

5 种咖啡及其近缘种叶绿体基因组序列比较分析

刘 成, 马关润, 赵明珠, 李梅方, 陈天明, 王静敏, 蒋鑫磊, 白学慧, 周 华*

云南省德宏热带农业科学研究所, 云南瑞丽 678600

摘 要: 本研究以大粒种咖啡 (*Coffea liberica*)、中粒种咖啡 (*C. canephora*)、小粒种咖啡 (*C. arabica*)、丁香咖啡 (*C. eugenoides*) 及总状咖啡 (*C. racemosa*) 5 种咖啡属植物的叶绿体基因组为研究对象, 对其进行统计和比较分析。结果表明: 叶绿体基因组长度在 154 751~155 189 bp 之间, 最长的是小粒种咖啡, 最短的是中粒种咖啡, GC 平均含量为 34.98%; 大粒种咖啡和小粒种咖啡叶绿体基因组均编码 130 个基因, 丁香咖啡叶绿体基因组编码基因最多, 为 138 个, 总状咖啡叶绿体基因组编码基因最少, 为 121 个; 比较 5 种咖啡植物叶绿体基因组边界区域发现, 方向顺序排列一致, 体现了叶绿体基因组结构的高度保守性; SSR 序列分析表明, 5 种咖啡植物具有较强的 AT 偏向性, 且 SSR 类型和数目均不相同; 经核苷酸多样性变异位点分析, 筛选出了 5 个核苷酸变异较大的区段, 包括 PetN-PsbM、accD、accD-PsaI、rpl16 和 ndhF-rpl32。进一步基于叶绿体基因组和 5 个核酸高变区的联合分析, 构建 19 种咖啡属植物的系统发育树, 揭示其亲缘关系。本研究可为咖啡属植物的种质资源鉴定、起源进化及杂交育种提供参考依据。

关键词: 咖啡属; 叶绿体基因组; 系统发育; 高变区

中图分类号: S571.2

文献标志码: A

Comparative Analysis of Chloroplast Genome Sequences of Five Coffee Species and Its Related Species

LIU Cheng, MA Guanrun, ZHAO Mingzhu, LI Meifang, CHEN Tianming, WANG Jingmin, JIANG Xinlei, BAI Xuehui, ZHOU Hua*

Dehong Tropical Agricultural Research Institute of Yunnan, Ruili, Yunnan 678600, China

Abstract: Taking the chloroplast genomes of five coffea plants, namely *Coffea liberica*, *C. canephora*, *C. arabica*, *C. eugenoides*, and *C. racemosa*, as the research objects, a series of statistical and comparative analyses were carried out. The results demonstrated that the lengths of the chloroplast genomes varied from 154 751 bp to 155 189 bp, with *C. arabica* a possessing the longest genome and *C. canephora* having the shortest. The average GC content was determined to be 34.98%. Both *C. liberica* and *C. arabica* encoded 130 genes, while *C. eugenoides* had the largest number of genes, totaling 138, and *C. racemosa* had the least, with only 121. Upon comparing the border regions of the chloroplast genomes of the five coffee plants, it was observed that the directional sequence arrangements were consistent, thereby reflecting the high conservation of the chloroplast genome structure. The analysis of SSR sequences indicated that the five coffee plants exhibited a pronounced AT bias, and the types and quantities of SSRs differed among them. Through the analysis of nucleotide diversity variation sites, five segments with relatively significant nucleotide variations were identified, namely PetN-PsbM, accD, accD-PsaI, rpl16 and ndhF-rpl32. Furthermore, based on the combined analysis of the chloroplast genomes and the five highly variable nucleotide regions, a phylogenetic tree of 19 *Coffea* plants was successfully constructed, which shed light on their genetic relationships. This study can serve as a valuable reference for the identification of germplasm resources, the exploration of origin and evolution, as well as the hybrid breeding of *Coffea* plants.

收稿日期 2024-10-31; 接受日期 2025-01-07

基金项目 云南省基础研究专项 (No. 202401AT070027); 云南省重大科技专项计划绿色食品品牌重点产业科技创新专项 (No. 202202AE090002)。

作者简介 刘 成 (1994—), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 咖啡遗传育种。*通信作者 (Corresponding author): 周 华 (ZHOU Hua), E-mail: 315946349@qq.com。

Keywords: *Coffea*; chloroplast genome; phylogenetic; hypervariable region

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.05.003

咖啡是全球重要的经济作物, 包括大粒种咖啡 (*Coffea liberica*)、中粒种咖啡 (*C. canephora*)、小粒种咖啡 (*C. arabica*)、丁香咖啡 (*C. eugenoides*) 和总状咖啡 (*C. racemosa*) 等, 其中以小粒种、中粒种咖啡及大粒种为主要栽培种^[1-2]。近年来, 伴随咖啡市场的快速发展, 人们对咖啡品质和产量的要求越发严格^[3]。咖啡的品质和产量受自身遗传特性的限制^[4], 在遗传特性上, 叶绿体发挥着重要作用^[5]。叶绿体在植物体内的重要性不言而喻, 其基因组小且结构简单, 自主拥有一套母系遗传系统^[6], 其 DNA 是由 4 部分组成的环状结构, 长度在 120~217 kb 之间, 因植物种类不同而长短不一^[7]。由于这种特殊性, 叶绿体基因组在植物分子进化研究中被学者们所偏爱, 广泛用于植物系统进化和遗传等研究中^[8]。随着测序技术的迅猛发展, 大量物种的叶绿体基因组信息被公布^[9], 使得依托于叶绿体基因组的相关研究得以开展。

