

爪哇香茅叶绿体基因组的组装与序列分析

罗佳霖¹, 窦秋玉¹, 郭大中¹, 陈浩文¹, 罗丽晶¹, 李佳屹¹, 范源洪^{1,2*}

1. 云南农业大学农学与生物技术学院, 云南昆明 650201; 2. 云南省高原特色农业产业研究院, 云南昆明 650201

摘要: 本研究以爪哇香茅草为试验材料, 采用 Illumina NovaSeq 6000 测序平台对爪哇香茅的 DNA 序列进行测序。使用 GetOrganelle v1.7.7.0 软件对测序数据进行组装, 构建叶绿体基因组。参照已知的曲序香茅叶绿体基因组, 对爪哇香茅草叶绿体基因组进行注释, 并进行基因组特征分析和进化树构建。研究结果表明: 爪哇香茅叶绿体基因组全长为 139 823 bp, 其结构为典型的环状四分体, GC 含量为 38.45%, AT 含量为 61.55%, 包括长度为 82 214 bp 的 1 个大单拷贝区 (LSC)、长度为 21 368 bp 的 1 对反向重复区 (IR) 和 1 个 14 873 bp 的小单拷贝区 (SSC); 在爪哇香茅叶绿体基因组中共注释到 130 个基因 (其中包含 85 个 mRNA 基因、37 个 tRNA 基因、8 个 rRNA 基因); 此外, 注释到的这些基因中含有 16 个双拷贝基因, 所占比例为 12.31%, 分别是 7 个 tRNA 基因、4 个自我复制基因、4 个 rRNA 基因、2 个未知功能蛋白基因、1 个 NADH 脱氢酶亚基基因。在爪哇香茅叶绿体基因组中检测到 144 个 SSR 位点, 其中单核苷酸重复占绝对优势, 以 A/T 为主; 对 4 个香茅属物种的反向重复序列边界进行比较后发现, 曲序香茅、喜马拉雅香茅与爪哇香茅在基因结构和种类上表现出极高的同源性, 其中 *ndhH* 基因均位于小单拷贝区 (SSC), 而 *ndhF* 基因则均位于 SSC 与 IRb 的边界区域, 但爪哇香茅在 LSC 区比曲序香茅 (*Cymbopogon flexuosus*) 和喜马拉雅香茅 (*Cymbopogon pospischilii*) 多出一个 *rps3* 基因; 进化树分析表明, 爪哇香茅草与喜马拉雅香茅、柠檬草 (*Cymbopogon citratus* MK593547.1) 亲缘关系最近。本研究完成了爪哇香茅完整叶绿体基因组组装及注释, 解析了爪哇香茅叶绿体基因组特征, 初步探明爪哇香茅在香茅属内的系统发育关系地位, 为香茅属植物系统发育、遗传多样性和基因组研究, 以及重要功能基因的挖掘利用奠定良好基础。

关键词: 爪哇香茅草; 叶绿体基因组; 组装; 注释; 进化树分析

中图分类号: S573.4 文献标志码: A

Assembly and Sequence Analysis of the Chloroplast Genome of *Cymbopogon winterianus*

LUO Jialin¹, DOU Qiuyu¹, GUO Dazhong¹, CHEN Haowen¹, LUO Lijing¹, LI Jiayi¹, FAN Yuanhong^{1,2*}

1. College of Agriculture and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China; 2. Yunnan Plateau Characteristic Agricultural Industry Research Institute, Kunming, Yunnan 650201, China

Abstract: In this study, *Cymbopogon winterianus* was used as the experimental material, and the DNA sequence of *C. winterianus* was sequenced using the Illumina NovaSeq 6000 sequencing platform. The sequencing data were assembled with GetOrganelle v1.7.7.0 software to construct the chloroplast genome. Referring to the known chloroplast genome of *C. flexuosus*, the chloroplast genome of *C. winterianus* was annotated, and the genomic characteristics were analyzed and a phylogenetic tree was constructed. The chloroplast genome of *C. winterianus* was 139 823 bp in length, with a typical circular quadripartite structure. The GC content was 38.45%, and the AT content was 61.55%. It included a large single-copy region (LSC) with a length of 82 214 bp, a pair of inverted repeat regions (IR) with a length of 21 368 bp, and a small single-copy region (SSC) of 14 873 bp. A total of 130 genes were annotated in the chloroplast genome of *C. winterianus* (including 85 mRNA genes, 37 tRNA genes, and 8 rRNA genes). In addition, among the annotated genes,

收稿日期 2025-05-12; 接受日期 2025-05-26

基金项目 云南省重大科技专项计划项目 (No. 2019ZG00903); 国家科技资源共享服务平台项目 (No. NTPGRC2024-015)。

作者简介 罗佳霖 (1999—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 药用植物资源评价与种质创新。*通信作者 (Corresponding author): 范源洪 (FAN Yuanhong), E-mail: 2247888136@qq.com。

there were 16 double-copy genes, accounting for 12.31%, including 7 tRNA genes, 4 self-replication genes, 4 rRNA genes, 2 protein genes with unknown functions, and 1 NADH dehydrogenase subunit gene. A total of 144 SSR loci were detected in the chloroplast genome of *C. winterianus*, with mononucleotide repeats being absolutely dominant, mainly A/T. After comparing the boundaries of the inverted repeat sequences of four *Cymbopogon* species, it was found that *C. flexuosus*, *C. pospischilii*, and *C. winterianus* exhibited extremely high homology in gene structure and species. Among them, the *ndhH* gene was located in the small single-copy region (SSC), and the *ndhF* gene was located in the boundary region between the SSC and IRb. However, *C. winterianus* had an additional *rps3* gene in the LSC region compared with *C. flexuosus* and *C. pospischilii*. Phylogenetic tree analysis showed that *C. winterianus* had the closest genetic relationship with *C. pospischilii* and *C. citratus* (MK593547.1). This study completed the assembly and annotation of the complete chloroplast genome of *C. winterianus*, analyzed the characteristics of the chloroplast genome of *C. winterianus*, and preliminarily explored the phylogenetic position of *C. winterianus* within the genus *Cymbopogon*. It would lay a good foundation for the phylogenetic, genetic diversity, and genomic studies of *Cymbopogon* plants, as well as for the discovery and utilization of important functional genes.

