

文章编号:1001—7380(2024)04—0001—07

饭甗青冈叶绿体基因组及特征分析

陆 叶^{1*}, 叶代全², 翁禹豪¹, 郑雪燕², 李 勇², 刘 鹏³

(1. 南京林业大学林木遗传育种全国重点实验室、南方现代林业协同创新中心、南京林业大学林草学院, 江苏 南京 210037;
2. 福建省洋口林场国家杉木种质资源库, 福建 南平 353200; 3. 福建金硕生物科技有限公司, 福建 三明 353300)

摘要:饭甗青冈(*Cyclobalanopsis fleuryi*)是中国及越南的常绿树种,具有重要的经济和药用价值。该研究以饭甗青冈叶片为材料,通过Illumina HiSeq X ten高通量测序平台,对其叶绿体基因组进行测序、组装和注释。结果表明,饭甗青冈叶绿体全基因组具有典型的四分体结构,全长为160 796 bp,共注释129个基因,其中包括83个蛋白编码基因、38个tRNA基因和8个rRNA基因。密码子偏好性分析表明饭甗青冈的密码子使用模式偏向以A或U结尾,亮氨酸(Leu)密码子使用频率最高,半胱氨酸(Cys)使用率最低。重复序列分析共检测到292个SSR位点,其中单碱基重复的SSR位点最多,有183个,无六碱基重复。壳斗科叶绿体基因组比较分析显示,反向重复区的位置和边界区域的基因分布无明显的收缩与扩张现象。系统发育分析表明,饭甗青冈与云山青冈(*C. sessilifolia*)、小叶青冈(*C. myrsinifolia*)亲缘关系密切。该研究为饭甗青冈的分子标记、物种鉴定、遗传多样性分析等研究提供了基础。

关键词:饭甗青冈; 叶绿体基因组; 密码子偏好性; 壳斗科; 系统发育分析

中图分类号:Q786;S792.16 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2024.04.001

Chloroplast genome and characteristics analysis of *Cyclobalanopsis fleuryi*

Lu Ye¹, Ye Daiquan², WengYuhao¹, Zheng Xueyan², Li Yong², Liu Peng³

(1. Key Laboratory of Forest Genetics & Biotechnology of Ministry of Education of China, Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China;
2. National Germplasm Bank of Chinese fir at Fujian Yangkou Forest Farm, Nanping 353200, China;
3. Fujian Jinshuo Biotechnology Co., Ltd., Sanming 253300, China)

Abstract: *Cyclobalanopsis fleuryi* is an evergreen tree in south China and Vietnam with high economic and pharmaceutical values. In this study, the chloroplast genome of *C. fleuryi* was sequenced, assembled, and annotated using Illumina HiSeq X ten sequence platform. The results showed that the *C. fleuryi* chloroplast genome had a typical tetrad structure, with a total length of 160 796 bp, which contained 129 genes, classified into 83 protein-coding genes, 38 tRNA genes and 8 rRNA genes. Codon preference analysis revealed that the codon with A or U endings were preferred, with the highest frequency of Leu and the lowest frequency of Cys. In the chloroplast genomes, 292 SSR loci were identified, with the highest number of single nucleotide repeats (183) and no hexanucleotide repeats. Comparison of the chloroplast genome among Fagaceae family showed that there were no obvious expansion or contraction at IR boundaries. The results of phylogenetic analysis indicated that *C. fleuryi* was closely related to *C. sessilifolia* and *C. myrsinifolia*. This study provides useful resources for molecular markers development, species identification, and genetic diversity analysis of *C. fleuryi*.

Key words: *Cyclobalanopsis fleuryi*; Chloroplast genome; Codon preference; Fagaceae family; Phylogenetic analysis

叶绿体是植物细胞中一种重要的细胞器,是光合作用的场所,能够利用太阳能转换为化学能,并释放氧气^[1]。叶绿体具有独立的遗传信息,叶绿体

基因组编码许多参与光合作用和次级代谢过程的关键蛋白质^[2],在植物光合作用、发育过程和抵御胁迫中起着重要的作用^[3]。叶绿体基因组结构单

收稿日期:2024-06-04;修回日期:2024-06-28

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目“耐盐型杂交鹅掌楸新品种培育及推广示范”(SCX(23)3628)

作者简介:陆叶(1982-),女,江苏镇江人,硕士,实验师。主要从事林木遗传育种研究。E-mail:luye@njfu.edu.cn

一旦保守,大多是环状四分体结构,包括 1 个大单拷贝区 LSC (Large single copy)、1 个小单拷贝区 SSC (Small single copy)、2 个反向重复区 IRa 和 IRb (Inverted repeats, IRs)^[4]。随着高通量测序技术的发展,日益庞大的叶绿体基因组数据为研究生物多样性、系统发育关系和适应性进化等提供了有力的工具。

