

## 茉莉酸甲酯对橡胶树花药愈伤乳管细胞分化的影响

郭子晗<sup>1,2</sup>, 谭德冠<sup>2\*</sup>, 黄东益<sup>1</sup>, 付莉莉<sup>2</sup>, 孙雪飘<sup>2</sup>, 张家明<sup>2\*</sup>

1. 海南大学热带作物学院, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院热带生物技术研究所/中国热带农业科学院海南热带农业资源研究院/农业农村部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室, 海南海口 571101

**摘要:** 橡胶树老化的愈伤组织存在乳管细胞。茉莉酸甲酯 (MeJA) 与茉莉酸 (JA) 同属茉莉酸类物质 (JAs), 但 MeJA 对橡胶树愈伤乳管细胞分化的效果尚不清楚。系统研究 MeJA 对橡胶树愈伤乳管细胞分化的效果, 结果发现, 低浓度的 MeJA (0~1 mg/L) 对花药愈伤组织的生长影响不明显, 而高浓度的 MeJA (2~3 mg/L) 会抑制愈伤组织生长, 且 MeJA 浓度与愈伤组织生长呈负相关关系。组织化学制片结果显示, 低浓度的 MeJA 能显著提高愈伤乳管细胞发生频率, 其中浓度为 1 mg/L 效果最佳; 而高浓度的 MeJA 则会降低其发生频率。荧光定量 PCR 结果显示, 培养基中添加 MeJA 后 *SRPP*、*REF*、*CPT* 等与橡胶生物合成相关的重要基因的表达量在愈伤组织中变化趋势与愈伤乳管细胞发生频率的变化趋势基本一致, 进一步证实 MeJA 能促进愈伤乳管细胞分化。透射电镜观察发现愈伤乳管细胞内含有橡胶粒子、黄色体等细胞器。研究结果对促进橡胶树愈伤组织在乳管分化研究中的应用, 以及开发新型橡胶树增产刺激剂, 促进橡胶树天然橡胶的生产具有一定意义。

**关键词:** 橡胶树; 愈伤组织; 乳管细胞分化; 茉莉酸甲酯; 基因表达

中图分类号: S794.1 文献标识码: A

## Effect of Methyl Jasmonate on Laticifer Cell Differentiation of *Hevea brasiliensis* Anther Calli

GUO Zihan<sup>1,2</sup>, TAN Deguan<sup>2\*</sup>, HUANG Dongyi<sup>1</sup>, FU Lili<sup>2</sup>, SUN Xuepiao<sup>2</sup>, ZHANG Jiaming<sup>2\*</sup>

1. College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Hainan Academy of Tropical Agricultural Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Tropical Crop Biology and Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou, Hainan 571101, China

**Abstract:** Laticifer cells present in aging calli of *Hevea brasiliensis*. Methyl jasmonate (MeJA) and jasmonic acid (JA) belong to jasmonates (JAs). However, the effect of MeJA on laticifer cell differentiation of the rubber tree anther calli is unclear. In the present paper, the effect of MeJA on laticifer cell differentiation of anther calli was systematically studied. MeJA added to media in the range of 0–1 mg/L did not influence the growth of anther calli, while higher concentration of MeJA in media in the range of 2–3 mg/L severely inhibited callus growth. MeJA concentration in media was negatively correlated with callus growth. Histochemical sections showed that low concentration of MeJA in media greatly promoted the differentiation of callus laticifer cells and remarkably increased the occurring frequency, while high concentration of MeJA in media gravely impeded callus laticifer cell differentiation and strikingly decreased the occurring frequency. Among them, 1 mg/L MeJA in media was the optimal concentration to improve the differentiation of laticifer cells in calli. qPCR results showed that when the media were supplemented with MeJA, the change trend of the expression level of genes that was essential in latex biosynthesis, such as small rubber particle protein (*SRPP*), rubber elongation factor (*REF*), and *cis*-prenyl transferase (*CPT*), was basically consistent with that of the occurring frequency of callus laticifer cells, which further confirmed that MeJA promoted the differentiation of callus laticifer cells. Transmis-

收稿日期 2022-03-01; 修回日期 2022-05-08

基金项目 国家重点研发计划项目 (No. 2019YFD1001102); 海南省自然科学基金项目 (No. 2019RC296, No. 322RC761)。

作者简介 郭子晗 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 橡胶树生物技术。\*通信作者 (Corresponding author): 谭德冠 (TAN Deguan), E-mail: tandeguan@itbb.org.cn; 张家明 (ZHANG Jiaming), E-mail: zhangjiaming@itbb.org.cn。

sion electron microscopy observation showed that callus laticifer cells contained some specific organelles, such as rubber particles and luteoids. The results of this paper are of great significance for promoting the application of rubber tree callus in the study of laticifer differentiation, and for developing rubber tree novel yield-increasing reagents.

