

DOI: 10.3724/SP.J.1006.2026.54110

基于转录组测序解析陆海杂交姊妹系马克隆值差异的形成机制

张 曦 王广恩 李邵琦 刘 玮 李俊兰* 钱玉源*

河北省农林科学院棉花研究所 / 农业农村部黄淮海半干旱区棉花生物学与遗传育种重点实验室 / 国家棉花改良中心河北分中心, 河北石家庄 050051

摘 要: 马克隆值是综合表征棉花纤维细度与成熟度的指标。马克隆值过高难以用于纺织高支纱线。马克隆值偏高是高品质棉花新品种选育的瓶颈之一。本研究以马克隆值差异极显著、纤维长度和强度差异不显著的陆海杂交高代姊妹系 LM (低马克隆值) 和 HM (高马克隆值) 为材料, 对 15、20、25 和 30 DPA 的棉花纤维进行转录组测序分析, 解析 LM 和 HM 的马克隆值差异的形成机制。KEGG 分析和激素含量测定结果表明, 生长素可能是影响 LM 和 HM 的次生壁发育的主要植物激素。结合纤维细胞结构观察发现, 相较于物质代谢, 纤维素微纤丝的定位与排列方向可能对马克隆值影响更大。这一发育过程, 需要纤维素合成、纤维素合酶复合体(CSC)形成与精确定位, 以及微管、肌动蛋白动态调整等协同作用, 并受生长素调控。此外, 细胞内容物降解相关基因的差异表达可能是造成马克隆值不同的成熟纤维中空大小差异的重要原因。本研究揭示的代谢通路及差异基因, 可为选育马克隆值符合纺织要求的棉花新品种提供理论依据和后备基因资源。

关键词: 棉花纤维; 马克隆值; 次生壁发育; 转录组测序; 生长素; 纤维素微纤丝

Transcriptome sequencing-based analysis on the formation mechanism of fiber micronaire differences between two sister lines derived from *Gossypium hirsutum*-*G. barbadense* hybrid

Zhang Xi, Wang Guang-En, Li Shao-Qi, Liu Yi, Li Jun-Lan*, and Qian Yu-Yuan*

Institute of Cotton, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences / Key Laboratory of Cotton Biology and Genetic Breeding in Huanghuaihai Semiarid Area, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / National Cotton Improvement Center Hebei Branch, Shijiazhuang 050051, Hebei, China

Abstract: The fiber micronaire is a comprehensive index for characterizing the fineness and maturity of cotton fibers. However, high micronaire value hinders the production of high-count yarns in textiles. Reducing the micronaire remains a major challenge in breeding high-quality cotton cultivars. In this study, transcriptome sequencing was conducted on the fibers of sister lines derived from *Gossypium hirsutum*-*G. barbadense* hybrid, namely LM (line with low micronaire value) and HM (line with high micronaire value), at 15, 20, 25, and 30 days post anthesis (DPA), respectively. These two lines exhibited highly significant differences in micronaire values, while showing no significant differences in fiber length or strength. The mechanisms underlying the micronaire variation were investigated from multiple perspectives, including cellular structure, phytohormones, cellulose synthesis, and gene expression. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis and hormone quantification suggested that auxin is likely the key plant hormone influencing secondary wall development in both LM and HM lines. Observations of fiber structure, measurements of cellulose content, and KEGG pathway analysis indicated that the orientation and arrangement of cellulose microfibrils may play a more critical role in determining micronaire than cellulose metabolism itself. This developmental process relies on coordinated biological events, including cellulose biosynthesis, cellulose synthase complex (CSC) formation, and the precise localization and dynamic adjustment of microtubules, actin

本研究由河北省现代农业产业技术体系建设专项资金项目(HBCT2024100204)和河北省农林科学院科技创新专项课题(2022KJCXZX-MHS-4)资助。

This study was supported by the Hebei Agriculture Research System (HBCT2024100204) and the HAAFS Science and Technology Innovation Special Project (2022KJCXZX-MHS-4).

* 通信作者(Corresponding authors): 李俊兰, E-mail: 1803667130@qq.com; 钱玉源, E-mail: qyyuan8@163.com

第一作者联系方式: E-mail: zxada@163.com

Received (收稿日期): 2025-09-22; Accepted (接受日期): 2026-01-22; Published online (网络出版日期): 2026-02-12.

URL: <https://link.cnki.net/urlid/11.1809.S.20260212.1023.002>

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

filaments—all of which are modulated by auxin. Additionally, the differentially expressed genes related to cell content degradation may contribute to the differences in lumen size between mature LM and HM fibers. The identified metabolic pathways and differentially expressed genes provide a theoretical basis and genetic resources for breeding cotton varieties with optimized micronaire values suited for textile applications.

Keywords: cotton fiber; fiber micronaire; secondary wall development; transcriptome sequencing; auxin; cellulose microfibrils

棉花是我国最主要的天然纤维和纺织工业主要原料,我国棉纤维 90%以上用于棉纺。影响成纱质量的棉花纤维品质指标主要有上半部平均长度、长度整齐度、断裂比强度、伸长率、马克隆值、短纤维率等。其中,马克隆值是综合反映纤维细度和成熟度的指标。马克隆值偏高时,纤维较粗,会造成纱线条干均匀度不佳,无法用于纺制高支纱^[1]。我国当前推广品种中 50%以上马克隆值偏高,绝大多数马克隆值 ≥ 5.0 ,三大棉区中又以黄河流域棉区推广品种的马克隆值为最高^[2-4]。马克隆值过高是高品质棉花新品种选育的瓶颈之一。剖析棉花纤维发育过程中影响马克隆值的分子和生理基础,发掘相关候选基因,可为选育马克隆值符合纺织要求的棉花新品种提供理论依据和基因资源,对于实现棉花产业提质增效具有重要意义。

棉纤维是种子表皮层长出的单细胞毛状体,其发育过程可大致分为起始分化(-3~3 days post anthesis (开花后天数, DPA))、细胞伸长与初生壁形成(2~20 DPA)、次生壁合成与增厚(15~45 DPA)及脱水成熟(40~50 DPA) 4个相互重叠的阶段。成熟棉花纤维细胞由初生壁、次生壁和中腔组成。正常成熟的棉纤维的纤维素含量占棉纤维总重的 94%左右,其中在初生壁中的占比为 20%~25%,次生壁几乎全部由纤维素组成。纤维素的沉积量决定细胞壁厚度,影响马克隆值高低;细胞壁厚度及原纤维的排列方式影响纤维强度^[5-7]。次生壁的合成与增厚受植物激素调控。生长素(auxin)、赤霉素(gibberellic acid, GA)、乙烯(ethylene, ETH)、茉莉酸(jasmonic acid, JA)、油菜素内酯(brassinosteroid, BR)等促进纤维起始或伸长。细胞分裂素(cytokinin, CTK)和脱落酸(abscisic acid, ABA)抑制纤维生长。ABA和 H_2O_2 是次生壁合成与增厚的起始信号。IAA、GA₃和 CTK在次生壁形成期间活化纤维素合成^[8-10]。

转录组测序是研究棉花纤维发育的常规技术手段之一。Al-Ghazi等^[11]分析了陆地棉(*G. hirsutum* L.)和海岛棉(*G. barbadense* L.)纤维发育不同阶段的基因表达谱。陆地棉和海岛棉次生细胞壁增厚阶段差异表达基因主要参与单木质素合成的苯丙烷途径、

转录调节因子及泛素介导的蛋白质降解通路。在纤维品质性状分离的重组自交系群体中,伸长纤维的果胶甲酯酶表达量与马克隆值、成熟度及细度呈正相关,表明该酶可能参与调控纤维马克隆值。Prasad等^[12]对超过 380 组棉花 RNA-seq 数据进行重新分析,鉴定到 ELO/SUR4 家族基因变体转录本与马克隆值呈正相关,含 NAC 结构域蛋白 62 样蛋白、苯醌还原酶转录本与马克隆值呈负相关。Lu 等^[13]从以 CCRI45 和海 1 为双亲构建的陆海渐渗系群体中筛选出纤维强度优于轮回亲本 CCRI45 的 MBI7747 和 MBI7561 以及低于 CCRI45 的 MBI7285,随后借助 RNA-seq 技术对次生壁加厚期(15、20、25 和 28 DPA)的纤维进行转录组分析,共鉴定出 2200 个只在高强度材料(MBI7747 和 MBI7561)出现的差异表达基因,挖掘出 3 个调控纤维强度的候选基因。Qin 等^[14]使用比较转录组学方法研究长纤维和短纤维棉花品系间的基因表达差异,发现 *ERF1*、*TUA2*、*TUB1* 和 *PER64* 等基因可能通过参与乙烯反应、微管合成和/或过氧化物酶催化途径来影响纤维伸长。Jiang 等^[15]对衣分和纤维强度不同的 CCRI70 重组自交系群体 -3、0、5 和 10 DPA 的胚珠和纤维样品进行 RNA 测序,差异表达基因在起始和伸长阶段主要富集到能量代谢和积累以及生长素信号通路中。Song 等^[16]对 4 份海岛棉材料的转录组数据进行分析,GO (gene ontology)富集分析表明,激素相关 GO 条目(生长素和乙烯)分别在 5、10、15、20 和 25 DPA 显著富集,表明在纤维发育过程中激素相关基因的高表达提高了海岛棉的纤维质量。Ditta 等^[17]对海岛棉 XH-18 和达尔文氏棉(*G. darwinii*) darwinii 5-7 纤维不同发育时期(起始、伸长和次生壁增厚)进行转录组测序,差异表达基因具有水解酶活性、纤维素酶活性等多种酶活性,参与 O-糖苷化合物水解、多糖分解代谢、糖苷键断裂、碳水化合物代谢及纤维素分解代谢等多种生物学过程。鉴定出 β -葡萄糖醛酸转移酶 GlcAT14 A、水通道蛋白 PIP2-8 等可能参与纤维发育。

本研究针对高品质棉花新品种选育过程中马克隆值偏高的问题,对上半部平均长度和断裂比强度

相近、马克隆值不同的姊妹系 LM 和 HM 在 15、20、25 和 30 DPA 的纤维进行转录组测序, 通过比较分析 LM 和 HM 在纤维次生壁合成与增厚期基因表达谱的差异, 结合成熟纤维细胞学观察、次生壁合成和增厚期植物激素及纤维素含量等生理生化指标测定, 初步解析了 LM 和 HM 间马克隆值差异形成的分子机制, 分析了影响马克隆值的基因, 旨在为选育马克隆值符合纺织要求的高品质棉花新品种提供理论依据和基因资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料及调查、取样

陆海杂交高代姊妹系(中 117 选 127 系×海岛棉 K2 后代) LM (低马克隆值)和 HM (高马克隆值)由河北省农林科学院棉花研究所品种资源研究室选育。于 2020—2024 年 5—10 月将材料种植在河北省农林科学院棉花研究所小安舍试验站, 参照《农作物种质资源评价技术规范 棉花(NY/T 2323-2013)》调查株高、果枝节位、铃数、衣分、铃重、皮棉产量等主要农艺和产量性状, 纤维品质由农业农村部棉花品质监督检验测试中心测定。开花当天标记棉铃, 剥取 15、20、25、30、35、45、55 和 65 DPA 的棉纤维液氮速冻, -80°C 保存备用。2021 年进行转录组测序, 2022—2024 年进行 RT-qPCR 验证及生理生化指标测定等, 每个待测指标 3 次生物学重复。

