

茉莉酸和乙烯对巴西橡胶树橡胶生物合成的拮抗作用

杨署光¹, 晁金泉^{1,2,3}, 李 言⁴, 吴绍华^{1,2,3}, 张世鑫^{1,2,3}, 邓小敏¹, 史敏晶¹, 田维敏^{4*}

1. 中国热带农业科学院橡胶研究所/农业农村部橡胶树生物学与遗传资源利用重点实验室/省部共建国家重点实验室培育基地—海南省热带作物栽培生理学重点实验室, 海南海口 571101; 2. 中国热带农业科学院三亚研究院, 海南三亚 572000; 3. 热带作物生物育种全国重点实验室, 海南三亚 572000; 4. 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南西双版纳 666303

摘 要: 基于乙烯利(一种乙烯释放剂)刺激采胶可以显著增加每刀次的胶乳产量, 以往认为橡胶生物合成主要受乙烯正调控。基于茉莉酸信号在促进植物次生代谢物质的生物合成中所起的关键作用, 茉莉酸信号也被认为在天然橡胶生物合成的正反馈调节中起作用。最近的研究表明, 割胶促进橡胶树合成天然橡胶与激活乳管细胞的茉莉酸信号途径密切相关。然而, 茉莉酸信号途径和乙烯信号途径在橡胶生物合成调控过程中是否存在交互作用仍然不清楚。为此, 本研究用茉莉酸甲酯和乙烯处理短期停割树, 以 ^{13}C -MVA 为底物测定全胶乳和小橡胶粒子的体外橡胶生物合成效率, 用 qPCR 技术分析茉莉酸甲酯和乙烯处理条件下 4 个茉莉酸信号途径关键环节基因 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbMYC1*、*HbMYC2*, 4 个乙烯-响应元件结合因子(ERFs)基因 *HbERF IIIa*、*HbERF VIIa*、*HbERF IXc*、*HbERF Xa*, 4 个橡胶生物合成关键蛋白基因 *HbHMGR1*、*HbSRPP1*、*HbREF1*、*HbHRT2* 在萌条乳管细胞中的表达。结果表明: 外源茉莉酸甲酯处理显著上调橡胶树乳管细胞中茉莉酸信号途径关键环节基因 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbMYC1*、*HbMYC2* 和橡胶生物合成关键蛋白基因 *HbHMGR1*、*HbSRPP1*、*HbREF1*、*HbHRT2* 的表达水平, 促进橡胶生物合成, 但对乙烯-响应元件结合因子基因 *HbERF IIIa*、*HbERF VIIa*、*HbERF IXc*、*HbERF Xa* 的表达影响甚微, 甚至抑制它们的表达。相反, 外源乙烯处理显著上调橡胶树乳管细胞中乙烯-响应元件结合因子基因 *HbERF IIIa*、*HbERF VIIa*、*HbERF IXc*、*HbERF Xa* 的表达水平, 但对茉莉酸信号途径关键环节基因 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbMYC1*、*HbMYC2* 和橡胶生物合成关键蛋白基因 *HbHMGR1*、*HbSRPP1*、*HbREF1*、*HbHRT2* 的表达影响甚微, 甚至抑制它们的表达, 抑制橡胶生物合成。结果证明了茉莉酸和乙烯对巴西橡胶树橡胶生物合成的拮抗作用, 将为阐明茉莉酸信号和乙烯信号的增产机理供理论依据。

关键词: 巴西橡胶树; 茉莉酸甲酯; 乙烯; 生物合成; 拮抗作用

中图分类号: S59 文献标志码: A

Antagonistic Effects of Jasmonic Acid and Ethylene on Rubber Biosynthesis in *Hevea brasiliensis*

YANG Shuguang¹, CHAO Jinquan^{1,2,3}, LI Yan⁴, WU Shaohua^{1,2,3}, ZHANG Shixin^{1,2,3}, DENG Xiaomin¹, SHI Minjing¹, TIAN Weimin^{4*}

1. Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Rubber Tree, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / State Key Laboratory Incubation Base for Cultivation & Physiology of Tropical Crops, Haikou, Hainan 571101, China; 2. Institute of Sanya Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Sanya, Hainan 572000, China; 3. National Key Laboratory for Tropical Crop Breeding, Sanya, Hainan 572000, China; 4. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Xishuangbanna, Yunnan 666303, China

Abstract: Based on the fact that ethephon (an ethylene releaser) stimulation can significantly increase latex yield per

收稿日期 2024-07-12; 修回日期 2024-08-27

基金项目 海南省自然科学基金项目 (No. 321MS0806); 云南省重大科技专项计划项目 (No. 202402AE09001901); 海南省重点研发计划项目 (No. ZDYF2022XDNY252)。

作者简介 杨署光 (1982—), 男, 硕士, 副研究员, 研究方向: 橡胶树乳管发育及橡胶生物合成调控。*通信作者 (Corresponding author): 田维敏 (TIAN Weimin), E-mail: tianweimin@xtbg.ac.cn。

