

# 橡胶树三个品系(热研 8-79、热研 7-33-97 和 PR107)胶乳生理参数的比较研究

黄德宝<sup>1,2</sup>, 秦云霞<sup>1</sup>, 唐朝荣<sup>1\*</sup>

(1. 中国热带农业科学院橡胶研究所, 农业部橡胶树生物学重点开放实验室, 海南 儋州 571737; 2. 海南大学农学院, 海南 儋州 571737)

**摘要:** 通过测定胶乳生理参数和胶乳产量, 首次比较分析了橡胶树(*Hevea brasiliensis*) 3 个品系(热研 7-33-97、热研 8-79 和 PR107)的产排胶特性。结果表明, 3 个品系在初产期、未施乙烯利刺激时的胶乳产量和生理参数差异明显, 胶乳产量为热研 8-79 > 热研 7-33-97 > PR107; 蔗糖转化酶活性与胶乳产量显著正相关, 但其它生理参数与产量的相关性均不明显; 割胶前一段时间的降水量是影响割次胶乳产量的重要因素, 其中 PR107 品系受影响最大。这说明橡胶树品系的产排胶具有特异性, 需要建立品系适宜性割胶制度。

**关键词:** 橡胶树品系; 胶乳产量; 生理参数; 蔗糖转化酶

中图分类号: Q946.92

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2010)02-0170-06

## Physiological Characters of Latex from Three *Hevea* Clones (Reyan 8-79, Reyan 7-33-97 and PR107)

HUANG De-bao<sup>1,2</sup>, QIN Yun-xia<sup>1</sup>, TANG Chao-rong<sup>1\*</sup>

(1. Rubber Research Institute, Key Laboratory of Ministry of Agriculture for Tropical Crops Physiology, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences, Danzhou 571737, China; 2. College of Agriculture, Hainan University, Danzhou 571737, China)

**Abstract:** The latex physiological parameters, such as total solid content, inorganic phosphorus, thiols, sucrose content, and invertase activity, and the yield in three clones (Reyan 7-33-97, Reyan 8-79 and PR107) of *Hevea brasiliensis* were analyzed. The results showed that there were significant difference in latex yield and physiological parameters among the three clones at early latex productive stage and tapped without ethrel stimulation. The latex yields were in order as: Reyan 8-79 > Reyan 7-33-97 > PR107. The activity of latex invertase had positive correlation to latex yield ( $P < 0.01$ ), while the other physiological parameters had not. The cumulative rainfall before tapping had different effects on the three clones, in which PR107 had the most influence, so it seemed to be an important factor in latex yield. These results suggested that there were specificity in latex production among clones, and it needs establish clone-suitable tapping systems.

**Key words:** *Hevea* clones; Latex yield; Physiological parameters; Invertase

热研 7-33-97 和热研 8-79 是中国热带农业科学院橡胶研究所培育的优良橡胶树品系, 前者速生高产<sup>[1]</sup>, 后者早熟高产<sup>[2]</sup>。PR107 是从国外引进的优良无性系, 其产胶水平中等, 是迟熟品种, 开割的头几年产量很低, 但后期代谢能力增强, 产量增加

较快, 乙烯利刺激的增产效果好、抗逆性强<sup>[3-4]</sup>。胶乳的生理生化特性反映了乳管系统的代谢状况和品系特征, 对 PR107 和热研 7-33-97 的研究报道较多<sup>[3,5-9]</sup>。热研 8-79 的选育时间较短, 生理生化研究较少<sup>[10]</sup>, 且品系间的比较研究尚未见报道。国外品

收稿日期: 2009-05-04 接受日期: 2009-08-09

基金项目: 973 前期研究专项(2008CB117009); 国家自然科学基金(30600386; 30760114); 公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-033-6); 公益性科研院所基本科研业务费专项(XJSYWFZX2009-16)资助

