

乙烯利刺激橡胶树增产及其分子生物学基础

朱家红¹, 张全琪¹, 张治礼^{1,2,*}

¹中国热带农业科学院热带生物技术研究所农业部热带作物生物技术重点开放实验室, 海口 571101; ²海南省农业科学院, 海口 571100

Ethephon Stimulation on Latex Production and Its Molecular Biological Basis in *Hevea brasiliensis*

ZHU Jia-Hong¹, ZHANG Quan-Qi¹, ZHANG Zhi-Li^{1,2,*}

¹Key Laboratory of Tropical Crop Biotechnology, Ministry of Agriculture, Institute of Tropical Biosciences and Biotechnology, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571101, China; ²Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571100, China

摘要: 本文介绍近年来乙烯利刺激橡胶树增产的分子生物学研究进展, 讨论乙烯利刺激橡胶树胶乳增产的可能原因, 并对这一领域今后研究的发展趋势进行了展望。

关键词: 橡胶树; 乙烯利; 排胶; 蔗糖

天然橡胶是产胶植物的一种次生代谢物, 它具有耐高温和高弹性等突出优点, 是合成橡胶不可比拟的一种世界性工业原料和重要的战略物质, 具有极高的经济价值及应用前景。在 2 000 多种产胶植物中, 唯有巴西橡胶树(*Hevea brasiliensis*)具有产胶量高、品质好、经济寿命长、采胶方便和生产成本低等优点, 因而成为人工栽培最重要的橡胶植物, 由其生产的天然橡胶占世界天然橡胶总产量的 99% 以上(Kush 1994)。

橡胶树的产胶功能是靠分布于体内的乳管系统实现的, 乳管是由形成层细胞分化而成, 分化时相邻细胞连结处的细胞壁消失, 形成多细胞的管状结构, 同时细胞内发生一系列的变化。同一时期分化的乳管列组成乳管环, 当橡胶树树皮割伤时, 这些乳管环被切断, 胶乳随之流出(Hao 等 2004)。割胶后流胶时间的长短(排胶)、胶乳再生能力(产胶)以及维管形成层分化乳管列的能力(乳管分化)是影响橡胶树胶乳生产的 3 个主要因素(D'Auzac 等 1997; Hao 等 2004)。

与其他次生代谢物一样, 天然橡胶的产量也受各种植物激素的影响。20 世纪 60 年代, 人们发现, 乙烯利(乙烯的释放剂)是非常有效的橡胶树采胶刺激剂。乙烯利刺激可促使胶乳产量增加 1.5~2 倍

(Pujade-Renaud 等 1994), 相应的乙烯利刺激橡胶树增产技术被誉为天然橡胶产业的第二次技术革命, 已广泛应用于天然橡胶的生产, 但关于乙烯利刺激橡胶树增产的机制仍不十分清楚。尤其是长期施用乙烯利给天然橡胶生产带来的负面效应日益明显, 造成的橡胶树早衰、排胶时间过度延长和死皮(切割树皮后不流出胶乳), 严重影响了天然橡胶的高效、安全和可持续性生产(罗明武和邓柳红 2006)。因此, 研究乙烯利刺激橡胶树增产的机制, 合理指导乙烯利刺激技术的进一步发展, 以及研制高效、低伤害的新型刺激剂已成为天然橡胶生产领域的研究重点。本文简要介绍天然橡胶的生物合成途径和乙烯利刺激橡胶树增产的生理生化基础, 并重点讨论了近年来与橡胶树中乙烯响应相关基因分离和功能的研究进展。

