



赖氨酸基序(LysM)在植物-真菌相互作用中的研究进展

刘柳, 李兵, 郭顺星*

中国医学科学院, 北京协和医学院药用植物研究所, 北京100193

*通信作者(sxguo1986@163.com)

摘要: 植物和真菌之间存在复杂的相互作用。真菌中含有的一些聚糖物质, 如细胞壁中的几丁质, 对激活植物免疫具有重要意义。赖氨酸基序(LysM)是一种广泛分布于原核生物和真核生物中的结构域, 能够识别并结合这些聚糖物质, 在植物-真菌相互作用中起关键作用。植物LysM蛋白主要作为模式识别受体发挥作用, 感知几丁质以诱导植物免疫。相反, 真菌LysM能够保护细胞壁不被植物几丁质酶水解, 阻断几丁质信号的感应或传导, 从而抑制几丁质诱导的宿主免疫。本文对植物和真菌中LysM的研究现状以及LysM和植物-真菌相互作用的关系进行综述, 以期对植物和真菌相互作用机制的深入研究提供参考。

关键词: LysM; 几丁质; 植物免疫系统; 植物-真菌相互作用

Advances in lysin motif (LysM) in plant-fungal interactions

LIU Liu, LI Bing, GUO Shunxing*

Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China

*Corresponding author (sxguo1986@163.com)

Abstract: There are complex interactions between plants and fungi. Some polysaccharides in fungi, such as chitins in cell wall, are important for activating plant immunity. LysM (lysin motif) is a domain widely distributed in prokaryotes and eukaryotes that recognizes and binds to these glycan substances and plays a key role in plant-fungal interactions. Plant LysM proteins primarily act as pattern recognition receptors that sense chitins to induce plant immunity. In contrast, fungal LysM protects cell walls from hydrolysis by plant chitinases, blocking chitin response or signaling, and thus inhibiting chitin-induced host immunity. This paper reviews the research status of LysM in plants and fungi and the relationship between LysM and plant-fungal interaction, in order to provide reference for in-depth research on the interaction mechanism of plants and fungi.

Key words: LysM; chitin; plant immunity system; plant-fungal interaction

在自然界, 植物暴露在各种微生物中。植物种子萌发、植株生长发育和活性次生代谢产物的累积, 均与细菌和真菌等微生物有着直接或间接的联系(Rodriguez等2019)。这些微生物与植物相互作用, 二者建立共生或寄生等关系。植物与微生物的识别是二者相互作用的关键环节, 植物如何识别微生物信号并启动自身免疫防御或者建立共生关系是当前研究的热点和难点。

赖氨酸基序(lysin motif, LysM)是一个广泛分布的结构域, 通常包含约40个氨基酸残基, 能够感知并结合肽聚糖和几丁质等物质。研究表明, 原核生物和真核生物的多种蛋白质均具有一个或几个LysM结构域。一些含有LysM的蛋白质被报道参

收稿 2022-08-19 修定 2022-10-08
资助 中国医学科学院医学与健康科技创新工程(2021-I2M-1-031)。

与无脊椎动物的先天免疫, 如克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)中的PcLysM和日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)中的MjLPBP (Shi等2016)。在植物中, 一些位于质膜上的LysM蛋白能够识别并结合来自真菌细胞壁的几丁质成分, 从而介导二者共生或启动宿主免疫防御真菌侵染。目前, 已在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)和水稻(*Oryza sativa*)中发现含有LysM的几丁质受体复合物(He等2019)。随着研究的深入, 在真菌中也发现了这种含LysM的蛋白。真菌中的LysM蛋白通过与几丁质结合, 抑制植物的免疫反应从而实现侵染。如番茄叶霉菌(*Cladosporium fulvum*)中含有LysM的效应因子Ecp6 (extracellular protein 6)具有高亲和力的几丁质结合位点, 使Ecp6能够在几丁质结合方面胜过植物受体, 从而抑制几丁质诱导的植物免疫(Tian 2020)。由此可见, LysM在宿主与真菌相互作用中具有重要功能, 在受到越来越多关注的同时, 相关研究也不断围绕LysM展开。

因此, 本文对植物和真菌中含LysM的蛋白及其与植物-真菌相互作用的关系进行综述, 以期对植物-真菌相互作用机制的深入研究提供参考。

1 植物免疫系统

植物具有识别外界微生物侵染的先天免疫系统, 即通过位于质膜上的模式识别受体(pattern recognition receptors, PRRs)识别微生物相关分子模式(microbe-associated molecular patterns, MAMPs)或病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 启动病原相关分子模式触发的免疫(pattern-triggered immunity, PTI), 并产生各种防御反应(Desaki等2019)。PRRs位于细胞膜上, 通常包括胞外配体结合域、跨膜域和胞内激酶域。细胞外域PRRs可以特异性识别PAMPs, 如细菌脂多糖、鞭毛蛋白、真菌几丁质等, 并通过跨膜域激活胞内激酶域, 进而诱导一系列免疫反应: 首先是迅速触发的下游反应, 包括钙离子通道的激活、活性氧(reactive oxygen species, ROS)的产生和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)的级联反应等(吴玉俊和吴旺泽2021); 其次是稍推迟的诱导反应, 包括防御相关基因的表达、

抗菌化合物的生物合成等(图1)。该模式触发的免疫被称为植物抵御微生物入侵的第一道屏障, 在植物的基础抗性中起着重要作用。

为了突破植物免疫系统的屏障, 微生物会向植物细胞分泌能够抑制PTI过程及其信号转导的效应因子(effector)。为了防止微生物进一步入侵, 植物进化出识别效应因子的R蛋白并启动效应因子触发式免疫(effector-triggered immunity, ETI) (图1)。相应地, 一些病原微生物还会再次进化出新的策略, 通过丢弃或变异已被宿主识别的效应因子, 或者进化出新的效应因子来扰乱被识别的免疫反应, 从而抑制宿主免疫(Santos等2022)。进一步研究表明, 尽管PTI和ETI两层免疫系统激活的机制有很大不同, 但二者并不是独立发挥功能, 而是相互依赖和协同作用。在这个过程中, 还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)氧化酶RBOHD诱导ROS的产生是连接二者的一个关键过程。ETI能够提高RBOHD蛋白的表达水平, 而PTI能够激活RBOHD蛋白, 二者协同产生大量ROS, 使植物在面对病原微生物侵染时能够迅速、持久地输出免疫响应信号(Ngou等2021; Yuan等2021)。

