



## Comprehensive Genomic, Evolutionary, and Structural Analysis of LysM Motif-Containing Genes in Cereals

Elham Rezaei Mirghayed<sup>1</sup> , Farhad Nazarian-Firouzabadi<sup>1</sup> , Seyyed Mohsen Sohrabi<sup>2</sup> & Mohammad-Reza Mahmoudian-Sani<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Production Engineering and Plant Genetics Department, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

<sup>2</sup> Assistant professor, Production Engineering and Plant Genetics Department, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

<sup>3</sup> Assistant Professor of Thalassemia and Hemoglobinopathy Research Center, Health research institute, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

Corresponding author. E-mail: [nazarian.f@lu.ac.ir](mailto:nazarian.f@lu.ac.ir)

### ABSTRACT

**Introduction:** Cereals are the primary source of energy for human consumption as well as animal feed. Throughout their lifecycle, cereals are exposed to a wide range of both biotic and abiotic stresses that often lead to significant yield losses, impacting both the quality and quantity of their yield. Consequently, safeguarding their productivity, particularly by resistance against biotic threats such as fungi and oomycetes, is crucial. A variety of proteins play key roles in specialised molecular signalling pathways that enhance the stress resistance of cereals. To this end, maintaining cereal productivity by controlling plant diseases, particularly fungi and oomycetes, is of critical importance. LysM motif-containing proteins play significant roles in plant innate immunity, symbiotic interactions, plant-pathogen interactions, and cell wall biosynthesis. However, the evolutionary pathways and functional diversity of these protein families remain largely unknown in the major cereal crops.

**Materials and methods:** In this study, a comprehensive genomic analysis was conducted on LysM motif-containing gene families across seven major cereal species, including *Avena sativa*, *Oryza sativa*, *Triticum aestivum*, *Sorghum bicolor*, *Hordeum vulgare*, *Zea mays*, and *Secale cereale*. Bioinformatics tools were employed to detect genes and proteins featuring the lysin (LysM) motif. Target genes were selected through screening processes using multiple software platforms and predetermined parameters.

**Results:** A total of 106 LysM motif-containing genes were identified across seven selected cereal genomes. These genes exhibited considerable structural diversity and displayed a wide range of chromosomal distribution patterns. Phylogenetic analyses classified LysM motif-containing genes into three distinct subfamilies, indicating both evolutionary conservation and lineage-specific adaptations. Further analyses of LysM motif-containing genes revealed significant synteny and collinearity among the cereal species, suggesting evolutionary relationships and the functional conservation of LysM motif-containing genes. Gene structures and conserved motif analyses revealed the functional diversity of LysM motif-containing genes. Analysis of cis-regulatory elements indicated that LysM genes are involved in responses to both biotic and abiotic stresses, particularly in response to pathogen recognition and signalling pathways.

**Conclusion:** The findings of this study demonstrate that LysM motif-containing genes exhibit evolutionary dynamics and play important functional roles in cereals. Therefore, LysM motif-containing genes hold great potential in molecular breeding programs aimed at improving cereal crops to resist both biotic and abiotic stresses. The results of this study improve our understanding of the molecular mechanisms involving LysM motif-containing genes and highlight their potential applications in breeding strategies for improving stress resistance and productivity in cereals.

**Keywords:** Interaction, stress response, phylogenetic analysis, Chitin-binding domain, Systemic acquired resistance.

**Article Type:** Research Article

**Article history:** Received: 22 Nov 2024, Revised: 11 Jan 2025, Accepted: 26 Feb 2025, Published online: 28 Mar 2025

**Cite this article:** Rezaei Mirghayed, E., Nazarian-Firouzabadi, F., Sohrabi, S. M. & Mahmoudian-Sani, M. R. (2025). Comprehensive Genomic, Evolutionary, and Structural Analysis of LysM Motif-Containing Genes in Cereals. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 4(1), 1-25. DOI: [10.22126/cbb.2025.12228.1109](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.12228.1109)



© The Author(s).

[10.22126/cbb.2025.12228.1109](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.12228.1109)

**Publisher:** Razi University



# بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳



بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

Homepage: <https://cbb.razi.ac.ir>

## تحلیل جامع ژنومی، تکاملی و ساختاری خانواده‌های ژنی دارای موتیف LysM در غلات

الهام رضایی میرقائد<sup>۱</sup>، فرهاد نظریان فیروزآبادی<sup>۱</sup>، سید محسن سهرابی<sup>۲</sup> و محمدرضا محمودیان ثانی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران.

<sup>۲</sup> گروه مهندسی تولیدات گیاهی و ژنتیک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

<sup>۳</sup> مرکز تحقیقات تالاسمی و هموگلوبینوپاتی، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

✉ نویسنده مسئول: [nazarian.f@lu.ac.ir](mailto:nazarian.f@lu.ac.ir)

### چکیده

**مقدمه:** غلات منبع اصلی انرژی برای مصرف انسان و خوراک دام هستند. غلات در طول زندگی خود با تنش‌های زنده و غیرزنده متعددی مواجه می‌شوند که در بیشتر موارد به آنها خسارت وارد کرده و روی کیفیت و کمیت محصول آنها تاثیر می‌گذارد. بنابراین، حفظ عملکرد آنها با جلوگیری از حمله پاتوژن‌های بیمارگر به ویژه قارچ‌ها و اوومیسیت‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. پروتئین‌های متعددی در مسیرهای سیگنالینگ مولکولی ویژه‌ای در مقاومت غلات به تنش‌ها دخالت دارند. در این میان، پروتئین‌های دارای موتیف لیزین (LysM) نقش مهمی در ایمنی ذاتی گیاهان، روابط همزیستی بین گیاهان و میکروارگانیسم‌ها و بیوسنتز دیواره سلولی دارند. با این حال، مسیرهای تکاملی و تنوع عملکردی این خانواده از پروتئین‌ها برای مهمترین گیاهان زراعی بشر از جمله غلات به‌طور کامل ناشناخته باقی مانده است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، یک تجزیه و تحلیل جامع ژنومی روی خانواده‌های ژنی دارای موتیف LysM در هفت گونه اصلی غلات شامل: *Oryza sativa*, *Avena sativa*, *Triticum aestivum*, *Sorghum bicolor*, *Hordeum vulgare*, *Zea mays* و *Secale cereale* صورت گرفت. از ابزارهای بیوانفورماتیکی برای شناسایی ژن‌ها و پروتئین‌های دارای موتیف لیزین (LysM) استفاده شد. غربالگری ژن‌ها برای استخراج ژن‌های هدف بر اساس نرم افزارهای مختلف و با توجه به پارامترهای پیش فرض، مشخص گردید.

**یافته‌ها:** در مجموع و در ژنوم این هفت غله، تعداد ۱۰۶ ژن دارای موتیف LysM شناسایی شدند که در بین آنها، تنوع ساختاری قابل توجهی مشاهده شد و الگوهای پراکندگی کروموزومی متنوعی از خود نشان دادند. تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی، این ژن‌ها را به سه زیرخانواده‌ی مجزا طبقه‌بندی کرد که این موضوع نشان‌دهنده‌ی حفظ شدگی این پروتئین‌ها در کنار روند تکامل اختصاصی آنها است. تجزیه و تحلیل‌های بیشتر این ژن‌ها، سینتینی (Synteny) و هم‌خطی (Collinearity) قابل توجهی را میان گونه‌های غلات نشان داد که بر محدودیت‌های تکاملی و حفظ عملکرد این خانواده از ژن‌ها دلالت دارد. بررسی ساختار ژنی و تجزیه و تحلیل موتیف‌های حفاظت‌شده نیز بر تنوع عملکردی این ژن‌ها تأکید داشت. تجزیه و تحلیل عناصر تنظیمی Cis بیانگر نقش ژن‌های LysM در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی، به‌ویژه شناسایی عوامل بیماری‌زا و مسیرهای سیگنال‌دهی بود.

**نتیجه‌گیری:** یافته‌های این پژوهش، نشان دادند که ژن‌های دارای موتیف LysM دارای پویایی تکاملی و اهمیت عملکردی در غلات هستند و از این رو، می‌توان از آنها برای برنامه‌های اصلاح مولکولی غلات استفاده نمود. نتایج مطالعه حاضر، درک ما را از مکانیسم‌های مولکولی مبتنی بر ژن‌های دارای موتیف LysM و کاربردهای بالقوه‌ی آنها در راهبردهای بهنجاری با هدف افزایش مقاومت به تنش و بهره‌وری در غلات را افزایش می‌دهد.

**واژه‌های کلیدی:** برهم‌کنش، پاسخ به تنش، تحلیل فیلوژنتیکی، دمین اتصال به کیتین، مقاومت اکتسابی سیستمیک.

**نوع مقاله:** مقاله پژوهشی

**نوع مقاله در یافت:** ۱۴۰۳/۰۹/۰۲ **اصلاح:** ۱۴۰۳/۱۰/۲۲ **پذیرش:** ۱۴۰۳/۱۲/۰۸، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۴/۰۱/۰۸

**استناد:** رضایی میرقائد، ا.، نظریان فیروزآبادی، ف.، سهرابی، س. م. و محمودیان ثانی، م. ر. (۱۴۰۴). تحلیل جامع ژنومی، تکاملی و ساختاری خانواده‌های ژنی دارای

موتیف LysM در غلات. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۴(۱)، ۲۵-۱. DOI: [10.22126/cbb.2025.12228.1109](https://doi.org/10.22126/cbb.2025.12228.1109)



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه رازی

## مقدمه

(PAMPs/MAMPs) سطح پاتوژن‌ها را شناسایی کرده و

به آن‌ها متصل می‌شوند (Chen *et al.*, 2020d; Crumière *et al.*, 2025). به طوری که این فرآیند شناسایی، آبشارهای سیگنال‌دهی درون سلولی را آغاز کرده و در نهایت منجر به فعال شدن پاسخ‌های ایمنی گیاه می‌شود (Desaki *et al.*, 2018). از طرف دیگر، در برخی موارد، پروتئین‌های دارای موتیف LysM به‌عنوان افکتور (effectors) عمل کرده و با اختلال در پاسخ‌های ایمنی میزبان، به تهاجم مؤثر پاتوژن کمک می‌کنند (Hu *et al.*, 2021b).

