

研究报告

Research Report

不同海拔下花叶海棠叶片转录组核苷酸变异分析和比较

张得芳^{1,2*} 夏涛³ 文怀秀⁴ 王占林¹ 刘霞⁵ 张磊⁶ 白灵娜¹

1 青海大学农林科学院, 西宁, 810016; 2 青海大学三江源生态与高原农牧业国家重点实验室, 西宁, 810016; 3 青海康普生物科技股份有限公司, 西宁, 810003; 4 中国科学院西北高原生物研究所, 中国科学院藏药研究重点实验室, 西宁, 810008; 5 青海省干旱浅山造林试验站, 西宁, 810099; 6 青海省玛可河林业局, 班玛, 814300

* 通讯作者, defangstart2011@163.com

摘要 利用 Illumina HiSeq 4000 平台,对花叶海棠不同海拔下的样品进行了转录组测序,对其 SNPs 的数目和分布特征进行了分析和比较。测序后共得到 316 759 896 条序列,共有 47 513 984 400 的碱基量。序列组装后得到 109 578 个平均读长为 594.83 的 unigenes,共有 65 180 558 个碱基,同时有 134 443 个平均读长为 710.62 的 transcripts,共涉及 95 537 959 个碱基。将原始的测序数据对比到组装好的参考序列上后检测 SNP 位点。两个海拔样品中 SNP 的位点数目在低海拔地区(MH, 33312)中高于高海拔地区(MKH, 32886)样品。所有样品的转换类型 SNP 中,均是 A/G 类型的数量高于 C/T 类型的数量。颠换类型中,数量最多的是 A/T,其次是 C/G、T/G 和 A/C。SNP 变异的 Ts/Tv 值均是 MH 样品值均大于 MKH 样品值。发生在第三个密码子位置的变异位点在六个样品中均占最大比例,3'UTR 产生变异的位点在 MH 和 MKH 基本一致,5'UTR 的变异位点均低于 3'UTR 的变异位点数量。高海拔地区的强辐射,尤其是 UV-B 能被 DNA 和蛋白分子吸收,引起 DNA 的损伤和突变。MKH 中 SNP 突变发生在第一和第二位密码子上的平均数目均高于 MH,其原因可能是由于其所处的高海拔环境因素导致。

关键词 花叶海棠, SNP, 海拔, 转录组测序

Analysis and Comparison of Nucleotide Variation in the Leaf of *Malus transitoria* from Different Altitudes

Zhang Defang^{1,2*} Xia Tao³ Wen Huaixiu⁴ Wang Zhanlin¹ Liu Xia⁵ Zhang Lei⁶ Bai Lingna¹

1 Qinghai Academy of Agriculture and Forestry, Qinghai University, Xining, 810016; 2 State Key Laboratory of Plateau Ecology and Agriculture, Qinghai University, Xining, 810016; 3 Qinghai General health biotechnology co., LTD, Xining, 810003; 4 Key Laboratory of Tibetan Medicine Research, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining, 810008; 5 Qinghai arid middle hill afforestation station, Xining, 810099; 6 Qinghai Makehe Forestry Administration, Banma, 814300

* Corresponding author, defangstart2011@163.com

DOI: 10.13417/j.gab.036.004351

Abstract The samples were sequenced at different altitudes of the flower leaf by using HiSeq Illumina 4 000 platform. The number and distribution characteristics of SNPs (Single-nucleotide polymorphisms) were analyzed and compared. A total of 316 759 896 sequences were obtained, and 47 513 984 400 base were generated. After assembly, there was 109 578 unigenes with average read of 594.83, meanwhile 134 443 transcripts were obtained with average read of 710.62. They covered 65 180 558 and 95 537 959 bases, respectively. When original data was compared with assembled sequence, SNP sites were examined. The number of SNPs in samples of MH was higher than in MKH. The number of A/G type was higher than C/T type for all transform types SNP. However, the

