



## 松瘤小蠹线粒体基因组测序及分析

李兴艳 梁文凯 泽桑梓 赵宁 朱家颖

### Sequencing and Analysis of the Mitochondrial Genome of *Orthotomicus erosus*

Li Xingyan, Liang Wenkai, Ze Sangzi, Zhao Ning, Zhu Jiaying

引用本文:

李兴艳, 梁文凯, 泽桑梓, 赵宁, 朱家颖. 松瘤小蠹线粒体基因组测序及分析[J]. 西南林业大学学报, 2024, 44(1):194–199. doi: 10.11929/j.swfu.202206033

Li Xingyan, Liang Wenkai, Ze Sangzi, Zhao Ning, Zhu Jiaying. Sequencing and Analysis of the Mitochondrial Genome of *Orthotomicus erosus*[J]. Journal of Southwest Forestry University(Natural Science), 2024, 44(1):194–199. doi: 10.11929/j.swfu.202206033

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202206033>

---

## 您可能感兴趣的其他文章

### Articles you may be interested in

#### 黄藤 *Dof* 家族的全基因组鉴定及系统进化分析

Genome-Wide Identification and Phylogenetic Analysis of the *Dof* Gene Family in *Daemonorops jenkinsiana*  
西南林业大学学报. 2021, 41(6): 126–138 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202003051>

#### 荷花转录组测序及花青素苷合成相关基因表达分析

Transcriptome Sequencing and Expression Analysis of Anthocyanin Synthesis Related Genes in Lotus  
西南林业大学学报. 2018, 38(2): 61–69 <https://doi.org/10.11929/j.issn.2095-1914.2018.02.010>

#### 蒜头果叶绿体基因组密码子偏好性分析

Analysis of Codon Usage Bias in Chloroplast Genome of *Malania oleifera*  
西南林业大学学报. 2021, 41(3): 15–22 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202001047>

#### 芳樟叶片转录组测序及萜类合成调控相关基因表达分析

Transcriptome Sequencing of Linalool Leaf and Expression Analysis of Genes Involved in Terpene Synthesis  
西南林业大学学报. 2021, 41(5): 49–57 <https://doi.org/10.11929/j.swfu.202007036>

#### 基于流式细胞术的15个油茶品种基因组测定研究

Estimation of Genome Sizes of 15 *Camellia oleifera* Varieties Using Flow Cytometry Analysis  
西南林业大学学报. 2018, 38(5): 46–51 <https://doi.org/10.11929/j.issn.2095-1914.2018.05.008>

#### 油茶转录组测序与SSR特征分析

Transcriptome Sequencing and Analysis of SSR Characteristics of *Camellia oleifera*  
西南林业大学学报. 2018, 38(6): 63–68 <https://doi.org/10.11929/j.issn.2095-1914.2018.06.008>

DOI: 10.11929/j.swfu.202206033

引文格式: 李兴艳, 梁文凯, 泽桑梓, 等. 松瘤小蠹线粒体基因组测序及分析 [J]. 西南林业大学学报 (自然科学), 2024, 44(1): 194–199.

## 松瘤小蠹线粒体基因组测序及分析

李兴艳<sup>1</sup> 梁文凯<sup>1</sup> 泽桑梓<sup>2</sup> 赵宁<sup>1</sup> 朱家颖<sup>1,3</sup>

(1. 西南林业大学云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 云南昆明 650233; 2. 云南省林业和草原有害生物防治检疫局, 云南昆明 650051; 3. 西南林业大学西南山地资源保育与利用教育部重点实验室, 云南昆明 650233)

**摘要:** 松瘤小蠹广泛分布于欧亚大陆多国以及我国危害松科植物, 但尚缺乏其分子鉴定和种群遗传结构方面的研究。鉴于此, 本研究基于高通量测序技术测定了该害虫的线粒体基因组序列, 使用 GetOrganelle 软件组装得到了其完整线粒体基因组。结果表明: 松瘤小蠹的线粒体基因组长 17451 bp, 包含 13 个蛋白编码基因, 22 个 tRNA 和 2 个 rRNA, A、T、C、G 所占的比例分别为 37.4%、33.45%、18.40% 和 10.75%。基于松瘤小蠹以及其他象甲科物种线粒体基因组序列构建系统发育树分析发现, 松瘤小蠹与边瘤小蠹的亲缘关系较近, 处于同一分支上, 与传统的形态学分类相一致。该研究结果为今后筛选线粒体分子标记来开展松瘤小蠹分子鉴定和种群遗传结构研究奠定了基础。