目前, 关于咖啡叶绿体基因组的研究主要集中在大粒种、中粒种、小粒种咖啡及丁香咖啡上。LI 等^[10]对大粒种咖啡、中粒种咖啡、小粒种咖啡、小粒咖啡波邦及小粒咖啡铁皮卡进行了叶绿体基因组密码子使用模式分析, 结果表明, 大粒种咖啡、中粒种咖啡、小粒种咖啡具有高度的相似性, 均表现出相似的碱基组成, 密码子偏好以 A/T 结尾; 小粒咖啡波邦叶绿体基因组密码子的偏性较弱, 倾向于 A/T 结尾^[11]; 小粒咖啡铁皮卡叶绿体基因组密码子的偏性较弱, 偏好 AU 结尾^[12]。TESFAYE 等^[13]对丁香咖啡叶绿体基因组进行研究, 表明其是小粒种咖啡的一个重要亲本物种, 结构与中粒种咖啡相似, 长度约为 155 kb, 基因结构较为保守。此外, 总状咖啡 (*C. racemosa*) 被发现于莫桑比克, 是一个二倍体咖啡属植物, 由于其耐干旱、抗性强、低咖啡因, 常被用于杂交中间材料来进行抗性育种选择, 在叶绿体基因组方面的研究鲜见^[14-15]。

而当前咖啡研究主要以小粒种咖啡为主, 缺乏多个物种之间比较研究。这不仅对其他咖啡种的研究存在一定的局限性, 也不利于持续开展咖

啡杂交育种。因此, 本研究通过比较基因组学手段, 以大粒种咖啡、中粒种咖啡、小粒种咖啡、丁香咖啡和总状咖啡为对象, 进行叶绿体基因组比较分析, 明确 5 种咖啡属植物叶绿体基因组序列基本信息, 包括 LSC 区 (large single copy region, 大单拷贝区)、SSC 区 (small single copy, 小单拷贝区) 和 IR 区 (inverted repeat, 反向重复区) 的长度, GC 含量、gene 类型及数目; 了解 LSC、SSC 和 IR 边界区域之间的变化; 分析 SSR 位点; 确定高变区片段; 重建 5 种咖啡及其近缘种的系统进化树, 以阐明它们之间的亲缘关系, 并为该属的系统进化研究提供有效的分子标记。

1 材料与方法

1.1 材料

从 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载大粒种咖啡 (MW970411.1)、中粒种咖啡 (KU500324.1)、小粒种咖啡 (EF044213.1)、丁香咖啡 (NC083907.1) 和总状咖啡 (MK577911.1) 等 5 种咖啡属植物的叶绿体基因组序列。

1.2 方法

1.2.1 叶绿体基因组序列组成和编码基因 利用 IR Scope (<https://irscope.shinyapps.io/irapp/>) 在线工具确定 5 种咖啡属植物叶绿体基因组序列 LSC 区、SSC 区和 IR 区的长度; 利用 Geneious 软件确定其 GC 含量、gene 类型及数目。

1.2.2 IR 区边界的收缩与扩张分析 利用 IR Scope 工具分析 5 个叶绿体基因组 3 个区 (LSC、SSC 和 IR) 的连接边缘位点, 了解边界区域之间的变化。

1.2.3 SSR 分析 利用 MISA (<https://webblast.ipk-gatersleben.de/misa/>) 在线工具分析 5 种植物叶绿体基因组 SSR 位点, 单核苷酸、二核苷酸、三核苷酸、四核苷酸、五核苷酸、六核苷酸重复次数分别设置为 10、6、5、5、5、5。

1.2.4 叶绿体基因组高变区分析 利用 DnaSP 5 软件计算咖啡属 19 个叶绿体基因组 (表 1) 的核苷酸多态性 (nucleotide diversity, Pi)。设置滑动窗口参数为: 长度 600 bp, 步长 200 bp, 得到

高变区片段,同时结合 mVISTA(<http://genome.lbl.gov/vista/in>) 在线工具确定咖啡属植物叶绿体基因组内高变区片段。

表 1 用于高变区及系统发育分析的叶绿体基因组
Tab. 1 Chloroplast genome for hypervariable region and phylogenetic analysis

物种 Species	GenBank 登录号 GenBank accession number	备注 Note
丁香咖啡 <i>C. eugenoides</i>	NC083907.1	咖啡属
大粒种咖啡 <i>C. liberica</i>	MW970411.1	
中粒种咖啡 <i>C. canephora</i>	KU500324.1	
小粒种咖啡 <i>C. arabica</i>	EF044213.1	
总状咖啡 <i>C. racemosa</i>	MK577911.1	
小粒种咖啡红波邦 <i>C. arabica</i> cultivar Red Bourbon	CM061598.1	
曼尼咖啡 <i>Coffea mannii</i>	MK577918.1	
霍斯菲尔德咖啡 <i>C. horsfieldiana</i>	MK577917.1	
无苞片咖啡 <i>C. ebracteolata</i>	MK577916.1	
米什米咖啡 <i>C. benghalensis</i>	MK577915.1	
米什米咖啡巴巴杜安咖啡 <i>C. benghalensis</i> var. Bababudanii	MK577914.1	
四角咖啡 <i>C. tetragona</i>	MK577913.1	
狭叶咖啡 <i>C. stenophylla</i>	MK577912.1	
假桑给巴尔咖啡 <i>C. pseudozanguebariae</i>	MK577910.1	
大果咖啡 <i>C. macrocarpa</i>	MK577909.1	
矮咖啡 <i>C. humilis</i>	MK577908.1	
昂布洛特咖啡 <i>C. humblotiana</i>	MK577907.1	
长叶咖啡 <i>C. dolichophylla</i>	MK577906.1	
布拉斯咖啡 <i>C. brassii</i>	MK577905.1	
梔子 <i>Gardenia jasminoides</i>	MW160432.1	外内群

1.2.5 咖啡属植物的系统进化树构建 经 NCBI 数据库另外获取咖啡属 14 种植物的叶绿体基因组序列,以茜草科梔子属(*Gardenia*) 的梔子花(*G. jasminoides*) 为外内群,采用 phylosuite 软件中的 MAFFT 和 Gblocks 工具对叶绿体基因组序列进行比对分析,选择 ModelFinder 筛选最佳模型,用 IQ-TREE 进行建树,经 Figtree 软件美化后得到 19 种咖啡属植物的进化树结果。而后基于上述高变区片段区域,同样采用 phylosuite 软件中的 MAFFT 和 Gblocks 对高变区序列进行比对分析后,用 Concatenate Sequence 进行序列拼接,选择 Partition Finder2 进行模型筛选,最后用 IQ-TREE 进行建树,经 Figtree 软件美化后得到咖啡属高变区的进化树结果。

