



## 豆科植物SHR-SCR模块——根瘤 “奠基细胞”的命运推手

刘承武, 赵忠\*

中国科学技术大学生命科学与医学部, 合肥 230027

**摘要** 豆科植物-根瘤菌共生固氮是可持续性农业氮肥的最重要来源。根瘤作为豆科植物共生固氮的一种特化植物侧生器官, 提供了根瘤菌生物固氮必需的微环境, 是根瘤菌的安身之本, 因此, 根瘤的正常发育是实现豆科植物-根瘤菌共生固氮的结构基础。根瘤器官的从头发生主要起始于根瘤菌诱导的根皮层细胞分裂。通常认为豆科植物的根皮层具有有别于非豆科植物根皮层的某种特异属性, 从而响应根瘤菌并为之建立固氮共生, 但长期以来该属性决定的分子机制一直不明确。近日, 中国科学院分子植物科学卓越创新中心王二涛团队以蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula*) 等豆科植物和拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 等非豆科植物为研究对象, 发现豆科植物中保守的SHR-SCR干细胞模块决定了其皮层细胞分裂潜能从而赋予根瘤器官发生的命运。该研究揭示了豆科植物根瘤发育的全新机制, 提供了研究和理解植物-根瘤菌固氮共生进化的重要线索, 对提高豆科作物固氮效率和非豆科作物固氮工程具有重要意义。

**关键词** 豆科植物-根瘤菌固氮共生, 生物固氮, 蒺藜苜蓿, 根瘤器官发生, SHR-SCR, 皮层细胞分裂

刘承武, 赵忠 (2020). 豆科植物SHR-SCR模块——根瘤“奠基细胞”的命运推手. 植物学报 55, 661–665.

豆科是被子植物的第三大科, 是为人类社会提供丰富蛋白质和油料供给的重要植物类群。豆科植物在进化上的成功部分得益于其区别于其它绝大多数植物的一种特性, 即与根瘤菌形成固氮共生的能力。在共生固氮中, 根瘤菌可以侵染豆科植物根的内部进而在根部的特化器官根瘤中定殖。根瘤菌通过生物固氮过程, 非常高效地将空气中的氮转化为可以被植物利用的氨。据统计, 豆科植物-根瘤菌共生固氮每年可以产生 $4 \times 10^7$ – $5 \times 10^7$  t可被植物利用的氮。在经济和对环境的影响方面, 共生固氮比工业合成氮肥更具优势, 是可持续利用的农业氮肥的最重要来源(Roy et al., 2020)。

根瘤提供根瘤菌生物固氮的微环境, 是共生固氮的“厂房”, 因此根瘤的发育调控是共生固氮研究中最重要科学问题之一, 也是植物-微生物共生领域研究的热点(Oldroyd and Downie, 2008)。根瘤主要由豆科植物根部皮层细胞发育而来。以豆科模式植物蒺藜苜蓿 (*Medicago truncatula*) 为例, 虽然其中柱鞘

(pericycle)和皮层(endodermis)细胞在早期发生分裂, 但是成熟根瘤的大部分细胞来源于皮层(cortex)细胞的分裂, 而且只有皮层来源的细胞才能被根瘤菌侵染(图1A) (Xiao et al., 2014)。已有研究表明, 豆科植物根瘤的发育过程与非豆科植物(如拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*))中侧生器官(侧根)的发育过程显著不同。在拟南芥侧根的发育过程中, 最主要的细胞分裂来自中柱鞘细胞, 而皮层细胞并不发生分裂。因此, 豆科植物根皮层细胞具有某种特异属性, 使其能够响应根瘤菌发生细胞分裂, 导致根瘤器官发生, 并被根瘤菌侵染。豆科植物在进化过程中如何获得这种特殊属性? 调控这种细胞属性的分子机制是什么? 上述问题一直不清楚(Geurts et al., 2016)。

中国科学院分子植物科学卓越创新中心王二涛团队以蒺藜苜蓿和水稻(*Oryza sativa*)为材料, 长期致力于研究植物-微生物共生的分子机理, 在共生信号传导和营养交换方面取得了一系列重要进展。最近, 该团队在豆科植物根瘤发育调控的分子机制研究中又

收稿日期: 2020-11-13; 接受日期: 2020-11-24

基金项目: 国家自然科学基金(No.31870264)

\* 通讯作者。E-mail: zhzhao@ustc.edu.cn

取得重大突破,发现植物中参与干细胞发育的保守模块SHR-SCR (SHORTROOT-SCARECROW)决定了豆科植物根皮层细胞的命运,使其能够响应共生信号进行细胞分裂,并导致根瘤发生(Dong et al., 2020)。这一发现回答了豆科植物在进化过程中如何获得共生固氮能力这一基本生物学问题。

