

棒尾小蛭蠹线粒体基因组特征 及其系统进化研究*

刘菲** 詹明德 王立志*** 束潇潇

(陕西学前师范学院生命科学与食品工程学院, 西安 710061)

摘要 【目的】棒尾小蛭蠹隶属于直翅目蠹斯科蛭蠹亚科。目前蛭蠹亚科的研究主要集中于形态分类, 系统进化研究较少。为探究棒尾小蛭蠹线粒体基因组特征, 丰富蛭蠹亚科线粒体基因组数据库, 为蛭蠹亚科线粒体基因组比较和系统发育研究提供数据支持, 本研究对棒尾小蛭蠹的线粒体基因组进行测定、组装、注释和分析, 并探讨了棒尾小蛭蠹系统发育地位和蛭蠹亚科系统进化关系。【方法】本研究采用高通量测序技术对棒尾小蛭蠹基因组进行测序, 组装获得完整的线粒体基因组序列, 并进行注释和详细分析。选取包括棒尾小蛭蠹在内的 12 个蛭蠹亚科物种的线粒体基因组序列, 利用 13 个蛋白编码基因和 2 个 rRNA 基因构建蛭蠹亚科系统进化树。【结果】棒尾小蛭蠹线粒体基因组序列总长度为 15 618 bp, 包含 13 个蛋白质编码基因、22 个 tRNA 基因、2 个 rRNA 基因和 1 个控制区, 基因排列紧凑, 具有昆虫祖先序列相同的基因排序; 棒尾小蛭蠹线粒体基因组 A+T 占总碱基的 70.7%, 存在明显的 AT 偏向性; 13 个蛋白编码基因中, 除 *ND1* 以 TTG 为起始密码子外, 其余均为 ATN; 除 *COX1*、*ND5* 和 *ND4* 使用不完整终止密码子 T, 其余均使用 TAG 或 TAA 作为终止信号; 22 个 tRNAs 中, 除 tRNA^{Ser(AGN)} 外均为典型的三叶草结构。【结论】本研究获得了棒尾小蛭蠹完整的线粒体基因组序列, 贝叶斯系统树显示棒尾小蛭蠹与格尼剑蠹、斑翅筒栖蠹和斑腿栖蠹的亲缘关系更近。

关键词 棒尾小蛭蠹; 线粒体基因组; 蛭蠹亚科; 系统发育

Mitochondrial genome characteristics and phylogeny of *Microconema clavata*

LIU Fei** ZHAN Ming-De WANG Li-Zhi*** SHU Xiao-Xiao

(College of Life Sciences and Food Engineering, Shaanxi Xueqian Normal University, Xi'an 710061, China)

Abstract 【Objectives】To investigate the mitochondrial genome of *Microconema clavata* (Meconematinae, Tettigoniidae, Orthoptera), and thereby enhance the Meconematinae's mitochondrial genome database to facilitate mitochondrial genome comparisons and phylogenetic research on this group. 【Methods】We measured, assembled, annotated and analyzed the mitochondrial genome of *M. clavata*, in order to determine the phylogenetic relationships of this species within the Meconematinae. We used next-generation sequencing technology to sequence the genome of *M. clavata*, assembled the complete mitochondrial genome sequence, then annotated and analyzed it in detail. The mitochondrial genome sequences of 12 species of the Meconematinae, including *M. clavata*, were selected to construct a phylogenetic tree based on differences in 13 protein coding genes and two rRNA genes. 【Results】The total length of the mitochondrial genome sequence of *M. clavata* was 15 618 bp, which contained 13 protein coding genes, 22 tRNA genes, two rRNA genes and one control region. The genes were arranged compactly and had the same sequence as ancestral species. The A+T of the mitochondrial genome of *M. clavata*

*资助项目 Supported projects: 陕西省大学生创新创业训练计划项目 (S202314390053); 陕西基础科学研究院科研计划项目 (22JHQ042); 陕西省科技计划项目 (2022NY-166); 陕西学前师范学院青年教师创新能力提升计划项目 (2021QN05) 和陕西高校青年创新团队“秦岭药食同源生物资源保护与利用创新团队”

**第一作者 First author, E-mail: liufeisuanjinjin@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: 214479670@qq.com

收稿日期 Received: 2022-12-12; 接受日期 Accepted: 2023-05-29

accounted for 70.7% of the total bases, and there was an obvious AT bias. With the exception of *ND1* which began with TTG, the remainder of the 13 protein coding genes began with ATN. All genes have TAG or TAA as the termination signal, except *COX1*, *ND5* and *ND4*, which have an incomplete termination codon T. All other tRNAs have a typical clover structure except tRNA^{Ser(AGN)}. [Conclusion] The complete mitochondrial genome sequence of *M. clavata* was obtained. A Bayesian phylogenetic tree indicates that *M. clavata* is most closely related to *Xiphidiopsis gurneyi*, *Xizicus maculatus* and *Xizicus fascipes*.

Key words *Microconema clavata*; mitochondrial genome; Meconematinae; phylogeny

螽斯科 Tettigoniidae 是直翅目 Orthoptera 的第二大类群, 目前全世界共记载 22 亚科 1 263 属 8 005 种, 中国共记录 11 亚科 149 属 677 种 (王平, 2017), 种类记录非常丰富。螽斯中既有重要的农林害虫, 也有重要的资源昆虫, 还有重要的昆虫天敌, 可作为生物防治的潜在资源 (李娜, 2008)。因此, 螽斯相关研究具有重要的理论和应用价值。

