广西植物 Guihaia Sept. 2026, 46(9): 1441-1458 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202510009

阎侃, 周雪琼, 赵润东, 等, 2026. 老虎刺叶绿体基因组解析及其对豆科新分类系统的验证 [J]. 广西植物, 46(9): 1441-1458.

Yan K, Zhou X Q, Zhao R D, et al., 2026. Chloroplast genome analysis of *Pterolobium punctatum* and its validation of the new Fabaceae classification system [J]. Guihaia, 46(9): 1441-1458.

老虎刺叶绿体基因组解析及其对豆科新分类系统的验证

阎 侃[1*], 周雪琼[1], 赵润东[1], 王悠悠[1], 马哲学[1], 冉 娟[2], 孙 超[3]

(1. 兰州交通大学 生物与制药工程学院, 兰州 730070; 2. 重庆工贸职业技术学院, 重庆 408000; 3. 甘肃农业大学 农学院, 兰州 730070)

摘 要: 豆科系统分类的最新修订将含羞草亚科并入广义云实亚科,但其可靠性仍需多遗传系统的独立验证。为了阐明云实亚科代表类群老虎刺(*Pterolobium punctatum*)的叶绿体基因组特征及其系统发育位置,该研究利用 Illumina 测序技术组装并注释了老虎刺叶绿体基因组,分析了其密码子偏好性;同时,联合 19 个近缘物种进行比较基因组学研究,并整合云实亚科代表物种的基因组数据进行系统发育重建及分化时间估算。结果表明:(1)老虎刺叶绿体基因组全长 159 063 bp,编码 128 个基因,呈现典型的环状四分体结构,反向重复(IR)区 GC 含量(42.61%)显著高于单拷贝区。(2)比较基因组学分析显示,老虎刺及其近缘物种 IR/SC 边界呈现动态演变,以 A/T 碱基为主导的单核苷酸简单重复序列是最常见的 SSR 类型。(3)密码子偏好性分析显示,自然选择是主要驱动力,并筛选出 *ycf*1 等高变区作为潜在 DNA 条形码。(4)系统发育分析强烈支持老虎刺与阿拉伯金合欢印度亚种(*Vachellia nilotica* subsp. *indica*)互为姐妹群,从叶绿体基因组层面为豆科新分类系统提供了关键验证;分化时间估算表明老虎刺属分化于渐新世-中新世过渡期(约 24.09 百万年前)。该研究系统解析了老虎刺叶绿体基因组特征,确证了其在广义云实亚科中的系统位置,为理解叶绿体基因组结构进化及云实亚科资源的保护利用提供了重要的科学依据。

关键词: 老虎刺, 叶绿体基因组, 系统发育, 密码子偏好性, 序列变异

中图分类号: Q949 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2026)09-1441-18

Chloroplast genome analysis of *Pterolobium punctatum* and its validation of the new Fabaceae classification system

YAN Kan[1*], ZHOU Xueqiong[1], ZHAO Rundong[1], WANG Youyou[1], MA Zhexue[1], RAN Juan[2], SUN Chao[3]

收稿日期: 2026-01-20 **接受日期:** 2026-03-31

基金项目: 干旱生境作物学国家重点实验室开放基金项目(GSCS-2024-08); 甘肃省高等教育教学改革研究项目(GJJGB140); 兰州交通大学实验教学研究与改革项目(2025008); 兰州市人才创新创业项目(2017-RC-39); 甘肃农业大学伏羲人才资助项目(Gaufx-05Y03)。

第一作者: 阎侃(1984—),博士,副教授,主要从事植物叶绿体基因组研究,(E-mail)happytiger8@163.com; yank@mail.lzjtu.cn。

*通信作者

(1. *School of Biological and Pharmaceutical Engineering*, *Lanzhou Jiaotong University*, Lanzhou 730070, China; 2. *Chongqing Vocational and Technical College of Industry and Trade*, Chongqing 408000, China; 3. *College of Agronomy*, *Gansu Agricultural University*, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The recent revision of the Fabaceae classification system merged the Mimosoideae into a broadly defined Caesalpinioideae, but its reliability still requires independent validation across multiple genetic systems. To clarify the chloroplast genome characteristics and phylogenetic position of *Pterolobium punctatum*, a representative species within the Caesalpinioideae, the complete chloroplast genome of *P. punctatum* was assembled and annotated using Illumina sequencing technology. This study analyzed codon usage bias and performed comparative genomics with 19 related species. Furthermore, phylogenetic reconstruction and divergence time estimation were conducted by integrating genomic data from representative species of Caesalpinioideae. The results were as follows: (1) The chloroplast genome of *P. punctatum* was 159 063 bp in length, encoding 128 genes, and exhibited a typical circular quadripartite structure, with significantly higher GC content in the inverted repeat (IR) regions (42.61%) than in the single-copy regions. (2) Comparative genomic analysis revealed dynamic evolution at the IR/SC boundaries among *P. punctatum* and its close relatives, and mono-nucleotide repeats dominated by A/T bases were the most frequent SSR type. (3) Analysis of codon usage bias indicated that natural selection was the primary driving force, and we identified highly variable regions such as *ycf*1 as potential DNA barcodes. (4) Phylogenetic analysis strongly supported *P. punctatum* as a sister group to *Vachellia nilotica* subsp. *indica*, providing critical chloroplast genomic validation for the new classification system of Fabaceae; divergence time estimation suggested that the genus *Pterolobium* diverged during the Oligocene-Miocene transition (approx. 24.09 million years ago). This study systematically elucidates the chloroplast genome characteristics of *P. punctatum* and confirms its phylogenetic position, providing a significant scientific basis for understanding the structural evolution of the chloroplast genome as well as for the conservation and utilization of Caesalpinioideae resources.

Key words: *Pterolobium punctatum*, chloroplast genome, phylogeny, codon usage bias, sequence variation

豆科(Fabaceae)作为被子植物第三大科,在陆地生态系统中占据重要地位,具有极高的生态功能和经济价值。长期以来,传统的分类系统将豆科分为 3 个亚科,即蝶形花亚科(Papilionoideae)、含羞草亚科(Mimosoideae)和云实亚科(Caesalpinioideae)(Lin et al.,2014)。其中,云实亚科作为基部类群,涵盖约 4 600 种和 163 个属,展现出高度的形态多样性和生态适应性(Doyle,2016;Bruneau et al.,2024)。然而,随着分子系统学的兴起,传统分类体系的单系性受到了挑战。

回顾早期分子系统学进展,Manzanilla 和 Bruneau(2012)基于核基因与质体标记的系统发育重建,通过详尽的取样揭示了传统的云实亚科实质上是一个由蝉翼豆属(*Pterogyne*)、决明属(*Cassia*)等类群构成的并系群。该研究表明,含羞草类群并非独立起源,而是深嵌于这一并系群内部,是由其中的一支衍生而来。随后,豆科系统发育工作组(Legume Phylogeny Working Group,LPWG)于 2017 年正式提出了新的分类系统,该系统将传统的含羞草亚科整体降级,并入一个经过重新界定、范围更广且保证单系性的云实亚科之中,成为其中的一个分支,即含羞草分支(mimosoid clade)(Azani et al.,2017)。在此新框架下,老虎刺属(*Pterolobium*)被归入广义云实亚科的云实类群(*Caesalpinia* group),被视为非含羞草型云实类群中较早分化的代表性谱系之一。为了进一步解析各亚科间复杂的深层演化关系,Zhao 等(2021)利用大规模核基因转录组数据对豆科进行了系统发育重建,进一步验证了六亚科划分的可靠性。尽管这一宏观框架已基本确立,但由于传统的云实亚科是一个并系群,而含羞草亚科则深嵌其中(Manzanilla & Bruneau,2012),因此云实类群内部属间关系错综复杂,特别是在属、种水平的精细发育关系上,仍有待更多基因组数据的验证与解析。

叶绿体基因组因其结构保守、进化速率适中等特点,是分子系统学研究和物种鉴定的重要工具之一,在解析复杂类群系统发育关系中发挥着重要作用(Moore et al.,2010;毕毓芳等,2020;Li X

P et al.,2021)。特别是在豆科植物中,叶绿体基因组表现出高度的结构动态性,频繁发生倒位、反向重复(inverted repeat,IR)区扩张或收缩以及基因丢失(如 *rpl*22、*infA*),这不仅提供了关键的系统发育信号,也是研究基因组适应性进化的理想模型 (Zhang et al.,2026)。近年来,针对云实亚科中云实类群的比较基因组学研究进一步揭示了该类群在 IR/SSC 边界及基因保留等方面存在显著变异,暗示其演化历程中发生了复杂的基因组重塑事件(Aecyo et al.,2021;Rather et al.,2025)。老虎刺属隶属于该类群,含 10 余种,分布于东半球热带地区。该属在形态上具有独特的翅果和微弯子房,被视为介于典型云实类群与含羞草分支之间的关键过渡类群 (Hou et al.,1996)。然而,尽管云实类群中多个近缘属的基因组已被解析,但是作为演化关键节点的老虎刺属,其全基因组信息的缺失制约了我们对云实亚科质体演化规律的全面认识。

老虎刺(*Pterolobium punctatum*)主要产于中国广东、广西、云南、贵州等省区,老挝也有分布,其具有抗炎、止咳、镇痛和消肿等多种药理作用,是重要的药用资源(Ye et al.,2022)。本研究以老虎刺为材料,采用高通量测序及生物信息学方法,通过与近缘物种进行比较基因组学、密码子偏好性及系统发育分析,拟探讨以下问题:(1)老虎刺叶绿体基因组的序列结构特征及其与近缘物种在 IR 边界和序列变异上存在哪些异同;(2)基于叶绿体基因组数据,老虎刺与含羞草分支存在怎样的系统发育关系,是否支持豆科新分类系统;(3)筛选高变异区域为该类群物种鉴定的潜在分子标记。本研究结果将为阐明云实亚科的系统演化机制及老虎刺资源的科学保护提供理论支撑。

