

棉花季节桃纤维发育相关酶活性变化与纤维比强度形成的关系

张文静^{1,2}, 周治国^{2*}, 胡宏标², 王友华²

(1. 安徽农业大学农学院, 合肥 230036; 2. 南京农业大学/农业部作物生长调控重点开放实验室, 南京 210095)

摘要:选择纤维比强度差异明显的3类基因型4个棉花品种,研究季节桃纤维发育相关酶活性的动态变化及其与纤维比强度形成的关系。结果表明,棉花伏前桃、伏桃、早秋桃和晚秋桃纤维POD、IAAO活性的动态变化依次下降,蔗糖合成酶、 β -1,3-葡聚糖酶活性与之相反。对于伏前桃和伏桃,纤维发育相关酶活性高,有利于纤维素累积特性的优化和高强纤维的形成;早秋桃纤维发育关键酶活性高于伏前桃,且纤维素累积特征较优,最终纤维强度较伏前桃高;随着日均温降到20℃以下,棉株的衰老,晚秋桃纤维发育相关酶活性峰值后移,纤维比强度增长幅度大幅降低。棉花季节桃纤维发育过程中相关酶活性动态变化的差异是导致纤维素的累积特性及纤维比强度差异形成的重要生理原因之一。

关键词:棉花季节桃;纤维发育;相关酶;纤维比强度

中图分类号:S562 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2008)05-0342-06

Relationship between Fiber Strength and Activity of Fiber Development Related Enzyme in Cotton Seasonal Boll

ZHANG Wen-jing^{1,2}, ZHOU Zhi-guo^{2*}, HU Hong-biao², WANG You-hua²

(1. College of Agronomy, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China; 2. Nanjing Agricultural University / Key Laboratory of Crop Growth Regulation, Ministry of Agriculture, Nanjing 210095, China)

Abstract: By choosing four cultivars with significant difference in fiber strength as materials, we studied the relationship between fiber strength and activity of enzymes associated with cotton fiber development in cotton seasonal boll (pre-summer boll, summer boll, early autumn boll and later autumn boll). The results showed that the activities of POD and IAA oxidase promoted with anthesis date postponing, while the activities of sucrose synthetase and β -1,3-glucanase declined. In PSB (pre-summer boll) and SB (summer boll) fiber, the higher activities of related enzyme they had, the better characteristic cellulose deposition and the higher strength fiber they got. The EAB (early autumn boll) had higher activities of key enzymes and better cellulose deposition characteristic than PSB, and EAB had higher fiber strength than PSB in the end. In LAB (later autumn boll) fiber, the activity peaks of related enzymes delayed with the temperature got lower than 20 °C and cotton plant was senescing, and these resulted in lower strength fiber formation. Cotton seasonal bolls had differences in enzyme activities and cellulose deposition. And these physiological differences might be one important reason for different fiber strength formation in cotton seasonal bolls.

Key words: cotton seasonal boll; fiber development; related enzyme; fiber strength

收稿日期:2007-06-11 作者简介:张文静(1979-),女,博士;*通讯作者, giscott@njau.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金(30600378),高等学校博士点基金(20050307028)和安徽省教育厅自然科学基金(KJ2008B057)

我国棉花种植区域跨度大,气候类型多样。因受棉花生长季节热量资源的限制和棉花无限开花结铃习性的影响,棉花晚发晚熟劣质尤其纤维比强度大幅降低。

纤维比强度是原棉的重要品质指标之一,取决于棉纤维细胞次生壁的建成和质量^[1]。棉纤维次生壁的加厚是一个复杂的生理生化过程,受多种酶的调控^[2]。目前普遍认为蔗糖合成酶(Su-Sy)和 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-Glucanase)是调控纤维素生物合成的关键酶^[3-4]。蔗糖合成酶催化UDP和蔗糖生成纤维素合成的直接底物—尿苷二磷酸葡萄糖(UDPG)^[5],因此其活性的变化直接影响纤维素的合成速度和沉积质量^[6]。棉纤维进入次生壁加厚期,细胞壁的内侧还合成大量的非纤维素物质— β -1,3-葡聚糖(胼胝质)^[7], β -1,3-葡聚糖对于纤维细胞的伸长和纤维素的结晶都有一定的调控作用^[5]。IAA氧化酶(IAAO)和过氧化物酶(POD)与棉纤维的伸长发育关系密切^[8-9],调控纤维素合成、纤维伸长与次生壁加厚发育等生理过程^[3,10-12]。

