



## 评述与展望

## Reviews and Progress

# 棉纤维发育及其相关基因的研究进展

张利媛<sup>1,2,3</sup>✉, 于霁雯<sup>1</sup>✉, 吴嫚<sup>1</sup>✉, 卢学强<sup>3</sup>✉, 翟红红<sup>1</sup>✉, 黄双领<sup>1</sup>✉, 李兴丽<sup>1</sup>✉, 张红卫<sup>1</sup>✉, 张金发<sup>1</sup>✉, 喻树迅<sup>1</sup>✉

1. 中国农业科学院棉花研究所, 农业部棉花遗传改良重点实验室, 安阳, 455000

2. 华中农业大学植物科技学院, 武汉, 430070

3. 中国石油集团工程设计有限责任公司华北分公司, 任丘, 062552

✉ 通讯作者: yu@cricaas.com.cn; ✉ 作者

分子植物育种, 2013 年, 第 11 卷, 第 10 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2013.11.0010

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

张利媛等, 2013, 棉纤维发育及其相关基因的研究进展, 分子植物育种(online), 11(10): 1060-1067 (doi: 10.5376/mpb.cn.2013.11.0010)

引用格式(英文):

Zhang et al., 2013, Research Progresses of the Cotton Fiber Development and Associated Genes, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding), 11(10): 1060-1067 (doi: 10.5376/mpb.cn.2013.11.0010)

**摘要** 棉花是世界上重要的经济作物。随着生活水平的提高, 棉纤维作为天然纺织纤维, 以其吸湿性强、透气、保温性好等优良特性而受到人们的青睐。如何改良棉纤维品质, 使其更适宜人类的需求, 是当前棉纤维发育研究的一个重要方向。棉花纤维的发育将经历细胞的起始分化, 纤维的伸长、初生壁的合成, 次生壁的合成, 以及脱水成熟 4 个阶段, 许多研究表明在棉纤维发育的各个阶段均有大量的基因参与调控棉纤维起始细胞突起, 棉纤维细胞的伸长及次生壁的形成等过程。本文综述了棉花纤维发育过程在基因水平上的一些研究进展。

**关键词** 棉花; 纤维发育; 发育相关基因

## Research Progresses of the Cotton Fiber Development and Associated Genes

Zhang Liyuan<sup>1,2,3</sup>✉, Yu Jiwen<sup>1</sup>✉, Wu Man<sup>1</sup>✉, Lu Xueqiang<sup>3</sup>✉, Zhai Honghong<sup>1</sup>✉, Huang Shuangling<sup>1</sup>✉, Li Xingli<sup>1</sup>✉, Zhang Hongwei<sup>1</sup>✉, Zhang Jinfa<sup>1</sup>✉, Yu Shuxun<sup>1</sup>✉

1. Institute of Cotton Research of CAAS, Anyang, 455000, P.R. China

2. College of Plant Science and Technology of Huazhong Agricultural University, Wuhan, 430070, P.R. China

3. China Petroleum Engineering Huabei Company, Renqiu, 062552, P.R. China

✉ Corresponding author, yu@cricaas.com.cn; ✉ Authors

**Abstract** Cotton is one of the most important economic crops in the world. And with the improvement of the people's living standard, cotton fiber has become the most necessary trichome for spinning with the following featured distinctive qualities: amazing hygroscopicity, excellent moisture permeability, and superior heat insulation. How to advance the quality of the cotton fiber has been an important research orientation. As is known, cotton fiber goes through four stages: initiation, cell elongation and primary wall synthesis, cell wall deposition, maturation. Researches revealed that various genes were expressed in different stages to regulate the fiber's differentiation. And the research progresses about the genes regulating cotton fiber development were summarized in this article.

**Keywords** Cotton; Fiber development; Development-related genes

## 研究背景

近些年, 中国棉花品种在产量上达到了美国等

发达国家水平, 但是纤维品质却中等单一, 强力不足, 而且马克隆值偏高。随着人们生活水平的提高, 如何使棉纤维更加优质成为一个研究热点。

纤维是由胚珠外珠被表皮细胞分化而来, 几乎所有这些表皮细胞都可以分化成纤维细胞, 气孔保卫细胞和珠孔细胞除外, 但最终却只有十分之一的表皮细胞能分化伸长成为纤维(Wang et al., 2002)。

收稿日期: 2012 年 11 月 21 日

接受日期: 2013 年 05 月 02 日

发表日期: 2013 年 05 月 22 日

基金项目: 本研究由农业部转基因生物新品种培育重大专项(2009ZX08009-118B)



一根棉纤维就是一个细胞,棉纤维细胞发育期间无细胞分裂,而且棉纤维细胞的纤维素含量很高,因为纤维素是细胞壁的主要成分,因此棉花纤维成为植物细胞伸长和细胞壁合成研究的重要材料,关于棉纤维发育过程的研究也越来越多。本文就调控棉花纤维发育不同阶段相关基因的研究做一个综述。

## 1 棉纤维发育相关基因的研究进展

棉纤维发育历经起始分化(Initiation),纤维伸长和初生壁合成(cell elongation and primary wall synthesis),次生壁合成(cell wall deposition)及脱水成熟(Maturation)4个时期,相邻两阶段既相互重叠又彼此独立。各项研究都表明,棉花纤维特异或优势相关基因的表达都具有阶段性的特点,下面分别加以介绍。