1.2 纤维结构观察及生理、生化指标测定

取少量棉籽中部成熟纤维梳理后用细线捆绑成束(长度 $<1\text{ cm}$)。采用曾志锋^[18]的方法制作纤维石蜡切片, 正置光学显微镜(ZEISS)观察拍照, Image J V1.53 软件测量纤维细胞壁厚度。取少量棉籽中部成熟纤维用 18%氢氧化钠充分膨胀后, 使用正置光学显微镜观察纤维外观^[5]。用 SU8100 扫描电子显微镜(Hitachi High-Tech)观察成熟棉纤维形态及表面结构。

采用高效液相色谱法^[19]测定 15、20、25 和 30 DPA 纤维的吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)等植物激素含量, 采用过氧化钛比色法测定 15、20、25 和 30 DPA 纤维的 H₂O₂ 含量, 蒽酮比色法测定 15、25、35、45、55 和 65 DPA 纤维的纤维素含量。检测试剂盒购自苏州科铭生物技术有限公司。

1.3 转录组测序及基因注释

CTAB 法^[20]提取 15、20、25 和 30 DPA 纤维样

品的总 RNA, 3 次生物学重复, 检测合格后构建测序文库。库检合格后使用 Illumina NovaSeq 6000 高通量测序平台进行测序。测序获得的 raw data 去除含有接头的 reads 和低质量 reads, 将过滤得到的 clean data 与陆地棉 TM-1 基因组(HAU_v1.1)进行序列比对。以 FPKM (fragments per kilobase of transcript per million fragments mapped)值作为衡量基因表达水平的指标。使用 DESeq2 软件, 以 $|\log_2(\text{Fold change, FC})| \geq 1.0$ 且 FDR (false discovery rate) < 0.01 为阈值筛选差异表达基因。使用百迈客云平台(<https://www.biocloud.net>)对差异表达基因进行同源比对(NCBI-blast)、蛋白(swissprot)、蛋白结构域(Pfam)、基因本体(gene ontology, GO)、京都基因与基因组百科全书(kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG)、基因进化谱系: 非监督直系同源群组(evolutionary genealogy of genes: Non-supervised Orthologous Groups, eggNOG)等功能注释, 并进行 KEGG 富集分析。使用迈维云平台(<https://cloud.metware.cn>)进行 GO 富集分析。

1.4 差异表达基因 RT-qPCR 验证

基于差异表达基因在 NR、Swiss-Prot、Pfam 等数据库中的功能注释信息, 选择 12 个可能与细胞壁合成、激素信号、蛋白质稳态等马克隆值形成相关的不同类型基因, RT-qPCR 验证其在 LM 和 HM 的 15、20、25 和 30 DPA 纤维中的表达趋势。用 NCBI Primer-BLAST 工具(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)设计 RT-qPCR 引物(表 1), 以 *Histone 3*^[21]为内参基因。使用 PerfectStart Green qPCR SuperMix (北京全式金生物科技股份有限公司)进行 RT-qPCR 检测, 反应体系及反应参数参照试剂盒说明书。每个样品 3 次重复, $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算基因相对表达量。

1.5 数据分析

数据以生物学重复的平均值 $\pm\text{SE}$ (标准误差)表示。使用 Microsoft Excel 2010 “数据分析”工具库对 LM 和 HM 的主要农艺性状进行无重复双因素方差分析。采用独立样本 *t* 测验对生理生化指标、细胞壁厚度以及差异基因相对表达量、FPKM 值等数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 LM 和 HM 主要农艺和经济性状比较

多年性状调查结果显示, LM 与 HM 的马克隆值分别为 4.60 ± 0.17 和 5.70 ± 0.35 , 差异极显著($P =$

表 1 用于 RT-qPCR 验证的差异表达基因及其引物序列
Table 1 Differentially expressed genes selected for RT-qPCR validation and their primer sequences

基因 ID Gene ID	上游引物 Upstream primer (5'-3')	下游引物 Downstream primer (5'-3')	基因注释 Gene annotation
<i>Ghir_A03G018430</i>	ATCCATTGCCAAGCCT GAAACT	AGCATAAACAACCGTC CTTGAC	46 kD FK506 结合核蛋白样蛋白 46 kD FK506-binding nuclear protein-like
<i>Ghir_A03G018940</i>	GGTGTTCATTGGCTACG GTGT	ACTAATCGGAGGGATT CGGG	假定蛋白 GOBAR_AA21012 Hypothetical protein GOBAR_AA21012
<i>Ghir_A04G002750</i>	CAAAACCTGAAACCGG GCAG	TCTGAGCATCTTCCATC GCC	推测性 2-酮戊二酸依赖性双加氧酶 AOP1.2 Probable 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase AOP1.2
<i>Ghir_A12G001260</i>	TATACTCTTCCGCCACC TCTCC	TTTGGATGGGTGTTTGT GGC	羟甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase
<i>Ghir_D02G003770</i>	GACCGTCCCCAAAGGA TCAG	GGCAACCTGAACTGTC TCCA	18.1 kD I 类热激蛋白样蛋白 18.1 kD class I heat shock protein-like
<i>Ghir_D05G039640</i>	GTGTAGATGAGAAGGG TCGGCCT	GGAGATAGGTGTGGGA CGGGT	乙烯应答转录因子 3 样蛋白 Ethylene-responsive transcription factor 3-like
<i>Ghir_D06G003850</i>	GCCGTGCCAGTGATAC TCTT	ACATCGTCCACACGAT TGC	Kelch 基序蛋白 Kelch motif protein
<i>Ghir_D06G022850</i>	CGTACGGAATGGAAGG GGAA	TTGCGAGTAGGCAGGA GTTG	网格蛋白轻链 2 样蛋白 Clathrin light chain 2-like
<i>Ghir_D07G013760</i>	ATTGCTTCATCAGCCT TGG	AGCCCTCTTGAAATTA GCCCC	推测性蛋白质二硫键异构酶 A6 Probable protein disulfide-isomerase A6
<i>Ghir_D07G018470</i>	GGACCGTCTGTGATTG GCA	ACATAACCTGCTTGAG CCAGA	天冬氨酸蛋白酶家族蛋白 2 样蛋白 Aspartyl protease family protein 2-like
<i>Ghir_D07G019260</i>	TGAAGTGTGTGGACGT TGCT	CTCCGACAGAACACGG GAAA	推定核糖核酸酶 H 蛋白 Putative ribonuclease H protein
<i>Ghir_D11G004620</i>	TTTTCGCTAGGGCTTCT GGT	ACTCGGAACAATCTTC TTGGC	60S 核糖体蛋白 L8 60S ribosomal protein L8
<i>Histon 3</i>	CGGTGGTGTGAAGAAG CCTCAT	AATTTCACGAACAAGC CTCTGGAA	组蛋白 H3 Histon H3

0.007); 衣分为 LM (38.20%±3.37%)、HM (40.80%±2.54%), 差异显著($P = 0.028$), 符合马克隆值与衣分通常呈显著正相关的规律^[22-23]。纤维长度、纤维强度、株高、单株铃数、铃重等其他性状差异不显著(图 1)。表明 LM 和 HM 姊妹系遗传相似度较高, 锚定了马克隆值的遗传差异。综合主要经济性状表现, LM 与 HM 的皮棉产量相当, 但 LM 纤维上半部平均长度和断裂比强度达到“双 30”, 马克隆值为 4.6, 纤维品质好, 生产应用价值更高。

2.2 LM 与 HM 的成熟纤维结构观察

扫描电镜观察 LM 和 HM 的成熟纤维形态。LM 部分纤维呈扁带状, 天然卷曲等结构存在不规则的扭转; HM 纤维总体表现为形态规整, 卷曲匀称(图 2-A)。经 18%氢氧化钠溶液膨胀后, LM 和 HM 纤维均呈棒状无扭曲, 能模糊看到不连续的中腔, 表明 LM 和 HM 的纤维均自然成熟(图 2-B)。石蜡切片显示, LM 和 HM 的成熟纤维细胞干涸瘪缩之后横截面的形态不同, LM 的较多纤维呈长而扁的形状, 中腔较大; HM 的多呈对称腰圆形, 中腔较

小(图 2-C)。LM 细胞壁厚度显著小于 HM (图 2-D)。二者纤维表面微纤丝的排列形态不同, LM 的棉纤维表面的微纤丝纹路较深, HM 的棉纤维表面的微纤丝纹路较浅且与纤维纵轴夹角较小(图 2-E)。以上结果表明, LM 和 HM 的马克隆值不同可能是纤维结构不同引起的。

2.3 LM 和 HM 的植物激素、H₂O₂ 及纤维素含量比较

为解析 LM 和 HM 在次生壁增厚过程中的生理生化差异, 测定了 IAA、ABA、GA₃、纤维素等关键物质的动态变化。在 15 DPA, LM 的 IAA 含量和 GA₃ 含量均显著高于 HM, 之后 2 个材料间 GA₃ 含量差异不显著, 但 LM 的 IAA 含量在 30 DPA 极显著低于 HM (图 3-A, B)。HM 的纤维中 ABA 和 H₂O₂ 含量均在 20 DPA 显著高于 LM, 之后差异不显著(图 3-C, D)。以上结果表明, 15 DPA 时 LM 中 IAA 和 GA₃ 调控纤维伸长的信号更强, 20 DPA 时 HM 中次生壁形成的信号更强。IAA 含量在 30 DPA 再次出现显著差异, 可能是影响 LM 和 HM 马克隆值的重要植物激素。

