

食虫虻科线粒体基因组特征及系统发育分析*

闫文会** 李 虎*** 王怡帆 赵 瑞 吴 刚

(陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西省资源生物重点实验室, 汉中 723000)

摘 要 【目的】食虫虻科 Asilidae 隶属双翅目 Diptera 短角亚目 Brachycera, 该科昆虫均为肉食性, 成虫能捕食黄蜂、蝗虫、叶蝉、蚜蝇等昆虫, 有助于保护生态系统的物种多样性。本研究旨在了解食虫虻科线粒体基因组特征及系统发育关系。【方法】论文首次对已知的 16 种食虫虻线粒体基因组全序列进行了组学分析和系统发育讨论。【结果】食虫虻科线粒体基因组具有 22 个 tRNAs, 13 个蛋白质编码基因, 2 个 rRNAs 和 1 个控制区, 基因排列顺序与亚库巴果蝇 *Drosophila melanogaster* 一致, 未发现基因重排现象; 核苷酸组成分析表明 AT 含量远高于 GC 含量, 具有明显的 AT 偏向性; *atp6*、*atp8*、*cox2*、*cox3*、*cytb*、*nad2*、*nad3*、*nad4l* 和 *nad6* 9 个基因的起始密码子均为 ATN, 而 *cox1*、*nad1*、*nad4* 和 *nad5* 除了 ATN 以外, 还有 TCG 和 GTG, 终止密码子则表现出高度的相似性, 多为 TAA、TAG 和不完整的 T 和 TA; 相对同义密码子使用频率 (Relative synonymous codon usage) 表明, 亮氨酸 Leu2 的密码子 UUA 的使用频率最高, 丙氨酸 Ala 的密码子 GCG 和苏氨酸 Thr 的密码子 ACG 的使用频率最低; 13 种蛋白质编码基因进化速率顺序为: *atp8* > *nad6* > *nad4* > *nad5* > *nad2* > *nad4l* > *nad1* > *nad3* > *atp6* > *cox2* > *cox3* > *cytb* > *cox1*。【结论】基于 PCGs 数据集的系统发育证实了食虫虻科、食虫虻亚科、细腹虫虻亚科的单系性。这为深入了解食虫虻科昆虫的生物学特征、起源进化、系统发育关系提供了科学理论依据。

关键词 食虫虻科; 线粒体基因组; 系统发育

Characterization and phylogenetic analysis of the mitochondrial genome of the Asilidae

YAN Wen-Hui** LI Hu*** WANG Yi-Fan ZHAO Rui WU Gang

(Shaanxi Key Laboratory of Bio-Resources, School of Biological Science & Engineering,
Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China)

Abstract [Aim] The family Asilidae belongs to Brachycera, a suborder of the Diptera. All insects in this family are carnivorous, the adults preying on insects such as wasps, locusts, leafhoppers and flower flies. This study aims to better understand the mitochondrial genome characteristics and phylogenetic relationships of the Asilidae. [Methods] This paper presents the results of the first omics analysis and phylogenetic discussion based on the mitochondrial genome sequences of 16 species of this group. [Results] The mitochondrial genome of the Asilidae includes 22 tRNAs, 13 protein coding genes, 2 rRNAs, and 1 control region. The gene sequence is consistent with that of *Drosophila melanogaster*, and no gene rearrangement has been found. Analysis of the nucleotide composition shows that AT content is much higher than GC content, indicating a clear AT bias. The starting codons of nine genes, including *atp6*, *atp8*, *cox2*, *cox3*, *cytb*, *nad2*, *nad3*, *nad4l*, and *nad6* are all ATN, whereas *cox1*, *nad1*, *nad4*, and *nad5* not only have ATN but also TCG and GTG. The end codons are very similar, mostly TAA, TAG, but also the incomplete termination codons T and TA. Relative synonymous codon usage shows that the UUA codon of Leu2 was the most frequent, whereas the GCG codon of Ala and the ACG codon of Thr were the least common. The evolutionary rate of the 13 protein coding genes can be ranked as follows: *atp8* > *nad6* > *nad4* > *nad5* > *nad2* >

*资助项目 Supported projects: 陕西理工大学研究生创新基金项目 (SLGYCX2530); 陕西基础科学 (化学、生物学) 研究院科学研究计划青年项目 (23JHQ023)

**第一作者 First author, E-mail: 18829378084@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: lihu@snut.edu.cn

收稿日期 Received: 2024-07-11; 接受日期 Accepted: 2025-03-13

nad4l > *nad1* > *nad3* > *atp6* > *cox2* > *cox3* > *cytb* > *cox1*. **[Conclusion]** A phylogenetic analysis based on the PCGs dataset has confirmed the monophyly of the family Asilidae, the subfamily Asilinae, and the subfamily Leptogastrinae. This study provides a scientific basis for in-depth understanding of the biological characteristics, origin, and evolution, of insectivorous insects.

Key words Asilidae; mitogenome; phylogeny

食虫虻, 又称盗虻、刺客蝇, 是食虫虻科 Asilidae 昆虫的总称, 隶属双翅目 Diptera 短角亚目 Brachycera 食虫虻总科 Asiloidea (Marchiori, 2022), 除北极和南极外, 在全世界广泛分布 (Geller-Grimm, 2004), 现已知约 14 亚科 560 属 7 531 种 (Camargo and Gomes, 2024), 我国约 10 亚科 41 属 141 种 (Lavigne, 2016)。食虫虻体色体型多样, 颜面有鬃毛, 头部两复眼间的头顶凹陷 (史永善和樊厚德, 1992), 口器刺吸式呈圆锥形, 下颚须 1-2 节呈圆柱形, 胸部具大小不等的刚毛或鬃, 小盾片通常具小刺, 翅发达且透明或略带褐色或完全黑色, 足粗壮, 通常具粗细不等的刚毛 (李虎和王怡帆, 2024)。食虫虻幼虫和成虫都具有捕食性 (魏新田等, 1990; Samin 等, 2014), 幼虫攻击并捕食其它昆虫的幼虫 (Steve Dennis *et al.*, 2013), 成虫能捕食黄蜂、蝗虫、叶蝉、蚜蝇等昆虫 (Oldroyd, 1974), 有助于保护生态系统的物种多样性 (Dennis and Lavigne, 1975)。食虫虻幼虫多生活在土壤中或腐烂的树木中 (Martín-Park *et al.*, 2018), 成虫多生活在草原、沙漠、林地边缘等较为开阔的环境中 (Marchiori, 2022)。

Dikow (2009a) 基于形态特征将食虫虻科划分为 14 个亚科。食虫虻科的新种描述、种类修订及系统进化研究主要依据形态学特征 (Yeates, 1994; Robinson *et al.*, 2020; Dikow and Dubus, 2023), 但仅依靠外部形态特征至少有 6 个亚科不能被快速识别 (Dikow, 2009a; Cohen *et al.*, 2021), 分子数据的缺乏也不足以支持高水平分类关系, 因此食虫虻分子系统生物学受到了广泛关注。Bybee 等 (2004) 首次利用 16S rDNA、18S rDNA、28S rDNA 和 *cox2* 4 个基因分析了食虫虻科的系统发育关系, 证实了食虫虻科的单系性; Dikow (2009b) 基于 5 个基因 (18S rDNA、28S rDNA、AATS、CAD 和蛋白质编码基因

EF-1 α) 和形态学特征推断了食虫虻科的系统发育关系, 恢复了食虫虻亚科 Asilinae 等 6 个亚科的单系性, 证实了短喙虫虻亚科 Trigonimiminae 是非单系性的; Dikow 等 (2017) 基于转录组直系同源基因推断了食虫虻总科 Asiloidea 的系统发育关系, 再次证实了食虫虻科的单系性; Galinskaya 等 (2020) 基于 2 个线粒体基因 16S、12S rDNA 和 1 个核基因 18S rDNA 重建了食虫虻亚科 Asilinae 和窄额虫虻亚科 Stichoponinae 的系统发育关系; Cohen 等 (2021) 基于超保守元件构建食虫虻科系统发育关系, 研究结果支持 5 个亚科 (虫虻亚科 Asilinae、细腹虫虻亚科 Leptogastrinae、毛虫虻亚科 Laphriinae、窄额虫虻亚科 Stichopogoninae、细芒虫虻亚科 Ommatiinae) 的单系性, 但其余亚科的单系性仍存在争议。