tapping, it is traditionally believed that rubber biosynthesis is positively regulated by ethylene. Based on the critical role of jasmonic acid signaling in promoting the biosynthesis of secondary metabolites in plants, jasmonic acid signaling is also thought to play a role in the positive feedback regulation of natural rubber biosynthesis. Recent studies suggest that tapping-enhanced rubber biosynthesis is closely related to the activation of jasmonate signaling in laticifer cells of rubber tree. However, it remains unclear whether there is a crosstalk between the jasmonic acid signaling pathway and the ethylene signaling pathway in the regulation of rubber biosynthesis. For this purpose, in the present study, *in vitro* rubber biosynthesis efficiency of whole latex and small rubber particles (SRPs) from short rested trees treated by either methyl jasmonates or ethylene were detected by using substrate ^{13}C -MVA. qPCR was used to analyze the expression of four jasmonic acid signaling genes, *HbCOI1*, *HbJAZ1*, *HbMYC1*, *HbMYC2*, four ethylene-responsive element binding factors (ERFs) genes *HbERF IIIa*, *HbERF VIIa*, *HbERF IXc*, *HbERF Xa*, four rubber biosynthesis genes, *HbHMGR1*, *HbSRPP1*, *HbREF1*, *HbHRT2* in laticifer cells after epicormic shoots were treated with either methyl jasmonates or ethylene. The results showed that exogenous methyl jasmonate treatment significantly up-regulated the expression levels of jasmonic acid signaling genes *HbCOI1*, *HbJAZ1*, *HbMYC1*, *HbMYC2*, and rubber biosynthetic protein genes *HbHMGR1*, *HbSRPP1*, *HbREF1*, *HbHRT2* in laticifer cells of rubber tree, and promoted rubber biosynthesis, but had little effect on the expression of ethylene-responsive element binding factor genes *HbERF IIIa*, *HbERF VIIa*, *HbERF IXc*, *HbERF Xa*, or even inhibited the expression. On the contrary, exogenous ethylene treatment significantly up-regulated the expression levels of ethylene-responsive element binding factor genes *HbERF IIIa*, *HbERF VIIa*, *HbERF IXc*, *HbERF Xa* in laticifer cells of rubber tree, but had little effect on the expression of jasmonic acid signaling genes *HbCOI1*, *HbJAZ1*, *HbMYC1*, *HbMYC2* and rubber biosynthetic protein genes *HbHMGR1*, *HbSRPP1*, *HbREF1*, *HbHRT2* or even inhibited the expression and rubber biosynthesis. The results suggest that there exists an antagonistic effects of jasmonic acid and ethylene on rubber biosynthesis in *H. brasiliensis*, which would provide a theoretical basis for elucidating the crosstalk of jasmonic acid signaling and ethylene signaling on regulation of natural rubber production.

Keywords: *Hevea brasiliensis* Muell. Arg.; methyl jasmonates; ethylene; biosynthesis; antagonism

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.01.001

巴西橡胶树 (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg) 的胶乳主要是由树干中的次生乳管合成和贮藏^[1]。次生乳管数量的多少与胶乳的产量密切相关^[2-3]。生产中通过割胶, 即机械伤害切割树皮中的乳管使胶乳流出 (即排胶), 从而收集胶乳制备天然橡胶 (nature rubber, NR)。因此, 乳管数量、排胶时间和 2 次割胶之间的胶乳再生 (包括天然橡胶生物合成) 是天然橡胶产量的 3 个主要限制因素^[3]。外源茉莉酸甲酯 (methyl jasmonates, MeJA) 能促进橡胶树的次生乳管分化^[4]。乙烯 (ethylene, ET) 对橡胶树的次生乳管分化无影响^[5], 但乙烯利 (一种乙烯释放剂) 刺激能显著延长每刀次割胶的排胶时间^[6]。茉莉酸和乙烯对橡胶生物合成的效应仍存在争议, 基于乙烯利刺激采胶可以显著增加每刀次的胶乳产量, 以往认为橡胶生物合成主要受乙烯正调控^[7], 基于茉莉酸信号在促进植物次生代谢物质的生物合成中所起的关键作用, 茉莉酸信号也被认为在天然橡胶生物合成的正反馈调节中起作用^[8-10]。最近的研究表明, 割胶促进橡胶树合成天然橡胶与激活乳管细胞的茉莉酸信号途径密切相关^[11]。然而, 茉莉酸信号途径和乙烯

信号途径在橡胶生物合成调控过程中是否存在交互作用仍然不清楚。

割胶促进胶乳再生是生产上的一个熟知的事实^[12], 在有伤口存在的情况下外施茉莉酸^[4, 11]和乙烯^[13]能成功激活橡胶树对茉莉酸和乙烯的响应。因此, 对割胶树作适当停割并结合外源茉莉酸甲酯和乙烯处理是研究茉莉酸和乙烯对巴西橡胶树橡胶生物合成效率的影响的可行方案。利用该系统, 本研究以 ^{13}C -MVA (mevalonolactone-2- ^{13}C) 为底物, 评价茉莉酸和乙烯对全胶乳 (latex) 和小橡胶粒子 (small rubber particles, SRPs) 的体外橡胶生物合成效率的影响。橡胶生物合成效率的变化必然涉及到橡胶生物合成关键蛋白基因表达的改变, 考虑到基因表达的变化更灵敏以及为避免机械伤害和割胶诱导的内源茉莉酸^[4, 11]和乙烯^[14]对试验结果的干扰, 在无伤害的条件下研究外源茉莉酸和乙烯对橡胶生物合成关键蛋白基因表达的影响是比较稳妥的策略。基于此, 本研究用外源茉莉酸甲酯和乙烯处理一年生橡胶树稳定期萌条的节间, 用 qPCR 技术分析茉莉酸甲酯和乙烯处理条件下相关基因在萌条乳管细胞中的表达。

有效的 MeJA 和 ET 处理能激活橡胶树乳管细胞中的 JA 信号途径^[11]和 ET 信号途径^[13], 因此, 分别通过检测 4 个茉莉酸信号途径关键环节蛋白冠菌素不敏感 1 HbCOI1 (coronatine insensitive 1, COI1)、茉莉酸 ZIM 结构域蛋白 HbJAZ1 (jasmonate ZIM-domain, JAZ)、髓细胞组织增生蛋白 (myelocytomatosis proteins, MYC)HbMYC1、HbMYC2, 4 个乙烯 - 响应元件结合因子 *HbERF IIIa*、*HbERF VIIa*、*HbERF IXc*、*HbERF Xa* 基因 (ethylene-responsive element binding factors, ERFs) 的表达变化检验外源茉莉酸甲酯和乙烯处理的有效性, 进一步分析外源茉莉酸甲酯和乙烯处理对 4 个橡胶生物合成关键蛋白 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 (3-Hydroxy-3-Methylglutaryl coenzyme A reductase, HMGR) HbHMGR1、小橡胶粒子膜蛋白 (small rubber particle protein, SRPP) HbSRPP1、橡胶延伸因子 (rubber elongation factor, REF) HbREF1、橡胶转移酶 (*Hevea brasiliensis* rubber transferase, HRT) *HbHRT2* 基因表达的影响。旨在为阐明茉莉酸和乙烯的增产机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以生产中按照 S/2·d3 的割胶制度割胶的八年生橡胶树无性系 CATAS7-33-97 为材料, 在第二割年的 5—10 月割胶后, 于 11 月初选取 12 株大小、长势基本一致的橡胶树开展试验。

