

## 不定根・側根形成におけるサイトカイニンの役割

黒羽 剛・佐藤 忍

筑波大学生命環境科学研究科

**要 旨**：高等植物の根系は、胚発生時に形成される主根、主根から枝分かれして形成される側根、胚軸や茎から形成される不定根によって構成されている。これまでに我々は、根（端）がより上側（基部側）に生じる根の形成を抑制している「根端優勢」という説に基づき、生化学的解析、分子遺伝学的解析を通して不定根・側根形成制御機構の解明を試みてきた。カボチャ導管液から根形成抑制因子としてサイトカイニン的一种であるトランスゼアチンリボシド(ZR)が同定され、根で合成されたサイトカイニンが導管液を介して上側に輸送されることにより、より上側での新たな根の形成を抑制していることが示された。また、不定根・側根形成が異常なシロイヌナズナ突然変異体 *wooden leg-3 (wol-3)* 等の解析により、正常なサイトカイニン受容が、胚軸の維管束形成を通して側根形成を誘導するための茎頂から主根へのオーキシン輸送に必要であることが明らかになった。また、主根や胚軸と不定根の維管束形成におけるサイトカイニンの機能に受容体レベルで違いがみられることも明らかになった。以上の結果から、サイトカイニンは根における形態形成において組織、器官レベルで多様な機能を持ち、正常な根系の形成において極めて重要なはたらきをしていることが示された。

キーワード：オーキシン、サイトカイニン、側根、導管液、不定根

**Functions of cytokinins in adventitious and lateral root formation** : Takeshi Kuroha (*Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba*) and Shinobu Satoh (*Graduate School of Life and Environmental Sciences, University of Tsukuba*)

**Abstract**: The root systems of higher plant consist of primary, lateral, and adventitious roots. There is a current hypothesis, named 'root apical dominance', that root-derived suppressor negatively regulates the formation of adventitious and lateral roots. According to this theory, we have studied the mechanisms involved in the regulation of adventitious and lateral root formation. *trans-zeatin riboside (ZR)*, one of cytokinin species, was identified in squash root xylem sap as a main suppressor of adventitious root formation in cucumber, suggesting that ZR transported from root via xylem sap acts as an endogenous suppressor of hypocotyl adventitious root formation *in planta*. Moreover, we isolated *Arabidopsis* mutant, *wooden leg-3 (wol-3)*, for stimulated adventitious root formation in intact plants. Analyses of *wol-3* mutant have revealed that cytokinin receptors are necessary for the primary and lateral root formation via the formation of auxin-transporting vascular tissues in the hypocotyl, but not for adventitious roots. In this mini review, we discuss the relationship between cytokinin and adventitious and lateral root formation.

**Keywords**: Adventitious root; Auxin; Cytokinin; Lateral root; Xylem Sap

### はじめに

高等植物の根系は、胚発生時に形成される幼根から発達した主根と、胚発生後に二次的に形成される側根や不定根によって成り立っている。このうち側根や不定根は、様々な遺伝的背景、環境条件により著しい形態的可塑性を持ち (López-Bucio et al., 2003)、植物体の支持、成長、水や養分の吸収等の役割を担っている。

側根や不定根の形成（ここでは根原基形成から成熟後に親根を突き破って出現するまでの過程を指す）においては、オーキシンが誘導因子として関わっていると考えられている。頂芽を切除した植物で側根あるいは不定根形成が抑制

される (Nordström and Eliasson, 1991) ことから、頂芽から輸送されたオーキシンが側根や不定根の形成に促進的にはたらいっていると考えられる。シロイヌナズナのオーキシン過剰生産突然変異体では側根数が顕著に増加し (Boerjan et al., 1995)、オーキシン低感受性突然変異体では逆に減少している (Fukaki et al., 2002)。また、トマトのエチレン非感受性突然変異体では挿木における不定根形成数が少なく、オーキシン処理での不定根形成促進効果がほとんどみられないことから (Clark et al., 1999)、切断処理による傷害の結果生じたエチレンが不定根形成に促進的に関わっていることが示唆されている。

2006年4月3日受付

\*連絡先 〒305-8572 茨城県つくば市天王台 1-1-1 筑波大学生命環境科学研究科 (植物生理学研究室)

