

· 专题论坛 ·

鞘脂在植物-真菌互作中的分子调控机制研究进展

单婷婷¹, 陈晓梅^{1*}, 郭顺星^{1*}, 田丽霞¹, 严林², 王欣¹

¹中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193; ²贵州省赤水市长沙镇农业服务中心, 赤水 564700

摘要 鞘脂是细胞生物膜结构的重要组成部分, 鞘脂及其代谢产物参与许多重要的信号转导过程。在植物-真菌互作中, 植物鞘脂的主要作用是诱导细胞发生程序性死亡; 真菌鞘脂既能引起植物死亡, 也能诱导植物产生抗病性。该文总结了植物和真菌鞘脂的结构及代谢特点, 综述了鞘脂参与调控植物-真菌互作的分子机制研究进展, 并展望了植物-真菌共生关系中鞘脂作用的研究方向。

关键词 葡萄糖基神经酰胺, 病原真菌, 程序性细胞死亡, 鞘氨醇

单婷婷, 陈晓梅, 郭顺星, 田丽霞, 严林, 王欣 (2019). 鞘脂在植物-真菌互作中的分子调控机制研究进展. 植物学报 54, 396–404.

植物与真菌在长期的协同进化过程中形成了复杂的作用机制, 植物既能有效抵御病原体侵染, 又能与有益真菌共生。在植物-真菌互作过程中, 脂类如磷脂、糖脂、鞘脂(sphingolipids)和甾醇脂质参与建立两个有机体之间的膜界面(Siebers et al., 2016)。同时, 脂质还是感知病原菌、信号转导、诱导防御反应等作用的信号分子。鞘脂是在细胞膜中发现的一类生物活性脂质, 广泛存在于动物、植物和真菌中。鞘脂不仅是植物质膜、液泡膜和内膜的主要成分(Markham et al., 2013), 还作为植物防御机制的第二信使, 参与多种植物应激反应。当植物被微生物侵染后, 鞘脂含量的变化和鞘脂及其磷酸化衍生物的平衡调控植物产生抗性反应(Bi et al., 2014; Yanagawa et al., 2017)。

已有许多利用遗传学方法研究细胞凋亡相关信号的报道, 涉及的信号分子主要包括Ca²⁺、水杨酸(salicylic acid, SA)和活性氧(reactive oxygen species, ROS)等。近几年, 研究人员通过遗传学方法对鞘脂相关性状进行了广泛分析, 相关报道主要集中在鞘脂的信号分子作用(Magnin-Robert et al., 2015), 以及鞘脂调节肿瘤、心血管、炎症以及感染性疾病等的病理过程方面(Sharma and Prakash, 2017; Ueda, 2017)。此外, 有关真菌鞘脂作为抗真菌药物的报道

也较多(Healey et al., 2015)。较早有报道且数量最多的是关于动物和微生物的鞘脂研究。近20年开始出现对植物鞘脂的研究报道, 其中鞘脂在植物-真菌互作中的作用是研究热点之一。本文总结了植物和真菌鞘脂的结构及代谢特点, 综述了鞘脂参与调控植物-真菌互作的分子机制研究进展, 旨在为深入开展相关研究提供参考。

1 植物与真菌中的鞘脂化合物结构

鞘脂是含有鞘氨醇长链基团的一类结构复杂的脂类分子。典型的鞘脂结构包括3个部分: 鞘氨醇、脂肪酸和极性基团(图1)。鞘氨醇分子的2-氨基与长链脂肪酸发生酰基化反应, 1-羟基与糖和磷酸等极性基团发

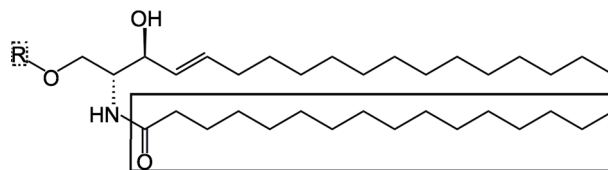


图1 鞘脂的基本骨架

无框部分: 鞘氨醇; 实线框: 脂肪酸; 虚线框: 极性基团

Figure 1 The structure of sphingolipids

No box: Sphingosine; Solid box: Fatty acid; Dotted box: Polar group

收稿日期: 2018-04-16; 接受日期: 2018-10-06

基金项目: 国家自然科学基金(No.81573594)和中国医学科学院医学与健康科技创新工程(No.2017-I2M-3-013)

* 通讯作者。E-mail: cxm_implad@163.com; sxguo1986@163.com

生醇醛缩合反应, 形成鞘脂。由于鞘氨醇和脂肪酸链长度的不同、双键和羟基取代的位置和数量差异, 以及极性头基团的种类多样, 导致鞘脂类化合物具有丰富多变的结构。

1.1 鞘氨醇部分

鞘脂结构中的鞘氨醇部分又被称为长链碱基(long-chain base, LCB), 链长一般为C₁₆–C₂₀, 以C₁₈为主。二氢鞘氨醇(2-氨基-十八烷-1,3-二醇, dihydrosphingosine, d18:0)和4-羟基鞘氨醇(2-氨基-十八烷-1,3,4-三醇, phytosphingosine, t18:0) (图2)是植物中最常见的2种鞘氨醇类化合物(Michaelson et al., 2016)。

