DOI:10.3724/j.issn.1004-3918.2026.01.004

枣疯病植原体关键效应因子与枣靶标蛋白的体内外互作研究

王 念[1,2]， 李君毅[1]， 王梦丽[1]， 尤子洋[1]， 江自明[1]，
李玲达[3]， 巩琛锐[1]， 李继东[1]

（1. 河南农业大学 林学院，郑州 450046； 2. 河南省林业科学研究院，郑州 450000；
3. 国有南阳市黄石庵林场，河南 南阳 474564）

摘 要： 枣是重要的经济林树种和果树，枣疯病由植原体引起，严重威胁枣产业高质量发展。前期研究表明，植原体分泌的Zaofeng6蛋白是导致病症发生的关键效应因子，与枣体内靶标蛋白ZjTCP7互作，诱发丛枝症状。本研究利用亚细胞定位、免疫共沉淀（Co-IP）与下拉（Pull-down）实验，验证Zaofeng6与ZjTCP7的直接结合关系，阐明其分子互作机制。利用在线生物学软件分析Zaofeng6和ZjTCP7蛋白的理化性质和结构，构建*Zaofeng6*与*ZjTCP7*的植物表达载体和大肠杆菌原核表达载体，浸润烟草瞬时表达进行亚细胞定位实验，在烟草叶片中共表达进行免疫共沉淀实验，验证两个蛋白在植物体内的互作，大肠杆菌内诱导蛋白表达，进行下拉实验，验证两个蛋白在体外的互作。结果表明，Zaofeng6和ZjTCP7蛋白的分子量分别为9.3426和49.655 3 kDa，Zaofeng6为亲水性稳定蛋白，ZjTCP7为亲水性不稳定蛋白，亚细胞定位结果显示Zaofeng6定位在细胞膜和细胞核，ZjTCP7定位在细胞核，二者共定位在细胞核。免疫共沉淀实验显示FLAG抗体免疫沉淀复合物中可检测到GFP-ZjTCP7信号，表明两个蛋白在植物体内存在特异性结合。Pull-down实验进一步证实，GST-ZjTCP7可特异性吸附His-Zaofeng6，表明两种蛋白在体外直接结合。因此可知，植原体效应因子Zaofeng6和枣ZjTCP7在细胞核内互作，两个蛋白可以在植物体内和体外互作。本研究为进一步开展互作蛋白特征结构分析，进行植物病害靶向防治和基因编辑奠定了基础。

关键词： 枣疯病；植原体；蛋白互作；免疫共沉淀；Pull-down；TCP转录因子
中图分类号： S759.3；S763.14 **文献标志码：** A **文章编号：** 1004-3918(2026)01-0044-07

Interactions of Jujube Witches' Broom Phytoplasma Effector with *Ziziphus jujuba* Host Target: *in vitro* and *in vivo* Analyses

WANG Nian[1,2], LI Junyi[1], WANG Mengli[1], YOU Ziyang[1], JIANG Ziming[1],
LI Lingda[3], GONG Chenrui[1], LI Jidong[1]

（1. College of Forestry, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China; 2. Henan Academy of Forestry, Zhengzhou 450000, China; 3. Nanyang Huangshi'an State-owned Forest Farm, Nanyang 474564, Henan China）

Abstract: Jujube is an important non-wood tree species and fruit. Jujube witches' broom is caused by phytoplasma, which seriously threatens the high-quality development of the jujube industry. Previous studies have shown that the

收稿日期： 2025-05-24 **修回日期：** 2025-09-22 **接受日期：** 2025-10-13
基金项目： 国家自然科学基金项目（32071803）；河南省国际科技合作项目（242102521005）；河南省科技兴林项目（YLK202306）
作者简介： 王 念（1978-），女，高级工程师，硕士，从事经济林育种与栽培研究
通信作者： 李继东（1976-），男，教授，博士生导师，博士，从事经济林育种与栽培研究，E-mail：lijidong@henau.edu.cn
引用格式： 王念，李君毅，王梦丽，等. 枣疯病植原体关键效应因子与枣靶标蛋白的体内外互作研究[J]. 河南科学，2026，44(1)：44-50.
Wang N，Li J Y，Wang M L，et al. Interactions of Jujube witches' broom phytoplasma effector with *Ziziphus jujuba* host target：*in vitro* and *in vivo* analyses[J]. Henan Science，2026，44(1)：44-50.