棉花属于喜温型作物,具有无限开花结铃习性。温度是影响棉铃发育的首要生态因子^[13],低温首先通过影响纤维素发育相关酶的活性,进而导致纤维素累积特性及最终纤维比强度的改变^[14-15];棉株生理年龄也是通过对纤维加厚发育相关酶活性的作用影响纤维素的累积量和累积速率,且随开花期的推迟其作用增强^[16];在相同气候条件和棉株生理年龄条件下,不同纤维强度基因型品种棉纤维发育过程中纤维发育相关酶活性存在较大差异^[17]。

本研究以纤维比强度差异较大的3类基因型棉花季节桃为对象,研究其纤维发育相关酶活性的动态变化特征及其与纤维比强度形成的关系,为探索改善棉纤维比强度的调控途径提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验设计

试验于2004—2005年在江苏南京江苏省农科院试验站(长江流域下游棉区)进行。供试土壤为黄棕壤土,0~20 cm土壤pH为7.5,有机质2.5%,全氮12.0 g·kg⁻¹,速效氮85.1 mg·kg⁻¹,有效磷13.0 mg·kg⁻¹,有效钾91.6 mg·kg⁻¹。

根据束红梅等研究结果^[18],选择棉纤维比强度高(科棉1号,纤维比强度较美棉33B高20%

~25%,用KC-1表示)、中等(美棉33B,纤维比强度22~25 cN·tex⁻¹,用AC-33B表示)、低(德夏棉1号,纤维比强度较美棉33B低15%~20%,用DSC-1表示;苏棉15,纤维比强度比美棉33B低20%~25%,用SC-15表示)3类基因型棉花品种作为试验材料。2004年选用KC-1、AC-33B和DSC-1;2005年选用KC-1、DSC-1和SC-15。2年均于4月15日育苗,5月10日移栽。田间小区面积15 m×4 m。随机区组排列,重复4次。田间管理按高产栽培要求进行。

根据长江流域下游棉区棉花季节桃的划分标准,2004年于7月15日、7月25日和8月25日挂牌标记当日内所开白花,分别代表伏前桃(果枝部位:3~6)、伏桃(果枝部位:4~9)和早秋桃(果枝部位:12~16);2005年于7月15日、7月25日和9月10日挂牌标记当日内所开白花,分别代表伏前桃(果枝部位:4~7)、伏桃(果枝部位:5~9)和晚秋桃(17果枝以上)(德夏棉1号生育期仅108 d左右,无晚秋桃)。对挂牌标记铃,从铃龄10 d开始每7 d取生长发育一致的棉铃8~10个,将纤维与棉子分开。纤维样品混匀分成两份,一份液氮速冻后-30℃保存供酶活测定用,另一份50℃下烘干后供测定纤维比强度和纤维素含量。待挂牌标记的棉铃吐絮时,按开花期收取大小一致的棉铃10~20个,统一风干后轧花,供测纤维比强度用。

试验所用气象资料由南京气象局提供,两年棉花季节桃铃龄10~50 d的日均温见表1。

表1 棉花季节桃铃龄10~50 d日均温(2004-2005年)
Table 1 Mean daily temperature during the cotton seasonal boll stage between 10 to 50 days (2004-2005 year)

年份	取样铃	开花期/月-日	日均温/℃
2004	伏前桃	07-15	28.5
	伏桃	07-25	26.7
	早秋桃	08-25	21.4
2005	伏前桃	07-15	27.3
	伏桃	07-25	26.0
	晚秋桃	09-10	19.3

1.2 测定内容与方法

纤维素含量用瑞典产1020型半自动纤维分析仪测定。

POD活性用愈创木酚法测定^[19],IAAO活性的测定参考刘康等的方法^[20]。蔗糖合成酶活性用果糖和UDPG比色法测定^[21], β -1,3-葡聚糖酶活性用昆布多糖比色法测定^[21], β -1,3-葡聚糖酶