\* 通讯作者 Corresponding author, email: chaorongtang@126.com

系 PB260 和 PB217 分别作为橡胶树乳管代谢活跃和低下的典型代表,在橡胶树的生理生化和分子生物学研究上有广泛的应用<sup>[11-13]</sup>,但它们在我国的种植面积很小或根本无种植,不适合作为我国橡胶树相关研究的比较材料。

由于橡胶树的产胶排胶特性受胶树的树龄、栽培环境、割制、胶工技术和胶园管理水平等因素的影响<sup>[14]</sup>,本文在这些因素一致或基本一致条件下,比较上述 3 个品系产胶排胶的生理参数,以了解其产胶排胶特性,初步确定它们是否适合作为我国橡胶树产排胶生物学相关研究的比较材料,为品系特异性采胶措施的制定提供理论和实践依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 品系材料

采用的橡胶树(*Hevea brasiliensis*) 3 个品系(热研 8-79、热研 7-33-97 和 PR107)均来自中国热带农业科学院试验场二队 3 个相邻林段,这些品系均为 2000 年定植、2007 年开割,采用 s/2 d/3 不刺激割制。

### 1.2 胶乳采集和处理

每个品系各选择 20 株茎围和生长势基本一致的健康橡胶树,于 2008 年 9 月 29 日、10 月 30 日和 11 月 9 日 3 次采集胶乳样品。割胶后弃前 20 滴胶乳,然后用冰浴下的 50 mL 离心管收集胶乳,每株收集 2 mL,同品系的胶乳混合,冰浴下带回实验室进行生理参数测定。停止排胶后,测定各单株的胶乳产量。

胶乳混匀后,取 1 mL 与 9 mL 2.5% (w/v) 三氯乙酸混合,4℃ 10000 × g 离心 5 min,取上清液用于硫醇、蔗糖和无机磷含量测定,其中硫醇含量的测定应立即进行。另取 3 mL 胶乳,用于胶乳总固形物含量的测定;其余胶乳于 4℃ 20000 × g 离心 2 h,取中层澄清的 c-乳清用于蔗糖转化酶活性测定。

### 1.3 胶乳生理参数测定

**胶乳总固形物含量(TSC)测定** 取 1 mL 新鲜胶乳,装入预先称重( $W_1$ )的小烧杯中,称重( $W_2$ )后置于烘箱,70 ~ 80℃ 烘至恒重( $W_3$ )。 $TSC(\%) = (W_3 - W_1) / (W_2 - W_1) \times 100$ 。

**蔗糖含量(mmol/L)** 采用蒽酮试剂法<sup>[15]</sup>测定。

**硫醇含量(mmol/L)** 采用 DTNB 试剂法<sup>[16]</sup>

测定。

**无机磷含量(mmol/L)** 采用钼酸铵比色法<sup>[17]</sup>测定。

### 1.4 蔗糖转化酶活性测定

酶促反应体系及反应条件参照 Tupy 的方法<sup>[18]</sup>,还原糖定量采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法<sup>[19]</sup>,均略有改动。

**酶促反应** 冰浴条件下,将 50 μL c-乳清、100 μL dH<sub>2</sub>O、50 μL 蔗糖(0.4 mol/L)-氟化钠(0.24 mol/L)混合液和 50 μL 柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液(pH 7.2)加入 1.5 mL 带螺旋盖的离心管中,混合均匀,4℃ 下 5000 × g 离心 10 s。将反应混合物于 30℃ 水浴中温育 60 min,空白对照不作温育处理(置于冰上);加入 400 μL 无水乙醇,沸水浴 5 min 终止反应;加入 900 μL dH<sub>2</sub>O(终体积 1.5 mL),15000 × g 离心 5 min,上清液用于还原糖含量测定。

**还原糖定量** 取 0.1 ~ 0.4 mL 上清液,用 dH<sub>2</sub>O 补足 0.4 mL,加入 0.3 mL DNS 试剂,混匀后沸水浴 5 min,冷却后加入 4.3 mL dH<sub>2</sub>O(终体积为 5.0 mL),混匀测定 520 nm 的光吸收值,根据还原糖标准曲线计算还原糖量(μg)。

