

DOI:10.13350/j.cjpb.221113

• 论著 •

革螨亚目线粒体蛋白编码基因的比较研究*

杨慧娟, 杨志华, 陈婷, 董文鸽**

(大理大学病原与媒介生物研究所, 云南省自然疫源性疾病预防控制技术重点实验室, 云南大理 671000)

【摘要】 **目的** 分析革螨亚目9科20个物种的13个蛋白编码基因序列。 **方法** 测定革螨亚目寄螨科寄螨属的粪堆寄螨线粒体基因组全序列, 结合 GenBank 中已有的革螨亚目9科19种革螨的线粒体基因组全序列。用 Geneious 11.1.5 软件抽取20种革螨的13个蛋白编码基因序列, 统计蛋白编码基因的碱基组成、起始和终止密码子使用频率。用 MEGA X 统计蛋白编码基因的信息位点和密码子使用情况。用软件 DnaSP 6.0 计算蛋白编码基因的非同义替换率(Ka)、同义替换率(Ks)和 Ka/Ks 值, 由此分析每个基因的核苷酸进化速率。用13个蛋白编码基因的排列顺序结构图分析9科20种革螨蛋白编码基因的重排现象。用最大似然法(ML)和贝叶斯法(BI)构建9科20种革螨的系统发育树。

结果 革螨亚目线粒体蛋白编码基因的 A+T 含量为 75.0%, *nad6* 的 A+T 含量最高(82.1%)。以 ATN 为起始密码子的使用频率明显高于 GTG 和 TTG; 在终止密码子使用中, 完整的终止密码子 TAA 和不完整的终止密码子 T 的使用频率较高, TAG 较少使用。对序列信息和进化速率进行分析, *cox1* 基因的保守位点数最多, 进化速率最慢; *atp8* 基因的保守位点数最少, 但进化速率最快的是 *cytb* 基因; *nad5* 基因的变异位点数和简约信息位点数最多。5个蛋白编码基因的 Ka/Ks 值 < 1, 受到负选择作用。ML 和 BI 系统发育树结果一致, 且节点支持率均较高, 分支关系为[(寄螨科+土革螨科)+巨螯螨科+(厉螨科+皮刺螨科+瓦螨科+(鼻刺螨科+蠃螨科)+植绥螨科)]。革螨亚目20种革螨中有5种革螨的蛋白编码基因排列顺序保守, 有15种革螨的蛋白编码基因排列顺序不保守, 其中植绥螨科物种蛋白编码基因重排程度较高。 **结论** 本研究用13个蛋白编码基因序列特征探究革螨亚目不同科的系统发生关系, 为蜱螨亚纲进化遗传学研究和分子标记选取等提供了参考依据。

【关键词】 革螨亚目; 线粒体蛋白编码基因; 比较研究; 系统发育

【中图分类号】 R384.4

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2022)11-1303-06

[Journal of Pathogen Biology. 2022 Nov.; 17(11):1303-1308, 1314.]

A comparative study of mitochondrial protein-coding genes in the Gamasida

YANG Hui-juan, YANG Zhi-hua, CHEN Ting, DONG Wen-ge (Institute of Pathogens and Vectors, Dali University, and Yunnan Provincial Key Laboratory for Zoonosis Control, Dali 671000, Yunnan, China)***

【Abstract】 **Objective** Analysis of 13 protein-coding gene sequences of 20 species from 9 families of the Gamasida.

Methods The complete mitochondrial genome sequence of *Parasitus fimetorum* of the genus *Parasitus* of the family Parasitidae in the Gamasida was determined, and combined with the complete mitochondrial genome sequences of 19 species of gamasid mites of 9 families of the Gamasida available in GenBank. The sequences of 13 protein-coding genes of 20 gamasid mites were extracted using Geneious 11.1.5 software, and the base composition, start and stop codon usage frequencies of protein-coding genes were counted. The informative sites and codon usage of protein-coding genes were counted using MEGA X. The DnaSP 6.0 software was used to calculate the non-synonymous substitution rate (Ka), synonymous substitution rate (Ks), and Ka/Ks values of protein-coding genes, from which the nucleotide evolution rate of each gene was analyzed. The rearrangement phenomenon of protein-coding genes of 20 gamasid mites in 9 families was analyzed by using the arrangement order structure plot of 13 protein-coding genes. *Limulus polyphemus* was selected as the outgroup, and a phylogenetic tree of 20 gamasid mites in 9 families was constructed using MrBayes 3.1.2 and Mega X by Bayesian inference (BI) and maximum likelihood (ML) methods, respectively, in order to study the affinities of the Gamasida. **Results** The A+T content of the Gamasida mitochondrial protein-encoding genes was 75.0%, showing a strong AT preference. The *nad6* gene had the highest A+T content (82.1%) and the *cox1* gene had the lowest A+T content (69.3%). The frequency of using ATN as the start codon was significantly higher than that of GTG and TTG, and the *nad1* gene used the most abundant start codon species; among the stop codon usage, the complete stop codon TAA and incomplete stop codon T were used more frequently, TAG was used less frequently, and the *cox2* gene used the most