饭甌青冈 (*Cyclobalanopsis fleuryi*) 是壳斗科 (Fagaceae) 栎属 (*Quercus*) 青冈亚属植物,主要分布于中国及越南。饭甌青冈木材硬度较高,是重要的用材树种^[5]。其种子富含多酚,是一种天然的抗氧化剂,在医药、化妆品等行业的开发和应用中具有广阔的前景^[6]。此外,饭甌青冈终年常绿、树形优美,具有较高的观赏价值,是园林绿化的理想树种。目前,由于缺乏基因组信息,关于饭甌青冈的研究还十分有限,主要集中在育苗技术^[7]、化学成分^[8]、种群分布^[9-10]等方面,对于其叶绿体基因组的研究还未见报道。

本研究通过 Illumina HiSeq X ten 高通量测序平台,对饭甌青冈的叶绿体基因组进行测序、组装和注释,对其基因功能进行分类;并且进行密码子偏好分析,简单重复序列分析;与多个壳斗科物种进行叶绿体比较基因组分析;构建系统发育树,对饭甌青冈与其近缘物种的遗传关系进行分析,为饭甌青冈的物种鉴定、系统发育和资源保护提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究试验材料为饭甌青冈的新鲜叶片,于 2021 年 6 月采集于福建省洋口国有林场 (117.30—118.14°E, 26.39—27.12°N),迅速用无菌水冲洗并使用液氮速冻,带回实验室进行后续的 DNA 提取、测序和分析工作。剩余试验样本保存在南京林业大学林木遗传育种全国重点实验室 (样本编号:PH_FZQG)。

1.2 测序与组装

使用 CTAB 法提取饭甌青冈叶片的 DNA 样本,溶解在双蒸水中。1% 琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop 检测 DNA 的完整性与纯度,电泳条带完整没有弥散,OD₂₆₀/OD₂₈₀ 在 1.8 左右符合标准。使用 Qubit 进行定量,然后通过 Covaris 超声波破碎仪随机打断并按照标准流程构建文库。使用 PE150 测序策略

在 Illumina HiSeq X ten 平台上进行测序,获得了 6.2 GB 的原始数据。通过 SAMtools v0.1.19^[11] 和 Fastp v0.23.0^[12] 过滤后获得了约 5.39 GB 的 clean data。以上步骤均由南京诺禾致源生物科技有限公司完成。用软件 Velvet v1.2.10^[13] 完成叶绿体基因组的组装。

1.3 序列的注释与基本分析

依据赤栎 (*Quercus acuta*, NC_054352.1)、赤皮青冈 (*C. gilva*, NC_049876.1)、青冈 (*C. lauca*, NC_036930.1) 3 个已公布的叶绿体基因组数据作为参考,使用 Geneious Prime v2021.1.1 和 tRNA SCAN-SE v2.0^[14] 对组装好的叶绿体基因组数据进行初步注释。最后手动对注释结果进行完全校正,并上传至 GenBank (No. MZ502291.1)。用在线软件 OGDRAW v1.3.1 (<https://chlorobox.mpimp-goelm.mpg.de/OGDraw.html>) 进行饭甌青冈叶绿体基因组图谱的绘制。

1.4 密码子偏好性和重复序列分析

用 CodonW v1.4.2 进行 RSCU (Relative Synonymous Codon Usage, 相对同义密码子使用度) 密码子偏好性分析。用 MISA v1.0 对微卫星序列进行识别和定位,并统计重复次数在 8 次及以上的单核苷酸位点,重复在 5 次及以上的二核苷酸位点,重复 3 次及以上的二至六核苷酸位点。

1.5 叶绿体基因组比较分析

选取饭甌青冈及云山青冈 (*C. sessilifolia*)、细叶青冈 (*C. ciliaris*)、川滇高山栎 (*Quercus aquifolioides*)、锥连栎 (*Q. franchetii*)、栗 (*Castanea mollissima*)、茅栗 (*C. seguinii*)、栲 (*Castanopsis fargesii*) 和苦槠 (*C. sclerophylla*) 7 种壳斗科的叶绿体基因组序列,使用在线网站 IRscope (<https://irscope.shinyapps.io/irapp/>) 进行反向重复区边界比较分析。使用在线软件 mVista (<https://genome.lbl.gov/vista/mvista/submit.shtml>) 进行叶绿体基因组比较分析。

1.6 系统发育分析

从 NCBI 上下载了 39 个已报道的壳斗科物种和银杏 (*Ginkgo biloba*) 的叶绿体基因组序列,以银杏科 (Ginkgoaceae) 植物银杏为外类群及饭甌青冈一起用 Clustal Omega^[15] 进行多重比对,并进一步使用 MEGA 7^[16] 构建系统发生树。采用最大似然 (ML) 法,1 000 次重复的 bootstrap 检验。

