

## シロイヌナズナにおける側根形成の制御機構

郷 達明<sup>1</sup>・深城 英弘<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸大学 大学院理学研究科 生物学専攻

〒657-8501 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1

Mechanisms controlling lateral root formation in *Arabidopsis*

Key words: lateral root formation, *Arabidopsis thaliana*

Tatsuaki Goh<sup>1</sup>, Hidehiro Fukaki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Science, Kobe University, Rokkodai 1-1, Kobe, Hyogo 657-8501, Japan

### 1. はじめに

植物が地中に張る根の全体を根系と呼ぶ。維管束植物は、それぞれの生育環境に適した形状の根系を発達させることによって、地上部を支え、水分や栄養を効率よく吸収している (Hodge et al, 2009)。根系は、胚発生で形成される幼根に由来する初生根(種子根や主根)、根以外の組織から形成される不定根、そして、すでにある根から分岐して形成される側根によって構成される (Atkinson et al, 2014)。根系全体の形は、それぞれの根の数や成長の程度によって決まる。1本しかない初生根に対して、側根と不定根は発芽後に多数形成されることから、根系の大部分を占める。そのため、これらの根の形成は根系の形状に大きな影響を及ぼす。特にシロイヌナズナの側根形成については、変異体の単離・解析、遺伝子の発現パターンの解析、そして、イメージングによって、ここ15年ほどの間に大きく研究が進展してきた (Lavenus et al, 2013)。本総説では、シロイヌナズナにおける側根の形成機構について、最近の知見を中心に紹介する。

### 2. シロイヌナズナの側根形成

シロイヌナズナなどの真正双子葉植物は、よく発達した主根と、主根から分岐した側根から構成される主根型根系を形成する(図1) (Atkinson et al, 2014)。主根型根系の形状は、側根による分岐に大きく依存する。すなわち、側根が形成されるタイミングや頻度、側根が伸長する方向などによって、根系の形状は変化する。シロイヌナズナの側根は、すでに存在する根(主根や側根、不定根など)の内部組織から発生する。根の横断面をみると、外側から表皮、皮層、内皮、内鞘が一層ずつ、同心円状にあり、その内側に水分や栄養を運ぶ維管束組織がある。側根は、維管束の原生木部に接した主に3列の内鞘細胞から形成される(図1C)。シロイヌナズナの根は2原型(Diarch)の維管束構造をもつことから、2本の原生木部に接した内鞘細胞列から左右に側根が形成される(図1C)。側根の形成には、複数の重要な発生ステップがある(図1B,C)。まず木部に接した内鞘細胞から、側根のもととなる側根創始細胞が特定される(側根形成位置の決定)。次に、側根創始細胞の非対称分裂により側根形成が開始する(側根形成の開始)。その後、規則的な細胞分裂によりドーム状の側根原基が形成されて、側根の分裂組織(メリシステム)が新たに構築される(側根原基の発生と分裂組織の構築)。そして、新たに構築された分裂組織における活発な細胞分裂と伸長により側根原基は成長し、周囲にある親の根