**关键词:** 松瘤小蠹; 象甲科; 线粒体基因组; 系统发育

中图分类号: S476

文献标志码: A

文章编号: 2095-1914(2024)01-0194-06

## Sequencing and Analysis of the Mitochondrial Genome of *Orthotomicus erosus*

Li Xingyan<sup>1</sup>, Liang Wenkai<sup>1</sup>, Ze Sangzi<sup>2</sup>, Zhao Ning<sup>1</sup>, Zhu Jiaying<sup>1,3</sup>

(1. Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China; 2. Bureau of Forestry and Grassland Pest Control and Quarantine of Yunnan Province, Kunming Yunnan 650051, China; 3. Key Laboratory of Ministry of Education for Forest Resources Conservation and Utilization in the Southwest Mountains of China Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650233, China)

**Abstract:** *Orthotomicus erosus* (Coleoptera: Curculionidae) is widely distributed in Eurasia and China. It is a pest that damages pine trees. But the studies on the molecular identification and population genetic structure of this pest are still lacking. In view of this, the genomic sequences of this pest were sequenced with high-throughput sequencing technology, which leads to assemble its complete mitochondrial genome using GetOrganelle software. The results confirm that its mitogenome is 17 451 bp in length, containing 13 protein-coding genes, 22 tRNA and 2 rRNA genes. Nucleotide compositions of its whole mitogenome are 37.4% for A, 33.45% for T, 18.4% for C, and 10.75% for G. Phylogenetic tree analysis using the sequences of the mitochondrial genomes of *O. erosus* and other Curculionidae species showed that *O. erosus* is closely related to *O. laricis*. These 2 species are grouped on the same branch, which is in accordance with the traditional morphological classification. The results of this study lay a foundation for screening molecular markers of mitochondrion for molecular identification and genetic structure research in *O. erosus*.

**Key words:** *Orthotomicus erosus*; Curculionidae; mitogenome; phylogeny

收稿日期: 2022-06-16; 修回日期: 2022-10-21

基金项目: 云南省高层次人才培养支持计划“青年拔尖人才”专项 (YNWR-QNBJ-2018-393) 资助。

第1作者: 李兴艳 (1997—), 女, 硕士研究生。研究方向: 有害生物综合防控。Email: m13287601735@163.com。

通信作者: 朱家颖 (1984—), 男, 博士, 教授, 博士生导师。研究方向: 害虫生物防治。Email: jy Zhu@swfu.edu.cn。

松瘤小蠹 (*Orthotomicus erosus*) 隶属于鞘翅目 (Coleoptera) 象甲科 (Curculionidae) 小蠹亚科 (Scolytinae) 瘤小蠹属 (*Orthotomicus*), 主要危害地中海白松 (*Pinus halepensis*)、马尾松 (*P. massoniana*)、油松 (*P. tabulaeformis*)、云南松 (*P. yunnanensis*)、思茅松 (*P. kesiya*) 等松科 (Pinaceae) 植物<sup>[1]</sup>。该害虫原产于地中海地区的国家, 广泛分布于欧亚大陆等的 23 个国家<sup>[1-3]</sup>。在我国, 松瘤小蠹广泛分布在云南、福建、广西、陕西、江西、河南、江苏、山东、湖南、四川、重庆、广东、浙江、贵州、安徽、青海等 15 个省 1 个直辖市, 对我国林业生产造成了严重影响<sup>[1,4]</sup>。其中, 云南作为松瘤小蠹的主要危害区域, 分布在西双版纳、思茅、丽江、景谷、镇沅、江城、玉溪等地<sup>[1]</sup>。此外, 松瘤小蠹以幼虫和成虫隐藏在树皮及树干内部危害而难以发现, 且外形特征上较难与其他小蠹类蛀干害虫尤其是瘤小蠹属害虫区分<sup>[2,5]</sup>。利用分子标记技术有助于快速鉴定和区分不同的瘤小蠹属害虫, 但就目前国内记载的 5 种瘤小蠹属物种而言, 据作者所知仅边瘤小蠹 (*O. laricis*) 有完整的线粒体基因组序列以及近瘤小蠹 (*O. suturalis*) 和北方瘤小蠹 (*O. golovjankoi*) 有 *cox1* 和 *cox2* 基因的部分序列有报道<sup>[1]</sup>。同时, 目前尚缺乏有关松瘤小蠹分子鉴定和种群遗传结构方面的研究, 也缺乏对该害虫与其他象甲科物种亲缘关系的了解。

