

红花变豆菜叶绿体基因组结构及同属种间关系研究

杨 晨 姚雪莹 陈志祥 王奇志*

(华侨大学化工学院, 厦门 361021)

摘要 红花变豆菜(*Sanicula rubriflora* F. Schmidt)是有药用价值的植物,全株干燥后与其他药用同属植物易混淆,种间关系存在争议,通过高通量测序技术对红花变豆菜叶绿体基因组测序,利用生物信息学方法对测序数据进行拼接、注释,首次报道红花变豆菜叶绿体基因组结构及特点,利用叶绿体基因组数据,提供种间分类新证据,并且分析相关类群的进化关系。*S. rubriflora* 叶绿体基因组序列的长度为 155 721 bp,其中包括一个 85 981 bp 的大单拷贝区(large single copy, LSC)和一个 17 060 bp 的小单拷贝区(small single-copy region, SSC),它们被两个 26 340 bp 的反向重复区(inverted repeat sequence, IRs)隔开。红花变豆菜叶绿体基因组 GC 含量为 38.20%, 包含 129 个基因,其中 84 个蛋白质编码基因,37 个 tRNA 基因和 8 个 rRNA 基因。红花变豆菜叶绿体基因组结构具有高度保守性,其中编码基因共有 51 907 个密码子,最多编码 5 095 个亮氨酸,最少编码 689 个色氨酸,简单重复序列分析共发现 32 个位点,大多数是单碱基重复的 A/T 类型。叶绿体基因组聚类结果支持天胡荽亚科(Hydrocotylaceae)是伞形科(Umbelliferae)内比较原始的类群;变豆菜亚科(Saniculoideae)和芹亚科(Apiaceae)为姊妹类群,是伞形科较进化的类群;变豆菜属植物是一个相对自然的类群;红花变豆菜与黄花变豆菜(*S. flavovirens*)为近缘姊妹种,但是两者形态和地理分布差异较大。该研究结果为变豆菜属属下种间鉴定及其种间演化奠定基础。

关键词 红花变豆菜;叶绿体基因组;种间关系

中图分类号:Q944. 58 文献标志码:A doi:10. 7525/j. issn. 1673-5102. 2022. 03. 013

Chloroplast Genome Structure and Interspecies Relationship of *Sanicula rubriflora*

YANG Chen YAO Xueying CHEN Zhixiang WANG Qizhi*

(Institute of Chemical Engineering of Huaqiao University, Xiamen 361021)

Abstract As a kind of medicinal herb, *Sanicula rubriflora* F. Schmidt is easily confused with other medicinal plants of the same genus after drying and interspecific relationship is controversial. The structure and characteristics of the chloroplast genome of *S. rubriflora* were reported for the first time, the sequencing data was spliced and annotated using bioinformatics methods, and the chloroplast genome structure and phylogeny were further analyzed. The length of the chloroplast genome sequence of *S. rubriflora* was 155 721 bp, including a large single copy region (LSC) of 85 981 bp and a small single copy region (SSC) of 17 060 bp, and were separated by inverted repeat sequence (IRs) of 26 340 bp. The GC content of the chloroplast genome of *S. rubriflora* was 38.20% and contained 129 genes, 84 protein-coding genes, 37 tRNA genes and 8 rRNA genes

基金项目:国家自然科学基金项目(31500162);国家标本平台教学标本子平台项目(2005DKA21403-JK);中国大学校园植物网站建设的子课题(K纵 20180947);2018 年中医药公共卫生服务补助专项“全国中药资源普查项目”(财社(2018)43);福建省自然科学基金面上项目(变豆菜属 2 个重要姊妹种的亲缘地理学研究,2020J01078)

第一作者简介:杨晨(1996—),女,硕士研究生,主要从事植物分类与植物系统发育的研究。

* 通信作者:E-mail:wqz@hqu.edu.cn

收稿日期:2021-04-22

Foundation item: National Natural Science Foundation of China(31500162); Specimen Platform of China, Teaching Specimens Sub-platform(2005DKA21403-JK); Sub-topics on the construction of Chinese university campus plant websites(K Longitudinal 20180947); National Special Fund for Chinese medicine resources Research in the public Interest of China(2018-43); General Project of the Natural Science Foundation of Fujian Province(Geographical study of two important sister species of the genus *Sanicula*, 2020J01078)

First author introduction: YANG Chen(1996—), female, master student, main engaging in plant classification and plant phylogeny research.

* Corresponding author:E-mail:wqz@hqu.edu.cn

Received date:2021-04-22

respectively. The chloroplast genome structure of *S. rubriflora* was highly conservative. The coding genes contained a total of 51 907 codons, with 5 095 leucine and 689 tryptophan. Simple repeated sequence analysis revealed a total of 32 sites, and most of them were single base repeat A/T type. The clustering results of the chloroplast genome supported that the subfamily Hydrocotyloideae was a relatively primitive group in the Umbelliferae family. The subfamily Saniculoideae and Apioideae were sister groups, which were the more close relationship of the Umbelliferae. *Sanicula* was a relatively natural group. *S. rubriflora* and *S. flavovirens* were related sister species, but their morphology and geographical distribution were quite different. The results provide a basis for the interspecies identification of the genus *Sanicula* and lay the foundation for further study of its phylogenetic relationship and interspecies evolution.

