

## 柽柳科植物叶绿体基因组结构特征和系统发育

李佳欢<sup>1</sup> 郑清清<sup>2</sup> 关蓉蓉<sup>2</sup> 刘玉萍<sup>1</sup> 苏旭<sup>1</sup> 张发起<sup>2,3\*</sup>

(1. 青海师范大学生命科学院, 西宁 810008; 2. 西宁植物园, 西宁 810008; 3. 中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008)

**摘要** 叶绿体基因组结构特征能够反映植物类群间的系统发育和进化关系。该研究通过 Illumina 高通量测序平台对 7 种柽柳科 (Tamaricaceae) 植物叶绿体基因组进行测序和组装, 并与已发表的柽柳科及其近缘种叶绿体基因信息结合, 分析其叶绿体基因组序列变异、结构特征、蛋白编码基因密码子偏好性和系统发育。结果显示: 10 种柽柳科植物叶绿体基因组结构均为四分体结构, 全长为 154 684~156 178 bp; 叶绿体基因组组成相似, 约 130 个基因, 非重复基因约 111 个; GC 含量和密码子使用偏好性均与典型的被子植物叶绿体基因组类似, 检测到 27~54 个简单重复序列 (SSR) 位点, SSR 位点偏向于 A 或 T 组成; 系统发育分析结果支持将甘蒙柽柳 (*Tamarix austromongolica*)、秀柏枝 (*Myrtama elegans*) 归入水柏枝属 (*Myricaria*)。以上研究结果表明, 10 种柽柳科植物叶绿体基因组结构特征相似, 部分物种存在差异, 这可为分析柽柳科植物系统发育关系和鉴定提供依据。

**关键词** 柽柳科; 叶绿体基因组; 序列特征; 系统发育

中图分类号: Q943 文献标志码: A doi: 10. 7525/j. issn. 1673-5102. 2025. 06. 005

## Structure Characterization and Phylogeny of Chloroplast Genomes in Tamaricaceae

LI Jiahuan<sup>1</sup> ZHENG Qingqing<sup>2</sup> GUAN Rongrong<sup>2</sup> LIU Yuping<sup>1</sup> SU Xu<sup>1</sup> ZHANG Faqi<sup>2,3\*</sup>

(1. School of Life Sciences, Qinghai Normal University, Xining 810008; 2. Xining Botanical Garden, Xining 810008; 3. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008)

**Abstract** Structural characteristics of chloroplast genome could reflect the phylogenetic and evolutionary relationships among plants. In this study, the chloroplast genomes of seven species from Tamaricaceae were sequenced and assembled by the Illumina HiSeq platform. Combined with published chloroplast genome sequences from Tamaricaceae and its allies, we conducted comparative analyses of chloroplast genome sequence variation, structural characteristics, relative synonymous codon usage of protein-coding genes, and phylogenetic relationships. The results showed that the ten chloroplast genomes of Tamaricaceae exhibited a quadripartite structure, with a total length ranging from 154 684 bp to 156 178 bp. These chloroplast genomes contained approximately 130 protein coding genes, including 111 non-redundant genes. The GC content and relative synonymous codon usage (RSCU) were consistent with those of typical angiosperm chloroplast genomes. Moreover, we identified 27-54 simple sequence repeats (SSRs) in each genome, which are predominantly composed of A/T bases. Phylogenetic results supported *Tamarix austromongolica* and *Myrtama elegans* as members of *Myricaria*. The results revealed the conserved chloroplast genome structures across the ten Tamaricaceae species, with distinct interspecific variations that offer valuable information for resolving phylogenetic relationships and identifying species within this family.

**Key words** Tamaricaceae; chloroplast genome; sequence characterization; phylogeny

基金项目: 青海省重大科技专项 (2023-SF-A5)。

第一作者简介: 李佳欢 (2000—), 女, 硕士研究生, 主要从事植物遗传多样性研究。

\* 通信作者: E-mail: fqzhang@nwipb.cas.cn。

收稿日期: 2025年3月28日。

系统基因组学是研究生物间系统发育关系及基因组进化机制的一门学科<sup>[1]</sup>。在以往研究中,不少学者<sup>[2-4]</sup>针对基于单一或少数几个基因构建系统发育树的相关内容展开深入探讨。但仅凭借单一基因建立的系统发育树,在某些情况下不能准确反映被研究物种间的系统发育关系。这可能是受类群间基因进化速率差异、横向基因转移及旁系同源基因等因素的影响<sup>[5-7]</sup>。随着模式生物测序的完成,科研人员对算法进行改进,综合运用各类技术相继提出了数种以全基因组序列为基础构建系统发育树的方法,形成了系统进化基因组学<sup>[8]</sup>,能够有效分析重复基因引发的基因组进化事件,并对基因功能进行预测<sup>[9]</sup>。近年来,随着基因测序技术的快速发展,系统发育基因组学被广泛运用。Zuntini等<sup>[10]</sup>通过353个核基因数据构建被子植物生命树,覆盖近8 000属,结合200个化石校准时间,解析被子植物多样化动态,提供了首个大规模核基因组被子植物生命树。Wang等<sup>[11]</sup>以转录组和基因组数据重建了天门冬目(Asparagales)系统演化树,回溯了天门冬目物种起源地。Zhou等<sup>[12]</sup>收集并整合来自不同文献和公共数据库的719个不同植物基因组,并对其开展大规模比较基因组学分析,开发植物系统发育和比较基因组学数据库(PGCP),提供了丰富的可视化功能和多种分析模块,有助于精准解析物种演化轨迹。

叶绿体具有母系遗传、基因沉默、基因结构保守和独立的基因组等诸多优势,是研究植物系统发育的理想对象,为植物物种鉴定、进化史探索、起源追踪和遗传多样性分析奠定了重要基础<sup>[13-14]</sup>。Li等<sup>[15]</sup>基于对2 881种叶绿体基因组蛋白编码序列的分析,构建出当下最完整的被子植物系统发育树,确定了部分被子植物系统框架,解决了部分物种归属问题,并从4 792种开花植物中提取出80个叶绿体的直系同源基因,建立了目前最完整的开花植物系统发育树,为部分争议类群分类提供了参考<sup>[16]</sup>。Ma等<sup>[17]</sup>对9个凤仙花属(*Impatiens*)植物叶绿体基因组进行分析,提高了凤仙花属分类学的准确性和系统发育分辨率。王飞等<sup>[18]</sup>通过测序获得了无刺龙舌兰(*Yucca treculeana*)叶绿体基因组,揭示了6种丝兰属(*Yucca*)植物叶绿体基因组特征和序列变异情况,明确了各物种间的亲缘关系。张妍彤等<sup>[19]</sup>通过比较壳斗科(Fagaceae)6个属14个物种叶绿体基因组间的差异,并以近

缘物种榛(*Corylus heterophylla*)为外类群构建系统进化树,揭示壳斗科叶绿体基因组的结构特征及变异规律。苏丹丹等<sup>[20]</sup>利用高通量测序技术对苦马豆(*Sophora alopecuroides*)叶绿体基因组测序、组装,系统发育分析显示,苦马豆和骆驼刺(*Alhagi camelorum*)为姐妹群,亲缘关系最近。最近的研究<sup>[21]</sup>表明,叶绿体基因组变异为解开多级分类系统发育关系提供了重要线索,特别是在具有高度分类复杂性的生物群体中。

怪柳科(Tamaricaceae)共4属约120种,包括水柏枝属(*Myricaria*)、秀柏枝属(*Myrtama*)、红砂属(*Reaumuria*)和怪柳属(*Tamarix*),为半灌木、灌木或乔木,主要分布于新疆、青海、四川等地<sup>[22]</sup>。怪柳科的大部分植物在荒漠中的分布较为广泛,其通过独特的生理调控机制形成显著的抗旱能力,因而在生态功能维护和资源开发利用方面具有重要价值<sup>[23-24]</sup>。王雲霞等<sup>[25]</sup>对红砂(*R. songarica*)模拟干旱胁迫研究表明,红砂幼苗能够通过调节不同生长时期淀粉和可溶糖含量来抵御干旱。Sun等<sup>[26]</sup>通过生理、转录组和代谢分析,揭示了沙生怪柳(*T. taklamakanensis*)通过调节角质、木脂和蜡的生物合成、类黄酮途径和 $\alpha$ -亚麻酸代谢响应干旱条件,通过调节类黄酮途径和 $\alpha$ -亚麻酸代谢来响应复水条件,说明沙生怪柳具有很强的抗旱性,对荒漠恢复具有重要意义。王红宝等<sup>[27]</sup>对多种怪柳科植物的耐盐性研究表明,甘蒙怪柳(*T. austromongolica*)和多枝怪柳(*T. ramosissima*)耐盐性较强,可作为盐碱地植树造林的先锋物种。

自怪柳科建立以来,部分种的归属和秀柏枝属的建立问题仍存在争议。张元明等<sup>[28]</sup>根据对花粉形态的电镜观察,认为秀柏枝(*Myrtama elegans*)花粉外壁具明显粗网状纹饰,不同于水柏枝属和怪柳属,其大型披针叶、雄蕊花丝分离、雌蕊短柱头、种子芒柱全被毛等形态特征明显有别于本科其他属,因而众多研究人员<sup>[28-30]</sup>支持将该物种另立新属。由于怪柳属植物外部性状相似,所以出现了塔克拉玛干沙漠中有怪柳(*T. chinensis*)种名或产区误定等情况<sup>[31-32]</sup>。当前,研究人员针对怪柳科植物的研究主要聚焦在幼苗发育<sup>[33]</sup>、形态结构<sup>[34]</sup>、药理学<sup>[35]</sup>、耐旱机制和转录组学<sup>[26, 36-37]</sup>、基因组学和抗逆基因家族筛选<sup>[38]</sup>上,而基于叶绿体基因组的系统基因组学和怪柳科系统进化分类的研究有待进一步深入、扩展。本研究以怪柳科植物叶绿

