

基于转录组数据发掘三岛柴胡侧根发育的关键基因

李玉婵¹, 师倩因¹, 田 林², 罗亚东², 郑 珂¹, 陈 华¹, 赵 军¹, 辛 超¹, 侯大斌¹, 余 马^{1*}

1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010

2. 江油市农业农村局, 四川 江油 621700

摘要: **目的** 发掘生长素信号转导途径中可能参与三岛柴胡 *Bupleurum falcatum* 侧根发育的关键基因。**方法** 采用 Illumina HiSeq2500 高通量测序平台对三岛柴胡不同发育阶段的根组织进行转录组测序, 筛选差异表达的生长素信号转导基因。通过使用外源生长素 (indole-3-acetic acid, IAA) 与生长素抑制剂 (2,3,5-triiodobenzoic acid, TIBA) 处理苗期柴胡, 考察生长调节剂对三岛柴胡侧根发育及差异表达基因的影响。**结果** 在三岛柴胡的苗期根转录组中共鉴定到 138 个属于生长素信号转导通路中的差异表达基因, 其中 73 个基因在 15 日龄的三岛柴胡主根 (S3) 中特异性高表达。相关性分析表明, *BfLAA9/14/16*、*BfARF6/19*、*BfGH3.6*、*BfLAX3* 等 31 个差异基因表达模式高度相关, 可能共同参与了三岛柴胡的侧根发育过程。外源激素诱导结果显示, 低浓度的 IAA 和 TIBA 处理均可显著增加三岛柴胡侧根数目, 并促进 *BfLAA9/14/16*、*BfARF19* 等基因的表达。进一步证实了转录组的筛选结果的准确性, 其中 *BfLAA9/14/16*、*BfARF19* 可能是正向调控三岛柴胡侧根发育的关键基因。**结论** 揭示了三岛柴胡根系在不同发育阶段和组织中生长素信号转导通路基因的显著差异表达模式, 其中在 S3 组织中高表达的基因可能与侧根发育密切相关。

关键词: 三岛柴胡; 转录组; 生长素信号转导; 侧根; 差异表达分析

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2024)21-7435-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2024.21.022

Identifying key genes involved in lateral root development of *Bupleurum falcatum* based on transcriptome data

LI Yuchan¹, SHI Qiannan¹, TIAN Lin², LUO Yadong², ZHENG Ke¹, CHEN Hua¹, ZHAO Jun¹, XIN Chao¹, HOU Dabin¹, YU Ma¹

1. School of life science and engineering, southwest university of science and technology, Mianyang 621010, China

2. Agriculture Bureau of Jiangyou, Jiangyou 621700, China

Abstract: Objective To identify key genes involved in the auxin signal transduction pathway that may participate in the lateral root development of *Bupleurum falcatum*. **Methods** Transcriptome sequencing of root tissues at different developmental stages of *B. falcatum* was performed using the Illumina HiSeq2500 high-throughput sequencing platform to screen for differentially expressed auxin signaling genes. The effects of exogenous IAA and TIBA on the lateral root development and expression of differentially expressed genes in *B. falcatum* seedlings were examined. **Results** A total of 138 DEGs related to the auxin signal transduction pathway were identified in the transcriptome data of seedling-stage *B. falcatum*, with 73 genes specifically highly expressed in 15-day-old the main root (S3). Correlation analysis revealed that 31 DEGs, including *BfLAA9/14/16*, *BfARF6/19*, *BfGH3.6*, and *BfLAX3*, showed highly correlated expression patterns, suggesting their potential involvement in the lateral root development of *B. falcatum*. Exogenous hormone induction results showed that low concentrations of IAA and TIBA treatments significantly increased the number of lateral roots in *B. falcatum* and promoted the expression of genes such as *BfLAA9/14/16* and *BfARF19*. These results confirmed the accuracy of the transcriptome screening, indicating that *BfLAA9/14/16* and *BfARF19* may be key positive regulators of lateral root development in *B. falcatum*. **Conclusion** This study reveals significant differential expression patterns of auxin signaling pathway genes in the roots of *B. falcatum* at different developmental stages and tissues, with genes highly expressed in S3 tissue potentially being closely related to lateral root development.

Key words: *Bupleurum falcatum* L.; transcriptome; auxin signaling transduction; lateral root; differential expression analysis

收稿日期: 2024-03-03

基金项目: 四川省国际合作项目 (2023YFH0044, 2023YFH0018); 国家现代农业产业技术体系 (CARS-21)

作者简介: 李玉婵 (1993—), 女, 博士, 研究方向为药用植物资源与分子生物学研究。E-mail: LiYuchan2024@126.com

*通信作者: 余 马 (1986—), 男, 副教授, 硕士研究生导师, 从事药用植物学研究。E-mail: yuwen0073@126.com

柴胡 *Bupleuri Radix* 是伞形科 (Umbelliferae) 柴胡属植物北柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 以及狭叶柴胡 *B. scorzonifolium* Willd. 的干燥根, 在亚洲地区具有 2000 多年入药历史^[1]。柴胡的主要活性成分为柴胡皂苷, 具有抗炎、抗溃疡、保肝、解热、抗肿瘤、抗病毒等多种药理作用^[2-3]。柴胡皂苷的含量与根系构型密切相关, 主要在根表皮和外皮层中高度富集, 因此侧根数量是影响柴胡皂苷含量的决定性因素之一^[4]。三岛柴胡 *B. falcatum* L. 为日本官方用药品种, 自 20 世纪 80 代开始在我国引种并广泛栽培, 主要销往日本、韩国等地, 需求量极大^[5]。本课题组前期对苗期三岛柴胡、北柴胡以及狭叶柴胡的根系构型比较后发现, 与北柴胡相比, 狭叶柴胡的根更短, 侧根数量较少; 而三岛柴胡的根更长, 侧根数更少^[6-8]。

