

分类号: Q819
学号: 20212006007

密级:
单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



棉花 SP/SPL 基因家族鉴定及 *GhSP1L4D* 基因 影响细胞伸长发育的功能分析

学位申请人	范计亮
指导教师	李鸿彬 教授
申请学位门类级别	理学硕士
学科、专业名称	生物学
研究方向	生物化学与分子生物学
所在学院	生命科学学院

中国·新疆·石河子
2025年12月

分类号: Q819
学 号: 20212006007

密 级:
单位代码: 10759

石河子大学

硕士学位论文



棉花 SP/SPL 基因家族鉴定及 *GhSP1L4D* 基因 影响细胞伸长发育的功能分析

学 位 申 请 人	范计亮
指 导 教 师	李鸿彬 教授
申请学位门类级别	理学硕士
学 科、专 业 名 称	生物学
研 究 方 向	生物化学与分子生物学
所 在 学 院	生命科学学院

中国·新疆·石河子

2025 年 12 月

**Identification of the SP/SPL Gene Family in Cotton and Functional
Analysis of the *GhSP1L4D* Gene in Influencing Cell Elongation and
Development**

A Dissertation Submitted to

Shihezi University

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

Master of Natural Science

By

Jiliang Fan

(Biochemistry and Molecular Biology)

Dissertation Supervisor: Prof. Hongbin Li

December, 2025

石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：范计亮 时间：2025年11月28日

使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：范计亮 时间：2025年11月28日

导师签名：李小明 时间：2025年11月28日

摘要

目的：棉花纤维是天然纤维的来源之一，随着社会的快速发展，人们对棉花纤维的需求日益增长，传统的棉花品种难以满足高端纺织市场需求。此外，棉纤维螺旋度是决定纤维强度这一核心品质性状的关键要素之一，而 *SPIRAL* 基因可通过调控微管动态影响植物器官螺旋生长，其在棉纤维发育中的功能尚未明确。本研究旨在鉴定棉花 *SPIRAL/SPIRAL-like* (*SP/SPL*) 家族基因，明确关键成员 *GhSPIL4D* 在棉纤维伸长与螺旋生长中的功能及调控机制，为通过分子生物技术改良棉花纤维品质提供理论依据与基因靶点。

方法：本研究以陆地棉“徐州 142”作为研究材料，对拟南芥、可可和 10 个棉种基因组中的 *SP/SPL* 家族成员，分别进行染色体定位、基因结构、保守基序及启动子顺式作用元件分析；基于陆地棉转录组数据 (PRJNA248163) 与 qRT-PCR，分析 *SP/SPL* 基因在纤维发育不同时期的表达特征；对陆地棉 *SP/SPL* 家族成员中的 *GhSPIL4D* 基因进行克隆，并开展拟南芥异源表达实验，以及烟草亚细胞定位分析；通过病毒诱导基因沉默 (VIGS) 技术，进一步探究 *GhSPIL4D* 在纤维发育中的生物学功能。

结果：1.棉花 *SPIRAL/SPIRAL-like* 家族基因的鉴定与分析。在 10 个棉种中鉴定出 172 个 *SP/SPL* 成员，系统发育树将其分为 6 个分支，同一棉种 A/D 亚基因组直系同源基因多形成末端同源对；基因多分布于染色体首尾两端，*SPR1/SP1L* 组含 2-3 个外显子，*SPR2/SP2L* 组含 4-6 个外显子，83.4%成员无内含子，所有成员均含 motif4 和 motif7 保守基序；陆地棉 *SP/SPL* 基因在纤维发育阶段表达高于营养器官，其中 *GhSPIL4D* 在纤维 10-25 DPA 表达升高，20 DPA 达峰，呈纤维特异性高表达。