2 结果与分析

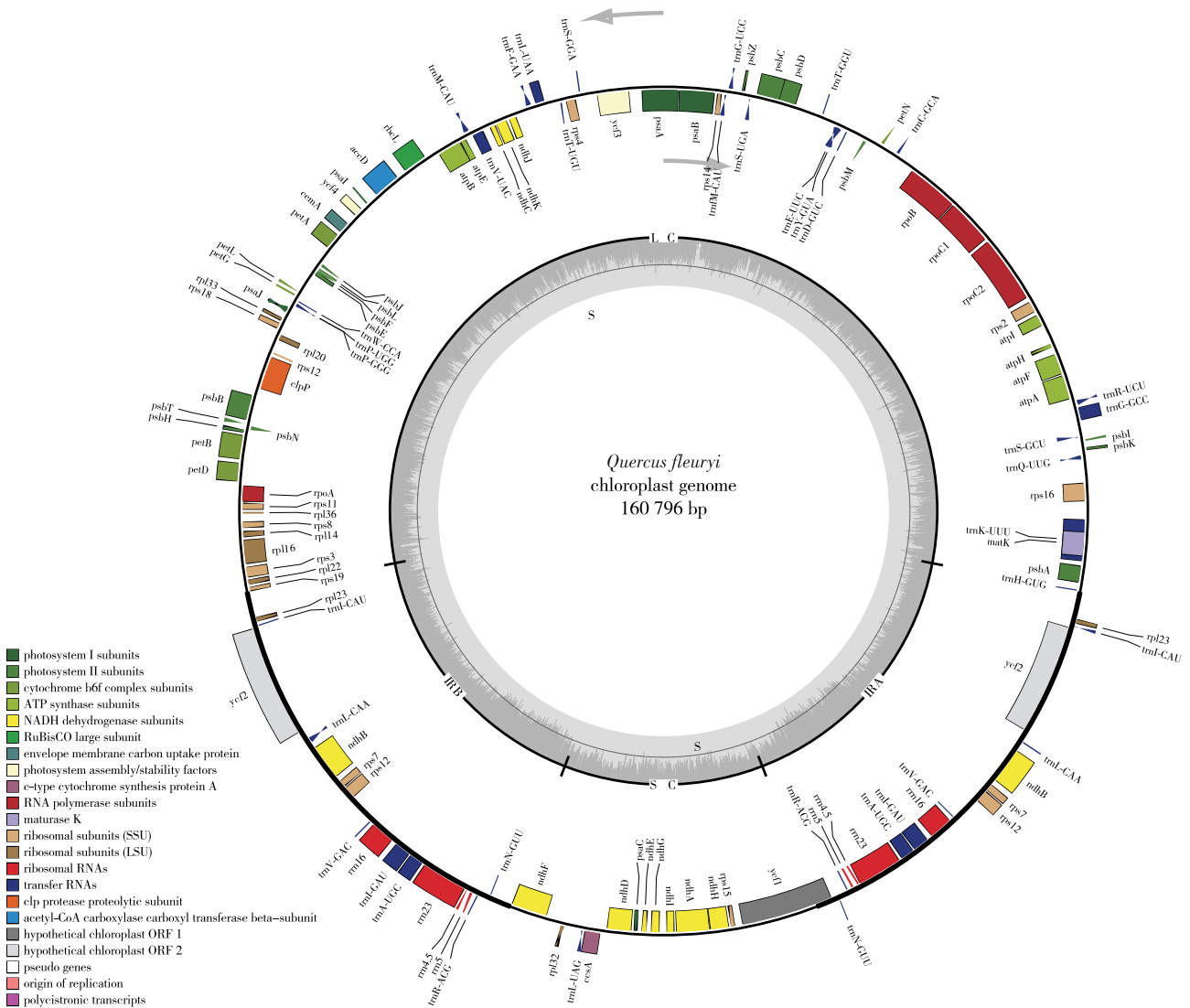
2.1 叶绿体基因组的基本特征

用饭甌青冈的新鲜叶片提取 DNA 进行叶绿体基因组测序,获得了大约 5.39 GB 的可用数据进行组装。饭甌青冈的叶绿体基因组长度为 160 796 bp。与大多数被子植物的叶绿体基因组结构一致,饭甌青冈叶绿体基因组是双链环状分子,典型的四分体结构。其中大单拷贝区长度为 90 233 bp,小单拷贝区长度为 18 879 bp,由 2 个 25 842 bp 的反向重复区隔开(如图 1)。饭甌青冈叶绿体基因组的总 GC 含量约为 36.9%,其中反向重复区的 GC 含量最

