



微丝骨架调控植物免疫机制的研究进展

王冰肖, 李杰婕*

北京师范大学生命科学院抗性基因资源与分子发育北京市重点实验室, 北京 100875

* 联系人, E-mail: jiejeli@bnu.edu.cn

收稿日期: 2022-05-25; 接受日期: 2022-06-15; 网络版发表日期: 2022-08-16

摘要 植物病害是威胁农业生产的重要因素之一, 会造成严重的粮食安全问题以及经济损失. 植物对病原微生物的抵抗依赖于自身的先天免疫系统(plant innate immunity), 主要包括分子模式触发免疫(pattern-triggered immunity, PTI)和效应因子触发免疫(effector-triggered immunity, ETI)两个层次. 研究表明, 微丝骨架在植物免疫中扮演重要角色, 其通过自身动态重排来应对病原微生物的侵染, 破坏宿主微丝会显著降低植物的抗病能力. 本文重点介绍了植菌互作过程中的微丝骨架动态、参与调控植物免疫的微丝结合蛋白、调控微丝骨架的上游免疫信号以及微丝骨架动态在植物免疫中的生物学功能等的相关研究, 并对微丝调控植物免疫的未来研究方向提出了展望.

关键词 植物免疫, 微丝骨架, 动态重组, 微丝结合蛋白

植物病害往往造成大规模的粮食减产. 因此, 了解植物免疫机制对提高植物的抗病性以及保障粮食安全具有重要意义. 植物的生活环境中存在各种各样的病原菌, 在与病原菌的斗争过程中, 植物不断地完善先天免疫系统来抵抗病原菌的入侵. 当植物受到病菌侵染时, 定位在膜上的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)感知病原菌相关分子模式MAMPs(microbe-associated molecular patterns), 从而激活先天免疫的第一个层次, 即模式触发免疫(pattern-triggered immunity, PTI)反应, 引发的生理响应包括钙离子内流、活性氧(reactive oxygen species, ROS)的爆发、磷脂酸(phosphatidic acid, PA)的积累、防御基因的表达、气孔关闭、胼胝质的积累等. 然而在与植物的长期斗争过程中, 一些病原菌可以分泌效应蛋白(effector)到植物细胞间隙或植物细胞内, 从而干扰PTI免疫

反应, 增强病原菌的致病力. 植物通过体内的抗病基因(R基因)编码包含NB-LRR结构域(nucleotide-binding and leucine rich repeat domain)的R蛋白来识别这些效应因子, 从而激活另外一个层次的免疫反应, 即效应因子触发的免疫反应(effector-triggered immunity, ETI). ETI往往伴随着植物激素水杨酸(salicylic acid, SA)的积累和侵染位点的超敏反应(hypersensitive response, HR), 进一步激活邻近植物细胞的系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR)^[1,2].

植物细胞骨架由微丝(actin filament)和微管(microtubule)两部分组成. 其中, 微丝又称肌动蛋白微纤丝(filamentous actin, F-actin), 它是由球状肌动蛋白(globular actin, G-actin)聚合成的直径约为7 nm的双股螺旋链状结构. 微丝广泛地参与到细胞的各种生命活动中, 在细胞分裂、囊泡运输、细胞器的运动及空间

引用格式: 王冰肖, 李杰婕. 微丝骨架调控植物免疫机制的研究进展. 中国科学: 生命科学, 2022, 52: 1203–1211

Wang B X, Li J J. Actin cytoskeleton function in plant innate immunity (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2022, 52: 1203–1211, doi: [10.1360/SSV-2022-0170](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0170)

分布、细胞壁合成、细胞形状的维持和细胞分化中均发挥重要作用。同时,有研究表明微丝骨架是抗病过程中的重要组分,是植物免疫过程中的信号转导平台,破坏微丝骨架会增加植物对病原菌的易感性^[3,4]。本文介绍了植物免疫过程中的微丝骨架动态变化,参与调控植物免疫的微丝结合蛋白、调控微丝动态的上游免疫信号,以及微丝骨架在植物免疫过程中的生物学功能,并对今后该领域的研究方向提出展望。

1 植物免疫过程中的微丝骨架动态

微丝骨架在植物免疫中发挥正向调节作用,积极响应病原菌信号并迅速改变其排列方式来抵抗病原菌的侵染^[5]。

1.1 植物与真菌互作过程中的微丝骨架动态变化

真菌在植物表面形成附着胞(appressorium)结构,分泌黏液并借助其产生的侵染丝穿透植物表面入侵到细胞内^[6]。植物微丝骨架可通过重排来抵抗真菌的入侵。例如,在大麦(*Hordeum vulgare* L.)受豌豆白粉病菌(*Erysiphe pisi*)侵染时,微丝在侵染位点聚集成束,由原来的纵向排列转变为放射状排列。当用细胞松弛素A(cytochalasin A)破坏大麦细胞中的微丝后,真菌的侵染效率显著增加^[7]。当用玻璃针轻刺细胞模拟真菌入侵时,辐射状微丝束在针刺处形成,而当解除这种机械刺激后,该微丝结构随之消失^[8],因此推测植物微丝骨架在真菌入侵位点聚集可能是由真菌入侵细胞表面时施加的机械力引起的。然而另一研究发现,当用不能穿透细胞的稻瘟病菌(*Magnaporthe grisea*)突变体*Mps1*处理细胞时,依然可以引起微丝重排的防御反应。由此可见,微丝骨架重排可能是由于病原体的化学信号而不是机械力引起的^[9]。研究发现,微丝在真菌*Bgh*入侵位点的聚集需要肌球蛋白myosin XI的参与,且放射状微丝束的形成有利于细胞器和囊泡向侵入位点的运输,增强植物细胞对病原真菌侵入的抵抗能力^[10]。此外,防御相关转运蛋白PEN3(penetration resistance 3)在*Bgh*入侵位点的聚集同样也依赖于微丝^[11]。由此推测,微丝骨架在真菌入侵位点的动态重组现象是一种广泛而保守的细胞反应,是抗菌物质向入侵位点极性运输的轨道^[12,13]。

