研究论文

吸虱亚目 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因间独立进化和协同进化的研究*

张艳芳** 董文鸽*** 陈 婷

（大理大学病原与媒介生物研究所，大理 671000）

摘 要 【目的】 吸虱亚目是真兽类动物的永久专性体表寄生虫。吸虱亚目的线粒体基因组发生了剧烈的裂化，形成了不同于以往典型单一大环的多个裂化微环。本文对 17 种吸虱以及外群尖叫虱 *Bothriometopus macrocnemis* 的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因序列进行比较分析，探讨 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因间的独立进化和协同进化。**【方法】** 对云南采集到的 3 科 3 属 4 种吸虱（弯多板虱 *Polyplax reclinata*、锯多板虱 *Polyplax serrata*、太平洋甲胁虱 *Hoplopleura pacifica* 和麝鼩钩板虱 *Ancistroplax crocidurae*），用 Illumina MiSeq PE250 平台高通量测序后与 GenBank 中查找的其它 13 种吸虱及尖叫虱的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因序列进行比较，采用最大简约法（Maximum parsimony，MP）分析 17 种吸虱 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因的进化关系。**【结果】** 17 种吸虱的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因均形成典型的三叶草结构，*trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因在虱属、阴虱属和猴虱属中有较长的等同序列；在甲胁虱属和钩板虱属中有很短的等同序列；在多板虱属、微胸虱属和血虱属中的等同序列介于二者之间。常见典型单一环状线粒体基因组物种的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因等同序列的长度在 6-10 bp 之间。对 17 种吸虱的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因序列进行同源性比较分析，发现不同属吸虱的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因序列相似度差异较大，同属内吸虱的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因序列相似度差异较小。基于 17 种吸虱及尖叫虱的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因构建系统进化树，结果表明 *trnL*$_1$(*tag*)、*trnL*$_2$(*taa*)及 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因间既有协同进化又有独立进化。**【结论】** *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因等同序列较长的吸虱易发生协同进化，等同序列较短的吸虱易发生独立进化。吸虱亚目的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因协同进化是长期的或发生在远缘物种间，而独立进化是短期（两次重组事件间）的或发生在近缘物种间。吸虱亚目线粒体基因组的裂化模式可能影响 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因等同序列的长短。

关键词 吸虱；*trnL*$_1$(*tag*)；*trnL*$_2$(*tag*)；裂化线粒体基因组；协同进化；独立进化

Independent and concerted evolution of the *trnL*$_1$(*tag*) and *trnL*$_2$(*taa*) genes in Anoplura

ZHANG Yan-Fang** DONG Wen-Ge*** CHEN Ting

(Institute of Pathogens and Vectors, Dali University, Dali 671000, China)

Abstract [Objectives] Anoplura (lice) are obligate ectoparasites of eutherians. The mitochondrial genome of Anoplura has undergone drastic fragmentation and formed multiple mitochondrial minicircular chromosomes that differ from the typical single mitochondrial genome. Sequences of *trnL*$_1$(*tag*) and *trnL*$_2$(*taa*) genes from 17 species of sucking lice and an outgroup (the screamer louse, *Bothriometopus macrocnemis*) were compared to investigate the independent, and concerted, evolution of these genes. **[Methods]** The *trnL*$_1$(*tag*) and *trnL*$_2$(*taa*) genes of 4 species of sucking lice from 3 genera and 3 families

*资助项目 Supported projects：国家自然科学基金项目（31660314；32060143）；云南省自然科学基金项目（No. 2016FB135）；大理大学媒介生物学创新团队项目（ZKLK2019104）

**第一作者 First author，E-mail：1591060896@qq.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：dongwenge2740@sina.com

收稿日期 Received：2021-01-11；接受日期 Accepted：2021-03-11

collected in Yunnan (*Polyplax reclinata*, *Polyplax serrata*, *Hoplopleura pacifica*, *Ancistroplax crocidurae*) were sequenced by high-throughput sequencing on the Illumina MiSeq PE250 platform, and compared with those of 13 other species and the screamer louse outgroup obtained from GenBank. Evolutionary relationships among species were inferred using the maximum parsimony method (MP) and the homology of $trnL_1$(*tag*) and $trnL_2$(*taa*) gene sequences was analyzed. **[Results]** The $trnL_1$(*tag*) and $trnL_2$(*taa*) genes of all 17 species of sucking lice formed a typical clover structure. $TrnL_1$(*tag*) and $trnL_2$(*taa*) genes have very long identical sequences in *Pediculus*, *Pthirus* and *Pedicinus*, very short identical sequences in *Hoplopleura* and *Ancistroplax*, and intermediate length sequences in *Polyplax*, *Microthoracius* and *Haematopinus*. The length of identical $trnL_1$(*tag*) and $trnL_2$(*taa*) gene sequences in common, typical, single circular, mitochondrial genome species is 6-10 bp. Sequences in different genera sucking lice were significantly different, whereas those in the same genus were only slightly different. A phylogenetic tree indicates that there has been both concerted, and independent, evolution of the $trnL_1$(*tag*), $trnL_2$(*taa*), $trnL_1$(*tag*) and $trnL_2$(*taa*) genes. **[Conclusion]** Sucking lice with longer identical $trnL_1$(*tag*) and $trnL_2$(*taa*) gene sequences are more likely to have undergone concerted evolution, whereas those with shorter identical sequences are more likely to have undergone independent evolution. Concerted evolution would be expected over the long term, or between distantly related species, whereas independent evolution would be expected over the short term (between two recombination events), or between closely related species. The fragmented pattern of the Anoplura mitochondrial genome may influence the length of identical $trnL_1$(*tag*) and $trnL_2$(*taa*) gene sequences.

Key words　Anoplura; $trnL_1$(*tag*); $trnL_2$(*taa*); fragmented mitochondrial genome; concerted evolution; independent evolution

吸虱亚目隶属于动物界、节肢动物门、昆虫纲、虱目，是真兽类动物的永久专性体表寄生虫（Dong *et al.*，2014a；Guo *et al.*，2004）。全世界已知吸虱有 15 科 50 属 540 余种（Durden and Musser，1994），中国有 11 科 22 属 96 种（金大雄，1999）。吸虱亚目中的体虱可在人群中传播流行性斑疹伤寒、回归热及战壕热（Gibney *et al.*，1985；David *et al.*，2004；Hornok *et al.*，2010）。随着经济和医疗卫生的发展，人群感染寄生虫虱病的几率下降，但在发展中国家及经济医疗卫生条件落后的地区，仍存在高感染率。寄生于其他动物体表的吸虱，可在近缘动物宿主之间传播和保存鼠型斑疹伤寒、野兔热乃至鼠疫等人兽共患病的病原体，在流行病学上具有保存、扩展疫源地的作用（李伟等，2020）。