1 天然橡胶的生物合成

天然橡胶的基本化学单元是顺-1,4-聚异戊二烯, 能在 2 000 多种植物中合成, 但仅有巴西橡胶树

收稿 2009-09-15 修定 2009-12-28

资助 国家自然科学基金(30760917)、海南省自然科学基金(309052)和中央级公益性科研院所专项资金(ITBBZD0716)。

* 通讯作者(E-mail: zzl_catas@hotmail.com; Tel: 0898-65314866)。

能作为天然橡胶的商业性生产(Kush 1994)。橡胶在橡胶树的乳管细胞里合成,以胶乳(乳管细胞的细胞质)的形式贮存(段翠芳等 2004)。橡胶粒子是乳管细胞质中的一种特殊的细胞器,是由许多橡胶分子聚集的球形或梨形的微粒,粒子外面包有单层生物膜,膜主要由类脂和蛋白质组成。天然橡胶的生物合成就是在橡胶粒子上合成的,是一个相当复杂的过程,大致可以分为3个阶段(图1): (1)乙酰辅酶A的形成; (2)乙酰辅酶A经甲羟戊酸途径转化为异戊二烯焦磷酸(isopentenyl diphosphate, IPP); (3) IPP聚合形成橡胶分子。前两个过程是在胶乳中进行的,也是生物类异戊二烯生物合成的主要途径,由IPP衍生出各种类异戊二烯物质。只有在橡胶粒子上,IPP才能聚合形成橡胶分子,但这一过程发生的生化机制仍不十分清楚。已有研究表明,橡胶树乳管细胞中3种酶所催化的反应是橡胶生物合成的限速和关键步骤,因而与橡胶的产量和质量密切相关(段翠芳等 2004)。这3种关键酶分别是: 3-羟

基-3-甲基戊二酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMGR)、法尼基二磷酸合酶(farnesyl diphosphate synthase, FDP)和橡胶转移酶(rubber transferase, RuT)。

2 乙烯利刺激橡胶树增产的生理生化和分子基础

目前,乙烯利刺激采胶已成为橡胶生产的重要技术。它的推广和应用推动世界各植胶国的天然橡胶生产进入了一个新的阶段。有关乙烯利对橡胶树的生理作用及其对胶乳性质和天然橡胶生物合成的影响研究很多。

已有的研究表明,乙烯利对产胶和排胶都有影响,目前关于乙烯利刺激橡胶树增产的原因主要有3种假说:解除乳管堵塞说、诱导愈伤反应说和解除基因表达阻遏说(段翠芳等 2004; 罗明武和邓柳红 2006)。解除乳管堵塞说认为,乙烯利刺激橡胶树增产主要是其可推迟乳管堵塞和延长排胶时间;诱导愈伤反应说则认为,乙烯利刺激可以大幅度动员储备糖,提高蔗糖转化酶活性,蔗糖代谢加速,导致橡胶生物合成所需的碳源(如乙酰辅酶A)供应量增加,从而加速橡胶的合成;解除基因表达阻遏说则将乙烯利刺激橡胶树增产归因于释放出的乙烯可解除 H^+ -ATP酶合成基因的阻遏状态,刺激了乳管中的生物合成。到目前为止,这些假说都仅能解释乙烯利刺激产胶和排胶过程中的部分生理现象,还缺少相应的分子生物学实验证据。

与已取得的生理生化方面的研究进展相比,乙烯利刺激橡胶树增产的分子生物学研究相对滞后,仅限于乙烯调节相关基因的分离和表达分析。

2.1 橡胶生物合成的相关基因

2.1.1 HMGR基因 HMGR催化HMG-CoA形成甲羟戊酸,继而合成橡胶前体IPP,是橡胶生物合成限速酶之一,其活性与橡胶产量呈正相关,但乙烯利刺激割胶并不提高橡胶树胶乳中HMGR的活性。Chye等(1991, 1992)报道,橡胶树HMGR是由3个基因组成的基因家族(*Hmg1*、*Hmg2*、*Hmg3*)编码的。其中*Hmg1* cDNA编码575个氨基酸残基,分子质量为61.70 kDa; *Hmg3* cDNA编码586个氨基酸残基,分子质量为62.98 kDa;而*Hmg2*只报道了部分序列。*Hmg1*在乳管中的表达高于叶片,可受乙烯诱导表达; *Hmg2*无组织特异性; *Hmg3*的启动子与大多数持家基因的启动子一样,缺少TATA

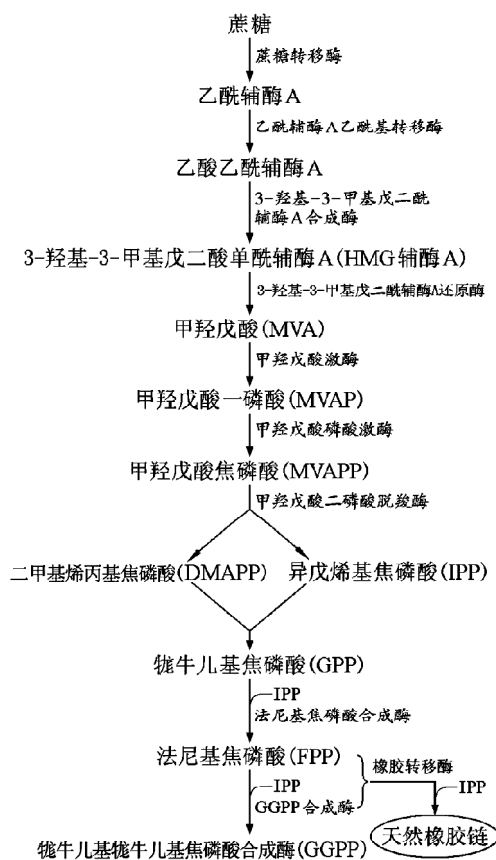


图1 橡胶生物合成基本过程(段翠芳等 2004)

box, 它在叶片和胶乳中同等程度地进行组成型表达。因此, 他们认为 *Hmg1* 可能与橡胶生物合成有关, 而 *Hmg3* 可能与持家特性的类异戊二烯的生物合成有关(Chye 等 1991, 1992)。

