



基于叶绿体基因组数据的芸香科属间系统发育初步分析

刘 涵^{1,2}, 孙 冲^{1,3}, 吴 杰¹, 黄 威¹, 黄勤琴^{1,2}, 刘 霞^{1,4*}

(1 重庆文理学院 园林与生命科学学院, 重庆 402160; 2 重庆三峡学院 生物与食品工程学院, 重庆 404000; 3 长江大学 园艺与园林学院, 湖北荆州 434025; 4 西南大学 园艺与园林学院, 重庆 400799)

摘 要:为探究花椒属种水平系统进化关系以及为新品种培育研究奠定理论基础,该研究以芸香科物种的叶片为材料,采用改良 CTAB 法提取叶绿体 DNA,利用 BGISEQ-500 平台进行叶绿体基因组测序,并对叶绿体基因组进行组装、注释,联合 NCBI 数据库数据,共获得芸香科 19 属 49 个物种的全叶绿体基因组序列。构建了芸香科属间系统进化关系。结果表明,(1)基于叶绿体基因组序列矩阵(总长 196 641 bp),ML 和 BI 2 种方法得到的系统发育树的拓扑结构基本一致,系统发育树各分支具有较强的支持率,叶绿体基因组数据可以解决芸香科属间的系统发育关系。(2)芸香科为单系类群,并进一步形成两大分支,其中柑橘亚科为单系,与芸香亚科内的芸香属聚为分支 I,分支 II 由芸香亚科和飞龙掌血亚科组成,两亚科均不是单系,其中飞龙掌血亚科的香肉果属,茵芋属与芸香亚科的白鲜属,臭常山属是最早分化出来的类群,其次是蜜茱萸属和山油柑属;黄檗属和吴茱萸属与花椒属类群形成姊妹群,飞龙掌血属的物种飞龙掌血嵌套于花椒属分支中,支持飞龙掌血物种并入花椒属的处理。

关键词:系统发育;叶绿体基因组;系统进化;花椒属;芸香科

中图分类号:Q789; S722 **文献标志码:**A

Preliminary Analysis of Intergeneric Phylogenetic of Rutaceae Based on Chloroplast Genomes Data

LIU Han^{1,2}, SUN Chong^{1,3}, WU Jie¹, HUANG Wei¹, HUANG Qinqin^{1,2}, LIU Xia^{1,4*}

(1 College of Landscape Architecture and Life Science, Chongqing University of Arts and Sciences, Chongqing 402160, China; 2 College of Biology and Food Engineering, Chongqing Three Gorges University, Chongqing 404000, China; 3 College of Horticulture and Landscape Architecture, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025, China; 4 College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 402160, China)

Abstract: To investigate the phylogenetic relationship of *Zanthoxylum* species level and provide a theoretical foundation for the cultivation of new varieties, in this study, we used the leaves of Rutaceae species as materials to extract chloroplast DNA using modified CTAB method, sequenced the chloroplast genome by BGISEQ-500 platform, assembled and annotated the chloroplast genome. Combined with NCBI database data, we obtained the whole chloroplast genome sequences of 49 species in 19 genera of Rutaceae. The results showed that, (1) based on the chloroplast genome sequence matrix (total length was 196 641 bp), the topological nodes of phylogenetic trees obtained by ML and BI methods were basically the same, with strong support for each branch. The chloroplast genome data could resolve the phylogenetic relationships of intergeneric in Rutaceae. (2) Rutaceae was a monophyletic group and further forms two branches, of

收稿日期:2023-04-01;修改稿收到日期:2023-08-04

基金项目:国家自然科学基金项目(31901324);重庆市博士后研究特别资助项目(2021XM2010);重庆市教委青年项目(KJQN202201337, KJQN202101320, KJQN201801344)