体基因组为研究对象,进行叶绿体基因组拼接、组装、注释及比较分析,构建柽柳科植物系统发育关系,为分析柽柳科不同物种系统发育关系和鉴定提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 柽柳科植物叶绿体基因组特征测定

#### 1.1.1 材料与数据获取

选取7个柽柳科植物的野生型样本,分别为甘蒙柽柳、多枝柽柳、密花柽柳(*T. arceuthoides*)、匍

匍水柏枝(*M. prostrata*)、宽苞水柏枝(*M. bracteata*)、红砂和五柱红砂(*R. kaschgarica*)。野外采集新鲜幼叶用硅胶干燥后,置于冰箱中-20℃保存,凭证标本存放于中国科学院西北高原生物研究所青藏高原生物标本馆(HNWP)。短穗柽柳(*T. laxa*; GenBank 序列号: NC\_066442.1)、盐地柽柳(*T. karelinii*; GenBank 序列号: NC\_066443.1)、沙生柽柳(*T. taklamakanensis*; GenBank 序列号: NC\_054218.1)叶绿体基因组序列于NCBI中下载。具体采集信息见表1。

表1 物种采集信息

Table 1 Species collection information

物种 Species	属 Genus	采集地 Locality	地理坐标 Geographical coordinates	凭证标本 Voucher
甘蒙柽柳 <i>Tamarix austromongolica</i>	柽柳属 <i>Tamarix</i>	青海德令哈 Delingha, Qinghai	37°37'N, 96°58'E	QXA0075
多枝柽柳 <i>Tamarix ramosissima</i>	柽柳属 <i>Tamarix</i>	青海德令哈 Delingha, Qinghai	37°37'N, 96°58'E	QXA0176
密花柽柳 <i>Tamarix arceuthoides</i>	柽柳属 <i>Tamarix</i>	青海都兰 Dulan, Qinghai	35°53'N, 98°7'E	QXA0191
沙生柽柳* <i>Tamarix taklamakanensis</i>	柽柳属 <i>Tamarix</i>	新疆塔克拉玛干沙漠 Taklimakan Desert, Xinjiang	38°12'N, 80°45'E	TD-04001
匍匐水柏枝 <i>Myricaria prostrata</i>	水柏枝属 <i>Myricaria</i>	青海都兰 Dulan, Qinghai	35°53'N, 98°7'E	QXA0269
宽苞水柏枝 <i>Myricaria bracteata</i>	水柏枝属 <i>Myricaria</i>	青海乌兰 Wulan, Qinghai	36°45'N, 98°11'E	QXA0346
红砂 <i>Reaumuria songarica</i>	红砂属 <i>Reaumuria</i>	青海都兰 Dulan, Qinghai	36°33'N, 98°40'E	QXA0436
五柱红砂 <i>Reaumuria kaschgarica</i>	红砂属 <i>Reaumuria</i>	青海格尔木 Geermu, Qinghai	37°8'N, 92°38'E	QXA160727002

注: \* 从NCBI上下载的已发表叶绿体基因组序列数据。

Note: \* indicated the published chloroplast genome sequence data downloaded from NCBI in this study.

#### 1.1.2 DNA提取与测序

采用优化CTAB法<sup>[39]</sup>从样本量约10 mg的柽柳科植物脱水组织中提取叶绿体DNA,通过琼脂糖凝胶电泳验证其完整性后送至北京诺禾致源科技股份有限公司构建全基因组小片段文库。使用Illumina高通量测序平台NovaSeq 6000进行长度为150 bp的双端测序,原始测序数据经Trimmomatic 0.33进行接头修剪与质量过滤,结合FastQC 11.8软件实施序列质量评估,最终获得高质量clean reads用于后续生物信息学分析。

#### 1.1.3 柽柳科叶绿体基因组组装和注释

利用GetOrganelle 1.7.5软件组装数据,得到fasta格式的叶绿体基因组序列文件。将组装成功的fasta文件于在线工具CPGAWAS2(<http://47.96.249.172:16019/analyzer/annotate>)中进行注释,输出gb格式的叶绿体基因组序列文件。利用Sequin 15.50软件中的检测功能自动识别出存在错误的片段,BLAST比对后手动调整错误片段,一般为增删起始密码子和终止密码子位置,输出修改后的gb文件和fasta文件。利用OGDRAW在线软件(<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>)对得到的gb文件绘制叶绿体基因组环状结构图。

249.172:16019/analyzer/annotate)中进行注释,输出gb格式的叶绿体基因组序列文件。利用Sequin 15.50软件中的检测功能自动识别出存在错误的片段,BLAST比对后手动调整错误片段,一般为增删起始密码子和终止密码子位置,输出修改后的gb文件和fasta文件。利用OGDRAW在线软件(<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>)对得到的gb文件绘制叶绿体基因组环状结构图。

#### 1.1.4 长重复序列和SSR筛选

将fasta文件于REPuter在线工具(<https://bi-biserv.cebitec.uni-bielefeld.de/reputer>)中进行叶绿体基因组长重复序列统计分析(参数设为Match Direction: -f, -r, -c, -p; Maximum Computed Repeats:

50; Minimal Repeat Size: 8), 将所得数据可视化, 得到怪柳科植物叶绿体基因组长重复序列图。将 fasta 文件于 MISA 在线软件 (<https://webblast.ipk-gatersleben.de/misa/index.php?action=1>) 中分析叶绿体基因组微卫星序列 (SSR), 统计分析 SSR 的类型、数量等参数。

### 1.1.5 核苷酸多态性分析

在 Linux 系统中运行 MAFFT 7.409 软件, 比对注释后的叶绿体基因组 fasta 序列, 根据得到的总 fasta 文件分析基因组结构特征, 统计怪柳科 10 个物种的基因和内含子信息。将总 fasta 文件导入 DnaSP 6.12.03 软件中, 对核苷酸多态性数据进行统计分析并绘图。

### 1.1.6 怪柳科植物叶绿体基因组比较分析

利用 mVISTA 软件 (<https://genome.lbl.gov/vista/mvista/about.shtml>) 中的 LAGAN 模式, 以沙生怪柳为参考物种, 对怪柳科 10 个物种质体基因组相似度进行可视化比对分析。利用 R 4.2.2 软件将 IRscope 0.1.R 本地化, 在 R 4.2.2 中使用 install 指令安装所需要的 R 包, 同时用 library 检测安装情况。初始化完成后运行 IRscope 0.1.R 软件, 输入 gb 文件, 绘制各物种反向重复/单拷贝区域连接处基因分布对比图。

### 1.1.7 密码子偏好性分析

采用密码子序列对比分析方法, 基于 MAFFT 7.409 软件完成全数据核苷酸序列比对, 通过 CodonW 1.4.2 软件 (<https://codonw.sourceforge.net/>) 对筛选出的目标物种密码子进行系统化分析。使用 EMBOSS 在线软件 (<http://emboss.toulouse.inra.fr/cgi-bin/emboss/cusp>) 统计 GC 含量。对有效密码子数目 (ENc)、相对同义密码子使用度 (RSCU)、密码子适应指数 (GAI) 和同义密码子第 3 位 GC 含量 (GC3s) 等参数进行统计分析并绘图。统计相对同义密码子使用度, 在 R 4.2.2 中使用 pheatmap 1.0.12 包绘制热图, 实现密码子使用偏好性的可视化分析。

## 1.2 系统发育与进化分析

### 1.2.1 数据获取

短穗怪柳 (GenBank 序列号: NC\_066442.1)、盐地怪柳 (GenBank 序列号: NC\_066443.1)、沙生怪柳 (GenBank 序列号: NC\_054218.1)、怪柳 (GenBank 序列号: MN229512.1)、秀柏枝 (GenBank 序列号: NC\_063470)、具鳞水柏枝 (*M. squamosa*; GenBank 序列号: NC\_060684)、疏花水柏枝 (*M. laxiflo-*

*ra*; GenBank 序列号: NC\_072270)、海滨瓣鳞花 (*Frankenia laevis*; GenBank 序列号: MK397868.1)、瓣鳞花 (*F. pulverulenta*; GenBank 序列号: MK397869.1) 叶绿体基因组序列于 NCBI 中下载。结合本研究所测的 7 个物种样本叶绿体基因组测序数据, 共采用 14 种怪柳科植物和 2 种外类群植物叶绿体基因组数据构建系统发育树。

### 1.2.2 系统发育树构建

为了探讨怪柳科属间系统发育关系, 以近缘种海滨瓣鳞花和瓣鳞花为外类群, 利用叶绿体蛋白编码区序列 (CDS) 构建系统发育树。使用 PhyloSuite 1.2.3 对叶绿体蛋白编码区序列集进行比对、文库构建、模型选择后, 构建最大似然树和贝叶斯树; 得到并利用树文件在 ITOL 在线软件 (<https://itol.embl.de/>) 中进行系统发育树的编辑和可视化。

## 2 结果与分析

### 2.1 怪柳科植物叶绿体基因组特征

#### 2.1.1 怪柳科植物叶绿体基因组测序、组装和注释

所选怪柳科植物叶绿体基因组序列长度为 154 684~156 178 bp, 叶绿体基因组均由 2 个反向重复区、1 个大单拷贝区和 1 个小单拷贝区组成, 均为四分体结构, 基因组图谱如图 1 所示。其中, 长单拷贝区 (LSC) 长度为 84 374~85 859 bp, 短单拷贝区 (SSC) 长度为 17 540~18 308 bp, 反向重复区 (IR) 长度为 26 004~26 575 bp (表 2)。注释后的结果显示, 10 种怪柳科植物叶绿体基因组组成基本一致, 约 130 个基因。非重复基因约 111 个, 其中, 蛋白编码基因约 78 种, rRNA 基因 4 种, tRNA 基因约 29 种 (表 3)。

