

## 了哥王叶绿体基因组分析

吴民华<sup>1</sup>, 叶晓霞<sup>1</sup>, 谭靖怡<sup>2</sup>, 梁秋婷<sup>3</sup>, 吴子健<sup>3</sup>, 黄琼林<sup>1</sup>

(1. 广东医科大学 基础医学院, 广东 湛江 524023; 2. 广东医科大学 药学院, 广东 湛江 524023; 3. 广东医科大学 第一临床医学院, 广东 湛江 524023)

**摘要:** 【目的】阐明药用植物了哥王 *Wikstroemia indica* 的叶绿体基因组结构特点及系统进化地位, 为了哥王的资源保护和可持续利用提供科学依据。【方法】采用 Illumina 测序平台进行了哥王叶绿体基因组测序, 并通过生物信息技术和软件进行序列拼接、注释以及比对和系统进化分析。【结果】了哥王叶绿体基因组全长为 149 864 bp, 由 86 347 bp 的大单拷贝区 (LSC)、10 601 bp 的小单拷贝区 (SSC) 以及穿插在它们之间均为 26 458 bp 的一对反向重复区 (IR) 构成, 具有环状双链四分体结构, 包含 124 个基因。在了哥王叶绿体基因组中共找到 64 种 24 180 个密码子, 其中 30 种为高频使用密码子, 高频使用密码子中又有 29 种是以 A/T 结尾; 搜索到 93 个简单重复序列 (SSR), 其中单核苷酸重复居多 (72 个), 且以 A 或 T 及两者组合形成的基序为优势基序。了哥王与近缘植物的叶绿体基因组 IR 边界存在较为明显的变异。序列比较和系统进化树显示了哥王与同属细轴菟花 *W. nutans* 具有最高的序列同源性。【结论】了哥王叶绿体基因组具有植物叶绿体基因组的典型结构, 有密码子使用偏好性, 含多态性较为丰富的 SSR, 且与细轴菟花的亲缘关系最近。图 5 表 2 参 24

**关键词:** 了哥王; 叶绿体基因组; 密码子偏好性; 简单重复序列; 序列比对; 系统进化关系

**中图分类号:** S722.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2024)02-0297-09

## Analysis on chloroplast genome of *Wikstroemia indica*

WU Minhua<sup>1</sup>, YE Xiaoxia<sup>1</sup>, TAN Jingyi<sup>2</sup>, LIANG Qiuting<sup>3</sup>, WU Zijian<sup>3</sup>, HUANG Qionglin<sup>1</sup>

(1. School of Basic Medicine, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, Guangdong, China; 2. School of Pharmacy, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, Guangdong, China; 3. The First Clinic Medical College, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, Guangdong, China)

**Abstract:** 【Objective】 This study is aimed to clarify the structure traits of chloroplast genome and phylogenetic status of medicinal plant *Wikstroemia indica*, providing a scientific basis for the resource protection and sustainable utilization of *W. indica*. 【Method】 An Illumina high-throughput sequencing platform was employed to acquire the chloroplast genome sequence which was then assembled, annotated, compared and analyzed using bioinformatics technologies and software. 【Result】 The chloroplast genome of *W. indica* was an annular quadripartite molecule with a length of 149 864 bp and composed of a large single copy (LSC, 86 347 bp), a small single copy (SSC, 10 601 bp) and a couple of inverted repeat (IR, 26 458 bp) and 124 genes were annotated in the chloroplast genome. In the chloroplast genome there were a total of 24 180 codon, which were divided into 64 types of which 30 types of codon were used frequently and 29 of them ended with A/T. Altogether 93 chloroplast simple sequence repeat (SSR) were identified from the chloroplast genome with

收稿日期: 2023-07-24; 修回日期: 2023-12-13

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2018A030310116); 广东省大学生创新创业训练计划项目 (S202310571113); 广东医科大学大学生创新创业训练计划项目 (GDMU2022113, GDMU2022125)

作者简介: 吴民华 (ORCID: 0000-0003-4454-5507), 从事中药分子药理研究。E-mail: wugdmuzp@gdmu.edu.cn。通信作者: 黄琼林 (ORCID: 0000-0001-5248-8253), 副教授, 博士, 从事医学生物化学研究。E-mail: perfectql@163.com

Mononucleotide being the predominate type taking up a number of 72 and the motifs formed by A/T contributing the most and obvious variations were observed in IR boundary between *W. indica* and closely related plants whereas sequence alignment and phylogenetic tree revealed that *W. indica* shared high sequence identity with *W. nutans*. [Conclusion] The chloroplast genome of *W. indica* exhibited typical structure of plant chloroplast genome, and possessed codon preference and several SSRs with rich polymorphism. Additionally, the chloroplast genome of *W. indica* showed the closest similarity to *W. nutans*. [Ch, 5 fig. 2 tab. 24 ref.]

**Key words:** *Wikstroemia indica*; chloroplast genome; codon preference; simple sequence repeat; sequence alignment; phylogenetic relationship

叶绿体基因组为植物质体遗传体系之一,是由大单拷贝区(LSC)、小单拷贝区(SSC)以及穿插在它们之间的一对碱基组成相同、排列方向相反的反向重复区(IR)构成的环状双链四分体,通常编码约130个主要与光合作用以及叶绿体自身复制相关的基因<sup>[1-2]</sup>。叶绿体基因组是研究植物物种鉴别、进化生物学和遗传多样性的新思路,并且已有较多的应用实例。SONG等<sup>[3]</sup>比较了27种安息香属 *Styrax* 植物的叶绿体基因组序列,筛选出6个高突变序列,其中 *ycf1b* 和 *trnT-trnL* 是安息香属物种鉴别的特异性DNA条形码。LIU等<sup>[4]</sup>利用叶绿体基因组序列探讨了11种燕麦属 *Avena* 植物的系统进化关系,支持燕麦属的单系性,并且认为该属包括2个遗传支系。JO等<sup>[5]</sup>基于饲料作物大花野豌豆 *Vicia bungei* 的叶绿体简单重复序列(SSR)开发出232个分子标记,并将其中39个分子标记应用于野豌豆属 *Vicia* 中7个物种的遗传多样性分析。