作者简介:刘 涵(1998—),男,在读硕士研究生,主要从事经济林资源开发利用研究。E-mail:1017717274@qq.com

* 通信作者:刘 霞,博士,副教授,主要从事特色经济林资源收集与开发利用研究。E-mail:liuxiavip8@163.com

which subfamily Aurantioideae was a monophyletic group and clustered with *Ruta* in Rutaceae into Clade I. Clade II was composed of Rutoideae and Toddalioidae, neither of which was monophyletic group. Among them, *Casimiroa* and *Skimmia* of Toddalioidae and *Dictamnus* and *Orixa* of Rutoideae were the early-diverging clade, followed by *Melicope* and *Acronychia*. *Phellodendron* and *Tetradium* formed a clade sister to *Zanthoxylum*. *Toddalia asiatica* was nested in *Zanthoxylum*, and the result supported the treatment of merging *T. asiatica* into *Zanthoxylum*.

Key words: phylogenetics; chloroplast genome; systematic evolution; *Zanthoxylum*; Rutaceae

芸香科(Rutaceae)中许多植物以具重要的药用、经济和观赏价值而闻名,如花椒属(*Zanthoxylum* L.)物种^[1]。芸香科从属于芸香目(Rutales),约 150 属,1 600 种,分布于世界各地,中国有 28 属,约 151 种,28 变种,主要分布在中国西南和南方地区^[2]。基于分子系统研究结果表明,芸香科是单系类群^[3];然而,芸香科下亚科的划分争议较大。被子植物分类系统(angiosperm phylogeny group, APG)将芸香科划分为芸香亚科(Rutoideae)、柑橘亚科(Aurantioideae)、戟叶橄榄亚科(Cneoroideae)和脂檀亚科(Amyridoideae) 4 个亚科。根据果实和雌蕊形态,Engler 系统将该科细分为芸香亚科、柑橘亚科、飞龙掌血亚科(Toddalioidae)、巨盘木亚科(Flindersioideae)、Rhabdodendroideae、Dictyolomatoideae 和 Spathelioidae 7 个亚科^[4],其中仅前 4 个亚科在中国有分布。

前人研究表明,物种多样性最高的芸香亚科和飞龙掌血亚科物种关系很大程度上是混杂的,芸香科的模式属芸香属与柑橘亚科关系更为密切^[5-6]。Poon 等^[7]通过 2 个叶绿体片段和核基因标记表明吴茱萸属(*Tetradium* Lour.)、黄檗属(*Phellodendron* Rupr.)和飞龙掌血属(*Toddalia* Juss.)是花椒属的近亲属。Poon 等^[7]和 Groppo 等^[8-9]发现花椒属与飞龙掌血属为姊妹类群,而黄檗属则嵌套在吴茱萸属中。Appelhans 等^[1]根据 5 个叶绿体和核基因标记,认为飞龙掌血属可能嵌套在花椒属内。尽管前人对芸香科植物做了大量的研究,但仅使用有限数量的叶绿体和核基因标记来推断该科的系统发育关系,系统发育树中一些重要节点的分辨率较低。目前,在更广泛的分类群采集和大量分子数据使用的基础上,尚没有得到 1 个完整的芸香科系统发育树框架。此外,由于系统发育树支持率较低,以及在以往研究中使用的分子标记有限,花椒的近亲属还有待进一步阐明。完整的叶绿体基因组(chloroplast DNA, cpDNA)序列为系统发育特征提供了丰富的生物信息,有助于深入了解芸香科亚科之间以及花椒属及其近缘属之间的进化关系。