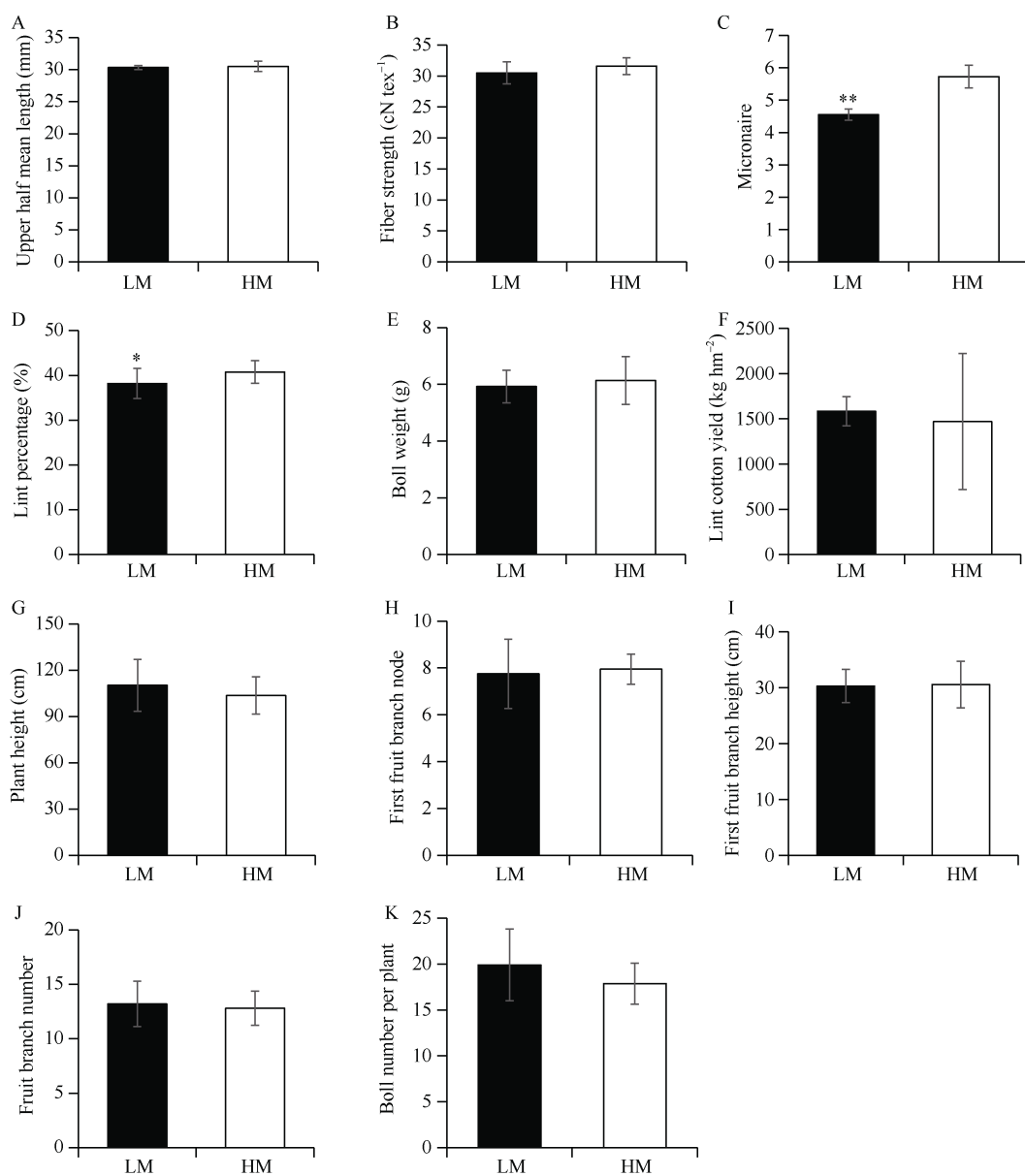
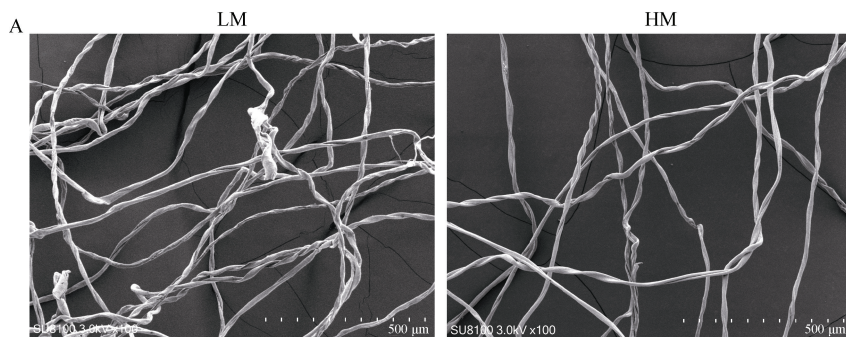


图 1 LM 和 HM 主要农艺和经济性状比较

Fig. 1 Comparison of main agronomic and economic traits between LM and HM

LM、HM 分别表示低马克隆值和高马克隆值姊妹系。*和**分别表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著。

LM and HM represent low-micronaire and high-micronaire sister line, respectively. * and ** indicate significant difference at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.



(图 2)

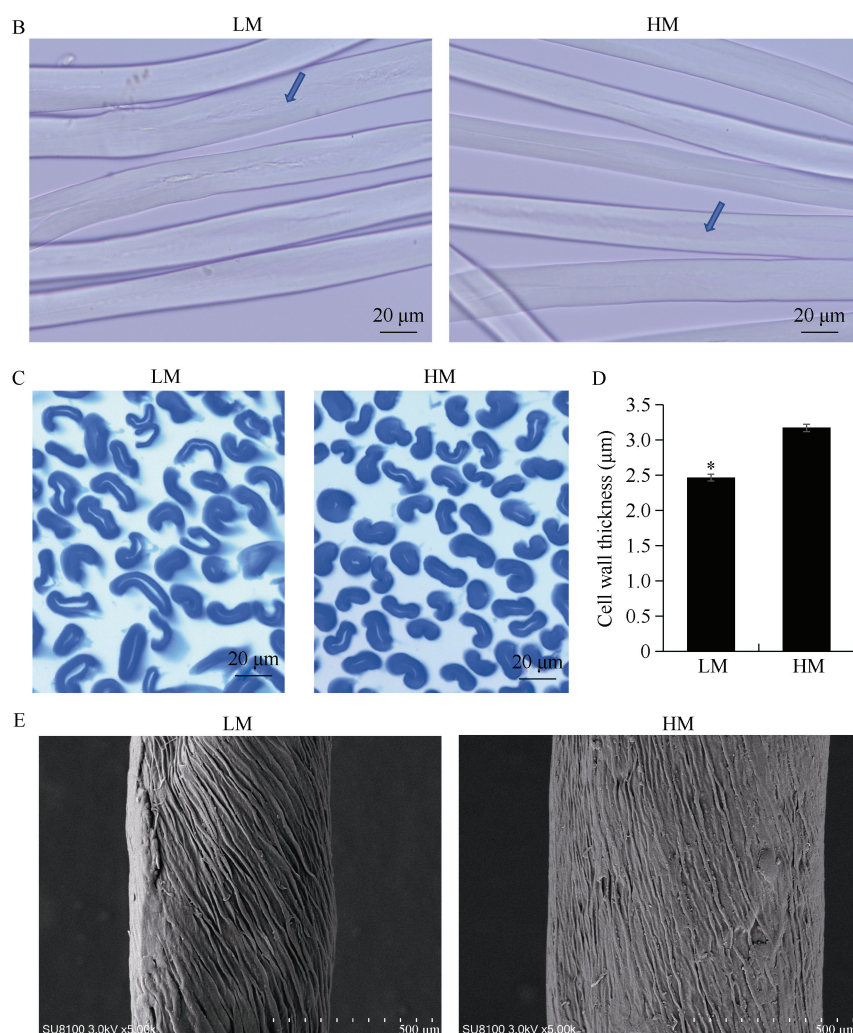


图 2 LM 和 HM 成熟纤维结构观察

Fig. 2 Observation of mature fiber structure of LM and HM

A: 纤维形态, 标尺为 500 μm ; B: 纤维膨胀恢复后外观, 蓝色箭头指示为纤维中腔, 标尺为 20 μm ; C: 纤维横截面石蜡切片, 标尺为 20 μm ; D: 纤维细胞壁厚度, *表示 0.05 水平差异显著 ($P < 0.05$); E: 纤维表面结构, 标尺为 500 μm 。LM 和 HM 分别表示低马克隆值和高马克隆值姊妹系。

A: fiber morphology, scale bar = 500 μm ; B: external appearance of fibers after swelling and recovery, with blue arrows indicating the fiber lumen, scale bar = 20 μm ; C: paraffin sections of fiber cross-sections, scale bar = 20 μm ; D: cell wall thickness, * indicates significance at the 0.05 level ($P < 0.05$); E: fiber surface structure, scale bar = 500 μm . LM and HM represent low-micronaire and high-micronaire sister lines.

LM 和 HM 的纤维素含量均在 15~45 DPA 逐渐增加, 充分成熟(55~65 DPA)之后不再变化。LM 棉纤维的纤维素含量在 15 DPA 和 25 DPA 极显著或显著低于 HM, 之后发育过程中差异不显著(图 3-E)。纤维素的沉积量决定细胞壁厚度, 原始细胞的排列方式决定细胞壁纤维素的结晶度, 这两者决定纤维强度^[24]。HM 和 LM 成熟纤维的纤维素含量差异不显著, 与 2 个材料间纤维断裂比强度差异也不显著的结果相符, 表明纤维素含量差异很可能不是影响 2 个材料马克隆值的决定因素。

2.4 差异表达基因筛选

为了解析 LM 与 HM 马克隆值差异的分子机制,

对 LM 和 HM 的 15、20、25 和 30 DPA 纤维进行转录组测序, 共获得 153.76 Gb clean data, Q30 为 92.8%~94.6% (平均 93.9%), clean reads 与参考基因组的比对效率为 86.1%~96.8% (平均 94.2%), 表明转录组测序质量及比对效率较高, 可以用于后续分析。以 HM 为对照, 以 $|\log_2(\text{FC})| \geq 1$ 且 $\text{FDR} < 0.01$ 为筛选标准, 15、20、25 和 30 DPA 分别有 327、281、1050 和 1251 个基因差异表达。在 15、20 和 30 DPA 上调表达基因数目大于下调基因。下调表达基因数量在 25 DPA 最多, 且大于上调表达基因数量(图 4-A)。15、20、25 和 30 DPA 特异表达的基因分别为 144、84、679 和 874 个; 25 DPA 和 30 DPA 共同差

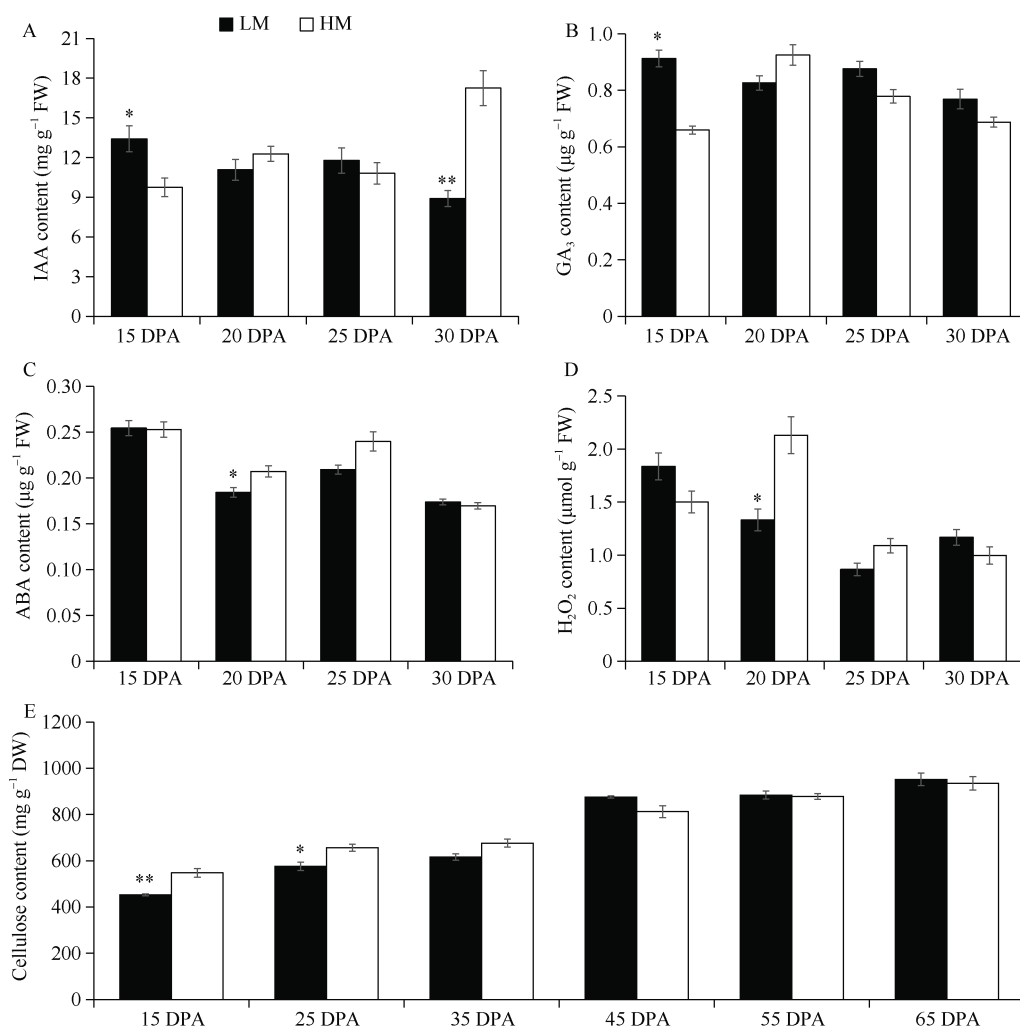


图 3 LM 和 HM 次生壁发育过程中内源激素、 H_2O_2 及纤维素含量变化

Fig. 3 Changes in endogenous hormone levels, H_2O_2 , and cellulose content during secondary wall development in LM and HM

IAA: 吲哚-3-乙酸; GA_3 : 赤霉素; ABA: 脱落酸; FW: 鲜重; DW: 干重; DPA: 开花后天数. *和**分别表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著; LM 和 HM 分别表示低马克隆值和高马克隆值姊妹系。

IAA: indole-3-acetic acid; GA_3 : gibberellic acid; ABA: abscisic acid; FW: fresh weight; DW: dry weight; DPA: days post anthesis. * and ** indicate significant differences at the 0.05 and 0.01 levels, respectively; LM and HM represent low-micronaire and high-micronaire sister lines, respectively.