2 结果与分析

2.1 叶绿体基因组大小与结构

通过对丁香咖啡、总状咖啡、大粒种咖啡、中粒种咖啡、小粒种咖啡的叶绿体基因组信息进行统计和比较分析(表 2)。结果显示:叶绿体基因组长度在 154 751~155 189 bp 之间;最长的是小粒种咖啡(155 189 bp),最短的是中粒种咖啡(154 751 bp),二者之间相差 438 bp;而中粒种咖啡和大粒种咖啡之间仅相差 48 bp,丁香咖啡和小粒种咖啡之间仅相差 66 bp。这 5 种咖啡属植物叶绿体基因组的 GC 平均含量均为 34.98%。此外,LSC 区长度为 84 868~86 474 bp;SSC 区长度为 18 114~53 243 bp,中粒种咖啡最长(53 543 bp);IR 区长度为 7517~25 943 bp,中粒种咖啡最短(7517 bp);IR 区 GC 含量除中粒种咖啡外,其余均高于 LSC 区和 SSC 区。

大粒种咖啡和小粒种咖啡叶绿体全基因组均编码 130 个基因,都包含 8 个 rRNA 基因、37 个 tRNA 基因及 85 个蛋白编码基因;丁香咖啡叶绿体全基因组共编码 138 个基因,包含 8 个 rRNA 基因、45 个 tRNA 及 85 个蛋白编码基因;总状咖啡叶绿体全基因组共编码 121 个基因、36 个 tRNA 及 85 个蛋白编码基因,无 rRNA 基因;中粒种咖啡叶绿体全基因组共编码 131 个基因,包含 8 个 rRNA 基因、37 个 tRNA 及 86 个蛋白编码基因,比大粒种咖啡和小粒种咖啡少 1 个蛋白编码基因。

2.2 IR 区边界的收缩与扩张

叶绿体基因组长度的变化与 IR 区边界的扩张、收缩相关^[16-17]。比较分析 5 种咖啡植物叶绿

表 2 5 种咖啡属植物的叶绿体基因组
Tab. 2 Chloroplast genomes of five *Coffea* species

物种 Species	基因组长度 Genome length/bp	LSC 长度 LSC length/bp	SSC 长度 SSC length/bp	IR 长度 IR length/bp	总基因数 Total number of genes	蛋白编码基因 Protein-coding genes
丁香咖啡	155 123	85 159	18 136	25 914	138	85
总状咖啡	154 942	85 128	18 114	25 850	121	85
大粒种咖啡	154 799	84 868	18 121	25 905	130	85
中粒种咖啡	154 751	86 474	53 243	7517	131	86
小粒种咖啡	155 189	85 166	18 137	25 943	130	85

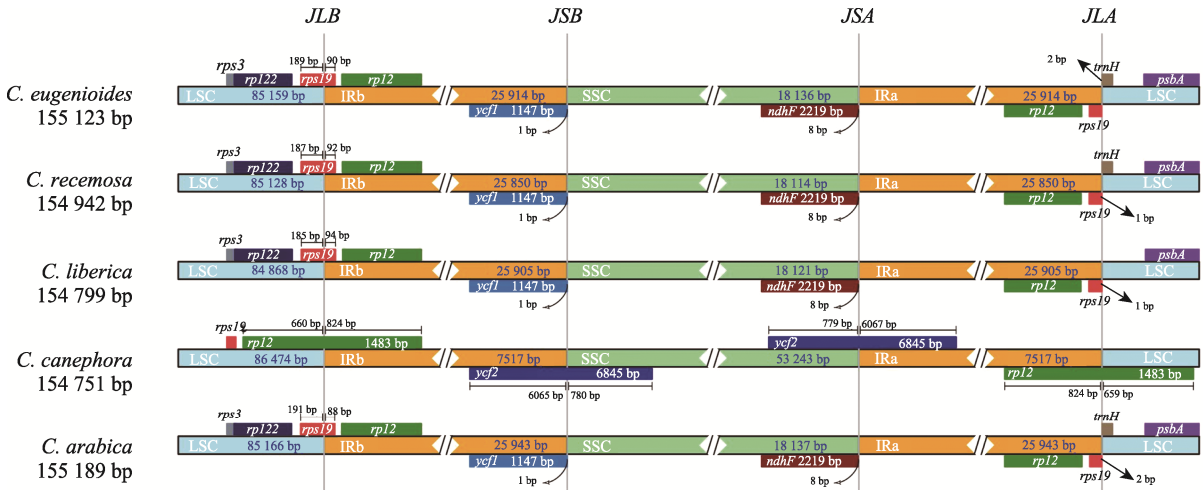
物种 Species	rRNA 基因数 Number of rRNA genes	tRNA 基因数 Number of tRNA genes	GC 含量 GC content/%	LSC 的 GC 含量 GC content of LSC/%	IR 的 GC 含量 GC content of IR/%	SSC 的 GC 含量 GC content of SSC/%
丁香咖啡	8	45	37.4	35.4	43.0	31.3
总状咖啡	0	36	37.4	35.3	43.1	31.4
大粒种咖啡	8	37	31.3	35.4	43.1	31.3
中粒种咖啡	8	37	37.5	35.5	37.9	40.6
小粒种咖啡	8	37	31.3	35.3	43.0	31.3

体基因组的边界区域（图 1）发现，5 种咖啡属植物叶绿体基因组方向顺序排列一致，4 个边界除中粒咖啡种和大粒咖啡种存在不同基因外，丁香咖啡、小粒种咖啡、总状咖啡的基因一致，表现出基因的扩张或收缩，中粒种咖啡的 JLA 和 JLB 位于 *rp12* 基因内部，且向 IR 区扩张的长度均为 824 bp；而 JSB 和 JSA 均位于 *ycf2* 基因内部，且向 IR a 区扩张的长度为 6067 bp，向 IR b 区扩张的长度为 6065 bp；丁香咖啡、总状咖啡、大粒咖

啡种、小粒种咖啡 4 种植物的 JLB 均位于 *rps* 19 基因内部，且向 IR 扩张的长度分别为 90、92、94、88 bp。JSB 与 *ycf1* 的距离均为 1 bp，JSA 与 *ndhF* 的距离均为 8 bp，其中丁香咖啡的 JLA 与 *trnH* 的距离为 2 bp，表明 5 种咖啡属之间的叶绿体基因组结构表现出高度保守性以及基因多样性。

