



类黄酮代谢途径与棉花纤维发育

涂礼莉, 谭家福, 郭凯, 李中华, 张献龙*

华中农业大学植物科学技术学院, 作物遗传改良国家重点实验室, 武汉 430070

* 联系人, E-mail: xlzhang@mail.hzau.edu.cn

收稿日期: 2014-05-10; 接受日期: 2014-06-15

国家现代农业产业技术体系(批准号: CARS-18-09)和国家高技术研究发展计划(批准号: 2013AA102601-4)资助项目

doi: 10.1360/052014-89

摘要 棉花纤维是最重要的天然纤维, 育成五彩缤纷且品质优良的彩色棉花一直是棉花遗传育种研究的一个重要目标. 类黄酮是植物重要的次生代谢物质, 与色素形成相关. 本文综述了类黄酮代谢途径与棉花纤维发育的研究进展: 棕色棉纤维色素物质可能主要是氧化的原花青素; 棉花人工驯化过程中, 类黄酮代谢途径在白色棉花中下调, 但白色棉花表达谱数据显示, 类黄酮代谢相关基因在纤维发育过程中仍然非常活跃; 一般认为, 类黄酮含量与纤维品质负相关, 柚皮素和二氢山柰酚可能是抑制纤维发育的主要类黄酮; 类黄酮代谢和木质素代谢有共同的代谢前体, 木质素代谢相关基因在纤维发育过程中也很活跃, 有效调控类黄酮代谢的同时, 协调木质素代谢的水平可能会促进纤维发育.

关键词
棉花
纤维
类黄酮
彩棉

棉花纤维是棉花(*Gossypium*)的主要产品, 是重要的天然纤维. 棉花有 51 个品种, 其中有 4 个栽培种: 草棉(*Gossypium herbaceum*; A1)、亚洲棉(*G. arboreum*; A2)、陆地棉(*G. hirsutum*; (AD)1)和海岛棉(*G. barbadense*; (AD)2). 其中栽培最广泛的是陆地棉, 其产量约占世界棉花总产量的 90%, 海岛棉约占 5%~8%, 亚洲棉约占 2%~5%, 草棉已很少栽培. 亚洲棉纤维细胞(lint)长度一般为 15~24 mm, 陆地棉 22~33 mm, 而海岛棉纤维则能达到 60 mm. 棉花野生种特别是二倍体野生种纤维是棕色或者绿色, 在进化和人工驯化过程中出现了白色棉花(图 1). 由于彩棉有天然的色彩无需后期印染, 从而可以减少纺织工业污染, 是一种理想的环保产品. 虽然彩棉在纺织上已有一定程度的应用, 也有相应的彩棉纺织产品(主要有棕色和绿色 2 个色系), 但目前彩棉品种纤

维品质较差, 利用价值不高. 一般认为, 彩棉纤维中的棕色和绿色物质与类黄酮(flavonoid)代谢有着密切的关系, 不利于棉纤维发育, 虽然目前生产上的彩色棉花品种相对于野生种, 纤维长度和强度方面有所改进, 但离纺织工业的要求还有很大的距离. 因此要真正地育成具有高利用价值的彩棉品种, 有必要对类黄酮与纤维发育的关系进行研究. 在白色棉花中, 类黄酮代谢虽然相对彩棉下调, 但代谢途径的一些基因在纤维发育过程中仍然很活跃. 类黄酮代谢物质和纤维发育是绝对的负相关还是合适的类黄酮含量有利于纤维发育? 这些问题都有待阐明.

1 类黄酮与植物生长发育概述

类黄酮泛指两个具有酚羟基的苯环通过中央三

引用格式: 涂礼莉, 谭家福, 郭凯, 等. 类黄酮代谢途径与棉花纤维发育. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 758-765

Tu L L, Tan J F, Guo K, et al. Flavonoid pathway in cotton fiber development. SCIENTIA SINICA Vitae, 2014, 44: 758-765, doi: 10.1360/052014-89

碳原子相互连接的一系列化合物, 是一类非常重要而且含量非常丰富的植物次生代谢物质, 在植物界中普遍存在, 参与许多重要的生命活动^[1]. 类黄酮有着很强的抗氧化活性, 参与植物的抗逆反应, 使植物在逆境中表现出植株颜色的变化, 清除逆境条件下产生和积累的活性氧^[2]. 植物类黄酮的生物合成代谢及调控途径在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm.)等模式植物中已经有深入研究. 已获得的许多类黄酮代谢相关基因突变体也为该代谢途径的研究提供了非常坚实的基础, 对相关突变体的研究表明, 类黄酮相关基因的缺失会改变茎秆及叶片的颜色, 改变种皮的颜色以及种子的形状, 影响类黄酮含量^[3,4], 以及植株发育等^[3,5-7]. 最近对类黄酮代谢基因突变体的生物化学分析表明, 类黄酮影响生长素的运输; 早期的体外实验表明, 一些类黄酮, 如槲皮素(querعتin)、芹菜素(apigenin)和山柰酚(kaempferol)等, 可以与生长素抑制剂萘基酚酸(naphthylphthalamic acid, NPA)的受体结合, 从而作为一种天然的生长素运输的调控因子^[8-11]. 拟南芥的体内实验同样证实了这种调控, 柚皮素(narigenin, NAR)抑制拟南芥根的发育, 无类黄酮的突变体 *tt4* 表现出更高的吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)运输

