

中甸刺玫的叶绿体基因组特征及种内变异

王其刚¹, 曹世睿^{1,2}, 王慧纯¹, 马长乐², 晏慧君¹, 邱显钦¹, 景维坤¹, 蹇洪英^{1*}

(1. 云南省农业科学院花卉研究所, 昆明 650205; 2. 西南林业大学
园林园艺学院, 昆明 650224)

摘要: 中甸刺玫 (*Rosa praelucens* Byhouwer) 是云南香格里拉县的特有“极危”植物和国家二级重点保护植物, 也是著名的高山花卉和重要的十倍体月季种质资源, 种内存在丰富的表型多样性。为了澄清中甸刺玫种内表型变异的遗传背景, 该文利用二代测序技术对 40 个不同表型的中甸刺玫代表性个体的叶绿体基因组进行测序、组装和比较分析, 结果表明: (1) 中甸刺玫的基因组序列长 157 173~157 261bp, 植株间仅相差 88bp, 共编码 132 个功能基因, 主要为与光合作用和自我复制相关的基因。全部基因共由 27 155 个密码子编码, 以 A-和 U-为末端的密码子较常见。(2) 中甸刺玫的叶绿体基因组共鉴定出 36 个重复序列和 73 个简单重复序列, 后者大部分为单核苷酸 SSRs, 主要位于大单拷贝区的基因间隔区。(3) 中甸刺玫种内叶绿体全基因组的单倍型多样性为 0.928 ± 0.027 , 核酸多态性为 0.00012; 位于 LSC 的 *petN-trnD*、*psaA-ycf3* 等基因间隔区, 以及 *rps16* 和 *ycf1* 等基因的核酸多态性相对较高; 不同表型的代表性个体的叶绿体基因组间在结构上不存在大片段或基因的逆转或者丢失。研究结果表明中甸刺玫种内在叶绿体基因组大小、序列和基因结构等方面均高度保守, 其种内丰富的表型多样性不是由于叶绿体基因组的变异。

关键词: 中甸刺玫, 叶绿体基因组, 比较基因组, 简单重复序列, 核酸多态性, 密码子偏好
中图分类号: Q943 **文献标识码:** A **文章编号:**

Chloroplast genome features and intraspecific chloroplast genomic variation of *Rosa praelucens*

WANG Qigang¹, CAO Shirui^{1,2}, WANG Huichun¹, MA Changle², YAN Huijun¹, QIU Xianqin¹, JING Weikun¹, JIAN Hongying^{1*}

(1. Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, 650205, China 2., College of Landscape and Horticulture, Southwest Forestry University, Kunming, 650224, China)

Abstract: *Rosa praelucens* is a critically endangered alpine wild flower endemic to Shangrila County of Yunnan Province. Rich in phenotypic diversity and with a high ploidy level of decaploid, *R. praelucens* is a very important rose germplasm resource. In order to clarify the genetic background of its phenotypic variation, the chloroplast genomes of 40 individual plants representing different phenotypes within the species were sequenced by using the Illumina HiSeq 2000 platform, and then assembled, annotated and compared. The results were as follows: (1) Chloroplast genomes of *R. praelucens* were 157 173-157 261 bp in length, with a size difference of 88 bp among different individual plants. The genomes encoded 132 genes, mainly related with photosynthesis and self-replication. 27 155 codons, preferring using codon ending of A or U, were

基金项目: 国家自然科学基金(31972443); 云南省高层次科技人才及创新团队选拔专项(202305AS350002)。

第一作者: 王其刚, 研究员, 研究方向为月季遗传育种, (E-mail) 171068976@qq.com。

***通信作者:** 蹇洪英, 博士, 研究员, 研究方向为月季种质资源研究与利用, (E-mail) ynwildflower@aliyun.com。

found in all the coding sequences. (2) Thirty six repeats and 73 simple sequence repeats (SSRs) were detected in the chloroplast genome of *R. praelucens*. Most of the cpSSRs were mononucleotide type and located in the intergenic region of LSC region. (3) The haplotype diversity (Hd) among the 40 chloroplast genomes was 0.928 ± 0.027 , and the nucleotide diversity (Pi) was 0.00012. The intergenic region of *petN-trnD* and *psaA-ycf3*, gene *rps16* and *ycf1* were relatively more divergent. No reverse or loss of large DNA fragments and genes were found among the cp genomes of different individuals. These results suggested that the chloroplast genomes were highly conserved in size, sequence and structure within *R. praelucens*. The rich intraspecific phenotypic diversity was not directly caused by the variation of chloroplast genomes among different individual plants.

Key words: *Rosa praelucens* Byhouwer, chloroplast, comparative genomics, simple sequence repeats (SSRs), nucleotide diversity (Pi), codon preference

叶绿体在植物的生活史中发挥着重要功能 (Wicke et al., 2011)。大多数维管植物的叶绿体基因组长度约为 150 kb 左右, 为保守的四分体结构, 包括一个大单拷贝区 (large single copy, LSC)、一个小单拷贝区 (small single copy, SSC) 和两个反向重复区 (inverted repeats, IRs) (Wicke et al., 2011; Shetty et al., 2016; Zhu et al., 2016)。高等植物的叶绿体基因组高度保守, 但某些类群的叶绿体基因组中存在大片段的倒置 (Sun et al., 2017)、大量重复序列 (Guisinger et al., 2011)、基因丢失或假基因化 (Ye et al., 2018) 以及 IR 区的扩张或收缩 (Li et al., 2017; Liu et al., 2017)。叶绿体基因组在大多数被子植物中为母系遗传 (Neale & Sederoff, 1989; Daniell et al., 2016)。与核基因组相比, 叶绿体基因组具有分子量低、结构简单、保守性强等特点, 还包含大量的重复序列, 包括简单重复序列 (simple sequence repeats, SSRs) (Cavalier, 2002), 因此被广泛应用于系统发育、DNA 条形码、基因工程和亲缘关系等研究 (Dong et al., 2018)。随着二代测序技术 (next-generation sequencing, NGS) 的发展, 越来越多的植物叶绿体全基因组序列被报道, NCBI 数据库迄今已公布了超过 8500 个植物叶绿体基因组。

中甸刺玫 (*Rosa praelucens*) 是云南省香格里拉县的特有“极危”植物 (覃海宁等, 2017; Ku & Robertson, 2003), 也是国家二级保护植物

(<http://www.forestry.gov.cn/main/3954/20210908/163949170374051.html>)。中甸刺玫是著名的高山花卉 (Li & Zhou, 2005) 和重要的月季种质资源, 既耐寒 (邓菊庆等, 2013) 也高抗蚜虫 (范元兰等, 2021)。自 Jian 等 (2010) 发现其是蔷薇属野生种中唯一的最高倍性——十倍体 ($2n=10x=70$) 以来, 人们对中甸刺玫的生境和群落特征 (关文灵等, 2012)、繁育系统 (伍翔宇等, 2014)、种群现状 (周玉泉等, 2016)、系统位置 (王开锦等, 2018)、基于染色体荧光原位杂交的核型特征 (方桥等, 2020) 以及遗传多样性和遗传结构 (Jian et al., 2018a) 等进行了系统研究, 发现中甸刺玫种内存在丰富的表型多样性, 其中花色和花型变异尤其显著 (李树发等, 2013; Jian et al., 2018a)。

理解多倍性如何修饰表型性状是进化生物学的一个研究热点和主要目标 (Balao et al., 2011)。大量研究表明自然形成或人工诱导的多倍体植物都会产生遗传和表观遗传的改变, 从而改变基因的表达, 使其在遗传、生理和形态上产生分化, 形成新的表型 (Ramsey & Schemske, 2002)。对于十倍体的中甸刺玫来说, 其种内丰富的表型变异的机制尚不清楚。由于中甸刺玫的高倍性特征, 限制了多种分子技术手段在其遗传背景研究上的应用。Jian 等 (2017) 报道了中甸刺玫的叶绿体基因组大小、各分区的长度和 GC 含量、编码的基因数量等基本信息, 发现中甸刺玫的叶绿体基因组大小为 157 186 bp, 与同属的单瓣月季花 (*R. chinensis* var. *spontanea*) 等其它植物相比, 其叶绿体基因组最大, 且在 LSC 区的 *psbM* 和 *trnD* 之间有一个长为 505 bp 的插入。在此基础上, 为了澄清中甸刺玫种内表型变异的遗传背景,

