



特邀稿件

Invited Review

黄羽豪, 龚森瑞, 李浩森, 庞虹. 昆虫的水平基因转移研究. 环境昆虫学报, 2021, 43 (4): 788–810.

昆虫的水平基因转移研究

黄羽豪, 龚森瑞, 李浩森*, 庞虹

(有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 中山大学生态学院/生命科学学院, 广州 510275)

摘要: 水平基因转移是一种能够在物种间进行基因交流的现象, 是生物迅速适应环境的主要驱动力之一。近年来, 随着测序技术的进步, 昆虫中的水平基因转移现象被大量报道, 成为昆虫研究的热点之一。本文总结了水平基因转移研究的常用流程和手段, 以及昆虫水平转移基因的供体、受体和功能, 讨论水平基因转移与昆虫食性的联系以及研究方法的局限, 并展望昆虫水平基因转移研究领域未来的方向。

关键词: 水平基因转移; 昆虫; 进化; 食性; 共生菌

中图分类号: Q963; S476; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2021) 04-0788-23

A review of research on horizontal gene transfer in insects

HUANG Yu-Hao, GONG Sen-Rui, LI Hao-Sen*, PANG Hong (State Key Laboratory of Biocontrol, School of Ecology/School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Horizontal gene transfer, which can lead to the acquisition of genes from other species, is one of the major drivers of organisms to quickly adapt to the environment. With the development of sequencing technology, horizontal gene transfer in insects has been widely reported, and has become one of the hotspots in insect researches. In this article, we summarized the common processes and methods in horizontal gene transfer research, as well as the donors, receptors and functions of horizontally transferred genes in insects. We discussed the relationship between horizontal gene transfer and feeding habits of insects, and the limitation of current research methods. Finally, we proposed the research prospects in horizontal gene transfer of insects.

Key words: Horizontal gene transfer; insect; evolution; feeding habits; symbionts

生物体的遗传物质大多数情况下是由亲代到子代垂直传递的。然而, 生物体中有的基因可能是从其它个体或线粒体、叶绿体等不同细胞器的遗传物质中获得的, 这种现象被称为水平基因转移 (horizontal gene transfer, HGT) 或横向基因转移 (lateral gene transfer, LGT), 而这些不依赖亲

缘关系获得的基因被称为水平转移基因 (horizontally transferred genes, HTGs)。HGT 可以发生在同种的不同生物个体或者单个细胞的不同细胞器之间, 但由于检测手段的限制和基因功能的探讨意义等原因, 物种间的 HGT 在研究中更为常见。

基金项目: 国家自然科学基金 (31702012, 31970439); 国家重点研发计划专项 (2017YFD0201000); 广东省自然科学基金 (2021A1515011051); 广州市科技计划项目 (201904020041, 202102020818)

作者简介: 黄羽豪, 男, 博士研究生, 研究方向为瓢虫的系统学, E-mail: huangyh45@mail2.sysu.edu.cn

* 通讯作者 Author for correspondence: 李浩森, 男, 博士, 研究方向为昆虫生态与进化, E-mail: hslj_njau@163.com

收稿日期 Received: 2021-05-20; 接受日期 Accepted: 2021-07-05

早在 20 世纪 50 – 60 年代, 研究者发现遗传物质可以在不同菌种之间传递, 如从大肠杆菌 *Escherichia coli* 传递至沙门氏杆菌 *Salmonella* (Miyake and Demerec, 1959; Zinder, 1960), 这是人们首次认识到 HGT 现象在细菌进化上的重要性, 并能够解释抗药性在菌群中的快速传播。后续的大量研究发现, HGT 在原核生物中十分常见, 其促进了新性状的快速传播, 如抗生素耐药性、致病性和其它各种有利于适应周围环境的代谢特性, 同时也有许多 HGT 不带功能或功能未明 (Ochman *et al.*, 2000; Pallen and Wren, 2007)。

近年来, 真核生物中的 HGT 也逐渐被发现, 并被认为是普遍存在于单细胞真核生物 (Keeling and Palmer, 2008)、动物 (Hotopp *et al.*, 2007; Gladyshev *et al.*, 2008; Hotopp, 2011; Flot *et al.*, 2013; Boto, 2014; Drezen *et al.*, 2017; Sieber *et al.*, 2017)、植物 (Gao *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2020) 及真菌 (Fitzpatrick, 2012) 等类群中。在昆虫 (Nakabachi, 2015; Wybouw *et al.*, 2016; Zakharov, 2016) 以及近源的蜚蠊 (Chou *et al.*, 2015; Wybouw *et al.*, 2016; Hayes *et al.*, 2020)、蜈蚣 (Undheim and Jenner, 2021) 和弹尾虫 (Faddeeva-Vakhrusheva *et al.*, 2016; Faddeeva-Vakhrusheva *et al.*, 2017; Wu *et al.*, 2017) 等节肢动物中也有大量 HGT 的报道。随着对共生微生物研究的不断深入, 人们对宿主生物、共生微生物以及它们之间的联系也有了全新的理解, 生物体对环境的适应离不开共生微生物的作用, 甚至有观点将宿主生物及其所有共生微生物作为一个整体的完全生物 (holobionts), 并将这个整体的所有基因集合作为完全基因组 (hologenomes) 看待 (Haag, 2018); 而 HGT 在这个共生系统中也扮演了重要的角色, 是宿主生物和共生微生物联系的纽带之一。同时, HGT 也更新了人们对于进化的观点, 生命之网似乎比生物之树更符合真实的进化历程 (Soucy *et al.*, 2015; Mallet *et al.*, 2016)。昆虫物种多样性高, 与微生物关系密切, 昆虫体内的 HGT 研究是近年的热点之一。本文将从 HGT 研究的常用流程和方法、昆虫 HGT 的供体、HGT 的受体昆虫以及昆虫 HGT 的功能 4 个方面进行综述, 并提出现阶段昆虫 HGT 研究的一些问题以及未来展望。

1 水平基因转移研究的常用流程和方法

HGT 研究主要分为三大环节: 搜索、验证以及功能探究 (图 1)。搜索通常是基于序列同源性的组学数据的搜索; 验证包含两个方面, 分别是系统发育关系的验证和内含子、侧翼序列、信号肽、不同数据及表达情况等污染排除的方面; 功能探究则包括序列信息分析、选择压力分析等生物信息学探究和表达谱、功能验证实验等实验方面的探究。

1.1 水平基因转移的搜索

1.1.1 后生动物水平基因转移的搜索方法

真核生物 HGT 的发现一般为基因组、转录组、蛋白组和代谢组等组学研究中基因注释后的意外发现, 也有专门对组学数据进行搜索得到的 HGT。HGT 的搜索主要是基于序列同源性的方法。许多研究会将 NCBI 的非冗余蛋白序列数据库 (Non-Redundant Protein Sequence Database, NR)、Swiss-Prot 或基因组等数据库分为后生动物 Metazoa 类群数据库和细菌、真菌、植物、病毒及其它非后生动物的真核生物等其它类群数据库, 或者建立特定外群物种的子库。为避免自身的序列或近源物种的序列造成干扰, 后生动物的数据库通常还会去除自身或近源物种的序列, 然后进行 BLAST (Camacho *et al.*, 2009) 搜索, 再对后生动物数据库和其它数据库的结果进行手动的比较以及后续的验证。在针对基因蛋白序列时有时也会使用 DIAMOND (Buchfink *et al.*, 2015) 进行搜索, 而搜索基因组中的 HGT 片段有时会使用 MUMmer (Marcais *et al.*, 2018) 搜索。手动比较通常是基于比对结果中的 bitscore 值、E 值、一致度和覆盖度等参数, 判断与后生动物或其它类群的同源性大小, 若与其它类群的基因比后生动物更近源, 则认为是 HGT。然而, 手动比较存在一定的主观性, 导致标准不统一的问题; 另外, 需要检测的基因或基因组片段数以万计, 手动比较工作量较大。因此, 水平基因转移的搜索需要更为系统性、流程化和标准化的方法。

目前, 较为常用的流程化方法有 4 种: HGT 指数 h 、外源指数 (alien index, AI)、比对一致支

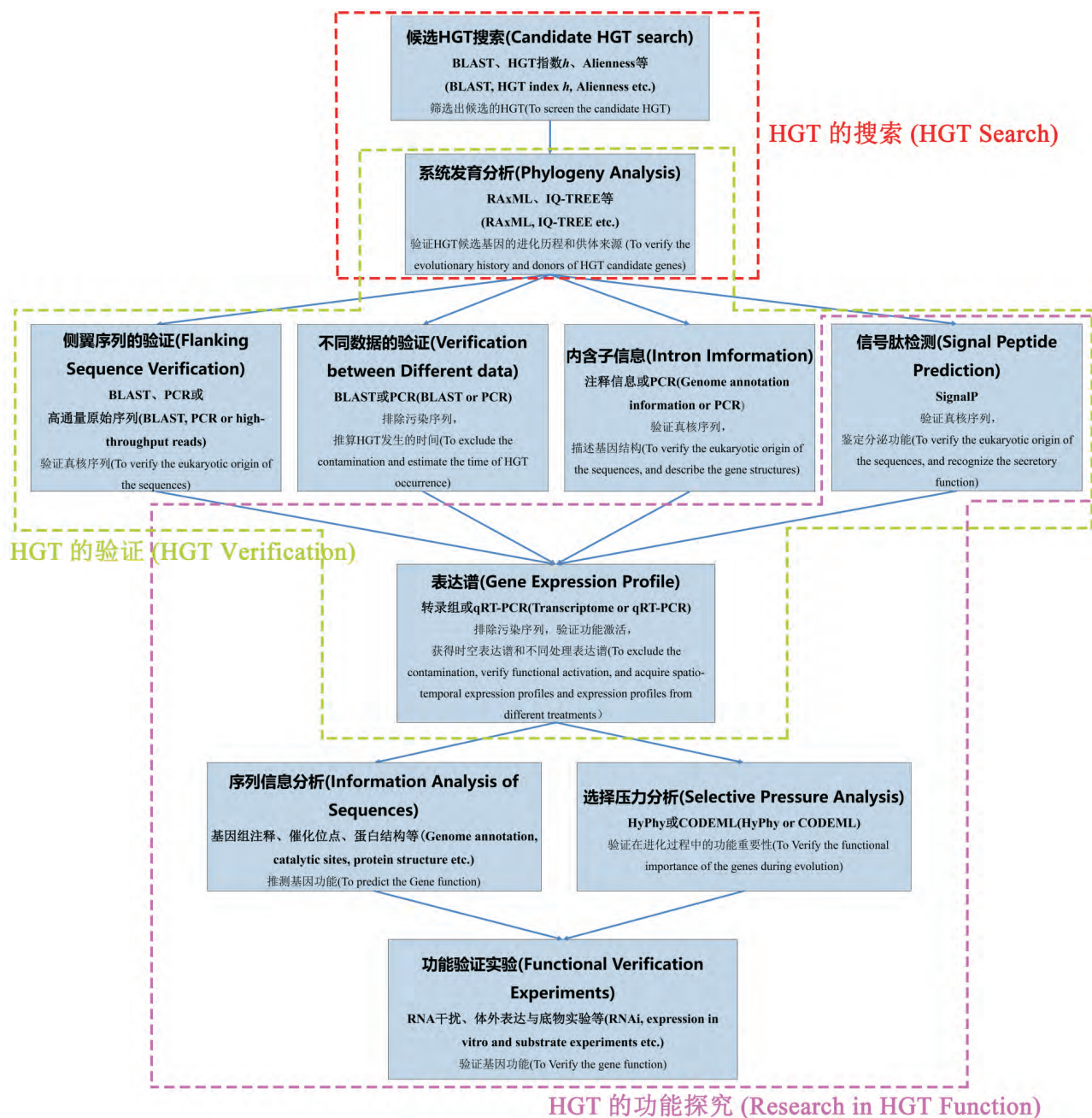


图1 后生动物水平基因转移研究的常用流程、方法及其作用

Fig. 1 Common processes and methods in research of horizontal gene transfer in Metazoa and their function

持度 (Consensus Hit Support, CHS) 和 Wheeler *et al.* (2013) 的检测方法 (表 1)。 h 指数 (Boschetti *et al.*, 2012) 和外源指数 (Gladyshev *et al.*, 2008) 分别是基于 BLAST 的 bitscore 值和 E 值计算的指标, h 指数是非后生动物的物种序列数据库最佳比对的 bitscore 值减去后生动物库最佳比对 bitscore 值的差, 当 $h \geq 30$ 且 bitscore ≥ 100 时认为该基因是 HGT; 外源指数则表现为两个最佳比对的 E 值的对数比较, 当 ≥ 45 时认为该基因为

HGT。Wheeler *et al.* (2013) 的检测方法同样是以 BLAST 的 E 值作为指标, 仅以小于 $1e^{-5}$ 的 E 值的大小作为直接判断, 若细菌数据库比对的 E 值比后生动物数据库的 E 值更小则作为 HGT 的候选。Wheeler *et al.* (2013) 的方法较为简单, 后面更是改良为滑动窗口的方式搜索基因组的 HGT 片段, 被用于光肩星天牛 *Anoplophora glabripennis* (McKenna *et al.*, 2016)、烟盲蝽 *Nesidiocoris tenuis* (Ferguson *et al.*, 2020)、乳草长蝽 *Oncopeltus fasciatus*

表 1 后生动物 HGT 搜索环节常用的工具和方法
Table 1 Common tools and methods for metazoan HGT searches

工具和方法 Tools and methods	描述 Descriptions	文献 References
同源性搜索工具 Homology search tools		
BLAST	最常用的同源性搜索工具，可用于蛋白和基因组片段的搜索 The most commonly used homology search tool, which can be used to search for protein and genome fragments	Camacho <i>et al.</i> , 2009
DIAMOND	蛋白序列的同源性搜索工具，功能类似 BLASTP，速度较快 Homology search tool for protein sequence, similar to BLASTP, but faster	Buchfink <i>et al.</i> , 2015
MUMmer	基因组搜索工具，可用于基因组中候选 HGT 片段的搜索 Search tool for genome sequences, which can be used to search for candidate HGT fragments in genome	Marcais <i>et al.</i> , 2018
流程化筛选方法和工具 Processed screening methods and tools		
HGT 指数 <i>h</i> HGT index, <i>h</i>	基于 BLAST 搜索的 bitscore 值的差进行 HGT 的筛选 HGT screening based on difference between bitscore values of BLAST searches	Boschetti <i>et al.</i> , 2012
外源指数 AI Alien index, AI	基于 BLAST 搜索的 E 值的对数比较进行 HGT 的筛选 HGT screening based on logarithmic comparison of E values of BLAST searches	Gladyshev <i>et al.</i> , 2008
Wheeler <i>et al.</i> , (2013) 检测方法 Method developed by Wheeler <i>et al.</i> (2013)	基于 BLAST 搜索的 E 值大小，外源类群的 E 值比后生动物 E 值小为候选 HGT，可以用滑动窗口的方式检测基因组中 HGT 片段。较简单，常用于基因组的 HGT 搜索中 HGT screening based on E value of BLAST search. The sequences with E values of searches of outgroup species smaller than that of the metazoan are considered as the candidate HGT, and the HGT fragments in the genome can be detected by sliding window. This method is simpler and often used in the HGT search of the genome	Wheeler <i>et al.</i> , 2013
比对一致支持度 CHS Consensus hit support, CHS	基于 DIAMOND 搜索提供的物种来源类群的比例，90% 以上的比对记录为外源类群序列可能为 HGT HGT screening based on the proportion of species information provided by DIAMOND search. The sequences with more than 90% outgroup hits may be HGT	Koutsovoulos <i>et al.</i> , 2016
Alienness 网络服务器 Alienness web server	计算外源指数和 <i>h</i> 指数，并根据外源指数 AI 和对非目标类群的比对一致度的大小检测出候选 HGT、可能为 HGT 和疑似污染。可以排除指定近源外群，并将 HGT 来源供体分类 Calculate the AI and <i>h</i> -index and detect the likely HGT, the possible HGT and the likely contamination according to AI and the identity of the outgroup hits. Close species can be excluded, and the HGT donors can be classified	Rancurel <i>et al.</i> , 2017
比对物种分布的可视化工具 Visualization tools for species distribution of the hits		
MEGAN	基于 LCA 算法，将 BLAST 搜索比对结果的物种分布和地位可视化，辅助人工判断 HGT Based on the LCA algorithm, the species distribution and position of the hits in BLAST search are visualized to assist manual identification of HGT	Huson <i>et al.</i> , 2016