1.2 方法

1.2.1 胶乳体外橡胶生物合成效率测定 每株树为 1 个生物学重复。将其中的 9 株停割 15 d, 在第 15 天上午, 用 0.5% 的乙烯处理 3 株停割树 (Rested-ET), 用 0.07% 的茉莉酸甲酯处理 3 株停割树 (Rested-MeJA), 3 株停割树作为停割对照 (Rested-CK), 3 株正常割胶 (Tapped)。处理 3 d 后割胶采集胶乳。冰浴收集前 2 min 流出的胶乳。取一部分胶乳在 4 ℃、10 000 r/min 条件下离心 15 min, 取中层的 C-乳清 (含小橡胶粒子), 用 0.45 μm 的针头过滤器过滤, 收集滤液获得小橡胶粒子。以 ¹³C-MVA (mevalonolactone-2-¹³C) (Sigma Aldrich, Lot#MBBB5201V) 为底物, 以 PDB (Pee Dee Belemnite) 为标准品, 参考已报道的方法^[11]测定全胶乳和小橡胶粒子的体外橡胶生物合成效率, 测定结果以 NR 样品的 C 稳定性同

位素组成 δ¹³C (‰) 表示。

1.2.2 基因表达分析 以大小、长势、物候期基本一致的 CATAS7-33-97 无性系一年生橡胶树稳定期萌条为材料, 分别以 0.05% 乙烯水溶液 (ET)、含 0.07% 茉莉酸甲酯的 7.14% 乙醇溶液 (MeJA)、7.14% 乙醇溶液 (EtOH) 处理顶蓬节间, 对照 (CK) 不作任何处理。分别在处理后 2 h、6 h、1 d、3 d、5 d, 用刀片切割韧皮部采胶, 每个时间点收集 5 株的混合样, 用于提取胶乳总 RNA。根据报道的 cDNA 序列^[13]设计 4 个乙烯-响应元件结合因子 (ERFs) 基因的 qPCR 引物, *HbERF IIIa* (scaffold-0026_3462933, F: 5'-CGCATTTGGCTTGGGAGT-TATG-3', R: 5'-CAAGTTCAGGGAAGTTGAGG-TG-3'), *HbERF VIIa* (scaffold0566_721951, F: 5'-CGTACCAGCACCGCAAACAT-3', R: 5'-CTCG-GGCTCCAATCCCAGA-3'), *HbERF IXc* (scaffold-1015_293137, F: 5'-ACAGAGGTGTTAGGAGGC-GT-3', R: 5'-GCAGCTTGGTCTATAAGCCAGA-3'), *HbERF Xa* (scaffold0246_1294475, F: 5'-CC-GCATAAAGCAGCAAGAGTC-3', R: 5'-CGGTT-GAAGACCGATAGGGAT-3')。胶乳总 RNA 的提取、cDNA 合成、4 个茉莉酸信号途径关键环节基因 *HbCOI1* (EU136026)、*HbJAZ1* (GQ369508)、*HbMYC1* (GU434304)、*HbMYC2* (HM061097), 4 个橡胶生物合成关键基因 *HbHMGR1* (X54659)、*HbSRPP1* (AJ223388.1)、*HbREF1* (AY430052)、*HbHRT2* (AB064661) 的 qPCR 引物合成、qPCR 基因表达分析方法与先前的报道^[15-16]一致。根据 $Q=2^{-\Delta Cq}=2^{\min Cq-sample-Cq}$ 计算基因的表达值 (Q), 以 *Hb18S* (AY435212.1) 作为内参基因, 根据 $E=Q_{目的基因}/Q_{内参基因}$ 分析目的基因的相对表达值 (E)。

1.3 数据处理

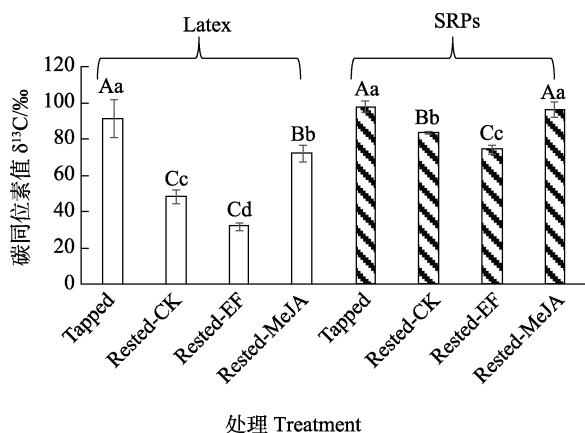
采用 Excel 2021 软件进行数据整理, NR 的碳同位素值 δ¹³C 和基因相对表达量为平均数±标准偏差, 使用 SPSS 17.0 软件的 Duncan (D) 检验进行单因素方差分析。

2 结果与分析

2.1 MeJA 和 ET 对体外橡胶生物合成效率的影响

用外源 MeJA 和 ET 处理停割 15 d 的割胶树, 处理 3 d 后割胶采集胶乳, 以 ¹³C-MVA 为底物, 评价 MeJA 和 ET 对全胶乳和小橡胶粒子体外橡胶生物合成效率的影响。结果表明, 在第二割年,

按 S/2·d3 的割胶制度割胶 60 刀左右以后, 割胶树 (Tapped) 的橡胶生物合成效率处于较高水平, 并且胶乳 (latex) 和小橡胶粒子 (SRPs) 的橡胶生物合成效率水平相当, 说明由于胶乳的大量流失, 胶乳的合成和积累跟不上排胶, 橡胶粒子的发育不充分, 此时胶乳中的橡胶粒子以 SRPs 为主, 橡胶生物合成活跃; 短期停割后 (Rested) 胶乳和 SRPs 的橡胶生物合成效率显著低于割胶树, 与停割树相比, ET 处理抑制而 MeJA 处理促进胶乳和 SRPs 的橡胶生物合成效率 ($P>0.05$), 无论是胶乳还是 SRPs, MeJA 处理的橡胶生物合成效率均显著高于 ET 处理, MeJA 处理的 SRPs 的橡胶生物合成效率甚至提高到割胶树的水平。上述结果表明, JA 促进橡胶树的橡胶生物合成, 而 ET 抑制橡胶树的橡胶生物合成 (图 1)。