本研究利用二代测序技术对 40 个不同表型的中甸刺玫代表性个体的叶绿体基因组进行了测序、组装和比较分析，探讨以下问题：（1）中甸刺玫叶绿体基因组的序列特征和密码子偏好性如何？（2）中甸刺玫种内不同表型个体在叶绿体基因组上是否存在较大的变异？研究结果将为中甸刺玫的物种形成和保护提供更多的遗传信息，也为探讨其种内表型变异的分子机制提供叶绿体基因组方面的基础数据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

用于叶绿体基因组序列特征分析的中甸刺玫植株来源于香格里拉县小中甸镇塘安培（99°49'38.1" E, 27°32'16.68" N, 3248 m），其原始序列已上传至 NCBI，序列号为 MG450565.1。其余 40 个不同表型的代表性植株的基本信息见表 1。于 2021 年 6 月底在野外采集当年生成熟健康叶片，立即用硅胶进行干燥，-4 ℃低温保存用于后续实验。

表 1 不同表型的中甸刺玫代表性植株的基本信息

Table 1 Information of different phenotypes of individuals within *Rosa praelucens*

编号 Code	表型特征 Phenotypic characteristics			来源 Location
	花色 Flower color	花直径 Flower size (cm)	花瓣数 Petal number	
0-1	白色 White	12.5	5	格桑公司基地 Nursery of Gesang Flower Company
0-2	白色 White	10	5	中甸格桑公司 Nursery of Gesang Flower Company
0-3	粉白色 Pinkish white	8~8.5	5~7	布呵谷老村 Buhegulao Village
0-4	粉白色 Pinkish white	6~7	5~6	布呵谷老村 Buhegulao Village
1-1	玫红色 Rose red	11	5~8	塘安培村 Tang'anpei Village
1-2	粉红色 Pinkish red	10~12	5~7	塘安培村 Tang'anpei Village
1-3	粉红色 Pinkish red	10~13	5~7	基公村 Jigong Village
1-4	粉红色 Pinkish red	10~12	5~7	基公村 Jigong Village
1-5	粉红色 Pinkish red	10	5~7	托木南村 Tuomunan Village
2-1	玫红色 Rose red	7~10.5	5	塘培村 Tangpei Village
2-2	粉红色 Pinkish red	6.5~9	5	塘培村 Tangpei Village
2-3	粉红色 Pinkish red	8~10	5	塘培村 Tangpei Village
2-4	粉红色 Pinkish red	8~10	5	塘培村 Tangpei Village
2-5	粉红色 Pinkish red	8~10	5	塘培村 Tangpei Village
2-6	深粉红色 Dark pink	7~10	5	塘培村 Tangpei Village
2-7	桃红色 Crimson red	9~11	5~11	塘培村 Tangpei Village
3-1	深桃红芯白 Deep crimson red with white core	8	5	热水塘村 Reshuitang Village
	深桃红芯白 Deep crimson red with white core			
3-2	深桃红芯白 Deep crimson red with white core	7~10	5	碧古村 Bigu Village
	深桃红芯白 Deep crimson red with white core			
3-3	深桃红芯白 Deep crimson red with white core	7~10	5	碧古村 Bigu Village
4-1	浅粉红色 Light pink	8.5~11	5	胡批村 Hupi Village
4-2	粉色 Pink	8~10	5	胡批村 Hupi Village
4-3	粉色 Pink	8~10	5	胡批村 Hupi Village
4-4	粉色 Pink	8~10	5~7	胡批村 Hupi Village
5-1	粉红色 Reddish pink	8~11	5	胡批村 Hupi Village
5-2	粉红色 Reddish pink	10~11	5	胡批地 Hupi Village
6-1	深粉红色 Dark pink	9~10	5	布呵谷老村 Buhegulao Village
6-2	深粉红色 Dark pink	7~10	5	布呵谷老村 Buhegulao Village
6-3	深粉红色 Dark pink	10~12	5	布呵谷老村 Buhegulao Village
6-4	深粉红色 Dark pink	9~11	5	布呵谷老村 Buhegulao Village
6-5	深粉红色 Dark pink	9~12	5	布呵谷老村 Buhegulao Village

7-1	粉红色 Reddish pink	9~11	5	乃司村 Naisi Village
7-2	粉红色 Reddish pink	9~11	5	乃司村 Naisi Village
8-1	淡粉色 Light pink	7~8	5	布呵谷老村 Buhegulao Village
8-2	淡粉色 Light pink	8~10	5~8	布呵谷老村 Buhegulao Village
8-3	粉白色 Pinkish white	11	5	布呵谷老村 Buhegulao Village
8-4	粉色 Pink	7~10	5~7	布呵谷老村 Buhegulao Village
8-5	粉色 Pink	7~10	5~7	布呵谷老村 Buhegulao Village
8-6	粉白色 Pinkish white	10	5	布呵谷老村 Buhegulao Village
9-1	淡粉色 Light pink	9~12	5	桃木谷村 Taomugu Village
9-2	淡粉色 Light pink	10~12	5	桃木谷村 Taomugu Village

1.2 研究方法

1.1.1 基因组总 DNA 的提取、测序、组装及注释

使用改良的 CTAB 法进行中甸刺玫叶片的总 DNA 提取，达到建库测序要求的 DNA 送到北京诺禾致源科技股份有限公司用 Illumina Hiseq 2000 测序平台进行建库测序，每个样品得到约 3.5 Gb 的 150bp 短片段原始序列（raw data），用 NGSQC Toolkit_v2.3.3 软件（Patel & Jain, 2012）按照默认参数对原始序列进行过滤筛选，得到高质量的有效序列（clean data）。使用 GetOrganelle（<https://github.com/Kinggerm/GetOrganelle>）进行 *de novo* 从头组装，得到叶绿体全基因组序列。组装好的基因组序列使用 CpGAVAS（Liu et al., 2012）自动进行注释，注释完成后使用 Genious 9.1（Kearse et al., 2012）进行校对和调整每个注释基因的边界区域，最终使用 OGDRAW（Lohse et al. 2013）绘制叶绿体基因组物理图谱。

1.1.2 叶绿体基因组结构分析

利用 Geneious 软件对已上传到 NCBI、序列号为 MG450565.1 的中甸刺玫叶绿体全基因组进行叶绿体全基因组编码基因构成统计。用 Mega 6.06（Tamura et al., 2013）进行密码子偏好分析，计算同义密码子相对使用值（relative synonymous codon usage values; RSCU）并统计 AT 含量。用重复序列分析软件 REPuter 软件（<https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/reputer>）（Kurtz et al., 2001），搜索基因组中的正向重复（forward repeats）和反向重复（reverse repeats）序列。软件运行时，设置搜索的重复序列长度不小于 20 bp，序列一致性大于 85%。此外，利用 MISA（Beier et al., 2017）软件来鉴定简单重量复序列（SSRs），搜索的阈值设置为：单、二、三、四、五和六核苷酸重复次数分别不小于 10、5、4、3、3 和 3。

1.1.3 种内不同个体的叶绿体基因组序列比较

在 Geneious 软件中调用 Mauve 程序（Darling et al., 2004）对中甸刺玫 40 个代表性植株的叶绿体基因组进行比对，分析不同植株的叶绿体基因组间是否存在大片段的逆转或丢失；用 DNASP v5.10 软件（Librado et al., 2009）计算种内叶绿体基因组的单倍型多样性（haplotype diversity, Hd）和核苷酸多态性（nucleotide polymorphism, Pi），筛选叶绿体基因组中的高变区。

2 结果与分析

2.1 中甸刺玫叶绿体基因组的结构特征

中甸刺玫种内不同表型的 40 个代表性植株的叶绿体基因组序列的长度、各分区长度、GC 含量、编码基因数目等基本信息见图 1 和表 2。中甸刺玫的基因组序列全长 157 173~157 261 bp，植株间相差 88 bp。基因组最大的是 7-1 号植株，为 157 261 bp，基因组最小的是 2-5 号植株，为 157 173 bp。LSC 区长为 86 300-863 53 bp，相差 53 bp，最长的是 7-1 号植株，最短的是 2-5 号植株；SSC 区长为 18 765-18 803 bp，相差 38 bp；反向重复 IR 区长度均为 26 054 bp，说明种内基因组大小的差异主要来源于 LSC 和 SSC 区。基因组的 GC 含量在不同个体间没有显著差异，全基因组的 GC 含量均为 37.2%，其中 IR 区的 GC 含量为 42.7%，LSC 区的 GC 含量为 35.2%，SSC 区的 GC 含量为 31.2%。

