

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.03.008

引用格式:宋志姣,李娥,杨萍,等. 香辣蓼叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 草地学报,2026,34(3):817—828

SONG Zhi-jiao, LI E, YANG Ping, et al. Codon Bias Analysis of Chloroplast Genome of *Persicaria odorata*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(3):817—828

香辣蓼叶绿体基因组密码子偏好性分析

宋志姣¹, 李娥¹, 杨萍¹, 李贵祥^{2*}, 陈文华^{1*}

(1. 保山学院资源环境学院, 云南 保山 678000; 2. 云南省林业和草原科学院, 云南 昆明 650201)

摘要:为解析香辣蓼(*Persicaria odorata* Lour.)叶绿体基因组密码子使用偏好性,本研究采用下一代测序技术对其叶绿体基因组测序。通过对原始数据过滤、组装、注释并构建物理图谱,系统分析52条蛋白质编码序列的密码子使用特征。结果表明:香辣蓼叶绿体基因组全长159 897 bp,呈典型的四分体结构,包含大单拷贝区(Large single-copy region, LSC)、小单拷贝区(Small single-copy region, SSC)以及两个反向重复区(Inverted repeat, IR)。该叶绿体基因组总GC含量为38.88%,其中 $GC_1 > GC_2 > GC_3$,偏好以A/U结尾。有效密码子数、密码子适应指数、密码子偏好指数、最优密码子使用频率的范围分别为36.29~54.14, 0.10~0.30, -0.26~0.19和0.26~0.53,表明整体密码子使用偏好性较弱。中性绘图、ENC-plot和PR2-plot分析显示密码子使用偏好受突变和选择压力共同影响,且选择压力占主导,最终筛选出最优密码子10个。本研究为深入解析香辣蓼叶绿体基因功能,探讨其进化机制及指导分子育种提供了理论依据与标记资源。

关键词:香辣蓼;叶绿体基因组;密码子偏好性;最优密码子

中图分类号:S573+9

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)03-0817-12

Codon Usage Bias Analysis of the Chloroplast Genome of *Persicaria odorata*

SONG Zhi-jiao¹, LI E¹, YANG Ping¹, LI Gui-xiang^{2*}, CHEN Wen-hua^{1*}

(1. College of Resources and Environmental Sciences Baoshan University, Baoshan, Yunnan Province 678000, China;

2. Yunnan Academy of Forestry and Grassland, Kunming, Yunnan Province 650201, China)

Abstract: To investigate codon usage bias of *Persicaria odorata*, we sequenced the chloroplast genome of *P. odorata* using the Next-Generation Sequencing. The raw sequencing data were quality control filtered, assembled, annotated and constructed a physical map. Furthermore, we systematically analyzed the codon usage bias of 52 protein-coding sequences. Our comprehensive analysis shows that the chloroplast genome was 159 897 bp in length, with a typical quadripartite structure consisting of a large single-copy region (LSC), a small single-copy region (SSC), and two inverted repeat regions (IR). The overall GC content of codons in the *P. odorata* chloroplast genome was 38.88%, with $GC_1 > GC_2 > GC_3$, showing a preference for codons ending with A/U. The effective number of codons (ENC), the codon adaptation index (CAI), the codon bias index (CBI) and the frequency of optimal codons (Fop) ranged from 36.29 to 54.14, 0.10 to 0.30, -0.26 to 0.19, and 0.26 to 0.53, respectively. These analysis collectively indicated weak codon usage bias in the chloroplast genome of *P. odorata*. Neutrality plot analysis, ENC-plot analysis, and PR2-plot analysis revealed that codon usage bias in the *P. odorata* chloroplast genome resulted from both mutation pressure and selection pressure and was primarily determined by the selection pressure. A total of 10 optimal codons were identified. Our study established a fundamental framework for functional genomics and molecular breeding of *P. odorata* by providing: (i) theoretical foundations and molecular marker resources for further functional analysis of chloroplast genes, (ii) evolutionary studies, and (iii) molecular breeding within Polygonaceae.

Key words: *Persicaria odorata*; Chloroplast genome; Codon usage bias; Optimal codon

收稿日期:2025-05-13;修回日期:2025-07-11

基金项目:高黎贡山生态功能提升及可持续发展技术与示范(202303AC10001201);怒江下游山地农业生态系统云南省野外科学观测研究站(202305AM340031);“兴保英才培养计划”青年人才专项(2023QNRC001);云南省科技特派员项目资助

作者简介:宋志姣(1988-),女,回族,云南保山人,博士,主要从事植物种质资源开发与利用研究, E-mail: janeolo@163.com; *通信作者 Author for correspondence, E-mail: 568384875@qq.com; yncwhh@qq.com

香 辣 蓼 (*Persicaria odorata* Lour.) 是 蓼 科 (Polygonaceae) 春 蓼 属 (*Persicaria*) 多 年 生 芳 香 草 本 植 物, 广 泛 分 布 于 越 南、泰 国、马 来 西 亚 和 新 加 坡 等 东 南 亚 国 家, 近 年 来, 在 我 国 云 南、广 西、广 东 等 地 发 现 归 化 居 群^[1-2]。该 物 种 因 其 独 特 的 辛 辣 香 气 和 柠 檬 风 味, 在 东 南 亚 菜 系 的 重 要 调 料, 如 越 南 鸡 肉 沙 拉 和 马 来 西 亚 “叻 沙” 汤^[3]; 我 国 的 傣 族 常 用 其 鲜 叶 和 嫩 茎 作 为 火 锅 汤 料 或 蘸 料 调 味^[1], 客 家 人 则 在 酿 造 “胡 酒” 时 加 入 香 辣 蓼 以 提 升 风 味^[4]。除 其 食 用 价 值 外, 香 辣 蓼 的 药 用 潜 力 亦 十 分 显 著。其 叶 片 含 有 丰 富 的 挥 发 性 化 合 物: 十二 醛、癸 醛、3-己 醛、2-己 醛、 β -石 竹 烯 和 α -葎 草 烯 等^[3,5-6]; 这 些 化 合 物 不 仅 赋 予 其 独 特 的 香 气, 还 对 霍 乱 沙 门 氏 菌^[7]、粪 肠 球 菌、尿 屎 球 菌、表 皮 葡 萄 球 菌 和 金 黄 色 葡 萄 球 菌^[8] 等 多 种 病 原 菌 表 现 出 抑 制 作 用。此 外, 在 禽 类 养 殖 中, 香 辣 蓼 作 为 饲 料 添 加 剂 展 现 出 巨 大 优 势。在 肉 鸡 饲 料 中 添 加 $8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 香 辣 蓼 叶 粉 可 提 高 肉 鸡 日 增 重 11.3%, 降 低 料 重 比 5.6%, 降 低 血 清 胆 固 醇 14.2%, 降 低 甘 油 三 酯 30.6%, 并 改 善 肉 鸡 红 细 胞 计 数 和 血 红 蛋 白 水 平^[9]。作 为 一 种 天 然、无 残 留 的 饲 料 添 加 剂, 香 辣 蓼 有 望 替 代 抗 生 素 促 进 家 禽 生 长。因 此, 香 辣 蓼 正 作 为 植 物 资 源 开 发 与 功 能 性 研 究 的 材 料 被 广 泛 关 注。

密 码 子 是 连 接 蛋 白 质 与 核 酸 的 关 键 信 息 载 体, 由 于 密 码 子 简 并 性, 除 蛋 氨 酸 和 色 氨 酸 以 外, 其 余 氨 基 酸 均 可 由 多 个 同 义 密 码 子 编 码^[10]。在 编 码 蛋 白 质 的 过 程 中, 同 义 密 码 子 的 使 用 受 自 然 选 择、基 因 突 变、tRNA 的 丰 度 等 多 种 因 素 共 同 作 用 而 存 在 偏 好 性, 称 为 密 码 子 使 用 的 偏 好 性^[11-12]。研 究 这 种 偏 好 性 不 仅 有 助 于 理 解 生 物 进 化, 还 能 通 过 优 化 基 因 表 达 设 计 显 著 提 升 基 因 表 达 的 质 量 与 精 度^[13]。叶 绿 体 作 为 半 保 留 复 制 的 重 要 细 胞 器, 在 氨 基 酸、植 物 激 素、核 苷 酸、维 生 素、脂 类 和 次 生 代 谢 产 物 合 成 过 程 中 发 挥 着 关 键 作 用^[14]。与 核 基 因 组 和 线 粒 体 基 因 组 相 比, 叶 绿 体 基 因 组 具 有 体 积 小、保 存 率 高、结 构 简 单 等 优 势^[15], 被 广 泛 用 于 系 统 发 育、物 种 鉴 定 等 研 究^[16-17]。因 此, 叶 绿 体 基 因 组 密 码 子 偏 好 性 分 析 已 成 为 基 因 组 学 研 究 的 重 要 方 向。