昆虫线粒体基因组因具有较低的分子质量, 结构较为简单、能够母系遗传等属性<sup>[6-7]</sup>, 来源于线粒体的分子标记被广泛应用于昆虫的分子鉴定和种系遗传研究<sup>[8]</sup>。本研究测定并分析了松瘤小蠹线粒体基因组, 在研究其线粒体基因组特点的同时, 基于测定的线粒体基因组探讨了其在象甲科中的分类地位以及与其他瘤小蠹属物种间的亲缘关系。研究结果对后续开展松瘤小蠹的分子鉴定、分子生态学、种群遗传学以及象甲科的分子系统发育研究具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试昆虫

2020 年夏季, 于云南省玉溪市峨山县玉白顶自然保护区, 从被松瘤小蠹危害的云南松树干中采集其成虫。样本浸泡在无水乙醇中, 带回实验室后 -80 °C 条件下保存备用。

### 1.2 线粒体基因组组装

取 40 头松瘤小蠹成虫, 用酒精清洗干净, 使

用 Dneasy Blood & Tissue Kit 试剂盒提取其基因组 DNA, 并采用分光光度计和 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其纯度和质量。将检测合格的基因组 DNA 送至北京诺禾致源科技股份有限公司 (天津), 采用 Novaseq6000 进行高通量测序。测序原始数据经过质控得到 clean data 后, 利用软件 GetOrganelle v1.6.4 (参数: -F animal\_mt-R 15-k 127) 对松瘤小蠹线粒体基因进行组装<sup>[9]</sup>。

### 1.3 线粒体基因组注释及分析

松瘤小蠹线粒体基因组中的蛋白质编码基因 (PCG)、核糖体 RNA (rRNA) 以及转运 RNA (tRNA) 均使用 MITOS WebServer (<http://mitos2.bioinf.uni-leipzig.de/index.py>) 在线软件进行注释<sup>[10]</sup>, 同时参考已报道的近缘种边瘤小蠹和十二齿小蠹 (*Ips sexdentatus*) 的线粒体基因组对注释结果进行校正。线粒体基因组碱基组成偏向性的计算方法<sup>[11]</sup> 见式 (1) ~ (2)。利用 Proksee (<https://proksee.ca/projects/new>) 对松瘤小蠹的线粒体基因组结构进行绘制。

$$AT-skew = (A - T)/(A + T) \quad (1)$$

$$GC-skew = (G - C)/(G + C) \quad (2)$$

式中: A 为完整的线粒体基因组中腺嘌呤的个数; T 为完整的线粒体基因组中胸腺嘧啶的个数; C 为完整的线粒体基因组中胞嘧啶的个数; G 为完整的线粒体基因组中鸟嘌呤的个数。

### 1.4 系统发育分析

从 NCBI 的 GeneBank 中下载隶属于象甲科的小蠹亚科 (Scolytinae)、抱喙象亚科 (Cyclominae)、魔喙象亚科 (Molytinae)、象虫亚科 (Curculioninae)、隐喙象亚科 (Cryptorhynchinae)、粗喙象亚科 (Entiminae)、隐颞象亚科 (Dryophthorinae) 等 7 亚科的 22 个物种的线粒体基因组全序列, 选取金龟科 (Scarabaeidae) 的白星花金龟 (*Protaetia brevitarsis*) 和拟步甲科 (Tenebrionidae) 的赤拟谷盗 (*Tribolium castaneum*) 作为外群, 使用 MEGA 10.1.8<sup>[12]</sup> 中的 MUSCLE 对这些物种以及松瘤小蠹的线粒体基因组进行多序列比对, 在 MEGA 中利用最大似然法中的 p-distance 模型和 1000 次自举运算次数进行系统发育树的构建。