高,为 42.8%,大单拷贝区的 GC 含量为 39.7%,小单拷贝区的 GC 含量为 31.1%。

2.2 饭甌青冈叶绿体基因组功能及分类

饭甌青冈叶绿体基因组共注释得到 129 个基因,其中包括 83 个蛋白质编码基因、38 个 tRNA 基因和 8 个 rRNA 基因。根据生物学功能,83 个蛋白质编码基因可分为 4 大类型,分别为光合作用基因 45 个,自我复制基因 27 个,其他编码基因 4 个,未知功能基因 7 个(见表 1)。所有 rRNA 基因都有 2 个拷贝,NADH-脱氢酶亚基基因 *ndhB*,核糖体大小亚基 *rpl23*,*rps7*,*rps12*,未知功能基因 *ycf2* 和 *ycf15* 都有 2 个拷贝。



注:内侧基因的转录方向为顺时针,外侧基因的转录方向为逆时针;基因按照功能分类进行颜色编码,基因功能的分类显示在左下角;从中心向外,第一个轨道是基因组的 GC 含量;第二条轨道是大单拷贝区域(LSC),小单拷贝区域(SSC)和反向重复区(IRs);最外侧轨道是基因显示

图 1 饭甌青冈叶绿体基因组图谱

表 1 饭甗青冈叶绿体基因组蛋白质编码基因组成

基因种类		基因名称
光合作用基因	ATP 合酶亚基	<i>atpA</i> , <i>atpB</i> , <i>atpE</i> , <i>atpF</i> , <i>atpH</i> , <i>atpI</i>
	光系统 II	<i>psbA</i> , <i>psbB</i> , <i>psbC</i> , <i>psbD</i> , <i>psbE</i> , <i>psbF</i> , <i>psbH</i> , <i>psbI</i> , <i>psbJ</i> , <i>psbK</i> , <i>psbL</i> , <i>psbM</i> , <i>psbN</i> , <i>psbT</i> , <i>psbZ</i>
	NADH-脱氢酶亚基	<i>ndhA</i> , <i>ndhB</i> ^{*2} , <i>ndhC</i> , <i>ndhD</i> , <i>ndhE</i> , <i>ndhF</i> , <i>ndhG</i> , <i>ndhH</i> , <i>ndhI</i> , <i>ndhJ</i> , <i>ndhK</i>
	细胞色素复合体 b/f 亚基	<i>petA</i> , <i>petB</i> , <i>petD</i> , <i>petG</i> , <i>petL</i> , <i>petN</i>
	光系统 I	<i>psaA</i> , <i>psaB</i> , <i>psaC</i> , <i>psaI</i> , <i>psaJ</i>
	Rubisco 酶亚基	<i>rbcL</i>
自我复制基因	核糖体大亚基	<i>rpl14</i> , <i>rpl16</i> , <i>rpl20</i> , <i>rpl22</i> , <i>rpl23</i> ^{*2} , <i>rpl32</i> , <i>rpl33</i> , <i>rpl36</i>
	DNA 依赖核酸聚合酶	<i>rpoA</i> , <i>rpoB</i> , <i>rpoC1</i> , <i>rpoC2</i>
	核糖体小亚基	<i>rps2</i> , <i>rps3</i> , <i>rps4</i> , <i>rps7</i> ^{*2} , <i>rps8</i> , <i>rps11</i> , <i>rps12</i> ^{*2} , <i>rps14</i> , <i>rps15</i> , <i>rps16</i> , <i>rps18</i> , <i>rps19</i> ,
其他基因	乙酰辅酶 A 羧化酶亚基	<i>accD</i>
	c 型细胞色素合成基因	<i>ccsA</i>
	外膜蛋白基因	<i>cemA</i>
	成熟酶	<i>matK</i>
未知功能基因	保守开放阅读框	<i>yef1</i> , <i>yef2</i> ^{*2} , <i>yef3</i> , <i>yef4</i> , <i>yef15</i> ^{*2}

注: *2 表示该基因有 2 个拷贝数

2.3 密码子偏好性及简单重复序列(SSR)分析

根据 CodonWv1.4.2 的计算结果(见表 2), 编码饭甗青冈叶绿体基因的密码子共有 25 828 个, 由 61 种密码子编码 20 种已知的氨基酸。使用频率最高的氨基酸为亮氨酸(Leu), 总数为 2 745 个, 包含同义密码子 UUA、UUG、CUU、CUC、CUA、CUG, 其中 UUA 的数量最多, 有 861 个。密码子使用率最低的氨基酸是半胱氨酸(Cys), 总数为 295 个, 包含同义密码子 UGU 和 UGC, 其中 UGC 仅为 80 个。通过比较各类型密码子数量可知, 饭甗青冈的密码子使用模式更倾向于以 A 或 U 结尾。这一现象在植物的叶绿体基因组中普遍存在。

