

林兴雨, 刘向阳, 宋南. 大赤隐翅虫的线粒体基因组研究及系统发育分析 [J]. 福建农业学报, 2023, 38 (5): 607–615.
LIN X Y, LIU X Y, SONG N. Mitochondrial Genome and Phylogenetics of *Philonthus spinipes* (Sharp, 1874) [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38 (5): 607–615.

大赤隐翅虫的线粒体基因组研究及系统发育分析

林兴雨, 刘向阳, 宋南*

(河南农业大学植物保护学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 【目的】探究大赤隐翅虫 *Philonthus spinipes* (Sharp, 1874) 的线粒体基因组结构特征及隐翅虫亚科的系统发育关系。【方法】利用高通量测序技术获得大赤隐翅虫线粒体基因组的全序列。在系统发育分析中, 选择隐翅虫亚科的 21 个物种和毒隐翅虫亚科的 8 个物种作为内群, 并选择 2 个蚁甲亚科 Pselaphinae 的物种作为外群, 利用最大似然法和贝叶斯法重建隐翅虫亚科的系统发育关系。【结果】大赤隐翅虫的线粒体基因组包含 37 个基因 (13 个蛋白质编码基因、22 个 tRNA 基因和 2 个 rRNA 基因) 和一段非编码控制区。整个线粒体基因组全长为 16 219 bp (GenBank 登录号: OL998729)。大赤隐翅虫线粒体基因组的 13 个蛋白质编码基因的起始密码子除 *nad6* 和 *nad1* 利用 ATC 和 TTG 开头外, 其余蛋白质编码基因都是以 ATT、ATA 和 ATG 开头。4 个蛋白质编码基因 (*cox1*、*cox2*、*cox3* 和 *nad5*) 以不完整的终止密码子 T 或 TA 结尾, 其余 9 个蛋白质编码基因以完整的终止密码子 TAA 或 TAG 结尾。除 *trnS1* 因缺少 DHU 臂而形成一个简单的环, 无法形成稳定的三叶草结构外, 其余 tRNA 基因均能形成典型的三叶草结构。*rrnL* 基因的全长为 1 275 bp, A+T 含量为 79.84%。*rrnS* 基因全长为 765 bp, A+T 含量为 76.47%。【结论】两种不同的系统发育分析方法构建的隐翅虫亚科的系统发育关系是基本一致的, 均表明隐翅虫亚科为非单系群; 毒隐翅虫亚科为单系群; 毒隐翅虫亚科嵌套在隐翅虫亚科中。

关键词: 鞘翅目; 隐翅虫亚科; 大赤隐翅虫; 线粒体基因组; 系统发育

中图分类号: S435

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2023) 05-0607-09

Mitochondrial Genome and Phylogenetics of *Philonthus spinipes* (Sharp, 1874)

LIN Xingyu, LIU Xiangyang, SONG Nan*

(Plant Protection College, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: 【Objective】Mitochondrial genome and phylogenetic relationship in Staphylininae subfamily of *Philonthus spinipes* (Sharp, 1874) were determined. 【Method】The high-throughput sequencing technique was applied to secure the full length mitochondrial genome of *P. spinipes*. A phylogenetic analysis was conducted to decipher the beetle's relationship in the Staphylininae subfamily. Using 21 exemplars of Staphylininae and 8 of Paederinae as ingroups as well as two Pselaphinae species as outgroups, the phylogeny was reconstructed with the maximum likelihood (ML) and Bayesian inference (BI) methods. 【Result】The mitochondrial genome of *P. spinipes* was a circular molecule of 16 219 bp with the GenBank accession number of OL998729. It contained 13 protein-coding genes, 22 transfer RNA genes, two ribosomal RNA genes, and a non-coding control region. Most of the protein-coding genes started with ATT, ATA, or ATG, but *nad6* did with ATC and *nad1* with TTG. And *cox1*, *cox2*, *cox3*, and *nad5* had an incomplete T or TA as the stop codon, while the remaining 9 genes terminated with TAA or TAG. All tRNA genes, except *trnS1* which lacked the DHU arm, could be folded into a typical cloverleaf-like structure. The lengths of *rrnL* and *rrnS* were 1 275 bp and 765 bp with the A+T contents of 79.84% and 76.47%, respectively. 【Conclusion】The two applied phylogenetic inference methods produced a similar tree topological structure that showed Paederinae to be monophyletic, Staphylininae non-monophyletic, and Paederinae nested within the Staphylininae subfamily.

Key words: Coleoptera; Staphylininae; *Philonthus spinipes*; mitochondrial genome; phylogeny

收稿日期: 2022-10-27 初稿; 2023-03-17 修改稿

作者简介: 林兴雨 (1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 昆虫分子系统发育学 (E-mail: xingyulin666666@163.com)

* 通信作者: 宋南 (1980-), 男, 副教授, 博士, 研究方向: 昆虫分子系统发育学 (E-mail: songnan@henau.edu.cn)

基金项目: 国家自然科学基金项目 (U1904104)

