

马先蒿属粗野-缘毛分支叶绿体基因组变异与演化研究

王泽寻^{1,3}, 刘 荣^{1,3}, 吴 优^{1,3}, 郁文彬^{2*}, 王 红^{1*}

(1. 中国科学院昆明植物研究所中国西南野生生物种质资源库, 昆明 650201; 2. 中国科学院西双版纳热带植物园综合保护中心, 云南 勐腊 666303; 3. 中国科学院大学, 北京 101408)

摘 要: 异养植物对光合作用的依赖降低, 其叶绿体基因组常表现出高度的异质性。为探究半寄生植物(异养植物的特殊类群)叶绿体基因组在近缘种间及种内的变异模式, 该研究以马先蒿属(*Pedicularis* L.)粗野-缘毛分支(*Rudes-Craspedotrichae* Clade)为对象, 对 22 个物种的 39 个个体的叶绿体基因组进行比较分析。结果表明: (1) 粗野-缘毛分支为单系群, 划分为 8 个亚分支。(2) 该分支物种的叶绿体基因组整体结构较为保守, 仅在亚分支 3 的长舟马先蒿(*P. dolichocymba*)和显盔马先蒿(*P. galeata*)中发现显著的 IR 区扩张。(3) 2~7 个基因(*ccsA*、*ycf15*、*accD* 以及部分 *ndh* 基因)出现假基因化或丢失。(4) 亚分支 7 的红毛马先蒿(*P. rhodotricha*)部分 *ndh* 基因(*ndhA*、*D*、*F*、*G*、*I*)表现出显著的种内变异。(5) 该分支叶绿体基因组中鉴定出 9 个高变异区域; 78 个蛋白编码基因均受到纯化选择。该研究解析了马先蒿属粗野-缘毛分支叶绿体基因组特征, 强调种内多居群取样研究对揭示半寄生植物叶绿体基因组演化的重要性, 并为马先蒿属整合分类学研究提供了有价值的见解。

关键词: 半寄生植物, 马先蒿属, 系统发育, 叶绿体基因组, 异质性, 演化

中图分类号: Q949 文献标识码: A

Chloroplast genome variation and evolution in *Rudes-Craspedotrichae* Clade of *Pedicularis*

WANG Zexun^{1,3}, LIU Rong^{1,3}, WU You^{1,3}, YU Wenbin^{2*}, WANG Hong^{1*}

(1. *The Germplasm Bank of Wild Species, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China*; 2. *Center for Integrative Conservation, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, Yunnan, China*; 3. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 101408, China*)

Abstract: The reduced dependence on photosynthesis in heterotrophic plants often leads to significant heterogeneity in their chloroplast genomes. However, the variation patterns of chloroplast genomes in hemiparasites (a specialized group of heterotrophic plants), particularly at inter- and intraspecific levels, remain to be further investigated. In this study, a comprehensive comparative analysis was performed on 39 chloroplast genomes from 22 species within *Rudes-Craspedotrichae* Clade of the genus *Pedicularis*. The results were as follows: (1) This

基金项目: 国家自然科学基金 (32570243, 32371700, 32071670)。

第一作者: 王泽寻 (2002—), 硕士, 研究方向为植物系统与演化, (E-mail) wangzexun@mail.kib.ac.cn。

***通信作者:** 王红, 博士, 研究员, 研究方向为植物繁殖生物学与演化, (E-mail) wanghong@mail.kib.ac.cn;
郁文彬, 博士, 研究员, 研究方向为植物系统与演化, (E-mail) yuwenbin@xtbg.ac.cn。

clade is strongly supported as a monophyletic group, which can be resolved into 8 subclades. (2) The overall structure of chloroplast genomes in this clade was relatively conserved, with significant IR expansion detected only in *P. dolichocymba* and *P. galeata* of Subclade 3. (3) Pseudogenization or gene loss occurred in 2–7 genes, including *ccsA*, *ycf15*, *accD*, and several *ndh* genes. (4) Significant intraspecific variation was observed in several *ndh* genes (*ndhA*, *D*, *F*, *G*, *I*) of *P. rhodotricha* from Subclade 7. (5) Nine highly variable regions were identified in the chloroplast genomes of this clade, and all 78 protein-coding genes were found to be under purifying selection. This study elucidates the characteristics of chloroplast genomes in *Rudes-Craspedotrichae* Clade, highlights the necessity of multi-population sampling at the intraspecific level for understanding chloroplast genome evolution in hemiparasites, and provides valuable insights for subsequent integrative taxonomic research on the genus *Pedicularis*.

Key words: Hemiparasites, *Pedicularis*, phylogeny, chloroplast genome, heterogeneity, evolution

叶绿体是一种拥有独立遗传物质的半自主性细胞器。它在植物的光合作用、基础物质合成与代谢调控中发挥着核心作用，并在物种环境适应与演化中具有重要的意义(Stirbet et al., 2020; Zhang et al., 2020)。在大多数维管植物中，叶绿体基因组的大小、结构、基因含量和排列顺序均呈现出显著的保守性(Palmer, 1985; Wicke et al., 2011)。叶绿体基因组长度通常为 140~180 kb，由 1 个大单拷贝区 (large single copy, LSC)、1 个小单拷贝区 (small single copy, SSC) 和 2 个反向重复区域 (inverted repeat, IR) 组成。该基因组通常编码 114 个基因，包括 80 个蛋白编码基因 (protein-coding genes, PCGs)、30 个转运 RNA 基因和 4 个核糖体 RNA 基因(Wicke et al., 2011)。这种保守性主要由于其所承担核心生理功能带来的强大纯化选择压力(Palmer, 1985; Birky, 1995; Wicke et al., 2011)。

然而，叶绿体基因组的这种保守性并非绝对。即使在传统上被认为演化保守的自养植物中，叶绿体基因组也展现出复杂的变异模式，涉及结构多样性和基因含量变化。结构多样化主要包括 LSC-IR-SSC 边界区域变异以及基因组重排(陈丽琼等, 2025)。例如，在牻牛儿苗科 (Geraniaceae) *Pelargonium transvaalense* 中，其 IR 区扩张至 87 724 bp，占总长度的 72.33%(Weng et al., 2017)。而在豆科 (Fabaceae) 一个庞大的分支——IRLC (Inverted Repeat-Lacking Clade) 中，叶绿体基因组普遍丢失了 1 个 IR 区(Wojciechowski et al., 1999)。此外，大片段序列重排也在多个植物谱系中被报道，如牻牛儿苗科、桔梗科 (Campanulaceae) 和紫堇属 (*Corydalis*) (Cosner et al., 2004; Ruhlman & Jansen, 2018; Raman et al., 2022)。在基因含量层面，叶绿体基因的假基因化或丢失现象也很普遍，如 *infA* 基因在被子植物中发生了多次独立的丢失(Millen et al., 2001)，而 *ycf1* 和 *ycf2* 基因则在禾本科 (Poaceae) 中普遍丢失(Guisinger et al., 2010)。过往研究通常集中于种间差异，而事实上，叶绿体基因组种内变异普遍存在，其变异程度在某些类群中甚至超过了近缘物种间的遗传分化(Widmer & Baltisberger, 1999)。除了单核苷酸多态性 (SNPs)、插入/缺失 (Indels) 以及重复序列数量等常见差异外(Widmer & Baltisberger, 1999; Muraguri et al., 2020)，部分物种在基因组大小和结构上表现出显著的种内变异。例如，由于 IR 区内基因的重复，导致美国风铃草 (*Campanula americana*) 叶绿体基因组大小在个体间存在高达 13 kb 的差异(López-Caamal et al., 2025)。而在滨海前胡 (*Peucedanum japonicum*) 中，部分个体 IR 区复制了 LSC 区 1 个长达 17.1 kb 的片段，使其叶绿体基因组拥有短型 (S-type) 和长型 (L-type) 两种构型(Joh et al., 2025)。这些发现表明，叶绿体基因组的演化远比传统认知更为复杂，而这种演化上的复杂性，在那些营养获取方式发生改变的异养植物中表现得更为突出，有待更深入的探索。

异养植物指一类从其他来源而非光合作用中获得部分或全部营养的植物,包括寄生植物和真菌异养植物(Merckx et al., 2009; Nickrent, 2020)。由于对光合作用的依赖程度降低,异养植物的叶绿体基因组普遍经历着不同程度的退化。这主要表现为光合作用相关基因(如 *psa*、*psb*、*pet*、*ndh* 基因)的大量丢失或假基因化、基因组的缩小以及大规模的结构重排(Wicke et al., 2016)。近年来,随着测序技术的进步,研究尺度已从宏观比较,逐步深入到近缘种间乃至种内水平。这些精细化的比较研究较少,但已初步显示叶绿体基因组的退化并非单一、线性的过程,而是在近缘谱系间及种内水平呈现出高度的异质性。例如,在兰属(*Cymbidium*)中,*ndh* 基因的独立降解不仅发生在种间,其变异甚至已延伸至种群水平(Kim & Chase, 2017)。在冠珊兰属(*Hexalectris*)中发生了四至五次独立的光合损失事件,相应的基因丢失变异同样存在于种下水平(Barrett et al., 2019)。针对 *Corallorhiza striata* complex 的系统性种内取样分析显示,同一物种的不同居群可能会沿着快速且独立的轨迹发生叶绿体基因组降解(Barrett et al., 2018)。综上所述,以往研究发现,种内水平的叶绿体基因组异质性可能是异养植物在演化过程中的一个普遍且重要的特征。然而,目前针对异养植物种内水平的比较基因组学研究仍相对匮乏,尤其是在半寄生植物中,这一演化模式尚未得到系统验证。

马先蒿属(*Pedicularis* L.)是列当科(Orobanchaceae)中最大的半寄生属(Yang et al., 1998; Fischer, 2004),其高度的物种多样性是研究异养植物叶绿体基因组演化的理想材料。以往对该属部分物种研究表明,其叶绿体基因组在基因含量和局部结构上存在多种变异,包括 IR 区的显著扩张或收缩,以及在不同谱系中发生的 *ndh*、*ycf*、*rps*、*accD*、*ccsA* 等基因的假基因化或丢失(Cho et al., 2018; Li et al., 2021; Wang et al., 2022)。尽管如此,这些发现多源于对不同演化分支的零散物种取样,对该属叶绿体基因组在近缘种间及种内的变异仍缺乏认识。为此,本研究选取马先蒿属内 1 个较早期分化的类群——粗野-缘毛分支(*Rudes-Craspedotrichae* Clade)作为研究对象,该分支对应马先蒿属 13 个主要演化支中的第 5 分支(Yu et al., 2015)。本研究对该分支 22 个物种的 39 个个体的叶绿体基因组进行了较系统的比较研究,拟探讨以下问题:(1)基于叶绿体基因组数据,重建该分支的系统发育关系;(2)在种间和种内水平,明晰该分支叶绿体基因组在大小、结构、基因含量、重复序列等方面的特征;(3)在系统发育框架下,定位基因丢失事件发生的演化节点。

1 材料与方法

1.1 样品信息

选取马先蒿属粗野-缘毛分支 22 个物种(39 份样品)作为研究材料,并以马先蒿属基部类群中的 4 个物种作为属内参考[包括狭唇马先蒿(*P. angustilabris*)、康定马先蒿(*P. kandingensis*)、野苏子(*P. grandiflora*)和茨口马先蒿(*P. tsekouensis*)各 1 份]。在这 43 份样品中,26 份由本研究完成测序。此外,使用列当科半寄生植物松蒿(*Phtheirospermum japonicum*)以及自养植物钟萼草(*Lindenbergia philippensis*)作为外类群。样品采集地等信息详见附录 1。

1.2 叶绿体基因组组装与注释

本研究采用改良的 CTAB 法(Allen et al., 2006),从经硅胶干燥的叶片或液氮冷冻保存的嫩芽中提取总 DNA。将纯化后的 DNA 打断成平均长度约 500 bp 的片段,使用 NEBNext® Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina®构建测序文库。最终在 Illumina Hi-Seq 2500 平台完成双末端测序,每份样品共产生约 3G 的原始数据。

叶绿体基因组均使用 GetOrganelle v1.7.5(Jin et al., 2020)进行从头组装 (*de novo*)。通过 Bandage v0.8.1(Wick et al., 2015)对组装图进行可视化验证。基因组注释首先通过 PGA(Qu et al., 2019)自动完成, 结果随后导入 Geneious(Kearse et al., 2012)中, 以自养外群钟萼草为参考, 手动校对其他物种叶绿体基因的边界、起始/终止密码子。

