

文章编号: 1674-7054(2015)02-0105-08

巴西橡胶树铁螯合物还原酶基因 (*HbFRO*) 的克隆及表达

方佳俊 黎秀琼 罗红丽

(海南大学 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室 海口 570228)

摘要: 在橡胶树转录组测序的基础上,通过 RT-PCR 方法扩增到橡胶树的 1 个铁螯合物还原酶基因,命名为 *HbFRO*。该基因包含 1 个 2 217 bp 的开放阅读框,可编码 739 个氨基酸的多肽。生物信息学分析结果表明,*HbFRO* 蛋白除了含有 Ferric_reductase、FAD_binding 和 NAD_binding 保守结构域外,还含有 10 个跨膜结构域;*HbFRO* 蛋白的氨基酸序列与木薯、蓖麻、杨树和拟南芥的 *FRO* 蛋白同源,同源性分别为 85%、80%、73% 和 63%。半定量分析结果表明,*HbFRO* 基因在胶乳、花和叶片中的表达丰度明显高于在树皮和芽中的表达;当橡胶树受到炭疽病菌和白粉病菌侵染时,*HbFRO* 基因在叶片中的表达被明显抑制。以上数据暗示 *HbFRO* 基因在不同组织中的表达存在差异,可能参与植物的抗病应答反应。

关键词: 巴西橡胶树;铁螯合物还原酶(*FRO*);表达分析

中图分类号: S 7940.1

文献标志码: A

铁是酶、激素、维生素、核酸的组成部分,参与生命的正常代谢过程^[1]。作为植物必需的微量矿质营养元素之一,铁在植物的光合作用、呼吸作用、氮的固定等诸多生理代谢过程中发挥着极为重要的作用^[2]。虽然铁在地壳中的含量非常丰富,但是在水中的溶解度非常低,因此,植物吸收利用的比例很小^[3]。为了适应自然环境,许多植物在长期进化过程中逐渐形成了一些适合自身生长的铁高效吸收机制^[4]。其中 3 价铁螯合还原酶(ferric-chelate reductases, *FROs*) 家族属于 flavocytochromes 超家族中的 1 个亚类^[5],是双子叶植物和非禾本科单子叶植物应答铁胁迫的关键酶之一^[6],能够将细胞质膜上的 Fe^{3+} -螯合物还原成 2 价并通过 Fe^{2+} 转运蛋白跨膜转运到细胞质中。在缺铁条件下,植物 *FRO* 基因表达是正常生长条件下表达量的 4~5 倍,以高效利用土壤中的铁^[4]。目前,已经在拟南芥、玉米、豌豆、黄瓜、水稻、番茄等物种中克隆得到了 *FRO* 家族基因^[7-12]。拟南芥中已经发现 8 个 *FRO* 家族成员,其中 *AtFRO2*, *AtFRO3*, *AtFRO4*, *AtFRO5*, *AtFRO7* 和 *AtFRO8* 均具有铁螯合还原活性,且 *AtFRO2* 的还原活性最高。进一步的研究发现,这 8 个成员在拟南芥中的表达部位不尽相同,暗示它们具有组织特异性,在不同的植物组织和器官中维持铁平衡^[13]。

铁在植物与病原菌的相互作用中起着重要作用^[4]。病原菌可以利用铁载体和其他铁吸收系统增强自身的毒力^[4],例如,在培养丁香假单胞杆菌的培养基中加入微摩尔级的铁离子能够使植物毒素—丁香霉素的产量达到最高^[14]。水稻黄单胞杆菌 *rpfF* 基因敲除突变体毒力降低,表现为铁载体蛋白过分表达

收稿日期: 2015-01-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(31160151);2011“新世纪优秀人才支持计划”(NCET-11-0928)