Fax: 029-853-4672 E-mail: satohshi@sakura.cc.tsukuba.ac.jp

現在の所属 理化学研究所植物科学研究センター生産機能研究グループ

一方、「根（端）がより上側（基部側）に生じる根の形成を抑制している」という説が唱えられている (Soekarjo, 1965) . この説は、地上部において頂芽が側芽の成長を抑制し、頂芽を切除すると側芽の成長が促進される頂芽優勢を根に対応させて、根端優勢 (root apical dominance) と呼ばれている。根端優勢における根形成の抑制因子の候補としては、挿木においてサイトカイニンが不定根形成を抑制すること (Humphries, 1960) , 主根切断処理やオーキシン処理により促される側根形成が、サイトカイニン処理により抑制される (Zhang and Hasenstein, 1999) ことから、サイトカイニンが挙げられている。従って、根端優勢においてはそれぞれのホルモンの作用は逆であるが、頂芽優勢と同じようにオーキシンとサイトカイニンのバランスによって成り立っていることが示唆されているが、その詳細はまだ不明な点が多い。

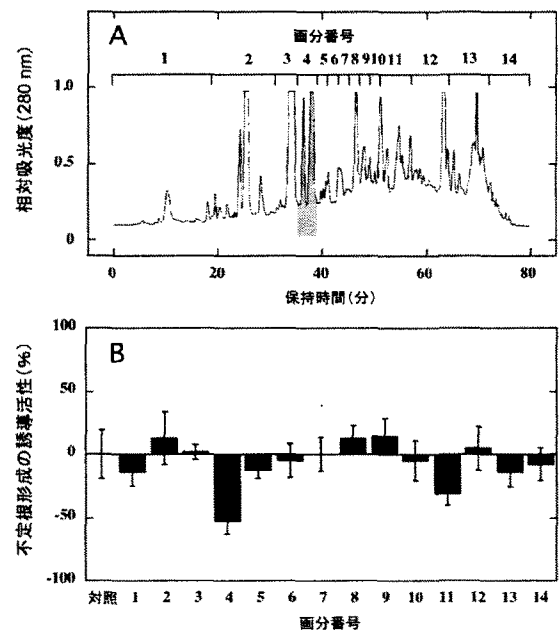
本稿では、不定根や側根形成におけるサイトカイニンの役割に関する近年の知見を、我々の研究成果を中心に紹介して行きたい。

### 導管液中に存在する サイトカイニンによる不定根形成の抑制

根端優勢における抑制因子は、下側から上側へ輸送されて機能していると予想されるため、我々の研究室では地下部から地上部への主要な輸送経路である導管を流れる導管液に着目し、カボチャの根から採取した導管液（根導管液）中にキュウリ胚軸からの不定根形成を抑制する活性が存在することをみいだした (Sato et al., 1998) . これが根端優勢における抑制因子によるものであると考え、活性物質の精製を試みた結果、候補物質として新規アミノ酸であるメトキシベンジルグルタミン (MBG) が単離された (Sato et al., 1998) . MBG の不定根形成抑制活性の評価を行った結果、MBG はカボチャ根導管液中に  $10^{-6}M$  の濃度で存在し、 $5 \times 10^{-3}M$  ではキュウリの不定根形成を抑制するが、 $10^{-3}M$  より低濃度では全く抑制が見られなかった (Sato et al., 1998) . 従って、この物質は求めている不定根形成抑制物質の本体ではないと考えられ、他に存在すると考えられる不定根形成抑制活性物質の同定を試みた。

まず、カボチャ根導管液から分液操作やオープンカラム、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分画によって得られた画分を、根を切除したキュウリ苗条に処理することによって不定根形成抑制の活性評価を行った。不