1.3 系统发育分析

为重建系统发育关系, 本研究构建了 3 个数据集: (1) 完整叶绿体基因组数据集, 该数据集仅保留 1 个 IR 区; (2) 编码序列(coding sequence, CDS)数据集; (3) 基因间区(intergenic spacers, IGS)数据集。完整叶绿体基因组数据集构建流程如下: 首先使用 MAFFT v7.490(Katoh & Standley, 2013)以默认参数进行多序列比对, 比对结果随后利用 TrimAl v1.4.1(Capella-Gutiérrez et al., 2009)进行自动剪切以去除低质量区域, 最终在 Geneious(Kearse et al., 2012)中进行手动校正。CDS 和 IGS 数据集的构建流程如下: 首先利用 PlastomeRegionBurstAndAlign.py 脚本 (<https://github.com/damcadam/PlastomeBurstAndAlign-CIS625-Group14>), 以严格的物种数阈值 (taxcutoff=45) 提取共有的 CDS 和 IGS 序列。随后, 使用 MACSE v2.03(Ranwez et al., 2018) 对每个 CDS 进行基于密码子的比对; 使用 MAFFT v7.490(Katoh & Standley, 2013)对每个 IGS 进行比对, 并在 Geneious 中将分别比对好的序列串联, 形成 CDS 和 IGS 超级矩阵。针对串联得到的 IGS 超级矩阵, 需使用 TrimAl v1.4.1 自动修剪并在 Geneious 中手动矫正。

针对上述 3 个数据集, 均分别采用最大似然法 (maximum likelihood, ML) 和贝叶斯推断 (Bayesian inference, BI) 两种方法重建系统发育关系。ML 分析在 RAxML v8.2.12(Stamatakis, 2014)中完成, 采用 GTR+I 模型, 并通过 1 000 次重复来评估各节点的支持率(bootstrap support, BS)。BI 分析首先使用 jModelTest(Posada, 2008)基于贝叶斯信息准则 (BIC)为每个数据集独立评估最佳核苷酸替代模型, 随后通过 MrBayes v3.2.7(Ronquist et al., 2012)完成。分析设置两组独立的马尔可夫链蒙特卡洛(Markov Chain Monte Carlo, MCMC)运行, 每组包含 4 条链, 共运行 500 万代, 每 1 000 代抽样 1 次。舍弃前 25%的取样后, 利用剩余的树构建一致树以计算后验概率 (posterior probabilities, PP)。最终生成的系统发育树使用 tvBOT(Xie et al., 2023)进行可视化。

1.4 叶绿体基因组比较分析

使用 Geneious(Kearse et al., 2012)统计各样本的基因组特征, 包括基因组大小、基因数量、整个基因组以及 LSC、SSC 和 IR 区的 GC 含量。通过比较不同区域的边界来研究叶绿体基因组的结构变异。使用 REPuter(Kurtz et al., 2001)鉴定散在重复序列 (dispersed repeat sequence, DRS), 参数设置如下: 长度 ≥ 25 bp, 汉明距离=3, 最大计算重复次数=150。使用 MISA(Beier et al., 2017)检测简单重复序列 (simple sequence repeat, SSR)。各重复类型的最小重复次数阈值设置如下: 单核苷酸 (mononucleotide) ≥ 10 , 二核苷酸 (dinucleotide) ≥ 5 , 三核苷酸 (trinucleotide) ≥ 4 , 四核苷酸 (tetranucleotide) ≥ 3 , 五核苷酸 (pentanucleotide) ≥ 3 , 六核苷酸 (hexanucleotide) ≥ 3 。使用 CodonW v1.4.2(Peden, 1999)计算相对同义密码子使用度 (RSCU), 计算中排除了终止密码子。最终结果使用在线工具 Chiplot(<https://www.chiplot.online>)进行可视化。

1.5 选择压力分析及序列差异分析

本研究对蛋白编码基因进行了选择压力分析。依据功能，将这些基因划分为三类：光合作用相关基因、质体遗传表达相关基因以及其他基因。首先使用 MACSE v2.03(Ranwez et al., 2018)将每个基因与钟萼草的同源序列进行比对，随后使用 TBtools v2.018 (Chen et al., 2023) 中的“Simple Ka/Ks Calculator”模块计算每个基因的 Ka/Ks 值。其中， $Ka/Ks > 1$ 、 $= 1$ 和 < 1 分别代表正选择、中性选择和纯化选择；当 $Ks = 0$ 时，Ka/Ks 值记为 NA。剔除掉在所有样本中均假基因化的 *ycf15* 和 *ccsA* 基因后，得到剩余 78 个蛋白编码基因所有样本的 Ka/Ks 值分布数据集，并以箱线图的形式将其可视化。为定位粗野-缘毛分支叶绿体基因组中的高变异区域，我们使用 DnaSP v6.12.03(Rozas et al., 2017)对该分支叶绿体基因组进行了滑窗分析。分析中，窗口长度设定为 600 bp，步长为 200 bp，并计算了每个窗口的核苷酸多态性 (nucleotide diversity, Π)。

1.6 祖先状态重建分析

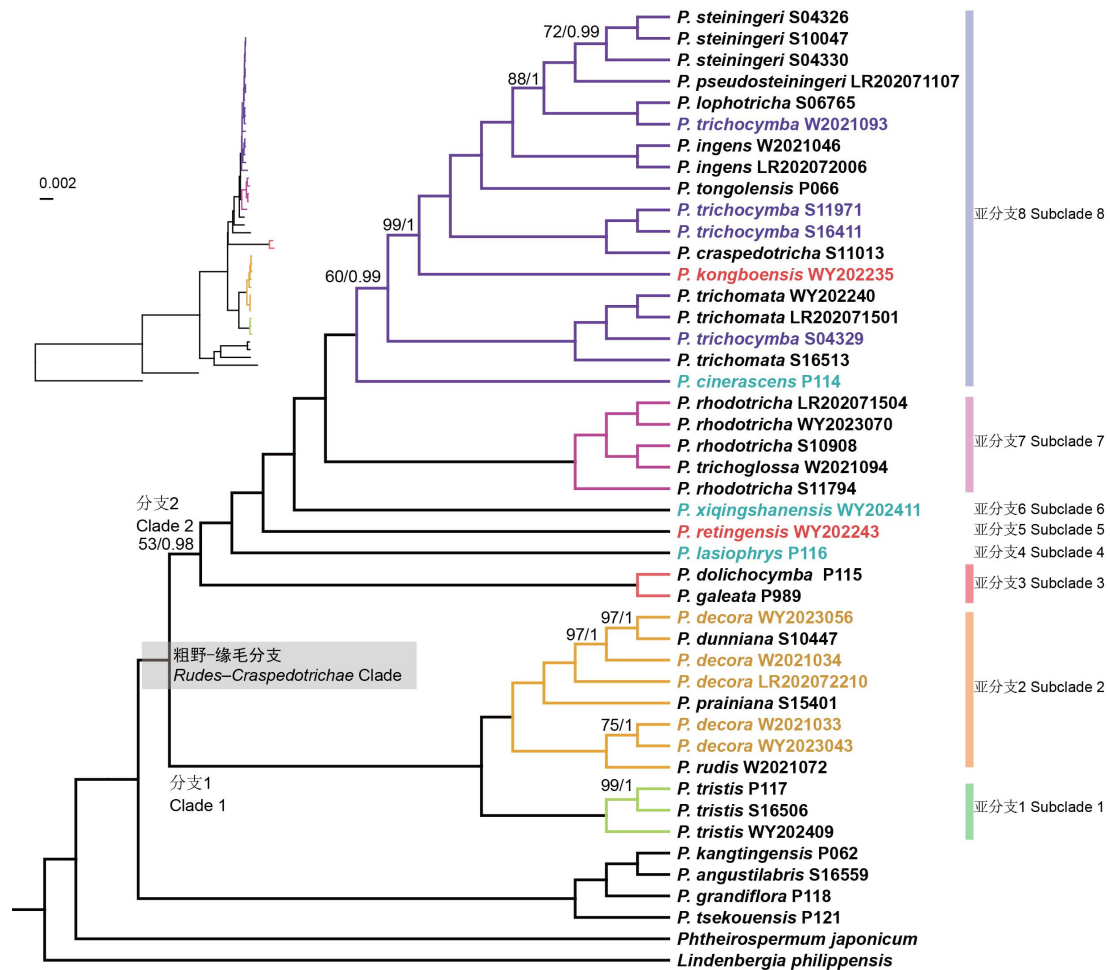
为定位粗野-缘毛分支中基因丢失事件发生的演化节点，本研究基于重建的系统发育树，利用 R 语言中的 phytools 包(Revell, 2024) 进行了祖先状态重建。在祖先状态重建分析中，基因状态被分为三个离散类型：功能完整（状态 0，编码序列完整）、假基因化（状态 1，提前出现终止密码子）和丢失（状态 2，序列缺失）。我们比较了等速率模型（ER）、对称模型（SYM）和全不同速率模型（ARD）这三种转换率模型，并依据赤池信息准则（AIC）选择了最佳拟合模型。在此最佳拟合模型下，我们通过 1 000 次随机性状图谱模拟估算了内部节点的祖先状态概率。

2 结果与分析

2.1 系统发育重建

基于保留一个 IR 区的叶绿体全基因组数据集，最大似然法和贝叶斯推断两种方法构建出拓扑结构一致的系统发育树（图 1）。结果强烈支持粗野-缘毛分支为单系群（BS/PP=100/1.00）。这一单系群由两个主要分支组成，并可进一步划分为 8 个具有较高支持率的亚分支。分支 1 包含亚分支 1 和亚分支 2。亚分支 1（BS/PP=100/1.00）包含所有的阴郁马先蒿（*P. tristis*）。其姐妹群为亚分支 2（BS/PP=100/1.00），包含 4 个物种。其中，美观马先蒿（*P. decora*）呈现为多系，分别与邓氏马先蒿（*P. dunniana*）和粗野马先蒿（*P. rudis*）嵌合。分支 2 包含剩余的 6 个亚分支。位于该分支基部的是由长舟马先蒿（*P. dolichocymba*）和显盔马先蒿（*P. galeata*）组成的亚分支 3，它是其他 5 个亚分支的姐妹群。随后，仅含毛颞马先蒿（*P. lasiophrys*）的亚分支 4、仅含雷丁马先蒿（*P. retingensis*）亚分支 5 以及仅含西倾山马先蒿（*P. xiqingshanensis*）亚分支 6 依次分化出来。亚分支 7（BS/PP=100/1.00）包含了所有的红毛马先蒿（*P. rhodotricha*）和毛盔马先蒿（*P. trichoglossa*）。其中，毛盔马先蒿的 W2021094 样本嵌套于红毛马先蒿内部（BS/PP=100/1.00）。亚分支 8（BS/PP=100/1.00）是物种最丰富的亚分支，它包含了 10 个取样物种。该亚分支存在明显的多系现象，如毛舟马先蒿（*P. trichocymba*）被解析在 3 个不同的位置，并与其他物种嵌合。

为检验不同分区的系统发育信号，我们基于编码序列和基因间区构建了系统发育树（附录 2, 附录 3）。这两个数据集构建的系统发育树在总体拓扑结构上与全基因组树一致，均可分为八个亚分支，仅部分末端节点的位置发生变化。值得注意的是，在 CDS 树中，亚分支 3 位置不稳定（BS/PP=63/0.58），处于粗野-缘毛分支最基部。



标注的数字为对应节点的自举值（BS）及贝叶斯后验概率（PP）。BS=100 且 PP=1.00 的节点未标注。与形态学分类不一致及非单系的物种被特别标记。

Numbers associated with the branches are bootstrap value (BS) and BI posterior probabilities (PP). Unlabeled branches represent BS=100 and PP=1.00. Incongruences with morphology-based taxonomy and non-monophyletic species are specifically labeled.