不同大写字母表示组间差异极显著 ($P<0.01$);
不同小写字母表示组间差异显著 ($P<0.05$)。
Different capital letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$); Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 1 MeJA 和 ET 处理对 latex 和 SRPs 体外橡胶生物合成效率的影响

Fig. 1 Effects of MeJA and ET treatment on *in vitro* rubber biosynthesis efficiency of latex and SRPs

2.2 MeJA 和 ET 对胶乳中茉莉酸信号途径基因表达的影响

用外源 MeJA 和 ET 处理一年生橡胶树稳定期萌条的节间。以 18S 基因为内参, qPCR 分析 MeJA、ET 对胶乳中 4 个茉莉酸信号途径关键基因 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbMYC1*、*HbMYC2* 表达的影响 (图 2)。结果表明, EtOH (MeJA 的溶剂) 处理对 *HbJAZ1* 的基因表达几乎无影响, 对 *HbMYC2* 的基因表达无明显的规律, 对 *HbCOI1*、*HbMYC1* 的基因表达有一定的上调效应。ET 处理

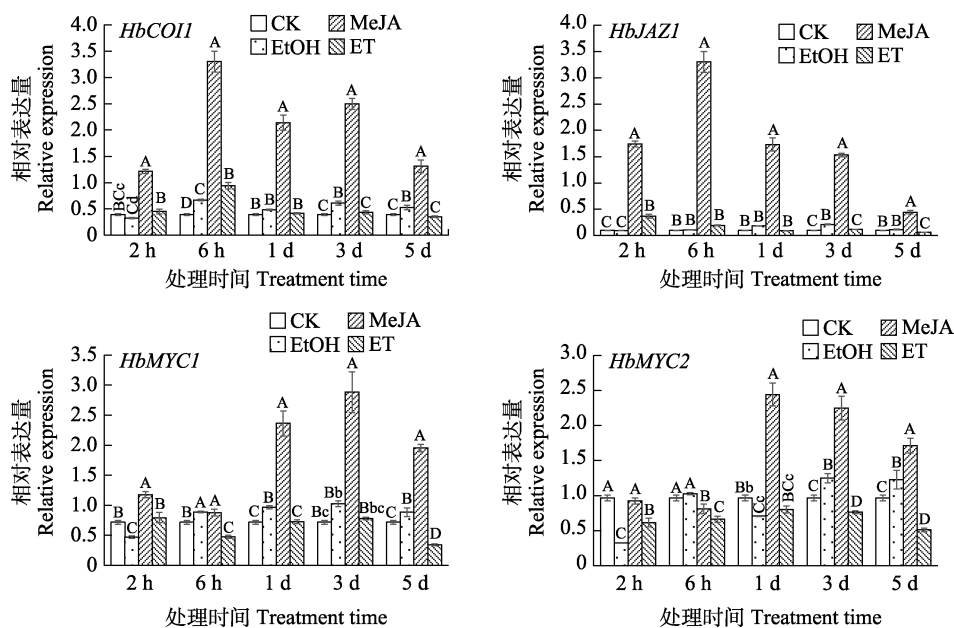
对 *HbCOI1*、*HbJAZ1* 基因的表达有一定的上调作用, 对 *HbMYC1* 基因的表达无明显的规律, 对 *HbMYC2* 基因的表达有明显的下调作用。MeJA 显著上调 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbMYC1*、*HbMYC2* 基因的表达, 呈现出敏感持续高表达 (*HbCOI1*、*HbJAZ1*) 或持续高表达 (*HbMYC1*、*HbMYC2*) 的趋势, 几乎在所有时间点, MeJA 处理的基因表达水平均显著高于 EtOH 和 ET 处理。这些结果表明, 在无伤害的条件下, 外源 MeJA 处理能有效激活橡胶树乳管细胞中的 JA 信号途径, 而外源 ET 处理对橡胶树乳管细胞中 JA 信号途径的活化影响甚微。

2.3 MeJA 和 ET 对胶乳中乙烯-响应元件结合因子 (ERFs) 基因表达的影响

用外源 ET 和 MeJA 处理一年生橡胶树稳定期萌条的节间。以 18S 基因为内参, qPCR 分析 ET、MeJA 对胶乳中 4 个乙烯-响应元件结合因子 (ERFs) 基因 *HbERF IIIa*、*HbERF VIIIa*、*HbERF IXc*、*HbERF Xa* 表达的影响 (图 3)。结果表明, EtOH 处理对 *HbERF IIIa*、*HbERF IXc* 基因的表达有一定的上调效应, 对 *HbERF VIIIa* 基因的表达无明显的规律, 对 *HbERF Xa* 基因的表达有一定的下调效应。MeJA 处理对 *HbERF IIIa*、*HbERF IXc*、*HbERF Xa* 基因的表达水平有一定的促进作用, 对 *HbERF VIIIa* 基因的表达水平有一定的抑制作用。ET 显著上调 *HbERF IIIa*、*HbERF VIIIa*、*HbERF IXc*、*HbERF Xa* 基因的表达, 呈现出瞬时超高表达的特点, ET 处理的最高表达水平均显著高于 MeJA 和 EtOH 处理。这些结果表明, 在无伤害的条件下, 外源 ET 处理能有效激活橡胶树乳管细胞中的 ET 信号途径, 而外源 MeJA 处理对橡胶树乳管细胞中 ET 信号途径的活化影响甚微。

2.4 MeJA 和 ET 对胶乳中橡胶生物合成基因表达的影响

进一步用 qPCR 分析 MeJA、ET 对胶乳中 4 个橡胶生物合成关键基因 *HbHMGR1*、*HbSRPP1*、*HbREF1* 和 *HbHRT2* 表达的影响 (图 4)。结果表明, EtOH 处理 6h 对 *HbHMGR1*、*HbSRPP1*、*HbREF1* 和 *HbHRT2* 基因的表达均有一定的上调作用, 这种作用在 *HbHMGR1* 和 *HbSRPP1* 中持续时间更长。ET 处理 2h 对 *HbHMGR1*、*HbSRPP1*、*HbREF1* 和 *HbHRT2* 基因的表达均有一定的上调作用, 但 ET 处理 5 d 后 4 个基因的表达均明显下