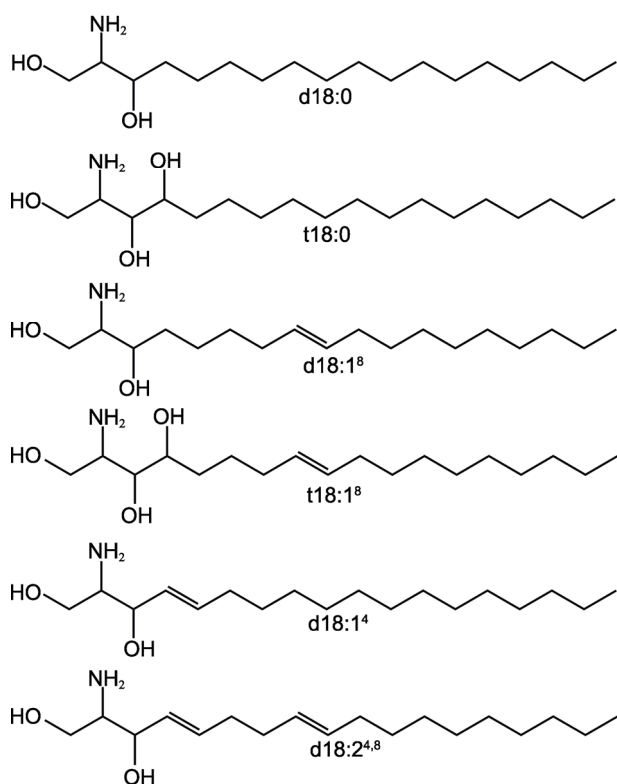


图2 植物鞘脂结构中常见的鞘氨醇(改自Warnecke and Heinz, 2003)

d18:0: 二氢鞘氨醇; t18:0: 4-羟基鞘氨醇; d18:1⁸: 2-氨基-8-十八烯-1,3-二醇; t18:1⁸: 2-氨基-8-十八烯-1,3,4-三醇; d18:1⁴: 2-氨基-4-十八烯-1,3-二醇; d18:2^{4,8}: 2-氨基-4,8-十八二烯-1,3-二醇

Figure 2 Sphingosines in the structure of plant sphingolipids (modified from Warnecke and Heinz, 2003)

d18:0: Dihydrosphingosine; t18:0: Phytosphingosine; d18:1⁸: Sphing-8-enine; t18:1⁸: 4-hydroxysphing-8-enine; d18:1⁴: Spingosine; d18:2^{4,8}: Sphinga-4,8-dienine

植物鞘脂中LCB的结构种类较多, LCB的链长一般是C₁₈, 在C-1、C-3和C-4易发生羟基化, 在C-4和C-8易形成双键。除了d18:0和t18:0外, 常见的植物鞘脂LCB还包括: 鞘氨醇(2-氨基-4-十八烯-1,3-二醇, sphingosine, d18:1⁴)、2-氨基-8-十八烯-1,3-二醇(sphing-8-enine, d18:1⁸)、2-氨基-8-十八烯-1,3,4-三醇(4-hydroxysphing-8-enine, t18:1⁸)和2-氨基-4,8-十八二烯-1,3-二醇(鞘氨醇-4,8-二烯, sphinga-4,8-dienine, d18:2^{4,8}) (图2)。植物鞘脂中LCB的构型可变性更高, 可以在C-8顺式或反式去饱和化形成区域异构体, 主要包括(E/Z)-sphing-8-enine、(4E,8E/Z)-sphinga-4,8-dienine 和 (8E/Z)-4-hydroxy-8-sphingene (Michaelson et al., 2016)。绝大多数病原真菌鞘脂的LCB具有C₁₈长链, 在C-4和C-8形成双键, 在C-9发生甲基化(Barreto-Bergter et al., 2011)。

1.2 脂肪酸部分

鞘脂类的结构中, 鞘氨醇的2-氨基与脂肪酸发生酰基化反应生成的N-脂酰鞘氨醇类物质, 又被称为神经酰胺类物质(ceramides, Cers)。神经酰胺是鞘脂的基本结构单位, 也是最重要的中间代谢产物。植物鞘脂分子中, 脂肪酸可以酰化附着到不同的LCBs上。这些脂肪酸几乎都是 α -右旋羟基化合物, 碳链长度在C₁₄–C₂₈之间; 脂肪酸在C-2位易发生羟基化, 在C-9位形成双键(Michaelson et al., 2016)。常见的脂肪酸包括饱和的C₁₆、C₂₀、C₂₂、C₂₄和C₂₆的 α -羟基脂肪酸。真菌鞘脂分子一般具有C₁₆和C₁₈链长的脂肪酸(Warnecke and Heinz, 2003)。作为真菌鞘脂研究的模式生物, 酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)鞘脂的脂肪酸链长度主要在C₂₄–C₂₆之间, 属于超长链脂肪酸(Lindahl et al., 2017)。

1.3 极性基团

极性基团是指磷酸基和糖基, 一般连接在LCB的C-1位置上。根据极性基团的种类, 可以将鞘脂分为鞘磷脂(sphingomyelins)和鞘糖脂(glycosphingolipids)两大类。前者是神经酰胺的C-1羟基连接磷酸胆碱(phosphocholine)或磷酸乙醇胺(phosphoethanolamine), 后者是神经酰胺的C-1羟基连接单糖或寡多糖。脑苷脂(cerebrosides)和糖基肌醇磷酰基神经酰胺(glycosylinositol phosphorylceramides, GIPCs)是

2类主要的鞘糖脂。脑苷脂类中最常见的是葡萄糖基神经酰胺(glucosylceramides, GlcCers)和半乳糖基神经酰胺(galactosylceramides, GalCers)。GlcCers在真菌、植物和动物体内普遍存在,而GalCers只存在于真菌和动物体内(Barreto-Bergter et al., 2011)。

GlcCers和GIPCs是植物中含量最高的鞘脂类物质,是植物细胞的质膜、液泡膜和内质网膜的重要组成部分(Warnecke and Heinz, 2003; Chen et al., 2012; Michaelson et al., 2016)。目前已经在许多真菌中发现GlcCers的合成途径,如毕赤酵母(*Pichia pastoris*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)和烟曲霉(*Aspergillus fumigatus*) (Rittershaus et al., 2006)。除GlcCers以外,一些真菌还可以产生GalCers,如米曲霉(*A. oryzae*)、酱油曲霉(*A. sojae*)和细毛曲霉(*A. awamori*) (Tani et al., 2014)。在酿酒酵母中,属于GIPCs类型的甘露糖肌醇磷脂酰神经酰胺(mannose inositol phosphoryl ceramide, MIPC)以及甘露糖-(肌糖磷脂酰)₂-神经酰胺(mannosyl diinositol phosphoryl ceramide, M(IP)₂C)是质膜中主要的鞘脂成分(Hechtberger et al., 1994)。

