

基于基因组学的栎树生物学研究进展

方炎明,朱福远,李 焱,李 璇

(南京林业大学,南方现代林业协同创新中心,国家林业和草原局亚热带森林生物多样性保护重点实验室,
南京林业大学生物与环境学院,江苏 南京 210037)

摘要:栎树(*Quercus* spp.)是北半球重要的经济与生态树种。夏栎(*Q. robur*)、加州白栎(*Q. lobata*)、麻栎(*Q. acutissima*)等树种基因组的公布,对栎树生物学研究产生了深刻的影响。近5年来,栎树生物学出现了包括系统进化与物种鉴定、基因渐渗与适应进化、景观基因组学与生态保育、生物共存与互作机制、次生代谢与生长发育、DNA甲基化与表观遗传调控及基因与长寿机制等方面的研究热点。虽然基于基因组学的栎树生物学若干研究前沿已经形成,但尚处于起步阶段,笔者预期未来会向4个方面深入:①强调栎树基因组资源的深度应用。应用景观基因组学途径,探究栎树的杂交渐渗与适应进化;联合基因组、转录组、蛋白组等多组学技术,探究栎树生长发育与胁迫响应过程中的基因调控网络与信号通路;优化体细胞发生和遗传转化体系,攻克栎树遗传改良和基因资源开发技术瓶颈。②促进栎树研究体系的广度拓展。随着壳斗科其他树种全基因组序列的公布,基于从分子到群落的不同生物层次的模式系统,将对欧亚大陆和北美不同区域的栎树,包括白栎组、红栎组、冬青栎组、麻栎组等不同栎树类群,以及壳斗科其他属树种基因组生物学研究产生深远影响。③关注栎树资源利用的遗传与发育主题。用栎树基因组资源对其结构的、代谢的和农艺性状的差异及其优化加以解析,全基因组关联研究(GWAS)也将应用于栎树,从而为阐释木材发育和木栓形成的机制奠定基础。④聚焦栎林保育的生态与进化主题。在全球气候变化背景下,通过增加耐受胁迫的基因型,以缓解气候变化对森林生态系统的影响。同时维持和保护栎树在自然生态系统中的生态与进化过程,阐明栎树多样性、迁移与适应、趋异与趋同生态适应等方面进化成功的机制。

关键词:栎树;基因组;基因渐渗;景观基因组学;资源保育

中图分类号:S718

文献标志码:A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号:1000-2006(2022)06-0064-09



Advances and prospects of oak biology based on genomics

FANG Yanming, ZHU Fuyuan, LI Yao, LI Xuan

(Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Key Laboratory of state Forestry and Grassland Administration on Subtropical Forest Biodiversity Conservation, College of Biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: Oaks are important economic and ecological tree species in the northern Hemisphere, and are colloquially known as the “tree of life” or the “frame of civilization”. The publication of several oak genomes, such as those of *Quercus robur*, *Q. lobata* and *Q. acutissima*, has a profound impact on oak biology. In the past five years, numerous topics in oak biology have been investigated, including the systematic evolution and species identification, gene introgression and adaptive evolution, landscape genomics and ecological conservation, biological coexistence and interaction mechanism, secondary metabolism and growth and development, DNA methylation and epigenetic regulation, genes and longevity mechanisms. The expected development trends include four aspects: highlighting the in-depth application of oak genome resources, promoting extension of oak study systems, emphasizing topics in genetics and development for utilization of oak resources, and highlighting themes in ecology and evolution for conservation of oak forests.

Keywords: oak; genome; gene introgression; landscape genomics; resource conservation

收稿日期 Received:2022-08-22

修回日期 Accepted:2022-09-14

基金项目:国家自然科学基金项目(31770699,32201375,31370666);江苏省林业三新工程项目(LYSX[2016]49)。

第一作者:方炎明(jwu4@njfu.edu.cn),教授。

引文格式:方炎明,朱福远,李焱,等.基于基因组学的栎树生物学研究进展[J].南京林业大学学报(自然科学版),2022,46(6):64-72.FANG Y M, ZHU F Y, LI Y, et al. Advances and prospects of oak biology based on genomics[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2022, 46(6): 64-72. DOI:10.12302/j.issn.1000-2006.202208025.

栎树 (*Quercus* spp.) 资源十分丰富, 广布北半球, 也是我国南方四大经济树种之一, 既可用于橡实、香菇和薪炭生产, 也可提供建筑、橡木桶和其他用材, 是重要的食物、能源和材料来源。同时, 作为森林建群树种, 栎树可构建天然和人工的多样化常绿或落叶阔叶林, 对于调节气候变化、保持水土、维持生物多样性和生态系统功能等至关重要, 具有重要的经济、生态、社会和历史价值^[1]。近年来, 夏栎 (*Q. robur*)^[2-3]、加州白栎 (*Q. lobata*)^[4-5] 和麻栎 (*Q. acutissima*)^[6] 等树种基因组公布, 对栎树生物学研究产生了深刻的影响。笔者综述了栎树基因组发表以来全球栎树生物学研究的新进展, 并提出预期的发展趋势, 以期对栎树资源的保育和高值化利用提供参考。

1 栎树基因组研究现状

《中国树木志》记载国产栎属 60 种、青冈属

(*Cyclobalanopsis*) 70 种^[7]。本研究所指的栎树为包含青冈属的广义栎属, 全球共 420 余种。根据最新的分子分类系统, 栎属可分为栎亚属 (Subgen. *Quercus*) 和麻栎亚属 (Subgen. *Cerris*)。其中, 栎亚属分为 5 组, 常见的有弗吉尼亚栎组 (Sect. *Virentes*, 7 种)、白栎组 (Sect. *Quercus*, 146 种) 和红栎组 (Sect. *Lobatae*, 124 种); 麻栎亚属分为 3 组, 即青冈组 (Sect. *Cyclobalanopsis*, 90 种)、冬青栎组 (Sect. *Ilex*, 36 种) 和麻栎组 (Sect. *Cerris*, 13 种)^[8]。迄今为止, 有关栎属基因组大小 (DNA-1C 值) 测定的报道较多, 基于测序技术的核和叶绿体基因组研究也很活跃, 全球栎树叶体全基因组测序已完成 71 种 (表 1), 约占栎属的 15%, 而在中国的相应比例已达 40%。但对线粒体基因组的报道较少。

