

研究报告

Research Report

基于 28S rRNA 基因序列的中国寄蝇亚科部分种类分子系统发育研究 (双翅目: 寄蝇科)

智妍^{1,2} 李新¹ 刘家宇² 葛振萍³ 赵喆^{1,4} 张春田^{1*}

1 沈阳师范大学生命科学学院, 沈阳, 110034; 2 贵州医科大学, 贵阳, 110025; 3 沈阳职业技术学院, 沈阳, 110045; 4 中国科学院动物研究所, 北京, 100083

* 通讯作者, chuntianzhang@aliyun.com

摘要 本研究基于中国地区双翅目寄蝇科寄蝇亚科 5 族 10 属 17 种昆虫的 28S rRNA 基因序列, 分别利用 PAUP4.0b 和 MEGA5.05 软件的邻接法(NJ)、最大简约法(MP)和最小进化法(ME) 选取追寄蝇亚科的黄足突额寄蝇 *Biomeigenia flava* 和麻蝇科的红尾拉麻蝇 *Ravinia striata* 为外群, 重建寄蝇亚科部分种类的系统发育树。结果表明 测得的 696 bp 寄蝇亚科核苷酸片段 包括 127 个变异位点和 52 个简约信息位点; 不同方法得到的系统发育树的拓扑结构基本一致。本研究结果部分解决了基于形态学定义的该亚科内族间、属间的系统发育关系: (1)支持寄蝇亚科、寄蝇族分别为一个单系群; (2)支持形态分类的将诺寄蝇属 *Nowickia* Wachtl 并入寄蝇属 *Tachina* Meigen 并作为后者的一个亚属的结论; (3)同时支持将短须寄蝇族 *Linnaemyini* 并入埃内寄蝇族 *Ernestiini*。

关键词 寄蝇亚科, 双翅目, 28S rRNA 基因, 系统发育, 中国

Molecular Phylogenetic Analysis of Some Tachininae Species (Diptera: Tachinidae) from China Based on 28S rRNA Gene Sequences

Zhi Yan^{1,2} Li Xin¹ Liu Jiayu² Ge Zhenping³ Zhao Zhe^{1,4} Zhang Chuntian^{1*}

1 College of Life Sciences, Shenyang Normal University, Shenyang, 110034; 2 Guizhou Medical University, Guiyang, 110025; 3 Shenyang Polytechnic College, Shenyang, 110045; 4 Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 110083

* Corresponding author, chuntianzhang@aliyun.com

DOI: 10.13417/j.gab.035.001999

Abstract In this study, we used Neighbor-joining (NJ), Maximum-parsimony (MP) and Minimum-evolution (ME) methods of PAUP4.0b and MEGA5.05 softwares, respectively selecting *Biomeigenia flava* in subfamily Exoristinae and *Ravinia striata* in family Sarcophagidae as out-groups, re-establishing different kinds of phylogenetic trees for Tachininae. This research was based on 28S rRNA gene sequences of 17 species (Diptera: Tachinidae: Tachininae) which were in 10 genera, 5 tribes in China. The results showed that the 696 bp nucleotide fragments of the subfamily included 127 mutation sites and 52 simple information sites, and the topological structures of phylogenetic trees which were gotten by adopting various methods were basically coincide. The results partially solved the relationships of main tribes and genera of Tachininae defined by morphology, proved that Tachininae and Tachinini could respectively belong to one monophyletic group, supported that *Nowickia* Wachtl should be fallen under *Tachina* Meigen as its subgenus, and also provided evidence on a molecular level for combining *Linnaemyini* and *Ernestiini* into one tribe.

Keywords Tachininae, Diptera, 28S rRNA gene, Phylogeny, China

寄蝇亚科(Tachininae)隶属于昆虫纲(Insecta)双翅目(Diptera)寄蝇科(Tachinidae), 是该科四个亚科中较大的一个亚科, 世界性分布(除南极洲) (Herting and Dely-Draskovits, 1993), 世界已知 46 个族, 约两千个

基金项目 本研究由国家自然科学基金(31272279, 31093430)和贵州省科学技术基金(LH [2015] 7353, J [2013] 2055)共同资助

已描述种,占寄蝇科总数的25%(Guimarães, 1971; Crosskey, 1976; Cantrell and Crosskey, 1989; Herting and Dely-Draskovits, 1993; O'Hara and Wood, 2004; O'Hara and Cerretti, 2016),其中我国已知17族66属(O'Hara et al., 2009)。

寄蝇亚科幼虫多寄生于节肢动物门昆虫纲、多足纲、蛛形纲的蝎目和蜘蛛目,其中主要寄生于鳞翅目昆虫的幼虫,是其重要的天敌昆虫(赵建铭等, 2001)。

在寄蝇科昆虫的形态分类发展史中许多学者做了大量订正研究工作(Guimarães, 1971; Crosskey, 1976; Cantrell and Crosskey, 1989; Herting and Dely-Draskovits, 1993; O'Hara and Wood, 2004),寄蝇科系统发育关系的单系性也已经得到确定(Cerretti et al., 2014)。寄蝇亚科昆虫的大多数种类体表密被鬃毛,在形态上没有明显且特有的鉴别特征(Cantrell and Crosskey, 1989),加之趋同进化等原因,大部分种类在形态特征方面难以与追寄蝇亚科的部分种类区分,该亚科中种上阶元的亲缘关系仍然很不明确,许多族或属需要重新确定其分类地位,甚至部分属的归类问题仍然很难确定(Stireman et al., 2006)。