生长素 (indole-3-acetic acid, IAA) 在植物根系发育过程中起着至关重要的作用, 生长素水平的动态时空变化可以迅速精确地触发基因的重编程^[9-10]。生长素信号通过生长素原初响应基因 Aux/IAA (auxin/indole-3-acetic acid) 和生长素响应因子 (auxin response factor, ARF) 的相互作用来调控侧根发育关键基因的表达^[11]。例如, 在拟南芥中多个 AUX/IAA-ARF 模块参与调控其侧根的形成^[12]。PgIAA02 通过与 PgARF22/PgARF36 互作影响人参侧根生长和发育^[13]。

据报道, 外源施用生长素通过改变根部生长素的分布和活性, 来影响植物侧根形态的建成和发育^[14-16], 而生长素抑制剂 (2,3,5-Triiodobenzoic acid, TIBA) 则通过阻断生长素的极性运输使其在细胞和组织中积累, 从而促进或者抑制根的生长^[17-19]。本课题组前期研究发现, 使用适宜浓度的 IAA 和 TIBA 可显著促进北柴胡和狭叶柴胡的侧根形成^[7-8], 参与生长素信号转导基因的表达量在两种柴胡幼根组织中也存在明显差异^[20]。

为了进一步明确影响三岛柴胡根系构型的分子机制, 本研究对三岛柴胡幼根进行了转录组测序, 并筛选不同发育阶段和组织中差异表达的生长素信号转导通路基因。同时, 分析了外源激素 IAA 和 TIBA 处理对三岛柴胡侧根发育及其生长素信号转导相关基因表达的影响。本研究旨在通过分子生物学和生物信息学手段, 揭示三岛柴胡根系发育过程中生长素信号转导的分子机制, 并评估外源激素处理对其根系发育的潜在应用前

景, 为进一步优化柴胡栽培技术和基因改良柴胡品种提供科学依据。

1 材料

药材于 2013 年采自四川自贡荣县药用植物基地, 经中国医学科学院药用植物研究所魏建和教授鉴定为三岛柴胡 *B. falcatum* L.。选取饱满的三岛种子置于潮湿滤纸上进行催芽, 将发芽后的种子置于霍格兰营养液中采用漂浮法进行水培, 培养过程中每隔 3 d 更换 1 次营养液, 后续选取长势一致的柴胡幼苗进行实验处理。以 5 日龄未产生侧根的幼苗整个新鲜根系 (S1)、15 日龄幼苗主根和侧根未分化的 5 mm 根尖组织 (S2)、15 日龄主根的成熟区 (S3) 为转录组测序样本。以 10 日龄的幼苗为材料进行外源激素处理。

2 方法

2.1 转录组测序

采用 Illumina HiSeq2500 高通量测序平台对三岛柴胡幼根组织进行转录组测序, 课题组前期已完成上述测序工作并鉴定到与三萜皂苷生物合成相关的基因^[21], 本研究主要聚焦在与柴胡侧根发育相关的基因。

2.2 生长素信号转导相关基因筛选与差异表达分析

基于三岛柴胡的转录组中的 KEGG 注释结果, 筛选生长素信号转导通路中的 AUX/IAA、ARF、生长素受体 (transport inhibitor response, TIR1)、生长素应答基因 gretchen hagen3 (GH3)、小生长素上调 RNA (small auxin upregulated RNA, SAUR)、生长素流入载体 (auxin resistant 1/like aux1, AUX1/LAX) 和生长素极性转运蛋白 (PIN-FORMED, PIN) 7 个基因家族。使用 DESeq2 程序对上述基因进行差异表达分析, 以 $P < 0.05$ 且 $|\log_2 \text{fold change}| > 2$ 为筛选条件, 并利用 R 4.3.3 版本中的 pheatmap 软件包进行可视化处理。

2.3 差异基因之间的相关性分析

为了深入发掘生长素信号转导通路中与三岛柴胡侧根发育相关的关键基因集, 基于差异基因的表达量变化倍数及其表达丰度, 对不同亚家族中差异基因进行了进一步筛选。再利用 R 中的 cor 函数计算差异基因之间的 Pearson 相关性系数, 相关系数 (r^2) 越接近 1, 表明基因之间表达模式的相似度越高。最终采用 Corplot 软件包对分析结果进行可视化展示, 以便更直观地理解基因之间的相关性。

2.4 外源生长节剂对三岛柴胡侧根发育的影响

为了比较外源生长节剂对三岛柴胡侧根发育的影响, 将长势一致的 10 日龄的三岛柴胡幼苗分别置于含有 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 的 IAA 和 TIBA 的霍格兰营养液中进行处理, 处理时间设置为 0、1、2、4、6、8、12、16、20、24 h, 处理后完成后转入 Hogland 营养液继续培养, 3 d 后每个处理取 10 株柴胡使用番红固绿染色剂对柴胡根进行染色并在显微镜下计数每株苗子的侧根原基和侧根数量, 并使用 SPSS 和 Prism 8.0 进行数据分析和作图。

2.5 外源生长调节剂对生长素信号转导基因的影响

使用含有 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 的 IAA 和 TIBA 的霍格兰营养液对三岛柴胡进行处理(方法同“2.3”项), 处理时间为 0、2、4、6、8、12、24 h。每个样品设置 3 个生物学重复, 处理完成后立刻用液氮预冷三岛柴胡根组织。使用 TIANGEN RNA prep Pure Plant

Plus Kit 试剂盒提取柴胡根组织总 RNA, 使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量。采用 Thermo Scientific Nanodrop One 核酸分析仪测定 RNA 浓度, 并使用 TransScript® Uni All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR kit 将 RNA 反转录成 cDNA。使用 PerfectStart® Green qPCR SuperMix kit 试剂盒及 Bio-Rad CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System 荧光定量仪进行实时荧光定量反应(qRT-PCR)。使用柴胡 *BcADF5* 作为内参基因, 随机选取相关性分析结果中表达模式高度相关的 9 个差异表达基因进行 qRT-PCR 验证, 并使用在线软件 Primer 3 Plus (<https://www.primer3plus.com/>) 对候选转录因子进行引物设计(表 1)。将各基因在 0 h 样本中的表达量设为对照, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算其相对表达量, 利用 Prism 8.0 进行数据分析和作图。

