

基于 28S rDNA 序列的姬小蜂科 (膜翅目, 小蜂总科) 分类

李捷^{1,2} 周文卿^{3,4} 张彦周⁴ 罗阿蓉^{3,4} 孔维娜² 赵飞² 康育光² 朱朝东^{4*}

1. 山西农业大学 山西太谷 030801, ljjc303@yeah.net

2. 山西省农业科学院植物保护研究所 山西太原 030031

3. 中国科学院研究生院 北京 100049

4. 中国科学院动物研究所 北京 100101

摘要 选择 28S rDNA D2 区基因, 针对 GenBank 中姬小蜂科总计 542 条相关序列, 借助 BlastAlign、MUSCLE 及 TNT 等生物信息学软件进行计算分析, 提出了一种基于亚科水平的姬小蜂科快速 DNA 分类鉴定方法。建树结果对目前分类系统中姬小蜂科 4 亚科分类体系 (Bouček, 1988) 予以支持; 综合分析结果基本支持对于姬小蜂亚科以及灿小蜂亚科的分族、分属方法。同时对地位不明的两属 *Ansehdlla* 和 *Ophdimus* 的分类学地位提出了假设。

关键词 姬小蜂科, 28S rDNA D2 区, DNA 分类学。

中图分类号 Q961

姬小蜂科 Eulophidae 是膜翅目小蜂总科中最大的科之一: 截至 1998 年, 全世界据统计已记载 283 个有效属, 约 3977 个有效种 (Noyes, 1998)。姬小蜂科在小蜂总科中由于科级分类特征稳定, 较易鉴定到科; 但科以下阶元在鉴定与划分工作常存在较大争议。该科中曾长期包含一些现在独立的科, 如蚜小蜂科 Aphelinidae、扁股小蜂科 Elasmidae 和四节金小蜂科 Tetracampidae。

姬小蜂科以下阶元分类地位的划分至今仍主要依赖形态学识别特征确定。因此, 有关该科下亚科的划分, 各派学者依然各持己见; 但基本上可统一于科下划分为 4~5 个亚科 (朱朝东, 1999; Gauthier *et al.*, 2000)。Bouček (1988) 以形态学特征为标准, 提出的姬小蜂科 4 亚科分类体系, 仍然是目前最为广泛接受的观点, 即将姬小蜂科划分为姬小蜂亚科 Eulophinae、灿姬小蜂亚科 Entedoninae、啮姬小蜂亚科 Tetrastichinae 和艾姬小蜂亚科 Euderinae 等 4 亚科。

DNA 分类学作为新兴学科, 综合利用了分子生物学、生物信息学以及传统分类学等信息 (Tautz *et al.*, 2003), 可以充分利用既有信息对目标生物类群以快速计算、分析, 较单纯依靠比较形态学建立的分类系统, 更具客观性与全面性。Schmitz 和 Moritz (1994) 提出, 使用 28S rDNA 序列对蜂类进行系统发育分析是可行的。Sonnenberg 等 (2007) 认为, rDNA 的 D1、D2 区可用来作为分类学标记, 或作为

有效区分近缘物种的标记之一。Hillis 和 Dixon (1991) 指出, D1 区不适用于小蜂的序列比对分析。D2 区是 28S rDNA 中最多变的区域, 在姬小蜂科中片段长度为 450 bp 左右 (Luo *et al.*, 2007)。

为了进一步明确姬小蜂科内部的类群划分, 本文采用 DNA 分类学方法, 力求用分子性状组合成一个数据矩阵, 而后基于该矩阵构建相应类群的系统树。本文选用 28S rDNA D2 区作为序列分析标记, 并通过分析结果探讨该序列片段能否为姬小蜂科以下阶元的分类学研究提供支持。