为了寻找豆科植物中调控根皮层细胞特异属性的决定因子,王二涛团队比较了一批蒺藜苜蓿和拟南芥调控根发育的同源基因,发现根干细胞重要调控基因SCR在2个物种中具有明显不同的表达模式:拟南芥*AtSCR*启动子在蒺藜苜蓿和拟南芥根部静止中心(quiescent center)和内皮层表达,而蒺藜苜蓿*MtSCR*启动子除了在上述区域表达外,还扩展到根皮层细胞中表达。*MtSCR*启动子中的2个顺式调控元件AT-1 box和Enhancer对于*MtSCR*启动子在拟南芥根皮层细胞中的表达必不可少,而同时缺失这2个调控元件的*MtSCR*启动子在蒺藜苜蓿根皮层细胞中仅有非常微弱的表达。有趣的是,AT-1 box和Enhancer在豆科植物SCR启动子中通常相距100 bp以内,而在非固氮分支(non-nitrogen fixing clade)植物中,它们则相距较远,或缺失其中一个。王二涛团队进一步证明其它一些豆科植物,如大豆(*Glycine max*)、百脉根(*Lotus japonicus*)、鹰嘴豆(*Cicer arietinum*)、豌豆(*Pisum sativum*)和白羽扇豆(*Lupinus albus*)的SCR同源基因也在根皮层细胞中表达。上述研究结果表明,SCR在根皮层细胞中的表达以及决定其表达的2个调控元件在豆科中是保守的(Dong et al., 2020)。

*Mtscr*突变体中的根瘤数目、根瘤原基和根瘤密度均少于野生型,同时*Mtscr*也呈现出与*Atscr*类似的根轴向模式建成和根向重力性缺陷。通过利用不同启动子驱动*MtSCR*的互补实验,他们发现只有*MtSCR*自身启动子既能互补根瘤表型,也能互补根发育表型。而*AtSCR*启动子和顺式调控元件缺失的*MtSCR*启动子仅能互补根发育表型,不能互补根瘤发育表型。进一步利用*MtSCR-SRDX*构建(将转录激活活性转变为转录抑制活性),发现其在皮层特异启动子(*pMtNRT1.3*)驱动下可导致与*Mtscr*类似的根瘤发育缺陷表型,表明皮层中表达的SCR参与根瘤共生过程。在大豆和百脉根的皮层中特异表达SCR-SRDX均可导致根瘤数目减少,进一步证实SCR在豆科植物根瘤发育中具有保守的功能。此外,还发现*MtSCR*

与其同源基因*MtSCL23*冗余地调控根和根瘤的发育(Dong et al., 2020)。

拟南芥*AtSHR*在中柱中表达,*AtSHR*蛋白随后移动到内皮层中与*AtSCR*互作,共同调控内皮层发育和根部干细胞的维持(Cui et al., 2007)。与*AtSHR*类似,蒺藜苜蓿2个同源基因*MtSHR1*和*MtSHR2*都在蒺藜苜蓿中柱鞘细胞中表达;且*MtSHR1*、*MtSHR2*与*MtSCR*在体内和体外均能互作,表明该互作在拟南芥和蒺藜苜蓿中是保守的。进一步研究表明,在蒺藜苜蓿中,*MtSHR1*和*MtSHR2*均可由中柱鞘移动至内皮层、皮层和表皮层。通过比较分析,发现豆科和非豆科植物的SHR同源蛋白有2个区域具有较大的序列差异,其中第2个区域(Region 2)决定了SHR蛋白的跨层移动及在皮层细胞中的积累(Dong et al., 2020)。*Mtshr2*单突变体根和根瘤发育正常,但*Mtshr2*背景下的*MtSHR1* RNAi或者组成型表达*MtSHR1-SRDX*都导致根变短和根瘤数目减少。特别是仅在皮层特异表达*MtSHR1-SRDX*即可导致根瘤数目减少,说明皮层中的*MtSHR*调控根瘤器官发生(Dong et al., 2020)。