به‌طور کلی، موتیف لیزین در دو خانواده از پروتئین‌های مهم سیستم ایمنی ذاتی گیاهان یعنی؛ پروتئین‌های خانواده LysM-RLK<sup>4</sup>، خانواده LysM-RLP<sup>5</sup> وجود دارد (Chen *et al.*, 2020c). بر اساس مطالعات بیوانفورماتیکی و ویژگی‌های ساختاری، پروتئین‌های خانواده‌ها LysM-RLK خود به چهار زیرخانواده (۱) گیرنده‌های شبه‌کینازی دارای موتیف لیزین (LYKs)، (۲) پروتئین‌های شبه‌گیرنده دارای موتیف لیزین (LYPs)، پروتئین‌ها LysMe و پروتئین‌های LysMn تقسیم بندی می‌شوند (Abedi *et al.*, 2021). پروتئین‌های LYP معمولاً دارای دو موتیف LysM بوده و عمدتاً در تجزیه‌ی دیواره‌های سلولی باکتری‌ها و قارچ‌ها نقش دارند (Buendia *et al.*, 2018). پژوهش‌های اخیر

موتیف لیزین (LysM<sup>1</sup>)، یک توالی اسیدآمینهای کوتاه متشکل از ۴۴ تا ۵۰ اسید آمینه است که نقش مهمی در شناسایی سیگنال‌های مرتبط با عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کند. این موتیف دارای ساختار ثانویه متقارن βααβ است که در آن دو مارپیچ آلفا (α-helices) در یک طرف از صفحات بتا (β-sheets) معکوس و موازی قرار گرفته‌اند (Singh *et al.*, 2021). از نظر ساختاری، موتیف LysM شکل اصلاح شده‌ای از موتیف کوتاه لکترین در نظر گرفته می‌شود (Akcapinar *et al.*, 2015). در بیشتر موارد، LysM به‌عنوان یک موتیف پروتئینی مرتبط به غشاء عمل می‌کند که در انتهای N یا C برخی از پروتئین‌ها قرار دارد؛ با این حال، در برخی موارد، این موتیف در نواحی مرکزی برخی از پروتئین‌ها نیز یافت می‌شود (Liu *et al.*, 2019). این موتیف به‌طور گسترده‌ای در آنزیم‌های تجزیه‌کننده‌ی باکتریایی و قارچی حضور دارد و به تجزیه‌ی اجزای دیواره‌ی سلولی کمک می‌کند (Gong *et al.*, 2025).

پروتئین‌های دارای موتیف LysM نقش دوگانه‌ای در ایمنی ذاتی گیاهان دارند. از یکطرف در هنگام تهاجم پاتوژن‌ها، این پروتئین‌ها به‌عنوان گیرنده‌های شناسایی الگو<sup>۲</sup> (PRRs) در غشاء سلولی عمل کرده و الگوهای مولکولی مرتبط با عوامل بیماری‌زا یا میکروبی<sup>۳</sup>

<sup>4</sup> LysM-containing receptor-like kinase (LysM-RLK)

<sup>5</sup> LysM-containing receptor-like proteins (LysM-RLP)

<sup>1</sup> Lysin Motif

<sup>2</sup> Pattern Recognition Receptors

<sup>3</sup> Microbe/Pathogen-Associated Molecular Patterns (MAMPs/PAMPs)

citri subsp. citri (Xcc) بوده و پاسخ‌های دفاعی را فعال می‌کنند (Li et al., 2021).

پروتئین‌های دارای LysM فراتر از نقششان در شناسایی پاتوژن، در فرآیندهای زیستی متعدد دیگری از جمله رشد و نمو گیاه، تنظیم هورمونی، پاسخ به تنش‌ها و تعامل با میکروارگانیسم‌های همزیست نقش دارند (Grabherr, 2011). برای مثال، در برنج، OsEMSA1 هم رشد سیستم ریشه و هم تشکیل گامتوفیت ماده را تنظیم می‌کند؛ خاموش‌سازی این ژن منجر به رشد غیرطبیعی کیسه‌ی جنینی و تخریب در لوله‌ی گرده می‌شود (Zhu et al., 2017b). همچنین ژو و همکاران (Zhu et al., 2018) در یک مطالعه نشان دادند که پروتئین OsEMSA1 بر سطح هورمون‌ها بافت‌های مختلف برنج تأثیر می‌گذارد. علاوه بر این، پروتئین‌های OsLYK2 و OsCERK1 یک هترو دایمر گیرنده‌ی شبه‌کینازی را تشکیل می‌دهند که با قارچ‌های *Arbuscular mycorrhiza* و فاکتورهای گره‌زایی در تعامل هستند و در نتیجه، همزیستی گیاه-میکروارگانیسم را تسهیل می‌کنند (He et al., 2019). در گوجه‌فرنگی، پروتئین SiLYK13 در تنظیم مرگ برنامه‌ریزی‌شده‌ی سلول نقش دارد (Liao et al., 2018). در گندم، بیان ژن‌های TaLysMs در ریشه‌ها بسیار بالا است و الگوهای بیانی متفاوتی در ساقه، برگ، خوشه و بذر از خود نشان می‌دهد (Singh et al., 2021).

نشان می‌دهند که موتیف LysM در پروتئین InLYP با گلیسین دکربوکسیلاز GLDP2 در گیاه آرابیدوپسیس برهم‌کنش داشته و فرآیند دکربوکسیلاسیون گلیسین را تسهیل می‌کند (Guo et al., 2021). در مقابل، پروتئین LYK که دارای هر دو موتیف LysM و کیناز است، عمدتاً به‌عنوان گیرنده‌ی شناسایی کیتین عمل کرده و پاسخ‌های ایمنی ذاتی را در گیاهان تقویت می‌کند (Buendia et al., 2018).

از زمان کشف اولین ژن دارای موتیف LysM، به نام OsCEBiP در برنج، اعضای این خانواده ژنی در گونه‌های گیاهی مختلفی از جمله آرابیدوپسیس (Petutschnig et al., 2010)، موز (Ren et al., 2022)، گندم (Chen et al., 2020c) و برنج (Zhu et al., 2017a) شناسایی شده‌اند. در اکثر گونه‌های گیاهی، پروتئین‌های LysM عمدتاً به‌عنوان گیرنده‌های شناسایی الگو یا همان PRRs عمل کرده و در مکانیسم مسیر دفاعی موسوم به PTI<sup>۶</sup> دخالت دارند (Zhou et al., 2023). به‌عنوان مثال در گیاه آرابیدوپسیس، پروتئین AtCERK1 با LYK5 برهم‌کنش دارد و کمپلکس هتروالیگومری ایجاد می‌کند که در ادامه مسیرهای سیگنال‌دهی پایین‌دست مسیر PTI را فعال می‌کند (Ji et al., 2022). در همین راستا، در درخت سیب، پروتئین MdCERK1-2 مقاومت به پاتوژن قارچی را افزایش می‌دهد (Meng et al., 2024). در حالی که پروتئین CsLYKs در مرکبات قادر به شناسایی باکتری عامل آتشک مرکبات *Xanthomonas*

<sup>۶</sup> Pathogen Triggered Immunity (PTI)

غلات از جمله گندم، برنج و ذرت، از مهم‌ترین محصولات اساسی از نظر اقتصادی در جهان هستند و به عنوان منبع اصلی غذایی و تغذیه‌ای برای میلیون‌ها نفر در کشورهای در حال توسعه محسوب می‌شوند (Desai et al., 2021; Grote et al., 2021). با این حال، این محصولات به‌شدت در معرض عوامل بیماری‌زای باکتریایی و قارچی و همچنین تنش‌های محیطی مانند سرما، گرما، شوری، خشکی و ... هستند که به‌طور قابل توجهی بر کاهش تولید جهانی آنها تأثیر می‌گذارند (Ghorbanzadeh et al., 2023). خانواده ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM به‌عنوان یکی از مؤلفه‌های اصلی در مکانیسم‌های دفاعی گیاهان، نقش کلیدی در شناسایی پاتوژن، ایمنی ذاتی، پاسخ به تنش‌های غیرزیستی و تعاملات همزیستی با قارچ‌های مفید ایفا می‌کنند (Hu et al., 2021b; Roudaire et al., 2023) با وجود شناسایی گسترده‌ی ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM در گونه‌های گیاهی مختلف، به نظر می‌رسد که تجزیه و تحلیل جامع این ژن‌ها در یک مجموعه از غلات اهمیت داشته باشد. بر این اساس، این مطالعه با هدف شناسایی و توصیف ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM در گونه‌های اصلی غلات با استفاده از تجزیه و تحلیل‌های بیوانفورماتیکی صورت گرفت. در این مطالعه، تجزیه و تحلیل‌هایی از جمله پیش‌بینی عناصر تنظیمی Cis، بررسی ساختار ژنی، استنتاج روابط تکاملی، شبکه‌های برهم‌کنش پروتئین-پروتئین، مورد مطالعه قرار خواهد گرفت. نتایج این پژوهش، پایه‌ای

پروتئین‌های دارای موتیف LysM همچنین در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی نقش بسیار مهمی ایفا می‌کنند. کیتین، به‌عنوان یکی از تنظیم‌کننده‌های کلیدی در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی، برای شروع مسیرهای سیگنال‌دهی تنش با واسطه کیتین به حضور موتیف LysM نیاز دارد. از این‌رو، پروتئین‌های LysM با القای بیان آنزیم‌های خانواده کیتیناز در تنظیم مکانیسم‌های سازگاری با تنش، نقش مهمی ایفا می‌کنند و موجب افزایش تحمل گیاه در برابر تنش‌های غیرزیستی می‌شوند (Gong et al., 2020). برای مثال، در گندم، ژن‌های کدکننده TaLYP4 در پاسخ به تنش‌های سرما، خشکی و گرما فعال می‌شوند، این در حالی است که ژن‌های کدکننده TaLYP3 تحت تنش خشکی و گرما کاهش بیان از خود نشان می‌دهند (Liu et al., 2012). در گیاه *Lotus japonicus*، پروتئین‌های دارای موتیف LysM مانند NFR1 و NFR5 در همزیستی لگوم-ریزوبیوم و همزیستی قارچی نقش اساسی دارند و سیگنال‌دهی فاکتورهای گره‌ک‌زایی را در ریشه‌های لگوم‌ها بر عهده دارند (Wong et al., 2019). این یافته‌ها نقش ضروری پروتئین‌های دارای موتیف LysM را در رشد و نمو گیاهان نشان می‌دهد. علاوه بر این، برخی از پروتئین‌های دارای موتیف LysM دارای عملکردهای چندگانه هستند. برای نمونه، پروتئین MtLYK9 در *Medicago truncatula* هم در همزیستی *Arbuscular mycorrhiza* و هم در تنظیم ایمنی گیاه نقش دارد (Gibelin-Viala et al., 2019).

قرار گرفتند. توالی‌هایی که فاقد موتیف حفاظت‌شده‌ی LysM بودند، از ادامه‌ی آنالیزها حذف شدند. برای کاهش موارد مثبت کاذب و افزایش دقت شناسایی، آستانه‌ی E-value برابر با  $1e-20$  در نظر گرفته شد. سپس از توالی‌های پروتئینی کاندید دارای موتیف LysM به‌منظور استخراج توالی‌های متناظر CDS و gDNA، با استفاده از الگوریتم 'Fasta Extract' در نرم‌افزار TBtools استفاده شد. اسامی ژن‌های شناسایی شده به‌صورت XY-LysM-xx تعیین شد که در این نام گذاری X و Y؛ به ترتیب حرف اول اسم جنس و گونه و xy شماره ژن شناسایی شده است. برای مثال TaLysMxy بیانگر ژن شماره ۸ در گیاه گندم نان می‌باشد.

برای توصیف ویژگی‌های فیزیوشیمیایی اعضای خانواده‌ی پروتئینی LysM، از مجموعه‌ای از ابزارهای بیوانفورماتیکی استفاده شد. از ابزار Expasy ProtParam (<https://web.expasy.org/protparam/>) برای محاسبه‌ی نقطه‌ی ایزوالکتریک (pI)، طول توالی، وزن مولکولی پروتئین‌ها استفاده شد. همچنین، برای پیش‌بینی محل فعالیت پروتئین‌ها، از سرور SignalP

نسخه ۴.۰

(<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP-4.0/>) استفاده شد. به‌منظور تجزیه و تحلیل توپولوژی موتیف-های غشایی، از ابزار TMHMM نسخه ۲.۰ (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) استفاده شد.

نظری برای تحقیقات آینده در زمینه‌ی نقش‌های عملکردی ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM در رشد، نمو و بهبود مقاومت در غلات فراهم خواهد ساخت.