1 实验数据、方法与步骤

1.1 数据下载

本文分析数据均下载自 NCBI GenBank; 搜索关键词使用 Eulophidae, 下载格式为 GenBank 格式。

1.2 处理下载数据的方法与步骤

下载的原始数据在进行分析运算前, 须使用 BioEdit (V. 7.0.5) (Hall 1999) 进行简单处理。将所有的经过编辑处理的序列进行关键词搜索筛选, 提取序列标题信息中满足筛选标准的序列, 搜索关键词包括: Hymenoptera、Chalcidoidea、Eulophidae、28S D2 等。调用 MUSCLE (Edgar, 2004) 对完成信息筛选的 Fasta 文件进行多序列比对运算。运算输出结果使用 BioEdit 编辑, 进行剪切、去空位处理, 保存。调用 BlastAlign (Belshaw & Katzourakis, 2005), 在运行输出文件后缀名为 .log 的文件中查找得到参

国家自然科学基金面上项目 (30670242, 30500056) 和中国科学院创新工程 3 期、山西省攻关项目 (2007031049-1) 资助, 部分得到教育部留学回国人员科研启动基金 (0611891135) 的资助。

* 通讯作者, E-mail: zhucd@ioz.ac.cn

收稿日期: 2008-01-30, 修订日期: 2008-03-18.

考序列。使用 BioEdit, 根据参考序列上游与下游各 20bp 制作比对引物。再次调用 BlastAlign, 对包括比对引物序列与所有原始数据的总数据集进行筛选。运算输出文件使用 Excel 编辑, 剔出比对结果中分值为 1 的序列, 得到符合需要的序列, 用于后续的比对与系统发育树构建。

系统发育树构建使用 TNT 软件 (Goloboff, 1999), replication 参数设置为 5 000。为方便大量计算, 其它参数在脚本中设置: xm: noverb keep; rat: it10up4down4au0num62give99equa; dri: it10fit1.00rf-i0.20aut0num62give99xfa3.00equa; sec: mins45maxs-50self43incr75minf10god75 drift6glob8dgl01rou3noeq; f: rou5minf3best; ke nochoo swap; xm: rep5000-hit1nota nogive fuse3dri10chk0 rat10rss css autoc 1 xm-ix; xm。在 PAUP (Swofford, 2003) 中读取生成的树文件, 合理定义外群, 并赋根, 打印为 PDF 格式文件。

2 实验结果

2.1 筛选参考序列结果

以 Eulophidae 为搜索关键词由 GenBank 共获得符合搜索条件序列 542 条, 其中包括了姬小蜂的寄主类群之一龟甲亚科 Cassidinae (鞘翅目, 叶甲科)。本文共进行 5 组独立计算方案, 分别以 Eulophidae、Eulophinae、Entedoninae、Euderinae、Tetrastichinae 为关键词, 进行 BlastAlign 运算。第一次 BlastAlign 运算筛选出的参考序列编号分别为: AJ274434、AJ274445、AJ274482、AF345601 和 AJ274466。

2.2 系统发育树构建结果

本文共构建基因树 256 棵 (作者留存、备索), 用于后续分析。文中仅列出部分信息供参考。

本文在定义外群时, 根据所得数据, 分别选择龟甲亚科 Cassidinae (鞘翅目, 叶甲科) 共计 11 条序列, 或者金小蜂科 Pteromalidae、四节金小蜂科 Tetracampidae、蚜小蜂科 Aphelinidae 和棒小蜂科 Signiphoridae 4 个科共计 12 条序列作为外群, 分析结果存在差异。

此外, 在不同定义外群的前提下, 对 BlastAlign 分值分别进行升序、降序排列, 而后构建系统发育树。运算结果表明, BlastAlign 分值排列顺序对建树结果存在影响。

2.3 聚类结果

根据建树结果分析, 本文总体上支持姬小蜂科 4 亚科分类体系; 但在亚科以下水平上, 本文结果与传统分类学构建的分类学体系仍存在一定差异。现

仅以选取 Entedoninae 为关键词的运算组为例, 进行结果分析。

2.3.1 科级水平的聚类

尽管本文在数据预处理阶段, 对原始数据库进行了无关信息剔除, 运算结果中仍存在部分归属于鞘翅目叶甲总科 Chrysomeloidea 的序列信息。因此, 本方法主要适用于同源基因的筛选, 而不能去除拥有同源基因片段的其它类群。经分析, 此组序列全部集中于基因树的基部, 并不影响姬小蜂科内部的关系。