线粒体是存在于真核生物体内的一种半自主性细胞器，具有独立的遗传物质 DNA 且可独立于细胞核进行遗传物质的转录和复制。线粒体常参与细胞的信号转导、分化、生长、代谢、衰老以及死亡等密切相关机制的调控（Thyagarajan *et al.*，1996；Park and Larsson，2011；Galluzzi *et al.*，2012）。以往对吸虱昆虫的研究大多集中在形态分类和生态（Guo *et al.*，2004；孟艳芬和郭宪国，2008；Dong *et al.*，2009）。随着基因测序技术的发展，越来越多的昆虫线粒体基因组被测序及分析。常见的昆虫线粒体基因组是典型的单一环状结构，但吸虱的线粒体基因组发生了剧烈的裂化，形成了不同于以往单一大环的多个裂化微环，数目由最少的 9 个（猪虱）到 20 个（体虱）微环不等，每个微环都包含编码区和非编码区（Shao and Barker, 2010；Shao *et al.*，2012，2017；Jiang *et al.*，2013；Dong *et al.*，2014a，2014b；Song *et al.*，2014；Herd *et al.*，2015）。昆虫线粒体基因组具有进化速度快、母系遗传等诸多不同于细胞核基因组的特点（Boore，1999）。此外，昆虫线粒体基因组还具有丰富的遗传信息，被广泛用于昆虫系统发育学、种群遗传学、系统地理学和进化生物学研究（White *et al.*，2008；Wei *et al.*，2019），其中利用线粒体基因组高分辨率的系统发育信息来探讨近缘物种间的遗传分化应用最为广泛（Wang *et al.*，2010）。

tRNA 是存在于线粒体内的一种非编码小 RNA 分子，负责氨基酸转运。近年来发现 tRNA 与肿瘤的发生和发展密切相关（徐慧璇等，2020）。后生动物的线粒体基因组对功能性 tRNA 的缺失和获得表现出很大的灵活性（Gissi *et al.*，2008）。有人提出 tRNA 是理想的系统发育标记（Boore *et al.*，1995；Kumazawa and Nishida，

1995；Macey *et al.*，1997），或许代表了线粒体基因组中少数保留下来的有助于追溯远古进化关系的共源性状（Dowton and Austin，1999）。

在进化过程中，种群的共有基因特征和种群特征可包含独立进化和协同进化。独立进化在种群进化中背离其共有基因特征和种群特征存在，协同进化在种群进化中遵从其共有基因特征和种群特征存在（Cameron *et al.*，2007；Shao *et al.*，2015；Nedelcu，2019；Krieger *et al.*，2020；Lyer *et al.*，2020；Smith *et al.*，2020）。迄今已研究的具有裂化线粒体基因组的 13 种吸虱中，除克氏甲胁虱 *Hoplopleura kitti* 外，其他吸虱的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因均具有较长的等同序列。Shao 等（2015）用邻近法分析 4 科 4 属 6 种吸虱的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因序列，结果表明二者既有独立进化又有协同进化。此外，线粒体基因组的协同进化也在尖叫虱 *B. macrocnemis* 两组重复的 tRNA（*trnW* 和 *trnV*）和非编码区观察到（Cameron *et al.*，2007）。为进一步了解吸虱亚目 $trnL_1$(*tag*)、$trnL_2$(*taa*)及 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因的独立进化和协同进化，本文对 8 科 8 属 17 种吸虱的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因序列进行了比较分析。

1 材料与方法

1.1 材料

在云南采集到 3 科 3 属 4 种吸虱（太平洋甲胁虱 *Hoplopleura pacifica*、弯多板虱 *Polyplax reclinata*、锯多板虱 *Polyplax serrata* 和麝鼠钩板虱 *Ancistroplax crocidurae*），置于盛有 95%乙醇的 EP 管中放置于 - 80 ℃超低温冰箱保存备用。4 种吸虱标本保存在大理大学病原与媒介生物研究所。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 用镊子将保存在 EP 管 95%乙醇中的吸虱取出，放于去离子水中漂洗，在 DM750 体视显微镜下鉴别吸虱的种类及性别后放置于 1.5 mL 的离心管中备用。吸虱种类及性别的鉴定参考金大雄（1999）编写的《中国吸虱的分类和检索》。用 The Dneasy Tissue Kit (QIAGEN)试剂盒提取吸虱线粒体基因组 DNA。

1.2.2 吸虱 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因序列的 PCR 扩增、纯化和测序 以提取的基因组 DNA 为模板，用 *LA Taq*（TaKaRa）酶和引物扩增出包含 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因的长片段序列。反应条件为：预变性 94 ℃，1 min，35 个循环：变性 98 ℃，10 s，退火 60-65 ℃，35 s，延伸 72 ℃，150 s，终延伸 72 ℃，8 min。PCR 产物用 Wizard SV Gel and PCR clean-up system (Promega)试剂盒纯化后，用 Illumina MiSeq PE250 平台进行高通量测序，测序数据用 geneious primer 2020.0.5 软件组装，将序列上传至 GenBank。本研究中 4 种吸虱 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因的 GenBank 登录号分别为 MV142333、MV142334、MV142329、MV142330、MV142331、MV142332、MV142327 和 MV142328。

1.2.3 序列注释与分析 在 GenBank 中查找同源序列，获得阴虱 *Pthirus pubis*、头虱 *Pediculus capitis*、黑猩猩虱 *Pediculus schaeffi*、体虱 *Pediculus humanus*、钝猴虱 *Pedicinus obtusus*、红疣猴虱 *Pedicinus badii*、亚洲多板虱 *Polyplax asiatica*、羊驼虱 *Microthoracius praelongiceps*、棘多板虱 *Polyplax spinulosa*、野猪血虱 *Haematopinus apri*、猪血虱 *Haematopinus suis*、驴血虱 *Haematopinus asini*、克氏甲胁虱 *Hoplopleura kitti*、太平洋甲胁虱 *Hoplopleura pacifica* 以及尖叫虱 *B. macrocnemis* 的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因序列（Cameron *et al.*，2007；Shao and Barker，2010；Shao *et al.*，2012，2017；Jiang *et al.*，2013；Dong *et al.*，2014a，2014b；Song *et al.*，2014；Herd *et al.*，2015；Fu *et al.*，2020），与本实验中的锯多板虱 *Po. serrata*、麝鼠钩板虱 *A. crocidurae*、弯多板虱 *Po. reclinata* 和太平洋甲胁虱 *Ho. pacifica* 的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因序列进行比较分析（表 1）。利用 tRNA scan-SE 1.21 和 ARWEN 1.2 查找并识别 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因的二级结构（Hu，2019；Stampar *et al.*，2019）。用 geneious primer 2020.0.5 软件对 17 种吸虱及尖叫虱的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因序列进行碱基组成和序列同源性比较（Dong *et al.*，2014a）。用 Mega-X10.2.2 构建基因进化树（Zhang *et al.*，2019）。

表 1　吸虱和尖叫虱 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$共享的等同序列长度

Table 1　The length of identical sequence shared by $trnL_1(tag)$ and $trnL_2(taa)$ genes in sucking lice and screamer louse