定根形成抑制活性は、カボチャ根導管液の 20% アセトニトリル溶出画分のうちブタノール層に存在している (Sato et al., 1998; Kuroha et al., 2002) . この活性画分について HPLC システムによる分画、LC/MS/MS (液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析) 解析を行ったところ (第 1 図; Kuroha et al., 2002) , 不定根形成抑制物質としてサイトカイニン的一种であるトランスゼアチンリボシド (ZR) が同定された (Kuroha et al., 2002) . また、LC/MS (液体クロマトグラフィー／質量分析) による定量解析の結果、ZR はカボチャ根導管液中に  $2 \times 10^{-8}M$  の濃度で存在していた (Kuroha et al., 2002) . 更に、ZR はキュウリ胚軸から生じる不定根の形成を  $10^{-8}M$  から  $10^{-4}M$  の濃度で抑制した (第 2 図; Kuroha et al., 2002) . これらの結果から、根端優勢における根形成抑制因子は ZR であり、ZR が根で合成されて導管を介して上側へ輸送されることにより、胚軸から生じる不定根の形成を抑制していることが示唆された。ZR は輸送型のサイトカイニンとして知られており、多くの植物種において導管液中の主要なサイトカイニンとして存在していることから (Beveridge et al., 1997; Beck and Wagner, 1994) , ZR が種を超えて

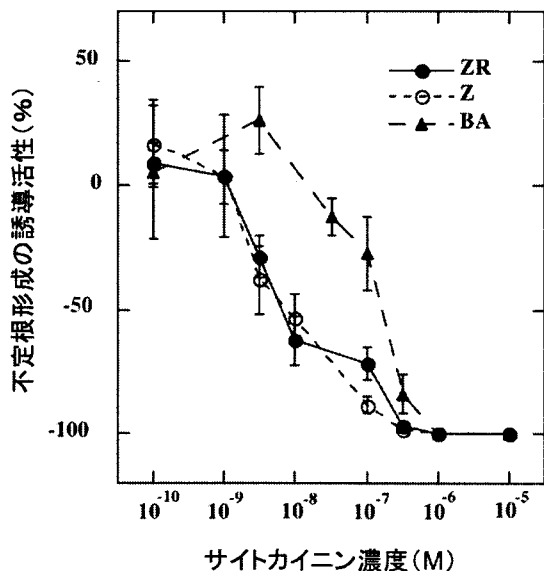


第 1 図 カボチャ根導管液中のキュウリ不定根形成抑制物質の分画

カボチャ根導管液の 20% アセトニトリル溶出画分のブタノール層を、HPLC を用いた逆相クロマトグラフィーにより分画し (A; 灰色部分は強い抑制活性を示す画分を示す) , 得られた画分を根を切除したキュウリ苗条に処理して不定根形成に対する効果を評価した (B) . Kuroha et al. (2002) より改変。

不定根形成抑制因子として機能していることが推測される。輸送型のサイトカニンには、ヌクレオシダーゼにより糖（リボース）が外れてゼアチン等の活性型となった後に受容体に結合し、植物体内で生理作用を及ぼすと考えられている。根形成抑制作用においても、ZRがその活性型のゼアチンとなって根の形成過程に抑制的に作用していることが予想される。

近年、サイトカニンの受容体や合成・分解系の遺伝子を用いた分子遺伝学的解析によって、サイトカニンの根の形成における抑制作用について述べたいくつかの報告がある。内生サイトカニン量が減少しているタバコや、シロイヌナズナのサイトカニン分解酵素遺伝子 *AtCKX1* 過剰発現体においては側根、不定根ともに形成数の増加がみられる (Werner et al., 2001; Werner et al., 2003)。また、シロイヌナズナゲノムに3つ存在するサイトカニン受容体 AHK2, 3, 4のうち、AHK2, 3の機能を欠損させた二重変異体において、根の分岐に増加がみられる (Riefler et al., 2006)。さらに、シロイヌナズナのゲノムに9つ存在すると予測されるサイトカニン合成の鍵酵素遺伝子であるイソペンテニル化酵素のうち、*AtIPT5* は側根原基や根冠、*AtIPT7* は根の伸長帯の内皮において発現がみられ (Miyawaki et al., 2004)、これらの遺伝子産物によって生み出された ZR が根端優勢