#### 2.1.2 长重复序列分析与 SSR 筛选结果

REPuter 分析结果显示, 密花怪柳、盐地怪柳、短穗怪柳仅存在 3 种重复 (回文重复、正向重复、反向重复), 其余 7 种怪柳科植物存在 4 种重复 (回文重复、正向重复、反向重复、互补重复)。10 种怪柳科植物均有 50 条重复序列, 且回文重复和正向重复为主要重复类型。重复序列长度大部分分布在 10~50 bp (图 2)。利用 MISA 分析怪柳科植物 SSR, 结果表明, SSR 位点范围为 27~54 个, 均只有二核苷酸和单核苷酸重复, A/T 含量最多, C/G 含量最少, 仅存在于甘蒙怪柳中。所选物种叶绿体基因组中的 SSRs 主要由 polyA 或 polyT 组成 (表 4)。

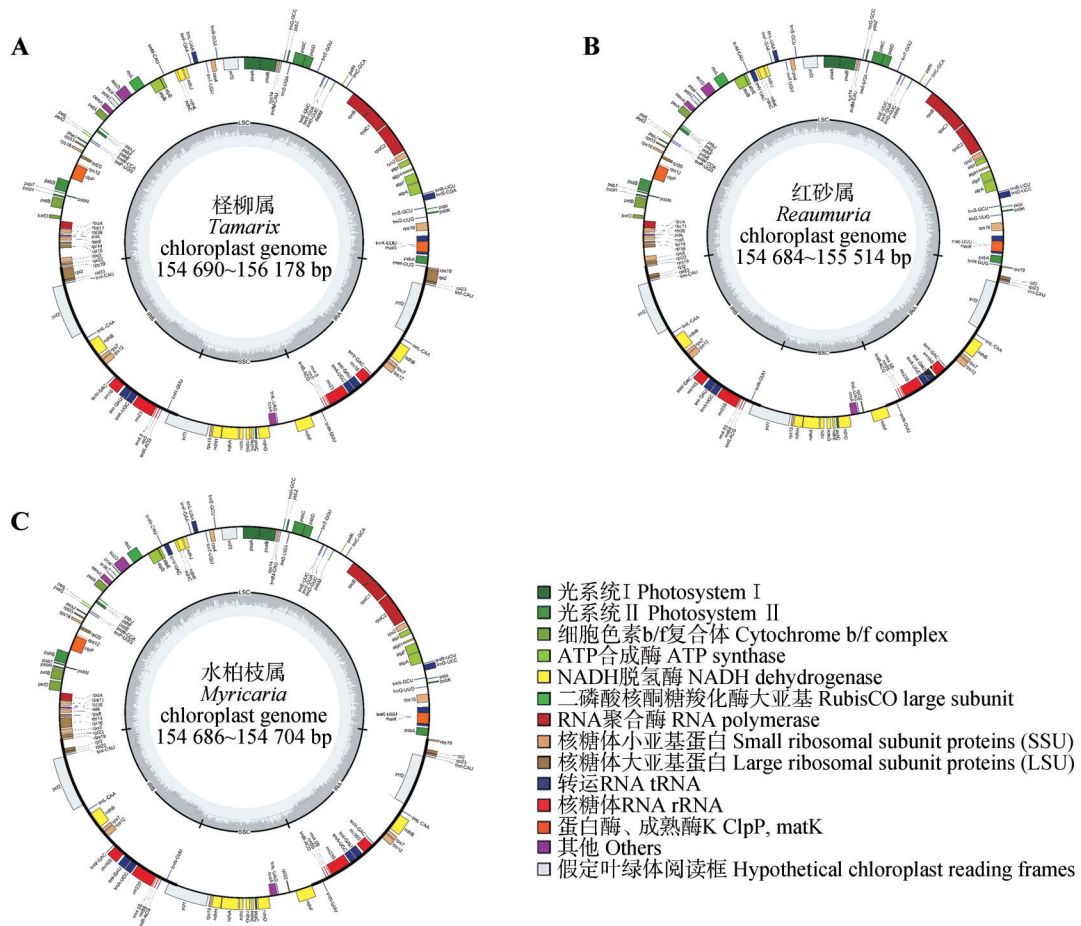


图1 柽柳科植物叶绿体基因组环状图

Fig.1 Chloroplast genome ring map of the species in Tamaricaceae

表2 10种柽柳科植物叶绿体基因组结构信息

Table 2 Structure information of chloroplast genomes in 10 species of Tamaricaceae

物种 Species	长度 Length/bp			叶绿体基因组 Chloroplast genome	基因数量 Number of gene			总数 Total
	长单 拷贝区 LSC	短单 拷贝区 SSC	反向 重复区 IR		转运 RNA tRNA	核糖体 RNA rRNA	蛋白编码基因 Protein-coding gene	
盐地柽柳 <i>Tamarix karelinii</i> *	84 787	18 247	26 571	156 176	36(29)	10(4)	84(77)	130(110)
短穗柽柳 <i>Tamarix laxa</i> *	84 781	18 260	26 561	156 163	36(29)	10(4)	84(77)	130(110)
沙生柽柳 <i>Tamarix taklamakanensis</i> *	84 778	18 257	26 571	156 177	36(29)	10(4)	81(75)	127(108)
密花柽柳 <i>Tamarix arceuthoides</i>	84 766	18 247	26 575	156 163	36(28)	10(4)	84(77)	130(109)
甘蒙柽柳 <i>Tamarix austromongolica</i>	84 379	18 303	26 004	154 690	36(28)	10(4)	85(78)	131(110)
多枝柽柳 <i>Tamarix ramosissima</i>	84 802	18 254	26 561	156 178	37(29)	10(4)	85(78)	132(111)
宽苞水柏枝 <i>Myricaria bracteata</i>	84 374	18 304	26 004	154 686	36(28)	10(4)	85(78)	131(110)
匍匐水柏枝 <i>Myricaria prostrata</i>	84 380	18 308	26 008	154 704	36(28)	10(4)	85(78)	131(110)
五柱红砂 <i>Reaumuria kaschgarica</i>	85 859	17 571	26 042	155 514	37(29)	10(4)	86(79)	133(112)
红砂 <i>Reaumuria songarica</i>	85 046	17 540	26 031	154 684	37(29)	10(4)	85(78)	132(111)

注:括号内为非重复基因数目;\*.从NCBI上下载的已发表叶绿体基因组序列数据。

Note: The number of non-duplicated genes was in parentheses; \* indicated the published chloroplast genome sequence data downloaded from NCBI in this study.

表3 柽柳科植物叶绿体基因组编码基因  
Table 3 Chloroplast genome encoding genes of the species in Tamaricaceae

类别 Category	分组 Group	基因名称 Gene name	总数 Total
自我复制相关基因 Self-replication related genes	转运 RNA tRNA	<i>trnA-UGC*</i> , <i>trnC-GCA</i> , <i>trnD-GUC</i> , <i>trnE-UUC</i> , <i>trnF-GAA</i> , <i>trnM-CAU</i> , <i>trnG-GCC</i> , <i>trnG-UCC</i> , <i>trnH-GUG</i> , <i>trnI-CAU*</i> , <i>trnI-GAU*</i> , <i>trnK-UUU</i> , <i>trnL-CAA*</i> , <i>trnL-UAA</i> , <i>trnL-UAG</i> , <i>trnM-CAU</i> , <i>trnN-GUU*</i> , <i>trnP-UGG</i> , <i>trnQ-UUG</i> , <i>trnR-ACG*</i> , <i>trnR-UCU</i> , <i>trnS-CGA</i> , <i>trnS-GCU*</i> , <i>trnS-GGA</i> , <i>trnS-UGA</i> , <i>trnT-GGU</i> , <i>trnT-UGU</i> , <i>trnV-GAC*</i>	28
	核糖体 RNA rRNA	<i>rrn4.5*</i> , <i>rrn5*</i> , <i>rrn16**</i> , <i>rrn23*</i>	4
	核糖体大亚基 Large ribosomal subunit	<i>rpl32</i> , <i>rpl33</i> , <i>rpl20</i> , <i>rpl16</i> , <i>rpl22</i> , <i>rpl14</i> , <i>rpl2*</i> , <i>rpl23*</i> , <i>rpl36</i>	9
	核糖体小亚基 Small ribosomal subunit	<i>rps4</i> , <i>rps11</i> , <i>rps12*</i> , <i>rps3</i> , <i>rps15</i> , <i>rps7*</i> , <i>rps14</i> , <i>rps18</i> , <i>rps16</i> , <i>rps2</i> , <i>rps19*</i> , <i>rps8</i>	12
	DNA 依赖性 RNA 聚合酶 DNA dependent RNA polymerase	<i>rpoA</i> , <i>rpoC2</i> , <i>rpoC1</i> , <i>rpoB</i>	4
光合相关基因 Photosynthesis related genes	NADH 脱氢酶亚基 NADH-dehydrogenase subunit	<i>ndhD</i> , <i>ndhA</i> , <i>ndhI</i> , <i>ndhE</i> , <i>ndhH</i> , <i>ndhF</i> , <i>ndhG</i> , <i>ndhJ</i> , <i>ndhC</i> , <i>ndhK</i> , <i>ndhB*</i>	11
	二磷酸核酮糖羧合酶/羧化酶大亚基 RubisCO large subunit	<i>rbcL</i>	1
	ATP 合成酶亚基 ATP synthase subunit	<i>atpA</i> , <i>atpE</i> , <i>atpH</i> , <i>atpF</i> , <i>atpI</i> , <i>atpB</i>	6
	光系统 I 亚基 Photosystem I subunit	<i>psaI</i> , <i>psaJ</i> , <i>psaA</i> , <i>psaC</i> , <i>psaB</i>	5
	光系统 II 亚基 Photosystem II subunit	<i>psbB</i> , <i>psbE</i> , <i>psbL</i> , <i>psbC</i> , <i>psbZ</i> , <i>psbF</i> , <i>psbH</i> , <i>psbN</i> , <i>psbK</i> , <i>psbI</i> , <i>psbJ</i> , <i>psbM</i> , <i>psbA</i> , <i>psbT</i> , <i>psbD</i>	15
	细胞色素 b/f 复合物亚基 Cytochrome b/f complex subunit	<i>petB</i> , <i>petA</i> , <i>petG</i> , <i>petL</i> , <i>petN</i> , <i>petD</i>	6
其他基因 Other genes	C 型细胞色素合成 C-type cytochrome synthesis	<i>ccsA</i>	1
	翻译起始因子 Translation initiation factor	<i>infA</i>	1
	乙酰辅酶 A 羧化酶亚基 Acetyl-CoA carboxylase subunit	<i>accD</i>	1
	成熟酶 K Maturase K	<i>matK</i>	1
	蛋白酶 Protease	<i>clpP</i>	1
	包裹膜蛋白 Envelop membrane protein	<i>cemA</i>	1
未知功能基因 Genes of unknown function	假定叶绿体阅读框 Hypothetical chloroplast reading frame	<i>ycf3</i> , <i>ycf4</i> , <i>ycf2*</i> , <i>ycf1</i>	4