物种 Species	科 Family	属 Genus	$trnL_1(tag)$登录号 GenBank ID of $trnL_1(tag)$	$trnL_2(taa)$登录号 GenBank ID of $trnL_2(taa)$	等同序列长度（bp） Identical sequence length（bp）	参考文献 References
阴虱 *Pt. pubis*	阴虱科 Pthiridae	阴虱属 *Pthirus*	EU219995.2	EU219994.2	35, 32	Shao *et al.*, 2012
头虱 *Pe. capitis*	虱科 Pediculidae	虱属 *Pediculus*	JX080388.1	JX080389.1	34, 33	Shao *et al.*, 2012
黑猩猩虱 *Pe. schaeffi*	虱科 Pediculidae	虱属 *Pediculus*	KR706168.1	KR706169.1	34, 32	Herd *et al.*, 2015
体虱 *Pe. humanus*	虱科 Pediculidae	虱属 *Pediculus*	FJ499473.1	FJ499474.1	33, 32	Shao *et al.*, 2009
钝猴虱 *Pe.obtusus*	猴虱科 Pedicinidae	猴虱属 *Pedicinus*	MT792498.1	MT792499.1	32, 32	Fu *et al.*, 2020
红疣猴虱 *Pe. badii*	猴虱科 Pedicinidae	猴虱属 *Pedicinus*	MT721732.1	MT721733.1	32, 16	Fu *et al.*, 2020
亚洲多板虱 *Po. asiatica*	多板虱科 Polyplacidae	多板虱属 *Polyplax*	KF647757.1	KF647752.1	28	Dong *et al.*, 2014a
羊驼虱 *M. praelongiceps*	微胸虱科 Microthoraciidae	微胸虱属 *Microthoracius*	KX090389.1	KX090380.1	27, 10	Shao *et al.*, 2017
棘多板虱 *Po. spinulosa*	多板虱科 Polyplacidae	多板虱属 *Polyplax*	KF647763.1	KF647767.1	25, 11	Dong *et al.*, 2014a
弯多板虱 *Po. reclinata*	多板虱科 Polyplacidae	多板虱属 *Polyplax*	MV142333	MV142334	25, 10	本研究 Present study
锯多板虱 *Po. serrata*	多板虱科 Polyplacidae	多板虱属 *Polyplax*	MV142329	MV142330	21	本研究 Present study
野猪血虱 *Ha. apri*	血虱科 Haematopinidae	血虱属 *Haematopinus*	KC814615.1	KC814616.1	16, 12, 11	Jiang *et al.*, 2013
猪血虱 *Ha. suis*	血虱科 Haematopinidae	血虱属 *Haematopinus*	KC814606.1	KC814607.1	16, 10, 9	Jiang *et al.*, 2013
驴血虱 *Ha. asini*	血虱科 Haematopinidae	血虱属 *Haematopinus*	KF939322.1	KF939324.1	15	Song *et al.*, 2014
麝鼹钩板虱 *A. crocidurae*	拟血虱科 Haematopinoididae	钩板虱属 *Ancistroplax*	MV142331	MV142332	8	本研究 Present study
克氏甲胁虱 *Ho. kitti*	甲胁虱科 Hoplopleuridae	甲胁虱属 *Hoplopleura*	KJ648937.1	KJ648933.1	7	Dong *et al.*, 2014b
太平洋甲胁虱 *Ho. pacifica*	甲胁虱科 Hoplopleuridae	甲胁虱属 *Hoplopleura*	MV142327	MV142328	7	本研究 Present study
尖叫虱 *B. macrocnemis*	长角鸟虱科 Philopteridae	*Bothriometopus*	EU183542.1	EU183542.1	7	Cameron *et al.*, 2007

2　结果与分析

2.1　吸虱亚目 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因的二级结构比较

17 种吸虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因均有典型的三叶草结构（图 1）。34 个 tRNA 基因的反密码子臂均有 5 对碱基，共有 10 对错配，其中 6 对 GU 错配，2 对 UU 错配，1 对 CU 错配，1 对 CC 错配。所有的 37 个 tRNA 基因的反密码子环有 7 个碱基，可变臂有 4 个碱基。在虱科虱属（体虱、头虱和黑猩猩虱）、猴虱科猴虱属（钝