了哥王 *Wikstroemia indica* 是瑞香科 Thymelaeaceae 茺花属 *Wikstroemia* 常绿灌木植物,全株有毒,分布于中国广东、广西、海南、福建、湖南、浙江、云南、贵州、四川以及台湾等大部分省区,多见于海拔1500 m以下开旷的林下或石山上,野生时一般分布在山坡灌木丛中或路边、村边等<sup>[6]</sup>。了哥王的干燥根及根皮可入药,能清热解毒、消肿散结、止痛,多用来治疗支气管炎、肺炎、乳腺炎等多种炎症以及跌打损伤<sup>[7]</sup>,已被开发成了哥王片、了哥王胶囊、了哥王颗粒、祛伤消肿酊等制剂。了哥王含有黄酮、木质素、香豆素、甾体、挥发油等化学成分,具有抗炎、抗菌、抗病毒、抗肿瘤等药理活性<sup>[8-9]</sup>。了哥王根叶煮汁可作杀虫剂,茎皮纤维可以制作高级纸张和人造棉<sup>[6]</sup>。了哥王还是一种观赏性园林植物<sup>[10]</sup>。因此,了哥王具有较高的药用、经济和社会价值。

了哥王原以野生采收为主要来源,随着市场需求的快速增加,了哥王遭到过度开采,不少产地的野生蕴藏量急剧下降,出现资源匮乏甚至枯竭的情况<sup>[11]</sup>。本研究分析了哥王叶绿体基因组序列的结构和基因组成、密码子偏好性、SSR等特征,比较了哥王与近缘植物的叶绿体基因组序列差异,并基于叶绿体基因组探究了哥王的进化位置,旨在为了哥王的品种鉴定、育种栽培、遗传背景和系统进化等资源保护和可持续利用提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 了哥王的采集和处理

了哥王植株于2022年6月采自广西壮族自治区钦州市钦北区,经广东医科大学天然药物研究与开发重点实验室吴科锋研究员鉴定。取了哥王植株的新鲜叶片,使用北京康为世纪生物科技公司生产的磁珠法植物DNA提取试剂盒提取了哥王的总DNA,随后采用美国Illumina公司生产的NexteraXT DNA测序文库制备试剂盒构建了哥王的叶绿体基因组测序文库。

### 1.2 叶绿体基因组测序、拼接、基因注释和图谱绘制

通过美国Illumina公司的Novaseq 6000高通量测序平台完成了哥王叶绿体基因组测序。测得的原始序列经滤除试剂盒附带的接头序列和含有无法确定碱基的劣质序列后,获得合格的可供分析读序。采用SPAdes软件对可供分析读序进行序列拼接,并运用plastid genome annotator软件对序列中含有的基因进行功能注释。拼接和注释后的了哥王叶绿体基因组序列和基因信息提交至GenBank保存(序列登记号为OQ831641),并提交到OGDRAW在线工具(<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>)绘制物理图谱。

### 1.3 密码子偏好性和 SSR 分析

参照黄琼林<sup>[12]</sup>的研究, 采用 CodonW v1.3 软件计算了哥王叶绿体基因组全部密码子的相对同义密码子使用情况 (RSCU) 值, 评价其使用频率, RSCU > 1 为高频使用密码子。参照吴民华等<sup>[13]</sup>的研究, 使用 MISA 软件 (<https://webblast.ipk-gatersleben.de/misa/>) 检索了哥王的 SSR, 分析其类型、组成基序、数量和分布等特点。

### 1.4 序列比对分析

利用 IRscope 在线软件 (<https://irscope.shinyapps.io/irapp/>) 比较了哥王与同属植物细轴茺花 *W. nutans* (MW393702)、茺花 *W. canescens* (MW073911)、头序茺花 *W. capitata* (MW073909) 以及同科植物长柱瑞香 *Daphne championii* (MT648376) 叶绿体基因组 IR 边界 (即 IR 贴近相邻 LSC 或 SSC 的碱基) 的位置差异。采用设置为 Shuffle-LAGAN 模式的 mVISTA 软件 (<https://genome.lbl.gov/vista/index.shtml>) 进行前述 5 种瑞香科植物叶绿体基因组的多重序列比对, 明确它们之间的碱基差异。

### 1.5 系统进化分析

为探究了哥王在茺花属和瑞香科内的进化关系, 在 GenBank 中下载已公开发布的瑞香科及其相关类群菱科 Trapaceae、桃金娘科 Myrtaceae 植物叶绿体基因组序列, 并以与了哥王亲缘关系较远的单子叶植物高良姜 *Alpinia officinarum* 的叶绿体基因序列作为外群, 将所有下载序列与本研究测得的了哥王叶绿体基因组序列一起提交到 MAFFT 软件进行多重比对及对齐, 随后导入设置为 GTRGAMMA 模型的 RAxML 软件构建系统进化树。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶绿体基因组的结构和基因特点

如图 1 所示: 了哥王叶绿体基因组由位于 1~86 347 bp 的 LSC、86 348~112 805 bp 的 IRA、112 806~123 407 bp 的 SSC 和 123 408~149 864 bp 的 IRB 依顺时针排列而成, 呈现为 149 864 bp 的环状双链四分体分子。了哥王叶绿体基因组的 GC 含量较低, 仅为 37.5%。

从表 1 可见: 了哥王叶绿体共有 124 个基因, 包括 79 个蛋白质编码基因、8 个核糖体 RNA 基因和 37 个转运 RNA 基因。这些基因中有 14 个基因 (*trnK-UUU*、*rps16*、*trnG-UCC*、*atpF*、*rpoC1*、*trnL-UAA*、*trnV-UAC*、*petB*、*petD*、*rpl16*、*rpl2*、*ndhB*、*trnI-GAU*、*trnA-UGC*) 含有 1 个内含子, 1 个基因 (*yef3*) 存在 2 个内含子; 17 个基因 (*ndhB*、*rps7*、*rpl2*、*rpl23*、*yef1*、*yef2*、*rrn4.5*、*rrn5*、*rrn16*、*rrn23*、*trnI-CAU*、*trnL-CAA*、*trnV-GAC*、*trnI-GAU*、*trnA-UGC*、*trnR-ACG*、*trnN-GUU*) 具有 2 个拷贝。