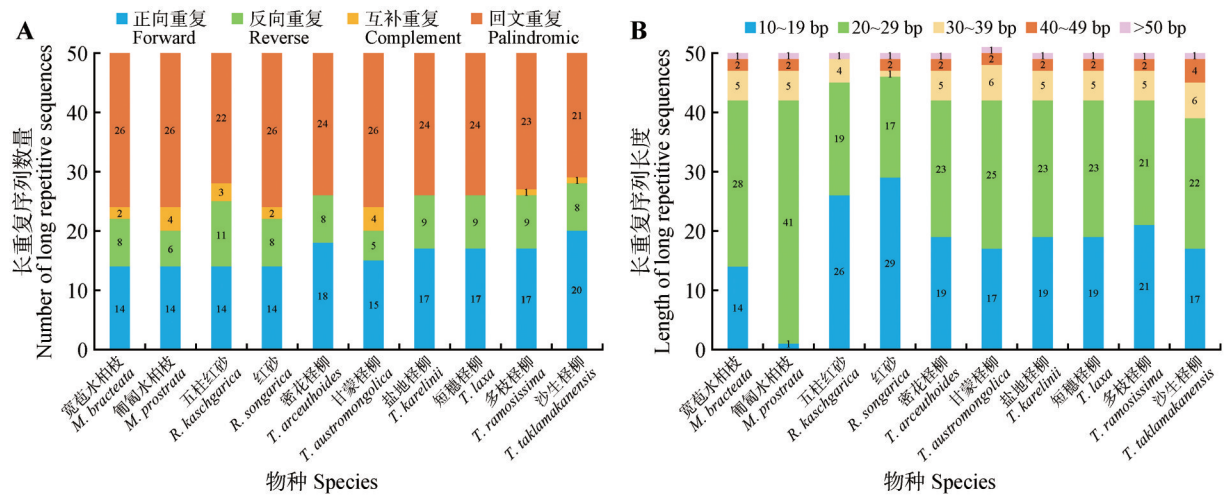
注:此表统计的为非重复基因数量;未标记\*表示没有拷贝基因,\*表示1个拷贝基因,\*\*表示3个拷贝基因。

Note: This table counted the number of non-duplicated genes; Unmarked \* indicated no gene copy, \* indicated a 1-copy gene, \*\* indicated a 3-copy gene.

### 2.1.3 叶绿体基因组序列变异分析

以沙生柽柳叶绿体基因组为参考,利用 mVISTA(参数:LAGAN)软件的全局模式,对另外9种柽

柳科植物叶绿体基因组进行全局比对。结果表明:10种柽柳科物种叶绿体基因组顺序总体一致,编码区域序列高度保守,非编码区差异较大,整体



A. 长重复序列数量; B. 长重复序列长度。

A. Number of long repetitive sequences; B. Length of long repetitive sequences.

图2 10种柽柳科植物叶绿体基因组长重复序列

Fig.2 Long repetitive sequences of chloroplast of 10 species in Tamaricaceae

表4 10种柽柳科植物叶绿体基因组SSR类型

Table 4 Chloroplast genome SSR type in ten species of Tamaricaceae

物种 Species	SSR类型 SSR type		
	A/T	C/G	AT/AT
盐地柽柳 <i>T. karelinii</i>	40	0	3
短穗柽柳 <i>T. laxa</i>	44	0	3
沙生柽柳 <i>T. taklamakanensis</i>	40	0	4
密花柽柳 <i>T. arceuthoides</i>	25	0	2
甘蒙柽柳 <i>T. austromongolica</i>	36	2	2
多枝柽柳 <i>T. ramosissima</i>	41	0	3
宽苞水柏枝 <i>M. bracteata</i>	44	0	6
匍匐水柏枝 <i>M. prostrata</i>	36	0	3
五柱红砂 <i>R. kaschgarica</i>	48	0	6
红砂 <i>R. songarica</i>	46	0	6

序列较为保守并存在序列共用现象(图3)。利用DnaSP 6.12.03软件分析核苷酸多态性(参数: window length600; step size: 200)。结果表明,与单拷贝区比较,2个反向重复区序列更为保守,最高峰存在于短单拷贝区序列中(图4)。

#### 2.1.4 IR/SC边界分析

比较IR/SC边界分布情况,分析其进化过程边界收缩扩张现象(图5)。结果显示,所选10种柽柳科植物叶绿体基因组在结构、GC含量、基因组组成、序列长度这4方面相对保守,而在LSC、SSC、IRa、IRb这4个交界区域存在许多变化。除沙生柽柳外,其余9种柽柳科植物的JLB边界均处于

*rps19*基因之中。密花柽柳、甘蒙柽柳、宽苞水柏枝、匍匐水柏枝的*rps19*基因均向IRb方向收缩。短穗柽柳、多枝柽柳、红砂、五柱红砂的*rps19*基因向LSC区域扩张。10种柽柳科植物的JSB边界均处于 $ycf1$ 基因内,短穗柽柳、沙生柽柳、密花柽柳、多枝柽柳的JSB边界均未发生收缩和扩张现象;JSA边界扩张范围显示,盐地柽柳、短穗柽柳、沙生柽柳、密花柽柳、多枝柽柳的JSA边界距离SSC区域的*ndhF*基因3 bp;甘蒙柽柳、宽苞水柏枝、匍匐水柏枝的JSA边界距离*ndhF*基因2 bp。JLA的扩张和收缩情况较为复杂,其中,盐地柽柳、短穗柽柳、密花柽柳、多枝柽柳、红砂、五柱红砂的JLA边界左右两端的基因为*rps19*和*trnH*基因;沙生柽柳JLA边界距LSC区域内的*trnH*基因19 bp;甘蒙柽柳、宽苞水柏枝、匍匐水柏枝JLA边界距IRa区域的*rps19*基因1 bp。

#### 2.1.5 密码子偏好性分析

对10种柽柳科植物叶绿体基因组密码子偏好性进行统计,结果表明,10种柽柳科植物有效密码子数目为54.841~55.644,密码子适应指数为0.156~0.162,密码子偏好指数为0.193~0.223,最优密码子使用频率为0.354~0.359(表5)。ENc均较高,柽柳科植物叶绿体基因组密码子使用偏好性较弱;CAI均较低,柽柳科植物叶绿体基因组密码子适应性较弱;FOP大于0,说明有最优密码子被使用。对10种柽柳科植物叶绿体基因组GC含量进行统计,结果显示,物种间总的GC含量、第一密