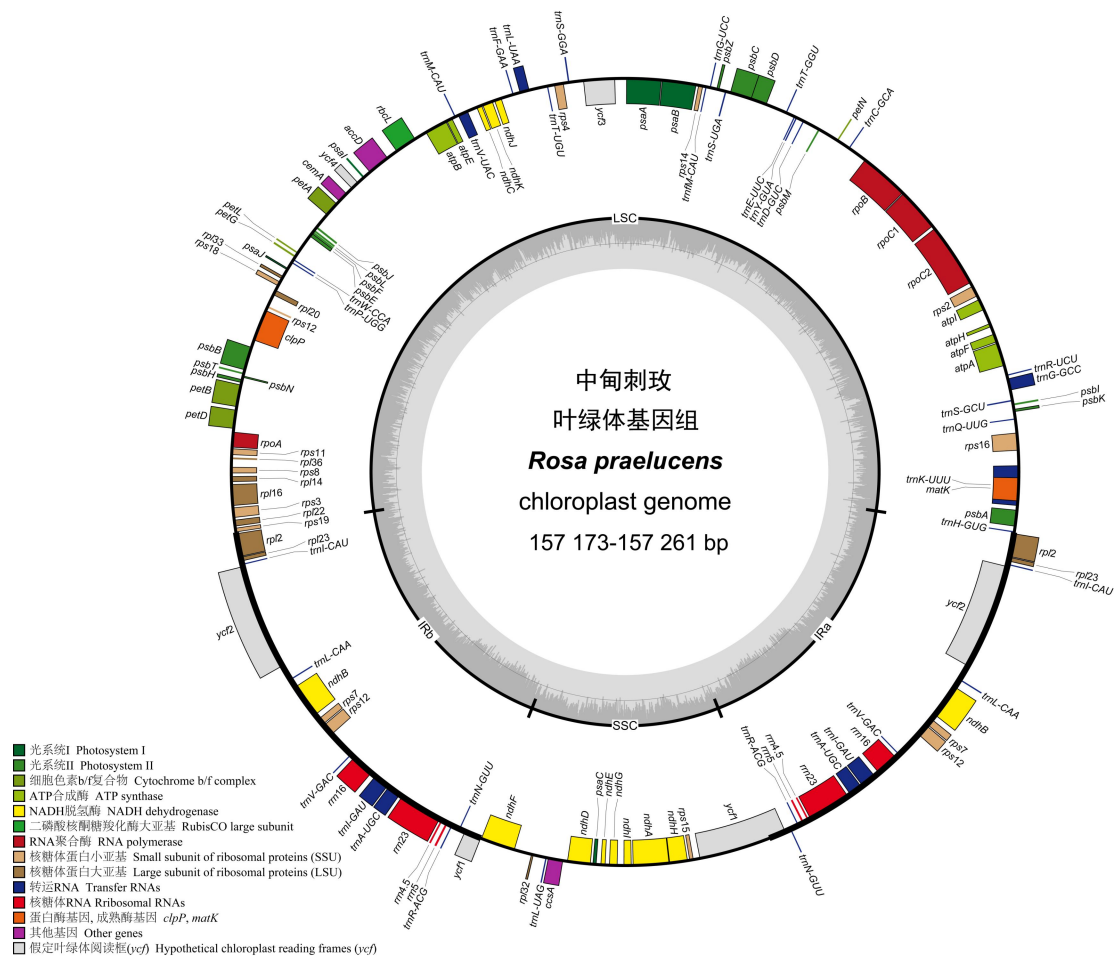


表 2 中甸刺玫种内不同代表性植株的叶绿体基因组特征

Table 2 Characteristics of the chloroplast genome of representative *Rosa praelucens* individuals

编 号 Code	长度 Length (bp) Total length	大单拷 区 LSC	小单拷 区 SSC	反 向 重 复 区 IR	GC 含量 GC content (%)	全基因 组 Total	大单拷 区 LSC	小单拷 区 SSC	反 向 重 复 区 IR
0-1	157184	86311	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
0-2	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
0-3	157230	86319	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
0-4	157230	86319	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
1-1	157188	86315	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
1-2	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
1-3	157187	86314	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
1-4	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
1-5	157185	86312	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
2-1	157177	86304	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
2-2	157180	86307	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
2-3	157177	86304	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
2-4	157178	86305	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
2-5	157173	86300	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
2-6	157179	86306	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
2-7	157179	86306	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
3-1	157230	86319	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
3-2	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
3-3	157231	86320	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
3-4	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	
4-1	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7	

4-2	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
4-3	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
5-1	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
5-2	157186	86313	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
6-1	157230	86319	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
6-2	157229	86318	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
6-3	157229	86318	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
6-4	157230	86319	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
6-5	157229	86318	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
7-1	157261	86353	18800	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
7-2	157185	86312	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
8-1	157229	86318	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
8-2	157230	86319	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
8-3	157230	86319	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
8-4	157229	86318	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
8-5	157185	86312	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
8-6	157231	86320	18803	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
9-1	157213	86340	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7
9-2	157188	86315	18765	26054	37.2	35.2	31.2	42.7

2.2 中甸刺玫叶绿体基因组的基因构成

由表 3 可知, 中甸刺玫的叶绿体基因组共编码 132 个功能基因, 包括 87 个蛋白质编码基因, 37 个 tRNA 基因和 8 个 rRNA 基因。其中, 与光合作用有关的基因有 45 个, 与自我复制相关的基因有 76 个, 功能未知的其他基因共 11 个。6 个蛋白编码基因 (*ndhB*、*rpl2*、*rpl23*、*rps7*、*rps12*、*ycf2*)、7 个 tRNAs (*trnA*-UGC、*trnI*-CAU、*trnI*-GAU、*trnL*-CAA、*trnN*-GUU、*trnR*-ACG、*trnV*-GAC) 和 4 个 rRNAs (*rrn16*、*rrn23*、*rrn4.5*、*rrn5*) 在 IR 区完全重复。在 132 个基因中, *petB*、*petD*、*ndhA*、*ndhB*、*rps16*、*rpl2*、*rpl16*、*rpoC1*、*trnA*-UGC、*trnI*-GAU、*trnK*-UUU、*trnL*-UAA、*trnV*-UAC 等 13 个基因有 1 个内含子, *ycf3* 和 *clpP* 这两个基因各有两个内含子, *rps12* 为反式剪接的基因, 其 5'端在 LSC 区, 而 3'端在 IR 区重复。

