



闫艳, 程梦迪, 曹春桥, 李虎. 访花昆虫野蚜蝇线粒体基因组结构分析 [J]. 环境昆虫学报, 2021, 43 (4): 992–1002.

访花昆虫野蚜蝇线粒体基因组结构分析

闫 艳, 程梦迪, 曹春桥, 李 虎*

(陕西理工大学生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000)

摘要: 野蚜蝇 *Syrphus torvus* (Osten-Sacken) 成虫具访花习性, 是重要的传粉昆虫; 幼虫捕食蚜虫, 是蚜虫重要天敌之一。本研究通过高通量测序、组装拼接获得了完整的野蚜蝇线粒体基因组全序列 (GenBank 登录号: MW074962), 其序列全长为 16 444 bp, 包含 13 个蛋白编码基因 (PCGs)、22 个 tRNAs、2 个 rRNAs 和 D-loop 区。野蚜蝇线粒体全序列 A + T 含量为 80.6%, G + C 含量为 19.4%, 表现出明显的 A + T 偏斜。除了 *COXI*、*ATP8*、*ATP6* 和 *NDI* 的起始密码子为 TTG, 其它 9 个 PCGs 以 ATN 为起始密码子; *COXI* 的终止密码子为不完整的 T – –, *ATP6* 为 TAG, 其余 11 个 PCGs 的终止子为 TAA。22 个 tRNAs 的二级结构均为典型的三叶草结构, 并预测了野蚜蝇 rRNAs 的二级结构。野蚜蝇 D-loop 区存在重复序列和茎环结构, 22 种蚜蝇科基因间隔区与重叠区具有 6 个保守区域。基于 24 个物种 (22 个蚜蝇科和 2 个缟蝇科) 的 PCGs 序列, 通过贝叶斯法 (BI) 和最大似然法 (ML) 构建系统发育树, 结果显示, 野蚜蝇和黑足蚜蝇 *Syrphus vitripennis* 互为姊妹种, 支持了蚜蝇亚科 Syrphinae 的单系性, 两种拓扑结构中管蚜蝇亚科 Eristalinae 均没有聚为一支。该研究结果丰富了蚜蝇科线粒体基因组学基本数据, 为进一步深化蚜蝇科系统发育关系讨论提供了参考。

关键词: 蚜蝇; 线粒体基因组; 系统发育

中图分类号: Q963; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2021) 04-0992-11

Structural analysis of complete mitochondrial genome of *Syrphus torvus* (Osten-Sacken) of a flower-visiting insect

YAN Yan, CHENG Meng-Di, CAO Chun-Qiao, LI Hu* (School of Biological Science & Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, Shaannxi Province, China)

Abstract: *Syrphus torvus* (Osten-Sacken) belongs to the family Syrphidae of Diptera. The adults are flower visitors, are important pollinating insects; the larvae feed on aphids, are one of the important natural enemies of aphids. In this study, the genome of *S. torvus* was obtained by high-throughput sequencing and the complete mitochondrial genome (mitogenome) was assembled (GenBank accession No. MW074962). The length of complete mitogenome was 16 444 bp, including 13 protein coding genes (PCGs), 22 tRNAs, 2 rRNAs and D-loop. There were 80.6% A + T content and 19.4% G + C content in this complete mitogenome of *S. torvus*, showed significant A + T bias. All of PCGs, except *COXI*, *ATP8*, *ATP6*, and *NDI* start codons were TTG, all start codon were ATN; all stop codons were TAA but *COXI* was incomplete T – – and *ATP6* was TAG. All tRNAs were the typical cloverleaf secondary structure. The rRNAs secondary structures of *S. torvus* were predicted. There were four repeats and three stem-loop structures in the D-loop of *S. torvus*. Six conserved regions were possessed in Intergenic nucleotides and overlap of 22 Syrphidae. The phylogenetic tree was built by PCGs of 24 species

基金项目: 陕西省科技厅自然科学基金研究计划 (2020JQ-869); 陕西理工大学开放课题基金 (SLGPT2019KF03-01); 陕西理工大学研究生创新基金项目 (SLGYCX2015); 中国博士后科学基金 (2016M590968)

作者简介: 闫艳, 女, 1996 年生, 河南省三门峡人, 硕士研究生, 研究方向为动物系统与进化, E-mail: 18799512013@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 李虎, 男, 博士, E-mail: lihu@snut.edu.cn

收稿日期 Received: 2021-01-30; 接受日期 Accepted: 2021-05-13

(22 Syrphidae and 2 Lauxaniidae) using methods of Bayesian (BI) and Maximum Likelihood (ML). The results showed that *S. torvus* and *Syrphus vitripennis* were sister group, support monophyly of Syrphinae, Eristalinae not gather one clade in two topology structures. The results enriched the basic data of genomics of Syrphidae mitochondrial and provide a reference for further discussion of phylogenetic relationship of Syrphidae.

Key words: Syrphidae; mitogenome; phylogeny

野蚜蝇 *Syrphus torvus* (Osten-Sacken, 1875) 是双翅目 Diptera 蚜蝇科 Syrphidae 常见昆虫, 其成虫和幼虫在农林业生产过程中都扮演重要角色。成虫主要外形特征为头和中胸背板暗黑色; 小盾片黄色; 腹部黑色, 第 2 背板具 1 对黄斑, 第 3、4 背板各具黄色横带, 第 4、5 背板后缘黄色 (黄春梅等, 2013), 具有访花习性, 常见于林间野花、芸薹属植物及禾本科植物附近 (Fazlullah *et al.*, 2018), 是重要的传粉昆虫; 幼虫为蛆, 可捕食多种植物上的蚜虫, 在 1960 年 Brown 和 Clark 的研究中, 野蚜蝇幼虫是冷杉球蚜 *Adelges piceae* 的主要天敌之一。该种在古北区、新北区、东洋区、新热带区和澳洲区均有分布 (霍科科等, 2006)。

蚜蝇的形态和体色多变, 生物学特征复杂, 不同学者提出了不同的分类系统, 现行的 3 亚科分类系统: 蚜蝇亚科 Syrphinae、管蚜蝇亚科 Eristalinae 和巢穴蚜蝇亚科 Microdontinae, 被大多数学者接受。近些年来有些学者利用线粒体与细胞核的基因片段构建系统发育树, 讨论蚜蝇科分类系统, 把蚜蝇科中缩颜蚜蝇提为亚科水平, 将蚜蝇科划分为 4 亚科 (蚜蝇亚科、管蚜蝇亚科、巢穴蚜蝇亚科和缩颜蚜蝇亚科 Pipizinae) (Mengual *et al.*, 2015)。线粒体基因组由于其母系遗传、分子较小、突变率高等特点, 被广泛用于昆虫的鉴定、种群遗传、物种进化、系统发育树构建的研究中 (Cameron, 2014)。

本研究对野蚜蝇的线粒体基因组全序列进行测序组装、基因注释, 分析其基因组的基本结构特征, 进一步丰富了蚜蝇科线粒体基因组学研究; 利用野蚜蝇线粒体全序列并联合已公布的 21 种蚜蝇科线粒体全序列, 重新构建蚜蝇科系统发育树, 尝试对蚜蝇科内部分类群间的系统发育关系进行讨论分析。

