

DOI: 10.11686/cyxb2025061

http://cyxb.magtech.com.cn

孙朗, 任燕萍, 娜菲莎·木则帕尔, 等. 梭梭 WOX 转录因子家族鉴定及 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 在根生长中的功能研究. 草业学报, 2026, 35(1): 192-205.

SUN Lang, REN Yan-ping, NAFISA Muzepar, et al. Identification of the WOX transcription factor family in *Haloxyylon ammodendron* and functional analyses of the roles of *HaWOX29* and *HaWOX54* in root growth. Acta Prataculturae Sinica, 2026, 35(1): 192-205.

梭梭 WOX 转录因子家族鉴定及 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 在根生长中的功能研究

孙朗^{1,2}, 任燕萍^{1,2}, 娜菲莎·木则帕尔^{1,2}, 谌能双^{1,2}, 马丽^{1,2}, 程聪^{1,2}, 李俐^{1,2}, 张桦^{1,2*}

(1. 新疆农业大学生命科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆极端环境生物生态适应与进化重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要: 荒漠植物梭梭具有发达的根系, 其侧根可寄生中药肉苁蓉, 使得梭梭在荒漠治理和荒漠区社会发展中具有重要的生态和经济价值。WOX 转录因子参与植物根的生长发育, 本研究从梭梭全基因组数据中鉴定出 64 个 WOX 转录因子家族成员, 根据前期转录组分析结果, 筛选克隆了在根中表达量高的 *HaWOX29* 和 *HaWOX54*; qPCR 分析表明, *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 在根中的表达量明显高于其他组织, 干旱、盐及高温胁迫下下调表达, 低温和吲哚乙酸 (IAA)、脱落酸 (ABA)、水杨酸 (SA) 处理下上调表达; 利用农杆菌介导法侵染梭梭种胚, 获得过表达 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 的植株, 表型和根系扫描分析发现过表达 *HaWOX29* 的梭梭平均主根根长是转空载体对照组的 2.49 倍; 过表达 *HaWOX54* 植株主根根长是空载体的 2.08 倍, 平均分支数是 4.34 倍。因此初步推测 *HaWOX29* 基因可能参与梭梭主根的伸长, *HaWOX54* 基因可能参与梭梭侧根的发育和主根的伸长。本研究筛选鉴定参与梭梭根生长发育的 WOX 转录因子, 为研究梭梭根发育的分子机制和筛选优良的梭梭种质资源提供了理论和技术指导。

关键词: 梭梭; WOX 转录因子; 根发育; 分子机制

Identification of the WOX transcription factor family in *Haloxyylon ammodendron* and functional analyses of the roles of *HaWOX29* and *HaWOX54* in root growth

SUN Lang^{1,2}, REN Yan-ping^{1,2}, NAFISA Muzepar^{1,2}, SHEN Neng-shuang^{1,2}, MA Li^{1,2}, CHENG Cong^{1,2}, LI Li^{1,2}, ZHANG Hua^{1,2*}

1. College of Life Sciences, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 2. Key Laboratory of Biological Ecological Adaptation and Evolution in Extreme Environments, Urumqi 830052, China

Abstract: The desert plant *Haloxyylon ammodendron*, commonly known as sorghum or saxaul, has a well-developed root system characterized by lateral roots that are capable of parasitizing the traditional Chinese medicine plant *Cistanche deserticola*. This trait endows *H. ammodendron* with significant ecological and economic value for desert management and for the social development of desert regions. In plants, WOX transcription factors play a crucial role in the growth and development of roots. In this study, we identified 64 members of the WOX transcription factor family from the *H. ammodendron* genome. Building upon previous transcriptome analysis results, we screened and cloned the genes *HaWOX29* and *HaWOX54*, which exhibited high transcript levels in the roots. Quantitative PCR analysis indicated that the transcript levels of *HaWOX29* and *HaWOX54* were obvious higher in roots than in other

收稿日期: 2025-03-04; 改回日期: 2025-04-21

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2024D01A70)资助。

作者简介: 孙朗(2000-), 女, 吉林白城人, 在读硕士。E-mail: 1360146652@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: hazelzhang@163.com

tissues, and that both of these genes were down-regulated under drought, salt, and high-temperature stresses. Conversely, they were up-regulated under low-temperature conditions and treatments with various hormones, namely indole-3-acetic acid, abscisic acid, and salicylic acid. Through *Agrobacterium*-mediated transformation, we obtained plants overexpressing *HaWOX29* and *HaWOX54*. Phenotypic and root scanning analyses revealed that the average primary root length of the *HaWOX29*-overexpressing plants was 2.49-times than that of the control group (transformed with the empty vector). The primary roots of the *HaWOX54*-overexpressing plants were 2.08-times longer than those of the control group, and the average root branching number was 4.34-times greater. Thus, we concluded that *HaWOX29* may facilitate the elongation of primary roots in *H. ammodendron*, while *HaWOX54* may be implicated in the development of lateral roots and the elongation of primary roots. The results of this study identify WOX transcription factors associated with the growth and development of *H. ammodendron* roots, offering theoretical and practical guidance for investigating the molecular mechanisms underlying root development and for screening superior germplasm resources of *H. ammodendron*.

Key words: *Haloxylon ammodendron*; WOX transcription factors; root development; molecular mechanisms

梭梭(*Haloxylon ammodendron*)是苋科(Amaranthaceae)梭梭属(*Haloxylon*)的一种超耐旱多年生小乔木,是我国荒漠地区植树面积最大的树种之一^[1-2]。梭梭不仅在遏制土地沙化方面发挥了重要的生态价值,还带来了良好的经济效益。一年生的梭梭枝条可作为大型反刍动物的饲料,而多年生的同化枝常被当地人用作柴火^[3]。梭梭的根系以发达的垂直根系为主,具有迂回生长的特性,主要分布在地下 50~100 cm 的土层中。尽管侧根数量较少,但其根系能够深入土壤吸收深层水分。同时,根系分布的时空异质性使其在不同季节和环境条件下能够有效利用有限的水资源^[4]。不同树龄的梭梭根系生物量占总生物量的 35%~40%^[5]。通过电子显微镜观察,梭梭根系的结构由外到内分为表皮层、皮层和维管柱 3 部分^[6]。此外,梭梭根部还寄生着名贵中药肉苁蓉(*Cistanche deserticola*)。当肉苁蓉的种子在靠近梭梭根系的地方萌发时,会向梭梭根系发出信号,梭梭根系会穿破肉苁蓉种子,形成接种点,从而建立寄生关系^[7]。作为荒漠地区主要的建群种,梭梭因其发达的根系能够在高温干旱环境下正常生长,成为植物逆境生物学的重要研究对象。然而,梭梭的扦插生根率几乎为 0^[8],在梭梭的器官发生途径中,诱导生根率仅为 50%,在体细胞胚发生途径中,不定芽生根也较为困难^[9]。尽管已有许多研究从形态结构、根系分布和再生体系等方面探讨了梭梭根的特性,但尚未有从分子水平上对梭梭根生长发育进行研究的相关报道。因此,研究与梭梭根生长发育相关的基因及其调控的可能分子机制十分重要。

WOX(WUSCHEL 相关同源框)转录因子家族是植物特有的转录因子之一,广泛参与植物的生长发育、干细胞分裂分化以及胚胎和器官形成等重要生理过程。近年来,部分 WOX 家族成员在植物根生长发育中的作用逐渐被揭示。比如,在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)中,WOX9 基因在胚胎主根创始细胞(垂体细胞)中表达,控制主根创始细胞的特化及主根的起始过程^[10];WOX11 则在离体叶片再生不定根的过程中特异性表达于不定根创始细胞中,调控其向根原基的起始过程;WOX5 在根尖分生组织(root apical meristem, RAM)中维持干细胞稳态,对侧根的起始和发育至关重要^[11]。此外,在水稻(*Oryza sativa*)中,沉默 *OsWOX4* 基因后,主根数量显著增加,而过表达该基因则显著抑制主根伸长,表明该基因与根的生长发育密切相关^[12]。与此同时,在木本植物中也有相关研究。例如,白桦(*Betula platyphylla*)中的 *BpWOX11* 过表达株系在组织培养生根阶段,其不定根长度和鲜重显著高于对照株系,且转基因株系的田间扦插生根率明显高于对照株系,表明 *BpWOX11* 能够促进白桦不定根的形成,提高扦插生根率^[13];银腺杨(*Populus alba*×*Populus glandulosa*)中 *PagWOX11/12a* 基因可以促进杨树根系生长,增强植物抗旱性和耐盐性^[14]。这些研究表明,WOX 家族成员在植物根的各个发育阶段扮演着重要角色。目前对 WOX 家族成员的功能研究主要集中在模式植物拟南芥和水稻以及一些作物中,而在荒漠植物中的研究较少。