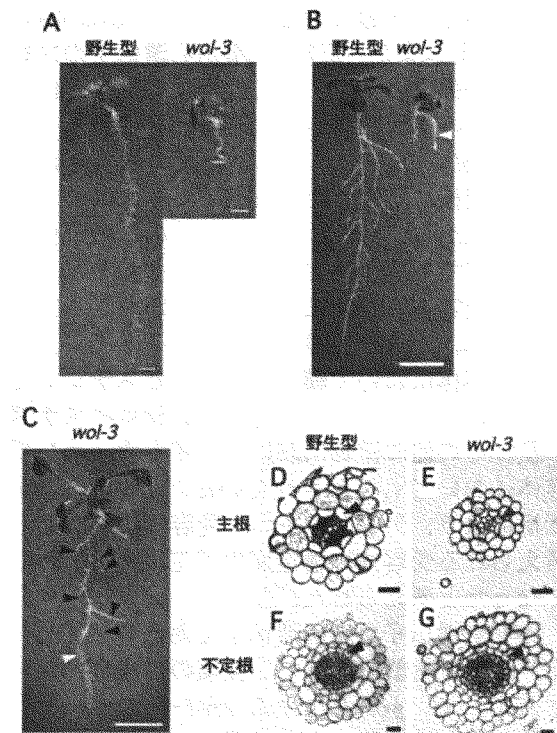
第2図 サイトカニンのキュウリ不定根形成に対する効果

トランスゼアチンリボシド (ZR)、ゼアチン (Z)、ベンジルアデニン (BA) を、根を切除したキュウリ苗条に処理し、各濃度における不定根形成に対する効果を評価した。Kuroha et al. (2002) より改変。

における側根や不定根の形成制御に関わっていることが予想される。

### サイトカニン受容体の機能欠損が不定根・側根形成に及ぼす影響

近年、シロイヌナズナの側根や不定根形成に関連する突然変異体が多数単離および解析されているが、ほとんどがオーキシン関連突然変異体として得られたものであり、根端優勢に着目して解析されている例がなかった。そこで我々は根端優勢が弱い突然変異体の単離と解析を試みた。まず、シロイヌナズナ種子 (M0 世代) に突然変異誘発剤 (EMS; メタンスルホン酸エチル) を処理し、生じた M1 世代を自家受粉して得られた 3 万個体の M2 世代植物体を寒天培地上で生育させた。M2 世代のうち、野生型では通常の生育条件でほとんど形成の見られない不定根の形成が、無傷の植物体でもよく起こる (根端優勢が弱い) 系統を選抜した。その後、自家受粉して M3 世代が得られた系統のうち、後代にその形質が受け継がれた系統を選抜し、独立した 3 系統を得た。得られた系統のうちの一つ



第3図 シロイヌナズナ突然変異体 *wol-3* にみられる根の形態異常

(A-C) 発芽後 5 日目 (A)、10 日目 (B)、15 日目 (C; *wol-3* のみ) の野生型および *wol-3* の形態。白矢尻は一次不定根、黒矢尻は二次不定根を示す。(D) 野生型および *wol-3* の主根、不定根の横断面。黒矢尻は内皮を示す。Kuroha et al. (2006) より改変。

である突然変異体 *ar-C22* (以後 *wol-3* と表記) では、主根の成長が抑制されて側根を全く形成しない代わりに、胚軸上部から正常に伸長、分岐する不定根の形成がみられた (第3図 A-C; Kuroha et al., 2006)。つまり、胚軸においては根端優勢が低下しているにもかかわらず、不定根においては根端優勢が維持されているという表現型を示した。