* **【基金项目】** 国家自然科学基金项目(No. 32060143)和云南省重大科技计划专项(No. 202102AA310055-X)。

** **【通讯作者】** 董文鸽, E-mail: dongwenge2740@sina.com.cn

【作者简介】 杨慧娟(1997-), 女, 湖南人, 硕士研究生。研究方向: 病原生物学。E-mail: 1024251899@qq.com

abundant stop codon species. Analysis of sequence information and evolutionary rate showed that the *cox1* gene had the highest number of conserved sites and the slowest evolutionary rate; the *atp8* gene had the least number of conserved sites but the fastest evolutionary rate was the *cytb* gene; and the *nad5* gene had the highest number of variant sites and parsimony information sites. Five protein-coding genes (*cox1*, *cox2*, *nad3*, *nad4L* and *atp6*) had Ka/Ks values <1 and were subject to negative selection. Both ML and BI phylogenetic trees showed consistent results and high node support, with branching relationships of [(Parasitidae+Ologamasidae)+Macrochelidae+(Laelapidae+Dermanyssidae+Varroidae+(Rhinonyssidae+Blattisociidae)+Phytoseiidae)]. Five of the 20 gamasid mites of the Gamasida have conserved protein-coding gene order and 15 gamasid mites do not have conserved protein-coding gene order, among which Phytoseiidae species have a high degree of protein-coding gene rearrangement and all genes of *Ptilonyssus chloris* have been rearranged. **Conclusion** This study explored the phylogenetic relationships of different families of the Gamasida using the sequence characteristics of 13 protein-coding genes, and provides a reference for Acari evolutionary genetics research and molecular marker selection.

【Key words】

革螨亚目(Gamasida)是节肢动物中生物多样性较为复杂的类群之一,在动物分类上隶属于蛛形纲(Arachnida)、蜱螨亚纲(Acari)、寄螨总目(Parasitiformes)^[1]。其种类繁多,分布广泛,涵盖了农业、林业、仓储、土壤、兽医和医学等多个研究领域^[2]。革螨亚目可以营自由生活,也可以营寄生生活。营自由生活的革螨生活环境及生态习性复杂多样,大多与医学无直接关系。营寄生生活的革螨主要寄生于小型哺乳动物、鸟类、爬行类及其他节肢动物^[3]。寄生性革螨与医学关系密切,属于“医学革螨”的范畴。革螨可因污染仓贮物、危害养蜂、养鸡等其它动物饲养业,造成经济损失;更为重要的是可通过叮咬引起革螨性皮炎,而且因其可携带各种病原体,包括病毒、立克次体、细菌、螺旋体等,能传播多种人兽共患病^[4]。螨传疾病肾综合征出血热,又名流行性出血热,此病以鼠类为主要传染源,并可通过革螨叮咬传播的一类自然疫源性疾病,疫源地分布于70多个国家和地区,已成为全球性的公共卫生问题,中国是世界上受流行性出血热危害最严重的国家之一,是除病毒性肝炎之外危害较大的病毒性传染源,而与医学关系密切的革螨是传播流行性出血热的重要媒介^[5]。

线粒体是生成能量的场所,参与有机体的合成、代谢、拥有自己特殊的遗传控制系统^[6]。后生动物典型的线粒体基因组结构是闭合环状的双链DNA分子,其大小为15~20 kb,通常包含37个基因:13个蛋白编码基因、2个rRNA基因和22个tRNA基因^[7]。因其具有分子量小、母系遗传、突变率高、较少发生重组和基因进化速度快等特点,已成为进化研究中使用频率最高的分子标记之一,被广泛应用于分子进化、谱系地理学、种系发生和种群遗传学等方面的研究^[8]。其中,13个蛋白编码基因是常用的分子进化研究标记。

本研究选取革螨亚目9科20种革螨为研究对象,通过比较分析线粒体基因组13个蛋白质编码基因的

碱基组成、A+T含量、密码子使用情况以及核苷酸进化速率、基因重排等序列特征。以美洲鲎 *Limulus polyphemus* (NC003057)为外群,用最大似然法(Maximum likelihood, ML)和贝叶斯推断法(Bayesian inference, BI)构建系统发育树,目的是为革螨亚目的系统分类学研究提供分子生物学依据。

材料和方法

1 材料

本研究测定了革螨亚目寄螨科寄螨属粪堆寄螨的线粒体基因组全序列(登录号为OK572962),结合GenBank中已有的9科19种革螨线粒体基因组全序列,分析13个蛋白编码基因的序列特征和系统进化关系。革螨亚目9科20种革螨的登录号及物种分类信息见表1。

2 数据分析

利用Geneious 11.1.5软件^[9]从9科20种革螨线粒体基因组全序列中抽提13个蛋白编码基因序列,统计起始和终止密码子的使用频率。将不同物种每一个同源蛋白编码基因分别导入Mega X^[10]进行比对,先删除序列终止密码子,将核苷酸序列转换为氨基酸序列再进行Muscle比对,并将各个基因序列截齐,然后利用BioEdit 7.1^[11]将13个PCGs基因的比对数据串联成13个蛋白编码基因(PCGs)、重链编码的蛋白编码基因(PCGs-J)和轻链编码的蛋白编码基因(PCGs-N),分别保存核苷酸串联序列和氨基酸串联序列。在Mega X中计算各基因的碱基组成、信息位点和密码子使用情况。用软件DnaSP 6.0^[12]计算13个蛋白编码基因每个位点的非同义替换率(nonsynonymous substitution rate, Ka)和同义替换率(synonymous substitution rate, Ks),进而分析每个基因的核苷酸进化速率,即Ka/Ks值。用13个蛋白编码基因的排列顺序结构图分析9科20种革螨蛋白编码基因的重排

