

康阳, 赵凯, 刘钰颖, 等. 基于流式细胞术对朱砂根种质资源基因组大小的测定 [J]. 福建农业学报, 2023, 38 (2): 137-143.
KANG Y, ZHAO K, LIU Y Y, et al. Flow Cytometric Determination on Genome Size of *Ardisia crenata* Germplasms [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38 (2): 137-143.

基于流式细胞术对朱砂根种质资源基因组大小的测定

康 阳^{1,2}, 赵 凯³, 刘钰颖^{1,2}, 王 钦^{1,2}, 涂 松^{1,2},
王睿昕^{1,2}, 朱云君^{1,2}, 刘梓富⁴, 彭东辉^{1,2*}

(1. 福建农林大学风景园林学院, 福建 福州 350002; 2. 福建省观赏植物种质资源创新与应用工程技术研究中心, 福建 福州 350002; 3. 福建师范大学生命科学学院, 福建 福州 350100;
4. 武平县林业局, 福建 武平 364300)

摘 要:【目的】基于流式细胞术初步探索测定朱砂根基因组大小的方法和流程, 为朱砂根基因组文库的建立、基因组全序列测定及其基因组学研究等工作的开展提供基础数据。【方法】以 24 份朱砂根 (*Ardisia crenata*) 种质资源为供试材料, 包括 22 个人工选育品种和 2 个野生种质资源, 并以番茄 (*Lycopersicon esculentum*) 作为内参样本, 利用流式细胞术对朱砂根基因组大小进行测定。【结果】24 份朱砂根基因组大小 (*C* 值) 为 1.77~2.41 Gb, 平均大小 1.87 Gb; 其中玛瑙红 (Z-17)、霞珠 (Z-20)、珠塔 (Z-22) *C* 值最小, 均为 1.77 Gb, 赤丹 *C* 最大, 为 2.41 Gb, 部分品种间基因组大小存在一定程度的差异。【结论】首次测定朱砂根种质资源的基因组大小, 其研究结果可为朱砂根基因组文库的建立、基因组全序列测定及其基因组学研究等工作的开展提供基础数据。

关键词: 朱砂根; 流式细胞术; 基因组大小; 种质资源

中图分类号: S686 文献标志码: A 文章编号: 1008-0384 (2023) 02-0137-07

Flow Cytometric Determination on Genome Size of *Ardisia crenata* Germplasms

KANG Yang^{1,2}, ZHAO Kai³, LIU Yuying^{1,2}, WANG Qin^{1,2}, TU Song^{1,2},
WANG Ruixin^{1,2}, ZHU Yunjun^{1,2}, LIU Zifu⁴, PENG Donghui^{1,2*}

(1. College of Landscape Architecture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Fujian Engineering Research Center of Ornamental Plant Germplasm Resources Innovation and Application, Fuzhou, Fujian 350002, China; 3. Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350100, China; 4. Wuping County Forestry Bureau, Fujian 364300, China)

Abstract: 【Objective】Genome sizes of the economically, medicinally, and ornamentally valuable *Ardisia crenata* were determined using flow cytometry. 【Methods】Genome sizes of 22 selectively bred cultivars and two wild *A. crenata* germplasms, along with *Lycopersicon esculentum* as internal reference, were determined by flow cytometry. 【Results】The sizes ranged from 1.77 Gb to 2.41 Gb averaging 1.87 Gb with the smallest *C*-value of 1.77 Gb found on Agate Red (Z-17), Kasumi Pearl (Z-20), and Zhu Ta (Z-22), while the largest of 2.41 Gb on Chidan. Variations existed among the germplasms. 【Conclusion】For the first time, the genome sizes of various *A. crenata* were determined to be available for library construction and genomics studies on the valuable natural resource.

Key words: *Ardisia crenata*; flow cytometry; genome size; germplasms

0 引言

【研究意义】基因组作为特定生物全部染色体

的遗传物质的总和, 能反映物种全部和特定的遗传信息^[1], 其大小 (*C* 值) 指单倍体细胞中全套染色体的 DNA 总量, 基因组大小的度量一般以重量计算,

收稿日期: 2022-08-25 初稿; 2022-10-08 修改稿

作者简介: 康阳 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 园林植物与应用 (E-mail: 1459666833@qq.com)

* 通信作者: 彭东辉 (1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 园林植物与应用 (E-mail: fjpdh@126.com)

基金项目: 福建省科技计划项目 (2022L3008); 福建省林业科技推广项目 (2021TG02)