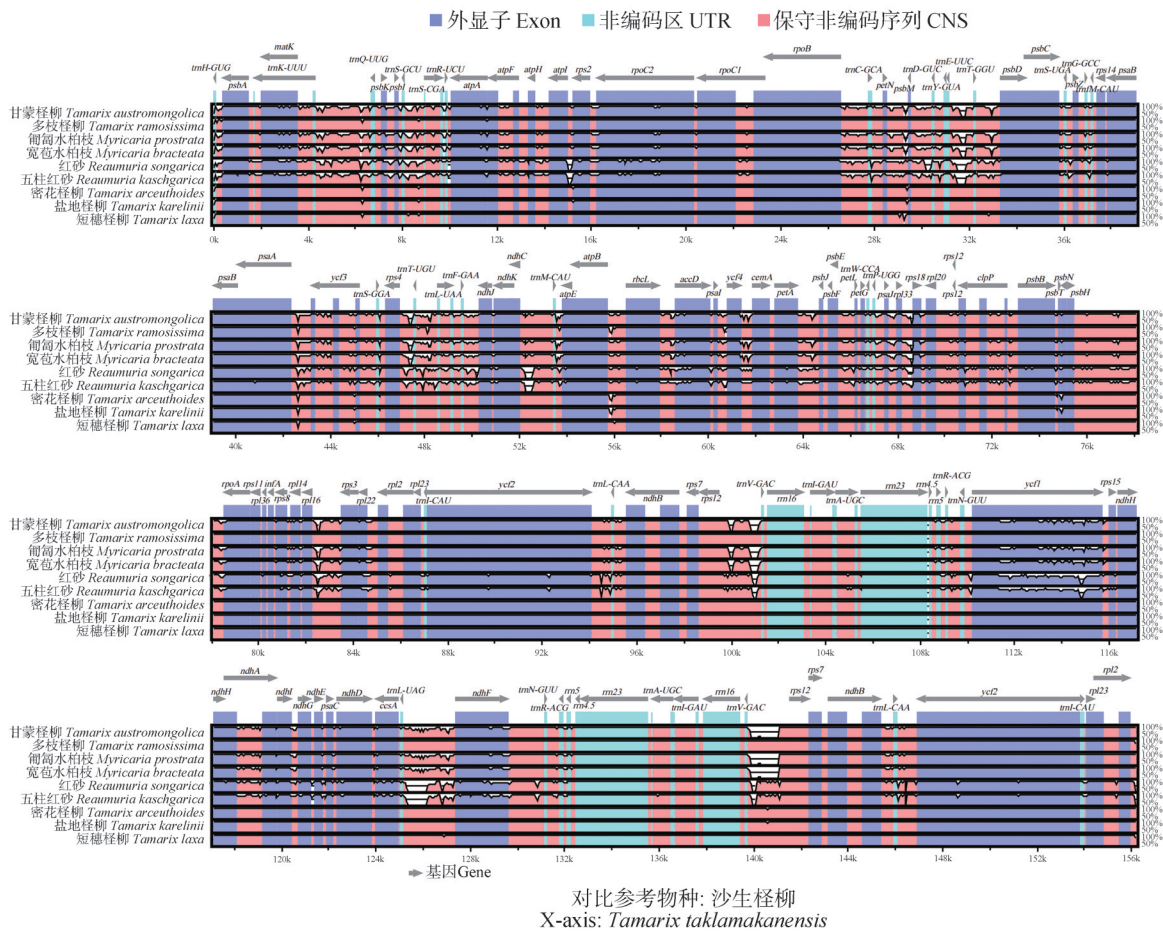


图3 柽柳科植物叶绿体基因组比对

Fig.3 Comparison of chloroplast genomes of the species in Tamaricaceae

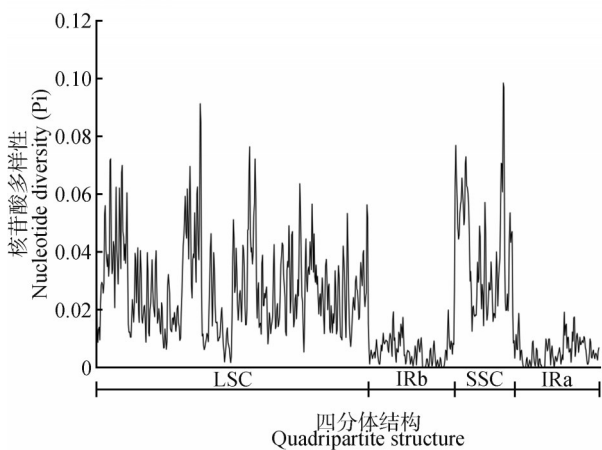


图4 柽柳科植物叶绿体基因组核苷酸多态性

Fig.4 Nucleotide diversity of chloroplast genomes of the species in Tamaricaceae

码子GC含量和第二密码子GC含量相差不大,差值未超过0.5%。第三密码子GC含量相对而言差别较大,五柱红砂含量最高(29.11%),甘蒙柽柳和匍匐水柏枝含量最低(28.22%)。所有物种第三密

码子GC含量不超过30%,说明该位点A/T碱基使用较多(表6)。对编码基因61个密码子进行分析,发现编码精氨酸的AGA的RSCU最高,其次是编码甘氨酸的GGA,编码精氨酸的CGC的RSCU最低。RSCU聚类结果显示,盐地柽柳和甘蒙柽柳聚为一支,其余8种柽柳科植物聚为一支(图6)。总体而言,所选10个物种的密码子使用情况无较大差异。

### 2.2 柽柳科系统发育分析

以海滨瓣鳞花和瓣鳞花为外类群,采用贝叶斯法(Bayesian inference, BI)和最大似然法(maximum likelihood, ML)对14种柽柳科植物构建叶绿体蛋白编码区序列(CDS),构建系统发育树(图7)。系统发育拓扑结构整体呈现高度一致性,多数分支节点在2种方法中均获得最高支持率,柽柳科内主要类群的进化关系具有强统计支持。在2种方法构建的系统发育树中,红砂属为单系群,红砂和五柱红砂均表现为姐妹群关系。秀柏枝和甘蒙柽柳同样以强支持率与具鳞水柏枝、疏花水柏枝、宽苞水柏枝、匍匐水柏枝聚为一支。柽柳属呈现多

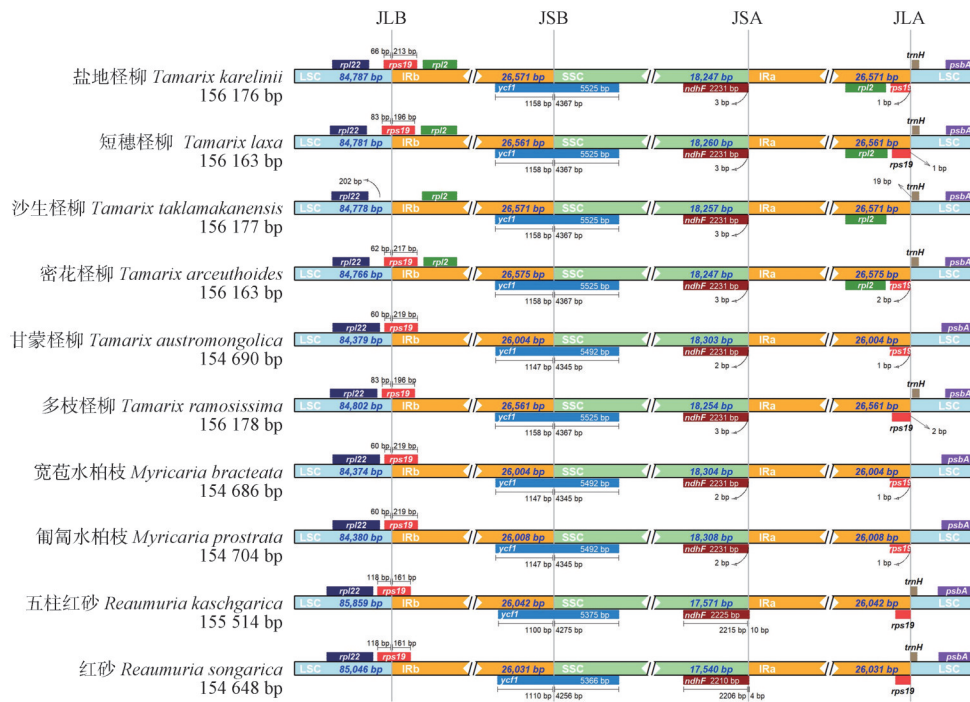


图5 10种柽柳科植物叶绿体基因组分区连接处比较

Fig.5 Comparison of chloroplast genome zonal linkages of 10 species in Tamaricaceae

表5 10种柽柳科植物叶绿体蛋白编码基因的密码子偏好性

Table 5 Codon preference of chloroplast protein coding genes of 10 species of in Tamaricaceae

物种 Species	有效密码子数目 ENc	密码子适应指数 CAI	密码子偏好指数 CBI	最优密码子使用频率 FOP	同义第三密码子胸腺嘧啶含量 T3s	同义第三密码子胞嘧啶含量 C3s	同义第三密码子腺嘌呤含量 A3s	同义第三密码子鸟嘌呤含量 G3s
盐地柽柳 <i>T. karelinii</i>	54.841	0.160	0.223	0.354	0.409 2	0.232 6	0.414 4	0.224 1
短穗柽柳 <i>T. laxa</i>	55.359	0.158	0.200	0.358	0.404 3	0.242 7	0.399 4	0.232 5
沙生柽柳 <i>T. taklamakanensis</i>	55.147	0.160	0.215	0.355	0.414 2	0.236 3	0.401 5	0.230 0
密花柽柳 <i>T. arceuthoides</i>	55.285	0.157	0.206	0.356	0.410 3	0.238 5	0.400 7	0.230 2
甘蒙柽柳 <i>T. austromongolica</i>	55.143	0.160	0.216	0.355	0.413 2	0.230 3	0.405 1	0.231 3
多枝柽柳 <i>T. ramosissima</i>	54.960	0.160	0.221	0.357	0.404 5	0.240 3	0.399 6	0.239 5
宽苞水柏枝 <i>M. bracteata</i>	55.607	0.156	0.203	0.354	0.406 6	0.239 0	0.399 4	0.237 6
匍匐水柏枝 <i>M. prostrata</i>	55.432	0.158	0.204	0.354	0.407 2	0.235 3	0.401 6	0.235 4
五柱红砂 <i>R. kaschgarica</i>	55.361	0.161	0.204	0.355	0.409 9	0.235 1	0.403 0	0.235 3
红砂 <i>R. songarica</i>	55.644	0.162	0.193	0.359	0.405 6	0.244 6	0.396 6	0.238 4

系群,除了甘蒙柽柳,其余6种柽柳属植物(短穗柽柳、多枝柽柳、密花柽柳、盐地柽柳、沙生柽柳、柽柳)聚为一支。

### 3 讨论

真核细胞叶绿体被认为是由内共生细菌进化而来的,拥有独立的基因组<sup>[40]</sup>。与核基因组相比,叶绿体基因组具有结构保守、没有基因沉默现象、进化速度慢等优势<sup>[41]</sup>。但早期叶绿体基因组是由