现象。选择美洲蚩 *Limulus polyphemus* 作为外群,用最大似然法(ML)和贝叶斯法(BI)构建系统发育树研究革螨亚目的亲缘关系。利用 Mega X 软件以最优模型(GTR+I+G)构建 ML 树(自举 1000 次);利用 MrBayes 3.1.2^[13] 软件以最优模型(GTR+I+G)构建 BI 树,采用马尔科夫链的蒙特卡洛(Markov Chain Monte Carlo, MCMC)方法,共运行 100 万代,每 1000 代抽样一次,舍去前 25% 的老化样本,构建系统发育树。

表 1 本研究所用革螨亚目物种序列信息
Table 1 Sequence information of species of the Gamasida used in this study

目 Suborder	科 Family	物种 Species	Genbank 登录号 Accession number
革螨亚目 Gamasida	寄螨科 Parasitidae	王氏寄螨 <i>Parasitus wangdunqingi</i>	MK270528
		粪堆寄螨 <i>Parasitus fimetorum</i>	OK572962
	巨螯螨科 Macrochelidae	光滑巨螯螨 <i>Macrocheles glaber</i>	MK270525
		家蝇巨螯螨 <i>Macrocheles muscaedomesticae</i>	MK270526
		那塔利巨螯螨 <i>Macrocheles nataliae</i>	MK270527
		植绥螨科 Phytoseiidae	智利小植绥螨 <i>Phytoseiulus persimilis</i>
		尼氏真绥螨 <i>Euseius nicholsi</i>	KM999989
		斯氏钝绥螨 <i>Amblyseius swirskii</i>	MW729377
		津川钝绥螨 <i>Amblyseius tsugawai</i>	MW729376
		<i>Neoseiulus womersleyi</i>	MW762685
		土革螨科 Ologamasidae	<i>Stylochyrus rarior</i>
	瓦螨科 Varroidae	狄斯瓦螨 <i>Varroa destructor</i>	AJ493124
		皮刺螨科 Dermanyssidae	鸡皮刺螨 <i>Dermanyssus gallinae</i>
	鼻刺螨科 Rhinonyssidae	<i>Tinaminysus melloi</i>	MN557820
		<i>Ptilonyssus chloris</i>	MN557819
	厉螨科 Laelapidae	<i>Coleolaelaps c. f. liui</i>	MK270524
		林氏下盾螨 <i>Hypoaspis linteyini</i>	MK270530
		剑毛帕厉螨 <i>Stratiolaelaps scimitus</i>	MK912042
	蟾螨科 Blattisociidae	跗蟾螨 <i>Blattisocius tarsalis</i>	MK270529
		基氏蟾螨 <i>Blattisocius keegani</i> Fox	MH120211

结 果

1 蛋白编码基因核苷酸组成分析

本研究对革螨亚目 13 个蛋白编码基因(PCGs)、

重链编码的蛋白编码基因(PCGs-J)和轻链编码的蛋白编码基因(PCGs-N)的 AT、GC 含量以及 AT、GC 偏向性进行了统计(表 2)。13 个蛋白编码基因序列碱基组成为 A: 36.8%、T: 38.2%、C: 14.2%、G: 10.8%, A+T 含量(75.0%)高于 G+C(25.0%), 呈明显的 AT 偏好性。对单个蛋白编码基因的 A+T 含量进行分析, *nad6* 基因的 A+T 含量最高(82.1%), *cox1* 基因的 A+T 含量最低(69.3%)。其中, 13 个蛋白编码基因中, 除 *nad1*、*nad4*、*nad4L* 和 *nad5* 主要编码在 N 链外, 另外 9 个基因主要编码在 J 链。PCGs-J 的碱基组成比例为 A: 31.9%、T: 42.1%、C: 14.4%、G: 11.6%, PCGs-N 的碱基含量为 A: 44.2%、T: 32.3%、C: 13.9%、G: 9.6%。可以看出, PCGs、PCGs-J 以及 PCGs-N 核苷酸组成均表现为 G 碱基含量最低, 在 PCGs、PCGs-J 中, T 碱基含量最高, 且 PCGs-N 的 A+T 含量略高于 PCGs 和 PCGs-J 的 A+T 含量。在链偏向性中, PCGs 和 PCGs-J 链的 AT-偏斜为负偏向性, PCGs-N 链的 AT-偏斜为正偏向性, 但 PCGs、PCGs-J 以及 PCGs-N 链的 GC-偏斜均为负偏向性。

表 2 革螨亚目线粒体蛋白编码基因的核苷酸组成
Table 2 Nucleotide composition of the mitochondrial genome of the Gamasida

基因 Gene	A%	T%	G%	C%	AT%	GC%	AT-skew	GC-skew
PCGs	36.8	38.2	10.8	14.2	75.0	25.0	-0.02	-0.14
PCGs-J	31.9	42.1	11.6	14.4	74.0	26.0	-0.14	-0.11
PCGs-N	44.2	32.3	9.6	13.9	76.5	23.5	0.15	-0.18
<i>cox1</i>	29.5	39.8	14.5	16.1	69.3	30.7	-0.15	-0.06
<i>cox2</i>	33.7	38.8	12.5	15.1	72.5	27.5	-0.07	-0.09
<i>cox3</i>	33.5	38.6	12.9	15.0	72.1	27.9	-0.07	-0.08
<i>nad1</i>	39.9	34.9	10.4	14.8	74.8	25.2	0.07	-0.17
<i>nad2</i>	38.6	41.3	8.4	11.7	79.9	20.1	-0.03	-0.16
<i>nad3</i>	35.4	42.1	10.1	12.4	77.5	22.5	-0.09	-0.10
<i>nad4</i>	42.3	34.8	9.5	13.4	77.1	22.9	0.10	-0.17
<i>nad4L</i>	44.2	35.1	8.0	12.7	79.3	20.7	0.11	-0.23
<i>nad5</i>	41.5	35.4	9.6	13.5	76.9	23.1	0.08	-0.17
<i>nad6</i>	37.2	44.9	7.0	10.9	82.1	17.9	-0.09	-0.22
<i>atp6</i>	34.7	40.6	10.4	14.3	75.3	24.7	-0.08	-0.16
<i>atp8</i>	38.3	41.4	6.5	13.8	79.7	20.3	-0.04	-0.36
<i>cytb</i>	32.6	39.2	12.2	16.0	71.8	28.2	-0.09	-0.13