叶绿体基因组大小适中,基因含量和结构相对保守,核苷酸替代率低,为植物进化和系统发育研究

提供了充足的资源^[10],已有研究证明叶绿体基因组序列具有在不同分类水平上解决系统发育关系的潜力^[11]。近年来,叶绿体基因组被用于不同分类水平的分析,例如,李岩等^[12]基于叶绿体基因组数据比较分析了十字花科(Brassicaceae Burnett)22 个属 22 个物种的系统进化关系,结果表明利用叶绿体基因组数据可以解决十字花科植物的系统分类和系统发育关系。路东晔等^[13]分析了臭柏(*Juniperus sabina* L.)叶绿体基因组结构特征及系统进化关系,丰富了臭柏的遗传信息。Xu 等^[14]基于叶绿体基因组序列建立了风毛菊属(*Saussurea* DC.)系统发育框架,各分支具有较高支持率。Zong 等^[15]利用叶绿体基因组序列解析了杨属(*Populus* L.)物种的亲缘关系。段义忠和张凯^[16]对沙冬青[*Ammopiptanthus mongolicus* (Maxim. ex Kom.) Cheng f.]和矮沙冬青[*Ammopiptanthus nanus* (Maxim. ex Kom.) Cheng f.]叶绿体基因组进行了测序,分析了其叶绿体基因组结构和系统发育关系,为沙冬青属的种间鉴别和分子标记的开发等奠定了理论基础。马孟莉等^[17]对姜科(Zingiberaceae)豆蔻属(*Amomum* Roxb.)阳春砂(*Amomum villosum* Lour.)叶绿体基因组进行了测序,揭示了阳春砂与其他姜科植物的进化关系。Wen 等^[18]报道了野木瓜(*Stauntonia chinensis* DC.)叶绿体基因组序列,并对木通亚科(Lardizabaloideae)植物的叶绿体基因组进行比较分析,揭示了其适应性进化。本研究对芸香科中 12 个物种进行了叶绿体基因组测序,组装和注释,获得其叶绿体全基因组序列,结合数据库中已公布的芸香科物种的叶绿体基因组序列,共 46 个物种,选择苦木科(Simaroubaceae)和橄榄科(Burseraceae)共 3 个物种作为外类群,对分布于中国的芸香科植物进行了分子系统发育分析。由于巨盘木亚科物种材料和叶绿体全基因组数据的缺乏,该亚科未纳入本研究中。利用叶绿体基因组数据对中国芸香科属水平的亲缘关系进行了系统发育重建,有助于加深理解中国芸香科属间系统进化关系,同时明确花椒属的近缘属类群,为下一步进行花椒属种间的系统进化关系研究选择合适外类群提供数据参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

研究共获得芸香科 46 个物种的叶绿体全基因组序列,其中 12 个物种为本研究新测序获得,序列登

录号及详细的样品信息见表 1。
其余物种包括 3 个外类群物种的叶绿体全基因组序列均从 GenBank (www. ncbi. nlm. nih. gov/genbank)数据库获得。植物标本存放于重庆文理学院园林与生命科学学院。

表 1 研究所用样本的信息
Table 1 Taxonomic and accession number of samples used in this study

