

寡毛實蠅亞科 (Diptera: Tephritidae: Dacinae) 果實蠅之親緣關係

張弘毅^{1*} 曾經洲² 蔡偉皇³ 高穗生² 曾義雄⁴

1. 台北市 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局
2. 台中縣霧峰鄉 行政院農業委員會農業藥物毒物試驗所
3. 台北市 國立台灣大學昆蟲學研究所
4. 高雄市 經濟部標準檢驗局高雄分局

(接受日期：中華民國 91 年 12 月 18 日)

摘 要

張弘毅*、曾經洲、蔡偉皇、高穗生、曾義雄 2003 寡毛實蠅亞科 (Diptera: Tephritidae: Dacinae) 果實蠅之親緣關係 植保會刊 45 : 1-15

利用自台北市、台北縣新店市，以及南投縣魚池鄉、仁愛鄉採得之果實蠅標本，施以形態鑑定，並進行 16S rDNA 定序分析。綜合檢討形態分類與分子特徵之親緣關係，比對分析背寡毛實蠅屬 (*Bactrocera*) 背寡毛實蠅亞屬的東方果實蠅 (*B. (B.) dorsalis*)、銹色實蠅 (*B. (B.) ferruginea*) 和如寡毛實蠅亞屬 (*Zeugodacus*) 的細帶實蠅 (*B. (Z.) cilifera*)、瓜實蠅 (*B. (Z.) cucurbitae*)、黑條實蠅 (*B. (Z.) diaphora*)、黑盾板實蠅 (*B. (Z.) scutellata*)、耳翅實蠅 (*B. (Z.) synnephes*)、南瓜實蠅 (*B. (Z.) tau*)，寡毛實蠅屬 (*Dacus*) 長角實蠅亞屬 (*Callantra*) 的台灣長角實蠅 (*D. (C.) formosanus*) 等 9 種寡毛實蠅亞科 (Dacinae) 實蠅，及其他 10 種屬於其他果實蠅亞科之外群代表實蠅之 16S rDNA 資料之種間遺傳相似度，並推論寡毛實蠅亞科內及與其他亞科果實蠅的親緣關係，顯示所採用的分子分類結果與形態分類系統之結果大致吻合。並藉此論證 1) 以往將銹色實蠅及東方果實蠅認定為同種異名應值得商榷。2) 革實蠅屬 (*Coelotrypes*) 有別於優阜實蠅屬 (*Euphranta*)，可列為獨立的屬。3) 腹帶實蠅族 (*Gastrozonini*) 與寡毛實蠅亞科間之姊妹群關係仍有釐清。4) 紋翅實蠅亞科 (*Trypetinae*) 之紋翅實蠅族 (*Trypetini*) 及少毛實蠅族 (*Adramini*) 應各為一個單源群。

(關鍵詞：果實蠅科、寡毛實蠅亞科、16S rDNA、親緣關係)

* 通訊作者。E-mail: hychang@mail.baphiq.gov.tw

緒 言

果實蠅科 (Tephritidae)，通稱為果實蠅 (Fruit fly)，在農業上為雙翅目中經濟性最重要的科之一，其中又以危害果、瓜類之種類，其幼蟲寄生在果實內，致使果實腐爛、落果甚至無法收成，對果樹的生產造成嚴重威脅。同時，由於其幼蟲潛藏在果實內被食，在進口關卡檢疫上不易從果實的外觀上檢查出來。因此，鑒於其經濟危害的嚴重性，國際間凡是非疫區國家幾乎都將果實蠅列為重要的檢疫害蟲，如地中海果實蠅 (*Ceratitis capitata*)、東方果實蠅 (*Bactrocera dorsalis*)、瓜實蠅 (*Bactrocera cucurbitae*)、昆士蘭果實蠅 (*Bactrocera tryoni*)、墨西哥果實蠅 (*Anastrepha ludens*) 及蘋果果實蠅 (*Rhagoletis pomonella*) 等。而其中，有相當多的種類係屬寡毛實蠅亞科的背寡毛實蠅屬 (*Bactrocera*)，也有少數屬於該科寡毛實蠅屬 (*Dacus*) 的種類。目前全世界已發表的寡毛實蠅亞科種類多達 7 百多種，其中背寡毛實蠅屬近 5 百種；寡毛實蠅屬 2 百多種。台灣已發表的背寡毛實蠅屬種類有 31 種；寡毛實蠅屬 3 種^(27, 35)。背寡毛實蠅屬為果實蠅科各屬中種類數最多的一屬，在地理分布上主要分布在東方區及澳洲區，其形態棲所分化大且多樣性高，主要寄生在植物的果實上。