2 蛋白编码基因起始密码子和终止密码子使用情况

本研究统计了革螨亚目 9 科 20 种革螨线粒体基因组 13 个 PCGs 的起始和终止密码子(图 1、图 2)。在起始密码子中, 密码子 ATG 和 ATA 的使用频率较高, 特别是 *cox3* 基因, ATG 的使用频率高达 18 次; 而密码子 ATT 和 ATC 的使用频率相对较低, 仅在 *nad3* 和 *atp8* 基因中存在 ATC 密码子。基因 *nad1* 使用的起始密码子种类最丰富, 包括 ATG、ATA、ATT、TTG 和 GTG, 其次是 *nad3*、*nad5* 和 *atp8*。其

余每个基因内都存在一种使用最为频繁的起始密码子,使用 ATG 最频繁的基因为 *cox2*、*cox3*、*atp6* 和 *cytb*,使用 ATA 最频繁的基因为 *nad2*、*nad3*、*nad5*、*nad6* 和 *atp8*,使用 ATT 最为频繁的基因为 *cox1*,在 *nad1*、*nad4*、*nad4L* 和 *nad5* 基因中发现非标准起始密码子 TTG 和 GTG。

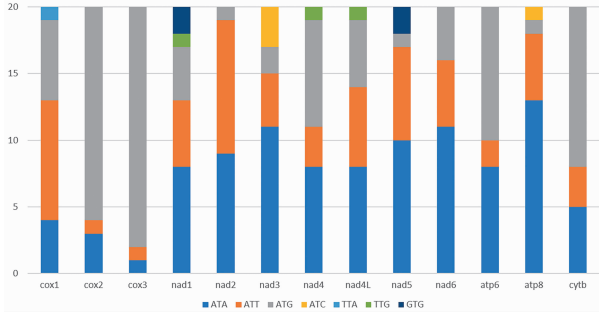


图 1 革螨亚目蛋白编码基因起始密码子的使用情况
Fig. 1 Start codons usage of the Gamasida protein-coding genes

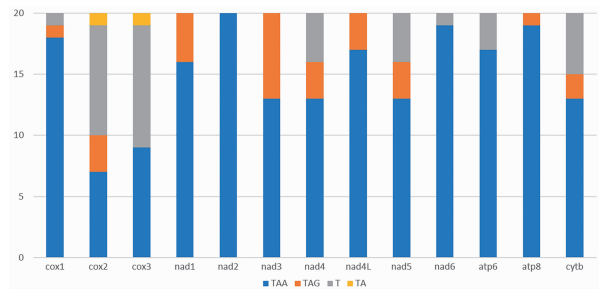


图 2 革螨亚目蛋白编码基因终止密码子的使用情况
Fig. 2 Stop codons usage of the Gamasida protein-coding genes

在终止密码子的使用中,完整的终止密码子 TAA 使用频率最高,在所有的基因中均使用过,且 *nad2* 基因仅使用 TAA 作为终止密码子;其次是完整的终止密码子 TAG 和不完整的终止密码子 T(TAG 在 9 个基因使用过,T 在 8 个基因使用过)。在 *cox2* 和 *cox3* 基因中还发现不完整的终止密码子 TA。基因 *cox2* 使用的终止密码子种类最丰富,包括 TAA、TAG、TA、T。

3 蛋白编码基因氨基酸串联序列和核苷酸串联序列信息位点分析

本研究对革螨亚目 9 科 20 种革螨的 13 个 PCGs 核苷酸串联序列和氨基酸串联序列的保守位点、变异位点、简约信息位点进行了分析(表 3),发现 *cox1* 基因的保守位点数最多,*atp8* 基因的保守位点数最少;*nad5* 基因的变异位点和简约信息位点数最多,变异位点和简约信息位点数最少的是 *atp8* 基因。除 *cox1* 外,所有基因的保守位点数均小于变异位点数和简约信息位点数。

4 蛋白编码基因核苷酸进化速率分析

通过对核苷酸非同义替换率(Ka)、同义替换率(Ks)和 Ka/Ks 值进行统计分析,比较线粒体基因组 13 个 PCGs 在革螨亚目中进化速率的差异(图 3),结果表明:进化速率最快的基因是 *cytb*,*nad4* 和 *nad1* 基因次之,进化速率最慢的基因是 *cox1*;对非同义替换率 Ka 来说,*atp8* 和 *nad6* 基因的值最大,*cox1* 基因的值最小;对同义替换率 Ks 来说,*cox1* 的值最大,*cytb* 的值最小。除了 *cox1*、*cox2*、*nad3*、*nad4L* 和 *atp6* 基因的 Ka/Ks 值 >1,另外 8 个蛋白质编码基因的 Ka/Ks 值都 <1。