effector Zaofeng6 secreted by phytoplasma interacts with the target protein ZjTCP7 in jujube to induce witches' broom symptoms. This study used subcellular localization, co-immunoprecipitation (Co-IP) and pull-down experiments to verify the direct binding relationship between Zaofeng6 and ZjTCP7 and clarify their molecular interaction mechanism. Online biological software was used to analyze the physicochemical properties and structures of Zaofeng6 and ZjTCP7 proteins, and plant expression vectors and *Escherichia coli* prokaryotic expression vectors of *Zaofeng6* and *ZjTCP7* were constructed. Subcellular localization experiments were performed by transient expression in tobacco, and immunoprecipitation experiments were performed by co-expression in tobacco leaves to verify the interaction of the two proteins in plant cells. Protein expression was induced in *E. coli*, and pull-down experiments were performed to verify the interaction of the two proteins *in vitro*. The result showed that the molecular weights of Zaofeng6 and ZjTCP7 were 9.3426 and 49.6553 kDa, respectively. Zaofeng6 was a hydrophilic stable protein, while ZjTCP7 was a hydrophilic unstable protein. Subcellular localization results showed that Zaofeng6 was localized in the cell membrane and nucleus, while ZjTCP7 was localized in the nucleus. The two proteins were co-localized in the nucleus. Immunoprecipitation experiments showed that GFP-ZjTCP7 signals could be detected in the FLAG antibody immunoprecipitation complex, indicating that the two proteins specifically bind in plant cells. Pull-down experiments further confirmed that GST-ZjTCP7 could specifically adsorb His-Zaofeng6, indicating that the two proteins directly bind *in vitro*. It's concluded that phytoplasma effector factors Zaofeng6 and jujube ZjTCP7 interact in the nucleus, and these two proteins are capable of binding both in planta and *in vitro*. This study lays the foundation for further analysis of the characteristic structures of interacting proteins, as well as for developing targeted control strategies against plant diseases and advancing gene editing research.

Key words: Jujube witches' broom; phytoplasma; protein interaction; co-immunoprecipitation; pull-down; TCP transcription factor

0 引言

枣（*Ziziphus jujuba*）起源于我国黄河中下游地区，已有8000余年的栽培和利用历史[1-2]。据统计，2022年我国红枣产量727.24万t，是我国第一大干果树种[3]。枣疯病（Jujube Witches' Broom，JWB）是由枣疯病植原体（*Candidatus* Phytoplasma ziziphi）引起的一种致死性传染病害，枣树感病后，表现出丛枝、小叶簇生、植株矮化、花器官畸形、生长停顿等症状，严重时整株枯死，对枣产业高质量发展造成极大危害[4-5]。

植原体属革兰氏阳性菌，由叶蝉、飞虱等刺吸式昆虫传播，定殖于寄主植物韧皮部筛管细胞和介体昆虫的唾腺、淋巴、肠道等营养物质丰富的器官内。植原体能够通过Sec分泌系统，将效应因子蛋白分泌到寄主植物体内，与植物体内的靶标蛋白互作，进而调控寄主植物生长发育和防御系统，导致各种病症的发生[6-7]。研究较多的植原体效应因子有翠菊黄化植原体丛枝株系（Aster Yellow-Witches' Broom，AYWB）的分泌蛋白（Secreted AYWB Protein）SAP05、SAP11、SAP54和天狗蛋白（Tengu）等[8-11]。其中，关于SAP05与靶标蛋白互作，导致靶标蛋白通过蛋白酶体途径非泛素化降解的结构生物学研究已取得进展，为创制抗病种质、植物病害靶向防治提供了参考[8,12-14]。