表 3 中甸刺玫叶绿体基因组的基因构成

Table 3 Gene composition of chloroplast genomes of *R. praelucens*

功能 Function	基因家庭 Gene family	基因 Gene
光合作用 Photosynthesis	ATP 合成酶基因 ATP synthase	<i>atpA</i> , <i>atpB</i> , <i>atpE</i> , <i>atpF</i> , <i>atpH</i> , <i>atpI</i>
	细胞色素复合体基因 Cytochrome b/f complex	<i>petA</i> , <i>petB</i> *, <i>petD</i> *, <i>petG</i> , <i>petL</i> , <i>petN</i>
	NADH 合成酶基因 NADH dehydrogenase	<i>ndhA</i> *, <i>ndhB</i> **, <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>
	光系统 I 基因 Photosystem I	<i>psaA</i> , <i>psaB</i> , <i>psaC</i> , <i>psaI</i> , <i>psaJ</i>
	光系统 II 基因 Photosystem II	<i>psbB</i> , <i>psbT</i> , <i>psbH</i> , <i>psbN</i> , <i>psbJ</i> , <i>psbL</i> , <i>psbF</i> , <i>psbE</i> , <i>psbZ</i> , <i>psbC</i> , <i>psbD</i> , <i>psbM</i> , <i>psbI</i> , <i>psbK</i> , <i>psbA</i> ,
自我复制 self-replication	二磷酸核酮糖氧化酶基因 Rubisco large subunit	<i>rbcL</i>
	核糖体蛋白小亚基基因 Ribosomal proteins (SSU)	<i>rps2</i> , <i>rps3</i> , <i>rps4</i> , <i>rps7</i> *, <i>rps8</i> , <i>rps11</i> , <i>rps12</i> **, <i>rps14</i> , <i>rps15</i> , <i>rps16</i> *, <i>rps18</i> , <i>rps19</i>
	核糖体蛋白大亚基基因 Ribosomal proteins (LSU)	<i>rpl2</i> **, <i>rpl14</i> , <i>rpl16</i> *, <i>rpl20</i> , <i>rpl22</i> , <i>rpl23</i> *, <i>rpl32</i> , <i>rpl33</i> , <i>rpl36</i>
	RNA 聚合酶基因 RNA polymerase	<i>rpoA</i> , <i>rpoB</i> , <i>rpoC1</i> *, <i>rpoC2</i>
	转运 RNA 基因 Transfer RNAs	<i>trnA</i> -UGC**, <i>trnC</i> -GCA, <i>trnD</i> -GUC, <i>trnE</i> -UUC, <i>trnF</i> -GAA, <i>trnG</i> -UCC, <i>trnG</i> -GCC*, <i>trnH</i> -GUG, <i>trnI</i> -CAU*, <i>trnI</i> -GAU**, <i>trnK</i> -UUU*, <i>trnS</i> -GCU, <i>trnL</i> -CAA*, <i>trnL</i> -UAA*, <i>trnL</i> -UAG, <i>trnM</i> -CAU, <i>trnN</i> -GUU*, <i>trnP</i> -UGG, <i>trnQ</i> -UUG, <i>trnR</i> -UCU, <i>trnS</i> -GGA, <i>trnS</i> -UGA, <i>trnR</i> -ACG*, <i>trnT</i> -UGU, <i>trnT</i> -GGU, <i>trnV</i> -UAC*, <i>trnW</i> -CCA, <i>trnV</i> -GAC**
其它 Others	核糖体 RNA 基因 rRNAs	<i>rrn16</i> *, <i>rrn23</i> *, <i>rrn4.5</i> *, <i>rrn5</i> *
	假定叶绿体阅读框 Hypothetical	<i>ycf1</i> , <i>ycf2</i> *, <i>ycf3</i> **, <i>ycf4</i>

chloroplast reading frames (<i>ycf</i>)	
乙酰-CoA-羧化酶的亚基	<i>accD</i>
Acetyl-CoA-carboxylase subunit	
蛋白酶基因 Protease gene	<i>clpP**</i>
包膜蛋白基因 Envelope protein gene	<i>cemA</i>
c 型细胞色素合成基因 Type c	<i>ccsA</i>
cytochrome synthesis gene	
成熟酶基因 Mature enzyme gene	<i>matK</i>
转录起始因子 Transcription initiation factor	<i>infA</i>

注：*表示有一个内含子；**表示有两个内含子；#表示反式剪接；*表示在 IR 区有两个反向重复拷贝。
Note: * indicates genes with one intron; ** indicates genes with two introns; # indicates trans-spliced gene; * indicates genes with two copies in the IR region.

2.3中甸刺玫叶绿体基因组密码子偏好性

中甸刺玫的叶绿体基因组密码子使用频率（RSCU）如表4。全部基因共由27 155个密码子编码，其中亮氨酸（leucine）是使用频率最高的氨基酸，共编码了其中的2 765个密码子，占总数的10.85%，而组氨酸（histidine）是使用频率最低的氨基酸，仅编码了其中的530个密码子，占总数的1.95%。以A-和U-为末端的密码子较常见，除了*trnL*-CAA、*trnS*-GGA、精氨酸Arg-AGG和甘氨酸Gly-GGG以外，所有的首选同义密码子（RSCU > 1）都是以A或U结尾。

表 4 中甸刺玫的密码子-反密码子识别模式及密码子偏好
Table 4 Condon-anticodon recognition patterns and codon usage of the *Rosa praelucens* chloroplast genome.

氨基酸 Amino Acid	密码子 Codon	数量 Count	相对同义密码 子 RSCU	氨基酸 Amino Acid	密码子 Codon	数量 Count	相对同义密 码子 RSCU
苯丙氨酸 Phe	UUU(F)	1092	1.21	丝氨酸 Ser	UCU(S)	504	1.26
	UUC(F)	706	0.79		UCC(S)	422	1.06
亮氨酸 Leu	UUA(L)	597	1.3		UCA(S)	477	1.19
	UUG(L)	619	1.34		UCG(S)	342	0.86
	CUU(L)	556	1.21	脯氨酸 Pro	CCU(P)	262	1.1
	CUC(L)	319	0.69		CCC(P)	207	0.87
	CUA(L)	393	0.85		CCA(P)	272	1.14
	CUG(L)	281	0.61		CCG(P)	211	0.89
异亮氨酸 Ile	AUU(I)	925	1.35	苏氨酸 Thr	ACU(T)	352	1.14
	AUC(I)	517	0.75		ACC(T)	280	0.91
	AUA(I)	615	0.9		ACA(T)	375	1.22
甲硫氨酸 Met	AUG(M)	571	1		ACG(T)	223	0.73
缬氨酸 Val	GUU(V)	421	1.35	丙氨酸 Ala	GCU(A)	239	1.24
	GUC(V)	208	0.67		GCC(A)	176	0.91
	GUA(V)	372	1.2		GCA(A)	223	1.16
	GUG(V)	244	0.78		GCG(A)	134	0.69
酪氨酸 Tyr	UAU(Y)	800	1.33	半胱氨酸 Cys	UGU(C)	382	1.13
	UAC(Y)	405	0.67		UGC(C)	292	0.87
终止子 stop	UAA(*)	488	1.07	终止子 stop	UGA(*)	445	0.97
	UAG(*)	439	0.96	色氨酸 Trp	UGG(W)	542	1
组氨酸 His	CAU(H)	352	1.33	精氨酸 Arg	CGU(R)	218	0.72
	CAC(H)	178	0.67		CGC(R)	141	0.46
谷氨酰胺 Gln	CAA(Q)	547	1.32		CGA(R)	304	1
	CAG(Q)	283	0.68		CGG(R)	261	0.86
天冬酰胺 Asn	AAU(N)	957	1.34	丝氨酸 Ser	AGU(S)	362	0.91
	AAC(N)	470	0.66		AGC(S)	292	0.73
离氨酸 Lys	AAA(K)	1015	1.26	精氨酸 Arg	AGA(R)	526	1.73
	AAG(K)	590	0.74		AGG(R)	370	1.22
天冬氨酸 Asp	GAU(D)	628	1.46	甘氨酸 Gly	GGU(G)	350	0.98
	GAC(D)	235	0.54		GGC(G)	224	0.63
谷氨酸 Glu	GAA(E)	691	1.3		GGA(G)	458	1.28
	GAG(E)	375	0.7		GGG(G)	400	1.12

2.4 中甸刺玫叶绿体基因组的微卫星重复序列

重复序列分析结果表明，中甸刺玫的叶绿体基因组中共有33个正向重复序列和3个反向重复序列，这些重复序列长度大多为20~30 bp（表5）。最长的重复序列分别位于*rps12-trnV*（GAC）基因间隔区和*ndhA*基因的内含子区域。大多数重复序列位于LSC区和IR区，还有9个重复序列在不同的区域开始，如第1号重复的两个序列分别开始于IRB区和SSC区。