蛭螽亚科 Meconematinae 隶属于螽斯科, 全世界记录 122 属 820 余种, 中国记录 42 属 220 种 (王瀚强, 2015)。目前国内外对蛭螽亚科的研究主要集中于经典形态分类, 描述了很多新属新种。刘宪伟和毕道英 (1994) 记述中国蛭螽亚科饰尾螽属 *Cosmetura* 和剑螽属 *Xiphidiopsis* 各 1 新种。石福明和郑哲民 (1995) 记录剑螽属 1 新种。石福明和郑哲民 (1995, 1996) 报道剑螽属 5 新种。慕芳红等 (2000) 记述蛭螽亚科 3 新种。Shi 和 Chen (2002) 记述剑螽属 2 新种。边迅 (2012) 报道蛭螽亚科新属三岛螽属 *Tamdaora* 和该属 1 新种。Feng 等 (2017) 描述了栖螽属 *Xizicus* 1 新种并展示了该属其他 2 物种的重要形态特征。Chen 等 (2019) 描述了来自广西的栖螽属 1 新种。Cui 等 (2020) 报道了云南的栖螽属 2 新种。Duan 等 (2022) 描述了来自云南的小蛭螽属 *Microconema* 1 新种。

蛭螽亚科系统发育相关研究较少。有些学者认为蛭螽亚科为单系群 (刘菲, 2017; Zhou *et al.*, 2017), 但有些学者并不认同 (Mugleston *et al.*, 2018)。基于线粒体 *COI* 和 *12S rRNA* 基因序列, 裘明 (2011) 对蛭螽亚科属间的系统发育关系进行初步探讨。王瀚强 (2015) 结合形态支序分类和分子系统学方法, 基于 *COI* 和 *28SrRNA* 基因

序列, 探讨了中国蛭螽亚科各属的系统发育关系。刘菲 (2017) 对贺氏东栖螽 *Xizicus howardi* 基因组进行测序, 并组装了线粒体基因组序列, 结合从 NCBI Genebank 下载的 17 条螽斯科物种线粒体基因组序列, 构建了螽斯科系统进化树并进行探讨。Wang 等 (2020) 基于 *COI*、*CYTB* 及 *ITS1-5.8S rDNA-ITS2* 共 3 个基因片段对华穹螽属 *Sinocyrtaspis* 部分物种进行系统发育分析。随着线粒体基因组测序方法的发展, 陆续有蛭螽亚科物种的线粒体基因组被测定 (Yang *et al.*, 2012; 沙森等, 2013; Zhou *et al.*, 2017; Mao *et al.*, 2018a, 2018b, 2019, 2020; Han *et al.*, 2019; Chang *et al.*, 2020), 但与蛭螽亚科丰富的物种数量相比, 仍然只是非常少的一部分。

棒尾小蛭螽 *Microconema clavata*, 隶属于蛭螽亚科, 是报道自我国的第一个蛭螽种类。为更好地研究蛭螽亚科的系统发育关系, 本研究测定了棒尾小蛭螽的全线粒体基因组序列并进行分析, 初步构建了蛭螽亚科系统发育树, 丰富了蛭螽亚科的线粒体基因组序列数据库, 为蛭螽亚科系统进化研究提供了有价值的数据库资源。

1 材料与方法

1.1 DNA 文库的构建和基因组测序

棒尾小蛭螽标本采自河南省三门峡市卢氏县。取标本后足股节肌肉, 使用 DNA 提取试剂盒提取总 DNA, 通过电泳和 NanoDrop 技术检测 DNA 的质量, 再利用超声波将合格的 DNA 样品打断成短的片段, 获得片段化的 DNA 之后, 然后再对其进行一系列的处理, 最后利用 PCR 扩增技术得到 DNA 测序文库。使用 Illumina HiSeq 平台对检测合格的 DNA 文库进行测序。

1.2 棒尾小蚤蠹线粒体基因组的组装

使用 CLC Genomics Workbench 9.0 对测序所得的原始读取片段 (Raw reads) 进行过滤处理, 得到高质量读取片段 (Clean reads)。以斑腿栖蠹 *Xizicus fascipes* 的线粒体基因组序列 (GenBank 登录号为 JQ326212) 为参考序列, 运行 Mira 4.0.2 和 MITObim 1.9.1 对棒尾小蚤蠹线粒体基因组序列进行组装 (Hahn *et al.*, 2013)。

1.3 棒尾小蚤蠹线粒体基因组序列的注释

使用 Geneious Prime 2022.2.2 对棒尾小蚤蠹线粒体基因组序列进行注释, 得到棒尾小蚤蠹线粒体基因组序列中各基因的起始位置、终止位置、方向和长度, 蛋白质编码基因的起始密码子和终止密码子, 各基因间隔碱基数可通过计算得到。通过 OGDRAW 1.3.1 导出棒尾小蚤蠹线粒体基因组结构图 (Greiner *et al.*, 2019)。

1.4 碱基组成、密码子和氨基酸使用频率分析

使用 MEGA 11.0.13 统计棒尾小蚤蠹全线粒体基因组、蛋白质编码基因、tRNA 基因、rRNA 基因、控制区、蛋白质编码基因密码子第一位、第二位和第三位的碱基组成和碱基数目, 通过 “Codon Usage” 统计蛋白质编码基因的密码子使用频次和相对同义密码子使用频率 (Relative synonymous codon usage, RSCU), 通过 “Amino acid composition” 统计氨基酸的使用频率。

1.5 tRNA 二级结构的预测

通过 MITOS 2 软件 (<http://mitos.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>) 对棒尾小蚤蠹的 tRNA 和 rRNA 基因位置以及 tRNA 二级结构进行预测。

1.6 蚤蠹亚科系统发育树的构建

本研究共选取 14 条完整的线粒体基因组序列, 包括 12 个蚤蠹亚科物种 (含棒尾小蚤蠹) 及 2 个草蠹亚科外群, 除棒尾小蚤蠹线粒体基因组序列为本研究所测得外, 其余所选物种线粒体基因组序列均从 GenBank 数据库下载, GenBank 登陆号如下: *Acosmetura nigrogeniculata* (MK801775)、*Pseudocosmetura anjiensis*

(KX057711)、*Alloxiphidiopsis emarginata* (MN562488)、*X. howardi* (KY458226)、*Xiphidiopsis gurneyi* (MH198673)、*Xizicus maculatus* (MG779499)、*X. fascipes* (JQ326212)、*Decma fissa* (KX057710)、*Nipponomeconema sinica* (MK903580)、*Pseudokuzicus pieli* (KX057712)、*Shoveliteratura triangula* (MN395747)、*Conocephalus melaenus* (KY407794) 和 *Conocephalus differentus* (MF347703)。