尽管植物能够识别大量的PAMPs, 但目前仅少部分的PRRs被鉴定。这些PRRs通常为位于质膜上的受体样激酶(receptor-like kinases, RLKs)或受体样蛋白(receptor-like proteins, RLPs)。二者均有胞外和跨膜结构域, 此外, RLKs还具有传导下游信号的胞内激酶结构域。富含亮氨酸重复类受体蛋白/激酶(leucine-rich-repeat receptor-like proteins/kinases, LRR-RLP/LRR-RLK)已被广泛报道可以介导植物对微生物感染的免疫。如拟南芥中的2个LRR-RLKs, 即FLS2 (flagellin-sensing 2)和EFR (EF-Tu receptor), 可以分别识别细菌鞭毛蛋白或伸长因子EF-Tu (李秋颖等2019); 而番茄(*Solanum lycopersicum*)的LRR-RLPs——LeEIX1 (ethylene-inducing xylanase receptors 1)和LeEIX2 (ethylene-inducing xylanase receptors 2)能够介导对真菌细胞壁中木聚糖的感知(Richards和Rose 2019)。

另一类含LysM结构域的植物蛋白激酶受体也逐渐受到关注。植物中含LysM的受体蛋白通常与

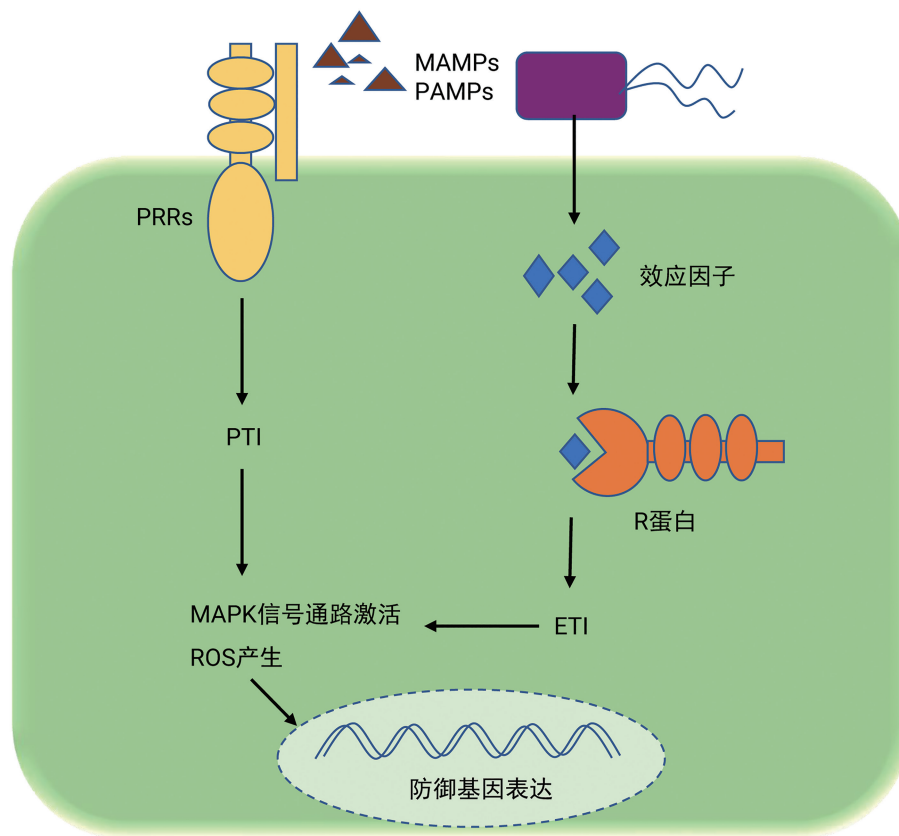


图1 植物免疫系统

Fig. 1 Plant immune system

MAMPs/PAMPs: 微生物相关分子模式/病原相关分子模式; PRRs: 模式识别受体; PTI: 病原相关分子模式触发的免疫; ETI: 效应因子触发式免疫; 黑色实线: 生物化学过程。

微生物聚糖物质的识别和由微生物感染引起的免疫有关; 此外, 含LysM的蛋白也是豆科植物与根瘤菌共生关系的建立和植物菌根化的重要因素。LysM蛋白作为直接或间接识别几丁质等微生物聚糖物质的生化模块, 在植物免疫激活和二者共生关系建立中发挥极其重要的作用。

2 LysM

LysM是一种存在于大多数生物体内的蛋白质结构域。最初发现为芽孢杆菌噬菌体溶菌酶中的一个蛋白结构域, 可以通过催化肽聚糖N-乙酰胞壁酸和N-乙酰葡萄糖胺之间糖苷键的水解来降解细菌细胞壁。一个LysM通常由44~65个氨基酸残基组成, 并具有 $\beta\alpha\alpha\beta$ 的二级结构, 即2个 α -螺旋排列

在2个反向平行的 β -折叠的一侧。含有LysM蛋白的结构显示, 通常位于N端的16个氨基酸残基和位于C端的10个氨基酸残基相对保守(Tian 2020)。

LysM被陆续报道存在于动物、植物和真菌等真核生物中, 其中一些受体蛋白能够与几丁质及其衍生物结合, 并在植物与真菌的相互作用中发挥重要作用(表1)。

3 植物中含LysM的蛋白

3.1 豆科植物中含LysM的蛋白

豆科植物与根瘤菌共生关系的建立受二者之间信号分子的调控, 而豆科植物中的LysM受体激酶在该过程中起着重要作用。含有LysM的受体样激酶(LysM receptor like kinases, LysM-RLKs)通常