表 3 蛋白编码基因氨基酸和核苷酸序列信息位点
Table 3 Amino acid and nucleotide sequence information loci of protein-coding genes

基因 Gene	核苷酸串联序列 Nucleotide tandem sequences			氨基酸串联序列 Amino acid tandem sequences		
	保守位点 Conserved sites	变异位点 Variant sites	简约信息位点 Parsimonious informative sites	保守位点 Conserved sites	变异位点 Variant sites	简约信息位点 Parsimonious informative sites
	<i>cox1</i>	547	993	868	240	271
<i>cox2</i>	161	510	449	24	198	176
<i>cox3</i>	181	621	541	8	257	239
<i>nad1</i>	195	742	630	21	287	252
<i>nad2</i>	61	912	768	0	315	262
<i>nad3</i>	51	200	177	4	80	72
<i>nad4</i>	180	952	800	7	363	323
<i>nad4L</i>	20	203	163	1	71	61
<i>nad5</i>	276	1461	1282	31	539	474
<i>nad6</i>	56	428	382	9	148	130
<i>atp6</i>	80	273	241	8	107	93
<i>atp8</i>	5	175	147	0	56	47
<i>cytb</i>	253	851	736	3	362	340

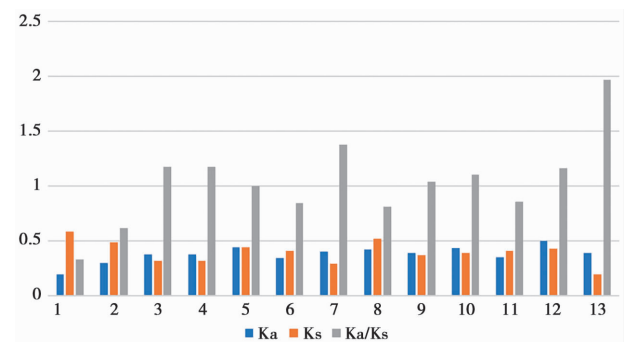


图 3 革螨亚目 13 个蛋白编码基因核苷酸进化速率
Fig. 3 Nucleotide evolutionary rates of 13 protein-coding genes in the Gamasida

5 蛋白编码基因重排分析

比较革螨亚目 9 科 20 种革螨线粒体蛋白编码基因与节肢动物祖先线粒体蛋白基因排列模式(图 4),仅有 5 种革螨共享节肢动物祖先线粒体蛋白编码基因的典型排列方式。另外 15 种革螨的线粒体蛋白编码基因排列顺序并不保守,巨螯螨科的 3 个物种、厉螨科的 2 个物种以及皮刺螨科的 1 个物种均有 1 个基因发

生重排, 厉螨科的剑毛帕厉螨 (*Stratiolaelaps scimitus*) 有 2 个基因发生重排; 蟥螨科的 2 个物种 (跗蟥螨 (*Blattisocius tarsalis*)、基氏蟥螨 (*Blattisocius keegani* Fox)) 分别有 4 个和 5 个基因发生重排; 植绥螨科的 5 个物种和鼻刺螨科的 1 个物种发生了剧烈的重排现象, 其中 *Ptilonyssus chloris* 所有基因均发生了重排。

节肢动物祖先排列 (Arthropod ancestral arrangement)、寄螨科 2 种—王氏寄螨 (*Parasitus wangdangtingi*) 和粪堆寄螨 (*Parasitus finctorum*)、瓦螨科 1 种—狄斯瓦螨 (*Varrou destructor*)、土革螨科 1 种—*Spylochyrus rarior*、鼻刺螨科 1 种—*Tinaminyssus melloi*

皮刺螨科 1 种—鸡皮刺螨 (*Dermamyssus gallinae*)

巨螯螨科 3 种—光滑巨螯螨 (*Macrocheles glaber*)、家蝇巨螯螨 (*Macrocheles muscaedomesticae*)、那塔利巨螯螨 (*Macrocheles nataliae*)

厉螨科 2 种—*Coloelaelaps cf. liui*、林氏下盾螨 (*Hypoaspis linteyini*)

厉螨科 1 种—剑毛帕厉螨 (*Stratiolaelaps scimitus*)

鼻刺螨科 1 种—*Ptilonyssus chloris*

蟥螨科 1 种—基氏蟥螨 (*Blattisocius keegani* Fox)

蟥螨科 1 种—跗蟥螨 (*Blattisocius tarsalis*)

植绥螨科 1 种—智利小植绥螨 (*Phytoseiulus persimilis*)

植绥螨科 1 种—厄氏真绥螨 (*Euseius nicholsi*)

植绥螨科 1 种—斯氏钝绥螨 (*Amblyseius swirskii*)

植绥螨科 1 种—津川钝绥螨 (*Amblyseius tsugawai*)

植绥螨科 1 种—*Nooseiulus womersleyi*

寄生螨科 1 种—*Parasitus wangdangtingi*

寄生螨科 1 种—*Parasitus finctorum*

寄生螨科 1 种—*Dermapyssus gallinae*

寄生螨科 1 种—*Limulus polyphemus*

绿色表示易位, 蓝色表示转位, 黄色表示易位+转位

图 4 节肢动物祖先和革螨亚目 13 个蛋白编码基因的排列顺序

green indicates translocation, blue indicates translocation, yellow indicates translocation + translocation