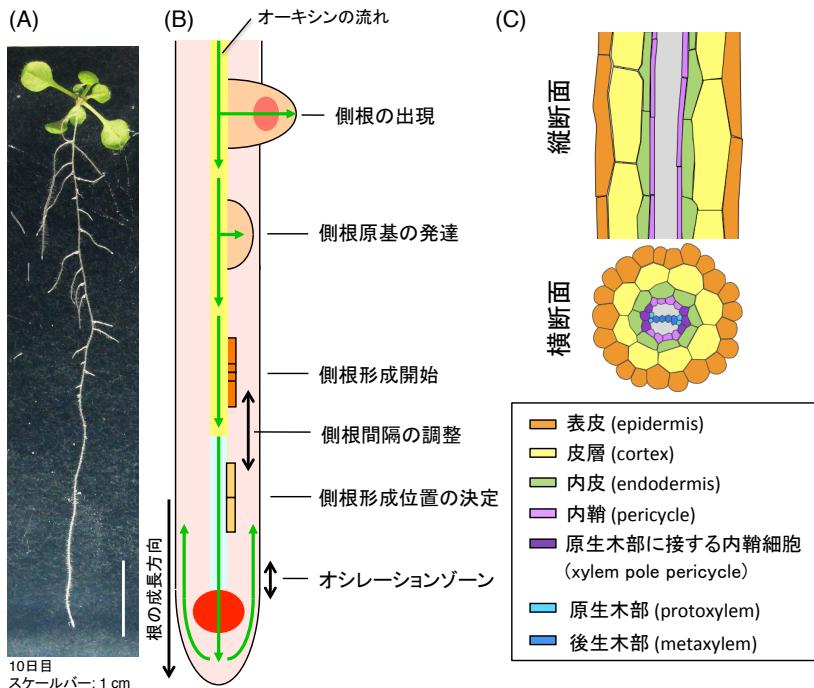


図1. シロイヌナズナの側根形成

(A) 発芽後 10 日目のシロイヌナズナの主根型根系。長く伸びた主根から、多数の側根が形成される。

(B) 側根形成の発生過程の模式図。

(C) シロイヌナズナの根の縦断面と横断面の模式図。横断面の濃い紫色で示した細胞が原生木部に接する内鞘細胞であり、側根の元となる細胞群である。

の組織（内皮、皮層、表皮）を押しのけて、親の根から土壤中へと成長する。

### 3. 側根形成位置の決定と間隔の調整

シロイヌナズナの根を観察すると、適度な間隔をもって側根が形成されている（図1A）。また、多くの場合、一方所から、1本の側根が左右どちらかに形成される。間隔をもって側根を形成することは、広い範囲に効率よく根を張ることに重要と考えられる。

側根の間隔は、ある程度のばらつきはあるものの、周期的に形成される（Barlow & Adam, 1988, Charlton, 1983, Mallory et al, 1970）。そのため、側根の形成位置は、何らかの周期的なプログラムによって決まるのではないかと考えられてきた（Charlton, 1996）。オキシンの応答を人工的なレポーター（DR5:GUSなど）をもちいて観察すると、根端分裂組織の分裂領域から伸長領域への移行領域（オシレーションゾーン、図1B）において、オキシン応答がおよそ4~6時間周期で変動することが見出された（De Smet et al, 2007, Moreno-Risueno et al, 2010, Xuan et al, 2015）。この結果、根の伸長とともに、オキシン応答が高い領域と低い領域が交互に現れる。そして、オキシン応答が高い領域にある内鞘細胞が、側根のもととなる側根創始細胞として特定されて、その後、側根を形成することが示された。さまざまな観察から、根端における周期的なオキシン応答と側根形成との間には、高い相関関係があることが示唆されている（周期的なオキシン応答による制御）。

一方で、根の屈曲部位と側根形成位置の間にも相関があることが報告されている（Ditengou et al, 2008, Dubrovsky et al, 2008, Laskowski et al, 2008, Lucas et al, 2008, Richter et al, 2009）。例えば、45度に傾けた寒天プレート上で植物を生育させると、重力屈性と接触屈性により、根が寒天プレート上をジグザグ状に成長する。このとき、側根は屈曲部位の凸側より形成される（De Smet et al, 2007）。また、ピンセットなどで根を強制的に曲げた場合や、障壁にぶつかって根が曲がった場合にも、屈曲部分の凸側から側根が形成される（Ditengou et al, 2008, Dubrovsky et al, 2008, Richter et al, 2009）。屈曲部の凸側に側根を形成することで、親根の成長方向とは反対の方向に側根を形成することになり、広い範囲に根

を張ることにつながる（根の屈曲による制御）。

これら2つの仕組みのうち、どちらか片方だけでは、シロイヌナズナの側根の位置決定機構を十分には説明できない（Scheres & Laskowski, 2016）。根の屈曲による側根形成の誘導では、周期性が説明できず、一方、左右どちら側に側根を形成するのかは、周期的なプログラムだけでは決定することができない。この疑問について、KircherとSchopfer(2016)らは興味深い実験を行った（Kircher & Schopfer, 2016）。彼らはさまざまな間隔で重力刺激を与えて、根の屈曲間隔を人為的に変化させた。面白いことに、屈曲間隔を変えても、側根の密度は変化しなかった。このことから、側根の形成頻度は、根の屈曲ではなく、周期的なプログラムによって決定されていることが示唆された。一方で、全体的な側根の形成頻度は変化しないものの、側根の形成位置は、屈曲の影響を受けて微妙に位置が調節される可能性が示唆された。たとえば、通常は屈曲部位の凸側から1本の側根が形成されるが、側根の形成頻度よりもゆっくりと屈曲させた場合は、屈曲部位に複数の側根が形成された。これらのことから、全体的な側根の形成頻度は周期的なプログラムでおおよそ決まるが、根の屈曲の影響を受けて、側根の局所的な位置（向きや間隔）が制御されていることが示唆された（Scheres & Laskowski, 2016）。

周期的なオーキシン応答を生み出す分子機構については徐々に理解が進んできている。多くのオーキシン応答性遺伝子が人工的なオーキシン応答レポーター(DR5)と同調して、オシレーションゾーンにおいて周期的に発現変動する（De Smet et al, 2007, Moreno-Risueno et al, 2010）。また、根冠部におけるオーキシンの合成が重要であり、オーキシンの通り道にあたる側部根冠の周期的な細胞死によって、オシレーションゾーンへのオーキシンの供給が変動して、オーキシン応答の周期性が生み出されている可能性が示唆されている（De Rybel et al, 2012, Xuan et al, 2015, Xuan et al, 2016）。一方、根の屈曲による制御機構については、機械的な刺激による情報伝達や、細胞形状の変化に伴うオーキシンの流れの変化が側根形成位置の調整に関わることが示唆されているが、詳しい分子機構は明らかになっていない。今後、周期性を生み出す制御機構と局所的な位置の調整機構のそれぞれについて理解が進むとともに、両者の関係についても明らかになると期待される。さらに、これらに加えて、先に形成された側根がその近くに新たな側根を作らせないようにする機構（側方抑制）（Laskowski et al, 2008, Lucas et al, 2008）や、水分や栄養の確保のために側根の位置や向きを調整する機構（Hydropatterningなど）（Bao et al, 2014）の存在も示唆されている。植物はこのような複数の制御機構を組み合わせて、側根の形成位置を制御して、生存に適した根系を構築していると考えられる（Malamy, 2005）。