Keywords: *Cymbopogon winterianus*; chloroplast genome; assembly; annotation; phylogenetic tree analysis

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.10.006

香茅属 (*Cymbopogon* Spreng.) 作为禾本科 (Poaceae) 中分布广泛的属之一, 其分布范围覆盖了非洲、亚洲以及美洲地区^[1]。该属植物原生于东半球的热带及亚热带区域, 并且在美国佛罗里达州南部与加利福尼亚州亦有栽培。香茅在我国的主要产地包括云南、广西、福建、海南等^[2]。香茅属物种一般统称为香茅草, 以不同原产地和商业名称而闻名, 在食品、药品、化妆品研发、生产中运用广泛。香茅草是一种富含精油的芳香植物, 也是一种重要的香料作物, 具有丰富的挥发性成分和独特的香气特征^[3], 如柠檬醛、香茅醛、香叶醇等, 所以香茅草精油常用于生产芳香工业商品。爪哇香茅 (*Cymbopogon winterianus*) 又称枫茅, 是禾本科香茅属中的一个重要物种, 是一种多年生芳香草本植物, 具强烈香气, 其新鲜叶片有丰富的精油, 精油中富含香茅醛 (citronellal), 品质和价值较高。

香茅在不同国家有多种用药方式和治疗适应症。通过长期的医疗实践和积累, 不同民族和地区形成了各自独特的传统用药知识。据《本草纲目》记载, 香茅的味道辨识度较高, 气味香甜、浓郁且温和, 香茅的主要功效是祛风通络、温中止痛、止泻, 可治疗感冒引起的头身疼痛、风湿痹痛等^[4-6]。TIMUNG 等^[7]研究表明香茅草还可作为镇痛药、抗惊厥药、抗焦虑药等。香茅的使用部位和传统用途都各不相同。在新加坡、泰国和越南等国家, 香茅已成为传统烹饪中不可或缺的香料^[8-9]。作为一种天然环保的香料作物, 香茅不仅资源丰富, 还具备生长周期短、收益迅速的特

性。随着全球市场需求的持续增长, 香茅挥发油的市场潜力正不断扩大, 这对当地农业及农村经济的发展产生了积极的推动作用。由于香茅草具有生长迅速、环境适应力强、易于种植等优势, 以及人民消费观念和生活水平的变化, 近年来具有逐年发展的趋势, 在云南、广西和福建等地区规模化种植, 并进行产业化开发利用^[10]。近年来, 云南省金平县大力发展香茅草产业, 实现了规模化种植。2021年金平县的一个种植村的鲜香茅草产量近千吨, 为农民创造收入 52.5 万元, 香茅草作为金平县农民脱贫致富的产业, 已从粗放生产迈向高效集约生产的发展道路。2016年广西防城港市四百多农户开展香茅草种植面积达 133.3 hm², 年产量超 2000 t。广西北部湾经济区依托其自然资源优势以及地理优势, 结合“一带一路”发展规划发展香茅精深加工产品, 香茅产业具有广阔市场前景^[11]。香茅种植是一个具有显著经济价值和社会效益的潜在农业项目。目前, 香茅草的研究主要集中在精油及挥发性成分等方面^[12-13], 而有关香茅草的叶绿体全基因的详细解析尚未见报道。

叶绿体是植物进行光合作用的主要场所, 也是植物能量转化过程中的重要细胞器, 具有自主遗传体系^[14]。与核基因组相比, 叶绿体基因组具有母系遗传、结构高度保守、全长序列短 (120~210 kb)、进化速率适中等优点^[15-16]。因此, 叶绿体基因组的分析对于研究植物分类、物种多样性和系统发育等方面具有重要意义^[17]。叶绿体基因组一般为双链环状分子, 具有 1 个典型的四分体

结构,包括大单拷贝区 (large single copy region, LSC)、小单拷贝区 (small single copy region, SSC)、反向重复区 A (inverted repeat region A, IRA) 和反向重复区 B (inverted repeat region B, IRB)^[18]。因此研究叶绿体基因组结构、功能和物种鉴定,能较好地解释许多类群不同阶元水平上的系统发育争议^[19],有利于开展香茅草的性状改良、分类鉴定和分子鉴定,对提高香茅草品质和产量具有重要意义^[20]。为了解析爪哇香茅在香茅属中的系统发育地位,本研究以爪哇香茅草为主要研究对象,利用高通量测序技术和生物信息学技术获得其叶绿体基因组、结构特征和系统发育等特征,为香茅属种质资源的遗传背景和多样性研究、种质鉴定和育种利用提供理论基础和科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

本研究选取保存在国家热带植物种质资源库特色香料分库中来源于海南万宁的 1 株优质爪哇香茅 (编号 WN2) 作为试验材料。取其新鲜嫩叶,采用去离子水对叶片进行彻底清洗,以排除潜在的杂质和污染物。随后使用液氮对叶片进行快速冷冻处理,并置于 -80 °C 超低温冰箱中保存,用于后续测序分析。

1.2 方 法

1.2.1 基因组 DNA 提取及测序 采集爪哇香茅新鲜叶片,使用改良的 CTAB 法提取叶片 DNA,使用微量分光光度计及琼脂糖凝胶电泳检测总 DNA 质量,利用 Illumina NovaSeq 6000 平台进行测序分析,运用 fastp 软件进行全面的数据质量控制。经过上述处理,最终获得 9.39 G 数据,共得到 62 569 300 条 clean reads, Q20 为 97.08%, Q30 为 92.64%, 这些数据将用于爪哇香茅草叶绿体全基因组的组装与注释工作。

1.2.2 叶绿体基因组组装及注释 使用 GetOrganelle (v1.7.7.0) 软件进行叶绿体基因组组装。组装命令如下: get_organelle_from_reads.py-1 sample_1.fq.gz-2 sample_2.fq.gz-o sample-R 5-k 21, 45, 65, 85, 105, 127-F embplant_pt-t 5。组装的基因组经过严格评估:首先,使用 BWA 软件将原始测序结果与参考基因组对齐;然后,利用 SAMtools 软件计算基因组的覆盖深度,并剔除覆盖率过低的叶绿体数据;随后,使用 Geneious 软

