

珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性分析

孙月琪^{1,2}, 李密密^{2,①}, 周义峰^{2,①}

[1. 南京林业大学林草学院、水土保持学院, 江苏 南京 210037;

2. 江苏省中国科学院植物研究所(南京中山植物园) 江苏省植物资源研究与利用重点实验室, 江苏 南京 210014]

摘要: 为探究珊瑚菜 (*Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.) 叶绿体基因组密码子使用偏性及其影响因素, 本研究基于珊瑚菜叶绿体基因组测序数据筛选到 51 个蛋白质编码基因, 并对其密码子使用模式进行分析。结果显示: 珊瑚菜叶绿体基因组密码子总 GC 含量 (GC_{all}) 为 38.8%, 密码子第 3 位碱基的 GC 含量 (GC_3) 最低, 仅为 29.2%, 3 个位置碱基的 GC 含量均小于 50%, 表明珊瑚菜叶绿体基因组密码子偏好使用 A 或 U。珊瑚菜叶绿体基因组有效密码子数 (ENC) 为 34.6~54.5, 密码子适应指数 (CAI) 为 0.100~0.270, 密码子偏好指数 (CBI) 为 -0.190~0.226, 最优密码子使用频率 (FOP) 为 0.276~0.550, 表明珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性较弱; 相关性分析结果表明珊瑚菜叶绿体基因组密码子第 3 位碱基的组成对基因表达有很大影响。中性绘图分析、PR2-plot 分析、ENC-plot 分析和对应性分析结果表明珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性受自然选择和突变的共同影响, 以自然选择为主; 基于相对同义密码子使用度 (RSCU) 和高、低表达组的 RSCU 差值 ($\Delta RSCU$) 共获得 16 个最优密码子, 且大部分以 A 或 U 结尾。综合分析结果表明: 珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性较弱, 且主要受自然选择的影响。

关键词: 珊瑚菜; 叶绿体基因组; 密码子使用偏性; 最优密码子

中图分类号: Q943.2; Q949.763.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2023)06-0001-10

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2023.06.01

Analysis on codon usage bias of chloroplast genome of *Glehnia littoralis* SUN Yueqi^{1,2}, LI Mimi^{2,①}, ZHOU Yifeng^{2,①} [1. College of Forestry and Grassland, College of Soil and Water Conservation, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Jiangsu Key Laboratory for the Research and Utilization of Plant Resources, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences (Nanjing Botanical Garden Mem. Sun Yat-Sen), Nanjing 210014, China], *J. Plant Resour. & Environ.*, 2023, 32(6): 1-10

Abstract: To explore the codon usage bias and its affecting factors of chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq., 51 protein-coding genes were screened out based on the chloroplast genome sequencing data of *G. littoralis* in this study, and the codon usage pattern was analyzed. The results show that the total GC content (GC_{all}) of codons in chloroplast genome of *G. littoralis* is 38.8%, the GC content of the third base of codon (GC_3) is the lowest, which is only 29.2%, and the GC contents of base at three positions are all less than 50%, indicating a preference for the use of A or U as codons in chloroplast genome of *G. littoralis*. The effective number of codon (ENC) in chloroplast genome of *G. littoralis* is 34.6-54.5, the codon adaptation index (CAI) is 0.100-0.270, the codon bias index (CBI) is -0.190-0.226, and the frequency of optimal codon (FOP) is 0.276-0.550, indicating the codon usage bias in chloroplast genome of *G. littoralis* is relatively weak; the correlation analysis result shows that the composition of the third base of codon in chloroplast genome of *G. littoralis* has a great impact on gene expression. The results of neutral mapping analysis, PR2-plot analysis, ENC-plot analysis, and correspondence analysis show that the codon usage bias of chloroplast genome of *G. littoralis* is co-affected

收稿日期: 2023-06-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31600169)

作者简介: 孙月琪(1998—), 女, 山东潍坊人, 硕士研究生, 主要从事濒危植物保护研究。

①通信作者 E-mail: limm001@163.com; njgzhou@163.com

引用格式: 孙月琪, 李密密, 周义峰. 珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2023, 32(6): 1-10.

by natural selection and mutation, and natural selection plays the dominant role. A total of 16 optimal codons are obtained based on the relative synonymous codon usage (RSCU) and the RSCU difference (Δ RSCU) between high and low expression groups, and most of them are ended with A or U. The comprehensive analysis results show that the codon usage bias of chloroplast genome of *G. littoralis* is relatively weak, and is mainly affected by natural selection.

Key words: *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.; chloroplast genome; codon usage bias; optimal codon

叶绿体是绿色植物和藻类等真核自养生物特有的细胞器,为光合作用和生物合成的重要场所,能够为植物生长提供有机物和能量^[1-2]。与体细胞基因组相比,叶绿体基因组的拷贝数非常高,且具有较保守的环状结构;由于结构简单、相对分子质量小、进化速率中等、突变率较低、单亲遗传等特征,叶绿体基因组在植物系统发育研究领域发挥着重要的作用^[3-4]。现今,NCBI数据库已经收录了多种植物叶绿体基因组数据,且叶绿体基因组的相关研究涉及叶绿体遗传工程、植物系统进化^[5]及近缘物种鉴定和遗传多样性分析^[6]等领域。

密码子是连接DNA和蛋白质的桥梁,在蛋白质翻译过程中,作为序列单位和重要元件进行遗传信息的传递^[7]。编码同一氨基酸的多个密码子互为同义密码子,各同义密码子在编码蛋白质时被使用的频率不同,这种现象被称为密码子使用偏性(codon usage bias, CUB)^[8],这是生物为适应环境而表现出的进化行为^[9]。针对密码子使用偏性产生了一系列的理论和假说,中性理论和选择-突变-漂移平衡理论是其中的2个经典理论^[10]。中性理论认为密码子的选定仅与突变有关,不受自然选择的影响;而选择-突变-漂移平衡理论认为突变的发生是有方向的,密码子使用偏性受选择、突变和漂移的共同影响。密码子使用偏性不仅在物种和种群间存在差异,也在基因间存在差异,并且不由单一因子决定。研究表明:密码子使用偏性不仅受自然选择、突变和漂移的影响,还受基因表达水平、基因长度、tRNA丰度等的影响^[11]。密码子使用偏性研究被广泛应用于各个领域,如基因结构和功能分析,动植物、微生物和病毒的蛋白质表达等^[12]。分析植物叶绿体基因组密码子使用偏性可以揭示物种的进化关系;确定植物叶绿体基因组最优密码子可以提高基因表达效率;探究植物叶绿体基因组密码子的使用模式及其影响因子,能够为基因工程的载体选择和基因表达提供理论依据,对于物种进化和遗传研究具有重要意义^[13-14]。