以质量（Picogram, pg）或碱基对数目（Million base pair, Mb）为单位，1 pg 约等于 978 Mb^[2-3]。C 值的测定不但能估测物种的 DNA 含量，还能为目标物种后续基因组测序、基因组学及进化生物学研究提供数据参考，除此之外也是生物学家进行物种分类和种群进化的重要依据^[4-6]。朱砂根（*A. crenata*）隶属紫金牛科（Myrsinaceae）紫金牛属（*Ardisia*），是一种兼具药用和观赏价值的重要经济植物，朱砂根在分子生物学和基因组学层面的相关研究则刚刚起步，通过测定朱砂根种质资源的基因组大小，对后续开展朱砂根基因组学及其他相关研究具有重要意义。【前人研究进展】目前，植物 DNA C 值数据库（Plant DNA C-values Database; <https://cvalues.science.kew.org/>）的数据，已收录了 12 273 个物种的 C 值数据，其中包括 10 770 种被子植物。近年来朱砂根植物研究内容主要集中于药用价值^[7-8]、栽培繁殖^[9-11]、生理生化^[12-13]以及遗传多样性^[14-15]等方面，目前朱砂根在分子生物学和基因组学层面的研究主要集中在叶绿体基因组和特定功能基因等领域，例如刘雄伟等^[16]通过对朱砂根和其变种红凉伞的叶绿体全基因组进行测序，解析两者的叶绿体基因组特征及差异，从而确定朱砂根在紫金牛属系统发育位置；刘畅等^[17]通过对朱砂根 AcGGPPS 基因进行克隆测序研究了其生物学特性，为今后该基因功能的研究奠定基础，杨君^[18]通过转录组测序，对朱砂根三萜皂苷合成的相关基因进行差异分析，发现了 93 个差异表达基因直接影响朱砂根三萜皂苷含量。【本研究切入点】有关朱砂根基因组大小测定方面的研究鲜见

报道，一定程度上限制了朱砂根分子生物学及基因组学等研究领域进一步进展。【拟解决的关键问题】本研究以番茄（*Lycopersicon esculentum*）为内标，建立基于流式细胞术测定朱砂根基因组大小的测定方法和流程，估算 24 份朱砂根资源的基因组大小，以期为今后朱砂根基因组文库的建立、基因组全序列测定及其基因组学研究等工作的开展提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

24 份朱砂根材料见（表 1），其中 22 份朱砂根是通过自然变异并经过多年人工选育，最终形成表型性状稳定遗传的栽培品种，6 个获得新品种权，16 个实地审查；而 2 份野生朱砂根种质由课题组骆亮等从武夷山收集并种植于福建农林大学森林兰苑苗圃。内参样本来自中国科学院昆明植物研究所，选取番茄种子萌发后 1 月的嫩叶作为试验材料。24 份朱砂根试验材料的嫩叶取自福建农林大学苗圃中心，在中国西南野生生物种质资源库分子生物学实验平台对样品进行流式细胞仪检测。

1.2 试验方法

1.2.1 细胞悬浮液制备 解离液的选择对于试验结果的准确性至关重要。本试验解离液选择的是 $\text{mM}^b[45 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}, 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{MOPS}, 30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{柠檬酸钠}, 1\% (m/V) \text{PVP-40}, 0.2\% (V/V) \text{TritonX-100}, 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Na}_2\text{EDTA}, 20 \mu\text{L} \cdot \text{mL}^{-1} \beta\text{-巯基乙醇}, \text{pH } 7.5^{[19]}$ 。

表 1 24 份朱砂根供试材料采样信息
Table 1 Sampling of 24 *A. crenata* germplasms

编号 No.	种质名称 Germplasm name	种质类别 Germplasm type	编号 No.	种质名称 Germplasm name	种质类别 Germplasm type
Z-01	赤丹 Chi Dan	栽培品种 Cultivated variety	Z-13	福株 Fu Zhu	栽培品种 Cultivated variety
Z-02	锦绣 Jin Xiu	栽培品种 Cultivated variety	Z-14	金边富贵 Jin Bian Fu Gui	栽培品种 Cultivated variety
Z-03	绿翡翠 Green Jade	栽培品种 Cultivated variety	Z-15	金玉满堂 Jin Yu Man Tang	栽培品种 Cultivated variety
Z-04	粉佳人 Pink Beauty	栽培品种 Cultivated variety	Z-16	竹叶富贵 Bamboo Leaf Fu Gui	栽培品种 Cultivated variety
Z-05	平安富贵 Ping An Fu Gui	栽培品种 Cultivated variety	Z-17	玛瑙红 Onyx Red	栽培品种 Cultivated variety
Z-06	金冠 Golden Crown	栽培品种 Cultivated variety	Z-18	碧珠 Bi Zhu	栽培品种 Cultivated variety
Z-07	福满堂 Fu Man Tang	栽培品种 Cultivated variety	Z-19	龙珠 Long Zhu	栽培品种 Cultivated variety
Z-08	碧霞珠 Bixia Zhu	栽培品种 Cultivated variety	Z-20	霞珠 Xia Zhu	栽培品种 Cultivated variety
Z-09	金富贵 Jin Fu Gui	栽培品种 Cultivated variety	Z-21	仙桃 Xian Tao	栽培品种 Cultivated variety
Z-10	梁野富贵 Liang Ye Fu Gui	栽培品种 Cultivated variety	Z-22	珠塔 Zhu Ta	栽培品种 Cultivated variety
Z-11	赤玲珑 Red Lingerie	栽培品种 Cultivated variety	Z-(A)	朱砂根A <i>A. crenata</i> A	野生种质 Wild germplasm
Z-12	大富贵 Da Fu Gui	栽培品种 Cultivated variety	Z-(B)	朱砂根B <i>A. crenata</i> B	野生种质 Wild germplasm

