

• 药材与资源 •

太白贝母叶绿体全基因组序列特征及其系统发育分析

朱 玲¹, 同栩瑶², 王 强¹, 徐 胜², 颜永刚², 张小飞², 周 静², 杨冰月², 彭 亮^{2,3*}

1. 渭南职业技术学院, 陕西 渭南 714026

2. 陕西中医药大学 药学院/陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心/“秦药”研发重点实验室, 陕西 西安 712046

3. 道地药材国家重点实验室, 北京 100700

摘要: 目的 解析百合科贝母属 *Fritillaria* 多年生药用植物太白贝母 *Fritillaria taipaiensis* 叶绿体全基因组的结构特征, 探究其系统发育关系。方法 采用 CTAB 法提取太白贝母叶片基因组 DNA, 基于 Illumina novaseq X plus 平台进行测序, 使用 GetOrganelle 组装叶绿体基因组, 利用生物信息学方法比较中药材川贝母 6 种基原药用植物叶绿体基因组之间的结构特征及变异程度, 并通过 MEGA11.0 软件以邻接 (neighbor-joining, NJ) 法构建系统发育树。结果 太白贝母叶绿体基因组全长 151 700 bp, 包括 1 个大单拷贝区 (large single copy, LSC), 1 个小单拷贝区 (small single copy, SSC) 和 1 对反向重复区 (inverted repeats, IRa 和 IRb), GC 含量为 36.97%。太白贝母叶绿体基因组共注释到 131 个基因, 其中包含 8 个 rRNA、38 个 tRNA、84 个蛋白编码基因和 1 个假基因。密码子使用偏好分析显示, 50.00% 的密码子相对使用度大于 1, 且偏好以 A/T 结尾。共鉴定 216 个简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR), 其中单核苷酸重复占比最高 (52.78%), 且主要由 A 和 T 构成, 表明 A/T 碱基使用频率较高。边界比较分析表明, 6 种川贝母基原植物 (川贝母、瓦布贝母、梭砂贝母、太白贝母、暗紫贝母和甘肃贝母) 的叶绿体基因组边界结构保守。变异分析和共线性分析则揭示, 6 种川贝母基原植物叶绿体基因组变异程度较低, 且均存在一个保守共线区块。系统发育分析中, 贝母属 9 个物种聚为一支, 其中 6 种川贝母基原物种再形成独立分支, 贝母属与百合属互为姐妹支, 与老鸦瓣属区分开来。结论 成功组装了高质量的太白贝母叶绿体基因组, 为其遗传结构解析与多样性研究提供了基础。

关键词: 太白贝母; 贝母属; 叶绿体基因组; 序列分析; 系统发育**中图分类号:** R286.012 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)19-7157-11**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.19.025**Complete chloroplast genome sequence characteristics and phylogenetic analysis of *Fritillaria taipaiensis***ZHU Ling¹, TONG Xuyao², WANG Qiang¹, XU Sheng², YAN Yonggang², ZHANG Xiaofei², ZHOU Jing², YANG Bingyue², PENG Liang^{2,3}

1. Weinan Vocational and Technical College, Weinan 714026, China

2. “Qin Medicine” Key Laboratory for Research and Development, Shaanxi Province Qinling Chinese Herbal Medicine Application Development Engineering Technology Research Center, School of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

3. State Key Laboratory of Dao-di Herbs, Beijing 100700, China

Abstract: Objective To analyze the structural characteristics of the complete chloroplast genome of the perennial medicinal plant *Fritillaria taipaiensis*, a species of the genus *Fritillaria* in the Liliaceae family, and investigate its phylogenetic relationships. **Methods** Genomic DNA was extracted from leaves of *F. taipaiensis* using the CTAB method. Sequencing was performed on the Illumina HiSeq platform, followed by

收稿日期: 2025-05-02

基金项目: 国家重点研发计划 (2023YFD1600402); 陕西省中医药管理局项目 (2025-CXTD-01, 2021-QYZL-02); 陕西省科技厅社发重点项目 (2025ZY-XCZXJX-04, 2024SF-GJHX-05); 中央本级重大增减支项目 (2060302); 陕西中医药大学“秦药”品质评价及资源开发学科创新团队项目 (2019-QN01)

作者简介: 朱 玲, 讲师, 从事中药资源质量评价与分子生药学研究。E-mail: 2502849506@qq.com***通信作者:** 彭 亮, 教授, 从事中药鉴定、中药资源评价与开发利用、分子生药学研究。E-mail: ppengliang@126.com

chloroplast genome assembly with GetOrganelle. Using bioinformatics methods to compare the structural characteristics and degree of variation among the chloroplast genomes of six original medicinal plants of *F. Cirrhosa*. A phylogenetic tree was constructed by the neighbor-joining method (NJ) using MEGA11.0. **Results** The complete chloroplast genome of *F. taipaiensis* is 151 700 bp in length, comprising a large single-copy (LSC, 81 456 bp) region, a small single-copy (SSC, 17 554 bp) region, and a pair of inverted repeats (IRa and IRb, 26 345 bp), with a GC content of 36.97%. A total of 131 genes were annotated, including 8 rRNA genes, 38 tRNA genes, 84 protein-coding genes, and one pseudogene. Codon usage bias analysis indicated that 50.00% of codons had a relative synonymous codon usage (RSCU) value greater than 1, with a preference for A/T endings. In total, 216 simple sequence repeats (SSRs) were identified, among which mononucleotide repeats were the most abundant (52.78%), predominantly composed of A and T, suggesting a high frequency of A/T base usage. Comparative boundary analysis revealed conserved chloroplast genome structures across six original species of *F. Cirrhosa* (*F. cirrhosa*, *F. wabuensis*, *F. delavayi*, *F. taipaiensis*, *F. unibracteata*, and *F. przewalskii*). Variation and collinearity analyses indicated low degree of variation of chloroplast genome and the presence of a conserved collinear block among these six species. Phylogenetic analysis showed that all nine *Fritillaria* species clustered into one clade, with the six original species of *F. Cirrhosa* forming a distinct subclade, the genus *Fritillaria* and *Lilium* are sister branches of each other, but should be distinguished from the genus *Amana Honda*. **Conclusion** This study successfully assembled a high-quality chloroplast genome of *F. taipaiensis*, providing a foundation for research on its genetic structure and diversity.