鉴于 WOX 转录因子在植物根发育中的重要作用,本研究以梭梭为对象,分析和鉴定了 WOX 转录因子家族

成员。基于对梭梭根、同化枝以及胚性和非胚性愈伤组织的转录组测序结果^[15-16],本研究筛选并克隆了可能与根发育相关的 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因。通过 qPCR 分析这两个基因在不同组织及逆境胁迫下的表达模式。此外,利用实验室构建的梭梭种胚遗传转化体系^[17],获得了过表达 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 的植株,以分析其在根生长中的功能。本研究旨在筛选与梭梭根发育相关的 WOX 转录因子,为梭梭根生长发育的分子机制研究提供理论依据,并为优异种质资源的筛选提供技术指导。

1 材料与方法

1.1 植物材料

本研究使用的植物材料采自古尔班通古特沙漠南缘(44°28' N, 88°11' E)的单株梭梭的种子和花。

1.2 试验方法

1.2.1 梭梭 WOX 转录因子家族生物信息学分析 首先,基于梭梭全基因组序列,使用 TBtools 软件提取梭梭 WOX 基因序列及其蛋白序列。通过 Pfam 网站(<http://pfam.sanger.ac.uk/search>)下载梭梭 WOX 转录因子家族同源异型结构域 Homeodomain 的 HMMER 文件(PF:PF00046)。对候选基因进行验证分析,利用 NCBI-CDD (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>)预测 Homeodomain 蛋白结构域,剔除无典型结构域、结构不完整和冗余的序列,最终确定梭梭 WOX 转录因子家族成员。此外,使用 TBtools 软件提取梭梭基因组注释文件中的 WOX 基因家族位置信息。然后通过 MEME(<http://meme-suite.org/tools/meme>)对 WOX 基因家族成员进行保守基序分析,最终使用 TBtools 对基因结构及保守基序的分析结果进行可视化展示。

使用 TBtools 软件提取 *HaWOXs* 基因家族上游 2000 bp 的启动子。通过在线网站 Plant Care(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtool-s/plantcare/html/>)分析梭梭 *HaWOXs* 的顺式作用元件。

为了更进一步明确 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因的功能,选择与已经报道且调控机制相关的氨基酸序列,同时使用 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)编码的氨基酸进行 BLASTP 比对(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>),并选择相似度高的植物氨基酸序列,采用 MEGA 11 软件和邻近法构建系统发育进化树,参数为 1000 次重复。

1.2.2 梭梭幼苗培养及模拟非生物胁迫和激素处理 梭梭种子在 75% 酒精中消毒 3 min 后用无菌水洗涤 3 次,再用次氯酸钠溶液消毒 13 min,用无菌水冲洗数次直至水面清澈。接种在 MS(murashige-skoog)培养基(0.1732 g MS+0.8 g 蔗糖+0.24 g 琼脂+40 mL ddH₂O,北京西美杰科技有限公司,北京)上,培养箱温度为 26 °C,16 h 光/8 h 暗循环,培养 30 d 获得梭梭幼苗。

模拟干旱、高盐、低温、高温非生物胁迫处理:将梭梭幼苗分别浸没于 20% 聚乙二醇(polyethylene glycol, PEG) 6000 溶液、200 mmol·L⁻¹ NaCl 溶液,将梭梭幼苗分别放置于 4 和 50 °C 的人工气候培养箱中,分别在处理的第 0、1、3、6、12、24 和 48 h 时,对梭梭幼苗的根和同化枝分别取样,每个时间段进行 3 个生物学重复采样,液氮速冻,于 -80 °C 保存。

模拟吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、脱落酸(abscisic acid, ABA)、水杨酸(salicylic acid, SA)和茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)激素诱导:将梭梭幼苗浸泡在 20 μmol·L⁻¹ IAA、100 μmol·L⁻¹ ABA、50 mg·L⁻¹ SA 和 50 mg·L⁻¹ MeJA 溶液中,覆盖保鲜膜后置于 28 °C 光照培养箱中,在处理的第 0、1、3、6、12、24、48 h 时,对梭梭幼苗的根和同化枝分别取样,每个时间段进行 3 个生物学重复采样,液氮速冻,于 -80 °C 保存。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 分析 使用植物多糖多酚总 RNA 提取试剂盒(DP441 天根生化科技有限公司)提取梭梭总 RNA。随后,通过琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop(赛默飞世尔有限公司)微量紫外/可见光分光光度计分析 RNA 的质量。参照 TransScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix 试剂盒(北京全式金生物科技有限公司)说明书,在 20 μL 反应液中将 2 μg 总 RNA 反转录为 cDNA。

设计 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 的实时荧光定量引物(表 1),分析梭梭不同组织(根、同化枝、花、种子)和模拟非生物胁迫处理(干旱、盐、高温、低温)以及不同激素(IAA、ABA、SA 和 MeJA)处理后的基因表达模式,以梭梭 *Ha18SrRNA* 为内参基因,用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达量^[18]。

表 1 本研究所用引物

Table 1 Primers used in this study

基因 Gene	正向引物 Forward primer (5'→3')	反向引物 Reverse primer (5'→3')	用途 Usage
<i>HaWOX29</i>	ATGATGATGAACAAACGAAGGTTTCAC	TCAGGACCAAAAAGTCCCACCA	克隆 Cloning
<i>HaWOX54</i>	ATGCAAGGTGGTGAAGATAATACAGTG	TTACATTTGATAAAAAGTCAGCCCAATCCA	克隆 Cloning
<i>Ha18SrRNA</i>	CTCTGCCCGTTGCTCTGATGAT	CCTTGGATGTGGTAGCCGTTTC	qRT-PCR
<i>HaWOX29</i>	AGCTCGTTACAAGTCTAAGCAAC	AGATCCTCGAATCGTTTAGCAAG	qRT-PCR
<i>HaWOX54</i>	CCCAACAAATGCCTCCACAACA	TACTGCCCTCACTCTTGCTCT	qRT-PCR
pCAMBIA3301- <i>HaWOX29</i>	TGACCATGGTAGATCTATGATGAT- GAACAAACGAAGGTTCACTG	ATTCGAGCTGGTCACCTCAGGAC- CAAAAGTCCCACCATTG	同源重组 Homologous recombination
pCAMBIA3301- <i>HaWOX54</i>	TGACCATGGTAGATCTATGCAAGGTG- GTGAAGATAATACAGTGG	ATTCGAGCTGGTCACCTTACATTTGATA- AAAGTCAGCCCAATCCATACT	同源重组 Homologous recombination
PGBKT7- <i>HaWOX29</i>	CATGGAGGCCGAATTCATGATGATGAA- CAAACGAAGGTTCACTG	GCAGGTCGACGGATCCTCAGGAC- CAAAAGTCCCACCATTG	同源重组 Homologous recombination
PGBKT7- <i>HaWOX54</i>	CATGGAGGCCGAATTCATGCAAGGTG- GTGAAGATAATACAGT	GCAGGTCGACGGATCCTTACATTTGATA- AAAGTCAGCCCAATCCATACT	同源重组 Homologous recombination

1.2.4 基因克隆及植物过表达载体的构建 以梭梭 cDNA 为模板,通过 SnapGene 设计特异性克隆引物(表 1),进行 PCR 扩增,将目的片段回收后送至生工生物工程有限公司(上海)进行测序。

设计带有 pCAMBIA3301 同源臂的 *HaWOX29*、*HaWOX54* 引物,以梭梭 cDNA 为模板,克隆目的片段,同源臂引物序列见表 1; *Bst*E II、*Bgl* II 酶切 pCAMBIA3301 切去 *GUS* 基因后,回收获得线性化载体,将线性化后的载体与目的片段进行无缝克隆(图 1),详细步骤见无缝克隆试剂盒-SC612(金沙生物科技有限公司),转入 DH5 α 大肠感受态中,菌液 PCR 验证后送测,测序无误后提取 pCAMBIA3301-*HaWOX29*、pCAMBIA3301-*HaWOX54* 质粒转化 GV3101 农杆菌,转化详细步骤参考北京酷来博 GV1301 感受态细胞转化方法^[16]。

