



中国南方果树
South China Fruits
ISSN 1007-1431, CN 50-1112/S

《中国南方果树》网络首发论文

题目： 柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子使用偏好性分析
作者： 孙雅楠，陈泉，栗辉，石美琳
DOI： 10.13938/j.issn.1007-1431.20240547
网络首发日期： 2025-06-27
引用格式： 孙雅楠，陈泉，栗辉，石美琳. 柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子使用偏好性分析[J/OL]. 中国南方果树.
<https://doi.org/10.13938/j.issn.1007-1431.20240547>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

DOI: 10.13938/j.issn.1007-1431.20240547

柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子使用偏好性分析

孙雅楠^{1,2}, 陈 泉^{1,2}, 栗 辉^{1,2}, 石美琳^{1,2}

1 重庆三峡农业科学院, 重庆万州, 404155; 2 重庆三峡学院生物与食品工程学院, 重庆万州, 400401

摘 要 了解柑橘轮斑病菌的线粒体基因组密码子使用特点及其形成的原因, 可为理解其遗传进化和致病机制提供新的视角。利用 Phylosuite V1.2.3、CodonW1.4.2、RSCU、EMBOSS 等在线软件对筛选出的柑橘轮斑病菌线粒体基因组 14 个 CDS (蛋白编码序列) 进行密码子偏好性分析, 筛选最优密码子。结果表明, 柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子 GC 含量整体偏低, 平均值为 29.42%, GC 含量呈现 GC₂ (34.13%) > GC₁ (33.65%) > GC₃ (19.85%) 趋势; CAI (密码子适应指数) 范围在 0.108~0.173 之间, 平均为 0.142 < 1, 表明其对密码子的使用具有一定程度的偏好性, 但这种偏好性不强。GC₁ 分别与 GC_{3s}、ENC 存在极显著负相关关系 ($p < 0.01$), 而 GC₂ 与 GC, GC₃ 分别与 GC_{3s}、ENC, GC_{3s} 与 ENC, CBI 与 FOP 之间均存在极显著正相关关系 ($p < 0.01$)。鉴定出 UUA、AUA、AAU 等 26 个高频密码子 (RSCU 值 > 1), 且全部以碱基 A/U 结尾。柑橘轮斑病菌线粒体基因组的密码子偏好性形成, 受基因突变和自然选择双重作用, 但以自然选择为主。筛选出 6 个最优密码子, 分别为 GCA、GCU、AUA、UUU、UCA、UUA, 均以 A/U 结尾。柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子偏好以 A/U 结尾, 但偏好程度较弱, 自然选择对密码子偏好性形成起主要作用。研究结果为病原真菌不同种属间线粒体基因组的研究提供了数据支持。

关键词 柑橘轮斑病菌; 密码子偏好性; 线粒体基因组; 自然选择

Analysis of codon usage bias in the mitochondrial genome of *Pseudofabreaa citricarpar*

SUN Yanan^{1,2}, CHEN Quan^{1,2}, LI Hui^{1,2}, SHI Meilin^{1,2}

1 Chongqing Three Gorges Academy of Agricultural Sciences, Wanzhou 404155, Chongqing, China; 2 College of Biology and Food Engineering, Chongqing Three Gorges University, Wanzhou 400401, Chongqing, China

Abstract: To comprehend the mitochondrial genome codon utilization and its formation in *P. citricarpar* bacteria, and to offer a novel perspective for understanding its genetic evolution and pathogenic mechanism. Phylosuite V1.2.3, CodonW1.4.2, RSCU, EMBOSS and other online software were employed to analyze the codon preference of 14 CDS sequences in the mitochondrial genome of the selected *P. citricarpar* bacteria and to screen the optimal codon. The overall content of the mitochondrial genome codon GC was low, with an average value of 29.42%. The GC content demonstrated a trend of GC₂(34.13%) > GC₁(33.65%) > GC₃(19.85%), and the GC content at the third position was significantly lower than that at the first and second positions. The range of CAI was 0.108-0.173, and the average was 0.142 < 1, indicating that CAI exhibited a certain degree of preference for the use of codons, but this preference was not intense. There was a significant negative correlation between GC₁ and GC_{3s} and ENC ($P < 0.01$), and a significant positive correlation between GC₂ and GC, GC₃ and GC_{3s}, ENC, GC_{3s} and ENC, CBI and FOP ($P < 0.01$). Through RSCU analysis, 26 high-frequency codons such as UUA, AUA, and AAU were identified (RSCU value > 1), and all of them ended with base A and U. Both neutral mapping analysis and ENC-plot analysis indicated that the codon preference of the mitochondrial genome was influenced by both gene mutation and natural selection, but natural selection was the dominant factor. Eleven optimal codons of the

基金项目: 重庆市教育委员会科学技术研究项目 (KJ202301289858551、KJ2024012118654128); 重庆市现代山地特色高效农业产业技术体系创新团队专项 (CQMAITS20250507)

第一作者: 孙雅楠 (1999—), 女, 在读硕士研究生。E-mail: sunyan2612@126.com

通信作者: 陈泉 (1988—), 女, 博士, 正高级农艺师, 从事植物病理和果树栽培研究。E-mail: chenquan0616@126.com

mitochondrial genome were identified, namely GCA, GCU, AUA, UUU, UCA, UUA, and all of the 6 codons ended with A/U. The codon of the mitochondrial genome of *P. citricarpa* favored ending with A/U, but the degree of preference was weak. Natural selection played a major role in the formation of codon preference, and 6 optimal codons were selected, all of which ended with A/U. The results provide data support for the study of the mitochondrial genome among different species of pathogenic fungi.