1　材料与方法

1.1 叶绿体基因组测序、组装和注释

本研究以老虎刺新鲜叶片为实验材料。植物样本由兰州交通大学生物与制药工程学院阎侃副教授依据《中国植物志》进行形态学鉴定。采用 Magen Plant DNA 提取试剂盒提取总 DNA,并利用 NanoDrop 2000 超微量紫外分光光度计与 1%琼脂糖凝胶电泳分别评估 DNA 的纯度与完整性。合格的 DNA 样品委托上海元莘生物医药科技有限公司,基于 Illumina NovaSeq 6000 平台进行测序文库构建和 150 bp 双末端测序。利用 GetOrganelle v1.7.0 (Jin et al.,2020)软件对质控后的高质量测序数据进行叶绿体基因组的从头组装,并通过 Bandage v0.8.1(Wick et al.,2015)对组装生成的环状图谱进行可视化检查,确保其结构完整。基因注释通过 GeSeq 在线平台(Tillich et al.,2017)进行,并基于近缘物种参考基因组进行手动校正,重点调整基因边界、鉴定内含子和假基因。最后将完整的叶绿体基因组序列提交至美国国家生物技术信息中心 GenBank 数据库(登录号:OP359054. 1),基因组图谱使用 OrganellarGenomeDRAW v1. 3. 1 (Greiner et al.,2019)绘制。

1.2 密码子偏好性分析

从老虎刺叶绿体基因组中提取所有蛋白质编码序列(coding sequence, CDS),使用 CodonW v1.4.2 软件计算其相对同义密码子使用度(relative synonymous codon usage, RSCU)值。通过中性绘图、ENC-plot 和 PR2-plot 分析,综合评估突变压力与自然选择在塑造密码子偏好性中的相对贡献(才让扎西等,2025;赵月梅等,2025)。根据有效密码子数(effective number of codon,ENC)对基因进行升序排列。采用 CodonW 软件计算两组的 RSCU 值,并计算 ΔRSCU,$\Delta RSCU = RSCU_{低ENC组} - RSCU_{高ENC组}$。将低 ENC 组 RSCU > 1 且 ΔRSCU ≥ 0.08 的密码子确定为候选最优密码子(唐玉娟等,2021)。

1.3 比较基因组学分析

重复序列分析:采用 MISA v2.1 工具(Beier et al.,2017)鉴定各基因组中的简单重复序列(simple sequence repeat,SSR)。参数设定为单(mono-)核苷酸重复≥10,二(di-)核苷酸重复≥6,三(tri-)核苷酸重复、四(tetra-)核苷酸、五(penta-)核苷酸、六(hexa-)核苷酸重复均≥5。利用 REPuter 在线工具 (https://www. cebitec. uni-bielefeld. de/bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/reputer.html)(Kurtz et al.,2001)检测长度≥30 bp 且序列相似度≥90%(汉明距离≤3)的长重复序列(正向、反向、回文和互补重复)。

IR 边界与全基因组共线性分析:利用 CPJSdraw perl 包(Li et al.,2023)构建反向重复区边界比较图谱,定量评估各边界区域(LSC-IRa、

IRa-SSC、SSC-IRb、IRb-LSC)的基因特征及相邻基因特性。采用 mVISTA 平台(https://genome.lbl.gov/vista/mvista/instructions.shtml)(Frazer et al.,2004)的 Shuffle-LAGAN 全局比对模式,以老虎刺的基因组注释为参考,对 20 个物种的叶绿体基因组进行多重共线性比对,以评估基因组的整体结构变异。

核苷酸多样性分析:通过 MAFFT v7(Katoh & Standley,2013)对包括老虎刺在内的云实亚科 20 个物种的叶绿体基因组序列进行多序列比对,采用滑动窗口法(窗口长度 600 bp,步长 200 bp)计算序列间的核苷酸多样性(Pi)值,以鉴定高变异区域。

1.4 系统发育树构建与分化时间校准

为确定老虎刺的系统发育位置,本研究选取了 89 个物种(85 个豆科物种及 4 个作为外类群的远志科远志属物种)的叶绿体基因组数据。从每个基因组中提取 62 个共有蛋白质编码基因,使用 MAFFT v7(Katoh & Standley,2013)进行多序列比对。系统发育树的构建分别基于最大似然法和贝叶斯推断法完成。最大似然法分析在 IQ-TREE 2(Minh et al.,2020)中完成,通过 ModelFinder 模块选定最佳核苷酸替代模型为 TVM+F+R3,并使用 1 000次超快速自举法评估节点支持率。贝叶斯推断分析在 MrBayes 3.2(Ronquist et al.,2012)中完成,采用 GTR+G+I 模型,运行两条独立的马尔可夫链蒙特卡罗链,共 10 000 000 代,每1 000代采样 1 次,平均分裂标准差<0.01 以确认收敛。为校准分化时间尺度并验证结果,本研究从 TimeTree 数据库(http://www.timetree.org)(Kumar et al.,2017)获取了已发表的,涵盖 54 个豆科物种及 3 个外类群的分子钟校准系统发育数据,用松弛分子钟模型估算节点年龄(百万年前,million years ago, MYA),作为独立的参考时间框架。

2 结果与分析

2.1 老虎刺叶绿体基因组的结构与特征

本研究成功获得了老虎刺完整的环状叶绿体基因组序列(图 1)。其全长为 159 063 bp,呈现出典型的四分体结构,包含 1 个大单拷贝区(large single copy, LSC, 88 636 bp)、1 个小单拷贝区(small single copy,SSC, 18 221 bp)以及 1 对反向重复区(IRa/IRb, 各 26 103 bp)。共注释到 128 个基因拷贝(包含 IR 区的重复拷贝,表 1),其中 83 个蛋白编码基因、37 个转运 RNA 基因和 8 个核糖体 RNA 基因。自我复制相关基因数量最多(总计 73 个),其他基因类别数量最少(共 5 个)。在自我复制相关基因中,转运 RNA 基因群数量最高(共 37 个),而 RNA 聚合酶亚基基因群数量最低(共 4 个)。基因组整体 GC 含量为 36.17%,其中 IR 区的 GC 含量(42.61%)显著高于 LSC 区(33.61%)和 SSC 区(30.14%)。

2.2 叶绿体基因组的比较与结构变异

基于 20 个云实亚科物种叶绿体基因组的比较分析表明,其基因组成和排列顺序高度保守(图 2),但 IR/SC 边界分布仍存在一定差异(图 3)。多数物种的 IR 区长度稳定在 26 018 bp 至 26 755 bp 之间,但阿拉伯金合欢印度亚种(*Vachellia nilotica* subsp. *indica*)的 IR 区发生显著扩张,长度达 39 437 bp(超出平均值±3σ)。在 LSC/IRb(JLB)边界处,除阿拉伯金合欢印度亚种外,其余 19 个物种的 *rps*19 基因均跨越边界并向 LSC 区延伸 170~186 bp。IRb/SSC(JSB)边界分析发现,老虎刺及阿拉伯金合欢印度亚种均未见 *ycf*1 基因,其余物种中该基因均存在跨边界扩张。然而,在 SSC/IRa(JSA)边界处,除阿拉伯金合欢印度亚种外,其余物种均存在 *ycf*1 基因的完整拷贝或长片段,且均跨越边界进入 IRa 区。在 IRa/LSC(JLA)边界处,老虎刺、决明属、阿拉伯金合欢印度亚种及格木(*Erythrophleum fordii*)的 IRa 区内均未见 *rps*19 基因。

对重复序列的分析进一步揭示了基因组的进化动态。简单重复序列(SSR)分析揭示了显著的物种间差异,20 个物种的 SSR 数量为 40~118 个,其中墨西哥采木最少,阿拉伯金合欢印度亚种最多(图 4:A)。在类型上,单核苷酸重复占绝对主导地位(97.13%),其中 A/T 碱基重复贡献了 99.26%的占比(图 4:B),凸显了叶绿体基因组强大的 AT 偏好性;二核苷酸、三核苷酸及四核苷酸重复所占比例极低(合计< 3%)。此外,长重复序列(包括回文、正向、反向与互补重复)同样是基因组重排与突变的重要来源。在所有 20 个基因组中共检测到 932 个长重复序列。回文重复(445 次)与正向重复(378 次)是两种最主要的类型(图 4:C),且其长度多集中于 30 bp 至 39 bp 区间(占总数的65.62%)(图 4:D)。