前期研究表明，枣疯病植原体分泌的Zaofeng6蛋白，与SAP11同源，是导致病症发生的关键效应因子。酵母双杂交和双分子荧光互补（Bimolecular Fluorescence Complementation，BiFC）技术分析表明，其能够与枣Ⅱ类TCP转录因子ZjTCP7互作，qRT-PCR和Western blot表明ZjTCP7的表达受到抑制，进而影响其下游调控独角金内酯合成的基因，导致独角金内酯含量下降，枣树枝条发育受到影响，丛枝症状发生[15]。

为深入探究Zaofeng6与ZjTCP7的互作机制，本研究构建植物表达载体，在烟草叶片细胞瞬时表达，开展两个蛋白的亚细胞定位和共定位实验；并构建原核表达载体，进行免疫共沉淀（Co-Immunoprecipitation，Co-IP），和下拉实验（Pull-down）检测验证二者互作。利用Co-IP与Pull-down技术分别从体内和体外两个层面确认其互作，旨在为后续解析复合物结

构、识别关键互作域及探索病原致病机理提供可靠的功能实验依据，为进行植物病害靶向防治和抗性种质创制提供参考。

1 材料与方法

1.1 植物材料与菌株

健康和发病的枣均采自河南农业大学科教园区，品种为灰枣（*Z. jujuba* ‘Huizao’），本实验室组培保存，所用烟草为本氏烟（*Nicotiana benthamiana*）。原核表达载体 pET-15(b)、pGEX-4T-1，植物表达载体 pSuper1300-GFP、pCAM2300-mCherry、pSAK277-GFP、pCAM1300-3Flag 由本实验室保存，感受态大肠杆菌菌株 TH5α、BL21（DE3）由擎科生物技术有限公司提供。

1.2 蛋白理化性质及结构预测分析

蛋白的理化性质的预测在 https://web.expasy.org/protparam/网站上完成，蛋白的亚细胞定位预测在 https://www.genscript.com/wolf-psort.html 网站上完成，蛋白的二级结构预测在 https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl? page=/NPSA/npsa_sopma.html 网站上完成，蛋白的三维空间结构预测在 https://swissmodel.expasy.org/网站上完成[16]。

1.3 载体构建

根据 Zaofeng6（GenBank 登录号：CP025121.1）基因序列设计引物（表 1），从病枣总 DNA 中扩增 Zaofeng6 基因。从健康枣叶片中提取 RNA 并反转录为 cDNA，并根据枣 ZjTCP7（GenBank 登录号：NC_083380）基因序列设计引物，从健康枣 cDNA 中扩增 ZjTCP7 基因[17]。琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物，纯化回收。

采用同源重组法，分别构建用于植物转化的 pSAK277-GFP-Zaofeng6、pSAK277-GFP-ZjTCP7、pCAM2300-mCherry-Zaofeng6、pSuper1300-GFP-Zaofeng6 和 pCAM1300-3Flag-ZjTCP7 载体，以及用于原核表达的 pET-15b-Zaofeng6、pGEX-4T-1-TCP7 载体，转入大肠杆菌 DH5α 感受态细胞，克隆回收载体。

1.4 亚细胞定位

分别将含有 pSAK277-GFP-Zaofeng6 和 pSAK277-GFP-ZjTCP7 重组质粒的农杆菌重悬液浸润烟草叶片瞬时表达，暗培养 24 h 后转光照培养 48 h。共聚焦显微镜下观察拍照，分析 Zaofeng6 和 ZjTCP7 蛋白在烟草细胞中的定位情况。再将含有 pCAM2300-mCherry-Zaofeng6 和 pSAK277-GFP-ZjTCP7 两个重组质粒的农杆菌重悬菌液以 1∶1 的比例混合均匀，共同浸润烟草叶片，瞬时表达后共聚焦显微镜下观

