



主要产胶植物功能基因组学研究进展

杜晓愚^{1,2}, 赵一杰^{1,3}, 杨署光¹, 田维敏¹, 晁金泉^{1,4,*}

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, 海口571737

²浙江农林大学现代农学院, 浙江临安311300

³海南大学热带作物学院, 海口570228

⁴中国热带农业科学院三亚研究院, 海南三亚572024

*通信作者(tianwang208@163.com)

摘要: 天然橡胶是一种重要的工业原材料, 在国计民生领域发挥着不可替代的作用。已发现2 000余种植物可以合成天然橡胶, 其中橡胶树、杜仲、橡胶草是世界天然橡胶的主要来源。长期以来由于缺乏基因组信息, 产胶植物功能基因组研究进展缓慢。随着多个版本基因组序列的公布以及基因功能鉴定平台的建立, 近年来该领域的研究取得了蓬勃的发展。本文从基因组测序、重要功能基因鉴定、分子标记研发等方面对主要产胶植物功能基因组学重要进展进行综述, 并对今后的研究方向作出展望。

关键词: 产胶植物; 橡胶树; 杜仲; 橡胶草; 功能基因组

Advances in functional genomics of major rubber-producing plants

DU Xiaoyu^{1,2}, ZHAO Yijie^{1,3}, YANG Shuguang¹, TIAN Weimin¹, CHAO Jinquan^{1,4,*}

¹State Key Laboratory Incubation Base for Cultivation & Physiology of Tropical Crops, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Rubber Tree, Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Haikou 571737, China

²College of Advance Agricultural Sciences, Zhejiang A&F University, Lin'an, Zhejiang 311300, China

³College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou 570228, China

⁴Sanya Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Sanya, Hainan 572024, China

*Corresponding author (tianwang208@163.com)

Abstract: Natural rubber is an important industrial raw material and plays an irreplaceable role in the field of national economy and people's livelihood. There are more than 2 000 plants producing natural rubber. Of which, *Hevea brasiliensis*, *Eucommia ulmoides*, *Taraxacum kok-saghyz* are the main sources of natural rubber around the world. Due to the lack of genomic information, the research on functional genomics of rubber-producing plants has been slow for a long time. With the release of several versions of genome sequences, functional genomics research on rubber-producing plants has made great progress in recent years. In this paper, the important progress of functional genomics of rubber-producing plants in genome sequence, important functional genes identification, and molecular markers development are reviewed, and the future research focuses are prospected.

Key words: rubber-producing plants; *Hevea brasiliensis*; *Eucommia ulmoides*; *Taraxacum kok-saghyz*; functional genomics

收稿 2023-04-20 修定 2024-03-27

资助 海南省重点研发计划(ZDYF2022XDNY252)、国家自然科学基金(31700601)和现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-33-YZ1)。

天然橡胶是一种聚异戊二烯高分子化合物 (Cherian等2019)。作为重要的工业原材料,天然橡胶所具有的优良弹性、良好绝缘性和耐腐蚀性能使其在国防安全、医疗卫生等国计民生领域发挥着不可替代的作用 (Morawetz 2000; González等2016)。世界上有2 000余种植物可以合成天然橡胶,目前只有橡胶树(*Hevea brasiliensis*)、橡胶草(*Taraxacum kok-saghyz*)和杜仲(*Eucommia ulmoides*)等少数几种产胶植物具备利用价值 (Mooibroek和Cornish 2000; Yang等2023)。橡胶树是一种原产于亚马逊雨林地区的高大乔木,其树皮内层乳管细胞的胶乳中含30%~50%的天然橡胶 (Oghenekome 2004)。橡胶草是属于菊科大角蒲公英属的多年生草本植物,20世纪20年代首次在我国天山河谷地带被发现 (Salehi等2021)。杜仲是原产我国的一种子遗植物。与橡胶树和橡胶草合成的顺式聚异戊二烯链不同,杜仲胶为反式聚异戊二烯链,在工业生产中有独特的利用价值 (Nakazawa等2009)。

功能基因组学又称为后基因组学,是利用基因组测序提供的丰富数据信息,在全基因组水平上研究基因功能或开发性状相关标记,揭示生物体内的分子调控网络 (Hieter和Boguski 1997)。长期以来由于缺乏基因组信息以及功能基因验证平台,主要产胶植物的功能基因组学研究进展缓慢。近年来随着高通量测序技术的广泛应用,已有多个版本的橡胶树、橡胶草、杜仲基因组相继发布,极大地推进了产胶植物功能基因组学的研究。本文从基因组测序、重要功能基因鉴定、分子标记研发等方面对近年来产胶植物功能基因组学的重要进展进行综述,并对后续的研究方向作出展望。