表 1 qRT-PCR 引物

Table 1 Primers used for real-time quantitative PCR

基因 ID	正向引物 (5'-3')	反向引物 (5'-3')
<i>BfIAA9_41026</i>	TCTCAGTCCCCAGAAAAAGAGC	CCCTCTTGTTGCCAGAAACAAC
<i>BfIAA14_6950</i>	TGGGTGATTATGGATCCCAAGG	GCCAATGAGCATCCAATCACC
<i>BfIAA16_28436</i>	AAGAAGGGTGATCTGGAGAGTG	ACAGCTGCTGGTAAGTGTTG
<i>BfARF6_81957</i>	TTGGAGTTTCGCCTTGGATG	TGAAAGCATCAACGGCTCTC
<i>BfARF19_85571</i>	AATGCCTTGGCTTGGTGATG	AGTAGTTTGGCTGCATTGGG
<i>BfLAX3_8614</i>	TTGTTGGGAAGTTGGACTGC	TGTTTCTCCAGTGCTTTCCC
<i>BfGH3.6_34057</i>	ACCGTATTGCCAATGGTGAC	ACAATGATCTCCTCTCCAGCTC
<i>BfGH3.6_56781</i>	ATGGGGTTTCGGTTAGTGTCC	TCGATAAAGCCCAGCATAGGTG
<i>BfPIN1_36719</i>	TCTATGGTTGCTGCTGGTACTG	TGGAACCTAGACTTGCTTCCAC

3 结果与分析

3.1 生长素信号转导相关基因差异表达分析

在三岛柴胡根组织比较转录组中, 共鉴定到 138 个差异表达基因。有 78 个差异基因为生长素响应因子 ARF, 其余基因则来自于 AUX/IAA 家族(18 个)、TIR1 家族(16 个)、AUX/LAX 家族(11 个)、GH3 家族(7 个)、SAUR 家族(5 个)和 PIN 家族(3 个)。此外, 在 S3_vs_S1 和 S3_vs_S2 分别检测到 105 和 116 个差异表达基因, 两组比较组中存在 82 个共有基因(52 个 ARF、11 个 TIR1、7 个 AUX/LAX、5 个 AUX/IAA、5 个 GH3、3 个 PIN)。在 S1_vs_S2 中仅有 3 个差异基因, 其中 *BfLAX3_8614* 在所有比较转录组中均显示出差异表达(图 1)。图 2 进一步展示了 138 个差异基因在

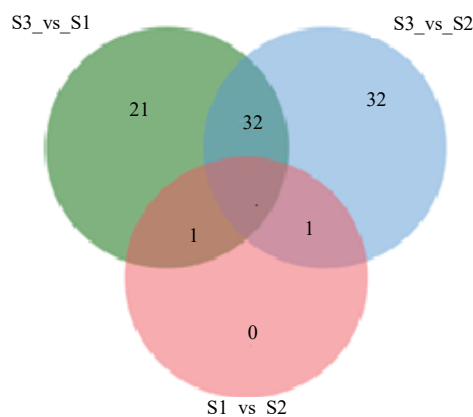


图 1 不同根组织中生长素转导通路差异表达基因的韦恩图

Fig. 1 Venn diagram of differentially expressed genes in auxin signaling pathway across different root tissues