表 1 引物序列信息

Tab.1 Primer sequence information

引物名称	引物序列
Zaofeng6-F	ATGGCTGCGTCTAAAAAC
Zaofeng6-R	CTTAACCCCAATCATCGAC
ZjTCP7-F	ATGTTTCCATCAAACAG
ZjTCP7-R	GCATAGGTTATGGGTGT
pSAK277-GFP-Zaofeng6-F	GTGGATCCAAAGAATTCATGGCTGCGTCTAAAAAC
pSAK277-GFP-Zaofeng6-R	CTCCTTTACCCATGAATTCTTATTTTTTTAAATT
pSAK277-GFP-ZjTCP7-F	GTGGATCCAAAGAATTCATCCATGATGTTTCCATCAAACAG
pSAK277-GFP-ZjTCP7-R	CTCCTTTACCCATGAATTCTTAGCATAGGTTATGGGTGT
pCAM2300-mCherry-Zaofeng6-F	GCTTCGAATTCTGCAGTCGACATGGCTGCGTCTAAAAAC
pCAM2300-mCherry-Zaofeng6-R	GCCCTTGCTCACCATGGATCTTATTTTTTTAAATT
pSuper1300-GFP-Zaofeng6-F	CACTAGTATTTAAATGTTTTAAATTATCAGGTTTTTTG
pSuper1300-GFP-Zaofeng6-R	CAAATCGACTCTAGAAATGGCTGCGTCTAAAAACAAT
pCAM1300-3Flag-ZjTCP7-F	GAGGACAGGGTACCCGGGGATCCATGATGTTTCCATCAAACAG
pCAM1300-3Flag-ZjTCP7-R	GTCGACGGCGCGCCTCGAACTAGTGCATAGGTTATGGGTGTTGCAGATG
pET15(b)-F	TAATACGACTCACTATAGGG
pET15(b)-R	TGCTAGTTATTGCTCAGCGG
pET15(b)-Zaofeng6ΔSP -F	CCGCGCGGCAGCCATATGGCTGCGTCTAAAAAC
pET15(b)-Zaofeng6ΔSP -R	GCTTTGTTAGCAGCCGGATTATTTTTTTAAATT
pGEX-4T-1-TCP7-F	CGTGGATCCCCGGAAATGATGTTTCCATCA
pGEX-4T-1-TCP7-R	ACGATGCGGCCGCTCTTAGCATAGGTTATG

察拍照，分析Zaofeng6和ZjTCP7两个蛋白在细胞中的共定位情况[18]。

1.5 Zaofeng6与ZjTCP7互作分析

1.5.1 免疫共沉淀（Co-IP）

将含有pSuper1300-GFP-Zaofeng6和pCAM1300-3Flag-ZjTCP7重组质粒的农杆菌液分别浸润本氏烟草叶片瞬时表达，暗培养12 h后转移至光照培养箱中正常培养24 h，取叶片提取粗蛋白，进行WB检测（Input组）。将含有pSuper1300-GFP-Zaofeng6和pCAM1300-3Flag-ZjTCP7重组质粒的农杆菌液以1∶1的比例混合均匀，浸润本氏烟草叶片瞬时表达，暗培养12 h后转移至光照培养箱中正常培养24 h，取叶片提取粗蛋白。磁珠清洗后与蛋白样品于4 ℃旋转孵育2 h，用IP Buffer洗涤3次，换管后重复洗涤两次。弃上清，加入50 μL 2× Loading Buffer煮沸10 min，离心取上清用于WB检测（IP组）[19]。

1.5.2 下拉实验（Pull-down）

将构建好的原核表达载体pET-15b-Zaofeng6、pGEX-4T-1-TCP7转化至大肠杆菌BL21（DE3）感受态细胞中构建表达菌株。将菌液培养至OD_{600}值为0.6~0.8时，加入0.4 mmol/L IPTG，16 ℃诱导20 h。经离心收集、超声破碎后[20]，分别收集上清液和沉淀，SDS-PAGE电泳后Western blot检测表达结果（Input组）。将收集的上清液分别加入平衡后的谷胱甘肽琼脂糖介质缓冲液，在4 ℃条件下孵育3 h。离心后洗杂液洗涤3次，洗脱液冰浴条件下洗脱10 min。洗脱液经SDS-PAGE及Western blot（anti-His/anti-GST抗体）检测（Pull-down组）。