1 材料与方法

1.1 标本采集与保存

本实验所用的野蚜蝇于 2019 年 3 月 23 日采自

陕西省汉中市南郑区大汉山 (106.93° E, 33.97° N), 无水乙醇浸泡并保存于 -20℃ 的冰箱。

1.2 DNA 提取与基因组测序

取野蚜蝇胸部和腿部肌肉组织, 用无菌研磨棒将其研磨成粉末状后严格按照基因组 DNA 提取试剂盒中使用手册 (天根生化科技有限公司) 进行基因组 DNA 提取, 检验合格 (使用超微量紫外分光光度计检测 DNA 浓度 > 25 mol/μL) 后将基因组送至公司于 Illumina NovaSeq 6000 测序平台进行高通量测序, 测序模式为 150 PE, 每样品产生 6 GB 数据, 每样本数据量不低于目标量的 95%, 平均 Q ≥ 85%。

1.3 PCR 扩增与测序

COXI 基因的片段序列 (约 600 bp) 通过构建 50 μL 体系进行 PCR 扩增, 其中基因组 DNA 5 μL, *Taq* DNA 聚合酶 25 μL, 上下游通用引物 LCO1490 (GGTCAACAAATAATAAAGATATTGGG) 和 HCO2198 (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA) 和 Mg²⁺ 各 1 μL, 超纯水 17 μL。

PCR 扩增的反应条件: 94℃ 预变性 4 min 一个循环, 94℃ 变性 30 s, 45℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 45 s, 35 个循环, 最后在 72℃ 下后延伸 10 min。PCR 产物使用琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 进行测序。

1.4 序列拼接、注释与分析

利用 Geneious R9 软件, 使用 *COXI* 基因的片段序列作为诱饵进行序列组装, 并对获得的线粒体基因组全序列进行注释, 利用 ARWEN (Laslett and Canbäck, 2008) 预测 22 个 tRNA 位置和二级结构, 利用 ClustalX 比对意大利蜜蜂 *Apis mellifera*、烟草天蛾 *Manduca sexta* 和横带刺茎叶蝉 *Taharana fasciana* 的 16S rRNAs 和 12S rRNAs 预测野蚜蝇的 2 个 rRNAs 二级结构 (Gillespie *et al.*, 2006; Cameron and Whiting, 2008; Wang *et al.*, 2017)。

1.5 系统发育树的构建

本研究收集了 NCBI 数据库中已公布的 21 条蚜蝇科和 2 条缟蝇科物种线粒体全基因组序列 (表 1)。利用包括野蚜蝇在内的 24 个物种线粒体

基因的 13 个 PCGs 序列, 使用比对网站 http://pc16141.mn.cn.csic.es/index_v4.html (Abascal *et al.*, 2010) 将 13 个 PCGs 序列分别比对后在 MEGA7 中串联 (Kumar *et al.*, 2016), 在分区网站 <https://cushion3.sdsc.edu/portal2/login!input.action> (Miller *et al.*, 2010) 上, 使用 PartitionFinder 2 on XSEDE 工具选取适合 PCG 数据集的最佳分区,

BI 树在建树网站 <https://cushion3.sdsc.edu/portal2/login!input.action> 运行 5 000 代, 收敛值为 0; 使用 IQ-tree (Nguyen *et al.*, 2015) 构建 ML 树, 参数为 Bootstrap analysis: Ultrafast, Number of bootstrap alignments: 1 000, Maximum iterations: 1 000, Minimum correlation: 0.99, 重复 1 000 次。

表 1 本研究所用物种完整线粒体基因组信息

Table 1 Information of the complete mitogenomes used in this study

科 Family	亚科 Subfamily	物种 Species	登录号 Accession number	参考文献 References
蚜蝇科 Syrphidae	蚜蝇亚科 Syrphinae	黑带蚜蝇 <i>Episyrphus balteatus</i>	NC036481	Pu <i>et al.</i> , 2017
		大灰优蚜蝇 <i>Eupeodes corollae</i>	KU379658	Pu <i>et al.</i> , 2017
		东方墨蚜蝇 <i>Melanostoma orientale</i>	MN788095	Chen <i>et al.</i> , 2020
		梯斑墨蚜蝇 <i>Melanostomas scalare</i>	MT185683	Liu <i>et al.</i> , 2020a
		<i>Ocyrtamus sativus</i>	KT272862	Junqueira <i>et al.</i> , 2016
		大角类蚜蝇 <i>Simosyrphus grandicornis</i>	DQ866050	Cameron <i>et al.</i> , 2007
		野蚜蝇 <i>Syrphus torvus</i>	MW074962	本文
		黑足蚜蝇 <i>Syrphus vitripennis</i>	MT254536	Liu <i>et al.</i> , 2020b
	管蚜蝇亚科 Eristalinae	黑附斑眼蚜蝇 <i>Eristalinus quinquelineatus</i>	MT834869	未发表 Unpublish
		黑色斑眼蚜蝇 <i>Eristalinus aeneus</i>	NC042911	Sonet <i>et al.</i> , 2019
		<i>Eristalinus tabanoides</i>	NC042910	Sonet <i>et al.</i> , 2019
		<i>Eristalinus vicarians</i>	NC042909	Sonet <i>et al.</i> , 2019
		<i>Eristalinus barclayi</i>	NC042908	Sonet <i>et al.</i> , 2019
		<i>Eristalinus fuscicornis</i>	NC042907	Sonet <i>et al.</i> , 2019
		长尾管蚜蝇 <i>Eristalis tenax</i>	NC041143	Li <i>et al.</i> , 2017a
		灰带管蚜蝇 <i>Eristalis cerealis</i>	MN912823	Yan <i>et al.</i> , 2020
		铜鬃胸蚜蝇 <i>Ferdinandea cuprea</i>	MT834868	Zhao and Li, 2020
		狭带条胸蚜蝇 <i>Helophilus virgatus</i>	MN148445	Li and Li, 2019
		狭腹斜环蚜蝇 <i>Korinchia angustiabdomena</i>	MK870078	Li, 2019
		<i>Orhonevra geniculate</i>	NC050314	未发表 Unpublish
		羽芒宽盾蚜蝇 <i>Phytomia zonata</i>	MT478107	Li and Li, 2020
		黑蜂蚜蝇 <i>Volucella nigricans</i>	MK870079	Li, 2019
縵蝇总科 Lauxanioidae	縵蝇科 Lauxaniidae	<i>Cestrotus liui</i>	NC034922	Li <i>et al.</i> , 2017b
		<i>Pachycerina decemlineata</i>	NC034923	Li <i>et al.</i> , 2017b

2 结果与分析

2.1 基因组结构

野蚜蝇线粒体基因组全长 16 444 bp，总 A + T 含量为 80.6%，各类型基因的 AT 含量均大于 78%，表现出较强 AT 偏向性，详见表 2。线粒体

基因组包括 13 个 PCGs，22 个 tRNAs，2 个 rRNAs 和 D-loop 区。基因间隔共 19 处，最长的间隔位于 *tRNA-Tyr* 和 *COXI* 之间。基因重叠共有 12 处，最长基因重叠区位于 *ATP8* 和 *ATP6* 之间。37 个基因中，4 个 tRNAs 和 9 个 PCGs 位于 J 链，其余 8 个 tRNAs、4 个 PCGs 和 2 个 rRNAs 位于 N 链 (表 3)。