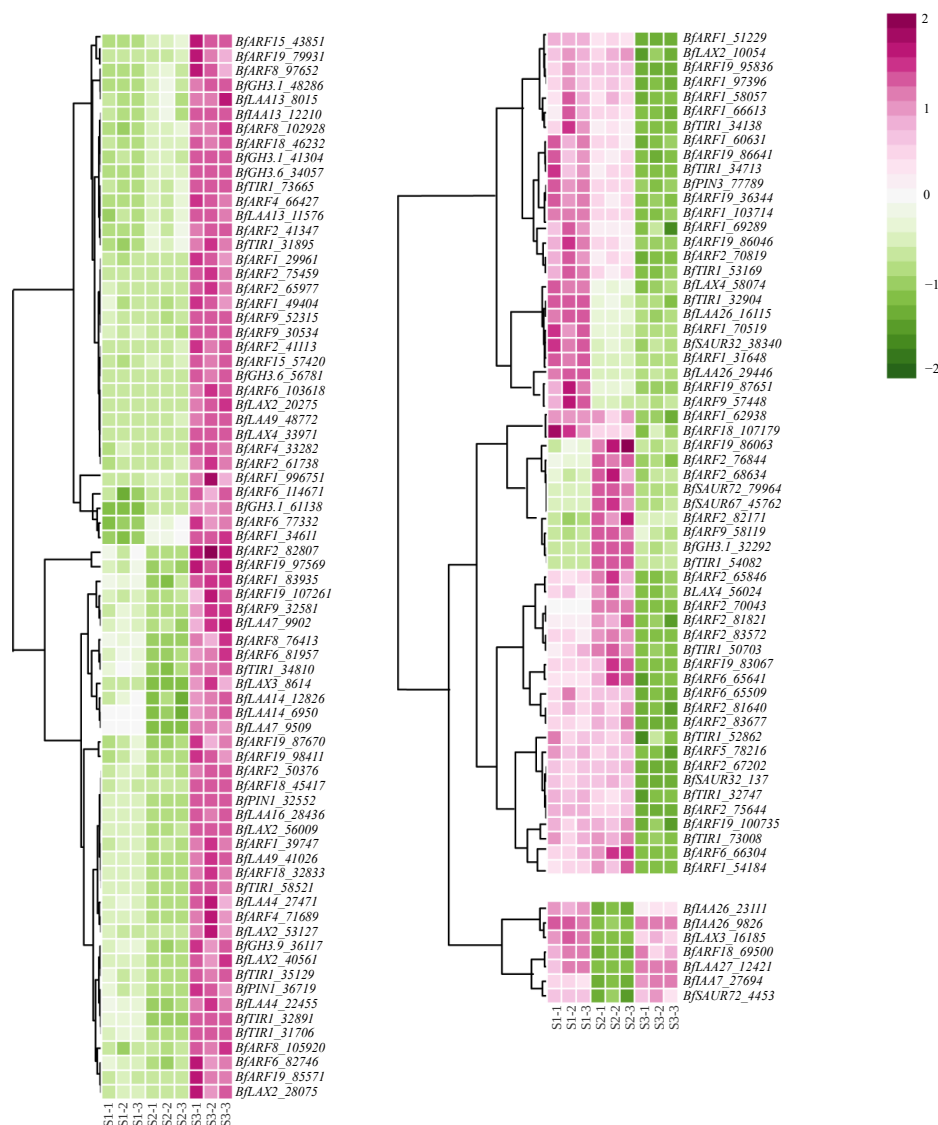


图 2 三岛柴胡幼根组织中生长素相关差异基因表达谱

Fig. 2 Expression profile of auxin-related differentially expressed genes in young roots of *B. falcatum*

S1、S2 和 S3 中表达情况，其中生长素早期响应基因 CH3.6、CH3.9、IAA4/9/13/14/16，生长素响应因子 ARF4/8/15，以及生长素运输载体蛋白 PIN1 等 73 个基因在侧根形成旺盛的 S3 中特异性高表达。

3.2 差异基因之间的相关性分析

基于 138 个基因在组织中的差异变化倍数和表达丰度，最终选取了 67 个基因进行相关性分析。如图 3 红框中所示，其中有 31 个差异基因的表达模式具有显著的正相关性 ($r^2 > 0.8$)，如 *BfLAA14_6850*、*BfLAA9_41026*、*BfARF6_81957*、*BfARF19_85571*、*BfLAX3_8614*、*BfGH3.6_34057*、*BfPIN1_36719* 等。这些具有相同表达模式的差异基因集，可能在三岛柴胡生长素信号转导和侧根发育

调控过程中发挥关键作用。

3.3 IAA、TIBA 对三岛柴胡侧根原基和侧根数量的影响

低浓度的 IAA 和 TIBA 显著影响三岛柴胡幼苗侧根发育 ($P < 0.05$)。具体而言，使用 $0.01 \mu\text{mol/L}$ 的 IAA 处理三岛柴胡 2~16 h 后，显著促进了其侧根原基的形成，尤其是在处理 8 h 后，侧根原基和侧根数量增加最为显著 (图 4-A、B)。同样，使用 $0.01 \mu\text{mol/L}$ 的 TIBA 处理苗期三岛柴胡 2~4 h 后，也显著促进了其侧根原基的形成，侧根数量在处理 2~8 h 后显著增加 (图 4-C、D)。综合来看，使用 $0.01 \mu\text{mol/L}$ 的 IAA 处理三岛柴胡 8 h，对促进其侧根发育的效果最佳，而 $0.01 \mu\text{mol/L}$ 的 TIBA 处理时间 4 h 最为有效。

