

• 药材与资源 •

北柴胡苗期根系发育中植物激素信号通路关键基因研究

师倩因¹, 莫传鑫¹, 魏 桢¹, 田 林², 罗亚东², 李玉婵¹, 闫明月¹, 余 马¹, 赵 军¹, 辛 超¹, 陈 华^{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 发掘植物激素信号通路中与北柴胡 *Bupleurum chinense* 侧根发育紧密关联的基因。方法 以自组拼接的北柴胡基因组为模板, 对北柴胡推广品种川北柴 1 号苗期根系进行有参考基因组的转录组分析, 筛选参与植物激素信号转导的关键基因, 利用实时荧光定量聚合酶链式反应 (real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, qRT-PCR) 技术验证关键基因对外源生长素处理的表达应答。结果 有参转录组分析得到 32 259 个基因, 681 个基因在有侧根成熟区 (RO) 样本中特异表达。加权基因共表达网络分析将基因分为 56 个模块, 2 个模块与主根长度和侧根数目显著相关。与侧根形成高度相关的生长素信号转导与运输通路上共发掘到 88 个差异基因, 其中 26 个基因表达模式高度相关。转录组差异基因表达相关性分析与外源生长素处理后的基因表达结果联合分析表明, *BcIAA13*、*BcARF19*、*BcSAUR55* 和 *BcSAUR72* 基因可能是侧根生长发育的关键基因。结论 进一步揭示了在 RO 样本中表达量高的基因可能与侧根发育密切相关, 并筛选到转录因子 *BcARF19* 与 *BcIAA13* 密切相关, 其可能调控下游基因的表达, 进而影响侧根的生长发育。

关键词: 北柴胡; 转录组; 植物激素信号转导; 侧根发育; 外源生长素

中图分类号: R286.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)11-4019-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.11.021

Research on key genes in plant hormone signaling pathway during seedling stage root system development of *Bupleurum chinense*

SHI Qiannan¹, MO Chuanxin¹, WEI Zhen¹, TIAN Lin², LUO Yadong², LI Yuchan¹, YAN Mingyue¹, YU Ma¹, ZHAO Jun¹, XIN Chao¹, CHEN Hua¹

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 explore key genes closely associated with lateral roots development of *Bupleurum chinense* in the plant signal transduction pathways. **Methods** Utilizing the self-assembled chromosome-level genome of *B. chinense* var. CC2 as a template, a transcriptome analysis was carried out on the root tissues at the seedling stage of *B. chinense* var. CBC1 respectively. The effects of exogenous IAA on the lateral root development and expression of differentially expressed genes in *B. chinense* seedlings were examined. **Results** The reference-based transcriptome analysis identified 32 259 genes, of which 681 were specifically expressed in the mature zone RO samples with lateral roots. Weighted gene co-expression network analysis divided the genes into 56 modules, with 2 modules significantly correlated with primary root length and lateral root number. A total of 88 differential genes were discovered in the auxin signal transduction and transport pathways that were highly related to the formation of lateral roots, among which 26 genes had highly correlated expression patterns. The combined analysis of the correlation of the expression of transcriptome differential genes and the gene expression results after exogenous auxin treatment indicated that the genes *BcIAA13*, *BcARF19*, *BcSAUR55* and *BcSAUR72* might be the key genes for the growth and development of lateral roots. **Conclusion** This study further revealed the genes highly expressed in the RO samples are closely related to the development of lateral roots. The transcription factor

收稿日期: 2024-12-02

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项目 (CARS-21); 西南科技大学博士基金项目 (19ZX7117, 21ZX7116); 西藏自治区重点研发 (XZ202401ZY0020)

作者简介: 师倩因 (1997—) 女, 硕士, 研究方向为药用植物资源与分子生物学。E-mail: Shiqn2024@126.com

*通信作者: 陈 华 (1985—), 女, 副教授, 硕士生导师, 从事药用植物学研究。E-mail: hchen7@outlook.com

BcARF19, which was closely associated with *BcIAA13*, might regulate the expression of downstream genes and thus influence the growth and development of lateral roots.

Key words: *Bupleurum chinense* DC.; transcriptome; phytohormone signal transduction; lateral root development; exogenous auxin

柴胡 *Bupleuri Radix* 是传统中药,《中国药典》2020 年版收载北柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 和狭叶柴胡 *B. scorzonifolium* Willd 的干燥根为其正品^[1]。由于柴胡直接以根入药,其根系构型对产量、药效成分含量及商品性有直接影响^[2]。根是药用植物的重要器官,承担固定植株、吸收水分和养分的功能。课题组前期对北柴胡(川北柴 1 号)和狭叶柴胡(川红柴 1 号)的苗期侧根发育过程进行了组织学和形态学的系统研究^[3-4],二者的侧根原基均起始于靠近木质部的中柱鞘细胞,其发育过程主要分为侧根原基建成、多细胞层侧根原基阶段、圆锥形侧根原基阶段和侧根原基突破表皮形成侧根 4 个阶段,这一发育模式在形态学特征上与拟南芥等双子叶植物的侧根发育过程相似^[5-7]。北柴胡苗期侧根原基数量是同时期狭叶柴胡的 3 倍^[3-4],这种数量上的差异可能导致了 2 种柴胡根系构型的差异。在成熟期,北柴胡在根长、根直径和单根干量等根系结构和产量性状上均显著高于狭叶柴胡^[8]。因此,研究柴胡侧根形成的遗传机制极为重要。

为深入探究 2 种柴胡根系结构差异的分子机制,课题组前期利用无参转录组对北柴胡和狭叶柴胡的苗期根系进行了比较分析^[9],仅聚焦到生长素信号转导通路上的转录因子 *BcIAA13*。为全面揭示柴胡侧根形成的调控机制,北柴胡苗期侧根的有参转录组分析进一步开展极为重要。