Key words *Sanicula rubriflora*; chloroplast genome; interspecies relationship

叶绿体是植物进行光合作用的场所。植物叶绿体基因具有高度保守性,叶绿体基因组是由1个大的单拷贝序列(large single copy, LSC),1个小的单拷贝序列(small single-copy region, SSC)和两个反向重复序列(inverted Repeat sequence, IRs)组成^[1]。大多叶绿体基因组大小在120~180 kB左右,编码基因100~200个,包括蛋白质编码基因80个左右,tRNA基因30~32个,rRNA基因4个^[2]。叶绿体基因组功能基因大体分为3类:光合作用有关的基因、自我复制有关基因以及其他生物合成有关基因。在LSC和SSC区域分布的主要是与光系统I和光系统II有关基因,不同的物种叶绿体包含的基因数量以及种类会有较大变化。叶绿体基因组的GC含量通常比较低,平均在37%^[3],并且不同植物种类的GC含量差异大^[4]。随着叶绿体基因数据的增加,对植物的分类、进化和系统发育提供了丰富的数据^[5]。相比于单独的基因片段数据,叶绿体基因组能提供给我们更多、更完整的基因信息,对于研究植物的系统进化有着更好的前景,在植物遗传多样性和保护遗传学等方面也得到了广泛的应用^[6]。

红花变豆菜(*Sanicula rubriflora* F. Schmidt)又名鸡爪芹、大叶芹、鸭巴掌、碗儿花、紫花变豆菜等,其嫩叶可食,具解毒、止血之效,也作为露地绿化和盆栽观赏种类,具有很强的药用和园艺观赏价值^[7]。该种在恩格勒系统(Engler system)^[8]、哈钦松系统(Hutchinson system)^[9]、克朗奎斯特系统(Cronquist system)^[10]以及被子植物发育系统IV(Angiosperm Phylogeny Group IV, APG IV)^[11]等常用被子植物分类系统中是一个自然的种类,均隶属于伞形科(Umbelliferae)变豆菜亚科(Saniculoideae)变豆菜属(*Sanicula* L.)植物。它是北极—第三纪孑遗的东亚—北美间断分布的变豆菜属中特殊的中国原产种类,其茎不分枝,相对原始,花色

为紫红色,复伞形花序,在中国主要集中分布在东北三省。红花变豆菜的研究报道较少,仅有少量形态学和生境数据被报道^[12-15],叶绿体基因组未见报道,红花变豆菜叶绿体基因组的研究对于变豆菜属属下物种鉴定、系统发育和种间演化有着重要的意义。因此,本研究通过二代高通量测序技术和生物信息学方法对红花变豆菜的完整叶绿体基因组进行测序分析,结合已报道的伞形科(Apiaceae)植物叶绿体基因组进行聚类研究结果,可以为变豆菜属种类鉴定,以及不同类群的系统发育关系和种间演化提供新数据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

红花变豆菜由浙江大学李攀副教授采集。样本采自吉林省抚松县果松山北坡(127°29'16.66"N, 42°5'53.34"E),采集号Li *et al.* LP185179。洗净干燥后存于冰箱中-4℃备用。凭证标本存放于浙江大学植物标本馆(Herbarium of Zhejiang University, HZU)内。

1.2 DNA提取、测序

用植物基因组DNA试剂盒(Sangon Biotech, 中国上海)提取红花变豆菜叶片总基因组DNA。合格的DNA样品被打断成约350 bp的片段,构建测序文库,最后使用Illumina HiSeq Platform(Illumina, 圣地亚哥,加利福尼亚)对末端配对的读段进行测序。

1.3 叶绿体基因组的组装及注释

将棱子芹的叶绿体基因组(GenBank登录号: NC_033343)用作参考序列。使用FastQC v0.11.7^[16]对测序所得到的Raw reads数据进行质量控制,去除低质量序列和接头,获得高质量Clean reads数据。将所有的Clean reads与参考序列进行比对,获得与叶绿体基因组相关的序列。用SOAPdeno-

vo2^[17]软件进行拼接组装,最后利用NOVOPlasty^[18]对组装结果进行补洞。利用Geneious v11.0.4^[19]软件注释,调整有误差的蛋白编码基因的启动密码子和终止密码子,调整内含子/外显子边界。使用OGDraw(<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OG-Draw.html>)在线工具绘制叶绿体基因组的环形图谱。组装与注释完成的红花变豆菜叶绿体基因组通过Sequin软件提交至NCBI。

1.4 叶绿体基因组数据分析

利用MISA(<https://webblast.ipk-gatersleben.de/misa/>)在线软件分析红花变豆菜中简单重复序列(simple sequence repeats, SSR),利用CodonW 1.4.2

计算红花变豆菜密码子的相对使用频率(relative synonymous codons usage, RSCU),RSCU>1表示该密码子有偏好性,RSCU<1表示该密码子使用率较低,RSCU=1表示该密码子没有偏好性。

1.5 红花变豆菜叶绿体基因组与近缘种的进化树分析

从NCBI中下载同科的20种植物的叶绿体基因组序列,以五加科(Araliaceae)穗序鹅掌柴(*Schefflera delavayi*)为外类群。使用MEGA 7.0的最大似然法(包含2个天胡荽亚科植物,11个芹亚科植物,7个变豆菜亚科植物,见表1)进行系统发育分析,重复次数设定为1 000次。

表1 NCBI中伞形科20种植物以及外类群穗序鹅掌柴叶绿体基因组序列号
Table 1 Chloroplast genome sequence numbers of 20 species of Umbelliferae and outgroup of *S. delavayi* from NCBI