表 2 野蚜蝇线粒体基因组碱基组成及偏向性

Table 2 Nucleotide composition and skewness of the complete mitogenome of *Syrphus torvus*

区域 Regions	长度(bp) Length	A(%)	T(%)	G(%)	C(%)	A + T(%)	AT skew	GC skew
全序列 Whole	16 444	40.3	40.3	8.5	10.9	80.6	0.000	-0.123
蛋白质编码基因 PCGs	11 230	33.4	44.9	11.4	10.4	78.4	-0.142	0.055
转运 RNAs tRNAs	1 472	39.9	40.1	11.6	8.3	80.0	-0.002	0.165
核糖体 RNAs rRNAs	2 133	41.3	42.6	10.4	5.8	83.9	-0.015	0.283
控制区 Control region	1 379	46.4	45.8	4.2	3.6	92.2	0.006	0.076

表 3 野蚜蝇线粒体基因组组成

Table 3 Organization of the *Syrphus torvus* mitogenome

名称 Name	方向 Direction	位置 Location	长度 (bp) Size	起始/终止密码子 Strat/Stop codon	位置/反密码子 (bp) Location/Anticodon	基因间隔 Intergenic nucleotides
<i>tRNA-Ile</i>	F	1-66	66		30-32/GAT	-3
<i>tRNA-Gln</i>	R	64-132	69		102-100/TTG	22
<i>tRNA-Met</i>	F	155-223	69		185-187/CAT	0
<i>ND2</i>	F	224-1 258	1 035	ATT/TAA		-2
<i>tRNA-Trp</i>	F	1 257-1 324	68		1 288-1 290/TCA	2
<i>tRNA-Cys</i>	R	1 327-1 394	68		1 365-1 363/GCA	32
<i>tRNA-Tyr</i>	R	1 427-1 492	66		1 461-1 459/GTA	39
<i>COXI</i>	F	1 532-3 065	1 534	TTG/T - -		0
<i>tRNA-Leu1</i>	F	3 066-3 131	66		3 095-3 097/TAA	2
<i>COX2</i>	F	3 134-3 817	684	ATG/TAA		0
<i>tRNA-Lys</i>	F	3 818-3 888	71		3 848-3 850/CTT	34
<i>tRNA-Asp</i>	F	3 923-3 990	68		3 955-3 957/GTC	0
<i>ATP8</i>	F	3 991-4 152	162	ATT/TAA		-13
<i>ATP6</i>	F	4 140-4 823	684	TTG/TAG		20
<i>COX3</i>	F	4 844-5 632	789	ATG/TAA		3
<i>tRNA-Gly</i>	F	5 636-5 701	66		5 665-5 667/TCC	-3
<i>ND3</i>	F	5 702-6 055	354	ATT/TAA		7
<i>tRNA-Ala</i>	F	6 063-6 132	70		6 095-6 097/TGC	-1
<i>tRNA-Arg</i>	F	6 132-6 195	64		6 161-6 163/TCG	29

续表 3 Continued table 3

名称 Name	方向 Direction	位置 Location	长度 (bp) Size	起始/终止密码子 Strat/Stop codon	位置/反密码子 (bp) Location/Anticodon	基因间隔 Intergenic nucleotides
<i>tRNA-Asn</i>	F	6 225-6 291	67		6 256-6 258 /GTT	- 1
<i>tRNA-Ser1</i>	F	6 291-6 359	69		6 317-6 319 /GCT	2
<i>tRNA-Glu</i>	F	6 362-6 427	66		6 391-6 393 /TTC	29
<i>tRNA-Phe</i>	R	6 457-6 522	66		6 490-6 488 /GAA	- 1
<i>ND5</i>	R	6 522-8 261	1 740	ATT/TAA		- 3
<i>tRNA-His</i>	R	8 259-8 325	67		8 294-8 292 /GTG	3
<i>ND4</i>	R	8 329-9 669	1 341	ATG/TAA		- 7
<i>ND4L</i>	R	9 663-9 956	306	ATA/TAA		5
<i>tRNA-Thr</i>	F	9 962-10 026	65		9 992-9 994 /TGT	0
<i>tRNA-Pro</i>	R	10 027-10 092	66		10 062-10 060 /TGG	2
<i>ND6</i>	F	10 095-10 619	525	ATT/TAA		3
<i>Cytb</i>	F	10 623-11 759	1 137	ATG/TAA		3
<i>tRNA-Ser2</i>	F	11 763-11 830	68		11 792-11 794 /TGA	16
<i>ND1</i>	R	11 847-12 785	939	ATA/TAA		10
<i>tRNA-Leu2</i>	R	12 796-12 860	65		12 831-12 829 /TAG	0
<i>16S rRNA</i>	R	12 861-14 202	1 342			0
<i>tRNA-Val</i>	R	14 203-14 274	72		14 241-14 239 /TAC	0
<i>12S rRNA</i>	R	14 275-15 065	791			0
D-loop	F	15 066-16 444	1 379			

2.2 蛋白编码基因

野蚜蝇 PCGs 序列长度为 11 230 bp，A + T 含量为 78.4%，AT skew 为 - 0.142，T 的含量高于 A 的含量。以 ATN 为起始密码子的基因有 9 个，其中 *ND2*、*ND5* 和 *ND6* 以 ATT 为起始密码子，*ND4L*、*COX2* 和 *ND3* 以 ATA 为起始密码子，*COX3*、*ND4* 和 *Cytb* 以 ATG 为起始密码子；*COXI*、*ATP8*、*ATP6*、和 *ND1* 以 TTG 为起始密码子。*COXI* 的终止密码子为不完整 T - -，*ATP6* 的终止密码子为 TAG，其余 11 个 PCGs 的终止密码子都为 TAA (表 3)。

野蚜蝇 PCGs 序列共编码 5 480 个氨基酸，其中使用频率最高的密码子是 AAA 共 437 个，而相对密码子使用频率最高的密码子为 UUA，频率为 2.92；Leu 是使用频率最高的氨基酸。从密码子使用情况来看，使用频率较高的密码子，如 AAA、AAU 和 AUU 等，它们的碱基大部分都由 A、T 组成 (图 1)，这可能是 PCGs 序列中 AT 偏斜大于 GC 偏斜的原因。

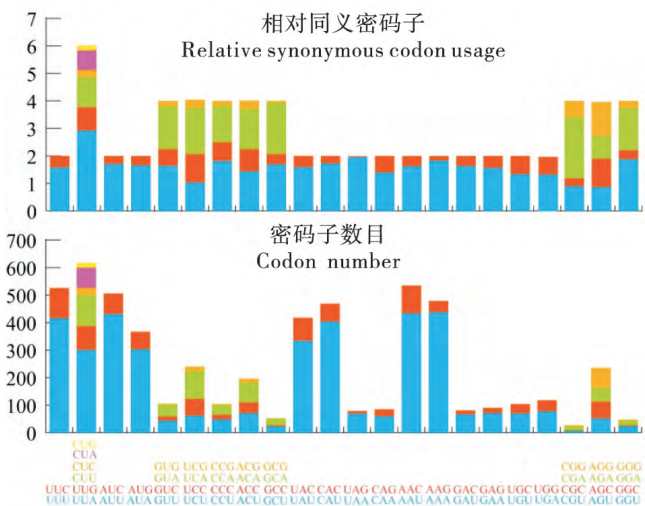


图 1 蛋白编码基因相对同义密码子使用和密码子数量
Fig. 1 Relative synonymous codon usage (RSCU) and codon number of PCGs in *Syrrhus torvus* mitogenome