為瞭解果實蠅科種類間的親緣關係需仰賴其形態、生物特性、地理分布等多方面資料分析，在此方面已有相當之研究^(9, 10, 11, 12, 22, 26, 36)，但大多數都是以形態的特徵為主要的分析依據。鑒於新近的分子技術的利用日漸廣泛^(7, 14, 18, 20)，其中粒線體 16S rDNA 部分核酸序列分析，常被用來比對親緣關係，由於粒線體 DNA 是母系遺傳，不行基因重組，其中又以 rDNA 區段最具高保守性，因此適合作種間親緣關係鑑別^(4, 16)。本文嘗試利用台灣的果實蠅種

類為材料，以分子分類資料為軸，探討寡毛實蠅亞科種間的親緣關係，並推論其與果實蠅科其他亞科種類間的親緣關係。

材料與方法

果實蠅標本之蒐集

在臺灣北部台北市、台北縣新店市，以及南投縣魚池鄉、日月潭等低海拔丘陵地區及中海拔之仁愛鄉霧社等地，利用甲基丁香油 (methyl eugol)、克蠅 (cuelure) 誘殺板，以及黃、白、藍、綠色四種黏紙佈置在竹林、雜木林、針葉林等地方，進行果實蠅標本之定期採集。所捕獲之果實蠅成蟲除作成針插乾燥標本，依據形態特徵加以鑑定分類外，並將部分的果實蠅成蟲，以 95% 酒精或乾燥保存之，備為 16S rDNA 之定序分析用。

標本鑑定

果實蠅針插標本之形態分類鑑定，主要係依據已發表的相關檢索表、分類形態描述^(2, 3, 17, 21, 31, 32, 34, 35, 36)，和分類系統、名錄^(1, 27)之分類地位。

序列分析

採獲之果實蠅科單隻果實蠅酒精或乾燥保存之成蟲樣本，以液氮急速冷凍研磨、萃取純化 DNA。以 LR-J-12883 及 LR-N-13770 引子，增幅粒線體 16S rDNA 約 900 核 酸片段，並以膠體電泳分離，經由管柱回收純化產物，再以 LR-J-12883、LR-J-13323、LR-N-13398、LR-N-13770 核 酸引子進行單股重疊、互補之核酸序列的 PCR 增幅反應及泳動解讀分析^(7, 13, 14, 19, 26, 30)。原始序列數據以模擬電泳照片及 Chromas 軟體核對判讀結果，以核酸序列分析軟體 (DNASIS[®] for Windows (Hitachi)) 進行互合、反向及片段連接分析，作成樣品 16S rDNA 核酸序列資料庫。完成確認之

序列再與資料庫中預先完成之核酸序列, 以
 其裝軟體 (Vector NTI Suite (v.6.0)
 (InforMax, Inc.)、DNASIS[®] (Hitachi)) 及
 MEGA2 進行核酸序列比對分析⁽²⁴⁾, 比對各
 種間之遺傳相似度及分類親緣關係。