表 1 叶绿体全基因组数据已完成测序的栎属植物

Table 1 List of complete chloroplast genome sequences of oaks had been sequenced

亚属 subgen.	组 Sect.	树种(首次报道的 GenBank 序列号) tree species (first reported GenBank accession No.)
	弗吉尼亚栎组 <i>Virentes</i>	弗吉尼亚栎 <i>Q. virginiana</i> (MT916773)
栎亚属 <i>Quercus</i>	白栎组 <i>Quercus</i>	榲栲 <i>Q. aliena</i> (KP301144); 锐齿榲栲 <i>Q. aliena</i> var. <i>acutiserrata</i> (KU240008); 榲栲 <i>Q. dentata</i> (MG967555); 黄山栎 <i>Q. dentata</i> subsp. <i>stewardii</i> (MG678022); 白栎 <i>Q. fabri</i> (MG678031); 凤城栎 <i>Q. fenchengensis</i> (MN095295); 深裂叶栎 <i>Q. gambelii</i> (MK105457); 大叶栎 <i>Q. griffithii</i> (MG678034); 大果栎 <i>Q. macrocarpa</i> (MK105459); 蒙古栎 <i>Q. mongolica</i> (MG678033); 皱叶栎 <i>Q. mongolica</i> subsp. <i>crispula</i> (MK860969); 无梗花栎 <i>Q. petraea</i> (LT996899); 夏栎 <i>Q. robur</i> (LT996900); 枹栎 <i>Q. serrata</i> (MG678024); 短柄枹栎 <i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i> (MG678032); 星毛栎 <i>Q. stellata</i> (MK105467); 辽东栎 <i>Q. wutaishanica</i> (MG678027) 和云南波罗栎 <i>Q. yunnanensis</i> (MG678028)
	红栎组 <i>Lobatae</i>	海滨常绿栎 <i>Q. agrifolia</i> (OK634019); 猩红栎 <i>Q. coccinea</i> (MN308055); 加州黑栎 <i>Q. kelloggii</i> (OM541584); 沼生栎 <i>Q. palustris</i> (MK105461); 柳叶栎 <i>Q. phellos</i> (MZ196210); 红榲栲 <i>Q. rubra</i> (JX970937) 和山地常绿栎 <i>Q. wislizeni</i> (OM541583)
	青冈组 <i>Cyclobalanopsis</i>	赤栎 <i>Q. acuta</i> (MT742291); 细叶青冈 <i>Q. ciliaris</i> (MN199024); 福建青冈 <i>Q. chungii</i> (MW401633); 黄毛青冈 <i>Q. delavayi</i> (MW450870); 华南青冈 <i>Q. edithiae</i> (KU382355); 饭甑青冈 <i>Q. fleuryi</i> (MG678008); 赤皮青冈 <i>Q. gilva</i> (MG678009); 青冈 <i>Q. glauca</i> (KX852399); 大叶青冈 <i>Q. jenseniana</i> (MG678011); 木姜叶青冈 <i>Q. litseoides</i> (ON598394); 多脉青冈 <i>Q. multinervis</i> (MG678004); 小叶青冈 <i>Q. myrsinifolia</i> (MG678005); 竹叶青冈 <i>Q. neglecta</i> (MG678010); 宁冈青冈 <i>Q. ningangensis</i> (MG678013); 倒卵叶青冈 <i>Q. obovatifolia</i> (MG356785); 薄叶青冈 <i>Q. sara-vanensis</i> (MW411183); 滇青冈 <i>Q. schottkyana</i> (= <i>Q. glaucoidea</i> , MW450872); 云山青冈 <i>Q. sessilifolia</i> (MG678012); 西畴青冈 <i>Q. sichouensis</i> (MF787253) 和褐叶青冈 <i>Q. stewardiana</i> (MN199023)
麻栎亚属 <i>Cerris</i>	冬青栎组 <i>Ilex</i>	岩栎 <i>Q. acrodonta</i> (MG678019); 川滇高山栎 <i>Q. aquifolioides</i> (KP340971); 榧子栎 <i>Q. baronii</i> (KT963087); 坝王栎 <i>Q. bawanglingensis</i> (MK449426); 铁橡栎 <i>Q. cocciferoides</i> (MG678016); 匙叶栎 <i>Q. dolicholepis</i> (KU240010); 巴东栎 <i>Q. engleriana</i> (MG678029); 锥连栎 <i>Q. franchetii</i> (MG678018); 川西栎 <i>Q. gilliana</i> (MG678007); 帽斗栎 <i>Q. guyavifolia</i> (MG678020); 矮高山栎 <i>Q. monimotricha</i> (MG678006); 尖叶栎 <i>Q. oxyphylla</i> (MG678021); 黄背栎 <i>Q. pannosa</i> (MG678025); 乌冈栎 <i>Q. phillyraeoides</i> (MG678026); 毛脉高山栎 <i>Q. rehderiana</i> (MG678037); 光叶高山栎 <i>Q. pseudosemecarpifolia</i> (MG678014); 高山栎 <i>Q. semecarpifolia</i> (MG678017); 灰背栎 <i>Q. senescens</i> (MG678023); 刺叶高山栎 <i>Q. spinosa</i> (KM841421); 太鲁阁栎 <i>Q. tarokoensis</i> (MF135621); 通麦栎 <i>Q. tungmaiensis</i> (MF593893) 和炭栎 <i>Q. utilis</i> (MG678015)
	麻栎组 <i>Cerris</i>	麻栎 <i>Q. acutissima</i> (MF593895); 小叶栎 <i>Q. chenii</i> (MF593894) 和栓皮栎 <i>Q. variabilis</i> (KU240009)

栎属染色体数相对稳定,为二倍体($2n=24$),也有自然非整倍体^[9]。经植物 DNA-1C 值数据库 (<https://cvalues.science.kew.org/>) 检索,全球已知基因组大小的栎树大约 40 种,约占该属树种的 9.5%;中国已知 15 种,约占 11.7%。栎属基因组平均 0.91 pg,最小的为黑栎(*Q. velutina*, 0.58 pg),最大的为越南青冈(*Q. austrocochinchinensis*, 1.22 pg)。按陆地植物基因组大小五级划分方案,栎属基因组属于最小级“很小”(DNA-1C 值 ≤ 1.4 pg);按碱基算,栎属基因组大小范围为 567~1 193 Mbp,平均 890 Mbp。栎属基因组大小不仅存在种间变异,而且存在种内个体间变异^[10]。

栎属核基因组中包含的大量序列信息为其系统发育重建和功能基因挖掘提供了丰富的数据资源。2016 年,欧洲广布种夏栎的基因组测序、组装和注释开启了栎属乃至壳斗科的全基因组时代^[2-3],该树种的遗传背景研究基础好,基于 SNP 标记的连锁遗传图谱也已公布^[11]。夏栎基因组大小约为 740 Mbp,含有 25 808 个编码基因。夏栎体细胞的突变以及抗病基因的扩张在其长寿机制中起着至关重要的作用^[3]。通过采用从头组装策略,欧洲栓皮栎(*Q. suber*)的基因组大小为 953.3 Mbp,包含 23 347 个骨架序列(scaffold)。欧洲栓皮栎基因组具有高水平的杂合度,达到了 1.62%^[12]。加州白栎是美国加利福尼亚州的特有栎树,其基因组大小约为 811 Mbp,含有 39 373 个编码基因,具有较高的杂合度,约为 1.25%^[4-5]。基于 PacBio 和 Hi-C 测序构建的蒙古栎(*Q. mongolica*)染色体水平的参考基因组是首个被报道的亚洲栎树核全基因组^[13],其基因组大小约为 810 Mbp,含有 36 553 个蛋白质编码基因。蒙古栎的 R 基因家族显著收缩,不支持上述抗病基因扩张有助于延长林木树种寿命的结论^[3]。麻栎基因组大小为 758 Mbp,共鉴定到 30 623 个蛋白质编码基因^[6]。此外,在美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库中,北美栎树山地常绿栎(*Q. wislizeni*)和东亚栎树青冈(*Q. glauca*)、赤皮青冈(*Q. gilva*)、川滇高山栎(*Q. aquifolioides*)的核基因组序列也已公布。