(Panfilio *et al.*, 2019)、西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* (Rotenberg *et al.*, 2020)、温带臭虫 *Cimex lectularius* (Benoit *et al.*, 2016)、黑森瘿蚊 *Mayetiola destructor* (Zhao *et al.*, 2015)、茶翅蛾 *Halyomorpha halys* (Sparks *et al.*, 2020)、厩螫蝇 *Stomoxys calcitrans* (Olafson *et al.*, 2021) 和一种寄生茧蜂 *Diachasma alloeum* (Tvedte *et al.*, 2019) 等许多基因组的 HGT 搜索中。CHS 方法 (Koutsovoulos *et al.*, 2016) 则基于 DIAMOND 搜索提供的物种来源信息, 每条跟数据库比对上的序列会对应相应的物种及其所属阶元, 若 90% 以上的比对来源于细菌或其它非后生动物类群, 则认为该基因可能是 HGT 的候选基因。

基于外源指数开发的 Alieness 网络服务器 (<http://alienness.sophia.inra.fr>) 可以上传用户提供的 NR 数据库搜索结果, 计算外源指数和 *h* 指

数, 并根据外源指数 AI 和对非目标类群的比对一致度的大小检测出 3 类蛋白序列: AI > 15 且一致度 < 70% 的候选 HGT、0 < AI < 15 且一致度 < 70% 的疑似 HGT 以及 AI > 0 且一致度 > 70% 的疑似污染 (Rancurel *et al.*, 2017)。而且, 该网站还可以排除指定的近源类群, 防止近源类群 HGT 的影响, 并能够将 HGT 来源供体分为细菌、真菌、植物、病毒、古菌和不等鞭毛类 Stramenopiles 等默认类群以及指定的类群。另外, 该网站还在不断完善本地化的 AvP 模块, 该模块可以进行本地化的计算、系统发育分析和供体类群的分类, 更准确的预测 HGT 基因, 并可能在未来将 AvP 模块内置在网络服务器中。

1. 1. 2 细菌水平基因转移的搜索方法

在研究历史更长、更成熟的细菌 HGT 研究中, 更多 HGT 搜索的方法被开发出来 (表 2)。

表 2 HGT 搜索方法的类型
Table 2 Types of search methods for HGT

类型 Types	描述 Descriptions	优势 Advantages	劣势 Disadvantages	例子 Examples
参数方法 Parametric method	基于序列组成 Based on sequence composition	有利于探索 HGT 机制的本质 Contributed to exploration of the essence of HGT mechanism	会受基因组内部的参数变化影响, 且无法识别已同化的古老 HGT Affected by changes in parameters within the genome, and unable to identify the assimilated and ancient HGT	GC 含量、密码子使用偏好、基因结构、寡核苷酸组成 GC content, codon usage bias, structural features, oligonucleotide composition
	显式 Explicit	基于系统发育进化树 Based on phylogenetic trees	能够直观定性 HGT 事件 Determine the HGT events	容易受基因复制丢失等其它进化事件和系统发育不确定性的影响, 且操作较为繁琐, 难以流程化 Affected by other evolution events such as gene replication and gene loss, and phylogenetic uncertainty. The operation is cumbersome and difficult to process
系统发育方法 Phylogenetic method	基于系统发育进化树 Based on phylogenetic trees	能够直观定性 HGT 事件 Determine the HGT events	容易受基因复制丢失等其它进化事件和系统发育不确定性的影响, 且操作较为繁琐, 难以流程化 Affected by other evolution events such as gene replication and gene loss, and phylogenetic uncertainty. The operation is cumbersome and difficult to process	Shimodaira-Hasegawa 检验、物种树与基因树协调 Shimodaira-Hasegawa test, reconciliation of gene and species trees
	隐式 Implicit	各类非进化树的聚类或同源性分析手段 Cluster methods or homology analysis without phylogenetic trees	初步检测 HGT 事件 Preliminarily detect HGT events	序列同源性搜索、基因和物种距离、同源基因分析、多态位点聚类 Homology search, gene and species distances, orthology analysis, clusters of polymorphic sites

这些方法主要可以分为两类: 基于序列组成的参数方法和基于系统发育的方法 (Ravenhall *et al.*, 2015)。

基于序列组成的参数方法主要使用 GC 含量、密码子使用偏好、基因结构及寡核苷酸组成等参数判断序列的外源性。最近开发的 DeepHGT 软件正是基于序列特征, 使用深度残差网络 (deep residual network) 训练并识别 HGT 插入位点, 但目前仅适用于细菌的基因组 (Li *et al.*, 2020)。而 Arevalo *et al.* (2019) 开发的 PopCOGenT 方法则基于近期发生 HGT 的基因组之间比自然突变的基因组拥有更长相同区域的原理, 使用长度分布模型估计出细菌基因组之间近期的 HGT 事件, 并构建出细菌的 HGT 网络, 将细菌分为不同功能的种群单元。基于序列组成的方法更有利于探索 HGT 机制的本质, 但会受基因组内部的参数变化影响, 且古老 HGT 由于长时间跟随基因组经历相同的进化而被逐步同化, 易造成识别不准 (Ravenhall *et al.*, 2015)。

系统发育的方法则包括隐式和显式两大类型 (Ravenhall *et al.*, 2015)。隐式的系统发育方法主要是各类非进化树的聚类或同源性分析手段, 包括最常用的基于序列同源性的 BLAST 搜索、基因和物种距离、同源基因分析及多态位点聚类等方法; 而显式系统发育方法则完全基于进化树, 如使用 Shimodaira-Hasegawa 检验 (Shimodaira and Hasegawa, 1999) 对物种树和基因树的拓扑结构进行比较等。但大多数显式系统发育方法容易受基因复制丢失等其它进化事件和系统发育不确定性的影响, 物种树和基因树协调的方法被尝试用来分离这些影响, 用来分析物种在进化过程中的 HGT、基因渐渗、基因复制和基因丢失等进化事件。这种方法在昆虫中也有零星的尝试, 如 Chauve *et al.* (2018) 对按蚊属 *Anopheles* 基因组的分析。另外, 显式系统发育方法操作较为繁琐, 难以流程化 (Ravenhall *et al.*, 2015)。因此, 研究中通常先使用同源性搜索找出候选的 HGT, 再将系统发育分析作为验证的一个环节。

1.1.3 水平基因转移搜索方法的限制和注意事项

HGT 的搜索方法大多只能用于搜索相对近期的 HGT, 古老的 HGT 由于序列组成趋同于受体的基因组, 且数据库中存在近源物种的同源基因, 难以通过统一流程化的方法准确搜索到, 需要在搜索前对数据库进行一些近源物种的删减, 或在

Alienness 网络服务器中排除对近源物种的考虑; 也可以使用 MEGAN (Huson *et al.*, 2016) 等软件可视化同源搜索比对到的序列物种分布, 人为做出判断。

同时, 基于同源性搜索的方法可能会因为非后生动物类群中偶然出现的同源序列 (如后生动物转移到非后生动物类群的 HGT 基因) 而将检测的基因判断为 HGT 基因, 或无法判断 HGT 的方向, 公用数据库的物种序列缺失、物种序列污染以及序列信息错误等因素也会影响 HGT 的检测。

另外, 搜索和检测 HGT 的方法一般无法区分 HGT 和污染序列。而其它物种尤其是共生菌或肠道微生物的污染可能会体现在基因组的部分序列中; 由于二代测序读长短, 因此也容易发生拼接错误导致的污染片段 (Ku and Martin, 2016)。一种水熊虫 *Hypsibius dujardini* 的 HGT 曾被认为占全部基因总数的 1/6, 明显多于其它物种, 而后续的研究却表明其 HGT 仅占 1% ~ 4%, 引起了很大的争议, 这种分歧可能就是由严重的细菌序列污染造成的 (Boothby *et al.*, 2015; Arakawa, 2016; Bemm *et al.*, 2016; Delmont and Eren, 2016; Koutsovoulos *et al.*, 2016; Yoshida *et al.*, 2017)。Ku and Martin (2016) 认为, 真核蛋白与原核蛋白的一致度在 70% 以上时很可能是测序污染、组装或者注释等技术的问题, 并提出了 70% 原则防止 HGT 的误判。因此, 搜索出来的候选 HGT 还需要进行进一步的验证, 防止污染序列的影响。

此外, HGT 搜索前的基因组组装、预测和注释阶段同样可能给 HGT 的检测带来影响, 例如寄生蜂 *Leptopilina heterotoma* 的 *Lar* 基因因为处于另一基因 *RRP8* 的长内含子内的嵌套基因 (nested gene), 昆虫基因组中也含有较多嵌套基因, 然而, 基因预测中常用的 EVidenceModeler 等软件默认情况下并不进行嵌套基因的预测 (Haas *et al.*, 2008; Huang *et al.*, 2021), 有可能造成 HGT 挖掘的不全面。

对于现阶段的昆虫及其它后生动物研究, HGT 的搜索还无法做到准确的认定 HGT 事件及排除污染, 只能以灵敏度为主, 确定候选 HGT 的范围, 并交由系统发育分析进行进一步的验证与认定, 以及使用多种手段排除污染的可能。

1.2 水平基因转移的验证: 系统发育分析与排除污染

为了验证 HGT 候选基因的进化历程和供体来

源,进一步确认 HGT 事件,需要对候选基因及搜索到的同源基因进行系统发育构建,这在 HGT 研究中是定性的必要环节,但由于同源基因等序列资源配置较为繁琐,通常在流程化的同源性搜索确定候选范围后再进行。系统发育关系可以使用 RAxML (Stamatakis, 2014) 或 IQ-TREE (Minh *et al.*, 2020) 等软件构建得到。随后在构建出的进化树中观察基因的进化历程,若候选基因或候选基因集在进化树上被非近源物种的基因包围,则这些基因可能是 HGT 基因,那些相邻支系的物种可能是 HGT 的供体。

除此之外,昆虫及其他后生动物的候选 HGT 还应排除可能为污染的情况。首先,需要验证候选基因周围的侧翼基因或片段序列属于真核生物,如利用基因组的注释信息 BLAST 搜索周围序列,还可以进一步采用 PCR 方法或者高通量数据中对应的原始序列验证基因的连接处。另外,不同个体、种群与物种的数据可以使用 BLAST 相互印证,排除某个数据的污染,也可以用 PCR 直接验证准备好的生物样品,这一过程可以说明该基因在该物种或该类群的共同祖先出现前就已经发生了 HGT 事件。真核基因的特征也可以用来辅助验证,比较常用的特征包括内含子、信号肽、polyA 位点和 GC 含量等。部分真核基因中含有内含子,研究表明内含子能够增加基因的表达 (Le Hir *et al.*, 2003), 因此可以证明含有内含子的基因来自真核生物,检测 HGT 候选基因中是否存在内含子,也是对基因结构的描述,这一步可以通过基因组的注释信息或 PCR 进行验证。真核生物分泌系统的信号肽与原核生物不同,用 SignalP (Armenteros *et al.*, 2019) 等软件进行真核信号肽的预测,若 HGT 候选基因含有信号肽,则可以证明该基因为真核基因,并且为分泌蛋白。可以使用转录组或 qRT-PCR 等方法验证该基因是否表达,同时得到该基因的表达谱。如果表达,不但能较大程度排除污染的可能性,还可以说明该基因在生物体中发挥了作用,通过表达谱也能推测该基因的作用。此外,转录本中的 polyA 位点也可以进一步说明该基因为真核基因。

1.3 水平基因转移的功能探究: 生物信息学与实验

HGT 的功能探究通常可以分为生物信息学和实验两方面的探究。生物信息学分析包括了信号肽、结构域、同源性注释、催化位点及蛋白结构

等序列信息的分析,除此之外,选择压力分析也是常见的分析之一。基因在进化过程中经历正选择或负选择说明该基因在进化过程中发挥了重要的作用,选择压力可以使用 HyPhy (Pond *et al.*, 2020) 或 PAML 程序包的 CODEML 程序 (Yang, 2007) 进行检测。实验方面,主要包括表达谱和功能验证实验。通过转录组或 qRT-PCR 等手段获取基因在各部位或各发育阶段的时空表达谱以及不同实验处理的表达谱,不同情况下某一基因的表达上下调情况有利于间接推测该基因的作用。在表达谱和序列信息分析的基础上,可以提出对基因功能的合理假设,设计实验验证基因的功能,常用的实验手段包括 RNA 干扰、体外表达与底物实验等。

2 昆虫水平基因转移的供体

HGT 的供体是指提供基因的物种,即 HGT 基因的来源。HGT 的供体通常是通过构建基因的进化树推断的,但由于数据库的物种缺失、系统发育推断的不确定性以及古老物种和现存物种的差异等,推测得出的 HGT 供体很可能并不是客观的供体。Crisp *et al.* (2015) 通过 HGT 指数 h 的方法搜索了果蝇属 *Drosophila* 的基因组,结果表明 HGT 主要来自细菌 (26.5%) 和原生动物 (46.5%), 也有来自植物 (14.9%)、真菌 (9.9%) 和古菌 (2.2%) 的 HGT。然而,从现有研究来看,昆虫 HGT 的供体以细菌为主,真菌、植物和病毒等类群也有一些报道,还有少量已报道的 HGT 来自原生动物等其它类群 (图 2, 表 3)。

HGT 易发生在紧密联系的生物之间,在自然界中昆虫与细菌广泛接触,关系密切,使得来自细菌的 HGT 数量在昆虫 HGT 总数中占比较高,胞内共生菌、肠道微生物、昆虫病原细菌以及其它细菌都可能是昆虫 HGT 的供体。而许多已报道的 HGT 是通过系统发育的方法推测来自细菌供体的,但由于发生时间久远,具体的供体物种或是否有中间供体 (如噬菌体) 已难以推测。来自细菌的 HGT 中,以沃尔巴克氏体 *Wolbachia* 为供体的 HGT 报道较为常见,沃尔巴克氏体是昆虫体内广泛存在的胞内共生菌,能够在昆虫中稳定垂直传递给后代,也能在物种间水平传播 (Correa and Ballard, 2016)。早在 2002 年, Kondo *et al.* (2002) 发现,通过抗生素处理的绿豆象

