

## 洋金花与木本曼陀罗叶绿体基因组特征与系统进化分析

毕光耀<sup>1</sup>, 丁怡宁<sup>1</sup>, 王 丽<sup>2</sup>, 胡赛文<sup>1</sup>, 李贺敏<sup>1</sup>, 雷 明<sup>3</sup>, 张占江<sup>3</sup>, 夏 至<sup>1\*</sup>

1. 河南农业大学农学院, 河南 郑州 450046
2. 方城县柳河农业技术推广区域站, 河南 方城 473200
3. 广西壮族自治区药用植物园, 广西 南宁 530023

**摘要:**目的 以洋金花 *Datura metel* 和木本曼陀罗 *Brugmansia arborea* 为材料, 分析其叶绿体基因组结构和特征, 基于叶绿体组数据探讨洋金花和木本曼陀罗及茄科其他物种的系统发育关系。方法 利用华大 MGISEQ-2000PE150 测序平台, 双末端测序策略对基因组 DNA 建库测序, 用 NOVOPlasty 组装叶绿体基因组, 采用最大似然法 (maximum likelihood, ML) 构建系统进化树。结果 洋金花和木本曼陀罗的叶绿体基因组全长为 155 934 bp 和 155 939 bp, 分别包含 131 和 130 个基因, GC 值 32.3%, 具有典型的四分区域结构, 包括 1 个大单拷贝区 (large single copy, LSC)、1 对反向重复区 (inverted repeats, IR) 和 1 个小单拷贝区 (small single copy, SSC), 各区域序列长度分别为 86 354、86 278、25 609、25 720、18 362、18 221 bp。系统发育分析表明, 洋金花与曼陀罗属的曼陀罗构成 1 单系分支, 具有 100% 支持率, 而木本曼陀罗属与曼陀罗属构成单系分支, 具有 100% 支持率。结论 结果支持洋金花隶属于曼陀罗属, 与曼陀罗亲缘关系较近, 木本的曼陀罗属从曼陀罗属分出, 独立为一个属。洋金花和木本曼陀罗叶绿体基因组信息为后期分子鉴定和群体遗传研究奠定基础。

**关键词:** 洋金花; 木本曼陀罗; 叶绿体全基因组; 组装; 系统发育

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)22-7191-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.22.023

## Characterization and phylogenetic analysis of complete chloroplast genome of *Datura metel* and *Brugmansia arborea*

BI Guang-yao<sup>1</sup>, DING Yi-ning<sup>1</sup>, WANG Li<sup>2</sup>, HU Sai-wen<sup>1</sup>, LI He-min<sup>1</sup>, LEI Ming<sup>3</sup>, ZHANG Zhan-jiang<sup>3</sup>, XIA Zhi<sup>1</sup>

1. College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China
2. Liuhe Agricultural Technology Extension Regional Station of Fangcheng County, Fangcheng 473200, China
3. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning 530023, China

**Abstract: Objective** To analyze the structure and feature of complete chloroplast genome of medicinal plants *Datura metel* and *Brugmansia arborea*, so as to construct the phylogenetic relationship between the two species and their relatives. **Methods** MGISEQ-2000PE150 was used to sequence the genomic DNA of *D. metel* and *B. arborea* with the paired-end strategy in Beijing Genomics Institute (China). The complete chloroplast genome was assembled using NOVO Plasty software, and sequence analysis was performed based on gene annotation results. Phylogenetic analyses were performed using Maximum-Likelihood (ML) methods. **Results** The complete chloroplast genome of *D. metel* and *B. arborea* were 155 934 bp and 155 939 bp in length including 131 and 130 genes respectively, with a GC content of 32.3%. The chloroplast genome exhibited a typical quadripartite structure, including a large single copy region (LSC), a pair of inverted repeats (IR), and a small single copy (SSC), and the each region lengths of which were 86 354, 86 278, 25 609, 25 720, 18 362, 18 221 bp, respectively. Phylogenetic analyses result indicated that *D. metel* was sister to *D. stramonium* with bootstrap 100%. The genera *Datura* and *Brugmansia* formed one monophyletic group with bootstrap 100%. **Conclusion** This study verified that *D. metel* belonged to the *Datura*, and it was related to *D. stramonium*. The genus *Brugmansia* should be separated from genus *Datura*. The information of chloroplast genome provided foundation for subsequent studies on molecular identification and genetic diversity.

**Key words:** *Datura metel* L.; *Brugmansia arborea* (L.) Lagerh.; chloroplast genome; assembly; phylogenetic analysis

收稿日期: 2022-04-07

基金项目: 河南省科技攻关项目 (222102110137); 河南省高等学校重点科研项目计划 (22A360010); 国家自然科学基金-河南联合基金项目 (U1404302)

作者简介: 毕光耀 (1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药资源的分子鉴定。E-mail: 903592548@qq.com

\*通信作者: 夏至, 教授, 主要从事中药资源的分子鉴定及分子生药学研究。E-mail: xiazhiemall@126.com

药用植物洋金花 *Datura metel* L. 来源于茄科 (Solanaceae) 曼陀罗属 *Datura* L., 为一年生草本<sup>[1]</sup>, 在《中国药典》2020 年版中以干燥花入药, 中药材名为洋金花 *Daturae Flos*<sup>[2]</sup>。洋金花有效成分为东莨菪碱, 临床具有平喘止咳、解痉定痛的功效。用于哮喘咳嗽、皖腹冷痛、风湿痹痛、小儿慢惊及外科麻醉<sup>[2]</sup>。木本曼陀罗 *Brugmansia arborea* (L.) Lagerh. 隶属于木曼陀罗属 *Brugmansia* L., 原产于南美洲, 我国引入栽培。《中国植物志》将木曼陀罗属作为一个组放在曼陀罗属<sup>[1]</sup>, 2 者系统发育关系一直存在争议。近年来, 基于分子条形码序列的系统发育结果支持木曼陀罗属为一个独立的属<sup>[3]</sup>。曼陀罗属植物在我国分布范围广, 生态适应幅度大, 导致该属植物在形态上产生很多变异, 种内的遗传变异十分显著, 且该属植物花部特征相似, 不易区分<sup>[4]</sup>, 形态鉴别困难。中药材洋金花常见的伪品来源于其近缘种曼陀罗 *D. stramonium* L. 和毛曼陀罗 *D. innoxia* Miller 的花<sup>[5]</sup>。此外木本曼陀罗 *B. arborea* (L.) Lagerh. 的花东莨菪碱含量较高, 也常被误用作洋金花使用<sup>[4]</sup>, 严重影响洋金花中医临床用药安全。近年来, 有关洋金花的研究主要集中在化学成分分析和药理学研究等方面<sup>[6-7]</sup>, 药用植物洋金花和木本曼陀罗的叶绿体基因组组装、特征和系统进化分析未见报道。

