



啮总目昆虫裂化线粒体基因组进化特征及生成机制

李一¹, 蒋诗蝶¹, 陈雨昂¹, 王进军^{1,2}, 魏丹丹^{1,2*}

1. 西南大学植物保护学院, 昆虫学与害虫控制工程重庆市重点实验室, 重庆 400715

2. 西南大学农业科学研究院, 长江上游农业生物安全与绿色生产教育部重点实验室, 重庆 400715

* 联系人, E-mail: weidandande@163.com

收稿日期: 2024-01-17; 接受日期: 2024-07-10; 网络版发表日期: 2025-05-07

国家自然科学基金(批准号: 31972276和32272528)资助

摘要 昆虫线粒体基因组(mitochondrial DNA, mtDNA)在基因含量、基因排序和拓扑结构等方面具有高度保守性。然而, 啮总目昆虫的mtDNA存在丰富的变异性, 包括基因的复制与丢失、基因剧烈重排以及基因组环裂化等现象。为深入了解啮总目mtDNA的进化属性及裂化机制, 本文基于81种啮总目昆虫完整mtDNA展开比较分析, 结果发现: (i) 27个物种拥有mtDNA裂化现象, 且寄生虱mtDNA裂化水平远高于书虱。(ii) 裂化mtDNA的AT含量显著低于未裂化mtDNA。(iii) 书虱线粒体基因发生剧烈重排, 几乎没有共享的基因排序模块, 但基因重排水平与mtDNA裂化无关。(iv) 书虱裂化mtDNA往往拥有不同类型的线粒体假基因。(v) mtDNA裂化可能与线粒体蛋白编码基因松弛的纯化选择有关。(vi) 系统发育分析支持书虱与寄生虱互为姊妹群, 啮虫目与虱目应合并为啮总目。(vii) 啮总目昆虫mtDNA的裂化产生可能是mtDNA进化事件综合作用的结果, 包括维持mtDNA稳定性关键基因的缺失、mtDNA重组、mtDNA复制以及随机删除事件。(viii) mtDNA裂化现象在啮总目昆虫中发生至少18次独立演化事件。此外, 本文针对mtDNA在啮总目昆虫研究中的应用进行综述, 并对未来啮总目昆虫mtDNA的研究方向进行展望。总之, 本文为理解动物裂化mtDNA的进化特征及生成机制提供了新的视角。

关键词 啮虫目, 虱目, 基因重排, 染色体重组, 假基因

啮虫目(Psocoptera)主要包括书虱(booklice)和皮虱(barklice), 分3个亚目, 即粉啮亚目(Troctomorpha)、窃啮亚目(Trogiomorpha)以及啮亚目Psocomorpha^[1]。虱目(Phthiraptera)主要包括羽虱和吸虱, 分4个亚目, 即钝角亚目(Amblycera)、细角亚目(Ischnocera)、象虱亚目(Rhyncophthirina)和虱亚目(Anoplura)^[2]。近年来, 基于分子和形态学证据, 虱目被认为源于啮虫目内部, 并且兽鸟虱科(Trichodectidae)是羽虱的一类亚目^[3], 但仍存在争议。目前, 普遍认为啮虫目和虱目合并为啮总

目(Psocodea), 且该总目有10000余个物种被鉴定和描述^[4-6]。书虱取食范围广, 常发生于粮仓及食品加工厂, 是一类具有重要经济意义的仓储害虫。吸虱因直接危害真兽类哺乳动物、传播病菌和引起过敏等, 被认为是一类重要的卫生害虫。因此, 啮总目现已成为农业和医学等领域具有重要研究价值的昆虫类群^[7,8]。

线粒体是真核生物的一种半自主胞质细胞器, 其功能、生长和凋亡受到自身基因组和核基因组的双向调控^[9]。与核基因组相比, 线粒体基因组因其高度保

引用格式: 李一, 蒋诗蝶, 陈雨昂, 等. 啮总目昆虫裂化线粒体基因组进化特征及生成机制. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 1252–1267

Li Y, Jiang S D, Chen Y A, et al. Evolutionary characteristics and origin of fragmented mitochondrial genomes in Psocodea (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2025, 55: 1252–1267, doi: 10.1360/SSV-2024-0016

守、易于获取、重组较少以及母系遗传等特点, 被广泛应用于种群遗传学、比较基因组学以及系统发育学等领域的研究^[10]. 昆虫线粒体基因组通常是一个双链闭合环状DNA分子, 大小约为15~18 kb, 包括37个线粒体基因以及1个非编码控制区(control region). 其中, 线粒体基因包含13个蛋白质编码基因(protein-coding genes, PCG), 2个核糖体RNA基因(ribosomal RNA, rRNA)和22个转运RNA基因(tranfer RNA, tRNA)^[11,12]. 昆虫线粒体基因组的基因排序和分子结构十分保守, 只有少数类群的基因排序或拓扑结构发生剧烈变化, 其中尤以啮总目^[13]、膜翅目(Hymenoptera)^[14,15]和缨翅目(Thysanoptera)^[16,17]昆虫最为典型. 有趣的是, 书虱和吸虱线粒体基因组不仅表现出剧烈的基因重排, 而且发生裂化现象, 即线粒体基因组从单一染色体分裂成多个微环染色体^[18]. 事实上, 类似的环裂化现象除了在其他两侧对称动物被发现, 如中生动物(Mesozoa)、线虫(Nematode)、轮虫(Rotifer)以及蓟马(Thrips)等, 甚至在植物、真菌以及原生生物水藻(Algae)中也被观察到^[19,20]. 不仅如此, 在水螅(Hydra)及水母(Jelly fish)中相继发现线性裂化的线粒体染色体结构^[19].

有学者根据啮总目昆虫裂化线粒体基因组的特点提出动物线粒体基因组核型概念, 并初步构建线粒体基因组的裂化过程^[8]. 然而, 由于先前可供研究的啮总目昆虫线粒体基因组数量极其有限, 造成对裂化线粒体基因组进化属性和产生机制的认知具有一定局限性. 目前, 关于啮总目昆虫线粒体基因组的相关综述主要集中于虱亚目及其个别属中, 更多是针对线粒体基因组特征的描述^[20,21]. 近年来, 随着高通量测序技术的发展, 昆虫线粒体基因组信息呈爆发式增长, 线粒体基因组的复杂性和多样性打破人们对线粒体基因组固有保守性的认知. 因此, 全面解析啮总目昆虫线粒体基因组的进化特征与裂化产生机制, 对于理解动物线粒体基因组的进化具有重要意义.

本综述基于81种83条完整啮总目昆虫线粒体基因组序列, 比较分析裂化线粒体基因组进化特征, 明确线粒体基因组裂化与基因重排、碱基组成、线粒体假基因以及线粒体染色体重组之间的关系; 阐明啮总目昆虫裂化线粒体基因组的进化时间尺度和选择压力. 同时, 结合其他动植物裂化线粒体基因组的研究文献, 深入探讨线粒体基因组的裂化成因及其生成机制, 并对该领域未来的研究方向进行展望.

1 啮总目昆虫具有丰富的线粒体基因组核型

1.1 啮总目昆虫线粒体基因组测序现状

自2001年获得第一个啮总目昆虫袋鼠虱(*Heterodoxus macropus*)的线粒体基因组序列以来, 截至2023年6月, GenBank数据库共收录啮总目昆虫线粒体基因组序列141条, 涉及7亚目34科131种(表1). 其中, 裂化线粒体基因组占总数目的46%, 包含5亚目16科. 本文选取代表性物种, 以81种83条完整线粒体基因组序列(测序且基因完整)为研究对象进行后续分析, 涉及6亚目12科.

人类体虱(*Pediculus humanus*)是第一个被证实发生线粒体基因组多裂化的啮总目昆虫^[57]. 此前, 人们普遍认为节肢动物线粒体基因组是由单一环状DNA分子组成, 这也导致人类体虱线粒体基因组的解析一度陷于停滞状态. 当人类体虱基因组完成测序后, 研究者才意识到人类体虱线粒体基因组是由20个大小不等的微环染色体组成, 这也是首次在节肢动物中发现线粒体基因组多裂化现象.

1.2 啮总目昆虫线粒体基因组的大小及基因含量

83条完整啮总目昆虫线粒体基因组序列长度在13656~40211 bp之间(表1), 其中最大的是小瘤血虱(*Haematopinus tuberculatus*), 最小的是啮书虱(*Liposcelis corrodens*). 啮总目昆虫线粒体基因组大小超过20000 bp的物种均集中在虱目, 占本文所分析物种总数的18.1%(图1). 有趣的是, 虽然裂化线粒体基因组的微环染色体在减小, 但是非编码区重复及其长度变异导致整个线粒体基因组的碱基总数迅速增加. 线粒体基因组非编码区的长度变异可能是自然选择的结果, 也可能是随机事件的产物, 它们对昆虫的适应性可能有重要影响.