图 1 基于叶绿体基因组构建的粗野-缘毛分支贝叶斯树

Fig. 1 BI tree of *Rudes-Craspedotrichae* Clade based on chloroplast genomes

2.2 叶绿体基因组近缘种间差异

粗野-缘毛分支叶绿体基因组大小范围为 149 496 bp~165 182 bp，绝大多数样品（36/39）集中在 151 578 bp~152 178 bp 之间。4 个区域的长度变化如下：LSC 82 831 bp~83 493 bp；SSC 387 bp~17 440 bp；IR 25 478 bp~40 856 bp。单拷贝区与反向重复区的边界在大多数叶绿体基因组中保持稳定（图 2），但在长舟马先蒿和显盔马先蒿中发现 IR 区的显著扩张（约 40 kb）以及 SSC 区的急剧缩短（小于 500 bp）。在 *P. trichocymba* S11971, *P. craspedotricha* S11013, *P. rhodotricha* S11794 这三个样本中发现边界区的轻微移动，*rpl2* 基因跨越了 LSC-IRa 边界。粗野-缘毛分支叶绿体基因组 GC 含量的范围为 37.82%~38.38%，其中 LSC 区、SSC 区和 IR 区分别为 36.37%~36.50%；28.80%~32.58%；39.23%~43.41%。发生 IR 区扩张的长舟马先蒿和显盔马先蒿 GC 含量特征与其他物种不同，其 IR 区和 SSC 区的 GC 含

量明显低于分支内其他物种（表 1）。

粗野-缘毛分支的叶绿体基因数量在 113~114 个之间, 包含 73~78 个 PCGs、30 个 tRNA 基因、4 个 rRNA 基因以及 2~6 个假基因。样本 *P. galeata* P989 中 7 个基因失去功能, 损失程度最高。*ccsA* 基因由于移码突变而在所有马先蒿属谱系中假基因化（附录 4）。在粗野-缘毛分支中, *ycf15* 基因由于终止密码子提前出现而假基因化（附录 5）。*accD* 基因的假基因化仅发生在毛茛马先蒿（附录 6）。此外, 在长舟马先蒿、显盔马先蒿、红毛马先蒿、毛盔马先蒿中发现 *ndh* 基因的假基因化或丢失（图 2）。

表 1 马先蒿属及外群叶绿体基因组的特征

Table 1 Overview of physical properties of chloroplast genomes in *Pedicularis* and outgroups

样本 Sample	基因组大小 Genome size (bp, %)	反向重复区 IR region (bp, %)	大单拷贝区 LSC region (bp, %)	小单拷贝区 SSC region (bp, %)	基因数量 Number of genes (PCGs/tRNA/rRNA)	假基因/物理丢失* Pseudogenes/Physical loss*
外类群 Outgroup						
<i>Lindenbergia philippensis</i>	155 103(37.78)	25 812(43.22)	85 594(35.81)	17 885(31.86)	80/30/4	—
<i>Phtheirospermum japonicum</i>	153 372(38.27)	25 608(43.38)	84 478(36.43)	17 678(32.28)	80/30/4	—
其他马先蒿 Other <i>Pedicularis</i>						
<i>P. angustilabris</i> S16559	151 614(38.31)	25 744(43.31)	82 836(36.42)	17 290(32.45)	78/30/4	<i>ccsA</i> ; <i>accD</i>
<i>P. grandiflora</i> P118	152 061(38.39)	25 779(43.32)	83 238(36.53)	17 265(32.62)	79/30/4	<i>ccsA</i>
<i>P. kangtingensis</i> P062	151 577(38.32)	25 743(43.31)	82 805(36.44)	17 286(32.42)	78/30/4	<i>ccsA</i> ; <i>accD</i>
<i>P. tsekouensis</i> P121	145 626(38.31)	23 883(43.71)	83 453(36.30)	14 407(32.01)	68/30/4	<i>ccsA</i> ; <i>ndhA</i> , B*, C, D, E, F*, G*, H, I, J, K
粗野-缘毛分支 <i>Rudes-Craspedotrichae</i> Clade						
<i>P. cinerascens</i> P114	151 885(38.31)	25 620(43.33)	83 281(36.43)	17 364(32.52)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. craspedotricha</i> S11013	151 832(38.32)	25 521(43.41)	83 446(36.42)	17 344(32.53)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. decora</i> LR202072210	151 944(38.30)	25 741(43.25)	83 125(36.44)	17 337(32.48)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. decora</i> W2021033	151 578(38.34)	25 718(43.27)	82 831(36.50)	17 311(32.51)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. decora</i> W2021034	151 857(38.32)	25 711(43.27)	83 099(36.47)	17 336(32.47)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. decora</i> WY2023043	151 578(38.34)	25 718(43.27)	82 831(36.5)	17 311(32.51)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. decora</i> WY2023056	151 892(38.31)	25 717(43.28)	83 112(36.45)	17 346(32.45)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. dolichocymba</i> P115	165 182(37.82)	40 856(39.23)	83 083(36.47)	387(31.09)	75/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i> ; <i>ndhD</i> , E, F*
<i>P. dunniana</i> S10447	151 900(38.32)	25 717(43.28)	83 117(36.47)	17 349(32.45)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. galeata</i> P989	164 204(37.84)	40 265(39.36)	83 239(36.43)	435(28.80)	73/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i> ; <i>ndhA</i> , D, F*, H, I
<i>P. ingens</i> LR202072006	151 819(38.32)	25 624(43.35)	83 214(36.43)	17 357(32.51)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. ingens</i> W2021046	151 819(38.32)	25 624(43.35)	83 214(36.43)	17 357(32.51)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. kongboensis</i> WY202235	151 793(38.32)	25 622(43.36)	83 218(36.43)	17 331(32.53)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. lasiophrys</i> P116	151 709(38.30)	25 586(43.32)	83 214(36.42)	17 323(32.47)	77/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i> ; <i>accD</i>
<i>P. lophotricha</i> S06765	151 642(38.33)	25 517(43.37)	83 169(36.44)	17 439(32.58)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. prainiana</i> S15401	151 887(38.32)	25 717(43.28)	83 142(36.46)	17 311(32.49)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. pseudosteiningeri</i> LR202071107	151 823(38.32)	25 624(43.34)	83 226(36.43)	17 349(32.51)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. retingensis</i> WY202243	152 058(38.26)	25 608(43.34)	83 459(36.37)	17 383(32.40)	77/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. rhodotricha</i> LR202071504	151 880(38.32)	25 636(43.35)	83 234(36.45)	17 374(32.45)	76/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i> ; <i>ndhF</i> , G
<i>P. rhodotricha</i> S10908	151 892(38.33)	25 632(43.35)	83 255(36.46)	17 373(32.49)	76/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i> ; <i>ndhD</i> , I
<i>P. rhodotricha</i> S11794	149 496(38.38)	25 478(43.40)	83 434(36.39)	15 106(32.46)	75/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i> ; <i>ndhA</i> , D, F*
<i>P. rhodotricha</i> WY2023070	151 833(38.32)	25 642(43.35)	83 160(36.45)	17 389(32.44)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. rudis</i> W2021072	151 578(38.34)	25 718(43.27)	82 831(36.50)	17 311(32.51)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. steiningeri</i> S04326	151 908(38.31)	25 624(43.34)	83 261(36.42)	17 399(32.54)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. steiningeri</i> S04330	151 854(38.31)	25 623(43.34)	83 255(36.42)	17 353(32.50)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. steiningeri</i> S10047	151 908(38.31)	25 624(43.34)	83 261(36.42)	17 399(32.54)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. tongolensis</i> P066	151 850(38.31)	25 630(43.34)	83 240(36.44)	17 350(32.52)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. trichocymba</i> S04329	151 749(38.31)	25 622(43.34)	83 134(36.44)	17 371(32.47)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. trichocymba</i> S11971	151 865(38.32)	25 539(43.41)	83 445(36.42)	17 342(32.54)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. trichocymba</i> S16411	151 881(38.31)	25 624(43.35)	83 259(36.42)	17 374(32.53)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>

<i>P. trichocymba</i> W2021093	151 661(38.33)	25 518(43.37)	83 185(36.44)	17 440(32.58)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. trichoglossa</i> W2021094	151 878(38.33)	25 633(43.35)	83 249(36.46)	17 363(32.51)	77/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i> ; <i>ndhI</i>
<i>P. trichomata</i> LR202071501	151 808(38.32)	25 624(43.34)	83 185(36.45)	17 375(32.46)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. trichomata</i> S16513	151 871(38.32)	25 625(43.34)	83 278(36.43)	17 343(32.52)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. trichomata</i> WY202240	151 814(38.32)	25 624(43.34)	83 199(36.44)	17 367(32.48)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. tristis</i> P117	152 148(38.30)	25 701(43.30)	83 472(36.43)	17 274(32.51)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. tristis</i> S16506	152 178(38.30)	25 701(43.29)	83 493(36.43)	17 283(32.47)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. tristis</i> WY202409	152 174(38.31)	25 700(43.31)	83 450(36.45)	17 324(32.47)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>
<i>P. xiqingshanensis</i> WY202411	151 824(38.31)	25 636(43.34)	83 194(36.41)	17 358(32.55)	78/30/4	<i>ycf15</i> ; <i>ccsA</i>

注： *表示基因丢失。

Note: * in the table indicates gene loss.

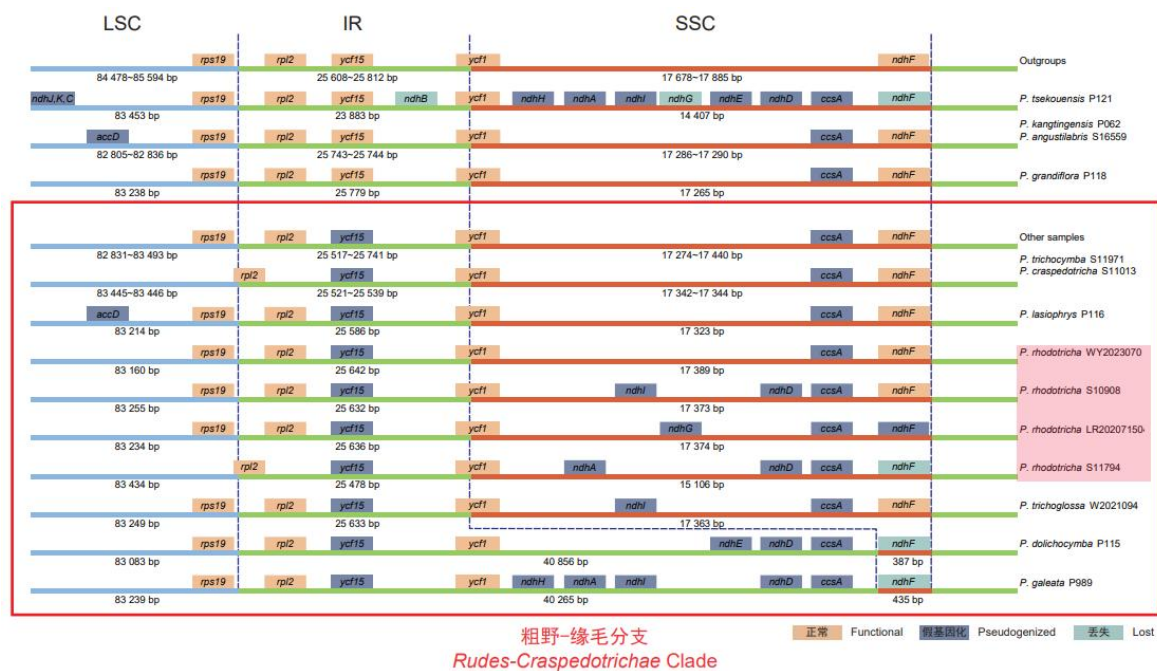
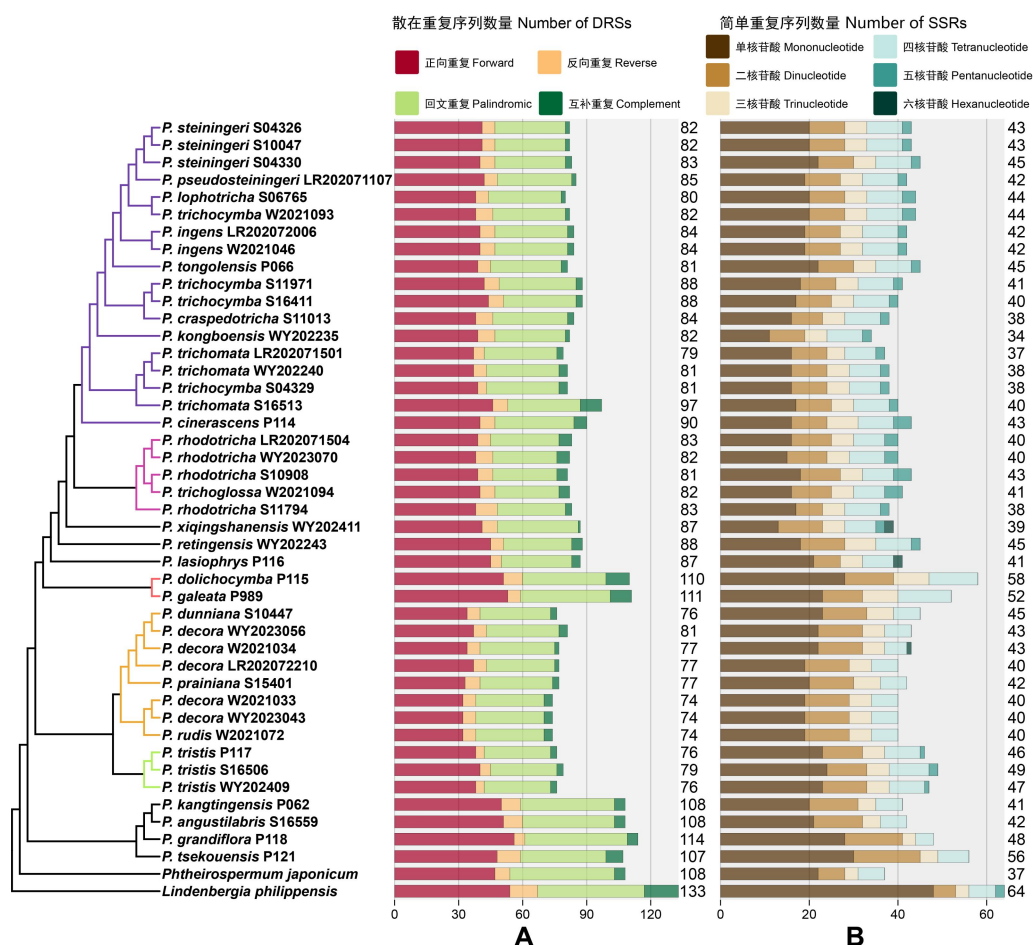