Key words: *Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li; *Fritillaria*; chloroplast genome; sequence analysis; phylogeny

川贝母 *Fritillariae Cirrhosae* Bulbus 作为我国常用大宗传统中药材之一, 具有清热润肺、化痰止咳之功效, 药用历史悠久。《中国药典》2025 年版规定, 正品川贝母来源于百合科贝母属 5 种 1 变种的干燥鳞茎, 包括川贝母 *Fritillariae cirrhosa* D. Don、甘肃贝母 *F. przewalskii* Maxim.、暗紫贝母 *F. unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia、梭砂贝母 *F. delavayi* Franch.、太白贝母 *F. taipaiensis* P. Y. Li 以及瓦布贝母 *F. unibracteata* Hsiao et K. C. Hsia var. *wabuensis*^[1]。由于长期依赖野生资源, 川贝母基原植物在自然分布区数量锐减甚至濒临灭绝^[2-3]。目前, 川贝母 6 种基原植物均已被列入新版《国家重点保护野生植物名录》二级保护植物(中国珍稀濒危植物信息系统, <https://www.plantplus.cn/rep/>)。

太白贝母 *F. taipaiensis* P. Y. Li 作为川贝母基原植物之一, 主要分布于我国重庆、陕西、甘肃、四川及湖北等地, 因其对生境要求相对较低, 是最早实现人工栽培的川贝母品种之一, 已在重庆、四川、陕西部分区域形成主要栽培区^[4-5]。研究表明, 太白贝母主要活性成分为甙体生物碱类化合物, 在抗神经炎症活性等方面显示良好的药理活性^[6]。作为珍稀传统中药材, 太白贝母野生资源稀少, 主要分布于陕西秦岭及重庆、四川等地, 现主要通过人工栽培满足市场需求。近年来, 太白贝母在病原菌^[7]、化学成分^[8]和药理作用^[9]等方面取得了一定的研究进展, 也有种质资源及遗传信息的相关报道^[10-11]。获得更多的太白贝母叶绿体基因组信息, 并进一步系统解析其 SSR、边界分析和基因组序列变异等信

息, 阐释与其他 5 种川贝母基原植物之间的亲缘关系, 可为该物种的育种工作等提供参考。

叶绿体作为植物体内具有自主复制能力的细胞器, 其基因组编码着光合作用及其他生物学功能所必需的关键蛋白^[12]。在种子植物中, 叶绿体基因组通常呈现高度保守的四分体结构: 含一对反向重复序列区 (IRs)、大单拷贝区 (large single copy, LSC) 和一个小单拷贝区 (small single copy, SSC)^[13]。尽管叶绿体基因组整体结构保守, 但不同物种甚至个体间存在基因丢失、序列重排、插入/缺失以及 IR 区边界扩张/收缩等变异现象, 可为植物进化和分类学分析提供重要依据^[14]。随着高通量测序技术的发展, 叶绿体基因组已成为植物系统发育和进化研究的理想工具^[15], 完整的叶绿体基因组也被广泛应用于远志^[16]、款冬^[17]、角蒿^[18]等多种药用植物的系统发育解析和物种鉴别。通过比较完整的叶绿体基因组, 不仅能深入理解基因组的进化机制, 还能鉴定出系统发育中的关键多态性位点^[19]。

本研究以太白贝母主产区陕西省太白县栽培种太白贝母为原材料, 利用高通量测序技术获取完整叶绿体基因组序列并分析其结构特征及序列变异, 阐明 6 种川贝母基原植物的系统发育关系, 以期对太白贝母物种鉴定和百合科系统发育研究提供相关支撑, 也为控制农艺和药用性状的功能基因研究提供数据基础。

1 材料

太白贝母样品采自陕西省太白县 (107° 19'E, 34° 03'N), 经陕西中医药大学胡本祥教授鉴定为百

合科太白贝母 *F. taipaiensis* P. Y. Li, 取太白贝母的新鲜幼嫩叶片, 液氮速冻, 存于 -80°C 冰箱, 用于 DNA 提取。植物凭证样本保存于陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心 (FT20240525)。

2 方法

2.1 基因组 DNA 提取与测序

取液氮冻存的太白贝母新鲜幼嫩叶片, 采用改良的 CTAB 方法提取总 DNA。通过琼脂糖凝胶电泳和 Nanodrop One 超微量分光光度计 (美国赛默飞世尔科技有限公司) 检测 DNA 质量及浓度。检测合格的 DNA, 用超声波法将 DNA 片段化, 随后进行片段纯化、末端修复、3'端加 A、连接测序接头, 再用琼脂糖凝胶电泳进行片段大小选择, 进行 PCR 扩增形成测序文库, 建好的文库先进行文库质检, 质检合格的文库用 Illumina novaseq X plus 平台进行双端 (PE) 测序, 测序读长为 150。使用 fastp v0.23.4 (<https://github.com/OpenGene/fastp>) 软件对原始数据进行过滤质控之后得到的高质量 Clean Data, 以 FASTQ 格式提供^[20]。

2.2 叶绿体全基因组序列组拼接与注释

采用 GetOrganelle v1.7.7.1 (<https://github.com/Kinggerm/GetOrganelle>) 软件组装叶绿体基因组, kmer 分别使用 55、87、121^[21]; prodigal v2.6.3 (<https://www.github.com/hyatt/Prodigal>) 注释叶绿体的 CDS; hmmer v3.1b2 (<http://www.hmmer.org/>) 软件预测 rRNA; aragorn v1.2.38 (<http://www.ansikte.se/ARAGORN/>) 预测 tRNA。同时, 根据 NCBI 上已经公布的近缘物种, 提取其基因序列, 然后使用 blast v2.6 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 比对组装的序列, 最后将 2 种注释结果手动检查有差别的基因, 去除错误注释及冗余的注释, 确定多外显子边界, 从而获得最终的注释。使用 OGDRAW^[22] 软件绘制叶绿体全基因组图谱。最终注释的叶绿体基因组存放在 GenBank 中, 登录号为 PV936446。

