刘占玲,仁青永尕,白露超,等.柴达木地区古毒蛾线粒体基因组结构分析[J].山西农业大学学报(自然科学版),2025,45(6):126-137.
Liu Z L, Ren Q Y G, Bai L C, et al.Structural analysis of complete mitochondrial genome of *Orgyia antiqua* in Qaidam Basin [J].Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2025,45(6):126-137.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202506012

柴达木地区古毒蛾线粒体基因组结构分析

刘占玲[1],仁青永尕[1],白露超[1],南彦斌[1],寇桂香[1],来有鹏[2],周渊涛[1*]

(1.青海大学 农牧学院,青海 西宁 810016;2.青海省农林科学院 植物保护研究所,青海 西宁 810016)

摘　要:[目的]古毒蛾*Orgyia antiqua*为青海柴达木地区一种常见的草地灌丛害虫,主要危害盆地内维持荒漠草原生态平衡的重要灌木,本研究旨在探明柴达木地区古毒蛾线粒体基因组序列特征,以及在线粒体基因组学水平分析其与其它鳞翅目昆虫系统发育关系。[方法]采用Illumina HiSeq对柴达木地区古毒蛾的线粒体基因组进行测定,注释分析基因组序列特征,并利用最大似然法(ML)和邻接法(NJ)构建古毒蛾系统进化树,在线粒体基因组学水平分析古毒蛾与其它昆虫的系统发育关系。[结果]古毒蛾线粒体基因组全长15 457 bp,由37个基因以及1个非编码控制区(D—loop)组成,37个基因包含13个PCGs、22个tRNA基因和2个rRNA基因,线粒体基因之间存在重叠或基因间隔区;碱基组成表现出明显的AT偏好性;UUA相对密码子使用频率最多,其次为AUU、UUU;21个tRNA基因均形成典型的三叶草结构,而*trnS1*基因缺少DHU臂,未呈现三叶草形态;2个系统发育树分析结果均显示,古毒蛾与毒蛾科4种毒蛾聚在同一进化枝,其中与棉古毒蛾(*Orgyia postica*)和可茸毒蛾(*Olene inclusa*)亲缘关系最近。[结论]本研究获得了柴达木地区古毒蛾线粒体基因组,明确其基因组特征,并在线粒体基因组学水平探讨古毒蛾的系统发育关系,为后续研究毒蛾科昆虫系统进化关系及柴达木地区害虫绿色防控提供参考。

关键词:古毒蛾; 毒蛾科; 鳞翅目; 线粒体基因组; 系统发育分析
中图分类号:S968.1　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-8151(2025)06-0126-12

Analysis of the mitochondrial genome structure of *Orgyia antiqua* in the Qaidam Basin

Liu Zhanling[1], Ren Qingyongga[1], Bai Luchao[1], Nan Yanbin[1], Kou Guixiang[1], Lai Youpeng[2], Zhou Yuantao[1*]

(*1.School of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China; 2.Institute of Plant Protection, Qinghai Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Qinghai, Xining, 810016*)

Abstract:[Objective]The Vapourer moth, *Orgyia antiqua*, is a common pest of grassland shrubs in the Qaidam region of Qinghai Province, primarily damaging important shrubs that maintain the ecological balance of the desert steppe in the basin. This study aimed to elucidate the characteristics of the mitochondrial genome sequence of *O. antiqua* from the Qaidam region and analyzed its phylogenetic relationships with other Lepidoptera insects at the mitochondrial genomic level. [Methods]The mitochondrial genome of *O. antiqua* from the Qaidam region was sequenced using Illumina NovaSeq. The characteristics of the genome sequence were annotated and analyzed. Phylogenetic evolutionary tree of *O. antique* were constructed using Neighbor-Joining (NJ) and Maximum-Likelihood (ML) method to analyze its phylogenetic relationships between *O. antiqua* and other insects at the mitochondrial genomics level. [Results]The complete mitochondrial genome of *O. antiqua* was 15 457 bp in length, consisting of 37 genes(including 13 PCGs, 22 tRNA genes, 2 rRNA genes)and one non-coding control region (D—loop). Overlapping regions or intergenic spacers were present between some mitochondrial genes. The base composition

收稿日期:2025-06-09　　**修回日期**:2025-07-18
基金项目:其他23-(千人计划)昆仑英才·乡村振兴人才农业农村科技公关团队(K9923138)
作者简介:刘占玲(ORCID:0009-0000-2172-2537),硕士研究生,研究方向:昆虫化学生态学
*通信作者:周渊涛(ORCID:0000-0003-2596-1070),副教授,硕士生导师,E-mail:1282186715@qq.com

showed a distinct AT bias. The UUA codon was the most frequently used relative codon, followed by AUU (isoleucine, Ile) and UUU. Twenty-one tRNA genes all formed the typical cloverleaf secondary structure, whereas the *trnS1* gene lacked the DHU arm and did not exhibit the cloverleaf morphology. Both phylogenetic tree analyses showed that *O. antiqua* clustered within the same clades as four other species from the family Lymantriidae, with the closest relationship being to *Orgyia postica* and *Olene inclusa*. [Conclusion] The mitochondrial genome of *O. antiqua* from the Qaidam region was obtained, its genomic characteristics were clarified, and its phylogenetic relationships was discussed at the mitochondrial genomics level. These findings provided a reference for subsequent research on the phylogenetic relationships of Lymantriidae insects and for the green prevention and control of pests in the Qaidam region.

Keywords: *Orgyia antiqua*, Lymantriidae, Lepidoptera, Mitochondrial genome, Phylogenetic analysis

昆虫的线粒体基因组作为一种分子遗传标记被广泛应用于昆虫种类鉴定、系统发育和种群遗传结构等昆虫系统学研究[1-2],其具有基因重组率低、突变率高,母系遗传,进化速率较快,易于进行PCR扩增以及相对保守的基因组组织结构等特点[3-4]。鳞翅目昆虫线粒体基因组长度介于15~16 kb之间,通常为共价闭合的1个环状双链DNA分子,其AT含量为77.8%~82.7%,其组成包含37个相对保守的基因和1个非编码控制区(non-coding control region),37个相对保守的基因即13个蛋白质编码基因(PCGs)(*atp6*、*atp8*、*cob*、*nad1*~*nad6*、*nad4L* 和 *cox1*~*cox3*)、2个核糖体RNA(*rrnL* 和 *rrnS*)和22个转运RNA(tRNAs)。迄今为止,NADH脱氢酶亚基*nad5*、细胞色素C氧化酶亚基*cox1*、*cox2*等已被广泛研究并用于鳞翅目物种的分类与鉴定。起初,线粒体基因在鳞翅目昆虫的研究中主要用于物种鉴定,随后,其作用从传统特征描述转变为主要探究物种系统发育关系[5-7]。现如今大量鳞翅目昆虫的线粒体基因组被报道,据前人研究鳞翅目首个被测定和报道线粒体基因组的昆虫为家蚕(*Bombyx mori*),后续为明确家蚕是否是由野蚕(*Bombyx mandarina*)经人工驯化而来,大量的野蚕及家蚕线粒体基因组被研究[8],此外,也有大量蛾、蝶类昆虫线粒体基因组被研究,如扁刺蛾(*Thosea sinensis*)[9]、光眉刺蛾(*Narosa fulgens*)[10]、玉带凤蝶(*Papilio polytes*)[11]以及棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)[12]等。