活力, 并且这种活力又受到 NAR 的抑制^[5,12]. 进一步的实验表明, 类黄酮可能通过影响 PIN(PIN-FORMED)蛋白来影响生长素的运输^[13]. 另外, 类黄酮还影响生长素氧化酶的活力^[14]. 类黄酮参与生长素代谢的具体机制还不清楚, 它可能对生长素的代谢起到平衡的作用.

2 类黄酮代谢途径在野生棉及彩棉纤维中十分活跃

早期对棕色纤维和绿色纤维(图 1)的色素成分分析显示, 天然彩色棉色素属于黄酮类化合物^[15]. 詹少华等人^[16]认为, 棕色纤维中的色素是由单宁物质氧化形成的醌类化合物, 而绿色纤维的色素属于黄酮类化合物^[17,18]. 较多的文献报道, 棕色纤维的色素可能是氧化状态的原花青素(缩合单宁)(proanthocyanidins, PA)和 PA 前体, 因为在棕色纤维中 PA 含量比白色纤维高得多^[19-23]. 并且 Xiao 等人^[23]对棕色纤维的原花青素进行了较为详细的生物化学分析, 分析提取的 PA(20 DPA(days post anthesis, 开花后天数)纤维)结构表明, 大部分游离的黄烷-3-醇类是 2,3-反式构型的没食子儿茶素(gallocatechin)和儿茶素

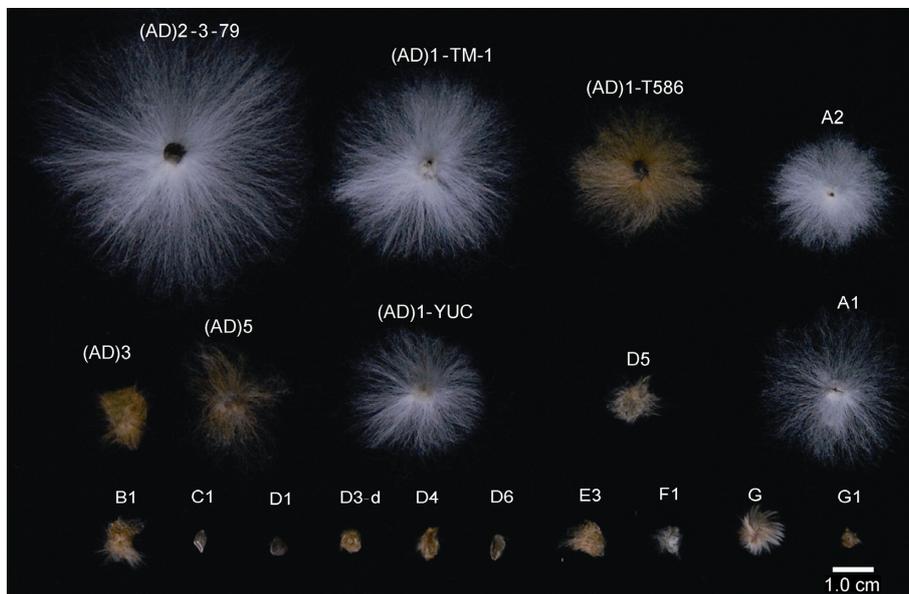


图 1 栽培棉种与野生棉种的纤维表型

野生棉大部分为棕色纤维. (AD)2-3-79: 海岛棉标准系 3-79; (AD)1-TM-1: 陆地棉标准系 TM-1; (AD)1-T586: 陆地棉 T586; A2: 亚洲棉; (AD)3: 毛棉/夏威夷棉; (AD)5: 达尔文棉; (AD)1-YUC: 陆地棉半野生种尤卡坦棉; D5: 雷蒙德氏棉; A1: 非洲棉; B1: 异常棉; C1: 斯托提棉; D1: 瑟伯氏棉; D3-d: 戴维逊氏棉; D4: 旱地棉; D6: 拟似棉; E3: 亚雷西棉; F1: 长萼棉; G: 澳洲棉; G1: 比克氏棉

(catechin), 多聚 PA 的构成单元主要是 B 环三羟基化的黄烷-3-醇类. Tan 等人^[22]通过杂交转育将二氢黄酮 3-羟化酶(flavanone 3-hydroxylase, F3H)RNAi 片段导入到棕色棉背景中, 发现在代谢途径中游抑制类黄酮代谢减少了 PA 的含量, 但纤维颜色与预期相反, 含有 F3H-RNAi 片段的植株纤维棕色相对于对照颜色更深. 可能 F3H 上游类黄酮物质也是产生棕色的因素之一. 因此, PA 或者氧化的 PA 是否为棕色色素主要组成因素还有待于进一步研究.