2.3 tRNAs 基因与 rRNAs 基因

22 个 tRNAs 基因总长度为 1 472 bp，单个基因长度从 64 bp (*tRNA-Arg*) 到 72 bp (*tRNA-Val*)

不等。22 个 tRNAs 的二级结构都是典型的三叶草结构 (图 2), 出现了 37 对错配, 其中 DHU 臂上有 18 对, 反密码子臂上有 10 对, 氨基酸接受臂上

有 5 对, TΨC 臂上有 4 对, 其中 G-T 错配数量最多, 共有 17 对。

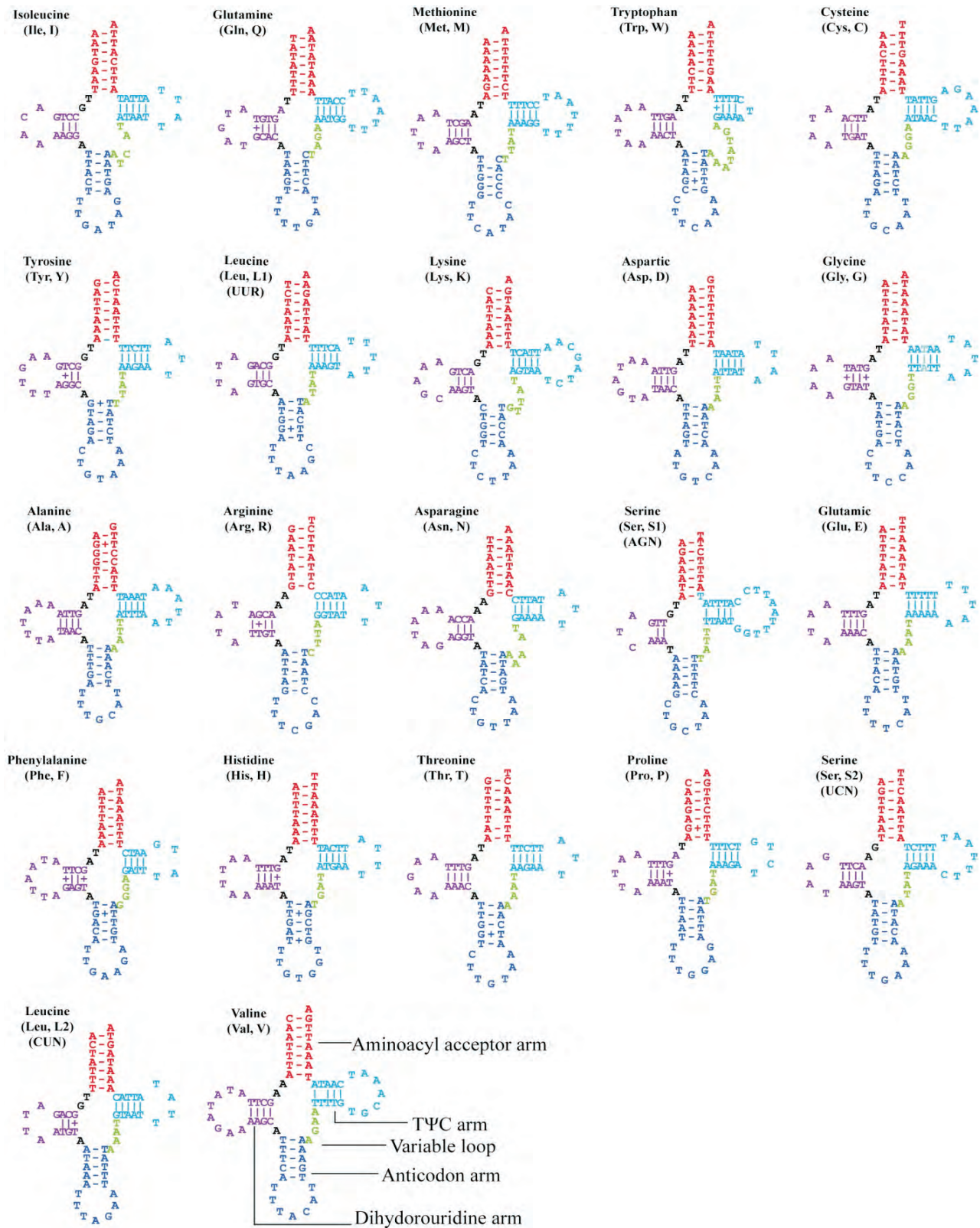


图 2 野蚜蝇 22 个 tRNAs 的二级结构

Fig. 2 Secondary structure of the 22 tRNAs genes of *Syrphus torvus*

两个 rRNAs 都位于 N 链, 16S rRNA 位于 *tRNA-Leu2* 和 *tRNA-Val* 之间, 长度为 1 342 bp; 12S rRNA 位于 *tRNA-Val* 和 D-loop 之间, 长度为 791 bp。16S rRNA 的二级结构由 I、II、III、IV、V

和 VI 6 个区域组成 (节肢动物第 III 区域缺失), 44 个螺旋结构 (图 3); 12S rRNA 二级结构由 I、II 和 III 3 个区域组成, 24 个螺旋结构 (图 4)。

