



# 植物不定根发生机理的研究进展

张焕欣, 董春娟, 李福凯, 王红飞, 尚庆茂\*

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 北京 100081)

**摘要:** 植物不定根的发生涉及外源信号感知与内外信号级联耦合, 是一个极其复杂的器官发生过程, 一直备受植物学界关注。该文对近年来国内外有关不定根发生诱导期、启动期和表达期 3 个重要时期的信号转导、基因表达、细胞与代谢特征等方面的研究进展进行综述, 为不定根的研究提供理论参考。

**关键词:** 不定根; 信号分子; 基因表达

**中图分类号:** Q945.3; Q789

**文献标志码:** A

## Progress on the Regulatory Mechanism of Adventitious Rooting

ZHANG Huanxin, DONG Chunjuan, LI Fukai, WANG Hongfei, SHANG Qingmao\*

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China)

**Abstract:** Adventitious rooting is a complicated organogenesis process involving perception of external signals and cascade coupling of internal and external signals. It has been one of the hot spots in the botany field. This review introduced the events of induction phase, initiation phase and expression phase during the development of adventitious root, and summarized signaling pathways, gene expression, cellular and metabolic characteristics in each developmental phase. This paper will provide theoretical foundation for further researches on adventitious rooting.

**Key words:** adventitious root; signaling molecule; gene expression

不定根由下胚轴、茎、叶、芽等组织形成, 属于胚后发育。它的形成有多种方式, 例如玉米、水稻等禾本科植物的不定根能自发形成; 另外, 涝害、机械伤害或植物生长调节剂处理也可以诱导不定根形成。作为水分、无机盐吸收以及同化物存储的重要器官, 不定根的发生不仅是园艺、林木植物移栽、扦插、组织培养和工厂化育苗成功的关键, 而且在提高植物抗逆性方面具有重要作用<sup>[1-2]</sup>。

不定根的发生由外部环境信号和内部遗传因子共同控制, 是一个复杂的器官发生过程。国内外学

者从生理、生化及分子水平对不定根的发生进行了大量研究, 取得了显著进展。本文从不定根的发生过程、调控机制及分子基础等方面进行了简要综述, 旨在为不定根的研究提供参考。

### 1 不定根发生过程

不定根起源于形成层、中柱鞘或薄壁细胞等具备潜在分裂能力的细胞<sup>[3-6]</sup>。它的发生过程可分为诱导期、启动期和表达期<sup>[6]</sup>。

收稿日期: 2017-04-19; 修改稿收到日期: 2017-06-21

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(31172001); 国家现代农业产业技术体系建设专项资金项目(CARS-25); 公益性行业(农业)科研专项(201303014); 中国农业科学院科技创新工程项目(CAAS-ASTIP-IVFCAAS)

**作者简介:** 张焕欣(1988—), 女, 在读博士研究生, 主要从事蔬菜种苗发育调控研究。E-mail: zhanghuanxin150@163.com

\* 通信作者: 尚庆茂, 博士, 研究员, 主要从事蔬菜种苗发育调控研究。E-mail: shangqingmao@caas.cn

### 1.1 诱导期

诱导期以不定根起源细胞响应内外信号、动员碳水化合物代谢为特征<sup>[7-9]</sup>。在苹果茎尖外植体不定根发生的诱导期,形成层细胞中质体的比例显著增加,其中以淀粉粒为主,这些淀粉粒通过水解作用转化成的糖类物质可能供给不定根启动期所需的能量<sup>[10]</sup>。植物茎段或离体器官的不定根诱导期的主要特征包括切割部位乙烯、生长素、茉莉酸、酚类化合物水平的提高以及碳水化合物代谢库的建成等<sup>[7-9]</sup>。

### 1.2 启动期

启动期以细胞分裂、分生组织的形成及根原基的发育为特征<sup>[11-12]</sup>。不定根原基的发育分为5个步骤:(1)建立表皮-内皮层、中柱和根冠起始细胞;(2)起始细胞通过平周分裂形成不定根表皮、内皮层和中柱;(3)内皮层通过平周分裂形成皮层;(4)根冠起始细胞通过平周分裂形成柱细胞,不定根原基的穹顶状结构建成;(5)中柱基部细胞伸长并且液泡化<sup>[13]</sup>。

### 1.3 表达期

表达期的特征包括不定根原基生长突破表皮层、新形成的不定根与维管系统相连接等。一旦新形成的不定根原基生长达到表皮层处,表皮细胞的细胞壁会松弛瓦解以及细胞程序性死亡(programmed cell death, PCD),这有利于不定根原基突破表皮层,然后在不定根突出的地方会形成表皮,以抵御微生物入侵和干旱等逆境;之后不定根与维管系统相连接,以便水分和矿质营养的吸收<sup>[14-16]</sup>。

## 2 不定根发生的调控因子

### 2.1 外源因子

不定根发生属于胚后发育,对外部环境刺激非常敏感。光照、水分、矿质营养、机械伤害等都能影响不定根发生<sup>[1, 17-19]</sup>。

**2.1.1 光照** 拟南芥由暗培养转为光培养后,下胚轴会自发形成不定根,表明不定根的形成受光诱导。进一步研究表明光照能改变生长素响应基因如 *GH3s*、*ARFs* 的表达,从而调控不定根的发生<sup>[20]</sup>。此外,不同光质诱导不定根发生的效率不同<sup>[17]</sup>。

**2.1.2 水分** 涝害可以提高植物内源乙烯水平,进而提高内源 IAA 的敏感性,最终促进不定根的发生。研究发现番茄植株在茎基部形成不定根以抵御涝害<sup>[1]</sup>。另外,干旱胁迫可能通过提高植物内源脱落酸的水平来抑制不定根的发生<sup>[21]</sup>。