## مواد و روش‌ها

### شناسایی اعضای خانواده ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM غلات

مجموعه داده‌های مربوط به توالی پروتئین‌ها، توالی DNA ژنومی (gDNA) و توالی کدکننده ناحیه CDS برای گونه‌های غلات شامل؛ یولاف (*Avena sativa*)، جو (*Hordeum vulgare*)، برنج (*Oryza sativa*)، سورگوم (*Sorghum bicolor*)، چاودار (*Secale cereale*)، گندم (*Triticum aestivum*) و ذرت (*Zea mays*) از پایگاه داده‌ی Plants Ensembl (<https://plants.ensembl.org/index.html>) استخراج شدند. یک پروفایل بر اساس مدل مخفی مارکوف<sup>۷</sup> (HMM) مربوط به موتیف LysM (با شناسه‌ی PF01476) از پایگاه داده‌ی Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) استخراج گردید. (Finn et al., 2014) برای شناسایی گسترده ژنومی-Genome-wide) پروتئین‌های دارای موتیف LysM، از ابزار جستجوی ساده HMM در نرم‌افزار TBtools (نسخه ۱.۰۹۸۶۹۶) استفاده شد و نتایج حاصل با استفاده از ابزار NCBI Conserved Domain Database (CDD) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/cdd>) مورد تأیید

<sup>7</sup> Hidden Markov Model (HMM)

## تجزیه و تحلیل عناصر سیس ناحیه پروموتور ژن‌های

### کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM

برای تجزیه و تحلیل عناصر تنظیمی Cis، ناحیه‌ی به طول ۲۰۰۰ جفت‌باز در بالادست محل آغاز رونویسی (TSS) مربوط به ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM همه غلات مورد مطالعه از پایگاه Ensembl Plants استخراج شدند. سپس توالی‌های ناحیه پروموتور ژن‌ها به‌منظور شناسایی عناصر تنظیمی Cis، با استفاده از پایگاه داده PlantCARE (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/>) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای ترسیم این عناصر در ناحیه پروموتور ژن‌ها، از قابلیت‌های نرم‌افزار TBtools استفاده شد.

## بررسی ساختار ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای

### موتیف LysM

به‌منظور بررسی سازماندهی اگزون-اینترون ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM در ژنوم غلات مورد مطالعه، توالی‌های ژنومی و کدکننده (CDS) آن‌ها با استفاده از سرور نمایش ساختار ژن Gene Structure (GSDS) Display Server نسخه ۲.۰ (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای بررسی میزان حفظ شدگی موتیف LysM، توالی‌های پروتئینی با استفاده از پایگاه داده‌ی Conserved Domain Database (CDD) مورد بررسی قرار گرفتند و فایل‌های داده ساختاری موتیف

برای تحلیل‌های بعدی و بیشتر ایجاد شدند. در نهایت، نمایش گرافیکی ساختار ژن و موتیف LysM با استفاده از نرم‌افزار TBtools ترسیم شد.

## تجزیه و تحلیل روابط فیلوژنتیکی ژن‌های کدکننده

### پروتئین‌های دارای موتیف LysM در غلات

در مجموع ۱۰۶ توالی پروتئینی LysM از غلات مورد مطالعه، به‌همراه ۱۶ توالی پروتئینی LysM از گیاه آرابیدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*) استخراج و شناسایی شدند. برای هم‌ردیفی چندگانه (Multiple Sequence Alignment) توالی‌های ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM از الگوریتم MUSCLE در نرم‌افزار MEGA 12 بر اساس روش حداکثر درست‌نمایی (Maximum Likelihood) با ۱۰۰۰ تکرار Bootstrap انجام شد (Kumar et al., 2024). سایر پارامترها نرم‌افزار به‌صورت پیش‌فرض باقی ماندند. درخت فیلوژنی حاصل با استفاده از ابزار (iTOL) (<https://itol.embl.de/>) ترسیم و اصلاح گردید.

## مکان‌یابی کروموزومی و تجزیه و تحلیل هم خطی

موقعیت ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM بر روی کروموزوم‌های ژنوم گونه‌های غلات مورد مطالعه با استفاده از نرم‌افزار TBtools (نسخه ۲.۰۱۹) تعیین گردید (Chen et al., 2020a). به‌منظور بررسی حفظ شدگی این ژن‌ها در بین گونه‌ها مختلف غلات مورد مطالعه، توالی‌های ژنومی این هفت گونه همراه با آرابیدوپسیس با استفاده از نرم‌افزار MCScanX (نسخه

۲۰۱۹) هم‌تراز و تجزیه و تحلیل شدند. سپس هم‌خطی ژن‌ها در بین گونه‌ها مختلف غلات مورد مطالعه با استفاده از TBtools به صورت گرافیکی مشخص گردید.

## نتایج و بحث

### شناسایی اعضای ژن‌های کدکننده پروتئین‌های

#### دارای موتیف LysM

در این مطالعه، در مجموع ۱۰۶ ژن کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM در هفت گونه از غلات شناسایی شدند (جدول ۱). از این تعداد، به ترتیب یولاف با ۳۲ ژن، ذرت با ۱۷ ژن، جو با ۱۵ ژن، چاودار با ۱۴ ژن، برنج با ۱۱، سورگوم با ۸ و گندم نان با ۹ ژن به ترتیب دارای بیشترین و کمترین تعداد ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM بودند. موتیف‌های LysM اجزای ضروری در پاسخ سیستم ایمنی گیاه به عوامل بیماری‌زا هستند (Hu et al., 2021a). تفاوت در تعداد ژن‌های دارای موتیف LysM را می‌توان به اندازه ژنوم غلات مختلف و همچنین نسخه‌های سرهم‌بندی ژنوم آنها نسبت داد، به طوری که در مورد گندم هنوز ژنوم مرجع کاملی در دسترس نیست. از طرف دیگر ژنوم‌های سه گانه گندم

دارای ژن‌های تقریباً یکسانی هستند. ژن LysM در چندین گونه گیاهی از جمله *A. thaliana* (Wan et al., 2008)، *O. sativa* (Zhu et al., 2017b)، *Brachypodium distachyon* (Tombuloglu et al., 2019)، *B. napus* (Abedi et al., 2021)، *Citrus sinensis* (Li et al., 2021)، *G. hirsutum* (Xu et al., 2017)، *Malus domestica* (Zhou et al., 2018)، *Brassica juncea* (Yang et al., 2020) و *Solanum tuberosum* (Nazarian-Firouzabadi et al., 2019) مورد بررسی قرار گرفته‌اند. تفاوت قابل توجه در تعداد ژن‌ها در بین گونه‌های گیاهی نشان می‌دهد که توسعه ژن‌های دارای موتیف LysM مختص گونه بوده و عمدتاً به دلیل تکرار ژنی (duplication) اتفاق افتاده است (Zhang et al., 2023). علاوه بر این، هیچ رابطه معنی‌داری بین اندازه ژنوم غلات و تعداد ژن‌های دارای موتیف LysM یافت نشد. به عنوان مثال، اگرچه اندازه ژنوم *S. bicolor* تقریباً ۲/۵ برابر ژنوم *O. sativa* است، اما هر دو گیاه دارای تعداد یکسانی از ژن‌های دارای موتیف LysM هستند.



جدول ۱. فهرست ژن های دارای موتیف LysM در غلات. حرف اول جنس و گونه نام علمی در نامگذاری ژن ها استفاده شده است.

**Table 1. List of LysM-containing genes in cereal crops, with gene names prefixed by the initials of their respective genus and species.**

| Gene ID                    | شماره دسترسی | Name      | نام | Gene ID                   | شماره دسترسی | Name      | نام | Gene ID            | شماره دسترسی | Name      | نام |
|----------------------------|--------------|-----------|-----|---------------------------|--------------|-----------|-----|--------------------|--------------|-----------|-----|
| AVESA.00001b.r3.4Cg0000874 |              | AsLysM 1  |     | HORVU.MOREX.r3.4HG0417740 |              | HvLysM 5  |     | SECCE3Rv1G0199300  |              | ScLysM 7  |     |
| AVESA.00001b.r3.1Ag0000585 |              | AsLysM 2  |     | HORVU.MOREX.r3.5HG0485860 |              | HvLysM 6  |     | SECCE3Rv1G0187730  |              | ScLysM 8  |     |
| AVESA.00001b.r3.1Cg0000119 |              | AsLysM 3  |     | HORVU.MOREX.r3.5HG0502740 |              | HvLysM 7  |     | SECCE4Rv1G0254310  |              | ScLysM 9  |     |
| AVESA.00001b.r3.1Cg0001175 |              | AsLysM 4  |     | HORVU.MOREX.r3.6HG0538650 |              | HvLysM 8  |     | SECCE1Rv1G0025800  |              | ScLysM 10 |     |
| AVESA.00001b.r3.1Dg0000552 |              | AsLysM 5  |     | HORVU.MOREX.r3.6HG0538670 |              | HvLysM 9  |     | SECCE4Rv1G0217420  |              | ScLysM 11 |     |
| AVESA.00001b.r3.1Dg0003441 |              | AsLysM 6  |     | HORVU.MOREX.r3.6HG0574360 |              | HvLysM 10 |     | SECCE5Rv1G0346570  |              | ScLysM 12 |     |
| AVESA.00001b.r3.1Dg0003613 |              | AsLysM 7  |     | HORVU.MOREX.r3.6HG0574410 |              | HvLysM 11 |     | SECCE6Rv1G0388480  |              | ScLysM 13 |     |
| AVESA.00001b.r3.2Dg0001145 |              | AsLysM 8  |     | HORVU.MOREX.r3.6HG0604320 |              | HvLysM 12 |     | SECCE6Rv1G0446410  |              | ScLysM 14 |     |
| AVESA.00001b.r3.3Ag0000420 |              | AsLysM 9  |     | HORVU.MOREX.r3.6HG0619000 |              | HvLysM 13 |     | TraesCS3A02G276600 |              | TaLysM 1  |     |
| AVESA.00001b.r3.3Ag0002191 |              | AsLysM 10 |     | HORVU.MOREX.r3.7HG0663400 |              | HvLysM 14 |     | TraesCS3B02G310800 |              | TaLysM 2  |     |
| AVESA.00001b.r3.3Cg0002441 |              | AsLysM 11 |     | HORVU.MOREX.r3.7HG0749800 |              | HvLysM 15 |     | TraesCS3D02G276800 |              | TaLysM 3  |     |
| AVESA.00001b.r3.4Ag0001228 |              | AsLysM 12 |     | Os10g0485500              |              | OsLysM 1  |     | TraesCS4B02G387000 |              | TaLysM 4  |     |
| AVESA.00001b.r3.4Ag0002462 |              | AsLysM 13 |     | Os01g0546000              |              | OsLysM 2  |     | TraesCS5A02G551300 |              | TaLysM 5  |     |
| AVESA.00001b.r3.4Ag0002656 |              | AsLysM 14 |     | Os02g0769200              |              | OsLysM 3  |     | TraesCS7A02G560400 |              | TaLysM 6  |     |
| AVESA.00001b.r3.4Cg0001057 |              | AsLysM 15 |     | Os03g0699600              |              | OsLysM 4  |     | TraesCS7B02G486800 |              | TaLysM 7  |     |
| AVESA.00001b.r3.4Cg0003634 |              | AsLysM 16 |     | Os06g0208800              |              | OsLysM 5  |     | TraesCS7D02G549400 |              | TaLysM 8  |     |
| AVESA.00001b.r3.5Ag0000178 |              | AsLysM 17 |     | Os06g0625200              |              | OsLysM 6  |     | TraesCSU02G126200  |              | TaLysM 9  |     |
| AVESA.00001b.r3.5Ag0002639 |              | AsLysM 18 |     | Os06g0729900              |              | OsLysM 7  |     | Zm00001d013983     |              | ZmLysM 1  |     |