珊瑚菜(*Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.)隶属于伞形科(Apiaceae)珊瑚菜属(*Glehnia* F. Schmidt ex Miq.),为多年生草本植物。珊瑚菜的根是一种著名的传统中药材原料,俗称“北沙参”^[15-16]。北沙参在中国的药用历史悠久,与人参、玄参、丹参、党参并称为“五参”,有养阴清肺、益胃生津、化痰止咳等疗效^[17],在调节免疫功能、抗肿瘤和降血糖等方面具有明显功效^[18]。珊瑚菜野生资源分布相对分散,地理分布区狭窄,只在近海沙滩生长,由于过度开发利用和生态环境破坏,加之自然繁殖率较低^[19],珊瑚菜野生资源已受到严重威胁,被国家林业和草原局列为国家二级重点保护野生植物(<http://www.forestry.gov.cn/c/www/lczc/10746.jhtml>)。叶绿体基因组研究可为珊瑚菜的分子遗传和系统进化分析提供参考依据,从而对其进行更有效的保护和利用。目前,珊瑚菜叶绿体基因组的测序工作已经完成,但关于珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性的研究尚未见报道。因此,本研究对珊瑚菜叶绿体基因组的密码子使用偏性进行分析,并探究密码子使用偏性的影响因子,确定最优密码子,以期为后续珊瑚菜叶绿体基因组的相关研究提供重要信息,并为珊瑚菜基因功能和蛋白表达的进一步研究及其基因改良和优良性状优化提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

珊瑚菜新鲜叶片采自浙江省宁波市象山县鹤浦镇大沙沙滩,硅胶干燥保存,利用多糖多酚植物基因组DNA提取试剂盒(上海浦迪生物科技有限公司)提取总DNA,送至北京诺禾致源科技股份有限公司,采用Illumina HiSeq 2500高通量测序平台进行测序,对测序结果进行组装、注释,并将结果提交至NCBI数据库。为保证结果的准确性和可比性,剔除长度小于300 bp的序列和重复序列。

1.2 方法

1.2.1 密码子相关参数计算 参考文献[20],使用EMBOSS在线程序CUSP(<http://emboss.toulouse.inra.fr/cgi-bin/emboss/cusp>)计算密码子总GC含量(GC_{all}),密码子第1、第2和第3位碱基的GC含量(分别为 GC_1 、 GC_2 和 GC_3)以及密码子第3位碱基上的A、T(U,下同)、C、G含量(分别为 A_3 、 T_3 、 C_3 、 G_3);使用Codon W1.4.2软件[21]计算叶绿体基因组的有效密码子数(ENC)、密码子适应指数(CAI)、密码子偏好指数(CBI)、最优密码子使用频率(FOP)、相对同义密码子使用度(RSCU)。若RSCU值等于1,说明该密码子没有使用偏性;若RSCU值大于1,说明该密码子使用偏性较强;若RSCU值小于1,说明该密码子使用偏性较弱[22]。使用SPSS 19.0软件进行相关性分析。

1.2.2 中性绘图分析 以各基因的 GC_3 值为横坐标、密码子第1和第2位碱基GC含量的均值(GC_{12})为纵坐标绘制散点图[23],分析二者的相关性。若回归系数接近1,说明该基因受突变影响较大,反之则说明该基因受自然选择影响较大[24]。

1.2.3 PR2-plot分析 以各基因的 $G_3/(G_3+C_3)$ 为横坐标、 $A_3/(A_3+T_3)$ 为纵坐标绘制散点图[25]。若基因均匀位于2条中心线上或附近,说明4种碱基的使用频率相等或相近,表示密码子使用偏性仅受突变的影响;若基因距离2条中心线较远,说明4种碱基的使用频率相差较大,表示密码子使用偏性受自然选择和突变的共同影响[26]。

1.2.4 ENC-plot分析 以 GC_3 值为横坐标、ENC值为纵坐标绘制散点图,标准曲线通过公式“ $ENC = 2 + GC_3 + \frac{29}{GC_3^2 + (1 - GC_3)^2}$ ”[27]计算。若基因分布于标准曲线附近,表明密码子使用偏性仅受突变的影响[28]。为了分析ENC实际值(ENC_{act})与期望值(ENC_{exp})之间的差异,采用公式“ENC比值 = $(ENC_{act} - ENC_{exp}) / ENC_{act}$ ”计算ENC比值。

1.2.5 对应性分析 按照基因功能将所有基因分为5类,基于RSCU值将各基因分布在多维空间中,以第1轴为横坐标、第2轴为纵坐标绘制散点图进行对应性分析[29]。

1.2.6 最优密码子的确定 RSCU值大于1的密码子为高频密码子[28];对ENC值按照升序排列,分别将排列在前、后10%的基因建立高、低表达组,高、低

表达组的RSCU差值($\Delta RSCU$)大于或等于0.08的密码子为高表达密码子[30]。既属于高频密码子又属于高表达密码子的密码子则为最优密码子[31]。

2 结果和分析

2.1 叶绿体基因组密码子使用偏性分析

2.1.1 碱基组成及表达特征分析 珊瑚菜叶绿体基因组(登录号:OQ863734.1)大小为147 507 bp,经注释后获得84个蛋白质编码基因,最终筛选得到51个符合条件的蛋白质编码基因,这些基因的密码子碱基组成和表达特征见表1。

由表1可见:珊瑚菜叶绿体基因组密码子第1、第2、第3位碱基的GC含量及总GC含量(分别为 GC_1 、 GC_2 、 GC_3 和 GC_{all})的均值分别为47.6%、39.8%、29.2%和38.8%, GC_3 值明显低于 GC_1 和 GC_2 值,说明密码子第3位碱基的组成与前2位碱基差异大,密码子相对保守;密码子不同位置碱基的GC含量均小于50%,说明珊瑚菜叶绿体基因组密码子偏好使用A或U,且第3位碱基比第1、第2位碱基更偏好使用A或U。

由表1还可见:珊瑚菜叶绿体基因组的有效密码子数(ENC)介于34.6~54.5之间,均值为48.1,除 $rps8$ 基因外,其他50个基因的ENC值均大于35;密码子适应指数(CAI)介于0.100~0.270之间,均值为0.168;密码子偏好指数(CBI)介于-0.190~0.226之间,均值为-0.090;最优密码子使用频率(FOP)介于0.276~0.550之间,均值为0.356。以上结果均表明珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性较弱。

