

岡田豊日教授

With best wishes

刘祖洞 謹啓  
Feb. 14, 93

# 一个果蝇新种分类地位的研究 ——从形态水平到分子水平<sup>1)</sup>

陈华中 严琛 刘祖洞

(复旦大学遗传学研究所, 上海)

本文从形态水平到分子水平, 对疑难种 *D. liui* sp. n. 的分类地位作了研究。结果表明 *D. liui* sp. n. 确实是一个新种, 是 *takahashii* 亚种组中的一个新成员, 从而明确了该种的分类地位。

关键词: 果蝇 (*Drosophila*), 间桥, 后叶, 核型, 同工酶

分类阶元 (taxon) A 与 B, 为分别采自广西花坪和浙江四明山的两个地区种群。根据形态特征鉴定, 分类阶元 A 与 B 同属一个新种, 定名为 *Drosophila liui* sp. n.<sup>[1]</sup>, 在分类上属于 *Sophophora* 亚属, *melanogaster* 种组, *takahashii* 亚种组。然而, 冈田丰日和户田正憲两位日本果蝇分类学家, 对这两个分类阶元同样根据形态特征作了鉴定, 冈田丰日认为是已知种 *D. nepalensis* Okada (1955), 而户田正憲认为是已知种 *D. Pro-stipennis* Lin (1972), 后来他又认为是已知种 *D. trilutea* Bock and Wheeler (1972 年冈田、户田个人通讯)。由于各家意见不一, *D. liui* sp. n. 成为一个疑难种, 所以它的分类地位有待进一步探究。

## 材料和方法

- (一) 果蝇种类 所有果蝇的名称、简称、产地和所属亚种组等项, 列于表 1。
- (二) 形态鉴定 雄性果蝇的翅色、外生殖器的间桥和阳体后叶的结构, 是本文鉴定的依据特征。
- (三) 核型分析 对 *D. takahashii*、*D. lutescens*、*D. liui* sp. n. 和 *D. nepalensis* 作了核型分析。取三龄幼虫, 分离神经节、染色、压片, 在高倍显微镜下, 对有丝分裂中期的染色体组进行观察、描述和比较。分析核型时观察用的细胞在 50 个以上。
- (四) 杂交试验 对 taA、taB、taK1、taK2、taK3、lut 和 nep 等 7 个不同的种或地区种群, 进行两两杂交。每一杂交组合进行正交和反交, 各重复 1 次。每次杂交的对数为 4—5 对。观察受精囊中是否有精子存在, 以及有否子代出现。
- (五) 同工酶与幼虫蛋白电泳 用 17 种同工酶及幼虫蛋白, 测试 8 个果蝇样本, 每个样本各测试 50 个个体。同工酶的名称列表 2, 幼虫蛋白的简称为 Pt。

本文于 1989 年 1 月 30 日收到。

1) 胡嘉祺教授提供数值分类计算程序, 特此致谢。

表 1 本文研究的果蝇  
Table 1 The *Drosophilid* flies for study in this paper

种 Species	简称 Abbr.	产 地 Locality	亚种组 Subgroup	注 Note
分类阶元 A   taxon A	taA	广西花坪 Mt. Huaping Guangxi Province	<i>takahashii</i>	存疑种 <i>D. liui</i> sp. n. <i>D. liui</i> sp. n.?
分类阶元 B   taxon B	taB	浙江四明山 Mt. Siming Zhejiang Province	<i>takahashii</i>	存疑种 <i>D. liui</i> sp. n. <i>D. liui</i> sp. n.?
<i>D. takahashii</i> 1	tak1	广 州 Guangzhou	<i>takahashii</i>	
<i>D. takahashii</i> 2	tak2	桂 林 Guilin	<i>takahashii</i>	
<i>D. takahashii</i> 3	tak3	海 南 省 Hainan Province	<i>takahashii</i>	
<i>D. lutescens</i>	lut	浙江天台山 Mt. Tiantai Zhejiang Province	<i>takahashii</i>	
<i>D. nepalensis</i>	nep	尼泊尔(北川修贖) Nepal (ded. O. kitagawa)	<i>takahashii</i>	
<i>D. prostripenis</i>	pro	福建武夷山 Mt. Wuyi Fujian Province	<i>takahashii</i>	用于形态比较 For morphological comparison
<i>D. trilutea</i>	tri	福建武夷山 Mt. Wuyi Fujian Province	<i>takahashii</i>	用于形态比较 For morphological comparison
<i>D. ananassae</i>	ana	海 南 省 Hainan Province	<i>ananassae</i>	用于生化比较 For biochemical comparison