### 2.2 密码子偏好性分析

通过 CodonW 软件, 在了哥王叶绿体基因组的编码区共找到 24 180 个密码子, 包括 24 100 个氨基酸编码密码子和 80 个终止密码子。如图 2 所示: 61 种氨基酸编码密码子编码 20 种氨基酸, 终止密码子有 3 种。编码相同氨基酸的多种密码子即称为同义密码子, 除了甲硫氨酸 (Met) 和色氨酸 (Trp) 外, 其余 18 种氨基酸均有 2~6 种同义密码子。除了 AUG (单独编码 Met) 和 UGG (单独编码 Trp) 的 RSCU 为 1 外, 有 30 种密码子的 RSCU > 1, 为高频使用密码子; 其余 32 种密码子的 RSCU < 1, 属于低频使用密码子。在 30 种高频使用密码子中, 有 29 种的第 3 位碱基是 A/T, 表明了哥王叶绿体基因组偏好使用 A/T 结尾的密码子。

### 2.3 SSR 分析

以设定的参数通过 MISA 软件查找, 在了哥王叶绿体基因组中发现 93 个 SSR, 由 72 个单核苷酸、11 个二核苷酸、4 个三核苷酸、5 个四核苷酸以及 1 个五核苷酸组成 (表 2)。在各类 SSR 中, A/T、AT/AT、AAT/ATT、AAAT/ATTT、AATAG/ATTCT 分别是优势基序, 数量依次是 72、9、3、3、1 个, 分别占单核苷酸的 100.0%、二核苷酸的 81.2%、三核苷酸的 75.0%、四核苷酸的 60.0% 和五核苷酸的 100.0%。可见, 由 A/T 及组合形成的基序数量最多, 分别包括 72 个单核苷酸、9 个二核苷酸、3 个三核苷酸、4 个四核苷酸, 共占 SSR 总数的 94.6%。因此, 了哥王以 A/T 及组合形成的 SSR 居多, 与其叶绿体基因组低 GC 含量的情况相符。在分布区域上来看, 了哥王 SSR 主要分布在 LSC, 而 SSC 和 IR 较少; 从所有位置上来看, 这些 SSR 主要位于基因间隔区 (IGS), 基因内含子次之, 编码区 (CDS) 则最

