

胡泉军, 四川大学生命科学学院副教授, 教育部重要人才计划青年项目入选者, 四川大学“双百人才工程”入选者。主要从事植物分子生态学与进化基因组学研究, 以龙胆科、十字花科等植物为主要研究对象, 综合运用基因组学、群体基因组学、转录组学和代谢组学等方法, 研究植物极端环境适应、物种形成与多样化的遗传机制。先后主持国家自然科学基金面上项目、国家自然科学基金青年科学基金项目等。在 PNAS、Cell Research、National Science Review、Molecular Plant 等期刊发表学术论文 20 余篇。

獐牙菜属(*Swertia*) 4 个物种的基因组大小估测

王 爽¹, 李 娜¹, 冯兰迪¹, 焦鹏飞¹, 吴 修¹,
王诗琪¹, 毛一东¹, 胡泉军^{1,2}

(1. 四川大学生命科学学院 教育部生物资源与生态环境重点实验室, 山地植物迁地保护与
资源利用实验室, 成都 610064; 2. 成都植物园, 成都 610083)

摘 要: 龙胆科(Gentianaceae)獐牙菜属(*Swertia*)紫红獐牙菜(*S. punicea*)、川西獐牙菜(*S. mussotii*)、贵州獐牙菜(*S. kouitchensis*)及獐牙菜(*S. bimaculata*)是传统民族药“藏茵陈”的重要基原植物, 富含獐牙菜苦苷等活性成分, 对黄疸型肝炎、胆囊炎等病症具有显著疗效。然而, 相关物种基因组资源的匮乏严重制约了其功能基因挖掘与深度开发利用。本研究以玉米 B73 或辣椒 Zunla-1 作为内参, 采用流式细胞术对上述植物的基因组大小进行初步估测。结果表明, 紫红獐牙菜、川西獐牙菜、贵州獐牙菜及獐牙菜的基因组大小分别为 1.93 Gb、1.86 Gb、1.62 Gb、3.21 Gb。在此基础上, 进一步对獐牙菜(*S. bimaculata*)开展了全基因组调查测序, 过滤后获得约 225.86 Gb 高质量数据, 测序深度约为 69×。基于 K-mer 分析, 估测獐牙菜基因组大小约为 3.29 Gb, 杂合率为 1.22% 左右, 重复序列比例高达 79.9%, 表明其基因组具有较高的杂合度和重复序列含量。本研究结果为獐牙菜属植物的药用资源保护、功能基因组学研究、分子遗传育种以及比较基因组学分析提供了理论支持与必要基础。

关键词: 獐牙菜属; 川西獐牙菜; 紫红獐牙菜; 流式细胞术; 基因组大小

中图分类号: Q943 **文献标志码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.260194

Genome size estimation for four *Swertia* species

WANG Shuang¹, LI Na¹, FENG Landi¹, JIAO Pengfei¹, WU Xiu¹,
WANG Shiqi¹, MAO Yidong¹, HU Quanjun^{1,2}

(1. Key Laboratory of Bio-Resource and Eco-Environment of Ministry of Education, Laboratory for Ex Situ Conservation and Resource Utilization of Mountain Plants, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China; 2. Chengdu Botanical Garden, Chengdu 610083, China)

Abstract: *Swertia punicea*, *S. mussotii*, *S. kouitchensis* and *S. bimaculata* (Gentianaceae) are important source plants of the traditional ethnomedicine "Zangyinchen" and are rich in active compounds such as swertia-

收稿日期: 2026-06-05 修回日期: 2026-07-18 接受日期: 2026-07-20

基金项目: 国家自然科学基金(32571737)

作者简介: 王爽(1998—), 女, 山东人, 博士研究生, 研究方向为植物分子生态学及保护生物学. E-mail: 2023322040075@stu.scu.edu.cn

通信作者: 胡泉军. E-mail: huquanjun@scu.edu.cn

marin. They have been used for jaundice hepatitis, cholecystitis, and related conditions. However, the lack of genomic resources for these species has limited functional gene discovery and further development and use. In this study, the genome sizes of the four species were preliminarily estimated by flow cytometry using maize B73 or pepper Zunla-1 as an internal standard. The genome sizes of *S. punicea*, *S. mussotii*, *S. kouitchensis*, and *S. bimaculata* were estimated to be 1.93, 1.86, 1.62, and 3.21 Gb, respectively. Whole-genome survey sequencing was then conducted for *S. bimaculata*. Approximately 225.86 Gb of high-quality data were obtained after filtering, at a sequencing depth of about $69\times$. Based on *K*-mer analysis, the genome size of *S. bimaculata* was estimated to be about 3.29 Gb, with a heterozygosity rate of about 1.22% and a repetitive sequence content of 79.9%. These results indicate that its genome has high heterozygosity and repetitive sequence content. Basic information was provided for medicinal resource conservation, functional genomics, molecular genetic breeding, and comparative genomic analysis of *Swertia* species.