0 引言

【研究意义】大赤隐翅虫 *Philonthus spinipe* (Sharp 1874) 属于鞘翅目 Coleoptera 隐翅虫科 Staphylinidae 隐翅虫亚科 Staphylininae。隐翅虫亚科是隐翅虫科中种群数量较多、物种较为丰富的一个类群。目前, 隐翅虫亚科有 350 属, 超过 8 700 个现存的已知种, 为隐翅虫科第三大类群^[1-2]。由于隐翅虫亚科的一些物种具有鲜艳的体色而经常被昆虫爱好者所收集。因此, 对隐翅虫亚科的系统发育学研究有助于更好地了解其系统发育关系。【前人研究进展】传统分类中, 隐翅虫亚科被分类学家广泛认为是一个自然群^[3-7]。因为这类甲虫的成虫、幼虫和蛹具有独特的形态学特征。并且, 一些基于分子数据的研究支持隐翅虫亚科的单系性^[8-10]。然而, 也有一些分子系统研究不支持隐翅虫亚科的单系性^[11, 12]。此外, BRUNKE 等基于 6 个基因片段的系统发育分析不支持隐翅虫亚科的单系性, 因为隐翅虫亚科的一些族被嵌入到毒隐翅虫亚科中^[11]。【本研究切入点】作为一种分子遗传标记, 昆虫的线粒体基因组因其具有结构简单以及相对保守的基因组组织结构等特点, 被广泛应用于昆虫系统学研究中^[13-15]。但是, 关于大赤隐翅虫的线粒体基因组研究仍未有报道。截至目前, 在 NCBI 的 GenBank 中仅有 37 条部分或完整的隐翅虫亚科昆虫的线粒体基因组序列被公布。有限的线粒体基因组序列阻碍了人们从基因组角度研究隐翅虫亚科昆虫的系统发育关系。【拟解决的关键问题】本研究利用高通量测序技术获得大赤隐翅虫 *P. spinipes* 的线粒体基因组全序列, 并对其线粒体基因组结构特点进行分析, 构建线粒体基因组中的 37 个线粒体基因序列矩阵、13 个蛋白质编码基因的核苷酸序列矩阵、13 个蛋白质编码基因的第 1、2 密码子的核苷酸序列矩阵。结合已经公布的隐翅虫亚科的 21 个物种和毒隐翅虫亚科的 8 个物种的线粒体基因组序列, 并选择蚁甲亚科 Pselaphinae 的两个物种作为外群, 利用最大似然法 (Maximum likelihood) 和贝叶斯法 (Bayesian inference) 重建隐翅虫亚科的系统发育关系, 以期为研究隐翅虫亚科的系统发育关系提供线粒体基因组数据。

1 材料与方法

1.1 标本采集与 DNA 提取

大赤隐翅虫标本于 2019 年 7 月采集于河南省郑州市人民公园 (34°72'N, 114°01'E)。将采集到的昆虫标本浸泡在 95% 的乙醇中, 并置于 -20 °C 冰箱保存。使用天根公司的动物基因组 DNA 提取试剂盒 (TIANamp Genomic DNA Kit, China) 提取大赤隐翅

虫样本的总 DNA。经 NanoDrop 2000 分光光度计和 1% 的琼脂糖凝胶电泳进行总 DNA 的质量和浓度检测。

1.2 高通量测序与线粒体基因组组装

将检测质量合格且质量浓度大于 20 ng·μL⁻¹ 的 DNA 送往上海派森诺生物科技有限公司进行高通量测序。首先, 利用全基因组鸟枪法 (Whole Genome Shotgun, WGS) 构建文库, 并基于 Illumina HiSeq 2 500 测序平台进行双端 (2 × 150 bp PE) 测序。最后, 将下机的原始数据去除接头, 进行质控。利用 GetOrganelle v1.7.5.2 软件^[16] 进行线粒体基因组的组装和拼接, 从而得到高质量的线粒体基因组序列。

1.3 线粒体基因组的注释和分析

将组装得到的大赤隐翅虫的线粒体基因组序列在 MITOS^[17] 网站上进行初步的注释, Genetic Code 参数选择为 05-invertebrate, 其余均按照 MITOS 默认参数进行设置。22 个 tRNA 和两个 RNA 的二级结构通过 MITOS 预测获得。然后, 通过序列比对, 手动矫正 13 个蛋白质编码基因和 2 个 RNA 基因的基因边界。将注释好的线粒体基因组序列上传至 GenBank, 得到大赤隐翅虫的 GenBank 登录号: OL998729。利用 MEGA 7.0^[18] 软件分析大赤隐翅虫线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因的碱基组成以及密码子的使用频率。

1.4 多序列比对

利用 TranslatorX 程序中的 MAFFT 软件分别对不同的线粒体基因的核苷酸序列矩阵进行比对^[19-20]。用 trimAl v1.4 对序列进行修剪^[21], 将比对模糊的片段删除。最后, 使用 FASconCAT-G_v1.04 进行串联得到矩阵^[22]。

1.5 系统发育分析

本研究使用测序获得大赤隐翅虫线粒体基因组的 37 个基因序列、13 个蛋白质编码基因的核苷酸序列、13 个蛋白质编码基因的第 1、2 密码子的核苷酸序列, 结合 NCBI 中已经公布的隐翅虫亚科的 21 个物种和毒隐翅虫亚科的 8 个物种作为内群, Pselaphinae 的 2 个物种作为外群构建数据矩阵。利用最大似然法 (Maximum likelihood) 和贝叶斯法 (Bayesian inference) 重建隐翅虫亚科的系统发育树。利用 IQ-TREE 2.0.6^[23] 进行最大似然法分析: 选择 GTR+F+I+G4 模型, 系统发育树的节点支持率通过自举检验置信度进行评估 (运行次数设置为 10 000)。使用 PhyloBayes v3.3 进行贝叶斯法分析^[24]。首先, 执行运算两次, 每次包含 4 个链。使用 CAT-GTR 位点异质模型来进行分析, 利用 PhyloBayes 软件包中的 *bpcomp* 程序评估链间的趋同一致性。以最大差异值小于 0.1 作为分析达到有效的判定标准。最后, 使用 *bpcomp* 程序构