2.1.2 FDP 基因 FDP 催化牻牛儿基焦磷酸(geranyl pyrophosphate, GPP)形成法尼基二磷酸(farnesyl pyrophosphate, FPP)。Adiwilaga 和 Kush (1996)从橡胶树胶乳cDNA文库中筛选到编码FDP的cDNA片段。该片段全长 1 300 bp, 其中包括 5' 端非编码区 52 bp, 编码区 1 026 bp, 3' 端非编码区 223 bp, 编码区编码 343 个氨基酸。与拟南芥、酵母、鼠的 FDP 氨基酸序列比较, 同源率分别为 80%、59%、51%。试验还证明, FDP 基因可在乳管细胞和表皮细胞中表达, 表明该酶在橡胶的生物合成和其它类异戊二烯合成中起着双重作用。乙烯对该基因表达没有明显的影响, 但割胶增强该基因表达。

2.1.3 橡胶转移酶基因 橡胶转移酶是产胶植物中特有的酶, 它处于橡胶合成的最后一步, 负责催化 IPP 合成顺式异戊二烯长链(即天然橡胶)。橡胶转移酶的鉴定和调控的研究, 是阐明橡胶生物合成调控机制的关键所在。Asawatreratanakul 等(2003)克隆了橡胶转移酶基因, 并证实其原核表达产物具有促进橡胶合成的作用。罗明武等(2009)采用抑制削减杂交法分离获得一个胶乳特异表达的橡胶转移酶基因, 该基因在胶乳中高度表达, 在叶片中不表达, 乙烯利刺激也不改变其基因的转录水平, 这与某些橡胶合成相关基因, 如橡胶延伸因子(rubber elongation factor, REF)和小橡胶粒子蛋白(small rubber particle protein, SRPP)等基因特征相似, 即胶乳中表达量比叶片中高得多, 乙烯刺激和伤害均不能改变基因的表达水平。

2.1.4 3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 合成酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A synthase, HMGS)基因 HMGS 催化乙酰乙酸辅酶 A 形成 HMGR。HMGS 和 HMGR 在橡胶生物合成的早期阶段起作用, 其可能的功能是为橡胶的生物合成提供原料。最近, Suwanmanee 等(2004)的研究表明, HMGS 的酶活性及 mRNA 水平与橡胶产量正相关, 乙烯利刺激能够显著增加 HMGS 的酶活性及 mRNA 的积累, 这表明 HMGS 可能参与乙烯利刺激

橡胶树增产的过程, 这是乙烯利刺激能够增加橡胶生物合成相关酶活性的首次报道。

2.1.5 甲基赤藓糖磷酸(methylerythritol phosphate, MEP)途径中的相关酶基因 巴西橡胶树中的天然橡胶是顺式-1,4-聚异戊二烯, 由 IPP 聚合形成的高分子量的聚合物。一直以为 IPP 是通过甲瓦龙酸(mevalonate, MVA)途径生成的, MVA 途径是橡胶树胶乳中合成 IPP 的唯一途径(Ko 等 2003; Sando 等 2008)。但后来研究表明 MVA 途径并非植物体内 IPP 合成的唯一途径, 发现生物体还可以通过 MEP 途径合成 IPP (Eisenreich 等 1998, 2001)。Ko 等(2003)和 Seetang-Nun 等(2008a)分别报道, MEP 途径中 *DXS* 和 *DXR* 基因在橡胶树胶乳中的表达, 其中 *DXS2* 和 *DXR2* 基因受乙烯的诱导, 同时在高产品系中的表达量较高。此外, 陈洁等(2009)和李辉亮等(2009)也在橡胶树胶乳中克隆到 MEP 途径中的 2 个酶基因 *HbCMK* 和 *HbHDR*, 并且这 2 个基因的表达都受乙烯利的诱导。乙烯能够上调 MEP 途径中 *DXS2*、*DXR2*、*HbCMK* 和 *HbHDR* 基因的表达, 暗示乙烯利刺激可加速 MEP 途径的代谢进程。随着 MEP 途径中的基因相继在橡胶树胶乳中得到分离克隆, 说明 MEP 途径可能参与橡胶的生物合成, 而 MEP 途径中蛋白 *DXS2*、*DXR2*、*CMK* 和 *HDR* 是否参与乙烯利刺激橡胶树的增产还不清楚。