Keywords: *Swertia*; *S. mussotii*; *S. punicea*; flow cytometry; genome size

藏药“蒂达”,习称“藏茵陈”,是指在肝胆疾病的治疗方面具有显著疗效的常用民族药用植物的统称^[1]。根据《晶珠本草》等书籍记载,其全草入药,与藏红花等共称为“藏药八珍”,成药种类丰富,是八味藏茵陈散、藏茵陈片(胶囊)、藏降脂胶囊、肝泰舒胶囊等多种中成药的主要原料,主要包括龙胆科(Gentianaceae)獐牙菜属、花锚属(*Halenia*)以及虎耳草科(Saxifragaceae)虎耳草属(*Saxifraga*)等类群中的部分药用植物,种类繁多,基原复杂,该类植物的资源开发与利用已成为近年来的研究热点^[1-3]。我国约有40种獐牙菜属植物可供作为“藏茵陈”使用,主要分布于西南山岳及喜马拉雅地区的高寒地带,资源丰富,具有极大的研究价值^[4]。

紫红獐牙菜(*S. punicea*)、川西獐牙菜(*S. mussotii*)、贵州獐牙菜(*S. kouitchensis*)及獐牙菜(*S. bimaculata*)隶属于龙胆科獐牙菜属,前三种为我国特有种,均为一年生草本,全草入药,作为藏茵陈类民族药原植物,主要药用成分为獐牙菜苷、獐牙菜苦苷、龙胆苦苷、齐墩果酸等,在治疗黄疸型肝炎、胆囊炎等病症上疗效显著,被收录于《中华人民共和国药典》(2020版)、《中药志》、《湖北省中药材质量标准》(2018年版)等书籍中^[1, 5-6],具有重要的科研、药用价值及开发应用前景,尤其是川西獐牙菜及紫红獐牙菜,已作为重要藏药进行开发,是目前市场上的两种主要流通品种^[3, 7-8]。

目前,关于四个獐牙菜属物种的研究多集中于形态鉴定与指纹图谱^[5, 9]、繁殖育种^[10-11]、资源调查^[12-13]、基因差异表达^[14]、化学成分及生物活性^[1, 3, 15]等领域,关于叶绿体基因组或转录组信息^[16-17]也有少量报道。如今,基因组资源的缺乏,

限制了獐牙菜属植物关于功能基因挖掘、代谢途径解析等相关领域研究,而开展基因组调查分析以准确估测基因组大小是制定全基因组测序策略的重要参考因素,也是探究生物基因组多样性的前提^[18]。流式细胞术(Flow cytometry)是目前常用的基因组大小测定方法,具有可靠性好、操作简便、快速、灵敏度高、成本低等优点。该技术通过荧光染料与DNA分子的结合,依据荧光强度推算样品的DNA含量,被广泛应用于植物基因组大小的测定^[19]。近年来,随着高通量测序技术的快速发展,全基因组调查测序法(Genomic survey sequencing)同样成为预先了解目标物种基因组大小及复杂性的有效方法之一,目前该方法已被应用于诸多药用植物,如赤苍藤(*Erythrophalum scandens*)^[20]等。

本研究以紫红獐牙菜、川西獐牙菜、贵州獐牙菜及獐牙菜的新鲜叶片为实验材料,利用流式细胞术估测了四个物种的基因组大小。其中,獐牙菜的估测基因组大小明显大于其余三个物种,为独立验证其基因组大小,并进一步评估倍性、杂合率、重复序列比例及潜在组装难度,本研究优先对獐牙菜开展全基因组调查测序及*K*-mer分析。獐牙菜在四个研究物种中分布范围相对较广,并具有一定的化学成分和药理研究基础,因此其核基因组基础信息也可为后续比较基因组学、药用成分生物合成及环境适应研究提供参考。上述工作可以为后续四个物种的全基因组测序、组装及数据分析策略的制定提供理论参考,并为獐牙菜属药用资源开发及利用、分子生药学及药用植物亲缘学领域的研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

用于本研究流式细胞实验或基因组测序的紫红獐牙菜、川西獐牙菜、贵州獐牙菜及獐牙菜野生个体的新鲜嫩叶材料分别采集于中国四川省甘孜藏族自治州泸定县二郎山(29.853°N, 102.266°E)、中国四川省阿坝藏族羌族自治州小金县四姑

娘山景区双桥沟(30.991°N, 102.775°E)、中国湖北省神农架林区花椒屋场(31.654°N, 110.413°E)、中国湖北省神农架林区桃花谷(31.660°N, 110.411°E)(图1)。物种鉴定依据《中国植物志》及相关分类学文献的文字描述,并结合中国数字植物标本馆(CVH)及中国植物图像库(PPBC)的标本图像和活体照片进行比对确认。