使用 MISA v1.0 软件检测饭甗青冈叶绿体基因组中的 SSR 位点, 设定了单碱基需重复至少 8 次, 二碱基重复序列需重复至少 5 次, 三碱基及以上的重复序列需重复至少 3 次。结果显示, 饭甗青冈叶绿体基因组上符合检测标准的 SSR 位点共 292 个, 其中单碱基重复的 SSR 位点有 183 个, 以 A/T 重复

为主, 占比约 91.3%。只存在 2 种类型二碱基重复序列, AG/CT 和 AT/AT, 其中 5 次 AG/CT 的重复有 3 处 SSR 位点, AT/AT 的具有 7 处 5 次重复的位点、2 处 6 次重复的位点和 3 处 7 次重复的位点。三碱基重复序列具有 6 种类型, 分别为 AAC/GTT, AAG/CTT, AAT/ATT, ACT/AGT, AGC/CTG 和 ATC/ATG。重复次数多为 3 次, 且以 AAG/CTT 和 AAT/ATT 这 2 种 SSR 类型为主。四碱基重复有 AAAT/ATTT, AATG/ATTG 和 AATT/AATT 3 种类型, 五碱基重复有 AAAAT/ATTTT 和 AATGC/ATTGC 2 种类型, 都为 3 次重复。在饭甗青冈叶绿体基因组中未检测到六碱基类型的 SSR 位点。

表 2 饭甗青冈叶绿体基因组 RSCU 统计

氨基酸	密码子	数量	RSCU	氨基酸	密码子	数量	RSCU
蛋氨酸	AUG	601	1	亮氨酸	UUA	861	1.88
	CGU	327	1.28		UUG	557	1.22
	CGC	105	0.41		CUU	571	1.25
精氨酸	CGA	346	1.35		CUC	196	0.43
	CGG	116	0.45		CUA	365	0.8
	AGA	468	1.83		CUG	195	0.43
天冬酰胺	AGG	175	0.68	苯丙氨酸	UUU	970	1.29
	AAU	964	1.54		UUC	531	0.71
	AAC	292	0.46	脯氨酸	CCU	394	1.48
丙氨酸	GCU	621	1.82		CCC	215	0.81
	GCC	207	0.61		CCA	300	1.12
	GCA	369	1.08		CCG	158	0.59
天冬氨酸	GCG	167	0.49		UCU	538	1.64
	GAU	849	1.62		UCC	349	1.06
	GAC	198	0.38	丝氨酸	UCA	392	1.19
半胱氨酸	UGU	215	1.46		UCG	192	0.58
	UGC	80	0.54		AGU	380	1.16
谷氨酰胺	CAA	716	1.55		AGC	122	0.37
	CAG	205	0.45	酪氨酸	UAU	768	1.59
	GAA	1 027	1.5		UAC	200	0.41
谷氨酸	GAG	344	0.5	苏氨酸	ACU	522	1.63
	GGU	547	1.26		ACC	228	0.71
	GGC	206	0.47		ACA	383	1.19
甘氨酸	GGA	679	1.56	色氨酸	ACG	150	0.47
	GGG	305	0.7		UGG	453	1
组氨酸	CAU	465	1.54	缬氨酸	GUU	494	1.42
	CAC	137	0.46		GUC	171	0.49
	AUU	1 093	1.45		GUA	529	1.53
异亮氨酸	AUC	444	0.59	终止密码子	GUG	193	0.56
	AUA	726	0.96		UGA	15	0.54
	AAA	1 005	1.46		UAA	48	1.73
赖氨酸	AAG	369	0.54		UAG	20	0.72

2.4 叶绿体基因组比较分析

选取壳斗科的8个物种进行反向重复区边界的比较,发现其叶绿体基因组大小十分接近。其中川滇高山栎的叶绿体基因组最大,为161 225 bp。其余物种的叶绿体基因组大小处于160 497 bp至160 842 bp之间。在反向重复区边界上,所有物种

的 *rpl2* 均未跨越边界, *rps19* 在跨越边界后迅速终止。JSB 边界上的基因分歧较大,核对序列后发现,造成这一现象的主要原因可能是人工注释存在差异。整体上未观测到明显的反向重复区边界的收缩与扩张现象。