*wol-3* の原因遺伝子のマッピングを試みた結果、染色体上の原因遺伝子が存在すると予想される領域にサイトカイニン受容体をコードする遺伝子 *AHK4* (*ARABIDOPSIS HISTIDINE KINASE 4 / CYTOKININ RESPONSE 1 / WOODEN LEG*) が存在していた (Kuroha et al., 2006)。*AHK4* 遺伝子に変異が生じた突然変異体 *wol-1*, *wol-2*, *cre1-1* では、*wol-3* と同様に主根の成長の抑制がみられることが報告されているため (Scheres et al., 1995; Inoue et al., 2001; de León et al., 2004), *wol-3* の原因遺伝子が *AHK4* であることが予想された。*wol-3* における *AHK4* 遺伝子について塩基配列を解析したところ、1塩基の置換がみつき、メチオニンからイソロイシンへの1アミノ酸置換を引き起こすと予測された (Kuroha et al., 2006)。また、正常な *AHK4* 遺伝子のプロモーター部位と ORF を含む領域のゲノム配列をアグロバクテリウムにより *wol-3* に導入させると、*wol-3* にみられた異常な根の表現型が野生型と同様に回復した (Kuroha et al., 2006)。以上の結果から、突然変異体 *wol-3* の原因遺伝子は *AHK4* であると同定された。*wol-3* のサイトカイニン受容体 *AHK4* において置換がおこったアミノ酸は、2成分制御系を構成するサイトカイニン受容体において膜貫通領域とヒスチジキナーゼ領域の間の部位に存在し、シロイヌナズナ及びその他の植物におけるサイトカイニン受容体においても保存されていた。このアミノ酸置換により、サイトカイニン受容後におこると考えられる受容体の構造変化が正常に行われなくなったと考えられた。

*AHK4* 遺伝子が原因遺伝子である突然変異体は、変異の種類によって二種類の表現型が報告されている。*wol-1*, *wol-2*, *cre1-1* については *wol-3* と同様の根の形態異常がみられるが、遺伝子の発現が完全に欠損していると予想されるその他の突然変異体においては根の形態が正常である (Ueguchi et al., 2001; Franco-zorrilla et al., 2002)。また、シロイヌナズナのゲノムには *AHK2*, *AHK3*, *AHK4* の3種類のサイトカイニン受容体遺伝子が存在しているが、全ての遺伝子の機能を欠損させた三重変異体は *wol-3* 等と同

様の根の形態異常を示す (Higuchi et al., 2004; Kuroha et al., 2006)。これらの結果から、*wol-3* をはじめとした *AHK4* 突然変異体の根においては、突然変異の生じた *AHK4* が他のサイトカイニン受容体とのヘテロダイマーを形成し、3種類のサイトカイニン受容体全ての機能が低下した状態になっていることが予想される。しかし、*AHK4* はホモダイマーとして根の形態形成に関与しているという説も提唱されており (de León et al., 2004)、今後の詳細な分子生物学的解析が待たれる。

### サイトカイニンを介した胚軸維管束の発達とオーキシンを介した不定根・側根形成の関係

*wol-3* 等の *AHK4* 突然変異体では、胚発生時に生じた維管束において篩部細胞の形成がみられず、木部細胞のみになっていることから (Mähönen et al., 2000)、サイトカイニン受容体が胚発生時の維管束形成において重要な役割を果たしていると考えられている。しかし、*wol-3* 等の *AHK4* 突然変異体においてなぜ胚軸から不定根が形成されているか、なぜ側根の形成が抑制されているか、については全く明らかにされていなかった。そこで我々は、以下の研究を行った。

前述のように、不定根・側根形成においてはオーキシンが誘導因子として関わっていることが知られているため、*wol-3* においてオーキシン応答あるいは輸送に異常が生じたことにより不定根の形成誘導や側根形成抑制がおきている可能性が考えられた。そこで、オーキシン応答反応の指標として、*DR5* プロモーターによって誘導される *GUS* ( $\beta$ -glucuronidase) 遺伝子の発現を、野生型と *wol-3* とで比較した。その結果、発芽後5日目頃の *wol-3* の胚軸維管束において、非常に顕著な *GUS* の発現がみられた (第3図 F; Kuroha et al., 2006)。野生型においては、無傷状態では明瞭な発現が見られず、胚軸や主根を切断すると切断部周辺での *GUS* の発現が上昇し、のちに側根や不定根が形成された (第3図 G; Kuroha et al., 2006)。また、主根にオーキシンを投与すると、野生型と同様に *GUS* の顕著な発現上昇がみられ側根も形成されたことから、*wol-3* においてはオーキシン応答反応も側根形成も正常に起こると考えられた (第4図 A-D; Kuroha et al., 2006)。さらに、主根を切断しても *GUS* の発現がほとんどみられず、側根の形成も誘導されなかった (第4図 E-F; Kuroha et al., 2006)。

