综述和进展

基因序列在蚤蝇科分子系统学研究中的应用*

赵丹彤[1,2]** 王剑峰[2] 刘广纯[2]***

(1. 沈阳农业大学 植物保护学院 沈阳 110161;2. 沈阳大学 生物与环境工程学院 沈阳 110044)

Application of gene sequences to molecular systematics of Phoridae. ZHAO Dan-Tong[1,2]**, WANG Jian-Feng[2], LIU Guang-Chun[2]*** (1. *College of Plant Protection*, *Shenyang Agricultural University*, Shenyang 110161, China; 2. *College of Biological and Environmental Engineering*, *Shenyang University*, Shenyang 110044, China)

Abstract Application of gene sequences to molecular systematics of Phoridae is outlined. The taxa and genes sequenced are summarized. 12S rDNA and 16S rDNA sequences are most extensively used in molecular systematics of 17 genera. The sequences related to the genus *Melaloncha* are the most accessible. The research on molecular systematics of Phoridae has been focused on phylogenetic analysis of high-level taxa, taxonomic identification and identification of cryptic species. The amount and variety of samples should be increased and more attention should be paid to the standardization of genes.

Key words Phoridae, nuclear genes, mitochondrial genes, molecular systematics

摘 要 概述基因序列在双翅目蚤蝇科分子系统学研究中的应用。对蚤蝇科已测序的分类单元和基因序列进行了总结,12S rDNA 和 16S rDNA 应用最广泛,涉及蚤蝇科 17 个属;获得基因序列最多的是 *Melaloncha* 属。蚤蝇科分子系统学研究内容为高级阶元系统发育分析、物种鉴定和隐存种发现。今后蚤蝇科分子系统学研究应增加蚤蝇标本的种类与数量,选择标准化基因。

关键词 蚤蝇科,核基因,线粒体基因,分子系统学

蚤蝇科 Phoridae 隶属于双翅目 Diptera,环裂亚目 Cyclorrhapha,无缝部 Aschiza,蚤蝇总科 Phoroidea。蚤蝇的生物多样性极为丰富,是物种进化史中最成功的类群之一。目前世界已知蚤蝇约 250 属,3 400余种,估计自然界中实际约有 3 万~5 万种[1,2],对蚤蝇科各类群分类地位和系统发育的研究可以为物种的进化提供丰富的理论依据。一直以来,蚤蝇的分类鉴定主要依据其形态性状,不同学者所选形态学特征和研究方法不同导致蚤蝇科高级阶元分类和系统发育关系存在很多分歧[3~7]。此外,蚤蝇科昆虫性二型现象广泛存在也影响了蚤蝇的分类鉴定。随着 PCR 技术和 DNA 测序技术的发展,基因序列分析是目前进行分子系统学研究最为有效、可靠的方法。基因序列分析技术可弥补传统分类学的不足,用于区别近缘种、行为种,发现新种和隐存种,解决多型现象造成的形态学问题;另一方面,通过比较不同类群个体同源基因片段的核酸序列可从基因水平揭示物种间亲缘关系。基因序列应用于蚤蝇系统学研究将为其分类、鉴定及系统发生关系重建提供新的途径。目前,国外有关蚤蝇分子系统学研究报道较少,而我国至今尚未见报道。

* 国家自然科学基金(30270187)。

**E-mail:dantong8625@163.com

***通讯作者,E-mail:liugc@syu.edu.cn

收稿日期:2009-04-06,修回日期:2009-05-11,2009-07-23 再修回

1　蚤蝇科分子系统学研究使用的基因序列

选择进化速率不同的基因片段可解决不同分类阶元的系统关系,因此,选择合适的基因片段解决相应的系统学问题是分子系统学研究中最为关键的一步。线粒体基因序列进化速率较快,是研究种、属间系统发育关系的良好标记[8,9]。与线粒体基因相比,核基因碱基组成较均匀,不存在替代偏好性,而且进化速率较慢,更适于解决高级分类阶元的系统发育关系[10]。