件对叶绿体数据进行可视化,并选择结果中构型一致的数据进行后续分析。

1.2.3 叶绿体基因组特征分析 采用 2 种方法对爪哇香茅叶绿体基因组进行注释,以确保注释结果的准确性。方法 1:采用 Prodigal v2.6.3 软件对爪哇香茅草叶绿体基因组进行编码基因 (CDS) 预测。利用 hmmer v3.1b2 和 aragorn v1.2.38 软件对爪哇香茅叶绿体基因组的核糖体 RNA (rRNA) 和转运 RNA (tRNA) 基因分别进行预测。方法 2:利用 blast v2.6 软件将爪哇香茅叶绿体基因组与 NCBI 上已发表的爪哇香茅近缘物种 (柠檬草、曲序香茅等) 序列进行提取比对,得到叶绿体基因组注释信息。将 2 种注释结果进行对比,去除错误基因、注释冗余基因,得到最终结果。使用 OGDRAW (<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>) 在线软件进行结果可视化,获得爪哇香茅叶绿体基因组图谱。使用 MISA v1.0 软件分析爪哇香茅草叶绿体全基因组 SSR 位点,并使用 IRscope (<http://genocat.tools/tools/irscope.html>) 在线软件对爪哇香茅、玉米 (*Zea mays*)、柠檬草 (*C. citratus*)、小麦 (*Triticum aestivum*)、水稻 (*Oryza sativa*)、曲序香茅 (*C. flexuosus*) 和喜马拉雅香茅 (*C. pospischilii*) 7 种禾本科植物进行 IRs 边界变异分析。对组装得到的爪哇香茅叶绿体基因组和同属物种叶绿体基因组使用 MAFFT (7.525) 软件进行序列比对,使用 iqtree (1.6.12) 软件默认参数及模型构建系统发育树,并进行 1000 次构树。

2 结果与分析

2.1 叶绿体基因组结构

为解析爪哇香茅叶绿体基因组,本研究采用 Illumina NovaSeq 6000 平台进行 DNA 测序。经过组装,获得爪哇香茅草叶绿体基因组,其总长度为 139 823 bp,呈现出典型的四分区域结构,包含 LSC (大单拷贝区)、SSC (小单拷贝区)、IRA (反向重复区 A) 和 IRB (反向重复区 B) 4 个区段 (图 1),长度分别为 82 214、14 873、21 368、21 368 bp。在该基因组中,GC 含量为 38.45%, AT 含量为 61.55%, GC 含量在各分区中的含量差异显著。4 个分区中 GC 含量由高到低依次为 IR 区 (44.57%) > LSC 区 (36.28%) > SSC 区 (32.87%) (表 1)。