线粒体 DNA (mtDNA) 基因具有多拷贝、母系遗传、不易重组、保守性高等特点, 并且相对于核基因组突变积累较快 (Sharko *et al.*, 2017), 昆虫线粒体基因组通常是一个长度为 14-20 kb 的环状双链 DNA 分子 (Dowton *et al.*, 2002), 包含 37 个基因: 13 个蛋白质编码基因 (Protein coding genes, PCGs)、22 个 tRNA 基因 (Transfer RNA genes, tRNAs) 和 2 个核糖体 RNA 基因 (Ribosomal RNA genes, rRNAs) (Castellana *et al.*, 2011)。近年来随着测序成本的降低, 线粒体基因组序列被广泛应用于双翅目、半翅目、鳞翅目及其他动物类群的系统发育研究中 (付海云等, 2023; 李强等, 2024; 刘迎香和赵清, 2024; Zhao *et al.*, 2024)。

本文对已知的食虫虻科线粒体基因组序列进行组学分析, 总结食虫虻科昆虫的线粒体基因组结构、碱基组成、密码子使用、基因进化速率等基本特征; 利用线粒体基因组数据构建食虫虻科系统发育关系并进行初步讨论, 以期为深化食虫虻科系统发育关系提供参考。

1 研究方法

1.1 数据来源

截止 2024 年 7 月 5 日, 检索 GenBank 数据库, 共收录食虫虻科 16 个物种的线粒体基因组序列, 其中线粒体基因组完整的有 12 种, 不完整的有 4 种, 涉及 5 个亚科 13 个属 16 个种(表 1)。

1.2 分析方法

使用 PhyloSuite (Zhang *et al.*, 2020)、MEGAX (Kumar *et al.*, 2018)、DnaSP 6.0 (Rozas *et al.*,

2017) 等软件分析 16 个物种的线粒体基因组结构、碱基组成以及基因(包括蛋白质编码基因和 RNA 基因)等基本特征。选取食虫虻科 Asilidae 16 个物种和蜂虻科 Bombyliidae 1 个物种(外群)的蛋白质编码基因数据(PCGs), 选择 PhyloSuite (Zhang *et al.*, 2020)、MAFFT (Katoh and Standley, 2013)、Gblocks (Talavera and Castresana, 2007)、MEGAX (Kumar *et al.*, 2018) 等软件对 PCGs 数据进行比对、剪切、截齐、串联, 使用最大似然法(Maximum likelihood analysis, ML)分析食虫虻科系统发育关系。

表 1 GenBank 已收录线粒体基因组的食虫虻科昆虫简介表
Table 1 A summary table of the mitochondrial genomes of the family Asilidae insects that have been included in GenBank

亚科 Subfamily	属 Genus	物种 Species	登录号 Accession no.
食虫虻亚科 Asilinae	克虫虻属 <i>Clephyroneura</i>	克虫虻 <i>Clephyroneura</i> sp.	MT424762
	突颜虫虻属 <i>Dysmachus</i>	扇毛突颜虫虻 <i>Dysmachus trigonus</i>	OX454326
	毛突虫虻属 <i>Eutolmus</i>	红须毛突虫虻 <i>Eutolmus rufibarbis</i>	OY987211
	五叉虫虻属 <i>Machimus</i>	乡村五叉虫虻 <i>Machimus rusticus</i>	OC608057
		黑尾五叉虫虻 <i>Machimus atricapillus</i>	OW121790
	蛮虫虻属 <i>Tolmerus</i>	黄凸蛮虫虻 <i>Tolmerus cingulatus</i>	OY390713
	铗虫虻属 <i>Philonicus</i>	白铗脊喙虫虻 <i>Philonicus albiceps</i>	OZ017778
	萨虫虻属 <i>Satanas</i>	萨虫虻 <i>Satanas</i> sp.	KT225300
	冠额虫虻属 <i>Neoitamus</i>	红眼冠额虫虻 <i>Neoitamus cyanurns</i>	OX384550
		黄色并角虫虻 <i>Saropogon luteus</i>	NC_088769
钩脰虫虻亚科 Dasypogoinae	并角虫虻属 <i>Saropogon</i>	黑髯钩脰虫虻 <i>Dasypogon diadema</i>	NC_045239
	钩脰虫虻属 <i>Dasypogon</i>	红棕细腹虫虻 <i>Leptogaster longicauda</i>	KT225296
细腹虫虻亚科 Leptogastrinae	细腹虫虻属 <i>Leptogaster</i>	圆筒细腹虫虻 <i>Leptogaster cylindrica</i>	OY720110
		红腿突额虫虻 <i>Dioctria rufipes</i>	OZ002746
追虫虻亚科 Dioctriinae	追虫虻属 <i>Dioctria</i>	线突额虫虻 <i>Dioctria linearis</i>	OZ005745
		白羽瘦小虫虻 <i>Leptarthrus brevirostris</i>	OZ038377
翅芽虫虻亚科 Brachyrhopalinae	瘦小虫虻属 <i>Leptarthrus</i>		

2 结果与分析

2.1 线粒体基因组结构分析

与大多数昆虫一样, 食虫虻科昆虫的线粒体基因组是环状双链 DNA 分子, 长度大多在 14 400-20 200 bp 之间, 使用 Geneious Prime (Kearse *et al.*, 2012) 可视化 16 个物种线粒体基因组, 结果表明 PCGs、tRNAs、16S rRNA、12S rRNA 的长度变化差异较小, 控制区长度差

异大是导致线粒体基因组长度不一致的主要原因(图 1)。已收录的食虫虻科线粒体基因组中, 红棕细腹虫虻 *Leptogaster longicauda* 和萨虫虻 *Satanas* sp. 缺少 *trnI* 和 *trnQ* 和 *trnM*; 圆筒细腹虫虻 *Leptogaster cylindrica* 和萨虫虻 *Satanas* sp. 缺少 *trnN*; 红眼冠额虫虻 *Neoitamus cyanurns* 缺少 *trnH*; 萨虫虻 *Satanas* sp. 和红棕细腹虫虻 *Leptogaster longicauda* 缺少控制区, 其余的物种都具有 22 个 tRNAs、13 个 PCGs、2 个 rRNAs、1 个控制区(D-loop)。食虫虻科昆虫的线粒体基

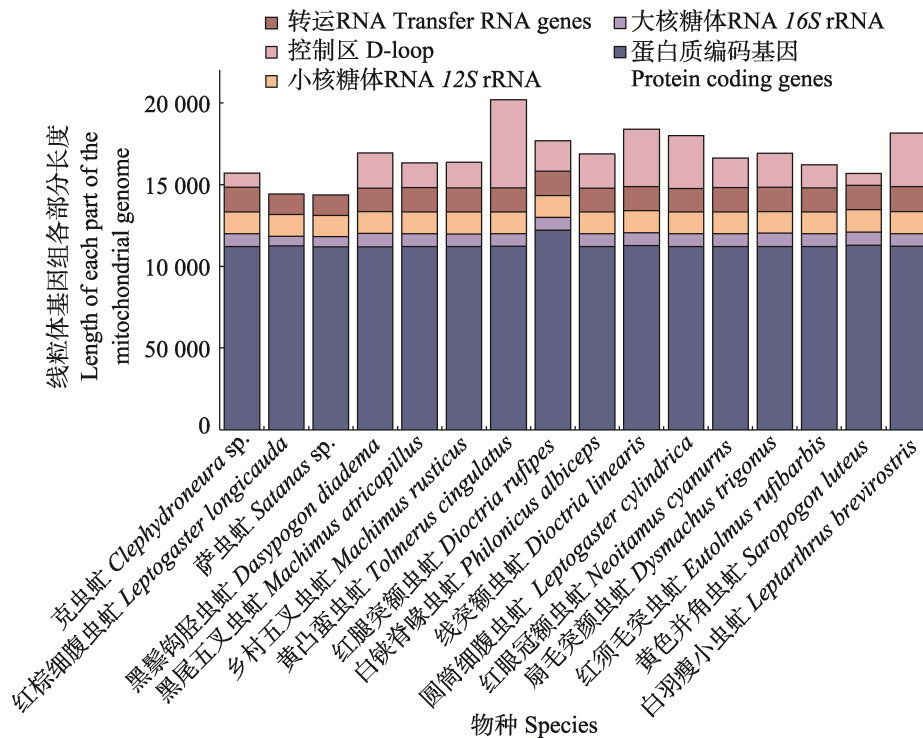


图 1 食虫虻线粒体基因组各部分基因片段长度

Fig. 1 The length of gene fragments in various parts of the mitochondrial genome of Asilidae