2.3 叶绿体基因组特征分析

利用 MEGA11^[23] 分析同义密码子使用量、相对同义密码子使用值 (RSCU)、碱基组成和密码子含量变化特征; REPuter^[24] 软件 (<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/reputer>) 检测叶绿体全基因组序列中的分散重复序列 (dispersed repeats); Tandem repeats finder 软件^[25] (<https://tandem.bu.edu/trf/trf.html>) 检测串联重复序列 (tandem repeats); SSRHunter 软件 (<http://www.biosoft.net>) 鉴定叶绿

体基因组简单序列重复序列 (simple sequence repeats, SSR)^[26]; IRSCOPE^[27] 分析 SC/IR 边界并作图; mVISTA^[28] (<https://genome.lbl.gov/vista/mvista/submit.shtml>) 进行全基因组对比。

2.4 系统发育分析

从 NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 下载百合科贝母属、百合属、老鸦瓣属共 12 个物种完整的叶绿体基因组序列 (表 1), 利用 MAFFT version 7 软件进行序列多重比对, 输出注释好的文件, 检查所得结果并进行校验; 采用邻接法 (neighbor-joining, NJ) 分析系统演化关系。用 MEGA11 软件生成系统发育树, 自展值 Bootstrap 值设为 1 000^[29]。

表 1 物种信息

Table 1 Species information

属名	物种	GenBank 登录号
贝母属	川贝母 <i>Fritillaria cirrhosa</i>	KY646167
	梭砂贝母 <i>Fritillaria delavayi</i>	MN480806
	甘肃贝母 <i>Fritillaria przewalskii</i>	NC_044636
	太白贝母 <i>Fritillaria taipaiensis</i>	PV936446
	暗紫贝母 <i>Fritillaria unibracteata</i>	NC_044629
	瓦布贝母 <i>Fritillaria wabuensis</i>	KF769142
	湖北贝母 <i>Fritillaria hupehensis</i>	NC_024736
	浙贝母 <i>Fritillaria thunbergii</i>	KY646165
百合属	平贝母 <i>Fritillaria usuriensis</i>	KY646166
	毛百合 <i>Lilium pensylvanicum</i>	NC_043876
老鸦瓣属	百合 <i>Lilium brownii</i>	MK493294
	老鸦瓣 <i>Amana edulis</i>	NC_034707.1

3 结果与分析

3.1 太白贝母的叶绿体基因测序结果分析

太白贝母叶绿体基因组为典型的环状四分体结构, 由 1 个 LSC, 1 个 SSC 和 1 对反向重复区 (inverted repeats, IRa 和 IRb) 组成 (图 1)。叶绿体基因组全长为 151 700 bp, LSC、SSC、IRa 和 IRb 序列长度分别为 81 456、17 5554、26 345、26 345 bp (表 2)。基因组呈现明显的 AT 偏向性, 总 GC 含量为 36.97%, AT 含量为 63.03%。其中, IR 区域 GC 含量最高, 为 42.47%; LSC 和 SSC 区域的 GC 含量分别为 34.83%和 30.87%, 该结果与 IR 区有高 GC 含量的 rRNA 基因相关。

3.2 基因组组成

太白贝母叶绿体基因组共注释得到 131 个基因, 包括 84 个蛋白编码基因 (coding sequence, CDS)、38 个转运 RNA (tRNA) 基因、8 个核糖体

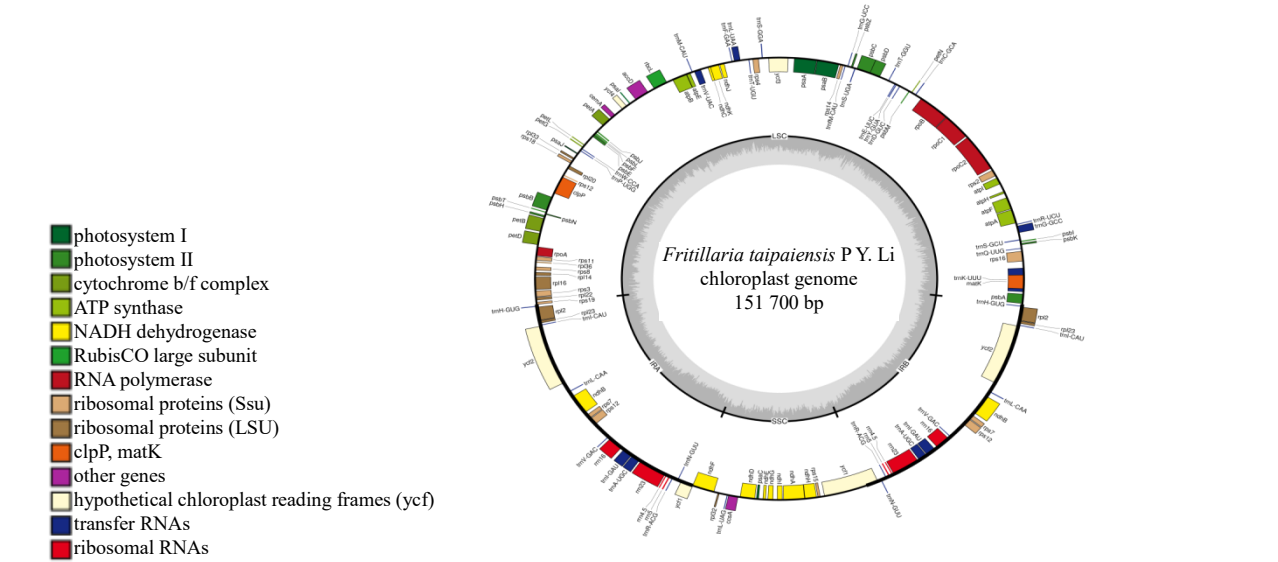


图 1 太白贝母叶绿体基因组图谱
Fig. 1 Chloroplast genome map of *F. taipaiensis*

表 2 太白贝母叶绿体基因组碱基组成

Table 2 Base composition of chloroplast genome in *F. taipaiensis*

区域	A/%	T/%	C/%	G/%	GC/%	碱基长度/bp
IRa	28.51	29.02	21.99	20.49	42.47	26 345
IRb	29.02	28.51	20.49	21.99	42.47	26 345
SSC	34.56	35.07	16.02	14.35	30.37	17 554
LSC	31.92	33.25	17.85	16.98	34.83	81 456
总量	31.13	31.90	18.81	18.15	36.97	151 700