因此,有必要采取多种研究手段和方法对寄蝇亚科高级分类阶元进行系统研究。28S rRNA 基因位于真核生物染色体上,编码核糖体大亚基,由于其在进化过程中比较保守,可作为较好的分子标记之一应用于生物高级阶元系统发育研究(刘殿锋和蒋国芳, 2005),Stireman (2002)应用 28S rRNA 和 EF-1 α 两个基因对寄蝇科中最大的亚科——追寄蝇亚科的系统发育关系进行了研究。由于其重要的生物学功能,28S rRNA 基因已成为生物高级阶元系统发育研究中重要的分子标记(刘殿锋和蒋国芳, 2005)。

本研究基于 28S rRNA 基因序列,分别应用 PAUP4.0b 和 MEGA 5.05 (Tamura et al., 2011)软件,根据邻接法(NJ)、最小进化法(ME)和最大简约法(MP),以黄足突额寄蝇 *Biomeigenia flava* 和红尾拉麻蝇 *Ravinia striata* 为外群,构建寄蝇亚科 5 族 10 属 17 种昆虫的系统发育树,分析它们之间的系统发育关系。

1 结果与分析

1.1 序列组成及碱基替换饱和性分析

利用 CLUSTAL X 进行序列对准,比对 28S rRNA 基因序列长为 696 bp,19 种昆虫 28S rRNA 基因均存在明显的 A+T 含量偏向性,A+T 平均含量达到 69.0% (A=33.8%, C=17.7%, T=36.1%, G=12.4%),

密码子第一位点的含量最低,只有 66.2%,密码子第三位点 A+T 平均含量最高,达到 74.1%。在所研究的全部样品材料中,碱基序列包括保守位点:569 个(占 81.2%),变异位点:127 个(占 18.2%),简约信息位点:52 个(占 7.5%)和单个碱基变化位点:75 个(占 7.5%)。对于内群序列,保守位点:540 个,变异位点:119 个,简约信息位点:45 个,单个碱基变化位点:74 个。A、C、T、G 四种碱基平均含量分别为 33.8%、17.7%、36.2%、12.4% (表 1)。

以 17 种昆虫两两之间遗传距离为横坐标,转换(TS)和颠换(TV)数目为纵坐标,预测碱基替换饱和度(图 1)。TS、TV 与遗传距离之间有很好的线性关系,二者均未达到饱和。

1.2 寄蝇亚科部分种类系统发育关系分析

分别通过 PAUP4.0b 和 MEGA5.05 软件的邻接法(NJ)、最大简约法(MP)和最小进化法(ME)构建寄蝇亚科 5 族 10 属的系统发育树(图 2; 图 3; 图 4; 图 5),四个拓扑结构整体上相似,明显分为两大分支:寄蝇族 Tachinini、毛瓣寄蝇族 Nemoraecini、莱寄蝇族 Leskiini 构成一主要分支,埃内寄蝇族 Ernestiini 和短须寄蝇族 Linnaemyini 构成另一分支,MP (图 2)、NJ (图 3)和 ME (图 5)树的自展检验值均超过 50%,可信度较高,两大分支互为姐妹群,共同构成寄蝇亚科。

第一分支中寄蝇族 Tachinini 与毛瓣寄蝇族 Nemoraecini 互为姐妹群,二者再与莱寄蝇族 Leskiini 共同组成系统发育树中的基部分支,在寄蝇族中,长须寄蝇属 *Peleteria* 与寄蝇属 *Tachina*, 诺寄蝇属 *Nowickia* 和密克寄蝇属 *Mikia* 构成的分支互为姐妹群(图 2; 图 3; 图 4),但是在 ME 树中(图 5),密克寄蝇属 *Mikia* 与长须寄蝇属 *Peleteria* 首先构成一分支,与寄蝇属 *Tachina* 和诺寄蝇属 *Nowickia* 构成的分支互为姐妹群。

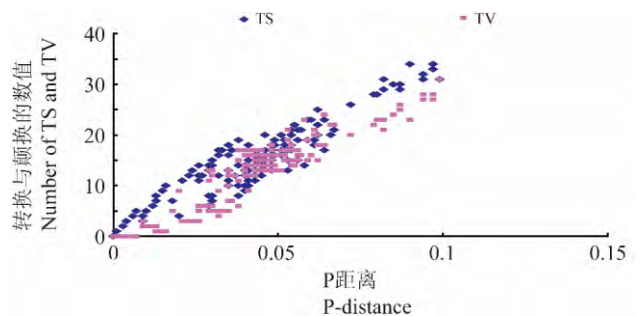


图 1 寄蝇亚科昆虫基于 28S rRNA 基因序列的饱和性分析散点图
Figure 1 The substitution saturation analysis of Tachininae based on 28S rRNA gene sequences