毒蛾科(Lymantriidae)在我国分为2个亚科(毒蛾亚科、古毒蛾亚科)、37属、343种,是农林业及牧业上的重要害虫[13]。其危害发生时,常对果园、森林等造成严重的危害;为害严重时,幼虫因具有毒腺,造成区域流行性眼炎、皮炎的发生,影响人及家畜生产劳动及健康,严重时可造成中毒,以致死亡[14]。物种系统发育关系有助于为更好地理解毒蛾科的系统演化提供线粒体系统发育基因组学数据,并为古毒蛾的谱系关系研究提供有力证据,以便发挥生物防治作用[10,15]。迄今为止,仅对毒蛾科部分昆虫遗传信息及其与鳞翅目其它物种的系统发育进行了初步研究,如2000年Bogdanowicz对来自日本欧洲等不同地区舞毒蛾(*Lymantria dispar*)种群进行线粒体基因组序列变异分析,观察到舞毒蛾线粒体基因组的不同地理变异模式[16];在此基础上,周贤等[17]后续对几个舞毒蛾地理种群体的分化、扩散和遗传变异作了进一步的研究和讨论,认为日本是舞毒蛾分化的中心,而北美舞毒蛾则形成独立的一支;棉古毒蛾(*Orgyia postica*)线粒体基因组研究发现其与(*Laelia suffusa*)系统发育关系最近[18];2019年基于线粒体基因组,Wu等[19]重建了木毒蛾(*Lymantria xylina*(*L. xylina* + (*L. dispar* + *Lymantria* sp. AN-2017)))的姐妹群关系。目前缺乏对毒蛾科昆虫线粒体基因组的全面了解,亟需对该类群进行更全面的全基因组测序,从而为后续深入解析该类群的系统发育关系提供数据支撑。

古毒蛾(*Orgyia antiqua*)属鳞翅目(Lepidoptera)毒蛾科(Lymantriidae)古毒蛾属昆虫,在我国主要分布于甘肃、宁夏、青海、西藏等地区[20]。该虫在青海柴达木地区为常见草地灌丛害虫,主要危害盆地内维持荒漠草原生态平衡的重要灌木白刺属植物[21],如唐古特白刺(*Nitraria tanguto-rum*)、大果白刺(*N. roborowskii Kom*)和小果白刺(*N. sibirica Pall*)[22],且对柴达木地区枸杞(*Lycium chinense*)、盐爪爪(*Kalidium foliatum*)和驼绒藜(*Ceratoides latens*)等其它具有防风固沙和改善土壤盐渍作用的荒漠经济植被也有一定危害,加速柴达木地区草地生态平衡的恶化,加剧了草地沙化[22]。柴达木盆地位于青藏高原东北部,地处高原,气候极端干旱,因此植被种类单一,覆盖率

低,且近年来虫害泛滥,因此对当地害虫的研究至关重要。研究物种系统发育关系有助于为更好地理解毒蛾科的系统演化提供线粒体系统发育基因组学数据,并为古毒蛾的谱系关系研究提供有力证据,以便发挥生物防治作用。目前对柴达木古毒蛾的研究涉及生物学研究及防治[20-22],关于古毒蛾线粒体基因组的研究还未见报道,本研究首次对柴达木地区古毒蛾进行全基因组测序,可丰富我国毒蛾科的线粒体基因组数据,将为后续毒蛾科类群遗传进化关系深入研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 标本采集与DNA提取

古毒蛾幼虫于2023年6月在青海省海西蒙古族藏族自治州(36°N,97°E,海拔3100米)采集,置于实验室适宜条件饲养至羽化出成虫,收集雌雄成虫并用液氮速冻储存于-80 ℃的冰箱供后续提取DNA。采用通用基因组DNA提取试剂盒(索莱宝有限公司,北京)提取古毒蛾雄成虫的总DNA,并利用超微量分光光度计(凯奥科技,北京)和琼脂糖凝胶电泳(1%)检测样本浓度及质量。

1.2 Illumina Novaseq高通量测序

用质检合格且浓度在20 ng/μL以上DNA样品进行高通量测序并构建350 bp的小片段文库(诺禾致源生物科技有限公司,南京)。后续进行PCR扩增,形成测序文库后利用Illumina NovaSeq平台进行PE150测序,最终获得原始数据。

1.3 序列拼装、注释及特征分析

对测序得到的原始数据整理、过滤得到Clean date,再进行拼接并构建contigs,对数据集进行组装及校正得到古毒蛾线粒体基因组全长序列,利用在线网站MITOS2(http://mitos2.bioinf.unileipzig.de/index.py)对获得的基因组序列进行功能注释及验证[23]。利用CGVIEW软件(default parameter)绘制出基因组圈形图;用MEGA11软件对古毒蛾线粒体基因组的碱基组成及其偏好性进行计算和统计。

1.4 古毒蛾系统发育分析

包括NCBI上下载已发表22种昆虫序列(20种鳞翅目昆虫序列作为内群,2种双翅目昆虫序列作为外群)(表1),以及古毒蛾1条序列,共23条线粒体基因组序列,采用共有CDS做进化树分析,用RAxML v8.2.10(https://cme.h-its.org/exelixis/software.html)以及rapidnj v2.3.3(https://github.com/somme89/rapidNJ)软件,采用GTRGAMMA模型,rapid Bootstrap分析(bootstrap=1000),分别构建ML树和NJ树。

1.5 Ka/Ks分析

使用软件mafft v7.427(https://mafft.cbrc.jp/alignment/software)比对基因序列,并采用KaKs_Calculator v2.0(https://sourceforge.net/projects/kakscalculator2/)软件计算基因的Ka/Ks值。

2 结果与分析

2.1 线粒体基因组序列分析

柴达木地区古毒蛾的线粒体基因组具有典型的闭合双链环状DNA分子结构(图1),全长15 457 bp,由13个PCGs(*atp6*、*atp8*、*cob*、*nad1*~*6*、*nad4L*和*cox1*~*3*)、2个rRNA(*rrnS*和*rrnL*)、22个RNA和1段非编码控制区(D-loop)组成。基因组存在间隔现象以及重叠区,最长间隔序列居于*trnQ*基因和*nad2*基因之间(46 bp)。其中2对基因相邻,包括*trnV*与*rrnS*以及*trnK*与*trnD*,3对基因存在重叠,重叠长度为1~7 bp,最长基因重叠位于*trnW*基因和*trnC*基因之间(7 bp)。13个PCGs的长度介于62(*trnR*)~1743 bp(*nad5*)之间,起始密码子均为ATN,9个PCGs终止密码子均为完整TAA,其余4个PCGs(*cox1*、*cox2*、*nad4*和*cob*)以不完整的T结尾。非编码控制区是古毒蛾线粒体基因组最短的区域,长494 bp,位于*rrnS*基因和*trnM*基因之间(图1及表2)。