**2.1.3 矿质营养** 矿质营养也能影响不定根的发生。水稻 *ltn1* 突变体在缺磷条件下形成的不定根长度显著高于野生型的<sup>[18]</sup>。过表达 *OsMYB2P-1* 的水稻转基因株系在低磷培养基上生长的不定根长度显著大于野生型<sup>[22]</sup>。

**2.1.4 机械伤害** 机械伤害诱导不定根的发生与植物激素代谢密切相关。机械伤害会诱导乙烯生物合成关键基因 *ACS* 和 *ACO* 表达上调,促进乙烯合成,同时,乙烯受体蛋白和乙烯响应转录因子响应机械伤害,乙烯信号转导通路受到诱导,促进不定根发生<sup>[19]</sup>。机械伤害会使茎段外植体生根区段 JA 含量在不定根发生的诱导前期显著提高<sup>[8]</sup>。此外,机械伤害诱导游离态生长素的产生和生长素向基运输的中止共同导致生长素在不定根起源细胞周围的积累<sup>[5, 23-24]</sup>。高水平生长素一方面诱导 NO-cGMP- $\text{Ca}^{2+}$ -CDPK 和 NO-MAPK 信号转导通路,另一方面诱导 TIR/AFB-AUX/IAA-ARF 信号转导通路,介导 GRAS、LOB、AP2/ERF、WOX 等转录因子的表达发生变化,从而改变细胞周期、微管重塑、细胞壁重塑和糖代谢、脂代谢、氨基酸代谢等相关基因的表达,诱导不定根的发生。

### 2.2 内源因子

**2.2.1 生长素** 生长素是促进植物不定根形成的主要激素。外源施用的生长素从茎段切口进入茎内,通过 pH 捕获机制或输入载体蛋白进入细胞,而茎尖形成的内源生长素向基运输到切口处,共同促进不定根的发生<sup>[23]</sup>。将康乃馨地上部与母体植株分离后,生长素的极性运输导致茎基部生长素的积累,进而促进不定根的发生<sup>[25]</sup>。这些结果表明不定根的发生与生长素运输密切相关。此外,对易生根和难生根桉树株系进行比较,发现易生根株系的 IAA 水平比难生根的高 2 倍,证实了 IAA 水平在不定根发生中有着重要作用<sup>[26]</sup>。IAA 是最丰富的天然生长素,是首个用来促进茎段外植体不定根发生的植物激素,但是在无性繁殖实践中更倾向于使用 IBA,这可能与 IBA 在组织或溶液中的稳定性有关。研究发现 IBA 比 IAA 能更有效促进拟南芥茎段形成不定根<sup>[27]</sup>。此外,相对于 IAA,IBA 能有效提高桉树不定根的数目<sup>[28]</sup>。

**2.2.2 乙烯** 通过对番茄乙烯响应突变体的研究发现乙烯信号通路持续表达的 *epi* 突变体的不定根数目显著高于野生型,而乙烯响应缺陷型突变体 *Nr* 不定根的形成受到了抑制<sup>[29]</sup>。棉花乙烯合成基因 *GhACO3* 的过表达可以显著提高拟南芥和烟草转

基因株系的不定根数目<sup>[30]</sup>。乙烯可能通过与生长素的互作来促进不定根的发生。研究发现乙烯正向调控受淹番茄植株形成不定根<sup>[1]</sup>。乙烯作为响应涝害的第一信号,能促进生长素的运输,生长素的积累又促使乙烯生物合成,进一步刺激生长素向受淹部位运输,生长素的积累会诱导不定根起始细胞分裂<sup>[1]</sup>。另外,受淹部位乙烯的积累可以诱导下胚轴细胞壁的松弛和表皮细胞的程序性死亡,有利于不定根原基突破表皮层<sup>[14-15]</sup>。

**2.2.3 油菜素内酯** 油菜素内酯能促进不定根的发生。对拟南芥 *gull1/sur2-7* 突变体外施油菜素内酯可以导致其下胚轴形成不定根<sup>[31]</sup>。油菜素内酯浸泡绿豆种子后能显著提高下胚轴形成不定根的数目、根长及不定根发生区段长度<sup>[32]</sup>。另外,水稻 *brd1* 突变体的油菜素内酯生物合成中的 BR-6-氧化酶突变导致冠根数目减少,外施油菜素内酯可以恢复其缺陷<sup>[33]</sup>。

**2.2.4 茉莉酸** 茉莉酸可以促进烟草薄层细胞形成不定根<sup>[34]</sup>。矮牵牛茉莉酸生物合成关键基因 *PhAOC* RNAi 株系的茉莉酸含量降低,茎段外植体形成不定根的数目显著少于野生型的,表明茉莉酸正向调控矮牵牛茎段外植体不定根的发生<sup>[35]</sup>。

**2.2.5 赤霉素** 赤霉素对不定根的影响可能具有阶段依赖效应,抑制不定根的诱导和启动,而促进不定根的伸长<sup>[9]</sup>。外源施用  $GA_3$  会显著降低烟草茎段外植体形成不定根的数目,但是却能促进不定根的伸长,推测赤霉素抑制烟草不定根原基的形成,但是对于已经形成的原基,适宜浓度的赤霉素能促进其伸长<sup>[36]</sup>。外源施用赤霉素会使白杨和拟南芥不定根的数目减少,进一步研究发现赤霉素通过抑制生长素的极性运输,使白杨/拟南芥下胚轴基部不能形成生长素峰值,从而抑制不定根的启动<sup>[37]</sup>。

**2.2.6 细胞分裂素** 不定根发生过程中,细胞分裂素与生长素可能具有拮抗作用。细胞分裂素含量在不定根发生的诱导期和启动期较低,表达期较高<sup>[38]</sup>。细胞分裂素抑制多个物种不定根的发生<sup>[39-41]</sup>。在诱导期施加激动素对桉树不定根的发生具有抑制效应<sup>[39]</sup>。木质部汁液中的玉米素核苷是抑制拟南芥下胚轴不定根发生的主要因素<sup>[40]</sup>。

