

天然棕色棉色素分布规律及色素合成与纤维发育的关系

詹少华^{1,2}, 林毅^{1*}, 蔡永萍¹, 文汉¹

(1. 安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036; 2. 皖西学院化学与生命科学系, 六安 237012)

摘要:通过对三个颜色深浅不同的棕色棉品系纤维的观察,发现中棕色棉色素分布较为典型,按照颜色的深浅不同,可以分为4条带纹;在此基础上,对各发育时期棉铃中纤维颜色的观察、蒸馏水洗脱棉纤维试验、棉子壳和棉纤维中棕色素含量的测定,分析色素在纤维上的分布规律与色素合成、纤维发育的关系,由此推断种皮合成无色的色素前体运输到纤维中,无色的前体在纤维中生成棕色素,按照色素与纤维结合的牢固性,色素与纤维素的结合方式可以分为两种,本试验结果支持纤维扩散生长理论,同时推断纤维的扩散生长不是均匀的;最后通过相关性分析,纤维中的色素含量与单铃重和纤维长度负相关性达到显著水平。

关键词:天然棕色棉;色素;棉纤维;分布规律;相关分析

中图分类号:S562.035.4 **文献标识码:**A

文章编号:1002-7807(2006)03-0170-05

The Pigment Distribution Regulation of the Natural Brown Cotton and Relations between Pigment Synthesis and Cotton Fiber Development

ZHAN Shao-hua^{1,2}, LIN Yi^{1*}, CAI Yong-ping¹, WEN Han¹

(1. Life Science School, Anhui Agriculture University, Hefei 230036, China; 2. Chemistry and Biology Department, Wanxi University, Liuan 237012, China)

Abstract: The pigment distribution regulation of the natural brown cotton was analyzed by observing the fiber of three cultivars, whose color had a different hue and saturation. It was found that the pigment distribution of middle-brown cotton was a basic type, which has four bands of color. The relationship of pigment distribution to pigment synthesis or cotton fiber development were studied by observing the fiber color dynamic development, the test of washing fiber by distilled water, determining of pigment content in the fiber and seeds coat. It is concluded colorless precursor of the pigment was synthesized in the seeds coat, and then the precursor was conveyed into fiber cell, where the precursor would be turned into brown pigment. And the link mode of the pigment to the fiber could be divided into two types according to the color fastness. The results supported the diffuse growth theory of cotton fiber elongation, and that diffuse growth was not a uniform continuance. The results also showed that the pigment content in fiber had obvious negative correlations to boll weight and fiber length.

Key words: naturally brown cotton; pigment; cotton fiber; distribution regulation; correlation analysis

研究天然产物代谢途径最有效的常用方法是同位素示踪,但此试验条件普通实验室很难满足,而彩色棉中的棕色素是一个天然的标记,棕色素

在棉纤维上的分布规律与色素的合成时间、地点、运输方式及棉纤维的生长方式有关,深入研究天然彩棉的色素在纤维上的分布规律,有可能为研

收稿日期:2005-09-19

作者简介:詹少华(1963-),男,副教授. Email: zhansh@wxc.edu.cn. * 通讯作者 linyiahau@126.com

基金项目:安徽省自然科学基金资助项目(050410106)

究上述问题开辟一条新的途径。当纤维细胞次生壁加厚开始后,逐渐出现很淡的颜色,推测色素类物质的形成基本是与次生壁加厚同时进行的^[1-3];也有分析结果表明,纤维色度与果枝数、铃重存在一定程度的负相关,与衣分、衣指、绒长存在极显著负相关^[4-7],棕色棉纤维中 HNO₃/乙醇提取液在 412 nm 下的吸收值与纤维素含量的相关系数为-0.95956,达极显著水平;关于棉纤维是尖端生长还是扩散生长,这两种观点长期争论不决^[8-14],尚没有权威结论;棕色棉色素提取液,在 pH 10.0 的 NH₃-NH₄Cl 缓冲溶液条件下,在 510 nm 吸光度与相对浓度表现线性关系,相关系数为 0.9898,同样方法测定白色棉,因为 510 nm 是可见光区的波长,白色棉纤维不含有色素,所以 510 nm 处吸光度为 0,采用此方法测定棕色素的含量,不需要白色棉作对照^[12];目前对棕色棉色素的合成地点,色素在纤维上的分布规律尚缺乏研究,本文利用三个颜色深浅不同的近等基因系棕色棉品种,探讨棕色素在棉纤维上的分布规律,进而研究色素合成地点、纤维素生长方式等有关问题,同时利用这三个特殊材料研究色素合成和纤维发育的关系。