|                            |           |                   |           |                |           |
|----------------------------|-----------|-------------------|-----------|----------------|-----------|
| AVESA.00001b.r3.5Ag0003154 | AsLysM 19 | Os09g0452200      | OsLysM 8  | Zm00001d015884 | ZmLysM 2  |
| AVESA.00001b.r3.5Cg0000177 | AsLysM 20 | Os09g0548200      | OsLysM 9  | Zm00001d018201 | ZmLysM 3  |
| AVESA.00001b.r3.5Cg0001296 | AsLysM 21 | Os11g0548600      | OsLysM 10 | Zm00001d020691 | ZmLysM 4  |
| AVESA.00001b.r3.5Cg0002725 | AsLysM 22 | Os11g0557500      | OsLysM 11 | Zm00001d021447 | ZmLysM 5  |
| AVESA.00001b.r3.5Cg0002923 | AsLysM 23 | Sobic.001G126100  | SbLysM 1  | Zm00001d027325 | ZmLysM 6  |
| AVESA.00001b.r3.5Dg0002651 | AsLysM 24 | Sobic.001G214200  | SbLysM 2  | Zm00001d027533 | ZmLysM 7  |
| AVESA.00001b.r3.5Dg0002778 | AsLysM 25 | Sobic.001G536100  | SbLysM 3  | Zm00001d032656 | ZmLysM 8  |
| AVESA.00001b.r3.6Ag0000257 | AsLysM 26 | Sobic.002G222500  | SbLysM 4  | Zm00001d033621 | ZmLysM 9  |
| AVESA.00001b.r3.6Ag0001180 | AsLysM 27 | Sobic.002G286700  | SbLysM 5  | Zm00001d036338 | ZmLysM 10 |
| AVESA.00001b.r3.6Cg0003177 | AsLysM 28 | Sobic.004G076100  | SbLysM 6  | Zm00001d037151 | ZmLysM 11 |
| AVESA.00001b.r3.6Dg0000863 | AsLysM 29 | Sobic.004G311600  | SbLysM 7  | Zm00001d043467 | ZmLysM 12 |
| AVESA.00001b.r3.7Ag0001053 | AsLysM 30 | Sobic.010G079100  | SbLysM 8  | Zm00001d043516 | ZmLysM 13 |
| AVESA.00001b.r3.7Dg0000077 | AsLysM 31 | SECCE6Rv1G0388400 | ScLysM 1  | Zm00001d045832 | ZmLysM 14 |
| AVESA.00001b.r3.Ung0000231 | AsLysM 32 | SECCE5Rv1G0330570 | ScLysM 2  | Zm00001d048521 | ZmLysM 15 |
| HORVU.MOREX.r3.1HG0044770  | HvLysM 1  | SECCE5Rv1G0367960 | ScLysM 3  | Zm00001d053120 | ZmLysM 16 |
| HORVU.MOREX.r3.3HG0287750  | HvLysM 2  | SECCE6Rv1G0412060 | ScLysM 4  | Zm00001d053695 | ZmLysM 17 |
| HORVU.MOREX.r3.4HG0335820  | HvLysM 3  | SECCE5Rv1G0375240 | ScLysM 5  |                |           |
| HORVU.MOREX.r3.4HG0409440  | HvLysM 4  | SECCE6Rv1G0402670 | ScLysM 6  |                |           |

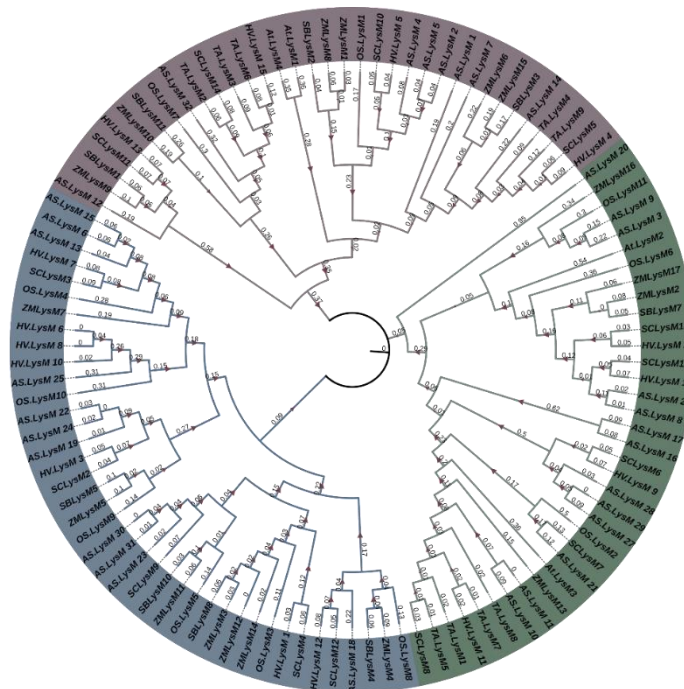
در گیاه یولاف، ژن‌های شناسایی شده، پپتیدهایی را با طول ۱۴۷ تا ۶۸۶ اسید آمینه کد کردند که در مجموع این ژن‌ها حدود ۰/۰۷۲۴ درصد از ژنوم یولاف را تشکیل می‌دهند. وزن مولکولی این پپتیدها در بازه‌ی ۱۵/۸۷۴ تا ۷۲/۷۳ کیلو دالتون قرار دارد. نقطه ایزو الکتریک (pI) آن‌ها از ۴/۶۱ تا ۹/۷۹ متغیر بود. اغلب ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM گیاه یولاف دارای پپتید نشانه (Signal peptide) هستند و بیشتر در غشاهای پلاسمایی دیده می‌شوند. در گیاه جو، ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM پروتئین‌هایی با طول بین ۲۴۱ تا ۷۳۶ اسید آمینه را کد می‌کنند و در مجموع چیزی در حدود ۰/۰۹۶۱ درصد از ژنوم این گیاه را تشکیل می‌دهند. وزن مولکولی این پروتئین‌ها در گیاه جو از ۲۶/۸۴۴ تا ۷۸/۱۵۷ کیلو دالتون متغیر است. همچنین مقادیر pI آنها بین ۵/۳۵ تا ۹/۶ متغیر بود. در گیاه جو این ژن‌ها عمدتاً در غشای پلاسما و کلروپلاست قرار داشتند و تعداد محدودی از آنها در پراکسی زوم یا سیتوزول شناسایی شده‌اند. در برنج، طول پروتئین‌ها از ۲۴۸ تا ۶۸۴ اسید آمینه متغیر بود و در مجموع ۱۱ ژن شناسایی شدند که در حدود ۰/۰۴۳۱ درصد از ژنوم این گیاه را تشکیل می‌دهند. وزن مولکولی پروتئین‌های حاصل از این ۱۱ ژن بین ۲۵/۸۵۱ تا ۷۰/۵۹۸ کیلو دالتون متغیر بود. همچنین نقطه pI این پروتئین‌ها از ۴/۴۴ تا ۸/۹۵ متغیر بود. بیشتر پروتئین‌های شناسایی شده در غشا سلول فعالیت دارند. ژنوم گیاه سورگوم ۸ ژن کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف

LysM بود که طول آنها از ۲۵۲ تا ۶۷۹ اسید آمینه متفاوت بود. این ژن‌ها در حدود ۰/۰۵۱۳ درصد از ژنوم این گیاه را تشکیل می‌دهند. وزن مولکولی پروتئین‌های حاصل در دامنه ۲۷/۳۲۸ تا ۷۱/۱۰۹ کیلو دالتون با pI بین ۴/۵۷ تا ۹/۱۸ قرار داشت. محل فعالیت این پروتئین بیشتر در غشاهای سلولی بود. در گیاه چاودار، ۱۴ ژن شناسایی شدند که پروتئین‌هایی با طول ۲۴۱ تا ۷۱۵ اسید آمینه را کد می‌کنند و در مجموع این ژن‌ها در حدود ۰/۰۵۱۳ درصد از ژنوم را اشغال می‌کنند. وزن مولکولی این پروتئین‌ها در محدوده ۲۶/۶۵۰ تا ۷۶/۸۰۴ کیلو دالتون با pI حدود ۴/۵۱ تا ۹/۸۷ متغیر بود. محل فعالیت بیشتر این پروتئین‌ها در غشاهای سلولی بود. در بین غلات مورد مطالعه گندم کمترین تعداد ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM را داشت. طول پروتئین‌های این ۹ ژن در دامنه ۳۲۴ تا ۶۷۲ اسید آمینه قرار داشت و وزن مولکولی آنها بین ۳۴/۹۷۵ تا ۷۲/۰۱۴ کیلو دالتون متغیر بود و شاخص pI این پروتئین‌ها بین ۵/۷۷ تا ۹/۰۲ بود. در گیاه ذرت پروتئین-ها طولی در حدود ۲۳۳ تا ۷۲۳ اسید آمینه داشتند و وزن مولکولی آن‌ها بین ۲۳/۷۵۶ تا ۷۵/۷۳۵ کیلو دالتون بود و شاخص pI آنها در بازه‌ی ۴/۴۵ تا ۹/۷۲ قرار داشت. محل اصلی بیان این ژن‌ها در گیاه ذرت در غشاهای سلولی تعیین شد.

تحلیل فیلوژنتیکی پروتئین‌های دارای LysM در غلات

که از شکل ۱ مشاهده می‌شود، درخت به سه کلاد اصلی تقسیم شده است. همانطوری که از شکل ۱ مشاهده می‌شود، هیچ دسته بندی دقیق و مشخصی بین این پروتئین‌ها از نظر قرابت گونه‌های غلات مشاهده نمی‌شود (شکل ۱).

با استفاده از توالی ۱۰۶ پروتئین شناسایی شده دارای LysM در غلات و ارتولوگ‌های آنها در گیاه مدل *Arabidopsis thaliana* یک درخت فیلوژنی ساخته شد (شکل ۱). پروتئین‌های دارای موتیف LysM در غلات با هم کلادهایی با اعتبار بالا تشکیل دادند. همانطور



شکل ۱. ترسیم درخت فیلوژنی پروتئین‌های دارای موتیف LysM در غلات با استفاده از الگوریتم حداکثر درست‌نمایی (Maximum Likelihood) و مدل جایگزینی اسیدهای آمینه جونز-تیلور-تورنتون. درصد تکرار درخت‌هایی که در آنها تاکسون‌های مرتبط در خوشه‌های یکسان قرار گرفتند با بوت استرپ (Bootstrap) ۵۰۰ در کنار شاخه‌ها نشان داده شده است.

**Figure 1.** Phylogenetic tree of the LysM motif-containing proteins in cereal, using the Maximum Likelihood method based on the Jones-Taylor-Thornton model for amino acid substitution. Bootstrap values (500 replicates), indicating the frequency with which related taxa grouped within the same clusters, are displayed alongside the branches.