Callosobruchus chinensis 的 X 染色体上存在沃尔巴克氏体的 DNA 片段, 这些片段上面包含了沃尔巴克氏体的多个基因。而到了 2007 年, 昆虫基因组上存在沃尔巴克氏体的片段才通过严谨的实验证明。Hotopp *et al.* (2007) 通过 BLAST 搜索, 同时使用 PCR 验证侧翼的连接处, 并对不同种群、性别及物种数据进行相互验证, 还验证了表达量与染色体定位等信息, 确定了果蝇、寄生蜂和蚊子基因组上均存在沃尔巴克氏体的基因片段。随后的研究在绿豆象和松墨天牛 *Monochamus alternatus* 体内分别发现其基因组整合有沃尔巴克氏体基因组约 30% 和超过 10% 的片段 (Nikoh *et al.*, 2008; Aikawa *et al.*, 2009)。Klasson *et al.* (2009) 发现伊蚊属 *Aedes* 内存在两个相邻的来源于沃尔巴克氏体的基因。Werren *et al.* (2010) 发现 13 个来自沃尔巴克氏体的锚蛋白重复痘蛋白基因水平转移入金小蜂属 *Nasonia* 的基因组中。随后, 来自沃尔巴克氏体的基因或基因组片段被陆续发现存在于茶翅蛾 (Ioannidis *et al.*, 2014)、光肩星天牛 (McKenna *et al.*, 2016)、网蛱蝶 *Melitaea cinxia* (Ahmed *et al.*, 2016)、厩螫蝇 (Olafson *et al.*, 2021)、粉虱 Aleyrodidae (Ren *et al.*, 2020)、木虱 Psyllidae (Sloan *et al.*, 2014)、蚂蚁 Formicidae 与沫蝉 Cercopoidea (Dhaygude *et al.*, 2019) 等物种的基因组中。除此之外, 粉蚧 Psudococcidae 中许多营养合成基因来自于其兼性肠道微生物和共生菌, 如 *Tremblaya* 菌以及 *Tremblaya* 菌内的 *Moranella* 菌等 γ -变形杆菌 (Husnik *et al.*, 2013; Husnik and McCutcheon, 2016)。而家蚕 *Bombyx mori* 及其它鳞翅目中 22 个 HGT 基因主要来自昆虫病原细菌, 涉及糖基水解、氧化还原和氨基酸代谢等功能 (Li *et al.*, 2011)。来源于肠杆菌科 Enterobacteriaceae 等肠道微生物的 HGT 在鳞翅目 (Sun *et al.*, 2013; Wheeler *et al.*, 2013)、鞘翅目 (Keeling *et al.*, 2013) 和竹节虫目 (Shelomi *et al.*, 2016) 等昆虫中也有报道。

来自真菌的昆虫 HGT 主要是分解果胶的聚半乳糖醛酸酶 *GH28* 基因 (部分) 和分解纤维素的纤维素酶 *GH45* 基因。这两种酶广泛存在于包括米象 *Sitophilus oryzae* (Shen *et al.*, 2003)、光肩星天牛 (McKenna *et al.*, 2016) 和桑角天牛 *Apriona japonica* (Pauchet *et al.*, 2014) 等在内的植食性甲虫 Phytophaga, 能够帮助甲虫消化植物细胞壁 (Kirsch *et al.*, 2014; Busch *et al.*, 2019; McKenna

et al., 2019; Hazzouri *et al.*, 2020)。帮助红棕象甲 *Rhynchophorus ferrugineus* 有效消化食物的糖苷水解酶 *GH16* 基因也可能来自真菌或细菌 (Hazzouri *et al.*, 2020)。另外, 蚜虫 (Moran and Jarvik, 2010; Novakova and Moran, 2012) 和瘿蚊 Cecidomyiidae (Cobbs *et al.*, 2013) 中的类胡萝卜素合成基因被推断来自真菌。烟粉虱 *Bemisia tabaci* 的基因组经过 HGT 指数 *h* 的方法搜索出 142 个 HGT 基因, 其中 78 个基因可能来自真菌 (Chen *et al.*, 2016)。来源真菌的 HGT 基因在家蚕 (Wang *et al.*, 2019) 和寄生蜂 (Martinson *et al.*, 2016) 中也有报道。

来自植物的 HGT 除果蝇外, 目前只发现存在于粉虱和家蚕中。Zhu *et al.* (2011) 通过搜索家蚕的基因组, 发现了 10 个 HGT 基因, 包括 1 个来自植物的基因芳香开环双加氧酶 *LigB* 亚基和 9 个来自细菌的基因。Lapadula *et al.* (2020) 在烟粉虱和温室白粉虱 *Trialeurodes vaporariorum* 中均发现 2~3 个来自植物的 HGT 基因核糖体失活蛋白基因 *RIP*, 而 Xia *et al.* (2021) 则在烟粉虱中验证并探究了来自植物的酚苷丙二酰转移酶 *BtPMT1* 基因。

有报道表明, 昆虫中的 HGT 可能是由噬菌体或蜜蜂病毒等病毒介导的 (Zakharov, 2016; Drezen *et al.*, 2017)。目前通过系统发育关系显示是由病毒提供的 HGT 报道多见于鳞翅目中, 如夜蛾属 *Spodoptera* 中发现来自病毒的 *gasmin* 基因 (Gasmi *et al.*, 2016; Di Lelio *et al.*, 2019) 和类蜜蜂病毒凝集素 *Se-BLLs* 基因 (Gasmi *et al.*, 2018), 其中棉贪夜蛾 *Spodoptera littoralis* 的 *gasmin* 基因可能来自寄生蜂的共生病毒 (Di Lelio *et al.*, 2019)。Cheng *et al.* (2014) 发现裸病毒 Nudiviridae 提供了 32 个核心基因转移到宿主褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 的基因组上。Morozov *et al.* (2017) 则发现 RNA 病毒的解旋酶序列整合到了鳞翅目、半翅目、直翅目、膜翅目和蚊子等昆虫的转座子中, 可能有抑制转录后 RNA 沉默的作用。另外, 果蝇 (Verster *et al.*, 2019) 和黑森瘿蚊 (Zhao *et al.*, 2015) 中也曾报道可能来自噬菌体的 HGT。

少部分昆虫 HGT 来自原生动物等非后生动物的其它生物。东亚飞蝗 *Locusta migratoria* (Hao *et al.*, 2019)、果蝇 (Crisp *et al.*, 2015)、寄生蜂 (Huang *et al.*, 2021) 及鳞翅目昆虫 (Sun *et al.*, 2013) 中均发现可能来自黏菌等原生生物的 HGT 基因。

昆虫转座子则被证实能够在昆虫之间进行水平转移,昆虫基因组中平均 2.08%、最高 24% 的核苷酸是水平转移的转座子,水平转移的转座子在伊蚊属基因组中占到 7%,而在按蚊属基因组仅占小部分,这些转座子是影响昆虫基因组进化的主要力量 (Peccoud *et al.*, 2017; de Melo and Wallau, 2020)。鳞翅目的转座子水平转移比其它昆虫和节肢动物更多,而杆状病毒经常攻击鳞翅目,在病毒感染过程中,蛾类 DNA 被整合到杆状病毒基因组中,其中大多数是转座元件,平均 4.8% 的病毒含有蛾类的 DNA,说明杆状病毒是节肢动物水平基因转移潜在的重要媒介 (Gilbert *et al.*, 2016; Reiss *et al.*, 2019)。另外, HGT 事件产生的基因也可能含有昆虫本身的基因片段,

如存在于双翅目、膜翅目和蟋蟀等昆虫的 *oskar* 基因,其 LOTUS 结构域来自昆虫本身,而 OSK 结构域来自细菌的类 GDSL 结构域 (Blondel *et al.*, 2020)。

3 水平基因转移的受体昆虫

HGT 的受体指的是外源基因转入的物种。从以往的经验来看, HGT 在真核生物物种中是广泛存在的 (Hotopp *et al.*, 2007; Crisp *et al.*, 2015)。但目前昆虫 HGT 的研究仍集中在部分昆虫,尤其是模式昆虫,主要包括半翅目、鳞翅目、鞘翅目、膜翅目和双翅目等物种较多的类群,也有少部分其它类群的昆虫 (图 2, 表 3)。

表 3 近年报道的功能较明确的昆虫 HGT 经典案例
Table 3 Classic HGT cases with clear functions reported in insects in recent years

受体昆虫 Insect receptors	供体来源 Donors	HGT 的基因 HGT genes	功能类型 Function types	参考文献 References
半翅目 Hemiptera				
柑橘粉蚧 <i>Planococcus citri</i>	兼性肠道微生物和内共生菌, 22 个营养合成与细菌细胞如 <i>Tremblaya</i> 和 <i>Moranella</i>	壁合成基因 22 genes for nutrient synthesis and bacterial cell wall synthesis	营养合成与共生 Nutritional synthesis and symbiosis	Husnik <i>et al.</i> , 2013
	细菌 Bacteria	肽聚糖合成相关基因 Genes related to peptidoglycan synthesis	共生 Symbiosis	Bublitz <i>et al.</i> , 2019
甘露粉蚧 <i>Trabutina mannipara</i>	细菌 Bacteria	营养合成基因 Genes for nutrient synthesis	营养合成与共生 Nutritional synthesis and symbiosis	Szabo <i>et al.</i> , 2017
豌豆长管蚜 <i>Acyrtosiphon pisum</i>	细菌 Bacteria	LD-羧肽酶 <i>ldcA</i> 基因和稀有脂蛋白 <i>rlpA</i> 基因 LD-carboxypeptidase <i>ldcA</i> and rare lipoprotein <i>rlpA</i>	营养合成与共生 Nutritional synthesis and symbiosis	Nakabachi <i>et al.</i> , 2005; Nikoh and Nakabachi, 2009; Richards <i>et al.</i> , 2010; Nakabachi <i>et al.</i> , 2014
	变形菌门 Proteobacteria	溶菌酶 <i>GH25</i> 基因 Lysozyme <i>GH25</i>	抗菌 Antibacterial	Metcalf <i>et al.</i> , 2014
	真菌 Fungi	类胡萝卜素去饱和酶和类胡萝卜素环化酶/合成酶 Carotenoid desaturases and carotenoid cyclases / synthases	身体色彩和营养合成 Body color and nutrition synthesis	Moran and Jarvik, 2010

续表 1 Continued table 1

受体昆虫 Insect receptors	供体来源 Donors	HGT 的基因 HGT genes	功能类型 Function types	参考文献 References
烟粉虱 <i>Bemisia tabaci</i>	细菌, 可能是沃尔巴克氏体 Bacteria, probably <i>Wolbachia</i>	<i>BioA</i> 、 <i>BioD</i> 、 <i>BioB</i>	维生素 B7 合成 Vitamin B7 synthesis	Luan <i>et al.</i> , 2015; Chen <i>et al.</i> , 2016; Xie <i>et al.</i> , 2018; Ren <i>et al.</i> , 2020
	细菌 Bacteria	融合基因 <i>panBC</i> Fused gene <i>panBC</i>	维生素 B5 合成 Vitamin B5 synthesis	Chen <i>et al.</i> , 2016; Xie <i>et al.</i> , 2018; Ren <i>et al.</i> , 2021
	植物 Viridiplantae	酚苷丙二酰转移酶 <i>BtPMT1</i> 基因 Phenolic glucoside malonyltransferase <i>BtPMT1</i>	解毒 Detoxication	Xia <i>et al.</i> , 2021
杨梅叶柄瘿木虱 <i>Pachypsylla venusta</i>	沃尔巴克氏体、立克次氏体、 <i>Carsonella</i> 等昆虫共生菌 Insect symbiotic bacteria such as <i>Wolbachia</i> , <i>Rickettsia</i> and <i>Carsonella</i>	精氨酸琥珀裂解酶 <i>ASL</i> 基因、分支酸变位酶 <i>CM</i> 基因及其它 7 个基因 Argininosuccinate lyase <i>ASL</i> genes, chorismate mutase <i>CM</i> genes and 7 other genes	营养合成与共生 Nutritional synthesis and symbiosis	Sloan <i>et al.</i> , 2014
紫苑叶蝉 <i>Macrosteles quadrilineatus</i>	细菌 Bacteria	30 个基因 30 genes	营养合成与共生 Nutritional synthesis and symbiosis	Mao <i>et al.</i> , 2018
鳞翅目 Lepidoptera				
家蚕等鳞翅目昆虫 Lepidopterons such as <i>Bombyx mori</i>	细菌 Bacteria	β -呋喃果糖苷酶 <i>GH32</i> 基因 Beta-fructofuranosidase <i>GH32</i>	营养吸收和解毒 Nutrition absorption and detoxification	Daimon <i>et al.</i> , 2008; Li <i>et al.</i> , 2011; Zhu <i>et al.</i> , 2011; Sun <i>et al.</i> , 2013
	格式李斯特菌 <i>Listeria grayi</i>	犬尿氨酸酶 Kynureninase	身体色彩、营养吸收和解毒 Body color, nutrition absorption and detoxification	Meng <i>et al.</i> , 2009; Li <i>et al.</i> , 2011; Zhu <i>et al.</i> , 2011; Sun <i>et al.</i> , 2013
	肠球菌属 <i>Enterococcus</i>	糖苷水解酶 <i>GH31</i> 基因 Glycoside hydrolase <i>GH31</i>	营养吸收 Nutrition absorption	Li <i>et al.</i> , 2011; Sun <i>et al.</i> , 2013; Wheeler <i>et al.</i> , 2013
	甲基杆菌属 <i>Methylobacterium</i>	半胱氨酸合成酶 <i>CAS</i> 基因 Cysteine synthase <i>CAS</i>	营养吸收和解毒 Nutrition absorption and detoxification	Li <i>et al.</i> , 2011; Sun <i>et al.</i> , 2013; Wybouw <i>et al.</i> , 2014; van Ohlen <i>et al.</i> , 2016
甜菜夜蛾 <i>Spodoptera exigua</i>	多 DNA 病毒 Polydnavirus	<i>gasmin</i>	抗病毒 Antiviral	Gasmi <i>et al.</i> , 2016
鞘翅目 Coleoptera				
咖啡果小蠹 <i>Hypothenemus hampei</i>	芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	甘露聚糖酶 <i>HhMAN1</i> 基因 (GH5 家族) Mannanase <i>HhMAN1</i> (GH5 family)	消化 Digestion	Acuna <i>et al.</i> , 2012