植物名 Plant name	亚科名 Subfamily Name	序列号 Serial number
穗序鹅掌柴 <i>Schefflera delavayi</i> (Franch.) Harms ex Diels	五加科 Araliaceae	NC_022813.1
<i>Hydrocotyle verticillata</i> Thunb	天胡荽亚科	HM596070.1
天胡荽 <i>Hydrocotyle sibthorpioides</i> Lam	Hydrocotyloideae Drude	KT589392.1
紫花阔叶柴胡 <i>Bupleurum boissieuianum</i> H. Wolff		NC_036017.1
<i>Bupleurum falcatum</i> L.		NC_027834
川明参 <i>Chuanminshen violaceum</i> Sheh et Shan		KU921430.2
野胡萝卜 <i>Daucus carota</i> L.		DQ898156.1
<i>Hansenia oviformis</i> (R.H.Shan) Pimenov & Kljuykov		NC_035055.1
<i>Hansenia weberbaueriana</i> (Fedde ex H.Wolff) Pimenov & Kljuykov	芹亚科	NC_035053.1
<i>Peucedanum insolens</i> Kitag	Apiodeae Drude	NC_033344.1
棱子芹 <i>Pleurospermum camtschaticum</i> Hoffm		NC_033343.1
茴香 <i>Foeniculum vulgare</i> Mill		NC_029469
旱芹 <i>Apium graveolens</i> L.		NC_041087.1
鸭儿芹 <i>Cryptotaenia japonica</i> Hassk		NC_046737.1
首阳变豆菜 <i>Sanicula giraldii</i> Wolff		MT528256
黄花变豆菜 <i>Sanicula flavovirens</i> Z.H.Chen, D.D.Ma et W.Y.Xie		MT528257
<i>Sanicula odorata</i> (Raf.) Pryer & Phillippe		MT528258
薄片变豆菜 <i>Sanicula lamelligera</i> Hance	变豆菜亚科	MN966729
红花变豆菜 <i>Sanicula rubriflora</i> F. Schmidt	Saniculoideae Drude	MT528260
变豆菜 <i>Sanicula chinensis</i> Bunge		MK208987.1
直刺变豆菜 <i>Sanicula orthacantha</i> S. Moore		MK293943

注:无中文名处植物为国外种
Note:The plants without Chinese names are foreign species

2 结果与分析

2.1 红花变豆菜叶绿体基因组结构分析

红花变豆菜的绿体基因组(GenBank 登录号: MT528260)全长 155 721 bp, GC 含量为 38.20%。大的单拷贝(LSC)区域为 85 981 bp,小的单拷贝

(SSC)区域为 17 060 bp,一对反向重复区域的长度分别为 26 340 bp。红花变豆菜的叶绿体基因组共检测到129个基因,包括84个蛋白质编码基因,37个tRNA基因和8个rRNA基因(见图1)。其中15个基因中含有1个内含子,2个基因(*clp P*和*ycf 3*)

含有2个内含子(见表2)。研究表明内含子可以增强外源基因在植物特定的时间和特定的部位的表达水平^[4]。红花变豆菜的叶绿体基因组和大多的高等植物相似,编码的基因根据功能分为3大类、18个小类:第一类是与光合作用相关的基因,共45个,包括光系统 I 基因、光系统 II 基因、细胞色素 b/f 复合物基因、ATP 合成酶基因、NADH 脱氢酶基因和 RubisCO 大亚基;第二类是与叶绿体自

我复制相关的基因73个,包含核糖体RNA基因、RNA聚合酶亚基基因、核糖体小亚基(Ribosomal Small Subunit, SSU)、核糖体大亚基(Ribosomal Large Subunit, LSU)和tRNA基因;第三类为开放阅读框(Open Reading Frame, ORF)和其他编码蛋白质的基因6个以及一些未知功能基因5个,包括成熟酶基因、被膜蛋白基因、乙酰辅酶A羧化酶基因、细胞色素C的合成基因、蛋白酶基因、转录启动因子基因(见表2)。

表2 红花变豆菜叶绿体基因组注释基因

Table 2 Genes contained in *S.rubriflora* chloroplast genome

分类 Classification	基因家族 Gene Family	基因名称 Gene Name	数量 Quantity
光合作用相关 Genes for photosynthesis	光系统 I Photosystem I	<i>psa A, psa B, psa C, psa I, psa J</i>	5
	光系统 II Photosystem II	<i>psb A, psb B, psb C, psb D, psb E, psb F, psb H, psb I, psb J, psb K, psb L, psb M, psb N, psb T, psb Z</i>	15
	细胞色素 b/f 复合物 Cytochrome b/f complex	<i>pet A, pet B*, pet D, pet G, pet L, pet N</i>	6
	ATP 合成酶 ATP synthase	<i>atp A, atp B, atp E, atp F*, atp H, atp I</i>	6
	NADH 脱氢酶 NADH dehydrogenase	<i>ndh A*, ndh B*, ndh C, ndh D, ndh E, ndh F, ndh G, ndh H, ndh I, ndh J, ndh K</i>	12
	二磷酸核酮糖羧化酶大亚基 RubisCO large subunit	<i>rbc L</i>	1
自我复制 Self-replication	rRNA	<i>rrn 16^a, rrn 23^a, rrn 4.5^a, rrn 5^a</i>	8
	RNA 聚合酶亚基 RNA polymerase	<i>rpo A, rpo B, rpo C1*, rpo C2</i>	4
	核糖体小亚基(SSU) Ribosomal protein(SSU)	<i>rps 2*, rps 3, rps 4, rps 7^a, rps 8, rps 11, rps 12*, rps 14, rps 15, rps 16*, rps 18, rps 19</i>	13
	核糖体大亚基(LSU) Ribosomal protein(LSU)	<i>rpl 14, rpl 16, rpl 2^a, rpl 20, rpl 22, rpl 23^a, rpl 32, rpl 33, rpl 36</i>	11
	tRNA	<i>trn A-UGC*, trn C-GCA, trn D-GUC, trn E-UUC, trn F-GAA, trn G-GCC*, trn G-UCC, trn H-GUG, trn I-CAU^a, trn I-GAU*, trn K-UUU*, trn L-CAA^a, trn L-UAA*, trn L-UAG, trn M-CAU, trn N-GUU^a, trn P-UGG, trn Q-UUG, trn R-ACC^a, trn R-UCU, trn S-GCU, trn S-GGA, trn S-UGA, trn T-GGU, trn T-UGU, trn V-GAC^a, trn V-UAC*, trn W-CCA, trn Y-GUA, trn fM-CAU</i>	37
其他基因 Other genes	成熟酶 Maturase	<i>mat K</i>	1
	被膜蛋白 Envelop membrane protein	<i>cem A</i>	1
	乙酰辅酶A羧化酶 Subunit of acetyl-CoA-carboxylase	<i>acc D</i>	1
	细胞色素C的合成基因 Synthetic gene of cytochrome C	<i>ccs A</i>	1
	蛋白酶 Protease	<i>clp P**</i>	1
	转录启动因子 Transcription promoter	<i>inf A</i>	1
未知功能基因 Unknown function gene	保守假定的叶绿体开放阅读框 Hypothetical chloroplast reading frames	<i>ycf 1, ycf 2^a, ycf 3**, ycf 4</i>	5