图1 形态特征

Fig. 1 The morphological characteristics

1.2 流式细胞实验及基因组大小估算

参照张晋丹等^[21]近期优化的方法进行样品制备及上机测试。分别采集紫红獐牙菜、川西獐牙菜、贵州獐牙菜及獐牙菜植株约1~2 cm²新鲜幼嫩的叶片,加入250 μL PVPK12-mGB₂细胞核提取液,经切碎、过滤(30 μm 滤网)后,加入碘化丙啶(Propidium Iodide, PI)染液及核糖核酸酶(RNase)溶液(终质量浓度50 μg·mL⁻¹),室温避光染色15 min,经LSRFortessa型流式细胞仪上机测试,每个样品测试5000个核,用流式细胞仪Cell Quest Pro软件采集数据,每个物种取1个个体,进行3次技术重复。其中,选用二倍体玉米品种“B73”(Zea mays)作为贵州獐牙菜及獐牙菜样品的内参,其染色体水平单倍体基因组大小为2.106 Gb^[22];使用辣椒品种“Zunla-1”(Capsicum annuum)作为紫红獐牙菜及川西獐牙菜的内参,其T2T水平单倍体基因组大小为3.08 Gb^[23]。通过以下公式估算基因组大小:物种基因组大小=待测样品荧光强度/内参样品荧光强度×内参物种基因组大小^[18]。最终使用BD FACSTSM Software v1.0.0.650处理数据并统计绘图。

1.3 獐牙菜基因组测序及K-mer分析

采集獐牙菜植株新鲜叶片,经去离子水多次冲洗及无尘纸擦干表面水分后,置于冻存管放在

液氮中保存,由贝瑞基因(北京)采用CTAB法进行DNA提取及质量检测,构建小片段文库,使用BGI T7平台进行测序获得的原始下机数据,经Fastp v1.0.1^[24](-q 22 -u 10 -l 150)过滤。使用Seqkit^[25]从过滤后的高质量数据中随机抽取的100 000条reads(两个双端测序文件各50 000条),通过BLAST v2.12.0+(-evalue 1e-5)^[26]与NCBI核苷酸数据库(NT库)进行比对,评估样品是否存在污染。结合FASTK v1.1.0(-t4 -k21)及Smudgeplot v0.5.4^[27](hetmers -L 12)估测獐牙菜基因组倍性。随后,使用Jellyfish v2.3.0^[28](histo -h 50000)及Genomescope v2.0^[27](-p 2 -k 21)进行K-mer分析,估算獐牙菜的基因组大小、杂合率等特征信息。原始测序数据已上传NCBI数据库(Bioproject:PRJNA1192075)。

2 结果与分析

2.1 流式细胞实验估测基因组大小

为了尽可能消除植物细胞次生代谢物对DNA与荧光染料结合的影响,提高细胞核提取效果,选用近期优化的PVPK12-mGB₂细胞核提取液进行流式细胞实验。实验测定结果表明,四种獐牙菜属植物样品(P1)与内参样品(P2)对应的主峰区分度良好(图2),峰图结果清晰,无杂峰,颗粒聚集度

良好,变异系数(CV 值)均在 5% 以下(表 1),实验结果可靠准确。根据待测样品与内参物种相对荧光强度的比值,估算紫红獐牙菜、川西獐牙菜、贵州獐牙菜及獐牙菜的单倍体基因组大小(1C)分别为 (1.928±0.014) Gb、(1.861±0.024) Gb、(1.623±0.009) Gb、(3.208±0.013) Gb(表 1)。

2.2 獐牙菜基因组测序及 K-mer 分析

采用华大基因 BGI T7 测序平台对獐牙菜基因组进行高通量双端测序(PE =150 bp),原始下

机数据共 242.239 Gb,经过滤后,获得 225.860 Gb (~69×) 高质量数据用于后续分析。其中, Q20 及 Q30 比例分别为 99.317% 及 97.020%,GC 含量约为 38.440%,在 25%~65% 的正常范围内^[20],未出现明显的测序偏向性,测序质量良好。倍性分析结果支持獐牙菜为二倍体(图 3a),21-mer 分析估测獐牙菜基因组大小约为 3.294 Gb,杂合率约为 1.22%,重复序列占比约为 79.9% (图 3b)。