使用 Geneious Prime 2022.2.2 对以上 14 条线粒体基因组序列的 13 个蛋白质编码基因和 2 个 rRNA 基因进行提取, 并使用 Muscle 3.8.425 分别进行多序列比对, 利用 SequenceMatrix 1.9 将单个线粒体基因的比对结果连接成一个联合数据集, 输出为 Nexus 格式文件。利用 MrBayes 3.2.2 软件构建贝叶斯系统发育树 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003), 共运行 100 万代, 使用 TreeGraph 2.15.0 对系统进化树进行美化。

2 结果与分析

2.1 棒尾小蚤蠹线粒体基因组特征

棒尾小蚤蠹线粒体基因组序列总长为 15 618 bp, 由 37 个基因 (13 个蛋白质编码基因、22 个 tRNA 基因和 2 个 rRNA 基因) 和 1 个 D-Loop 区 (控制区) 组成 (表 1, 图 1), 序列已提交至 GenBank 数据库, 登录号为 OP851518。棒尾小蚤蠹线粒体基因组基因结构紧凑, 基因间隔区长度为 0-17 bp, 具有昆虫祖先序列典型的基因排序, 具体排列顺序如下: *tRNA^{Ile}/tRNA^{Gln}/tRNA^{Met}/ND2/tRNA^{Trp}/tRNA^{Cys}/tRNA^{Tyr}/COX1/tRNA^{Leu}/COX2/tRNA^{Lys}/tRNA^{Asp}/ATP8/ATP6/COX3/tRNA^{Gly}/ND3/tRNA^{Ala}/tRNA^{Arg}/tRNA^{Asn}/tRNA^{Ser}/tRNA^{Glu}/tRNA^{Phe}/ND5/tRNA^{His}/ND4/ND4L/tRNA^{Thr}/tRNA^{Pro}/ND6/CYTB/tRNA^{Ser}/ND1/tRNA^{Leu}/16S rRNA/tRNA^{Val}/12S rRNA/D-Loop*, 其中, N 链编码 14 个基因, J 链编码 23 个基因 (表 1, 图 1)。

2.2 棒尾小蚤蠹线粒体基因组蛋白质编码基因

棒尾小蚤蠹线粒体基因组蛋白编码基因的起始密码子使用情况如下: ATT (ND2, COX1, ATP8, ND3 和 ND5)、ATG (COX2, ATP6, COX3,

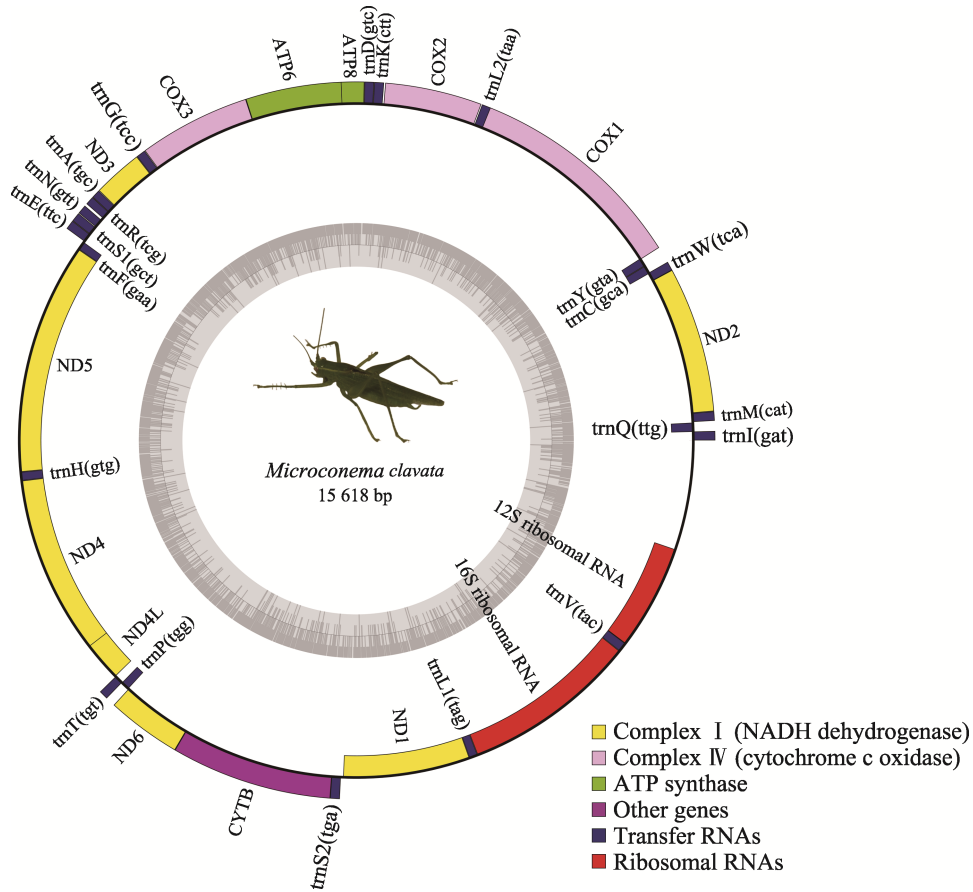


图 1 棒尾小蛭蟥线粒体基因组结构图

Fig. 1 The map of *Microconema clavata* mitogenome

表 1 棒尾小蛭蟥线粒体基因组组成

Table 1 Organization of *Microconema clavata* mitogenome

基因/区域 Gene/Region	方向 Direction	长度 (bp) Length (bp)	起始位置 (bp) Start position(bp)	终止位置 (bp) End position (bp)	间隔 (bp) Intergenic length (bp)	起始密码子 Start condon	终止密码子 End condon
<i>tRNA^{Ile}</i>	Forward	66	1	66			
<i>tRNA^{Gln}</i>	Reverse	69	64	132	- 3		
<i>tRNA^{Met}</i>	Forward	66	137	202	4		
<i>ND2</i>	Forward	1 029	203	1 231	0	ATT	TAA
<i>tRNA^{Trp}</i>	Forward	66	1 230	1 295	- 2		
<i>tRNA^{Cys}</i>	Reverse	65	1 288	1 352	- 8		
<i>tRNA^{Tyr}</i>	Reverse	65	1 353	1 417	0		
<i>COX1</i>	Forward	1 540	1 410	2 949	- 8	ATT	T
<i>tRNA^{Leu (UUR)}</i>	Forward	65	2 950	3 014	0		
<i>COX2</i>	Forward	684	3 020	3 703	5	ATG	TAA
<i>tRNA^{Lys}</i>	Forward	69	3 712	3 780	8		
<i>tRNA^{Asp}</i>	Forward	67	3 781	3 847	0		