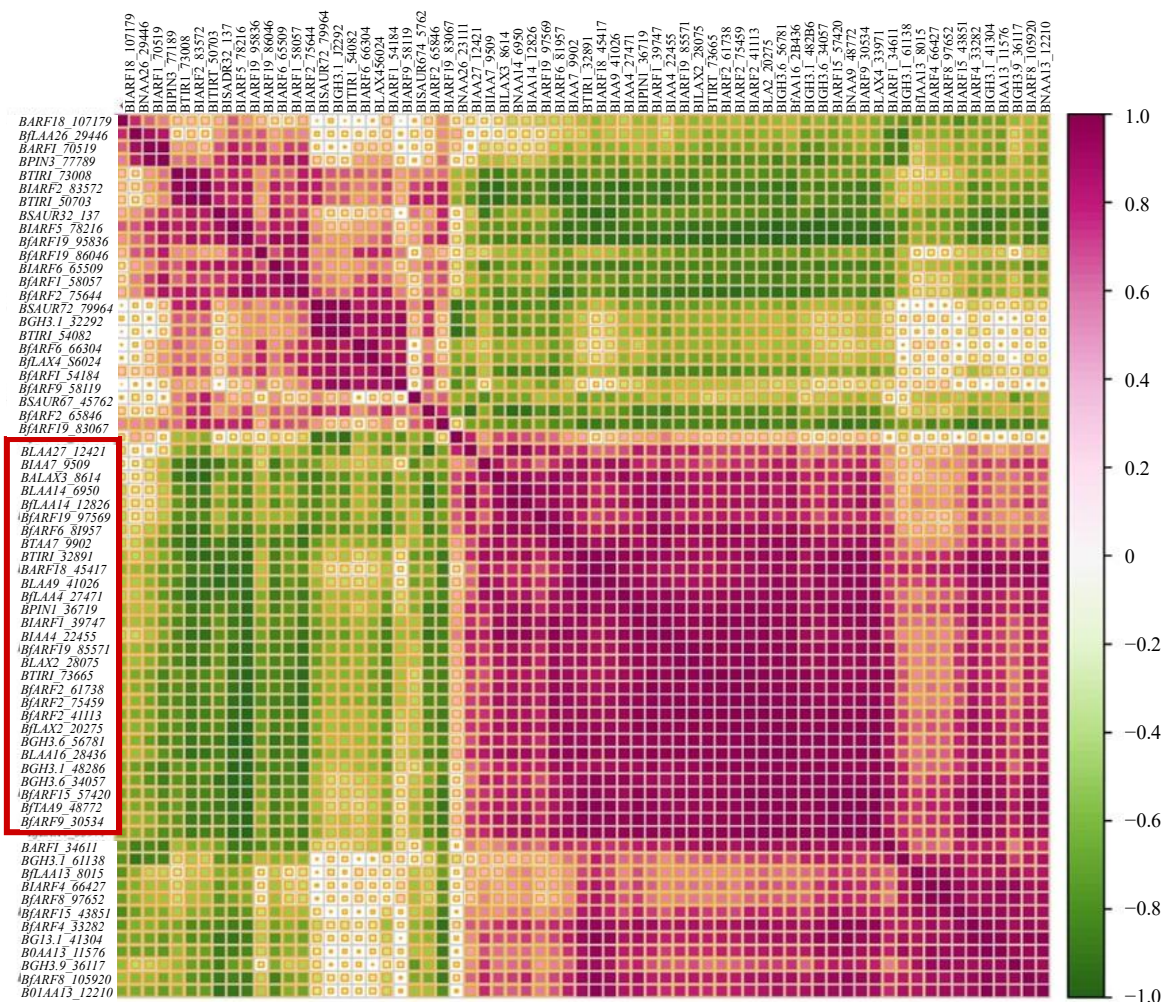


图 3 候选差异表达基因间的相关性分析

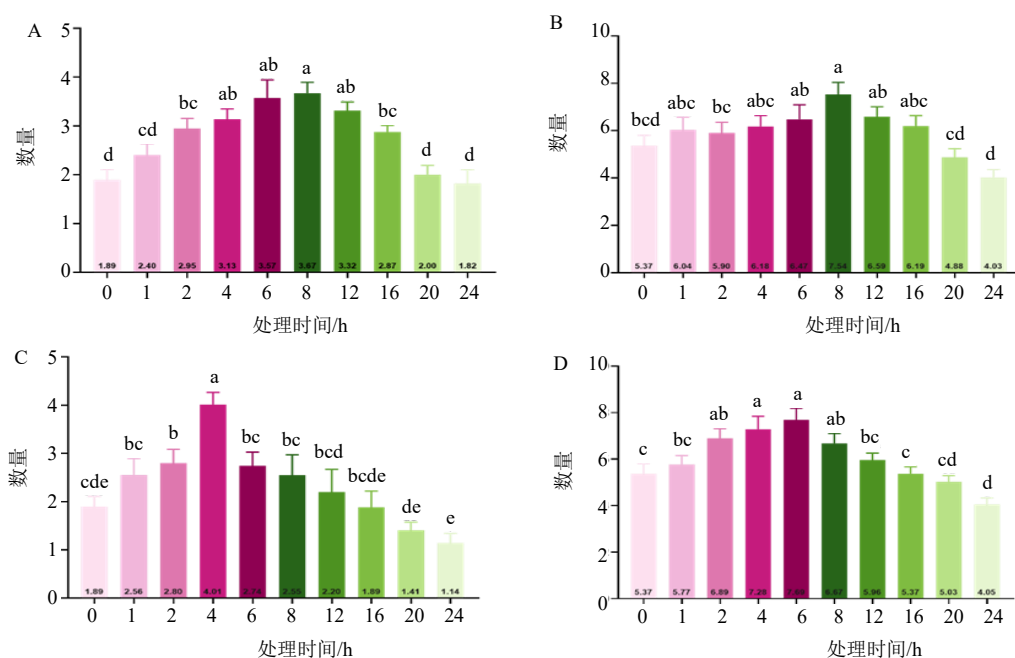
Fig. 3 Correlation analysis of candidate differentially expressed genes

3.4 IAA、TIBA 对三岛柴胡生长素信号转导基因的影响

使用 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 的 IAA 处理苗期柴胡，显著上调了根部生长素原初响应基因 *BfLAA14_6950*、*BfLAA9_41026* 和 *BfLAA16_28346* 的表达量，增强了生长素信号的初级响应过程。同时，外源生长素促进了根细胞内 AUX/IAA 蛋白的降解，并进一步促进了更多生长素响应因子 ARF 的表达，如 *BfARF6_81957* 和 *BfARF19_85571*，进而激活下游生长素响应基因转录来调控柴胡根系的发育。此外，与生长素的调节和代谢相关的生长素早期响应基因 *BfGH3.6_34057* 和 *BfGH3.6_56781* 表达被抑制，以维持细胞内生长素的活性水平。同时，生长素外载体基因 *BfPIN1_36719* 的表达上调，而生长素内载体基因 *BfLAX3_8614* 的表达下调，三岛柴胡可能通过调控生长素运输载体控制生长素在根部的分布

和作用，从而影响根系的发育（图 5）。

类似地，使用 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 的 TIBA 处理苗期柴胡同样显著促进了根中 *BfLAA14_6950*、*BfLAA9_41026*、*BfLAA16_28346* 和 *BfARF19_85571* 的表达，并抑制了 *BfGH3.6_34057*、*BfGH3.6_56781* 以及 *BfLAX3_8614* 的表达。但 TIBA 还下调了 *BfARF6_81957* 和 *BfPIN1_36719* 的表达（图 6），这与 IAA 处理的结果相反，说明 TIBA 可能通过不同的机制调控生长素消耗和分布，从而影响柴胡根系的发育。以上结果进一步证实了 *BfLAA9_41026*、*BfLAA14_6950*、*BfLAA16_28346*、*BfARF6_81957*、*BfARF19_85571*、*BfGH3.6_34057* 和 *BfPIN1_36719* 等可能是调控三岛柴胡根系发育的关键基因。*BfLAA9/14/16* 和 *BfARF19* 可能促进三岛柴胡侧根发育的是正调控因子，操纵这些基因将有助于解析柴胡根系构型的分子机制。