叶绿体是植物最重要的细胞器之一, 具有一整套用于光合作用、能量代谢、蛋白质合成及氮、硫同化相关的基因, 分布在大小为 120~180 kb 的环状基因组上, 具有结构保守、母性遗传等特点<sup>[8-9]</sup>。叶绿体基因组一般为闭环双链 DNA 结构, 陆生植物的叶绿体基因组结构通常由 1 个大单拷贝区域 (large single copy, LSC)、1 个短单拷贝区域 (small single copy, SSC) 和 2 个反向重复区域 (inverted repeat, IR) 组成<sup>[10]</sup>。叶绿体基因组拥有相对独立的基因组和遗传序列, 并且不像核基因组一般有着复杂的重复序列, 其基因序列保守, 间隔区变异位点丰富, 适宜的进化速率能够为植物不同等级的亲缘关系, 系统进化关系及遗传多样性研究提供较为可靠的信息<sup>[10]</sup>。

随着测序技术的不断改进, 测序平台的不断升级, 一系列组装和注释软件如 plasmid SPAdes<sup>[11]</sup>、NOVOPlasty<sup>[12]</sup>、GetOrganelle<sup>[13]</sup> 等的开发与更新, 多种重要的药用植物叶绿体基因组已完成测序和分析, 如人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer<sup>[14]</sup>、红豆杉

*Taxus wallichiana* var. *chinensis* (Pilger) Florin<sup>[15]</sup>、三七 *Panax notoginseng* (Burkill) F. H. Chen ex C. Chow & W. G. Huang<sup>[16]</sup>、铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo<sup>[17]</sup>、地黄 *Rehmannia glutinosa* (Gaert.) Libosch. ex Fisch. et Mey.<sup>[18]</sup>、射干 *Belamcanda chinensis* (L.) Redouté<sup>[19]</sup>、连翘 *Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl<sup>[20]</sup> 等的叶绿体全基因组序列的分析已有相关报道。本研究以洋金花和木本曼陀罗为材料, 利用高通量测序方法测定其基因组 DNA 序列, 并对其叶绿体基因组进行组装和注释。分析药用植物洋金花和木本曼陀罗叶绿体基因组序列特征, IR 边界特征, 间隔区信息位点变异的特征, 并对洋金花和木本曼陀罗及其近缘物种共 22 种 (25 个样品) 植物的叶绿体基因组序列进行系统发育分析, 验证其系统的位置, 探讨曼陀罗属与木曼陀罗属的系统关系。为药用植物洋金花及其近缘物种的种质资源的鉴定、群体遗传学和遗传多样性研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

洋金花和木本曼陀罗新鲜叶片采集于广西壮族自治区药用植物园 (22°50'47.14"N, 108°19'30.06"E), 凭证标本号为 XZ-2020-17 和 XZ-2020-16。叶片用硅胶干燥后, 装入取样袋带回实验室, 置于 -80 °C 冰箱备用。样品由河南农业大学农学院中药材系高致明教授和夏至教授鉴定为茄科植物洋金花 *D. metel* L. 和木本曼陀罗 *B. arborea* (L.) Lagerh., 凭证标本保存于河南农业大学标本馆, NCBI 的 GenBank 登录号为 OK040953 和 OK040952。其近缘物种叶绿体基因组序列来源于 NCBI 数据库, 实验材料详细信息见表 1。

### 1.2 DNA 的提取和高通量测序

采用植物 DNA 提取试剂盒 (天根生化科技有限公司) 提取样品干燥新鲜叶片的总 DNA, 利用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性。样品送至华大生物科技公司后, 进行 NanoDrop 2000 微量分光光度计 (美国 Thermo Scientific 公司) 检测总 DNA 的纯度和浓度。MGISEQ-2000 PE150 测序平台测序, 测序完成后, 利用华大自主开发的过滤软件 SOAPnuke 过滤参数。(1) 过滤接头: 测序 read 匹配上 adapter 序列的 25% 或者以上则删除整条 read; (2) 过滤低质量数据: 如果测序 read 中质量值低于 20 的碱基占整条 read 的 30% 或者以上则

表 1 植物样品来源

Table 1 Plant samples used in this study

物种	来源	GenBank 登录号
烟草 <i>Nicotiana tabacum</i>	NCBI	NC_001879
<i>N. attenuata</i>	NCBI	MF577082
<i>N. sylvestris</i>	NCBI	NC_007500
<i>Petunia exserta</i>	NCBI	MT644125
碧冬茄 <i>P. hybrida</i>	NCBI	MF459662
曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	NCBI	JN654342
	NCBI	MT610896
	NCBI	MT610897
	NCBI	NC_018117
木本曼陀罗 <i>B. arborea</i>	广西壮族自治区药用植物园	OK040952
洋金花 <i>D. metel</i>	广西壮族自治区药用植物园	OK040953
假酸浆 <i>Nicandra physalodes</i>	NCBI	MN165114
山莨菪 <i>Anisodus tanguticus</i>	NCBI	MK347419
颠茄 <i>Atropa belladonna</i>	NCBI	NC_004561
枸杞 <i>Lycium chinense</i>	NCBI	MG729824
黑果枸杞 <i>L. ruthenicum</i>	NCBI	MG976805
宁夏枸杞 <i>L. barbarum</i>	NCBI	MH032560
小米辣 <i>Capsicum frutescens</i>	NCBI	KR078312
辣椒 <i>C. annuum</i>	NCBI	NC_018552
绒毛辣椒 <i>C. pubescens</i>	NCBI	MH559325
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i>	NCBI	KP331414
醋栗番茄 <i>S. pimpinellifolium</i>	NCBI	NC_026882
龙葵 <i>S. nigrum</i>	NCBI	KM489055
洋芋 <i>S. tuberosum</i>	NCBI	NC_008096
假烟叶树 <i>S. erianthum</i>	NCBI	MW420931
蕹菜 <i>Ipomoea aquatica</i>	NCBI	MW250301

删除整条 read; (3) 去 N: 如果测序 read 中 N 含量占整条 read 的 1% 或者以上, 则删除整条 read; (4) 获得 clean reads。数据以 FASTQ 格式储存, 用于后续的拼接和注释。

### 1.3 叶绿体基因组的组装和注释

叶绿体基因组的拼接采用 NOVOPlasty-master<sup>[12]</sup>程序, 插入片段大小设为 150 bp。过滤后的 reads 用 Geneious 11.0.3<sup>[21]</sup> 拼接软件组装成重叠群, 并对组装中的简并碱基, 进行人工修正。利用 Geneq-Annotation of Organellar (<https://chlorobox.mpimgolm.mpg.de/geseq.html>), 结合 NCBI 上已报道的曼陀罗 *D. stramonium* L. (GenBank 登录号 NC\_018117) 注释结果对洋金花和木本曼陀罗叶绿体全基因组进行基因注释, 参数为默认值, 最后进行手动调整。tRNA 用 ANAGORNV1.2.38 (<https://chlorobox.mpimgolm.mpg.de/geseq.html>) 预测。注释完成后, 提交到

NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), GenBank 登录号为 OK040953 和 OK040952。利用在线工具 OGDRAW-DRAW Organelle Genome Maps (<https://chlorobox.mpimgolm.mpg.de/OGDraw.html>) 绘制叶绿体结构图。