与棕色棉花高含量的 PA 相一致, 类黄酮代谢相关的基因在棕色棉花中表达非常活跃, 酶含量也很高. Hua 等人^[24]发现, 在棕色棉纤维中苯丙氨酸解氨酶(phenylalanineammonialyase, PAL)的活性相对于白色纤维要高得多. 一些类黄酮合成酶基因, 如肉桂酸羧化酶(cinnamate 4-hydroxylase, C4H)、查尔酮合成酶(chalcone synthase, CHS)、查尔酮异构酶(chalcone-isomerase, CHI)、二氢黄酮 3-羟化酶(F3H)、二氢黄酮醇 4-还原酶(dihydroflavonol 4-reductase, DFR)、黄烷

酮 3'-羟化酶(flavonoid 3'-hydroxylase, F3'H)、黄烷酮 3',5'-羟化酶(flavonoid 3',5'-hydroxylase, F3'5'H)、花青素合成酶(anthocyanidin synthase, ANS)和花青素还原酶(anthocyanidinreductase, ANR), 在棕色纤维中有显著上调^[19,21]. 近期, Xiao 等人^[23]采用数字基因表达谱(digital gene expression profiling, DGE)分析了棕色棉花和白色棉花的表达谱差异, 更为详细地阐述了棕色棉花和白色棉花类黄酮代谢途径基因的表达差异. 所有 PA 合成相关基因(包括 PAL, C4H, 4-香豆酰 CoA 连接酶(4-coumaroyl-CoA ligase, 4CL), CHS, CHI, F3H, F3'H, F3'5'H, DFR, ANS, ANR 和无色花色素还原酶(leucoanthocyanidinreductase, LAR))在棕色纤维中显著上调(图 2). 并且发现, 具有共同底物的两组酶, PA 合成相关的 F3'5'H 和 LAR 基因相对于花青素合成相关的 DFR 和 ANS 的表达量高很多. Li 等人^[20]通过比较蛋白质组学分析 BCF(棕色纤维)和 WCF(白色纤维)的近等基因系发现并确定了 15 个类黄酮相关蛋白(包括 PAL, CHS, F3H, DFR 和 ANR)在棕色棉

