广西植物 Guihaia Sept. 2025, 45(9): 1702-1710 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202406002

杨瑾, 张世鑫, 曹文卿, 等, 2025. 橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因启动子的克隆与活性分析 [J]. 广西植物, 45(9): 1702-1710.
YANG J, ZHANG SX, CAO WQ, et al., 2025. Cloning and activity analysis of *HbJAZ*1.0 gene promoter from rubber tree [J]. Guihaia, 45(9): 1702-1710.

橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因启动子的克隆与活性分析

杨 瑾[1,2], 张世鑫[2,3], 曹文卿[1,2], 晁金泉[2,3], 吴绍华[2,3*], 胡景涛[1*]

(1. 重庆三峡学院 生物与食品工程学院, 重庆 万州 404100; 2. 中国热带农业科学院橡胶研究所, 热带作物生物育种全国重点实验室, 农业农村部橡胶树生物学与遗传资源利用重点实验室, 海口 571101; 3. 中国热带农业科学院三亚研究院, 海南 三亚 572025)

摘 要: JAZ(jasmonate ZIM-domain)是茉莉酸信号途径的阻遏蛋白,通过与转录因子互作抑制茉莉酸早期应答基因的表达。为探明 *HbJAZ*1.0 基因启动子的特征及活性,该研究以橡胶树品种'热研 7-33-97'为材料,通过 PCR 扩增、PlantCARE 软件及拟南芥转基因技术对 *HbJAZ*1.0 基因启动子的顺式作用元件及表达活性进行了分析。结果表明:(1)从橡胶树基因组 DNA 中克隆了 *HbJAZ*1.0 基因上游的 1 501 bp 的启动子序列。(2)*HbJAZ*1.0 基因上游的 1 501 bp 启动子序列中含有脱落酸响应顺式作用元件(ABRE)、水杨酸响应顺式作用元件(TCA-element)、光响应顺式作用元件(ACAT-motif、Box 4、G-box、GT1-motif、TCCC-motif、TCT-motif 和 chs-CMA1a)等。(3)构建了 *HbJAZ*1.0 启动子与 *GUS* 基因融合的植物表达载体,利用农杆菌介导转化拟南芥,转基因苗不同组织的 GUS 组织化学染色发现,*HbJAZ*1.0 基因启动子能够驱动 *GUS* 基因在拟南芥根、茎、叶、花和果中表达。综上认为,*HbJAZ*1.0 基因启动子具有组成型表达活性,可能受光信号及多种植物激素的调节。该研究结果为进一步研究 *HbJAZ*1.0 基因的功能奠定了基础。

关键词: 橡胶树, *HbJAZ*1.0 启动子, 顺式作用元件, 克隆, 表达分析

中图分类号: Q943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2025)09-1702-09

Cloning and activity analysis of *HbJAZ*1.0 gene promoter from rubber tree

YANG Jin[1,2], ZHANG Shixin[2,3], CAO Wenqing[1,2], CHAO Jinquan[2,3], WU Shaohua[2,3*], HU Jingtao[1*]

(1. *College of Biology and Food Engineering, Chongqing Three Gorges University*, Wanzhou 404100, Chongqing, China; 2. *State Key Laboratory for Tropical Crop Breeding, Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Rubber Tree, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences*, Haikou 571101, China; 3. *Sanya Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences*, Sanya 572025, Hainan, China)

收稿日期: 2024-08-23 **接受日期:** 2024-09-19

基金项目: 国家自然科学基金(32360405); 海南省自然科学基金(323MS075, ZDYF2024XDNY224); 重庆三峡学院研究生科研创新项目(YJSKY23027)。

第一作者: 杨瑾(1998—),硕士研究生,主要从事植物分子生物学研究工作,(E-mail)yj18790929648@163.com。

*通信作者: 吴绍华,博士,副研究员,硕士生导师,主要从事橡胶树分子生物学研究工作,(E-mail)wush-rri@catas.cn; 胡景涛,博士,副研究员,硕士生导师,主要从事植物逆境生理生化研究工作,(E-mail)20180016@sanxiau.edu.cn。

Abstract: The JAZ (jasmonate ZIM-domain) is a repressor protein in the jasmonic acid signaling pathway, inhibiting the expression of early jasmonic acid response genes by interacting with related transcription factors. To elucidate the characteristics and activity of the *HbJAZ*1.0 gene promoter, this study used the rubber tree variety 'CATAS 7-33-97' as material and analyzed the *cis*-acting elements and expression activity of the *HbJAZ*1.0 gene promoter through PCR amplification, PlantCARE software, and *Arabidopsis thaliana* transgenetic techniques. The results were as follows: (1) A total of 1 501 bp promoter sequence upstream of the *HbJAZ*1.0 gene was isolated from the genomic DNA of the rubber tree. (2) Several key *cis*-acting elements had been identified within the *HbJAZ*1.0 gene promoter, including ABRE for abscisic acid, TCA-element for salicylic acid, as well as ACAT-motif, Box 4, G-box, GT1-motif, TCCC-motif, TCT-motif and chs-CMA1a for light responsiveness. (3) A plant expression vector containing the *GUS* reporter gene under the control of the *HbJAZ*1.0 gene promoter had been constructed and transformed it into *A. thaliana* using *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. Histochemical GUS staining demonstrated extensive expression of the *HbJAZ*1.0 gene promoter throughout various tissues of *Arabidopsis thaliana*, including roots, stems, leaves, flowers, and fruits. In conclusion, the results indicate the *HbJAZ*1.0 gene promoter has a constitutive expression activity and might be regulated by light and various plant hormones. The results of the study may lay the foundation for further study on the function of *HbJAZ*1.0 gene.