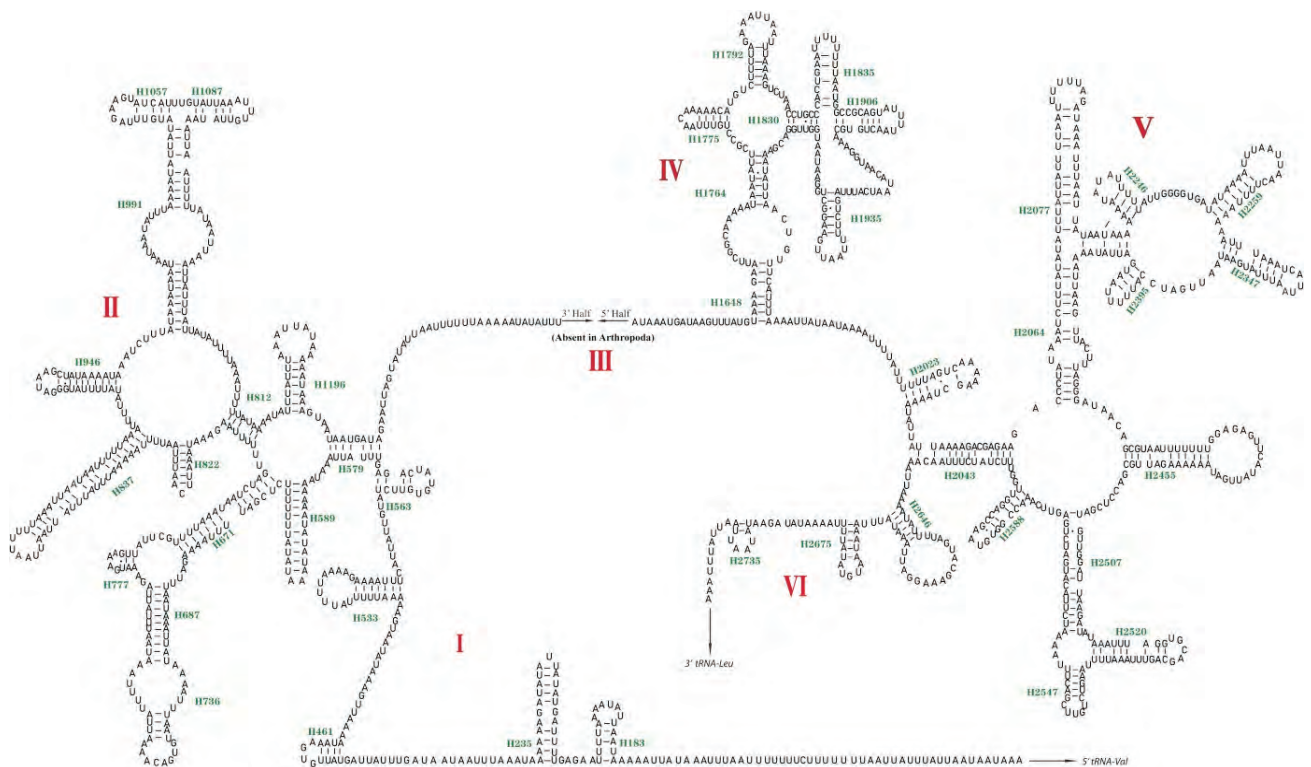


图 3 野蚜蝇 16S rRNA 二级结构预测

Fig. 3 Predicted secondary structure of the 16S rRNA of the mitogenome of *Syrphus torvus*

注: 破折号 (-) 代表 Watson-Crick 配对, 点 (·) 代表 GU 配对。Note: Dashes (-) indicated Watson-Crick base pairing, hereas GU pairs were connected by dots (·).

2.4 非编码区与重叠区

野蚜蝇线粒体基因组除 D-loop 区外, 有 19 个非编码区, 长度在 2 ~ 39 bp 之间; 9 个重叠区, 长度在 1 ~ 13 之间。

D-loop 区位于 12S rRNA 与 *tRNA-Ile* 之间, 长度为 1 379 bp。控制区的 A + T 含量在所有基因中含量最高, 为 92.2%。在该区找到了 4 个长度大于 15 bp 的重复序列和 3 个茎环结构, 详见图 5。

2.5 系统发育关系

缟蝇科 2 个物种作为外群, 22 种蚜蝇 (含本研究测序的野蚜蝇) 为内群。选择线粒体全序列的 13 个 PCGs 序列构建数据集, 使用 BI 和 ML 两个方法构建系统发育树 (图 6 ~ 图 7)。在两个系统发育树中, 野蚜蝇聚在了蚜蝇亚科 Syrphinae, 始终与黑足蚜蝇 *Syrphus vitripennis* 聚成一支, 互为姊妹种; 蚜蝇亚科物种均聚为一支, 且支持度均很高, 表现出单系性, 管蚜蝇亚科 Eristalinae 物种没有聚成一支。

在蚜蝇亚科中, 墨蚜蝇族 Melanostomini (东方墨蚜蝇 *Melanostoma orientale* + 梯斑墨蚜蝇 *Melanostoma scalare*) 聚为姊妹种并与蚜蝇族 Syrphini 互为姊妹群关系; 蚜蝇族中蚜蝇属 (野蚜蝇 *Syrphus torvus* + 黑足蚜蝇 *Syrphus vitripennis*) 聚为一支; 蚜蝇亚科中 (((黑带蚜蝇 *Episyrphus balteatus* + 大角类蚜蝇 *Simosyrphus grandicornis*) + *Ocyrtamus sativus*) + 大灰优蚜蝇 *Eupeodes corollae*) , 它们分属蚜蝇族不同属, 在系统发育树中的聚类与前人研究结果一致 (Pu et al., 2017; Li, 2019; Li and Li, 2019、2020)。管蚜蝇亚科中管蚜蝇族 Eristalini 单独聚为一支, 而黑蚜蝇族 Cheilosini、迷蚜蝇族 Milesiini、蜂蚜蝇族 Volucellini 和 Brachyopini 聚在一起并与蚜蝇亚科聚为姊妹群关系。管蚜蝇族中斑眼蚜蝇属 *Eristalinus* 物种聚为一支, 管蚜蝇属 *Eristalis* 两个物种聚为姊妹关系, 与 Yan 等 (2020) 和 Li 等 (2020) 的研究结果一致。