表5 中甸刺玫叶绿体基因组序列中的重复序列

Table 5 Repeat sequences in *Rosa praelucens* chloroplast genome

编号 Code	重复第1个开始 处 Repeat Start 1	重复类型 Repeat type	重复长度 Size (bp)	重复第2个开始 处 Repeat Start 2	失配碱基 Mismatch (bp)	在具体位置 Location	所在区域 Region
1	100770	F	40	122818	0	<i>ndhA</i>	IRB, SSC
2	44997	F	39	100772	0	<i>ycf3</i> ; IGS	LSC, IRB
3	44997	F	38	122820	0	<i>ycf3</i> ; <i>ndhA</i>	LSC, SSC
4	59254	F	34	59285	0	IGS	LSC
5	123010	R	37	123023	-3	<i>ndhA</i>	SSC
6	109739	F	32	109771	-2	IGS	IRB
7	133696	F	32	133728	-2	IGS	IRA
8	67436	F	25	67460	0	IGS	LSC
9	9822	F	27	37714	-1	<i>trnG</i> -GCC, <i>trnG</i> -UCC	LSC
10	8380	F	29	36640	-2	<i>trnS</i> -GCU, <i>trnS</i> -UGA	LSC, IRB
11	91108	F	29	91129	-2	<i>ycf2</i>	IRB
12	152341	F	29	152362	-2	<i>ycf2</i>	IRA
13	51039	F	22	51060	0	IGS	LSC
14	43196	F	25	147743	-1	IGS	LSC, IRA
15	58610	F	25	58635	-1	<i>rbcL</i> ; IGS	LSC
16	39962	F	30	42186	-3	<i>psaB</i> ; <i>psaA</i>	LSC
17	10499	F	21	10520	0	IGS	LSC
18	8733	F	29	65172	-3	IGS	LSC
19	83661	F	29	122808	-3	<i>rpl16</i> , <i>ndhA</i>	LSC, SSC
20	10623	F	20	10647	0	IGS	LSC
21	13570	F	20	90104	0	IGS, <i>ycf2</i>	LSC, IRB
22	28582	F	20	28602	0	IGS	LSC
23	33042	R	20	86327	0	IGS	LSC, IRB
24	67511	F	20	67530	0	IGS	LSC
25	120144	F	20	120164	0	IGS	SSC
26	133705	F	23	133737	-1	IGS	IRA
27	8669	F	28	31214	-3	IGS	LSC
28	12223	F	28	72420	-3	IGS, <i>clpP</i>	LSC
29	83667	F	28	122814	-3	<i>rpl16</i> , <i>ndhA</i>	LSC, SSC
30	7598	R	25	61186	-2	IGS	LSC
31	83670	F	25	100769	-2	<i>rpl16</i> , IGS	IRB
32	37582	F	22	37604	-1	IGS	LSC
33	43764	F	22	73530	-1	IGS, <i>clpP</i>	LSC
34	45662	F	22	142499	-1	<i>ycf3</i> ; IGS	IRA
35	109749	F	22	109781	-1	IGS	IRB
36	5203	F	24	127726	-2	IGS; <i>ycf1</i>	SSC

注：F表示正向重复；R表示反向重复。

Note: F indicates forward repeat; R indicates reverse repeat.

2.5 中甸刺玫叶绿体基因组的简单重复序

MISA软件在中甸刺玫的叶绿体基因组中共找到73个简单重复序列（SSRs），其中单核苷酸SSRs（A/T/G/C）最多，共有50个；其次是二核苷酸类型（AG/AT/TA/TC），有13个，三核苷酸类型有5个，四核苷酸类型有11个，六核苷酸SSRs有2个，没有五核苷酸SSRs。绝大部分为单纯类型SSRs，复合类型的SSRs较少，二者分别为65个和8个，没有间接型SSRs（表6）。58个SSRs位于LSC区，占全部SSRs的79.5%，5个位于SSC区，IRA和IRB区各有5个。只有23个SSRs位于基因中，其它均位于基因间隔区。单核苷酸SSRs中的74%属于A/T，这与cpSSRs主要由短腺嘌呤（adenine, A）或胸腺嘧啶（thymine, T）重复组成而很少有串联鸟嘌呤（guanine, G）和胞嘧啶（cytosine, C）组成的假说相一致。

表7 中甸刺玫叶绿体基因组中的微卫星分布

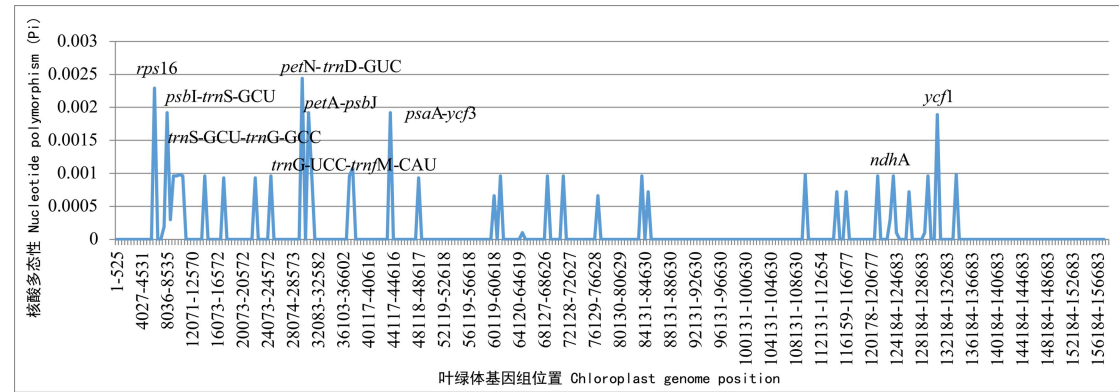
Table 7 Simple sequence repeats (SSRs) in *R. praelucens* chloroplast genome

序 号 Code	类 型 Type	简单重复序列 SSR	大小 Size	开始位 置 Start	结束位 置 End	所 在 区 域 Region	基 因 Gene
1	p1	(A)15	15	185	199	LSC	<i>trnK</i> -UUU
2	p1	(A)12	12	3764	3775	LSC	
3	p1	(A)15	15	4361	4375	LSC	
4	p1	(C)11	11	6187	6197	LSC	
5	c	(T)11atatcattctaaattttagaatattttcgattattgtaaaaat caaattagtttaactaaattctactaaatataacacg(AATA)3	104	6478	6581	LSC	
6	p2	(AG)5	10	6791	6800	LSC	<i>rps16</i>
7	p1	(A)12	12	6971	6982	LSC	
8	p2	(AT)6	12	7163	7174	LSC	
9	p3	(TAA)4	12	8319	8330	LSC	
10	p1	(A)10	10	8508	8517	LSC	
11	p1	(A)20	20	8678	8697	LSC	
12	c	(T)12attttaatat(A)11	34	9894	9927	LSC	
13	p2	(AT)9	18	10115	10132	LSC	
14	p3	(TTA)4	12	10368	10379	LSC	
15	p1	(T)13	13	12228	12240	LSC	
16	p1	(C)11	11	14297	14307	LSC	
17	p1	(T)11	11	18416	18426	LSC	
18	p2	(TA)5	10	19785	19794	LSC	
19	p1	(T)10	10	26132	26141	LSC	
20	p1	(T)10	10	28994	29003	LSC	
21	p1	(C)14	14	29627	29640	LSC	<i>rpoC2</i> <i>rpoC2</i> <i>rpoB</i>
22	c	(AAT)4tc(T)10	24	30565	30588	LSC	
23	p1	(A)14	14	30722	30735	LSC	
24	p1	(T)10	10	33042	33051	LSC	
25	p2	(TA)5	10	36876	36885	LSC	
26	c	(ATAA)3tataa(AT)5	27	37632	37658	LSC	<i>ycf3</i> <i>ycf3</i>
27	p2	(TA)5	10	44657	44666	LSC	
28	p1	(A)10	10	45663	45672	LSC	
29	p1	(A)12	12	45979	45990	LSC	
30	p1	(T)10	10	46522	46531	LSC	
31	p1	(A)14	14	47885	47898	LSC	
32	p1	(A)11	11	48476	48486	LSC	
33	p4	(TAAT)3	12	48666	48677	LSC	
34	p1	(T)14	14	48850	48863	LSC	
35	c	(A)13gaatcgaccgttcaagtattcaaaattgcacactaaaaat gatagaaaatcatagaaattgggacatg(TA)5	91	48965	49055	LSC	<i>trnL</i> -UAA
36	p1	(T)10	10	49785	49794	LSC	
37	p4	(TTTA)3	12	51007	51018	LSC	
38	c	(TA)5t(TA)5	21	53297	53317	LSC	
39	c	(T)10caagtgcggaaacccaggaccagaagtagtaggattt attctcataataaaaatgtcgaaattttttgcgaaatgactgaa atcaa(AAAT)3	112	56377	56488	LSC	
40	p4	(AATT)3	12	58966	58977	LSC	<i>atpB</i>
41	c	(T)10ataggtatttagt(A)10	33	61024	61056	LSC	
42	p1	(T)12	12	61394	61405	LSC	
43	p2	(TC)5	10	62863	62872	LSC	
44	p1	(G)10	10	64968	64977	LSC	
45	p1	(T)10	10	66847	66856	LSC	<i>cemA</i>
46	p1	(T)11	11	69049	69059	LSC	
47	p1	(A)11	11	70255	70265	LSC	
48	p1	(T)12	12	71742	71753	LSC	
49	p1	(T)12	12	72425	72436	LSC	
50	p1	(T)11	11	73436	73446	LSC	<i>clpP</i> <i>clpP</i>
51	p2	(AT)6	12	74110	74121	LSC	
52	p1	(A)12	12	79712	79723	LSC	<i>rpoA</i>
53	p1	(A)14	14	79874	79887	LSC	
54	p4	(ATGT)3	12	80012	80023	LSC	
55	p1	(T)11	11	82081	82091	LSC	
56	p1	(A)10	10	83136	83145	LSC	
57	p1	(A)10	10	83991	84000	LSC	<i>rpl16</i>
58	p1	(T)15	15	85420	85434	LSC	
59	p3	(TAT)4	12	87117	87128	IRB	<i>rpl2</i>
60	p6	(TAGAAG)4	24	94485	94508	IRB	<i>ycf2</i>
61	p1	(T)10	10	102111	102120	IRB	