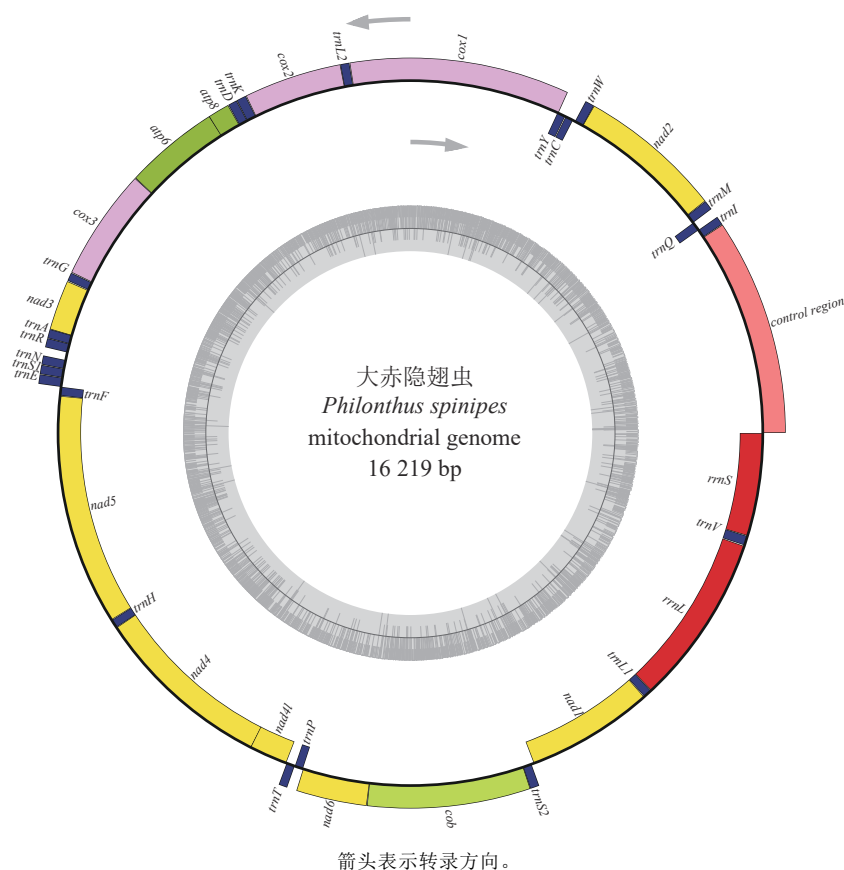
建 50% 合意树。

2 结果与分析

2.1 线粒体基因组分析

利用 OGDRAW Version 1.1^[25] 绘制大赤隐翅虫的

线粒体基因组结构图(图1)。大赤隐翅虫的线粒体基因全长16 219 bp, 其中A+T含量为73.56%, G+C含量为26.44%。该线粒体基因组包含37个基因和1个非编码控制区(表1)。



Arrow indicates direction of transcription.

图 1 大赤隐翅虫线粒体基因组结构

Fig. 1 Structure of *P. spinipes* mitochondrial genome

在新测定的线粒体基因组中，H 链（Heavy strand）编码 23 个基因，包括 9 个蛋白质编码基因，14 个 tRNA 基因；L 链（Light strand）编码 14 个基因，包含 4 个蛋白质编码基因，8 个 tRNA 基因和 2 个 rRNA 基因。非编码控制区位于 *rrnS* 和 *trnI* 之间，长度 1 521 bp，其 A+T 含量为 78.83%。

2.2 蛋白质编码基因分析

大赤隐翅虫线粒体基因组的 13 个蛋白质编码基因全长为 10 410 bp, 其中 A+T 含量为 71.78%, G+C 含量为 28.22%。对于 13 个蛋白质编码基因的起始密码子, 除 *nad6* 和 *nad1* 利用 ATC 和 TTG 开头外, 其余 11 个蛋白质编码基因都是以 ATT、ATA 和 ATG 开头。4 个蛋白质编码基因, 即 *cox1*、*cox2*、*cox3* 和 *nad5* 是以不完整的终止密码子 T 或 TA 结尾, 其余 9 个蛋白质编码基因以完整的终止密码子 TAA 或 TAG

结尾。在所有蛋白质编码基因的氨基酸使用频率中, 丙氨酸 (Ala) 为 1.31%、半胱氨酸 (Cys) 为 2.67%、天冬氨酸 (Asp) 为 2.48%、谷氨酸 (Glu) 为 2.76%、苯丙氨酸 (Phe) 为 11.20%、甘氨酸 (Gly) 为 2.67%、组氨酸 (His) 为 2.36%、异亮氨酸 (Ile) 为 9.36%、赖氨酸 (Lys) 为 4.08%、亮氨酸 (Leu) 为 13.96%、甲硫氨酸 (Met) 为 5.46%、天冬酰胺 (Asn) 为 6.29%、脯氨酸 (Pro) 为 3.92%、谷氨酰胺 (Gln) 为 2.27%、精氨酸 (Arg) 为 1.22%、丝氨酸 (Ser) 为 11.20%、苏氨酸 (Thr) 为 4.05%、缬氨酸 (Val) 为 2.94%、色氨酸 (Trp) 为 2.82%、酪氨酸 (Thr) 为 9.04%。13 个蛋白质编码基因的相对密码子使用频率见表 2。

2.3 tRNA 和 rRNA 基因分析

大赤隐翅虫线粒体基因组的 22 个 tRNA 基因的

表 1 大赤隐翅虫线粒体基因组注释
Table 1 Annotation of *P. spinipes* mitochondrial genome

基因 Gene	基因长度 Gene length/bp	起始位置 Start position/bp	终止位置 Stop position/bp	起始密码子 Start codon	终止密码子 Stop codon	编码链 Coding strand
控制区Control region	1 521	1	1 521			非编码序列Non-coding sequence
<i>trnI</i>	64	1 522	1 585			H
<i>trnQ</i>	69	1 651	1 583			L
<i>trnM</i>	69	1 651	1 719			H
<i>nad2</i>	1 017	1 720	2 736	ATT	TAA	H
<i>trnW</i>	67	2 735	2 801			H
<i>trnC</i>	62	2 878	2 817			L
<i>trnY</i>	64	2 944	2 881			L
<i>cox1</i>	1 540	2 937	4 476	ATT	T	H
<i>trnL2</i>	65	4 477	4 541			H
<i>cox2</i>	688	4 540	5 227	ATG	T	H
<i>trnK</i>	71	5 228	5 298			H
<i>trnD</i>	66	5 298	5 363			H
<i>atp8</i>	156	5 364	5 519	ATA	TAA	H
<i>atp6</i>	669	5 513	6 181	ATG	TAA	H
<i>cox3</i>	788	6 181	6 968	ATG	TA	H
<i>trnG</i>	61	6 970	7 030			H
<i>nad3</i>	354	7 033	7 386	ATT	TAG	H
<i>trnA</i>	65	7 385	7 449			H
<i>trnR</i>	66	7 449	7 514			H
<i>trnN</i>	66	7 571	7 636			H
<i>trnS1</i>	66	7 637	7 702			H
<i>trnE</i>	68	7 703	7 770			H
<i>trnF</i>	67	7 835	7 769			L
<i>nad5</i>	1 717	9 552	7 836	ATT	T	L
<i>trnH</i>	65	9 617	9 553			L
<i>nad4</i>	1 338	10 954	9 617	ATG	TAA	L
<i>nad4l</i>	288	11 235	10 948	ATG	TAA	L
<i>trnT</i>	63	11 238	11 300			H
<i>trnP</i>	64	11 364	11 301			L
<i>nad6</i>	498	11 366	11 863	ATC	TAA	H
<i>Cob</i>	1 143	11 863	13 005	ATG	TAG	H
<i>trnS2</i>	66	13 004	13 069			H
<i>nad1</i>	951	14 037	13 087	TTG	TAG	L
<i>trnL1</i>	65	14 103	14 039			L
<i>rrnL</i>	1 275	15 378	14 104			L
<i>trnV</i>	73	15 454	15 382			L
<i>rrnS</i>	765	16 219	15 455			L