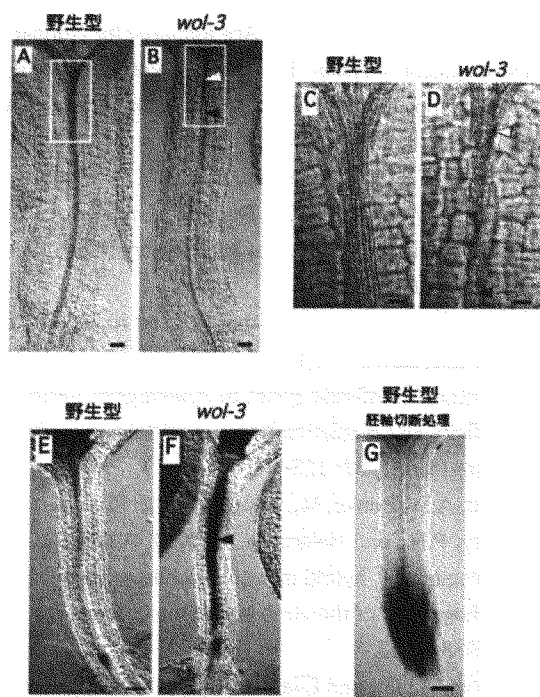
以上の結果から考えて、*wol-3* においては茎

頂部から主根へのオーキシシン輸送に異常が生じていることが予想された。そこで、 $^3\text{H}$ によって標識されたオーキシシンを茎頂部に投与し、主根への輸送量を比較したところ、*wol-3*において顕著な減少がみられた (Kuroha et al., 2006)。従って、*wol-3*等におけるサイトカイニン受容体 AHK2, 3, 4 の機能欠損は、茎頂部から主根へのオーキシシンの輸送の阻害、胚軸でのオーキシシン蓄積により誘導される不定根形成、主根へのオーキシシン供給量の低下による側根形成阻害、を引き起こすことが明らかになった。つまり、サイトカイニン受容体は主根へのオーキシシンを輸送する能力を持つ胚軸維管束組織の発達に必要であるといえる。興味深いことに、サイトカイニン受容体 AHK2, 3, 4 の機能欠損は不定根の

維管束組織の発達、分岐を抑制しない (第3図 D; Kuroha et al., 2006)。このことは、胚発生後に二次的に形成される不定根での維管束の発達においてサイトカイニン受容体 AHK2, 3, 4 は関与しないことを示している。

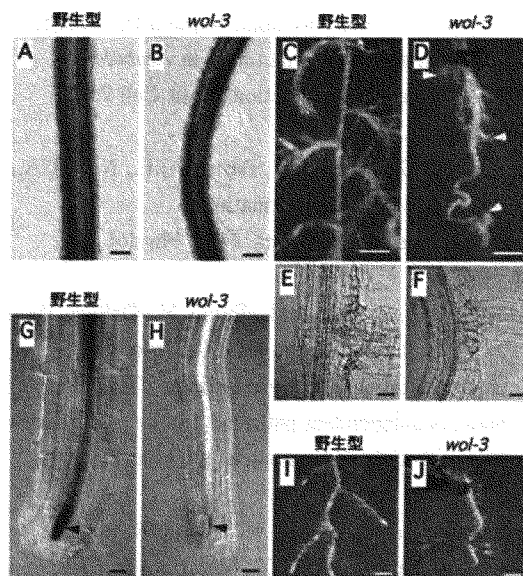
### おわりに

以上の我々の研究により、(1) 根で合成されたサイトカイニンが導管液を介して上側に輸送することにより、より上側での新たな根の形成を抑制していること、(2) 胚軸維管束における正常なサイトカイニン受容が、側根形成を誘導するための茎頂から主根へのオーキシシン輸送に必要であることが明らかになった。また、主根と不定根の維管束形成におけるサイトカイニンの機能に受容体レベルで違いがみられることも明らかになった。今後は、モデル植物を用いたサイトカイニン合成系遺伝子や受容体遺伝子の分子生物学的解析を進めるとともに、様々な環境に応じた根系の変化とサイトカイニンとの関連を明らかにすることによって、得られた知見の作物への応用が期待される。