续表 1 Continued table 1

受体昆虫 Insect receptors	供体来源 Donors	HGT 的基因 HGT genes	功能类型 Function types	参考文献 References
米象 <i>Sitophilus oryzae</i>	真菌 Fungi	聚半乳糖醛酸酶 GH28 基因 Polygalacturonase GH28	消化 Digestion	Shen <i>et al.</i> , 2003
光肩星天牛 <i>Anoplophora glabripennis</i>	细菌和真菌 Bacteria and fungi	糖苷水解酶 GH 家族 Glycoside hydrolase GH family	消化 Digestion	McKenna <i>et al.</i> , 2016; McKenna <i>et al.</i> , 2019
山松甲虫 <i>Dendroctonus ponderosae</i>	肠道菌 Gut microbes	蔗糖-6-磷酸水解酶 scrB 基因 (GH32 家族) Sucrose-6-phosphate hydrolase scrB (GH32 family)	消化 Digestion	Keeling <i>et al.</i> , 2013
瓢虫亚科 Coccinellinae	细菌 Bacteria	细菌细胞壁水解酶 cwh 基因 Bacterial cell wall hydrolase cwh	抗菌 Antibacterial	Li <i>et al.</i> , 2021a; Li <i>et al.</i> , 2021b
膜翅目 Hymenoptera				
果蝇寄生蜂 <i>Leptopilina heterotoma</i> Parasitic wasp of fruit fly <i>Leptopilina heterotoma</i>	微生物或原生动物 Microbes or protozoa	淋巴腺凋亡相关蛋白 Lar 基因 Lymphatic apoptosis-related protein Lar	毒素 Toxin	Huang <i>et al.</i> , 2021
果蝇寄生蜂 <i>Leptopilina boulardi</i> Parasitic wasp of fruit fly <i>Leptopilina boulardi</i>	共生菌 Symbiotic bacteria	mucinbd 域蜂卵粘附相关蛋白 Warm 基因 Mucinbd domain contained egg adhesion associated protein Warm	毒素 Toxin	Huang <i>et al.</i> , 2021
蝇蛹金小蜂 <i>Nasonia vitripennis</i>	微孢子虫 Microsporidia	几丁质酶 GH19 基因 Chitinase GH19	毒素 Toxin	Martinson <i>et al.</i> , 2016
双翅目 Diptera				
果蝇属 Drosophila	细菌 + 昆虫本身 Bacteria + insects themselves	<i>oskar</i>	生殖 reproduction	Blondel <i>et al.</i> , 2020
黑森瘿蚊 <i>Mayetiola destructor</i>	细菌 Bacteria	糖苷水解酶 MdesGH32 基因 Glucoside hydrolase MdesGH32	营养吸收 Nutrition absorption	Subramanyam <i>et al.</i> , 2021
其他昆虫 Other insects				
竹节虫 Euphasmatodea Walking sticks Euphasmatodea	γ-变形杆菌 Gamma-proteobacteria	聚半乳糖醛酸酶 GH28 基因 Polygalacturonase GH28	消化 Digestion	Shelomi <i>et al.</i> , 2016
东亚飞蝗 <i>Locusta migratoria</i>	黏菌 Mycetozoa	类黏菌蛋白激酶 MPKL 基因 Mycetozoa protein kinase-like MPKL	光周期滞育 Photoperiod diapause	Hao <i>et al.</i> , 2019

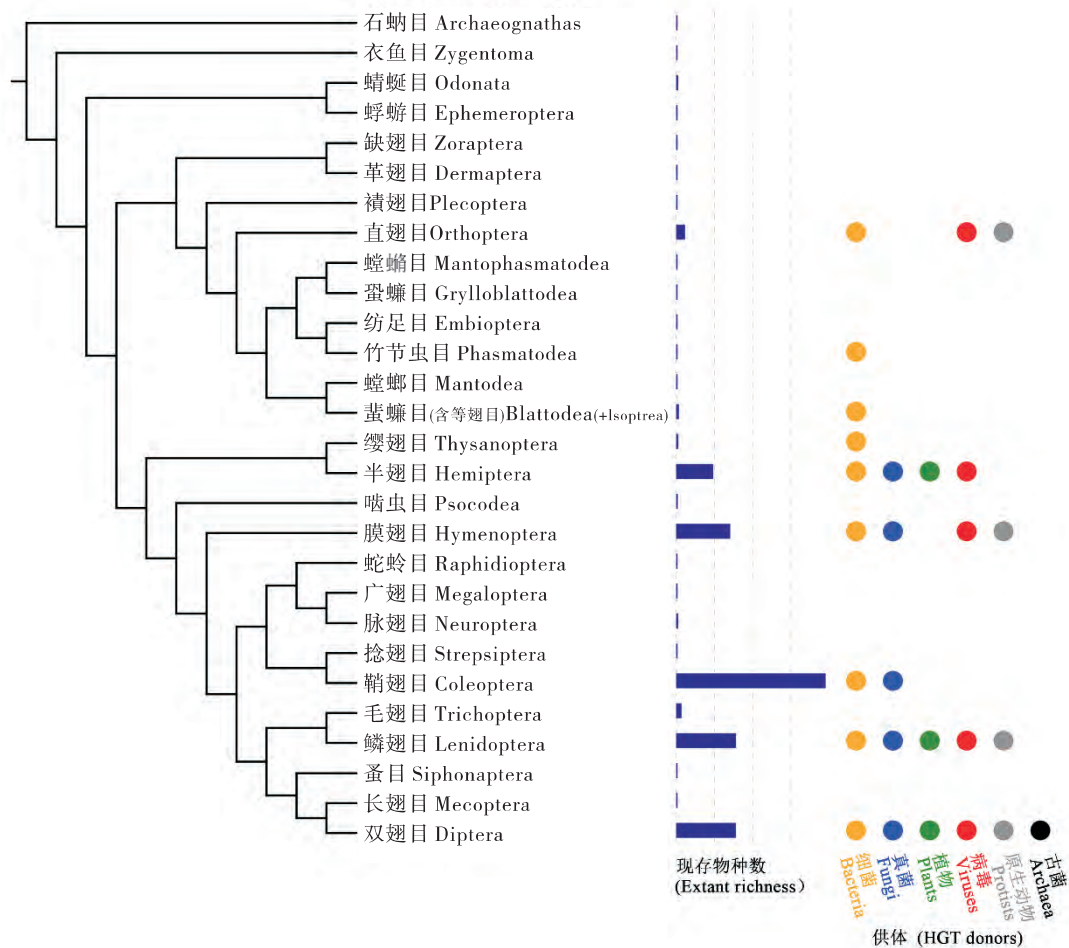


图2 现阶段昆虫 HGT 研究中发现的供体和受体

Fig. 2 Donors and recipients of HGT in insects identified in the present researches

注: 图中昆虫的系统发育关系参考 Misof *et al.* (2014) 的研究结果, 现存物种数参考 Rainford *et al.* (2014) 的数据。Note: The phylogenetic relationship of insects in the figure referred to the research results of Misof *et al.* (2014), and extant richness referred to the data of Rainford *et al.* (2014).

半翅目的 HGT 研究主要集中在胸喙亚目 Sternorrhyncha。胸喙亚目昆虫与主要属于 γ -变形杆菌的共生菌组成密切的共生系统, 如蚜虫和 *Buchnera* 菌 (Nakabachi *et al.*, 2005; Nikoh and Nakabachi, 2009; Nikoh *et al.*, 2010; Richards *et al.*, 2010; Nakabachi *et al.*, 2014; Nicholson *et al.*, 2015)、粉蚧和 *Tremblaya/Moranella* 菌 (Husnik *et al.*, 2013; Husnik and McCutcheon, 2016; Szabo *et al.*, 2017; Bublitz *et al.*, 2019)、粉虱和 *Portiera* 菌 (Luan *et al.*, 2015; Chen *et al.*, 2016; Xie *et al.*, 2018; Ren *et al.*, 2020; Ren *et al.*, 2021) 以及木虱和 *Carsonella* 菌 (Sloan *et al.*, 2014)。这些研究发现, 昆虫含菌体细胞中细菌来源的 HGT 基因的表达能够补全共生菌缺失的营养和结构合成通路。相似的共生机制在头喙

亚目 Auchenorrhyncha 的叶蝉 Cicadellidae 中也有发现 (Mao *et al.*, 2018; Mao and Bennett, 2020)。蝉的共生菌也缺乏完整的 tRNA 合成通路 (Van Leuven *et al.*, 2019), 预示着这套共生机制可能在头喙亚目甚至更广的类群中也普遍存在。

此外, 蚜虫中存在来自细菌的溶菌酶 *GH25* 基因 (Metcalf *et al.*, 2014) 和来自真菌的类胡萝卜素合成基因 (Moran and Jarvik, 2010; Novakova and Moran, 2012), 而粉虱中还检测到 *RIP* (Lapadula *et al.*, 2020)、*BtPMT1* (Xia *et al.*, 2021) 等植物基因和 78 个真菌基因 (Chen *et al.*, 2016)。褐飞虱 (Cheng *et al.*, 2014)、茶翅蜡 (Ioannidis *et al.*, 2014; Sparks *et al.*, 2020)、烟盲蜡 (Ferguson *et al.*, 2020)、乳草长蜡 (Panfilio *et al.*, 2019) 与温带臭虫 (Benoit *et al.*, 2016)

等物种也有研究报道过 HGT 的存在。

在鳞翅目中, HGT 研究最多的物种是模式生物的家蚕 (Li *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2013; Wheeler *et al.*, 2013; Wybouw *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2019), 也涉及棉贪夜蛾 (Di Lelio *et al.*, 2019)、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Gasmi *et al.*, 2016; Gasmi *et al.*, 2018)、烟草天蛾 *Manduca sexta* (Kanost *et al.*, 2016)、菜粉蝶 *Pieris rapae* (van Ohlen *et al.*, 2016)、东方菜粉蝶 *Pieris canidia* (Subbarayan *et al.*, 2016) 和网蛱蝶 (Ahmed *et al.*, 2016) 等物种。鳞翅目的 HGT 基因中不少与植物的消化和解毒有关, 如糖苷水解酶 GH31 基因 (Wheeler *et al.*, 2013)、 β -呋喃果糖苷酶 GH32 基因 (Daimon *et al.*, 2008)、半胱氨酸合成酶 (Wybouw *et al.*, 2014; van Ohlen *et al.*, 2016) 及犬尿氨酸酶 (Meng *et al.*, 2009) 等。

植食甲虫 Phytophaga 与以糖苷水解酶家族 (glycoside hydrolases, GH) 为主的内源性植物细胞壁降解酶 (plant cell wall degrading enzymes, PCWDEs) 是鞘翅目 HGT 研究的热点。在植食甲虫中普遍发现来自细菌或真菌的植物细胞壁降解酶或其它植物消化酶, 这些 HGT 基因可能是植食甲虫在中生代多元化的关键 (Shen *et al.*, 2003; Pauchet *et al.*, 2010; Acuna *et al.*, 2012; Keeling *et al.*, 2013; Pauchet and Heckel, 2013; Eyun *et al.*, 2014; Kirsch *et al.*, 2014; Pauchet *et al.*, 2014; Vega *et al.*, 2015; Kirsch *et al.*, 2016; McKenna *et al.*, 2016; Busch *et al.*, 2019; Kirsch *et al.*, 2019; McKenna *et al.*, 2019)。另外, 在绿豆象 (Kondo *et al.*, 2002; Nikoh *et al.*, 2008) 和松墨天牛 (Aikawa *et al.*, 2009) 中存在沃尔巴克氏体的多个基因; 而在瓢虫亚科 Coccinellinae 中则存在支系特异的细菌细胞壁水解酶 *cwh* 基因 (Li *et al.*, 2021b)。

在膜翅目中, HGT 研究以寄生蜂为代表。在 *Leptopilina heterotoma*、*L. boulardi* (Huang *et al.*, 2021)、蝇蛹金小蜂 *Nasonia vitripennis* (Werren *et al.*, 2010; Martinson *et al.*, 2016)、*N. giraulti* 与 *N. longicornis* (Werren *et al.*, 2010) 及 *Diachasma alloeum* (Tvedte *et al.*, 2019) 等寄生蜂中均有 HGT 的报道。在蚂蚁中也存在来自沃尔巴克氏体的 DNA 片段, 包含转座酶、ABC 转运体和锚蛋白重复包含蛋白等 83 个基因 (Dhaygude *et al.*, 2019)。

果蝇作为模式生物类群, 被用于许多 HGT 搜索的研究, 例如 Crisp *et al.* (2015)、Verster *et al.* (2019)、Hotopp *et al.* (2007) 以及 Emameh *et al.* (2016) 等的研究。另外, 在厩螫蝇的基因组中发现来自沃尔巴克氏体的 3 个片段, 但未发现蛋白基因 (Olafson *et al.*, 2021)。库蚊与伊蚊 (Lapadula *et al.*, 2017)、瘿蚊 (Cobbs *et al.*, 2013; Zhao *et al.*, 2015; Subramanyam *et al.*, 2021) 等蚊类物种中也有发现毒素和植物消化等不同作用的 HGT 基因。值得注意的是, 在许多其它类群研究中发现的一些 HGT 在库蚊、伊蚊、按蚊和瘿蚊等蚊类物种中也存在相似的基因, 不同的是, 其中一部分基因是通过另外独立的 HGT 事件进入的, 如几丁质酶 GH19 基因 (Martinson *et al.*, 2016)、 β -碳酸酐酶 β -CA 基因 (Emameh *et al.*, 2016)、RNA 病毒的解旋酶 (Morozov *et al.*, 2017) 及细胞壁水解酶 *cwh* 基因 (Li *et al.*, 2021b) 等, HGT 的频繁发生可能与蚊类较为恶劣的生存环境有关。

在竹节虫及德国小蠊 *Blattella germanica* 中也有内源性植物消化酶的报道, 包括聚半乳糖醛酸酶 GH28 等消化果胶的酶 (Shelomi *et al.*, 2014; Shelomi *et al.*, 2016; Wu *et al.*, 2016; Brand *et al.*, 2018)。此外, 东亚飞蝗 (Hao *et al.*, 2019) 与西花蓟马 (Rotenberg *et al.*, 2020) 等物种也报道了 HGT 的存在。

4 昆虫水平基因转移的功能

4.1 “半路出家”——昆虫植食性的获得: 细胞壁降解、营养吸收与解毒

早期研究普遍认为, 昆虫中缺乏植物细胞壁的消化酶, 而共生微生物是昆虫“半路出家”的关键, 可以帮助植物消化、解毒植物的毒素, 而随着组学技术的发展, 越来越多昆虫 HGT 获得的内源性植物细胞壁降解酶、营养吸收与解毒的基因被发现和研究 (图 3), 这些基因对昆虫适应植食、“半路出家”有着重要的意义 (Calderon-Cortes *et al.*, 2012; Wybouw *et al.*, 2016; Skidmore and Hansen, 2017; Mason *et al.*, 2019; Tokuda, 2019)。

植物细胞壁降解酶除 GH1 和 GH9 来源于动物祖先 (Chang and Lai, 2018) 外, 一般来自细菌或真菌, 大多属于糖苷水解酶 GH 家族, 包括分解果胶的碳水化合物酯酶 CE8、多聚糖裂解酶 PL4 和