### 1.4 叶绿体基因组 IR 边界的收缩和扩张分析

IR 区域在叶绿体基因中具有高度保守性, IR 边界的膨胀和收缩被认为是被子植物叶绿体全基因组大小变化的主要机制<sup>[20]</sup>。其中被子植物叶绿体基因组长度为 120~180 kb。在植物进化过程中, IR/SC 边界不同程度的扩张和收缩是导致边界和基因组长度多样性的原因<sup>[22]</sup>。本研究使用 Geneious 11.0.3<sup>[21]</sup> 软件获得茄科 10 个属 11 种药用植物叶绿体基因组的 IRa/IRb、LSC 和 SSC 和边界基因的序列长度, 进行比较分析, 探讨茄科植物叶绿体基因组 IR 边界的收缩和扩张特征。并使用 Adobe illustrator 软件绘制 11 种茄科植物叶绿体基因组 IR 边界对比图。

### 1.5 叶绿体基因组基因间隔区信息位点分析

在近缘物种中叶绿体基因间隔区往往比叶绿体基因编码区具有更高的变异位点, 常被用来分析属间、属内种间物种亲缘关系和系统发育关系。本研究基于茄科 10 个属 22 种植物的叶绿体基因组序列特征, 利用 Geneious 11.0.3<sup>[21]</sup> 的 MAFFT<sup>[23]</sup> 功能进行多重比较, 导出 Fasta 格式文件, 后用 Phylosuite v1.2.1<sup>[24]</sup> 提取 22 个物种叶绿体基因组 32 个共有的间隔区, 统计这些间隔区的信息位点百分率, 为下一步构建茄科物种系统进化关系提供分子标记。

### 1.6 系统发育分析

基于本研究新报道的洋金花和木本曼陀罗的叶绿体基因组, 同时选取 NCBI 已报道的茄科物种叶绿体基因组共 22 个 (25 个样品), 以近缘的旋花科 (Convolvulaceae) 植物蕹菜 *Ipomoea aquatica* Forsk 为外类群 (表 1)。利用 Phylosuite v1.2.1<sup>[24]</sup> 软件基于 MAFFT<sup>[23]</sup> 参数设置进行多重比对。系统发育分析采用最大似然法 (maximum likelihood, ML), 利用 CIPRES Science Gateway 服务器 (<http://www.phylo.org/>) 中 RAxML (version 8.2) 软件<sup>[25]</sup> 构建系统发育树。利用 Bootstrap (BS, 1000 次重复) 检验各分支的支持率。系统发育树导出后利用 FigTree version 1.4.2 进行查看。

## 2 结果与分析

### 2.1 洋金花和木本曼陀罗叶绿体基因组的结构特征

测序结果去除接头和低质量的数据后, 组装和注释后得到洋金花和木本曼陀罗的完整叶绿体基因组。结果表明, 洋金花和木本曼陀罗叶绿体基因组均为共价闭合的双链环状分子(图 1)。洋金花和木本曼陀罗的叶绿体全基因组长度分别为 155 934 bp(表 2)和 155 939 bp(表 2), 其中 LSC 长度分别为 86 354 bp 和 86 278 bp, SSC 分别为 18 362 bp 和 18 221 bp, 二者的 2 个 IR 长度分别为 25 609 bp 和 25 720 bp。洋金花和木本曼陀罗的叶绿体全基因组中 GC 含量分别为 37.9%、37.8%。在 LSC 区域中 GC 含量皆为 35.9%, SSC 区域中 GC 含量分别为 32.3%和 32.1%, IRs 区域中 GC 含量相同, 皆为 43.1%。洋金花和木本曼陀罗的叶绿体全

基因组分别注释 131 和 130 个基因, 洋金花包括 85 个蛋白编码基因 (protein coding genes, PCGs), 38 个 tRNA 以及 8 个 rRNA, 其中 LSC 区完全包含 58 个 PCGs 和 23 个 tRNA, SSC 区包含 11 个 PCGs 和 1 个 tRNA, IRs 区域内包含 11 个 PCGs 和 14 个 tRNA 以及全部 (8 个) 的 rRNA, 另外 *rps12*、*rps19*、*Ycf1* 基因分别横跨 LSC/IRb、LSC/IRb、IRb/SSC 和 SSC/IRa 边界。而木本曼陀罗包括 85 个 PCGs, 37 个 tRNA 以及 8 个 rRNA, 其中 LSC 区完全包含 58 个 PCGs 和 22 个 tRNA, SSC 区包含 10 个 PCGs 和 1 个 tRNA, IRs 区域内包含 12 个 PCGs 和 14 个 tRNA 以及全部 (8 个) 的 rRNA, 另外 *rps19*、*rps12*、*Ycf1*、*ndhF* 基因分别横跨 LSC/IRb、LSC/IRb、IRb/SSC 和 SSC/IRa、IRb/SSC 边界。详细信息见表 2。

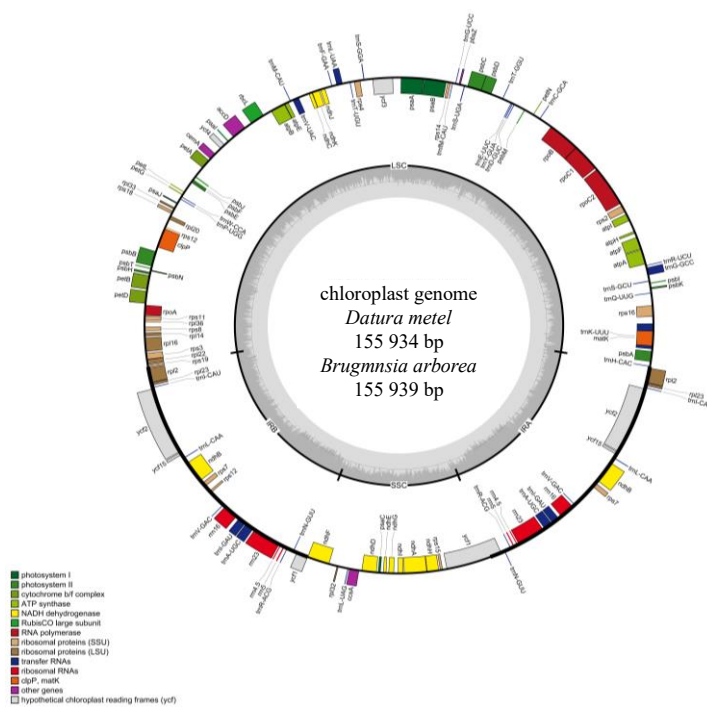


图 1 洋金花和木本曼陀罗的叶绿体基因组

Fig. 1 Map of chloroplast genome of *D. metel* and *B. arborea*

表 2 洋金花和木本曼陀罗叶绿体基因组碱基组成及特征

Table 2 Composition and characteristic of chloroplast genome in *D. metel* and *B. arborea*

物种	区域	A/%	T/%	C/%	G/%	GC/%	长度/bp
洋金花	LSC	31.3	32.8	18.4	17.6	35.9	86 354
	SSC	33.7	34.0	16.8	15.5	32.3	18 362
	IRa/IRb	28.6	28.3	20.7	22.4	43.1	25 609
	总计	30.7	31.5	19.2	18.6	37.9	155 934
木本曼陀罗	LSC	31.4	32.7	18.4	17.5	35.9	86 278
	SSC	33.7	34.2	16.7	15.4	32.1	18 221
	IRa/IRb	28.6	28.4	20.7	22.4	43.1	25 720
	总计	30.7	31.5	19.2	18.6	37.8	155 939