高 通 量 测 序 技 术 的 发 展, 为 系 统 解 析 叶 绿 体 基 因 组 的 密 码 子 使 用 规 律、碱 基 组 成 偏 好 及 其 对 系 统 发 育 和 适 应 性 进 化 的 影 响 提 供 了 可 靠 的 技 术 手 段, 并 进 一 步 为 植 物 基 因 组 进 化 研 究 提 供 了 关 键 依 据。云 南 樟 (*Camphora glandulifera* Wall.) 的 叶 绿 体 基

因 组 的 密 码 子 偏 好 性 比 较 弱, 偏 好 以 A 或 U 结 尾 的 密 码 子。秋 茄 (*Kandelia obovate* Sheue & al.) 的 叶 绿 体 基 因 组 以 ACC、ACA 和 GCA 为 最 优 密 码 子^[18]。10 种 芸 香 科 (Rutaceae) 药 用 植 物 的 叶 绿 体 基 因 组 研 究 表 明: 密 码 子 偏 好 性 较 弱, 偏 好 以 A 或 U 结 尾 的 密 码 子, 主 要 受 自 然 选 择 驱 动, 并 筛 选 出 12 个 高 频 最 优 密 码 子 (如 GCU、UUA、AGA 等)^[19]。橡 胶 树 属 (*Hevea*) 的 研 究 则 表 明: 叶 绿 体 基 因 组 密 码 子 偏 好 以 A 或 U 结 尾, 鉴 定 出 31 个 最 优 密 码 子, 其 密 码 子 使 用 模 式 主 要 由 自 然 选 择 主 导, 突 变 压 力 影 响 较 小^[20]。买 麻 藤 目 (Gnetales) 13 种 植 物 的 叶 绿 体 基 因 组 密 码 子 偏 好 A 或 U 碱 基 及 以 A/U 结 尾 的 密 码 子, 识 别 出 20 个 高 频 密 码 子, 自 然 选 择 是 主 要 驱 动 力 而 突 变 压 力 作 用 有 限^[21]。尽 管 相 关 研 究 已 在 多 种 植 物 中 展 开, 但 作 为 东 南 亚 重 要 的 芳 香 植 物, 其 绿 体 基 因 组 密 码 子 偏 好 性 方 面 的 研 究 尚 未 报 道。为 此, 本 研 究 以 云 南 保 山 分 布 的 香 辣 蓼 为 研 究 对 象, 利 用 下 一 代 测 序 技 术 对 香 辣 蓼 叶 绿 体 基 因 组 进 行 测 序, 并 获 得 了 其 完 整 的 基 因 组 序 列 和 绘 制 了 物 理 图 谱。在 获 得 叶 绿 体 基 因 组 图 谱 的 基 础 之 上, 通 过 中 性 绘 图、ENC-plot 绘 图、PR2-plot 绘 图 等 方 法, 分 析 了 香 辣 蓼 基 因 组 蛋 白 质 编 码 区 (CDS) 序 列, 从 而 确 定 香 辣 蓼 密 码 子 使 用 偏 好 的 主 要 影 响 因 素 和 最 优 密 码 子, 本 研 究 从 叶 绿 体 基 因 组 层 面 开 启 了 香 辣 蓼 遗 传 学 探 索, 为 香 辣 蓼 的 遗 传 改 良 和 育 种 提 供 理 论 依 据 和 标 记 资 源。

1 材 料 与 方 法

1.1 叶 绿 体 基 因 组 组 装、注 释 及 物 理 图 谱 绘 制

文 库 的 制 备 和 测 序 工 作 由 武 汉 希 望 组 生 物 科 技 有 限 公 司 完 成, 测 序 平 台 为 Illumina NovaSeq 6000, 采 用 的 是 PE150 模 式。对 测 序 获 得 的 原 始 reads 使 用 fastp v0.20.0 进 行 低 质 量 片 段 过 滤 与 接 头 序 列 去 除。使 用 GetOrganelle v1.6.4^[22] 软 件 进 行 叶 绿 体 基 因 组 de novo 组 装, 参 数 为 “R 15, -k 21, 45, 65, 85, 105”。使 用 CPGAVAS2 网 页 版 的 默 认 参 数 进 行 了 叶 绿 体 基 因 组 的 注 释^[23]。香 辣 蓼 叶 绿 体 环 状 图 谱 采 用 在 线 工 具 CPGview^[24] 绘 制。最 终 组 装 获 得 的 完 整 叶 绿 体 基 因 组 序 列 被 提 交 至 NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), 登 录 号 为 NC_071834.1。

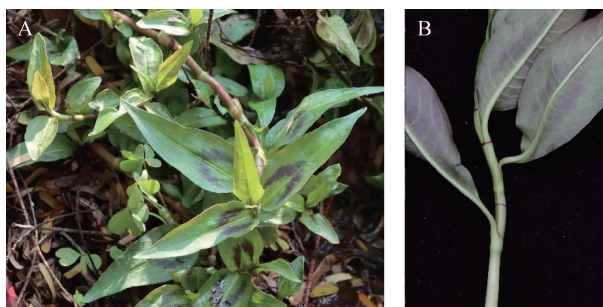


图1 香辣蓼的形态特征

Fig. 1 Morphological features of *P. odorata*

注: (A) 生境的全貌。(B) 香辣蓼的托叶鞘

Note: (A) Overall view of the aerial parts. (B) Ocrea of *P. odorata*

1.2 密码子组成分析

共获取到83条CDS序列,经标准化处理后,去除长度小于300 bp、非ATG起始密码子、内部存在终止密码子或终止密码子异常的序列,得到52条高质量CDS序列用于密码子偏好性分析。用EMBOSS中的CUSP在线程序(<https://www.bioinformatics.nl/emboss-explorer/>)对香辣蓼叶绿体基因组中的编码序列进行分析,分别获得第一位碱基含量(GC_1)、第二位碱基含量(GC_2)、第三位碱基含量(GC_3)以及不同碱基的平均总含量(GC_{all})。利用CodonW1.4.2软件对香辣蓼叶绿体基因组密码子进行分析,得到同一密码子相对使用度(RSCU)。利用EMBOSS中CHIPS在线程序(<https://www.bioinformatics.nl/emboss-explorer/>),计算出各个密码子的有效密码子数(ENC)。利用MEGA软件计算各个基因的密码子在第3核苷酸上的A、G、C、T含量,分别用 A_3 、 G_3 、 C_3 、 T_3 表示。参数设置参照杜明川等^[15]的研究。

ENC是衡量一个基因中密码子使用偏好性的经典指标,其范围为20~61,以35为分界点,越接近20偏倚性越强,受到的选择压力越强烈;越接近61则偏倚性越弱,突变压力变为主导^[15]。RSCU用于分析每种密码子的使用偏好,RSCU=1则各同义密码子的使用机会均等,RSCU>1的密码子被偏好使用,RSCU<1的密码子使用频率小于预期,RSCU≈0则表示这个密码子几乎未使用^[12]。

1.3 中性绘图分析

中性绘图分析用于评价密码子偏好性受突变与自然选择的程度^[25]。当 GC_{12} 与 GC_3 的回归系数趋近于1时,说明突变主导密码子偏好;而趋近于0

时,则表明选择压力是主要因素^[21]。通过EMBOSS中的CUSP程序获取GC含量数据后,经Excel计算整理并绘制 GC_3 - GC_{12} 散点图及回归曲线。结合SPSS 20.0的回归分析验证两者相关性,最终获得具有统计学意义的回归系数及差异性检验结果^[17]。

1.4 ENC-plot绘图分析

整合香辣蓼叶绿体基因组各基因 GC_3 和实际ENC值构建以 GC_3 和实际ENC为横、纵坐标的散点图并叠加标准曲线。标准曲线的公示为: $ENC = 2 + (GC_3 + 29) / [GC_3^2 + (1 - GC_3)^2]$,通过ENC-plot分析密码子偏好性成因:若散点集中分布于标准曲线附近表明主要影响因素为碱基组成,显著偏离至曲线下方则表示选择压力为主要影响因素^[26]。

1.5 PR2-plot绘图分析

该方法被用于分析核苷酸组成的影响因素,以 $G_3/(G_3+C_3)$ 和 $A_3/(A_3+T_3)$ 为横纵坐标构建散点图,并标注 $A=T$ 、 $G=C$ 的中心点。中心点表示密码子的使用无偏好性,如果密码子偏离中心点,说明密码子第3位的受到了非对称突变或者选择压力的影响^[27]。

1.6 最优密码子的识别

基于EMBOSS中的CUSP程序获取ENC值的排序结果,在最高值和最低值两端各选择5%基因用于构建高(低)表达基因库,并利用CodonW1.4.2计算各密码子RSCU值及 $\Delta RSCU$ 。筛选同时满足是 $\Delta RSCU \geq 0.08$ 且 $RSCU > 1$ 的密码子为最优密码子,最终分析其氨基酸对应性与末位碱基特征^[28]。

2 结果与分析

2.1 香辣蓼叶绿体基因组密码子组成分析

香辣蓼叶绿体基因组为典型四分体结构,呈环状,其叶绿体基因组全长为159 897 bp,包含一个大单拷贝区(Large single-copy region, LSC)、一个小单拷贝区(Small single-copy region, SSC)以及两者之间的两段互补区(Inverted repeat, IR),分别为反向重复区A(IRA)和反向重复区B(IRB)。四段的长度分别为大单拷贝区84 395 bp、小单拷贝区13 154 bp、两个反向重复区均为31 174 bp(图2)。