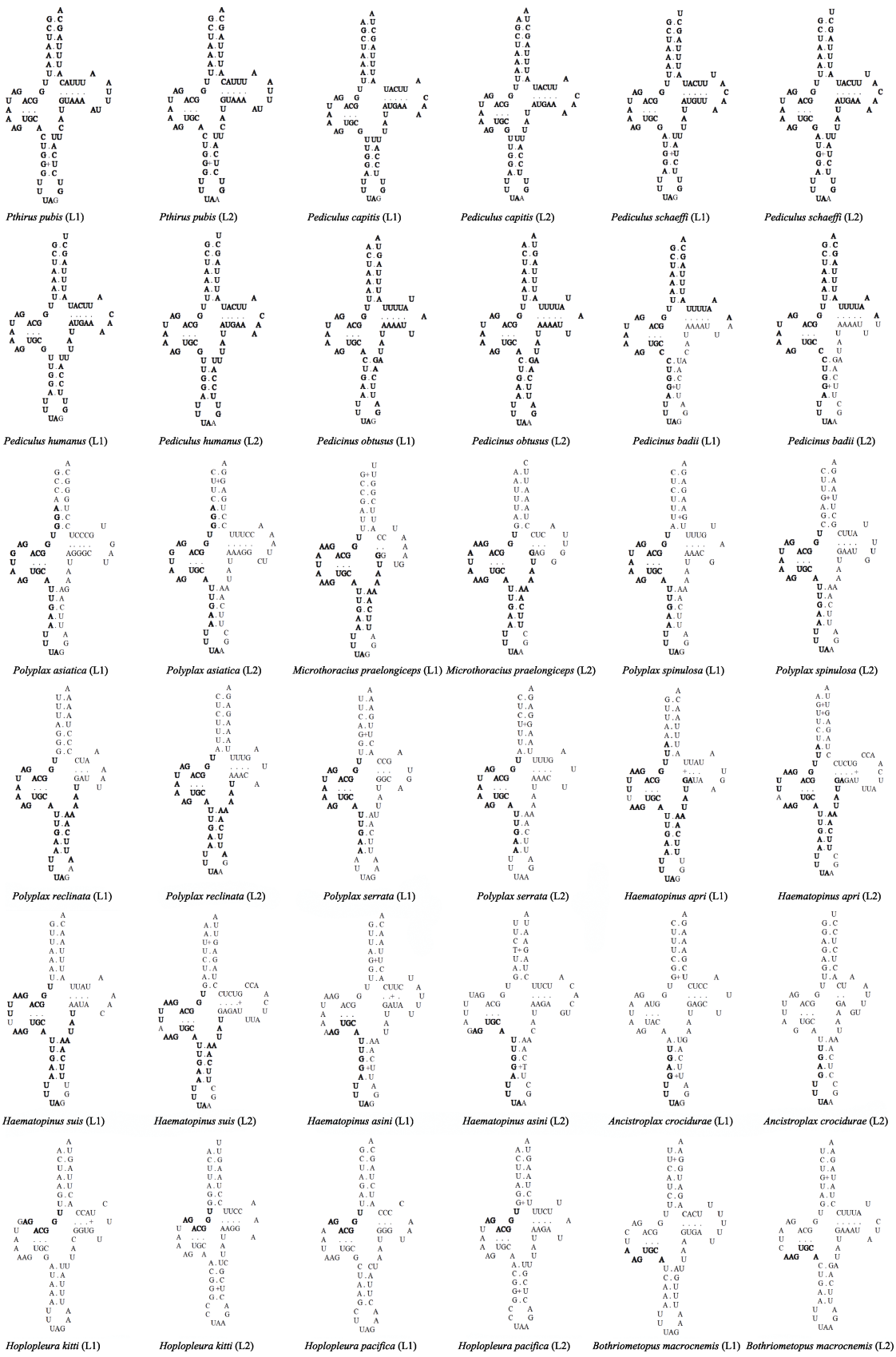

图 1　吸虱和尖叫虱的 *trnL*$_1$(*tag*)和 *trnL*$_2$(*taa*)基因二级结构图

Fig. 1　Inferred secondary structures of *trnL*$_1$(*tag*)*and trnL*$_2$(*taa*) *genes* of sucking lice and screamer louse

猴虱）以及阴虱科阴虱属（阴虱）的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因除反密码子环的一个碱基不同外，其余部分均为等同序列。在多板虱科多板虱属中，棘多板虱、亚洲多板虱和锯多板虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因二级结构中有相同的D环和D臂；在弯多板虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因二级结构中有相同的 D 环、D 臂、氨基酸接受臂以及可变臂。除拟血虱科钩板虱属的麝鼦钩板虱以及甲胁虱科甲胁虱属的克氏甲胁虱和太平洋甲胁虱中的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因没有较长的等同序列，其他 14 种吸虱 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因有较长的等同序列。尖叫虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因也未发现较长的等同序列（表 1）。

2.2　吸虱亚目 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因的序列同源性

用 geneious primer 2020.0.5 软件对 8 科 8 属 17 种吸虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列进行同源性分析，其 $trnL_1(tag)$基因长度在 62-68 bp 之间，$trnL_2(taa)$基因长度在 61-75 bp 之间；尖叫虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因长度分别为 65 bp 和 67 bp。17 种吸虱的 $trnL_1(tag)$基因的 AT 含量在 50.0%-78.8%之间，GC 含量在 21.2%-50.0%之间；$trnL_2(taa)$基因的 AT 含量在 55.5%-78.5%之间，GC 含量在 21.5%-44.4%之间。尖叫虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因的 AT 含量和 GC 含量分别为 69.2%、68.6%、30.8%和 31.3%。除亚洲多板虱的 $trnL_1(tag)$基因的 AT 含量为 50.0%，其他 16 种吸虱 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因的 AT 含量均高于 GC 含量。

分别对 18 种寄生虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列进行同源性比较分析，结果发现体虱、头虱、阴虱和黑猩猩虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列相似度高达 98.5%；钝猴虱和红疣猴虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列相似度为 98.5%和 92.4%；猪血虱、野猪血虱和驴血虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列相似度为 61.2%-74.2%；亚洲多板虱、棘多板虱、弯多板虱和锯多板虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列相似度为 62.9%-73%；克氏甲胁虱和太平洋甲胁虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列相似度为 46.2%和 52.4%；麝鼦钩板虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列相似度为 47.5%；羊驼虱的 $trnL_1(tag)$和 $trn_{L2}(taa)$基因序列相似度为 67.2%；尖叫虱的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列相似度为 56.7%。统计结果表明吸虱 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列在属间相似度差异较大，属内差异较小。序列同源性分析结果表明 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列相似度高的物种，其等同序列长度也较长（图 1，表 1，表 2）。

2.3　吸虱亚目 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因的进化关系

动物有 2 个亮氨酸（$trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$）是比较常见的现象。发生裂化线粒体基因组的吸虱亚目 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因有较长的等同序列。在此，基于 $trnL_1(tag)$、$trnL_2(taa)$以及 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列用 Maximum parsimony 法分别构建了包含 17 种吸虱以及尖叫虱的 3 种进化树，其中体虱和头虱具有完全相同的基因序列（Shao *et al.*，2012）。对 $trnL_1(tag)$基因构建的进化树分析（图 2）发现同属吸虱的 $trnL_1(tag)$基因协同进化。对 $trnL_2(taa)$基因构建的进化树分析（图 3）发现除亚洲多板虱外，同属吸虱的 $trnL_2(taa)$基因协同进化。对 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因构建的进化树分析发现典型单一环状线粒体基因组尖叫虱中的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因在不同的分支上，他们是独立进化的（图 4）。在裂化线粒体基因组吸虱中 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因既有独立进化又有协同进化。虱科虱属（体虱、头虱和黑猩猩虱）、猴虱科猴虱属（钝猴虱和红疣猴虱）以及阴虱科阴虱属（阴虱）的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因彼此协同进化；血虱科血虱属（猪血虱、野猪血虱和驴血虱）的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因彼此独立进化；拟血虱科钩板虱属（麝鼠钩板虱）的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因彼此独立进化；甲胁虱科甲胁虱属（克氏甲胁虱和太平洋甲胁虱）的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因彼此独立进化且相距较远；多板虱科多板虱属（亚洲多板虱、棘多板虱、弯多板虱和锯多板虱）的 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因彼此

表 2　17 种吸虱和尖叫虱 *trnL₁*(*tag*)和 *trnL₂*(*taa*)基因的碱基组成（%)和同源性比较（%)

Table 2　Base composition (%) and homology comparison (%) of *trnL₁*(*tag*) and *trnL₂*(*taa*) genes in 17 species of sucking lice and screamer louse (%)