注: ^a代表基因有两个; *代表基因含有一个内含子; **代表基因含有两个内含子

Note: ^a represents the gene has two; * represents the gene contains one intron; ** represents the gene contains two introns

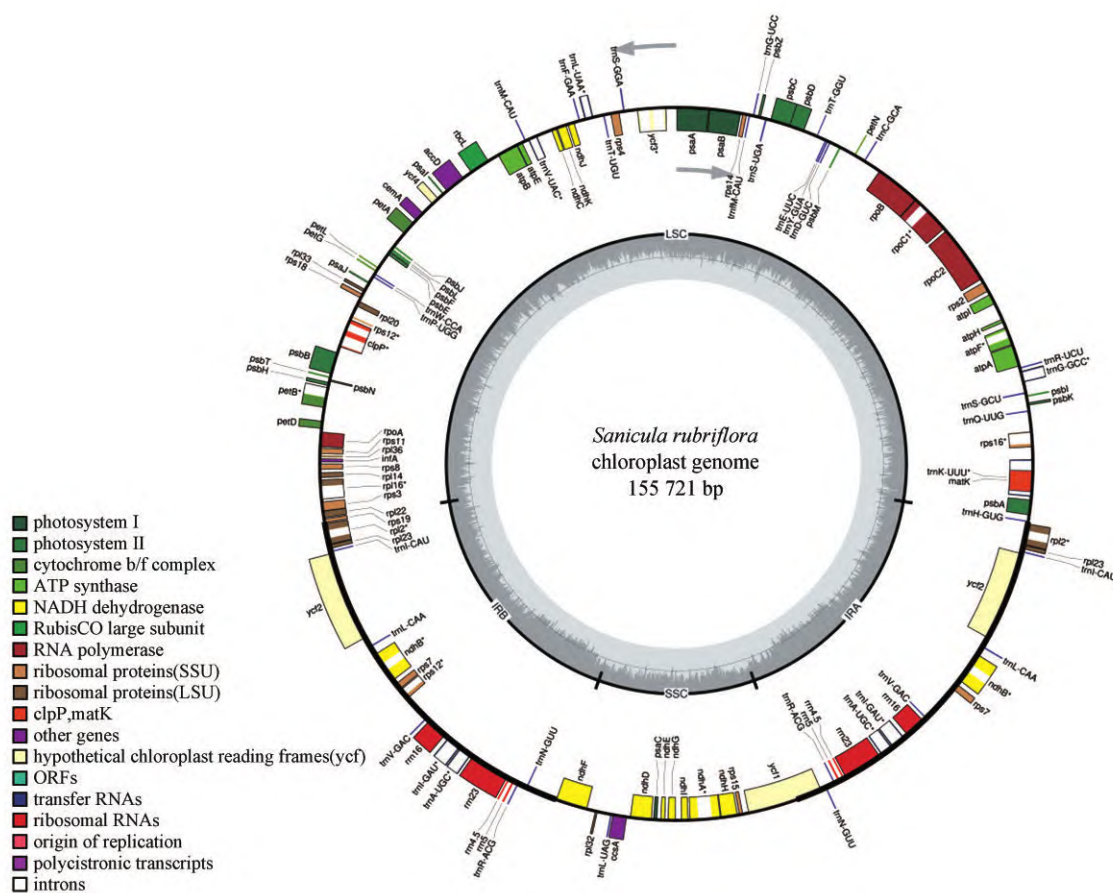


图1 红花变豆菜的叶绿体基因组图谱
Fig.1 The chloroplast genome of *S. rubriflora*

2.2 红花变豆菜叶绿体基因组密码子使用分析

红花变豆菜编码基因共有 51 907 个密码子(见图 2)。其中编码最多的是亮氨酸 5 095 个(9.81%),最少的是色氨酸 689 个(1.74%)。终止密码子中 UAA 使用度最为频繁(UGA 2.07%; UAG 1.55%; UAA 2.15%),与直刺变豆菜(*S. orthacantha*)^[20]一致。红花变豆菜密码子偏好 UUU、UCU、UCC、UCA、UAU、UGU、UUA、UUG、CUU、UAA、UGA、CAU、CAA、CGA、AGA、AGG、AUU、AUA、ACU、ACC、ACA、AAU、GAU、AAA、GUU、GUA、GCU、GCC、GCA、GGU、GGA、CCU、CCC、CCA、GAA,共 35 种,无偏好性为 UGG、AUG 2 种,使用频率较低的为 UUC 等共 27 种。

2.3 红花变豆菜叶绿体基因组简单重复序列分析

红花变豆菜叶绿体基因组中有 32 个 SSR(见表 3),大部分 SSR 是单核苷酸重复(25 个,78.13%),双核苷酸重复有 6 个(18.75%),复杂重复有 1 个。除复

杂重复 SSR 外,其余 SSRs 均由 A 或 T 组成。红花变豆菜大部分简单重复序列处于 LSC 区(23 个),IRa、IRb、SSC 区每个区内仅含 3 个。