栎树叶绿体基因组具典型环形结构,全长 160 522~161 394 bp,平均 161 056 bp,GC 含量稳定为 36.8%~36.9%,基因数为 122~137。其中,大单拷贝区 90 113~90 637 bp,平均 90 397 bp;小单拷贝区 18 645~19 077 bp,平均 18 979 bp;反向重复区 25 809~25 894 bp,平均 25 839 bp,其序列长高度

保守。不同栎树组间也有一定差异,如青冈组序列全长和小单拷贝区相对较短,分别只有 160 522~160 988 bp 和 18 645~18 989 bp。整体而言,栎属叶绿体基因组相对保守,未出现明显的叶绿体片段丢失事件。

2 栎树生物学研究热点

2.1 系统进化与物种鉴定

应用简化基因组测序(RAD-seq)技术进行系统发育基因组学研究是近年来的主流方向。国内外学者运用该技术解决了栎属系统发育方面的一系列关键科学问题,如 Hipp 等^[14]揭示了美洲栎树系统发育主体框架和同域平行演化历史;Deng 等^[15]阐明了东亚青冈栎组的单系性和起源时间。这些研究采集了丰富的系统发育信息,极大地提高了栎属系统发育树的可信度和分辨率。在夏栎核全基因组公布以后,基于大样本、大数据和基因组定位的栎属系统发育基因组学应运而生,给出了全球栎树最新的系统发育构架及其证据^[16]。利用 RAD-seq 技术获得基因组位点信息不仅可以用于栎属系统发育重建,还可用于近缘栎树的区分以及评估古基因流对系统发育关系的影响^[17]。基于叶绿体基因组的系统发育探究也有报道^[18-19],但整体而言作用有限。一方面叶绿体基因组的有效群体大小和种内基因流水平较低,常反映种间渐渗事件的印迹,使其系统发育关系与地理密切相关;另一方面叶绿体基因组易受祖先多态性影响,近缘栎树间常共享多个独立于物种分化历史的谱系^[20]。

2.2 杂交渐渗与适应进化

不同栎树间经过杂交和反复回交,一种栎树的一部分基因组片段常可以转移到另一种栎树的基因组中,即意味着种间渐渗现象的发生^[21]。在自然界中栎树间的渐渗现象极为普遍(表 2),既可能存在于同组树种间^[22-27],也可存在于异组树种间^[28-29]。同组栎树间基因交流虽然可能频繁,但形态又保持一定差异,常构成杂配群(syngameon)^[30-32]。此外,当所导入的基因组片段被受体栎树固定下来且有利于提高其适合度时,种间渐渗有可能影响栎树的适应性^[33]。麻栎和栓皮栎(*Q. variabilis*)是栎树适应性渐渗研究的经典案例。研究发现,两种栎树的渐渗片段广泛分布于整个基因组,占据较相似生境的居群倾向于共享相同的适应性渐渗片段。麻栎基因组中的适应性渐渗位点优先分布于重组率受抑制的区域,潜在的分子机制是通过转座因子插入改变胁迫相关基因的调控^[6]。

表 2 栎树杂配群与适应性渐渗研究案例
Table 2 Case studies of syngameon and adaptive introgression in oaks

组 Sect.	树种 species	遗传标记 genetic markers	文献 reference
麻栎组 <i>Cerris</i>	麻栎 <i>Q. acutissima</i> 、栓皮栎 <i>Q. variabilis</i>	nSNPs	[6]
白栎组 <i>Quercus</i>	夏栎 <i>Q. robur</i> 、无梗花栎 <i>Q. petraea</i>	nSNPs, cpSNPs, mtSNPs	[22]
	夏栎 <i>Q. robur</i> 、无梗花栎 <i>Q. petraea</i>	nSNPs	[23]
红栎组 <i>Lobatae</i>	槲栎 <i>Q. dentata</i> 、皱叶栎 <i>Q. mongolica</i> subsp. <i>crispula</i>	nSNPs	[24]
	北方针栎 <i>Q. ellipsoidalis</i> 、红槲栎 <i>Q. rubra</i>	EST-SSRs	[25]
	猩红栎 <i>Q. coccinea</i> 、北方针栎 <i>Q. ellipsoidalis</i> 、红槲栎 <i>Q. rubra</i> 和黑栎 <i>Q. velutina</i>	SSRs, EST-SSRs	[26]
中间栎组 <i>Protobalanus</i>	金杯栎 <i>Q. chrysolepis</i> 、岛屿栎 <i>Q. tomentella</i>	nSNPs	[27]
麻栎组和冬青栎组 <i>Cerris</i> and <i>Ilex</i>	冬青栎 <i>Q. ilex</i> 、欧洲栓皮栎 <i>Q. suber</i>	nSSRs	[28]
麻栎组和白栎组 <i>Cerris</i> and <i>Quercus</i>	麻栎 <i>Q. acutissima</i> 、白栎 <i>Q. fabri</i> 、枹栎 <i>Q. serrata</i> 和栓皮栎 <i>Q. variabilis</i>	nSSRs	[29]

适应性渐渗是相对中性渐渗(neutral introgression)而言的。中性渐渗可能因世代漂移而丢失,而适应性渐渗则由自然选择来维持,并可能最终被固定^[34]。选择(适应性)位点和中性位点常常是连锁的,这就可能导致等位基因频率变化的遗传协方差随时间连续改变,借此可检验连锁选择导致多基因性状受选择的基因组信号^[35]。例如,经历了小冰期(Little Ice Age, 1450—1850年)和温暖人类世(Anthropocene, 1850年至今)气候变化的法国古栎林可划分为4个龄级,其个体起源时间分别在1680年、1850年、1960年和2008年前后。基于全基因序列和等位基因协方差等数据,研究人员检测了连锁选择的全基因组效应,发现协方差时间变化反映了干旱、霜冻等极端气候事件的频率变化,特定基因组区域富含生物胁迫和非生物胁迫响应的基因,进而认为人类世的自然选择力驱动了栎树基因组进化^[36]。此外,连锁选择也被认为塑造了麻栎、栓皮栎和小叶栎基因组变异景观^[37]。

适应性渐渗可能影响栎树间的生殖隔离。针对夏栎、无梗花栎(*Q. petraea*)等4种重要的近缘白栎,欧洲学者以夏栎为参考基因组,利用重测序数据探讨了全基因组水平的基因流,筛选出32个与生殖隔离有关的候选基因,包括物种生态特性相关基因,如耐旱、耐寒和适碱性土壤相关基因;生物互作相关基因,如免疫、抗生物胁迫和外生菌根相关基因;内在生殖隔离相关基因,如物候、花粉识别与生长、胚胎发育相关基因^[1]。与此同时,研究人员检测到了从夏栎到无梗花栎高纬度或高海拔居群的适应性渐渗信号,发现相关联的基因富集于种