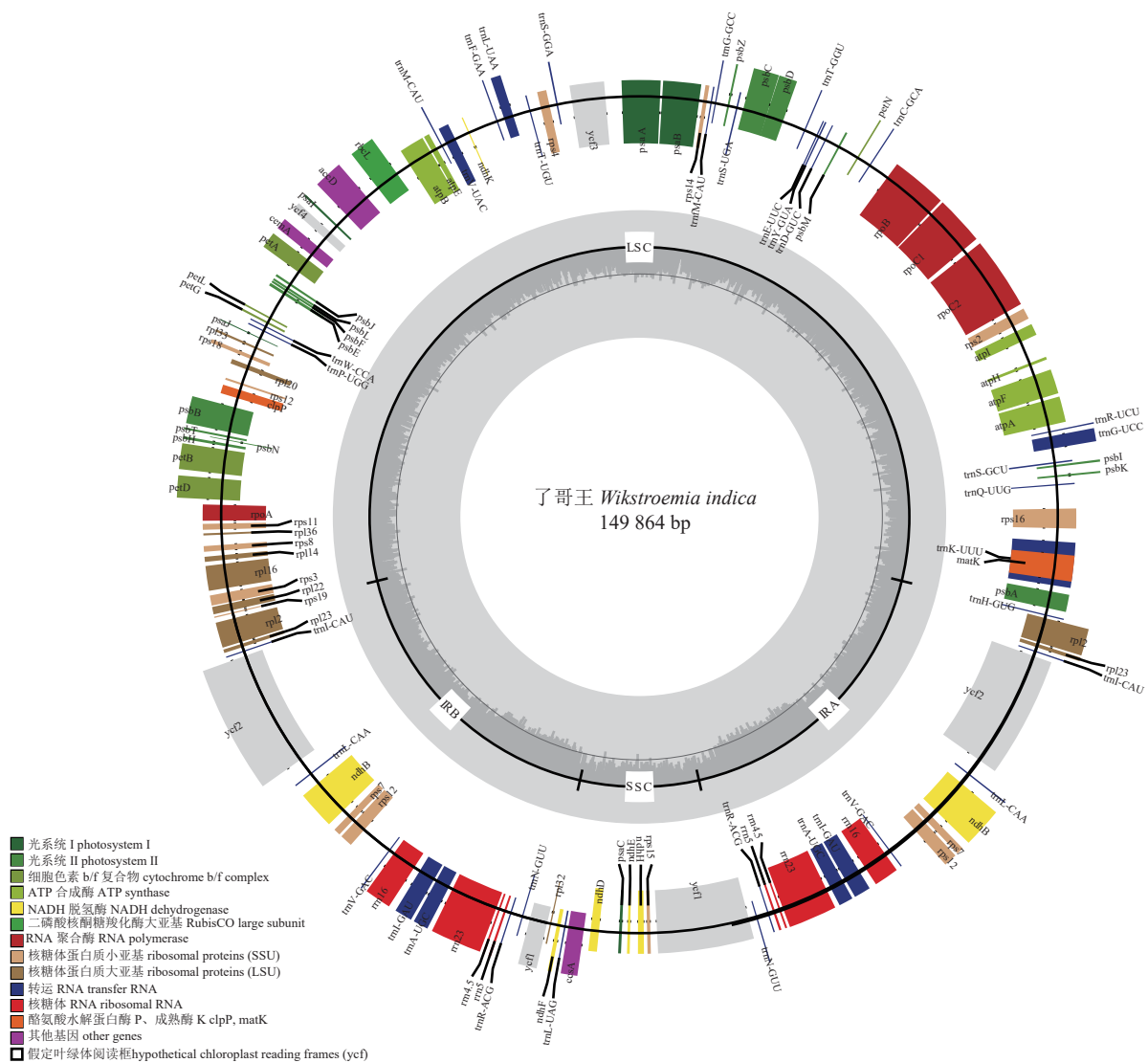


图1 了哥王叶绿体基因组  
Figure 1 Chloroplast genome of *W. indica*

少。说明了哥王叶绿体 SSR 分布广泛且不均匀，多态性较为丰富。

### 2.4 IR 边界比较

叶绿体基因组的 2 个 IR 在邻近 LSC、SSC 的位置形成边界，分别称作 JLB (IRB-LSC)、JSB (IRB-SSC)、JSA (IRA-SSC) 和 JLA (IRA-LSC)。如图 3 所示：了哥王等 4 种茛菪花属植物的 JLB 均处于 *rpl19* 和 *rpl2* 之间的 IGS，瑞香属 *Daphne* 植物长柱瑞香的 JLB 则在 *rpl16* 内。了哥王的 JSB 在 *ycf1* 内，细轴茛菪花的 JSB 在 *ycf1* 和 *rpl132* 之间的 IGS，其余植物的 JSB 则在 *ndhF* 内。了哥王和细轴茛菪花的 JSA 都在 *ycf1* 内，且都在距离该基因 5'端的 1 085 bp 处，其余植物的 JSA 则在 *rpl132* 和 *trnL* 之间的 IGS。了哥王等 4 种茛菪花属植物的 JLA 均落在 *rpl2* 和 *trnH* 之间的 IGS，长柱瑞香的 JLA 则位于 *rps3* 和 *trnH* 之间的 IGS。由此可见，了哥王与其他 4 种植物的 IR 边界存在较为明显的差异 (尤其是 JSB)，说明叶绿体基因组在了哥王等瑞香科植物进化过程中发生了不同程度的 IR 扩张和收缩。

### 2.5 序列比对

如图 4 所示：了哥王与细轴茛菪花的序列相似度最高，仅在 *psbE-petL*、*atpF-atpH* 等 IGS 看到少量的碱基突变，并且编码区的序列完全一致。了哥王与另外 2 种茛菪花属植物茛菪花、头序茛菪花有着较明显的序列差异，几乎所有的 IGS、内含子等非编码区序列均可见碱基突变，而且 *psbA*、*trnK-UUU*、*rpoC2*、*rpoC1*、*rpoB*、*accD*、*rpoA* 等多个基因也可见变异。了哥王与不同属的长柱瑞香则存在更加显著的序列差异，说明叶绿体基因序列差异与物种的亲缘关系密切相关。

表 1 了哥王叶绿体基因组基因组和功能注释

Table 1 Gene composition and annotation in *W. indica* chloroplast genome

基因类别	基因功能	基因名称
蛋白质编码基因	ATP合成酶	<i>atpA, atpB, atpE, atpF<sup>1</sup>, atpH, atpI</i>
	细胞色素b/t复合物	<i>petA, petB<sup>1</sup>, petD<sup>1</sup>, petG, petL, petN</i>
	NADH脱氢酶	<i>ndhB<sup>1*</sup>, ndhD, ndhE, ndhF, ndhH, ndhK</i>
	光合系统 I	<i>psaA, psab, psaC, psaI, psaJ</i>
	光合系统 II	<i>psbA, psbB, psbC, psbD, psbE, psbF, psbH, psbI, psbJ, psbK, psbL, psbM, psbN, psbT, psbZ</i>
	核糖体蛋白质小亚基	<i>rps2, rps3, rps4, rps7*, rps8, rps11, rps12<sup>#</sup>, rps14, rps15, rps16<sup>1</sup>, rps18, rps19</i>
	核糖体蛋白质大亚基	<i>rpl2<sup>1*</sup>, rpl14, rpl16<sup>1</sup>, rpl20, rpl22, rpl23*, rpl32, rpl33, rpl36</i>
	RNA 聚合酶	<i>rpoA, rpoB, rpoC1<sup>1</sup>, rpoC2</i>
	假定叶绿体阅读框	<i>ycf1*, ycf2*, ycf3<sup>2</sup>, ycf4</i>
	其他基因	<i>matK, rbcL, cemA, accD, ccsA, clpP</i>
核糖体RNAs	<i>rrn4.5*, rrn5*, rrn16*, rrn23*</i>	
转运RNAs	<i>trnH-GUG, trnK-UUU<sup>1</sup>, trnM-CAU, trnI-CAU*, trnV-UAC<sup>1</sup>, trnF-GAA, trnL-UAA<sup>1</sup>, trnT-UGU, trnS-GGA, trnJ-M-CAU, trnG-GCC, trnS-UGA, trnT-GGU, trnE-UUC, trnY-GUA, trnD-GUC, trnC-GCA, trnR-UCU, trnG-UCC<sup>1</sup>, trnS-GCU, trnQ-UUG, trnW-CCA, trnP-UGG, trnL-CAA*, trnV-GAC*, trnI-GAU<sup>1*</sup>, trnA-UGC<sup>1*</sup>, trnR-ACG*, trnN-GUU*, trnL-UAG</i>	