### 1.1 棉纤维分化起始阶段

棉纤维的起始分化发生在-3~0 DPA (day post anthesis),是棉花纤维发育的开始。该阶段纤维细胞的分化影响着棉籽上着生纤维的根数,纤维细胞分化的早晚直接影响成熟纤维的长度,并最终会影响到皮棉的产量。

棉花纤维的起始包括棉纤维细胞的分化和纤维细胞的突起。纤维细胞分化形成纤维原始细胞,这个过程在开花以前已经分化完成。开花前16 h,胚珠表皮细胞开始出现明暗两类细胞,其中暗细胞最终突起发育成纤维。一般在开花前3 d到开花当天完成分化的纤维细胞将形成长纤维,在开花后5 d到开花后10 d分化的细胞最终发育为短绒。纤维细胞突起是指已经分化的纤维原始细胞扩展为球状或半球状突起的过程,长纤维细胞突起的时间一般在开花当天。

Wang等(2002)利用徐州142和它的无绒突变体经RT-PCR和Northern杂交分析,发现*E6*基因在无绒突变体细胞中的表达被抑制;在正常的徐州142中,*E6* mRNA在其初生壁合成后期,以及次生壁合成早期表达量达到最高。因此推测,无绒突变体可能是因为*E6*基因的表达被抑制,从而影响了纤维细胞发育的起始。同时,John和Crow进一步研究发现*E6*基因的最高转录水平出现在15~22 DPA,因而推断*E6*基因可能与棉纤维中多糖物质的合成或降解有关(John and Crow, 1992)。

Suo等研究发现,*GhIAA16*在徐州142无绒突变体中的mRNA在开花前3 d的时候表达量最高,

而后迅速下降;而在野生型徐州142中,其mRNA水平稳定,因此推测*GhIAA16*在棉纤维起始发育中起着重要作用(Suo et al., 2002)。Ruan等(2003; 2005)发现蔗糖合成酶(SuS)在纤维的起始分化中起重要作用。Suo等(2003)根据已发表的*MYB*基因保守域设计引物,获得了棉纤维的*MYB*转录因子*GhMYB109*基因。Wang等(2005)在亚洲棉中发现一个*MYB*转录因子基因*GaMYB2*,它能恢复拟南芥无表皮毛突变*gl1*;而*GaMYB2*的组成型表达能使拟南芥种子产生表皮毛。另外,有学者发现*MYB*转录因子在胚珠的表皮细胞中有优势表达,而且开花当天,*GhMyb25*在纤维起始部位的表达显著上调(Wu et al., 2006)。综上,棉花的*MYB*转录因子可能是调控纤维细胞分化起始的关键基因。

在棉花纤维发育过程中,早期表达的基因对于棉花纤维的分化和发育具有决定性的作用(张天真, 2000)。但是,目前棉花纤维发育相关基因的研究主要集中于纤维发育的中后期,对纤维起始过程中相关基因的表达及其调控的了解还很少。

### 1.2 纤维伸长及初生壁合成时期

一般认为,纤维细胞伸长发生在1~20 DPA,该阶段纤维细胞的发育主要影响棉纤维的长度。棉纤维细胞纵向伸长的长度大约是横向伸长长度的1000~3000倍(杜雄明和潘家驹, 2000)。在棉纤维细胞伸长及初生壁的合成过程中,棉纤维细胞液泡内的膨压、初生壁的松弛、细胞骨架及细胞骨架蛋白等因素都会对棉纤维的伸长及初生壁的合成产生影响。

#### 1.2.1 膨压对纤维伸长发育的影响

植物细胞膨胀伸长是多种因素综合作用的结果,棉纤维细胞液泡内渗透性物质所产生的膨压是棉纤维细胞伸长的内在动力。

Smart等研究发现液泡ATPase、PEP-羧化酶、质膜proton-translocating ATPase、水通道主要内在蛋白(AQPs)在纤维快速伸长期(12~15 DPA)的转录产物积累达到最高水平;在次生细胞壁合成初期,它们的表达量就开始显著下降(Smart et al., 1998)。李登弟等从‘珂字312’的cDNA文库中筛选到一个在胚珠中优势表达的基因*GhAQPI*,其表达具有组织特异性,并受胚珠发育过程的调节(李登弟等, 2006)。

刘迪秋在10 DPA纤维cDNA文库中发现两个

水通道蛋白(AQPs)基因的 cDNA 片段 *GhPIPI-2* 和 *GhyTIP1*, 它们都在纤维的伸长期大量表达, 而在次生壁纤维素沉积之初的表达水平大大下降, 由此推测 AQPs 参与了膨压驱动的棉纤维细胞的快速伸长。另外, 其研究中还筛选到一个苹果酸脱氢酶(MDH)基因, 其在 5~15 DPA 纤维中表达很强, 并且表达高峰出现在 10 DPA。苹果酸作为一种渗透物质, 其存在将导致棉纤维细胞产生膨压。因此推测, MDH 基因也参与膨压驱动的棉纤维快速伸长过程(刘迪秋, 2007)。