表 2 测试的同工酶  
Table 2 The enzymes examined

酶 Enzymes	简 称 Abbr.
酯酶 esterase, E. C. 3.1.1.1.	Est
淀粉酶 amylase, E. C. 3.2.1.1.	Amy
酸性磷酸酯酶 acid phosphatase, E. C. 3.1.3.2.	Acph
碱性磷酸酯酶 alkaline phosphatase, E. C. 3.1.3.1.	Aph
乙醇脱氢酶 alcohol dehydrogenase, NAD, E. C. 1.1.1.1.	Adh
辛醇脱氢酶 octanol dehydrogenase, E. C. ---.---.	Odh
黄嘌呤脱氢酶 xanthine dehydrogenase, E. C. 1.2.3.2.	Xdh
肽酶 peptidase, E. C. 3.4.1.1.	Pep
谷草转氨酶 glutamate-oxaloacetate transaminase, E. C. 2.6.1.1.	Got
谷丙转氨酶 glutamate-pyruvate transaminase, E. C. 2.6.1.2.	Gpt
苹果酸脱氢酶 malate dehydrogenase, NAD, E. C. 1.1.1.37.	Mdh
苹果酸酶 malic enzyme, NADP, E. C. 1.1.1.40.	Me
$\alpha$ -磷酸甘油脱氢酶 $\alpha$ -glycerophosphate dehydrogenase, E. C. 1.1.1.8.	$\alpha$ -Gpdh
己糖激酶 hexokinase, E. C. 2.7.1.1.	Hk
葡萄糖磷酸变位酶 phosphoglucomutase, E. C. 2.7.5.1.	Pgm
6-磷酸葡萄糖脱氢酶 glucose-6-phosphate dehydrogenase, E. C. 1.1.1.49	G6pd
延胡素酸酶 fumarase, E. C. ---.---.	Fum

## 1. 样本制备和上样

a. 用于聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 的样本: 单个果蝇(成虫或幼虫), 加 30ml 预冷匀浆液 (15% 蔗糖、0.1% 溴酚蓝水溶液) 研磨匀浆, 吸取上清液, 直接加入凝胶顶端的样本槽。

b. 用于琼脂糖凝胶电泳 (AGE) 的样本: 单个果蝇成虫, 加 5 $\mu$ l 预冷双蒸水, 研磨匀浆, 采用滤纸条, 开始电泳。

## 2. 电泳 操作条件列于表 3 和表 4。

表 3 PAGE (高 pH 不连续系统)<sup>[6]</sup>  
Table 3 Procedure of PAGE (High pH discontinuous system)

系统 System	分离胶 Resolving gel		浓缩胶 Stacking gel		恒电流或恒电压 Constant current or voltage	时间 Time	温度 Temp.	酶 Enzymes
	pH	浓度 conc.	pH	浓度 conc.				
I	8.9	10%	6.7	3.75%	I = 15mA/plate	3-4hr	4°C	Est, Amy
II	8.9	7.5%	6.7	3.75%	I = 15mA/plate	3-4hr	4°C	Aph, Acph, Gpt

注: PAGE 胶预电泳过夜 10mA/plate。

Note: PAGE gel is preelectrophor sised overnight (10mA/plate).