H: 重链; L: 轻链; T或TA表示不完全密码子。
H: Heavy strand; L: light strand; T or TA: incomplete stop codon.

表 2 大赤隐翅虫线粒体基因组 13 个蛋白质编码基因的相对密码子使用频率
Table 2 Relative synonymous codon usage of 13 protein-coding genes of *P. spinipes* mitochondrial genome

密码子 Codon	次数 Count	RSCU	密码子 Codon	次数 Count	RSCU	密码子 Codon	次数 Count	RSCU	密码子 Codon	次数 Count	RSCU
UUU(F)	280	1.53	UCU(S)	72	1.58	UAU(Y)	173	1.54	UGU(C)	51	1.17
UUC(F)	85	0.47	UCC(S)	42	0.92	UAC(Y)	52	0.46	UGC(C)	36	0.83
UUA(L)	185	2.44	UCA(S)	73	1.6	UAA(*)	127	1.23	UGA(W)	60	1.3
UUG(L)	61	0.8	UCG(S)	22	0.48	UAG(*)	80	0.77	UGG(W)	32	0.7
CUU(L)	78	1.03	CCU(P)	57	1.78	CAU(H)	59	1.53	CGU(R)	12	1.2
CUC(L)	38	0.5	CCC(P)	34	1.06	CAC(H)	18	0.47	CGC(R)	4	0.4
CUA(L)	53	0.7	CCA(P)	30	0.94	CAA(Q)	51	1.38	CGA(R)	16	1.6
CUG(L)	40	0.53	CCG(P)	7	0.22	CAG(Q)	23	0.62	CGG(R)	8	0.8
AUU(I)	240	1.57	ACU(T)	54	1.64	AAU(N)	159	1.55	AGU(S)	36	0.79
AUC(I)	65	0.43	ACC(T)	33	1	AAC(N)	46	0.45	AGC(S)	27	0.59
AUA(M)	122	1.37	ACA(T)	39	1.18	AAA(K)	99	1.49	AGA(S)	46	1.01
AUG(M)	56	0.63	ACG(T)	6	0.18	AAG(K)	34	0.51	AGG(S)	47	1.03
GUU(V)	35	1.46	GCU(A)	17	1.58	GAU(D)	60	1.48	GGU(G)	17	0.78
GUC(V)	15	0.63	GCC(A)	11	1.02	GAC(D)	21	0.52	GGC(G)	13	0.6
GUA(V)	26	1.08	GCA(A)	12	1.12	GAA(E)	56	1.24	GGA(G)	33	1.52
GUG(V)	20	0.83	GCG(A)	3	0.28	GAG(E)	34	0.76	GGG(G)	24	1.1

RSCU: 相对密码子使用频率; *终止密码子。
RSCU: Relative synonymous codon usage; *: stop codon.

序列长度为 61~73 bp。*trnG* 基因最短 (61 bp), *trnV* 基因最长 (73 bp)。其中 14 个 tRNA 基因位于 H 链, 8 个 tRNA 基因位于 L 链, *rrnL* 和 *rrnS* 基因位于 L 链。除 *trnSI* 因缺少 DHU 臂而形成一个简单的环, 无法形成稳定的三叶草结构外, 其余 tRNA 基因均能形成典型的三叶草结构 (图 2)。此外, *trnSI* 的反密码子不是常见的 GCU, 而是 UCU。大赤隐翅虫线粒体的线粒体基因组 *rrnL* 的全长为 1 275 bp, A+T 含量为 79.84%, G+C 含量为 20.16%。*rrnS* 的全长为 765 bp, A+T 含量为 76.47%, G+C 含量为 23.53%。本研究参考果蝇的 *rrnL* 和 *rrnS* 基因的二级结构图, 对大赤隐翅虫的两个核糖体基因的二级结构进行预测, 详见图 3 和图 4。*rrnL* 基因包含 5 个结构区域 (I-II 和 IV-VI), 共 50 个螺旋结构。*rrnS* 基因有 3 个结构区域 (I、II 和 III), 由 31 个螺旋结构组成。

2.4 系统发育分析

本研究结合已经公布的隐翅虫亚科的 21 个物种和毒隐翅虫亚科的 8 个物种作为内群以及蚁甲亚科 *Pselaphinae* 的 2 个物种作为外群, 利用最大似然法和