**Keywords:** *Hevea brasiliensis* Muell. Arg.; callus; laticifer cell differentiation; methyl jasmonate; gene expression

**DOI:** 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.02.010

橡胶树 (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) 属于大戟科橡胶属, 是重要的热带经济作物, 在我国主要分布于海南、云南、广东等热带北缘地区<sup>[1]</sup>。乳管是橡胶树胶乳生物合成和贮存唯一场所, 是由无数个乳管细胞所组成的网状结构器官<sup>[2-3]</sup>。橡胶树树皮被定期开割, 树皮中被割开的乳管中会排出奶汁状的胶乳 (细胞质), 胶乳经收集和加工后, 成为重要的工业原料——天然橡胶 (顺-1,4-聚异戊二烯)。世界上 99% 的商品天然橡胶来源于橡胶树<sup>[4]</sup>。

由于树皮中乳管的数量是决定天然橡胶产量的最重要因素<sup>[5-6]</sup>, 为此许多学者聚焦于橡胶树乳管分化研究。大部分学者用大田植株枝条或树干的树皮作为研究对象, 通过外界物理或化学刺激来研究树皮乳管分化情况<sup>[7-9]</sup>。近期有学者以橡胶树愈伤组织为研究对象, 通过在培养基中添加化学物质来研究愈伤乳管分化情况<sup>[10]</sup>。

茉莉酸 (JA) 具有促进橡胶树乳管分化功能的这一发现是橡胶树乳管分化研究中取得的突破性进展。最初 HAO 等<sup>[7]</sup>发现外源 JA 能促进橡胶树枝条树皮乳管分化; TAN 等<sup>[10]</sup>也发现培养基中添加一定浓度的外源 JA 能促进橡胶树愈伤组织中乳管细胞分化。当前, 科研人员围绕 JA 调控橡胶树乳管分化的信号分子开展一系列研究并取得一定进展。*HbSKP1*、*HbCOI1*、*HbJA1*、*HbLAP1*、*HbIMYC1*、*HbIMYC2*、*HbEREBP1* 等与茉莉酸信号途径相关的基因被克隆出来<sup>[11-14]</sup>; 发现橡胶树乳管细胞存在特定的茉莉酸信号转导模块 COI1-JAZ3-MYC2, 其通过上调法尼基焦磷酸合酶 (*FPS*) 基因和小橡胶粒子蛋白 (*SRPP*) 基因的表达来增强橡胶生物合成<sup>[15]</sup>。

茉莉酸甲酯 (MeJA) 与 JA 同属茉莉酸类物质 (JAs), 但 MeJA 对橡胶树愈伤乳管细胞分化的效果尚不清楚。本研究将应用橡胶树愈伤组织来系统研究 MeJA 对乳管细胞分化的效果, 并研究其所调控橡胶合成相关基因表达情况, 对促进橡胶树愈伤组织在乳管分化研究中的应用, 以及开发新型橡胶树增产刺激剂从而促进橡胶树天然橡胶的生产具有一定意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

于 2021 年 3 月在中国热带农业科学院试验农场三队采集橡胶树品种 ‘热研 7-33-97’ 的春花, 将采集好的花枝立刻置于 4℃ 冰箱中保存 24~48 h, 备用。

### 1.2 方法

**1.2.1 橡胶树花药愈伤组织的诱导** 选取已低温处理过的处于单核期的橡胶树雄花, 包裹于纱布中, 于 75% (V/V) 酒精中浸泡 30 s, 然后置于 0.15% (W/V) 升汞中浸泡 8 min, 无菌水清洗 5 遍。于无菌条件下从雄花中剥离出雄蕊, 接种于相应的培养基中。

诱导花药愈伤组织培养基配方参考文献[16], 具体为改良 MS+2,4-D 1 mg/L+KT 1 mg/L+NAA 1 mg/L+8% (W/V) 蔗糖+2.5 g/L Phytagel。为了研究 MeJA 对花药愈伤组织乳管细胞分化的效果, 在诱导花药愈伤组织培养基中分别添加 0、1、2、3 mg/L 的 MeJA。上述的植物激素和 Phytagel 均购自 Sigma 公司。培养基 pH 为 6.2, 培养条件为 25℃ 黑暗条件。

**1.2.2 橡胶树花药愈伤组织鲜重测量** 取培养至第 65 天的不同 MeJA 浓度处理的愈伤组织块于电子天平中称重, 每个处理重复 20 次。

**1.2.3 组织化学法鉴定愈伤组织乳管细胞** 组织化学法参照田维敏等<sup>[17]</sup>的方法进行。取培养至第 65 天的不同 MeJA 浓度处理的愈伤组织于 70% (V/V) 酒精中固定 48 h, 酒精系列脱水, 冰醋酸过渡处理 4 h, 于 60℃ 下溴-碘染色液处理 48 h。冰醋酸浸洗 3 次, 每次 2 h; 无水酒精脱水 3 次, 每次 1 h; 正丁醇透明 3 次, 每次 2 h。材料被渗蜡、包埋后, 经莱卡滑走切片器切成 10 μm 厚的薄片。切片经二甲苯脱蜡、固绿染色、无水酒精脱水、二甲苯透明处理后, 再用中性树脂胶封片。光学显微镜下观察制备好的切片。

