

· 成果简介 ·

# 棉花胚珠中生长素水平的时空调控提高了棉花纤维的产量和品质

杨新泉<sup>1</sup> 罗晶<sup>1</sup> 胡琼波<sup>1</sup> 江正强<sup>1</sup> 裴炎<sup>2</sup>

(1 国家自然科学基金委员会生命科学部, 北京 100085; 2 西南大学生物技术中心, 重庆 400715)

[关键词] 棉花纤维, 产量和品质, 生长素, 启动子, 胚珠表皮细胞

棉花是我国最重要的经济作物之一, 同时, 中国又是世界上最大的纺织品生产国和消费国。棉花生产涉及 2 亿棉农的生计和近 2 千万纺织工人的就业, 因此, 棉花在我国国民经济中具有举足轻重的地位。但是, 随着棉纺织业的发展, 目前我国棉花生产面临总量严重不足和纤维品质偏低等问题。提高棉花的产量、改进其品质, 对增加棉农收入、促进我国纺织业持续健康的发展, 具有十分重要的意义。

然而, 棉花的产量和品质性状为多基因控制的数量性状。而且, 产量与品质性状之间常常存在遗传上的负相关。由于受种质资源和常规育种技术的限制, 棉花品种的产量潜力已开始进入平台期, 要实现棉花产量与纤维品质的同步提高, 难度更大。纤维细度是棉花重要的品质性状, 马克隆值是衡量纤维细度和成熟度的指标。马克隆值高于 5 的纤维, 为粗纤维, 在纺纱中, 粗纤维会导致断头增加, 产品质量下降。同时, 高细度纤维是生产高档纺织品所必需的原料, 可大幅度提高纺织品的附加值。国际上对高细度优质纤维实行优价收购, 而对马克隆值高于 5 的纤维则折扣价收购。在常规育种中, 高产选育常常导致纤维增粗(纤维细胞数量相近时, 纤维越粗, 产量越高), 加上高温的影响, 改善纤维细度已成为棉花育种中的难题之一。

棉花纤维细胞的长径比可达 1000—3000, 这种超长细胞在植物界是非常独特的。棉花纤维细胞的发育可分为 4 个明显不同但又有一定交叉重叠的时期, 即: 纤维细胞起始期、快速伸长期、次生壁增厚期和成熟期。其中, 纤维细胞在起始期和快速伸长期的发育决定了棉花纤维细胞的数量、长度和细度, 进而直接影响到棉花的产量和品质。因此, 研究棉花

纤维细胞起始和伸长的分子机理, 具有重要的理论意义与潜在的应用价值。植物激素在调控植物的生长发育以及其对环境胁迫响应中具有非常重要的作用。研究表明, 纤维细胞的起始和伸长与多种植物激素相关。但是, 生长素、赤霉素、油菜素和细胞分裂素等植物激素在棉花纤维细胞起始和伸长中的功能, 还有待深入研究。

在国家自然科学基金重点项目“利用激素合成与传导基因改良棉花的纤维品质与产量”(30530490)和国家“973”项目的资助下, 西南大学生物技术中心裴炎教授课题组开展了油菜素内酯、赤霉素、生长素、细胞分裂素等激素生物合成与信号传导途径相关基因在棉花纤维发育中功能的研究。在此基础上, 根据棉花纤维细胞发育的特点, 对目的基因进行精确的控制, 以实现棉花纤维的遗传改良。课题组获得了大批纤维性状明显改良的转基因材料。其中, 利用生长素合成酶基因提高棉花产量与品质的研究, 取得重大进展。相关研究结果发表在 *Nature Biotechnology*。具体研究进展如下:

## 1 发现生长素 IAA 在棉花开花当天的纤维起始细胞中有高浓度的积累

棉花纤维是由胚珠外珠被上的表皮细胞经分化发育而成, 大约 10% 的外表皮细胞可以发育为成熟纤维。提高胚珠外表皮分化为纤维细胞的比例, 是增加棉花纤维产量的重要途径。

生长素积累及其分布的时空特性, 对植物细胞的发育有至关重要的影响。前人的研究表明, 生长素有促进纤维细胞发育的作用。但生长素与纤维细胞起始的关系至今不清; 纤维细胞起始期, 生长素在