设计带有 pGBKT7 同源臂引物(表 1),克隆含有 pGBKT7-*HaWOX29*、pGBKT7-*HaWOX54* 的目的片段;选择 *Bam*H I、*Eco*R I 两个酶切位点对 pGBKT7 进行双酶切,酶切产物回收详细步骤见 DNA 产物纯化试剂盒(D2111-02,广州)说明书,将目的片段与线性化载体连接,热激法转入 AH109 酵母感受态中,观察在缺陷培养基(0.7 g SD/-Ade/-His/-Trp+25 μ L X- α -Gal)上的生长状况,分析转录自激活活性。

1.2.5 农杆菌转化梭梭种胚 将农杆菌培养至对数生长期($OD_{600}=1.0$),收集菌体,MS 液体培养基(1.732 g MS+8 g 蔗糖+400 mL 无菌水)重悬至菌液浓度 OD_{600} 为 0.6~0.7,加入等体积的 150 μ mol·L⁻¹ 乙酰丁香酮。放入黑暗环境 2 h 即可得到配置好的侵染液。采用本实验室建立的梭梭种胚侵染方法进行农杆菌侵染,将清洗消毒好的梭梭种胚进行划伤处理,再将种胚放入农杆菌菌液,220 r·min⁻¹,侵染 10 min 后取出,无菌滤纸吸干表面的菌液,黑暗共培养 2 d,添加头孢霉素延迟筛选 28 d 后,再添加草丁膦(phosphinothricin)抗性筛选 40 d 后获得 PPT 抗性植株,共进行 3 次转化。将得到的过表达 *HaWOX29*、*HaWOX54* 基因的梭梭植株与转 pCAMBIA3301 空载体梭梭植株相比较,转基因和转空载体都随机选取 3 个植株,拍照记录。

将根部表面洗净,用镊子将根部完全展开放入扫描仪托盘中,用植物根系扫描仪(EPSONV700 PHOTO,上海)扫描成图像,最后用根系分析软件(WinRHIZO 2012)对图像进行分析计算。可得到总根长(通过图像分析软件对根系图像中的所有根段长度进行累加得到的)、总根表面积(通过计算根系图像中每个根段的表面积并累加得到的)、根体积(通过计算根系图像中每个根段的体积并累加得到的)、根平均直径(所有根段直径的平均值)、分支数(侧根和细根的分支数量)、根尖数(根系中活跃生长的根尖数量)等指标^[18]。

1.3 数据处理

采用 Excel 2007 计算出平均值和标准误,使用 SPSS 27.0.1 软件进行显著性水平的判断依据为: $P<0.05$ 为

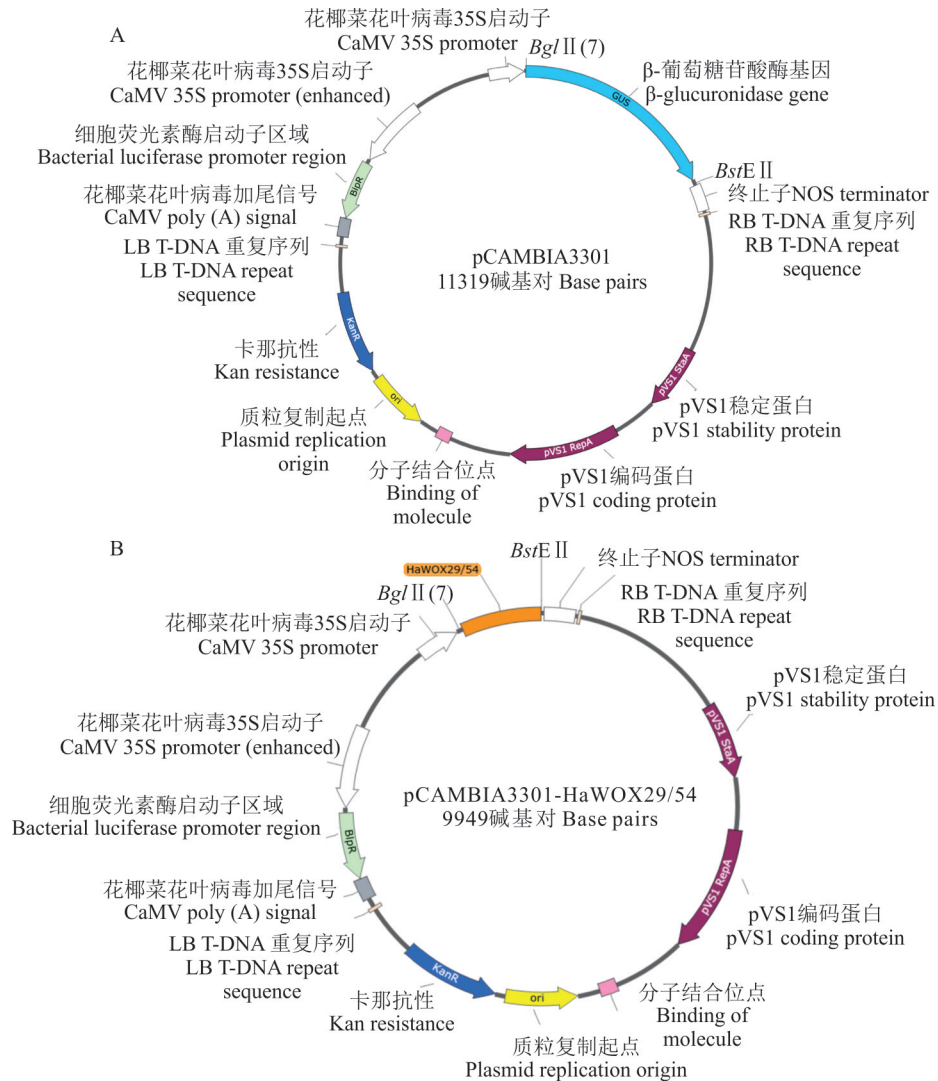


图1 植物过表达载体构建

Fig. 1 Construction of plant overexpression vector

A: pCAMBIA3301 载体图谱 Map of the pCAMBIA3301 vector; B: pCAMBIA3301-35s-*HaWOX29/54* 植物过表达载体图谱 Map of the pCAMBIA3301-35s-*HaWOX29/54* plant overexpression vector.

显著, $P > 0.05$ 为不显著, $P < 0.01$ 为极显著, 进一步明确转 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因植株与转空载体对照植株之间的表型差异。采用 GraphPad Prism 9 和 Photoshop 2023 软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 梭梭 WOX 转录因子家族生物信息学分析

2.1.1 梭梭 WOX 转录因子家族鉴定及染色体定位

基于全基因组数据, 成功提取到梭梭 64 个 WOX 转录因子家族成员, 使用 TBtools 软件将染色体定位可视化, 依次排列进行命名为 *HaWOX1*~64 (图 2A)。发现以上 *HaWOXs* 基因不均匀地分布在梭梭的 9 条染色体上, 每条染色体所包含的 *HaWOXs* 基因数量也各不相同, 每条染色体上的颜色越深代表此处的基因密集度越高。从中发现 Hic-asm-3 中含有 *HaWOXs* 基因数量最少, 只有 3 个; 而 Hic-asm-1 中含有 *HaWOXs* 基因数量最多, 达到 12 个。

2.1.2 梭梭 *HaWOXs* 基因家族保守基序和基因结构分析

对梭梭 *HaWOXs* 基因家族进行保守基序和基因结构分析 (图 2B)。梭梭 *HaWOXs* 基因家族成员含有 8 个保守基序, 除 *HaWOX6*、*HaWOX8*、*HaWOX25*、*HaWOX34* 和 *HaWOX62* 只有一个 Motif, 其他基因的 Motif 分布的数量和位置大致相同。这也证实了 *HaWOXs*