2.2 排胶的相关基因 橡胶素(hevein)也称橡胶蛋白, 是橡胶树黄色体中可溶性蛋白的最主要构成成分, 占其总量的 70%, 占胶乳总蛋白的 1% (Chrestin 等 1997)。橡胶蛋白是导致胶乳凝固的主要凝固因子, 据研究, 在排胶过程中, 由于胶乳发生稀释效应和渗透压降低, 对渗透性敏感的黄色体受到破坏, 黄色体破裂时, 橡胶蛋白释放到乳管细胞的胞液内, 与橡胶粒子表面受体糖蛋白结合形成多价的桥从而引起橡胶粒子凝絮和乳管原位堵塞。

几丁质酶(EC 3.2.1.14)是一种把几丁质降解为 *N*-乙酰氨基葡萄糖的水解酶。橡胶树胶乳中含有高水平的几丁质酶/溶菌酶(hevamine), 其中 98% 的几丁质酶/溶菌酶位于黄色体中。几丁质酶是胶乳中主要的抗凝固因子, 它们通过去糖基化作用可水解橡胶粒子表面受体糖蛋白的 GlcNAC 基团从而阻止了橡胶粒子之间的絮凝作用和胶乳的凝固过程

(Chrestin等1997; Chen等1997)。割胶后排胶时间的长短是橡胶产量的一个主要限制因子。尽管黄色体内含有橡胶蛋白等胶乳的凝固因子,但同时也存在几丁质酶等抗凝固因子。显然这些因子之间的平衡对橡胶树的产量是至关重要的。乙烯利刺激条件下胶乳凝固因子橡胶蛋白和抗凝固因子几丁质酶基因都超量表达。但在乙烯利的作用致使排胶时间延长的情况下,抗排胶因子的效果显著,即乙烯利刺激后橡胶树的排胶时间延长可能是乙烯利刺激橡胶树增产的主要原因之一(Gidrol等1994)。

乙烯利刺激可提高黄色体的稳定性,以至排胶时间延长,胶乳产量增加。但乙烯利过度刺激会促进活性氧(activated oxygen species, AOS)的产生增加,过氧化活性与清除活性之间失去平衡,黄色体破裂并释放凝固因子,胶乳原位凝固,致使排胶停止甚至死皮的发生。锰超氧化物歧化酶(MnSOD)是一种参与AOS清除的酶,该酶在静止状态的乳管中表达量很低。Miao和Gaynor(1993)证明,在乙烯处理后,橡胶树中编码MnSOD的2种基因,可在橡胶树的所有组织包括胶乳细胞中过量表达,这说明MnSOD在乙烯利刺激橡胶树增产和死皮的发生过程中有调节作用。

当割胶切断乳管时,受到乳管内液体膨压的作用,乳管内的胞质开始流出,同时乳管周围薄壁细胞的水分渗入,致使胶乳稀释,维持继续排胶。研究表明,胶乳中的水含量,乳管细胞间以及乳管细胞与周围组织间的水循环在排胶过程中具有重要的功能,同时其与乙烯利刺激橡胶树增产也密切相关。由于成熟的乳管细胞间没有胞间连丝,乳管和周围薄壁细胞间水分的快速交换主要是通过水通道蛋白途径进行。Tungngoen等(2009)分离2个乙烯利诱导的水转运蛋白基因*HbPIP2;1*和*HbTIP1;1*,它们通过促进和延长排胶的方式参与了乙烯利刺激橡胶树增产的过程。

2.3 蔗糖运输和代谢的相关基因 胶乳中蔗糖含量及其代谢强度是影响橡胶生物合成的第一限制因子,乙烯利刺激橡胶树后蔗糖转运和代谢加速可能是影响乙烯利刺激橡胶树增产的主要原因(Tupy 1969; Alessandro等2006)。乙烯利刺激橡胶树后可提高原生质膜上ATP酶的活性,激活的ATP酶可提供蔗糖运输所需要的能量(Gidrol等1988)。朱