间遗传分化水平较高的区域,表明在特殊的生境条件下,适应性渐渗有可能会突破近缘栎树间的物种界限,有助于提高受体栎树的适应性。

2.3 景观基因组学与生态保育

景观基因组学(Landscape Genomics)的发展非常快速,它利用种群基因组学、景观生态学和空间分析技术,来明确量化环境异质性对中性和适应性遗传变异及其潜在过程的影响^[38]。景观基因组学类似于但又不同于景观遗传学(Landscape Genetics),前者侧重检测局域适应格局及与自然选择相关的候选基因,后者侧重检测景观梯度对基因流和群体遗传结构的影响^[39]。在全球气候变化的背景下,推进景观基因组学研究将有助于森林的生态保育和经营管理工作^[40]。文献分析(表3)表明,加州白栎和夏栎基因组为栎树景观基因组学提供了主要参考序列。多种测序策略均可获得分析所需要的单核苷酸多态性数据,这些策略包括基因分型测序、简化基因组测序、全基因组测序和候选基因的混池测序。景观基因组学采用了一些不同于传统遗传变异和遗传结构分析的方法,如用潜在因子混合模型(latent factor mixed model)建立基因型-环境关联,用稀疏非负矩阵分解(sparse non-negative matrix factorization)实现离群分析,用梯度森林(gradient forest)构建候选基因气候关联图,用非适应性风险(RONA)分析预测未来种群适应潜力^[40-43]。然而,这些研究仍然有局限性,理想的景观基因组学研究还需将表型、基因组和地理空间数据进行深度整合^[44]。尽管表型数据往往难以获得,但是最近已经有基于同质园试验的景观基因组

学研究报道^[45]。

表3 栎树景观基因组研究的若干案例
Table 3 Several case studies in Landscape Genomics of oaks

树种 species	个体数 number of individuals	测序方法 sequencing method	SNP 数 number of SNPs	参考基因组 reference genome	主要发现 main findings	文献 reference
川滇高山栎 <i>Q. aquifolioides</i>	587	Pool-seq	381	夏栎 <i>Q. robur</i>	RONA 分析表明有一个谱系适应能力更强;在长寿广布栎树中检测到自然选择和分子适应相关的遗传印记;物种在异质生境中发生了不同的种内适应过程	[41]
加州白栎 <i>Q. lobata</i>	436	GBS	11 019	加州白栎 <i>Q. lobata</i>	许多位点可能是多空间尺度或多地理环境局域适应的基础,新候选基因与气候适应关联	[42]
网叶栎 <i>Q. rugosa</i>	103	GBS	5 354	加州白栎 <i>Q. lobata</i>	遗传变异的模式与降水季节性和地理距离密切相关,预测了种群未来面临风险的区域	[46]
麻栎 <i>Q. acutissima</i>	167	RAD-seq	55 361	加州白栎 <i>Q. lobata</i>	环境对非中性 SNP 的影响大于中性 SNP,环境与表型分化显著相关;同质园试验与景观基因组学数据相结合可验证栎树局域适应假设	[47]
欧洲栓皮栎 <i>Q. suber</i>	95	GBS	1 996	加州白栎 <i>Q. lobata</i>	RONA 分析途径可以应用于物种响应气候变化与适应研究	[48]
槲栎 <i>Q. dentata</i>	38	WGS	16 654 671	夏栎 <i>Q. robur</i>	发现一个 500 kb 基因组区域,含 12 个环境相关单核苷酸多态性位点;单核苷酸多态性密度比基因组背景高 160 倍;群体遗传分析揭示了该基因组区域的各种选择迹象	[49]

注:Pool-seq. 混池测序 mix pool sequencing;GBS. 基因分型测序 genotyping by sequencing;RAD-seq. 简化基因组测序 restriction-site associated DNA sequencing;WGS. 全基因组测序 whole genome sequencing;RONA. 非适应性风险 risk of non-adaptedness。

2.4 生物共存与互作机制

栎树具有典型外生菌根^[50]。最近研究利用大规模转录组测序比较了3种外生菌根真菌和1种兰科菌根真菌对夏栎无性系根等组织基因表达调控的影响。结果表明,外生菌根真菌而非兰科菌根真菌对植物发育产生了显著和物种特异的影响,受3种外生菌根真菌侵染的根表现出了相似的差异表达基因响应模式,表明栎树具有响应外生菌根真菌的核心转录程序,支持外生菌根真菌共生途径的存在^[51]。栎树被认为与微生物的垂直遗传有关,采用排除环境微生物的生长分室控制试验和基因组测序鉴定真菌和细菌,验证了在夏栎生长过程中微生物可从种子垂直传递到幼苗^[52]。采用宏条形码结合共焦显微术进行种子真菌群落研究,揭示了母体效应塑造了无梗花栎种子的真菌群落,为阐明母体基因和环境如何相互作用控制真菌物种的垂直传播提供了新的线索^[53],为阐明种子微生物组合、垂直与水平传递机制提供了新的见解,并有助于建立更具预测性的栎树种子存活、发芽和幼苗发育框架^[54]。最新研究表明,栎树可作为叶际、根际和种子微生物研究的潜在模式树种。

栎树具有丰富的地上和地下虫瘿形态型^[55]。从瘿蜂和宿主植物两方面来探讨虫瘿发育的分子机制是新近受到关注的研究领域^[56]。没食子瘿蜂

(*Biorhiza pallida*)和夏栎已经成为“栎-虫瘿”模式系统,利用夏栎基因组资源和分子手段,可以探究瘿蜂对宿主植物分子的感应、诱导效应子(effectors)的来源与类型,效应子与植物受体互作,植物生长响应及瘿组织表型变化等发育过程的分子机制^[57]。另一项研究以沼生栎瘿蜂(*Dryocosmus quercuspalustris*)-红橡木(*Q. spp.*)虫瘿为研究对象,利用分子技术探索虫瘿组织特异的基因表达与解剖及功能复杂程度的关联,从转录与解剖两方面验证了虫瘿组织与非虫瘿组织的差异^[58]。这些研究从形态和分子层面深化了对虫瘿的认识。

栎树猝死病(sudden oak death)是栎树-病原菌互作的典型例子。栎树猝死病发生于欧美,造成许多栎树快速死亡,是破坏性最强的病害之一,其病原为栎树猝死病菌(*Phytophthora ramorum*)^[59]。另一个疫霉属病原是樟疫霉(*Phytophthora cinnamomi*),它侵染无梗花栎、欧洲栓皮栎和冬青栎(*Q. ilex*)。新近的研究主要从侵染的分子响应出发,以夏栎基因组作为参考,采用SWATH-MS定量蛋白质组学等方法,获得了一些有趣的研究结果。侵染樟疫霉后,冬青栎有单宁生物合成代谢响应^[60],夏栎有异常抗性^[61],欧洲栓皮栎有免疫反应,并检测到相关蛋白^[62]。根据欧洲栓皮栎对樟疫霉抗性与免疫学特征,可以设计标记来早期监测

栎树衰退风险^[63]。

2.5 次生代谢与生长发育

自欧洲栓皮栎基因组释放以来,生物学家可应用系统生物学工具来研究树种的代谢行为。木本植物中第1个基因组级代谢模型(genome-scale metabolic model, GEM)被称为iEC7871,在欧洲建立,该模型包括7 871个基因、62 30个反应和6 481个代谢产物,是一个多组织昼夜循环模型,可用于探究木质素生物合成途径、次生代谢与木栓形成过程等方面^[64]。利用欧洲栓皮栎基因组资源,以欧洲栓皮栎主根为模式系统,可探究木栓的发育及其分子调控机制^[65]。采用欧洲栓皮栎木栓形成层材料,进行全基因组转录组分析,发现了新的木栓形成调节基因^[66],探究了木栓形成的分子机制^[67]。基于栎树参考基因组,目前已对多个基因家族进行了鉴定、表达和进化分析,包括查尔酮异构酶超家族^[68]、光合器官硫转移酶家族(STRs)^[69]和糖基转移酶基因家族^[70]。