RNA (rRNA) 基因和 1 个假基因。根据注释结果, 将不同的蛋白编码基因功能分为 4 类, 包括参与光合作用的基因 (45 个)、参与自我复制的基因 (75 个)、其他基因 (5 个) 和未知基因 (6 个)。内含子分析显示, 大部分基因不含内含子, 其中 *ndhA*、*ndhB*、*petB*、*petD*、*atpF*、*rpl16*、*rpl2*、*trnA-UGC*、*trnG-GCC*、*trnI-GAU*、*trnK-UUU*、*trnL-CAA*、*trnL-UAA* 等基因含有 1 个内含子, *rps12*、*clpP*、*ycf* 等基因含有 2 个内含子 (表 3)。

3.3 密码子偏好分析

如图 2 所示, 剔除终止密码子和 RSCU=0 后, 太白贝母叶绿体密码子为 64 个蛋白编码基因共编码 22 572 个密码子。亮氨酸 (Leu) 使用频率最高, 为 2 333 次, 占比 10.34%; 异亮氨酸 (Ile) 次之, 为 2 014 次, 占比 8.92%; 半胱氨酸 (Cys) 使用频率最低, 仅 259 次, 占比 1.15%。密码子使用偏好性显示, 太白贝母叶绿体基因组中 RSCU≥1 的密码子有 32 个, 占总量的 50.00%, 以 A/U 结尾的氨基酸有 29 个, 而以 G/C 结尾的有 3 个; RSCU<1

的密码子也是 32 个, 以 A/U 结尾的氨基酸仅有 2 个, 而以 G/C 结尾的有 30 个, 说明 A/U 是太白贝母叶绿体基因组的偏好性密码子, G/C 则为非偏好性密码子, 密码子信息见表 4。

3.4 重复序列分析

太白贝母叶绿体基因组中共检测到 216 个 SSR (simple sequence repeats, SSR) 位点, 从分布位置上来看, 位于 IR 区的有 50 个 (23.10%), LSC 区有 128 个 (59.30%), SSC 区有 38 个 (17.60%)。同时, 有 88 个 SSR 位于外显子 (exon), 24 个 SSR 位于内含子 (intron), 104 个 SSR 位于基因间隔区 (intergenic), 说明太白贝母叶绿体基因组中的 SSRs 位点呈不均匀分布。共鉴定到 5 种类型的核苷酸 SSRs, 包括单、二、三、四、五核苷酸重复序列, 数量分别为 119、14、75、7、1, 以单核苷酸 A 和 T 重复次数最多, 占 52.78%。可知在碱基形成过程中 A 和 T 被频繁使用 (图 3)。

3.5 边界比较分析

为了解中药材川贝母 6 种基原药用植物叶绿体

表 3 太白贝母叶绿体基因功能分类

Table 3 Functional classification on chloroplast genome of *F. taipaiensis*

基因功能	基因类型	基因名	数量
光合作用相关基因	亚光系统 I	<i>psaA</i> 、 <i>psaB</i> 、 <i>psaC</i> 、 <i>psaI</i> 、 <i>psaJ</i>	5
	亚光系统 II	<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> 、 <i>psbZ</i>	15
	NADH-脱氢酶亚基	<i>ndhA</i> [*] 、 <i>ndhB</i> ⁽²⁾ 、 <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
	细胞色素复合物 b/f 亚基	<i>petA</i> 、 <i>petB</i> [*] 、 <i>petD</i> [*] 、 <i>petG</i> 、 <i>petL</i> 、 <i>petN</i>	6
	Rubisco 酶大亚基	<i>rbcL</i>	1
	ATP 合酶亚基	<i>atpA</i> 、 <i>atpB</i> 、 <i>atpE</i> 、 <i>atpF</i> [*] 、 <i>atpH</i> 、 <i>atpI</i>	6
自我复制相关基因	核糖体蛋白大亚基	<i>rpl14</i> 、 <i>rpl16</i> [*] 、 <i>rpl2</i> ⁽²⁾ 、 <i>rpl20</i> 、 <i>rpl22</i> 、 <i>rpl23</i> (2)、 <i>rpl32</i> 、 <i>rpl33</i> 、 <i>rpl36</i> 、 <i>rpl23</i> (2)、 <i>rpl32</i>	11
	核糖体蛋白小亚基	<i>rps11</i> 、 <i>rps12</i> ^{**} (2)、 <i>rps14</i> 、 <i>rps15</i> 、 <i>rps16</i> [*] 、 <i>rps18</i> 、 <i>rps19</i> 、 <i>rps2</i> 、 <i>rps3</i> 、 <i>rps4</i> 、 <i>rps7</i> (2)、 <i>rps8</i>	14
	RNA 依赖核酸聚合酶	<i>rpoA</i> 、 <i>rpoB</i> 、 <i>rpoC1</i> [*] 、 <i>rpoC2</i>	4
	核糖体 RNA 基因	<i>rrn16</i> (2)、 <i>rrn23</i> (2)、 <i>rrn4.5</i> (2)、 <i>rrn5</i> (2)	8
	转运 RNA 基因	<i>trnA</i> -UGC ⁽²⁾ 、 <i>trnC</i> -GCA、 <i>trnD</i> -GUC、 <i>trnE</i> -UUC、 <i>trnF</i> -GAA、 <i>trnG</i> -GCC [*] 、 <i>trnG</i> -UCC、 <i>trnH</i> -GUG(2)、 <i>trnI</i> -CAU(2)、 <i>trnI</i> -GAU [*] (2)、 <i>trnK</i> -UUU [*] 、 <i>trnL</i> -CAA(2)、 <i>trnL</i> -UAA [*] 、 <i>trnL</i> -UAG、 <i>trnM</i> -CAU、 <i>trnN</i> -GUU(2)、 <i>trnP</i> -UGG、 <i>trnQ</i> -UUG、 <i>trnR</i> -ACG(2)、 <i>trnR</i> -UCU、 <i>trnS</i> -GCU、 <i>trnS</i> -GGA、 <i>trnS</i> -UGA、 <i>trnT</i> -GGU、 <i>trnT</i> -UGU、 <i>trnV</i> -GAC(2)、 <i>trnV</i> -UAC [*] 、 <i>trnW</i> -CCA、 <i>trnY</i> -GUA、 <i>trnY</i> -CAU	38
	其他基因		
其他基因	成熟酶	<i>matK</i>	1
	蛋白酶	<i>clpP</i> ^{**}	1
	包裹膜蛋白	<i>cemA</i>	1
	乙酰辅酶 A 羧化酶亚基	<i>accD</i>	1
	C 型细胞色素合成基因	<i>ccsA</i>	1
未知基因	保守开放阅读框	<i>ycf1</i> [#] 、 <i>ycf1</i> 、 <i>ycf2</i> (2)、 <i>ycf3</i> ^{**} 、 <i>ycf4</i>	6
合计			131