## 2.2 洋金花和木本曼陀罗叶绿体基因组的组成和特征分析

洋金花叶绿体基因组共包括 131 个基因，非重复基因 113 个，其中 85 个 PCGs、8 个 rRNA 基因与 38 个 tRNA 基因。其中，PCGs 中与自我复制相关基因除 rRNA 基因和 tRNA 基因外（表 3），还包括 13 个核糖体小亚基基因、11 个核糖体大亚基基因和 4 个 RNA 聚合酶亚基基因；光合作用相关的基因有 45 个，包括 12 个 NADH 脱氢酶基因、5 个光系统 I 基因、14 个光系统 II 基因、6 个细胞色素复合物编码基因、6 个 ATP 合酶基因、1 个二磷酸核酮糖羧化酶大亚基基因和 1 个依赖 ATP 的蛋白酶单元 p 基因；此外还有 4 个其他功能基因及 8 个未知功能基因。在 tRNA 中 *trnI-CAU*、*trnL-CAA*、*trnV-GAC*、*trnI-GAU*、*trnA-UGC*、*trnR-ACG*、*trnN-GUU* 各有 2 个拷贝；4 个 rRNA 均有 2 个拷贝，分别位于反向重

复区 IRa 和 IRb。核糖体蛋白大小亚基编码的基因中，*rps7*、*rpl2*、和 *rpl23* 这 3 个基因均有 2 个拷贝，其余为 1 个拷贝。NADH 脱氢酶亚基中的 *ndhB* 基因及未知功能蛋白基因 *Ycf2* 和 *Ycf1* 的拷贝数均为 2。内含子在基因表达调控中发挥重要作用，洋金花叶绿体基因组中有 15 个基因有内含子。其中，*trnK-UUU*、*trnG-GCC*、*trnL-UAA*、*trnV-UAC*、*trnI-GAU*、*trnA-UGC*、*rps16*、*rpl2*、*rpl16*、*rpoC1*、*ndhA*、*ndhB*、*petB*、*petD*、*atpF* 各有 1 个内含子，而 *clpP*、*ycf3* 具 2 个内含子。*matK* 基因位于 *tmK-UUU* 基因内，整个编码区为 *trnK-UUU* 内含子的一部分，存在序列共用现象；*psbD* 基因的 3'端与 *psbC* 基因的 5'端，*atpE* 基因的 3'端与 *atpB* 基因的 5'端、*rps3* 的 3'端与 *rpl22* 的 5'端重叠。木本曼陀罗和洋金花相比在 tRNA 上缺少了 *trnP-GGG*，其他基因组成与洋金花一致。

表 3 洋金花和木本曼陀罗叶绿体基因组编码的基因

Table 3 Genes in chloroplast genome of *D. metel* and *B. arborea*

基因分组	基因名称	数量
tRNA	<i>trnH-CAC</i> 、 <i>trnK-UUU</i> <sup>b</sup> 、 <i>trnQ-UUG</i> 、 <i>trnS-GCU</i> 、 <i>trnG-GCC</i> <sup>c</sup> 、 <i>trnR-UCU</i> 、 <i>trnC-GCA</i> 、 <i>trnD-GUC</i> 、 <i>trnY-GUA</i> 、 <i>trnE-UUC</i> 、 <i>trnT-GGU</i> 、 <i>trnS-UGA</i> 、 <i>trnG-UCC</i> 、 <i>trnM-CAU</i> 、 <i>trnS-GGA</i> 、 <i>trnT-UGU</i> 、 <i>trnL-UAA</i> <sup>a</sup> 、 <i>trnF-GAA</i> 、 <i>trnV-UAC</i> <sup>c</sup> 、 <i>trnM-CAU</i> 、 <i>trnW-CCA</i> 、 <i>trnP-UGG</i> 、 <i>trnP-GGG</i> <sup>d</sup> 、 <i>trnI-CAU</i> <sup>c</sup> 、 <i>trnL-CAA</i> <sup>a</sup> 、 <i>trnV-GAC</i> <sup>c</sup> 、 <i>trnI-GAU</i> <sup>ac</sup> 、 <i>trnA-UGC</i> <sup>ac</sup> 、 <i>trnR-ACG</i> <sup>c</sup> 、 <i>trnN-GUU</i> <sup>c</sup> 、 <i>trnL-UAG</i>	38
rRNA	<i>rrn16</i> <sup>c</sup> 、 <i>rrn23</i> <sup>c</sup> 、 <i>rrn4.5</i> <sup>c</sup> 、 <i>rrn5</i> <sup>c</sup>	8
核糖体蛋白小亚基	<i>rps2</i> 、 <i>rps3</i> 、 <i>rps4</i> 、 <i>rps7</i> <sup>c</sup> 、 <i>rps8</i> 、 <i>rps11</i> 、 <i>rps12</i> <sup>a</sup> 、 <i>rps14</i> 、 <i>rps15</i> 、 <i>rps16</i> <sup>a</sup> 、 <i>rps18</i> 、 <i>rps19</i>	13
核糖体蛋白大亚基	<i>rpl2</i> <sup>ac</sup> 、 <i>rpl14</i> 、 <i>rpl16</i> <sup>a</sup> 、 <i>rpl20</i> 、 <i>rpl22</i> 、 <i>rpl23</i> <sup>c</sup> 、 <i>rpl32</i> 、 <i>rpl33</i> 、 <i>rpl36</i>	11
RNA 聚合酶	<i>rpoA</i> 、 <i>rpoB</i> 、 <i>rpoC1</i> <sup>a</sup> 、 <i>rpoC2</i>	4
NADH 脱氢酶亚基	<i>ndhA</i> <sup>a</sup> 、 <i>ndhB</i> <sup>bc</sup> 、 <i>ndhC</i> 、 <i>ndhD</i> 、 <i>ndhE</i> 、 <i>ndhF</i> 、 <i>ndhG</i> 、 <i>ndhH</i> 、 <i>ndhI</i> 、 <i>ndhJ</i> 、 <i>ndhK</i>	12
光系统 I 亚基	<i>psaA</i> 、 <i>psaB</i> 、 <i>psaC</i> 、 <i>psaI</i> 、 <i>psaJ</i>	5
光系统 II 亚基	<i>psbA</i> 、 <i>psbB</i> 、 <i>psbC</i> 、 <i>psbD</i> 、 <i>psbE</i> 、 <i>psbF</i> 、 <i>psbH</i> 、 <i>psbI</i> 、 <i>psbJ</i> 、 <i>psbK</i> 、 <i>psbL</i> 、 <i>psbM</i> 、 <i>psbN</i> 、 <i>psbT</i>	14
细胞色素 b/f 复合物亚基	<i>petA</i> 、 <i>petB</i> <sup>a</sup> 、 <i>petD</i> <sup>a</sup> 、 <i>petG</i> 、 <i>petL</i> 、 <i>petN</i>	6
ATP 合成酶亚基	<i>atpA</i> 、 <i>atpB</i> 、 <i>atpE</i> 、 <i>atpF</i> <sup>a</sup> 、 <i>atpH</i> 、 <i>atpI</i>	6
Rubisco 大亚基	<i>rbcL</i>	1
蛋白酶	<i>clpP</i> <sup>b</sup>	1
成熟酶	<i>matK</i>	1
包裹膜蛋白	<i>cemA</i>	1
乙酰 CoA 羧化酶亚基	<i>accD</i>	1
细胞色素 C 合成酶	<i>ccsA</i>	1
未知功能蛋白	<i>Ycf1</i> <sup>c</sup> 、 <i>Ycf2</i> <sup>c</sup> 、 <i>Ycf3</i> <sup>b</sup> 、 <i>Ycf4</i> 、 <i>Ycf15</i> <sup>c</sup>	8

a 和 b 分别表示含有 1 个和 2 个内含子；c 表示含有 2 个拷贝基因；d 表示木本曼陀罗缺少该基因

a and b represent one and two introns, respectively; c indicates that it contains two copies of genes; d indicates that *B. arborea* lacks this gene