結果與討論

表 1. 19 種供試果實蠅之分類地位

Table 1. Classification status of the 19 tested fruit flies

Taxon	Chinese name
Subfamily Dacinae	寡毛實蠅亞科
Tribe Dacini	寡毛實蠅族
<i>Bactrocera (Bactrocera) dorsalis</i> (Hendel)	東方果實蠅
<i>B. (B.) ferruginea</i> (Fabricius)	銹色實蠅
<i>B. (Zeugodacus) cilifera</i> (Hendel)	細帶實蠅
<i>B. (Z.) cucurbitae</i> (Coquillet)	瓜實蠅
<i>B. (Z.) diaphora</i> (Hendel)	黑條實蠅
<i>B. (Z.) scutellata</i> (Hendel)	黑盾板實蠅
<i>B. (Z.) synnephes</i> (Hendel)	玉翅實蠅
<i>B. (Z.) tau</i> (Walker)	南瓜實蠅
<i>Dacus (Callentra) formosanus</i> Tseng & Chu	台灣長角實蠅
Outgroup	外群
Subfamily Ceratitidinae	蠟實蠅亞科
Tribe Gastrozonini	腹帶實蠅族
<i>Acrotaeniostola sexvittata</i> Hendel	六條實蠅
<i>Gastrozona fasciventris</i> (Macquart)	腹帶實蠅
Subfamily Phyalmiinae	菲實蠅亞科
Tribe Acanthonevrini	刺實蠅族
<i>Acanthonevra speciosa</i> (Hendel)	四點刺實蠅
<i>Phorelliosoma hexachaeta</i> Hendel	六毛弗瑞實蠅
Subfamily Tephritinae	翅實蠅亞科
Tribe Tephritini	翅實蠅族
<i>Spathulina acroleuca</i> (Schiner)	端白翅實蠅
Tribe Schistopterini	裂翅實蠅族
<i>Rhabdochaeta formosana</i> (Shiraki)	寶島棒毛實蠅
Subfamily Trypetinae	紋翅實蠅亞科
Tribe Adramini	少毛實蠅族
<i>Euphranta apicalis</i> Hendel	端翅優阜實蠅
<i>Coelotrypes latilimbata</i> Enderlein	闊緣革實蠅
Tribe Trypetini	紋翅實蠅族
<i>Carpophthoracidia matsumotoi</i> Shiraki	松木實蠅
<i>Fusculudia ensifera</i> (Ito)	劍角白盾實蠅

形態分類之主要概況

本試驗所使用之果實蠅經形態鑑定共有
 19 種果實蠅, 包括寡毛實蠅亞科 2 屬 3
 亞屬 9 種; 做為外群比對之果實蠅包括:
 蠟實蠅亞科 (Ceratitidinae)、菲實蠅亞科
 (Phyalmiinae) 和翅實蠅亞科
 (Tephritinae) 各 2 屬 2 種, 以及紋翅實蠅
 亞科 (Trypetinae) 4 屬 4 種, 如表 1。

上述果實蠅之寄主範圍及發生情形方面，背寡毛實蠅亞科背寡毛實蠅屬的背寡毛實蠅亞屬的種類方面：東方果實蠅為亞太地區普遍發生之種類，主要危害果樹之果實，其寄主植物超過 250 種以上的果樹及蔬菜果實，其中 39 科 117 種經過飼育確認⁽⁶⁾。銹色實蠅之分類地位與東方果實蠅相近，甚至仍有很多分類報告將其與東方果實蠅列為同種異名，其寄主植物主要為果樹。背寡毛實蠅屬如寡毛實蠅亞屬的種類方面：細帶實蠅主要危害木薯 (*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.) (葫蘆科(Cucurbitaceae)) 之雄花苞^(6, 31)。瓜實蠅為危害葫蘆科及茄科 (Solanaceae) 植物之花及果實最嚴重的果實蠅之一，寄主多達 125 種以上，其中 12 科 42 種經過飼育確認⁽⁶⁾。受害較嚴重的蔬菜包括：南瓜屬 (*Cucurbita*)、絲瓜屬 (*Luffa*)、葫蘆屬 (*Lagenaria*)、甜瓜屬 (*Cucumis*)、苦瓜屬 (*Momordica*)、冬瓜屬 (*Benincasa*)、西瓜屬 (*Citrullus*)、栝樓屬 (*Trichosanthes*) 及蕃茄 (*Cyphomandra betacea* (Cav.) Sendt.)。黑條果實蠅的寄主植物不明。黑楯板實蠅的寄主植物為中國南瓜 (*Citrullus moschata* (Duchesne ex Lam.)) 之花及西瓜 (*Trichosanthes cucumeroides* Maxim.) 之雄花苞^(21, 32)。耳斑實蠅的主要寄主為絲瓜 (*Luffa cylindrica* (L.) Roem.)、台灣烏 (*Bryonopsis laciniosa* Naud.) 及雙輪瓜 (*Diplocylos palmatus* (L.) C. Jeffrey)。南瓜實蠅的寄主範圍包括葫蘆科瓜類、茄科及少數果樹之果實，其中 9 科 34 種經過飼育確認^(5, 6)。