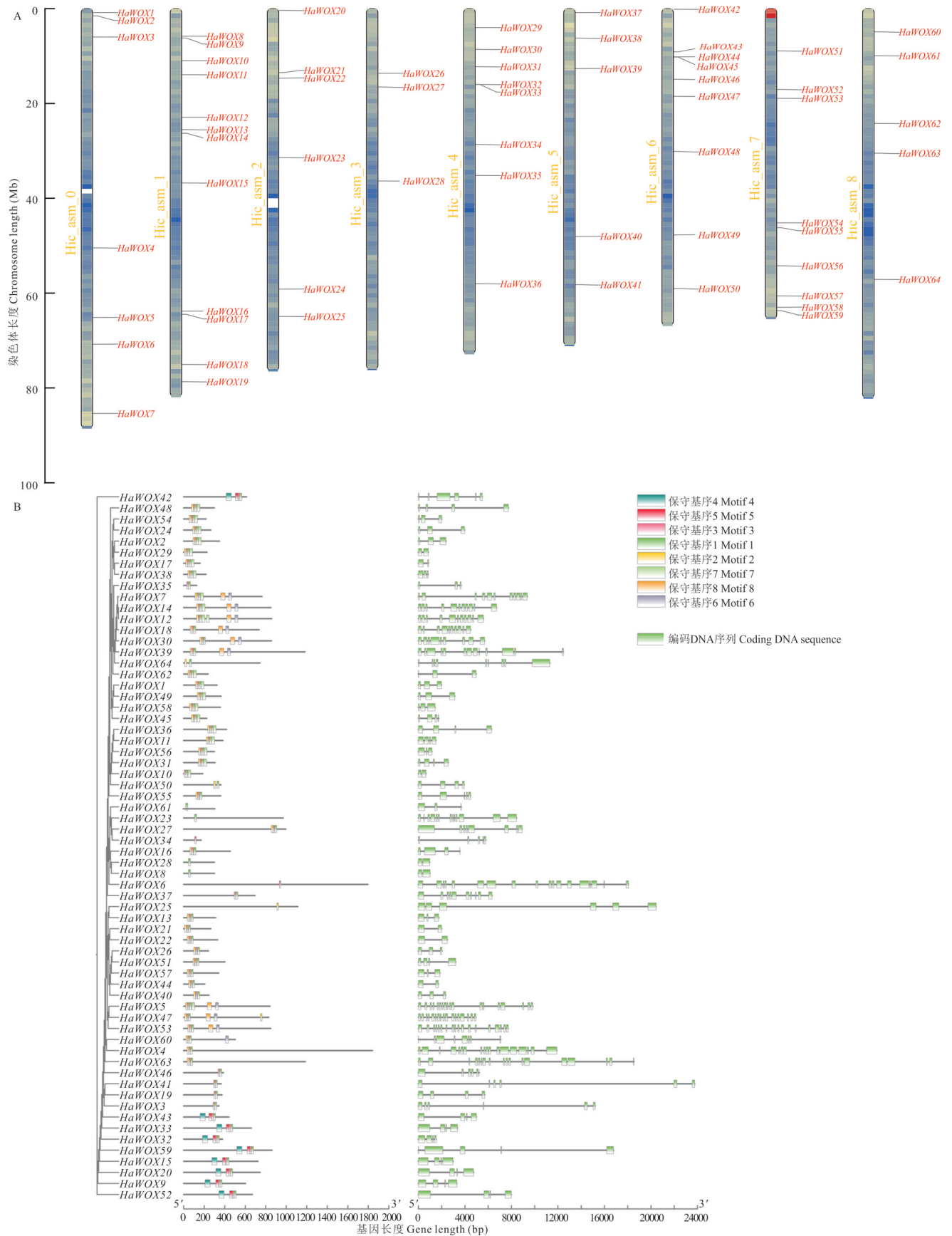


图 2 梭梭 WOX 家族成员生物信息学分析

Fig. 2 Bioinformatics analysis of the WOX family members in *H. ammodendron*

A: 梭梭 WOX 家族染色体定位 Chromosomal localization of the *H. ammodendron* WOX family; B: 基因结构和保守基序分析 Gene structure and conserved motif analysis.

基因在演化过程中保持了相对的保守性;发现各成员间 mRNA 序列长度差异较大,梭梭 *HaWOXs* 基因家族成员的外显子数均在两个以上,而 *HaWOX4*、*HaWOX6*、*HaWOX47*、*HaWOX48*、*HaWOX53*、*HaWOX54* 和 *HaWOX63* 含有外显子数超过 10 个,说明这些基因结构较为复杂。

2.2 梭梭 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因的克隆及蛋白系统进化树分析

通过 RT-PCR 克隆和验证, *HaWOX29* 基因的编码序列 (coding sequence, CDS) 全长为 678 bp, *HaWOX54* 基因的 CDS 全长为 654 bp (图 3A)。通过 NCBI Blast 比对, 选取甜菜 (*Beta vulgaris* subsp. *vulgaris*)、藜麦 (*Chenopodium quinoa*)、苋 (*Amaranthus tricolor*)、紫草 (*Lithospermum erythrorhizon*)、菠菜 (*Spinacia oleracea*) 等以及模式植物拟南芥构建蛋白系统进化树, 结果显示 (图 3B), *HaWOX29* 与甜菜 (KMT20244.1)、苋 (XP_057531409.1) 和菠菜 (XP_021846961.2) 处于同一分支, 亲缘关系较近; *HaWOX54* 与藜麦 (XP_02176894.1)、甜菜 (KMT08693.1) 和菠菜 (XP_021849935.1) 处于同一分支, 亲缘关系较近。而 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 与拟南芥、肥皂草、辣椒等其他物种的亲缘关系较远。

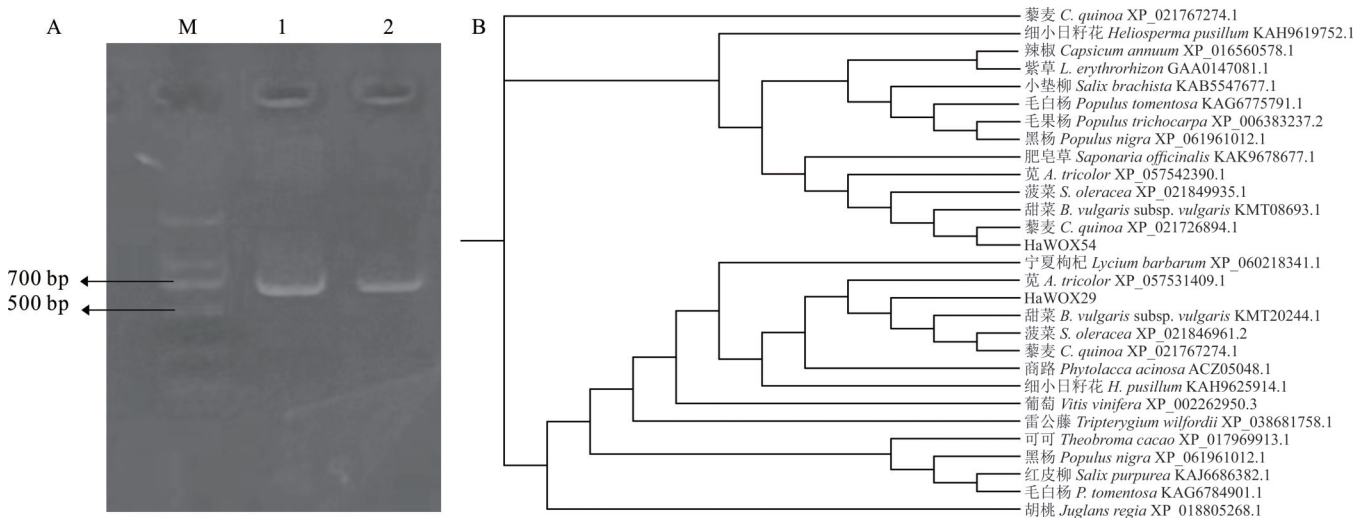


图 3 梭梭 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因克隆及与其他物种蛋白构建的发育树

Fig. 3 Cloning of the *HaWOX29* and *HaWOX54* genes in *H. ammodendron* and constructon of phylogenetic tree with proteins from other species

M: 2K DNA 标记 2K DNA Marker; 1: *HaWOX29*, 678 bp; 2: *HaWOX54*, 654 bp; B: *HaWOXs* 蛋白系统发育树 Phylogenetic tree of *HaWOXs* proteins.