1 材料和方法

1.1 试验材料

棕彩选 1 号(深棕),引自安徽省棉花所;ANL-1(中棕),ANL-2(淡棕),大田种植,常规管理;其中 ANL-1(中棕)和 ANL-2(淡棕)是本实验室从棕彩选 1 号自交选育出的近等基因系。

1.2 试验方法

1.2.1 棕色素在棉纤维上分布规律的观察。三棕色棉品种(品系)棉铃裂铃后,用半透明塑料袋扎住,不要扎得太紧,以能防雨为度,直至棉铃完全裂开后采摘,分离出发育正常的带纤维的棉子,并将棉子的尖端朝向自己,用手扯法将棉纤维向四周分散,类似方法将棉纤维分向两侧,再用洁净的排笔充分分散棉纤维,观察棕色素在纤维上分布规律,分别在自然光下和紫外光下数码拍照,并利用 Photoshop 6.0 分析色彩分布规律。

1.2.2 各发育时期棉铃中纤维颜色的观察。从 2002—2004 年,每年 7 月 20 日—8 月 30 日期间,选择发育正常,无病虫害的植株,连续对当日花进行挂牌,挂牌果枝选择植株中上部果枝,随后对花后(Days After Anthesis, DAA)的每一天的棉铃

样本取样不少于 10 个,解剖棉铃,立即观察种皮和纤维颜色。

1.2.3 蒸馏水洗脱棉纤维试验。分别取三材料 1.000 g,用橡皮筋轻轻扎住,以搅拌时不散开为度,放入 250 mL 双蒸水中,30℃ 磁力搅拌,调节转速使纤维在水中的转速为 120 r·min⁻¹,12 h 后 2000 r·min⁻¹将纤维离心甩干,连续 6 次,合并洗脱液和甩干液,合并液 60℃ 减压浓缩至 25 mL,取浓缩液 1.5 mL 加 1.5 mL pH10.0 的 NH₃-NH₄Cl 缓冲液,测定 510 nm 的吸光度^[12]。

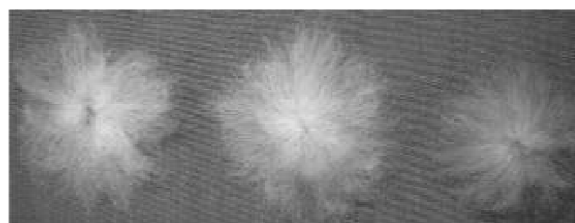
1.2.4 棉子壳和棉纤维中棕色素含量的测定。三个材料随机取 6 粒种子,手工分离出纤维和棉子壳,记录纤维和棉子壳的重量,分别用 30 mL 的 0.5% NaOH 在 60℃ 浸提,每次浸提时间 24 h,直至提取液为白色,合并提取液,定溶到 250 mL,充分混匀,取 2 mL 加 pH 10.0 的 1 mL NH₃-NH₄Cl 缓冲液,按照文献[12]的方法测定 510 nm 的吸光度,重复 3 次取平均值。

1.2.5 棉纤维色素含量与产量因素相关性分析。2002—2004 年,每年每品种选取 10 棵生长正常、无病虫害的植株,收获全部棉铃,统计铃重、单铃绒重、单铃子重、每囊粒数、衣分、纤维长度等指标,分别测定纤维中色素的含量,SPSS 11.5 for Windows 分析棉纤维中色素相对含量与上述农艺性状的相关系数,并对相关系数作显著性检验。

2 结果与分析

2.1 棕色素在棉纤维上分布规律

由图 1 可以看出,中棕色棉颜色分布具有较典型的规律,按照颜色的深浅可以分为 4 条带,如图 2 所示,带 1 为外端较浅色带,带 2 为外端较深色带,带 3 为内端较浅色带,带 4 为内端深色带,其中带 4 靠近种皮颜色最深,带 2 颜色深度次之,1 带与 3 带颜色相差不多;对于淡棕色棉来说,1



淡棕色棉 中棕色棉 深棕色棉

图 1 三种棕色棉色素环状分布

Fig. 1 Brown pigment orbicular distribution on the fiber of the three cotton lines