蠟實蠅亞科的六條實蠅及腹帶實蠅在台灣的竹林地區發生甚為普遍，但前者之寄主植物不明，後者之寄主植物為長枝竹 (*Bambusa dolichoclada* Hayata)、蓬萊竹 (*Bambusa multiplex* (Lour.) Raeuschel)、花眉竹 (*Bambusa tuldoidea* Munro)、毛線竹 (*Bambusa oldhamii* Munro)、刺竹 (*Bambusa stenostachya* Hackel)、麻竹 (*Dendrocalamus*

latiflorus Munro)、桂竹 (*Phyllostachys makinoi* Hayata)、紫竹 (*Phyllostachys nigra* (Lodd.) Munro)、孟宗竹 (*Phyllostachys pubescens* Mazel ex. Il. de Leh) 之筍⁽³¹⁾。菲實蠅亞科之四點刺實蠅及六毛弗瑞實蠅的寄主均不明，前者在竹林較易捕獲，後者屬中街拔地區活動之種類，僅於冬季可在低海拔竹林發現⁽⁸⁾。紋翅實蠅亞科之端翅優阜實蠅係寄主為野菰 (*Aeginetia indica* Roxb.) (列當科(Orobanchaceae)) 之莖部⁽³¹⁾。闊緣革實蠅及刺角白楯實蠅的寄主不明。松木實蠅的寄主不明，但據其產卵管形狀推測應為潛葉寄主之種類。翅實蠅亞科之端白翅實蠅主要危害菊科植物之頭狀花序，屬於潛蝨花苞之種類⁽²⁸⁾。寶島棒毛實蠅的寄主植物為芩那香 (*Blumea* sp.) (菊科(Compositae))⁽³³⁾。

分子分類

總以粉線體 16S rDNA 序列資料比對 19 種果實蠅類緣關係，以 Vector NTI Suite 分析軟體比較，如圖一。以 DNASIS[®]軟體分析，產出核酸序列進化關係分支狀圖，如圖二。以 Kimura-2-parameter 的運算模式⁽²³⁾，再以 Neighbor-join 的群聚方式，求得親緣關係圖，如圖三。再以 maximum parsimony 的簡約原理，啟發式搜尋獲得區域性最佳的分支圖，如圖四。總由上述系統軟體分析結果，均顯示五個亞科果實蠅標本之分子分類之結果與形態分類極為相近。即由分子分類之結果可以清楚集合 (grouping) 依形態分類所區分之寡毛實蠅亞科及蠟實蠅亞科、菲實蠅亞科、紋翅實蠅亞科及少毛實蠅族、紋翅實蠅族、翅實蠅亞科等五亞科及不同之族 (Tribe) 的地位，寡毛實蠅亞科間的 DNA 序列差異範圍介於 0.8% 至 12.4%，其他各亞科及族間所用 2 種果實蠅之序列差異範圍分別介於 4.8% 至 14.9% 間 (表二)，顯示本試驗所用的 DNA 序列所顯示的分子資料與形態資料一般，可有效區別果實蠅之種或就種以上之親緣關係加以鑑別。