本文利用嗜卷书虱线粒体全长转录组信息, 进一步修订啮总目昆虫线粒体蛋白质编码基因起始密码子和终止密码子的位置. 结果显示, *atp8*基因最短, 平均长度为167 bp; *nad5*基因最长, 平均长度为1666 bp(图3A). 就同一基因而言, 物种间存在明显差异, 其中线粒体复合体 I 和 III 所编码的蛋白, 如*cytb*和*nad2*, *nad4*, *nad5*以及*nad6*基因, 其长度变异相较于其他蛋白质基因更加剧烈. 值得一提的是, *cytb*基因的平均长

表 1 啮总目昆虫已测序线粒体基因组信息

Table 1 Information for sequenced mitochondrial genomes in Psocodea

亚目	科名	物种数	长度(bp)	染色体数	参考文献
窃啮亚目 (Trogiomorpha)	鳞啮科(Lepidopsocidae)	1	16924	1	[22]
	跳啮科(Psyllipsocidae)	1	18512	1	[23]
	锯啮科(Prionoglarididae)	3	15685~17244	1	[23]
	窃啮科(Trogiidae)	2	15763~16299	1	[24,25]
啮亚目 (Psocomorpha)	啮科(Psocidae)	3	14442~15589	1	[23,26,27]
	古啮科(Archipsocidae)	1	15349	1	[23]
	狭啮科(Stenopsocidae)	1	16991	1	[28]
	围啮科(Peripsocidae)	1	15745	1	[29]
	分啮科(Lachesillidae)	24	15680~17797	1	[23,29]
	外啮科(Ectopsocidae)	1	15586	1	[29]
	沼啮科(Elipsocidae)	2	15201~16088	1	[29]
	准单啮科(Paracaeciliidae)	2	16130~16457	1	[29]
	单啮科(Caeciliusidae)	2	15753~15966	1	[29]
	双啮科(Amphipsocidae)	2	16041~16480	1	[29]
	亚啮科(Asiopsocidae)	1	16612	1	[29]
粉啮亚目 (Troctomorpha)	虱啮科(Liposcelididae)	13	16430~17424	1~7	[30~35]
	重啮科(Amphientomidae)	1	14904	1	[23]
钝角亚目 (Amblycera)	短角羽虱科(Menoponidae)	5	14683~17624	1~3	[36~38]
	鸟虱科(Ricinidae)	1	13841	1	[38]
	毛鸟虱科(Trimenoponidae)	1	16333	3	[38]
	袋鼠鸟虱科(Boopidae)	2	14670~14744	1	[38,39]
	水鸟虱科(Laemobothiidae)	1	15052	3	[38]
	鼠羽虱科(Gyropidae)	1	13632	7	[38]
细角亚目 (Ischnocera)	兽羽虱科(Trichodectidae)	4	17757~23293	12,13	[36]
	长角羽虱科(Philopteridae)	31	12631~38084	1~17	[36,40~45]
象虱亚目 (Rhyncophthirina)	象鸟虱科(Haematomyzidae)	1	25349	10	[46]
虱亚目 (Anoplura)	多板虱科(Polyplacidae)	3	18283~28490	11	[47,48]
	甲肋虱科(Hoplopleuridae)	3	14294~27162	11,12	[47,49]
	骆虱科(Microthoraciidae)	1	30137	12	[50]
	兽虱科(Haematopinidae)	4	19942~40211	9,10	[51~53]
	阴虱科(Pthiridae)	2	25646~26746	15~17	[54~56]
	人虱科(Pediculidae)	3	22426~25948	18~20	[54,57,58]
	猿虱科(Pedicinidae)	2	19760~37589	12~14	[55]
	海兽虱科(Echinophthiriidae)	5	15356~19496	9~12	[56]

度为1099 bp, 其中网翅鳞啮(*Lepinotus reticulatus*) *cytb* 基因最长, 为1194 bp; 一种鸟虱(*Trichophilopterus babotophilus*)的*cytb*基因最短, 仅有612 bp^[24,45](图2). 然而, 该极端缩短的*cytb*基因与其他近缘种鸟虱相比, 相似度仅约30%. 总体而言, 裂化线粒体基因组的13个线粒体蛋白质编码基因总长度显著低于未裂化物种, 这主要源自线粒体复合体 I 编码基因的长度变异(图3B

和C). 事实上, 动物线粒体基因长度在属内种间的剧烈差异是相当罕见的现象.

啮总目昆虫线粒体基因组不仅会发生tRNA基因丢失与复制现象, 还会产生蛋白质编码基因的丢失与复制^[8]. 如嗜虫书虱(*Liposcelis entomophila*)和杨氏书虱(*Liposcelis sculptilimacula*)线粒体基因组缺失*nad4L* 基因^[18,34], 克氏甲肋虱(*Hoplopleura kitti*)缺失*nad5*基

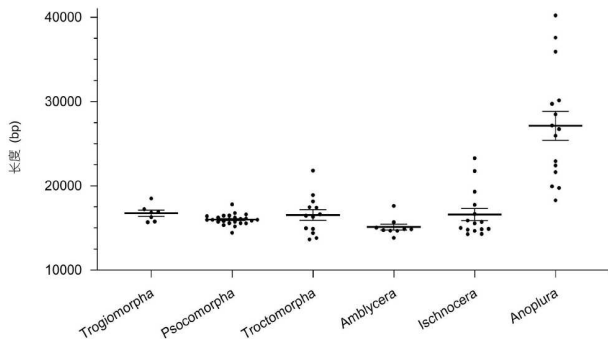


图 1 啮总目亚目间线粒体基因组序列长度统计
Figure 1 Mitochondrial genome sequence length from different suborders in Psocodea

因^[59]; 一种兀鹰寄生虱(*Falcolipeurus quadripustulatus*)的线粒体基因组拥有两个*cox3*基因拷贝, 两者相似度高达99.6%^[36]。总体而言, 蛋白质编码基因缺失现象仅发现于线粒体复合体 I 和复合体 V。基因缺失的原因可能主要有以下三种情况: (i) 基因序列发生高度变异导致其同源性极低而被忽略; (ii) 丢失基因可能存在于未鉴定的微环染色体上; (iii) 丢失基因可能被转移至核基因组中。

1.3 啮总目昆虫线粒体基因组结构变异与碱基组成

典型动物线粒体基因组的拓扑结构十分保守, 为

单一闭合环状DNA分子。然而, 啮总目部分昆虫线粒体基因组出现不同程度的裂化现象。例如, 书虱线粒体基因组裂化为2~7个微环染色体, 而寄生虱线粒体基因组的裂化程度相对更高, 一般为9~20个微环染色体。目前, 虱亚目和象虱亚目物种的线粒体基因组均发生裂化现象。但是, 皮虱、部分书虱和鸟虱未发生线粒体基因组裂化现象^[45]。可见, 啮总目昆虫线粒体基因组结构变异, 并非只发生在某一类群, 即使是在属内种间也存在差异。

动物线粒体基因组碱基组成偏向性是一种常见现象, 如高水平AT含量和AT偏斜是大多数昆虫线粒体基因组的共性特征^[60]。线粒体基因组高水平的AT含量, 可能是相比于鸟嘌呤(G)和胞嘧啶(C)核苷酸, 腺嘌呤(A)和胸腺嘧啶(T)核苷酸需要更少的能量进行生物合成^[61]。啮总目昆虫线粒体基因组虽然存在明显的AT偏向性(57.0%~79.7%), 但不同类群间有所差异。其中, 皮虱线粒体基因组AT含量集中在71.1%~79.7%之间, 而书虱和寄生虱线粒体基因组AT含量分别在68.6%~77.5%和57.0%~79.3%之间, 更加分散(图4A)。本文分析发现, 啮总目昆虫未裂化线粒体基因组AT含量均大于70%, 而裂化线粒体基因组AT含量在57.0%~78.6%之间, 两者具有显著性差异(图4B)。笔者认为啮总目昆虫裂化线粒体基因组与其AT含量密切相关, 即裂化将提升线粒体基因组复制和转录的效率, 使其能够承受

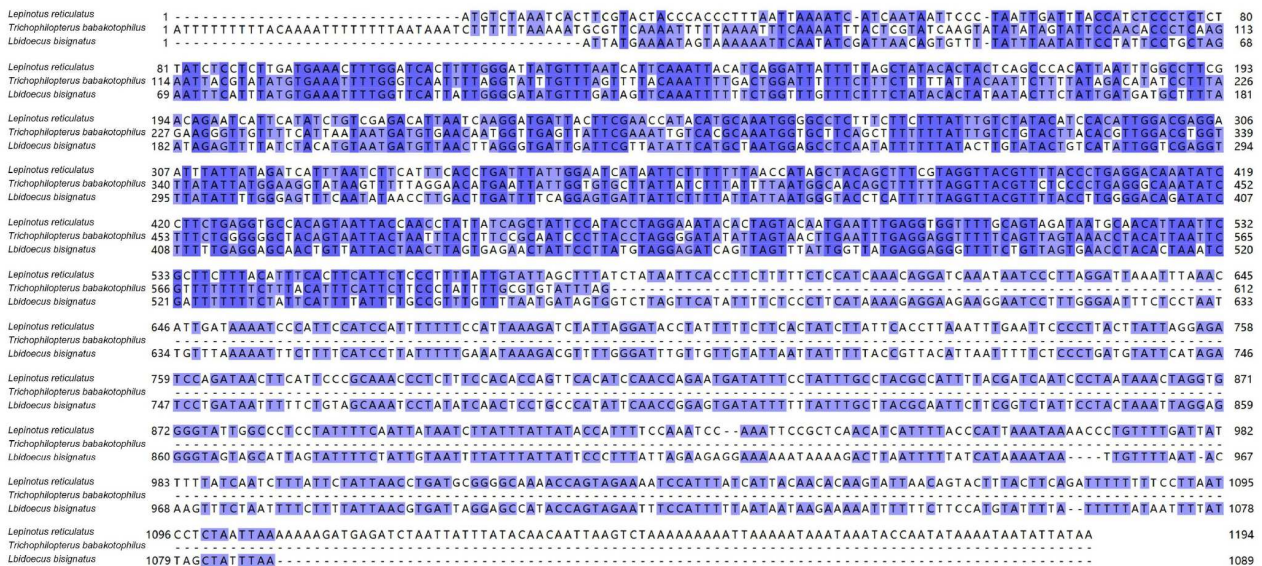


图 2 啮总目三种代表性物种cytb基因多序列比对图
Figure 2 Multiple sequence alignment of *cytb* gene of three representatives in Psocodea

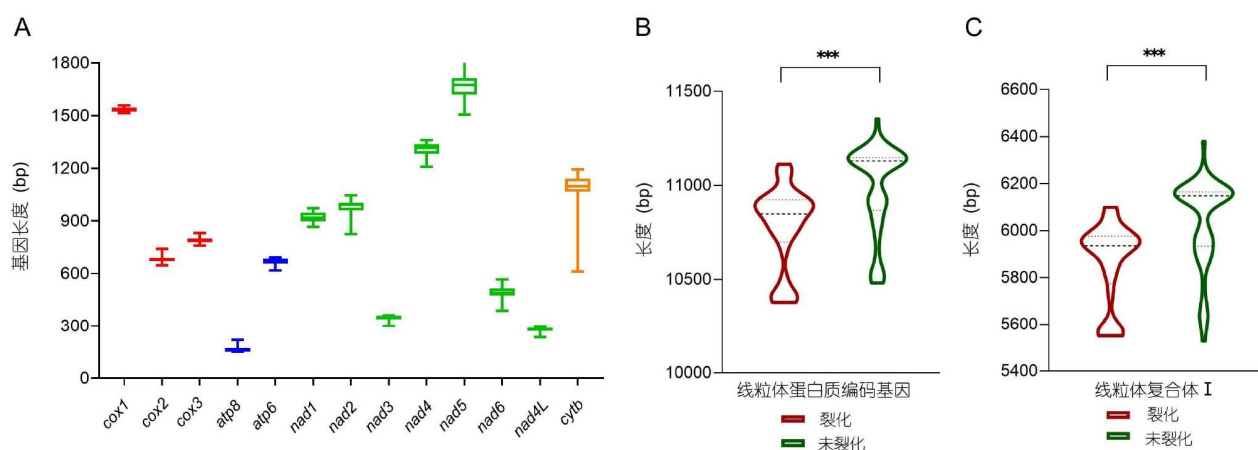


图 3 啮总目昆虫线粒体蛋白质编码基因长度统计. A: 13个线粒体蛋白质编码基因长度箱图; B: 裂化与未裂化物种线粒体蛋白质编码基因总长比较; C: 裂化与未裂化物种线粒体复合 I 蛋白质编码基因长度比较. 注: “*”表示显著性差异情况, “***” (分图B, $P=0.0002$, T检验; 分图C, $P=0.0001$, T检验)

