УДК 575.852

© А.Н. Кириенко,
И.В. Леппянен, Е.А. Долгих

ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург

ОСОБЕННОСТИ ОРГАНИЗАЦИИ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ У РАСТЕНИЙ УНИКАЛЬНОГО КЛАССА РЕЦЕПТОРНЫХ КИНАЗ, СОДЕРЖАЩИХ LYSM-МОТИВЫ ВО ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ДОМЕНАХ

❀ **Проведен анализ современных данных о функционировании, структурной организации и эволюционных аспектах происхождения уникального класса LysM-рецепторов растений. Рецепторы растений с LysM-мотивами во внеклеточном домене служат посредниками в узнавании N-ацетилглюкозамин-содержащих соединений, что вызывает активацию защитных систем растения при взаимодействии с патогенными бактериями и грибами, либо формирование симбиоза при взаимодействии с симбиотическими микроорганизмами. В статье рассматриваются вопросы о возможных механизмах рецепции растением структурно-сходных микробных сигналов, ведущих к формированию устойчивости к фитопатогенам или развитию эндосимбиозов, и роль LysM-содержащих рецепторов в этих процессах.**

❀ **Ключевые слова:** симбиоз; LysM-содержащие рецепторы; Nod-факторы; Myc-факторы; пептидогликаны; элиситоры патогенов.

ВВЕДЕНИЕ

Растения находятся в постоянном взаимодействии с почвенной микрофлорой, и характер отношений между ними в значительной степени определяется способностью растений распознавать на молекулярном уровне отличительные особенности микроорганизмов. Процесс взаимного узнавания между микроорганизмами и растениями происходит посредством восприятия партнерами как поверхностных компонентов, так и секретируемых в среду веществ, действующих в малых концентрациях и способных вызывать каскад ответных реакций у организма-партнера. Не случайно анализ геномов модельных растений *Arabidopsis thaliana* и *Medicago truncatula* позволил выявить более 500 специфичных рецепторов, что, например, в десятки раз превышает количество рецепторов у животных (Yahyaoui et al., 2004). Природа этих сигналов и то, как они воспринимаются чувствительными системами рецепции растений, является важным аспектом растительно-микробных взаимодействий (Boller, 1995).

У микроорганизмов выявлен целый ряд соединений, которые эффективно распознаются рецепторными системами растений и вызывают иммунный ответ — флагеллины, бактерий липополисахариды, разнообразные гликаны и многие другие. Среди таких соединений особый класс составляют молекулы, содержащие в своем составе N-ацетилглюкозамин — пептидогликан муреин и его производные (представлены чередующимися остатками N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты), а также хитин и его низкомолекулярные производные (хитоолигосахариды, Nod-факторы и Myc-факторы), мономерными остатками которых является N-ацетилглюкозамин. N-ацетилглюкозамин-содержащий остов муреина, основного компонента клеточной стенки бактерий, является важным для иммуногенной активности этого соединения при действии на растения (Gust et al., 2007). Другим соединением, участвующим в активации иммунной системы растений, является полимер хитин (состоящий из остатков N-ацетилглюкозамина, связанных β-1,4-гликозидной связью), который является основным структурным компонентом клеточной стенки грибов. В результате взаимодействия растений с фитопатогенными бактериями и грибами под действием растительных гидролитических ферментов происходит деструкция полимеров клеточной стенки бактерий и грибов, что приводит к появлению низкомолекулярных производных этих соединений (фрагментов муреина и хитоолигосахаридов). Наряду с полимерами эти соединения также являются мощными стимуляторами (элиситорами) защитных реакций у растений.

У микроорганизмов, формирующих симбиозы с высшими растениями, выявлен другой класс соединений, по структуре очень напоминающих «декорированные» хитоолигосахариды. Эти соединения — Nod-факторы и Myc-факторы, представляют собой липохитоолигосахариды, поскольку имеют в своем составе жирную кислоту. Бактерии порядка *Rhizobiales* выделяют Nod-факторы (от англ. nodulation — клубенькообразование), состоящие из нескольких остатков N-ацетилглюкозамина ($n = 2-6$), соединенных β-1,4-гликозидной связью, которые содержат жирную кислоту на нередуцирующем конце молекулы, а также ряд других заместителей (ацетил, сульфат, карбамоил, фукозил) (Denarie, Cullimore, 1993; Geremia et al., 1994; Denarie

Поступила в редакцию 18.07.2013
Принята к публикации 20.11.2013

et al., 1996; Spaink, 1996; Perret et al., 2000). Разнообразие структуры Nod-факторов определяет хозяйскую специфичность ризобий по отношению к растениям, а изменения в структуре Nod-факторов ведут к смене круга хозяев. В результате взаимодействия с Nod-факторами у растений развивается ряд ответных реакций, которые приводят к развитию на корнях новых органов — клубеньков, в которых видоизмененные ризобии осуществляют процесс азотфиксации.

Грибы арбускулярной микоризы (АМ) также выделяют липохитоолигосахаридные соединения — факторы микоризообразования (Myc-факторы). Относительно недавно группе исследователей удалось определить структуру этих соединений, выделяемых грибом АМ *Rhizophagus irregularis* (ранее *Glomus intraradices*) (Maillet et al. 2011). Анализ экстрактов прорастающих спор гриба, а также экссудата корней моркови, колонизированных *Rh. irregularis,* показал присутствие тетрамерных олигомеров N-ацетилглюкозамина, содержащих сульфатную группу и жирную кислоту (C16:0 или C18:0, C18:1) на терминальном нередуцирующем сахарном остатке. Таким образом, Myc-факторы структурно очень похожи на Nod-факторы. Анализ биологической активности этих молекул показал, что они повышают микоризацию растений *Medicago truncatula, Tagetes patula* и *Daucus carota* (Maillet et al. 2011).

Исследования последних лет позволили выявить белки-рецепторы, вовлеченные в узнавание соединений микроорганизмов, состоящих из остатков N-ацетилглюкозамина. Оказалось, что эти белки относятся к уникальному классу рецепторов, содержащих LysM-мотивы во внеклеточных доменах. Название LysM эти мотивы получили от бактериолизинов — литических ферментов, представляющих собой муреингидролазы и участвующих в расщеплении муреина. Присутствие в растительных белках-рецепторах LysM-мотивов указывает на возможность участия их в связывании соединений, состоящих из остатков N-ацетилглюкозамина. Структурное сходство соединений, построенных из остатков N-ацетилглюкозамина, а также участие в распознавании этих молекул представителей одного и того же класса рецепторов поднимает вопросы не только о возможных механизмах работы системы лиганд-рецептор у растений, но и об эволюционных изменениях, которые привели к развитию тонкого и точного механизма различения соединений, вызывающих развитие защитных реакций или формирование симбиоза.

Особенности рецепции у растений N-ацетилглюкозамин-содержащих соединений, вызывающих развитие защитных реакций

Как было отмечено ранее, одними из основных соединений, вызывающими у растений активацию защитных систем, являются муреин бактерий и хитин, содержащийся в клеточной стенке грибов, а также их низкомолекулярные производные. Элиситорная активность этих соединений зависит от степени олигомеризации и ацетилирования молекул и проявляется при достаточно низких концентрациях. Это указывает на наличие у растений рецепторов к этим соединениям (Baureithel et al., 1994). И действительно, для отдельных растений были изучены строение и механизмы работы LysM-рецепторов, контролирующих активацию защитных реакций при связывании с соединениями, состоящими из остатков N-ацетилглюкозамина.