### 1.2.2 初生壁松弛对纤维伸长的影响

初生壁的松弛有利于纤维细胞伸长过程的进行。Expansin 是非疏水性蛋白, 可以通过断裂细胞壁结构大分子之间的非共价键而使胞壁松弛, 从而促进纤维细胞的扩展(蒋建雄等, 2005)。Harmer 等从棉花细胞中分离到了六个膨胀素基因, 分别命名为 *GhExp1~GhExp6*。其中 *GhExp1* 和 *GhExp2* 在纤维细胞中特异性表达, 且 *GhExp1* 的表达非常明显。因此推测 *GhExp1* 是调节纤维细胞伸长的关键基因(Harmer et al., 2002)。Wilkins 等通过微阵列, 比较分析正常纤维细胞和短粗纤维细胞的基因型表达谱, 同样发现 expansin 基因的表达水平与棉纤维细胞长度呈正相关, 而在短粗型纤维的基因型中其表达受到抑制(Wilkins and Arpat, 2005)。

阿拉伯半乳糖蛋白(arabinogalactan protein, AGPs)也参与细胞壁的松弛膨胀。Ji 等(2003)从陆地棉“徐州 142”开花后 10 d 的纤维细胞中分离到一个 *GhAGP1* 基因, 研究表明该基因在开花后 5 d 到 20 d 的棉纤维细胞中优势表达。另外, 从开花后 20 d 的陆地棉纤维 SSH 文库中筛选出了 4 个编码 AGPs 的基因, 分别命名为 *GhAGP2*、*GhAGP3*、*GhAGP4*、*GhFLA1*, 并指出 *GhFLA1*、*GhAGP2* 参与初生壁发育和棉纤维细胞的快速伸长, *GhAGP3* 与 *GhAGP2* 虽高度同源, 但 *GhAGP3*、*GhAGP4* 在棉纤维细胞伸长和次生壁加厚的转换时期(开花后 15 d 到 21 d)特异性表达, 因此推测其可能在次生壁形成时期的纤维素沉积过程中发挥了更大的作用(刘迪秋, 2007)。

### 1.2.3 细胞骨架及相应蛋白对棉纤维伸长的影响

微管是细胞骨架的重要组成部分, 在纤维发育过程中起着不可替代的作用。

Li 等克隆到 *GhTUB1* 基因, 它是一个  $\beta$ -tubulin

基因, 其在开花后 8 d 的棉纤维细胞中优势表达。另外, 还有一个  $\beta$ -tubulin 基因, *Gh-BTubL*, 它在纤维细胞伸长期表达, 使其在酵母细胞中超量表达能促使酵母细胞纵向伸长达 1.74 倍。故推测这两个基因的表达是棉纤维细胞伸长所必需的(Li et al., 2002)。另外, 刘迪秋(2007)在 20 DPA 纤维 SSH 文库中特异的富集了几个  $\beta$ -tubulins 基因, 并认为细胞中开花后 20 d 以后优势表达的  $\beta$ -tubulins 可能特异性地调控棉纤维细胞的纤维素沉积。

肌动蛋白与肌动蛋白骨架结合协同控制纤维细胞的发育。Li 等(2005)从陆地棉中克隆得到了 15 个肌动蛋白基因, 分别命名为: *GhACT1~GhACT15*。根据这些基因的组织特异性表达类型, 将它们分为四组, 其中一组在棉纤维细胞中优势表达, 以 *GhACT1* 为代表。进一步通过 RNAi 技术来抑制 *GhACT1* 基因的表达, 结果发现, 这将导致棉纤维细胞肌动蛋白骨架解体, 并因此抑制了纤维细胞的伸长。由此可见 *GhACT1* 控制着纤维细胞的伸长。另外, (肌动蛋白)抑制蛋白(profilin), 也叫前纤维蛋白, 其对肌动蛋白微纤丝的装配具有双重作用, 即可促进肌动蛋白多聚化, 又可导致肌动蛋白微纤丝的解聚(Bubb et al., 2003)。另外, 棉花 profilin 基因 *GhPFNI* 在棉纤维细胞发育过程中也呈现出优势表达的现象。在烟草细胞中超量表达 *GhPFNI* 基因, 悬浮细胞显著伸长, 肌动蛋白微丝也显著增加。因此认为 *GhPFNI* 基因可以通过促进肌动蛋白的多聚化, 从而促进棉纤维细胞的快速伸长。罗明通过基因组步移, 获得了棉花微管切割蛋白基因(*GhKTN1*)的完整 ORF 序列, 而且证明其在开花后 16 d 和开花后 20 d 的棉纤维中的表达量明显增高, 说明该基因在纤维次生壁合成过程中起着重要作用(罗明, 2007)。进一步的研究表明, 提高该基因的表达水平将会导致纤维长度缩短, 次生壁增厚, 强度增加, 而且该基因表达水平的提高还可以使纤维细胞次生壁增厚时间提前。因此认为, 控制该基因的表达水平和表达时间有可能改进棉纤维的强度和长度。朱一超等根据同源克隆得到 *GhDIS2* 基因, 将其转化酵母, 过量表达可促使细胞扩大, 并初步推测该基因参与植物细胞肌动蛋白骨架的组装起作用(朱一超等, 2010)。