家红等(2009)分离到一种ATP酶相关的基因*HbATP-F*,割胶和乙烯利刺激均能上调该基因的mRNA水平。Dusotoit-Coucaud等(2009)在研究中分离获得2个蔗糖转运蛋白基因*HbSUT1A*和*HbSUT2A*,这两个基因均受到乙烯利的诱导,从而证实可通过转运蔗糖进入乳管的方式参与乙烯利刺激橡胶树增产的过程。

2.4 死皮衰老的相关基因 橡胶树死皮病(tapping panel dryness, TPD)在橡胶种植中普遍发生,危害极大,它是一种复杂的生理综合症。人们对有关TPD的发病原因及机制提出各种假说,有研究认为,这可能是强割胶和强乙烯利刺激引起的细胞程序性死亡,致使乳管衰老至死皮,并从橡胶树中克隆到一个受乙烯利诱导与橡胶树死皮相关的基因*HbMyb1*(Chen等2003)。此外,张治礼等(2008)也在乙烯利诱导的胶乳抑制性差减杂交(suppression subtractive hybridization, SSH)文库中分离获得一个乙烯利诱导与衰老相关的基因*HbEtle*。

2.5 其它基因 近年来,随着分子生物学研究的不断深入,从橡胶树中克隆到的基因也不断增多,除上述基因外,其它受乙烯利调节的基因还有(表1):防御相关的半胱氨酸蛋白酶基因*HbCPI*(Peng等2008),耐热及冷害相关的热激蛋白基因*HbHsp70*(Zhang等2009),伤或乙烯信号转导相关的翻译控制肿瘤蛋白基因*HbTCTP*(梁小莲等2009),以及功能未知的泛素延伸蛋白基因*HbUEP*等(Yang等2008)。

2.6 乙烯利刺激橡胶树增产的原因 乙烯利刺激橡胶树增产首先涉及到乙烯信号的转导,揭示乙烯利刺激橡胶树增产过程中的乙烯信号转导可能是揭示乙烯利刺激橡胶树增产的关键。为了进一步揭示乙烯利刺激橡胶树增产过程中的信号转导及增产的分子机制,我们实验室曾构建2个乙烯利诱导条件下胶乳抑制性差减文库(刘宽灿等2007),并筛选到乙烯上调的ESTs 302条。将获得的ESTs与GenBank序列进行了BLASTn、BLASTx同源性分析结果表明,有162条序列与已知序列具有同源性,这些序列所编码的蛋白涉及信号转导(转录因子WAKY、ERF和NAC等)、蔗糖运输和代谢(ATP合成酶、蔗糖转运蛋白、蔗糖转化酶、蔗糖合成酶等)、排胶及胶乳再生(橡胶蛋白、几丁质酶、金属硫

表1 巴西橡胶树中已克隆的乙烯响应基因

基因名称	编码蛋白	功能	参考文献
<i>Hmg1</i>	3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶	橡胶生物合成	Chye等1992
<i>HMGS</i>	3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A合成酶	橡胶生物合成	Suwanmanee等2004
<i>HbDXR2</i>	1-脱氧-D-木酮糖-5-磷酸还原酶	调节MEP途径	Seetang-Nun等2008a, b
<i>HbCMK</i>	4-二磷酸-2-C-甲基-赤藓醇磷酸激酶	调节MEP途径	陈洁等2009
<i>HbHDR</i>	4-羟基-3-甲基-2-丁烯基-4-磷酸还原酶	调节MEP途径	李辉亮等2009
<i>HbGS_{cyt}</i>	谷氨酰胺合成酶	胶乳再生	Pujade-Renaud等1994
<i>HbPIP2;1</i>	水通道蛋白	橡胶树排胶	Tungngoen等2009
<i>HbTIP1;1</i>	水通道蛋白	橡胶树排胶	Tungngoen等2009
<i>hevein</i>	橡胶凝集因子	橡胶树排胶	Chrestin等1997
<i>chitinase</i>	几丁质酶	橡胶树排胶	Chrestin等1997
<i>MnSOD</i>	锰超氧化物歧化酶	黄色体的稳定	Miao和Gaynor1993
<i>HbSUT1A</i>	蔗糖转运蛋白	蔗糖代谢	Dusotoit-Coucaud等2009
<i>HbSUT2A</i>	蔗糖转运蛋白	蔗糖代谢	Dusotoit-Coucaud等2009
<i>HbVHA-F</i>	液泡ATP酶F亚基	蔗糖代谢	朱家红等2009
<i>HbMyb1</i>	Myb转录因子	橡胶树死皮	Chen等2003
<i>HbEtle</i>	衰老相关蛋白	乳管衰老	张治礼等2008
<i>HbCPI</i>	半胱氨酸蛋白酶	防御相关	Peng等2008
<i>HbHsp70</i>	热激蛋白70	耐热及冷害相关	Zhang等2009
<i>HbTCTP</i>	翻译控制肿瘤蛋白	伤或乙烯信号转导	梁小莲等2009
<i>HbUEP</i>	泛素延伸蛋白	未知	Yang等2008