## 2.3 茄科部分物种叶绿体全基因组特征比较分析

茄科植物叶绿体基因组特征的比较分析见表 4，洋金花和木本曼陀罗及其近缘物种（共 22 个物种）叶绿体基因组的序列长度范围介于 155 004~157 390 bp，其中，黑果枸杞的叶绿体全基因组长度最短（155 004 bp），绒毛辣椒的叶绿体基因组最长（157 390 bp）。洋金花的叶绿体基因组长度为 155 934 bp，木本曼陀罗的叶绿体基因组长度为 155 939 bp，位于茄科其他 20 个物种的叶绿体基因

组长度范围之内。洋金花和木本曼陀罗及其近缘物种（共 22 个物种）叶绿体基因组 GC 含量的范围为 37.6%~37.9%，山莨菪的 GC 含量最低（37.6%），洋金花的 GC 值最高为 37.9%，而木本曼陀罗 GC 含量为 37.8%。利用 Geneious 11.0.3 软件获取洋金花和木本曼陀罗及其近缘物种（共 22 个物种）叶绿体基因组的 IR、LSC 和 SSC 区序列。结果表明，IR 区的序列长度范围介于 25 342~25 904 bp，其中 *Nicotiana sylvestris* 的 IR 区最短

表 4 茄科 22 种植物叶绿体基因组的特征

Table 4 Chloroplast genome characteristics of 22 species in Solanaceae

物种	GenBank 登录号	叶绿体基因组长度/bp	GC 值/%	LSC 长度/bp	SSC 长度/bp	IR 长度/bp
烟草 <i>Nicotiana tabacum</i>	AP019623	155 943	37.8	86 686	18 571	25 343
<i>N. attenuata</i>	MF577082	155 886	37.9	86 602	18 518	25 383
<i>N. sylvestris</i>	NC_007500	155 941	37.8	86 684	18 573	25 342
<i>Petunia exserta</i>	MT644125	156 597	37.8	87 095	18 642	25 430
碧冬茄 <i>P. hybrida</i>	NC040178	156 575	37.8	87 083	18 630	25 431
曼陀罗 <i>Datura stramonium</i>	JN654342	155 871	37.9	86 301	18 366	25 602
	MT610896	155 884	37.9	86 315	18 507	25 531
	MT610897	155 884	37.9	86 315	18 463	25 553
	NC_018117	155 871	37.9	86 301	18 366	25 602
木本曼陀罗 <i>Brugmansia arborea</i>	OK040952	155 939	37.8	86 278	18 221	25 720
洋金花 <i>Datura metel</i>	OK040953	155 934	37.9	86 354	18 362	25 609
假酸浆 <i>Nicandra physalodes</i>	MN165114	156 729	37.8	87 111	18 560	25 529
山莨菪 <i>Anisodus tanguticus</i>	MK347419	155 764	37.6	86 515	17 487	25 881
颠茄 <i>Atropa belladonna</i>	NC_004561	156 687	37.6	86 869	18 010	25 904
枸杞 <i>Lycium chinense</i>	MG729824	155 745	37.8	86 598	18 209	25 469
黑果枸杞 <i>L. ruthenicum</i>	MG976805	155 004	37.9	86 001	18 213	25 395
宁夏枸杞 <i>L. barbarum</i>	MH032560	155 656	37.8	86 554	18 200	25 451
小米辣 <i>Capsicum frutescens</i>	KR078312	156 817	37.7	87 380	17 853	25 792
辣椒 <i>C. annuum</i>	NC_018552	156 781	37.7	87 366	17 849	25 783
绒毛辣椒 <i>C. pubescens</i>	MH559325	157 390	37.7	87 688	17 928	25 887
番茄 <i>Solanum lycopersicum</i>	KP331414	155 605	37.9	85 995	18 362	25 624
醋栗番茄 <i>S. pimpinellifolium</i>	NC_026882	155 442	37.9	85 856	18 362	25 612
龙葵 <i>S. nigrum</i>	KM489055	155 432	37.9	85 810	18 402	25 610
洋芋 <i>S. tuberosum</i>	NC_008096	155 296	37.9	85 737	18 373	25 593
假烟叶树 <i>S. erianthum</i>	MW420931	156 343	37.7	86 855	18 608	25 441

(25 342 bp), 颠茄的 IR 区最长 (25 904 bp), 洋金花的 IR 区的长度为 25 609 bp, 木本曼陀罗的 IR 区的长度为 25 720 bp, 2 者均位于茄科其他 20 个物种 IR 区长度范围之内。LSC 区序列长度范围介于 85 737~87 688 bp, 其中洋芋的 LSC 区长度最短 (85 737 bp), 绒毛辣椒的 LSC 区长度最长 (87 688 bp), 洋金花的 LSC 区的长度为 86 354 bp, 木本曼陀罗的 LSC 长度为 86 278 bp, 都介于茄科其他 20 个物种 LSC 区长度范围之内。SSC 区序列长度范围介于 17 487~18 642 bp, 其中山莨菪的 SSC 区最短 (17 487 bp), *Petunia exserta* 的 SSC 区最长 (18 642 bp), 洋金花 SSC 区长度为 18 362 bp, 木本曼陀罗 SSC 区长度为 18 221 bp, 二者介于茄科其他 20 个物种 SSC 区长度范围之内。

#### 2.4 茄科 10 个属 11 个物种叶绿体全基因组边界的特征

选取茄科 10 个属 11 个物种的叶绿体全基因组, 比较分析洋金花和木本曼陀罗叶绿体基因组与

茄科其他物种在进化过程中 IR/SC 边界的扩张和收缩情况 (图 2)。茄科 10 个属 11 个物种叶绿体全基因组的 IR-LSC 和 IR-SSC 边界比较显示, IR/SC 边界具有高度的保守性, 其 LSC/IRb 边界 (JLB), SSC/IRb 边界 (JSB)、SSC/IRa 边界 (JSA) 和 LSC/IRa 边界 (JLA) 的侧翼基因完全相同, 但边界基因的扩张程度存在一定的差异。茄科 11 个物种中, 9 个物种 JLB 边界全部位于 *rps19* 基因内, 其中洋金花和木本曼陀罗的 JLB 边界扩张范围, 位于 9 个物种之内。但烟草和碧冬茄的 *rps19* 基因却全部位于 LSC 区域, 距 JLB 边界有 5 bp。JSB 边界扩张范围显示, 茄科物种的侧翼基因完全相同, 均为 *ndhF* 和 *Ycf1* 基因, 洋金花和木本曼陀罗的 SSC/IRb 边界 (JSB) 与洋芋, 辣椒和曼陀罗一致, 存在 *ndhF* 基因于 *Ycf1* 基因重叠现象。JSA 边界的扩张范围显示, SSC 和 IRa 区域基因完全相同, 均为 *Ycf1* 基因, *Ycf1* 基因在 IRa 区长度范围为 995~1440 bp, 在 SSC 区长度范围为 4205~4726 bp。其中洋金花和木本曼陀罗的 *Ycf1*

