



· 综述 ·

轮虫线粒体基因组研究进展

何润泽¹, 周利民¹, 高炳淼^{2*}, 程双怀^{1*}

(1. 海南医学院, 科学实验中心, 海南 海口 571199;

2. 海南医学院, 药学院, 海南 海口 571199)

摘要: 为了解轮虫线粒体基因组研究现状和存在的问题, 通过对轮虫线粒体基因组研究相关文献的搜索、收集、阅读和归纳总结, 通过对轮虫线粒体基因组序列进行分析和统计, 提出轮虫线粒体基因组研究发展趋势及应用。随着分子生物学技术特别是测序技术的发展, 轮虫线粒体基因组序列测定相关研究也逐步开展起来。目前已经报道的轮虫线粒体全序列有 12 个记录, 共 6 种物种, 主要集中于蛭态轮虫和臂尾轮属轮虫, 蛭态轮虫线粒体基因组含 1 条环形染色体, 臂尾轮属轮虫含两条环形染色体。所有轮虫线粒体基因组均含有基本的 13 个线粒体蛋白质编码基因, 2 个 rRNA 编码基因, 22 个 tRNA 编码基因 (18~32 个)。另外, 少数轮虫如蓼花臂尾轮虫含有额外的 *cytb* 基因拷贝。由于轮形动物中的轮虫体型微小, 克隆培养困难, 研究人员相对较少, 轮虫线粒体基因组测序有待进一步深入。线粒体基因组研究中获得的序列可以用于轮虫系统发生关系研究、轮虫线粒体基因组比较学研究、轮虫隐种研究、轮虫分子鉴定研究、轮虫地理谱系学研究。

关键词: 轮虫; 线粒体基因组; 序列测定

中图分类号: Q 179.1; S 963.21⁴

文献标志码: A

轮虫 (Rotifera) 是一类营浮游、底栖或周丛生活的小型水生无脊椎动物, 是浮游动物中的一个重要类群, 大约包含 2 000 种。由于其前端的活动纤毛 (微小的毛发状结构) 的圆形排列类似于一个旋转的轮子, 故命名轮虫。轮虫在水生态系统物质循环与能量流动过程中扮演着重要角色。轮虫是鱼虾蟹幼体良好的开口饵料, 在鱼虾蟹的养殖过程中起重要的作用^[1]。轮虫也是重要的环境监测生物种类, 一些轮虫在富营养化程度较高的水环境中为优势种^[2]。轮虫还是生态学^[3]和生态毒理学^[4]模式受试物种, 由于其具有世代周期短、繁殖快、培养条件简单等优势在上述研究中发挥

重要作用。轮虫在所有陆地淡水中很常见, 一些则出现在盐水或微咸水中, 也有一些物种则生活在潮湿的苔藓或地衣中。大多数轮虫只有 0.1~0.5 mm 长, 以个体形式、营自由生活; 有些营寄生生活, 少数物种形成群体。身体有球形、扁平、袋状或蠕虫状。体壁由一层薄薄的角质层组成。位于前端的纤毛簇构成冠, 用于摄食和运动。从冠状纤毛产生的水流中捕获或过滤小生物体作为食物, 也吃大型生物, 如其他轮虫、甲壳动物和藻类。通常有口腔和消化道。肌肉发达的咽部或乳突, 包含着坚硬而微小的下颚。每个物种的成员都由精确数量的细胞组成。轮虫的基本生活方

收稿日期: 2023-04-24 修回日期: 2023-07-11

资助项目: 海南省自然科学基金 (821RC568); 海南医学院人才引进科研启动基金 (XRC190013)

第一作者: 何润泽, 从事分子系统学研究, E-mail: 1162641814@qq.com

通信作者: 高炳淼, 从事分子生物学研究, E-mail: gaobingmiao@qq.com;

程双怀 (照片), 从事分子系统学研究, E-mail: shuanghuai2018@hainmc.edu.cn



式有两类: 一类营浮游或兼性浮游生活, 另一类营底栖、附着或固着生活。不同物种的繁殖方式不同, 有些只能孤雌生殖, 有些可以无性繁殖和有性繁殖, 这取决于环境条件。雄性体型较小, 在许多物种中不常见^[5]。

线粒体 DNA 一般是共价闭合的环状双链。多细胞动物的线粒体基因组存在结构一致的特点, 大小约为 16 kb; 基因排列紧密, 所有基因均不含内含子; 有基因重叠现象, 没有或有很少基因间隔区; 无重复序列, 无不等交换、基因重组、倒位和易位等畸变。除 1~2 kb 的非编码调控区外, 整个基因组都是编码的, 基因、转录物和产物是完全的共线性关系; 在基因排列顺序上也较少变化。整个线粒体基因组含有 37 个基因 (13 个编码蛋白质基因, 2 个 rRNA 基因——12S *rRNA* 基因和 16S *rRNA* 基因, 22 个 tRNA 基因), 13 个蛋白基因中有 1 个是细胞色素 b 基因, 2 个是 ATP 酶基因, 3 个是细胞色素氧化酶基因, 还有 7 个呼吸链 NADH 脱氢酶亚基的基因。tRNA 基因多数分布在靠近蛋白质基因以及 rRNA 基因之间, 在 tRNA^{Pro} 和 tRNA^{Phe} 间存在特殊的 D-loop 结构, 是复制所不可缺少的, 并与转录起始相关^[6]。过去十几年的研究中, 已经发现很多不同于典型线粒体基因结构, 有的线粒体基因组具有多个染色体, 如中生动物 (mesozoa)^[7]、线虫 (nematodes)^[8]、轮虫 (rotifers)^[9] 和寄生的虱子 (parasitic lice)^[10] 等。多部线粒体基因组染色体数目从 2 条 [褶皱臂尾轮虫 (*Brachionus plicatilis*)^[9]] 到 20 条 [人虱 (*Pediculus humanus*)^[10]], 每个染色体都有一个编码区和一个非编码区。在极端的情况下, 如人虱一个染色体只含有一个单一的 tRNA 基因^[10]。多部线粒体基因组中, 各染色体之间非编码区的序列或非编码区中的片段高度保守, 表明非编码区具有重要功能, 可能在基因组复制和基因转录中起控制作用^[7, 9-10]。在多数线粒体基因组不同染色体有不同的丰度^[9]; 此外, 一个多部线粒体基因组的染色体, 其相对丰度在不同的发展阶段有变化^[11]。多部线粒体基因组并不仅仅出现于两侧对称动物, 在植物^[12]、真菌^[13]、腔肠动物^[14]、原生生物的很多谱系中如藻类^[15]、纤毛虫^[16]、鞭毛虫^[17] 和中生黏菌虫^[18] 也有发现。

1 研究方法

收集轮虫线粒体基因组研究相关文献, 并对

文献数据进行整理归纳。利用生物信息学相关软件对轮虫线粒体基因组序列进行分析, 包括对未注释序列注释; 基因组大小统计; 线粒体基因组碱基含量统计; 蛋白编码基因的起始密码子和终止密码子、蛋白编码基因的长度、蛋白基因的密码子偏好性统计分析; rRNA 编码基因的长度统计; tRNA 编码基因的长度统计等。

2 轮虫线粒体相关序列研究

轮虫线粒体 DNA 相关研究起始于 1989 年, King^[19] 提取分离了褶皱臂尾轮虫的线粒体基因组 DNA, 并绘制了限制性内切酶酶切图谱。随后, 轮虫线粒体基因组的相关基因逐步被应用到轮虫种间区分^[20-21]、隐种复合种研究^[22]、种间系统发生关系研究^[23-27]、轮虫地理谱系学研究^[28] 和轮虫与其他物种 (如棘头动物) 的系统发生关系研究^[29]。