表2、十九種果實蠅間之序列差異

Table 2. Nucleotide divergence among 19 species of fruit fly

Taxon ¹⁾	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	
Bs	1																			
Bt	2	0.008																		
Bci	3	0.045	0.041																	
Bsc	4	0.035	0.032	0.039																
Bdi	5	0.044	0.040	0.053	0.029															
Bdo	6	0.054	0.047	0.052	0.054	0.055														
Bc	7	0.027	0.024	0.056	0.045	0.056	0.063													
Bf	8	0.061	0.058	0.062	0.054	0.062	0.052	0.063												
Df	9	0.113	0.108	0.115	0.092	0.104	0.116	0.124	0.117											
Rf	10	0.127	0.119	0.135	0.131	0.123	0.132	0.143	0.143	0.172										
Sa	11	0.144	0.136	0.150	0.146	0.135	0.127	0.155	0.157	0.186	0.109									
Gf	12	0.079	0.078	0.087	0.082	0.083	0.084	0.090	0.092	0.138	0.123	0.132								
As	13	0.082	0.079	0.096	0.085	0.082	0.078	0.092	0.099	0.137	0.130	0.118	0.048							
Ph	14	0.104	0.103	0.114	0.111	0.113	0.101	0.116	0.104	0.160	0.144	0.148	0.120	0.111						
Asp	15	0.133	0.145	0.154	0.126	0.157	0.147	0.156	0.153	0.194	0.189	0.184	0.147	0.129	0.102					
Fe	16	0.129	0.137	0.158	0.134	0.145	0.138	0.150	0.151	0.205	0.187	0.174	0.165	0.153	0.152	0.193				
Cm	17	0.125	0.139	0.146	0.119	0.136	0.139	0.147	0.142	0.192	0.171	0.189	0.137	0.137	0.142	0.185	0.149			
Cl	18	0.110	0.124	0.143	0.095	0.121	0.130	0.142	0.132	0.178	0.151	0.167	0.139	0.119	0.122	0.165	0.188	0.142		
Ea	19	0.113	0.111	0.125	0.113	0.109	0.119	0.128	0.132	0.166	0.161	0.180	0.138	0.133	0.138	0.153	0.203	0.145	0.079	

¹⁾ Bs: *B. synnephes*, Bt: *B. tau*, Bci: *B. cilifera*, Bsc: *B. scutellata*, Bdi: *B. diaphora*, Bdo: *B. dorsalis*, Bc: *B. cucurbitae*, Bf: *B. ferruginea*, Df: *D. formosanus*, Rf: *R. formosana*, Sa: *S. acroleuca*, Gf: *G. fasciventris*, As: *A. sexvittata*, Ph: *P. hexachaeta*, Asp: *A. speciosa*, Fe: *F. ensifera*, Cm: *C. matsumotoi*, Cl: *C. latilimbata*, Ea: *E. apicalis*.

親緣關係

古形態特徵的親緣關係探討方面，由於本試驗所採用的寡毛實蠅之種類數少，且僅包括 2 屬 3 亞屬 9 種，故據此有限之形態資料分析其屬、亞屬或種間之親緣關係是不足的。為利與分子資料做比對，White⁽³⁷⁾利用 37 個形態特徵進行寡毛實蠅族 44 種寡毛實蠅（其中 3 種與本試驗者相同）之親緣關係，指出瓜實蠅與南瓜實蠅的親緣較近，其次為東方果實蠅，再其次為長角實蠅亞屬的種類。古本試驗所獲得之分子資料方面，由圖一、圖三及圖四中均可發現，屬如寡毛亞屬的瓜實蠅、南瓜實蠅及玳瑁實蠅之親緣關係甚近，其中玳瑁實蠅與南瓜實蠅間之 DNA 序列差異僅為 0.8 % (表二)。且在各圖中均顯示，玳瑁實蠅與南瓜實蠅之親緣關係高於其與瓜實蠅間。