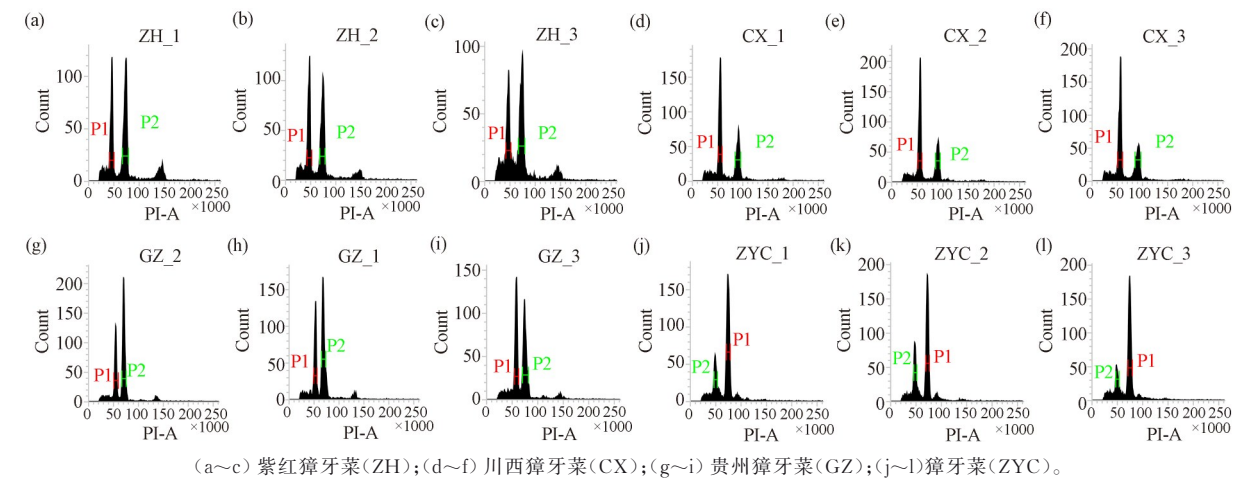


图 2 流式细胞分析结果
Fig. 2 Flow cytometry analysis results

表 1 紫红獐牙菜、川西獐牙菜、贵州獐牙菜、獐牙菜基因组大小流式测定结果

Tab. 1 Flow cytometric determination of genome size of <i>S. punicea</i> , <i>S. mussotii</i> , <i>S. kouitchensis</i> and <i>S. bimaculata</i>												
	紫红獐牙菜			川西獐牙菜			贵州獐牙菜			獐牙菜		
	ZH_1	ZH_2	ZH_3	CX_1	CX_2	CX_3	GZ_1	GZ_2	GZ_3	ZYC_1	ZYC_2	ZYC_3
内参峰值	72 480	73 813	72 532	91 197	89 715	91 264	67 769	70 222	74 191	48 656	47 052	48 644
内参变异系数/%	3.17	2.88	3.36	1.24	2.15	2.41	2.77	2.39	2.50	3.66	3.51	3.80
内参基因组大小/Gb	3.08	3.08	3.08	3.08	3.08	3.08	2.106	2.106	2.106	2.106	2.106	2.106
待测样品峰值	45 180	46 029	45 769	54 262	54 612	55 516	52 067	53 936	57 522	73 936	72 004	73 954
待测样品变异系数/%	3.34	3.86	4.09	3.16	2.79	2.03	3.10	2.83	2.67	2.72	2.58	3.04
基因组大小/Gb	1.920	1.921	1.944	1.833	1.875	1.874	1.618	1.618	1.633	3.200	3.223	3.201
基因组大小均值/Gb	1.928±0.014			1.861±0.024			1.623±0.009			3.208±0.013		

本文采样过程中已尽可能的规避可能的样品污染,为了进一步验证测序文库中是否存在污染,随机抽取过滤后的 reads,与 NT 库进行比对,由于龙胆科物种基因组或基因序列报道较少,仅有 9.288% 的序列比对到 NT 数据库中,其中比对到龙胆科的序列占比为 1.942%(包括獐牙菜(*S. bimaculata*; 0.518%),洋桔梗(*Eustoma grandiflorum*; 0.437%),康定獐牙菜(*S. souliei*; 0.265%),

卵萼花锚(*Halenia elliptica*; 0.122%),粗茎秦艽(*Gentiana crassicaulis*; 0.091%),贵州獐牙菜(*S. kouitchensis*; 0.042%)),其次是豆科(Fabaceae; 0.739%)、唇形科(Lamiaceae; 0.663%)、列当科(Orobanchaceae; 0.550%)、锦葵科(Malvaceae; 0.416%)、菊科(Asteraceae; 0.402%),上述类群均为核心双子叶植物(Core Eudicots),分属菊类(Asterids)与蔷薇类(Rosids)。总体而言,序列大