图 2 IR 区边界的变异及 *ccsA*、*ycf15*、*accD* 和 *ndh* 基因的分布

Fig. 2 Variations of the IR region boundary and distribution of *ccsA*, *ycf15*, *accD* and *ndh* genes

在重复序列方面，粗野-缘毛分支中共鉴定出 3 248 个散在重复序列（DRSs），主要由正向重复（Forward, 47.3%）和回文重复（Palindromic, 40.3%）构成（图 3）。相较于外群物种（钟萼草含 133 个，松蒿含 108 个），粗野-缘毛分支内物种的 DRSs 数量稍少，平均为 83 个，变异范围为 74~111 个。本研究共鉴定出 1 651 个简单重复序列（SSRs），各样本 SSRs 数量介于 37~58 个之间，其中单核苷酸重复是最常见的类型，占比达 44.9%。值得注意的是，发生 IR 区扩张的长舟和显盔马先蒿在分支内拥有最高数量的 DRSs（分别为 110 个和 111 个）和 SSRs（分别为 58 个和 52 个）。这两个物种的 SSRs 在不同区域的分布状况也发生了改变，通常 SSR 丰度顺序为 LSC>SSC>IR，但在这两个物种中，该顺序变为 LSC>IR>SSC（附录 7）。在密码子使用上，所有样本的密码子使用偏好性无明显差别，但以 A 或 U 结尾的同义密码子比以 C 或 G 结尾的同义密码子具有更高的 RSCU 值（附录 8）。



A. 不同类型散在重复序列的数量；B. 不同类型简单重复序列的数量。

A. Number of different types of DRSs; B. number of different types of SSRs.

图3 散在重复序列及简单重复序列分析

Fig. 3 Analysis of DRSs and SSRs

2.3 叶绿体基因组种内变异

本研究选取了粗野-缘毛分支内多居群采样的6个代表物种，包括阴郁马先蒿、美观马先蒿、红毛马先蒿、毛舟马先蒿、司氏马先蒿 (*P. steingeri*) 和须毛马先蒿 (*P. trichomata*)，对其叶绿体基因组进行了种内比较分析。

在叶绿体基因组大小与结构层面，不同物种表现出不同程度的种内变异 (表1, 图2)。其中，阴郁马先蒿、司氏马先蒿、须毛马先蒿、毛舟马先蒿和美观马先蒿的种内基因组大小变异较小，其最大差异值分别为30、54、63、220、366 bp。相比之下，红毛马先蒿的基因组大小差异值高达2396 bp。结构变异方面，仅 *P. trichocymba* S11971 和 *P. rhodotricha* S11794 两个样本中出现 LSC-IRa 边界的轻微移动。

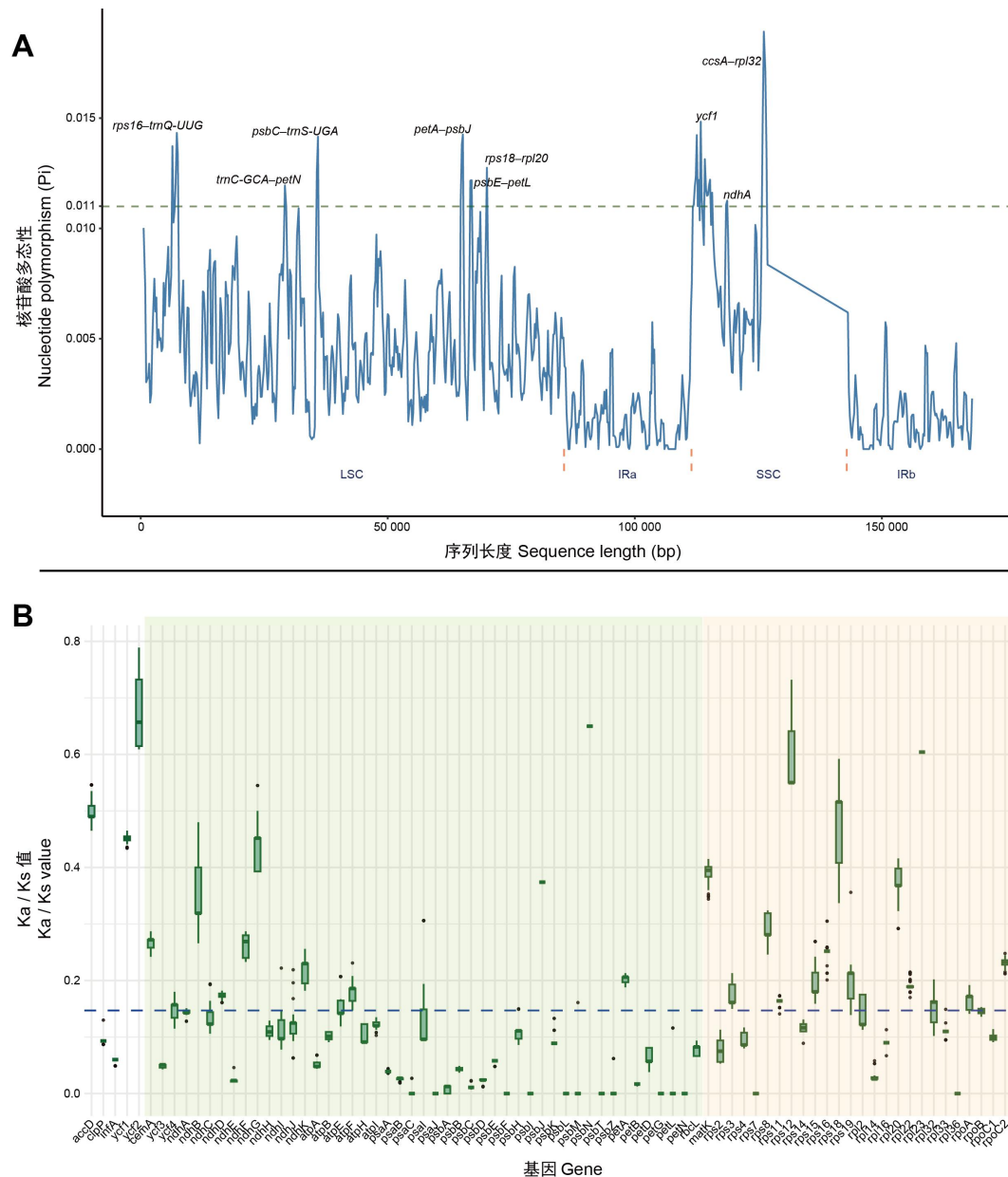
在叶绿体基因数量与功能状态层面，红毛马先蒿再次展现出其独特性。在其他5个物种中，基因含量在种内高度一致，所有样本均仅携带假基因化的 *ccsA* 和 *ycf15* 基因 (图2)。然而，红毛马先蒿种内却存在显著的 *ndh* 基因功能状态异质性。例如，*ndhF* 基因在不同个体中呈现出功能完整、假基因化和丢失3种状态；同时，*ndhA*、*ndhD*、*ndhG* 和 *ndhI* 等多个 *ndh* 基因也在种内表现出完整与假基因化两种状态共存的现象。这种活跃的种内基因变异现象，是其他5个物种所不具备的。

在重复序列层面，6个物种的 DRSs 和 SSRs 数量在种内波动均很小，其种内最大差异值均不超过 7 个（图 3）。例如，在阴郁马先蒿中，DRSs 数量范围为 76~79 个，SSRs 数量范围为 46~49 个；在红毛马先蒿中，DRSs 数量为 81~83 个，SSRs 为 38~43 个。需要指出的是，须毛马先蒿的 3 个样本 DRSs 数量分别为 79、81 和 97。其中，S16513 样本的数值（97）明显高于同种其余样本。经过仔细检查，我们发现这是该样本中 1 个较长的 AT 重复导致的散在重复序列错误识别（附录 9）。排除这一识别偏差后，该物种的重复序列数量在种内无明显差异。

2.4 序列多态性与选择压力分析

对粗野-缘毛分支的 39 个叶绿体基因组进行序列多态性分析，共鉴定出 3 286 个多态性位点和 35 种单倍型。核苷酸多样性（Pi）范围为 0~0.019，平均值为 0.004。在叶绿体基因组的区域中，SSC 区的平均 Pi 值最高（0.008），其次是 LSC 区（平均值为 0.005），而 IR 区最小（平均值为 0.001）。高变区（前 5%， $P_i \geq 0.011$ ）主要位于以下区域：*rps16-trnQ-UUG*、*trnC-GCA-petN-psbC-trnS-UGA*、*petA-psbJ-psbE-petL*、*rps18-rpl20-ycf1*、*ndhA* 和 *ccsA-rpl32*（图 4：A）。

对粗野-缘毛分支中 78 个 PCGs 的选择压力分析显示，这些基因普遍经历了纯化选择。Ka/Ks 值由低值主导，仅有少数高值，平均值为 0.145（图 4：B）。其中 *ycf2* 基因 Ka/Ks 值最高，平均为 0.677。根据功能，质体基因被分为 3 组：光合作用相关基因（绿色背景）、质体遗传表达相关基因（黄色背景）和其他基因（白色背景），其 Ka/Ks 平均值分别为 0.111、0.207 和 0.355（图 4：B）。



A. 粗野-缘毛分支叶绿体基因组滑动窗口分析。高变异位点（前 5% 的值， $P_i \geq 0.011$ ）在对应位置上方标注。
B. 粗野-缘毛分支中 78 个蛋白编码基因的选择压力分析。不同色块代表不同功能类：光合作用相关（绿色）；遗传表达相关（黄色）；及其他（白色）。蓝色虚线代表这些基因的平均 K_a/K_s 值（0.145）。

A. Sliding window analysis of the chloroplast genomes in *Rudes-Craspedotrichae* Clade. Highly variable sites (top 5% of values, $P_i \geq 0.011$) are labelled above the corresponding positions. **B.** Analysis of selective pressure on 78 PCGs in *Rudes-Craspedotrichae* Clade. Different color blocks represent different functions: photosynthesis-related (green); genetic expression-related (yellow); and others (white). The blue dashed line represents the average K_a/K_s of these genes (0.145).

图 4 核苷酸多态性分析与选择压力分析

Fig. 4 Analysis of nucleotide polymorphism and selection pressure

2.5 祖先状态重建分析

在粗野-缘毛分支中, 包括 *ccsA*、*ycf15*、*accD* 和 *ndh* 在内的基因出现假基因化或丢失。其中, *ccsA* 和 *ycf15* 在该分支所有样本中表现为一致的假基因化。祖先状态重建分析表明, *ccsA* 的假基因化发生在马先蒿属的共同祖先中, 而 *ycf15* 的假基因化则发生在粗野-缘毛分支的早期祖先中 (附录 10)。*ndh* 基因的假基因化或丢失事件呈零星发生, 主要出现在亚分支 3 和亚分支 7。在亚分支 7 中, 红毛马先蒿的 *ndh* 基因功能状态表现出显著种内变异。而在亚分支 3 中, 祖先状态重建显示 *ndhD*、*ndhF* 基因的功能丢失事件发生于物种分化之前。

3 讨论与结论

3.1 粗野-缘毛分支系统发育关系

前人研究(Tkach et al., 2014; Yu et al., 2015)初步构建了马先蒿属的系统发育框架。本研究在此基础上, 聚焦于其中的粗野-缘毛分支, 通过扩大取样范围, 获得了具有更高分辨率的系统发育关系。本研究结果支持粗野-缘毛分支的单系性, 同时将该单系群解析为 8 个亚分支。这 8 个亚分支与形态学分类的 9 个系(Yang et al., 1998)存在一定的对应关系。亚分支 1 对应阴郁系 (Ser. *Tristes*), 亚分支 2 对应粗野系 (Ser. *Rudes*), 亚分支 3 对应长舟系 (Ser. *Dolichocymbae*) 和显盔系 (Ser. *Galeatae*), 亚分支 7 对应毛盔系 (Ser. *Trichoglossae*), 而亚分支 8 则主要对应缘毛系 (Ser. *Craspedotrichae*)。值得注意的是, 宫布系 (Ser. *Kongboenses*) 的物种并未形成 1 个单系。该系包含宫布马先蒿 (*P. kongboensis*) 和雷丁马先蒿 (*P. retingensis*), 这两个物种在形态上与缘毛系相似, 分布于西藏东南部(Yang et al., 1998)。在系统发育树中, 宫布马先蒿嵌入在亚分支 8 内部, 而雷丁马先蒿则是位于亚分支 3 和 7 之间的 1 个独立亚分支。同样的情况也出现在毛须系 (Ser. *Lasiophrydes*) 中, 该系包含灰毛马先蒿 (*P. cinerascens*) 和毛须马先蒿, 它们分散在系统发育树的不同位置, 与传统的分类系统存在一定的差异。