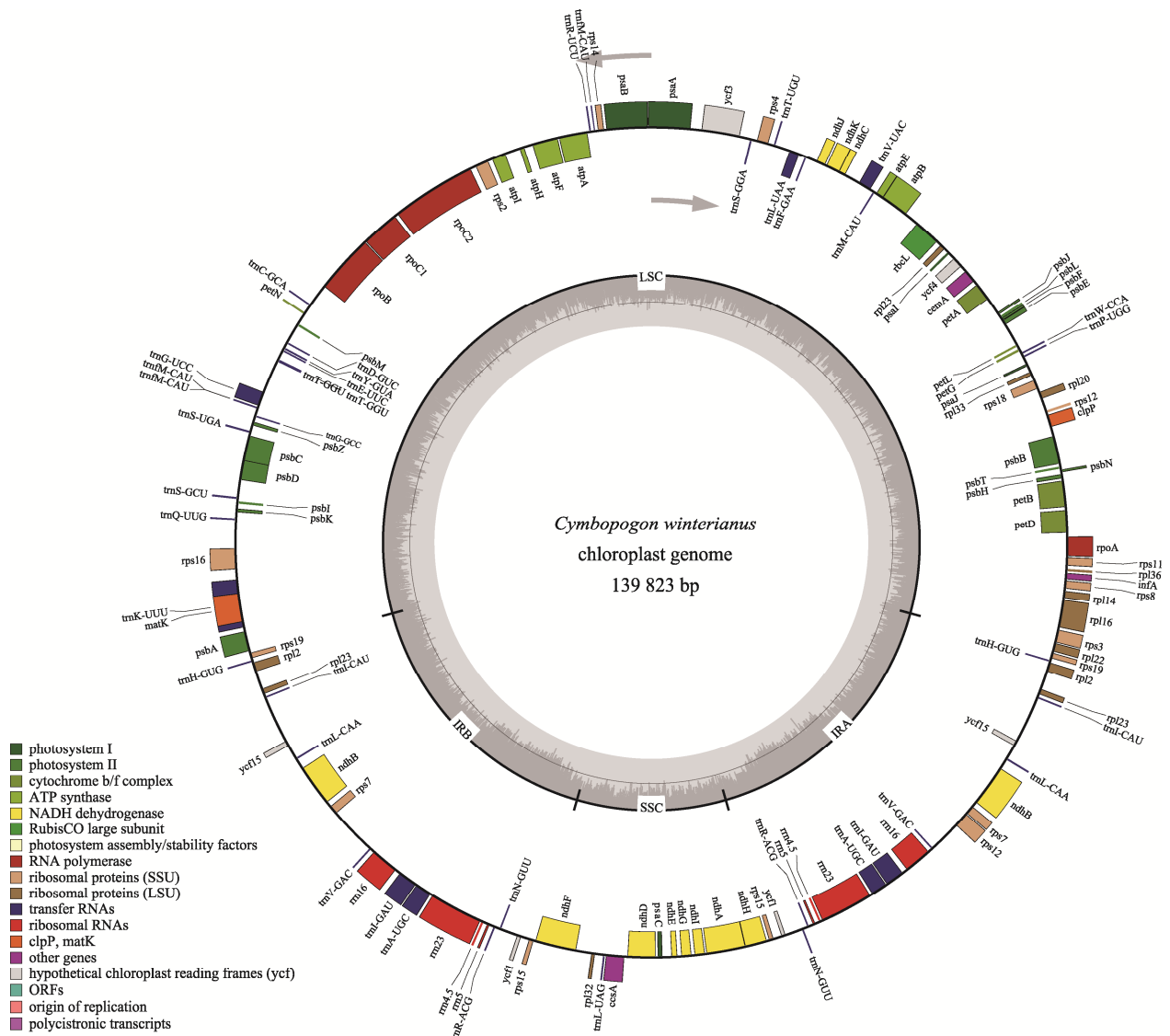


图 1 爪哇香茅叶绿体基因组

Fig. 1 Chloroplast genome of *C. winterianus*

表 1 爪哇香茅叶绿体基因组碱基组成

Tab. 1 Base composition of chloroplast genome of *C. winterianus*

区域 Area	A/%	T/%	C/%	G/%	长度 Length/bp	GC/%
LSC	32.05	31.66	18.31	17.97	82 214	36.28
SSC	35.35	31.78	16.89	15.98	14 873	32.87
IRA/IRB	27.76	27.67	22.31	22.26	42 736	44.57
总体	31.09	30.46	19.38	19.07	139 823	38.45

2.2 叶绿体基因组特征

在爪哇香茅叶绿体基因组 139 823 bp 的序列中,共注释到 130 个基因(其中包含 85 个 mRNA 基因、37 个 tRNA 基因、8 个 rRNA 基因)(表 2)。根据基因所预测出的功能,又可将所有基因分为 4 个大类,分别是光合作用相关基因、自我复制相关基因、其他基因、未知功能基因。

由表 2 可知,爪哇香茅叶绿体基因组中有 16 个双拷贝基因,占全基因组的 12.31%,分别是 7 个 tRNA 基因 (*trnA-UGC*、*trnI-CAU*、*trnI-GAU*、*trnL-CAA*、*trnN-GUU*、*trnR-ACG*、*trnV-GAC*)、4 个自我复制相关基因 (*rpl2*、*rpl23*、*rps12*、*rps7*)、4 个 rRNA 基因 (*rrn16*、*rrn23*、*rrn4.5*、*rrn5*)、2 个未知功能蛋白基因 (*ycf1*、*yc15*) 和 1 个 NADH

脱氢酶亚基基因 (*ndhB*)。需要注意的是, *ycf1*、*ycf3*、*ycf4*、*yc15* 这 4 个基因在爪哇香茅草叶绿体基因组中未能鉴定出蛋白功能, 还需要通过更多、更先进的实验方法和技术对它们的功能进行研究和探索。

此外, 爪哇香茅草叶绿体基因组中的大部分基因均不含内含子, 只有少数基因中含有 1 个或

2 个内含子, 其中有 15 个基因含有 1 个内含子, 分别是 *ndhA*、*ndhB*、*petB*、*petD*、*atpF*、*rpl16*、*rpl2*、*rps16*、*rpoC1*、*trnA-UGC*、*trnG-GCC*、*trnI-GAU*、*trnK-UUU*、*trnL-UAA*、*trnV-UAC*, 3 个基因含有 2 个内含子, 分别为 *rps12*、*clpP*、*ycf3*, 并且在爪哇香茅草叶绿体基因组中未鉴定出假基因。

表 2 爪哇香茅叶绿体基因组注释基因
Tab. 2 Annotated genes in chloroplast genome of *C. winterianus*

基因分类 Category of genes	基因分组 Group of genes	基因名称 Name of genes
光合作用相关基因	Subunits of photosystem I	<i>psaA</i> 、 <i>psaB</i> 、 <i>psaC</i> 、 <i>psaI</i> 、 <i>psaJ</i>
	Subunits of photosystem 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>
	Subunits of NADH dehydrogenase	<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>
	Subunits of cytochrome b/f complex	<i>petA</i> 、 <i>petB</i> [*] 、 <i>petD</i> [*] 、 <i>petG</i> 、 <i>petL</i> 、 <i>petN</i>
	Subunits of ATP synthase	<i>atpA</i> 、 <i>atpB</i> 、 <i>atpE</i> 、 <i>atpF</i> [*] 、 <i>atpH</i> 、 <i>atpI</i>
	Large subunit of rubisco	<i>rbcL</i>
	Subunits photochlorophyllide reductase	
自我复制相关基因	Proteins of large ribosomal subunit	<i>rpl14</i> 、 <i>rpl16</i> [*] 、 <i>rpl2</i> ^{*(2)} 、 <i>rpl20</i> 、 <i>rpl22</i> 、 <i>rpl23(2)</i> 、 <i>rpl32</i> 、 <i>rpl33</i> 、 <i>rpl36</i>
	Proteins of small ribosomal subunit	<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(2)</i> 、 <i>rps8</i>
	Subunits of RNA polymerase	<i>rpoA</i> 、 <i>rpoB</i> 、 <i>rpoC1</i> [*] 、 <i>rpoC2</i>
	Ribosomal RNAs	<i>rrn16(2)</i> 、 <i>rrn23(2)</i> 、 <i>rrn4.5(2)</i> 、 <i>rrn5(2)</i>
	Transfer RNA	<i>trnA-UGC</i> ^{*(2)} 、 <i>trnC-GCA</i> 、 <i>trnD-GUC</i> 、 <i>trnE-UUC</i> 、 <i>trnF-GAA</i> 、 <i>trnG-UCC</i> 、 <i>trnG-GCC</i> [*] 、 <i>trnH-GUG</i> 、 <i>trnI-CAU(2)</i> 、 <i>trnI-GAU</i> ^{*(2)} 、 <i>trnK-UUU</i> [*] 、 <i>trnL-CAA(2)</i> 、 <i>trnL-UAA</i> [*] 、 <i>trnL-UAG</i> 、 <i>trnM-CAU</i> 、 <i>trnN-GUU(2)</i> 、 <i>trnP-UGG</i> 、 <i>trnQ-UUG</i> 、 <i>trnR-ACG(2)</i> 、 <i>trnR-UCU</i> 、 <i>trnS-GCU</i> 、 <i>trnS-GGA</i> 、 <i>trnS-UGA</i> 、 <i>trnT-GGU</i> 、 <i>trnT-UGU</i> 、 <i>trnV-GAC(2)</i> 、 <i>trnV-UAC</i> [*] 、 <i>trnW-CCA</i> 、 <i>trnY-GUA</i> 、 <i>trnYm-CAU</i>
其他基因	Maturase	<i>matK</i>
	Protease	<i>clpP</i> ^{**}
	Envelope membrane protein	<i>cemA</i>
	Acetyl-CoA carboxylase	
	c-type cytochrome synthesis gene	<i>ccsA</i>
	Translation initiation factor	<i>infA</i>
未知功能基因	Conserved hypothetical chloroplast ORF <i>ycf1(2)</i> 、 <i>ycf3</i> ^{**} 、 <i>ycf4</i> 、 <i>ycf15(2)</i>	

注: *为含有 1 个内含子的基因; **为含有 2 个内含子的基因; (2)为拷贝数大于 1 的基因, 括号中的数字表示该基因拷贝数。

Note: * is a gene containing one intron; ** is a gene containing two introns; (2) is a gene with a copy number greater than 1, and the number in the parentheses indicates the copy number of this gene.