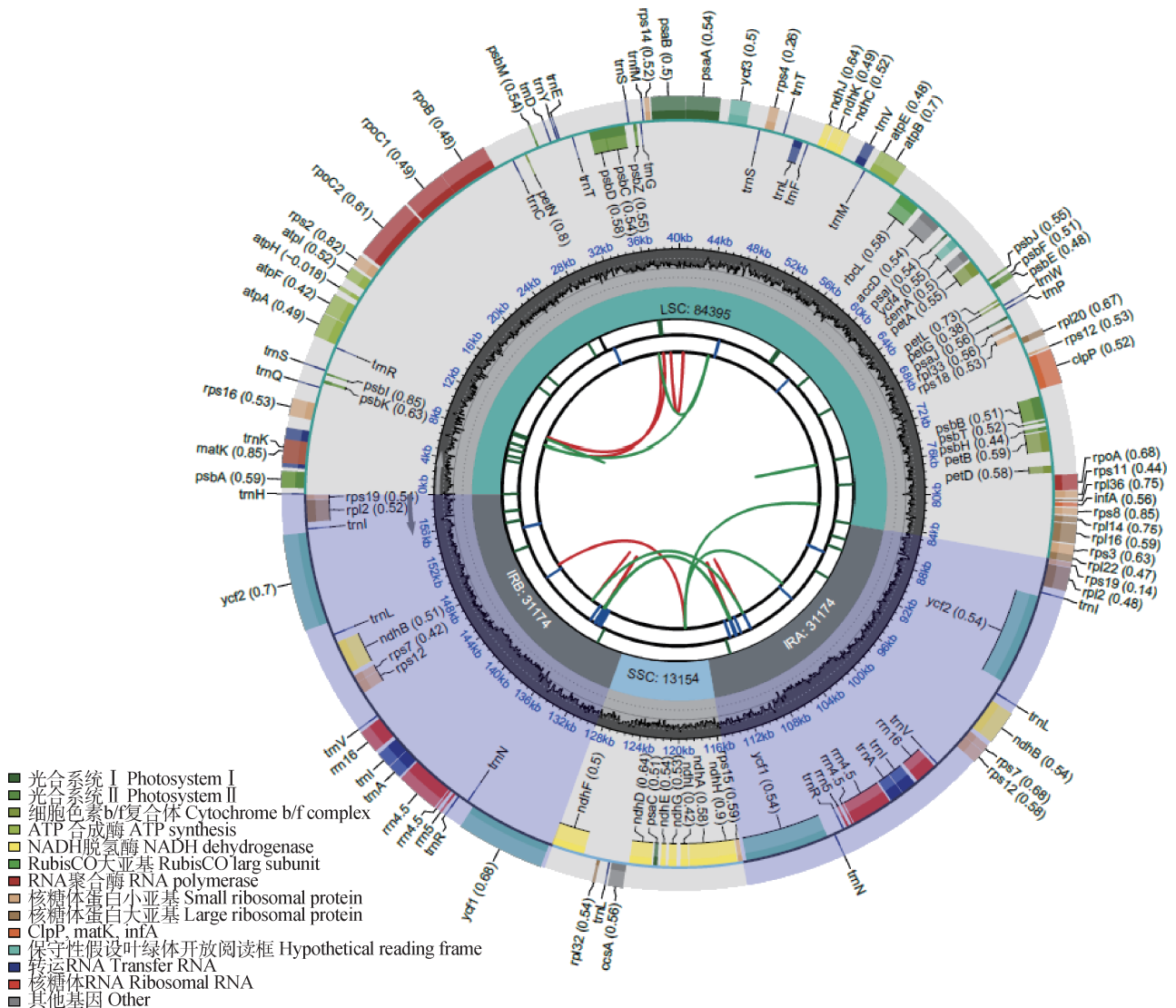


图 2 香辣蓼叶绿体基因组环形图

Fig. 2 Circular map of the *P. odorata* cpgenome

注释结果表明,香辣蓼叶绿体基因组共有 83 条 CDS 序列,经标准化处理后,去除重复、长度小于 300 bp、非 ATG 起始、内部存在终止密码子或终止密码子异常的序列,后保留 52 条序列用于后续密码子偏好性分析的高质量 CDS 序列。其中有 25 个与光合作用有关的基因,18 个与自我复制有关的基因,5 个其他基因和 4 保守性假设叶绿体开放阅读框(表 1)。26 个光合作用有关的基因覆盖光系统 I、II、ATP 合酶、NADH 脱氢酶和 RuBisCO 亚基,构成叶绿体能量代谢的核心部分,为后续分析其功能偏好性提供基础。18 个与自我复制有关的基因包括 5 个核糖体大亚基基因、4 个依赖 DNA 的 RNA 聚合酶基因、9 个核糖体小亚基基因。6 个其他基因,分别是乙酰辅酶 S 羧化酶基因 *accD*、细胞色素 C 基因 *ccsA*、包膜蛋白基因 *cemA*、蛋白酶基因 *clpP*、成

熟酶基因 *matK*。4 保守性假设叶绿体开放阅读框(Conserved hypothetical chloroplast ROF),分别为 *ycf1*, *ycf2*, *ycf3* 和 *ycf4*。

2.2 香辣蓼叶绿体基因组密码子的碱基组成

香辣蓼叶绿体基因组密码子的平均 GC 含量为 38.88%,其中 $GC_1(47.16\%) > GC_2(39.45\%) > GC_3(30.02\%)$,显示出在密码子第 3 位存在明显的 GC 含量下降(表 2),表明香辣蓼叶绿体基因组在密码子使用上存在明显的第 3 密码子位低 GC 偏好。此外, GC_1 、 GC_2 和 GC_3 三个位置的碱基 GC 含量均低于 50%,说明香辣蓼叶绿体基因组密码子倾向以 A 或 U 结尾,尤其是在第 3 位碱基上的这一趋势更为明显。此外,密码子使用偏好性指数分析显示 ENC 值范围为 36.29~54.14,平均值为 47.23,表明

表 1 香辣蓼叶绿体基因组基因信息

Table 1 Chloroplast genome gene information of *P. odorata*

基因功能 Gene function	基因分类 Gene classification	基因名 Gene name
光合作用 Photosynthesis	ATP合成酶亚基 Subunits of ATP synthase	<i>atpA, atpB, atpE, atpF, atpI</i>
	光系统 II 亚基 Subunits of photosystem II	<i>psbA, psbB, psbC, psbD</i>
	NADH脱氢酶亚基 Subunits of NADH-dehydrogenase	<i>ndhA, ndhB, ndhC, ndhD, ndhE, ndhF, ndhG, ndhH, ndhI, ndhJ, ndhK</i>
	细胞色素复合体 b/f 亚基 Subunits of cytochrome b/f complex	<i>petA, petB</i>
	光系统 I 亚基 Subunits of photosystem I	<i>psaA, psaB</i>
自我复制 Self-replication	RuBisCO 亚基 Subunit of rubisco	<i>rbcL</i>
	核糖体大亚基 Large subunit of ribosome	<i>rpl2, rpl14, rpl16, rpl20, rpl22</i>
	依赖 DNA 的 RNA 聚合酶 DNA dependent RNA polymerase	<i>rpoA, rpoB, rpoC1, rpoC2</i>
	核糖体小亚基 Small subunit of ribosome	<i>rps2, rps3, rps4, rps7, rps8, rps11, rps12, rps14, rps18</i>
其他功能 Other functions	乙酰辅酶 S 羧化酶 Subunit of Acetyl-CoA-carboxylase	<i>accD</i>
	细胞色素 C 基因 c-type cytochrom synthesis gene	<i>ccsA</i>
	包膜蛋白 Envelop membrane protein	<i>cemA</i>
	蛋白酶 Protease	<i>clpP</i>
	成熟酶 Maturase	<i>matK</i>
保守性假设叶绿体开放阅读框 Conserved hypothetical chloroplast ROF		<i>ycf1, ycf2, ycf3, ycf4</i>

其叶绿体基因组密码子使用偏好性较弱,整体呈相对均衡使用同义密码子的趋势。密码子适应指数(CAI)范围为 0.10~0.30,平均值为 0.17,说明大多数基因的表达优化程度较低,密码子使用偏好性整体较弱。密码子偏好指数(CBI)介于-0.26~0.19 之间,平均值为-0.09,说明最优密码子的使用频率整体低于平均水平。最优密码子使用频率(Fop)的范围为 0.26~0.53,均值为 0.36,表明在各基因同义密码子中,最优密码子的占比相对较小,进一步支持香辣蓼叶绿体密码子使用偏好性整体偏弱的结论。功能分类上,不同基因组分的 GC 含量也存在一定差异。ATP 合成酶亚基基因(如 *atpA*、*atpB*)的 GC₁ 普遍较高,部分基因超过 55%,表明能量转换相关基因在碱基组成上更为保守。GC₁₂ 通常高于 GC₃,进一步说明香辣蓼叶绿体基因组存在密码子位置偏好性和选择压力不均的现象。