Key words: *Pseudofabreaa citricarpa*; codon bias; mitochondrial genome; natural selection

真菌线粒体基因组是细胞内较小的复制转录单位,具有突变速率高、高拷贝数和母系遗传等特性^[1],编码与呼吸作用等代谢过程有关的蛋白质,其含有丰富的遗传信息,是研究生物地理、群体遗传变异和分化、生态适应的良好模型^[2-3]。在遗传信息的解读过程中,密码子是基因与蛋白质之间联系的基础^[4],大部分氨基酸都由2~6个不同的密码子翻译(称为密码子的简并性),不同的密码子可编码同一种氨基酸,即同义密码子^[5-6]。在密码子使用过程中,会出现某些密码子使用频率高于其他同义密码子,称为密码子使用偏好性(codon usage bias, CUB)^[7]。通过对密码子使用偏好性的分析,有助于揭示病原菌的系统发育地位、进化历史和对环境的适应机制,为病害的防控提供新的分子靶标^[8]。柑橘轮斑病(citrus target spot)为我国柑橘产区近年暴发的真菌病害,2004年在陕西省城固县温州蜜柑(*Citrus unshiu* Marcov.)及金柑[*Fortunella margarita* (Lour.) Swingle]上首次报道^[9-10],其病菌被鉴定为*Cryptosporiopsis citricarpa* Zhu, Hyde & Li^[11]。2016年,Chen等^[12]根据病菌ITS rDNA序列数据,重新鉴定其为一个新属,命名为*Pseudofabreaa citricarpa*。与大多真菌病害不同的是,该病在冬末春初发病最重,为害柑橘叶片、叶柄、枝条、果实和果柄等部位,引起叶片脱落、果实落果腐烂、枝干枯死、树势衰弱^[13-16]。最近研究表明,柑橘轮斑病在我国呈现由北向南加速传播的趋势,发病地区已由最初的陕西省,向南扩展至重庆、湖北和湖南省等地^[17],对长江上中游及鄂西-湘西两大柑橘产区的潜在威胁较大^[18]。然而,人们对柑橘轮斑病菌,尤其是对致病机理的了解仍然十分有限,导致高效防控技术和抗病育种受到严重阻碍。研究柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子使用偏好性,对揭示柑橘轮斑病菌的遗传进化和对环境的适应机制有重要的意义。

目前,在真菌线粒体基因组方面,已开展了大量研究。如曹毅等^[19]发现烟草棒状弯孢菌(*Curvularia clavata*)线粒体基因组碱基组成有显著的A-T偏好性,且在密码子偏好性自然选择和纯化选择中起到了主导作用。李秀璋等^[20]发现茄腐镰孢(*Fusarium solani*)线粒体基因组密码子偏好性受到选择作用和突变压力的共同影响,选择作用为主要影响因素。康瑞萍等^[21]揭示了变灰青霉(*Penicillium canescens*)的线粒体基因组特征,并探讨了其与青霉属真菌的系统发育关系。刘潮等^[22]对灵芝属(*Ganoderma*)真菌线粒体基因组特征及进化的研究发现,灵芝属真菌线粒体基因组在进化中呈现遗传变异,其大小变化主要由内含子的增减引起,且密码子使用偏好明显。常晓云等^[23]成功组装了蜡蚧刺束梗孢(*Akanthomyces lecanii*),揭示了其基因组结构和密码子使用模式,并指出虫草科真菌的线粒体基因组结构相对保守。孙学鹏等^[24]对柑橘绿霉病菌(*Penicillium digitatum*)线粒体基因组的研究发现,线粒体内含子在所比较的几个真菌中差异相对较大,柑橘绿霉病菌在进化过程中可能丢失了一些内含子,但对其密码子偏好性的研究并未深入。柑橘轮斑病作为一种低温性真菌病害,已对我国陕西、重庆等地柑橘产业造成了损失,其发生区域仍在不断扩大,潜在威胁较大。尽管测序技术不

断进步,有大量对植物病原菌线粒体基因组的研究,但关于柑橘病原菌线粒体基因组的研究极少。目前,针对柑橘轮斑病菌的研究主要集中于病原菌鉴定^[13]、病害流行特点^[25]、分子检测^[26]、适生区预测^[18]、生物学特性^[27]、转录组学^[8]、全基因组^[28]等方面。本课题组前期完成了柑橘轮斑病菌线粒体基因组组装^[29],但其线粒体基因组密码子偏好性研究还未见报道。本研究通过对柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子偏好性进行分析,筛选出最优密码子,探讨其偏好性形成原因,为理解其遗传进化和致病机制提供新视角。