Fig. 4 Alignment order of 13 protein-coding genes in the arthropod ancestors and Gamasida

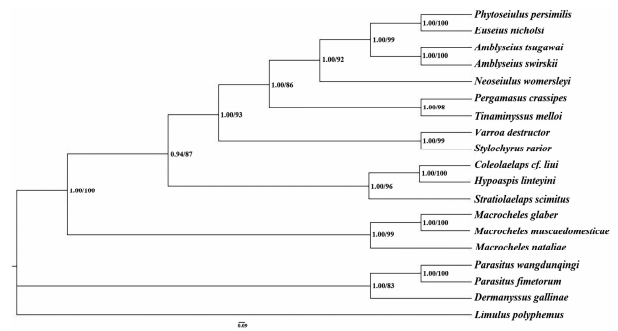
6 系统发育分析

以美洲蜃 *Limulus polyphemus* (NC003057) 为外群, 用 13 个蛋白编码基因构建 9 科 20 种革螨的系统发育关系。系统发育结果 (图 5) 显示, 最大似然法 (ML) 和贝叶斯法 (BI) 构建的系统发育树拓扑结构一致, 革螨亚目各个科的关系得到了很好的解析, 并且节点支持率均较高。整个系统发育树分成 3 支。第一进化支由寄螨科与土革螨科构成, 位于进化树的基部; 巨螯螨科的三个物种形成第二进化支, 第三进化支包括植绥螨科、鼻刺螨科、瓦螨科、土革螨科、蟥螨科以及厉螨科, 且瓦螨科与土革螨科形成并列分支, 蟥螨科与鼻刺螨科形成姐妹群。革螨亚目系统发育关系为: ((寄螨科+土革螨科)+巨螯螨科)+(厉螨科+皮刺螨科+瓦螨科)+(鼻刺螨科+蟥螨科)+植绥螨科), 此结果对革螨亚目的系统发育分析有一定参考价值。

讨论

本研究对革螨亚目线粒体基因组 13 个蛋白编码基因序列进行了分析。线粒体基因组 13 个蛋白编码基因在物种适应性进化的过程中形成了独有的一些特征 (单倍体且单亲遗传), 包含大量的遗传信息, 已成为

系统进化和遗传分化研究的重要分子标记^[14-15]。



分支节点处所示为贝叶斯后验概率/Bootstrap 值

图 5 基于 13 个蛋白编码基因构建的革螨亚目系统发育树 Bayesian posterior Probability/ Bootstrap value on the left/right branch node

Fig. 5 The phylogenetic tree of the Gamasida based on 13 protein-coding genes

革螨亚目 13 个蛋白编码基因的 AT 平均含量高于 GC 平均含量, G 含量最低, 存在明显的 AT 偏好性, 组成特征与大多数节肢动物线粒体基因组碱基组成相似。G 和 C 之间的相对含量与 DNA 复制起点的方向有关, 而 A 和 T 之间的相对含量会随着复制起点的方向、密码子的位置以及基因的位置的变化而变化, 碱基组成的不均衡性可能对线粒体基因组的复制、转录以及其蛋白质的使用存在一定的影响^[16]。Folmer 等^[17]认为 AT 含量高的线粒体基因在进化中更具优势。在单个蛋白编码基因中, *nad6* 基因的 A+T 含量最高, *cox1* 基因的 A+T 含量最低, 革螨亚目蛋白编码基因在长期进化过程中, *nad6* 比其他蛋白编码基因更具优势。

在密码子的使用上, 通常使用 ATN (ATA、ATC、ATT、ATG) 作为起始密码子, 且 ATG 和 ATA 的使用频率明显高于 ATT 和 ATC。仅在部分基因中发现非标准起始密码子 TTG 和 GTG。特殊的起始密码子可减小基因间隔区, 又可避免相邻的基因发生重叠, 同时在转录之后经过 RNA 编辑可变为标准的起始密码子^[18]。后生动物线粒体基因组蛋白编码基因常见的终止密码子为 TAA 与 TAG, 也有少部分蛋白编码基因是不完整的终止密码子 T/TA。革螨亚目蛋白编码基因不完整的终止密码子 T 使用频率较高, 这种现象在有些昆虫线粒体基因组中也较常见。不完全终止密码子 T/TA 可能通过 mRNA 加工过程中的多聚腺苷酸化形成完整的终止密码子 TAA^[19]。

线粒体基因组基因的进化速率一般受纯化 (负) 选择、突变和定向 (正) 选择的控制, 通过计算非同义替换率和同义替换率的比值 (Ka/Ks), 从而可以判断蛋白编码基因在物种进化模式中是否有选择压力的差别, 进而体现基因的保守程度^[20]。分析革螨亚目 13 个蛋白编码基因的序列信息与进化速率关系, 发现 *cox1* 基

因的保守位点数最多,进化速率最慢,表明它承受着较强的选择压力,更加保守;*atp8* 基因的保守位点数最少,进化速率较快,表明它经历了较弱的进化压力,积累了更多的突变。对非同义替换率(Ka)、同义替换率(Ks)和 Ka/Ks 值进行分析,有 5 个蛋白质编码基因(*cox1*、*cox2*、*nad3*、*nad4L* 和 *atp6*)的 Ka/Ks 值 <1 ,非同义替换率比同义替换率高,表明它们在进化中受到强烈的负选择(即 $Ka/Ks < 1$)因而表现出功能的约束性。一般认为,同义突变不受自然选择,而非同义突变则受到自然选择作用。生物体内发生的非同义突变能够通过降低细胞氧化磷酸化效率而对呼吸链的活动产生影响,大多数属于有害突变,只有少数是中性突变或有利突变^[21-22]。8 个基因(*cox3*、*nad1*、*nad2*、*nad4*、*nad5*、*nad6*、*atp8* 和 *cytb*)的 Ka/Ks 值 >1 ,说明这 8 个基因可能经历了正选择。物种在选择压力的作用下适应自然环境中的许多因素(如温度、盐分含量、海拔、氧含量、生命活动等)并得以存活和繁衍,其中正选择往往促进线粒体蛋白编码基因的适应性进化^[23]。