**2.2.7 脱落酸** 脱落酸负向调控不定根的发生<sup>[14, 42]</sup>。番茄脱落酸缺陷型突变体 *flassa* 和 *notabilis* 的茎上会形成许多不定根,将 *notabilis* 突变体的脱落酸生物合成基因 *LeNCED1* 过表达可以使其恢复为野生型表型<sup>[42]</sup>。在不定根发生的表达期,脱

落酸能延缓乙烯和赤霉素诱导的表皮细胞程序性死亡,从而负向调控不定根的发生<sup>[14, 42]</sup>。

**2.2.8 独脚金内酯** 独脚金内酯负向调控不定根的发生<sup>[43-44]</sup>。拟南芥独脚金内酯合成突变体 *max1*、*max3*、*max4* 和响应突变体 *max2* 的黄花苗下胚轴形成的不定根数目显著高于野生型;在豌豆中,独脚金内酯生物合成突变体 *rms1*、*rms5* 或响应突变体 *rms4* 的不定根数目和不定根发生区段长度显著高于野生型,表明独脚金内酯抑制拟南芥和豌豆不定根的发生<sup>[43]</sup>。由于拟南芥 *max2* 突变体的 CYCLIN B1 表达量提高,作者推断独脚金内酯通过抑制不定根起始细胞的首次分裂来阻碍不定根的启动<sup>[43]</sup>。

### 2.3 其他内源因子

NO 信号分子在生长素下游起作用,可能通过多种信号转导途径来促进不定根的发生。生长素促进黄瓜下胚轴基部产生 NO,进而提高环鸟苷单磷酸(cyclic guanosine monophosphate, cGMP)和环腺苷二磷酸核糖(cyclic adenosine 5'-diphosphate ribose, cADPR)含量,引起质膜  $Ca^{2+}$  通道的激活。NO 也促进磷脂的释放,为磷脂酶提供底物,这进一步促进  $Ca^{2+}$  进入细胞质,以及激活钙依赖性蛋白激酶(calcium-dependent protein kinase, CADPK)和促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK),最终导致细胞分裂和分化,促进不定根的发生<sup>[45-46]</sup>。

$H_2O_2$  是活性氧的一种形式,可能通过促进表皮细胞的死亡来促进不定根发生,且具有剂量依赖效应<sup>[15]</sup>。外源施用  $H_2O_2$  可以显著提高黄瓜下胚轴外植体不定根的数目<sup>[47]</sup>。还有研究表明  $H_2O_2$  在不定根发生的诱导期能降低过氧化物酶 POD 和抗坏血酸过氧化物酶 APX 活性,使生长素维持较高的水平,从而调控不定根的发生<sup>[47-48]</sup>。

多胺是生物体内一类含有多个氨基的小分子化合物,主要包括腐胺、亚精胺和精胺,能促进细胞分裂和分化,可能与不定根的发生相关。外源施用腐胺能显著提高绿豆下胚轴外植体不定根的数目<sup>[49]</sup>。另外,参与多胺生物合成的 SAMDC 和 SAMS 基因在杂种落叶松茎段外植体不定根发生的启动期表达水平上调<sup>[50]</sup>。

## 3 不定根发生关键基因

不定根的发生是一个复杂的可遗传性状,受细胞命运转变、细胞分裂、细胞分化等内部遗传程序的

影响。随着分子生物学技术和组学的发展,对不定根发生机制的研究也逐步深入到基因水平,目前已经研究了一些控制不定根发生的基因(表 1)。

### 3.1 诱导期关键基因

不定根发生诱导期的基因报道较少,*PrSCL1*和*PrSHR*在辐射松下胚轴不定根发生的诱导期表达显著上调,推测这 2 个基因可能参与辐射松下胚轴不定根的诱导<sup>[51]</sup>。

### 3.2 启动期关键基因

WOX 转录因子能调控茎尖分生组织、根尖分生组织及器官发生相关基因的转录。水稻 *wox11* 突变体的不定根数目显著少于野生型,而 *Os-WOX11* 过量表达的水稻转基因株系不定根数目增多,同时高位茎节和小花基部都能形成不定根。*OsWOX11* 基因受外源生长素和细胞分裂素诱导,可能通过抑制 A 型细胞分裂素响应基因 *RR2* 来调

表 1 不定根发生关键基因信息  
Table 1 Information of genes related to adventitious root development