2.6 DNA甲基化与表观遗传调控

植物的DNA甲基化分为mCG、mCHG和mCHH3类,mCG是最丰富的类型。DNA甲基化是植物表观基因组的重要特征,参与异染色质的形成,影响基因表达。基于全基因组的DNA甲基化景观分析,学者揭示了多种栎树的DNA甲基化的变异模式和潜在功能。在加州白栎(*Q. lobata*)中鉴定到57 448个单甲基化变体(single-methylation variants),其中CG、CHG和CHH分别占46%、17%和37%,种内甲基化变异水平与气候梯度关联^[71]。DNA去甲基化实验验证了加州白栎幼苗生长和基因表达的关联变化^[72]。欧洲栓皮栎全基因组水平的表观遗传调控因子也已鉴定,包括多种DNA甲基转移酶和DNA脱甲基酶,以及组蛋白的甲基化、去甲基化、乙酰化和脱乙酰化等修饰因子^[73]。欧洲栓皮栎软木来源和质量被认为与差异DNA甲基化模式有关^[74]。栎树DNA甲基化的全基因组变异与叶表型关联,并可以在生态系统尺度上预报叶性状变异^[75]。此外,利用夏栎心材DNA样品,有可能进行全基因组DNA甲基化实验与分析,进而探讨不同历史环境条件木材形成的表观遗传调控机制^[76]。

2.7 基因与长寿机制

树木通过降低突变率和活组织生物量比例来维持其“长寿”。分析认为,一则新分生组织的迭代和分生组织生长点的镶嵌状排列有助于实现较低的突变率,进而减少有害突变的负面影响;二则

树木可以生长于“死结构”上,使其在老年期显著降低一般活组织生物量的比例,但可保持维管系统的完整性,由此在具有活性的次生韧皮部的假死组织上重构新生命^[77]。另一种解释是,树木防御涉及基因数量、基因组结构和长期累积的突变负荷^[78]。在夏栎全基因组公布以后,瑞士洛桑大学校园有1株230多岁的“拿破仑橡树”,引起栎树研究团队的好奇,他们采用短读测序技术和单分子实时测序技术相结合的途径,鉴定了古树各部位固定的体细胞变异,发现该树实测突变率低于用拟南芥推算的期望突变率^[79]。从基因组特征看,夏栎之所以长寿,是因为存在大量和高度多样化的防御基因(如*NB-LRR*基因家族),相较于真双子叶植物其抗性基因家族显著扩张,体细胞突变积累并传递到下一代^[3]。

3 栎树生物学研究展望

综观栎树基因组及基于基因组的生物学研现状,虽然若干研究前沿已经形成,但是仍处于起步阶段,预期会向以下4个方面纵深发展:

1) 强调栎树基因组资源的深度应用。随着高通量测序技术的飞速发展,多组学技术联合分析应运而生。基因组学是基础,未来可以通过联合景观基因组学研究栎树对环境适应性的遗传基础以及杂交渐渗在栎树适应环境方面的作用,或联合转录组、蛋白组、代谢组和其他组学技术,进一步探究栎树生长发育与胁迫响应过程中的基因调控网络与信号通路。在染色体基因组的支持下或缺乏参考基因组的情况下,也可以利用转录组和SWATH-MS等蛋白质组方法构建蛋白质库,挖掘栎属植物新的调节因子以及转录后调控新机制^[80]。另一方面,遗传转化系统对栎属植物的遗传改良和基因资源开发具有重要意义,体细胞胚胎发生等生物技术已取得明显进展,将为栎树基因组资源的深度应用带来曙光^[81]。

2) 促进栎树研究体系的广度拓展。新近的栎树研究已经建立了从分子到群落的不同生物层次的模式系统,主要包括木栓发育^[65,82]、木质素生物合成途径^[64]、微生物从种子到幼苗垂直传递^[52]、栎树-虫瘿互作^[57]以及生态与进化分析^[83]等模式系统。这些模式系统不仅会延伸到欧亚大陆和北美不同区域的栎树,以及白栎组、红栎组、冬青栎组、麻栎组等不同栎树类群,而且也会对壳斗科其他属的树种产生外溢效应。随着壳斗科其他树种全基因组序列的公布^[84-85],预期会形成栎树乃至

壳斗科树种基因组生物学研究新景观。

3) 关注栎树资源利用的遗传与发育主题。橡子是早期人类的食物,栎树曾经用作药物、燃料、居所和艺术品,被称为人类“生命之树”或“文明之骨架”^[23]。橡子面粉是应对潜在世界性粮食危机的替代食物^[86]。橡子不具有谷物类的面筋蛋白和特殊的糊粉层结构,橡子仁蔗糖含量低于板栗仁,而酚类含量高于后者。这些结构、代谢和农艺性状的差异及其优化,将需要用栎树基因组资源加以解析,进行分子水平的遗传关联,为橡子用作粮食提供科技支撑。在农作物中广泛采用的全基因组关联研究(GWAS)预期也将应用于栎树,从而为阐释木材发育和木栓形成的机制奠定基础。

4) 聚焦栎林保育的生态与进化主题。在当今全球气候变化背景下,栎树被认为最有希望通过增加耐受胁迫的基因型,以缓解气候变化对北欧森林生态系统的影响^[87]。保护单个栎属树种的种群、遗传多样性和生境固然重要,更重要的是维持和保护栎树在自然生态系统中的生态与进化过程。阐明栎树多样性、迁移与适应、趋异与趋同生态适应、杂交与适应渐渗等方面进化成功的机制^[88],将是栎林生态保育的基石。

参考文献(reference):