Figure 3 Statistics of the mitochondrial protein-coding gene length in Psocodea. A: Box plots of the lengths of 13 mitochondrial protein-coding genes; B: comparison of the total length of mitochondrial protein-coding genes between fragmented and unfragmented mtDNA; C: comparison of the length of mitochondrial complex I protein-coding genes between fragmented and unfragmented mtDNA. Note: “*” indicates significant difference. “****” (Part B, $P=0.0002$, student's t test; part C, $P=0.0001$, student's t test)

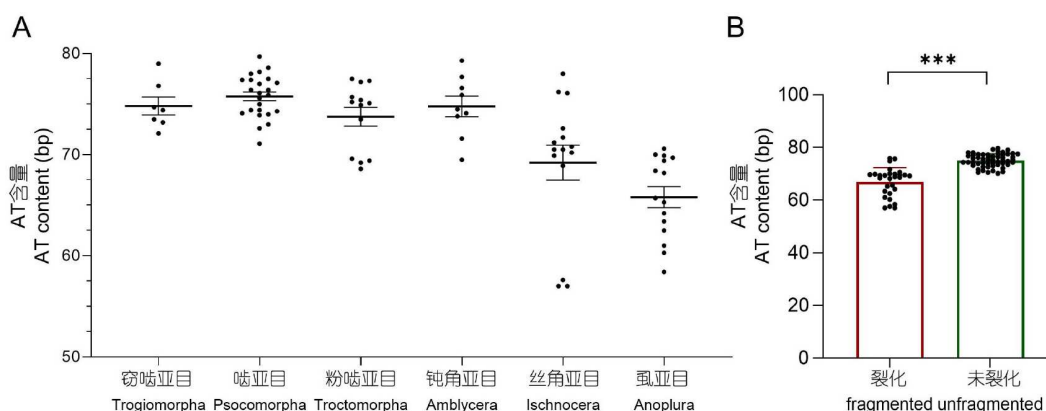


图 4 啮总目AT含量在裂化和未裂化线粒体基因组中的分布模式. A: 啮总目亚目间线粒体基因组AT含量统计; B: 裂化与未裂化线粒体基因组AT含量比较. 注: “*”表示显著性差异情况, “***” ($P<0.001$, T检验)

Figure 4 Different patterns of AT content in fragmented and unfragmented mtDNA in Psocodea. A: AT content of mitochondrial genomes from different suborders in Psocodea; B: comparative of AT content between fragmented and unfragmented mtDNA. Note: “*” indicates significant difference. “****” ($P<0.001$, student's t test)

更低水平AT含量所需要的能量消耗压力. 此外, 研究者提出多种基于选择的假设来解释基因组高GC含量现象, 如资源可用性^[62]、环境条件^[63]、基因表达调控^[64]和GC偏向性基因转换(gBGC)^[65], 但上述假设都无法令人信服地解释基因组的高GC含量内在原因. 因此, 裂化线粒体基因组高GC含量的驱动因素仍不清楚.

与AT含量有所不同, AT偏斜(AT-Skew)和GC偏

斜(GC-Skew)表示链特异性碱基组成偏向性. 本文发现, 啮总目6个亚目间的线粒体基因组正链上的AT和GC偏斜具有明显差异(图5). 其中啮虫目昆虫线粒体基因组GC偏斜主要为负数, 即 $C>G$, 而虱目则相反. 鉴于虱目拥有高水平的线粒体基因组裂化现象, 而上述啮虫目和虱目间的碱基组成偏向性差异暗示着线粒体基因组裂化水平可能影响其碱基组成偏向性.

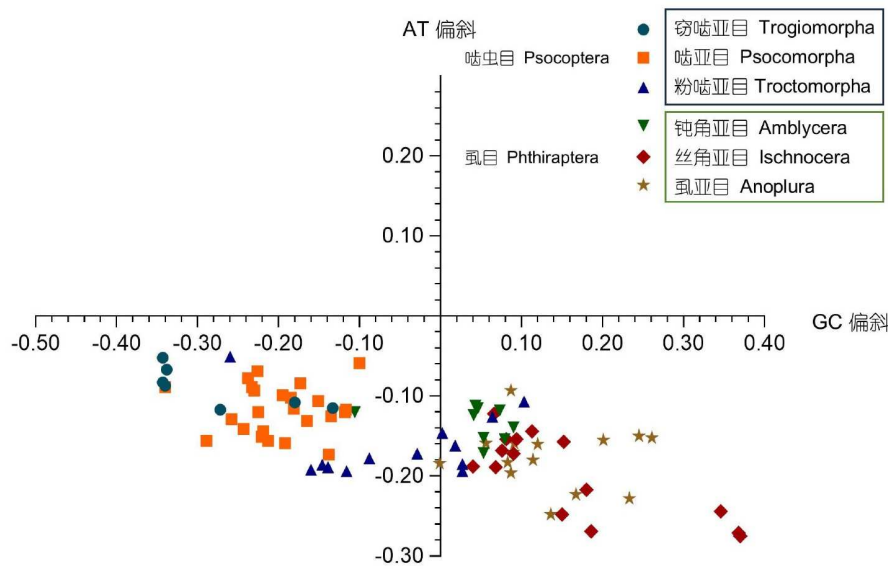


图 5 啮总目昆虫线粒体基因组AT和GC偏斜散点图(GC和AT偏斜计算公式: $AT\ skew = (A - T) / (A + T)$; $GC\ skew = (G - C) / (G + C)$)
Figure 5 AT and GC skew scatter plot of mitochondrial genome in Psocodean insects (The calculation formulas of GC and AT skew: $AT\ skew = (A - T) / (A + T)$; $GC\ skew = (G - C) / (G + C)$)

1.4 啮总目昆虫线粒体基因排序发生剧烈重排

尽管昆虫线粒体基因排序相当保守,但一些tRNA的重排现象却并不罕见^[12,66]。一般而言,更为广泛的基因重排,尤其是蛋白质编码基因或rRNA基因的重排,只在部分昆虫类群中有所报道,如膜翅目^[14,15]和缨翅目^[16,17]等。然而,即使在啮总目昆虫属内种间,其线粒体基因排序也发生更加剧烈的重排,这种现象在昆虫中较为罕见^[8]。啮总目昆虫线粒体基因重排主要有以下几种类型:(i)重排范围仅限tRNA或少数蛋白质编码基因,如皮虱;(ii)伴随着轻度的线粒体基因组裂化,tRNA和蛋白质编码基因存在广泛性重排,物种间几乎没有保守的基因排序模块,如书虱;(iii)伴随着高度或中度的线粒体基因组裂化,线粒体基因均匀分布在不同染色体上,仅有个别基因排序模块可供分析研究,如寄生虱。啮总目昆虫线粒体基因重排现象可由以下3种机制进行解释:(i)重复/随机丢失模型(tandem repeat and random lost, TDRL),即基因被复制后,其中一个拷贝被随机删除。该机理可用于解释皮虱线粒体基因重排事件^[23];(ii)由tRNA基因错误起始引起的复制产生(illicit priming of replication by tRNA genes),该模型适用于理解寄生虱线粒体基因的重排现象^[48];(iii)重组(recombination),该模型可以解释嗜卷书虱线粒体基因重排的产生原因^[30]。然而,上述模型

并不能很好地解释书虱线粒体基因剧烈重排的现象。书虱线粒体基因重排还可能是基因洗牌和重组共同作用的结果^[8]。此外,利用共享基因边界的数量(number of shared gene boundaries, NGBs)可量化动物线粒体基因重排频率的大小。有研究表明,书虱种间NGBs很低,远小于其他后生动物。有趣的是,书虱属一些未裂化线粒体基因组同样含有较低的NGBs,如皮氏书虱(*Liposcelis pearmani*)^[30],这暗示裂化可能会加剧重排频率,但线粒体基因剧烈重排并非导致线粒体基因组裂化的驱动因素。值得一提的是,昆虫线粒体基因重排与核苷酸替换率和碱基组成等分子特性密切相关^[22,67]。

1.5 啮总目昆虫线粒体基因的密码子偏好性与选择压力

密码子是蛋白质编码基因的基本结构单位,其不仅能反映DNA水平碱基偏好性的变化,而且与蛋白质功能紧密相关,可用于揭示基因组内部或组间的演化关系。啮总目昆虫线粒体蛋白质编码基因的起始密码子一般为ATN,终止密码子为TAA或TAG,少数基因则以不完整的终止密码子TA-或T-结尾。上述不完整的终止密码子可通过转录后多聚腺苷酸化修饰进而形成完整终止密码子以行使终止作用^[68,69]。此外,除*atp6*基

因外, 其他蛋白质编码基因均出现TTG或GTG非典型起始密码子现象. 非典型起始密码子在其他昆虫线粒体基因组中亦有报道, 但只出现在少数的蛋白质编码基因上, 如双翅目食蚜蝇科*nad1*基因以及半翅目叶蝉科*atp8*和*nad5*基因等^[70,71]. 然而, 裂化线粒体基因组非典型起始终止密码子的使用频率明显高于未裂化线粒体基因组.