其實由於上述 3 種果實蠅的形態特徵之相似度很高，若單獨利用形態特徵實在很難針對其彼此間之親緣關係加以界定，但加上分子特徵的佐證，也更能對南瓜實蠅及玳瑁實蠅間的形態親緣性相近的原因加以解釋。例如，古形態分類上，小楯板基剛毛的有無是將背寡毛實蠅屬區分為背寡毛實蠅亞屬及如寡毛實蠅亞屬的主要特徵，瓜實蠅因無此剛毛所以早期被歸入背寡毛實蠅亞屬，而南瓜實蠅及玳瑁實蠅則均具有此剛毛，即歸入如寡毛實蠅亞屬。但是有例外的是，以前的分類專家^(2, 36)及筆者均發現，其實該特徵有變異，因為瓜實蠅的標本中有少數的標本具有該剛毛，因此也造成分類上的困擾。不過，隨著分類特徵的檢討及進步，目前該 2 亞屬的分類特徵已改用：雄性成蟲生殖器的尾背尖突後緣較短，以及腹部第 5 腹板後緣為深凹之 V 形為背寡毛實蠅亞屬特徵；反之，前者較長，後者僅為淺凹為如寡毛實蠅亞屬特徵。依其分子特徵資料，我們認為依此特徵將瓜實蠅、細帶實蠅及黑條實蠅歸入如寡毛實蠅亞屬的分法比較合理。

由圖一、圖三及圖四中可發現，同屬於如寡毛實蠅亞屬的黑楯板實蠅與黑條實蠅的分子特徵較近似，其 DNA 序列差異僅為 2.9 % (表二)。由圖一至圖四中均顯示，同屬於背寡毛實蠅亞屬的東方果實蠅與常被列為與其同種異名的銹色實蠅的親緣關係相近，其 DNA 序列差異為 5.2 % (表二)，而且由 18S+ITS 的 PCR-RFLP，以限制 *RsaI* 與 *AhaI* 剪切後，此二蟲產生不同的剪切片段圖譜（曾經洲，未發表資料），可見該兩種間有明顯的分子特徵差異存在，因此目前大多數僅靠其形態特徵加以認定為同種異名之判定似應重新加以檢討。Tseng 等⁽³⁵⁾曾將此兩種實蠅依其形態特徵加以區分，並指出銹色實蠅之雄蠅只對克蠅起反應，與東方果實蠅只對甲基丁香油起反應有明顯差異，應係屬不同的種。本研究以該二蟲在分子特徵上的明顯差異，亦再支持其看法。

古細帶實蠅的分子特徵上，圖一、圖三及圖四均顯示其與玳瑁實蠅、南瓜實蠅與瓜實蠅之親緣關係較接近；而其與黑楯板實蠅、黑條實蠅之親緣關係亦頗接近，但其間的拔靴值並不高。更值得一提的是，以形態分類的觀點，學習間對細帶實蠅究應屬於背寡毛實蠅亞屬或如寡毛實蠅亞屬有所爭議^(25, 35)，但由圖一至圖四中均顯示，該種古親緣關係上應與如寡毛實蠅亞屬的種類較近。故亦佐證其應列入如寡毛實蠅亞屬較適當。

台灣長角實蠅的分子特徵由圖三及圖四中均顯示其親緣關係係介於背寡毛實蠅屬各種類與其他亞科果實蠅之間；圖四則顯示其介於背寡毛實蠅亞屬與如寡毛實蠅亞屬間；且圖三則顯示，其與此一亞科其他種類的親緣關係較遠，甚至不如外群的蠟實蠅亞科腹帶實蠅族的六條實蠅和腹帶實蠅，因此形態分類上將其分為另一屬（即寡毛實蠅屬的長角實蠅亞屬）應屬適當，其 DNA 序列差異為 11.7 % (表二)。