基金项目 本研究由农业科技成果转化与示范项目《青海高原藏茶资源开发技术示范》(2015-NK-507)资助

引用格式 Zhang D.F., Xia T., Wen H.X., Wang Z.L., Liu X., Zhang L., and Bai L.N., 2017, Analysis and comparison of nucleotide variation in the leaf of *Malus transitoria* from different altitudes, *Jiyinzuxue Yu Yingyong Shengwuxue (Genomics and Applied Biology)*, 36(10): 4351-4356 (张得芳, 夏涛, 文怀秀, 王占林, 刘霞, 张磊, 白灵娜, 2017, 不同海拔下花叶海棠叶片转录组核苷酸变异分析和比较, *基因组学与应用生物学*, 36(10): 4351-4356)

number of A/T type was the highest in transversion types, following by C/G, T/G and A/C. The ratios of Ts/Tv were higher in MH than those in MKH. The variation sites in the third codon were accounted for the largest proportion, the numbers of variation site in 3'UTR were almost the same, and they were higher than variation in 5'UTR. Intensive radiation in high altitude areas, especially the UV-B radiation could be absorbed by DNA and protein molecules, causing DNA damage and mutation. The variation sites in the first and second codon were higher in MKH than in MH probably related to high elevation of MKH.

Keywords *Malus transitoria*, SNP, Altitude, Transcriptome sequencing

花叶海棠(*Malus transitoria* (Batalin) C. K. Schneid.) 是中国特有的蔷薇科苹果属灌木或者小乔木, 分布于青海、西藏、甘肃、内蒙古、陕西和四川的部分地区。花叶海棠一般生活在海拔 1 500~3 900 m 的灌木丛和斜坡(http://db.kib.ac.cn/eflora/View/Search/chs_contents.aspx?CPNI=CPNI-077-28619) 具有抗旱耐热、耐盐、耐寒的特性。花叶海棠树形和花形优美, 在西北地区被栽培用作观赏树种, 同时也用作苹果砧木(潘增光等, 1999, 中国园艺学会成立 70 周年纪念暨学术讨论会)。

作为民间习用药材, 花叶海棠始载于《晶镜本草》中, 具有保肝利胆、除腻涤滞、攻坚化积等功效, 因此在民间用于治疗小儿积食, 同时也用于肝胆保健。花叶海棠叶片富含黄酮等次生代谢物质, 具有的功效, 因此在藏族地区用叶片代替茶, 用于降血脂、降血压、降血糖等(王海英等, 2009)

SNP (single nucleotide polymorphisms, 单核苷酸多态性) 是指在基因组上单个核苷酸产生的变异, 包括置换、颠换、缺失和插入。SNP 是物种基因组和转录组中常见的变异类型, 具有分布广, 数量多, 突变率低, 稳定遗传等特点(Gray et al., 2000)。一般情况下, SNP 在基因组上的分布及特点是不均匀的, 在非编码区出现频率较编码区高。而自然选择, 遗传重组和突变率以及其他的因素都会影响到 SNP 的分布频率及密度(Nachman, 2001)。除了 SNP 对于蛋白功能以及表型的影响, 也有一些 SNP 是对于表型没有任何影响, 也就是所谓的同义突变。这些突变虽然不影响蛋白功能和表型, 但是他们数量较大, 并且具有稳定遗传的特点, 所以在全基因组关联研究(GWAS)和遗传图谱中可以作为很重要的分子标记(Thomas et al., 2011)。

而由于 SNP 其等位基因频率的容易估计, 易于基因分型, 适于快速、规模化筛查等特性, 基于高通量测序技术开发和检测的 SNP 标记被广泛应用于遗传图谱的构建, 复杂性状的定位, 与疾病的遗传解剖以及群体的基因识别等方面的研究。基于转录组测序的 SNP 分子标记的优点是, 其变异位点位于功能基

因上, 所以可能与物种的蛋白功能和表型直接相关(Ganal et al., 2009)。由此, 基于转录组测序和 EST 序列的 SNP 标记被广泛用于豆类水稻等作物的遗传图谱构建和遗传多样性分析中(Blair et al., 2013; Frascaroli et al., 2013; Gujaria-Verma et al., 2016)。