2 植物与真菌中的鞘脂代谢

植物和真菌体内鞘脂生物合成的第1步反应都是丝氨酸和棕榈酰辅酶A在丝氨酸棕榈酰转移酶(SPT)作用下缩合生成3-酮基二氢鞘氨醇(图3),随后经3-酮基二氢鞘氨醇还原酶(KDHR)还原生成鞘氨醇。鞘氨醇是鞘脂代谢途径关键的中间产物之一。鞘氨醇在(二氢)神经酰胺合酶(CerS)的作用下生成二氢神经酰胺,随后在二氢神经酰胺去饱和酶(DES)作用下合成最简单的鞘脂类化合物神经酰胺。Cer是鞘脂代谢途径的另一个关键中间产物,其合成是生物体内各种结构复杂的鞘脂类化合物生物合成的起点(刘润华等, 2009)。

从Cer开始的鞘脂生物合成途径主要有5条(图3),分别生成肌醇磷脂酰神经酰胺(inositol phosphoryl ceramide, IPC)、半乳糖神经酰胺、葡萄糖神经酰胺、鞘磷脂和神经酰胺-1-磷酸(ceramide-1-phosphate, C1P)。Cer经鞘磷脂合酶(SMS)催化生成鞘磷脂,经神经酰胺半乳糖基转移酶(CGT)催化生成半乳糖神经酰胺,这2条途径是真菌特有的(图3黑色加粗

边框)。Cer在肌醇磷脂酰神经酰胺合酶(IPCS)的作用下生成IPC,此途径在植物和真菌中都存在。IPC在葡萄糖肌醇磷脂酰神经酰胺醛基转移酶(IPUT)的作用下生成多种糖基肌醇磷脂酰神经酰胺(GIPCs)。Tartaglio等(2017)报道,拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) IPUT1可以催化IPC生成GIPCs。而在真菌中,IPC经甘露糖肌醇磷脂酰神经酰胺合酶(MIPCS)催化生成MIPC, MIPC可以在肌醇磷酸转移酶(IPT)的作用下再加入1个肌醇磷脂酰基生成M(IP)₂C (Rollin-pinhoiro et al., 2016)。

3 鞘脂在植物-真菌互作中的分子调控机制

3.1 植物鞘脂

植物的鞘脂及其代谢产物是具有信号转导作用的活性脂质分子,它们不仅能够调节细胞的生长、分化和增殖,而且在植物防病和抗病方面发挥重要作用(Michaelson et al., 2016)。程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)是在一定的生理或病理条件下,植物为了更好地适应生存环境而采取的一种由基因调控的细胞自我消亡。植物鞘脂及其代谢产物能够诱导植物细胞发生PCD。植物与病原菌的不亲和互作引起植物发生的过敏反应(hypersensitive response, HR)就是一种最常见的PCD。HR的发生依赖水杨酸信号通路,也涉及ROS的形成(Shi et al., 2007)。鞘脂类代谢在调节植物PCD的过程中发挥重要作用。LCBs等鞘脂类信号分子诱导植物发生PCD的信号通路错综复杂,既涉及Ca²⁺和ROS等信号分子,也涉及SA信号和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路等信号转导途径。

Ca²⁺是细胞内信号转导的第二信使。对小麦(*Triticum aestivum*)根细胞的研究发现,细胞质Ca²⁺浓度升高诱导线粒体通透性转换孔(permeability transition pore, PTP)开放,使线粒体体积增大,这是细胞发生PCD的前提(Virolainen et al., 2002)。细胞内游离钙浓度的变化是鞘脂及其代谢产物诱导细胞发生PCD的必要条件。Lachaud等(2010)研究表明,用DHS (D-erythro-sphinganine)处理烟草(*Nicotiana tabacum*) BY-2细胞,能引起细胞质和细胞核内Ca²⁺浓度升高,后者在DHS诱导BY-2细胞发生PCD