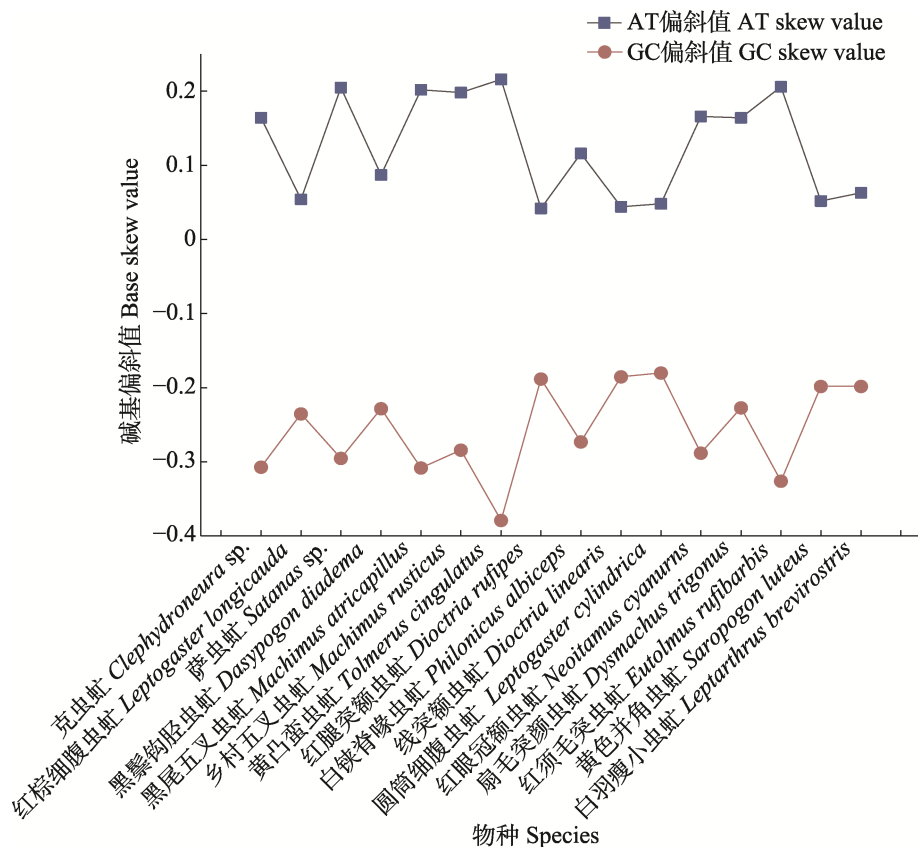


图 2 食虫虻科线粒体基因组碱基偏斜图

Fig. 2 Mitochondrial genome base skewed map of Asilidae

基因组序列的排列方式与模式生物亚库巴果蝇 *Drosophila melanogaster* (Clary and Wolstenholme, 1985) 相同, 未出现基因重排的现象。

2.2 线粒体基因组碱基组成

使用 PhyloSuite 的 Sequence statistic 功能计算碱基含量, 结果表明食虫虻科线粒体基因组序列 A+T 含量明显高于 G+C 含量(表 2), 具有明显的 AT 偏向性, 这种偏向性可能会导致密码子第三位点是 A 或 U 的频率增加 (Sun *et al.*, 2009), 通过公式 $AT-Skew = (A - T) / (A + T)$ 和 $GC-Skew = (G - C) / (G + C)$ 计算碱基偏斜 (Perna and Kocher, 1995), 结果显示食虫虻科线粒体基因组 AT skew > 0, GC skew < 0 (图 2), 这与一般后生动物线粒体基因组 AT 偏斜和 GC 偏斜数

值正负情况一致 (Hassanin *et al.*, 2005), 同时也说明食虫虻科线粒体基因组全序列中腺嘌呤 (A) 相对于胸腺嘧啶 (T) 偏高, 且鸟嘌呤 (G) 相对于胞嘧啶 (C) 偏低 (Bian *et al.*, 2020), 这可能与线粒体基因组的 DNA 复制起始位点、演化和选择压力等因素相关 (Dai *et al.*, 2016)。其中, 线突额虫虻 *Dioctria linearis* A+T 含量最高 (81.8%), 萨虫虻 *Satanas* sp. A+T 含量最低 (65.7%)。对已收录物种中 4 个亚科的线粒体基因组平均 A+T 含量分析比较发现: 追虫虻亚科 Dioctriinae > 翅芽虫虻亚科 Brachyrhopalinae > 细腹虫虻亚科 Leptogastrinae > 钩胫虫虻亚科 Dasypogoinae > 食虫虻亚科 Asilinae; 所测物种的各碱基含量具有不同程度的差异, 但这些物种的 4 个碱基含量均呈 $As > Ts > Cs > Gs$ (表 2)。

表 2 食虫虻科线粒体基因组碱基组成
Table 2 Mitochondrial genome base composition of Asilidae

物种 Species	碱基含量 (%) Base content (%)					
	A	T	C	G	A+T	G+C
克虫虻 <i>Clephyroneura</i> sp.	40.7	29.3	19.6	10.4	70.0	30.0
红棕细腹虫虻 <i>Leptogaster longicauda</i>	38.9	34.9	16.1	10.0	73.8	26.1
萨虫虻 <i>Satanas</i> sp.	39.6	26.1	22.2	12.1	65.7	34.3
黑鬃钩胫虫虻 <i>Dasypogon diadema</i>	39.9	33.5	16.3	10.3	73.4	26.6
黑尾五叉虫虻 <i>Machimus atricapillus</i>	39.8	26.5	22.1	11.7	66.3	33.8
乡村五叉虫虻 <i>Machimus rusticus</i>	40.7	27.2	20.6	11.5	67.9	32.1
黄凸蛮虫虻 <i>Tolmerus cingulatus</i>	43.9	28.3	19.1	8.6	72.2	27.7
红腿突额虫虻 <i>Dioctria rufipes</i>	42.3	38.9	11.2	7.6	81.2	18.8
白狭脊喙虫虻 <i>Philonicus albiceps</i>	39.5	31.3	18.6	10.6	70.8	29.2
线突额虫虻 <i>Dioctria linearis</i>	42.7	39.1	10.8	7.4	81.8	18.2
圆筒细腹虫虻 <i>Leptogaster cylindrica</i>	40.7	37.0	13.1	9.1	77.7	22.2
红眼冠额虫虻 <i>Neoitamus cyanurns</i>	42.3	30.2	17.7	9.8	72.5	27.5
扇毛突额虫虻 <i>Dysmachus trigonus</i>	41.7	29.9	17.4	10.9	71.6	28.3
红须毛突虫虻 <i>Eutolmus rufibarbis</i>	41.1	27.1	21.1	10.7	68.2	31.8
黄色并角虫虻 <i>Saropogon luteus</i>	39.3	35.4	15.2	10.2	74.7	25.4
白羽瘦小虫虻 <i>Leptarthrus brevirostris</i>	42.0	37.1	12.5	8.4	79.1	20.9

2.3 蛋白质编码基因的特点及密码子使用分析

2.3.1 蛋白质编码基因特点 食虫虻科蛋白质编码基因平均 A+T 含量 (69.93%) 总体上略低于线粒体基因组平均 A+T 含量 (72.93%), 但远

远高于蛋白质编码基因平均 G+C 含量(31.66%)。使用 MEGAX 计算蛋白质编码基因 3 个不同位点的 AT 含量, 结果表明蛋白质编码基因密码子第三位点的平均 A+T 含量 (76.24%) 高于蛋白质编码基因密码子第一位点 (67.11%) 和第二位点

的平均 A+T 含量 (66.44%)。13 个蛋白质编码基因共编码 3 693 个氨基酸, 其中使用频率最高的氨基酸为亮氨酸 Leu (14.9%), 其次为丝氨酸 Ser (9.4%), 而后为苯丙氨酸 Phe (8.9%)。