## 2 结果与分析

### 2.1 线粒体基因组结构

基于二代高通量测序数据, 组装得到的松瘤小蠹线粒体基因组长度为 17451 bp (登录号: ON720305)。从松瘤小蠹的线粒体基因组中鉴定

到2个rRNA、22个tRNA和13个蛋白编码基因(图1)。松瘤小蠹线粒体基因组编码基因的37个基因排列次序见表1,它们之间的间隔共27处,共计2770bp。其中,间隔最长的一处位于*rrnS*和*trnI*之间,长度为1416bp;重叠区共5处,共计66bp。

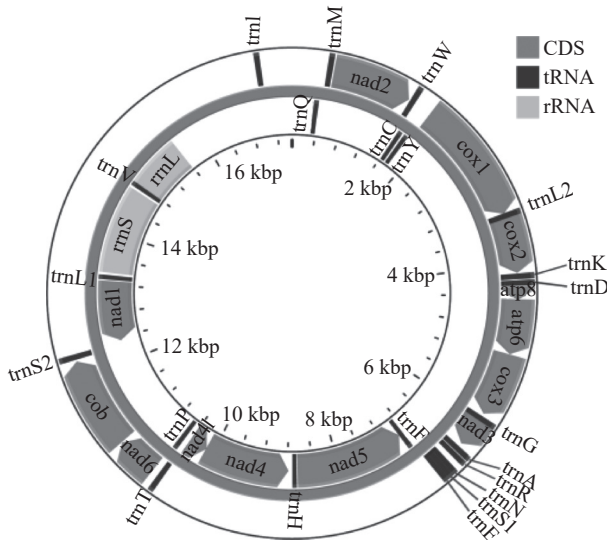


图1 松瘤小蠹线粒体基因组结构  
Fig. 1 Structure of the mitochondrial genome of *O. erosus*

2.2 线粒体基因组碱基组成

松瘤小蠹线粒体基因组中的A、T、C、G的组成分别为37.4%、33.45%、18.4%和10.75%,其中A的含量最高,而G的含量最低。A+T的含量为70.85%,明显高于G+C的含量,呈现明显的AT碱基偏向性,且AT的偏度为0.06,GC的偏度为-0.26,表明整个基因组更偏好于A碱基

和C碱基的使用。

2.3 蛋白质编码基因、tRNA和rRNA基因分析

松瘤小蠹线粒体基因组中的蛋白编码基因序列有10719bp,占基因组的61.42%。所有蛋白编码基因均使用通用密码子ATN作为起始密码子(表1)。其中,*cox1*、*atp8*、*nad6*等3个基因以ATA为起始密码子,*nad2*、*nad3*、*nad5*、*nad1*等4个基因以ATT为起始密码子,*cox2*、*cox3*、*atp6*、*nad4*、*nad4l*、*cob*等6个基因以ATG作为起始密码子。它们的终止密码子为典型的线粒体终止密码子TGA和TAA。

松瘤小蠹线粒体基因组中的tRNA长度在65~71bp(表1)。其中,*trnK*的长度最长,为71bp;*trnN*的长度最短,为65bp。2个rRNA基因分别为*rrnL*和*rrnS*,被*trnV*分割开(表1)。*rrnL*的长度为1361bp,A+T的含量为77.05%;*rrnS*的长度为786bp,A+T的含量为73.66%。

2.4 系统发育分析

系统发育分析表明,小蠹亚科与象虫亚科、魔喙象亚科、隐喙象亚科的节点支持率为100,同时这4个亚科聚为同一支又与孢喙象亚科、粗喙象亚科聚在一起,且节点支持率为98,表明象甲科内各亚科之间能有效区分。从系统发育树图中可以看出,松瘤小蠹与边瘤小蠹、十二齿小蠹等隶属于小蠹亚科的物种聚在一支,且与边瘤小蠹互为姐妹分支,节点支持率为100(图2)。松瘤小蠹和边瘤小蠹与十二齿小蠹构成姐妹群,节点支持率为100。