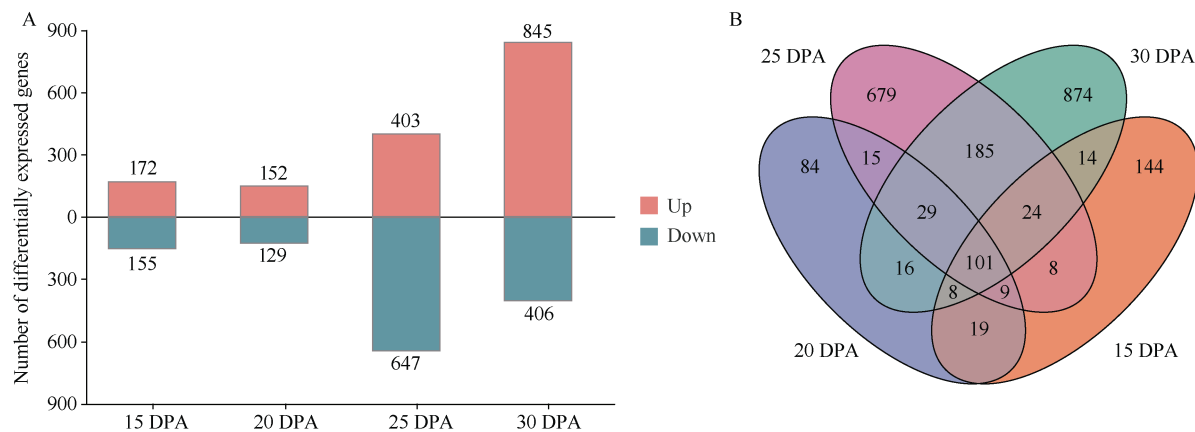


图 4 差异表达基因数量(A)及维恩图(B)

Fig. 4 Number of differentially expressed genes (A) and Venn diagram (B)

DPA: 开花后天数. DPA: days post anthesis.

异表达基因数量最多, 为 339 个; 4 个时间点均差异表达的基因有 101 个(图 4-B)。LM 与 HM 的差异表达基因数量较少, 这与两材料间仅马克隆值和衣分 2 个性状存在显著差异、遗传差异较小的结果一致, 提示这些差异表达基因可能与马克隆值密切相关。

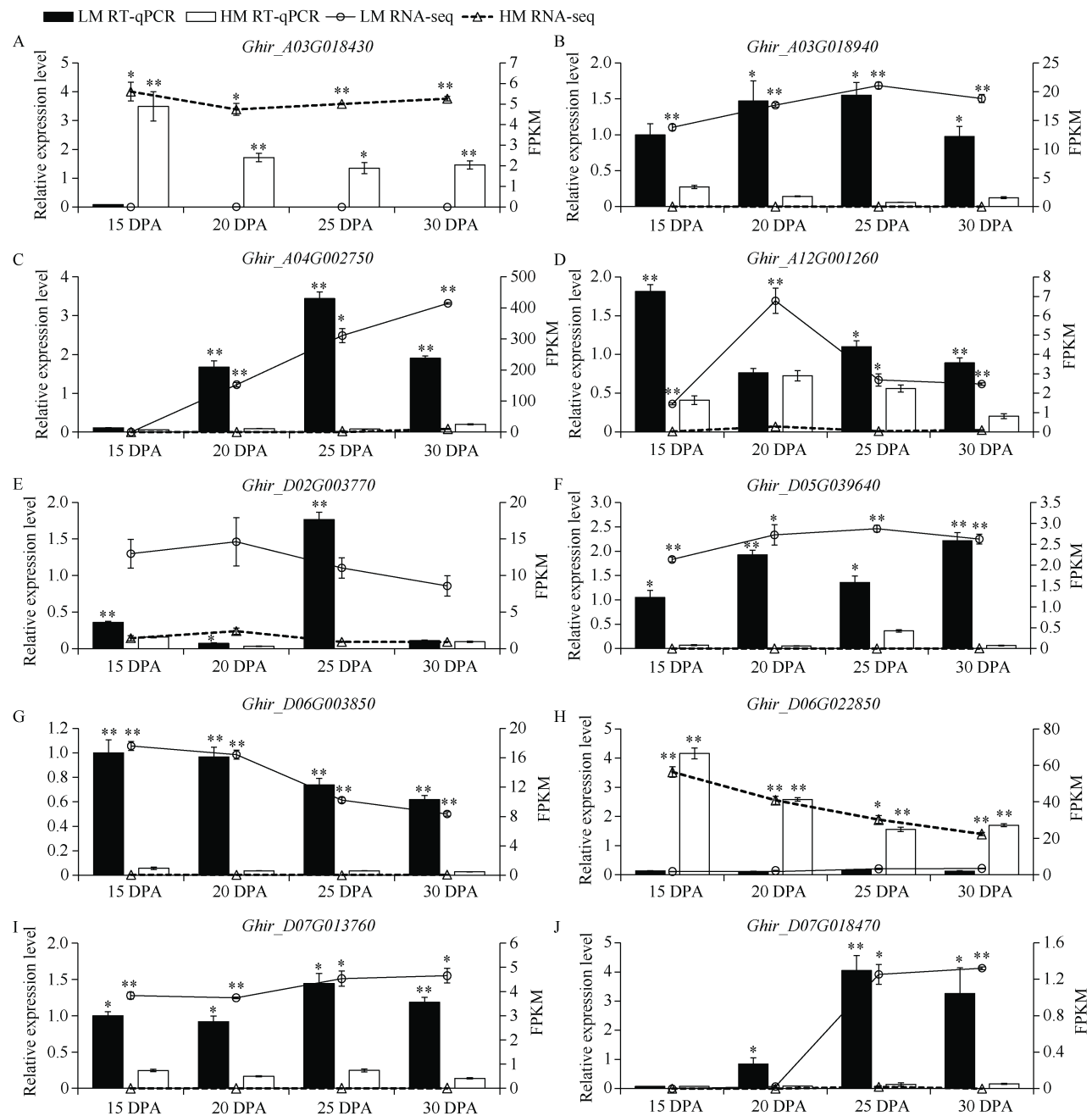
2.5 RT-qPCR 验证转录组数据

基于差异表达基因的功能注释信息, 从细胞壁合成、激素信号和蛋白质稳态等通路选择了 12 个可能参与调控马克隆值大小的基因, 通过 RT-qPCR 验证其表达与转录组数据的一致性。RT-qPCR 结果

证实了这些基因在 LM 和 HM 中的差异表达模式, 且其表达变化趋势与转录组测序结果总体一致, 验证了转录组数据的可靠性, 可用于后续深入分析(图 5)。

2.6 差异表达基因的 GO 功能富集分析

将 LM 和 HM 在 15、20、25 和 30 DPA 差异表达的基因分别进行 GO 功能注释(图 6)。4 个时间点均富集的 GO 注释主要有催化(GO:0003824)、结合(GO:0005488)等分子功能, 参与细胞(GO:0009987)、代谢(GO:0008152)、发育(GO:0032502)、刺激应答



(图 5)

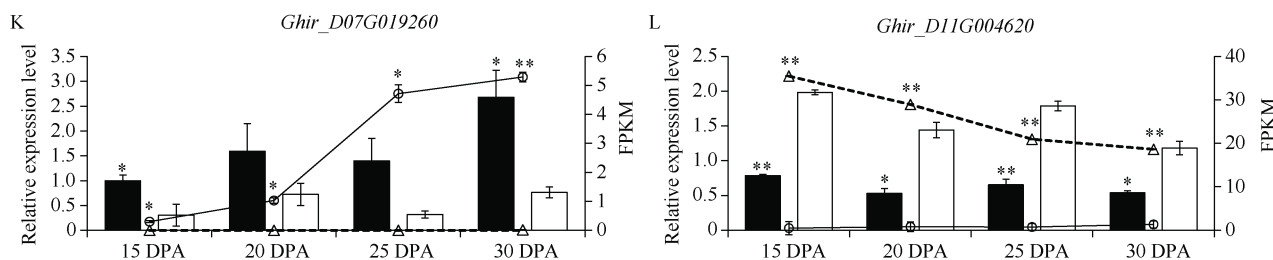
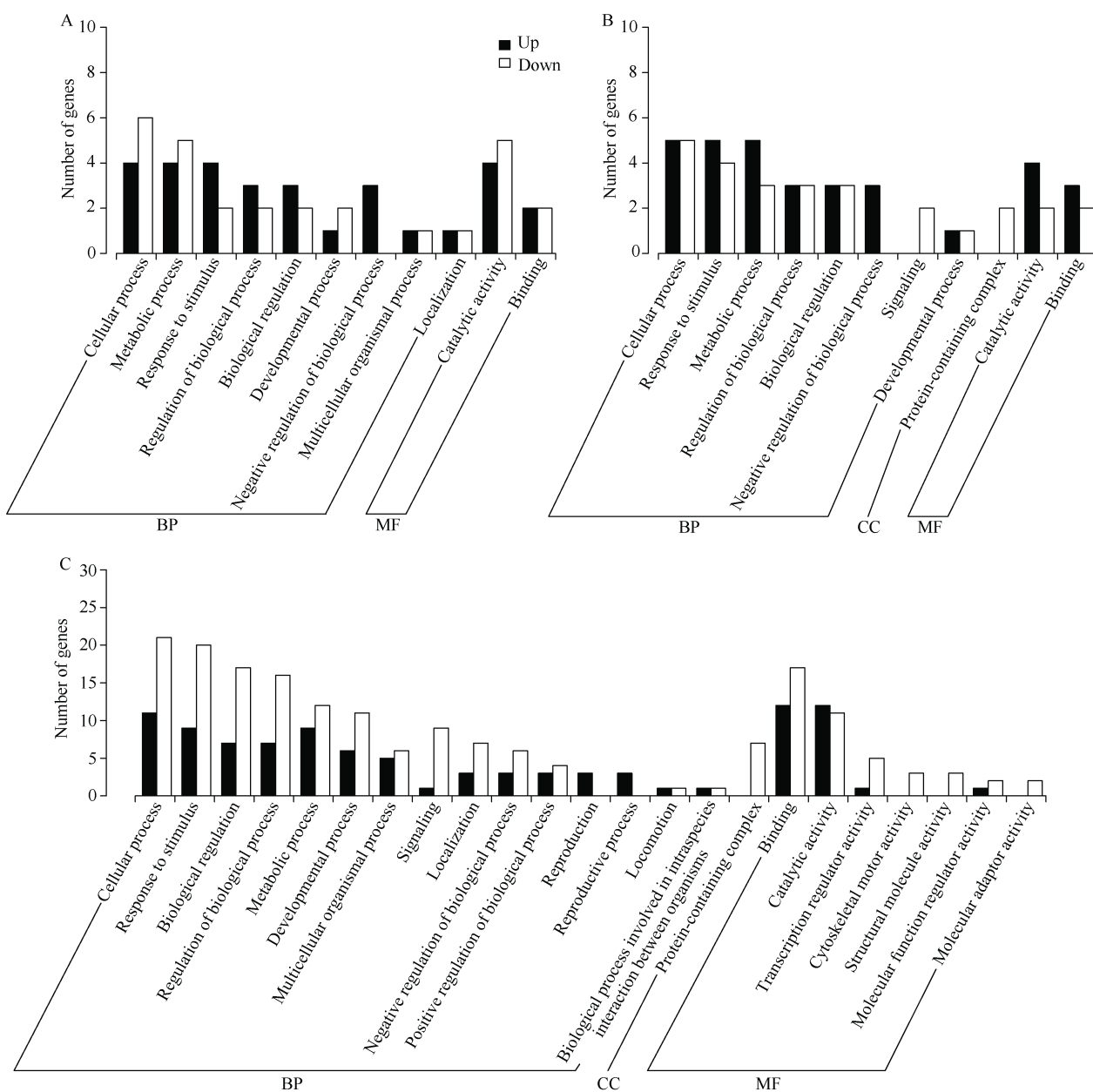