1.2 植物与细菌互作过程中的微丝骨架动态变化

(1) PTI免疫反应中微丝重塑。与真菌入侵植物的方式不同,细菌无法进入宿主细胞,只能通过气孔或受损的组织进入细胞间隙进行定殖^[14]。丁香假单胞菌*Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000(*Pst* DC3000)是一种模式致病细菌,属于革兰氏阴性菌,可以通过III型分泌系统(type III secretion system, T3SS)向植物中注射效应因子致病。研究发现,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)叶片铺板细胞周质微丝在DC3000侵染6 h时出现快速聚合的现象,微丝丰度增加。用III型分泌系统缺陷菌株*hrpH*处理时可以导致类似的微丝重排,说明该过程不需要III型分泌系统以及效应因子的参与^[15]。同时,用多种病原模式分子MAMPs,如细菌模式分子flg22和elf26,或真菌模式分子chitin等,对铺板细胞处理均可以模拟出相似的微丝动态变化,细胞内微丝密度在几分钟内大量增加,速度(5~15 min)与DC3000处理相比更快^[5]。以上研究表明,微丝丰度增加是一类新的、保守的PTI免疫反应(图1)。进一步通过对单根微丝动态参数分析发现,elf26和chitin处理后单根微丝的寿命延长,长度增加,而单根微丝被切割的频率显著下降,这些单根微丝的动态变化共同促成了微丝丰度的增加^[16]。并且,用微丝解聚药剂LatB(latrunculin B)抑制微丝聚合时,将增加植株对病原细菌的易感性^[15]。

(2) ETI免疫反应中微丝动态变化。近些年研究发现,ETI免疫反应中多种病原菌效应因子以微丝骨架为主要靶点来阻碍植物免疫防御反应^[4]。例如,丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae* pv. *maculicola*)的效应因子HopW1进入植物体内后直接破坏微丝骨架,进而抑制囊泡运输过程^[17]。野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*(Xcc))的效应因子XopR通过其无序结构(intrinsically disordered regions, IDRs)形成凝聚体,操控宿主细胞微丝骨架的稳定性。在侵染早期注射小剂量的XopR可识别并招募微丝成核因子formin,使宿主迅速产生大量微丝,然而随着侵染时间的延长,XopR的累积量增加,XopR锁住大量formin从而抑制formin的微丝成核功能。与此同时,XopR又通过一小段能与G-actin结合的序列,来促进微丝交联成束,借助这段序列XopR与微丝解聚因子ADF竞争结合G-actin,继而影响ADF解聚微丝,最终导致微丝大量成束并