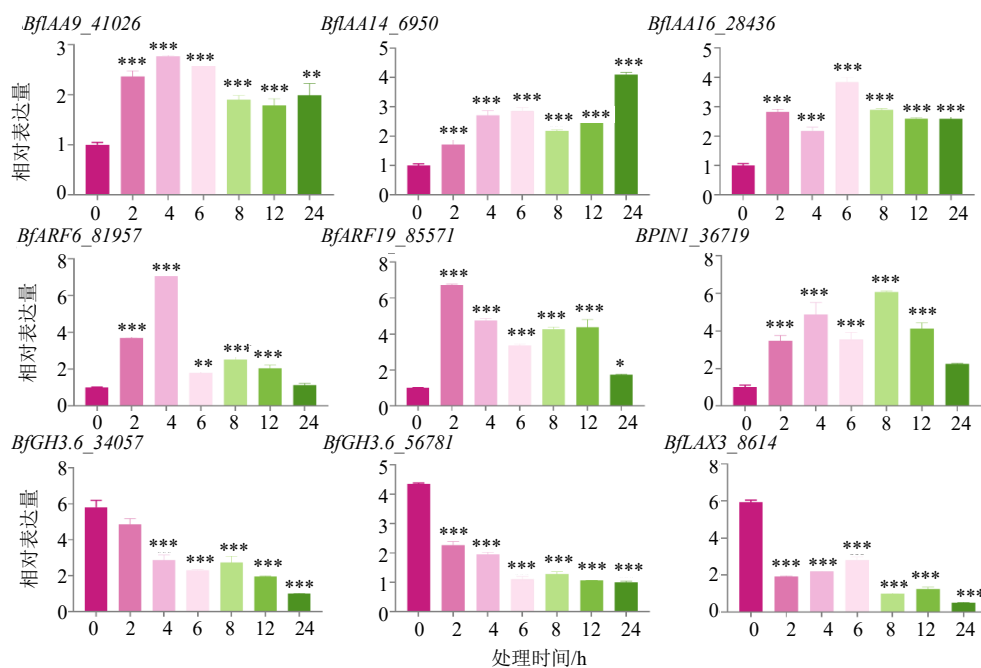


A-IAA 处理对三岛柴胡侧根原基的影响；B-IAA 处理对三岛柴胡侧根的影响；C-TIBA 对三岛柴胡侧根原基的影响；D-TIBA 对三岛柴胡侧根的影响；不同字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。

A-Effect of IAA treatment on lateral root primordia of *B. falcatum*; B-Effect of IAA treatment on lateral roots of *B. falcatum*; C-Effect of TIBA on lateral root primordia of *B. falcatum*; D-Effect of TIBA on lateral roots of *B. falcatum*. Different letters indicate significant differences at $P < 0.05$ level.

图 4 IAA 和 TIBA 对三岛柴胡侧根发育的影响

Fig. 4 Effects of IAA and TIBA on lateral root development in *B. falcatum*



与对照组 (0 h) 比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下同。

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group (0 h), same as below.

图 5 IAA 处理对生长素信号转导基因的影响

Fig. 5 Effects of IAA treatment on auxin signal transduction genes

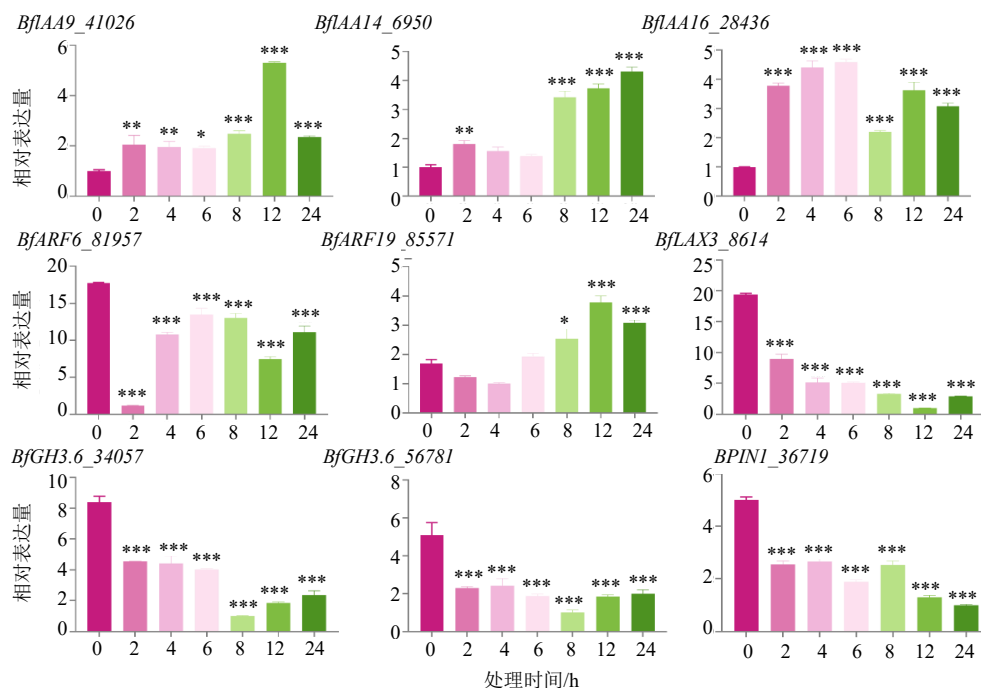


图 6 TIBA 处理对生长素信号转导基因的影响

Fig. 6 Effects of TIBA treatment on auxin signal transduction genes

4 讨论

植物通过的 PIN 蛋白和 LAX 蛋白协同作用, 调控生长素在组织和细胞间的运输和分布^[22-24]。AUX/IAA 和 ARF, 是生长素介导的植物根系发育信号转导的关键因子。在生长素水平较低时, AUX/IAA 蛋白与 ARF 转录因子结合, 抑制靶基因的转录; 当生长素水平升高时, 生长素被与 TIR1 结合, 促进 AUX/IAA 蛋白的降解, 释放 ARF^[9, 25-26], 从而激活生长素早期响应基因 GH3、SAUR 的表达^[27-28]。在本研究中, 生长素信号转导途径中的基因表达水平在三岛柴胡根的不同发育阶段存在显著差异。这些在 S3 中显著上调表达的基因可能与侧根旺盛发育密切相关, 包括生长素转运载体 (*BfPIN1*、*BfLAX3*)、生长素原初 AUX/IAA 基因 (*BfIAA9*、*BfIAA14*、*BfIAA16*); 生长素响应因子 ARF 家族 (*BfARF6*、*BfARF19*)、生长素早期响应基因 (*BfGH3.6*)。类似的结果已在其他物种中得到了验证。例如, 拟南芥侧根出现取决于生长素流入载体 *LAX3*^[29-30]和生长素转运蛋白 *PIN1*^[31]参与的转运过程。水稻中 *OsIAA9* 以及拟南芥 *IAA14*、*IAA16*、*ARF6* 和 *ARF19* 等基因也已被证实参与侧根发育的核心过程^[11, 32-34]。此外, 在毛果杨中, *PtrABR1* 转录因子通过调控 *PtrGH3.6* 促进侧根的形成来提高植物对于干旱胁迫的耐受性^[35]。另外, 相关性分析进