2.4 不同类群的叶绿体基因组进化分析

系统发育树的节点都有着 95% 以上的置信度,可信度高。系统进化树表明,20 种伞形科植物被分为 3 个类群:天胡荽亚科(Hydrocotyloideae)、变豆菜亚科(Saniculoideae)和芹亚科(Apioideae)。最早分出的是天胡荽亚科的 2 种植物,在伞形科中是较原始的类群。芹亚科植物与变豆菜亚科植物聚成一支,形成姊妹类群,关系近缘。

变豆菜属植物分为 2 支,其中首阳变豆菜(*S. giraldii*)单独分为一支,而欧洲变豆菜(*S. odorata*)与其余五种变豆菜植物聚为一大支,其中欧洲变豆菜单独为一支,剩余 5 种变豆菜属植物聚为一支。剩余 5 种植物中红花变豆菜与黄花变豆菜(*S. flavovirens*)聚为一支,薄片变豆菜(*S. lamelligera*)、变豆菜(*S. chinensis*)和直刺变豆菜分支聚为一支,置信度为 95%(见图 3)。

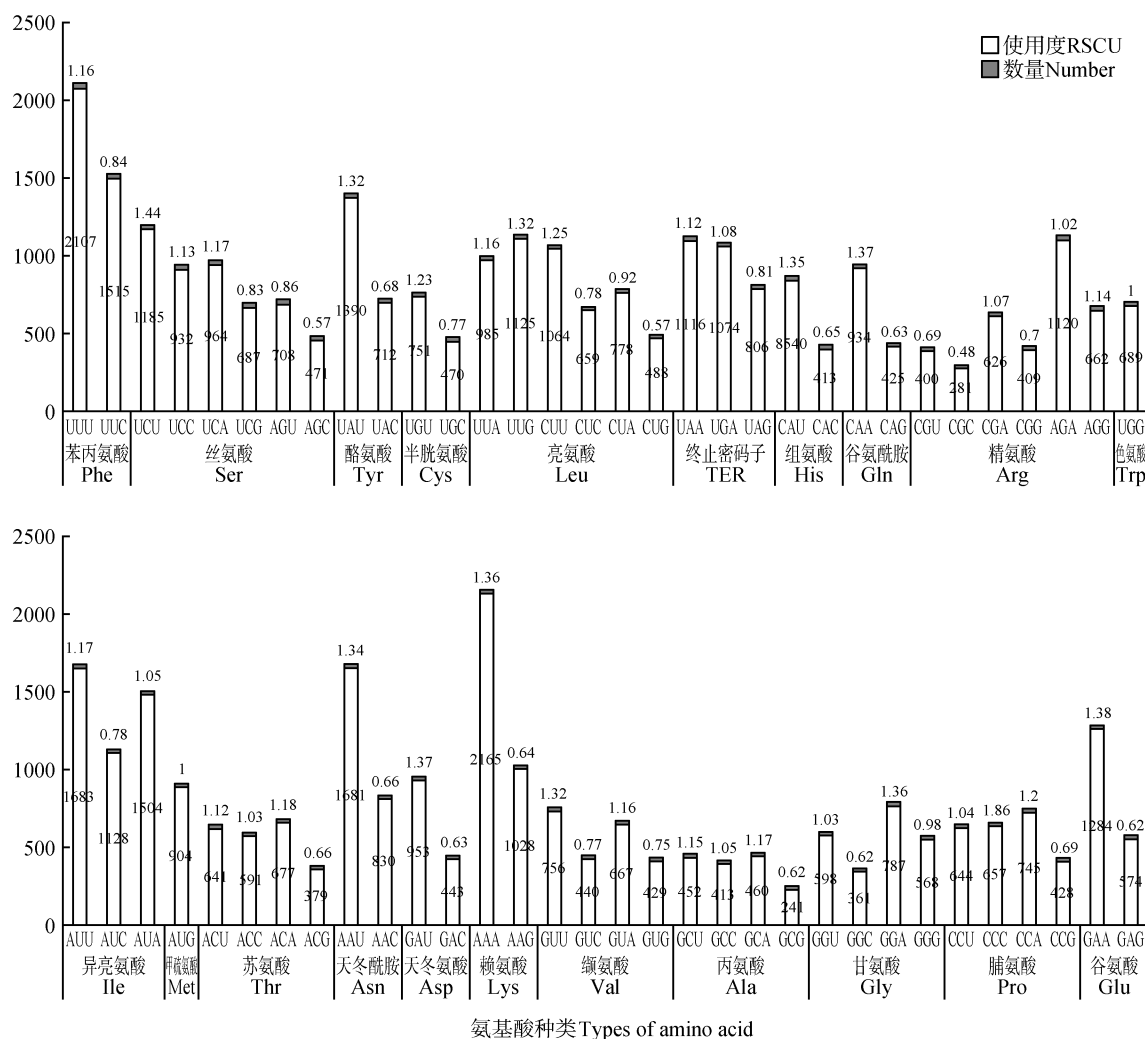


图2 红花变豆菜叶绿体基因组密码子数量和相对使用度

Fig.2 The number and RSCU of codons in the chloroplast genome of *S. rubriflora*

3 讨论

研究植物系统进化常用方法有形态学研究,解剖学研究和分子学研究^[21]。传统分类学主要利用花、果实等形态学数据进行进化分类研究^[22],但是变豆菜属属下种类较多,极易混淆,难以从直观上进行分辨,并且在叶表皮微型态、果实微型态等研究中,红花变豆菜上叶表皮有大量颗粒物,下叶表皮气孔为椭圆形,果实卵形且有皮刺,其与属下其他姊妹种差异不大^[1,20,23],因此传统形态学很难对变豆菜属属下进行准确分类。因此本研究利用分子学数据,能对属下分类与种间进化研究提供新数据。