1 材料与方法

1.1 序列材料

在本课题组的前期工作中,栗辉等^[29]采用 Illumina 测序法对柑橘轮斑病菌株 YLSDP74 的线粒体基因组进行高通量测序并进行拼接组装,数据已上传 NCBI 数据库(ON960225)。用 Phylosuite V1.2.3 软件^[30]提取柑橘轮斑病菌线粒体基因组蛋白编码序列(coding DNA sequence, CDS),用于后续密码子偏好性分析。由于短序列无法正确计算有效密码子数,为减少样本误差,因此,挑选出以 ATG 为起始密码子,以 TAA、TAG 或 TGA 为终止密码子,且长度大于 300 bp 的非重复编码序列共 14 条进行研究^[31]。

1.2 密码子偏好参数计算

利用 CodonW1.4.2 软件,对 14 条 CDS 序列密码子的总 GC 含量、位于密码子第 3 位的同义密码子 GC 含量(GC_{3s})、密码子偏好指数(codon bias index, CBI)、密码子适应指数(codon adaptation index, CAI)、最优密码子使用频率(frequency of optimal codons, FOP)、有效密码子数(effective number of codons, ENC)、同义密码子相对使用度(relative synonymous codon usage, RSCU),以及总平均亲水性(grand average of hydropathy, GRAVY)进行计算^[32-33]。使用在线分析工具 EMBOSS(<https://www.bioinformatics.nl/emboss-explorer/>)^[34]分析密码子第 1 位、第 2 位、第 3 位的 GC 含量(GC₁、GC₂、GC₃),GC₁₂代表 GC₁与 GC₂的均值^[35]。上述部分生物学信息的相关性分析及绘图使用 SPSS 26.0 软件和 R 语言完成。

1.3 中性绘图分析

以 GC₃ 为横坐标,GC₁₂ 为纵坐标,绘制散点图,图中每点代表相对应的基因,分析二者的相关性与差异显著性,据此推测影响密码子的偏好性的原因^[36]。

1.4 ENC-plot 绘图

以 GC₃ 为横坐标,ENC 为纵坐标,构建二维散点图;同时,在散点图中,以 GC₃ 为横坐标,ENC_{期望值}为纵坐标绘制标准曲线 $\{ENC_{期望值}=2+GC_3+29/[GC_3^2+(1-GC_3)^2]\}$ ^[32]。若 ENC=20,同义密码子完全偏倚;20<ENC<45,同义密码子偏倚程度较强;45<ENC<61,同义密码子偏倚程度较弱;ENC=61,同义密码子完全不偏倚^[37]。计算 ENC 与 ENC_{期望值}的比值 $[ENC_{比值}=(ENC_{期望值}-ENC)/ENC_{期望值}]$,分析偏差情况。

1.5 筛选最优密码子

以 ENC 值大小对样本内基因进行排序,两端各选取 20%,分别构建高表达与低表达基因库,用 CodonW1.4.2 程序计算各库 RSCU 值,计算 $\Delta RSCU$ ($\Delta RSCU=RSCU_{高表达}-RSCU_{低表达}$)^[38],最优密码子符合 $\Delta RSCU>0.08$ 且 $RSCU>1$ ^[39]。

2 结果与分析

2.1 密码子偏好相关指标分析

对柑橘轮斑病菌线粒体基因组 14 条 CDS 序列的碱基组成分析显示，其 GC 含量处于 21.80%~38.70%之间，平均值为 29.42%，GC 含量整体偏低；在密码子的 3 个位置上 GC 含量分布不均匀，GC₁、GC₂、GC₃ 值分别处于 15.09%~48.00%、24.11%~45.33%和 11.81%~41.45%之间，平均值分别为 33.65%、34.13%和 19.85%，GC₃ 显著低于 GC₂ 和 GC₁（见表 1）。表明，柑橘轮斑病菌线粒体基因组 CDS 序列倾向于以 A/U 结尾的密码子。

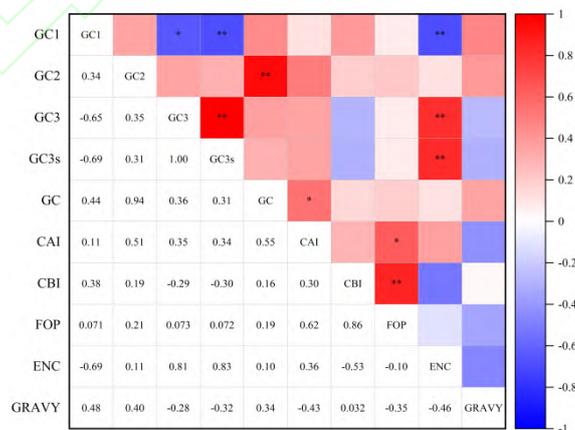
ENC 处于 32.56~50.30 之间，平均为 37.55<45；ENC 高于 45 的基因有 2 个，仅占比 14%（见表 1）。因此，柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子使用模式偏好性较弱。

CAI 集中在 0.108~0.173 之间，平均为 0.142，远小于 1；FOP 接近于 0；CBI 值均小于 0（见表 1）。表明，密码子使用具有一定程度的偏好性，但这种偏好性不强。GRAVY 的范围在-0.535~1.401，平均为 0.686（见表 1）。