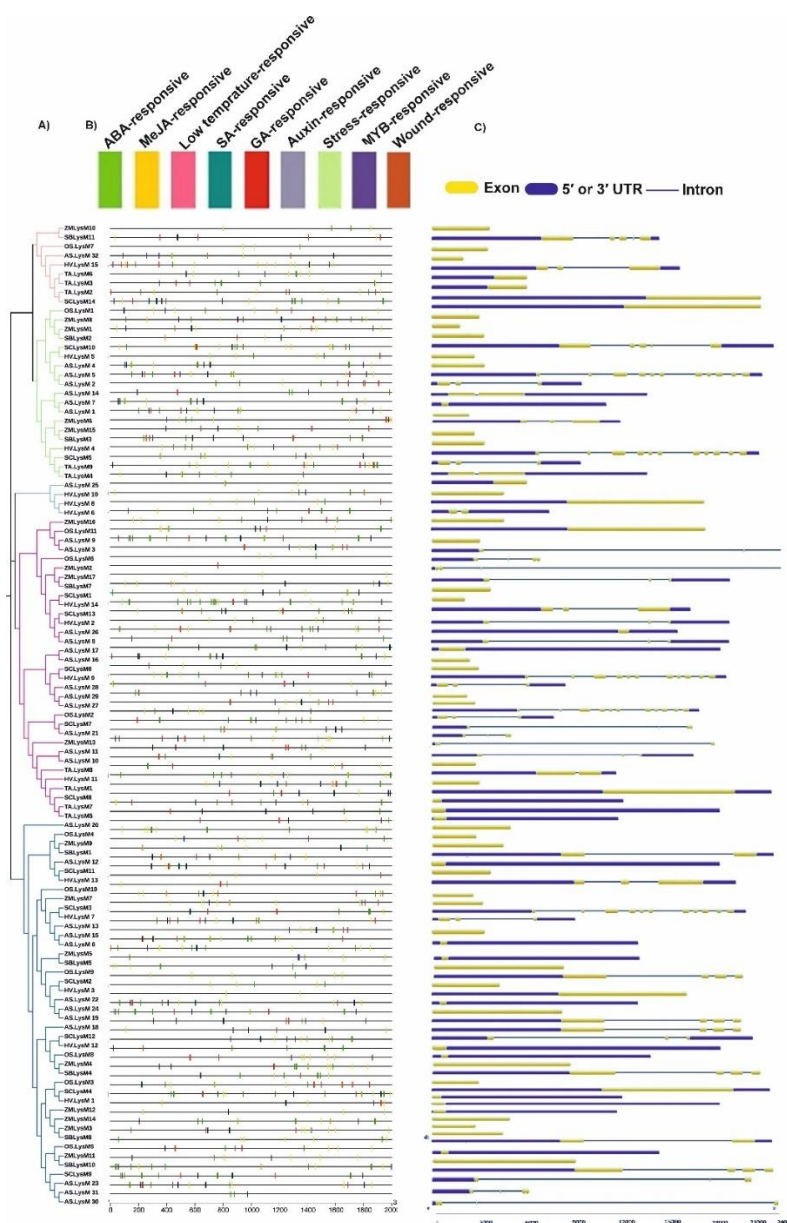
بسیاری از مطالعات نشان می‌دهند که ژن‌های درون یک گروه فیلوژنتیکی ممکن است عملکردهای مشابهی داشته باشند (Hamid et al., 2024a). خوشه‌بندی مشاهده‌شده‌ی پروتئین‌های دارای LysM از غلات مختلف، نشان‌دهنده‌ی درجه‌ی بالایی از حفظ شدگی در جریان تکامل غلات است که نشان‌دهنده‌ی نقش مشترک این ژن‌ها در ایمنی و همزیستی غلات می‌باشد. با این حال، گروه‌بندی جداگانه برخی از ژن‌های LysM از *A. thaliana* نشان می‌دهد که آنها ممکن است عملکردهای مولکولی متفاوتی احتمالاً به دلیل واگرایی عملکردی بین گونه‌های تک‌لپه‌ای و دو لپه‌ای داشته باشند.

### ساختار ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف

#### LysM

شکل ۲ ارتباط بین درخت فیلوژنی و ساختار ژن‌ها برای ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM غلات را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، پروتئین‌ها در غلات به پنج کلاد مجزا تقسیم شده‌اند (شکل 2A). با این حال، پروتئین‌های مربوط به غلات مختلف به صورت پراکنده در کلاد‌های مختلف قرار دارند. بررسی ناحیه پروموتور ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM نشان داد که پروموتور این ژن‌ها

دارای موتیف‌های حفظ شده متعددی هستند (شکل ۲B) که در تنظیم سطح هورمونی، سازگاری با تنش‌ها و پاسخ به شرایط محیط فعال می‌باشند. عناصر پاسخ‌دهنده به اسید آبسزیک (ABA) در اکثر پروموتورها توزیع شده‌اند که حاکی از نقش آن‌ها در پاسخ به تنش‌های مرتبط با اسید آبسزیک، به‌ویژه در شرایط خشکسالی و تنش آسمزی است. بخش قابل توجهی از ژن‌های LysM همچنین دارای عناصر پاسخ‌دهنده به متیل جاسمونات (شامل موتیف‌های TGACG و CGTCA) بودند که این موضوع خود نشان‌دهنده‌ی نقش بالقوه‌ی این ژن‌ها در مکانیسم‌های دفاعی تنظیم‌شده توسط جاسمونیک اسید است. عناصر پاسخ‌دهنده به اسید سالیسیلیک (SA) نیز در زیرمجموعه‌ای از ژن‌های LysM یافت شدند که نقش این ژن‌ها در مسیرهای سیگنال‌دهی دفاعی را اثبات می‌کند. چندین ژن LysM دارای عناصر پاسخ‌دهنده به زخم بودند که ممکن است به فعال‌سازی سریع رونویسی پس از آسیب بافتی کمک کنند. علاوه بر این، مکان‌های اتصال MYB نیز به‌طور مکرر مشاهده شدند که بخشی از آن‌ها با القای خشکی مرتبط بودند که نشان‌دهنده‌ی نقش آن‌ها در سازگاری با تنش‌های غیرزیستی است (شکل ۲B).



شکل ۲. A و B، ارتباط فیلوژنی با ساختار عناصر Cis ناحیه پروموتور (۲۰۰۰ جفت باز) عناصری با رنگ‌های مختلف، بیانگر توالی‌های در ناحیه پروموتور هستند که تحت تاثیر محرک‌های بیرونی هستند (B) ارتباط بین روابط فیلوژنتیکی ژن‌های یکدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM و سازماندهی نواحی اگزون، اینترون و UTRs.

**Figure 2. A) Relationship between Cis-element of the promoter of LysM-containing genes from upstream 2000 bp sequence to the transcription start site. The element with the different color codes represents motifs associated with hormonal and stress stimuli. B) Phylogenetic relationship, exon-intron and UTRs organizations of LysM-containing genes.**

هستند که نشان‌دهنده‌ی نقش بالقوه آن‌ها در کنترل رشد و پاسخ به تنش می‌باشد (Liu et al., 2024).

به‌طور خاص، تجزیه و تحلیل عناصر تنظیمی Cis، وجود عناصر خاص غلات مانند جعبه CCAAT در *H. vulgare* (HvLysM15)، عنصر مشابه MSA در *S. bicolor* (Sb LysM10) و عنصر RY در *S. cereale* (ScLysM1) را نشان داد که ممکن است در فرآیندهای تنظیمی مختلف در گیاهان نقش داشته باشند (Kaur et al., 2017). علاوه بر این، کشف عنصر MRE در *S. Z. mays* (Sb LysM3) و جعبه TGA در *Z. mays* (Zm LysM6) نشان می‌دهد که این ژن‌ها به ترتیب در مسیرهای وابسته به نور و اکسین دخیل هستند (Berendzen et al., 2012). کشف عناصر Cis مرتبط با مسیرهای سیگنال‌دهی ABA، اکسین، متیل جاسمونات و جیبرلین نشان می‌دهد که ژن‌های دارای موتیف LysM ممکن است در پاسخ‌های گیاهان غلات به انواع تنش‌ها و فرآیندهای رشدی نقش اساسی ایفا کنند (Singh et al., 2021).

تجزیه و تحلیل ساختاری ژن‌های LysM (شکل ۲C) تنوع قابل توجهی را در سازماندهی اگزون-اینترون آنها نشان داد که پیچیدگی تکاملی آنها را برجسته می‌کند. تعداد اگزون‌ها بین اعضای ژن‌های این خانواده متفاوت بود، به طوری که برخی از ژن‌ها ساختار فشرده‌ای را نشان دادند در حالی که برخی دیگر دارای مناطق اینترونی گسترده‌ای بودند. این تنوع ساختاری نشان می‌دهد که

بررسی نواحی پروموتور برای درک عملکرد ژن‌های دارای موتیف LysM در گیاهان غلات بسیار مهم است (Liu et al., 2022). به نظر می‌رسد ژن‌های دارای LysM فرآیندهای بیولوژیکی متنوعی نقش داشته باشند که با حضور عناصر تنظیمی مرتبط با پاسخ به تنش، فرآیندهای رشدی، سیگنال‌دهی نوری و فیتوهورمون‌ها مشخص می‌گردد. در تحلیل پروموتورها، عناصری مثل ARE، DRE، موتیف GC، LTR، MBS، MYB، MYC، AP1، S-box، W box، موتیف WUN و WRE3 از جمله عناصر Cis بودند که هنگام تجزیه و تحلیل پروموتورها مشخص شدند و با مقاومت گیاه در برابر محرک‌های زیستی و غیرزیستی مرتبط هستند. مطالعات نشان می‌دهند که موتیف‌های TGACG و CGTCA اغلب با ژن‌های پاسخ‌دهنده به متیل جاسمونات مرتبط هستند (Xu and Timko, 2004). جاسمونات پیری را تنظیم می‌کند و پاسخ به عوامل تنش‌زای زیستی و غیرزیستی متعدد را کنترل می‌کند (Wang et al., 2021). علاوه بر آن، عناصر تنظیمی مانند ABRE، ABRE3a و ABRE4 به‌طور گسترده‌ای در پاسخ به اسید آبسزیک (ABA) فعال می‌شوند و موجب افزایش تحمل گیاه به خشکی و شوری می‌گردند (Chanwala et al., 2025). کشف موتیف‌هایی نظیر MBSI و WUN در برخی از غلات، بر نقش آن‌ها در تنظیم پاسخ به زخم تأکید دارد (Hamid et al., 2024b). همچنین، موتیف‌هایی نظیر GARE، AuxRE و AuxRR هسته با مسیرهای سیگنال‌دهی جیبرلین و اکسین در ارتباط

جایابی اگزون-اینترون و افزایش یا کاهش اگزون در تخصص عملکردی ژن‌های LysM نقش داشته است. جالب توجه است که ژن‌های درون یک گروه فیلوژنتیکی تمایل به داشتن الگوهای اگزون-اینترون حفاظت‌شده‌تری داشتند که بر ارتباط تکاملی و شباهت عملکردی آنها تأکید می‌کند. تجزیه و تحلیل ساختار ژنی درجه بالایی از حفاظت از اینترون اگزون را در بین زیرخانواده‌ها، به ویژه در طول اگزون، نشان می‌دهد. علاوه بر این، حدود ۹ درصد از ژن‌های دارای موتیف LysM فاقد اینترون هستند که ممکن است با فعال کردن پاسخ رونویسی سریع به محرک‌های محیطی، یک مزیت تطبیقی فراهم کند (Levin et al., 2017). تنوع در موتیف‌های حفاظت‌شده مرتبط با ساختارهای مختلف اینترون اگزون احتمالاً نشان‌دهنده تغییرات خاص گونه است که تشخیص پاتوژن و توانایی سیگنال‌دهی ایمنی را افزایش می‌دهد. چنین انعطاف‌پذیری ساختاری و عملکردی می‌تواند به پایداری مکانیسم‌های دفاعی غلات کمک کند و پاسخ دقیقی را به تهدیدات بیماری‌زا مختلف را ممکن سازد (Chen et al., 2020b).