Key words: *Hevea brasiliensis* (rubber tree), *HbJAZ*1.0 promoter, *cis*-acting element, cloning, expression analysis

橡胶树(*Hevea brasiliensis*)为大戟科橡胶树属乔木,原产于南美洲的亚马孙河流域,主要分布于热带地区,其产的天然橡胶是一种可再生的重要工业原材料,也是一种极其重要的战略物资。世界上 98%以上的天然橡胶主要来源于橡胶树。根据天然橡胶生产国联合会的统计,2022 年我国天然橡胶的年消费量达到了 608.3 万吨,约占全球总消费量的 40.2%。然而,我国 2022 年的天然橡胶产量仅为 85.3 万吨,自给率不足 15%。在目前动荡的国际背景下,天然橡胶国际贸易环境不稳,我国天然橡胶原料资源安全面临"卡脖子"的风险(刘东等,2023;孙永帅等,2024)。因此,在我国有限的植胶面积的情况下,提高橡胶树的单产量是提高我国天然橡胶自给率的有效途径之一。

乳管是橡胶树产量形成的结构基础,是由维管形成层细胞分化而来,其数量与天然橡胶产量显著正相关(Chen et al., 2016)。茉莉酸(jasmonic acid, JA)是一种存在于植物体内的内源生长调节物质,在植物生长发育及逆境胁迫中起关键调节作用(Zhang et al., 2019),在橡胶树中被证实是调节橡胶树乳管细胞分化的关键信号分子(Hao & Wu, 2000)。在自然条件下,橡胶树萌条的第一、第二伸长单位的茎中不会出现次生乳管,但用茉莉酸及其生物活性衍生物处理后能够诱导次生乳管的形成,随后证实这种诱导效应与外源 JA 在萌条内的移动和分布密切相关(Tian et al., 2003;史敏晶和田维敏,2012)。

Zhang 等(2022)研究发现,COI1(CORONATINE INSENSITIVE 1)、JAZ(jasmonate ZIM-domain)和 MYC(myelocytomatosis)是 JA 信号途径的核心组分。细胞内 JA 介导的信号转导反应是通过控制 JAZ 蛋白的降解与否来实现。当 JA 水平较低时,植物细胞中的 JAZ 蛋白通过与转录因子的互作抑制茉莉酸早期响应基因的表达;当发育或环境因子发生变化,活性形式的茉莉酸水平上升时,促使 JAZ 蛋白与 SCFCOI1 复合体的结合而使 JAZ 蛋白泛素化,进而被 26S 蛋白酶体降解,从而解除对转录因子转录活性的抑制作用(Sheard et al., 2010; Li et al., 2021)。在橡胶树割胶生产中,割胶导致内源茉莉酸的积累上升,促使 HbJAZ3 蛋白的降解释放 HbMYC2,释放的 HbMYC2 转录因子激活小橡胶粒子蛋白编码基因 *HbSRPP*1 和法尼基焦磷酸合酶基因 *HbFPS*1 的基因表达,导致 HbSRPP1 和 HbFPS1 蛋白水平上升,进而提高橡胶生物合成的效率,这表明乳管中天然橡胶的生物合成也受到茉莉酸信号途径 COI1-JAZ3-MYC2 通路的调节(Deng et al., 2018)。此外,橡胶树中 JA 信号通路的 3 个关键组分的编码基因 *COI*1(Ma et al., 2012)、*JAZ*(Tian et al., 2010; Chao et al., 2019)、*MYC*(Zhao et al., 2011; Zhang et al., 2022; Chao et al., 2023)也已被克隆。橡胶树 *JAZ* 基因家族

包含 18 个成员,分为 5 个亚组,根据生物信息学及基因表达模式分析,推断 *HbJAZ*5.0 和 *HbJAZ*10.0*b* 可能参与乳管分化调控,*HbJAZ*8.0*b* 可能参与橡胶生物合成的调控(Chao et al., 2019)。橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因受冠菌素(coronatine, COR, 一种茉莉酸类似物)及割胶处理诱导显著上调表达,受乙烯利处理显著下调表达(Chao et al., 2019)。酵母双杂交结果显示,在冠菌素存在的情况下,HbJAZ1.0 蛋白与 COI1 蛋白互作且 HbJAZ1.0 能分别与 HbJAZ1.0、HbJAZ5.0 蛋白发生互作(Chao et al., 2019),表明 HbJAZ1.0 可能参与茉莉酸信号途径调控橡胶树的乳管分化或橡胶生物合成,但其具体机制不详。因此,本研究以橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因的转录调控为出发点,采用 PCR 方法,从橡胶树基因组中克隆了 *HbJAZ*1.0 基因的启动子序列,通过顺式作用元件分析及 *HbJAZ*1.0 启动子驱动的拟南芥 GUS 活性分析,拟探讨以下问题:(1)*HbJAZ*1.0 启动子序列包含哪些顺式作用元件,可能响应哪些因素;(2)*HbJAZ*1.0 启动子的活性是否具有组织特异性。这些问题的解决将为进一步研究 *HbJAZ*1.0 参与茉莉酸信号途径调控橡胶树的乳管分化或橡胶生物合成的机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为橡胶树(*Hevea brasiliensis*)品种'热研 7-33-97'叶片,提取 DNA 用于启动子序列克隆。转基因材料为哥伦比亚(Columbia)型拟南芥(*Arabidopsis thaliana*),于 22 ℃、光周期为 16 h 光照 / 8 h 黑暗的培养箱中培养。限制性内切酶 *Pst* I 和 *Nco* I 及 T4 DNA 连接酶均为 NEB(北京)有限公司产品,PrimeSTAR HS 高保真 DNA 聚合酶、rTaq DNA 聚合酶、凝胶回收纯化试剂盒均为宝日医生物技术(北京)有限公司产品,克隆试剂盒 *pEASY*®-Blunt Cloning Kit 购自北京全式金生物技术有限公司,PCR 引物合成及测序工作委托生工生物工程(上海)股份有限公司完成。大肠杆菌(*Escherichia coli*)DH5α 和根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)GV3101 及植物表达载体 pCAMBIA1301 为本实验室保存。