一个酶活力单位(U)定义为每秒从还原昆布多糖中释放 1 nmol 葡萄糖所需的酶量。

纤维比强度的测定是混匀纤维样品后用棉花纤维引伸器制成棉条,用国产 Y162A 型束纤维强力机,测定 3.2 mm 隔距比强度。测 6 次重复平均值作为试样代表值,并用中国纤维检验局的标准棉样修正。

2 结果与分析

2.1 棉纤维素含量的变化特征

用 Logistic 模型对不同基因型棉花季节桃纤维素含量的变化进行模拟,拟合方程均达到极显著水平(表 2)。棉花季节桃纤维素累积特性的差

异主要表现在纤维素快速累积期长短、最大累积速率及纤维素快速累积期开始的时间上。2004 年试验中,伏桃和早秋桃纤维素快速累积持续期长于伏前桃,但快速累积期内纤维素合成最大速率前两者明显小于后者。伏前桃、伏桃和早秋桃纤维素快速累积期开始的时间差距不大。2005 年试验中,伏前桃和伏桃在纤维素快速累积持续期上相差不大,但后者纤维素累积最大速率低于前者。晚秋桃进入纤维素快速累积期的时间较晚,其持续期较长、最大累积速率低,但纤维素理论值明显低于伏前桃和伏桃(不足 80%)。其原因可能是晚秋桃纤维发育阶段外界温度较低,植株整体趋于衰老,影响了纤维素的生物合成。

表 2 棉花季节桃纤维素累积特征(2004-2005 年)

Table 2 Cellulose accumulation in cotton seasonal boll fiber(2004-2005 year)

年份	品种	取样铃	模型	R ²	n	T/d	t ₁ /d	t ₂ /d	V _{max} /(%·d ⁻¹)
2004	KC-1	伏前桃	$Y=86.5320/(1+30.1780e^{-0.1816t})$	0.9767**	5	15	12	26	3.9277
		伏桃	$Y=92.8667/(1+29.2934e^{-0.1834t})$	0.9936**	6	20	15	35	3.0971
		早秋桃	$Y=91.4345/(1+22.7210e^{-0.1116t})$	0.9741**	7	24	16	40	2.5499
	AC-33B	伏前桃	$Y=83.5300/(1+55.0743e^{-0.2026t})$	0.9784**	5	13	13	26	4.2308
		伏桃	$Y=87.8370/(1+34.7542e^{-0.1651t})$	0.9800**	6	16	14	29	3.6255
		早秋桃	$Y=86.1010/(1+41.0106e^{-0.1673t})$	0.9933**	6	16	14	30	3.6014
	DSC-1	伏前桃	$Y=74.8019/(1+29.3773e^{-0.2287t})$	0.9908**	5	12	9	21	4.2768
		伏桃	$Y=80.0277/(1+26.5573e^{-0.2089t})$	0.9953**	5	13	9	22	4.1797
		早秋桃	$Y=76.3221/(1+19.7008e^{-0.1847t})$	0.9677**	6	14	9	23	3.5236
KC-1	伏前桃	$Y=84.7447/(1+23.9846e^{-0.1686t})$	0.9829**	5	16	11	27	3.5718	
	伏桃	$Y=86.7100/(1+30.1133e^{-0.1619t})$	0.9833**	7	16	13	29	3.5096	
	晚秋桃	$Y=78.1927/(1+50.6445e^{-0.1503t})$	0.9898**	6	18	17	35	2.9377	
2005	SC-15	伏前桃	$Y=77.1415/(1+34.4487e^{-0.2056t})$	0.9876**	6	13	11	24	4.0669
		伏桃	$Y=79.8763/(1+48.6173e^{-0.1861t})$	0.9765**	7	14	14	28	3.6230
		晚秋桃	$Y=68.1255/(1+48.6173e^{-0.1861t})$	0.9685**	6	14	17	31	3.1476
	DSC-1	伏前桃	$Y=79.9969/(1+29.5121e^{-0.2059t})$	0.9953**	6	13	10	23	4.1174
		伏桃	$Y=80.6008/(1+27.5818e^{-0.1842t})$	0.9962**	7	14	11	25	3.7113