2.3.2 亚科级水平的聚类

根据 Bouček (1988) 提出的姬小蜂科 4 亚科分类体系, 对本文结果在分亚科水平上进行聚类分析。数据分析统计结果见表 1。

姬小蜂亚科 Eulophinae 在本文中涉及序列共 45 条。定义不同参考序列对姬小蜂科进行分析时, 该亚科分支表现出较高的聚合性, 准确聚类百分比均保持在 90% 以上。使用相同参考序列的聚类分析结果中, 该亚科同样表现出较满意的聚合性, 聚类结果均为 93.33% (以灿姬小蜂亚科为参考序列的计算组除外; 此运算组中, down-new-all 文件表现出更好的聚类结果, 95.56%)。本文改变外群定义, 以同归属膜翅目的其他 4 个类群序列信息作为外群进行分析计算时, 聚类结果可以得到优化。

啮姬小蜂亚科 Tetrastichinae 在本文中涉及序列共 25 条。该亚科在所有被分析类群中体现了最理想的聚类结果 (本文由 GenBank 共提取序列 25 条), 且具有较好的单系性。该亚科在分别选择姬小蜂亚科和姬小蜂科的参考序列进行分析的结果差别较大; 同时, 在此两组运算中, 改变定义外群对该类群的分析结果的存在影响。

灿小蜂亚科 Entedoninae 在本文中是样本数量最大的供分析类群, 总计 85 条。该亚科在多数分析结果中均可以表现出较好的单系性, 且聚类效果基本上维持在 94% 水平以上。

艾姬小蜂亚科 Euderinae 的聚类分析结果在所有分析数据中表现出最差的聚类, 统计总体水平为 64% 左右。该亚科本文共由 GenBank 提取 11 条序列信息, 因此, 较小的样本含量对结果的影响值得注意。

2.3.3 属级水平的聚类

以 Noyes (1998) 提出的姬小蜂科下亚科分族、分属列表为标准, 统计该科下各属的聚类分析结果。本文仅选取以 Entedoninae 中参考序列 (供分析数据库鞘翅目类群信息剔除) 的分析结果汇总列出 (表 2)。

表 1 姬小蜂科 (Eulophidae) 各亚科级阶元上的聚类分析结果 (%)

Table 1. The clustering results of Eulophids at the subfamily level (by percentage).

Rep 5 000	Eulophinae	Eulophinae (a)	Tetrastichinae	Tetrastichinae (a)	Entedoninae	Entedoninae (a)	Euderinae	Euderinae (a)
Eulophinae								
up_new_all	93.33	93.33	100.00	100.00	95.29	95.29	100.00	90.91
down_new_all	93.33	93.33	100.00	80.00	97.65	97.65	90.91	100.00
up_new_best	93.33	93.33	100.00	100.00	100.00	95.29	90.91	90.91
down_new_best	93.33	93.33	100.00	80.00	97.65	97.65	90.91	90.91
up_miss_all	93.33	93.33	100.00	100.00	95.29	97.65	63.64	81.82
down_miss_all	93.33	97.78	100.00	100.00	100.00	94.12	90.91	72.73
up_miss_best	93.33	93.33	96.00	100.00	94.12	97.65	63.64	81.82
down_miss_best	93.33	97.78	100.00	96.00	97.65	94.12	90.91	81.82
Eulophidae								
up_new_all	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	89.42	90.91	63.64
down_new_all	93.33	93.33	100.00	52.00	97.65	97.65	63.64	81.82
up_new_best	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	95.29	90.91	90.91
down_new_best	93.33	93.33	100.00	52.00	97.65	97.65	63.64	100.00
up_miss_all	93.33	93.33	100.00	100.00	100.00	94.12	63.64	90.91
down_miss_all	93.33	93.33	96.00	96.00	94.12	97.65	90.91	81.82
up_miss_best	93.33	93.33	96.00	100.00	94.12	94.12	90.91	90.91
down_miss_best	93.33	97.78	96.00	92.00	94.12	97.65	63.64	72.73
Tetrastichinae								
up_new_all	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	90.59	63.64	90.91
down_new_all	93.33	91.11	100.00	100.00	97.65	97.65	90.91	63.64
up_new_best	93.33	93.33	100.00	100.00	100.00	90.59	100.00	90.91
down_new_best	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	97.65	90.91	63.64
up_miss_all	93.33	93.33	100.00	100.00	100.00	94.12	63.64	90.91
down_miss_all	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	97.65	90.91	63.64
up_miss_best	93.33	93.33	96.00	100.00	94.12	94.12	63.64	90.91
down_miss_best	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	97.65	90.91	90.91
Entedoninae								
up_new_all	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	94.12	63.64	63.64
down_new_all	95.56	93.33	100.00	100.00	97.65	97.65	90.91	63.64
up_new_best	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	94.12	63.64	63.64
down_new_best	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	97.65	90.91	63.64
up_miss_all	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	96.47	63.64	100.00
down_miss_all	93.33	93.33	100.00	100.00	100.00	94.12	63.64	90.91
up_miss_best	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	96.47	63.64	100.00
down_miss_best	93.33	93.33	100.00	100.00	97.65	100.00	63.64	90.91