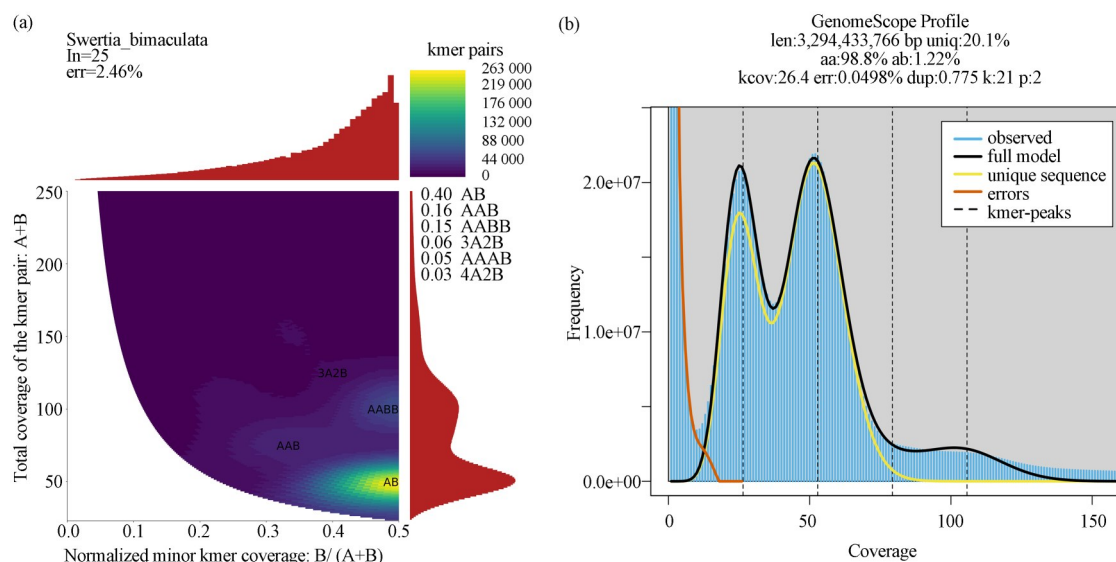


图 3 獐牙菜基因组倍性估计(a)及 21-mer 深度分布曲线(b)

Fig. 3 The ploidy estimation (a) and distribution of 21-mer depth (b) of *S. bimaculata*

多比对到獐牙菜近缘物种上,没有出现亲缘关系较远但高比例比对的异常物种结果^[20]。

3 讨 论

流式细胞术可对悬浮单细胞实现快速、高通量分析,对植物分子生物学的发展起到了重要的推动作用^[19]。本研究开展流式细胞实验过程中,选用的荧光染料为目前普遍使用的碘化丙啶(PI)^[29],细胞核提取液选用近期张晋丹等优化的PVPK12-mGB₂^[21],以降低植物细胞中次生代谢物的干扰,获得高质量的细胞核悬浮液提高流式实验结果的准确性和可靠性。

作为真核生物遗传信息研究的基础数据,基因组大小具有物种相对特异性和稳定性^[19, 29]。与植物 DNA C 值数据库(<https://cvalues.science.kew.org>)收录的龙胆科 6 属 15 种植物的基因组大小数据以及其他已报道的龙胆科近缘物种的基因组相比较,紫红獐牙菜(1.928 ± 0.014) Gb、川西獐牙菜(1.861 ± 0.024) Gb 及贵州獐牙菜(1.623 ± 0.009) Gb 的基因组大小与秦艽(*Gentiana macrophylla*) (基因组 1.79 Gb)^[30]、洋桔梗(*Eustoma grandiflorum*) (基因组 1.71 Gb)^[31]最为相近,獐牙菜基因组大小(流式细胞实验结果(3.208 ± 0.013) Gb, K-mer 分析结果 3.294 Gb)显著高于上述物种,但低于欧洲秦艽(*Gentiana cruciata*) (基因组估测 4.328 Gb)^[32]。需要强调的是,本文报道的基因组大小是基于单个体的初步估

测值,更准确的物种代表性基因组大小有待进一步采集多个居群、多个个体进行验证。

现有研究支持獐牙菜属物种的杂交起源^[16],并且物种间存在较明显的染色体数目变异,如祁连獐牙菜(*S. przewalskii*)染色体数目为 $2n=24$ ^[33],而抱茎獐牙菜为 $2n=20$ 、二叶獐牙菜为 $2n=28$ ^[34]。此外,已有的系统发育进化分析支持紫红獐牙菜、川西獐牙菜与贵州獐牙菜亲缘关系较近^[17],且紫红獐牙菜($2n=26$)与川西獐牙菜仅在 2.2 Mya 之前发生分化^[16, 35]。本研究的结果表明紫红獐牙菜(1.928 ± 0.014) Gb 与川西獐牙菜(1.861 ± 0.024) Gb 的基因组大小更为相近,与两者具有更近的亲缘关系相一致,并且推测贵州獐牙菜(1.623 ± 0.009) Gb 与两者基因组大小的明显差异可能与进化过程中染色体数目的变异或重复序列的扩张相关。这需要进一步开展染色体核型分析实验或基因组测序组装进行验证。

