

濒危植物新绒苔叶绿体基因组特征及系统发育位置分析

朱梦飞¹, 胡迎峰¹, 师雪芹^{1,2}

(1. 安徽师范大学 生命科学学院, 安徽 芜湖 241000; 2. 安徽师范大学 生物环境与生态安全安徽省高校省级重点实验室, 安徽 芜湖 241000)

摘要: 【目的】新绒苔 *Neotrichocolea bissetii* 为东亚特有植物, 被世界自然保护联盟 (IUCN) 列为易危植物。阐明新绒苔叶绿体基因组结构特征及系统进化地位, 可为新绒苔的物种鉴定、资源保护和系统进化提供理论参考。【方法】以野外采集的新绒苔为材料, 进行 DNA 提取、测序和组装, 分析叶绿体基因组结构、重复序列、密码子偏好性, 并结合其余 18 种苔藓植物叶绿体基因组序列构建系统发育关系。【结果】新绒苔叶绿体全基因组序列全长为 118 423 bp, 包括 1 对反向重复区 (IR, 9 031 bp)、1 个大单拷贝区 (LSC, 80 837 bp) 和 1 个小单拷贝区 (SSC, 19 524 bp); 包含 79 个蛋白质编码基因, 8 个核糖体 RNA (rRNA) 和 36 个转移 RNA (tRNA)。新绒苔叶绿体全基因组中共检测到 56 个简单重复序列 (SSR), 大部分为 AT/AT 二核苷酸序列。密码子偏好性分析表明其密码子偏好以 A/U 结尾。除了少数可变区域外, 新绒苔叶绿体基因组的 IR 边界区域非常保守。系统发育树表明该种与囊绒苔 *Trichocoleopsis sacculata* 亲缘关系最密切, 两者隶属于新绒苔科。【结论】新绒苔叶绿体基因组为典型的四分体结构, 基因组相对保守。系统发育树分析表明新绒苔与囊绒苔聚合成同一分支结构。图 5 表 3 参 32

关键词: 新绒苔; 叶绿体基因组; 特征分析; 系统发育

中图分类号: Q75 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2024)00-0001-09

Characterization and phylogenetic location analysis of chloroplast of the endangered plant *Neotrichocolea bissetii*

ZHU Mengfei¹, HU Yingfeng¹, SHI Xueqin^{1,2}

(1. Anhui Normal University, Wuhu 241000, Anhui, China; 2. Provincial Key Laboratory of Biotic Environment and Ecological Safety in Anhui Province, Anhui Normal University, Wuhu 241000, Anhui, China)

Abstract: 【Objective】 *Neotrichocolea bissetii*, a vulnerable liverwort by International Union for Conservation of Nature (IUCN), is endemic to East Asia. This study aims to clarify the structure traits of chloroplast genome and phylogenetic status of *N. bissetii*, the results can provide theoretical reference for the species identification, resource conservation and systematic evolution of *N. bissetii*. 【Method】 DNA was extracted, sequenced and assembled from *N. bissetii* samples collected in the field. The chloroplast genome structure, repeat sequences and codon bias were analyzed. The phylogenetic relationship was constructed based on the chloroplast genome sequences of 19 bryophytes. 【Result】 The whole genome sequence of the chloroplast of *N. bissetii* was 118 423 bp, including a pair of reverse repeat regions (IR, 9 031 bp), a large single copy region (LSC, 80 837 bp) and a small single copy region (SSC, 19 524 bp). It contained 79 protein-coding genes, 8 rRNA and 36 tRNA. In addition, a total of 56 simple sequence repeats (SSR) were detected in the whole chloroplast genome, most of which were AT/AT dinucleotide sequences. Codon preference analysis showed that the codon preferred to ends

收稿日期: 2024-05-16; 修回日期: 2024-09-09

基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目 (1608085MC61)

作者简介: 朱梦飞 (ORCID: 0009-0006-6726-0351), 从事森林资源与开发利用研究。E-mail: 1178585479@qq.com。

通信作者: 师雪芹 (ORCID: 0000-0003-1742-9578), 副教授, 博士, 从事苔藓植物多样性及保护研究。

E-mail: baiyunsqx@163.com

in A/U. With the exception of a few variable regions, the IR boundary regions of the chloroplast genome of the *N. bissetii* were very conserved. Phylogenetic tree showed that this species was most closely related to *Trichocoleopsis sacculata*. [Conclusion] The chloroplast genome of *N. bissetii* is a typical tetrad structure and relatively conserved. Phylogenetic tree analysis indicates that *N. bissetii* and *T. sacculata* into a branch structure. [Ch, 5 fig. 3 tab. 32 ref.]

Key words: *Neotrichocolea bissetii*; chloroplast genome; characteristic analysis; phylogenetic

叶绿体是细胞中具有独立基因组的细胞器,其结构简单、分子量相对较小、进化速率较慢、具有良好的保守性,在物种鉴定和系统发育分析中得到了广泛的应用^[1]。在大多数植物中,叶绿体基因组的突出特征是存在1个大的倒置重复序列区(IR),IR被1个大单拷贝区(LSC)和一个小单拷贝区(SSC)隔开,叶绿体DNA大小变化大多可以通过IR区域长度的变化来解释^[2-3]。目前,叶绿体基因组已广泛应用于苔藓植物的系统发育研究中^[4-5]。与核基因组和线粒体基因组相比,叶绿体基因组结构简单且保守,全序列易获得,相对于多片段研究也有更好的解析^[6-7]。