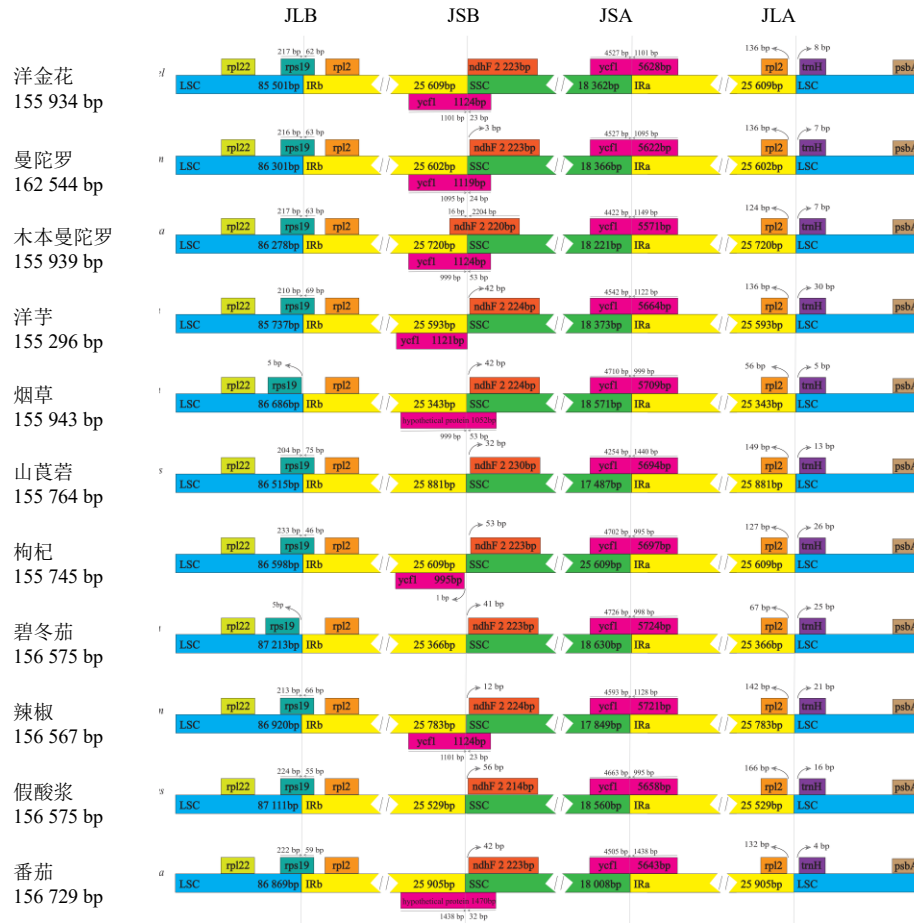


图 2 洋金花和木本曼陀罗及其近缘种的叶绿体全基因组边界

Fig. 2 Border regions of chloroplast genome from *D. metel* and *B. arborea* and their relative species

基因在 SSC 区域为 4527 bp 和 4422 bp，在 IRa 区域为 1101 bp 和 1049 bp，位于茄科 11 个物种 JSA 边界扩张范围之内。JLA 边界扩张范围显示，其侧翼基因完全相同，均为 *rpl2*（位于 IRa 区）和 *trnH*（位于 LSC 区）2 个基因。其中 11 个物种的 *rpl2* 和 *trnH* 2 个基因距 JLA 边界碱基长度范围变异不大，分别为 56~166 bp 和 4~30 bp。洋金花和木本曼陀罗的 *rpl2* 和 *trnH* 2 个基因距 JLA 边界的序列长度为 136、124 bp 和 8、7 bp，位于 11 个物种 JLA 边界扩张范围之内。

### 2.5 茄科叶绿体基因组基因间隔区信息位点分析

根据茄科 10 个属 22 种植物的 32 个叶绿体基因组间隔区信息序列特征统计结果（表 5），在 32 个共同的叶绿体基因间隔区中，变异位点百分率变化范围为 3.49%~18.70%，最高的为 *trnH-GUG-psbA* 基因间隔区，其变异位点百分率为 18.70%。信息位点超过 10% 的基因间隔区有 11 个，分别为 *ndhC-trnV-UAC*、*ndhE-ndhG*、*petA-psbJ*、*rbcL-*

*accD*、*rps2-rpoC2*、*rps4-trnT-UGU*、*rps16-trnQ-UUG*、*trnL-UAA-trnF-GAA*、*trnS-GCU-trnG-GCC*、*psaC-trnS-UGA*、*trnH-GUG-psbA*。这些变异位点百分率较高的叶绿体基因间隔区，能提供足够的信息位点，为茄科属间和种间物种进化关系及分子鉴定提供较高的分辨率。

### 2.6 系统发育分析

选取洋金花和木本曼陀罗及其近缘物种共 22 种（25 个样品）叶绿体全基因组进行系统发育树的构建，以旋花科植物蕹菜 *I. aquatica* Forsk 作为外类群，利用 ML 法构建系统发育树（图 3）。结果显示取样茄属、辣椒属、枸杞属、曼陀罗属、烟草属、碧冬茄属的单系性都得到 100% 支持。24 个分枝节点中有 22 个的支持率都为 100%，另外 2 个为 98% 和 99%，聚类结果较为可靠。洋金花和曼陀罗以 100% 支持率聚在一起，它们所在的曼陀罗属与木曼陀罗属聚在 1 支，且有 100% 的支持率。



表 5 茄科 22 个物种的 32 个叶绿体基因间隔区矩阵位点信息

Table 5 Information of 32 chloroplast intergenic region in 22 species of Solanaceae