| 基因名称<br>Gene name      | 物种<br>Species                  | 时期<br>Stage    | 突变体/转基因株系<br>Mutant / transgene line | 参考文献<br>Reference |
|------------------------|--------------------------------|----------------|--------------------------------------|-------------------|
| <i>PrSCL1</i>          | 辐射松 <i>Pinus radiata</i>       | 诱导期 Induction  |                                      | [51]              |
| <i>PrSHR</i>           | 辐射松 <i>Pinus radiata</i>       | 诱导期 Induction  |                                      | [51]              |
| <i>AtABCB19</i>        | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>abcb19</i>                        | [4]               |
| <i>AtMir160a/c</i>     | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>AtMir160a-OX</i>                  | [20]              |
| <i>AtARF6</i>          | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>arf6</i>                          | [20]              |
| <i>AtARF8</i>          | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>arf8-7</i>                        | [20]              |
| <i>AtARF17</i>         | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>AtARF17-OX</i>                    | [20]              |
| <i>AtGH3.3/3.5/3.6</i> | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>gh3.3 gh3.5 gh3.6</i>             | [52]              |
| <i>AtWOX11/12</i>      | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>wox11/12 AtWOX11-OX</i>           | [5]               |
| <i>AtARR1/10/12</i>    | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>arr1-arr10-arr12</i>              | [53]              |
| <i>AtAHK2/3/4</i>      | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>cre1-12 ahk3-3 ahk2-2</i>         | [54]              |
| <i>AtCKX1/2</i>        | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 启动期 Initiation | <i>AtCKX1-OX AtCKX2-OX</i>           | [55]              |
| <i>LeNCED1</i>         | 番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> | 启动期 Initiation | <i>notabilis</i>                     | [42]              |
| <i>SlNR</i>            | 番茄 <i>Solanum lycopersicum</i> | 启动期 Initiation | <i>Nr</i>                            | [29]              |
| <i>OsYUCCA1</i>        | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 启动期 Initiation | <i>OsYUCCA1-OX</i>                   | [56]              |
| <i>OsPIN2</i>          | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 启动期 Initiation | <i>OsPIN2-OX</i>                     | [57]              |
| <i>OsMir393a/b</i>     | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 启动期 Initiation | <i>OsMir393-OX</i>                   | [58]              |
| <i>OsCRL1/ARL1</i>     | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 启动期 Initiation | <i>crl1/arl1</i>                     | [11,59]           |
| <i>OsCRL4/GNOM1</i>    | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 启动期 Initiation | <i>crl4/gnom1</i>                    | [60,61]           |
| <i>OsCRL5</i>          | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 启动期 Initiation | <i>crl5</i>                          | [62]              |
| <i>OsWOX11</i>         | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 启动期 Initiation | <i>wox11</i>                         | [63]              |
| <i>OsBR6ox</i>         | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 启动期 Initiation | <i>brd1</i>                          | [33]              |
| <i>ZmRTCS</i>          | 玉米 <i>Zea mays</i>             | 启动期 Initiation | <i>rtcs</i>                          | [12]              |
| <i>PtaERF003</i>       | 白杨 <i>Populus</i>              | 启动期 Initiation | <i>PtaERF003-OX</i>                  | [64]              |
| <i>PtRR13</i>          | 白杨 <i>Populus</i>              | 启动期 Initiation | $\Delta$ <i>DDKPtRR13</i>            | [41]              |
| <i>PtAIL1</i>          | 白杨 <i>Populus</i>              | 启动期 Initiation | <i>PtAIL1-OX PtAIL1 RNAi</i>         | [65]              |
| <i>AtNAC1</i>          | 拟南芥 <i>Arabidopsis</i>         | 表达期 Expression | 35Spro: <i>NAC1-SRDX</i>             | [66]              |
| <i>OsPIN1</i>          | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 表达期 Expression | <i>OsPIN1RNAi</i>                    | [67]              |
| <i>OsCAND1</i>         | 水稻 <i>Oryza sativa</i>         | 表达期 Expression | <i>cand1</i>                         | [16]              |
| <i>VvPRP1/2</i>        | 葡萄 <i>Vitis vinifera</i>       | 表达期 Expression |                                      | [68]              |

控水稻不定根的发育<sup>[63]</sup>。拟南芥离体叶片受到的机械伤害能诱导 *AtWOX11* 和 *AtWOX12* 的表达,上调的 *AtWOX11* 和 *AtWOX12* 可以促进 *AtLBD16* 和 *AtLBD29* 表达,从而介导不定根启动早期细胞命运的转变<sup>[5]</sup>。

*OsCRL1/OsARL1* 编码一个含 LOB 结构域的转录因子,启动子区含有 2 个生长素响应原件 (AuxREs),近侧的 AuxRE 能与 *OsARF1* 相互作用,同时该基因的表达受生长素诱导<sup>[11, 59]</sup>。*OsCRL1/OsARL1* 发生突变后,便无法形成不定根。因此,推测 *OsCRL1/OsARL1* 可能参与生长素介导的细胞脱分化过程,促进不定根起始细胞的分裂。在玉米中,*ZmRTCS* 基因同样编码含一个 LOB 结构域的转录因子,能够响应外源生长素,是 *OsCRL1/OsARL1* 的同源基因,玉米 *rtcs* 突变体也不能形成不定根<sup>[12]</sup>。

*OsCRL5* 编码一个 AP2/ERF 基因家族成员,在水稻茎基部即不定根启动的位置表达<sup>[62]</sup>。外源生长素处理能够诱导 *OsCRL5* 基因表达。进一步研究发现 *OsCRL5* 启动子中的生长素响应元件可与 ARF 结合,它可能通过与 *OsCRL1/OsARL1* 类似的途径来调控不定根的启动,该基因突变会导致水稻不定根数目减少<sup>[62]</sup>。另外,*OsCRL5* 能够正向调控 A 型细胞分裂素响应基因 *OsRR1* 的表达,抑制细胞分裂素信号,从而促进不定根的启动<sup>[62]</sup>。白杨 *PtaERF003* 基因编码一个 AP2/ERF 家族的转录因子,受外源生长素的诱导,过表达 *PtaERF003* 的白杨转基因株系不定根数目显著提高<sup>[64]</sup>。*PtAIL1* 转录因子同样是 AP2/ERF 基因家族的成员,过表达 *PtAIL1* 的转基因株系不定根数目显著多于野生型,而 RNAi 株系的不定根发生延迟、数目降低,推测 *PtAIL1* 可能与细胞分裂和不定根原基建成有关<sup>[65]</sup>。

生长素是调控不定根发生的关键因子。*OsYUCCA1* 在水稻依赖色氨酸的生长素生物合成途径中具有重要作用,过表达 *OsYUCCA1* 的水稻转基因株系不定根数目显著增加,而且上部伸长茎节上也能形成不定根<sup>[56]</sup>。过表达 *OsPIN2* 基因能促进生长素由地上部向根茎结合部的运输,导致较多的游离态生长素在根茎结合部的非组织特异性积累,*OsPIN2* 过表达的水稻转基因株系形成的不定根数目显著少于野生型,推测 *OsPIN2* 可能参与水稻不定根的启动<sup>[57]</sup>。在拟南芥中,生长素输出载体蛋白 PIN1 的极性定位需要 GNOM 的协助。*Os-*