作者简介: 方佳俊(1990-),男,海南大学农学院 2012 级硕士研究生。E-mail: 412642366@qq.com

通信作者: 罗红丽(1973-),女,博士,研究员,从事植物与病原微生物互作研究。E-mail: hlluo@hainu.edu.cn

并对铁缺失敏感,而这些表型都可以通过铁的补充得以恢复^[15]。SSM1 是稻瘟菌中与铁载体合成的相关的一个重要基因,该基因突变的稻瘟菌突变株尽管能够侵染水稻,但严重影响病斑的扩展^[16]。植物在受到病原菌侵染时能够改变铁离子的分布和运输。小麦叶片受到白粉病菌侵染后,铁离子在小麦体内的分布发生了改变,铁离子聚集在被侵染叶片的表皮中而不是在叶肉中^[17]。将苜蓿铁蛋白基因在烟草中表达后,转基因烟草对坏死病和烟草赤星病的抗性有明显提升^[18]。这些研究暗示,铁是植物抗病反应的组成部分。虽然 FRO 家族也是铁吸收途径中的重要成员,但关于它与植物抗病性的关系尚未见报道。本研究克隆了橡胶树的 3 价铁螯合物还原酶同源基因 *HbFRO*,对其蛋白结构进行了生物信息学分析,并对其在炭疽病菌、白粉病菌 2 种病原真菌侵染时的表达变化情况进行半定量检测,旨在为进一步研究该基因的功能,以及寻找新的植物病害防控策略奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料 本研究的植物材料为巴西橡胶树品种热研 7-33-97 (*Hevea brasiliensis* Reyan 7-33-97),胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)和白粉菌(*Oidium heveae* Steinm)均为本实验室保存菌株。

1.2 方 法

1.2.1 橡胶树不同组织总 RNA 的提取 橡胶树叶片总 RNA 的提取采用改良的 CTAB-LiCl 沉淀法,具体步骤:取 1~2 g 橡胶树叶片用液氮研磨充分后,迅速将研磨好的材料转入盛有 15 mL CTAB Extraction Buffer [2% (W/V) CTAB, 4% (W/V) PVP, 100 mmol·L⁻¹ Tris-HCl (pH 8.0), 2.0 mol·L⁻¹ NaCl, 25 mmol·L⁻¹ EDTA (pH 8.0), 2.8% BME (使用前加入)]的离心管中,立即漩涡剧烈振荡 30 s,然后置于 65 °C 水浴 3~5 min。加入等体积的氯仿/异戊醇(24:1),振荡均匀,室温下 10 000 r·min⁻¹离心 20 min,转移上清至另一离心管,再重复用氯仿/异戊醇抽提 1 次。转移水相到另一离心管中,加入 1/3 体积 8 mol·L⁻¹的 LiCl,4 °C 下过夜沉淀。4 °C (12 000 r·min⁻¹)离心 20 min 后倒掉上清,倒扣在滤纸上片刻,用 500 μL 的 75% 乙醇漂洗沉淀以去除 LiCl。用 500 μL 的 SSTE Buffer [1.0 mol·L⁻¹ NaCl, 0.5% SDS, 10 mmol·L⁻¹ Tris-HCl (pH 8.0), 1.0 mmol·L⁻¹ EDTA (pH 8.0)]溶解沉淀,将溶液转移到 1.5 mL 离心管中,加入等体积的氯仿/异戊醇再抽提 1 次,在上清中加入 2 倍体积 100% 的乙醇,-70 °C 沉淀 30 min 或 -20 °C 沉淀 2 h。4 °C 全速离心(12 000 r·min⁻¹) 20 min 沉淀 RNA,先用 70% 的乙醇 400 μL 漂洗沉淀,再加入 100% 乙醇 400 μL 漂洗沉淀,干燥沉淀后,用 50~100 μL DEPC 处理的水溶解沉淀。经紫外分光光度计定量后,用 1.2% 甲醛变性胶电泳检测样品的质量。橡胶树胶乳总 RNA 的提取采用文献[19]的方法。其他组织 RNA 的提取参照文献[20]。