#### 4. 側根形成の開始

側根の形成予定位置が決まると、主に3列の木部に接した内鞘細胞列において、縦に並んだ2つの細胞が側根創始細胞（founder cell）として特定される（図1B,C）（Van Norman et al, 2013）。このわずか数個の側根創始細胞から、側根が形成される。最初に側根創始細胞において局所的にオーキシン応答が高まる（De Rybel et al, 2010）。側根形成を開始する前の側根創始細胞は、形態的には他の内鞘細胞とは区別できず、大きな液胞をもち、分化した細胞のように見える。オーキシン応答の上昇に続いて、側根創始細胞の核が共通の細胞壁側に移動し、極性が確立される。そして、根の伸長方向に対して垂層方向に非対称に分裂することによって側根形成が開始する（図2）（De Rybel et al, 2010, Goh et al, 2012）。その結果、中央に2つの小さい細胞、隣接部に大きな細胞が生み出される。このように、オーキシンは側根創始細胞における非対称性の確立と細胞分裂の活性化を制御することによって、側根形

成の開始を促進する。オーキシンに応答した遺伝子発現は、オーキシン応答因子 Auxin Response Factor (ARF)と、ARF に結合して機能抑制する Aux/IAA タンパク質とからなるモジュールによって制御される。オーキシンが受容体 TIR1/AFBs によって受容されると、Aux/IAA リプレッサータンパク質の分解が促進される。その結果、パートナーである ARF が活性化し、下流の遺伝子発現を誘導する。側根形成の開始時には、SLR/IAA14-ARF7-ARF19 モジュールによる制御が特に重要であり、これらの変異体では側根形成が顕著に抑制される (Fukaki et al, 2005, Fukaki et al, 2002, Okushima et al, 2007, Okushima et al, 2005, Vanneste et al, 2005)。最近、オーキシンによる ARF の転写抑制の解除の仕組みが明らかにされた (Ito et al, 2016)。Aux/IAA タンパク質は転写補助抑制因子 TOPLESS (TPL) を介して転写メディエーター複合体の kinase モジュールと複合体を形成し、ARF のターゲット遺伝子の発現を抑制する。オーキシンにより Aux/IAA タンパク質の分解が促進されると、転写メディエーター複合体が活性化して、ARF によるオーキシンに応答した遺伝子発現が活発化する。

ARF7 と ARF19 は、側根創始細胞において、植物特異的な転写因子である *Lateral Organ Boundaries-domain 16 (LBD16)*, および複数の LBD 遺伝子の発現を誘導する (Okushima et al, 2007)。LBD16 の発現は、側根創始細胞の核の移動や非対称分裂に先立って開始する。LBD16 を含む遺伝子群の機能を抑制すると、側根創始細胞の核の移動が起きず、非対称性が確立されずに、側根形成が停止した。このことから、LBD16 はオーキシン依存的に側根創始細胞で発現し、非対称性の確立を促進することによって、側根形成の開始を制御することが示唆された (図 2) (Goh et al, 2012)。また、LBD16 と同様に ARF7 と ARF19 の下流で発現する LBD18 と LBD33 は、細胞周期関連遺伝子の発現を誘導し、側根創始細胞の細胞分裂を活性化する (Berckmans et al, 2011)。単子葉類であるイネにおいても、LBD16 の類似遺伝子である *Crown rootless 1 (CRL1)* が冠根形成を制御することが示されており (Inukai et al, 2005), オーキシンにより誘導される LBD 遺伝子群を介した根の分岐機構は種間を超えて重要と考えられる。筆者らは、LBD16 がシロイヌナズナの側根形成開始の鍵因子と考えて、LBD16 の下流因子の探索と機能解析から、側根形成の開始を制御する分子機構の理解を目指している。