植物侧根发育过程受多种激素协同调控。生长素(indole-3-acetic acid, IAA)是影响植物侧根生长发育的关键激素。从植物根尖分生组织的起始到侧根的形成,都高度依赖生长素信号转导和稳态^[10]。生长素信号转导通过激活侧根起始相关基因的表达促进侧根的起始^[11],同时转导有助于建立和维持生长素梯度,保证侧根原基的正常发育^[12]。赤霉素、细胞分裂素、乙烯、脱落酸、油菜素甾醇等激素也通过调控生长素的极性运输参与其中^[13-14]。本研究拟以自组拼接的北柴胡全基因组序列为参考模板,结合根系表型特征,分析比较北柴胡推广品种—川北柴 1 号在苗期侧根发育的不同时间和不同部位的差异基因,深度筛选北柴胡植物激素信号通路中与侧根发育紧密相关的基因,并对其进行表达验证,

为后续柴胡根系改良工作奠定理论基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

本研究使用北柴胡材料为“川北柴 1 号”,其种源来自于北方(包括河北、河南、山西和甘肃省等),由四川德培源中药材科技发展有限公司、中国医学科学院药用植物研究所、四川农业大学、西南科技大学联合选育,由北京药植所魏建和教授鉴定为北柴胡 *B. chinense* DC., 于 2015 年在四川通过新品种审定,是首个适宜西南地区种植的柴胡新品种。

1.2 仪器

Centrifuge 5418 R 型冷冻离心机(德国艾本德股份公司),DYCP-32B 型琼脂糖水平电泳仪(北京六一生物科技有限公司),Gel Doc XR 型凝胶成像系统[伯乐生命医学产品(上海)有限公司],Mastercycler® X50 型 PCR 仪(德国艾本德股份公司),CFX96 型荧光定量 PCR 检测系统[伯乐生命医学产品(上海)有限公司]。

2 方法

2.1 转录组测序及分析

前期研究已对川北柴 1 号苗期主根长度、侧根数目、测序搜集、文库构建以及测序过程予以报道^[9]。本研究运用 hisat2 软件将质控后的 reads 与川柴 2 号参考基因组(<https://ym-lab.vip.cpolar.cn/>)进行比对。程序 FeatureCounts 用于 reads 归一化校正并构建表达矩阵。R 包(V4.2.3)的 DESeq2 程序用于数据标准化及差异表达分析,其筛选标准为 $P_{\text{adj}} < 0.05$ 且 $\log_2|\text{FoldChange}| > 1$ 。差异表达基因的功能富集分析通过 ClusterProfile^[15]完成,基因的功能信息来源于参考基因组注释。韦恩图分析使用在线网站完成^[16]。利用 R 包 WGCNA^[17]软件和 genfilter(var.cutoff=0.5)软件对数据进行归一化处理并构建加权共表达网络。通过计算各模块的模块特征基因值(即模块的第 1 主成分,ME 值),分析各模块与根系表型性状之间的相关性($P < 0.05$)。使用 cytoscape 3.10^[18]软件中 Maximal Clique Centrality(MCC)方法计算枢纽基因,构建关键基因可视化网络,所有的分析均在本地服务器完成。

2.2 外源生长素对生长素信号转导基因的影响

在西南科技大学（四川绵阳，31°53'N，104°67' E）生命科学与工程学院的生长室中，将川北柴 1 号种子置于培养皿（10 cm×2 cm）中的两层滤纸上，用 15 mL 改良的霍格兰营养液润湿滤纸，确保种子浸入在营养液中。光照时间设定为 14 h，光照强度为 45 μmol/(m²·s)，白天温度控制在 25 °C，夜间温度为 23 °C。使用含有 0.01 μmol/L 的霍格兰营养液对 10 日龄的川北柴 1 号柴胡进行处理，处理时间分别为 0、0.5、2、4 和 8 h。每个样品设置 3 个生物学重复，处理结束后立刻使用液氮对川北柴 1 号柴胡根系组织进行预冷处理。使用 TIANGEN RNA prep Pure Plant Plus Kit 试剂盒提取柴胡根组织总 RNA。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 试剂盒将 RNA 反转录成 cDNA。使用 PerfectStart® Green qPCR SuperMix kit 试剂盒及 Bio-Rad CFX96 荧光定量仪进行实时荧光定量反应（quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR）。以北柴胡 *BcADF5* 作为内参基因，选取转录组中生长素信号转导通路上的差异表达基因，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^{-ΔΔCt} 法计算其相对表达量^[19]，利用 Prism 8.0 进行数据分析和作图。

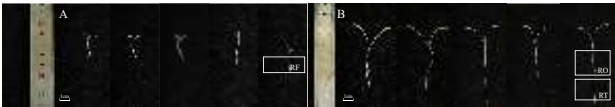
表 1 qRT-PCR 引物
Table 1 Primers of qRT-PCR

基因	正向引物（5'-3'）	反向引物（5'-3'）
<i>BcIAA13</i>	GATGGAAATACTATGTGTTTA	TAACAAAATCCAATGGCGAA
<i>BcARF1</i>	AAGTTGGTTGCTGGTGATGC	AAGAACCCCAAGATGCATGC
<i>BcARF2</i>	AGTAATTGAGGCTTCCCAGGTG	TTGGAAGCGGCTGATTTTGG
<i>BcARF3</i>	TAATTTGACGGTCGCTTCGC	AGCCACAGCAGAAAATTCCG
<i>BcARF5</i>	AATTTGTGGGCTGTGTTCGC	TGCTTGGCTGTTAAGAAGCG
<i>BcARF19</i>	ACCACAATTGCAGCACACAC	GCTGCTGCGATTTTGAAC
<i>BcSAUR32</i>	CATCACCACCACCACCATCA	TCCCCTTGCCCTACCATGAT
<i>BcSAUR55</i>	GTGGCGGTTTATGTGGGAGA	ACAGCTCTTGAAACGACGGA
<i>BcSAUR72</i>	CCAAGTCACGCGTCTGTTA	ACACAAAGACATGGCACGGT

3 结果与分析

3.1 苗期根系的表型方差分析

在川北柴 1 号幼苗生长 5 d 和 15 d 时，分别测量根长和侧根数目。结果表明，川北柴 1 号在生长 5 d 和 15 d 时，平均根长分别为 0.96 cm 和 3.55 cm，侧根平均数分别 0 根和 4.9 根（图 1）。方差分析证明，这 2 个时期的根长和侧根数目存在极显著差异（*P*<0.001）。