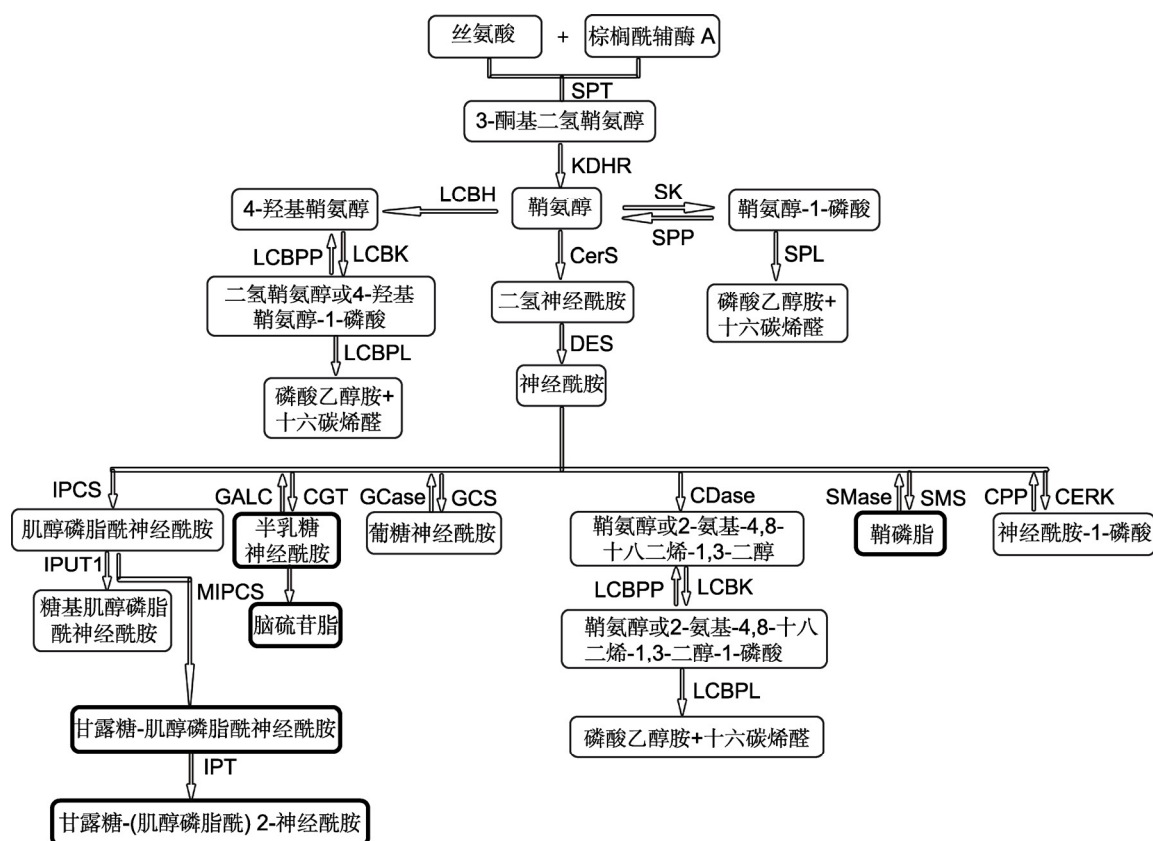


图3 植物和真菌鞘脂代谢途径(改自Michaelson et al., 2016; Rollin-pinheiro et al., 2016)

黑色加粗边框为真菌特有的产物。SPT: 丝氨酸棕榈酰转移酶; KDHR: 3-酮二氢鞘氨醇还原酶; CerS: (二氢)神经酰胺合酶; DES: 二氢神经酰胺去饱和酶; SK: 鞘氨醇激酶; SPP: 鞘氨醇-1-磷酸磷酸酶; SPL: 鞘氨醇-1-磷酸裂合酶; LCBH: 鞘氨醇羟化酶; CERK: 神经酰胺激酶; CPP: 神经酰胺-1-磷酸磷酸酶; SMS: 鞘磷脂合酶; SMase: 鞘磷脂酶; LCBK: LCB激酶; LCBPP: LCB-1-磷酸磷酸酶; LCBPL: LCB-1-磷酸裂合酶; IPCS: 肌醇磷脂酰神经酰胺合酶; IPUT1: 葡萄糖肌醇磷脂酰神经酰胺醛基转移酶1; MIPCS: 甘露糖肌醇磷脂酰神经酰胺合酶; IPT: 肌醇磷酸转移酶; CGT: 神经酰胺半乳糖基转移酶; GALC: 半乳糖神经酰胺酶; GCS: 葡萄糖神经酰胺合酶; GCase: 葡萄糖神经酰胺酶; CDase: 神经鞘氨醇酶

Figure 3 Sphingolipid biosynthesis in plant and fungi (modified from Michaelson et al., 2016; Rollin-pinheiro et al., 2016)

The bold border boxes are unique products of fungi. SPT: Serine palmitoyltransferase; KDHR: 3-ketodihydrosphingosine reductase; CerS: (dihydro) Ceramide synthase; DES: Dihydroceramide desaturase; SK: Sphingosine kinase; SPP: higoine-1-phosphate phosphatases; SPL: Sphingosine-1-phosphate lyase; LCBH: LCB hydroxylase; CERK: Ceramide kinase; CPP: Ceramide-1-phosphate phosphatases; SMS: Sphingomyelin synthase; SMase: Sphingomyelinases; LCBK: LCB kinase; LCBPP: LCB-1-phosphate phosphatases; LCBPL: LCB-1-phosphate lyase; IPCS: Inositol phosphoryl ceramide synthase; IPUT1: Inositol phosphorylceramide glucuronosyl transferases 1; MIPCS: Mannosylinositol phosphorylceramide synthase; IPT: Inositol phosphoryl transferase; CGT: Galactosyltransferase; GALC: Galactosylceramidase; GCS: Glucosylceramide synthase; GCase: Glucosylceramidase; CDase: Ceramidase

的过程中发挥关键作用。Townley等(2005)报道, 在C2-Ceramide (N-acetylsphingosine, N-乙酰基神经鞘氨醇)诱导拟南芥悬浮培养细胞发生PCD之前, 会在细胞内先形成钙瞬变(calcium transient), 而抑制钙瞬变的发生可以阻止细胞死亡。

ROS是需氧细胞在代谢过程中产生的一系列活性氧簇, 参与植物衰老、胁迫条件下和过敏反应中的

PCD; 过氧化氢(H_2O_2)和超氧阴离子(O_2^-)是导致细胞发生PCD的2类ROS; 但ROS究竟是细胞发生PCD的引发者, 还是仅为PCD中的一个作用因素, 目前尚不明确(林久生和王根轩, 2001)。Shi等(2007)通过研究LCBs在调节拟南芥产生活性氧中间体和发生PCD中的作用, 发现t18:0、d18:0和d18:1等LCBs处理能诱导 H_2O_2 和 O_2^- 的积累, 进而发生PCD, 且这种

PCD诱导作用具有剂量依赖性;但这些LCBs的1-磷酸化产物均不具有PCD诱导作用;此外, d18:0的1-磷酸化产物能特异性地阻断d18:0引起的ROS积累和后续的PCD发生, 且作用强度具有剂量依赖性, 表明维持游离LCBs与其磷酸化产物的体内平衡是细胞得以生存的决定性因素。Yanagawa等(2017)的研究也得出类似的结论: 伏马菌素B1 (fumonisin B1, FB1) 是一种细胞死亡的诱导剂, 能够干扰植物的鞘脂代谢; 拟南芥中LCBP/LCB比与FB1诱导发生细胞死亡的程度相关, LCBP/LCB的体内平衡对于拟南芥的FB1耐受性以及调控细胞存亡至关重要。

*RPW8*是一种拟南芥抗性基因(*R*), 通过SA信号通路触发植物产生过敏反应来限制高氏白粉菌属(*Golovinomyces*)真菌引起的白粉病。Wang等(2008)报道, *ERH1*编码一种植物肌醇磷脂酰神经酰胺合酶(IPCS), 是*RPW8*潜在的转录调控因子。拟南芥*erh1*突变体叶片接种*G. cichoracearum* UCSC1后, 突变体SA含量增加, *RPW8*转录增强, 突变体内Cer的含量更高, *RPW8*-介导的细胞死亡和抗性反应增强, 证明Cer对于调节植物发生PCD有重要作用。Bi等(2014)研究表明, Cer与其磷酸化产物的平衡可以调控拟南芥发生PCD及早期抗真菌反应。*ACD5*编码神经酰胺酶(CERK), 被灰霉菌(*Botrytis cinerea*)侵染后, 与野生型拟南芥相比, *acd5*突变体体内出现Cer的时间更早且积累水平更高, 胼胝质沉积减少, 线粒体H₂O₂含量增加; 此外, 突变体很早就表现出生长缺陷, 以限制灰霉菌孢子的萌发及生长。