将样品置于 0.8 mL 预冷的 mG^b 解离液中，用锋利的刀片将组织迅速垂直切碎，使其在解离液中冰上静置 10 min，然后用 40 μm 孔径滤网过滤，即得到细胞核悬浮液。在细胞核悬液加入适当体积预冷的碘化丙啶 (Propidium iodide, PI) (母液浓度 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) 和适当体积的 RNAase 溶液 (母液浓度 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$)，置于冰上避光染色 0.5~1.0 h，并控制所有待测样品染色时间一致。PI 染液和 RNAase 溶液的工作浓度均为 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ [19-21]。

1.2.2 流式细胞仪检测 以番茄为内参，将待测样品的悬液和内参样品的悬液按适当比例混合，利用 BD FACScalibur 流式细胞仪对染色后的细胞核悬浮液样品上机检测。采用 488 nm 蓝光激发，检测 PI 的发射光荧光强度，每次检测收集 10000 个颗粒。变异系数 (CV) 控制在 5% 以内。

1.2.3 基因组大小计算 PI 在着色过程中的嵌入量与 DNA 量呈正比关系，故荧光强度可以表示出基因组 DNA 的相对含量。观察待测样品和对照植物 PI-DNA 复合体的荧光峰值，即可得出 2 种植物 DNA 含量的比值，再乘以内参植物的 C 值，即可计算出待测植物的 C 值。计算公式如下：