*CRL4/OsGNOM1* 基因编码一个拟南芥 GNOM 同源蛋白,它的突变导致水稻地上部和根的生长素极性运输受阻,不定根数目显著减少,因此推测 *OsCRL4/OsGNOM1* 通过维持地上部生长素的浓度梯度来控制不定根的启动<sup>[60-61]</sup>。另外,对拟南芥野生型进行切割处理会提高生长素输出载体蛋白 *AtABCB19* 的表达,进而促进生长素的运输,导致 IAA 在切割部位局部积累,从而诱导不定根的启动<sup>[4]</sup>。

*OsMir393a* 和 *OsMir393b* 过表达的水稻株系不定根数目显著低于野生型的,这两个基因可能负向调控生长素受体基因 *OsTIR1* 和 *OsAFB2*,从而抑制水稻不定根的启动<sup>[58]</sup>。拟南芥 *arf6*、*arf8* 突变体和 *AtARF17* 过表达株系的不定根数目少于野生型,而 *AtARF6*、*AtARF8* 过表达株系的不定根数目多于野生型。*AtARF6* 和 *AtARF8* 是 *AtMir167* 的靶标,能正向调控不定根形成,而 *AtARF17* 是 *AtMir160* 的靶标,抑制不定根形成<sup>[20]</sup>。进一步研究发现生长素通过激活 *AtARF6* 和 *AtARF8* 来促进 *GH3.3*、*GH3.5* 和 *GH3.6* 基因的表达,进而催化 JA-Asp、JA-Met 和 JA-Trp 的生成,致使 JA-Ile 的含量相对较低,其中 JA-Ile 通过激活 COI 信号通路来负向调控拟南芥下胚轴不定根的发生<sup>[52]</sup>。

B 型细胞分裂素响应因子 *PtRR13* 是一个正向调控细胞分裂素信号通路的转录因子,能抑制白杨不定根原基的形成<sup>[41]</sup>。在拟南芥中,*AtARR1*、*AtARR10* 和 *AtARR12* 编码 B 型细胞分裂素响应因子,*arr1-arr10-arr12* 突变体的下胚轴会自发形成不定根<sup>[53]</sup>。*AtAHK2*、*AtAHK3* 和 *AtAHK4* 是细胞分裂素受体,拟南芥 *ahk2 ahk3 ahk4* 突变体的下胚轴与主根接合处有不定根形成,进一步研究发现 *AtAHK3* 和 *AtAHK4* 是细胞分裂素抑制不定根发生的重要调控因子<sup>[54]</sup>。*CKX* (cytokinin oxidase) 是含 FAD 的细胞分裂素氧化酶,能降解异戊烯腺嘌呤、玉米素等含不饱和类异戊二烯侧链的细胞分裂素。过表达 *AtCKX1*、*AtCKX2* 的拟南芥转基因株系不定根的数目显著多于野生型的<sup>[55]</sup>。

番茄 *LeNCED1* 编码 9-顺式环氧类胡萝卜素双加氧酶,为脱落酸生物合成的限速酶,脱落酸缺陷型突变体 *notabilis* 的茎上会形成许多不定根,这种突变表型是由 *LeNCED1* 突变造成的,过表达 *LeNCED1* 后可以使其恢复为正常表型<sup>[42]</sup>。番茄 *SlNR* 基因编码一个与拟南芥乙烯受体 *ETR1* 同源的蛋白,*Nr* 突变体对乙烯的敏感性降低,不定根的

发生受到了抑制<sup>[29]</sup>。水稻 *brd1* 突变体的不定根数目减少,外施油菜素内酯可以使其恢复为正常表型,作者克隆了 *OsBR6ox*,发现该基因与 *brd1* 共分离,编码一个控制油菜素内酯生物合成的 BR-6-氧化酶,推测 *brd1* 突变体表型是由 *OsBR6ox* 基因的突变造成的<sup>[33]</sup>。

3.3 表达期关键基因

CAND1 基因在动植物界具有保守性,参与 SCF 复合体(Skp, Cullin, F-box containing complex)的形成,在生长素信号转导通路中具有重要作用。水稻 *cand1* 突变体的不定根原基的 G2/M 细胞周期的转化被中止,无法形成不定根,推测 *Os-CAND1* 可能通过参与不定根原基生长素信号维持的 G2/M 细胞周期的转化来控制不定根的伸出<sup>[16]</sup>。

水稻 *OsPIN1* 的表达模式与 *AtPIN1* 相似,在维管组织和根原基中表达,而且 *OsPIN1* RNAi 转基因株系不定根的伸出与伸长均受到抑制,不定根数目显著低于野生型,这与用生长素极性运输抑制剂 NPA 处理的效应相似,外施  $\alpha$ -NAA 能回复 *Os-PIN1* RNAi 转基因株系不定根发生的缺陷,表明 *OsPIN1* 在依赖生长素的不定根伸出过程中发挥重要作用<sup>[67]</sup>。

拟南芥 *AtNAC1* 转录因子能促进 *CEP* 基因表

达,降解细胞壁伸展蛋白,促进不定根伸出表皮层,而抑制 *AtNAC1* 基因的表达会严重影响拟南芥不定根的伸出<sup>[66]</sup>。*VvPRP1* 和 *VvPRP2* 基因在葡萄茎段外植体不定根发生区段高水平表达,这两个基因与细胞壁脯氨酸富含蛋白同源,可能通过改变细胞壁的力学性能来促进不定根的伸出<sup>[68]</sup>。