一步揭示了这些基因之间的高度协同作用, 表明它们可能在根系发育过程中共同调控生长素信号的传递和响应。例如, 拟南芥中的 *IAA14*、*ARF7* 和 *ARF19* 共同作用显著影响了侧根原基形态建成^[10-11, 36], 这些结果揭示了生长素信号传导在植物根系发育中的普遍机制。

在本研究中, 低浓度的 IAA 和 TIBA 处理均显著促进了三岛柴胡的侧根形成。在水稻中也得到了相似的研究结果, IAA 处理显著增加了其侧根原基的数量和直径^[37]。此外, TIBA 作为典型的生长素极性运输抑制剂, 通过结合生长素输出复合体来有效地阻止 IAA 的极性运输, 影响 IAA 在细胞和组织中的分布^[38]。低浓度下有时会表现出与其高浓度下相反的生理效应, 例如, 使用低浓度的 TIBA 处理能够促进狭叶柴胡和北柴胡的侧根形成^[7-8], 说明低浓度 TIBA 在一定条件下能够优化根中的生长素分布, 从而促进侧根形态的建成。

进一步的研究表明, IAA 和 TIBA 在调控三岛柴胡生长素信号转导的某些方面表现出相似的作用机制。具体而言, IAA 和 TIBA 均能促进生长素初级响应基因 *BfIAA9*、*BfIAA14*、*BfIAA16* 和生长素响应因子 *BfARF19* 的表达。在拟南芥中的研究也观察到了类似的结果^[39]。此外, IAA 处理显著促进了丹参中 *SmIAA9* 的表达, 并增加了侧根的数量^[40]。不

同于 IAA, TIBA 还通过下调生长素胞外运输载体基因 *BfPIN1* 的表达来调控生长素在细胞内的分布, 这表明 TIBA 和 IAA 在调控机制上存在差异, TIBA 可能通过调控 PIN 蛋白活性来优化生长素的分布, 从而影响根系的发育^[41-42]。

本研究通过系统分析三岛柴胡不同发育阶段根系生长素信号转导相关基因的差异表达情况, 以及 IAA 和 TIBA 处理对侧根发育及相关基因表达的影响。初步揭示了三岛柴胡侧根发育过程中生长素信号转导途径的复杂调控机制, 为通过外源调节剂优化三岛柴胡根系结构提供了新的策略, 同时为后续通过分子生物技术操纵 *BfIAA9/14/16* 等关键基因的表达来培育柴胡新品种, 提供了理论依据和数据支撑。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Pan S L. *Bupleurum Species : Scientific Evaluation and Clinical Applications* [M]. Boca Raton: CRC Press, 2006, 272.
- [2] Ashour M L, Wink M. Genus *Bupleurum*: A review of its phytochemistry, pharmacology and modes of action [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2011, 63(3): 305-321.
- [3] Sui C, Han W J, Zhu C R, et al. Recent progress in saikosaponin biosynthesis in *Bupleurum* [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2021, 22(3): 329-340.
- [4] Liang Z T, Oh K, Wang Y Q, et al. Cell type-specific qualitative and quantitative analysis of saikosaponins in three *Bupleurum* species using laser microdissection and liquid chromatography-quadrupole/time of flight-mass spectrometry [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2014, 97: 157-165.
- [5] 王秀丽, 王义. 三岛柴胡种子生物学特性研究 [J]. 吉林农业大学学报, 1997, 19(2): 54-57.
- [6] 刘敏, 余马, 李玉婵, 等. 北柴胡和三岛柴胡根系构型差异研究 [J]. 时珍国医国药, 2017, 28(5): 1198-1199.
- [7] 段莎莎, 侯大斌, 余马, 等. 北柴胡侧根发育及影响因素探究 [J]. 中草药, 2017, 48(19): 4062-4067.
- [8] 段莎莎, 徐冬梅, 余马, 等. 狭叶柴胡侧根发育过程及影响因素研究 [J]. 四川农业大学学报, 2018, 36(2): 217-222.
- [9] Vanneste S, Friml J. Auxin: A trigger for change in plant development [J]. *Cell*, 2009, 136(6): 1005-1016.
- [10] Overvoorde P, Fukaki H, Beeckman T. Auxin control of root development [J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2010, 2(6): a001537.
- [11] Lavenus J, Goh T, Roberts I, et al. Lateral root development in *Arabidopsis*: Fifty shades of auxin [J]. *Trends Plant Sci*, 2013, 18(8): 450-458.
- [12] Goh T, Kasahara H, Mimura T, et al. Multiple AUX/IAA-ARF modules regulate lateral root formation: The role of *Arabidopsis* SHY2/IAA3-mediated auxin signalling [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2012, 367(1595): 1461-1468.
- [13] Wang Y H, Wang Q, Di P, et al. Genome-wide identification and analysis of the aux/IAA gene family in *Panax ginseng*: Evidence for the role of *PgIAA02* in lateral root development [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(6): 3470.
- [14] Blakely L M, Blakely R M, Colowit P M, et al. Experimental studies on lateral root formation in radish seedling roots: II. analysis of the dose-response to exogenous auxin [J]. *Plant Physiol*, 1988, 87(2): 414-419.
- [15] Wilmoth J C, Wang S C, Tiwari S B, et al. NPH4/ARF7 and ARF19 promote leaf expansion and auxin-induced lateral root formation [J]. *Plant J*, 2005, 43(1): 118-130.
- [16] Wightman F, Schneider E A, Thimann K V. Hormonal factors controlling the initiation and development of lateral roots [J]. *Physiol Plant*, 1980, 49(3): 304-314.
- [17] Du Y J, Scheres B. Lateral root formation and the multiple roles of auxin [J]. *J Exp Bot*, 2018, 69(2): 155-167.
- [18] Fujita H, Syono K. Genetic analysis of the effects of polar auxin transport inhibitors on root growth in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Physiol*, 1996, 37(8): 1094-1101.
- [19] Alarcón M V, Salguero J, Lloret P G. Auxin modulated initiation of lateral roots is linked to pericycle cell length in maize [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 11.
- [20] Yu M, Chen H, Liu Q, et al. Analysis of unigenes involved in lateral root development in *Bupleurum chinense* and *B. scorzoniferifolium* [J]. *Planta*, 2021, 253(6): 128.
- [21] Li Y C, Zhao J, Chen H, et al. Transcriptome level reveals the triterpenoid saponin biosynthesis pathway of *Bupleurum falcatum* L [J]. *Genes*, 2022, 13(12): 2237.
- [22] Adamowski M, Friml J. PIN-dependent auxin transport: Action, regulation, and evolution [J]. *Plant Cell*, 2015, 27(1): 20-32.
- [23] Swarup R, Bhosale R. Developmental roles of AUX1/LAX auxin influx carriers in plants [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 1306.
- [24] Kramer E M. PIN and AUX/LAX proteins: Their role in auxin accumulation [J]. *Trends Plant Sci*, 2004, 9(12): 578-582.
- [25] Luo J, Zhou J J, Zhang J Z. Aux/IAA gene family in plants: Molecular structure, regulation, and function [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 259.
- [26] Chapman E J, Estelle M. Mechanism of auxin-regulated