2.2 碱基组成及偏向

古毒蛾线粒体全基因组碱基组成中A、T、C、G含量差异较大,含量处于9.89%~38.83%,AT含量较高为74.43%。在各基因及非控制区中AT含量占比为72.61%~95.14%。其中PCGs中AT含量最低为72.61%,D-loop区AT含量最高为95.14%,GC含量占比为4.86%~27.39%,且AT偏斜的AT-skews和GC偏斜的GC-skews分别为0.043和-0.227,显示出明显的AT偏好。不同区域的碱基偏好性存在明显差异,PCGs、rRNAs和Dloop更偏向T碱基,其AT-skew均为负值(-0.136、-0.015和-0.068);而tRNAsAT-skew均为正值(0.025),则更偏好A碱基(表3)。

表1　用于系统发育分析的23个物种线粒体基因组信息

Table 1　Mitochondrial genome information of 23 species for phylogenetic analysis

	科 Family	物种 Species	拉丁名 Latin name	长度/bp Length	登录号 Accession number
内群 Inner group	毒蛾科	古毒蛾	*Orgyia antiqua*		
		可茸毒蛾	*Olene inclusa*	15 486	NC_062102.1
		肾毒蛾	*Cifuna locuples*	15 526	NC_068591.1
		舞毒蛾	*Lymantria dispar*	15 569	NC_012893.1
		棉古毒蛾	*Orgyia postica*	15 258	NC_057614.1
	夜蛾科	模夜蛾	*Noctua pronuba*	15 315	KJ508057.1
		三叉地夜蛾	*Agrotis trifurca*	15 374	MZ397983.1
		梨剑纹夜蛾	*Acronicta rumicis*	15 388	NC_062117.1
		草地贪夜蛾	*Spodoptera frugiperda*	15 386	MN385596.1
		桑剑纹夜蛾	*Acronicta major*	15 397	NC_062172.1
		榆剑纹夜蛾	*Acronicta hercules*	15 321	OQ830670.1
	舟蛾科	厄内斑舟蛾	*Peridea elzet*	15 210	NC_062111.1
	尺蛾科	双斑辉尺蛾	*Luxiaria mitorrhaphes*	15 340	NC_061239.1
		茶银尺蠖	*Scopula subpunctaria*	15 464	NC_067763.1
		茶尺蠖	*Ectropis obliqua*	15 475	MF417804.1
	螟蛾科	乳翅卷野螟	*Pycnarmon lactiferalis*	15 219	NC_033540.1
		豆卷叶螟	*Omiodes indicata*	15 367	NC_039177.1
	弄蝶科	隐纹谷弄蝶	*Pelopidas mathias*	15 524	NC_056138.1
	灰蝶科	尖翅银灰蝶	*Curetis acuta*	15 178	NC_065068.1
	天蛾科	平背天蛾	*Cechenena minor*	15 323	NC_067729.1
		丁香天蛾	*Psilogramma increta*	15 252	NC_037445.1
外群 External group	果蝇科	黑腹果蝇	*Drosophila melanogaster*	19 532	KP843842.1
		果蝇	*Drosophila yakuba*	16 026	KF824873.1

2.3　氨基酸及密码子使用情况

古毒蛾线粒体的13个PGGs共编码3736个氨基酸,相对同义密码子使用频率(RSCU)显示,其在进化过程中存在明显偏好,其中UUA(Leu)使用432次,RSCU为4.73,相对密码子使用频率最多,AUU和UUU次之,分别使用404次和319次,RSCU分别为1.80和1.79,UAA作为终止密码子使用13次,而密码子使用次数最少为使用1次,包括ACG、CUG和GCG,RSCU分别为0.03、0.01和0.03(表4)。

2.4　tRNA二级结构

古毒蛾线粒体基因组21个tRNA基因均形成典型的三叶草结构,而*trnS1*基因因缺少DHU臂,未呈现出三叶草形态。tRNA出现16对非典型U-G错配,即在二氢尿嘧啶臂、氨基酸接受臂、反密码子臂和TΨC臂仅分别存在7、5、3和1对。

2.5　基因组系统发育关系

本研究选取古毒蛾在内的21种鳞翅目昆虫序列作为内群,以双翅目果蝇科果蝇与黑腹果蝇为外群,采用2种方法构建系统发育树,ML树和NJ树结果均表明古毒蛾与4种毒蛾聚在同一进化枝,其中棉古毒蛾(*Orgyia postica*)、可茸毒蛾(*Olene inclusa*)和本文所研究古毒蛾(*Orgyia antiqua*)聚为一枝,置信值为100%,则说明古毒蛾与棉古毒蛾和可茸毒蛾亲缘关系最近,且两个树均显示毒蛾科5个物种聚在同一进化枝,且又与夜蛾科昆虫聚集在一进化大枝,外群果蝇科以及其余各亚科分别形成独立的分支。

2.6　Ka/Ks分析

将古毒蛾线粒体基因组与毒蛾科近缘物种肾毒蛾*C. locuples*线粒体基因组(登录号为NC_068591.1)以及可茸毒蛾*O. inclusa*线粒体基因组(登录号为NC_062102.1)的13个PGGs进行进化率分析,结果表明,古毒蛾与肾毒蛾蛋白质基因*nad4l*进化率最高,且Ka/Ks为1.088,则说明受正选择效应,其余基因均展现出负选择效应(Ka/Ks