此外, 在亚分支 2 中, 美观马先蒿被分为两组, 分别与邓氏马先蒿和粗野马先蒿嵌合。在亚分支 7 中, 毛盔马先蒿嵌套在红毛马先蒿内。在亚分支 8 中, 毛舟马先蒿的 4 份样品出现在系统发育树的 3 个不同位置。本研究的前期野外调查表明, 粗野-缘毛分支许多物种形态相似且地理分布高度重叠, 不完全谱系分选和质体捕获等事件有可能发生, 从而在叶绿体基因组系统发育树上留下印记(Acosta & Premoli, 2010; Liu et al., 2020)。其次, 我们的野外调查证实, 在亚分支 2 和 8 中, 部分关键的形态分类性状 (如花萼毛被密度、花冠管长度等) 表现出高度的种内变异和种间连续性, 性状可塑性强且难以量化。部分近缘种的模式标本采集地完全相同, 例如盔须马先蒿 (*P. lophotricha*)、假司氏马先蒿 (*P. pseudosteineri*) 与须毛马先蒿的模式产地均为四川木里。这些因素共同使得传统的形态学物种界定方法在该类群中存在显著的局限性。因此, 要厘清该分支内部错综复杂的关系, 未来的研究需整合多维度的证据, 例如, 结合核基因组数据来追踪可能存在的杂交/基因渗入事件, 并利用形态学、群体遗传学等方法来重新评估其物种界定标准。

3.2 叶绿体基因组的变异

本研究表明, 粗野-缘毛分支绝大多数物种的叶绿体基因组在大小、结构和基因含量上均表现出高度保守性。其叶绿体基因组大小主要分布在 152 kb 附近, 具有相对稳定的结构。与自养外群相比, 叶绿体基因组发生了约 3 kb 的轻微缩减, 这主要是由于基因间区的零散缺失所致。这种整体上的稳定符合多数半寄生植物叶绿体基因组的演化规律。但在这种保守的背景下, 我们同样发现了剧烈的结构变异, 如长舟马先蒿和显盔马先蒿的 IR 区发生了极端扩张, 导致 SSC 区几乎完全消失 (<500 bp)。这种剧烈的结构重组在半寄生植物中并非

孤例(Wicke et al., 2016), 在马先蒿属其他物种中也有报道(Cho et al., 2018; Li et al., 2021; Fan et al., 2025), 暗示着寄生生活方式可能放松了对叶绿体基因组结构完整性的选择约束。值得注意的是, 以上两个物种也拥有分支内数量最多的重复序列, 这支持了重复序列与基因组结构不稳定性之间存在关联的假说(Weng et al., 2014; Zhang et al., 2016)。在基因层面, 我们发现 *ccsA* 和 *ycf15* 的假基因化是该分支的共享特征, 反映了其共同的演化历史。而 *accD* 和 *ndh* 基因的丢失则呈现出零散分布的模式, 说明这些基因的功能退化是在不同谱系中独立发生的事件。

本研究在马先蒿属种内观察到了叶绿体基因组保守性与异质性的并存。在所研究的六个物种中(阴郁马先蒿、美观马先蒿、红毛马先蒿、毛舟马先蒿、司氏马先蒿和须毛马先蒿), 除红毛马先蒿外, 五种马先蒿表现出极高的种内稳定性, 其不同居群个体的基因组大小、结构和基因功能状态几乎完全一致, 它们的叶绿体基因组处于相对稳定的状态。然而, 红毛马先蒿种内不同居群的个体不仅在基因组大小上存在约 2.4 kb 的差异, 更在 *ndh* 基因功能上呈现出不同的状态。本研究发现的红毛马先蒿中显著的种内异质性, 验证了 Barrett 等(2019)提出的“异养植物叶绿体基因组降解可发生在种下水平”假说。这种多态性的成因可能非常复杂(Barrett et al., 2018, 2019)。对于地理分布广泛的物种, 不同区域环境施加的选择压力差异可能是驱动力之一。在种群密度低、分布碎片化的情况下, 小种群中的放松选择和遗传漂移也可能导致失去功能的基因在部分居群中被随机固定。又或者, 由于某些冗余或补偿机制的存在, 如细胞器基因组间的基因转移(Kim & Chase, 2017; Li et al., 2021), 一些 *ndh* 基因的功能随着时间的推移变得不必要, 最终导致这些基因在不同居群中随机丢失。

3.3 叶绿体基因的假基因化与丢失

本研究发现, 在粗野-缘毛分支中, 多个叶绿体基因发生了功能丢失, 包括 *ccsA*、*ycf15*、*accD* 以及多个 *ndh* 基因。*ccsA* 和 *ycf15* 基因的假基因化出现在该分支的所有样本中。*ccsA* 基因编码一种细胞色素 C 生物合成蛋白, 该蛋白介导血红素与 c 型细胞色素的结合(Xie & Merchant, 1996)。该基因在大多数异养植物中已丢失或假基因化(Wicke & Naumann, 2018)。在马先蒿属的共同祖先中, 该基因便发生了移码突变从而假基因化, 但在华丽马先蒿(*P. superba*)的某些个体中, 该基因又恢复了其功能(Li et al., 2021)。这表明 *ccsA* 基因的功能在某些特定谱系中可能仍然是必需的。相比之下, *ycf15* 基因的假基因化表现出明显的分支特异性。尽管 *ycf15* 基因在许多被子植物中能够转录, 但研究表明它在肋果萍蓬草(*Nuphar advena*)、大花毛茛(*Ranunculus macranthus*)以及山茶属(*Camellia*)某些物种中并不产生功能性蛋白(Raubeson et al., 2007; Shi et al., 2013)。在列当科中, 选择压力放松下的叶绿体基因组降解常常伴随着 *ycf15* 基因的假基因化(Wicke et al., 2013)。这些研究暗示, *ycf15* 基因的假基因化对叶绿体功能的影响可能有限。

accD 基因编码乙酰辅酶 A 羧化酶(ACCCase)的一个亚基, 对大多数植物的叶片发育至关重要(Kode et al., 2005)。*accD* 基因的丢失、假基因化现象已在多种植物中报道(Konishi et al., 1996; Graham et al., 2017; Sudianto & Chaw, 2019)。也有研究表明在马先蒿斗叶组(Sect. *Cyathophora*)中, *accD* 基因已转移至核基因组, 并在叶绿体基因组中一致地假基因化(Li et al., 2021)。在粗野-缘毛分支中, 仅毛须马先蒿发生了 *accD* 的假基因化, 此外, 我们还在马先蒿属基部分支的狭唇马先蒿和康定马先蒿中发现了该现象, 这说明该基因的假基因化在不同谱系中独立发生了多次, 只是在一些较晚分化的, 如马先蒿斗叶组中更为普遍。

叶绿体基因组中 *ndh* 基因参与光合作用及环境胁迫响应, 其功能丢失虽在植物界中普遍存在, 但在对光合作用依赖程度降低的异养植物中更为频繁(Ruhlman et al., 2015; Shikanai, 2016)。先前关于马先蒿属的研究表明, *ndh* 基因的降解是 1 个从功能完整到功能丧失的渐进

过程(Cho et al., 2018; Li et al., 2021)。Li 等(2021)提出, *ndh* 基因的丢失可能在马先蒿属的 13 个主要分支中独立发生, 与该属中营养器官和花部性状的演化模式相似。本研究结果支持了这一观点。此外, 我们发现 *ndh* 基因的丢失事件延伸至种下水平, 进而导致了种内叶绿体基因组的异质性, 这是以往研究未曾关注的。在这些 *ndh* 基因中, 我们发现 *ndhF* 基因状态不稳定, 如红毛马先蒿中存在 3 种不同的功能状态。目前, *ndh* 基因丢失的机制尚不明确, 已发表的研究表明部分 *ndh* 基因可能并非植物生存所必需, 或者存在某些未知的功能补偿机制 (Suorsa et al., 2012; Strand et al., 2019), 因而有待进一步研究。

参考文献:

- ACOSTA MC, PREMOLI AC, 2010. Evidence of chloroplast capture in South American *Nothofagus* (subgenus *Nothofagus*, Nothofagaceae) [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 54(1): 235–242.
- ALLEN GC, FLORES-VERGARA MA, KRASYNANSKI S, et al., 2006. A modified protocol for rapid DNA isolation from plant tissues using cetyltrimethylammonium bromide [J]. Nature Protocols, 1(5): 2320–2325.
- BARRETT CF, SINN BT, KENNEDY AH, 2019. Unprecedented parallel photosynthetic losses in a heterotrophic orchid genus [J]. Molecular Biology and Evolution, 36(9): 1884–1901.
- BARRETT CF, WICKE S, SASS C, 2018. Dense infraspecific sampling reveals rapid and independent trajectories of plastome degradation in a heterotrophic orchid complex [J]. New Phytologist, 218(3): 1192–1204.
- BEIER S, THIEL T, MÜNCH T, et al., 2017. MISA-web: a web server for microsatellite prediction [J]. Bioinformatics, 33(16): 2583–2585.
- BIRKY CW, 1995. Uniparental inheritance of mitochondrial and chloroplast genes: mechanisms and evolution [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 92(25): 11331–11338.
- CAPELLA-GUTIÉRREZ S, SILLA-MARTÍNEZ JM, GABALDÓN T, 2009. TrimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses [J]. Bioinformatics, 25(15): 1972–1973.
- CHEN CJ, WU Y, LI JW, et al., 2023. TBtools-II: a “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining [J]. Molecular Plant, 16(11): 1733–1742.
- CHEN LQ, LI RZ, LI X, et al., 2025. Plastome diversity of vascular plants and its acquisition and applications: A review [J]. Guihaia, 45(3):466–482. [陈丽琼, 黎若竹, 李鑫, 等, 2025. 维管植物质体基因组多样性及其获取与应用研究进展 [J]. 广西植物, 45(3): 466–482.]
- CHO WB, CHOI BH, KIM JH, et al., 2018. Complete plastome sequencing reveals an extremely diminished SSC region in hemiparasitic *Pedicularis ishidoyana* (Orobanchaceae) [J]. Annales Botanici Fennici, 55(1/2/3): 171–183.
- COSNER ME, RAUBESON LA, JANSEN RK, 2004. Chloroplast DNA rearrangements in Campanulaceae: phylogenetic utility of highly rearranged genomes [J]. BMC Evolutionary Biology, 4(1): 27.
- FAN YG, LIU RP, WANG XY, et al., 2025. Complete chloroplast genomes of 19 species of *Pedicularis* (Orobanchaceae): comparative genome and phylogenetic analysis [J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 72(5): 5873–5886.
- FISCHER E, 2004. Scrophulariaceae [M]// KADEREIT JW. The families and genera of vascular plants. Berlin: Springer: 333–432.

- GRAHAM SW, LAM VKY, MERCKX VSFT, 2017. Plastomes on the edge: the evolutionary breakdown of mycoheterotroph plastid genomes [J]. *New Phytologist*, 214(1): 48–55.
- GUISINGER MM, CHUMLEY TW, KUEHL JV, et al., 2010. Implications of the plastid genome sequence of *Typha* (Typhaceae, Poales) for understanding genome evolution in Poaceae [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 70(2): 149–166.
- JIN JJ, YU WB, YANG JB, et al., 2020. GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate *de novo* assembly of organelle genomes [J]. *Genome Biology*, 21(1): 241.
- JOH HJ, PARK YS, KANG JS, et al., 2025. A recent large-scale intraspecific IR expansion and evolutionary dynamics of the plastome of *Peucedanum japonicum* [J]. *Scientific Reports*, 15(1): 104.
- KATOH K, STANDLEY DM, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4): 772–780.
- 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.
- KIM HT, CHASE MW, 2017. Independent degradation in genes of the plastid *ndh* gene family in species of the orchid genus *Cymbidium* (Orchidaceae; Epidendroideae) [J]. *PLOS One*, 12(11): e0187318.
- KODE V, MUDD EA, IAMTHAMS, et al., 2005. The tobacco plastid *accD* gene is essential and is required for leaf development [J]. *Plant Journal*, 44(2): 237–244.
- KONISHI T, SHINOHARA K, YAMADA K, et al., 1996. Acetyl-CoA carboxylase in higher plants: most plants other than Gramineae have both the prokaryotic and the eukaryotic forms of this enzyme [J]. *Plant and Cell Physiology*, 37(2): 117–122.
- KURTZ S, CHOUDHURI JV, OHLEBUSCH E, et al., 2001. REPuter: the manifold applications of repeat analysis on a genomic scale [J]. *Nucleic Acids Research*, 29(22): 4633–4642.
- LI X, YANG JB, WANG H, et al., 2021. Plastid NDH pseudogenization and gene loss in a recently derived lineage from the largest hemiparasitic plant genus *Pedicularis* (Orobanchaceae) [J]. *Plant and Cell Physiology*, 62(6): 971–984.
- LIU BB, CAMPBELL CS, HONG DY, et al., 2020. Phylogenetic relationships and chloroplast capture in the *Amelanchier-Malacomeles-Peraphyllum* clade (Maleae, Rosaceae): Evidence from chloroplast genome and nuclear ribosomal DNA data using genome skimming [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 147: 106784.
- LÓPEZ-CAAMAL A, GANDEE T, GALLOWAY LF, et al., 2025. Substantial structural variation and repetitive DNA content contribute to intraspecific plastid genome evolution [J]. *BMC Genomics*, 26(1): 340.
- MERCKX V, BIDARTONDO MI, HYNSON NA, 2009. Myco-heterotrophy: when fungi host plants [J]. *Annals of Botany*, 104(7): 1255–1261.
- MILLEN RS, OLMSTEAD RG, ADAMS KL, et al., 2001. Many parallel losses of *infA* from chloroplast DNA during angiosperm evolution with multiple independent transfers to the nucleus [J]. *Plant Cell*, 13(3): 645–658.
- MURAGURI S, XU W, CHAPMAN M, et al., 2020. Intraspecific variation within castor bean (*Ricinus communis* L.) based on chloroplast genomes [J]. *Industrial Crops and Products*, 155: 112779.