表 1 寄蝇亚科昆虫 28S rRNA 基因序列组成

Table 1 28S rRNA gene sequence composition of Tachininae

	长度(bp) Length (bp)	C	V	Pi	S	T	C	A	G	A+T
全数据组(含外群) Total sequences (Tachininae+outgroup)	696	569	127	52	75	36.1	17.7	33.8	12.4	69.9
全数据组 Total sequences	696	540	119	45	74	36.2	17.7	33.8	12.4	67.0
第一位点 First codon	232	167	58	22	35	33.1	20.4	33.1	13.4	66.2
第二位点 Second codon	232	221	33	24	9	35.8	18.4	33.8	12.0	69.6
第三位点 Third codon	232	220	71	61	10	39.6	14.2	34.5	11.7	74.1

注: C: 恒定位点; V: 变异位点; Pi: 简约信息位点; S: 单个碱基变化位点

Note: C: Conserved sites; V: Variable sites; Pi: Parsimony informative; S: Singleton sites

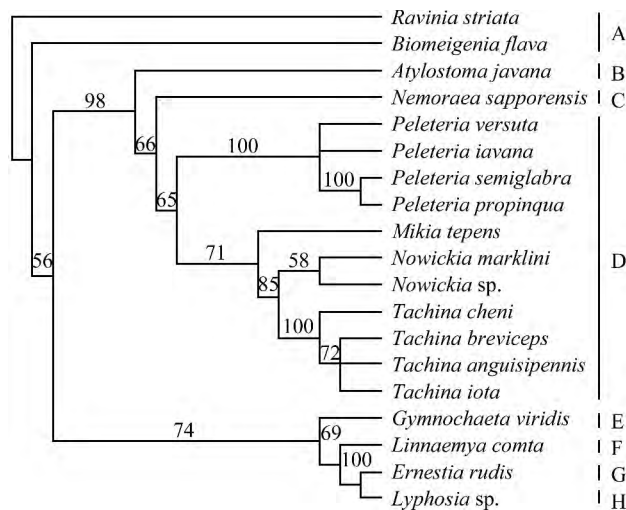


图 2 通过 PAUP4.0b 获得的寄蝇亚科部分种类系统发育 MP 树
注: 数字代表自展检验值; A: 外群; B: 莱寄蝇族; C: 毛瓣寄蝇族; D: 寄蝇族; E: 埃内寄蝇族; F: 短须寄蝇族; G: 埃内寄蝇族; H: 短须寄蝇族

Figure 2 The maximum-parsimony (MP) tree of partial species of Tachininae obtained by PAUP4.0b

Note: The numbers indicate the bootstrap percentage; A: Outgroup; B: Leskiini; C: Nemoraeiini; D: Tachinini; E: Ernestiini; F: Linnaemyini; G: Ernestiini; H: Linnaemyini

第二分支由埃内寄蝇族 Ernestiini 的亮寄蝇属 *Gymnochaeta*、埃内寄蝇属 *Ernestia* 和短须寄蝇族 Linnaemyini 的短须寄蝇属 *Linnaemya* 和 *Lyphosia* 聚为一簇, 并且自展检验值高。

2 讨论

作为一种分子标记, 28S rRNA 基因可以很好的

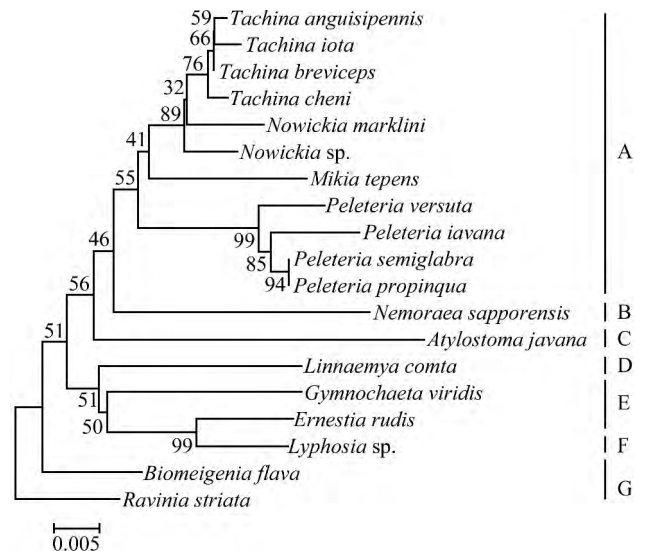


图 3 通过 MEGA5.05 获得的寄蝇亚科部分种类系统发育 NJ 树
注: 数字代表自展检验值; A: 寄蝇族; B: 毛瓣寄蝇族; C: 莱寄蝇族; D: 短须寄蝇族; E: 埃内寄蝇族; F: 短须寄蝇族; G: 外群

Note: The numbers indicate the bootstrap percentage; A: Tachinini; B: Nemoraeiini; C: Leskiini; D: Linnaemyini; E: Ernestiini; F: Linnaemyini; G: Outgroup

解决昆虫较高级分类阶元的系统发育关系, 已逐渐成为昆虫分子系统学研究中应用最为广泛的基因之一。本研究测定了寄蝇亚科部分种类基因序列, 评估了序列数据的系统发育信号, 结果显示基于 28S rRNA 基因所测定的序列片段具有较强的系统发育信息, 从而能够为寄蝇亚科系统发育关系的确定提供理论依据。