2.*GhSPIL4D* 影响植物生长发育的功能分析。为了研究 *GhSPIL4D* 对植物生长发育的影响，利用拟南芥 *sp1-1*、*sp1-2* 突变体及野生型拟南芥作为材料，分析异源表达与回补 *GhSPIL4D* 后的表型及细胞特征变化。拟南芥 *sp1-1*、*sp1-2* 突变体根部卷曲，根长及伸长区细胞长度显著缩短，细胞呈弯曲排列；回补 *GhSPIL4D* 后，突变体根部螺旋表型消失，根长、细胞长度及排列恢复至野生型水平；过表达 *GhSPIL4D* 的野生型拟南芥根长与细胞长度显著增长；亚细胞定位显示，*GhSPIL4D* 在细胞质中呈强荧光信号，与微管空间定位匹配。

3.*GhSPIL4D* 影响棉纤维发育的功能分析。为了研究 *GhSPIL4D* 对棉纤维发育的调控作用，利用陆地棉“徐州 142”作为材料，通过 VIGS 技术沉默 *GhSPIL4D*，分析纤维表型、生理指标及分子机制变化。VIGS 沉默 *GhSPIL4D* 后，棉花株高、棉铃重量及种子百粒重性状无显著变化，但纤维长度显著缩短；纤维螺旋数量增加，细胞壁厚度从 6 μm 增至 8 μm ，果胶和纤维素含量均显著升高；RNA-seq 鉴定出 4784 个差异表达基因，GO 富集于“生长素响应”“细胞壁”相关条目，KEGG 富集于“植物激素信号转导”通路；生长素 (IAA30、IAA16)、赤霉素等信号通路基因下调，细胞壁合成基因 (XTHB、Prx72) 上调；PPI 网络预测 *GhSPIL4D* 可能通过调控微管阵列与生长素信号影响纤维发育。

结论：本研究系统揭示了 *SP/SPL* 基因家族的进化特征与功能分化，阐明了 *SP/SPL* 基因在植物细胞

伸长发育中的作用；基于 RNA-seq 初步探索结果，发现 *GhSPIL4D* 可能通过调控微管排列与生长素信号，影响棉纤维伸长、螺旋生长及细胞壁物质沉积的分子机制，为进一步培育优良棉花材料提供了有效参考与关键基因靶点。

关键词：棉花纤维发育；细胞伸长；*SPIRAL/SPIRAL-like* (*SP/SPL*) 基因；细胞偏转；细胞壁厚度

Abstract

Objective: Cotton is one of the sources of natural fibers. With the rapid development of society, the demand for cotton fibers is increasing, and traditional cotton varieties can hardly meet the needs of the high-end textile market. In addition, cotton fiber spiralness is one of the key factors determining fiber strength, a core quality trait. The *SPIRAL* gene can affect the spiral growth of plant organs by regulating microtubule dynamics, but its function in cotton fiber development remains unclear. This study aims to identify the *SPIRAL/SPIRAL-like (SP/SPL)* family genes in cotton, clarify the function and regulatory mechanism of the key member *GhSPIL4D* in cotton fiber elongation and spiral growth, and provide theoretical basis and gene targets for improving cotton fiber quality through molecular biotechnology.

Methods: Using upland cotton "Xuzhou 142" as the research material, this study analyzed the chromosome localization, gene structure, conserved motifs and promoter cis-acting elements of *SP/SPL* family members in the genomes of *Arabidopsis thaliana*, *Theobroma cacao* and 10 cotton species respectively; based on upland cotton transcriptome data (PRJNA248163) and qRT-PCR, the expression characteristics of *SP/SPL* genes in different stages of fiber development were analyzed; the *GhSPIL4D* gene from upland cotton *SP/SPL* family was cloned, and *Arabidopsis* heterologous expression experiment and tobacco subcellular localization analysis were carried out; through virus-induced gene silencing (VIGS) technology, the biological function of *GhSPIL4D* in fiber development was further explored.