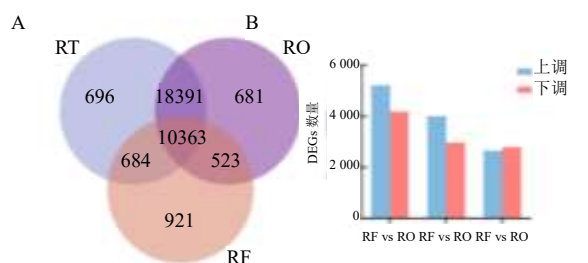
A-生长 5 d 的川北柴 1 号幼苗；B-生长 15 d 的川北柴 1 号幼苗；RF-第 5 天全根；RT-第 15 天根尖；RO-第 15 天分化的主根，下同。
A-Chuanbeichai No. 1 seedlings at 5 days of growth; B-Chuanbeichai No. 1 seedlings at 15 days of growth; RF- whole root on the 5th day; RT- root tip on the 15th day; RO-differentiated main root on the 15th day, same as below.

图 1 川北柴 1 号幼苗生长 5 d 和 15 d 时幼苗
Fig. 1 Chuanbeichai No. 1 seedlings at 5 days and 15 days of growth

3.2 转录组结果分析

苗期川北柴 1 号根系 3 个不同时期的转录组鉴定共得到 32 259 个基因，占参考基因组基因数目的 73.24%。韦恩分析结果显示，在第 5 天全根（RF）样本中有 921 个基因特异表达，第 15 天根尖（RT）中有 696 个基因在特异表达，681 个基因在第 15 天侧根成熟区（RO）中特异表达（图 2-A）。523 个基因在 RF 与 RT 中特异表达，18 391 个基因在 RO 与 RT 中特异表达，681 个基因在 RF 与 RO 中特异表达，10 363 个基因在 3 个时期均有表达。

通过对苗期川北柴 1 号根系 3 个不同时期的转录组差异基因的表达分析，RF 与 RO 之间有 5 200 个差异基因上调表达，4 181 个基因下调；RF 与 RT 对比，3 994 个差异基因上调，2 961 个基因下调；RO 与 RT 相比，有 2 634 个差异基因上调表达，2 789 个基因下调（图 2-B）。从差异基因的 KEGG 通路富集分析来看，RT 和 RO 的差异基因主要富集在植物激素信号转导通路、苯丙素合成通



A-差异基因韦恩分析; B-差异基因上下调数目。

A-Venn analysis of differential genes; B-the number of up-regulated and down-regulated differential genes.

图 2 苗期川北柴 1 号根系 3 个阶段差异基因分析

Fig. 2 Analysis of differentially expressed genes in three stages of root systems of Chuanbeichai No. 1 at seedling stage

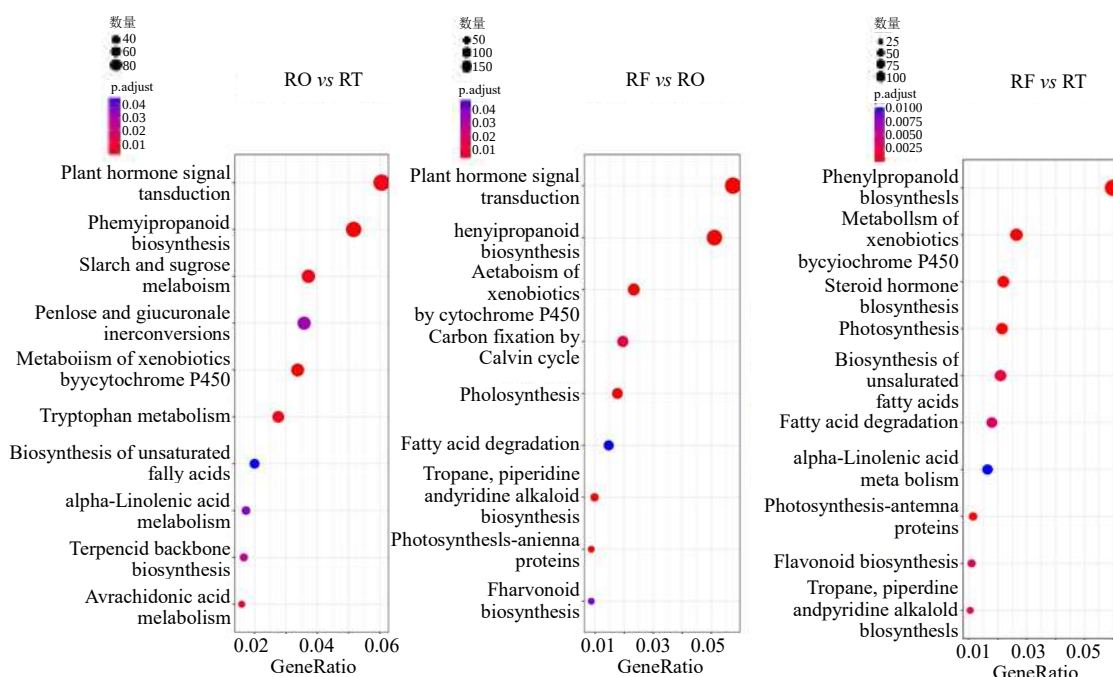


图 3 苗期川北柴 1 号根系 3 个不同时期差异基因的 GO 富集分析

Fig. 3 GO enrichment analysis of differentially expressed genes in three different stages of root systems of Chuanbeichai No. 1 at seedling stage

模块与主根长度以及侧根数目显著正相关, 相关系数分别为 0.99 ($P < 0.01$) 和 0.76 ($P < 0.05$)。Memagenta 模块与主根长度呈显著负相关, 其相关系数为 0.93 ($P < 0.01$)。METurquoise 模块与侧根数目具有显著负相关, 相关系数为 0.76 ($P < 0.05$) (图 4)。