**酶活计算** 以 30℃ 下每分钟催化产生 1 μmol 还原糖为 1 个酶活单位(U)。蔗糖转化酶活性(U mL<sup>-1</sup> c-乳清) = 还原糖量(μg) / 180 × 稀释倍数 / 反应时间(min)。

## 2 结果和分析

### 2.1 胶乳产量

同一品系不同割次的胶乳产量变化较大,热研 8-79 的割次最高产量(238.7 mL)为其最低值(185.7 mL)的 1.28 倍,热研 7-33-97 的割次最高产量(151.2 mL)为其最低值(105.2 mL)的 1.43 倍,而 PR107 割次产量的变化最大,最高值(116.3 mL)为其最低值(59.2 mL)的 1.96 倍。3 品系间的产量差异明显,同一割次胶乳产量均以热研 8-79 > 热研 7-33-97 > PR107 (图 1),其中 3 割次热研 8-79 的平均产量(213.2 mL)为热研 7-33-97(122.0 mL)的 1.74 倍,为 PR107(86.6 mL)的 2.46 倍。利用 SAS6.12 软件进行的方差分析表明 3 品系的胶乳产量差异显著( $P < 0.05$ )。

### 2.2 胶乳总固形物含量

胶乳的总固形物含量(TSC)影响胶乳的粘性,

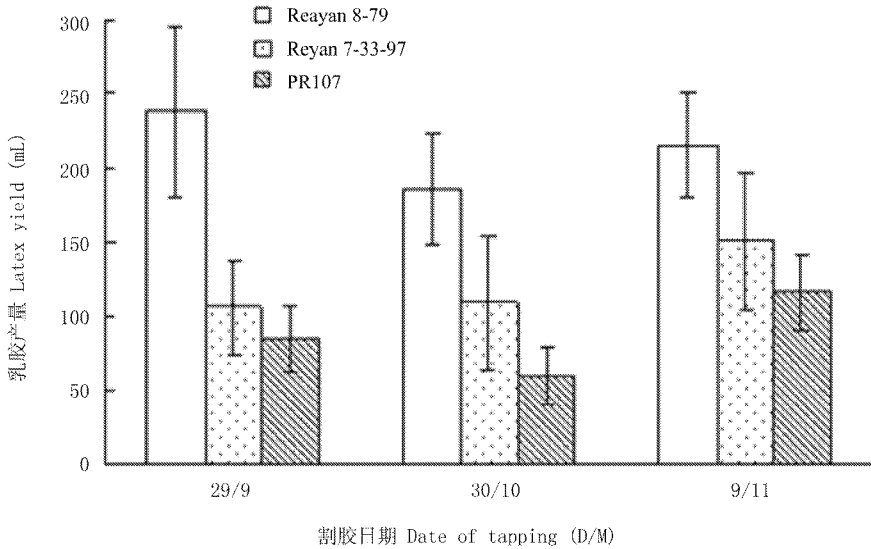


图 1 热研 8-79、热研 7-33-97 和 PR107 三割次的胶乳产量

Fig. 1 Latex yields in three tappings of three *Hevea* clones (Reyan 8-79, Reyan 7-33-97 and PR107)

过高导致排胶不畅,影响胶乳产量;过低表明胶乳再生不完全,反映采胶过度或乳管系统机能受损<sup>[20-22]</sup>。3 品系中,PR107 胶乳的 TSC 最高(42.13%),热研 7-33-97 次之(38.67%),热研 8-79

最低(36.84%),这与胶乳产量的排序正好相反(表 1),且品系间差异显著( $P < 0.05$ )。同一品系不同割次的 TSC 不同,但同一割次均为 PR107 > 热研 7-33-97 > 热研 8-79。

