

中国板栗 EST-SNP 和抗栗疫病候选基因分析及同源比对

刘伟^{1,2}, 康明¹, 黄宏文^{1*}

(1. 中国科学院华南植物园, 中国科学院植物资源保护与可持续利用重点实验室, 广州 510650; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 从壳斗科基因组数据库下载中国板栗的 Unigene 序列和基于这些 Unigene 序列开发获得的 EST-SNP 数据, 分析发现, 中国板栗 EST-SNP 的发生频率为 4 个/kb, 在碱基置换类型上, C-T 置换发生的频率最高, C-G 置换发生频率最低, 转换和颠换的比值为 1.74 : 1。对 211 个在中国板栗健康组织和感染栗疫病的染病组织中差异表达的基因进行基因注释和蛋白质结构域分析, 结果表明, 参与蛋白质代谢、对胁迫、生物和非生物刺激发生响应的基因所占的比例较多, 并发现了大量的跨膜结构、信号肽、卷曲螺旋和蛋白激酶相关结构域。对这 211 个中国板栗抗栗疫病相关的候选基因和其 Unigene 序列进行同源比对, 统计整理定位在具有同源性的 Unigene 序列上的 EST-SNP, 共有 3023 个 EST-SNP 标记。这批 EST-SNP 标记可为今后开展基于候选基因途径的中国板栗抗栗疫病居群基因组研究和关联作图研究奠定重要的基础。

关键词: 中国板栗; 栗疫病; 候选基因; EST-SNP

中图分类号: Q945; S432.1

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2012)01-0055-09

Characteristic Analysis and Homology Alignment of EST-SNPs and Candidate Genes for Chestnut Blight Resistance of *Castanea mollissima*

LIU Wei^{1,2}, KANG Ming¹, HUANG Hong-Wen^{1*}

(1. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Unigene sequences and EST-SNPs derived from *Castanea mollissima* were downloaded from the Fagaceae Genomics database (www.fagaceae.org). The EST-SNP frequency in those unigenes was 1 SNP per 251 bp. For substitution types of those EST-SNPs, C-T substitution was the most frequent mutation type, accounting for 31.84% of all EST-SNPs, while C-G substitution occurred most rarely, accounting for only 5.76% of all EST-SNPs. The ratio of transition to transversion was 1.74 : 1. Gene ontology for 211 differentially expressed genes in chestnut blight fungus (*Cryphonectria parasitica*) infected vs healthy stem tissues of *Castanea mollissima* were investigated. Except for other cellular and metabolic processes, protein metabolism, response to stress, and response to abiotic or biotic stimulus were among the most represented biological process categories. Many transmembrane domains, signal peptides, coiled coil regions, and Pkinase related domains were found from analysis of protein sequences of the 211 differentially expressed genes. Using TBLASTX, the 211 differentially expressed genes were compared to all unigene sequences of *Castanea mollissima*. The EST-SNPs located on the homologous unigene sequences were summarized and resulted in a total of 3023 EST-SNPs. These EST-SNP markers provide insights into the studies of population

收稿日期: 2011-05-27, 修回日期: 2011-10-24。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30770219); 中国科学院重要方向性项目(KSCX2-YW-N-061)。

作者简介: 刘伟(1987-), 女, 博士研究生, 研究方向为植物学。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: huanghw@mail.scbg.ac.cn)。

genomics and association mapping for chestnut blight resistance in *Castanea mollissima*.

Key words: *Castanea mollissima*; Chestnut blight; Candidate gene; EST-SNP

栗疫病是世界上最著名的森林病害之一,广泛发生于亚洲、欧洲和北美洲。1904 年在美国纽约动物园首次发现栗疫病,在随后不到半个世纪的时间内它几乎摧毁了全境美洲栗树,估计约 20 ~ 40 亿株树被毁。1938 年在意大利北部发现了栗疫病,此后大约 15 年内许多栗树相继死亡,30 年后欧洲几乎所有的栗树生长区域都有栗疫病的蔓延^[1,2]。亚洲(尤其是中国和日本)被认为是栗疫病的发源地,1913 年在中国东部发现了栗疫病,目前栗疫病在中国的分布十分广泛,几乎有栗树种植的地方就有栗疫病的发生。尽管中国板栗对栗疫病抗性较强,但在重病区尤其是新树、幼树和一些感病品种上也会成片发生,引起树木的死亡^[3]。随着栗树种植面积的不断扩大,以及种植方式的日益单一化,栗疫病的危害已成为栗树种植中必须解决的问题。

栗属物种间存在对栗疫病抗性的差异,东亚物种的抗性显著高于欧美物种,其中美洲栗抗性最差,而中国板栗对栗疫病的抗性最强,是欧洲栗和美洲栗改良获得抗病品种的主要亲本来源,因此中国板栗多次被引种到其他国家,用于栗属植物的抗病育种^[4]。美国农业部曾于 1912 - 1917 和 1922 - 1938 年两次大规模引种中国板栗作为抗病育种的材料来挽救美洲栗^[5],但由于对栗疫病抗性的遗传基础缺乏认识,虽然获得了具有栗疫病抗性的杂种,但却丧失了美洲栗高大通直的特性,而被迫于 20 世纪 60 年代放弃。20 世纪 80 年代初, Burnham 总结并反思了美洲栗育种计划,提出回交育种可以用于拯救美洲栗^[6],而能否成功地挽救美洲栗,使其重返大自然,其中重要的环节之一是选择出最具栗疫病抗性的中国板栗,并成功地用于再造美洲栗的回交育种计划。因此,中国板栗对于世界栗属植物的抗病育种起着决定性作用。