2.1.2 相关性分析 珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性相关指标的相关性分析结果(表2)显示: GC_1 值与 GC_2 值极显著($P < 0.01$)正相关,而 GC_3 值与 GC_1 和 GC_2 值均无显著($P > 0.05$)相关性,说明珊瑚菜叶绿体基因组密码子第1和第2位碱基之间差异较小,而前2位与第3位碱基差异较大; CC_1 、 CG_2 、 CG_3 值均与 GC_{all} 值极显著正相关;ENC值仅与 GC_3 值极显著正相关,说明密码子第3位碱基组成对密码子使用偏性的影响较大;此外, GC_{all} 值与ENC、CAI、CBI和FOP值均显著($P < 0.05$)或极显著正相关, GC_1 值与CAI、CBI和FOP值极显著正相关, GC_2 值与CBI和FOP值显著正相关, GC_3 值与CBI和FOP值极显著正相关,说明密码子碱基组成对密码子使用偏性影响较大,特

表1 珊瑚菜叶绿体基因组密码子的碱基组成和表达特征¹⁾Table 1 Base composition and expression characteristics of codons in chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.¹⁾

基因 Gene	GC ₁ /%	GC ₂ /%	GC ₃ /%	GC _{all} /%	ENC	CAI	CBI	FOP	基因 Gene	GC ₁ /%	GC ₂ /%	GC ₃ /%	GC _{all} /%	ENC	CAI	CBI	FOP
<i>psaA</i>	52.5	43.4	32.5	42.8	47.2	0.196	-0.109	0.352	<i>psbB</i>	54.6	46.8	32.2	44.5	46.4	0.198	-0.025	0.401
<i>accD</i>	41.8	35.9	29.0	35.6	43.9	0.198	-0.154	0.349	<i>psbC</i>	53.2	46.0	30.8	43.3	42.2	0.181	-0.026	0.393
<i>atpA</i>	56.7	39.6	25.6	40.6	46.0	0.215	0.009	0.419	<i>psbD</i>	52.3	43.2	33.6	43.0	46.3	0.236	0.042	0.441
<i>atpB</i>	55.5	42.1	30.5	42.7	49.2	0.197	-0.025	0.398	<i>rbcl</i>	58.8	43.3	33.0	45.0	47.8	0.270	0.107	0.485
<i>atpE</i>	51.1	39.7	29.8	40.2	52.1	0.158	-0.055	0.378	<i>rpl14</i>	55.3	38.2	32.5	42.0	43.9	0.169	-0.002	0.398
<i>atpF</i>	48.4	35.2	34.1	39.2	49.2	0.135	-0.173	0.316	<i>rpl16</i>	50.0	52.9	22.8	41.9	36.9	0.127	-0.062	0.381
<i>atpI</i>	49.2	37.5	29.0	38.6	48.8	0.177	-0.059	0.361	<i>rpl2</i>	50.9	49.4	33.4	44.6	51.7	0.132	-0.123	0.343
<i>ccsA</i>	34.8	35.4	26.5	32.2	44.3	0.141	-0.170	0.306	<i>rpl20</i>	38.8	39.5	27.1	35.1	47.7	0.100	-0.185	0.301
<i>cemA</i>	39.1	25.6	29.6	31.4	42.7	0.180	-0.106	0.342	<i>rpl22</i>	41.2	35.8	29.1	35.4	50.4	0.178	-0.096	0.365
<i>clpP</i>	57.6	37.4	32.8	42.6	50.8	0.175	-0.111	0.339	<i>rpoA</i>	46.6	33.0	29.4	36.4	49.7	0.152	-0.121	0.341
<i>matK</i>	39.9	34.0	28.7	34.2	49.3	0.150	-0.158	0.316	<i>rpoB</i>	50.5	37.7	28.3	38.8	45.7	0.149	-0.132	0.335
<i>ndhA</i>	43.7	39.3	22.2	35.1	42.3	0.128	-0.139	0.303	<i>rpoC1</i>	49.8	37.3	29.0	38.7	49.6	0.155	-0.117	0.339
<i>ndhB</i>	41.9	38.9	31.7	37.5	47.2	0.162	-0.092	0.350	<i>rpoC2</i>	45.7	36.8	29.1	37.2	48.3	0.155	-0.146	0.332
<i>ndhC</i>	47.9	33.1	25.6	35.5	48.3	0.207	-0.058	0.351	<i>rps11</i>	54.0	55.4	28.1	45.8	51.8	0.144	-0.153	0.323
<i>ndhE</i>	41.2	34.3	18.6	31.4	35.8	0.157	-0.190	0.289	<i>rps12</i>	52.4	48.4	27.4	42.7	45.7	0.138	-0.085	0.352
<i>ndhF</i>	36.2	35.1	23.6	31.6	42.1	0.151	-0.155	0.315	<i>rps14</i>	45.5	48.5	35.6	43.2	46.9	0.139	-0.028	0.396
<i>ndhG</i>	46.9	35.0	26.0	36.0	44.0	0.148	-0.189	0.276	<i>rps18</i>	37.2	43.1	30.4	36.9	46.8	0.105	-0.151	0.313
<i>ndhH</i>	50.8	36.8	27.9	38.5	47.2	0.155	-0.126	0.331	<i>rps2</i>	43.6	40.7	28.8	37.7	47.2	0.170	-0.152	0.326
<i>ndhI</i>	40.5	36.9	26.2	34.5	45.6	0.198	-0.114	0.350	<i>rps3</i>	47.5	33.3	24.7	35.2	48.0	0.157	-0.112	0.352
<i>ndhJ</i>	49.7	36.5	30.8	39.0	42.9	0.157	-0.165	0.309	<i>rps4</i>	51.5	38.6	30.2	40.1	52.1	0.159	0.001	0.403
<i>ndhK</i>	44.2	44.7	27.0	38.6	48.6	0.161	-0.168	0.318	<i>rps7</i>	53.2	45.5	23.1	40.6	44.5	0.194	-0.057	0.387
<i>petA</i>	52.6	37.4	31.5	40.5	50.7	0.186	-0.031	0.390	<i>rps8</i>	40.0	37.8	24.4	34.1	34.6	0.104	-0.059	0.364
<i>petB</i>	49.1	41.7	29.6	40.1	42.8	0.215	-0.024	0.385	<i>ycf2</i>	41.5	35.0	36.1	37.6	51.0	0.153	-0.140	0.334
<i>petD</i>	51.6	39.1	23.0	37.9	36.4	0.161	-0.155	0.281	<i>ycf3</i>	47.9	38.5	32.0	39.4	54.5	0.143	-0.157	0.348
<i>psaB</i>	49.1	43.3	32.6	41.7	46.1	0.199	-0.062	0.381	<i>ycf4</i>	44.9	42.2	37.3	41.4	54.5	0.159	-0.061	0.371
<i>psbA</i>	50.0	43.5	34.5	42.7	41.5	0.312	0.226	0.550	M	47.6	39.8	29.2	38.8	48.1	0.168	-0.090	0.356

¹⁾ GC₁: 密码子第1位碱基的GC含量 GC content of the first base of codon; GC₂: 密码子第2位碱基的GC含量 GC content of the second base of codon; GC₃: 密码子第3位碱基的GC含量 GC content of the third base of codon; GC_{all}: 密码子总GC含量 Total GC content of codon; ENC: 有效密码子数 Effective number of codon; CAI: 密码子适应指数 Codon adaptation index; CBI: 密码子偏好指数 Codon bias index; FOP: 最优密码子使用频率 Frequency of optimal codon. M: 均值 Mean.