1 主要产胶植物全基因组测序

完善的基因组信息是开展功能基因组研究的前提。与其他模式植物以及大宗农作物相比,产胶植物功能基因组研究起步较晚,2013年才报道了首张橡胶树基因组草图。随着测序技术的不断进步,近年来陆续报道了多个版本的橡胶树、橡胶草、杜仲基因组图谱。这些图谱的完整度越来越高,且每个物种中均有高质量染色体水平基因组发布,极大地推动了产胶植物功能基因组的研究。

1.1 橡胶树基因组测序

橡胶树基因组属于高度杂合的大基因组,长期以来橡胶树基因组研究工作进展缓慢。2013年 Rahman等(2013)发布了首张由二代测序技术组装的橡胶树基因组草图,其基因组大小为1.12 Gb,包括1 223 364条contig, contig N50值仅为2.9 kb。2016年 Tang等(2016)利用二代测序技术结合细菌人工染色体文库绘制了高质量橡胶树基因组图谱,共组装出1.37 Gb的基因组序列,包括84 285条contig, contig N50值提升至30.6 kb,首次发现橡胶生物合成关键成员*rubber elongation factor (REF)*/*small rubber particle protein (SRPP)*家族在橡胶树基因组中特异扩增。2017年 Pootakham等(2017)结合二代和三代测序技术以及染色体构象捕获技术,报道了一个抗疫霉病品种的橡胶树基因组图谱,该基因组大小为1.26 Gb, contig N50值提升至96.8 kb。2020年 Liu等(2020)利用二代和三代测序技术以及高通量染色体构象捕获技术 (High-throughput/resolution chromosome conformation capture, Hi-C),报道了首个染色体级别的橡胶树基因组图谱,其基因组大小为1.47 Gb, contig数量减少至16 023条, contig N50值进一步提升至152.70 kb。2023年 Cheng等(2023)利用三代测序技术结合全基因组光学图谱技术,组装了橡胶树野生种的染色体水平基因组序列,其大小为1.77 Gb, contig数量进一步锐减至1 573条, contig N50值则显著提升至3.51 Mb。

1.2 杜仲基因组测序

2017年 Wuyun等(2018)利用二代和三代测序技术,组装了野生杜仲雄树的1.18 Gb基因组草图。该基因组由132 188条contig组成, contig N50为17.06 kb,基因家族分析显示*farnesyl pyrophosphate synthase (FPS)*基因家族存在扩张并出现功能分化,产生了具有反式长链橡胶合成功能的II类FPS基因。2020年 Li等(2020)采用三代测序技术和Hi-C技术获得首个染色体级别的杜仲基因组,其基因组大小为947.86 Mb, contig N50值提升至11.15 Mb。Du等(2023)利用三代测序技术和Hi-C技术对之前的雄性野生杜仲基因组进行更新,并重头组装了野生杜仲雌树的基因组,通过比较基因组发现*EuAP3*和*EuAG*可能是决定杜仲雌雄异株的关键基因。

1.3 橡胶草基因组测序

2017年Lin等(2018)采用三代测序技术组装了1.29 Gb的橡胶草基因组草图。该基因组由132 188条contig组成, contig N50值为17.06 kb。基因家族分析发现橡胶草和巴西橡胶树的REF/SRPP基因分属两个不同的进化支, 推测不同产胶植物橡胶生物合成为多起源。2022年该团队进一步组装完成了橡胶草和蒲公英(*Taraxacum mongolicum*)的高质量染色体水平基因组(Lin等2022)。比较基因组分析结果显示SRPP和*cis-prenyltransferase* (CPT)基因家族在橡胶草基因组中发生显著扩增, 可能是橡胶草可以合成天然橡胶而蒲公英不能合成橡胶的原因所在。

2 主要产胶植物重要功能基因鉴定

长期以来cDNA末端快速扩增技术(rapid-amplification of cDNA ends, RACE)技术是产胶植物中克隆基因的主要方法。随着高质量基因组序列的公布以及遗传转化平台等基因功能验证体系的建立, 近年来该领域在重要功能基因鉴定方面取得了长足的发展。