1.2.2 第 1 链 cDNA 的合成及同源片段的扩增 以橡胶树总 RNA 样品为模板,按照 thermo 反转录试剂盒操作说明进行反转录反应合成第 1 链 cDNA。以反转录产物为模版,根据橡胶树转录组数据库中获得的 EST 片段设计扩增 *HbFRO* 特异性引物对 *HbFRO*-F (5'-ATGGATCAATACTCAGTTCAGG-3') 和 *HbFRO*-R (5'-CTACAGATCAAAGCTATGACTG-3') 进行 PCR 扩增,反应体系为:10 × *Taq* buffer 2.5 μL, MgCl₂ (25 mmol·L⁻¹) 1.2 μL, 基因特异性正向引物各 1 μL, dNTP mix (2.5 mmol·L⁻¹) 0.5 μL, 反转录产物 1 μL, *Taq* 酶 (2.5 U·μL⁻¹) 0.5 μL, ddH₂O 16.3 μL。PCR 反应条件设定如下:94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 5 min。反应结束后进行琼脂糖凝胶电泳检测。将目的片段割胶回收并且连接 T 载体,送样到深圳华大基因科技服务有限公司进行序列测定。

1.2.3 生物信息学分析 基因的 cDNA 全长核苷酸序列和推测的氨基酸序列用 DNASTAR 软件分析。利用 *HbFRO* 的氨基酸序列与 GenBank 中已经发表的一些其他植物 *FRO* 的氨基酸序列进行 BLAST 比对,然后利用 DNAMAN 软件对其进行同源性比较分析。利用 NCBI CDD 数据库预测蛋白的功能结构域;使用

HMMTOP 在线工具进行蛋白序列跨膜区分析;使用软件 SignalP-V4.1 进行蛋白质序列的信号肽预测;使用 NetPhos2.0 Server 程序对其磷酸化位点进行预测。

1.2.4 橡胶树炭疽病的接种 将适量菌丝体放入 PD 液体培养液中培养 1 d,过滤得到分生孢子,离心除去培养液并将孢子悬浮在无菌水中,调至孢子密度为 5×10^5 个 \cdot mL⁻¹。将配好的孢子悬浮液均匀喷雾接种于橡胶树叶片上,26 °C 下保湿培养,于不同时间点进行样品收集,液氮速冻后保存于 -80 °C 冰箱中备用。

1.2.5 橡胶树白粉病的接种 取感染白粉病菌约 10 d 的橡胶树叶片作为菌源,用毛笔将叶片表面的白粉菌孢子刷下后均匀接在橡胶树嫩叶上,26 °C 下保湿培养,于不同时间点进行样品收集,液氮速冻后保存于 -80 °C 冰箱中备用。

1.2.6 RT-PCR 半定量分析 用 DNA 酶将不同材料的总 RNA 样品消化后按 1.2.2 方法进行反转录反应。以橡胶树 *HbActin* 基因为内参,利用 RT-PCR 技术检测 *HbFRO* 基因在不同处理组织和不同处理条件下的表达情况。橡胶树内参基因 *Actin* 引物为 Actin-F(5'-CAGTGCTCGTACAACCTGGTAT-3') 和 Actin-R(5'-ATCCTC-CAATCCAGACACTGT-3')。反应体系为 25 μ L,其中 2.5 μ L 10 \times PCR Buffer(含 Mg²⁺),1 μ L 10 mmol \cdot L⁻¹ dNTP 引物(10 μ mol \cdot L⁻¹) 各加 1 μ L, cDNA 模板稀释 10 倍后加 1 μ L, 0.5 μ L *Taq* DNA Polymerase,加 ddH₂O 补足 25 μ L。*HbFRO* 扩增的 PCR 反应条件为:94 °C 4 min;94 °C 30 S 55 °C 30 S 72 °C 1 min 33 个循环后 72 °C 10 min。*Actin* 扩增 PCR 反应条件为:94 °C 4 min;94 °C 30 S 51 °C 30 S 72 °C 1 min 25 个循环;72 °C 10 min。