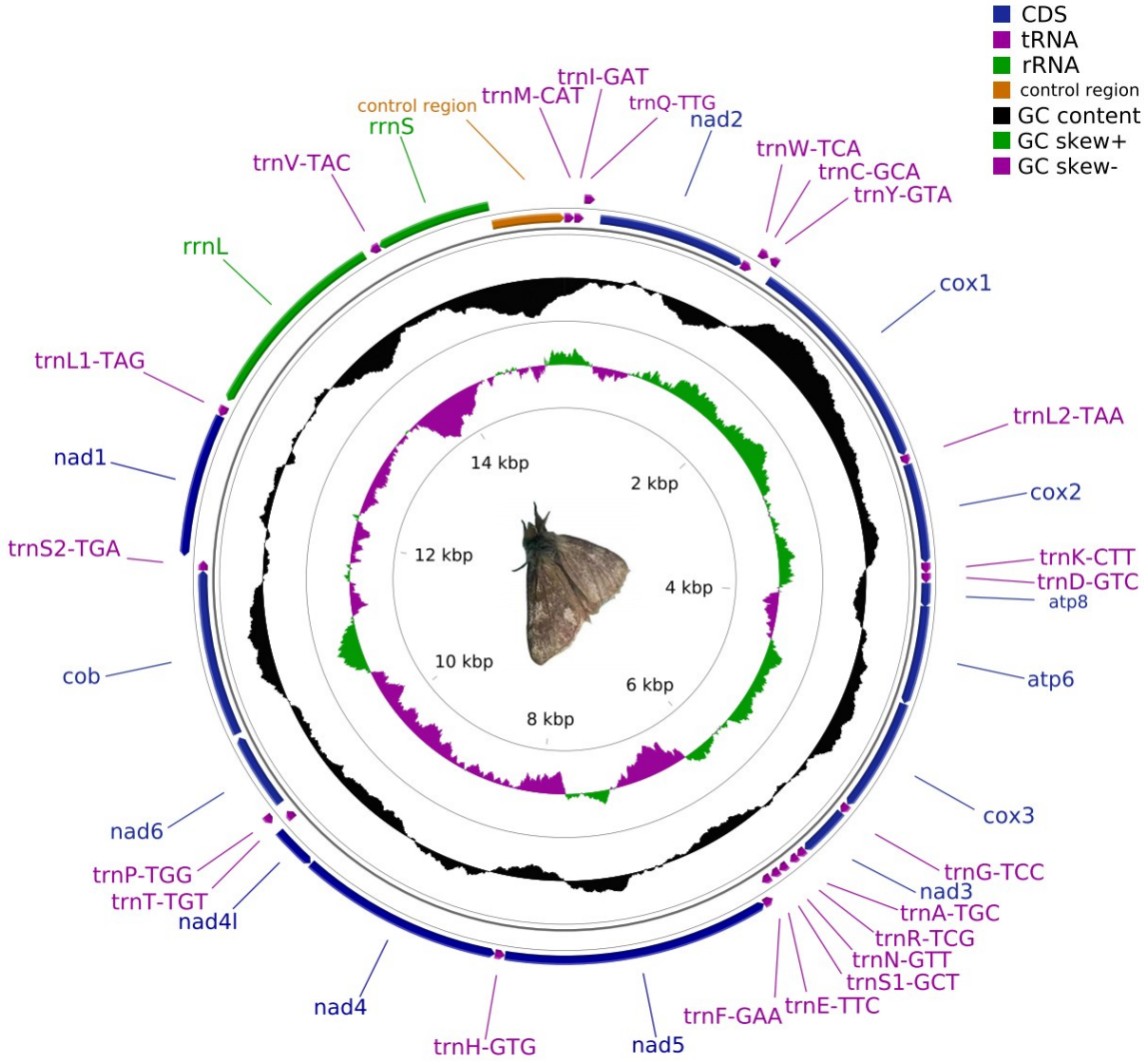

图1 古毒蛾线粒体基因组结构图

Fig.1 Mitochondrial genome structure of *O. antiqua*

比值大于1,说明受正选择效应);而古毒蛾与可茸毒蛾*atp8*基因Ka/Ks均小于1,则受负选择效应,且柴达木地区古毒蛾与2个近缘物种肾毒蛾和可茸毒蛾线粒体基因组的13个PGGs的Ka/Ks都最小为0.040,显示*cox1*基因的进化速率最慢(表5)。

3 讨论

线粒体基因组由于结构简单、具有较快进化速率,所含遗传进化信息丰富,目前被广泛应用于比较基因组学和进化生物学研究[24]。本研究利用Illumina HiSeq技术首次获得了柴达木地区常见草地灌丛害虫古毒蛾线粒体基因组,其结构呈现典型的双链闭合环状,全长15 457 bp,这一点与大部分鳞翅目昆虫的基因组研究结果相吻合,如舞毒蛾(15 569 bp)、木毒蛾(15 488 bp)、棉古毒蛾(15 258 bp)、茶六斑褐锦斑蛾(*Sorita pulchella*)(15 216 bp)和玉带凤蝶(*Papilio polytes*)(15 267 bp)[11,18,25-26]。其基因组包含13个PCGs、22个tRNA基因、2个rRNA基因以及1个非编码控制区(D-loop),基因组存在基因间隔和重叠区,最大基因重叠区(7 bp)介于*rrnW*基因与*rnC*基因之间,该发现与草原毛虫研究结果相似[27]。本研究发现,古毒蛾线粒体基因组全系列AT含量占比为74.43%,在各基因及非控制区中AT含量占比为72.61%~95.14%,呈现明显的AT偏好性。PCGs中,13个PCGs起始密码子均为ATN,这与昆虫纲大多数昆虫一致[28],9个

表2　古毒蛾线粒体基因组特征

Table 2　Analysis of the characteristics of mitochondrial genome in *O. antiqua*

基因 Gene/element	编码链 Direction	位置/bp Location	长度/bp Size	反密码子 Anticodon (location in bp)	起始密码子 Start codon	终止密码子 Stop codon	基因间隔核苷酸 Intergenic nucleotides
trnM	+	1～67	67	32～34(CAT)			0
trnI	+	68～132	65	102～104(GAT)			0
trnQ	−	130～198	69	166～168(TTG)			−3
nad2	+	245～1258	1014		ATT	TAA	46
trnW	+	1260～1332	73	1290～1292(TCA)			1
trnC	−	1325～1390	66	1359～1361(GCA)			−8
trnY	−	1402～1465	64	1433～1435(GTA)			11
cox1	+	1469～3002	1534		ATG	T−−	3
trnL2	+	3003～3069	67	3033～3035(TAA)			0
cox2	+	3070～3751	682		ATA	T−−	0
trnK	+	3752～3822	71	3782～3784(CTT)			0
trnD	+	3822～3889	68	3852～3854(GTC)			−1
atp8	+	3890～4054	165		ATT	TAA	0
atp6	+	4048～4725	678		ATG	TAA	−7
cox3	+	4730～5518	789		ATG	TAA	4
trnG	+	5521～5587	67	5551～5553(TCC)			2
nad3	+	5588～5941	354		ATA	TAA	0
trnA	+	5943～6009	67	5971～5973(TGC)			1
trnR	+	6010～6071	62	6037～6039(TCG)			0
trnN	+	6100～6164	65	6130～6132(GTT)			28
trnS1	+	6167～6232	66	6192～6194(GCT)			2
trnE	+	6241～6308	68	6273～6275(TTC)			8
trnF	−	6307～6372	66	6338～6340(GAA)			−2
nad5	−	6373～8115	1743		ATT	TAA	0
trnH	−	8116～8180	65	8147～8149(GTG)			0
nad4	−	8181～9519	1339		ATG	T−−	0
nad4l	−	9525～9812	288		ATG	TAA	5
trnT	+	9817～9882	66	9848～9850(TGT)			4
trnP	−	9883～9946	64	9915～9917(TGG)			0
nad6	+	9953～10 480	528		ATT	TAA	6
cob	+	10 508～11 654	1147		ATA	T−−	27
trnS2	+	11 655～11 721	67	11 685～11 687(TGA)			0
nad1	−	11 744～12 682	939		ATA	TAA	22
trnL1	−	12 683～12 752	70	12 721～12 723(TAG)			0
rrnL	−	12 794～14 098	1305				41
trnV	−	14 141～14 208	68	14 176～14 178(TAC)			42
rrnS	−	14 208～14 963	756				−1
D−loop	+	14 964～15 457	494				0

注:“基因间隔核苷酸”列中正数表示间隔长度,负数表示重叠长度。

Note:Positive numbers indicated intergenic length in the column of 'Intergenic nucleotides',and negative numbers indicated overlapping length.

PCGs均以完整的终止密码子TAA结尾,其余4个基因*cox1*、*cox2*、*cob*和*nad4*以T结尾,这与祖先昆虫果蝇和后生动物线粒体基因组研究相吻合[28-29]。

昆虫线粒体基因组中,D-loop区域各不相同,序列长度差异较大,AT含量较高,有研究表明其能够调节昆虫线粒体基因组的复制和转录水平。

表3 古毒蛾线粒体基因组碱基组成

Table 3 Basic group composition of the complete mitochondrial genome of *O. antiqua*

区域 Regions	长度/bp Size	A含量/% A content	T含量/% T content	G含量/% G content	C含量/% C content	(A+T)含量/% A+T content	(G+C)含量/% G+C content	AT-skews	GC-skews
全序列 Complete sequence	15 988	38.83	35.60	9.89	15.69	74.43	25.57	0.043	−0.227
PCGs	11 091	31.36	41.25	13.19	14.20	72.61	27.39	−0.136	−0.037
tRNAs	1444	39.40	37.47	13.64	9.49	76.87	23.13	0.025	0.180
rRNAs	2061	36.73	37.85	17.52	7.91	74.57	25.43	−0.015	0.378
D-loop	494	44.33	50.81	1.62	3.24	95.14	4.86	−0.068	−0.333

注:PCGs:蛋白质编码基因;tRNAs:转运RNA;rRNAs:核糖体RNA。

Note:PCGs: Protein-coding genes; tRNAs: Transfer RNA; rRNAs: Ribosomal RNA; H: Heavy strand; L: Light strand.