线粒体基因组基因排列方式可遗传且具有遗传稳定性,因此,能提供许多的遗传信息以供物种长期的进化分析,可用来体现个体或者群体的遗传结构和特征,存在十分广泛的用途^[24]。在革螨亚目 9 科 20 种革螨中,15 种革螨的线粒体蛋白编码基因排列发生了重排,发生重排的蛋白编码基因数量范围在 1~13 个之间。其中,植绥螨科的 5 种革螨重排程度最高,比其它物种发生重排的频率高很多。导致线粒体蛋白编码基因重排加速的原因有很多,如寄生习性、控制区的复制以及与单倍二倍体的进化有关^[25],但这些原因还未得到确证。通常来说,线粒体基因重排被称为“罕见的基因组改变”,并且它们的相似性很低^[26]。Cameron^[27]研究发现,昆虫线粒体基因组中发生的重排事件可能有利于研究昆虫目内各类群之间的系统发育关系。螨类线粒体基因重排发生的原因以及是否有利于研究各类群间的系统发育还需进行更深入的研究。

目前,革螨亚目在系统发育方面的研究鲜有报道,其分类学地位的划分以及系统发生地位还有待完善。本研究通过 ML 和 BI 方法构建的革螨亚目系统发育树拓扑结构一致。革螨亚目各科间的系统发育关系比较清晰,同科的物种总是以较高的置信度优先聚在一起,说明科内差异小于科间差异。寄螨科与土革螨科位于进化树的基部,说明在革螨亚目中,这两个科的物种最先开始分化。在系统发育树中,未发现不同科的物种聚在一起的现象,说明革螨亚目的分子分类结果与传统的形态学分类结果相吻合。

本文对 9 科 20 种革螨的 13 个蛋白编码基因的序列特征(密码子的使用情况、A+T 含量、氨基酸序列

和核苷酸序列信息位点、核苷酸进化速率、蛋白编码基因的排列顺序和系统发育关系)做了详尽分析,深入研究革螨亚目物种的适应性进化、蛋白编码基因的重排和系统进化关系,查明了 9 科 20 种革螨的分子分类结果与传统的形态学分类结果相吻合,为进一步推进蜱螨亚纲分子系统学的发展提供了参考。革螨亚目种类繁多,主要类群个体都较小而且基本缺乏坚硬的外骨骼,导致标本易遭到破坏。因此,在今后的研究中,需要对更多革螨亚目物种的线粒体基因组进行测定与分析,丰富蜱螨亚纲线粒体基因组数据库,为蜱螨亚纲不同科、属、种间的系统发生关系分析奠定理论基础。

【参考文献】

- [1] 任天广,郭宪国. 中国厉螨科区系研究(蜱螨亚纲:革螨股:厉螨科)[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2008,19(4):326-332.
- [2] 黄丽琴,郭宪国. 我国医学革螨生态学研究概况[J]. 安徽农业科学,2010,38(6):2971-2973,3014.
- [3] 任天广,郭宪国. 中国皮刺螨总科区系研究报告[J]. 中国病原生物学杂志,2009,4(2):99-104.
- [4] 周淑娟,邓艳琴,李述杨,等. 福建省皮刺螨总科螨种记录增补[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2012,23(5):467-470.
- [5] 汪娜,尹家祥. 肾综合征出血热流行过程及其影响因素研究进展[J]. 中国血吸虫病防治杂志,2022,34(02):200-203,211.
- [6] Dong WG, Dong YL, Guo XG, et al. Fragment tRNA gene translocation towards the boundaries with control regions contributes to the highly organization of the parasitic lice of mammals [J]. BMC Genomics,2021(22):598-615.
- [7] 孙佳宁,陈婷,董文鸽. 缺齿甲肋虱线粒体基因组测序与分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2022,40(2):194-203,210.
- [8] 董文鸽,郭宪国,金道超,等. 虱目裂化线粒体基因组研究进展[J]. 遗传,2013,35(7):847-855.
- [9] Kearse M, Moir R, Wilson A, et al. Geneious Basic: An integrated and extendable Desktop software platform for the organization and analysis of sequence data [J]. Bioinformatics, 2012 (28): 1647-1649.
- [10] Sudhir K, Glen S, Michael L, et al. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. Mol Biol Evol,2018(35):1547-1549.
- [11] Hall TA. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT [C]// Nucleic acids symposium series [J]. London: IR Ltd, 1999, 41 (41):95-98.
- [12] Rozas J, Ferrer-Mata A, Sanchez-DelBarrio JC, et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets [J]. Mol Bio Evo,2017,34(12):3299-3302.
- [13] Ronquist F, Teslenko M, Mark PVD, et al. MrBayes 3. 2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. Syst Biol,2012,61(3):539.
- [14] Zhao WQ, Liu DJ, Gao ZR, et al. Complete mitochondrial genome sequence and phylogenetic implications of *Chorosoma macilentum* (Heteroptera: Rhopalidae) [J]. Mitochondrial DNA Part B-Resources,2019,4(2):3882-3883.