新绒苔 *Neotrichocolea bissetii* 隶属于新绒苔属 *Neotrichocolea*, 该属仅包含新绒苔1种,为东亚特有属。新绒苔植物体绒毛状,深绿色或黄绿色,有光泽;茎匍匐或倾斜,3至4回羽状分枝,长达10 cm;通常生长在潮湿的石头上或林下溪边的潮湿土壤上,偶见于腐木;主要分布在中国、日本^[8]和朝鲜半岛^[9]。依据中国苔藓植物濒危等级的评估原则,该种在整个分布区范围内种群变化不详,在黄山已被证实种群数量急剧减少,目前被列为易危物种(VU)^[10],该种也被《世界自然保护联盟濒危物种红色名录》列为易危物种。

早期基于形态学的研究,新绒苔被分别放在毛叶苔科 Ptilidiaceae^[11] 或新绒苔科 Neotrichocoleaceae^[12]。LIU等^[13] 基于基因片段分析,深入研究了新绒苔属和囊绒苔属 *Trichocoleopsis* 的系统发育关系及分类位置,研究结果支持新绒苔放置在新绒苔科,但需要注意的是,其系统进化树中的分支支持率并不高。最新的苔藓植物系统发育研究中均未包含新绒苔的叶绿体基因组数据。鉴于叶绿体基因组信息更系统全面,本研究将基于叶绿体基因组数据,进一步明确新绒苔的系统位置。

本研究利用新一代测序技术(NGS)对新绒苔进行测序,通过组装和注释获得完整的叶绿体基因组序列,分析了新绒苔基因组的序列特征,并结合17种已发表的苔藓植物序列构建了系统发育树,明确了新绒苔的系统位置,为新绒苔的物种鉴定、资源保护和系统进化研究提供了科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 植物材料及DNA提取、测序

新绒苔标本采集于安徽黄山(30°14'N, 118°16'E),凭证标本(20220715-76A)经硅胶干燥后保存于安徽师范大学生命科学学院植物标本馆。使用改良CTAB法提取和纯化叶片组织的总DNA^[14]。通过琼脂糖凝胶电泳和分光光度法测定DNA产物的质量和浓度。所有合格的DNA样本送往中国西南野生生物种质资源库分子生物学实验中心进行建库和测序。

1.2 基因组组装和注释

使用SOAPnuke Toolkit v.1.3.0^[15] 过滤原始序列(Raw reads)获得高质量序列(Clean reads)用于后续分析。通过GetOrganelle v1.7^[16] 组装叶绿体基因组。将组装结果导入Bandage v.8.1^[17] 中可视化叶绿体基因组结构,去除低覆盖率的低质量片段,得到单倍体叶绿体的全基因组环结构。使用在线工具CPGAVAS2进行注释^[18]。用在线程序Organellar Genome DRAW绘制叶绿体的全基因组物理图谱^[19]。

1.3 重复序列分析

使用在线程序MicroSATellite对新绒苔叶绿体中的简单重复序列(SSR)进行分析^[20]。采用CodonW软件^[21]分析密码子的使用情况。使用REPuter在线网站^[22]分析叶绿体基因组序列,共检测到4种类型的长重复序列:正向重复、反向重复、回文重复和互补重复。

1.4 叶绿体基因组特征和边界比较分析

利用新测序的新绒苔、囊绒苔 *T. sacculata* 与美国国家生物技术信息中心(NCBI)数据库中公布的

5 种苔藓植物 (登录号分别为 NC_010359、NC_019628、NC_019628、NC_043786、NC_043789) 的叶绿体基因组序列进行比较, 分析叶绿体基因组的总基因数、GC 含量、LSC、SSC 和 IR。利用在线工具 IRscope 可视化叶绿体基因组的 LSC/IR/SSC 边界变化^[23]。

1.5 系统发育分析

基于苔藓植物系统发育纲要^[4]和 YU 等^[5]的研究, 以爪哇裸蒴苔 *Haplomitrium blumei* (NC_043789) 为外类群, 基于新绒苔、囊绒苔和 NCBI 数据库下载已公布的 17 种苔藓植物 (表 1) 的叶绿体基因组序列构建系统发育树。这 17 种苔藓植物均属于叶苔纲 *Jungermanniopsida*, 包含了其下的 3 个亚纲代表类群: 叉苔亚纲 *Metzgeriidae* 的绿片苔 *Aneura pinguis* 和 *A. mirabilis*, 溪苔亚纲 *Pelliidae* 的异溪苔 *Pellia endiviifolia*, 其余 14 种为叶苔亚纲 *Jungermanniidae*。

表 1 17 种苔藓植物样本信息

Table 1 Information of 17 samples of bryophytes

物种	GenBank 登录号	物种	GenBank 登录号
<i>Aneura mirabilis</i>	NC_010359	四齿异萼苔 <i>Heteroscyphus argutus</i>	NC_043788
绿片苔 <i>Aneura pinguis</i>	NC_035617	毛耳苔 <i>Jubula hutchinsiae</i>	NC_043782
东亚鞭苔 <i>Bazzania praerupta</i>	NC_043785	异溪苔 <i>Pellia endiviifolia</i>	NC_019628
护蒴苔 <i>Calypogeia fissa</i>	NC_043757	中华羽苔 <i>Plagiochila chinensis</i>	NC_043784
白鳞苔 <i>Cheilolejeunea xanthocarpa</i>	NC_043777	毛边光萼苔 <i>Porella perrottetiana</i>	NC_043780
狭瓣疣鳞苔 <i>Cololejeunea lanciloba</i>	NC_043778	深裂毛叶苔 <i>Ptilidium pulcherrimum</i>	NC_015402
厚角耳叶苔 <i>Frullania nodulosa</i>	NC_043783	日本扁萼苔 <i>Radula japonica</i>	NC_043781
全萼苔 <i>Gymnomitrium concinatum</i>	NC_040133	刺边合叶苔 <i>Scapania ciliata</i>	NC_043786
爪哇裸蒴苔 <i>Haplomitrium blumei</i>	NC_043789		