续表 1 (Table 1 continued)

基因/区域 Gene/Region	方向 Direction	长度 (bp) Length (bp)	起始位置 (bp) Start position (bp)	终止位置 (bp) End position (bp)	间隔 (bp) Intergenic length (bp)	起始密码子 Start codon	终止密码子 End codon
<i>ATP8</i>	Forward	165	3 848	4 012	0	ATT	TAA
<i>ATP6</i>	Forward	678	4 006	4 683	- 7	ATG	TAA
<i>COX3</i>	Forward	789	4 683	5 471	- 1	ATG	TAA
<i>tRNA^{Gly}</i>	Forward	67	5 473	5 539	1		
<i>ND3</i>	Forward	354	5 540	5 893	0	ATT	TAA
<i>tRNA^{Ala}</i>	Forward	62	5 895	5 956	1		
<i>tRNA^{Arg}</i>	Forward	63	5 957	6 019	0		
<i>tRNA^{Asn}</i>	Forward	67	6 036	6 102	16		
<i>tRNA^{Ser(AGN)}</i>	Forward	67	6 105	6 171	2		
<i>tRNA^{Glu}</i>	Forward	67	6 172	6 238	0		
<i>tRNA^{Phe}</i>	Reverse	65	6 245	6 309	6		
<i>ND5</i>	Reverse	1 732	6 310	8 041	0	ATT	T
<i>tRNA^{His}</i>	Reverse	65	8 042	8 106	0		
<i>ND4</i>	Reverse	1 339	8 107	9 445	0	ATG	T
<i>ND4L</i>	Reverse	297	9 439	9 735	- 7	ATG	TAA
<i>tRNA^{Thr}</i>	Forward	66	9 737	9 802	1		
<i>tRNA^{Pro}</i>	Reverse	66	9 802	9 867	- 1		
<i>ND6</i>	Forward	528	9 869	10 396	1	ATA	TAA
<i>CYTB</i>	Forward	1 137	10 396	11 532	- 1	ATG	TAG
<i>tRNA^{Ser(UCN)}</i>	Forward	69	11 531	11 599	- 2		
<i>ND1</i>	Reverse	948	11 617	12 564	17	TTG	TAG
<i>tRNA^{Leu(CUN)}</i>	Reverse	64	12 565	12 628	0		
<i>16S rRNA</i>	Reverse	1 312	12 629	13 940	0		
<i>tRNA^{Val}</i>	Reverse	71	13 941	14 011	0		
<i>12S rRNA</i>	Reverse	790	14 011	14 800	- 1		
D-Loop	Forward	820	14 799	15 618	- 2		

ND4, *ND4L* 和 *CYTB*、*ND1* (TTG) 和 *ND6* (ATA)。使用的终止密码子有 3 种, *COX1*、*ND5* 和 *ND4* 使用 T 作为终止信号, *ND1* 和 *CYTB* 使用 TAG 作为终止信号, 其余基因 (*ND2*, *COX2*, *COX3*, *ATP8*, *ATP6*, *ND3*, *ND4L* 和 *ND6*) 都由 TAA 作为终止信号 (表 1)。

2.3 棒尾小蚤蠹线粒体基因组碱基组成

棒尾小蚤蠹线粒体基因组的碱基数目共

15 618 个, 其中碱基 T、C、A、G 的含量分别为 33.6%、18.7%、37.1% 和 10.6%, A+T 含量为 70.7%, G+C 含量为 29.3%; tRNA 基因碱基总数目为 1 457, 各碱基 T、C、A、G 的含量分别为 36.8%、10.4%、37.9% 和 15.0%, A+T 含量为 74.7%; rRNA 基因共有碱基 2 102, 碱基 T、C、A、G 的含量分别为 38.5%、7.8%、36.0% 和 17.6%, A+T 含量为 74.5%; 控制区碱基总数目为 820 个, 各碱基 T、C、A、G 的百分含量分别为 33.0%、

22.3%、35.4%和 9.3%，A+T 的含量为 68.4%；
13 个蛋白质编码基因的碱基总数为 11 225，其
碱基 T、C、A、G 的含量分别为 40.0%、15.6%、

29.6%和 14.8%，A+T 含量为 69.6%，密码子第
一位（66.3%）和第二位（68.0%）的 A+T 含量
明显低于第三位（74.5%）（表 2）。

表 2 棒尾小蛭蟥线粒体基因组碱基组成
Table 2 Nucleotide composition of *Microconema clavata* mitogenome

区域 Region	碱基组成 (%) Nucleotide composition (%)					碱基数目 (bp) Nucleotide numbers (bp)
	T	C	A	G	A+T	
全线粒体基因组 Complete mitochondrial genome	33.6	18.7	37.1	10.6	70.7	15 618
蛋白编码基因 Protein-coding genes	40.0	15.6	29.6	14.8	69.6	11 225
tRNA 基因 tRNA genes	36.8	10.4	37.9	15.0	74.7	1 457
rRNA 基因 rRNA genes	38.5	7.8	36.0	17.6	74.5	2 102
控制区 Control region	33.0	22.3	35.4	9.3	68.4	820
密码子第一位 1st codon position	37.7	14.8	28.6	18.9	66.3	3 743
密码子第二位 2nd codon position	43.3	18.4	24.7	13.6	68.0	3 741
密码子第三位 3rd codon position	38.9	13.6	35.6	11.9	74.5	3 741