表 4 AGE<sup>1)</sup> 操作程序  
Table 4 Procedure of AGE

系 统 System	胶缓冲液 Gel Buffer	电极缓冲液 Electrode Buffer	恒电流或恒电压 Constant current or voltage	时间 Time	温度 Temp.	酶 Enzymes
I	原液 1 Stock 1	原液 1 Stock 1	I = 40mA	2 小时 2hr.	4°C	Adh, Mdh, $\alpha$ -Gpdh <sup>2)</sup> , G6pd, Fum, Got Gpt, Pep
II	原液 1 Stock 1:H <sub>2</sub> O=7:3	原液 1 Stock 1	I = 40mA	1 小时 1hr.	4°C	Me, Hk
III	原液 2 Stock 2:H <sub>2</sub> O=3:7	原液 2 Stock 2	V = 300V	1 小时 1hr.	4°C	Odh, Pgm

1) AGE 参照日本东京都立大学青塚正志方法(略作修改)。

原液 Stock1: 0.025mol/L phosphate pH6.8; 原液 stock2: EBT (EDTA-Boric acid-tris, pH8.7): 0.74g, EDTA2Na, 3.09g Boric acid, 10.9g Tris, 定溶 1000ml; Agarose 胶组成: 1g Agarose, 3-5g 山梨醇, 100ml 胶缓冲液。

2) Adh; Mdh,  $\alpha$ -Gpdh 的胶中另加 30mg NAD。

1) Procedure of AGE is referred to T. Aotsuka of Tokyo Metropolitan University (revised slightly).  
Stock1: 0.025 mol/l phosphate pH6.8.

Stock2: EBT (EDTA-Boric acid-Tris, pH8.7): 0.74g EDTA 2Na, 3.09g Boric acid, 10.9g Tris, to volume 1000ml.

Composition of Agarose gel: 1g Agrose, 3-5g sorbitol, 100ml gel buffer.

2) 30mg NAD is added additionally to the gel of Adh, Mdh, and  $\alpha$ -Gpdh.

3. 染色 各种酶的特异性染色方法<sup>[3,8,13]</sup>。幼虫蛋白: 电泳完毕后, 胶板置于 50% 甲醇-10% 冰醋酸-0.1% 考马斯亮兰 R-250 染液中, 于 60°C 染色 2 小时, 用 25% 乙醇-5% 冰醋酸室温脱色, 至背景清晰为止。制干片或保存于 7% 冰醋酸中。

## 结 果

(一) 形态鉴别 本文着重检查具有分类学价值的雄性果蝇的翅色、外生殖器的间桥和阳体后叶的基分叉,作为鉴别的依据特征(图 1—3)。

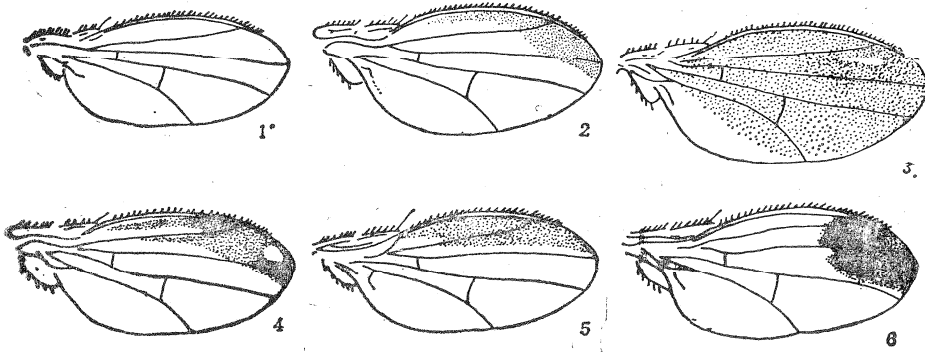


图 1 *takahashii* 亚种组 6 个种雄性翅

Fig. 1 Male wings of 6 species within the *takahashii* subgroup

1. *D. takahashii*; 2. *D. lutescens*; 3. *D. liui* sp. n.;  
4. *D. prostipennis*; 5. *D. trilineata*; 6. *D. nepalensis*.

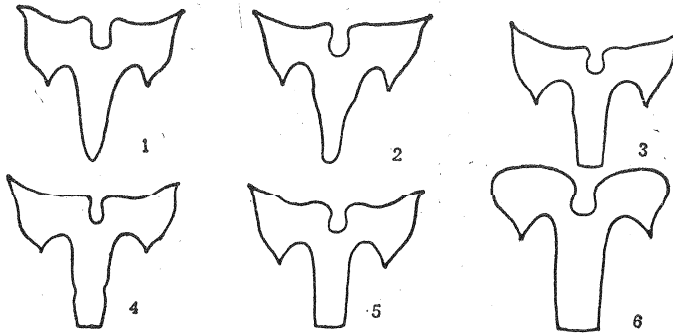


图 2 *takahashii* 亚种组 6 个种雄性围阻体的间桥

Fig. 2 Decasternums of male periphallallic organs of 6 species within the *takahashii* subgroup

1. *D. takahashii*; 2. *D. lutescens*; 3. *D. liui* sp. n.;  
4. *D. prostipennis*; 5. *D. trilineata*; 6. *D. nepalensis*.