细胞器富集后,进行扩增、测序得到的序列结果<sup>[12,42-43]</sup>。这种方法操作复杂且易受杂质干扰,不易得出准确结果,无法发挥叶绿体基因组特征优势。随着大规模高通量测序技术的不断发展,叶绿体基因组的测序效率与准确性大大提高,使叶绿体成为广泛应用于系统发育学和进化生物学等研究领域的理想分子材料。近年来,对西瓜(*Citrullus lanatus*)<sup>[44]</sup>、兜兰属(*Paphiopedilum*)<sup>[45]</sup>和谷精草科(*Eriocaulaceae*)<sup>[46]</sup>等植物叶绿体基因组



的研究证明,植物类群间的进化关系和方向可以由植物叶绿体基因结构、密码子偏好性、核苷酸多态性等特征反映,并且叶绿体基因组也可用于确定近缘物种系统发育关系<sup>[47]</sup>。

本研究对 10 种柽柳科植物叶绿体基因组进行分析,结果表明:柽柳科植物叶绿体基因组均为典型的四分体结构,基因组大小在 154 684~156 178 bp,其中红砂叶绿体基因组最短;约含有 130 个基因,其中,非重复基因约为 111 个,蛋白编码基因约 78 个,rRNA 基因 4 个,tRNA 基因约 29 个。甘蒙柽柳缺失 *trnH-GUG* 基因、*trnS-CGA* 基因,与宽苞水柏枝和匍匐水柏枝缺失的基因一致,在一定程度上暗示了系统发育树中甘蒙柽柳和水柏枝属植物聚类的可能。*rps16* 基因编码核糖体小亚基蛋白 s16,该基因在非编码区之中,表现出高进化速率,对植物进化研究有重要作用<sup>[48]</sup>。沙生柽柳非编码区的 *rps16* 基因内含子消失,可能代表沙生柽柳发生了一定程度的变异。总体来说,柽柳科植物叶绿体基因组相差较小,保守性较高。

在群体遗传学、生物地理学和系统进化研究中,叶绿体 SSR 是高效的分子标记,已被广泛应用<sup>[49]</sup>。本研究对柽柳科植物叶绿体基因组 SSR 进行预测,发现绝大多数为单碱基重复,这与竹叶花椒 (*Zanthoxylum armatum*)<sup>[50]</sup>、胡桃 (*Juglans regia*)<sup>[51]</sup> 等植物的研究结果相一致。柽柳科植物长重复序列的回文重复最多,互补重复最少。密花柽柳、盐地柽柳、短穗柽柳仅存在 3 种重复(回文重复、正向重复、反向重复),其余 7 种柽柳科植物存在 4 种重复。不同植物间重复序列的分布差异可反映植物进化时的遗传基因突变速率的差异<sup>[52]</sup>。本研究结果表明,柽柳科植物在突变频率和进化速率上的差异可能与重复序列有关,因此,可根据重复序列差异大小推测物种之间亲缘关系远近。大小为 10~29 bp 的长重复序列占有长重复序列数量的 80% 以上。重复序列分析为将来柽柳科植物及其他植物物种鉴定和个体水平的遗传差异分析提供丰富的遗传信息支持。柽柳科植物叶绿体基因组整体相似性和核苷酸多态性比对结果显示,10 种柽柳科植物编码区序列比非编码区序列更为保守,反向重复区比单拷贝区更为保守,这种情况普遍存在于被子植物中<sup>[53]</sup>。变异率高的区域是系统发育分析潜在的分子标记材料。mVISTA 分析表明,柽柳科植物中 *atpF*、*ycf3*、*ycf1*、*ndhA*、

*ndhF*、*rpoC2* 基因是构建柽柳科植物系统发育关系的理想分子标记材料。叶绿体基因中最保守的区域为 IR 区,其结构、长度和 SC 区的边界均表现出较强的保守性,是引起叶绿体基因组长度与结构差异的关键因素<sup>[54-55]</sup>。本研究通过 IR/SC 边界分析发现,柽柳科植物叶绿体基因组在序列长度上无显著差异,但边界基因的位置和类型存在较大差异。除沙生柽柳外,其余 9 种柽柳科植物 JLB 边界均处于 *rps19* 基因之中,说明柽柳科植物叶绿体基因组的边界变化具有一定的特异性。*rps19* 基因通过调控叶绿体核糖体组装,影响光合作用相关蛋白的合成效率<sup>[56]</sup>。短穗柽柳、多枝柽柳、红砂和五柱红砂的 *rps19* 基因向 LSC 区延伸,可能通过增加 IR 区的覆盖范围,保留 *rps19* 的双拷贝功能,增强高盐、干旱下翻译稳定性。*ycf1* 基因是叶绿体发育必需基因,其边界变异可能与光系统修复能力或抗逆性相关<sup>[57]</sup>。红砂和五柱红砂 *ycf1* 基因向 SSC 扩张 58 bp,可能通过延长 SSC 区增强 *ycf1* 基因单拷贝功能,从而增强胁迫响应。*ndhF* 基因编码 NADH 脱氢酶亚基,参与光系统 I 的环式电子传递,其位置变化可能影响光能利用效率<sup>[58]</sup>。盐地柽柳、短穗柽柳等 5 种的 JSA 边界向 SSC 区域的 *ndhF* 基因扩张了 3 bp,甘蒙柽柳等 3 种缩短至 2 bp,五柱红砂、红砂的 *ndhF* 基因向 IRa 收缩 7~13 bp,导致 JSA 边界直接位于 *ndhF* 基因内部。五柱红砂、红砂 *ndhF* 基因的收缩可能与其在干旱生境中光保护机制的强化有关。总体而言,柽柳科植物叶绿体基因组在进化中存在一定的保守性,部分物种存在边界差异,可为研究柽柳科不同物种生理功能、系统发育和鉴定提供依据。

在蛋白质翻译过程中,能编码同种氨基酸残基的不同密码子被定义为同义密码子,其在使用频率上有所差异的现象被称为密码子偏好性<sup>[59]</sup>。密码子偏好性作为重要的叶绿体基因组进化特征,在不同物种间存在较多差异<sup>[60]</sup>。在本研究中,10 个物种间基因的 GC 含量相差不大,且不同密码子位置的 GC 含量具有相同趋势(GC1>GC2>GC>GC3),与此前的叶绿体基因组研究结果<sup>[61]</sup>类似。柽柳科植物叶绿体基因组的 ENc 平均值为 55.28,表明密码子使用偏好性很弱;CAI 的平均值为 0.159,表明编码蛋白的同义密码子与最佳密码子使用频率的符合程度低。RSCU 分析能够通过相对密码子使用偏好性来表征基因表达水平,是密

密码子研究的一种核心工具<sup>[62]</sup>。本研究中, 怪柳科植物叶绿体基因组的RSCU对比分析结果显示, 有41个同义密码子的RSCU大于1, 表明这些密码子相较其余密码子在怪柳科植物中的使用频率更高。编码精氨酸AGA的RSCU最高(1.93~2.01), 其次是编码甘氨酸的GGA(1.41~1.54)。RSCU聚类结果显示, 盐地怪柳和甘蒙怪柳聚在一起, 其余8种怪柳科植物聚为一支, 这与传统分类学不同。有研究<sup>[61]</sup>表明, 密码子偏好性的聚类结果和物种的亲缘关系可能会存在较大差异, 这与本研究所得结果相似。

怪柳科植物系统发育结果显示, 在建立的2种系统发育树中红砂和五柱红砂都以100%的强支持率聚为一支, 这表明红砂属为单系类群。水柏枝属的分类单元长期以来就存在各种争议, 这主要源于秀柏枝的分类位置。学者<sup>[63]</sup>认为其性状处于怪柳属和水柏枝属之间, 有很多过渡性状, 可以成立一个新属或者归类为水柏枝属。水柏枝属植物典型特征为叶呈线形至鳞片状, 肉质化; 花序为密集总状花序, 苞片早落, 花柱3深裂; 果实为圆锥形蒴果, 沿背缝线开裂。秀柏枝则呈现显著差异: 叶为卵形至披针形, 非肉质化; 花序疏松, 苞片宿存至果期, 花柱仅顶端3浅裂; 果实为卵球形蒴果, 3瓣裂<sup>[21]</sup>。尽管二者在繁殖器官与营养器官的形态特征上存在显著差异, 但本研究的系统发育树聚类结果仍支持将秀柏枝归类在水柏枝属之下(支持率ML/BI=100/1), 而不应该成立一个新属, 这一结论与席以珍<sup>[64]</sup>的研究结果一致, 提示其形态变异可能反映生态适应下的性状演化, 而非属级分化事件。甘蒙怪柳聚类在水柏枝属之下, 与此前系统发育研究<sup>[65]</sup>中部分怪柳属物种归入水柏枝属的结果类似。基于当前取样范围和分析数据(叶绿体基因组CDS序列), 在现有分类框架下怪柳属表现出多系性特征, 这与此前基于ITS序列建立的系统发育树结果认为怪柳属是单系类群相冲突<sup>[66]</sup>。在近缘物种或属级分类中, CDS序列相比ITS序列更加保守, 更能反映出真实的系统发育关系<sup>[41]</sup>。本研究基于叶绿体基因组CDS序列构建的系统发育树整体支持率高且拓扑结构稳定。目前, 对甘蒙怪柳的系统发育研究绝大部分是基于ITS序列, 现有研究<sup>[67-68]</sup>表明, 用ITS序列和用CDS序列对相同怪柳科物种进行系统发育研究会产生拓扑结构冲突的结果。这种冲突可能源于多种进

化机制的共同作用, 例如杂交渐渗、不完全谱系分选及叶绿体与核基因组间不同的选择压力差异, 强烈提示甘蒙怪柳可能存在复杂的网状进化事件。鉴于本研究在怪柳属内部的取样覆盖度有限, 怪柳属作为一个整体, 究竟是单系群还是多系群, 以及其确切的系统发育关系尚未明确, 后续研究需进一步扩大怪柳科物种取样覆盖度, 并整合核基因组与形态学等多维度数据, 以全面解析怪柳科的进化动态。