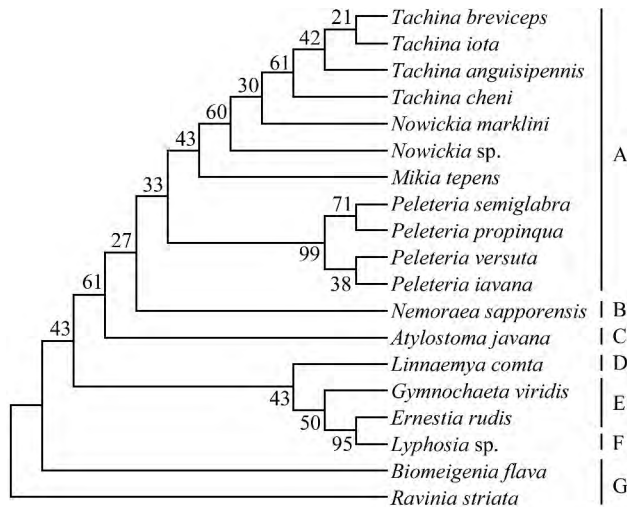


图4 通过 MEGA5.05 获得的寄蝇亚科部分种类系统发育 MP 树
注: 数字代表自展检验值; A: 寄蝇族; B: 毛瓣寄蝇族; C: 莱寄蝇族; D: 短须寄蝇族; E: 埃内寄蝇族; F: 短须寄蝇族; G: 外群
Figure 4 The maximum-parsimony (MP) tree of partial species of Tachininae obtained by MEGA5.05

Note: The numbers indicate the bootstrap percentage; A: Tachinini; B: Nemoraeciini; C: Leskiini; D: Linnaemyini; E: Ernestiini; F: Linnaemyini; G: Outgroup

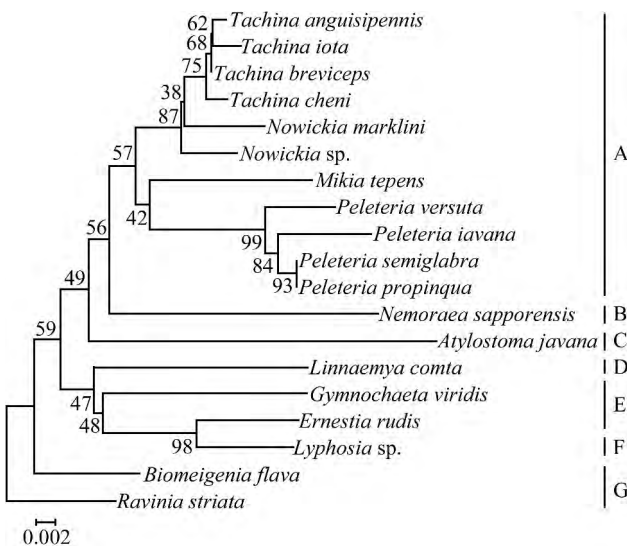


图5 通过 MEGA5.05 获得的寄蝇亚科部分种类系统发育 ME 树
注: 数字代表自展检验值; A: 寄蝇族; B: 毛瓣寄蝇族; C: 莱寄蝇族; D: 短须寄蝇族; E: 埃内寄蝇族; F: 短须寄蝇族; G: 外群
Figure 5 The minimum-evolution (ME) tree of partial species of Tachininae obtained by MEGA5.05

Note: The numbers indicate the bootstrap percentage; A: Tachinini; B: Nemoraeciini; C: Leskiini; D: Linnaemyini; E: Ernestiini; F: Linnaemyini; G: Outgroup

寄蝇亚科由于形态特征多样, 如体型从几毫米至几厘米、体表粉被和色斑多、鬃毛排列方式不一等等, 加之其多种寄生和产卵方式以及广泛的寄主类

群, 很多学者对该亚科的认识并不一致, 并且对该亚科的单系性有所怀疑 (Stireman et al., 2006)。本研究通过分子数据分析, 支持了寄蝇亚科可能为一个单系。但是寄蝇亚科中的很多族并没有被包含在研究中, 因此该亚科的种上分类阶元的系统发育关系仍不十分明确, 尚需进一步的深入研究。

在形态学上, 后足基节具一根或多根后背鬃 (Tschorshnig and Richter, 1998), 第九腹板与基阳体连接处具长突起, 腹部第七背板腹面具明显突起 (Tschorshnig, 1985) 等共同衍征支持了寄蝇族为一个单系群。本研究中, 分子数据提供的信息很好地证明了这点。寄蝇属 *Tachina* Meigen 和诺寄蝇属 *Nowickia* Wachtl 的外部形态特征十分相似, 二者的主要区分特征仅为跗节的颜色 (前者节为黄色, 后者为黑色) (Crosskey, 1976; Herting, 1984) 等, 并且二者均寄生于鳞翅目灯蛾科昆虫 (Arnaud, 1978; Shima, 1999)。O'Hara 和 Wood (2004)、O'Hara 等 (2009) 和 Cerretti 等 (2014) 通过对二者进行全面的形态学和生物学研究之后, 降低了诺寄蝇属 *Nowickia* 的分类地位, 使其成为寄蝇属 *Tachina* 的一个亚属。本研究中的分析结果同样也从分子水平上支持了将诺寄蝇属归入寄蝇属作为其亚属的结论, 证明二者有着较近的亲缘关系。