相对于蔷薇科蔷薇属中其他植物, 花叶海棠的遗传和基因组学方面的相关研究基本空白, 这在一定程度上影响了对其适当的开发和利用。本研究基于高通量测序对花叶海棠进行了转录组测序, 获得了 SNP 位点, 并对其分布规律和特点进行了分析, 为花叶海棠分子标记的开发, 遗传多样性等方面的相关工作以及基因组学研究提供一定的基础。

1 结果与分析

1.1 转录组测序及序列组装

利用 Illumina highseq 4000 测序平台进行测序以后得到花叶海棠转录组数据。测序后共得到 316 759 896 条序列, 共有 47 513 984 400 的碱基量。去除了低质量和重复数据以后, 共得到 294 048 414 条序列, 共有 42 663 509 961 碱基(表 1)。

将去除了重复和低质量序列后的高质量序列进行组装后得到 109 578 个平均读长为 594.83 的 uni-genes, 共有 65 180 558 个碱基, 同时有 134 443 个平均读长为 710.62 的 transcripts, 共涉及 95 537 959 个碱基(表 2)。

1.2 SNP 位点查找和分析

将原始的测序数据对比到组装好的参考序列上后检测 SNP 位点, 在 MH 的 3 个样品中分别得到 33 224、32 464 和 34 249 个位点, 3 个样品平均的 SNP 位点为 33 312 个。MKH3 个样品中分别得到 33 216、31 032 和 34 410 个位点, 3 个样品平均的 SNP 位点为 32 886 个。两个海拔样品中 SNP 的位点数目在低海拔地区(MH)中高于高海拔地区(MKH)样品(表 3)。

MH 3 个样品中, SNP 位点中的转换数目分别是

表 1 6 个样品测序统计

Table 1 Sequencing result of six samples

样本名称 Sample	序列条数 Serial number	碱基数目(bp) Base number (bp)	误差(%) Error (%)	Q 20%	Q 30%	GC %
mh-1	41 574 512	6 236 176 800	0.016 0	94.76	89.22	48.5
mh-2	40 891 592	6 133 738 800	0.016 3	94.60	88.92	48.46
mh-3	37 707 074	5 656 061 100	0.016 2	94.64	89.00	48.51
mkh-1	63 661 572	9 549 235 800	0.011 7	96.86	93.29	48.69
mkh-2	57 929 430	8 689 414 500	0.011 7	96.86	93.31	48.54
mkh-3	74 99 5 716	11 249 357 400	0.011 5	97.02	93.58	48.50
合计 / 平均 Total/Average	316 759 896	47 513 984 400				48.53

表 2 组装统计表

Table 2 The result of assembly

	Unigenes	Transcripts
总序列号 Total sequence number	109 578	134 443
全序列库 Total sequence base	65 180 558	95 537 959
GC 百分比 Percent GC	45.71	45.17
最长转录本 Largest transcript	15 769	15 769
最短转录本 Smallest transcript	201	201
平均读长 Average length	594.83	710.62
N50	946	1 197

21 914、21 227 和 22 268，平均每个样品中转换的 SNP 数目为 21 803 个。转换类型中 A/G 类型的数量在 3 个样品中均高于 C/T 类型的数量。3 个样品中颠换的数量分别是 11 310、11 187 和 11 981，平均每个样品中颠换的 SNP 数目为 11 493 个。颠换类型中，数量最多的是 A/T (10.10%)，其次是 C/G (9.00%)，T/G (7.96%)和 A/C (7.43%) (表 3)。

MKH 3 个样品中，SNP 位点中的转换数目分别是 21 363、20 094 和 22 213，平均每个样品中转换的 SNP 数目为 21 224。其中 A/G 类型的数量略高于 (10 649, 32.39%) C/T 类型的数量(10 575, 32.16%)。3 个样品中颠换的数量分别是 11 853、10 938 和 12 197，平均每个样品中颠换的 SNP 数目为 11 662，颠换类型中，数量最多的是 A/T (10.21%)，其次是 C/G (9.15%)，T/G (8.14%)和 A/C (7.94%) (表 3)。统计显示，SNP 变异的 Ts/Tv 值均是 MH 样品值均大于 MKH 样品值(表 3)。