如表 3 所示,香辣蓼叶绿体基因组密码子各 GC 参数之间存在如下关系:GC_{all} 值与 GC₁、GC₂ 与 GC₃ 值呈极显著正相关,说明香辣蓼叶绿体基因组 GC 组成偏向是整体性的,而非局部突变造成。ENC 值与 GC₁、GC₂ 和 GC_{all} 呈极显著正相关,而与 GC₃ 无显著相关,表明密码子整体 GC 构成,尤其是第 1,2 位碱基,对使用偏好性具有较大影响,而第 3 位碱基影响相对较弱。此外,Fop 值与 GC₁ 及 GC_{all} 均达到显著或极显著相关水平说明 GC 含量较高时更倾向于使用最优密码子,反映了碱基组成对偏好性密码

子使用的促进作用。Fop 值与 CBI 呈极显著正相关,进一步验证 Fop 可作为反映密码子使用偏倚的重要指标;而 CBI、CAI 与 GC₁、GC₂、GC₃ 的相关性不显著,提示表达适应性与碱基组成之间的关系可能受其他表达调控因素干扰。

如图 3 所示,RSCU 值大于 1 的密码子有 29 个,占密码子总数的 45.31%,说明这些密码子使用频率较高,属于高频密码子。除 UUG 外,其余 28 个高频密码子均以 A(12 个)或 U(16 个)结尾,占比达 96.55%,表明香辣蓼叶绿体基因组密码子的使用存在明显的 A 或 U 结尾偏向性。其中,编码 Arg、Leu、Ser、Pro、Gly 等氨基酸的某些密码子 RSCU 值比其他密码子更高,显示出一定的使用偏好性。而 Met 仅由 AUG 编码、Trp 仅由 UGG 编码,RSCU 值均为 1,说明单密码子的氨基酸中未表现出使用偏好。

2.3 中性绘图分析

如图 4 所示,香辣蓼叶绿体基因组的 GC₁₂% 范围在 32.82%~55.04% 之间,而 GC₃ 的范围在 23.08%~37.98% 之间,反映出基因组整体 GC 组成在第 1,2 位碱基处相对较高,而第 3 位碱基 GC 含量则显著偏低。GC₁₂ 平均值为 43.31%,而 GC₃ 平均值仅为 30.02%,多数基因分布于 GC₁₂>GC₃ 的区域,即分布于对角线上方。GC₁₂ 与 GC₃ 之间的回归系数为 0.280,相关系数为 0.032,表明二者之间相关性极弱,进一步说明第 3 位碱基组成与前两位

表 2 香辣蓼叶绿体基因组密码子的 GC 特征

Table 2 GC composition of *P. odorata* chloroplast genome codon

基因功能 Gene function	基因 Gene	GC ₁ /%	GC ₂ /%	GC ₃ /%	GC _{all} /%	ENC	CAI	CBI	Fop
ATP 合成酶亚基 Subunits of ATP synthase	<i>atpA</i>	55.51	39.37	28.15	41.01	49.65	0.21	−0.01	0.41
	<i>atpB</i>	56.11	42.08	28.46	42.22	46.11	0.19	−0.06	0.38
	<i>atpE</i>	52.24	40.30	29.10	40.55	50.60	0.15	−0.09	0.35
	<i>atpF</i>	48.65	32.97	31.89	37.84	45.02	0.17	−0.07	0.37
	<i>atpI</i>	50.00	36.69	27.02	37.90	47.25	0.17	−0.10	0.34
光系统 II 亚基 Subunits of photosystem II	<i>psbA</i>	49.44	43.22	31.64	41.43	38.29	0.30	0.19	0.53
	<i>psbB</i>	54.42	46.37	30.65	43.81	45.99	0.18	−0.10	0.36
	<i>psbC</i>	54.01	45.99	34.18	44.73	47.28	0.18	−0.03	0.39
	<i>psbD</i>	52.54	43.22	33.33	43.03	46.95	0.24	0.04	0.44
NADH 脱氢酶亚基 Subunits of NADH-dehydrogenase	<i>ndhA</i>	45.05	38.74	23.08	35.62	44.79	0.11	−0.20	0.26
	<i>ndhB</i>	42.07	39.14	32.09	37.77	47.61	0.17	−0.09	0.36
	<i>ndhC</i>	47.93	32.23	24.79	34.99	40.80	0.23	0.01	0.39
	<i>ndhD</i>	40.32	37.72	30.14	36.06	47.91	0.13	−0.14	0.31
	<i>ndhE</i>	41.18	33.33	32.35	35.62	52.72	0.17	−0.10	0.34
	<i>ndhF</i>	38.53	36.53	24.67	33.24	43.66	0.16	−0.15	0.32
	<i>ndhG</i>	42.94	31.64	24.29	32.96	41.02	0.13	−0.19	0.28
	<i>ndhH</i>	50.00	37.06	29.70	38.92	49.15	0.14	−0.13	0.33
	<i>ndhI</i>	43.27	36.84	24.56	34.89	43.43	0.20	−0.09	0.36
	<i>ndhJ</i>	51.57	36.48	32.70	40.25	51.74	0.16	−0.12	0.34
	<i>ndhK</i>	43.81	43.81	28.76	38.79	51.42	0.15	−0.19	0.30
	<i>petA</i>	52.96	35.83	32.40	40.39	50.61	0.17	−0.09	0.36
细胞色素复合体 b/f 亚基 Subunits of cytochrome b/f complex	<i>petB</i>	48.15	41.20	31.02	40.12	44.43	0.21	−0.01	0.39
	<i>psaA</i>	52.86	43.68	33.95	43.50	51.04	0.19	−0.09	0.36
光系统 I 亚基 Subunits of photosystem I	<i>psaB</i>	48.57	43.13	32.52	41.41	46.66	0.18	−0.10	0.36
	<i>rbcL</i>	57.98	43.91	30.25	44.05	46.22	0.27	0.10	0.48
RuBisCO 亚基 Subunit of rubisco 核糖体大亚基 Large subunit of ribosome	<i>rpl2</i>	50.00	48.55	32.61	43.72	49.16	0.13	−0.09	0.36
	<i>rpl14</i>	53.66	37.40	31.71	40.92	49.14	0.17	−0.01	0.40
	<i>rpl16</i>	51.47	52.94	25.00	43.14	40.04	0.12	−0.06	0.38
	<i>rpl20</i>	35.94	38.28	29.69	34.64	52.14	0.13	−0.16	0.33
	<i>rpl22</i>	40.00	38.67	26.00	34.89	49.55	0.18	0.00	0.42
依赖 DNA 的 RNA 聚合酶 DNA dependent RNA polymerase	<i>rpoA</i>	46.43	33.63	27.68	35.91	50.33	0.17	−0.11	0.35
	<i>rpoB</i>	50.79	38.38	30.63	39.93	47.31	0.15	−0.13	0.34
	<i>rpoC1</i>	50.51	38.18	28.49	39.06	47.47	0.15	−0.11	0.34
	<i>rpoC2</i>	47.64	38.94	32.01	39.53	49.07	0.15	−0.15	0.33
核糖体小亚基 Small subunit of ribosome	<i>rps2</i>	43.04	43.46	30.38	38.96	51.30	0.17	−0.15	0.33
	<i>rps3</i>	47.03	34.70	25.57	35.77	45.79	0.15	−0.10	0.36
	<i>rps4</i>	50.75	36.18	30.15	39.03	50.50	0.17	0.02	0.41
	<i>rps7</i>	53.21	45.51	24.36	41.03	45.68	0.19	−0.05	0.39
	<i>rps8</i>	42.22	40.00	28.89	37.04	41.57	0.10	−0.09	0.35
	<i>rps11</i>	55.40	54.68	33.09	47.72	52.89	0.17	−0.06	0.38
	<i>rps12</i>	51.61	47.58	30.65	43.28	41.83	0.14	−0.08	0.35
	<i>rps14</i>	41.58	46.53	33.66	40.59	36.29	0.14	−0.15	0.32
	<i>rps18</i>	38.10	40.95	29.52	36.19	48.59	0.13	−0.11	0.34
	<i>accD</i>	39.79	36.00	30.11	35.30	45.97	0.19	−0.16	0.34
乙酰辅酶 S 羧化酶 Subunit of Acetyl-CoA-carboxylase	<i>ccsA</i>	34.89	35.51	28.66	33.02	46.12	0.14	−0.20	0.29
	c-type cytochrom synthesis gene								
包膜蛋白 Envelop membrane protein	<i>cemA</i>	38.77	26.87	31.72	32.45	44.94	0.19	−0.07	0.36
蛋白酶 Protease	<i>clpP</i>	54.63	37.89	33.48	42.00	47.44	0.16	−0.14	0.33
成熟酶 Maturase	<i>matK</i>	39.45	33.14	29.39	33.99	47.93	0.16	−0.15	0.32
保守性假设叶绿体开放阅读框 Conserved hypothetical chloroplast ROF	<i>ycf1</i>	39.86	30.65	30.65	33.72	49.46	0.16	−0.13	0.35
	<i>ycf2</i>	42.91	34.96	37.98	38.62	52.77	0.16	−0.13	0.34
	<i>ycf3</i>	48.24	38.82	34.71	40.59	54.14	0.14	−0.26	0.29
	<i>ycf4</i>	44.32	41.62	32.43	39.46	48.37	0.15	−0.02	0.39
平均值 Average		47.16	39.45	30.02	38.88	47.23	0.17	−0.09	0.36