表1 植物和真菌中含有的LysM
Table 1 LysM domains in plants and fungi

类别	物种	含LysM的蛋白	参考文献
豆科植物	百脉根(<i>Lotus japonicus</i>)	NFR1/NFR5	Zipfel和Oldroyd 2017
	蒺藜苜蓿(<i>Medicago truncatula</i>)	MtNFP/MtLYK3	Bozsoki等2020
	豌豆(<i>Pisum sativum</i>)	LYK9	Leppyanen等2021
非豆科植物	水稻(<i>Oryza sativa</i>)	OsCEBiP/OsCERK1/OsLYP4/OsLYP6	He等2019; Noman等2019
	拟南芥(<i>Arabidopsis thaliana</i>)	AtLYK1/LYM2/LYK3/LYK4/LYK5	Yamaguchi和Kawasaki 2021; Hu等2021; Zhang等2019; Richards和Rose 2019
	簇毛麦(<i>Haynaldia villlosa</i>)	CERK1-V	Fan等2022
	玉米(<i>Zea mays</i>)	ZmLysM3/ZmLysM6	王飞飞2016
	桑树(<i>Morus multicaulis</i>)	MmLYP1/MmLYK2	Lv等2018
	棉花(<i>Gossypium hirsutum</i>)	Gh-LYK1/Gh-LYK2/LYP1/LYK7/LysMe3	Gu等2017; Xu等2017
	番茄(<i>Solanum lycopersicum</i>)	SILYK1/SILYK11/SILYK12/SILYK13	Liao等2018
	咖啡树(<i>Coffea arabica</i>)	Ca1-LYP/Ca2-LYP/Ca1-CERK1/Ca2-CERK1/Ca-LYK4/Ca1-LYK5/Ca2-LYK5	Santos等2022
	苹果(<i>Malus pumila</i>)	MdCERK1	Chen等2020
	马铃薯(<i>Solanum tuberosum</i>)	StLysM-RLK05	Nazarian-Firouzabadi等2019
真菌	葡萄(<i>Vitis vinifera</i>)	VvLYK1-1/VvLYK1-2	Brule等2019
	菜豆炭疽菌(<i>Colletotrichum lindemuthianum</i>)	CIH1	Takahara等2016
	芸蓼炭疽菌(<i>Colletotrichum higginsianum</i>)	ChElp1/ChElp2	Takahara等2016
	番茄叶霉菌(<i>Cladosporium fulvum</i>)	Ecp6	Tian 2020
	稻瘟病菌(<i>Magnaporthe oryzae</i>)	Slp1	Li等2020
	禾生炭疽菌(<i>Colletotrichum graminicola</i>)	Cgfl	Sanz-Martín等2016
	立枯丝核菌(<i>Rhizoctonia solani</i>)	RsLysM	Dörfors等2019
	禾生球腔菌(<i>Mycosphaerella graminicola</i>)	Mg1LysM/Mg3LysM	Tian 2020
	大丽轮枝菌(<i>Verticillium dahliae</i>)	Vd2LysM	Kombrink等2017
	木霉菌(<i>Trichoderma atroviride</i>)	Tal6	Romero-Contreras等2019

由1~3个细胞外LysM、1个跨膜结构域和1个胞内激酶结构域组成, 这种受体样激酶最初在豆科植物中被鉴定为结瘤因子(nod factors, NFs)的受体。NFs是根瘤菌分泌的寡聚β-(1,4)连接的N-氨基葡萄糖脂信号分子, 可以启动其与宿主豆科植物的共生关系, 最终形成固氮根瘤。

豆科植物拥有一个庞大的LysM受体家族, 如模式植物百脉根(*Lotus japonicus*)和蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)的基因组分别编码19和26个LysM受体蛋白。研究发现百脉根中的LysM受体NFR1

(nodule factor receptor kinase 1)与NFR5 (nodule factor receptor kinase 5)能够形成复合物以识别NFs (图2) (Zipfel和Oldroyd 2017); 类似地, 在蒺藜苜蓿中, NFR5同源受体MtNFP (nod factor perception)与NFR1同源受体MtLYK3 (LysM domain-containing receptor-like kinase 3)共同作用(图2), 负责共生信号的转导(Bozsoki等2020)。值得注意的是, NFR5和MtNFP不具有活性的胞内激酶结构域, 而NFR1和MtLYK3具激酶结构, 并在体外显示自磷酸化。研究表明, NFR1和NFR5结合形成的受体复合物能够与根瘤菌

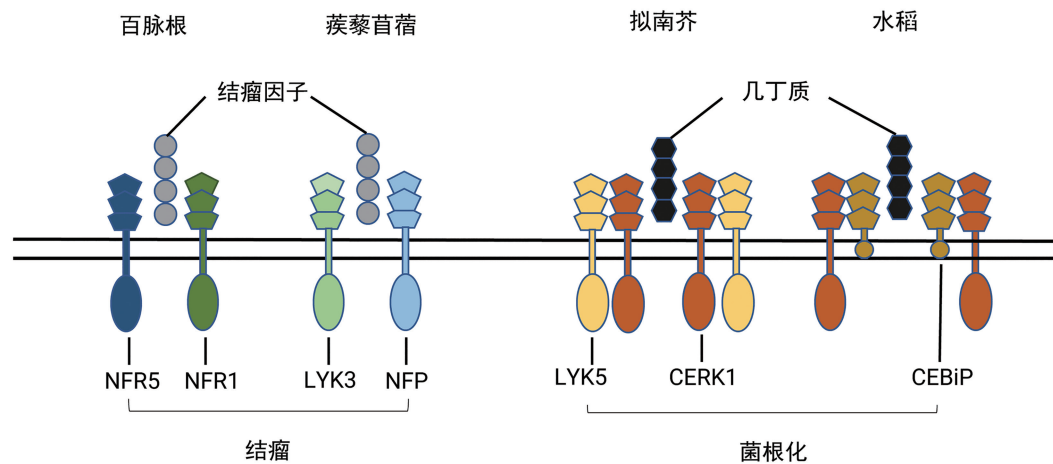


图2 百脉根、蒺藜苜蓿、拟南芥和水稻中含LysM蛋白的几丁质感知系统

Fig. 2 Chitin recognition system of LysM-containing protein in *L. japonicus*, *M. truncatula*, *A. thaliana* and *O. sativa*