- [1] LEROY T, LOUVET J M, LALANNE C, et al. Adaptive introgression as a driver of local adaptation to climate in European white oaks [J]. *New Phytol*, 2020, 226(4): 1171–1182. DOI: 10.1111/nph.16095.
- [2] PLOMION C, AURY J M, AMSELEM J, et al. Decoding the oak genome: public release of sequence data, assembly, annotation and publication strategies [J]. *Mol Ecol Resour*, 2016, 16(1): 254–265. DOI: 10.1111/1755-0998.12425.
- [3] PLOMION C, AURY J M, AMSELEM J, et al. Oak genome reveals facets of long lifespan [J]. *Nat Plants*, 2018, 4(7): 440–452. DOI: 10.1038/s41477-018-0172-3.
- [4] SORK V L, FITZ-GIBBON S T, PUIU D, et al. First draft assembly and annotation of the genome of a California endemic oak *Quercus lobata* Née (Fagaceae) [J]. *G3 (Bethesda)*, 2016, 6(11): 3485–3495. DOI: 10.1534/g3.116.030411.
- [5] SORK V L, COKUS S J, FITZ-GIBBON S T, et al. High-quality genome and methylomes illustrate features underlying evolutionary success of oaks [J]. *Nat Commun*, 2022, 13(1): 2047. DOI: 10.1038/s41467-022-29584-y.
- [6] FU R R, ZHU Y X, LIU Y, et al. Genome-wide analyses of introgression between two sympatric Asian oak species [J]. *Nat Ecol Evol*, 2022, 6(7): 924–935. DOI: 10.1038/s41559-022-01754-7.
- [7] 郑万钧. 中国树木志(第2卷) [M]. 北京: 中国林业出版社, 1985.
- [8] DENK T, GRIMM G W, MANOS P S, et al. An updated infrageneric classification of the oaks: review of previous taxonomic schemes and synthesis of evolutionary patterns [M]// *Tree Physiology*. Cham: Springer International Publishing, 2017: 13–38. DOI: 10.1007/978-3-319-69099-5_2.
- [9] KREMER A, CASASOLI M, BARRENECHE T, et al. *Fagaceae trees* [M]// *Forest Trees*. Berlin, Heidelberg: Springer, 2007: 161–187. DOI: 10.1007/978-3-540-34541-1_5.
- [10] WEI G M, LI X, FANG Y M. Sympatric genome size variation and hybridization of four oak species as determined by flow cytometry genome size variation and hybridization [J]. *Ecol Evol*, 2021, 11(4): 1729–1740. DOI: 10.1002/ece3.7163.
- [11] BODÉNÈS C, CHANCEREL E, EHRENMANN F, et al. High-density linkage mapping and distribution of segregation distortion regions in the oak genome [J]. *DNA Res*, 2016, 23(2): 115–124. DOI: 10.1093/dnares/dsw001.
- [12] RAMOS A M, USIÉ A, BARBOSA P, et al. The draft genome sequence of cork oak [J]. *Sci Data*, 2018, 5: 180069. DOI: 10.1038/sdata.2018.69.
- [13] AI W F, LIU Y Q, MEI M, et al. A chromosome-scale genome assembly of the Mongolian oak (*Quercus mongolica*) [J]. *Mol Ecol Resour*, 2022, 22(6): 2396–2410. DOI: 10.1111/1755-0998.13616.
- [14] HIPPI A L, MANOS P S, GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ A, et al. Sympatric parallel diversification of major oak clades in the Americas and the origins of Mexican species diversity [J]. *New Phytol*, 2018, 217(1): 439–452. DOI: 10.1111/nph.14773.
- [15] DENG M, JIANG X L, HIPPI A L, et al. Phylogeny and biogeography of east Asian evergreen oaks (*Quercus* Section *Cyclobalanopsis*; Fagaceae): insights into the Cenozoic history of evergreen broad-leaved forests in subtropical Asia [J]. *Mol Phylogenetics Evol*, 2018, 119: 170–181. DOI: 10.1016/j.ympev.2017.11.003.
- [16] HIPPI A L, MANOS P S, HAHN M, et al. Genomic landscape of the global oak phylogeny [J]. *New Phytol*, 2020, 226(4): 1198–1212. DOI: 10.1111/nph.16162.
- [17] MANOS P S, HIPPI A L. An updated infrageneric classification of the north American oaks (*Quercus* subgenus *Quercus*): review of the contribution of phylogenomic data to biogeography and species diversity [J]. *Forests*, 2021, 12(6): 786. DOI: 10.3390/f12060786.
- [18] YANG Y C, ZHOU T, QIAN Z Q, et al. Phylogenetic relationships in Chinese oaks (Fagaceae, *Quercus*): evidence from plastid genome using low-coverage whole genome sequencing [J]. *Genomics*, 2021, 113(3): 1438–1447. DOI: 10.1016/j.ygeno.2021.03.013.
- [19] PANG X B, LIU H S, WU S R, et al. Species identification of oaks (*Quercus* L., Fagaceae) from gene to genome [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(23): 5940. DOI: 10.3390/ijms20235940.
- [20] LI Y, WANG L, ZHANG X W, et al. Extensive sharing of chloroplast haplotypes among east Asian *Cerris* oaks: the imprints of shared ancestral polymorphism and introgression [J]. *Ecol Evol*, 2022, 12(8): e9142. DOI: 10.1002/ece3.9142.
- [21] CANNON C H, PETIT R J. The oak syngameon: more than the sum of its parts [J]. *New Phytol*, 2020, 226(4): 978–983. DOI: 10.1111/nph.16091.
- [22] DEGEN B, YANBAEV Y, MADER M, et al. Impact of gene flow and introgression on the range wide genetic structure of *Quercus robur* (L.) in Europe [J]. *Forests*, 2021, 12(10): 1425. DOI: 10.3390/f12101425.
- [23] LEROY T, PLOMION C, KREMER A. Oak symbolism in the light of genomics [J]. *New Phytol*, 2020, 226(4): 1012–1017. DOI: 10.1111/nph.15987.
- [24] NAGAMITSU T, UCHIYAMA K, IZUNO A, et al. Environment-dependent introgression from *Quercus dentata* to a coastal ecotype of *Quercus mongolica* var. *crispula* in northern Japan [J]. *New Phytol*, 2020, 226(4): 1018–1028. DOI: 10.1111/nph.16131.
- [25] KHODWEKAR S, GAILING O. Evidence for environment-