说明：上标1表示含有1个内含子，上标2表示含有2个内含子，#表示反式剪接基因，\*表示双拷贝基因。

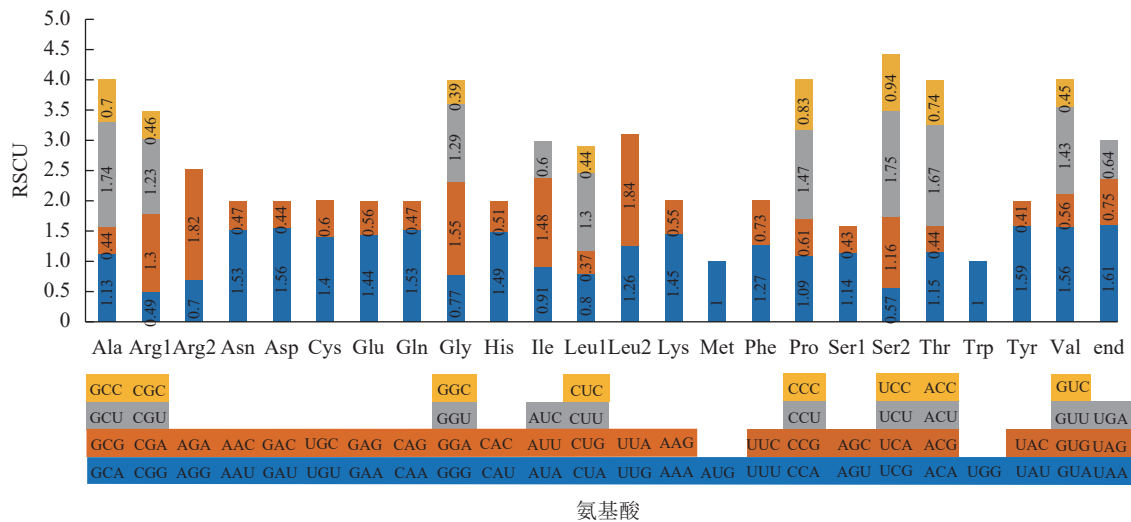


图 2 了哥王叶绿体基因组密码子的 RSCU 值

Figure 2 RSCU value of all codon in *W. indica* chloroplast genome

表 2 了哥王叶绿体基因组 SSR 位点的统计

Table 2 Summaries of SSR loci in *W. indica* chloroplast genome

类型	重复基序	数量	分布区域			所在位置		
			LSC	SSC	IR	IGS	Intron	CDS
单核苷酸	A/T	72	56	8	8	48	14	10
	AT/AT	9	9	0	0	5	3	1
二核苷酸	AC/GT	1	1	0	0	1	0	0
	AG/CT	1	1	0	0	1	0	0
三核苷酸	AAT/ATT	3	1	0	2	1	2	0
	AAG/CTT	1	1	0	0	0	1	0
四核苷酸	AAAT/ATTT	3	2	1	0	1	1	1
	AATC/ATTG	1	0	1	0	0	0	1
五核苷酸	AATT/AATT	1	1	0	0	0	0	1
	AATAG/ATTCT	1	1	0	0	1	0	0
合计		93	73	10	10	58	21	14

说明：LSC为大单拷贝区；SSC为小单拷贝区；IR为反向重复区；IGS基因间隔区；Intron为内含子；CDS为编码区。

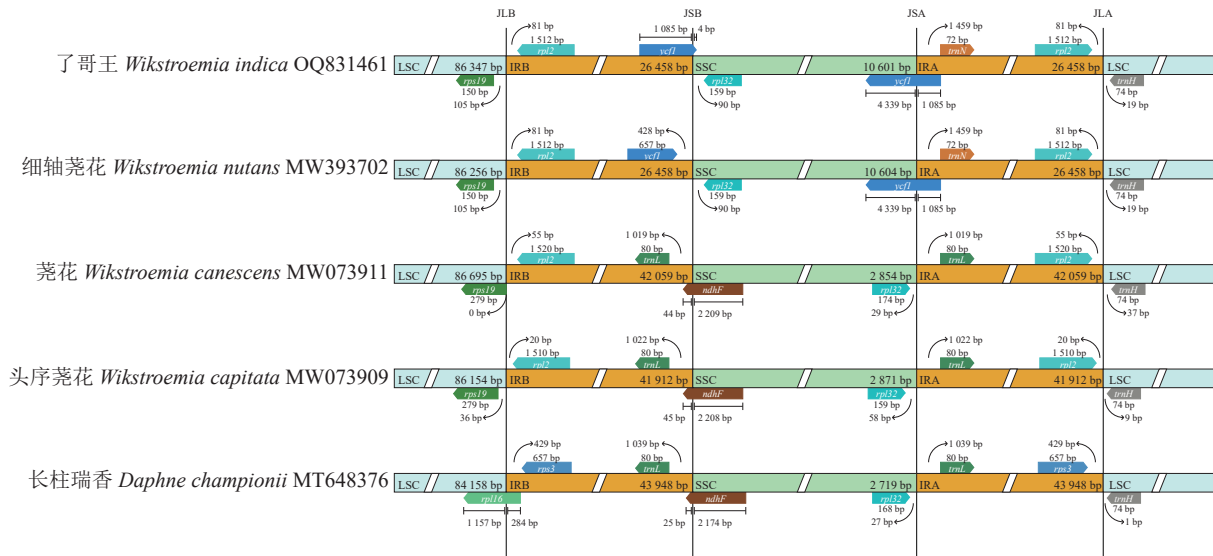


图3 瑞香科5种植物叶绿体基因组IR边界的差异分析  
Figure 3 IR boundaries divergence of chloroplast genomes from 5 Thymelaeaceae plants