Results: 1. Identification and analysis of cotton *SPIRAL/SPIRAL-like* family genes. A total of 172 *SP/SPL* members were identified in 10 cotton species. The phylogenetic tree divided them into 6 branches. Orthologous genes in the A/D subgenomes of the same cotton species mostly formed terminal homologous pairs; genes were mostly distributed at both ends of chromosomes. The SPR1/SP1L group contained 2-3 exons, the SPR2/SP2L group contained 4-6 exons, 83.4% of the members had no introns, and all members contained motif4 and motif7 conserved motifs; the expression of upland cotton *SP/SPL* genes in fiber development stage was higher than that in vegetative organs, among which *GhSPIL4D* expression increased in fibers at 10-25 DPA, peaked at 20 DPA, showing fiber-specific high expression.

2. Functional analysis of *GhSPIL4D* affecting plant growth and development. To study the effect of *GhSPIL4D* on plant growth and development, *Arabidopsis sp1-1*, *sp1-2* mutants and wild-type *Arabidopsis* were used as materials to analyze the phenotypic and cellular characteristic changes after heterologous expression and complementation of *GhSPIL4D*. The roots of *Arabidopsis sp1-1* and *sp1-2* mutants curled, root length and elongation zone cell length were significantly shortened, and cells arranged in a curved manner; after complementing *GhSPIL4D*, the root spiral phenotype of mutants disappeared, and root length,

cell length and arrangement were restored to the wild-type level; root length and cell length of wild-type *Arabidopsis* overexpressing *GhSPIL4D* increased significantly; subcellular localization showed that *GhSPIL4D* had strong fluorescence signal in cytoplasm, matching the spatial localization of microtubules.

3. Functional analysis of *GhSPIL4D* affecting cotton fiber development. To study the regulatory role of *GhSPIL4D* in cotton fiber development, upland cotton "Xuzhou 142" was used as the material. The *GhSPIL4D* gene was silenced using VIGS technology, and changes in fiber phenotype, physiological indicators, and molecular mechanisms were analyzed. After VIGS silencing of *GhSPIL4D*, there was no significant change in cotton plant height, boll weight, and 100-seed weight traits, but fiber length was significantly shortened; the number of fiber spirals increased, cell wall thickness increased from 6 μm to 8 μm , and both pectin and cellulose contents significantly increased; RNA-seq identified 4784 differentially expressed genes, GO enrichment was in "auxin response", "cell wall" related terms, KEGG enrichment was in "plant hormone signal transduction" pathway; genes in auxin (IAA30, IAA16), gibberellin and other signaling pathways were down-regulated, while cell wall synthesis genes (XTHB, Prx72) were up-regulated; PPI network predicted that *GhSPIL4D* might affect fiber development by regulating microtubule arrays and auxin signals.

Conclusions: This study systematically reveals the evolutionary characteristics and functional differentiation of the *SP/SPL* gene family, clarifies the role of *SP/SPL* genes in plant cell elongation and development, and identifies the molecular mechanism by which *GhSPIL4D* affects cotton fiber elongation, spiral growth, and cell wall material deposition by regulating microtubule arrangement and auxin signaling. It provides an effective reference and key gene targets for further breeding of excellent cotton materials.

Key words: Cotton fiber development; Cell elongation; *SPIRAL/SPIRAL-like* (*SP/SPL*) genes; Cell deflection; Cell wall thickness