MAPKs是一组能被不同种类的细胞外刺激激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶, 能够将信号从细胞表面转导至细胞核内部。Saucedo-García等(2011)通过研究拟南芥中LCBs积累与发生PCD的关系, 发现MAPK6在LCBs诱导发生PCD的过程中发挥信号转导(transducer)的作用, 从而介导PCD的下游过程。Mortimer等(2013)报道拟南芥GONST1 (golgi-localized nucleotide sugar transporter)是一种二磷酸尿苷(GDP)糖转运蛋白, 特异性地向高尔基体内膜转运GDP-Man, 用于GIPCs合成; 拟南芥*gonst1*突变体的鞘糖脂甘露糖基化异常, 植株对SA水平升高具有构成性的超敏反应。这表明GIPCs的糖基化修饰可以影响鞘脂功能, 进而影响植物的生长发育。

3.2 真菌鞘脂

鞘脂中的鞘糖脂是真菌细胞膜磷脂双分子层的组成成分。GlcCers是一类最简单的中性鞘糖脂, 能影响真菌的生长发育和病原真菌的致病力。植物能够识别真菌GlcCers和脑苷脂类, 并针对真菌的侵染发起特异性防御反应。一些与植物鞘脂LCBs结构类似的真菌毒素通过干扰植物鞘脂的代谢而引起植物死亡。

3.2.1 真菌GlcCers调控菌丝生长, 影响真菌致病性

真菌GlcCers代谢的改变能够影响真菌的生长发育, 及其侵染宿主的能力。禾谷镰孢菌(*Fusarium graminearum*)的菌丝顶端富含GlcCers, 其突变体 Δ Fggcs1缺少GlcCer合成酶(GCS)基因, 不能合成GlcCers。与野生型相比, Δ Fggcs1分生孢子短, 细胞数量少, 结构发生了很大改变; 菌丝短, 气生菌丝稀少, 细胞极性生长受到破坏; 菌丝体对细胞壁降解酶具抗性; 尽管 Δ Fggcs1仍能侵染小麦穗和玉米(*Zea mays*)须, 但菌丝体在植物组织中的延伸能力显著降低, 致病力减弱(Ramamoorthy et al., 2007)。真菌GlcCers结构具有高度的保守性, 其LCBs部分的C-9甲基对于真菌的生长发育具有重要作用。FgMT2是禾谷镰孢菌的一个鞘脂C-9甲基转移酶(C-9-MT)基因, 缺少FgMT2的禾谷镰孢菌突变体 Δ Fgmt2只能产生25%–35%的C-9甲基化GlcCer。 Δ Fgmt2表现出严重的生长缺陷, 并产生异常分生孢子, 真菌毒力降低; 被其侵染后, 小麦的病情指数(disease index)大幅度降低, 拟南芥的症状发展明显滞后(Ramamoorthy et al., 2009)。PdGcs1是柑橘绿霉菌(*Penicillium digitatum*)中编码GCS的关键基因, 缺失PdGcs1会导致柑橘绿霉菌的GlcCers合成量大幅度降低, 菌丝生长缓慢, 孢子萌发延迟, 并降低柑橘绿霉菌对柑橘属植物的毒力(Zhu et al., 2014)。

3.2.2 真菌GlcCers是一些植物防御素的受体

植物防御素(defensins)是一类具有抗真菌和抗菌作用的多肽。GlcCers被认为是一些植物防御素的受体。在体外, 一些富含半胱氨酸、具有抗真菌作用的植物防御素需要在真菌GlcCers存在的条件下才能发挥作用, 如萝卜(*Raphanus sativus*)种子产生的植物

防御素RsAFP2 (Thevissen et al., 2004)。体内不能产生GlcCers的禾谷镰孢菌突变体 $\Delta Fggcs1$ 对苜蓿(*Medicago sativa*)种子产生的植物防御素MsDef1具有抗性(Ramamoorthy et al., 2007)。Ramamoorthy等(2009)研究表明, 缺少C-9-MT基因的禾谷镰孢菌突变体 $\Delta Fgmt1$ 和 $\Delta Fgmt2$ 以及毕赤酵母突变体 $\Delta Ppmt1$ 均保留了对植物防御素MsDef1和RsAFP2的敏感性, 说明真菌GlcCers分子中LCB的C-9甲基对于植物防御素发挥抗真菌作用并不必要, 他们推测MsDef1和RsAFP2的作用与真菌GlcCers分子脂肪酸链的 $\Delta 3$ 双键有关。AFP1 (Antifungal Peptide 1)是芥菜(*Brassica juncea*)产生的植物防御素, 能够抑制白色念珠菌生长。Oguro等(2014)报道, 真菌GlcCers分子中的C9-甲基影响AFP1的作用。大丽花(*Dahlia merckii*)植物防御素DmAMP1通过与酿酒酵母质膜上的糖鞘脂结合, 或者与糖鞘脂固定的糖磷脂酰肌醇锚定蛋白(GPI anchored protein)相结合来抑制真菌的生长(Thevissen et al., 2003)。Aerts等(2006)发现, DmAMP1与M(IP)₂C的结合破坏了酿酒酵母细胞膜的磷脂双分子层, 导致质膜流动性变差, 物质运输效率降低, 从而抑制真菌生长。