GH28; 分解蔗糖的 GH32; 分解半纤维素的 GH5-2、GH5-8、GH5-10、GH5-12、GH10、GH11 和分解纤维素的 GH43、GH44、GH45、GH48 等, 这些酶主要集中报道于植食甲虫 *Phytophaga* 中, 在许多植食性昆虫中也有记录 (Calderon-Cortes *et al.*, 2012; Pauchet and Heckel, 2013; McKenna *et al.*, 2019)。Shen *et al.* (2003) 在米象中发现了一种可能来自真菌的果胶消化酶——聚半乳糖醛酸酶 GH28; Acuna *et al.* (2012) 在咖啡果小蠹 *Hypothenemus hampei* 的中肠分泌组中发现一种属于 GH5 家族的酶——甘露聚糖酶 HhMAN1, 能够水解咖啡豆中的半乳甘露聚糖, 而其基因组中搜索得到 10 个 HGT 基因, 包括 2 个木聚糖酶和 2 个甘露聚糖酶基因 (Vega *et al.*, 2015); 在芥菜叶甲 *Phaedon cochleariae* 的基因组中, Pauchet and Heckel (2013) 发现有编码活性木聚糖酶 GH11 的基因存在; 在山松甲虫 *Dendroctonus ponderosae* (Keeling *et al.*, 2013)、白蜡窄吉丁 *Agilus planipennis* (Zhao *et al.*, 2014) 和甘蔗象甲 *Sphenophorus levis* (Pedezi *et al.*, 2014) 体内则均发现了 GH32 家族的 β -呋喃果糖苷酶 *scrB* 基因。在其他类群的植食性昆虫中也有相似的 HGT 细胞壁降解酶的研究, 如竹节虫中来源于细菌的果胶酶基因在前中肠中大量表达, 底物酶活性实验也证明其可以降解果胶和聚半乳糖醛酸, 证明了这些果胶酶在竹节虫消化植物中的重要作用 (Shelomi *et al.*, 2014; Shelomi *et al.*, 2016); 黑森瘿蚊 GH32 家族的 *MdesGH32* 基因的蛋白则拥有菊粉酶和转化酶活性, 协助将植物细胞壁菊粉聚合物分解为单体, 并将植物主要运输糖蔗糖转化为葡萄糖和果糖, 从而形成有利于黑森瘿蚊寄生的富含营养的组织 (Subramanyam *et al.*, 2021)。在这些细胞壁降解酶与植食性昆虫联系的认识基础上, 越来越多的研究将这些细胞壁降解酶与植食性昆虫联系成为一个整体, 用大量数据去深入探究它们的作用。Busch *et al.* (2019) 研究了植食甲虫纤维素酶 GH45 的作用, 发现其能够降解 3 种底物: 无定形纤维素、木葡聚糖和葡甘露聚糖。Kirsch *et al.* (2019) 则以植食甲虫的 GH28 作为研究对象, 探究了其中的假酶 (pseudoenzymes), 也就是失去了果胶催化活性的酶, 他们认为这些假酶也是果胶消化途径的一部分, 假酶降低了能量转化效率并延长了甲虫的发育历期, 对消化过程的影响甚至超过了活性酶。McKenna *et al.* (2019)

研究了鞘翅目昆虫的进化历史, 以系统发育分析和比较基因组学为手段, 发现不同支系的植食性甲虫在获得大量消化细胞壁的 HGT 后往往开始适应性辐射进化, 占据了多样的生态位。这些细胞壁降解酶在 HGT 发生后通常会经历基因的复制和扩张以及亚功能化 (Kirsch *et al.*, 2016; Brand *et al.*, 2018; Kirsch *et al.*, 2019)。

促进植物营养吸收的基因包括糖类代谢、氨基酸合成、维生素合成和类胡萝卜素合成等的基因。促进糖类代谢的基因除消化细胞壁成分的降解酶外, 还包括消化胍胍质的 *GH16* 基因 (Hazzouri *et al.*, 2020) 与糖苷水解酶 *GH31* 基因 (Li *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2013; Wheeler *et al.*, 2013) 等。氨基酸和维生素合成基因包括精氨酸琥珀酸裂解酶 *argH*、分支酸变位酶 *CM* 及生物素合成酶 *bioB* 等许多基因, 这些基因与半翅目胸喙亚目及其共生菌的共生系统有关 (Luan *et al.*, 2015; Wybouw *et al.*, 2016)。而类胡萝卜素合成基因最初发现于豌豆长管蚜 *Acyrtosiphon pisum* 中, 蚜虫基因组中发现了来自真菌的类胡萝卜素去饱和酶和类胡萝卜素环化酶/合成酶 (Moran and Jarvik, 2010)。Novakova and Moran (2012) 研究发现, 蚜虫和球蚜中均存在这些基因, 说明 HGT 事件发生在这些类群的共同祖先出现之前。随后, 相似的基因在瘿蚊中被发现, 而这些基因可能是由不同的 HGT 事件进入的 (Cobbs *et al.*, 2013)。另外, 在其它节肢动物的叶螨中, 也有真菌源类胡萝卜素合成基因的报道 (Altincicek *et al.*, 2012)。

植物在昆虫取食时会使用一些防御手段, 如释放氰化物等毒素, 针对这个防御手段, 昆虫通过 HGT 获得能够解毒的基因, 从而冲破植物的防线达到取食植物的目的。存在于鳞翅目和柑橘粉蚧 *Planococcus citri* 等昆虫的半胱氨酸合成酶 *CAS* 具有解毒植物氰化物的功能 (Husnik *et al.*, 2013; Wybouw *et al.*, 2014; van Ohlen *et al.*, 2016)。家蚕中的 β -呋喃果糖苷酶 GH32 具有解毒桑叶毒素的作用, 犬尿氨酸酶同样具有解毒植物毒素的作用 (Daimon *et al.*, 2008; Meng *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2011; Zhu *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2013)。近日, Xia *et al.* (2021) 在烟粉虱中发现一个来自植物的近期 HGT 基因——酚苷丙二酰转移酶 *BtPMT1* 基因, 经过对番茄叶毒素的鉴定以及对烟粉虱的 RNA 干扰等实验, 发现该基因可以中和解毒植物中的毒素酚苷, 这很可能促进了烟粉虱

近期的食性扩张。另外,对不同物种的 RNA 干扰结果还表明通过 dsRNA 的手段可以对烟粉虱进行靶标性的防治。

4.2 “难舍难分”的共生:营养与结构合成

胸喙亚目昆虫,包括蚜虫、粉蚧、粉虱和木虱等类群,体内通常伴随着一类基因组小于 0.5 Mb、十分微小的共生菌,这些共生菌能为宿主昆虫提供植物汁液食物缺乏的必需氨基酸和维生素等营养 (Baumann, 2005; McCutcheon and Moran, 2012; Douglas, 2016)。近期的研究显示,这些胸喙亚目昆虫中存在一种专门储存共生菌的含菌体器官,其中的含菌体细胞能够表达细菌来源的 HGT 基因,补全这类微小共生菌缺失的营养物质或结构合成环节,使得胸喙亚目昆虫与共生菌联系紧密,难以分割 (图 3)。

胸喙亚目昆虫共生体系的 HGT 基因最初发现于蚜虫中。Nakabachi *et al.* (2005) 在豌豆长管蚜的含菌体中发现了两条区别于共生菌 *Buchnera* 的转录本,其含有与细菌相似的基因。对这两条转录本测序发现,这两条转录本含有类似细菌的 LD-羧肽酶 *ldcA* 基因和稀有脂蛋白 *rlpA* 基因,这两个基因能够参与合成细菌细胞壁的主要成分肽聚糖,而 *Buchnera* 菌正好缺失了这部分基因 (Nikoh and Nakabachi, 2009)。Richards *et al.* (2010) 通过搜索豌豆长管蚜的基因组发现了 12 个 HGT 基因,包括了 3 个 *ldcA* 和 5 个 *rlpA* 基因以及 2 个来自 *Buchnera* 菌的基因,其中 7 个基因在含菌体细胞中表达较高。Nakabachi *et al.* (2014) 在之后的研究中通过免疫化学的实验观察到含菌体表达的 *rlpA4* 的蛋白被转运进入 *Buchnera* 菌的细胞中。而 Nicholson *et al.* (2015) 在麦双尾蚜 *Diuraphis noxia* 的基因组中同样发现来自细菌的 *ldcA* 和 *rlpA* 基因。

在粉蚧中,这种共生机制进一步得到诠释。Husnik *et al.* (2013) 在柑橘粉蚧的含菌体中找到 22 个转录的 HGT 基因,其中 2 个赖氨酸合成基因与 5 个维生素 B 合成基因能够补全共生菌 *Tremblaya* 及其胞内共生菌 *Moranella* 的必需氨基酸以及维生素合成通路,为粉蚧提供食物中缺乏的营养物质,而另外 9 个肽聚糖合成相关基因与 *Moranella* 菌的细胞壁合成有关,为我们展示了粉蚧中复杂的三重共生体系。随后, Husnik and McCutcheon (2016) 调查了 5 种不同粉蚧物种内的共生体系,发现这套 HGT 的机制稳定存在于粉蚧、*Tremblaya* 菌和 γ -变形杆菌的共生体系中,其中较

为古老的 HGT 主要与氨基酸和维生素 B 合成和代谢有关,而后期 HGT 主要与肽聚糖合成代谢有关。同样,甘露粉蚧 *Trabutina mannipara* 中也发现了类似的共生体系和 HGT 机制 (Szabo *et al.*, 2017)。对于粉蚧中获得的肽聚糖合成相关基因, Bublitz *et al.* (2019) 做了进一步的探究,揭示了粉蚧中的 HGT 与 *Moranella* 菌的基因共同协作合成 *Moranella* 菌外周的肽聚糖层,并通过免疫组织化学的手段发现其中一个 HGT 基因 *MurF* 编码的蛋白已经进入到 *Moranella* 菌的细胞质。

在烟粉虱的研究中, Luan *et al.* (2015) 同样发现其存在 8 个 HGT 基因能够补全共生的 *Portiera* 菌中缺失的赖氨酸/苏氨酸、苯丙氨酸/色氨酸和精氨酸合成通路,另外 2 个 HGT 基因 *BioA*、*BioB* 在已有的基础上进一步增补共生的 *Hamiltonella* 菌生物素的合成。Chen *et al.* (2016) 和 Xie *et al.* (2018) 测序得到的烟粉虱基因组也验证了这些 HGT 的存在。Ren *et al.* (2020) 进一步探究了粉虱和 *Hamiltonella* 菌的维生素 B7 生物素合成途径,发现粉虱体内的 HGT 基因 *BioA*、*BioD* 及 *BioB* 能够合成生物素,与 *Hamiltonella* 菌合成的生物素相互补充,提高粉虱存活率和繁殖率。随后,粉虱中的维生素 B5 泛酸合成途径也被研究。Ren *et al.* (2021) 发现细菌中的泛酸合成基因 *panB* 和 *panC* 在烟粉虱中融合成一个基因 *panBC*,能够补全 *Portiera* 菌的泛酸合成通路,提高粉虱的适应性。

杨梅叶柄瘿木虱 *Pachypsylla venusta* 中也存在与共生菌互补的 HGT 基因,其中精氨酸琥珀酸裂解酶 *argH* 基因能够补全共生的 *Carsonella* 菌的精氨酸合成通路,分支酸变位酶 CM 是苯丙氨酸合成的必要酶,另外还有维生素 B2 核黄素合成酶 *ribC* 基因等 7 个 HGT 基因 (Sloan *et al.*, 2014)。

胸喙亚目昆虫与胞内共生菌这套“难舍难分”的协作共生机制似乎与线粒体、叶绿体等细胞器有很多相似的地方,可能为我们带来细胞器初期演化的一些启示。

4.3 以子之“矛”攻子之“盾”:抗菌与抗病毒

昆虫通过 HGT 能够从细菌中夺取细菌细胞壁代谢的相关基因,从而用于降解细菌细胞壁,以达到抗菌的作用 (图 3)。Hotopp and Estes (2014) 认为,这是真核生物在生物战争中反击的利器。烟粉虱夺取植物基因 *BtPMT1* 对付植物毒素也是类似的机制 (Xia *et al.*, 2021)。以子之“矛”攻子之“盾”,堪称为生物进化中的智慧。

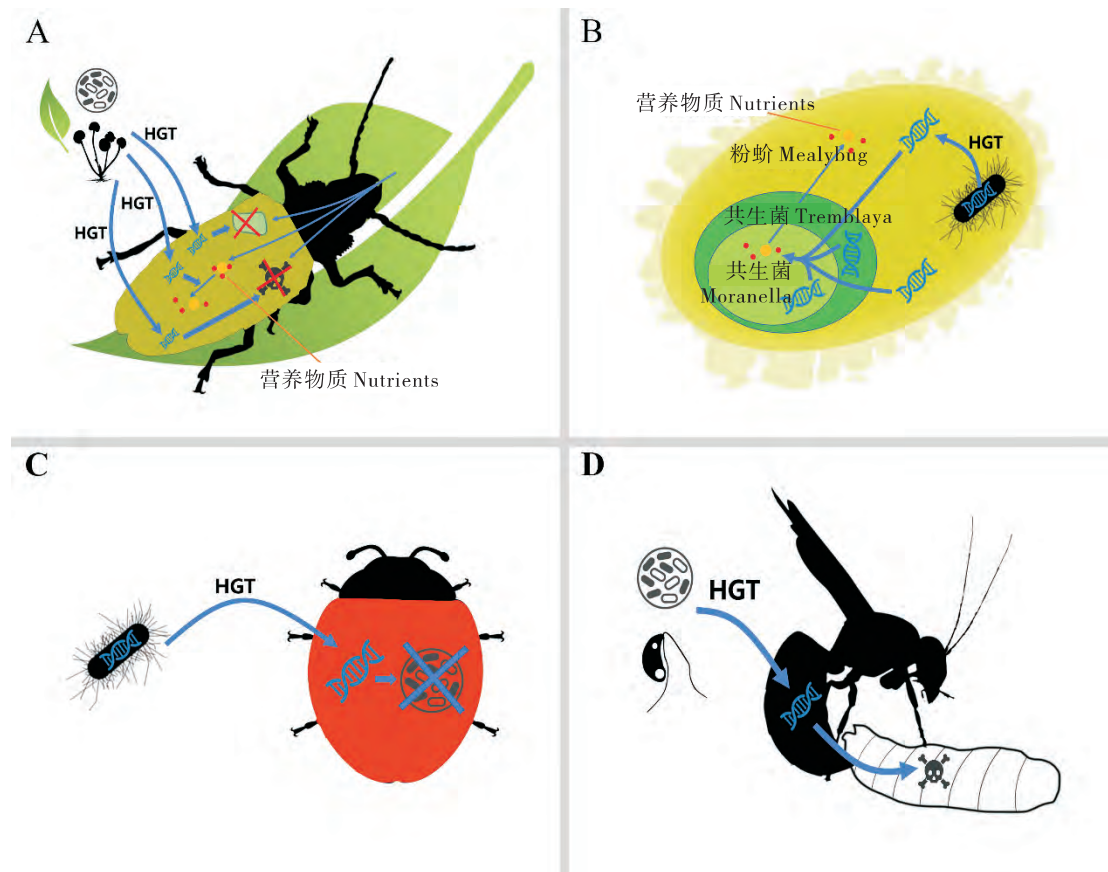


图3 昆虫 HGT 的主要功能

Fig. 3 The main function of insect HGT

注: (A) “半路出家”, 昆虫通过 HGT 从细菌、真菌或植物中获得与细胞壁降解、营养吸收与解毒相关的基因, 从而获得植食性; (B) “难舍难分”的共生, 胸喙亚目昆虫通过 HGT 从细菌中获得部分营养合成基因, 与共生菌基因协作合成所需的营养; (C) 以子之“矛”攻子之“盾”, 昆虫通过 HGT 从细菌中夺取抗菌作用的基因; (D) 借“刀”杀“人”, 昆虫从微生物或原生动物中借来毒素或防御相关基因, 在寄生蜂的寄生中发挥重要作用。

Note: (A) Become a monk or nun late in life, insects acquired genes related to cell wall degradation, nutrient absorption and detoxification from bacteria, fungi or plants through HGT, thus acquiring herbivory; (B) Inseparable symbiosis, Sternorrhyncha insects acquired part of nutrient synthesis genes from bacteria through HGT, which can cooperate with genes in symbiosis bacteria to produce the required nutrients; (C) Turn somebody's battery against himself, insects robbed antimicrobial genes from bacteria through HGT; (D) Borrow a knife to kill a man, insects borrowed toxins or defense-related genes from microorganisms or protozoans, which play an important role in parasitizing of parasitic wasps.