2.3 SSR 分析

5 种咖啡属植物叶绿体基因组的 SSR 序列分析（图 2）发现，3 种类型的 SSR 序列重复序列，



JLA: LSC 与 IR a 的连接点，即 junction of LSC/IR a; JLB: LSC 与 IR b 的连接点，即 junction of LSC/IR b; JSB: SSC 与 IR b 的连接点，即 junction of SSC/IR b; JSA: SSC 与 IR a 的连接点，即 junction of SSC/IR a。
JLA: The connection point between LSC and IRa, namely junction of LSC/IRa; JLB: The connection point between LSC and IRb, namely junction of LSC/IRb; JSB: The connection point between SSC and IRb, namely junction of SSC/IRb; JSA: The connection point between SSC and IRa, namely junction of SSC/IRa.

图 1 叶绿体基因组边界分析
Fig. 1 Chloroplast genome boundary analysis

分别是单核苷酸 (P1)、二核苷酸 (P2) 和复合型 (C)。其中, 单核苷酸重复类型最多, 主要由 A 和 T 碱基重复组成, 二核苷酸重复类型相同且均为 AT 碱基重复, 表明这 5 种咖啡属植物具有较强的 AT 偏向性。此外, 5 种植物的 SSR 类型和数目均不相同, 其中, 总状咖啡 3 个 SSR 类型, 包含 29 个 P1、3 个 P2、1 个 C, 数目共计 33 个; 小粒种咖啡 3 个 SSR 类型, 包含 27 个 P1、1 个 P2、2 个 C, 数目共计 30 个; 中粒种咖啡 2 个 SSR 类型, 包含 23 个 P1、1 个 C, 数目共计 24 个; 大粒咖啡种 2 个 SSR 类型, 包含 32 个 P1、2 个 C, 数目共计 34 个; 丁香咖啡 3 个 SSR 类型, 包含 24 个 P1、1 个 P2、3 个 C, 数目共计 28 个; 其中, 中粒种咖啡和大粒咖啡种中只有 P1 和 C 两种 SSR 类型, 没有 P2 类型。

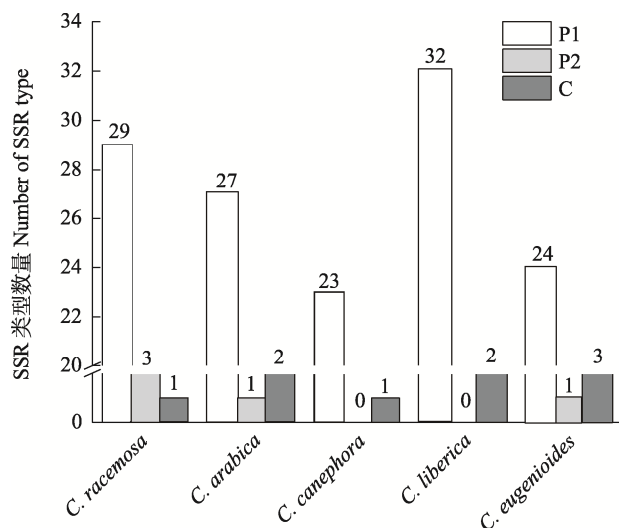


图 2 5 种咖啡属植物叶绿体基因组中 SSR 类型和数目
Fig. 2 Types and numbers of SSRs in chloroplast genomes of five *Coffea* plants

2.4 核苷酸多样性

采用 DnaSP 软件对 19 个咖啡属植物的叶绿体基因组进行变异位点分析 (图 3) 发现, 共有 4069 个多态位点, 不同区段的叶绿体基因组 P_i 为 0~0.01879, 平均值为 0.00454。以 $P_i > 0.014$ 为阈值, 筛选出 5 个核苷酸变异较大的区段, 包括 PetN-PsbM、accD、accD-PsaI、rpl16 和 ndhF-rpl32。5 个高变区片段中, 3 个为基因间隔片段, 2 个为蛋白编码基因片段。这说明基因间隔区域表现出比编码区更高的核苷酸多样性。

2.5 系统发育分析

本研究基于叶绿体全基因组和高变区片段联

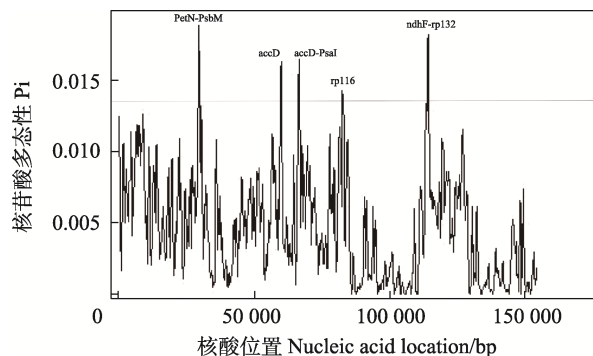


图 3 咖啡属 19 个物种的核苷酸多样性分析
Fig. 3 Nucleotide diversity analysis of 19 species of *Coffea*

合矩阵, 利用 ML 法分别构建 19 种咖啡属植物的系统发育树 (图 4, 图 5)。结果均表明, 中粒种咖啡和大粒咖啡种以 100% 支持率聚为一支, 总状咖啡和假桑给巴尔咖啡以 100% 支持率聚为一支。在基于叶绿体全基因组建树结果中, 小粒种咖啡和小粒种咖啡红波邦以 84% 的支持率聚为一支, 丁香咖啡则单独聚成一支; 而在基于高变区的建树结果中, 小粒种咖啡和丁香咖啡以 93% 的支持率聚为一支, 小粒种咖啡红波邦单独聚成一支, 2 种建树结果说明丁香咖啡与小粒种咖啡具有更近的亲缘关系, 而小粒种咖啡和小粒种咖啡红波邦的亲缘关系更近。由此可见, 基于高变区片段联合矩阵构建的系统发育树与基于叶绿体全基因组构建的系统发育树的拓扑结构存在一定差异, 也在一定程度上揭示了咖啡属物种亲缘关系。