- NICKRENT DL, 2020. Parasitic angiosperms: How often and how many? [J]. *Taxon*, 69(1): 5–27.
- PALMER JD, 1985. Comparative organization of chloroplast genomes [J]. *Annual Review of Genetics*, 19: 325–354.
- PEDEN JF, 1999. Analysis of codon usage [D]. Nottingham: University of Nottingham.
- POSADA D, 2008. JModelTest: phylogenetic model averaging [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7): 1253–1256.
- QU XJ, MOORE MJ, LI DZ, et al., 2019. PGA: a software package for rapid, accurate, and flexible batch annotation of plastomes [J]. *Plant Methods*, 15: 50.
- RAMAN G, NAM GH, PARK S, 2022. Extensive reorganization of the chloroplast genome of *Corydalis platycarpa*: a comparative analysis of their organization and evolution with other *Corydalis* plastomes [J]. *Frontiers in Plant Science*, 13: 1043740.
- RANWEZ V, DOUZERY EJP, CAMBON C, et al., 2018. MACSE v2: toolkit for the alignment of coding sequences accounting for frameshifts and stop codons [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 35(10): 2582–2584.
- RAUBESON LA, PEERY R, CHUMLEY TW, et al., 2007. Comparative chloroplast genomics: analyses including new sequences from the angiosperms *Nuphar advena* and *Ranunculus macranthus* [J]. *BMC Genomics*, 8(1): 174.
- REVELL LJ, 2024. Phytools 2.0: an updated R ecosystem for phylogenetic comparative methods (and other things) [J]. *PeerJ*, 12: e16505.
- RONQUIST F, TESLENKO M, MARK PVD, 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.
- ROZAS J, FERRER-MATA A, SÁNCHEZ-DELBARRIO JC, et al., 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12): 3299–3302.
- RUHLMAN TA, CHANG WJ, CHEN JJ, et al., 2015. NDH expression marks major transitions in plant evolution and reveals coordinate intracellular gene loss [J]. *BMC Plant Biology*, 15(1): 100.
- RUHLMAN TA, JANSEN RK, 2018. Aberration or analogy? The atypical plastomes of Geraniaceae [M]// CHAW SM, JANSEN RK. *Advances in Botanical Research*. New York: Academic Press: 223–262.
- SHI C, LIU Y, HUANG H, et al., 2013. Contradiction between plastid gene transcription and function due to complex posttranscriptional splicing: an exemplary study of *ycf15* function and evolution in angiosperms [J]. *PLOS One*, 8(3): e59620.
- SHIKANAI T, 2016. Chloroplast NDH: a different enzyme with a structure similar to that of respiratory NADH dehydrogenase [J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1857(7): 1015–1022.
- STAMATAKIS A, 2014. RAXML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. *Bioinformatics*, 30(9): 1312–1313.
- STIRBET A, LAZÁR D, GUO Y, et al., 2020. Photosynthesis: basics, history and modelling [J]. *Annals of Botany*, 126(4): 511–537.
- STRAND DD, D’ANDREA L, BOCK R, 2019. The plastid NAD(P)H dehydrogenase-like complex: structure, function and evolutionary dynamics [J]. *Biochemical Journal*, 476(19): 2743–2756.

- SUDIANTO E, CHAW SM, 2019. Two independent plastid *accD* transfers to the nuclear genome of *Gnetum* and other insights on Acetyl-CoA carboxylase evolution in gymnosperms [J]. *Genome Biology and Evolution*, 11(6): 1691–1705.
- SUORSA M, JÄRVI S, GRIECO M, et al., 2012. PROTON GRADIENT REGULATION5 is essential for proper acclimation of *Arabidopsis* photosystem I to naturally and artificially fluctuating light conditions [J]. *Plant Cell*, 24(7): 2934–2948.
- TKACH N, REE RH, KUSS P, et al., 2014. High mountain origin, phylogenetics, evolution, and niche conservatism of arctic lineages in the hemiparasitic genus *Pedicularis* (Orobanchaceae) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 76: 75–92.
- WANG WJ, LIU R, WU Y, et al., 2022. The complete chloroplast genomes of two *Pedicularis* species (Orobanchaceae) from Southwest China [J]. *Mitochondrial DNA. Part B, Resources*, 7(6): 971–973.
- WENG ML, BLAZIER JC, GOVINDU M, et al., 2014. Reconstruction of the ancestral plastid genome in Geraniaceae reveals a correlation between genome rearrangements, repeats, and nucleotide substitution rates [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 31(3): 645–659.
- WENG ML, RUHLMAN TA, JANSEN RK, 2017. Expansion of inverted repeat does not decrease substitution rates in *Pelargonium* plastid genomes [J]. *New Phytologist*, 214(2): 842–851.
- WICK RR, SCHULTZ MB, ZOBEL J, et al., 2015. Bandage: interactive visualization of de novo genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 31(20): 3350–3352.
- WICKE S, MÜLLER KF, DE PAMPHILIS CW, et al., 2013. Mechanisms of functional and physical genome reduction in photosynthetic and nonphotosynthetic parasitic plants of the broomrape family [J]. *Plant Cell*, 25(10): 3711–3725.
- WICKE S, MÜLLER KF, DE PAMPHILIS CW, et al., 2016. Mechanistic model of evolutionary rate variation en route to a nonphotosynthetic lifestyle in plants [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(32): 9045–9050.
- WICKE S, NAUMANN J, 2018. Molecular evolution of plastid genomes in parasitic flowering plants [M]// CHAW SM, JANSEN RK. *Advances in botanical research*. New York: Academic Press: 315–347.
- 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 Molecular Biology*, 76(3–5): 273–297.
- WIDMER A, BALTISBERGER M, 1999. Extensive intraspecific chloroplast DNA (cpDNA) variation in the alpine *Draba aizoides* L. (Brassicaceae): haplotype relationships and population structure [J]. *Molecular Ecology*, 8(9): 1405–1415.
- WOJCIECHOWSKI MF, SANDERSON MJ, HU JM, 1999. Evidence on the monophyly of *Astragalus* (Fabaceae) and its major subgroups based on nuclear ribosomal DNA ITS and chloroplast DNA *trnL* intron data [J]. *Systematic Botany*, 24(3): 409–437.
- XIE JM, CHEN YR, CAI GJ, et al., 2023. Tree visualization by one table (tvBOT): a web application for visualizing, modifying and annotating phylogenetic trees [J]. *Nucleic Acids Research*, 51(W1): W587–W592.
- XIE Z, MERCHANT S, 1996. The plastid-encoded *ccsA* gene is required for heme attachment to chloroplast c-type cytochromes [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 271(9): 4632–4639.
- YANG HB, HOLMGREN NH, MILL RR, 1998. *Pedicularis* Linn. [M]// WU ZY, RAVEN PH. *Flora of China*. Beijing: Missouri Botanical Garden Press & Science Press: 97–209.

- YU WB, LIU ML, WANG H, et al., 2015. Towards a comprehensive phylogeny of the large temperate genus *Pedicularis* (Orobanchaceae), with an emphasis on species from the Himalaya-Hengduan Mountains [J]. BMC Plant Biology, 15(1): 176.
- ZHANG J, RUHLMAN TA, SABIR JS, et al., 2016. Coevolution between nuclear-encoded DNA replication, recombination, and repair genes and plastid genome complexity [J]. Genome Biology and Evolution, 8(3): 622–634.
- ZHANG Y, ZHANG AH, LI XM, et al., 2020. The role of chloroplast gene expression in plant responses to environmental stress [J]. International Journal of Molecular Sciences, 21(17): 6082.

补充数据目录

图 S1 基于蛋白编码序列构建的粗野-缘毛分支贝叶斯推断树

图 S2 基于基因间隔区构建的粗野-缘毛分支贝叶斯推断树

图 S3 *ccsA* 基因的整体比对

图 S4 *ycf15* 基因的整体比对

图 S5 *accD* 基因的整体比对

图 S6 叶绿体基因组不同区域简单重复序列的比例

图 S7 叶绿体基因组中 20 种氨基酸的密码子使用热图

图 S8 部分样品散在重复序列的分布

图 S9 *ccsA*、*ycf15* 和 *ndh* 基因的祖先状态重建

表 S1. 样本信息表

Fig. S1 BI tree of *Rudes-Craspedotrichae* Clade inferred from the CDS dataset

Fig. S2 BI tree of *Rudes-Craspedotrichae* Clade inferred from the IGS dataset

Fig. S3 The overall view of the *ccsA* gene alignment

Fig. S4 The overall view of the *ycf15* gene alignment

Fig. S5 The overall view of the *accD* gene alignment

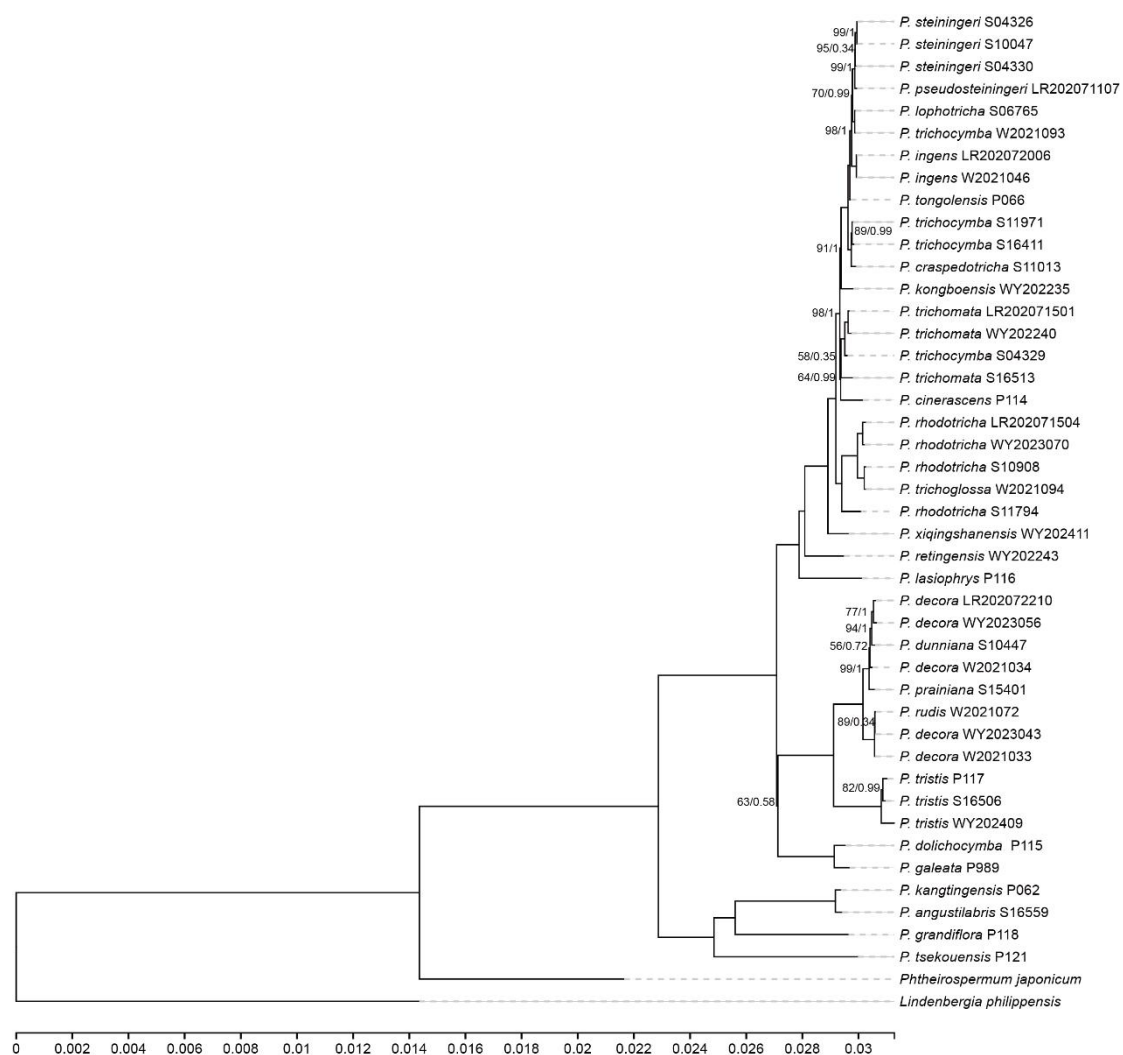
Fig. S6 The proportion of SSRs in different regions of the chloroplast genome