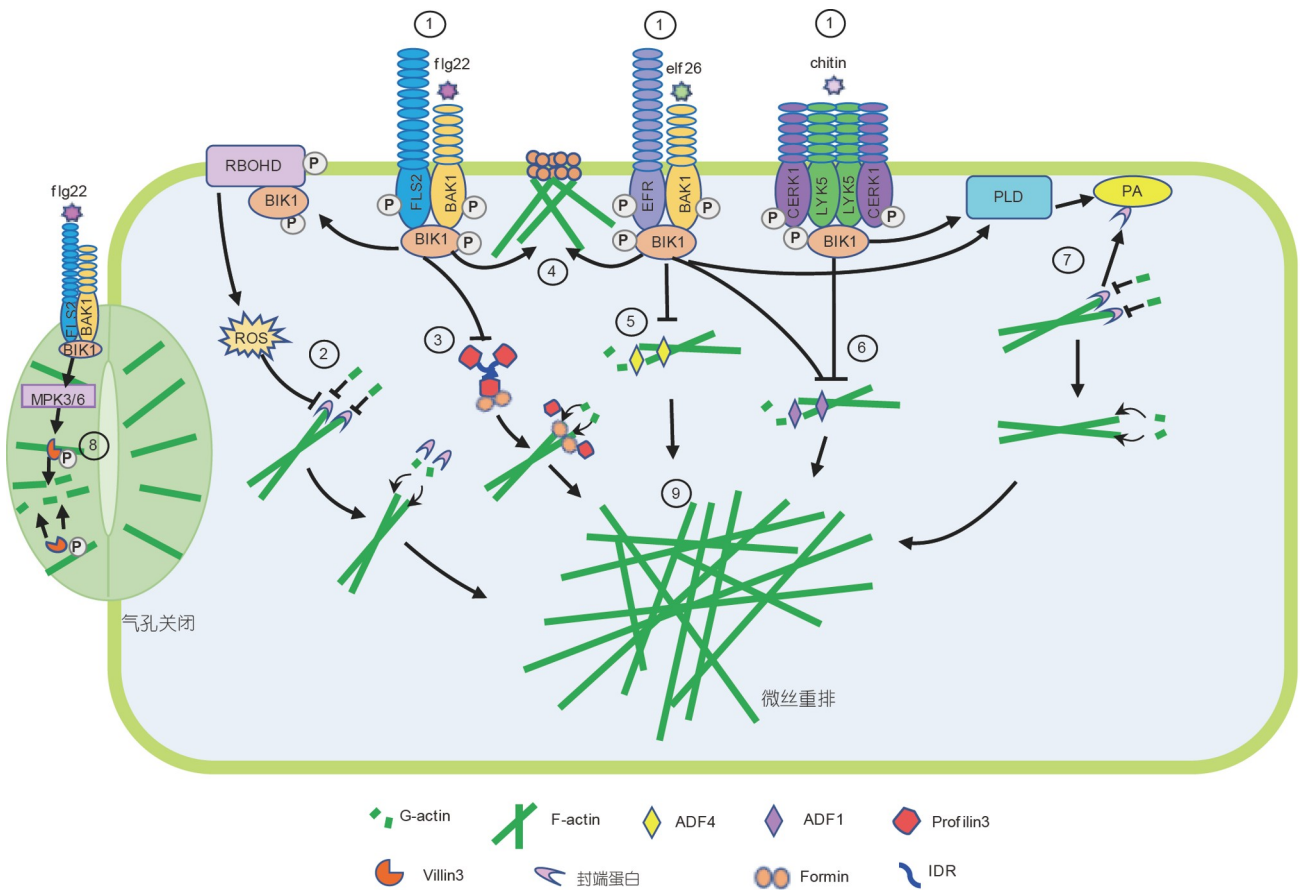


图 1 植物PTI过程中微丝骨架动态重排的分子调控机制示意图。① 植物免疫模式识别受体(FLS2, EFR, CERK1/LYK5)识别相应的MAMP(fl22, elf26, chitin), 激活PTI免疫反应; ② fl22诱导BIK1磷酸化并激活RBOHD产生活性氧ROS, ROS通过抑制微丝封端蛋白CP的活性, 从而促进微丝组装^[31]; ③ fl22抑制profilin3形成多聚体, 降低profilin3与formin的亲性和从而释放formin, 促进微丝聚合^[33]; ④ fl22和elf26处理后导致formin在膜上聚集^[34,35]; ⑤, ⑥ ADF4仅参与elf26信号通路, 而ADF1则既参与elf26信号通路又参与chitin信号通路; 在这个过程中ADF切割微丝的活性被抑制, 微丝周转速度的降低使得微丝更加稳定, 微丝密度增加^[23]; ⑦ elf26, chitin激活PLD-PA信号通路, PA与CP结合抑制CP活性, 导致微丝快速聚合^[16]; ⑧ 在气孔免疫过程中, fl22诱导MPK3/6对VLN3的磷酸化, 增强VLN3切割微丝的能力, 促进保卫细胞微丝重排从而激活气孔的关闭^[43]; ⑨ MAMPs处理后铺板细胞周质微丝密度增加^[5,15]

Figure 1 Molecular mechanism underlying actin array rearrangement during plant pattern-triggered immunity. ① Recognition of microbe-associated molecular patterns (MAMPs) (flg22, elf26, and chitin) by cognate immune receptors (FLS2, EFR, and CERK1/LYK5, respectively) activates pattern-triggered immunity (PTI). ② Upon stimulation with flg22, BIK1 phosphorylates RBOHD to produce reactive oxygen species (ROS). The increased ROS level inhibits the barbed end capping activity of capping protein (CP), thereby leading to enhanced actin polymerization^[31]. ③ Profilin3 can oligomerize via an intrinsically disordered region at its N terminus, which inhibits formin-mediated actin nucleation. The flg22 treatment results in the degradation of profilin3, leading to actin assembly regulated by formin^[33]. ④ Oligomerization of formin on plasma membrane occurs in response to flg22 and elf26^[34,35]. ⑤–⑥ Actin-depolymerizing factor (ADF) 4 is required for elf26-induced innate immune signaling, although it is not involved in the chitin-triggered signaling pathway. However, ADF1 is a downstream component in both pathways. During PTI, the severing activity of ADFs is inhibited, leading to a reduced actin filament turnover^[23]. ⑦ Phospholipase D-phosphatidic acid pathway is activated upon MAMP treatment, and phosphatidic acid directly binds to CP and inhibits CP activity, thereby triggering MAMP-induced actin remodeling^[16]. ⑧ During flg22-induced stomatal immunity, VLN3 is phosphorylated by MPK3/6. Phosphorylated VLN3 has enhanced severing activity, facilitating actin turnover in guard cells and stomatal closure^[43]. ⑨ The density of cortical actin array increases in response to diverse MAMPs^[5,15]

冻结, 造成微丝动态的破坏^[18]。此外有研究表明, *Pst* DC3000长时间处理(24 h)可以引起微丝成束, 这种现象依赖T3SS系统^[15]。与野生型*Pst* DC3000相比, *Pst* DC3000的28种效应因子缺陷菌株*Pst* D28E和T3SS系

统缺陷菌株*Pst hrcC*不会导致微丝成束, 表明III型分泌系统与其分泌的效应因子(type-III effector, T3E)对微丝成束至关重要。Shimono等人^[19]通过反向遗传学手段从*Pst* DC3000的28个效应因子中鉴定到HopG1是

诱导微丝成束的关键效应因子, HopG1的缺失将导致微丝成束减少、微丝密度增加, 同时植物的萎黄现象明显减弱. 丁香假单胞菌中的*hrp*基因可编码harpin蛋白来提高其对宿主植物的致病性, 并能激发植物的过敏反应. 研究发现, HrpZ可同时作用于微丝微管, HrpZ处理烟草后导致细胞内微丝束增加, 而微管的密度降低^[20].