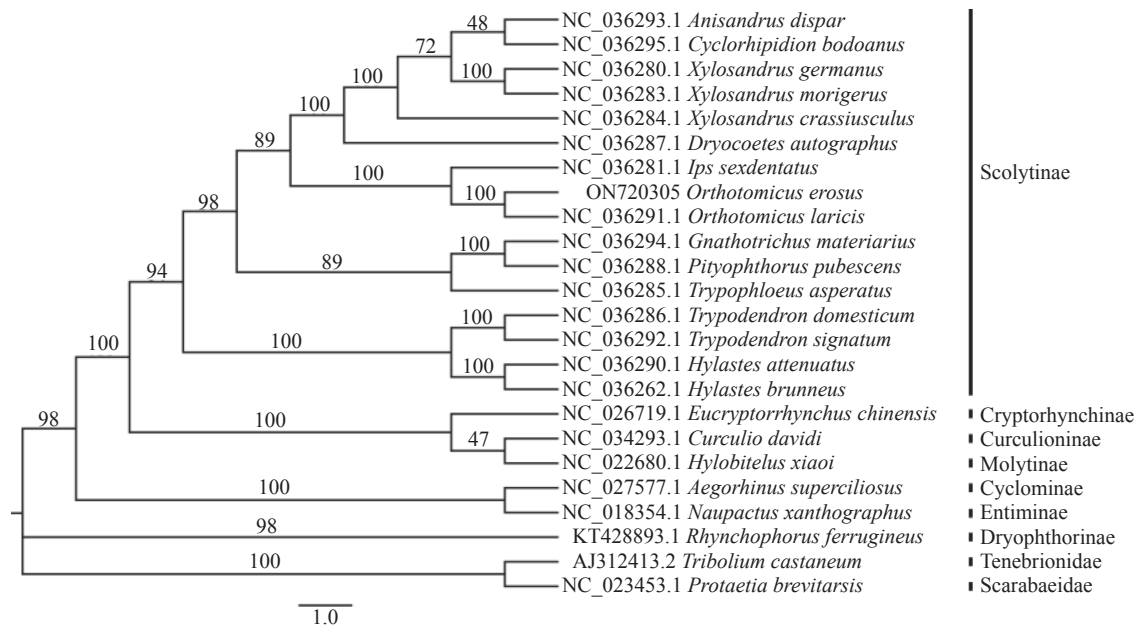
表1 松瘤小蠹线粒体基因组注释结果

Table 1 Annotation results of the mitochondrial genome of *O. erosus*

基因	起始位置/bp	结束位置/bp	长度/bp	编码链	起始密码子	终止密码子	反密码子	基因间的间隔/bp
<i>trnQ</i>	319	388	70	-			TTG	45
<i>trnM</i>	434	501	68	+			CAT	18
<i>nad2</i>	520	1509	894	+	ATT	TAA		19
<i>trnW</i>	1529	1596	68	+			TCA	19
<i>trnC</i>	1616	1681	66	-			GCA	30
<i>trnY</i>	1712	1777	66	-			GTA	46
<i>cox1</i>	1824	3368	1521	+	ATA	TAA		-5
<i>trnL2</i>	3364	3430	67	+			TAA	-45
<i>cox2</i>	3386	4114	639	+	ATA	TAA		7
<i>trnK</i>	4122	4192	71	+			CTT	12
<i>trnD</i>	4205	4272	68	+			GTC	9
<i>atp8</i>	4282	4443	168	+	ATA	TAG		-7
<i>atp6</i>	4437	5120	672	+	ATG	TAA		4

续表 1

基因	起始位置/bp	结束位置/bp	长度/bp	编码链	起始密码子	终止密码子	反密码子	基因间的间隔/bp
<i>cox3</i>	5125	5919	792	+	ATG	TAA		37
<i>trnG</i>	5957	6022	66	+			TCC	0
<i>nad3</i>	6023	6376	333	+	ATT	TAG		42
<i>trnA</i>	6424	6491	68	+			TGC	10
<i>trnR</i>	6502	6567	66	+			TCG	73
<i>trnN</i>	6641	6705	65	+			GTT	0
<i>trnS1</i>	6706	6772	67	+			TCT	0
<i>trnE</i>	6773	6839	67	+			TTC	24
<i>trnF</i>	6932	6864	69	-			GAA	0
<i>nad5</i>	8642	6933	1635	-	ATT	TAA		15
<i>trnH</i>	8722	8658	65	-			GTG	62
<i>nad4</i>	10131	8785	1275	-	ATG	TAA		-7
<i>nad4l</i>	10412	10125	291	-	ATG	TAG		17
<i>trnT</i>	10430	10496	67	+			TGT	0
<i>trnP</i>	10564	10497	68	-			TGG	17
<i>nad6</i>	10582	11088	501	+	ATA	TAA		8
<i>cob</i>	11097	12236	1095	+	ATG	TAA		24
<i>trnS2</i>	12261	12328	68	+			TGA	18
<i>nad1</i>	13273	12347	903	-	ATT	TAA		18
<i>trnL1</i>	13359	13292	68	-			TAG	38
<i>rrnL</i>	14700	13398	1361	-				36
<i>trnV</i>	14801	14737	65	-			TAC	-2
<i>rrnS</i>	15585	14800	786	-				1416
<i>trnI</i>	17002	17068	67	+			GAT	701