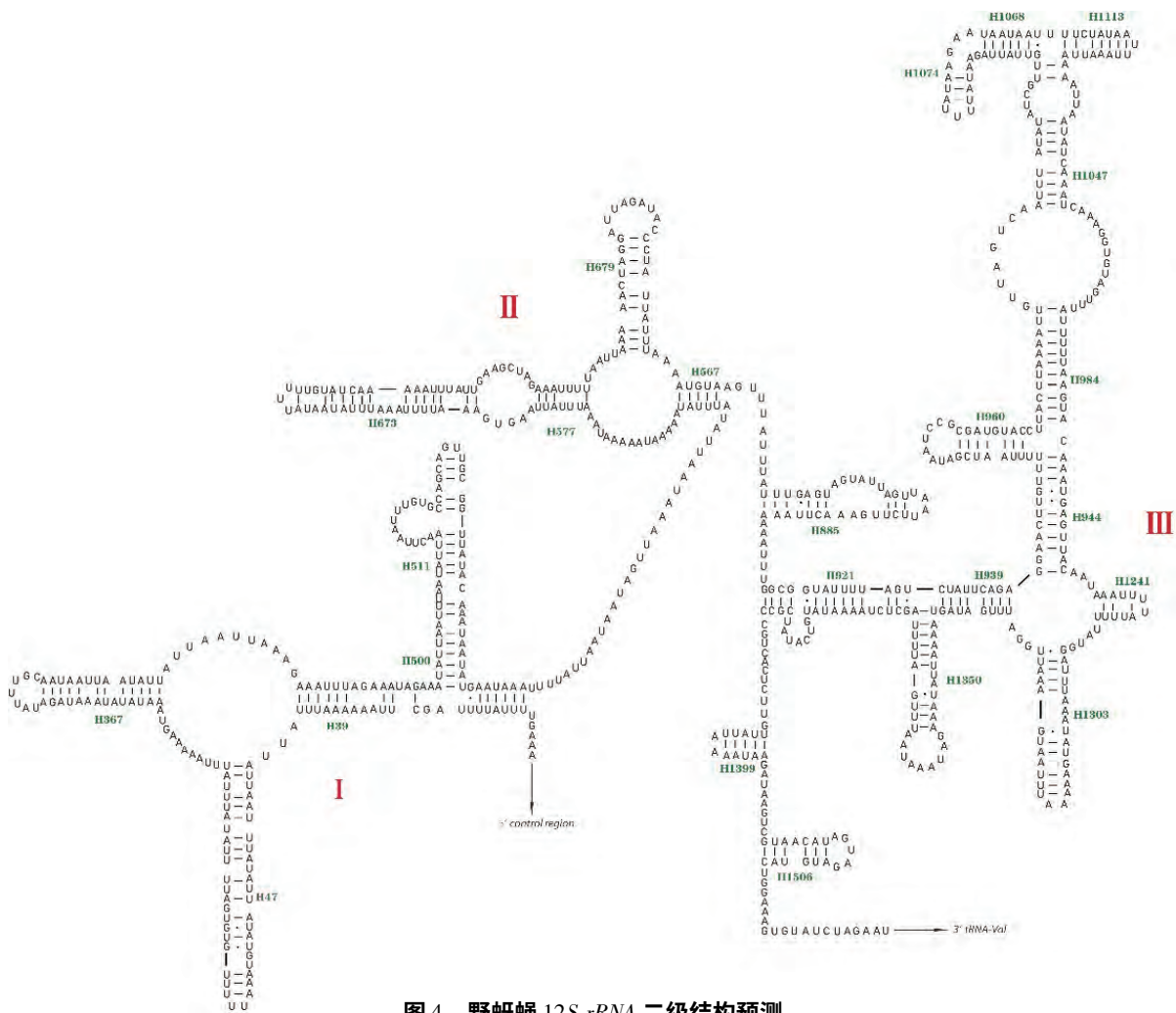


图4 野蚜蝇 12S rRNA 二级结构预测

Fig. 4 Predicted secondary structure of the 12S rRNA of the mitogenome of *Syrphus torvus*

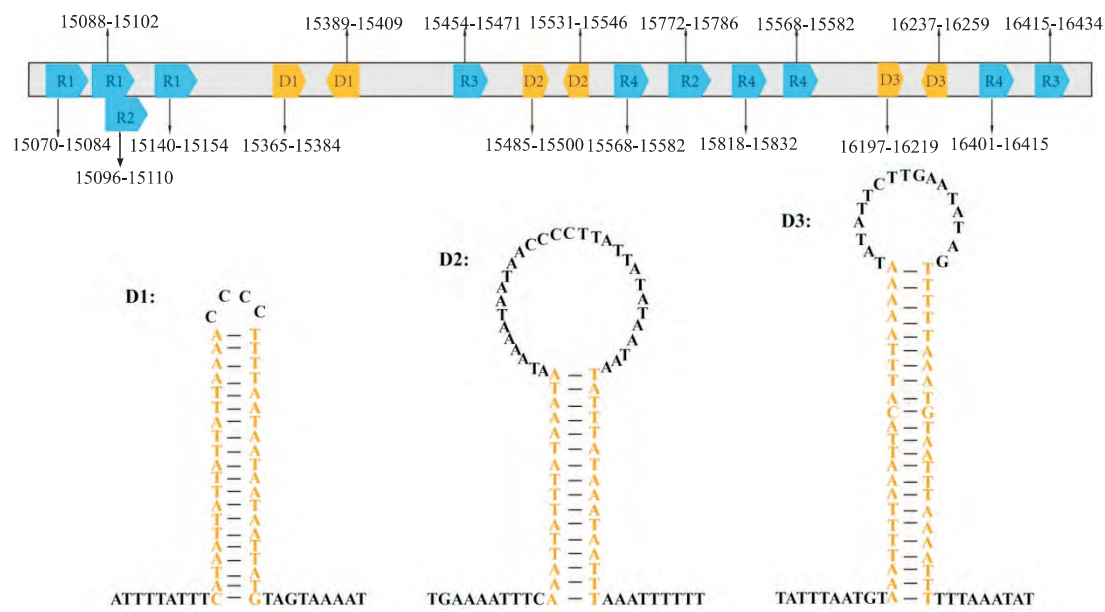


图5 野蚜蝇 D-loop 的重复序列和茎环结构

Fig. 5 Repetitive sequences and the stem-loop structures in the D-loop of *Syrphus torvus*

注：蓝色表示重复，黄色表示茎环结构。Note: Blue for repetitions and yellow for stem-loops.

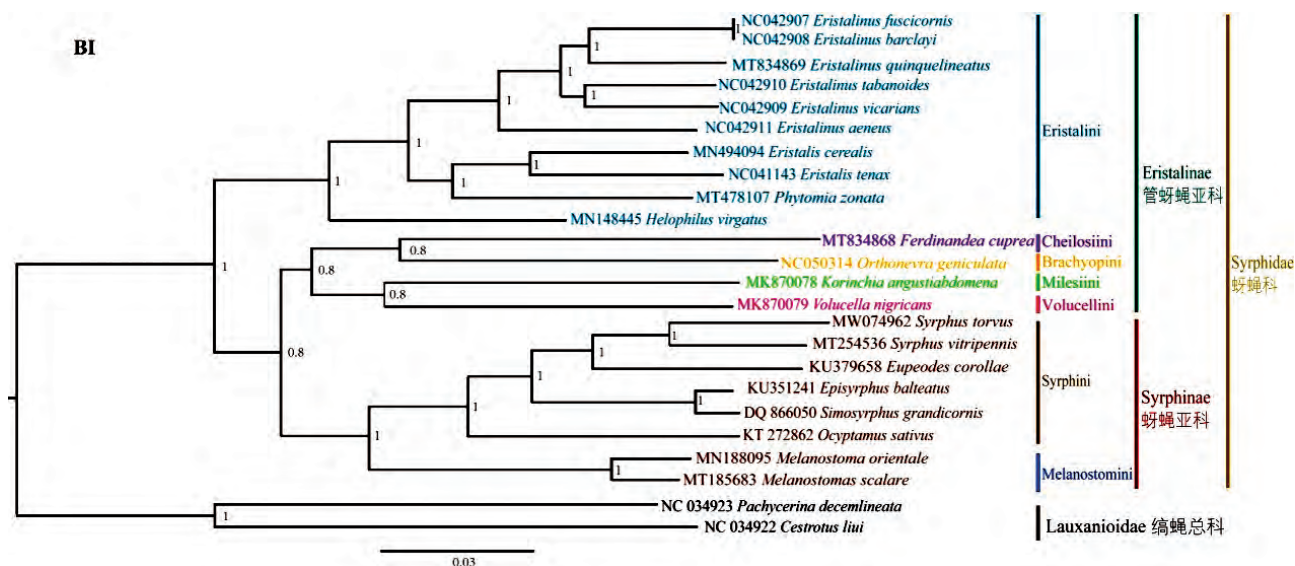


图 6 基于 13 个蛋白编码基因构建的贝叶斯树 (BI)