Первым выявленным рецепторным белком, вовлеченным в связывание с хитином и хитоолигосахаридами, был белок OsCEBiP у риса (от англ. — Chitin Elicitor Binding Protein) (Kaku et al., 2006). Показано, что рецептор CEBiP содержит два внеклеточных LysM-мотива, является интегральным мембранным белком без киназного домена и играет важную роль в связывании хитина и хитоолигосахаридов на поверхности клеток и активации сигнального каскада в ответ на действие этих молекул (Kaku et al., 2006). Искусственное подавление экспрессии этого рецепторного белка («сайленсинг») приводит к значительному снижению уровня проявления защитных реакций у риса в ответ на обработку хитином и хитоолигосахаридами. Отсутствие у рецептора CEBiP киназного домена, отвечающего за передачу сигнала, указывает на возможность его работы в комплексе с другим рецепторным белком, обладающим функциональным киназным доменом (Kaku et al., 2006, Shimizu et al., 2010). Действительно, позднее у риса был выявлен другой рецепторный белок OsCERK1 (от англ. Chitin Elicitor Receptor Kinase 1), вовлеченный в связывание хитоолигосахаридов (Miya et al., 2007, Wan et al., 2008). Мембранный LysM-содержащий рецептор *Os*CERK1 содержит один консервативный LysM-мотив и два LysM-подобных мотива во внеклеточном домене, трансмембранный домен и активную серин-треониновую киназу (Shimizu et al., 2010). Мутации по гену *OsCERK1* приводят к значительному подавлению защитных реакций в клетках риса, обработанного хитоолигосахаридами, что указывает на важную роль *Os*CERK1 в их развитии. Анализ возможного взаимодействия белков *Os*CEBiP и *Os*CERK1 с помощью двугибридной дрожжевой системы, показал, что оба белка обладают способностью формировать гетеродимеры. Было выявлено, что у риса основная масса белка *Os*CEBiP существует в виде гомодимера в плазматической мембране, но при связывании с хитоолигосахаридами белки *Os*CEBiP и *Os*CERK1 способны формировать гетеродимерный рецепторный комплекс, что вызывает активацию сигнального каскада (Shimizu et al., 2010).

У другого растения, *Arabidopsis*, *At*CERK1 представляет собой самостоятельно работающую рецепторную киназу, содержащую в отличие от *Os*CERK1 три консервативных LysM-мотива во внеклеточном домене, а также функциональный внутриклеточный домен — серин/трео-

ниновую киназу. Показано, что мутанты растений по этому гену полностью теряют способность отвечать на действие хитоолигосахаридов (Miya et al., 2007, Wan et al., 2008). Кроме того, в экспериментах по гетерологичной экспрессии белка было показано, что внеклеточный домен *At*CERK1 непосредственно вовлечен в связывание хитина и хитоолигосахаридов, но не связывается с близкими по химическому строению олигомерами N-ацетилгалактозамина и хитозаном (Iizasa, 2010). У *Arabidopsis* наиболее сильная активация защитных реакций происходит при действии хитоолигосахаридов со степенью полимеризации 7 и 8 остатков N-ацетилглюкозамина. Рецепторная киназа *At*CERK1 способна связывать и более короткие олигомеры хитина, но при этом не происходит активации защитных реакций у растения, тогда как ХОС со степенью полимеризации $n=7-8$ являются сильными индукторами иммунитета растений. В основе таких различий лежит способность *At*CERK1 формировать гомодимерный рецепторный комплекс только при связывании гепта- и октамеров хитина (при этом часть молекулы лиганда связывается с одной молекулой белка-рецептора, а оставшаяся часть — с другой молекулой белка-рецептора), что приводит к активации киназного домена и передаче сигнала (Liu T. et al., 2012). Тетрамерные и пентамерные хитоолигосахариды ($n=4-5$) не способны «объединять» молекулы белка в гомодимерном комплексе.

Недавно у *Arabidopsis* был выявлен мутант по гену *lyk4,* характеризующийся повышенной чувствительностью к патогенному грибу *Alternaria brassicicola* и значительно сниженным уровнем ответных реакций при обработке растений хитином и хитоолигосахаридами (Wan et al., 2012). В отличие от мутанта по гену *cerk1,* у *lyk4* не наблюдали полного блокирования ответных реакций на действие хитина и хитоолигосахаридов. Вероятно, *At*LYK4, представляющая собой интегральную мембранную LysM-рецепторную киназу, может принимать участие в связывании лиганда, возможно как ко-рецептор *At*CERK1 (Wan et al., 2012).

Анализ геномов других растений позволил также выявить LysM-содержащие рецептор-подобные киназы, участвующие в связывании хитина и хитоолигосахаридов. В частности, у томата *Solanum lycopersicum* выявлены белки — *Sl*Bti9 и *Sl*Lyk13, показывающие сходство по аминокислотной последовательности с *At*CERK1 (Zeng et al., 2012), у ячменя *Hordeum vulgaris* — белок *Hv*CEBiP, являющийся гомологом *Os*CEBiP (Tanaka et al., 2010). *Sl*Bti9 и *Sl*Lyk13 у томата, а также *Hv*CEBiP у ячменя участвуют в узнавании хитина и хитоолигосахаридов и последующей активации защитных реакций растений при заражении фитопатогенными грибами (Tanaka et al., 2010; Zeng et al., 2012).

Интересно, что у *Arabidopsis* рецептор *At*CERK1 в комбинации с двумя другими дополнительными LysM-белками *At*LYP2 и *At*LYP3 участвует также в связывании муреина и его производных. При этом происходит формирование гетеромерного рецепторного комплекса между *At*CERK1 и *At*LYP2, *At*LYP3 (Willmann et al., 2011). Были получены экспериментальные доказательства того, что белки *At*LYP2 и *At*LYP3 необходимы только для распознавания муреина и играют важную роль в развитии устойчивости *Arabidopsis* к бактериальной инфекции. Однако эти белки не участвуют в связывании хитина, поскольку у мутантов с нарушением экспрессии *AtLYP2* и *AtLYP3* не выявлено отличий от дикого типа в ответ на обработку хитином и хитоолигосахаридами (Shinya et al., 2012, Wan et al., 2008; Willmann et al., 2011; Shinya et al., 2012). У другого растения, риса, недавно были выявлены гомологи *At*LYP2 и *At*LYP3 — *Os*LYP4 и *Os*LYP6, которые также необходимы для связывания муреина (Liu et al., 2012). Таким образом, при формировании различных комплексов с вспомогательными белками-рецепторами реализуется способность растений узнавать близкие по строению соединения, состоящие из остатков N-ацетилглюкозамина.

Особенности рецепции N-ацетилглюкозамин-содержащих соединений при развитии симбиозов растений с грибами арбускулярной микоризы и азотфиксирующими бактериями порядка Rhizobiales

Исследования последних лет внесли значительный вклад в расшифровку молекулярных и клеточных механизмов, которые приводят к развитию двух различных эндосимбиозов — симбиоза растений с грибами АМ и с азотфиксирующими бактериями порядка *Rhizobiales*.

Симбиоз с грибами АМ формируется между представителями отдела *Glomeromycota* и различными растениями (более 80 % наземных растений формируют эндомикоризный симбиоз). Грибы АМ являются облигатными биотрофами, жизненный цикл которых зависит от формирования симбиоза с растением. После обмена сигналами между партнерами, гриб колонизирует поверхность корня, формирует апрессории и проникает в ризодерму между клетками (или непосредственно через клетки) (Dickson, 2004). После прорастания гиф гриба через внешние слои клеток и клетки внутренней коры, гриб формирует арбускулы (разветвленные внутриклеточные структуры, определяющие обмен питательными веществами и сигналами между партнерами) (Gianinazzi-Pearson, 1996).