3 轮虫线粒体全序列的测定

2008 年 Suga 等^[9] 测定了褶皱臂尾轮虫 (*B. plicatilis sensu strictu* NH1L) 的线粒体全序列, 发现其线粒体 DNA 由 mtDNA-I (11 153 bp) 和 mtDNA-II (12 672 bp) 2 个环形染色体组成, mtDNA-I 的数目是 mtDNA-II 的 4 倍, 二者唯一相似的区域达 4.9 kbp, 相似率为 99.5%, 包括一个 tRNA 基因和含有 D-loop 和控制序列的非编码区。mtDNA-I 编码 4 种蛋白 (atp6、cytb、ND1 和 ND2)、13 种 tRNA 基因、16S *rRNA* 基因和 12S *rRNA* 基因。mtDNA-II 编码 8 种蛋白 (CO1-3、ND3-6、ND4L) 和 9 种 tRNA 基因。基因排列顺序与已测序物种的亲缘关系最近的物种——*Leptorhynchoides thecatus* (棘头动物) 不一致。Suga 等^[9] 认为褶皱臂尾轮虫 mtDNA 的这些特点可能有助于更好地理解原动物线粒体进化和轮虫的系统发生关系。随后, 蛭态纲 (Bdelloidea) 转轮虫 (*Rotaria rotatoria*)^[30] 和旋轮虫 (*Philodina citrina*)^[31] 线粒体全序列也被测定, 它们的线粒体基因组只有 1 个 DNA 环, 轮形动物 (Syndermata) 中的棘头动物 mtDNA 基因组也仅有 1 条染色体。本实验室已测定臂尾轮属 6 种轮虫线粒体全序列: 红臂尾轮虫 (*B. rubens*)^[32]、方形臂尾轮虫 (*B. quadridentatus*)^[33]、剪形臂尾轮虫 (*B. forficula*)^[33]、镰形臂尾轮虫 (*B. falcatus*)^[34]、裂足臂尾轮虫 (*B. diversicornis*)^[34] 和矩形臂尾轮虫 (*B. leydigti*)^[35] 线粒体全序列, 发现它

们是 2 个环形染色体组成, 编码 12 种蛋白、12S *rRNA* 基因、16S *rRNA* 基因和 22 种 tRNA 基因, 并且每个环都具有较长非编码区, 物种内两环非编码区相似性很高, 达 90% 以上。目前, 已经报道的轮虫线粒体基因组序列有 12 条, 其中蛭态纲轮虫 2 种, 旋轮虫和转轮虫, 臂尾轮属轮虫 10 条, 褶皱臂尾轮虫^[9]、褶皱臂尾轮虫 (*B. koreanus*)^[36]、萼花臂尾轮虫 (*B. calyciflorus*, 中国)^[37]、褶皱臂尾轮虫 (*B. rotundiformis*)^[38]、萼花臂尾轮虫 (德国)^[39]、萼花臂尾轮虫 (美国)^[39]、红臂尾轮虫 (日本)^[40]、褶皱臂尾轮虫 (*B. paranguensis*)^[41]、红臂尾轮虫 (中国)^[42]、角突臂尾轮虫 (*B. angularis*)^[43] (表 1)。

4 轮虫线粒体基因组测定方法

目前, 测定方法主要有两种: 1、利用引物

表 1 轮虫线粒体基因组已报道物种

Tab. 1 The mitochondrial genome reported species of rotifer

序号 no.	物种 specie	序列号 GenBank accession
1	红臂尾轮虫 <i>B. rubens</i> China	KJ489417 KJ489418
2	红臂尾轮虫 <i>B. rubens</i> Japan	MN256531 MN256532
3	角突臂尾轮虫 <i>B. angularis</i>	MT875425 MT875426
4	萼花臂尾轮虫 <i>B. calyciflorus</i> 1China	KX822781 KX822782
5	萼花臂尾轮虫 <i>B. calyciflorus</i> 2 Germany	MZ706949 MZ706950
6	萼花臂尾轮虫 <i>B. calyciflorus</i> 3 USA	MZ706951 MZ706952
7	褶皱臂尾轮虫 <i>B. plicatilis</i>	AP009407 AP009408
8	褶皱臂尾轮虫 <i>B. koreanus</i>	KC603850 KC603851
9	褶皱臂尾轮虫 <i>B. paranguensis</i>	MN755861 MN755862
10	褶皱臂尾轮虫 <i>B. rotundiformis</i>	KX364936 KX364937
11	旋轮虫 <i>P. citrina</i>	FR856884
12	转轮虫 <i>R. rotatoria</i>	GQ304898

注: 表中物种序号下同。

Notes: Species serial number in the table same as below.

PCR 扩增获得片段进行测序, 利用测序结果片段之间的重叠区进行拼接, 获得全长序列; 2、利用全基因组建立基因组文库, 高通量测序, 测序结果依据参考序列进行拼接分析获得全长序列。

5 轮虫线粒体基因组比较分析

5.1 线粒体基因组大小

轮虫线粒体基因组大小为 14 003~38 136 bp, 平均长度为 25 630 bp。单环染色体组成的线粒体基因组较小, 双环染色体组成的线粒体基因组较大。其中, 旋轮虫线粒体基因组最小 (14 003 bp), 而萼花臂尾轮虫 (美国) 最大 (38 136 bp)(表 2)。

表 2 轮虫线粒体基因组长度和各碱基含量

Tab. 2 The length and base content of the mitochondrial genome of rotifers

序号 no.	A 含量/% A content	T 含量/% T content	C 含量/% C content	G 含量/% G content	总长/bp length
1	43.54	13.93	26.78	15.75	24218
2	40.56	16.36	26.98	16.10	25836
3	41.26	17.02	25.02	16.70	23002
4	37.49	16.34	31.45	14.72	37589
5	37.10	16.03	32.18	14.69	36824
6	37.43	16.30	31.42	14.85	38136
7	35.61	20.32	27.74	16.32	23825
8	39.71	16.33	28.30	15.66	22342
9	37.43	18.01	29.78	14.77	24504
10	40.02	15.73	28.97	15.28	21970
11	46.33	7.36	31.36	14.95	14003
12	43.68	9.52	29.45	17.35	15319

5.2 线粒体基因组碱基含量

轮虫线粒体基因组中, 碱基 A 的含量较高 (35.6%~46.33%), C 的含量次之 (22.46%~32.18%), G 含量第三 (14.69%~29.61%), T 含量最少 (7.36%~20.32%)。线粒体基因组中 A 含量最高的是蛭态类轮虫旋轮虫 (46.33%), 最低的是臂尾轮属轮虫 (*B. plicatilis*)(35.6%); 线粒体基因组中 C 含量最高的是德国的萼花臂尾轮虫 (32.18%), 最低的是角突臂尾轮虫 (25.02%); 线粒体基因组中 G 含量最高的是转轮虫 (17.35%), 最低的是德国的萼花臂尾轮虫 (14.69%); 线粒体基因组中 T 的含量最高的是褶皱臂尾轮虫 (*B. plicatilis*)(20.32%), 最低的是蛭态轮虫旋轮虫 (7.36%)(表 2)。

5.3 蛋白编码基因的起始密码子和终止密码子

已测轮形动物线粒体蛋白编码基因起始密码子主要是 ATG (97 个), 其次 GTG (11 个)、ATT (10 个)、ATA (25 个), 另外 TTG (2 个)、TGT (1 个); 终止密码子主要是 TAA (86 个), 其次 TAG (36 个)、T** (22 个), 另外 TA* (2 个)(表 3)。

5.4 蛋白编码基因的长度

CO1 最长为 1 551 bp, 最短为 1 542 bp, 平均为 1 549.5 bp, CO2 最长为 696 bp, 最短为 462 bp, 平均为 654.2 bp, CO3 最长为 786 bp, 最短为 765 bp, 平均为 774.4 bp, ND1 最长为 945 bp, 最短为 855 bp, 平均为 895.3 bp, ND2 最长为 894 bp, 最短为 798 bp, 平均为 875.5 bp, ND3 最长为 432 bp, 最短为 333 bp, 平均为 357.3 bp, ND4 最长为 1 302 bp, 最短为 1 164 bp, 平均为 1 275.1 bp, ND4L 最长为 273 bp, 最短为 270 bp, 平均为 271.3 bp, ND5 最长为 1 791 bp, 最短为 1 545 bp, 平均为 1 651 bp, ND6 最长为 465 bp, 最短为 390 bp, 平均为 450.5 bp, *cytb* 最长为 1 200 bp, 最短为 1 083 bp, 平均为 1 135.6 bp, *atp6* 最长为 666 bp, 最短为 555 bp, 平均为 606.5 bp (表 4)。另外从表中可以看出, 有的蛋白编码基因长度在轮虫中变化不大, 如 CO1、CO3、ND4L 等基因; 有的蛋白编码基因长度在类群间变化较大, 如 CO2、ND2、ND4、ND6、*cytb* 在蛭态轮虫和臂尾轮属