2.3.2 蛋白质编码基因的起始密码子和终止密码子使用情况 使用 Geneious Prime 的 Open reading frame 功能统计分析起始密码子和终止密码子, 结果表明食虫虻科蛋白质编码基因的起始密码子多为标准的三联体密码子结构 ATN (ATG、ATC、ATT 和 ATA), 且 ATG 和 ATC 的使用频率最高; 其中编码 *atp6*、*atp8*、*cox2*、*cox3*、*cytb*、*nad2*、*nad3*、*nad4l* 和 *nad6* 9 个基因的起始密码子相对而言很保守, 均为标准的三联体密码子结构 ATN (图 3)。而编码 *cox1*、*nad1*、*nad4* 和 *nad5* 4 个基因的起始密码子除了 ATN 以外, 还有较为特殊的起始密码子 TCG 和 GTG; 这些特殊的起始密码子, 在双翅目昆虫 *cox1* 序列中比较常见, 在参与后来的蛋白质翻译的过程中, 先转录为 mRNA 后经 RNA 的编辑转换成正常的起始密码子, 进而完成翻译过程 (Spanos *et al.*, 2000)。

蛋白质编码基因的终止密码子表现出高度的相似性 (图 3)。多为 TAA、TAG 和不完整的

终止密码子 (T 和 TA), 其中 TAA 的使用频率最高。不完整的终止密码子在昆虫线粒体基因组中很常见, 这可能与 mRNA 成熟过程中的转录后修饰有关 (Huang and Zhang, 2020), 常见终止密码子 TAA 通常是通过转录后聚腺苷酸化产生的 (Ojala *et al.*, 1981), 而不完整的终止密码子 T 或 TA 经过转录后的编辑, 对其进行多聚腺苷酸化便能形成完整的终止密码子 (Yokobori and Pääbo, 1997)。

2.3.3 相对同义密码子使用频率, Relative synonymous codon usage (RSCU) 分析 RSCU 不仅去除了氨基酸组成对密码子使用的影响, 且直观地反映了密码子使用的偏好性, 若某一密码子的 RSCU 值大于 1, 表明该密码子的使用频率相对较高, 小于 1 则表明使用频率低 (刘汉梅等, 2010)。使用 MEGAX 计算食虫虻科的 RSCU 值, 结果表明除终止密码子外, 其余 62 个同义密码子的使用频率不同。其中同种氨基酸中不同密码子的使用存在偏向性, 如亮氨酸 Leu2 的密码子 UUA 的 RSCU 值远高于 UUG 的 RSCU 值, 表明密码子 UUA 的使用频率最高, 与之相反的是, 丙氨酸 Ala 的密码子 GCG 和苏氨酸 Thr 的密码子 ACG 的使用频率最低 (图 4)。

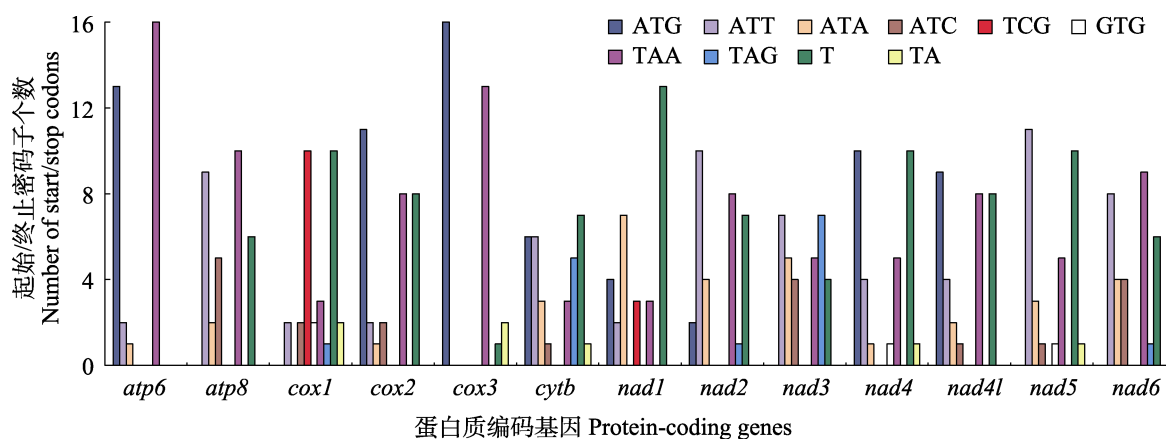


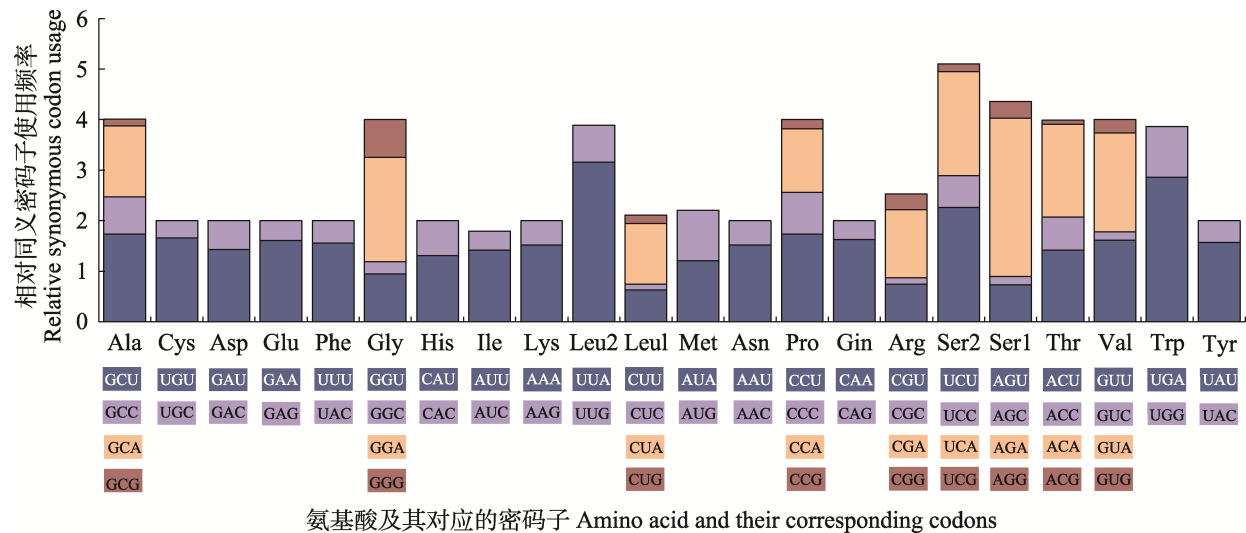
图 3 蛋白质编码基因起始密码子和终止密码子

Fig. 3 Starting and ending codons of protein coding genes

2.4 蛋白质编码基因核苷酸替代率分析

Ka/Ks (非同义替代率/同义替代率) 被用作衡量选择压力强度的指标 (Zhang and Li, 2004), 若 Ka/Ks < 1 说明基因受到纯化选择压力, Ka/Ks > 1

说明基因受到正选择压力 (唐萍等, 2010)。使用 DnaSP 6.0 分别计算 Ka 和 Ks, 在 Excle 2016 中手动计算 Ka/Ks, 结果表明食虫虻科线粒体 13 种蛋白质编码基因的 Ka/Ks 值均小于 1 (图 5), 这说明这些蛋白质编码基因均表现出纯化选择