- dependent introgression of adaptive genes between two red oak species with different drought adaptations [J]. *Am J Bot*, 2017, 104(7): 1088–1098. DOI: 10.3732/ajb.1700060.
- [26] LIND-RIEHL J, GAILING O. Adaptive variation and introgression of a *CONSTANS*-like gene in north American red oaks [J]. *Forests*, 2016, 8(1): 3. DOI: 10.3390/f8010003.
- [27] ORTEGO J, GUGGER P F, SORK V L. Genomic data reveal cryptic lineage diversification and introgression in Californian golden cup oaks (section *Protobalanus*) [J]. *New Phytol*, 2018, 218(2): 804–818. DOI: 10.1111/nph.14951.
- [28] LÓPEZ D E HEREDIA U, SÁNCHEZ H, SOTO A. Molecular evidence of bidirectional introgression between *Quercus suber* and *Quercus ilex* [J]. *IForest*, 2018, 11(2): 338–343. DOI: 10.3832/ifor2570-011.
- [29] LI X, WEI G M, EL-KASSABY Y A, et al. Hybridization and introgression in sympatric and allopatric populations of four oak species [J]. *BMC Plant Biol*, 2021, 21(1): 266. DOI: 10.1186/s12870-021-03007-4.
- [30] LI Y, ZHANG X W, WANG L, et al. Influence of Pliocene and Pleistocene climates on hybridization patterns between two closely related oak species in China [J]. *Ann Bot*, 2022, 129(2): 231–245. DOI: 10.1093/aob/mcab140.
- [31] BUCK R, FLORES-RENTERÍA L. The syngameon *Enigma* [J]. *Plants (Basel)*, 2022, 11(7): 895. DOI: 10.3390/plants11070895.
- [32] BOECKLEN W J. Topology of syngameons [J]. *Ecol Evol*, 2017, 7(24): 10486–10491. DOI: 10.1002/ece3.3507.
- [33] SUAREZ-GONZALEZ A, LEXER C, CRONK Q C B. Adaptive introgression: a plant perspective [J]. *Biol Lett*, 2018, 14(3): 20170688. DOI: 10.1098/rsbl.2017.0688.
- [34] BURGARELLA C, BARNAUD A, KANE N A, et al. Adaptive introgression: an untapped evolutionary mechanism for crop adaptation [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 4. DOI: 10.3389/fpls.2019.00004.
- [35] BUFFALO V, COOP G. Estimating the genome-wide contribution of selection to temporal allele frequency change [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2020, 117(34): 20672–20680. DOI: 10.1073/pnas.1919039117.
- [36] SALEH D, CHEN J, LEPLÉ J C, et al. Genome-wide evolutionary response of European oaks during the Anthropocene [J]. *Evol Lett*, 2022, 6(1): 4–20. DOI: 10.1002/evl3.269.
- [37] LIANG Y Y, SHI Y, YUAN S, et al. Linked selection shapes the landscape of genomic variation in three oak species [J]. *New Phytol*, 2021, 233(1): 555–568. DOI: 10.1111/nph.17793.
- [38] BALKENHOL N, DUDANIEC R Y, KRUTOVSKY K V, et al. Landscape genomics: understanding relationships between environmental heterogeneity and genomic characteristics of populations [M]// *Population Genomics*. Cham: Springer International Publishing, 2017: 261–322. DOI: 10.1007/13836_2017_2.
- [39] STORFER A, PATTON A, FRAIK A K. Navigating the interface between landscape genetics and landscape genomics [J]. *Front Genet*, 2018, 9: 68. DOI: 10.3389/fgene.2018.00068.
- [40] FENG L, DU F K. Landscape genomics in tree conservation under a changing environment [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 822217. DOI: 10.3389/fpls.2022.822217.
- [41] DU F K, WANG T R, WANG Y Y, et al. Contrasted patterns of local adaptation to climate change across the range of an evergreen oak, *Quercus aquifolioides* [J]. *Evol Appl*, 2020, 13(9): 2377–2391. DOI: 10.1111/eva.13030.
- [42] GUGGER P F, FITZ-GIBBON S T, ALBARRÁN-LARA A, et al. Landscape genomics of *Quercus lobata* reveals genes involved in local climate adaptation at multiple spatial scales [J]. *Mol Ecol*, 2021, 30(2): 406–423. DOI: 10.1111/mec.15731.
- [43] VANHOVE M, PINA-MARTINS F, COELHO A C, et al. Using gradient forest to predict climate response and adaptation in Cork oak [J]. *J Evol Biol*, 2021, 34: 910–923. DOI: 10.1111/jeb.13765.
- [44] SORK V L, AITKEN S N, DYER R J, et al. Putting the landscape into the genomics of trees: approaches for understanding local adaptation and population responses to changing climate [J]. *Tree Genet Genomes*, 2013, 9(4): 901–911. DOI: 10.1007/s11295-013-0596-x.
- [45] BROWNE L, WRIGHT J W, FITZ-GIBBON S, et al. Adaptational lag to temperature in valley oak (*Quercus lobata*) can be mitigated by genome-informed assisted gene flow [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116(50): 25179–25185. DOI: 10.1073/pnas.1908771116.
- [46] MARTINS K, GUGGER P F, LLANDERAL-MENDOZA J, et al. Landscape genomics provides evidence of climate-associated genetic variation in Mexican populations of *Quercus rugosa* [J]. *Evol Appl*, 2018, 11(10): 1842–1858. DOI: 10.1111/eva.12684.
- [47] GAO J, LIU Z L, ZHAO W, et al. Combined genotype and phenotype analyses reveal patterns of genomic adaptation to local environments in the subtropical oak *Quercus acutissima* [J]. *J Syst Evol*, 2021, 59(3): 541–556. DOI: 10.1111/jse.12568.
- [48] PINA-MARTINS F, BAPTISTA J, PAPPAS G J, et al. New insights into adaptation and population structure of cork oak using genotyping by sequencing [J]. *Glob Change Biol*, 2018, 25(1): 337–350. DOI: 10.1111/gcb.14497.
- [49] ZHOU B F, SHI Y, CHEN X Y, et al. Linked selection, ancient polymorphism, and ecological adaptation shape the genomic landscape of divergence in *Quercus dentata* [J]. *J Systematics Evolution*, 2022, 19. DOI: 10.1111/jse.12817.
- [50] TEDERSOO L, BRUNDRETT M C. Evolution of ectomycorrhizal symbiosis in plants [M]// *Biogeography of Mycorrhizal Symbiosis*. Cham: Springer International Publishing, 2017: 407–467. DOI: 10.1007/978-3-319-56363-3_19.
- [51] BOUFFAUD M L, HERRMANN S, TARKKA M T, et al. Oak displays common local but specific distant gene regulation responses to different mycorrhizal fungi [J]. *BMC Genomics*, 2020, 21(1): 399. DOI: 10.1186/s12864-020-06806-5.
- [52] ABDELFATTAH A, WISNIEWSKI M, SCHENA L, et al. Experimental evidence of microbial inheritance in plants and transmission routes from seed to phyllosphere and root [J]. *Environ Microbiol*, 2021, 23(4): 2199–2214. DOI: 10.1111/1462-2920.15392.
- [53] FORT T, PAUVERT C, ZANNE A E, et al. Maternal effects shape the seed mycobiome in *Quercus petraea* [J]. *New Phytol*, 2021, 230(4): 1594–1608. DOI: 10.1111/nph.17153.
- [54] U'REN J M, ZIMMERMAN N B. Oaks provide new perspective on seed microbiome assembly [J]. *New Phytol*, 2021, 230(4): 1293–1295. DOI: 10.1111/nph.17305.
- [55] PASCUAL-ALVARADO E, CASTILLEJOS-LEMUS D E, CUEVAS-REYES P, et al. Diversity of galls induced by wasps (Hymenoptera: Cynipidae, Cynipini) associated with oaks (Fagaceae: *Quercus*) in Mexico [J]. *Bot Sci*, 2017, 95(3): 461. DOI: 10.17129/botsci.1215.
- [56] SCHULTZ J C, STONE G N. A tale of two tissues: probing gene expression in a complex insect-induced gall [J]. *Mol Ecol*, 2022, 31(11): 3031–3034. DOI: 10.1111/mec.16482.
- [57] HEARN J, BLAXTER M, SCHÖNROGGE K, et al. Genomic dissection of an extended phenotype: oak galling by a cynipid gall wasp [J]. *PLoS Genet*, 2019, 15(11): e1008398. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008398.
- [58] MARTINSON E O, WERREN J H, EGAN S P. Tissue-specific