为了拯救和恢复美洲栗,美国自 2006 年启动了“壳斗科基因组工具开发”“Genomic Tool Development for the Fagaceae”的项目,旨在为栗属(*Castanea*)、栎属(*Quercus*)、青冈属(*Fagus*)等重要壳斗科植物开发基因组分子标记。该项目建立了一个开放的壳斗科基因组数据库(www.fagaceae.org),目前已公布了大量的 EST 序列、分子标

记、遗传图谱和物理图谱等相关信息。该研究项目对中国板栗不同组织类型(根、茎、叶、花等)和不同染病状态(染病和未染病)构建了 14 个 cDNA 文库,通过测序获得了大量的 EST 序列,并将这些 EST 序列拼接成为 Unigene 序列,在序列的拼接过程中利用 PolyBayes 软件^[7]开发获得了大量的 EST-SNP 标记。此外,该项目的研究人员通过对中国板栗健康组织和感染栗疫病染病组织的转录谱进行分析,获得了一批在两种组织中差异表达的基因^[8]。本研究分析了壳斗科基因组数据库上公布的中国板栗的 EST-SNP 信息,对 Barakat 等^[8]报道的中国板栗对栗疫病抗性相关的差异表达基因进行了基因注释和蛋白质结构域分析。通过同源比对工具,对差异表达的基因和 Unigene 序列进行同源比对,寻找和差异表达的基因具有同源性的 Unigene 序列,统计整理定位在具有同源性的 Unigene 序列上的 EST-SNP 的信息,这批 EST-SNP 标记可为今后开展基于候选基因途径的中国板栗抗栗疫病居群基因组学研究和关联作图研究奠定重要的基础。

1 材料与方法

1.1 中国板栗 Unigene 序列和 EST-SNP 数据的下载和分析

直接从壳斗科基因组数据库(www.fagaceae.org)下载中国板栗的 Unigene 序列(CCall Unigene V2)和 EST-SNP 数据(CCall_v2_snpReport),加以整理分析。

1.2 中国板栗抗栗疫病候选基因的基因注释和蛋白质结构域分析

中国板栗抗栗疫病候选基因来自 Barakat 等^[8]报道的在中国板栗感染栗疫病组织中表达量远远高于健康组织的差异表达基因共 211 个,从拟南芥信息资源数据库(The Arabidopsis Information Resource, TAIR)中下载这 211 个候选基因的核酸序列和蛋白质序列,利用 TAIR 所含的 Gene Ontology (GO) 信息对其进行基因注释,利用 SMART 软件(smart.embl-heidelberg.de)对其进行蛋白质结

构域的分析。

1.3 中国板栗抗栗疫病候选基因与其 Unigene 序列的同源比对

利用本地 BLAST 工具中的 TBLASTX 对中国板栗 211 个抗栗疫病候选基因与 CCall Unigene V2 中的所有 Unigene 序列进行同源比对,E 值设为 1E-5,获得与抗栗疫病候选基因同源的 Unigene 序列,统计整理定位在具有同源性的 Unigene 序列上的 EST-SNP 信息。

2 结果与分析

2.1 中国板栗 EST-SNP 信息的分析

中国板栗 CCall Unigene V2 中共有 48335 条 Unigene 序列,是对中国板栗 14 个 cDNA 文库测序产生的 847952 条 EST 序列拼接所得,序列长度共计 25976986 bp。对来源于这 48335 条 Unigene 序列的 EST-SNP 数据 (CCall_v2_snpReport) 进行分析,其中利用 PolyBayes 软件分析得到的 SNP 共有 103546 个,SNP 的发生频率为 4 个/kb,平均每 251 bp 有 1 个 SNP。剔除插入和缺失 (indel) 后,符合一定质量标准碱基置换类型的 SNP 共有 25904 个,这 25904 个 SNP 来源于 8890 条 Unigene 序列,占 CCall Unigene V2 所有 Unigene 序列总数的 18.39%。其中绝大多数 Unigene 序列上只含有 1 个 SNP,其他 Unigene 序列上含有多个 SNP,如 Unigene 11818 上含有 47 个 SNP。对这 25904 个 SNP 的碱基置换类型分析发现,C-T 置换发生的频率最高,共有 8249 个,占有所有 SNP 的 31.84%,其次是 A-G 置换,共有 8203 个,占有所有 SNP 的 31.67%,发生频率最低的是 C-G 置换,共有 1491 个,占有所有 SNP 的 5.76% (表 1)。其中,转换 16452 个 (占 63.51%),颠换 9452 个 (占 36.49%),转换和颠换的比值为 1.74 : 1。

2.2 中国板栗抗栗疫病候选基因的基因注释和蛋白质结构域分析

根据拟南芥信息资源数据库 (the arabidopsis information resource, TAIR) 所含的 Gene Ontology (GO) 信息,对 Barakat 等^[8]报道的在中国板栗感染栗疫病组织中表达量远远高于健康组织的差异表达基因共 211 个进行基因注释,获得基因的 GO

表 1 中国板栗 EST-SNP 碱基置换类型
Table 1 Substitution types of EST-SNP of *Castanea mollissima*

碱基置换类型 Substitution type	SNP 数量 Number of SNP	百分比 (%) Percentage
C-G	1491	5.7559
G-T	2198	8.4852
A-C	2266	8.7477
A-T	3497	13.4998
A-G	8203	31.6669
C-T	8249	31.8445
合计 Total	25904	100