Растения семейства *Fabaceae*, а также представители единственного рода *Parasponia* семейства *Cannabaceae,* формируют симбиозы с азотфиксирующими бактериями порядка *Rhizobiales,* получившими обобщенное название ризобии. Избирательность взаимного узнавания между бактериями и растением определяется секрецией и рецепцией сигнальных молекул партнеров. Nod-факторы, выделяемые ризобиями, запускают комплекс спе-

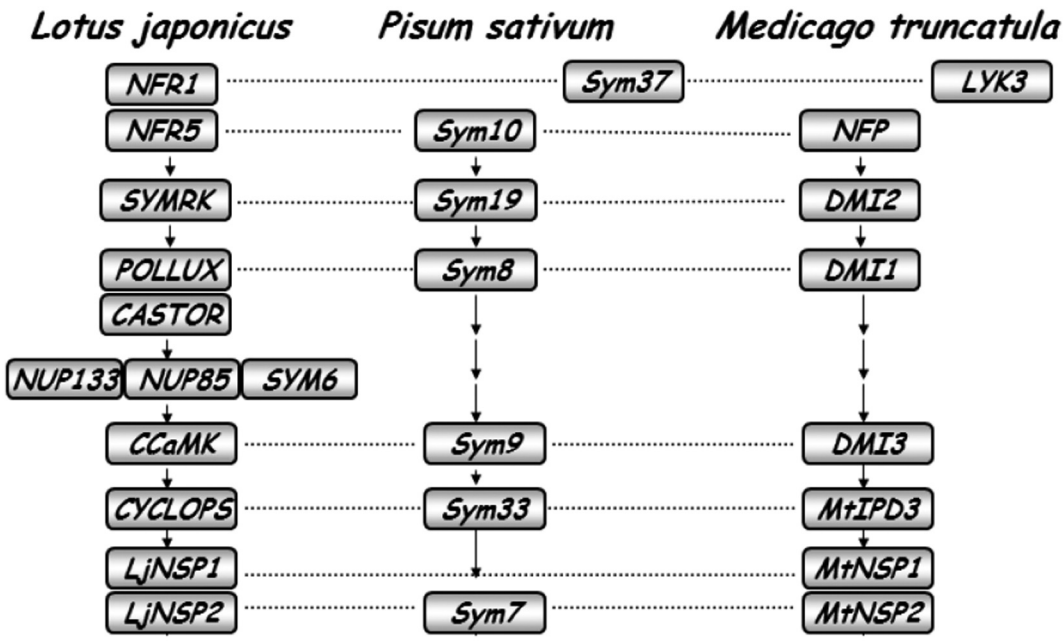

Рис. 1. Генетический контроль рецепции Nod-факторов и передачи сигнала у бобовых растений *L. japonicus*, *M. truncatula* и *P. sativum*

цифичных ответов в эпидермисе, перицикле и коре корня растения, тем самым обеспечивая основу для последующего проникновения ризобий в клетки растений, развития инфекции и морфогенеза клубеньков.

Как оказалось, в связывание Nod- и Myc-факторов, выделяемых симбиотическими микроорганизмами, также вовлечены LysM-содержащие рецептор-подобные киназы (LysM-РПК). У модельных бобовых растений лядвенца японского *L. japonicus* и люцерны слабоусеченной *M. truncatula* LysM-РПК относятся к двум семействам: LYR и LYK, отличающимся тем, что только у представителей семейства LYK присутствует функциональный киназный домен (Arrighi et al., 2006; Lohmann et al., 2010; Shiu et al., 2004; Zhang et al., 2007). В киназном домене LYR белков отсутствует важный регуляторный участок, поэтому он не функционален. В рецепцию Nod-факторов вовлечены LysM-РПК как LYR, так и LYK семейств: у *L. japonicus* — *Lj*NFR5 (LYR) и *Lj*NFR1 (LYK) (Madsen et al., 2003; Radutoiu et al., 2003), гомологичные белки выявлены у *M. truncatula* — *Mt*NFP (LYR) и *Mt*LYK3 (LYK), а также у гороха — *Ps*SYM10 (LYR) и *Ps*SYM37 (LYK) (Limpens et al., 2003; Arrighi et al., 2006; Smit et al., 2007). У *L. japonicus* оба рецепторных белка *Lj*NFR5 и *Lj*NFR1 абсолютно необходимы для инициации развития бобово-ризобиального симбиоза (рис. 1) (Radutoiu et al. 2003). Из-за структурных особенностей киназный домен *Lj*NFR5 не способен к автофосфорилированию, тогда как *Lj*NFR1 содержит функциональный киназный домен. Получен ряд доказательств, указывающих на то, что *Lj*NFR5 и *Lj*NFR1 формируют гетеродимерный рецепторный комплекс при связывании Nod-факторов, что приводит к активации сигнального каскада у *L. japonicus*. В частности, двойной мутант *L. japonicus* по генам *nfr5/nfr1* характеризуется практически полным блокированием ответных реакций растения на действие Nod-факторов (Radutoiu et al., 2007). Трансформация растений близкого вида *L. corniculatus* конструкцией для экспрессии двух генов *LjNFR5* и *LjNFR1* одновременно, определяла способность растения различать структурные особенности Nod-факторов, инициирующих симбиоз именно на растении *L. japonicus*. Наконец, недавно было показано, что оба рецептора *Lj*NFR5 и *Lj*NFR1 связываются с Nod-факторами (Broghammer et al., 2012).

Анализ мутантов *M. truncatula* по генам *Mtnfp* и *Mtlyk3* показал, что только у мутанта по гену *Mtnfp* наблюдается полное блокирование ответных реакций на инокуляцию ризобиями и действие Nod-факторов. У мутанта по гену *Mtlyk3*, напротив, ранние симбиотические реакции развивались, но блокирование развития симбиоза наблюдалось на более поздней стадии — при формировании инфекционных нитей и развитии инфекции (Limpens et al., 2003; Arrighi et al., 2006; Smit et al., 2007). Эти данные позволили сделать вывод о том, что у *M. truncatula* в связывании Nod-факторов могут участвовать два отдельных рецепторных комплекса (рис. 1). Компонентом рецепторного комплекса, активация которого происходит при инициации симбиоза, может являться *Mt*NFP (у мутанта по этому гену ответные реакции на инокуляцию ризобиями полностью отсутствуют). Киназный домен рецептора *Mt*NFP не способен к фосфорилированию (Arrighi et al., 2006), что указывает на возможность формирования гетеродимера между *Mt*NFP и дополнительной LysM-РПК с функциональной киназой, которая еще не выявлена. Другой рецептор

*Mt*LYK3 характеризуется более строгой специфичностью по отношению к структуре Nod-факторов и активируется при развитии инфекции (Limpens et al., 2003; Smit et al., 2007). Функционирует ли *Mt*LYK3 в виде гомодимера или гетеродимера в комплексе с каким-либо другим белком остается не ясным.

Сходная картина наблюдается и у другого бобового растения — гороха посевного *P. sativum* L., у которого выявлены также две различных LysM-РПК — *Ps*SYM10 и *Ps*SYM37, которые могут быть вовлечены в связывание Nod-факторов (Madsen et al., 2003; Radutoiu et al., 2007; Zhukov et al., 2008). Мутации по гену *Pssym10*, кодирующему LysM-РПК с не функциональной киназой, полностью блокируют развитие ответных реакций растений на инокуляцию ризобиями и действие Nod-факторов (Madsen et al., 2003). У мутантов по гену *Pssym37* нарушается развитие инфекции, но ранние симбиотические реакции в ответ на инокуляцию не блокируются. На основании этих данных полагают, что *Ps*SYM10 вовлечен в рецепцию Nod-факторов на самых ранних этапах развития симбиоза (вероятно, в комплексе с другой LysM-РПК с активным киназным доменом, которая в настоящее время еще не выявлена), а *Ps*SYM37 активируется позже, во время проникновения ризобий в клетки корня (при развитии инфекции) (рис. 1). *Ps*SYM37 контролирует развитие инфекционного процесса зависимым от структуры Nod-фактора образом (Zhukov et al., 2008; Li et al., 2011). Следует отметить, что у гороха выявлен ген *PsSym2*, который в настоящее время не клонирован, но также контролирует развитие инфекции зависимым от структуры Nod-фактора образом (Geurts et al., 1997). Такая специфичность указывает на возможность того, что *Ps*SYM2 также является рецептором, работающим на более поздних этапах развития симбиоза (возможно, совместно с *Ps*SYM37). Таким образом, несмотря на структурное сходство между LysM-РПК *L. japonicus, M. truncatula* и *P. sativum*, механизмы функционирования рецепторов к Nod-факторам у люцерны и гороха отличаются от лядвенца. Эти данные подтверждают выдвинутую ранее гипотезу о возможном участии в узнавании Nod-факторов у *M. truncatula* и гороха двух типов рецепторов («рецептора узнавания» от англ. signaling receptor и «рецептора проникновения» от англ. entry receptor), работающих на разных этапах развития симбиоза (Ardourel et al., 1994; Albrecht et al., 1999; Walker and Downie, 2000). Согласно этим представлениям, первый тип рецептора мало специфичен в отношении структуры Nod-фактора и работает при инициации симбиоза, а другой — строго специфичен в отношении структуры Nod-фактора и контролирует развитие инфекционного процесса.