待测样品 DNA 含量=内参 DNA 含量×待测样品

的荧光强度/内参样品的荧光强度^[19]。

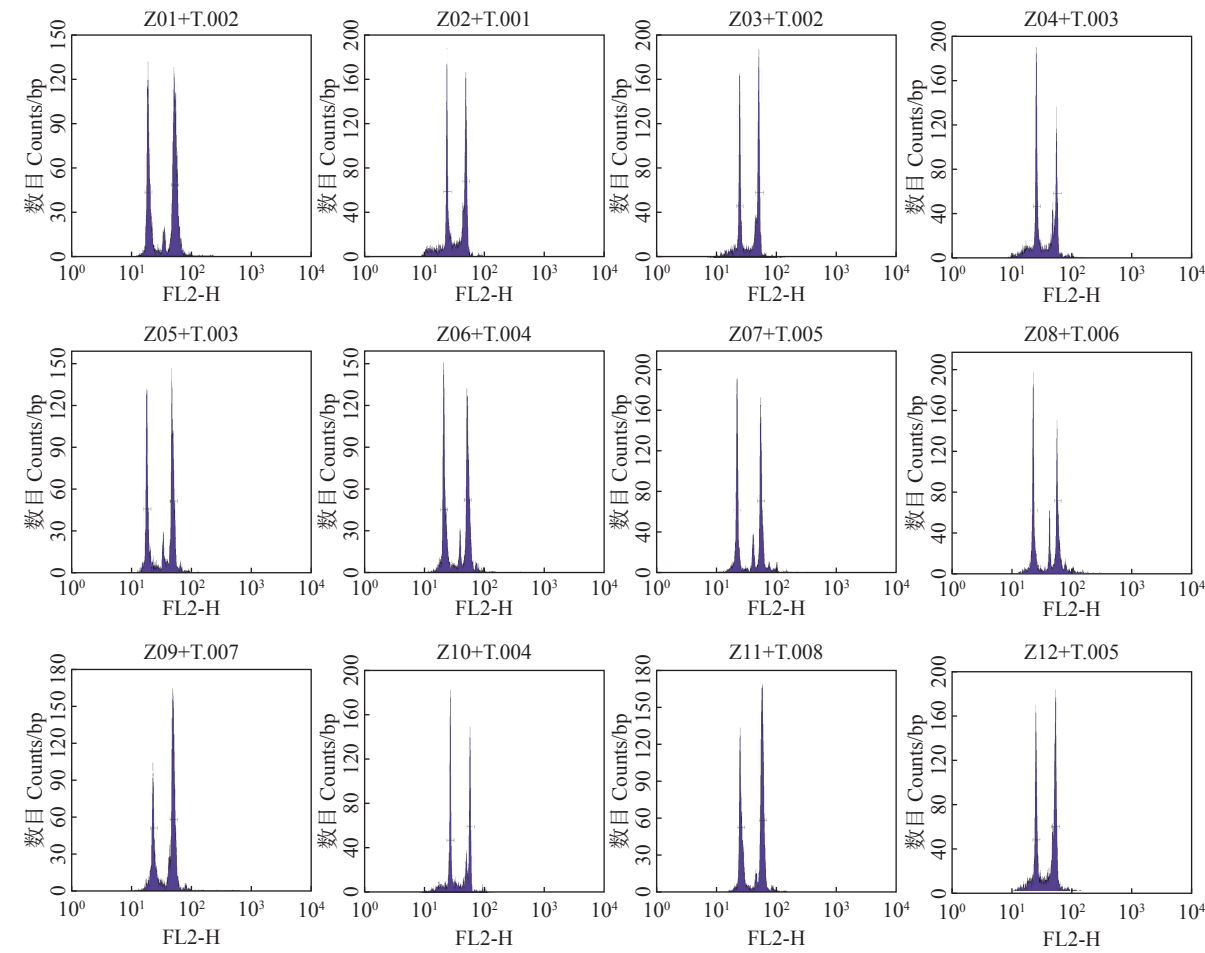
1.3 数据分析

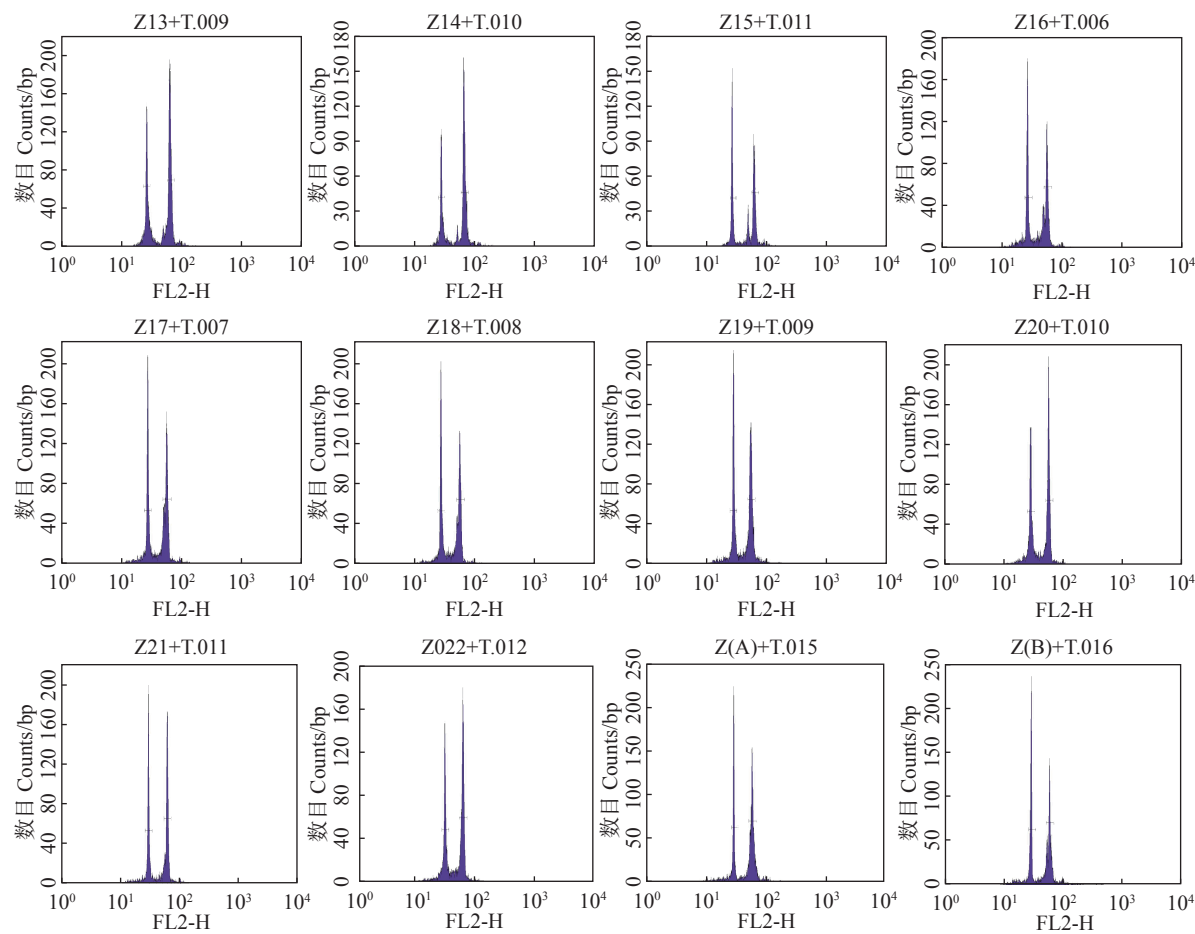
利用 Excel2010、Modifit3.0 分析软件作图分析。

2 结果与分析

本研究采用流式细胞术对 24 份朱砂根的染色体 DNA 总量进行检测。对比番茄和 24 样品基因组单独测定的结果可见，番茄基因组的测定峰与朱砂根基因组测定峰两者无重叠 (图 1)，具有良好的区分度，证明使用番茄作为内参样本具备可靠性。

选择的内参样本番茄基因组大小为 900 Mbp，根据测定结果分析计算，得到了 24 份朱砂根样品的基因组大小 (表 2)。结果发现，大部分朱砂根种质资源的 C 值在 1.8 Gb 左右，24 份朱砂根种质 C 值平均为 1.87 Gb。栽培品种中，玛瑙红 (Z-17)、霞珠 (Z-20)、珠塔 (Z-22)C 值最小，均为 1.77 Gb，赤丹 C 值最大，达到 2.41 Gb，共有 9 个朱砂根品种的基因组大小均超过了 2 Gb，高于平均 C 值；收集的 2 份野生朱砂根种质基因组大小别为 1.79、1.80 Gb，接近平均 C 值。从 24 份基因组大小检测结果来看，朱砂根种内 C 值存在明显变异；同时朱砂根种质资源从野生到人工选育栽培过程中发生了基因组大小变异。





荧光峰值直方图左侧峰代表内参番茄，右侧峰代表朱砂根种质；FL2-H:荧光脉冲高度。

Left peak on fluorescence histogram represents internal reference *L. esculentum*; right peak, *A. crenata* varieties.FL2-H:Fluore scence pulse height.

图 1 流式细胞仪检测 24 份朱砂根荧光峰值

Fig. 1 Fluorescence peak histogram of 24 *A. crenata* detected by flow cytometry

表 2 流式细胞术测定的 24 份朱砂根品种资源基因组大小