对相关参数进行相关性分析，结果（见图 1）显示，GC₁ 与 GC_{3s}、ENC 存在极显著负相关关系（ $p<0.01$ ），相关系数分别为-0.693 和-0.685；GC₂ 与 GC，GC₃ 分别与 GC_{3s}、ENC，GC_{3s} 与 ENC，CBI 与 FOP 均存在极显著正相关关系（ $p<0.01$ ），相关系数最高达到了 0.997；GC₁ 与 GC₃ 之间显著负相关（ $p<0.05$ ）。表明，GC 含量，尤其是密码子第 3 位置的 GC 含量（GC₃）对密码子的偏好使用存在显著影响。

表 1 柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子的主要参数

基因	GC ₁ %	GC ₂ %	GC ₃ %	GC _{3s} %	GC%	CAI	CBI	FOP	ENC	GRAVY
<i>ATP6</i>	32.71	33.46	15.24	13.40	27.20	0.121	-0.207	0.276	35.50	0.8629
<i>ATP9</i>	48.00	45.33	21.33	18.30	38.70	0.169	-0.153	0.310	32.56	1.4014
<i>COX1</i>	15.99	41.26	41.45	38.70	33.90	0.169	-0.175	0.328	48.86	0.0880
<i>COX2</i>	43.65	32.14	17.46	15.20	31.20	0.135	-0.195	0.287	36.00	0.2943
<i>COX3</i>	41.85	42.96	17.04	15.40	34.10	0.173	-0.105	0.344	39.60	0.7677
<i>CYTb</i>	40.20	34.92	18.59	15.90	31.20	0.145	-0.096	0.334	33.83	0.7418
<i>NAD1</i>	36.74	34.81	17.13	15.40	29.50	0.124	-0.138	0.300	33.36	1.0507
<i>NAD2</i>	15.09	30.39	33.41	31.40	27.20	0.147	-0.240	0.287	50.30	0.1043
<i>NAD3</i>	36.03	31.62	17.65	15.90	28.60	0.145	-0.227	0.273	42.62	0.8393
<i>NAD4</i>	32.04	33.06	13.47	12.30	26.20	0.113	-0.185	0.283	34.04	1.0478
<i>NAD4L</i>	27.88	28.85	19.23	17.00	25.60	0.108	-0.124	0.320	32.64	1.2136
<i>NAD5</i>	40.45	34.71	16.69	14.20	30.60	0.153	-0.140	0.315	35.44	0.7935
<i>NAD6</i>	30.59	30.14	17.35	15.60	26.10	0.116	-0.215	0.256	36.87	0.9329
<i>RPS3</i>	29.89	24.11	11.81	11.20	21.80	0.165	-0.111	0.352	34.01	-0.5354



注：*表示相关性显著（ $p<0.05$ ），**表示相关性极显著（ $p<0.01$ ）。

图 1 柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子相关参数的相关性分析

2.2 同义密码子相对使用频率

RSCU 分析结果（见表 2）表明，编码 22 种氨基酸的同义密码子共 62 个，以碱基 A/U 结尾的密码子与以碱基 G/C 结尾的密码子分别有 31 个，各占比 50%。在这些密码子中，UUA、AUA、AAU 等以碱基 A/U 结尾的密码子出现频率较高，共鉴定出 26 个高频密码子（RSCU 值>1），为柑橘轮斑病菌线粒体基因组偏好使用的密码子。其中，以碱基 A/U 结尾的高频密码子均为 13 个，各占比 50%，以碱基 G/C 结尾的高频密码子数量为 0，表明柑橘轮斑病菌的线粒体基因组高频密码子更偏好采用 A/U 结尾。相对而言，以碱基 G/C 结尾的密码子出现频率较低，其 RSCU 值普遍低于 1，是其使用频率较低或避免使用的密码子。

表 2 柑橘轮斑病菌线粒体各氨基酸相对同义密码子使用度

氨基酸	密码子	数目	RSCU	氨基酸	密码子	数目	RSCU	
丙氨酸	GCU	222	1.95	蛋氨酸	AUG	176	1	
	GCC	53	0.47		CCU	241	2.54	
	GCA	151	1.33		脯氨酸	CCC	29	0.31
	GCG	29	0.25			CCA	96	1.01
半胱氨酸	UGU	67	1.65	CCG		14	0.15	
	UGC	14	0.35	谷氨酰胺	CAA	184	1.7	
天冬氨酸	GAU	268	1.63		CAG	32	0.3	
	GAC	60	0.37	谷氨酸	CGU	50	0.98	
谷氨酸	GAA	281	1.54		CGC	9	0.18	
	GAG	83	0.46		CGA	44	0.87	
苯丙氨酸	UUU	464	1.51	精氨酸	CGG	4	0.08	
	UUC	151	0.49		AGA	168	3.3	
甘氨酸	GGU	295	2.17	AGG	30	0.59		
	GGC	19	0.14	UCU	222	1.65		
	GGA	162	1.19	UCC	30	0.22		
	GGG	69	0.51	丝氨酸	UCA	149	1.11	
组氨酸	CAU	130	1.45		UCG	22	0.16	
	CAC	49	0.55		AGU	321	2.38	
异亮氨酸	AUU	289	1	AGC	65	0.48		
	AUC	68	0.24	ACU	210	1.77		
赖氨酸	AUA	506	1.76	苏氨酸	ACC	38	0.32	
	AAA	425	1.71		ACA	199	1.68	
	AAG	71	0.29	ACG	28	0.24		
亮氨酸	UUA	749	3.85	GUU	222	1.61		
	UUG	86	0.44	缬氨酸	GUC	27	0.2	
	CUU	163	0.84		GUA	246	1.79	
	CUC	23	0.12	GUG	55	0.4		
天冬酰胺	CUA	122	0.63	色氨酸	UGA	98	1.66	
	CUG	24	0.12		UGG	20	0.34	
	AAU	479	1.5	酪氨酸	UAU	345	1.51	
AAC	159	0.5	UAC		113	0.49		