Fig. 6 BI tree built based on 13 PCGs

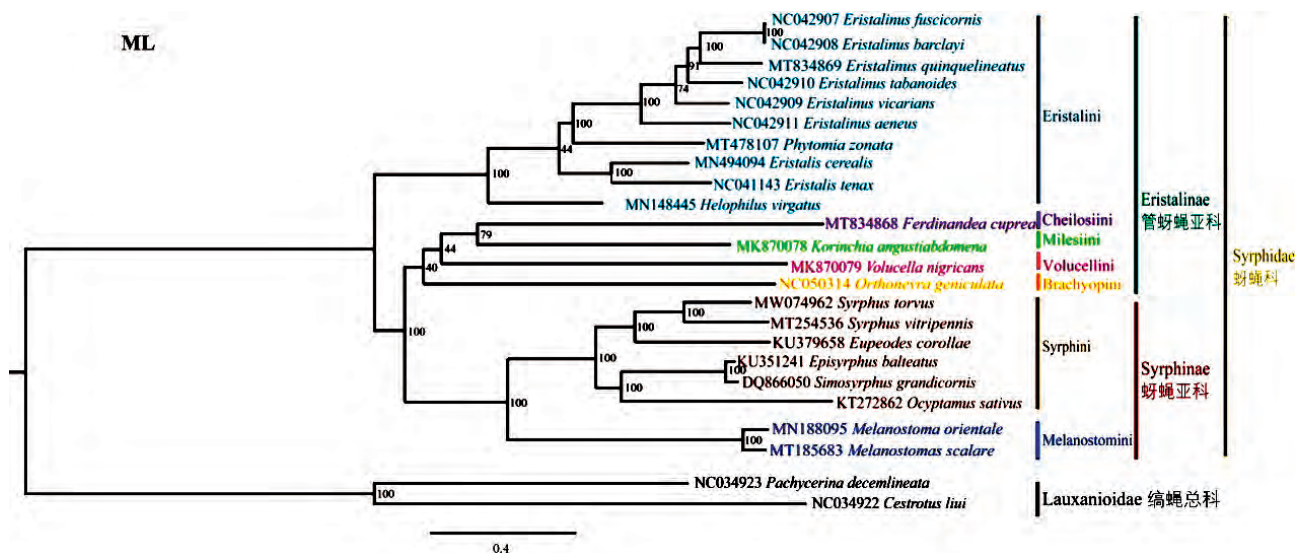


图 7 基于 13 个蛋白编码基因构建的最大似然树

Fig. 7 ML tree built based on 13 PCGs

3 结论与讨论

本研究获得了野蚜蝇 *Syrphus torvus* 线粒体基因组全序列, 长度为 16 444 bp, A + T 含量为 80.6%, 表现出明显的 AT 偏向性; 野蚜蝇线粒体包含 22 个具典型三叶草结构的 tRNAs 基因, 长度在 64 ~ 72 bp 之间; 目前蚜蝇科物种线粒体 rRNAs 基因的二级结构还没有被预测, 由于双翅目 Diptera 昆虫中的 rRNA 基因二级结构都没有被预测, 本研究参照膜翅目 Hymenoptera、鳞翅目

Lepidoptera 和同翅目 Homoptera 已预测的 16S rRNA 和 12S rRNA 二级结构, 使用 ClustalX 预测野蚜蝇 rRNAs 二级结构。

野蚜蝇 D-loop 区的 A + T 含量最高 (92.2%), 同时也发现存在一些重复序列和茎环结构, 这些结构可能在控制 DNA 甲基化、基因转录和复制方面发挥作用 (Hu *et al.*, 2019)。在本研究所涉及的 22 个蚜蝇的基因间隔区与重叠区中发现了 6 个保守区域: 区域 1: 位于 *tRNA-Trp* 与 *tRNA-Cys* 之间 (AAGTCTTA); 区域 2: 位于 *tRNA-Tyr* 与 *COXI* 之间 (TCAACTAATCATAAAGAT); 区

域3: 位于 *RNA-Lys* 和 *tRNA-Asp* 之间 (Poly A); 区域4: 位于 *ATP8* 与 *ATP6* 之间 (ATGATAA); 区域5: 位于 *ND4* 和 *ND4L* 之间 (TTAACAT); 区域6: 位于 *ND1* 与 *tRNA-Leu2* 之间 (ATAAAACAAC)。区域1、3、4和6在蚜蝇亚科物种中被发现; 区域2、4和5在管蚜蝇亚科物种中被发现。此外, 区域4不仅发现存在于蚜蝇科, 在半翅目 Hemiptera 一些物种中也有发现, 该区被认为是在翻译时作为一个双顺反子使用 (Xu *et al.*, 2019)。这些保守区域在控制 PCGs 序列长度和转录等方面有重要作用 (Cameron and Whiting, 2008)。

BI 和 ML 系统发育树显示, 蚜蝇亚科 Syrphinae 的分支都很稳定, 其单系性也被大多数学者认可 (Pu *et al.*, 2017; Pauli *et al.*, 2018; Li, 2019)。而管蚜蝇亚科 Eristalinae 的系统发育关系还存在一定的争议, Ståhl 等 (2003) 利用形态学与分子相结合的方法构建系统发育树证实管蚜蝇亚科为单系; 然而, 近年来, Skevington 和 Yeates (2000)、Mengual 等 (2015)、Young 等 (2016) 和 Pauli 等人 (2018) 的研究结果显示管蚜蝇亚科为并系, 本研究结果也支持这一结论。

管蚜蝇亚科内部的系统发育关系存在一定争议, 如斑眼蚜蝇属 *Eristalinus*, 在 BI 树中, 其拓扑结构 (图6) 如下: (((*E. fuscicornis* + *E. barclayi*) + (*E. tabanoides* + *E. vicarians*)) + 黑色斑眼蚜蝇 *Eristalinus aeneus*), 与 Sonet 等 (2019) 和 Yan 等 (2020) 的研究结果一致; 而在 ML 拓扑结构 (图7) 中: (((*E. fuscicornis* + *E. barclayi*) + *E. tabanoides*) + *E. vicarians*) + 黑色斑眼蚜蝇 *Eristalinus aeneus*), 这与 Li 等 (2019, 2020) 研究结果相同; 黑蚜蝇族 Cheilosini、迷蚜蝇族 Milesiini、蜂蚜蝇族 Volucellini 和 Brachyopini 各只有一个代表种, 系统发育关系不稳定, 在 BI 拓扑结构中, 黑蜂蚜蝇 *Volucella nigricans* 与狭腹斜环蚜蝇 *Korinchia angustiabdomena* 聚为姊妹种, 符合 Li (2019) 的研究结果, 而在 ML 拓扑结构中, 黑蜂蚜蝇和狭腹斜环蚜蝇没有聚为一支, 与 Li 等 (2020) 的研究结果一致。

本研究得到的两个蚜蝇科拓扑结构, 蚜蝇亚科 Syrphinae 始终聚成一支, 其单系性得到了验证; 而管蚜蝇亚科 Eristalinae 并未聚成一支, 可能为并系, 支持前人的研究结果, 但这一结论仍需进一步验证, 后期应加大基因组测序力度, 补充大量蚜蝇科物种基因组后, 进一步深刻理解、阐明蚜蝇科系统发育关系。

参考文献 (References)