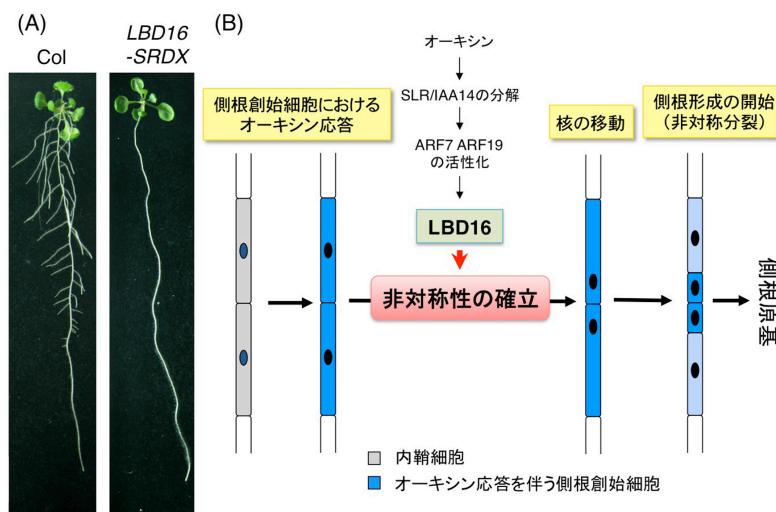


図 2. オーキシンによる側根形成の開始の制御機構

(A) 野生型(Col:左)と LBD16 の機能抑制型植物体 (LBD16-SRDX:右)。LBD16 を機能抑制すると、側根形成の開始が抑制され、側根が形成されない。

(B) オーキシンによる側根形成開始の制御機構。側根創始細胞におけるオーキシン応答により、LBD16 が発現する。その後、LBD16 により側根創始細胞の非対称分裂が誘導され、側根形成が開始する。

## 5. 側根原基の発生

側根形成開始後、側根創始細胞の規則的な細胞分裂と細胞伸長によって、ドーム状の側根原基が形成される。やがて側根原基において、新たに分裂組織が構築されて、側根が形作られる (図 3)。その

後の側根の成長は、主根と同様に、分裂組織における活発な細胞分裂と細胞伸長に依存する。主根の根端分裂組織は胚発生過程で形成されるのに対して、側根は、主根の根端分裂組織には依存せず、数個の分化した内鞘細胞に由来し、独自に根端分裂組織を構築する。このように主根と側根は由来する細胞の性質が異なり、その発生過程も異なるにもかかわらず、ほぼ同様な構造をもつ根端分裂組織を構築する。

Malamy と Benfey (1997)は、シロイヌナズナの側根の発生を詳細に観察し、細胞分裂や細胞伸長などの特徴をもとに、ステージ I から VII の発生ステージを経て、側根が形成されることを明らかにした(図3) (Malamy & Benfey, 1997)。ステージIでは、先に述べたように、側根創始細胞が根の伸長方向に対して垂層方向に非対称分裂することによって、細胞形状の異なる2つの娘細胞が生み出される。ステージIIにおいては、並層方向に分裂することによって、2層の細胞層からなる側根原基となる。ステージIIIでは、外側の細胞層が並層分裂して、3層の側根原基となり、さらにステージIVで内側の細胞層が並層分裂することによって、4層からなるドーム状の側根原基が形成される。ステージV, VIでは、部位特異的な細胞分裂や細胞伸長によって、根端の分裂組織と同様なパターンが生み出される。ステージVIIではさらに原基が発達し、周囲の細胞を押しのけるように、外へと伸長する。

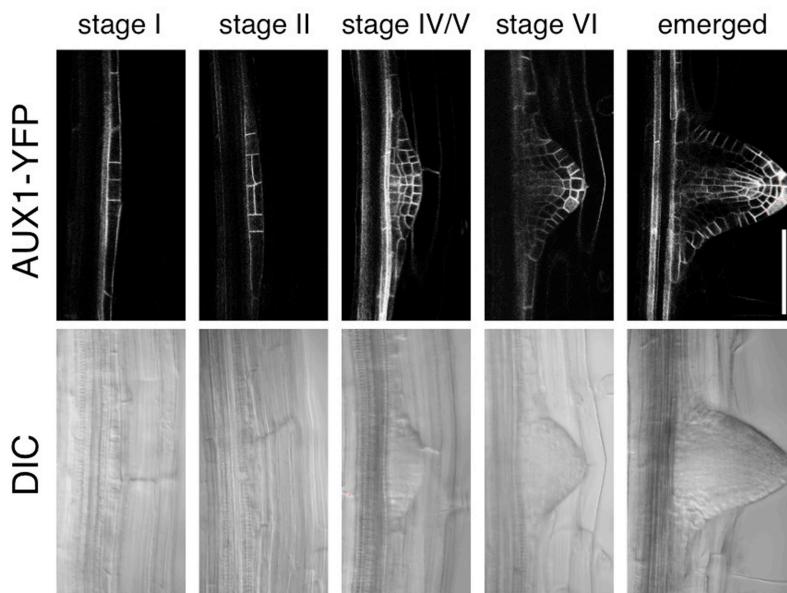


図3. シロイヌナズナの側根原基の発達過程。

細胞膜マーカーとしてAUX1-YFPを利用して、側根原基の発達を観察した。側根形成開始後、協調的な細胞分裂によって、ドーム状の側根原基が形成される。その後、側根の根端分裂組織が構築される。