科/亚科 Family/Subfamily	类群 Taxa	登录号 Genbank	新测序样品的信息 Information from new sequencing samples
芸香科/ 柑橘亚科 Rutaceae/ Subfamily Aurantioidae	红河橙 <i>Citrus hongheensis</i>	NC053573	GenBank
	富民枳 <i>Citrus polytrifolia</i>	NC045403	GenBank
	金柑 <i>Citrus japonica</i>	MZ457935	GenBank
	来檬 <i>Citrus aurantiifolia</i>	KJ865401	GenBank
	柚 <i>Citrus maxima</i> ‘Guanxi miyou’	MN782007	GenBank
	枳 <i>Citrus trifoliata</i>	NC057088	GenBank
	酸橙 <i>Citrus aurantium</i>	NC052719	GenBank
	柑橘 <i>Citrus reticulata</i>	MW478804 *	重庆江津区 Jiangjin District, Chongqing
	广东酒饼簕 <i>Atalantia kwangtungensis</i>	MH329190	GenBank
	千里香 <i>Murraya paniculata</i>	NC052700	GenBank
	九里香 <i>Murraya exotica</i>	MW722359	GenBank
	细叶黄皮 <i>Clausena anisum-olens</i>	MZ460583	GenBank
	调料九里香 <i>Murraya koenigii</i>	NC032684	GenBank
	假黄皮 <i>Clausena excavata</i>	NC032685	GenBank
	黄皮 <i>Clausena lansium</i>	MH047377	GenBank
	山小橘 <i>Glycosmis pentaphylla</i>	NC032687	GenBank
	毛里求斯山小桔 <i>Glycosmis mauritiana</i>	NC032686	GenBank
	小花山小橘 <i>Glycosmis parviflora</i>	MW714375	GenBank
芸香科/ 芸香亚科 Rutaceae/ Subfamily Rutoideae	芸香 <i>Ruta graveolens</i>	NC045946	GenBank
	吴茱萸 <i>Tetradium ruticarpum</i>	MW478803 *	广东广州 Guangzhou, Guangdong
	三桠苦 <i>Melicope pteleifolia</i>	NC053871	GenBank
	臭常山 <i>Orixa japonica</i>	NC057647	GenBank
	白鲜 <i>Dictamnus dasycarpus</i>	MZ677241	GenBank
	花椒 <i>Zanthoxylum bungeanum</i>	MW206782 *	四川省阿坝州黑水县 Heishui County, Aba Prefecture, Sichuan
	胡椒木 <i>Zanthoxylum pipertium</i>	MW602893 *	山东济南 Ji'nan, Shandong
	梗花椒 <i>Zanthoxylum stipitatum</i>	MW602891 *	湖南省国家自然保护区 Hu'nan National Nature Reserve
	川陕花椒 <i>Zanthoxylum piasezkii</i>	MW206785 *	四川省阿坝州黑水县 Heishui County, Aba Prefecture, Sichuan
	竹叶花椒 <i>Zanthoxylum armatum</i>	MW602887 *	重庆永川区 Yongchuan District, Chongqing
	<i>Zanthoxylum</i> sp. NH-2018	MF716521	GenBank
	野花椒 <i>Zanthoxylum simulans</i>	MW602885 *	重庆巫山 Wushan, Chongqing
	墨脱花椒 <i>Zanthoxylum motuoense</i>	NC053777	GenBank
	刺花椒 <i>Zanthoxylum acanthopodium</i>	NC051878	GenBank
	两面针 <i>Zanthoxylum nitidum</i>	MW602879 *	重庆巫山 Wushan, Chongqing
	<i>Zanthoxylum tragodes</i>	MN968554	GenBank
	尖叶花椒 <i>Zanthoxylum oxyphyllum</i>	MW602876 *	重庆巫山 Wushan, Chongqing
	石山花椒 <i>Zanthoxylum calcicola</i>	NC053779	GenBank
	青花椒 <i>Zanthoxylum schinifolium</i>	NC030702	GenBank
	<i>Zanthoxylum pinnatum</i>	MN968553	GenBank
	<i>Zanthoxylum madagascariense</i>	MN968551	GenBank
	<i>Zanthoxylum paniculatum</i>	MN968552	GenBank
芸香科/ 飞龙掌血亚科 Rutaceae/ Subfamily Toddalioidae	飞龙掌血 <i>Toddalia asiatica</i>	MW478801 *	广东深圳仙湖植物园 Xianhu Botanical Garden, Shenzhen City, Guangdong
	川黄檗 <i>Phellodendron chinense</i>	MW478802 *	山东济南植物园 Ji'nan Botanical Garden, Shandong
	黄檗 <i>Phellodendron amurense</i>	NC035551	GenBank
	山油柑 <i>Acronychia pedunculata</i>	MW542636	GenBank
	茵芋 <i>Skimmia reevesiana</i>	MW800958	GenBank
	香肉果 <i>Casimiroa edulis</i>	NC046844	GenBank
橄榄科 Burseraceae Kunth	橄榄 <i>Canarium album</i> (Lour.) Raesch.	NC048982	GenBank
苦木科 Simaroubaceae DC.	苦树 <i>Picrasma quassioides</i> (D. Don) Benn.	MW801117	GenBank
海人树科 Surianaceae Arn.	海人树 <i>Suriana maritima</i> L.	MK830069	GenBank

注：* 为研究新测序物种。
Note: * is a newly sequenced species for this study.