3.2.3 真菌脑苷脂诱导植物抗性反应

真菌脑苷脂是一类能激活植物防御反应的诱导子。Umemura等(2000)报道, 田间实验中, 向水稻(*Oryza sativa*)叶片喷施来自稻瘟病原菌*Magnaporthe grisea*的脑苷酯, 能诱导水稻叶片合成phytocassane A、B、C和D, 以及momilactone A和B等植保素(phytoalexins, PAs), 且作用强度与脑苷脂用量呈正相关; 此外, 叶片中一些编码病程相关蛋白(pathogenesis related protein, PR protein)(如PBZ1、 β -葡聚糖酶、几丁质酶和过氧化物酶)的基因被快速诱导表达。用真菌脑苷脂处理水稻悬浮培养细胞, 也能诱导细胞积累PAs和PR蛋白; 向细胞悬浮液中添加Ca²⁺通道抑制剂, 可以显著抑制真菌脑苷脂诱导的PAs合成, 表明Ca²⁺在脑苷脂诱导的抗性响应中发挥重要作用(Umemura et al., 2002)。经丝核菌属(*Rhizoctonia* sp.)真菌培养物中分离的脑苷脂处理后, 可以显著提高珍珠粟(*Pennisetum glaucum*)对病原菌*Sclerotinia graminicola*引起的霜霉病的抗性, 从而大幅提高珍珠粟产量(Deepak et al., 2003)。

3.2.4 真菌毒素干扰植物鞘脂合成

SAMs (sphinganine-analog mycotoxins)是真菌产生的一类与鞘氨醇结构类似的真菌毒素。SAMs与植物LCBs竞争结合CerS, 导致植物体内鞘脂合成前体物质LCBs积累, 鞘脂合成减少, 引发植物PCD或坏死(Brandwagt et al., 2002)。串珠镰孢菌(*F. moniliforme*)产生的FB1 (fumonisins B1)和番茄(*Lycopersicon esculentum*)病原菌*Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici*产生的AAL毒素都属于SAMs。FB1是CerS的抑制剂, FB1处理可引起拟南芥体内LCBs水平升高, 进而诱导植物发生PCD (Shi et al., 2007); SPT抑制剂myriocin通过减少拟南芥LCB合成而阻断LCB的积累, 从而抑制FB1诱导的PCD反应(Saucedo-García et al., 2011)。AAL毒素是CerS抑制剂, 可引起番茄体内3-酮二氢鞘氨醇和d18:0的积累, 进而诱导番茄叶片发生PCD, 并最终导致植株坏死(Spassieva et al., 2002)。列当属(*Orobanchaceae*)植物也对AAL毒素敏感; AAL毒素诱发植物体内t18:0、d18:0和d18:1等游离鞘氨醇的积累, 导致植物鞘脂代谢紊乱(De Zélicourt et al., 2009)。

4 展望

在植物-细菌和植物-真菌的相互作用中, 植物鞘脂都是主要的信号分子, 可诱导植物产生抗性反应(Peer et al., 2010; Magnin-Robert et al., 2015)。但是, 细菌鞘脂和真菌鞘脂的作用有差异。典型的革兰氏阴性细菌细胞膜含有脂多糖(lipopolysaccharides, LPSs), 鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)等一些厌氧细菌的细胞膜上含有鞘脂(Olsen and Jantzen, 2001)。对细菌鞘脂在动物-细菌及植物-细菌相互作用的研究表明, 动物和植物天然免疫系统识别鞘氨醇单胞菌细胞膜上鞘糖脂(GSLs)的能力弱, 导致鞘氨醇单胞菌的感染能力增强(Arora and Porcelli, 2008)。在植物-真菌的相互作用中, 真菌鞘脂发挥的作用更为复杂, 根据其对植物的作用性质, 可以分为有利和有害2个方面。真菌鞘糖脂中的GlcCers是一些植物防御素的结合位点, 脑苷脂能诱导植物产生防卫反应, 提高植物抗病性, 这些作用有利于植物与真菌建立起互利共生的关系。SAMs多由一些病原微生物产生, 它们通过干扰植物鞘脂正常代谢, 引发植物死亡。尽管目前有关植物-病原真菌互作过程中鞘脂的作用及其机理的

研究报道较多,但鞘脂在植物-真菌互利共生关系中的作用研究还未见报道。

植物与真菌的互利共生是自然界普遍存在的现象,真菌能够提高宿主植物对水分和矿质营养元素的吸收,通过影响宿主植物的物质代谢提高植物对资源的利用效率,改善营养条件,从而促进植物生长(郭顺星, 2016)。在互利共生关系中,真菌的脂类代谢在植物和微生物的营养交换、共生信号转导及调控、共生关系的建立及维持等方面发挥着不可替代的作用(田磊等, 2016)。张海涵(2011)通过研究枸杞(*Lycium chinense*)根系深色有隔内生真菌(dark septate endophyte fungus, DSE)的定殖状况,发现镜空菌丝(hyaline hyphae)和微菌核(microsclerotia)中存在大量的脂类物质,推测丰富的脂类物质可能是DSE协助宿主植物度过干旱胁迫的能量物质。Maillet等(2011)发现菌根真菌可以产生脂质几丁寡糖(lipochitooligosaccharides),它们作为共生信号刺激蒺藜苜蓿(*M. truncatula*)的根部生长,并形成分枝状结构,有利于菌根真菌的侵染。上述研究结果表明,鞘脂在亲和性真菌与植物的共生关系中发挥重要作用。了解鞘脂在植物-真菌互作中的作用及其机制,对于植物的病害防治以及利用有益真菌促进植物生长都具有重要意义。