本文于 2011 年 5 月 10 日收到。

棉花胚珠中的分布,也知之甚少。为此,课题组采用原位杂交技术,以 IAA 单克隆抗体为探针,研究了 IAA 在棉花胚珠的分布。结果显示:IAA 在开花当天的纤维细胞突起中有高浓度的积累,而临近的非纤维细胞中观察不到这种积累。进而,又观察了徐州 142 无纤维突变体的胚珠,发现其胚珠外表皮中的 IAA 信号很弱。由此推测:高浓度的 IAA 积累可能是纤维细胞突起所必须的。为了进一步证实这个结果,采用 IAA 运输抑制剂处理野生型棉花的果柄,发现胚珠表皮中的 IAA 水平显著降低;与此同时,纤维细胞的起始也受到严重抑制。而且,在离体培养条件下,这种抑制可以被添加 IAA 部分恢复。上述结果表明,IAA 在开花当天的纤维细胞突起中的高浓度积累,对纤维细胞的起始可能是至关重要的。根据这一重要发现,课题组提出改进棉花纤维的新策略:通过定向控制植物激素相关基因的表达,在棉花纤维细胞起始期适度增加棉花胚珠表皮细胞中的 IAA 浓度,促进纤维细胞的起始,使表皮中更多的细胞发育为长纤维,进而提高棉花的纤维产量。

## 2 发现纤维细胞起始期特异提高胚珠外表皮内源 IAA 的水平能够增加纤维细胞的数量

植物激素的作用浓度和作用部位,对植物的发育有重要影响。内源激素调控不适当,将导致植物生长不正常,或者达不到预期效果。因此,选择适宜的启动子,是实现这一策略成败的关键。为此,该课题组经过 10 余年坚持不懈的努力,筛选出了适宜的启动子。课题组首先对 16 个候选启动子在棉花中的时空特异性进行了鉴定,选择了 5 个具有种皮/纤维/胚珠特异性的启动子来控制 IAA 生物合成相关基因 *iaaM*,通过农杆菌介导法获得转基因棉花。根据棉花纤维细胞发育的特点,即:开花当天至开花 3 天起始的表皮细胞可以发育成为成熟纤维,而开花后 5 天的突起的细胞则成为短绒(短绒在纺织中不能被利用),重点对 *FBP7::iaaM* 转基因棉花进行了研究。*FBP7* 启动子来自矮牵牛,它在开花前 2 天—开花后 5 天在胚珠外表皮中有活性高峰,正好覆盖了棉花纤维细胞分化与起始的关键时期。RNA 原位杂交结果显示,*FBP7::iaaM* 仅在转基因棉花胚珠外表皮中表达。LC-MS 测定结果证实,开花当天到开花后 3 天胚珠中的 IAA 含量平均增加了 1.28 倍。IAA 抗体原位杂交试验结果进一步证实,转基因棉花胚珠外表皮中的 IAA 水平有所提高。

胚珠表面纤维细胞观察结果显示,IAA 含量在种皮的上升,使 *FBP7::iaaM* 转基因棉花纤维细胞数量显著增加。温室试验结果表明,转基因棉花衣分(棉花纤维占种子重量的百分含量,是棉花重要的产量构成因子)得到明显的提高,预示 *FBP7::iaaM* 转基因棉花可能具有很大的增产潜力。

## 3 转基因棉花首次实现了产量和品质的同步改良

为了验证温室试验结果,课题组申请并获准转基因棉花的中间试验。连续 4 年的田间试验结果表明:*FBP7::iaaM* 转基因棉花的衣分高达 47%—50%,非转基因的对照(由转基因  $T_0$  代分离产生的非转基因株系)为 37%—40%;衣分的增加使转基因棉花的纤维产量提高了 23%—34%,增产幅度大、效果十分显著。同时,与对照相比,转基因棉花种子的短绒率大幅度下降。进一步证实,转基因棉花中,更多的胚珠表皮细胞发育成为长纤维。

值得重视的是,纤维品质测定结果表明,转基因纤维的细度得到非常明显的改进。转基因纤维的马克隆值稳定在 4.5 左右,比非转基因的对照(5.2)降低了 0.7 个单位(据美国农业部专家估计,棉花纤维的马克隆值每降低 0.1 个单位,可使美国棉农增加 0.34 亿美元的收入)。

为验证上述结果,课题组选择与 *FBP7* 有相似的时空特性的启动子 *Ban*(来自拟南芥)控制目的基因。*Ban::iaaM* 转基因棉花完全重复出了 *FBP7::iaaM* 棉花的结果,即:衣分显著提高、细度明显改进。进一步证明,在棉花纤维细胞起始期,适度提高胚珠外种皮中 IAA 的浓度,可以促进棉花纤维细胞的起始,增加棉花纤维的产量、改进细度。