氨基酸及其对应的密码子 Amino acid and their corresponding codons

图 4 蛋白质编码基因相对同义密码子使用频率

Fig. 4 Relative synonymous codon usage frequency of protein coding genes

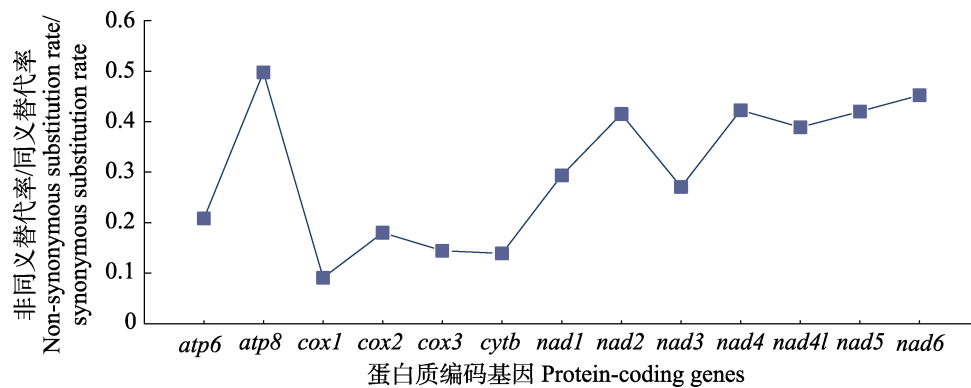


图 5 蛋白质编码基因进化速率图

Fig. 5 Evolution rate map of protein coding genes

现象,每个蛋白质编码基因的纯化压力不同(Wang *et al.*, 2021),其中 *atp8* 进化速率最快,受到的选择压力可能最弱;*cox1* 进化速率最慢,受到选择压力可能最强,因而表现得最保守。双翅目的其它类群(如蚜蝇科)也出现了不同蛋白质编码基因进化速率不同的情况(Li *et al.*, 2023)。食虫虻科 13 种蛋白质编码基因的进化速率由高到低为: *atp8* > *nad6* > *nad4* > *nad5* > *nad2* > *nad4l* > *nad1* > *nad3* > *atp6* > *cox2* > *cox3* > *cytb* > *cox1*。

2.5 tRNA 特点

食虫虻科线粒体基因组中 tRNA 基因的单个长度在 64-73 bp 之间, tRNA 基因的平均 A+T 含量为 74.17%。对比双翅目昆虫 tRNA 标准二

级结构,不同亚科的食虫虻 tRNA 结构有差异。食虫虻亚科 Asilinae 的 tRNA 二级结构, *tRNA-Ser1*、*tRNA-Leu* 缺少二氢尿嘧啶环(Dihydrouracil, 即 DHU 环),但都可以形成简单的环,其余 tRNA 均能形成标准的三叶草结构(Väre *et al.*, 2017); 细腹虫虻亚科 Leptogastrinae 和钩脰虫虻亚科 Dasypogoinae 中,红棕细腹虫虻 *Leptogaster longicauda* *tRNA-Ser* 缺少 DHU 臂,黑鬃钩脰虫虻 *Dasypogon diadema* *tRNA-Phe* 缺少 DHU 臂,黄色并角虫虻 *Saropogon luteus* 和圆筒细腹虫虻 *Leptogaster cylindrica* 的 22 个 tRNA 二级结构完整,是典型的三叶草结构;追虫虻亚科 Dioctriinae 和翅芽虫虻亚科 Brachyrhopalinae 的 tRNA 二级结构均完整。而这些缺少 DHU 臂的 tRNA 可能

会通过形成倒 L 型的三级结构来维持接受臂与反密码子间的距离 (Hanada *et al.*, 2000)。除此之外, tRNA 基因中可能会出现碱基错配现象, 可以通过 RNA 编辑机制进行纠正, 进而恢复正常配对 (Lavrov *et al.*, 2000)。

2.6 rRNA 特点

食虫虻科线粒体基因组 rRNA 的位置保守, 16S rRNA 位于 *tRNA-Leu2* 和 *tRNA-Val* 之间, 12S rRNA 位于 *tRNA-Val* 和 D-loop 之间。每个物种线粒体基因组 rRNA 的长度差异很小, 12S rRNA 的平均长度是 767 bp, 16S rRNA 的平均长度为 1 335 bp。食虫虻科昆虫 rRNA 的碱基组成具有明显的 AT 偏向性, 12S rRNA 的平均 A+T 含量为 74.13%, 16S rRNA 的平均 A+T 含量是 77.38%。12S rRNA 和 16S rRNA 的结构域复杂 (李伟等, 2020), 每个结构域的功能各不相同 (郑东等, 2003)。

2.7 控制区特点

控制区, 也称 A+T 富集区, 具有较高的 A+T 含量, 是动物线粒体基因组的典型特征之一 (Guo *et al.*, 2003)。食虫虻科控制区的位置保守, 位于 *rrnS* 与 *trnI* 之间; 不同物种线粒体基因组中控制区的长度不同, 如黄凸蛮虫虻 *Tolmerus cingulatus* 的控制区长度是 5 411 bp, 而克虫虻 *Clephyroneura sp.* 的控制区只有 882 bp, 控制区长度的不同进而导致了物种整个线粒体基因组全系列的长度也是不同的。控制区长度差异性大, 这可能与控制区内重复片段的长度和拷贝数的变化有关 (梅琰等, 2012)。

2.8 食虫虻科昆虫系统发育关系重建

使用 IQ-tree 构建系统发育树 (Guindon *et al.*, 2010) (图 6), 系统发育树的大部分分支具有较高的支持度 (超过 90 的占 64.3%)。

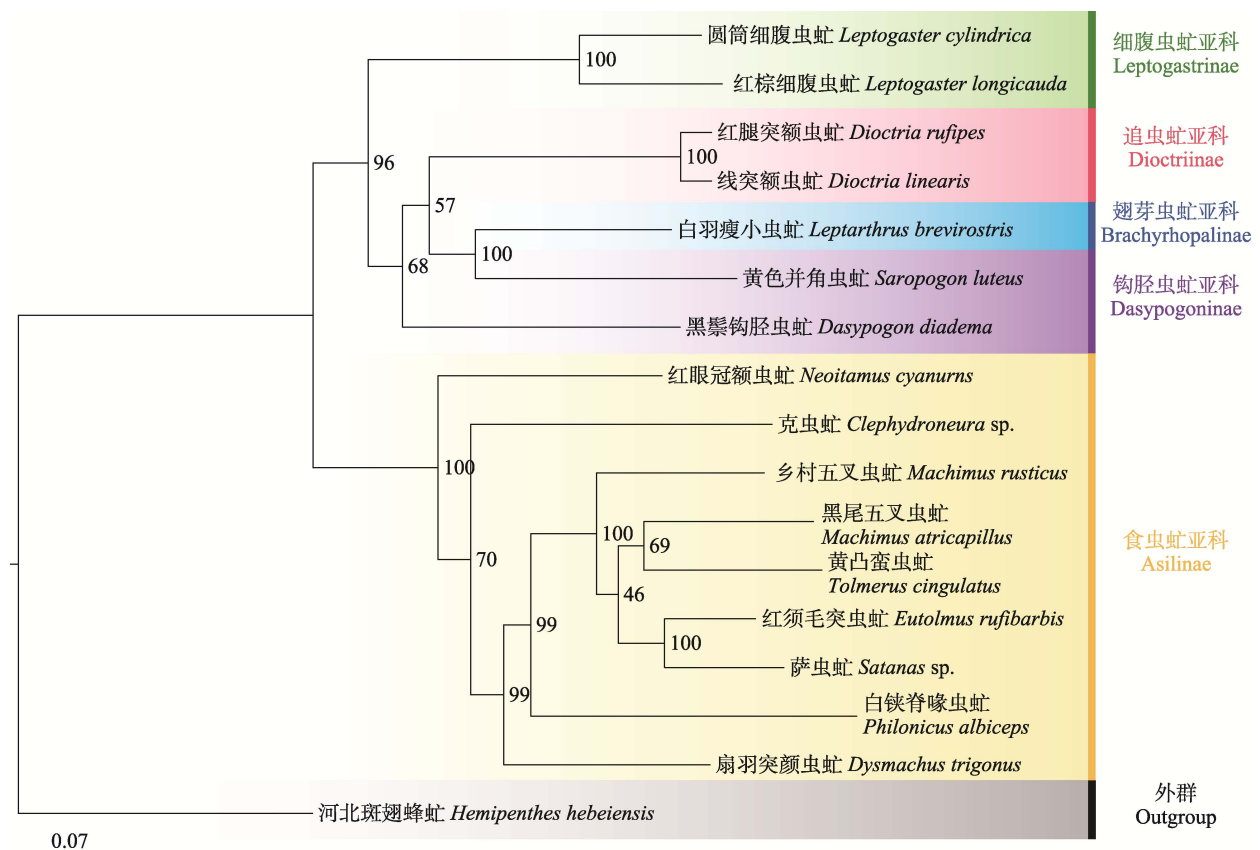


图 6 基于蛋白质编码基因构建的最大似然法系统发育关系

Fig. 6 A maximum likelihood phylogenetic relationship based on protein coding genes construction