利用 MAFFT 程序对新绒苔和其他苔藓植物的叶绿体基因组进行全基因组比较^[24-25]。使用 PhyloSuite v.1.2.2^[26] 的 ModelFinder 插件分别计算最大似然 (ML) 和贝叶斯推断 (BI) 树模型。ML 树和 BI 树分别使用 RAxML v.7.2.8^[27] 和 MrBayes v.3.1.2^[28] 构建。

2 结果与分析

2.1 叶绿体基因组结构和基因特点

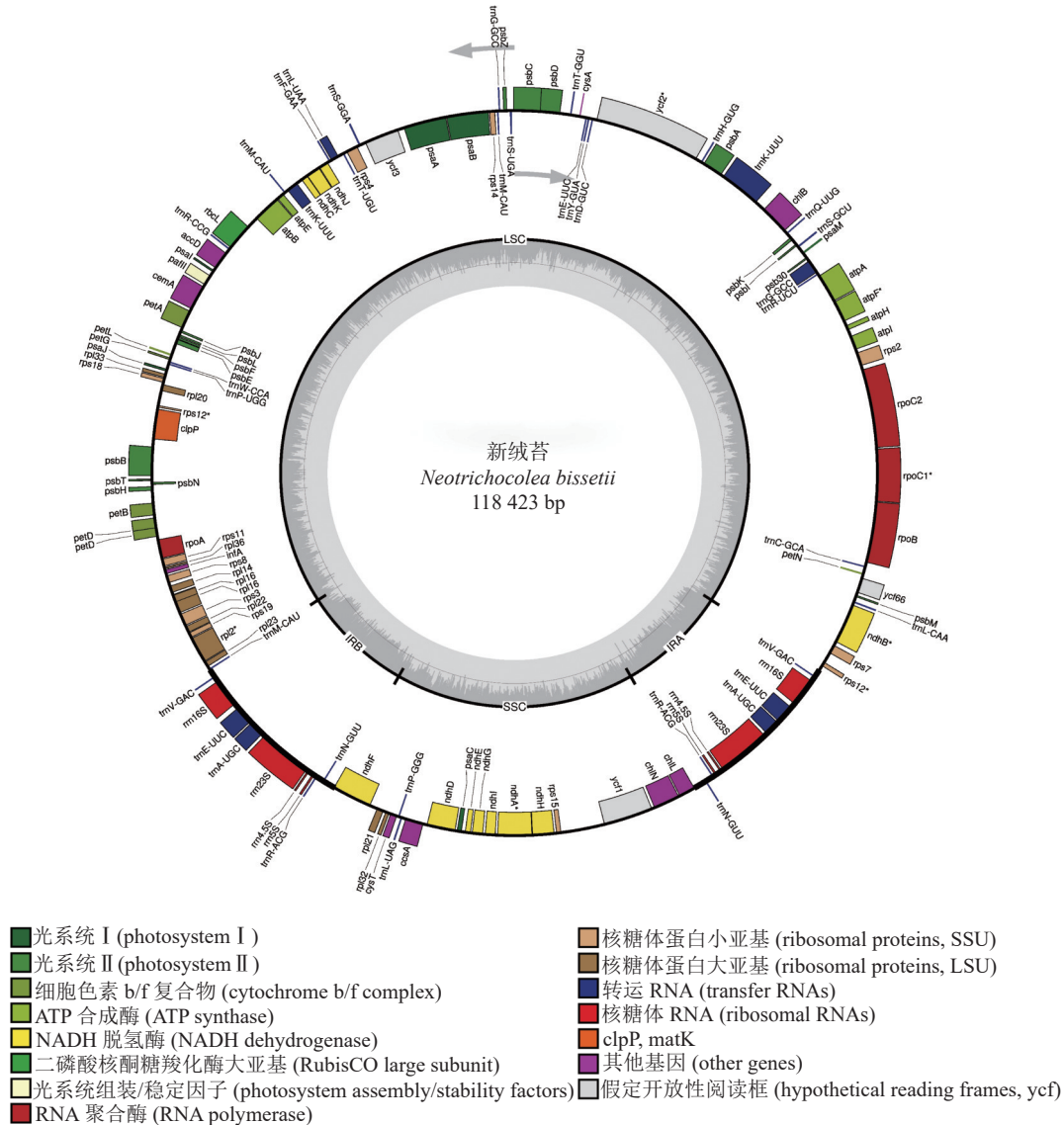
新绒苔叶绿体基因组为典型的四分体结构, 总长度为 118 423 bp, 其中包括 1 对 IR (9 031 bp)、1 个 LSC (80 837 bp) 和 1 个 SSC (19 524 bp)(图 1)。全基因组 GC 含量为 33.3%, IR 的 GC 含量 (47.0%) 高于 SSC (31.2%) 和 LSC (29.3%)。新绒苔叶绿体基因组序列共编码 132 个基因, 其中蛋白编码基因 87 个, rRNA 基因 8 个, tRNA 基因 37 个。

按照基因功能, 主要分为光合作用、转录和未知功能基因, 未发现转录起始因子 *infA*。叶绿体基因内含子分析显示: 10 个基因含有内含子, *clpP* 蛋白编码基因含有 2 个内含子 (表 2)。

2.2 重复序列分析

新绒苔叶绿体基因组共检测到 56 个 SSR, 包括 21 个单核苷酸重复序列、20 个二核苷酸重复序列、9 个三核苷酸重复序列、5 个四核苷酸重复序列和 1 个五核苷酸重复序列。SSR 最丰富的类型是单核苷酸重复序列, 单核苷酸重复序列以 A 和 T 碱基为主。此外, A/T、AT/AT 和 AAAT/ATTT 重复序列占 66.07%, 说明新绒苔的 SSR 偏好使用 A 和 T 碱基 (图 2)。