注 (note): 1) 表中各亚科名后 (a) 表示建树数据库中不包含鞘翅目类群信息. (The 'a' followed the subfamily names correspond to the datasets with which coleopteran sequences were deleted)

2) 各细项中 up 和 down 分别表示第 2 次 Blast Align 后分值以升序或将序排列得到的数据处理; miss 和 new 分别表示中文中 missing 和 new 输出文件; best 和 all 分别代表 TNT 建树结果 alltrees tre 和 besttrees tre. (The 'up' or 'down' explains the arrangement of Blast Align scores in an ascending or descending order; 'miss' or 'new' indicates the gaps were treated as missing or the 5th states respectively; 'best' and 'all' represents the reconstruction results given by 'alltrees tre' and 'besttrees tre' files from TNT respectively)

姬小蜂亚科 Eulophinae 本文涉及样本分属于姬小蜂亚科下 3 个族: Eulophini、Cirrospilini 和 Elasmmini. 本文结果数据汇总中, 该科下各个族的聚类效果较为理想, 且 Eulophini 和 Cirrospilini 两者表现出更为突出的理想姐妹群关系. Elasmmini 虽被 Noyes (1998) 划归为一个独立的族, 但本文结果并不支持此项观点: 该类群分支并入 Eulophini 或 Cirrospilini 的分支中。

姬小蜂亚科 Entedoninae 实验中涉及该亚科两个

族: Euderomphalini 和 Entedonini. 其中, Euderomphalini 下 4 属: *Entedononecremus*、*Achrysocharoides*、*Kratoysma* 和 *Entedon*; *Entedonini* 下 5 属: *Closteroceus*、*Pediobius*、*Horismenus*、*Emersonella* 和 *Chrysocharis*. 数据统计结果显示, 该亚科下各属的聚类明显优于其它亚科的属级聚类结果. 以基因树 up- Entedoninae- new- best 为例, 该亚科两个族下拓扑结构可表示为: (*Entedon* ((*Achrysocharoides*,

表2 姬小蜂科 (Eulophidae) 各属级阶元上的聚类分析结果 (不包含鞘翅目信息, 参考序列为灿姬小蜂亚科中提取)

Table 2. The clustering results analyzed of Eulophidae by DNA taxonomy based on the categories at the genus level. (Sequences of coleopterans were deleted; the reference sequence was selected by BlastAlign from the Entedoninae)