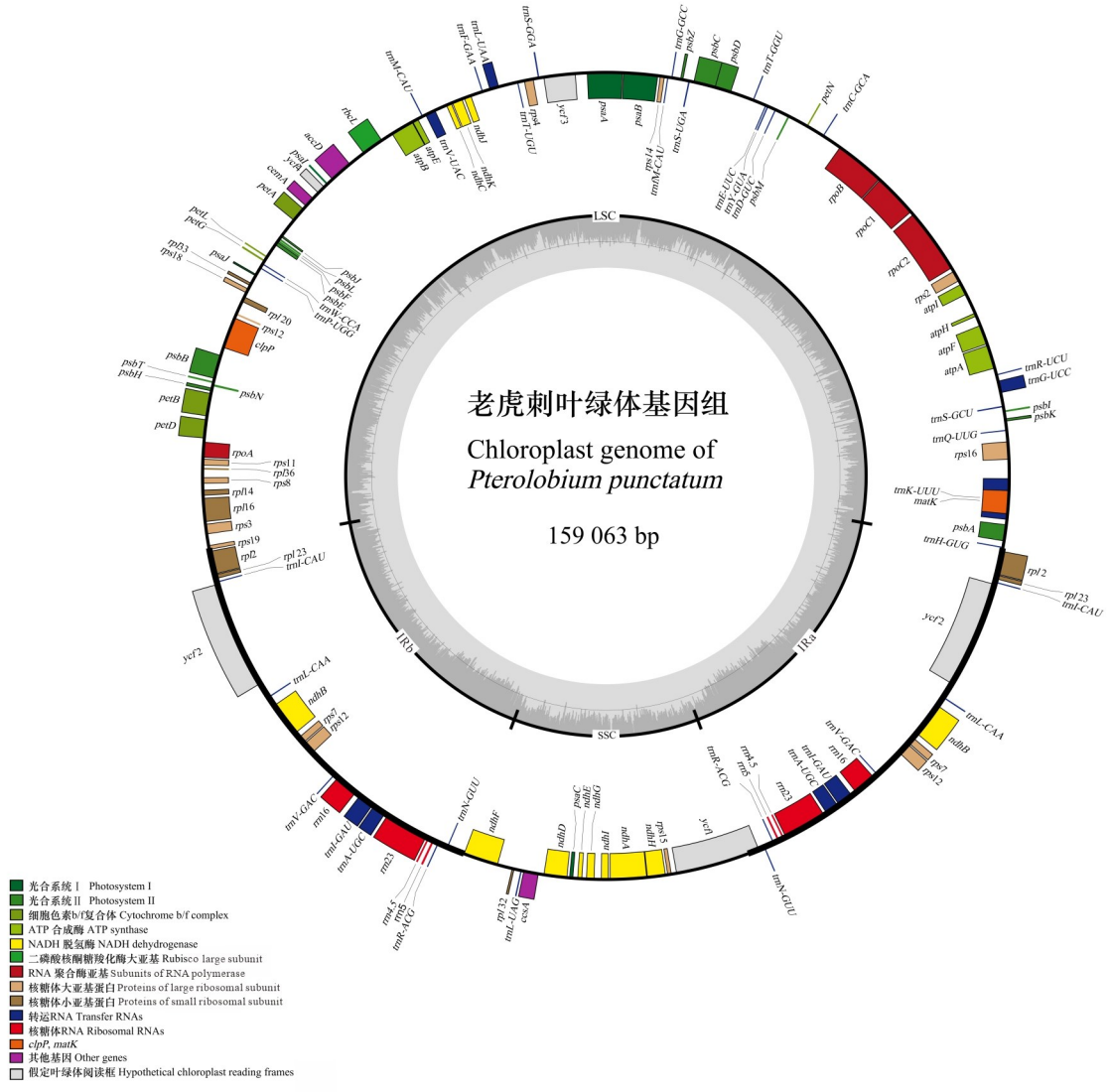


图 1　老虎刺叶绿体基因组图谱

Fig. 1　Chloroplast genome map of *Pterolobium punctatum*

2.3 密码子偏好性分析及选择压力分析

对老虎刺叶绿体基因组中蛋白质编码基因的分析揭示了显著的密码子偏好性。在 32 个偏好性密码子(RSCU > 1)中,有 29 个(90.6%)以 A 或 U 碱基结尾,显示出强烈的 A/U 偏好(图 5)。在 ENC-plot 分析中,大多数基因的 ENC 值分布在 35 到 55 之间,且多数点位于期望曲线的下方(图 6:A),这初步表明,除突变压力外,自然选择等其他因素也在起作用。中性绘图分析(图 6:B)结果显示,突变压力的贡献率仅为 38.13%(斜率 0.381 3),而自然选择的贡献率达到 61.87%,表明自然选择是塑造老虎刺密码子偏好性的主要驱动力。PR2-plot 分析也印证了这一点,A3 和 G3 在四象限中的分布极不均衡(图 6:C),反映出在第三位碱基上 A/T 与 G/C 的使用频率存在显著差异。

密码子偏好性分析表明,老虎刺叶绿体基因组的蛋白质编码区共使用 61 个同义密码子。其中,高频密码子(RSCU > 1)共 26 个,且其第三位碱基均以腺嘌呤(A)或尿嘧啶(U)结尾,表明 A/U 碱基是这些密码子的主要偏好类型。高表达密码子(ΔRSCU ≥ 0.08)共 24 个。通过取二者的交集,本研究最终确定了 UGU、GAA 和 UUU 等 17 个

表 1 老虎刺叶绿体基因组基因注释

Table 1 Gene annotation in the chloroplast genome of *Pterolobium punctatum*

类别 Category	基因分类 Gene group	基因 Gene
光合作用 Photosynthesis	光合系统 I Photosystem I	*psaA*, *psaB*, *psaC*, *psaI*, *psaJ*
	光合系统 II Photosystem II	*psbA*, *psbB*, *psbC*, *psbD*, *psbE*, *psbF*, *psbH*, *psbI*, *psbJ*, *psbK*, *psbL*, *psbM*, *psbN*, *psbT*, *psbZ*
	NADH 脱氢酶 NADH dehydrogenase	*ndhA* *, *ndhB* * (2), *ndhC*, *ndhD*, *ndhE*, *ndhF*, *ndhG*, *ndhH*, *ndhI*, *ndhJ*, *ndhK*
	细胞色素 b/f 复合体 Cytochrome b/f complex	*petA*, *petB* *, *petD* *, *petG*, *petL*, *petN*
	ATP 合成酶 ATP synthase	*atpA*, *atpB*, *atpE*, *atpF* *, *atpH*, *atpI*
	二磷酸核酮糖羧化酶大亚基 Rubisco large subunit	*rbcL*
自我复制 Self-replication	核糖体大亚基蛋白 Proteins of large ribosomal subunit	*rpl*14, *rpl*16 *, *rpl*2 *(2), *rpl*20, *rpl*23(2), *rpl*32, *rpl*33, *rpl*36
	核糖体小亚基蛋白 Proteins of small ribosomal subunit	*rps*11, *rps*12 **(2), *rps*14, *rps*15, *rps*16 *, *rps*18, *rps*19, *rps*2, *rps*3, *rps*4, *rps*7(2), *rps*8
	RNA 聚合酶亚基 Subunits of RNA polymerase	*rpoA*, *rpoB*, *rpoC*1 *, *rpoC*2
	核糖体 RNA Ribosomal RNAs	*rrn*16(2), *rrn*23(2), *rrn*4.5(2), *rrn*5(2)
	转运 RNA Transfer RNAs	*trnA-UGC* *(2), *trnC-GCA*, *trnD-GUC*, *trnE-UUC*, *trnF-GAA*, *trnG-GCC*, *trnG-UCC* *, *trnH-GUG*, *trnI-CAU*(2), *trnI-GAU* *(2), *trnK-UUU* *, *trnL-CAA*(2), *trnL-UAA* *, *trnL-UAG*, *trnM-CAU*, *trnN-GUU*(2), *trnP-UGG*, *trnQ-UUG*, *trnR-ACG*(2), *trnR-UCU*, *trnS-GCU*, *trnS-GGA*, *trnS-UGA*, *trnT-GGU*, *trnT-UGU*, *trnV-GAC*(2), *trnV-UAC* *, *trnW-CCA*, *trnY-GUA*, *trnfM-CAU*
其他基因 Other genes	成熟酶 Maturase	*matK*
	蛋白酶 Protease	*clpP* **
	包膜蛋白 Envelope membrane protein	*cemA*
	乙酰辅酶 A 羧化酶 Acetyl-CoA carboxylase	*accD*
	c 型细胞色素合成 c-type cytochrome synthesis	*ccsA*
未知功能 Unknown function	假定叶绿体阅读框 Hypothetical chloroplast reading frames	*ycf*1, *ycf*2(2), *ycf*3 **, *ycf*4

注：* 表示含 1 个内含子的基因；** 表示含有 2 个内含子的基因；(2)表示该基因具有 2 个拷贝数 *n*。

Note: * indicates the gene containing one intron; ** indicates the gene containing two introns; (2) indicates that the gene is present in two copies.

最优密码子(表 2)。

2.4 核苷酸多样性分析

为筛选潜在的物种鉴定分子标记,对 20 个云实亚科物种的叶绿体基因组进行了核苷酸多样性(Pi)的滑动窗口分析。结果(图 7)显示,序列变异在基因组不同区域分布不均,单拷贝区(LSC 和 SSC)的核苷酸多样性总体高于反向重复区(Ra 和 Rb)。其中,*ycf1* 和 *trnS-GCU*−*trnG-UCC* 等区域表现出较高的序列变异,可作为后续分子标记开发的候选区域,其物种鉴定效果仍需进一步验证。

2.5 系统发育树构建与分化时间校准

本研究基于叶绿体基因组数据,采用最大似然法(ML)和贝叶斯推断法(BI)对豆科植物进行了系统发育分析。分析涵盖了豆科 5 个主要亚科

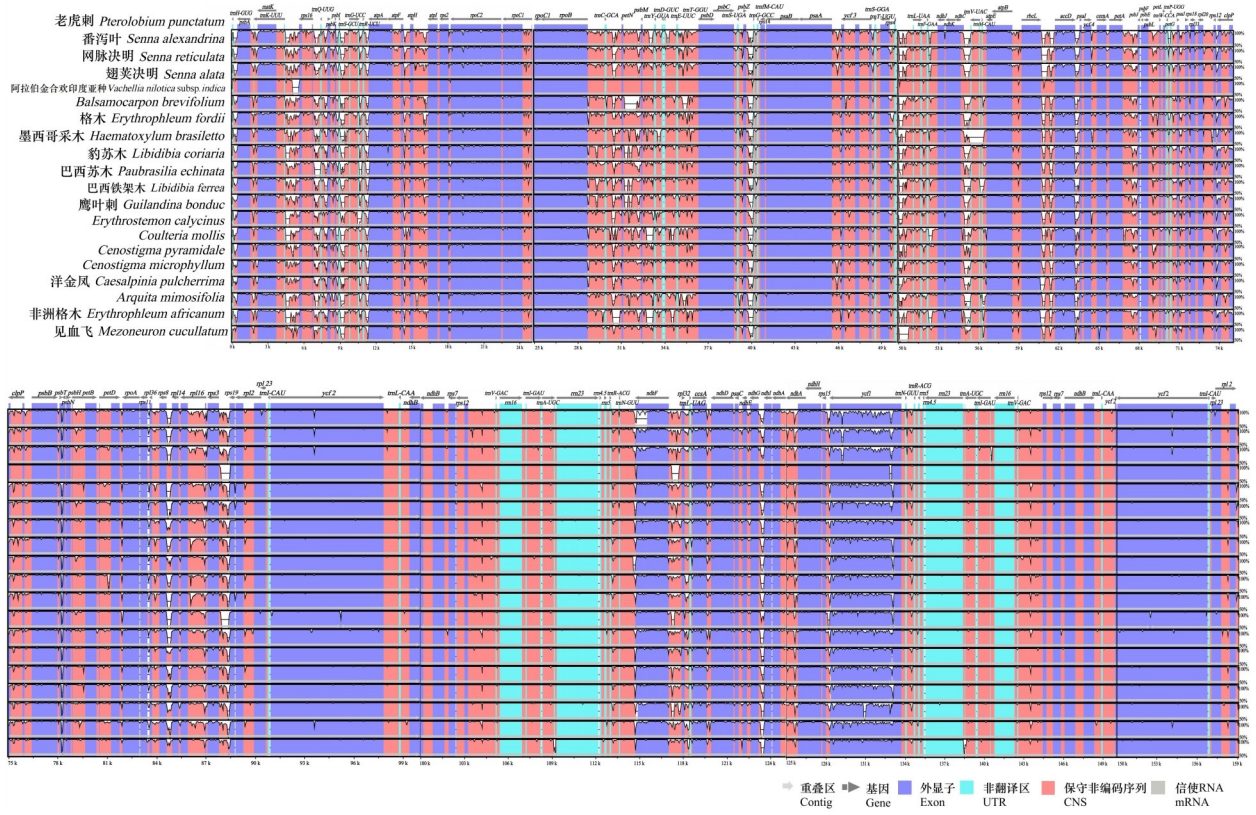


图 2　老虎刺及其近缘物种叶绿体基因组比较分析

Fig. 2　Comparative analysis of the chloroplast genomes of *Pterolobium punctatum* and its related species