注:(1) Y: 纤维素含量, t: 铃龄; (2) n=5, P_{0.05}=0.7710, P_{0.01}=0.9191; n=6, P_{0.05}=0.6584, P_{0.01}=0.8413; n=7, P_{0.05}=0.5693, P_{0.01}=0.7653; (3) * *: 决定系数在 0.01 水平上显著; (4) T: 纤维素快速累积期历时; t₁, t₂: 纤维素快速累积期起、止时间; V_{max}: 纤维素最大累积速率。

2.2 棉纤维发育相关酶的动态变化

2.2.1 POD 活性。由图 1 可以看出,棉花季节桃纤维 POD 活性动态变化呈单峰曲线,季节桃间的差异主要在于酶活性的高低和峰值出现的时间上。在 2004 年试验中,科棉 1 号和美棉 33B 伏前桃纤维 POD 活性在峰值前高于伏桃,峰值后低于伏桃。早秋桃纤维 POD 活性在整个铃期均低于伏前桃和伏桃;德夏棉 1 号以伏桃棉纤维中 POD 活性最高,早秋桃最低。在 2005 年试验中,伏桃纤维 POD 活性在活性峰值前较低,峰值后活性高

于伏前桃和晚秋桃。晚秋桃 POD 活性峰值较伏前桃和伏桃推迟,可能是晚秋桃纤维发育过程中温度较低(铃龄 10~50 d 日均温 20℃ 以下),导致其棉铃发育进程延迟。

2.2.2 IAAO 活性。从图 2 可知,棉花季节桃纤维 IAAO 活性随棉纤维细胞发育的变化趋势及季节桃间的差异均与 POD 相似。在 2004 年试验中,除早熟品种德夏棉 1 号纤维 IAAO 活性峰值较其他品种提前一周左右,其他基因型品种伏前桃、伏桃和早秋桃纤维 IAAO 活性在铃龄 10~17

d时较低,约在铃龄 24 d 达到峰值,与 POD 活性变化相同。伏前桃、伏桃和早秋桃间比较发现,随开花期的推迟,棉纤维 IAAO 活性呈下降趋势,即在整个铃期纤维表现为:伏前桃>伏桃>早秋桃。在 2005 年试验中,晚秋桃 IAAO 活性峰值出现的时间较伏前桃和伏桃推迟 1 周左右,不同基因型品种棉花伏前桃和伏桃纤维 IAAO 活性在整个铃期差异较小。

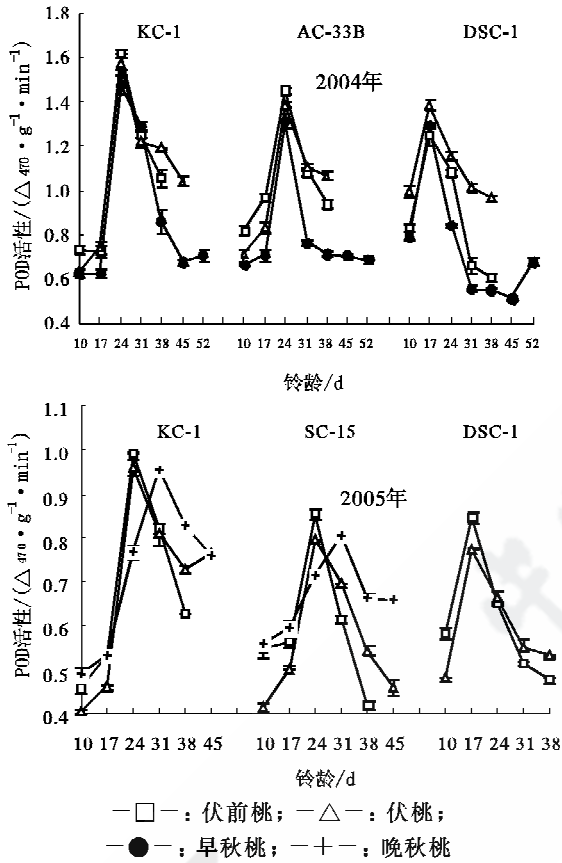


图 1 棉花季节桃纤维 POD 活性的动态变化 (2004-2005 年)