2 结果与分析

2.1 橡胶树 *HbFRO* 基因的克隆 利用 *HbFRO* 特异性扩增引物对 *HbFRO*-F 和 *HbFRO*-R 进行扩增,通过 RT-PCR 的方法扩增到长度大于 2 000 bp 的特异性条带,与预期基因片段条带大小一致,琼脂糖电泳检测结果见图 1。测序结果表明,该片段长度为 2 217 bp,是一个完整的开放阅读框,编码 1 个长 739 个氨基酸的多肽。*HbFRO* 基因的 ORF 序列及推测编码的氨基酸序列见图 2。利用 ExPasy 在线工具 ProtParam (<http://web.expasy.org/prot-param/>) 分析表明,该基因编码的蛋白相对分子质量为 18.5×10^3 ,等电点为 4.95,属酸性蛋白。

2.2 橡胶树 *HbFRO* 基因的生物信息学分析 利用 *HbFRO* 蛋白的氨基酸序列在 NCBI 的 CCD 数据

库中进行比对,发现该蛋白中包含 3 个保守结构域,分别为 3 价铁还原结合域,氧化还原辅酶结合位点和辅酶 I 结合域。TMHMM Server v. 2.0 程序进行蛋白序列跨膜区分析结果发现,该基因编码的蛋白含有 10 个跨膜结构域。利用 *HbFRO* 的氨基酸序列在 Genebank 数据库中进行 BLASTP 比对,结果发现,*HbFRO* 与木薯(*Manihot esculenta*)、蓖麻(*Ricinus communis*)、杨树(*Populus tomentosa*)和拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的 FRO 蛋白相似,相似性分别为 85%、80%、73%和 63%。以上结果表明,*HbFRO* 蛋白在结构上属于植物 FRO 家族成员,为一跨膜蛋白,可能具有与其他植物 FRO 还原酶相似的功能。

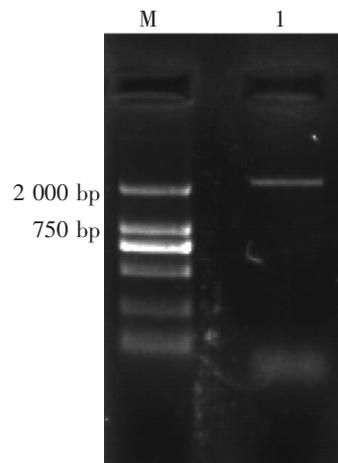


图 1 橡胶树 *HbFRO* 基因的 cDNA 扩增结果
M: Marker DL2000; 1: *HbFRO* 基因 cDNA 片段

Fig. 1 Amplification of full length *HbFRO* cDNA by RT-PCR
M: Marker 2000; 1: *HbFRO* cDNA fragment