表 3 香辣蓼叶绿体基因组密码子中各参数的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of parameters in *P. odorata* chloroplast genome codons

变量 Variation	GC ₁	GC ₂	GC ₃	GC _{all}	ENC	CAI	CBI
GC ₂	0.163						
GC ₃	0.108	0.139					
GC _{all}	0.710**	0.700**	0.526**				
ENC	0.775**	0.750**	0.161	0.924**			
CAI	0.027	−0.224	0.134	−0.056	−0.125		
CBI	0.200	−0.085	0.045	0.086	0.080	0.082	
Fop	0.296*	0.052	−0.023	0.191	0.232*	−0.180	0.632**

注: **表示极显著相关 ($P < 0.01$); *表示显著相关 ($P < 0.05$)

Note: ** means a significant correlation at $P < 0.01$; * means a significant correlation at $P < 0.05$

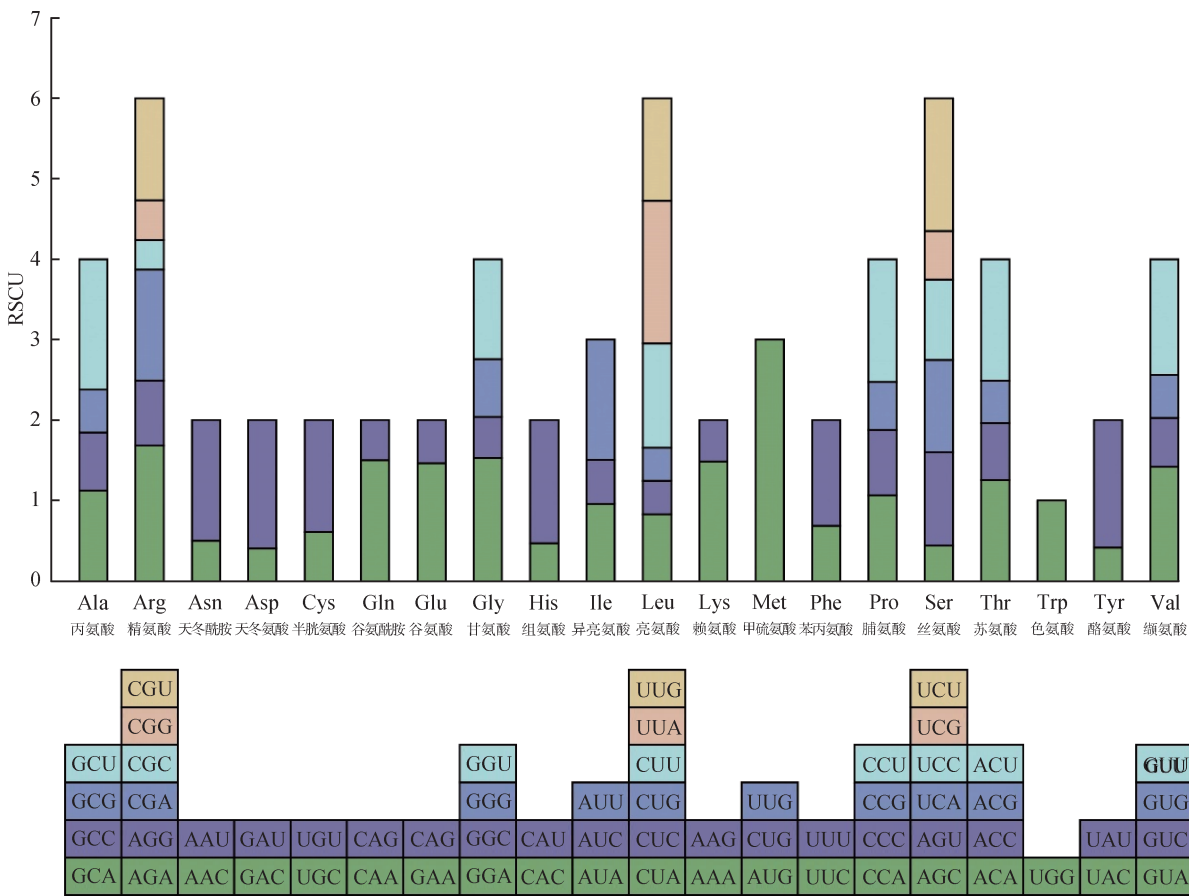


图 3 香辣蓼叶绿体基因组中各氨基酸的 RSCU 分析

Fig. 3 RSCU analysis of amino acids in *P. odorata* chloroplast genome

在进化趋势上存在明显差异。GC₁₂整体较高与 GC₃ 相对偏低的现象,提示香辣蓼基因组中的 GC 含量在整体上较为保守,但在密码子第 3 位出现了更多选择性使用的倾向。多数基因点位分布于对角线上方,仅两个基因(包模型蛋白 *cemA*、保守性假设叶绿体开放阅读框 *ycf2*)位于对角线附近。该分布模式进一步支持香辣蓼叶绿体基因组密码子偏好性更多受选择压力而非突变驱动影响^[29]。

2.4 ENC-plot 绘图分析

ENC-plot 绘图分析显示(图 5),香辣蓼叶绿体基因组中大部分基因的实际 ENC 值低于标准曲线的理论预期值,表明这些基因的密码子使用偏好性并非完全由 GC₃ 含量驱动,而是受到较强的自然选择压力影响^[10]。仅少数基因,如 *rpl20*、*atpF*、*ycf3*、*ycf2*、*rps11*、*rps2* 和 *ndhE*,分布于理论曲线附近或上方,表明这些基因可能更多受到突变压力影响,偏好性相对较弱。而其余大部分基因的 ENC 值显著低于理