[紫荆亚科（Cercidoideae）、甘豆亚科（Detarioideae）、云实亚科（Caesalpinioideae）、酸榄豆亚科（Dialioideae）和蝶形花亚科（Papilionoideae）]的代表性物种（图 8、图 9）。2 种分析方法获得的系统发育树拓扑结构高度一致，并显示出强烈的节点支持率，均强烈支持这 5 个亚科的单系性。结果显示，本研究的核心物种老虎刺与阿拉伯金合欢印度亚种形成强有力的单系分支（Bootstrap = 100%），揭示了二者具有极近的姐妹群关系；同时，云实亚科其他主要分支也得到高度解析，如皂荚属（*Gleditsia*）物种形成高支持率独立分支（BS = 98%），而决明属（*Senna*）和腊肠树（*Cassia fistula*）共同构成 100%支持的分支。

基于 TimeTree 数据库构建的分化时间树（图 10）显示，豆科冠群起源于晚白垩世赛诺曼期（约 96.3 MYA）（Harris & Davies, 2016; Pouget et al., 2016）。主要亚科的分化时间存在差异：蝶形花亚科（Papilionoideae）的分化时间约为 56.0 MYA；云实亚科（Caesalpinioideae）在始新世早期（约 53.9 MYA）发生分化（Nieto-Blázquez et al., 2017; Ramírez-Barahona et al., 2020; Meireles et al., 2020）。此外，紫荆亚科（Cercidoideae）和甘豆亚科（Detarioideae）的分化时间分别约为 34.0 MYA（渐新世）（Lavin et al., 2005; Zhao et al., 2021）和 19.0 MYA（中新世早期）（Zhao et al., 2021; Zhang et al., 2022）。酸橄榄豆属（*Dialium*）的分化发生在约 17.8 MYA（Särkinen et al., 2012; Souza-Neto et al., 2016; Zhao et al., 2021）。本研究重点关注的老虎刺属（*Pterolobium*），其分化时间约为 24.1 MYA（Nieto - Blázquez et al., 2017; Li et al., 2019; Zhao et al., 2021; Zhang et al., 2022），处于渐新世–中新世过渡阶段。

3　讨论与结论

3.1 系统发育位置与分化时间的演化

系统发育重建是验证分类系统可靠性的核心



图 3 老虎刺及其近缘物种叶绿体基因组 IR/SC 边界比较

Fig. 3 Comparison of IR/SC boundary regions in the chloroplast genomes of *Pterolobium punctatum* and its related species

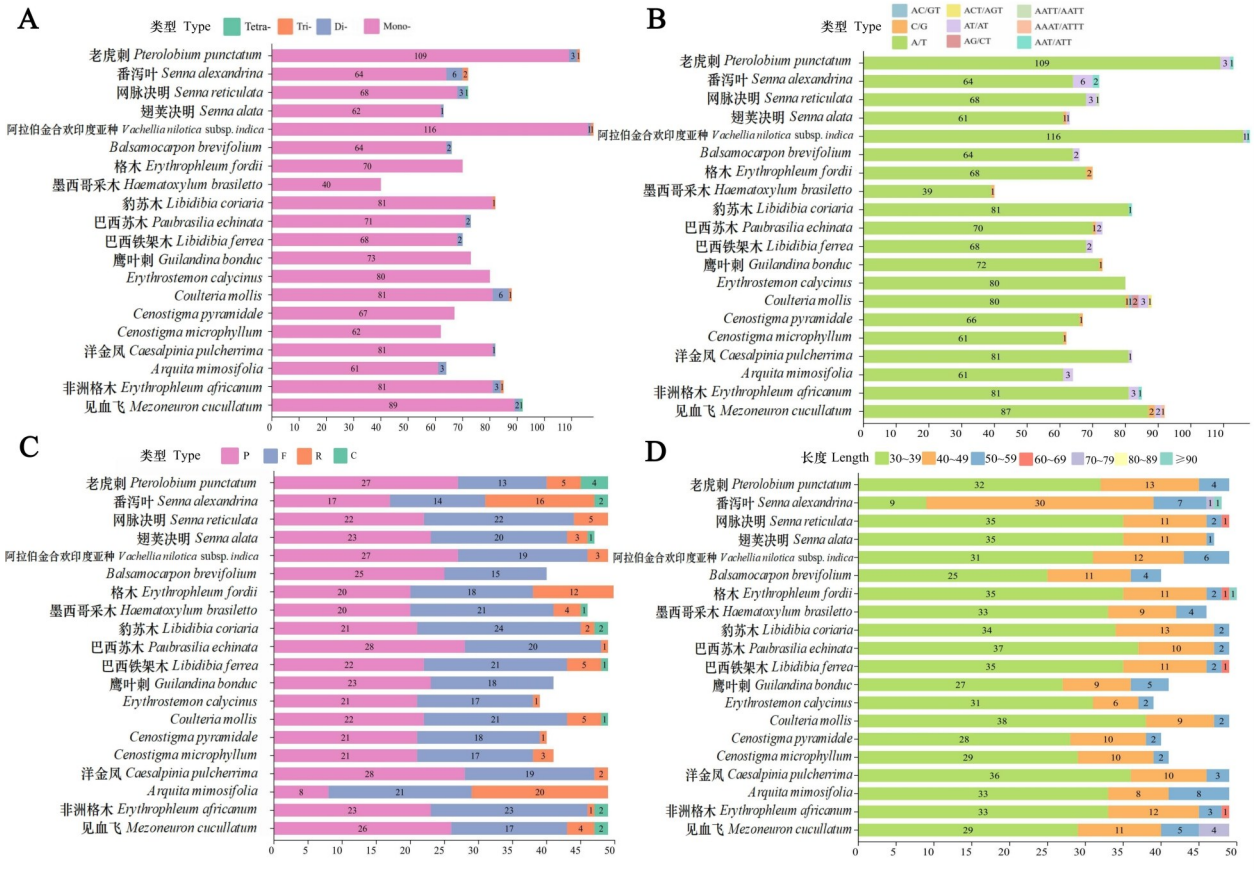


图 4 重复序列分析:类型与长度分布

Fig. 4 Repeat sequence analysis: types and length distribution

终止密码子 TER	UAA 1.88	UGA 0.65	UAG 0.47	0.00	0.00	0.00
丙氨酸 Ala	GCU 1.87	GCA 1.10	GCC 0.59	GCG 0.44	0.00	0.00
半胱氨酸 Cys	UGU 1.46	UGC 0.54	0.00	0.00	0.00	0.00
天冬氨酸 Asp	GAU 1.64	GAC 0.36	0.00	0.00	0.00	0.00
谷氨酸 Glu	GAA 1.50	GAG 0.50	0.00	0.00	0.00	0.00
苯丙氨酸 Phe	UUU 1.35	UUC 0.65	0.00	0.00	0.00	0.00
甘氨酸 Gly	GGA 1.58	GGU 1.38	GGG 0.65	GGC 0.39	0.00	0.00
组氨酸 His	CAU 1.56	CAC 0.44	0.00	0.00	0.00	0.00
异亮氨酸 Ile	AUU 1.52	AUA 0.93	AUC 0.56	0.00	0.00	0.00
赖氨酸 Lys	AAA 1.55	AAG 0.45	0.00	0.00	0.00	0.00
亮氨酸 Leu	UUA 1.91	UUG 1.27	CUU 1.27	CUA 0.83	CUG 0.37	CUC 0.35
甲硫氨酸 Met	AUG 1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
天冬酰胺 Asn	AAU 1.57	AAC 0.43	0.00	0.00	0.00	0.00
脯氨酸 Pro	CCU 1.61	CCA 1.19	CCC 0.73	CCG 0.47	0.00	0.00
谷氨酰胺 Gln	CAA 1.55	CAG 0.45	0.00	0.00	0.00	0.00
精氨酸 Arg	AGA 1.81	CGU 1.36	CGA 1.35	AGG 0.67	CGG 0.42	CGC 0.40
丝氨酸 Ser	UCU 1.74	UCA 1.24	AGU 1.23	UCC 0.93	UCG 0.53	AGC 0.33
苏氨酸 Thr	ACU 1.60	ACA 1.28	ACC 0.76	ACG 0.37	0.00	0.00
缬氨酸 Val	GUA 1.59	GUU 1.43	GUG 0.53	GUC 0.45	0.00	0.00
色氨酸 Trp	UGG 1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
酪氨酸 Tyr	UAU 1.61	UAC 0.39	0.00	0.00	0.00	0.00

2.00

0.00

图 5　老虎刺叶绿体基因组相对同义密码子使用度(RSCU)

Fig. 5　Relative synonymous codon usage (RSCU) in the chloroplast genome of *Pterolobium punctatum*

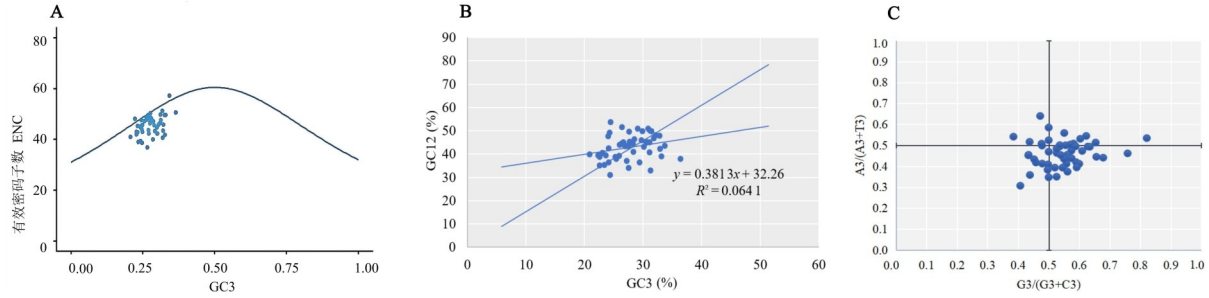


图 6　叶绿体基因组密码子偏好性影响因素分析

Fig. 6　Analysis of factors influencing codon usage bias in the chloroplast genome