基因间隔区	信息位点/%	非信息位点/%	一致位点/%	基因间隔区	信息位点/%	非信息位点/%	一致位点/%
<i>atpB-rbcL</i>	9.08	3.92	87.00	<i>rbcl-accD</i>	10.64	6.38	82.98
<i>atpH-atpF</i>	5.62	5.83	88.55	<i>rpl20-clpp</i>	3.94	2.88	93.18
<i>atpH-atpI</i>	8.75	6.63	84.62	<i>rpoB-trnC-GCA</i>	8.45	5.38	86.17
<i>atpI-rps2</i>	8.40	4.20	87.40	<i>rps2-rpoC2</i>	10.53	7.69	81.78
<i>clpp-psbb</i>	4.96	3.31	91.73	<i>rps4-trnT-UGU</i>	12.78	4.67	82.56
<i>ndhC-trnV-UAC</i>	10.94	6.38	82.68	<i>rps16-trnQ-UUG</i>	12.53	7.52	79.95
<i>ndhE-ndhG</i>	11.30	15.22	73.48	<i>trnE-UUC-trnT-GGU</i>	8.20	5.43	86.37
<i>petA-psbJ</i>	10.64	7.41	81.95	<i>trnG-UCC-trnFM-CAU</i>	8.68	6.42	84.90
<i>psaA-ycf3</i>	7.59	5.54	86.87	<i>trnL-UAA-trnF-GAA</i>	11.72	6.88	81.40
<i>psaC-ndhE</i>	8.46	6.92	84.62	<i>trnM-CAU-atpE</i>	9.09	2.48	88.43
<i>psaC-trnS-UGA</i>	12.50	3.68	83.82	<i>trnS-GCU-trnG-GCC</i>	10.78	4.45	84.77
<i>psaI-ycf4</i>	8.41	3.45	88.14	<i>trnS-GGA-rps4</i>	8.57	3.57	87.86
<i>psaJ-rpl33</i>	3.49	6.54	89.97	<i>trnS-UGA-pbsZ</i>	6.05	5.79	88.16
<i>psbA-trnK-UUU</i>	9.81	2.34	87.85	<i>trnT-UGU-trnL-UAA</i>	8.88	5.00	86.12
<i>psbE-petL</i>	5.71	3.17	91.12	<i>trnH-GUG-psbA</i>	18.70	10.50	70.80
<i>psbK-psbI</i>	7.84	7.84	84.32	<i>ycf3-trnS-GGA</i>	8.27	5.33	86.40

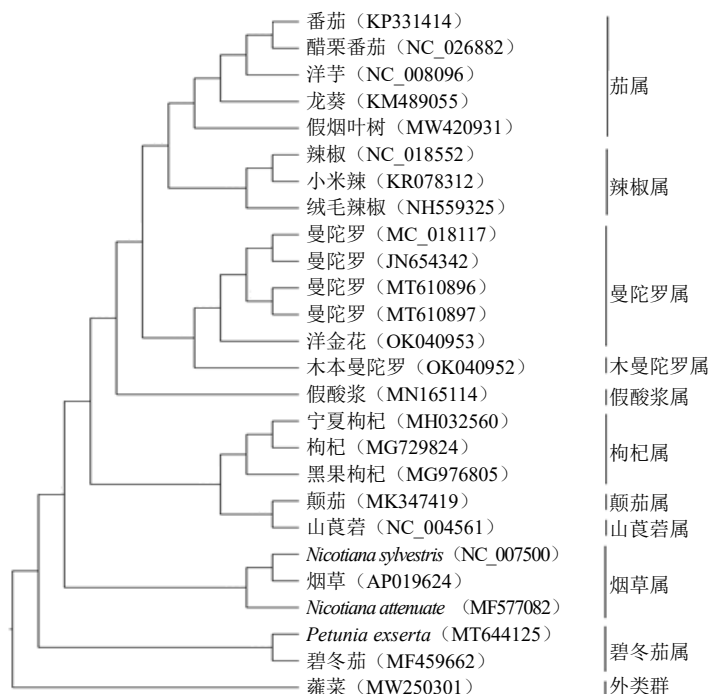


图 3 基于叶绿体全基因组构建的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on complete chloroplast genome

### 3 讨论

中药材洋金花作为我国药典收载的药材之一，与其近缘物种木本曼陀罗均富含东莨菪碱，具有重要的药用和经济价值。本研究完成了药用植物洋金花和木本曼陀罗的叶绿体基因组的测序，组装与注释。结果表明，药用植物洋金花和木本曼陀罗的叶绿体基因组，均具有典型的 4 分区域结构（图 1），包括 1 个 LSC 区、1 对 IR 区和 1 个 SSC 区，长度分别为 155 934 bp 和 155 939 bp。其叶绿体基因组长度位于茄科其他 20 个物种叶绿体基因组长

度范围之内。洋金花和木本曼陀罗的叶绿体全基因组分别包含 131 和 130 个基因，洋金花包括 85 个 PCGs，38 个 tRNA 以及 8 个 rRNA，木本曼陀罗和洋金花相比，在 tRNA 上缺少了 *trnP-GGG* 基因，其余基因组成一样。

基于茄科 10 个属 11 个物种的叶绿体全基因组 IR 边界比较分析（图 2），洋金花和木本曼陀罗与茄科其他 8 个属植物的叶绿体基因组 IR 边界均具有高度的保守性。其 LSC/IRb 边界（JLB），SSC/IRa 边界（JSA）和 LSC/IRa 边界（JLA）的



侧翼基因完全相同,但边界侧翼基因的扩张序列长度存在差异,洋金花和木本曼陀罗的上述边界侧翼基因扩张范围,均为于茄科物种叶绿体基因组 IR 边界的扩张范围之内。洋金花和木本曼陀罗的 SSC/IRb 边界(JSB)与洋芋、辣椒和曼陀罗一致,存在 *ndhF* 基因于 *Ycf1* 基因重叠现象。*ndhF* 基因与 *Ycf1* 基因重叠现象同样也出现在龙胆科药用植物叶绿体基因组<sup>[26]</sup>。IR 边界比较分析结果表明洋金花和木本曼陀罗与茄科其他物种的叶绿体全基因组具有较高保守性,叶绿体基因组适合用来解决茄科属级以上分类等级的系统发育关系。

基于茄科 10 个属 22 种植物的 32 个叶绿体基因组间隔区信息序列特征统计表明(表 5),茄科的叶绿体基因组编码区较为保守,在 32 个共同的叶绿体基因间隔区中,变异位点百分率变化范围为 3.49%~18.70%,变异位点百分率最高的为 *trnH-GUG-psbA* 基因间隔区,其变异位点百分率为 18.70%。本研究结果支持韩建萍等<sup>[3]</sup>结果,支持 *trnH-GUG-psbA* 基因间隔区作为药用植物洋金花与其伪品的 DNA 条形码序列。此外,信息位点超过 10%的叶绿体基因间隔区有 11 个,分别为 *ndhC-trnV-UAC*、*ndhE-ndhG*、*petA-psbJ*、*rbcL-accD*、*rps2-rpoC2*、*rps4-trnT-UGU*、*rps16-trnQ-UUG*、*trnL-UAA-trnF-GAA*、*trnS-GCU-trnG-GCC*、*psaC-trnS-UGA*、*trnH-GUG-psbA*。这些基因间隔区在茄科的属间和种间提供了丰富的信息位点。由于叶绿体基因组在大多数被子植物中为母系遗传,重组率低,核苷酸置换率适中<sup>[27]</sup>,进一步结合双亲遗传的核基因片段联合分析,为茄科植物属下物种杂交起源,多倍体物种的形成和系统进化分析提供可靠的分子标记片段。

为进一步界定药用植物洋金花和木本曼陀罗在茄科的系统位置,探讨曼陀罗属与木曼陀罗属的系统关系,基于茄科 22 个物种(25 个样品)叶绿体基因组构建系统发育树(图 3)显示,茄科各属植物均聚成有较高支持率的分枝。其中洋金花与曼陀罗构成 1 单系分支(支持率 100%),表明药用植物洋金花隶属于曼陀罗属。木曼陀罗属(木本曼托罗为代表)与曼陀罗属(包括洋金花与曼陀罗为代表)组成 1 单系分支(支持率 100%),二者互为姐妹群。木曼陀罗属与曼陀罗属的系统关系一直存在争议,一种认为木曼陀罗属应独立成一属,有的认为应作为曼陀罗属的一个组<sup>[1]</sup>。Persoon 把曼陀罗属内具有