2.3 中性绘图分析

线性回归分析结果（见图 2）显示，柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子的 GC₁₂ 与 GC₃ 之间存在负相关关系，但不显著（相关系数 $R^2=0.112$ ），说明基因组中大多数编码基因密码子前两个位置 GC 含量与第 3 个位置 GC 含量不存在显著差异，定向突变压力作用于所有密码子位置。回归系数为-0.2683，表明突变压力对密码子偏好效应的贡献率为 26.83%，自然选择等因素的贡献率为 73.17%。因此，柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子偏好主要由自然选择塑造。

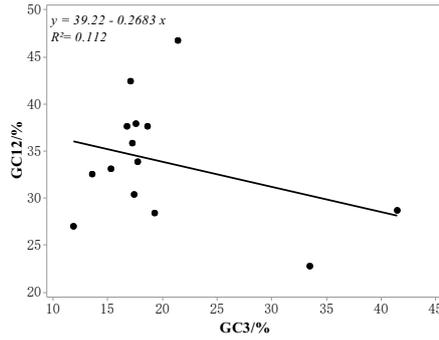


图2 中性绘图分析

2.4 ENC-plot 绘图分析

ENC-plot 分析结果（见图 3）所示，大部分基因（或称为散点）位于标准曲线下方，只有极少数基因紧邻于标准曲线分布，表明此基因组密码子的使用存在偏性。对所有基因的 ENC 比值频率分布进行分析的结果（见表 3）显示，有 1 个基因 ENC 比值分布在 0~0.05 范围，占比 7.14%，说明这个基因的密码子更多地受到了突变效应的影响；其余 13 个基因的 ENC 比值均大于 0.05，反映了这些基因不仅分布在标准曲线下方且离标准曲线较远。以上结果进一步表明，线粒体基因组的密码子偏好性更多地受到自然选择影响。

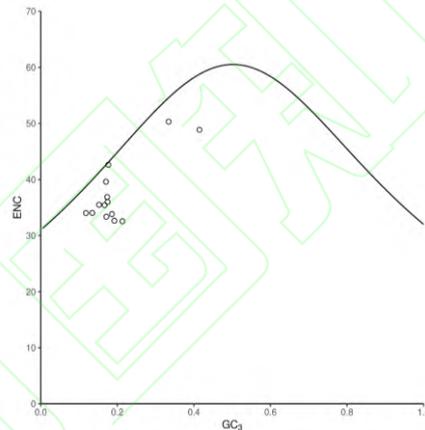


图3 柑橘轮斑病菌线粒体基因组密码子 ENC-plot 绘图分析

表 3 ENC 比值频数分布情况

ENC 比值范围	基因数目/个	频率/%
0~0.05	1	7.14
0.05~0.1	2	14.29
0.1~0.15	4	28.57
0.15~0.2	3	21.43
0.2~0.3	4	28.57

2.5 最优密码子分析

分别建立高表达基因库和低表达基因库，计算 $\Delta RSCU$ 值。以 $\Delta RSCU > 0.08$ 且 $RSCU > 1$ 为标准，确定出柑橘轮斑病菌线粒体基因组的 6 个最优密码子，分别是 GCA、GCU、AUA、UUU、UCA、UUA。其中，4 个密码子以 A 结尾，2 个以 U 结尾。该结果进一步表明了线粒体基因组的最优密码子偏好以 A/U 结尾。