#### 1.2.4 其它一些与纤维细胞伸长发育相关的基因

植物细胞中的几丁质酶也在细胞发育过程中起着重要的作用。Zhang 等(2004)从陆地棉中克隆到 *GhCTL1*、*GhCTL2*, 2 个几丁质酶基因, 它们在开花后 18 d 的纤维细胞中优势表达, 而且 *GhCTL2* 启动子能引导 GUS 基因在多种具有次生细胞壁的细胞中特异表达, 因此推测 *GhCTL* 编码的几丁质酶类似蛋白是初生壁和次生壁形成过程中纤维素生物合成所必需的。其更进一步的研究还推测 *GhCTL* 成员可能还与纤维短绒细胞的发育有关。

Kawai 等(1998)从 16~18 DPA 的棉纤维 cDNA 文库中, 分离到在棉纤维中表达的基因 *GhCAP*, 其开放阅读框编码 471 个氨基酸组成的蛋白。RNA 杂交分析发现, 棉花的 *GhCAP* 基因主要在棉纤维发育早期表达。Kim 和 Triplett (2004)利用 mRNA 差异显示法比较棉花野生型 TM-1 和其裸籽近等基因突变 N1, 获得了 *GhGLP1* (germin-like protein)基因, 该基因在棉纤维快速伸长期的表达量达到最高, 并随着棉纤维伸长速度的降低而迅速下降。

Zhao 和 Liu(2006)通过 RACE 技术在 cDNA 差异文库中克隆到 *GhRGPI* 基因, Northern 杂交显示该基因在棉纤维细胞中优势表达, 并且在初生壁形成及次生壁生成阶段表达量最高。Wu 等(2006)通过 GUS 转化烟草来检测 *GhRGPI* 编码蛋白的时空表达特点, 发现在幼嫩的正在伸长的根中, 雄蕊、花药等生殖器官, 及表皮毛中有大量的表达, 这些结果更证实了该基因在棉纤维发育过程中起着重要作用。

Song 和 Allen(1997)从纤维及胚珠的 cDNA 差异文库中克隆到一个在纤维中特异表达的 ACP (acyl carrier protein)基因, Northern 杂交结果显示, 该基因在纤维伸长期优势表达, 因此推测该基因可能通过调节膜脂质的形成而影响棉纤维的伸长。

张燕洁等分离克隆出两个在李氏超短纤维突变型(Li<sub>1</sub>li<sub>1</sub>)和野生型(li<sub>1</sub>li<sub>1</sub>)中差异表达的 DNA 序列, 即 Li<sub>i</sub> 突变基因的两条 EST 序列, 将其分别命名 *GhCHS* (GenBank 登录号: EF643506)和 *GhCPI* (GenBank 登录号: EF643507)。证明 *GhCHS* 基因在纤维伸长阶段的起始时期表达量稍高于伸长阶段的其它时期, 并推断其对纤维伸长的影响可能是因为其编码合成的查尔酮合酶抑制了生长素的运输; *GhCPI* 基因在纤维伸长期优势表达, 且其在纤维伸

长阶段起始时期的表达量稍低于伸长阶段的其它时期(张燕洁等, 2009)。

秦超等通过构建棉纤维 *GhCCR4* 基因的瞬时表达体系, 发现该基因在棉花纤维伸长期和次生壁增厚期持续表达。且发现在 27 DPA 时, 转 *GhCCR4* 基因的纤维长度明显短于对照, 而且细胞壁也明显增厚(秦超等, 2010)。

Shi 等(2006)通过基因芯片技术筛选到 3 个乙烯合成酶基因(*GhACO1*, *GhACO2*, *GhACO3*), 它们在纤维细胞的伸长过程中起关键作用, 且认为对于调控纤维细胞的伸长, 乙烯比油菜素内酯更有效。另外, 该陆地棉基因表达谱芯片结果显示, 编码第三类过氧化物酶的基因在纤维细胞快速伸长期上调表达。为了进一步验证这些基因的功能, Mei 等(2009)克隆了 10 个编码第三类过氧化物酶的 *GhPOX* 基因, 他们以陆地棉徐州 142 及其无绒突变体为材料, 结合芯片数据显示, 在这 10 个基因中 *GhPOX1* 是纤维快速伸长中表达水平最高的, 且在 10~15 DPA 野生型纤维细胞中表达水平较 -3 DPA 胚增加了 400 多倍, 而 10 DPA 之前和无绒突变体胚中则仍维持在一个很低的水平, 这些数据表明 *GhPOX1* 的表达和调控主要发生在纤维发育阶段。为了进一步验证 *GhPOX1* 的功能, 将与 *GhPOX1* 同源基因 *AtPOX13* 导入拟南芥, 结果显示 *AtPOX13* 在拟南芥根中显著表达, 而 *AtPOX13* 的缺失突变体中拟南芥侧根数目及长度较野生型都大幅下降, 说明 *AtPOX13* 参与侧根细胞的发育起始和延伸过程。从而推测 *GhPOX1* 调节植物细胞的伸长, 同时也说明棉花第三类过氧化物酶可能在纤维伸长中调节 ROS 代谢起重要作用。