*含有 1 个内含子；**含有 2 个内含子；[#]假基因。
^{*}contains one intron；^{**}contains two introns；[#]pseudogene.

基因组之间的差异，将太白贝母叶绿体基因组的 LSC-IRb (JLB)、SSC-IRb (JSB)、SSC-IRa (JSA)、LSC-IRa (JLA) 边界与从 NCBI 上下载的其余 5 种植物进行比较。结果表明 (图 4)，太白贝母、川贝母和暗紫贝母 *rps19* 基因在 JLB 边界上，且太白贝母和川贝母 *rps19* 基因的扩张长度相同，均为 251 bp 和 28 bp；而梭砂贝母和甘肃贝母 *rps19* 基因在 JLB 边界外，瓦布贝母则缺失 *rps19* 基因；同时，除瓦布贝母外，其余 5 种药用植物的 *rpl22* 基因和 *rpl2* 基因均分布在 JLB 的两侧。JSB 边界分析显示，6 种药用植物的 *ndhF* 基因均分布在边界处，除暗紫贝母 *ndhF* 基因全长为 2 204 bp 外，其余均为 2 228 bp。6 种药用植物的 *ycf1* 基因均位于 JSA 边界处，且基因全长均为 5 543 bp。在 JLA 边界处，太白贝

母、川贝母、甘肃贝母和暗紫贝母的 JLA 边界位于 *trnH* 与 *psbA* 基因之间，梭砂贝母的 JLA 边界位于 *trnH* 与 *rps19* 之间，而瓦布贝母缺失相关基因。可知，除瓦布贝母外，其余 5 种药用植物在基因组的 JLB、JSB、JSA、JLA 边界上基因的收缩和扩张差异较小。但 *rpl2* 基因在甘肃贝母和梭砂贝母中发生了基因扩张，在川贝母、暗紫贝母和瓦布贝母存在 *ndhF* 基因扩张。

3.6 太白贝母叶绿体基因组序列变异和共线性分析

选取太白贝母、川贝母、暗紫贝母、甘肃贝母、梭砂贝母、瓦布贝母 6 种药用植物使用 mVISTA 在线工具进行叶绿体基因组全序列对比分析。由图 5 可知，6 种药用植物叶绿体基因组的基因区间组成

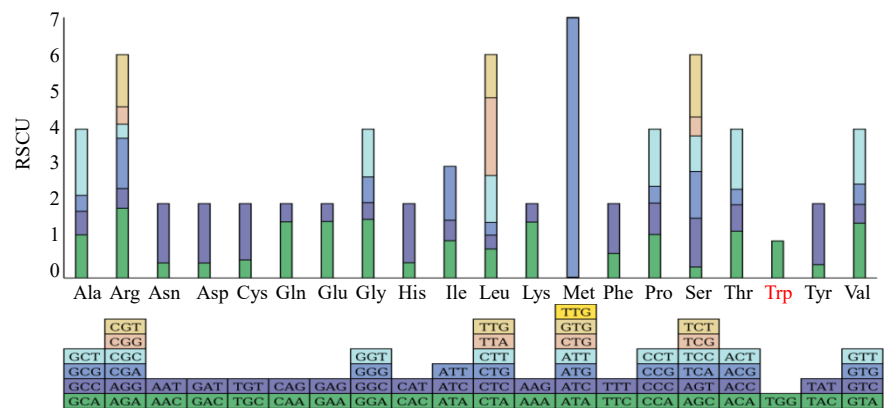


图 2 太白贝母叶绿体基因组相对同义密码子使用度

Fig. 2 Relative synonymous codon usage of chloroplast genome in *F. taipaiensis*

表 4 太白贝母密码子信息

Table 4 Codon information of *F. taipaiensis*

密码子	氨基酸	数量	RSCU	密码子	氨基酸	数量	RSCU
UAA	Ter	41	1.58	AUU	Met	0	0.00
UAG	Ter	18	0.69	CUG	Met	0	0.00
UGA	Ter	19	0.73	GUG	Met	1	0.01
GCA	Ala	363	1.16	UUG	Met	0	0.00
GCC	Ala	197	0.63	AAC	Asn	224	0.41
GCG	Ala	134	0.43	AAU	Asn	878	1.59
GCU	Ala	556	1.78	CCA	Pro	269	1.17
UGC	Cys	63	0.49	CCC	Pro	195	0.85
UGU	Cys	196	1.51	CCG	Pro	103	0.45
GAC	Asp	183	0.40	CCU	Pro	354	1.54
GAU	Asp	721	1.60	CAA	Gln	603	1.51
GAA	Glu	892	1.52	CAG	Gln	195	0.49
GAG	Glu	282	0.48	AGA	Arg	412	1.87
UUC	Phe	422	0.66	AGG	Arg	117	0.53
UUU	Phe	854	1.34	CGA	Arg	297	1.35
GGA	Gly	613	1.58	CGC	Arg	83	0.38
GGC	Gly	175	0.45	CGG	Arg	103	0.47
GGG	Gly	269	0.69	CGU	Arg	308	1.40
GGU	Gly	499	1.28	AGC	Ser	85	0.30
CAC	His	112	0.41	AGU	Ser	373	1.31
CAU	His	429	1.59	UCA	Ser	359	1.26
AUA	Ile	674	1.00	UCC	Ser	271	0.95
AUC	Ile	368	0.55	UCG	Ser	145	0.51
AUU	Ile	972	1.45	UCU	Ser	478	1.68
AAA	Lys	902	1.50	ACA	Thr	365	1.26
AAG	Lys	299	0.50	ACC	Thr	206	0.71
CUA	Leu	304	0.78	ACG	Thr	120	0.41
CUC	Leu	145	0.37	ACU	Thr	468	1.62
CUG	Leu	131	0.34	GUA	Val	460	1.47
CUU	Leu	491	1.26	GUC	Val	158	0.51
UUA	Leu	812	2.09	GUG	Val	170	0.54
UUG	Leu	450	1.16	GUU	Val	461	1.48
AUA	Met	1	0.01	UGG	Trp	392	1.00
AUC	Met	1	0.01	UAC	Tyr	155	0.36
AUG	Met	546	6.96	UAU	Tyr	709	1.64