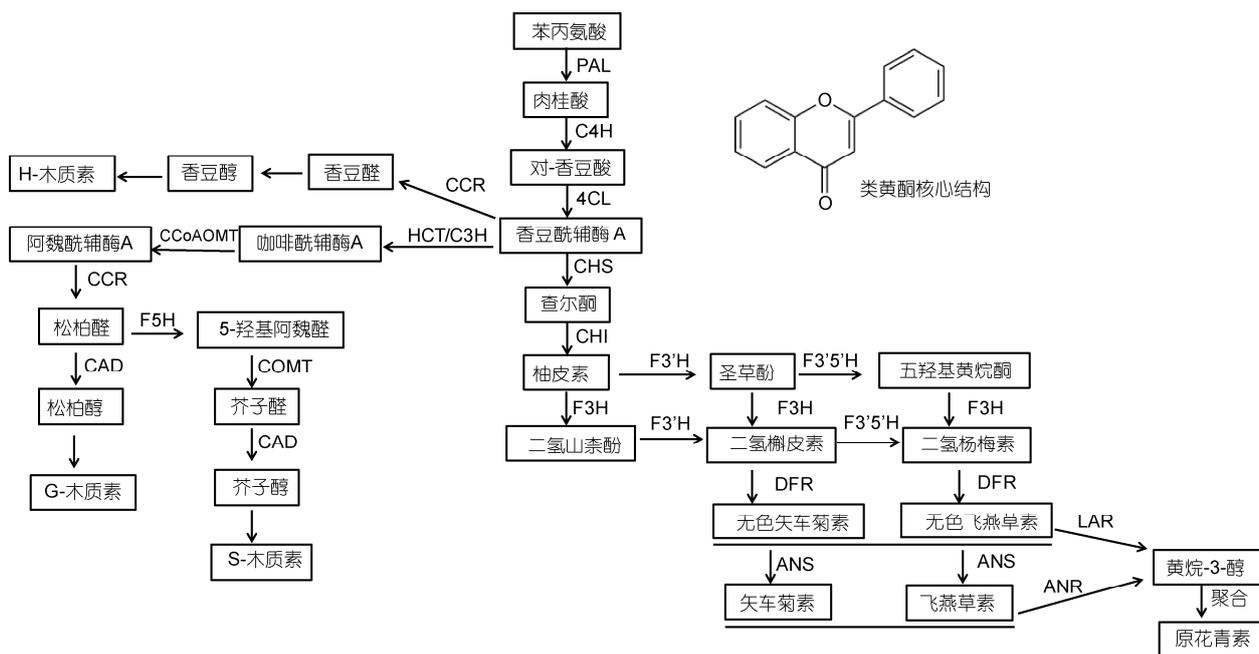


图 2 棉花纤维中原花青素合成途径与可能的木质素代谢途径

PAL: 苯丙氨酸解氨酶; C4H: 肉桂酸羧化酶; 4CL: 4-香豆酰 CoA 连接酶; CHS: 查尔酮合成酶; CHI: 查尔酮异构酶; F3H: 二氢黄酮 3-羟化酶; DFR: 二氢黄酮醇 4-还原酶; F3'H: 黄烷酮 3'-羟化酶; F3'5'H: 黄烷酮 3',5'-羟化酶; ANS: 花青素合成酶; ANR: 花青素还原酶; LAR: 无色花色素还原酶; HCT: hydroxycinnamoyl-CoA:shikimate hydroxycinnamoyltransferase, 莽草酸/奎宁酸羟基肉桂酸转移酶; C3H: coumarate-3-hydroxylase, 对-香豆酸-3-羟化酶; CCoAOMT: caffeoyl-CoA O-methyl-transferase, 咖啡酰辅酶 A 甲基转移酶; COMT: caffeic acid 3-O-methyl-transferase, 咖啡酸 5-羟化基阿魏酸-O-甲基转移酶. 参照 Xiao 等人^[23]和 Ferrer 等人^[25]文献绘制

纤维中富集。

3 棕色纤维的基因位点

Kohel^[26]最先分析了天然棕色彩棉的遗传规律,发现棕色性状由6个不同的基因位点控制,分别为*Lc1*(lint color 1)~*Lc6*。*Lc1*和*Lc3*控制深棕色性状,其他的位点控制浅棕色性状。其中共显性基因位点*Lc1*已被Kohel转育到陆地棉标准系TM-1中,培育成T586(T586除了具有深棕色纤维这个性状外,还具有其他的如红叶光子等共8个显性性状)。T586与普通白棉花杂交的一系列的实验表明,杂交F₁呈浅棕色,F₂纤维颜色(深棕:浅棕:白色)按1:2:1分离,证实*Lc1*为共显性基因^[27-29]。Endrizzi和Taylor^[30]通过染色体单体技术将*Lc1*定位于棉花基因组的第7号染色体长臂端。李付振等人^[29]进一步将这个基因定位在棉花基因组A亚组的第7号染色体的微卫星标记NAU4030和CGR5119之间约8cM的遗传距离内。

4 人工驯化过程中类黄酮途径在白色棉花中被负向选择

Wendle实验室进行了大量的野生棉和人工驯化棉的表达谱比较分析^[31-34],类黄酮代谢途径不是其阐述重点,重新分析他们的表达谱数据发现,在人工驯化过程中类黄酮途径在白色棉花中被负向选择。比较野生尤卡坦棉(yucatacense)和驯化棉TM-1的表达谱,*CHI*,*TT3(DFR)*,*TT6(F3H)*和*BAN(ANR)*在野生棉纤维起始阶段的表达要明显高于驯化棉。A2基因组和D5基因组棉花2DPA胚珠中类黄酮相关基因的表达分析表明,有72个类黄酮代谢相关基因差异表达。77%的差异表达基因在D5基因组的胚珠中表达量要高于A2基因组,D5基因组纤维中类黄酮代谢要比A2基因组活跃。A2基因组棉花纤维比D5基因组棉花纤维长(图1),该结果显示类黄酮基因的表达与纤维长度的负相关性。比较四倍体野生棉毛棉、半野生棉尤卡坦棉、驯化棉陆地棉TM-1以及A2,D5基因组混合样的2DPA胚珠的表达谱发现,*C4H*,*4CL*和*CHS*等类黄酮合成上游的基因都在野生棉中优势表达,而*CHI*和*DFR*在陆地棉中优势表达,其中毛棉的类黄酮代谢最为旺盛。进一步比较海岛棉驯化种Pima S-7和野生种K101,以及陆地棉驯化种TM-1

和半野生种尤卡坦棉的2,10,20DPA纤维发育相关芯片数据中的类黄酮代谢相关的基因表达模式,发现大多数基因在野生种中上调表达,而在驯化种中下调表达。发现3条平行进化的*CHS*基因,*CHS-4*,*CHS-6*和*CHS-12*,这3条序列在海岛棉和陆地棉的3个纤维发育时期中一致表现出受驯化下调表达。*CHS*是类黄酮合成的第一个关键酶,在海岛棉和陆地棉中一致性下调表达,表明*CHS*可能是类黄酮代谢途径平行进化中的关键进化位点。Wendel实验室最近又对其所有的棉花野生种和驯化种的表达谱数据进行了综合分析,在这个研究中他们也将类黄酮代谢途径进行了具体的表达分析,Real-time PCR数据进一步证实了野生棉中的类黄酮相关基因的表达量要高于驯化棉^[35]。