Laskowski (1995)らは、器官自律的な発生が可能かという点に着目して、側根が二段階の発生プロセスによって形成される説を提唱した (Laskowski et al, 1995)。彼らは、根を3 mm長に断片化し、各断片に含まれる側根原基のステージを記録した後に、7日間液体培養し、側根原基を再び観察して、側根原基の発達を確認した。培養0日目の段階で、1-2層(ステージIもしくはII)からなる側根原基だった場合は、7日経っても2-3層までしか発達しなかったのに対して、3-5層(ステージIII-V)だった原基は、側根として成熟した。このことから、初期の側根原基が発達するためには、周囲の組織から何らかの物質の供給が必要であり、一方、ある程度成熟した側根原基は、器官自律的に発生が進むことが示唆された。Malamy と Benfey (1997)の観察とあわせて考えると、側根形成の初期では、活発な細胞増殖により4層からなるドーム状の原基が作られ(stage I-IV)，その後に新たな分裂組織が構築される(stage V-VII)という二段階の発生プロセスによって、側根が形成されると考えられる。この二段階の発生プロセスは、側根原基の発生後期になると、根端分裂組織を構成する各組織に特異的な

遺伝子発現パターンが観察されることからも支持されている (Malamy & Benfey, 1997, Tian et al, 2014a, Tian et al, 2014b)。

初期の発生ステージでは、ステージ I の非対称分裂によって生じた小さな娘細胞が、活発に細胞分裂する。一方で、隣接する内鞘細胞はほとんど分裂しない。この限局的な細胞分裂と、側根原基を覆う親根の組織(内皮、皮層、表皮)の細胞間接着の緩みによって、側根原基はドーム状に発達する (Kumpf et al, 2013, Lucas et al, 2013, Swarup et al, 2008)。AP2/EREBP タイプの転写因子 *PUCHI* の変異体では、側根原基形成の初期において、分裂する領域が広がり、側根原基の発達が遅れ、また、基部が肥大化した側根が形成される (Hirota et al, 2007)。このことから、*PUCHI* は側根原基の細胞分裂パターンを適切に調整することによって、側根原基の形成を促進していると考えられる。また、受容体型キナーゼである *ARABIDOPSIS CRINKLY4 (ACR4)* の変異体でも、同様な細胞分裂の亢進が観察されることから、何らかの細胞間情報伝達が細胞分裂の活発な領域の制限に関わることが示唆されている (De Smet et al, 2008)。

4 層からなるドーム状原基が形成された後、根端分裂組織を構成する組織分化が進む。主根の根端分裂組織の構築や維持に関わる多くの遺伝子の変異体は、側根の根端分裂組織の構築や維持にも異常を示すことから、両者は共通した分子機構によって制御されることが示唆されている (Tian et al, 2014a)。しかしながら、先に述べたように、主根と側根は元になる細胞や発生過程が異なることから、どのようにして同様な形状や細胞パターンをもつ器官が形成されるのかは明らかになっていない。

側根形成は、数個の側根創始細胞に由来して、多細胞からなる組織化された新しい器官が形成されるダイナミックな発生プロセスである。このような発生プロセスを理解するためには、細胞がどのように分裂・変形して、器官を構築するのか、また、細胞の運命がいつ、どのように決まるのかを経時的に観察することが重要である。近年のライブイメージング技術の向上とともに、シロイスナズナの側根発生を経時的に顕微鏡観察することが可能になってきている。観察には、高解像度で汎用性が高い共焦点レーザー顕微鏡や、光によるダメージを低く抑えつつ、高速スキャンにより高精細な 3 次元画像を得ることができるライトシート顕微鏡が用いられる (Lucas et al, 2013, Maizel et al, 2011, Vermeer et al, 2014, von Wangenheim et al, 2016)。培地や照明装置を工夫することによって、顕微鏡下で植物を生育させたまま、約 2 日間にわたる側根の発生過程を経時的に観察することが可能になった。この方法により、側根の 3 次元形状の変化を可視化し、側根を覆う親根の組織(特に内皮細胞)が側根の発達と密接に関わることが見出された (Kumpf et al, 2013, Lucas et al, 2013, Vermeer et al, 2014)。Maizel らのグループは、ライトシート顕微鏡をもちいて、側根創始細胞から側根へと発達するまでを経時的に観察し、細胞がどのように分裂して、側根の 3 次元形状を形成するのかを明らかにした (Maizel et al, 2011, Vermeer et al, 2014, von Wangenheim et al, 2016)。今後、側根発生過程のライブイメージングとトランスクリプトーム解析 (Lavenus et al, 2015, Voss et al, 2015)などを組み合わせて、細胞分裂、細胞形状の変化、細胞分化、遺伝子発現を統合的に解析することによって、側根発生の分子機構について、さらに理解が進むことが期待される。

## 6. おわりに

本稿では、シロイスナズナの側根形成の分子機構について概説した。ここ数年の観察手法の進展により、細胞レベルから根系レベルまでの幅広い現象について、さまざまな機構が明らかにされてきた。