蚤蝇科分子系统学研究使用的核基因有 28S rDNA、*wg* 基因(无翅基因)和 CAD 基因;线粒体基因包括 12S rDNA、16S rDNA、CO Ⅰ、CO Ⅱ及 ND1。28S rDNA 在进化过程中比较保守,包含系统发育信息较多,可用以探讨科和属级水平以上的系统发生关系[11]。12S rDNA 和 16S rDNA 序列较为保守,适于属间及远缘物种关系的分析[12]。CO Ⅰ、CO Ⅱ和 ND1 常用于分析亚属、亲缘关系密切的种、亚种之间的系统发育关系[13~15]。

CAD 与 *wg* 基因是昆虫分子系统学研究中具有应用潜力的编码蛋白的核基因。CAD 是由参与嘧啶核苷酸从头合成途径的氨甲酰磷酸合成酶(CPS)、天冬氨酸转氨甲酰酶(ATC)和二氢乳清酸酶(DHO)构成的融合蛋白。其中 CPS 片段长约 4 kb,所含遗传信息最多,已在某些昆虫类群用于探讨进化关系[16]。昆虫翅的颜色、形状及翅脉的结构是昆虫分类鉴定的重要依据,无翅基因对昆虫翅的形成具有重要作用,因而是研究昆虫系统发育的重要候选基因[17]。随着分子系统学的发展,新的有潜力的基因将不断得到应用。

本文以 GenBank 中与蚤蝇科相关的基因序列为研究对象,统计了各属中使用的序列条数(表 1),对不同基因序列解决的主要问题进行了总结。

表 1　蚤蝇科研究应用的基因序列(来自 GenBank,截止 2009 年 2 月)

属 名	线粒体基因					核基因		
	12S rDNA	16S rDNA	CO Ⅰ	CO Ⅰ/CO Ⅱ	ND1	CAD	*wg*	28S rDNA
Diplonevra	2	2						
Triphleba	3	3						
Megaselia	5	6						
Metopina	1	1						
Phora	1	7				1		1
Conicera	1	1						
Clitelloxenia	1	1						
Chonocephalus	2	2						
Spiniphora	1	1						
Dohrniphora	2	2	1			1		1
Anevrina	1	1						
Termitophilomyia	2	2						
Puliciphora	1	1						
Thaumatoxena	1	1						
Melaloncha	38	29	29		38	29		25
Phalacrotophora	2	1	2		3	1		2
Beckerina	1	1	1		1	1		1
Gymnophora								3
Pseudacteon				28			42	
Microselia				1			1	
Apocephalus			19	2			2	
总计	65	62	52	31	42	33	45	33

蚤蝇科中应用范围最广的是 12S rDNA 和 16S rDNA，涉及蚤蝇科 17 个属；获得基因序列最多的是 *Melaloncha* 属。

2 蚤蝇科分子系统学研究主要内容

分子系统学是检测、描述并揭示生物在分子水平上的多样性及其演化规律的科学，研究内容包括分类学、系统发育和分子进化等领域[18]。蚤蝇科分子系统学研究主要集中在蚤蝇的分类鉴定、隐存分类单元的发现及系统发育分析。

2.1 蚤蝇的分类与鉴定

蚤蝇科昆虫性二型现象广泛存在，某些蚤蝇种类雌雄个体在翅、触角、喙、足及腹部结构上存在明显区别，常造成同物异名[19]；目前，蚤蝇科内具多个单性属（种），单纯依靠外部特征难以将蚤蝇同一物种不同性别个体联系起来，无法准确解决其分类、鉴定问题。*Phora* 属蚤蝇识别主要依据雄蝇尾器特征，绝大多数雌蝇无法准确鉴别。Cook 与 Mostovski 对采自剑桥、马拉科夫和皮特洛赫里地区的 3 种 *Phora* 属雌蝇 16S rDNA 部分序列进行测定，与已知的 *Phora* 属雄蝇相应片段比对分析，认为这 3 种雌蝇分别为 *Phora atra*、*Phora holosericea* 和 *Phora stictica*[20]。*Melaloncha* 属绝大多数蚤蝇仅识雌性，存在明显的雌雄异型，Smith 和 Brown 基于 12S rDNA 和 ND1 基因序列鉴定了该属 *Melaloncha feleoae* 和 *Melaloncha striatula* 两种雄蝇[21]。利用基因序列对雌雄异型蚤蝇个体的匹配识别有效补充、完善了蚤蝇形态分类，将同种蚤蝇不同性别个体联系在一起。