较为一致, 差异性较小。叶绿体基因组的高度变异区域主要集中于 LSC, 少量分布于 IR。其中, 非编码区的遗传变异显著丰富于基因编码区。与其他 5 种川贝母基原植物相比, 太白贝母在以下 6 个特定区间表现出显著的遗传独特性: *trnT-GGU-psbD*、*trnL-UAA-trnF-GAA*、*psaI-accD*、*cemA-ycf4*、*psbE-petL* 以

及 *trnI-UAG-rpl32*。

通过对贝母属 6 种药用植物的叶绿体基因组进行共线性分析, 可以进一步了解该属内不同物种叶绿体基因组之间的差异。结果表明, 贝母属所有 6 种药用植物都共享一个局部共线性块 (图 6)。此外, 还发现这 6 个物种的叶绿体基因组几乎没有表现出基因重排。

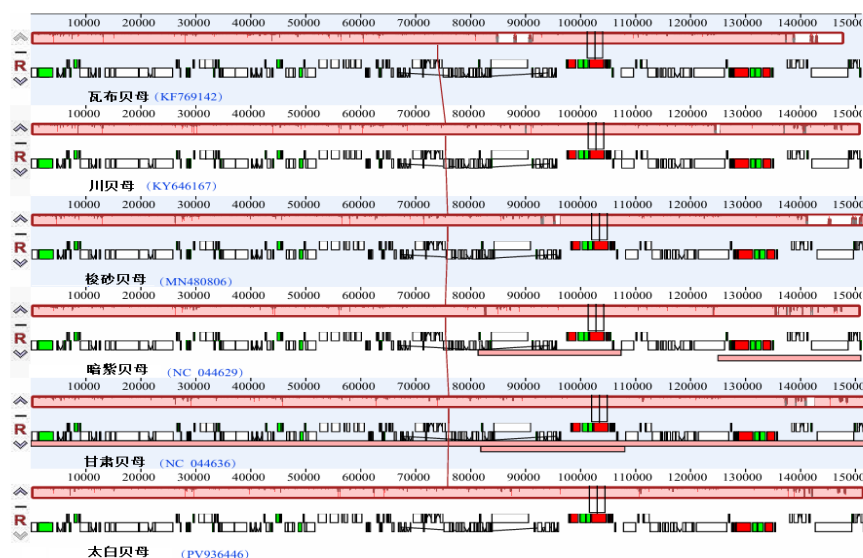


图 6 川贝母基原植物叶绿体基因组共线性分析

Fig. 6 Collinearity analysis of chloroplast genomes of *F. Cirrhosae* original plants

3.7 系统发育分析

根据本研究中的太白贝母 (PV936446) 序列, 另选择已发表的百合科贝母属 (8 种)、百合属 (2 种)、老鸦瓣属 (1 种) 等叶绿体基因组, 采用 NJ 法构建了 12 种植物的系统发育树。结果表明 (图 7), 贝母属和百合属互相之间支持率均达 100%, 与老鸦瓣属区分开来; 贝母属 9 种药用植物聚为一支, 与百合属明

显分离; 贝母属 9 种药用植物中, 川贝母基原植物和湖北贝母、浙贝母、平贝母区分开来; 而中药材川贝母 6 种基原植物的亲缘关系显示, 本研究样品太白贝母先与川贝母、瓦布贝母、暗紫贝母聚为一支后, 再与梭砂贝母和甘肃贝母聚为一支, 支持率 100%; 除川贝母-瓦布贝母这 1 个节点的支持率为 46% 外, 其他节点支持率均为 100%。

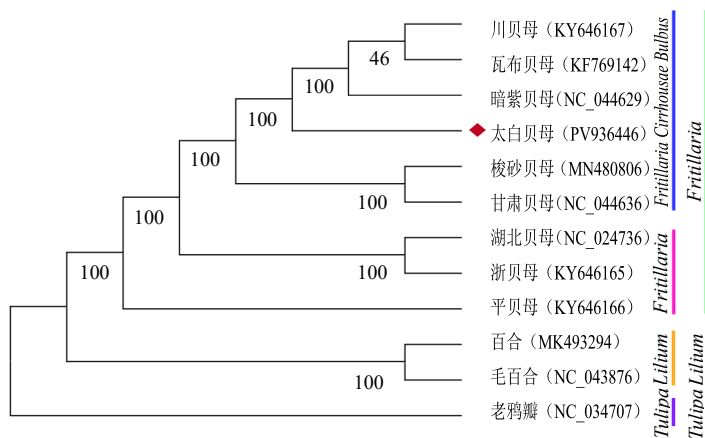


图 7 基于百合科 12 个物种叶绿体基因组序列构建的系统发育树

Fig. 7 Phylogenetic tree constructed based on chloroplast genome sequences in 12 species in Liliaceae family