2.3 梭梭 *HaWOXs* 基因启动子顺式作用元件分析

根据预测结果 (表 2), *HaWOX29* 启动子元件含有参与调控分生组织和响应干旱的顺式作用元件; *HaWOX54* 启动子元件含有参与茉莉酸甲酯和脱落酸响应相关的顺式作用元件。由此可以表明 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因启动子预测到含有分生组织和植物相关激素的顺式作用元件, 可能参与到梭梭根的发育过程。

2.4 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因表达模式分析

通过 qRT-PCR 技术对梭梭不同组织 (种子、花、同化枝、根) 的基因表达模式分析发现, *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因在根组织中呈显著的组织特异性表达, 表明这两个基因可能在梭梭根系发育中发挥作用 (图 4A)。

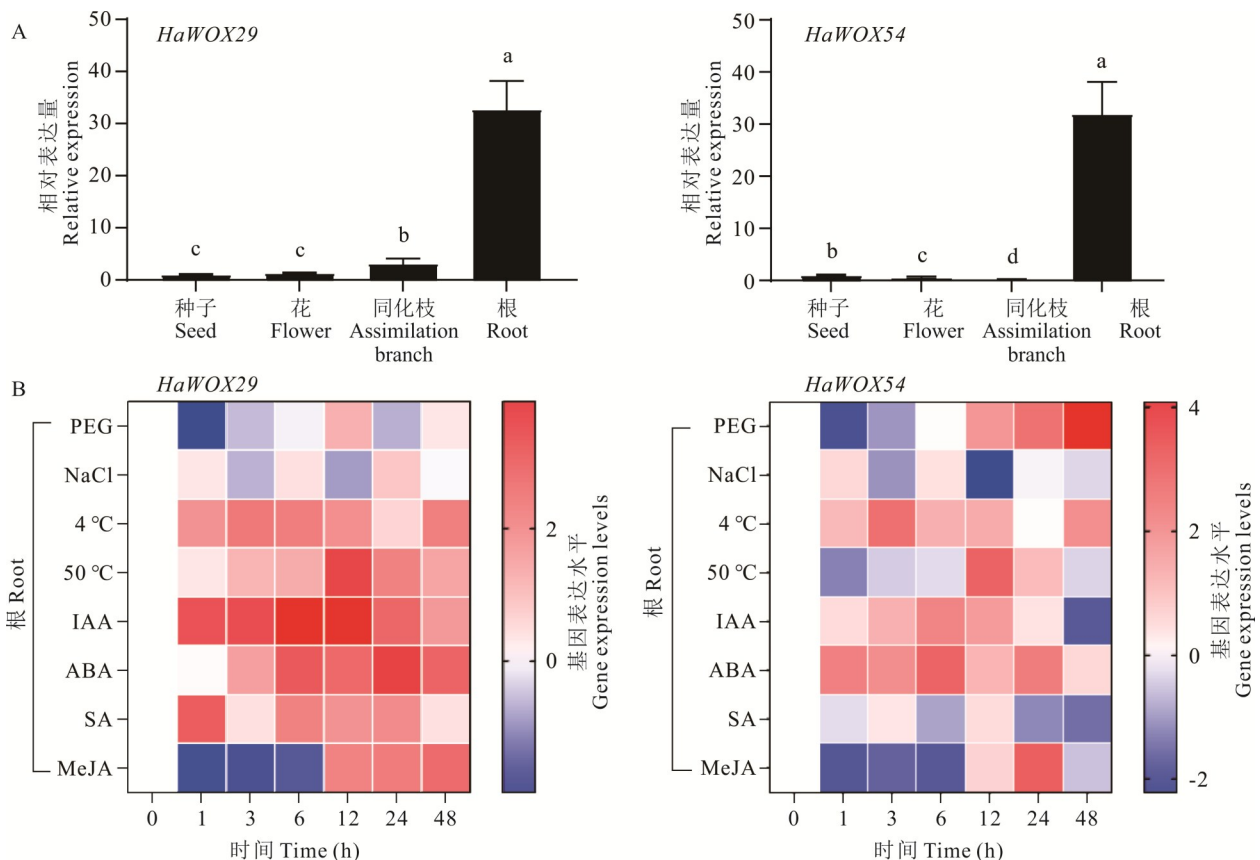
结合启动子元件预测结果, 分析发现 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因的表达受到多种环境胁迫和激素信号的调控。通过 qPCR 分析, 结果表明 (图 4B): 干旱胁迫处理下第 3 和 12 h *HaWOX29* 基因表达量先上升后下降, *HaWOX54* 基因表达量随着处理时间逐渐上升; 在盐胁迫处理下 *HaWOX29* 基因表达量在第 3 和 12 h 下降, 在其

表 2 启动子顺式作用元件预测

Table 2 Prediction of *cis*-acting elements in promoters

基因名称 Gene name	元件名称 Component name	核心序列 Core sequence	元件位置 Component location	参考物种 Reference species	元件功能 Component function
<i>HaWOX29</i>	GATA 基序 GATA-motif	AAGGATAAGG	451(-)	马铃薯 <i>Solanum tuberosum</i>	参与部分光响应元件 Part of a light responsive element
	CAT 框 CAT-box	GCCACT	98(-)	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	调控分生组织元件 Element related to meristem expression
	MYB 结合位点 MYB binding site	CAACTG	282(+)	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	参与干旱响应元件 Participate in drought response elements
<i>HaWOX54</i>	TGACG 基序 TGACG-motif	TGACG	466(-)	大麦 <i>H. vulgare</i>	参与茉莉酸甲酯响应元件 Element involved in the MeJA-responsiveness
	CGTCA 基序 CGTCA-motif	CGTCA	466(+)	大麦 <i>H. vulgare</i>	参与茉莉酸甲酯响应元件 Element involved in the MeJA-responsiveness
	ABA 反应元件 ABA responsive element	ACGTG	613(+)	拟南芥 <i>A. thaliana</i>	参与脱落酸反应 Involved in the abscisic acid responsiveness

+: 正义链 Positive-sense strand; -: 反义链 Antisense strand.

图 4 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因表达模式分析Fig. 4 Analysis of the expression patterns of *HaWOX29* and *HaWOX54* genes

A: *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 在梭梭不同组织中的表达量 Expression levels of *HaWOX29* and *HaWOX54* in different tissues of the *H. ammodendron*; B: *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 在逆境胁迫和激素处理下的表达 Expression of *HaWOX29* and *HaWOX54* under stress and hormone treatment; PEG: 聚乙二醇 Polyethylene glycol; IAA: 吲哚乙酸 Indole-3-acetic acid; ABA: 脱落酸 Abscisic acid; SA: 水杨酸 Salicylic acid; MeJA: 茉莉酸甲酯 Methyl jasmonate.

他处理时间段则上升,而 *HaWOX54* 基因在第 3、12 和 48 h 表达量下降,其余处理时间的表达量则上升,这一结果表明 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因可能参与梭梭根系对逆境胁迫的响应机制。相反,在低温处理下, *HaWOX29*

和 *HaWOX54* 基因的表达量显著上调,并在处理后第 3 h 达到峰值,这可能与低温条件下根系的适应性调节有关。在高温处理下, *HaWOX29* 基因上调表达,并在处理后第 12 h 达到最大值,而 *HaWOX54* 基因表达量为先上升后下降,表明高温可能通过阶段性激活这两个基因来调节根系的生理响应。

此外, *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因对激素处理也表现出不同的响应模式:在 IAA 和 ABA 处理下, *HaWOX29* 基因的表达量分别在处理后第 6 和 24 h 上升并达到峰值,而 *HaWOX54* 基因的表达量则在处理后第 6 h 迅速上升并达到峰值(图 4B);在 SA 处理下, *HaWOX29* 基因的表达量在处理的第 1 h 达到峰值,而 *HaWOX54* 基因先上调后下调表达,这表明 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 可能通过响应这些激素信号来调节根系的生长和发育。然而,在 MeJA 处理下,两个基因的表达模式更为复杂:在处理后第 6 h 之前,基因表达量呈下降趋势,而在第 6 h 之后则开始上升,表明 MeJA 可能对这两个基因的表达具有双向调节作用。综上所述, *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因在梭梭根系中具有较高的表达水平,并且其表达受到多种环境胁迫和激素信号的调控。

2.5 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 具有转录自激活活性

转录激活活性验证显示 pGBKT7-*HaWOX29* 和 pGBKT7-*HaWOX54* 可以单独激活下游基因转录,在 SD/-Ade/-His/-Trp+X- α -Gal 培养基上正常生长, β -半乳糖苷酶分析显蓝色(图 5),说明 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 蛋白具有转录自激活活性。

2.6 对梭梭中过表达 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因进行功能分析

2.6.1 pCAMBIA3301 植物表达载体的构建

通过线性化后的 pCAMBIA3301 载体与目的基因进行连接,利用同源重组技术构建 pCAMBIA3301-*HaWOX29*、pCAMBIA3301-*HaWOX54* 重组植物表达载体,采用 3 对引物对其进行验证,琼脂糖凝胶电泳显示的条带大小均正确(图 6)。此外,公司的测序结果与原始序列结果一致,说明成功构建植物过表达载体。

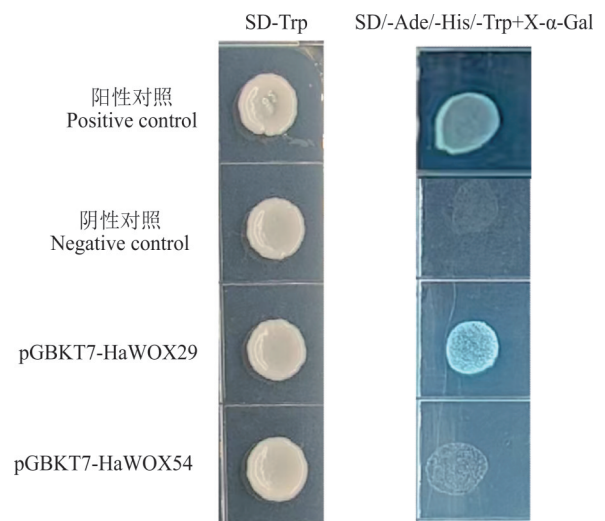


图 5 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 蛋白转录自激活活性验证
Fig. 5 Verification of the transcriptional self-activation activity of *HaWOX29* and *HaWOX54* proteins