目录

摘要.....	I
Abstract.....	III
中英文缩写对照表.....	VIII
第1章 文献综述.....	1
1.1 棉花纤维发育概述.....	1
1.1.1 棉花概述.....	1
1.1.2 棉纤维概述.....	2
1.1.3 棉纤维螺旋生长的动力机制.....	2
1.2 棉花纤维发育机理研究进展.....	3
1.2.1 激素对纤维发育的影响.....	3
1.2.2 转录因子对纤维发育的影响.....	6
1.2.3 功能基因对纤维发育的影响.....	11
1.3 微管与细胞壁在细胞发育及伸长中的调控作用.....	12
1.4 <i>SPIRAL</i> 家族基因研究进展.....	13
1.5 研究目的及意义.....	14
第2章 棉花 <i>SPIRAL/SPIRAL-like</i> 家族基因的鉴定与分析.....	16
2.1 <i>SP/SPL</i> 家族基因生物信息学分析.....	16
2.1.1 <i>SP/SPL</i> 基因家族成员鉴定.....	16
2.1.2 系统发育分析.....	17
2.1.3 <i>SP/SPL</i> 基因染色体分布.....	17
2.1.4 <i>SP/SPL</i> 基因家族的结构与保守基序分析.....	17
2.1.5 <i>SP/SPL</i> 基因启动子区结构特征分析.....	17
2.1.6 共线性分析和选择压力分析.....	17
2.1.7 陆地棉 <i>SP/SPL</i> 基因的表达特征分析.....	18
2.2 结果与分析.....	18
2.2.1 棉花 <i>SPIRAL</i> 基因家族成员的鉴定与基本特性表征.....	18
2.2.2 <i>SP/SPL</i> 的系统发育分析.....	19
2.2.3 棉花 <i>SP/SPL</i> 基因染色体定位.....	20
2.2.4 基因结构和保守基序分析.....	21
2.2.5 <i>SP/SPL</i> 基因启动子顺式作用元件分析.....	23

2.2.6 共线性分析和基因复制分析	25
2.2.7 陆地棉 <i>SP/SPL</i> 的差异表达分析	27
2.3 结论与讨论	29
第 3 章 <i>GhSPIL4D</i> 影响植物生长发育的功能分析	31
3.1 材料与仪器	31
3.1.1 实验材料	31
3.1.2 实验仪器	31
3.1.3 实验试剂	32
3.2 转基因拟南芥功能分析	32
3.2.1 材料取样	32
3.2.2 RNA 反转录 cDNA	32
3.2.3 <i>GhSPIL4D</i> 的 PCR 扩增	33
3.2.4 电泳与目的片段纯化	34
3.2.5 构建克隆载体与白色单克隆筛选	34
3.2.6 提取质粒	35
3.2.7 质粒酶切	35
3.2.8 重组表达载体的构建	35
3.2.9 表达重组载体转化农杆菌	36
3.2.10 拟南芥培养	36
3.2.11 拟南芥浸花法转化	36
3.2.12 拟南芥抗性植株的筛选	37
3.2.13 转基因拟南芥的 PCR 检测	37
3.2.14 转基因拟南芥的实时荧光定量 PCR 检测	37
3.2.15 转基因拟南芥表型观察	37
3.3 烟草亚细胞定位	37
3.4 结果与分析	38
3.4.1 拟南芥中异源表达 <i>GhSPIL4D</i> 的表型分析	38
3.4.2 烟草叶片亚细胞定位	40
3.5 结论与讨论	41
第 4 章 <i>GhSPIL4D</i> 影响棉纤维发育的功能分析	43
4.1 实验材料与仪器	43
4.1.1 实验材料	43
4.1.2 仪器与试剂	43
4.2 陆地棉 <i>GhSPIL4D</i> 基因沉默 (VIGS) 实验	44

4.2.1	重组载体 <i>pCLCrVA-GhSPIL4D</i> 、 <i>pCLCrVA-PDS</i> 构建	44
4.2.2	重组载体浸染农杆菌	45
4.2.3	农杆菌侵染棉花	45
4.2.4	棉花纤维生理指标的测定	45
4.2.5	棉纤维扭曲度测量	46
4.2.6	棉纤维细胞壁厚度测量	46
4.2.7	RNA 测序与数据处理	46
4.3	结果与分析	47
4.3.1	棉花病毒诱导基因沉默 VIGS 鉴定	47
4.3.2	<i>GhSPIL4D</i> 对棉花纤维发育的遗传功能分析	48
4.3.3	<i>GhSPIL4D</i> 在棉纤维发育中的功能分析	51
4.3.4	<i>CLCrVA-GhSPIL4D</i> 棉花纤维中果胶和纤维素含量测定	51
4.3.5	<i>CLCrVA-GhSPL4D</i> 棉花纤维的转录组分析	53
4.4	结论与讨论	55
第 5 章	结论与展望	57
5.1	结论	57
5.2	展望	58
参考文献	59
附件	75
致谢	87
作者简介	87