(二) 核型分析 本文观察了 *D. takahashii*、*D. lutescens*、*D. liui* sp. n. 和 *D. nepalensis* 4 种果蝇的核型。*D. liui* sp. n. 的核型为  $2V + 1R + 1D$ ,  $2n = 8$  (图 4), 与 *D. takahashii*、*D. lutescens* 和 *D. nepalensis* 相同。而 *D. prostipennis* 和 *D. trilineata* 的核型为  $2V + 1R$ ,  $2n = 6^{[5]}$ 。

(三) 杂交试验 同一种果蝇不同地区种群之间,均有后代产生,如 tak1、tak2、tak3 之间杂交,均有后代产生。而不同种之间杂交则受精囊内无精子存在,自然也无后代产生。采自广西花坪的 taA 和采自浙江四明山的 taB 同为 *D. liui* sp. n.,它们之间的杂交也有可育的后代,而它们与其它几个种的杂交均无受精现象,也无后代。说明

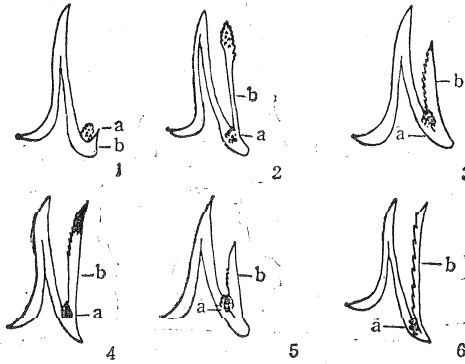


图3 *takahashii* 亚种组 6 个种雄性阳体的后叶  
 Fig. 3 Posterior parameres of male phallic organs of 6 species within the *takahashii* subgroup, dorsal aspects:  
 1. *D. takahashii*; 2. *D. lutescens*; 3. *D. liui* sp. n.; 4. *D. prostipennis*; 5. *D. trilineata*; 6. *D. nepalensis*.  
 a. Basal conical process of novasternum; b. Basal branch of posterior paramere.

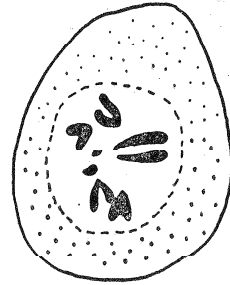


图4 *D. liui* sp. n. 有丝分裂中期核型  
 Fig. 4 The karyotype of mitotic metaphase of *D. liui* sp. n.

*D. liui* sp. n. 是有别于 *D. takahashii*、*D. lutescens* 和 *D. nepalensis* 的一个种。两两杂交结果列表 5。

表5 *takahashii* 亚种组 7 个实验室种群之间两两杂交试验结果  
 Table 5 Results of paired-cross in 7 laboratory populations of *takahashii* subgroup

雌性 Females	雄性 Males						
	tak1	tak2	tak3	lut	taA	taB	nep
tak1	1	1	1	0	0	0	0
tak2	1	1	1	0	0	0	0
tak3	1	1	1	0	0	0	0
lut	0	0	0	1	0	0	0
taA	0	0	0	0	1	1	0
taB	0	0	0	0	1	1	0
nep	0	0	0	0	0	0	1

注: 1=有可育的  $F_1$  代产生; 0=无后代, 受精囊中无精子存在。

Note: 1 = With fertile offspring; 0 = No offspring produced.