同义密码子一般呈非随机或相等的概率使用, 有时更加偏好使用一个或一组密码子的现象被称为密码子使用偏好性^[72,73]. 密码子使用偏好性也是导致线粒体基因组AT含量大于GC含量的重要原因之一. 密码子偏好性特征及其产生机制是近年来进化生物学的热点领域. 突变、自然选择和遗传漂变都是促进同义密码子产生的重要因素, 因此密码子偏好性对基因组进化有重要影响^[74]. 常见衡量昆虫线粒体基因组密码子使用偏好性的特征指标有3种, 即相对同义密码子使用度(relative synonymous codon usage, RSCU)、有效密码子数(effective number of codon, ENC)以及密码子适应指数(codon adaptation index, CAI). 基于13个线粒体蛋白质编码基因序列RSCU值的分析发现, 啮总目昆虫线粒体基因组对62个密码子使用频率不尽相同. 如以亮氨酸(Leu)为例, 编码亮氨酸的密码子共有6个(UUA, UUG, CUU, CUC, CUA和CUG), 其中UUA在啮总目昆虫线粒体基因组中RSCU均值在2.8左右, CUG则为0.3. 另外, 编码氨基酸的27个高频密码子均以A和U结尾(图6A). 此外, RSCU<0.5的密码子总数在12~21个之间, 该数目在裂化与未裂化线粒体基因组间有所差异. 上述结果说明啮总目昆虫以C或G结尾的线粒体基因密码子使用频率降低, 且未裂化线粒体基因组在编码氨基酸的过程中避免使用以C和G结尾的密码子. 就CAI和ENC值而言, CAI=0.5或ENC=35被认为是判断密码子使用偏好性强弱的界限指标^[75]. 本文分析发现, 啮总目昆虫线粒体基因组CAI和ENC值分别在0.103~0.185和32.510~56.600之间(图6B和C). 结果说明, 啮总目昆虫线粒体基因组的密码子使用偏好性整体较低, 暗示啮总目昆虫线粒体基因组可能经历着较弱的选择压力, 而更多地受到突变压力的影响, 这可能使得基因在表达和功能上具有一定的灵活性和适应性.

进一步, 本文对啮总目昆虫线粒体基因Ka/Ks值进行评估, 以衡量其所承受的进化选择压力. 结果表明,

13个线粒体蛋白质编码基因Ka/Ks值在0.296~0.918之间, 其中*atp8*基因的Ka/Ks值最高, *cox1*基因的Ka/Ks值最低(图7A). 线粒体复合体I所编码的NADH脱氢酶基因比其他蛋白质编码基因具有更高的Ka/Ks值. 一般认为, 远离线粒体基因组复制起点的基因进化速率更快, 如*nad*和*cytb*基因等, 因为它们在复制过程中花费更长的时间从而致使其在单链中积累更多突变^[77]. 总体而言, 13个线粒体蛋白质编码基因的Ka/Ks值均小于1, 即非同义替代率低于同义替代率, 表明啮总目昆虫线粒体基因主要经历的是清除有害突变的纯化选择. 此外, 上述纯化选择作用在裂化和未裂化线粒体基因组间呈现不同的强度, 如裂化线粒体基因组蛋白质编码基因具有更加松弛的纯化选择(Ka/Ks比值向1.0转移, *nad6*除外). 上述结果暗示裂化可能在某种程度上与选择压力有关, 即线粒体基因组裂化可能是自然选择在线粒体基因组上逐渐减弱的表现(图7B).

1.6 线粒体假基因: 基因复制、重组和删除的分子痕迹

线粒体假基因主要有两种形式, 一种是位于核基因组上的线粒体假基因(nuclear mitochondrial pseudogenes)^[43], 它是线粒体DNA拷贝转移至核DNA中的现象; 另一种是位于线粒体基因组上的假基因(mitochondrial pseudogenes)^[8], 是线粒体功能基因的非功能拷贝. 本文所指的线粒体假基因为后者, 其被认为是功能基因删除过程中遗留序列, 不再行使具体功能^[13]. 在啮总目昆虫中, 最早报道的线粒体假基因是尖叫虱(*Bothriometopus macrocnemis*) tRNA基因^[43]. 事实上, 线粒体假基因在昆虫中极为罕见, 主要是因为线粒体基因组的进化模式以及承受的选择压力很难容忍线粒体假基因的出现. 然而, 啮总目昆虫裂化线粒体基因组含有大量线粒体假基因, 其几乎涵盖所有线粒体基因类型, 如蛋白质编码基因、rRNA以及tRNA基因等^[32]. 以书虱为例, 嗜卷书虱、暗褐书虱(*Liposcelis brunnea*)、嗜虫书虱、小眼书虱(*Lipocelis paeta*)、红书虱(*Liposcelis rufa*)中分别出现4, 16, 15, 8以及2个假基因. 上述线粒体假基因主要来源于*nad5*, *cox3*, *cytb*和*atp6*等蛋白质编码基因, 并且暗褐书虱、红书虱和小眼书虱还具有rRNA假基因. 由于线粒体假基因主要存在于裂化线粒体基因组中, 因此, 有学者认为假基因可能与书虱线粒体基因组的裂化有关^[18]. 有趣的是, 目前

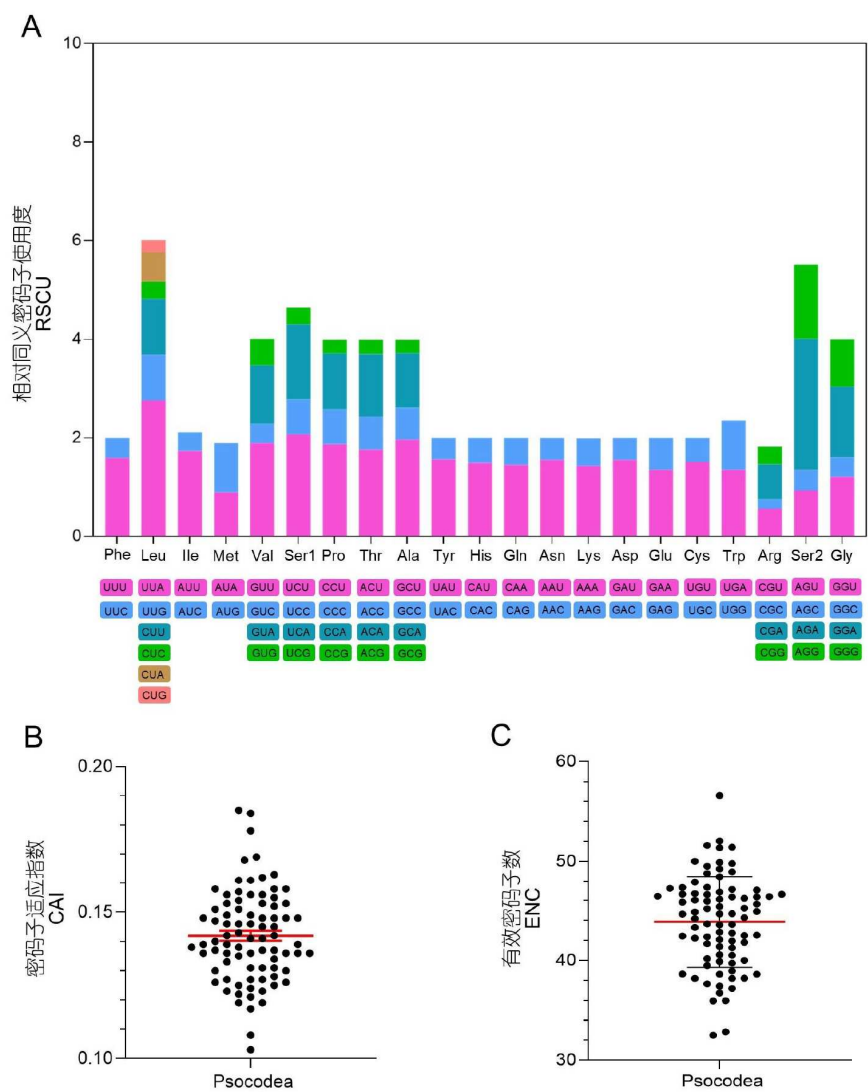


图 6 啮总目线粒体基因组密码子偏好性指标. A: RSCU值; B: CAI值; C: ENC值. 三种密码子偏好性指标的计算公式参照文献[76]

Figure 6 Codon usage bias indexes of mtDNA in Psocodea. A: RSCU values; B: CAI values; C: ENC values. The formulas for computing the three codon usage bias indices were adopted from the literature [76]

在高度裂化的寄生虱线粒体基因组中，并未发现线粒体蛋白假基因，只发现部分tRNA假基因^[42,43]。上述结果说明，线粒体假基因的出现可能与线粒体基因组的裂化程度有关，裂化程度越高则假基因的数量和类型越少。线粒体假基因作为物种遗传多样性的一种储备形式，其最终将在删除事件的作用下逐渐被清除。

在裂化线粒体基因组中，线粒体假基因可以与其功能基因位于同一线粒体染色体上，也可以存在于不同染色体之上。位于同一染色体上，说明线粒体基因复制现象的存在；而上述不同微环染色体之间会携带彼

此的基因或基因片段的现象，则可以用线粒体染色体间的重组进行解释。事实上，裂化线粒体基因组的重组现象在人类体虱和嗜卷书虱中均已被证实存在^[30,78]。

2 啮总目昆虫线粒体基因组裂化的产生机制

当前，已有研究对啮总目线粒体基因组裂化的原因做出推测，包括达尔文选择优势、随机遗传漂变、线粒体单链DNA结合蛋白(mitochondrial single-strand