- Abascal F, Zardova R, Telford MJ. TranslatorX: Multiple alignment of nucleotide sequences guided by amino acid translations [J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38: W7–13.
- Brown NR, Clark RC. Studies of predators of the Balsam Woolly Aphid, *Adelges piceae* (Ratz.) (Homoptera: Adelgidae) VIII. Syrphidae (Diptera) [J]. *Canadian Entomologist*, 1960, 92 (11): 801–811.
- Cameron SL, Lambkin CL, Barker SC, *et al.* A mitochondrial genome phylogeny of Diptera: Whole genome sequence data accurately resolve relationships over broad timescales with high precision [J]. *Systematic Entomology*, 2007, 32: 40–59.
- Cameron SL, Whiting MF. The complete mitochondrial genome of the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (Insecta: Lepidoptera: Sphingidae), and an examination of mitochondrial gene variability within butterflies and moths [J]. *Gene*, 2008, 408: 112–123.
- Cameron SL. Insectmitochondrial genomics: Implications for evolution and phylogeny [J]. *Annual Review of Entomology*, 2014, 59: 95–117.
- Chen QQ, Niu XJ, Fang Z, *et al.* The complete mitochondrial genome of *Melanostoma orientale* (Diptera: Syrphidae) [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020, 5 (1): 554–555.
- Fazlullah SM, Hassan MA, Mastoi I, *et al.* A preliminary list of hover flies (Diptera: Syrphidae) with a new locality records from swat, khyber pakhtunkhwa, northern Pakistan [J]. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2018, 6 (2): 182–185.
- Gillespie JJ, Johnston JS, Cannone JJ, *et al.* Characteristics of the nuclear (18S, 5.8S, 28S and 5S) and mitochondrial (12S and 16S) rRNA genes of *Apis mellifera* (Insecta: Hymenoptera): Structure, organization, and retrotransposable elements [J]. *Insect Molecular Biology*, 2006, 15: 657–686.
- Hu K, Yuan F, Dietrich CH, *et al.* Structural features and phylogenetic implications of four new mitogenomes of Centrotinae (Hemiptera: Membracidae) [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 139 (2019): 1018–1027.
- Huang CM, Cheng XY. Fauna Sinica, Insecta, Vol. 50, Diptera: Syrphidae [M]. Beijing: Science Press, 2012: 264–266. [黄春梅, 成新跃. 中国动物志, 昆虫纲, 第50卷, 双翅目: 食蚜蝇科 [M]. 北京: 科学出版社, 2012: 264–266]
- Huo KK, Ren GD, Zheng ZM. Fauna of Syrphidae from Mt. Qinling–Bashan in China (Insecta: Diptera) [M]. Beijing: Agricultural Science and Technology Press, 2007: 214–216. [霍科科, 任国栋, 郑哲民. 秦巴山区蚜蝇区系分类 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社. 2007, 214–216]
- Junqueira ACM, Azeredo-Espin AML, Paulo DF, *et al.* Large-scale mitogenomics enables insights into Schizophora (Diptera) radiation and population diversity [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 21762.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology & Evolution*, 2016, 33 (7): 1870–1874.
- Laslett D, Canbäck B. ARWEN, a program to detect tRNA genes in metazoan mitochondrial nucleotide sequences [J]. *Bioinformatics*,

- 2008, 24: 172 – 175.
- Li H, Li J. The complete mitochondrial genome of *Helophilus virgatus* (Diptera: Syrphidae: Eristalinae) with a phylogenetic analysis of Syrphidae [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2019, 4: 3106 – 3107.
- Li H. Characterization and phylogenetic implications of the complete mitochondrial genome of syrphidae [J]. *Genes*, 2019, 10: 563.
- Li J, Li H. The first complete mitochondrial genome of genus *Phytomia* (Diptera: Syrphidae) [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020, 5 (3): 2512 – 2513.
- Li X, Ding S, Li X, *et al.* The complete mitochondrial genome analysis of *Eristalis tenax* (Diptera, Syrphidae) [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2017a, 2: 654 – 655.
- Li X, Li W, Ding S, *et al.* Mitochondrial genomes provide insights into the phylogeny of Lauxanioidea (Diptera: Cyclorrhapha) [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017b, 18 (4): 773.
- Liu D, Song P, Yan J, *et al.* Characterization of the complete mitochondrial genome of *Syrphus vitripennis* (Diptera: Syrphidae) [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020b, 5: 1939 – 1940.
- Liu D, Wang J, Song P, *et al.* Characterization of the complete mitochondrial genome of *Melanostoma scalare* (Diptera: Syrphidae) [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020a, 5: 1753 – 1754.
- Mengual X, Ståhls G, Rojo S. Phylogenetic relationships and taxonomic ranking of pipizine flower flies (Diptera: Syrphidae) with implications for the evolution of aphidophagy [J]. *Cladistics*, 2015, 31: 491 – 508.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. “Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees” in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE) [C]. New Orleans, 2010: 1 – 8.
- Nguyen LT, Schmidt HA, von Haeseler A, *et al.* IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2015, 32 (1): 268 – 274.
- Pauli T, Burt TO, Meusemann K, *et al.* New data, same story: Phylogenomics does not support Syrphoidea (Diptera: Syrphidae, Pipunculidae) [J]. *Systematic Entomology*, 2018, 43 (3): 447 – 459.
- Pu DQ, Liu HL, Gong YY, *et al.* Mitochondrial genomes of the hoverflies *Episyrphus balteatus* and *Eupeodes corollae* (Diptera: Syrphidae), with a phylogenetic analysis of Muscomorpha [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 44300.
- Skevington JH, Yeates DK. Phylogeny of the Syrphoidea (Diptera) inferred from mtDNA sequences and morphology with particular reference to classification of the pipunculidae (Diptera) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2000, 16 (2): 212 – 224.
- Sonet G, De Smet Y, Tang M, *et al.* First mitochondrial genomes of five hoverfly species of the genus *Eristalinus* (Diptera: Syrphidae) [J]. *Genome*, 2019, 62 (10): 677 – 687.
- Ståhls G, Hippa H, Rotheray G, *et al.* Phylogeny of Srpidae (Diptera) inferred from combined analysis of molecular and morphological characters [J]. *Systematic Entomology*, 2003, 28 (4): 433 – 450.
- Wang J, Li H, Dai R. Complete mitochondrial genome of *Taharana fasciana* (Insecta, Hemiptera: Cicadellidae) and comparison with other Cicadellidae insects [J]. *Genetica*, 2017, 145: 593 – 602.
- Xu SY, Long JK, Chen XS. Comparative analysis of the complete mitochondrial genomes of five Achilidae species (Hemiptera: Fulgoroidea) and other Fulgoroidea reveals conserved mitochondrial genome organization [J]. *PeerJ*, 2019, 7: e6659.
- Yan J, Feng S, Song P, *et al.* Characterization and phylogenetic analysis of the complete mitochondrial genome of *Eristalis cerealis* (Diptera: Syrphidae) [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020, 5 (1): 1005 – 1006.
- Young, AD, Lemmon AR, Skevington JH, *et al.* Anchored enrichment dataset for true flies (order Diptera) reveals insights into the phylogeny of flower flies (family Syrphidae) [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2016, 16 (1): 143.
- Zhao L, Li G. The first complete mitochondrial genome of the tribe Rhingiini (Diptera: Syrphidae) and phylogenetic analysis [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020, 5 (1): 3507 – 3509.