古形態分類上，該屬的主要特徵包括腹部各腹背板間互相癒合、觸角第 2、3 節較長、腹部第 1 節特化為胡蜂般的細腰狀等均為形態上較特殊的衍徵。

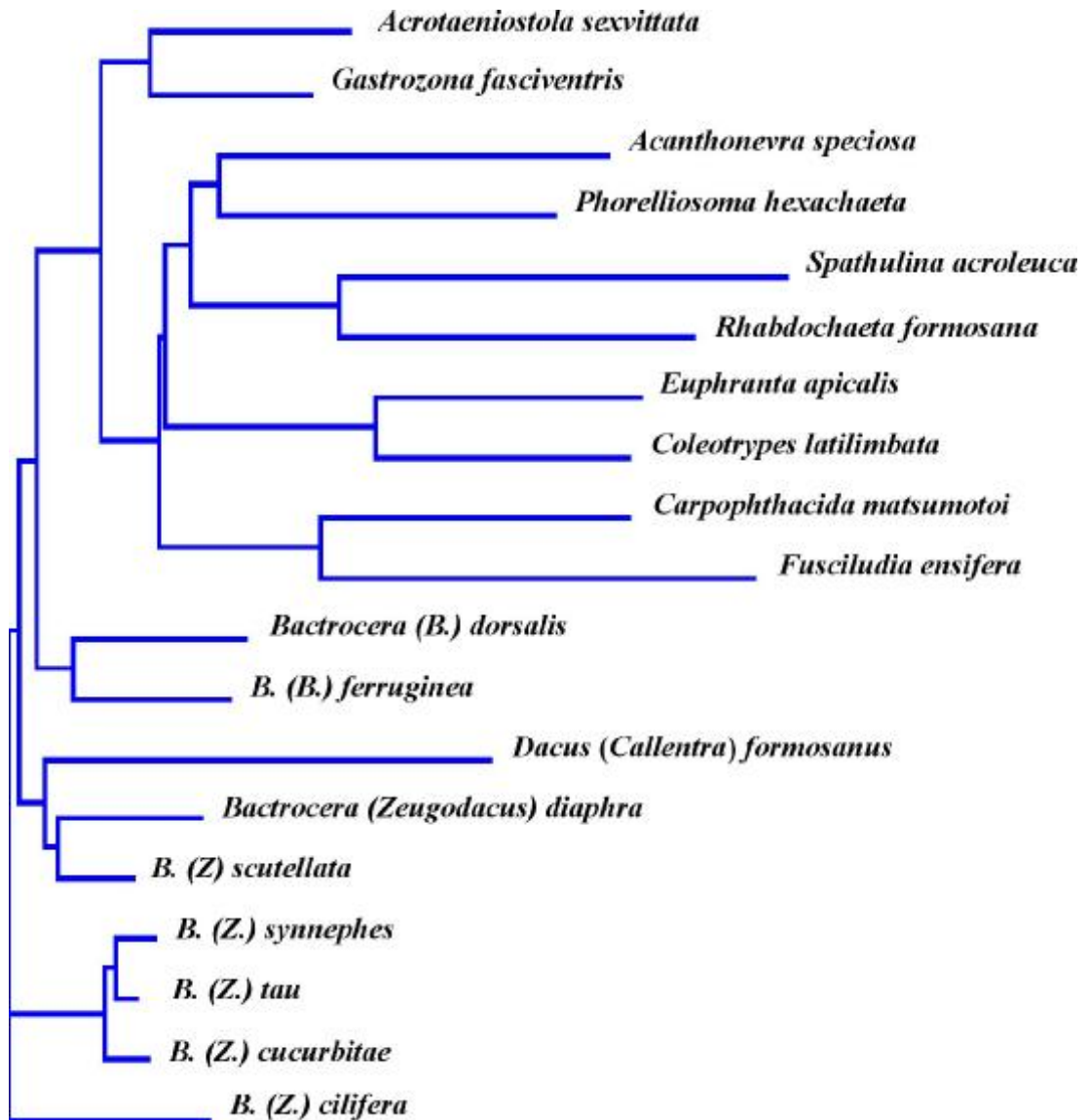


圖 1. 19 種果實蠅粒線體 16S rDNA 序列，以 Vector NTI Suite 軟體分析之親緣關係。運用 Neighbor Joining method (NJ) 方法分析親緣樹⁽²⁴⁾。

Fig. 1. Relationships of 19 fruit flies, analyzed with the software, Vector NTI Suite. The phylogenetic tree in the Vector NTI Suite was built using the Neighbor-joining (NJ) method⁽²⁴⁾. The NJ method works on a matrix of distances between all pairs of sequences to be analyzed. These distances are related to the degree of divergence between the sequences. The phylogenetic tree was calculated after the sequences were aligned.