**1.2.4 愈伤组织乳管细胞分化频率** 光学显微镜下观察不同 MeJA 浓度处理的花药愈伤组织的组织化学切片, 每处理随机观察 30 个视野, 统计每

个视野中乳管细胞的分化频率。愈伤组织乳管细胞分化频率 = (乳管细胞数量/总细胞数量) × 100%。

1.2.5 荧光定量 PCR 分别取培养至第 65 天的不同 MeJA 浓度处理的愈伤组织, 采用北京天根生化科技有限公司的 RNAprep Pure 植物总 RNA 提取试剂盒(产品号:DP432)提取愈伤组织 RNA, 再用 Thermo Scientific 公司的 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒(产品号: #K1622)将愈伤组织总 RNA 反转录为第一链 cDNA。根据 TANG 等<sup>[18]</sup>报道的调控橡胶树橡胶生物合成的重要基因序列信息, 选取与橡胶合成密切相关的小橡胶粒子蛋白(*small rubber particle protein, SRPP*)基因的 4 个家族成员(*HbSRPP1*、*HbSRPP2*、*HbSRPP6*、*HbSRPP7*)、橡胶延伸因子(*rubber elongation factor, REF*)基因的家族成员 *HbREF1*、橡胶转移酶(*cis-Prenyl transferase,*

*CPT*) 基因的家族成员 *HbCPT6* 的序列设计引物(表 1), 用于荧光定量 PCR 反应。以在橡胶树胶乳中稳定表达的 *eIf2* 基因<sup>[19]</sup>作为参考基因。利用宝生物公司的 SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II 试剂盒(产品号: RR820A)进行荧光定量 PCR 反应, 反应条件为 95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 15 s, 58℃ 退火 15 s, 72℃ 延伸 15 s, 反应共进行 40 个循环。每处理含有 3 个生物学重复。采用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  法计算基因相对表达量。

1.2.6 电镜制片 电镜超薄切片参考照田维敏等<sup>[17]</sup>的方法进行。取培养至第 65 天的 1 mg/L MeJA 处理的愈伤组织置于预冷的 4% 戊二醛溶液中 4℃ 下固定 24 h, 0.2 mol/L PBS 缓冲液清洗 2 次, 2% 锇酸 4℃ 下再固定 10 h, 乙醇系列脱水, 环氧丙烷渗透, 环氧树脂包埋, 切成 50~70 nm 薄片, 醋酸铀和柠檬酸铅染色, 透射电子显微镜 (HT-7700) 下观察。

表 1 橡胶生物合成相关基因定量分析引物

Tab. 1 Primers of rubber biosynthesis-related genes for qPCR analysis

基因 Gene	正向引物 (5'-3') Forward primers (5'-3')	反向引物 (5'-3') Reverse primers (5'-3')
<i>HbSRPP1</i>	GAAGAGGTGGAGGAAGAGAGGC	TAACCACGGTCTTCACCACATTC
<i>HbSRPP2</i>	GTGGCTGTTATTCATGCCGTTG	CCTTCACACCACTTTGATGAACTTC
<i>HbSRPP6</i>	TGTGTTCAAGATGGAGAACGAGAAG	CGTAGTTACAGCCTTCTCAACG
<i>HbSRPP7</i>	GGAGATGGAGAAGAAGAACCAG	GGTAGTTACAGCACTCTCGACC
<i>HbREF1</i>	ACGAAGACAACCAACAAGGGC	GAGAGCTCCATTGGGAATATAACTG
<i>HbCPT6</i>	ATTTGCGTGCCTTTTGTGG	TCACACAATCTCCGTTTCCATCG
<i>eIf2</i>	CGACCTTTGATCCGTTTGCT	CTTCCTACCATTCCGTTGCT

## 2 结果与分析

### 2.1 MeJA 对橡胶树花药愈伤组织生长的影响

在诱导橡胶树花药愈伤组织培养基中添加不同浓度 MeJA, 会明显影响到愈伤组织块的生长。培养至 65 d 时, 各处理的愈伤组织均呈现鲜黄色, 表面凹凸不平(图 1A~图 1D)。MeJA 浓度为 1 mg/L 的处理其愈伤块平均鲜重(FW)为 0.23 g, 虽然略低于对照(0.24 g), 但统计学上二者无显著差异, 说明 MeJA 在 0~1 mg/L 范围内对愈伤组织的生长影响不明显。MeJA 浓度为 2、3 mg/L 的处理愈伤块平均 FW 分别为 0.18 g 和 0.13 g, 均显著低于对照和 1 mg/L MeJA 的处理(图 1E), 说明 MeJA 在 2~3 mg/L 范围内会抑制愈伤组织生长。对 MeJA 浓度与愈伤 FW 进行相关性分析(图 1F), 相关系数 *R* 为 -0.971, 表明二者负相关, 说明随着培养基中 MeJA 浓度的增加, 抑制花药愈

伤组织生长的程度会加大, 愈伤组织 FW 呈现下降趋势。上述结果表明低浓度的 MeJA(0~1 mg/L)对花药愈伤组织的影响不明显, 而高浓度的 MeJA(2~3 mg/L)会抑制愈伤组织生长, 且 MeJA 浓度与愈伤组织生长呈负相关关系。