带和2带没有明显的界限,对于深棕色棉来说,带1和带4稍明显,带2和带3的界限一般难以分辨,只有少数可以观察到4条带(图3左起第3个)。

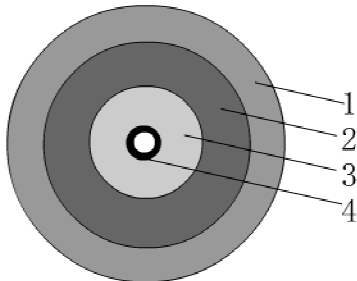


图2 中棕色棉色素分布示意图

Fig.2 Pigment distribution sketch of the middle-brown cotton



左1淡棕色棉,左2中棕色棉,左3、4深棕色棉

图3 三种棕色棉色素平行分布

Fig.3 Brown pigment parallel distribution on the fiber of the three cotton lines

随机选取3个中棕色棉的种子,手工将纤维分离成如图1的形状,每个种子间隔60度从6个不同方向测量各带的长度,再随机选取3个中棕色棉的种子,手工将纤维分离成如图3的形状后,利用Photoshop 6.0测量各带的彩色特征。

从表1可以定量地反映中棕色棉的色彩分布规律,在同一亮度下拍摄,所以4条带亮度B相接近,带4的色调H最小,饱和度S最大,表明带4颜色偏向深红棕色,这主要是因为带4中色素的含量最多的原故,依此类推可知中棕色棉色素的含量从大到小的顺序为:带4>带2>带1>带3,颜色由深红棕色向棕黄色转变的趋势;各带的长度从大到小的顺序为:带3>带1>带2>带4,紫外灯下拍摄图片,棕色纤维有绿色荧光,更容易观察色素分布规律。

表1 中棕色棉棕色素在棉纤维上分布特性

Table 1 The pigment distribution characteristics on the fiber of the middle-brown cotton lines

色彩指标	色彩特性	带纹长度/mm
带1 色调 H/度	38	
饱和度 S/%	4	6.7
亮度 B/%	79	
带2 色调 H/度	34	
饱和度 S/%	14	5.8
亮度 B/%	80	
带3 色调 H/度	45	
饱和度 S/%	8	13.2
亮度 B/%	80	
带4 色调 H/度	25	
饱和度 S/%	19	3.6
亮度 B/%	78	

2.2 棉铃各发育时期棉纤维和种皮颜色

20DAA以前,深棕色棉棉纤维的颜色为白色,种皮的颜色同白色棉;20DAA以后棉纤维的颜色逐渐加深;25DAA可见种皮颜色明显加深,棉纤维的颜色略有加深;30DAA棉纤维的颜色明显呈深棕色;35DAA纤维靠近种皮端的颜色明显加深。20DAA以前的棉纤维在空气中暴露一段时间,纤维也呈现棕黄色。同时观察了白色棉泗棉三号也有此现象,推断是棉纤维中的酚类物质氧化的结果;中棕色棉和淡棕色棉表现相似的规律,但30DAA颜色加深现象不太明显,这是由于棉纤维颜色较淡的缘故,25DAA种皮颜色加深现象却更加明显。

2.3 蒸馏水洗脱试验的结果

依据以前的报道^[15]可知,在pH 10.0的NH₃-NH₄Cl缓冲液中,510 nm的吸光度反映了洗脱液中的色素含量。从图4可以看出,深棕色棉用蒸馏水第一次洗脱,洗脱浓缩液510 nm吸光度较大,蒸馏水第二次洗脱,洗脱浓缩液510 nm吸光度大幅度减小,12 h的吸光度是24 h吸光度的6.19倍,在以后时间连续洗脱,吸光度缓慢下降,这说明深棕色棉用蒸馏水第一次洗脱色素被洗脱下来的量较多,在以后的洗脱中,色素被洗脱下来的量逐渐减小,中棕色棉和淡棕色棉被蒸馏水洗脱表现基本一致的规律,并且经过多次洗脱后,三种棕色棉洗脱液棕色素的含量逐渐

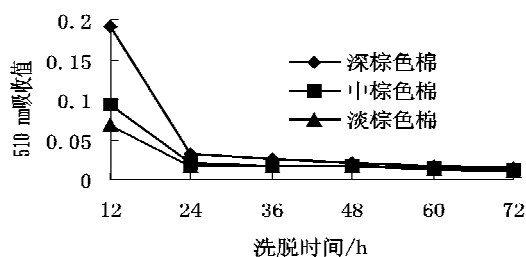


图 4 棕色棉纤维蒸馏水洗脱时间与洗脱浓缩液 510 nm 吸光度的关系

Fig. 4 The relationship between washing time of the brown cotton fiber by distilled water and the optical density of concentrated liquid at 510 nm