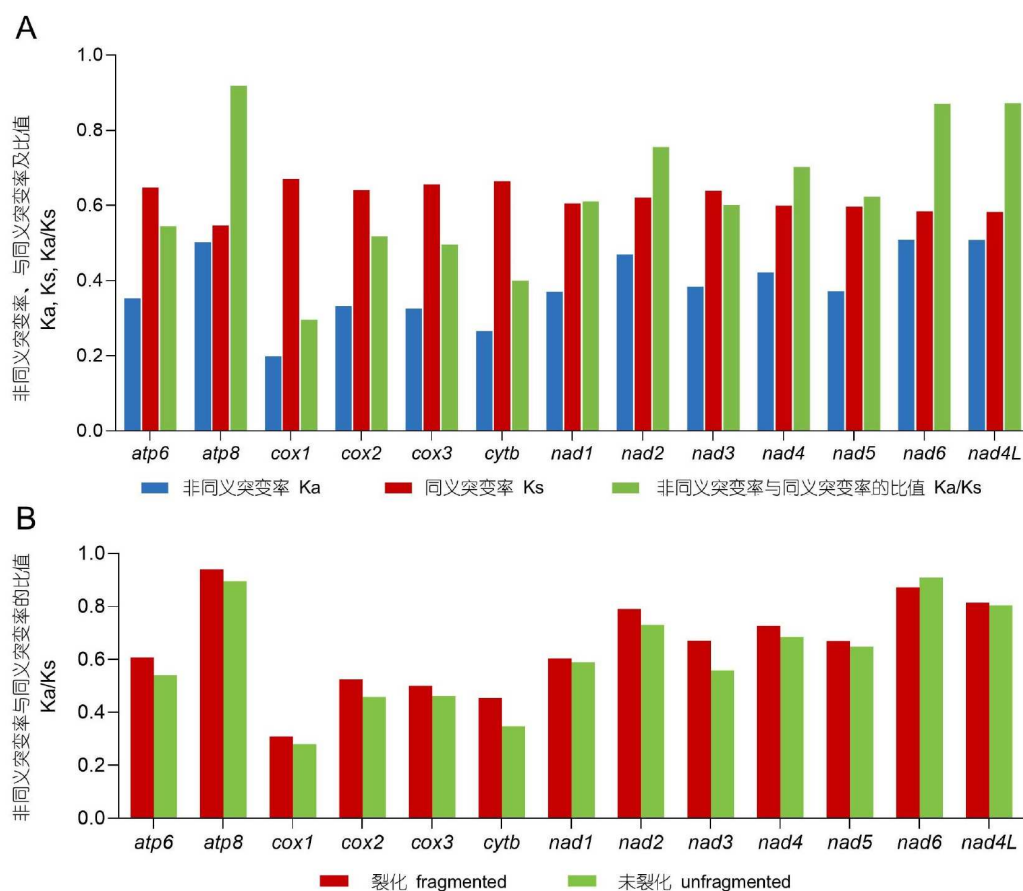


图 7 啮总目昆虫线粒体蛋白质编码基因的进化速率。A: 线粒体蛋白质编码基因非同义突变率(Ka)、同义突变率(Ks)及非同义突变率与同义突变率的比值(Ka/Ks); B: 裂化与未裂化线粒体基因组蛋白质编码基因非同义突变率与同义突变率的比值(Ka/Ks)

Figure 7 Evolution rate of mitochondrial protein-coding genes in Psocodea. A: The non-synonymous mutations rate (Ka), synonymous mutations rate (Ks), and the proportionality of non-synonymous mutations rate to synonymous mutations rate (Ka/Ks) of mitochondrial protein-coding genes; B: the proportionality of non-synonymous mutations rate to synonymous mutations rate of protein-coding genes in fragmented and unfragmented mitochondrial genomes (Ka/Ks)

DNA-binding protein, mtSSB)的缺失、吸血的寄生方式以及生殖方式等^[40,57,79,80]。然而,上述解释都缺乏直接的实验证据,关于线粒体基因组裂化产生原因及分子机制仍不清楚。本文主要结合动物和植物线粒体基因组多裂化生成过程,构建啮总目昆虫线粒体多裂化微环染色体的形成机制。同时,结合相关文献,本文提出线粒体微环染色体产生是关键核编码基因缺失、线粒体染色体重组、线粒体基因复制以及随机删除事件综合作用下的结果。

线粒体基因组裂化可能始于维持线粒体基因组复制稳定性关键基因的丢失。如人类体虱缺少线粒体单链DNA结合蛋白,致使其无法合成较长的复制产物,使微环染色体更加容易被选择保留^[40]。类似关键基因

缺失的现象在具有多裂化线粒体基因组的茎丝藻纲(Stylonematophyceae)中同样存在,如RAD52。该基因通过同源重组(homologous recombination, HR)机制在藻类核基因组和线粒体基因组复制稳定性修复过程中发挥重要作用,可阻止微同源介导的重组(microhomology-mediated recombination, MHMR)。缺失该基因,会导致微同源介导的重组并进一步促进微环染色体形成^[81]。在被子植物盾片蛇菰(*Rhopalocnemis phalloides*)中,参与DNA复制、修复和重组的两个核编码线粒体靶向酶(WHY2和OSB2/3/4)也发生丢失^[82,83],上述结果暗示线粒体基因组复制过程中关键基因的丢失,可能是造成线粒体基因组裂化的重要分子驱动力之一。

当缺少阻止同源重组和修复停滞复制叉等关键基

因, 这将促进线粒体基因组重复序列之间的微同源性重组, 并产生异串联体(hetero-concatemers). 异串联体内部重组可以产生多个微环染色体^[81,84](图8). 当多个微环染色体的相同拷贝同时存在时, 那些含有控制区的染色体将逐渐取代缺乏控制区的微环染色体. 微环染色体由于其复制时间缩短、转录效率更快, 具有一定的选择优势, 从而造成物种对典型的线粒体染色体大环依赖性降低, 并最终丢失^[8]. 同时, 线粒体微环染色体间的重组进一步加剧线粒体基因组的裂化复杂性. 基于嗜卷书虱不同地理种群线粒体基因组的重测序数据发现, 重组机制造成该物种线粒体基因组的丰富多样性, 并导致线粒体基因重排加剧^[30,85]. 最终, 线粒体基因组上的重复序列降解以及由此导致的重复序列介导的重组减少或停止^[84,86], 得以保留多个线粒体微环染色体结构(图8).

3 线粒体基因在啮总目昆虫中的应用

3.1 啮总目昆虫系统发育及裂化发生时间尺度

线粒体基因组被广泛用于昆虫不同分类单元的系统发育研究^[87]. 基于81种啮总目昆虫系统发育关系结果表明(图9): (i) 啮虫目(书虱和皮虱)是复系群; (ii)

虱目(寄生虱)是单系群, 单系性来源于粉啮亚目; (iii) 粉啮亚目重啮科(Amphientomidae)的一种皮虱(*Stimulopalpus japonicus*)被归入窃啮亚目, 导致粉啮亚目的并系性^[88,89]; (iv) 细角亚目是复系群; (v) 书虱属和虱目互为姊妹群, 支持啮虫目与虱目合并为啮总目. 并且其共同祖先出现在大约200百万年前^[90]. 此外, 线粒体基因组裂化和微环染色体特征将真兽类哺乳动物的虱亚目和象虱亚目聚类在一起^[3]. 根据系统发生关系可以推断线粒体基因组裂化事件, 在粉啮亚目、细角亚目、钝角亚目独立进化, 且其在书虱中发生4次, 在寄生虱中至少发生14次^[91]. 啮总目线粒体基因组裂化现象最早发生在107百万年前. 书虱线粒体基因组裂化较晚, 大致出现在43~61百万年前, 而吸虱大约出现在97百万年前^[34]. 总体而言, 物种进化时间尺度越久, 其线粒体基因组裂化程度越高. 结合前文所述结果可以推测, 线粒体基因进化速率与线粒体基因组裂化程度以及基因重排的频率具有一定的相关性.