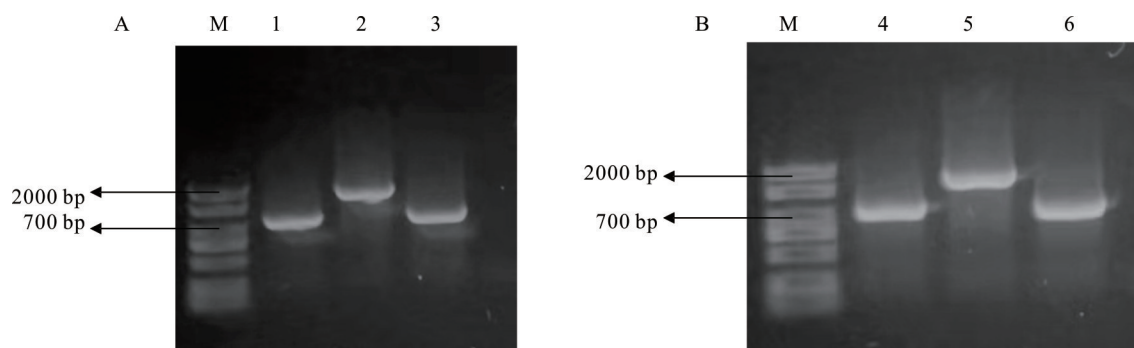


图 6 菌液 PCR 验证

Fig. 6 Verification by PCR of the fungal liquid

A: pCAMBIA3301-*HaWOX29* 菌液验证 Verification of the pCAMBIA3301-*HaWOX29* bacterial liquid; B: pCAMBIA3301-*HaWOX54* 菌液验证 Verification of the pCAMBIA3301-*HaWOX54* bacterial liquid; 1: *HaWOX29*-F, PolyA-R; 2, 5: 35s-F, 35s-R; 3, 6: 草丁膦 PPT-F, 草丁膦 PPT-R; 4: *HaWOX54*-F, PolyA-R.

2.6.2 梭梭种胚遗传转化 利用热激法^[16]转化农杆菌 GV3101,采用“农杆菌介导的梭梭种子遗传转化体系构建的方法”(专利号:2024107566095)^[17]通过农杆菌介导法侵染划伤后的梭梭种子,观察到未侵染有伤口的梭梭种子不生根,有伤口的梭梭种子在侵染的一段时间后开始发芽并生根,说明农杆菌对梭梭生根有刺激作用。农杆菌介导法侵染过程如下(图 7),将菌液 OD₆₀₀ 值调节至 0.6~0.7,加入 150 mmol·L⁻¹ 的乙酰丁香酮,黑暗条件下放置 2 h;将被无菌锯条划伤后的种胚放入配置好的菌液中侵染 10 min;然后使用无菌滤纸吸去种胚上的菌液,黑暗条件下 MS 培养基共培养 2 d、然后进入 MS+250 mg·L⁻¹ 头孢霉素(cephalosporin)延迟筛选培养基中 30 d,最后经过 MS+1 mg·L⁻¹ PPT 抗性筛选培养基 40 d 后,获得过表达植株,在此期间需要观察农杆菌污染情况,及时更换新的培养基。

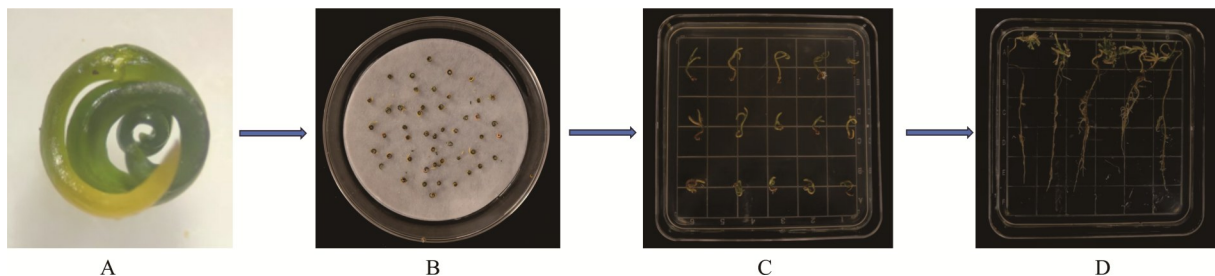


图 7 农杆菌介导梭梭种胚侵染过程

Fig. 7 The process of *Agrobacterium*-mediated transformation in *H. ammodendron* embryos

A: 梭梭种胚划伤处理 Treatment of injuries to the seeds of the *H. ammodendron* embryo; B: 共培养阶段 Co-culture stage; C: 头孢霉素延迟筛选阶段 Delay screening phase for cephalosporin; D: 除草剂抗性筛选阶段 Herbicide resistance screening phase.

2.6.3 表型分析和根系指标分析 PPT 抗性筛选结束后,分别对 pCAMBIA3301 空载、转基因梭梭进行取样拍照,每组设有 3 个生物学重复,结果表明 OE_*HaWOX29* 基因与空载体对照组相比主要表现在主根伸长(图 8A),OE_*HaWOX54* 基因与空载体对照组相比主根和侧根数明显增多(图 8B)。通过 WinRHIZO 根系扫描仪分析,结果表明 OE_*HaWOX29* 基因梭梭苗的平均主根根长为(12.19±1.56) cm,分支数为(75.33±46.36)个,而空载对照组平均主根根长为(4.90±0.96) cm,分支数为(59.33±11.37)个,OE_*HaWOX29* 基因梭梭苗的根长和分支数分别是转空载体对照组的 2.49 和 1.27 倍;OE_*HaWOX54* 基因梭梭苗平均主根根长为(10.17±1.26) cm,分支数为(257.33±48.60)个,分别是空载体的 2.08 和 4.34 倍(表 3)。

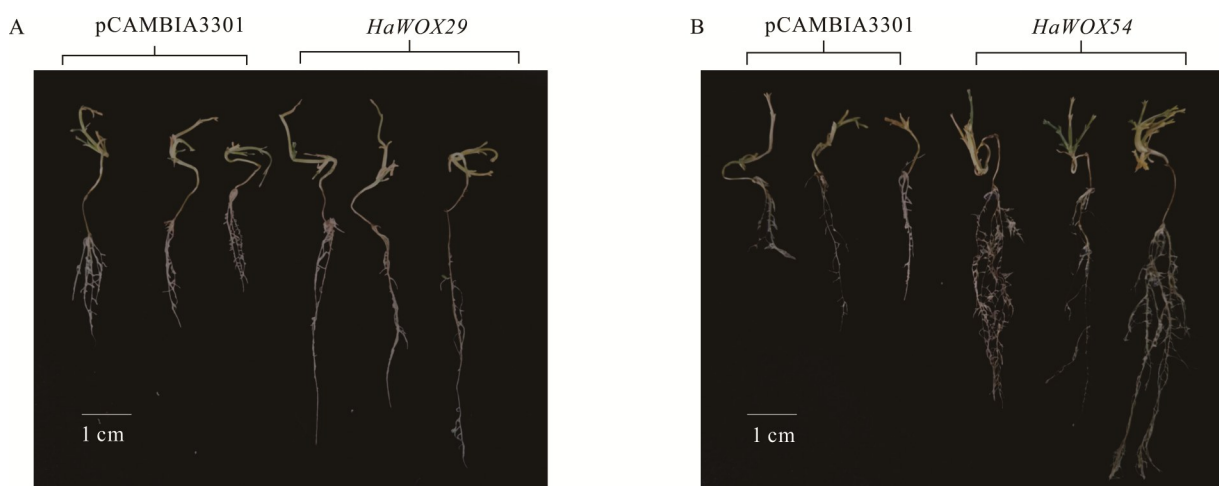


图 8 梭梭 OE_*HaWOXs* 基因植株表型

Fig. 8 Phenotypes of OE_*HaWOXs* transgenic *H. ammodendron* plants

表3 梭梭根系指标

Table 3 Root system indicators of *H. ammodendron*

株系 Plants	总根长 Total root length (cm)	表面积 Surface area (cm ²)	根直径 Root diameter (mm)	根体积 Root volume (mm ²)	根尖数 Number of root tips	分支数 Number of branches
<i>pCAMBIA3301</i>	4.90±0.96c	1.99±0.68c	0.95±0.21b	0.47±0.12c	31.00±11.79c	59.33±11.37c
<i>OE-HaWOX29</i>	12.19±1.56a	2.74±0.68b	1.00±0.19a	1.18±0.30a	44.33±12.86b	75.33±46.36b
<i>OE-HaWOX54</i>	10.17±1.26b	7.63±1.84a	0.88±0.18c	0.90±0.12b	162.00±68.43a	257.33±48.60a

不同小写字母表示不同基因型间差异显著 ($P < 0.05$)。Different lowercase letters indicate significant differences among different genotypes ($P < 0.05$).