贝叶斯法, 基于它们的线粒体基因组的 37 个基因的序列矩阵、13 个蛋白质编码基因的核苷酸序列矩阵、13 个蛋白质编码基因的第 1、2 密码子的核苷酸序列矩阵重建隐翅虫亚科的系统发育关系 (图 5~6)。两种系统发育分析方法构建的树拓扑结构都支持隐翅虫亚科为非单系群, 毒隐翅虫亚科为单系群。毒隐翅虫亚科嵌套在隐翅虫亚科中。在最大似然法分析中, 毒隐翅虫亚科的单系性也得到了很好的支持 (BS = 95)。此外, 在最大似然法分析中, 本研究测定的大赤隐翅虫与 *P. decorus* 构成姐妹群, 节点支持率最高 (BS = 98)。在贝叶斯法分析中, 线粒体基因组 37 个基因的序列矩阵与 13 个蛋白质编码基因的第 1、2 密码子的核苷酸序列矩阵发育树结果显示大赤隐翅虫与 *P. decorus* 与 *Neobisnius villosulus*、*Gabronthus thermarum* 分别构成姐妹群。13 个蛋白质编码基因的核苷酸序列矩阵的发育树结果显示大赤隐翅虫与 *P. decorus* 构成姐妹群。但是, 贝叶斯法分析中关于大赤隐翅虫的姐妹群关系里只有线粒体基因组 37 个基因的序列矩阵发育树结果对大赤隐翅虫

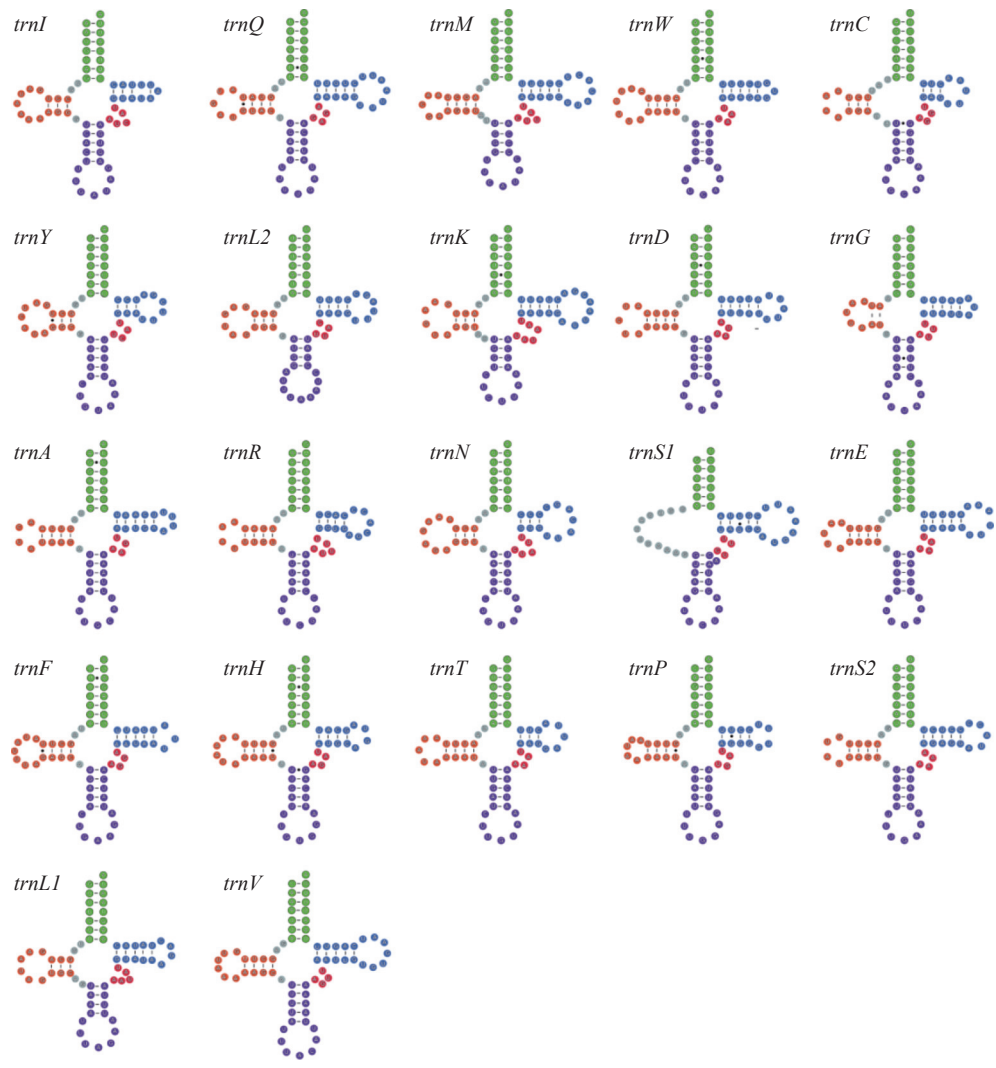


图 2 大赤隐翅虫 22 个 tRNA 基因的二级结构
Fig. 2 Secondary structures of 22 tRNAs genes of *P. spinipes*