分类信息,其中 190 个基因归入细胞组分 (cellular component)、195 个基因归入分子功能 (molecular function), 194 个基因归入生物过程 (biological process)。在 GO 分类体系中细胞组分、分子功能和生物过程 3 个大的类别被划分为更详细的 45 个小的类别 (图 1)。其中,在分子功能上,具有其他酶功能和其他结合功能的基因所占的比例最多,分别为 28.21% 和 21.54%。在生物过程上,除去其他细胞途径和其他代谢途径两项外,参与蛋白质代谢、对胁迫、对生物和非生物刺激发生响应的基因所占的比例最多,分别为 21.65%、17.01% 和 15.46%。

利用 SMART 软件对 211 个差异表达基因进行蛋白质结构域分析,其中有 26 个基因未找到任何结构域,另外的 185 个基因均发现有结构域,每个基因所含的结构域数目从 1 至 22 不等,共有 520 个结构域。对这 520 个结构域进行统计整理,共有 208 种结构域,其中两大类结构域出现的频率最高:一类是与蛋白质定位相关的结构域,包括跨膜结构域、信号肽和卷曲螺旋;另一类是与蛋白激酶功能相关的结构域,包括丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸蛋白激酶结构域。譬如在基因 AT1G17870 中就发现有 7 个结构域,有 6 个跨膜结构域和 1 个卷曲螺旋 (图 2)。

2.3 中国板栗抗栗疫病候选基因与其 Unigene 序列的同源比对结果

利用 TBLASTX 工具对中国板栗抗栗疫病相关的 211 个候选基因与其 CCall Unigene V2 中的 48335 条 Unigene 序列进行同源比对,211 个候选基因均获得了同源性序列,共得到 5096 条具有同源性的 Unigene 序列,去除其中的重复序列后共有 2805 条 Unigene 序列,占有所有 Unigene 序列总数的 5.80%。对这 2805 条具有同源性的 Unigene 序

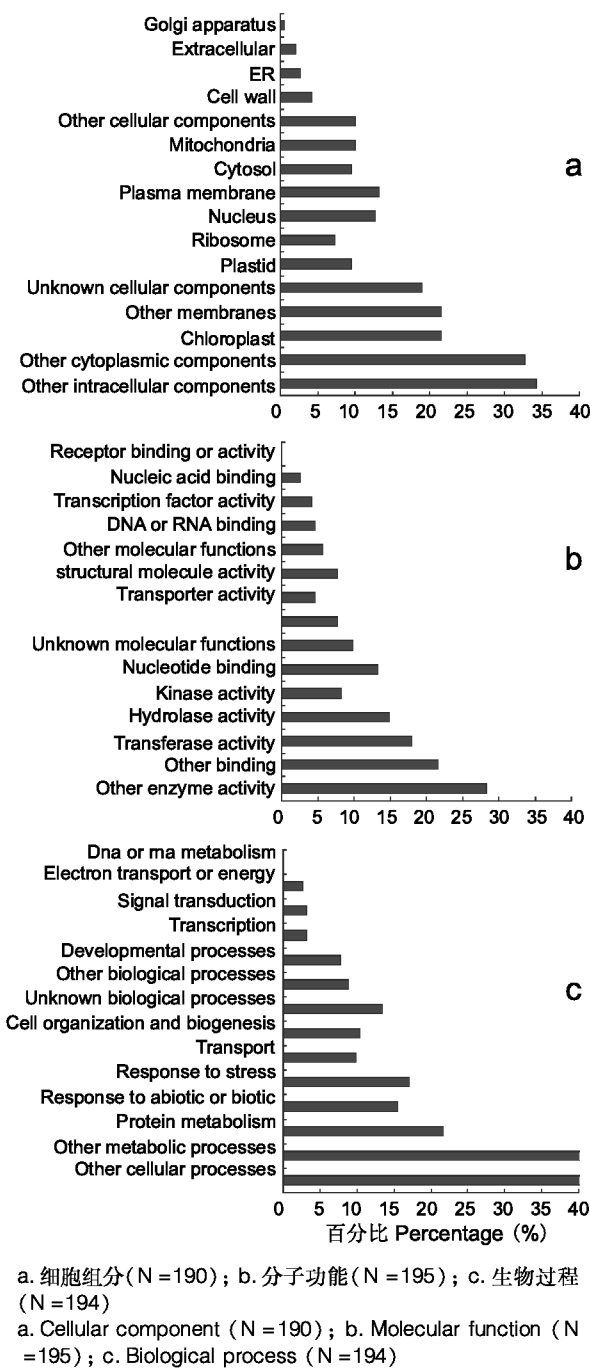
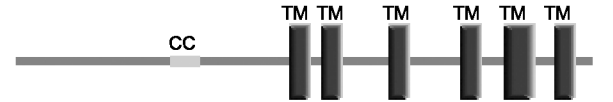


图 1 中国板栗抗栗疫病候选基因的功能注释
Fig. 1 Functional categorization of candidate genes for chestnut blight resistance in *Castanea mollissima*

列分析发现,其中 1883 个 Unigene 序列未开发获得 EST-SNP 标记,922 个 Unigene 序列开发获得了 EST-SNP 标记。这 922 个 Unigene 序列中,每条 Unigene 序列所含的 SNP 数量从 1 到 39 不等,只含有 1 个 SNP 的 Unigene 序列数目最多,有 334 条,其余 Unigene 序列上均含有多个 SNP 标记,对