蛋白、MnSOD等)等过程。

已有的研究表明,乙烯利刺激并不能提高橡胶树胶乳HMGR的活性,Northern杂交分析表明,乙烯利刺激并不促进橡胶树胶乳FDP合成酶基因和橡胶转移酶基因的表达,而HMGR、FDP合成酶和橡胶转移酶是橡胶生物合成的3个关键的限速酶。在我们构建的乙烯利诱导的SSH文库中也没有筛选到橡胶生物合成相关的基因片段。这些结果进一步说明,乙烯利刺激对橡胶生物合成没有明显而直接的促进作用。

从橡胶生物合成途径可以看出,蔗糖是橡胶生物合成的原料。从1969年开始,人们就已经明确地认识到胶乳中蔗糖含量与胶乳产量的关系。研究认为,胶乳产量的第一限制因素是乳管系统中可利用糖的含量及糖代谢的强度(Tupy 1969; Tangpakdee等1997; Alessandro等2006)。研究胶乳中所有参与糖酵解过程的酶时发现,蔗糖转化为葡萄糖和果糖的反应可能是橡胶生物合成的一个限制因子,催化这一反应的蔗糖转移酶也就成为一个候选的关键酶(Tupy 1973)。乙烯利刺激橡胶树增产的诱导愈伤反应假说认为,乙烯利刺激可以大幅度动员储备糖,提高蔗糖转化酶活性,蔗糖代谢加速,导

致橡胶生物合成所需的碳源如乙酰辅酶A的供应量增加,从而加速橡胶合成(段翠芳等2004)。目前,已分离到参与蔗糖转运相关的基因有*HbSUT1A*、*HbSUT2A*和*HbVHA-F*(Dusotoit-Coucaud等2009;朱家红等2009)。我们在乙烯利诱导的胶乳SSH文库中筛选到许多和蔗糖运输及代谢相关的基因,如ATP酶相关基因、蔗糖转化酶基因、蔗糖合成酶基因等,Northern杂交和RT-PCR分析证实这些基因均受到乙烯利的诱导(数据未列出)。这些结果说明,乙烯利刺激橡胶树后蔗糖代谢加速可能是乙烯利刺激橡胶树增产的一个主要原因。

割胶后排胶时间长短也是限制橡胶产量的一个原因。有研究表明,乙烯利刺激橡胶树增产的一个原因可能是乙烯利刺激橡胶树后排胶时间延长,并分离了与此相关的一些基因,如*Hevein*、*chitinase*、*MnSOD*、*HbPIP2;1*和*HbPIP1;1*等(Chrestin等1997;Miao和Gaynor1993;Tungngoen等2009)。在我们构建的文库中,也筛选到许多乙烯利诱导和排胶相关的基因,如*Hevein*、*chitinase*、*MnSOD*、金属硫蛋白基因(*HbMT*)、*CuSOD*、*ZnSOD*、抗坏血酸过氧化物酶(*ascorbate peroxidase*, APX)基因等,这进一步说明,排胶时间延长是乙烯利刺激橡

胶树增产的另外一个主要原因。

3 结语

乙烯利可以刺激橡胶树增产,但关于其增产的机制仍不十分清楚。乙烯利刺激橡胶树增产的机制的生理生化研究已取得一定的进展,但其分子生物学研究还相对落后。目前,虽然一些乙烯响应的基因相继得到克隆,但其功能鉴定还有一定的困难。此外,这些已报道的基因大多是通过同源克隆和用异源同类基因从构建的巴西橡胶树cDNA文库获取的,从巴西橡胶树中克隆的新基因不多,还难以从整体水平上解释乙烯利刺激橡胶树增产的分子机制。今后需进一步加强橡胶树遗传转化体系的研究,同时建立起易于转化的产胶植物的遗传转化体系以作为过渡,并结合对模式植物的转化对乙烯响应相关基因的功能进行鉴定。另外,还需要采用SSH和基因芯片等技术对乙烯响应基因进行大规模的筛选,从产胶、排胶、乳管分化和衰老等方面对乙烯响应基因进行系统的分类和鉴定。这些问题的解决,将为揭示乙烯利刺激橡胶树增产的生理生化和分子机制,进而在生产中减少乙烯利的用量和次数,降低乙烯利的副作用,最终研发出既能促进产胶又能促进排胶的新型刺激剂建立基础。