5 类黄酮与白色纤维的发育

相对于野生棉,白色棉花类黄酮代谢途径在选择驯化的过程中下调,但在白色棉花纤维中类黄酮代谢相关基因仍很活跃。近10年有大量关于棉花纤维发育的组学研究发表,但仅有2篇提到并分析了类黄酮代谢途径^[36,37]。其实早期基因芯片研究结果就显示,*F3H*基因在棉花发育的过程中高量表达,并可能参与棉花纤维的发育^[38,39]。Tan等人^[22]对目前为止发表的表达谱和蛋白谱数据进行重新分析发现,类黄酮相关基因几乎在所有的组学数据中出现。在最早棉花纤维的抑制消减杂交(suppression subtractive hybridization,SSH)文库分析中得到的172个在纤维伸长期显著上调表达的基因中有2个(*CHS*和*ANS*)是类黄酮途径的基因^[40];构建的第一个纤维大规模cDNA文库中,在纤维发育时期表达量最高的前15%的基因中,有3个基因是植物次生代谢相关基因,而且其中有2个(*F3'5'H*和*DFR-Like*)是类黄酮代谢相关基因,并且多个其他类黄酮相关基因在纤维的延长期和次生壁合成期有差异表达^[41]。在海岛棉的第一个cDNA文库中也发现了类黄酮相关基因(*CHI*和*F3H*)在纤维发育的早期高效表达^[39]。对棉花总的EST(expressed sequence tag)序列的分析表明,在EST数目最多的19个基因中有3个(*CHS*,*F3H*和*LDOX*(leucoanthocyanidin dioxygenase))基因是类黄酮相关的基因。在不多的几篇纤维发育相关的蛋白质组学和RNA深度测序的研究中,也检测到了高效

表达的类黄酮相关基因^[42]. 对 NCBI 中 UniGene 的分析则显示, 类黄酮相关基因在棉铃和胚珠中的表达量要显著高于其他组织. 通过徐州 142 及其光籽突变体的研究表明, 类黄酮途径相关基因在纤维里优势表达. 但是对比 TM-1 和其短绒突变体 *Li* 发现, *F3H*, *ANR* 等基因在突变体纤维发育中后期的表达要高于野生型^[43,44]. 多数棉种中类黄酮相关基因在纤维发育早期的表达量要高于纤维发育晚期.

同是栽培种的 2 个异源四倍体棉花, 海岛棉纤维品质优于陆地棉, 因此 Tan 等人^[22]分析了类黄酮代谢在海岛棉和陆地棉纤维发育中的差异. 类黄酮代谢相关基因在 2 个棉种的纤维发育的次生壁沉积期 (15~20 DPA) 的表达差异较小, 主要的表达差异在纤维伸长的早期 (5 DPA). 其中除了 *FLS*(flavonol synthase) 之外, 所有的基因在 5 DPA 表达量最高. 对于海岛棉而言, *CHS*, *CHI*, *F3'5'H* 和 *ANS* 等在 0 DPA 的胚珠中表达量最高, 而 *C4H*, *F3H*, *F3'H*, *DFR*, *ANR* 和 *LAR* 的表达模式则和陆地棉一致, 在 5 DPA 的胚珠中表达量达到最大值. 海岛棉和陆地棉之间表达差异较大的为类黄酮代谢途径上游基因, 包括 *C4H*, *CHS*, *CHI*, *F3'H* 和 *FLS*, 这些基因在陆地棉中的表达都明显高于海岛棉. 只有少数几个处于 *NAR* 下游的基因在海岛棉中的表达高于陆地棉.

6 抑制纤维发育的类黄酮

在棉花人工驯化过程中(棕色棉花到白色棉花)类黄酮含量降低, 代谢途径中的一系列基因表达量显著降低, 因此类黄酮代谢相关物质(棕色/绿色色素物质)可能对纤维发育不利. 对彩棉纤维发育过程的观察和研究发现, 彩色纤维在起始阶段的突起时间和发育模式与白色纤维没有显著差异, 但是纤维突起数量和突起后的发育及快速生长等性状要明显弱于白色纤维. 色素主要在纤维的中腔积累, 而这种积累可能会影响纤维液泡的膨压, 从而影响纤维伸长^[45]. 纤维的色素含量与纤维长度呈显著负相关, 而色素还降低纤维可溶性糖的含量, 并影响纤维素沉积和蜡质的合成, 从而影响纤维的次生壁发育而导致纤维品质下降^[24]. 目前生产上的棕色棉花品种相对于白色棉花品种纤维品质差, 但是相对于棕色的野生棉, 纤维长度已有很好的改善, 因此棕色物质和纤维长度可能并不是绝对的负相关. Tan 等人^[22]通过

胚珠培养添加类黄酮物质, 发现 *F3H* 的底物 *NAR* 和产物二氢山柰酚(dihydrokaempferol, *DHK*)明显抑制纤维伸长, 通过杂交将 *F3H-RNAi* 片段导入棕色棉 T586 中, 遗传实验证据表明, *NAR* 的积累抑制纤维的伸长和次生壁增厚. 因此, 如果能探明具体的抑制纤维发育的类黄酮代谢物质, 然后通过基因工程的手段, 可能育成具有真正利用价值的彩棉.