对 SNP 的位置分析后发现，发生在第三个密码子位置的变异位点在 6 个样品中均占最大比例，其中 MK 为 44.58%，MKH 为 43.35%。其次是发生在第一个密码子位置的变异，其中 MK 为 16.35%，MKH 为 16.65%。在 3'UTR 产生变异的位点在 MH 和 MKH 基本一致，分别为 11.66%和 11.65%。5'UTR 的变异位点均低于 3'UTR 的变异位点数量(表 4)。

2 讨论

引起突变的原因有两个：内因和环境因子。内因一般是指 DNA 复制和修复过程中的错误 (Stamatoyannopoulos et al., 2009)。环境因子包括紫外辐射和其他辐射、病毒以及化学物质等 (Kotova and Hemminki, 2005)。MKH 的样品采自海拔 3 600 m 的山坡，而 MH 的样品生境海拔为 2 230 m，MKH 其生存环境较 MH 的样品严酷，其所受到的辐射和温度等胁迫等均较大。高海拔地区的强辐射，尤其是 UVB 能被 DNA 和蛋白分子吸收，引起 DNA 的损伤和突变 (Rastogi et al., 2010)。因此，MKH (32 886) 的 SNP 突变总量虽然略低于 MH (33 312) 的样品，但 SNP 突变发生在第一和第二位密码子上的平均数目均高于第三位，其原因可能是由于其所处的高海拔环境因素导致。

根据 Bird (1980) 和 Gruenbaum 等 (1981) 的研究，DNA 中的 5-甲基胞嘧啶 (5-methylcytosine, 5mC) 突变成 T 的频率较高，因此 C/T 突变在 SNPs 突变中占最高的比率。这种现象在很多物种中都被发现 (Chao et al., 2009; Kazuhiro et al., 2011)。然而，本研究中结果却不符合该理论，在 6 个样品中 A/G 数目都略大于 C/T，并且 C/G 突变的数目大于 A/C 和 T/G 突变的数目(表 3)，其原因可能是由于花叶海棠自身的 GC 含量较高(平均为 48.53%)导致 48.53 (表 1)。

从理论上来说，单核苷酸变异中，倒换和颠换的

表 3 SNP 类型统计分析
Table 3 The types of SNPs

类型 Type	转换 Transition		颠换 Transversion				Ts/Tv	总计 Total
	C/T	A/G	A/T	A/C	T/G	C/G		
	MH-1	10 859 (32.68%)	11 055 (33.27%)	3 306 (9.95%)	2 432 (7.32%)	2 622 (7.89%)		
MH-2	10 571 (32.56%)	10 706 (32.98%)	3 305 (10.18%)	2 415 (7.44%)	2 558 (7.88%)	2 909 (8.96%)	1.90	32 464
MH-3	10 993 (32.10%)	11 275 (32.90%)	3 486 (10.18%)	2 576 (7.52%)	2 781 (8.12%)	3 138 (9.16%)	1.86	34 249
平均 Average	10 808 (32.45%)	11 012 (33.05%)	3 366 (10.10%)	2 474 (7.43%)	2 654 (7.96%)	2 999 (9.00%)	1.90	33 312
MKH-1	10 575 (31.84%)	10 788 (32.48%)	3 362 (10.12%)	2 663 (8.02%)	2 762 (8.31%)	3 067 (9.23%)	1.80	33 217
MKH-2	10 033 (32.33%)	10 061 (32.42%)	3 211 (10.34%)	2 456 (7.91%)	2 461 (7.93%)	2 810 (9.01%)	1.84	31 032
MKH-3	11 116 (32.30%)	11 097 (32.28%)	3 503 (10.18%)	2 712 (7.88%)	2 813 (8.17%)	3 169 (9.21%)	1.82	34 410
平均 Average	10 575 (32.16%)	10 649 (32.39%)	3 359 (10.21%)	2 610 (7.94%)	2 678 (8.14%)	3 015 (9.15%)	1.82	32 886