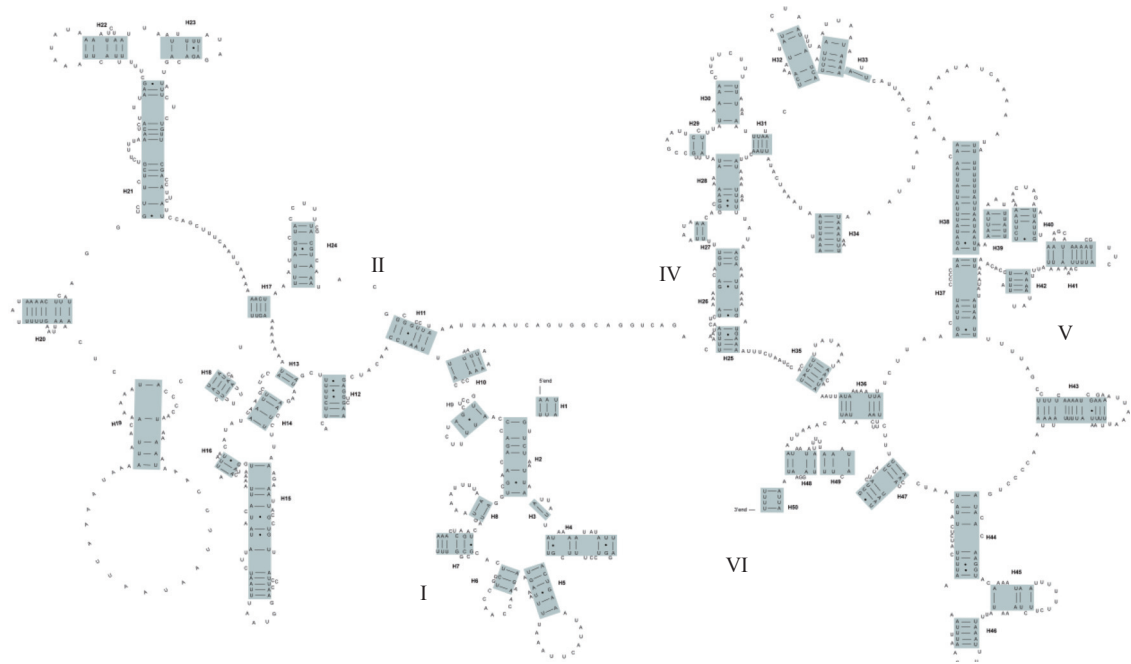


图 3 大赤隐翅虫 12S rRNA 基因二级结构预测
Fig. 3 Predicted secondary structure of 16S rRNA gene of *P. spinipes* mitogenome



图 4 大赤隐翅虫 12S rRNA 基因二级结构预测

Fig. 4 Predicted secondary structure of 12S rRNA gene of *P. spinipes* mitogenome