2.2 蚤蝇隐存种发现

昆虫是动物界物种多样性最为丰富的类群，许多昆虫群体是由多个隐存种组成的，因其形态极为相似而被视为同一物种。依据昆虫的外部形态无法鉴定这些隐存分类单元，分子生物学技术为发现隐存分类单元提供了有力工具。

Morehead 等利用 CO Ⅰ基因部分序列对 *Apocephalus paraponerae* 进行鉴定，结果表明 *A. paraponerae* 为一复合种团，至少包括 4 种不同的蚤蝇[22]。

Cook 和 Mostovski 对采自不同地区的 *Phora holosericea* 16S rDNA 部分序列进行比较分析，发现该种内存在明显的遗传变异，推测 *P. holosericea* 中含有蚤蝇隐存种[20]。

许多蚤蝇种类为寄生性，可作为天敌资源用于生物防治。寄生于火蚁的蚤蝇 *Pseudacteon obtusus* 对寄主有严格的选择性[23,24]。Kronforst 等基于 CO Ⅰ/CO Ⅱ和无翅基因（wingless）序列对 *P. obtusus* 个体大小不同的生物型进行了研究，表明体型不同的蚤蝇个体的遗传位点存在显著差异，可能为不同的蚤蝇物种[25]，这为正确引进、繁殖蚤蝇，控制火蚁的危害提供了理论基础。

2.3 蚤蝇系统发育研究

通过分子系统发育研究，对传统分类有疑问的类群的系统发育关系进行分析和探讨，也可对传统的分类系统进行验证[26]。Schmitz 基于形态学特征对世界蚤蝇进行了系统研究，将蚤蝇科分为蚤蝇亚科 Phorinae，扁蚤蝇亚科 Aenigmatiinae，裂蚤蝇亚科 Metopininae，头蜳蚤蝇亚科 Thaumatoxeninae，膨腹蚤蝇亚科 Alamirinae 和蜳蚤蝇亚科 Termitoxeninae 6 个亚科[27]。随着大量蚤蝇新阶元的发现和支序系统学的发展，证明 Schmitz 分类系统存在许多并系和多系现象。Brown 针对北美蚤蝇构建了蚤蝇科系统发生关系，提出了新的蚤蝇科分类系统，包括：栉蚤蝇亚科 Hypocerinae，蚤蝇亚科 Phorinae，扁蚤蝇亚科 Aenigmatiinae，锥蚤蝇亚科 Conicerinae，和裂蚤蝇亚科 Metopiniinae 5 个亚科[3]。Brown 认为 Hypocerinae 是现存蚤蝇中最原始的类群[3]，而 Disney 则将 Hypocerinae 中全部 16 个属归为 Phorinae[6]。仅根据形态差异分析蚤蝇的进化不足以解释蚤蝇群体的系统发育关系，因而利用分子生物学手段探讨其系统发育关系尤为重要。Cook 等依据 12S rDNA 和 16S rDNA 序列分析表明蚤蝇科 Phoridae 为单系，裂蚤蝇亚科 Metopininae 为并系，包括 2 个分支 Metopinini 和

Glymnophorini[28]。Smith 和 Brown 联合分析 12S rDNA、16S rDNA、ND1、CO Ⅰ和其他 2 个核基因对 *Melaloncha* 属进行了分子系统发育研究，最大简约法分析表明亚属 *M.*（*Udamochiras*）与 *M.*（*Melaloncha*）均为单系，且两者为姐妹群，这与基于形态研究的结果相一致[21]。Cook 与 Mostovski 基于 16S rDNA 将 *Phora stictica*、*Phora atra*、*Phora holosericea* 和 *Phora tincta* 分为 2 支。*P. atra*、*P. holosericea* 和 *P. tincta* 为 1 支，另 1 支为 *P. stictica*，与依据尾器划分的结果相同[20]。目前，蚤蝇科分子系统发育研究尚处于起步阶段，已有工作较为零散，要明确各亚科间及各属间的系统演化关系还需获得大量的分子数据。

3　结语及展望

通过对蚤蝇科昆虫分子系统学研究所用基因序列进行统计分析表明：（1）CO Ⅰ、12S rDNA、16S rDNA 等线粒体基因可用于蚤蝇物种的鉴定，尤其是雌雄异型蚤蝇个体的匹配识别，同时发现其中的隐存分类单元，并探讨相关属级以下分类阶元的系统发育关系；（2）核基因 28S rDNA、CAD 等基因序列适于探讨属级及其以上高级阶元的系统发育关系；（3）核基因间、线粒体基因间以及两者数据的联合分析对于解决蚤蝇不同层次问题更为有效。