Fig. 1 Dynamic changes of POD activity in cotton seasonal boll fiber (2004-2005 year)

2.2.3 蔗糖合成酶活性。由图 3 知,棉花季节桃纤维蔗糖合成酶活性在纤维发育过程中均呈单峰曲线,两年结果一致。季节桃间的差异主要在蔗糖合成酶活性的高低及峰值出现的时间。在 2004 年试验中,早秋桃纤维蔗糖合成酶活性最高,伏桃次之,伏前桃最低。在 2005 年试验中,伏桃纤维蔗糖合成酶活性略高于伏前桃,晚秋桃在纤维发育初期蔗糖合成酶活性较高,之后活性上升较缓且峰值出现晚(铃龄 38 d)。由此可见,随温度的降低和棉株生理年龄的增大,棉纤维蔗糖合成酶的活性有上升趋势,当日均温降到 20℃ 以下且棉株衰老(17 果枝以上)时,酶活性峰值明显推迟。

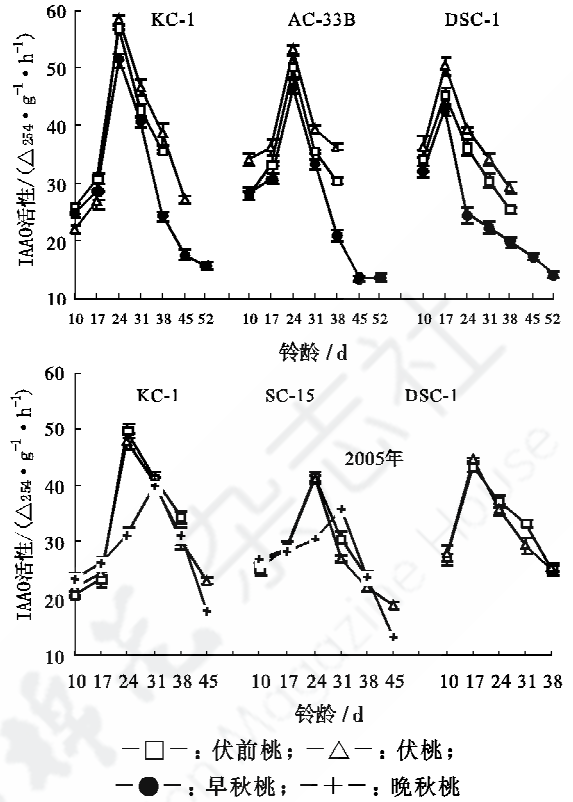


图 2 棉花季节桃纤维 IAAO 活性的动态变化 (2004-2005 年)

Fig. 2 Dynamic changes of IAAO activity in cotton seasonal boll fiber (2004-2005 year)

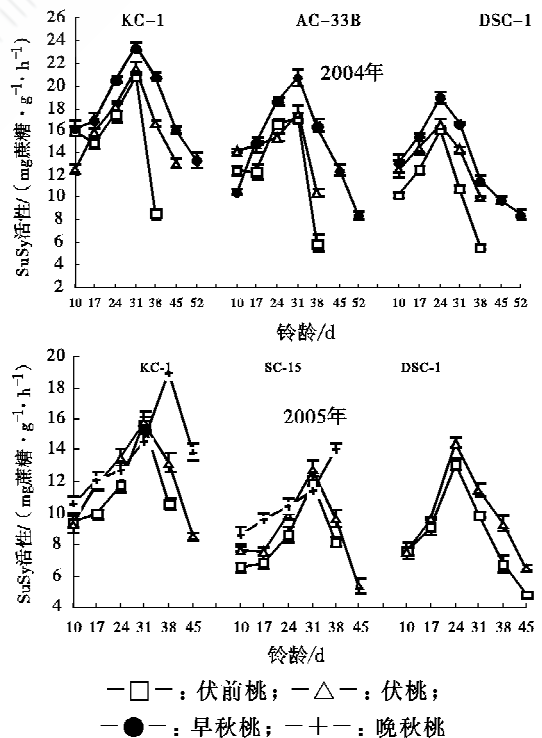


图 3 棉花季节桃棉纤维中蔗糖合成酶活性的动态变化 (2004-2005 年)