3.4 植物激素信号转导相关基因的表达分析

通过 WGCNA 分析, 共有 1 457 个差异基因与根系表型高度相关, 其中 204 个差异基因富集到植物激素信号转导通路 (KEGG, map04075)。生长素信号转导通路的差异基因数量最多, 共 88 个。油菜

路和淀粉与蔗糖代谢通路上。RF 和 RO 的差异基因主要富集在植物激素信号转导通路、苯丙素合成通路和细胞色素 P450 对外源物质的代谢通路上。RF 和 RT 的差异基因主要富集在苯丙素合成通路、细胞色素 P450 对外源物质的代谢通路上 (图 3)。

3.3 加权基因共表达网络分析

将主根长和侧根数目与转录组基因表达量联合分析, 构建加权基因共表达网络 (Weighted correlation network analysis, WGCNA) 归一化表达矩阵。候选的 32 259 个基因被分为了 56 个模块。其中, METurquoise 模块包含的基因最多, 总共 12 080 个, 其次是 MEblue 模块, 包含 9 630 个基因, MESalmon4 模块包含的基因最少, 仅 38 个。MEpink

素内酯信号转导通路包含 24 个差异基因, 细胞分裂素信号转导通路包含 20 个差异基因; 脱落酸和水杨酸信号转导通路分别有 17 个和 16 个差异基因, 茉莉酸信号转导通路有 15 个差异基因, 赤霉素信号转导通路有 14 个差异基因并且乙烯信号转导通路最少, 仅有 10 个差异基因 (图 5)。具体而言, 细胞分裂素信号转导通路中的 20 个差异基因分别为 3 个组氨酸激酶受体基因 (*CRE1*)、6 个组氨酸磷酸转移蛋白基因 (*AHP*)、5 个 A 型响应调节因子 (A-ARR) 和 6 个 B 型响应调节因子 (B-ARR); 赤

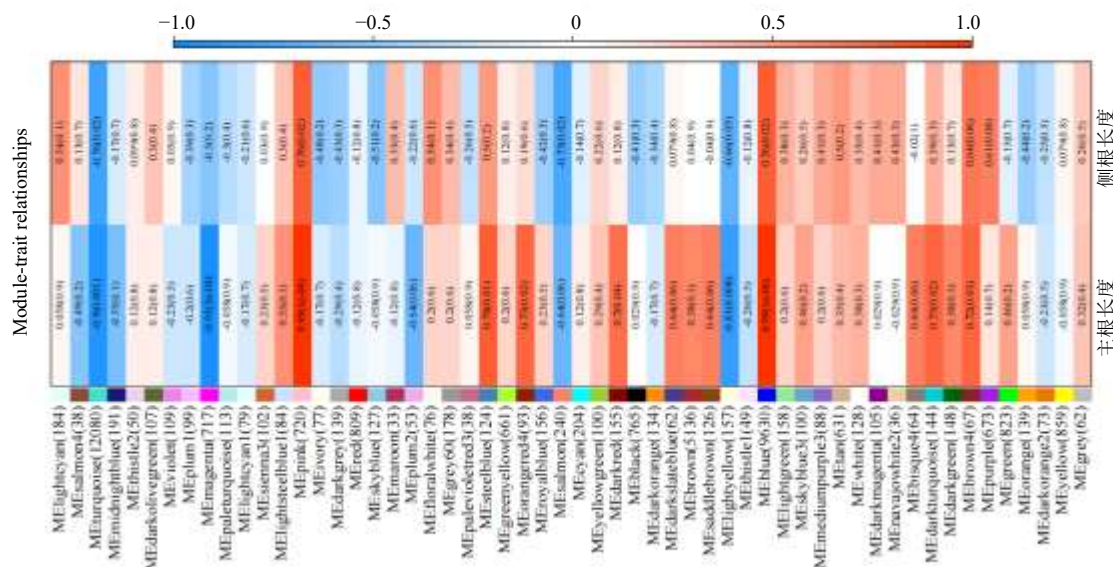


图 4 基因模块与主根长度和侧根数目的 WGCNA 分析

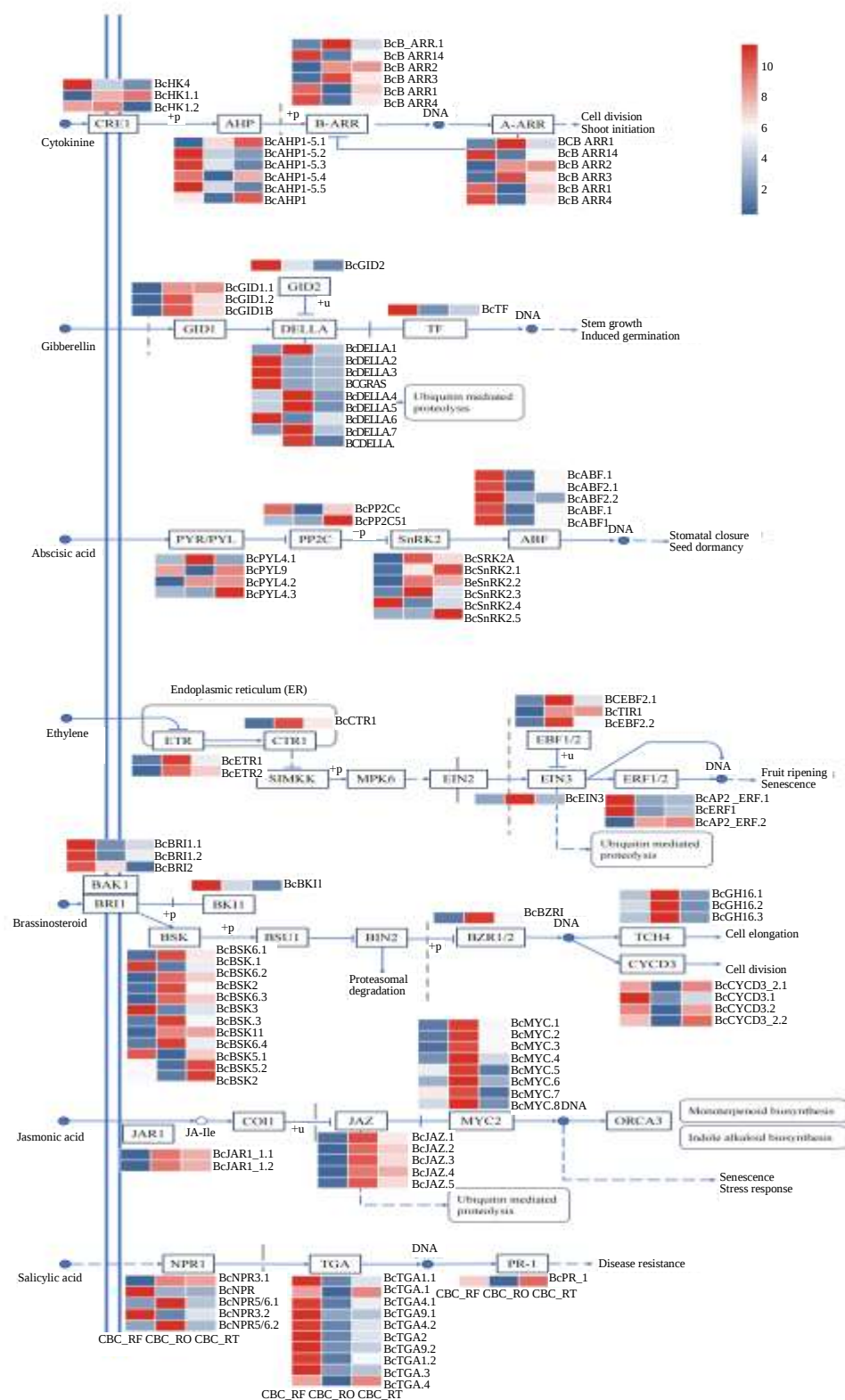
Fig. 4 WGCNA analysis of gene modules with primary root length and lateral root number