1.2 试验方法

1.2.1 橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因启动子的克隆与序列的顺式作用元件分析 利用 PrimeSTAR HS 高保真 DNA 聚合酶从橡胶树'热研 7-33-97'的基因组 DNA 中扩增 *HbJAZ*1.0 基因启动子序列。采用 Primer3(https://primer3.ut.ee/)在线设计带有酶切位的特异引物,上游引物为 5′-AACTGCAGCTAAAGGTGCCAATTACATCCAT-3′(下划线为 *Pst* I 酶切位点);下游引物为 5′-CATGCCATGGAATAACAAACAGATCTTACTAGT-3′(下划线为 *Nco* I 酶切位点)。PCR 扩增体系:2 × PrimeSTAR HS(Premix)25 μL, DNA 模板 2 μL, 上、下游引物各为 0.3 μmol · L^{-1},无菌水补足 50 μL。PCR 扩增程序:95 ℃预变性 2 min;98 ℃变性 10 s,58 ℃退火 15 s,72 ℃延伸 2 min,共 30 个循环;72 ℃总延伸 7 min。PCR 产物经 0.8%琼脂糖凝胶电泳检测,切胶回收目的片段,连接至 *pEASY*-Blunt 载体,转化至大肠杆菌 DH5α 进行测序。采用 PLACE(http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/)(Higo et al., 1999)和 PlantCARE(http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plantcare/html/)(Lescot et al., 2002)在线顺式作用元件预测软件对获得的序列的 *HbJAZ*1.0 基因启动子进行分析。

1.2.2 *HbJAZ*1.0 基因启动子的植物表达载体构建 采用 *Pst* I 和 *Nco* I 分别对 *pEASY*-Blunt-*HbJAZ*1.0-promoter 和 pCAMBIA1301 载体的质粒进行双酶切,回收目的片段和载体片段,将切下的 *HbJAZ*1.0-promoter 序列经 T4 DNA 连接酶连接至回收的 pCAMBIA1301 载体上,将 pCAMBIA1301 质粒 *GUS* 基因前的 CaMV35S 启动子替换成 *HbJAZ*1.0 启动子,构建好的表达载体命名为 pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS*。经测序匹配的 pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 质粒转化至农杆菌感受态细胞 GV3101 中,PCR 扩增条带大小一致后保存菌液用于拟南芥花序的侵染转化。

1.2.3 拟南芥的遗传转化及阳性苗的筛选及纯化 参考 Clough 和 Bent(1998)方法,于拟南芥花期,采用包含 pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 质粒的农杆菌 GV3101 侵染拟南芥花序,获得种子记为 T0 代。T1 代苗经 25 μg · mL^{-1}潮霉素 B 进行抗性筛选,分单株提取叶片基因组 DNA,进行潮霉素抗性基因 *HYG* 和 *HbJAZ*1.0 启动子的 PCR 检测。*HYG* 基因检测的上游引物为 5′-

CGTCTGTCGAGAAGTTTC-3′；下游引物为 5′-TACTTCTACACAGCCATC-3′。20 μL PCR 扩增体系如下：2 × rTaq mix 10 μL，拟南芥叶片 DNA 模板 1 μL，上、下游引物各为 0.3 μmol · L^{-1}，无菌水补足 20 μL。PCR 扩增程序：95 ℃预变性 2 min；95 ℃ 变性 30 s，55 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 1 min，共 35 个循环；72 ℃总延伸 7 min。*HbJAZ*1.0 启动子的 PCR 检测体系同 *HbJAZ*1.0 启动子克隆体系。PCR 产物经 0.8%琼脂糖凝胶电泳检测目的条带。PCR 检测为阳性植株后，分单株收获种子记为 T2 代。以此类推，采用潮霉素抗性筛选结合 PCR 检测获得纯合的 T3 代转基因阳性株系。

1.2.4 GUS 组织化学染色分析　采用 Biosharp GUS 染色试剂盒对不同世代及生长期的转 pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 的拟南芥阳性幼苗进行 GUS 染色，脱色完全后采用 Leica 体视显微镜观察和记录 GUS 染色情况。

2　结果与分析

2.1 橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因启动子的克隆

通过 HeveaDB（http://hevea.catas.cn）获取 *HbJAZ*1.0 基因 ORF 的上游序列设计引物，采用 PrimeSTAR HS 高保真 DNA 聚合酶，以橡胶树叶片总 DNA 为模板，PCR 扩增获得 *HbJAZ*1.0 基因的启动子序列片段，胶回收后克隆至 *pEASY*®-Blunt 载体进行测序。结果显示，*HbJAZ*1.0 基因的启动子克隆片段大小为 1 501 bp（图 1）。

2.2 橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因启动子序列的顺式作用元件分析

利用 PlantCARE 软件和 PLACE 软件对 *HbJAZ*1.0 基因启动子序列进行顺式作用元件分析，结果显示，除了含有真核生物启动子的核心转录元件 TATA-box 和 CAAT-box 外，还含有脱落酸响应顺式作用元件 ABRE，水杨酸响应顺式作用元件 TCA-element，光响应顺式作用元件 ACAT-motif、Box 4、G-box、GT1-motif、TCCC-motif、TCT-motif、chs-CMA1a 等（图 2），表明橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因的表达可能受光信号及多种植物激素调节。