小蠹亚科：*Anisandrus dispar*, *Cyclorhipidion bodoanus*, 光滑足距小蠹 (*Xylosandrus germanus*), *X. morigerus*, 北方材小蠹 (*X. crassiusculus*), 肾点毛小蠹 (*Dryocoetes autographu*), 十二齿小蠹 (*Ips sexdentatus*), 松瘤小蠹 (*Orthotomicus erosus*), 边瘤小蠹 (*O. laricis*), 缝锤小蠹 (*Gnathotrichus materiarius*), 细小蠹 (*Pityophthorus pubescens*), *Trypophloeus asperatus*, 家木小蠹 (*Trypodendron domesticum*), 条木小蠹 (*T. signatum*), *Hylastes attenuatus*, *H. brunneus*; 隐喙象亚科：沟眶象 (*Eucryptorhynchus chinensis*); 象虫亚科：栗实象甲 (*Curculio davidi*); 魔喙象亚科：萧氏松茎象 (*Hyllobitelus xiaoi*); 孢喙象亚科：覆盆子象甲 (*Aegorhinus superciliosus*); 粗喙象亚科：南美果树象甲 (*Naupactus xanthographus*); 隐颞象亚科：红棕象甲 (*Rhynchophorus ferrugineus*); 金龟科：白星花金龟 (*Protactia brevitaris*); 拟步甲科：赤拟谷盗 (*Tribolium castaneum*)。

图 2 松瘤小蠹与其他象甲科物种的系统发育关系

Fig. 2 Phylogenetic relationship of *O. erosus* and other species belonging to Curculionidae

### 3 结论与讨论

测定的松瘤小蠹的线粒体基因组大小, 介于已知的鞘翅目线粒体基因组大小之间<sup>[13-15]</sup>。AT-skew、GC-skew 和 A + T 含量通常被用来评估线粒体基因组的核苷酸组成上的差异<sup>[16]</sup>。通过分析松瘤小蠹的线粒体基因组碱基组成, 发现不论是其碱基组成还是 rRNA 基因都具有典型的 A + T 偏向性, 这种偏向性产生的原因可能是在基因复制以及转录时受到的选择压力和突变方向不一致所导致<sup>[17-18]</sup>。通过对松瘤小蠹全基因组的 AT 偏斜和 GC 偏斜的计算, A 和 C 基因是较多的, 而这符合一般的后生动物在碱基组成上偏向 A 和 C 碱基的规律<sup>[16]</sup>。对松瘤小蠹的线粒体基因组进行注释, 发现 *rrnS* 和 *trnI* 基因之间存在一段 1416 bp 的较长间隔, 类似情况在其他鞘翅目物种的线粒体基因组中也存在。例如, 花斑皮蠹 (*Trogoderma variabile*) 线粒体基因组 *trnH* 和 *nad5* 基因之间有段长为 345 bp 的间隔<sup>[19]</sup>, 窗萤 (*Pyrocoelia rufa*) 线粒体基因组的 *nad2* 和 *trnW* 基因之间存在长度为 1724 bp 的间隔区<sup>[14]</sup>, 但产生这些间隔区的原因也尚待揭示。此外, 通过比对分析发现松瘤小蠹线粒体基因组编码基因的排列顺序和基因组成与已经测定的其他鞘翅目昆虫线粒体基因组相似, 表明它们的线粒体基因组编码基因的排列顺序和基因组成很少发生变化, 较适用于物种间的系统发育关系推断<sup>[13]</sup>。