(四) 同工酶及幼虫蛋白电泳 本文测试的 17 个同工酶及幼虫蛋白中 Est、Amy、AcpH、Aph、Adh、Mdh、xdh、odh、Got、G6pd 及幼虫蛋白均表现出或多或少的种间差异, 而且有些酶带特异性较强, 可区别不同物种。而 Me、Hk、Pep、Fum、Gpt、 $\alpha$ -Gpdh、Pgm 7 个酶, 在本文所测试的几个果蝇类群之间, 不存在变异。因此, 相互比较的作用不大。17 个同工酶及幼虫蛋白在 8 个果蝇类群中, 所有带型的相对迁移率列表 6。

## 讨 论

(一) 形态特征 *takahashii* 亚种组, 目前已发现 11 个种<sup>[4]</sup>。各成员之间外部形态



表6(续)

	tak1	tak2	tak3	lut	taA	taB	nep	ana
Aph-II							0.63	
				0.65	0.65	0.65		
	0.66	0.66						0.68
			0.69					0.70
Aph-III	0.86	0.86	0.86					0.86
								0.92
				0.95				
					0.98	0.98	0.98	0.98
				1.00				
Adh		0.88			0.88	0.88	0.88	
	1.00	1.00	1.00	1.00				1.00
Odh								0.54
	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	
					0.78	0.78	0.78	
	0.88	0.88	0.88	0.88				
					0.95	0.95		
Xdh							1.00	1.00
								0.28
							0.75	
	0.92	0.92	0.92	0.92				
								0.95
Pep								
								0.94
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
Got	0.56	0.56	0.56	0.56				
					0.63	0.63	0.63	
								0.75
	0.88	0.88	0.88					
			1.00	1.00	1.00	1.00		

表6(续)

	tak1	tak2	tak3	lut	taA	taB	nep	ana
Gpt	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	0.79	
								1.00
Mdh	0.75	0.75	0.75					
				0.80	0.80	0.80	0.80	
					0.95	0.95	0.95	—
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
Me	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75	
								0.81
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
$\alpha$ -Gpdh	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
Hk	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
Pgm								0.82
								0.90
	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	0.92	
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
G6pd								0.90
							0.96	0.96
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		
Fum								0.91
	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	
Pt-1	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
	0.11	0.11	0.11					
Pt-2								0.15
	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	
								0.19
							0.20	
Pt-3	0.28	0.28	0.28		0.28	0.28	0.28	
								0.33
Pt-4								0.39
				0.41	0.41	0.41	0.41	
	0.43	0.43	0.43		0.43	0.43		



表 6(续)

	tak1	tak2	tak3	lut	taA	taB	nep	ana
Pt-5	0.47	0.47	0.47					
	0.49	0.49	0.49	0.49				0.49
	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52		
	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59
Pt-6								0.63
					0.67	0.67	0.67	
		0.68						
	0.69	0.69	0.69	0.69				
Pt-7					0.73	0.73		
							0.76	
	0.80		0.80					
			0.81					
Pt-8								0.90
	0.98	0.98	0.98	0.98			0.98	
					1.00	1.00		

注: 加样端 (PAGE) 或正极端 (AGE) 最远的带的迁移率定为 1.00, 其它带的迁移率相对该带而言。

Note: The migration rate of the furthest band is 1.00. The migration rates of other bands are calculated from their distances to the furthest band.

极为相似。但外生殖器构造上却有很细微, 而区别明显的特征, 这是鉴别物种的主要依据。雄性翅色的差异, 也有鉴别物种的价值。从本文研究的 6 个种的翅色、外生殖器的间桥和后叶基分叉(图 1-3) 的特征中, 可以看出 *D. liui* sp. n. 既不同于 *D. takahashii*、*D. lutescens*, 也不同于 *D. nepalensis*、*D. prostipennis* 和 *D. trilutea* 的一个新种。

(二) 核型分析 核型的特点, 在物种鉴别上也可提供有价值的证据, 尤其当形态特征上证据不足时, 可能起决定性作用。本文研究的 6 个种, 发现有两种核型。一种是 *D. takahashii*、*D. lutescens*、*D. nepalensis* 和 *D. liui* sp. n. 所具有的核型: 2 对 V 形, 1 对杆形和 1 对点形染色体,  $2n = 8$ 。而 *D. prostipennis* 和 *D. trilutea* 具有另一种核型: 2 对 V 形和 1 对杆形染色体,  $2n = 6$ 。这说明它们是两个不同的姐妹群。