2.3 橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因启动子植物表达载体的构建及遗传转化拟南芥

通过浸花法将含有 pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 载体的农杆菌 GV3101 侵染拟南芥花序，获得 pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 转基因 T0 代种子。采用含 25 μg · mL^{-1} 潮霉素 B 抗性的 1/2MS 培养基对 T0 代种子苗进行抗性筛选。如图 3：a 所示，抗性转化苗具有正常的根系并能长出真叶（图中箭头所示），通过 PCR 检测 13 株抗性苗潮霉素基因 *HYG* 和 *HbJAZ*1.0 启动子序列。电泳结果（3：b、c）显示，11 株抗性苗检测到潮霉素基因 *HYG*，基因 *HYG* 的检测率为 84.62%（11/13），5 株抗性苗的 PCR 片段与 *HbJAZ*1.0 启动子目的片段大小相符，*HbJAZ*1.0 启动子片段的检测率为 38.46%（5/13），表明这 5 株抗性苗的 pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 成功转化至拟南芥基因组中。通过对这 5 株 T1 代阳性苗单独套袋收获种子，置于含 25 μg · mL^{-1} 潮霉素 B 抗性的 1/2MS 培养基进行抗性筛选，获得 T2 代阳性苗，分单株收获 T2 代种子。T1 代和 T2 代的阳性苗及 T2 代种子和 T3 代阳性苗用于 *HbJAZ*1.0 基因启动子活性的分析。

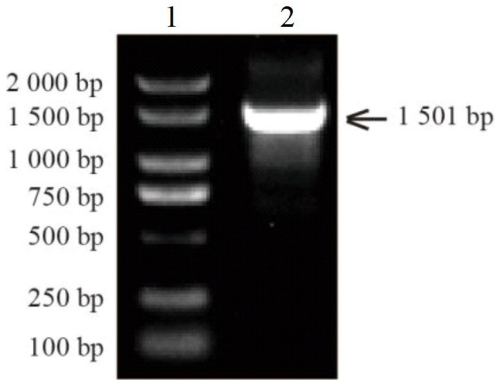


图 1　*HbJAZ*1.0 基因启动子 PCR 产物电泳图谱

Fig. 1　Electrophoretogram of PCR product of *HbJAZ*1.0 gene promoter

2.4 橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因启动子的 GUS 染色分析

通过 1/2MS 潮霉素抗性培养基的一代一代筛选，获得 pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 拟南芥纯系 T3 代。对野生型、T1 代、T2 代的苗，以及 T2 代种子和不同生长时期的 T3 代幼苗及组织进行 GUS 染色，结果显示，野生型拟南芥无法被 GUS 染色（图 4：a），T1 代和 T2 代的阳性苗均能被检测到 GUS 活性（图 4：b、c），T2 代种子外壳检测不到 GUS 活性（图 5：a），T3 代转化苗在营养生长阶段的子叶期和真叶期中的根、茎、叶中均能检测