- gene expression shows a cynipid wasp repurposes oak host gene networks to create a complex and novel parasite-specific organ [J]. *Mol Ecol*, 2022, 31 (11): 3228–3240. DOI: 10.1111/mec.16159.
- [59] LEBOLDUS J M, NAVARRO S M, KLINE N, et al. Repeated emergence of sudden oak death in Oregon: chronology, impact, and management [J]. *Plant Dis*, 2022; 2022Apr29. DOI: 10.1094/PDIS-02-22-0294-FE.
- [60] GALLARDO A, MORCUENDE D, SOLLA A, et al. Regulation by biotic stress of tannins biosynthesis in *Quercus ilex*: crosstalk between defoliation and *Phytophthora cinnamomi* infection [J]. *Physiol Plant*, 2019, 165(2): 319–329. DOI: 10.1111/ppl.12848.
- [61] BARTHOLOMÉ J, BRACHI B, MARÇAIS B, et al. The genetics of exapted resistance to two exotic pathogens in pedunculate oak [J]. *New Phytol*, 2020, 226 (4): 1088–1103. DOI: 10.1111/nph.16319.
- [62] COELHO A C, PIRES R, SCHÜTZ G, et al. Disclosing proteins in the leaves of cork oak plants associated with the immune response to *Phytophthora cinnamomi* inoculation in the roots: a long-term proteomics approach [J]. *PLoS One*, 2021, 16 (1): e0245148. DOI: 10.1371/journal.pone.0245148.
- [63] CRISTINA A C, SCHÜTZ G. Protein markers for the identification of cork oak plants infected with *Phytophthora cinnamomi* by applying an (α , β)-k-feature set approach [J]. *Forests*, 2022, 13 (6): 940. DOI: 10.3390/f13060940.
- [64] CUNHA E, SILVA M, CHAVES I, et al. iEC7871 *Quercus suber* model: the first multi-tissue diel cycle genome-scale metabolic model of a woody tree [J]. *bioRxiv*, 2021, DOI: 10.1101/2021.03.09.434537.
- [65] LEAL A R, SAPETA H, BEECKMAN T, et al. Spatiotemporal development of suberized barriers in cork oak taproots [J]. *Tree Physiol*, 2021, 42 (6): 1269–1285. DOI: 10.1093/treephys/tpab176.
- [66] LOPES S T, SOBRAL D, COSTA B, et al. Phellem versus xylem: genome-wide transcriptomic analysis reveals novel regulators of cork formation in cork oak [J]. *Tree Physiol*, 2019, 40(2): 129–141. DOI: 10.1093/treephys/tpz118.
- [67] FERNÁNDEZ-PIÑÁN S, BOHER P, SOLER M, et al. Transcriptomic analysis of cork during seasonal growth highlights regulatory and developmental processes from phellogen to phellem formation [J]. *Sci Rep*, 2021, 11: 12053. DOI: 10.1038/s41598-021-90938-5.
- [68] LIN L M, GUO H Y, SONG X, et al. Adaptive evolution of *Chalcone isomerase* superfamily in Fagaceae [J]. *Biochem Genet*, 2021, 59(2): 491–505. DOI: 10.1007/s10528-020-10012-z.
- [69] MOSELER A, SELLES B, ROUHIER N, et al. Novel insights into the diversity of the sulfurtransferase family in photosynthetic organisms with emphasis on oak [J]. *New Phytol*, 2020, 226(4): 967–977. DOI: 10.1111/nph.15870.
- [70] ZHANG J, LIN L M, CHENG W W, et al. Genome-wide identification and expression analysis of glycosyltransferase gene family I in *Quercus robur* L [J]. *J Appl Genetics*, 2021, 62 (4): 559–570. DOI: 10.1007/s13353-021-00650-3.
- [71] GÜGGER P F, FITZ-GIBBON S, PELLEGRINI M, et al. Species-wide patterns of DNA methylation variation in *Quercus lobata* and their association with climate gradients [J]. *Mol Ecol*, 2016, 25 (8): 1665–1680. DOI: 10.1111/mec.13563.
- [72] BROWNE L, MEAD A, HORN C, et al. Experimental DNA demethylation associates with changes in growth and gene expression of oak tree seedlings [J]. *G3 Genes | Genomes | Genetics*, 2020, 10(3): 1019–1028. DOI: 10.1534/g3.119.400770.
- [73] SILVA H G, SOBRAL R S, MAGALHÃES A P, et al. Genome-wide identification of epigenetic regulators in *Quercus suber* L [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(11): 3783. DOI: 10.3390/ijms21113783.
- [74] INÁCIO V, BARROS P M, COSTA A, et al. Differential DNA methylation patterns are related to phellogen origin and quality of *Quercus suber* cork [J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0169018. DOI: 10.1371/journal.pone.0169018.
- [75] BROWNE L, MACDONALD B, FITZ-GIBBON S, et al. Genome-wide variation in DNA methylation predicts variation in leaf traits in an ecosystem-foundational oak species [J]. *Forests*, 2021, 12 (5): 569. DOI: 10.3390/f12050569.
- [76] ROSSI F, CRNJAR A, COMITANI F, et al. Extraction and high-throughput sequencing of oak heartwood DNA: assessing the feasibility of genome-wide DNA methylation profiling [J]. *PLoS One*, 2021, 16(11): e0254971. DOI: 10.1371/journal.pone.0254971.
- [77] MUNNÉ-BOSCH S. Limits to tree growth and longevity [J]. *Trends Plant Sci*, 2018, 23(11): 985–993. DOI: 10.1016/j.tplants.2018.08.001.
- [78] TOBIAS P A, GUEST D I. Tree immunity: growing old without antibodies [J]. *Trends Plant Sci*, 2014, 19(6): 367–370. DOI: 10.1016/j.tplants.2014.01.011.
- [79] SCHMID-SIEGERT E, SARKAR N, ISELI C, et al. Low number of fixed somatic mutations in a long-lived oak tree [J]. *Nat Plants*, 2017, 3(12): 926–929. DOI: 10.1038/s41477-017-0066-9.
- [80] CHEN M X, ZHANG Y J, FERNIE A R, et al. SWATH-MS-based proteomics: strategies and applications in plants [J]. *Trends Biotechnol*, 2021, 39(5): 433–437. DOI: 10.1016/j.tibtech.2020.09.002.
- [81] MARTÍNEZ M T, SAN-JOSÉ M, ARRILLAGA I, et al. Holm oak somatic embryogenesis: current status and future perspectives [J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 239. DOI: 10.3389/fpls.2019.00239.
- [82] SERRA O, MÄHÖNEN A P, HETHERINGTON A J, et al. The making of plant armor: the periderm [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2022, 73: 405–432. DOI: 10.1146/annurev-arplant-102720-031405.
- [83] CAVENDER-BARES J. Diversification, adaptation, and community assembly of the American oaks (*Quercus*), a model clade for integrating ecology and evolution [J]. *New Phytol*, 2019, 221(2): 669–692. DOI: 10.1111/nph.15450.
- [84] XING Y, LIU Y, ZHANG Q, et al. Hybrid de novo genome assembly of Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) [J]. *Giga-science*, 2019, 8(9): giz112. DOI: 10.1093/gigascience/giz112.
- [85] SUN Y, GUO J L, ZENG X R, et al. Chromosome-scale genome assembly of *Castanopsis tibetana* provides a powerful comparative framework to study the evolution and adaptation of Fagaceae trees [J]. *Mol Ecol Resour*, 2022, 22(3): 1178–1189. DOI: 10.1111/1755-0998.13539.
- [86] VINHA A F, BARREIRA J C M, COSTA A S G, et al. A new age for *Quercus* spp. fruits: review on nutritional and phytochemical composition and related biological activities of acorns [J]. *Compr Rev Food Sci Food Saf*, 2016, 15(6): 947–981. DOI: 10.1111/1541-4337.12220.
- [87] SCHROEDER H, NOSENKO T, GHIRARDO A, et al. Oaks as beacons of hope for threatened mixed forests in central Europe [J]. *Front For Glob Change*, 2021, 4: 670797. DOI: 10.3389/ffgc.2021.670797.
- [88] KREMER A, HIPPEL A L. Oaks: an evolutionary success story [J]. *New Phytol*, 2020, 226(4): 987–1011. DOI: 10.1111/nph.16274.