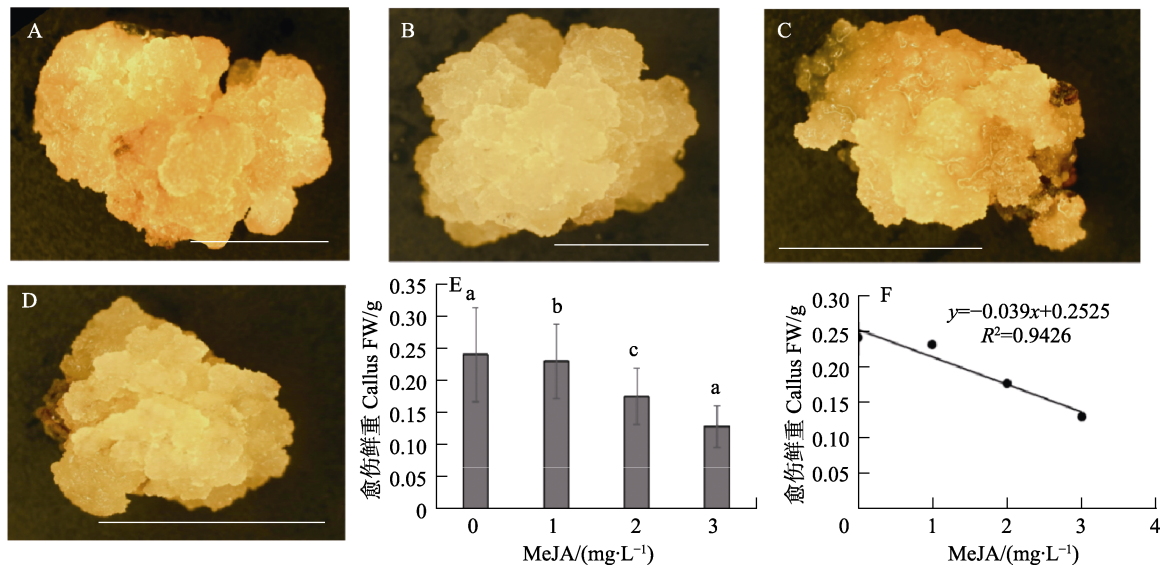
### 2.2 MeJA 对橡胶树花药愈伤组织乳管细胞分化的影响

溴-碘染色法是一种经典可靠的鉴别乳管细胞方法<sup>[20]</sup>。溴-碘染色的石蜡制片显示培养至 65 d 的花药愈伤组织中存在被染成棕色的细胞, 是由于该细胞中的橡胶内含物被溴-碘溶液染成棕色, 这些细胞为乳管细胞(图 2A~图 2D)。切片中还存在一些黑褐色单宁细胞, 该类细胞的单宁内含物被染成黑褐色。此外, 愈伤组织中还存在一些淀粉细胞, 这些细胞内充满颗粒状的淀粉粒。

培养基中添加一定浓度的 MeJA 会促进橡胶

树花药愈伤乳管细胞分化。当培养基中 MeJA 浓度为 1 mg/L 时，愈伤乳管细胞发生频率上升至 15.8%，显著高于其他处理，比对照（5.7%）增

加近 2 倍（图 2A、图 2B、图 2E）。当培养基中 MeJA 浓度为 2 mg/L 时，愈伤乳管细胞发生频率为 13.0%，虽然显著高于对照，但却显著低于

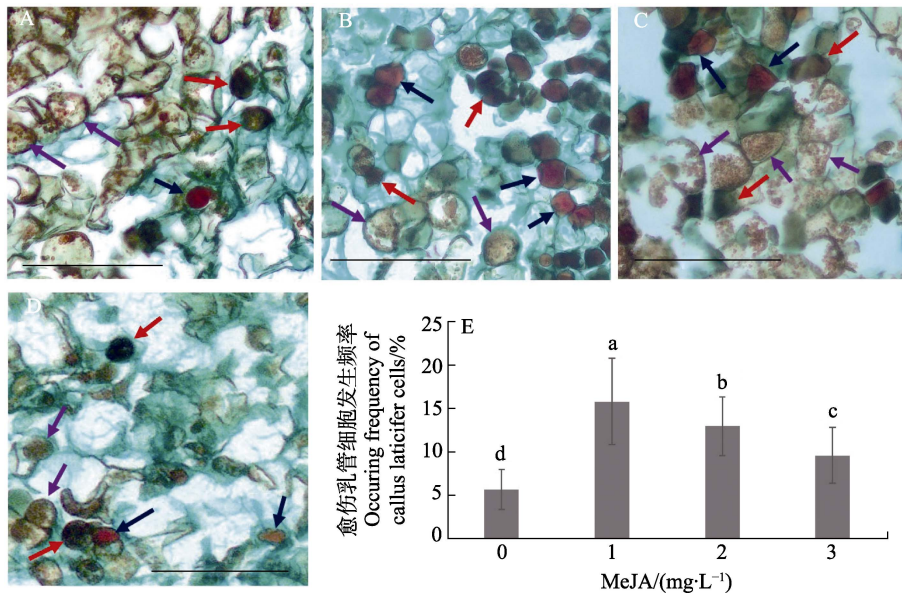


A: 0 mg/L MeJA (CK); B: 1 mg/L MeJA; C: 2 mg/L MeJA; D: 3 mg/L MeJA; E: 不同浓度 MeJA 处理对花药愈伤组织生长的影响; F: 愈伤鲜重与 MeJA 浓度的相关性分析。标尺=4 mm。不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