参考文献

- 郭顺星 (2016). 药用植物内生真菌生物学. 北京: 科学出版社. pp. 190–191.
- 林久生, 王根轩 (2001). 活性氧与植物细胞编程性死亡. 植物生理学通讯 **37**, 551–555.
- 刘润华, 江文波, 余迪求 (2009). 植物鞘脂的结构、代谢途径及其功能. 植物学报 **44**, 619–628.
- 田磊, 李元敬, 何兴元, 田春杰 (2016). 丛枝菌根真菌脂类代谢对共生信号调控的响应和反馈. 微生物学报 **56**, 26–34.
- 张海涵 (2011). 黄土高原枸杞根际微生态特征及其共生真菌调控宿主生长与耐旱响应机制. 博士论文. 杨凌: 西北农林科技大学. pp. 38–40.
- Aerts AM, François IEJA, Bammens L, Cammue BPA, Smets B, Winderickx J, Accardo S, De Vos DE, Thevisen K (2006). Level of M(IP)₂C sphingolipid affects plant defensin sensitivity, oxidative stress resistance and chronological life-span in yeast. *FEBS Lett* **580**, 1903–1907.
- Arora P, Porcelli SA (2008). A glycan shield for bacterial sphingolipids. *Chem Biol* **15**, 642–644.
- Barreto-Bergter E, Sasaki GL, De Souza LM (2011). Structural analysis of fungal cerebrosides. *Front Microbiol* **2**, 239.
- Bi FC, Liu Z, Wu JX, Liang H, Xi XL, Fang C, Sun TJ, Yin J, Dai GY, Rong C, Greenberg JT, Su WW, Yao N (2014). Loss of ceramide kinase in *Arabidopsis* impairs defenses and promotes ceramide accumulation and mitochondrial H₂O₂ bursts. *Plant Cell* **26**, 3449–3467.
- Brandwagt BF, Kneppers TJA, Nijkamp HJJ, Hille J (2002). Overexpression of the tomato ASC-1 gene mediates high insensitivity to AAL toxins and fumonisin B₁ in tomato hairy roots and confers resistance to *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* in *Nicotiana umbratica* plants. *Mol Plant Microbe Interact* **15**, 35–42.
- Chen M, Markham JE, Cahoon EB (2012). Sphingolipid $\Delta 8$ unsaturation is important for glucosylceramide biosynthesis and low-temperature performance in *Arabidopsis*. *Plant J* **69**, 769–781.
- De Zélicourt A, Montiel G, Pouvreau JB, Thoiron S, Delgrange S, Simier P, Delavault P (2009). Susceptibility of *Phelipanche* and *Orobancha* species to AAL-toxin. *Planta* **230**, 1047–1055.
- Deepak SA, Raj SN, Umemura K, Kono T, Shetty HS (2003). Cerebroside as an elicitor for induced resistance against the downy mildew pathogen in pearl millet. *Ann Appl Biol* **143**, 169–173.
- Healey KR, Challa KK, Edlind TD, Katiyar SK (2015). Sphingolipids mediate differential echinocandin susceptibility in *Candida albicans* and *Aspergillus nidulans*. *Anti Microb Agents Chemother* **59**, 3377–3384.
- Hechtberger P, Zinser E, Saf R, Hummel K, Paltauf F, Daum G (1994). Characterization, quantification and subcellular localization of inositol-containing sphingolipids of the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. *Eur J Biochem* **225**, 641–649.
- Lachaud C, Silva DD, Cotelle V, Thuleau P, Xiong TC, Jauneau A, Brière C, Graziana A, Bellec Y, Faure JD, Ranjeva R, Mazars C (2010). Nuclear calcium controls the apoptotic-like cell death induced by D-erythro-sphinganine in tobacco cells. *Cell Calcium* **47**, 92–100.
- Lindahl L, Santos AXS, Olsson H, Olsson L, Bettiga M (2017). Membrane engineering of *S. cerevisiae* targeting sphingolipid metabolism. *Sci Rep* **7**, 41868.
- Magnin-Robert M, Le Bourse D, Markham J, Dorey S, Clément C, Baillieul F, Dhondt-Cordelier S (2015). Modifications of sphingolipid content affect tolerance to hemibiotrophic and necrotrophic pathogens by modulating

- plant defense responses in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* **169**, 2255–2274.
- Maillet F, Poinot V, André O, Puech-Pagès V, Haouy A, Gueunier M, Cromer L, Giraudet D, Formey D, Niebel A, Martinez EA, Driguez H, Bécard G, Dénarié J** (2011). Fungal lipochitooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature* **469**, 58–63.
- Markham JE, Lynch DV, Napier JA, Dunn TM, Cahoon EB** (2013). Plant sphingolipids: function follows form. *Curr Opin Plant Biol* **16**, 350–357.
- Michaelson LV, Napier JA, Molino D, Faure JD** (2016). Plant sphingolipids: their importance in cellular organization and adaption. *Biochim Biophys Acta* **1861**, 1329–1335.
- Mortimer JC, Yu X, Albrecht S, Sicilia F, Huichalaf M, Ampuero D, Michaelson LV, Murphy AM, Matsunaga T, Kurz S, Stephens E, Baldwin TC, Ishii T, Napier JA, Weber APM, Handford MG, Dupree P** (2013). Abnormal glycosphingolipid mannosylation triggers salicylic acid mediated responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **25**, 1881–1894.
- Oguro Y, Yamazaki H, Takagi M, Takaku H** (2014). Anti-fungal activity of plant defensin AFP1 in *Brassica juncea* involves the recognition of the methyl residue in glucosylceramide of target pathogen *Candida albicans*. *Curr Genet* **60**, 89–97.
- Olsen I, Jantzen E** (2001). Sphingolipids in bacteria and fungi. *Anaerobe* **7**, 103–112.
- Peer M, Stegmann M, Mueller MJ, Waller F** (2010). *Pseudomonas syringae* infection triggers de novo synthesis of phytosphingosine from sphinganine in *Arabidopsis thaliana*. *FEBS Lett* **584**, 4053–4056.
- Ramamoorthy V, Cahoon EB, Li J, Thokala M, Minto RE, Shah DM** (2007). Glucosylceramide synthase is essential for alfalfa defensin-mediated growth inhibition but not for pathogenicity of *Fusarium graminearum*. *Mol Microbiol* **66**, 771–786.
- Ramamoorthy V, Cahoon EB, Thokala M, Kaur J, Li J, Shah DM** (2009). Sphingolipid C-9 methyltransferases are important for growth and virulence but not for sensitivity to antifungal plant defensins in *Fusarium graminearum*. *Eukaryot Cell* **8**, 217–229.
- Rittershaus PC, Kechichian TB, Allegood JC, Merrill AH, Hennig M, Luberto C, Del Poeta M** (2006). Glucosylceramide synthase is an essential regulator of pathogenicity of *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Invest* **116**, 1651–1659.
- Rollin-Pinheiro R, Singh A, Barreto-Bergter E, Poeta MD** (2016). Sphingolipids as targets for treatment of fungal infections. *Future Med Chem* **8**, 1469–1484.
- Saucedo-García M, Guevara-García A, González-Solís A, Cruz-García F, Vázquez-Santana S, Markham JE, Guadalupe Lozano-Rosas M, Dietrich CR, Ramos-Vega M, Cahoon EB, Gavilanes-Ruiz M** (2011). MPK6, sphinganine and the *LCB2a* gene from serine palmitoyltransferase are required in the signaling pathway that mediates cell death induced by long chain bases in *Arabidopsis*. *New Phytol* **191**, 943–957.
- Sharma L, Prakash H** (2017). Sphingolipids are dual specific drug targets for the management of pulmonary infections: perspective. *Front Immunol* **8**, 378.
- Shi LH, Bielawski J, Mu JY, Dong HL, Teng C, Zhang J, Yang XH, Tomishige N, Hanada K, Hannun YA, Zuo J** (2007). Involvement of sphingoid bases in mediating reactive oxygen intermediate production and programmed cell death in *Arabidopsis*. *Cell Res* **17**, 1030–1040.
- Siebers M, Brands M, Wewer V, Duan YJ, Hölzl G, Dörmann P** (2016). Lipids in plant-microbe interactions. *Biochim Biophys Acta* **1861**, 1379–1395.
- Spassieva SD, Markham JE, Hille J** (2002). The plant disease resistance gene *Asc-1* prevents disruption of sphingolipid metabolism during AAL-toxin-induced programmed cell death. *Plant J* **32**, 561–572.
- Tani Y, Amaishi Y, Funatsu T, Ito M, Itonori S, Hata Y, Ashida H, Yamamoto K** (2014). Structural analysis of cerebrosides from *Aspergillus* fungi: the existence of galactosylceramide in *A. oryzae*. *Biotechnol Lett* **36**, 2507–2513.
- Tartaglio V, Rennie EA, Cahoon R, Wang G, Baidoo E, Mortimer JC, Cahoon EB, Scheller HV** (2017). Glycosylation of inositol phosphorylceramide sphingolipids is required for normal growth and reproduction in *Arabidopsis*. *Plant J* **89**, 278–290.
- Thevissen K, François IEJA, Takemoto JY, Ferket KKA, Meert EMK, Cammue BPA** (2003). DmAMP1, an anti-fungal plant defensin from dahlia (*Dahlia merckii*), interacts with sphingolipids from *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol Lett* **226**, 169–173.
- Thevissen K, Warnecke DC, François IEJA, Leipelt M, Heinz E, Ott C, Zähringer U, Thomma BPHJ, Ferket KKA, Cammue BPA** (2004). Defensins from insects and plants interact with fungal glucosylceramides. *J Biol Chem* **279**, 3900–3905.
- Townley HE, McDonald K, Jenkins GI, Knight MR, Leaver CJ** (2005). Ceramides induce programmed cell death in *Arabidopsis* cells in a calcium-dependent manner. *Biol*