通过分析新绒苔的长重复序列, 在叶绿体基因组中鉴定出 35 个重复序列, 其中正向重复 6 个, 回文重复 28 个, 反向重复 1 个。与 NCBI 数据库中的毛边光萼苔、毛耳苔、厚角耳叶苔、细光萼苔 *Porella gracillima* (NC_082430)、巨瓣光萼苔 *Porella grandiloba* (NC_072065) 在重复数和重复类型上存在差异。新绒苔、毛边光萼苔和厚角耳叶苔未检测到互补重复序列, 其余均含有 4 个重复序列。除巨瓣光萼苔外, 其他 6 种植物重复序列中, 回文重复比例最高 (图 3)。



圈外侧表示正向编码的基因，圈内侧表示反向编码的基因；彩色条表示不同的功能组；内部深灰色圈代表 CG 占比；浅灰色圈代表 AT 占比。

图 1 新绒苔叶绿体基因组基因图谱

Figure 1 Chloroplast genome gene map of *N. bissetii*

2.3 密码子偏好性分析

新绒苔叶绿体基因组中共发现 39 474 个编码密码子，其中编码亮氨酸的密码子最多，共有 4 136 个；编码色氨酸的密码子最少，共有 475 个。64 种密码子共编码 20 种氨基酸，终止密码子为 UAA, UAG, UGA。对该叶绿体基因组的相对同义密码子使用度 (RSCU) 进行分析，RSCU ≥ 1.00 的密码子有 33 个，以 A/U 结尾的高频密码子 28 个，以 C/G 结尾的密码子 5 个。此外，新绒苔叶绿体基因组偏好密码子多以 A/U 结尾，与 GC 含量较低的基因组一致 (表 3)。

2.4 IR 边界的收缩和扩张分析

对新绒苔等 7 种苔藓植物叶绿体基因组的 IR 边界收缩扩张进行分析 (图 4)，结果表明：7 种苔藓植物的叶绿体基因组长度从 *Aneura mirabilis* 的 108 007 bp 到爪哇裸蒴苔的 128 728 bp 不等。IR 长度为 16 480~21 856 bp，LSC 长度为 77 553~88 291 bp，SSC 长度为 13 974~19 854 bp。*trnV*、*trnL*、*ndhF*、*16S*、*chlL* 是位于 IR 边界附近的主要基因。在这 7 个物种中，*rps12*、*rpl23* 和 *trnL* 基因均位于 LSC，*trnV* 基因位于 IRa。除爪哇裸蒴苔外，其余物种 LSC 与 IRb 之间的连接位点 (JSB) 的边界基因均为 *ndhF*。新绒苔、囊绒苔、*A. mirabilis*、异溪苔、爪哇裸蒴苔在叶绿体基因组中 IRa 与 LSC 之间的连接位点 (JLA) 边界未注释到 *16S* 基因。新绒苔和囊绒苔在叶绿体基因组中 LSC 与 IRb 之间的连接位点 (JLB) 边界附近缺

表 2 新绒苔叶绿体基因组编码的基因

Table 2 Genes encoded by the chloroplast genome of *N. bissetii*

基因类别	基因功能	基因名称
光合作用	ATP合酶亚基	<i>atpA, atpB, atpE, atpH, atpI</i>
	光系统 I	<i>psaA, psaB, psaC, psaJ</i>
	光系统 II	<i>psbA, psbB, psbC, psbD, psbE, psbL, psbN, psbT, psbZ, ycf3</i>
	NADH-脱氢酶亚基	<i>ndhA*, ndhB*, ndhC, ndhD, ndhE, ndhF, ndhH, ndhI, ndhJ, ndhK</i>
	细胞色素复合体b/f亚基	<i>petA, petB*, petD, petG</i>
	Rubisco酶亚基	<i>rbcL</i>
复制基因	核糖体大亚基	<i>rpl14, rpl16, rpl2*, rpl20, rpl22, rpl33, rpl36</i>
	DNA依赖核酸聚合酶	<i>rpoA, rpoB, rpoC1*, rpoC2</i>
	核糖体小亚基	<i>rps12*, rps19, rps2, rps3, rps4, rps8</i>
	核糖体RNA基因	<i>rrn16S (×2), rrn23S (×2), rrn4.5S (×2), rrn5S (×2)</i>
	转运RNA基因	<i>trnA-UGC (×2)*, trnC-GCA, trnD-GUC, trnE-UUC, trnE-UUC (×2)*, trnF-GAA, trnG-GCC (×2)*, trnH-GUG, trnK-UUU (×2)*, trnL-CAA, trnL-UAA*, trnL-UAG, trnM-CAU (×2), trnN-GUU (×2), trnP-UGG, trnQ-UUG, trnR-ACG (×2), trnR-UCU, trnS-GCU, trnS-GGA, trnS-UGA, trnT-CGU*, trnT-GGU, trnT-UGU, trnV-GAC (×2), trnW-CCA, trnY-GUA</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> 蛋白酶 <i>clpP**</i> 包裹膜蛋白 <i>cemA</i> 成熟酶 <i>matK</i> 保守开放性阅读框 <i>ycf1, ycf2 (×2), ycf66</i>