3 讨论

本研究对 5 种咖啡属植物的叶绿体基因组进行了比较分析, 揭示了其在基因组大小、结构、SSR 分布、核苷酸多样性以及系统发育关系方面的保守性和差异性。研究表明, 5 种咖啡的叶绿体基因组大小为 154 751~155 189 bp, 整体表现较为保守, 其大小的变化主要与反向重复区 (IR 区) 的扩张和收缩有关, 这在其他植物中同样普遍存在^[16-17]。其中, 小粒种咖啡的叶绿体基因组最长, 而中粒种咖啡的基因组最短, 二者的基因组差异主要集中在 IR 区和 LSC 区。这种基因组长度的差异可能与物种的特异性进化、环境适应性或基因组重组有密切关联^[18-21]。中粒种咖啡的 IR 区扩展尤为显著, JLA 和 JLB 边界位于 rpl2 基因内部, 扩展了 824 bp, 而 JSB 和 JSA 边界则分别向 IRa 和 IRb 区域扩展了 6067 bp 和 6065 bp。这表明中粒种咖啡的 IR 区扩展性强, 与其他咖啡属植物相

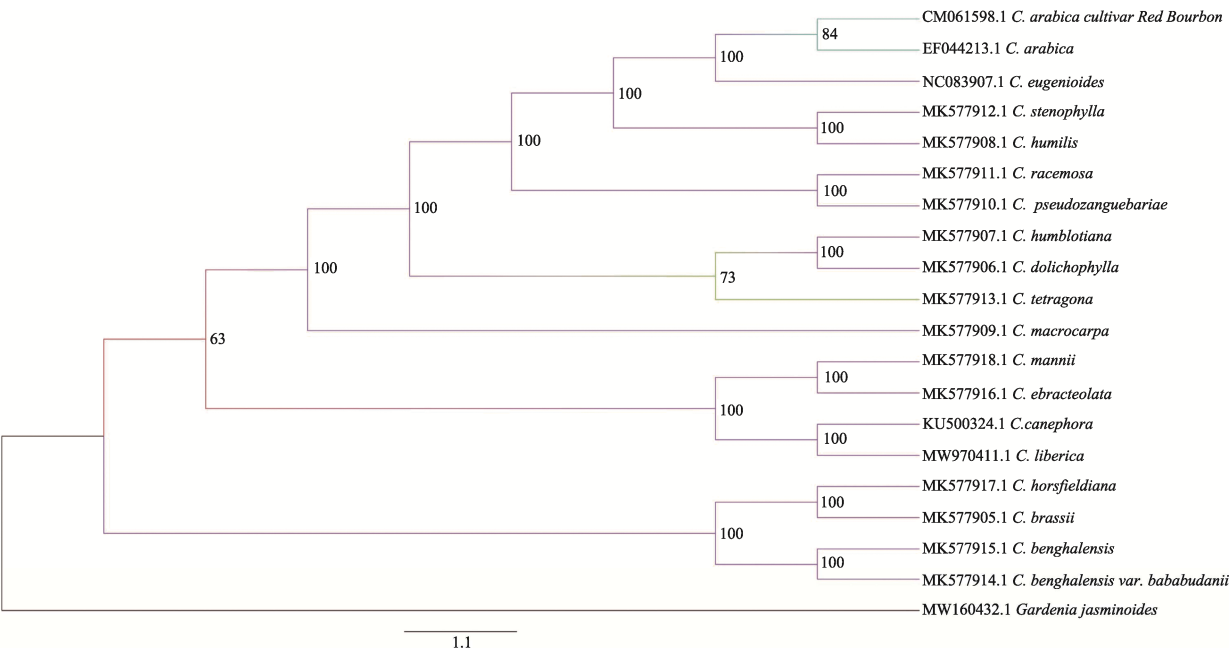


图 4 基于叶绿体全基因组构建的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree constructed based on complete chloroplast genome

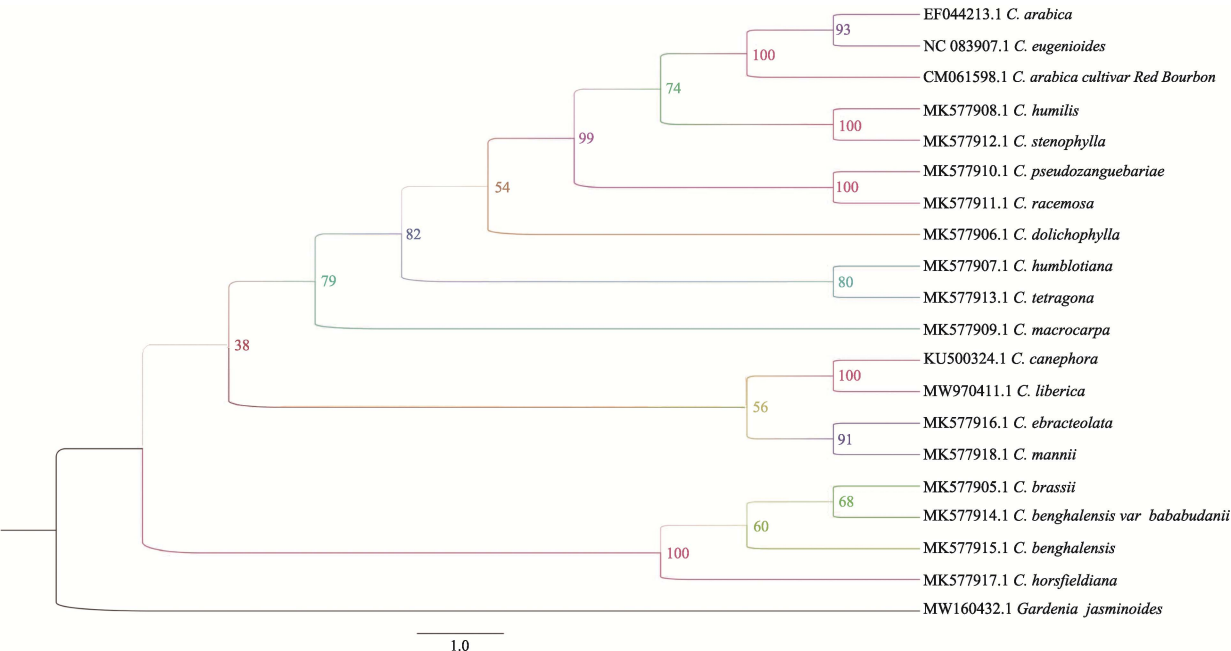


图 5 基于高变区序列构建的系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree constructed based on hypervariable region sequences