图 5 RT-qPCR 验证部分差异表达基因

Fig. 5 RT-qPCR validation of selected differentially expressed genes

DPA: 开花后天数; FPKM: 每百万映射片段中每千碱基长度的转录本片段数。*和**分别表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著; LM 和 HM 分别表示低马克隆值和高马克隆值姊妹系。

DPA: days post anthesis; FPKM: fragments per kilobase of transcript per million fragments mapped. * and ** indicate significant differences at the 0.05 and 0.01 levels, respectively; LM and HM represent low-micronaire and high-micronaire sister lines, respectively.



(图 6)

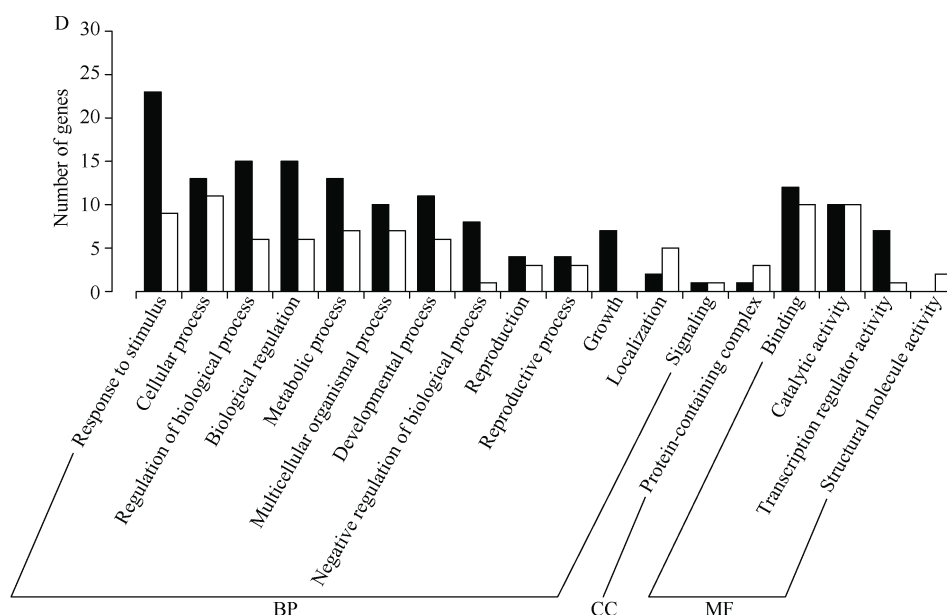


图 6 差异表达基因 GO 富集分析

Fig. 6 GO enrichment analysis of differentially expressed genes

A: 开花后 15 d; B: 开花后 20 d; C: 开花后 25 d; D: 开花后 30 d; BP: 生物过程; CC: 细胞组分; MF: 分子功能。

A: 15 DPA; B: 20 DPA; C: 25 DPA; D: 30 DPA; BP: biological process; CC: cellular component; MF: molecular function.

(GO:0050896)、调控(GO:0050789、GO:0065007、GO:0048519)等生物学过程。LM 和 HM 在 15 DPA 和 20 DPA 富集的 GO 功能条目及基因数量较少, 且上调、下调基因数接近。表明此阶段 LM 和 HM 纤维的发育相关生物学活动差异较小。在 25 DPA, 富集的功能条目较 15 DPA 和 20 DPA 增加了细胞骨架马达蛋白运动活性(GO:0003774)、结构分子活性(GO:0005198)、分子适配体活性(GO:0060090)、调控活性(GO:0098772、GO:0140110)等分子功能以及移动(GO:0040011)、定位(GO:0051179)、种内互作(GO:0051703)、繁殖(GO:0000003、GO:0022414)等生物学过程, 且大部分功能条目下调基因数大于上调基因数。其中, 细胞骨架马达蛋白运动活性(GO:0003774)和结构分子活性(GO:0005198)与细胞壁的合成与构建密切相关, 可能通过调控纤维素微纤丝的沉积、排列与密度, 直接影响纤维细胞壁的厚度与力学强度。这 2 个功能类别中富集的基因主要有肌球蛋白、网格蛋白轻链以及锚蛋白重复序列蛋白等。这些基因的协同作用, 可能使 HM 在 25 DPA 具有更活跃的细胞壁合成活动, 进而影响其马克隆值。在 30 DPA, 细胞骨架马达蛋白运动活性、分子适配体活性等分子功能及正调控发育、种内互作等生物学过程不再被富集。与 25 DPA 相比, 30 DPA 的大部分富集功能条目中上调基因数量略有增

加, 下调基因数量显著减少, 总体表现为上调基因数量大于下调基因数量。表明在 30 DPA, LM 的纤维中细胞壁合成等生物学活动持续活跃, 而 HM 中呈下降趋势。

2.7 差异表达基因的 KEGG 功能富集分析

对差异表达基因分别进行 KEGG 功能注释, 15、20、25 和 30 DPA 前 20 个显著富集的 KEGG 通路主要涉及植物-病原体互作、代谢(碳水化合物、氨基酸、酯类、次生物质等)、信号转导(植物激素信号、植物 MAPK 信号)、物质转运(ABC 转运蛋白、RNA 转运、蛋白质输出)等生命活动(图 7)。

在 15 DPA, 植物激素信号转导通路(ko04075)富集基因数较多, 富集的 14 个基因中有 6 个参与生长素信号转导通路, 其他基因与油菜素内酯、赤霉素、脱落酸、细胞分裂素等激素相关, 表明此时生长素可能是影响 LM 和 HM 纤维发育的主要激素。在 20 DPA, 氨基酸代谢(ko00350、ko00290)、蛋白加工与转运(ko04141、ko03060)、核糖体(ko03010)、核苷酸切除修复(ko03420)、过氧化物酶体(ko04146)、RNA 转运(ko03013)、转录因子(ko03022)等通路占前 20 个富集通路的近 1/2, 反映出此时期 LM 和 HM 间遗传信息处理与基础细胞代谢等生命活动差异较大, 碳水化合物代谢差异并不明显。在 25 DPA 和 30 DPA, 除碳水化合物、次生代谢物、

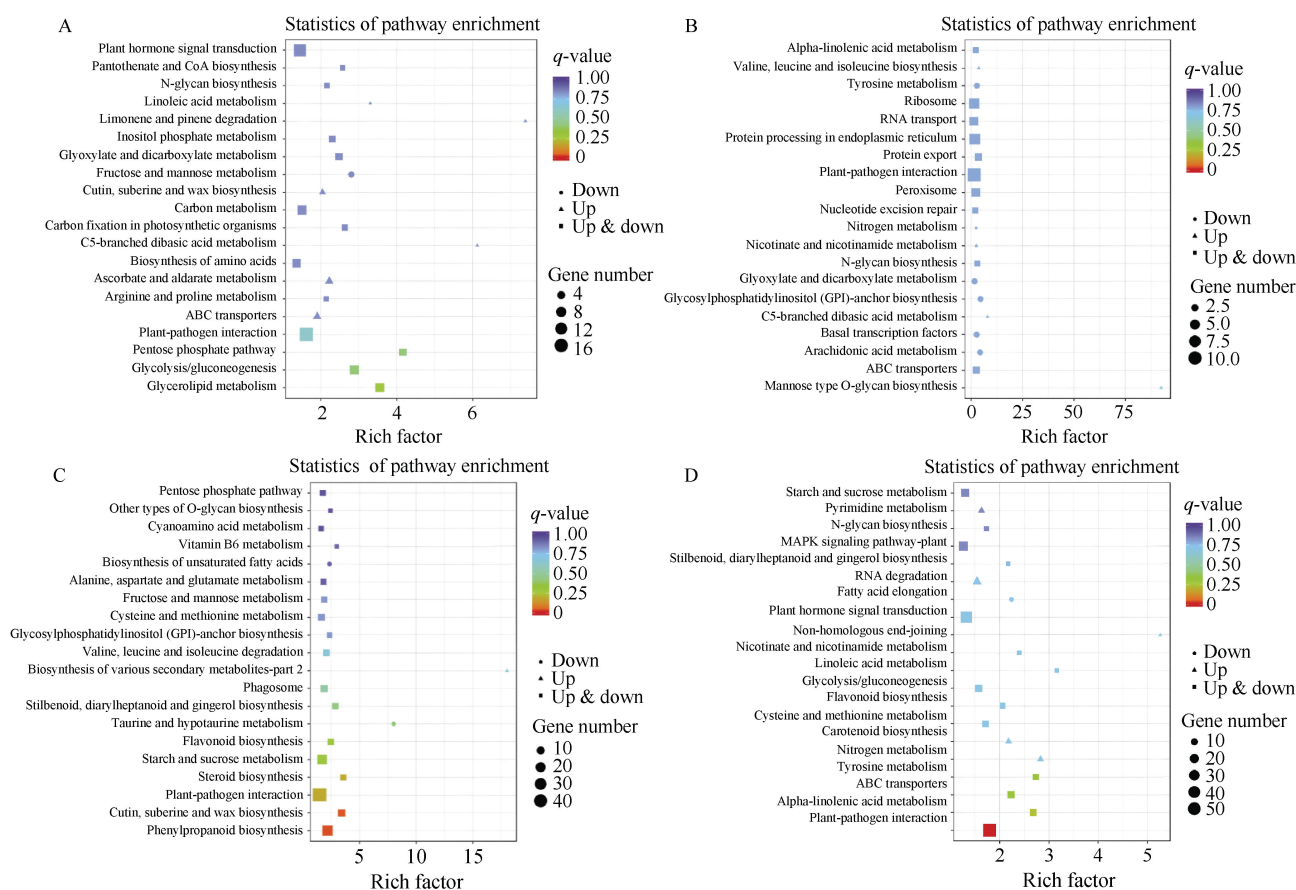


图 7 差异表达基因 KEGG 富集分析

Fig. 7 KEGG enrichment analysis of differentially expressed genes

A: 开花后 15 d; B: 开花后 20 d; C: 开花后 25 d; D: 开花后 30 d. A: 15 DPA; B: 20 DPA; C: 25 DPA; D: 30 DPA.