2 结果与分析

2.1 蛋白理化性质及结构预测分析

效应因子Zaofeng6为分泌蛋白，其信号肽在经过膜的时候会留在膜上，进入细胞与靶标蛋白互作的效应因子不含信号肽，故本研究分析去除信号肽的蛋白Zaofeng6的理化性质。分析结果显示：Zaofeng6蛋白质的分子量为9.342 6 kDa，原子总数为1327，分子式为$C_{408}H_{672}N_{110}O_{135}S_2$，等电点（pI）为9.05，脂肪族指数为65.88，蛋白质不稳定系数为30.71，ProtScale预测结果显示亲水性平均系数（GRAVY）为-1.316；ZjTCP7蛋白质的分子量为49.655 3 kDa，原子总数为6850，分子式为$C_{2113}H_{3376}N_{638}O_{700}S_{23}$，等电点为6.84，脂肪族指数为58.0，蛋白质不稳定系数为61.01，亲水性平均系数为-0.901。两个蛋白的亚细胞定位预测均位于细胞核上（表2）。

蛋白二级结构分析显示，Zaofeng6蛋白的二级结构构成中包含了56.25%的α-螺旋、8.75%的延伸链和35.0%的无规卷曲，第16~42、50~64个氨基酸组成α-螺旋，第9~11、43~44个氨基酸组成β-折叠（图1（a））；ZjTCP7蛋白的二级结构构成中包含了17.54%的α-螺旋、2.51%的延伸链和79.95%的无规卷曲（表3）；第145~149、176~189、206~224个氨基酸组成α-螺旋，第171~174、183~187、393~395个氨基酸组成β-折叠（图1（c））。蛋白三级结构分析表明Zaofeng6包含三个α-螺旋结构和两个β-折叠（图1（b））；ZjTCP7包含α-螺旋结构和无规卷曲（图1（d））。

2.2 亚细胞定位

将含有植物表达载体的农杆菌液浸润烟草叶片瞬时表达，共聚焦显微镜下观察发现，转pSAK277-GFP-Zaofeng6的细胞在细胞膜和细胞核上观察到绿色荧光，并且在融合通道中与核定位Marker的红色荧光完全融合，表明Zaofeng6定位于细胞膜和细胞核上；转pSAK277-GFP-ZjTCP7的细胞在细胞核上观察到绿色荧光，并且在融合通道中与核定位

表2 蛋白理化性质和亚细胞定位预测

Tab.2 Protein physicochemical properties information

蛋白	分子量/kDa	等电点pI	脂肪族指数	不稳定系数	亲水性	亚细胞定位
Zaofeng6	9.342 6	9.05	65.88	30.71	-1.316	细胞核
ZjTCP7	49.655 3	6.84	58.0	61.01	-0.901	细胞核

表3 蛋白二级结构预测

Tab.3 Protein physicochemical properties information

蛋白	α-螺旋占比/%	延伸链占比/%	无规卷曲占比/%
Zaofeng6	56.25	8.75	35.0
ZjTCP7	17.54	2.51	79.95

Marker的红色荧光完全融合，表明ZjTCP7定位于细胞核上；共定位结果显示在细胞核内，Zaofeng6的绿色荧光信号与ZjTCP7的红色荧光信号高度重叠（图2），融合通道中呈现黄色信号（绿色与红色叠加），表明Zaofeng6和ZjTCP7在细胞核内共定位。

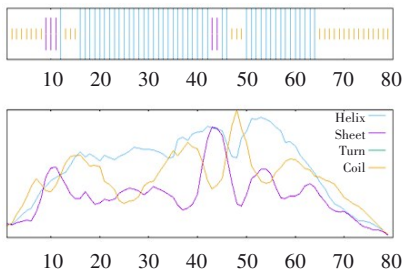
2.3　Zaofeng6和ZjTCP7蛋白的互作验证

2.3.1　免疫共沉淀（Co-IP）验证

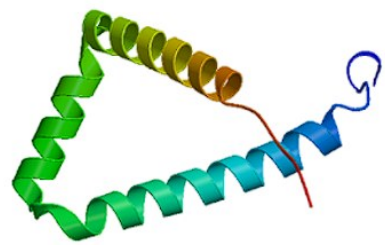
通过农杆菌介导的瞬时共表达系统，在本氏烟叶片中共表达实验组（Zaofeng6-GFP+Flag-ZjTCP7）和对照组（GFP空载+Flag-ZjTCP7）。免疫共沉淀（Co-IP）结果显示，实验组中利用抗Flag抗体成功沉淀了Flag-ZjTCP7蛋白，并通过Western blot检测到显著的GFP信号（图3（a）），对照组中未检测到GFP信号，表明Zaofeng6-GFP与Flag-ZjTCP7在植物体内存在特异性结合。