Bt 抗虫及抗除草剂转基因棉花的大面积推广,已经成为生物技术 in 农业领域的成功范例。但是,迄今为止,尚无转基因技术在提高棉花产量、改进品质上的成功报道。这一成果是利用转基因技术实现产量与品质同步改良的首例成功报道。John(1999)曾将生长素 IAA 生物合成酶基因置于纤维专一性启动子 *E6* 控制下,以期通过增加纤维细胞中的生长素来改进棉花产量或品质。结果发现,虽然 IAA 含量在转基因棉花纤维细胞中显著增加,但是转基因纤维细胞并未发生明显的改进。John 由此得出结论:超量表达生长素对棉花纤维的长度、强度和马克隆值没有影响(John, M. E. Genetic engineering strategies of cotton fiber modification. in Cotton

Fibers: Developmental Biology, Quality Improvement and Textile Processing, ed. Basra, A. S., 271—292, The Haworth Press, New York, USA, 1999)。而本项研究则表明,根据棉花纤维细胞发育的特点,通过对内源生长素在时间(开花前2—开花后3天)和空间(胚珠外表皮细胞)上的精确调控,不仅可以大幅度提高棉花的纤维产量,还可显著改进棉花纤维的细度,实现棉花产量与品质的同步改良。John未能获得成功,原因是启动子选择不当。John所用的启动子E6主要在开花后5—24天的纤维细胞中表达。此时在已经分化形成的纤维细胞中增加IAA的含量,对纤维细胞数量的增加是没有作用的。本项研究提出的策略,在棉花产量和品质的改良上获得成功,这一策略,对其他作物的改良,也有

理论和应用上的重要参考价值。*Nature Biotechnology* 同期专门撰文对此成果进行了评述,称这一研究结果“表明了下一代转基因作物的潜力”。

目前,该研究取得的成果已经申请了中国专利和国际专利保护,具有完全的自主知识产权。该研究所获得的转基因棉花材料已经顺利完成转基因生物体的中间试验,并获准进入环境释放。研究所获得的高产优质新材料已经发放给国内多家育种单位,开始用于棉花品种的遗传改良。由于转基因棉花已经为公众接受,本研究获得的转基因材料,具有很大的增产潜力,有可能在短期内实现产业化,给棉花种植者和纺织业带来显著的经济效益。该成果是从基础理论研究到田间应用的有机结合,是理论研究与生产实践紧密结合的结果。

## SPATIOTEMPORAL MANIPULATION OF AUXIN BIOSYNTHESIS IN COTTON OVULE EPIDERMAL CELLS ENHANCES FIBER YIELD AND QUALITY

Yang Xinquan<sup>1</sup> Luo Jing<sup>1</sup> Hu Qiongbo<sup>1</sup> Jiang Zhengqiang<sup>1</sup> Pei Yan<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> Department of Life Sciences, National Natural Science Foundation of China, Beijing 100085;

<sup>2</sup> Biotechnology Research Center, Southwest University, Chongqing 400715)

**Key words** cotton fiber, yield and quality, IAA, promoter, ovule epidermal cells

· 资料 · 信息 ·

### 从软饮料中获取能量

你知道吗? 饮料既能解渴,又可发电! 在国家自然科学基金的连续资助下,中国科学院长春应用化学研究所董绍俊院士“TWAS”课题组在生物燃料电池的研究方面取得了重要进展,她们所设计的微型生物燃料电池可以直接从软饮料中获得能量,相关结果发表在 *Energy & Environ. Sci.* 2011, 4, 1358—1363 上。随后,该工作立即被著名出版社 RSC 选为新闻故事特写在 *Chemistry World* 上进行了报道。

能源供给一直是一个热门话题。生物燃料电池是一类以酶或者微生物为催化剂,以生物质为燃料,将化学能转化为电能的特殊燃料电池。与常规燃料电池相比,它造价低廉并能在室温和接近中性的 pH 值条件下工作,因而被视为一种潜在的绿色能源技术,有望用于便携能源和可植入医疗器件。

该课题组报道的酶生物燃料电池包括由碳纤维

微电极制备的生物阳极和阴极,其中一种新型的碳纳米材料——单壁碳纳米角用来修饰电极以提高电子传递能力。生物阳极进一步修饰上葡萄糖去氢酶,在辅酶的作用下,催化氧化软饮料中的葡萄糖;生物阴极修饰上胆红素氧化酶,可将空气中的氧还原成水。由这两种反应组成的电路可用于构建微型能源装置,获得较高的能量输出。为能给小型电子设备供电,生物燃料电池需要微型化和更为广泛的燃料来源。在该体系中,从超市买来的软饮料可作为燃料直接使用,仅仅 1 mL 饮料(价格低于 1 分钱)能使燃料电池在间歇工作下产能近一个月。

这种酶生物燃料电池所用的燃料(软饮料)廉价并广泛易得,使用方便,电池构造简单,为其作为低成本“绿色”微型能源装置提供了可能。

(化学科学部 供稿)