表 4 不同位置 SNP 统计
Table 4 Statistics of SNPs in different sites

样品 Sample		SNP 位置 SNP site						总计 Total
		第一个密码子 First codon	第二个密码子 Second codon	第三个密码子 Third codon	5'UTR	3'UTR	不确定部分 Uncertain	
		MK	MH-1	5 423 (16.23%)	4 017 (12.09%)	15 039 (45.27%)	2 510 (7.55%)	
	MH-2	5 302 (16.33%)	4 011 (12.36%)	14 568 (44.87%)	2 607 (8.03%)	3 741 (11.52%)	2 235 (6.88%)	32 464
	MH-3	5 649 (16.49%)	4 318 (12.61%)	15 268 (44.58%)	2 787 (8.14%)	3 995 (11.66%)	2 232 (6.50%)	34 249
	平均 Average	5 458 (16.35%)	4 115 (12.35%)	14 958 (44.91%)	2 635 (7.91%)	3 885 (11.66%)	2 261 (6.78%)	33 312
MKH	MKH-1	5 546 (16.70%)	4 140 (12.46%)	14 604 (43.97%)	2 741 (8.25%)	3 855 (11.61%)	2 331 (7.02%)	33 217
	MKH-2	5 189 (16.72%)	3 912 (12.61%)	13 450 (43.34%)	2 528 (8.15%)	3 600 (11.60%)	2 353 (7.58%)	31 032
	MKH-3	5 92 (16.54%)	4 274 (12.42%)	14 702 (42.73%)	2 858 (8.31%)	4 039 (11.74%)	2 845 (8.27%)	34 410
	平均 Average	5 476 (16.65%)	4 109 (12.50%)	14 252 (43.35%)	2 709 (8.24%)	3 831 (11.65%)	2 510 (7.62%)	32 886

比例即(TS/TV)应该是 0.5, 因为倒换(TS)只是嘧啶与嘌呤之间互换(A 与 G, C 与 T, 共有 4 种方式), 而颠换(TV)是嘧啶与嘌呤相互替换(A 和 C, T 以及 G 和 C, T, 共有 8 种方式), 所以二者之间的比率应该是 0.5。但是我们的研究发现, 花叶海棠六个样品中 TS/TV 值均远远大于 0.5 (MH 和 MKH 中平均值分别为 1.90 和 1.82, 表 3)。这种 TS/TV 值偏离 0.5 的情况称为“转换偏差”(Collins et al., 1994)。转换偏差现象最先在水稻(*Oryza sativa*)中被发现, 随后在玉米和其他植物中也陆续报道(Morton, 1995; Batley et al., 2003), 动物中也有类似的报道(Kraus, 2011; Aslam et al., 2012)。对于转换偏差形成的原因有着不同的解释, 有的研究者认为这种现象的产生是基于进化选择, 因为转换偏差有助于保持其编码的蛋白原有结构, 以

减少有害突变的形成(Li et al., 1984; Wakeley, 1996)。也有研究者认为转换偏差是由化学组成、嘌呤和嘧啶的结构以及代谢等内在特征决定(唐萍等, 2008)。

随着各种植物基因组测序、转录组测序的完成, SNPs 也得到了深入的研究。本研究中对于花叶海棠 SNPs 的发掘和分布特性研究可以为后续的关联分析提供有效数据, 同时为花叶海棠后续的重要基因的功能分析提供一定基础。

3 材料与方法

花叶海棠新鲜叶片于 2015 年 6 月分别采于青海省果洛州玛可河林场(3 600 m)和青海省海东市民和县深巴村(2 230 m)每个点各采 3 个样品作为重复。采集后迅速置于液氮中冷冻, 带回实验室后放置

于 -80℃ 冰箱中保存备用。

叶片总 RNA 用 TRIzol® Reagent (Invitrogen) 提取后, 用 Plant RNA Purification Reagent (Invitrogen) 进行纯化。

利用 Nanodrop2000 对所提 RNA 的浓度和纯度进行检测, 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 完整性, Agilent2100 测定 RIN 值。单次建库要求 RNA 总量 5 μg, 浓度 ≥ 200 ng/μL, OD_{260/280} 介于 1.8~2.2 之间。