4 问题与展望

随着现代农业科学的发展,不定根发生及其功能的研究成为植物发育生物学领域的研究热点之一,已经从结构解剖、生理、生化水平逐渐深入到基因和蛋白水平。目前通过正向和反向遗传学方法克隆了一些控制不定根发生的基因,但是不定根发生的分子机制仍然存在许多疑问,例如不定根起源细胞如何感知内外信号变化? 启动不定根起源细胞分裂的生长素的阈值是多少? 外源施用的植物生长调节剂与内源信号分子如何互作? 各类内源信号分子如何相互平衡来控制不定根的发生? 参与不定根发生的诸多基因的上下游信号各是什么? 遗传学、组学和分子生物学技术的快速发展与应用将会极大地促进不定根发生分子机制和信号网络的完善,这必将有益于延缓禾本科粮食作物根系的衰老和提高园艺、林木植物的无性繁殖效率。

参考文献:

[1] VIDOZ M L, LORETI E, MENSUALI A, *et al.* Hormonal interplay during adventitious root formation in flooded tomato plants[J]. *The Plant Journal*, 2010, **63**(4): 551-562.

[2] CALVO-POLANCO M, SENORANS J, ZWIAZEK J J. Role of adventitious roots in water relations of tamarack (*Larix laricina*) seedlings exposed to flooding[J]. *BMC Plant Biology*, 2012, **12**(1): 99.

[3] CORREA L R, TROLEIS J, MASTROBERTI A A, *et al.* Distinct modes of adventitious rooting in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Biology*, 2012, **14**(1): 100-109.

[4] SUKUMAR P, MALONEY G S, MUDAY G K. Localized induction of the ATP-binding cassette B19 auxin transporter enhances adventitious root formation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2013, **162**(3): 1 392-1 405.

[5] LIU J C, SHENG L H, XU Y Q, *et al.* *WOX11* and *12* are involved in the first-step cell fate transition during de novo root organogenesis in *Arabidopsis* [J]. *The Plant Cell*, 2014, **26** (3): 1 081-1 093.

[6] PACURAR D I, PERRONE I, BELLINI C. Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting[J]. *Physiologia Plantarum*, 2014, **151**(1): 83-96.

[7] SCHWAMBACH J, RUEDELL C M, DE ALMEIDA M R, *et al.* Adventitious rooting of *Eucalyptus globulus*  $\times$  *maidenii* mini-cuttings derived from mini-stumps grow in sand bed and intermittent flooding trays: a comparative study [J]. *New Forests*, 2008, **36**(3): 261-271.

[8] AHKAMI A H, LISCHESKI S, HAENSCH K T, *et al.* Molecular physiology of adventitious root formation in *Petunia hybrida* cuttings: involvement of wound response and primary metabolism[J]. *New Phytologist*, 2009, **181**(3): 613-625.

[9] DA COSTA C T, DE ALMEIDA M R, RUEDELL C M, *et al.* When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2013, **4**: 133.

[10] JÁASIK J, DE KLERK G J. Anatomical and ultrastructural examination of adventitious root formation in stem slices of apple[J]. *Plant Biology*, 1997, **39**(1): 79-90.

[11] LIU H J, WANG S F, YU X B. *ARL1*, a LOB-domain protein required for adventitious root formation in rice[J]. *The Plant Journal*, 2005, **43**(1): 47-56.

[12] TARAMINO G, SAUER M, STAUFFER J L. The maize (*Zea mays* L.) *RTCS* gene encodes a LOB domain protein that is a key regulator of embryonic seminal and post-embryonic shoot-borne root initiation [J]. *The Plant Journal*, 2007, **50**(4): 649-659.