2 调控植物免疫的微丝结合蛋白

微丝结合蛋白(actin-binding proteins, ABPs)主要包括与微丝成核相关的Arp2/3复合体以及formin蛋白家族; 使微丝聚合的profilins, CAP(cyclase associated protein); 促进微丝封端并稳定微丝的CP(capping protein); 切割微丝的ADFs(actin depolymerizing factors); 使微丝成束的fimbrin; 以及既能切割微丝又能使微丝成束的villin蛋白家族^[5,21,22]. 近年来研究发现, 少数与植物免疫相关的微丝结合蛋白, 使调控免疫过程中微丝动态重组的分子机制越来越清晰(图1).

拟南芥微丝解聚蛋白ADF4参与PTI免疫反应中微丝骨架的重塑过程. 细菌模式分子elf26处理使得ADF4切割微丝的活性受到抑制, 因此, 在其突变体中微丝无法响应elf26的刺激而发生重塑. 此外, 免疫基因的激活和胼胝体的沉积等PTI免疫反应也受到了显著的影响. 有意思的是, 当用真菌模式分子chitin处理时, 突变体的表型与野生型一致, 说明ADF4特异性地参与了elf26激活的免疫信号通路. 然而ADF家族的另一个成员ADF1则在细菌和真菌导致的微丝重组过程中均起正向调控的作用^[23], 这些结果说明不同ADF家族成员可能发挥其独有的功能. 此外, ADF4突变体对丁香假单胞菌DC3000效应蛋白AvrPphB的抗性降低, 突变体中抗性基因*RPS5*的表达显著下降, 使得过敏反应被抑制, 这暗示着微丝骨架动态与抗性蛋白(R蛋白)的转录调控相关^[24,25]. 除了参与抗细菌的免疫反应, ADF4还负调节抗真菌的免疫过程, 研究发现其突变体(*adf4*)对真菌病原体白粉病菌的抗性增强, 进一步将ADF subclass I 亚家族(*ADF1~ADF4*)成员全部敲除后, 对白粉病菌的抗性具有叠加效应^[26], 这暗示ADF同源家族在对真菌的免疫过程中存在功能冗余. 除ADF4之外, Wang等人^[27]发现拟南芥ADF6通过负向调控抗病蛋白RPW8.2在吸器外膜的定位, 从而抑制免疫信号转导.

小麦*TaADF4*和*TaADF7*基因通过调节微丝动态重组从而正调控对小麦条锈菌(*Puccinia striiformis* f. sp. tritici)的免疫防卫反应^[28,29], 而*TaADF3*则是抵抗小麦条锈菌侵染的负调控因子^[30]. 如上所述, 不同ADF蛋白在植物免疫中的效应不同, 然而这些蛋白在体内中如何协同调控免疫反应仍有待解答.

除ADF外, 微丝封端蛋白CP被报道是多条免疫信号通路的靶点, 它同时正向调控植物对细菌和真菌的抵抗^[16,31]. 与野生型相比, CP突变体(*cpb-1*)中的微丝无法响应elf26和chitin的刺激, 且植株更易感病^[16]. 比较野生型和突变体中的微丝动态差异发现, 免疫过程中微丝聚合需要释放更多可供微丝单体整合的自由正端, 此过程需要对CP的封端活性进行抑制. 这种抑制效应是由磷脂酶D(phospholipase D, PLD)合成的PA所调节. 研究发现, MAMPs处理激活PLD-PA信号通路, PA水平迅速上升. PA与CP有较高的亲和力, PA/CP复合体的形成抑制CP在微丝正端定位, 由此释放出更多可供微丝单体聚合的自由正端, 使得MAMP处理后微丝能够快速聚合^[16].

肌动蛋白单体结合蛋白profilin通过与G-actin以及formin的脯氨酸基序(polyproline, polyP)结合来协同调控微丝组装. profilin与G-actin结合可以抑制微丝的自发组装, 而它又能凭借与formin的相互作用将profilin-G-actin复合体不断添加至微丝末端, 从而促进微丝组装, 在这一过程中profilin的结合和释放是保证微丝成核和延伸的关键^[32]. 因此, profilin, G-actin和formin之间的结合亲和力很大程度决定了微丝组装的效率. 研究发现, 拟南芥profilin3(PRF3)突变后植株更易感病. PRF3通过其N端多肽形成多聚体, PRF3多聚体与formin有极高的亲和力, 使formin很难从PRF3/formin复合体中释放出来, 因此抑制了formin与微丝的结合, 从而降低了微丝的聚合速度. 在细菌模式分子flg22的诱导下, 宿主降解PRF3解除该抑制, 使微丝得以快速聚合^[33]. 进一步研究发现, 细菌模式分子flg22处理可以使formin在质膜上形成纳米簇, 与质膜纳米结构域蛋白remorin的聚集化程度在时空上高度相似, 通过药物m β CD(methyl- β -cyclodextrin)干扰膜纳米结构域, 或敲除拟南芥中两个高度表达的remorin蛋白(*AtREM1.2*和*AtREM1.3*)可显著阻断flg22诱导的formin的聚集, 结合体外搭建人工脂质膜实验发现, remorin蛋白可逐渐招募并凝聚formin蛋白, 促进微丝成核, 进而导致微

丝重塑^[34,35].