Fig. 1 Phylogenetic tree of the Rutaceae based on the chloroplast genome data

芸香亚科和飞龙掌血亚科之间的系统发育关系很大程度上是混合的,模式属芸香属既不属于芸香亚科也不属于飞龙掌血亚科,而是与柑橘亚科的关系更为密切,这与其他系统发育分析结果基本一致。

2.3 花椒属及其近缘属间的系统发育关系分析

所有的花椒属物种聚为 1 个单系(BS=100%, PP=1)。黄檗属和吴茱萸属与花椒属(*Zanthoxy-lum*)类群形成姊妹关系(BS=100%, PP=1),飞龙掌血嵌套于花椒属内,这与 Appelhans 等^[1]研究结果一致,2 个属应该进行合并。来自印度洋群岛的 2 个花椒物种(*Z. madagascariense* 和 *Z. panicula-tum*)最早分化出来,为花椒属物种的基部类群,飞龙掌血属物种飞龙掌血嵌套于花椒属分支中,与尖叶花椒、石山花椒、青花椒和来自南太平洋群岛汤加的 *Z. pimmatum* 物种形成姊妹关系。来自南太平洋群岛的 *Z. tragodes* 位于另 1 个亚分支的基部,与其他花椒物种形成姊妹关系,各分支有较高的支持率。

3 讨 论

根据进化树,芸香亚科和飞龙掌血亚科之间的关系很大程度上是混合的,模式属芸香属不属于芸香亚科和飞龙掌血亚科,而与柑橘亚科关系更密切(图 1)。芸香亚科、飞龙掌血亚科和柑橘亚科的系统发育关系很大程度上不符合根据形态来定义芸香科植物的恩格勒分类体系^[4]。该研究的结果与最近基于几个叶绿体和核基因标记重建的芸香科系统发育树结果^[5-6]基本一致,但该研究的系统发育树具有相对较高的支持率。因此,传统的亚科分类并不能反映芸香科的系统进化关系。最近,有研究学者提出将柑橘亚科、巨盘木亚科、芸香亚科和飞龙掌血亚科合并。其中,柑橘亚科、芸香亚科和飞龙掌血亚科之间的关系非常密切,该研究的分子系统研究证实了这一点。遗憾的是,在该研究中没有收集到巨盘木亚科的材料,为了全面解决中国芸香科的分类学问题,在未来的分析中还需要加入巨盘木属(*Flindersia*)物种。

黄檗属(*Phellodendron*)、吴茱萸属(*Tetradium*)和飞龙掌血属(*Toddalia*)曾一直被认为是花椒属的近亲属,并形成 1 个单系分支^[8]。Poon 等^[7]和 Groppo 等^[8]指出,花椒属和飞龙掌血属是姊妹类群关系,而黄檗属则嵌套在吴茱萸属内。该研究结果表明,黄檗属和吴茱萸属形成 1 个亚分支,彼此形成姊妹关系。虽然黄檗属和吴茱萸属在果实结构上有很大的不同(前者是开裂的蓇葖果,后者是肉质核果),但 Hartley^[27]发现根据植物营养物质或雄蕊材料是不可能区分开这 2 个属。先前的分子研究也表明这 2 个属有密切的亲缘关系^[7,28]。在本研究中,基于叶绿体基因组数据构建的系统进化树也支持黄檗属和吴茱萸属的姐妹群关系(BS=100%, PP=1)。花椒属和单属单种的飞龙掌血物种形成另 1 个亚分支(BS=100%, PP=1)。花椒属和飞龙掌血属的相似性不仅得到了分子数据的支持,而且化学特征^[7,28]也表明二者具有较近的亲缘关系。在过去的分子系统发育研究中,飞龙掌血属被认为可能与花椒属是姊妹关系,或者嵌套在花椒属内^[29]。此外,Appelhans 等^[29]提出将飞龙掌血(*Toddalia asiatica*)的拉丁名改为 *Zanthoxylum asiatica* (L.) Appelhans, Groppo & J. Wen, comb. nov. 该研究结果表明,飞龙掌血(*T. asiatica*)嵌套在花椒属内,证实了飞龙掌血属是花椒属谱系的一部分,支持将这 2 个属合并。