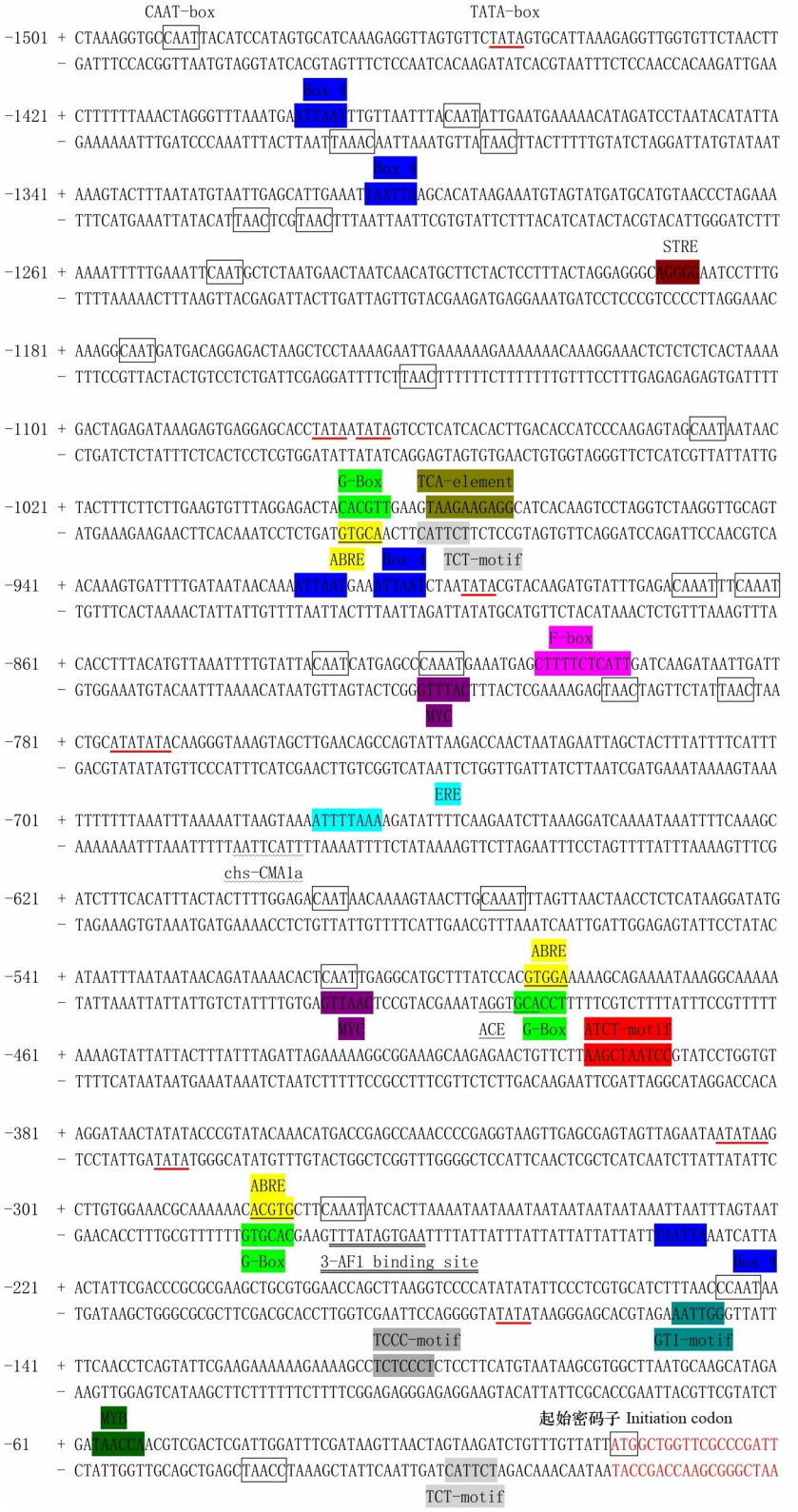
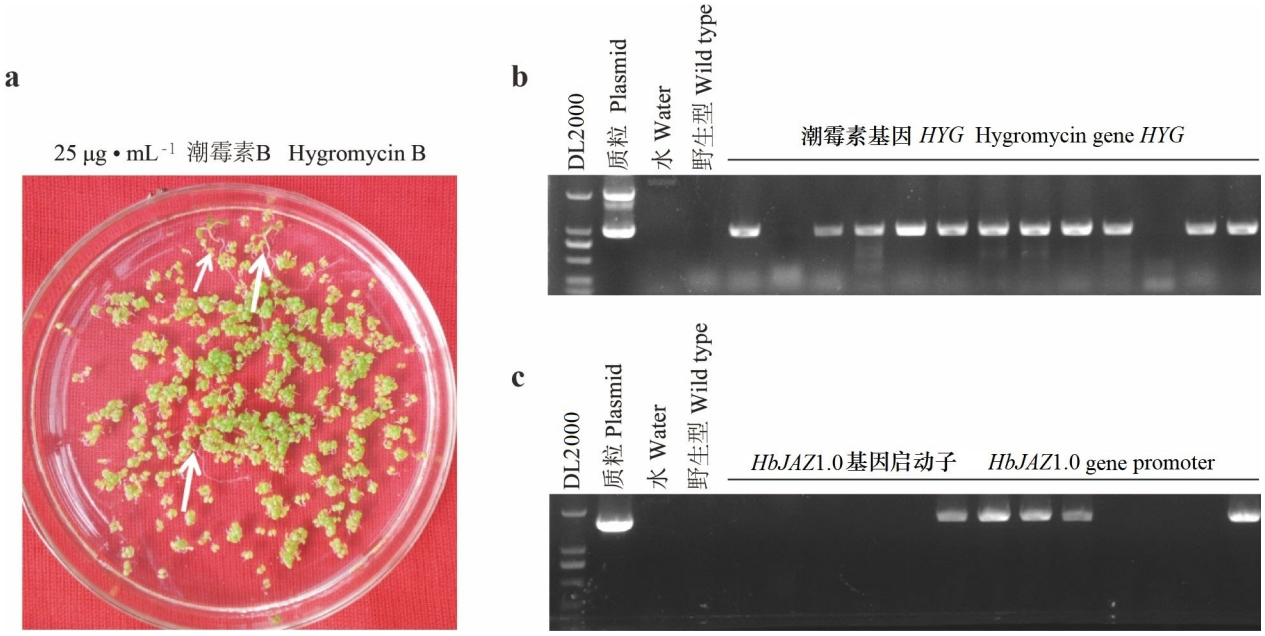


图 2 *HbJAZ*1.0 启动子序列分析

Fig. 2 Sequence analysis of *HbJAZ*1.0 gene promoter

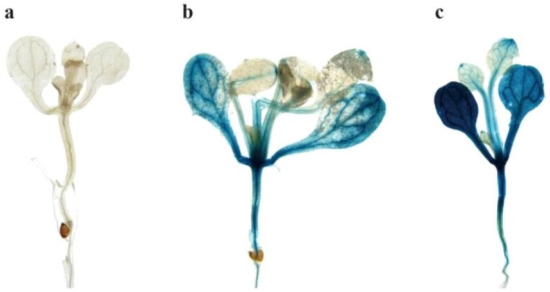


a. pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 抗潮霉素转化苗的筛选；**b**. 转化苗潮霉素基因 *HYG* 的 PCR 产物的电泳图谱；**c**. 转化苗 *HbJAZ*1.0 基因启动子的 PCR 产物的电泳图谱。

a. Screening of transformed seedlings of pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* with hygromycin resistant; **b**. Electrophoretogram of PCR product of hygromycin gene *HYG* of the transformed seedling; **c**. Electrophoretogram of PCR product of *HbJAZ*1.0 gene promoter of the transformed seedling.

图 3　pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 的拟南芥转化

Fig. 3　The transformation of pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* in *Arabidopsis thaliana*



a. 野生型；**b**. T1 代；**c**. T2 代。

a. Wild type; **b**. T1 generation; **c**. T2 generation.