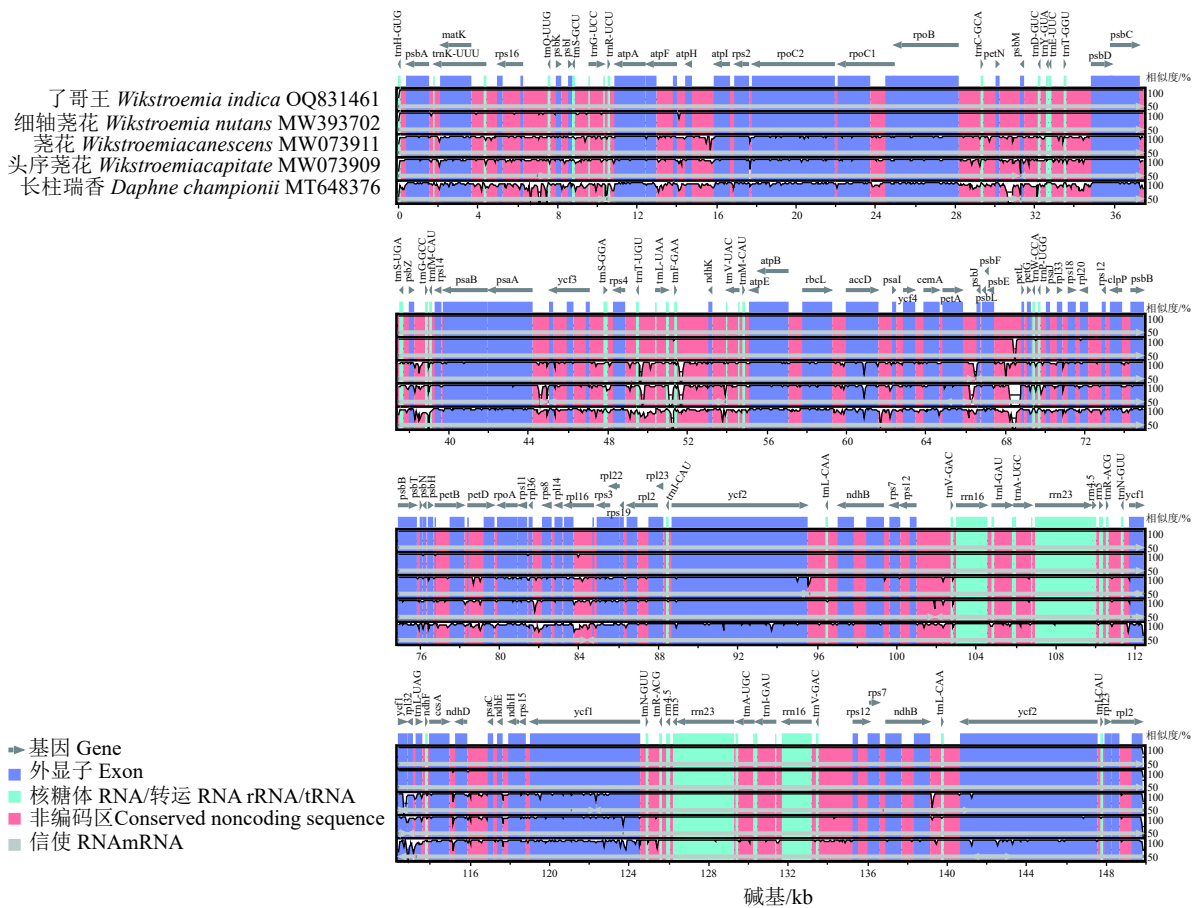


图4 瑞香科5种植物叶绿体基因组的多重序列比对  
Figure 4 Multiple alignment of chloroplast genome sequences from 5 Thymelaeaceae plants

### 2.6 系统进化分析

从图5可见：在科水平上，瑞香科、菱科、桃金娘科均形成独立的分支，并与外群高良姜分开。在瑞香科内，沉香属 *Aquilaria*、菱花属和瑞香属各自形成分支，其中菱花属与瑞香属聚在一起，说明这2个属的亲缘关系更近。在菱花属内，9个物种大致聚成3个类群，类群I包括菱花和互生叶菱花 *Wikstroemia canescens*，类群II含有小黄构 *W. micrantha*、革叶菱花 *W. scytophylla* 和一把香 *W.*

*dolichantha*, 类群 III 则有了哥王、细轴堯花、北江堯花 *W. monnula*、河朔堯花 *W. chamaedaphne* 和头序堯花。了哥王与细轴堯花最先聚成一个分支, 表明它们具有最近的亲缘关系。