#### 1.3 次生壁加厚

棉纤维细胞次生壁增厚期开始于 16~19 DPA, 持续到 40~50 DPA, 与纤维伸长期有 10~15 d 的重叠。次生壁加厚主要影响纤维的细度、成熟度及纤维比强度。次生壁几乎全部由纤维素组成。次生壁合成时期, 纤维素的沉积量决定了棉纤维细胞壁的厚度。在适宜的外界条件下, 如果次生壁加厚发育开始时间越早, 并且持续时间越长, 则最终形成的纤维强度就高, 反之纤维强度低(卞海云等, 2004)。

目前, 已经从棉花中克隆到了编码纤维素合成酶亚单位的基因。对开花后 21 d 的棉纤维 cDNA 文库进行测序分析, 得到 *GhCelA1* 和 *GhCelA2* 这 2 个基因, 它们与细菌 *CelA* 基因同源。其中 *GhCelA1*

的转录起始于次生壁开始沉积之初, 给在开花后 17 天的时候, 并且在整个次生壁增厚时期的表达都很活跃, 且 *GhCelA1* 的表达水平高于 *GhCelA2* 的表达水平(Pear et al., 1996)。胡宏标等以高、中、低纤维比强度的棉花品种为材料, 研究发现在物质变化水平上, 可溶性糖、蔗糖和  $\beta$ -1, 3-葡聚糖含量动态变化特性影响到棉纤维素累积特性, 是导致棉纤维比强度品种差异的重要原因(胡宏标等, 2007)。

#### 1.4 脱水成熟

在开花后 45 d 到开花后 60 d 期间, 棉铃开始成熟开裂、吐絮, 棉纤维不断失水、扭曲, 发育成熟。纤维的扭曲数由脱水成熟时期的发育情况所决定。由于次生细胞壁的加厚影响了核酸和蛋白质的提取, 因此目前对于脱水成熟期纤维细胞发育的研究还很少。

#### 1.5 其它已克隆出来的棉纤维优势或特异表达相关基因

郭瑛克隆 5 个与棉纤维发育相关的基因: 棉纤维表达蛋白(cotton fiber expressed protein, CFE)、2,5-二羟苯乙酸 1,2-加氧酶(homogentisate 1,2-dioxygenase, HGD), 两个过氧化物酶(peroxidase, POD), 果胶裂解酶(pectate lyase, PL)。通过对这五个基因的时空表达特征做研究, 其中 *GhPL* 是棉纤维特异表达基因, *GhCFE*, *GhHGD* 和 *GhPOD2* 是棉纤维优势表达基因(郭瑛, 2006)。贺亚军等通过对棉纤维 cDNA 文库测序及 5'RACE 技术获得了 *GhLipase* 基因(登录号: EU273298), 结果显示该基因在陆地棉基因组中存在两个拷贝且在棉花的胚珠及纤维细胞中优势表达, 并将该基因被定位在四倍体棉花的 A13 染色体上(贺亚军等, 2009)。王磊等(2010)利用 10 DPA 的李氏纤维正常材料( $li_1li_1$ )和超短纤维突变体( $Li_1li_1$ )胚珠纤维为材料, 得到两个在正常材料中上调表达的基因: *GhGAD* (谷氨酸脱羧酶)和 *GhVPI* (质子焦磷酸酶), 这两个基因的转录水平分析表明他们在棉纤维中优势表达, 且分别被定位于第 12 和第 8 条染色体上。

## 2 植物激素对棉纤维发育的影响

植物各个阶段的发育都离不开激素的调节, 棉纤维细胞的发育同样如此, 通过内源激素含量的测定、以及外源激素的施用, 再结合基因表达谱分析, 可以很好的阐述各种激素对棉纤维细胞发育过程

的影响。

棉花胚珠培养体系作为一个优良的实验体系, 可用来研究植物激素对棉花纤维细胞发育的影响。赤霉素( $GA_3$ )和生长素(IAA)是影响棉纤维细胞分化的重要因子。在棉花胚珠培养过程中,  $GA_3$  能诱导分化产生更多的纤维原始细胞,  $GA_3$  和 IAA 能促进纤维细胞的伸长, 而 ABA 则会抑制纤维细胞伸长。在次生壁增厚时期, IAA 促使纤维素沉积量增加, ABA 的作用则相反, 而  $GA_3$  似乎对纤维素的量没有影响(杜雄明和潘家驹, 2000)。

Sun 等(2005)研究发现, 油菜素内酯(BRs)能促进纤维伸长, 并发现 BRs 对纤维细胞的分化起始与伸长都很重要, 如果用 BRs 生物合成抑制剂 brassinazole 2001 (Brz)处理棉花发芽导致完全没有纤维细胞的分化。罗明克隆了棉花类固醇  $5\alpha$ -还原酶基因(*GhDET2*) (罗明, 2007), 该基因为 BRs 生物合成的限速酶基因, 进一步研究结果表明该基因在棉纤维细胞快速伸长期(5~10 DPA)的表达水平最高, 同时该基因在徐州 142 无绒无絮突变体 0DPA 胚珠中的表达水平仅为同期野生型胚珠的 1/5, 说明 *GhDET2* 基因在棉花纤维的起始和快速伸长过程中具有重要作用。