2.3.2　下拉实验（Pull-down）验证

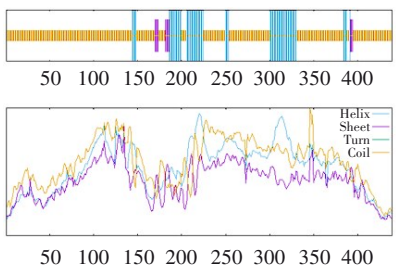
分别将诱导蛋白表达后收集的蛋白上清液加入凝胶珠孵育，洗脱液经Western blot后结果显示，实验组（GST-ZjTCP7+His-Zaofeng6）孵育后的洗脱液中anti-His单克隆抗体检测到His-Zaofeng6，anti-GST单克隆抗体检测到GST-ZjTCP7，而阴性对照组（GST-ZjTCP7+缓冲液）和阴性对照（GST空蛋白



（a）Zaofeng6蛋白二级结构预测



（b）Zaofeng6蛋白三级结构预测



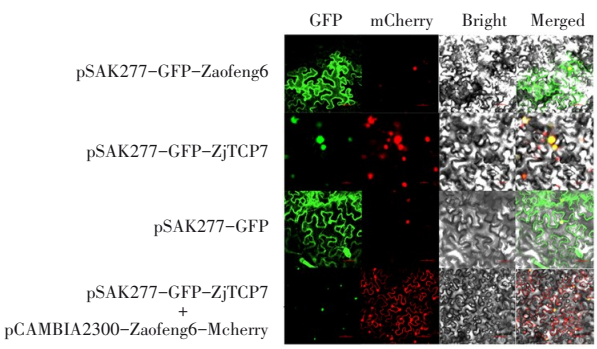
（c）ZjTCP7蛋白二级结构预测



（d）ZjTCP7蛋白三级结构预测

图1　Zaofeng6和ZjTCP7蛋白结构预测

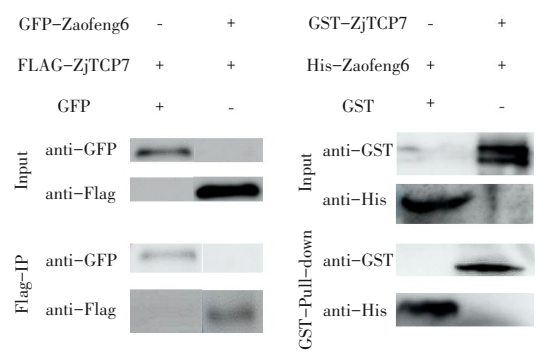
Fig.1　Protein structure prediction of Zaofeng6 and ZjTCP7



注：GFP表示绿色荧光蛋白标签；mCherry表示mCherry荧光蛋白标签；Bright表示明场；Merged表示融合通道。

图2　Zaofeng6和ZjTCP7的亚细胞定位

Fig.2　Subcellular localization of Zaofeng6 and ZjTCP7



（a）免疫共沉淀　　（b）下拉实验

图3　Zaofeng6与ZjTCP7的互作验证

Fig.3　Verification of the interaction between Zaofeng6 and ZjTCP7

+His-Zaofeng6）均未观察到目标蛋白条带（图3（b））。Pull-down的结果表明，ZjTCP7与Zaofeng6可以在体外直接互作。

3 结论与讨论

本研究分析了枣疯病植原体效应因子Zaofeng6和枣ZjTCP7的蛋白理化性质，其中，Zaofeng6蛋白分子量9.34 kDa，为稳定亲水性蛋白；ZjTCP7蛋白分子量49.66 kDa，为不稳定亲水性蛋白。结构预测表明，Zaofeng6由3个α螺旋和2个β折叠组成，ZjTCP7的结构主要为α螺旋和无规则卷曲。亚细胞定位表明，Zaofeng6和ZjTCP7在细胞核内共定位，免疫共沉淀和Pull-down表明，两个蛋白在细胞内和体外均可以互作。