轮虫之间长度差异明显 (表 4)。

5.5 蛋白基因的密码子偏好性

轮虫密码子偏好性呈现一定的一致性, 如萼花臂尾轮虫 (中国)、萼花臂尾轮虫 (德国)、萼花臂尾轮虫 (美国)、褶皱臂尾轮虫 (*B. plicatilis*)、褶皱臂尾轮虫 (*B. paranguensis*)、转轮虫、旋轮虫等偏好性最高的密码子是 AUA, 红臂尾轮虫 (中国)、红臂尾轮虫 (日本)、角突臂尾轮虫、褶皱臂尾轮虫 (*B. koreanus*) 和褶皱臂尾轮虫 (*B. rotundiformis*) 等偏好性最高的密码子是 UCU(表 5)。

5.6 rRNA 编码基因

和其他后生动物一样, 轮虫有 2 个 *rRNA* 编码基因, 12S *rRNA* 和 16S *rRNA*。16S *rRNA* 最长为萼花臂尾轮虫 (美国)(1 365 bp), 最短为旋轮虫 (477 bp), 12S *rRNA* 最长为红臂尾轮虫 (日本) 和褶皱臂尾轮虫 (*B. paranguensis*)(725 bp), 最短为转轮虫 (521 bp)(表 6)。T 碱基普遍含量较高, 16S *rRNA* (36.68%~42.79%), 12S *rRNA* (34.36%~40.28%); A 碱基普遍含量也较高, 16S *rRNA* (28.65%~37.95%), 12S *rRNA* (29.79%~39.35%); G 碱基普遍含量较低, 16S *rRNA* (11.79%~16.64%), 12S *rRNA* (13.61%~19.44%); C 碱基普遍含量也较低, 16S *rRNA* (7.97%~14.27%), 12S *rRNA* (6.72%~14.66%)。蛭态轮虫的 12S *rRNA* 和 16S *rRNA* 的 C 碱基含量较

表 3 轮虫线粒体基因组各基因起始和终止密码子

Tab. 3 The starting and ending codons of various genes in the mitochondrial genome of rotifers

序号 no.	CO1	CO2	CO3	ND1	ND2	ND3	ND4	ND4L	ND5	ND6	<i>cytb</i>	<i>atp6</i>	<i>cytb2</i>
	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop	起始终止 start stop
1	ATGTAA	ATT TAA	ATGTAA	ATGTAG	ATGTAA	ATGTAG	ATATAG	ATGTAA	ATG T**	ATGTAA	ATGTAG	ATGTAG	
2	ATGTAG	ATT TAA	TTGTAA	ATT TAG	ATGTAA	ATGTAG	ATGTAG	ATGTAG	ATG T**	ATGTAA	ATG T**	ATGTAA	
3	GTGTAG	GTGTAA	ATGTAA	ATGTAA	ATGTAA	ATATAG	ATATAG	GTGTAG	GTG T**	ATGTAG	ATGTAG	ATGTAA	
4	ATGTAA	GTGTAA	ATATAA	ATG T**	ATGTAA	ATG T**	ATATAA	ATGTAA	ATG T**	ATGTAG	ATGTAA	ATGTAA	ATGTAA
5	ATGTAA	TTGTAA	ATATAA	ATGTAA	ATGTAA	ATGTAA	ATA T**	ATGTAA	ATG T**	ATGTAG	ATGTAG	ATGTAA	ATGTAG
6	ATGTAA	GTGTAA	ATATAA	ATGTAA	ATGTAA	ATGTAA	ATATAA	ATGTAA	ATGTAA	ATGTAG	ATGTAA	ATGTAA	
7	ATGTAA	ATGTAA	ATATAG	ATG T**	ATG TA*	GTG T**	ATATAA	ATGTAA	ATGTAA	ATGTAA	ATGTAA	ATG T**	
8	ATGTAG	ATGTAA	ATATAA	ATG T**	GTGTAA	ATGTAA	ATATAG	ATGTAA	ATATAA	ATGTAA	ATGTAA	ATG T**	
9	ATGTAA	TGTTAG	ATATAG	ATGTAG	ATATAA	ATGTAA	ATATAA	ATGTAA	ATATAA	ATATAG	ATGTAA	ATGTAG	
10	ATGTAA	ATGTAA	ATG TA*	ATG T**	ATG T**	ATG T**	ATATAG	ATGTAG	ATG T**	ATGTAA	ATGTAA	ATG T**	
11	ATT TAG	GTGTAA	ATATAA	ATATAA	GTG T**	ATGTAA	ATT TAA	ATGTAA	ATGTAA	ATT TAG	GTGTAA	ATATAG	
12	ATT TAA	ATG T**	ATATAA	ATT TAA	ATG T**	ATGTAA	ATATAA	ATGTAA	ATT TAA	ATT TAG	ATGTAA	ATGTAG	

表 4 轮虫线粒体基因组蛋白编码基因长度

Tab. 4 The length of genes encoding mitochondrial genome proteins in rotifers

序号 no.	基因长度/bp length of genes												
	<i>CO1</i>	<i>CO2</i>	<i>CO3</i>	<i>ND1</i>	<i>ND2</i>	<i>ND3</i>	<i>ND4</i>	<i>ND4L</i>	<i>ND5</i>	<i>ND6</i>	<i>cytb</i>	<i>atp6</i>	<i>cytb2</i>
1	1551	687	786	900	891	354	1302	270	1693	462	1200	612	
2	1551	687	783	894	891	354	1302	270	1693	462	1138	612	
3	1551	693	777	903	891	351	1299	270	1693	465	1140	612	
4	1551	696	765	898	891	352	1302	270	1693	462	1140	612	1140
5	1551	696	765	900	891	354	1300	270	1693	462	1140	612	1149
6	1551	696	765	900	891	354	1260	270	1695	462	1143	612	
7	1551	693	777	898	890	352	1302	273	1569	462	1140	610	
8	1551	693	777	898	891	367	1302	273	1569	462	1140	610	
9	1551	692	786	945	894	432	1302	273	1791	465	1140	666	
10	1551	693	776	898	889	352	1302	270	1633	462	1140	610	
11	1542	462	768	855	798	333	1164	273	1545	390	1083	555	
12	1542	462	768	855	798	333	1164	273	1545	390	1083	555	

表 5 轮虫线粒体蛋白编码基因的密码子偏好性

Tab. 5 The codon preference of mitochondrial protein coding genes in rotifers

氨基酸 amino acid	密码子 codon	物种序号 no. of species											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
*	UAA	1.0909	1.0000	0.9091	1.8000	1.4545	1.8182	1.7500	1.5556	0.9744	1.3333	1.4545	1.6000
*	UAG	0.9091	1.0000	1.0909	0.2000	0.5455	0.1818	0.2500	0.4444	1.0256	0.6667	0.5455	0.4000
A	GCA	0.3796	0.4857	0.2466	1.4722	1.4571	1.3592	0.8116	0.7874	1.0079	1.0476	0.9167	0.8163
A	GCC	0.1460	0.3429	0.4384	0.3333	0.4000	0.3495	0.9855	0.4409	0.7244	0.3175	0.0833	0.2449
A	GCG	0.1168	0.1143	0.1370	0.0278	0	0.0388	0.4058	0.1260	0.0630	0.1905	0.3750	0.4490
A	GCU	3.3577	3.0571	3.1781	2.1667	2.1429	2.2524	1.7971	2.6457	2.2047	2.4444	2.6250	2.4898
C	UGC	0.0625	0.4848	0.4000	0.1935	0.1176	0.3704	0.5000	0.1333	0.5294	0.4667	0.2759	0.1176
C	UGU	1.9375	1.5152	1.6000	1.8065	1.8824	1.6296	1.5000	1.8667	1.4706	1.5333	1.7241	1.8824
D	GAC	0.0323	0.4545	0.5079	0.3429	0.3380	0.3175	0.6984	0.4706	0.4918	0.3385	0.2090	0.2338
D	GAU	1.9677	1.5455	1.4921	1.6571	1.6620	1.6825	1.3016	1.5294	1.5082	1.6615	1.7910	1.7662
E	GAA	0.8254	0.8710	0.5806	1.2121	1.3846	1.1273	0.7619	0.7119	1.1379	0.9841	1.3250	1.1000
E	GAG	1.1746	1.1290	1.4194	0.7879	0.6154	0.8727	1.2381	1.2881	0.8621	1.0159	0.6750	0.9000
F	UUC	0.3641	0.6438	0.3505	0.5859	0.5879	0.4925	0.9655	0.6913	0.6425	0.5806	0.0417	0.2710
F	UUU	1.6359	1.3562	1.6495	1.4141	1.4121	1.5075	1.0345	1.3087	1.3575	1.4194	1.9583	1.7290
G	GGA	0.2065	0.2597	0.2876	0.9266	0.9480	0.8926	0.7342	0.8642	1.2245	1.1503	1.2761	1.2165
G	GGC	0.0258	0.2857	0.4706	0.1808	0.1850	0.2645	0.8354	0.3210	0.4082	0.2353	0.1963	0.3093
G	GGG	0.3613	0.5714	0.9673	0.2712	0.1387	0.2314	0.4557	0.3951	0.4626	0.4444	1.3006	1.3608
G	GGU	3.4065	2.8831	2.2745	2.6215	2.7283	2.6116	1.9747	2.4198	1.9048	2.1699	1.2270	1.1134
H	CAC	0.2308	0.3291	0.3014	0.4651	0.5227	0.4242	0.6316	0.3684	0.2368	0.4324	0.0800	0.0400
H	CAU	1.7692	1.6709	1.6986	1.5349	1.4773	1.5758	1.3684	1.6316	1.7632	1.5676	1.9200	1.9600
I	AUC	0.1230	0.3140	0.5462	0.3676	0.4161	0.3662	0.8340	0.5039	0.5985	0.4337	0.0645	0.1608
I	AUU	1.8770	1.6860	1.4538	1.6324	1.5839	1.6338	1.1660	1.4961	1.4015	1.5663	1.9355	1.8392