流式细胞实验及 K-mer 分析获得的獐牙菜基因组大小相近但略有差异,两种方法相互印证了估算结果的可靠性。相似的现象在其他植物物种中亦有报道,如松雀茶(*Aspalathus linearis*)^[36]、银缕梅(*Parrotia subaequalis*)^[18]、陕西羽叶报春(*Primula filchnerae*)^[37]等。造成这种差异的原因可能来自两方面:(1)流式细胞估算结果与内参物种基因组大小的准确性密切相关,内参物种基因组本身的组装质量可能引入误差;同时,植物内源性次生代谢产物可能干扰荧光染料与 DNA 分子

的结合,内参物种与待测物种次生代谢物的差异可能导致两者染色效率存在细微偏差,从而影响荧光强度读数的准确性;(2)*K*-mer分析结果则受到分析软件及参数设置等因素的影响^[36,37]。此外,本研究估测的獐牙菜基因组大小与先前报道的分布于印度的獐牙菜的流式测定结果(4.804 Gb)^[38]有所差异,推测可能与材料来源、样品前处理、内参选择等多种因素有关。獐牙菜倍性估测结果与前人核型分析结果相一致,即獐牙菜为二倍体物种($2n=26$)^[38]。由于目前獐牙菜尚未见明确的近期染色体加倍报道,且*K*-mer分析显示其基因组中重复序列占比高达79.9%,提示重复序列的积累及扩增可能是导致其基因组较大的重要因素之一。此外,其高杂合率(约1.22%)的特征可能反映了历史上种间杂交对杂合度和基因组扩张的潜在影响。上述推测有待通过全基因组组装、重复序列年龄分布分析及近缘物种比较基因组学进一步验证。

总之,獐牙菜属物种基因组大小的差异可能受到重复序列(尤其是长末端重复反转录转座子)扩张与清除、古多倍化及后续二倍化等基因组演化过程的影响。生活史特征(如一年生与多年生)也可能与基因组大小存在关联,世代时间、有效群体大小及重复序列清除效率上的差异或可间接影响基因组扩张速率。此外,次生代谢物含量不仅取决于相关生物合成基因的存在与拷贝数,还受到基因表达调控、组织与发育阶段及环境条件等因素的影响,因此现有证据尚不能支持基因组大小与獐牙菜苦苣、龙胆苦苣等有效药用成分含量之间存在直接关联。目前该属已发表的高质量基因组数量有限,未来需扩大属内物种取样,整合系统发育、重复序列分析、生物合成基因簇及标准化代谢组数据,以系统评估这些潜在联系。

参考文献:

- [1] Yang X Q, Guo Y Q, Xia C L. Quantitative HPLC analysis of main effective constituents and integrated chemical quality index (ICQI) in Dida [J]. *China J Chin Mater Med*, 2016, 41(9): 1685-1692. [杨晓泉, 郭永强, 夏从龙. 藏药“蒂达”基原植物中主要有效成分的HPLC定量分析及其化学品质综合指数[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(9): 1685-1692.]
- [2] Yang Q S, Zhao Y, Zhang H H, *et al.* Geographic distribution and utilization of the Gentianaceae endemic Zangyinchen medicinal plant in northwest Yunnan [J]. *J Yunnan Univ Natl Nat Sci Ed*, 2013, 22(3): 176-181. [杨青松, 赵艳, 张海浩, 等. 龙胆科藏茵陈类民族药原植物在滇西北的地理分布与资源利用[J]. *云南民族大学学报: 自然科学版*, 2013, 22(3): 176-181.]
- [3] Guo Y Q, Shen L, Yang X Q, *et al.* Comparative study on six kinds of medicinal plants in Tibetan medicine “dida” on preventing chronic hepatic injury [J]. *J Dali Univ*, 2017, 2(4): 16-19. [郭永强, 沈磊, 杨晓泉, 等. 藏药“蒂达”6种原植物抗慢性肝损伤作用比较研究[J]. *大理大学学报*, 2017, 2(4): 16-19.]
- [4] Li D M, Xiao H, Liu G M. Advances in studies on chemical compositions and their pharmacological effect in the plants of *Swertia* [J]. *J Dali Univ*, 2007, 6(2): 77-80. [李冬梅, 肖怀, 刘光明. 獐牙菜属植物研究进展[J]. *大理学院学报*, 2007, 6(2): 77-80.]
- [5] Lu P, Zhang F, Xiao L, *et al.* Study on the Pharmacognosic identification for the six medicinal herbas from *Swertia* [J]. *J Li Shizhen Tradit Chin Med*, 2023, 34(2): 360-363. [吕盼, 张飞, 肖凌, 等. 獐牙菜及同属5种常用药材的生药学鉴别研究[J]. *时珍国医国药*, 2023, 34(2): 360-363.]
- [6] Xu P, Pan Y Q, Yao Z S. Medicinal plant resources of Gentianaceae in Zhejiang province [J]. *Subtropical Plant Science*, 2008, 37(04): 42-45. [徐攀, 潘亚琴, 姚振生. 浙江省龙胆科药用植物资源[J]. *亚热带植物科学*, 2008, 37(04): 42-45.]
- [7] Wang W J, Bai Y D, Tao J. Research progress on medicinal plants of *Swertia* genus in Tibetan medicine [J]. *Qinghai Sci Technol*, 2011, 18(1): 18-20. [王伟晶, 白亚东, 陶劲. 藏药獐牙菜属植物的研究进展[J]. *青海科技*, 2011, 18(1): 18-20.]
- [8] Tang L, Jin Z N, Men M J, *et al.* Recent progress and utilization of Tibetan medicine Zangyinchen [J]. *J Cent Univ Natl Nat Sci Ed*, 2007, 16(2): 176-178. [唐丽, 金振南, 门美佳, 等. 藏药藏茵陈的研究进展及开发利用[J]. *中央民族大学学报: 自然科学版*, 2007, 16(2): 176-178.]
- [9] Di Z, Zhang J, Zhao Y L, *et al.* UPLC fingerprint for three species of folk medicine in *Swertia* L. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2017, 48(9): 1860-1865. [狄准, 张霁, 赵艳丽, 等. 3种獐牙菜属民族药UPLC指纹图谱研究[J]. *中草药*, 2017, 48(9): 1860-1865.]
- [10] Yang L N, He T, Wang H T. Rapid propagation of