说明：*和**标记的分别为含有单内含子和双内含子的基因。位于IR的重复基因标记为(×2)。

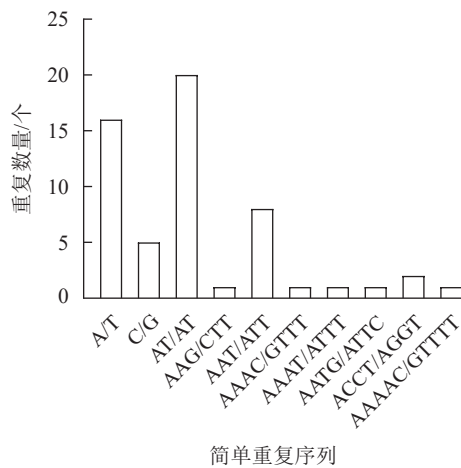


图 2 新绒苔叶绿体基因组 SSR 信息

Figure 2 SSR information in chloroplast genome of *N. bissetii*

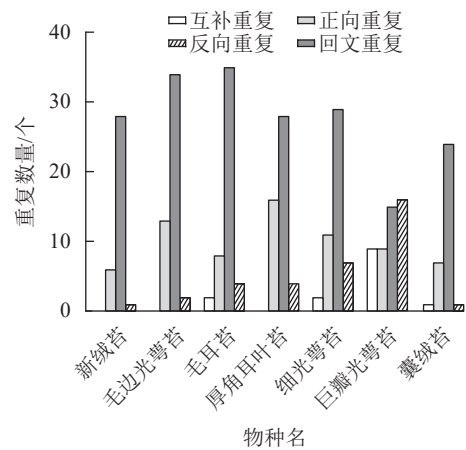


图 3 7 种苔藓植物叶绿体基因组长重复序列分析

Figure 3 Long repeats of chloroplast genome in 7 bryophytes

失 *trnL* 基因，明显有别于其他 5 个物种。

2.5 系统发育分析

基于 19 种苔藓植物叶绿体基因组构建的 BI 树和 ML 树在拓扑结构上一致，各分支节点的支持率大部分为 100%，可靠性较高。从系统发育树 (图 5) 上看，叉苔亚纲的绿片苔和 *A. mirabilis* 最先分离出来，接着是溪苔亚纲的异溪苔，叶苔亚纲的 14 个种形成 1 支，内部包括 2 个姐妹分支：1 支是广义叶苔目 *Jungermanniales* s.l.，包括东亚鞭苔、护蒴苔、全萼苔、四齿异萼苔、中华羽苔和刺边合叶苔；另 1 支是广义光萼苔目 *Porellales* s.l.和毛叶苔目 *Ptilidiales*，前者包括白鳞苔、狭瓣疣鳞苔、厚角耳叶苔、毛耳苔、毛边光萼苔和日本扁萼苔，后者包括深裂毛叶苔、囊绒苔和新绒苔。新绒苔和囊绒苔形成 1 支，与深裂毛叶苔形成姐妹支，支持率为 100%，说明其亲缘关系最密切。

表3 新绒苔叶绿体基因组密码子使用分析

Table 3 Analysis of chloroplast genome codon usage in *N. bissetii*

氨基酸	密码子	数量	RSCU	氨基酸	密码子	数量	RSCU	氨基酸	密码子	数量	RSCU	氨基酸	密码子	数量	RSCU
Phe	UUU	2166	1.36	Tyr	UAU	1379	1.42	Glu	GAG	411	0.62	Ala	GCC	177	0.69
Phe	UUC	1027	0.64	Tyr	UAC	566	0.58	Ser	UCU	637	1.21	Ala	GCA	307	1.20
Leu	UUA	1196	1.74	Ter	UAA	1299	1.47	Ser	UCC	496	0.94	Ala	GCG	167	0.65
Leu	UUG	834	1.21	Ter	UAG	608	0.69	Ser	UCA	650	1.23	Cys	UGU	470	1.14
Leu	CUU	746	1.08	Ter	UGA	739	0.84	Ser	UCG	443	0.84	Cys	UGC	353	0.86
Leu	CUC	422	0.61	His	CAU	644	1.40	Ser	AGU	495	0.94	Trp	UGG	475	1.00
Leu	CUA	571	0.83	His	CAC	277	0.60	Ser	AGC	437	0.83	Arg	CGU	269	0.75
Leu	CUG	367	0.53	Gln	CAA	799	1.32	Pro	CCU	383	1.12	Arg	CGC	146	0.41
Ile	AUU	1626	1.36	Gln	CAG	410	0.68	Pro	CCC	314	0.92	Arg	CGA	395	1.11
Ile	AUC	686	0.58	Asn	AAU	1627	1.42	Pro	CCA	470	1.38	Arg	CGG	204	0.57
Ile	AUA	1264	1.06	Asn	AAC	658	0.58	Pro	CCG	196	0.58	Arg	AGA	720	2.02
Met	AUG	609	1.00	Lys	AAA	2099	1.46	Thr	ACU	490	1.16	Arg	AGG	404	1.13
Val	GUU	626	1.45	Lys	AAG	782	0.54	Thr	ACC	425	1.01	Gly	GGU	411	1.13
Val	GUC	250	0.58	Asp	GAU	641	1.43	Thr	ACA	475	1.13	Gly	GGC	207	0.57
Val	GUA	558	1.30	Asp	GAC	257	0.57	Thr	ACG	293	0.70	Gly	GGA	526	1.44
Val	GUG	288	0.67	Glu	GAA	917	1.38	Ala	GCU	374	1.46	Gly	GGG	316	0.87