表2 珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性相关指标的相关性分析¹⁾Table 2 Correlation analysis of related indexes of codon usage bias of chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.¹⁾

指标 Index	各指标间的相关系数 Correlation coefficient between indexes						
	GC ₁	GC ₂	GC ₃	GC _{all}	ENC	CAI	CBI
GC ₂	0.433 **						
GC ₃	0.250	0.161					
GC _{all}	0.822 **	0.770 **	0.557 **				
ENC	0.181	0.025	0.577 **	0.307 *			
CAI	0.435 **	0.037	0.269	0.339 *	-0.016		
CBI	0.512 **	0.297 *	0.367 **	0.541 **	-0.037	0.745 **	
FOP	0.495 **	0.327 *	0.432 **	0.569 **	0.053	0.758 **	0.971 **

¹⁾ GC₁: 密码子第1位碱基的GC含量 GC content of the first base of codon; GC₂: 密码子第2位碱基的GC含量 GC content of the second base of codon; GC₃: 密码子第3位碱基的GC含量 GC content of the third base of codon; GC_{all}: 密码子总GC含量 Total GC content of codon; ENC: 有效密码子数 Effective number of codon; CAI: 密码子适应指数 Codon adaptation index; CBI: 密码子偏好指数 Codon bias index; FOP: 最优密码子使用频率 Frequency of optimal codon. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$.

别是第3位碱基的组成对密码子使用偏性影响较大。
2.1.3 相对同义密码子使用度(RSCU)分析 RSCU

分析结果(表3)显示:RSCU值大于1的密码子有30个,表明这30个密码子的使用偏性较强,为高频密码

表 3 珊瑚菜叶绿体基因组相对同义密码子使用度分析¹⁾

Table 3 Analysis on relative synonymous codon usage of chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.¹⁾

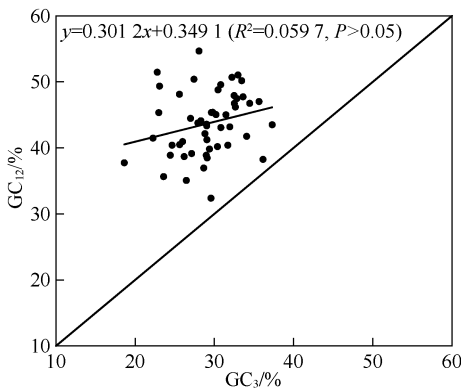
AA	C	n	RSCU	AA	C	n	RSCU	AA	C	n	RSCU	AA	C	n	RSCU
Ala	GCU *	504	1.81	Gln	CAA *	512	1.49	Leu	CUC	124	0.37	Ser	AGU *	293	1.26
Ala	GCC	175	0.63	Gln	CAG	177	0.51	Leu	CUA	269	0.81	Ser	AGC	73	0.31
Ala	GCA *	303	1.09	Glu	GAA *	714	1.49	Leu	CUG	117	0.35	Thr	ACU *	409	1.67
Ala	GCG	129	0.46	Glu	GAG	246	0.51	Lys	AAA *	670	1.51	Thr	ACC	182	0.74
Arg	CGU *	266	1.43	Gly	GGU *	469	1.49	Lys	AAG	216	0.49	Thr	ACA *	285	1.16
Arg	CGC	78	0.42	Gly	GGC	160	0.70	Met	AUG	435	1.00	Thr	ACG	104	0.42
Arg	CGA *	260	1.40	Gly	GGA *	518	1.51	Phe	UUU *	681	1.32	Trp	UGG	339	1.00
Arg	CGG	91	0.49	Gly	GGG	245	0.49	Phe	UUC	351	0.68	Tyr	UAU *	566	1.61
Arg	AGA *	309	1.66	His	CAU *	353	1.47	Pro	CCU *	312	1.57	Tyr	UAC	139	0.39
Arg	AGG	113	0.61	His	CAC	115	0.57	Pro	CCC	148	0.74	Val	GUU *	409	1.50
Asn	AAU *	648	1.53	Ile	AUU	773	0.96	Pro	CCA *	207	1.04	Val	GUC	125	0.46
Asn	AAC	200	0.47	Ile	AUC *	298	1.51	Pro	CCG	128	0.64	Val	GUA *	398	1.46
Asp	GAU *	619	1.60	Ile	AUA	506	0.49	Ser	UCU *	397	1.71	Val	GUG	159	0.58
Asp	GAC	154	0.40	Leu	UUA *	646	1.95	Ser	UCC	230	0.99		UAA *	29	1.71
Cys	UGU *	155	1.53	Leu	UUG *	406	1.23	Ser	UCA *	253	1.09		UAG	12	0.71
Cys	UGC	47	0.47	Leu	CUU *	426	1.29	Ser	UCG	147	0.63		UGA	10	0.59

¹⁾ AA: 氨基酸 Amino acid; C: 密码子 Codon; n: 密码子数量 Codon number; RSCU: 相对同义密码子使用度 Relative synonymous codon usage. *: 高频密码子 High frequency codon; ____: 终止密码子 Termination codon.

子,占密码子总数的 46.9%,其中,除 AUC 和 UUG 外,其余密码子均以 A(13 个)或 U(15 个)结尾。

2.2 中性绘图分析

中性绘图分析结果(图 1)显示:珊瑚菜叶绿体基因组密码子第 1 和第 2 位碱基 GC 含量的均值(GC₁₂)为 32.4%~51.5%,密码子第 3 位碱基的 GC 含量(GC₃)为 18.6%~37.3%,且所有基因均处于对角线上方。GC₁₂值与 GC₃值的回归系数为 0.301 2,且二者无显著(P>0.05)相关性,表明密码子第 1 和第 2



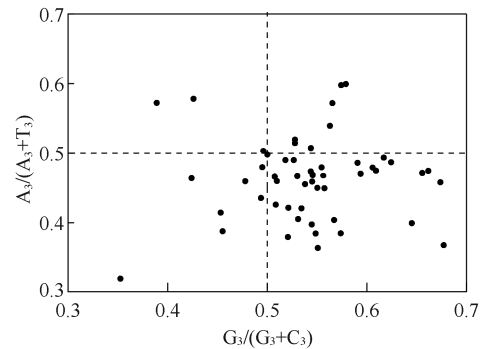
GC₃: 密码子第 3 位碱基的 GC 含量 GC content of the third base of codon; GC₁₂: 密码子第 1 和第 2 位碱基 GC 含量的均值 Mean of GC content of the first and second bases of codon.