叶绿体基因组具有母系遗传,独立进化和结构保守等特点,能够提供较完整的基因信息,为种间进化提供新的证据,且叶绿体基因组序列之间

的结构差异,能够更好的显示出植物种内和植物种间的变化程度,这些信息能够让人更好地理解经济上重要作物的气候适应性,对于物种繁殖和鉴定以及有价值物种的保护具有重要的意义。随着植物基因组研究的深入,测序序列的不断发展,常规分子序列提供信息较少,基于ITS序列^[24],片段化分子序列提供信息较少,研究涉及的种类较少,因此利用叶绿体基因组研究植物发育进化有着重要的意义。Deng等^[25]对青海当归(*Angelica nitida*)进行叶绿体基因组测序,发现其与白芷(*Angelica dahurica*)最为近缘,Ge等^[26]对天胡荽(*Hydrocotyle sibthorpioides*)进行叶绿体基因组测序并将其从伞形科中去除并将其归于五加科,Huang等^[27]利用叶绿体全基因组信息对山茶属(*Camellia*)属下13种物种进行重新分类。而本研究结果

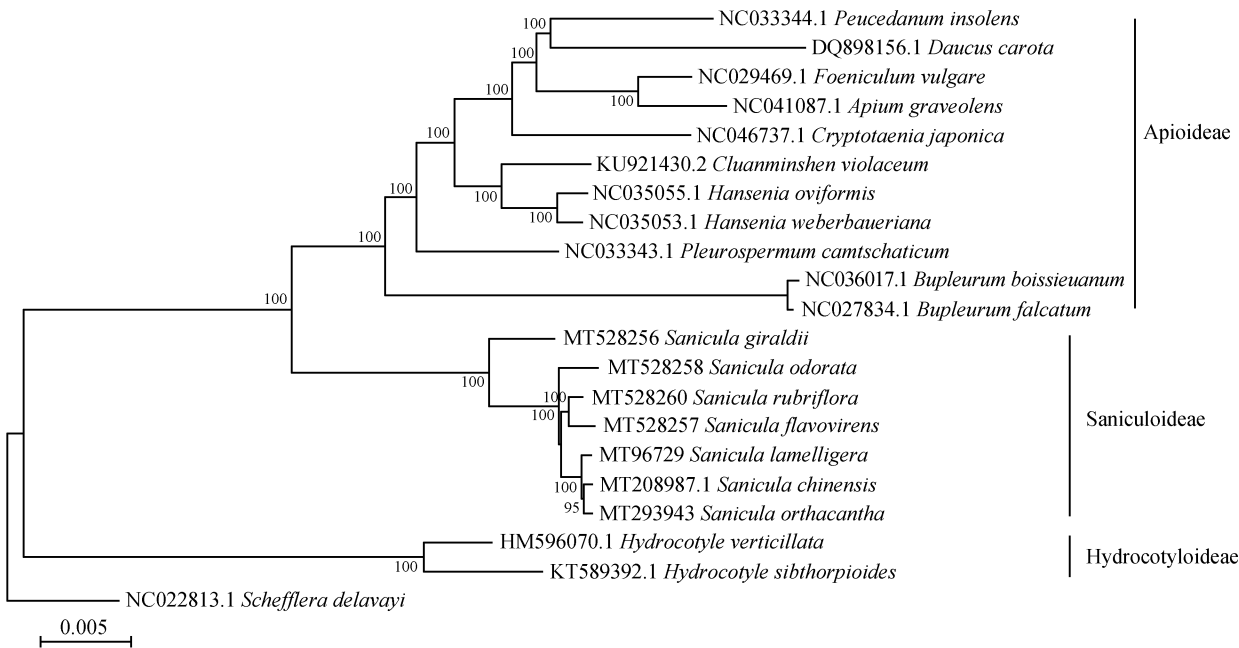


图3 基于红花变豆菜和近缘植物叶绿体全基因组序列的系统进化树(以穗序鹅掌柴为外类群)

Fig.3 Phylogenetic tree based on chloroplast genome sequence of *S. rubriflora* and relative species (outgroup of *Schefflera delavayi*)

表3 红花变豆菜叶绿体基因组中的SSR

Table 3 SSR in the chloroplast genome of *S. rubriflora*

编号 No.	类型 Type	简单重复序列 SSR	大小 Size	起始 Start	终止 End	所属区域 Area	编号 No.	类型 Type	简单重复序列 SSR	大小 Size	起始 Start	终止 End	所属区域 Area
1	P1	(A)10	10	3 931	3 940	LSC	17	P1	(T)11	11	67 017	67 027	LSC
2	P1	(A)10	10	5 140	5 149	LSC	18	P1	(A)10	10	67 383	67 392	LSC
3	P2	(AT)9	18	10 586	10 603	LSC	19	P1	(A)10	10	72 305	72 314	LSC
4	P1	(T)10	10	13 205	13 214	LSC	20	P1	(A)11	11	72 945	72 955	LSC
5	P1	(A)14	14	13 831	13 844	LSC	21	P1	(T)10	10	79 926	79 935	LSC
6	P1	(T)11	11	19 593	19 603	LSC	22	P1	(T)13	13	81 858	81 870	LSC
7	P1	(T)12	12	27 323	27 334	LSC	23	P1	(T)11	11	84 358	84 368	LSC
8	P2	(AT)9	18	30 725	30 742	LSC	24	P1	(T)14	14	86 052	86 065	IRa
9	P1	(A)13	13	32 475	32 487	LSC	25	P1	(T)11	11	100 139	100 149	IRa
10	P2	(TA)7	14	46 111	46 124	LSC	26	P1	(T)10	10	104 129	104 138	IRa
11	P2	(TA)6	12	48 190	48 201	LSC	27	P2	(AT)9	18	121 034	121 051	SSC
12	P1	(T)10	10	55 915	55 924	LSC	28	P1	(T)15	15	127 760	127 774	SSC
13	P1	(T)10	10	61 948	61 957	LSC	29	P1	(T)11	11	128 044	128 054	SSC
14	P2	(TA)7	14	63 379	63 392	LSC	30	P1	(A)10	10	137 565	137 574	IRb
15	c	(A)11tattacatata(AT)9	40	65 045	65 084	LSC	31	P1	(A)11	11	141 554	141 564	IRb
16	P1	(A)10	10	66 835	66 844	LSC	32	P1	(A)14	14	155 638	155 651	IRb