表 1 3 个橡胶树品系的胶乳生理参数比较

Table 1 The physiological parameters of latex in three *Hevea* clones

品系 Clones	总固形物含量 Total solid content (%)	蔗糖 Sucrose content (mmol/L)	无机磷含量 Inorganic phosphorus content (mmol/L)	硫醇含量 Thiol content (mmol/L)
Reyan 8-79	36.84 ± 1.45 <sup>a</sup>	8.04 ± 2.36 <sup>a</sup>	24.89 ± 5.82 <sup>a</sup>	0.55 ± 0.148 <sup>a</sup>
Reyan 7-33-97	38.67 ± 1.82 <sup>b</sup>	7.51 ± 2.95 <sup>a</sup>	22.78 ± 7.82 <sup>b</sup>	0.568 ± 0.185 <sup>a</sup>
PR107	42.13 ± 1.81 <sup>c</sup>	10.25 ± 5.59 <sup>b</sup>	15.77 ± 8.15 <sup>c</sup>	0.33 ± 0.059 <sup>b</sup>

不同字母代表  $P < 0.05$  水平上差异显著。Different letters mean significant difference at 0.05 level.

### 2.3 胶乳蔗糖含量

蔗糖是橡胶生物合成的原料,其含量是综合反映乳管蔗糖供给和利用效率的指标<sup>[18,22]</sup>。3 品系中,PR107 的胶乳蔗糖含量(10.25 mmol/L)显著高于热研 7-33-97 (7.51 mmol/L) 和热研 8-79 (8.04 mmol/L)( $P < 0.05$ , 表 1)。胶乳蔗糖含量在割次间的变化较大,尤以 PR107 最为明显,其胶乳蔗糖浓度割次最高值(16.53 mmol/L)为最低值(5.83 mmol/L)的近 3 倍。

### 2.4 胶乳无机磷含量

无机磷参与糖酵解调控和能量代谢中 ATP 的生成,反映乳管系统代谢能力的重要指标,与橡胶产量密切相关<sup>[21-22]</sup>。热研 8-79 的无机磷含量最高,

热研 7-33-97 次之,PR107 最低(表 1),这与 3 品系产胶量的排序一致。方差分析显示,品系间无机磷含量差异达显著水平( $P < 0.05$ )。

### 2.5 胶乳硫醇含量

硫醇是胶乳中的一类还原化合物,参与乳管细胞代谢副产物——活性氧的清除,保护膜磷脂免受过氧化降解,促进胶乳稳定和排胶顺畅;同时,硫醇化合物还是乳管代谢(丙酮酸激酶和蔗糖转化酶)和橡胶生物合成(HMGR)关键酶的激活剂,因而与橡胶生物合成和胶乳再生密切相关<sup>[20,22]</sup>。3 品系中,热研 8-79 和热研 7-33-97 的硫醇含量接近(差异不显著),但显著高于 PR107( $P < 0.05$ )(表 1),这可能是导致 PR107 胶乳稳定性差、排胶不畅和胶乳产

量低的原因。

## 2.6 胶乳蔗糖转化酶活性

蔗糖转化酶将蔗糖分解为葡萄糖和果糖,是乳管利用蔗糖进行橡胶生物合成的第一步,也是限制橡胶合成的关键酶<sup>[21]</sup>,是影响橡胶产量的重要因

子。从图 2 可知,热研 8-79 的蔗糖转化酶活性最高,PR107 最低,热研 7-33-97 居中,且差异均达显著水平( $P < 0.05$ ),3 品系的胶乳酶活性的变化趋势与产胶量一致。