为了阻止丝状真菌的入侵, 植物细胞在病原菌入侵位点以下的乳突结构中沉积多种类似细胞壁的物质, 从而导致细胞壁加厚来增强其对真菌的防御反应^[36]. 在这一过程中, 微丝骨架帮助胞内物质向入侵位点定向运输. Qin等人^[37]发现, ARP2/3复合体和成核蛋白formin这两大促进微丝成核的体系协同调控植物抵抗真菌*Bgh*的入侵, ARP2/3和AtFH1同时突变导致微丝片状结构无法形成, 乳突状结构中细胞壁类似物的沉积受损, *Bgh*成功感染植株的概率显著提高. 此外, 有研究表明formin4也能积极响应植物对真菌的抵抗. 在*Bgh*侵染早期, formin4依赖微丝介导的囊泡运输被运送至侵染位点聚集, 这与防御相关转运蛋白PEN3依赖微丝在*Bgh*侵染位点聚集的行为相似. 然而有趣的是, formin4和PEN3在膜上聚集的区域不同, 而这种空间分布特异性的机制尚不清楚^[38].

3 调控微丝动态重排的上游免疫信号

MAMPs引起微丝密度增加需要膜上受体复合体的激活. 当敲除flg22的识别受体FLS2以及共受体BAK1和受体样胞质激酶BIK1后, 宿主微丝无法响应flg22的刺激, 微丝密度并未发生变化. 当敲除elf26的受体EFR和chitin的受体CERK1后, 微丝同样无法响应相应MAMP的刺激来改变微丝密度. 由此可见, MAMPs引起的微丝动态变化需要其对应的上游免疫受体的激活^[15,16].

ROS爆发是PTI中的早期标志性免疫反应, 胞外ROS通过对病原菌的毒害直接阻止病原菌的侵染, 而在胞内, ROS是激活下游一系列免疫反应的重要信号分子^[39]. 在拟南芥中, 胞质激酶BIK1被免疫受体磷酸化激活后继而又能磷酸化定位于细胞膜上的NADPH氧化酶RBOHD, 从而使其激活并产生ROS^[40]. 在*rbohD*突变体背景下, 微丝不能像野生型一样响应多种MAMPs的刺激. 而外源施加过氧化氢则可以将突变体内的微丝动态恢复至野生型水平, 说明RBOHD激活后产生的ROS信号位于微丝骨架的上游.

定位在膜上的PLD所合成的PA作为一种重要的信号分子, 在植物防御过程中发挥重要作用^[41]. 研究发现, 由PLD β 产生的PA是激活免疫过程中微丝动态的重要信号分子, PLD β 正向调控植物对DC3000的抵

抗^[42]. 当用1-butanol或FIPI(5-fluoro-2-indolyl deschloroalopemide)抑制PLD产生PA, elf26和chitin不会引起胞内微丝密度的增加^[16]. 因此, 与ROS信号类似, PTI免疫反应中PA信号同样位于微丝骨架的上游, 并且它能抑制微丝封端蛋白CP的活性从而使微丝密度增加^[31,42].

PTI免疫反应过程包括MAPK(mitogen-associated protein kinases)和CDPK(calcium-dependent protein kinases)激酶级联信号的激活. 研究发现, MPK3/6激酶活性不参与铺板细胞中flg22诱导的微丝动态重排, 然而气孔保卫细胞中的微丝动态则被MPK3/6所调控. 在flg22介导的气孔关闭过程中, 野生型保卫细胞中微丝整体动态明显变慢, 而*mpk3/6*突变体对flg22处理却不太敏感. 对单根微丝动态分析显示, flg22处理导致野生型微丝成束的频率减少且微丝切割的频率增多, 而*mpk3/6*突变体中单根微丝的成束切割均不受影响^[43]. 而钙离子依赖的蛋白激酶CPK3同时调控PTI以及ETI免疫反应中微丝动态. 研究发现, *cpk3-2*突变体在*Pst* DC3000处理后并没有表现出和野生型一样的微丝成束现象. 同时CPK3的激酶活性是气孔免疫中保卫细胞微丝动态变化所必需的^[44].

4 微丝动态变化的生物学功能

微丝骨架负调控PTI中ROS的产生^[31,33], 当用微丝特异药剂LatB解聚微丝后, flg22诱导产生的ROS增加. 此外, 研究发现PRF3突变体中微丝对ROS的负调控效果显著增强^[33]. 然而, 微丝如何调控ROS产生的机制仍不清楚. 动物中的研究显示, 微丝可以直接与RBOHD结合, 微丝动态影响RBOHD的活性^[45-47]. 而植物中是否存在类似的调节机制却不清楚. 有研究表明, 拟南芥RBOHD的活性与其在质膜的动态相关, flg22处理导致RBOHD在膜上扩散加快, 且能在膜上聚集并发生内吞, 然而这一系列变化是否需要微丝骨架的参与有待进一步研究^[48].

细胞膜受体通过内吞进行胞内循环, 可回到细胞表面或者转运至液泡被降解. 免疫受体FLS2的内吞分为组成型和诱导型, 非激活的FLS2通过组成型内吞再回到细胞表面, 以维持膜上受体蛋白水平. 而FLS2被flg22激活后, 可携带flg22共同内吞至液泡中被降解^[49]. 用LatB解聚微丝或用BDM抑制myosin活性均影响了

flg22诱导的FLS2受体内吞, 这些结果说明配体介导的FLS2内吞需要myosin和微丝骨架的参与^[49,50]。

微丝调控PTI免疫反应中胼胝质沉积过程, 与野生型相比, *adf4*和*cap-1*突变体中MAMPs引起的胼胝质的沉积明显减少^[16,23], 然而微丝对胼胝质沉积的调控机制仍不得而知, 那么微丝是否有可能介导与胼胝质沉积相关的蛋白到膜上的运输, 以及相关蛋白的胞吞胞吐过程还需进一步探究。抑制微丝还可以影响抗病相关基因的表达, 例如, 烟草中用细胞松弛素(cytochalasin)解聚微丝, 防御相关基因*PR1*和*PR2*表达上调, 表明植物感知微丝的动态变化从而触发防御反应^[51], 提示核微丝以及核微丝结合蛋白可能参与调控防御基因的表达。ADF4能在细胞核定位并调控抗病基因*RPS5*的表达, 这为探索核微丝调控植物免疫的研究提供了线索^[25]。