表 4 柑橘轮斑病菌线粒体基因组最优密码子筛选

氨基酸	密码子	高表达基因		低表达基因		ARSCU
		数目	RSCU	数目	RSCU	
丙氨酸	GCA*	9	1.71	3	1.50	0.21
	GCC	1	0.19	1	0.50	-0.31
	GCG	0	0	0	0	0
	GCU*	11	2.10	4	2.00	0.10
半胱氨酸	UGC	0	0	0	0	0
	UGU	1	2.00	0	0	2.00
天冬氨酸	GAC	1	0.67	0	0	0.67
	GAU	2	1.33	2	2.00	-0.67
谷氨酸	GAA	7	1.75	1	1.00	0.75
	GAG	1	0.25	1	1.00	-0.75
苯丙氨酸	UUC	7	0.61	3	0.86	-0.25
	UUU*	16	1.40	4	1.14	0.26
甘氨酸	GGA	9	1.64	3	1.71	-0.07
	GGC	0	0	0	0	0
	GGG	0	0	0	0	0
	GGU	13	2.36	4	2.29	0.07
组氨酸	CAC	4	0.62	0	0	0.62
	CAU	9	1.38	0	0	1.38
异亮氨酸	AUA*	10	2.00	12	1.80	0.20
	AUC	2	0.40	2	0.30	0.10
	AUU	3	0.60	6	0.90	-0.30
赖氨酸	AAA	1	2.00	5	2.00	0
	AAG	0	0	0	0	0
亮氨酸	CUA	0	0	2	0.63	-0.63
	CUC	0	0	0	0	0
	CUG	0	0	1	0.32	-0.32
	CUU	8	1.30	3	0.95	0.35
	UUA*	26	4.22	11	3.47	0.75
	UUG	3	0.49	2	0.63	-0.14
蛋氨酸	AUG	7	1.00	3	1.00	0
天冬酰胺	AAC	5	1.25	1	0.50	0.75
	AAU	3	0.75	3	1.50	-0.75
脯氨酸	CCA	3	1.33	0	0	1.33
	CCC	0	0	0	0	0
	CCG	0	0	0	0	0
	CCU	6	2.67	0	0	2.67
谷氨酰胺	CAA	4	2.00	2	2.00	0
	CAG	0	0	0	0	0
精氨酸	AGA	3	3.60	2	6.00	-2.40
	AGG	0	0	0	0	0
	CGA	0	0	0	0	0
	CGC	0	0	0	0	0
	CGG	1	1.20	0	0	1.20
	CGU	1	1.20	0	0	1.20
丝氨酸	AGC	1	0.21	2	1.50	-1.29
	AGU	8	1.71	0	0	1.71
	UCA*	10	2.14	2	1.50	0.64
	UCC	0	0	1	0.75	-0.75
	UCG	1	0.21	0	0	0.21
	UCU	8	1.71	3	2.25	-0.54
苏氨酸	ACA	8	1.52	2	1.60	-0.08
	ACC	3	0.57	1	0.80	-0.23
	ACG	1	0.19	1	0.80	-0.61
	ACU	9	1.71	1	0.80	0.91
缬氨酸	GUA	9	1.57	0	0	1.57
	GUC	2	0.35	0	0	0.35
	GUG	2	0.35	0	0	0.35
	GUU	10	1.74	2	4.00	-2.26
色氨酸	UGG	0	0	0	0	0
酪氨酸	UAC	4	0.73	1	0.29	0.44
	UAU	7	1.27	6	1.71	-0.44
	UAA	1	0.30	1	3.00	-2.70
终止密码子	UAG	0	0	0	0	0
	UGA	9	2.70	0	0	2.70

注：*表示最优密码子。

3 讨论

GC 含量在基因组变化过程中扮演着关键角色^[40]。本研究结果显示,柑橘轮斑病菌的线粒体基因组中,密码子 GC 含量相对较低,密码子第 3 位 GC 含量仅为 19.85%,即密码子多以 A/U 结尾,与徐苏丽^[41]对稻瘟病菌线粒体基因组的研究结果类似。通过对密码子的偏好性参数进行相关性分析也发现,GC₁与 GC₂的相关性并不明显,而 GC₁与 GC_{3s}、ENC 存在极显著负相关关系 ($p<0.01$),GC₃与 ENC 存在极显著正相关关系 ($p<0.01$),这表明柑橘轮斑病菌线粒体基因组更倾向于使用以 A/U 结尾的密码子。RSCU 分析结果 (RSCU>1.00 的密码子有 26 个,以 A/U 结尾的密码子有 26 个)也支持这一观点^[42-43]。这符合真菌线粒体基因组 A+U 含量高的普遍特征^[44]。

在研究密码子使用偏好的成因时,中性绘图分析揭示了 GC₁₂与 GC₃之间的相关性并不明显,表明自然选择因素在整体密码子组成上发挥了主要作用^[45-46],同时还会受到突变压力的影响^[47]。ENC-plot 绘图分析结果也证明了这一点。这与其他真菌,如:烟草棒状弯孢菌^[18]、变灰青霉^[20]和尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum*)^[48]等的线粒体密码子偏好性分析结果一致。已知真菌或植物线粒体基因组密码子的偏好性以突变或自然选择作为主要驱动力,或同时受到其他多种因素的共同作用^[49]。目前针对柑橘轮斑病菌的相关研究极少,有待加大对其线粒体基因组的探讨,寻找更广泛的密码子偏好规律,为揭示病原真菌类群的系统发育关系,以及理解其进化历程等提供更全面深入的见解。

ENC-plot 绘图分析结果说明了柑橘轮斑病菌线粒体基因组的密码子属于弱偏好性密码子,这为真菌病害早期分化类群在基因组组成上的共性特征提供了又一证据。此外,本研究从柑橘轮斑病菌线粒体基因组中共筛选出 6 个最优密码子,这些密码子以 A/U 结尾,进一步表明了柑橘轮斑病菌线粒体基因组对于 A/U 结尾密码子的偏好。这种偏好性形成原因有待进一步深入研究。