Table 2 Genome sizes of 24 *A. crenata* determined by flow cytometry

样品编号 Sample No.	内参荧光强度 Internal reference fluorescence intensity	待测样品 荧光强度 Fluorescence intensity of the sample to be measured	比值 Ratio	基因组大小 Genome/Gb	样品编号 Sample No.	内参荧光强度 Internal reference fluorescence intensity	待测样品 荧光强度 Fluorescence intensity of the sample to be measured	比值 Ratio	基因组大小 Genome/Gb
Z-01	18.90	51.79	2.74	2.41	Z-13	26.61	63.08	2.37	2.09
Z-02	23.83	48.40	2.03	1.79	Z-14	27.09	65.13	2.40	2.12
Z-03	24.33	49.58	2.04	1.79	Z-15	27.22	64.87	2.38	2.10
Z-04	26.06	55.25	2.12	1.87	Z-16	26.68	55.70	2.09	1.84
Z-05	18.75	48.60	2.59	2.28	Z-17	26.63	53.53	2.01	1.77
Z-06	21.30	52.18	2.45	2.16	Z-18	27.19	55.46	2.04	1.79
Z-07	22.72	56.47	2.49	2.19	Z-19	27.61	55.73	2.02	1.78
Z-08	22.44	55.92	2.49	2.19	Z-20	28.26	56.70	2.01	1.77
Z-09	24.16	51.55	2.13	1.88	Z-21	28.56	58.22	2.04	1.79
Z-10	26.36	55.40	2.10	1.85	Z-22	28.34	56.89	2.01	1.77
Z-11	26.07	59.64	2.29	2.01	Z-(A)	28.77	58.62	2.04	1.79
Z-12	25.35	51.83	2.04	1.80	Z-(B)	28.54	58.29	2.04	1.80