2.1 橡胶树重要功能基因鉴定

位于橡胶树树干树皮内层的次生乳管是天然橡胶合成和储存的场所, 由形成层向外分化而来。前人研究表明茉莉酸信号在形成层分化次生乳管过程中起重要作用(Wu等2016)。coronatine insensitive-jasmonate ZIM domain-myelocytomatosis (COI-JAZ-MYC)是茉莉酸信号通路的核心成员。Chen等(2021)证明橡胶树的HbCOI1是茉莉酸和冠菌素(一种茉莉酸类似物)的直接受体, 并且可以互补拟南芥*coi1*突变体的表型。Chao等(2019)从橡胶树基因组中鉴定了18个HbJAZs成员, 通过分析不同处理下的基因表达模式认为HbJAZ5.0和HbJAZ10.0b可能参与了橡胶树的次生乳管分化。Zhang等(2022)从橡胶树基因组中鉴定到32个HbIMYC成员, 根据对不同处理下的基因表达模式分析后认为HbIMYC24和HbIMYC30可能参与了橡胶树的次生乳管分化。乙烯是一种重要的植物激素, 乙烯响应因子(ethylene response factor, ERF)是乙烯信号途径关键成员。Lestari等(2018)将乙烯应答因子基

因HbERF-IXc5在橡胶树中过表达发现转基因植株不仅具有更强的抗胁迫能力, 树皮中的次生乳管分化能力也得到了显著增强, 暗示HbERF-IXc5可能通过某种机制调控橡胶树的乳管分化。

天然橡胶生物合成属于典型的类异戊二烯代谢, 糖酵解产生的乙酰辅酶A经过甲羟戊酸(mevalonic acid, MVA)途径合成天然橡胶的直接前体异戊烯基焦磷酸(isopentenyl pyrophosphate, IPP)。蔗糖转运蛋白(sucrose transporter, SUT)介导蔗糖的跨膜运输, 是光合同化物运输与分配网络中的关键调控节点。橡胶树基因组中有6个SUT成员。2010年Tang等(2010)首次报道胶乳中表达丰度最高的HbSUT3具备高效的蔗糖转运能力; 2019年Long等(2019)进一步证明树皮中高丰度表达的HbSUT5同样可以高效转运蔗糖, 推测其可能介导了蔗糖从树皮向乳管的运输。中碱性转化酶(alkaline/neutral invertase, NIN)是碳水化合物代谢中的关键成员, 其作用是将蔗糖分解成葡萄糖和果糖。Liu等(2015)发现胶乳中高丰度表达的HbNIN2定位在乳管细胞膜上, 推测该酶可能在碳水化合物向乳管细胞转运过程中起重要作用。乳管细胞中的橡胶粒子是与天然橡胶合成密切相关的细胞器。Yamashita等(2016)发现hevea rubber transferase 1 (HRT1)与HRT1-REF bridging protein (HRBP)、REF、SRPP等蛋白互作, 利用同位素标记实验证明这些蛋白以复合体的形式在橡胶粒子膜上合成天然橡胶。Brown等(2017)利用烟草(*Nicotiana tabacum*)实验系统发现CPT可以被SRPP招募到内质网, 但HRBP与CPT的相互作用可以使这两种蛋白重新定位到质膜上。Kuroiwa等(2022)利用无细胞翻译体系和纳米盘蛋白重构体系, 系统分析了HRT1、HRT2和HRBP蛋白对IPP的聚合活性, 结果显示只有当HRT1和HRBP共表达时可以检测到IPP聚合活性, 而单独表达这三种蛋白或者共表达HRT2和HRBP时均检测不到活性。

橡胶生物合成调控是当前天然橡胶领域的研究热点之一。利用酵母单杂交、凝胶阻滞实验以及双荧光素酶报告基因检测系统, 人们发现转录水平调控是天然橡胶生物合成调控的主要方式之一。不仅合成途径的多个关键基因受到调控, 而且

不同转录因子可以调控同一个基因, 进而形成复杂的调控网络。如Li等(2016)报道HbMADS4结合*HbSRPP*启动子并抑制其表达, 而Wang等(2019)发现HbMADS24结合*HbFPSI*启动子并激活其表达; Wang等(2017)发现HbMyb19和HbMyb44可以结合*HbFPSI*、*HbSRPP*和*HRT1*启动子并激活这些基因的表达; Deng等(2018)证明胶乳中的HbMYC2可以与*HbFPSI*和*HbSRPP*启动子结合并激活其表达; Guo等(2018)报道锌指蛋白HbRZFP1结合*HbHRT2*启动子并抑制其表达, 而14-3-3家族中的HbGF14a通过与HbRZFP1蛋白的结合来解除这种抑制效应; Qu等(2020)报道HbWRKY27结合*HbFPSI*启动子并激活其表达, 但将*HbFPSI*启动子中的W-box位点突变后则无法被HbWRKY27激活; Guo等(2022)发现橡胶树TGA转录因子家族中的HbTGA1可以广泛地与*HbHRT1*、*HbSRPP*、*HbHMGS*、*HbHMGR*等多个橡胶生物合成途径关键酶的启动子结合, 并激活这些基因的表达。