霉素信号转导通路的差异基因分别为 3 个赤霉素受体基因 (*GID1*)、9 个植物特异性核蛋白 GRAS 家族中的核转录调节因子 (*DELLA*)、1 个赤霉素受体 *GID2* 基因 (*GID2*) 和 1 个植物色素相互作用因子基因 (*TF*)；脱落酸信号转导通路的差异基因分别为 4 个脱落酸受体 *PYP/PYL* 家族基因 (*PYP/PYL*)、2 个蛋白磷酸酶基因 (*PP2C*)、6 个丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶基因 (*SNRK2*) 和 5 个 ABA 相应原件结合因子 (*ABF*)；乙烯信号转导通路的差异基因分别为 2 个乙烯受体基因 (*ETR*)、1 个乙烯对比调控基因 (*CTR1*)、1 个乙烯不敏感蛋白基因 (*EIN3*)、3 个 *EIN3* 结合 F-Box 蛋白 1/2 基因 (*EBF1/2*) 和 3 个乙烯反应性转录因子 (*ERF1/2*)；油菜素内酯信号转导通路的差异基因分别为 3 个油菜素内酯不敏感受体基因 (*BRII*)、12 个油菜素内酯信号激酶基因 (*BSK*)、1 个 *BRII* 激酶抑制因子 1 (*BKI1*)、1 个油菜素内酯抗性蛋白 1/2 基因 (*BARI/2*)、4 个细胞周期蛋白 D3 基因 (*CYCD3*) 和 3 个木聚糖基转移酶基因 (*TCH4*)；茉莉酸甲酯信号转导通路的差异基因分别为 2 个茉莉酸-氨基合成酶基因 (*JAR1*)、5 个茉莉酸 *ZIM* 结构域蛋白基因 (*JAZ*) 和 8 个茉莉酸信号通路关键转录因子 *MYC2* (*MYC2*)；水杨酸信号转导通路的差异基因分别为 5 个水杨酸调节蛋白基因 (*NPR*)、10 个 TGACG 序列特异性结合蛋白基因 (*TGA*) 以及 1 个病程相关蛋白 1 基因 (*PR-1*)。

3.5 生长素合成、运输及信号转导差异基因

生长素信号转导与运输通路上共发现 88 个差异基因，其中，生长素信号转导途径中包括 9 个生长素输入载体基因 (*AUX1*)，26 个生长素原初响应基因 (*AUX/IAA*)，5 个生长素响应因子 (*ARF*)，6 个生长素早期响应基因 (*GH3*) 和 21 个生长素快速响应基因 (*SAUR*)。生长素运输 (*TMK1/ABP1-ROP2/6-PINs*) 途径有 25 个差异基因。柴胡根系生长发育过程中生长素信号转导是重要的基因活动事件，参与这个调控过程的基因最多，表达活跃。RO 样本与 RF 相比有 30 个生长素信号转导相关基因表达上调，包括 15 个 *AUX/IAA* 基因分别为 *BcLAA4*、*BcLAA26* 和 *BcLAA27* 等，3 个 *ARF* 基因分别为 *BcARF2*、*BcARF1* 和 *BcARF5*，3 个 *GH3* 基因分别为 *BcGH3.1*、*BcGH3.10.1* 和 *BcGH3.10.2*，以及 9 个 *SAUR* 基因，例如，*BcSAUR32*、*BcSAUR59* 和 *BcSAUR55* 等 (图 6)。

按照基因表达相关性，生长素信号转导通路上的 88 个差异基因被分为 3 个模块。在模块 3 中鉴定到 2 个同源基因 *BcLAA13.1* 与 *BcLAA13.2*，且 *BcLAA13.1* 的序列完整性优于 *BcLAA13.2*，因此本研究以 *BcLAA13.1* 为目标基因，并将其命名为 *BcLAA13* 以用于后续研究。该模块中，与 *BcLAA13* 表达存在显著正相关 ($r^2 > 0.9$, $P < 0.01$) 的基因有 *BcLAA16*、*BcARF19*、*BcARF3*、*BcSAUR55* 和 *BcSAUR72*。这些表达模式相同的基因集可能在川北柴 1 号的苗期根系生长素信号转导过程及生长发育过程中发挥关键作用 (图 7)。



“→”-激活下游基因表达; “⊥”-抑制下游基因表达。

“→”-activates downstream gene expression; “⊥”-suppress the expression of downstream genes.