本研究仅针对柑橘轮斑病菌线粒体基因组的蛋白编码序列进行了密码子偏好分析,后续应进一步研究非编码序列及其他病原真菌线粒体基因组密码子偏好性,深入探讨密码子偏好与进化的关系。

4 结论

柑橘轮斑病菌线粒体基因组偏好使用以 A/U 结尾的密码子,但偏好程度较弱;其密码子偏好性形成过程中,自然选择起到主要作用;共筛选出柑橘轮斑病菌线粒体基因组的最优密码子 6 个。

参考文献

- [1] BROWN W M, GEORGE M J, WILSON A C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. Proc Natl Acad Sci USA 76:1967-1971[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1979, 76(4):1967-1971
- [2] 张永杰, 侯嘉玮, 张姝. 球孢白僵菌种内比较线粒体基因组学分析[J]. 微生物学报, 2020, 60(3): 525-532
- [3] FAN W S, LIU F, JIA Q Y, et al. *Fragaria* mitogenomes evolve rapidly in structure but slowly in sequence and incur frequent multinucleotide mutations mediated by microinversions[J]. The New phytologist, 2022, 236(2): 745-759
- [4] 杜梦雪, 张鑫, 高洁, 等. 紫叶苔 (*Pleurozia purpurea*) 线粒体基因组密码子偏好性分析[J]. 河北科技大学学报, 2025, 46(1): 91-99
- [5] 吴宪明, 吴松峰, 任大明, 等. 密码子偏性的分析方法及相关研究进展[J]. 遗传, 2007, 29(4): 420-426
- [6] 惠小涵, 程婷婷, 柯卫东, 等. 莲藕 PPO 基因密码子偏好性特征分析[J]. 江苏农业学报, 2020, 36(2): 438-446
- [7] 武志娟, 钟金城. 密码子偏性及其应用[J]. 生物学通报, 2012, 47(4): 9-11
- [8] YANG Y H, FANG A F, YU Y, et al. Integrated transcriptomic and secretomic approaches reveal critical pathogenicity factors in