2.4 棒尾小蛭蟥线粒体基因组密码子使用和氨基酸组成百分比

通过 MEGA 11.0.13 对棒尾小蛭蟥线粒体基因组 13 个蛋白编码基因的密码子使用情况进行统计，结果显示使用频率最高的密码子为 UUU、

UUA 和 AUU，使用频次分别为 264、257 和 245 次，RSCU 最高的为 UUA，其 RSCU 值为 2.85（图 2）。使用频次最高的 4 个氨基酸依次是亮氨酸 Leu（14.96%）、苯丙氨酸 Phe（10.34%）、丝氨酸 Ser（9.04%）和异亮氨酸 Ile（8.63%）（图 3）。

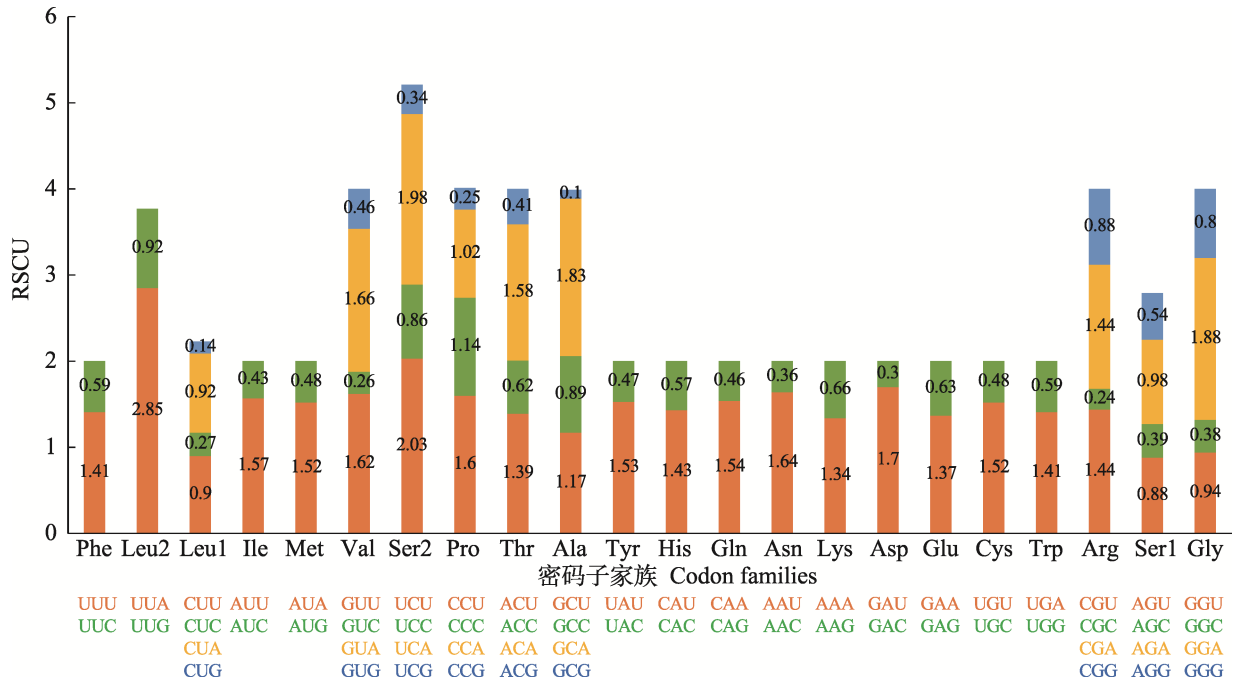


图 2 棒尾小蛭蟥线粒体基因组蛋白质编码基因的密码子使用
Fig. 2 Codon usage in protein-coding genes of *Microconema clavata* mitogenome

RSCU: 相对同义密码子使用频率 Relative synonymous codon usage.

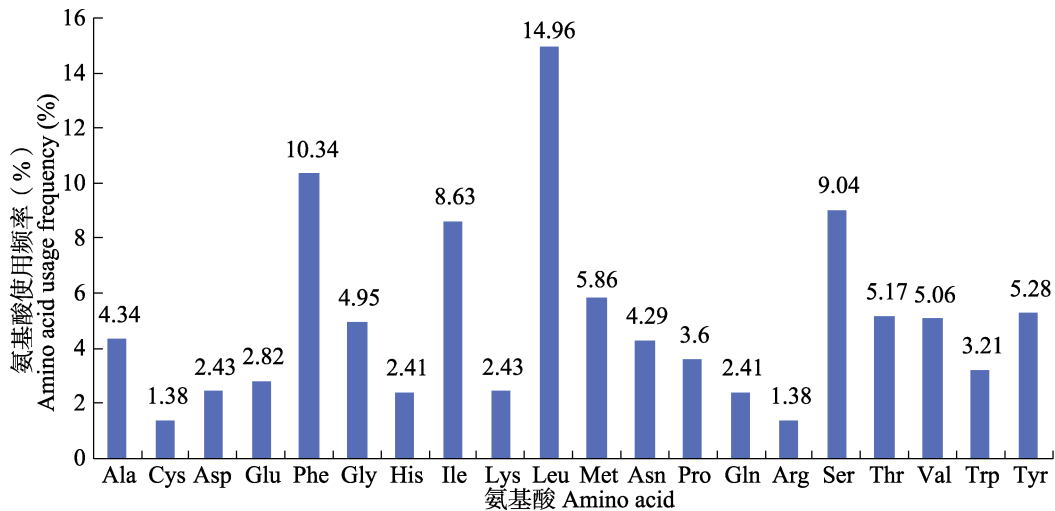


图3 棒尾小蚤蠹线粒体基因组氨基酸组成百分比

Fig. 3 Amino acid composition in protein coding genes of *Microconema clavata* mitogenome