通过根瘤菌点接种实验,发现皮层中的*MtSCR*和*MtSHR*对于根瘤菌诱导的皮层细胞分裂必不可少。细胞分裂素是根瘤发育中非常重要的激素,外源施加细胞分裂素可在非共生条件下诱导皮层细胞分裂。研究发现,细胞分裂素诱导的皮层细胞分裂同样依赖于*MtSHR*和*MtSCR*。此外,6-BA处理导致*MtSHR-GUS*在根中积累以及诱导*MtSCR*表达。过量表达固氮共生中的重要转录因子NIN (NODULE INCEPTION)同样可导致非共生条件下的根瘤发生,而这种根瘤发生的数目在*Mtscr*突变体中也显著降低。上述结果表明,SHR-SCR模块决定了豆科植物根皮层细胞的特异属性(图1B) (Dong et al., 2020)。

在蒺藜苜蓿中过量表达*MtSHR1*导致7 000多个基因的表达发生变化,其中40%的基因也受到根瘤菌诱导而表达发生变化。组成型过表达*MtSHR1*导致皮层细胞分裂,产生类似放线菌根瘤或不正常侧根结构。此外,在皮层中特异表达*MtSHR1*可以导致蒺藜苜蓿皮层细胞分裂。上述皮层细胞分裂依赖于*MtSCR*,但是独立于固氮共生信号转导途径中的组分NOD FACTOR PERCEPTION、NSP1 (NODULATION SIGNALING PATHWAY 1)、NSP2和NIN。

非共生条件下过表达*MtSHR1*同时还诱导一些根瘤菌侵染相关基因的表达,在共生条件下则可诱导更高水平的固氮共生信号标记pENOD11::*GUS*的表达。此外,*Mtscr1*、*Mtscr1Mtsc123*突变体及*MtSHR1-SRDX*过表达的毛状根中,侵染线数目也显著降低,表明SHR-SCR模块除了影响发育外,还在进化中获得了促进根瘤菌侵染的新功能(Dong et al., 2020)。

根瘤菌接种诱导*MtSCR*基因显著上调表达,且依赖于*MtSHR1/SHR2*以及固氮共生信号转导中的转录因子NSP1、NSP2和NIN。根瘤菌接种虽然不影响

*MtSHR*的转录水平,但可以增加*MtSHR1-GUS*的蛋白水平,尤其是在皮层和表皮层中的蛋白水平,且这种增强现象依赖于NSP1、NSP2和NIN。根据以上结果,王二涛团队提出1个模型:根瘤菌信号首先诱导*MtSHR1/SHR2*蛋白水平增加,*MtSHR1/SHR2*进一步上调*MtSCR*,从而增强皮层细胞中*MtSHR-MtSCR*的活性,进而驱动皮层细胞分裂及根瘤的发育。*MtSHR*过量表达可以诱导*MtSCR*的表达,而且*MtSHR*可以结合于*MtSCR*启动子AT-1 box和Enhancer的下游,这些结果进一步支持了上述模型。因此,