这 922 条具有同源性的 Unigene 序列上的 SNP 进行统计整理,共有 3023 个 EST-SNP 标记(表 2)。



TM: 跨膜结构域; CC: 卷曲螺旋
TM: Transmembrane domain; CC: Coiled coil region

图 2 差异表达基因 AT1G17870 的蛋白质结构域
Fig. 2 Protein domains of differentially expressed gene AT1G17870

表 2 与中国板栗抗栗疫病候选基因具有同源性的 Unigene 序列所含 SNP 数量
Table 2 Number of SNP in unigenes homologous to candidate genes for chestnut blight resistance in *Castanea mollissima*

每条 Unigene 所含 SNP 数量 Number of SNP in each unigene	Unigene 数量 Number of unigenes	SNP 数量 Number of SNPs
1	334	334
2	182	364
3	121	363
4	75	300
5	58	290
6	45	270
7	27	189
8	21	168
9	17	153
10	8	80
11	8	88
12	6	72
13	5	65
14	2	28
15	2	30
16	2	32
18	2	36
19	4	76
22	1	22
24	1	24
39	1	39
合计 Total	922	3023

3 讨论

3.1 中国板栗 EST-SNP 的发生频率和突变类型
SNP 是目前为止分布最为广泛、存在数量最多且标记密度最高的一种遗传多态性标记,譬如人类基因组中 90% 的多态性是属于 SNP^[9]。近年来,SNPs 在人类(*Homo sapiens*)、拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)、大麦(*Hordeum vulgare*)、大豆(*Gly-*

cine max) 和玉米 (*Zea mays*)^[10-14] 等多个物种中的高密度分布已有报道。中国板栗的 EST-SNP 的发生频率为 4 个/kb, 平均每 251 bp 有 1 个 SNP, 低于玉米中报道的 1SNP/104 bp 和 1SNP/60.8 bp 的发生频率^[15,16]。这可能是由于 Tenailon 等^[15] 是对玉米 1 号染色体的 21 个位点进行研究, 检测到的 SNP 来自编码区和非编码区, 而中国板栗的 EST-SNP 是来自于对 cDNA 文库测序所得的 EST 序列, 只存在于编码区中。中国板栗 EST-SNP 的发生频率与巨桉 (*Eucalyptus grandis*) 中报道的编码区的 SNP 发生频率 1SNP/239.6 bp 相近^[17]。

单核苷酸的多态性常表现为核苷酸的转换、颠换、插失和缺失, 但通常所指的 SNPs 不包括后两种情况。因此, SNPs 主要有 4 种类型, 1 种为转换: C-T (G-A), 3 种为颠换: C-A (G-T)、C-G (G-C)、T-A (A-T)^[9]。在基因组中转换和颠换出现的频率是不同的, 前者约为后者的两倍。Wang 等^[18] 对人类基因组 279 kb 的 STS 序列进行分析, 在共发现的 279 个 SNPs 中, 转换占 67%, 颠换占 33%, 转换与颠换的比例约为 2:1。张晓红^[17] 基于 EST 开发得到的 1456 个候选 SNP 中, 转换类型的为 984 个 (67.6%), 颠换类型有 468 个 (33.4%), 转换和颠换的比例为 2:1。对中国板栗 25904 个 SNP 的碱基置换类型分析发现, 转换 16452 个 (63.51%), 颠换 9452 个 (36.49%), 转换和颠换的比值为 1.74:1, 与前人报道的结果一致。其中 C-T 置换发生的频率最高, 共有 8249 个, 占有 SNP 的 31.84%, 这可能是由于 C 常以甲基化的形式存在, 脱氨后即成为 T^[19]。

与其它分子标记相比, SNP 标记由于具有分布广泛、密度高、遗传稳定和便于自动化操作等优势^[20], 已成为最具潜力的第三代分子标记, 显示了广泛的应用价值^[21,22]。基于 EST 开发获得的 EST-SNP 标记除具备传统 SNP 标记的优势外, 由于 EST 来自基因的编码区, 可以直接获得基因的表达信息, 对于发掘功能基因具有重要意义。此外, EST-SNP 来自基因序列, 具有较高的保守性, 因而被广泛应用于比较基因组学、进化基因组学等研究^[23]。因此, 壳斗科基因组数据库公布的中国板栗 EST-SNP 标记, 可应用于中国板栗功能基因组学研

究, 发掘板栗中控制重要农艺性状和适应性性状的功能基因。此外, 壳斗科的不少物种是我国森林的建群树种, 如栲属、青冈属和石栎属的树种是我国亚热带常绿阔叶林的优势种, 利用 EST-SNP 标记对栗属物种乃至壳斗科其他物种进行群体、进化和生态遗传学等研究, 将有助于我们进一步了解种群动态、系统发育和物种分化相关机制。

3.2 中国板栗抗栗疫病候选基因的功能分析和蛋白质结构域分析

对中国板栗与栗疫病抗性相关的 211 个差异表达基因进行基因注释发现, 在生物过程上, 除去其他细胞途径和其他代谢途径两项外, 参与蛋白质代谢、对胁迫、生物和非生物刺激发生响应的基因所占的比例最多, 这些基因很可能参与了中国板栗对栗疫病的防御反应。在这 211 个差异表达的基因中, 部分基因已有参与其他植物抗病相关的生理生化途径的报道。如 ABC 转运蛋白家族 (ABC transporter family protein) 与植物防御反应中的茉莉酸途径相关, 促进次级代谢物的分泌, 抑制病原菌的生长^[24-26]。细胞色素 P450 家族 (cytochrome P450 family) 和木质素合成相关, 在植物感染病原菌后加强木质化作用, 阻止病原菌的进一步扩展^[27]。omega-3 脂肪酸脱氢酶 (omega-3 fatty acid desaturase) 和 Ras 相关的 GTP 结合蛋白 (Ras-related GTP-binding protein) 与植物的系统获得性抗性 (systemic acquired resistance) 相关^[28,29]。