研究结果表明了寄蝇亚科部分类群的系统发育关系。其中, 在第一个聚簇群中 (寄蝇族 Tachinini + 毛瓣寄蝇族 Nemoraeciini) 与莱寄蝇族 Leskiini 构成姊妹群的关系, 毛瓣寄蝇族 Nemoraeciini 的毛瓣寄蝇属 *Nemoraea* 和莱寄蝇族 Leskiini 的阿特寄蝇属 *Atylostoma* 位于发育树的基部, 而寄蝇族 Tachinini 则为较为进化的类群。但是, 该聚簇群中密克寄蝇属 *Mikia* 的分类位置尚无法确定, 推测与寄蝇属 *Tachina* 的亲缘关系较近。该分支在各种方法构建的系统发育树中自展支持率较高, 其单系性较为可信。

一般来说, 肩胛基鬃的排列方式和下颚须的长短是埃内寄蝇族 Ernestiini 与短须寄蝇族 Linnaemyini 的主要鉴别特征 (Herting, 1984; Tschorshnig and Richter, 1998), 这使它们的系统发育关系模糊不清。但是, 二者也有许多共有特征: 复眼具毛, 下颜缘向前突出, 相似的蛹和三龄幼虫的骨架 (Ziegler, 1998)。因此, O'Hara 和 Wood (2004)、O'Hara 等 (2009) 和 Cerretti 等 (2014) 将短须寄蝇族 Linnaemyini 并入埃内寄蝇族 Ernestiini。本研究中构建的分子系统发育树的另一聚簇群中, 包括了短须寄蝇族 Linnaemyini 的 *Lyphosia* 和短须寄蝇属 *Linnaemya* 与埃内寄蝇族 Ernestiini 的埃内寄蝇属 *Ernestia* 和亮寄蝇属 *Gym-*

nochaeta, 证明了埃内寄蝇族 *Ernestiini* 与短须寄蝇族 *Linnaemyini* 的亲缘关系, 也为上述观点提供了分子证据。

目前一些学者认为寄蝇亚科可能不是单系群(Stireman et al., 2006), 但是在本研究对 5 族 10 属 17 种的分子数据通过两款软件的三种建树方法得到的系统发育树的结果中, 共同揭示了寄蝇亚科部分类群的系统发育关系(寄蝇族 *Tachinini*+莱寄蝇族 *Leskini*)+(毛瓣寄蝇族 *Nemoraeni*)+(短须寄蝇族 *Linnaemyini*+埃内寄蝇族 *Ernestiini*), 据此推测寄蝇亚科可能是一个单系群。然而, 由于所选类群有限、部分分支支持率不高以及部分属的分类地位尚未明确等原因, 该结论尚需更多研究数据的支持。未来我们将增加阶元数量、结合多个基因序列并联合形态学特征进行深入研究, 以期得到更加符合自然进化历程的寄蝇亚科的系统发育关系。

Winkler 等(2015)指出大多数系统发育关系难以解决的原因可能归因于持续、广泛的使用了“传统”标记(如: 线粒体, 核糖体和一些核蛋白质编码基因), 而这些标记通常是不适合解决复杂的、较高级分类阶元的系统发育问题。他们基于八个基因(18S, 28S, COI, EF1a, TPI, CAD, LGL, MCS, MAC), 以相关的狂蝇总科种类为外群, 重建了寄蝇科中一组具代表性的分类单元之间系统发育。结果表明, 少量精心挑选的编码核蛋白质基因可以成功地解决较困难的系统发育问题。Misof 等(2014)从转录组 1 478 个编码蛋白质基因推断昆虫的系统发育。对核苷酸和氨基酸序列, 特定位点的氨基酸或者特定区域的核苷酸替代模型进行系统发育分析, 得出了统计学上稳定且一致的结果, 解决了之前具有争议的系统发育关系。其结果明确了昆虫的起源始于早奥陶纪(~4.79 亿年前), 昆虫飞行起源于早泥盆纪(~406 亿年前)等等。这些系统发生研究为未来昆虫间进化创新的比较分析研究提供了全面可靠的支持, 并为在分子系统发育研究中推断出快速辐射事件提供指导。

3 材料与方法

3.1 实验样本来源

实验材料涉及寄蝇亚科标本包括共计 5 族 10 属 17 种, 以及作为近端外群的追寄蝇亚科 *Exoristinae* 的黄足突额寄蝇 *Biomeigenia flava* 和作为远端外群的麻蝇科 *Sarcophagidae* 的红尾拉麻蝇 *Ravinia striata* (表 2)。标本采集后立即用 95%乙醇进行固定, 置于

-20℃低温保存备用。标本鉴定以《中国蝇类》(薛万琦和赵建铭, 1996)《中国动物志 第二十三卷 寄蝇科(一)》(赵建铭等, 2001)、“Manual of Palaearctic Diptera, Vol.3” (Tschorsnig and Richter, 1998)、“Annotated Catalogue of the Tachinidae of China” (O'Hara et al., 2009) 等文献为依据。