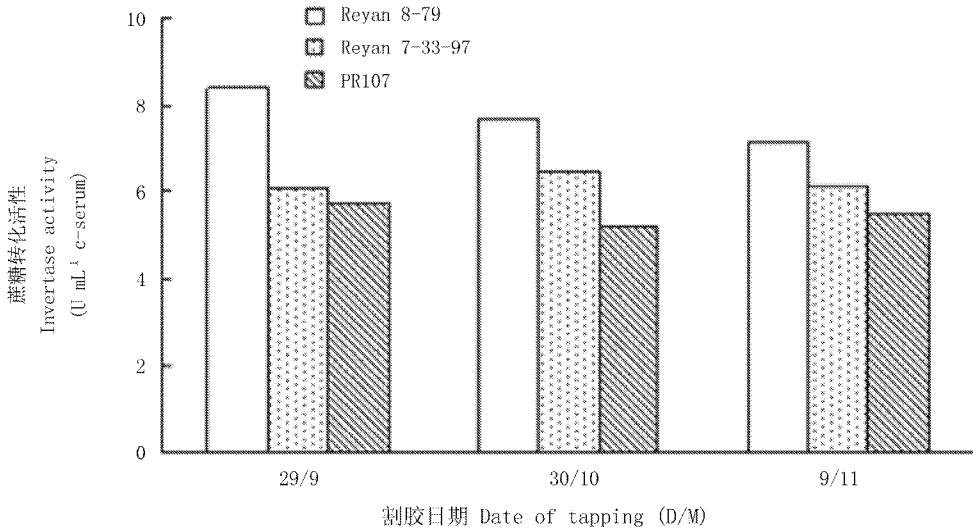


图 2 3 个橡胶树品系的胶乳蔗糖转化酶活性

Fig. 2 Invertase activity of latex for three *Hevea* clones

## 2.7 胶乳生理参数与产量间的相关性

利用 SAS 6.12 软件分析 3 个橡胶树品系的 5 个胶乳生理参数(蔗糖浓度、硫醇含量、总固形物含量、无机磷含量和蔗糖转化酶活性)与胶乳产量的相关性,结果表明:蔗糖转化酶活性与胶乳产量的相关性最高,相关系数为 0.90992,达极显著水平( $P = 0.007$ );总固形物含量与胶乳产量水平负相关,相关系数为-0.53283,但未达显著水平;而其余生理参数(蔗糖浓度、硫醇含量和无机磷含量)与胶乳产量的相关性很低,相关系数均小于 0.4。

## 2.8 胶乳产量与气象因素

同一橡胶树品系不同割次的胶乳产量变化较大(图 1),尤其在第二割次中。除热研 7-33-97 外,另两个品系(热研 8-79 和 PR107)的胶乳产量在 3 割次中均为最低值。已有研究表明,气象条件是影响橡胶树胶乳生理参数和产胶能力的重要外部因素<sup>[5]</sup>。为此,我们统计了 3 个割次的割胶当日、割胶前 3 日和前 10 日的部分气象资料,包括温度、相对湿度和降水。结果表明,在 3 割次中,割胶前一段时间内变化最大的气象因子是降水量,如第二次割胶(10 月 30 日)无论割胶前 10 日或前 3 日的累计降水量均很低,分别为 3.9 mm 和 8.2 mm,而其

它两割次(9 月 29 日和 11 月 9 日)的同期降水量则要高得多。因此,降水量可能是影响产胶量的重要因素。同时,降水量对不同品系产胶的影响不一,PR107 受影响最大,这可能与其自身排胶困难(胶乳总固形物含量高、硫醇含量低)有关,长时间干旱使乳管系统的水分供给困难,进一步加剧了排胶障碍<sup>[12]</sup>。

## 3 讨论

### 3.1 3 品系的产排胶特性差异明显

胶乳生理参数和胶乳产量受品系遗传特性和环境条件等多个因素影响<sup>[3-5,14]</sup>。为尽可能排除外部因素影响,以便更客观的反映品系内在的遗传特性,本文是在橡胶树树龄、割制、胶工技术和胶园管理水平等诸多外部因素一致或基本一致条件下,比较分析了热研 8-79、热研 7-33-97 和 PR107 的胶乳产量和某些生理生化指标,结果表明品系间的相关参数的差异较大,品系特征明显:热研 8-79 胶乳产量、蔗糖转化酶活性和无机磷含量均最高,总固形物含量最低,而硫醇含量和蔗糖浓度居中,显示该品系胶乳再生能力强,蔗糖利用率高,乳管代谢旺盛,排胶顺畅,是一个综合性状优良的高产品系;