论曲线,进一步支持这些基因在演化过程中受到了强烈的选择,倾向于使用特定同义密码子^[30]。

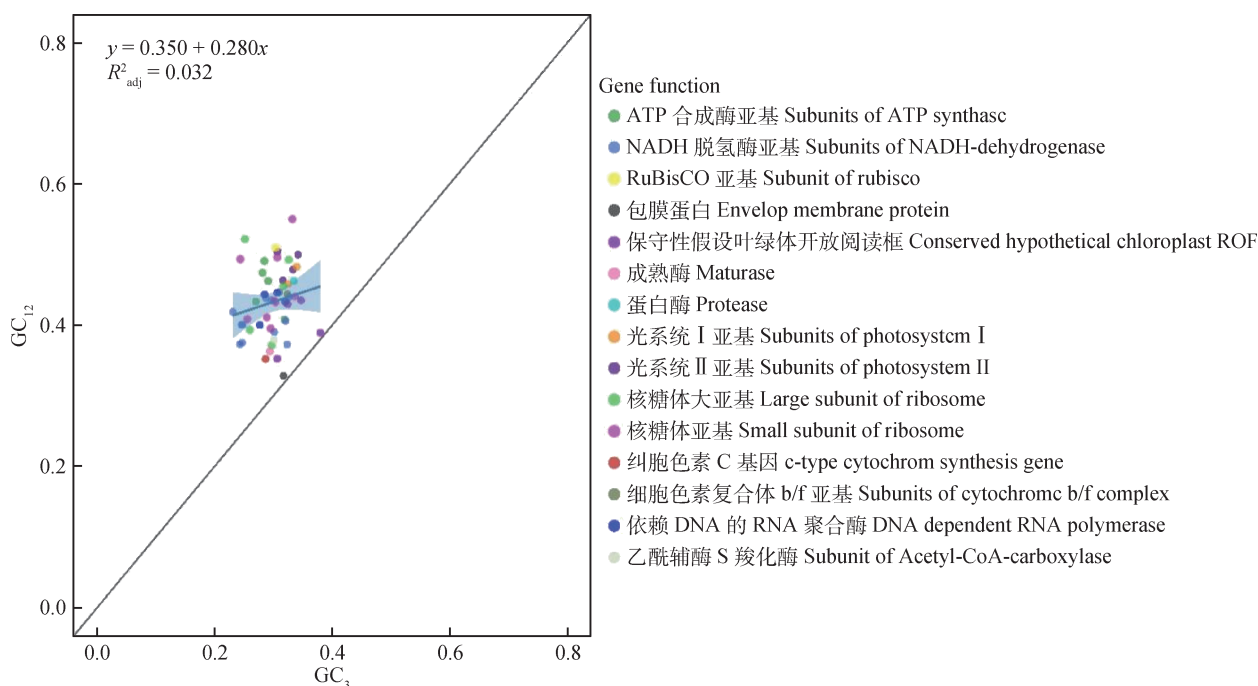


图 4 香辣蓼叶绿体基因组中性绘图分析

Fig. 4 Neutrality plot analysis of the chloroplast genome in *P. odorata*

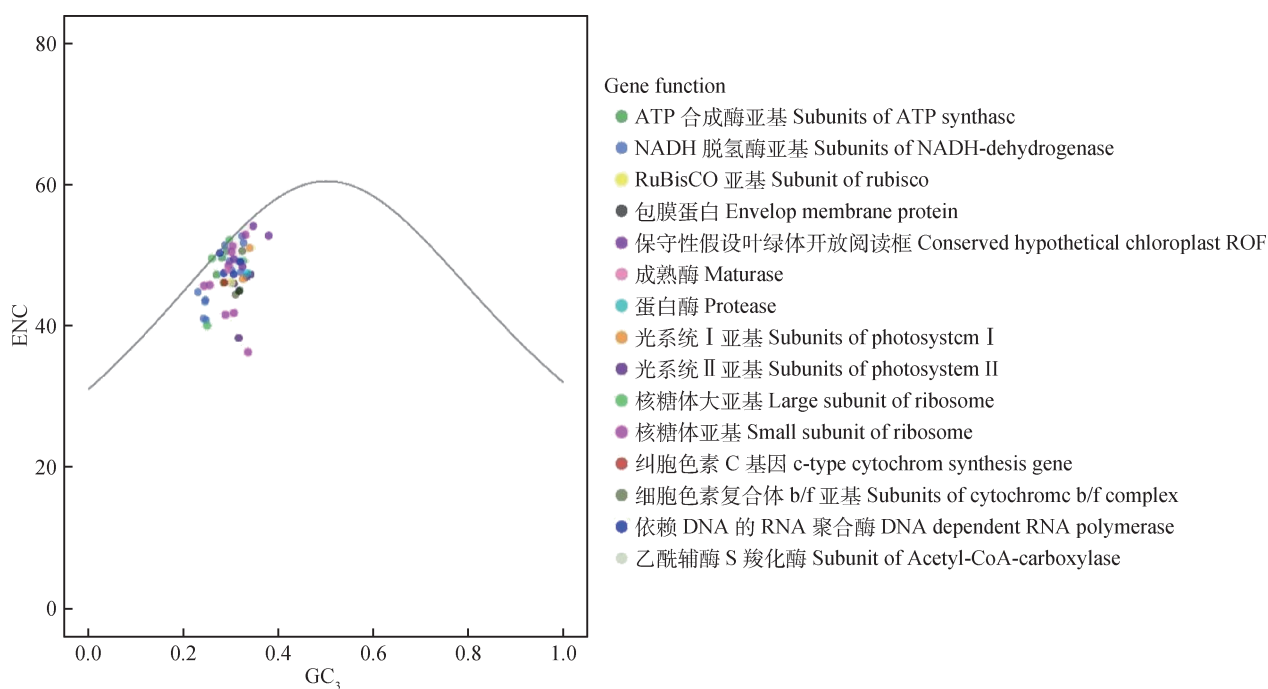


图 5 ENC-plot 绘图分析

Fig. 5 ENC-plot analysis of the chloroplast genome in *P. odorata*

2.5 PR2-plot 绘图分析

PR2-plot 分析结果显示(图 6),香辣蓼叶绿体基因组中各基因在图中四个象限分布并不均匀,不符合突变平衡假说,说明密码子偏好性同时受自然选择压力和突变偏向性的共同影响。大部分基因偏离

对称中心,仅 *atpE*、*rps11*、*ndhD*、*cemA* 等相对接近中心区域,说明这些基因的密码子使用偏好性较弱,第 3 位碱基的突变较为中性,主要受突变驱动。香辣蓼叶绿体基因组有 30 个基因分布于右下角象限,涉及: ATP 合成酶亚基(如 *atpF*)、NADH 脱氢酶亚基(如

ndhE、*ndhF*、*ndhJ*)、成熟酶(*matK*)、翻译起始因子、光系统 II 亚基(如 *psbB*)、核糖体大/小亚基、细胞色素 C 基因(*ccsA*)、细胞色素复合体 b/f 亚基(*petA*、*petB*)、依赖 DNA 的 RNA 聚合酶(如 *rpoC1*)、乙酰辅酶 S 羧化酶(*accD*)、保守假设性开放阅读框(如 *ycf1*、

ycf2、*ycf3*)等。这些基因共同表现出 T 和 G 结尾密码子的使用偏好性($T > A$, $G > C$), 密码子的第 3 位碱基的使用存在偏好性, 主要受到自然选择的影响。说明突变和自然选择共同影响香辣蓼叶绿体基因组密码子的偏好性, 且自然选择的影响更大。

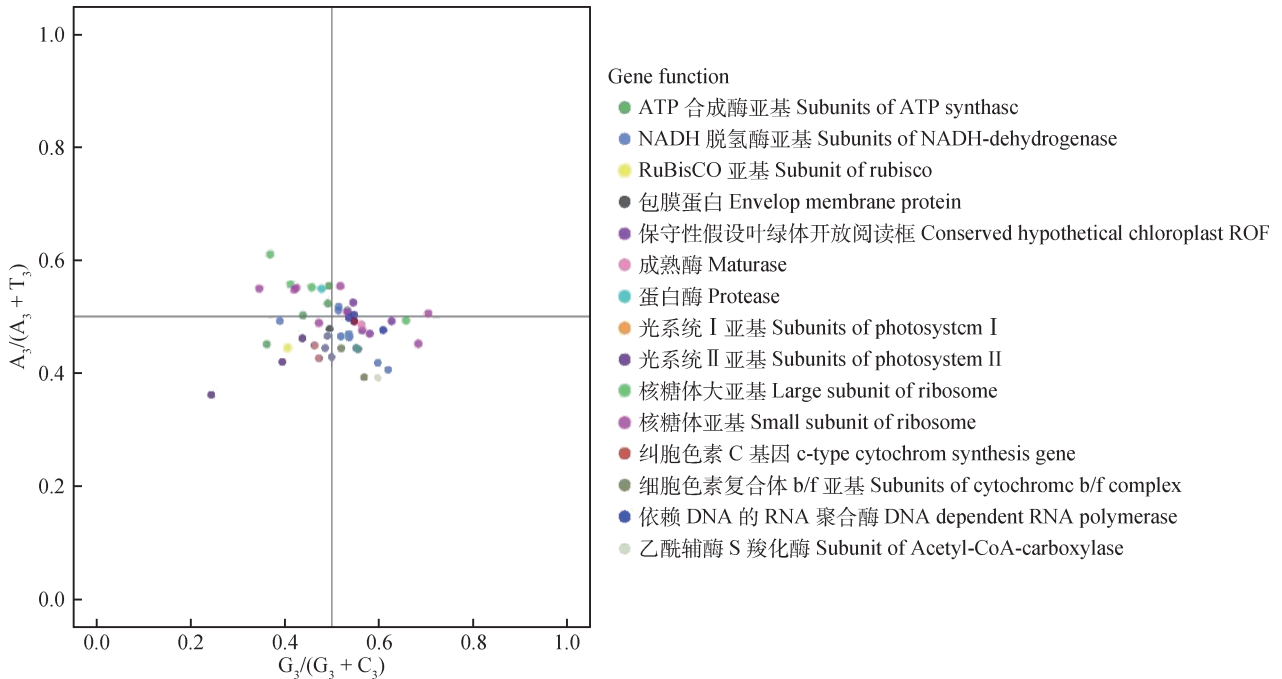


图6 PR2-plot 绘图分析

Fig. 6 PR2-plot analysis of the chloroplast genome in *P. odorata*

2.6 最优密码子特征识别

通过 RSCU 与 Δ RSCU 联合筛选(Δ RSCU ≥ 0.08 且 $RSCU > 1$), 共识别出 10 个最优密码子(表 4), 分别为编码丙氨酸的 GCA、编码精氨酸的 AGA、编码谷氨酰胺的 CAA、编码亮氨酸的 UUG、编码脯氨酸的 CCU、编码丝氨酸的 UAU、编码苏氨酸的 ACA、ACU、编码酪氨酸的 UAU 以及编码缬氨酸的 GUU, 其中有 4 个密码子以 A 结尾, 5 个密码子以 U 结尾, 还有一个密码子以 G 结尾。这一结构特征再次印证了香辣蓼叶绿体基因组偏好使用以 A 或 U 结尾的密码子。

3 讨论

3.1 香辣蓼叶绿体基因组密码子特征

对植物叶绿体基因组密码子使用偏好性及其影响因素的研究, 能为遗传改良和育种等研究提供参考依据^[16,19]。叶绿体基因组密码子偏好性所受选择压力、突变、基因功能及表达水平、生物种类等因素的影响^[12]。其中碱基构成是影响密码子使用偏好性的主要因素之一, 在基因组中, AT 及 GC 含量