表4 古毒蛾线粒体基因组相对同义密码子使用频率(RSCU)

Table 4 Relative synonymous codon usage(RSCU)in the mitochondrial genome of *O. antiqua*

氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	使用次数 Usage frequency	RSCU	氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	使用次数 Usage frequency	RSCU
终止 End	UAA*	13	2.00	天冬氨酸 Asn	AAC	36	0.27
丙氨酸 Ala	GCA	42	1.42		AAU	216	1.71
	GCC	11	0.37	脯氨酸 Pro	CCA	45	1.42
	GCG	1	0.03		CCC	22	0.69
	GCU	64	2.17		CCG	2	0.06
半胱氨酸 Cys	UGC	2	0.14		CCU	58	1.83
	UGU	27	1.86	谷氨酰胺 Gln	CAA	57	1.93
天冬氨酸 Asp	GAC	8	0.25		CAG	2	0.07
	GAU	56	1.75	精氨酸 Arg	CGA	35	0.64
谷氨酸 Glu	GAA	63	1.75		CGG	3	0.23
	GAG	9	0.25		CGU	15	1.13
苯丙氨酸 Phe	UUC	38	0.21	丝氨酸 Ser	AGA	82	1.99
	UUU	319	1.79		AGC	12	0.28
甘氨酸 Gly	GGA	119	2.30		AGG	13	0.31
	GGG	28	0.54		AGU	34	0.82
	GGU	60	1.16		UCA	81	1.96
组氨酸 His	CAC	9	0.25		UCC	19	0.46
	CAU	62	1.75		UCG	3	0.07
异亮氨酸 Ile	AUC	45	0.20		UCU	111	2.69
	AUU	404	1.80	苏氨酸 Thr	ACA	54	1.38
赖氨酸 Lys	AAA	99	1.87		ACC	12	0.30
	AAG	7	0.13		ACG	1	0.03
亮氨酸 Leu	CUA	42	0.46		ACU	90	2.30
	CUC	11	0.12	缬氨酸 Val	GUA	64	1.75
	CUG	1	0.01		GUC	3	0.08
	CUU	42	0.46		GUG	10	0.27
	UUA	432	4.73		GUU	69	1.89
	UUG	20	0.22	色氨酸 Trp	UGA	86	1.81
甲硫氨酸 Met	AUA	253	5.27		UGG	9	0.19
	AUG	31	0.65	酪氨酸 Tyr	UAC	16	0.16
	AUU	4	0.08		UAU	179	1.84

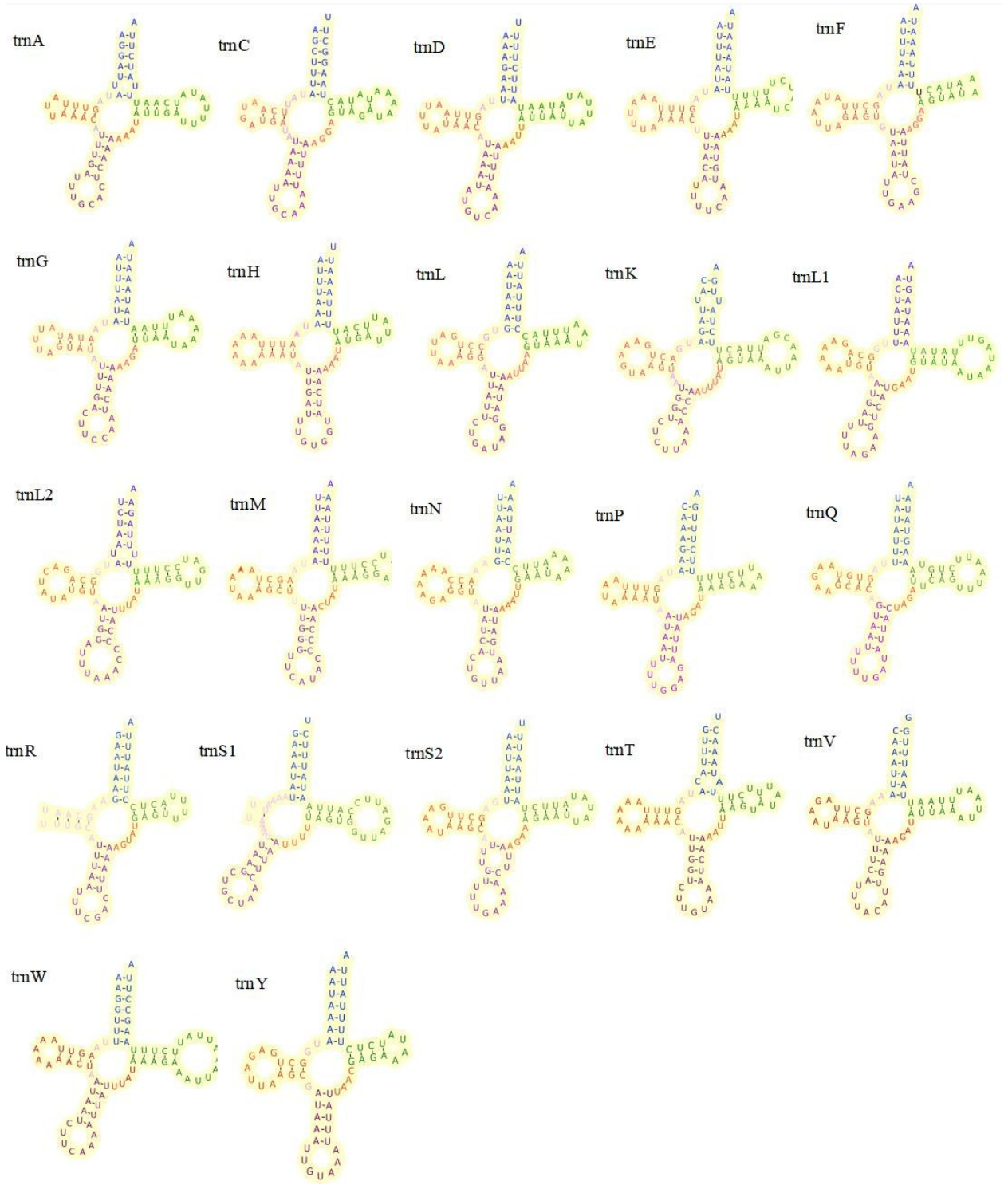

图2　tRNA二级结构预测

Fig. 2　Predicted secondary structures of tRNAs in *O. antiqua* mitochondrial genome

古毒蛾D-loop位于*rrnS*基因和*trnM*基因之间,是其线粒体基因组最短的区域,长度为494 bp,且该区域AT含量在95%以上,这与光眉刺蛾、芬氏羚野螟(*Pseudebulea fentoni*)、扶桑大卷叶野螟(*Notarcha quaternalis*)研究结果一致[10, 30]。