3.2 总 DNA 提取

样本置于 1.5 mL 离心管中, 加 500 μ L 的抽提液后充分研磨, 再分别加入抽提液 500 μ L、10%的 SDS 100 μ L 和 5 μ L 蛋白酶 K, 55℃水浴保温 4 h 后, 离心 7 min (13 000 r/min), 分别用饱和平衡酚(pH=8.0): 氯仿: 异戊醇(25: 24: 1)和氯仿: 异戊醇(24: 1)进行抽提, 加入 100 μ L 醋酸钠(3 mol/L)及为上清液 2 倍体积的冰冷无水乙醇, 然后置于 -20℃冰箱中 30 min 进行 DNA 沉淀。75%的冰冷乙醇洗涤已沉淀的 DNA, DNA 干燥后, 溶解于适量的双蒸水, 短期保存置于 4℃冷藏, 长期保存于 -20℃冷冻(葛振萍等, 2007)。

3.3 PCR 扩增与测序

本研究选用的 28S rRNA 基因引物序列分别为: 引物 1 5'-GACTACCCCCTGAATTTAAGCAT-3', 引物 2 5'-GACTCCTTGGTCCGTGTTTCAAG-3' (Tautz et al., 1988; Kim et al., 2000)。PCR 扩增反应体系为 25 μ L 双蒸水 17.25 μ L, Buffer 缓冲液(含 Mg^{2+}) 2.5 μ L, 2 μ L dNTP (10 mmol/L), 引物 1 和引物 2 各 1 μ L, *Taq* 酶 0.25 μ L, 模板 DNA 1 μ L (1~10 ng)。PCR 反应程序设置为: 预变性(94℃) 5 min; 变性(94℃) 30 s, 退火(50℃) 30 s, 延伸(72℃) 2 min, 35 个循环之后再延伸(72℃) 7 min, 4℃保存。利用 1%琼脂糖凝胶电泳对扩增产物进行检测。检测后, 将条带显示整齐明亮的样品委托大连宝生物有限公司进行纯化、测序, 采用正反链双向测序方式, 测序仪型号为 ABI PRISM377XL。

3.4 数据处理和系统分析

用 CLUSTAL W, version 1.81 (Thompson et al., 1994)软件对包括内群和外群在内的所有物种基因序列进行比对, 比对结果保存为 NEXUS 格式以备后续分析使用。利用 MEGA 5.05 软件分析序列数据的碱基组成、保守位点、变异位点、简约信息位点、自裔位点、转换数与颠换数的比值(TS/TV)等, 通过邻接法(NJ)、最小进化法(ME)和最大简约法(MP)等常用建树方法构建系统发育树, Bootstrap 1 000 次检验系统

表 2 样品信息及其来源

Table 2 The sample information and sources

科	族	种	采集地	采集时间		
Family	Tribe	Species	Collected locality in China	Collected time		
寄蝇科 Tachinidae	寄蝇族 <i>Tachinini</i>	<i>Tachina anguisipennis</i>	本溪, 辽宁 Benxi, Liaoning	2008-5-2		
		<i>Tachina cheni</i>	南岭, 广东 Nanling, Guangdong	2004-7-22~2004-7-25		
		<i>Tachina breviceps</i>	本溪, 辽宁 Benxi, Liaoning	2008-5-1		
		<i>Tachina iota</i>	本溪, 辽宁 Benxi, Liaoning	2004-7-18		
		<i>Peleteria semiglabra</i>	鞍山, 辽宁 Anshan, Liaoning	2007-5-18		
		<i>Peleteria versuta</i>	满洲里, 内蒙古 Manzhouli, Inner Mongolia	2007-7-27		
		<i>Peleteria propinqua</i>	沈阳, 辽宁 Shenyang, Liaoning	2008-5-8		
		<i>Peleteria iavana</i>	广州, 广东 Guangzhou, Guangdong	2004-2		
		<i>Nowickia marklini</i>	长白山, 吉林 Mts. Changbai, Jilin	2004-8-8~2004-8-11		
		<i>Nowickia</i> sp.	图们, 吉林 Tumen, Jilin	2003-8-25~2003-8-28		
	莱寄蝇族 <i>Leskiini</i> 毛瓣寄蝇族 <i>Nemoraeini</i> 埃内寄蝇族 <i>Ernestiini</i>	<i>Mikia tepens</i>	图们, 吉林 Tumen, Jilin	2004-8-8~2004-8-11		
		<i>Atylostoma javana</i>	信宜, 广东 Xinyi, Guangdong	2004-8-22		
		<i>Nemoraea sapporensis</i>	图们, 吉林 Tumen, Jilin	2003-7-29		
		<i>Ernestia rudis</i>	本溪, 辽宁 Benxi, Liaoning	2008-5-30		
		<i>Gymnochaeta viridis</i>	本溪, 辽宁 Benxi, Liaoning	2008-5-30		
		短须寄蝇族 <i>Linnaemyini</i>	<i>Lyphosia</i> sp.	本溪, 辽宁 Benxi, Liaoning	2008-5-30	
			<i>Linnaemya comta</i>	沈阳, 辽宁 Shenyang, Liaoning	2008-5-8	
			<i>Biomeigenia flava</i>	葫芦岛, 辽宁 Huludao, Liaoning	2008-5-8	
		麻蝇科 Sarcophagidae	拉麻蝇族 <i>Raviniini</i>	<i>Ravinia striata</i>	本溪, 辽宁 Benxi, Liaoning	2006-7-11