根据拓扑结构, 16 种食虫虻聚类成一大支, 构成单系, 科内系统发育关系为: 食虫虻亚科 Asilidae 是其余 4 个亚科 (细腹虫虻亚科 Leptogastrinae、追虫虻亚科 Dioctriinae、翅芽虫虻亚科 Brachyrhopalinae 和钩胫虫虻亚科 Dasypogoninae) 的姊妹群; Leptogastrinae 细腹虫虻亚科是其中 3 个亚科 (追虫虻亚科 Dioctriinae、翅芽虫虻亚科 Brachyrhopalinae 和钩胫虫虻亚科 Dasypogoninae) 的姊妹群; 细腹虫虻亚科 Leptogastrinae 的 2 个物种聚集在一支构成单系, 追虫虻亚科 Dioctriinae 的 2 个物种亦如此; 钩胫虫虻亚科 Dasypogoninae 单系性未被恢复, 黄色并角虫虻 *Saropogon luteus* 和翅芽虫虻亚科的白羽瘦小虫虻 *Leptarthrus breviostris* 聚集在一支。

食虫虻亚科 Asilinae 所有物种聚合成一支, 支持度为 100, 冠额虫虻属 *Neoitamus* 是其余 7 个属 (克虫虻属 *Clephydroneura*、突颜虫虻属 *Dymachus*、铗虫虻属 *Philonicus*、五叉虫虻属 *Machimus*、蛮虫虻属 *Tolmerus*、萨虫虻属 *Satanas* 和毛突虫虻属 *Eutolmus*) 的姊妹群。五叉虫虻属 *Machimus* 的 2 个物种没有聚集在一支, 其中黑尾五叉虫虻 *Machimus atricapillus* 和蛮虫虻属 *Tolmerus cingulatus* 聚集在一支。萨虫虻属 *Satanas* 和毛突虫虻属 *Eutolmus* 聚集在一支, 互为姊妹群。

支持食虫虻科的单系性, 这与 Woodley (1989)、Yeates 和 Wiegmann (1999)、Dikow (2009b) 研究结果一致。其中食虫虻亚科 Asilinae 的代表物种聚集成一支, 构成单系, 与 Papavero (1973)、Bybee 等 (2004) 的研究结果一致; 钩胫虫虻亚科 Dasypogoninae 是并系群, 本文构建的系统发育树中 2 个物种也没有聚集在一支, 其中黄色并角虫虻 *Saropogon luteus* 和翅芽虫虻亚科白羽瘦小虫虻 *Leptarthrus breviostris* 聚集在一支, 这与 Bybee 等 (2004)、Cohen 等 (2021) 研究结果一致; 本文恢复了追虫虻亚科 Dioctriinae 的单系性, 这与 Dikow (2009b) 基于形态学特征及 DNA 序列分析食虫虻科系统发育关系的研究结果一致, 但 Cohen 等 (2021) 利用超保守元件构建系统发育树的研究中又发现追虫虻亚科 Dioctriinae

是非单系的, 因此追虫虻亚科分类地位仍存在争议; 翅芽虫虻亚科 Brachyrhopalinae 因只有 1 个物种无法判断其单系性, 但 Dikow (2009b)、Cohen 等 (2021) 研究中均未恢复翅芽虫虻亚科的单系性。

细腹虫虻亚科 Leptogastrinae 的单系性得到了支持, 但与其他类群的亲缘关系存在争议。Martin (1968) 认为, 基于 46 个不同的形态和行为特征, 细腹虫虻亚科 Leptogastrinae 在食虫虻总科 Asiloidea 中应被赋予科分类地位, 是食虫虻科 Asilidae 的姐妹群; 然而, Oldroyd (1969) 拒绝了 Martin (1968) 的研究中 46 个“明显特征”中的 43 个, 表明相似的特征分散在食虫虻科 Asilidae 的其余亚科的物种中, 并不是细腹虫虻亚科 Leptogastrinae 所独有的; Dikow (2009a) 基于一系列形态学特征, 反驳了把细腹虫虻亚科 Leptogastrinae 当作是食虫虻科 Asilidae 的姐妹群的假设, Cohen 等 (2021) 基于超保守元件构建系统发育树, 研究发现细腹虫虻亚科与 (食虫虻亚科 Asilinae+细芒虫虻亚科 Ommatiinae) 构成了并系群。

系统发育树的拓扑结构表明 5 个亚科之间的亲缘关系不同, 追虫虻亚科 Dioctriinae、翅芽虫虻亚科 Brachyrhopalinae、钩胫虫虻亚科 Dasypogoninae 这 3 个亚科的亲缘关系较近, 食虫虻亚科 Asilinae 和细腹虫虻亚科 Leptogastrinae 的亲缘关系较远。这与 Dikow (2009b)、Cohen 等 (2021) 的研究结果一致, 翅芽虫虻亚科、钩胫虫虻亚科、追虫虻亚科这 3 个亚科的物种聚在一支, 而食虫虻亚科和细腹虫虻亚科的物种则是各自聚集为一支。

3 讨论

截至 2024 年 7 月初, Genbank 数据库已收录食虫虻科线粒体基因组全序列共 16 种, 其中基因组完整的 12 种, 不完整的 4 种。仅占食虫虻科昆虫总数极小的比例, 食虫虻科线粒体基因组学研究仍有很大的空间。对这 16 种食虫虻科昆虫线粒体基因组进行比较分析, 其中 12 个物种的线粒体基因组均包含 37 个编码基因, 即 13

个蛋白质编码基因、22 个 tRNA 基因和 2 个核糖体 RNA 基因 (Castellana *et al.*, 2011), 其余 4 个物种红棕细腹虫虻 *Leptogaster longicauda* 和萨虫虻 *Satanas* sp. 缺少 *trnI*、*trnQ* 和 *trnM*; 圆筒细腹虫虻 *Leptogaster cylindrica* 和萨虫虻 *Satanas* sp. 缺少 *trnN*; 红眼冠额虫虻 *Neoitamus cyanurns* 缺少 *trnH*; 萨虫虻 *Satanas* sp. 和红棕细腹虫虻 *Leptogaster longicauda* 缺少控制区; 在碱基组成上具有很强的 AT 偏向性, 没有出现基因重排现象, tRNA 的二级结构多为标准的三叶草结构, 这符合昆虫线粒体基因组的特点 (梅琰等, 2012)。

在密码子使用方面, 食虫虻科线粒体蛋白质编码基因的起始密码子多为标准的三联体密码子 ATN, 少数的蛋白质编码基因还有不常见的起始密码子, 如 TCG 和 GTG。这种不常见的密码子较为特殊, 可以减小基因间隔区, 避免相邻基因发生重叠, 可转录成为 mRNA 后经过 RNA 编辑转换成正常的起始密码子, 然后翻译成特定的蛋白质 (郭仲龙和袁明龙, 2016)。终止密码子则多为 TAA 和不完整的 T 或 TA, 而这些不完整的终止密码子经过转录后的编辑, 对其进行多聚腺苷酸化便能形成完整的终止密码子 (Yokobori and Pääbo, 1997)。

线粒体基因组作为分子系统发生学研究的重要工具, 在确定昆虫演化关系时起到了积极作用 (赵乐等, 2022), 但是现有的食虫虻科的线粒体数据较少, 依据现有的数据仅仅恢复了少数亚科的单系性, 如虫虻亚科 Asilinae、细腹虫虻亚科 Leptogastrinae; 但对争议较大的部分亚科 (如钩胫虫虻亚科 Dasypogoninae、整额虫虻亚科 Tillobromatinae、短喙虫虻亚科 Trigonimiminae、瘦芒虫虻亚科 Stenopogoninae、室闭虫虻亚科 Willistoninae 和翅芽虫虻亚科 Brachyrhopalinae、追虫虻亚科 Dioctriinae), 因缺少数据而无法更好地讨论其系统发育关系 (Yeates and Wiegmann, 1999; Bybee *et al.*, 2004; Dikow, 2009b; Cohen *et al.*, 2021)。