## 3 讨论

目前, 关于纤维发育相关基因功能的研究, 主要还停留在推测阶段, 基因在棉纤维发育中的确切功能以及基因之间的相互调控还有待于进一步的研究、探索, 且由于棉纤维发育过程中复杂的环境条件及自身基因组的复杂性, 棉花转基因功能验证还存在一定的难度。因此, 大多数基因的研究还仅仅停留在理论研究水平, 还不能很快的将其应用于纤维品质的遗传改良。但是这些都为深入了解棉纤维的分子发育机制奠定了基础。

大部分的棉纤维发育相关基因的研究都是通过同源克隆、cDNA 差减文库测序或者是利用基因芯片筛选差异基因等方法获得并由此展开的, 虽然大批量挑选棉纤维发育相关基因的工作难题已经攻破, 但对于所挑选的目的基因的有效利用工作还有待于进一步的加强, 而且大批量的克隆工作由于费用高、工作量大等原因, 还未得到广泛应用。

因此, 如何有效的提高目标基因的筛选水平, 如何尽可能的降低基因克隆工作的费用, 并使其能够大批量开展等是目前研究棉纤维发育过程相关基因亟需解决的问题。



另外,关于棉纤维相关基因的研究应做到纤维品质与产量相结合,争取品质、产量效益的最大化,而不是仅仅停留在棉纤维品质层面的研究。

### 作者贡献

张利媛完成论文初稿的写作,卢学强、翟红红、黄双领、李兴丽,张红卫参与论文数据的收集和数据分析,于霁雯、吴嫚、张金发、喻树迅是项目的构思者及负责人,指导论文的写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

### 致谢

本研究由农业部转基因生物新品种培育重大专项(2009ZX08009-118B)资助;感谢所有在论文写作过程中提供过帮助的人员。

### 参考文献

- Bian H.Y., Zhou Z.G., Chen B.L., and Jiang G.H., 2004, Biological synthesis of cellulose during cotton fiber thickening process, *Mianhua Xuebao (Cotton Science)*, 16(6): 374-378 (卞海云, 周治国, 陈兵林, 蒋光华, 2004, 棉纤维加厚发育期间纤维素生物合成研究进展, *棉花学报*, 16(6): 374-378)
- Bubb M.R., Yarmola E.G., Gibson B.G., and Southwick F.S., 2003, Depolymerization of actin filaments by profiling effects of profilin on capping protein function, *J. Biol. Chem.*, 278(27): 24629-24635  
<http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M302796200>  
PMid:12730212
- Du X.M., and Pan J.J., 2000, Factors influencing cotton fiber initiation and development, *Shengmìng Kexue (Chinese Bulletin of Life Sciences)*, 12(4): 177-180 (杜雄明, 潘家驹, 2000, 影响棉纤维分化和发育的因素, *生命科学*, 12(4): 177-180)
- Harmer S.E., Orford S.J., and Timmis J.N., 2002, Characterisation of six alpha-expansin genes in *Gossypium hirsutum* (upland cotton), *Mol. Genet. Genomics*, 268(1): 1-9  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00438-002-0721-2>  
PMid:12242493
- He Y.J., Guo W.Z., and Zhang T.Z., 2009, Molecular cloning, characterization and mapping of *GhLipase* gene in *Gossypium Hirsutum*, *Nongye Shengwu Jishu Xuebao (Journal of Agricultural Biotechnology)*, 17(1): 84-86 (贺亚军, 郭旺珍, 张天真, 2009, 陆地棉 *GhLipase* 基因的克隆、特征分析及定位, *农业生物技术学报*, 17(1): 84-86)
- Hu H.B., Zhang W.J., Wang Y.H., Chen B.L., and Zhou Z.G., 2007, Matters related with cotton fiber thickening development and fiber strength, *Xibei Zhiwu Xuebao (Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica)*, 27(4): 726-733 (胡宏标, 张文静, 王友华, 陈兵林, 周治国, 2007, 棉纤维加厚发育相关物质对纤维比强度的影响, *西北植物学报*, 27(4): 726-733)
- Ji S.J., Lu Y.C., Feng J.X., Wei G., Li J., Shi Y.H., Fu Q., Liu D., Luo J.C., and Zhu T.X., 2003, Isolation and analyses of genes preferentially expressed during early cotton fiber development by subtractive PDR and cDNA array, *Nucl. Acids Res.*, 31(10): 2534-2543  
<http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkg358>  
PMid:12736302 PMCID:156040
- Jiang J.X., Zhu Y.Q., Guo L.G., and Wang Z.C., 2005, Gene expression in the primary developmental stage of cotton fiber, *Hunan Nongye Daxue Xuebao (Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences))*, 31(4): 451-458 (蒋建雄, 朱玉琴, 魏利钢, 王志成, 2005, 棉纤维细胞初生发育过程中的基因表达, *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 31(4): 451-458)
- John M.E., and Crow L.J., 1992, Gene expression in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) fiber: cloning of the mRNAs, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 89(13): 5769-5773  
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.89.13.5769>  
PMid:1631059 PMCID:402099
- Kawai M., Aotsuka S., Uchimiya H., 1998, Isolation of a cotton CAP gene: a homologue of adenyl cyclase-associated protein highly expressed during fiber elongation, *Plant Cell Physiol.*, 39(12): 1380-1383  
<http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a029346>  
PMid:10050322
- Kim H.J., and Triplett B.A., 2004, Cotton fiber germin-like protein. I. molecular cloning and gene expression. *Planta*, 218(4): 516-524  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00425-003-1133-1>  
PMid:14648117
- Li D.D., Huang G.Q., Tan X., Wang X.L., Xu W.L., Wu Y.J., Wang H., and Li X.B., 2006, Cloning of *GhAQPI* gene and its specific expression during ovule development in cotton, *Zhiwu Shengli Yu Fenzi Shengwu Xuebao (Journal of Plant Physiology and Molecular Biology)*, 32(5): 543-550 (李登弟, 黄耿青, 谭新, 王杰, 王秀兰, 许文亮, 吴雅洁, 汪虹, 李学保, 2006, 棉花 *GhAQPI* 基因克隆及其在胚珠发育中的特异表达, *植物生理与分子生物学报*, 32(5): 543-550)
- Li X.B., Cai L., Cheng N.H., and Liu J.W., 2002, Molecular characterization of the cotton *GhTUB1* gene that is preferentially expressed in fiber, *Plant Physiol.*, 130(2): 666-674