Li *et al.* (2021b) 利用 38 种瓢虫的转录组数据, 以及数个瓢虫基因组, 鉴定出一组细菌细胞壁水解酶 *cwh* 基因, 该基因在真核生物中十分罕见, 但在包含大部分瓢虫科 Coccinellidae 物种的瓢虫亚科物种中均稳定存在, 而在物种较少的小维氏瓢虫亚科 Microweiseinae 中缺乏该基因。经过系统发育分析, 证明该基因是来源于细菌的 HGT, 在进入瓢虫亚科祖先后分化为两支, 分别是无信号肽的 *cwh1* 和包含信号肽的 *cwh2*, *cwh1* 在食性范围较广的瓢虫族 Coccinellini 的多个物种中发生了

复制, 表明了该基因对食性扩张可能有一定的贡献。而时空表达谱表明, 瓢虫各器官以及各发育阶段的表达量相似, 说明这些基因在瓢虫体内稳定发挥作用。经过实验发现, 感染枯草芽孢杆菌导致瓢虫体内 *cwh* 基因表达上调, 而且体外表达的蛋白能够抑制细菌的增殖, 经过 RNA 干扰后, 其它抗菌基因的表达量显著下调, 表明 *cwh* 基因在抗菌免疫防御中发挥作用。随后, Li *et al.* (2021a) 测序了生物防治天敌孟氏隐唇瓢虫 *Cryptolaemus montrouzieri* 的高质量基因组, 并做了

比较基因组学和不同食物处理的转录组分析,发现 *cwh* 等免疫基因在取食人工饲料后相比天然猎物的粉蚧发生下调,揭示了免疫基因在瓢虫取食胸喙亚目昆虫的食性中发挥了重要作用。*cwh* 基因在白垩纪晚期进入瓢虫亚科祖先,可能在瓢虫的猎物适应、生态位扩张和物种辐射进化中发挥了重要的作用 (Li *et al.*, 2021b)。

豌豆长管蚜 (Metcalf *et al.*, 2014) 和茶翅蜡 (Ioannidis *et al.*, 2014) 的基因组中也存在从细菌抢夺而来的溶菌酶基因;烟盲蜡从 *Sodalis* 菌夺取了吩嗪合成蛋白的编码基因,而吩嗪有抗菌的效果,这个 HGT 可能在烟盲蜡体内发挥了抗菌的作用 (Ferguson *et al.*, 2020);乳草长蜡同样存在与细胞壁代谢相关的 HGT 基因,可能有相同的抗菌作用 (Panfilio *et al.*, 2019)。在其它节肢动物中也有类似功能的 HGT,细菌来源的抗菌性 HGT 酰胺酶效应器 *dae* 基因在蜉对抗皮肤细菌的过程中发挥着重要的作用 (Chou *et al.*, 2015; Hayes *et al.*, 2020)。除此之外,甜菜夜蛾从多 DNA 病毒抢夺的 *gasmin* 基因能够抑制杆状病毒增殖 (Gasmi *et al.*, 2016);而夜蛾属夺取病毒的类茧蜂病毒凝集素 *Se-BLLs* 基因以对抗体内病毒 (Gasmi *et al.*, 2018)。

然而,抗菌的 HGT 可能并不是从目标类群夺取的,昆虫同样不介意夺取其它类群物种的“矛”来攻击细菌或真菌。棉贪夜蛾从寄生蜂共生病毒夺取的 *gasmin* 基因能够参与免疫反应,促进血细胞吞噬细菌 (Di Lelio *et al.*, 2019)。家蚕与其它鳞翅目中来自真菌的 4, 5-多巴加双氧酶 *BmDODA* 基因参与多巴代谢,并能够促进抗菌活性 (Wang *et al.*, 2019)。而家蚕中 GH18 家族的几丁质酶 *BmChi-h* 基因可能参与降解真菌的细胞壁,起到抗真菌的作用 (Daimon *et al.*, 2003)。

4.4 借“刀”杀“人”:毒素与防御

昆虫可以通过 HGT 从其它类群生物中借来一些与毒素和防御有关的基因,用来对付天敌或者猎物,达到借“刀”杀“人”的目的 (图 3)。Huang *et al.* (2021) 对广寄生性的果蝇寄生蜂 *Leptopilina heterotoma* 和专性寄生蜂 *L. boulardi* 进行了转录组和蛋白组的研究,在 *L. heterotoma* 中发现可能来自微生物或原生动物的淋巴腺凋亡相关蛋白 *Lar* 基因,该蛋白能够溶解果蝇的淋巴腺,从而主动抑制果蝇的免疫反应,达成该寄生蜂广泛寄生的目的;而 *L. boulardi* 中存在来自共生菌

的含有粘蛋白结合域的蜂卵粘附相关蛋白 *Warm* 基因,该蛋白能够将蜂卵粘附在宿主组织上逃避宿主免疫细胞的完全包裹,使孵化的寄生蜂幼虫能够从粘附面逃出,而达成寄生专一宿主的功能。这些基因在获得后均经过复制和亚功能化,促进了寄生蜂宿主范围的转移。蝇蛹金小蜂从真菌微孢子虫中获得的几丁质酶 *GH19* 基因能够上调宿主真菌保护基因的表达,操纵宿主的免疫系统,可能消耗宿主的能量并降低宿主营养质量,从而作为毒素提高寄生的成功率 (Martinson *et al.*, 2016)。东方菜粉蝶则存在细菌 HGT 基因——半胱天冬酶依赖的细胞凋亡诱导蛋白 *pierisin-5* 基因,该基因能发挥细胞毒性的作用,促进细胞的凋亡 (Subbarayan *et al.*, 2016)。在其它节肢动物的蜈蚣中,至少有 5 个毒素基因来自细菌或真菌,而其中 β -PFTx 和 *centiPAD* 等多个毒素基因存在其它独立转移至鳞翅目、鞘翅目和膜翅目等类群中部分昆虫的 HGT 事件 (Undheim and Jenner, 2021)。

此外,粉虱中从植物、蚊子从蓝藻中分别获得核糖体失活蛋白 *RIP* 基因,之前的研究发现这个基因在果蝇中的共生螺原体 *Spiroplasma* 中具有防御线虫的作用,以此推测粉虱和蚊子中这些 HGT 也有相似的功能 (Hamilton *et al.*, 2016; Lapadula *et al.*, 2017; Lapadula *et al.*, 2020)。果蝇从蚜虫共生菌 *Candidatus Hamiltonella defensa* 或其噬菌体获得的细胞致死膨胀毒素 *cdtB* 基因可能也具有该共生菌防御寄生蜂的功能 (Verster *et al.*, 2019)。黑森瘦蚊拥有来自噬菌体的 YD 毒素,同样可能与寄生蜂防御有关 (Zhao *et al.*, 2015)。

4.5 其它功能

昆虫中的 HGT 基因还存在许多其它的功能。鳞翅目中的犬尿氨酸酶 (Meng *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2011; Sun *et al.*, 2013; Wheeler *et al.*, 2013)、蚜虫和瘦蚊的类胡萝卜素合成基因 (Moran and Jarvik, 2010; Novakova and Moran, 2012; Cobbs *et al.*, 2013) 除了植物营养吸收外还可能与昆虫的身体色彩有关。在果蝇中存在的 *oskar* 基因则与神经模式和卵子发生有关,在昆虫繁殖中发挥重要作用 (Blondel *et al.*, 2020)。蚊子和果蝇中的细菌源 β -碳酸酐酶 β -CA 高效催化 CO_2 的水合作用,参与包括呼吸、pH 及 CO_2 稳态、生物合成与毒力调节等生理过程 (Emameh *et al.*, 2016)。东亚飞蝗的类黏菌蛋白激酶 MPKL 则有诱

导光周期滞育的作用 (Hao *et al.*, 2019)。这些 HGT 基因往往帮助昆虫获得了新性状, 从而获得更适应环境的能力。另外, 还有大量搜索出来的 HGT 基因功能并未得到明确。

5 存在问题与展望

昆虫 HGT 研究作为近年昆虫研究的热点, 为我们揭开了昆虫适应和进化机制的一角。昆虫植食性的获得、营养合成、昆虫免疫以及寄生蜂的寄生与宿主的防御等表型的改变或生理的过程, 均与 HGT 有着密切的联系。而且, 无论是内源性植物消化解毒酶、与共生菌协作合成氨基酸和维生素、捕食性瓢虫的免疫基因还是寄生蜂的宿主毒性, 均与昆虫食性的适应和扩张有关, 表明了 HGT 与昆虫食性之间千丝万缕的关系。然而, 在深入研究昆虫 HGT 之前, 我们需要注意现阶段研究中一些不足:

(1) HGT 的搜索与验证缺乏一套严谨的系统化的方法, 且供体类群考虑不全面。目前 HGT 的搜索大多基于同源搜索的结果, 再加以系统发育分析和真核序列的验证。但搜索阶段容易受到数据库质量、其它物种污染和近源物种 HGT 等问题的影响, 缺乏一套系统化的方法, 也容易造成搜索结果的缺失或误判。目前较为常用的 HGT 指数 h 等的流程化方法较为简单, 但还很难解决以上的问题。另外, 系统发育分析中可能会受到数据库物种序列缺失或错误以及系统发育不确定性等影响, 无法准确还原 HGT 的历程, 同时很难解释独立多次发生的古老 HGT 与基因复制丢失等其它进化事件的区别。而真核序列验证过程较为繁琐, 也存在无法排除物种中稳定且特异的胞内共生菌或肠道微生物基因的可能性。研究中对供体的考虑大多受限于细菌, 而对真菌、植物、病毒和原生动物等类群的考虑较少, 几乎没有古菌和其它后生动物等其它类群的报道, 这可能是由于病毒序列不稳定, 而真菌、植物等真核生物与昆虫较为近源, 序列容易混淆造成误判, 造成研究者不愿考虑这些类群来源的 HGT。Alienness 网络服务器能较好的处理 HGT 搜索中流程化、近源物种 HGT 和多种类型供体等问题, 但目前仅应用于 Undheim and Jenner (2021) 等较少的研究中, 且仍然存在需要人为定义近源类群、无法严谨排除污染、无法确定 HGT 方向、准确性欠佳及后续还

需要验证等不足。

HGT 的序列片段或结构域可能会重新参与组成新的基因, 如与自身基因组成的 *oskar* 基因 (Blondel *et al.*, 2020) 和互相融合而成的 *panBC* 基因 (Ren *et al.*, 2021)。然而, 目前 HGT 研究中仍以考虑整体基因为主, 可能错过一些含有部分 HGT 片段的基因。以结构域或基因片段为单位的 HGT 检测方法可能会为我们带来更全面的对 HGT 的认识。

长期来看, 开发一套严谨的系统化方法是必要的。对于包括昆虫在内的更加近源的后生动物类群供体, 尤其是天敌、猎物及竞争物种等有密切关系的潜在供体, 则需要开发更加精准的区分方法, 基于序列组成的方法可能是一个突破口。

(2) 昆虫 HGT 研究的受体昆虫类群较为局限。HGT 研究的受体昆虫集中于半翅目、鳞翅目、鞘翅目、膜翅目及双翅目等类群, 尤其是胸喙亚目、植食甲虫等类群和果蝇、蚊子、家蚕等模式生物, 其他昆虫研究较少, 包括物种较为丰富的毛翅目、直翅目等类群, 半翅目和全变态类 Holometabola 以外的昆虫类群更是缺乏 HGT 的认识。要完全揭开 HGT 在昆虫中的神秘面纱, 还需要在更多类群中进行研究, 将热点普遍化。要探究 HGT 与食性的联系, 也不能仅关注植食性昆虫和寄生蜂, 捕食性昆虫、腐食性昆虫以及菌食性昆虫也需要更深入的研究。

(3) HGT 的功能验证较为困难, 搜索出来的大量 HGT 并未明确功能。HGT 的基因在进入受体昆虫后往往跟随昆虫基因组进行了很长时间的进化, 会发生复制、插入内含子、添加信号肽和亚功能化等进化事件, 其具体功能与在细菌等供体中的时候产生了微妙的差别, 尤其在个体层面, HGT 基因对供体和受体的意义可能相差甚远。例如代谢酶和营养合成基因, 它们在微观的代谢通路上功能可能是相似的, 但个体获取这些基因的意义往往很难有合理的假设, 这就增加了这些基因功能验证的难度。这需要结合物种的进化历史、与近缘的非 HGT 受体的生物学特性比较、表达谱的探究以及严谨的下游功能验证。而目前, 还有许多搜索发现的 HGT 并未得到功能验证, 如烟盲蝽中的吩嗪合成蛋白, 可能与其抗菌免疫相关 (Ferguson *et al.*, 2020), 如果得到验证将是一个有趣的发现; 而温带臭虫中的类 *patatin* 基因仅在雄性表达 (Benoit *et al.*, 2016), 该基因在生殖或

性二型过程中的作用需要进一步挖掘。另外,未发现表达的 HGT 基因以及基因组上的 HGT 片段,究竟是进化过程中的偶然,还是具有潜在的功能,还需要进行探索。

HGT 的研究正处于持续拓展的阶段,在技术方法上还需要有更多的突破,在类群的研究上也需要进一步扩大范围,而这些已发现的 HGT 也需要明确在新的生物体中的功能。相信在不久的将来,昆虫 HGT 的研究必然会为我们讲述更多 HGT 与昆虫食性扩张、适应环境的精彩故事。

参考文献 (References)