7 类黄酮与木质素合成途径对纤维发育的影响

木质素代谢是苯丙烷代谢途径重要分支代谢途径(图 2). 棉花成熟纤维中纤维素含量可以达到 95%, 一般认为, 棉花成熟纤维中木质素含量极低. 但在重新分析 Wendel 实验室的表达谱数据时发现, 木质素合成基因 *HCT* 介导的路径在 *D5* 基因组棉花中(相对于 *A2*)优势表达, 说明木质素合成途径在 2 个棉种中也有明显的分化. 在平行分析海岛棉驯化种 *PimaS-7* 和野生种 *K101*, 以及陆地棉驯化种 *TM-1* 和半野生种 *尤卡坦棉* 纤维发育相关芯片数据时, 发现差异表达的木质素相关基因较少, 但是差异表达的基因在海岛棉中受驯化下调表达, 而在陆地棉中受驯化上调表达, 这表明木质素代谢可能在海岛棉与陆地棉的驯化中存在差异. Han 等人^[46]研究纤维伸长期和次生壁增厚期优势表达基因 LIM 结构域蛋白(*LIN-11*, *Isl1* and *MEC-3* (LIM)-domain protein)基因 *WLIM1a* 功能时发现, 该基因能促进纤维变得又长又细. *WLIM1a* 在棉花次生壁增厚期可以作为一个转录因子上调 *4CL1*, *CCR1* 和 *CAD6* 基因的表达, 从而使得超表达转基因棉花株系的木质素含量相对于野生型含量增加, 因而影响纤维次生壁成分, 使得纤维变细. 因此类黄酮代谢途径不仅可以独自影响纤维的发育, 其还可能和木质素代谢途径或者与苯丙烷代谢途径的其他分支代谢途径共同地来调控纤维的发育.

8 展望

因彩棉无需后期印染、可以减少纺织工业污染, 通过基因工程手段培育出色彩缤纷的环保彩棉一直是棉花科研工作者的梦想. 美国 *Calgene* 公司将黑色素合成基因 *Melalin* 导入棉花中, 使棉花产生了褐色

或黑色纤维, 该工作也在另一个实验室被重复出来^[47]. 但是黑色纤维的色泽和品质都没有达到人们的期望值. 彩色棉花纤维和花朵的色彩有着本质的区别, 花朵颜色主要成分花青素可以存在于液泡等细胞结构中, 但成熟的棉纤维基本上是纤维素, 色素分子不能仅存在于厚厚的次生壁包裹的中腔中, 而是掺入到纤维素结构中才能正常显色. 而且这种色素物质不能是水溶性的, 否则在衣物洗涤过程中会褪色. 色素物质掺入到纤维素结构中必定会影响细胞壁的结构从而影响纤维的强度、细度等特性. 因此, 要想育成适合纺织的彩棉品种还有很长的路要走, 首先需要把天然彩棉的色素形成机理及其对纤维发育的影响研究清楚. 人工驯化过程中是什么关键因子被选择让棉花纤维变成了白色, 其中 *Lc1* 具体是什么基因, 是否和报道的控制拟南芥种皮颜色的 *Myb* 转录因子是同源基因, 结合已有的定位结果和即将完成的异源四倍体基因组测序结果应该可以很快将

这个基因克隆出来. 目前认为, 棕色棉花色素物质主要是原花青素, *GhF3H-RNAi* 对陆地棉品系 YZ1 纤维色泽的影响不明显, 但在棕色棉花背景下, 原花青素含量降低, 反而棕色更深, 是否有其他类黄酮物质参与色素的形成以及这些色素物质和纤维素以何种形式结合都需要进行阐明. 如果类黄酮代谢物质与纤维发育是完全负相关, 通过分子技术下调类黄酮代谢改良白色纤维品质还有很大的空间, 但是人工选择筛选过程中类黄酮代谢途径在白色纤维中还继续保持非常活跃的状态, 是否类黄酮代谢途径以合适的水平存在有利于纤维发育? 而且栽培品种的棕色棉花虽然相对于白色栽培品种纤维品质差, 但相对于野生棉, 纤维长度、强度都要好很多, 并且棕色和野生棉相近, 说明有打破棕色物质和纤维长度负相关的可能性. 类黄酮代谢途径在纤维发育中行使什么功能, 以及是否所有不同种类的类黄酮对纤维发育都不利, 这些问题都值得进一步探究.