- <http://dx.doi.org/10.1104/pp.005538>  
PMid:12376634 PMCID:166596
- Li X.B., Fan X.P., Wang X.L., Cai L., and Yang C.W., 2005, The cotton *ACTIN1* gene is functionally expressed in fibers and participates in fiber elongation, *The Plant Cell*, 17(3): 859-875  
<http://dx.doi.org/10.1105/tpc.104.029629>  
PMid:15722467 PMCID:1069704
- Liu D.Q., 2007, Molecular cloning and expression analysis of the genes specifically expressed in fibers of *Gossypium Hirsutum*, Dissertation for Ph.D., Huazhong Agricultural University, Supervisor: Zhang X.L., pp.59-1 (刘迪秋, 2007, 陆地棉纤维特异表达基因的克隆与表达研究, 博士学位论文, 华中农业大学, 导师: 张献龙, pp.59-108)
- Luo M., 2007, Functions of GhDET2 and GhKTN1 in cotton fiber cell development, Dissertation for Ph.D., Southwest University, Supervisor: Pei Y., pp.89-135 (罗明, 2007, GhDET2 和 GhKTN1 在棉花纤维细胞发育中的功能, 博士学位论文, 西南大学, 导师: 裴炎, pp.89-135)
- Mei W.Q., Qin Y.M., Song W.G., Li J., and Zhu Y.X., 2009, Cotton GhPOX1 encoding plant class III peroxidase may be responsible for the high level of reactive oxygen species production that is related to cotton fiber elongation, *J. Genet. Genomics*, 36(3): 141-150  
[http://dx.doi.org/10.1016/S1673-8527\(08\)60101-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1673-8527(08)60101-0)
- Pear J.R., Kawagoe Y., Schreckengost W.E., Delmer D.P., and Stalker D.M., 1996, Higher plants contain homologs of the bacterial *celA* genes encoding the catalytic subunit of cellulose synthase, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 93(22): 12637-12642  
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.93.22.12637>  
PMid:8901635 PMCID:38045
- Qin C., Ni Z.Y., Yan H.Y., Lv M., Hao X.Y., and Fan L., 2010, Functional analysis of *GhCCR4* gene in the epidermal cells of cotton ovules, *Mianhua Xuebao (Cotton Science)*, 22(1): 10-16 (秦超, 倪志勇, 闫洪颖, 吕萌, 郝晓燕, 范玲, 2010, 棉花 *GhCCR4* 基因的瞬时表达研究, 棉花学报, 22(1): 10-16)
- Ruan Y.L., Llewellyn D.J., and Furbank R.T., 2003, Suppression of sucrose synthase gene expression represses cotton fiber cell initiation, elongation, and seed development, *Plant Cell*, 15(4): 952-964  
<http://dx.doi.org/10.1105/tpc.010108>  
PMid:12671090 PMCID:152341
- Ruan Y.L., Llewellyn D.J., Furbank R.T., and Chourey P.S., 2005, The delayed initiation and slow elongation of fuzz-like short fiber cell in relation to altered patterns of sucrose synthases expression and plasmodesmata gating in a lintless mutant of cotton, *J. Exp. Bot.*, 56(413): 977-984  
<http://dx.doi.org/10.1093/jxb/eri091>  
PMid:15710635
- Shi Y.H., Zhu S.W., Mao X.Z., Feng J.X., Qin Y.M., Zhang L., Cheng J., Wei L.P., Wang Z.Y., Zhu Y.X., 2006, Transcriptome profiling, molecular biological, and physiological studies reveal a major role for ethylene in cotton fiber cell elongation, *Plant Cell*, 18(3): 651-664  
<http://dx.doi.org/10.1105/tpc.105.040303>  
PMid:16461577 PMCID:1383640
- Smart L.B., Vojdani F., Maeshina M., and Wilkins T.A., 1998, Genes involved in osmoregulation during turgor-driven cell expansion of developing cotton fibers are differentially regulated, *Plant Physiology*, 116(4): 1539-1549  
<http://dx.doi.org/10.1104/pp.116.4.1539>  
PMid:9536073 PMCID:35063
- Song P., and Allen R.D., 1997, Identification of a cotton fiber-specific acyl carrier protein cDNA by differential display, *Biochim. Biophys. Acta*, 1351(3): 305-312  
[http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4781\(96\)00218-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-4781(96)00218-7)
- Sun Y., Veerabomma S., Abdel-mageed H.A., Fokar M., Asami T., Yoshida S., and Allen R.D., 2005, Brassinosteroid regulates fiber development on cultured cotton ovules, *Plant Cell Physiol.*, 46(8): 1384-1391  
<http://dx.doi.org/10.1093/pcp/pci150>  
PMid:15958497
- Suo J., Liang X., Pu L., Zhang Y., and Xue Y., 2003, Identification of GhMYB109 encoding a R2R3 MYB transcription factor that expressed specifically in fiber initials and elongating fibers of cotton(*Gossypium hirsutum* L.), *Biochim. Biophys. Acta*, 1630(1): 25-34
- Suo J.F., Liang X.E., and Xue Y.B., 2002, Expressional profiling of genes related to cotton fiber initiation and isolation of *GhIAA26* homologous to Arabidopsis IAA16, *Cotton Science*, 14(S): 46
- Wang H.Y., Yu Y., Chen Z.L., and Xia G.X., 2005, Functional characterization of *Gossypium hirsutum* profilin1 gene (*GhPFN1*) in tobacco suspension cells, *Planta*, 222(4): 594-603  
<http://dx.doi.org/10.1007/s00425-005-0005-2>  
PMid:16001260
- Wang L., Zhu Y.C., Cai C.P., Zhang T.Z., and Guo W.Z., 2010, Molecular cloning and characterization of two fiber elongation genes using a cotton fiber development mutant (*Gossypium Hirsutum* L.), *Zuowu Xuebao (Acta Agronomic Sinica)*, 36(1): 85-91 (王磊, 朱一超, 蔡彩萍, 张天真, 郭旺珍, 2010, 两个棉纤维发育相关基因的克隆与特征分析, 作物学报, 36(1): 85-91)