Fig. 3 Dynamic changes of sucrose synthetase activity in cotton seasonal boll fiber (2004-2005 year)

2.2.4 β -1,3-葡聚糖酶活性。由4图可以看出,棉花季节桃纤维 β -1,3-葡聚糖酶活性在整个铃期呈持续下降趋势,季节桃间的差异主要在于酶活性的高低。在2004年试验中,早秋桃纤维 β -1,3-葡聚糖酶活性均高于相同铃龄下的伏前桃和伏桃,伏前桃的酶活性最低。在2005年试验中,纤维 β -1,3-葡聚糖酶活性以晚秋桃最高,伏桃次之,伏前桃最低。以上结果说明,随开花结铃日期的推迟,棉花季节桃纤维 β -1,3-葡聚糖酶活性变化呈依次上升的趋势,与蔗糖合成酶活性变化趋势相似。

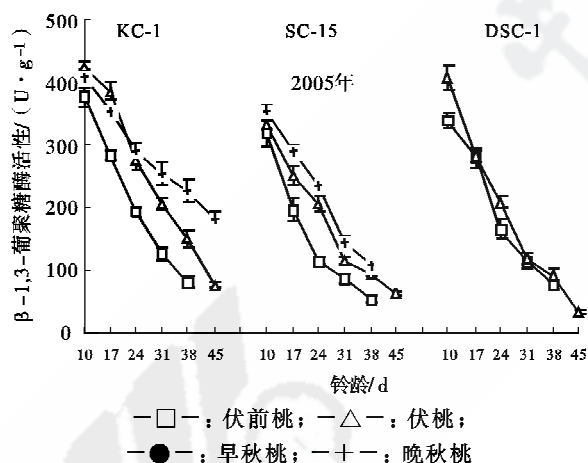
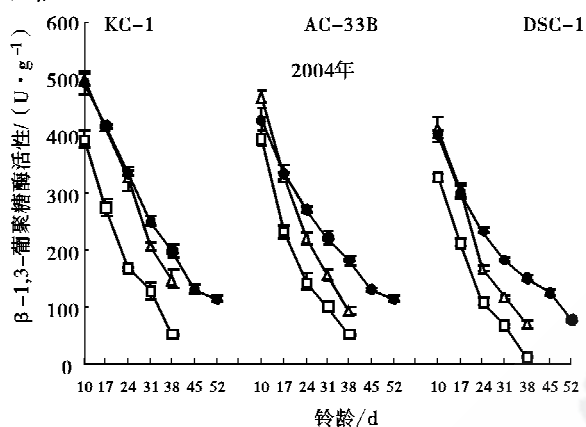


图4 棉花季节桃棉纤维中 β -1,3-葡聚糖酶活性的动态变化(2004-2005年)

Fig. 4 Dynamic changes of β -1,3-glucanase activities in cotton seasonal boll fiber (2004-2005 year)

2.3 棉纤维比强度形成的动态变化

由图5可以看出,纤维比强度从铃龄24 d开始迅速增长,但季节桃在增长的幅度上存在差异。在2004年试验中,伏桃和早秋桃增长幅度要大于伏前桃,伏桃增长的幅度最大。在2005年试验中,伏桃纤维比强度增长幅度略高于伏前桃而明显高于晚秋桃,最终收获时以伏桃的纤维比强度最高,伏前桃次之,晚秋桃最低。