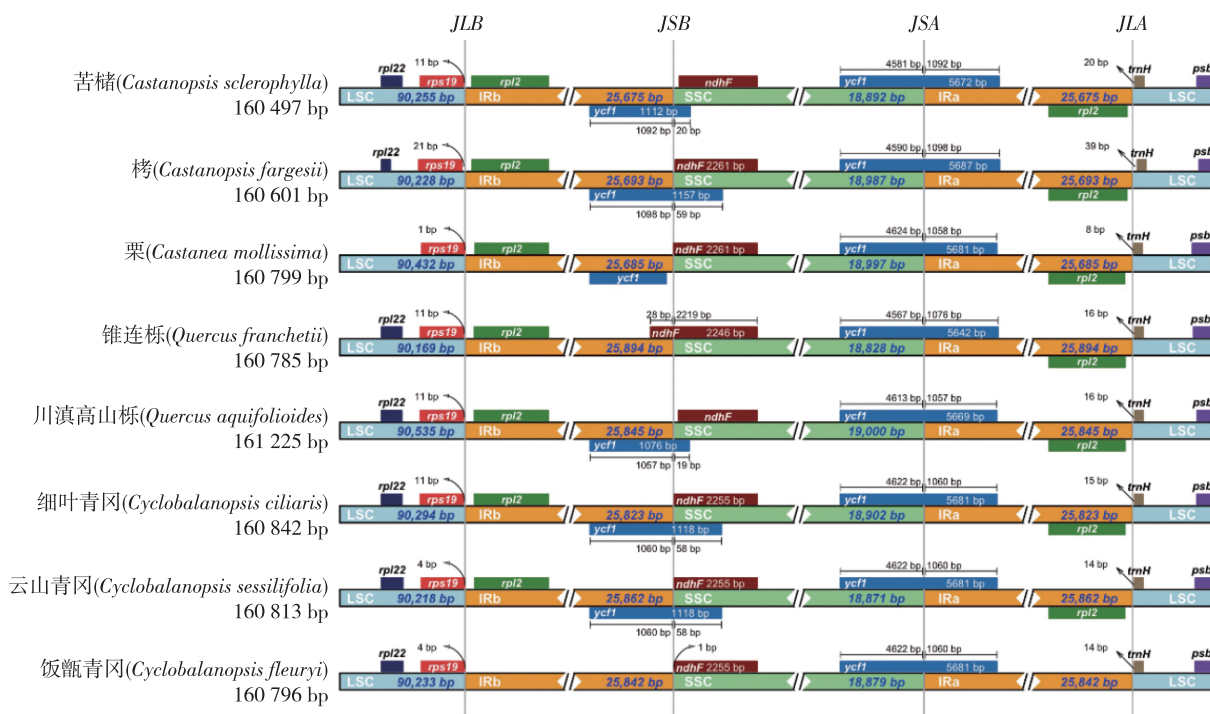


图2 8种壳斗科植物叶绿体基因组 LSC,SSC 和 IR 边界比较

根据叶绿体全基因组序列比对分析显示,8种壳斗科物种的基因组序列高度相似。细叶青冈在 *ycf1* 区域出现大片的差异,这可能与原始数据质量有关。栗、茅栗、栲和苦槠之间的相似度要大于饭甗青冈、云山青冈、细叶青冈、川滇高山栎和锥连栎。这与已知的进化分类是相似的。锥属和栗属更近缘,而栎属和青冈亚属更近缘。

2.5 系统发育分析

为了更好地了解饭甗青冈的系统发育地位,用40个壳斗科物种和银杏作为外群,构建了系统发生树(如图3)。壳斗科被很好地聚类在了一起。饭甗青冈与云山青冈、小叶青冈亲缘关系最为密切。值得注意的是,栎属植物大部分形成了独自の进化枝,但是赤栎被穿插进了青冈亚属,刺叶高山栎(*Quercus spinosa*)等4个栎属植物被穿插进栗属与青冈亚属的进化枝中。

3 结论与讨论

被子植物叶绿体基因组大多是母系遗传,并在基因结构和组成上高度保守^[17]。本研究通过Illumina测序平台,获得饭甗青冈叶绿体全基因组序列。饭甗青冈叶绿体基因组全长160 796 bp,总CG含量约为36.9%,共编码129个基因,与大部分高等植物的叶绿体基因组类似。叶绿体SSR标记具有稳定性好、多态性高、易于操作等优点^[18],因此被广泛用于物种鉴定、遗传多样性分析等领域^[19]。在饭甗青冈叶绿体基因组中共检测到292个SSR位点,其中单碱基重复的SSR位点最多,有183个,以A/T为主。这些SSR可以用于分子标记,不仅丰富了壳斗科的遗传信息,也为饭甗青冈的遗传多样性分析和分子标记辅助育种研究提供了重要的参考。