側根形成は、植物の器官発生の優れたモデル系と考えられ、器官形状の制御機構、細胞のアイデンティティの決定機構について、さらに理解が進むことが期待される。また、植物は、水分や栄養などの土壤環境に応じて、側根形成を調節して、適切な形状の根系を構築する。これは動くことができない植物にとって、重要な生存戦略となっている。今後、環境応答と側根形成の制御機構との関係を明らかにすることによって、さまざまな環境に適応した根系構造をもつ植物の作出へつながることが期待される。

## 7. 引用文献

- Atkinson, J. A., Rasmussen, A., Traini, R., Voss, U., Sturrock, C., Mooney, S. J., Wells, D. M., & Bennett, M. J. 2014. Branching out in roots: uncovering form, function, and regulation. *Plant Physiol.* 166: 538-550.
- Bao, Y., Aggarwal, P., Robbins, N. E., Sturrock, C. J., Thompson, M. C., Tan, H. Q., Tham, C., Duan, L., Rodriguez, P. L., Vernoux, T., Mooney, S. J., Bennett, M. J., & Dinneny, J. R. 2014. Plant roots use a patterning mechanism to position lateral root branches toward available water. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111: 9319-9324.
- Barlow, P. W., & Adam, J. S. 1988. The Position and Growth of Lateral Roots on Cultured Root Axes of Tomato, *Lycopersicon-Esculentum* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* 158: 141-154.
- Berckmans, B., Vassileva, V., Schmid, S. P., Maes, S., Parizot, B., Naramoto, S., Magyar, Z., Alvim Kamei, C. L., Koncz, C., Bogre, L., Persiau, G., De Jaeger, G., Friml, J., Simon, R., Beeckman, T., & De Veylder, L. 2011. Auxin-dependent cell cycle reactivation through transcriptional regulation of *Arabidopsis* E2Fa by lateral organ boundary proteins. *Plant Cell* 23: 3671-3683.
- Charlton, W. A. 1983. Patterns of Distribution of Lateral Root Primordia. *Annals of Botany* 51: 417-427.
- Charlton, W. A. (1996). Lateral Root Initiation. In *Plant Roots: The Hidden Half*, 2nd edn. (ed. Y. Waisel, A. Eshel & U. Kafkafi), pp. 149-173. New York: Marcel Dekker Inc.
- De Rybel, B., Audenaert, D., Xuan, W., Overvoorde, P., Strader, L. C., Kepinski, S., Hoye, R., Brisbois, R., Parizot, B., Vanneste, S., Liu, X., Gilday, A., Graham, I. A., Nguyen, L., Jansen, L., Njo, M. F., Inze, D., Bartel, B., & Beeckman, T. 2012. A role for the root cap in root branching revealed by the non-auxin probe naxillin. *Nat Chem Biol* 8: 798-805.
- De Rybel, B., Vassileva, V., Parizot, B., Demeulenaere, M., Grunewald, W., Audenaert, D., Van Campenhout, J., Overvoorde, P., Jansen, L., Vanneste, S., Möller, B., Wilson, M., Holman, T., Van Isterdael, G., Brunoud, G., Vuylsteke, M., Vernoux, T., De Veylder, L., Inzé, D., Weijers, D., Bennett, M. J., & Beeckman, T. 2010. A novel Aux/IAA28 signaling cascade activates GATA23-dependent specification of lateral root founder cell identity. *Curr. Biol.* 20: 1697-1706.
- De Smet, I., Tetsumura, T., De Rybel, B., Frey, N. F. D., Laplaze, L., Casimiro, I., Swarup, R., Naudts, M., Vanneste, S., Audenaert, D., Inzé, D., Bennett, M. J., & Beeckman, T. 2007. Auxin-dependent regulation of lateral root positioning in the basal meristem of *Arabidopsis*. *Development* 134: 681-690.
- De Smet, I., Vassileva, V., De Rybel, B., Levesque, M. P., Grunewald, W., Van Damme, D., Van Noorden, G., Naudts, M., Van Isterdael, G., De Clercq, R., Wang, J. Y., Meuli, N., Vanneste, S., Friml, J., Hilson, P., Jürgens, G., Ingram, G. C., Inzé, D., Benfey, P. N., & Beeckman, T. 2008. Receptor-like kinase ACR4 restricts formative cell divisions in the *Arabidopsis* root. *Science* 322: 594-597.
- Ditengou, F. A., Teale, W. D., Kochersperger, P., Flittner, K. A., Kneuper, I., van der Graaff, E., Nziengui, H., Pinosa, F., Li, X., Nitschke, R., Laux, T., & Palme, K. 2008. Mechanical induction of lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*. *Proc. BSJ-Review* 7:226 (2016)