- Tibetan medicinal plant *Swertia mussotii* franch [J]. North Hortic, 2013(13): 141-145. [杨莉娜, 何涛, 王海涛. 藏药植物川西獐牙菜快速繁殖技术研究[J]. 北方园艺, 2013(13): 141-145.]
- [11] Long H, Huang H Y. The seed germination of *Swertia bimaculata* [J]. Bull Bot Res, 2008, 28(3): 347-352. [龙华, 黄衡宇. 獐牙菜种子萌发的研究[J]. 植物研究, 2008, 28(3): 347-352.]
- [12] Zhang L S, Xia C L, Liu G M. Investigation on medicinal plant resources of *Swertia* in Yunnan Province [J]. China J Chin Mater Med, 2009, 34(6): 674-676. [张兰胜, 夏从龙, 刘光明. 云南省獐牙菜属药用植物资源调查[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(6): 674-676.]
- [13] Jiang H, Zhang H, Peng H C, *et al.* The geographic distribution and plants characteristics of the Tibetan medicine Dida's original plants in Sichuan [J]. West China J Pharm Sci, 2008, 23(1): 81-83. [姜海, 张浩, 彭焕超, 等. 藏药蒂达原植物在四川的地理分布与植物特征[J]. 华西药学杂志, 2008, 23(1): 81-83.]
- [14] Zhang T, Wang M M, Zhou X H, *et al.* Analysis of differential expression in the tissues of *Swertia punicea* based on comparative transcriptomics [J]. Mol Plant Breed, 2025, 23(14): 4637-4644. [张婷, 王苗苗, 周旭红, 等. 基于比较转录组的紫红獐牙菜组织差异表达分析[J]. 分子植物育种, 2025, 23(14): 4637-4644.]
- [15] Cao T W, Geng C A, Ma Y B, *et al.* Chemical constituents of *Swertia mussotii* and their anti-hepatitis B virus activity [J]. Fitoterapia, 2015, 102: 15-22.
- [16] Chen C, Ruhfel B R, Li J, *et al.* Phylotranscriptomics of Swertiinae (Gentianaceae) reveals that key floral traits are not phylogenetically correlated [J]. J Integr Plant Biol, 2023, 65(6): 1490-1504.
- [17] Du Q, Li J, Wang L, *et al.* Complete chloroplast genomes of two medicinal *Swertia* species: the comparative evolutionary analysis of *Swertia* genus in the Gentianaceae family [J]. Planta, 2022, 256(4): 73.
- [18] Zhang Y Y, An Y, Lin F, *et al.* Estimation of genome size of *Parrotia* C. A. Mey. by flow cytometry and K-mer analysis [J]. J Plant Genet Resour, 2021, 22(2): 561-570. [张云燕, 安宇, 林峰, 等. 基于流式细胞术和 K-mer 分析的银缕梅属 (*Parrotia* C. A. Mey.) 植物基因组大小测定[J]. 植物遗传资源学报, 2021, 22(2): 561-570.]
- [19] Qi Y R, Wang Y P, Hao X L, *et al.* DNA flow cytometry and its application in the detection of plant genome size and ploidy [J]. Mol Plant Breed, 2022, 20(7): 2279-2285. [齐嫣然, 王英平, 郝小丽, 等. DNA 流式细胞术及其在植物基因组大小与倍性检测中的应用[J]. 分子植物育种, 2022, 20(7): 2279-2285.]
- [20] Huang S Y, Zhang S W, Yang T W, *et al.* Genome size estimates of medicinal and edible plant *Erythropalum scandens* based on flow cytometry and genome survey [J]. Mol Plant Breed, 2023, 21(16): 5281-5288. [黄诗宇, 张尚文, 杨天为, 等. 基于流式细胞术和基因组 Survey 测定药食同源植物赤苍藤的基因组大小[J]. 分子植物育种, 2023, 21(16): 5281-5288.]
- [21] Zhang J D, Feng M. A plant sample optimal pretreatment for flow cytometric analysis [J]. Bull Bot, 2023, 58(2): 285-297. [张晋丹, 冯旻. 一种提升流式细胞术分析效果的前处理方法[J]. 植物学报, 2023, 58(2): 285-297.]
- [22] Jiao Y, Peluso P, Shi J, *et al.* Improved maize reference genome with single-molecule technologies [J]. Nature, 2017, 546(7659): 524-527.
- [23] Zhang K, Wang X, Chen S, *et al.* The gap-free assembly of pepper genome reveals transposable-element-driven expansion and rapid evolution of pericentromeres [J]. Plant Commun, 2025, 6(2): 101177.
- [24] Chen S. Fastp 1.0: an ultra-fast all-round tool for FASTQ data quality control and preprocessing [J]. iMeta, 2025, 4(5): e70078.
- [25] Shen W, Le S, Li Y, *et al.* SeqKit: a cross-platform and ultrafast toolkit for FASTA/Q file manipulation [J]. PLoS One, 2016, 11(10): e0163962.
- [26] Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, *et al.* BLAST+: Architecture and applications [J]. BMC Bioinform, 2009, 10: 421.
- [27] Ranallo-Benavidez T R, Jaron K S, Schatz M C. GenomeScope 2.0 and Smudgeplot for reference-free profiling of polyploid genomes [J]. Nat Commun, 2020, 11: 1432.
- [28] Marçais G, Kingsford C. A fast, lock-free approach for efficient parallel counting of occurrences of k-mers [J]. Bioinformatics, 2011, 27(6): 764-770.
- [29] Jin L, Xu W W, Li X B, *et al.* Application of DNA flow cytometry to plant genetics and breeding [J]. Chin J Cell Biol, 2016, 38(2): 225-234. [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.]