· 续表 5 ·

氨基酸 amino acid	密码子 codon	物种序号 no. of species											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
K	AAA	1.386 7	1.027 0	0.868 4	1.500 0	1.743 6	1.466 7	1.054 1	1.088 2	1.365 9	1.472 2	1.638 3	1.178 9
K	AAG	0.613 3	0.973 0	1.131 6	0.500 0	0.256 4	0.533 3	0.945 9	0.911 8	0.634 1	0.527 8	0.361 7	0.821 1
L	CUA	0.395 9	0.652 2	0.510 0	0.862 3	0.876 7	0.792 7	1.339 0	0.883 9	1.203 8	0.842 5	0.259 3	0.454 1
L	CUC	0.010 2	0.160 5	0.350 0	0.118 0	0.091 3	0.055	0.684 8	0.208 0	0.312 8	0.328 8	0.011 8	0.032 4
L	CUG	0.060 9	0.210 7	0.140 0	0.090 8	0.118 7	0.099 1	0.429 3	0.228 8	0.189 6	0.308 2	0.011 8	0.064 9
L	CUU	1.441 6	1.454 8	2.180 0	1.034 8	1.022 8	1.111 9	1.052 8	1.383 0	0.995 3	1.376 7	0.259 3	0.627 0
L	UUA	3.441 6	2.628 8	2.050 0	3.476 6	3.552 5	3.412 8	1.972 7	2.589 3	2.815 2	2.547 9	4.561 9	3.967 6
L	UUG	0.649 7	0.893 0	0.770 0	0.417 5	0.337 9	0.528 4	0.521 3	0.707 1	0.483 4	0.595 9	0.895 9	0.854 1
M	AUA	2.506 7	2.548 7	2.845 4	4.481 9	4.381 0	4.093 2	3.025 9	3.663 7	4.285 7	3.493 3	4.767 4	4.186 0
M	AUC	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M	AUG	3.466 7	3.371 7	3.030 9	1.494 0	1.595 2	1.881 4	2.948 3	2.309 7	1.714 3	2.506 7	1.093 0	1.720 9
M	AUU	0.026 7	0.053 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0.069 8	0.093 0
M	GUG	0	0	0.123 7	0.024 1	0	0.025 4	0.025 9	0.026 5	0	0	0.069 8	0
M	UUG	0	0.026 5	0	0	0.023 8	0	0	0	0	0	0	0
N	AAC	0.294 6	0.400 0	0.543 9	0.447 4	0.440 0	0.480 0	0.845 5	0.360 7	0.488 5	0.531 2	0.135 6	0.247 6
N	AAU	1.705 4	1.600 0	1.456 1	1.552 6	1.560 0	1.520 0	1.154 5	1.639 3	1.511 5	1.468 8	1.864 4	1.752 4
P	CCA	0.312 5	0.576 0	0.338 5	0.821 2	0.710 5	0.703 7	0.606 1	0.454 5	0.788 3	0.645 2	0.848 5	0.484 8
P	CCC	0.187 5	0.448 0	0.492 3	0.264 9	0.500 0	0.296 3	1.181 8	0.454 5	0.788 3	0.290 3	0.303 0	0.303 0
P	CCG	0.031 2	0.096 0	0.030 8	0.026 5	0	0.111 1	0.212 1	0.151 5	0.116 8	0.064 5	0.303 0	0.242 4
P	CCU	3.468 8	2.880 0	3.138 5	2.887 4	2.789 5	2.888 9	2.000 0	2.939 4	2.306 6	3.000 0	2.545 5	2.969 7
Q	CAA	1.650 0	1.750 0	1.230 8	1.739 1	1.826 1	1.707 3	1.487 2	1.238 1	1.609 8	1.238 1	1.483 9	1.294 1
Q	CAG	0.350 0	0.250 0	0.769 2	0.260 9	0.173 9	0.292 7	0.512 8	0.761 9	0.390 2	0.761 9	0.516 1	0.705 9
R	CGA	0.549 0	0.560 0	0.470 6	0.727 3	0.727 3	0.857 1	0.653 1	0.480 0	0.750 0	0.800 0	0.555 6	0.777 8
R	CGC	0.235 3	0.480 0	0.470 6	0.218 2	0.218 2	0.190 5	0.653 1	0.480 0	0.500 0	0.480 0	0.111 1	0.111 1
R	CGG	0	0	0	0	0	0.095 2	0	0	0	0	0	0.111 1
R	CGU	3.215 7	2.960 0	3.058 8	3.054 5	3.054 5	2.857 1	2.693 9	3.040 0	2.750 0	2.720 0	3.333 3	3.000 0
S	AGA	0.833 7	0.621 4	0.472 8	0.986 5	1.150 3	1.066 7	0.704 0	0.779 5	1.026 2	1.048 5	2.354 4	2.201 8
S	AGC	0.059 6	0.194 2	0.283 7	0.143 5	0.156 9	0.244 4	0.362 7	0.123 1	0.251 3	0.252 4	0.126 6	0.195 7
S	AGG	0.357 3	0.291 3	0.340 4	0.197 3	0.104 6	0.244 4	0.597 3	0.369 2	0.272 3	0.271 8	0.506 3	1.345 6
S	AGU	0.734 5	0.873 8	0.756 5	0.574 0	0.627 5	0.511 1	0.405 3	0.964 1	0.733 0	0.718 4	1.291 1	0.880 7
S	UCA	0.853 6	1.087 4	0.699 8	1.542 6	1.586 1	1.555 6	1.301 3	0.964 1	1.256 5	1.106 8	0.734 2	0.489 3
S	UCC	0.238 2	0.621 4	0.699 8	0.430 5	0.418 3	0.311 1	1.664	0.779 5	1.130 9	0.757 3	0	0.171 3
S	UCG	0.178 7	0.466 0	0.170 2	0.089 7	0.052 3	0.133 3	0.234 7	0.287 2	0.251 3	0.291 3	0.227 8	0.146 8
S	UCU	4.744 4	3.844 7	4.576 8	4.035 9	3.904 1	3.933 3	2.730 7	3.733 3	3.078 5	3.553 4	2.759 5	2.568 8
T	ACA	0.847 8	0.727 3	0.597 7	1.346 2	1.383 9	1.044 6	1.072 2	0.759 0	1.000 0	1.005 7	1.428 6	1.060 2
T	ACC	0.108 7	0.431 8	0.413 8	0.230 8	0.360 2	0.254 8	0.762 9	0.492 3	0.764 7	0.411 4	0.095 2	0
T	ACG	0.195 7	0.113 6	0.092 0	0.096 2	0.075 8	0.229 3	0.309 3	0.082 1	0.156 9	0.114 3	0.095 2	0.289 2
T	ACU	2.847 8	2.727 3	2.896 6	2.326 9	2.180 1	2.471 3	1.855 7	2.666 7	2.078 4	2.468 6	2.381 0	2.650 6
V	GUA	0.415 2	0.583 9	0.524 1	1.188 1	1.156 5	1.117 1	0.947 7	0.778 6	1.238 8	0.760 6	1.460 3	1.527 3
V	GUC	0.152 2	0.540 1	0.703 4	0.343 2	0.285 7	0.288 3	0.724 7	0.412 2	0.447 8	0.422 5	0.165 1	0.230 3
V	GUG	0.567 5	0.394 2	0.524 1	0.303 6	0.312 9	0.378 4	0.780 5	0.595 4	0.567 2	0.394 4	0.584 1	0.460 6
V	GUU	2.865 1	2.481 8	2.248 3	2.165 0	2.244 9	2.216 2	1.547 0	2.213 7	1.746 3	2.422 5	1.790 5	1.781 8