手段。长期以来,云实亚科内部,尤其是云实类群与含羞草类群的演化关系存在形态学与早期分子证据的冲突。本研究结果表明,各亚科均呈现高度支持的单系性,核心分支关系与近期基于核基因或质体多基因的研究高度一致(Azani et al., 2017; Zhao et al., 2021)。其中,老虎刺与阿拉伯金合欢印度亚种互为姐妹群,这与 Manzanilla 和 Bruneau (2012) 基于 *matK* 等单基因片段的研究结果一致,本研究构建的系统发育树清晰地显示传统的云实亚科是一个并系群,含羞草类群深嵌其中。相较于 Kazempour Osaloo 等 (2005),仅基于形态学特征将老虎刺属归入广义云实群的模糊定位,本研究利用基因组数据确证了该属的关键节点地位,显著提高了系统发育的支持率,极大地排除了杂交或不完全谱系分选在这一关键演化节点可能造成的干扰,为豆科系统发育工作组(legume phylogeny working group, LPWG)提出的新分类系统提供了来自叶绿体基因组的独立验证。

分化时间估算显示,老虎刺属起源于渐新世-中新世过渡期(约 24.1 MYA),这一结果早于该属目前最早的化石记录 *Pterolobium punctatopsis* (16.5~15.2 MYA)(Jia et al., 2017),符合生物演

表 2 老虎刺叶绿体基因组最优密码子分析

Table 2 Analysis of optimal codons in the chloroplast genome of *Pterolobium punctatum*

氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	低 ENC 组 Low-ENC group		高 ENC 组 High-ENC group		ΔRSCU
		数量 Number	RSCU	数量 Number	RSCU	
丙氨酸 Ala	GCA	21	1.584 9	25	0.943 4	0.641 5
	GCC	6	0.452 8	22	0.830 2	−0.377 4
	GCG	3	0.226 4	12	0.452 8	−0.226 4
	GCU	23	1.735 8	47	1.773 6	−0.037 8
半胱氨酸 Cys	UGC	1	0.250 0	13	0.590 9	−0.340 9
	UGU *	7	1.750 0	31	1.409 1	0.340 9
天冬氨酸 Asp	GAC	6	0.666 7	33	0.407 4	0.259 3
	GAU	12	1.333 3	129	1.592 6	−0.259 3
谷氨酸 Glu	GAA *	32	1.641 0	107	1.215 9	0.425 1
	GAG	7	0.359 0	69	0.784 1	−0.425 1
苯丙氨酸 Phe	UUC	14	0.528 3	85	0.960 5	−0.432 2
	UUU *	39	1.471 7	92	1.039 5	0.432 2
甘氨酸 Gly	GGA	23	1.373 1	67	1.685 5	−0.312 4
	GGC	7	0.417 9	17	0.427 7	−0.009 8
	GGG	11	0.656 7	34	0.855 3	−0.198 6
	GGU *	26	1.552 2	41	1.031 4	0.520 8
组氨酸 His	CAC	2	0.166 7	18	0.455 7	−0.289 0
	CAU *	22	1.833 3	61	1.544 3	0.289 0
异亮氨酸 Ile	AUA	44	1.269 2	81	0.975 9	0.293 3
	AUC	16	0.461 5	58	0.698 8	−0.237 3
	AUU	44	1.269 2	110	1.325 3	−0.056 1
赖氨酸 Lys	AAA *	40	1.666 7	123	1.308 5	0.358 2
	AAG	8	0.333 3	65	0.691 5	−0.358 2
亮氨酸 Leu	CUA	9	0.568 4	48	0.917 2	−0.348 8
	CUC	0	0	31	0.592 4	−0.592 4
	CUG	0	0	27	0.515 9	−0.515 9
	CUU *	27	1.705 3	74	1.414 0	0.291 3
	UUA *	49	3.094 7	59	1.127 4	1.967 3
	UUG	10	0.631 6	75	1.433 1	−0.801 5
甲硫氨酸 Met	AUG	24	1.000 0	62	1.000 0	0
天冬酰胺 Asn	AAC	10	0.500 0	43	0.457 4	0.042 6
	AAU	30	1.500 0	145	1.542 6	−0.042 6
脯氨酸 Pro	CCA *	12	1.333 3	35	1.120 0	0.213 3
	CCC	8	0.888 9	22	0.704 0	0.184 9
	CCG	4	0.444 4	24	0.768 0	−0.323 6
	CCU	12	1.333 3	44	1.408 0	−0.074 7
谷氨酰胺 Gln	CAA *	18	1.565 2	82	1.401 7	0.163 5

续表 2

氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	低 ENC 组 Low-ENC group		高 ENC 组 High-ENC group		ΔRSCU
		数量 Number	RSCU	数量 Number	RSCU	
	CAG	5	0.434 8	35	0.598 3	−0.163 5
精氨酸 Arg	AGA *	25	2.272 7	67	1.942 0	0.330 7
	AGG	5	0.454 5	32	0.927 5	−0.473 0
	CGA *	19	1.727 3	50	1.449 3	0.278 0
	CGC	3	0.272 7	13	0.376 8	−0.104 1
	CGG	3	0.272 7	20	0.579 7	−0.307 0
	CGU	11	1.000 0	25	0.724 6	0.275 4
丝氨酸 Ser	AGC	5	0.379 7	14	0.281 9	0.097 8
	AGU	14	1.063 3	51	1.026 8	0.036 5
	UCA *	22	1.670 9	63	1.268 5	0.402 4
	UCC	7	0.531 6	57	1.147 7	−0.616 1
	UCG	11	0.835 4	32	0.644 3	0.191 1
	UCU	20	1.519 0	81	1.630 9	−0.111 9
苏氨酸 Thr	ACA	17	1.283 0	49	1.420 3	−0.137 3
	ACC	12	0.905 7	27	0.782 6	0.123 1
	ACG	3	0.226 4	18	0.521 7	−0.295 3
	ACU *	21	1.584 9	44	1.275 4	0.309 5
缬氨酸 Val	GUA *	21	1.500 0	39	1.300 0	0.200 0
	GUC	9	0.642 9	17	0.566 7	0.076 2
	GUG	5	0.357 1	26	0.866 7	−0.509 6
	GUU *	21	1.500 0	38	1.266 7	0.233 3
色氨酸 Trp	UGG	23	1.000 0	54	1.000 0	0
酪氨酸 Tyr	UAC	4	0.266 7	22	0.382 6	−0.115 9
	UAU *	26	1.733 3	93	1.617 4	0.115 9

注：* 表示满足低 ENC 组 RSCU > 1 且 ΔRSCU≥0.08 两个条件的候选；同时最优密码子。

Note：* indicates candidate optimal codons satisfying both RSCU > 1 in the low Enc group and ΔRSCU≥0.08.

化的基本逻辑，即物种的遗传分化必然先于其形态特征的完全固定及化石保存，化石年代仅代表该类群存在的最小地质年龄，表明该属在经历早期的分化与辐射后，至中新世已形成了稳定的形态特征。同时，本研究估算的起源时间与全球古气候背景高度契合，Zachos 等（2008）的古气候重建显示，渐新世晚期全球气候经历了由温湿向干冷的剧变。与 Egan 和 Crandall（2008）在补骨脂族（Psoraleeae）的研究中发现气候变化驱动物种分化的结论类似，本研究推测，气候波动及生境的干旱化可能驱动了云实类群内部特定支系的快速辐射分化，促使老虎刺属演化出独特的翅果结构，体现了环境压力对物种演化的塑造作用。

此外，豆科冠群起源于晚白垩世（约 96.3 MYA），接近白垩纪-古近纪边界，该时期全球气候剧变和被子植物辐射可能促进了豆科的早期分化（Lavin et al.，2005；Zhao et al.，2021）。主要亚科的分化大多集中于古新世-始新世过渡期，如蝶形花亚科（约 56.0 MYA）和云实亚科（约 53.9 MYA）的分化与古新世-始新世极热事件后的生态适应期重叠，暗示气候变暖可能促进了豆科关键性状（如根瘤固氮共生）的演化（董汝和曹扬荣，2019）。此外，紫荆亚科（约 34.0 MYA）和甘豆亚科（约 19.0 MYA）的分化分别对应渐新世降温与中新世气候适宜期，反映了豆科对新生代气候波动的持续响应（Zachos et al.，2008）。

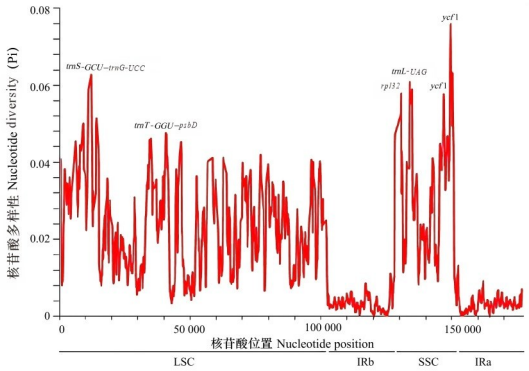


图 7 20 个物种叶绿体全基因组核苷酸多样性(Pi)的滑移窗口分析

Fig. 7 Sliding window analysis of nucleotide diversity (Pi) across the complete chloroplast genomes of 20 species

3.2 叶绿体基因组结构变异

本研究在云实亚科中观察到显著的 IR/SC 边界变异,尤以阿拉伯金合欢印度亚种的 IR 区扩张最为突出。其 IR 区长度增至 39 437 bp,将 LSC 区的 *rpl*23 基因与 *rps*19 基因纳入其中,该现象与豆科植物叶绿体基因组中报道的结构变异相呼应(Jansen et al.,2007; Magee et al.,2010)。例如,蝶形花亚科黄羽扇豆(*Lupinus luteus*)中发生的 36 kb 倒置(Martin et al.,2014),以及含羞草分支 *Inga leiocalycina* 中 IR 区向 SSC 区的延伸(Wang et al.,2017),均体现了豆科不同类群叶绿体基因组结构的变异,但其形成机制未必相同。这些研究表明尽管大多数被子植物的 IR 区长度相对保守(Yan et al.,2025a,b),但其动态扩张或收缩已被证明是