(三) 形态特征数值分类 为了探索 *D. liui* sp. n. 在 *takahashii* 亚种组中的分类地位以及它和各成员之间的亲缘关系, 特用形态特征数值分类法进行分析。现将该亚种组已发现的 12 个种名录, 列于表 7。雄性的 11 个外部形态特征, 作为数值分类指标(核型和间桥两个鉴别特征, 因资料不全, 未列入)。原始数据见表 8。

数据经过离差标准化, 用 Gower similarity coefficients 和 Group agglomerative classification 得出树状图(图 5)。从图中可以看出 12 个种, 分为两大类: *D. kurseonge*

表 7 用于数值分类的 *takahashii* 亚种组的 12 个种  
 Table 7 Species of the *takahashii* subgroup used in numerical taxonomy<sup>[10, 14, 11, 9, 12]</sup>

种 Species	分布 Distribution
1. <i>D. takahashii</i> Sturtevant 1927	广布于五洲 Widespread in Asia
2. <i>D. nepalensis</i> Okada 1955	尼泊尔、印度 Nepal, India
3. <i>D. tanorum</i> Okada 1964b	婆罗洲 Borneo
4. <i>D. paralutea</i> Bock and Wheeler 1972	中国台湾、泰国 Chian Taiwan, Thailand
5. <i>D. prostipennis</i> Lin in Bock and Wheeler 1972	华东 East-China
6. <i>D. trilutea</i> Bock and Wheeler 1972	华东 East-China
7. <i>D. lutescens</i> Okada 1975	华东、日本 East-China, Japan
8. <i>D. retnasabapathyi</i> Takada and Momma 1975	马来西亚 Malaysia
9. <i>D. giriensis</i> Prakash and Reddy 1977	印度 India
10. <i>D. kurseongensis</i> Gupta and Singh 1977	印度、中国西南 India, S. W. of China
11. <i>D. jagri</i> Prakash and Reddy 1979b	印度 India
12. <i>D. liui</i> sp. n. Chen 1988	中国 China

注: *D. pseudotakahashii* Mather 1957 仅分布于澳大利亚, 所以不包括在内, 而增加了东洋区有分布的 *D. kurseongensis*。

Note: *D. pseudotakahashii* Mather 1957 distributes in Australia only, therefore it is not included. *D. kurseongensis* is added in the list because it distributes in Oriental region.

*nsis* 和 *D. tanorum* 这 2 个种, 均具主、次抱器, 归为一类; 其余 10 个种, 仅具主抱器, 为另一类。后者在 0.297 数值上, 又可分为三类: 1. *D. liui* sp. n., *D. nepalensis*; 2. *D. takahashii*, *D. retnasabapathyi*; 3. *D. giriensis*, *D. paralutea*, *D. prostipennis*, *D. lutescens*, *D. jagri* 和 *D. trilutea*。可见, *D. liui* sp. n 同 *D. nepalensis* 亲缘关系最近, 而同 *D. prostipennis* 和 *D. trilutea* 则较远。

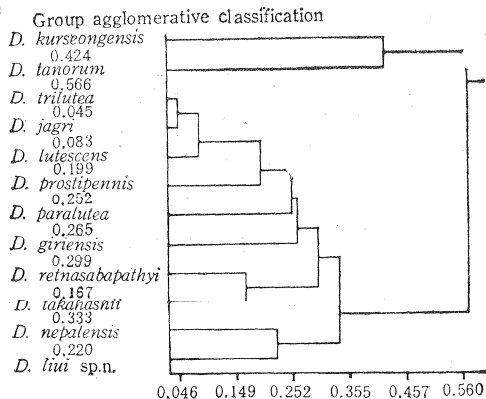


图 5 用数值分类法得出的 *D. takahashii* 亚种组 12 个种的树状图  
 Fig 5 A dendrogram of the 12 species of the *D. takahashii* subgroup obtained with the method of numerical taxonomy

(四) 杂交试验 本亚种组各成员之间, 因外生殖器构造上有很细微, 但区别明显的特征, 种间的生殖隔离是完善的。 *D. takahashii*、 *D. nepalensis* 和 *D. liui* sp. n. 的杂交试验表明, 同种的不同地区种群之间能够杂交, 并产生能育的后代。而异种之间不能杂交, 也无后代产生。