- Acuna R, Padilla BE, Florez-Ramos CP, *et al.* Adaptive horizontal transfer of a bacterial gene to an invasive insect pest of coffee [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109 (11): 4197–4202.
- Ahmed MZ, Breinholt JW, Kawahara AY. Evidence for common horizontal transmission of *Wolbachia* among butterflies and moths [J]. *Bmc Evolutionary Biology*, 2016, 16: 118.
- Aikawa T, Anbutso H, Nikoh N, *et al.* Longicorn beetle that vectors pinewood nematode carries many *Wolbachia* genes on an autosome [J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2009, 276 (1674): 3791–3798.
- Altincicek B, Kovacs JL, Gerardo NM. Horizontally transferred fungal carotenoid genes in the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* [J]. *Biology Letters*, 2012, 8 (2): 253–257.
- Arakawa K. No evidence for extensive horizontal gene transfer from the draft genome of a tardigrade [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113 (22): E3057.
- Arevalo P, Vanlnsberghe D, Elsherbini J, *et al.* A reverse ecology approach based on a biological definition of microbial populations [J]. *Cell*, 2019, 178 (4): 820.
- Armenteros JJA, Tsirigos KD, Sonderby CK, *et al.* SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks [J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37 (4): 420.
- Baumann P. Biology of bacteriocyte-associated endosymbionts of plant sap-sucking insects [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2005, 59: 155–189.
- Bemm F, Weiss CL, Schultz J, *et al.* Genome of a tardigrade: Horizontal gene transfer or bacterial contamination? [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113 (22): E3054–3056.
- Benoit JB, Adelman ZN, Reinhardt K, *et al.* Unique features of a global human ectoparasite identified through sequencing of the bed bug genome [J]. *Nature Communications*, 2016, 7 (2): 10165.
- Blondel L, Jones TEM, Extavour CG. Bacterial contribution to genesis of the novel germ line determinant *oskar* [J]. *Elife*, 2020, 9.
- Boothby TC, Tenlen JR, Smith FW, *et al.* Evidence for extensive horizontal gene transfer from the draft genome of a tardigrade [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112 (52): 15976–15981.
- Boschetti C, Carr A, Crisp A, *et al.* Biochemical diversification through foreign gene expression in bdelloid rotifers [J]. *PLoS Genetics*, 2012, 8 (11): e1003035.
- Boto L. Horizontal gene transfer in the acquisition of novel traits by metazoans [J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2014, 281 (1777): 20132450.
- Brand P, Lin W, Johnson BR. The draft genome of the invasive walking stick, *Medauroidea extradendata*, reveals extensive lineage-specific gene family expansions of cell wall degrading enzymes in Phasmatodea [J]. *G3-Genes Genomes Genetics*, 2018, 8 (5): 1403–1408.
- Bublitz DC, Chadwick GL, Magyar JS, *et al.* Peptidoglycan production by an insect-bacterial mosaic [J]. *Cell*, 2019, 179 (3): 703.
- Buchfink B, Xie C, Huson DH. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND [J]. *Nature Methods*, 2015, 12 (1): 59–60.
- Busch A, Danchin EGJ, Pauchet Y. Functional diversification of horizontally acquired glycoside hydrolase family 45 (GH45) proteins in Phytophaga beetles [J]. *Bmc Evolutionary Biology*, 2019, 19: 100.
- Calderon-Cortes N, Quesada M, Watanabe H, *et al.* Endogenous plant cell wall digestion: A key mechanism in insect evolution [J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2012, 43: 45–71.
- Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, *et al.* BLAST plus: Architecture and applications [J]. *BMC Bioinformatics*, 2009, 10: 421.
- Chang WH, Lai AG. Mixed evolutionary origins of endogenous biomass-depolymerizing enzymes in animals [J]. *Bmc Genomics*, 2018, 19.
- Chauve C, Feng JX, Wang LL. Detecting introgression in *Anopheles* mosquito genomes using a reconciliation-based approach [J]. *Comparative Genomics*, 2018, 11183: 163–178.
- Chen WB, Hasegawa DK, Kaur N, *et al.* The draft genome of whitefly *Bemisia tabaci* MEAM1, a global crop pest, provides novel insights into virus transmission, host adaptation, and insecticide resistance [J]. *Bmc Biology*, 2016, 14.
- Cheng RL, Xi Y, Lou YH, *et al.* Brown planthopper nudivirus DNA integrated in its host genome [J]. *Journal of Virology*, 2014, 88 (10): 5310–5318.
- Chou S, Daugherty MD, Peterson SB, *et al.* Transferred interbacterial antagonism genes augment eukaryotic innate immune function [J]. *Nature*, 2015, 518 (7537): 98–101.
- Cobbs C, Heath J, Stireman JO, *et al.* Carotenoids in unexpected places: Gall midges, lateral gene transfer, and carotenoid biosynthesis in animals [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2013, 68 (2): 221–228.
- Correa CC, Ballard JW. *Wolbachia* associations with insects: Winning or losing against a master manipulator [J]. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2016, 3.
- Crisp A, Boschetti C, Perry M, *et al.* Expression of multiple horizontally acquired genes is a hallmark of both vertebrate and invertebrate genomes [J]. *Genome Biology*, 2015, 16: 50.
- Daimon T, Hamada K, Mita K, *et al.* A *Bombyx mori* gene, *BmChi-h*, encodes a protein homologous to bacterial and baculovirus chitinases

- [1] . *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 33 (8) : 749 – 759.
- Daimon T, Taguchi T, Meng Y, *et al.* Beta-fructofuranosidase genes of the silkworm, *Bombyx mori* – insights into enzymatic adaptation of *B. mori* to toxic alkaloids in mulberry latex [J] . *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283 (22) : 15271 – 15279.
- de Melo ES, Wallau GL. Mosquito genomes are frequently invaded by transposable elements through horizontal transfer [J] . *PLoS Genetics*, 2020, 16 (11) , doi: 10.1371/journal.pgen.1008946.
- Delmont TO, Eren AM. Identifying contamination with advanced visualization and analysis practices: Metagenomic approaches for eukaryotic genome assemblies [J] . *PeerJ*, 2016, 4 (5507) : e1839.
- Dhaygude K, Nair A, Johansson H, *et al.* The first draft genomes of the ant *Formica exsecta*, and its *Wolbachia* endosymbiont reveal extensive gene transfer from endosymbiont to host [J] . *Bmc Genomics*, 2019, 20.
- Di Lelio I, Illiano A, Astarita F, *et al.* Evolution of an insect immune barrier through horizontal gene transfer mediated by a parasitic wasp [J] . *PLoS Genetics*, 2019, 15 (3) : e1007998.
- Douglas AE. How multi-partner endosymbioses function [J] . *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14 (12) : 731 – 743.
- Drezen JM, Gauthier J, Josse T, *et al.* Foreign DNA acquisition by invertebrate genomes [J] . *Journal of Invertebrate Pathology*, 2017, 147: 157 – 168.
- Emameh RZ, Barker HR, Tolvanen MEE, *et al.* Horizontal transfer of beta-carbonic anhydrase genes from prokaryotes to protozoans, insects, and nematodes [J] . *Parasites & Vectors*, 2016, 9, doi: 10.1186/s13071-016-1415-7.
- Eyun SI, Wang HC, Pauchet Y, *et al.* Molecular evolution of glycoside hydrolase genes in the western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*) [J] . *PLoS ONE*, 2014, 9 (4) : e94052.
- Faddeeva-Vakhrusheva A, Derks MFL, Anvar SY, *et al.* Gene family evolution reflects adaptation to soil environmental stressors in the genome of the collembolan *Orchesella cincta* [J] . *Genome Biology and Evolution*, 2016, 8 (7) : 2106 – 2117.
- Faddeeva-Vakhrusheva A, Kraaijeveld K, Derks MFL, *et al.* Coping with living in the soil: The genome of the parthenogenetic springtail *Folsomia candida* [J] . *Bmc Genomics*, 2017, 18: 493.
- Ferguson KB, Visser S, Dalikova M, *et al.* Jekyll or Hyde? The genome (and more) of *Nesidiocoris tenuis*, a zoophytophagous predatory bug that is both a biological control agent and a pest [J] . *Insect Molecular Biology*, 2020, doi: 10.1101/2020.02.27.967943.
- Fitzpatrick DA. Horizontal gene transfer in fungi [J] . *Fems Microbiology Letters*, 2012, 329 (1) : 1 – 8.
- Flot JF, Hespeels B, Li X, *et al.* Genomic evidence for ameiotic evolution in the bdelloid rotifer *Adineta vaga* [J] . *Nature*, 2013, 500 (7463) : 453 – 457.
- Gao CH, Ren XD, Mason AS, *et al.* Horizontal gene transfer in plants [J] . *Functional & Integrative Genomics*, 2014, 14 (1) : 23 – 29.
- Gasmi L, Jakubowska AK, Herrero S. *Gasmin* (BV2-5) , a polydnalviral-acquired gene in *Spodoptera exigua*. Trade-off in the defense against bacterial and viral infections [J] . *Developmental and Comparative Immunology*, 2016, 56: 37 – 45.
- Gasmi L, Jakubowska AK, Ferre J, *et al.* Characterization of two groups of *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) C-type lectins and insights into their role in defense against the densovirus JeDV [J] . *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2018, 97 (1) .
- Gilbert C, Peccoud J, Chateigner A, *et al.* Continuous influx of genetic material from host to virus populations [J] . *PLoS Genetics*, 2016, 12 (2) , doi: 10.1371/journal.pgen.1005838.
- Gladyshev EA, Meselson M, Arkhipova IR. Massive horizontal gene transfer in bdelloid rotifers [J] . *Science*, 2008, 320 (5880) : 1210 – 1213.
- Haag KL. Holobionts and their hologenomes: Evolution with mixed modes of inheritance [J] . *Genetics and Molecular Biology*, 2018, 41 (1) : 189 – 197.
- Haas BJ, Salzberg SL, Zhu W, *et al.* Automated eukaryotic gene structure annotation using EVIDENCE Modeler and the program to assemble spliced alignments [J] . *Genome Biology*, 2008, 9 (1) : R7.
- Hamilton PT, Peng FN, Boulanger MJ, *et al.* A ribosome-inactivating protein in a *Drosophila* defensive symbiont [J] . *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113 (2) : 350 – 355.
- Hao K, Ullah H, Jarwar AR, *et al.* Molecular identification and diapause-related functional characterization of a novel dual – specificity kinase gene, *MPKL*, in *Locusta migratoria* [J] . *Febs Letters*, 2019, 593 (21) : 3064 – 3074.
- Hayes BM, Radkov AD, Yarza F, *et al.* Ticks resist skin commensals with immune factor of bacterial origin [J] . *Cell*, 2020, 183 (6) : 1562 – 1571 e1512.
- Hazzouri KM, Sudalaimuthuasari N, Kundu B, *et al.* The genome of pest *Rhynchophorus ferrugineus* reveals gene families important at the plant-beetle interface [J] . *Communications Biology*, 2020, 3 (1) : 323.
- Hotopp JCD, Clark ME, Oliveira DCSG, *et al.* Widespread lateral gene transfer from intracellular bacteria to multicellular eukaryotes [J] . *Science*, 2007, 317 (5845) : 1753 – 1756.
- Hotopp JCD. Horizontal gene transfer between bacteria and animals [J] . *Trends in Genetics*, 2011, 27 (4) : 157 – 163.
- Hotopp JCD, Estes AM. Biology wars: The eukaryotes strike back [J] . *Cell Host & Microbe*, 2014, 16 (6) : 701 – 703.
- Huang J, Chen J, Fang G, *et al.* Two novel venom proteins underlie divergent parasitic strategies between a generalist and a specialist parasite [J] . *Nature Communications*, 2021, 12 (1) : 234.
- Husnik F, Nikoh N, Koga R, *et al.* Horizontal gene transfer from diverse bacteria to an insect genome enables a tripartite nested mealybug symbiosis [J] . *Cell*, 2013, 153 (7) : 1567 – 1578.
- Husnik F, McCutcheon JP. Repeated replacement of an intrabacterial symbiont in the tripartite nested mealybug symbiosis [J] . *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113 (37) : 5416 – 5424.
- Huson DH, Beier S, Flade I, *et al.* MEGAN community edition – interactive exploration and analysis of large-scale microbiome sequencing data [J] . *PLoS Computational Biology*, 2016, 12 (6) : e1004957.
- Ioannidis P, Lu Y, Kumar N, *et al.* Rapid transcriptome sequencing of an invasive pest, the brown marmorated stink bug *Halyomorpha*

- halys [J]. *Bmc Genomics*, 2014, 15: 738.
- Kanost MR, Arrese EL, Cao XL, *et al.* Multifaceted biological insights from a draft genome sequence of the tobacco hornworm moth, *Manduca sexta* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2016, 76: 118–147.
- Keeling CI, Yuen MMS, Liao NY, *et al.* Draft genome of the mountain pine beetle, *Dendroctonus ponderosae* Hopkins, a major forest pest [J]. *Genome Biology*, 2013, 14 (3): .
- Keeling PJ, Palmer JD. Horizontal gene transfer in eukaryotic evolution [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2008, 9 (8): 605–618.
- Kirsch R, Gramzow L, Theissen G, *et al.* Horizontal gene transfer and functional diversification of plant cell wall degrading polygalacturonases: Key events in the evolution of herbivory in beetles [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 52: 33–50.
- Kirsch R, Heckel DG, Pauchet Y. How the rice weevil breaks down the pectin network: Enzymatic synergism and sub-functionalization [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2016, 71: 72–82.
- Kirsch R, Kunert G, Vogel H, *et al.* Pectin digestion in herbivorous beetles: Impact of pseudoenzymes exceeds that of their active counterparts [J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 685
- Klasson L, Kambris Z, Cook PE, *et al.* Horizontal gene transfer between *Wolbachia* and the mosquito *Aedes aegypti* [J]. *Bmc Genomics*, 2009, 10, doi: 10.1186/1471-2164-10-33.
- Kondo N, Nikoh N, Ijichi N, *et al.* Genome fragment of *Wolbachia* endosymbiont transferred to X chromosome of host insect [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99 (22): 14280–14285.
- Koutsovoulos G, Kumar S, Laetsch DR, *et al.* No evidence for extensive horizontal gene transfer in the genome of the tardigrade *Hypsibius dujardini* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016, 113 (18): 5053–5058.
- Ku C, Martin WF. A natural barrier to lateral gene transfer from prokaryotes to eukaryotes revealed from genomes: The 70 % rule [J]. *Bmc Biology*, 2016, 14 (1): 89.
- Lapadula WJ, Marcet PL, Mascotti ML, *et al.* Metazoan ribosome inactivating protein encoding genes acquired by horizontal gene transfer [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7 (1): 1863.
- Lapadula WJ, Mascotti ML, Juri Ayub M. Whitefly genomes contain ribotoxin coding genes acquired from plants [J]. *Scientific Reports*, 2020, 10 (1): 15503.
- Le Hir H, Nott A, Moore MJ. How introns influence and enhance eukaryotic gene expression [J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2003, 28 (4): 215–220.
- Li C, Chen J, Li SC. Deep learning for HGT insertion sites recognition [J]. *Bmc Genomics*, 2020, 21 (Suppl. 11): 893.
- Li HS, Huang YH, Chen ML, *et al.* Genomic insight into diet adaptation in the biological control agent *Cryptolaemus montrouzieri* [J]. *Bmc Genomics*, 2021a, 22 (1): .
- Li HS, Tang XF, Huang YH, *et al.* Horizontally acquired antibacterial genes associated with adaptive radiation of ladybird beetles [J]. *Bmc Biology*, 2021b, 19 (1): 7.
- Li ZW, Shen YH, Xiang ZH, *et al.* Pathogen-origin horizontally transferred genes contribute to the evolution of Lepidopteran insects [J]. *Bmc Evolutionary Biology*, 2011, 11, doi: 10.1186/1471-2148-11-356.
- Luan JB, Chen WB, Hasegawa DK, *et al.* Metabolic coevolution in the bacterial symbiosis of whiteflies and related plant sap – feeding insects [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2015, 7 (9): 2635–2647.
- Mallet J, Besansky N, Hahn MW. How reticulated are species? [J]. *Bioessays*, 2016, 38 (2): 140–149.
- Mao M, Yang XS, Bennett GM. Evolution of host support for two ancient bacterial symbionts with differentially degraded genomes in a leafhopper host [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115 (50): 11691–11700.
- Mao M, Bennett GM. Symbiont replacements reset the co-evolutionary relationship between insects and their heritable bacteria [J]. *Isme Journal*, 2020, 14 (6): 1384–1395.
- Marcais G, Delcher AL, Phillippy AM, *et al.* MUMmer4: A fast and versatile genome alignment system [J]. *PLoS Computational Biology*, 2018, 14 (1): e1005944.
- Martinson EO, Martinson VG, Edwards R, *et al.* Laterally transferred gene recruited as a venom in parasitoid wasps [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33 (4): 1042–1052.
- Mason CJ, Jones AG, Felton GW. Co-option of microbial associates by insects and their impact on plant-herbivore interactions [J]. *Plant Cell and Environment*, 2019, 42 (3): 1078–1086.
- McCutcheon JP, Moran NA. Extreme genome reduction in symbiotic bacteria [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 10 (1): 13–26.
- McKenna DD, Scully ED, Pauchet Y, *et al.* Genome of the Asian longhorned beetle (*Anoplophora glabripennis*), a globally significant invasive species, reveals key functional and evolutionary innovations at the beetle-plant interface [J]. *Genome Biology*, 2016, 17: 227.
- McKenna DD, Shin S, Ahrens D, *et al.* The evolution and genomic basis of beetle diversity [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116 (49): 24729–24737.
- Meng Y, Katsuma S, Daimon T, *et al.* The silkworm mutant lemon (lemon lethal) is a potential insect model for human sepiapterin reductase deficiency [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2009, 284 (17): 11698–11705.
- Metcalf JA, Funkhouser-Jones LJ, Brileya K, *et al.* Antibacterial gene transfer across the tree of life [J]. *Elife*, 2014, 3: e04266.
- Minh BQ, Schmidt HA, Chernomor O, *et al.* IQ-TREE 2: New models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2020, 37 (5): 1530–1534.
- Misof B, Liu SL, Meusemann K, *et al.* Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution [J]. *Science*, 2014, 346 (6210): 763–767.
- Miyake T, Demerec M. *Salmonella escherichia* hybrids [J]. *Nature*, 1959, 183 (4675): 1586.
- Moran NA, Jarvik T. Lateral transfer of genes from fungi underlies carotenoid production in aphids [J]. *Science*, 2010, 328 (5978):