分子生物学技术已广泛用于昆虫系统学研究，但基于分子数据的蚤蝇系统学工作较少。蚤蝇科是双翅目重要的一个类群，但对其分类研究还不够充分，大量的蚤蝇物种仍有待于描述、鉴定。近年来，利用线粒体 CO Ⅰ基因特定区段区别和鉴定物种的 DNA 条形编码技术引起分类学家的关注[29,30]。DNA 条形编码作为动物分类的新方法弥补了形态分类的不足，将该技术用于蚤蝇物种鉴定可推动其生物多样性研究的发展。蚤蝇科昆虫系统发育研究还处于早期阶段，不同学者应用的分子标记不同影响了研究结果的可比性，今后应寻求适于蚤蝇分子系统学研究的标准标记以利于不同学者的协作研究。分子生物学方法在昆虫系统学研究中发挥了极为重要的作用，但并不能解决形态分类中的所有难题，形态数据与分子数据联合分析是昆虫分子系统学研究发展的趋势，两者作为系统学研究的互补信息可以更好地解决昆虫类群系统进化问题。

参　考　文　献

1　Brown B. V. Revision of the subgenus *Udamochiras of Melaloncha* bee-killing flies. *Zool. J. Linn. Soc.*, 2004, **140**(1): 1 ~ 42.

2　Gaston K. J. The magnitude of global insect species richness. *Conserv. Biol.*, 1991, **5**(3): 283 ~ 296.

3　Brown B. V. Generic revision of Phoridae of the Nearctic Region and phylogenetic classification of Phoridae, Sciadoceridae, and Ironomyiidae. *Mem. Entomol. Soc. Can.*, 1992, **164**: 1 ~ 144.

4　Disney R. H. L. Convergent and parallel evolution and the supra-generic classification of the Phoridae. *Giornale Italiano di Entomol.*, 1991, **5**: 263 ~ 287.

5　Disney R. H. L., Cumming M. S. Abolition of Alamirinae and ultimate rejection of Wasmann's theory of hermaphroditism in Termitoxeniinae. *Bonn. Zool. Beitr.*, 1992, **43**: 145 ~ 154.

6　Disney R. H. L. Continuing the debate relating to the phylogenetic reconstruction of the Phoridae. *Giornale Italiano di Entomol.*, 1994, **123**: 103 ~ 117.

7　Disney R. H. L. The dorsal abdominal glands and the higher classification of the Phoridae. *Zootaxa*, 2003, **293**: 1 ~ 16.

8　Lunt D. H., Zhang D. X., Szymura J. M., *et al.* The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies. *Insect Mol. Biol.*, 1996, **5**(3): 153 ~ 165.

9　Zhang D. X., Hewitt G. M. Insect mitochondrial control region: A review of its structure, evolution and usefulness in evolutionary studies. *Biochem. Syst. Ecol.*, 1997, **25**(2): 99 ~ 120.

10　Lin C. P., Danforth B. N. How do insect nuclear and mitochondrial gene substitution patterns differ? Insights from Bayesian analyses of combined data sets. *Mol. Phylo. Evol.*, 2004, **30**(3): 686 ~ 702.

11　Dietrich C. H., Rakitov R. A., Holmes J. L., *et al.* Phylogeny of the major lineages of Membracoidea based on 28S rDNA sequences. *Mol. Phylo. Evol.*, 2001, **18**(2): 293 ~ 305.

12　Muraji M., Nakahara S. Phylogentic relationships among fruit flies, Bactrocera, based on the mitochondrial rDNA sequences. *Insect Mol. Biol.*, 2001, **10**(6): 549 ~ 559.

13　Foley D. H., Bryan J. H., Yeats D., *et al.* Evolution and

systematics of Anopheles: insights from a molecular phylogeny of Australasian mosquitoes. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 1998, **9**(2): 262 ~ 275.

14 Caterino M. S., Cho S., Sperling F. A. H. The current state of insect molecular systematics: a thriving Tower of Babel. *Annu. Rev. Entomol.*, 2000, **45**: 1 ~ 54.