图 5 差异基因在植物激素信号转导通路上的表达热图

Fig. 5 Heatmap of different expressed genes in plant hormone signal transduction pathways

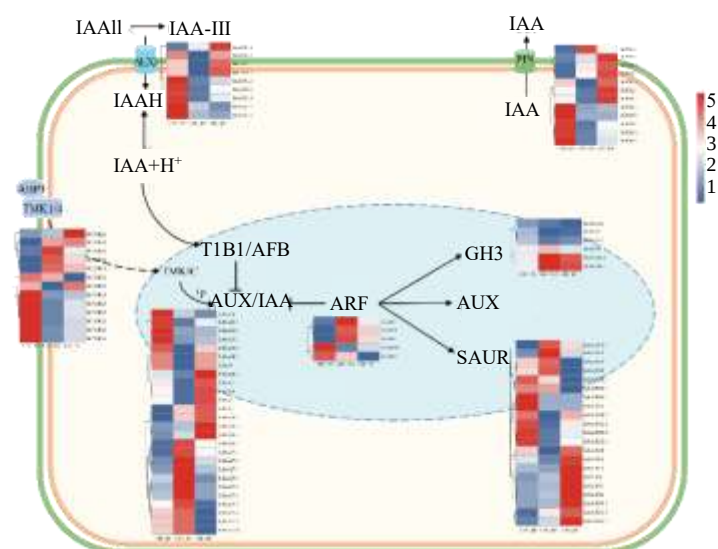


图6 IAA 信号转导与运输通路

Fig. 6 IAA signal transduction and transport pathway

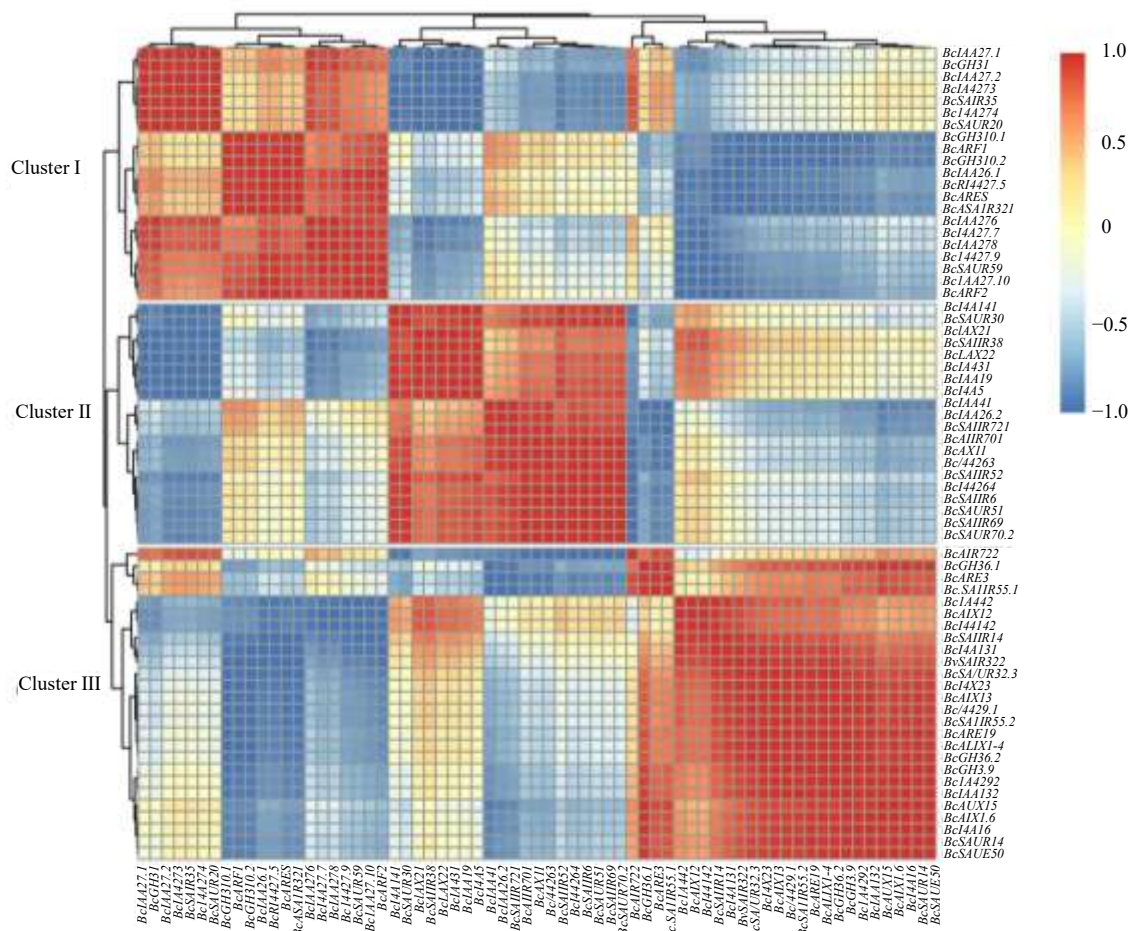


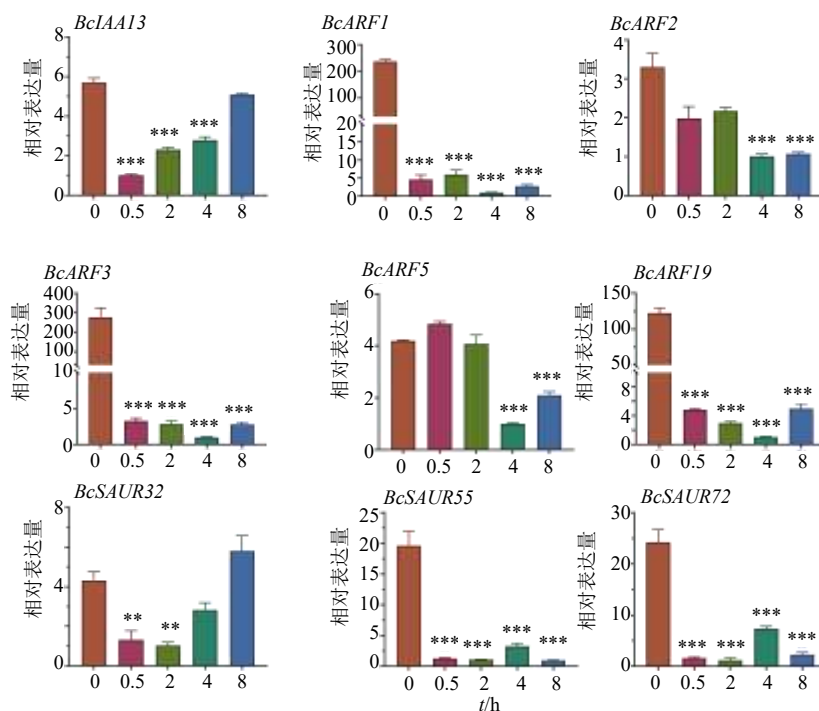
图 7 候选差异表达基因间的相关性分析

Fig. 7 Correlation analysis among candidate differentially expressed genes

3.6 IAA 处理对川北柴 1 号生长素信号转导基因的影响

外源 IAA 处理后, 川北柴 1 号苗期根系中的生长素相关基因在不同处理时间点呈现出明显的动态变化。*BcIAA13* 基因在受到外源激素处理后表达量显著下调, 而后在 8 h 回升至未处理水平。生长素响应

因子 ARF (*BcARF1*、*BcARF2*、*BcARF3*、*BcARF19*) 基因的表达与未处理组相比, 显著受到抑制。*BcARF5* 的表达量在外源 IAA 处理后表现出先上升后下降的趋势。与生长素的调节机制和代谢活动相关的生长素快速响应基因 *BcSAUR32*、*BcSAUR55* 和 *BcSAUR72* 的表达均受到抑制 (图 8)。



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

** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs control group (0 h).

图 8 IAA 处理对川北柴 1 号生长素信号转导基因的影响

Fig. 8 Effects of IAA treatment on auxin signal transduction genes in Chuanbeichai No. 1

4 讨论

植物激素在侧根发育中起着关键作用, 它们相互作用并与环境信号整合, 形成复杂的调控网络, 影响侧根的起始、生长和形态建成。双子叶植物中, 生长素积累在主根的伸长区, 携带侧根的成熟区浓度相对较低^[20]。生长素流入载体 (AUX/LAX) 和生长素外排载体 (PIN) 协同调控生长素在植物各组织和部位间的分布^[21-22]。本研究中的 *BcLAX2* 和 *BcPIN1* 与三岛柴胡的 *BfLAX4* 与 *BfPIN1* 表达趋势一致^[23], 即生长素流入载体在成熟区表达量低, 生长素外排载体在成熟区表达量高, 这种表达模式可能降低生长素在该部位的积累, 进而调控侧根发育过程。