比，其叶绿体基因组结构发生了明显变化。IR 区的扩张可能在基因稳定性、基因复制和环境适应性中发挥了重要作用，这一现象在其他植物中也有广泛报道^[22-25]。

此外，通过 MISA 软件分析发现，5 种咖啡属植物的叶绿体基因组中存在不同数量的 SSR 序列，且单核苷酸重复序列（P1）占据主导地位，

显示出明显的 AT 偏向性。这种偏向与叶绿体基因组中 A 和 T 碱基的高复制效率有关，且通常不易受到外部环境的影响^[26-27]。不同物种的 SSR 数量差异显著，例如总状咖啡具有 33 个 SSR 位点，而中粒种咖啡仅有 24 个。这些差异可能反映了物种在进化历史、生态适应性和基因重组方面的不同^[28]，可用于咖啡遗传多样性、种质资源鉴定等

研究中,并为咖啡育种提供重要的分子工具^[29-30]。

本研究经分析核苷酸多样性后发现,咖啡属植物叶绿体基因组的整体多样性较低,平均值为0.004 54。然而,在特定基因间隔区(如PetN-PsbM、accD和rpl16)中,核苷酸多样性显著增加。这些高变区主要位于非编码区,表明这些区域在物种分化过程中发生了较多的突变和重组,类似现象在花生和虎杖植物中也有所观察^[31-32]。为物种间的遗传多样性提供了参考,可作为分子标记应用于物种鉴定和系统发育研究中^[33]。此外,非编码区的变异率通常高于编码区,在调控基因表达和环境适应中可能具有重要作用^[34-35]。本研究基于叶绿体基因组和高变区的联合分析,成功构建了咖啡属植物的系统发育树。结果显示,中粒种咖啡与大粒咖啡种聚为一支,支持率为100%,表明它们在进化上具有紧密的亲缘关系,可能共享相似的生态适应性^[36]。此外,总状咖啡与假桑给巴尔咖啡也聚为一支,支持率同样为100%,这进一步说明它们在进化上具有高度的相似性。对于小粒种咖啡,其与丁香咖啡聚为一支,支持率较高,这与小粒种咖啡作为中粒种咖啡和丁香咖啡的杂交后代的异源四倍体起源假说一致。这一结果与之前关于小粒种咖啡起源的研究相吻合^[37]。此外,小粒种咖啡红波邦在高变区分析中表现出与小粒种咖啡和丁香咖啡之间较近的亲缘关系,也表明不同咖啡品种之间存在复杂的遗传背景和进化历史^[38]。通过以上研究,最终可为咖啡属植物的种质资源鉴定、进化研究及杂交育种提供重要的参考依据,咖啡属植物的遗传改良和种质资源保护将迎来新的机遇。

参考文献

- [1] AARON P D, RAFAEL G, DIANE M B, PIET S. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae) [J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2006, 152(4): 465-512.
- [2] 周华, 张洪波, 夏红云, 杨积忠, 郭铁英, 李锦红, 白学慧. 咖啡种质资源多样性研究[J]. 中国热带农业, 2015(5): 23-27.
ZHOU H, ZHANG H B, XIA H Y, YANG J Z, GUO T Y, LI J H, BAI X H. Study on the diversity of coffee germplasm resources[J]. China Tropical Agriculture, 2015(5): 23-27. (in Chinese)
- [3] 何红艳, 程金焕, 张晓芳, 熊贤坤, 杨阳, 毕晓菲, 余锁姝. 云南小粒咖啡品质影响因素研究与分析[J]. 中国热带农业, 2014(4): 8-10.
HE H Y, CHENG J H, ZHANG X F, XIONG X K, YANG Y, BI X F, YU S S. Research and analysis on the factors influencing the quality of Yunnan Arabica coffee[J]. China Tropical Agriculture, 2014(4): 8-10. (in Chinese)
- [4] 闫林, 陈婷, 黄丽芳, 李锦红, 马关润, 王晓阳, 董云萍, 龙宇宙, 李学俊. 小粒种咖啡种质资源重要农艺性状遗传多样性分析[J]. 福建农业学报, 2019, 34(12): 1379-1387.
YAN L, CHEN T, HUANG L F, LI J H, MA G R, WANG X Y, DONG Y P, LONG Y Z, LI X J. Genetic diversity on selected agronomic traits of arabica coffee germplasm[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2019, 34(12): 1379-1387. (in Chinese)
- [5] ZHOU H. The applications of chloroplast genome analysis in plant system development[J]. Botanical Research, 2014, 3(1): 1-9.
- [6] DANIEL H, LIN C S, YU M, CHANG W J. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering[J]. Genome Biology, 2016, 17(1): 134.
- [7] 赵玉芬. 叶绿体基因组在植物学研究中的应用进展[J]. 生物学教学, 2022(3): 47.
ZHAO Y F. Advances in the application of chloroplast genome in botanical research[J]. Biology Teaching, 2022(3): 47. (in Chinese)
- [8] 樊守金, 郭秀秀. 植物叶绿体基因组研究及应用进展[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2022, 37(1): 22-31.
FAN S J, GUO X X. Advances in research and application of plant chloroplast genome[J]. Journal of Shandong Normal University (Natural Science), 2022, 37(1): 22-31. (in Chinese)
- [9] RAVI V, KHURANA J P, TYAGI A K, KHURANA P. An update on chloroplast genomes[J]. Plant Systematics and Evolution, 2008, 271(1/2): 101-122.
- [10] LI Y Q, HU X, XIAO M K, H J X, LOU Y Q, HU F G, FU X F, LI Y N, HE H Y, CHENG J H. An analysis of codon utilization patterns in the chloroplast genomes of three species of *Coffea*[J]. BMC Genomic Data, 2023, 24(1): 42.
- [11] 李亚麒, 李贵平, 李亚男, 付兴飞, 黄家雄, 毕晓菲, 喻好好, 刘德欣, 胡发广. ‘波邦’咖啡叶绿体基因组密码子使用特征研究[J]. 种子, 2024, 43(4): 27-36.
LI Y Q, LI G P, LI Y N, FU X F, HUANG J X, BI X F, YU H H, LIU D X, HU F G. Study on codon usage characteristics in chloroplast genome of *Coffea arabica* ‘Bourbon’[J]. Seed, 2024, 43(4): 27-36. (in Chinese)
- [12] 李亚麒, 黄家雄, 姜予强, 付兴飞, 王健敏, 李亚男, 吕玉兰, 李贵平, 程金焕. 小粒咖啡铁皮卡叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 西北林学院学报, 2023, 38(2): 92-99.