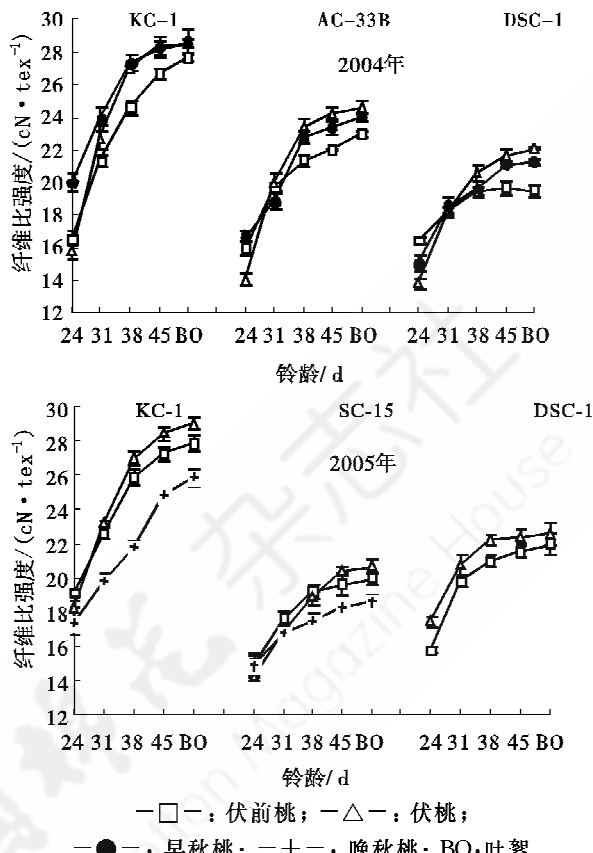


图5 棉花季节桃棉纤维比强度的形成动态(2004-2005年)

Fig. 5 Dynamic changes of fiber strength in cotton seasonal boll (2004-2005 year)

3 讨论与结论

棉纤维的发育过程受到多种酶的调控^[22]。本研究通过对不同纤维强度基因型棉花季节桃纤维发育相关酶活性动态变化差异的分析发现,相关酶活性动态变化的差异是导致棉花季节桃纤维素累积特性及纤维比强度差异形成的重要生理原因之一,且该差异在不同纤维强度基因型品种内表现一致。

纤维素累积方式是影响纤维比强度的最直接原因^[18]。本试验中对于伏前桃和伏桃,其纤维素快速累积期历时长、累积速率平缓,其纤维比强度增长幅度大,最终比强度较高,与前人研究结果一致^[18];但对于早秋桃和晚秋桃,尤其是晚秋桃,虽然纤维素快速累积期持续时间长于伏桃和伏前桃,纤维素累积速率较低,但纤维比强度增长的幅度较小,最终比强度低。以上结果说明,纤维素快速累积期持续时间和累积速率与纤维比强度的关系必须在一定条件下才成立。在本试验中,早秋桃发育时,外界温度降低(日均温降到21.4℃左右),棉株衰老开始(约12~16果枝),虽然纤维素

快速累积期长于伏桃,累积速率也较之平缓,但纤维比强度增长幅度较小,导致最终纤维比强度低于伏桃;晚秋桃纤维发育日均温低于 20℃,植株进一步衰老,纤维素累积速度大幅下降,机体内部生理进程缓慢,导致纤维比强度增长缓慢且最终比强度大幅降低。

纤维细胞 POD 和 IAAO 活性高有利于高强纤维的形成^[22]。蔗糖合成酶在棉纤维发育过程中为纤维素合成提供直接底物^[3-4]。在正常生长的棉纤维细胞中, β -1,3-葡聚糖酶可以促进纤维微原纤的合成和结晶^[2]。在本试验条件下,随开花期的推迟,季节桃桃纤维 POD 和 IAAO 活性呈依次下降趋势,蔗糖合成酶和 β -1,3-葡聚糖酶活性与之相反。综合棉花季节桃纤维素累积特性及纤维发育时期日均温分析,当纤维发育过程处于较为适宜的温度范围(日均温 26~29℃)且棉株自身处在“青壮年”时期时(约 3~9 果枝),棉纤维发育相关酶活性高有利于高强纤维的形成。当棉纤维发育期日均温低于 20℃时(如晚秋桃),棉株进一步衰老时(17 果枝以上),酶活性峰值后移,纤维素进入快速累积期的时间推迟,累积速率缓慢,导致纤维比强度增幅小,尽管此时部分相关酶活性有所提高,也于高强纤维的形成无益。

参考文献:

- [1] BAUAR P J, James R F, Bradow J M, et al. Canopy photosynthesis and fiber properties of normal-and late-planted cotton [J]. *Agronomy Journal*, 2000, 92 (3): 518-523.
- [2] SAXENA I M, Brown R M. Cellulose synthetases and related enzyme [J]. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000, 3(6): 523-531.
- [3] BROWN R M Jr, Saxena I M, Kudlicka K. Cellulose biosynthesis in higher plants [J]. *Trends in Plant Science*, 1996, 5(1): 149-155.
- [4] RUAN Y L, Chourey P S, Delmer D P, et al. The differential expression of sucrose synthetase in relation to diverse patterns of carbon partitioning in developing cotton seed [J]. *Plant Physiology*, 1997, 115 (2): 375-385.
- [5] SALNIKOV V V, Grimson M J, Seagull R W, et al. Localization of sucrose synthetase and callose in freeze-substituted secondary secondary-wall-stage cotton fibers [J]. *Protoplasma*, 2003, 221(3/4): 175-184.
- [6] DEBORAH P D, Candace H H. The regulation of metabolic flux to cellulose, a major sink for carbon in plants [J]. *Metabolic Engineering*, 2002, 4(1): 22-28.
- [7] MEIER H, Buchs L, Buchala A J, et al. (1 \rightarrow 3)-D-Glucan(callose) is a probable intermediate in biosynthesis of cellulose of cotton fibres [J]. *Nature*, 1981, 289(5800): 821-822.
- [8] 单世华,王明林,汪建民,等.不同开花期 IAA、GA3 和 POD 对棉纤维伸长发育的影响[J]. *棉花学报*, 2001, 13(2): 100-104.
- [9] ARPAT A B, Waugh M, Sullivan J P, et al. Functional genomics of cell elongation in developing cotton fibers [J]. *Plant Molecular Biology*, 2004, 54(6): 911-929.
- [10] MAUREEN M, Delemer D P. Change in biochemical composition of the cell wall of the cotton fiber during development [J]. *Plant Physiology*, 1977, 59 (6): 1088-1097.
- [11] JASDANWALA R T, Singe Y D, Chinoy J J. Auxin metabolism in developing cotton hairs [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1977, 28(6): 1111-1116.
- [12] YANG You-ming, Xu Chu-nian, Wang Bao-min, et al. Effects of plant growth regulators on secondary wall thickening of cotton fibres [J]. *Plant Growth Regulation*, 2001, 35(3): 233-237.
- [13] 黄骏麒. 中国棉作学[M]. 北京:中国农业科技出版社, 1998.
- [14] 蒋光华,孟亚利,陈兵林,等.低温对棉纤维比强度形成的生理机制影响[J]. *植物生态学报*, 2006, 30 (2): 335-343.
- [15] 卞海云,张文静,陈兵林,等.低温条件下外源物质对棉纤维比强度的影响[J]. *棉花学报*, 2006, 18(3): 145-149.
- [16] 蒋光华,周治国,陈兵林,等.棉株生理年龄对纤维加厚发育及纤维比强度形成的影响[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(2): 265-273.
- [17] 张文静,胡宏标,陈兵林,等.棉纤维加厚发育生理特性的基因型差异及对纤维比强度的影响[J]. *作物学报*, 2007, 33(4): 531-538.
- [18] 束红梅,陈兵林,王友华,等.棉花纤维素累积特性的基因型差异及与纤维比强度形成的关系[J]. *作物学报*, 2007, 33(6): 921-926.
- [19] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京:高等教育出版社, 2000: 165-167.
- [20] 刘康,张天真,潘家驹.棉纤维初始发育过程中过氧化物酶和吡啶乙酸氧化酶的活性 [J]. *植物生理学通讯*, 1998, 34(3): 175-177.
- [21] 汤章城. 现代植物生理学实验指南[M]. 上海:科学出版社, 1999: 126, 128.
- [22] DELANNOY E, Marme Y P, Jalloul A, et al. Molecular biology and physiology molecular analysis of class III peroxidases from cotton [J]. *Journal of Cotton Science*, 2006, 10(1): 53-60. ●