中英文缩写对照表

英文缩写	英文名称	中文名称
Abbreviation	English Name	Chinese Name
CDS	Coding Sequence	编码序列
PCR	Polymerase Chain Reaction	聚合酶链式反应
Kan	Kanamycin	卡那霉素
Rif	Rifampicin	利福平
AS	Acetosyringone	乙酰丁香酮
MES	2-(N-Morpholino) ethanesulfonic Acid	2-(N-吗啉基)乙磺酸
Hygromycin	Hygromycin	潮霉素
RNA	Ribonucleic acid	核糖核酸
ABA	Abscisic acid	脱落酸
GA	Gibberellin	赤霉素
IAA	Indole-3-Acetic Acid	生长素
GO	Gene ontology	基因本体论
KEGG	Kyoto encyclopedia of genes and genomes	京都百科全书基因和基 因组
RT-qPCR	Real-time quantitative PCR	实时定量 PCR
RNA-seq	RNA sequencing	转录组测序技术
CC	Cell Component	细胞组分
MF	Molecular Function	分子功能
BP	Biological Process	生物过程
DEGs	Differentially Expressed Genes	差异表达基因
DDEGs	Down Differential expressed genes	下调差异表达基因

第 1 章 文献综述

1.1 棉花纤维发育概述

1.1.1 棉花概述

棉花 (*Gossypium spp.*) 是一种常见的异花授粉作物, 拥有经济与科研等多重价值, 在纺织、食品和油料生产中发挥关键作用, 推动全球经济增长^[1,2]。在经济层面, 棉花是织造和纺织工业的核心原材料, 棉纤维具有良好的透气性和吸湿性, 是服装制造业不可或缺的材料来源, 棉籽能为人类及动物提供丰富的食用油和富含蛋白质的油饼^[3]。从科研角度看, 棉花具备丰富的物种多样性, 其种类多达 52 种, 包含 45 个二倍体物种和 7 个四倍体物种^[4]。这种多样性不仅为研究遗传机制、基因组结构和从基因型到表型的转变过程提供了优良系统, 还为研究多倍体的进化和驯化提供了理想模型^[5]。

棉花的天然纤维不仅拥有经济与科研价值, 棉花秸秆及纤维残留物还体现了棉花在可持续发展领域的重要潜力^[6,7]。作为一种具有“纺织作物”和“潜在生物燃料”双重属性的经济作物, 棉花不仅为传统纺织业提供原料支撑, 其富含天然纤维素的纤维和棉花秸秆, 还为解决能源可持续发展的问题做出了重要的贡献^[8,9]。棉花因其天然纤维的巨大经济价值而在世界范围内广泛种植, 世界上有 100 多个国家种植棉花, 进出口贸易涉及到 150 多个国家, 编织成一个庞大的交易网络^[10]。棉花的主要种植国家是中国、美国、印度、澳大利亚、巴西及巴基斯坦, 其中中国是世界上最大的棉花种植国家之一, 美国、巴基斯坦与巴西次之^[11]。以中国为例, 2024-2025 年度棉花产量接近 616.4 万吨。这一高产成果是通过培育高产品种、推广 Bt 抗虫棉花、优化种植密度与灌溉方式、应用基因组编辑技术和实施病虫害综合治理等多维度技术与管理措施协同实现的^[12-14]。在保障高产的同时, 棉花对气候和土壤的强大适应能力还使其成为支撑农业可持续性发展的珍贵作物。棉花在与小麦、玉米等作物轮作过程中能有效改善土壤环境, 提升耕地利用率^[15-17]。

尽管棉花具备如此多的优质特性, 其生长发育过程中依然面临着诸多挑战, 往往遭受生物与非生物胁迫, 从而影响棉纤维的产量和质量。为解决棉花生长发育过程中遇到的种种挑战, 通过发展生物技术, 特别是在基因组编辑技术等发面做出的重大突破, 为定向改良棉花纤维品质、筛选优质的棉花品种提供了新的契机^[18]。