Остается далеким от понимания то, как осуществляется рецепция Myc-факторов у растений, поскольку в литературе представлено мало данных по этому вопросу. Только для модельного бобового растения *M. truncatula* получены данные о том, что LysM-РПК *Mt*LYR1 семейства LYR (рецепторы, не содержащие функционального киназного домена) активируется при формировании симбиоза с грибами арбускулярной микоризы *Rh. irregularis*, что может указывать на ее участие в распознавании сигналов от грибов АМ (Gomez et al., 2009). Вместе с тем у *M. truncatula* выявлена также LYR3 (LysM-РПК LYR семейства), которая способна связывать как Myc-факторы с высокой аффинностью, так и Nod-факторы. Дальнейшие эксперименты по подавлению экспрессии этого гена позволят выяснить, какую роль играет данный рецептор в развитии арбусулярной микоризы или бобово-ризобиального сибиоза (Fliegmann J. et al., 2013).

Кроме того, изучение единственного представителя небобовых растений рода *Parasponia*, формирующего симбиоз с клубеньковыми бактериями, привело к выявлению гена *PaNFP*, относящегося к семейству LYR, который является гомологом *MtNFP* и *LjNFR5*. Было показано, что кодируемый этим геном белок необходим для инициации как симбиоза с ризобиями, так и грибами АМ, то есть может выполнять функцию рецептора как для Nod-факторов, так и для Myc-факторов (Op den Camp et al. 2010).

Особенности рецепции Nod- и Myc-факторов у небобового растения Parasponia

Симбиоз растений с эндомикоризными грибами — намного более древняя система, чем бобово-ризобиальный симбиоз. Способность к ее образованию возникла на заре эволюции наземных растений (400–500 млн лет назад) (Проворов и др., 2002). В отличие от симбиоза с грибами АМ, бобово-ризобиальный симбиоз возник в меловом периоде (60–70 млн лет назад) (Doyle, 1997). Ряд исследователей предположили (Gianinazzi-Pearson, 1996; Gherbi, 2008), что часть регуляторов, контролирующих передачу сигнала от Nod-фактора, могла быть «заимствована» бобовыми из более древней системы, регулирующей симбиоз растений с эндомикоризными грибами. По-видимому, в процессе ко-эволюции с растениями ризобии приобрели способность синтезировать сигнальные молекулы, сходные по структуре с Myc-факторами, выделяемыми микоризными грибами (Проворов и др., 2002). Это указывает на возможность существования у растений универсального рецептора, узнающего как Nod-факторы, так и Myc-факторы. Однако при идентификации кандидатов на роль рецепторов к Nod-факторам у бобовых, были получены убедительные доказательства того, что у них существуют отдельные рецепторы к Myc-факторам, активирующие компоненты «общего» сигнального пути (Ben Amor et al., 2003; Madsen et al., 2003).

Были предложены две гипотезы, объясняющие происхождение рецепторов к Nod-факторам у бобовых растений. Согласно первой — рецепторы к Nod-факторам возникли вследствие дупликации генов, кодирующих

рецепторы к Myc-факторам (Zhang et al., 2009). Эти рецепторы приобрели новую функцию в процессе коэволюции со специфичными видами ризобий. Согласно второй гипотезе рецепторы к Nod-факторам у бобовых возникли независимо, но в процессе эволюции они приобрели способность взаимодействовать с компонентами сигнального каскада, контролирующими развитие симбиоза с эндомикоризными грибами.

Недавно у представителя семейства *Cannabaceae* — *Parasponia andersonii* был выявлен рецептор *Pa*NFP, показавший высокую степень гомологии с рецептором NFP *M. truncatula* (Op den Camp et al., 2011). Эксперименты показали, что *Pa*NFP выполняет двойную функцию — контролирует инициацию развитие азотфиксирующего симбиоза и симбиоза с грибами арбускулярной микоризы. Это свидетельствует в пользу гипотезы о том, что рецепторы к Nod-факторам возникли вследствие дупликации генов, кодирующих рецепторы к Myc-факторам и в дальнейшем приобрели способность узнавать модифицированные молекулы — Nod-факторы ризобий.

Особенности передачи сигнала при связывании растениями N-ацетилглюкозамин-содержащих соединений

Анализ представленных данных позволяет сделать вывод о том, что специфичность узнавания структурно-сходных молекул фитопатогенных и симбиотических микроорганизмов контролируется, прежде всего, при связывании лигандов с LysM-содержащими рецепторами. Однако распознавание структуры соединений, поступающих от микроорганизмов, происходит не только при связывании лиганда с внеклеточными доменами LysM-РПК, но определяется также особенностями строения киназных доменов этих рецепторов. Так, сравнительный анализ выявил значительное сходство последовательностей киназных доменов рецептора к хитину *At*CERK1 и рецепторов бобовых к Nod-факторам — *Lj*NFR1, *Mt*LYK3 и *Ps*SYM37 (Nakagawa et al., 2011). При этом отличительной особенностью киназных доменов рецепторов к Nod-факторам является наличие в них короткой последовательности из трех аминокислот YAQ (тирозина, аланина и глутамина), характерной только для «симбиотических» рецепторов, тогда как у *At*CERK1 в киназном домене такой последовательности нет (Nakagawa et al., 2011). Эксперименты по трансформации мутантных растений лядвенца по гену *nfr1* конструкциями для экспрессии химерных рецепторов, содержащих внеклеточный и трансмембранный домены *Lj*NFR1 рецептора лядвенца *L. japonicus*, но при этом киназный домен рецептора арабидопсиса *At*CERK1, показали отсутствие у них способности вступать в симбиоз. Однако введения YAQ в последовательность киназного домена *At*CERK1 в химерном рецепторе было достаточно для восстановления способности растений, экспрессирующих химерные рецепторы, устанавливать симбиотические отношения с *M. loti* (Nakagawa et al., 2011). Отличия в строении киназных доменов рецепторов, связывающих хитоолигосахариды и Nod-факторы, указывают на возможность взаимодействия активированного рецептора со специфичными компонентами сигнальных путей, что ведет либо к активации защитных систем растения, либо установлению симбиотических отношений.

При развитии симбиозов растений с грибами АМ и ризобиями происходит формирование морфологически совершенно разных структур, однако гены, контролирующие передачу сигнала от Nod- и Myc-факторов, являются общими для двух процессов. Первым подтверждением этого стало обнаружение мутантов гороха, неспособных к обоим типам симбиоза (Duc G, 1989). В дальнейшем мутанты по «общим» симбиотическим генам были обнаружены у *M. truncatula, L. japonicus*, *M. sativa, Phaseolus vulgaris, Vicia faba и Mielotus alba* (Gianinazzi-Pearson, 1996). В настоящее время исследования, проведенные на модельных бобовых *M. truncatula* и *L. japonicus,* привели к идентификации генов, кодирующих компоненты, которые контролируют развитие как симбиоза с грибами АМ, так и бобово-ризобиального симбиоза. Эти гены были выделены в так называемый «общий» сигнальный путь (ОСП) (Kouchi et al. 2010). У модельных растений ОСП включает набор довольно консервативных генов, кодирующих мембранную LRR-рецепторную киназу (*Mt*DMI2/*Lj*SYMRK), несколько компонентов ядерной оболочки таких как *Lj*NUP133, *Lj*NUP85, K^+-зависимый ионный каналы (*Mt*DMI1/*Lj*CASTOR и *Lj*POLLUX), расположенные в ядре Ca^{2+}/кальмодулин-зависимые киназы (CCaMK) (*Mt*DMI3/*Lj*CCaMK) и белки, взаимодействующие с CCaMK (*Mt*IPD3/*Lj*CYCLOPS), а также транскрипционные факторы *Mt*NSP1/*Lj*NSP1 и *Mt*NSP2/*Lj*NSP2 (рис. 1).