表 8 数值分类的原始数据  
Table 8 Original data matrix used in numerical taxonomy

种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
特征 Character												
A	1	3	0	2	3	2	2	1	2	4	2	2
B	1	2	0	1	2	2	2	1	1	2	2	2
C	2	2	1	2	0	1	2	2	2	1	2	2
D	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
E	0	2	0	0	1	1	1	1	1	2	1	1
F	0	2	0	0	1	1	1	1	1	2	1	3
G	2	0	3	1	0	2	2	1	1	3	2	2
H	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
I	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0
J	0	3	0	3	1	2	1	2	0	0	2	3
K	0	2	0	1	1	0	1	0	1	3	0	0

A. 体长; length of body. B. 翅长; length of wing. C. 眼缘刚毛比; ratio of orbital bristles. D. 背中毛列数; rows of acrostichal bristles. E. 翅色; wing color. F. 翅色位置; position of wing color. G. 性梳齿数; teeth in sex-combs. H. 生殖弓末端形状; toe of genital arch. I. 有无次抱器; presence or absence of secondary clasper. J. 后叶基分叉形状; basal branch of posterior paramere. K. 阳茎末端形状; tip of aedeagus.

(五) 同工酶及幼虫蛋白电泳 生物的化学组成可随种类而异,因此可用作分类的一项重要指标。由于只有在遗传上近似的样本,才有类似的电泳图,所以电泳法对亲近种和疑难种的研究,具有实际意义<sup>[2]</sup>。然而,不同物种之间的差异,不一定体现在所有的蛋白质或酶上。因此在测试酶的种类方面,选用的范围宜广一些。

本文测试的 17 个同工酶及幼虫蛋白中,有 10 个酶 (Est、Amy、Acph、Aph、xdlh、Adlh、odlh、Got、Gpt、Pcp) 不直接参与糖代谢;有 7 个酶 (Mdh、mc、Fum、G6pd、Hk、Pgm、 $\alpha$ -Gpdh) 直接参与糖代谢。显然,非糖代谢酶,在种内及种间表现出较大的变异,而糖代谢酶则相反。可见,直接与生理机能有关的酶,往往具有较大的稳定性。

兹将 8 个测试组 tak1、tak2、tak3、lut、taA、taB、nep 和 ana 同工酶和幼虫蛋白电泳测试结果,进行两两间的分析比较。它们之间的亲缘关系用相似度 ( $S_{SM}$ ) 来表示。所用公式:

$$S_{SM} = \frac{a + d^{[2]}}{N},$$

式中  $S_{SM}$  为简单联合系数,用于表示测试组间的相似度; N 指 17 种酶及幼虫蛋白在 8 个组中所出现的各种带型的总和; a 指组间共同具有的酶带数; d 指组间两者均无的酶带数。为计算方便起见,假定多态座位上的各个等位基因以等频率分布,结果列于表 9。

综合 17 个酶,其中绝大多数酶带在 8 个不同的测试组中,均表现为单态,说明绝大多数酶带是常见等位基因型的产物。因此,可以把它们看作各组的特征性酶带,用于种间和地区种群之间遗传变异的比较。同时各测试组之间在电泳图象上的差异,只能以某一特定迁移率酶带的是否存在来表示。这一特点,也可以看作二元特性,并以上述公式计算二元特性相似性系数,根据 8 个组之间的相似度值,并据此建立了树状图(图 6)。

表 9 8 个果蝇测试组间的相似值  
Table 9 The similarity values between 8 groups

	tak2	tak3	lut	taA	taB	nep	ana
tak1	0.94	0.96	0.71	0.77	0.65	0.70	0.47
tak2		0.93	0.73	0.67	0.65	0.71	0.48
tak3			0.71	0.64	0.63	0.69	0.47
lut				0.73	0.74	0.72	0.43
taA					0.92	0.80	0.43
taB						0.80	0.42
nep							0.47

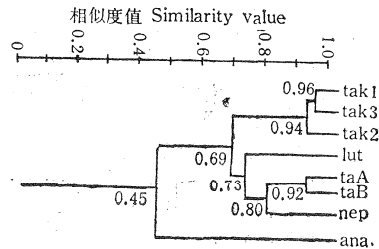


图 6 从 8 个果蝇测试组相似度值得出的树状图  
Fig. 6 The dendrogram of 8 groups made from the similarity values among them