已收录的线粒体基因组全序列数据中, 部分亚科仅有一个代表物种 (如翅芽虫虻亚科

Brachyrhopalinae), 甚至一些分类地位有争议的亚科没有代表物种, 例如瘦芒虫虻亚科 Stenopogoninae, 在 Papavero (1973) 划分的四大类亚科群中, 瘦芒虫虻亚科 Stenopogoninae 属于钩胫虫虻亚科 Dasypogoninae 这一大类群, 其聚集成一支为单系群, 而其他学者的研究结果不支持 Papavero (1973) 的假设, 发现瘦芒虫虻亚科 Stenopogoninae 非单系, 然而目前尚未有相关代表物种的线粒体基因组数据, 因此暂时不能全面分析瘦芒虫虻亚科 Stenopogoninae 和钩胫虫虻亚科 Dasypogoninae 内部的分类关系 (Yeates and Wiegmann, 1999; Cohen *et al.*, 2021)。

综上, 食虫虻科昆虫线粒体基因组全序列已测出的物种数较少, 在系统发育分析中仍以形态学和单个基因序列为主, 使用频率较高的线粒体基因有 *cox2*、16S rDNA、12S rDNA 基因等。现有数据提供了一些初步的系统发育信息, 但由于样本数量有限且缺乏生态和地理代表性, 尚难以全面揭示物种间的系统发育关系。此外, 样本量较小及基因组数据质量问题可能对系统发育分析的准确性和可靠性产生影响。因此, 亟需加大对食虫虻科昆虫线粒体基因组研究的关注和投入, 并加强线粒体基因组数据与形态学特征的整合和分析, 尝试应用新的分子技术和标记数据 (如转录组、基因编辑等), 进一步推动食虫虻科的系统进化研究。

参考文献 (References)

- Bian DD, Dai ML, Ye WT, Lu ZT, Li MX, Fang YL, Qu JW, Su WJ, Li FC, Sun HN, Li B, 2020. Complete mitochondrial genome of *Spilosoma lubricipeda* (Noctuoidea: Erebididae) and implications for phylogeny of noctuid insects. *Genomics*, 112(6): 4577–4584.
- Bybee SM, Taylor SD, Riley Nelson C, Whiting MF, 2004. A phylogeny of robber flies (Diptera: Asilidae) at the subfamilial level: Molecular evidence. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 30(3): 789–797.
- Camargo A, Gomes LRP, 2024. First robber fly described from Mexican amber (Diptera: Asilidae: Laphriinae). *Historical Biology*, 37(2): 430–436.
- Castellana S, Vicario S, Saccone C, 2011. Evolutionary patterns of the mitochondrial genome in Metazoa: Exploring the role of mutation and selection in mitochondrial protein coding genes.

- Genome Biology Evolution*, 3: 1067–1079.
- Clary DO, Wolstenholme DR, 1985. The mitochondrial DNA molecular of *Drosophila yakuba*: Nucleotide sequence, gene organization, and genetic code. *Journal Molecular Evolution*, 22(3): 252–271.
- Cohen CM, Noble K, Cole TJ, Brewer MS, 2021. The phylogeny of robber flies (Asilidae) inferred from ultraconserved elements. *Systematic Entomology*, 46(4): 812–826.
- Dai LS, Zhu BJ, Zhao Y, Zhang CF, Liu CL, 2016. Comparative mitochondrial genome analysis of *Eligma narcissus* and other Lepidopteran insects reveals conserved mitochondrial genome organization and phylogenetic relationships. *Scientific Reports*, 6: 26387.
- Dennis DS, Lavigne RJ, 1975. Comparative behavior of wyoming robber flies II (Diptera: Asilidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 30(1): 1–68.
- Dikow T, Dubus M, 2023. A review of the assassin-fly genus *Anypodetus* Hermann, 1907 with the description of a new species (Insecta, Diptera, Asilidae). *African Invertebrates*, 64(2): 165–206.
- Dikow T, 2009a. Phylogeny of Asilidae inferred from morphological characters of imagines (Insecta: Diptera: Brachycera: Asiloidea). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 319: 1–175.
- Dikow T, 2009b. A phylogenetic hypothesis for Asilidae based on a total evidence analysis of morphological and DNA sequence data (Insecta: Diptera: Brachycera: Asiloidea). *Organisms Diversity & Evolution*, 9(3): 165–188.
- Dikow RB, Frandsen PB, Turcatel M, Dikow T, 2017. Genomic and transcriptomic resources for assassin flies including the complete genome sequence of *Proctacanthus coquilleti* (Insecta: Diptera: Asilidae) and 16 representative transcriptomes. *PeerJ*, 5: e2951.
- Dowton M, Castro LR, Austin AD, 2002. Mitochondrial gene rearrangements as phylogenetic characters in the invertebrates: The examination of genome ‘morphology’. *Invertebrate Systematics*, 16(3): 345–356.
- Fu HY, Xiang LB, Xie Q, Zhang DD, 2023. Sequencing and analysis of *Hyblaea constellata* Guenée, 1852 (Lepidoptera: Hyblaeoidea). *Journal of Environmental Entomology*, 45(6): 1587–1602. [付海云, 项兰斌, 谢强, 张丹丹, 2023. 白星驼蛾线粒体基因组测序及分析(鳞翅目: 驼蛾总科). 环境昆虫学报, 45(6): 1587–1602.]
- Galinskaya TV, Astakhov DM, Propistsova EA, Gorin VA, 2020. Phylogenetic reconstruction of the subfamilies Asilinae and Stichopogoninae (Diptera, Asilidae) based on the mitochondrial genes 16S and 12S rDNA and nuclear 18S rDNA. *Russian Journal of Genetics*, 56(8): 952–971.
- Geller-Grimm F, 2004. A world catalogue of the genera of the family Asilidae (Diptera). *Studia Dipterologica*, 10(2): 473–526.
- Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O, 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology*, 59(3): 307–321.
- Guo XH, Liu SJ, Liu Y, 2003. Comparative analysis of the mitochondrial DNA control region in cyprinids with different ploidy level. *Aquaculture*, 224(1/4): 25–38.
- Guo ZL, Yuan ML, 2016. Research progress of mitochondrial genomes of Hemiptera insects. *Scientia Sinica (Vita)*, 46(2): 151–166. [郭仲龙, 袁明龙, 2016. 半翅目昆虫线粒体基因组学研究进展. 中国科学: 生命科学, 46(2): 151–166.]
- Hanada T, Suzuki T, Watanabe K, 2000. Translation activity of mitochondrial tRNA with unusual secondary structure. *Nucleic Acids Symposium Series*, 44(44): 249–250.
- Hassanin A, Léger N, Deutsch J, 2005. Evidence for multiple reversals of asymmetric mutational constraints during the evolution of the mitochondrial genome of Metazoa, and consequences for phylogenetic inferences. *Systemic Biology*, 54(2): 277–298.
- Huang WJ, Zhang YL, 2020. Characterization of two complete mitochondrial genomes of Ledrinae (Hemiptera: Cicadellidae) and phylogenetic analysis. *Insects*, 11(9): 609.
- Katoh K, Standley DM, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4): 772–780.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A, 2012. Geneious basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12): 1647–1649.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K, 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549.
- Lavigne R, 2016. Robber flies (Asilidae). <https://www.geller-grimm.de/genera01.htm>.
- Lavrov DV, Brown WM, Boore JL, 2000. A novel type of RNA editing occurs in the mitochondrial tRNAs of the centipede *Lithobius forficatus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(25): 13738–13742.
- Li H, Wang YF, 2024. Progress in the taxonomy of Asilidae from China (Diptera: Brachycera). *Acta Entomologica Sinica*, 67(7):