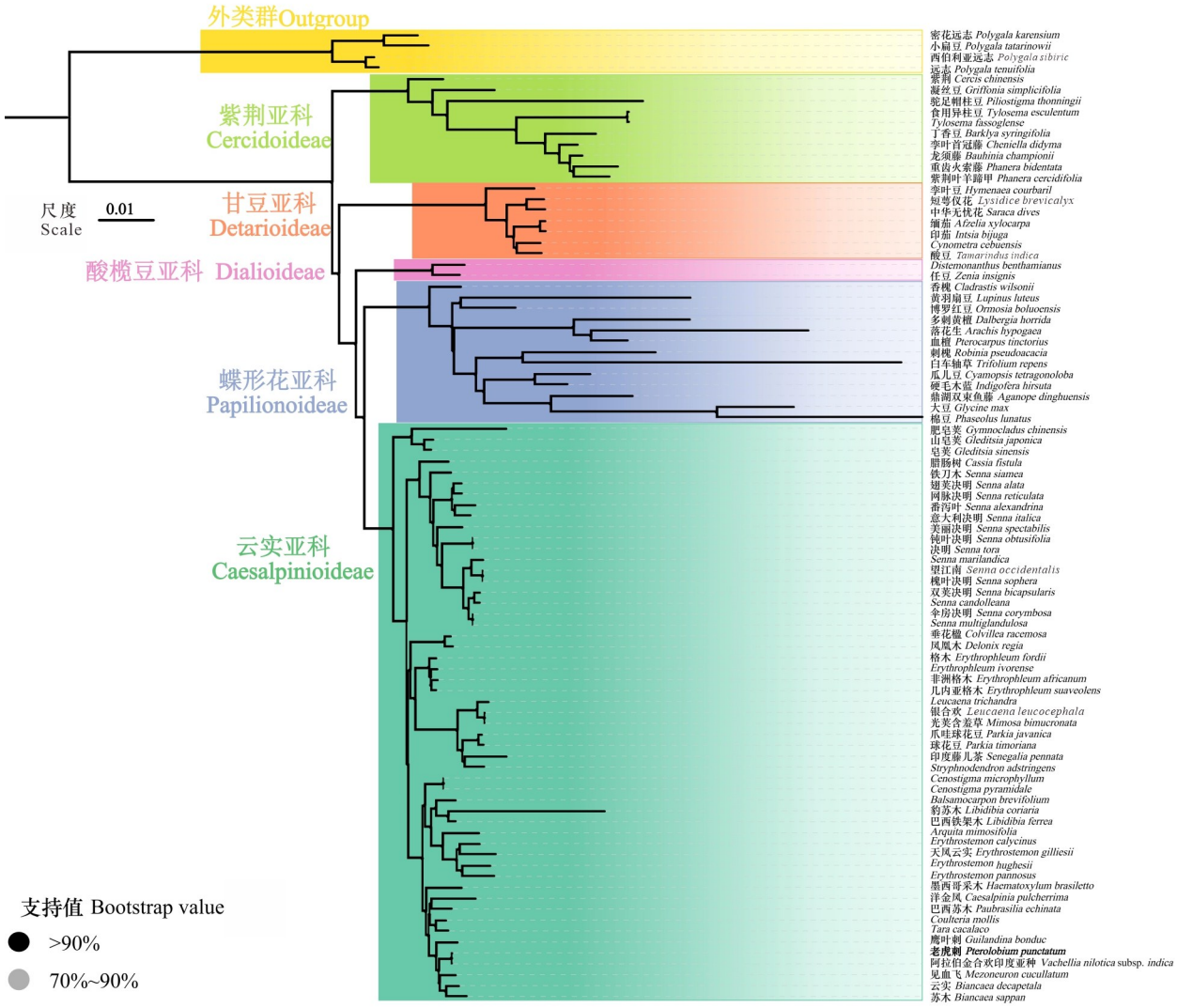


图 8 基于最大似然法构建的豆科系统发育树

Fig. 8 Phylogenetic tree of Fabaceae constructed based on maximum likelihood

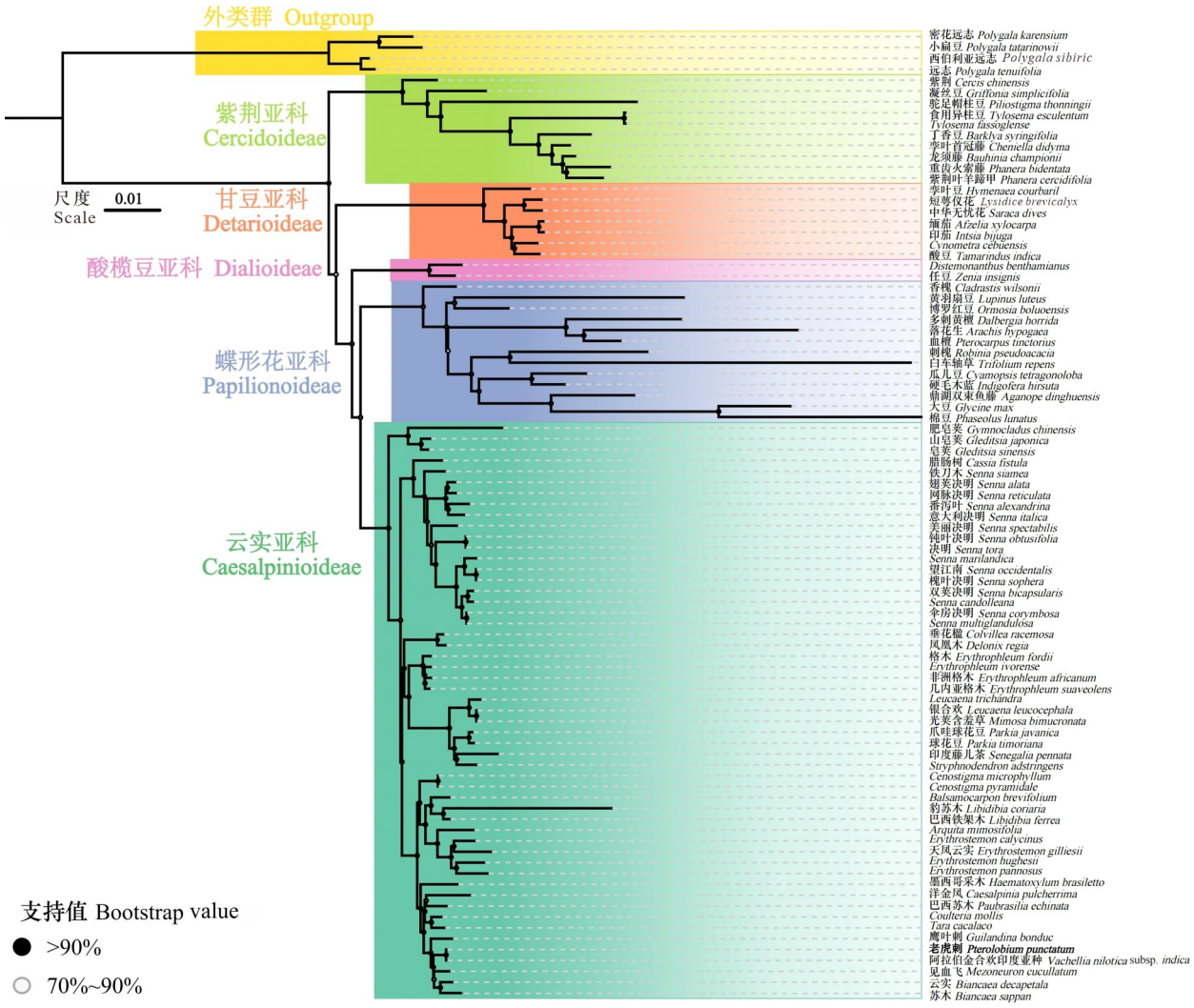


图 9　基于贝叶斯推断法构建的豆科系统发育树

Fig. 9　Phylogenetic tree of Legumi constructed based on Bayesian inference

塑造基因组结构的重要机制(Dugas et al., 2015)。IR 区的扩张可能改变相关基因的拷贝数(鲁光荣等,2022),但其对基因表达及环境适应的影响仍需进一步验证。

非等位同源重组被认为是 IR 边界变异的主要机制(Cai et al.,2008; Schwarz et al.,2015)。Cai 等(2008)研究指出,豆科植物[如地三叶(*Trifolium subterraneum*)]基因组中富含分散重复序列,且这些重复与重排端点紧密关联。本研究发现,阿拉伯金合欢印度亚种同样存在重复序列富集现象,推测其 IR 扩张可能由边界附近重复序列通过同源重组引发。此外,在 IRb/SSC(JSB)边界处,老虎刺与阿拉伯金合欢均表现出 *ycf*1 基因跨越特征的缺失,这种相似的边界特征在一定程度上反映了 2 个物种在进化过程中的趋同性或紧密的亲缘关系,从基因组结构层面进一步支持了二者互为姐妹群的系统发育结论。

3.3 密码子使用偏好与特异性分子标记

密码子使用偏好是植物叶绿体蛋白编码基因进化中的关键因素,深受突变、自然选择与随机遗传漂变的共同影响(Dong et al.,2021)。本研究提示,自然选择等非突变因素可能参与老虎刺叶绿体基因密码子使用偏好的形成,这结论与杨涌等(2025)对大豆(*Glycine max*)、刀豆(*Canavalia gladiata*)等豆科植物,以及孙晓春等(2025)对白蜡树(*Fraxinus*)的研究结果相近。通过综合 ENC-