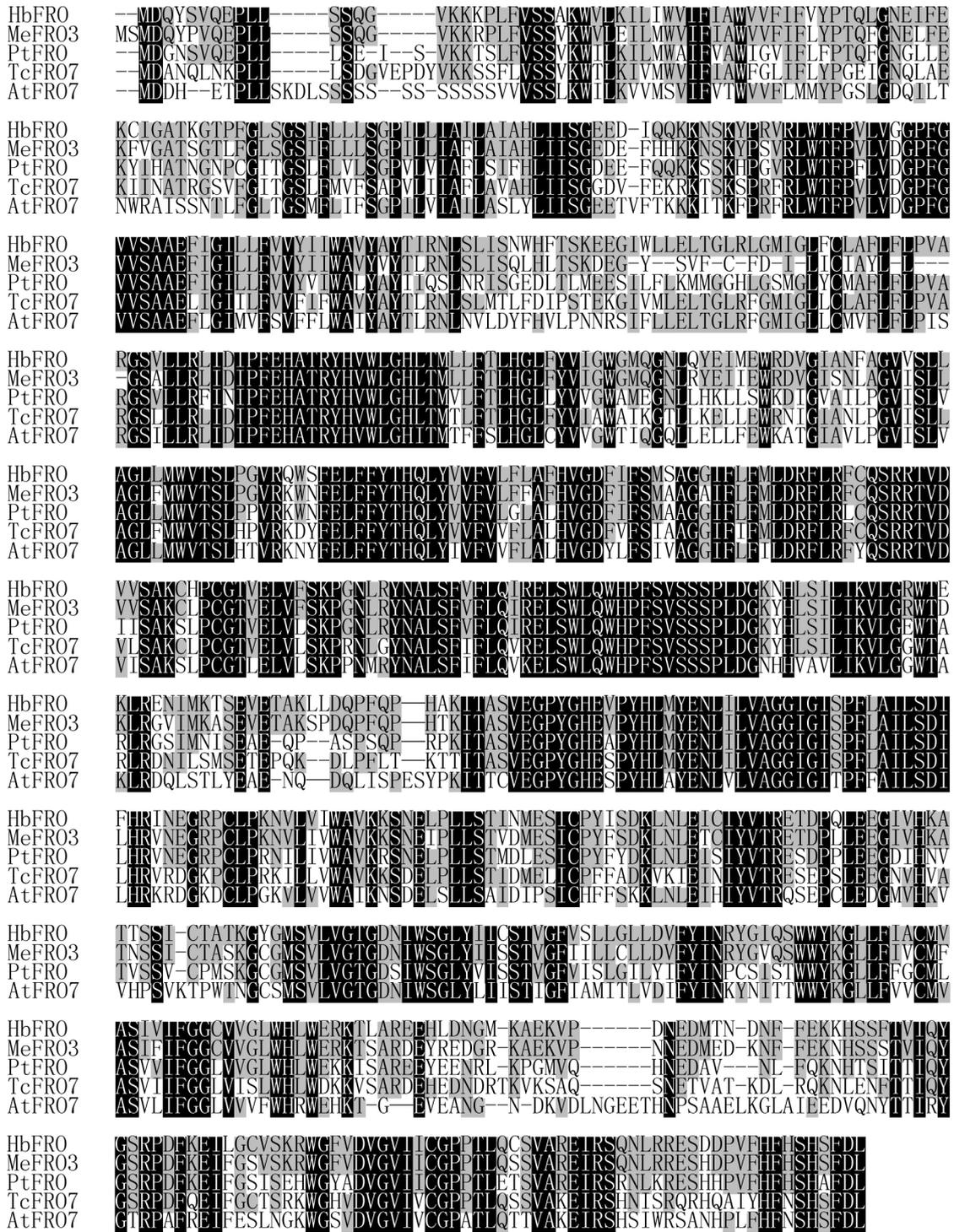


图 3 HbFRO 与其他植物中的 FRO 氨基酸序列比对结果

(序列中黑色阴影标注的表示氨基酸残基完全一致,灰色阴影标注的表示与 HbFRO 氨基酸序列一致;
- :表示软件最佳比对结果所产生的间隔)

Fig. 3 Alignment of amino acid sequences of HbFRO and other plant FROs

(Black shades indicate the same amino acid residue; gray shades indicate the same amino acid with HbFRO ;
" - " indicates the gap generated by the best alignment)

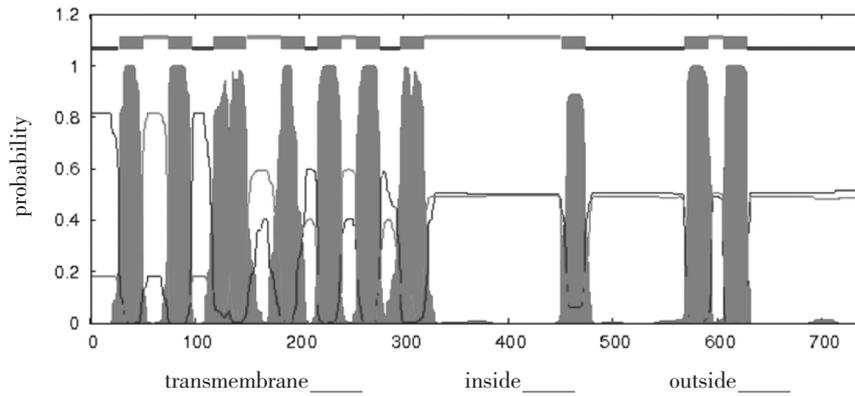


图4 HbFRO 蛋白跨膜结构域预测结果

Fig. 4 Transmembrane domain prediction of HbFRO protein

2.3 *HbFRO* 基因的组织特异性表达分析 从图 5 可知 *HbFRO* 基因在花、叶、芽、树皮和胶乳中均有表达,但表达量有明显差异,其中,在花、叶和胶乳中的表达丰度较高,在芽和树皮中的表达丰度明显低于被检测的其他组织。