Вместе с тем анализ литературных данных указывает на значительное «перекрывание» сигнальных путей, активируемых при рецепции N-ацетилглюкозамин-содержащих соединений. Известно, что хитоолигосахариды способны индуцировать в периплазме клеток колебания концентрации внутриклеточного кальция у *M. truncatula* и *L. japonicus*, сходные с теми, которые вызывают Nod-факторы (Walker et al., 2000; Oldroyd et al., 2001). Хитоолигосахариды способны индуцировать экспрессию симбиоз-специфичных генов, таких как *LjNSP1* и *LjNSP2* (Nakagawa et al., 2011). В свою очередь Nod-факторы способны активировать некоторые защитные реакции у растений. В частности, анализ профиля экспрессирующихся генов у *L. japonicus* в ответ на обработку Nod-факторами и хитоолигосахаридами у *L. japonicus* показал, что в обоих случаях индуцируется экспрессия около 150 «общих» генов, в том числе генов, кодирующих защитные ферменты пероксидазу и хитиназу, а также генов биосинтеза специфичных для бобовых фитоалексинов — птерокарпанов (Nakagawa et al., 2011). Кроме того, инокуляция бобовых растений ризобиями вызывает экспрессию генов, кодирующих защитные

ферменты халконсинтазу, фенилаланин-аммоний-лиазу и изофлавонредуктазу, а также синтез фитоалексинов и индукцию формирования активных форм кислорода, хотя эти реакции менее выражены и кратковременны (Savouré et al., 1997; Cardenas et al., 2008). Вероятно, дальнейшее выяснение того, что определяет у растений специфичность развития симбиотических или защитных реакций при связывании N-ацетилглюкозамин-содержащих соединений в значительной степени будет связано с выявлением и изучением механизмов работы рецепторов к этим молекулам у растений.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Остается открытым вопрос о том, почему способность формировать азотфиксирующий симбиоз ограничена семейством бобовых и единственным представителем семейства *Cannabaceae* — родом *Parasponia*, в то время как способность формировать симбиоз с грибами АМ распространена довольно широко (Проворов, 2002). Накапливающиеся данные позволяют проследить эволюционные изменения, произошедшие в растениях и определившие их способность распознавать сигнальные молекулы микроорганизмов, состоящие из остатков N-ацетилглюкозамина. В процессе параллельной эволюции с растениями бактерии ризобии приобрели способность синтезировать Nod-факторы — соединения, сходные по структуре с Myc-факторами, что позволило им использовать более древний механизм развития АМ для формирования нового типа симбиоза. Такой азотфиксирующий симбиоз дал значительное эволюционное преимущество обоим партнерам.

Вероятно, у бобовых растений возможность узнавать Nod-факторы ризобий появилась в результате дупликации генов и приобретения паралогом гена функции рецептора к этим сигнальным молекулам. Об этом свидетельствует тот факт, что рецепторы к Nod-факторам активируют сигнальный каскад, в который вовлечены те же самые компоненты, передающие сигнал и при развитии АМ.

Вместе с тем вопрос об эволюционном предшественнике всей группы рецепторов к N-ацетилглюкозамин-содержащим соединениям остается открытым. Структурное сходство соединений микроорганизмов, способных вызывать развитие защитных и симбиотических реакций у растений, сходство доменной структуры рецепторов к таким соединениям, а также сходство механизмов работы рецепторов, предполагающих формирование гетеро- и олигомерных комплексов при связывании лиганда, позволяют предположить, что данная группа рецепторов эволюционировала от одного общего предка. Не существует однозначного мнения о том, какой тип рецептора был первичным, а именно: приводящий к развитию защитных реакций у растений или к установлению симбиотических отношений при узнавании N-ацетилглюкозамин-содержащих соединений. Для поддержания возможности существования растения должны обладать эффективными системами распознавания поверхностных компонентов и секретируемых в среду соединений микроорганизмов, прежде всего, для выявления потенциальных патогенов. Таким образом, вероятно, на начальной ступени эволюции LysM-содержащих рецепторов, отвечающих за узнавание N-ацетилглюкозамин-содержащих сигналов, мог появиться рецептор-предшественник, который выполнял защитную функцию. Так как выход растений на сушу и расселение стали возможными, по-видимому, благодаря симбиотическим микроорганизмам (прежде всего, грибам АМ), можно предположить, что симбиотические рецепторы являются эволюционно более молодыми по сравнению с рецепторами, обеспечивающими развитие защитных реакций у растений.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России ГК № 16.552.11.7085 с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология», РФФИ 11–04–01689-а, Совета по грантам Президента РФ, № 16.120.11.337-НШ, Минобрнауки России соглашение № 8056 (выполнение исследований в рамках НОЦ).

ЛИТЕРАТУРА

1. Жуков В.А., Рычагова Т.С., Штарк О.Ю. и др. (2008) **Генетический контроль специфичности взаимодействия бобовых растений с клубеньковыми бактериями.** *Экологическая генетика.* Т. VI.(4): С. 12–19.
2. Проворов Н.А., Борисов А.Ю., Тихонович И.А. (2002) **Сравнительная генетика и эволюционная морфология симбиозов растений с микробами-азотфиксаторами и эндомикоризными грибами.** *Журн. общ. биол.* Т. 63(6): С. 451–472.
3. Albrecht C., Geurts R., Bisseling T. (1999) **Legume nodulation and mycorrhizal formation; two extremes in host specificity meet.** *The EMBO Journal.* V. 18(2): P. 281–288.
4. Ardourel M., Demont N., Debelle F.D., et al. (1994) **Rhizobium meliloti lipooligosaccharide nodulation factors: different structural requirements for bacterial entry into target root hair cells and induction of plant symbiotic developmental responses.** *Plant Cell.* V. 6: P. 1357–1374.
5. Arrighi J.F., Barre A., Ben Amor B., et al. (2006) **The Medicago truncatula lysin motif- receptor-like kinase gene family includes NFP and new nodule-expressed genes.** *Plant Physiol.* V. 142: P. 265–279.
6. Baureithel K., Felix G., Boll T. (1994) **Specific, High Affinity Binding of Chitin Fragments to Tomato Cells and Membranes.** *The Journal of Biological Chemistry.* V. 269(27): P. 17931–17938.