- [13] ITOH J, NONOMURA K, IKEDA K, *et al.* Rice plant development: from zygote to spikelet[J]. *Plant Cell Physiology*, 2005, **46**(1): 23-47.
- [14] STEFFENS B, SAUTER M. Epidermal cell death in rice is regulated by ethylene, gibberellin, and abscisic acid[J]. *Plant Physiology*, 2005, **139**(2): 713-721.
- [15] STEFFENS B, SAUTER M. Epidermal cell death in rice is confined to cells with a distinct molecular identity and is mediated by ethylene and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> through an autoamplified signal pathway[J]. *The Plant Cell*, 2009, **21**(1): 184-196.
- [16] WANG X F, HE F F, MA X X, *et al.* OsCAND1 is required for crown root emergence in rice[J]. *Molecular Plant*, 2011, **4**: 289-299.
- [17] BAQUE M A, HAHN E J, PAEK K Y. Induction mechanism of adventitious root from leaf explants of *Morinda citrifolia* as affected by auxin and light quality[J]. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 2010, **46**(1): 71-80.
- [18] HU B, ZHU C G, LI F, *et al.* LEAF TIP NECROSIS1 plays a pivotal role in the regulation of multiple phosphate starvation responses in rice[J]. *Plant Physiology*, 2011, **156**(3): 1101-1115.
- [19] DRUEGE U, FRANKEN P, LISCHESKI S, *et al.* Transcriptomic analysis reveals ethylene as stimulator and auxin as regulator of adventitious root formation in petunia cuttings[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, **5**: 494.
- [20] GUTIERREZ L, BUSSELL J D, PACURAR D I, *et al.* Phenotypic plasticity of adventitious rooting in *Arabidopsis* is controlled by complex regulation of auxin response factor transcripts and microRNA abundance[J]. *The Plant Cell*, 2009, **21**(10): 3119-3132.
- [21] VERSTRAETEN I, SCHOTTE S, GEELLEN D. Hypocotyl adventitious root organogenesis differs from lateral root development[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2014, **5**: 495.
- [22] DAI X Y, WANG Y Y, YANG A, *et al.* OsMYB2P-1, an R2R3 MYB transcription factor, is involved in the regulation of phosphate-starvation responses and root architecture in rice[J]. *Plant Physiology*, 2012, **159**(1): 169-183.
- [23] POP T I, PAMFIL D, BELLINI C. Auxin control in the formation of adventitious roots[J]. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2011, **39**(1): 307-316.
- [24] BELLINI C, PACURAR D I, PERRONE I. Adventitious roots and lateral roots: similarities and differences[J]. *Annual Review in Plant Biology*, 2014, **65**: 639-666.
- [25] GARRIDO G, GUERREO J R, CANO E A, *et al.* Origin and basipetal transport of the IAA responsible for rooting of carnation cuttings[J]. *Plant Physiology*, 2002, **114**(2): 303-312.
- [26] NEGISHI N, OISHI M, KAWAOKA A. Chemical screening for promotion of adventitious root formation in *Eucalyptus globulus*[J]. *BMC Proceedings*, 2011, **5**(Suppl 7): 139.
- [27] LUDWIG-MULLER J, VERTOCNIK A, TOWN C D. Analysis of indole-3-butyric acid-induced adventitious root formation on *Arabidopsis* stem segments[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, **56**(418): 2095-2105.
- [28] FOGACA C M, FETT-NETO A G. Role of auxin and its modulators in the adventitious rooting of *Eucalyptus* species differing in recalcitrance[J]. *Plant Growth Regulation*, 2005, **45**(1): 1-10.
- [29] NEGI S, SUKUMAR P, LIU X, *et al.* Genetic dissection of the role of ethylene in regulating auxin-dependent lateral and adventitious root formation in tomato[J]. *The Plant Journal*, 2010, **61**(1): 3-15.
- [30] 张 萍,王 斐,徐登献,等. 棉花乙烯合成基因促进拟南芥和烟草不定根发生的研究[J]. 西北植物学报, 2011, **31**(12): 2394-2398.
- ZHANG P, WANG F, XU D X, *et al.* Cotton GhACO3 gene promotes adventitious root development of *Arabidopsis thaliana* and tobacco[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2011, **31**(12): 2394-2398.
- [31] MAHARJAN P M, DILKES B P, FUJIOKA S, *et al.* *Arabidopsis gulliver1/superroot2-7* identifies a metabolic basis for auxin and brassinosteroid synergy[J]. *The Plant Journal*, 2014, **80**(5): 797-808.
- [32] 刘 灵,李海航,杨丽霞,等. 油菜素内酯促进绿豆下胚轴不定根发生研究[J]. 科技导报, 2007, **25**(5): 56-59.
- LIU L, LI H H, YANG L X, *et al.* Stimulation of brassinolide on adventitious root formation in mung bean[J]. *Science and Technology Review*, 2007, **25**(5): 56-59.
- [33] MORI M, NOMURA T, OOKA H, *et al.* Isolation and characterization of a rice dwarf mutant with a defect in brassinosteroid biosynthesis[J]. *Plant Physiology*, 2002, **130**(3): 1152-1161.
- [34] FATTORINI L, FALASCA G, KEVERS C, *et al.* Adventitious rooting is enhanced by methyl jasmonate in tobacco thin cell layers[J]. *Planta*, 2009, **231**(1): 155-168.
- [35] LISCHESKI S, MUCHOW A, GUTHORL D, *et al.* Jasmonates act positively in adventitious root formation in petunia cuttings[J]. *BMC Plant Biology*, 2015, **15**(1): 229.
- [36] NIU S, LI Z, YUAN H, *et al.* Proper gibberellin localization in vascular tissue is required to regulate adventitious root development in tobacco[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, **64**(11): 3411-3424.
- [37] MAURIAT M, PETTERLE A, BELLINI C, *et al.* Gibberellins inhibit adventitious rooting in hybrid aspen and *Arabidopsis* by affecting auxin transport[J]. *The Plant Journal*, 2014, **78**(3): 372-384.
- [38] KUROHA T, UEGUCHI C, SAKAKIBARA H, *et al.* Cytokinin receptors are required for normal development of auxin-transporting vascular tissues in the hypocotyl but not in adventitious roots[J]. *Plant Cell Physiology*, 2006, **47**(2): 234-243.
- [39] CORREA L R, PAIM D C, SCHWAMBACH J, *et al.* Carbohydrates as regulatory factors on the rooting of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill[J]. *Plant Growth Regulation*, 2005, **45**(1): 63-73.
- [40] KUROHA T, SAKAKIBARA H. Involvement of cytokinins in adventitious and lateral root formation[J]. *Plant Root*, 2007, **1**: 27-33.
- [41] RAMIREZ-CARVAJAL G A, MORSE A M, DERVINIS C, *et al.* The cytokinin type-B response regulator is a negative regulator of adventitious root development in *Populus*[J]. *Plant Physiology*, 2009, **150**(2): 759-771.
- [42] THOMPSON A J, THORNE E T, BURBRIDGE A, *et al.*