割胶后的排胶持续时间与天然橡胶产量密切相关, 受到多种因素影响。水通道蛋白(aquaporin, AQP)介导水分子从薄壁细胞向乳管细胞转运, 在橡胶树排胶过程中起重要作用。橡胶树基因组中有51个AQP成员, 可以分为5个亚类: PIP有15个, TIP有17个, NIP有9个, SIP有4个, XIP有6个(Zou等2015)。利用非洲爪蟾(*Xenopus laevis*)卵母细胞系统, An等(2015)证明胶乳中高丰度表达的HbPIP2;3可以介导水分的高效转运。割胶后乳管伤口末端蛋白质网的形成对胶乳的停排至关重要。Shi等(2016)从橡胶树的C-乳清中鉴定到一个37 kDa蛋白和一个44 kDa蛋白, 体外实验证明37 kDa蛋白促进小橡胶粒子的凝集, 而44 kDa蛋白可以解除这种凝集效应。Shi等(2019)利用免疫组化和表面等离子体共振技术揭示了蛋白质网的形成机制, 认为割胶后乳管细胞黄色体破裂释放的 β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶以及Hevein蛋白与C-乳清中的actin蛋白相互作用, 共同促进蛋白质网的形成。

2.2 杜仲重要功能基因鉴定

异戊烯基焦磷酸异构酶(isopentenyl diphosphate isomerase, IPI)是MVA途径关键成员。Chen等(2012)克隆了杜仲的*EuIPI*, 利用同位素标记实验

和核磁共振技术证明*EuIPI*重组蛋白可以成功将IPP转化为DM-APP, 遗传转化结果显示过表达*EuIPI*植株的异戊二烯含量与对照相比提高了3~4倍。除了合成天然橡胶之外, 杜仲树皮中还有大量的生物碱、糖苷、黄酮等药用成分。Zuo等(2022)利用共表达网络分析鉴定到6个生物碱相关基因, 其中*EuRBG10*促进吲哚生物碱的产生, *EuAMO5*抑制生物碱的降解, 并进一步对*EuRBG10*基因的功能通过病毒诱导基因沉默系统进行验证。尿苷二磷酸糖基转移酶(uridine diphosphate glycosyltransferase, UGTs)是生物体内糖基化的关键酶, 对于糖苷类物质的合成至关重要。Ouyang等(2021)从杜仲基因组中鉴定了91个*EuUGT*成员, 系统发育树显示这些成员可以划分为14个亚类。表达模式分析显示Group D亚类中的8个成员主要在根和花中表达, 而Group A亚类中的6个成员主要在花中高表达。互作网络分析显示UGT79、UGT91、UGT90可以与类黄酮合成相关成员广泛互作, 推测可能参与了糖甙类黄酮物质的合成调控。此外杜仲抗逆基因鉴定方面也取得一定进展。Chen等(2022)克隆了杜仲的水通道蛋白*EuPIP1;1*, 通过转化拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)发现转基因株系显著提高了对于干旱和盐胁迫的抗性。Zhao等(2022)克隆了杜仲漆酶基因*EuLAC1*, 烟草过表达结果显示转基因株系的漆酶活性显著增高, 并且通过促进细胞壁加厚增强对灰霉菌的抗性。

2.3 橡胶草重要功能基因鉴定

多酚氧化酶(polyphenoloxidase, PPO)是导致橡胶草胶乳褐变的主要因素。Wahler等(2009)从橡胶草中克隆了多酚氧化酶编码基因*TkPPO-1*, 将该基因沉默后发现转基因株系的排胶量是对照株系的4~5倍, 胶乳流动性分析表明PPO活性与胶乳凝固速率间存在显著正相关, 进而证明了PPO参与橡胶草胶乳凝固。SRPP是产胶植物胶乳中与天然橡胶生物合成密切相关的蛋白。Collins-Silva等(2012)对橡胶草胶乳中高丰度表达的*TkSRPP3*进行过表达和RNA沉默实验, 结果显示过表达株系较对照组橡胶含量有轻微上升, 但RNA沉默株系的橡胶含量则显著下降, 证明*TkSRPP3*是橡胶草中天然橡胶生物合成关键成员。Dong等(2023)克隆了*TkS-*

*RPP*的启动子,通过*GUS*报告基因转化体系证明-934到-450 bp的区段是*TkSRPP*启动子的核心区段,广泛响应多种植物激素信号。

3 主要产胶植物分子标记研发

与扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)、限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)、随机扩增多态性(randomly amplified polymorphic DNA, RAPD)等传统分子标记相比,以简单重复序列(simple sequence repeats, SSR)、单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)等为代表的基于高通量测序获得的新一代分子标记由于标记数目众多且具有丰富的多态性,在功能基因组研究中发挥着越来越重要的作用。高质量染色体水平基因组发布使得构建超高密度连锁图谱以及通过全基因组关联分析技术(genome-wide association studies, GWAS)鉴定性状相关基因或标记成为可能。