2.4 橡胶树叶片中 *HbFRO* 基因对炭疽病菌的应答

橡胶树炭疽病菌是属于典型的兼性寄生病原真菌,即在侵染初期营活体寄生,后期营腐生,杀死寄主细胞以获取营养^[21]。为了研究 *HbFRO* 基因在橡胶树对兼性寄生菌抗性中的可能作用,笔者分析了橡胶树接种炭疽病菌后不同时间点 *HbFRO* 的表达变化情况。从图 6 可知,在内参基因 *HbActin* 表达稳定的情况下,接种炭疽病菌后 1 d 内 *HbFRO* 基因的表达量明显下降,说明 *HbFRO* 与橡胶树对炭疽病的应答有关。

2.5 橡胶树叶片中 *HbFRO* 基因对白粉病菌的应答

橡胶树白粉病菌为典型的活体营养型真菌^[20]。为了了解 *HbFRO* 基因在橡胶树对活体寄生真菌抗性中的可能作用,笔者分析了橡胶树接种白粉病菌后不同时间点 *HbFRO* 基因的表达变化情况。从图 7 可知, *HbFRO* 基因的表达在接种白粉病菌后 1~3 d 内明显降低,暗示 *HbFRO* 基因参与了橡胶树对白粉病菌的应答反应。

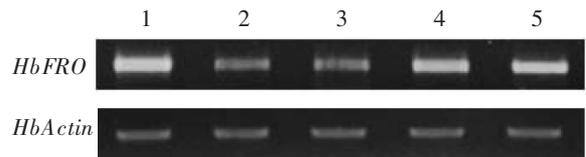


图5 *HbFRO* 在橡胶树不同组织中的表达分析

1: 花; 2: 芽; 3: 树皮; 4: 叶; 5: 胶乳

Fig. 5 The expression analysis of *HbFRO* in different tissues of rubber tree

1: Flower; 2: Buds; 3: Bark; 4: Leaves; 5: Latex

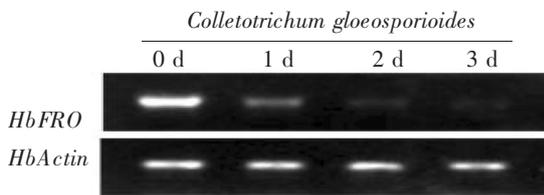


图6 炭疽病菌接种橡胶树对 *HbFRO* 基因表达的影响

Fig. 6 The expression of *HbFRO* in rubber tree seedlings inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides*

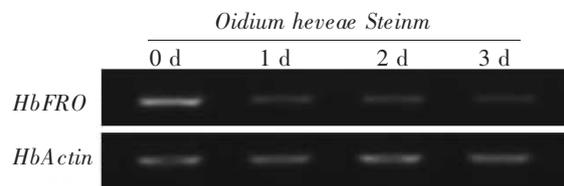


图7 白粉病菌接种橡胶树对 *HbFRO* 基因表达的影响

Fig. 7 The expression of *HbFRO* in rubber tree seedlings inoculated with *Oidium heveae* Steinm

3 讨论

本研究克隆了 1 个巴西橡胶树 *HbFRO* 基因,并对该基因进行了相关的生物信息学分析和初步表达分析。结果表明,该基因与其他植物来源的 FRO 具有高度同源性,其编码的蛋白质含有 10 个跨膜结构域和 FRO 家族成员具有的 Ferric_reduct, FAD_binding 和 NAD_binding 等保守结构域。这些数据说明, *HbFRO*