注:P1.单核苷酸;P2.二核苷酸;c.多核苷酸

Note:P1.Represents a single nucleotide;P2.Represents a dinucleotide;c.Represents a polynucleotide

首次对红花变豆菜叶绿体全基因组结构进行报道,为红花变豆菜的分子鉴定提供了新数据,进一步丰富了变豆菜属植物的叶绿体基因组资料,有利于相关种类叶绿体基因组数据建树,揭示了不同类群叶绿体基因组的进化关系,为亚科间、属下分类及进化研究提供新的证据。

红花变豆菜叶绿体分为四部分,与目前已报道的被子植物叶绿体组成^[27]保持一致。红花变豆菜与变豆菜、直刺变豆菜和薄片变豆菜的叶绿体基因组的GC含量均为38.2%,其总基因129个,编码蛋白质基因84个,tRNA基因37个,rRNA基因8个^[1,28],且出现了植物叶绿体基因组中少见的ycf

1, *acc D*, *rpl 23* 和 *yef 2* 基因^[27]。同时我们分析了红花变豆菜密码子偏好性,简单重复序列中红花变豆菜重复序列也主要以 A/T 为主,与直刺变豆菜一致,更偏向于 A/T 的重复^[20],支持 SSRs 大多由 A 或 T 重复组成^[28]。系统发育树支持变豆菜和直刺变豆菜两者更近缘^[1],红花变豆菜与黄花变豆菜单独分为一支,二者均生长于阴暗潮湿的小道旁,但是两者的地理分布和形态差异却较大,红花变豆菜主要分布在中国东北三省,而黄花变豆菜于 2019 年仅在浙江被发现,二者皆为茎不分支,黄花变豆菜高 15~30 cm,而红花一般在 50~100 cm,且黄花变豆菜花色为黄色,红花变豆菜花色为紫红色。变豆菜、薄片变豆菜与直刺变豆菜三者聚为一支,变豆菜主要分布于东北、华南、西南一带,而剩余 2 种为南方广布种,在湖北,湖南,江西,福建等省份都均有发现,三者地理分布均比红花变豆菜和黄花变豆菜更广。但进化分支结果不支持传统形态分类,传统分类中红花变豆菜由于其茎不分支而被其认为是变豆菜属中一个相对原始的物种,被分在 *Tuberculatae* 组内,直刺变豆菜和薄片变豆菜被分在 *Pseudopetagnia* 组内,首阳变豆菜和变豆菜被分在 *Sanicla* 组内^[22],而由进化树可以看出,首阳变豆菜较原始,红花变豆菜并不属于原始的种类。

本研究中伞形科植物类群叶绿体基因组聚类分析支持传统亚科关系,但是变豆菜属下分支却与传统分类不相同,我们将进一步完善变豆菜属不同种类的叶绿体全基因组数据,为深入研究该属的分子系统和种间进化奠定基础。

致谢 感谢浙江大学李攀老师为本研究提供的红花变豆菜材料,感谢四川大学余岩老师、黄敏、陈振玺师兄对本文修改提出的宝贵意见。

参 考 文 献

- [1] 陈志祥. 中国变豆菜属(伞形科)植物系统分类学研究[D]. 厦门: 华侨大学, 2019.
CHEN Z X. Taxonomic study on the genus *Sanicula* (Apiaceae) from China[D]. Xiamen: Huaqiao University, 2019.
- [2] 李岩, 吕光辉, 张雪妮, 等. 十字花科植物叶绿体基因组结构及变异分析[J]. 西北植物学报, 2017, 37(6): 1090-1101.
LI Y, LÜ G H, ZHANG X N, *et al.* Chloroplast genome structure and variation analysis of Brassicaceae species[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2017, 37(6): 1090-1101.
- [3] 李巧丽. 广东桑和鲁桑叶绿体基因组高通量测序及基因注释分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
LI Q L. The complete chloroplast genome sequence of *Morus atropurpurea* and *Morus multicaulis*[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2017.
- [4] 李佳文, 刘强, 张静文, 等. 濒危红树植物莲叶桐叶绿体基因组及其系统进化[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(5): 54-61.
LI J W, LIU Q, ZHANG J W, *et al.* Chloroplast genome of endangered Mangrove plants *Hernandia nymphaeifolia* and its phylogenetic evolution[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(5): 54-61.
- [5] 谢海坤. 基于叶绿体基因组测序对中国野生葡萄进化及系统发育的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
XIE H K. The research of evolution and phylogeny of Chinese wild grapes based on chloroplast genome sequencing[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017.
- [6] WARISS H M, YI T S, WANG H, *et al.* The chloroplast genome of a rare and an endangered species *Salweenia bouffordiana* (Leguminosae) in China[J]. Conservation Genetics Resources, 2018, 10(3): 405-407.
- [7] 周伟, 宋春风, 吴宝成, 等. 中国伞形科野生观赏植物资源及其园林应用[J]. 中国野生植物资源, 2017, 36(5): 68-70.
ZHOU W, SONG C F, WU B C, *et al.* Wild ornamental plant resources of Apiaceae in China and their application to landscaping[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2017, 36(5): 68-70.
- [8] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[DB/OL]. [2020-11-25]. <http://www.iplant.cn/frps>.
Chinese Academy of Science, Chinese Ethnography Editorial Board. Flora of China[DB/OL]. [2020-11-25]. <http://www.iplant.cn/frps>.
- [9] 中国科学院中国植物志编辑委员会. Flora of China(英文)[DB/OL]. [2020-11-25]. <http://www.iplant.cn/foc>.
Chinese Academy of Science, Chinese Ethnography Editorial Board. Flora of China[DB/OL]. [2020-11-25]. <http://www.iplant.cn/foc>.
- [10] 中科院植物研究所. 中国自然标本馆[DB/OL]. [2020-11-25]. <http://www.cfh.ac.cn/>.
Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences. Chinese herbarium[DB/OL]. [2020-11-25]. <http://www.cfh.ac.cn/>.
- [11] 多识团队. 多识植物百科[DB/OL]. [2020-11-25]. <http://duocet.ibiodiversity.net/>.
Group Duocet. Duocet Wiki of Plants[DB/OL]. [2020-11-25]. <http://duocet.ibiodiversity.net/>.