CERK1: 几丁质激发子受体激酶1; CEBiP: 几丁质诱导子结合蛋白; LYK5: LysM受体样激酶5; NFR5: 结瘤因子受体激酶5; NFR1: 结瘤因子受体激酶1; LYK3: LysM受体样激酶3; NFP: 结瘤因子感受受体。

产生的NFs在生物学水平上表现高亲和力的结合。*nfr5/nfp*和*nfr1/lyk3*突变体不表现共生表型, 并且缺乏钙内流, 无法实现早期的共生信号应答; 而过表达*NFR5*和*NFR1*则会导致豆科植物自发结瘤(Zipfel和Oldroyd 2017)。此外, 豌豆(*Pisum sativum*)的LysM受体样激酶LYK9 (LysM receptor-like kinase 9)被报道可能介导植物对真菌细胞壁水解后释放的长链和短链壳寡糖(chitosan oligosaccharides, COs)的感知(Leppyanen等2021)。

根瘤菌中的NFs与病原真菌的MAMPs如几丁质存在一定程度的相似性, 但植物如何区分有益菌和病原菌的机制仍未被完全揭示。Liu等(2012)发现豆科植物通过一组不同的LysM受体来区分。如百脉根的CERK6 (chitin elicitor receptor kinase 6)受体与蒺藜苜蓿的LYK9 (LysM receptor-like kinase 9)和LYR4 (LysM-containing receptor 4)受体均能够感知几丁质寡聚体, 并诱导ROS产生。而研究发现, *cerk6*、*lyk9*和*lyr4*突变体对病原体的易感性增强, 但未影响结瘤, 表明几丁质和NFs信号通路被不同LysM受体识别。百脉根的另一种LysM受体Lys11 (NFR5类似物), 能够在含有丛枝菌根真菌的内皮层细胞中被特异性诱导, 表明其在共生中发挥作用。尽管Lys11在与根瘤菌共生过程中通常不表达,

但过表达Lys11能够在*nfr5*突变体上结瘤, 这表明Lys11在一定程度上也能够结合NFs并启动共生信号(Rasmussen等2016)。

尽管体外实验能够直观地观察到NFs或COs与豆科植物LysM受体的结合, 但在体内二者结合引起的复杂的信号感知和下游信号的激活与调控仍有待进一步深入的阐明。受传统二元相互作用实验的单一性和调控机制的复杂性等多因素的限制, 截至目前, 许多豆科植物LysM受体在与微生物互作过程中所扮演的角色仍未被完全揭示。Zgadzaj等(2016)阐释的NFR5在根际细菌群落结构中的作用及其共生途径, 为未来从群落与功能途径交叉研究的角度揭示植物-微生物相互作用机制提供了良好思路。

3.2 非豆科植物中含LysM的蛋白

非豆科植物中含有LysM的受体通常与识别微生物中N-乙酰氨基葡萄糖物质以及防御外来微生物有关。真菌中的几丁质是最早被证明能诱导植物免疫反应的MAMPs之一。几丁质是一种由 β -(1,4)连接的N-乙酰氨基葡萄糖胺组成的长链聚合物, 是真菌细胞壁的构成成分(Zipfel和Oldroyd 2017)。作为一种植物免疫反应的诱导因子, 几丁质的感知机制得到了广泛的研究。

在模式植物拟南芥中发现5个含LysM结构的蛋白, AtLYK1~AtLYK5, 其中AtLYK1 (LysM receptor-like kinase 1)和AtLYK3 (LysM receptor-like kinase 3)具有激酶结构域。AtLYK1也被称为几丁质激发子受体激酶1 (chitin elicitor receptor kinase 1, CERK1), 包含3个LysM结构。AtCERK1可以直接与几丁质结合, 并且对较长残基的几丁质寡糖有较高的亲和力, 具备配体结合和跨膜信号转导的功能。*cerk1*突变几乎阻断了所有由几丁质触发的防御反应, 如ROS的爆发和MAPKs的激活等, 并提高了宿主植物对病原真菌的易感性(Liu等2012)。AtLYM2 (LysM domain-containing glycosyl phosphatidyl inositol-anchored protein 2)是在拟南芥胞间连丝蛋白中鉴定出的一种糖基磷脂酰肌醇(glycosyl phosphatidyl inositol, GPI)介导的含有溶解酶的蛋白质, 能够在几丁质存在的情况下介导细胞胞质间的流动, 但其突变不影响AtCERK1介导的几丁质反应(Yamaguchi和Kawasaki 2021)。AtLYK3作为调节因子能够参与几丁质信号转导并介导拟南芥对真菌的抗性(Hu等2021)。AtLYK5 (LysM receptor-like kinase 5)通常识别长链壳寡糖并与AtCERK1形成复合物(图2), 该复合体能够激活AtCERK1激酶域并传导下游免疫信号(Zhang等2019)。AtLYK4 (LysM receptor-like kinase 4)作为AtLYK5的共受体蛋白, 能够稳定AtLYK5-AtCERK1受体复合物。*lyk4/lyk5*的双突变体可以完全消除几丁质诱导的免疫, 表明AtLYK4和AtLYK5之间的功能可能存在部分重叠(Richards和Rose 2019)。拟南芥中复杂的几丁质受体系统表明, 对LysM蛋白与几丁质识别和结合的机制研究仍需不断深入。

在水稻中, 存在一种包含2个LysM、1个跨膜区域和1个细胞内激酶区域的LysM蛋白OsCERK1。与AtCERK1不同, OsCERK1不直接与几丁质结合, 而是与另一种受体样蛋白, 即几丁质诱导子结合蛋白(chitin oligosaccharide elicitor binding protein, OsCE-BiP)形成二聚体以启动免疫信号(图2) (He等2019)。另外两种受体样蛋白OsLYP4 (LysM-containing protein 4)和OsLYP6 (LysM-containing protein 6)也与几丁质诱导的水稻免疫反应密切相关。同时, 它们也能通过与OsCERK1形成复合物并对细菌细胞壁肽