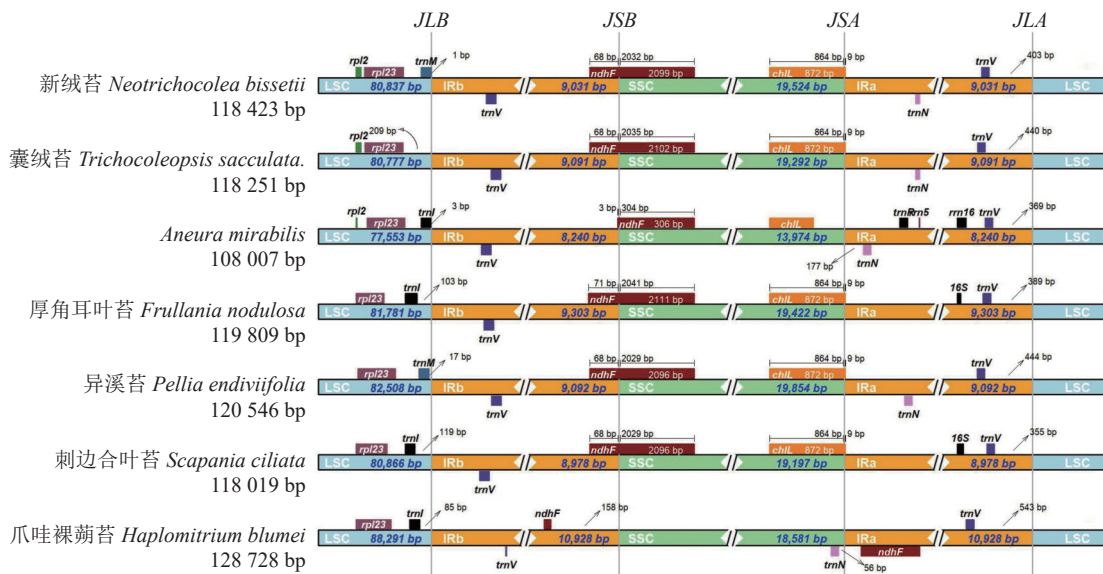


图4 7种苔藓植物叶绿体基因组边界分析

Figure 4 Chloroplast genome boundary analysis of 7 bryophytes

3 讨论

新绒苔作为东亚特有的濒危苔藓植物，本研究首次对其叶绿体基因组进行测序、组装和分析。新绒苔叶绿体基因组总长度为 118 423 bp，呈现典型的环状四分体结构，GC 含量为 33.3%，共编码了 132 个基因，与细光萼苔、巨瓣光萼苔、厚角耳叶苔、毛耳苔、尖瓣合叶苔 *Scapania ampliata* 植物叶绿体基因组特征相似^[5,29]，表明苔藓植物叶绿体基因组进化相对保守。

SSR 技术具有简便、快速、稳定性高和等位基因多样性高等特点，在基因组研究中，已经作为主要的分子标记技术广泛应用于比较基因组研究和系统学研究等领域^[30]。重复序列分析显示：新绒苔叶绿体基因组有 56 个 SSR，最丰富的类型是单核苷酸重复序列，单核苷酸重复序列以 A 和 T 碱基为主。这与许多其他苔藓植物物种报道的结果一致^[7]。

植物在进化过程中，密码子的使用会受到自然选择、碱基突变、遗传漂变等因素的影响而产生偏好

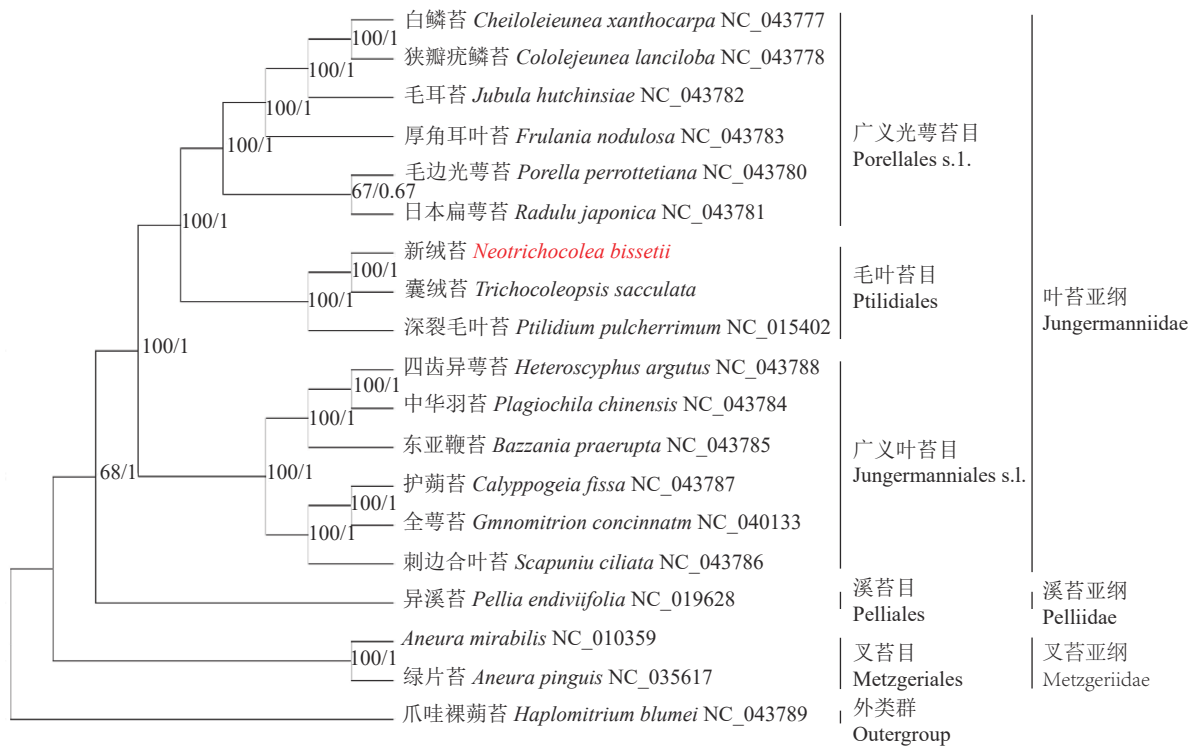


图 5 基于 19 种苔藓植物叶绿体基因组序列构建的系统发育树

Figure 5 Phylogenetic tree based on chloroplast genome sequences of 19 bryophytes