2.5 棒尾小蚤蠹线粒体基因组 tRNA 基因、rRNA 基因和控制区

棒尾小蚤蠹线粒体基因组的 22 个 tRNA 基因长度介于 62-71 bp 之间, tRNA 相对位置见表 1。使用 MITOS 2 预测棒尾小蚤蠹线粒体基因组 tRNA 的二级结构, 结果显示, 22 个 tRNA 的二级结构除 tRNA^{Ser(AGN)} 之外, 其余均为通常的三叶草结构。16S rRNA 和 12S rRNA 的长度分别为 1 312 bp 和 790 bp, 位于 tRNA^{Leu} 和 D-Loop 区之间。D-loop 区的长度为 820 bp, 位于 12S rRNA 和 tRNA^{Ile} 之间 (表 1)。

2.6 蚤蠹亚科系统发育树

本研究选取包括棒尾小蚤蠹在内的 12 条蚤蠹亚科物种的线粒体基因组序列, 并以悦鸣草蠹 *C. melaenus* 和异刺草蠹 *C. differentus* 为外群, 提取这 14 条线粒体基因组序列的 13 个蛋白编码基因和 2 个 rRNA 基因, 构建贝叶斯系统发生树, 结果显示格尼剑蠹 *X. gurneyi* 和斑翅筒栖蠹 *X. maculatus* 关系较近, 聚为一支形成姐妹群, 再和斑腿栖蠹 *X. fascipes* 聚为一支, 然后和本研究所测的棒尾小蚤蠹 *M. clavata* 聚为一支; 凹缘异剑蠹 *A. emarginata* 和贺氏东栖蠹 *X. howardi* 聚为一支形成姐妹群, 再和前面 4 个物种聚为一支; 中华瀛蚤蠹 *N. sinica* 和皮氏拟库蠹 *P. pieli* 聚为一支形成姐妹群, 再和三角铲畸蠹 *S.*

triangula 聚为一支, 然后和裂涤蠹 *D. fissa* 聚为一支, 这 10 个物种形成一个聚类簇; 黑膝异饰尾蠹 *A. nigrogeniculata* 和安吉拟饰尾蠹 *P. anjiensis* 聚为一支, 这 2 个物种位于蚤蠹亚科的基部, 是蚤蠹亚科最原始的类群 (图 4)。

3 讨论

本研究借助高通量测序技术对棒尾小蚤蠹的全基因组进行测序, 然后使用 Mira 4.0.2 和 MITObim 1.9.1 对其进行组装, 获得完整的棒尾小蚤蠹线粒体基因组序列, 进一步利用 Geneious Prime 2022.2.2、MEGA 11.0.13 和 MITOS 2 对组装的线粒体基因组序列进行注释和详细分析。棒尾小蚤蠹线粒体基因组全长共 15 618 bp, 由 13 个蛋白质编码基因、22 个 tRNA 基因、2 个 rRNA 基因共 37 个基因和一个 D-Loop 区构成, 和大部分直翅目昆虫一样, 其基因排列十分紧密, 具有祖先相同的基因排序。棒尾小蚤蠹线粒体基因组序列中 AT 含量为 70.7%, GC 含量为 29.3%, AT 含量明显高于 GC 含量, 与其它直翅目昆虫具有类似的 AT 碱基偏向性。大多数直翅目昆虫 AT 含量集中在 70%-80% 之间, 而且碱基含量通常是 A>T>C>G (邱忠营, 2016)。棒尾小蚤蠹线粒体基因组的 13 个蛋白编码基因中, 除 *ND1* 以 TTG 为起始密码子外, 其余均为 ATN。除 *COX1*、*ND5* 和 *ND4* 使用不完整终止密码子 T, 其余蛋

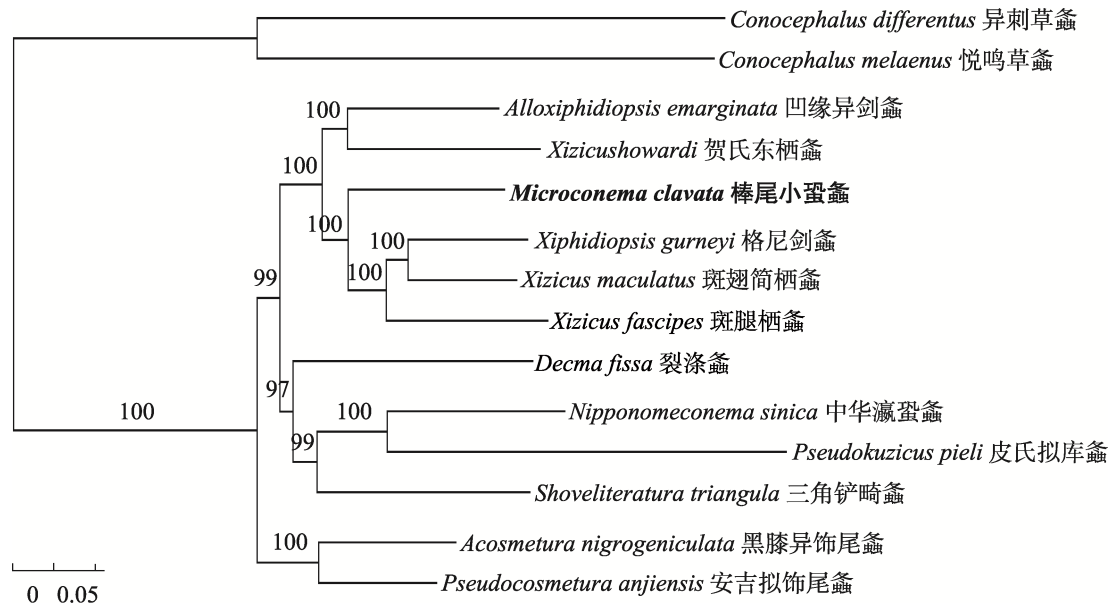


图 4 基于线粒体基因组 13 个 PCGs 和 2 个 rRNAs 的蛭螽亚科系统进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree generated based on 13 PCGs and two rRNAs using mitochondrial genomes from species in Meconematinae

数字表示置信度。The numbers represent the confidence level.