3.1 橡胶树分子标记研发

Pootakham等(2015)对两个橡胶树杂交群体进行简化基因组测序,最终整合成一张高密度遗传图谱。该图谱由2 321个SNP组成,总长度为2 052 cM,平均每个SNP的长度为0.89 cM。Xia等(2018)通过扩增片段发掘SNP和甲基化测序技术构建了由6 940个标记组成的高密度遗传图谱,平均密度为0.3 cM·Mb⁻¹,并定位了17个与干胶产量相关的数量性状基因座(quantitative trait locus, QTL)位点,其中贡献度最大的两个位点分别解释了38.3%和33.3%的表型变异。An等(2019)通过特异性位点扩增片段测序(specific-locus amplified fragment, SLAF)测序技术构建了由4 543个标记组成的,总长度为2 670.27 cM的高密度遗传图谱,并定位了12个与干胶产量相关的QTL和11个与树围大小相关的QTL。Wu等(2022)利用重测序技术构建了目前为止密度最高的橡胶树遗传图谱,由203 124个SNP组成,总长度为2 099.12 cM,并定位到6个与树围和树高密切相关的QTL位点。

Chanroj等(2017)对170份橡胶树野生种质的胶乳进行转录组测序,通过对不同季节的胶乳产量

和树围增量进行GWAS,鉴定到多个相关性状的候选基因。Liu等(2020)对10份橡胶树栽培种和6份野生种质进行重测序,利用选择消除分析技术得到数百个驯化相关基因,其中包括一些橡胶生物合成途径成员。Cheng等(2023)对107份橡胶树栽培种和34份野生种进行深度重测序,利用选择消除分析技术得到361个驯化区段,并通过GWAS分析技术鉴定到155个与胶乳产量相关的分子标记。

3.2 杜仲分子标记研发

Li等(2014)利用706个SNP分子标记构建了覆盖25个连锁群,总长度为2 133 cM的杜仲遗传图谱,该遗传图谱覆盖89%的杜仲基因组,每个标记长度为3.1 cM。利用该遗传图谱,作者进一步对树围、叶面积、叶长度、叶宽度、叶长宽比、叶柄长度、叶脉数量、单叶重、叶片数量、叶片干重、叶绿酸含量、芦丁含量、干胶含量等13个性状进行定位,共检测到97个QTL位点,主要集中在第LG1、LG2、LG5、LG7、LG9、LG10、LG14、LG18、LG22等9个连锁群(Li等2015)。杜仲属于雌雄异株,目前尚缺乏有效的苗期鉴定性别技术。Wang等(2020)利用双酶切限制性酶切位点关联DNA测序技术对20株雄树和20株雌树进行高通量测序,鉴定到5个雄性候选相关位点。进一步利用12株雄树和12株雌树对这些位点进行验证,最终得到一个长度为479 bp的雄性相关标记MSL4。序列分析显示该标记位于一个编码功能未知基因的第17和第18个外显子之间,属于非功能性标记。Liu等(2021)对62份杜仲种质进行深度重测序,通过对叶片中的桃叶珊瑚苷、绿原酸、杜仲胶、多酚、总黄酮含量等指标全基因组关联分析,共鉴定到14个候选基因,其中13个基因在叶片中表达丰度最高,推测可能参与了目标代谢物的合成。

3.3 橡胶草分子标记研发

Luo等(2017)分别对橡胶草胶含量高的种质和胶含量低的种质进行转录组测序,发现有117个SNP位于36个差异表达的橡胶合成相关基因上,为今后研发橡胶草产量相关分子标记提供了候选。Nowicki等(2019)设计了25对SSR标记引物,分别对20个橡胶草种质和74个蒲公英种质进行多态性分析,结果显示橡胶草种质之间没有明显的群体分

化,但蒲公英种质之间存在显著群体分化。Zhang等(2021)对58份橡胶草种质进行简化基因组测序,群体分析显示这些种质可以划分为3个类群,并通过选择消除分析鉴定到80个受选择的基因,涉及植物激素信号转导、次生代谢物合成等生物学途径。Yang等(2023)构建了首张橡胶草高密度连锁图谱,该图谱由322 439个SNP组成,总遗传距离为34 220.75 cM,并且检测到6个与含胶量相关的QTL,其中位于第6连锁群的2个相邻的QTL可以解释48.27%的表型变异。