7. Ben Amor B., Shaw S. L., Oldroyd G. E. D., et al. (2003) **The NFP locus of Medicago truncatula controls an early step of Nod factor signal transduction upstream of a rapid calcium flux and root hair deformation.** *Plant J.* V. 34: P. 495–506.
8. Buist G., Steen A., Kok J., Kuipers O. P. (2008) **LysM, a widely distributed protein motif for binding to (peptido)glycans.** *Mol. Microbiol.* V. 68: P. 838–847.
9. Carlson R. W., Price N. P., Stacey G. (1994) **The biosynthesis of rhizobial lipo-oligosaccharide nodulation signal molecules.** *Mol Plant Microbe Interact.* V. 7(6): P. 684–695.
10. Dickson S. (2004) **The Arum-Paris continuum of micorrhizal symbioses.** *New Phytol.* V. 163: P. 186–200.
11. Duc G., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson S., et al. (1989) **First report of non- mycorrhizal plant mutant (Myc-) obtained in pea (Pisum sativum L.) and fababean (Vicia faba L.).** *Plant Sci.* V. 60: P. 215–222.
12. Fliegmann J., Canova S., Lachaud C., et al. (2013) **Lipo-chitooligosaccharidic symbiotic signals are recognized by LysM Receptor-Like Kinase LYR3 in the Legume Medicago truncatula.** *ACS Chem. Biol.,* V. 8(9): P 1900–1906.
13. Geiger O., Thomas-Oates J. E., Glushka J., et al. (1994) **Phospholipids of Rhizobium contain nodE-determined highly unsaturated fatty acid moieties.** *J. Biol. Chem.* V. 269(15): P. 11 090–11 097.
14. Geurts R., Heidstra R., Hadri A-E., et al. (1997) **Sym2 of Pisum sativum is involved in Nod factor perception mechanism that controls the infection process in the epidermis.** *Plant Physiology.* V. 115: P. 351–359.
15. Gherbi H., Markmann K., Svistoonoff S. et al. (2008) **SymRK defines a common genetic basis for plant root endosymbioses with arbuscular mycorrhiza fungi, rhizobia, and Frankia bacteria.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 105(12): P. 4928–4932.
16. Gianinazzi-Pearson V. (1996) **Plant Cell Responses to Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Getting to the Roots of the Symbiosis.** *Plant Cell.* V. 8(10): P. 1871–1883.
17. Gough C., Cullimore J. (2011) **Lipo-chitooligosaccharide Signaling in Endosymbiotic Plant-Microbe Interactions.** *Mol. Plant Microbe Interact.* V. 24(8): P. 867–878.
18. Gust A. A., Biswas R., Lenz H. D., et al. (2007) **Bacteria-derived peptidoglycans constitute pathogen-associated molecular patterns triggering innate immunity in Arabidopsis.** *The Journal Of Biological Chemistry.* V. 282(44): P. 32 338–32 348.
19. Iizasa E., Mitsutomi M., Nagano Y. (2010) **Direct binding of a plant LysM receptor-like kinase, LysM RLK1/CERK1 to chitin in vitro.** *J. Biol. Chem.* V. 285: P. 2996–3004.
20. Kaku H., Nishizawa Y., Ishii-Minami N., et al. (2006) **Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor.** *Proc. Natl. Acad. SciUSA.* V. 103: P. 11 086–11 091.
21. Kouchi H., Imaizumi-Anraku H., Hayashi M., et al. (2010) **How many peas in a pod? Legume genes responsible for mutualistic symbioses underground.** *Plant Cell Physiol.* V. 51: P. 1381–1397.
22. Li R., Knox M. R., Edwards A. et al. (2011) **Natural variation in host-specific nodulation of pea is associated with a haplotype of the SYM37 LysM-type receptor-like kinase.** *MPMI.* V. 24: P. 1396–1403.
23. Limpens E., Franken C., Smit P., et al. (2003) **LysM domain receptor kinases regulating rhizobial Nod factor-induced infection.** *Science.* V. 302. P. 630–633.
24. Liu B., Li J. F., Ao Y. et al. (2012). **Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity.** *Plant Cell.* V. 24: P. 3406–3419.
25. Liu T., Liu Z., Song C., et al. (2012) **Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor.** Science. V. 336: P. 1160–1164.
26. *Lohmann G. V., Shimoda Y., Nielsen M. W.* et al. (2010) **Evolution and regulation of the Lotus japonicus LysM receptor gene family.** Mol. Plant-Microbe Interact. V. 23: P. 510–521.
27. Madsen E. B., Antolin-Llovera M., Grossmann C., et al. (2011) **Autophosphorylation is essential for in vivo function of the Lotus japonicus Nod Factor Receptor 1 and receptor mediated signalling in cooperation with Nod Factor Receptor 5.** *Plant J.* V. 65: P. 404–417.
28. Madsen E. B., Madsen L. H., Radutoiu S., et al. (2003) **A receptor kinase gene of the LysM type is involved in legume perception of rhizobial signals.** *Nature.* V. 425: P. 637–640.
29. *Maillet F., Poinsot V., André O.* et al. (2011) **Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza.** *Nature.* V. 469: P. 58–63.
30. Miya A., Albert P., Shinya T., et al. (2007) **CERK1, a LysM receptor kinase, isessential for chitin elicitor signaling in Arabidopsis.** *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* V. 104: P. 19613–19618.
31. Nakagawa T., Kaku H., Shimoda Y., et al. (2011) **From defense to symbiosis: Limited alterations in the kinase domain of LysM receptor-like kinases are crucial for evolution of legume- Rhizobium symbiosis.** *Plant J.* V. 65. P. 169–180.
32. Ohnuma T., Onaga S., Murata K., et al. (2008) **LysM domains from Pteris ryukyuensis chitinase-A: A stability study and characterization of the chitin-binding site.** *J. Biol. Chem.* V. 283: P. 5178–5187.
33. Ohsten Rasmussen M., Hogg B., Bono J. J., et al. (2004) **New access to lipo-chitooligosaccharide nodulation factors.** *Org. Biomol.* V. 2: P. 1908–1910.
34. Op den Camp R., Streng A., De Mita S., et al. (2011) **LysM-type mycorrhizal receptor recruited for rhizo-**

bium symbiosis in nonlegume Parasponia. *Science*. V. 18: P. 909–912.
35. Petutschnig E. K., Jones A. M. E., Serazetdinova L., et al. (2010) **The LysM-RLK CERK1 is a major chitin binding protein in Arabidopsis thaliana and subject to chitin-induced phosphorylation.** J. Biol. Chem. V. 285(37): P. 28902–28911.
36. Radutoiu S., Madsen L. H., Madsen E. B., et al. (2003) **Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases.** *Nature*. V. 425: P. 585–592.
37. Radutoiu S., Madsen L. H., Madsen E. B., et al. (2007) **LysM domains mediate lipochitin- oligosaccharide recognition and Nfr genes extend the symbiotic host range.** *Eur. Mol. Biol. Organ. J.* V. 26: P. 3923–3935.
38. Shimizu T., Nakano T., Takamizawa D., et al. (2010) **Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice.** *The Plant Journal*. V. 64: P. 204–214.
39. Shinya T., Motoyama N., Ikeda A., et al. (2012) **Functional characterization of CEBiP and CERK1 homologs in Arabidopsis and rice reveals the presence of different chitin receptor systems in plants.** *Plant Cell Physiol*. V. 53: P. 1696–1706.
40. Shiu S. H., Karlowski W. M., Pan R. S., et al. (2004) **Comparative analysis of the receptor-like kinase family in Arabidopsis and rice.** *Plant Cell*. V. 16: P. 1220–1234.
41. Streng A., op den Camp R., Bisseling T., et al. (2011) **Evolutionary origin of rhizobium Nod factor signaling.** *Plant Signal Behav*. V. 6(10): P. 1510–1514.
42. Tanaka S., Ichikawa A., Yamada K., et al. (2010) **HvCEBiP, a gene homologous to rice chitin receptor CEBiP, contributes to basal resistance of barley to Magnaporthe oryzae.** *BMC Plant Biology*. V. 10(288): P. 1471–2229.
43. Walker S. A., Allan J., Downie J. A. (2000) **Entry of Rhizobium leguminosarum bv. viciae into root hairs requires minimal Nod factor specificity, but subsequent infection thread growth requires nodO or nodE.** *MPMI*. V. 13: P. 754–762.
44. Wan J., Tanaka K., Zhang X. C., et al. (2012) **LYK4, a lysin motif receptor-like kinase, is important for chitin signaling and plant innate immunity in Arabidopsis.** *Plant Physiol*. V. 160: P. 396–406.
45. Wan J., Zhang S., Stacey G. (2004) **Activation of a mitogen-activated protein kinase pathway in Arabidopsis by chitin.** *Mol. Plant Pathol*. V. 5: P. 125–135.
46. Wan J., Zhang X.-C., Neece D., et al. (2008) **A LysM Receptor-Like Kinase Plays a Critical Role in Chitin Signaling and Fungal Resistance in Arabidopsis.** *The Plant Cell*. V. 20: P. 471–481.
47. Willmann R., Lajunen H. M., Erbs G., et al. (2011) **Arabidopsis lysin-motif proteins LYM1 LYM3 CERK1 mediate bacterial peptidoglycan sensing and immunity to bacterial infection.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 108: P. 19824–19829.
48. Zeng L., Velásquez A. C., Munkvold K. R., et al. (2012) **A tomato LysM receptor- like kinase promotes immunity and its kinase activity is inhibited by AvrPtoB.** *Plant J*. V. 69(1): P. 92–103.
49. Zhang X., Cannon S., Stacey G. (2009) **Evolutionary genomics of LysM genes in land plants.** *BMC EV. Biol*. V. 3(9): P. 183.
50. Zhang X., Wu X., Findley S. (2007) **Molecular evolution of lysin motiftype receptor-like kinases in plants.** *Plant Physiol*. V. 144: P. 623–636.
51. Zhukov V., Radutoiu S., Madsen L. H., et al. (2008) **The pea Sym37 receptor kinase gene controls infection-thread initiation and nodule development.** *Mol. Plant-Microbe Interact*. V. 21: P. 1600–1608