除目标。

目前全国血吸虫病呈低度流行水平,但血吸虫病防治工作仍面临着诸多挑战。流行区钉螺孳生面积巨大,综合治理措施落实困难;家畜传染源控制难度大,疫情反弹风险较高;生态环境修复保护,增加钉螺扩散输入风险^[13]。要达到《“健康中国 2030”规划纲要》提出的 2030 年全国所有流行县(市、区)达到消除血吸虫病标准的目标^[14],需强化血吸虫病疫情及风险评估,开展科学精准防控,在巩固血吸虫病防治成果的基础上稳步推进消除进程。

【参考文献】

[1] Mcmanus DP, Dunne DW, Sacko M, et al. Schistosomiasis[J]. Nat Rev Dis Primers, 2018, 4(1):13.

[2] World Health Organization; Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis: numbers of people treated in 2018 [J]. Weekly Epidemiological Record, 2020, 50(94): 601-12

[3] 卫生计生委财政部等六部门联合印发《“十三五”全国血吸虫病防治规划》[J]. 中国应急管理, 2017, (03): 29-31.

[4] Zhou X, Wang L, Chen M, et al. The public health significance and control of schistosomiasis in China then and now[J]. Acta Tropica, 2005, 96(2): 97-105.

[5] Xian YC, Li YW, Ji MC, et al. Schistosomiasis control in China;

the impact of a 10-year World Bank Loan Project (1992-2001) [J]. Bull World Health Organ, 2005, 83(1): 43-48.

[6] Mao CP. A review of the epidemiology of Schistosomiasis Japonica in China[J]. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 1948, 5(5): 659-672.

[7] 郝阳, 郑浩, 朱蓉, 等. 2008 年全国血吸虫病疫情通报[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2009, 21(6): 451-456.

[8] 张利娟, 徐志敏, 钱额骏, 等. 2015 年全国血吸虫病疫情通报[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2016, 28(6): 611-617.

[9] 张利娟, 徐志敏, 杨帆, 等. 2020 年全国血吸虫病疫情通报[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2021, 33(3): 225-233.

[10] Kim HJ, Fay MP, Feuer E, et al. Permutation tests for joinpoint regression with applications to cancer rates[J]. Stat Med, 2000, 19(3): 335-351.

[11] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. “十三五”全国血吸虫病防治规划[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2017, 24(4): 5-8.

[12] 李石柱, 许静, 吕山, 等. 《地方病防治专项三年攻坚行动方案(2018-2020 年)》解读: 血吸虫病[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2018, 30(6): 601-604.

[13] 张利娟, 徐志敏, 戴思敏, 等. 2017 年全国血吸虫病疫情通报 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2018, 30(5): 481-488.

[14] 中国共产党中央委员会, 中华人民共和国国务院. “健康中国 2030”规划纲要[J]. 中华眼科杂志, 2018, 44(1): 11-22.

【收稿日期】 2022-08-21 【修回日期】 2022-10-08

(上接 1308 页)

[15] Hajibabaei M, Singer GA, Hebert PD, et al. DNA barcoding; how it complements taxonomy, molecular phylogenetics and population genetics [J]. Trends Genet, 2007, 23(4): 167-172.

[16] 李娟, 李虎, 霍科科. 蚜蝇科昆虫比较线粒体基因组分析[J]. 汉中: 陕西理工大学学报(自然科学版). 2019, 35(1): 74-79, 85.

[17] Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primer for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. Mol Mar Biol Biotechnol, 1994, 3(5): 294-299.

[18] Wilson K, Cahill V, Ballment E, et al. The complete sequence of the mitochondrial genome of the crustacean Penaeus monodon: Are malacostracan crustaceans more closely related to insects than to branchiopods? [J]. Mol Bio Evo, 2000, 17(6): 863-874.

[19] Cao SY, Wu XB, Yan P, et al. Complete nucleotide sequences and gene organization of mitochondrial genome of *Bufo gargarizans* [J]. Mitochondrion, 2006, 6(4): 186-193.

[20] Hurst GD, Jiggins FM. Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: The effects of inherited symbionts [J]. P Roy Soc B-Bio Sci,

2005, 272(1572): 1525-1534.

[21] Taylor RW, Turnbull DM. Mitochondrial DNA mutations in human disease [J]. Nature Rev Gene, 2005, 6(5): 389-402.

[22] Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine [J]. Annu Rev Genet, 2005(39): 359-407.

[23] 孔里微. 三种叶螨的线粒体基因组进化机制研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2016, 5-25.

[24] 陈英, 罗朝兵, 李沅秋, 等. 象甲科线粒体基因组特征及系统发育分析[J]. 环境昆虫学报, 2019, 41(6): 1297-1310.

[25] 陈志腾, 杜予州. 昆虫线粒体基因组重排的研究进展[J]. 环境昆虫学报. 2016, 38(4): 843-851.

[26] Boore JL, Brown WM. Big trees from little genomes: Mitochondrial gene order as a phylogenetic tool [J]. Curr Opin Genet Dev, 1998, 8(6): 668-674.

[27] Cameron SL. Insect mitochondrial genomics; Implications for evolution and phylogeny [J]. Annu Rev Entomol, 2014(59): 95-117.

【收稿日期】 2022-06-30 【修回日期】 2022-08-20