3 讨论

流式细胞术作为一种广泛应用于动植物生命科学各个领域的单细胞分选技术, 融合了激光技术、半导体技术、流体力学、细胞化学等多学科知识, 相较于孚耳根微显影法、基因组测序法更简便易行, 检测结果更稳定可靠, 已逐渐成为动植物基因组大小测定、倍性鉴定等研究的重要工具^[22-24]; 并且流式细胞术可通过内参和外参法2种方式对物种进行核DNA含量检测, 其中内参法可避免因样品的差异、机器的不稳定等因素造成的误差^[25]。本研究首次以番茄作为内参样本对朱砂根种质资源基因组大小进行了测定, 结果在所有混合组织匀浆处理中, DNA含量在上机检测时控制的变异系数CV均处于5%以内, 内参样本和待测样本峰不重合且无杂峰, 表明本次试验结果稳定可靠^[26]; 排除了试验本身造成朱砂根种质资源基因组大小变异这一因素。

通常认为每个生物体的基因组大小是恒定数值, 与生物体的进化水平及生物体复杂程度均无关, 即所谓“C值悖论”^[27]; 随后有学者认为基因组大小与植物体结构和功能的复杂程度呈正相关关系, 但后期研究结果证明没有正相关关系^[28]。如今随着基因组大小进化相关研究的不断深入, 越来越多的研究表明物种C值与表型特征、核型特征、种子特征以及生态环境因子等众多因素密切相关^[5,29-30]。而真核生物基因组长度的巨大差异主要归因于重复序列, 其中种内不同种群间的基因组长度变异主要是由卫星DNA和转座子造成^[31]。本次试验检测计算得到24份朱砂根基因组大小为1.77~2.41 Gb, 平均为1.87 Gb, 测定结果发现, 部分朱砂根种质间C值存在明显变异, 野生资源与部分栽培品种间也存在明显变异; 结合24朱砂根实地观察以及前人研究, 发现朱砂根品种间表型遗传丰富^[14], 居群间基因流动较密切且存在较高的遗传渗透^[15]。因此, 笔者推测朱砂根种内基因组大小变异的主要原因可能与其丰富的遗传变异或分子突变而导致种内重复序列的变化^[32-33]。另外, 有研究发现生物基因组大小的变异还与其多倍化现象有关^[34]。但目前关于朱砂根种质资源倍性研究尚不清楚, 因此不排除朱砂根中存在染色体非整倍化或多倍化现象, 从而导致其种内基因组大小变异^[32]。总之, 影响朱砂根种内基因组大小因素很多, 具体影响机制还需进一步研究。

4 结论

本研究首次利用流式细胞技术对朱砂根基因组

大小的测定方法进行了初步探索, 并成功估测了24份朱砂根种质资源的基因组大小, 丰富了朱砂根基因组基本信息。同时, 通过测定朱砂根核DNA的含量, 不仅为朱砂根的全基因组测序工作的前期预算评估和后期组装结果矫正提供数据指导, 同时也为后续朱砂根基因组学和进化生物学研究提供参考。

参考文献:

- [1] 张俊环, 杨丽, 姜凤超, 等. 基于流式细胞仪对杏属植物基因组大小的测定[J]. 华北农学报, 2020, 35(5): 32-38.
ZHANG J H, YANG L, JIANG F C, et al. Estimation of genome size of apricots based on flow cytometry[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2020, 35(5): 32-38. (in Chinese)
- [2] ARUMUGANATHAN K, EARLE E D. Nuclear DNA content of some important plant species[J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1991, 9(4): 415.
- [3] DOLEZEL J, BARTOS J, VOGLMAYR H, et al. Nuclear DNA content and genome size of trout and human[J]. *Cytometry Part A: the Journal of the International Society for Analytical Cytology*, 2003, 51(2): 127-128; author reply 129.
- [4] 潘根, 董志雪, 唐靖, 等. 流式细胞术测定玫瑰茄及红麻的基因组大小[J]. 中国麻业科学, 2021, 43(5): 217-221.
PAN G, DONG Z X, TANG Q, et al. Estimation of genome size of two species from *Hibiscus* and kenaf by flow cytometry[J]. *Plant Fiber Sciences in China*, 2021, 43(5): 217-221. (in Chinese)
- [5] KANG M, TAO J J, WANG J, et al. Adaptive and nonadaptive genome size evolution in Karst endemic flora of China[J]. *The New Phytologist*, 2014, 202(4): 1371-1381.
- [6] 李雯雯, 刘立强, 帕米尔·艾尼, 等. 利用流式细胞术鉴定新疆野杏染色体倍性和DNA含量[J]. 农业生物技术学报, 2019, 27(3): 542-550.
LI W W, LIU L Q, PAMIER A N, et al. Identification of chromosomal ploidy and DNA content in Xinjiang *Armeniaca vulgaris* by flow cytometry[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2019, 27(3): 542-550. (in Chinese)
- [7] 孙绪, 姚成芬, 付思红, 等. 苗药朱砂根的HPLC指纹图谱研究[J]. 中国药房, 2017, 28(30): 4285-4288.
SUN X, YAO C F, FU S H, et al. Study on HPLC fingerprint of Miao medicine *Ardisia crenata* [J]. *China Pharmacy*, 2017, 28(30): 4285-4288. (in Chinese)
- [8] 叶晴, 陈金鹏, 凌悦, 等. 朱砂根化学成分和药理作用的研究进展[J]. 中草药, 2022, 53(9): 2851-2860.
YE Q, CHEN J P, LING Y, et al. Research progress on chemical constituents and pharmacological effects of *Ardisia crenata* Radix [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2022, 53(9): 2851-2860. (in Chinese)
- [9] 陈俊晖. 朱砂根品系评价和繁殖技术研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2017.
CHEN J H. *Study on strains evaluate and propagation technique of Ardisia crenata* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry

- University, 2017. (in Chinese)
- [10] 陈俊晖, 漆子钰, 骆亮, 等. 金边朱砂根组培快繁体系的建立 [J]. 江苏农业科学, 2017, 45 (17): 50-53.
- CHEN J H, QI Z Y, LUO L, et al. Establishment of tissue culture and rapid propagation system of *Ardisia crenata* in Phnom Penh [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2017, 45 (17): 50-53. (in Chinese)
- [11] 周琪, 吕享, 林冰, 等. 朱砂根种胚繁育技术研究 [J]. 种子, 2022, 41 (8): 104-109, 115.
- ZHOU Q, LYU X, LIN B, et al. Study on breeding regulation technology of *Ardisia crenata* Sims embryo [J]. *Seed*, 2022, 41 (8): 104-109, 115. (in Chinese)
- [12] 张建新, 酆枫, 马丽, 等. 镉胁迫下朱砂根和虎舌红生理响应及其镉抗性 [J]. 水土保持学报, 2017, 31 (5): 321-327.
- ZHANG J X, LI F, MA L, et al. Physiological responses and resistances of *Ardisia crenata* and *A. mamillata* to the treatments of cadmium stress [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2017, 31 (5): 321-327. (in Chinese)
- [13] 艾金祥, 宋嘉怡, 严浙楠, 等. 褪黑素对铅胁迫下虎舌红和朱砂根生理响应及DNA损伤的调控效应 [J]. 植物学报, 2022, 57 (2): 171-181.
- AI J X, SONG J Y, YAN Z N, et al. Effects of exogenous melatonin on physiological response and DNA damage of *Ardisia mamillata* and *A. crenata* under lead stress [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2022, 57 (2): 171-181. (in Chinese)
- [14] 骆亮, 张文春, 李龙, 等. 不同居群朱砂根(*Ardisia crenata*)的荧光ISSR遗传多样性分析 [J]. 分子植物育种, 2021, 19 (18): 6235-6247.
- LUO L, ZHANG W C, LI L, et al. Genetic diversity analysis of *Ardisia crenata* in different populations by fluorescence ISSR [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19 (18): 6235-6247. (in Chinese)
- [15] 康阳, 刘梓富, 陈进燎, 等. 十六份朱砂根品种表型遗传多样性分析 [J]. 北方园艺, 2022 (12): 71-78.
- KANG Y, LIU Z F, CHEN J L, et al. Analysis of phenotypic genetic diversity of 16 *Ardisia crenata* cultivars [J]. *Northern Horticulture*, 2022 (12): 71-78. (in Chinese)
- [16] 刘雄伟, 刘畅, 曾宪法, 等. 朱砂根叶绿体全基因组解析及系统发育分析 [J]. 生物技术通报, 2023, 39 (1): 232-242.
- LIU X W, LIU C, ZENG X F, et al. Comparative and phylogenetic analyses of complete chloroplast genomes in *Ardisia crenata* [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2023, 39 (1): 232-242. (in Chinese)
- [17] 刘畅, 潘婕, 刘雄伟, 等. 朱砂根AcGGPPS基因蛋白结构功能预测、密码子偏好性与进化分析[J/OL]. 分子植物育种, 2022: 1-24. (2022-03-03). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220301.1351.012.html>.
- LIU C, PAN J, LIU X W, et al. Structural and functional prediction, Codon preference and evolutionary analysis of AcGGPPS gene from *Ardisia crenata* Sims[J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, 2022: 1-24. (2022-03-03). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220301.1351.012.html>. (in Chinese)
- [18] 杨君. 朱砂根的转录组测序及与三萜皂苷合成相关基因的差异分析[D]. 雅安: 四川农业大学, 2015.
- YANG J. *RNA-seq for DEG analysis about triterpenoid saponin synthesis and transcript profiling of Ardisia crenata* Sims[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [19] 田新民, 周香艳, 弓娜. 流式细胞术在植物学研究中的应用: 检测植物核DNA含量和倍性水平 [J]. 中国农学通报, 2011, 27 (9): 21-27.
- TIAN X M, ZHOU X Y, GONG N. Applications of flow cytometry in plant research—Analysis of nuclear DNA content and ploidy level in plant cells [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2011, 27 (9): 21-27. (in Chinese)
- [20] DOLEŽEL J, BARTOŠ J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size [J]. *Annals of Botany*, 2005, 95 (1): 99-110.
- [21] DOLEŽEL J, GREILHUBER J, SUDA J. Estimation of nuclear DNA content in plants using flow cytometry [J]. *Nature Protocols*, 2007, 2 (9): 2233-2244.
- [22] 杜立颖, 冯仁青. 流式细胞术[M]. 2版. 北京: 北京大学出版社, 2014.
- [23] 胡永乐, 宁书菊, 叶齐, 等. 流式细胞术测定马蓝基因组大小[J/OL]. 中成药, 2022: 1-3. (2022-05-25). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220524.1744.004.html>.
- HU Y L, NING S J, YE Q, et al. Determination of *Baphicacanthus cusia*(Nees)Bremek genome size by flow cytometry [J/OL]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2022: 1-3. (2022-05-25). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.R.20220524.1744.004.html>. (in Chinese)
- [24] 金亮, 徐伟伟, 李小白, 等. DNA流式细胞术在植物遗传及育种中的应用 [J]. 中国细胞生物学学报, 2016, 38 (2): 225-234.
- JIN L, XU W W, LI X B, et al. Application of DNA flow cytometry to plant genetics and breeding [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2016, 38 (2): 225-234. (in Chinese)
- [25] 李春牛, 李先民, 黄展文, 等. 利用流式细胞术鉴定茉莉花基因组大小和染色体倍性 [J]. 热带作物学报, 2021, 42 (5): 1231-1236.
- LI C N, LI X M, HUANG Z W, et al. Genome size estimation and ploidy identification of *Jasminum sambac* by flow cytometry [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42 (5): 1231-1236. (in Chinese)
- [26] 王利虎, 张琼, 陈凯, 等. 流式细胞术在植物倍性鉴定及基因组大小估测中的应用策略 [J]. 分子植物育种, 2021, 19 (17): 5833-5841.
- WANG L H, ZHANG Q, CHEN K, et al. Application strategy of flow cytometry in plant ploidy identification and genome size estimation [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2021, 19 (17): 5833-5841. (in Chinese)
- [27] THOMAS C A Jr. The genetic organization of chromosomes [J]. *Annual Review of Genetics*, 1971, 5: 237-256.
- [28] 李小东. 黄山常绿阔叶林树种基因组大小与表型分析[D]. 南京: 南京林业大学, 2019.
- LI X D. *Genomic size and phenotype analysis of evergreen broad-leaved forest species in Huangshan Mountain*[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2019. (in Chinese)