是3价铁螯合物还原酶家族的成员之一。目前已经知道,模式植物拟南芥有8个FRO家族成员,但橡胶树中到底有多少成员还不清楚。

不同植物不同FRO家族成员的时空表达模式各不相同。在拟南芥的8个FRO家族成员中,*AtFRO2*和*AtFRO3*主要在根部表达,*AtFRO5*和*AtFRO6*在嫩枝和花中表达,*AtFRO7*在子叶和表皮毛状体中表达^[13];番茄*LeFRO1*在根、叶、花、子叶和幼果中均有表达,但在根部随缺铁处理时间的增加表达加强,而在叶片中稳定表达,不受缺铁胁迫的诱导^[12];豌豆*PsFRO1*和小金海棠*MxFRO2*基因在根和叶片中均受缺铁胁迫诱导表达^[9,22]。笔者分析发现,*HbFRO*在橡胶树中的表达具有组织特异性,在被检测的花、叶、芽、树皮和胶乳中均能检测到表达,但在花、叶和胶乳中的表达丰度明显高于在树皮和芽中的表达,这种表达差异与植物生长发育及抗逆性的关系还需要进一步的研究。

已有的研究表明,铁通过改变在不同组织中的分布和运输参与植物的抗病防卫反应^[4,18]。本研究发现,当用炭疽病菌和白粉病菌侵染橡胶树时,其叶片中*HbFRO*基因的表达在接种后1d内即迅速降低,表明叶片中铁离子在流失,推测病原菌的侵染可能引起铁离子在不同组织间的转移和分配,但尚需进一步的实验证明。

参考文献:

- [1] 韦建玉,金亚波,杨启港,等. 植物铁营养研究进展:铁运输与铁有关的分子生物学基础[J]. 安徽农业科学,2007,35(33):10589-10595.
- [2] GOYEW R A. Nutrition and metal toxicity[J]. Am J Clin Nutr,1995,61(3):646-650.
- [3] 张芸,王忆,许雪峰,等. 小金海棠中三价铁螯合物还原酶基因的表达分析[J]. 植物生理学通讯,2007,43(1):57-60.
- [4] DOMINIQUE E, MARK R, O' BRIAN. Molecular aspects of iron metabolism in pathogenic and symbiotic plant-microbe associations, Springer Briefs in Biometals[M]. Berlin: Springer-Verlag,2012.
- [5] ROBINSON N J, PROCTER C M, CONNOLLY E L, et al. A ferric-chelated reductase for iron uptake from soils[J]. Nature,1999,397:694-697.
- [6] 文静,孔瑾,王忆,等. 小金海棠 Fe^{3+} -螯合还原酶 *MxFRO2* 基因启动子的克隆与表达分析[J]. 农业生物技术学报,2009,17(1):114-120.
- [7] WU H, LI L, LING H Q. Molecular and biochemical characterization of the Fe(III)-chelate reductase gene family in Arabidopsis thaliana[J]. Plant and Cell Physiology,2005,46(9):1505-1514.
- [8] PAOLO B, PAOLO P. Characterization of NADH-dependent Fe^{3+} -chelate reductases of maize roots [J]. Journal of Experimental Botany,1995,46(10):1497-1503.
- [9] WATERS B M, BLEVINS D G, EIDE D J. Characterization of FRO1, a pea ferric-chelate reductase involved in root iron acquisition[J]. Plant Physiology,2002,129(1):85-94.
- [10] WATERS B M, CARLOS L, RARAEL P V. Ethylene involvement in the regulation of the H^+ -ATPase *CsHAL* gene and of the new isolated ferric reductase *CsFRO1* and iron transporter *CsIRT1* genes in cucumber plants[J]. Plant Physiology and Biochemistry,2007,45(5):293-301.
- [11] ISHIMARU Y, SUZUKI M, MORI S, et al. Rice plants take up iron as an Fe^{3+} -phytosiderophore and as Fe^{2+} [J]. Plant Journal,2006,45(3):335-346.
- [12] LI L, CHENG X, LING H Q. Isolation and characterization of Fe(III)-chelate reductase gene *LeFRO1* in tomato[J]. Plant Molecular Biology,2004,54(1):125-136.
- [13] INDRANI M, NATHAN H, CAMPBELL, et al. Expression profiling of the Arabidopsis ferric-chelate reductase (FRO) gene family reveals differential regulation by iron and copper[J]. Planta,2006,223(6):1178-1190.
- [14] GROSS D C. Regulation of syringomycin synthesis in *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae* and defined conditions for its production[J]. JAppl Bacteriol,1985,58(2):167-174.
- [15] PANDEY A, SONTI RV. Role of the FeoB protein and siderophore in promoting virulence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* on rice[J]. J. Bacteriol.,2010,192(12):3187-3203.