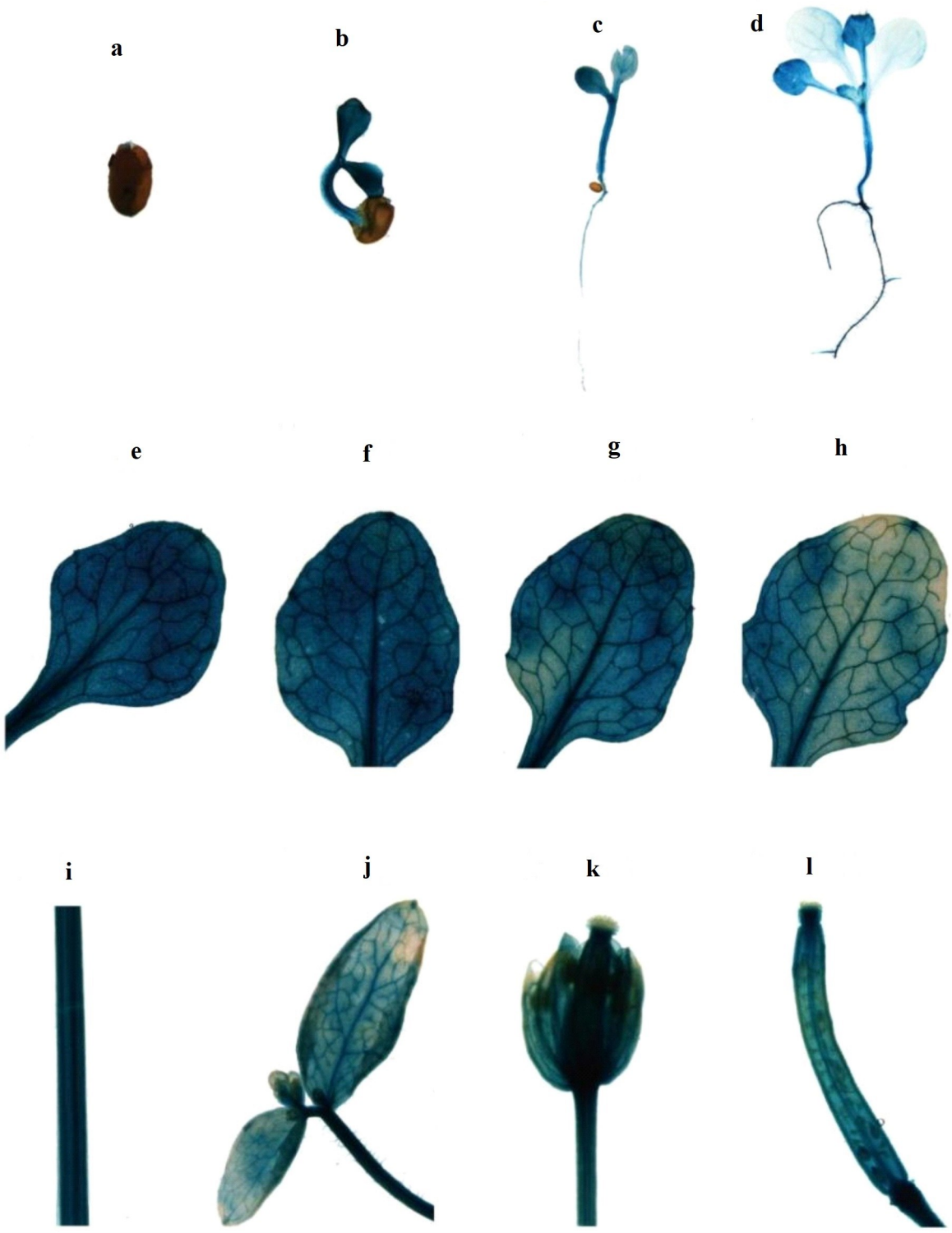
图 4　pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 拟南芥 T1 代和 T2 代的 GUS 染色

Fig. 4　GUS staining of T1 and T2 generations of pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* in *Arabidopsis thaliana*

到 GUS 活性(图 5:b-d),到了生殖生长阶段,在莲蓬叶、茎生叶、茎、花和果荚中均能检测到 GUS 活性(图 5:e-l)。GUS 活性的检测结果表明,pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 不同代的拟南芥及不同营养和生殖阶段的 *HbJAZ*1.0 启动子均具有活性,能启动 *GUS* 基因的表达。

3　讨论与结论

JAZ 蛋白属于植物 TIFY 特异性家族,包含 ZIM 和 Jas 结构域,是茉莉酸响应的抑制因子。已有的研究证实,JAZ1 蛋白在植物生长发育、次生代谢产物合成及应对植物逆境胁迫中起着重要的调节作用。例如,Begum 等(2022)证实了 *StJAZ*1-*like* 介导的 JA 信号在马铃薯块茎发芽和株型调节中的作用;在拟南芥中,通过抑制 *JAZ*1 的表达能增加拟南芥愈伤中亚麻荠素(camalexin)的含量,同时增加 *JAZ*1 对冷胁迫的响应(Makhazen et al., 2021);苹果 MdJAZ1 通过与 MdTRB1 互作影响 MdTRB1 与 MdMYB9 的互作,进而影响花青素与原花色素的合成(An et al., 2021);在陆地棉中过表达木本棉的 *JAZ*1 能增强其盐胁迫的抗性(Zhao



a–d. 营养生长阶段; **e–h**. 莲蓬叶; **i–l**. 生殖生长阶段(茎、茎生叶、花、果荚)。
a–d. Vegetative growth phase; **e–h**. Lotus leaf; **i–l**. Reproductive growth phase (stem, stem leaf, flower, and puerile pod).