表 6 轮虫线粒体基因 *rRNA* 长度及碱基百分比

Tab. 6 The length and base percentage of mitochondrial gene *rRNA* gene in rotifers

物种序号 no. of species	16S <i>rRNA</i>					12S <i>rRNA</i>				
	T	C	A	G	长度/bp length	T	C	A	G	长度/bp length
1	41.94	10.75	33.06	14.25	1116	39.20	11.22	31.16	18.42	722
2	40.61	11.18	33.54	14.66	948	37.52	12.28	31.86	18.34	725
3	42.79	13.28	28.65	15.28	1145	39.16	11.61	29.79	19.44	715
4	39.42	12.15	36.19	12.24	1144	34.63	13.02	36.84	15.51	722
5	39.19	11.88	35.65	13.28	1355	34.68	13.23	36.77	15.32	718
6	39.49	12.31	36.41	11.79	1365	35.10	12.81	36.77	15.32	718
7	36.68	14.27	33.88	15.18	1107	34.36	14.66	32.68	18.30	716
8	39.91	12.76	32.85	14.48	1105	38.97	12.15	30.87	18.02	716
9	38.61	12.55	33.97	14.87	948	35.72	12.41	32.83	19.03	725
10	39.34	12.33	33.48	14.86	1144	37.86	11.79	31.35	19.00	721
11	40.25	7.97	37.95	13.84	477	40.28	7.22	38.89	13.61	720
12	40.26	8.51	34.59	16.64	529	38.96	6.72	39.35	14.97	521

其他轮虫明显偏低。

5.7 tRNA 基因

轮虫 tRNA 基因种类数目一般为 22 个，tRNA-Leu1、tRNA-Glu、tRNA-Ser 1、tRNA-His、tRNA-Thr、tRNA-Val、tRNA-Gly、tRNA-Trp、tRNA-Gln、tRNA-Asp、tRNA-Tyr、tRNA-Pro、tRNA-Met、tRNA-Arg、tRNA-Cys、tRNA-Ile、tRNA-Asn、tRNA-Ala、tRNA-Lys、tRNA-Leu 2、tRNA-Phe、tRNA-Ser 2。但也有轮虫的 tRNA 基因的种类数目为 18~32 个。轮虫 tRNA 基因长度为 29 ~ 104 bp，最短的为红臂尾轮虫(中国) tRNA-Ile，最长的为旋轮虫的 tRNA-Ser(表 7)。

5.8 非编码区

轮虫线粒体基因组含有较长的非编码区，一般单环染色体含有一个非编码区，双环染色体各含有一个非编码区。非编码区的功能可能与线粒体 DNA 复制与转录起始有关。

5.9 基因排列

蛭态类的 2 个轮虫蛋白编码基因和 rRNA 编码基因排列基本相似，但 tRNA 编码基因排列位置变化较大。蛋白编码基因和 rRNA 编码基因的位置在大部分臂尾轮虫中相对固定，但萼花臂尾轮虫与其他臂尾轮虫差异较大，tRNA 编码基因排列位置变化较大，甚至有的 tRNA 编码基因出现

在反义链上(图 1)。

6 轮虫线粒体序列应用

6.1 物种系统发生关系研究

运用线粒体序列进行轮虫系统发生关系的研究。Min 等^[30]用 11 种蛋白编码基因分析了褶皱臂尾轮虫、转轮虫和棘头动物的系统发生关系。Weber 等^[31]利用线粒体蛋白编码基因和贝叶斯方法与最大似然法(ML 树)重建方法分析了褶皱臂尾轮虫、蛭态轮虫和棘头动物的系统发生关系。Kim 等^[38]用 11 种线粒体基因序列和 ML 树重建的方法分析了 5 种轮虫的系统发生关系。Choi 等^[39]用 13 种基因的序列和 ML 树重建的方法分析了 7 种轮虫的系统发生关系。Choi 等^[40]用 *CO1* 和 *Cytb* 分析了 7 种轮虫的系统发生关系。Zhang 等^[42]用 12 个蛋白编码基因序列分析了 4 种棘头动物和 8 种轮虫的系统发生关系。Kim 等^[43]用 12 种线粒体蛋白的氨基酸序列分析了 8 种轮虫的系统发生关系。2022 年，Kiemel 等^[44]以转轮虫为外群，利用线粒体序列和 ML 树重建的方法分析了 11 种臂尾轮虫的系统发生关系。

6.2 物种鉴定

为了解形态可塑性和基因变异在轮虫的形态变化中的作用，2003 年，Derry 等^[20]研究了不同形态的龟甲轮虫(*Keratella*) *CO I* 基因序列，发现

表 7 轮虫线粒体基因 tRNA 基因长度

Tab. 7 The length of mitochondrial gene tRNA gene in rotifers

tRNA	物种序号 no. of species											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
tRNA-Leu	64	59	64	64	63	64	64	64	66	64	53	57
tRNA-Glu	65	64	65	65	65	65	64	63	65	65	64	59
tRNA-Ser	62	60	64	65		64	61	62	64	68	104	49
tRNA-His	63	63	62	63	62	63	62	62	63	63	52	54
tRNA-Thr	63	63	63	64	64	64	63	63	63	62	53	55
tRNA-Val	62	62	63	64	62	64	63	63	63	63		53
tRNA-Gly	68	68	69	68	68	68	69	68	70	68	54	57
tRNA-Trp	68	65	66	64	60	65	66	66	69	66	64	54
tRNA-Gln	64	64	64		60	60	64	64	66	64	57	55
tRNA-Asp	65	64	63		34	64	65	63	66	65	54	51
tRNA-Tyr	62	62	61	63	63	62	62	64	64	64		64
tRNA-Pro	66	66	65	67	67	67	66	65	66	65	54	53
tRNA-Met	65	65	66	66	66	66	64	65	64	65	55	61
tRNA-Arg	67	67	67	67	60	67	67	67	68	67		47
tRNA-Cys	65	62	61	61	54	56	61	62	51	62	68	
tRNA-Ile	29	64	65	65	66	65	65	65	53	65	72	65
tRNA-Asn	64	56	63	64	64		65	63	67	63	56	53
tRNA-Ala	63	58	64	62	64	54	65	64	64	63	79	58
tRNA-Lys	65	63	65	67		63	64	64	68	64	63	52
tRNA-Leu	64	64	64	64	78	78	64	64	65	64		56
tRNA-Phe	64	57	66	64	65	64	64	65	62	66	60	57
tRNA-Ser	67		58		58		67	67	65	68	66	57
tRNA-Ile2		65							67			
tRNA-Asn2		65		64								
tRNA-Ala2		63				63						
tRNA-Leu3		64		64					66			
tRNA-Phe2		64			64	65			64			
tRNA-His2		63							71			
tRNA-Gln2		61										
tRNA-Val2		65			69				74			
tRNA-Glu2				65	67							
tRNA-Gly2					63				62			
tRNA-Trp2					64							
tRNA-Met2					63	63						
tRNA-Cys2					50	50			63			
tRNA-Thr2					56				64			
tRNA-Tyr2					65							
tRNA-Lys2						63						
tRNA-Ile3									58			
tRNA-Ser3									63			
平均长度 average length	62.95	62.96	64.00	64.55	62.20	63.58	64.32	64.23	64.50	64.73	62.67	55.57
总个数 total no.	22	29	22	22	29	25	22	22	32	22	18	21