木本特性,光滑而不规则开裂蒴果的木本曼陀罗分出,成立木曼陀罗属 *Brugmansia* L.<sup>[28]</sup>。《中国植物志》认为 Persoon 所提出的特征:光滑而不规则开裂的蒴果,在曼陀罗属的另一个组 *Ceratocaula* 中同样存在的,因此将它作为曼陀罗属的一个组<sup>[1]</sup>。本研究的叶绿体基因组数据结果支持近年来分子系统学研究结果<sup>[3,29-30]</sup>,草本的曼陀罗属和木本的木曼陀罗属是 2 个独立的属。木曼陀罗属具有一系列独特形态特征(近裔共性)也支持分子数据的结果,如木本的习性、俯垂的花、俯垂的浆果且表面平滑等这些形态特征与曼陀罗属有着显著的区别。

近年来,随着新一代测序技术的成本降低,基于叶绿体基因组序列作为超级条形码对物种的分子鉴定应用越来越广泛<sup>[31]</sup>。洋金花作为常用中药材之一,其商品中常混有同属有毒植物曼陀罗的花,影响临床用药安全<sup>[3-4]</sup>。本研究首次报道药用植物洋金花和木本曼陀罗的叶绿体基因组,丰富了曼陀罗属及其近缘属叶绿体基因组数据,比较分析这些近缘物种叶绿体基因组的特征和差异,为中药材洋金花的精准鉴定提供理论依据。此外,茄科植物是许多大宗蔬菜和药用植物的来源,本研究结果不仅为曼陀罗属药用植物的提供分子鉴别,也为茄科植物的分子鉴定,遗传多样性及种质资源保护研究奠定基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第 67(1)卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1978: 147.
- [2] 中国药典[S] 一部. 2020: 279.
- [3] 韩建萍, 李美妮, 罗焜, 等. DNA 条形码鉴定洋金花及其伪品[J]. 药学学报, 2011, 46(11): 1408-1412.
- [4] 周太炎, 徐国钧, 裴鑑, 等. 五种曼陀罗的植物分类及生药鉴定研究[J]. 药学学报, 1955(2): 149-178.
- [5] 黄淑贤, 李书渊, 房志坚. 木曼陀罗花与洋金花的鉴别研究[J]. 广东药学院学报, 2005(1): 17-18.
- [6] 井佳楠, 吕邵娃, 王秋红, 等. 洋金花化学成分和药理作用及临床应用研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(19): 3513-3521.
- [7] 杨炳友, 杨春丽, 刘艳, 等. 洋金花根化学成分研究[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(8): 1654-1661.
- [8] Twyford A D, Ness R W. Strategies for complete plastid genome sequencing[J]. *Mol Ecol Resour*, 2017, 17(5): 858-868.

- [9] Yu X Y, Zuo L H, Lu D D, *et al.* Comparative analysis of chloroplast genomes of five *Robinia* species: Genome comparative and evolution analysis [J]. *Gene*, 2019, 689: 141-151.
- [10] 邢少辰, Clarke J L. 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.
- [11] Antipov D, Hartwick N, Shen M, *et al.* plasmidSPAdes: assembling plasmids from whole genome sequencing data [J]. *Bioinformatics*, 2016, 32(22): 3380-3387.
- [12] Dierckxsens N, Mardulyn P, Smits G. NOVOPlasty: *De novo* assembly of organelle genomes from whole genome data [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(4): e18.
- [13] Jin J J, Yu W B, Yang J B, *et al.* GetOrganelle: A fast and versatile toolkit for accurate *de novo* assembly of organelle genomes [J]. *Genome Biol*, 2020, 21(1): 241.
- [14] Kim K J, Lee H L. Complete chloroplast genome sequences from Korean ginseng (*Panax schinseng* Nees) and comparative analysis of sequence evolution among 17 vascular plants [J]. *DNA Res*, 2004, 11(4): 247-261.
- [15] Zhang Y Z, Ma J, Yang B X, *et al.* The complete chloroplast genome sequence of *Taxus chinensis* var. *mairei* (Taxaceae): Loss of an inverted repeat region and comparative analysis with related species [J]. *Gene*, 2014, 540(2): 201-209.
- [16] 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.
- [17] Konhar R, Biswal D K, Debnath M, *et al.* Complete chloroplast genome sequence of *Dendrobium nobile* from northeastern India [J]. *Genome Announc*, 2016, 4(5): e01088-16.
- [18] Xia Z, Li C C, Hu S W, *et al.* The complete chloroplast genome of Chinese medicine cultivar species of *Rehmannia glutinosa* (Orobanchaceae) [J]. *Mitochondrial DNA B Resour*, 2021, 6(1): 290-292.
- [19] Li C C, Hu S W, Ding Y N, *et al.* The complete chloroplast genome of Chinese medicinal herb *Belamcanda chinensis* (L.) Redouté (Iridaceae) [J]. *Mitochondrial DNA B Resour*, 2021, 6(2): 331-332.
- [20] Wang W B, Yu H, Wang J H, *et al.* The complete chloroplast genome sequences of the medicinal plant *Forsythia suspensa* (Oleaceae) [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(11): 2288.
- [21] 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.
- [22] Dong W L, Wang R N, Zhang N Y, *et al.* Molecular evolution of chloroplast genomes of orchid species: Insights into phylogenetic relationship and adaptive evolution [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(3): 716.
- [23] Katoh K, Standley D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability [J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(4): 772-780.
- [24] Zhang D, Gao F L, Jakovlić I, *et al.* PhyloSuite: An integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies [J]. *Mol Ecol Resour*, 2020, 20(1): 348-355.
- [25] Stamatakis A. RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(9): 1312-1313.
- [26] 董博然, 赵志礼, 倪梁红, 等. 龙胆科叶绿体基因组结构特征及其药用植物鉴定意义 [J]. *中草药*, 2020, 51(6): 1641-1649.
- [27] Drouin G, Daoud H, Xia J N. Relative rates of synonymous substitutions in the mitochondrial, chloroplast and nuclear genomes of seed plants [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2008, 49(3): 827-831.
- [28] Persoon C H. *Synopsis plantarum: Seu Enchiridium Botanicum, Complectens Enumerationem Systematicam Specierum Hucusque Cognitarum* [M]. Parisiis Lutetiorum: C.F. Cramerum, 1805: 216-217.
- [29] Olmstead R G, Bohs L, Migid H A, *et al.* A molecular phylogeny of the Solanaceae [J]. *TAXON*, 2008, 57(4): 1159-1181.
- [30] Bye R, Sosa V. Molecular phylogeny of the jimsonweed genus *Datura* (Solanaceae) [J]. *Syst Bot*, 2013, 38(3): 818-829.
- [31] 姜汶君, 郭梦月, 庞晓慧. 叶绿体基因组在药用植物鉴定及系统进化研究中的应用 [J]. *世界中医药*, 2020, 15(5): 702-708.

[责任编辑 时圣明]