与同义密码子使用偏好性紧密相关^[31]。本研究组装得到的香辣蓼叶绿体基因组全长 159 897 bp, 包含大单拷贝区 84 395 bp、小单拷贝区 13 154 bp、两个反向重复区均为 311 74 bp。密码子 GC 含量 $GC_1 > GC_2 > GC_3$ 且均小于 50%, 说明香辣蓼密码子第 3 位碱基拥有较低的 GC 含量较低且偏好使用 A 或 U, 这与葫芦巴(*Trigonella foenum-graecum* L.)^[15]、菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)^[17]、油麦吊云杉(*Picea brachytyla* var. *complanata*)^[10]等植物的叶绿体基因组研究结果相似, 也符合“高等植物密码子偏好以 A 或 U 结尾”的假设^[32]。香辣蓼叶绿体基因组 ENC 均值为 47.23, 全部叶绿体基因密码子的 ENC 值均大于 35, 这表明香辣蓼叶绿体大部分密码子的偏好性较弱。大量研究表明高表达基因的密码子偏好性强^[33]。香辣蓼的 CAI 平均值为 0.17、CBI 平均值为 -0.09、Fop 均值为 0.36, 均表明香辣蓼叶绿体基因组密码子使用偏好性较弱, 由此推测其叶绿体基因表达水平较低。相关性分析研究表明香辣蓼叶绿体基因组密码子使用偏好性受 GC 含量显著驱动, 尤其以第 1、2 位密码子的碱基组成影响为主。

表 4 香蓼叶绿体基因最优密码子分析

Table 4 Optimal codon analysis of the chloroplast gene of *P. odorata*

密码子 Codon	氨基酸 Amino acid	高表达基因 High expression gene		低表达基因 Low expression gene		RSCU	Δ RSCU
		数目 Number	RSCU	数目 Number	RSCU		
<u>GCA</u> **	丙氨酸 Ala	16	0.281	1	0.110	1.12	0.171
GCC		7	0.123	3	0.333	0.72	-0.210
<u>GCG</u>		14	0.246	0	0.000	0.53	0.246
GCU**		20	0.351	5	0.556	1.62	-0.205
<u>AGA</u> **	精氨酸 Arg	45	0.306	1	0.002	1.68	0.304
<u>AGG</u>		32	0.218	3	0.077	0.81	0.141
<u>CGA</u> **		30	0.204	3	0.231	1.38	-0.027
CGC		7	0.048	2	0.231	0.36	-0.183
CGG	天冬酰胺 Asn	19	0.129	1	0.154	0.49	-0.025
CGU**		14	0.095	3	0.077	1.27	0.018
AAC		33	0.277	1	0.333	0.50	-0.056
AAU**		86	0.723	2	0.667	1.50	0.056
GAC	天冬氨酸 Asp	17	0.143	1	0.333	0.40	-0.190
GAU**		102	0.583	2	0.667	1.60	-0.084
UGC	半胱氨酸 Cys	10	0.435	0	0.000	0.61	0.435
UGU**		13	0.565	3	1.260	1.39	-0.695
<u>CAA</u> **	谷氨酰胺 Gln	53	1.003	2	0.742	1.50	0.261
CAG		20	0.274	0	1.050	0.50	-0.776
GAA**	谷氨酸 Glu	77	0.417	3	1.070	1.46	-0.653
<u>GAG</u>		55	0.417	0	0.000	0.54	0.417
GGA**		32	0.368	9	0.529	1.53	-0.161
GGC		9	0.103	2	0.118	0.51	-0.015
<u>GGG</u>	甘氨酸 Gly	21	0.241	0	0.000	0.72	0.241
GGU**		25	0.287	6	0.353	1.24	-0.066
<u>CAC</u>		13	0.260	0	0.000	0.47	0.260
CAU**		37	0.740	1	1.020	1.53	-0.280
AUA	异亮氨酸 Ile	49	0.312	8	0.421	0.96	-0.109
<u>AUC</u>		36	0.229	1	0.053	0.55	0.176
AUU**		72	0.459	10	0.526	1.49	-0.067
CUA		40	0.177	6	0.261	0.83	-0.084
CUC	亮氨酸 Leu	21	0.093	5	0.217	0.42	-0.124
CUG		21	0.039	2	0.087	0.41	-0.048
CUU**		58	0.257	6	0.261	1.29	-0.004
UUA**		30	0.133	3	0.130	1.77	0.003
<u>UUG</u> **	赖氨酸	56	0.248	1	0.043	1.28	0.205
AAA**		88	0.647	6	0.857	1.48	-0.210
<u>AAG</u>		48	0.353	1	0.143	0.51	0.210
<u>AUG</u>		38	1.590	6	1.330	1.00	0.260
UUC	苯丙氨酸 Phe	68	0.463	5	0.385	0.69	0.078
UUU**		79	0.537	8	0.615	1.31	-0.078
CCA**		22	0.244	1	0.200	1.07	0.044
CCC		20	0.222	1	0.200	0.81	0.022
CCG	脯氨酸 Pro	20	0.222	2	0.400	0.59	-0.178
<u>CCU</u> **		28	0.311	1	0.200	1.53	0.111
AGC		13	0.067	1	0.231	0.44	-0.164
AGU**		23	0.119	3	0.067	1.16	0.052
UCA**	丝氨酸 Ser	41	0.212	4	0.200	1.15	0.012
UCC**		39	0.202	5	0.267	1.00	-0.065
UCG		26	0.135	0	0.333	0.60	-0.198
<u>UCU</u> **		51	0.264	2	0.000	1.65	0.264
<u>ACA</u> **	苏氨酸 Thr	23	0.261	1	0.133	1.25	0.128
ACC		11	0.125	1	0.100	0.71	0.025
<u>ACG</u>		23	0.261	0	0.100	0.53	0.161
<u>ACU</u> **		31	0.352	8	0.000	1.51	0.352
UAC	酪氨酸 Tyr	20	1.240	1	1.440	0.41	-0.200
<u>UAU</u> **		62	0.756	3	0.250	1.59	0.506
<u>UGG</u>		45	0.367	3	0.214	1.00	0.153
GUA**		21	0.269	8	0.800	1.42	-0.531
GUC	缬氨酸 Val	16	0.205	1	0.571	0.61	-0.366
GUG		15	0.129	2	0.071	0.54	0.058
GUU**		26	0.333	3	0.143	1.44	0.190

注:**表示 Δ RSCU>0.08,下划线表示高频密码子Note: ** means Δ RSCU>0.08, underline indicates high-frequency codon

同时, Fop 和 CBI 指标与 GC 含量和 ENC 显著相关, 表明在高表达或优选密码子背景下, 用于编码蛋白质的密码子在碱基组成上更倾向于使用 G 和 C。这些特征可能与基因的表达调控、翻译效率优化或进化适应性密切相关^[19]。

3.2 香辣蓼叶绿体基因密码子的主要影响因素

中性绘图分析和 ENC-plot 分析均表明, 香辣蓼叶绿体密码子使用偏好性主要受到自然选择压力影响。PR2-plot 分析进一步揭示, 突变压力与自然选择共同作用于香辣蓼叶绿体基因组的密码子使用模式, 但自然选择的影响更为显著。这与菘蓝叶绿体基因组的研究结果一致^[17]。在香辣蓼叶绿体基因组中结构相对保守的基因 (*psbC*, *psaA*, *atpA*) 的 GC₁ 和 GC₂ 偏高, 表明它们受更强的选择调控, 能量代谢相关的基因 (*atpA*, *psaA*, *psbC*) 和蛋白翻译系统的基因 (核糖体蛋白 *rpl*, *rps*) 在进化过程中受到更多的功能性约束, 因此表现出更显著的密码子使用偏好。这种偏好可能与高表达基因需要优化翻译效率和准确性有关, 也可能反映了叶绿体对能量转换和蛋白合成效率的适应性选择^[34]。然而, 本研究仅基于密码子组成与序列水平分析, 尚未结合转运 RNA 丰度、基因表达数据及叶绿体蛋白翻译速率等实验证据, 因此对选择与突变作用的定量贡献尚需进一步验证。此外, 不同组织或发育阶段的叶绿体可能存在差异的表达调控机制, 仍需结合转录组与蛋白组数据进行综合分析。

3.3 香辣蓼叶绿体基因密码子偏好性的模式

综合高表达密码子和高频密码子信息 ($\Delta\text{RSCU} \geq 0.08$ 且 $\text{RSCU} > 1$) 共筛选出 10 个最优密码子, 其中有 4 个密码子以 A 结尾, 5 个密码子以 U 结尾, 还有一个密码子以 G 结尾。说明香辣蓼叶绿体基因组偏好使用以 A 或 U 结尾的密码子。对云南樟、秋茄、葫芦巴、菘蓝等植物的叶绿体基因组密码子偏好性研究也得出了其叶绿体基因组密码子偏好以 A 或 U 结尾的结论, 说明香辣蓼与其他植物一样偏好使用 A 或 U 结尾的密码子, 同时也说明密码子偏好性在植物种普遍存在^[15]。