- [30] Zhou T, Bai G, Hu Y, *et al.* *De novo* genome assembly of the medicinal plant *Gentiana macrophylla* provides insights into the genomic evolution and biosynthesis of iridoids [J]. *DNA Res*, 2022, 29(6): dsac034.
- [31] Liang Y, Li F, Gao Q, *et al.* The genome of *Eustoma grandiflorum* reveals the whole-genome triplication event contributing to ornamental traits in cultivated lisianthus [J]. *Plant Biotechnol J*, 2022, 20(10): 1856-1858.
- [32] Mikula A, Olas M, Sliwinska E, *et al.* Cryopreservation by encapsulation of *Gentiana* spp. cell suspensions maintains regrowth, embryogenic competence and DNA content [J]. *Cryo letters*, 2008, 29(5): 409-418.
- [33] Ma X L, Liu R J, Cao Q, *et al.* Chromosome atlas of three species from the Qinghai-Tibet Plateau [J]. *Journal of Biology*, 2022, 39(6): 73-76. [马小磊, 刘瑞娟, 曹倩, 等. 青藏高原3种特有植物的核型报道 [J]. *生物学杂志*, 2022, 39(6): 73-76.]
- [34] He T N, Wang W, Xue C Y. A karyomorphological study on 5 species of *Swertia* (Gentianaceae) [J]. *Acta Bot Boreali Occidentalia Sin*, 1999, 19(3): 546-551. [何廷农, 王伟, 薛春迎. 獐牙菜属5种植物的核型研究 [J]. *西北植物学报*, 1999, 19(3): 546-551.]
- [35] Ho T N, Liu S W. A worldwide monograph of *Swertia* and its allies [M]. Beijing: Science Press, 2015.
- [36] Mgwaty Y, Stander A A, Ferreira S, *et al.* Rooibos (*Aspalathus linearis*) genome size estimation using flow cytometry and K-mer analyses [J]. *Plants*, 2020, 9(2): 270.
- [37] Jia Y, Zhang L, Wang F W, *et al.* Analysis of genome size and characteristics of the endangered *Primula filchnerae* [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2024-09-11. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240910.1912.011>. [贾芸, 张蕾, 王峰伟, 等. 珍稀濒危植物陕西羽叶报春基因组大小与特征分析 [J]. *分子植物育种*, 2024-09-11. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20240910.1912.011>.]
- [38] Than M M M, Samaddar T, Bhowmick B K, *et al.* Fluorescent chromosome banding and genome size estimation in three species of *Swertia* [J]. *Cytologia*, 2017, 82(5): 513-520.

(责任编辑:白林含)