- LI Y Q, HUANG J X, LOU Y Q, FU X F, WANG J M, LI Y N, LYU Y L, LI G P, CHENG J H. Codon usage bias of the chloroplast genome in *Coffea arabica* 'Typica'[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2023, 38(2): 92-99. (in Chinese)
- [13] TESFAYE K, BORSCH T, GOVERS K, BEKELE E. Characterization of *Coffea* chloroplast microsatellites and evidence for the recent divergence of *C. arabica* and *C. eugenoides* chloroplast genomes[J]. Genome, 2007, 50(12): 1112-1129.
- [14] LOPES M H C. Caffeine content of indigenous coffees in Mozambique.[*Coffea racemosa*][J]. Agron Mocambicana, 1971, 30(8): 157-165.
- [15] DAVIS A P, GARGIULO R, ALMEDIA I N D M, CARAVELA M I, DENISON C, MOAT J. Hot Coffee: the identity, climate profiles, agronomy, and beverage characteristics of *Coffea racemosa* and *C. zanguebariae*[J]. Frontiers in Sustainable Food Systems, 2021: 239041741.
- [16] 纵丹, 黄嘉城, 段晓盟, 张晓琳, 冯家玉, 甘沛华, 何承忠. 无籽刺梨及其近缘种叶绿体基因组序列比较分析[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2024, 53(1): 39-47.
- ZONG D, HUANG J C, DUAN X M, ZHANG X L, FENG J Y, GAN P H, HE C Z. Comparative analyses on chloroplast genome sequence of *Rosa sterilis* and its related species[J]. Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition), 2024, 53(1): 39-47. (in Chinese)
- [17] WICKE S, SCHNEEWEISS G M, DEPAMPHILIS C W, MÜLLER K F, QUANDT D. The evolution of the plastid chromosome in land plants: gene content, gene order, gene function[J]. Plant Molecular Biology, 2011, 76(3/4/5): 273-297.
- [18] 胥富强, 王海洋, 师春娟, 辛培尧, 段利武, 王齐. 9 种狼尾草属植物叶绿体基因组特征分析[J]. 西部林业科学, 2024, 53(1): 88-98.
- XU F Q, WANG H Y, SHI C J, XIN P Y, DUAN L W, WANG Q. Chloroplast genome characteristics of nine *Pennisetum* plants species[J]. Journal of West China Forestry Science, 2024, 53(1): 88-98. (in Chinese)
- [19] 陈晓颖, 胡本祥, 史嘉周, 杨冰月, 张岗, 彭亮. 茜草叶绿体全基因组序列及其系统发育分析[J]. 西北植物学报, 2023, 43(11): 1855-1865.
- CHEN X Y, HU B X, SHI J Z, YANG B Y, ZHANG G, PENG L. Complete chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Rubia cordifolia*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2023, 43(11): 1855-1865. (in Chinese)
- [20] 秃玉翔, 赵文植, 沈伟祥, 王飞, 曹正英, 辛培尧, 胡青, 郝佳波. 紫麻属叶绿体全基因组特征及系统发育分析[J]. 种子, 2023, 42(12): 24-30, 37.
- TU Y X, ZHAO W Z, SHEN W X, WANG F, CAO Z Y, XIN P Y, HU Q, HAO J B. Characterization of complete chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Oreocnide*[J]. Seed, 2023, 42(12): 24-30, 37. (in Chinese)
- [21] 张靖雯. 濒危植物羽叶丁香叶绿体全基因组及系统发育研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2019.
- ZHANG J W. The complete chloroplast genome and phylogenetic analysis of the endangered species *Syringa pinnatifolia* (Oleaceae)[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019. (in Chinese)
- [22] 刘群. 菊科天名精属的系统发育基因组学研究[D]. 昆明: 云南师范大学, 2022.
- LIU Q. Phylogenomics study of *Carpesium* (Asteraceae)[D]. Kunming: Yunnan Normal University, 2022. (in Chinese)
- [23] 尚晓岚. '太行'扁蓊豆叶绿体基因组结构及系统发育研究[D]. 太原: 山西农业大学, 2022.
- SHANG X L. Chloroplast genome structure and phylogenetic relationships of *Medicago ruthenica* cv Taihang[D]. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2022. (in Chinese)
- [24] CHENG L L, HUANG W G, LAN Y P, CAO Q C, SU S C, ZHOU Z J, WANG J B, LIU J L, HU G L. The complete chloroplast genome sequence of the wild Chinese chestnut (*Castanea mollissima*)[J]. Conservation Genetics Resources, 2017, 10(3): 291-294.
- [25] 马闯, 贾民隆, 王杰, 彭丹, 邢国芳, 武志强. 玉蜀黍属植物叶绿体基因组进化及变异研究[J]. 东北农业大学学报, 2024, 55(5): 13-27.
- MA C, JIA M L, WANG J, PENG D, XING G F, WU Z Q. Study on evolution and variation of chloroplast genomes in *Zea*[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2024, 55(5): 13-27. (in Chinese)
- [26] 马海霞, 张亚颖, 张玉婉, 益西卓玛, 梁焯森, 李欣冉, 郭云涛, 封烁. 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.
- MA H X, ZHANG Y Y, ZHANG Y W, YI XI ZHUO MA, LIANG Z S, LI X R, GUO Y T, FENG S. Chloroplast genome comparison and phylogenetic analysis of five medicinal plants of *Incarvillea*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(17): 5972-5981. (in Chinese)
- [27] 龚秋怡, 董姝洁, 许琴, 葛宇清. 牛茄子叶绿体全基因组特征及系统发育分析[J]. 中草药, 2024, 55(12): 4150-4158.
- GONG Q Y, DONG S J, XU Q, GE Y Q. Complete chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Solanum capsicoides*[J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2024, 55(12): 4150-4158. (in Chinese)
- [28] JIANG D Z, CAI X D, GONG M, XIA M Q, XING H T, DONG S S, TIAN S M, LI J, LIN J Y, LIU Y Q, LI H L. Complete chloroplast genomes provide insights into evolu-