物种 Species	*trnL₁*(*tag*)基因（%) *trnL₁*(*tag*) genes (%)						*trnL₂*(*taa*)基因（%) *trnL₂*(*taa*) genes (%)						同源性比较 (%) Homology comparison（%）
	A	C	G	T	A+T	G+C	A	C	G	T	A+T	G+C	
阴虱 *Pt. pubis*	32.4	13.2	19.1	35.3	67.7	32.3	33.8	13.2	17.6	35.3	69.1	30.9	98.5
头虱 *Pe. capitis*	33.8	11.8	19.1	35.3	69.1	30.9	35.3	11.8	17.6	35.3	70.6	30.9	98.5
黑猩猩虱 *Pe. schaeffi*	32.8	10.4	19.4	37.3	70.1	29.9	34.3	10.4	17.9	37.3	71.6	29.4	98.5
体虱 *Pe. humanus*	31.8	12.1	19.7	36.4	68.2	31.8	33.3	12.1	18.2	36.4	69.7	28.4	98.5
钝猴虱 *Pe. obtusus*	40.0	7.7	15.4	36.9	76.9	23.1	41.5	7.7	13.8	36.9	78.5	30.3	98.5
疣虱 *Pe. badii*	37.9	12.1	16.7	33.3	71.2	28.8	37.3	11.9	16.4	34.3	71.6	21.5	92.4
亚洲多板虱 *Po. asiatica*	27.3	18.2	31.8	22.7	50.0	50.0	32.4	16.2	22.1	29.4	61.8	28.4	63.6
羊驼虱 *M. praelongiceps*	34.4	12.5	23.4	29.7	64.1	35.9	38.5	12.3	18.5	30.8	69.3	38.2	67.2
棘多板虱 *Po. spinulosa*	38.1	9.5	20.6	31.7	69.8	30.2	35.9	10.9	20.3	32.8	68.7	30.8	73.0
弯多板虱 *Po. reclinata*	41.9	11.3	17.7	29.0	70.9	29.0	42.9	9.5	15.9	31.7	74.6	31.3	67.7
锯多板虱 *Po. serrata*	35.5	12.9	22.6	29.0	64.5	35.5	39.7	9.5	17.5	33.3	73.0	25.4	62.9
野猪血虱 *Ha. apri*	37.9	6.1	16.7	39.4	77.3	22.7	33.3	14.7	17.3	34.7	68.0	27.0	74.2
猪血虱 *Ha. suis*	40.9	7.6	13.6	37.9	78.8	21.2	34.7	14.7	17.3	33.3	68.0	32.0	68.2
驴血虱 *Ha. asini*	32.8	10.4	20.9	35.8	68.6	31.3	33.3	14.5	18.8	33.3	66.6	32.0	61.2
麝鼹钩板虱 *A. crocidurae*	31.7	12.7	25.4	30.2	61.9	38.1	29.5	16.4	23.0	31.1	60.6	33.3	47.5
克氏甲胁虱 *Ho. kitti*	33.8	12.3	20.0	33.8	67.6	32.3	31.7	20.6	23.8	23.8	55.5	39.4	46.2
太平洋甲胁虱 *Ho. pacifica*	33.3	20.6	22.2	23.8	57.1	42.9	31.7	15.9	22.2	30.2	61.9	44.4	52.4
尖叫虱 *B. macrocnemis*	32.3	12.3	18.5	36.9	69.2	30.8	35.8	13.4	17.9	32.8	68.6	38.1	56.7

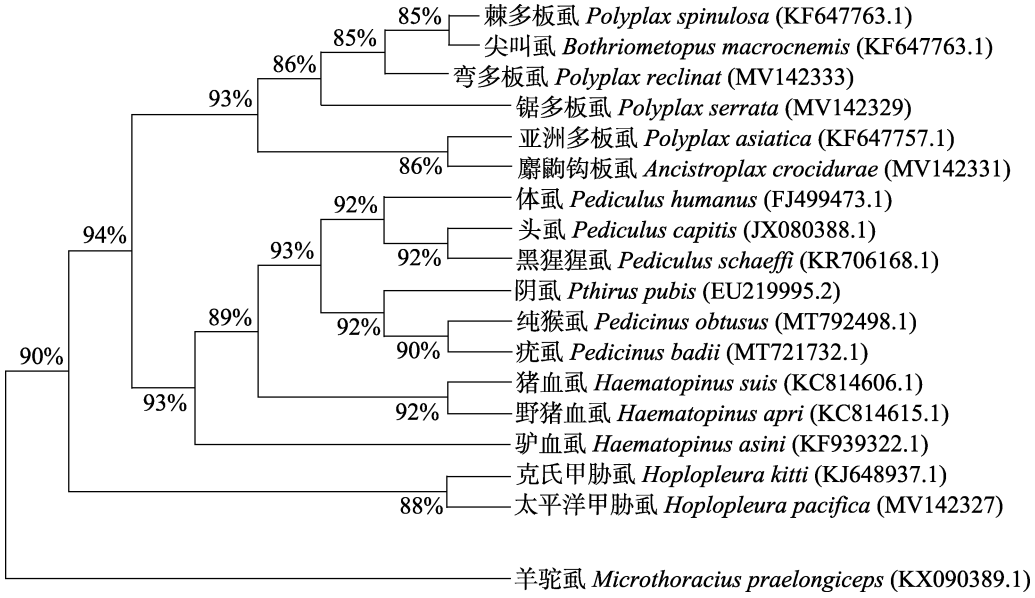

图 2　用 MP 法构建表种吸虱 *trnL₁*(*tag*)基因序列的进化关系

Fig. 2　Evolutionary relationship inferred from *trnL₁*(*tag*) gene sequence of 17 species of sucking lice using MP methods

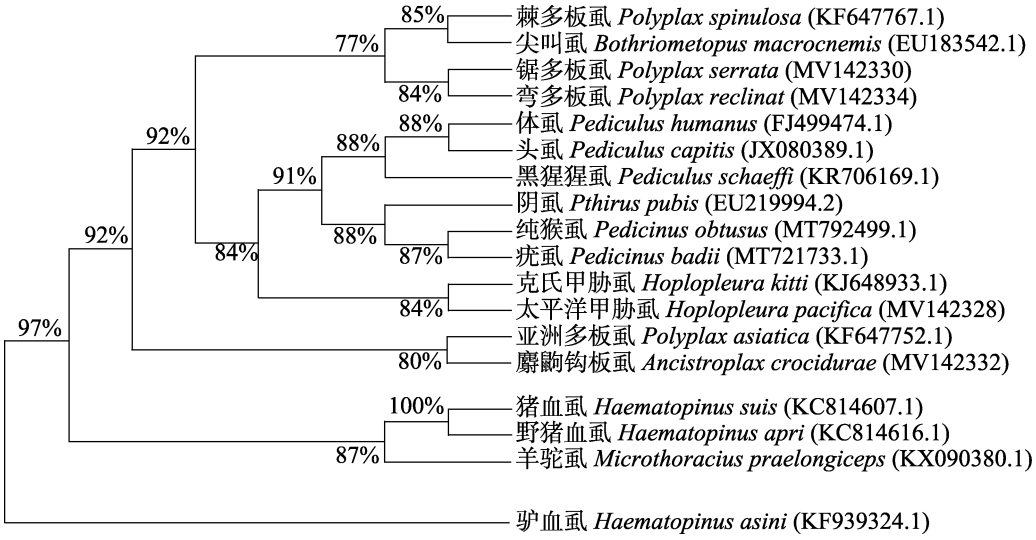

图 3　用 MP 法构建 17 种吸虱 $trnL_2(taa)$基因序列的进化关系

Fig. 3　Evolutionary relationship inferred from $trnL_2(taa)$ gene sequence of 17 species of sucking lice using MP methods