### مکان‌یابی کروموزومی و تحلیل هم‌خطی ژن‌های

#### دارای LysM

بر اساس تحلیل مکان‌یابی کروموزومی، ژن‌های LysM به‌طور نامنظم و ناهمسان در سراسر ژنوم گونه‌های اصلی غلات توزیع شده‌اند، که نشان‌دهنده گسترش و تنوع اختصاصی گونه‌ای است. این تفاوت در جایگاه ژنومی

نشان‌دهنده تأثیر عوامل تکاملی مختلف و مکانیزم‌هایی مانند گسترش، انقباض و سازگاری عملکردی خانواده ژنی LysM در تبارهای متفاوت گیاهی است. در یولاف، ژن‌های LysM در کروموزوم‌های مختلف پراکنده شده‌اند و برخی نواحی خاص خوشه‌هایی از این ژن‌ها را تشکیل داده‌اند که می‌تواند نشان‌دهنده مضاعف شدگی‌های پشت‌سرهم (Tandem duplication) باشد. الگوی مشابهی در ژنوم برنج مشاهده شد که پراکندگی ژنی را منعکس می‌کند و می‌تواند نقش مضاعف شدگی‌های قطعه‌ای (Segmental duplication) را در سازمان‌یافتگی ژنومی مطرح کند. در گندم نان، ژن‌های LysM در مناطق مختلف کروموزومی توزیع شده بودند و برخی از آن‌ها خوشه‌های متراکمی را تشکیل دادند که احتمال تکثیرهای موضعی ژن‌ها را مطرح می‌کند. در مقابل، در گیاه سورگوم توزیع ژن‌های LysM یکنواخت‌تر بود و این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده ساختار کروموزومی حفاظت‌شده احتمالاً توسط محدودیت‌های تکاملی انتخابی حفظ شده باشد. در گیاه جو، ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM الگوی توزیعی ناهمگنی را نشان می‌دهند، برخی کروموزوم‌ها دارای تراکم بالایی از ژن‌های LysM هستند، در حالی که سایر کروموزوم‌ها فقط چند نسخه پراکنده از این ژن‌ها را داشتند. در گیاه ذرت، ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM تقریباً در همه کروموزوم‌های پراکنده شده‌اند. در گیاه چاودار ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM ژن‌های تنها



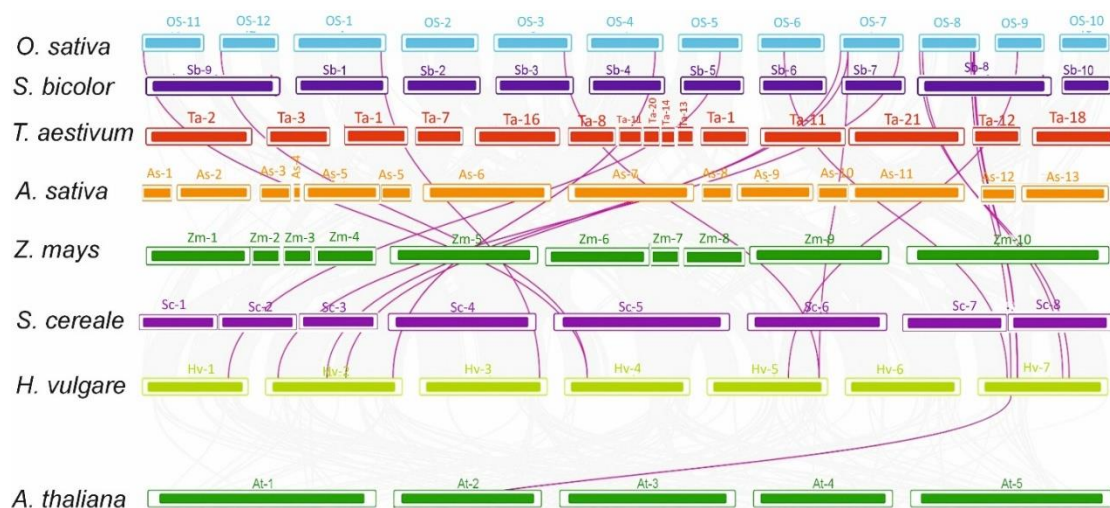
A. *LysM* در غلات مورد مطالعه و گونه مرجع دو لپه‌ای *thaliana* (شکل ۳) دیده می‌شود. نتایج این مطالعه، بلوک‌های هم‌خطی حفاظت‌شده متعددی را نشان داد که بیانگر سطح حفظ شدگی تکاملی قوی این پروتئین‌ها در غلات است. این مطالعه رویدادهای مضاعف شدگی قطعه‌ای گسترده، به ویژه در گندم نان، یولاف و ذرت را به خوبی نشان می‌دهد.

روی کروموزوم‌های ۱R و ۳R قرار دارند و بقیه کروموزوم‌ها فاقد این ژن‌ها هستند.

### تجزیه و تحلیل هم‌خطی پروتئین‌های دارای موتیف

#### *LysM*

برای بررسی بیشتر مسیرهای تکاملی ژن‌های *LysM* در گونه‌های غلات مورد مطالعه، تجزیه و تحلیل هم‌خطی انجام شد. روابط سینتینیک (syntenic) بین ژن‌های



شکل ۳. توزیع و مضاعف شدگی ژن‌های دارای موتیف *LysM*. هر نوار رنگی نشان‌دهنده یک کروموزوم است.

نام ژن‌ها بر اساس موقعیت آن‌ها روی کروموزوم‌های غلات برچسب‌گذاری شده‌اند. ژنوم *Arabidopsis thaliana*

برای مقایسه‌ی هم‌خطی و هم‌سایتی با ژنوم غلات مورد استفاده قرار گرفته است.

**Figure 3. Distribution and gene duplications of *LysM*-containing genes.** Each colored bar represents a chromosome as indicated. Gene names are labeled on the basis of their positions on the cereal's chromosomes. *A. thaliana* genome has been used to compare synteny and collinearity with those of cereals.

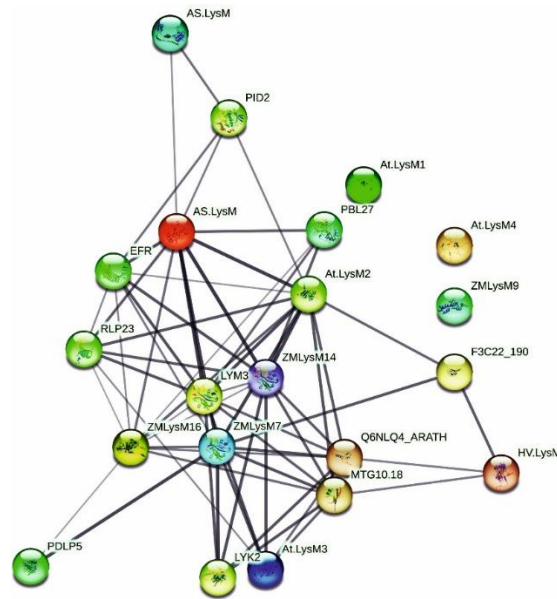
این داده‌ها نشان می‌دهند که مضاعف شدگی ژن به‌طور قابل توجهی در گسترش خانواده ژنی LysM در این گونه‌ها نقش داشته است. قابل توجه است که گندم نان بیشترین تعداد جفت ژن‌های هم‌خطی را نشان داد که منعکس‌کننده ماهیت پلی‌پلوئیدی و بازآرایی‌های گسترده ژنوم این گیاه است. روابط سینتیک بین گیاه جو، چاودار و گندم نان نشان دهنده یک پیوند تکاملی قوی بین اعضای Triticeae است که بیانگر نیای مشترک آن‌ها است. در مقابل، در دو گیاه برنج و سورگوم تعداد جفت ژن‌های دارای موتیف LysM هم‌خطی کمتری داشتند که احتمالاً نشان‌دهنده واگرایی ژنومی بیشتر در تک‌لپه‌ای‌ها است. علاوه بر این، تجزیه و تحلیل هم‌خطی بین غلات و گیاه آرابیدوپسیس پیوندهای سینتیک کمتری را نشان داد که به دلیل فاصله تکاملی قابل توجه بین تک‌لپه‌ای‌ها و دولپه‌ای‌ها قابل انتظار است.

#### شبکه‌های برهم‌کنش پروتئین-پروتئین (PPI)

##### پروتئین‌های دارای موتیف LysM

مطالعه برهم‌کنش‌های پروتئین-پروتئین (PPI) دیدگاه‌های ارزشمندی در مورد عملکرد پروتئین‌ها و دخالت آن‌ها در مسیرهای بیولوژیکی خاص ارائه می‌دهد

(Peng et al., 2017). به‌منظور روشن شدن نقش پروتئین‌های دارای موتیف LysM در غلات مورد مطالعه، برهم‌کنش‌های آن‌ها پیش‌بینی شد و ارتباطات عملکردی آن‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. شکل ۵ شبکه برهم‌کنش‌های پیش‌بینی‌شده پروتئین‌های LysM را برای چندین گونه غلات از جمله یولاف، جو، برنج، سورگوم، چاودار، گندم و ذرت نشان می‌دهد. همانطوری که مشاهده می‌شود، برهم‌کنش‌های گسترده‌ای بین پروتئین‌های دارای LysM و مولکول‌های سیگنال دهنده‌ی مهم، به ویژه در پاسخ به تنش‌های زنده وجود دارد. علاوه بر این، پروتئین‌های Zm LysM14 و Zm LysM16 با Zm LYM3، یک گیرنده کلیدی برای ایمنی ناشی از مولکول کیتین هستند که در مکانیسم‌های دفاعی پاتوزن نقش دارند. این شبکه همچنین برهم‌کنش‌هایی را با سایر پروتئین‌های مرتبط با مسیرهای ایمنی ذاتی گیاهان، از جمله پروتئین‌های RLP23، ERR و F3C22\_190 را نشان می‌دهد که نقش بالقوه پروتئین‌های دارای LysM را در پاسخ‌های دفاعی گیاه برجسته می‌کند (شکل ۴).



شکل ۴. شبکه ارتباط پروتئین-پروتئین برای پروتئین‌های دارای موتیف LysM نام ژن‌های *Arabidopsis* و غلات مورد مطالعه در تصویر نشان داده شده‌اند. خطوط نازک و ضخیم به ترتیب نشان‌دهنده تعاملات ضعیف و قوی میان پروتئین‌ها هستند.