从图 6 可以看出，如以 tak1、tak2 和 tak3 之间的相似度值 0.94 作为种内相似度的代表值，那么 taA、taB 之间的相似度值 0.92，即属于种内相似度值。taA、taB 同其它几个种的相似度，明显低于种内相似度值，应属于种间相似度值范围。taA、taB 同 nep 相似度最近，其次是 lut，而与 tak 最远。而不同亚种组种间相似度值，较相同亚种组间相似度值更小。由此可见，相似度树状图的结果同数值分类的结果是符合的。

综上所述，通过从形态水平到分子水平不同层次的综合研究，可以得出结论：*D. liui* sp. n 无疑是一个新种，是 *takahashii* 亚种组中的一个新成员。这不仅从形态上得到确认，也获得数值分类和杂交、核型、生化等方面试验所得结果的支持。从而实现了由疑难种向确定种的转变。

### 参 考 文 献

- [1] 陈华中. 1988. 昆虫分类学报, 10(3-4): 193-195.
- [2] 徐克学, 李德中: 1983. 生物科学参考资料, 科学出版社, 第 17-19 页.
- [3] Ayala, F. J. et al.: 1972. *Genetics*, 70: 113.
- [4] Bock, I. R.: 1980. *Syst. Entom.*, 5: 341.
- [5] Bock, I. R. and M. R. Wheeler. 1972. *Univ. Tex. Publ.*, 7213: 17-20.
- [6] Copyright: 1982. LKB Produkter AB, Bromma Swed'n. Laboratory manual LKB 2001 Vertical Electrophoresis. 3-55.
- [7] Gupta J. P. and B. K. Singh: 1977. in *Entom. monthl. mag.*, pp. 74-76.
- [8] Harris H.: 1976. *Handbook of Enzyme Electrophoresis in Human Genetics*, North-Holl and Publishing

Co. New York.

- [9] Jiang, C. S. et al.: 1988. *Heredity*, 60: 101—107.  
[10] Okada, T. 1964b. in: Thai-Japanese Bio. Expedition (1961—1962). pp. 452—455.  
[11] Prakash, H. S. and G. S. Reddy: 1977. *Orient. Ins.*, 11(4): 597—604.  
[12] Prakash, G. S. Reddy: 1970. *Entomon*, 4(1): 73—76.  
[13] Richmond, R. C.: 1972. *Genetics*, 70: 87.  
[14] Takada, H. and E. Momma: 1975. *Drosophila in S. E. Asia and Oceania II*: 36—38.

## Studies on the Systematic Status of A New Species of *Drosophila* (*sophophora*) —From Morphological to Molecular Level

Chen Huazhong Yan Chen Liu Zudong

(Institute of Genetics, Fudan University, Shanghai)

### ABSTRACT

Bock and Wheeler (1972) reviewed the *Drosophila melanogaster* species group in which more than 70 species were classified into a number of subgroups. One of them is the *takahashii* species subgroup which is a large subgroup with 12 species. We collected many specimens of *drosophilid* fly in Mt. Huaping, Guangxi Province and Mt. Siming, Zhejiang Province in 1983, among which taxon A and taxon B were thought to be a new species, belonging to the *takahashii* subgroup and named as *D. liui* sp. n.

However, after Prof. T. Okada examined this new species, he thought it is the same as the known species *D. nepalensis* Okada, 1955 from Nepal and later Dr. J. Toda examined the same species and thought it was the known species *D. prostipennis* Lin, in Bock and Wheeler 1972 from Taiwan and/or *D. triluea* Bock and Wheeler 1972 from Borneo, so that *D. liui* sp. n. is considered as the species incertae sedis.

In the present paper, we studied 6 species of this subgroup: *D. takahashii*, *D. lutescens*, *D. liui* sp. n., *D. nepalensis*, *D. prostipennis* and *D. triluea*. Our studies from morphological to molecular level provided the evidences which can support the description of a new species, hence we draw the conclusion that *D. liui* sp. n. is a new member of the *takahashii* subgroup.

**Key words:** *Drosophila*, Decasternum, Posterior paramere, Karyotype, Isozyme