Tribes	Genera	Total	All		Best	
			New	Missing	New	Missing
Eulophinae						
Eulophini	<i>Sympiesis</i>	3	0	2	0	3
	<i>Phigalio</i>	3	0	0	0	0
	<i>Raabeurgida</i>	2	2	2	2	2
Cirrospilini	<i>Cirrospilus</i>	13	3+ 9	4+ 2+ 6	3+ 9	4+ 2+ 6
	<i>Zagamosoma</i>	5	5	5	5	5
	<i>Diglyphus</i>	3	2	3	2	3
Elasmini	<i>Elasmus</i>	5	4	4	4	4
Entedoninae						
Euderomphalini	<i>Entedonacremnus</i>	2	2	2	2	2
	<i>Achrysocharoides</i>	28	27	27	27	27
	<i>Kratosma</i>	2	2	2	2	2
	<i>Entedon</i>	5	5	4	5	4
Entedonini	<i>Closterocerus</i>	2	2	2	2	2
	<i>Pediobius</i>	5	5	5	5	5
	<i>Horismenus</i>	4	3	3	3	3
	<i>Emersonella</i>	15	15	14	15	14
	<i>Chrysocharis</i>	10	5+ 5	9	5+ 5	5+ 4
Tetrastichinae						
Tetrastichini	<i>Aprostocetus</i>	9	7	7	7	7
	<i>Galeopsomyia</i>	3	2	2	2	2
	<i>Baryscapus</i>	3	3	3	3	3
	<i>Melittobia</i>	2	0	0	0	0
	<i>Tetrastichus</i>	2	0	0	0	0
Eudeinae						
	<i>Euderus</i>	6	6	6	6	6
	<i>Aoridus</i>	3	3	3	3	3
Down Entedoninae (without Coleoptera)						
Tribes	Genera	Total	All		Best	
			New	Missing	New	Missing
Eulophinae						
Eulophini	<i>Sympiesis</i>	3	0	2	0	3
	<i>Phigalio</i>	3	0	2	3	2
	<i>Raabeurgida</i>	2	2	2	2	2
Cirrospilini	<i>Cirrospilus</i>	13	6+ 6	6+ 6	6+ 6	6+ 6
	<i>Zagamosoma</i>	5	5	5	5	5
	<i>Diglyphus</i>	3	3	3	3	3
Elasmini	<i>Elasmus</i>	5	3	4	3	4
Entedoninae						
Euderomphalini	<i>Entedonacremnus</i>	2	2	2	2	2
	<i>Achrysocharoides</i>	28	27	27	27	27
	<i>Kratosma</i>	2	2	2	2	2
	<i>Entedon</i>	5	5	5	5	5
Entedonini	<i>Closterocerus</i>	2	2	2	2	2
	<i>Pediobius</i>	5	5	5	5	5
	<i>Horismenus</i>	4	3	3	3	3
	<i>Emersonella</i>	15	15	15	15	15
	<i>Chrysocharis</i>	10	3+ 7	3+ 7	3+ 7	3+ 7
Tetrastichinae						
Tetrastichini	<i>Aprostocetus</i>	9	2+ 7	7	2+ 7	7
	<i>Galeopsomyia</i>	3	2	2	2	2
	<i>Baryscapus</i>	3	3	3	3	3
	<i>Melittobia</i>	2	0	2	0	2
	<i>Tetrastichus</i>	2	0	0	0	0
Eudeinae						
	<i>Euderus</i>	6	6	6	6	6
	<i>Aoridus</i>	3	3	3	3	3

Horismenus) (*Entedononecremnus* (*Closterocerus*))))))。

啮姬小蜂亚科 Tetrastichinae 在本文中仅涉及一族 Tetrastichini, 涉及属级分类单元: *Aprostocetus*、*Galeopsomyia*、*Baryscapus*、*Melittobia* 和 *Tetrastichus*。其中, 分析结果显示 *Aprostocetus*、*Galeopsomyia* 和 *Baryscapus* 的聚类效果较理想。

艾姬小蜂亚科 (Euderinae) 本文中涉及该类群序列仅 11 条, 考虑到样本数量有限, 故对此类群不再进行分析讨论。

3 讨论

本文选择 28S rDNA D2 区片段, 应用全局比对方法构建基因树, 对姬小蜂科进行分子系统学研究。根据数据分析, 可初步推断, 根据 28S rDNA D2 区片段, 应用全局比对方法构建基因树, 在亚科及其以下水平上 (尤其是亚科) 得到较理想的聚类结果。