A: 0 mg/L MeJA (CK); B: 1 mg/L MeJA; C: 2 mg/L MeJA; D: 3 mg/L MeJA; E: The effect of anther callus growth under various concentrations of MeJA in media; F: Correlation analysis between callus fresh weight and MeJA concentration. Scales=4 mm. Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 1 培养基中添加不同浓度 MeJA 对橡胶树花药愈伤组织生长的影响

Fig. 1 Effect of anther callus growth under various concentrations of MeJA in media



A: 0 mg/L MeJA (CK); B: 1 mg/L MeJA; C: 2 mg/L MeJA; D: 3 mg/L MeJA; E: 不同浓度 MeJA 处理的愈伤乳管细胞发生频率。深蓝色箭头所示乳管细胞，红色箭头所示单宁细胞，紫色箭头所示淀粉细胞。标尺=100 μm。

不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

A: 0 mg/L MeJA (CK); B: 1 mg/L MeJA; C: 2 mg/L MeJA; D: 3 mg/L MeJA; E: Occuring frequency of laticifer cells in calli. The dark blue arrows indicate laticifer cells, the red arrows indicate tannin-containing cells, the purple arrows indicate starch-containing cells. Scales=100 μm. Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 2 MeJA 对橡胶树花药愈伤乳管细胞分化的影响

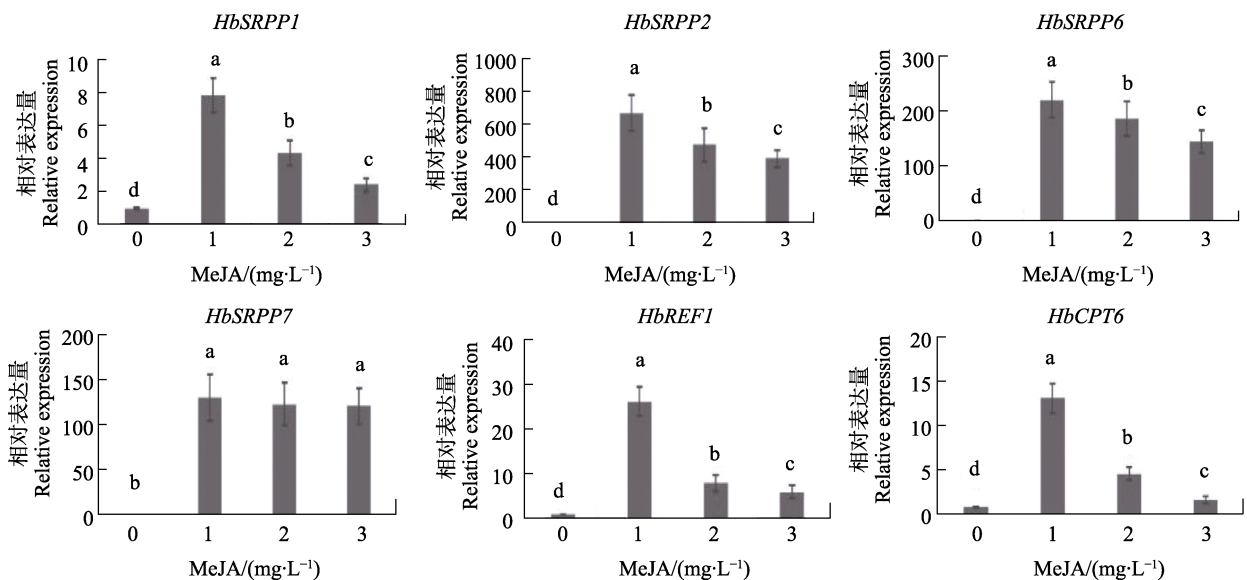
Fig. 2 Effects of laticifer cell differentiation of calli treated with various concentrations of MeJA in media

1 mg/L MeJA 的处理 (图 2C、图 2E)。当培养基中 MeJA 浓度为 3 mg/L 时,愈伤乳管细胞发生频率下降至 9.7%,虽然也显著高于对照,但显著低于 1、2 mg/L MeJA 的处理 (图 2D、图 2E)。上述结果说明培养基中添加低浓度的 MeJA 能促进愈伤组织乳管细胞分化,而高浓度的 MeJA 会抑制其分化,其中 MeJA 浓度为 1 mg/L 效果最佳。