聚糖产生反应, 表明OsCERK1具有介导几丁质和肽聚糖信号通路的双重作用(Noman等2019)。

含LysM的蛋白在其他植物中也具有重要的生物学功能, 尤其在免疫调控方面。在小麦(*Triticum aestivum*)中鉴定了57个LysM基因和60个LysM蛋白, 综合分析结果表明, 在小麦对病原菌产生抗性的过程中, LysM基因发挥着重要作用(Chen等2022)。二倍体小麦簇毛麦(*Haynaldia villosa*)中的LysM受体样激酶基因CERK1-V能够在普通小麦中异源表达, 并在病原菌入侵时与小麦LysM类受体蛋白Ta-CEBiP结合, 形成复合物并识别几丁质, 以激活下游信号通路, 提高小麦对白粉病、条锈病和赤霉病三种病原真菌的抗性(Fan等2022)。王飞飞(2016)的研究显示, 玉米(*Zea mays*)中ZmLysM3和ZmLysM6两种蛋白均含有LysM结构域, 它们能够形成二聚体以识别病原菌, 并通过ZmLysM6的胞内激酶结构域传递下游信号。将ZmLysM3和ZmLysM6共转入缺乏几丁质感知系统的拟南芥突变体*cerk1-2*中, 能够显著增强植株的抗病性。桑树(*Morus multi-caulis*)中含有LysM的蛋白MmLYP1能够与几丁质结合, 在真菌感染时可依赖于MmLYK2启动免疫(Lv等2018)。在棉花(*Gossypium hirsutum*)中, Gh-LYK1和Gh-LYK2两种LysM受体样激酶对黄萎病有一定的防御作用; 几丁质诱导Gh-LYK1的二聚化和磷酸化, 有助于抵御黄萎病致病菌大丽轮枝菌(*Verticillium dahliae*)的感染(Gu等2017)。此外, 棉花中的LYP1、LYK7和LysMe3受体, 可以识别几丁质信号并激活下游防御过程, 同样也可以来增强对黄萎病的抗性(Xu等2017)。苹果(*Malus pumila*)中MdCERK1受体的过表达提高了烟草对烟草赤星病菌(*Alternaria alternata*)的抗性(Chen等2020)。在番茄中鉴定出4个与AtCERK1同源性较高的蛋白, 分别为SILYK1、SILYK11、SILYK12和SILYK13。其中SILYK12调控丛枝菌根共生, 而SILYK1与几丁质反应有关(Liao等2018)。咖啡树(*Coffea arabica*)中的LysM蛋白可作为咖啡锈菌(*Hemileia vastatrix*)几丁质的受体, 参与几丁质感知和信号传递(Santos等2022)。此外, 葡萄(*Vitis vinifera*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)等中存在的LysM蛋白也已被鉴定并证明参与几丁质诱导的免疫应答(Brulle等2019; Nazarian-

Firouzabadi等2019)。

研究表明, 水稻通过共生和免疫受体之间的竞争来区分共生和免疫信号, 这与豆科植物存在一定区别。菌根因子受体(Myc factor receptor 1, OsMYR1)和OsCEBiP能够竞争结合OsCERK1, 当植物识别病原真菌细胞壁上的长链几丁质(CO8)时, 可以促进OsCEBiP与OsCERK1结合, 并激活免疫信号。当植物识别共生真菌的短链几丁质(CO4)时, 则会促进OsMYR1与OsCERK1结合, 并抑制OsCEBiP结合OsCERK1, 最终激活共生信号(He等2019)。

综上所述, 植物LysM蛋白能够介导对几丁质等微生物信号的识别, 在植物启动免疫和共生信号中发挥重要作用。

4 真菌中含LysM的蛋白

植物识别来自真菌的几丁质成分并分泌出几丁质酶。几丁质酶不仅可以破坏真菌细胞壁的完整性, 而且还能释放真菌细胞壁中更多的几丁质以供植物感知。为了抑制几丁质激活的植物免疫反应从而实现侵染, 真菌会通过细胞壁几丁质进行化学修饰来保护真菌细胞壁或分泌含LysM的效应因子来干扰几丁质触发的免疫激活(Gao等2019)。许多病原真菌的效应因子含有与植物几丁质受体相似的LysM。这些效应因子广泛分布于真菌界。对70种真菌的公开序列数据研究, 鉴定出403种含有LysM的蛋白, 并按照含有LysM的情况将其分为5种类型, 其中最大的一类为以Ecp6为代表的只包含有1到7个LysM的效应因子, 数量达302个(Tian 2020)。

首次报道的一种真菌LysM蛋白是来自菜豆炭疽菌(*Colletotrichum lindemuthianum*)的CIH1 (*Colletotrichum intracellular hypha 1*)。随后在芸薹炭疽菌(*C. higginsianum*)中发现CIH1的2个同源物ChELP1 (extracellular LysM proteins 1)和ChELP2 (extracellular LysM proteins 2)在体外与几丁质及其寡聚体具有高亲和力, 并且可以抑制宿主拟南芥中MAPK的激活。进一步研究表明, 这些蛋白还能够形成附着胞, 表明ChELP1和ChELP2具备真菌毒力和穿透拟南芥表皮细胞的双重功能(Takahara等2016)。

番茄叶霉菌是一种常见的可导致番茄叶霉病的病原菌。从番茄叶霉菌中鉴定出一种LysM蛋白Ecp6。Ecp6携带3个LysM, 其中2个可以发生分子间二聚反应并形成具有高于宿主受体亲和力的几丁质结合位点, 从而能够抑制宿主防御反应。与野生型相比, *ecp6*突变体导致番茄病害症状显著减少(Tian 2020)。类似地, 稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*)分泌的LysM蛋白Slp1 (secreted LysM protein1)能够依赖于辅助酶类家族9蛋白的同源物MoAa91识别几丁质信号, 并与水稻OsCEBiP受体竞争和几丁质结合, 进而抑制几丁质诱导的植物免疫应答(Li等2020)。禾生炭疽菌(*C. graminicola*)的Cgfl (fungalysin metalloprotease)蛋白含有2个LysM, 并且在侵染玉米的过程中特异性表达。在没有Cgfl的情况下, 玉米叶片的几丁质酶活性增加, 表明该真菌可通过Cgfl蛋白抑制宿主几丁质酶活性(Sanz-Martín等2016)。水稻立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)中编码RsLysM蛋白的基因在感染早期被诱导, 并显示出几丁质结合亲和力, 能够抑制几丁质触发的免疫(Dörfors等2019)。