白质编码基因使用 TAG 或 TAA 作为终止信号。在直翅目昆虫中, 部分蛋白质编码基因 (*ND1*、*ND2*、*ND4*、*ND5*、*ND6*、*COX1*、*ATP8*) 均存在使用非标准起始密码子情况, 也有部分蛋白质编码基因使用不完整终止密码子 (T 或 TA) (邱忠营, 2016)。棒尾小蛭螽线粒体基因组 RSCU 最高的密码子为 UUA, 使用频次最高的 4 个氨基酸有亮氨酸 Leu、苯丙氨酸 Phe、丝氨酸 Ser 和异亮氨酸 Ile, 与螽斯科其它物种类似 (刘菲, 2016; 刘菲等, 2017; Mao *et al.*, 2018b)。

本研究以悦鸣草螽和异刺草螽为外群, 选取包括棒尾小蛭螽在内的 12 条蛭螽亚科物种的线粒体基因组序列, 构建基于 13 个蛋白编码基因和 2 个 rRNA 基因数据集的蛭螽亚科系统进化树, 结果显示格尼剑螽和斑翅筒栖螽聚为一支, 再和斑腿栖螽聚为一支, 本研究所测的棒尾小蛭螽与这 3 种亲缘关系最近, Mao 等 (2018a, 2019) 也认为格尼剑螽与栖螽属的亲缘关系较近; 凹缘异剑螽和贺氏东栖螽聚为一支, 其亲缘关系较近, 与 Mao 等 (2019) 利用蛭螽亚科 9 个物种线粒体基因组构建的系统发育树结果一致。

本研究对棒尾小蛭螽线粒体基因组序列的基本特征、碱基组成、密码子和氨基酸使用情况等进行了详细分析, 并基于蛭螽亚科线粒体基因组序列构建了贝叶斯树, 初步探讨了该亚科的系统发育关系, 为其系统发生关系研究提供数据支持和分子证据。但目前线粒体基因组已测序的蛭螽亚科物种数量较少, 分析结果未能完全说明蛭螽亚科属间的关系, 今后还需进一步增加分类单元, 从而得到更加全面稳健的蛭螽亚科系统发育树。

参考文献 (References)

- Bian X, Shi FM, Mao SL, 2012. A new record genus of Meconematinae (Orthoptera, Tettigoniidae) from China. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 37(1): 252–254. [边迅, 石福明, 毛少利, 2012. 中国蛭螽亚科一新纪录属 (直翅目, 螽斯科). *动物分类学报*, 37(1): 252–254.]
- Chang HH, Qiu ZY, Yuan H, Wang XY, Li XJ, Sun HM, Guo XQ, Lu YC, Feng XL, Majid M, Huang Y, 2020. Evolutionary rates of and selective constraints on the mitochondrial genomes of Orthoptera insects with different wing types. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 145: 106734.

- Chen LX, Mao SL, Chang YL, 2019. One new species of the genus *Xizicus* Gorochov, 1993 (Orthoptera: Tettigoniidae: Meconematinae) from Guangxi, China. *Zootaxa*, 4652(1): 196–200.
- Cui P, Liu Q, Shi FM, 2020. Two new species of the genus *Xizicus* Gorochov, 1993 (Tettigoniidae: Meconematinae: Meconematini) from Gaoligongshan, Yunnan, China. *Zootaxa*, 4748(1): 44–50.
- Duan Y, Liu Q, Chang Y, 2022. One new species of the genus *Microconema* Liu, 2005 (Orthoptera: Tettigoniidae: Meconematinae) from Yunnan, China. *Zootaxa*, 5154(1): 81–86.
- Feng JY, Shi FM, Mao SL, 2017. Review of the subgenus *Xizicus* (*Xizicus*) Gorochov, 1993 (Orthoptera: Tettigoniidae: Meconematinae) from China. *Zootaxa*, 4247(1): 68–72.
- Greiner S, Lehwerk P, Bock R, 2019. Organellar Genome DRAW (OG DRAW) version 1.3.1: Expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes. *Nucleic Acids Research*, 47(W1): W59–W64.
- Hahn C, Bachmann L, Chevreux B, 2013. Reconstructing mitochondrial genomes directly from genomic next-generation sequencing reads—a baiting and iterative mapping approach. *Nucleic Acids Research*, 41(13): e129.
- Han N, Yuan H, Wang J, Zhou YF, Mao SL, 2019. Mitochondrial genome of a brachypterous species in Meconematinae: *Acosmetura nigrogeniculata* and its phylogenetic implication. *Mitochondrial DNA B Resour.*, 4(2): 2098–2099.
- Li N, 2008. The taxonomic study on the Tettigonioidae of northeast area (Orthoptera: Ensifera). Doctoral dissertation. Changchun: Northeast Normal University. [李娜, 2008. 东北地区螞蚱总科昆虫分类学研究 (直翅目: 螞蚱亚目). 博士学位论文. 长春: 东北师范大学.]
- Liu F, 2016. Analysis of complete mitochondrial genome of *Simochlora szechwanensis* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Genomics and Applied Biology*, 35(8): 2007–2014. [刘菲, 2016. 四川华绿螞蚱线粒体基因组序列分析. 基因组学与应用生物学, 35(8): 2007–2014.]
- Liu F, 2017. Mitogenome sequence analysis of *Xizicus howardi* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Genomics and Applied Biology*, 36(8): 3194–3199. [刘菲, 2017. 贺氏东栖螞蚱线粒体基因组序列分析 (直翅目: 螞蚱科). 基因组学与应用生物学, 36(8): 3194–3199.]
- Liu F, Liu HJ, Mao SL, Shi FM, Huang Y, 2017. Analysis of mitochondrial genome in *Conocephalus differentus* (Orthoptera: Tettigoniidae). *Genomics and Applied Biology*, 36(9): 3712–3719. [刘菲, 刘卉珺, 毛少利, 石福明, 黄原, 2017. 异刺草螞蚱线粒体基因组序列分析. 基因组学与应用生物学, 36(9): 3712–3719.]
- Liu XW, Bi DY, 1994. Two new species of the subfamily Meconematinae from China (Orthoptera: Tettigonioidae). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 19(3): 329–332. [刘宪伟, 毕道英, 1994. 中国螞蚱亚科两新种 (直翅目: 螞蚱总科). 动物分类学报, 19(3): 329–332.]
- Mao SL, Lu Y, Xun LL, Zhou YF, 2019. Characterization of the mitochondrial genome of *Alloxiphidiopsis emarginata* (Orthoptera, Tettigoniidae, Meconematinae). *Mitochondrial DNA B Resour.*, 4(2): 4192–4193.
- Mao SL, Qiu ZY, Li Q, Li Y, Zhou YF, 2018a. Complete mitochondrial genome of *Xiphidiopsis (Xiphidiopsis) gurneyi* (Orthoptera, Tettigoniidae, Meconematinae). *Mitochondrial DNA B Resour.*, 3(2): 630–631.
- Mao SL, Yuan H, Chang HH, Shi FM, Zhou YF, 2020. Comparative mitochondrial genomics of *Shoveliteratura triangula* (Orthoptera, Tettigoniidae, Meconematinae) and the first description of a female specimen. *Zootaxa*, 4751(3): 507–520.
- Mao SL, Yuan H, Lu C, Zhou YF, Shi FM, Wang YC, 2018b. The complete mitochondrial genome of *Xizicus (Haploxizicus) maculatus* revealed by Next-Generation Sequencing and phylogenetic implication (Orthoptera, Meconematinae). *Zookeys*, 773(1): 57–67.
- Mu FH, He TL, Wang YW, 2000. Three new species of the family Meconematidae from China (Orthoptera: Tettigonioidae). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 25(3): 315–319. [慕芳红, 贺同利, 王裕文, 2000. 中国螞蚱科三新种 (直翅目: 螞蚱总科). 动物分类学报, 25(3): 315–319.]
- Mugleston J, Naegle M, Song H, Whiting M, 2018. A comprehensive phylogeny of Tettigoniidae (Orthoptera: Ensifera) reveals extensive ecomorph convergence and widespread taxonomic incongruence. *Insect Syst. Divers.*, 2(4): 5, 1–27.
- Qiu M, 2011. Molecular evolution of the Meconematinae based on *COI* and *12S rRNA* sequences. Master dissertation. Baoding: Hebei University. [裘明, 2011. 基于 *COI* 和 *12S rRNA* 的螞蚱亚科分子进化研究. 硕士学位论文. 保定: 河北大学.]
- Qiu ZY, 2016. Mitochondrial genome comparison, lineage and evolution of Orthoptera insects. Doctoral dissertation. Xi'an: Shaanxi Normal University. [邱忠营, 2016. 直翅目昆虫线粒体基因组比较、谱系及进化研究. 博士学位论文. 西安: 陕西师范大学.]
- Ronquist F, Huelsenbeck JP, 2003. MrBayes 3: Bayesian

- phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572–1574.
- Sha M, Lin LL, Li XJ, Huang Y, 2013. Strategy and methods for sequencing mitochondrial genome. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(2): 293–297. [沙森, 林立亮, 李雪娟, 黄原, 2013. 线粒体基因组测序策略和方法. *应用昆虫学报*, 50(2): 293–297.]
- Shi FM, Chen HM, 2002. Descriptions of two new species of *Xiphidiopsis Redtenbacher* (Orthoptera: Meconematidae) from Guizhou province, China. *Entomologia Sinica*, 9(3): 69–72.
- Shi FM, Zheng ZM, 1995. Descriptions of four new species of the genus *Xiphidiopsis* (Orthoptera: Tettigoniodea: Meconematidae). *Entomotaxonomia*, 17(3): 157–161. [石福明, 郑哲民, 1995. 中国剑螽属四新种记述 (直翅目: 螽斯总科: 蛩蟥科). *昆虫分类学报*, 17(3): 157–161.]
- Shi FM, Zheng ZM, 1996. Description of a new species of the genus *Xiphidiopsis* from China (Orthoptera: Tettigoniidae: Meconematinae). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 21(3): 332–334. [石福明, 郑哲民, 1996. 中国剑螽属一新种记述 (直翅目: 螽斯科: 蛩蟥亚科). *动物分类学报*, 21(3): 332–334.]
- Shi FM, Zheng ZM, Jiang GF, 1995. A new species *Xiphidiopsis* from Guangxi (Orthoptera: Meconematidae). *Guangxi Sciences*, 2(1): 39–40. [石福明, 郑哲民, 蒋国芳, 1995. 广西剑螽属一新种(直翅目: 蛩蟥科). *广西科学*, 2(1): 39–40.]
- Wang HQ, 2015. Systematic study on subfamily Meconematinae from China (Orthoptera, Tettigoniidae). Doctoral dissertation. Shanghai: East China Normal University. [王瀚强, 2015. 中国蛩蟥亚科系统分类研究 (直翅目, 螽斯科). 博士学位论文. 上海: 华东师范大学.]
- Wang P, 2017. Study on fauna and calling songs of Tettigoniidae in Hubei province. Master Dissertation. Baoding: Hebei University. [王平, 2017. 湖北省螽斯科区系与鸣声研究. 硕士学位论文. 保定: 河北大学.]
- Wang T, Zhu QD, Heller KG, Zhou ZJ, Shi FM, 2020. Phylogenetic relationships and phylogeography of the genus *Sinocyrtaspis* Liu, 2000 (Orthoptera: Tettigoniidae: Meconematinae) reveal speciation processes related to climate change. *Syst. Entomol.*, 45(1): 144–159.
- Yang MR, Zhou ZJ, Chang YL, Zhao LH, 2012. The mitochondrial genome of the quiet-calling katydids, *Xizicus fascipes* (Orthoptera: Tettigoniidae: Meconematinae). *J. Genet.*, 91(2): 141–153.
- Zhou ZJ, Zhao L, Liu N, Guo HF, Guan B, Di JX, Shi FM, 2017. Towards a higher-level Ensifera phylogeny inferred from mitogenome sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 108: 22–33.