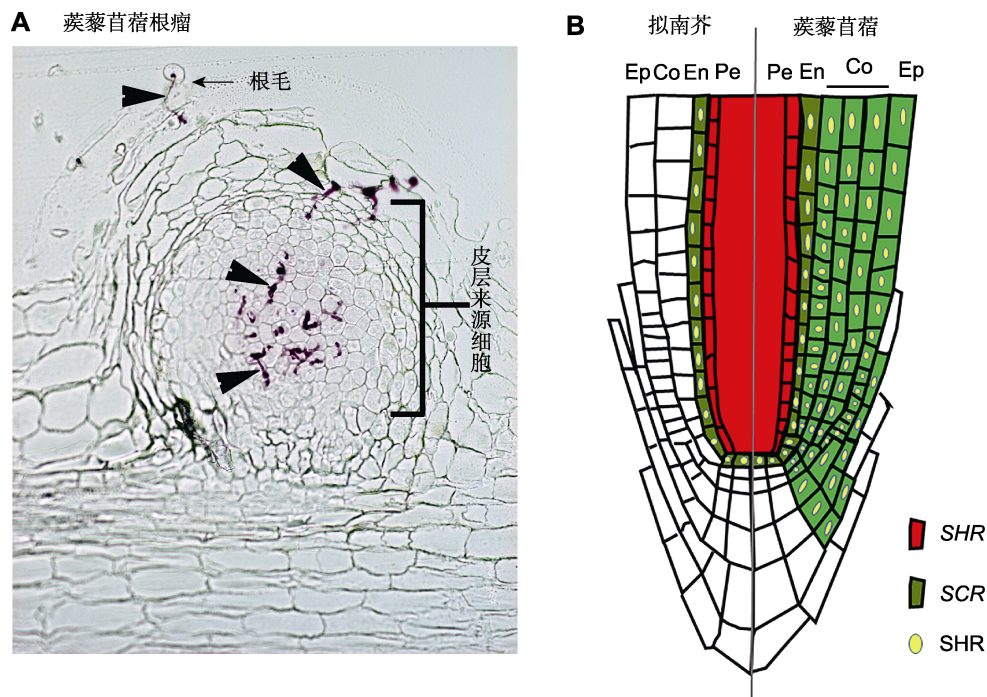


图1 豆科SHR-SCR模块决定根皮层细胞分裂及被根瘤菌侵染的命运

(A) 根瘤器官发生与根瘤菌侵染是共生固氮中两个相互协调的基本过程,图中显示蒺藜苜蓿根瘤纵切面(方括弧示根瘤主体细胞来自皮层,只有这些细胞(以及表皮细胞)可以被根瘤菌侵染;箭头示根瘤菌侵染线(洋红色));(B) 拟南芥(左)和蒺藜苜蓿(右)皮层中SCR基因表达和SHR蛋白转移的差异。Ep: 表皮层;Co: 皮层;En: 内皮层;Pe: 中柱鞘。红色表示SHR基因在中柱细胞中表达;绿色表示SCR基因在拟南芥根内皮层和蒺藜苜蓿根的内皮层、皮层及表皮层中表达;黄色表示SHR蛋白转移到内皮层(拟南芥)以及内皮层、皮层和表皮层(蒺藜苜蓿)。

**Figure 1** The legume SHR-SCR module predetermines cortical cell identity for cell division and accommodation of rhizobia  
(A) Longitudinal section of a developing *Medicago truncatula* nodule illustrating coordinated nodule organogenesis and rhizobial infection, which are the two fundamental processes during legume-rhizobial nitrogen fixing symbiosis (Bracket indicates that the majority of nodule cells originates from cortical cell division, and only these cells and the epidermal cells can be infected by rhizobia, arrow indicates root hair, arrowheads indicate rhizobial infection threads (magenta color)); (B) Differential SCR gene expression and SHR protein accumulation between *Arabidopsis thaliana* (left) and *M. truncatula* (right). Ep: Epidermis; Co: Cortex; En: Endodermis; Pe: Pericycle. The red indicates SHR expression in pericycle; green indicates SCR expressions in the endodermis of *A. thaliana* root, and the endodermis, cortex and epidermis in *M. truncatula*; yellow indicates SHR protein accumulation in the endodermis of *A. thaliana*, and the endodermis, cortex and epidermis in *M. truncatula*.

推测2个顺式调控元件可以使MtSCR表达维持在基本的水平,对于根瘤菌激活MtSHR-MtSCR干细胞模块和进一步根瘤形态建成具有决定性作用(Dong et al., 2020)。

Dong等(2020)的发现是豆科植物-根瘤菌共生固氮领域的重大突破。首先,该研究揭示了根瘤发生的新机制。如果说根瘤菌或共生激素信号是诱导豆科植物根皮层细胞分裂进而导致根瘤发生的直接导火索,那么SHR-SCR模块则预先决定了这些皮层细胞能够响应共生信号从而进行细胞分裂的命运。其次,该发现为阐明豆科植物-根瘤菌共生固氮的进化机制提供了重要线索。近年来的研究发现,根瘤菌共生固氮在进化上经历了一次获得和多次独立的丧失,但是豆科植物最初如何获得与根瘤菌共生的能力仍不清楚(Griesmann et al., 2018)。豆科中保守的SHR-SCR模块获得很可能是共生固氮进化过程中决定豆科根皮层细胞分裂能力的重要分子事件,而随后LBD16等侧根发育模块进一步被招募到根瘤器官发生中(Schiessl et al., 2019; Soyano et al., 2019; Dong et al., 2020)。最后,该研究发现过量表达SHR(或SHR和SCR)可以诱导拟南芥和水稻等非豆科植物根皮层细胞分裂,豆科SCR启动子中AT-1 box、Enhancer在其空间表达和根瘤发生中的作用,也将为非豆科植物固氮工程提供重要的遗传改造候选元件(Huisman and Geurts, 2020)。因此,该研究对提高根瘤菌高效广谱的固氮作用具有重要的理论意义和应用价值。