酯类、氨基酸等代谢通路显著富集外,吞噬体(ko04145)、RNA降解(ko03018)及缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸降解(ko00280)通路中富集的基因数也较多,表明伴随着次生壁增厚开始出现了细胞内容物降解的细胞程序化死亡(programmed cell death, PCD)现象。另外,在 30 DPA 植物激素信号转导通路(ko04075)富集的基因数也较多,明确注释与生长素、油菜素内酯、赤霉素相关的基因分别为 10、5 和 1 个。表明在 LM 和 HM 的次生壁快速增厚期,生长素和油菜素内酯可能起重要调控作用。

纤维素是棉花纤维次生壁的主要成分。纤维素是由 β -1,4-糖苷键连接的葡萄糖多聚体,其前体物质为尿苷二磷酸葡萄糖(UDP-glucose),主要由蔗糖水解/裂解产生,参与该过程的酶类主要有蔗糖合酶、纤维素合酶、胞质转化酶、UDP-葡萄糖焦磷酸化酶等^[25]。淀粉和蔗糖代谢(ko00500)通路在 25 DPA 和 30 DPA 被富集,是本研究中富集的与纤维素合成关系最密切的代谢通路。富集的基因包括淀粉酶、

蔗糖合酶、糖基水解酶、糖基转移酶、磷酸葡萄糖/磷酸甘露糖变位酶、果糖激酶、多聚半乳糖醛酸酶抑制剂、碳水化合物激酶、海藻糖磷酸酶、驱动蛋白轻链相关蛋白、胞间连丝胼胝质结合蛋白等。这些基因可能影响纤维素合成底物的丰度及纤维素链的组装与结晶,进而影响次生壁形成。

2.8 次生壁增厚过渡期和快速增厚期的基因功能分析

15~20 DPA 是纤维伸长向次生壁增厚的过渡期,25~30 DPA 是次生壁快速增厚期。GO 功能富集分析也表明,15 DPA 和 20 DPA 富集基因的分子功能及参与的生物学过程非常相近,25 DPA 和 30 DPA 也表现出相似趋势。基于此,分别对 15 DPA 和 20 DPA (过渡期)共同差异表达基因及 25 DPA 和 30 DPA (快速增厚期)共同差异表达基因进行 eggNOG 功能分类和比较分析(图 8)。结果显示,在快速增厚期,信号转导、翻译后修饰、蛋白质转换、伴侣和转录、碳水化合物转运与代谢等功能分类基因数量较过渡期明

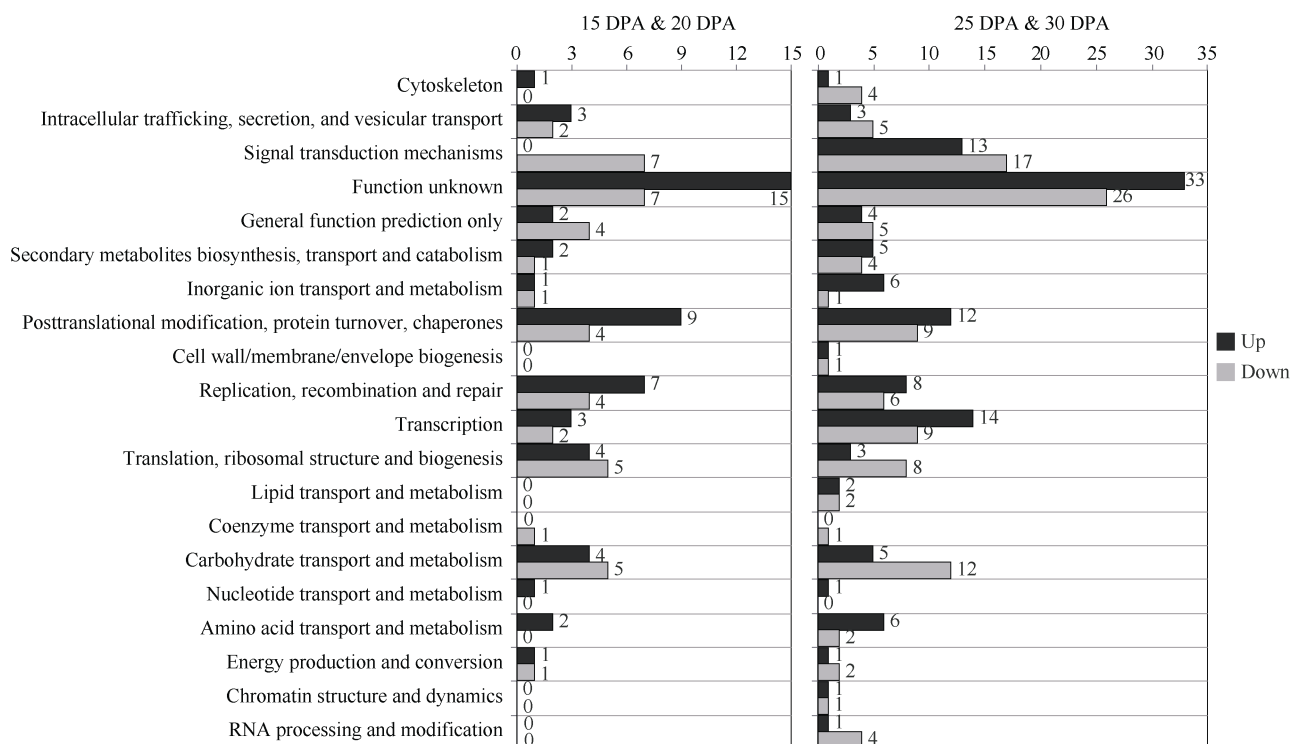


图 8 次生壁增厚过渡期(15 DPA & 20 DPA)和快速增厚期(25 DPA & 30 DPA)基因 eggNOG 功能分类

Fig. 8 eggNOG classification of genes during the transitional (15 DPA & 20 DPA) and rapid (25 DPA & 30 DPA) secondary cell wall thickening stages

DPA: 开花后天数。2 个功能未知基因和 1 个碳水化合物转运与代谢功能分类基因在 25 DPA 下调表达、在 30 DPA 上调表达。这 3 个基因未在图中标注。

DPA: days post anthesis. Two genes with unknown functions and one gene related to carbohydrate transport and metabolism were down-regulated at 25 DPA and up-regulated at 30 DPA. The three genes are not labeled in the figure.

显增加,表明随着次生壁的持续增厚,LM 和 HM 可能通过信号转导、转录等相关基因表达水平的变化,调控碳水化合物转运与代谢、蛋白翻译与功能调控、细胞骨架系统等生物学活动,进而影响 LM 和 HM 的马克隆值大小。并且这些功能类别中基因的上/下调趋势在 2 个时期基本一致,提示 LM 与 HM 间的基因表达差异可能由其遗传背景决定。其中,碳水化合物转运与代谢功能分类的基因多为糖基水解酶,可能通过分解细胞壁多糖释放单糖,为纤维素合成提供底物。2 个时期的碳水化合物转运与代谢均表现为下调表达基因数大于上调表达基因数,暗示 LM 在次生壁增厚过程中纤维素合成活动可能不及 HM 活跃,影响细胞壁增厚。翻译后修饰、蛋白质转换以及伴侣蛋白在 2 个时期的差异表达基因数量始终较多,涉及的基因主要为 E3 泛素连接酶、蛋白酶等,且均呈现出上调基因数多于下调基因数的特征,表明 LM 中蛋白质降解与调控过程可能更为活跃。次生壁快速增厚期,5 个细胞骨架系统的关键组分(驱动蛋白和丝束蛋白)基因差异表达,表明 LM 和

HM 的细胞骨架相关蛋白活性可能受到不同程度调控,这可能进一步影响纤维素合酶复合体的运输与沉积模式。

2.9 生长素信号转导相关基因分析

激素含量测定及差异表达基因 KEGG 富集分析表明,生长素可能是影响 LM 和 HM 马克隆值的重要植物激素。在生长素信号转导过程中,当生长素浓度下降时,Aux/IAA 蛋白会与生长素响应因子(auxin response factor, ARF)形成异二聚体,并抑制生长素响应基因的转录。当生长素浓度增加时,生长素受体蛋白 TIR1/AFBs (F-box 蛋白)通过生长素与 Aux/IAA 蛋白结合,介导 Aux/IAA 的泛素化和降解,从而解除对 ARFs 的抑制。吲哚-3-乙酸酰胺合成酶 GH3 (Gretchen Hagen 3)催化 IAA 与氨基酸形成 IAA-Asp、IAA-Ala 等氨基酸结合态并储存于胞内^[26-27]。15~30 DPA, 23 个生长素相关差异表达基因参与植物激素信号转导通路(ko04075) (表 2)。在 30 DPA,次生壁快速增厚,LM 的 IAA 含量极显著低于 HM (图 3-A),且 GH3 和生长素转运蛋白(auxin transporter-like protein 3)编码

基因仅在 30 DPA 显著差异表达, 因此应重点关注 30 DPA, LM 中 *GH3* 仅上调表达, 生长素转运蛋白编码基因仅下调表达。AUX/IAA 家族蛋白编码基因中 2

表 2 生长素信号转导通路基因
Table 2 Genes involved in the auxin signal transduction pathway

基因 ID Gene ID	基因功能注释 Gene functional annotation	差异表达时期 Differentially expressed period	上/下调 Up/down
<i>Ghir_A03G022510</i>	生长素应答蛋白 SAUR67 Auxin-responsive protein SAUR67	15 DPA	下调 Down
<i>Ghir_A03G022520</i>	生长素应答蛋白 SAUR67 Auxin-responsive protein SAUR67	15 DPA	上调 Up
<i>Ghir_A11G013470</i>	生长素诱导蛋白 AUX28 (AUX/IAA 家族) Auxin-induced protein AUX28 (AUX/IAA family)	15 DPA	下调 Down
<i>Ghir_D02G023960</i>	生长素应答蛋白 SAUR67 Auxin-responsive protein SAUR67	15 DPA	下调 Down
<i>Gossypium_hirsutum_newGene_5155</i>	生长素应答蛋白 IAA30 (AUX/IAA 家族) Auxin-responsive protein IAA30 (AUX/IAA family)	15 DPA	下调 Down
<i>Ghir_D07G016550</i>	生长素应答蛋白 IAA11 (AUX/IAA 家族) Auxin-responsive protein IAA11 (AUX/IAA family)	15 DPA, 20 DPA	上调 Up
<i>Ghir_A08G006730</i>	生长素诱导蛋白 22D (AUX/IAA 家族) Auxin-induced protein 22D (AUX/IAA family)	20 DPA	上调 Up
<i>Ghir_D05G026100</i>	生长素应答蛋白 SAUR50 Auxin-responsive protein SAUR50	20 DPA	下调 Down
<i>Ghir_A07G014490</i>	生长素应答因子 11 Auxin response factor 11	25 DPA	下调 Down
<i>Ghir_A09G023700</i>	生长素应答蛋白 IAA14 (AUX/IAA 家族) Auxin-responsive protein IAA14 (AUX/IAA family)	25 DPA	下调 Down
<i>Ghir_D05G005830</i>	生长素应答蛋白 IAA29 (AUX/IAA 家族) Auxin-responsive protein IAA29 (AUX/IAA family)	25 DPA	上调 Up
<i>Ghir_D07G014760</i>	生长素应答因子 11 样蛋白 Auxin response factor 11-like	25 DPA	下调 Down
<i>Ghir_D09G010970</i>	生长素应答因子 4 Auxin response factor 4	25 DPA	上调 Up
<i>Ghir_A05G013450</i>	生长素应答蛋白 IAA27 样蛋白(AUX/IAA 家族) Auxin-responsive protein IAA27-like (AUX/IAA family)	25 DPA, 30 DPA	下调 Down
<i>Ghir_D01G010790</i>	生长素应答蛋白 SAUR50 Auxin-responsive protein SAUR50	25 DPA, 30 DPA	下调 Down
<i>Ghir_A03G020320</i>	吲哚-3-乙酸-酰胺合成酶 GH3.1 Indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3.1	30 DPA	上调 Up
<i>Ghir_A07G022520</i>	生长素诱导蛋白 22D (AUX/IAA 家族) Auxin-induced protein 22D (AUX/IAA family)	30 DPA	上调 Up
<i>Ghir_A11G005380</i>	吲哚-3-乙酸-酰胺合成酶 GH3.1 Indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3.1	30 DPA	上调 Up
<i>Ghir_D02G021740</i>	吲哚-3-乙酸-酰胺合成酶 GH3.1 Indole-3-acetic acid-amido synthetase GH3.1	30 DPA	上调 Up
<i>Ghir_D06G004490</i>	生长素转运蛋白样蛋白 3 Auxin transporter-like protein 3	30 DPA	下调 Down
<i>Ghir_D11G014250</i>	生长素应答蛋白 IAA11 Auxin-responsive protein IAA11	30 DPA	上调 Up
<i>Gossypium_hirsutum_newGene_10203</i>	生长素应答蛋白 IAA8 (AUX/IAA 家族) Auxin-responsive protein IAA8 (AUX/IAA family)	30 DPA	下调 Down
<i>Gossypium_hirsutum_newGene_1111</i>	生长素转运蛋白样蛋白 3 Auxin transporter-like protein 3	30 DPA	下调 Down