性^[31]。植物叶绿体基因的 RSCU 可以确定密码子偏好性， $RSCU \geq 1.00$ 的密码子为高频率密码子， $RSCU < 1.00$ ，则表示该密码子较少使用^[32]。新绒苔 RSCU ≥ 1.00 的密码子有 33 个，其中以 A、U 结尾的密码子占 84.8%，说明偏好以 A、U 结尾。与张家榕等^[33]对 18 种苔藓植物 *rbcL* 基因的密码子偏好分析结果相同。

IR 和 SSC 边界的扩张和收缩导致相关基因拷贝数变化或边界区域假基因产生，这是叶绿体基因组进化过程中都存在的现象，也是其长度变化的主要原因^[34]。本研究中，位于 IR 边界的基因包括 *trnV*、*trnL*、*ndhF*、16S 和 *chlL*，且所有物种的 IRb 与 SSC 之间的连接位点均在 *ndhF* 基因内，且新绒苔的 IR 边界相对保守，只有极个别基因出现了缺失，如在 JLB 边界附近缺失 *trnL* 基因。新绒苔与囊绒苔同属于新绒苔科，叶绿体基因组特征和边界比较分析表明：除 *trnM* 基因外，其余基因位置一致，说明新绒苔与囊绒苔亲缘关系较近；二者在 IRb 均不含 *trnL* 基因，区别于其他目植物，说明二者与其余物种亲缘关系较远^[35]。

本研究利用 19 种苔藓植物叶绿体基因组构建的系统发育树与近期研究一致^[4-5,36]，支持了新绒苔科(包括新绒苔属和囊绒苔属)的成立，新绒苔科与毛叶苔科共同构成毛叶苔目，并与广义光萼苔目形成姐妹关系。

4 结论

新绒苔的叶绿体基因组为典型的四分体结构，叶绿体全基因组序列全长为 118 423 bp，包含 79 个蛋白质编码基因，8 个 rRNA 和 36 个 tRNA，系统发育分析显示新绒苔属和囊绒苔属为姐妹关系，共同构成了新绒苔科。本研究丰富了新绒苔属分子生物学资源，研究结果可为新绒苔及其近缘种的物种鉴定、资源保护和系统进化提供理论参考。

5 参考文献

[1] 王杰, 贺文闯, 向坤莉, 等. 基因组时代的植物系统发育研究进展[J]. 浙江农林大学学报, 2023, 40(1): 227 - 236.

WANG Jie, HE Wenchuang, XIANG Kunli, et al. Advances in plant phylogeny in the genome era [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2023, 40(1): 227 - 236.

- [2] SUGIURA M, HIROSE T, SUGITA M. Evolution and mechanism of translation in chloroplasts [J]. *Annual Review of Genetics*, 1998, **32**(1): 437 – 459.
- [3] PALMER J D. Isolation and structural analysis of chloroplast DNA [J]. *Methods in Enzymology*, 1986, **118**(11): 167 – 186.
- [4] LI Yunfeng, LUO Lian, LIU Yang, *et al.* The Bryophyte Phylogeny Group: a revised familial classification system based on plastid phylogenomic data [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2024, **62**(4): 577 – 588.
- [5] CHOI S S, KWON W, PARK J. The complete chloroplast genome of *Scapania ampliata* Steph., 1897 (Scapaniaceae, Jungermanniales) [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020, **5**(3): 2890 – 2892.
- [6] GRAHAM S W, LAM V K Y, MERCKX V S F T. Plastomes on the edge: the evolutionary breakdown of mycoheterotroph plastid genomes [J]. *New Phytologist*, 2017, **214**(1): 48 – 55.
- [7] LUBNA, ASAF S, JAN R, *et al.* Plastome diversity and evolution in mosses: insights from structural characterization, comparative genomics, and phylogenetic analysis [J/OL]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, **257**(2): 128608[2024-05-01]. doi: [10.1016/j.ijbiomac.2023.128608](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128608).
- [8] 高谦, 吴玉环. 中国苔藓志 第 10 卷 叶苔目 (裂叶苔科—新绒苔科)[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 433 – 436.
GAO Qian, WU Yuhuan. *Flora Bryophytorum Sinicorum Vol.10 Jungermanniales (Lophoziaceae–Neotrichocoleaceae)* [M]. Beijing: Science Press, 2008: 433 – 436.
- [9] CHOI S S, BAKALIN V, PARK S J. Integrating continental mainland and islands in temperate East Asia: liverworts and hornworts of the Korean Peninsula [J]. *PhytoKeys*, 2021, **176**: 131 – 226.
- [10] 何强, 贾渝. 中国苔藓植物濒危等级的评估原则和评估结果[J]. *生物多样性*, 2017, **25**(7): 774 – 780.
HE Qiang, JIA Yu. Assessing the threat status of China's bryophyte [J]. *Biodiversity Science*, 2017, **25**(7): 774 – 780.
- [11] EVANS A W. A remarkable *Ptilidium* from Japan [J]. *Revue Bryologique*, 1905, **32**(4): 57 – 60.
- [12] HORIKAWA Y. Monographia Hepaticarum Australi-Japonicarum [J]. *Journal of Science of the Hiroshima University. Series B*, 1934, **2**: 101 – 325.
- [13] LIU Yang, JIA Yu, WANG Wei, *et al.* Phylogenetic relationships of two endemic genera from East Asia *Trichocoleopsis* and *Neotrichocolea* [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 2008, **95**(3): 459 – 470.
- [14] DOYLE J J, DOYLE J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. *Phytochemistry*, 1987, **19**(1): 11 – 15.
- [15] CHEN Yuxin, CHEN Yongsheng, SHI Chunmei, *et al.* SOAPnuke: a MapReduce acceleration-supported software for integrated quality control and preprocessing of high-throughput sequencing data [J/OL]. *Giga Science*, 2018, **7**: gix120[2024-05-01]. doi: [10.1093/gigascience/gix120](https://doi.org/10.1093/gigascience/gix120).
- [16] JIN Jianjun, YU Wenbin, YANG Junbo, *et al.* GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate de novo assembly of organelle genomes [J/OL]. *Genome Biology*, 2020, **21**(1): 241[2024-05-01]. doi: [10.1186/s13059-020-02154-5](https://doi.org/10.1186/s13059-020-02154-5).
- [17] WICK R R, SCHULTZ M B, ZOBEL J, *et al.* Bandage: interactive visualization of de novo genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 2015, **31**: 3350 – 3352.
- [18] SHI Linchun, CHEN Haimei, JIANG Mei, *et al.* CPGAVAS2, an integrated plastome sequence annotator and analyzer [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, **47**: W65 – W73.
- [19] LOHSE M, DRECHSEL O, KAHLAU S, *et al.* OrganellarGenomeDRAW – a suite of tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing expression data sets [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, **41**: W575 – W581.
- [20] BEIER S, THIEL T, MUNCH T, *et al.* MISA-web: A web server for microsatellite prediction [J]. *Bioinformatics*, 2017, **33**: 2583 – 2585.
- [21] SHARP P M, LI W H. The codon Adaptation Index – a measure of directional synonymous codon usage bias [J]. *Nucleic Acids Research*, 1987, **15**(3): 1281 – 1295.
- [22] KURTZ S, CHOUDHURI J V, OHLEBUSCH E, *et al.* REPuter: the manifold applications of repeat analysis on a genomic scale [J]. *Nucleic Acids Research*, 2001, **29**(22): 4633 – 4642.
- [23] AMIRYOUSEFI A, HYVÖNEN J, POCZAI P. IRscope: an online program to visualize the junction sites of chloroplast genomes [J]. *Bioinformatics*, 2018, **34**: 3030 – 3031.
- [24] KATO K, ROZEWICKI J, YAMADA K D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence

- choice and visualization [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2019, **20**(4): 1160 – 1166.
- [25] KURAKU S, ZMASEK C M, NISHIMURA O, *et al.* aLeaves facilitates on-demand exploration of metazoan gene family trees on MAFFT sequence alignment server with enhanced interactivity [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, **41**(W1): W22 – W28.
- [26] FAN Zhifeng, MA Changle. Comparative chloroplast genome and phylogenetic analyses of Chinese *Polyspora* [J/OL]. *Scientific Reports*, 2022, **12**(1): 15984 [2024-05-01]. doi: [10.1038/s41598-022-16290-4](https://doi.org/10.1038/s41598-022-16290-4).
- [27] STAMATAKIS A. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models [J]. *Bioinformatics*, 2006, **22**(21): 2688 – 2690.
- [28] RONQUIST F, HUELSENBECK J P. MrBayes 3: bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. *Bioinformatics*, 2003, **19**(12): 1572 – 1574.
- [29] YU Ying, LIU Hongmei, YANG Junbo, *et al.* Exploring the plastid genome disparity of liverworts [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2019, **57**(4): 382 – 394.
- [30] 尹跃, 安巍, 赵建华, 等. 黑果枸杞转录组 SSR 信息分析及分子标记开发 [J]. *浙江农林大学学报*, 2019, **36**(2): 422 – 428.
YIN Yue, AN Wei, ZHAO Jianhua, *et al.* SSR information in transcriptome and development of molecular markers in *Lycium ruthenicum* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2019, **36**(2): 422 – 428.
- [31] ROMERO H, ZAVALA A, MUSTO H. Codon usage in *Chlamydia trachomatis* is the result of strand-specific mutational biases and a complex pattern of selective forces [J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, **28**(10): 2084 – 2090.
- [32] BARBHUIYA P A, UDDIN A, CHAKRABORTY S. Analysis of compositional properties and codon usage bias of mitochondrial CYB gene in anura, urodela and gymnophiona [J/OL]. *Gene*, 2020, **751**: 144762 [2024-05-01]. doi: [10.1016/j.gene.2020.144762](https://doi.org/10.1016/j.gene.2020.144762).
- [33] 张家榕, 雷万钧. 18 种苔藓植物 *rbcL* 基因的密码子偏性及聚类分析 [J]. *山西农业大学学报 (自然科学版)*, 2020, **40**(6): 1 – 12.
ZHANG Jiarong, LEI Wanjun. Cluster analysis and codon usage bias studies of *rbcL* genes in 18 bryophytes [J]. *Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2020, **40**(6): 1 – 12.
- [34] XIA Conglong, WANG Manjiong, GUAN Yunhui, *et al.* Comparative analysis of the chloroplast genome for aconitum species: Genome structure and phylogenetic relationships [J/OL]. *Frontiers in Genetics*, 2022, **13**: 878182 [2024-05-01]. doi: [10.3389/fgene.2022.878182](https://doi.org/10.3389/fgene.2022.878182).
- [35] DONG Shanshan, YU Jin, ZHANG Li, *et al.* Phylotranscriptomics of liverworts: revisiting the backbone phylogeny and ancestral gene duplications [J]. *Annals of Botany*, 2022, **130**(7): 951 – 964.
- [36] BECHTELER J, PEÑALOZA-BOJACÁ G, BELL D, *et al.* Comprehensive phylogenomic time tree of bryophytes reveals deep relationships and uncovers gene incongruences in the last 500 million years of diversification [J/OL]. *American Journal of Botany*, 2023, **110**(11): e16249 [2024-05-01]. doi: [10.1002/ajb2.16249](https://doi.org/10.1002/ajb2.16249).