参考文献

- 1 Taylor L P, Grotewold E. Flavonoids as developmental regulators. *Curr Opin Plant Biol*, 2005, 8: 317–323
- 2 Ferdinando M, Brunetti C, Fini A, et al. Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. In: Ahmad P, Prasad M N V, eds. *Abiotic Stress Responses in Plants*. New York: Springer, 2012. 159–179
- 3 Debeaujon I, Le´on-Kloosterziel K M, Koornneef M. Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2001, 125: 1139–1141
- 4 Abrahams S, Tanner G J, Larkin P J, et al. Identification and biochemical characterization of mutants in the proanthocyanidin pathway in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2002, 130: 561–576
- 5 Buer C S, Muday G K. The transparent testa4 mutation prevents flavonoid synthesis and alters auxin transport and the response of *Arabidopsis* roots to gravity and light. *Plant Cell*, 2004, 16: 1191–1205
- 6 Shirley B W, Kubasek W L, Storz G, et al. Analysis of *Arabidopsis* mutants deficient in flavonoid biosynthesis. *Plant J*, 1995, 8: 659–671
- 7 Haughn G, Chaudhury A. Genetic analysis of seed coat development in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci*, 2005, 10: 472–477
- 8 Jacobs M, Rubery P H. Naturally occurring auxin transport regulators. *Science*, 1988, 241: 346–349
- 9 Faulkner I J, Rubery P H. Flavonoids and flavonoid sulphates as probes of auxin-transport regulation in *Cucurbita pepo* hypocotyl segments and vesicles. *Planta*, 1992, 186: 618–625
- 10 Mathesius U, Schlaman H R M, Spaink H P, et al. Auxin transport inhibition precedes root nodule formation in white clover roots and is regulated by flavonoids and derivatives of chitin oligosaccharides. *Plant J*, 1998, 14: 23–34
- 11 Murphy A, Peer W A, Taiz Ferdinando L. Regulation of auxin transport by aminopeptidases and endogenous flavonoids. *Planta*, 2000, 211: 315–324
- 12 Brown D E, Rashotte A M, Murphy A S, et al. Flavonoids act as negative regulators of auxin transport *in vivo* in *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 2001, 126: 524–535
- 13 Peer W A, Bandyopadhyay A, Blakeslee J J, et al. Variation in expression and protein localization of the PIN family of auxin efflux facilitator proteins in flavonoid mutants with altered auxin transport in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 2004, 16: 1898–1911
- 14 Mathesius U. Flavonoids induced in cells undergoing nodule organogenesis in white clover are regulators of auxin breakdown by peroxidase. *J Exp Bot*, 2001, 52: 419–426
- 15 Murthy M S S. Never say dye: the story of coloured cotton. *Resonance*, 2001, 6: 29–35
- 16 詹少华, 林毅, 蔡永萍, 等. 天然棕色棉纤维色素光谱学特性及其化学结构初步推断. *植物学通报*, 2007, 24: 99–104
- 17 张小均, 冯鸿杰, 李艳军, 等. 天然绿色棉纤维色素理化性质研究. *新疆农业科学*, 2011, 48: 616–621