热研 7-33-97 产量居中,胶乳硫醇含量最高,总固形物含量、无机磷含量和蔗糖转化酶活性居中,而蔗糖浓度最低,显示该品系排胶顺畅、胶乳再生能力适中,但蔗糖供给不足可能是影响其产胶潜力的主要原因;PR107 株次产量最低,胶乳无机磷含量、硫醇含量和蔗糖转化酶活性最低,但蔗糖浓度和总固形物含量最高,显示排胶不畅、蔗糖利用效率低可能是影响该品系产胶能力的主要因素。

三品系的产排胶特性差异明显,同时它们又是我国植胶区大面积种植或大规模推广种植的品系<sup>[6,9-10]</sup>,因此我们认为这 3 个品系适于作为我国橡胶树产排胶研究的良好比较材料。需要指出的是,这些实验结果是在开割第二年获得的,属于初产期,橡胶树的产排胶特性会随树龄和割龄增大而不同,PR107 品系表现得非常明显<sup>[4]</sup>。此外,乙烯利刺激可大大改变乳管细胞的产排胶特性并提高胶乳产量<sup>[20-21]</sup>,是现代割胶制度的重要组成部分,比较不同割龄和乙烯利刺激割胶下不同品系的产排胶特性和抗逆表现,将有助于更客观的评价这些品系,并为品系适宜性割胶制度的完善提供科学依据。

### 3.2 胶乳蔗糖转化酶活性与产胶能力正相关

胶乳各项生理参数均反映了橡胶树乳管系统的代谢水平与产排胶特性,与胶乳产量密切相关,但胶乳单一生理参数往往只在一定条件下才与橡胶产量呈显著相关,这种相关性受到橡胶树的品系、树龄、割制和环境条件等因素的影响<sup>[5]</sup>。蔗糖转化酶是橡胶树乳管中碳水化合物代谢速率的决定因素,同时也是影响橡胶生物合成的一个限制因子<sup>[18,22]</sup>。许多研究认为该酶活性与胶乳产量呈正相关<sup>[5]</sup>,但也有研究发现二者并无明显相关性,Tupy<sup>[22]</sup>认为产生这种结果的原因是多方面的。本文结果显示不同品系胶乳的各个生理参数与胶乳产量均不相关或相关不显著,但蔗糖转化酶活性与胶乳产量呈显著正相关,需要指出的是我们所用的试验品系和测定次数还偏少,尚需多品系、多年、多点 and 不同割制下的相关研究,以期进一步确认二者的相关性和相关程度。