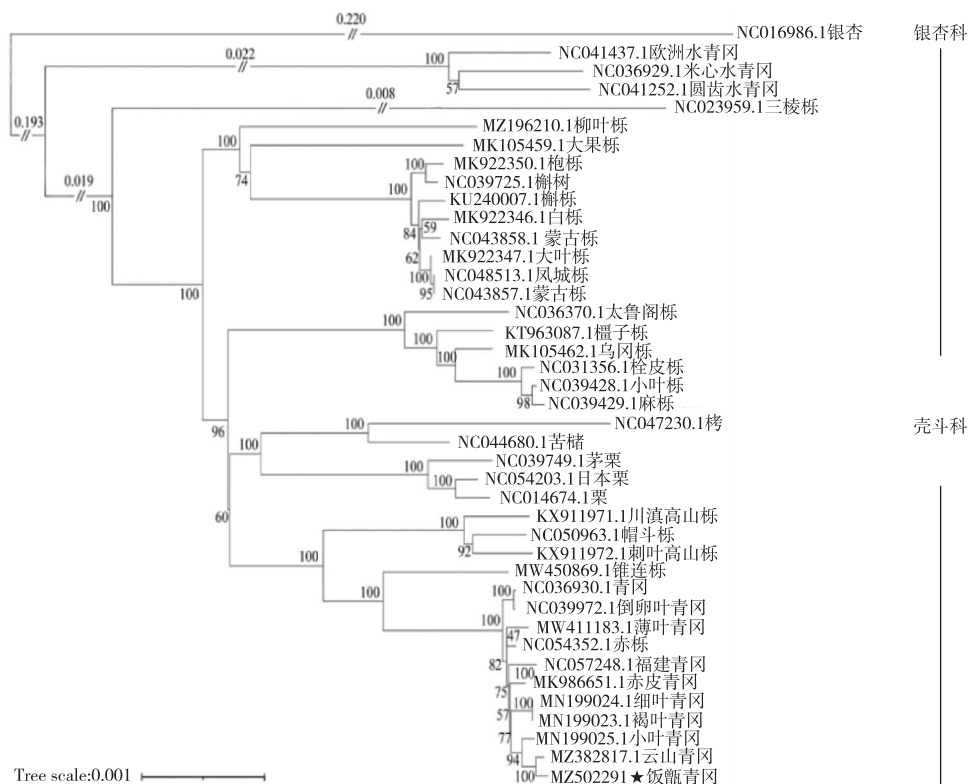


图 3 叶绿体基因组系统发育树

在绝大部分被子植物中,叶绿体基因组具有结构稳定、序列高度保守的特点^[20]。黄婷^[21]等对 4 种栎属青冈亚属植物叶绿体基因组分析发现,栎属青冈亚属植物位于反向重复区域的基因相同,说明其反向重复区边界较为保守。陈晓丽^[22]对滇青冈等 9 个青冈亚属植物研究发现,其叶绿体基因组高度保守,只有少数非编码区存在差异较大的区域。本研究选取壳斗科部分物种的叶绿体基因组进行比较分析,发现 8 种壳斗科植物的叶绿体基因组大小和序列相似度较高,反向重复区边界均无明显的收缩和扩张现象,这是由于亲缘关系相近的物种会表现出较高的边界相似性。这与其他栎属青冈亚属植物的叶绿体基因组研究结果类似,同时也说明壳斗科植物的叶绿体基因组序列较为保守。

栎属是壳斗科中最大,分布区最广的属。栎属青冈亚属的系统发育地位长期存在争议^[23]。在《中国植物志》中壳斗科被分为 7 个属,分别为栗属(*Castanea*)、锥属(*Castanopsis*)、青冈属(*Cyclobalanopsis*)、水青冈属(*Fagus*)、柯属(*Lithocarpus*)、栎属、三棱栎属(*Trigonobalanus*)^[24]。而多数分类学家认为应该将青冈亚属作为栎属下的亚属,对青冈亚属的胚胎学、花粉形态、叶表皮等研究也证实了这一

点^[25-26]。本研究用最大似然法对饭甗青冈和其他属植物叶绿体基因组进行聚类分析,系统进化树中壳斗科植物被聚类在一起。饭甗青冈聚类在青冈亚属中,证实了饭甗青冈属于青冈亚属的分类位置。饭甗青冈与云山青冈、小叶青冈亲缘关系最为密切,为青冈亚属类植物的杂交育种提供了理论基础。虽然绝大部分栎属植物聚成一个进化枝,但是赤栎被聚类在青冈亚属,刺叶高山栎等 4 个栎属植物位于栗属和青冈亚属之间,这一结果暗示目前部分栎属物种的植物分类存在一定问题,结合植物分类学和基因组数据对于壳斗科内各物种的进化地位与分类还可以更进一步优化修正。本研究首次报道的饭甗青冈叶绿体基因组,丰富了青冈亚属叶绿体基因组数据,为饭甗青冈的遗传多样性和分子鉴定提供了科学依据。

参考文献:

- [1] ZHANG Y, TIAN L, LU C. Chloroplast gene expression: Recent advances and perspectives [J]. Plant Communications, 2023, 4 (5): 100611.
- [2] LANDE N V, BARUA P, GAYEN D, et al. Proteomic dissection of the chloroplast: Moving beyond photosynthesis [J]. Journal of Proteomics, 2020, 212: 103542.