**Figure 4. Protein-Protein Interaction network of specific LysM-containing proteins. Arabidopsis and cereals genes are shown. Cereals genes name are shown in the picture. The thin and thick lines represent the high and the weak interactions.**

نقش دارند (Wan *et al.*, 2012). علاوه بر این، هشت پروتئین HvLysM با یک گیرنده کیناز ضروری به نام AtCERK1 برهم کنش دارند که برای پاسخ مربوط به اتصال به کیتین، نقش دارند. مطالعات نشان می‌دهند که AtLYM2 در رسوب کالوز و دفاع در برابر پاتوژن‌های قارچی نقش دارد، در حالی که AtNFR1 یکی از اجزای کلیدی مسیر سیگنال‌دهی گره‌ک‌زایی در لگوم‌ها می‌باشد. این موضوع نقش بالقوه و دوگانه پروتئین‌های HvLysM در هر دو تعامل دفاعی و همزیستی را نشان می‌دهد (Nakagawa *et al.*, 2014). در برنج، ژن OsCERK1 ارتولوگ AtCERK1 پاسخ‌های ایمنی ناشی از کیتین را

شبکه برهم‌کنش پروتئین‌ها در یک خانواده ژنی، اطلاعات ارزشمندی در مورد روابط بین اعضای آن خانواده ارائه می‌دهد (Miryala *et al.*, 2018). نتایج این قسمت از مطالعه نشان داد که هشت پروتئین HvLysM با AtLYK1 به همراه یک گیرنده شبه کینازی LysM در گیاه *Arabidopsis thaliana* که نقش مهمی در شناسایی کیتین و پاسخ به آلودگی قارچی دارد، خوشه‌بندی شده‌اند (Roudaire *et al.*, 2023). علاوه بر این، مشخص شد که چهار پروتئین HvLysM با پروتئین AtLYK4 ارتولوگ هستند که در سیگنال‌دهی دفاعی و پاسخ‌های دفاعی در گیاه *Arabidopsis thaliana*

بالقوه این ژن‌ها ارائه می‌دهد. با ادغام تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنتیکی، ساختار موتیف‌ها و سینتزی، این مطالعه موفق به شناسایی ژن‌های کدکننده پروتئین‌های دارای موتیف LysM شد که به‌نظر می‌رسد در ایمنی گیاه و تعاملات همزیستی نقش داشته باشند. با شناسایی سیستماتیک خانواده‌های ژنی دارای موتیف LysM در غلات، این پژوهش یک منبع ژنومی پایه را برای پیشبرد تحقیقات در تعاملات گیاه-میکروارگانیسم ارائه می‌دهد. ادغام این یافته‌ها در برنامه‌های بهنژادی سنتی و مولکولی و کاربردهای زیست‌فناورانه از این ژن‌ها، می‌تواند منجر به اصلاح ارقامی از غلات شود که به بیماری‌های گیاهی مقاوم هستند و در نهایت بهره‌برداری از آنها به کشاورزی پایدار و امنیت غذایی کمک نماید.

بر عهده دارد، در حالی که ژن‌های OsLYP4 و OsLYP6 به‌عنوان گیرنده‌های کیتین، تنظیم سیگنال‌دهی دفاعی را بر عهده دارند (Ao *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2021a). چندین پروتئین HvLysM نیز با AtLYM3 همولوژی نشان داده‌اند که در تشخیص پپتیدوگلیکان باکتریایی و سیگنال‌دهی ایمنی نقش ایفا می‌کنند (Gust, 2015). این موضوع وقتی برجسته می‌شود که جهش در AtCERK1 و گیرنده‌های همراه LysM منجر به کاهش مقاومت گیاه به پاتوژن‌های قارچی می‌شود.

### نتیجه‌گیری

این مطالعه، یک تجزیه و تحلیل جامع در سطح ژنوم از ژن‌های دارای موتیف LysM را در میان هفت گونه اصلی از غلات ارائه می‌دهد و بینش‌های ارزشمندی در مورد ارتباطات تکاملی، تنوع ساختاری و نقش‌های عملکردی

### References

- Abedi, A., Hajiahmadi, Z., Kordrostami, M., Esmaeel, Q. & Jacquard, C. 2021. Analyses of Lysin-motif Receptor-like Kinase (LysM-RLK) Gene Family in Allotetraploid Brassica napus L. and Its Progenitor Species: An In Silico Study. *Cells*, 11, 37. <https://doi.org/10.3390/cells11010037>
- Akcapinar, G. B., Kappel, L., Sezerman, O. U. & Seidl-Seiboth, V. J. C. g. 2015. Molecular diversity of LysM carbohydrate-binding motifs in fungi. *Curr Genet*, 61, 103-113. <https://doi.org/10.1007/s00294-014-0471-9>
- Ao, Y., Li, Z., Feng, D., Xiong, F., Liu, J., Li, J. F., Wang, M., Wang, J., Liu, B. & Wang, H. B. 2014. Os CERK 1 and Os RLCK 176 play important roles in peptidoglycan and chitin signaling in rice innate immunity. *The Plant Journal*, 80, 1072-1084 . <https://doi.org/10.1111/tpj.12710>
- Berendzen, K. W., Weiste, C., Wanke, D., Kilian, J., Harter, K. & Dröge-Laser, W. 2012. Bioinformatic cis-element analyses performed in Arabidopsis and rice disclose bZIP-and MYB-related binding sites as potential AuxRE-coupling elements in auxin-mediated transcription. *BMC plant biology*, 12, 1-19 . <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-125>

- Buendia, L., Girardin, A., Wang, T., Cottret, L. & Lefebvre, B. J. F. i. p. s. 2018. LysM receptor-like kinase and LysM receptor-like protein families: an update on phylogeny and functional characterization. *Front Plant Sci*, 9, 1531. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01531>
- Chanwala, J., Kumari, K., Jha, D. K., Giri, M. K. & Dey, N. J. P. S. 2025. Pearl millet WRKY transcription factor PgWRKY52 positively regulates salt stress tolerance through ABA-MeJA mediated transcriptional regulation. *Plant Stress*, 16, 100814 . <https://doi.org/10.1016/j.stress.2025.100814>
- Chen, C., Chen, H., Zhang, Y., Thomas, H. R., Frank, M. H., He, Y. & Xia, R. J. M. p. 2020a. TBtools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data. *Mol Plant*, 13, 1194-1202. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2020.06.009>
- Chen, D., Li, G., Liu, J., Wisniewski, M., Droby, S., Levin, E., Huang, S., Liu, Y. J. M. G. & Genomics 2020b. Multiple transcriptomic analyses and characterization of pathogen-related core effectors and LysM family members reveal their differential roles in fungal growth and pathogenicity in *Penicillium expansum*. [Molecular Genetics and Genomics](https://doi.org/10.1007/s00438-020-01710-9), 295, 1415-1429 . <https://doi.org/10.1007/s00438-020-01710-9>
- Chen, Z., Shen, Z., Zhao, D., Xu, L., Zhang, L. & Zou, Q. 2020c. Genome-wide analysis of LysM-containing gene family in wheat: Structural and phylogenetic analysis during development and defense. *Genes*, 12, 31. <https://doi.org/10.3390/genes12010031>
- Chen, Z., Shen, Z., Zhao, D., Xu, L., Zhang, L. & Zou, Q. J. G. 2020d. Genome-wide analysis of LysM-containing gene family in wheat: Structural and phylogenetic analysis during development and defense. *Genes (Basel)*, 12, 31. <https://doi.org/10.3390/genes12010031>
- Crumière, M., de Vallée, A., Rasclé, C., Gillet, F. x., Nahar, S., van Kan, J. A., Bruel, C., Poussereau, N. & Choquer, M. J. J. o. B. M. 2025. A LysM Effector Mediates Adhesion and Plant Immunity Suppression in the Necrotrophic Fungus *Botrytis cinerea*. *J Basic Microbiol*, 65, e2400552. <https://doi.org/10.1002/jobm.202400552>
- Desai, H., Hamid, R., Ghorbanzadeh, Z., Bhut, N., Padhiyar, S. M., Kheni, J. & Tomar, R. S. J. S. r. ۲۰۲۱. Genic microsatellite marker characterization and development in little millet (*Panicum sumatrense*) using transcriptome sequencing. *Sci Rep*, 11, 20620. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00100-4>
- Desaki, Y., Miyata, K., Suzuki, M., Shibuya, N. & Kaku, H. J. I. I. 2018. Plant immunity and symbiosis signaling mediated by LysM receptors. *Innate Immun*, 24, 92-100. <https://doi.org/10.1177/1753425917738885>
- Finn, R. D., Bateman, A., Clements, J., Coghill, P., Eberhardt, R. Y., Eddy, S. R., Heger, A., Hetherington, K., Holm, L. & Misty, J. J. N. a. r. 2014. Pfam: the protein families database. *Nucleic Acids Res*, 42, D222-D230. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1223>
- Ghorbanzadeh, Z., Hamid, R., Jacob, F., Mirzaei, M., Zeinalabedini, M., Abdirad, S., Atwell, B. J., Haynes, P. A., Ghaffari, M. R. & Salekdeh, G. H. J. J. o. P. G. R. 2023. MicroRNA profiling of root meristematic zone in contrasting genotypes reveals novel insight into in rice response to water deficiency. [Journal of Plant Growth Regulation](https://doi.org/10.1007/s00344-022-10842-8), 42, 3814-3834 . <https://doi.org/10.1007/s00344-022-10842-8>

- Gibelin-Viala, C., Amblard, E., Puech-Pages, V., Bonhomme, M., Garcia, M., Bascaules-Bedin, A., Fliegmann, J., Wen, J., Mysore, K. S. & le Signor, C. 2019. The *Medicago truncatula* LysM receptor-like kinase LYK9 plays a dual role in immunity and the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 223, 1516-1529. <https://doi.org/10.1111/nph.15891>
- Gong, B.-Q., Wang, F.-Z. & Li, J.-F. J. T. i. p. s. 2020. Hide-and-seek: chitin-triggered plant immunity and fungal counterstrategies. *Trends Plant Sci*, 25, 805-816. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.03.006>
- Gong, X., Han, D., Zhang, L., Yin, G., Yang, J., Jia, H., Cao, Z., Dong, J., Liu, Y. & Gu, S. J. J. o. I. A. 2025. Comprehensive analysis of the LysM protein family and functional characterization of the key LysM effector StLysM1, which modulates plant immunity in *Setosphaeria turcica*. *Journal of Integrative Agriculture*, 24, 1860-1874 <https://doi.org/10.1016/j.jia.2024.06.006>
- Grabherr, H. M. 2011. Characterisation of the role of LysM receptor-like kinases and the CHIA chitinase in the perception of peptidoglycan and in the innate immunity of *Arabidopsis thaliana*. PhD. Thesis, Universität Tübingen.
- Grote, U., Fasse, A., Nguyen, T. T. & Erenstein, O. J. F. i. S. F. S. 2021. Food security and the dynamics of wheat and maize value chains in Africa and Asia. *Front. Sustain. Food Syst*, 4, 617009. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.617009>
- Guo, J., Gong, B. Q. & Li, J. F. J. T. P. J. 2021. Arabidopsis lysin motif/F-box-containing protein InLYP1 fine-tunes glycine metabolism by degrading glycine decarboxylase GLDP2. *Plant J*, 106, 394-408. <https://doi.org/10.1111/tpj.15171>
- Gust, A. A. J. P. p. 2015. Peptidoglycan perception in plants. *PLoS Pathog*, 11, e1005275. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005275>
- Hamid, R., Ghorbanzadeh, Z., Jacob, F., Nekouei, M. K., Zeinalabedini, M., Mardi, M., Sadeghi, A. & Ghaffari, M. R. J. B. P. B. 2024a. Decoding drought resilience: a comprehensive exploration of the cotton *Eceriferum* (CER) gene family and its role in stress adaptation. *BMC Plant Biol*, 24, 468. <https://doi.org/10.1186/s12870-024-05172-8>
- Hamid, R., Jacob, F., Ghorbanzadeh, Z., Mardi, M., Ariaeenejad, S., Zeinalabedini, M. & Ghaffari, M. R. J. P. G. 2024b. Genome-wide identification and characterization of FORMIN genes in cotton: Implications for abiotic stress tolerance. 40, 100474.
- He, J., Zhang, C., Dai, H., Liu, H., Zhang, X., Yang, J., Chen, X., Zhu, Y., Wang, D. & Qi, X. J. M. P. 2019. A LysM receptor heteromer mediates perception of arbuscular mycorrhizal symbiotic signal in rice. *Mol Plant*, 12, 1561-1576. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2019.https://doi.org/10.015>
- Hu, S.-P., Li, J.-J., Dhar, N., Li, J.-P., Chen, J.-Y., Jian, W., Dai, X.-F. & Yang, X.-Y. 2021a. Lysin motif (LysM) proteins: interlinking manipulation of plant immunity and fungi. *International journal of molecular sciences*, 3114, 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22063114>
- Hu, S.-P., Li, J.-J., Dhar, N., Li, J.-P., Chen, J.-Y., Jian, W., Dai, X.-F. & Yang, X.-Y. J. I. j. o. m. s. 2021b. Lysin motif (LysM) proteins: interlinking manipulation of plant immunity and fungi. *Int J Mol Sci*, 22, 311. <https://doi.org/10.3390/ijms22063114>