#### 4 结论

本研究表明, 所选取10种怪柳科植物的叶绿体基因组结构高度保守, 均为环状四分体结构。其叶绿体基因组全长为154 684~156 178 bp, 编码约130个基因。怪柳科植物叶绿体基因组的编码区比非编码区序列更为保守, 反向重复区比单拷贝区遗传多态性更低, *atpF*、*ycf3*、*ycf1*、*ndhA*、*ndhF*、*rpoC2*基因可能是重建怪柳科系统发育关系的理想分子标记。怪柳科植物叶绿体基因组的密码子使用偏好性很弱。沙生怪柳*rps16*基因内含子缺失, 表明其序列发生了一定程度的变异, 可能是沙生怪柳的一个进化特征。系统发育分析表明, 红砂属为单系类群, 在现有分类框架及取样范围内, 怪柳属呈现多系性。基于甘蒙怪柳和秀柏枝与水柏枝属的聚类关系, 建议将其划归水柏枝属。然而, 鉴于本研究对怪柳属内部多样性的取样覆盖度尚显不足, 怪柳属整体的单系性或多系性结论仍需未来更全面的系统发育研究予以确认。

#### 参 考 文 献

- [1] 张韵洁, 李德铎. 叶绿体系统发育基因组学的研究进展[J]. 植物分类与资源学报, 2011, 33(4): 365-375.  
ZHANG Y J, LI D Z. Advances in phylogenomics based on complete chloroplast genomes[J]. Plant Diversity and Resources, 2011, 33(4): 365-375.
- [2] O'NEILL S L, GIORDANO R, COLBERT A M, et al. 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89(7): 2699-2702.
- [3] PURKHOLD U, POMMERENING-RÖSER A, JURETSC-HKO S, et al. Phylogeny of all recognized species of ammonia oxidizers based on comparative 16S rRNA and amoA sequence analysis: implications for molecular diversity surveys [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(12): 5368-5382.

- [4] HEDGES S B, MOBERG K D, MAXSON L R. Tetrapod phylogeny inferred from 18S and 28S ribosomal RNA sequences and a review of the evidence for amniote relationships[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1990, 7(6): 607-633.
- [5] SNEL B, BORK P, HUYNEN M A. Genome phylogeny based on gene content[J]. *Nature Genetics*, 1999, 21(1): 108-110.
- [6] MORET B M E, WANG L S, WARNOW T, *et al.* New approaches for reconstructing phylogenies from gene order data[J]. *Bioinformatics*, 2001, 17(Sup.1): S165-S173.
- [7] SEMPLE C, STEEL M. A supertree method for rooted trees[J]. *Discrete Applied Mathematics*, 2000, 105(1/2/3): 147-158.
- [8] 李建伏, 郭茂祖. 系统发生树构建技术综述[J]. *电子学报*, 2006, 34(11): 2047-2052.  
LI J F, GUO M Z. A review of phylogenetic tree reconstruction technology[J]. *Acta Electronica Sinica*, 2006, 34(11): 2047-2052.
- [9] 于黎, 张亚平. 系统发育基因组学: 重建生命之树的一条迷人途径[J]. *遗传*, 2006, 28(11): 1445-1450.  
YU L, ZHANG Y P. Phylogenomics: an attractive avenue to reconstruct "Tree of Life" [J]. *Hereditas (Beijing)*, 2006, 28(11): 1445-1450.
- [10] ZUNTINI A R, CARRUTHERS T, MAURIN O, *et al.* Phylogenomics and the rise of the angiosperms [J]. *Nature*, 2024, 629(8013): 843-850.
- [11] WANG X X, HUANG C H, MORALES-BRIONES D F, *et al.* Phylotranscriptomics reveals the phylogeny of Asparagales and the evolution of allium flavor biosynthesis[J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 9663.
- [12] ZHOU X K, FAN H Y, FENG X Y, *et al.* PGCP: a comprehensive database of plant genomes for comparative phylogenomics [J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2025, 23(7): 2928-2930.
- [13] 邹新慧, 葛颂. 基因树冲突与系统发育基因组学研究[J]. *植物分类学报*, 2008, 46(6): 795-807.  
ZOU X H, GE S. Conflicting gene trees and phylogenomics[J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2008, 46(6): 795-807.
- [14] MOORE M J, SOLTIS P S, BELL C D, *et al.* Phylogenetic analysis of 83 plastid genes further resolves the early diversification of eudicots[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(10): 4623-4628.
- [15] LI H T, LUO Y, GAN L, *et al.* Plastid phylogenomic insights into relationships of all flowering plant families[J]. *BMC Biology*, 2021, 19(1): 232.
- [16] LI H T, YI T S, GAO L M, *et al.* Origin of angiosperms and the puzzle of the Jurassic gap [J]. *Nature Plants*, 2019, 5(5): 461-470.
- [17] MA H, LIU Z Q, LAN W X, *et al.* Complete chloroplast genomes of 9 *Impatiens* species: genome structure, comparative analysis, and phylogenetic relationships [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2025, 26(2): 536.
- [18] 王飞, 赵文植, 董章宏, 等. 丝兰属 6 种植物叶绿体基因组特征分析[J]. *植物研究*, 2023, 43(1): 109-119.  
WANG F, ZHAO W Z, DONG Z H, *et al.* Analysis of the chloroplast genome characteristics of 6 species of *Yucca* [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2023, 43(1): 109-119.
- [19] 张妍彤, 黄剑, 宋菊, 等. 壳斗科植物叶绿体基因组结构及变异分析[J]. *植物研究*, 2018, 38(5): 757-765.  
ZHANG Y T, HUANG J, SONG J, *et al.* Structure and variation analysis of chloroplast genomes in Fagaceae [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2018, 38(5): 757-765.
- [20] 苏丹丹, 刘玉萍, 刘涛, 等. 苦马豆叶绿体基因组结构及其特征分析[J]. *植物研究*, 2022, 42(3): 446-454.  
SU D D, LIU Y P, LIU T, *et al.* Structure of chloroplast genome and its characteristics of *Sphaerophysa salsula* [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2022, 42(3): 446-454.
- [21] DANIELL H, JIN S X, 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.
- [22] 张鹏云, 张耀甲. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1979, 50(2): 142-143.  
ZHANG P Y, ZHANG Y J. *Flora of China* [M]. Beijing: Science Press, 1979, 50(2): 142-143.
- [23] 种培芳, 苏世平, 李毅. 4 个地理种群红砂的抗旱性综合评价[J]. *草业学报*, 2011, 20(5): 26-33.  
ZHONG P F, SU S P, LI Y. Comprehensive evaluation of drought resistance of *Reaumuria soongorica* from four geographical populations [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2011, 20(5): 26-33.
- [24] 蒋进, 高海峰. 柽柳属植物抗旱性排序研究[J]. *干旱区研究*, 1992(4): 41-45.  
JIANG J, GAO H F. A study on drought resistant ordination of *Tamarix L.* [J]. *Arid Zone Research*, 1992(4): 41-45.
- [25] 王雲霞, 单立山, 解婷婷, 等. 干旱-复水对红砂幼苗各器官非结构性碳水化合物的影响[J]. *生态学杂志*, 2024, 43(2): 383-394.  
WANG Y X, SHAN L S, XIE T T, *et al.* The effects of drought-rehydration on non-structural carbohydrates in *Reaumuria soongorica* seedlings [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2024, 43(2): 383-394.
- [26] SUN T T, SU Z H, WANG R, *et al.* Transcriptome and metabolome analysis reveals the molecular mechanisms of *Tamarix taklamakanensis* under progressive drought and rehydration treatments [J]. *Environmental and Exper-*