**致谢** 本文承蒙校现周研究员审阅全文,本课题组的阳江华、王岳坤、戚继艳等参与部分工作,在此一并致谢!

### 参考文献

[1] Huang H S(黄华孙), Liang M H(梁茂襄), Wu Y T(吴运通), et al

- Selection and breeding of a moderate scale clone SCATC 7-33-97 [J]. *Chin J Trop Crops* (热带作物学报), 1994, 15(2): 1-6. (in Chinese)
- [2] Zhuo S C(卓书蝉), Huang H S(黄华孙), Fang J L(方家林), et al. Selection and breeding of a superior rubber clone SCATC 8-79 [J]. *J Yunnan Trop Crops Sci Techn*(云南热作科技), 1999, 22(3): 1-4. (in Chinese)
- [3] Tupy J. Sucrose supply and utilization for latex production [C]// d'Auzac J, Jacob J L, Chrestin H. *Physiology of Rubber Tree Latex*. Boca Raton, FL: CRC Press Inc, 1989: 179-199.
- [4] Serres E, Lacroite R, Prevot J C, et al. Metabolic aspects of latex regeneration *in situ* for three *Hevea* clones [J]. *Ind J Nat Rub Res*, 1994, 7(2): 79-88.
- [5] Eschbach T M, Roussel D, van de Sype H, et al. Relationships between yield and clonal physiological characteristics of latex from *Hevea brasiliensis* [J]. *Physiol Veg*, 1984, 22(3): 295-304.
- [6] Yang S Q(杨少琼), Mo Y Y(莫业勇), Fan S W(范思伟). Physiological response of *Hevea* clone PR107 to intensive tapping with stimulation at early exploitation stage [J]. *Chin J Trop Crops* (热带作物学报), 1995, 16(1): 29-37. (in Chinese)
- [7] Mo Y Y(莫业勇), Yang S Q(杨少琼), Li Y(黎瑜). Seasonal variation of latex physiological parameters in *Hevea* clone PR107 [J]. *Chin J Trop Crops* (热带作物学报), 1999, 20(3): 12-15. (in Chinese)
- [8] Luo S Q(罗世巧), Xiao X Z(校现周), Wei X D(魏小弟), et al. Adaptability of young tapped *Hevea brasiliensis* var. SCATC 7-33-97 to lower frequency tapping system with stimulants [J]. *Chin J Trop Crops* (热带作物学报), 2005, 26(4): 28-33. (in Chinese)
- [9] Wei F(魏芳), Xiao X Z(校现周). Comparison on the physiological characters of three clones Reyan7-33-97, PR107, RRIM600 of Brazil *Hevea brasiliensis* [J]. *J Anhui Agri Sci* (安徽农业科学), 2008, 36(18): 7561-7563. (in Chinese)
- [10] Tan D G(谭德冠), Huang H S(黄华孙), Li W G(李维国), et al. Primary report of study for tapping systems of promising rubber clone SCATC 8-79 [J]. *Trop Agri Sci Techn* (热带农业科技), 2003, 26(3): 1-4, 39. (in Chinese)
- [11] Priya P, Venkatachalam P, Thulaseedharan A. Differential expression pattern of rubber elongation factor (REF) mRNA transcripts from high and low yielding clones of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell.-Arg.) [J]. *Plant Cell Rep*, 2007, 26: 1833-1838.
- [12] Tunggoen K, Kongsawadworakul P, Viboonjun U, et al. 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* [J]. *Plant Physiol*, 2009, 151(2): 843-856.
- [13] Dusotoit-Coucaud A, Brunel N, Kongsawadworakul P, et al. Sucrose importation into laticifers of *Hevea brasiliensis*, in relation to ethylene stimulation of latex production [J]. *Ann Bot*, 2009, 104(4): 635-647.
- [14] Tupy J, Primot L. Control of carbohydrate metabolism by ethylene in latex vessels of *Hevea brasiliensis* Muell.-Arg. in relation to

- rubber production [J]. Biol Plant, 1976, 18(5): 373-384.
- [15] Ashwell G. Colorimetric analysis of sugars [J]. Meth Enzymol, 1957, 3: 73-105.
- [16] Boyne A F, Ellman G L. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components [J]. Anal Biochem, 1972, 46: 639-653.
- [17] Taussky H H, Shorr E. A microcolorimetric method for the determination of inorganic phosphorus [J]. J Biol Chem, 1953, 202: 675-685.
- [18] Tupy J. Stimulatory effects of 2-4-dichlorophenoxyacetic acid and of 1-naphthylacetic acid on sucrose level. Invertase activity and sucrose utilization in the latex of *Hevea brasiliensis* [J]. Planta, 1969, 88: 144-153.
- [19] Zhang Z Y(张忠义), Chen H(陈辉), Liu Z L(刘振林). Probe on determination of sucrose transterase in honey [J]. Food Sci(食品科学), 2002, 23(11): 116-118.(in Chinese)
- [20] Xiao X Z(校现周). Present status of tapping systems in China and its advances overseas [J]. Chin J Trop Agri(热带农业科学), 2005, 25(4): 61-63.(in Chinese)
- [21] d'Auzac J, Jacob J L. The regulation of *cis*-polyisoprene production (natural rubber) from *Hevea brasiliensis* [J]. Rec Res Plant Physiol, 1997, 1: 273-331.
- [22] Tupy J. Sucrose supply and utilization for latex production [M]// d'Auzac J, Jacob J L, Chrestin H. Physiology of Rubber Tree Latex. Boca Raton, Fla: CRC Press, 1989: 179-218.