Fig. S7 Heatmap of codon usage of 20 amino acids in the chloroplast genome

Fig. S8 Distribution of DRSs in some samples

Fig. S9 Ancestral state reconstruction of *ccsA*, *ycf15* and *ndh* genes

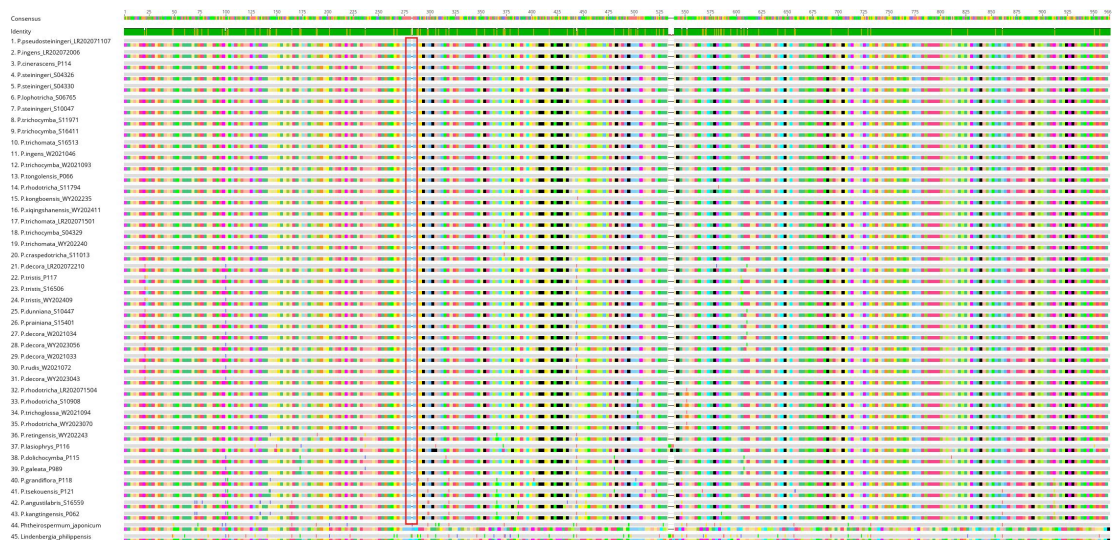
Table S1. Sample information



标注的数字为对应节点的自举值（BS）及贝叶斯后验概率（PP）。BS=100 且 PP=1.00 的节点未标注。
Numbers associated with the branches are bootstrap value (BS) and BI posterior probabilities (PP). Unlabeled branches represent BS = 100 and PP = 1.00.

图 S1 基于蛋白编码序列构建的粗野-缘毛分支贝叶斯推断树

Fig. S1 BI tree of *Rudes-Craspedotrichae* Clade inferred from the CDS dataset



红框中的单核苷酸缺失造成 *ccsA* 基因在马先蒿属中全部假基因化。

The single nucleotide deletion in the red box causes the pseudogenization of the *ccsA* gene in *Pedicularis*.

图 S3 *ccsA* 基因的整体比对

Fig. S3 The overall view of the *ccsA* gene alignment

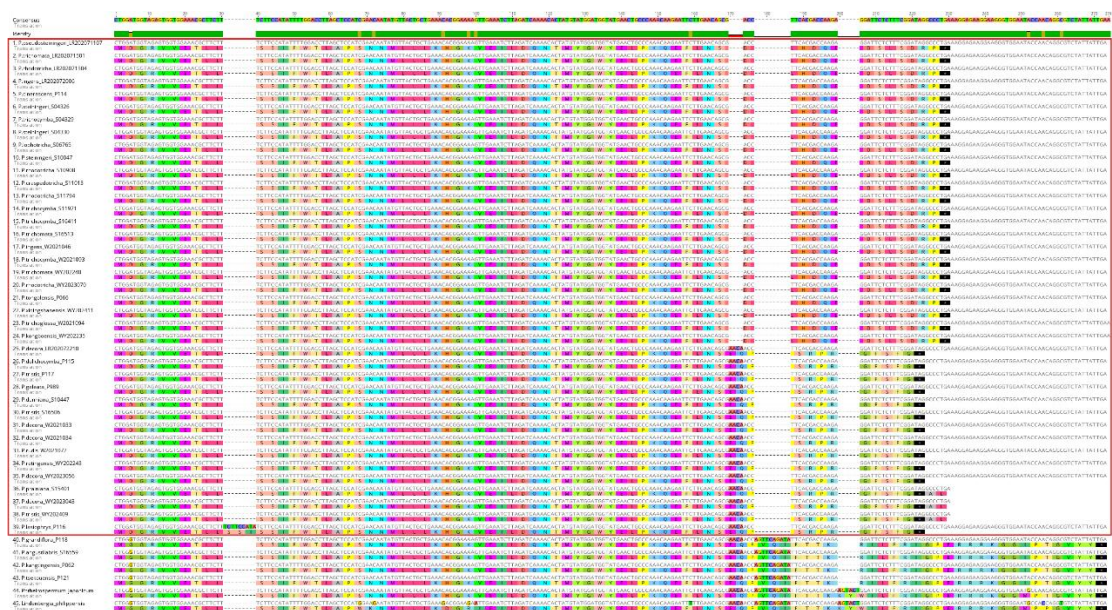


图 S4 *ycf15* 基因的整体比对

Fig. S4 The overall view of the *ycf15* gene alignment



图 S5 *accD* 基因的整体比对

Fig. S5 The overall view of the *accD* gene alignment

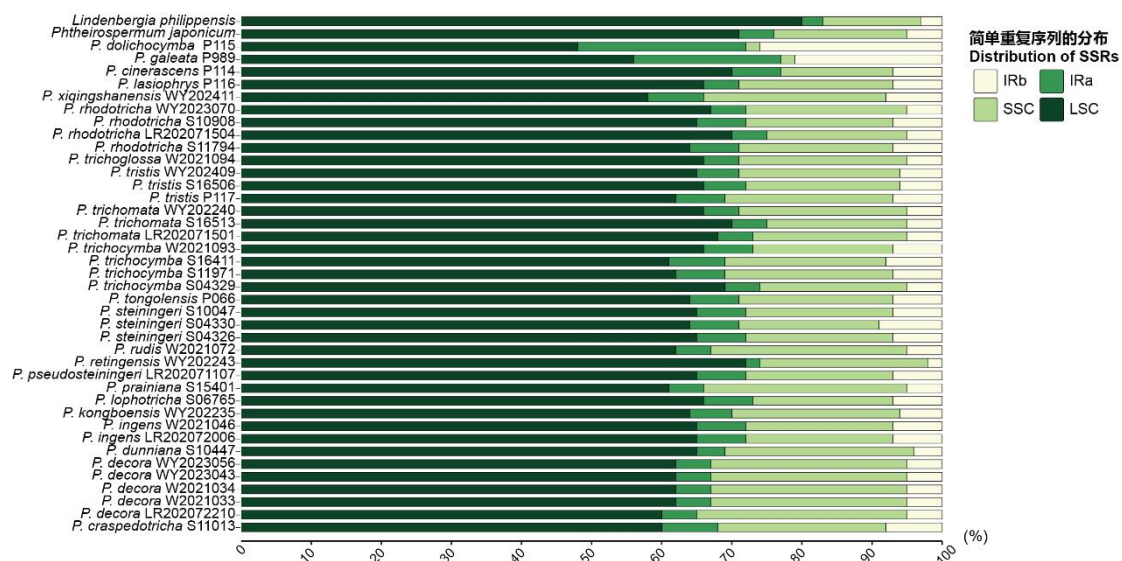


图 S6 叶绿体基因组不同区域简单重复序列的比例

Fig. S6 The proportion of SSRs in different regions of the chloroplast genome

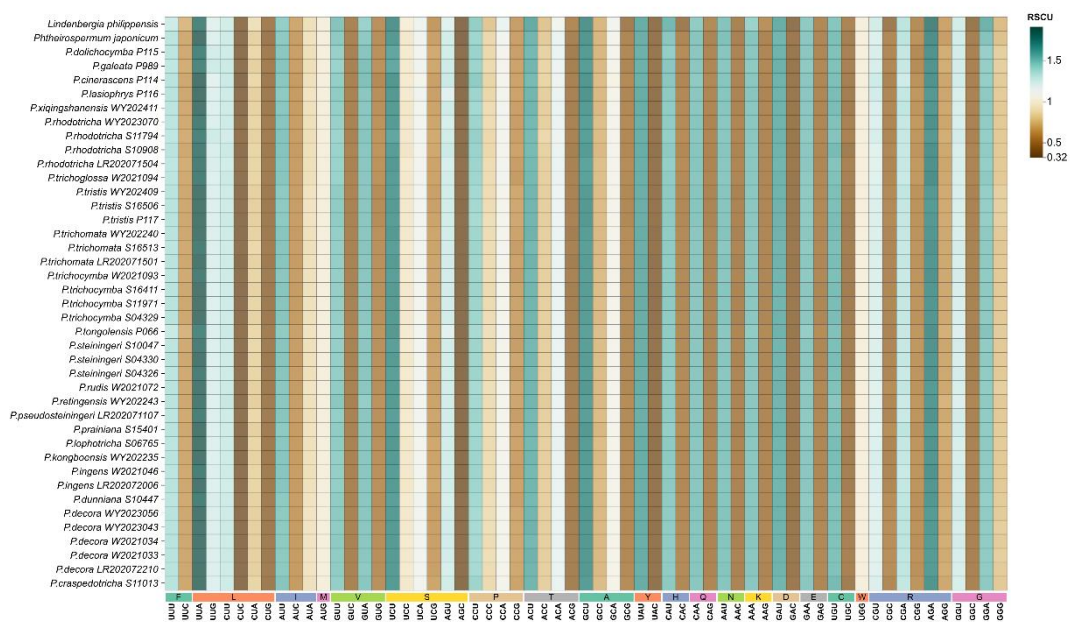
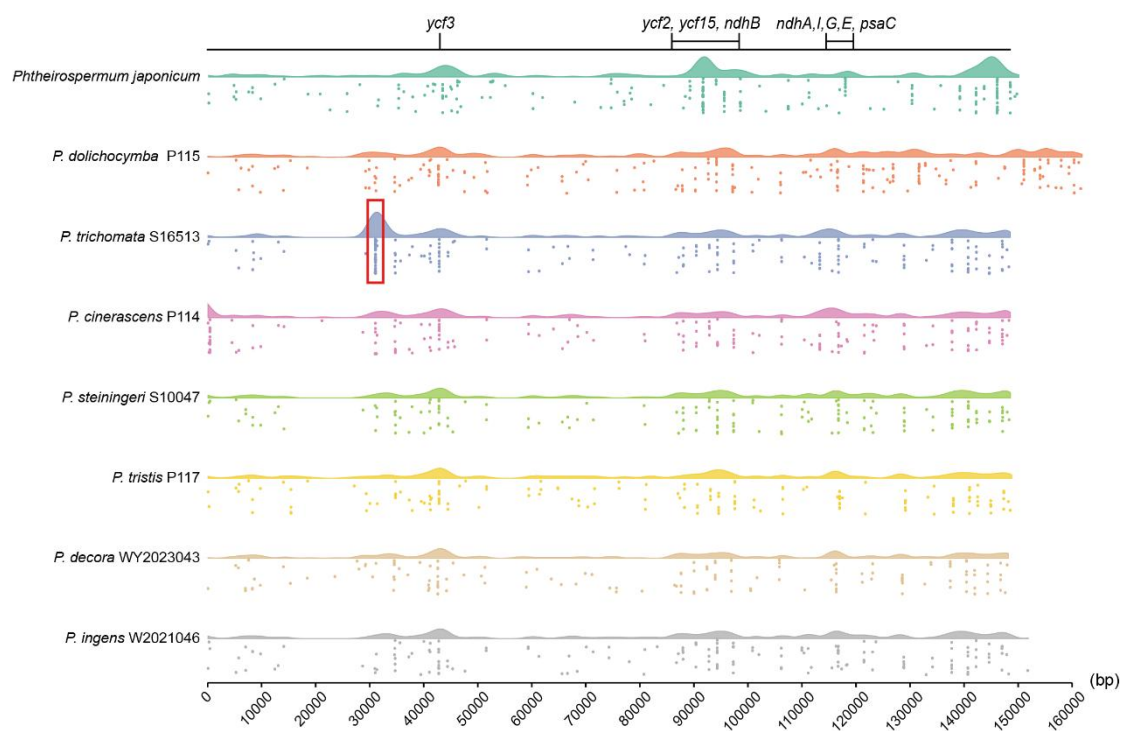


图 S7 叶绿体基因组中 20 种氨基酸的密码子使用热图

Fig. S7 Heatmap of codon usage of 20 amino acids in the chloroplast genome



样本 *P. trichomata* S16513 红框处的一个串联重复序列导致了散在重复序列的错误识别。

A SSR at the red box of *P. trichomata* S16513 leads to misidentification of dispersed repeats.