近年来一系列的植物抗病基因 (Resistance gene, *R* 基因) 通过转座子标签技术和图位克隆技术从一些作物中被克隆出来, 如玉米抗圆斑病基因 *Hml*、烟草抗花叶病毒基因 *N*、亚麻抗锈病基因 *L6*、拟南芥抗芜菁皱缩病毒基因 *Hrt* 和拟南芥抗黄瓜花叶病毒基因 *Rcy1* 等^[30-34]。对 *R* 基因编码的蛋白质序列进行分析发现, 它们均具有多个保守的结构域, 主要有核苷酸结合位点 (nucleotide-binding site, NBS), 富亮氨酸重复序列 (leucine-rich repeat, LRR), 丝氨酸/苏氨酸激酶结构域 (Ser/Thr kinase, STK), 亮氨酸拉链 (leucine-zipper, LZ) 和其他功能未知的保守区等^[35]。根据 *R* 基因的保守结构域, 可以将 *R* 基因大致分为以下四类: 胞内的 NBS-LRR 类, 跨膜的 LRR 类和具有胞外 LRR 结构

的蛋白激酶类和细胞内蛋白激酶(Ser/Thr)类^[36]。通过对中国板栗与栗疫病抗性相关的211个差异表达基因进行蛋白质结构域分析发现,在这211个基因中未发现核苷酸结合位点(nucleotide-binding site, NBS)和富亮氨酸重复序列(leucine-rich repeat, LRR),但发现了大量的与蛋白质定位相关的结构域,包括跨膜结构域、信号肽和卷曲螺旋,以及与蛋白质激酶功能相关的结构域,包括丝氨酸、苏氨酸或酪氨酸蛋白激酶结构域。未发现NBS和LRR的可能原因有两点:(1) SMART软件检测蛋白质结构域的内在阈值设定(E值)使得某些支持率较低的结构域不能被检测出来;(2)这些差异表达基因不属于LRR类抗病基因,可能是细胞内蛋白激酶类或其他类型的抗病基因。迄今为止,在其他植物中也发现有少数不属于上述四类的抗病基因,如*RPW8*是拟南芥抗白粉病基因,结构为CC-TM(coiled-coil plus transmembrane receptor),即卷曲螺旋结构的跨膜受体;*Mlo*是大麦抗白粉病基因,结构为TM-TM-TM-TM-TM-TM(transmembrane domain, TM),包含6个跨膜区;*Hml*是玉米抗圆斑病基因,其产物是一种毒素还原酶(toxin reductase)^[37]。目前,板栗对栗疫病抗病机制的研究,国内外的报道都很少,迄今板栗中还没有分离出与栗疫病相关的抗病基因,因此,通过转录谱分析获得的抗病相关差异表达基因为发掘板栗的抗病基因,揭示其抗病机制提供了重要的候选基因来源。

3.3 候选基因途径在中国板栗抗栗疫病研究中的应用

阐明重要农艺性状和地方适应性性状的遗传基础是当今保育遗传学、进化基因组学和功能基因组学研究的一个热点^[38,39]。目前虽然利用数量性状位点作图(Quantitative Trait Locus Mapping, QTL Mapping)、关联作图(Association Mapping)和居群基因组学的手段(Population Genomics)取得了大量的研究进展^[40-44],但由于大多数的研究主要是基于中性的分子标记,而中性标记往往位于非编码区,因此在发掘控制特定表型性状的功能性遗传变异上尚存在很大的不足。基于EST的功能性分子标记如EST-SSR和EST-SNP标记的出现,为解决这一问题提供了很好的途径^[45]。此外,在利用功

能性分子标记的同时,如果能参考相关候选基因的信息,能极大地提高检测功能性遗传变异的成功率。Namroud等^[46]利用来自345个基因的534个SNP,对6个具有一定程度表型分化的加拿大银白云杉(*Picea glauca*)的自然居群进行了居群基因组学研究,结果发现超过9.2%的位点表现为异常位点,13.6%的基因表现出适应的倾向。此外,研究还发现这些候选基因的功能与各个居群间发生分化的表型性状是一致的,进一步证明这些候选基因的适应性地位。Eckert等^[47]对花旗松(*Pseudotsuga menziesii*)来自117个抗冷候选基因上的384个SNP标记和21个抗冷相关性状进行了关联分析,在12个候选基因和10个性状之间发现了显著相关性,这些相关性对于阐明花旗松抗冷性的遗传基础具有重要意义。

本研究通过对中国板栗211个抗栗疫病候选基因与其Unigene序列进行同源比对,找到与抗栗疫病候选基因具有同源性的Unigene序列,进而获得3023个定位在具有同源性的Unigene上的EST-SNP标记。这批EST-SNP标记为今后开展基于候选基因途径的中国板栗抗栗疫病居群基因组学研究和关联作图研究,发掘与抗病相关的抗性基因和抗性标记提供了重要的标记来源,对于加快中国板栗乃至世界栗属植物的分子标记辅助育种和抗病基因工程的进展具有重要的指导意义。