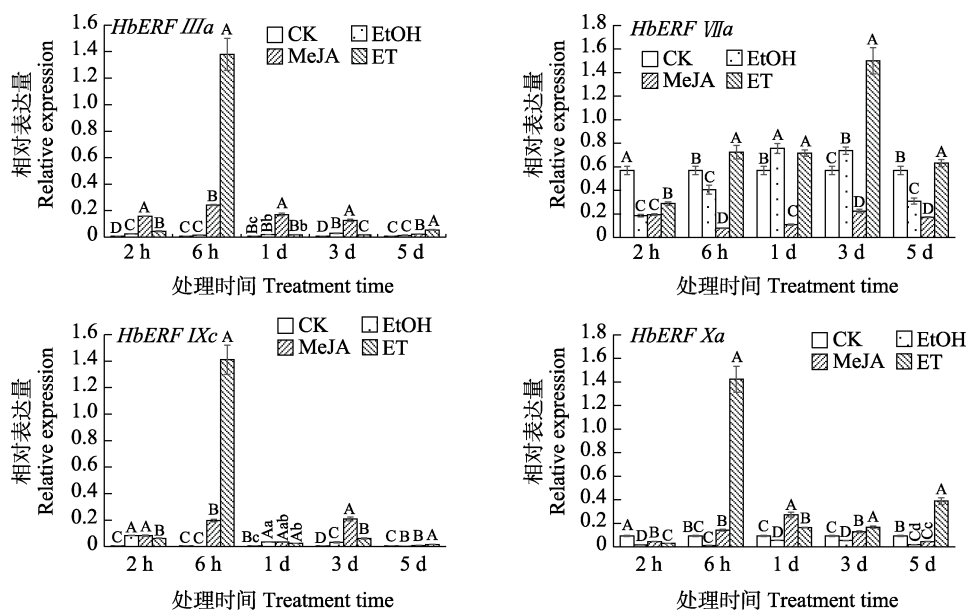


不同大写字母表示组间差异极显著 ($P<0.01$), 不同小写字母表示组间差异显著 ($P<0.05$)。

Different capital letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$), different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 2 MeJA 和 ET 处理对胶乳中茉莉酸信号途径基因表达的影响

Fig. 2 Effects of MeJA and ET treatment on expression of jasmonate signaling pathway genes in latex



不同大写字母表示组间差异极显著 ($P<0.01$), 不同小写字母表示组间差异显著 ($P<0.05$)。

Different capital letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$), different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

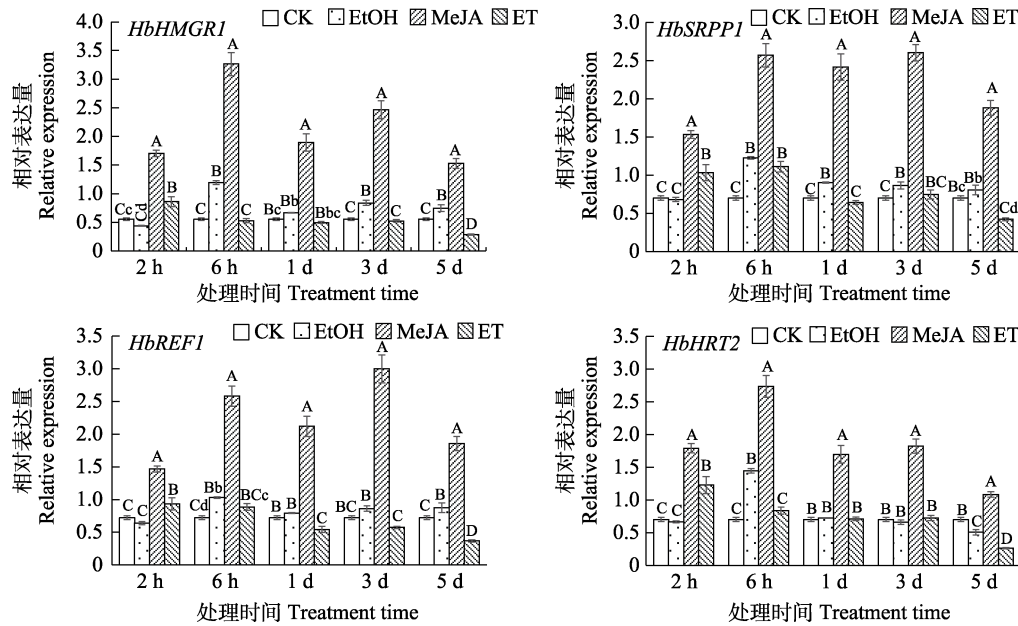
图 3 MeJA 和 ET 处理对胶乳中 ERFs 基因表达的影响

Fig. 3 Effects of MeJA and ET treatment on expression of ERFs genes in latex

调。MeJA 显著上调 *HbHMGR1*、*HbSRPP1*、*HbREF1* 和 *HbHRT2* 基因的表达, 呈现出敏感持续高表达的趋势, 在所有时间点, MeJA 处理的基因表达水平均显著高于 EtOH 和 ET 处理。这些结果表明, JA 信号参与橡胶树橡胶生物合成的转录调节, 而 ET 信号在此过程中并不起主要作用。

3 讨论

COI1、JAZ 和 MYC 是茉莉酸信号传导途径的 3 个核心环节^[17], 割胶上调乳管细胞中茉莉酸生物合成关键酶 *HbLOX* 的基因表达^[18], 促进内源茉莉酸的合成和积累^[11, 19], 上调茉莉酸信号途径基因 *HbCOI1*、*HbJAZs*、*HbMYCs* 和橡胶生物



不同大写字母表示组间差异极显著 ($P < 0.01$), 不同小写字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different capital letters indicate extremely significant difference ($P < 0.01$), different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 4 MeJA 和 ET 处理对胶乳中橡胶生物合成基因表达的影响