### 2.3 胶乳合成相关基因在 MeJA 处理的花药愈伤组织中表达分析

*SRPP*、*REF*、*CPT* 是存在于小橡胶粒子膜的蛋白质,是参与橡胶生物合成的重要酶和调控因子,它们所编码的基因在乳管细胞中特异表达<sup>[21-24]</sup>。笔者检测橡胶树 *SRPP*、*REF*、*CPT* 基因在 MeJA 处理的花药愈伤组织中的表达情况,发现它们表达量的

变化趋势与愈伤乳管细胞发生频率的变化趋势基本一致。荧光定量 PCR 结果显示,与对照相比,培养基中添加 1~3 mg/L MeJA 后均能显著促进 *HbSRPP1*、*HbSRPP2*、*HbSRPP6*、*HbSRPP7*、*HbREF1*、*HbCPT6* 的表达 (图 3)。这是由于添加 MeJA 后愈伤组织中乳管细胞数量增加所致。当培养基中添加 1 mg/L MeJA 时愈伤乳管细胞发生频率最高,此时 *HbSRPP1*、*HbSRPP2*、*HbSRPP6*、*HbSRPP7*、*HbREF1*、*HbCPT6* 表达量最高,分别为对照的 7.8、676.6、222.3、130.7、26.1、13.0 倍。当培养基中添加 2、3 mg/L MeJA 时愈伤乳管细胞发生频率呈下降趋势,此时除了 *HbSRPP7* 外,其他基因表达量均随着 MeJA 浓度的升高而下降。这些结果进一步证实 MeJA 能促进橡胶树愈伤组织中乳管细胞分化。



不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ( $P < 0.05$ ).

图 3 MeJA 对橡胶合成相关基因在花药愈伤组织中表达分析

Fig. 3 Expression analysis of genes regulating rubber biosynthesis in anther calli treated with MeJA

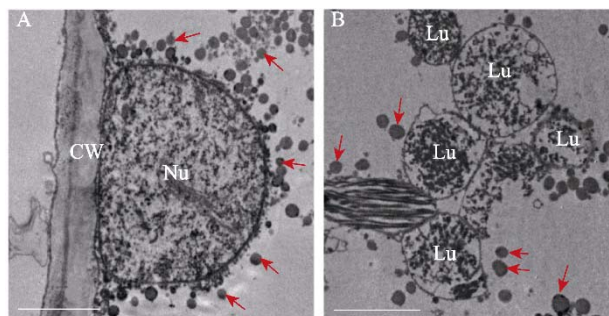
### 2.4 橡胶树花药愈伤乳管细胞的超微结构

虽然通过溴-碘染色法能确切证实愈伤组织中存在乳管细胞,但愈伤乳管细胞的超微结构尚不清楚。橡胶树树皮乳管细胞的大尺寸橡胶粒子直径为 0.40~0.75  $\mu\text{m}$ ,中等尺寸橡胶粒子直径为 0.25~0.35  $\mu\text{m}$ ,小尺寸橡胶粒子直径为 0.08~0.20  $\mu\text{m}$ <sup>[21]</sup>。本研究采用透射电镜技术来研究花药愈伤组织中乳管细胞的超微结构,发现愈伤乳管细胞中也存在大、中、小尺寸橡胶粒子,其中大尺寸橡胶粒子直径为 0.20~0.30  $\mu\text{m}$ ,中等尺寸粒子直径为 0.10~0.18  $\mu\text{m}$ ,小尺寸粒子直径为 0.04~

0.08  $\mu\text{m}$  (图 4)。与树皮乳管细胞的橡胶粒子相比较,这些愈伤乳管细胞的橡胶粒子尺寸均较小,其原因可能是它们都处于发育早期,也可能是由于乳管细胞来源不同所致。愈伤乳管细胞内还含有黄色体,它们呈球形囊泡状,内部含高电子致密物质 (图 4B)。

### 3 讨论

已有研究表明 JAs 具有能够调节植物抗逆和抗病虫害的防御反应,同时还具有调节植物生长发育的功能<sup>[25-26]</sup>。橡胶树乳管细胞中的胶乳主



红色箭头所示橡胶粒子。CW: 细胞壁; Nu: 细胞核; Lu: 黄色体。标尺=2 μm。

The red arrows indicate rubber particles. CW: Cell wall; Nu: Nucleus; Lu: Lutoid. Scales=2 μm.

图 4 橡胶树花药愈伤乳管细胞的超微结构

Fig. 4 Ultrastructure of laticifer cells derived from anther calli of the rubber tree

要起防御功能<sup>[27-28]</sup>,除了含有橡胶烃外,还含有一些有毒物质,如羟基脒水解酶,用来催化脒基类化合物水解,释放氢氰酸,抵御害虫和病原菌的侵害<sup>[29]</sup>。在本研究中,培养基中添加 MeJA 具有促进橡胶树花药愈伤组织中乳管细胞分化的功能;而随着愈伤组织中乳管细胞数量增加,所含的胶乳也会增多,因此愈伤组织中含有毒物质的浓度可能会增高,这些有毒物质可能会抑制愈伤组织生长,这可能是 MeJA 影响愈伤组织生长的主要原因。