第4図 シロイヌナズナ突然変異体 *wol-3* の胚軸にみられる形態異常とオーキシシンシグナルの蓄積

(A-D) 発芽後5日目の野生型および *wol-3* の胚軸における微分干涉顕微鏡像。A, Bの白枠の拡大をC, Dに示す。*wol-3*の茎頂直下の胚軸維管束は正常に発達しているが(白矢尻)、それより下側では発達不全がみられる(黒矢尻)。(E, F) *DR5::GUS*プロモーターに *GUS*遺伝子を連結したコンストラクト (*DR5::GUS*) を野生型および *wol-3* に導入し、胚軸における *GUS* の発現をX-Glu染色により観察した。*wol-3* の胚軸維管束では顕著な染色がみられる(黒矢尻)。(G) 野生型に *DR5::GUS* を導入し、胚軸を切断後1日目に切断部付近でみられた *GUS* の発現。Kuroha et al. (2006) より改変。



第5図 シロイヌナズナ突然変異体 *wol-3* のオーキシシン処理、主根切断処理に対する効果

(A, B) *DR5::GUS* を導入した野生型、*wol-3* の主根に  $10^{-6}$  M NAA を処理し、5日後にみられた *GUS* 遺伝子の発現。(C-F) 野生型 (C, E)、*wol-3* (D, F) の主根に  $10^{-5}$  M IAA を処理後に形成された側根。*wol-3* においても側根が形成された(白矢尻)。(G, H) *DR5::GUS* を導入した野生型、*wol-3* の主根の伸張帯付近を切断後、6時間後に切断部付近でみられた *GUS* の発現(黒矢尻)。Kuroha et al. (2006) より改変。

## 謝 辞

本稿の我々の研究において共同研究を実施していただきました吉田茂男博士, 浅見忠男博士, 加藤尚志博士, 榊原均博士(以上, 理化学研究所), 上口智治博士(名古屋大学)に深く感謝の意を表します。また、本稿の研究の一部は、未来開拓学術研究推進機構「植物の環境応答機構とバイオテクノロジー」(JSPS-RFTF97L00601)及び特定領域研究「植物発生における軸と情報の分子基盤」(no. 14036204)の援助を受けて行いました。