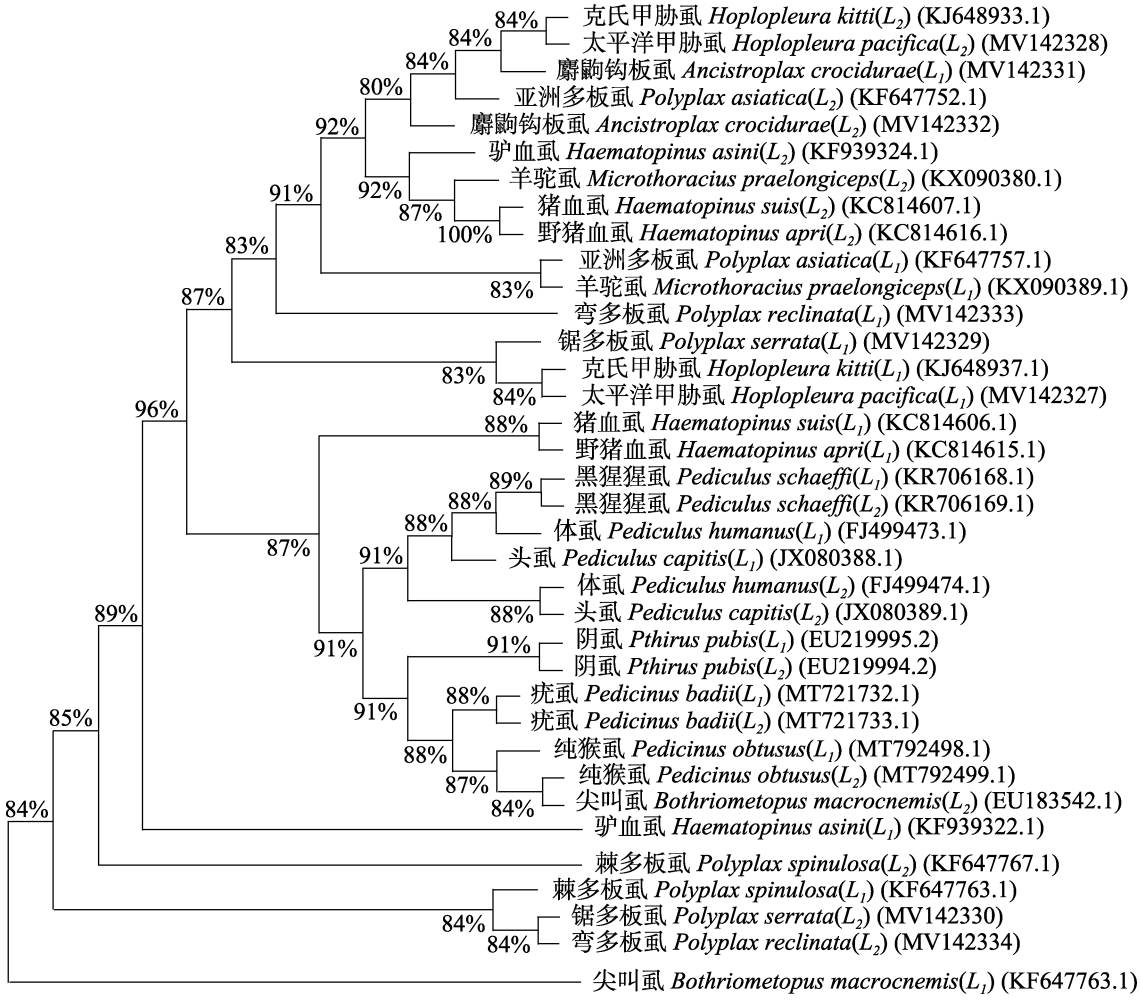

图 4　用 MP 法构建 17 种吸虱 $trnL_1(tag)$和 $trnL_2(taa)$基因序列的进化关系

Fig. 4　Evolutionary relationship inferred from $trnL_1(tag)$ and $trnL_2(taa)$ gene sequence of 17 species of sucking lice using MP methods

独立进化；微胸虱科微胸虱属（羊驼虱）的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因彼此独立进化。

3 讨论

传统观点认为动物典型的线粒体基因组一般是单一的环状结构，通常包含 37 个基因和一个非编码控制区，极少发现重排（Kumar *et al.*，2019），而在吸虱亚目线粒体基因组中观察到了大量重排的基因。本文中 17 种吸虱的线粒体基因组均发生了裂化现象（Shao and Barker，2010；Shao *et al.*，2012，2015，2017；董文鸽等，2013；Jiang *et al.*，2013；Dong *et al.*，2014a，2014b；Song *et al.*，2014；Herd *et al.*，2015；Fu *et al.*，2020）。不同属吸虱的线粒体基因组裂变模式差异较大，同属吸虱的线粒体基因组裂变模式差异较小。同属吸虱个体的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因二级结构相似且等同序列长度相近。在 17 种吸虱的34个tRNA基因中共发现10对错配碱基，碱基的错配可以在后期校正，因此并不影响基因行使正常功能（Lavrov *et al.*，2000）。常见典型单一环状线粒体基因组物种的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因等同序列长度在 6-10 bp 之间（Shao *et al.*，2001；Covacin *et al.*，2006；Cameron *et al.*，2007）。在虱属、阴虱属和猴虱属吸虱中的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因有较长的等同序列（32-35 bp）；在甲胁虱属和钩板虱属吸虱中的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因有很短的等同序列（7-8 bp）；其余吸虱属中的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因的等同序列长度介于二者之间。在外群尖叫虱中未发现较长的等同序列。不同属吸虱等同序列长度的变化可能是属级水平的潜在同源性状。此外，Shao 等（2015）认为在吸虱个体中观察到的 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因协同进化是长期的或发生在远缘物种间，而独立进化是短期（两次重组事件间）的或发生在近缘物种间。若重组仅发生在部分基因间，那么协同进化将仅针对重组部分，而基因的其他部分将独立进化。

对于吸虱线粒体基因组裂化的原因目前仍不清楚，早先的研究推测可能与其吸血习性相关，但在袋鼠虱 *Heterrodoxus macropus* 及其他吸血性节肢动物，如蚊、锥蝽和蜱中都没有发现裂化线粒体基因组（Beard *et al.*，1993；Black and Roehrdanz，1998；Donson *et al.*，2001；Shao *et al.*，2009）。David 等（2004）猜测线粒体基因组裂化可能是达尔文进化论产生的后果，或者由随机遗传漂变引起（Kolesnikov and Gerasimov，2012）。而更多的推测是线粒体单链 DNA 结合蛋白（mtSSB）的缺失以及寄生的生活方式导致了微环形成及稳定（Taanman，1999；Cameron *et al.*，2011），但 mtSSB 蛋白缺失无法解释较大的线粒体微环（7-8 kb）的复制（Wei *et al.*，2012），在没有 mtSSB 蛋白情况下，mtDNA 复制的产物大小仅在 2 kb 左右。与此相反的观点是根据 rococo 遗传系统来解释线粒体基因组的裂化的原因，即物种可通过返祖现象来减轻基因积累的突变和重组，否则这些突变和重组对于生物的存活是致命的（Landweber，2007）。此外，mtDNA 在生殖系中也可通过纯化选择，消除严重的突变（Wai *et al.*，2008）。魏丹丹等（2014）认为线粒体基因组裂化是重组和删除共同作用的结果。目前的数据未能准确推测吸虱线粒体基因组最原始的祖先排列模式，裂化的线粒体基因组有可能是吸虱祖先的基因排列，亦或是进化的选择，还需积累更多的数据去深入探究吸虱亚目裂化线粒体基因组结构特征和进化机制来分析吸虱裂化线粒体基因组的不同模式对 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因等同序列长度的影响及 $trnL_1$(*tag*)和 $trnL_2$(*taa*)基因序列的进化关系。

参考文献 (References)

Beard CB, Hamm DM, Collins FH, 1993. The mitochondrial genome of the mosquito *Anopheles gambiae*: DNA sequence, genome organization, and comparisons with mitochondrial sequences of other insects. *Insect Mol. Biol.*, 2(2): 103–124.