2.3 简单重复序列分析

利用 MISA v1.0 软件在爪哇香茅草叶绿体基因组中, 共鉴定出 144 个符合筛选标准的 SSR 位点, 统计分析结果如图 2 所示。在爪哇香茅草叶绿体基因组中共有 5 种类型的核苷酸重复单元, 数量由高到低依次为: 单核苷酸重复单元 (130 个)、四核苷酸重复单元 (8 个)、双核苷酸重复单元 (3

个)、五核苷酸重复单元数量较 (2 个)、三核苷酸重复单元 (1 个)。在这些 SSR 位点中, A/T 重复基元数量占绝对优势, 达到 124 个, 占总数的 89.1%。其次是 G/C、AT、AACG/CGTT、AAAAT/TTTAA, 分别占 4.1%、1.3%、1.3%、1.3%。这些结果说明, A/T 碱基在爪哇香茅草叶绿体基因组中的优势地位, 表现出明显的碱基偏好性。

这与爪哇香茅草叶绿体基因组中 61.55% 的 AT 含量相吻合,可能与 AT 碱基对相对于 GC 碱基对更易于解链的特性有关。

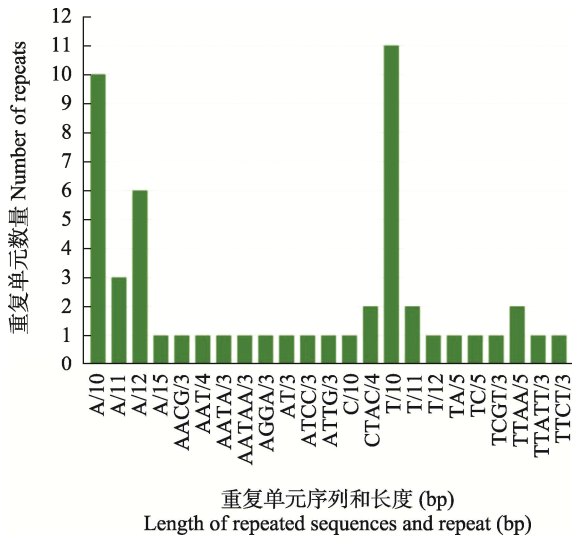


图 2 爪哇香茅叶绿体基因组中 SSR 位点类型及数量
Fig. 2 Types and numbers of SSR loci in chloroplast genome of *C. winterianus*

2.4 禾本科 IR 区边界比较分析

将爪哇香茅与 6 个禾本科植物(玉米、小麦、水稻、柠檬草、曲序香茅和喜马拉雅香茅)的叶绿体基因组 IR 区域边界进行比较分析,结果见图 3。这些禾本科植物的叶绿体基因组总长度介于 134 502~140 384 个碱基对之间。按照基因组

长度从小到大的顺序排列依次为:水稻、小麦、曲序香茅、爪哇香茅、柠檬草、喜马拉雅香茅和玉米。曲序香茅、喜马拉雅香茅与爪哇香茅在基因结构和种类上表现出极高的同源性,其 *ndhH* 基因均位于小单拷贝区 (SSC),其长度为 1181 个碱基对,而 *ndhF* 基因则位于 SSC 与 IRb 的边界区域,长度为 2217 个碱基对。但在 LSC 区爪哇香茅比曲序香茅、喜马拉雅香茅多 1 个 *rps3* 基因。

2.5 系统发育分析

为探究爪哇香茅在香茅属中的系统发育地位,将测序获得的爪哇香茅叶绿体基因组序列与 NCBI 数据库中获取的 16 个香茅属植物的叶绿体基因组序列进行多重序列比对,并通过 iqtree 软件构建系统发育树(图 4)。结果显示,曲序香茅首先从香茅属中分化出来,与爪哇香茅遗传距离最大,说明其与爪哇香茅的亲缘关系最远;在系统发育树中,其余 14 个不同种的香茅属植物聚类为 1 个分支,其中柠檬草 (*C. citratus* MK593547.1)、喜马拉雅香茅 (*C. pospischilii*) 与爪哇香茅的遗传距离最小,表明爪哇香茅与柠檬草 (*C. citratus* MK593547.1)、喜马拉雅香茅之间的亲缘关系最近。值得注意的是,除柠檬草 (*C. citratus* MK593547.1) 与另外 2 个柠檬草没有聚在同一分支上,而是与 3 个爪哇香茅聚在一起外,其他相同种的样本均各自聚在了所属物种的分支中。