## 引用文献

- Beck, E., and Wagner, B. 1994. Quantification of the daily cytokinin transport from the root to the shoot of *Urtica dioica* L. *Botanica Acta* 107: 342-348.
- Beveridge, C., Murfet, I., Kerhoas, L., Sotta, B., Miginiac, E., and Rameau, C. 1997. The shoot controls zeatin riboside export from pea roots. Evidence from the branching mutant *rms4*. *Plant J.* 11: 339-345.
- Boerjan, W., Cervera, M.-T., Delarue, M., Beeckman, T., Dewitte, W., Bellini, C., Caboche, M., Van Onckelen, H., Van Montagu, M., and D, I. 1995. *Superroot*, a recessive mutation in *Arabidopsis*, confers auxin overproduction. *Plant Cell* 7: 1405-1419.
- Clark, D.G., Gubrium, E.K., Barrett, J.E., Nell, T.A., Klee, H.J. 1999. Root formation in ethylene-insensitive plants. *Plant Physiol.* 121: 53-60.
- de León, B.G., Zorrilla, J.M., Rubio, V., Dahiya, P., Paz-Ares, J., and Leyva, A. 2004. Interallelic complementation at the *Arabidopsis CRE1* locus uncovers independent pathways for the proliferation of vascular initials and canonical cytokinin signalling. *Plant J.* 38: 70-79.
- Franco-Zorrilla JM, Martin AC, Solano R, Rubio V, Leyva A, Paz-Ares J. 2002. Mutations at *CRE1* impair cytokinin-induced repression of phosphate starvation responses in *Arabidopsis*. *Plant J.* 32: 353-360.
- Fukaki, H., Tameda, S., Masuda, H., and Tasaka, M. 2002. Lateral root formation is blocked by a gain-of-function mutation in the *SOLITARY-ROOT/IAA14* gene of *Arabidopsis*. *Plant J.* 29: 153-168.
- Higuchi, M., Pischke, M.S., Mahonen, A.P., Miyawaki, K., Hashimoto, Y., Seki, M., Kobayashi, M., Shinozaki, K., Kato, T., Tabata, S., Helariutta, Y., Sussman, M.R., and Kakimoto, T. 2004. *In planta* functions of the *Arabidopsis* cytokinin receptor family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101: 8821-8826.
- Humphries, E. 1960. Inhibition of root development on petioles and hypocotyls of dwarf bean (*Phaseolus vulgaris*) by kinetin. *Physiol. Plant.* 12: 659-663.
- Inoue, T., Higuchi, M., Hashimoto, Y., Seki, M., Kobayashi, M., Kato, T., Tabata, S., Shinozaki, K., and Kakimoto, T. 2001. Identification of *CRE1* as a cytokinin receptor from *Arabidopsis*. *Nature* 409: 1060-1063.
- Kuroha, T., Kato, H., Asami, T., Yoshida, S., Kamada, H., and Satoh, S. 2002. A *trans*-zeatin riboside in root xylem sap negatively regulates adventitious root formation on cucumber hypocotyls. *J. Exp. Bot.* 53: 2193-2200.
- Kuroha, T., Ueguchi, C., Sakakibara, H., and Satoh, S. 2006. Cytokinin Receptors Are Required for Normal Development of Auxin-Transporting Vascular Tissues in the Hypocotyl but Not in Adventitious Roots. *Plant Cell Physiol.* 47: 234-243.
- López-Bucio, J., Cruz-Ramirez, A., and Herrera-Estrella, L. 2003. The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6: 280-287.
- Miyawaki, K., Matsumoto-Kitano, M., and Kakimoto, T. 2004. Expression of cytokinin biosynthetic isopentenyltransferase genes in *Arabidopsis*: tissue specificity and regulation by auxin, cytokinin, and nitrate. *Plant J.* 37: 128-138.
- Mähönen, A.P., Bonke, M., Kauppinen, L., Riikonen, M., Benfey, P.N., and Helariutta, Y. 2000. A novel two-component hybrid molecule regulates vascular morphogenesis of the *Arabidopsis* root. *Genes Dev.* 14: 2938-2943.
- Nordström, A.-C., and Eliasson, L. 1991. Levels of endogenous indole-3-acetic acid and indole-3-acetylaspatic acid during adventitious root formation in pea cuttings. *Physiol. Plant.* 82: 599-605.
- Riefler M, Novak O, Strnad M, Schmülling T. 2006. *Arabidopsis* cytokinin receptor mutants reveal functions in shoot growth, leaf senescence, seed size, germination, root development, and cytokinin metabolism. *Plant Cell* 18: 40-54.
- Satoh, S., Kuroha, T., Wakahoi, T., and Inouye, Y. 1998. Inhibition of the formation of adventitious roots on cucumber hypocotyls by the fractions and methoxybenzylglutamine from xylem sap of squash foot. *J. Plant Res.* 111: 541-546.
- Scheres, B., Di Lorenzo, L., Willemsen, V., Hauser,

- M.-T., Janmaat, K., Weisbeek, P., and Benfey, P.N. 1995. Mutations affecting the radial organisation of the *Arabidopsis* root display specific defects throughout the embryonic axis. *Development* 282: 53-62.
- Soekarjo, R. 1965. On the formation of adventitious roots in cuttings of *Coleus* in relation to the effect of indoleacetic acid on the epinastic curvature of isolated petioles. *Acta Botanica Neerlandica* 14: 373-399.
- Ueguchi, C., Sato, S., Kato, T., and Tabata, S. 2001. The *AHK4* gene involved in the cytokinin-signaling pathway as a direct receptor molecule in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 42: 751-755.
- Werner, T., Motyka, V., Laucou, V., Smets, R., Van Onckelen, H., and Schmülling, T. 2003. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. *Plant Cell* 15: 2532-2550.
- Werner, T., Motyka, V., Strnad, M., and Schmülling, T. 2001. Regulation of plant growth by cytokinin. *Pro. Nat. Aca. Sci. U. S. A.* 98: 10487-10492.
- Zhang, N., and Hasenstein, K.H. 1999. Initiation and elongation of lateral roots in *Lactuca sativa*. *Int. J. Plant Sci.* 160: 511-519.