在亚科水平上, 除目前不能明确分类地位的类群 (如本次实验中提取的 Anselmellini 族 *Anselmella*、Ophelimiini 族 *Ophelimu* 等), 根据 BlastAlign 输出打分结果以及构建基因树结果, 该文涉及的 4 个亚科总体上表现出较好的单系性, 本文方法基本上支持目前对姬小蜂科的 4 亚科分类体系。由此可见, 本文结果支持目前提出的姬小蜂科 4 亚科分类系统, 基本支持对于姬小蜂亚科以及灿姬小蜂亚科的分族、分属方法。

针对有关 *Elasmus* 在 Eulophinae 中的位置一直以来未有明确定论 (Gauthier *et al.*, 2000) 的疑问, 本文亦提出初步的解决办法。对于 Elasmmini 的界定, 二次 BlastAlign 分值升序、降序处理后输出数据直接表现为该类群在系统树中不同位置的分布。当以 BlastAlign 升序分值文件构建系统树时, Elasmmini 并入 Eulophini 分支中; 而当以降序文件构建系统树时, 该类群则并入 Cirospilini 分支中。考虑 *Elasmus* 拥有定义 Eulophini 的同源性状: 前胸侧板相接; 此外, 其附节分节数以及前足胫节距的特征亦将该属与姬小蜂科联系起来, 仅以本文获得数据, 我们支持 Gauthier 等 (2000) 提出将 Elasmmini 并入 Eulophini 或是 Cirospilini 其中之一的设计。

啮姬小蜂亚科一直以来被认为是一个自然类群 (Bouček, 1988; LaSalle, 1994)。但对此结论, 来自形态学上的证据一直不为人信服 (Gauthier *et al.*, 2000)。即便作为目前支持该类群单系性的特征, 触角柄节腹面侧缘的感觉板明显, 得到分类学家的广泛认同, *Phymastichus* (LaSalle, 1990) 在此识别特征上的特殊性同样值得我们对于这种分类观点提出质疑。相比之下, 分子数据对于 Tetrastichinae 的亚科

单系性分析在族及以下阶元更为适用。但由于本文中从 GenBank 数据库中下载的数据仅包括该亚科一个族的部分属种, 需要今后增加更多的样本对啮姬小蜂亚科下分类单元进行界定。

针对两个目前分类地位不明的属 *Anselmella* (Anselmellini) 和 *Ophelinus* (Ophelimiini), 本文根据各发育树分析结果, 初步提出 *Ophelinus* 可能归属于 Euderinae; 而 *Anselmella* 则更接近 Euderinae, 可能是位于姬小蜂科进化树基部的较为原始的类群。

本文提出的研究方法在 DNA 分类学应用于生物物种快速分类鉴定的方法构建上具有一定的可操作性。本文选取 28S rDNA D2 区基因作为分析对象。该区序列易获取、具有潜在通用性 (Tautz *et al.*, 2003), 可支持它为分科、分属的系统学研究提供较好的分子证据 (Blaxter, 2004)。但同样值得注意的是, 由于性状在组合的有效性及其变异对揭示系统发育历史成分的准确性方面存在一定差异, 因而在数据组内部或数据组之间出现性状变异的矛盾也是在预料之中的 (DeSalle & Schierwater, 1998)。另外, 改变定义外群类群, 分别建树的结果表明, 不同外群会影响到各个分类阶元的聚类结果。而且, 数据中类群的排列顺序不同, 也会产生不同的树型。这些影响, 将在进一步的工作中做深入探讨。

致谢 山西农业大学周宏宇同学以及北京林业大学黄海荣同学对相关资料搜集提供很大帮助, 在此一并表示感谢。

REFERENCES (参考文献)