## 参考文献

- Cui HC, Levesque MP, Vernoux T, Jung JW, Paquette AJ, Gallagher KL, Wang JY, Blilou I, Scheres B, Benfey PN (2007). An evolutionarily conserved mechanism delimiting SHR movement defines a single layer of endodermis in plants. *Science* **316**, 421–425.
- Dong W, Zhu Y, Chang H, Wang C, Yang J, Shi J, Gao J, Yang W, Lan L, Wang Y, Zhang X, Dai H, Miao Y, Xu L, He Z, Song C, Wu S, Wang D, Yu N, Wang E (2020). A SHR-SCR module specifies legume cortical cell fate to enable nodulation. *Nature* <https://doi.org/10.1038/s41586-020-3016-z>.
- Geurts R, Xiao TT, Reinhold-Hurek B (2016). What does it take to evolve a nitrogen-fixing endosymbiosis? *Trends Plant Sci* **21**, 199–208.
- Griesmann M, Chang Y, Liu X, Song Y, Haberer G, Crook MB, Billault-Penneteau B, Laressergues D, Keller J, Imanishi L, Roswanjaya YP, Kohlen W, Pujic P, Battenberg K, Alloisio N, Liang YY, Hilhorst H, Salgado MG, Hocher V, Gherbi H, Svistoonoff S, Doyle JJ, He SX, Xu Y, Xu SY, Qu J, Gao Q, Fang XD, Fu Y, Normand P, Berry AM, Wall LG, Ané JM, Pawlowski K, Xu X, Yang HM, Spannagl M, Mayer KFX, Wong GKS, Parniske M, Delaux PM, Cheng SF (2018). Phylogenomics reveals multiple losses of nitrogen-fixing root nodule symbiosis. *Science* **361**, eaat1743.
- Huisman R, Geurts R (2020). A roadmap toward engineered nitrogen-fixing nodule symbiosis. *Plant Commun* **1**, 100019.
- Oldroyd GED, Downie JA (2008). Coordinating nodule morphogenesis with rhizobial infection in legumes. *Annu Rev Plant Biol* **59**, 519–546.
- Roy S, Liu W, Nandety RS, Crook A, Mysore KS, Pislariu CI, Frugoli J, Dickstein R, Udvardi MK (2020). Celebrating 20 years of genetic discoveries in legume nodulation and symbiotic nitrogen fixation. *Plant Cell* **32**, 15–41.
- Schiessl K, Lilley JLS, Lee T, Tamvakis I, Kohlen W, Bailey PC, Thomas A, Luptak J, Ramakrishnan K, Carpenter MD, Mysore KS, Wen JQ, Ahnert S, Grieneisen VA, Oldroyd GED (2019). NODULE INCEPTION recruits the lateral root developmental program for symbiotic nodule organogenesis in *Medicago truncatula*. *Curr Biol* **29**, 3657–3668.
- Soyano T, Shimoda Y, Kawaguchi M, Hayashi M (2019). A shared gene drives lateral root development and root nodule symbiosis pathways in *Lotus*. *Science* **366**, 1021–1023.
- Xiao TT, Schilderink S, Moling S, Deinum EE, Kondorosi E, Franssen H, Kulikova O, Niebel A, Bisseling T (2014). Fate map of *Medicago truncatula* root nodules. *Development* **141**, 3517–3528.

## The Legume SHR-SCR Module Predetermines Nodule Founder Cell Identity

Chengwu Liu, Zhong Zhao\*

*Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei 230027, China*

**Abstract** Symbiotic nitrogen fixation between legumes and rhizobia is the most important nitrogen source for sustainable agriculture. As the final accommodation for rhizobia, the specialized lateral organ, root nodule, that provides the essential microenvironments for rhizobia and its proper development, is vital for biological nitrogen fixation. Nodule *de novo* organogenesis mainly initiates from cortical cell division and it is generally accepted that cortical cells of legumes possess certain identity, which enables them to respond to and establish symbiosis with rhizobia, but the underlying mechanisms remain unknown. Recently a team led by Ertao Wang in Centre for Excellence in Molecular Plant Science, Chinese Academy of Science showed that the SHORTROOT-SCARECROW (SHR-SCR) module predetermines this cortical cell identity in legumes. This study uncovers a novel molecular mechanism for nodule organogenesis, and provides important clues for an evolutionary understanding of root nodule symbiosis, which is both practically and theoretically valuable for improving nitrogen fixation efficiency in legumes and engineering nitrogen symbiosis in non-legumes.

**Key words** legume-rhizobial nitrogen fixing symbiosis, biological nitrogen fixation, *Medicago truncatula*, nodule organogenesis, SHR-SCR, cortical cell division

**Liu CW, Zhao Z** (2020). The legume SHR-SCR module predetermines nodule founder cell identity. *Chin Bull Bot* **55**, 661–665.

---

\* Author for correspondence. E-mail: zhzhao@ustc.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)