在本研究中,培养基中 MeJA 浓度为 1 mg/L 时为橡胶树花药愈伤组织乳管细胞分化的最佳浓度。而 TAN 等<sup>[10]</sup>发现培养基中 JA 浓度为 2 mg/L 时为橡胶树花药愈伤组织乳管细胞分化的最佳浓度。但在本研究中高浓度 MeJA 处理其愈伤乳管细胞分化的变化趋势与 TAN 等<sup>[10]</sup>报道的相一致。这些结果表明 MeJA 与 JA 诱导愈伤乳管细胞分化的最佳浓度虽存在一定差异,但二者调控愈伤组织乳管细胞分化的效果相似,说明 MeJA 可代替 JA 进行乳管细胞分化研究。

MeJA 与 JA 同属茉莉酸类物质(JAs),但二者市场价格差异巨大,前者价格低廉,根据 Sigma 公司网站的报价,后者价格约为前者的 140 倍(<https://www.sigmaaldrich.cn/CN/zh>)。由于 JA 价格过于昂贵,限制其在橡胶树大田生产试验与应用。JA 应用于橡胶树乳管分化的研究主要集中于枝条树皮,发现 JA 能促进枝条树皮分化次生乳管<sup>[7-8]</sup>。于俊红等<sup>[9]</sup>开展了 JA 对成龄橡胶树次生乳管分化的实验,发现 JA 对成龄橡胶树次生乳管分化具有促进效果,但它们仅涂 1 g 含 1% JA 的羊毛脂于面积 2 cm×2 cm 的用刀片轻刮至绿色

的橡胶树皮层,1 个月后取处理部位树皮进行组织化学鉴定。目前尚未能像橡胶树增产刺激剂乙烯利那样涂抹于成龄橡胶树割口处来开展 JA 能否促进橡胶树增产的大田实验。本研究发现,MeJA 能促进愈伤组织乳管细胞分化,表明其可代替 JA 进行乳管细胞分化研究。因此,在橡胶树的大田生产试验中,将来可用价格低廉的 MeJA 来代替价格昂贵的 JA 进行,这对开发新型橡胶树增产刺激剂,促进橡胶树生产具有一定意义。

## 参考文献

- [1] 张先,徐云平,范高俊.我国植胶区休闲农业发展存在的问题及对策[J].现代农业科技,2012(1):322-323.  
ZHANG X, XU Y P, FAN G J. Problem and countermeasure of leisure agriculture development in rubber planting areas of China[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2012(1): 322-323. (in Chinese)
- [2] 谭德冠,孙雪飘,张家明.植物乳管研究进展[J].植物生理学报,2011,47(11):1033-1038.  
TAN D G, SUN X P, ZHANG J M. Advance of plant laticifers[J]. Plant Physiology Journal, 2011, 47(11): 1033-1038. (in Chinese)
- [3] HAGEL J M, YEUNG E C, FACCHINI P J. Got milk? The secret life of laticifers[J]. Trends in Plant Science, 2008, 13: 631-639.
- [4] 曾霞,黄华孙.国内外橡胶树种质资源收集保存及其研究进展[J].热带农业科技,2004,27(1):24-28.  
ZENG X, HUANG H S. The collection, conservation and research advance of rubber tree germplasm resources[J]. Tropical Agricultural Science & Technology, 2004, 27(1): 24-28. (in Chinese)
- [5] CHEN Y, GAO X, ZHANG X, TIAN W. Relationship between the number of tapping-induced secondary laticifer lines and rubber yield among *Hevea* germplasm[J]. Frontiers of Agricultural Science Engineering, 2016, 3: 363-367.
- [6] TAN D, KUMPEANGKEAW A, SUN X, LI W, ZHU Y, ZHANG J. Comparative morphology of *in vivo* and *in vitro* laticiferous cells and potential use of *in vivo* laticifers in early selection of rubber tree clones[J]. Trees, 2019, 33: 193-203.
- [7] HAO B Z, WU J L. Laticifer differentiation in *Hevea brasiliensis*: induction by exogenous jasmonic acid and linolenic acid[J]. Annals of Botany, 2000, 85: 37-43.
- [8] 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)