3.2 书虱分子鉴定和种群遗传学研究

由于书虱体微小(约1 mm), 种类间形态极为相似, 利用传统鉴定方法极为困难. 此外, 昆虫分类特征多适用于成虫阶段, 对于卵和幼体而言, 无法准确鉴定. 然

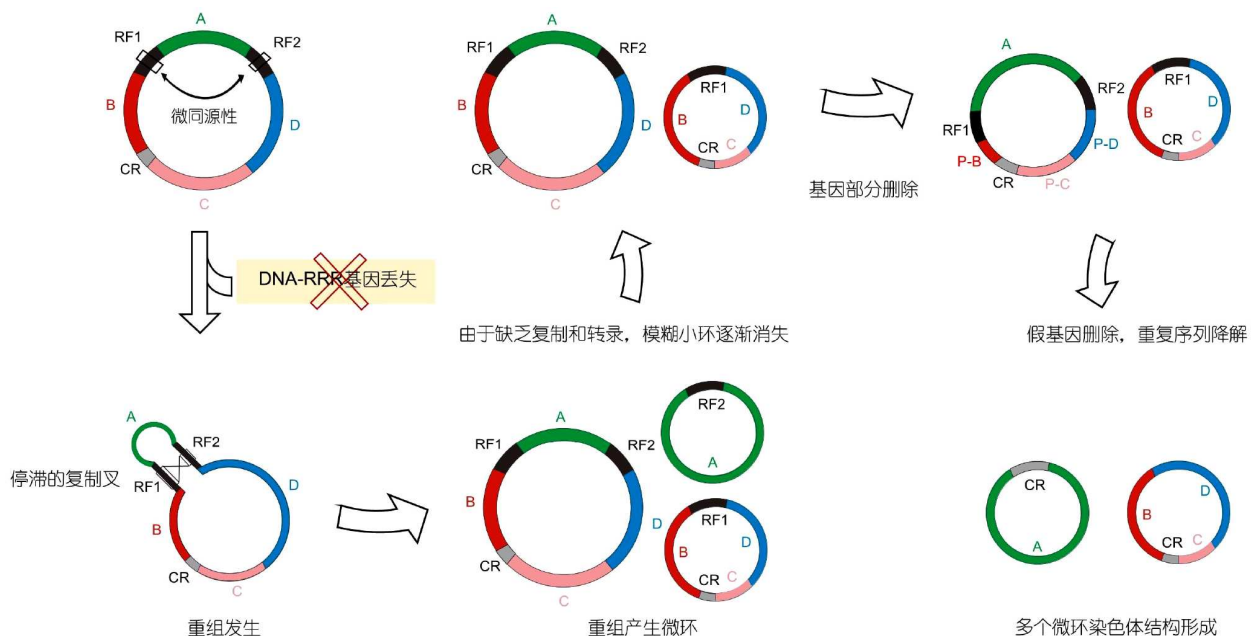


图8 微环染色体演化模型示意图
Figure 8 Schematic model of minicircle formation

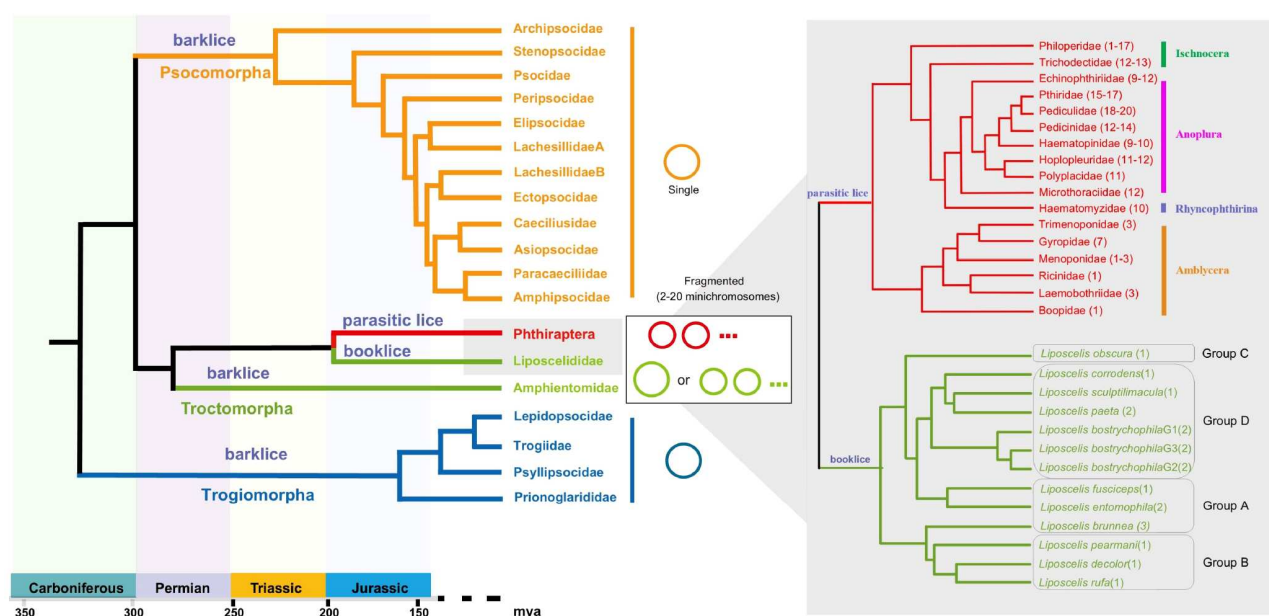


图9 基于线粒体基因组序列构建的啮总目昆虫系统发育树。括号内代表该科或物种线粒体基因组裂化后微环染色体数目。系统发育树构建流程: 提取啮总目昆虫13个线粒体蛋白质编码基因序列, 使用MEGA7.0比对序列, 随后采用Gblocks (v0.91b) (参数: -t=c -b5=h)选取保守区域并进行拼接。利用IQ-TREE软件获得最佳进化模型为GTR+F+I+R7, 同时采用最大似然(maximum likelihood, ML)法建树, bootstrap设置为1000

Figure 9 Phylogenetic tree of Psocodea based on mtDNA sequence. Numbers in the brackets represent the number of mitochondrial minichromosomes from the family or species. Phylogenetic tree was constructed based on 13 mitochondrial protein-coding gene sequences from Psocodean insects. Multiple sequence alignment was employed using MEGA7.0. The resulting alignments were then trimmed using Gblocks (v0.91b), with the parameters '-t=c -b5=h', and subsequently concatenated. Maximum-likelihood trees were constructed with 1000 bootstrap replicates, and the optimal model for this analysis was determined to be GTR+F+I+R7 by IQ-TREE

而, 分子鉴定技术可以有效解决上述问题, 并发掘隐存种。线粒体DNA常被作为啮总目昆虫分子鉴定和种群遗传学研究的重要分子标记。近20年来, 利用线粒体 $cox1$ 和 $16S$ 等基因片段快速鉴定储粮书虱的研究已有大量报道, 主要包括DNA条形码技术^[92]和环介导等温扩增(loop-mediated isothermal amplification, LAMP)技术^[93]等。以上方法虽能将常见书虱种区分开来, 但无法鉴别书虱隐种或种下水平生物型。最近, 国内学者基于线粒体 $nad2$ 基因, 结合重组酶聚合酶扩增(recombinase polymerase amplification, RPA)技术, 开发RPA-CRISPR/Cas12a可视化核酸系统, 不仅弥补其他技术无法鉴定嗜卷书虱生物型的缺陷, 还更具简便性、准确性以及省时高效等优势^[94]。

在分子种群遗传学方面, 研究者利用 $cytb$, $nad5$, $16S$ 和 $12S$ 等线粒体基因对书虱和皮虱种群遗传结构和分化开展系统研究。研究证实嗜卷书虱和嗜虫书虱均具有较高的遗传多样性, 而营孤雌生殖的嗜卷书虱, 其遗传多样性明显高于两性生殖的嗜虫书虱^[95]。皮虱

(*Echmepteryx hageni*)单性生殖种群的遗传多样性也显著地高于其两性生殖种群^[96]。书虱及皮虱孤雌种群高水平遗传多样性为解释其具有极强的逆境适应能力提供遗传学信息证据。此外, 中国的书虱种群间存在广泛的遗传分化, 这种现象可能是由于遗传漂变、近亲繁殖和防控措施造成的, 较少受到地理距离的影响。另外, 研究者利用线粒体 $12S$ 和 $16S$ 基因发现嗜卷书虱两性生殖种群存在两种不同的线粒体DNA单倍型。其中一种单倍型只存在于雌性个体, 而另一种则在雌雄个体中都存在^[97]。昆虫种内存在不同线粒体基因单倍型的现象很可能与内共生菌(如*Wolbachia*和*Rickettsia*等)有关。有趣的是, 在嗜卷书虱两性生殖种群中没有检测到立克次氏体(*Rickettsia*), 但在孤雌生殖种群的所有个体中均检测到立克次氏体^[97]。

4 问题与展望

随着高通量测序(next-generation sequencing tech-

nology, NGS)技术的出现,大量啮总目昆虫线粒体基因组序列被测序与注释.然而,目前测序获得的完整线粒体基因组序列数量不到啮总目已描述物种总数(约10000个)的百分之一.未来测序更多啮总目昆虫线粒体基因组,特别是种内不同种群间线粒体基因组的变异研究,将为全面理解啮总目昆虫线粒体基因组在种间和种内水平的进化属性提供理论支撑.

线粒体基因组裂化现象是啮总目昆虫频繁发生的线粒体基因组进化事件.本综述所提出的微环染色体生成过程中的部分关键分子机制,需要进一步的深入研究.关于线粒体基因组裂化是否具有选择优势,裂化后线粒体基因是否具有更高的表达效率?上述问题

还有待线粒体功能方面的研究.

因此,啮总目昆虫裂化线粒体基因组的功能将会成为未来的研究热点,如构建线粒体转录组图谱分析裂化与未裂化线粒体基因组基因表达差异;构建啮总目昆虫线粒体核蛋白基因的数据库,发掘线粒体基因组转录与复制过程中的关键基因并解析其功能,进而阐释啮总目昆虫线粒体基因组裂化分子机制,从分子水平层面上探究裂化线粒体基因组产生的驱动力.同时,一些线粒体基因遗传操作技术,诸如RNAi和基因敲除或定点突变技术仍需突破.毋庸置疑的是,啮总目昆虫将成为研究动物线粒体基因组进化的模式类群.

参考文献

- 1 Baz A. Bark-Lice, Book-Lice or Psocids (Psocoptera). In: John L. Capinera ed. *Encyclopedia of Entomology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2008. 381–399
- 2 Smith V S. The chewing lice: world checklist and biological overview. *Systatic Biol*, 2004, 53: 666–668
- 3 de Moya R S, Yoshizawa K, Walden K K O, et al. Phylogenomics of parasitic and nonparasitic lice (Insecta: Psocodea): combining sequence data and exploring compositional bias solutions in next generation data sets. *Systatic Biol*, 2021, 70: 719–738
- 4 Lyal C H C. Phylogeny and classification of the Psocodea, with particular reference to the lice (Psocodea: Phthiraptera). *Systatic Entomol*, 1985, 10: 145–165
- 5 Johnson K P, Yoshizawa K, Smith V S. Multiple origins of parasitism in lice. *Proc R Soc Lond B*, 2004, 271: 1771–1776
- 6 Mockford E L, Lienhard C, Yoshizawa K. Revised classification of ‘Psocoptera’ from Cretaceous amber, a reassessment of published information. *Ins Matsum*, 2013, 69: 1–26
- 7 Nayak M K, Collins P J, Throne J E, et al. Biology and management of psocids infesting stored products. *Annu Rev Entomol*, 2014, 59: 279–297
- 8 Wei D D, Shao R F, Chen S C, et al. Progress in mitochondrial genome diversity and phylogeny of Psocodea (in Chinese). *Acta Entomol Sin*, 2014, 57: 483–494 [魏丹丹, 邵韧夫, 陈世春, 等. 啮总目昆虫的线粒体基因组多样性及系统发育研究进展. *昆虫学报*, 2014, 57: 483–494]
- 9 Galluzzi L, Kepp O, Kroemer G. Mitochondria: master regulators of danger signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 780–788
- 10 Bullerwell C E, Lang B F. Fungal evolution: the case of the vanishing mitochondrion. *Curr Opin Microbiol*, 2005, 8: 362–369
- 11 Boore J L. Animal mitochondrial genomes. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27: 1767–1780
- 12 Cameron S L. Insect mitochondrial genomics: implications for evolution and phylogeny. *Annu Rev Entomol*, 2014, 59: 95–117
- 13 Wei D D, Miao Z Q, Tu Y Q, et al. *Molecular Biology of Stored-Product Psocids*. Oxford: CABI, 2023. 46–64
- 14 Downton M, Cameron S L, Dowavic J I, et al. Characterization of 67 mitochondrial tRNA gene rearrangements in the hymenoptera suggests that mitochondrial tRNA gene position is selectively neutral. *Mol Biol Evol*, 2009, 26: 1607–1617
- 15 Mao M, Gibson T, Downton M. Higher-level phylogeny of the Hymenoptera inferred from mitochondrial genomes. *Mol Phylogenet Evol*, 2015, 84: 34–43
- 16 Liu H, Li H, Song F, et al. Novel insights into mitochondrial gene rearrangement in thrips (Insecta: Thysanoptera) from the grass thrips, *Anaphothrips obscurus*. *Sci Rep*, 2017, 7: 4284
- 17 Tyagi K, Chakraborty R, Cameron S L, et al. Rearrangement and evolution of mitochondrial genomes in Thysanoptera (Insecta). *Sci Rep*, 2020, 10: 695
- 18 Chen S C, Wei D D, Shao R, et al. Evolution of multipartite mitochondrial genomes in the booklice of the genus *Liposcelis* (Psocoptera). *BMC Genomics*, 2014, 15: 861
- 19 Zardoya R. Recent advances in understanding mitochondrial genome diversity. *F1000Res*, 2020, 9: 270