DPA: 开花后天数。DPA: days post anthesis.

个下调表达、1个上调表达;生长素应答蛋白编码基因中上调和下调表达的各1个。根据以上结果推测,在30 DPA, LM中 *GH3* 上调表达, IAA 代谢失活, 使LM的自由态 IAA 含量极显著低于HM, IAA 的转运水平也降低。AUX/IAA 蛋白、生长素应答蛋白等参与了这一过程的反馈调控。

3 讨论

3.1 生长素是影响LM和HM马克隆值大小的主要植物激素

本研究中, 植物激素信号转导通路(ko04075)中生长素相关基因有23个, 超过其他激素相关基因总和, 表明生长素可能在LM和HM的次生壁发育过程中发挥重要作用。生长素广泛参与调控植物发育、胁迫应答等各种生命活动^[28-30]。植物组织器官发育过程中, 生长素的分布及浓度梯度的形成决定了细胞分化的方向及命运^[26]。棉纤维是一种由胚珠表皮发育而来的高度伸长的细胞。生长素调控纤维的起始与伸长, 脱落酸与生长素的比值升高和 H_2O_2 产生是次生壁合成起始信号^[8-9, 31-32]。15~20 DPA 是纤维细胞伸长和次生壁形成的重叠时期。在15 DPA, LM和HM的 IAA 含量差异显著, 与15 DPA 生长素信号通路基因被富集的结果一致。次生壁增厚信号ABA和 H_2O_2 在20 DPA 才出现, 表明在15 DPA 时 IAA 主要影响LM和HM的纤维伸长。在30 DPA, LM和HM中 IAA 含量再次出现显著差异, 植物信号转导通路(ko04075)也被富集, 其中生长素是富集基因数最多的植物激素, 并且 *GH3* 基因和生长素转运蛋白编码基因仅在30 DPA 显著差异表达。因此推测在30 DPA 时, LM中 *GH3* 上调表达, 使 IAA 失活, LM的 IAA 含量极显著低于HM, 影响了次生壁形成以及马克隆值大小。

3.2 细胞骨架引导下的纤维素合成影响LM和HM的次生壁增厚

纤维素是次生细胞壁的主要成分。纤维素由质膜上的纤维素合酶复合体(cellulose synthase complex, CSC)合成。CSC在膜上移动并拉伸出纤维素链形成微纤丝。其运输依赖高尔基体和肌动蛋白, 微管束维持其定位并引导合成位置。次生壁中的微纤丝以顶端增长的方式增加长度, 并通过葡萄糖残基在纤维素侧链上连接使纤维素聚合度增加, 纤维胞壁加厚^[33-35]。然而, 本研究中LM和HM成熟纤维的纤维素含量差异不显著, 次生壁增厚过程中只有

7个蔗糖合酶基因在25 DPA 和30 DPA 的淀粉和蔗糖代谢(ko00500)通路被富集, 其他差异表达的纤维素合成相关酶类基因数量很少。特别是只有2个纤维素合酶基因分别在20 DPA 和25 DPA 差异表达, 且 $|\log_2 FC| < 2$, 表达差异较小。综合纤维细胞结构、纤维表面形态观察以及细胞壁厚度测量结果推测, 在次生壁增厚阶段的纤维素合成进程中, 相较于物质代谢对细胞壁厚度的作用, LM与HM的纤维细胞壁纤维素排列方向的差异对细胞壁厚度的影响更为显著。

细胞壁纤维素厚度和排列方向的调控可能通过细胞骨架重组实现。真核细胞骨架系统由微管、微丝和中间纤维组成^[36-37]。植物细胞次生壁合成时, CSC在微管引导下经肌动蛋白束运输至细胞膜沉积位点。COBRA 家族蛋白协助新葡聚糖链形成纤维素微纤丝, 该蛋白为 GPI 锚定糖蛋白^[33, 36]。在25 DPA, 微管蛋白基因有4个下调表达、1个上调表达。1个肌动蛋白基因在15 DPA、3个肌动蛋白基因在25 DPA 下调表达。另外, 糖基磷脂酰肌醇锚定物(ko00563)在20 DPA 被富集且相关编码基因仅下调表达, 在15、25和30 DPA 虽未被富集但下调表达基因数明显大于上调表达基因数。LM中这些蛋白的编码基因总体呈下调趋势, 可能影响了纤维素微纤丝的形成、沉积及排列, 进而减小细胞壁厚度。

3.3 细胞程序性死亡(PCD)影响LM和HM的纤维空腔大小

纤维成熟过程中会经历 PCD 和胞质降解过程, 最终形成中空的纤维管状结构^[7]。纤维细胞结构观察表明, LM成熟纤维空腔大于HM。KEGG 分析表明, 在25 DPA, 缬氨酸/亮氨酸和异亮氨酸降解(ko00280)和吞噬体(ko04145)通路被富集, 30 DPA 时RNA 降解通路(ko03018)被富集且相关编码基因仅上调表达。对次生壁增厚过渡期和快速增厚期差异表达基因的 eggNOG 功能分类进行比较分析也表明, 翻译后修饰、蛋白质转换、伴侣功能分类相关的基因数量较多, 超50%的基因注释为E3泛素连接酶或者蛋白酶编码基因。泛素-蛋白酶体在细胞内容物降解过程中发挥重要作用^[38]。4个时间点共有34个差异表达基因与泛素介导的蛋白水解相关, 包括E3泛素连接酶、多聚泛素、含U-box结构域蛋白、F-box蛋白、泛素羧基末端水解酶、RING 结构域蛋白、WD结构域蛋白等。除25 DPA 外, 其他时间点均为

上调基因数大于下调基因数。特别是有 8 个基因对应的蛋白被明确注释参与泛素介导的蛋白水解 (ko04120) 通路, 且均在 30 DPA 差异表达, 包括多聚泛素、E3 泛素连接酶和具有泛素-蛋白质转移酶活性 (GO:0004842) 的含 U-box 结构域蛋白, 其中仅 1 个蛋白的编码基因下调表达, 其余 7 个蛋白的编码基因均上调表达。表明 LM 中泛素介导的蛋白水解活动相较于 HM 更为活跃。PCD 相关基因的差异表达, 可能是造成 LM 和 HM 的成熟纤维中空腔大小差异的重要原因。

3.4 生长素通过调控细胞骨架引导下的纤维素合成和 PCD 影响 LM 和 HM 的马克隆值

植物纤维发育过程中, 微管与肌动蛋白调控纤维素微纤丝的排列, 影响细胞壁特性和细胞膨胀^[33,36]。棉花纤维作为单细胞毛状体也具有相似的发育机制^[39-42]。在这个过程中, 生长素通过反馈机制调控细胞壁重塑。外源生长素诱导皮层微管横向排列, 促进细胞伸长。高浓度生长素则抑制伸长并导致微管重定向和调控细胞壁适当扩张^[33,43-44]。生长素还通过调控皮层肌动蛋白微丝取向和重塑肌动蛋白丝来促进自身运输^[45-48]。综合以上分析结果推测, LM 和 HM 在次生壁发育过程中可能通过 IAA 反馈调节, 调控自由态 IAA 含量。IAA 通过调控微管和肌动蛋白的空间定位及排布, 在纤维素合成时调控纤维素酶复合体的定位, 进而影响 LM 和 HM 的纤维素厚度及纤维素微管排列方向。

生长素信号通路与蛋白降解也密切相关。生长素受体蛋白 TIR1/AFBs 介导的 Aux/IAA 的泛素化和降解是 IAA 信号转导通路中释放 ARFs 从而激活生长素依赖基因的重要步骤^[26,49]。生长素调控 PCD 通路, 局部 PCD 也调节生长素流动与信号转导。伴随细胞的自溶死亡, 水解酶从蛋白质中释放出氨基酸, 从而促进 IAA 生成^[49-50]。此外, 细胞骨架重构在 PCD 过程中也起着至关重要的作用。PCD 信号会引起微管网络解聚、微丝重塑, 而肌动蛋白细胞解聚可能通过激活细胞信号转导、增强转录因子活性、延长钙离子释放等途径向 PCD 传递信号^[49-51]。

4 结论

本研究对陆海杂交高代姊妹系 LM (低马克隆值) 和 HM (高马克隆值) 在纤维次生壁发育不同时期进行转录组测序, 并从细胞结构、植物激素、纤维素合成、基因表达等角度解析 LM 与 HM 的马克隆值

差异的形成机制。LM 和 HM 的次生壁增厚过程中, 生长素调控细胞骨架引导下的纤维素合成及 PCD 相关基因的差异表达可能是影响马克隆值的主要原因。LM 和 HM 在次生壁发育过程中反馈调节自由态 IAA 含量。IAA 通过调控微管和肌动蛋白的空间定位影响纤维素酶复合体合成纤维素时的定位及排布, 进而影响纤维素厚度以及纤维素微管的排列方向。LM 的纤维发育过程中细胞内容物降解活动更为活跃, 可能是造成其成熟纤维细胞内空腔更大的重要原因。上述生物学过程存在反馈调节。