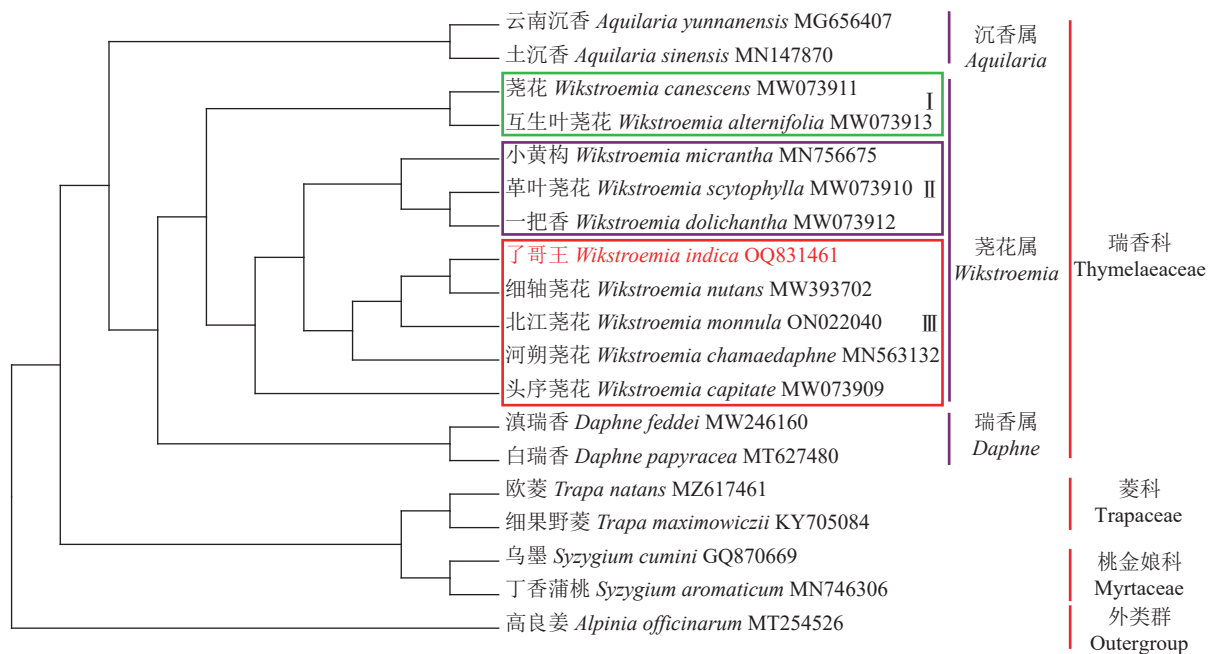


图 5 了哥王等植物的系统进化树

Figure 5 Phylogenetic tree among various plants including *W. indica*

### 3 讨论

研究发现：了哥王叶绿体基因组由 LSC、SSC 和两者之间的一对 IR 形成, 呈现为陆生植物叶绿体基因组典型的环状双链四分体结构<sup>[14-15]</sup>。了哥王叶绿体基因组长度为 149 864 bp, 也介于被子植物叶绿体基因组 110~160 kb 范围内<sup>[16]</sup>。了哥王叶绿体基因组的 GC 含量为 37.5%, 与被子植物如瑞香科瑞香属<sup>[17]</sup>、豆科 Leguminosae 和蝶形亚科 Papilionoideae<sup>[18]</sup>、兰科 Orchidaceae<sup>[19]</sup> 等物种的叶绿体基因组普遍存在的较低 GC 含量相符。叶绿体基因组作为执行光合作用的细胞器, 容易受到光照等自然因素造成的选择压力的影响, 在长期的进化过程中, 叶绿体基因组可能发生了碱基替换和基因重组, 导致其 GC 含量降低。此外, 较低 GC 含量的 DNA 更容易解链, 推测可以促进叶绿体基因组的重组, 从而更好适应自然选择。在基因数量和组成上, 了哥王叶绿体基因组共有 124 个基因, 以与光合作用相关的基因及叶绿体自身复制所需的基因为主, 也符合被子植物叶绿体基因组的基因构成<sup>[20]</sup>。因此, 了哥王叶绿体基因组具有植物叶绿体基因组的共性特征。

植物在自然选择、碱基突变的作用下会形成一套与其自身进化相适应的常用密码子, 以执行编码氨基酸或终止氨基酸翻译的功能。本研究在了哥王叶绿体基因组发现 30 种高频使用密码子 (RSCU>1), 包括 29 种氨基酸编码密码子和 1 种终止密码子, 这些高频使用密码子比其他同义密码子更常被使用。除了编码亮氨酸 (Leu) 的 UUG, 其他高频密码子的末位碱基都是 A/T。而且, 在编码 Leu 的 6 种同义密码子中, UUG 是使用频率较高的密码子 (RSCU=1.26), 排第 3 位, 最高的是 UUA (RSCU=1.84), 其次是 CUU (RSCU=1.30)。由此可见, 了哥王叶绿体基因组编码 20 种氨基酸以及终止密码子最常用都是末位碱基为 A/T 的密码子, 具有一定的密码子使用偏好性。相同的密码子偏好性也出现在金银花大毛花 *Lonicera japonica* ‘Damaohua’<sup>[21]</sup>、高良姜<sup>[12]</sup>、菠萝 *Ananas comosus*<sup>[22]</sup> 等植物中。

SSR 为一种具有丰富多态性的显性 DNA 标记, 是研究植物品种鉴别、多样性分析以及构建遗传图谱、辅助分子育种的有效手段。利用 MISA 软件对了哥王叶绿体 SSR 进行定位和统计, 发现了哥王含 93 个叶绿体 SSR, 且以 A 或 T 碱基及其组成的基序, 尤其是 polyA 或 polyT 单核苷酸为优势类型, 以分布在 LSC 和 IGS 为主, 与北陵鸢尾 *Iris typhifolia*<sup>[23]</sup>、露兜树 *Pandanus tectorius*<sup>[13]</sup>、闭鞘姜 *Helenia*

*speciosa*<sup>[24]</sup>等植物的SSR特点相同。

IR被认为是叶绿体基因组中序列最为保守的区域,但IR经常会发生扩张和收缩,从而引起IR乃至整个叶绿体基因组长度的变化。因此,IR边界是比较物种叶绿体基因组差异的重要指标。本研究发现了哥王与细轴茛花同属近缘植物的IR边界特别是SSC和IRB之间的JSB具有明显的不同。并且全序列比对显示:了哥王与细轴茛花同属近缘植物在IGS(如*psbE-petL*、*atpF-atpH*)等非编码区具有碱基变异。这些结果提示叶绿体基因组序列可以为了哥王及其近缘物种的鉴别提供依据。此外,系统进化树也直观地展示了了哥王的进化位置及其与相关近缘植物的亲缘关系,聚类效果良好。

## 4 结论

本研究结果表明:了哥王叶绿体基因组为149 864 bp的环状双链四分体分子,GC含量为37.5%,含124个基因;偏好使用以A/T结尾的密码子;SSR以polyA或polyT单核苷酸为主。了哥王与细轴茛花具有最近的亲缘关系。

## 5 参考文献

- [1] 邢少辰, CLARKE JIHONG LIU. 叶绿体基因组研究进展[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2008, **35**(1): 21–28.  
XING Shaochen, CLARKE J L. Progress in chloroplast genome analysis [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2008, **35**(1): 21–28.
- [2] DANIELL H, LIN C S, YU Ming, *et al.* Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering [J/OL]. *Genome Biology*, 2016, **17**(1): 134[2023-07-01]. doi: 10.1186/s13059-016-1004-2.
- [3] SONG Yun, ZHAO Wenjun, XU Jin, *et al.* Chloroplast genome evolution and species identification of *Styrax* (Styracaceae) [J/OL]. *Biomed Research International*, 2022, **2022**: 5364094[2023-07-01]. doi: 10.1155/2022/5364094.
- [4] LIU Qing, LI Xiaoyu, LI Mingzhi, *et al.* Comparative chloroplast genome analyses of *Avena*: insights into evolutionary dynamics and phylogeny [J/OL]. *BMC Plant Biology*, 2020, **20**(1): 406[2023-07-01]. doi: 10.1186/s12870-020-02621-y.
- [5] JO I H, HAN S, SHIM D, *et al.* Complete chloroplast genome of the inverted repeat-lacking species *Vicia bungei* and development of polymorphic simple sequence repeat markers [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2022, **13**: 891783[2023-07-01]. doi: 10.3389/fpls.2022.891783.
- [6] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志(52卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1995.  
Committee of Flora of China. *Flora of China (Volume 52)* [M]. Beijing: Science Press, 1995.
- [7] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准(第1册)[M]. 广州: 广东科技出版社, 2019.  
Guangdong Medical Product Administration. *Standard for Traditional Chinese Medicine in Guangdong Province (Volume 1)* [M]. Guangzhou: Guangdong Science & Technology Press, 2019.
- [8] 尹震花, 张娟娟, 陈林, 等. 了哥王化学成分与生物活性研究进展[J]. *中草药*, 2018, **49**(8): 1964–1976.  
YIN Zhenhua, ZHANG Juanjuan, CHEN Lin, *et al.* Research progress on chemical constituents and biological activities of *Wikstroemia indica* [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2018, **49**(8): 1964–1976.
- [9] 郑传奇, 冯果, 李伟, 等. 了哥王生物活性及抗肿瘤作用研究进展[J]. *微量元素与健康研究*, 2020, **37**(3): 46–48.  
ZHENG Chuanqi, FENG Guo, LI Wei, *et al.* Research progress on bioactivity and anti-tumor effects of the *Wikstroemia indica* [J]. *Studies of Trace Elements and Health*, 2020, **37**(3): 46–48.
- [10] 张群, 陈颖, 曹晟烜, 等. 了哥王叶功能性状特征及其对土壤因子的响应[J]. *亚热带植物科学*, 2023, **52**(1): 60–66.  
ZHANG Qun, CHEN Ying, CAO Shengxuan, *et al.* Characterization of leaf functional traits of *Wikstroemia indica* and its responses to soil factors [J]. *Subtropical Plant Science*, 2023, **52**(1): 60–66.
- [11] 房海灵, 邓绍勇, 朱培林. 不同引发处理对了哥王种子萌发的影响[J]. *南方林业科学*, 2016, **44**(2): 8–11.  
FANG Hailing, DENG Shaoyong, ZHU Peiling. Effects of seed priming with different agents on seed germination of *Wikstroemia indica* [J]. *South China Forestry Science*, 2016, **44**(2): 8–11.
- [12] 黄琼林. 高良姜叶绿体基因组测序与特征分析[J]. *热带作物学报*, 2021, **42**(1): 1–6.  
HUANG Qionglin. Complete sequencing and analysis of chloroplast genome from *Alpinia officinarum* Hance [J]. *Chinese Journal of Tropical Crop*, 2021, **42**(1): 1–6.