古毒蛾全基因组相对密码子使用频率最多的为AUU、UUA以及UUU;詹金钰[30]对斑野螟亚科部分昆虫也有同样结论,如芬氏羚野螟(*Pseudebulea fentoni*)和黄杨绢野螟(*Cydalima perspectalis*)等。而使用次数最少的为ACG、GCG和CUG,这

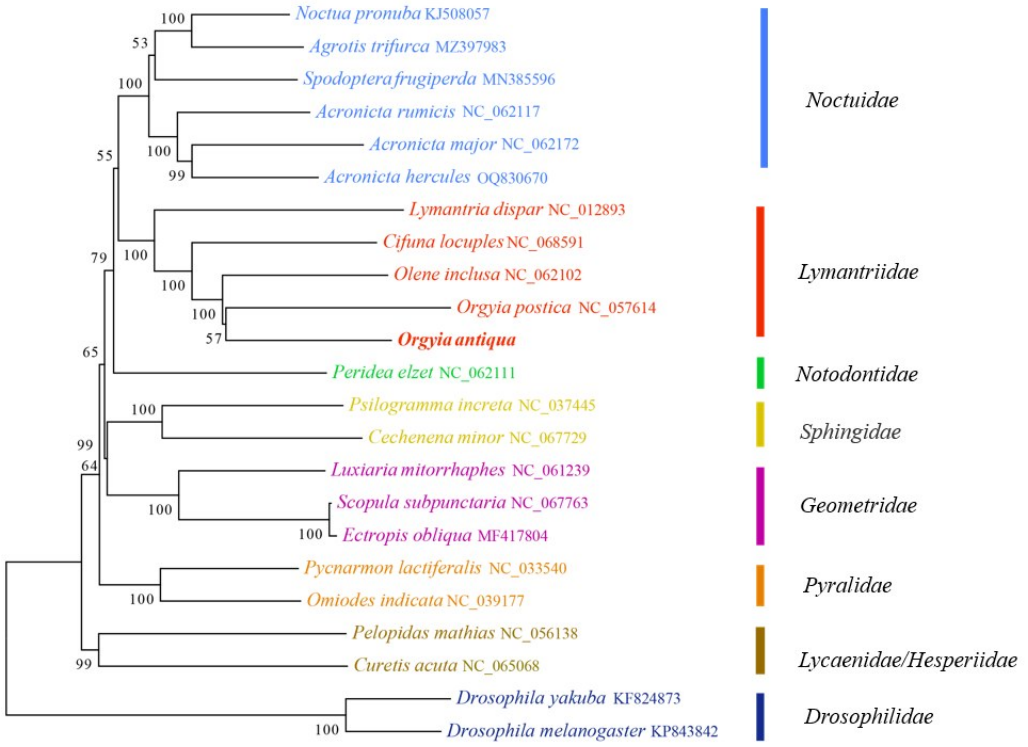

图3 基于线粒体基因组13个PGGs采用邻近法构建的古毒蛾和鳞翅目其它昆虫系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of *O. antiqua* and other insects of Lepidoptera based on 13 PGGs of mitochondrial genome using NJ

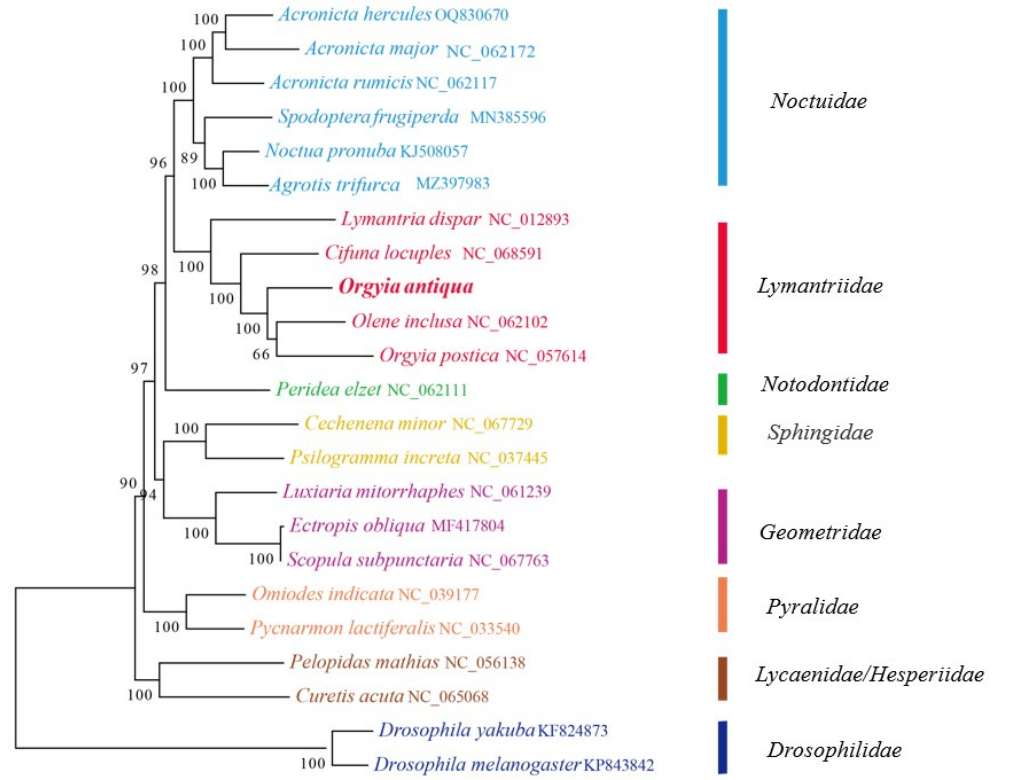

图4 基于线粒体基因组13个PGGs采用最大似然法构建的古毒蛾和鳞翅目其它昆虫系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of *O. antiqua* and other insects of Lepidoptera based on 13 PGGs of mitochondrial genome using ML

表5　古毒蛾与近缘种线粒体基因组13个蛋白质编码基因的进化率分析

Table 5　Analysis of the evolution rate of 13 protein－coding genes in the mitochondrial genome of *O. antiqua* and related species

基因 gene	*Orgyia antiqua* VS *Cifuna locuples*(肾毒蛾NC_068591.1)			*Orgyia antiqua* VS *Olene inclusa*(可茸毒蛾NC_062102.1)		
	非同义进化率 Non－synonymous evolutionary rate(Ka)	同义进化率 Synonymous evolutionary rate(Ks)	进化速率Ka/Ks Evolutionary velocity	非同义进化率 Non－synonymous evolutionary rate(Ka)	同义进化率 Synonymous evolutionary rate(Ks)	进化速率Ka/Ks Evolutionary velocity
atp6	0.044	0.587	0.075	0.024	0.511	0.047
atp8	0.113	0.780	0.146	0.131	0.694	0.189
cox1	0.023	0.570	0.040	0.024	0.585	0.040
cox2	0.040	0.442	0.091	0.022	0.388	0.058
cox3	0.031	0.592	0.053	0.028	0.550	0.052
cob	0.037	0.585	0.063	0.024	0.516	0.047
nad1	0.065	0.491	0.133	0.059	0.546	0.108
nad2	0.104	0.622	0.168	0.061	0.417	0.146
nad3	0.083	0.561	0.149	0.080	0.540	0.149
nad4	0.082	0.508	0.161	0.059	0.384	0.153
nad4l	0.095	0.087	1.088	0.049	0.406	0.120
nad5	0.077	0.496	0.155	0.062	0.379	0.164
nad6	0.180	0.852	0.211	0.113	0.753	0.150