树各分支置信度(Felsenstein, 1985) (表 2)。

3.5 外群选择

基于形态分类, 麻蝇科与寄蝇科亲缘关系较近,

而追寄蝇亚科与寄蝇亚科亲缘关系较近, 因此本研究中分别选取麻蝇科和追寄蝇亚科各一种作为其远端外群和近端外群, 即红尾拉麻蝇 *Ravinia striata* 和黄足突额寄蝇 *Biomeigenia flava*。

作者贡献

智妍是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 刘家宇及葛振萍完成部分实验操作和论文的修改; 李新参与了论文的撰写与修改; 赵喆参与了系统发育树的构建; 张春田是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金(31272279, 310934-30)和贵州省科学技术基金(LH [2015] 7353, J [2013] 2055)共同资助。感谢日本大阪日本生命志研究馆苏智慧博士对引物设计和实验材料的支持; 感谢中山大学庞义、梁铭球、庞虹、贾凤龙、杨凯、邓日强教授以及西北农林科技大学李朝飞教授, 华南农业大学王敏教授等人对本研究的支持。

参考文献

Arnaud P.H., 1978, A host-parasite catalog of north American Tachinidae, United States Department of Agriculture Miscellaneous Publication, Washington, D.C., 1319: 1-860

Cantrell B.K., and Crosskey R.W., 1989, Family Tachinidae, In: Evenhuis N.L. (ed.), Catalog of the Diptera of the Australasian and oceanian regions, Bishop Museum Special Publication, Bishop Museum Press and E. J. Brill, pp.733-784

Cerretti P., O'Hara J.E., Wood D.M., Shima H., Inclan D.J. and Stireman, J.O., 2014, Signal through the noise? phylogeny of the Tachinidae (Diptera) as inferred from morphological evidence, *Systematic Entomology*, 39: 335-353

Crosskey R.W., 1976, A taxonomic conspectus of the Tachinidae (Diptera) of the oriental region, *Bulletin of The British Museum (Natural History) Entomology*, 26: 1-357

Felsenstein J., 1985, Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap, *Evolution*, 39: 783-791

Ge Z.P., Zhang C.T., and Zhi Y., 2007, An effective method for extraction genomic DNA from Tachinids, *Yixue Dongwu Fangzhi (Chinese Journal of Pest Control)*, 23(3): 165-166 (葛振萍, 张春田, 智妍, 2007, 一种有效的寄蝇基因组 DNA 的提取方法, *医学动物防制*, 23(3): 165-166)

Guimarães J.H., 1971, Family Tachinidae (Larvaevoridae), A Catalogue of the Diptera of the Americas South of the United States, 104: 1-333

Herting B., 1984, Catalogue of palearctic Tachinidae (Diptera), *Stuttgarter Beiträge zur Naturkunde, Biologie*, 369: 1-228

Herting B., and Dely-Draskovits Á., 1993, Family Tachinidae, In: Soós Á. and Papp, L. (eds.), *Catalogue of Palaearctic Dipter-*

a, Anthomyiidae- Tachinidae, *Hungarian Natural History Museum, Budapest*, pp.118-458

Kim C.G., Zhou H.Z., Imura Y., Tominaga O., Su Z.H., and Osawa S., 2000, Pattern of morphological diversification in the Leptocarabus ground beetles (Coleoptera: Carabidae) as deduced from mitochondrial ND5 gene and nuclear 28S rDNA sequences, *Mol Biol Evol.*, 17(1): 137-145

Liu D.F., and Jiang G.F., 2005, The application of nuclear genes sequences in insect molecular systematics, *Dongwu Fenlei Xuebao (Acta Zootaxonomica Sinica)*, 30(3): 484-492 (刘殿锋, 蒋国芳, 2005, 核基因序列在昆虫分子系统学上的应用, *动物分类学报*, 30(3): 484-492)

Misof B., Liu S., Meusemann K., Peters R.S., Donath A., Mayer C., Frandsen P.B., Ware J., Flouri T., Beutel R.G., Niehuis O., Petersen M., Izquierdo-Carrasco F., Wappler T., Rust J., Aberer A.J., Aspöck U., Aspöck H., Bartel D., Blanke A., Berger S., Böhm A., Buckley T.R., Calcott B., Chen J., Friedrich F., Fukui M., Fujita M., Greve C., Grobe P., Gu S., Huang Y., Jermiin L.S., Kawahara A.Y., Krogmann L., Kubiak M., Lanfear R., Letsch H., Li Y., Li Z., Li J., Lu H., Machida R., Mashimo Y., Kapli P., McKenna D.D., Meng G., Nakagaki Y., Navarrete-Heredia J.L., Ott M., Ou Y., Pass G., Podsiadlowski L., Pohl H., Von Reumont B.M., Schütte K., Sekiya K., Shimizu S., Slipinski A., Stamatakis A., Song W., Su X., Szucsich N.U., Tan M., Tan X., Tang M., Tang J., Timelthaler G., Tomizuka S., Trautwein M., Tong X., Uchifune T., Walz M.G., Wiegmann B.M., Wilbrandt J., Wipfler B., Wong T.K., Wu Q., Wu G., Xie Y., Yang S., Yang Q., Yeates D.K., Yoshizawa K., Zhang Q., Zhang R., Zhang W., Zhang Y., Zhao J., Zhou C., Zhou L., Ziesmann T., Zou S., Li Y., Xu X., Zhang Y., Yang H., Wang J., Wang J., Kjer K.M., and Zhou X., 2014, Phylogenomics resolves the timing and pattern of insect evolution, *Science*, 346: 763-767