- Ji, L., Yang, X. & Qi, F. 2022. Distinct responses to pathogenic and symbiotic microorganisms: the role of plant immunity. *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 10427. <https://doi.org/10.3390/ijms231810427>
- Kaur, A., Pati, P. K., Pati, A. M. & Nagpal, A. K. 2017. In-silico analysis of cis-acting regulatory elements of pathogenesis-related proteins of *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. *PloS one*, 12, e0184523. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184523>
- Kumar, S., Stecher, G., Suleski, M., Sanderford, M., Sharma, S. & Tamura, K. 2024. MEGA12: Molecular Evolutionary Genetic Analysis version 12 for adaptive and green computing. *Molecular Biology and Evolution*, 41, msae263. <https://doi.org/10.1093/molbev/msae263>
- Levin, E., Ballester, A. R., Raphael, G., Feigenberg, O., Liu, Y., Norelli, J., Gonzalez-Candelas, L., Ma, J., Dardick, C. & Wisniewski, M. J. P. O. 2017. Identification and characterization of LysM effectors in *Penicillium expansum*. *PLoS One*, 12, e0186023. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186023>
- Li, Q., Qi, J., Qin, X., Hu, A., Fu, Y., Chen, S. & He, Y. J. S. H. 2021. Systematic identification of lysin-motif receptor-like kinases (LYKs) in *Citrus sinensis*, and analysis of their inducible involvements in citrus bacterial canker and phytohormone signaling. *Scientia Horticulturae*, 276, 109755. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109755>
- Liao, D., Sun, X., Wang, N., Song, F. & Liang, Y. J. F. i. P. S. 2018. Tomato LysM receptor-like kinase SILYK12 is involved in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Front. Plant Sci*, 9, 1004. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01004>
- Liu, B., Li, J.-F., Ao, Y., Qu, J., Li, Z., Su, J., Zhang, Y., Liu, J., Feng, D & Qi, K. J. T. P. C. 2012. Lysin motif-containing proteins LYP4 and LYP6 play dual roles in peptidoglycan and chitin perception in rice innate immunity. *Plant Cell*, 24, 3406-3419. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.102475>
- Liu, L., Xu, L., Jia, Q., Pan, R., Oelmüller, R., Zhang, W., Wu, C. J. P. S. & Behavior 2019. Arms race: diverse effector proteins with conserved motifs. *Plant Signal Behav*, 14, 1557008. <https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1557008>
- Liu, L., Yahaya, B. S., Li, J. & Wu, F. J. F. i. P. S. 2024. Enigmatic role of auxin response factors in plant growth and stress tolerance. *Front Plant Sci*, 15, 1398818. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1398818>
- Liu, M., Gao, N., Zhao, Y., Wu, Y. & Yuan, Z. 2022. Wheat Lysin-Motif-Containing Proteins Characterization and Gene Expression Patterns under Abiotic and Biotic Stress. *Phyton*, 91, 2367. <https://doi.org/10.32604/phyton.2022.0214>
- Meng, Y., Li, J., Yuan, W., Liu, R., Xu, L. & Huang, L. 2024. *Pseudomonas thivervalensis* K321, a promising and effective biocontrol agent for managing apple Valsa canker triggered by *Valsa mali*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 204, 106095. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2024.106095>
- Miryala, S. K., Anbarasu, A. & Ramaiah, S. 2018. Discerning molecular interactions: a comprehensive review on biomolecular interaction databases and network analysis tools. *Gene*, 642, 84-94. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.11.028>
- Nakagawa, T., Okazaki, S. & Shibuya, N. 2014. Genes involved in pathogenesis and defense responses. *The Lotus japonicus Genome*, 163-169.



- Nazarian-Firouzabadi, F., Joshi, S., Xue, H. & Kushalappa, A. C. J. M. B. R. 2019. Genome-wide in silico identification of LysM-RLK genes in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Mol Biol Rep*, 46, 5005-5017. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-04951-z>
- Peng, X., Wang, J., Peng, W., Wu, F.-X. & Pan, Y. J. B. i. b. 2017. Protein-protein interactions: detection, reliability assessment and applications. *Brief Bioinform*, 18, 798-819. <https://doi.org/10.1093/bib/bbw066>
- Petutschnig, E. K., Jones, A. M., Serazetdinova, L., Lipka, U. & Lipka, V. 2010. The lysin motif receptor-like kinase (LysM-RLK) CERK1 is a major chitin-binding protein in *Arabidopsis thaliana* and subject to chitin-induced phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry*, 285, 28902-28911. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.116657>
- Ren, W., Zhang, C., Wang, M., Zhang, C., Xu, X., Huang, Y., Chen, Y., Lin, Y. & Lai, Z. 2022. Genome-wide identification, evolution analysis of LysM gene family members and their expression analysis in response to biotic and abiotic stresses in banana (*Musa* L.). *Gene*, 845, 146849. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2022.146849>
- Roudaire, T., Marzari, T., Landry, D., Löffelhardt, B., Gust, A. A., Jermakow, A., Dry, I., Winckler, P., Héloir, M.-C. & Poinssot, B. 2023a. The grapevine LysM receptor-like kinase VvLYK5-1 recognizes chitin oligomers through its association with VvLYK1-1. *Frontiers in Plant Science*, 14, 1130782. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1130782>
- Singh, K., Upadhyay, S. K. J. E. & Botany, E. 2021. LysM domain-containing proteins modulate stress response and signalling in *Triticum aestivum* L. 189, 104558. *Environmental and Experimental Botany*, <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2021.104558>
- Tombuloglu, G., Tombuloglu, H., Cevik, E., Sabit, H. J. P. & Pathology, M. P. 2019. Genome-wide identification of Lysin-Motif Receptor-Like Kinase (LysM-RLK) gene family in *Brachypodium distachyon* and docking analysis of chitin/LYK binding. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 106, 217-225. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2019.03.002>
- Wan, J., Tanaka, K., Zhang, X.-C., Son, G. H., Brechenmacher, L., Nguyen, T. H. N. & Stacey, G. 2012. LYK4, a lysin motif receptor-like kinase, is important for chitin signaling and plant innate immunity in *Arabidopsis*. *Plant physiology*, 160, 396-406. <https://doi.org/10.1104/pp.112.201699>
- Wan, J., Zhang, X.-C., Neece, D., Ramonell, K. M., Clough, S., Kim, S.-y., Stacey, M. G. & Stacey, G. J. T. P. C. 2008. A LysM receptor-like kinase plays a critical role in chitin signaling and fungal resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20, 471-481. <https://doi.org/10.1105/tpc.107.056754>
- Wang, Y., Mostafa, S., Zeng, W. & Jin, B. J. I. J. o. M. S. 2021. Function and mechanism of jasmonic acid in plant responses to abiotic and biotic stresses. *Int J Mol Sci*, 22, 8568. <https://doi.org/10.3390/ijms22168568>
- Wong, J. E., Nadzieja, M., Madsen, L. H., Bücherl, C. A., Dam, S., Sandal, N. N., Couto, D., Derbyshire, P., Uldum-Berentsen, M. & Schroeder, S. J. P. o. t. N. A. o. S. 2019. A *Lotus japonicus* cytoplasmic kinase connects Nod factor perception by the NFR5 LysM receptor to nodulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 116, 14339-14348. <https://doi.org/10.1073/pnas.1815425116>



- Xu, B. & Timko, M. J. P. m. b. 2004. Methyl jasmonate induced expression of the tobacco putrescine N-methyltransferase genes requires both G-box and GCC-motif elements. *Plant Molecular Biology*, 55, 743-761 . <https://doi.org/10.1007/s11103-004-1962-8>
- Xu, J., Wang, G., Wang, J., Li, Y., Tian, L., Wang, X. & Guo, W. J. B. p. b. 2017. The lysin motif-containing proteins, Lyp ,Lyk7 and LysMe3, play important roles in chitin perception and defense against *Verticillium dahliae* in cotton. *BMC Plant Biol*, 17, 1-18. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1096-1>
- Yang, H., Bayer, P. E., Tirnaz, S., Edwards, D. & Batley, J. J. B. 2020. Genome-wide identification and evolution of receptor-like kinases (RLKs) and receptor like proteins (RLPs) in *Brassica juncea*. *Biology (Basel)*, 10, 17. <https://doi.org/10.3390/biology10010017>
- Zhang, L., Li, S., Fang, X., An, H. & Zhang, X. 2023. Genome-wide analysis of LysM gene family members and their expression in response to *Colletotrichum fructicola* infection in Octoploid strawberry (*Fragaria× ananassa*). *Frontiers in Plant Science*, 13, 1105591 . <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1105591>
- Zhou, D., Chen, X., Chen, X., Xia, Y., Liu, J. & Zhou, G. J. F. i. M. 2023. Plant immune receptors interact with hemibiotrophic pathogens to activate plant immunity. *Front Microbiol*, 14, 1252039. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1252039>
- Zhou, Z., Tian, Y., Cong, P. & Zhu, Y. J. P. S. 2018. Functional characterization of an apple (*Malus x domestica*) LysM domain receptor encoding gene for its role in defense response. *Plant Sci*, 269, 56-65. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2018.01.006>
- Zhu, Q., Zhang, X.-L., Nadir, S., DongChen, W.-H., Guo, X.-Q., Zhang, H.-X., Li, C.-Y., Chen, L.-J. & Lee, D.-S. 2017a. A LysM domain-containing gene OsEMSA1 involved in embryo sac development in rice (*Oryza sativa* L.). *Frontiers in Plant Science*, 8, 1596. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01596>
- Zhu, Q., Zhang, X.-L., Nadir, S., DongChen, W.-H., Guo, X.-Q., Zhang, H.-X., Li, C.-Y., Chen, L.-J. & Lee, D.-S. J. F. i. P. S. 2017b. A LysM domain-containing gene OsEMSA1 involved in embryo sac development in rice (*Oryza sativa* L.). *Front Plant Sci*, 8, 1596. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01596>