4 讨论

太白贝母自《中国药典》2010 年版起被正式列为中药材川贝母的基原植物之一^[30]。太白贝母主要分布于我国重庆、陕西、甘肃、四川及湖北等地^[31]，其中重庆巫溪地区和陕西太白地区已形成规模化栽培。由于川贝母基原植物形态特征极为复杂，种间及种内鉴别困难，为确保栽培太白贝母种源的一致性，亟需建立快速准确的鉴别方法。随着高通量测序技术的发展，多个贝母属物种的完整叶绿体基因组序列已被解析，为该属的系统发育研究及鉴定提供了新数据。本实验以陕西主产区太白县的栽培种太白贝母为研究对象，完整解析了太白贝母叶绿体基因组，获得了 151 700 bp 的环状双链 DNA 序列。其四分体结构（LSC、SSC 和 IRs 区）与平贝母和瓦布贝母相似^[31-32]，表明贝母属叶绿体基因组在进化过程中具有显著保守性。特别值得注意的是，IR 区由于包含核糖体 RNA 基因，其 GC 含量（42.47%）显著高于 LSC 区（34.83%）和 SSC 区（30.87%），该特征符合大多数被子植物叶绿体基因组的碱基组成规律^[33]。基因组共注释到 131 个基因，其中蛋白编码基因 84 个，与其他已报道的贝母属叶绿体基因组基因数量基本一致^[34]，进一步验证了百合科贝母属植物叶绿体基因组的保守性。

密码子使用偏好性分析显示，太白贝母叶绿体基因组中 RSCU>1 的密码子有 32 个，其中 90.6%（29/32）以 A/U 结尾，与叶绿体基因组较高的 AT 含量（63.03%）密切相关。类似现象在贝母属其他物种中也有报道^[35-36]，表明 AT 偏好可能是贝母属植物的共同特征，对利用叶绿体转基因技术提高外源基因在太白贝母中的表达效率具有指导意义，因为密码子优化可显著增强异源蛋白的表达水平^[37]。此外，本研究共鉴定到 287 个 SSR 位点，其中单核苷酸重复占 80.61%，以 A/T 重复为主。进一步分析显示，SSR 位点多分布于基因间隔区（104 个）和外显子区（88 个），具有较高的多态性潜力，可作为开发分子标记的理想位点，用于太白贝母种质鉴定、遗传多样性分析及道地性溯源研究^[38]。

比较基因组学分析揭示了 6 种川贝母基原植物在 IR/SC 边界存在显著差异。特别是 *rps19* 基因在 JLB 边界的位置：太白贝母和川贝母该基因扩张长度相同（251 bp），而梭砂贝母和甘肃贝母的 *rps19* 基因位于边界外，瓦布贝母甚至完全缺失该基因，表明 IR 区的扩张/收缩是贝母属叶绿体基因组进化

的重要动力^[31]。mVISTA 全局比对发现，太白贝母在 *tRNA-GGU-psbD*、*trnL-UAA-trnF-GAA* 等 6 个非编码区存在特异性变异，为川贝母基原植物的物种鉴别提供了候选 DNA 条形码，而 *psbE-petL* 和 *trnL-UAG-rpl32* 区域在太白贝母中表现出显著变异，可能属于贝母属高变区。共线性分析结果显示，所有 6 种川贝母基原植物均存在一个保守共线性区块，且未发生基因重排，支持了贝母属叶绿体基因组的稳定性^[39]。

基于叶绿体全基因组序列构建的系统发育树显示，太白贝母与川贝母、瓦布贝母及暗紫贝母以 100% 支持率聚为一支，而后与梭砂贝母、甘肃贝母聚合，最终形成单系群。本研究还表明，川贝母 6 种基原植物与贝母属湖北贝母、浙贝母等非川贝母药用植物完全区分开来，与 Li 等^[40]基于 ITS 序列的分析结果一致，但本研究提供的系统发育关系具有更高的支持率（大部分节点支持率 100%），证明叶绿体全基因组在解决贝母属疑难分类问题上具有显著优势。另外，贝母属与百合属可聚为一支，与老鸦瓣属物种明显分开，支持百合属与贝母属均为单系，且互为姐妹支系^[41]。

本研究首次报道了陕西主产区栽培太白贝母的完整叶绿体基因组，填补了该地理种质资源在基因组层面的研究空白。通过比较基因组学分析，揭示了 6 种川贝母基原植物在 IR 边界和特异性变异区域上的差异，可为川贝母药材的基原鉴定提供参考。此外，基于叶绿体全基因组构建的系统发育树显著提升了节点支持率，为贝母属植物的系统分类和进化研究提供了更为可靠的数据支持。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2025: 236.
- [2] 谢俊杰, 谭鹏, 郝露, 等. 基于广义中药学探讨川贝母产业发展现状、策略与方法 [J]. 中草药, 2022, 53(7): 2150-2163.
- [3] Liang Y Z, Zhang J, Wang X, et al. Applying DNA barcoding to identify the cultivated provenance of *Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li and its related species [J]. *J Appl Res Med Aromat Plants*, 2024, 39: 100530.
- [4] 罗敏, 邓才富, 李品明, 等. 药用植物太白贝母研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2021, 40(2): 42-45.
- [5] Wang S J, Chen K K, Guo J Q, et al. Identification of pathogen causing bulb rot in *Fritillaria taipaiensis* P. Y. Li