图 1 珊瑚菜叶绿体基因组中性绘图分析
Fig. 1 Neutral mapping analysis of chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.

位碱基与第 3 位碱基的 GC 含量差异较大,说明突变对珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性的影响较弱。

2.3 PR2-plot 分析

PR2-plot 分析结果(图 2)显示:珊瑚菜叶绿体基因组各基因所在位置与 2 条中心线的距离差异较大,且在 4 个平面区域中并非均匀分布,多数分布在右下角区域,由此看出,密码子第 3 位碱基的使用频率为 T 大于 A、G 大于 C。说明珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性同时受突变和自然选择的影响,且受自然选择影响更大。



G₃, C₃, A₃, T₃: 分别为密码子第 3 位碱基的 G、C、A、T 含量 Contents of G, C, A and T of the third base of codon, respectively.

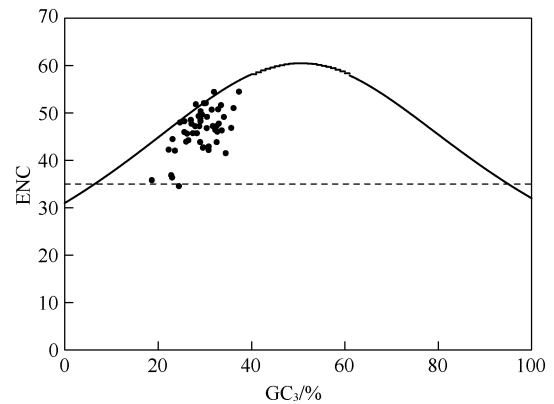
图 2 珊瑚菜叶绿体基因组 PR2-plot 分析
Fig. 2 PR2-plot analysis of chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.

2.4 ENC-plot 分析

结果(图3和表4)显示:珊瑚菜叶绿体基因组中大多数基因的有效密码子数(ENC)大于35,集中在40~55之间,多数分布在标准曲线下方,表明珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性受突变的影响较小。分析ENC比值分布发现,14个基因分布在 $[-0.05, 0.05)$ 区间,位于标准曲线附近,即ENC实际值(ENC_{act})与期望值(ENC_{exp})较接近,说明这些基因的密码子受突变的影响较大;37个基因分布在 $[-0.05, 0.05)$ 区间外,且与标准曲线的距离均较远,即 ENC_{act} 值与 ENC_{exp} 值差距较大,说明这些基因的密码子使用偏性较强,受自然选择的影响较大。以上结果表明:珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性除受突变的影响外,更多受到自然选择的影响。

2.5 对应性分析

基于相对同义密码子使用度(RSCU)的对应性分析结果(图4)显示:第1和第2轴的贡献率分别为10.30%和8.74%。按照基因功能将所有基因分为5类,分别为遗传系统基因(4个)、核糖体蛋白基因(14个)、光合系统基因(25个)、其他蛋白基因(5个)和保守开放阅读框(3个)。不同功能的基因分布较分散,说明这些基因密码子的使用模式相差较大,其密码子使用偏性可能受到多种因子的影响。



GC₃: 密码子第3位碱基的GC含量 GC content of the third base of codon; ENC: 有效密码子数 Effective number of codon.

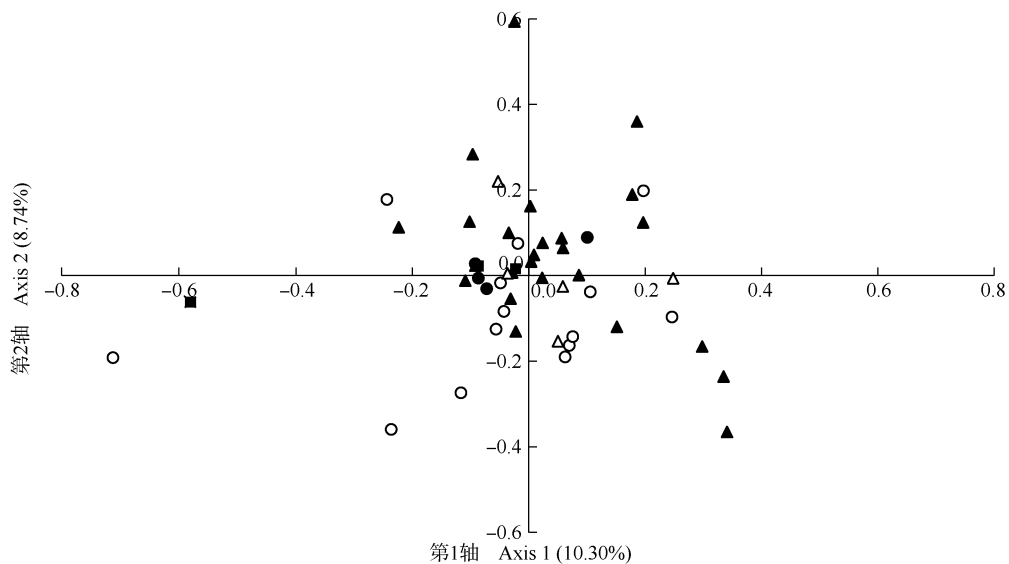
图3 珊瑚菜叶绿体基因组 ENC-plot 分析

Fig. 3 ENC-plot analysis of chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.

表4 珊瑚菜叶绿体基因组有效密码子数(ENC)比值分布

Table 4 Distribution of ratio of effective number of codon (ENC) in chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.

组段 Class range	频数 Frequency number	频率 Frequency
$[-0.05, 0.05)$	14	0.27
$[0.05, 0.15)$	25	0.49
$[0.15, 0.25)$	11	0.22
$[0.25, 0.35)$	1	0.02



●: 遗传系统基因 Genetic system gene; ○: 核糖体蛋白基因 Ribosomal protein gene; ▲: 光合系统基因 Photosynthetic system gene; △: 其他蛋白基因 Other protein gene; ■: 保守开放阅读框 Conserved open reading frame. 括号中百分数为贡献率 The percentages in brackets are the contribution rates.

图4 珊瑚菜叶绿体基因组对应性分析

Fig. 4 Correspondence analysis of chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.