- tion and phylogeny of Zingiber (Zingiberaceae)[J]. BMC genomics, 2023, 24(1): 30.
- [29] 罗兵, 孙海燕, 徐港明, 扬志刚, 沈宗根, 顾雯雯, 高阳, 郑佳亮. SSR 分子标记研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(12): 5210-5212, 5246.
- LUO B, SUN H Y, XU G M, YANG Z G, SHEN Z G, GU W W, GAO Y, ZHENG J L. Research progress of SSR molecular marker[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(12): 5210-5212, 5246. (in Chinese)
- [30] 宋芸, 张鑫瑞, 贺嘉欣, 李政, 孙哲, 李澳旋, 乔永刚. 基于叶绿体 SSR 分子标记的苦参种质资源遗传多样性分析[J]. 作物杂志, 2023(1): 30-37.
- SONG Y, ZHANG X R, HE J X, LI Z, SUN Z, LI A X, QIAO Y G. Genetic diversity analysis of *Sophora flavescens* Ait. germplasm resources based on cpSSR markers[J]. Crops, 2023(1): 30-37. (in Chinese)
- [31] 王娟, 李春娟, 石大川, 刘宇, 唐荣华, 贺梁琼, 赵小波, 苑翠玲, 孙全喜, 闫彩霞, 单世华. 花生区组叶绿体高突变区验证及遗传关系分析[J]. 中国油料作物学报, 2021, 43(3): 495-501.
- WANG J, LI C J, SHI D C, LIU Y, TANG R H, HE L Q, ZHAO X B, YUAN C L, SUN Q X, YAN C X, SHAN S H. Verifying high variation regions based on sect. *Arachis* chloroplast genome and revealing the interspecies genetic relationship[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2021, 43(3): 495-501. (in Chinese)
- [32] 孙孟涛, 张峻鑫, 黄体冉, 杨明峰, 马兰青, 段留生. 虎杖叶绿体基因组结构与变异分析[J]. 生物工程学报, 2022, 38(5): 1953-1964.
- SUN M T, ZHANG J X, HUANG T R, YANG M F, MA L Q, DUAN L S. Genome structure and variation of *Reynoutria japonica* Houtt. chloroplast genome[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2022, 38(5): 1953-1964. (in Chinese)
- [33] 靳媛茜, 王钰双, 高永巍, 周立威, 汪奕衡, 袁庆军, 董文攀. 中药女贞子的叶绿体基因组及高变分子标记开发[J]. 中国中药杂志, 2022, 47(7): 10.
- JIN Y X, WANG Y S, GAO Y W, ZHOU L W, WANG Y H, YUAN Q J, DONG W P. Complete chloroplast genome of *Ligustrum lucidum* and highly variable marker identification for *Ligustrum*[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2022, 47(7): 10. (in Chinese)
- [34] CROS J, COMBES M C, TROUSLOT P, ANTHONY F, HAMON S, CHARRIER A, LASHERMES P. Phylogenetic analysis of chloroplast DNA variation in *Coffea* L.[J]. Molecular Phylogenetics & Evolution, 1998, 9(1): 109-117. (in Chinese)
- [35] KUMAGAI M, WANG L, UEDA S. Genetic diversity and evolutionary relationships in genus *Oryza* revealed by using highly variable regions of chloroplast DNA[J]. Gene, 2010, 462(1/2): 44-51.
- [36] SHAO H F, BAI M, RIAVS G I, XIE D, SEARS K, GAITAN E J, NESPOLO R, JOHNSON W, YANG W, ZHANG G. Incomplete lineage sorting and phenotypic evolution in marsupials[J]. Cell, 2022, 185(10): 1646-1680.
- [37] SALOJÄRVI J, RAMBANI A, YU Z, GUYOT R, STRICKLER S, LEPELLEY M, WANG C, RAJARAMAN S, RASTAS P, ZHENG C, MUÑOZ D S, MEIDANIS J, PASCHOAL A R, BAWIN Y, KRABbenhofT T J, WANG Z Q, FLECK S J, AUSSEL R, BELLANGER L, CHARPAGNE A, FOURNIER C, KASSAM M, LEFEBVRE G, MÉTAIRON S, MOINE D, RIGOREAU M, STOLTE J, HAMON P, COUTURON E, TRANCHANT D C, MUKHERJEE M, LAN T Y, ENGELHARDT J, STADLER P, CORREIA D L S M, SUZUKI S I, SUMIRAT U, WAI C M, DAUCHOT N, OROZCO A S, GARAVITO A, KIWUKA C, MUSOLI P, NALUKENGE A, GUICHOUX E, REINOUT H, SMIT M, CARRETERO P L, FILHO O G, BRAGHINI M T, PADILHA L, SERA G H, RUTTINK T, HENRY R, MARRACCINI P, VAN D P Y, ANDRADE A, DOMINGUES D, GIULIANO G, MUELLER L, PEREIRA L F, PLAISANCE S, PONCET V, ROMBAUTS S, SANKOFF D, ALBERT V A, CROUZILLAT D, DE K A, DESCOMBES P. The genome and population genomics of allopolyploid *Coffea arabica* reveal the diversification history of modern coffee cultivars[J]. Nature Genetics, 2024, 56(4): 721-731.
- [38] HUANG L F, WANG X Y, DONG Y P, LONG Y Y, HAO C Y, YAN L, SHI T. Resequencing 93 accessions of coffee unveils independent and parallel selection during coffea species divergence[J]. Plant Molecular Biology, 2020, 103: 51-61.