References

- [1] 叶戡春. 棉纺企业对棉花质量的需求. 中国纤检, 2018(1): 24-29.
Ye J C. A requirement of textile enterprises for cotton quality. China Fiber Insp, 2018(1): 24-29 (in Chinese).
- [2] 孟俊婷, 韦京艳, 唐淑荣, 等. 2018-2019 年我国棉花推广品种纤维品质状况调查. 中国棉花, 2020, 47(8): 7-9.
Meng J T, Wei J Y, Tang S R, et al. Report of fiber quality of commercial cotton varieties in 2018-2019. China Cotton, 2020, 47(8): 7-9 (in Chinese).
- [3] 唐淑荣, 金石桥, 付小琼, 等. “六五”至“十二五”期间我国棉花品种纤维品质评价分析. 中国棉花, 2015, 42(9): 18-24.
Tang S R, Jin S Q, Fu X Q, et al. Evaluate on the cotton fiber quality in China during the sixth and the twelfth Five-Year Plan period. China Cotton, 2015, 42(9): 18-24 (in Chinese).
- [4] 许乃银, 李健. 我国主产棉区棉花纤维品质性状的区域分布特征. 中国生态农业学报, 2016, 24: 1547-1554.
Xu N Y, Li J. Regional distribution characteristics of cotton fiber quality in main cotton production areas in China. Chin J Eco-Agric, 2016, 24: 1547-1554 (in Chinese with English abstract).
- [5] 中国纤维检验局. 棉花质量检验(第 2 版). 北京: 中国计量出版社, 2010. pp 49-62.
China Fiber Inspection Bureau. Cotton Quality Inspection, 2nd edn. Beijing: China Metrology Publishing House, 2010. pp 49-62 (in Chinese).
- [6] 杨君, 马峙英, 王省芬. 棉花纤维品质改良相关基因研究进展. 中国农业科学, 2016, 49: 4310-4322.
Yang J, Ma Z Y, Wang X F. Progress in studies on genes related to fiber quality improvement of cotton. Sci Agric Sin, 2016, 49: 4310-4322 (in Chinese with English abstract).
- [7] Jareczek J J, Grover C E, Wendel J F. Cotton fiber as a model for understanding shifts in cell development under domestication. Front Plant Sci, 2023, 14: 1146802.
- [8] Potikha T S, Collins C C, Johnson D I, et al. The involvement of hydrogen peroxide in the differentiation of secondary walls in cotton fibers. Plant Physiol, 1999, 119: 849-858.
- [9] Yang Y M, Xu C N, Wang B M, et al. Effects of plant growth regulators on secondary wall thickening of cotton fibres. Plant Growth Regul, 2001, 35: 233-237.
- [10] 杜雄明, 潘家驹. 影响棉纤维分化和发育的因素. 生命科学,

- 2000, 12(4): 177–180.
- Du X M, Pan J J. Factors influencing cotton fiber initiation and development. *Chin Bull Life Sci*, 2000, 12(4): 177–180 (in Chinese with English abstract).
- [11] Al-Ghazi Y, Bourrot S, Arioli T, et al. Transcript profiling during fiber development identifies pathways in secondary metabolism and cell wall structure that may contribute to cotton fiber quality. *Plant Cell Physiol*, 2009, 50: 1364–1381.
- [12] Prasad P, Khatoon U, Verma R K, et al. Transcriptional landscape of cotton fiber development and its alliance with fiber-associated traits. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 811655.
- [13] Lu Q W, Shi Y Z, Xiao X H, et al. Transcriptome analysis suggests that chromosome introgression fragments from sea island cotton (*Gossypium barbadense*) increase fiber strength in upland cotton (*Gossypium hirsutum*). *G3: Gene Genom Genet*, 2017, 7: 3469–3479.
- [14] Qin Y, Sun H R, Hao P B, et al. Transcriptome analysis reveals differences in the mechanisms of fiber initiation and elongation between long- and short-fiber cotton (*Gossypium hirsutum* L.) lines. *BMC Genomics*, 2019, 20: 633.
- [15] Jiang X, Fan L Q, Li P T, et al. Co-expression network and comparative transcriptome analysis for fiber initiation and elongation reveal genetic differences in two lines from upland cotton CCRI70 RIL population. *PeerJ*, 2021, 9: e11812.
- [16] Song X H, Zhu G Z, Su X J, et al. Combined genome and transcriptome analysis of elite fiber quality in *Gossypium barbadense*. *Plant Physiol*, 2024, 195: 2158–2175.
- [17] Ditta A, Cai X Y, Shehzad M, et al. Transcriptome dynamics along with expression analysis of key genes involved in fiber development between *Gossypium barbadense* and *Gossypium darwinii*. *BMC Plant Biol*, 2025, 25: 691.
- [18] 曾志锋. GhTUB7 在棉纤维发育中的功能. 西南大学硕士学位论文, 重庆, 2016.
- Zeng Z F. The Function of GhTUB7 in Cotton Fiber Development. MS Thesis of Southwest University, Chongqing, China, 2016 (in Chinese with English abstract).
- [19] Peter Hedden. Modern methods for the quantitative analysis of plant hormones. *Annu Rev Plant Physiol*, 1993, 44: 107–129.
- [20] Zhao L, Ding Q, Zeng J, et al. An improved CTAB-ammonium acetate method for total RNA isolation from cotton. *Phytochem Anal*, 2012, 23: 647–650.
- [21] Ma D, Hu Y, Yang C Q, et al. Genetic basis for glandular trichome formation in cotton. *Nat Commun*, 2016, 7: 10456.
- [22] 钱玉源, 刘伟, 崔淑芳, 等. 基于表型的棉花种质资源遗传多样性分析及核心种质的抽提. *华北农学报*, 2019, 34(增刊): 29–35.
- Qian Y Y, Liu Y, Cui S F, et al. Analysis of genetic diversity of cotton germplasm resources and extraction of core germplasm based on phenotypic traits. *Acta Agric Boreali-Sin*, 2019, 34(S): 29–35 (in Chinese with English abstract).
- [23] 石建斌, 周红, 王宁, 等. 陆地棉纤维品质与主要农艺性状的相关性分析. *江苏农业学报*, 2019, 35: 770–775.
- Shi J B, Zhou H, Wang N, et al. Correlation analysis between fiber quality and main agronomic traits of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Jiangsu J Agric Sci*, 2019, 35: 770–775 (in Chinese with English abstract).
- [24] 张辉, 汤文开, 谭新, 等. 棉纤维发育及其相关基因表达调控研究进展. *植物学通报*, 2007, 24: 127–133.
- Zhang H, Tang W K, Tan X, et al. Progresses in the study of gene regulation of cotton fiber development. *Chin Bull Bot*, 2007, 24: 127–133 (in Chinese with English abstract).
- [25] 尹昌果, 马长乐, 王志武, 等. 植物次生壁合成研究进展. *分子植物育种*, 2022, 20: 1699–1707.
- Yin C G, Ma C L, Wang Z W, et al. Research progress on plant secondary cell wall development. *Mol Plant Breed*, 2022, 20: 1699–1707 (in Chinese with English abstract).
- [26] 徐慧芳, 陈栩. 生长素研究现状及其在大豆育种中的应用. *中国科学: 生命科学*, 2024, 54: 247–259.
- Xu H F, Chen X. Current opinions on auxin research and its application in soybean breeding. *Sci Sin Vitae*, 2024, 54: 247–259 (in Chinese with English abstract).
- [27] Dubey S M, Serre N B C, Oulehlová D, et al. No time for transcription-rapid auxin responses in plants. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2021, 13: a039891.
- [28] Paque S, Weijers D. Q&A: auxin: the plant molecule that influences almost anything. *BMC Biol*, 2016, 14: 67.
- [29] Caumon H, Vernoux T. A matter of time: auxin signaling dynamics and the regulation of auxin responses during plant development. *J Exp Bot*, 2023, 74: 3887–3902.
- [30] Jing H W, Wilkinson E G, Sageman-Furnas K, et al. Auxin and abiotic stress responses. *J Exp Bot*, 2023, 74: 7000–7014.
- [31] Zhang M, Zheng X L, Song S Q, et al. Spatiotemporal manipulation of auxin biosynthesis in cotton ovule epidermal cells enhances fiber yield and quality. *Nat Biotechnol*, 2011, 29: 453–458.
- [32] Zhang M, Zeng J Y, Long H, et al. Auxin regulates cotton fiber initiation via GhPIN-mediated auxin transport. *Plant Cell Physiol*, 2017, 58: 385–397.
- [33] Kumar V, Yadav S, Heymans A, et al. “Shape of cell”—an auxin and cell wall duet. *Physiol Plant*, 2025, 177: e70294.
- [34] Saxena I M, Brown R M Jr, Dandekar T. Structure-function characterization of cellulose synthase: relationship to other glycosyltransferases. *Phytochemistry*, 2001, 57: 1135–1148.
- [35] Wightman R, Turner S R. The roles of the cytoskeleton during cellulose deposition at the secondary cell wall. *Plant J*, 2008, 54: 794–805.
- [36] Meents M J, Watanabe Y, Samuels A L. The cell biology of secondary cell wall biosynthesis. *Ann Bot*, 2018, 121: 1107–1125.
- [37] 毕筱瑞, 葛博浩, 陈玉珍, 等. 植物细胞骨架中间纤维研究进展. *热带亚热带植物学报*, 2025, 33: 229–240.
- Bi X R, Ge B H, Chen Y Z, et al. Research progress on the intermediate filament cytoskeleton in plant cells. *J Trop Subtrop Bot*, 2025, 33: 229–240 (in Chinese with English abstract).
- [38] Raffener M, Zhu S S, González-Fuente M, et al. Interplay between autophagy and proteasome during protein turnover. *Trends Plant Sci*, 2023, 28: 698–714.
- [39] Zeng J, Xi J, Li B, et al. Microtubules play a crucial role in regulating actin organization and cell initiation in cotton fibers. *Plant Cell Rep*, 2022, 41: 1059–1073.
- [40] Zhang M, Han L B, Wang W Y, et al. Overexpression of *GhFIM2* propels cotton fiber development by enhancing actin bundle formation. *J Integr Plant Biol*, 2017, 59: 531–534.

- [41] Graham B P, Haigler C H. Microtubules exert early, partial, and variable control of cotton fiber diameter. *Planta*, 2021, 253: 47.
- [42] Song Q, Gao W, Du C, et al. Cotton microtubule-associated protein GhMAP20L5 mediates fiber elongation through the interaction with the tubulin GhTUB13. *Plant Sci*, 2023, 327: 111545.
- [43] Vineyard L, Elliott A, Dhingra S, et al. Progressive transverse microtubule array organization in hormone-induced *Arabidopsis* hypocotyl cells. *Plant Cell*, 2013, 25: 662–676.
- [44] Ivanchenko M G, Napsucialy-Mendivil S, Dubrovsky J G. Auxin-induced inhibition of lateral root initiation contributes to root system shaping in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J*, 2010, 64: 740–752.
- [45] Fu Y, Li H, Yang Z B. The ROP2 GTPase controls the formation of cortical fine F-actin and the early phase of directional cell expansion during *Arabidopsis* organogenesis. *Plant Cell*, 2002, 14: 777–794.
- [46] Nagawa S, Xu T D, Lin D S, et al. ROP GTPase-dependent actin microfilaments promote PIN1 polarization by localized inhibition of clathrin-dependent endocytosis. *PLoS Biol*, 2012, 10: e1001299.
- [47] Winnicki K. The winner takes it all: auxin-the main player during plant embryogenesis. *Cells*, 2020, 9: 606.
- [48] Nick P, Han M J, An G. Auxin stimulates its own transport by shaping actin filaments. *Plant Physiol*, 2009, 151: 155–167.
- [49] Kacprzyk J, Burke R, Schwarze J, et al. Plant programmed cell death meets auxin signalling. *FEBS J*, 2022, 289: 1731–1745.
- [50] Sheldrake A R. The production of auxin by dying cells. *J Exp Bot*, 2021, 72: 2288–2300.
- [51] Smertenko A, Franklin-Tong V E. Organisation and regulation of the cytoskeleton in plant programmed cell death. *Cell Death Differ*, 2011, 18: 1263–1270.