气孔是由一对保卫细胞以及中间的孔隙所形成的特有结构, 是植物与外界进行气体交换的门户, 影响植物的光合、呼吸、蒸腾等生理活动。同时气孔也是病原菌入侵植物的主要通道。当受到病菌侵染时, 植物可以通过主动关闭气孔来抵抗病原菌的侵染, 这一过程称为气孔免疫, 是植物免疫系统的重要组成部分。有研究表明, 微丝骨架动态组装对于气孔的开合是必要的。气孔在打开和关闭的动态过程中微丝发生解聚, 在维持气孔开度时微丝则恢复丝状排列结构。同时, 微丝的排列和分布方式也影响着气孔孔径。由此可知, 气孔在关闭和打开的过程中伴随着微丝骨架的解聚与重排, 推测微丝的这种动态变化可能参与调节气孔运动中液泡的体积、数量、膨压以及液泡膜离子通道^[52]。病原菌引起的气孔关闭同样伴随着保卫细胞微丝动态的改变, 当用病原模式分子flg22以及chitin处理后气孔由开到关, 同时气孔保卫细胞微丝的排列方向发生改变, 在打开的气孔中微丝呈辐射状排列而在关闭的气孔中微丝呈纵向排列^[53]。最近的研究发现, 拟南芥蛋白激酶CPK3通过磷酸化ADF4, 调节保卫细胞微丝动态来介导flg22诱导的气孔关闭^[44]。此外, Zou等人^[43]发现激酶

MPK3/6对微丝结合蛋白VLN3的磷酸化调控在气孔免疫过程中同样发挥重要作用。Villin属于villin/gelsolin/fragmin蛋白质超家族, 是一类能与钙离子结合的微丝结合蛋白^[54], 在flg22刺激后, VLN3被防御响应激酶MPK3和MPK6迅速磷酸化, 该磷酸化调控使得VLN3切割微丝的能力显著增强, 这一调控机制有利于促进保卫细胞中的微丝周转和重排, 从而诱发气孔关闭^[43]。

5 展望

综上所述, 微丝骨架的重塑是植菌互作过程中的标志性事件, 然而, 人们对于其潜在的分子调控机制的了解仍然有限, 有很多问题依然悬而未决。例如: 虽然越来越多的微丝结合蛋白被证实参与调节植物免疫, 但新的微丝调节蛋白及其免疫调控机制仍有待进一步挖掘。除了ROS, PA和激酶信号外, 是否还有其他能够调节微丝动态的上游免疫信号? 例如微丝结合蛋白villin等的功能可以被Ca²⁺调控, 这是否暗示着Ca²⁺信号也可以调节微丝骨架? 除VLN3和ADF4外, 是否还有其他微丝结合蛋白是MPK和CPK激酶的底物? 微丝结合蛋白除了被磷酸化修饰之外, 是否存在泛素化、乙酰化等其他转录后修饰机制, 这些修饰方式对蛋白的生化功能有什么影响? 在植物免疫中有什么样的生物学功能? 是否有更多能够调控宿主微丝骨架的病原菌效应因子未被发掘? 他们的靶点是什么? 又如何通过调控微丝骨架动态来阻断免疫信号和宿主防御的? 微丝骨架的动态影响一系列免疫反应的激活, 如ROS的产生、胼胝质的沉积、抗病基因的表达等, 但调控的机制是什么? 微丝骨架的动态重排在免疫过程中具体扮演什么样的角色? 作为植物细胞骨架的另一重要成员, 微管骨架如何响应免疫信号? 其分子机制以及生物学功能更不明确。由此可见, 细胞骨架在植物免疫过程中的调控机制是十分复杂的, 对其展开深入研究将有助于我们理解细胞骨架在植物先天免疫中的生物学功能。

参考文献

- 1 Jones J D G, Dangl J L. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444: 323–329
- 2 Zhou J M, Zhang Y. Plant immunity: danger perception and signaling. *Cell*, 2020, 181: 978–989
- 3 Li P, Day B. Battlefield cytoskeleton: turning the tide on plant immunity. *Mol Plant Microbe Interact*, 2019, 32: 25–34