该研究利用高通量测序技术完成了芸香科 12 个物种叶绿体基因组测序、组装和注释,并基于叶绿体基因组数据获得了高分辨率的芸香科下及关键属间的系统发育树,虽然丰富了芸香科的遗传资源,加深了对芸香科植物系统发育关系的理解,但遗憾的是,在该研究中未包括巨盘木亚科物种的材料,基于叶绿体基因组数据构建芸香科植物的系统进化关系还不够全面,在以后研究中需要加入该亚科的物种,利用更多的基因组数据来挖掘和完善芸香科的系统进化关系。

参考文献:

[1] APPELHANS M S, WEN J, WAGNER W L. A molecular phylogeny of *Acronychia*, *Euodia*, *Melicope* and relatives (Rutaceae) reveals polyphyletic Genera and key innovations for species richness[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2014, **79**: 54-68.

[2] 黄成就. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1997: 46.

[3] SAMUEL R, EHRENDORFER F, CHASE M W, *et al.* Phylogenetic analyses of Aurantioideae (Rutaceae) based on non-coding plastid DNA sequences and phytochemical features [J]. *Plant Biology*, 2001, **3**(1): 77-87.

[4] ENGLER A. Rutaceae[M]// ENGLER A, HARMS H. Rev. ed. Die natürlichen Pflanzenfamilien-band 19a. Leipzig: Wilhelm Engelmann, 1931: 187-359.