表 2 棉子壳和纤维中棕色素相对含量

Table 2 The relative content of the pigment in seed coat or fiber

	含色素的组织或细胞	吸收值	重量/g	单位重量色素相对含量
淡棕色棉	纤维	0.0280	0.4021	0.0704
	棉子壳	0.1630	0.2706	0.6024
	棉子壳/纤维	5.8214	0.6730	8.5795
中棕色棉	纤维	0.0300	0.3220	0.0932
	棉子壳	0.1520	0.2762	0.5504
	棉子壳/纤维	5.0667	0.8578	5.9060
深棕色棉	纤维	0.0520	0.2890	0.1800
	棉子壳	0.1160	0.2784	0.4166
	棉子壳/纤维	2.2308	0.9633	2.3140

2.5 棉纤维色素含量与产量因素相关性分析

经过 SPSS11.5 for Windows 分析,纤维中色素含量与单铃绒重、单铃子重、每囊粒数、衣分具

接近。

2.4 棉子壳和纤维中棕色素相对含量

表 2 中,试验三种材料,棉子壳中的色素含量都高于纤维中色素含量,说明棕色棉的色素主要分布在棉子壳中,颜色越浅,这种比例越大;颜色越深,纤维单位重量的色素含量越大,棉子壳单位重量的色素含量却越小,说明本试验三个近等基因系间决定纤维颜色深浅的主要原因不是植株合成色素能力的大小,而是色素在纤维和种皮之间的分配比例。

有一定的相关性,与铃重和纤维长度的负相关性达到显著水平(表 3)。

表 3 棉纤维色素含量与产量因素相关性分析

Table 3 The correlation of the pigment content to the yield factors

	白色棉	淡棕色棉	中棕色棉	深棕色棉	与纤维中色素含量相关系数
铃重/g	6.1749	5.7215	5.1519	4.6922	-0.9694*
单铃绒重/g	1.8457	1.7815	1.1613	0.7987	-0.9132
单铃子重/g	2.856	2.7008	2.6814	2.6699	-0.8463
每囊粒数/个	8.25	7.75	7.25	7.17	-0.9074
衣分/%	39.26	39.75	30.22	23.03	-0.8990
纤维长度/mm	31.2	29.5	28.3	27.1	-0.9768*
纤维中色素相对含量	0	0.0704	0.0932	0.1800	

* :相关性达到显著水平

3 结论与讨论

3.1 中棕色棉的色素在纤维上的分布特性反映了棕色棉色素在纤维上分布的基本规律,淡棕色棉和深棕色棉的色素分布都是中棕色棉的变异类型,淡棕色棉的色素合成量较小,导致淡棕色棉带 1 和带 2 没有明显的界限,深棕色棉的带 2 和带 3 不明显,是因为带 2 的延长造成的,少数深棕色棉

4 条带纹也较明显,也证明深棕色棉的色素分布是中棕色棉的变异类型。

3.2 棕色棉植株中只有种皮和纤维中含有棕色素,所以棕色素的合成地点最有可能是种皮细胞或纤维细胞中,本研究认为色素的合成地点在种皮细胞中,主要理由如下:(1)种皮中的色素含量高于纤维中的色素含量;(2)棕色棉种皮细胞色素加深期早于纤维,这种现象在绿色棉中更为明

显,绿色棉 25DAA 种皮的颜色为鲜绿色,而纤维为白色;(3)棕色棉没有发育成纤维的种皮细胞的颜色也是深棕色的,这种现象说明种皮细胞没有纤维细胞的直接参与也有合成棕色素的能力;(4)本试验的三个近等基因系材料,决定纤维颜色深浅的主要原因是色素在纤维和种皮之间的分配比例,这种分配比例,实质上就是色素由种皮细胞运输到纤维细胞能力的大小;(5)本试验三个材料,棕色棉纤维靠近种皮一端的颜色最深,这种现象在观察的其它的棕色棉品种中无一例外。

如果种皮合成色素并运输到纤维细胞中发生在 25DAA 以后,就很难解释带纹现象。推测,种皮合成色素并运输到纤维细胞中发生在纤维细胞伸长阶段,种皮合成的是无色的色素前体运输到纤维中,以后在纤维中进一步生成棕色素,带纹颜色较深的地方是色素合成较旺盛、同时纤维伸长相对较慢的时期。我们将提取的棕色素水溶液加热到水分蒸干以后继续加热,色素分解为白色的结晶状物质,推断该白色结晶可能是色素合成的前体,有待于进一步验证。