我们前期用双分子荧光互补（BiFC）实验表明，Zaofeng6与ZjTCP7在细胞核内互作。Zhou等[21]对Zaofeng6的同根同源蛋白SJP2的研究表明，SJP2在拟南芥原生质体中亚细胞定位于细胞核和细胞质，双分子荧光互补表明，SJP2与ZjTCP7在细胞核内互作。本研究在烟草表皮细胞内瞬时表达Zaofeng6和ZjTCP7，表明两个蛋白共定位于细胞核，与以往的研究结果相同。

我们前期研究表明，植原体效应因子Zaofeng6与枣ZjTCP7的互作可导致该转录因子降解，从而诱发枣疯病典型丛枝症状。然而，二者互作的具体分子途径及关键结构基础尚未明确。本研究通过免疫共沉淀（Co-IP）实验证实了Zaofeng6与ZjTCP7在植物体内的特异性结合，为利用抑制剂阻断互作、解析其分子机制提供了实验依据。

蛋白质互作的特征结构是理解致病机理的关键。此前，对翠菊黄化植原体效应因子SAP05与寄主RPN10复合物的晶体结构分析，不仅揭示了其泛素非依赖型蛋白降解机制，也为植物病害靶向防治策略奠定了结构基础。本研究通过预测蛋白Zaofeng6和ZjTCP7的理化性质和空间结构设计试验进行二者体内和体外的表达，并通过Pull-down实验证明了Zaofeng6与ZjTCP7在体外可直接互作，且复合物性质稳定，表明该体系适用于后续进一步的结构生物学研究及复合物的晶体结构分析。开展Zaofeng6-ZjTCP7复合体的高分辨率结构解析，将有望识别出互作界面，从而在原子层面阐明其介导ZjTCP7降解的致病机制，为设计新型病害防控策略提供理论依据。

参考文献：

[1] 李继东，李海涛，冯建灿，等. 河南主栽枣品种遗传关系的ISSR分析[J]. 河南农业大学学报，2012，46（1）：36-39.
Li J D，Li H T，Feng J C，et al. Analysis on the genetic relationship of major jujube cultivars in Henan by ISSR markers [J]. Journal of Henan Agricultural University，2012，46（1）：36-39.

[2] Li Y，Zhou X，Zhao K，et al. Cultivation and morphology of jujube（*Ziziphus jujuba* Mill.）in the Qi River basin of Northern China during the Neolithic period[J]. Scientific Reports，2024，14（1）：2305.

[3] 国家林业和草原局. 中国林业和草原统计年鉴2022[M]. 北京：中国林业出版社，2023.
National Forestry and Grassland Administration. China forestry and grassland statistical yearbook 2022[M]. Beijing：China Forestry Publishing House，2023.

[4] 李继东，陈立川，王会鱼，等. 枣疯病发生机制与防治研究进展[J]. 河南农业大学学报，2021，55（1）：1-7，14.
Li J D，Chen L C，Wang H Y，et al. Research progress on the pathogenic mechanism and control of jujube witches' broom disease[J]. Journal of Henan Agricultural University，2021，55（1）：1-7，14.

[5] Guo S C，Gu L Y，Zhang Y J，et al. Jujube witches' broom（'Zaofeng'）disease：Bacteria that drive the plants crazy [J]. Fruit Research，2023，3（1）：35.

[6] Bertaccini A. Plants and phytoplasmas：When bacteria modify plants[J]. Plants，2022，11（11）：1425.

[7] 李继东，陈鹏，倪静，等. 植原体致病分子机理研究进展[J]. 园艺学报，2019，46（9）：1691-1700.
Li J D，Chen P，Ni J，et al. Review on the molecular pathogenic mechanism of phytoplasma [J]. Acta Horticulturae Sinica，2019，46（9）：1691-1700.