4 展望

过去十年里产胶植物功能基因组学取得了长足的发展,但也面临一些新的挑战。首先,多个版本基因组的公布不仅极大地丰富了产胶植物基因组数据资源,同时也使得用多组学技术揭示重要科学问题成为现实。橡胶树、杜仲、橡胶草虽然属于不同的科,但都具有旺盛的天然橡胶合成能力。解析产胶性状在不同物种间的趋同进化分子机制将是今后产胶植物功能基因组学的研究热点之一。其次,与经过数百上千年驯化的农作物不同,产胶植物的驯化时间非常短,如橡胶树的驯化时间不到150年,而橡胶草和杜仲基本处于野生或半野生状态,产胶潜力有很大的提升空间。因此利用功能基因组研究手段鉴定产量关键基因及标记,通过基因编辑技术加快从野生到栽培的驯化过程将极大地缩短主要产胶植物的选育种周期,有力保障天然橡胶产业的可持续发展。

参考文献(References)

- An F, Zou Z, Cai X, et al (2015). Regulation of HbPIP2;3, a latex-abundant water transporter, is associated with latex dilution and yield in the rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *PLOS One*, 10: e0125595
- An Z, Zhao Y, Zhang X, et al (2019). A high-density genetic map and QTL mapping on growth and latex yield-related traits in *Hevea brasiliensis* Müll. *Arg Ind Crop Prod*, 132: 440–448
- Brown D, Feeney M, Ahmadi M, et al (2017). Subcellular localization and interactions among rubber particle proteins from *Hevea brasiliensis*. *J Exp Bot*, 68: 5045–5055
- Chanroj V, Rattanawong R, Phumichai T, et al (2017). Genome-wide association mapping of latex yield and girth in Amazonian accessions of *Hevea brasiliensis* grown in a suboptimal climate zone. *Genomics*, 109: 475–484
- Chao J, Zhao Y, Jin J, et al (2019). Genome-wide identification and characterization of the JAZ gene family in rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Front Genet*, 10: 372
- Chen J, Huang Y, Li J, et al (2022). Overexpression of the *Eucommia ulmoides* aquaporin, *EuPIP1;1*, promotes leaf growth, flowering and bolting, and stress tolerance in *Arabidopsis*. *Int J Mol Sci*, 23: 11794
- Chen J, Yang H, Ma S, et al (2021). HbCOI1 perceives jasmonate to trigger signal transduction in *Hevea brasiliensis*. *Tree Physiol*, 41: 460–471
- Chen R, Harada Y, Bamba T, et al (2012). Overexpression of an isopentenyl diphosphate isomerase gene to enhance trans-polyisoprene production in *Eucommia ulmoides* Oliver. *BMC Biotechnol*, 12: 78
- Cheng H, Song X, Hu Y, et al (2023). Chromosome-level wild *Hevea brasiliensis* genome provides new tools for genomic-assisted breeding and valuable loci to elevate rubber yield. *Plant Biotechnol J*, 21: 1058–1072
- Cherian S, Ryu SB, Cornish K (2019). Natural rubber biosynthesis in plants, the rubber transferase complex, and metabolic engineering progress and prospects. *Plant Biotechnol J*, 17: 2041–2061
- Collins-Silva J, Nural AT, Skaggs A, et al (2012). Altered levels of the *Taraxacum kok-saghyz* (Russian dandelion) small rubber particle protein, TkSRPP3, result in qualitative and quantitative changes in rubber metabolism. *Phytochemistry*, 79: 46–56
- Deng X, Guo D, Yang S, et al (2018). Jasmonate signalling in the regulation of rubber biosynthesis in laticifer cells of rubber tree, *Hevea brasiliensis*. *J Exp Bot*, 69: 3559–3571
- Dong G, Fan M, Wang H, et al (2023). Functional characterization of *TkSRPP* promoter in response to hormones and wounding stress in transgenic tobacco. *Plants (Basel)*, 12: 252
- Du Q, Wu Z, Liu P, et al (2023). The chromosome-level genome of *Eucommia ulmoides* provides insights into sex differentiation and α -linolenic acid biosynthesis. *Front Plant Sci*, 14: 1118363
- González N, Custal M. del À, et al (2016). Improvement of dielectric properties of natural rubber by adding perovskite nanoparticles. *Eur Polym J*, 75: 210–222
- Guo D, Li HL, Zhu JH, et al (2022). HbTGA1, a TGA transcription factor from *Hevea brasiliensis*, regulates the expression of multiple natural rubber biosynthesis genes. *Front Plant Sci*, 13: 909098
- Guo D, Yang ZP, Li HL, et al (2018). The 14-3-3 protein Hb-