62	p4	(AGGT)3	12	108333	108344	IRB	<i>rrn23</i>
63	p4	(TTTA)3	12	110521	110532	IRB	
64	p1	(T)10	10	121335	121344	SSC	
65	p2	(AT)6	12	122168	122179	SSC	
66	p1	(A)10	10	123061	123070	SSC	<i>ndhA</i>
67	p1	(T)13	13	123308	123320	SSC	<i>ndhA</i>
68	p1	(T)10	10	130333	130342	SSC	<i>ycf1</i>
69	p4	(AATA)3	12	132966	132977	IRA	
70	p4	(CTAC)3	12	135154	135165	IRA	<i>rrn23</i>
71	p1	(A)10	10	141380	141389	IRA	
72	p6	(CTTCTA)4	24	148992	149015	IRA	<i>ycf2</i>
73	p3	(ATA)4	12	156372	156383	IRA	<i>rpl2</i>

2.6 中甸刺玫种内的叶绿体基因组序列差异

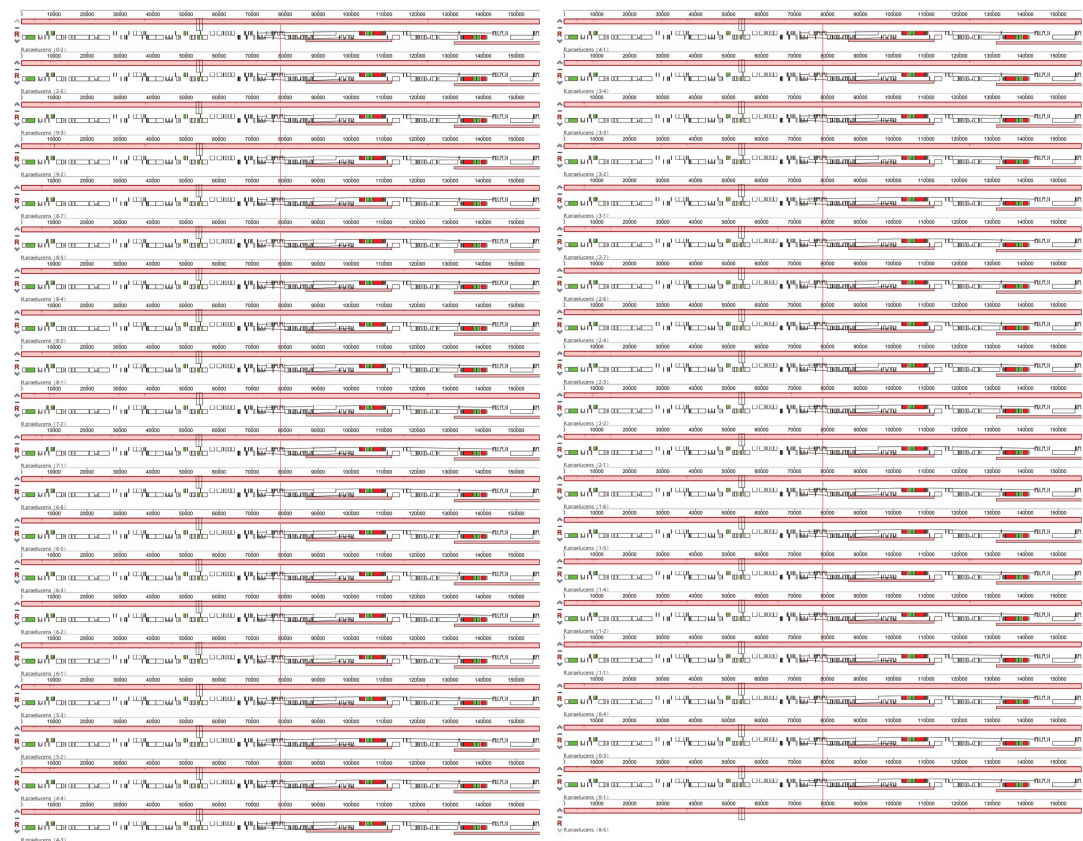
中甸刺玫种内不同个体的叶绿体基因组序列差异较小。所有代表性个体的全基因组序列比对分析共检测 58 个变异位点共 22 个单倍型，单倍型多样性为 0.928 ± 0.027 ，核酸多态性为 0.000 12。种内叶绿体基因组在基因、基因间隔区的核酸多态性都较低，相对多态性较大的是位于 LSC 区的 *psbI-trnS*(GCU)、*trnS*(GCU)-*trnG*(UCC)、*trnG*(UCC)-*trnM*(CAU)、*petN-trnD*(GUC)、*petA-psbJ*、*psaA-ycf3* 等基因间隔区，以及 *rps16* 和 *ycf1* 等基因（图 2）。Mauve 比对的结果表明中甸刺玫种内不同代表性个体的叶绿体基因组在结构上没有大变化，不存在大片段或基因的逆转或者丢失（图 3）。



滑窗大小=1000 bp，步长=1000bp。
window length=1000 bp, and step sizes=1000 bp.

图 2 中甸刺玫种内叶绿体基因组的核酸多态性

Fig. 2 Nucleotide diversity (pi) among the chloroplast genomes of 40 *Rosa praelucens* individuals



以 NCBI 序列号 MG450565 的中甸刺玫叶绿体基因组参照，用线连接的颜色相同的块表示局部共线块。
The chloroplast genome of *R. praelucens* with the NCBI accession No. MG450565.1 was used as reference. The local collinear blocks are represented by blocks of the same color connected by line.

图 3 中甸刺玫种内代表性植株的叶绿体基因组 Mauve 比较

Fig. 3 Mauve alignment of the chloroplast genomes of representative *Rosa praelucens* individuals

3 讨论与结论

虽然植物的叶绿体基因组在基因组成和排列顺序上具有较高的保守性，但由于长期对不同环境的适应常导致同属植物的叶绿体基因组在大小上发生改变，产生结构重排以及 IR 区的收缩或扩张等（Daniell et al., 2016）。中甸刺玫不同表型 40 个代表性个体的叶绿体基因组大小为 157 173~157 261 bp，整个基因组共编码 132 个基因，主要与光合作用和自我复制相关。与同属的单瓣月季花（Jian et al., 2018b）、亮叶月季（*R. lucidissima*）（Zhao et al., 2019）、木香花（*R. banksiae*）（杨芳，2019），大花香水月季（*R. odorata* var. *gigantea*）（Yang et al., 2014）、金樱子（*R. laevigata*）（Yin et al., 2020）以及其它种（Chen et al., 2019; Cui et al., 2022）的叶绿体基因组相比，中甸刺玫的基因组除在长度上明显大 500 bp 左右外，在基因组的 GC 含量、基因构成和排列顺序上与其它种基本一致，表明蔷薇属植物的叶绿体基因组较保守，种间差异较小，主要在非编区有序列长度的变化。