- Chem* **386**, 161–166.
- Ueda N** (2017). Sphingolipids in genetic and acquired forms of chronic kidney diseases. *Curr Med Chem* **24**, 1238–1275.
- Umemura K, Ogawa N, Koga J, Iwata M, Usami H** (2002). Elicitor activity of cerebroside, a sphingolipid elicitor, in cell suspension cultures of rice. *Plant Cell Physiol* **43**, 778–784.
- Umemura K, Ogawa N, Yamauchi T, Iwata M, Shimura M, Koga J** (2000). Cerebroside elicitors found in diverse phytopathogens activate defense responses in rice plants. *Plant Cell Physiol* **41**, 676–683.
- Virolainen E, Blokhina O, Fagerstedt K** (2002). Ca^{2+} -induced high amplitude swelling and cytochrome *c* release from wheat (*Triticum aestivum* L.) mitochondria under anoxic stress. *Ann Bot* **90**, 509–516.
- Wang WM, Yang XH, Tangchaiburana S, Ndeh R, Markham JE, Tsegaye Y, Dun TM, Wang GL, Bellizzi M, Parsons JF, Morrissey D, Bravo JE, Lynch DV, Xiao SY** (2008). An inositolphosphorylceramide synthase is involved in regulation of plant programmed cell death associated with defense in *Arabidopsis*. *Plant Cell* **20**, 3163–3179.
- Warnecke D, Heinz E** (2003). Recently discovered functions of glucosylceramides in plants and fungi. *Cell Mol Life Sci* **60**, 919–941.
- Yanagawa D, Ishikawa T, Imai H** (2017). Synthesis and degradation of long-chain base phosphates affect fumonisin B1-induced cell death in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res* **130**, 571–585.
- Zhu CY, Wang MS, Wang WL, Ruan RJ, Ma HJ, Mao CG, Li HY** (2014). Glucosylceramides are required for mycelial growth and full virulence in *Penicillium digitatum*. *Biochem Biophys Res Commun* **455**, 165–171.

Advances in Molecular Regulation of Sphingolipids in Plant-fungus Interactions

Tingting Shan¹, Xiaomei Chen^{1*}, Shunxing Guo^{1*}, Lixia Tian¹, Lin Yan², Xin Wang¹

¹*Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;* ²*Agricultural Service Center of Changsha Town, Chishui City, Guizhou Province, Chishui 564700, China*

Abstract Sphingolipids are essential components of cell membranes and take part in many critical processes of signal transduction. In plant-fungus interactions, plant sphingolipids mainly induce programmed cell death, whereas fungus sphingolipids induce plant death or plant disease resistance. In this paper, we summarize the structure and metabolic characteristics of plant and fungus sphingolipids as well as advances in the molecular regulation of sphingolipids in plant-fungus interactions. Moreover, the research direction of the role of sphingolipids in plant-fungus symbiosis is also prospected.

Key words glucosylceramides, pathogenic fungi, programmed cell death, sphingosine

Shan TT, Chen XM, Guo SX, Tian LX, Yan L, Wang X (2019). Advances in molecular regulation of sphingolipids in plant-fungus interactions. *Chin Bull Bot* **54**, 396–404.

* Authors for correspondence. E-mail: cxm_implad@163.com; sxguo1986@163.com

(责任编辑: 朱亚娜)