参考文献

陈洁,雷美玉,李辉亮,彭世清(2009). 巴西橡胶树 *HbCMK* 基因的克隆及表达. 西北植物学报, 29: 215~220

段翠芳,曾日中,黎瑜(2004). 激素对巴西橡胶树橡胶生物合成的调控. 热带农业科学, 24: 61~68

李辉亮,雷美玉,彭世清(2009). 巴西橡胶树 4-羟基-3-甲基-2-(E)-丁烯基-4-磷酸还原酶基因(*HbHDR*)的克隆及表达分析. 基因组学与应用生物学, 28: 15~21

梁小莲,李辉亮,彭世清(2009). 巴西橡胶树 *HbTCTP* 基因的克隆及表达. 分子植物育种, 7: 188~193

刘宽灿,杨云,赵丽红,张治礼(2007). 乙烯利诱导橡胶树胶乳 cDNA 消减文库的构建. 热带作物学报, 28: 1~4

罗明武,邓柳红(2006). 巴西橡胶树产胶与排胶机制研究进展. 林业科学, 42: 127~130

罗明武,邓柳红,易小平,曾会才,肖苏生(2009). 巴西橡胶树顺式异戊烯基转移酶基因 cDNA 克隆及其序列特征分析. 热带亚热带植物学报, 17: 223~228

张治礼,刘宽灿,朱家红,杨云(2008). 乙烯利诱导胶乳基因 *HbEtl* 的克隆与表达分析. 西北植物学报, 28: 2168~2171

朱家红,张全琪,蔡元保,张治礼(2009). 巴西橡胶树液泡 ATP 酶 F 亚基基因克隆及表达. 西北植物学报, 29: 1079~1083

Adiwilaga K, Kush A (1996). Cloning and characterization of cDNA encoding farnesyl diphosphate synthase from rubber

tree (*Hevea brasiliensis*). Plant Mol Biol, 30: 935~946

Alessandro CM, Luiz Edson MO, Paulo M, Nelson DF (2006). Anatomical characteristics and enzymes of the sucrose metabolism and their relationship with latex yield in the rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). Braz J Plant Physiol, 18: 263~268

Asawatreratanakul K, Zhang YW, Wititsuwannakul D, Wititsuwannakul R, Takahashi S, Rattanapittayaporn A, Koyama T (2003). Molecular cloning, expression and characterization of cDNA encoding *cis*-prenyltransferases from *Hevea brasiliensis*. A key factor participating in natural rubber biosynthesis. Eur J Biochem, 270: 4671~4680

Chen SC, Peng SQ, Huang GX, Wu KX, Fu XH, Chen ZQ (2003). Association of decreased expression of a Myb-related transcription factor with the TDP (tapping panel dryness) disease in rubber tree *Hevea brasiliensis*. Plant Mol Biol, 51: 51~58

Chen Z, Posch A, Lohaus C, Raulf-Heimsoth M, Meyer HE, Baur X (1997). Isolation and identification of hevein as a major IgE-binding polypeptide in *Hevea latex*. J Allergy Clin Immunol, 99: 402~409

Chrestin H, Gidrol X, Kush A (1997). Towards a latex molecular diagnostic of yield potential and the genetic engineering of the rubber tree. Euphytica, 96: 77~82

Chye ML, Kush A, Tan CT, Chua NH (1991). Characterization of cDNA and genomic clones encoding 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase from *Hevea brasiliensis*. Plant Mol Biol, 16: 567~577

Chye ML, Tan CT, Chua NH (1992). Three genes encode 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in *Hevea brasiliensis*: *hmg1* and *hmg3* are differentially expressed. Plant Mol Biol, 19: 473~484

D'Auzac J, Jacob JL, Prevot JC, Clement A, Gallois R, Crestin H, Lacote R, Pujade-Renaud V, Gohet E (1997). The regulation of *cis*-polyisoprene production (natural rubber) from *Hevea brasiliensis*. Present Res Plant Physiol, 1: 273~331

Dusotoit-Coucaud A, Brunel N, Kongsawadworakul P, Viboonjun U, Lacoite A, Julien JL, Chrestin H, Sakr S (2009). Sucrose importation into laticifers of *Hevea brasiliensis*, in relation to ethylene stimulation of latex production. Ann Bot, 104: 635~647

Eisenreich W, Rohdich F, Bacher A (2001). Deoxyxylulose phosphate pathway to terpenoids. Trends Plant Sci, 6: 78~84