- [16] HOF C , EISFELD K , WELZEL K , et al. Ferricrocin synthesis in *Magnaporthe grisea* and its role in pathogenicity in rice. *Mol Plant Pathol.* ,2007 ,8(2) : 163 – 172.
- [17] LIU G , GREENSHIELDS DL , SAMMYNAIKEN R , et al. Targeted alterations in iron homeostasis underlie plant defense responses [J]. *J. Cell Sci.* ,2007 ,120(4) : 596 – 605.
- [18] DEAK M , HORVATH GV , DAVLETOVA S , et al. Plants ectopically expressing the iron-binding protein , ferritin , are tolerant to oxidative damage and pathogens [J]. *Nat. Biotechnol.* ,1999 ,17(2) : 192 – 196.
- [19] TANG C , QI J , LI H , et al. A convenient and efficient protocol for isolating high-quality RNA from latex of *Hevea brasiliensis* (para rubber tree) [J]. *Biochem. Biophys Methods* ,2007 ,70(5) : 749 – 754.
- [20] KIEFER E , HELLER W , ERNST D. A simple and efficient protocol for isolation of functional RNA from plant tissues rich in secondary metabolites [J]. *Plant Mol Biol Rep.* ,2000 ,18(1) : 33 – 39.
- [21] DEAN R , VAN KAN JA , PRETORIUS ZA , et al. The top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology [J]. *Mol Plant Pathol.* ,2012 ,13(4) : 414 – 430.
- [22] 任玲,孔瑾,王忆,等. 小金海棠 Fe^{3+} - 还原酶基因 *MxFRO* 在酵母中的表达及 Fe^{3+} - 还原酶活性检测 [J]. *农业生物技术学报* ,2008 ,16(5) : 853 – 857.

Cloning and Expression Analysis of Ferric-chelate Reductase Gene (*HbFRO*) in *Hevea brasiliensis*

FANG Jiajun , LI Xiuqiong , LUO Hongli

(Hainan Key Laboratory for Sustainable Utilization of Tropical Bioresources , Hainan University , Haikou 570228 , China)

Abstract: A ferric-chelate reductase gene of rubber tree (*Hevea brasiliensis*) was cloned by RT-PCR and named as *HbFRO* based on the data of RNA-Seq of rubber tree. The sequencing result revealed that the ORF of *HbFRO* is 221 7 bp , encoding a 739 amino acids peptides. Bioinformatics analysis showed that the *HbFRO* protein contains conserved Ferric_reduct , FAD_binding and NAD_binding domains , which are similar to those of the *FRO* from other plants , and had ten transmembrane domains. The amino acid sequence of *HbFRO* is 85% , 80% , 73% and 63% similar to that of the *FRO* from *Manihot esculenta* , *Ricinus communis* , *Populus tomentosa* and *Arabidopsis thaliana* , respectively. Semi-quantitative RT-PCR analysis showed that the expression level of the *HbFRO* was significantly higher in leaf , flower and latex than in bark and buds , but was significantly decreased in leaves inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides* and *Oidium heveae* Steinm. These implied that the *HbFRO* was differently expressed in different tissues and probably involved in disease defense.

Key words: *Hevea brasiliensis*; ferric-chelate reductase gene (*HbFRO*); expression analysis

更正

刊于 2015(1) 的《对虾地膜精养池浮游生物的时空差异》的作者关仁磊^{1,3}、向斌¹、陈兆明¹、杨世平^{1,2}、孙成波^{1,2}更正为关仁磊^{1,3}、向贇¹、陈兆明¹、杨世平^{1,2}、孙成波^{1,2}