密码子是连接核酸和蛋白质的纽带，研究物种的密码子偏好并确定最优密码子，有助于设计基因表达载体来提高目的基因的表达量，在作物遗传育种和品种改良方面具有重要应用价值（Qi et al., 2015）。密码子偏好性分析显示中甸刺玫的叶绿体基因组编码密码子中，亮氨酸是使用频率最高的氨基酸，而组氨酸使用频率最低。此外，中甸刺玫所有的首选同义密码子都是以 A 或 U 结尾（RSCU > 1），由于 RSCU 大于 1 则表示实际频率高于其他同义密码子的使用频率（晁岳恩等，2012），因此中甸刺玫的密码子偏好以 A-和 U-结尾。这与同属的单瓣月季花的密码子偏好性（Jian et al., 2018b）基本一致，为研究相关基因的分子进化和外源表达奠定了基础。

植物的叶绿体简单重复序列（cp-SSRs）为单亲遗传且有较高的种内多态性，是物种进化和多态性的重要遗传标记（Cavalier, 2002），常被用于野生植物的系统演化和居群遗传研究（Provan, 2000; Flannery et al., 2006）以及作物遗传图谱构建的分子标记（Powell et al., 1995; Xue et al., 2012）。由于poly A和poly T相比poly C和poly G可能具有更高的结构稳定性（Gragg et al., 2002），大多数植物的叶绿体基因组单核苷酸SSRs多为poly A和poly T结构。中甸刺玫叶绿体基因组中共有73个简单重复序列cpSSRs，主要为单核苷酸SSRs，大部分由短腺嘌呤（A）或胸腺嘧啶（T）重复组成，主要位于LSC区的基因间隔区，与同属的单瓣月季花（Jian et al., 2018b）基本一致，也与其它多种植物如山茶属（*Camellia*）（丁祥青等, 2022; 邓永彪等, 2023）、绢蒿属（*Seriphidium*）（Jin et al., 2023）等类似。

已有的研究表明蔷薇属内不同物种的叶绿体基因组间的核酸高变区主要位于LSC区的

综上所述，在对中甸刺玫的叶绿体基因组进行简单报道的基础上，详细地分析了中甸刺玫叶绿体基因组的基因构成、密码子偏好以及简单重复序列等基本特征，并对种内具有不同表型的代表性个体的叶绿体基因组进行了比较基因组分析，结果表明中甸刺玫种内的叶绿体基因组大小、序列和基因结构等方面均高度保守，不存在大片段序列或基因的逆转或者丢失，研究结果为中甸刺玫的保护和开发利用提供了叶绿体基因组方面基础数据。研究也表明中甸刺玫种内丰富的表型变异不是由于叶绿体基因组的变异，结合中甸刺玫的高倍性特征，应从染色体的数量和结构、基因表达甚至表观遗传等角度进行进一步深入系统的研究。

参考文献

- BALAO F, HERRERA J, TALAVERA S, 2011. Phenotypic consequences of polyploidy and genome size at the microevolutionary scale: a multivariate morphological approach [J]. *New Phytol*, 192 (1) : 256-265.
- BEIER S, THIEL T, MÜNCH T, et al., 2017. MISA-web: a web server for microsatellite prediction [J]. *Bioinformatics*, 33(16): 2583-2585.
- CAVALIER ST, 2002. Chloroplast evolution: secondary symbiogenesis and multiple losses [J]. *Curr Biol*, 12(2): 62-64.
- CHAO YE, CHANG Y, WANG MF, et al., 2012. Codon usage bias and cluster analysis on chloroplastic genes from seven crop species [J]. *Acta Agric Boreal-Sin*, 27(4): 60-64. [晁岳恩, 常阳, 王美芳, 等, 2012. 7种作物叶绿体基因的密码子偏好性及聚类分析[J]. *华北农学报*, 27(4): 60-64.]
- CHEN MR, ZHANG C, GAO XF. 2019. The complete chloroplast genome sequence of *Rosa pricei* (Rosaceae) [J]. *Mitochondrial DNA B*, 4(1): 1918-1919.
- CUI WH, DU XY, ZHONG MC, et al., 2022. Complex and reticulate origin of edible roses (*Rosa*, Rosaceae) in China [J]. *Hortic Res*, 9: 51.
- DANIELL H, LIN C S, YU M, ET AL., 2016. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering [J]. *Genome Biol*, 17(1): 1-29.
- DARLING ACE, MAU B, BLATTNER FR, et al., 2004. Mauve: Multiple alignment of conserved genomic sequence with rearrangements [J]. *Genome Res*, 14(7): 1394-1403.

- DENG JQ, JIAN HY, LI SB, et al., 2013. Cold tolerance of several wild *Rosa* resources endemic of Yunnan [J]. SW Chin J Agric Sci, 26(2): 273-277. [邓菊庆, 蹇洪英, 李淑斌, 等, 2013. 几种云南特有蔷薇资源的抗寒性研究[J]. 西南农业学报, 26 (2) : 273-277.]
- DENG YB, ZHANG J, LAN LL, et al., 2024. Analysis of chloroplast genome features of endangered and rare plant *Camellia minima* [J]. Guihaia, 44(1):30-42. [邓永彪, 张进, 蓝伦礼, 等, 2024. 珍稀濒危植物越南小花金花茶的叶绿体基因组特征分析[J]. 广西植物, 2024, 44(1): 30-42.]
- DING XQ, LI WF, WU JL, et al., 2022. Chloroplast genome characteristics and genetic relationship of yellow *Camellia* [J]. J Fujian Agric For Univ (Nat Sci Ed), 52(3): 1-11. [丁祥青, 李文芳, 吴丽君, 等, 2022. 4种金花茶叶绿体基因组的比较分析[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 52(3): 1-11.]
- DONG W, XU C, WU P, et al., 2018. Resolving the systematic positions of enigmatic taxa: Manipulating the chloroplast genome data of Saxifragales [J]. Mol Phylogenet Evol, 126(4): 321-330.
- FAN YL, CHEN YC, JIAN HY, et al., 2021. Screening of *Rosa* germplasm resources with resistance to aphids [J]. J Yunnan Univ (Nat Sci Ed), 43(3): 619-628. [范元兰, 陈宇春, 蹇洪英, 等, 2021. 蔷薇属抗蚜种质资源的筛选[J]. 云南大学学报(自然科学版), 43(3): 619-628.]
- FANG Q, TIAN M, ZHANG T, et al., 2020. Karyotype analysis of *Rosa praelucens* and its closely related congeneric species based on FISH [J]. Acta Horti Sin, 47(3): 503-516. [方桥, 田敏, 张婷, 等, 2020. 中甸刺玫及其近缘种基于FISH的核型分析[J]. 园艺学报, 47(3): 503-516.]
- FLANNERY ML, MITCHELL FJ, COYNE S, et al., 2006. Plastid genome characterisation in *Brassica* and Brassicaceae using a new set of nine SSRs [J]. Theor Appl Genet, 113(7), 1221-1231.
- GRAGG H, HARFE BD, JINKS-ROBERTSON S, 2002. Base composition of mononucleotide runs affects DNA polymerase slippage and removal of frame shift intermediates by mismatch repair in *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Mol Cell Biol, 22(24):8756-8762.
- GUAN WL, LI SF, SONG J, et al., 2012. Study on geographic distribution of *Rosa praelucens* endemic to Yunnan [J]. J W Chin For Sci, 41(1): 88-93. [关文灵, 李世峰, 宋杰, 等, 2012. 云南特有濒危植物中甸刺玫的分布特征研究[J]. 西部林业科学, 41(1): 88-93.]
- GUISINGER MM, KUEHL JV, BOORE JL, et al, 2011. Extreme reconfiguration of plastid genomes in the angiosperm family Geraniaceae: rearrangements, repeats, and codon usage [J]. Mol Biol Evol, 28(1): 1543.
- JIAN HY, LI SF, GUO JL, et al., 2018a. High genetic diversity and differentiation of an extremely narrowly distributed and critically endangered decaploid rose (*Rosa praelucens*): implications for its conservation [J]. Conserv Genet, 19(4):761-776.
- JIAN HY, ZHANG H, TANG KX, et al., 2010. Decaploidy in *Rosa praelucens* Byhouwer (Rosaceae) endemic to zhongdian plateau, Yunnan, China [J]. Caryologia, 63(2): 162 -167.
- JIAN HY, ZHANG SD, ZHANG T, et al., 2017. Characterization of the complete chloroplast genome of a critically endangered decaploid rose species, *Rosa praelucens* (Rosaceae) [J]. Conserv Genet Resour, 10: 851-854.
- JIAN HY, ZHANG YH, YAN HJ, et al., 2018b. The complete chloroplast genome of a key ancestor of modern roses, *Rosa chinensis* var. *spontanea*, and a comparison with congeneric species [J]. Molecules, 23: 389.
- JIN GZ, LI WJ, SONG F, et al., 2023. Comparative analysis of complete *Artemisia* subgenus