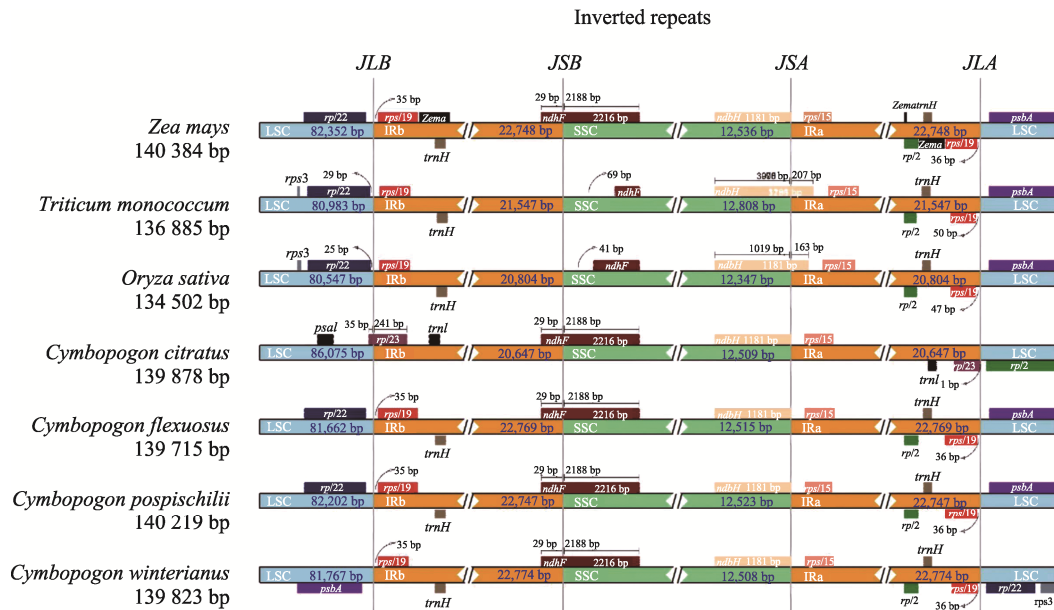


图 3 禾本科 7 个物种中叶绿体全基因组 IR 边界的比较示意图
Fig. 3 Schematic comparison of IR boundaries in complete chloroplast genomes of seven Gramineae species

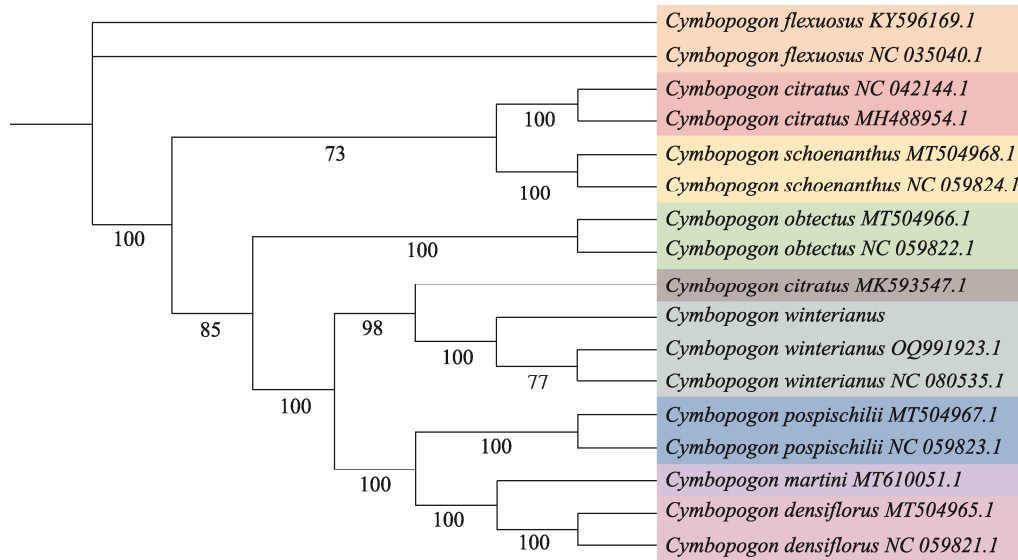


图 4 基于叶绿体全基因组的 17 个香茅属植物的最大似然法聚类图

Fig. 4 Maximum likelihood clustering results of 17 species based on complete chloroplast genomes

3 讨论

香茅作为我国重要的香料作物，不仅具备显著的药用价值和经济价值，而且在香料市场中展现出强大的竞争力，对我国农业产业的发展具有较大影响。目前，对香茅草的研究主要集中在精油及挥发性成分上^[20-21]。研究表明香茅草主要香气成分有柠檬醛、香茅醛、香叶醛、月桂烯等，且不同品种、不同地区香茅草主要香气成分存在较大差异^[22-23]，爪哇香茅中的香茅醛、香叶醇和香叶醛含量很高，并且其精油含量也较高^[24-26]。在非挥发性物质方面，李佳屹等^[11]检测分析了香茅草水提部分的主要化学组成，验证了香茅草水提物润肠通便作用，揭示了其缓解便秘的作用机制。在种质资源鉴定评价方法方面，一些研究人员采用 RAPD^[27]和 AFLP 标记^[28]对香茅草进行鉴定分析。近年来，尽管高通量测序技术和组装软件不断进步，但目前仍缺乏对香茅草的叶绿体基因组序列的研究，虽已有研究对爪哇香茅叶绿体基因组进行测序和组装，但未进行详细的解析，导致爪哇香茅的叶绿体基因组相关研究进展缓慢。

本研究完成了爪哇香茅叶绿体基因组组装及特征分析，结果表明，爪哇香茅草叶绿体基因组的长度为 139 823 个碱基对，共鉴定出 130 个基因，其中 mRNA、tRNA、rRNA 基因的数量分别为 85、37、8 个。CHETRI 等^[29]研究发现，不丹香茅 (*Cymbopogon bhutanicus*) 的叶绿体基因组

长度为 139 701 bp，并且鉴定到的基因数目为 129 个，与本研究鉴定到的数目仅相差 1 个，此外，mRNA 基因、tRNA 基因、rRNA 基因的数目与本研究的结果均相差不大，分别为 87、34、8 个。2 个香茅物种的叶绿体基因组注释结果表现出高度的相似性，表明香茅属植物叶绿体基因组具有高度的保守性。这些发现揭示了不同香茅草间叶绿体基因组长度的差异性，为未来香茅草的分类研究和遗传多样性分析提供了坚实的基础。

简单序列重复 (SSR) 在原核生物和真核生物的基因组中广泛分布，单核苷酸微卫星长度多态性因其高度的变异性，已被用作叶绿体基因组中的标记，用于了解叶绿体的进化历史，是遗传多样性研究中最常用和最可靠的标记之一。本研究在爪哇香茅草的叶绿体基因组中识别出 144 个 SSR 位点，其中 A 和 T 碱基数量达到 124 个，占总数的 89.1%，占据绝对优势，表现出明显的碱基偏好性，这可能是由于爪哇香茅叶绿体基因组序列中 A 和 T 碱基数量占比较高 (61.55%) 造成的。这与龚意辉等^[18]和 CHETRI 等^[29]的研究结果相似。本研究揭示了爪哇香茅草叶绿体基因组中丰富的 SSR 变异位点，为未来 SSR 标记的开发利用以及深入探究爪哇香茅草的系统发育关系提供可靠的分子依据，以及为香茅属叶绿体基因组研究提供丰富信息与科学依据。