利用带有 Oligo (dT) 的磁珠从总 RNA 中分离出 mRNA, 用于转录组文库构建。利用 Truseq™ RNA sample prep Kit (Illumina) 构建测序文库后, 利用 Agilent 2100 Bioanalyzer 对文库质量进行检测, 之后用 TBS380 Picogreen (Invitrogen) 进行定量。参照标准测序流程, 利用 IlluminaHiSeq4000 测序 (Illumina)。

以组装好的转录本为模板序列, 将原始序列与其进行比对, 利用 Samtools (<http://samtools.sourceforge.net/>) 和 VarScan v.2.2.7 (<http://varscan.sourceforge.net/>) 软件寻找候选 SNP。

默认过滤参数: 最小的覆盖度为 8; 支持 SNP 变异的最少 reads 数为 3; 支持 SNP 碱基的最小的测序质量为 30; SNP 位点的突变率为 0.3。

作者贡献

张得芳完成实验研究及撰写; 夏涛完成数据分析; 文怀秀参与了部分数据辅助分析; 汪占林负责文章的修改及最终定稿整体; 刘霞和张磊完成样品的采集; 白灵娜负责部分试验内容。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由农业科技成果转化与示范项目《青海高原藏茶资源开发技术示范》(2015-NK-507) 资助。

参考文献

- A slam, M.L., Bastiaansen J.W., Elferink M.G., Megens H.J., Crooijmans R.P., Blomberg L.A., Fleischer R.C., Tassel C. P.V., Sonstegard T.S., Schroeder S.G., Groenen M.A.M., and Long J.A., 2012, Whole genome SNP discovery and analysis of genetic diversity in turkey (*Meleagris gallopavo*), BMC Genomics, 13(1): 391
- Batley J., Barker G., O'Sullivan H., Edwards K.J., and Edwards D., 2003, Mining for single nucleotide polymorphisms and insertions/deletions in maize expressed sequence tag data, Plant Physiol., 132(1): 84-91

- Bird A.P., 1980, DNA methylation and the frequency of CpG in animal DNA, Nucleic Acids Research, 8(7): 1499-1504
- Blair M.W., Cortes A.J., Penmetsa R.V., Farmer A., Carrasquilla-Garcia N., and Cook D.R., 2013, A high-throughput SNP marker system for parental polymorphism screening, and diversity analysis in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), Theoretical & Applied Genetics, 126(2): 535-548
- Chao S.M., Zhang W.J., Akhunov E., Sherman J., Ma Y.Q., Luo M.C.M., and Dubcovsky J., 2009, Analysis of gene-derived SNP marker polymorphism in US wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars, Molecular Breeding, 23(1): 23-33
- Collins D.W., and Jukes T.H., 1994, Rates of transition and transversion in coding sequences since the human-rodent divergence, Genomics, 20(3): 386-396
- Frascaroli E., Schrag T.A., and Melchinger A.E., 2013, Genetic diversity analysis of elite European maize (*Zea mays* L.) inbred lines using AFLP, SSR, and SNP markers reveals ascertainment bias for a subset of SNPs, Theoretical & Applied Genetics, 126(1): 133-141
- Ganal M.W., Altmann T., and Roder M.S., 2009, SNP identification in crop plants, Current Opinion Plant Biology, 12(2): 211-217
- Gray I.C., Campbell D.A., and Spurr N.K., 2000, Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics, Human Molecular Genetics, 9(16): 2403-2408
- Gruenbaum Y., Naveh-Many T., Cedar H., and Razin A., 1981, Sequence specificity of methylation in higher plant DNA, Nature, 292(5826): 860-862
- Gujaria-Verma N., Ramsay L., Sharpe A.G., Sanderson L.A., Debouck D.G., Tar'an B., and Bett K.E., 2016, Gene-based SNP discovery in tepary bean (*Phaseolus acutifolius*) and common bean (*P. vulgaris*) for diversity analysis and comparative mapping, BMC Genomics, 17(1): 1-16
- Kotova N., and Hemminki K.D., 2005, Urinary thymidine dimer as a marker of total body burden of UV-inflicted DNA damage in humans, Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 14(14): 2868-2872
- Kraus R.H., Kerstens H.H., Hooft V.P., Crooijmans R.P., DerPoel J.J., Elmerberg J., Vignal A., Huang Y., Li N., Prins H.H., and Groenen M.A., 2011, Genome wide SNP discovery, analysis and evaluation in mallard (*Anas platyrhynchos*), BMC Genomics, 12(21): 2191-2198
- Li W.H., Wu C.I., and Luo C.C., 1984, Nonrandomness of point mutation as reflected in nucleotide substitutions in pseudogenes and its evolutionary implications, Journal of Molecular Evolution, 21(1): 58-71
- Morton B.R., 1995, Neighboring base composition and transversion/transition bias in a comparison of rice and maize chloroplast noncoding regions, Proceedings of the National