- 18 李海祥, 唐志荣, 李丹, 等. 天然绿色棉色素的提取与光谱性质研究. 浙江理工大学学报, 2012, 29: 32–35
- 19 Xiao Y H, Zhang Z S, Yin M H, et al. Cotton flavonoid structural genes related to the pigmentation in brown fibers. *Biochem Bioph Res Commun*, 2007, 358: 73–78
- 20 Li Y J, Zhang X Y, Wang F X, et al. A comparative proteomic analysis provides insights into pigment biosynthesis in brown color fiber. *J Proteomics*, 2013, 78: 374–388
- 21 Feng H, Tian X, Liu Y, et al. Analysis of flavonoids and the flavonoid structural genes in brown fiber of upland cotton. *PLoS ONE*, 2013, 8: e58820
- 22 Tan J, Tu L, Deng F, et al. A genetic and metabolic analysis revealed that cotton fiber cell development was retarded by flavonoid naringenin. *Plant Physiol*, 2013, 162: 86–95
- 23 Xiao Y H, Yan Q, Ding H, et al. Transcriptome and biochemical analyses revealed a detailed proanthocyanidin biosynthesis pathway in brown cotton fiber. *PLoS ONE*, 2014, 9: e86344
- 24 Hua S J, Wang X D, Yuan S N, et al. Characterization of pigmentation and cellulose synthesis in colored cotton fibers. *Crop Sci*, 2007, 47: 1540–1546
- 25 Ferrer J L, Austin M B, Stewart C, et al. Structure and function of enzymes involved in the biosynthesis of phenylpropanoids. *Plant Physiol Biochem*, 2008, 46: 356–370
- 26 Kohel R J. Genetic analysis of fiber color variants in cotton. *Crop Sci*, 1985, 25: 793–797
- 27 邱新棉. 天然彩色棉研究进展与发展前景. 棉花学报, 2004, 16: 249–254
- 28 李定国, 聂以春, 张献龙. 陆地棉棕色纤维色泽的遗传分析. 华中农业大学学报, 2004, 23: 606–609
- 29 李付振, 宁新民, 邱新棉, 等. 棉花深棕色纤维基因 *Lc1* 的遗传定位. 中国农业科学, 2012, 45: 4109–4114
- 30 Endrizzi J E, Taylor T. Cytogenetic studies of *N Lc1yg2R2* marker genes and chromosome deficiencies in cotton. *Genet Res*, 1968, 12: 295–304
- 31 Chaudhary B, Hovav R, Rapp R, et al. Global analysis of gene expression in cotton fibers from wild and domesticated *Gossypium barbadense*. *Evol Dev*, 2008, 10: 567–582
- 32 Hovav R, Udall J, Hovav E, et al. A majority of cotton genes are expressed in single-celled fiber. *Planta*, 2008, 227: 319–329
- 33 Chaudhary B, Hovav R, Flagel L, et al. Parallel expression evolution of oxidative stress-related genes in fiber from wild and domesticated diploid and polyploid cotton (*Gossypium*). *BMC Genomics*, 2009, 10: 378
- 34 Rapp R, Haigler C, Flagel L, et al. Gene expression in developing fibres of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) was massively altered by domestication. *BMC Biol*, 2010, 8: 139
- 35 Yoo M J, Wendel J F. Comparative evolutionary and developmental dynamics of the cotton (*Gossypium hirsutum*) fiber transcriptome. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004073
- 36 Al-Ghazi Y, Bourot 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
- 37 Padmalatha K, Dhandapani G, Kanakachari M, et al. Genome-wide transcriptomic analysis of cotton under drought stress reveal significant down-regulation of genes and pathways involved in fibre elongation and up-regulation of defense responsive genes. *Plant Mol Biol*, 2012, 78: 223–246
- 38 Shi Y H, Zhu S W, Mao X Z, et al. Transcriptome profiling, molecular biological, and physiological studies reveal a major role for ethylene in cotton fiber cell elongation. *Plant Cell*, 2006, 18: 651–664
- 39 Tu L L, Zhang X L, Liang S G, et al. Genes expression analyses of sea-island cotton (*Gossypium barbadense* L.) during fiber development. *Plant Cell Rep*, 2007, 26: 1309–1320
- 40 Ji S J, Lu Y C, Feng J X, et al. Isolation and analyses of genes preferentially expressed during early cotton fiber development by subtractive PCR and cDNA array. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31: 2534–2543
- 41 Arpat A B, Waugh M, Sullivan J, et al. Functional genomics of cell elongation in developing cotton fibers. *Plant Mol Biol*, 2004, 54: 911–929
- 42 Pang C Y, Wang H, Pang Y, et al. Comparative proteomics indicates that biosynthesis of pectic precursors is important for cotton fiber and arabidopsis root hair elongation. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9: 2019–2033
- 43 Bolton J J, Soliman K M, Wilkins T A, et al. Aberrant expression of critical genes during secondary cell wall biogenesis in a cotton mutant, *Ligon lintless-1 (Li-1)*. *Comp Funct Genomics*, 2009, 2009: 659301
- 44 Zhao P M, Wang L L, Han L B, et al. Proteomic identification of differentially expressed proteins in the ligon lintless mutant of upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *J Proteome Res*, 2009, 9: 1076–1087
- 45 张美玲, 宋宪亮, 孙学振, 等. 彩色棉纤维分化及色素沉积过程观察. 作物学报, 2011, 37: 1280–1288
- 46 Han L B, Li Y B, Wang H Y, et al. The dual functions of WLIM1a in cell elongation and secondary wall formation in developing cotton

fibers. *Plant Cell*, 2013, 25: 4421–4438

47 Xu X, Wu M, Zhao Q, et al. Designing and transgenic expression of melanin gene in tobacco trichome and cotton fiber. *Plant Biol*, 2007, 9: 41–48

Flavonoid Pathway in Cotton Fiber Development

TU LiLi, TAN JiaFu, GUO Kai, LI ZhongHua & ZHANG XianLong

National Key Laboratory of Crop Genetic Improvement, College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Cotton fiber is the most important natural fiber. Development of colorful cotton varieties with super quality has always been an important goal of cotton genetics and breeding research. Flavonoids that are associated with the formation of pigment are important plant secondary metabolites. In this review, we describe the advances of flavonoid pathway in cotton fiber: brown pigments in cotton fiber may mainly belong to proanthocyanidins. The flavonoid pathway is down-regulated in white cotton with domestication process, but in white cotton, gene expression profiling data show that genes involved in flavonoid pathway are still very active in fiber development. It was generally believed that flavonoids negatively correlated with fiber quality, naringenin and dihydrokaempferol may inhibit the development of fiber. Flavonoid metabolism and lignin metabolism have common metabolic precursors and genes involved in lignin metabolism are also very active in fiber development, and effective regulation of the metabolism of flavonoids, meanwhile coordinating lignin metabolism, may contribute to fiber development.

cotton, fiber, flavonoids, colored cotton

doi: 10.1360/052014-89