- Complementation of notabilis, an abscisic acid-deficient mutant of tomato; importance of sequence context and utility of partial complementation[J]. *Plant Cell and Environment*, 2004, **27**(4): 459-471.
- [43] RASMUSSEN A, BEVERIDGE C A, GEELEN D. Inhibition of strigolactones promotes adventitious root formation[J]. *Plant Signaling and Behavior*, 2012, **7**(6): 694-697.
- [44] RASMUSSEN A, DEPUYDT S, GOORMACHTIG S, *et al.* Strigolactones fine-tune the root system[J]. *Planta*, 2013, **238**(4): 615-626.
- [45] XUAN W, ZHU F Y, XU S, *et al.* The heme oxygenase/carbon monoxide system is involved in the auxin-induced cucumber adventitious rooting process[J]. *Plant Physiology*, 2008, **148**(2): 881-893.
- [46] XUAN W, XU S, LI M Y, *et al.* Nitric oxide is involved in hemin-induced cucumber adventitious rooting process[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2012, **169**(11): 1 032-1 039.
- [47] LI S W, XUE L G, XU S J, *et al.* Hydrogen peroxide involvement in formation and development of adventitious roots in cucumber[J]. *Plant Growth Regulation*, 2007, **52**(2): 173-180.
- [48] LI S W, XUE L G, XU S J, *et al.* Hydrogen peroxide acts as a signal molecule in the adventitious root formation of mung bean seedlings[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2009, **65**(1): 63-71.
- [49] NAG S, PAUL A, CHOUDHURI M A. Changes in peroxidase activity during adventitious root formation at the base of mung bean cuttings[J]. *International Journal of Scientific and Technology Research*, 2013, **2**: 171-177.
- [50] HAN H, SUN X M, XIE Y H, *et al.* Transcriptome and proteome profiling of adventitious root development in hybrid larch (*Larix kaempferi* × *Larix olgensis*)[J]. *BMC Plant Biology*, 2014, **14**(1): 305.
- [51] RICCI A, ROLLI E, DRAMIS L, *et al.* N, N'-bis-2, 3-methylene-dioxyphenyl. urea and N, N'-bis-3, 4-methylenedioxyphenyl. urea enhance adventitious rooting in *Pinus radiata* and affect expression of genes induced during adventitious rooting in the presence of exogenous auxin[J]. *Plant Science*, 2008, **175**(3): 356-363.
- [52] GUTIERREZ L, MONGELARD G, FLOKOVA K, *et al.* Auxin controls *Arabidopsis* adventitious root initiation by regulating jasmonic acid homeostasis[J]. *The Plant Cell*, 2012, **24**(6): 2 515-2 527.
- [53] ARGYROS R D, MATHEWS D E, CHIANG Y H, *et al.* Type B response regulators of *Arabidopsis* play key roles in cytokinin signaling and plant development[J]. *The Plant Cell*, 2008, **20**(8): 2 102-2 116.
- [54] NISHIMURA C, OHASHI Y, SATO S, *et al.* Histidine kinase homologs that act as cytokinin receptors possess overlapping functions in the regulation of shoot and root growth in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Cell*, 2004, **16**(6): 1 365-1 377.
- [55] WERNER T, MOTYKA V, STRNAD M, *et al.* Regulation of plant growth by cytokinin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, **98**(18): 10 487-10 492.
- [56] YAMAMOTO Y, KAMIYA N, MORINAKA Y, *et al.* Auxin biosynthesis by the *YUCCA* genes in rice[J]. *Plant Physiology*, 2007, **143**(3): 1 362-1 371.
- [57] CHEN Y, FAN X, SONG W, *et al.* Over-expression of *OsPIN2* leads to increased tiller numbers, angle and shorter plant height through suppression of *OsLAZY1*[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2012, **10**(2): 139-149.
- [58] BIAN H W, XIE Y K, GUO F, *et al.* Distinctive expression patterns and roles of the miRNA393/TIR1 homolog module in regulating flag leaf inclination and primary and crown root growth in rice (*Oryza sativa*)[J]. *New Phytologist*, 2012, **196**(1): 149-161.
- [59] INUKAI Y, SAKAMOTO T, UEGUCHI-TANAKA M, *et al.* *Crown rootless1*, which is essential for crown root formation in rice, is a target of an AUXIN RESPONSE FACTOR in auxin signaling[J]. *The Plant Cell*, 2005, **17**(5): 1 387-1 396.
- [60] KITOMI Y, OGAWA A, KITANO H, *et al.* *CRL4* regulates crown root formation through auxin transport in rice[J]. *Plant Root*, 2008, **2**: 19-28.
- [61] LIU S, WANG J, WANG L, *et al.* Adventitious root formation in rice requires *OsGNOM1* and is mediated by the *OsPINs* family[J]. *Cell Research*, 2009, **19**(9): 1 110-1 119.
- [62] KITOMI Y, ITO H, HOBO T, *et al.* The auxin responsive AP2/ERF transcription factor CROWN ROOTLESS5 is involved in crown root initiation in rice through the induction of *OsRR1*, a type-A response regulator of cytokinin signaling[J]. *The Plant Journal*, 2011, **67**(3): 472-484.
- [63] ZHAO Y, HU Y F, DAI M Q, *et al.* The WUSCHEL-Related homeobox gene *WOX11* is required to activate shoot-borne crown root development in rice[J]. *The Plant Cell*, 2009, **21**(3): 736-748.
- [64] TRUPIANO D, YORDANOV Y, REGAN S, *et al.* Identification, characterization of an AP2/ERF transcription factor that promotes adventitious, lateral root formation in *Populus*[J]. *Planta*, 2013, **238**(2): 271-282.
- [65] RIGAL A, YORDANOV Y S, PERRONE I, *et al.* The *AINTEGUMENTA LIKE1* homeotic transcription factor *PtAIL1* controls the formation of adventitious root primordia in poplar[J]. *Plant Physiology*, 2012, **160**(4): 1 996-2 006.
- [66] CHEN X, CHENG J, CHEN L, *et al.* Auxin-independent NAC pathway acts in response to explant-specific wounding and promotes root tip emergence during de novo root organogenesis in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiology*, 2016, **170**(4): 2 136-2 145.
- [67] XU M, ZHU L, SHOU H, *et al.* A *PIN1* family gene, *OsPIN1*, involved in auxin-dependent adventitious root emergence and tillering in rice[J]. *Plant Cell Physiology*, 2005, **46**(10): 1 674-1 681.
- [68] THOMAS P, LEE M M, SCHIEFELBEIN J. Molecular identification of proline-rich protein genes induced during root formation in grape *Vitis vinifera* L. stem cuttings[J]. *Plant Cell and Environment*, 2003, **26**(9): 1 497-1 504.