- Belshaw, R. and Katourakis, A. 2005. BlastAlign: a program that uses blast to align problematic nucleotide sequences. *Bioinformatics*, 21: 122-123.
- Blaxter, M. L. 2004. The promise of DNA taxonomy. *Philosophical transactions of the Royal Society of London*. Series B, 359: 669-679.
- Bouček, Z. 1988. Australasian Chalcidoidea (Hymenoptera): A Biosystematic Revision of Feneae of Fourteen Families with a Reclassification of Species. C. A. B. International, United Kingdom. 832pp.
- DeSalle, R. and Schierwater, B. 1998. *Molecular Approaches to Ecology and Evolution*. Birkhäuser Publishing Ltd. pp196.
- Edgar, R. C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32 (5): 1792-1797.
- Gauthier, N., LaSalle, J., Quicke, D. L. J. and Godfray, H. C. J. 2000. Phylogeny of Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea), with a reclassification of Eulophinae and the recognition that Elasmidae are derived eulophids. *Systematic Entomology*, 25: 521-539.
- Globoff, P. A. 1999. Analyzing large data sets in reasonable times: solutions for composite optima. *Cladistics*, 15 (4): 415-428.
- Hall, T. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41: 958.
- Hillis, D. M. and Dixon, M. T. 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*, 66: 411-453.

- Kluge, A. G. 1989. A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among Epicrates (Boidae, Serpentes). *Systematic Zoology*, 38: 7-25.
- LaSalle, J. 1990. A new genus and species of Tetrastichinae (Hymenoptera, Eulophidae) parasitic on the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera, Scolytidae). *Bulletin of Entomological Research*, 80: 7-10.
- LaSalle, J. 1994. North American genera of Tetrastichinae (Hymenoptera: Eulophidae). *Journal of Natural History*, 28: 109-236.
- Luo, A.R., Shi, W.F., Zhang, Y.Z., Zhou, H.Y., Qiao, H.J. and Zhu, G.D. 2007. BlastAlign for homologous gene sequence search. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 32 (4): 861-864. [动物分类学报]
- Noyes, J. S. 1998. Catalogue of the Chalcidoidea of the World. Electronic Publication (CD-ROM). EMI, Amsterdam.
- Schmitz, J. and Montz, R. F. A. 1994. Sequence analysis of the D1 and D2 regions of 28S rDNA in the hornet (*Vespa crabro*) (Hymenoptera, Vespinae). *Insect Molecular Biology*, 3 (4): 273-277.
- Sonnenberg, R., Nolte, A. W. and Tautz, D. 2007. An evaluation of LSU rDNA D1+D2 sequences for their use in species identification. *Frontiers in Zoology*, 4: 6.
- Swofford, D. L. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Tautz, D., Arctander, P., Minelli, A., Thomas, R. H. and Vogler, A. P. 2003. A plea for DNA taxonomy. *Trends in Ecology and Evolution*, 18 (2): 70-74.
- Zhu, G.D. 1999. Biosystematics on Eulophinae (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eulophidae) of China. [朱朝东, 1999. 中国姬小蜂亚科生物系统学研究 (博士论文). 北京: 中国科学院北京动物研究所]

DNA TAXONOMY OF EULOPHIDAE USING SEQUENCES OF 28S RDNA

LI Jie^{1,2}, ZHOU Wen-Qing^{3,4}, ZHANG Yan-Zhou⁴, LUO A-Rong^{3,4}, KONG Wei-Na², ZHAO Fei², KANG Yu-Guang², ZHU Chao-Dong^{4*}

1. Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030801, China

2. Institute of Plant Protection, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China

3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

4. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract In this paper, we propose an efficient DNA-sequence based procedure to identify insects in the family Eulophidae (Hymenoptera, Chalcidoidea). For 542 nucleotide sequences of 28S rDNA D2 region, we utilized BlastAlign, MUSCLE, TNT and other softwares to do series of bioinformatics analyses. Phylogenies support the

Key words Eulophidae, 28S rDNA D2 region, DNA taxonomy.

present 4-subfamily system of the family Eulophidae. Classification of tribes and genera among both Eulophinae and Entedoninae are congruent with those from traditional taxonomy. Besides, the phylogenetic positions of both *Ansemdla* and *Ophdimus* were inferred, which taxa were previously uncertain in the Eulophidae.

* Corresponding author.