- GF14a interacts with a RING zinc finger protein to regulate expression of the rubber transferase gene in *Hevea brasiliensis*. *J Exp Bot*, 69: 1903–1912
- Hieter P, Boguski M (1997). Functional genomics: it's all how you read it. *Science*, 278: 601–602
- Kuroiwa F, Nishino A, Mandal Y, et al (2022). Reconstitution of prenyltransferase activity on nanodiscs by components of the rubber synthesis machinery of the Para rubber tree and guayule. *Sci Rep*, 12: 3734
- Lestari R, Rio M, Martin F, et al (2018). Overexpression of *Hevea brasiliensis* ethylene response factor HbERF-IXc5 enhances growth and tolerance to abiotic stress and affects laticifer differentiation. *Plant Biotechnol J*, 16: 322–336
- Li HL, Wei LR, Guo D, et al (2016). HbMADS4, a mads-box transcription factor from *Hevea brasiliensis*, negatively regulates *HbSRPP*. *Front Plant Sci*, 7: 1709
- Li Y, Wang D, Li Z, et al (2014). A molecular genetic linkage map of *Eucommia ulmoides* and quantitative trait loci (QTL) analysis for growth traits. *Int J Mol Sci*, 15: 2053–2074
- Li Y, Wei H, Yang J, et al (2020). High-quality *de novo* assembly of the *Eucommia ulmoides* haploid genome provides new insights into evolution and rubber biosynthesis. *Hortic Res*, 7: 183
- Li Y, Wei JK, Li ZQ, et al (2015). Quantitative trait locus analysis of leaf morphological characters, yield-related traits, and secondary metabolite contents in *Eucommia ulmoides*. *Genet Mol Res*, 14: 17871–17884
- Lin T, Xu X, Ruan J, et al (2018). Genome analysis of *Taraxacum kok-saghyz* Rodin provides new insights into rubber biosynthesis. *Natl Sci Rev*, 5: 78–87
- Lin T, Xu X, Du H, et al (2022). Extensive sequence divergence between the reference genomes of *Taraxacum kok-saghyz* and *Taraxacum mongolicum*. *Sci China Life Sci*, 65: 515–528
- Liu J, Shi C, Shi CC, et al (2020). The chromosome-based rubber tree genome provides new insights into spurge genome evolution and rubber biosynthesis. *Mol Plant*, 13: 336–350
- Liu S, Lan J, Zhou B, et al (2015). HbNIN2, a cytosolic alkaline/neutral-invertase, is responsible for sucrose catabolism in rubber-producing laticifers of *Hevea brasiliensis* (para rubber tree). *New Phytol*, 206: 709–725
- Liu YC, Peng XX, Lu YB, et al (2021). Genome-wide association study reveals the genes associated with the leaf inclusion contents in Chinese medical tree *Eucommia ulmoides*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 85: 233–241
- Long X, Li H, Yang J, et al (2019). Characterization of a vacuolar sucrose transporter, HbSUT5, from *Hevea brasiliensis*: involvement in latex production through regulation of intracellular sucrose transport in the bark and laticifers. *BMC Plant Biol*, 19: 591
- Luo Z, Iaffaldano BJ, Zhuang X, et al (2017). Analysis of the first *Taraxacum kok-saghyz* transcriptome reveals potential rubber yield related SNPs. *Sci Rep*, 7: 9939
- Mooibroek H, Cornish K (2000). Alternative sources of natural rubber. *Appl Microbiol Biot*, 53: 355–365
- Morawetz H (2000). History of rubber research. *Rubber Chem Technol*, 73: 405–426
- Nakazawa Y, Bamba T, Takeda T, et al (2009). Production of *Eucommia*-rubber from *Eucommia ulmoides* Oliv. (Hardy Rubber Tree). *Plant Biotechnol J*, 26: 71–79
- Nowicki M, Zhao Y, Boggess SL, et al (2019). *Taraxacum kok-saghyz* (rubber dandelion) genomic microsatellite loci reveal modest genetic diversity and cross-amplify broadly to related species. *Sci Rep*, 9: 1915
- Oghenekome U (2004). Natural rubber, *Hevea brasiliensis* (Willd. Ex A. Juss.) Mull Arg, germplasm collection in the amazon basin, Brazil: a retrospective. *Econ Bot*, 58: 544–555
- Ouyang D, Wang LC, Tang T, et al (2021). Genomic-wide identification and characterization of the uridine diphosphate glycosyltransferase family in *Eucommia ulmoides* Oliver. *Plants (Basel)*, 10: 1934
- Pootakham W, Ruang-Areerate P, Jomchai N, et al (2015). Construction of a high-density integrated genetic linkage map of rubber tree (*Hevea brasiliensis*) using genotyping-by-sequencing (GBS). *Front Plant Sci*, 6: 367
- Pootakham W, Sonthirod C, Naktang C, et al (2017). *De novo* hybrid assembly of the rubber tree genome reveals evidence of paleotetraploidy in *Hevea* species. *Sci Rep*, 7: 41457
- Qu L, Li HL, Guo D, et al (2020). HbWRKY27, a group II WRKY transcription factor, positively regulates *HbFPSI* expression in *Hevea brasiliensis*. *Sci Rep*, 10: 20639
- Rahman AY, Usharraj AO, Misra BB, et al (2013). Draft genome sequence of the rubber tree *Hevea brasiliensis*. *BMC Genomics*, 14: 75
- Salehi M, Cornish K, Bahmankar M, et al (2021). Natural rubber-producing sources, systems, and perspectives for breeding and biotechnology studies of *Taraxacum kok-saghyz*. *Ind Crop Prod*, 170: 113667
- Shi MJ, Cai FG, Tian WM (2016). Ethrel-stimulated prolongation of latex flow in the rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.): an Hev b 7-like protein acts as a universal antagonist of rubber particle aggregating factors from laticifers and C-serum. *J Biochem*, 159: 209–216
- Shi M, Li Y, Deng S, et al (2021). The formation and accumulation of protein-networks by physical interactions in the