- [9] 于俊红, 杨署光, 黄绵佳, 田维敏. 季节、采胶和外源茉莉酸对成龄橡胶树乳管分化的影响[J]. 热带作物学报, 2007, 28(4): 1-5.  
YU J H, YANG S G, HUANG M J, TIAN W M. Effects of season, exploitation and exogenous jasmonic acid on the laticifer differentiation in mature rubber trees[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2007, 28(4): 1-5. (in Chinese)
- [10] TAN D, SUN X, ZHANG J. Age-dependent and jasmonic acid induced laticifer-cell differentiation in anther callus cultures of rubber tree[J]. Planta, 2014, 240: 337-344.
- [11] 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: 1649-1658.
- [12] CHEN Y Y, WANG L F, DAI L J, YANG S G, TIAN W M. Characterization of *HbEREBP1*, a wound-responsive transcription factor gene in laticifers of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg.[J]. Molecular Biology Reports, 2012, 39: 3713-3719.
- [13] 马瑞凤, 王立丰, 彭世清, 田维敏. 巴西橡胶树乳管细胞 *HbSKP1* 基因克隆及原核表达[J]. 热带作物学报, 2010, 31(8): 1233-1238.  
MA R F, WANG L F, PENG S Q, TIAN W M. Cloning and prokaryotic expression of *HbSKP1* gene from latex in *Hevea brasiliensis*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2010, 31(8): 1233-1238. (in Chinese)
- [14] TIAN W, HUANG W, ZHAO Y. Cloning and characterization of *HbJAZ1* from the laticifer cells in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)[J]. Tree, 2010, 24: 771-779.
- [15] DENG X, GUO D, YANG S, SHI M, CHAO J, LI H, PENG S, TIANG W. Jasmonate signalling in regulation of rubber biosynthesis in laticifer cells of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.)[J]. Journal of Experimental Botany, 2018, 69: 3559-3571.
- [16] 陈雄庭. 橡胶树组织培养[M]//刘进平, 莫饶. 热带植物组织培养. 北京: 科学出版社, 2006.  
CHENG X T. Tissue culture in *Hevea brasiliensis*[M]//LIU J P, MO Y. Tissue culture in tropical plants. Beijing: Science Press, 2006. (in Chinese)
- [17] 田维敏, 史敏晶, 谭海燕, 吴继林, 郝秉中. 橡胶树树皮与发育[M]. 北京: 科学出版社, 2015.  
TIAN W M, SHI M J, TAN H Y, WU J L, HAO B Z. Rubber tree bark and development[M]. Beijing: Science Press, 2015. (in Chinese)
- [18] TANG C R, YANG M, FANG Y G, LUO Y F, GAO S H, XIAO X H, AN Z W, ZHOU B H, ZHANG B, TAN X Y, YEANG H Y, 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, LI Z, ZOU Z, LI S L, LI C J, WANG J X, WEI D, LAI C Q, 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.
- [19] LONG X, HE B, GAO X, QING Y, YANG J, FANG Y, QI J, TANG C. Validation of reference genes for quantitative real-time PCR during latex regeneration in rubber tree[J]. Gene, 2015, 563(2): 190-195.
- [20] 史自强, 胡正海. 植物含橡胶组织的制片方法[J]. 植物学报, 1965, 13(2): 179-182.  
SHI Z Q, HU Z H. A histological method for rubber-bearing tissues of plants[J]. Acta Botanica Sinica, 1965, 13(2): 179-182. (in Chinese)
- [21] 吴华玲, 段翠芳, 聂智毅, 黎瑜, 于波, 曾日中. 巴西橡胶树橡胶粒子研究进展[J]. 热带作物学报, 2009, 30(7): 1044-1049.  
WU H L, DUAN C F, NIE Z Y, LI Y, YU B, ZENG R Z. Research progress in rubber particle of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2009, 30(7): 1044-1049. (in Chinese)
- [22] DAI L, NIE Z, KANG G, YU L, ZENG R. Identification and subcellular localization analysis of two rubber elongation factor isoforms on *Hevea brasiliensis* rubber particles[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2017, 111: 97-106.
- [23] BERTHELOT K, LECOMTE S, ESTEVEZ Y, PERUCH F. *Hevea brasiliensis* REF (*Hev b 1*) and SRPP (*Hev b 3*): an overview on rubber particle proteins[J]. Biochimie, 2014, 106: 1-9.
- [24] KWON M, KWON E J, RO D K. cis-Prenyltransferase and polymer analysis from a natural rubber perspective[J]. Methods in Enzymology, 2016, 576: 121-145.
- [25] 蔡昆争, 董桃杏, 徐涛. 茉莉酸类物(JAs)的生理特性及其在逆境胁迫中的抗性作用[J]. 生态环境, 2006, 15(2): 397-404.  
CAI K Z, DONG T X, XU T. The physiological roles and resistance control in stress environment of jasmonates[J]. Ecology and Environment, 2006, 15(2): 397-404. (in Chinese)
- [26] 王妮妍, 蒋德安. 茉莉酸及其甲酯与植物诱导抗病性[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(3): 279-284.  
WANG N Y, JIANG D A. The role of jasmonic acid and methyl jasmonate in plant induced disease resistance[J]. Plant Physiology Communication, 2002, 38(3): 279-284. (in Chinese)
- [27] AGRAWAL A A, KONNO K. Latex: a model for understanding mechanisms, ecology, and evolution of plant defense against herbivory[J]. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, 2009(40): 311-331.
- [28] RAMOS M V, DEMARCO D, da COSTA SOUZA I C, de FREITAS CDT. Laticifers, latex, and their role in plant defense[J]. Trends in Plant Science, 2019, 24(6): 553-567.
- [29] 丁梅, 吴坤鑫, 谭德冠, 张家明. 橡胶树羟基腈水解酶基因的克隆、表达和基因家族分析[J]. 热带作物学报, 2016, 37(11): 2170-2175.  
DING M, WU K X, TAN D G, ZHANG J M. Cloning and expression of *HbHNL-1* gene with analysis of the gene family in *Hevea brasiliensis*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2016, 37(11): 2170-2175. (in Chinese)