Fig. 4 Effects of MeJA and ET treatment on expression of genes related to rubber biosynthesis in latex

合成关键蛋白基因 *HbFPS1*、*HbHRT1*、*HbHRT2*、*HbREF*、*HbSRPP1* 的表达^[11, 20], 增加 *HbFPS1* 和 *HbSRPP1* 蛋白的含量^[11], 促进橡胶生物合成^[11, 20]。茉莉酸处理上调胶乳中茉莉酸信号途径基因 (*COI1*、*JAZ*、*MYC*) 的表达^[11, 21-22], 表明乳管细胞可以响应茉莉酸信号; 而且茉莉酸上调橡胶生物合成相关基因的表达^[11, 20], 显著上调 *HbHMGR1* 正调控因子 *HbCZF1* 的基因表达^[23], 但对 *HbSRPP1* 负调控因子 *HbWRKY1* 的基因表达几乎无影响^[24], 促进橡胶生物合成^[11]。*HbCOI1* 与 *HbJAZs*、*HbJAZs* 与 *HbJAZs*、*HbJAZs* 与 *HbMYCs*、*HbMYCs* 与 *HbMYCs* 蛋白之间能广泛地发生互作^[20, 25], 而且 *HbMYCs* 是 *HbREF*、*HbSRPP*、*HbHRT2* 等橡胶生物合成关键蛋白的转录因子^[20, 26], *HbJAZ1* 和 *HbJAZ3* 与 *HbSRPP1*^[27-28] 蛋白也能相互作用。在缺乏 *COR* (JA 类似物) 时, *HbJAZ3* 蛋白与 *HbMYC2a* 互作, 抑制 *HbMYC2a* 对橡胶生物合成关键蛋白 *HbSRPP1* 和 *HbFPS1* 基因的转录激活^[11]。在 *COR* 存在的条件下, *HbJAZ3* 与 *HbCOI1* 结合, 释放出的 *HbMYC2a* 转录激活橡胶生物合成关键蛋白 *HbSRPP1* 和 *HbFPS1*^[11]。乳管细胞中的茉莉酸信号转导途径 *HbCOI1*-*HbJAZ3*-*HbMYC2*-*HbFPS1*/*HbSRPP1* 直接证明了茉莉酸对天然橡胶生物合成的调控^[11]。

基于乙烯利刺激割胶可以显著增加每刀次的

胶乳产量, 以往认为橡胶生物合成主要受乙烯促进^[7]。虽然割胶会诱导橡胶树乳管细胞内源乙烯的合成^[14], 但乳管细胞中乙烯生物合成基因的表达远低于其他组织^[13, 29], 这可能是由于乳胶的低氧条件不能满足乙烯生物合成对氧气的需求^[2, 30], 导致乙烯合成能力较弱。在乙烯处理后, 胶乳中乙烯信号通路 (*ETR*、*CTR1*、*EIN2* 和 *EIN3/EIL1*)^[13, 31-32] 及乙烯响应因子 (*ERFs*)^[13] 基因表达受影响, 表明乳管细胞可以响应乙烯信号。然而, 乙烯处理后乳管中的差异表达基因 (DEGs) 不包括橡胶生物合成相关基因^[13], 施用乙烯对橡胶生物合成相关基因的表达几乎无影响^[33-36]; 乙烯上调 *HbSRPP1* 负调控转录因子 *HbWRKY1*^[24]、*HbMADS4*^[37] 的基因表达, 下调 *HbSRPP1* 的基因表达^[24], 而对 *HbHMGR1* 正调控因子 *HbCZF1* 的基因表达影响很小^[23], 甚至降低 *REF* 和 *SRPP* 蛋白的含量^[38], 抑制橡胶生物合成^[11]。虽然 *HbFPS1* 和 *HbSRPP1* 基因的启动子含有乙烯响应元件, 但胶乳中高丰度表达的 *HbEIN3* 基因 (*KR013139*)^[39] 对 *HbFPS1* 和 *HbSRPP1* 基因的转录几乎无影响^[11]。因此, 乙烯信号本身在激活橡胶生物合成方面可能并不起直接作用。生产上使用乙烯刺激能显著地提高单次割胶的橡胶产量, 主要是延长了排胶持续时间^[6], 同时增强了蔗糖分配^[40]、乳管细胞内的水份运输^[41]、糖酵解

和 C_3 循环固碳能力^[35]。

在本研究中, MeJA 处理上调茉莉酸信号途径相关基因 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbMYC1*、*HbMYC2* 和橡胶生物合成关键蛋白基因 *HbHMGR1*、*HbSRPP1*、*HbREF1*、*HbHRT2* 的表达, 可能是 MeJA 促进橡胶粒子将 ^{13}C -MVA 中的 ^{13}C 高效掺入 NR 中的原因之一。ET 处理激活 ET-响应元件结合因子 (ERFs) 基因的表达, 但对橡胶生物合成关键蛋白基因 *HbHMGR1*、*HbSRPP1*、*HbREF1*、*HbHRT2* 及其转录调节相关基因 *HbCOI1*、*HbJAZ1*、*HbMYC1*、*HbMYC2* 的表达无影响, 可能是 ET 抑制 latex 和 SRPs 的体外橡胶生物合成效率的主要原因。

综上所述, 本研究进一步区分出 JA 和 ET 对橡胶树橡胶生物合成的直接影响, JA 促进橡胶树的橡胶生物合成, 而 ET 抑制橡胶树的橡胶生物合成。研究结果为深入研究橡胶树橡胶生物合成调控机制提供参考资料, 为阐明茉莉酸信号和乙烯信号的增产机理提供理论依据。