参考文献:

- [1] Griffin G J. Chestnut blight and its control[J]. *Hort Rev*, 1986, 8: 291-336.
- [2] Heiniger U, Rigling D. Biological control of chestnut blight in Europe[J]. *Annu Rev Phytopathol*, 1994, 32: 581-599.
- [3] 周而勋, 王克荣, 陆家云. 中国东部11省(市)栗疫病的发生条件[J]. *南京农业大学学报*, 1993, 16(3): 44-49.
- [4] Anagnostakis S L. Measuring resistance of chestnut trees to chestnut blight[J]. *Can J Forest Res*, 1992, 22(4): 568-571.
- [5] Burnham C R, Rutter P A, French D W. Breeding blight-resistant chestnuts[J]. *Plant Breed Rev*, 1986, 4: 363-371.
- [6] Burnham C R. Blight-resistant American chestnut: there's hope[J]. *Plant Dis*, 1981, 65(6): 459-

- 460.
- [7] Marth G T, Korf I, Yandell M D, Yeh R T, Gu Z J, Zakeri H, Stitzel N O, Hillier L, Kwok P-Y, Gish W R. A general approach to single nucleotide polymorphism discovery [J]. *Nat Genet*, 1999, 23 (4): 452–456.
- [8] Barakat A, DiLoreto D, Zhang Y, Smith C, Baier K, Powell W A, Wheeler N, Sederoff R, Carlson J E. Comparison of the transcriptomes of American chestnut (*Castanea dentata*) and Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) in response to the chestnut blight infection [J]. *BMC Plant Bio*, 2009, 9: 51.
- [9] Brooker A J. The essence of SNPs [J]. *Gene*, 1999, 234 (2): 177–186.
- [10] Lai E, Riely J, Purvis I, Roses A. A 4-Mb High-density single nucleotide polymorphism-based map around human APOE [J]. *Genomics*, 1998, 54 (1): 31–38.
- [11] Cho R J, Mindrinos M, Richards D R, Sapolsky R J, Anderson M, Drenkard E, Dewdney J, Reuber T L, Stammers M, Federspiel N, Theologis A, Yang W-H, Hubbell E, Au M, Chung E Y, Lashkari D, Lemieux B, Dean C, Lipshutz R J, Ausubel F M, Davis R W, Oefner P J. Genome-wide mapping with biallelic markers in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature Genet*, 1999, 23 (2): 203–207.
- [12] Kota R, Varshney R K, Prasad M, Zhang H, Stein N, Graner A. EST-derived single nucleotide polymorphism markers for assembling genetic and physical maps of the barley genome [J]. *Funct Integr Genomics*, 2008, 8 (3): 223–233.
- [13] Zhu Y L, Song Q J, Hyten D L, Van Tassell C P, Matukumalli L K, Grimm D R, Hyatt S M, Fickus E W, Young N D, Cregan P B. Single-nucleotide polymorphisms in soybean [J]. *Genetics*, 2003, 63 (3): 1123–1134.
- [14] Batley J, Barker G, O'Sullivan H, Edwards K J, Edwards D. Mining for single nucleotide polymorphisms and insertion/deletion in maize expressed sequence tag data [J]. *Plant Physiol*, 2003, 132 (1): 84–91.
- [15] Tenailon M I, Sawkins M C, Long A D, Gaut R L, Doebley J F, Gaut B S. Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *mays* L.) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98 (16): 9161–9166.
- [16] Ching A, Caldwell K S, Jung M, Dolan M, Smith O S, Tingey S, Morgante M, Rafalski A J. SNPs frequency, haplotype structure and linkage disequilibrium in elite maize inbred lines [J]. *BMC Genet*, 2002, 3: 19.
- [17] 张晓红. 桉树 EST-SNP 的开发及 EST 图谱构建 [D]. 南京: 南京林业大学森林资源与环境学院, 2009.
- [18] Wang D G, Fan J B, Siao C J, Berno A, Young P, Sapolsky R, Ghandour G, Perkins N, Winchester E, Spencer J, Kruglyak L, Stein L, Hsie L, Topaloglou T, Hubbell E, Robinson E, Mittmann M, Morris M S, Shen N, Kilburn D, Rioux J, Nusbaum C, Rozen S, Hudson T J, Lipshutz R, Chee M, Lander E S. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome [J]. *Science*, 1998, 280 (5366): 1077–1082.
- [19] Coulondre C, Miller J H, Farabaugh P J, Gilbert W. Molecular basis of base substitution hot spots in *Escherichia coli* [J]. *Nature*, 1978, 274 (5673): 775–780.
- [20] Vignal A, Milan D, SanCristobal M, Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics [J]. *Genet Sel Evol*, 2002, 34 (3): 275–305.
- [21] Rafalski A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics [J]. *Curr Opin Plant Bio*, 2002, 5 (2): 94–100.
- [22] Morin P A, Luikart G, Wayne R K. The SNP workshop group. SNPs in ecology, evolution and conservation [J]. *Trends Ecol Evol*, 2004, 19 (4): 208–216.
- [23] Kantety R V, Rota M L, Matthews D E, Sorrells M E. Data mining for simple sequence repeats in expressed sequence tags from barley, maize, rice, sorghum and wheat [J]. *Plant Mol Biol*, 2002, 48 (5): 501–510.
- [24] Stukkens Y, Bultreys A, Grec S, Trombik T, Vanham D, Boutry M. NpPDR1, a pleiotropic drug resistance-type ATP-binding cassette transporter from *Nicotiana plumbaginifolia*, plays a major role in plant pathogen defense [J]. *Plant Physiol*, 2005, 139 (1): 341–352.
- [25] Panikashvili D, Savaldi-Goldstein S, Mandel T, Yifhar T, Franke R B, Höfer R, Schreiber L, Chory J, Aha-