- rapid occlusion of laticifer cells in rubber tree undergoing successive mechanical wounding. *BMC Plant Biol*, 19: 8
- Tang C, Yang M, Fang Y, et al (2016). The rubber tree genome reveals new insights into rubber production and species adaptation. *Nat Plants*, 2: 16073
- Tang C, Huang D, Yang J, et al (2010). 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). *Plant Cell Environ*, 33: 1708–1720
- Wahler D, Gronover CS, Richter C, et al (2009). Polyphenoloxidase silencing affects latex coagulation in *Taraxacum* species. *Plant Physiol*, 151: 334–346
- Wang W, Yang G, Deng X, et al (2020). Molecular sex identification in the hardy rubber tree (*Eucommia ulmoides* Oliver) via ddRAD markers. *Int J Genomics*, 2020: 2420976
- Wang Y, Zhan DF, Li HL, et al (2017). Transcriptome-wide identification and characterization of myb transcription factor genes in the laticifer cells of *Hevea brasiliensis*. *Front Plant Sci*, 8: 1974
- Wang Y, Zhan DF, Li HL, et al (2019). Identification and characterization of the MADS-box genes highly expressed in the laticifer cells of *Hevea brasiliensis*. *Sci Rep*, 9: 12673
- Wu S, Zhang S, Chao J, et al (2016). Transcriptome analysis of the signalling networks in coronatine-induced secondary laticifer differentiation from vascular cambia in rubber trees. *Sci Rep*, 6: 36384
- Wu W, Zhang X, Deng Z, et al (2022). Ultrahigh-density genetic map construction and identification of quantitative trait loci for growth in rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Ind Crop Prod*, 178: 114560
- Wuyun T, Wang L, Liu H, et al (2018). The hardy rubber tree genome provides insights into the evolution of polyisoprene biosynthesis. *Mol Plant*, 11: 429–442
- Xia Z, Liu K, Zhang S, et al (2018). An ultra-high density map allowed for mapping QTL and candidate genes controlling dry latex yield in rubber tree. *Ind Crop Prod*, 120: 351–356
- Yamashita S, Yamaguchi H, Waki T, et al (2016). Identification and reconstitution of the rubber biosynthetic machinery on rubber particles from *Hevea brasiliensis*. *eLife*, 5: e19022
- Yang N, Yang D, Yu X, et al (2023). Multi-omics-driven development of alternative crops for natural rubber production. *J Integr Agr*, 22: 959–971
- Yang Y, Qin B, Chen Q, et al (2023). Construction of the first high-density SNP genetic map and identification of QTLs for the natural rubber content in *Taraxacum kok-saghyz* Rodin. *BMC Genomics*, 24: 13
- Zhang S, Wu S, Chao J, et al (2022). Genome-wide identification and expression analysis of MYC transcription factor family genes in rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Forests*, 13: 531
- Zhang Y, Ren H, Zhang X, et al (2021). Genetic diversity and evolutionary patterns of *Taraxacum kok-saghyz* Rodin. *Ecol Evol*, 11: 7917–7926
- Zhao Y, Liu Y, Dong X, et al (2022). Identification of a novel laccase gene *EuLAC1* and its potential resistance against *Botrytis cinerea*. *Transgenic Res*, 31: 215–225
- Zou Z, Gong J, An F, et al (2015). Genome-wide identification of rubber tree (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) aquaporin genes and their response to ethephon stimulation in the laticifer, a rubber-producing tissue. *BMC Genomics*, 16: 1001
- Zuo Y, Li B, Guan S, et al (2022). *EuRBG10* involved in indole alkaloids biosynthesis in *Eucommia ulmoides* induced by drought and salt stresses. *J Plant Physiol*, 278: 153813