- [12] 陈志祥, 姚雪莹, Downie S R, 等. 变豆菜属 15 种植物的果实微形态特征及其分类学意义[J]. 植物科学学报, 2019, 37(1): 1-9.
CHEN Z X, YAO X Y, DOWNIE S R, *et al.* Fruit features of 15 species of *Sanicula* (Apiaceae) and their taxonomic significance[J]. Plant Science Journal, 2019, 37(1): 1-9.
- [13] 杨晨, 陈志祥, 姚雪莹, 等. 中国 15 种变豆菜属植物的花粉形态及系统学分析[J]. 植物研究, 2020, 40(6): 805-812.
YANG C, CHEN Z X, YAO X Y, *et al.* Pollen morphology and systematic analysis of fifteen *Sanicula* species from China[J]. Bulletin of Botanical Research, 2020, 40(6): 805-812.
- [14] 姚雪莹, 陈志祥, 王奇志. 变豆菜属 11 种植物的叶表皮微形态特征研究[J]. 植物研究, 2019, 39(5): 683-691.
YAO X Y, CHEN Z X, WANG Q Z. Leaf epidermal micromorphological characters of 11 Species of *Sanicula* L. [J]. Bulletin of Botanical Research, 2019, 39(5): 683-691.
- [15] 汪劲武. 伞形科植物观(下)[J]. 植物杂志, 1990(1): 30-32.
WANG J W. View of Umbelliferae plants (Part 2) [J]. Plant Journal, 1990(1): 30-32.
- [16] ANDREWS S. Fast QC: a quality control tool for high throughput sequence data[Z]. 2013.
- [17] LUO R B, LIU B H, XIE Y L, *et al.* SOAPdenovo2: an empirically improved memory-efficient short-read *de novo* assembler[J]. GigaScience, 2012, 1(1): 2047-217X-1-18.
- [18] DIERCKXSENS N, MARDULYN P, SMITS G. NOVO-Plasty: *de novo* assembly of organelle genomes from whole genome data[J]. Nucleic Acids Research, 2017, 45(4): e18.
- [19] KEARSE M, MOIR R, WILSON A, *et al.* Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data [J]. Bioinformatics, 2012, 28(12): 1647-1649.
- [20] 陈志祥, 姚雪莹, Downie S R, 等. 直刺变豆菜叶绿体全基因组及其特征[J]. 生物多样性, 2019, 27(4): 366-372.
CHEN Z X, YAO X Y, DOWNIE S R, *et al.* Assembling and analysis of *Sanicula orthacantha* chloroplast genome [J]. Biodiversity Science, 2019, 27(4): 366-372.
- [21] 古尔恰兰·辛格. 植物系统分类学——综合理论及方法[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016.
SINGH G. Plant systematics—an integrated approach [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2016.
- [22] 单人骅. 变豆菜属植物新旧世界种类之比较[J]. 科学, 1950, 32(1): 25-26.
Shan R H. The genus *Sanicula* (Umbelliferae) in the old world and the new [J]. Science, 1950, 32(1): 25-26.
- [23] CALVIÑO C I, DOWNIE S R. Circumscription and phylogeny of Apiaceae subfamily Saniculoideae based on chloroplast DNA sequences [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2007, 44(1): 175-191.
- [24] VALIEJO-ROMAN C M, TERENCEVA E I, SAMIGULIN T H, *et al.* Relationships among genera in Saniculoideae and selected Apioideae (Umbelliferae) inferred from nrITS sequences [J]. Taxon, 2002, 51(1): 91-101.
- [25] DENG Y Q, WEN J, YU Y, *et al.* The complete chloroplast genome of *Angelica nitida* [J]. Mitochondrial DNA Part B-Resources, 2017, 2(2): 694-695.
- [26] GE L, SHEN L Q, CHEN Q Y, *et al.* The complete chloroplast genome sequence of *Hydrocotyle sibthorpioides* (Apiales: araliaceae) [J]. Mitochondrial DNA Part B-Resources, 2017, 2(1): 29-30.
- [27] HUANG H, SHI C, LIU Y, *et al.* Thirteen *Camelliachloroplast* genome sequences determined by high-throughput sequencing: genome structure and phylogenetic relationships [J]. BMC Evolutionary Biology, 2014, 14(1): 151.
- [28] 姚雪莹. 直刺变豆菜的谱系地理学和遗传多样性研究 [D]. 厦门: 华侨大学, 2020.
YAO X Y. Phylogeography and genetic diversity of *Sanicula orthacantha* [D]. Xiamen: Huaqiao University, 2020.