4 结论

本研究首次完成了香料作物香辣蓼叶绿体基因组的破译与密码子使用偏好性分析。主要获得

以下结论性认识: 香辣蓼叶绿体基因组密码子使用偏好性整体较弱, 但存在明显的以 A/U 结尾的偏好模式。通过多模型综合分析, 揭示了其密码子使用偏好主要受自然选择压力主导, 而非随机突变。这一发现从叶绿体基因组层面为理解香辣蓼的适应性进化提供了关键证据。此外, 本研究成功筛选出的 10 个最优密码子, 为后续利用合成生物学手段优化香辣蓼外源基因表达效率、开展叶绿体转基因工程提供了精准的分子工具与理论基础。综上所述, 本研究不仅填补了香辣蓼在叶绿体基因组遗传学研究领域的空白, 其获得的高质量基因组序列与密码子使用规律, 也为该物种的分子标记开发、高精度系统发育重建及遗传改良育种奠定了坚实基础。

参考文献

- [1] 王冰, 金静婉, 陈少凤, 等. 香辣蓼, 中国春蓼属(蓼科)一新归化植物[J]. 热带亚热带植物学报, 2019, 27(4):465-468
WANG B, JIN J W, CHEN S F, et al. *Persicaria odorata* (Lour.) Soják. (Polygonaceae), a newly naturalized plant in China[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2019, 27(4):465-468
- [2] ŘEBÍČKOVÁ K, BAJER T, ŠILHA D, et al. Chemical composition and determination of the antibacterial activity of essential oils in liquid and vapor phases extracted from two different Southeast Asian herbs-*Houttuynia cordata* (Saururaceae) and *Persicaria odorata* (Polygonaceae) [J]. Molecules, 2020, 25(10):2432
- [3] STARKENMANN C, LUCA L, NICLASS Y, et al. Comparison of volatile constituents of *Persicaria odorata* (Lour.) soják (*Polygonum odoratum* (Lour.) and *Persicaria hydropiper* L. Spach (*Polygonum hydropiper* L.) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(8):3067-3071
- [4] 毛健. 黄酒酿造关键技术与工程应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2020:5-20
MAO JIAN. Key Technologies and Engineering Applications of Huangjiu Brewing[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2020:5-20
- [5] SHAVANDI M, HADDADIAN Z, ISMAIL M R. *Eryngium foetidum* L. *Coriandrum sativum* and *Persicaria odorata* L.: a review [J]. Journal of Asian Scientific Research, 2012, 2(8):410
- [6] ALMARIE A, MAMAT A, WAHAB Z, et al. Chemical composition and phytotoxicity of essential oils isolated from Malaysian plants [J]. Allelopathy Journal, 2016, 37(1): 55-70
- [7] CHANSIW N, PARADEE N, CHOTINANTAKUL K, et al. Anti-hemolytic, antibacterial and anti-cancer activities of methanolic extracts from leaves and stems of *Polygonum odoratum* [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2018, 8(12):580
- [8] ABUBAKAR M A, SHARIFF A H M, ZULKIFLI R M, et al. Antibacterial properties of *Persicaria minor* (Huds.) ethanollic and aqueous-ethanollic leaf extracts[J]. Journal of Applied Pharmaceutical Science, 2015:50-56

- [9] ABDUL BASIT M, ABDUL KADIR A, LOH T C, et al. Effects of inclusion of different doses of *Persicaria odorata* leaf meal (POLM) in broiler chicken feed on biochemical and haematological blood indicators and liver histomorphological changes[J]. *Animals*, 2020, 10(7):1209
- [10] 丁淑金, 魏健生, 陆莹玲, 等. 油麦吊云杉叶绿体基因组特征及密码子偏好性分析[J]. 中南林业科技大学学报, 2023, 43(4):156-163, 190
DING S J, WEI J S, LU Y L, et al. Characteristics and Codon usage bias of *Picea brachytyla* var. *complanata* chloroplast genome[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2023, 43(4):156-163, 190
- [11] 洪森荣, 陈悦, 蒋晓峰, 等. 高丹草叶绿体基因组特征及密码子偏好性分析[J]. 草业科学, 2024, 41(12):2939-2953
HONG S R, CHEN Y, JIANG X F, et al. Analysis of the complete chloroplast genome sequence characteristics and code usage bias of *Sorghum bicolor* × *Sorghum sudanense* hybrid [J]. *Pratacultural Science*, 2024, 41(12):2939-2953
- [12] LIU F X, MOVAHEDI A, YANG W G, et al. The complete chloroplast genome and characteristics analysis of *Callistemon rigidus* R. Br[J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, 47(7):5013-5024
- [13] 夏晞, 彭劲谕, 王大玮, 等. 3种榕属叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 西北林学院学报, 2022, 37(5):88-94
XIA X, PENG J Y, WANG D W, et al. Codon usage bias in chloroplast genomes of three *Ficus* species [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2022, 37(5):88-94
- [14] DANIELL H, LIN C S, YU M, et al. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering [J]. *Genome Biology*, 2016, 17(1):134
- [15] 杜明川, 王伟, 鲍海娟, 等. 葫芦巴叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 草地学报, 2024, 32(2):409-418
DU M C, WANG W, BAO H J, et al. Analysis of codon bias in chloroplast genome of *Trigonella foenum—graecum* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(2):409-418
- [16] YANG H Y, WANG L Q, CHEN H M, et al. Phylogenetic analysis and development of molecular markers for five medicinal *Alpinia* species based on complete plastome sequences[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1):431
- [17] 余志伟, 陈垣, 郭凤霞, 等. 菰蓝叶绿体基因组密码子使用偏好性分析[J]. 草地学报, 2024, 32(8):2374-2385
YU Z W, CHEN Y, GUO F X, et al. Analysis of Codon usage preference of chloroplast genome of *Isatis indigotica* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(8):2374-2385
- [18] 赵森, 邓力华, 陈芬. 秋茄叶绿体基因组密码子使用偏好性分析[J]. 森林与环境学报, 2020, 40(5):534-541
ZHAO S, DENG L H, CHEN F. Codon usage bias of chloroplast genome in *Kandelia obovata* [J]. *Journal of Forest and Environment*, 2020, 40(5):534-541
- [19] SHEN L W, CHEN S Q, LIANG M, et al. Comparative analysis of Codon usage bias in chloroplast genomes of ten medicinal species of Rutaceae[J]. *BMC Plant Biology*, 2024, 24(1):424
- [20] YANG Y, LIU X Y, HE L X, et al. Comparative chloroplast genomics and codon usage bias analysis in *Hevea* Genus[J]. *Genes*, 2025, 16(2):201
- [21] YANG X M, WANG Y, GONG W X, et al. Comparative analysis of the Codon Usage pattern in the chloroplast genomes of Gnetales species[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25(19):10622
- [22] 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 Biology*, 2020, 21(1):241
- [23] SHI L C, CHEN H M, JIANG M, et al. CPGAVAS2, an integrated plastome sequence annotator and analyzer [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47(W1):W65-W73
- [24] LIU S Y, NI Y, LI J L, et al. CPGView: A package for visualizing detailed chloroplast genome structures [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2023, 23(3):694-704
- [25] 曹建杰, 辉朝茂, 向自乾, 等. 巨龙竹叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 西南农业学报, 2025, 38(4):673-682
CAO J J, HUI C M, XIANG Z Q, et al. Condon usage bias in chloroplast genome of *Dendrocalamus sinicus* [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2025, 38(4):673-682
- [26] SUEOKA N. Near homogeneity of PR2-bias fingerprints in the human genome and their implications in phylogenetic analyses [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2001, 53(4):469-476
- [27] SUEOKA N. Intrastrand parity rules of DNA base composition and usage biases of synonymous codons[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1995, 40(3):318-325
- [28] ROMERO H, ZAVALA A, MUSTO H. Codon usage in *Chlamydia trachomatis* is the result of strand-specific mutational biases and a complex pattern of selective forces [J]. *Nucleic Acids Research*, 2000, 28(10):2084-2090
- [29] SUEOKA N. Two aspects of DNA base composition: G+C content and translation-coupled deviation from intra-strand rule of A=T and G=C[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1999, 49(1):49-62
- [30] 赵振宁, 孙浩田, 宋雨茹, 等. 山楂属植物叶绿体基因组特征与密码子偏好性分析[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(2):504-517
ZHAO Z N, SUN H T, SONG Y R, et al. Chloroplast genome characteristics and codon usage bias analysis of *Crataegus* L [J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 39(2):504-517
- [31] TANG D F, WEI F, KASHIF M H, et al. Analysis of chloroplast differences in leaves of rice isonuclear alloplasmic lines [J]. *Protoplasma*, 2018, 255(3):863-871
- [32] WILBUR H CAMPBELL G G. Codon usage in higher plants, green algae, and cyanobacteria[J]. *Plant Physiology*, 1990, 92(1):1-11
- [33] VICARIO S, MORIYAMA E N, POWELL J R. Codon usage in twelve species of *Drosophila* [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2007, 7:226
- [34] ZHANG Y, WANG Z F, GUO Y N, et al. Complete chloroplast genomes of *Leptodermis scabrada* complex: comparative genomic analyses and phylogenetic relationships [J]. *Gene*, 2021, 791:145715

(责任编辑 彭露茜)