- Seriphidium* (Asteraceae: *Anthemideae*) chloroplast genomes: insights into structural divergence and phylogenetic relationships [J]. BMC Plant Biol, 136: 1-23
- KEARSE M, MOIR R; WILSON A, et al., 2012. Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data [J]. Bioinformatics, 28(12): 1647-1649.
- KU TC, ROBERTSON KR, 2003. Rosa (Rosaceae) [M] // WU ZY, RAVEN PH. Flora of China, Vol. 9. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 339-381.
- KURTZ S, CHOUDHURI JV, OHLEBUSCH E, et al., 2001. REPuter: The manifold applications of repeat analysis on a genomic scale [J]. Nucleic Acids Res, 29(22): 4633–4642.
- LI P, LU RS, XU WQ, et al., 2017. Comparative genomics and phylogenomics of East Asian tulips (*Amana*, Liliaceae) [J]. Front Plant Sci, 8: 451.
- LI SF, LI CJ, JIAN HY, et al., 2013. Studies on phenotypic diversity of vulnerable *Rosa praelucens* endemic to Shangrila, Yunnan [J]. Acta Horti Sin, 40(5): 924-932. [李树发, 李纯佳, 蹇洪英, 等, 2013. 云南香格里拉特有易危植物中甸刺玫的表型多样性[J]. 园艺学报, 40(5): 924-932.]
- LI XX, ZHOU ZK, 2005. Endemic wild ornamental plants from North Western Yunnan [J]. HortScience, 40(6):1612-1619.
- LIBRADO P, ROZAS J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 25(11):1451–1452.
- LIU C, SHI L, ZHU Y, et al, 2012. CpGAVAS, an integrated web server for the annotation, visualization, analysis, and GenBank submission of completely sequenced chloroplast genome sequences [J]. BMC Genom, 13: 715.
- LIU LX, LI R, WORTH JRP, et al., 2017. The complete chloroplast genome of Chinese bayberry (*Morella rubra*, Myricaceae): implications for understanding the evolution of *Fagales* [J]. Front Plant Sci, 8: 968.
- LOHSE M, DRECHSEL O, KAHLAU S, et al, 2013. Organellar Genome-DRAW—a suite of tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing expression data sets [J]. Nucleic Acids Res, 41(W1): 575-581.
- NEALE DB, SEDEROFF RR, 1989. Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in loblolly pine [J]. Theor Appl Genet, 77(2): 212 -216.
- PATEL RK, JAIN M, 2017. NGS QC toolkit: a toolkit for quality control of next generation sequencing data [J]. PloS ONE, 7: e30619.
- POWELL W, MORGANTE M, MCDEVITT R, et al, 1995. Polymorphic simple sequence repeat regions in chloroplast genomes: Applications to the population genetics of pines [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 92(17): 7759–7763.
- PROVAN J, 2000. Novel chloroplast microsatellites reveal cytoplasmic variation in *Arabidopsis thaliana* [J]. Mol Ecol, 9(12): 2183–2185.
- QI YY, XU WJ, XING T, et al., 2015. Synonymous codon usage bias in the plastid genome is unrelated to gene structure and shows evolutionary heterogeneity [J]. Evol Bio Online, 11: 65-77.
- QIN HN, YANG Y, DONG SY, et al., 2017. List of threatened species of higher plants in China [J]. Biodivers Sci, 25(7): 696–744. [覃海宁, 杨永, 董仕勇, 等, 2017. 中国高等植物受威胁物种名录[J]. 生物多样性, 25(7): 696-744.]
- RAMSEY J, SCHEMSKE DW, 2002. Neopolyploidy in flowering plants [J]. Annu Rev Ecol Syst, 33(1): 589-639.

- SHETTY SM, SHAH MUM, MAKALE K, et al., 2016. Complete chloroplast genome sequence of *Musa balbisiana* corroborates structural heterogeneity of inverted repeats in wild progenitors of cultivated bananas and plantains [J]. *Plant Genome*, 9(2): 1–14.
- SUN YX, MOORE MJ, LIN N, et al., 2017. Complete plastome sequencing of both living species of *Circaeasteraceae* (Ranunculales) reveals unusual rearrangements and the loss of the *ndh* gene family [J]. *BMC Genomics*, 18: 592.
- TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al., 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 [J]. *Mol Biol Evol*, 30(12): 2725-2733.
- WANG KJ, ZHANG T, WANG QG, et al., 2018. The phylogenetic position and hybrid origination of *Rosa Praelucens* Byhouwer [J]. *J Plant Genet Resour*, 19(5): 1006-1015. [王开锦, 张婷, 王其刚, 等, 2018. 中甸刺玫的系统位置及杂交起源研究[J]. *植物遗传资源学报*, 19(5): 1006-1015.]
- WICKE S, SCHNEEWEISS GM, DE PAMPHILIS CW, et al., 2011. The evolution of the plastid chromosome in land plants: Gene content, gene order, gene function [J]. *Plant Mol. Biol*, 76(3-5): 273–297.
- WU XY, CHEN M, WANG QG, et al., 2014. Comparative study on the breeding systems of *Rosa praelucens* and *Rosa soulieana* [J]. *Acta Horti Sin*, 41(10): 2075–2084. [伍翔宇, 陈敏, 王其刚, 等, 2014. 中甸刺玫和川滇蔷薇的繁育系统比较研究[J]. *园艺学报*, 41(10):2075-2084.]
- XUE J, WANG S, ZHOU SL, 2012. Polymorphic chloroplast microsatellite loci in *Nelumbo* (Nelumbonaceae) [J]. *Am J Bot*, 99(6): 240–244.
- YANG F, 2019. Sequencing and structural analysis of chloroplast genome in *Rosa banksiae* [J]. *Genom Appl Biol*, 38(8): 3586 -3594. [杨芳, 2019. 七里香蔷薇叶绿体基因组测序及结构分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 38(8): 3586 -3594.]
- YANG JB, LI DZ, LI HT, 2014. Highly effective sequencing whole chloroplast genomes of angiosperms by nine novel universal primer pairs [J]. *Mol Ecol Resour*, 14(5): 1024–1031.
- YE WQ, YAP ZY, LI P, et al., 2018. Plastome organization, genome-based phylogeny and evolution of plastid genes in *Podophylloideae* (Berberidaceae) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 127: 978–987.
- YIN XM, LIAO BS, GUO S, et al., 2020. The chloroplasts genomic analyses of *Rosa laevigata*, *R. rugosa* and *R. canina* [J]. *Chin Med-UK*, 15: 18.
- ZHAO L, ZHANG H, WANG QG, et al., 2019. The complete chloroplast genome of *Rosa lucidissima*, a critically endangered wild rose endemic to China [J]. *Mitochondrial DNA B*, 4(1): 1826-1827.
- ZHOU YQ, SHU Q, ZHANG H, et al., 2016. Distribution and population quantitative dynamics of critically risked *Rosa praelucens* Byhouwer [J]. *J Plant Genet Resour*, 17(4):649-654. [周玉泉, 苏群, 张颢, 等, 2016. 极危植物中甸刺玫的分布及种群数量动态[J]. *植物遗传资源学报*, 17(4):649-654.]
- ZHU A, GUO W, GUPTA S, et al., 2016. Evolutionary dynamics of the plastid inverted repeat: the effects of expansion, contraction, and loss on substitution rates [J]. *New Phytol*, 209(4): 1747–1756.