- Pseudofabreaa citricarpa* inciting citrus target spot[J].Microbial biotechnology,2019,12(6):1260-1273
- [9] 朱丽, 丁德宽, 李红叶.陕西城固柑橘叶片圆斑病病原研究[C]//中国菌物学会.中国菌物学会第五届会员代表大会暨 2011 年学术年会论文摘要集.2011
- [10] 朱丽.五种柑橘真菌性病害病原鉴定[D].杭州: 浙江大学, 2012
- [11] ZHU L, WANG X H, HUANG F, et al. A destructive new disease of *Citrus* in china caused by *Cryptosporiopsis citricarpa* sp. nov[J].Plant disease,2012,96(6):804-812
- [12] CHEN C, VERKLEY G J M, SUN G Y, et al. Redefining common endophytes and plant pathogens in *Neofabreaa*, *Pezicula*, and related genera[J].Fungal Biology,2016,120(11):1291-1322
- [13] 刘亚红, 田伟, 魏高艳.柑橘轮斑病的发生特点与防治措施[J].果农之友, 2015(5): 36
- [14] 罗磊, 张波, 章彦宏, 等.为害陕南柑桔的新病害——柑桔轮斑病[J].中国果业信息, 2015, 32(7): 55-56
- [15] 敖义俊, 丁德宽, 邓家锐, 等.柑桔轮斑病发生规律及防控对策[J].中国果业信息,2021,38(7):64-66
- [16] XIAO X E, ZENG Y T, WANG W, et al. First report and new hosts of *Pseudofabreaa citricarpa* causing citrus target spot in China[J].Plant Health Progress, 2020, 22(1):1-5
- [17] 占爽,吴望,胡军华,等.重庆万州疑似柑桔轮斑病的病原鉴定及防治药剂筛选[J].中国南方果树,2021,50(1):1-7
- [18] 徐永红,陈力,唐松,等.柑橘轮斑病的适生区预测及风险分析[J].中国农业科学,2020,53(21):4430-4439
- [19] 曹毅,陈代荣,李治模,等.烟草棒状弯孢菌线粒体全基因组特征及系统发育分析[J].菌物学报,2023,42(12):2407-2421
- [20] 李秀璋,宋辉,李春杰.茄腐镰孢(*Fusarium solani*)线粒体基因组密码子偏好性分析[J].基因组学与应用生物学,2015,34(11):2465-2472
- [21] 康瑞萍,艾菲热·阿布都艾尼,周慧英,等.变灰青霉线粒体基因组特征及系统发育分析[J].菌物学报,2022,41(4):518-528
- [22] 刘潮,盛妍妍,姜斌,等.灵芝属真菌线粒体基因组特征及进化[J].南方农业学报,2022,53(10):2876-2884
- [23] 常晓云,汪婷,李增智,等.蜡蚧刺束梗孢(*Akanthomyces lecanii*)的线粒体基因组特征与系统发育分析[J].微生物学通报,2024,51(8):3103-3118
- [24] 孙学鹏.柑橘绿霉病菌比较基因组及抗 DMI 杀菌剂机理研究[D].杭州: 浙江大学,2015
- [25] 陈泉,张文晶,何锦辉,等.柑橘轮斑病症状、发病规律及 47 个柑橘品种的抗性测定[J].果树学报,2023,40(8):1675-1691
- [26] YANG Y H, HU J H, CHEN F J, et al. Development of a SCAR marker-based diagnostic method for the detection of the citrus target spot pathogen *Pseudofabreaa citricarpa* [J/OL].BioMed research international,2018: 7128903. <https://doi.org/10.1155/2018/7128903>
- [27] 徐嵩琳.柑橘轮斑病菌生物学特性及抗病机理初步研究[D].重庆: 重庆三峡学院,2024
- [28] LI C, LIU S F, REN J Q,et al. Genome sequence resource of *Pseudofabreaa citricarpa*: a fungus causing citrus target spot [J].PhytoFrontiers,2023, 3 (4) : 924-926
- [29] LI H, XU S L, YANG M, et al. The complete mitochondrial genome of *Pseudofabreaa citricarpa* (Dermateaceae: Helotiales) causing *Citrus* target spot [J]. Mitochondrial DNA Part B: Resources, 2023,8(11):1161-1164
- [30] XIANG C Y, GAO F, JAKOVLIĆ I, et al. Using PhyloSuite for molecular phylogeny and tree-based analyses[J/OL]. IMeta, 2023, 2(1): e87. <https://doi.org/10.1002/imt2.87>
- [31] 辛雅萱,黎若竹,李鑫,等.杠果叶绿体基因组密码子使用偏好性分析[J].中南林业科技大学学报,2021(9):148-156,165
- [32] 王鹏良,杨利平,吴红英,等.普通油茶叶绿体基因组密码子偏好性分析[J].广西植物,2018,38(2):135-144
- [33] 赵森,邓力华,陈芬.秋茄叶绿体基因组密码子使用偏好性分析[J].森林与环境学报,2020,40(5):534-541
- [34] 罗静初.EMBOSS 软件包序列分析程序应用实例[J].生物信息学,2021,19(1):1-25
- [35] 赵婉清,张敏,柳大军,等.菜蚜线粒体基因组密码子偏好性分析[J].山西农业科学,2020,48(7):1005-1009
- [36] 韩君.刺猬线粒体基因组密码子偏好性分析[J].饲料博览,2023(4):31-38
- [37] WANG H, MENG T, WEI W. Analysis of synonymous codon usage bias in helicase gene from *Autographa californica* multiple nucleopolyhedrovirus [J]. Genes & Genomics,2018,40(7):767-780
- [38] 何积翠,喻达辉,白丽蓉.瓜螺线粒体全基因组密码子偏好性分析[J].南方农业学报,2022,53(1):191-199
- [39] 覃兴化,张麒功,汪其双,等.瓶子叶绿体基因组密码子偏好性分析[J].福建农林大学学报(自然科学版),2023,52(5):632-639
- [40] BELLGARD M, SCHIBECI D, TRIFONOV E, et al. Early detection of G + C differences in bacterial species inferred from the comparative analysis of the two completely sequenced *Helicobacter pylori* strains [J]. Journal of molecular evolution, 2001, 53(4-5): 465-468
- [41] 徐苏丽,王俊峰,陈士华.稻瘟病菌线粒体基因组密码子使用偏好性分析[J].河南农业大学学报, 2013, 47(6): 722-726, 756
- [42] HANEMAAIJER M J, HOUSTON P D, COLLIER T C, et al. Mitochondrial genomes of *Anopheles arabiensis*, *An. gambiae* and *An. coluzzii* show no clear species division[J/OL]. F1000Research,2019,7:347. <https://doi.org/10.12688/f1000research.13807.2>
- [43] WANG M, ZHANG J, ZHOU J H, et al. Analysis of codon usage in bovine viral diarrhoea virus[J].Archives of virology, 2011,156(1):

153-160

- [44] CAO J J , GUO X, GUO C Y ,et al. Complete mitochondrial genome of *Malenka flexura* (Plecoptera: Nemouridae) and Phylogenetic analysis[J/OL].Genes,2022,13(5):911. <https://doi.org/10.3390/genes13050911>
- [45] SUEOKA N ,KAWANISHI Y .DNA G+C content of the third codon position and codon usage biases of human genes[J]. Gene, 2000, 261(1):53-62
- [46] NIE X J, DENG P C, FENG K W, et al. Comparative analysis of codon usage patterns in chloroplast genomes of the Asteraceae family[J].Plant Molecular Biology Reporter,2014,32(4):828-840
- [47] Fuglsang A. Impact of bias discrepancy and amino acid usage on estimates of the effective number of codons used in a gene, and a test for selection on codon usage[J].Gene,2007,410(1):82-88
- [48] 路景诗,赵远征,王东,等.尖孢镰刀菌全基因组密码子偏好性及特征分析[J].北方农业学报,2022,50(4):11-17
- [49] SALIM H M W, CAVALCANTI A R O. Factors influencing codon usage bias in genomes[J].Journal of the Brazilian Chemical Society,2008,19(2): 257-262