- [29] JORDAN G J, CARPENTER R J, KOUTOULIS A, et al. Environmental adaptation in stomatal size independent of the effects of genome size [J]. *The New Phytologist*, 2015, 205 (2) : 608–617.
- [30] CARTA A, PERUZZI L. Testing the large genome constraint hypothesis: Plant traits, habitat and climate seasonality in Liliaceae [J]. *The New Phytologist*, 2016, 210 (2) : 709–716.
- [31] BIÉMONT C. Genome size evolution: Within-species variation in genome size [J]. *Heredity*, 2008, 101 (4) : 297–298.
- [32] 张苏炯, 叶碧欢, 陈友吾, 等. 4种黄精属植物的基因组大小比较分析 [J]. *森林与环境学报*, 2022, 42 (2) : 193–198.
- ZHANG S J, YE B H, CHEN Y W, et al. Comparative analysis on genome sizes of four *Polygonatum* species [J]. *Journal of Forest and Environment*, 2022, 42 (2) : 193–198. (in Chinese)
- [33] 石米娟, 程莹寅, 张婉婷, 等. 浅析基因组大小的进化机制 [J]. *科学通报*, 2016, 61 (30) : 3188–3195.
- SHI M J, CHENG Y Y, ZHANG W T, et al. The evolutionary mechanism of genome size [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2016, 61 (30) : 3188–3195. (in Chinese)
- [34] WOOD T E, TAKEBAYASHI N, BARKER M S, et al. The frequency of polyploid speciation in vascular plants [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106 (33) : 13875–13879.
- (责任编辑：黄爱萍)