图 S8 部分样品散在重复序列的分布

Fig. S8 Distribution of DRSs in some samples

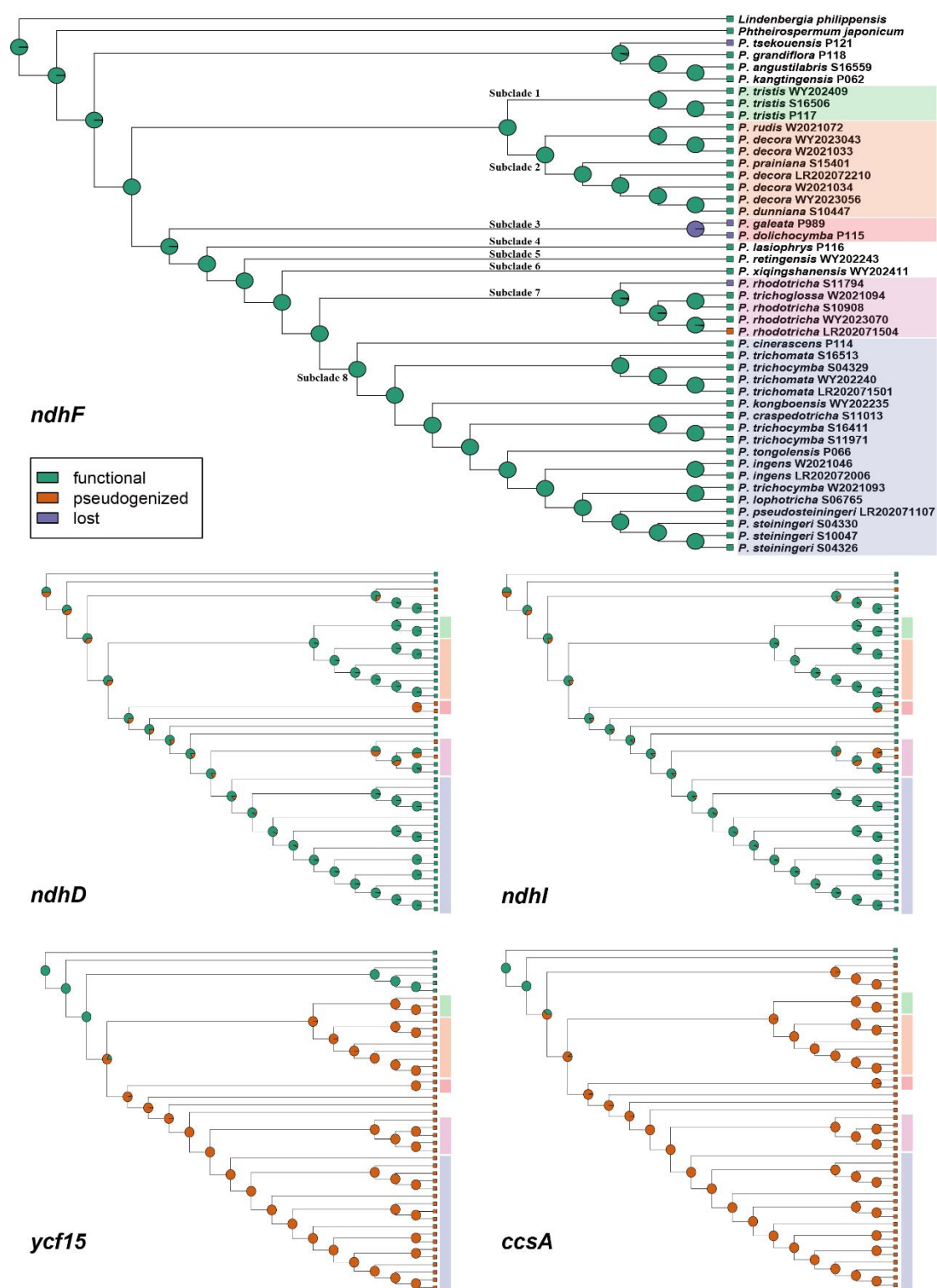


图 S9 *ccsA*、*ycf15* 和 *ndh* 基因的祖先状态重建

Fig. S9 Ancestral state reconstruction of *ccsA*, *ycf15* and *ndh* genes

表 S1. 样本信息表

Table S1. Sample information

测序号 DNA no.	采集号 Collection no.	形态分类 Morphological Taxonomy	物种 Species	采集地 Location
外群 Outgroup				
/	NCBI (HG530133.1)	Outgroup	<i>Lindenbergia philippensis</i> (Cham.) Benth	/
/	NCBI (MN075943.1)	Outgroup	<i>Phtheirospermum japonicum</i> (Thunb.) Kanitz	/
其他马先蒿 Others <i>Pedicularis</i>				
S16559	YWB-004	Ser. <i>Recurvae</i>	<i>P. angustilabris</i> H. L. Li	Yunnan, Yulongxueshan
P062	NCBI (MZ264878)	Ser. <i>Recurvae</i>	<i>P. kandingensis</i> P. C. Tsoong	Sichuan, Kangding
P118	Zhou et al., ZhouCH1260 (KUN)	Ser. <i>Grandiflorae</i>	<i>P. grandiflora</i> Fisch	/
P121 ^a	Yu et al., HW10167A (KUN)	Ser. <i>Tsekouenses</i>	<i>P. tsekouensis</i> Bonati	Yunnan, Shangeri-La, Hong Mountain
粗野-缘毛分支 <i>Rudes-Craspedotrichae</i> Clade				
S11013	XiaNH0348	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. craspedotricha</i> Maxim	Qinghai, Yushu, Dongzhongchang
LR202072006 ^b	LR202072006	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. ingens</i> Maxim	Sichuan, Litang, Tuer Mountain
W2021046 ^a	HW10264-2	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. ingens</i> Maxim	Sichuan, Litang, Haizi Mountain
S06765	s.n.-1	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. lophotricha</i> H. L. Li	Sichuan, Aba, Hongyuan
LR202071107 ^b	LR202071107	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. pseudosteiningeri</i> Bonati	Yunnan, Deqin, Baima Mountain
S04326	SunH-07ZX-1105	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. steiningeri</i> Bonati	Xizang, Zuogong, Tiantuo
S04330	SunH-07ZX-0861	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. steiningeri</i> Bonati	Xizang, Zuogong, Zayu
S10047 ^a	SunH-07ZX-1500	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. steiningeri</i> Bonati	Sichuan, Batang, Dimucaoba
P066	NCBI (MZ264887)	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. tongolensis</i> Franch	Sichuan, Jiulong
S04329	SunH-07ZX-0948	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. trichocymba</i> H. L. Li	Xizang, Zuogong, Zayu
S11971	ChenSL0292	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. trichocymba</i> H. L. Li	Qinghai, Guoluori

S16411	16CS13026	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. trichocymba</i> H. L. Li	Xinjiang, Xiata
W2021093	HW10285	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. trichocymba</i> H. L. Li	Sichuan, Yajiang, Kazila Mountain
LR202071501 ^b	LR202071501	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. trichomata</i> H. L. Li	Sichuan, Muli, Shuiluo
S16513 ^a	LDZ-1106	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. trichomata</i> H. L. Li	Sichuan, Jiulong
WY202240	LR20227281	Ser. <i>Craspedotrichae</i>	<i>P. trichomata</i> H. L. Li	Sichuan, Muli
P115	Zhang and He, 08827A (KUN)	Ser. <i>Dolichocymbae</i>	<i>P. dolichocymba</i> P. C. Tsoong	/
P989	GLGS-26607	Ser. <i>Galeatae</i>	<i>P. galeata</i> Bonati	/
WY202235	LR202208141	Ser. <i>Kongboenses</i>	<i>P. kongboensis</i> P. C. Tsoong	Xizang, Linzi, Bayi
WY202243	LR202208126	Ser. <i>Kongboenses</i>	<i>P. retingensis</i> P. C. Tsoong	Xizang, Shannan, Jiacha
P114	Yu et al., HW10311A (KUN)	Ser. <i>Lasiophrydes</i>	<i>P. cinerascens</i> Franch	Sichuan, Kangding, Zheduo Mountain
P116	He et al., 1273 (KUN)	Ser. <i>Lasiophrydes</i>	<i>P. lasiophrys</i> Maxim	Gansu, Yuzhong, Maxian Mountain
WY202411	19CS18471	/	<i>P. xiqingshanensis</i> H. Y. Feng & J. Z. Sun	/
LR202072210 ^b	LR202072210	Ser. <i>Rudes</i>	<i>P. decora</i> Franch	Sichuan, Luding, Yajiangeng
W2021033 ^a	HW10242-1	Ser. <i>Rudes</i>	<i>P. decora</i> Franch	Sichuan, Batang, Deda
W2021034 ^a	YWB201507132	Ser. <i>Rudes</i>	<i>P. decora</i> Franch	Sichuan, Baoxin, Jiajin Mountain
WY2023043	LR202208032	Ser. <i>Rudes</i>	<i>P. decora</i> Franch	Sichuan, Maerkang, Majiangjie
WY2023056 ^a	LR202207311	Ser. <i>Rudes</i>	<i>P. decora</i> Franch	Sichuan, Gonggaxueshan
S10447	YangQE1901	Ser. <i>Rudes</i>	<i>P. dunniana</i> Bonati	Yunnan, Shangeri-La, Palahai
S15401	18CS17665	Ser. <i>Rudes</i>	<i>P. prainiana</i> Bonati	Xizang, Jilong, Jiangcun
W2021072	HJ1301-1	Ser. <i>Rudes</i>	<i>P. rudis</i> Maxim	Gansu
LR202071504 ^b	LR202071504	Ser. <i>Trichoglossae</i>	<i>P. rhodotricha</i> Maxim	Sichuan, Muli, Shuiluo
S10908 ^a	SunH-07ZX-0270	Ser. <i>Trichoglossae</i>	<i>P. rhodotricha</i> Maxim	Xizang, Kangmang, luoni
S11794 ^a	10CS2292	Ser. <i>Trichoglossae</i>	<i>P. rhodotricha</i> Maxim	Yunnan, Yulongxueshan
WY2023070	LR202207277	Ser. <i>Trichoglossae</i>	<i>P. rhodotricha</i> Maxim	Sichuan, Muli, Miaoexiang
W2021094 ^a	GLM-123893	Ser. <i>Trichoglossae</i>	<i>P. trichoglossa</i> Hook. f	Xizang, Chayu
P117	He et al., 1340 (KUN)	Ser. <i>Tristes</i>	<i>P. tristis</i> Linn	Qinghai, Hainanzhou, Amaoyakou

S16506	HJ1271-1	Ser. <i>Tristes</i>	<i>P. tristis</i> Linn	Gansu, Yuzhong, Maxian Mountain
WY202409	19CS18431	Ser. <i>Tristes</i>	<i>P. tristis</i> Linn	/

注：上标 a 和 b 的数据分别引自本课题组的两项待发表研究。a. *Pollen size evolution in flowering plants shows a compensatory trade-off strategy: new evidence from the genus Pedicularis (Orobanchaceae)*. b. *High species discrimination in Pedicularis (Orobanchaceae): plastid genomes and traditional barcodes equally effective via parsimony-informative sites*.

Note: The data marked with superscripts a and b are cited from two unpublished studies from our research group. a. *Pollen size evolution in flowering plants shows a compensatory trade-off strategy: new evidence from the genus Pedicularis (Orobanchaceae)*. b. *High species discrimination in Pedicularis (Orobanchaceae): plastid genomes and traditional barcodes equally effective via parsimony-informative sites*.