3.3 水洗脱实验表明,色素与纤维素的结合方式可以分为两种,一种只是简单附着在纤维素的表面,可以被蒸馏水洗脱掉,这类色素占少数部分,另一种与纤维素存在分子间的作用力与纤维素发生相对紧密的结合,不能被蒸馏水洗脱,纤维素中存在大量的羟基,以前的实验^[16]证明色素分子结构中存在酚羟基,所以这种分子间的作用力很可能是氢键。

3.4 从纤维的色素带纹现象的存在,可知色素在纤维上的分布不是均匀的却是有规律的,色素在种皮中合成后,随着棉纤维的伸长,运输到棉纤维中,带 2 的颜色较深,说明该时期色素合成较旺盛,带 1 和带 3 颜色较浅,说明该时期色素的合成较少,由于带 2 色素浓度较大,带 2 部分色素可以向带 1 和带 3 扩散,没有发育成纤维的种皮也具有合成色素的能力,这些色素也可能通过种皮细胞间的胞间连丝^[17]运输到纤维中,这一点有待于进一步证明;带 4 出现在 35DAA 之后,这时种皮也具有较深的颜色,是种皮直接将色素运输到带 4 中。

3.5 本试验观察结果,棕色棉纤维带纹现象的存在,不支持纤维顶端生长理论,如果纤维是顶端生长,色素分布应该是从游离端到靠近种皮端颜色逐渐加深,不会存在观察到的带纹,而是支持扩散生长理论,但扩散生长不是均匀的,带 2 部分的形成除了与色素合成较旺盛外,也是纤维生长较慢的地方,而带 1 和带 3 是纤维生长较快的地方。

参考文献:

- [1] 王学德,李悦有. 彩色棉纤维色素提取和测定方法的研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2002,28(6):596-600.
- [2] 董合忠,李维江,唐 薇,等. 2 个彩色棉材料的农艺性状和纤维发育特点研究[J]. 山东农业科学,2002(4):6-9.
- [3] 邱新棉,周文龙,李茂松,等. 天然彩色棉纤维素的遗传基础形成及湿处理色素变化规律的研究[J]. 中国农业科学,2002,35(6):610-615.
- [4] 陈旭升,刘剑光,狄佳春,等. 棕色棉纤维色度与产量性状相关分析[J]. 中国棉花,2001,28(10):12-13.
- [5] 邱新棉. 天然彩色棉研究进展与发展前景[J]. 棉花学报,2004,16(4):249-254.
- [6] 詹少华,林 毅,蔡永萍. 彩色棉棉铃生长发育动态研究简报[J]. 棉花学报,2005,17(2):127-128.
- [7] 周 青,周桂生,封超年,等. 氮磷钾配比对转基因抗虫棉生育特性、产量及品质的影响[J]. 棉花学报,2005,17(4):253-255.
- [8] 杨佑明,徐楚年. 棉纤维发育的分子生理机制[J]. 植物学通报,2003,20(1):1-9.
- [9] 杜雄明,潘家驹,汪若海. 棉纤维细胞分化和发育[J]. 棉花学报,2000,12(4):212-217.
- [10] TIWARI S C, Wilkins T A. *Gossypium hirsutum* L. seed trichomes expand via a diffuse growing mechanism[J]. Can J Bot,1995, 73: 746-757.
- [11] OKELLEY J C, Carr P H. Elongation of the cotton fiber [A]. In: W. Loomis(ed), Growth and differentiation in plants [M]. 1953: 55-68.
- [12] RYSERU. Cell wall growth in elongating cotton fibers: an autoradiographic study [J]. Cytobiology, 1979,15:78-84.
- [13] SEAGULLR. Tip growth and the transition to secondary wall synthesis in developing cotton hairs [M]. In Tip Growth in Plant and Fungal Cells, EB Heath ed, Academic Press,1990: 261-284.
- [14] SEAGULLR. Growth mechanisms in developing cotton fiber: where is the fiber expanding [M]. Abstract from the Sixth Cell Wall Meeting, Nijmegen, The Netherlands,1992: 62.
- [15] 詹少华,林 毅,天然彩棉棕色素定量测定方法的建立[J]. 分子植物育种,2005,3(3):439-444.
- [16] 詹少华,林 毅,蔡永萍,等. 天然棕色棉色素提取、纯化及其 UV 光谱研究[J]. 激光生物学报,2004,13(5): 324-328.
- [17] YONG L R, Danny J, Llewellyn, et al. The control of single-celled cotton fiber elongation by developmentally reversible gating of plasmodesmata and coordinated expression of sucrose and K⁺ transporters and expansin[J]. Plant Cell, 2001,13: 47-60. ●