- [13] 吴民华, 邹振宁, 叶晓霞, 等. 露兜树叶绿体基因组结构与序列特征分析[J]. 中药新药与临床药理, 2023, **34**(1): 115 – 122.  
WU Minhua, ZOU Zhenning, YE Xiaoxia, *et al.* Structure and sequence characteristics of chloroplast genome from *Pandanus tectorius* [J]. *Traditional Chinese Drug Research and Clinical Pharmacology*, 2023, **34**(1): 115 – 122.
- [14] BENDICH A J. Circular chloroplast chromosomes: the grand illusion [J]. *Plant Cell*, 2004, **16**(7): 1661 – 1666.
- [15] ZHANG Yanjun, DU Liuwen, LIU Ao, *et al.* The complete chloroplast genome sequences of five epimedium species: lights into phylogenetic and taxonomic analyses [J/OL]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, **7**: 306[2023-07-01]. doi: 10.3389/fpls.2016.00306.
- [16] DANIELL H, LEE S B, GREVICH J, *et al.* Complete chloroplast genome sequences of *Solanum bulbocastanum*, *Solanum lycopersicum* and comparative analyses with other Solanaceae genomes [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, **112**(8): 1503 – 1518.
- [17] 钱少娟. 瑞香属的叶绿体基因组特征与系统学研究[D]. 昆明: 云南师范大学, 2021.  
QIAN Shaojuan. *Chloroplast Genome Characteristics and Phylogeny of the Genus Daphne* [D]. Kunming: Yunnan Normal University, 2021.
- [18] ZHAO Xueli, ZHU Zhangming. Comparative genomics and phylogenetic analyses of *Christia vespertilionis* and *Urariopsis brevissima* in the Tribe Desmodieae (Fabaceae: Papilionoideae) based on complete chloroplast genomes [J/OL]. *Plants*, 2020, **9**(9): 1116[2023-07-01]. doi: 10.3390/plants9091116.
- [19] 刘浩宇, 刘力宽, 王郑雷, 等. 兰科植物叶绿体基因组研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2023, **42**(7): 73 – 79.  
LIU Haoyu, LIU Likuan, WANG Zhenglei, *et al.* Research progress on chloroplast genome of Orchidaceae [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2023, **42**(7): 73 – 79.
- [20] 宋菊, 龙月红, 林丽梅, 等. 五加科植物叶绿体基因组结构与进化分析[J]. 中草药, 2017, **48**(24): 5070 – 5075.  
SONG Ju, LONG Yuehong, LIN Limei, *et al.* Analysis on structure and phylogeny of chloroplast genomes in *Araliaceae* species [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, **48**(24): 5070 – 5075.
- [21] 张加强, 刘慧春, 王杰, 等. 金银花大毛花叶绿体基因组密码子的偏好性分析[J]. 浙江农业学报, 2023, **35**(4): 821 – 830.  
ZHANG Jiaqiang, LIU Huichun, WANG Jie, *et al.* Analysis on codon usage patterns of chloroplast genome of *Lonicera japonica* cv. Damaohua [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2023, **35**(4): 821 – 830.
- [22] 杨祥燕, 蔡元保, 谭秦亮, 等. 菠萝叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 热带作物学报, 2022, **43**(3): 439 – 446.  
YANG Xiangyan, CAI Yuanbao, TAN Qinliang, *et al.* Analysis of codon usage bias in the chloroplast genome of *Ananas comosus* [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2022, **43**(3): 439 – 446.
- [23] 卢政阳, 于凤扬, 肖月娥, 等. 北陵鸢尾叶绿体基因组及其特征分析[J]. 草地学报, 2023, **31**(6): 1656 – 1664.  
LU Zhengyang, YU Fengyang, XIAO Yue'e, *et al.* Complete chloroplast genome and characteristics analysis of *Iris typhifolia* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, **31**(6): 1656 – 1664.
- [24] 吴永飞, 杨雪莲, 颜丽, 等. 闭鞘姜叶绿体基因组特征及其系统发育分析[J]. 种子, 2023, **42**(4): 10 – 17.  
WU Yongfei, YANG Xuelian, YAN Li, *et al.* Analysis on chloroplast genome characteristics and phylogeny of *Helenia speciosa* [J]. *Seed*, 2023, **42**(4): 10 – 17.