Academy of Sciences USA, 92(21): 9717-9721

Nachman M.W., 2001, Single nucleotide polymorphisms and recombination rate in humans, *Trends in Genetics*, 17(9): 481-485

Rastogi R.P., Richa K.A., Tyagi M.B., and Sinha R.P., 2010, Molecular mechanisms of ultraviolet radiation induced DNA damage and repair, *Journal of Nucleic Acids*, 12(16): 1-32

Sato K., Close T.J., Bhat P., Muñoz-Amatrián M., and Muehlbauer G.J., 2011, Single nucleotide polymorphism mapping and alignment of recombinant chromosome substitution lines in barley, *Plant & Cell Physiology*, 52(5): 728-737

Stamatoyannopoulos J.A., Adzhubei I., Thurman R.E., Kryukov V., Mirkin S.M., and Sunyaev S.R., 2009, Human mutation rate associated with DNA replication timing, *Nature Genetics*, 41(4): 393-395

Tang P., Wang Q., and Chen J.Q., 2008, The patterns and influences of insertions, deletions and nucleotide substitutions in

Solanaceae chloroplast genome, *Yichuan (Hereditas)*, 30(11): 1506-1511 (唐萍, 王强, 陈建群, 2008, 茄科植物叶绿体基因组插入、缺失和核苷酸替代的发生方式及影响, *遗传*, 30(11): 1506-1512)

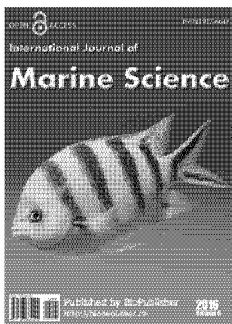
Thomas P.E., Klinger R., Furlong L.I., Hofmann-Apitius M., and Friedrich C.M., 2011, Challenges in the association of human single nucleotide polymorphism mentions with unique database identifiers, *BMC Bioinformatics*, 12(27): S4

Wakeley J., 1996, The excess of transitions among nucleotide substitutions: new methods of estimating transition bias underscore its significance, *Trends in Ecology & Evolution*, 11(4): 158-162

Wang H.Y., Xu Q., Fan G.Q., Yu Y.R., and Ji C.L., 2009, Progress in the study of *Malus toringoides* and its application prospect, *Zhongguo Nongxue Tongbao (Chinese Agricultural Science Bulletin)*, 25(23): 155-160 (王海英, 徐庆, 樊高强, 于英茹, 冀春雷, 2009, 变叶海棠的研究进展与应用前景, *中国农学通报*, 25(23): 155-160)



International Journal of Marine Science (IJMS)



International Journal of Marine Science (ISSN 1927-6648) is an open access, peer reviewed journal published online by BioPublisher. The journal publishes all the latest and outstanding research articles, letters and reviews in all areas of marine science, the range of topics containing the advancement of scientific and engineering knowledge regarding the sea; from chemical and physical to biological oceanography, from estuaries and coastal waters to the open ocean; as well as including fisheries, socio-economic science, co-management, ecosystems and other topical advisory subjects.

Email: edit@ijms.biopublisher.ca

Web: <http://ijms.biopublisher.ca>