- 20 Sun J N, Dong W G. Advances in atypical mitochondrial genome of Anoplura (in Chinese). *J Environ Entomol*, 2023, 45: 378–388 [孙佳宁, 董文鸽. 吸虱亚目非典型线粒体基因组研究进展. *环境昆虫学报*, 2023, 45: 378–388]
- 21 Zhang Y F, Dong W G. Understanding mitochondrial genome fragmentation of *Ployplax* (Anoplura: Polyplacidae) (in Chinese). *J Path Biol*, 2020, 15: 859–864 [张艳芳, 董文鸽. 多板虱属(吸虱亚目: 多板虱科)裂化线粒体基因组研究进展. *中国病原生物学杂志*, 2020, 15: 859–864]
- 22 Shao R. Rates of gene rearrangement and nucleotide substitution are correlated in the mitochondrial genomes of insects. *Mol Biol Evol*, 2003, 20: 1612–1619
- 23 Yoshizawa K, Johnson K P, Sweet A D, et al. Mitochondrial phylogenomics and genome rearrangements in the barklice (Insecta: Psocodea). *Mol Phylogenet Evol*, 2018, 119: 118–127
- 24 Feng S, Stejskal V, Wang Y, et al. The mitochondrial genomes of the barklice, *Lepinotus reticulatus* and *Dorypteryx domestica* (Psocodea: Trogiomorpha): insight into phylogeny of the order Psocodea. *Int J Biol Macromol*, 2018, 116: 247–254
- 25 Wei D D, Tu Y Q, Guo P Y, et al. Characterization of the complete mitochondrial genome of a barklouse, *Lepinotus* sp. (Psocodea: Trogiomorpha: Trogiidae). *Mitochondrial DNA B Resour*, 2021, 6: 1725–1726
- 26 Li H, Shao R, Song F, et al. Mitochondrial genomes of two barklice, *Psococerastis albimaculata* and *Longivalvus hyalospilus* (Psocoptera: Psocomorpha): contrasting rates in mitochondrial gene rearrangement between major lineages of Psocodea. *PLoS one*, 2013, 8: e61685
- 27 Li H, Shao R, Song N, et al. Higher-level phylogeny of paraneopteran insects inferred from mitochondrial genome sequences. *Sci Rep*, 2015, 5: 8527
- 28 Liu X, Li H, Cai Y, et al. Conserved gene arrangement in the mitochondrial genomes of barklouse families Stenopsocidae and Psocidae. *Front Agr Sci Eng*, 2017, 4: 358–365
- 29 Saenz Manchola O F, Virrueta Herrera S, D'Alessio L M, et al. Mitochondrial genomes within bark lice (Insecta: Psocodea: Psocomorpha) reveal novel gene rearrangements containing phylogenetic signal. *Systatic Entomol*, 2021, 46: 938–951
- 30 Feng S, Pozzi A, Stejskal V, et al. Fragmentation in mitochondrial genomes in relation to elevated sequence divergence and extreme rearrangements. *BMC Biol*, 2022, 20: 7
- 31 Perlman S J, Hodson C N, Hamilton P T, et al. Maternal transmission, sex ratio distortion, and mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: 10162–10168
- 32 Feng S, Li H, Song F, et al. A novel mitochondrial genome fragmentation pattern in *Liposcelis brunnea*, the type species of the genus *Liposcelis* (Psocodea: Liposcelididae). *Int J Biol Macromol*, 2019, 132: 1296–1303
- 33 Chen S C, Wei D D, Shao R, et al. The complete mitochondrial genome of the booklouse, *Liposcelis decolor*: insights into gene arrangement and genome organization within the genus *Liposcelis*. *PLoS one*, 2014, 9: e91902
- 34 Shi Y, Chu Q, Wei D D, et al. The mitochondrial genome of booklouse, *Liposcelis sculptilis* (Psocoptera: Liposcelididae) and the evolutionary timescale of *Liposcelis*. *Sci Rep*, 2016, 6: 30660
- 35 Wei D D, Shao R, Yuan M L, et al. The multipartite mitochondrial genome of *Liposcelis bostrychophila*: insights into the evolution of mitochondrial genomes in bilateral animals. *PLoS one*, 2012, 7: e33973
- 36 Song F, Li H, Liu G H, et al. Mitochondrial genome fragmentation unites the parasitic lice of eutherian mammals. *Systatic Biol*, 2019, 68: 430–440
- 37 Gong S, Xu Y, Xu S, et al. The complete mitochondrial genome of the chicken body louse, *Menacanthus cornutus*, and evolutionary patterns of extensive gene rearrangements in the mitochondrial genomes of amblycera (Psocodea: Phthiraptera). *Genes*, 2022, 13: 522
- 38 Sweet A D, Johnson K P, Cao Y, et al. Structure, gene order, and nucleotide composition of mitochondrial genomes in parasitic lice from Amblycera. *Gene*, 2021, 768: 145312
- 39 Shao R, Campbell N J H, Barker S C. Numerous gene rearrangements in the mitochondrial genome of the wallaby louse, *Heterodoxus macropus* (Phthiraptera). *Mol Biol Evol*, 2001, 18: 858–865
- 40 Cameron S L, Yoshizawa K, Mizukoshi A, et al. Mitochondrial genome deletions and minicircles are common in lice (Insecta: Phthiraptera). *BMC Genomics*, 2011, 12: 394
- 41 Covacin C, Shao R, Cameron S, et al. Extraordinary number of gene rearrangements in the mitochondrial genomes of lice (Phthiraptera: Insecta). *Insect Mol Biol*, 2006, 15: 63–68
- 42 Sweet A D, Johnson K P, Cameron S L. Mitochondrial genomes of *Columbicola* feather lice are highly fragmented, indicating repeated evolution of minicircle-type genomes in parasitic lice. *PeerJ*, 2020, 8: e8759

- 43 Cameron S L, Johnson K P, Whiting M F. The mitochondrial genome of the screamer louse bothriometopus (Phthiraptera: Ischnocera): effects of extensive gene rearrangements on the evolution of the genome. *J Mol Evol*, 2007, 65: 589–604
- 44 Nie Y, Fu Y T, Zhang Y, et al. Highly rearranged mitochondrial genome in *Falcolipeurus* lice (Phthiraptera: Philopteridae) from endangered eagles. *Parasites Vectors*, 2021, 14: 269
- 45 Sweet A D, Johnson K P, Cameron S L. Independent evolution of highly variable, fragmented mitogenomes of parasitic lice. *Commun Biol*, 2022, 5: 677
- 46 Shao R, Barker S C, Li H, et al. Fragmented mitochondrial genomes in two suborders of parasitic lice of eutherian mammals (Anoplura and Rhynchophthirina, Insecta). *Sci Rep*, 2015, 5: 17389
- 47 Dong W G, Song S, Jin D C, et al. Fragmented mitochondrial genomes of the rat louse, *Polyplax asiatica* and *Polyplax spinulosa*: intra-genus variation in fragmentation pattern and a possible link between the extent of fragmentation and the length of life cycle. *BMC Genomics*, 2014, 15: 44
- 48 Dong W G, Dong Y, Guo X G, et al. Frequent tRNA gene translocation towards the boundaries with control regions contributes to the highly dynamic mitochondrial genome organization of the parasitic lice of mammals. *BMC Genomics*, 2021, 22: 598
- 49 Fu Y T, Nie Y, Duan D Y, et al. Variation of mitochondrial minichromosome composition in *Hoplopleura* lice (Phthiraptera: Hoplopleuridae) from rats. *Parasit Vectors*, 2020, 13: 506
- 50 Shao R, Li H, Barker S C, et al. The mitochondrial genome of the guanaco louse, *Microthoracius praelongiceps*: insights into the ancestral mitochondrial karyotype of sucking lice (Anoplura, Insecta). *Genome Biol Evol*, 2017, 9: 431–445
- 51 Song S D, Barker S C, Shao R. Variation in mitochondrial minichromosome composition between blood-sucking lice of the genus *Haematopinus* that infest horses and pigs. *Parasit Vectors*, 2014, 7: 144
- 52 Jiang H, Barker S C, Shao R. Substantial variation in the extent of mitochondrial genome fragmentation among blood-sucking lice of mammals. *Genome Biol Evol*, 2013, 5: 1298–1308
- 53 Fu Y T, Suleman Y T, Yao C, et al. A novel mitochondrial genome fragmentation pattern in the buffalo louse *Haematopinus tuberculatus* (Psocodea: Haematopinidae). *Int J Mol Sci*, 2022, 23: 13092
- 54 Shao R, Zhu X Q, Barker S C, et al. Evolution of extensively fragmented mitochondrial genomes in the lice of humans. *Genome Biol Evol*, 2012, 4: 1088–1101
- 55 Fu Y T, Dong Y, Wang W, et al. Fragmented mitochondrial genomes evolved in opposite directions between closely related macaque louse *Pedicinus obtusus* and colobus louse *Pedicinus badii*. *Genomics*, 2020, 112: 4924–4933
- 56 Dong Y, Zhao M, Shao R. Fragmented mitochondrial genomes of seal lice (family Echinophthiriidae) and gorilla louse (family Pthiridae): Frequent minichromosomal splits and a host switch of lice between seals. *BMC Genomics*, 2022, 23: 283
- 57 Shao R, Kirkness E F, Barker S C. The single mitochondrial chromosome typical of animals has evolved into 18 minichromosomes in the human body louse, *Pediculus humanus*. *Genome Res*, 2009, 19: 904–912
- 58 Herd K E, Barker S C, Shao R. The mitochondrial genome of the chimpanzee louse, *Pediculus schaeffi*: insights into the process of mitochondrial genome fragmentation in the blood-sucking lice of great apes. *BMC Genomics*, 2015, 16: 661
- 59 Dong W G, Song S, Guo X G, et al. Fragmented mitochondrial genomes are present in both major clades of the blood-sucking lice (suborder Anoplura): evidence from two *Hoplopleura* rodent lice (family Hoplopleuridae). *BMC Genomics*, 2014, 15: 751
- 60 Wei S J, Shi M, Chen X X, et al. New views on strand asymmetry in insect mitochondrial genomes. *PLoS one*, 2010, 5: e12708
- 61 Sun Z, Wan D G, Murphy R W, et al. Comparison of base composition and codon usage in insect mitochondrial genomes. *Genes Genom*, 2009, 31: 65–71
- 62 Naya H, Romero H E, Zavala A, et al. Aerobiosis increases the genomic guanine plus cytosine content (GC%) in prokaryotes. *J Mol Evol*, 2002, 55: 260–264
- 63 Foerstner K U, von Mering C, Hooper S D, et al. Environments shape the nucleotide composition of genomes. *EMBO Rep*, 2005, 6: 1208–1213
- 64 Vinogradov A E. Noncoding DNA, isochores and gene expression: nucleosome formation potential. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33: 559–563
- 65 Duret L, Galtier N. Biased gene conversion and the evolution of mammalian genomic landscapes. *Annu Rev Genom Hum Genet*, 2009, 10: 285–311
- 66 Struck T H, Golombek A, Hoesel C, et al. Mitochondrial genome evolution in annelida—a systematic study on conservative and variable gene orders and the factors influencing its evolution. *Systatic Biol*, 2023, 72: 925–945