图 5 pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 拟南芥 T3 代的 GUS 染色
Fig. 5 GUS staining of T3 generation of pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* in *Arabidopsis thaliana*

et al.，2020）；棉花 GbWRKY1 通过与 JAZ1 和 ABI1 的互作网络负调控棉花的抗盐及抗旱性（Luo et al.，2020）。

橡胶树现有 18 个 JAZ 蛋白编码基因，在冠菌素（COR）刺激下，HbJAZ1.0、HbJAZ2.0 和 HbJAZ5.0 能与 COI1 互作，HbJAZ1.0、HbJAZ2.0、HbJAZ5.0 与 HbJAZ12.0 成员之间也存在互作（Chao et al.，2019）。本研究关注的橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因在树皮中的表达受 COR 处理 1、2、4 h 后显著上调，其氨基酸序列与拟南芥 AtJAZ1.0 同源性在 95%以上，但是对于其功能还不清楚。本研究通过克隆和分析 *HbJAZ*1.0 启动子的活性，发现 *HbJAZ*1.0 启动子含有丰富的 TATA-box 和 CAAT-box，这是真核生物启动子具备的典型核心转录元件。*HbJAZ*1.0 启动子还含有脱落酸响应元件 ABRE、水杨酸响应元件 TCA-element 及光响应元件，这些元件与甘草 GuJAZ、白桦 JAZ 和芝麻 JAZ 基因家族启动子中鉴定到的元件一致（石娜娜等，2023；薛昭等，2023；闫文庆等，2024），表明橡胶树 *HbJAZ*1.0 的表达与其他植物中 *JAZ* 的表达一样，可能受光信号及多种植物激素的调节。另外，*HbJAZ*1.0 启动子还含有乙烯应答元件 ERF 和伤害胁迫元件 WUN-motif。在天然橡胶生产中，橡胶树割胶是一种周期性伤害，而乙烯利（一种乙烯释放剂）是广泛使用的增产剂，可以显著延长橡胶树的排胶时间。Chao 等（2019）研究发现，割胶显著上调 *HbJAZ*1.0 的基因表达，这可能与伤害胁迫元件 WUN-motif 有关。乙烯处理显著下调 *HbJAZ*1.0 的基因表达（Chao et al.，2019），这可能与乙烯应答元件 ERF 有关。同时，pCAMBIA1301-*HbJAZ*1.0-promoter::*GUS* 的转基因拟南芥的 GUS 染色分析结果显示，*HbJAZ*1.0 基因启动子能够驱动 *GUS* 基因在拟南芥幼苗的子叶、下胚轴、根和成熟苗的根、茎、叶、花、果中表达，这与拟南芥 *AtJAZ*2 基因全长启动子驱动的 *GUS* 基因表达情况相似（Figueroa & Browse，2012）。Figueroa 和 Browse（2012）进一步证实了 *JAZ*2 启动子中的 G-box 元件对于茉莉酸介导的启动子激活是必需的，并发现 *JAZ*2 启动子可以被拟南芥 MYC2、MYC3、MYC4、MYC5 和 bHLH028 转录因子激活，被 JAZ 蛋白抑制。橡胶树 *HbJAZ*1.0 基因启动子中也发现了 3 个 G-box 元件，其是否与拟南芥 *JAZ*2 启动子中的 G-box 元件发挥相似的功能还需要进一步研究。综上所述，*HbJAZ*1.0 启动子具有组成型表达活性且具有遗传性，由于其是橡胶树来源的启动子，可考虑作为橡胶树遗传转化载体的启动子。今后将从以下两方面进一步研究 HbJAZ1.0 的功能：一是，构建 *HbJAZ*1.0 基因启动子的诱饵载体，通过酵母单杂交筛库，筛选和鉴定调控 *HbJAZ*1.0 基因的转录因子；二是，通过构建自身启动子驱动的 *HbJAZ*1.0 基因的表达载体转化橡胶树研究其基因功能。

本研究分析了 *HbJAZ*1.0 启动子的顺式作用元件和启动子活性；*HbJAZ*1.0 启动子中含有多个光响应元件及一些激素和逆境胁迫响应元件；启动子活性分析显示该启动子具有组成型表达活性。这些研究结果将为 *HbJAZ*1.0 启动子用于橡胶树的基因转化及进一步了解 *HbJAZ*1.0 基因的功能奠定基础。

参考文献：

AN JP，XU RR，LIU X，et al.，2021. Jasmonate induces biosynthesis of anthocyanin and proanthocyanidin in apple by mediating the JAZ1-TRB1-MYB9 complex [J]. The Plant Journal，106(5)：1414-1430.

BEGUM S，JING SL，YU L，et al.，2022. Modulation of JA signalling reveals the influence of StJAZ1-like on tuber initiation and tuber bulking in potato [J]. The Plant Journal，109(4)：952-964.

CHAO JQ，WU SH，SHI MJ，et al.，2023. Genomic insight into domestication of rubber tree [J]. Nature Communications，14(1)：4651.

CHAO JQ，ZHAO Y，JIN J，et al.，2019. Genome-wide identification and characterization of the *JAZ* gene family in rubber tree (*Hevea brasiliensis*) [J]. Frontiers in Genetics，10：372.

CHEN YY，GAO XS，ZHANG XF，et al.，2016. Relationship between the number of tapping-induced secondary laticifer lines and rubber yield among *Hevea* germplasm [J]. Frontiers of Agricultural Science and Engineering，3(4)：363-367.

CLOUGH SJ，BENT AF，1998. Floral dip：a simplified method for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* [J]. The Plant Journal，16(6)：735-743.

DENG XM，GUO D，YANG SG，et al.，2018. Jasmonate signalling in the regulation of rubber biosynthesis in laticifer cells of rubber tree，*Hevea brasiliensis* [J]. Journal of Experimental Botany，69(15)：3559-3571.

FIGUEROA P，BROWSE J，2012. The *Arabidopsis JAZ*2 promoter contains a G-Box and thymidine-rich module that are

necessary and sufficient for jasmonate-dependent activation by MYC transcription factors and repression by JAZ proteins [J]. Plant Cell Physiology, 53(2): 330-343.