本研究基于线粒体基因组利用最大似然法构建了 22 个象甲科物种的系统发育树发现, 松瘤小蠹与其他小蠹科物种聚为一个独立的分支, 其他各亚科物种也单独聚为一支, 而且各亚科之间的节点均有较高的支持率, 表明可以基于系统发育树来分析各亚科之间的进化关系。此外, 除足距小蠹属的光滑足距小蠹、*X. crassiusculus* 和 *X. morigerus* 未聚在一起外, 其他来自同属的物种均聚在同一分支。陈英等<sup>[5]</sup>基于上述 3 种足距小蠹属物种线粒体基因组所构建的系统发育树结果与此类似, 它们也未聚在同一进化分支, 光滑足距小蠹和 *X. morigerus* 聚在一起, 而 *X. crassiusculus* 与其他属物种的亲缘关系表现得更近。通过系统发育树可知, 松瘤小蠹先与边瘤小蠹聚在一支, 然后与十二齿小蠹又聚在一支, 这与已知的系统发育学分类研究结果相符<sup>[5]</sup>, 表明它们之间存在较近的亲缘关系。

松瘤小蠹线粒体全基因组序列的获得, 丰富

了象甲科的线粒体基因组数据信息, 不仅为研究象甲科的分子系统发育关系以及象甲科不同属之间的进化关系提供了基础数据, 而且为筛选分子标记来鉴定松瘤小蠹以及研究其种群遗传结果奠定了基础。

#### [参 考 文 献]

- [1] 刘凌, 张知晓, 倪应才, 等. 松瘤小蠹分布新记录及其防治策略 [J]. *中国森林病虫*, 2021, 40(5): 9-15.
- [2] 殷惠芬, 黄复生, 李兆麟. 中国经济昆虫志: 第 29 册 鞘翅目小蠹科 [M]. 北京: 科学出版社, 1984: 844.
- [3] 云南省林业厅中国科学院动物研究所. 云南森林昆虫 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 1987.
- [4] 蒋裕平, 黄中许, 黄旭昌. 松瘤小蠹虫研究 [J]. *浙江师大学报 (自然科学版)*, 1992, 15(3): 79-81.
- [5] 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.
- [6] Boore J L. Animal mitochondrial genomes [J]. *Nucleic Acids Research*, 1999, 27(8): 1767-1780.
- [7] Cuore J P. Mitogenomics: digging deeper with complete mitochondrial genomes [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 1999, 14(10): 394-398.
- [8] Cameron S L. Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny [J]. *Annual Review of Entomology*, 2014, 59: 95-117.
- [9] Jin J J, Yu W B, Yang J B, et al. GetOrganelle: a fast and versatile toolkit for accurate de novo assembly of organelle genomes [J]. *Genome Biology*, 2020, 21(1): 241.
- [10] Bernt M. MITOS: improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2013, 69(2): 313-319.
- [11] Perna N T, Kocher T D. Patterns of nucleotide composition at fourfold degenerate sites of animal mitochondrial genomes [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1995, 41(3): 353-358.
- [12] Kumar S, Stecher G, Li M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547-1549.
- [13] 聂瑞娥, 杨星科. 鞘翅目昆虫线粒体基因组研究进展 [J]. *昆虫学报*, 2014, 57(7): 860-868.
- [14] Bae J S. The mitochondrial genome of the firefly, *Pyrocoelia rufa*: complete DNA sequence, genome organization, and phylogenetic analysis with other in-

- sects [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 32(3): 978–985.
- [15] Kim M J, Kim K G, Kim S R, et al. Complete mitochondrial genome of the two-spotted stag beetle, *metopodotus blanchardi* (Coleoptera: Lucanidae) [J]. *Mitochondrial DNA*, 2015, 26(2): 307–309.
- [16] Hassanin A, Léger N, Deutsch J. Evidence for multiple reversals of asymmetric mutational constraints during the evolution of the mitochondrial genome of Metazoa, and consequences for phylogenetic inferences [J]. *Systematic Biology*, 2005, 54(2): 277–298.
- [17] Brown T A, Cecconi C, Tkachuk A N, et al. Replication of mitochondrial DNA occurs by strand displacement with alternative light-strand origins, not via a strand-coupled mechanism [J]. *Genes & Development*, 2005, 19(20): 2466–2476.
- [18] Bogenhagen D F. The mitochondrial DNA replication bubble has not burst [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2003, 28(7): 357–360.
- [19] 庞有婷, 冯士骞, 伍祎, 等. 花斑皮蠹线粒体基因组序列测定与分析 [J]. *植物检疫*, 2019, 33(1): 8–13.

(责任编辑 张 坤 陆 驰)