- 67 Guo Z L, Yuan M L. Research progress of mitochondrial genomes of hemiptera insects (in Chinese). *Sci Sin Vitae*, 2016, 46: 151–166 [郭仲龙, 袁明龙. 半翅目昆虫线粒体基因组学研究进展. 中国科学: 生命科学, 2016, 46: 151–166]
- 68 Gao S, Ren Y, Sun Y, et al. PacBio full-length transcriptome profiling of insect mitochondrial gene expression. *RNA Biol*, 2016, 13: 820–825
- 69 Wang H L, Yang J, Boykin L M, et al. The characteristics and expression profiles of the mitochondrial genome for the Mediterranean species of the *Bemisia tabaci* complex. *BMC Genomics*, 2013, 14: 401
- 70 He H, Yan B, Yu X, et al. Characterization and phylogenetic implications of newly sequenced mitogenomes of five *Mileewa* and *Processina* species from China (Hemiptera: Cicadellidae: Mileewinae). *Sci Rep*, 2022, 12: 20852
- 71 Li H, Yan Y, Li J, et al. Eighteen mitochondrial genomes of Syrphidae (Insecta: Diptera: Brachycera) with a phylogenetic analysis of Muscomorpha. *PLoS one*, 2023, 18: e0278032
- 72 Biro J C. Does codon bias have an evolutionary origin? *Theor Biol Med Model*, 2008, 5: 16
- 73 Behura S K, Severson D W. Codon usage bias: causative factors, quantification methods and genome-wide patterns: with emphasis on insect genomes. *Biol Rev*, 2013, 88: 49–61
- 74 Li Z, Hu W, Cao X, et al. Synonymous codon usages as an evolutionary dynamic for *Chlamydiaceae*. *Int J Mol Sci*, 2018, 19: 4010
- 75 Jiang Y, Deng F, Wang H, et al. An extensive analysis on the global codon usage pattern of baculoviruses. *Arch Virol*, 2008, 153: 2273–2282
- 76 Wu X M, Wu S F, Ren D M, et al. The analysis method and progress in the study of codon bias (in Chinese). *Hereditas*, 2007, 29: 420–426 [吴宪明, 吴松峰, 任大明, 等. 密码子偏性的分析方法及相关研究进展. 遗传, 2007, 29: 420–426]
- 77 Jacobsen M W, da Fonseca R R, Bernatchez L, et al. Comparative analysis of complete mitochondrial genomes suggests that relaxed purifying selection is driving high nonsynonymous evolutionary rate of the NADH2 gene in whitefish (*Coregonus* spp.) *Mol Phylogenet Evol*, 2016, 95: 161–170
- 78 Shao R, Barker S C. Chimeric mitochondrial minichromosomes of the human body louse, *Pediculus humanus*: evidence for homologous and non-homologous recombination. *Gene*, 2011, 473: 36–43
- 79 Rand D M. ‘Why genomes in pieces?’ revisited: sucking lice do their own thing in mtDNA circle game *Genome Res*, 2009, 19: 700–702
- 80 Burger G, Gray M W, Franz Lang B. Mitochondrial genomes: anything goes. *Trends Genet*, 2003, 19: 709–716
- 81 Lee Y, Cho C H, Noh C, et al. Origin of minicircular mitochondrial genomes in red algae. *Nat Commun*, 2023, 14: 3363
- 82 Garcia-Medel P L, Baruch-Torres N, Peralta-Castro A, et al. Plant organellar DNA polymerases repair double-stranded breaks by microhomology-mediated end-joining. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47: 3028–3044
- 83 Schelkunov M I, Nuraliev M S, Logacheva M D. Genomic comparison of non-photosynthetic plants from the family Balanophoraceae with their photosynthetic relatives. *PeerJ*, 2021, 9: e12106
- 84 Zhou S, Wei N, Jost M, et al. The mitochondrial genome of the holoparasitic plant *Thonningia sanguinea* provides insights into the evolution of the multichromosomal structure. *Genome Biol Evol*, 2023, 15: ead155
- 85 Feng S, Yang Q, Li H, et al. The highly divergent mitochondrial genomes indicate that the booklouse, *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelidae) is a cryptic species. *G3 Genes Genomes Genet*, 2018, 8: 1039–1047
- 86 Skippington E, Barkman T J, Rice D W, et al. Miniaturized mitogenome of the parasitic plant *Viscum scurruloideum* is extremely divergent and dynamic and has lost all *nad* genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112: E3515
- 87 Behura S K. Molecular marker systems in insects: current trends and future avenues. *Mol Ecol*, 2006, 15: 3087–3113
- 88 Mockford E L. Psocoptera (Insecta) world catalogue and bibliography. *J New York Entomol Soc*, 2004, 112: 214–215
- 89 Yoshizawa K, Lienhard C. In search of the sister group of the true lice: a systematic review of booklice and their relatives, with an updated checklist of Liposcelidae (Insecta: Psocodea). *ASP*, 2010, 68: 181–195
- 90 Johnson K P, Dietrich C H, Friedrich F, et al. Phylogenomics and the evolution of hemipteroid insects. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 12775–12780
- 91 Dong Y, Jelocnik M, Gillett A, et al. Mitochondrial genome fragmentation occurred multiple times independently in bird lice of the families menoponidae and laemobothriidae. *Animals*, 2023, 13: 2046
- 92 Yang Q, Zhao S, Kučerová Z, et al. Validation of the 16S rDNA and COI DNA barcoding technique for rapid molecular identification of stored product psocids (Insecta: Psocodea: Liposcelidae). *jnl econ entom*, 2013, 106: 419–425
- 93 Zhou Y Y, Su Y, Zeng L Y, et al. Development and application of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) kit for main stored-grain booklice in the world (in Chinese). *J Plant Prot*, 2022, 49: 1464–1471 [周岳阳, 栗耘, 曾令瑜, 等. 世界主要储粮书虱环介导等温扩增试剂盒研

发与应用. 植物保护学报, 2022, 49: 1464–1471]

- 94 Deng W, Feng S, Stejskal V, et al. An advanced approach for rapid visual identification of *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelidae) based on CRISPR/Cas12a combined with RPA. *J Econ Entomol*, 2023, 116: 1911–1921
- 95 Wei D D, Yuan M L, Wang B J, et al. Population genetics of two asexually and sexually reproducing psocids species inferred by the analysis of mitochondrial and nuclear DNA sequences. *PLoS one*, 2012, 7: e33883
- 96 Shreve S M, Mockford E L, Johnson K P. Elevated genetic diversity of mitochondrial genes in asexual populations of Bark Lice ('Psocoptera': *Echmepteryx hageni*). *Mol Ecol*, 2011, 20: 4433–4451
- 97 Yang Q, Kučerová Z, Perlman S J, et al. Morphological and molecular characterization of a sexually reproducing colony of the booklouse *Liposcelis bostrychophila* (Psocodea: Liposcelidae) found in Arizona. *Sci Rep*, 2015, 5: 10429

Evolutionary characteristics and origin of fragmented mitochondrial genomes in Psocodea

LI Yi¹, JIANG ShiDie¹, CHEN YuAng¹, WANG JinJun^{1,2} & WEI DanDan^{1,2*}

¹ Key Laboratory of Entomology and Pest Control Engineering, College of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400715, China

² Key Laboratory of Agricultural Biosafety and Green Production of Upper Yangtze River (Ministry of Education), Academy of Agricultural Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

* Corresponding author, E-mail: weidandande@163.com

The mitochondrial genome (mtDNA) of insects exhibits high conservation in gene content, gene order, and topological structure. However, Psocodean insects display notable variability in their mitochondrial genomes, including gene duplication and lost, extensive gene rearrangement, and mtDNA fragmentation. In order to gain a deeper understanding of the evolutionary attributes and fragmentation mechanism within Psocodea, comparative analyses of the complete mitochondrial genomes of 81 Psocodean species were conducted in this paper. The results are listed as follows: (i) Twenty-seven species have fragmented mitochondrial genomes, with parasitic lice exhibiting significantly higher fragmentation levels compared to booklice. (ii) The AT content of fragmented mtDNA is significantly lower than that of unfragmented mtDNA. (iii) Mitochondrial genes in booklice underwent extensive rearrangements, resulting in the absence of shared gene boundaries. However, the level of gene rearrangement was not directly related to mtDNA fragmentation. (iv) Mitochondrial genomes of booklice often contain different types of mitochondrial pseudogenes. (v) The fragmentation of mtDNA structure may be associated with the purification selection of relaxed mitochondrial protein-coding genes. (vi) Phylogenetic analysis supported that booklice and parasitic lice are sister groups, suggesting that Psocoptera and Phthiraptera should be merged into the Psocodea superorder. (vii) The mechanism of mtDNA fragmentation in Psocodea primarily involves the loss of key genes responsible for mtDNA stability, mtDNA recombination, mitochondrial gene duplication and random deletion events. (viii) mtDNA fragmentation occurred independently at least 18 times in Psocodea. Additionally, this paper summarizes the application of mitochondrial genes in the study of Psocodean insects and proposes future research direction for Psocodean mitochondrial genomes. In summary, this review provides a new perspective for understanding the evolutionary characteristics and formation mechanism of fragmented mitochondrial genomes in animals.

Psocoptera, Phthiraptera, gene rearrangement, chromosome recombination, pseudogene

doi: [10.1360/SSV-2024-0016](https://doi.org/10.1360/SSV-2024-0016)