为进一步研究过表达植株参与根的生长发育中的表达模式,扫描结束后,提取过表达植株总 RNA,反转录 cDNA 进行分子检测和 qRT-PCR 验证,结果显示在以过表达植株为模板成功克隆出的 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 中,条带大小均正确(图 9A);*OE-HaWOX29* 和 *OE-HaWOX54* 在根中的表达量明显高于转空载对照组(图 9B)。

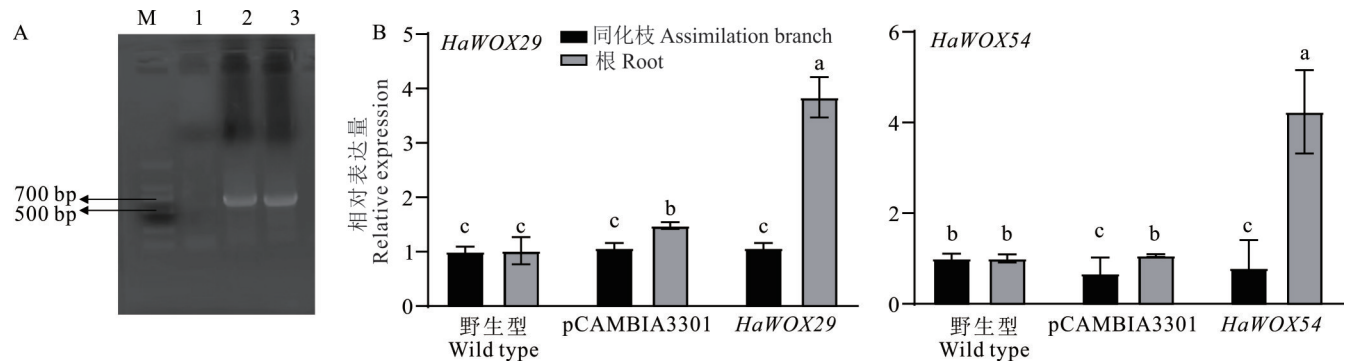


图9 转基因梭梭苗分子鉴定和 qRT-PCR 验证

Fig. 9 Molecular identification of transgenic *H. ammodendron* seedlings and qRT-PCR validation

A: *OE-HaWOXs* 基因分子鉴定 Molecular identification of the *OE-HaWOXs* gene; 1: 水 water; 2: *OE-HaWOX29*; 3: *OE-HaWOX54*; B: qRT-PCR 验证 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 的基因表达量 qRT-PCR validation of the expression levels of *HaWOX29* and *HaWOX54* genes. 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

3 讨论

WOX 是一类植物特有的转录因子家族,参与植物胚胎和体胚发育、愈伤组织的形成与维持、根的发育以及茎尖分生组织 (shoot apical meristem, SAM) 的形成等重要生理过程^[19-21]。目前,WOX 家族已经在白菜 (*Brassica rapa*)^[22]、紫薇 (*Lagerstroemia indica*)^[23]、甘蓝型油菜 (*Brassica napus*)^[24] 等各类植物中陆续得到鉴定,但梭梭 WOX 基因家族相关研究还未见报道。本研究鉴定出梭梭 WOX 家族的 64 个成员,随机分布在 9 条染色体上,并根据在染色体上的排列顺序进行命名;在对保守结构域和基因结构分析中发现处于同一进化分支的 WOX 成员其 Motif 组成、排列顺序和基因结构基本相似,这表明梭梭 WOX 家族在进化过程中高度保守。

根系作为高等植物的关键营养器官,其生长发育在很大程度上决定了植物对水分和养分的吸收效率,以及对干旱、盐分等非生物胁迫的耐受能力,这些都对植物的生命活动至关重要。与此同时 WOX 基因家族也参与植物对非生物胁迫 (如干旱、盐、冷) 的响应^[25]。本研究通过分析 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因在逆境胁迫和激素处理下的表达模式,揭示了其在根系发育和非生物胁迫响应中的潜在调控功能。其中 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因在低温胁迫下均呈上调表达,这与甘蓝型油菜中 *BnWOX* 基因在冷胁迫下表达显著升高的结果一致^[24]。然而,在干旱和盐胁迫下,*HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因下调表达;在高温胁迫初期,*HaWOX29* 上调表达而 *HaWOX54* 下调表达,提示同一家族不同基因可能通过差异调控适应复杂环境变化。在 IAA、ABA、SA 等激素

处理下 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因上调表达, 这与 *WOX* 基因参与激素信号交叉调控的结论相符^[26]; 而本研究中 MeJA 激素处理下 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因表达量先降后升, 可能反映了茉莉酸信号在胁迫后期来调节 *WOX* 基因的表达从而促进生长和提高防御能力。这些发现为进一步阐明 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 在梭梭根系发育中的分子机制提供了重要线索。

农杆菌介导的遗传转化技术作为植物基因工程领域的重要突破, 现已成为作物性状定向改良的核心生物技术手段。该体系通过 T-DNA 精准转移机制, 能够实现外源基因的稳定整合与高效表达, 为抗逆性增强、品质优化及代谢通路改造等精准育种目标提供了强有力的技术支撑^[27]。本研究通过农杆菌介导的梭梭种子遗传转化体系^[17], 在不经愈伤组织培育的情况下, 仅用 70 d 就获得了过表达植株, 根生长表型明显, 可以用于验证基因功能。这与传统的遗传转化方法相比, 大大缩短了转化周期。其结果表明, OE_ *HaWOX29* 植株主根显著伸长, 与拟南芥中 *WOX11/12* 促进主根延伸的表型一致, 后者通过激活细胞分裂素信号和维持根尖分生组织活性实现根系伸长^[28], 但 *HaWOX29* 基因调控根生长发育的作用机制是否与拟南芥 *WOX11/12* 基因调控一致还需要进一步研究; 而 OE_ *HaWOX54* 植株在主根伸长和侧根数量上的双重增强, 这一现象在小叶杨 (*Populus simonii*) 中 *PsWOX11* 基因过表达促进了杨树侧根的长度和直径增加^[29] 以及水稻中 *OsWOX10* 基因促进初生根的分化^[30] 呈现相似的作用。暗示其可能整合了分生组织活性和侧根原基起始的双重调控。

综上所述, 本研究不仅验证了 *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因在梭梭根系生长发育中的功能, 还为研究 *WOX* 家族在根系生长发育中的分子机制提供方向。在后续研究中可以进一步研究其上游互作蛋白和下游靶基因, 从而更全面地理解 *HaWOXs* 基因在梭梭根发育中的作用机制。

4 结论

本研究筛选出与根发育相关的 2 个梭梭 *WOX* 转录因子家族基因, 分别是 *HaWOX29* 和 *HaWOX54*。研究发现, *HaWOX29* 和 *HaWOX54* 基因在低温、IAA、SA 和 ABA 激素处理下均表现出上调表达, 并且具有转录自激活活性。根据表型和根系指标分析, 与空载对照组相比, OE_ *HaWOX29* 显著促进主根的伸长, 侧根数量也有增加; 而 OE_ *HaWOX54* 则明显增强主根和侧根的生长。综上所述 *HaWOX29* 基因促进主根生长更为明显, *HaWOX54* 基因促进侧根生长更为明显。

参考文献 References:

- [1] Song J, Feng G, Tian C Y, *et al.* Osmotic adjustment traits of *Suaeda physophora*, *Haloxylon ammodendron* and *Haloxylon persicum* in field or controlled conditions. *Plant Science*, 2006, 170(1): 113–119.
- [2] Zhao X J, Liu Y. The ecological value and economic value of honeycomb juniper. *Inner Mongolia Forestry*, 2003(3): 39.
赵小军, 刘宇. 梭梭的生态价值与经济价值. *内蒙古林业*, 2003(3): 39.
- [3] Li Y, Xu H. Water and carbon balances of *Haloxylon ammodendron*: intergated study at physiological, plant abd community level. *Arid Land Geography*, 2008, 31(3): 313–323.
李彦, 许皓. 梭梭对降水的响应与适应机制——生理、个体与群落水平碳水平衡的整合研究. *干旱区地理*, 2008, 31(3): 313–323.
- [4] Huang Y, Guo Y H. Root distribution characteristics of *Haloxylon ammodendron* (Mey.) Bunge plantation. *Acta Agrestia Sinica*, 2009, 17(1): 84–87.
黄勇, 郭玉海. 人工梭梭林根系的分布特征. *草地学报*, 2009, 17(1): 84–87.
- [5] Sheng J H, Qiao Y X, Liu H Y, *et al.* A study on the root system of *Haloxylon ammodendron* (C. A. Mey.) Bunge. *Acta Agrestia Sinica*, 2004, 12(2): 91–94.
盛晋华, 乔永祥, 刘宏义, 等. 梭梭根系的研究. *草地学报*, 2004, 12(2): 91–94.
- [6] Chen Y C, Li M, Wu M C, *et al.* Structure and composition of roots in two species of *Haloxylon* Bunge. *Plant Physiology Journal*, 2013, 49(11): 1273–1276.
陈虞超, 李苗, 吴明朝, 等. 梭梭属两种植物的根结构和成分. *植物生理学报*, 2013, 49(11): 1273–1276.
- [7] Zhang H, Sha R T Y, Xing Y K, *et al.* Research and application prospects of artificial control techniques for *Cistanche deserticola* parasitism. *Inner Mongolia Forestry*, 2024(9): 43–46.

- 张慧, 莎仁图雅, 邢钰坤, 等. 肉苁蓉人工控制寄生技术研究及应用展望. 内蒙古林业, 2024(9): 43—46.
- [8] Zhang Z, Meng J P, Song Z Y. Research on cutting propagation techniques for five desert plants. *Journal of Green Science and Technology*, 2015(7): 85—86.
张祯, 孟军萍, 宋志云. 5种沙生植物扦插育苗技术研究. 绿色科技, 2015(7): 85—86.
- [9] Wang P, Man L J, Ma L, *et al.* *In vitro* regeneration of *Haloxylon ammodendron*. *Notulae Scientia Biologicae*, 2023, 15(2): 11585.
- [10] Zhang T, Ge Y C, Cai G, *et al.* WOX-ARF modules initiate different types of roots. *Cell Reports*, 2023, 42(8): 112966.
- [11] Chen X, Hou Y, Cao Y, *et al.* A comprehensive identification and expression analysis of the WUSCHEL homeobox-containing protein family reveals their special role in development and abiotic stress response in *Zea mays* L. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(1): 441.
- [12] Chen R R, Xu N, Yu B, *et al.* The WUSCHEL-related homeobox transcription factor *OsWOX4* controls the primary root elongation by activating *OsAUX1* in rice. *Plant Science*, 2020, 298: 110575.
- [13] Li Z L. Study on regulation of adventitious root formation by *BpWOX11* gene in *Betula platyphylla*. Harbin: Northeast Forestry University, 2023.
李政纶. 白桦 *BpWOX11* 基因调控不定根发生的研究. 哈尔滨: 东北林业大学, 2023.
- [14] Wang L Q, Li Z, Wen S S, *et al.* WUSCHEL-related homeobox gene *PagWOX11/12a* responds to drought stress by enhancing root elongation and biomass growth in poplar. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(4): 1503—1513.
- [15] Ren C. Study of fruit development morphology, drought transcriptome and functional analysis of *HaHSFA1*, *HaNAC2* genes on *Haloxylon ammodendron*. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.
任财. 梭梭果实发育形态、幼苗干旱胁迫转录组及 *HaHSFA1* 和 *HaNAC2* 基因功能研究. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [16] Wang P. A preliminary study on the mechanism related to the *in vitro* regeneration and genetic transformation of *Haloxylon ammodendron*. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2023.
王萍. 梭梭离体再生机理研究及遗传转化的初探. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2023.
- [17] Zhang H, Nafisa M Z P E, Ren Y P, *et al.* A method for the construction of *Agrobacterium*-mediated genetic transformation system of *Haloxylon ammodendron* seeds: CN202410756609.5. 2024-09-10. <https://www.patent9.com/patent/202410756609.5.html>.
张桦, 娜菲莎·木则帕尔, 任燕萍, 等. 农杆菌介导的梭梭种子遗传转化体系构建的方法: 202410756609.5. 2024-09-10. <https://www.patent9.com/patent/202410756609.5.html>.
- [18] Li J L, Qiu L Z, Xie H, *et al.* Teaching experiment design for analyzing root growth of wheat seedling under heavy metal stress by Win-RHIZO system. *Experimental Technology and Management*, 2022, 39(7): 191—195.
李俊丽, 邱凌之, 谢浩, 等. 利用 Win-RHIZO 系统分析重金属胁迫下小麦幼苗根系生长状况教学实验设计. 实验技术与管理, 2022, 39(7): 191—195.
- [19] Riccucci E, Vanni C, Vangelisti A, *et al.* Genome-wide analysis of WOX multigene family in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(4): 3352.
- [20] Chen K, Wang H, Chen Y T, *et al.* Functional analysis of WOX family genes in *Dendrobium catenatum* during growth and development. *Hereditas*, 2023, 45(8): 700—714.
- [21] Kong X P, Lu S C, Tian H Y, *et al.* WOX5 is shining in the root stem cell niche. *Trends in Plant Science*, 2015, 20(10): 601—603.
- [22] Li J L, Chen Y, Wang Z W, *et al.* Genome-wide identification and expression of WOX gene family in *Brassica rapa*. *Molecular Plant Breeding*, (2024-11-21)[2025-05-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20241121.1007.002.html>.
李嘉利, 陈雨, 王紫雯, 等. 白菜 WOX 基因家族的鉴定与表达. 分子植物育种, (2024-11-21)[2025-05-12]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20241121.1007.002.html>.
- [23] Kang J Y, Chi X F, Shen P, *et al.* Identification of WOX family genes in *Lagerstroemia indica* and their effects on callus induction. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2024, 32(10): 2255—2264.
康佳音, 池秀凤, 申萍, 等. 紫薇 WOX 家族基因鉴定及其对愈伤诱导的影响. 农业生物技术学报, 2024, 32(10): 2255—2264.
- [24] Chen L, Wang W T, Pu Y Y, *et al.* Identification and expression analysis of WOX gene family in *Brassica napus*. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2023, 32(8): 1173—1186.
陈玲, 王旺田, 蒲媛媛, 等. 甘蓝型油菜 WOX 基因家族的鉴定与表达分析. 西北农业学报, 2023, 32(8): 1173—1186.

- [25] Feng S S, Wang L, Zhou Y, *et al.* Research progresses on WOX family genes in regulating plant development and abiotic stress responses. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39(5): 1–13.
冯珊珊, 王璐, 周益, 等. WOX 家族基因调控植物生长发育和非生物胁迫响应的研究进展. *生物技术通报*, 2023, 39(5): 1–13.
- [26] Yang X, Xu Y H, Wei J H, *et al.* Advances on the biosynthesis pathways and molecular regulation mechanism of several important defensive substances in plant secondary metabolism. *Letters in Biotechnology*, 2013, 24(2): 285–289.
杨欣, 徐艳红, 魏建和, 等. 几种重要植物次生代谢防御反应物质的生物合成途径及分子调控机制研究进展. *生物技术通讯*, 2013, 24(2): 285–289.
- [27] Chen C H, Chuan X J, Wang H, *et al.* Factors affecting genetic transformation efficiency for stylo (*Stylosanthes guianensis*) with *Agrobacterium tumefaciens*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(6): 102–108.
陈彩虹, 钭秀娟, 王荟, 等. 农杆菌侵染条件对柱花草遗传转化效率的影响. *草业学报*, 2016, 25(6): 102–108.
- [28] 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*. *Plant Cell*, 2014, 26(3): 1081–1093.
- [29] Meng J H, Liu H C, Wu Z, *et al.* Effects of *PsWOX11* on lateral root growth and development of *Populus simonii*. *Forest Research*, 2024, 37(6): 54–61.
孟佳慧, 刘宏超, 武志, 等. 小叶杨 *PsWOX11* 基因对侧根生长发育的影响. *林业科学研究*, 2024, 37(6): 54–61.
- [30] Kawai T, Shibata K, Akahoshi R, *et al.* WUSCHEL-related homeobox family genes in rice control lateral root primordium size. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2022, 119(1): e2101846119.