- roni A. The *Arabidopsis* DESPERADO/ AtWBC11 transporter is required for cutin and wax secretion [J]. *Plant Physiol*, 2007, 145(4): 1345–1360.
- [26] Sanchez-Fernandez R, Davies T G, Coleman J O, Rea P A. The *Arabidopsis thaliana* ABC protein superfamily, a complete inventory [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(32): 30231–30244.
- [27] Qi X, Bakht S, Qin B, Leggett M, Hemmings A, Mellon F, Eagles J, Werck-Reichhart D, Schaller H, Lesot A, Melton R, Osbourn A. A different function for a member of an ancient and highly conserved cytochrome P450 family: from essential sterols to plant defense [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(49): 18848–18853.
- [28] Chaturvedi R, Krothapalli K, Makandar R, Nandi A, Sparks A A, Roth M R, Welti R, Shah J. Plastid ω -3 fatty acid desaturase-dependent accumulation of a systemic acquired resistance inducing activity in petiole exudates of *Arabidopsis thaliana* is independent of jasmonic acid [J]. *Plant J*, 2008, 54(1): 106–117.
- [29] Bovie C, Ongena M, Thonart P, Dommes J. Cloning and expression analysis of cDNAs corresponding to genes activated in cucumber showing systemic acquired resistance after BTH treatment [J]. *BMC Plant Biol*, 2004, 4: 15.
- [30] Johal G S, Briggs S P. Reductase activity encode by the *Hm1* disease resistance gene in maize [J]. *Science*, 1992, 258(5084): 985–987.
- [31] Whitham S, McCormick S, Baker B. The *N* gene of tobacco confers resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tomato [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(16): 8776–8781.
- [32] Lawrence G J, Finnegan E J, Ayliffe M A, Ellis J G. The *L6* gene for flax rust resistance is related to the *Arabidopsis* bacterial resistance gene *RPS2* and the tobacco viral resistance gene *N* [J]. *Plant Cell*, 1995, 7(8): 1195–1206.
- [33] Cooley M B, Pathirana S, Wu H J, Kachroo P, Klessig D F. Members of the *Arabidopsis* HRT/RPP8 family of resistance genes confer resistance to both viral and oomycete pathogens [J]. *Plant Cell*, 2000, 12(5): 663–676.
- [34] Takahashi H, Miller J, Nozaki Y, Sukanto, Takeda M, Shah J, Hase S, Ikegami M, Ehara Y, Dinesh-Kumar S P. *RCY1*, an *Arabidopsis thaliana* RPP8/HRT family resistance gene, conferring resistance to cucumber mosaic virus requires salicylic acid, ethylene and a novel signal transduction mechanism [J]. *Plant J*, 2002, 32(5): 655–667.
- [35] Bent A F. Plant disease resistance genes: function meets structure [J]. *Plant Cell*, 1996, 8(10): 1757–1771.
- [36] 万里红, 周奕华, 陈正华. 植物防御系统中抗病相关基因的研究进展 [J]. *遗传*, 2002, 24(4): 486–492.
- [37] 王友红, 张鹏飞, 陈建群. 植物抗病基因及其作用机理 [J]. *植物学通报*, 2005, 22(1): 92–99.
- [38] Feder M E, Mitchell-Olds T. Evolutionary and ecological functional genomics [J]. *Nat Rev Genet*, 2003, 4(8): 649–655.
- [39] Vasemägi A, Primmer C R. Challenges for identifying functionally important genetic variation: the promise of combining complementary research strategies [J]. *Mol Ecol*, 2005, 14(12): 3623–3643.
- [40] Kenis K, Keulemans J, Davey M W. Identification and stability of QTLs for fruit quality traits in apple [J]. *Tree Genet Genomes*, 2008, 4(4): 647–661.
- [41] Freeman J S, Whittock S P, Potts B M, Vaillancourt R E. QTL influencing growth and wood properties in *Eucalyptus globules* [J]. *Tree Genet Genome*, 2009, 5(4): 713–722.
- [42] Aranzana M J, Kim S, Zhao K, Bakker E, Horton M, Jakob K, Lister C, Molitor J, Shindo C, Tang C, Toomajian C, Traw B, Zheng H G, Bergelson J, Dean C, Marjoram P, Nordborg M. Genome-wide association mapping in *Arabidopsis* identifies previously known flowering time and pathogen resistance genes [J]. *PLoS Genet*, 2005, 1(5): e60.
- [43] Meyer C-L, Vitalis R, Saumitou-Laprade P, Castric V. Genomic pattern of adaptive divergence in *Arabidopsis halleri*, a model species for tolerance to heavy metal [J]. *Mol Ecol*, 2009, 18(9): 2050–2062.
- [44] Kane N C, Rieseberg L H. Selective sweeps reveal candidate genes for adaptation to drought and salt tolerance in common sunflower, *Helianthus annuus* [J]. *Genetics*, 2007, 175(4): 1823–1834.
- [45] Andersen J R, Berstedt T L. Functional markers in plants [J]. *Trends Plant Sci*, 2003, 8: 554–560.
- [46] Namroud M C, Beaulieu J, Juge N, Laroche J,

Bousquet J. Scanning the genome for gene single nucleotide polymorphisms involved in adaptive population differentiation in white spruce [J]. *Mol Ecol*, 2008, 17(16): 3599–3613.