- Natl. Acad. Sci. USA* 105: 18818-18823.
- Dubrovsky, J. G., Sauer, M., Napsucialy-Mendivil, S., Ivanchenko, M. G., Friml, J., Shishkova, S., Celenza, J., & Benková, E. 2008. Auxin acts as a local morphogenetic trigger to specify lateral root founder cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 8790-8794.
- Fukaki, H., Nakao, Y., Okushima, Y., Theologis, A., & Tasaka, M. 2005. Tissue-specific expression of stabilized SOLITARY-ROOT/IAA14 alters lateral root development in *Arabidopsis*. *Plant J.* 44: 382-395.
- Fukaki, H., Tameda, S., Masuda, H., & 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.
- Goh, T., Joi, S., Mimura, T., & Fukaki, H. 2012. The establishment of asymmetry in *Arabidopsis* lateral root founder cells is regulated by LBD16/ASL18 and related LBD/ASL proteins. *Development* 139: 883-893.
- Hirota, A., Kato, T., Fukaki, H., Aida, M., & Tasaka, M. 2007. The auxin-regulated AP2/EREBP gene PUCHI is required for morphogenesis in the early lateral root primordium of *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19: 2156-2168.
- Hodge, A., Berta, G., Doussan, C., Merchan, F., & Crespi, M. 2009. Plant root growth, architecture and function. *Plant and Soil* 321: 153-187.
- Inukai, Y., Sakamoto, T., Ueguchi-Tanaka, M., Shibata, Y., Gomi, K., Umemura, I., Hasegawa, Y., Ashikari, M., Kitano, H., & Matsuoka, M. 2005. *Crown rootless1*, which is essential for crown root formation in rice, is a target of an AUXIN RESPONSE FACTOR in auxin signaling. *Plant Cell* 17: 1387-1396.
- Ito, J., Fukaki, H., Onoda, M., Li, L., Li, C., Tasaka, M., & Furutani, M. 2016. Auxin-dependent compositional change in Mediator in ARF7- and ARF19-mediated transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 113: 6562-6567.
- Kircher, S., & Schopfer, P. 2016. Priming and positioning of lateral roots in *Arabidopsis*. An approach for an integrating concept. *J Exp Bot* 67: 1411-1420.
- Kumpf, R. P., Shi, C. L., Larrieu, A., Sto, I. M., Butenko, M. A., Peret, B., Riiser, E. S., Bennett, M. J., & Aalen, R. B. 2013. Floral organ abscission peptide IDA and its HAE/HSL2 receptors control cell separation during lateral root emergence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110: 5235-5240.
- Laskowski, M., Grieneisen, V., Hofhuis, H., Hove, C., Hogeweg, P., Marée, A., & Scheres, B. 2008. Root System Architecture from Coupling Cell Shape to Auxin Transport. *PLoS Biol.* 6: e307.
- Laskowski, M. J., Williams, M. E., Nusbaum, H. C., & Sussex, I. M. 1995. Formation of lateral root meristems is a two-stage process. *Development* 121: 3303-3310.
- Lavenus, J., Goh, T., Guyomarc'h, S., Hill, K., Lucas, M., Voss, U., Kenobi, K., Wilson, M. H., Farcot, E., Hagen, G., Guilfoyle, T. J., Fukaki, H., Laplaze, L., & Bennett, M. J. 2015. Inference of the *Arabidopsis* lateral root gene regulatory network suggests a bifurcation mechanism that defines primordia flanking and central zones. *Plant Cell* 27: 1368-1388.
- Lavenus, J., Goh, T., Roberts, I., Guyomarc'h, S., Lucas, M., De Smet, I., Fukaki, H., Beeckman, T., Bennett, M., & Laplaze, L. 2013. Lateral root development in *Arabidopsis*: fifty shades of auxin. *Trends Plant Sci.* 18: 450-458.
- Lucas, M., Guédon, Y., Jay-Allemand, C., Godin, C., & Laplaze, L. 2008. An auxin transport-based model of root branching in *Arabidopsis thaliana*. *PLoS ONE* 3: e3673.
- Lucas, M., Kenobi, K., von Wangenheim, D., Vobeta, U., Swarup, K., De Smet, I., Van Damme, D., Lawrence, T., Peret, B., Moscardi, E., Barbeau, D., Godin, C., Salt, D., Guyomarc'h, S., Stelzer, E. H., Maizel, A., Laplaze, L., & Bennett, M. J. 2013. Lateral root morphogenesis is dependent on the mechanical properties of the overlaying tissues. *Proc. Natl. Acad.*