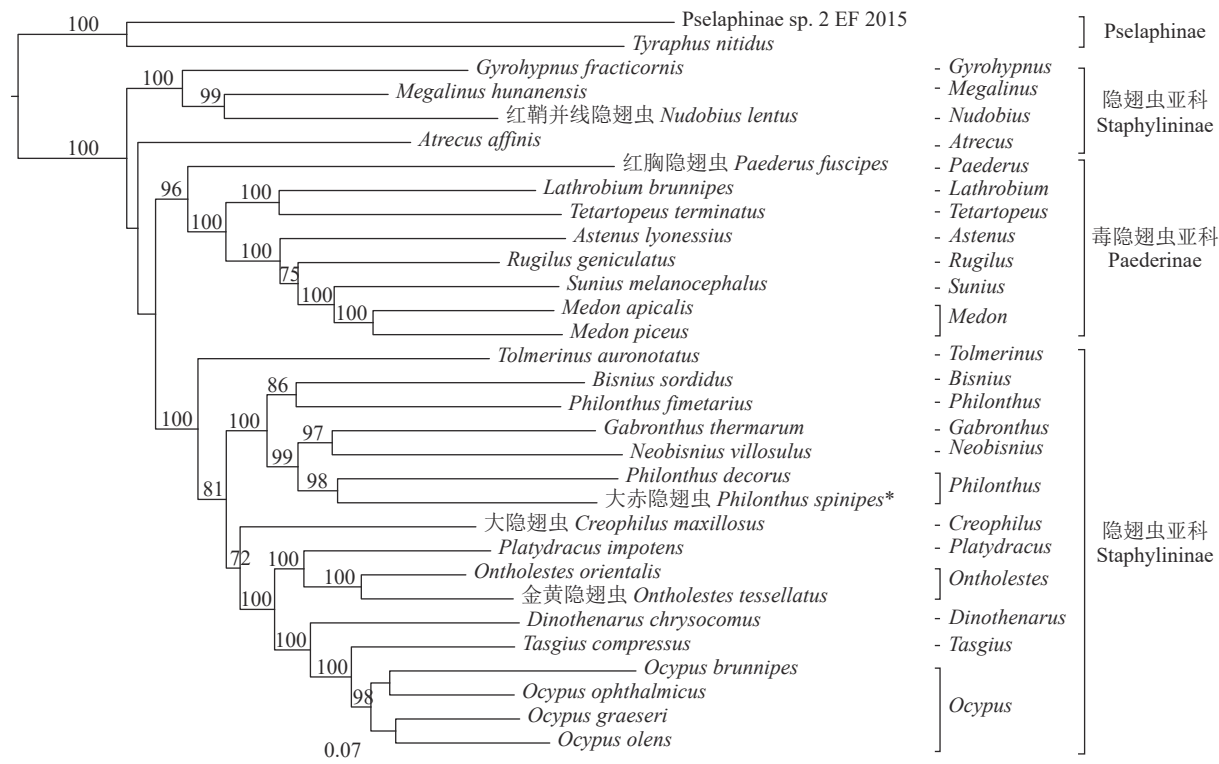


图 5 基于 13 个蛋白编码基因的核苷酸序列构建的最大似然树

Fig. 5 ML tree built based on 13 PCG_nt

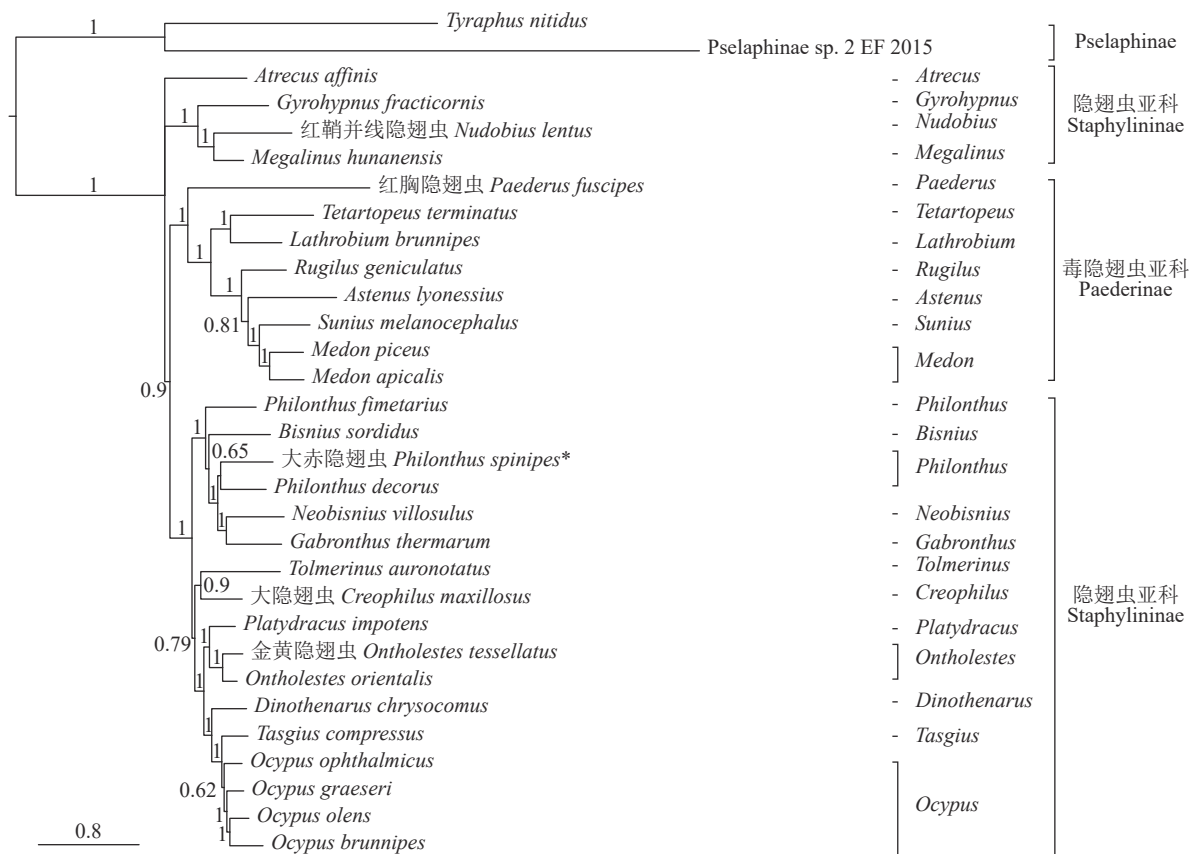


图 6 基于 13 个蛋白编码基因的核苷酸序列构建的贝叶斯树

Fig. 6 BI tree built based on 13 PCG_nt

与 *N. villosulus*、*G. thermanum* 构成姐妹群有较高的节点支持率 (PP=0.97)，与 *P. decorus* 的姐妹群关系的节点支持率较低 (PP<0.6)。其他两个矩阵的发育分析结果显示，大赤隐翅虫与 *P. decorus* 与 *N. villosulus*、*G. thermanum* 分别构成姐妹群的节点支持率也都较低 (PP<0.6)。

3 讨论与结论

本研究利用高通量测序技术获得了大赤隐翅虫的线粒体基因组的完整序列。大赤隐翅虫线粒体基因组的 37 个基因的排列顺序与典型的昆虫线粒体基因组排列顺序一致^[14]，没有出现基因重排或基因丢失的现象。

虽然以前基于形态学特征和一些分子数据的系统发育研究恢复了隐翅虫亚科的单系性^[3-10]，近期的一些研究却并不支持这一假设，还有研究显示隐翅虫亚科的一些族应该被转入到毒隐翅虫亚科类群中^[11-12]。鞘翅目昆虫线粒体基因组是真核细胞中具有为细胞活动提供能量，参与细胞信息传递等特点，由 37 个相对保守基因构成的双链、环状的 DNA，因其结构简单和进化速率慢等特点，常用于昆虫的系统发育研究中^[26-30]。本研究基于线粒体基

因组的 37 个基因的序列数据、13 个蛋白质编码基因的核苷酸序列数据以及 13 个蛋白质编码基因的第 1、2 密码子的核苷酸序列数据的系统发育分析结果均显示隐翅虫亚科的 4 个属 *Atrecus*、*Gyrohypnus*、*Nudobius* 和 *Megalinus* 单独形成一支，导致隐翅虫亚科为非单系群。毒隐翅虫亚科嵌套在隐翅虫亚科中。这一结果与 Brunke 等和 Schomann 等的研究结果^[11-12]一致。

Chatzimanolis 等基于 4 个基因 (*cox1*、*wingless*、*Topoisomerase I* 和 *28S*) 片段，对隐翅虫亚科的 49 个物种和毒隐翅虫亚科的 2 个物种进行系统发育分析，结果支持隐翅虫亚科的单系性^[9]。Mckenna 等基于 8 个核基因序列 (*18S*、*28S*、*AK*、*AS*、*CAD*、*EFl-α*、*PEPCK* 和 *WG*) 对整个鞘翅目进行系统发育关系的重建，其分类取样也包含了隐翅虫亚科，结果支持该亚科为单系群^[8]。Mckenna 等利用 *28S* 和 *CAD* 两个基因序列对金龟下目 *Scarabaeiformia* 和隐翅虫下目 *Staphyliniformia* 进行系统发育关系的重建，其结果支持隐翅虫亚科和毒隐翅虫亚科的单系性^[10]。以上研究结果与本研究对于隐翅虫亚科系统发育分析结果不同在于：Mckenna 等基于核基因研究鞘翅目的高级系统发育关系为主要目的，虽然取样较多，但是对于隐翅虫亚科的取样有限；而本研究基于线粒

体基因组数据，集中隐翅虫亚科和毒隐翅虫亚科的取样，着力解决这两者之间的相互关系。在两个研究中，不同的分子标记和不同的分类阶元取样可能导致隐翅虫亚科的系统发育结果不同。在今后的研究中，系统分类学者应该包含更多的隐翅虫亚科和毒隐翅虫亚科的昆虫样本以及更加综合的外群取样，结合形态学特征、转录组数据或基因组规模的数据等，以期获得接近或真实反映隐翅虫进化历史的系统发育关系。