Eisenreich W, Schwarz M, Cartayrade A, Arigoni D, Zenk MH, Bacher A (1998). The deoxyxylulose phosphate pathway of terpenoid biosynthesis in plants and microorganisms. Chem Biol, 5: R221~R233

Gidrol X, Chrestin H, Mounoury G, D'Auzac J (1988). Early activation by ethylene of the tonoplast H⁺-pumping ATPase in the latex from *Hevea brasiliensis*. Plant Physiol, 86: 899~903

Gidrol X, Chrestin H, Tan HL, Kush A (1994). Hevein, a lectin-

- like protein from *Hevea brasiliensis* (rubber tree) is involved in the coagulation of latex. *J Biol Chem*, 269: 9278~9283
- Hao BZ, Wu JL, Meng CX, Gao ZQ, Tan HY (2004). Laticifer wound plugging in *Hevea brasiliensis*: the role of a protein-network with rubber particle aggregation in stopping latex flow and protecting wounded laticifers. *J Rubber Res*, 7: 281~299
- Ko JH, Chow KS, Han KH (2003). Transcriptome analysis reveals novel features of the molecular events occurring in the laticifers of *Hevea brasiliensis* (para rubber tree). *Plant Mol Biol*, 53: 479~492
- Kush A (1994). Isoprenoid biosynthesis: the *Hevea* factory. *Plant Physiol Biochem*, 32: 761~767
- Miao Z, Gaynor JJ (1993). Molecular cloning, characterization and expression of Mn-superoxide dismutase from the rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Plant Mol Biol*, 23: 267~277
- Peng SQ, Zhu JH, Li HL, Tian WM (2008). Cloning and characterization of a novel cysteine protease gene (*HbCPI1*) from *Hevea brasiliensis*. *J Biosci*, 33: 681~390
- Pujade-Renaud V, Clement A, Perrot-Rechenmann C, Prevot JC, Chrestin H, Jacob JL, Guern J (1994). Ethylene induced increase in glutamine synthetase activity and mRNA levels in *Hevea brasiliensis* latex cells. *Plant Physiol*, 105: 127~132
- Sando T, Takaoka C, Mikai T, Yamashita A, Hattori M, Ogasawara N, Fukusaki E, Kobayashi A (2008). Cloning and characterization of mevalonate pathway genes in a natural rubber producing plant, *Hevea brasiliensis*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 72: 2049~2060
- Seetang-Nun Y, Sharkey TD, Suvachittanont W (2008a). Molecular cloning and characterization of two cDNAs encoding 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase from *Hevea brasiliensis*. *J Plant Physiol*, 165: 991~1002
- Seetang-Nun Y, Sharkey TD, Suvachittanont W (2008b). Isolation and characterization of two distinct classes of *DXS* genes in *Hevea brasiliensis*. *DNA Seq*, 19: 291~300
- Suwanmanee P, Sirinupong N, Suvachittanont W (2004). Regulation of the expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase gene in *Hevea brasiliensis* (B.H.K.). *Mull. Arg. Plant Sci*, 166: 531~537
- Tangpakdee J, Tanaka Y, Ogura K, Koyama T, Wititsuwannakul R, Wititsuwannakul D (1997). Rubber formation by fresh bottom fraction of *Hevea* latex. *Phytochemistry*, 45: 269~274
- Tungngoen K, Kongsawadworakul P, Viboonjun U, Katsuhara M, Brunel N, Sakr S, Narangajavana J, Chrestin H (2009). Involvement of *HbPIP2;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*. *Plant Physiol*, 151: 843~856
- Tupy J (1969). Stimulatory effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and of 1-naphtylacetic acid on sucrose level, invertase activity and sucrose utilization in the latex of *Hevea brasiliensis*. *Planta*, 88: 144~153
- Tupy J (1973). The regulation of invertase activity in the latex of *Hevea brasiliensis* Muell. Arg.: the effects of growth regulators, bark wounding, and latex tapping. *J Exp Bot*, 24: 516~524
- Yang Y, Zhang ZL, Liu KC, Li WG, Su HS (2008). Cloning and characteristics of a novel gene *HbUEP* from latex in *Hevea brasiliensis*. *Chin J Agr Biotech*, 5: 165~168
- Zhang ZL, Zhu ZJ, Zhang QQ, Cai YB (2009). Molecular characterization of an ethephon-induced Hsp70 involved in high and low-temperature responses in *Hevea brasiliensis*. *Plant Physiol Biochem*, 47: 954~959