2.6 最优密码子分析

结果(表 5)显示:高、低表达组的 RSCU 差值 (Δ RSCU) 大于或等于 0.08 的密码子有 27 个,其中 1 个为终止密码子,因此高表达密码子为 26 个,以 A 和 U 结尾的分别有 8 和 10 个。以既是高频密码子又

是高表达密码子为依据共确定了 16 个最优密码子,分别为 GCU、GCA、CGA、UGU、CAA、GGU、AAA、UUA、CUU、UUU、CCU、CCA、UCU、ACU、GUU 和 GUA,其中 7 个以 A 结尾,9 个以 U 结尾。说明珊瑚菜叶绿体基因组密码子偏好以 A 或 U 结尾。

表 5 珊瑚菜叶绿体基因组最优密码子分析¹⁾

Table 5 Analysis on optimal codons in chloroplast genome of *Glehnia littoralis* F. Schmidt ex Miq.¹⁾

氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	高表达组 High expression group		低表达组 Low expression group		Δ RSCU	氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	高表达组 High expression group		低表达组 Low expression group		Δ RSCU
		n	RSCU	n	RSCU				n	RSCU	n	RSCU	
Ala	GCU# *	38	2.08	25	1.72	0.36	Leu	CUC	2	0.14	6	0.50	-0.36
Ala	GCC	9	0.49	15	1.03	-0.54	Leu	CUA#	15	1.06	8	0.67	0.39
Ala	GCA# *	20	1.10	10	0.69	0.41	Leu	CUG	1	0.07	4	0.33	-0.26
Ala	GCG	6	0.33	8	0.55	-0.22	Lys	AAA# *	25	1.85	29	1.45	0.40
Arg	CGU *	17	1.57	21	1.54	0.03	Lys	AAG	2	0.15	11	0.55	-0.40
Arg	CGC	4	0.37	9	0.66	-0.29	Met	AUG	30	1.00	19	1.00	0.00
Arg	CGA# *	18	1.66	20	1.46	0.20	Phe	UUU# *	29	1.16	16	0.97	0.19
Arg	CGG	3	0.28	8	0.59	-0.31	Phe	UUC	21	0.84	17	1.03	-0.19
Arg	AGA *	14	1.29	19	1.39	-0.10	Pro	CCU# *	20	1.90	10	1.25	0.65
Arg	AGG#	9	0.83	5	0.37	0.46	Pro	CCC#	7	0.67	4	0.50	0.17
Asn	AAU *	31	1.27	37	1.64	-0.38	Pro	CCA# *	13	1.24	9	1.13	0.11
Asn	AAC#	18	0.73	8	0.36	0.38	Pro	CCG	2	0.19	9	1.13	-0.93
Asp	GAC#	6	0.57	4	0.29	0.29	Ser	UCU# *	24	2.57	12	1.41	1.16
Asp	GAU *	15	1.43	24	1.71	-0.29	Ser	UCC	6	0.64	8	0.94	-0.30
Cys	UGU# *	4	1.60	6	1.33	0.27	Ser	UCA *	7	0.75	11	1.29	-0.54
Cys	UGC	1	0.40	3	0.67	-0.27	Ser	UCG	4	0.43	7	0.82	-0.39
Gln	CAA# *	13	1.73	28	1.47	0.26	Ser	AGU *	10	1.07	12	1.41	-0.34
Gln	CAG	2	0.27	10	0.53	-0.26	Ser	AGC#	5	0.54	1	0.12	0.42
Glu	GAA *	35	1.63	35	1.56	0.07	Thr	ACU# *	18	1.64	16	1.49	0.15
Glu	GAG	8	0.37	10	0.44	-0.07	Thr	ACC#	11	1.00	7	0.65	0.35
Gly	GGU# *	44	2.41	26	1.58	0.84	Thr	ACA *	14	1.27	13	1.21	0.06
Gly	GGC	6	0.33	5	0.30	0.03	Thr	ACG	1	0.09	7	0.65	-0.56
Gly	GGA *	18	0.99	25	1.52	-0.53	Trp	UGG	17	1.00	12	1.00	0.00
Gly	GGG	5	0.27	10	0.61	-0.33	Tyr	UAU *	20	1.43	24	1.71	-0.29
His	CAU *	9	1.13	9	1.64	-0.51	Tyr	UAC#	8	0.57	4	0.29	0.29
His	CAC#	7	0.88	2	0.36	0.51	Val	GUU# *	26	1.73	15	1.33	0.40
Ile	AUU#	44	1.57	31	1.26	0.31	Val	GUC	2	0.13	9	0.80	-0.67
Ile	AUC *	17	0.61	16	0.65	-0.04	Val	GUA# *	29	1.93	11	0.98	0.96
Ile	AUA	23	0.82	27	1.09	-0.27	Val	GUG	3	0.20	10	0.89	-0.69
Leu	UUA# *	28	1.98	22	1.83	0.14		UAA *	4	2.40	3	1.80	0.60
Leu	UUG *	18	1.27	16	1.33	-0.06		UAG	1	0.60	1	0.60	0.00
Leu	CUU# *	21	1.48	16	1.33	0.15		UGA	0	0.00	1	0.60	-0.60

¹⁾ n: 数量 Number; RSCU: 相对同义密码子使用度 Relative synonymous codon usage; Δ RSCU: 高、低表达组的 RSCU 差值 RSCU difference between high and low expression groups. #: 高表达密码子 High-expression codon (Δ RSCU \geq 0.08); *: 高频密码子 High-frequency codon; __: 终止密码子 Termination codon.

3 讨论和结论

密码子使用偏性与 GC 含量密切相关^[32]。密码子第 1 和第 2 位碱基的突变通常为非同义突变,突变

率较低,密码子第 3 位碱基的突变通常为同义突变,因此,密码子第 3 位碱基的组成可以作为分析密码子使用偏性的主要依据^[33]。本研究发现,珊瑚菜叶绿体基因组密码子 3 个位置碱基的 GC 含量不同,表现为密码子第 1 位碱基的 GC 含量(GC₁)大于密码子第

2位碱基的GC含量(GC₂),二者均大于密码子第3位碱基的GC含量(GC₃),GC₁值与GC₂值极显著($P < 0.01$)正相关,GC₃值与GC₁和GC₂值无显著($P > 0.05$)相关性,密码子不同位置碱基的GC含量均小于50%,表明珊瑚菜叶绿体基因组密码子偏好使用A或U,且第3位碱基比第1和第2位碱基更偏好使用A或U。而有效密码子数(ENC)仅与GC₃值极显著相关,表明GC₃值对珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性的影响较大。