本研究将爪哇香茅叶绿体基因组与其他 16 个香茅物种的叶绿体基因组进行多重序列比对

并进行系统发育分析。构建系统发育树发现爪哇香茅与柠檬草 (MK593547.1)、喜马拉雅香茅的亲缘关系最近, 与 CHETRI 等^[29]的研究结果基本一致。但该柠檬草未与其他 2 个柠檬草聚在同一分支上, 可能该样本是二者杂交后代, 或存在鉴定错误等情况。本研究初步明确了爪哇香茅草在香茅属中的系统进化和亲缘关系, 为香茅属植物的品种鉴别及驯化研究提供理论基础和重要的遗传信息资源。

综上所述, 本研究完成了爪哇香茅完整叶绿体基因组组装及注释、SSR 位点、IR 区边界比较、进化树分析, 解析爪哇香茅叶绿体基因组特征, 初步探明爪哇香茅在香茅属内的系统发育关系地位, 为香茅属植物的叶绿体基因研究提供参考依据, 并为香茅属的系统进化和遗传多样性研究以及基因组研究利用奠定良好基础。

参考文献

- [1] DZEUFIEP P D D, MOGUEO A, BILANDA D C, ABOUBAKAR B F O, TÊDONG L, DIMO T, KAMTCHOUING P. Antihypertensive potential of the aqueous extract which combine leaf of *Persea americana* Mill. (Lauraceae), stems and leaf of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. (Poaceae), fruits of *Citrus medical* L. (Rutaceae) as well as honey in ethanol and sucrose experimental model[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2014, 14: 1-12.
- [2] 张雪梅, 胡志宇. 我国香茅属植物研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2009, 18(5): 14-15.
ZHANG X M, HU Z Y. Research progress of *Cymbopogon* plants in China[J]. Chinese Journal of Ethnopharmacology, 2009, 18(5): 14-15. (in Chinese)
- [3] 许智萍, 范源洪, 何璐, 任洪涛, 范建成, 袁建民, 杨晓琼. 云南香茅草精油含量及主要化学成分分析[J]. 热带农业科学, 2020, 40(11): 115-120.
XU Z P, FAN Y H, HE L, REN H T, FAN J C, YUAN J M, YANG X Q. Analysis of essential oil content and main chemical components of *Cymbopogon citratus* in Yunnan[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2020, 40(11): 115-120. (in Chinese)
- [4] AVOSEH O, OYEDEJI O, RUNGQU P, NKEH-CHUNGAG B, OYEDEJI A. *Cymbopogon* species; ethnopharmacology, phytochemistry and the pharmacological importance[J]. Molecules, 2015, 20(5): 7438-7453.
- [5] EKPENYONG C E, AKPAN E, NYOH A. Ethnopharmacology, phytochemistry, and biological activities of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf extracts[J]. Chinese journal of natural medicines, 2015, 13(5): 321-337.
- [6] YOUSSEF F S, LABIB R M, GAD H A, EID S Y, ASHOUR M L, EIDH H. *Pimenta dioica* and *Pimenta racemosa*: GC-based metabolomics for the assessment of seasonal and organ variation in their volatile components, in silico and *in vitro* cytotoxic activity estimation[J]. Food & Function, 2021, 12(12): 5247-5259.
- [7] TIMUNG R, BARIK C R, PUROHIT S, GOUD V V. Composition and anti-bacterial activity analysis of citronella oil obtained by hydrodistillation: process optimization study[J]. Industrial Crops and Products, 2016, 94: 178-188.
- [8] FIGUEIRINHA A, CRUZ M T, FRANCISCO V, LOPES M C, BATISTA M T. Anti-inflammatory activity of *Cymbopogon citratus* leaf infusion in lipopolysaccharide-stimulated dendritic cells: contribution of the polyphenols[J]. Journal of medicinal food, 2010, 13(3): 681-690.
- [9] 杨欣, 姜子涛, 李荣. 调味香料云南爪哇香茅挥发油化学成分的研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(2): 46-48.
YANG X, JIANG Z T, LI R. Study on chemical components of volatile oil from *Cymbopogon winterianus* in Yunnan as a flavoring spice[J]. China Condiment, 2010, 35(2): 46-48. (in Chinese)
- [10] 吴维坚, 李珊珊, 杨敏, 鞠玉栋, 郑开斌. 香茅属植物在国内外应用现状及福建省应用展望[J]. 现代园艺, 2018 (15): 107-108.
WU W J, LI S S, YANG M, JU Y D, ZHENG K B. Current status of application of citrus plants at home and abroad and prospects for application in Fujian province[J]. Contemporary Horticulture, 2018(15): 107-108. (in Chinese)
- [11] 李佳屹, 高晓余, 胡一凡, 张云翠, 窦秋玉, 唐旭敏, 范源洪. 香茅草种质资源功能性分析评价[J]. 热带作物学报, 2024, 45(9): 1840-1850. (in Chinese)
LI J Y, GAO X Y, HU Y F, ZHANG Y C, DOU Q Y, TANG X M, FAN Y H. Functional analysis and evaluation of *Cymbopogon* germplasm resources[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2024, 45(9): 1840-1850. (in Chinese)
- [12] 赵建芬, 韦寿莲, 陈子冲. 香茅草挥发油的提取及其化学成分分析[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(19): 55-58.
ZHAO J F, WEI S L, CHEN Z C. Extraction and GC-MS analysis of volatile oils from *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf[J]. Food Research and Development, 2015, 36(19): 55-58. (in Chinese)
- [13] 杨晓琼, 范源洪, 何璐, 袁建民, 孔维喜, 许智萍. 云南热带区香茅草总黄酮及矿质元素含量[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27(2): 366-373.
YANG X Q, FAN Y H, HE L, YUAN J M, KONG W X, XU Z P. Evaluation of total flavonoids and mineral elements in *Cymbopogon citratus* in the Yunnan tropical area[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2021, 27(2): 366-373. (in Chinese)

