-146.
CHEN Ziwen. Study on the transmission route of witches’ broom disease[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1984, 149(3): 142-146.

[7] 郝少东，陈昱圻，王进忠，王合，陶万强，张志勇，石小玉，周赛 . 多重 PCR 法区分枣园两种菱纹叶蝉及检测其体内枣疯病植原体[J]. 昆虫学报，2015,58(3)：264-270.
HAO Shaodong, CHEN Yuqi, WANG Jinzhong, WANG He, TAO Wanqiang, ZHANG Zhiyong, SHI Xiaoyu, ZHOU Sai. Multiplex- PCR for identification of two *Hishimonus* species (Hemiptera:Cicadellidae) in jujube orchards and detection of jujube witches’broom(JWB) phytoplasma in their bodies[J]. Acta Entomologica Sinica, 2015, 58(3): 264-270.

[8] 温秀军，孙朝晖，孙士学，史忠儒，陈德廷 . 抗枣疯病枣树品种及品系的选择[J]. 林业科学，2001,37(5)：87-92.
WEN Xiujun, SUN Chaohui, SUN Shixue, SHI Zhongru, CHEN Deting. Selection of resistant varieties and individuals of jujube trees to jujube witches-broom disease[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2001, 37(5): 87-92.

[9] 赵锦，刘孟军，周俊义，周宏宇 . 抗枣疯病种质资源的筛选与应用[J]. 植物遗传资源学报，2006, 7(4)：398-403.
ZHAO Jin, LIU Mengjun, ZHOU Junyi, ZHOU Hongyu. Screening and application of Chinese jujube germplasm with high resistance to witches’broom disease[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2006, 7(4): 398-403.

[10] 赵锦，刘中成，刘孟军 . 抗枣疯病品种‘星光’的田间抗病特征[J]. 植物保护学报，2010,37(1)：89-90.
ZHAO Jin, LIU Zhongcheng, LIU Mengjun. The field resistant characteristics of *Ziziphus jujuba* Mill.‘Xingguang’with high resistence to jujube witches' broom[J]. Journal of Plant Protection, 2010, 37(1): 89-90.

[11] 赵京芬，胡佳续，宋传生，朱京驹，田国忠 . 北京市丰台区主栽枣品种对枣疯病抗性试验[J]. 中国森林病虫，2011, 30(3)：6-9.
ZHAO Jingfen, HU Jiaxu, SONG Chuansheng, ZHU Jingju, TIAN Guozhong. Resistance of main jujube cultivars in Fengtai District, Beijing against jujube witches ’broom phytoplasma[J]. Forest Pest and Disease, 2011, 30(3): 6-9.

[12] 王合，任争光，潘彦平，冯术快，林彩丽，常恩忠，于少帅，田国忠 . 北京市区古枣树单株种源抗枣疯病测定与抗病品种(系)筛选[J]. 林业科学，2018, 54(8)：124-132.
WANG He, REN Zhengguang, PAN Yanping, FENG Shukuai, LIN Caili, CHANG Enzhong, YU Shaoshuai, TIAN Guozhong. Determination of individual jujube trees against jujube witches’-broom disease and screening of resistant varieties from the an-

cient individual jujube trees growing in Beijing[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2018, 54(8): 124-132.

[13] 温秀军，郭晓军，田国忠，孙朝晖，李永 . 几个枣树品种和婆枣单株对枣疯病抗性的鉴定[J]. 林业科学，2005, 41(3)：88-96.
WEN Xiujun, GUO Xiaojun, TIAN Guozhong, SUN Chaohui, LI Yong. Identification of resistances of several jujube cultivars and selected Pozao single trees against jujube witches-broom disease[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2005, 41(3): 88-96.

[14] 温秀军，孙朝晖，田国忠，郭小军，王振亮，李永 . 抗枣疯病枣树品系选育及抗病机理初探[J]. 林业科技开发，2006，16(5)：12-18.
WEN Xiujun, SUN Chaohui, TIAN Guozhong, GUO Xiaojun, WANG Zhenliang, LI Yong. A preliminary study on the disease-resistant mechanism and selection of varieties in jujube witches broom[J]. Journal of Forestry Engineering, 2006，16(5): 12-18.

[15] WEI W, KAKIZAWA S, SUZUKI S, JUNG H Y, NAMBA S. In planta dynamic analysis of onion yellows phytoplasma using localized inoculation by insect transmission[J]. Phytopathology, 2004, 94(3): 244-50.

[16] RODDEE J, KOBORI Y, HANBOONSONG Y. Multiplication and distribution of sugarcane white leaf phytoplasma transmitted by the leafhopper, *Matsumuratettix hiroglyphicus* (Matsumura) (Hemiptera: Cicadellidae), in infected sugarcane[J]. Sugar Tech, 2018, (20): 445-453.

[17] PEDRAZZOLI F, FILIPPI M, DEROMEDI M, BRAGAGNA P, BATTOCLETTI I, BIANCHEDI P L. Apple proliferation transmission by grafting in different periods of the year[J]. Acta Horticulturae, 2008, 781: 489-493.

[18] 赵锦，刘孟军，周俊义，代丽 . 枣疯植原体的分布特点及周年消长规律[J]. 林业科学，2006, 42(8)：144-146.
ZHAO Jin, LIU Mengjun, ZHOU Junyi, DAI Li. Distribution and Year round concentration variation of jujube witches' broom (JWB) phytoplasma in the plant of Chinese jujube[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2006, 42(8): 144-146.

[19] BISOGNIN C, SCHNEIDER B, SALM H, GRANDO M S, JARAUSCH W, MOLL E. Apple proliferation resistance in apomictic rootstocks and its relationship to phytoplasma concentration and simple sequence repeat genotypes[J]. Phytopathology, 2008, 98(2): 153-158.

[20] 石小玉，郝少东，王合，陶万强，杨宝东，张志勇，薛正，孙淑玲，王进忠 . 枣疯病植原体越冬后向枣树不同类型新生组织转移特性研究[J]. 北京农学院学报，2014, 29(3)：56-60.
SHI Xiaoyu, HAO Shaodong, WANG He, TAO Wanqiang, YANG Baodong, ZHANG Zhiyong, XUE Zheng, SUN Shuling, WANG Jinzhong. Studies in migration characters of jujube witches’broom phytoplasma into newborn tissues of jujube after overwinter[J]. Journal of Beijing University of Agriculture, 2014, 29(3): 56-60.

[21] DENG S, HIRUKI C. Amplification of 16S rRNA genes from culturable and nonculturable mollicutes[J]. Journal of Microbiological Methods, 1991, 14(1): 53-61.

[22] LIU M J, ZHOU J Y, ZHAO J. Screening of chinese jujube germplasm with high resistance to witches' broom disease[J]. Acta Horticulturae, 2004, (663): 575-580.

[23] LEE S H, CHAB J. Migration and distribution of graft-inoculated jujube witches-broom phytoplasma within a *Cantharanthus roseus* plant[J]. The Plant Pathology Journal, 2012, 28(2): 191-196.