- Wang X.D., Jiang S.L., Li Y.Y., and Xu Y.N., 2002, A suppressed gene in integument cells of a fiberless seed mutant in upland cotton, *Journal of Zhejiang University Science*, 3(5):594-599  
<http://dx.doi.org/10.1631/jzus.2002.0594>
- Wilkins T.A., and Arpat A.B., 2005, The cotton fiber transcriptome, *Physiologia Plantarum*, 124(3): 295-300  
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.2005.00514.x>
- Wu A.M., Ling C., and Liu J.Y., 2006, Isolation of a cotton reversibly glycosylated polypeptide (*GhRGP1*) promoter and its expression activity in transgenic tobacco, *J. Plant Physiol.*, 163(4): 426-435  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2005.06.014>  
PMid:16455356
- Zhang D., Hrmova M., Wan C.H., Wu C., Balzen J., Cai W., Wang J., Densmore L.D., Fincher G.B., Zhang H., and Haigler C.H., 2004, Members of a new group of chitinase-like genes are expressed preferentially in cotton cells with secondary walls, *Plant Mol. Biol.*, 54(3): 353-372  
<http://dx.doi.org/10.1023/B:PLAN.0000036369.55253.dd>  
PMid:15284492
- Zhang T.Z., 2000, Present status and prospect of molecular breeding for cotton fiber qualities, *Mianhua Xuebao (Acta Gossypii Sinica)*, 12(6): 321-326 (张天真, 2000, 棉花纤维品质分子育种的现状及展望, *棉花学报*, 12(6): 321-326)
- Zhang Y.J., Zhu Y.C., Guo W.Z., and Zhang T.Z., 2009, Cloning and characterization of *GhCHS* and *GhCPI* which related with fiber development in *Gossypium hirsutum* L., *Mianhua Xuebao (Cotton Science)*, 21(1): 10-16 (张燕洁, 朱一超, 郭旺珍, 张天真, 2009, 棉纤维发育相关基因 GhCHS、GhCPI 的克隆与鉴定, *棉花学报*, 21(1): 10-16)
- Zhao G.R., and Liu J.Y., 2002, Isolation of a cotton RGP gene: a homolog of reversibly glycosylated polypeptide highly expressed during fiber development, *Biochim. Biophys. Acta*, 1574(3): 370-374
- Zhu Y.C., Sun L., Song H., Fang T.R., Guo W.Z., and Zhang T.Z., 2010, Molecular cloning and characterization of *GhDIS2* in cotton, *Mianhua Xuebao (Cotton Science)*, 22(2): 99-103 (朱一超, 孙磊, 宋焕, 方天荣, 郭旺珍, 张天真, 2010, 棉花 *GhDIS2* 基因的克隆与酵母表达, *棉花学报*, 22(2): 99-103)