当生长素浓度低时, 生长素信号转导途径中的 ARF 转录因子与 AUX/IAA 蛋白结合形成异源二聚

体, 抑制生长素早期响应基因 SAUR 和 GH3 的转录^[24]; 随着生长素浓度的升高, 生长素受体 TIR1/AFB 介导 IAA 蛋白的泛素化, 释放出 ARF, 以激活下游 SAUR 以及 GH3 基因的表达^[25]。位于生长素信号转导途径上游的 AUX/IAA 和 ARF 家族是侧根发育过程中的重要转录因子^[26-27]。本研究发现 AUX/IAA 家族的 *BcIAA13.1*、*BcIAA13.2* 和 *BcIAA27*, 生长素响应因子 ARF 基因 *BcARF19*、*BcARF2* 和 *BcARF5* 都在 RO 组织中表达量较高。拟南芥 *ARF19* 基因通过直接激活 *LBD/ASL* 基因来调节侧根的形成^[28]。课题组前期的无参转录组和拟南芥转基因过表达研究证实, *BcIAA13* 能抑制侧根生长^[10]。本研究发现 *BcIAA27* 在川北柴 1 号中存在可变剪接, 它们均在 RO 样本中特异高表达。序列相似性分析结果显示, 这些基因在 AUX/IAA 家族

的结构域II和IV中基因序列保守,该结构域参与 IAA 蛋白的泛素化降解以及对转录因子 ARF 活性的调节,与拟南芥和水稻中 *IAA27* 基因的研究结果一致^[29-31]。此外,相关性分析结果发现 *BcIAA13* 与 *BcIAA29* 及其下游基因 *BcARF19*、*BcGH3.9*、*BcSAUR14* 和 *BcSAUR50* 的相关性超过 0.98 ($P < 0.01$),这些基因可能协同调控生长素信号的转导与响应。

外源生长素也可调控北柴胡的生长素信号转导,本研究中,*BcIAA13* 基因在 IAA 处理 0.5 h 时表达量显著下调,随着处理时间的增加表达量恢复到未处理水平。与 *BcIAA13* 基因强相关的生长素响应因子 *BcARF19* 基因则相反,随着 IAA 处理时间的增加其基因表达量反而降低,该基因的下游基因 *BcSAUR32*、*BcSAUR55* 和 *BcSAUR72* 也随之降低,来实现对生长素信号的负反馈调节。*OsARF19* 与 *OsIAA13* 协作影响下游基因表达,最终调控不定根起始的结果在水稻中亦有报道^[32]。该机制有助于调控柴胡根系的发育,确保植物对生长素信号的适当响应。