与菜粉蝶研究结果相似[31]。

古毒蛾22个tRNA基因中,21个tRNA基因均形成典型的三叶草结构,而*trnS1*基因因缺少DHU臂,未呈现三叶草形态,这与鳞翅目昆虫光眉刺蛾和暗影饰皮夜蛾(*Garella ruficirra*)研究结构相类似(均为*trnS1*缺少DHU臂而不具有稳定的三叶草结构)[10, 32];碱基错配现象普遍存在于昆虫类群tRNA中,古毒蛾中发现16对U-G错配,这符合tRNA碱基摆动配对原则,或许可维持古毒蛾tRNA二级结构的稳定[33]。

前人研究发现,几乎所有动物及大多数昆虫中,*cox1*基因由于经过了最高的纯化选择,其Ka/Ks最低,进化速率最慢[34-35]。古毒蛾与毒蛾科近缘物种可茸毒蛾和肾毒蛾线粒体基因组13个PGGs进行进化率分析表明,*cox1*基因的进化速率最慢,即具有相对较低的变异率[34]。

进化史通常基于进行1000次自举重复的最大似然法推断[36]。本研究2种系统发育树结果均发现古毒蛾与毒蛾科4种毒蛾聚在同一进化枝,其中与棉古毒蛾和可茸毒蛾亲缘关系最近,且毒蛾科5个物种与夜蛾科昆虫聚集在同一进化大枝,则推测毒蛾科昆虫线粒体基因组遗传谱系可能不是单系,而与夜蛾科昆虫线粒体系统谱系较近,但目前毒蛾科昆虫线粒体基因组研究数据有限,具体遗传谱系还需后续深入研究。

本研究获得了古毒蛾的线粒体全基因组,分析了基因组序列特征及tRNA二级结构,并且计算了古毒蛾蛋白质编码基因和近缘物种进化率,最后基于13个PGGs采用最大似然法和邻近法构建了古毒蛾和鳞翅目其它昆虫ML树和NJ树,本研究补充了毒蛾科线粒体基因组数据,可为在柴达木盆地利用其进行生物防治提供理论参考,进而为后续深入研究毒蛾科的系统发育及种群遗传结构提供数据支撑。

4　结论

本文采用Illumina HiSeq技术,对柴达木地区古毒蛾成虫进行全基因组测列,进而对其线粒体基因组基因组成、碱基偏好、密码子使用频率及tRNA二级结构进行研究,并通过线粒体基因组学层面探讨古毒蛾与其它鳞翅目类群的亲缘关系。结果发现古毒蛾线粒体基因组全长为15 457 bp,包含13个PCGs、22个tRNA和2个rRNA(即37个基因)以及1个非编码控制区,碱基组成呈现为明显的AT偏好;基因组存在基因间隔和基因重叠区;起始密码子都为典型的ATN,其中9个PCGs以完整的终止密码子TAA结尾;相对密码子使用频率最多的为UUA;21个tRNA基因均形成典型的三叶草结构,*trnS1*基因因缺少DHU臂,未呈现三叶草形态;2个系统发育树分析结果均显示,古

毒蛾与毒蛾科4种毒蛾聚在同一进化枝,其中与棉古毒蛾和可茸毒蛾亲缘关系最近。本研究首次测定并确定了柴达木地区古毒蛾的线粒体基因组特征,丰富了毒蛾科基因组数据,为后续毒蛾科分类和系统发育研究提供了参考依据。

参 考 文 献

[1]王维,孟智启,石放雄,等. 鳞翅目昆虫比较线粒体基因组学研究进展[J]. 科学通报,2013,58(30):3017-3029.
Wang W, Meng Z Q, Shi F X, et al. Advances in comparative mitogenomic studies of Lepidoptera (Arthropoda: Insecta)[J]. Chinese Science Bulletin, 2013, 58(30): 3017-3029.

[2]魏书军,陈学新. 昆虫比较线粒体基因组学研究进展[J]. 应用昆虫学报,2011,48(6):1573-1585.
Wei S J, Chen X X. Progress in research on the comparative mitogenomics of insects [J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2011, 48(6): 1573-1585.

[3]胡莉,杨琳,田天,等.赭翅臀花金龟线粒体全基因组测序及分析[J].昆虫学报, 2023, 66(6): 825-834.
Hu L, Yang L, Tian T, et al. Sequencing and analysis of the complete mitochondrial genome of *Campsiura mirabilis* (Coleoptera: Scarabaeidae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 2023, 66(6): 825-834.

[4]林兴雨,赵特,宋南.梨冠网蝽的线粒体基因组测序及臭虫次目科级水平的系统发育分析[J].昆虫学报, 2023, 66(7): 934-945.
Lin X Y, Zhao T, Song N, et al. Sequencing of the mitochondrial genome of *Stephanitis nashi* (Hemiptera: Tingidae) and phylogenetic analysis of Cimicomorpha at the family level [J]. Acta Entomologica Sinica, 2023, 66(7): 934-945.

[5]Boore J L. Animal mitochondrial genomes[J]. Nucleic Acids Research, 1999, 27(8): 1767-1780.

[6]Cameron S L. Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny[J]. Annual Review of Entomology, 2014, 59: 95-117.

[7]陈鲁. 鳞翅目昆虫线粒体基因组的结构特征分析[D]. 长沙:湖南农业大学,2021.
Chen L. Structural characteristics of mitochondrial genome of Lepidoptera insects [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2021.

[8]Chen D B, Zhang R S, Bian H X, et al. Comparative mitochondrial genomes provide new insights into the true wild progenitor and origin of domestic silkworm *Bombyx mori*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 131: 176-183.

[9]江宏燕,陈世春,廖姝然,等.扁刺蛾线粒体基因组全序列特征及系统发育分析[J].茶叶科学, 2023, 43(4): 460-472.
Jiang H Y, Chen S C, Liao S R, et al. The complete mitochondrial genome sequence and phylogenetic analysis of *Thosea sinensis* [J]. Journal of Tea Science, 20, 43(4): 460-472.

[10]林兴雨,宋南. 光眉刺蛾的线粒体基因组研究及系统发育分析[J]. 生物学杂志,2024,41(1):54-60.
Lin X Y, Song N. The mitochondrial genome and phylogenetic analysis of *Narosa fulgens* (Leech, 1889)[J]. Journal of Biology, 2024, 41(1): 54-60.

[11]瓮青芬,赵卓,刘晨阳,等.玉带凤蝶线粒体基因组序列结构与分析[J].福建农业学报, 2022, 37(3): 364-370.
Weng Q F, Zhao Z, Liu C Y, et al. Structure and genome sequence of *Papilio polytes* mitochondria[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2022, 37(3): 364-370.