- and establishment of detection methods [J]. *Plants*, 2024, 13(16): 2236.
- [6] Wang A W, Liu Y M, Zhu M M, *et al.* Isosteroidal alkaloids of *Fritillaria taipaiensis* and their implication to Alzheimer's disease: Isolation, structural elucidation and biological activity [J]. *Phytochemistry*, 2022, 201: 113279.
- [7] 韩凤, 章文伟, 罗川, 等. 太白贝母鳞茎腐烂病对其根际土壤特性及细菌群落结构的影响 [J]. 西北农业学报, 2025, 34(7): 1324-1333.
- [8] Qu E K, Yang M L, Liu S J, *et al.* Fritaitaipaines A—J, isosteroidal alkaloids with anti-neuroinflammatory activity from the bulbs of *Fritillaria taipaiensis* [J]. *Fitoterapia*, 2025, 183: 106546.
- [9] Huang Z L, Qu E K, Yang L R, *et al.* Fritaitaipaines A-O, undescribed cevanine-type isosteroidal alkaloids from the bulbs of *Fritillaria taipaiensis* and their anti-neuroinflammatory and AChE inhibitory activities [J]. *Phytochemistry*, 2025, 239: 114582.
- [10] Chen Q, Wu X B, Zhang D Q. Phylogenetic analysis of *Fritillaria cirrhosa* D. Don and its closely related species based on complete chloroplast genomes [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7480.
- [11] 李丹, 王慧娜, 张麦芳, 等. 太白贝母叶绿体基因组密码子偏好性分析 [J/OL]. 西北林学院学报, 1-10 [2025-09-01]. <https://link.cnki.net/urlid/61.1202.S.20250618.0952.004>.
- [12] Ma Y P, Zhao L, Zhang W J, *et al.* Origins of cultivars of *Chrysanthemum*: Evidence from the chloroplast genome and nuclear LFY gene [J]. *J Syst Evol*, 2020, 58(6): 925-944.
- [13] Song W C, Chen Z M, He L, *et al.* Comparative chloroplast genome analysis of wax gourd (*Benincasa hispida*) with three benincaseae species, revealing evolutionary dynamic patterns and phylogenetic implications [J]. *Genes*, 2022, 13(3): 461.
- [14] Wang H X, Moore M J, Barrett R L, *et al.* Plastome phylogenomic insights into the Sino-Japanese biogeography of *Diabelia* (Caprifoliaceae) [J]. *J Syst Evol*, 2020, 58(6): 972-987.
- [15] Nguyen V B, Linh Giang V N, Waminal N E, *et al.* Comprehensive comparative analysis of chloroplast genomes from seven *Panax* species and development of an authentication system based on species-unique single nucleotide polymorphism markers [J]. *J Ginseng Res*, 2020, 44(1): 135-144.
- [16] 罗瑶, 胡本祥, 张晗, 等. 卵叶远志叶绿体基因组序列特征与系统发育分析 [J]. 中草药, 2023, 54(18): 6065-6073.
- [17] 净易尧, 胡本祥, 陈晓颖, 等. 款冬叶绿体基因组序列特征及其系统发育分析 [J]. 药学报, 2023, 58(11): 3439-3448.
- [18] 马海霞, 张亚颖, 张玉婉, 等. 角蒿属药用植物叶绿体基因组比较及系统发育分析 [J]. 中草药, 2024, 55(17): 5972-5981.
- [19] Liu K J, Cui H X, Wu L D, *et al.* Chloroplast genome-based genetic variation and genetic diversity of *Ulmus pumila* (Ulmaceae) germplasm [J]. *Ind Crops Prod*, 2025, 233: 121452.
- [20] Bruce B D. Chloroplast transit peptides: Structure, function and evolution [J]. *Trends Cell Biol*, 2000, 10(10): 440-447.
- [21] 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.
- [22] Greiner S, Lehwark P, Bock R. OrganellarGenomeDRAW (OGDRAW) version 1.3.1: Expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(W1): W59-W64.
- [23] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11 [J]. *Mol Biol Evol*, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [24] Chen P, Gao G, Yu C M, *et al.* Data set for transcriptome analysis of *Apocynum venetum* L [J]. *Data Brief*, 2018, 20: 1739-1744.
- [25] 李强, 万建民. SSRHunter, 一个本地化的 SSR 位点搜索软件的开发 [J]. 遗传, 2005, 27(5): 808-810.
- [26] Amiryousefi A, Hyvönen J, Poczar P. IRscope: An online program to visualize the junction sites of chloroplast genomes [J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): 3030-3031.
- [27] Frazer K A, Pachter L, Poliakov A, *et al.* VISTA: Computational tools for comparative genomics [J]. *Nucleic Acids Res*, 2004, 32(Web Server issue): W273-W279.
- [28] Katoh K, Misawa K, Kuma K I, *et al.* MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform [J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(14): 3059-3066.
- [29] Minh B Q, Nguyen M A T, von Haeseler A. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap [J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(5): 1188-1195.
- [30] 中国药典 [S]. 一部. 2010: 263.
- [31] Park I, Kim W J, Yeo S M, *et al.* The complete chloroplast genome sequences of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. and *Fritillaria cirrhosa* D. Don, and comparative analysis with

- other *Fritillaria* species [J]. *Molecules*, 2017, 22(6): 982.
- [32] Li Y, Li Q S, Li X W, *et al.* Complete chloroplast genome sequence of *Fritillaria unibracteata* var. *wabuensis* based on SMRT sequencing technology [J]. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*, 2016, 27(5): 3757-3758.
- [33] Palmer J D. Comparative organization of chloroplast genomes [J]. *Annu Rev Genet*, 1985, 19: 325-354.
- [34] Chen Q, Wu X B, Zhang D Q. Phylogenetic analysis of *Fritillaria cirrhosa* D. Don and its closely related species based on complete chloroplast genomes [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e7480.
- [35] Moon B C, Park I, Kim W J, *et al.* The complete chloroplast genome sequence of *Fritillaria thunbergii* Miq., an important medicinal plant, and identification of DNA markers to authenticate *Fritillariae Bulbus* [J]. *Hortic Environ Biotechnol*, 2018, 59(1): 71-80.
- [36] Li Y, Zhang Z R, Yang J B, *et al.* Complete chloroplast genome of seven *Fritillaria* species, variable DNA markers identification and phylogenetic relationships within the genus [J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0194613.
- [37] Daniell H, Lin C S, Yu M, *et al.* Chloroplast genomes: Diversity, evolution, and applications in genetic engineering [J]. *Genome Biol*, 2016, 17(1): 134.
- [38] 原明星, 尹康权, 李俄仁措, 等. 叶绿体基因编辑技术: 进展与展望 [J]. *中国草地学报*, 2024, 46(6): 126-134.
- [39] Xie P, Wu J R, Lu M Y, *et al.* Assembly and comparative analysis of the complete mitochondrial genome of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. (Liliales: Liliaceae), an endangered medicinal plant [J]. *BMC Genomics*, 2024, 25(1): 773.
- [40] Li X, Su Y Y, Li X W, *et al.* Identification of *Fritillariae Bulbus* from adulterants using ITS2 regions [J]. *Plant Gene*, 2016, 7: 42-49.
- [41] Zhang T, Huang S P, Song S M, *et al.* Identification of evolutionary relationships and DNA markers in the medicinally important genus *Fritillaria* based on chloroplast genomics [J]. *PeerJ*, 2021, 9: e12612.

[责任编辑 时圣明]