[8] Huang W J，Maclean A M，Sugio A，et al. Parasitic modulation of host development by ubiquitin-independent protein degradation [J]. Cell，2021，184（20）：5201-5214.e12.

[9] Bai X D，Correa V R，Toruño T Y，et al. AY-WB phytoplasma secretes a protein that targets plant cell nuclei[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions，2009，22（1）：18-30.

[10] Maclean A M，Sugio A，Makarova O V，et al. Phytoplasma effector SAP54 induces indeterminate leaf-like flower development in *Arabidopsis* plants [J]. Plant Physiology，2011，157（2）：831-841.

[11] Hoshi A，Oshima K，Kakizawa S，et al. A unique virulence factor for proliferation and dwarfism in plants identified from

a phytopathogenic bacterium[J]. PNAS, 2009, 106(15): 6416-6421.

[12] Liu Q, Maqbool A, Mirkin F G, et al. Bimodular architecture of bacterial effector SAP05 that drives ubiquitin-independent targeted protein degradation[J]. PNAS, 2023, 120(49): e2310664120.

[13] Yan X J, Yuan X X, Lyu J K, et al. Molecular basis of SAP05-mediated ubiquitin-independent proteasomal degradation of transcription factors[J]. Nature Communications, 2024, 15: 1170.

[14] Liao Y T, Lin S S, Lin S J, et al. Structural insights into the interaction between phytoplasmal effector causing phyllody 1 and MADS transcription factors[J]. The Plant Journal, 2019, 100(4): 706-719.

[15] Chen P, Chen L C, Ye X, et al. Phytoplasma effector Zaofeng6 induces shoot proliferation by decreasing the expression of *ZjTCP7* in *Ziziphus jujuba*[J]. Horticulture Research, 2022, 9: uhab032.

[16] 孟超敏,耿翡翡,卿桂霞,等. 陆地棉低磷胁迫应答基因*GhERF5*的克隆与表达分析[J]. 西北植物学报, 2023, 43(3): 382-388.
Meng C M, Geng F F, Qing G X, et al. Cloning and expression analysis of phosphorus deficiency stress gene *GhERF5* in *Gossypium hirsutum* L.[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2023, 43(3): 382-388.

[17] 李继东,毕会涛,李海涛,等. 灰枣成熟叶片DNA提取及ISSR反应体系构建[J]. 果树学报, 2008, 25(6): 837-841.
Li J D, Bi H T, Li H T, et al. A method for extracting DNA from mature leaves of *Ziziphus jujuba* cv. Huizao and ISSR reacting system construction[J]. Journal of Fruit Science, 2008, 25(6): 837-841.

[18] 乔泽森. 枣疯病植原体RNA沉默抑制子鉴定和靶标蛋白筛选[D]. 郑州:河南农业大学, 2024.
Qiao Z S. Identification of RNA silencing suppressors of jujube witches' broom phytoplasma and target proteins screening[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2024.

[19] 沈敏,徐道博,彭美玲,等. 通过免疫共沉淀和蛋白质谱鉴定与拟南芥DSP1互作的蛋白[J]. 基因组学与应用生物学, 2024, 43(3): 387-399.
Shen M, Xu D B, Peng M L, et al. Identification of *Arabidopsis thaliana* DSP1 interacting proteins *via* immunoprecipitation and protein mass spectrometry[J]. Genomics and Applied Biology, 2024, 43(3): 387-399.

[20] 张文静,陈海超,郭利建,等. 小麦TaWTG1的原核表达、纯化及去泛素化酶活性分析[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(10): 1711-1719.
Zhang W J, Chen H C, Guo L J, et al. Prokaryotic expression, purification and deubiquitinase activity assay of TaWTG1 in wheat (*Triticum aestivum*)[J]. Journal of Agricultural Biotechnology, 2019, 27(10): 1711-1719.

[21] Zhou J Y, Ma F L, Yao Y, et al. Jujube witches' broom phytoplasma effectors SJP1 and SJP2 induce lateral bud outgrowth by repressing the ZjBRC1-controlled auxin efflux channel[J]. Plant, Cell & Environment, 2021, 44(10): 3257-3272.

(编辑 郑壮丽)