[47] Eckert A J, Bower A D, Wegrzyn J L, Pande B, Jermstad K D, Krutovsky K V, St Clair J B, Neale D B. Association genetics of coastal douglas fir (*Pseudotsuga menziesii* var. *menziesii*, Pinaceae). I. Cold-hardiness related traits [J]. *Genetics*, 2009, 182(4): 1289–1302.

(责任编辑：张 平)

致谢 2011 年审稿专家

2011 年共有 341 位专家先后为《植物科学学报》审阅稿件。在此,我们衷心感谢诸位审稿专家的辛勤劳动,向你们致以诚挚的谢意!

审稿专家名单(按汉语拼音排序)

白学良	别 墅	蔡庆华	蔡 霞	蔡永立	曹洪麟	曹家树	曹坤芳	曹 同	常朝阳	常艳芬
陈大洲	陈发棣	陈芳清	陈 防	陈飞鹏	陈家春	陈兰洲	陈 亮	陈明生	陈佩度	陈士超
陈士林	陈士云	陈随清	陈小勇	陈心启	陈彦生	陈耀锋	陈怡平	陈艺林	陈之端	程积民
程克棣	崔 瑾	代力民	戴玉成	刀志灵	邓红兵	邓洪平	丁炳扬	丁立生	丁圣彦	丁兴萃
丁雨龙	杜道林	樊龙江	方华军	方炎明	冯虎元	冯玉龙	傅声雷	高春保	高捍东	高江云
高 平	高微微	高贤明	高致明	葛继稳	葛学军	龚 洵	巩振辉	郭良栋	郭世荣	郭水良
郭文武	郭友好	韩 发	郝日明	郝占庆	何光存	何光源	何兴金	和太平	侯岁稳	胡鸿钧
胡家金	胡开林	胡新中	胡玉熹	胡运乾	胡章立	胡正海	黄邦全	黄丹枫	黄学林	黄忠良
贾 渝	江 玲	江明喜	姜道宏	姜 玲	蒋运生	金效华	金永焕	金则新	阚显照	康振生
柯德森	孔建强	孔秀英	郎楷永	黎维平	黎云祥	李艾莲	李 波	李 博	李承森	李法曾
李国庆	李合生	李加纳	李建龙	李建强	李景文	李立家	李仁辉	李荣贵	李韶山	李绍清
李世晋	李树云	李顺林	李天红	李 伟	李先琨	李晓东	李新伟	李旭光	李 彦	李意德
李再云	李振宇	李智军	李周岐	李作洲	梁士楚	梁宗锁	廖海民	廖建雄	廖景平	廖文波
廖祥儒	林顺权	林植芳	刘保东	刘大有	刘 方	刘贵华	刘国祥	刘家熙	刘建福	刘建军
刘培贵	刘琪璟	刘 强	刘青林	刘 庆	刘全儒	刘世家	刘曙东	刘 伟	刘文哲	刘向东
刘学群	刘灶长	刘志勇	刘仲健	龙春林	龙 鸿	卢少云	陆树刚	吕洪飞	吕应堂	罗凤霞
罗晓东	罗毅波	罗正荣	马金双	米华玲	米湘成	纳海燕	聂泽龙	彭 华	彭建营	彭俊华
彭少麟	彭抒昂	祁承经	齐力旺	钱 前	强 胜	邱保胜	邱明华	任 海	任 毅	上官铁梁
上官周平	沈显生	施季森	石春海	石培礼	税玉民	司马永康	宋纯鹏	宋松泉	宋文芹	宋运淳
苏文华	苏志尧	孙东发	孙 航	孙 坤	孙蒙祥	孙 敏	孙日飞	孙书存	孙同兴	孙卫邦
谭宁华	唐 琳	唐源江	田世平	涂巨民	涂炳坤	汪小凡	王根轩	王 红	王建波	王明奎
王青锋	王任翔	王 艇	王文和	王文卿	王襄平	王小菁	王孝安	王 雁	王 璞	王幼芳
王宇飞	王峥峰	韦 霄	魏家绵	魏 炜	吴承楨	吴德邻	吴国江	吴 鸿	吴玉环	夏 凯
夏兰芹	夏念和	向巧萍	肖炳光	肖姬萍	谢国文	谢宗强	邢福武	熊立仲	熊源新	熊治廷
徐凤霞	徐 虹	徐文铎	徐志防	颜立红	杨崇仁	杨春锋	杨广笑	杨虹琦	杨 继	杨 劭
叶华谷	叶万辉	叶兴国	叶燕萍	衣艳君	尹林克	于明坚	于占东	余世孝	俞景权	喻德跃
喻勋林	岳 明	臧德奎	臧润国	曾 英	张方钢	张 峰	张光富	张国权	张金屯	张利权
张全发	张绍铃	张石宝	张守仁	张文辉	张文驹	张宪春	张小平	张 昭	张正光	张志翔
张忠锋	赵德刚	赵桂仿	赵建成	赵 洁	赵魁义	赵 平	赵杨景	郑成淑	郑海雷	郑 珩
郑郁善	郑元润	钟 扬	周国逸	周延清	周 繇	周永红	周云龙	周浙昆	周忠泽	朱道圩
朱 华	朱建军	朱教君	朱瑞良	朱 玮	朱相云	朱玉英	朱月林	庄雪影	邹定辉	左建儒