1.1.2 棉纤维概述

棉纤维是世界上主要的植物纺织物，是一种高度细长的单细胞，自胚珠表皮发育而来^[19]。单细胞棉纤维的发育发生在几个重叠但离散的阶段，包括纤维起始、伸长、从伸长到次生细胞壁形成的转变、细胞壁增厚以及成熟和细胞死亡^[20]。其中，长绒纤维（后续可加工为皮棉）的伸长始于花后 1-2 天，而绒毛纤维（在棉籽贸易中称为“短绒毛”）的伸长始于花后 5-10 天；纤维的伸长持续约 20 天，长度可达 25-30 mm^[21, 22]。此后纤维伸长逐渐停止，纤维素开始二次沉积，不过纤维伸长与纤维素二次沉积之间存在显著重叠^[23]。绒毛纤维通常较短，轧花时会残留在种子表面。在伸长和次生细胞壁（SCW）生物合成阶段，纤维的纵向生长逐渐停止，纤维素合成后沉积到纤维细胞的次生细胞壁中^[24]。纤维起始是影响棉花产量的最重要阶段，此阶段起始的纤维数量决定了每个胚珠上的纤维总数，进而影响最终产量^[24]。开花当天被定义为 0 DPA，纤维起始阶段持续时间为 0 DPA 到近 5 DPA^[25]。纤维伸长在萌发之后开始，是纤维发育的第二阶段，在此过程中，纤维细胞借助细胞内膨胀压力和细胞壁的松弛状态实现伸长^[26]。对伸长阶段的纤维分析发现，纤维细胞通过渗透压和水分的流动维持膨胀压力^[27]。与野生型相比，短纤维突变体 Li_1 和 Li_2 中的糖浓度较低，苹果酸和离子浓度较高，两种突变体的纤维中含有更多的木质素和木栓质，降低了植物细胞壁的延展性和水分运输效率^[21, 28]。RNA 测序分析显示，两种短纤维突变体中的水通道蛋白均显著下调，这与渗透压降低相关，且可能通过影响纤维细胞内的膨胀压力导致纤维伸长停止^[22, 23]。伸长阶段之后是次生壁合成阶段，该阶段通常从约 20 DPA 持续至 60 DPA，直至棉铃裂开^[29]。棉纤维的发育在很大程度上依赖于细胞壁生物合成和细胞骨架排列^[30]。细胞骨架动力学参与调控诸多细胞过程，如细胞器运动、细胞壁形成和细胞分裂^[31, 32]。棉纤维经历了由细胞骨架控制的高度极化生长，通过尖端偏向的弥漫性生长而伸长，是最长的植物细胞之一^[33]。研究表明，调控细胞骨架的基因对于棉纤维伸长的影响至关重要^[31, 34]。在棉纤维发育过程中，细胞骨架的空间组织和动力学会调控纤维伸长及次生细胞壁的沉积，最终影响纤维长度和强度，而优良的纤维长度、强度和细度是纺织工业所需的优质纤维性状^[35, 36]。微管和微丝作为细胞骨架的重要组成成分，其排列和动态变化影响着纤维细胞的极性生长^[37, 38]。在纤维伸长过程中，纤维细胞中的微管沿纵轴横向排列，引导纤维素沉积，使纤维单向伸长；微丝则参与了细胞内物质运输，为纤维伸长提供必要的物质基础^[39-41]。