参考文献

- [1] 田维敏, 史敏晶, 谭海燕, 吴继林, 郝秉中. 橡胶树树皮结构与发育[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
TIAN W M, SHI M J, TAN H Y, WU J L, HAO B Z. Bark structure and development of *Hevea brasiliensis*[M]. Beijing: Science Press, 2015. (in Chinese)
- [2] D'AUZAC J, JACOB J L, CHRESTIN H. Physiology of rubber tree latex: the laticiferous cell and latex—a model of cytoplasm[M]. Boca Raton: CRC Press, 1989.
- [3] 郝秉中, 吴继林. 巴西橡胶树乳管生物学与胶乳生产[J]. 热带作物学报, 2004, 25(4): 1-7.
HAO B Z, WU J L. Biology of laticifer in *Hevea* and latex production[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2004, 25(4): 1-7. (in Chinese)
- [4] TIAN W M, YANG S G, SHI M J, ZHANG S X, WU J L. Mechanical wounding-induced laticifer differentiation in rubber tree: an indicative role of dehydration, hydrogen peroxide, and jasmonates[J]. Journal of Plant Physiology, 2015, 182: 95-103.
- [5] 刘惠芳, 吴继林, 郝秉中. 茉莉酸和其它激素对巴西橡胶树乳管分化的协同作用[J]. 热带作物学报, 2001, 22(3): 6-16.
LIU H F, WU J L, HAO B Z. Effect of jasmonic acid and other plant growth regulators on laticifer differentiation in *Hevea brasiliensis*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2001, 22(3): 6-16. (in Chinese)
- [6] SHI M J, CAI F G, TIAN W M. Ethrel-stimulated prolongation of latex flow in the rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.): a Hev b 7-like protein acts as a universal antagonist of rubber particle aggregating factors from laticifers and C-serum[J]. Journal of Biochemistry, 2016, 159(2): 209-216.
- [7] KUSH A. Isoprenoid biosynthesis: the *Hevea* factory![J]. Plant Physiology and Biochemistry, 1994, 32: 761-767.
- [8] PENG S Q, XU J, LI H L, TIAN W M. Cloning and molecular characterization of *HbCOI1* from *Hevea brasiliensis*[J]. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 2009, 73(3): 665-670.
- [9] TIAN W M, HUANG W F, ZHAO Y. Cloning and characterization of *HbJAZ1* from the laticifer cells in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)[J]. Trees, 2010, 24: 771-779.
- [10] ZHAO Y, ZHOU L M, CHEN Y Y, YANG S G, TIAN W M. MYC genes with differential responses to tapping, mechanical wounding, ethrel and methyl jasmonate in laticifers of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)[J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(14): 1649-1658.
- [11] DENG X M, GUO D, YANG S G, SHI M J, CHAO J Q, LI H L, PENG S Q, TIAN W M. Jasmonate signaling in regulation of rubber biosynthesis in laticifer cells of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)[J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69(15): 3559-3571.
- [12] PAARDEKOOPER E C. Exploitation of the rubber tree[M]//WEBSTER C C, BAULKWILL W J. Rubber. New York: Longman Scientific & Technical, 1989: 349-414.
- [13] TANG C R, YANG M, FANG Y J, GAO S H, XIAO X H, AN Z W, ZHOU B H, ZHANG B, TAN X Y, YEET YEANG-H, QIN Y X, YANG J H, LIN Q, MEI H L, MONTORO-P, LONG X Y, QI J Y, HUA Y W, HE Z L, SUN M, LI W J, ZENG X, CHENG H, LIU Y, YANG J, TIAN W M, ZHUANG N S, ZENG R Z, LI D J, HE P, LUO W, YU J, HU S N, HUANG H S. The rubber tree genome reveals new insights into rubber production and species adaptation[J]. Nature Plants, 2016, 2(6): 16073.
- [14] 邓军, 曹建华, 林秀琴, 喻时举, 林位夫. 热研 88-13 胶乳中乙烯释放量 GC 测定方法及其变化[J]. 热带作物学报, 2009, 30(8): 1051-1055.
DENG J, CAO J H, LIN X Q, YU S J, LIN W F. Determination of release rate in the latex of *Hevea* clone Reyan 88-13 by using gas chromatography[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2009, 30(8): 1051-1055. (in Chinese)
- [15] 杨署光, 陈月昇, 李言, 张世鑫, 张晓飞, 曾霞, 晁金泉, 田维敏. 天然橡胶生物合成相关基因表达与橡胶产量的相关性[J]. 热带作物学报, 2019, 40(3): 475-482.
YANG S G, CHEN Y Y, LI Y, ZHANG S X, ZHANG X F,