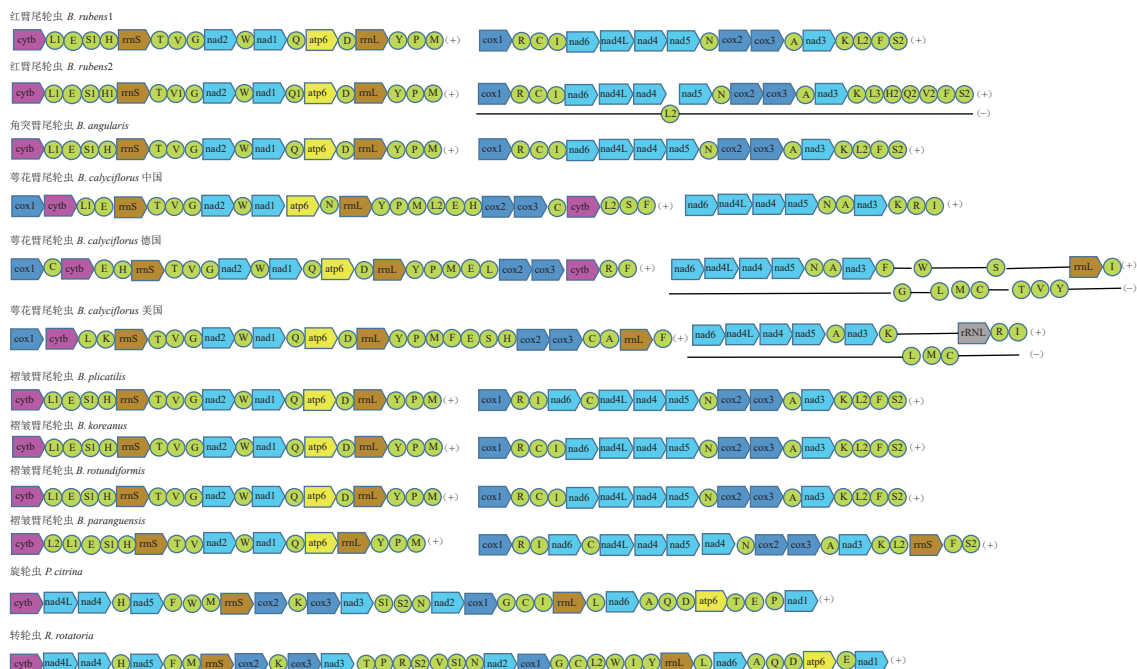


图 1 轮虫线粒体基因组基因排列顺序

Fig. 1 The gene arrangement order of the mitochondrial genome of rotifers

有棘刺和无棘刺的螺形龟甲轮虫 (*Keratella cochlearis*) 遗传变异较大, 核酸序列的差异达到 4.4%, 暗示它们是不同的种。程双怀等^[45-48] 分别利用 16S *rDNA*、12S *rDNA*、*ND5* 和 *ND4* 对臂尾轮虫属轮虫进行分子鉴定且该方法获得中国专利局授权。

6.3 轮虫隐种研究

Derry 等^[20]检测了有棘刺和无棘刺的螺形龟甲轮虫的 *CO I* 基因序列, *CO I* 基因序列的差异达到 4.4%, 因此, 该研究认为螺形龟甲轮虫也是含隐种的复合种。Berrieman 等^[22]利用线粒体 *CO I* 序列限制性酶切片段长度多态性 (RFLP) 技术设计了一种快速分辨褶皱臂尾轮虫不同姐妹种的方法, Papakostas 等^[23]也用相同的方法研究了褶皱臂尾轮虫复合种, 建立了所有典型的臂尾轮虫 *CO I* 序列限制性酶切图谱。*B. plicatilis sensu lato* (褶皱臂尾轮虫复合体) 是一个隐种复合体, 包含未知数目的种。2006 年, Suatoni 等^[49]通过比较褶皱臂尾轮虫的生殖数据 (传统的生物学种的概念划分依据) 和系统发生数据 (谱系种的概念划分依据), 研究了这两种分歧的种划分依据的异同。基于高度的分子序列变异和 *CO I* 与 *ITS1* 遗传模式很大程度上的协调, 谱系种的假说暗示至少有 14 个种存在。Papakostas 等^[23]对其实验室培养的 11 个褶皱臂尾轮虫 (strain/clone) *CO I* 基因序列进行测序, 并将测序结果与 Genbank 的褶皱臂尾轮

虫 52 个 *CO I* 基因序列放在一起以蓼花臂尾轮虫、壶状臂尾轮虫、方形臂尾轮虫为外群进行系统分析, NJ 树的建立表明 63 个褶皱臂尾轮虫样本形成 14 个明显的单系。Gilbert 等^[50] 检测了蓼花臂尾轮虫 4 个地理品系的遗传相似性和交配能力。线粒体 *CO I* (694 bp) 和核糖体 rDNA 基因间隔序列 *ITS* (735 bp) 显示 Florida 和 Georgia 品系十分相似, 1 429 bp 的序列中仅有 0.3% 的差异。它们与另外 2 种品系 (Texas 和 Australia) 不同, 1 429 bp 的序列中分别有 7% 和 9% 的差异。和遗传关系一致, 交配仅产生于 Florida 和 Georgia 品系之间。因此, 研究认为蓼花臂尾轮虫是一种含隐种的复合种。Xiang 等^[28] 利用线粒体 *CO I* 对中国东部地区的蓼花臂尾轮虫地理谱系学进行了研究, 同样表明蓼花臂尾轮虫包含隐种。

6.4 轮虫地理谱系学研究

早在 1989 年, King^[19] 就将核酸 RFLP 技术研究引入到轮虫遗传多样性研究中来, 他分离提取了 4 个地理品系褶皱臂尾轮虫克隆的线粒体 DNA, 并用 5 种限制性核酸内切酶进行消化, 发现不同克隆间产生的酶切图谱具有多态性, 认为这种方法可以用于轮虫系统地理学和种群遗传多样性研究。Papakostas 等^[51] 同样通过 RFLP 技术, 基于线粒体 16S *rDNA* 序列对褶皱臂尾轮虫谱系进行分析, 展示了其极大的鉴别能力 (100% 成功)。Gómez

等^[52]利用 mtDNA 的 *CO I* 序列对西班牙伊比利亚半岛褶皱臂尾轮虫的分子系统地理学进行了研究, 发现它们之间存在着明显的系统地理分化, 大部分单倍型只在一个湖泊中发现, 种群间基因流很低, 且存在长距离的建群效应, 这与传统的生物地理学研究结果有明显的差别。鲍蕾^[53]利用线粒体的部分 *CO I* 基因序列和核糖体的 *ITS 1* 序列对武汉东湖、汉口莲花湖、北京积水潭、江西以及昆明翠湖的方形臂尾轮虫种群遗传结构进行了研究, 表明由于其营周期性孤雌生殖、附着生活方式以及克隆选择的不稳定性, 使得在同一水域中有大量不同的克隆存在, 主要是因为轮虫具有较强的长距离扩散能力和建群能力; 方形臂尾不同单倍型的分布具有一定的地域特征。董云伟^[54]利用通用引物扩增了中国江汉湖群部分湖泊蓼花臂尾轮虫 43 个克隆的 *CO I* 序列, 发现 *CO I* 单倍型的分布有一定的地域特征, 各湖泊之间没有出现共有的单倍型; 在东湖、海子湖、保安湖、南湖、积水潭等湖泊中同时存在几种单倍型。除东湖种群以外, 其他各湖泊分布的单倍型都在分子系统树上形成相对独立的进化枝, 表明建群效应对种群分子系统地理格局形成的影响。

7 展望

轮虫线粒体基因组测定及分析工作刚刚起步, 所测定的线粒体基因组数量有限, 主要由于轮虫个体微小, 单克隆培养条件摸索困难, 难以在较短时间内获得较纯基因组 DNA。另外, 研究人员少, 投入少也限制了轮虫线粒体基因组测定的产出。目前主要测定物种集中于臂尾轮科和蛭态轮虫。目前主要测定物种均为植食性轮虫, 肉食性轮虫亟须测定。随着研究的深入, 将会有更多的轮虫线粒体基因组被测定和分析, 测序结果有助于轮虫的分类、系统发生关系研究、轮虫的物种鉴定及其隐种研究、轮虫的线粒体基因组比较学和轮虫地理谱系学研究。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 刘汝莲. 鱼苗池中的“天饵”——轮虫 [J]. 养殖与饲料, 2018(2): 29-31.
- Liu R L. The "natural bait" in fish seedling ponds - rotifers[J]. Animals Breeding and Feed, 2018(2): 29-31 (in Chinese).