参考文献：

- [1] THAYER M K. Morphology and Systematics (Archostemata, Adephaga, Myxophaga, Polyphaga partim)[M]. Berlin: Walter de Gruyter, 2016: 394-442.
- [2] CAI C Y, WANG Y L, LIANG L, et al. Congruence of morphological and molecular phylogenies of the rove beetle subfamily Staphylininae (Coleoptera: Staphylinidae) [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9 (1) : 1-11.
- [3] KASULE F K. The larvae of Paederinae and Staphylininae (Coleoptera: Staphylinidae) with keys to the known British Genera [J]. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 2009, 122 (2) : 49-80.
- [4] NEWTON A F, THAYER M K. In American Beetles (Archostemata, Myxophaga, Adephaga, Polyphaga: Staphyliniformia)[M]. London: CRC Press, 2000: 272-418.
- [5] GREBENNIKOV V V, NEWTON A F. Good-bye Scydmaenidae, or why the ant-like stone beetles should become megadiverse Staphylinidae sensu latissimo (Coleoptera) [J]. *European Journal of Entomology*, 2009, 106 (2) : 275-301.
- [6] NEWTON A F, THAYER M K, CHICAGO N N H M. Current classification and family-group names in Staphyliniformia (Coleoptera)[M]. Chicago: Field Museum of Natural History, 1992.
- [7] SOLODOVNIKOV A Y, NEWTON A F. Phylogenetic placement of Arrownini trib. n. within the subfamily Staphylininae (Coleoptera: Staphylinidae), with revision of the relict South African genus *Arrowninus* and description of its larva [J]. *Systematic Entomology*, 2005, 30 (3) : 398-441.
- [8] MCKENNA D D, WILD A L, KANDA K, et al. The beetle tree of life reveals that Coleoptera survived end-Permian mass extinction to diversify during the Cretaceous terrestrial revolution [J]. *Systematic Entomology*, 2015, 40 (4) : 835-880.
- [9] CHATZIMANOLIS S, COHEN I M, SCHOMANN A, et al. Molecular phylogeny of the mega-diverse rove beetle tribe Staphylinini (Insecta, Coleoptera, Staphylinidae) [J]. *Zoologica Scripta*, 2010, 39 (5) : 436-449.
- [10] MCKENNA D D, FARRELL B D, CATERINO M S, et al. Phylogeny and evolution of Staphyliniformia and Scarabaeiformia: Forest litter as a stepping stone for diversification of nonphytophagous beetles [J]. *Systematic Entomology*, 2015, 40 (1) : 35-60.
- [11] BRUNKE A J, CHATZIMANOLIS S, SCHILLHAMMER H, et al. Early evolution of the hyperdiverse rove beetle tribe Staphylinini (Coleoptera: Staphylinidae: Staphylininae) and a revision of its higher classification [J]. *Cladistics*, 2016, 32 (4) : 427-451.
- [12] SCHOMANN A M, SOLODOVNIKOV A. Phylogenetic placement of the austral rove beetle genus *Hyperomma* triggers changes in classification of Paederinae (Coleoptera: Staphylinidae) [J]. *Zoologica Scripta*, 2017, 46 (3) : 336-347.
- [13] CAMERON S L. Insect mitochondrial genomics: Implications for evolution and phylogeny [J]. *Annual Review of Entomology*, 2014, 59: 95-117.
- [14] BOORE J L. Animal mitochondrial genomes [J]. *Nucleic Acids Research*, 1999, 27 (8) : 1767-1780.
- [15] SONG N, ZHANG H, LI H, et al. All 37 mitochondrial genes of aphid *Aphis craccivora* obtained from transcriptome sequencing: Implications for the evolution of aphids [J]. *PLoS One*, 2016, 11 (6) : e0157857.
- [16] 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.
- [17] 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.
- [18] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33 (7) : 1870-1874.
- [19] KATO K, STANDLEY D M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30 (4) : 772-780.
- [20] ABASCAL F, ZARDOYA R, TELFORD M J. TranslatorX: Multiple alignment of nucleotide sequences guided by amino acid translations [J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38 (S2) : W7-13.
- [21] CAPELLA-GUTIÉRREZ S, SILLA-MARTÍNEZ J M, GABALDÓN T. trimAl: A tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25 (15) : 1972-1973.
- [22] KÜCK P, LONGO G C. FASconCAT-G: Extensive functions for multiple sequence alignment preparations concerning phylogenetic studies [J]. *Frontiers in Zoology*, 2014, 11 (1) : 1-8.
- [23] NGUYEN L T, SCHMIDT H A, VON HAESLER 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.
- [24] LARTILLOT N, LEPAGE T, BLANQUART S. PhyloBayes 3: A Bayesian software package for phylogenetic reconstruction and molecular dating [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25 (17) : 2286-2288.
- [25] GREINER S, LEHWARK P, BOCK R. OrganellarGenomeDRAW (OGDRAW) version 1.3. 1: Expanded toolkit for the graphical visualization of organellar genomes [J]. *Nucleic Acids Research*, 2019, 47 (W1) : W59-64.
- [26] BAE J S, KIM I, SOHN H D, et al. The mitochondrial genome of the firefly, *Pyrocoelia rufa*: Complete DNA sequence, genome organization, and phylogenetic analysis with other insects [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 32 (3) : 978-985.
- [27] 林爱丽, 李欣欣, 赵新成, 等. 黑毛皮蠹线粒体基因组分析及皮蠹科系统发育分析 [J]. *昆虫学报*, 2018, 61 (4) : 477-487.
- [28] LIN A L, LI X X, ZHAO X C, et al. Analysis of the mitochondrial genome of *Attagenus unicolor japonicus* (Coleoptera: Dermestidae) and a phylogenetic analysis of Dermestidae [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2018, 61 (4) : 477-487. (in Chinese)
- [29] SONG N, ZHANG H, ZHAO T. Insights into the phylogeny of Hemiptera from increased mitogenomic taxon sampling [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2019, 137: 236-249.
- [30] SONG N, ZHAI Q, ZHANG Y L. Higher-level phylogenetic relationships of rove beetles (Coleoptera, Staphylinidae) inferred from mitochondrial genome sequences [J]. *Mitochondrial DNA Part A*, 2021, 32 (3) : 98-105.
- [31] 林兴雨, 翟卿, 宋南, 等. 锯谷盗线粒体基因组及扁甲总科系统发育分析 [J]. *河南农业大学学报*, 2023, 57 (1) : 109-117.
- [32] LIN X Y, ZHAI Q, SONG N, et al. The mitochondrial genome of *Oryzaephilus surinamensis* and a phylogenetic analysis of cucujoidea [J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2023, 57 (1) : 109-117. (in Chinese)

(责任编辑：林海清)