- gene expression in plants [J]. *Annu Rev Genet*, 2009, 43: 265-285.
- [27] Pierdonati E, Unterholzner S J, Salvi E, *et al.* Cytokinin-dependent control of *GH3* group II family genes in the *Arabidopsis* root [J]. *Plants*, 2019, 8(4): 94.
- [28] Wang X Y, Yu R B, Wang J J, *et al.* The asymmetric expression of SAUR genes mediated by ARF7/19 promotes the gravitropism and phototropism of plant hypocotyls [J]. *Cell Rep*, 2020, 31(3): 107529.
- [29] Porco S, Larrieu A, Du Y J, *et al.* Lateral root emergence in *Arabidopsis* is dependent on transcription factor LBD29 regulation of auxin influx carrier LAX3 [J]. *Development*, 2016, 143(18): 3340-3349.
- [30] Lee H W, Cho C, Kim J. Lateral organ boundaries Domain16 and 18 act downstream of the AUXIN1 and LIKE-AUXIN3 auxin influx carriers to control lateral root development in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol*, 2015, 168(4): 1792-1806.
- [31] Marhavý P, Duclercq J, Weller B, *et al.* Cytokinin controls polarity of PIN1-dependent auxin transport during lateral root organogenesis [J]. *Curr Biol*, 2014, 24(9): 1031-1037.
- [32] Rinaldi M A, Liu J, Enders T A, *et al.* A gain-of-function mutation in IAA16 confers reduced responses to auxin and abscisic acid and impedes plant growth and fertility [J]. *Plant Mol Biol*, 2012, 79(4/5): 359-373.
- [33] Song Y L. The gene OsIAA9 encoding auxin/indole-3-acetic acid proteins is a negative regulator of auxin-regulated root growth in rice [J]. *Biologia Plant*, 2019, 63(1): 210-218.
- [34] Fukaki H, Tasaka M. Hormone interactions during lateral root formation [J]. *Plant Mol Biol*, 2009, 69(4): 437-449.
- [35] Sun L J, Dong X X, Song X S. *PtrABR1* increases tolerance to drought stress by enhancing lateral root formation in *Populus trichocarpa* [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(18): 13748.
- [36] Péret B, De Rybel B, Casimiro I, *et al.* *Arabidopsis* lateral root development: An emerging story [J]. *Trends Plant Sci*, 2009, 14(7): 399-408.
- [37] Kawai T, Akahoshi R, Shelley I J, *et al.* Auxin distribution in lateral root primordium development affects the size and lateral root diameter of rice [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 834378.
- [38] van Doorn W G, Dole I, Celikel F G, *et al.* Opening of Iris flowers is regulated by endogenous auxins [J]. *J Plant Physiol*, 2013, 170(2): 161-164.
- [39] Paponov I A, Paponov M, Teale W, *et al.* Comprehensive transcriptome analysis of auxin responses in *Arabidopsis* [J]. *Mol Plant*, 2008, 1(2): 321-337.
- [40] Zhang S C, Qiu L, Zheng Y W, *et al.* Comparative transcriptome analysis reveals the regulatory effects of exogenous auxin on lateral root development and tanshinone accumulation in *Salvia miltiorrhiza* [J]. *Planta*, 2023, 258(2): 33.
- [41] Mukherjee S, Subba R, AlZuaibr F M, *et al.* Auxin and hydrogen peroxide (H₂O₂) interaction differentially regulate seedling growth, Na⁺/K⁺ ratio and H₂S homeostasis accompanying NaCl stress in etiolated sunflower (*Helianthus annuus* L. cv. Microgreen) seedling roots and cotyledons [J]. *S Afr N J Bot*, 2024, 166: 663-675.
- [42] Zou M, Ren H, Li J. An auxin transport inhibitor targets villin-mediated actin dynamics to regulate polar auxin transport1 [J]. *Plant Physiol*, 2019, 181(1): 161-178.

[责任编辑 时圣明]