1.1.3 棉纤维螺旋生长的动力机制

螺旋生长是植物界中普遍存在的现象，常见于卷须的卷曲、芽和叶的旋向生长、花瓣的螺旋排列以及叶片的扭曲等现象中^[42]。植物中螺旋生长的例子有很多，如在攀缘植物葡萄 (*Vitis vinifera*) 的卷须、兰科的卡特兰杂交种的花梗，以及锦葵科蜜源葵 (*Lagunaria*

patersonia) 的花瓣、山龙眼科的螺旋灌木 (*Persoonia helix*) 的叶片等^[43]。一般来说,植物的形态和运动是由细胞的定向扩张决定的,这是由细胞膨胀压力与细胞壁张力之间的相互作用引起的^[44, 45]。细胞壁微纤维的空间分布决定了细胞扩张的极性,塑造了植物形态^[46]。多项研究证实,皮层微管在微纤维取向中起着重要作用,并与肌动蛋白细胞骨架协作影响植物细胞的形状变化^[47-49]。具体而言,在大多数情况下,植物细胞的螺旋生长与皮层微管的重排有关,这种螺旋状重排调控细胞伸长的旋向^[49]。棉纤维表面粗糙,覆盖着与生长轴成一定角度的褶皱,纤维表面褶皱的形成及其倾斜角度与纤维素以螺旋结构沉积的机制有关。纤维细胞在生长过程中表现出扭曲特性,这一特性源于纤维内部旋转运动和平移运动的叠加,使得沉积的细胞壁层在成熟和干燥时形成螺旋结构,螺旋管状结构既可以存在于纤维的表层,也可以贯穿细胞壁的整体厚度^[50]。单根棉纤维大约由 2300 个纤维素束组成,这些纤维素束沿着纤维细胞长轴呈螺旋状排列,形成稳定的螺旋结构^[51]。

1.2 棉花纤维发育机理研究进展

1.2.1 激素对纤维发育的影响

植物激素是植物自身合成的微量信号分子,对植物的形态建成及生理活动具有关键调控作用,并在棉纤维细胞的伸长过程中发挥着重要调节功能^[52]。在众多植物激素中,赤霉素 (GA)、茉莉酸 (JA)、生长素 (IAA)、乙烯 (ETH) 以及油菜素内酯 (BR) 被认为能够促进纤维的起始与发育;相反,脱落酸 (ABA) 与细胞分裂素 (CTK) 则对纤维生长表现出抑制效应^[53]。尤其值得关注的是,生长素与赤霉素均具备逆转由脱落酸所引发的纤维形成抑制的能力^[54]。在纤维发育阶段,GA、BR、IAA 和 ETH 等信号通路中的关键基因,例如 *MIXTA*、*MYB5* 与 *GL2*, 其表达水平均出现上调;而在无法形成纤维的 *nln1* 突变体中,这些基因的表达则显著下降,进一步印证了 *MIXTA*、*MYB5* 及 *GL2* 在棉纤维发育中具有不可或缺的作用^[55]。

赤霉素 (GA) 在植物体内作为一种关键调控因子,参与多种生理过程的调控。这些过程涉及种子萌发与休眠、根茎生长、花发育及果实成熟^[56]。此外,赤霉素的积累还影响纤维的伸长。在纤维发育过程中,外源施加赤霉素可促进棉纤维的伸长,而施加多效唑 (PAC, 一种 GA 生物合成抑制剂) 则会抑制纤维发育^[57, 58]。此外, Zhu 等人研究表明, IAA 通过增强 GA 生物合成来促进纤维发育^[59]。值得注意的是,开花后,赤霉素的含量在纤维细胞中呈现动态变化,这种动态变化可能与 GA 同时参与花的生长和果实成熟有关^[58]。进一步研究发现,长纤维棉品种中内源性 GA 的含量显著高于中短纤维棉品种,这种内源性 GA 含量的差异与 GA20 氧化酶的调控密切相关^[60]。 *GhGA20ox1* 编码的