15 Pruess K. P., Adams B. J., Parsons T. J., *et al.* Utility of the mitochondrial cytochrome oxidase Ⅱ gene for resolving relationships among black flies. *Mol. Phylo. Evol.*, 2000, **16**(2): 286 ~ 295.

16 Moulton J. K., Wiegmann B. M. Evolution and phylogenetic utility of CAD (rudimentary) among Mesozoic-aged Eremoneuran. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2004, **31**(1): 363 ~ 378

17 Brower A. V. Z., Desalle R. Patterns of mitochondrial versus nuclear DNA sequence divergence among nymphalid butterflies: The utility of wingless as a source of characters for phylogenetic inference. *Insect Mol. Biol.*, 1998, **7**(1): 73 ~ 82.

18 **黄原. 分子系统学—原理, 方法及应用. 北京: 中国农业出版社,** 1998. 1 ~ 372.

19 Brown B. V. Striking sexual dimorphism and its taxonomic consequences among New World phorid flies. *Proc. Entomol. Soc. Wash.*, 1986, **88**(4): 787 ~ 788.

20 Cook C. E., Mostovski M. B. 16S mitochondrial sequences associate morphologically dissimilar males and females of the family Phoridae. *Biol. J. Linn. Soc.*, 2002, **77**(2): 267 ~ 273.

21 Smith P. T, Brown B. V. Utility of DNA sequences for inferring phylogenetic relationships and associating morphologically dissimilar males and females of the bee-killing flies, genus *Melaloncha*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 2008, **101**(4): 713 ~ 721.

22 Morehead S. A., Seger J., Feener D. H., *et al.* Evidence for a cryptic species complex in the ant parasitoid *Apocephalus paraponerae* is a cryptic species complex. *Evol. Ecol. Res.*, 2001, **3**(3): 273 ~ 284.

23 Morrison L. W. Biology of *Pseudacteon* ant parasitoids and their potential to control imported *Solenopsis* fire ants. *Recent Res. Devel. Entomol.*, 2000, **3**: 1 ~ 13.

24 Estrada C., Patrock R. J. W., Folgarait P. J., *et al.* Host specificity of four *Pseudacteon* spp., parasitoids of fire ants in Argentina. *Fla. Entomol.*, 2006, **89**(4): 462 ~ 468.

25 Kronforst M. R., Folgarait P. J., Patrock R. J. W., *et al.* Genetic differentiation between body size biotypes of the parasitoid fly *Pseudacteon obtusus*. *Mol. Phylo. Evol.*, 2007, **43**(3): 1 178 ~ 1 184.

26 **成新跃, 周红章, 张广学. 分子生物学技术在昆虫系统学研究中的应用. 动物分类学报,** 2000, **25**(2): 121 ~ 133.

27 Schmitz H. Revision der Phoriden. Berlin: Ferd. Dummlers, 1929. 1 ~ 211.

28 Cook C. E., Austin J. J., Disney R. H. L. A mitochondrial 12S and 16S rRNA phylogeny of critical genera of the Phoridae and related families of Aschiza. *Zootaxa*, 2004, **593**: 1 ~ 11.

29 Hebert P. D. N., Cywinska A., Ball S. L., *et al.* Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Biol. Sci.*, 2003, **270**(1 512): 313 ~ 321.

30 Hebert P. D. N., Ratnasingham S., de Waard J. R. Barcoding animal life: cytochrome coxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. Biol. Sci.*, 2003, **270**(Suppl 1): S96 ~ S99.

* *

信息与动态

Insect Science 使用 ScholarOne Manuscripts 在线投稿系统

从 2010 **年** 1 **月** 1 **日起,**Insect Science **使用** ScholarOne Manuscripts **在线投稿系统,网址** http://mc.manuscriptcentral.com/ins**。**

为进一步推进刊物国际化,Insect Science **在稿件审理,出版流程方面进行了一系列调整。**2009 **年,本刊采用提前在线出版模式(**Early View**),使接受的稿件先于纸版在线发表,大大缩短了出版周期。在此基础上,**Insect Science **又采用** ScholarOne Manuscripts **在线投稿系统,通过该系统作者可以在线投稿,并可随时查看稿件处理状态。审稿人可在线审稿,实现稿件处理网络化。欢迎广大昆虫学者积极投稿。**

(Insect Science **编辑部**)