- 4 Porter K, Day B. From filaments to function: the role of the plant actin cytoskeleton in pathogen perception, signaling and immunity. *J Integr Plant Biol*, 2016, 58: 299–311
- 5 Li J, Staiger C J. Understanding cytoskeletal dynamics during the plant immune response. *Annu Rev Phytopathol*, 2018, 56: 513–533
- 6 Mendgen K, Hahn M, Deising H. Morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi. *Annu Rev Phytopathol*, 1996, 34: 367–386
- 7 Kobayashi Y, Kobayashi I, Funaki Y, et al. Dynamic reorganization of microfilaments and microtubules is necessary for the expression of non-host resistance in barley coleoptile cells. *Plant J*, 1997, 11: 525–537
- 8 Hardham A R, Takemoto D, White R G. Rapid and dynamic subcellular reorganization following mechanical stimulation of *Arabidopsis* epidermal cells mimics responses to fungal and oomycete attack. *BMC Plant Biol*, 2008, 8: 63
- 9 Xu J R, Staiger C J, Hamer J E. Inactivation of the mitogen-activated protein kinase Mps1 from the rice blast fungus prevents penetration of host cells but allows activation of plant defense responses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 12713–12718
- 10 Yang L, Qin L, Liu G, et al. Myosins XI modulate host cellular responses and penetration resistance to fungal pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 13996–14001
- 11 Underwood W, Somerville S C. Perception of conserved pathogen elicitors at the plasma membrane leads to relocalization of the *Arabidopsis* PEN3 transporter. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 12492–12497
- 12 Leontovychová H, Kalachova T, Trdá L, et al. Actin depolymerization is able to increase plant resistance against pathogens via activation of salicylic acid signalling pathway. *Sci Rep*, 2019, 9: 10397
- 13 Leontovychová H, Kalachova T, Janda M. Disrupted actin: a novel player in pathogen attack sensing? *New Phytol*, 2020, 227: 1605–1609
- 14 Xin X F, He S Y. *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000: a model pathogen for probing disease susceptibility and hormone signaling in plants. *Annu Rev Phytopathol*, 2013, 51: 473–498
- 15 Henty-Ridilla J L, Shimono M, Li J, et al. The plant actin cytoskeleton responds to signals from microbe-associated molecular patterns. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003290
- 16 Li J, Henty-Ridilla J L, Staiger B H, et al. Capping protein integrates multiple MAMP signalling pathways to modulate actin dynamics during plant innate immunity. *Nat Commun*, 2015, 6: 7206
- 17 Kang Y, Jelenska J, Cecchini N M, et al. HopW1 from *Pseudomonas syringae* disrupts the actin cytoskeleton to promote virulence in *Arabidopsis*. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004232
- 18 Sun H, Zhu X, Li C, et al. *Xanthomonas* effector XopR hijacks host actin cytoskeleton via complex coacervation. *Nat Commun*, 2021, 12: 4064
- 19 Shimono M, Lu Y J, Porter K, et al. The *Pseudomonas syringae* Type III effector HopG1 induces actin remodeling to promote symptom development and susceptibility during infection. *Plant Physiol*, 2016, 171: 2239–2255
- 20 Guan X, Buchholz G, Nick P. The cytoskeleton is disrupted by the bacterial effector HrpZ, but not by the bacterial PAMP flg22, in tobacco BY-2 cells. *J Exp Bot*, 2013, 64: 1805–1816
- 21 Lian N, Wang X, Jing Y, et al. Regulation of cytoskeleton-associated protein activities: linking cellular signals to plant cytoskeletal function. *J Integr Plant Biol*, 2021, 63: 241–250
- 22 Li J, Blanchoin L, Staiger C J. Signaling to actin stochastic dynamics. *Annu Rev Plant Biol*, 2015, 66: 415–440
- 23 Henty-Ridilla J L, Li J, Day B, et al. ACTIN DEPOLYMERIZING FACTOR4 regulates actin dynamics during innate immune signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2014, 26: 340–352
- 24 Tian M, Chaudhry F, Ruzicka D R, et al. *Arabidopsis* actin-depolymerizing factor AtADF4 mediates defense signal transduction triggered by the *Pseudomonas syringae* effector AvrPphB. *Plant Physiol*, 2009, 150: 815–824
- 25 Porter K, Shimono M, Tian M, et al. *Arabidopsis* actin-depolymerizing factor-4 links pathogen perception, defense activation and transcription to cytoskeletal dynamics. *PLoS Pathog*, 2012, 8: e1003006
- 26 Inada N, Higaki T, Hasezawa S. Nuclear Function of Subclass I actin-depolymerizing factor contributes to susceptibility in *Arabidopsis* to an adapted powdery mildew fungus. *Plant Physiol*, 2016, 170: 1420–1434
- 27 Wang W, Wen Y, Berkey R, et al. Specific targeting of the *Arabidopsis* resistance protein RPW8.2 to the interfacial membrane encasing the fungal haustorium renders broad-spectrum resistance to powdery mildew. *Plant Cell*, 2009, 21: 2898–2913
- 28 Fu Y, Duan X, Tang C, et al. TaADF7, an actin-depolymerizing factor, contributes to wheat resistance against *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Plant J*, 2014, 78: 16–30