一些真菌LysM蛋白同时还具有保护菌丝不被水解的作用。如禾生球腔菌(*Mycosphaerella graminicola*)中的LysM蛋白Mg1LysM和Mg3LysM不仅能够与几丁质结合, 同时能够保护真菌菌丝免受植物分泌的几丁质酶水解, 进而抵抗植物的防御反应(Tian 2020)。大丽轮枝菌中的Vd2LysM具有2个LysM, 可以高亲和力地结合几丁质。同样, Vd2LysM也能够保护菌丝免受水解(Kombrink等2017)。

真菌LysM并不总是干扰植物的免疫从而对寄主产生有害的影响, 有些也会参与有益的植物-真菌相互作用。如有益真菌木霉菌(*Trichoderma atroviride*)利用LysM蛋白Tal6 (*T. atroviride* LysM protein 6)能够干扰植物对真菌衍生的N-乙酰氨基葡萄糖的感知, 增加真菌的定植能力; 同时作为生防剂, 使宿主在遇到病原真菌时调节植物防御系统给予植物保护。木霉菌株与其他几种植物病原菌交互作用的结果显示, Tal6过表达可增强对番茄的保护作用, 这可能是刺激植株免疫系统和限制病原菌生长共同作用的结果(Romero-Contreras等2019)。

5 LysM与植物-真菌相互作用的关系

通常情况下,病原真菌和共生真菌都受到植物免疫系统的识别,LysM蛋白在这个过程中起着重要的连接作用。通常情况下,LysM参与植物与病原真菌相互作用有三种方式(Tian 2020)。第一种为植物分泌水解酶以释放几丁质,并被植物LysM受体识别,激活免疫反应并阻止真菌的入侵;第二种为真菌病原体分泌与几丁质具有高亲和力的LysM效应因子,与植物中的LysM蛋白竞争几丁质从而抑制植物免疫的激活;第三种为真菌病原体分泌与真菌细胞壁结合的效应因子,或者对细胞壁上几丁质进行化学修饰从而导致水解酶无法接近和识别,进而抑制宿主的免疫。

但到目前为止,只有少数LysM蛋白参与感知共生信号并建立植物和真菌的共生关系。常见的共生信号有NFs和丛枝菌根真菌中的菌根因子MFs(Myc-factors)。NFs和MFs虽然具有与MAMP活性相关的几丁质片段相似的结构,但它们只能微弱或短暂地激发植物的防御反应,从而达到与植物共生的状态。例如豌豆中的2个含LysM的蛋白PsSym37和PsSym10已经被鉴定为NF受体(Kirienko等2019)。在丛枝菌根真菌中发现两种能够激活共生反应的信号分子:Myc-LCOs和短链壳寡糖(CO4/CO5)。但不同的植物种类对Myc-LCOs和CO4/CO5的响应存在差异。在豆科植物中,Myc-LCOs和CO4/CO5都能诱导共生钙振荡;但在水稻中,激活共生反应的主要信号分子则是CO4(He等2019)。尽管MFs和NFs的结构较为相似,但通常识别这两种因子的植物受体不同。如水稻中存在大部分高度保守的调节根瘤共生的信号,但水稻却不能识别根瘤菌分泌的NFs。而山麻黄(*Parasponia andersonii*)中存在的LysM受体样蛋白PaNFP,与结瘤和菌根化均有关,这也使山麻黄成为唯一一个与根瘤菌共生的非豆科植物(Dupin等2019)。

随着研究的深入,人们发现植物能够通过LysM受体蛋白的不同结构特异地识别配体并启动不同程度的免疫反应。实验显示,将百脉根CERK6与NFR1受体的胞外LysM结构域与胞内蛋白激酶结构域进行互换,发现只含NFR1中LysM结构域的

嵌合体能够互补*nfr1*的结瘤表型,但互补*cerk6*的免疫表型则同时需要CERK6的LysM结构域和激酶结构域,表明LysM结构域对感知和传导结瘤及免疫信号的重要性。LysM受体在胞外通常存在LysM1、LysM2、LysM3三个串联赖氨酸基序,相互调换三者位置发现LysM1能够决定植物对NFs和几丁质的选择性。进一步对LysM1进行研究,发现其含有4个具有序列差异的结构区域(I~IV区),其中II区和IV区对触发结瘤或免疫反应是必需的(Bozsoki等2020)。因此,受体中基序结构的多样性对识别配体具有重要的影响。

植物LysM信号的传递离不开蛋白质的磷酸化和二聚化。如CERK1识别几丁质后,能够磷酸化下游的受体样激酶PBL27,进而激活MAPK通路(Shinya等2014)。类似地,水稻中的OsRLCK185也可以被OsCERK1磷酸化,并引发MAPK级联反应。OsRLCK185则能够进一步磷酸化细胞质铁蛋白OsDRE2a,从而调节几丁质诱导的ROS爆发(Yamaguchi等2019)。在拟南芥中还发现了其他几个与CERK1有关的下游成分,如与MAPK级联反应密切相关的受体样胞质激酶RLCK VII-4以及调节ROS生成及胍质累积的PUB4蛋白等(Rao等2018; Desaki等2019)。

6 总结与展望

在植物与真菌相互作用的过程中,LysM蛋白扮演着双重角色:一方面,它们作为植物的一种防御机制,能够触发免疫以防御病原体感染;另一方面,它们也是真菌抑制植物免疫实现侵染的一种效应因子。一直以来,植物和微生物都在持续不断地相互作用中进化各自的生存与防御机制。这些机制在拟南芥和病原细菌丁香假单胞菌番茄致病变种DC3000(*Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC-3000, *Pst* DC3000)的相互作用中得到了大量的研究。在这个病理系统中,病原菌的效应因子能够转运到宿主细胞中并抑制宿主防御(Bretz等2003)。但是到目前为止,真菌抑制宿主防御的机制仍然知之甚少。