Boore JL, Collins TM, Stanton D, Brown WM, 1995. Deducing the pattern of arthropod phylogeny from mitochondrial DNA rearrangements. *Nature*, 376(6536): 163–165.

Boore JL, 1999. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Res.*, 27(8): 1767–1780.

Black WC, Roehrdanz RL, 1998. Mitochondrial gene order is not conserved in arthropods: Prostriate and metastraite tick

mitochondrial genomes. *Mol. Biol. Evol.*, 1998, 15(12): 1772–1785.

Cameron SL, Johnson KP, Whiting MF, 2007. The mitochondrial genome of the screamer louse *Bothriometopus* (Phthiraptera: Ischnocera): Effects of extensive gene rearrangements on the evolution of the genome. *J. Mol. Evol.*, 65(5): 589–604.

Cameron SL, Yoshizawa K, Mizukoshi A, Whiting MF, Johnson KP, 2011. Mitochondrial genome deletions and minicircles are common in lice (Insecta: Phthiraptera). *BMC Genomics*, 12(1): 1–15.

Chin TH, 1999. Taxonomy and Fauna of Sucking Lice (Anoplura) in China. Beijing: Science Press. 1–132. [金大雄, 1999. 中国吸虱的分类和检索. 北京: 科学出版社. 1–132.]

Covacin C, Shao R, Cameron S, Barker SC, 2006. Extraordinary number of gene rearrangements in the mitochondrial genomes of lice (Phthiraptera: Insecta). *Insect Mol. Biol.*, 15(1): 63–68.

David LR, Vincent SS, Shaless LH, Alan RR, Dale HC, 2004. Genetic analysis of lice supports direct contact between modern and Archaic Humans. *PLoS Biol.*, 2(11): 1–12.

Dowton M, Austin AD, 1999. Evolutionary dynamics of a mitochondrial rearrangement “Hot Spot” in the Hymenoptera. *Mol. Biol. Evol.*, 16(2): 298–309.

Dong WG, Guo XG, Men XY, Qian TJ, Wu D, 2009. Diversity of sucking lice on ssmall mammals in the surrounding areas of Erhai Lake in Yunnan. *Entomotaxonomia*, 31(1): 1–13.

Dong WG, Guo XG, Jin DC, Xue SP, Qin F, Song S, Barker SC, Shao RF, 2013. Understanding mitochondrial genome fragmentation in parasitic lice (Insecta: Phthiraptera). *Hereditas*, 35(7): 847–855. [董文鸽, 郭宪国, 金道超, 薛士鹏, 秦凤, Simon Song, Stephen C. Barker, Renfu Shao, 2013. 虱目裂化线粒体基因组研究进展. 遗传, 35(7): 847–855.]

Dong WG, Song S, Jin DC, Guo XG, Shao RF, 2014a. Fragmented mitochondrial genomes of the rat lice, *Polyplax asiatica* and *Polyplax spinulosa*: Intra-genus variation in fragmentation pattern and a possible link between the extent of fragmentation and the length of life cycle. *BMC Genomics*, 15(44): 1–12.

Dong WG, Song S, Guo XG, Jin DC, Yang QQ, Barker SC, 2014b. Fragmented mitochondrial genomes are present in both major clades of the blood-sucking lice (suborder Anoplura): Evidence from two Hoplopleura rodent lice (Family Hoplopleuridae). *BMC Genomics*, 15(751): 1–13.

Durden LA, Musser GG, 1994. The sucking lice (Insecta, Anoplura) of the world: A taxonomic checklist with records of mammalian hosts and geographical distributions. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.*, 218(1): 1–90.

Fu YT, Dong YL, Wang W, Liu GH, Shao RF, 2020. Fragmented mitochondrial genomes evolved in opposite directions between closely related macaque louse *Pedicinus obtusus* and colobus louse *Pedicinus badii*. *Genomics*, 112(6): 4924–4933.

Gissi C, lannelli F, Pesole G, 2008. Evolution of the mitochondrial genome of Metazoa as exemplified by comparison of congeneric species. *Heredity (Edinb)*, 101(4): 301–320.

Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G, 2012. Mitochondria: Master regulators of danger signaling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 13(12): 780–788.

Gibney VJ, Campbell JB, Boxler DJ, Clanton DC, Deutscher GH, 1985. Effects of various infestation levels of cattle lice (Mallophaga: Trichodectidae and Anoplura: Haematopinidae) on feed efficiency and weight gains of beef heifers. *J. Econ. Entomol.*, 78(6): 1304–1307.

Guo XG, Qian TJ, Guo LJ, Wang J, Dong WG, Zhang L, Ma ZM, Li W, 2004. Primary investigation on species of sucking lice in Yunnan of China. *Chin. J. Parasit. Dis. Con.*, 17(6): 1–4.

Herd KE, Barker SC, Shao RF, 2015. The mitochondrial genome of the chimpanzee louse, *Pediculus schaeffi*: Insights into the process of mitochondrial genome fragmentation in the blood-sucking lice of great apes. *BMC Genomics*, 16(661): 1–9.

Hu L, 2019. Characterization and phylogenetic implications of the complete mitochondrial genome of Syrphidae. *Genes*(*Basel*), 10(8): 1–13.

Hornok S, Hofmann-Lehmann R, Fernandez de Mera IG, Mera ML, Elek V, Hajtos I, Repasi A, Gonczi E, Tanczos B, 2010. Survey on blood-sucking lice (Phthiraptera: Anoplura) of ruminants and pigs with molecular detection of *Anaplasma* and *Rickettsia* spp. *Vet. Parasitol.*, 174(3): 355–358.

Jiang HW, Barker SC, Shao RF, 2013. Substantial variation in the extent of mitochondrial genome fragmentation among blood-sucking lice of mammals. *Genome Biol. Evol.*, 5(7): 1–11.

Kolesnikov AA, Gerasimov ES, 2012. Diversity of mitochondrial genome organization. *Biochemistry*, 77(13): 1424–1435.