- imental Botany, 2022, 195: 104766.
- [27] 王红宝, 郑伶俐, 丁丁, 等. 7种柽柳属植物对 NaCl 胁迫的生长生理响应与耐盐性差异[J]. 山东农业科学, 2022, 54(11): 31-38.  
WANG H B, ZHENG L J, DING D, *et al.* Growth and physiological response to NaCl stress and salt tolerance differences of seven *Tamarix* Linn. species[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2022, 54(11): 31-38.
- [28] 张元明, 潘伯荣, 尹林克. 中国柽柳科(Tamaricaceae)花粉形态研究及其分类意义的探讨[J]. 西北植物学报, 2001, 21(5): 857-864.  
ZHANG Y M, PAN B R, YIN L K. Pollen morphology of the Tamaricaceae from China and its taxonomic significance [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2001, 21(5): 857-864.
- [29] 张元明. 中国柽柳科植物花粉形态特征聚类分析[J]. 西北植物学报, 2004, 24(9): 1702-1707.  
ZHANG Y M. Cluster analysis on pollen morphology of the Tamaricaceae from China[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2004, 24(9): 1702-1707.
- [30] 张道远, 陈之端, 孙海英, 等. 用核糖体 DNA 的 ITS 序列探讨中国柽柳科植物系统分类中的几个问题[J]. 西北植物学报, 2000, 20(3): 421-431.  
ZHANG D Y, CHEN Z D, SUN H Y, *et al.* Systematic studies on some questions of Tamaricaceae based on ITS sequence[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2000, 20(3): 421-431.
- [31] 魏岩, 谭敦炎, 尹林克. 中国柽柳科植物叶解剖特征与分类关系的探讨[J]. 西北植物学报, 1999, 19(1): 113-118.  
WEI Y, TAN D Y, YIN L K. The discussions on the anatomical structure of leaf and ITS taxonomic relationship of Tamaricaceae in China[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 1999, 19(1): 113-118.
- [32] 张鹏云, 刘名庭. 中国的柽柳属植物研究简史[J]. 干旱区研究, 1988, 5(3): 20-26.  
ZHANG P Y, LIU M T. A brief history of research on *Tamarix* plants in China[J]. Arid Zone Research, 1988, 5(3): 20-26.
- [33] 师亚婷, 单立山, 解婷婷, 等. 干旱胁迫下红砂幼苗非结构性碳水化合物动态变化特征[J]. 西北植物学报, 2023, 43(1): 116-126.  
SHI Y T, SHAN L S, XIE T T, *et al.* Dynamic changes of non-structural carbohydrate in *Reaumuria soongorica* seedlings under drought stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2023, 43(1): 116-126.
- [34] WEI X C, YAN X, YANG Z, *et al.* Salt glands of recretohalophyte *Tamarix* under salinity: their evolution and adaptation[J]. Ecology and Evolution, 2020, 10(17): 9384-9395.
- [35] LI F J, XIE W L, DING X R, *et al.* Phytochemical and pharmacological properties of the genus *Tamarix*: a comprehensive review[J]. Archives of Pharmacal Research, 2024, 47(5): 410-441.
- [36] CHEN Y H, WANG G Y, ZHANG H X, *et al.* Transcriptome analysis of *Tamarix ramosissima* leaves in response to NaCl stress[J]. PLoS One, 2022, 17(3): e0265653.
- [37] DU C, MA B J, WU Z G, *et al.* *Reaumuria trigyna* transcription factor RtWRKY23 enhances salt stress tolerance and delays flowering in plants[J]. Journal of Plant Physiology, 2019, 239(8): 38-51.
- [38] SONG M M, GONG W, TIAN Y Y, *et al.* Chromosome-level genome assembly and annotation of xerophyte secretohalophyte *Reaumuria soongarica* [J]. Scientific Data, 2024, 11(1): 812.
- [39] DOYLE J J, DOYLE J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. Phytochemical Bulletin, 1987, 19(1): 11-13.
- [40] ARIMURA S I, NAKAZATO I. Genome editing of plant mitochondrial and chloroplast genomes [J]. Plant and Cell Physiology, 2024, 65(4): 477-483.
- [41] ANDROSIUK P, JASTRZEBSKI J P, PAUKSZTO Ł, *et al.* Evolutionary dynamics of the chloroplast genome sequences of six *Colobanthus* species [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 11522.
- [42] XU L Y, WANG J H, ZHANG T J, *et al.* Characterizing complete mitochondrial genome of *Aquilegia amurensis* and its evolutionary implications[J]. BMC Plant Biology, 2024, 24(1): 142.
- [43] DELSUC F, BRINKMANN H, PHILIPPE H. Phylogenomics and the reconstruction of the tree of life [J]. Nature Reviews Genetics, 2005, 6(5): 361-375.
- [44] CUI H N, DING Z, ZHU Q L, *et al.* Population structure and genetic diversity of watermelon (*Citrullus lanatus*) based on SNP of chloroplast genome [J]. 3 Biotech, 2020, 10(8): 374.
- [45] GUO Y Y, YANG J X, BAI M Z, *et al.* The chloroplast genome evolution of Venus slipper (*Paphiopedilum*): IR expansion, SSC contraction, and highly rearranged SSC regions[J]. BMC Plant Biology, 2021, 21(1): 248.
- [46] LI E Z, LIU K J, DENG R Y, *et al.* Insights into the phylogeny and chloroplast genome evolution of *Eriocaulon* (Eriocaulaceae)[J]. BMC Plant Biology, 2023, 23(1): 32.
- [47] WENG M L, RUHLMAN T A, JANSEN R K. Plastid-nuclear interaction and accelerated coevolution in plastid ribosomal genes in Geraniaceae [J]. Genome Biology and Evolution, 2016, 8(6): 1824-1838.
- [48] 陈仁芳, 张泽, 唐洲, 等. 桑属 ITS、trnL-F、rps16 序列与进化分析[J]. 中国农业科学, 2011, 44(8): 1553-1561.  
CHEN R F, ZHANG Z, TANG Z, *et al.* *Morus* ITS, trnL-F, rps16 sequence and phylogenetic analysis of mulberry resources [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(8):

- 1553-1561.
- [49] 曾建敏, 陈学军, 吴兴富, 等. 基于烟草叶绿体基因组和线粒体基因组 SSR 标记的烟属植物遗传多样性分析[J]. 中国烟草学报, 2016, 22(4): 89-97.
- ZENG J M, CHEN X J, WU X F, *et al.* Genetic diversity analysis of genus *Nicotiana* based on SSR markers in chloroplast genome and mitochondria genome [J]. *Acta Tabacaria Sinica*, 2016, 22(4): 89-97.
- [50] 刘霞, 孙冲, 黄勤琴, 等. 九叶青花椒叶绿体基因组结构及系统进化分析[J]. 林业科学研究, 2023, 36(1): 100-108.
- LIU X, SUN C, HUANG Q Q, *et al.* Analysis of complete chloroplast genome sequences and phylogenetic evolution of *Zanthoxylum armatum* 'Jiuyeqing' [J]. *Forest Research*, 2023, 36(1): 100-108.
- [51] CHI X F, ZHANG F Q, DONG Q, *et al.* Insights into comparative genomics, codon usage bias, and phylogenetic relationship of species from Biebersteiniaceae and Nitrariaceae based on complete chloroplast genomes [J]. *Plants*, 2020, 9(11): 1605.
- [52] SALTONSTALL K, LAMBERTINI C. The value of repetitive sequences in chloroplast DNA for phylogeographic inference: a comment on Vachon & Freeland 2011 [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2012, 12(4): 581-585.
- [53] DONG W P, XU C, LI W Q, *et al.* Phylogenetic resolution in *Juglans* based on complete chloroplast genomes and nuclear DNA sequences [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 1148.
- [54] LI L, HU Y F, HE M, *et al.* Comparative chloroplast genomes: insights into the evolution of the chloroplast genome of *Camellia sinensis* and the phylogeny of *Camellia* [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 138.
- [55] CHO K S, YUN B K, YOON Y H, *et al.* Complete chloroplast genome sequence of Tartary Buckwheat (*Fagopyrum tataricum*) and comparative analysis with Common Buckwheat (*F. esculentum*) [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0125332.
- [56] NICOLAISEN M, BERTACCINI A. An oligonucleotide microarray-based assay for identification of phytoplasma 16S ribosomal groups [J]. *Plant Pathology*, 2010, 56(2): 332-336.
- [57] AMAR M H. *ycf1-ndhF* genes, the most promising plastid genomic barcode, sheds light on phylogeny at low taxonomic levels in *Prunus persica* [J]. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 2020, 18(1): 42.
- [58] ZHANG Y, FAN Y F, LV X T, *et al.* Deficiency in NDH-cyclic electron transport retards heat acclimation of photosynthesis in tobacco over day and night shift [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1267191.
- [59] TANG D F, WEI F, CAI Z Q, *et al.* Analysis of codon usage bias and evolution in the chloroplast genome of *Mesona chinensis* Benth [J]. *Development Genes and Evolution*, 2021, 231(1/2): 1-9.
- [60] PARVATHY S T, UDAYASURIYAN V, BHADANA V. Codon usage bias [J]. *Molecular Biology Reports*, 2022, 49(1): 539-565.
- [61] 唐晓芬, 陈莉, 马玉韬. 密码子使用偏性量化方法研究综述 [J]. 基因组学与应用生物学, 2013, 32(5): 660-666.
- TANG X F, CHEN L, MA Y T. Review and prospect of the principle and methods quantifying codon usage bias [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2013, 32(5): 660-666.
- [62] 夏铭泽, 张发起, 迟晓峰, 等. 梅花草属叶绿体基因组进化分析 [J]. 植物研究, 2022, 42(4): 626-636.
- XIA M Z, ZHANG F Q, CHI X F, *et al.* Evolutionary analysis of chloroplast genome of *Parnassia* [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2022, 42(4): 626-636.
- [63] 胡欢, 张梅, 易凌睿. 资源植物水柏枝属的分类与应用研究进展 [J]. 西北植物学报, 2023, 43(2): 351-358.
- HU H, ZHANG M, YI L R. Advances in research on taxonomy and application of genus *Myricaria* (Tamaricaceae) [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(2): 351-358.
- [64] 席以珍. 中国柽柳科植物花粉形态的研究 [J]. 植物研究, 1988, 8(3): 23-42.
- XI Y Z. Studies on pollen morphology of Tamaricaceae in China [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 1988, 8(3): 23-42.
- [65] 白慧慧, 张凯, 杜忠毓, 等. 红砂 (*Reaumuria songarica*) 叶绿体基因组解析及系统发育分析 [J/OL]. 分子植物育种, (2022-03-07) [2025-01-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220303.1345.012.html>.
- BAI H H, ZHANG K, DU Z Y, *et al.* Chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Reaumuria songarica* [J/OL]. *Molecular Plant Breeding*, (2022-03-07) [2025-01-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220303.1345.012.html>.
- [66] 华丽, 张道远, 潘伯荣. 中国柽柳属和水柏枝属的分子系统学研究 [J]. 云南植物研究, 2004, 26(3): 283-289.
- HUA L, ZHANG D Y, PAN B R. Molecular systematics of *Tamarix* and *Myricaria* in China inferred from ITS sequence data [J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2004, 26(3): 283-289.
- [67] 刘浩宇. 具鳞水柏枝叶绿体基因组及谱系地理学研究 [D]. 西宁: 青海师范大学, 2024.
- LIU H Y. Chloroplast genome analysis and phylogeography of *Myricaria squamosa* Desv [D]. Xining: Qinghai Normal University, 2024.
- [68] LIU Y L, DING K, LIANG L X, *et al.* Comparative study on chloroplast genome of *Tamarix* species [J]. *Ecology and Evolution*, 2024, 14(10): e70353.