O'Hara J.E., and Cerretti P., 2016, Annotated catalogue of the Tachinidae (insecta, diptera) of the afro-tropical region, with the description of seven new genera, *ZooKeys*, 575: 1-344

O'Hara J.E., Shima H., and Zhang C.T., 2009, Annotated catalogue of the Tachinidae (Insecta: Diptera) of China, *Zootaxa*, 2190: 1-236

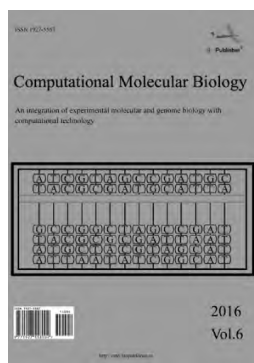
O'Hara J.E., and Wood D.M., 2004, Catalogue of the tachinidae (diptera) of america north of mexico, *memoirs on entomology, International*, 18:1-410

Shima H., 1999, Host-parasite catalog of Japanese Tachinidae (Diptera), *Makunagi/ Acta Dipterologica*, 1: 1-108

Stireman J.O., 2002, Phylogenetic relationships of tachinid flies in subfamily Exoristinae (Tachinidae: Diptera) based on 28S rDNA and elongation factor-1 α , *Systematic Entomology*, 27: 409-435

- Stireman J.O., O'Hara J.E., and Wood D.M., 2006, Tachinidae: evolution, behavior and ecology, *Annu. Rev. Entomol.*, 51: 525-555
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., Stecher G., Nei M., and Kumar S., 2011, MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods, *Mol Biol Evol.*, 28(10): 2731-2739
- Tautz D., Hancock J.M., Webb D.A., Tautz C., and Dover G.A., 1988, Complete sequences of the rRNA genes of *Drosophila melanogaster*, *Mol. Biol. Evol.*, 5(4): 366-376
- Thompson J.D., Higgins D.G., and Gibson T.I., 1994, CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice, *Nucleic Acids Res.*, 22(22): 4673-4680
- Tschorsnig H.P., 1985, Taxonomie forstlich wichtiger Parasiten: Untersuchungen zur Struktur des männlichen Postabdomens der Raupenfliegen (Diptera, Tachinidae), *Stuttgarter Beitrage zur Naturkunde, Serie A (Biologie)*, 383: 1-137
- Tschorsnig H.P., and Richter V.A., 1998, Family Tachinidae, In: Papp L., and Darvas B. (eds.), *Contributions to a Manual of Palaearctic Diptera (with special reference to flies of economic importance)*, Higher Brachycera, Science Herald, Budapest, pp.691-827
- Winkler I.S., Blaschke J.D., Davis D.J., Stireman J.O., O'Hara J.E., Cerretti P., and Moulton J.K., 2015, Explosive radiation or uninformative genes? origin and early diversification of tachinid flies (Diptera: Tachinidae), *Mol. Phylogenet. Evol.*, 88: 38-54
- Xue W.Q., and Zhao J.M., eds., 1996, Tachinidae, Liaoning Science and Technology Press, Shenyang, China, pp.1366-2425 (薛万琦, 赵建铭, 编著, 1996, 中国蝇类, 辽宁科学技术出版社, 中国, 沈阳, pp.1366-2425)
- Zhao J.M., Liang E.Y., Shi Y.S., and Zhou S.X., eds., 2001, *Fauna Sinica, Science Press, Beijing, China, pp.1-305* (赵建铭, 梁恩义, 史永善, 周士秀, 编著, 2001, 中国动物志, 科学出版社, 中国, 北京, pp.1-305)
- Ziegler J., 1998, The morphology of the puparia and of the cephalo-pharyngeal skeleton of mature larvae of tachinid flies (Diptera, Tachinidae) and their phylogenetic significance, *Studia Dipterologica*, 3: 1-165

Computational Molecular Biology (CMB)



Computational Molecular Biology (ISSN 1927-5587) is an open access, peer reviewed journal published online by BioPublisher. The Journal is publishing all the latest and outstanding research articles, letters, methods, and reviews in all areas of Computational Molecular Biology, covering new discoveries in molecular biology, from genes to genomes, using statistical, mathematical, and computational methods as well as new development of computational methods and databases in molecular and genome biology. The papers published in the journal are expected to be of interests to computational scientists, biologists, and teachers / students / researchers engaged in biology, as well as are appropriate for R & D personnel and general readers interested in computational technology and biology.

Email: edit@cmb.biopublisher.ca

Web: <http://cmb.biopublisher.ca>