Krieger G, Lupo O, Levy AA, Barkai N, 2020. Independent evolution of transcript abundance and gene regulatory dynamics. *Genome Res.*, 30(7): 1000–1011.

Kumar V, Tyagi K, Kundu S, Chakraborty R, Singha D, Chandra K, 2019. The first complete mitochondrial genome of marigold pest thrips, *Neohydatothrips samayunkur* (Sericothripinae) and comparative analysis. *Sci. Rep.*, 9(1): 1–11.

Kumazawa Y, Nishida M, 1995. Variations in mitochondrial tRNA gene organization of reptiles as phylogenetic markers. *Mol. Biol. Evol.*, 12(1): 759–772.

Lyer A, Hennessey D, O'Keefe S, Patterson J, Wang WW, Wong GKS, Gniadecki R, 2020. Independent evolution of cutaneous

lymphoma subclones in different microenvironments of the skin. *Sci Rep*., 10(1): 1–8.

Lavrov DV, Brown WM, Boore JL, 2000. A novel type of RNA editing occurs in the mitochondrial tRNAs of the centipede *Lithobius forficatus*. *Proc. Natl. Acad. Sci*., 97(25): 1–5.

Landweber FL, 2007. Why genomes in pieces? *Science*, 318(5849): 405–407.

Li W, Chen T, Dong WG, 2020. Phylogeny of the Anoplura based on variation in 16SrRNA sequences and the extent of mitochondrial genome fragmentation in this group. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(6): 1343–1354. [李伟, 陈婷, 董文鸽, 2020. 基于线粒体 16SrRNA 序列和线粒体基因组裂化程度分析吸虱亚目系统发育. 应用昆虫学报, 57(6): 1343–1354.]

Macey JR, Larson A, Ananjeva NB, Fang Z, Papenfuss TJ, 1997. Two novel gene orders and the role of light-strand replication in rearrangement of the vertebrate mitochondrial genome. *Mol. Biol. Evol.*, 14(1): 91–104.

Meng YF, Guo XG, 2008. Fauna and species diversity of sucking lice in Yunnan. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(4): 1–7. [孟艳芬, 郭宪国, 2008. 云南省吸虱昆虫区系及物种多样性. 昆虫知识, 45(4): 1–7.]

Nedelcu AM, 2019. Independent evolution of complex development in animals and plants: Deep homology and lateral gene transfer. *Development Genes and Evolution*, 229(1): 25–34.

Park CB, Larsson NG, 2011. Mitochondrial DNA mutations in disease and aging. *J. Cell Biol.*, 193(5): 809–818.

Shao RF, Campbell NJH, Barker SC, 2001. Numerous gene rearrangements in the mitochondrial genome of the wallaby louse, *Heterodoxus macropus* (Phthiraptera). *Mol. Biol. Evol.*, 18(5): 858–865.

Shao RF, Barker SC, 2009. The single mitochondrial chromosome typical of animals has evolved into 18 minichromosomes in the human body louse, *Pediculus humanus*. *Genome Res.*, 19(5): 904–912.

Shao RF, Zhu XQ, Barker SC, Herd K, 2012. Evolution of extensively fragmented mitochondrial genomes in the lice of humans. *PLoS ONE*, 8(9): 1–14.

Shao RF, Barker SC, Li H, Song S, Poudel S, Su S, 2015. Fragmented mitochondrial genomes in two suborders of parasitic lice of eutherian mammals (Anoplura and Rhynchophthirina, Insecta). *Sci. Rep*., 30(5): 1–11.

Shao RF, Li H, Barker FC, Song S, 2017. The mitochondrial genome of the guanaco louse, *Microthoracius praelongiceps*: Insights into the ancestral mitochondrial karyotype of sucking lice (Anoplura, Insecta). *Genome Biol. Evol.*, 9(2): 431–445.

Smith ESJ, Park TJ, Lewin GR, 2020. Independent evolution of pain insensitivity in African mole-rats: Origins and mechanisms. *J. Comp. Physiol. A-Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol.*, 206(3): 312–325.

Song SD, Barker SC, Shao RF, 2014. Variation in mitochondrial minichromosome composition between blood-sucking lice of the genus *Haematopinus* that infest horses and pigs. *Parasites & Vectors*, 7(144): 1–8.

Stampar SN, Broe MB, Macrander J, Daly M, 2019. Linear mitochondrial genome in Anthozoa (Cnidaria): A case study in Ceriantharia. *Sci. Rep*., 9(1): 1–12.

Thyagarajan B, Padua RA, Campbell C, 1996. Mammalian mitochondria possess homologous DNA recombination activity. *J. Biol.Chem.*, 271(44): 1–8.

Taanman JW, 1999. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1410(2): 103–123.

Wai T, Teoli D, Shoubridge EA, 2008. The mitochondrial DNA genetic bottleneck results from replication of a subpopulation of genomes. *Nature Genet*., 40(12): 1484–1488.

Wang ZF, Shen X, Liu B, Su JP, Yonezawa T, Yu Y, Guo SC, Ho SYW, Vila C, Hasegawa M, Liu J, 2010. Phylogeographical analyses of domestic and wild yaks based on mitochondrial DNA: New data and reappraisal. *J. Biogeogr.*, 37(12): 2332–2344.

Wei DD, Shao RF, Yuan ML, Wang JJ, 2012. The multipartite mitochondrial genome of *Liposcelis bostrychophila*: Insights into the evolution of mitochondrial genomes in bilateral animals. *PLoS ONE*, 7(3): 1–12.

Wei DD, Shao RF, Chen SC, Wang JJ, 2014. Progress in mitochondrial genome diversity and phylogeny of Psocodea. *Acta Entomologica Sinica*, 57(4): 483–494. [魏丹丹, 邵韧夫, 陈世春, 王进军, 2014. 啮总目昆虫的线粒体基因组多样性及系统发育研究进展. 昆虫学报, 57(4): 483–494.]

Wei DD, Lang N, Tao Y, He W, Tu YQ, Miao ZQ, 2019. The mitochondrial genome of the brown citrus aphid Aphis (Toxoptera) citricidus: Insights into the repeat regions in aphids and phylogenetic implications. *Int. J. Biol. Macromol.*, 136(2019): 531–539.

White DJ, Wolff JN, Pierson M, Gemmell NJ, 2008. Revealing the hidden complexities of mtDNA inheritance. *Mol. Ecol.*, 17(23): 4925–4943.

Xu HX, Chen WB, Dai Y, 2020. A new player in cancers：tRNA. *Medical Recapitulate*, 26(3): 1–6. [徐慧璇, 陈文标, 戴勇, 2020. tRNA 影响肿瘤发生发展的研究进展. 医学综述, 26(3): 1–6.]

Zhang X, Kang ZH, Ding SG, Wang YY, Borkent C, 2019. Mitochondrial genomes provide insights into the phylogeny of Culicomorpha (Insecta: Diptera). *Int. J. Mol. Sci.*, 20(3): 1–14.