FEATURES OF THE ORGANIZATION AND FUNCTIONING OF A UNIQUE CLASS OF PLANT RECEPTOR KINASES CONTAINING LYSM-MOTIVES IN THE EXTRACELLULAR DOMAIN

Kirienko A. N., Leppyanen I. V., Dolgikh E. A.

❀ **SUMMARY:** Analysis of current data concerning functioning, structural organization and evolutionary aspects of origin for a unique class of the plant LysM-receptors has been performed. Plant receptors with LysM-motifs in the extracellular domain act as mediators in recognition of N-acetylglucosamine-containing compounds. Such compounds from pathogenic bacteria and fungi cause activation of plant defense systems, while the compounds secreted by symbiotic microorganisms trigger endosymbiosis formation. A possible mode of receptor operation in binding of structurally similar microbial signals, that leads to pathogen resistance or endosymbiosis development, as well as the role of LysM-receptors in these processes, have been examined.

❀ **KEY WORDS:** symbiosis; LysM-receptor like kinases; Nod factors; Myc factors; peptidoglycans; pathogen elicitors.

❀ **REFERENCES (TRANSLITERATED)**

1. *Albrecht C., Geurts R., Bisseling T.* (1999) **Legume nodulation and mycorrhizal formation; two extremes in host specificity meet.** *The EMBO Journal*. V. 18(2): P. 281–288.
2. Ardourel M., Demont N., Debelle F. D., et al. (1994) **Rhizobium meliloti lipooligosaccharide nodulation factors: different structural requirements for bacterial entry into target root hair cells and induction of plant symbiotic developmental responses.** *Plant Cell*. V. 6: P. 1357–1374.
3. Arrighi J. F., Barre A., Ben Amor B., et al. (2006) **The Medicago truncatula lysin motif- receptor-like kinase gene family includes NFP and new nodule-expressed genes.** *Plant Physiol*. V. 142: P. 265–279.
4. Baureithel K., Felix G., Boll T. (1994) **Specific, High Affinity Binding of Chitin Fragments to Tomato Cells**

and Membranes. *The Journal of Biological Chemistry*. V. 269(27): P. 17931–17938.
5. Ben Amor B., Shaw S.L., Oldroyd G.E.D., et al. (2003) **The NFP locus of Medicago truncatula controls an early step of Nod factor signal transduction upstream of a rapid calcium flux and root hair deformation.** *Plant J.* V. 34: P. 495–506.
6. Buist G., Steen A., Kok J., Kuipers O.P. (2008) **LysM, a widely distributed protein motif for binding to (peptido)glycans.** *Mol. Microbiol.* V. 68: P. 838–847.
7. Carlson R.W., Price N.P., Stacey G. (1994) **The biosynthesis of rhizobial lipo-oligosaccharide nodulation signal molecules.** *Mol Plant Microbe Interact.* V. 7(6): P. 684–695.
8. Dickson S. (2004) **The Arum-Paris continuum of micorrhizal symbioses.** *New Phytol.* V. 163: P. 186–200.
9. Duc G., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson S., et al. (1989) **First report of non- mycorrhizal plant mutant (Myc-) obtained in pea (Pisum sativum L.) and fababean (Vicia faba L.).** *Plant Sci.* V. 60: P. 215–222.
10. Fliegmann J., Canova S., Lachaud C., et al. (2013) **Lipo-chitooligosaccharidic symbiotic signals are recognized by LysM Receptor-Like Kinase LYR3 in the Legume Medicago truncatula.** *ACS Chem. Biol.,* V. 8(9): P 1900–1906.
11. Geiger O., Thomas-Oates J.E., Glushka J., et al. (1994) **Phospholipids of Rhizobium contain nodE-determined highly unsaturated fatty acid moieties.** *J. Biol. Chem.* V. 269(15): P. 11090–11097.
12. Geurts R., Heidstra R., Hadri A-E., et al. (1997) **Sym2 of Pisum sativum is involved in Nod factor perception mechanism that controls the infection process in the epidermis.** *Plant Physiology.* V. 115: P. 351–359.
13. Gherbi H., Markmann K., Svistoonoff S. et al. (2008) **SymRK defines a common genetic basis for plant root endosymbioses with arbuscular mycorrhiza fungi, rhizobia, and Frankia bacteria.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* V. 105(12): P. 4928–4932.
14. Gianinazzi-Pearson V. (1996) **Plant Cell Responses to Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Getting to the Roots of the Symbiosis.** *Plant Cell.* V. 8(10): P. 1871–1883.
15. Gough C., Cullimore J. (2011) **Lipo-chitooligosaccharide Signaling in Endosymbiotic Plant-Microbe Interactions.** *Mol. Plant Microbe Interact.* V. 24(8): P. 867–878.
16. Gust A.A., Biswas R., Lenz H.D., et al. (2007) **Bacteria-derived peptidoglycans constitute pathogen-associated molecular patterns triggering innate immunity in Arabidopsis.** *The Journal Of Biological Chemistry.* V. 282(44): P. 32338–32348.
17. Iizasa E., Mitsutomi M., Nagano Y. (2010) **Direct binding of a plant LysM receptor-like kinase, LysM RLK1/CERK1 to chitin in vitro.** *J. Biol. Chem.* V. 285: P. 2996–3004.
18. Kaku H., Nishizawa Y., Ishii-Minami N., et al. (2006) **Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor.** *Proc. Natl. Acad. SciUSA.* V. 103: P. 11086–11091.
19. Kouchi H., Imaizumi-Anraku H., Hayashi M., et al. (2010) **How many peas in a pod? Legume genes responsible for mutualistic symbioses underground.** *Plant Cell Physiol.* V. 51: P. 1381–1397.
20. Li R., Knox M.R., Edwards A. et al. (2011) **Natural variation in host-specific nodulation of pea is associated with a haplotype of the SYM37 LysM-type receptor-like kinase.** *MPMI.* V. 24: P. 1396–1403.
21. Limpens E., Franken C., Smit P., et al. (2003) **LysM domain receptor kinases regulating rhizobial Nod factor-induced infection.** *Science.* V. 302. P. 630–633.
22. Liu B., Li J.F., Ao Y. et al. (2012). **Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity.** *Plant Cell.* V. 24: P. 3406–3419.
23. Liu T., Liu Z., Song C., et al. (2012) **Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor.** Science. V. 336: P. 1160–1164.
24. *Lohmann G.V., Shimoda Y., Nielsen M.W.* et al. (2010) **Evolution and regulation of the Lotus japonicus LysM receptor gene family.** Mol. Plant-Microbe Interact. V. 23: P. 510–521.
25. Madsen E.B., Antolin-Llovera M., Grossmann C., et al. (2011) **Autophosphorylation is essential for in vivo function of the Lotus japonicus Nod Factor Receptor 1 and receptor mediated signalling in cooperation with Nod Factor Receptor 5.** *Plant J.* V. 65: P. 404–417.
26. Madsen E.B., Madsen L.H., Radutoiu S., et al. (2003) **A receptor kinase gene of the LysM type is involved in legume perception of rhizobial signals.** *Nature.* V. 425: P. 637–640.
27. *Maillet F., Poinsot V., André O.* et al. (2011) **Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza.** *Nature.* V. 469: P. 58–63.
28. Miya A., Albert P., Shinya T., et al. (2007) **CERK1, a LysM receptor kinase, isessential for chitin elicitor signaling in Arabidopsis.** *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* V. 104: P. 19613–19618.
29. Nakagawa T., Kaku H., Shimoda Y., et al. (2011) **From defense to symbiosis: Limited alterations in the kinase domain of LysM receptor-like kinases are crucial for evolution of legume- Rhizobium symbiosis.** *Plant J.* V. 65. P. 169–180.
30. Ohnuma T., Onaga S., Murata K., et al. (2008) **LysM domains from Pteris ryukyuensis chitinase-A: A stability study and characterization of the chitin-binding site.** *J. Biol. Chem.* V. 283: P. 5178–5187.
31. Ohsten Rasmussen M., Hogg B., Bono J.J., et al. (2004) **New access to lipo-chitooligosaccharide nodulation factors.** *Org. Biomol.* V. 2: P. 1908–1910.