- [5] BAYER R J, MABBERLEY D J, MORTON C, *et al.* A molecular phylogeny of the orange subfamily(Rutaceae: Aurantioideae) using nine cpDNA sequences[J]. *American Journal of Botany*, 2009, **96**(3): 668-685.
- [6] CHASE M W, MORTON C M, KALLUNKI J A. Phylogenetic relationships of Rutaceae: A cladistic analysis of the subfamilies using evidence from RBC and ATP sequence variation [J]. *American Journal of Botany*, 1999, **86**(8): 1 191-1 199.
- [7] POON W S, SHAW P C, SIMMONS M P, *et al.* Congruence of molecular, morphological, and biochemical profiles in Rutaceae: A cladistic analysis of the subfamilies Rutoideae and Toddaloideae [J]. *Systematic Botany*, 2007, **32**(4): 837-846.
- [8] GROPPPO M, KALLUNKI J A, PIRANI J R, *et al.* Chilean *Pitavia* more closely related to *Oceania* and old world Rutaceae than to neotropical groups: Evidence from two cpDNA non-coding regions, with a new subfamilial classification of the family[J]. *PhytoKeys*, 2012(19): 9-29.
- [9] GROPPPO M, PIRANI J R, SALATINO M L F, *et al.* Phylogeny of Rutaceae based on twononcoding regions from cpDNA[J]. *American Journal of Botany*, 2008, **95**(8): 985-1 005.
- [10] JANSEN R K, CAI Z Q, RAUBESON L A, *et al.* Analysis of 81 genes from 64 plastid genomes resolves relationships in angiosperms and identifies genome-scale evolutionary patterns [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, **104**(49): 19 369-19 374.
- [11] MOORE M J, SOLTIS P S, BELL C D, *et al.* Phylogenetic analysis of 83 plastid genes further resolves the early diversification of eudicots[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, **107**(10): 4 623-4 628.
- [12] 李 岩, 吕光辉, 张雪妮, 等. 十字花科植物叶绿体基因组结构及变异分析[J]. 西北植物学报, 2017, **37**(6): 1 090-1 101.
L Y, LÜ G H, ZHANG X N, *et al.* Chloroplast genome structure and variation analysis of Brassicaceae species[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2017, **37**(6): 1 090-1 101.
- [13] 路东晔, 张 磊, 郝 蕾, 等. 臭柏叶绿体基因组结构与系统进化分析[J]. 西北植物学报, 2018, **38**(8): 1 464-1 475.
LU D Y, ZHANG L, HAO L, *et al.* Analysis of chloroplast genome structure and phylogenetic evolution of *Juniperus sabina* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2018, **38**(8): 1 464-1 475.
- [14] XU L S, HERRANDO-MORAIRA S, SUSANNA A, *et al.* Phylogeny, origin and dispersal of *Saussurea* (Asteraceae) based on chloroplast genome data[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2019, **141**: 106613.
- [15] ZONG D, GAN P, ZHOU A, *et al.* Plastome sequences help to resolve deep-level relationships of *Populus* in the family Salicaceae[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, **10**: 5.
- [16] 段义忠, 张 凯. 沙冬青属植物叶绿体基因组对比和系统发育分析[J]. 西北植物学报, 2020, **40**(8): 1 323-1 332.
DUAN Y Z, ZHANG K. Comparative analysis and phylogenetic evolution of the complete chloroplast genome of *Amomopiptanthus* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, **40**(8): 1 323-1 332.
- [17] 马孟莉, 孟衡玲, 张 薇, 等. 阳春砂叶绿体全基因组解析及系统发育研究[J]. 西北植物学报, 2020, **40**(6): 978-986.
MA M L, MENG H L, ZHANG W, *et al.* Complete chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Amomum villosum* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2020, **40**(6): 978-986.
- [18] WEN F, WU X, LI T, *et al.* The complete chloroplast genome of *Stauntonia chinensis* and compared analysis revealed adaptive evolution of subfamily Lardizabaloideae species in China[J]. *BMC Genomics*, 2021, **22**(1): 161.
- [19] DOYLE J J, DOYLE J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. *Phytochemical bulletin*, 1987, **19**(1): 11-15.
- [20] BANKEVICH A, NURK S, ANTIPOV D, *et al.* SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing[J]. *Journal of Computational Biology*, 2012, **19**(5): 455-477.
- [21] TILLICH M, LEHWARK P, PELLIZZER T, *et al.* GeSeq: versatile and accurate annotation of organelle genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 2017, **45**: 6-11.
- [22] LIU C, SHI L C, ZHU Y J, *et al.* CpGAVAS, an integrated web server for the annotation, visualization, analysis, and GenBank submission of completely sequenced chloroplast genome sequences[J]. *BMC Genomics*, 2012, **13**: 715.
- [23] KATO H, STANDLEY D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, **30**(4): 772-780.
- [24] STAMATAKIS A. RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. *Bioinformatics*, 2014, **30**(9): 1 312-1 313.
- [25] DARRIBA D, TABOADA G L, DOALLO R, *et al.* jModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing[J]. *Nature Methods*, 2012, **9**(8): 772.
- [26] RONQUIST F, HUELSENBECK J P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models[J]. *Bioinformatics*, 2003, **19**(12): 1 572-1 574.
- [27] HARTLEY T G. A revision of the genus *Sarcomelicope* (Rutaceae)[J]. *Australian Journal of Botany*, 1982, **30**(12): 359-372.
- [28] WEI L, XIANG X G, WANG Y Z, *et al.* Phylogenetic relationships and evolution of the Androecia in Ruteae (Rutaceae)[J]. *PLoS One*, 2015, **10**(9): e0137190.
- [29] APPELHANS M S, REICHELT N, GROPPPO M, *et al.* Phylogeny and biogeography of the pantropical genus *Zanthoxylum* and its closest relatives in the Proto-Rutaceae group (Rutaceae) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2018, **126**: 31-44.