本研究对苗期川北柴 1 号进行了有参考基因组的转录组分析,深入探讨生长素在侧根发育中的关键作用。生长素流入载体 *BcLAX2* 和外排载体 *BcPIN1* 的表达模式与生长素在植物组织中的分布密切相关,影响侧根的发育。在生长素信号转导途径中,AUX/IAA 和 ARF 家族转录因子,如 *BcIAA13*、*BcIAA27* 和 *BcARF19*,通过泛素化降解和转录激活,精细调控生长素响应基因的表达。此外,外源生长素处理显著影响 *BcIAA13* 和 *BcARF19* 基因的表达。为后续研究 *BcIAA13* 及其下游基因在侧根生长中的作用奠定了理论基础,为柴胡根系发育的研究和应用提供理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 126.
- [2] Zeng C H, Zhao J, Chen H, *et al.* Traditional use, germplasm identification, phytochemistry, pharmacology of *Bupleuri Radix*: A review [J]. *Med Plant Biol*, 2023, 2(1).
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Banda J, Bellande K, von Wangenheim D, *et al.* Lateral root formation in *Arabidopsis*: A well-ordered LRexit [J]. *Trends Plant Sci*, 2019, 24(9): 826-839.
- [6] Du Y J, Scheres B. PLETHORA transcription factors orchestrate *de novo* organ patterning during *Arabidopsis* lateral root outgrowth [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(44): 11709-11714.
- [7] Moreno-Risueno M A, Van Norman J M, Moreno A, *et al.* Oscillating gene expression determines competence for periodic *Arabidopsis* root branching [J]. *Science*, 2010, 329(5997): 1306-1311.
- [8] 李超. 北柴胡新品种川北柴 1 号的生物学性状及四川栽培区生长研究 [D]. 绵阳: 西南科技大学, 2018.
- [9] 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.
- [10] Rodriguez-Villalon A, Hardtke C S. Auxin and its henchmen: Hormonal cross talk in root growth and development [A] // Auxin and Its Role in Plant Development [C]. London: *EMBO*, 2014: 245-264.
- [11] Rybel B D, Vassileva V, Parizot B, *et al.* A novel Aux/IAA28 signaling cascade activates GATA23-dependent specification of lateral root founder cell identity [J]. *Current Biology*, 2010, 20(19): 1697-1706.
- [12] Narasimhan M, Johnson A, Prizak R, *et al.* Evolutionary unique mechanistic framework of clathrin-mediated endocytosis in plants [J]. *BioRxiv*, 2019, 5: 86.
- [13] Hetherington F M, Kakkar M, Topping J F, *et al.* Gibberellin signaling mediates lateral root inhibition in response to K⁺-deprivation [J]. *Plant Physiol*, 2021, 185(3): 1198-1215.
- [14] Xu P P, Fang S, Chen H Y, *et al.* The brassinosteroid-responsive xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 19 (XTH19) and XTH23 genes are involved in lateral root development under salt stress in *Arabidopsis* [J]. *Plant J*, 2020, 104(1): 59-75.
- [15] Yu G C, Wang L G, Han Y Y, *et al.* ClusterProfiler: An R package for comparing biological themes among gene clusters [J]. *OMICS*, 2012, 16(5): 284-287.
- [16] Bardou P, Mariette J, Escudié F, *et al.* Jvenn: An interactive Venn diagram viewer [J]. *BMC Bioinformatics*, 2014, 15(1): 293.
- [17] Langfelder P, Horvath S. WGCNA: An R package for weighted correlation network analysis [J]. *BMC Bioinformatics*, 2008, 9: 559.
- [18] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks [J]. *Genome Res*, 2003,

- 13(11): 2498-2504.
- [19] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻($\Delta\Delta C_T$) method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [20] Konstantinova N, Korbei B, Luschnig C. Auxin and root gravitropism: Addressing basic cellular processes by exploiting a defined growth response [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(5): 2749.
- [21] Yang Z S, Xia J, Hong J J, *et al.* Structural insights into auxin recognition and efflux by *Arabidopsis* PIN1 [J]. *Nature*, 2022, 609(7927): 611-615.
- [22] Robert H S, Grunewald W, Sauer M, *et al.* Plant embryogenesis requires AUX/LAX-mediated auxin influx [J]. *Development*, 2015, 142(4): 702-711.
- [23] 李玉婵, 师倩囡, 田林, 等. 基于转录组数据发掘三岛柴胡侧根发育的关键基因 [J]. *中草药*, 2024, 55(21): 7435-7443.
- [24] Schuetz M, Fidanza M, Mattsson J. Identification of auxin response factor-encoding genes expressed in distinct phases of leaf vein development and with overlapping functions in leaf formation [J]. *Plants*, 2019, 8(7): 242.
- [25] Chen H, Ma B, Zhou Y, *et al.* E3 ubiquitin ligase SOR1 regulates ethylene response in rice root by modulating stability of Aux/IAA protein [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(17): 4513-4518.
- [26] Peng Y C, Jiang S, Wang J Y, *et al.* Control of lateral root initiation by DA3 in *Arabidopsis* [J]. *Cell Rep*, 2023, 42(1): 111913.
- [27] Lv B S, Yu Q Q, Liu J J, *et al.* Non-canonical AUX/IAA protein IAA33 competes with canonical AUX/IAA repressor IAA5 to negatively regulate auxin signaling [J]. *EMBO J*, 2020, 39(1): e101515.
- [28] Goh T, Joi S, Mimura T, *et al.* The establishment of asymmetry in *Arabidopsis* lateral root founder cells is regulated by LBD16/ASL18 and related LBD/ASL proteins [J]. *Development*, 2012, 139(5): 883-893.
- [29] Martín G, Márquez Y, Mantica F, *et al.* Alternative splicing landscapes in *Arabidopsis thaliana* across tissues and stress conditions highlight major functional differences with animals [J]. *Genome Biol*, 2021, 22(1): 35.
- [30] Li H X, Li A X, Shen W, *et al.* Global survey of alternative splicing in rice by direct RNA sequencing during reproductive development: Landscape and genetic regulation [J]. *Rice*, 2021, 14(1): 75.
- [31] 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.
- [32] Yamauchi T, Tanaka A, Inahashi H, *et al.* Fine control of aerenchyma and lateral root development through AUX/IAA- and ARF-dependent auxin signaling [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(41): 20770-20775.

[责任编辑 时圣明]