32. Op den Camp R., Streng A., De Mita S., et al. (2011) **LysM-type mycorrhizal receptor recruited for rhizobium symbiosis in nonlegume Parasponia.** *Science*. V. 18: P. 909–912.
33. Petutschnig E.K., Jones A.M.E., Serazetdinova L., et al. (2010) **The LysM-RLK CERK1 is a major chitin binding protein in Arabidopsis thaliana and subject to chitin-induced phosphorylation.** J. Biol. Chem. V. 285(37): P. 28902–28911.
34. Provorov N.A., Borisov A. Ju., Tihonovich I.A. **Sravnitel'naja genetika i jevoljucionnaja morfologija simbiozov rastenij s mikrobami-azotfiksatorami i jendomikoriznymi gribami [Comparative genetics and evolutionary morphology of symbioses formed by plants with nitrogen-fixing microbes and ebdomycorrhizal fungi].** Zh. Obshch. Biol. T. 63(6): P. 451–472.
35. Radutoiu S., Madsen L.H., Madsen E.B., et al. (2003) **Plant recognition of symbiotic bacteria requires two LysM receptor-like kinases.** *Nature*. V. 425: P. 585–592.
36. Radutoiu S., Madsen L.H., Madsen E.B., et al. (2007) **LysM domains mediate lipochitin- oligosaccharide recognition and Nfr genes extend the symbiotic host range.** *Eur. Mol. Biol. Organ. J.* V. 26: P. 3923–3935.
37. Shimizu T., Nakano T., Takamizawa D., et al. (2010) **Two LysM receptor molecules, CEBiP and OsCERK1, cooperatively regulate chitin elicitor signaling in rice.** *The Plant Journal*. V. 64: P. 204–214.
38. Shinya T., Motoyama N., Ikeda A., et al. (2012) **Functional characterization of CEBiP and CERK1 homologs in Arabidopsis and rice reveals the presence of different chitin receptor systems in plants.** *Plant Cell Physiol*. V. 53: P. 1696–1706.
39. Shiu S.H., Karlowski W.M., Pan R.S., et al. (2004) **Comparative analysis of the receptor-like kinase family in Arabidopsis and rice.** *Plant Cell*. V. 16: P. 1220–1234.
40. Streng A., op den Camp R., Bisseling T., et al. (2011) **Evolutionary origin of rhizobium Nod factor signaling.** *Plant Signal Behav*. V. 6(10): P. 1510–1514.
41. Tanaka S., Ichikawa A., Yamada K., et al. (2010) **HvCEBiP, a gene homologous to rice chitin receptor CEBiP, contributes to basal resistance of barley to Magnaporthe oryzae.** *BMC Plant Biology*. V. 10(288): P. 1471–2229.
42. Walker S.A., Allan J., Downie J.A. (2000) **Entry of Rhizobium leguminosarum bv. viciae into root hairs requires minimal Nod factor specificity, but subsequent infection thread growth requires nodO or nodE.** *MPMI*. V. 13: P. 754–762.
43. Wan J., Tanaka K., Zhang X.C., et al. (2012) **LYK4, a lysin motif receptor-like kinase, is important for chitin signaling and plant innate immunity in Arabidopsis.** *Plant Physiol*. V. 160: P. 396–406.
44. Wan J., Zhang S., Stacey G. (2004) **Activation of a mitogen-activated protein kinase pathway in Arabidopsis by chitin.** *Mol. Plant Pathol*. V. 5: P. 125–135.
45. Wan J., Zhang X.-C., Neece D., et al. (2008) **A LysM Receptor-Like Kinase Plays a Critical Role in Chitin Signaling and Fungal Resistance in Arabidopsis.** *The Plant Cell*. V. 20: P. 471–481.
46. Willmann R., Lajunen H.M., Erbs G., et al. (2011) **Arabidopsis lysin-motif proteins LYM1 LYM3 CERK1 mediate bacterial peptidoglycan sensing and immunity to bacterial infection.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. V. 108: P. 19824–19829.
47. Zeng L., Velásquez A.C., Munkvold K.R., et al. (2012) **A tomato LysM receptor- like kinase promotes immunity and its kinase activity is inhibited by AvrPtoB.** *Plant J*. V. 69(1): P. 92–103.
48. Zhang X., Cannon S., Stacey G. (2009) **Evolutionary genomics of LysM genes in land plants.** *BMC EV. Biol*. V. 3(9): P. 183.
49. Zhang X., Wu X., Findley S. (2007) **Molecular evolution of lysin motiftype receptor-like kinases in plants.** *Plant Physiol*. V. 144: P. 623–636.
50. Zhukov V., Radutoiu S., Madsen L.H., et al. (2008) **The pea Sym37 receptor kinase gene controls infection-thread initiation and nodule development.** *Mol. Plant-Microbe Interact*. V. 21: P. 1600–1608.
51. Zhukov V.A., Rychagova T.S., Shtark O.Ju. i dr. **Geneticheskij kontrol' specifichnosti vzaimodejstvija bobovyh rastenij s kluben'kovymi bakterijami [The genetic control of specificity of interactions between legume plants and nodule bacteria].** Ecol. gen. 2008. T. VI(4): P. 12–19.

❀ Информация об авторах

Кириенко Анна Николаевна — инженер-исследователь, лаборатория молекулярной и клеточной биологии. ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3. E-mail: kirienkoann@yandex.ru.

Леппянен Ирина Викторовна — м. н. с., лаборатория молекулярной и клеточной биологии. ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3. E-mail: leppyanen_irina@rambler.ru.

Долгих Елена Анатольевна — в. н. с., к. б. н., лаборатория молекулярной и клеточной биологии. ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии. 196608, Санкт-Петербург, Пушкин, ш. Подбельского, 3. E-mail: dol2helen@yahoo.com.

Kirienko Anna Nikolaevna — All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology.
Podbelsky. Chaussee 3, St. Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia.
E-mail: kirienkoann@yandex.ru.

Leppyanen Irina Viktorovna — All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology.
Podbelsky. Chaussee 3, St. Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia.
E-mail: leppyanen_irina@rambler.ru.

Dolgikh Elena Anatolyevna — All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology.
Podbelsky. Chaussee 3, St. Petersburg, Pushkin 8, 196608, Russia.
E-mail: dol2helen@yahoo.com.