- ZENG X, CHAO J Q, TIAN W M. Correlation between the expression level of rubber biosynthesis genes and rubber yield[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(3): 475-482. (in Chinese)
- [16] 杨署光, 赵悦, 陈月昇, 李言, 张世鑫, 田维敏. 橡胶树茉莉酸信号途径相关基因表达与橡胶产量的相关性[J]. 广西植物, 2019, 39(5): 641-649.
- YANG S G, ZHAO Y, CHEN Y Y, LI Y, ZHANG S X, TIAN W M. Correlation between the expression level of genes related to jasmonate signaling and rubber yield[J]. Guihaia, 2019, 39(5): 641-649. (in Chinese)
- [17] CHINI A, BOTER M, SOLANO R. Plant oxylipins: COI1/JAZs/MYC2 as the core jasmonic acid-signalling module[J]. The FEBS Journal, 2009, 276(17): 4682-4692.
- [18] CHAO J Q, YANG S G, CHEN Y Y, TIAN W M. Transcript profiling of *Hevea brasiliensis* during latex flow[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1904.
- [19] 杨署光, 于俊红, 史敏晶, 陈月昇, 田维敏. 割胶、机械伤害和外源茉莉酸对橡胶树乳管细胞防卫蛋白基因表达的影响[J]. 热带作物学报, 2008, 29(5): 535-540.
- YANG S G, YU J H, SHI M J, CHEN Y Y, TIAN W M. Effects of tapping, mechanical wounding and exogenous jasmonates on the expression of genes encoding for defense proteins in the latex of *Hevea brasiliensis*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2008, 29(5): 535-540. (in Chinese)
- [20] 赵悦. 巴西橡胶树乳管细胞茉莉酸信号途径对橡胶生物合成调节的研究[D]. 海口: 海南大学, 2011.
- ZHAO Y. Involvement of jasmonate signaling pathway in regulating rubber biosynthesis in laticifer cells of *Hevea brasiliensis*[D]. Haikou: Hainan University, 2011. (in Chinese)
- [21] CHAO J Q, ZHAO Y, JIN J, WU S H, DENG X M, CHEN Y Y, TIAN W M. Genome-wide identification and characterization of the JAZ gene family in rubber tree (*Hevea brasiliensis*)[J]. Frontiers in Genetics, 2019, 10: 372.
- [22] ZHANG S X, WU S H, CHAO J Q, YANG S G, BAO J, TIAN W M. Genome-wide identification and expression analysis of MYC transcription factor family genes in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)[J]. Forests, 2022, 13: 531.
- [23] GUO D, YI H Y, LI H L, LIU C, YANG Z P, PENG S Q. Molecular characterization of HbCZF1, a *Hevea brasiliensis* CCCH-type zinc finger protein that regulates hmg1[J]. Plant Cell Reports, 2015, 34(9): 1569-1578.
- [24] WANG Y, GUO D, LI H L, PENG S Q. Characterization of HbWRKY1, a WRKY transcription factor from *Hevea brasiliensis* that negatively regulates HbSRPP[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 71: 283-289.
- [25] 王靖, 邓小敏, 田维敏. 巴西橡胶树乳管细胞 HbIMYC3 互作蛋白筛选与功能分析[J]. 热带作物学报, 2016, 37(7): 1312-1317.
- WANG J, DENG X M, TIAN W M. Screening and *in vitro* functional analysis of the HbIMYC3 interacted proteins in laticifer cell of *Hevea brasiliensis*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2016, 37(7): 1312-1317. (in Chinese)
- [26] 马弗明. 橡胶树顺式-异戊烯基转移酶基因转录因子的克隆及表达[D]. 海口: 海南大学, 2010.
- MA F M. Cloning and expression of transcription factor for cis-isopentenyl transferase gene from *Hevea brasiliensis*[D]. Haikou: Hainan University, 2010. (in Chinese)
- [27] 刘伟. 橡胶树 *HbJAZ1* 基因的互作蛋白筛选研究[D]. 海口: 海南大学, 2011.
- LIU W. Screen the proteins interacting with *HbJAZ1* of *Hevea brasiliensis*[D]. Haikou: Hainan University, 2011. (in Chinese)
- [28] 邓小敏, 王靖, 陈多坤, 吴绍华, 田维敏. 橡胶树乳管细胞 HbJAZ3 互作蛋白的分离鉴定[J]. 热带作物学报, 2018, 39(2): 287-292.
- DENG X M, WANG J, CHEN D K, WU S H, TIAN W M. Preliminary screening of candidate interactors of HbJAZ3 from *Hevea brasiliensis* laticifer by using yeast two-hybridization methods[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 39(2): 287-292. (in Chinese)
- [29] ZHU J H, XU J, CHANG W J, ZHANG Z L. Isolation and molecular characterization of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase genes in *Hevea brasiliensis*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2015, 16(2): 4136-4149.
- [30] YANG S F, HOFFMAN N E. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants[J]. Annual Review of Plant Physiology, 1984, 35: 155-189.
- [31] KLEE H J. Ethylene signal transduction moving beyond *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology, 2004, 135(2): 660-667.
- [32] YANG C, LU X, MA B, CHEN S Y, ZHANG J S. Ethylene signaling in rice and *Arabidopsis*: conserved and diverged aspects[J]. Molecular Plant, 2015, 8(4): 495-505.
- [33] OH S K, KANG H, SHIN D H, YANG J, CHOW K S, YEANG H Y, WAGNER B, BREITENEDER H, HAN K H. Isolation, characterization, and functional analysis of a novel cDNA clone encoding a small rubber particle protein from *Hevea brasiliensis*[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(24): 17132-17138.
- [34] ZHU J H, ZHANG Z L. Ethylene stimulation of latex production in *Hevea brasiliensis*[J]. Plant Signaling & Behavior, 2009, 4(11): 1072-1074.
- [35] LIU J P, ZHUANG Y F, GUO X L, LI Y J. Molecular mechanism of ethylene stimulation of latex yield in rubber

- tree (*Hevea brasiliensis*) revealed by de novo sequencing and transcriptome analysis[J]. BMC Genomics 2016, 17: 257.
- [36] NIE Z Y, KANG G J, DUAN C F, LI Y, DAI L J, ZENG R Z. Profiling ethylene-responsive genes expressed in the latex of the mature virgin rubber trees using cDNA microarray[J]. PLoS One 2016, 11(3): e0152039.
- [37] LI H L, WEI L R, GUO D, WANG Y, ZHU J H, CHEN X T, PENG S Q. HbMADS4, a MADS-box transcription factor from *Hevea brasiliensis*, negatively regulates HbSRPP[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7: 1709.
- [38] TONG Z, WANG D, SUN Y, YANG Q, MENG X R, WANG L M, FENG W Q, LI L, WURTELE E S, WANG X C. Comparative proteomics of rubber latex revealed multiple protein species of REF/SRPP family respond diversely to ethylene stimulation among different rubber tree clones[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(5): 958.
- [39] YANG Z P, LI H L, GUO D, PENG S Q. Identification and characterization of the EIN3/EIL gene family in *Hevea brasiliensis*[J]. Tree Genetics & Genomes, 2015, 11: 51.
- [40] TANG C R, HUANG D B, YANG J H, LIU S J, SAKR S, LI H P, ZHOU Y H, QIN Y X. The sucrose transporter HbSUT3 plays an active role in sucrose loading to laticifer and rubber productivity in exploited trees of *Hevea brasiliensis* (para rubber tree)[J]. Plant, Cell & Environment, 2010, 33(10): 1708-1720.
- [41] TUNGNGOEN K, KONGSAWADWORAKUL P, VIBOONJUN U, KATSUHARA M, BRUNEL N, SAKR S, NARANGAJAVANA J, CHRESTIN H. Involvement of HbP-IP2;1 and HbTIP1;1 aquaporins in ethylene stimulation of latex yield through regulation of water exchanges between inner liber and latex cells in *Hevea brasiliensis*[J]. Plant Physiology, 2009, 151(2): 843-856.