病原真菌逐渐成为世界范围内农业生产和粮食安全的主要威胁。例如大豆锈病能够导致大豆

的产量减少80%; 菜豆壳孢菌已知的寄主植物有500多种, 造成包括大豆、棉花、玉米等在内的作物产量损失约为每年75万吨; 研究估计, 小麦叶枯病菌在欧洲的三个主要小麦种植国英国、法国和德国每年造成的损失超过14亿欧元, 使用最具抗性的小麦品种以及杀真菌剂使得每个生长季的成本超过9亿欧元。真菌病害不仅带来严重的经济损失, 甚至可能对生物多样性和人类健康造成损害(Fones等2017)。而现阶段仍无法完全消除病害对植物的危害, 亟需研究和创新植物病虫害生物防治和先进栽培方法, 为人类提供绿色无毒、无污染无公害的农作物产品。越来越多的研究表明, LysM受体在植物与微生物相互作用中具有关键和多样化的作用, 但我们对其中的调控机制及生物学功能的认识仍然非常有限, LysM蛋白及其在植物几丁质信号抑制中的机理仍需要进一步的研究。例如, LysM数量的变化、LysM蛋白形成复合体的能力以及几丁质片段长短对植物与真菌相互作用的影响是怎么样的? LysM蛋白除了在植物-真菌相互作用中的免疫调控功能外, 是否还存在一些其他生物学功能? LysM如何调控植物和真菌之间的共同进化? 随着研究的深入, 揭示更多LysM蛋白的功能和作用机制, 增强对LysM蛋白和植物-微生物相互作用关系的理解, 增加对有利或有害微生物信号识别和传导机制的认识, 将对助力农作物及其他植物的安全绿色生产具有重要意义。

参考文献(References)

- Bozsoki Z, Gysel K, Hansen SB, et al (2020). Ligand-recognizing motifs in plant LysM receptors are major determinants of specificity. *Science*, 369 (6504): 663–670
- Bretz JR, Mock NM, Charity JC, et al (2003). A translocated protein tyrosine phosphatase of *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 modulates plant defence response to infection. *Mol Microbiol*, 49 (2): 389–400
- Brule D, Villano C, Davies LJ, et al (2019). The grapevine (*Vitis vinifera*) LysM receptor kinases VvLYK1-1 and VvLYK1-2 mediate chitoooligosaccharide-triggered immunity. *Plant Biotechnol J*, 17 (4): 812–825
- Chen QM, Dong CH, Sun XH, et al (2020). Overexpression of an apple LysM-containing protein gene, *MdCERK1-2*, confers improved resistance to the pathogenic fungus, *Alternaria alternata*, in *Nicotiana benthamiana*. *BMC Plant Biol*, 20 (1): 146
- Chen Z, Shen ZJ, Zhao D, et al (2022). Genome-wide analysis of LysM-containing gene family in wheat: structural and phylogenetic analysis during development and defense. *Genes*, 12 (1): 31
- Desaki Y, Takahashi S, Sato K, et al (2019). PUB4, a CERK1-interacting ubiquitin ligase, positively regulates MAMP-triggered immunity in *Arabidopsis*. *Plant Cell Physiol*, 60 (11): 2573–2583
- Dörfors F, Holmquist L, Dixelius C, et al (2019). A LysM effector protein from the basidiomycete *Rhizoctonia solani* contributes to virulence through suppression of chitin-triggered immunity. *Mol Genet Genomics*, 294 (5): 1211–1218
- Dupin SE, Geurts R, Kiers ET (2019). The non-legume *Parasponia andersonii* mediates the fitness of nitrogen-fixing rhizobial symbionts under high nitrogen conditions. *Front Plant Sci*, 10: 1779
- Fan AQ, Wei LY, Zhang X, et al (2022). Heterologous expression of the *Haynaldia villosa* pattern-recognition receptor CERK1-V in wheat increases resistance to three fungal diseases. *Crop J*, <https://doi.org/10.1016/j.cj.2022.02.005>
- Fones HN, Fisher MC, Gurr SJ (2017). Emerging fungal threats to plants and animals challenge agriculture and ecosystem resilience. *Microbiol Spectr*, doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0027-2016
- Gao F, Zhang BS, Zhao JH, et al (2019). Deacetylation of chitin oligomers increases virulence in soil-borne fungal pathogens. *Nat Plants*, 5 (11): 1167–1176
- Gu ZH, Liu TL, Ding B, et al (2017). Two lysin-motif receptor kinases, Gh-LYK1 and Gh-LYK2, contribute to resistance against *Verticillium wilt* in upland cotton. *Front Plant Sci*, 8: 2133
- He JM, Zhang C, Dai HL, et al (2019). A LysM receptor heteromer mediates perception of arbuscular mycorrhizal symbiotic signal in rice. *Mol Plant*, 12 (12): 1561–1576
- Hu SP, Li JJ, Dhar N, et al (2021). Lysin motif (LysM) proteins: interlinking manipulation of plant immunity and fungi. *Int J Mol Sci*, 22 (6): 3114
- Kirienko AN, Vishnevskaya NA, Kitaeva AB, et al (2019). Structural variations in LysM domains of LysM-RLK PsK1 may result in a different effect on pea-rhizobial symbiosis development. *Int J Mol Sci*, 20 (7): 1624
- Kombrink A, Rovenich H, Shi-Kunne X, et al (2017). *Verticillium dahliae* LysM effectors differentially contribute to virulence on plant hosts. *Mol Plant Pathol*, 18 (4): 596–608
- Leppyanen IV, Pavlova OA, Vashurina MA, et al (2021). LysM receptor-like kinase LYK9 of *Pisum sativum* L. may regulate plant responses to chitoooligosaccharides differing in structure. *Int J Mol Sci*, 22 (2): 711
- Li QY, Wang M, Wu BY, et al (2019). Lipopolysaccharide perception and signaling in plant immunity. *Plant Physiol J*, 55 (4): 387–392 (in Chinese with English abstract) [李秋颖, 王敏, 吴斌琰等(2019). 植物识别脂多糖的分子