ENC表示密码子偏离随机选择的程度^[34],是衡量密码子使用偏性的重要指标。ENC值由20到61,表示密码子使用偏性由强到弱^[35],当ENC值小于或等于35时,说明密码子具有较强的使用偏性^[36]。珊瑚菜叶绿体基因组ENC均值为48.13,除*rps8*基因的ENC值小于35外,其他50个基因的ENC值均大于35,表明珊瑚菜叶绿体基因组密码子整体使用偏性较低。核糖体蛋白S8(RPS8)是小核糖体亚基中的一种蛋白质^[37],结构较为保守。*rps8*基因在地理分布广泛的被子植物中差异极小,说明该基因具有保守的DNA序列,在进化过程中受外部影响小^[38]。珊瑚菜叶绿体基因组中*rps8*基因的GC含量保守性较高,受突变的影响较小,密码子使用偏性较强,因此ENC值最低。

本研究结果显示:珊瑚菜高频密码子和高表达密码子主要以A或U结尾,最优密码子均以A或U结尾,说明珊瑚菜偏好使用A或U结尾的密码子,这一结果与西藏凹乳芹(*Vicatia tibetica* de Boiss.)^[39]和人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)^[40]等的研究结果一致。一般来说,在较强的正向选择和突变压力的影响下,最优密码子数量相对较多;而在纯化选择下,最优密码子数量较少^[41]。本研究共确定了16个珊瑚菜叶绿体基因组的最优密码子,数量较多,因此推测珊瑚菜叶绿体基因组可能处于正向选择和突变压力之下。不同物种的最优密码子及数量不同,说明不同物种在进化过程中受到的进化压力有所不同。目前,已报道的多数高等植物和藻类植物叶绿体基因组的最优密码子大部分以A或U结尾^[28-32,39-40,42],这种密码子使用模式可能是由于叶绿体基因组中含有丰富的A或U,同时叶绿体基因组密码子的使用偏性在进化关系上较为保守。

密码子使用偏性表现出的基因和物种的特异性能够影响基因的表达水平。一般来说,密码子使用偏

性越强,基因表达水平越高^[43]。密码子适应指数(CAI)可以根据已知高表达基因的序列预估未知基因密码子使用偏性程度,范围为0~1,数值越大表示偏性越强^[44];密码子偏好指数(CBI)和最优密码子使用频率(FOP)分别表示最优密码子子集在特定基因中的使用程度和基因中最优密码子占同义密码子数量的比值,范围均为0~1,当最优密码子使用次数比平均使用次数还少时,CBI为负值^[8]。本研究中,CAI、CBI和FOP的均值分别为0.168、-0.090和0.356,均表明珊瑚菜叶绿体基因组密码子使用偏性较弱,基因表达也较弱;相关性分析中,密码子不同位置碱基的GC含量与CAI、CBI和FOP值均有相关性,FOP、CAI、CBI值两两间均极显著相关,说明密码子的碱基组成,特别是第3位碱基的组成对珊瑚菜叶绿体基因的表达有很大影响。基因表达受密码子使用偏性调控,同时最优密码子的使用能够提升翻译的速率、效率和精确率^[45]。因此,本研究中珊瑚菜叶绿体基因组中包含最优密码子的基因可能表现出较高的表达水平。

中性绘图分析表明:GC₁、GC₂与GC₃值的相关性未达到显著水平,说明突变对密码子使用偏性影响不大,密码子使用偏性更多地受自然选择的影响;ENC-plot和PR2-plot分析均表明珊瑚菜密码子使用模式同时受到自然选择和突变的共同影响,且受自然选择影响较大;对应性分析表明突变是影响珊瑚菜密码子使用偏性的重要因子,但并不是惟一因子。综合上述分析,影响珊瑚菜密码子使用偏性的主要因子是自然选择,这与西藏凹乳芹^[39]和人参^[40]等植物的研究结果一致。另有研究表明:泽芹属(*Sium* Linn.)^[46]和胡萝卜(*Daucus carota* var. *sativa* Hoffm.)^[47]的叶绿体基因组密码子使用偏性受突变的影响更大。在系统发育关系中,珊瑚菜与人参和西藏凹乳芹的亲缘关系较近,而与滇西泽芹[*Sium ventricosum* (H. Boissieu) Li Song Wang et M.F. Watson]和胡萝卜的亲缘关系较远^[48]。因此,可以推断亲缘关系较近的物种叶绿体基因组具有相似的密码子使用偏性。

本研究在珊瑚菜叶绿体基因组中共筛选到51个蛋白质编码基因,密码子3个位置的碱基组成具有不同的特征,第3位碱基的组成与第1和第2位碱基的组成差异较大,且第3位碱基的GC含量最低;珊瑚菜叶绿体基因组密码子和最优密码子均偏好使用A或U,密码子使用偏性较弱,基因表达也较弱;密码

子使用偏性受到突变和自然选择的共同影响,且自然选择发挥主要作用。另外,本研究缺乏珊瑚菜不同居群的密码子使用偏性对比,导致研究结果不够全面客观,缺乏代表性,有待后续工作对珊瑚菜不同居群之间密码子使用偏性进行对比分析及深入研究。

参考文献:

- [1] GUTTERIDGE S. The impact of a changing atmosphere on chloroplast function, photosynthesis, yield, and food security [J]. *Essays in Biochemistry*, 2018, 62: 1-11.
- [2] 陈柯伊,李朝娜,成敏敏,等.不同叶色矢竹叶叶绿体结构和光系统特性差异[J]. *植物学报*, 2018, 53(4): 509-518.
- [3] 毕毓芳,温星,潘雁红,等.叶绿体DNA条形码在林木中的应用及研究进展[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(16): 5444-5452.
- [4] 李连星,彭劲谕,王大玮,等.长爪柊[木衣]叶绿体基因组特征系统发育及密码子偏好性分析[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(1): 328-342.
- [5] 武立伟,崔英贤,聂丽萍,等.细茎石斛叶绿体全基因组序列特征及系统发育分析[J]. *药学学报*, 2020, 55(5): 1056-1066.
- [6] 王梦涵,胡帅军,杨楚虹,等.湖北麦冬、川麦冬及杭麦冬叶绿体基因组分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2020, 26(8): 182-191.
- [7] 滕腾,赵懿琛,赵德刚.鸟王茶基因密码子偏好性分析[J]. *基因组学与应用生物学*, 2021, 40(2): 795-801.
- [8] 吴宪明,吴松峰,任大明,等.密码子偏性的分析方法及相关研究进展[J]. *遗传*, 2007, 29(4): 420-426.
- [9] BOTZMAN M, MARGALIT H. Variation in global codon usage bias among prokaryotic organisms is associated with their lifestyles [J]. *Genome Biology*, 2011, 12: R109.
- [10] DURET L. Evolution of synonymous codon usage in metazoans [J]. *Current Opinion in Genetics and Development*, 2002, 12(6): 640-649.
- [11] 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.
- [12] SUEOKA N. Intrastrand parity rules of DNA base composition and usage biases of synonymous codons [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1995, 40: 318-325.
- [13] 梁皓辉,符虹宇,黎钊坪,等.小球藻叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(17): 5665-5673.
- [14] 沈宗芳,陆添权,张志荣,等.槲蕨属叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *广西植物*, 2021, 41(2): 266-273.
- [15] 张祥柏.北沙参药材的质量控制与评价技术研究[D].青岛:中国海洋大学,2007: 11.
- [16] 崔海燕,胡晶红,张永清.珊瑚菜植株不同器官挥发油成分分析[J]. *山东中医药大学学报*, 2013, 37(1): 61-64.
- [17] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:2020年版(一部) [M].北京:中国医药科技出版社,2020: 103.
- [18] 李宝国,石俊英.近十年来北沙参研究概况[J]. *时珍国医国药*, 2002, 13(5): 309-310.
- [19] 宋春风,吴宝成,胡君,等.江苏野生珊瑚菜生存现状及灭绝原因探析[J]. *中国野生植物资源*, 2013, 32(4): 56-57, 69.
- [20] 杨林,谭萍,姜月影,等.3种木莲属濒危药用植物叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *中国中医药信息杂志*, 2022, 29(8): 93-99.
- [21] WONG E H M, SMITH D K, RABADAN R, et al. Codon usage bias and the evolution of influenza A viruses. Codon usage biases of influenza virus [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2010, 10: 253.
- [22] 冯海悦,张羽,吴正常,等.13种哺乳动物 *MUC4* 基因密码子使用模式分析[J]. *农业生物技术学报*, 2018, 26(9): 1546-1556.
- [23] 柳燕杰,田旭平,李倩.美国红栲叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(15): 83-88.
- [24] MCLEAN M J, WOLFE K H, DEVINE K M. Base composition skews, replication orientation, and gene orientation in 12 prokaryote genomes [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1998, 47: 691-696.
- [25] 唐玉娟,赵英,黄国弟,等.芒果叶绿体基因组密码子使用偏性分析[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(8): 2143-2150.
- [26] 杨国锋,苏昆龙,赵怡然,等.藜藜苜蓿叶绿体密码子偏好性分析[J]. *草业学报*, 2015, 24(12): 171-179.
- [27] NOVEMBRE J A. Accounting for background nucleotide composition when measuring codon usage bias [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2002, 19(8): 1390-1394.
- [28] 丁锐,胡兵,宗小雁,等.杓兰叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *林业科学研究*, 2021, 34(5): 177-185.
- [29] 王鹏良,杨利平,吴红英,等.普通油茶叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *广西植物*, 2018, 38(2): 135-144.
- [30] 刘庆坡,薛庆中.梗稻叶绿体基因组的密码子用法[J]. *作物学报*, 2004, 30(12): 1220-1224.
- [31] 原晓龙,李云琴,张劲峰,等.降香黄檀叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *广西植物*, 2021, 41(4): 622-630.
- [32] 冯瑞云,梅超,王慧杰,等.籽粒苋叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *中国草地学报*, 2019, 41(4): 8-15.
- [33] WAN X F, XU D, KLEINHOF S A, et al. Quantitative relationship between synonymous codon usage bias and GC composition across unicellular genomes [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2004, 4: 19.
- [34] WRIGHT F. The 'effective number of codons' used in a gene [J]. *Gene*, 1990, 87: 23-29.
- [35] GAJBHIYE S, PATRA P K, YADAV M K. New insights into the factors affecting synonymous codon usage in human infecting *Plasmodium* species [J]. *Acta Tropica*, 2017, 176: 29-33.
- [36] JIANG Y, DENG F, WANG H L, et al. An extensive analysis on the global codon usage pattern of baculoviruses [J]. *Archives Virology*, 2008, 153: 2273-2282.
- [37] ZENGE L J M, LINDAHL L. Diverse mechanisms for regulating

- ribosomal protein synthesis in *Escherichia coli* [J]. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology*, 1994, 47: 331-370.
- [38] BURLEIGH J G, MATHEWS S. Phylogenetic signal in nucleotide data from seed plants: implications for resolving the seed plant tree of life[J]. *American Journal of Botany*, 2004, 91(10): 1599-1613.
- [39] 关云会, 姚文燕, 杨青淑, 等. 西藏凹乳芹叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *分子植物育种*, 2021, 19(23): 7771-7781.
- [40] 石岩硕, 赵永星. 人参属植物叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(19): 6350-6361.
- [41] HERSHBERG R, PETROV D A. Selection on codon bias [J]. *Annual Review of Genetics*, 2008, 42: 287-299.
- [42] 梁皓辉, 符虹宇, 黎钊坪, 等. 小球藻叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(17): 5665-5673.
- [43] ZHOU Z P, DANG Y K, ZHOU M, et al. Codon usage is an important determinant of gene expression levels largely through its effects on transcription[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113(41): E6117-E6125.
- [44] LIU S S, QIAO Z Q, WANG X M, et al. Analysis of codon usage patterns in “*Lonicera Flos*” (*Lonicera macranthoides* Hand.-Mazz.) based on transcriptome data[J]. *Gene*, 2019, 705: 127-132.
- [45] SHARP P M, MATASSI G. Codon usage and genome evolution [J]. *Current Opinion in Genetics and Development*, 1994, 4: 851-860.
- [46] 汪 沛. 泽芹属植物的叶绿体基因组特征及密码子偏好性研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2023: 52.
- [47] 康 路, 谢登峰, 何兴金. 胡萝卜(*Daucus carota* var. *sativa*)密码子偏好性及属内质体基因组核苷酸多样性分析[J]. *分子植物育种*, 2020, 18(7): 2077-2086.
- [48] ZHOU Y F, GENG M L, LI M M. The complete chloroplast genome of *Glehnia littoralis*, an endangered medicinal herb of Apiaceae family [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2018, 3(2): 1013-1014.

(责任编辑: 吴蕊夷)

《植物资源与环境学报》启事

为了扩大科技期刊的信息交流、充分实现信息资源共享,《植物资源与环境学报》已先后加入“中国学术期刊(光盘版)”、“万方数据——数字化期刊群”和“中文科技期刊数据库”等网络文献资源数据库,凡在本刊发表的论文将编入数据库供上网交流、查阅及检索,作者的著作权使用费与本刊稿酬一次性给付,不再另付。如作者不同意将文章收编入数据库,请在来稿时声明,本刊将做适当处理。

《植物资源与环境学报》的投稿网址为 <http://zwzy.cnbg.net>; 联系电话: 025-84347014; E-mail: zwzybjb@163.com; QQ: 2219161478。

《植物资源与环境学报》编辑部
2023-11