- [3] LI J Y, YANG C, TIAN Y Y, et al. Regulation of chloroplast development and function at adverse temperatures in plants [J]. Plant and Cell Physiology, 2022, 63(5): 580-591.
- [4] XIONG A S, PENG R H, ZHUANG J, et al. Gene duplication, transfer, and evolution in the chloroplast genome [J]. Biotechnology Advances, 2009, 27(4): 340-347.
- [5] 端木.我国青冈属资源的综合利用[J].北京林业大学学报, 1995, 17(2): 109-110.
- [6] 王亚凤, 黄永林, 刘金磊, 等.壳斗科植物种子的多酚类含量及抗氧化能力[J].广西科学, 2016, 23(2): 180-183, 188.
- [7] 郭赋英, 刘蕾, 钟声祥, 等.饭甗青冈营养杯育苗技术[J].南方林业科学, 2017, 45(6): 52-53.
- [8] 戴天歌, 王亚凤, 何瑞杰, 等.饭甗青冈叶的化学成分研究[J].林产化学与工业, 2020, 40(2): 99-103.
- [9] 王群, 李东海, 杨小波, 等.海南霸王岭橡胶林下植物多样性特征研究[J].林业资源管理, 2022(5): 76-83.
- [10] 郭恺琦.栎属青冈栎组(*Quercus* section *Cyclobalanopsis*)树种分布特征分析[D].长沙:中南林业科技大学, 2021.
- [11] ALEMAN J L F, OUFASKA Y. SAMTool, a tool for deducing and implementing loop patterns [C]. Proceedings of the 15th Innovation and Technology in Computer Science Education Conference, Bilkent University, Bilkent, Turkey, Jun 26-30, 2010: 68-72.
- [12] CHEN S, ZHOU Y, CHEN Y, et al. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): 884-890.
- [13] ZERBINO D R, BIRNEY E. Velvet: Algorithms for de novo short read assembly using de Bruijn graphs [J]. Genome Research, 2008, 18(5): 821-829.
- [14] CHAN P P, LOWE T M. tRNAscan-SE: Searching for tRNA genes in genomic sequences [J]. Methods in Molecular Biology, 2019, 1962: 1-14.
- [15] SIEVERS F, HIGGINS D G. Clustal Omega for making accurate alignments of many protein sequences [J]. Protein Science, 2018, 27(1): 135-145.
- [16] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis Version 7.0 for bigger datasets [J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [17] DANIELL H, JIN S, ZHU X G, et al. Green giant—a tiny chloroplast genome with mighty power to produce high-value proteins: history and phylogeny [J]. Plant Biotechnology Journal, 2021, 19(3): 430-447.
- [18] VIEIRA M L C, SANTINI L, DINIZ A L, et al. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful [J]. Genetics and Molecular Biology, 2016, 39(3): 312-328.
- [19] QI J X, WU C L, DONG N G, et al. Chloroplast simple sequence repeat (cp-SSR) analysis for determining the origin of *J. hopeiensis* [J]. Acta Horticulturae, 2014, 1050: 35-40.
- [20] 王玲, 董文攀, 周世良.被子植物叶绿体基因组的结构变异研究进展[J].西北植物学报, 2012, 32(6): 1282-1288.
- [21] 黄婷, 唐梦, 陈晓丽, 等.四种栎属青冈亚属植物叶绿体基因组特征及系统发育研究[J].广西植物, 2023, 43(4): 741-754.
- [22] 陈晓丽, 黄婷, 李卜宇, 等.滇青冈叶绿体基因组分析及系统发育研究[J].现代园艺, 2024, 47(11): 37-40.
- [23] MENITSKY L L. Oaks of Asia [M]. St. Petersburg: Leningra Sciences, 1984.
- [24] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社, 1998.
- [25] 罗艳, 周浙昆.栎属青冈亚属(壳斗科)的叶表皮研究[J].植物分类学报, 2001, 39(6): 489-501.
- [26] 邓敏.壳斗科栎属青冈亚属的形态解剖、分类、分布及其系统演化[D].昆明:中国科学院昆明植物研究所, 2007.