- [14] 孔卫青, 江微, 杨金宏. 千里光叶绿体基因组特征及系统发育分析[J]. 中国野生植物资源, 2025, 44(1): 65-73.
KONG W Q, JIANG W, YANG J H. Characteristics of the chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Senecio scandens*[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2025, 44(1): 65-73. (in Chinese)
- [15] 赵艳林, 陈渊, 沈晓婷, 安昌, 王振华, 黄泽豪, 黄鸣清, 林彦翔, 郑燕芳. 宽叶十万错叶绿体基因组比较分析和系统进化关系研究[J]. 中草药, 2025, 56(5): 1731-1746.
ZHAO Y L, CHEN Y, SHEN X T, AN C, WANG Z H, HUANG Z H, HUANG M Q, LIN Y X, ZHENG Y F. Comparative analysis of chloroplast genomes and study on phylogenetic relationship of *Asystasia gangetica* subsp. *micrantha*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2025, 56(5): 1731-1746. (in Chinese)
- [16] 陈育明, 韦春怡, 张赛, 黄思铭, 兰思仁, 李明河. 石斛属灯笼组物种叶绿体基因组特征及系统发育分析[J]. 草地学报, 2025, 33(5): 1372-1386.
CHEN Y M, WEI C Y, ZHANG S, HUANG S M, LAN S R, LI M H. Characteristics of chloroplast genomes and phylogenetic analysis of species in the *Dendrobium* Section *Densiflora*[J]. Acta Agrestia Sinica, 2025, 33(5): 1372-1386. (in Chinese)
- [17] 申建双, 黄璐, 荣先林. 丁香杜鹃(*Rhododendron farrerae*) 叶绿体基因组特征及分析[J]. 分子植物育种, 2025, 23(2): 600-607.
SHEN J S, HUANG L, RONG X L. Characteristics and analysis of the chloroplast genome of *Rhododendron farrerae*[J]. Molecular Plant Breeding, 2025, 23(2): 600-607. (in Chinese)
- [18] 龚意辉, 周桂花, 李丽梅, 曾永贤, 陈致印. 黄桃叶绿体基因组的组装与序列分析[J]. 热带作物学报, 2022, 43(8): 1545-1553.
GONG Y H, ZHOU G H, LI L M, ZENG Y X, CHEN Z Y. Assembly and sequence analysis of the chloroplast genome of yellow peach[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(8): 1545-1553. (in Chinese)
- [19] 龚意辉, 周桂花, 李丽梅, 曾永贤, 陈致印. 基于叶绿体基因组的中國水麦冬科系统发育研究[J]. 水生生物学报, 2025, 49(4): 156-168.
GONG Y H, ZHOU G H, LI L M, ZENG Y X, CHEN Z Y. phylogenetic study of Juncaginaceae in China based on chloroplast genomes[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2025, 49(4): 156-168. (in Chinese)
- [20] 付文婷, 吴迪, 王楠艺, 涂祥敏, 黄冬福, 杨万荣, 何建文. 黄灯笼辣椒叶绿体基因组特征分析[J]. 西南农业学报, 2025, 38(3): 498-506.
FU W T, WU D, WANG N Y, TU X M, HUANG D F, YANG W R, HE J W. Characteristic analysis of the chloroplast genome of *Capsicum chinense*[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2025, 38(3): 498-506. (in Chinese)
- [21] ANDRADE E H A, ZOGHBI M G B, LIMA M P. Chemical composition of the essential oils of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf cultivated in north of Brazil[J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2009, 12(1): 41-45.
- [22] BHARTI S K, KUMAR A, PRAKASH O, KRISHNAN S, GUPTA A K. Essential oil of *Cymbopogon Citratus* against diabetes: validation by *in vivo* experiments and computational studies[J]. Journal of Bioanalysis and Biomedicine, 2013. DOI: <https://doi.org/10.4172/1948-593X.1000098>.
- [23] BASSOLÉ I H N, LAMIEN-MEDA A, BAYALA B, OBAME L C, ILBOUDO A J, FRANZ C, NOVAK J, NEBIÉ R C, DICKO M H. Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* 56 essential oils alone and in combination[J]. Phytomedicine, 2011, 18(12): 1070-1074.
- [24] MATASYOH J C, WAGARA I N, NAKAVUMA J L, KIBURAI A M. Chemical composition of *Cymbopogon citratus* essential oil and its effect on mycotoxigenic *Aspergillus* species[J]. African Journal of Food Science, 2011, 5(3): 138-142.
- [25] RODRIGUES K A F, DIAS C N, DO AMARAL F M M, MORAES D FC, MOUCHREK FILHO V E, ANDRADE E H A, MAIA J G S. Molluscicidal and larvicidal activities and essential oil composition of *Cymbopogon winterianus*[J]. Pharmaceutical Biology, 2013, 51(10): 1293-1297.
- [26] LEITE B L S, SOUZA T T, ANTONIOLLI A R, GUIMARÃES A G, SIQUEIRA R S, QUINTANSJS, BONJARDIM L R, ALVES P B, BLANK A F, BOTELHO M A, ALMEIDA J R, LIMA J TARA JO A A, QUINTANS-J NIOR L J. Volatile constituents and behavioral change induced by *Cymbopogon winterianus* leaf essential oil in rodents[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(42): 8312-8319.
- [27] SANGWAN N, YADAV U, SANGWAN R. Molecular analysis of genetic diversity in elite Indian cultivars of essential oil trade types of aromatic grasses (*Cymbopogon* species)[J]. Plant Cell Reports, 2014, 20(5): 437-444.
- [28] ADHIKARI S, BISWAS A, SAHA S. AFLP-based assessment of genetic variation in certain Indian elite cultivars of *Cymbopogon* species[J]. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2022, 29: 100372.
- [29] CHETRI B K, RANA M S, DIERCKXSENS N, BHATT P. *De novo* plastome assembly of *Cymbopogon bhutanicus* Noltie, an endemic lemon grass from Bhutan, with geospatial, comparative genomic, and phylogenetic insights[J]. Ecological Genetics and Genomics, 2025, 36: 100372.