- [2] 李典宝, 程冰冰. 珠江河口区某景观水体轮虫群落演替及水质评价 [J]. 人民珠江, 2018, 39(7): 17-21.
- Li D B, Cheng B B. Rotifer community succession and water quality evaluation in a landscape water of Pearl River estuary[J]. *Pearl River*, 2018, 39(7): 17-21 (in Chinese).
- [3] Rahman A R A, Cob Z C, Jamari Z, et al. The effects of microalgae as live food for *Brachionus plicatilis* (rotifer) in intensive culture system[J]. *Tropical Life Sciences Research*, 2018, 29(1): 127-138.
- [4] 沙婧婧, 戴媛媛, 潘玉龙, 等. 轮虫在生态毒理学中的研究进展 [J]. 生态毒理学报, 2018, 13(3): 56-70.
- Sha J J, Dai Y Y, Pan Y L, et al. Research progress in using rotifers in ecotoxicological studies[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2018, 13(3): 56-70 (in Chinese).
- [5] 王家楫. 中国淡水轮虫志 [M]. 北京: 科学出版社, 1961.
- Wang J J. Freshwater Rotifera of China[M]. Beijing: Science Press, 1961 (in Chinese).
- [6] Boore J L. Animal mitochondrial genomes[J]. *Nucleic Acids Research*, 1999, 27(8): 1767-1780.
- [7] Watanabe K I, Bessho Y, Kawasaki M, et al. Mitochondrial genes are found on minicircle DNA molecules in the mesozoan animal *Dicyema*[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1999, 286(3): 645-650.
- [8] Armstrong M R, Blok V C, Phillips M S. A multipartite mitochondrial genome in the potato cyst nematode *Globodera pallida*[J]. *Genetics*, 2000, 154(1): 181-192.
- [9] Suga K, Mark Welch D B, Tanaka Y, et al. Two circular chromosomes of unequal copy number make up the mitochondrial genome of the rotifer *Brachionus plicatilis*[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2008, 25(6): 1129-1137.
- [10] Shao R F, 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*[J]. *Genome Research*, 2009, 19(5): 904-912.
- [11] Awata H, Noto T, Endoh H. Differentiation of somatic mitochondria and the structural changes in mtDNA during development of the dicyemid *Dicyema japonicum* (Mesozoa)[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2005, 273(6): 441-449.
- [12] Sugiyama Y, Watase Y, Nagase M, et al. The complete nucleotide sequence and multipartite organization of the tobacco mitochondrial genome: comparative analysis of

- mitochondrial genomes in higher plants[J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2005, 272(6): 603-615.
- [13] Burger G, Lang B F. Parallels in genome evolution in mitochondria and bacterial symbionts[J]. *IUBMB Life*, 2003, 55(4-5): 205-212.
- [14] Voigt O, Erpenbeck D, Wörheide G. A fragmented metazoan organellar genome: the two mitochondrial chromosomes of *Hydra magnipapillata*[J]. *BMC Genomics*, 2008, 9: 350.
- [15] Fan J S, Lee R W. Mitochondrial genome of the colorless green alga *Polytomella parva*: two linear DNA molecules with homologous inverted repeat termini[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2002, 19(7): 999-1007.
- [16] Nosek J, Tomáška L, Fukuhara H, *et al.* Linear mitochondrial genomes: 30 years down the line[J]. *Trends in Genetics*, 1998, 14(5): 184-188.
- [17] Marande W, Lukeš J, Burger G. Unique mitochondrial genome structure in diplomids, the sister group of kinetoplastids[J]. *Eukaryotic Cell*, 2005, 4(6): 1137-1146.
- [18] Burger G, Forget L, Zhu Y, *et al.* Unique mitochondrial genome architecture in unicellular relatives of animals[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States Of America*, 2003, 100(3): 892-897.
- [19] King C E. Molecular genetics of rotifers: preliminary restriction mapping of the mitochondrial genome of *Brachionus plicatilis*[M]//Ricci C, Snell T W, King C E. Rotifer Symposium V. Dordrecht: Springer, 1989: 375-380.
- [20] Derry A M, Hebert P D N, Prepas E E. Evolution of rotifers in saline and subsaline lakes: a molecular phylogenetic approach[J]. *Limnology and Oceanography*, 2003, 48(2): 675-685.
- [21] Dooms S, Dierkens K, Delbare D *et al.* Genetic characterisation of *Brachionus sp.* clones using the 16S *rDNA* markers with the SSCP technique and sequencing[J]. *Rotifera X* (June 2003, Illmitz, Austria), 2003: 7-13.
- [22] Berrieman H K, Lunt D H, Gómez A. Behavioural reproductive isolation in a rotifer hybrid zone[J]. *Hydrobiologia*, 2005, 546(1): 125-134.
- [23] Papakostas S, Dooms S, Christodoulou M, *et al.* Identification of cultured *Brachionus* rotifers based on RFLP and SSCP screening[J]. *Marine Biotechnology*, 2006, 8(5): 547-559.
- [24] 程双怀, 席貽龙, 项贤领, 等. 基于线粒体 *CO I* 基因序列探讨臂尾轮属的系统发生和几种轮虫的分类地位[J]. *动物分类学报*, 2007, 32(2): 328-334.
- Cheng S H, Xi Y L, Xiang X L, *et al.* Phylogenetic relationships within *Brachionus* and taxonomical status of several rotifer species based on analyses of the mitochondrial *CO I* gene[J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2007, 32(2): 328-334 (in Chinese).
- [25] 程双怀, 席貽龙. 基于 16S rDNA 序列探讨十种臂尾轮虫的系统关系和分类地位[J]. *动物分类学报*, 2009, 34(4): 934-940.
- Cheng S H, Xi Y L. Phylogenetic relationship and taxonomic status of ten *Brachionus* species (Rotifera) inferred from 16S rDNA sequence[J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2009, 34(4): 934-940 (in Chinese).
- [26] 程双怀, 金思宇, 陈款民, 等. 十种臂尾轮虫 12S *rDNA* 基因序列的 PCR 扩增及分析[J]. *安徽师范大学学报(自然科学版)*, 2015, 38(5): 460-465.
- Cheng S H, Jin S Y, Chen K M, *et al.* PCR amplification and sequence analysis of partial 12S *rDNA* gene from ten *Brachionus* species (Rotifera)[J]. *Journal of Anhui Normal University (Natural Science)*, 2015, 38(5): 460-465 (in Chinese).
- [27] 程双怀, 魏世祥, 张逸, 等. 基于 ND4 和 ND5 基因序列研究八种臂尾轮虫的系统关系和分类地位[J]. *水产学报*, 2016, 40(12): 1823-1829.
- Cheng S H, Wei S X, Zhang Y, *et al.* Phylogenetic relationship and taxonomic status of eight *Brachionus* species (Rotifera) inferred from ND4 and ND5 genes[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, 40(12): 1823-1829 (in Chinese).
- [28] Xiang X L, Xi Y L, Wen X L, *et al.* Genetic differentiation and phylogeographical structure of the *Brachionus calyciflorus* complex in eastern China[J]. *Molecular Ecology*, 2011, 20(14): 3027-3044.
- [29] Giribet G, Distel D L, Polz M, *et al.* Triploblastic relationships with emphasis on the acoelomates and the position of Gnathostomulida, Cycliophora, Plathelminthes, and Chaetognatha: a combined approach of 18S *rDNA* sequences and morphology[J]. *Systematic Biology*, 2000, 49(3): 539-562.
- [30] Min G S, Park J K. Eurotatorian parphyly: revisiting phylogenetic relationships based on the complete mitochondrial Genome sequence of *Rotaria rotatoria* (Bdelloidea: Rotifera: Syndermata)[J]. *BMC Genomics*, 2009, 10: 533.
- [31] Weber M, Wey-Fabrizius A R, Podsiadlowski L, *et al.*