- 29 Zhang B, Hua Y, Wang J, et al. *TaADF4*, an actin-depolymerizing factor from wheat, is required for resistance to the stripe rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. [Plant J](#), 2017, 89: 1210–1224
- 30 Tang C, Deng L, Chang D, et al. *TaADF3*, an actin-depolymerizing factor, negatively modulates wheat resistance against *Puccinia striiformis*. [Front Plant Sci](#), 2016, 6: 1214
- 31 Li J, Cao L, Staiger C J. Capping protein modulates actin remodeling in response to reactive oxygen species during plant innate immunity. [Plant Physiol](#), 2017, 173: 1125–1136
- 32 Paul A S, Paul A, Pollard T D, et al. The role of the FH1 domain and profilin in formin-mediated actin-filament elongation and nucleation. [Curr Biol](#), 2008, 18: 9–19
- 33 Sun H, Qiao Z, Chua K P, et al. Profilin negatively regulates formin-mediated actin assembly to modulate PAMP-triggered plant immunity. [Curr Biol](#), 2018, 28: 1882–1895.e7
- 34 Ma Z, Liu X, Nath S, et al. Formin nanoclustering-mediated actin assembly during plant flagellin and DSF signaling. [Cell Rep](#), 2021, 34: 108884
- 35 Ma Z, Sun Y, Zhu X, et al. Membrane nanodomains modulate formin condensation for actin remodeling in *Arabidopsis* innate immune responses. [Plant Cell](#), 2022, 34: 374–394
- 36 Underwood W. The plant cell wall: a dynamic barrier against pathogen invasion. [Front Plant Sci](#), 2012, 3: 85
- 37 Qin L, Liu L, Tu J, et al. The Arp2/3 complex, acting cooperatively with class I formins, modulates penetration resistance in *Arabidopsis* against powdery mildew invasion. [Plant Cell](#), 2021, 33: 3151–3175
- 38 Sassmann S, Rodrigues C, Milne S W, et al. An immune-responsive cytoskeletal-plasma membrane feedback loop in plants. [Curr Biol](#), 2018, 28: 2136–2144.e7
- 39 Qi J, Wang J, Gong Z, et al. Apoplastic ROS signaling in plant immunity. [Curr Opin Plant Biol](#), 2017, 38: 92–100
- 40 Li L, Li M, Yu L, et al. The FLS2-associated kinase BIK1 directly phosphorylates the NADPH oxidase RbohD to control plant immunity. [Cell Host Microbe](#), 2014, 15: 329–338
- 41 Zhao J. Phospholipase D and phosphatidic acid in plant defence response: from protein-protein and lipid-protein interactions to hormone signalling. [J Exp Bot](#), 2015, 66: 1721–1736
- 42 Cao L, Wang W, Zhang W, et al. Lipid signaling requires ROS production to elicit actin cytoskeleton remodeling during Plant Innate Immunity. [Int J Mol Sci](#), 2022, 23: 2447
- 43 Zou M, Guo M, Zhou Z, et al. MPK3- and MPK6-mediated VLN3 phosphorylation regulates actin dynamics during stomatal immunity in *Arabidopsis*. [Nat Commun](#), 2021, 12: 6474
- 44 Lu Y J, Li P, Shimono M, et al. *Arabidopsis* calcium-dependent protein kinase 3 regulates actin cytoskeleton organization and immunity. [Nat Commun](#), 2020, 11: 6234
- 45 Tamura M, Kai T, Tsunawaki S, et al. Direct interaction of actin with p47^{phox} of neutrophil NADPH oxidase. [Biochem Biophys Res Commun](#), 2000, 276: 1186–1190
- 46 Tamura M, Kanno M, Endo Y. Deactivation of neutrophil NADPH oxidase by actin-depolymerizing agents in a cell-free system. [Biochem J](#), 2000, 349: 369–375
- 47 Tamura M, Itoh K, Akita H, et al. Identification of an actin-binding site in p47^{phox} an organizer protein of NADPH oxidase. [FEBS Lett](#), 2006, 580: 261–267
- 48 Hao H, Fan L, Chen T, et al. Clathrin and membrane microdomains cooperatively regulate RbohD dynamics and activity in *Arabidopsis*. [Plant Cell](#), 2014, 26: 1729–1745
- 49 Beck M, Zhou J, Faulkner C, et al. Spatio-temporal cellular dynamics of the *Arabidopsis* flagellin receptor reveal activation status-dependent endosomal sorting. [Plant Cell](#), 2012, 24: 4205–4219
- 50 Robatzek S, Chinchilla D, Boller T. Ligand-induced endocytosis of the pattern recognition receptor FLS2 in *Arabidopsis*. [Genes Dev](#), 2006, 20: 537–542
- 51 Kobayashi Y, Kobayashi I. Depolymerization of the actin cytoskeleton induces defense responses in tobacco plants. [J Gen Plant Pathol](#), 2007, 73: 360–364
- 52 Gao X Q, Wang X L, Ren F, et al. Dynamics of vacuoles and actin filaments in guard cells and their roles in stomatal movement. [Plant Cell Environ](#), 2009, 32: 1108–1116
- 53 Shimono M, Higaki T, Kaku H, et al. Quantitative evaluation of stomatal cytoskeletal patterns during the activation of immune signaling in

Arabidopsis thaliana. [PLoS ONE](#), 2016, 11: e0159291

54 Huang S, Qu X, Zhang R. Plant villins: versatile actin regulatory proteins. [J Integr Plant Biol](#), 2015, 57: 40–49

Actin cytoskeleton function in plant innate immunity

WANG BingXiao & LI JieJie

*Beijing Key Laboratory of Gene Resource and Molecular Development, College of Life Sciences, Beijing Normal University,
Beijing 100875, China*

At various stages in their life cycle, plants encounter several pathogenic microbes that challenge their growth and development. The sophisticated innate plant immune system prevents the growth of harmful microbes via two interconnected defense strategies based on pathogen perception. These strategies involve microbe-associated molecular pattern-triggered immunity (PTI) and microbial effector-triggered immunity (ETI). It has been demonstrated that the actin cytoskeleton plays an essential role in plant innate immunity. Upon pathogen attack, host actin undergoes active rearrangement. Disrupting this actin remodeling leads to impaired plant resistance to bacterial pathogens. Here, we introduced the rearrangement of the actin cytoskeleton during plant-microbe interaction. We also reviewed the current understanding of how PTI-induced actin remodeling is regulated and determined the function of the host actin cytoskeleton in plant immunity. Further, we discussed the possible research directions to further explore the role of the host cytoskeleton during plant-microbial interactions.

plant innate immunity, actin cytoskeleton, actin remodeling, actin-binding proteins

doi: [10.1360/SSV-2022-0170](https://doi.org/10.1360/SSV-2022-0170)