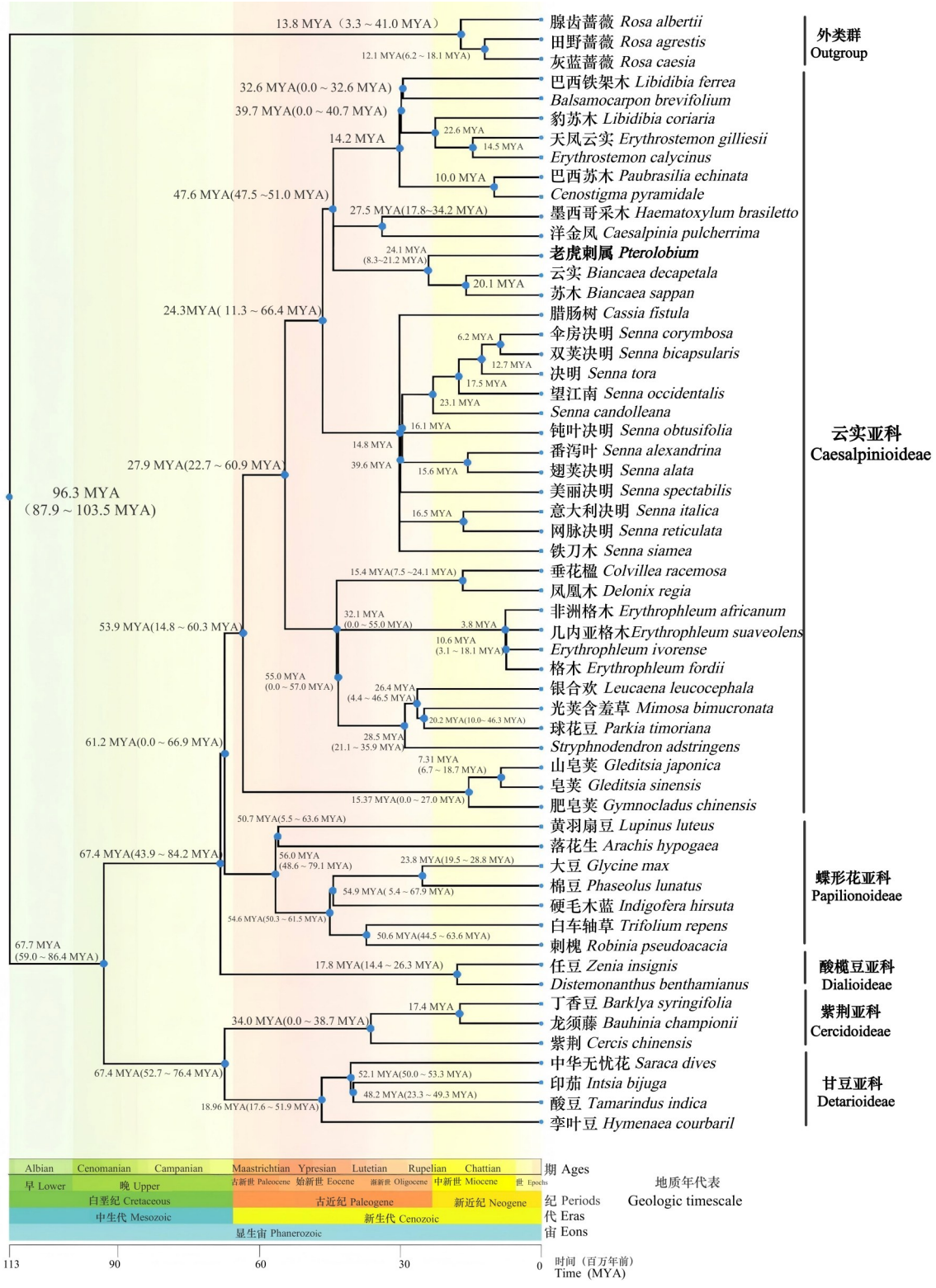


图 10 基于 TimeTree 数据库的豆科系统发育时间树

Fig. 10 Phylogenetic time tree of Fabaceae based on the TimeTree database

plot、中性绘图及 PR2-plot 分析，我们进一步鉴定出 17 个最优密码子，这些密码子均以 A 或 U 结尾。最优密码子的分布特征显示，自然选择倾向于保留那些能够提高翻译效率的密码子，从而保证光合作用相关蛋白（如 *rbcL*、*atp* 家族等）的高效、准确翻译，进而优化细胞的整体能量代谢，这反映了功能需求对基因组微观进化的塑造作用（Kawabe & Miyashita，2003；Han et al.，2025）。

在应用层面，通用条形码（如 *rbcL*、*matK*）在解决近缘物种亲缘关系时往往分辨率不足（林晓霞等，2021；范豫杰等，2023）。本研究基于核苷酸多样性（Pi）分析，发现 *ycf*1、*trnS*-*trnG* 等区域在云实亚科中表现出显著的高变异水平。这与近期在其他被子植物类群中的发现高度一致：Yan 等（2022）在菊科泽兰属（*Eupatorium*）、修志莹等（2024）在牡荆属（*Vitex*）以及黄扬等（2025）在秋海棠属（*Begonia*）的研究中，均鉴定出 *ycf*1 是叶绿体基因组中变异最丰富的区域之一。尽管本研究未进行种群验证，但 *ycf*1 作为高分辨率条形码的有效性已在兰科（Li H L et al.，2021）、山茶科（Jiang et al.，2022）及广泛的被子植物类群（Dong et al.，2015）中得到证实。本研究结果表明，*ycf*1、*trnS*-*trnG* 等高变区具有作为云实亚科物种鉴定候选分子标记的潜力，为后续解决该类群形态过渡物种的精准鉴定提供了重要的基因组资源。

3.4 研究局限与展望

本研究的局限性主要在于数据来源以叶绿体基因组为主，虽具高可靠性，但核质谱系分选不完全或历史上的杂交事件可能影响部分节点的拓扑结构解析（Zhao et al.，2021）。未来工作应整合核基因组或转录组数据，扩大分类取样（特别是基部分类群），以更全面揭示豆科早期辐射的细节。此外，分化时间估算可结合更多可靠的化石证据进行校准，以提升节点年龄估计的精度。在功能机制层面，IR 扩张等结构变异的生物学后果及其在适应性进化中的具体作用，仍需通过基因表达与实验研究进一步验证。

3.5 结论

本研究首次完成了对老虎刺完整叶绿体基因组的全面解析，从系统发育、结构变异、密码子使用偏好等多个维度揭示了其进化特征。最关键的是，系统发育分析从叶绿体基因组层面为豆科新分类系统提供了独立而有力的支持，明确了老虎刺在豆科演化树中的系统位置。本研究还筛选出多个适用于物种鉴定的高变 DNA 条形码，揭示了 IR 边界动态及其可能的进化机制。这些发现不仅深化了对豆科系统发育与基因组进化的认识，也为该类群的物种鉴定、资源保护与可持续利用提供了重要的基因组资源与理论依据。

参考文献：

Aecyo P，Marques A，Huettel B，et al.，2021. Plastome evolution in the *Caesalpinia* group（Leguminosae）and its application in phylogenomics and populations genetics［J］. Planta，254(2)：27.

Azani N，Babineau M，Bailey C D，et al.，2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny：The Legume Phylogeny Working Group（LPWG）［J］. Taxon，66(1)：44-77.

Beier S，Thiel T，Münch T，et al.，2017. MISA-web：a web server for microsatellite prediction［J］. Bioinformatics，33(16)：2583-2585.

Bi YF，Wen X，Pan Y H，et al.，2020. Application and research progress of chloroplast DNA barcoding in forest trees［J］. Molecular Plant Breeding，18(16)：5444-5452.［毕毓芳，温星，潘雁红，等，2020. 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，18(16)：5444-5452.］

Bruneau A，de Queiroz L P，Ringelberg J J，et al.，2024. Advances in Legume Systematics 14. Classification of Caesalpinioideae. Part 2：Higher-level classification［J］. PhytoKeys，240：1-552.

Cai Rang Z X，Hu X Y，Liu Y P，et al.，2025. Codon usage bias and phylogenetic analysis of chloroplast genome in *Sophora alopecuroides*（Fabaceae）［J］. Guihaia，45(7)：1295-1312.［才让扎西，胡夏宇，刘玉萍，等，2025. 苦豆子叶绿体基因组密码子偏好性分析及系统发育研究［J］. 广西植物，45(7)：1295-1312.］

Cai Z Q，Guisinger M，Kim H G，et al.，2008. Extensive reorganization of the plastid genome of *Trifolium subterraneum*（Fabaceae）is associated with numerous repeated sequences and novel DNA insertions［J］. Journal of Molecular Evolution，67(6)：696-704.

Doyle J J，2016. Chasing unicorns：Nodulation origins and the paradox of novelty［J］. American Journal of Botany，103(11)：1865-1868.

Dugas D V，Hernandez D，Koenen E J M，et al.，2015.

Mimosoid legume plastome evolution: IR expansion, tandem repeat expansions, and accelerated rate of evolution in *clpP* [J]. Scientific Reports, 5: 16958.

Dong R, Cao Y R, 2019. Research progress on the immune regulation of symbiotic nitrogen fixation between legumes and rhizobia [J]. Biotechnology Bulletin, 35(10): 25-33. [董汝, 曹扬荣, 2019. 豆科植物-根瘤菌共生固氮的免疫调控机制 [J]. 生物技术通报, 35(10): 25-33.]

Dong S J, Ying Z Q, Yu S S, et al., 2021. Complete chloroplast genome of *Stephania tetrandra* (Menispermaceae) from Zhejiang Province: insights into molecular structures, comparative genome analysis, mutational hotspots and phylogenetic relationships [J]. BMC Genomics, 22(1): 880.

Dong W P, Xu C, Li C H, et al., 2015. *ycf*1, the most promising plastid DNA barcode of land plants [J]. Scientific Reports, 5: 8348.

Egan A N, Crandall K A, 2008. Divergence and diversification in North American Psoraleeae (Fabaceae) due to climate change [J]. BMC Biology, 6: 55.

Fan Y J, Huang L, Su S D, et al., 2023. Identification of Papaveraceae based on chloroplast DNA matK+rbcL+trnH-psbA [J]. Journal of Kunming Medical University, 44(1): 12-18. [范豫杰, 黄磊, 苏世达, 等, 2023. 基于 matK+rbcL+trnH-psbA 联合分析法对罂粟属的植物鉴定 [J]. 昆明医科大学学报, 44(1): 12-18.]

Frazer K A, Pachter L, Poliakov A, et al., 2004. VISTA: computational tools for comparative genomics [J]. Nucleic Acids Research, 32(Web Server issue): W273-W279.

Greiner S, Lehwark P, Bock R, 2019. OrganellarGenomeDRAW (OGDRAW) version 1.3.1: expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes [J]. Nucleic Acids Research, 47(Web Server issue): W59-W64.

Han J Z, Lin C H, Zhu T T, et al., 2025. Comprehensive chloroplast genomic insights into *Amaranthus*: resolving the phylogenetic and taxonomic status of *A. powellii* and *A. bouchonii* [J]. Plants, 14(5): 649.

Harris L W, Davies T J, 2016. A complete fossil-calibrated phylogeny of seed plant families as a tool for comparative analyses: Testing the 'time for speciation' hypothesis [J]. PLoS ONE, 11(10): e0162907.

Hou D, Larsen K, Larsen S S, 1996. Caesalpiniaceae (Leguminosae - Caesalpinioideae) [J]. Flora Malesiana-Series 1: Spermatophyta, 12(2): 409-730.

Huang Y, Huang S C, Deng T, et al., 2025. Chloroplast genome structure and phylogenetic analysis of five endangered *Begonia* grandis species endemic to China [J]. Seed, 44(6): 138-149. [黄扬, 黄色彩, 邓涛, 等, 2025. 5 种中国特有近危秋海棠叶绿体基因组结构及系统发育分析 [J]. 种子, 44(6): 138-149.]

Jansen R K, Cai Z Q, Raubeson L A, et al., 2007. 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, 104(49): 19369-19374.

Jia L B, Huang Y J, Sun H, et al., 2017. First fossil of *Pterolobium* (Leguminosae) from the Middle Miocene Yunnan, South China [J]. Review of Palaeobotany and Palynology, 242: 21-32.