HAO BZ, WU JL, 2000. Laticifer differentiation in *Hevea brasiliensis*: induction by exogenous jasmonic acid and linolenic acid [J]. Annals of Botany, 85: 37-43.

HIGO K, UGAWA Y, IWAMOTO M, et al., 1999. Plant *cis*-acting regulatory DNA elements (PLACE) database: 1999 [J]. Nucleic Acids Research, 27(1): 297-300.

LESCOT M, DÉHAIS P, THIJS G, et al., 2002. PlantCARE, a database of plant *cis*-acting regulatory elements and a portal to tools for in silico analysis of promoter sequences [J]. Nucleic Acids Research, 30(1): 325-327.

LI MY, YU GH, CAO CL, et al., 2021. Metabolism, signaling, and transport of jasmonates [J]. Plant Communications, 2(5): 100231.

LIU D, LIU RJ, SHEN DY, et al., 2023. The evolution, current situation and suggestions of support and protection policies for natural rubber industry in China [J]. China Tropical Agriculture(5): 18-24. [刘东, 刘锐金, 申丹艳, 等, 2023. 我国天然橡胶产业支持保护政策的演变、现状及建议 [J]. 中国热带农业 (5): 18-24.]

LUO XY, LI C, HE X, et al., 2020. ABA signaling is negatively regulated by GbWRKY1 through JAZ1 and ABI1 to affect salt and drought tolerance [J]. Plant Cell Reports, 39(2): 181-194.

MA RF, WANG LF, PENG SQ, et al., 2012. cDNA cloning and expression analysis of three components of SCFCOI1 complex in *Hevea brasiliensis* [J]. Journal Rubber Research, 15(2): 141-152.

MAKHAZEN DS, VEREMEICHIK GN, SHKRYL YN, et al., 2021. Inhibition of the *JAZ*1 gene causes activation of camalexin biosynthesis in *Arabidopsis* callus cultures [J]. Journal of Biotechnology, 342: 102-113.

SHEARD LB, TAN X, MAO HB, et al., 2010. Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1-JAZ co-receptor [J]. Nature, 468(7322): 400-405.

SHI MJ, TIAN WM, 2012. Effect on the induction of the secondary laticifer differentiation by the transportation of exogenous JA in *Hevea brasiliensis* [J]. Chinese Journal Tropical Crops, 33(9): 1647-1653. [史敏晶, 田维敏, 2012. 外源 JA 的移动对巴西橡胶树萌条次生乳管分化的诱导效应 [J]. 热带作物学报, 33(9): 1647-1653.]

SHI NN, YAO H, GAO ZZ, et al., 2023. Identification of the licorice *JAZ* gene family and its expression under abiotic stress [J]. Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 39(12): 1776-1788. [石娜娜, 姚华, 高转转, 等, 2023. 甘草 *JAZ* 基因家族的鉴定及其在干旱胁迫下的表达分析 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 39(12): 1776-1788.]

SUN YS, TIAN WM, ZHAI DL, et al., 2024. Technological bottlenecks and innovative developments for rubber tree breeding in China [J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 39(1): 191-197. [孙永帅, 田维敏, 翟德利, 等, 2024. 我国橡胶树育种的技术瓶颈与创新发展建议 [J]. 中国科学院院刊, 39(1): 191-197.]

TIAN WM, HUANG WF, ZHAO Y, 2010. Cloning and characterization of *HbJAZ*1 from the laticifer cells in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) [J]. Trees, 24: 771-779

TIAN WM, SHI MJ, YU FY, et al., 2003. Localized effects of mechanical wounding and exogenous jasmonic acid on the induction of secondary laticifer differentiation in relation to the distribution of jasmonic acid in *Hevea brasiliensis* [J]. Acta Botanica Sinica, 45(11): 1366-1372.

XUE Z, ZHANG JR, CAO XS, et al., 2023. Genome-wide identification and bioinformatics analysis of the *JAZ* gene family in *Betula platyphylla* Suk [J/OL]. Molecular Plant Breeding: 1-10 [2024-09-03]. https://link. cnki. net/urlid/46.1068.s.20230921.1827.008. [薛昭, 张捷睿, 曹孝双, 等, 2023. 白桦 *JAZ* 基因家族的全基因组鉴定及生物信息学分析 [J/OL]. 分子植物育种: 1-10 [2024-09-03]. https://link.cnki.net/urlid/46.1068. s.20230921.1827.008.]

YAN WQ, NI YX, JIA M, et al, 2024. Identification and analysis of the *JAZ* gene family in sesame [J]. Molecular Plant Breeding: 1-12 [2024-09-03]. https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240124.1712.004. [闫文庆, 倪云霞, 贾敏, 等, 2024. 芝麻 *JAZ* 基因家族鉴定及分析 [J]. 分子植物育种: 1-10 [2024-09-03]. https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240124.1712.004.]

ZHAO Y, ZHOU LM, CHEN YY, et al., 2011. *MYC* genes with differential responses to tapping, mechanical wounding, ethrel and methyl jasmonate in laticifers of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) [J]. Journal Plant Physiology, 168(14): 1649-1658.

ZHANG SX, WU SH, CHAO JQ, et al., 2022. Genome-wide identification and expression analysis of *MYC* transcription factor family genes in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) [J]. Forests, 13: 531.

ZHANG GF, ZHAO F, CHEN L, et al., 2019. Jasmonate-mediated wound signalling promotes plant regeneration [J]. Nature Plants, 5(5): 491-497.

ZHAO G, SONG Y, WANG QH, et al., 2020. *Gossypium hirsutum* salt tolerance is enhanced by overexpression of *G. arboretum* JAZ1 [J]. Frontiers in Bioengineering and Biotechnology, 8: 157.

(责任编辑 周翠鸣)