- 机制研究进展. 植物生理学报, 55 (4): 387–392]
- Li Y, Liu XY, Liu MX, et al (2020). *Magnaporthe oryzae* auxiliary activity protein MoAa91 functions as chitin-binding protein to induce appressorium formation on artificial inductive surfaces and suppress plant immunity. *mBio*, 11 (2): e03304–19
- Liao DH, Sun X, Wang N, et al (2018). Tomato LysM receptor-like kinase SILYK12 is involved in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Front Plant Sci*, 9: 1004
- Liu TT, Liu ZX, Song CJ, et al (2012). Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor. *Science*, 336 (6085): 1160–1164
- Lv ZY, Huang Y, Ma B, et al (2018). LysM1 in MmLYK2 is a motif required for the interaction of MmLYP1 and MmLYK2 in the chitin signaling. *Plant Cell Rep*, 37 (8): 1101–1112
- Nazarian-Firouzabadi F, Joshi S, Xue HL, et al (2019). Genome-wide in silico identification of LysM-RLK genes in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Mol Biol*, 46 (5): 5005–5017
- Ngou B, Ahn HK, Ding P, et al (2021). Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. *Nature*, 592 (7852): 110–115
- Noman A, Aqeel M, Lou YG (2019). PRRs and NB-LRRs: from signal perception to activation of plant innate immunity. *Int J Mol Sci*, 20 (8): 1882
- Rao SF, Zhou ZY, Miao P, et al (2018). Roles of receptor-like cytoplasmic kinase VII members in pattern-triggered immune signaling. *Plant Physiol*, 177 (4): 1679–1690
- Rasmussen SR, Fuchtbauer W, Novero M, et al (2016). Intraradical colonization by arbuscular mycorrhizal fungi triggers induction of a lipochitooligosaccharide receptor. *Sci Rep*, 6: 29733
- Richards S, Rose LE (2019). The evolutionary history of LysM-RLKs (LYKs/LYRs) in wild tomatoes. *BMC Evol Biol*, 19 (1): 141
- Rodriguez PA, Rothballer M, Chowdhury SP, et al (2019). Systems biology of plant-microbiome interactions. *Mol Plant*, 12 (6): 804–821
- Romero-Contreras YJ, Ramirez-Valdespino CA, Guzman-Guzman P, et al (2019). Tal6 from *Trichoderma atroviride* is a LysM effector involved in mycoparasitism and plant association. *Front Microbiol*, 10: 2231
- Santos ML, de Resende MLV, Dos Santos Ciscun BA, et al (2022). LysM receptors in *Coffea arabica*: identification, characterization, and gene expression in response to *Hemileia vastatrix*. *PLOS One*, 17 (2): e0258838
- Sanz-Martin JM, Pacheco-Arjona JR, Bello-Rico V, et al (2016). A highly conserved metalloprotease effector enhances virulence in the maize anthracnose fungus *Colletotrichum graminicola*. *Mol Plant Pathol*, 17 (7): 1048–1062
- Shi XZ, Feng XW, Sun JJ, et al (2016). Involvement of a LysM and putative peptidoglycan-binding domain-containing protein in the antibacterial immune response of kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*. *Fish Shellfish Immunol*, 54: 489–498
- Shinya T, Yamaguchi K, Desaki Y, et al (2014). Selective regulation of the chitin-induced defense response by the Arabidopsis receptor-like cytoplasmic kinase PBL27. *Plant J*, 79 (1): 56–66
- Takahara H, Hacquard S, Kombrink A, et al (2016). *Colletotrichum higginsianum* extracellular LysM proteins play dual roles in appressorial function and suppression of chitin-triggered plant immunity. *New Phytol*, 211 (4): 1323–1337
- Tian H (2020). Functional and structural characterization of LysM proteins in interactions between fungi and plants (dissertation). Wageningen: Wageningen University and Research
- Wang FF (2016). Cloning ZmLysM receptor genes of *Zea mays* and functional analysis (dissertation). Hefei: Anhui Agricultural University (in Chinese with English abstract) [王飞飞(2016). 玉米ZmLysM受体基因克隆及功能分析(学位论文). 合肥: 安徽农业大学]
- Wu YJ, Wu WZ (2021). Plant pattern recognition receptors and innate immunity. *Plant Physiol J*, 57 (2): 301–312 (in Chinese with English abstract) [吴玉俊, 吴旺泽(2021). 植物模式识别受体与先天免疫. 植物生理学报, 57 (2): 301–312]
- Xu J, Wang GL, Wang J, et al (2017). The lysin motif-containing proteins, Lyp1, Lyk7 and LysMe3, play important roles in chitin perception and defense against *Verticillium dahliae* in cotton. *BMC Plant Biol*, 17 (1): 148
- Yamaguchi K, Yoshimura Y, Nakagawa S, et al (2019). OsDRE2 contributes to chitin-triggered response through its interaction with OsRLCK185. *Biosci Biotechnol Biochem*, 83 (2): 281–290
- Yamaguchi K, Kawasaki T (2021). Pathogen- and plant-derived peptides trigger plant immunity. *Peptides*, 144: 170611
- Yuan MH, Jiang ZY, Bi GZ, et al (2021). Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. *Nature*, 592: 105–109
- Zgadzaj R, Garrido-Oter R, Jensen DB, et al (2016). Root nodule symbiosis in *Lotus japonicus* drives the establishment of distinctive rhizosphere, root, and nodule bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci USA*, 113 (49): E7996–E8005
- Zhang L, Yuan LB, Staehelin C, et al (2019). The lysin motif-containing receptor-like kinase 1 protein of banana is required for perception of pathogenic and symbiotic signals. *New Phytol*, 223 (3): 1530–1546
- Zipfel C, Oldroyd GE (2017). Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature*, 543 (7645): 328–336