Jiang S, Chen F L, Qin P, et al., 2022. The specific DNA barcodes based on chloroplast genes for species identification of *Theaceae* plants [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 28(4): 837-848.

Jin J J, Yu W B, Yang J B, et al., 2020. GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate *de novo* assembly of organelle genomes [J]. Genome Biology, 21(1): 241.

Katoh K, Standley D M, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability [J]. Molecular Biology and Evolution, 30(4): 772-780.

Kawabe A, Miyashita N T, 2003. Patterns of codon usage bias in three dicot and four monocot plant species [J]. Genes and Genetic Systems, 78(5): 343-352.

Kazempour Osaloo S, Maassoumi A A, Murakami N, 2005. Molecular systematics of the Old World *Astragalus* (Fabaceae) as inferred from nrDNA ITS sequence data [J]. Brittonia, 57(4): 367-381.

Kumar S, Stecher G, Suleski M, et al., 2017. TimeTree: a resource for timelines, timetrees, and divergence times [J]. Molecular Biology and Evolution, 34(7): 1812-1819.

Kurtz S, Choudhuri J V, Ohlebusch E, et al., 2001. REPuter: the manifold applications of repeat analysis on a genomic scale [J]. Nucleic Acids Research, 29(22): 4633-4642.

Lavin M, Herendeen P S, Wojciechowski M F, 2005. Evolutionary rates analysis of Leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during thetertiary [J]. Systematic Biology, 54(4): 575-594.

Li H E, Guo Q Q, Xu L, et al., 2023. CPJSdraw: analysis and visualization of junction sites of chloroplast genomes [J]. PeerJ, 11: e15326.

Li H L, Xiao W J, Tong T, et al., 2021. The specific DNA barcodes based on chloroplast genes for species identification of *Orchidaceae* plants [J]. Scientific Reports, 11: 1424.

Li H T, Yi T S, Gao L M, et al., 2019. Origin of angiosperms and the puzzle of the Jurassic gap [J]. Nature Plants, 5(5):

461-470.

Li X P, Zhao Y M, Tu X D, et al., 2021. Comparative analysis of plastomes in Oxalidaceae: Phylogenetic relationships and potential molecular markers [J]. Plant Diversity, 43(4): 281-291.

Lin X X, Lu Y, Li H L, et al., 2021. Genetic relationship analysis of *Dendrobium* plants based on chloroplast *matK* and *rbcL* gene [J]. Journal of Biology, 38(1): 46-50. [林晓霞, 鹿炎, 李会丽, 等, 2021. 基于 *matK* 和 *rbcL* 序列的石斛属植物亲缘关系研究 [J]. 生物学杂志, 38(1): 46-50.]

Lin Y X, Wang Q, Shen S, 2014. New advances in legume systematics [J]. Botanical Research, 3(5): 179-187. [林彦翔, 王祺, 申思, 2014. 豆科植物系统学研究新进展 [J]. 植物学研究, 3(5): 179-187.]

Lu G R, Chen F Q, Lü K, et al., 2022. Shrub communities and species diversity characteristics in the southern subtropical zone in Guangxi [J]. Forest Resources Management (3): 89-95. [鲁光荣, 陈芳清, 吕坤, 等, 2022. 广西南亚热带灌丛群落物种组成与多样性特征 [J]. 林业资源管理 (3): 89-95.]

Magee A M, Aspinall S, Rice D W, et al., 2010. Localized hypermutation and associated gene losses in legume chloroplast genomes [J]. Genome Research, 20(12): 1700-1710.

Manzanilla V, Bruneau A, 2012. Phylogeny reconstruction in the Caesalpinieae grade (Leguminosae) based on duplicated copies of the sucrose synthase gene and plastid markers [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 65(1): 149-162.

Martin G E, Rousseau-Gueutin M, Cordonnier S, et al., 2014. The first complete chloroplast genome of the Genistoid legume *Lupinus luteus*: evidence for a novel major lineage-specific rearrangement and new insights regarding plastome evolution in the legume family [J]. Annals of Botany, 113(7): 1197-1210.

Meireles J E, Cavender-Bares J, Townsend P A, et al., 2020. Leaf reflectance spectra capture the evolutionary history of seed plants [J]. The New Phytologist, 228(2): 485-493.

Minh B Q, Schmidt H A, Chernomor O, et al., 2020. IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era [J]. Molecular Biology and Evolution, 37(5): 1530-1534.

Moore M J, Soltis P S, Bell C D, et al., 2010. 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, 107(10): 4623-4628.

Nieto-Blázquez M E, Antonelli A, Roncal J, 2017. Historical biogeography of endemic seed plant genera in the Caribbean: Did GAARlandia play a role? [J]. Ecology and Evolution, 7(23): 10158-10174.

Pouget M, Youssef S, Dumas P J, et al., 2016. Spatial mismatches between plant biodiversity facets and evolutionary legacy in the vicinity of a major Mediterranean city [J]. Ecological Indicators, 60: 736-745.

Ramírez-Barahona S, Sauquet H, Magallón S, 2020. The delayed and geographically heterogeneous diversification of flowering plant families [J]. Nature Ecology & Evolution, 4(9): 1232-1238.

Rather S A, Asaf S, Kumar A, et al., 2025. Plastome evolution in the *Caesalpinia* group (Caesalpinioideae, Fabaceae): Comparative genomics reveals genome dynamics, phylogenetic insights and adaptive evolution [J]. Journal of Systematics and Evolution, 63(6): 1536-1559.

Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, et al., 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. Systematic Biology, 61(3): 539-542.

Särkinen T, Pennington R T, Lavin M, et al., 2012. Evolutionary islands in the Andes: persistence and isolation explain high endemism in Andean dry tropicalforests [J]. Journal of Biogeography, 39(5): 884-900.

Schwarz E N, Ruhlman T A, Sabir J S M, et al., 2015. Plastid genome sequences of legumes reveal parallel inversions and multiple losses of *rps16* in papilionoids [J]. Journal of Systematics and Evolution, 53(5): 458-468.

Souza-Neto A C, Cianciaruso M V, Collevatti R G, 2016. Habitat shifts shaping the diversity of a biodiversity hotspot through time: insights from the phylogenetic structure of Caesalpinioideae in the Brazilian Cerrado [J]. Journal of Biogeography, 43(2): 340-350.

Sun X C, Huang W J, Li H R, 2025. Codon bias analysis of *FcF6′H1* gene in *Fraxinus chinensis* [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 53(1): 35-47. [孙晓春, 黄文静, 李会容, 2025. 白蜡树 *FcF6′H1* 基因的密码子偏好性分析 [J]. 山西农业科学, 53(1): 35-47.]

Tang Y J, Zhao Y, Huang G D, et al., 2021. Analysis on codon usage bias of chloroplast genes from mango [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 42(8): 2143-2150. [唐玉娟, 赵英, 黄国弟, 等, 2021. 芒果叶绿体基因组密码子使用偏好性分析 [J]. 热带作物学报, 42(8): 2143-2150.]

Tillich M, Lehwark P, Pellizzer T, et al., 2017. GeSeq - versatile and accurate annotation of organelle genomes [J]. Nucleic Acids Research, 45 (Web Server issue):

W6-W11.

Wang Y H, Qu X J, Chen S Y, et al., 2017. Plastomes of Mimosoideae: structural and size variation, sequence divergence, and phylogenetic implication [J]. Tree Genetics & Genomes, 13(2): 41.

Wick R R, Schultz M B, Zobel J, et al., 2015. Bandage: interactive visualization of *de novo* genome assemblies [J]. Bioinformatics, 31(20): 3350-3352.

Xiu Z Y, Zhao Y L, Cheng Y Q, et al., 2024. Comparative analysis of chloroplast genomes and phylogenetic analysis of *Vitex* [J]. Guihaia, 44(9): 1755-1771. [修志莹, 赵艳玲, 程永琴, 等, 2024. 牡荆属叶绿体基因组比较分析及系统发育分析 [J]. 广西植物, 44(9): 1755-1771.]

Yan K, Li W D, Sun C, et al., 2025a. Complete chloroplast genome analysis of *Casearia kurzii*: Gene loss at the IR boundary and monophyletic evolution within *Casearia* [J]. Plants, 14(9): 1356.

Yan K, Lu X, Li W D, et al., 2025b. Chloroplast genome diversity and molecular evolution in Hypericaceae: New insights from three *Hypericum* species [J]. International Journal of Molecular Sciences, 26(1): 323.

Yan K, Ran J, Bao S M, et al., 2022. The complete chloroplast genome sequence of *Eupatorium fortunei*: genome organization and comparison with related species [J]. Genes, 14(1): 64.

Yang Y, Li M M, Zhang J Y, et al., 2025. Chloroplast genome comparison and phylogenetic study of seven leguminous medicinal plants [J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research, 47(4): 1-11. [杨涌, 李敏敏, 张继雨, 等, 2025. 7 种豆科药用植物叶绿体基因组比较及系统发育研究 [J]. 特产研究, 47(4): 1-11.]

Ye H G, Li C Y, Ye W C, et al., 2022. Medicinal angiosperms of Caesalpiniaceae [M]//Ye H G, Li C Y, Ye W C, et al. Common Chinese Materia Medica: Vol. 4. Singapore: Springer: 237-294.

Zachos J C, Dickens G R, Zeebe R E, 2008. An early Cenozoic perspective on greenhouse warming and carbon-cycle dynamics [J]. Nature, 451(7176): 279-283.

Zhang Q, Ye J F, Le C T, et al., 2022. New insights into the formation of biodiversity hotspots of the Kenyan flora [J]. Diversity and Distributions, 28(12): 2696-2711.

Zhang R, Stull G W, Jin J J, et al., 2026. Phylogenetic resolution and conflict in the species-rich flowering plant family Leguminosae [J]. Systematic Biology, 75(2): 236-258.

Zhao Y R, Zhang R, Jiang K W, et al., 2021. Nuclear phylotranscriptomics and phylogenomics support numerous polyploidization events and hypotheses for the evolution of rhizobial nitrogen-fixing symbiosis in Fabaceae [J]. Molecular Plant, 14(5): 748-773.

Zhao Y M, Wu Y, Zhang R X, et al., 2025. Chloroplast genome characteristics and phylogenetic analysis of *Lespedeza davidii* [J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 38(6): 1177-1192. [赵月梅, 武燕, 张荣祥, 等, 2025. 大叶胡枝子叶绿体基因组特征及系统发育分析 [J]. 西南农业学报, 38(6): 1177-1192.]

(责任编辑 邓斯丽)