- Sci. USA* 110: 5229-5234.
- Maizel, A., von Wangenheim, D., Federici, F., Haseloff, J., & Stelzer, E. H. 2011. High-resolution live imaging of plant growth in near physiological bright conditions using light sheet fluorescence microscopy. *Plant J.* 68: 377-385.
- Malamy, J. E. 2005. Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant Cell Environ* 28: 67-77.
- Malamy, J. E., & Benfey, P. N. 1997. Organization and cell differentiation in lateral roots of *Arabidopsis thaliana*. *Development* 124: 33-44.
- Mallory, T. E., Chiang, S. H., Cutter, E. G., & Gifford, E. M. 1970. Sequence and Pattern of Lateral Root Formation in 5 Selected Species. *American Journal of Botany* 57: 800-&.
- Moreno-Risueno, M. A., Van Norman, J. M., Moreno, A., Zhang, J., Ahnert, S. E., & Benfey, P. N. 2010. Oscillating gene expression determines competence for periodic *Arabidopsis* root branching. *Science* 329: 1306-1311.
- Okushima, Y., Fukaki, H., Onoda, M., Theologis, A., & Tasaka, M. 2007. ARF7 and ARF19 regulate lateral root formation via direct activation of *LBD/ASL* genes in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19: 118-130.
- Okushima, Y., Overvoorde, P. J., Arima, K., Alonso, J. M., Chan, A., Chang, C., Ecker, J. R., Hughes, B., Lui, A., Nguyen, D., Onodera, C., Quach, H., Smith, A., Yu, G., & Theologis, A. 2005. Functional genomic analysis of the *AUXIN RESPONSE FACTOR* gene family members in *Arabidopsis thaliana*: unique and overlapping functions of *ARF7* and *ARF19*. *Plant Cell* 17: 444-463.
- Richter, G. L., Monshausen, G. B., Krol, A., & Gilroy, S. 2009. Mechanical stimuli modulate lateral root organogenesis. *Plant Physiol.* 151: 1855-1866.
- Scheres, B., & Laskowski, M. 2016. Root patterning: it takes two to tangle. *J Exp Bot* 67: 1201-1203.
- Swarup, K., Benková, E., Swarup, R., Casimiro, I., Péret, B., Yang, Y., Parry, G., Nielsen, E., De Smet, I., Vanneste, S., Levesque, M. P., Carrier, D., James, N., Calvo, V., Ljung, K., Kramer, E., Roberts, R., Graham, N., Marillonnet, S., Patel, K., Jones, J. D. G., Taylor, C. G., Schachtman, D. P., May, S., Sandberg, G., Benfey, P., Friml, J., Kerr, I., Beeckman, T., Laplaze, L., & Bennett, M. J. 2008. The auxin influx carrier LAX3 promotes lateral root emergence. *Nat. Cell Biol.* 10: 946-954.
- Tian, H., De Smet, I., & Ding, Z. 2014a. Shaping a root system: regulating lateral versus primary root growth. *Trends Plant Sci.* 19: 426-431.
- Tian, H., Jia, Y., Niu, T., Yu, Q., & Ding, Z. 2014b. The key players of the primary root growth and development also function in lateral roots in *Arabidopsis*. *Plant Cell Rep* 33: 745-753.
- Van Norman, J. M., Xuan, W., Beeckman, T., & Benfey, P. N. 2013. To branch or not to branch: the role of pre-patterning in lateral root formation. *Development* 140: 4301-4310.
- Vanneste, S., De Rybel, B., Beemster, G. T. S., Ljung, K., De Smet, I., Van Isterdael, G., Naudts, M., Iida, R., Gruisse, W., Tasaka, M., Inzé, D., Fukaki, H., & Beeckman, T. 2005. Cell cycle progression in the pericycle is not sufficient for SOLITARY ROOT/IAA14-mediated lateral root initiation in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell* 17: 3035-3050.
- Vermeer, J. E., von Wangenheim, D., Barberon, M., Lee, Y., Stelzer, E. H., Maizel, A., & Geldner, N. 2014. A spatial accommodation by neighboring cells is required for organ initiation in *Arabidopsis*. *Science* 343: 178-183.
- von Wangenheim, D., Fangerau, J., Schmitz, A., Smith, R. S., Leitte, H., Stelzer, E. H., & Maizel, A. 2016. Rules and Self-Organizing Properties of Post-embryonic Plant Organ Cell Division Patterns. *Curr. Biol.* 26: 439-449.

- Voss, U., Wilson, M. H., Kenobi, K., Gould, P. D., Robertson, F. C., Peer, W. A., Lucas, M., Swarup, K., Casimiro, I., Holman, T. J., Wells, D. M., Peret, B., Goh, T., Fukaki, H., Hodgman, T. C., Laplaze, L., Halliday, K. J., Ljung, K., Murphy, A. S., Hall, A. J., Webb, A. A., & Bennett, M. J. 2015. The circadian clock rephases during lateral root organ initiation in *Arabidopsis thaliana*. *Nat. Commun.* 6: 7641.
- Xuan, W., Audenaert, D., Parizot, B., Moller, B. K., Njo, M. F., De Rybel, B., De Rop, G., Van Isterdael, G., Mahonen, A. P., Vanneste, S., & Beeckman, T. 2015. Root Cap-Derived Auxin Pre-patterns the Longitudinal Axis of the *Arabidopsis* Root. *Curr. Biol.* 25: 1381-1388.
- Xuan, W., Band, L. R., Kumpf, R. P., Van Damme, D., Parizot, B., De Rop, G., Opdenacker, D., Moller, B. K., Skorzinski, N., Njo, M. F., De Rybel, B., Audenaert, D., Nowack, M. K., Vanneste, S., & Beeckman, T. 2016. Cyclic programmed cell death stimulates hormone signaling and root development in *Arabidopsis*. *Science* 351: 384-387.