- Phylogenetic analyses of endoparasitic Acanthocephala based on mitochondrial genomes suggest secondary loss of sensory organs[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2013, 66(1): 182-189.
- [32] 张逸. 红臂尾轮虫线粒体全序列的测定及臂尾轮属轮虫系统发生的研究 [D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2013.
- Zhang Y. Determination and phylogenetic relationship analysis of the complete mitochondrial genome sequences of *Brachionus rubens*[D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2013 (in Chinese).
- [33] 刘应龙. 两种臂尾轮属轮虫线粒体基因组的测定及其系统发生关系分析 [D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2015.
- Liu Y L. The complete mitochondrial genomes of two *Brachionus* rotifer species and their phylogenetic implications[D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2015 (in Chinese).
- [34] 江静. 两种臂尾轮属轮虫线粒体基因组全序列的测定及其序列分析 [D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2018.
- Jiang J. Sequencing of mitochondrial genome sequence and analysis of two *Brachionus* rotifers[D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2018 (in Chinese).
- [35] 孙道琴. 矩形臂尾轮虫与螺形龟甲轮虫线粒体基因组序列的测定与分析 [D]. 芜湖: 安徽师范大学, 2016.
- Sun D Q. Determination and phylogenetic relationship analysis of mitochondrial genome sequences of *Brachionus leydigii* and *Keratella cochlearis*[D]. Wuhu: Anhui Normal University, 2016 (in Chinese).
- [36] Hwang D S, Suga K, Sakakura Y, *et al.* Complete mitochondrial genome of the monogonont rotifer, *Brachionus koreanus* (Rotifera, Brachionidae)[J]. *Mitochondrial DNA*, 2014, 25(1): 29-30.
- [37] Nie Z J, Gu R B, Du F K, *et al.* Monogonont rotifer, *Brachionus calyciflorus*, possesses exceptionally large, fragmented mitogenome[J]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0168263.
- [38] Kim H S, Hwang D S, Kim H J, *et al.* Complete mitochondrial genome of the monogonont rotifer *Brachionus rotundiformis* (Rotifera, Brachionidae)[J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2017, 2(1): 39-40.
- [39] Choi B S, Lee Y H, Hagiwara A, *et al.* Complete mitochondrial genome of the freshwater monogonont rotifer *Brachionus calyciflorus* (Rotifera, Brachionidae)[J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2019, 4(2): 3593-3595.
- [40] Choi B S, Lee Y H, Lee J S, *et al.* Complete mitochondrial genome of the freshwater monogonont rotifer *Brachionus rubens* (Rotifera, Brachionidae)[J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020, 5(1): 5-6.
- [41] Choi B S, Kim D H, Lee J S, *et al.* Complete mitochondrial genome of the euryhaline monogonont rotifer *Brachionus paranguensis* (Rotifera, Brachionidae)[J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020, 5(1): 502-503.
- [42] Zhang Y, Zhang H Y, Yan J J, *et al.* Complete mitochondrial genome of *Brachionus rubens* from Wuhu, China (Rotifera, Brachionidae)[J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2021, 6(3): 1194-1196.
- [43] Kim M S, Choi B S, Ogello E O, *et al.* Complete mitochondrial genome of the freshwater monogonont rotifer *Brachionus angularis* (Rotifera, Brachionidae)[J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2020, 5(3): 3736-3737.
- [44] Kiemel K, De Cahsan B, Paraskevopoulou S, *et al.* Mitochondrial genomes of the freshwater monogonont rotifer *Brachionus fernandoi* and of two additional *B. calyciflorus* sensu stricto lineages from Germany and the USA (Rotifera, Brachionidae)[J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2022, 7(4): 646-648.
- [45] 程双怀, 张宁, 张逸, 等. 一种臂尾轮属轮虫的线粒体 12S 基因的部分 rDNA 测序及鉴定臂尾轮属轮虫的方法: ZL201210562562.5[P]. 2014-6-4.
- Cheng S H, Zhang N, Zhang Y, *et al.* A method for partial mitochondrial 12S *rDNA* gene sequencing and *Brachionus* species identification: ZL201210562562.5[P]. 2014-6-4 (in Chinese).
- [46] 程双怀, 张逸, 夏梦宁, 等. 一种臂尾轮属轮虫的线粒体 16S 基因的部分 rDNA 测序及鉴定臂尾轮属轮虫的方法: ZL201310139349.9[P]. 2014-12-17.
- Cheng S H, Zhang Y, Xia M N, *et al.* A method for partial mitochondrial 16S *rDNA* gene sequencing and *Brachionus* species identification: ZL201310139349.9[P]. 2014-12-17 (in Chinese).
- [47] 程双怀, 张逸, 夏梦宁, 等. 一种臂尾轮属轮虫的线粒体 ND5 基因的部分 DNA 测序及鉴定臂尾轮属轮虫的方法: ZL201210562964.6[P]. 2014-6-4.
- Cheng S H, Zhang Y, Xia M N, *et al.* A method for partial mitochondrial ND5 gene sequencing and *Brachionus* species identification: ZL201210562964.6[P]. 2014-6-4 (in Chinese).
- [48] 程双怀, 张逸, 夏梦宁, 等. 一种臂尾轮属轮虫的线粒体 ND4 基因的部分 DNA 测序及鉴定臂尾轮属轮虫的方法: ZL201210563401.9[P]. 2015-3-11.
- Cheng S H, Zhang Y, Xia M N, *et al.* A method for partial mitochondrial ND4 gene sequencing and *Brachionus* species identification: ZL201210563401.9[P]. 2015-

- 3-11 (in Chinese).
- [49] Suatoni E, Vicario S, Rice S, *et al.* An analysis of species boundaries and biogeographic patterns in a cryptic species complex: the rotifer *Brachionus plicatilis*[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006, 41(1): 86-98.
- [50] Gilbert J J, Walsh E J. *Brachionus calyciflorus* is a species complex: Mating behavior and genetic differentiation among four geographically isolated strains[J]. *Hydrobiologia*, 2005, 546(1): 257-265.
- [51] Papakostas S, Triantafyllidis A, Kappas I, *et al.* The utility of the 16S gene in investigating cryptic speciation within the *Brachionus plicatilis* species complex[J]. *Marine Biology*, 2005, 147(5): 1129-1139.
- [52] Gómez A, Carvalho G R, Lunt D H. Phylogeography and regional endemism of a passively dispersing zooplankton: mitochondrial DNA variation in rotifer resting egg banks[J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2000, 267(1458): 2189-2197.
- [53] 鲍蕾. 方形臂尾轮虫的生活史和分子系统地理学研究[D]. 北京: 北京师范大学, 2003.
- Bao L. Studies on the life history and molecular phylogeography of *Brachionus quadridentatus*[D]. Beijing: Beijing Normal University, 2003 (in Chinese).
- [54] 董云伟. 萼花臂尾轮虫种群遗传结构与分子系统地理学研究[D]. 北京: 北京师范大学, 2002.
- Dong Y W. Genetic structure and molecular phylogeography of *Brachionus calyciflorus* population[D]. Beijing: Beijing Normal University, 2002 (in Chinese).

Research progress in the mitochondrial genome of species in rotifer

HE Runze¹, ZHOU Limin¹, GAO Bingmiao^{2*}, CHENG Shuanghuai^{1*}

(1. Public Research Center, Hainan Medical University, Haikou 571199, China;

2. School of Pharmacy, Hainan Medical University, Haikou 571199, China)

Abstract: The research trend and application of rotifer mitochondrial genome research were proposed by searching, collecting, reading and summarizing relevant literature on rotifer mitochondrial genome research to understand the current situation and existing problems of rotifer mitochondrial genome research. Meanwhile, the research of analyzing and statistics of rotifer mitochondrial genome sequence were carried out. With the development of molecular biology technology, especially sequencing technology, research on mitochondrial genome sequencing in rotifers has gradually been carried out. Currently, there are 12 records of the complete mitochondrial sequence of rotifers reported in 6 species, mainly concentrated in bdelloid rotifers and rotifers of the genus *Brachionus*. The mitochondrial genome of bdelloid rotifers contains one ring chromosome, while the rotifers of the genus *Brachionus* contain two ring chromosomes. The mitochondrial genome of all rotifers contains 13 basic mitochondrial protein coding genes, 2 rRNA coding genes, and 22 tRNA coding genes (18-32). In addition, a few rotifers, such as *B. calyciflorus*, contain additional copies of the cytb gene. Due to the small size of rotifers and the difficulty of cloning and culturing, relatively few researchers, and the mitochondrial genome sequencing of rotifers needs to be further deepened. The sequences obtained from mitochondrial genome research can be used for research on phylogenetic relationships of rotifers, comparative studies on mitochondrial genomes of rotifers, studies on cryptic species of rotifers, molecular identification of rotifers, and geographic genealogy of rotifers.

Key words: rotifer; mitochondrial genome; sequencing

Corresponding authors: GAO Bingmiao. E-mail: gaobingmiao@qq.com;

CHENG Shuanghuai. E-mail: shuanghuaicheng2018@hainmc.edu.cn

Funding projects: Hainan Provincial Natural Science Foundation of China (821RC568); Hainan Medical University Talent Introduction Start-Up Fund Project (XRC190013)