- 624–627.
- Morozov SY, Lazareva EA, Solovyev AG. RNA helicase domains of viral origin in proteins of insect retrotransposons: Possible source for evolutionary advantages [J]. *PeerJ*, 2017, 5: e3673.
- Nakabachi A, Shigenobu S, Sakazume N, *et al.* Transcriptome analysis of the aphid bacteriocyte, the symbiotic host cell that harbors an endocellular mutualistic bacterium, *Buchnera* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102 (15): 5477–5482.
- Nakabachi A, Ishida K, Hongoh Y, *et al.* Aphid gene of bacterial origin encodes a protein transported to an obligate endosymbiont [J]. *Current Biology*, 2014, 24 (14): 640–641.
- Nakabachi A. Horizontal gene transfers in insects [J]. *Current Opinion in Insect Science*, 2015, 7: 24–29.
- Nicholson SJ, Nickerson ML, Dean M, *et al.* The genome of *Diuraphis noxia*, a global aphid pest of small grains [J]. *Bmc Genomics*, 2015, 16: 429.
- Nikoh N, Tanaka K, Shibata F, *et al.* *Wolbachia* genome integrated in an insect chromosome: Evolution and fate of laterally transferred endosymbiont genes [J]. *Genome Research*, 2008, 18 (2): 272–280.
- Nikoh N, Nakabachi A. Aphids acquired symbiotic genes via lateral gene transfer [J]. *Bmc Biology*, 2009, 7, doi: 10.1186/1741–7007–7–12.
- Nikoh N, McCutcheon JP, Kudo T, *et al.* Bacterial genes in the aphid genome: Absence of functional gene transfer from *Buchnera* to its host [J]. *PLoS Genetics*, 2010, 6 (2): e1000827.
- Novakova E, Moran NA. Diversification of genes for carotenoid biosynthesis in aphids following an ancient transfer from a fungus [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2012, 29 (1): 313–323.
- Ochman H, Lawrence JG, Groisman EA. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation [J]. *Nature*, 2000, 405 (6784): 299–304.
- Olafson PU, Aksoy S, Attardo GM, *et al.* The genome of the stable fly, *Stomoxys calcitrans*, reveals potential mechanisms underlying reproduction, host interactions, and novel targets for pest control [J]. *Bmc Biology*, 2021, 19 (1).
- Pallen MJ, Wren BW. Bacterial pathogenomics [J]. *Nature*, 2007, 449 (7164): 835–842.
- Panfilio KA, Jentzsch IMV, Benoit JB, *et al.* Molecular evolutionary trends and feeding ecology diversification in the Hemiptera, anchored by the milkweed bug genome [J]. *Genome Biology*, 2019, 20 (1): 1–26.
- Pauchet Y, Wilkinson P, Chauhan R, *et al.* Diversity of beetle genes encoding novel plant cell wall degrading enzymes [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5 (12): e15635.
- Pauchet Y, Heckel DG. The genome of the mustard leaf beetle encodes two active xylanases originally acquired from bacteria through horizontal gene transfer [J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2013, 280 (1763): 20131021.
- Pauchet Y, Kirsch R, Giraud S, *et al.* Identification and characterization of plant cell wall degrading enzymes from three glycoside hydrolase families in the cerambycid beetle *Apriona japonica* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 49: 1–13.
- Peccoud J, Loiseau V, Cordaux R, *et al.* Massive horizontal transfer of transposable elements in insects [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114 (18): 4721–4726.
- Peduzzi R, Fonseca FPP, Santos CD, *et al.* A novel beta-fructofuranosidase in Coleoptera: Characterization of a beta-fructofuranosidase from the sugarcane weevil, *Sphenophorus levis* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 55: 31–38.
- Pond SLK, Poon AFY, Velazquez R, *et al.* HyPhy 2.5-a customizable platform for evolutionary hypothesis testing using phylogenies [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2020, 37 (1): 295–299.
- Rainford JL, Hofreiter M, Nicholson DB, *et al.* Phylogenetic distribution of extant richness suggests metamorphosis is a key innovation driving diversification in insects [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9 (10): e109085.
- Rancurel C, Legrand L, Danchin EGJ. Alienness: Rapid detection of candidate horizontal gene transfers across the tree of life [J]. *Genes*, 2017, 8 (10).
- Ravenhall M, Škunca N, Lassalle F, *et al.* Inferring horizontal gene transfer [J]. *PLoS Computational Biology*, 2015, 11 (5): e1004095.
- Reiss D, Mialdea G, Miele V, *et al.* Global survey of mobile DNA horizontal transfer in arthropods reveals Lepidoptera as a prime hotspot [J]. *PLoS Genetics*, 2019, 15 (2): e1007965.
- Ren FR, Sun X, Wang TY, *et al.* Biotin provisioning by horizontally transferred genes from bacteria confers animal fitness benefits [J]. *Isme Journal*, 2020, 14: 2542–2553.
- Ren FR, Sun X, Wang TY, *et al.* Pantothenate mediates the coordination of whitefly and symbiont fitness [J]. *Isme Journal*, 2021, 15: 1655–1667.
- Richards S, Gibbs RA, Gerardo NM, *et al.* Genome Sequence of the Pea Aphid *Acyrtosiphon pisum* [J]. *PLoS Biology*, 2010, 8 (2): e1000313.
- Rotenberg D, Baumann AA, Ben-Mahmoud S, *et al.* Genome-enabled insights into the biology of thrips as crop pests [J]. *Bmc Biology*, 2020, 18 (1), doi: 10.1186/s12915–020–00862–9.
- Shelomi M, Jasper WC, Atallah J, *et al.* Differential expression of endogenous plant cell wall degrading enzyme genes in the stick insect (Phasmatodea) midgut [J]. *Bmc Genomics*, 2014, 15: 917.
- Shelomi M, Danchin EGJ, Heckel D, *et al.* Horizontal gene transfer of pectinases from bacteria preceded the diversification of stick and leaf insects [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6 (26388), doi: 10.1038/srep26388.
- Shen ZC, Denton M, Mutti N, *et al.* Polygalacturonase from *Sitophilus oryzae*: Possible horizontal transfer of a pectinase gene from fungi to weevils [J]. *Journal of Insect Science*, 2003, 3: 24.
- Shimodaira H, Hasegawa M. Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1999, 16 (8): 1114–1116.
- Sieber KB, Bromley RE, Hotopp JCD. Lateral gene transfer between prokaryotes and eukaryotes [J]. *Experimental Cell Research*, 2017, 358 (2): 421–426.

- Skidmore IH, Hansen AK. The evolutionary development of plant-feeding insects and their nutritional endosymbionts [J]. *Insect Science*, 2017, 24 (6): 910–928.
- Sloan DB, Nakabachi A, Richards S, *et al.* Parallel histories of horizontal gene transfer facilitated extreme reduction of endosymbiont genomes in sap-feeding insects [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2014, 31 (4): 857–871.
- Soucy SM, Huang J, Gogarten JP. Horizontal gene transfer: Building the web of life [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2015, 16 (8): 472–482.
- Sparks ME, Bansal R, Benoit JB, *et al.* Brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stål), genome: Putative underpinnings of polyphagy, insecticide resistance potential and biology of a top worldwide pest [J]. *Bmc Genomics*, 2020, 21 (1): 227.
- Stamatakis A. RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30 (9): 1312–1313.
- Subbarayan S, Marimuthu SK, Nachimuthu SK, *et al.* Characterization and cytotoxic activity of apoptosis-inducing pierisin-5 protein from white cabbage butterfly [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 87: 16–27.
- Subramanyam S, Nemacheck JA, Bernal-Crespo V, *et al.* Insect derived extra oral GH32 plays a role in susceptibility of wheat to Hessian fly [J]. *Scientific Reports*, 2021, 11 (1): .
- Sun BF, Xiao JH, He SM, *et al.* Multiple ancient horizontal gene transfers and duplications in lepidopteran species [J]. *Insect Molecular Biology*, 2013, 22 (1): 72–87.
- Szabo G, Schulz F, Toenshoff ER, *et al.* Convergent patterns in the evolution of mealybug symbioses involving different intrabacterial symbionts [J]. *Isme Journal*, 2017, 11 (3): 715–726.
- Tokuda G. Plant cell wall degradation in insects: Recent progress on endogenous enzymes revealed by multi-omics technologies [J]. *Advances in Insect Physiology*, 2019, 57: 97–136.
- Tvedte ES, Walden KKO, McElroy KE, *et al.* Genome of the parasitoid wasp *Diachasma alloeum*, an emerging model for ecological speciation and transitions to asexual reproduction [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2019, 11 (10): 2767–2773.
- Undheim EAB, Jenner RA. Phylogenetic analyses suggest centipede venom arsenals were repeatedly stocked by horizontal gene transfer [J]. *Nature Communications*, 2021, 12 (1): 818.
- Van Leuven JT, Mao M, Xing DHD, *et al.* Cicada endosymbionts have tRNAs that are correctly processed despite having genomes that do not encode all of the tRNA processing machinery [J]. *MBio*, 2019, 10 (3): e01950–18.
- van Ohlen M, Herfurth AM, Kerbstadt H, *et al.* Cyanide detoxification in an insect herbivore: Molecular identification of beta-cyanoalanine synthases from *Pieris rapae* [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2016, 70: 99–110.
- Vega FE, Brown SM, Chen H, *et al.* Draft genome of the most devastating insect pest of coffee worldwide: The coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* [J]. *Scientific Reports*, 2015, 5.
- Verster KI, Wisecaver JH, Karageorgi M, *et al.* Horizontal transfer of bacterial cytolethal distending toxin B genes to insects [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2019, 36 (10): 2105–2110.
- Wang CF, Sun W, Zhang Z. Functional characterization of the horizontally transferred 4, 5-DOPA extradiol dioxygenase gene in the domestic silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2019, 28 (3): 409–419.
- Wang HW, Sun SL, Ge WY, *et al.* Horizontal gene transfer of *Fhb7* from fungus underlies *Fusarium* head blight resistance in wheat [J]. *Science*, 2020, 368 (6493): 844.
- Werren JH, Richards S, Desjardins CA, *et al.* Functional and evolutionary insights from the genomes of three parasitoid *Nasonia* species [J]. *Science*, 2010, 327 (5963): 343–348.
- Wheeler D, Redding AJ, Werren JH. Characterization of an ancient Lepidopteran lateral gene transfer [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8 (3): e59262.
- Wu C, Crowhurst RN, Dennis AB, *et al.* De novo transcriptome analysis of the common New Zealand stick insect *Clitarchus hookeri* (Phasmatodea) reveals genes involved in olfaction, digestion and sexual reproduction [J]. *PLoS ONE*, 2016, 11 (6): e0157783.
- Wu C, Jordan MD, Newcomb RD, *et al.* Analysis of the genome of the New Zealand giant collembolan (*Holacanthella duospinosa*) sheds light on hexapod evolution [J]. *Bmc Genomics*, 2017, 18.
- Wybouw N, Dermauw W, Tirry L, *et al.* A gene horizontally transferred from bacteria protects arthropods from host plant cyanide poisoning [J]. *Elife*, 2014, 3: e02365.
- Wybouw N, Pauchet Y, Heckel DG, *et al.* Horizontal gene transfer contributes to the evolution of arthropod herbivory [J]. *Genome Biology and Evolution*, 2016, 8 (6): 1785–1801.
- Xia J, Guo Z, Yang Z, *et al.* Whitefly hijacks a plant detoxification gene that neutralizes plant toxins [J]. *Cell*, 2021, 184 (7): 1693–1705.
- Xie W, Yang X, Chen CH, *et al.* The invasive MED/Q *Bemisia tabaci* genome: A tale of gene loss and gene gain [J]. *Bmc Genomics*, 2018, 19: 68.
- Yang ZH. PAML 4: Phylogenetic analysis by maximum likelihood [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24 (8): 1586–1591.
- Yoshida Y, Koutsovoulos G, Laetsch DR, *et al.* Comparative genomics of the tardigrades *Hypsibius dujardini* and *Ramazzottius varieornatus* [J]. *PLoS Biology*, 2017, 15 (7), doi: 10.1371/journal.pbio.2002266.
- Zakharov IA. Horizontal gene transfer into the genomes of insects [J]. *Russian Journal of Genetics*, 2016, 52 (7): 702–707.
- Zhao C, Doucet D, Mittapalli O. Characterization of horizontally transferred beta-fructofuranosidase (*ScrB*) genes in *Agrilus planipennis* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2014, 23 (6): 821–832.
- Zhao CY, Escalante LN, Chen H, *et al.* A massive expansion of effector genes underlies gall-formation in the wheat pest *Mayetiola destructor* [J]. *Current Biology*, 2015, 25 (5): 613–620.
- Zhu B, Lou MM, Xie GL, *et al.* Horizontal gene transfer in silkworm, *Bombyx mori* [J]. *Bmc Genomics*, 2011, 12: 248.
- Zinder ND. Hybrids of *Escherichia* and *Salmonella* [J]. *Science*, 1960, 131 (3403): 813–815.