GA20 氧化酶是 GA 生物合成中的关键酶, 其过表达可使棉花中 GA3 与 GA4 含量显著增加, 进而使纤维长度与产量显著增加^[60]。在探讨 GA 如何促进纤维伸长的研究中, 转基因材料纤维内的蔗糖合酶基因 *GhSUSAI* 被证实表达量远超野生型; 同时, 外源 GA 处理也能在纤维和下胚轴中诱导 *GhSUSAI* 的转录^[61]。同时, Jiang 等人研究表明, 过表达 *GhSUSAI* 可增加次生壁的厚度, 提高棉纤维产量和品质^[62]。这些发现共同证实: GA 通过增加 *GhSUSAI* 的表达来促进棉纤维细胞中次生细胞壁 (secondary cell wall, SCW) 的形成, 进而影响纤维伸长^[61,62]。近几年的研究进一步揭示了 GA 促进棉纤维伸长的分子路径。在 GA 匮乏的条件下, 抑制因子 *GhSLR1* 会与转录调节因子 *GhHOX3* 结合, 使其无法激活下游靶基因。反之, 当 GA 水平升高, *GhHOX3* 则转而与 *GhHDI* 相互作用, 这一复合物能够正向调控两个细胞壁松动基因的表达。此外, GhHOX3 还能反馈作用增强 GA 信号通路, 进而增强自身对下游基因的作用, 最终促进纤维伸长^[63]。

茉莉酸 (JA) 信号通路参与纤维起始和伸长^[64]。体外胚珠培养实验证实了 JA 对纤维起始的影响存在剂量依赖性, 即低浓度 (0.001 μM) JA 促进纤维起始, 而较高浓度 (2.5 μM) 则会抑制纤维起始^[65]。这表明, 维持 JA 的最佳浓度对有效诱导纤维起始至关重要。进一步研究发现, 过表达 *GhJAZ2* 会通过干扰 JA 信号转导, 对纤维的起始和伸长产生显著的负效应, 表明 JA 信号通路在纤维起始和伸长中均起关键作用^[66]。此外, 在棉花 YZ-1 中过表达 *GhJAZ20* 会抑制纤维萌生导致纤维变短, 这种抑制是通过 *GhJAZ2* 与 *GhMYB25* 的相互作用和抑制 *GhMYB25* 活性来实现的^[67]。另一方面, JA 信号通路中另一个关键调控因子 *GhBLH7-D06* 受 JA 诱导表达, 沉默 *GhBLH7-D06* 可以显著增加 JA 生物合成和信号转导相关基因 (如 *GhLOX1-A08*、*GhLOX2-A05* 和 *GhLOX3-A09*) 的表达, 进而可能通过影响 JA 含量调控纤维发育^[68]。同时, 对拟南芥的研究发现, 在辅助因子的作用下, 侧器官边界蛋白 BOP1 可通过促进 JA 生物合成基因的表达, 激活 *ATH1*, 调控植物中 JA 的含量, 这为理解棉花中 JA 合成的调控机制提供了参考^[69-71]。

生长素 (IAA) 广泛参与植物的生长发育与应激反应调控网络, 其功能涉及胚胎发生、维管组织分化、根系构建、顶端优势的维持以及对外源和内源信号的响应^[72]。IAA 作为核心调节因子, 参与调控棉花纤维发育的各个阶段。已有研究表明, 纤维细胞内存在 IAA 的特异积累。通过基因工程手段过表达生长素合成基因 *iaaM*, 可以诱导更多纤维细胞起始, 最终表现为皮棉产量的提升与纤维品质的优化^[73,74]。IAA 主要通过激活下游信号通路实现其调控功能, 其中生长素响应因子 (ARF) 是该信号转导网络中的关键组分。ARF 通过识别并结合生长素响应元件 (AuxRE), 从而调控下游响应基因的转录^[75]。研究显示, *GhARF2* 和 *GhARF18* 等因子在纤维起始期表达量较高^[76]。在纤维形成期, IAA 诱导蛋白质 GhIAA16 抑制棉纤维的形成, 对徐 142 无毛 (*fl*) 突变体研究发现, *GhIAA16* 转录水平显著高于野生型^[77]。除了转录因子的调控, IAA 还可通过调控 *Rac* 基因的表达, 实现对细胞骨架的动态调控, 进而调控纤维伸长^[78]。*GhRac1* 的表达模式表