[12]张磊,梁馨月,张纪,等. 基于线粒体全基因组解析华北地区棉铃虫种群遗传结构[J]. 植物保护学报,2021,48(5):964-969.
Zhang L, Liang X Y, Zhang J, et al. Population genetic structure of cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in northern China based on complete mitochondrial genomes[J]. Journal of Plant Protection, 2021, 48(5): 964-969.

[13]赵仲苓. 毒蛾科昆虫幼期毛瘤研究(鳞翅目:毒蛾科)[J]. 动物分类学报,2001,26(1):51-60.
Zhao Z L. A morphological study of verrucae on the full grown larvae of the Lymantriidae (Lepidoptera)[J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 2001, 26(1): 51-60.

[14]谢晓健,任泽君,丁冬荪,等. 江西毒蛾科昆虫种类记述[J]. 江西植保,2007,30(1):14-18.
Xie X J, Ren Z J, Ding D S, et al. The species of Lymantriidae insects from Jiangxi Province[J]. Jiangxi Plant Protection, 2007, 30(1): 14-18.

[15]许常玉,刘玉娣,侯茂林. 黑肩绿盲蝽的线粒体基因组结构[J]. 植物保护,2024,50(3):55-62,69.
Xu C Y, Liu Y D, Hou M L. Structure of the mitochondrial genome of *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Hemiptera: Miridae)[J]. Plant Protection, 2024, 50(3): 55-62, 69.

[16]Bogdanowicz S M, Schaefer P W, Harrison R G. Mitochondrial DNA variation among worldwide populations of Gypsy moths, *Lymantria dispar*[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2000, 15(3): 487-495.

[17]周贤,陈岩,杨定,等. 舞毒蛾种群分子系统学初步研究[J]. 植物检疫,2009,23(4):7-9.
Zhou X, Chen Y, Yang D, et al. A molecular phylogeny of Gypsy moth population inferred from DNA sequence of COI gene[J]. Plant Quarantine, 2009, 23(4): 7-9.

[18]Duan Y B, Hu X H. The complete mitochondrial genome of the cocoa tussock moth *Orgyia postica* Walker, 1855 (Lepidoptera: Lymantriidae)[J]. Mitochondrial DNA. Part B, Resources, 2021, 6(12): 3498-3500.

[19]Wu Z Y, Ren Y, Chen P C, et al. The complete mitochondrial genome of *Lymantria xylina* with phylogenetic analysis[J]. Mitochondrial DNA Part B, , 2019, 4(2): 3128-3129.

[20]崔存俭,阮洪孝. 古毒蛾生物学特性研究[J]. 森林病虫通讯,1997,16(1):9-11.
Cui C J, Ruan H X. Study on biological characteristics of ancient poisonous moth[J]. Forest Pest and Disease, 1997, 16

(1):9-11.

[21]杨帆,严林,魏登贤. 柴达木地区古毒蛾生物学及防治研究初报[J]. 西北农业学报,2008,17(5):128-131.
Yang F, Yan L, Wei D X. Bionomics and control of *Orgyia* Antique[J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2008,17(5):128-131.

[22]许新新,严林.柴达木地区古毒蛾害虫对唐古特白刺叶片营养成分的影响[J].黑龙江畜牧兽医, 2012(15): 86-87.
Xu X X, Yan L.Effects of *Orgyia antiqua* pests on the nutrient composition of *N. tangutorum* Bobr leaves in Qaidam area[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary, 2012(15): 86-87.

[23]Bernt M, Donath A, Jühling F, et al. MITOS: Improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2013, 69(2): 313-319.

[24]Su T J, He B, Li K, et al. Comparative analysis of the mitochondrial genomes of oriental spittlebug trible Cosmoscartini: insights into the relationships among closely related taxa[J]. BMC Genomics,2018,19(1):961.

[25]朱雅君,周国梁,房蕊,等. 舞毒蛾线粒体DNA全序列分析[J]. 植物检疫,2010,24(4):6-11.
Zhu Y J, Zhou G L, Fang R, et al. The complete sequence determination and analysis of *Lymantria dispar*(Lepidoptera: Lymantriidae) mitochondrial genome[J]. Plant Quarantine, 2010,24(4):6-11.

[26]赵卓,刘晨阳,瓮青芬,等.茶六斑褐锦斑蛾*Sorita pulchella*线粒体基因组特征与系统发育分析[J].河南农业大学学报, 2023, 57(2): 277-287.
Zhao Z, Liu C Y, Weng Q F, et al. Characterization of the mitochondrial genome and phylogenetic analysis of *Sorita pulchella*[J]. Journal of Henan Agricultural University, 2023, 57(2): 277-287.

[27]张棋麟. 两种草原毛虫的比较线粒体基因组学研究[D]. 兰州:兰州大学,2014.
Zhang Q L. Comparative mitochondrial genomics of two species of grassland caterpillars [D]. Lanzhou: Lanzhou University,2014.

[28]Nardi F, Carapelli A, Dallai R, et al. The mitochondrial genome of the olive fly Bactrocera oleae: two haplotypes from distant geographical locations[J]. Insect Molecular Biology, 2003, 12(6):605-611.

[29]Clary D O, Wolstenholme D R. The mitochondrial DNA molecular of *Drosophila yakuba*: nucleotide sequence, gene organization, and genetic code[J]. Journal of Molecular Evolution,1985,22(3):252-271.

[30]詹金钰.中国斑野螟亚科幼虫比较形态学及系统发育分析(鳞翅目:草螟科)[D].杨凌:西北农林科技大学, 2022.
Zhan J Y.Comparative morphology of larvae and phylogenetic analysis of the Spilomelinae (Lepidoptera: Crambidae) in China[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2022.

[31]瓮青芬,赵卓,曹振民,等. 菜粉蝶线粒体基因组序列测定与分析[J]. 河南农业大学学报,2021,55(5):882-889.
Weng Q F, Zhao Z, Cao Z M, et al. Sequencing and analysis of the mitochondrial genome of *Pieris rapae*[J]. Journal of Henan Agricultural University,2021,55(5):882-889.

[32]李妍,舒金平,华克达,等. 暗影饰皮夜蛾线粒体基因组全序列测定与分析[J]. 浙江农林大学学报,2024,41(4):724-734.
Li Y, Shu J P, Hua K D, et al. Sequencing and analysis of the complete mitochondrial genome of *Garella ruficirra*[J]. Journal of Zhejiang A & F University,2024,41(4):724-734.

[33]王瑶,孔祥波,张苏芳,等. 云南松毛虫线粒体基因组全序列测定和分析[J]. 林业科学研究,2019,32(5):11-20.
Wang Y, Kong X B, Zhang S F, et al. Sequencing and analysis of complete mitochondrial genome of *Dendrolimus houi* lajonquiere (Lepidoptera: Lasiocampidae)[J]. Forest Research,2019,32(5):11-20.

[34]Huang X Y, Chen B, Wei Z H, et al. First report of complete mitochondrial genome in the tribes coomaniellini and dicercini (Coleoptera: Buprestidae) and phylogenetic implications[J]. Genes,2022,13(6):1074.

[35]Xiao L F, Zhang S D, Long C P, et al. Complete mitogenome of a leaf-mining buprestid beetle, *Trachys auricollis*, and its phylogenetic implications[J]. Genes,2019,10(12):992.

[36]Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitu-tions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees [J]. Molecular Biology and Evolution. 1993. 10(3): 512-526.

(编辑:吕俊俐)