- 997–1005. [李虎, 王怡帆, 2024. 中国食虫虻科(双翅目: 短角亚目)分类研究进展. 昆虫学报, 67(7): 997–1005.]
- Li H, Yan Y, Li J, 2023. Eighteen mitochondrial genomes of Syrphidae (Insecta: Diptera: Brachycera) with a phylogenetic analysis of muscomorpha. *PLoS ONE*, 18(1): e0278032.
- Li Q, Li WJ, Han C, Lu TF, Gong J, Gui L, 2024. Sequencing and analysis of complete mitogeneome of *Cyprinus multianeniata*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 52(5): 108–111, 120. [李强, 李文俊, 韩崇, 鲁同富, 龚剑, 桂林, 2024. 三角鲤线粒体基因组全序列测定及分析. 安徽农业科学, 52(5): 108–111, 120.]
- Li W, Chen T, Dong WG, 2020. Phylogeny of the Anoplura based on variation in 16S rRNA sequences and the extent of mitochondrial genome fragmentation in this group. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(6): 1350–1361. [李伟, 陈婷, 董文鸽, 2020. 基于线粒体 16S rRNA 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): 1350–1361.]
- Liu HM, Zhao Y, Gu Y, Zhang HY, Huang YB, 2010. Characterization of *Codon* usage of waxy genes in several plants. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 24(3): 476–481. [刘汉梅, 赵耀, 顾勇, 张怀渝, 黄玉碧, 2010. 几种植物 waxy 基因的密码子用法特性分析. 核农学报, 24(3): 476–481.]
- Liu YX, Zhao Q, 2024. Mitochondrial genome of *Sciocoris lateralis* and phylogenetic analysis of Pentatomidae. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 52(2): 78–88. [刘迎香, 赵清, 2024. 小片蝽线粒体基因组及蝽科系统发育分析. 山西农业科学, 52(2): 78–88.]
- Marchiori CH, 2022. Bionomic of the Asilidae family (Insecta: Diptera). *Open Access Research Journal of Life Sciences*, 3(1): 1–16.
- Martin CH, 1968. The new family Leptogastridae (the grass flies) compared with the Asilidae (robber flies) (Diptera). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 41(1): 70–100.
- Martín-Park A, Delfin-González H, Sosenski P, Reyes-Novelo E, Meléndez-Ramírez V, Navarrete-Carballo J, Ibáñez-Bernal S, Dzul-Manzanilla F, González-Moreno A, Manrique-Saide P, 2018. Diversity of Tabanidae, Asilidae and Syrphidae (Diptera) in natural protected areas of Yucatan, Mexico. *Journal of Insect Conservation*, 22(1): 85–97.
- Mei Y, Yue QY, Jia FL, 2012. Research progress on mitochondrial genomes of Dipteran insect. *Journal of Environmental Entomology*, 34(4): 497–503. [梅琰, 岳巧云, 贾凤龙, 2012. 双翅目昆虫线粒体基因组研究进展. 环境昆虫学报, 34(4): 497–503.]
- Ojala D, Montoya J, Attardi G, 1981. tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature*, 290(5806): 470–474.
- Oldroyd H, 1969. The family Leptogastridae (Diptera). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London Series B Taxonomy*, 38(1/2): 27–31.
- Oldroyd H, 1974. An introduction to the robber flies (Diptera: Asilidae) of South Africa. *Annals of the Natal Museum*, 22(1): 1–171.
- Papavero N, 1973. Studies of Asilidae (Diptera) systematics and evolution: I. A preliminary classification in subfamilies. *Arquivos de Zoologia*, 23(3): 217.
- Perna NT, Kocher TD, 1995. Patterns of nucleotide composition at fourfold degenerate sites of animal mitochondrial genomes. *Journal of Molecular Evolution*, 41(3): 353–358.
- Robinson IJ, Li XK, Yeates DK, 2020. Revision of the endemic Australian robber fly genus *Daptolestes* Hull, 1962 (Diptera: Asilidae) and description of *Humorolethalis* gen. nov. *Australian Journal of Entomology*, 59(3): 487–504.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A, 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34(12): 3299–3302.
- Samin N, Sakenin H, Ghahari H, Monaem R, 2014. Prey records of robber flies (Diptera: Asilidae) in Iran. *Wuyi Science Journal*, 30(4): 1–6. [Samin N, Sakenin H, Ghahari H, Monaem R, 2014. 伊朗食虫虻(双翅目: 食虫虻科)的猎物记录. 武夷科学, 30(4): 1–6.]
- Sharko FS, Nedoluzhko AV, Rastorguev SM, Tsygankova SV, Boulygina ES, Polilov AA, Prokhortchouk EB, Skryabin KG, 2017. The mitochondrial gene order and CYTB gene evolution in insects. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii*, 21(3): 368–373.
- Shi YS, Fan HD, 1992. Robber flies from mount mogan (Diptera: Asilidae). *Journal of Zhejiang Forestry University*, 9(4): 130–131. [史永善, 樊厚德, 1992. 莫干山的食虫虻(双翅目: 食虫虻科). 浙江林学院学报, 9(4): 130–131.]
- Spanos L, Koutroumbas G, Kotsyfakis M, Louis C, 2000. The mitochondrial genome of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Insect Molecular Biology*, 9(2): 139–144.
- Steve Dennis D, Barnes JK, Knutson L, 2013. Review and analysis of information on the biology and morphology of immature stages of robber flies (Diptera: Asilidae). *Zootaxa*, 3673: 1–64.
- Sun Z, Wan DG, Murphy RW, Ma L, Zhang XS, Huang DW, 2009. Comparison of base composition and *Codon* usage in insect mitochondrial genomes. *Genes & Genomics*, 31(1): 65–71.
- Talavera G, Castresana J, 2007. Improvement of phylogenies after

- removing divergent and ambiguously aligned blocks from protein sequence alignments. *Systematic Biology*, 56(4): 564–577.
- Tang P, Peng C, Gao L, 2010. Analysis the relationship between selective pressure and nucleotide substitution rate in nuclear and organelle genes of *Sorghum* and maize. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 38(17): 8854–8858. [唐萍, 彭程, 高粱, 2010. 玉米核及细胞器基因核苷酸替代率与选择压力关系分析. *安徽农业科学*, 38(17): 8854–8858.]
- Väre VYP, Eruysal ER, Narendran A, Sarachan KL, Agris PF, 2017. Chemical and conformational diversity of modified nucleosides affects tRNA structure and function. *Biomolecules*, 7(1): 29.
- Wang J, Zhang YJ, Yang L, Chen XS, 2021. The complete mitochondrial genome of *Trifida elongate* and comparative analysis of 43 leafhoppers. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part D: Genomics and Proteomics*, 39: 100843.
- Wei XT, Lu XT, Men ZT, Ma HR, 1990. Field distribution of *Promachus yesohicus* (Diptera: Asilidae) larvae and their control effect on white grubs. *Chinese Journal of Biological Control*, 6(4): 183–184. [魏新田, 陆相亭, 门子团, 马红茹, 1990. 食虫虻幼虫在不同生态环境中的分布及对蛴螬的控制作用. *生物防治通报*, 6(4): 183–184.]
- Woodley NE, 1989. Phylogeny and classification of the “Orthorrhaphous” Brachycera. *Manual of Nearctic Diptera*, 3(32): 1371–1396.
- Yeates DK, 1994. The cladistics and classification of the Bombyliidae (Diptera: Asiloidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 219: 1–191.
- Yeates DK, Wiegmann BM, 1999. Congruence and controversy: Toward a higher-level phylogeny of Diptera. *Annual Review of Entomology*, 44: 397–428.
- Yokobori S, Pääbo S, 1997. Polyadenylation creates the discriminator nucleotide of chicken mitochondrial tRNA (Tyr). *Journal of Molecular Biology*, 265(2): 95–99.
- Zhang D, Gao FL, Jakovlić I, Zou H, Zhang J, Li WX, Wang GT, 2020. PhyloSuite: An integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies. *Molecular Ecology Resources*, 20(1): 348–355.
- Zhang LQ, Li WH, 2004. Mammalian housekeeping genes evolve more slowly than tissue-specific genes. *Molecular Biology and Evolution*, 21(2): 236–239.
- Zhao L, He YC, Li G, Dang LH, Huo KK, 2022. Characterization and phylogenetic analysis of the complete mitochondrial genome of Syrphidae (Insecta: Diptera). *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 34(11): 1421–1430. [赵乐, 贺屹成, 李钢, 党利红, 霍科科, 2022. 蚜蝇科昆虫线粒体基因组特征及系统发育研究. *生命科学*, 34(11): 1421–1430.]
- Zhao R, Li H, Wu G, Wang YF, 2024. Codon usage bias analysis in the mitochondrial genomes of five *Rhingia* Scopoli (Diptera, Syrphidae, Eristalinae) species. *Gene*, 917: 148466.
- Zheng D, Liu XD, Ma JZ, 2003. The application of 12S rRNA gene and its secondary structure to systematics. *Journal of Northeast Forestry University*, 31(3): 59–61. [郑冬, 刘学东, 马建章, 2003. 12S rRNA 基因及其二级结构在系统学研究中的应用. *东北林业大学学报*, 31(3): 59–61.]