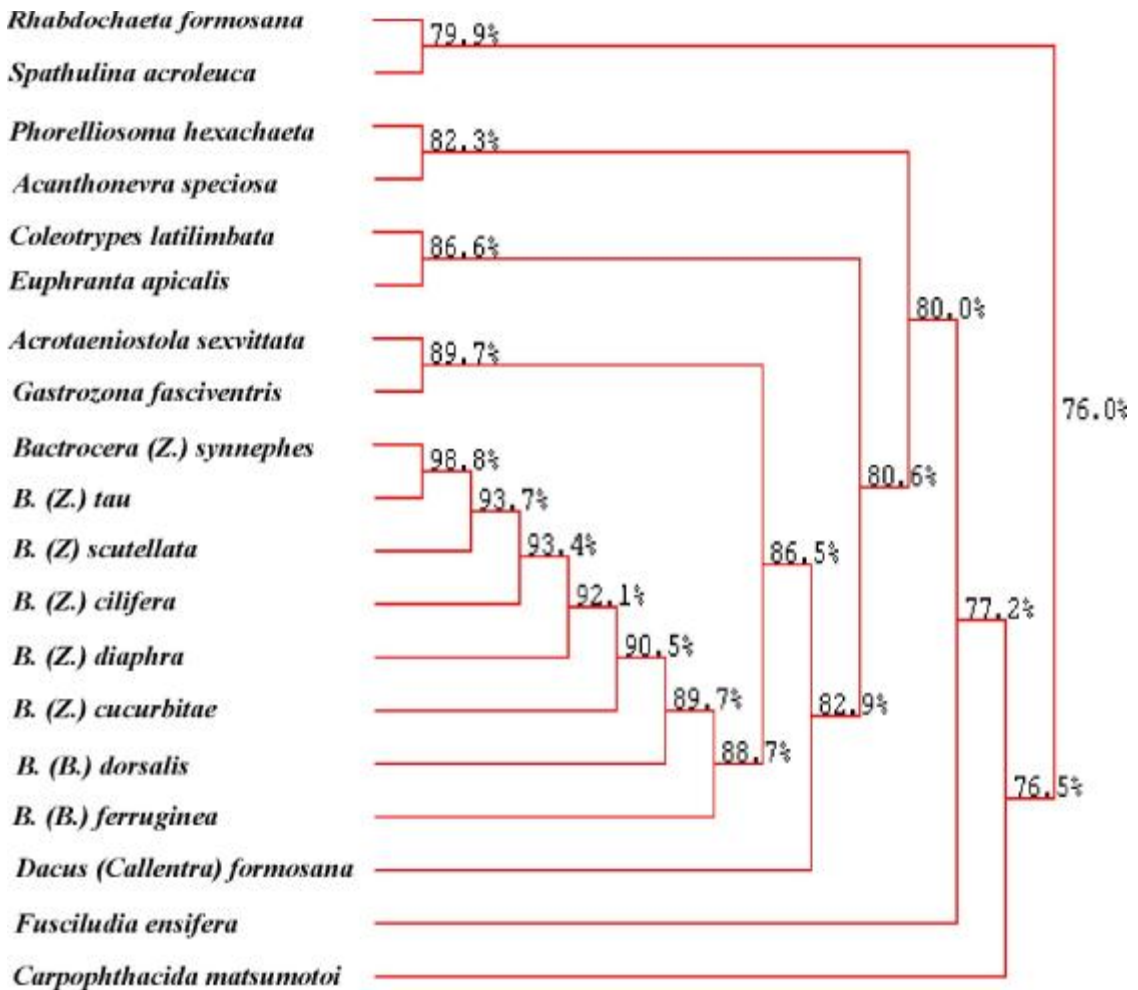


圖 2. 19 種果實蠅粒線體 16S rDNA 序列，以 DNASIS[®] 軟體分析之親緣關係。運用 UPGMA 方法⁽²⁴⁾，進行 Higgins-Sharp 多重比對，其各項參數之設定取其原始值 (Gap penalty: 5, No. of top diagonals: 5, Fixed gap penalty: 10, Floating gap penalty: 10, K-tuple: 4, Window size: 5)。

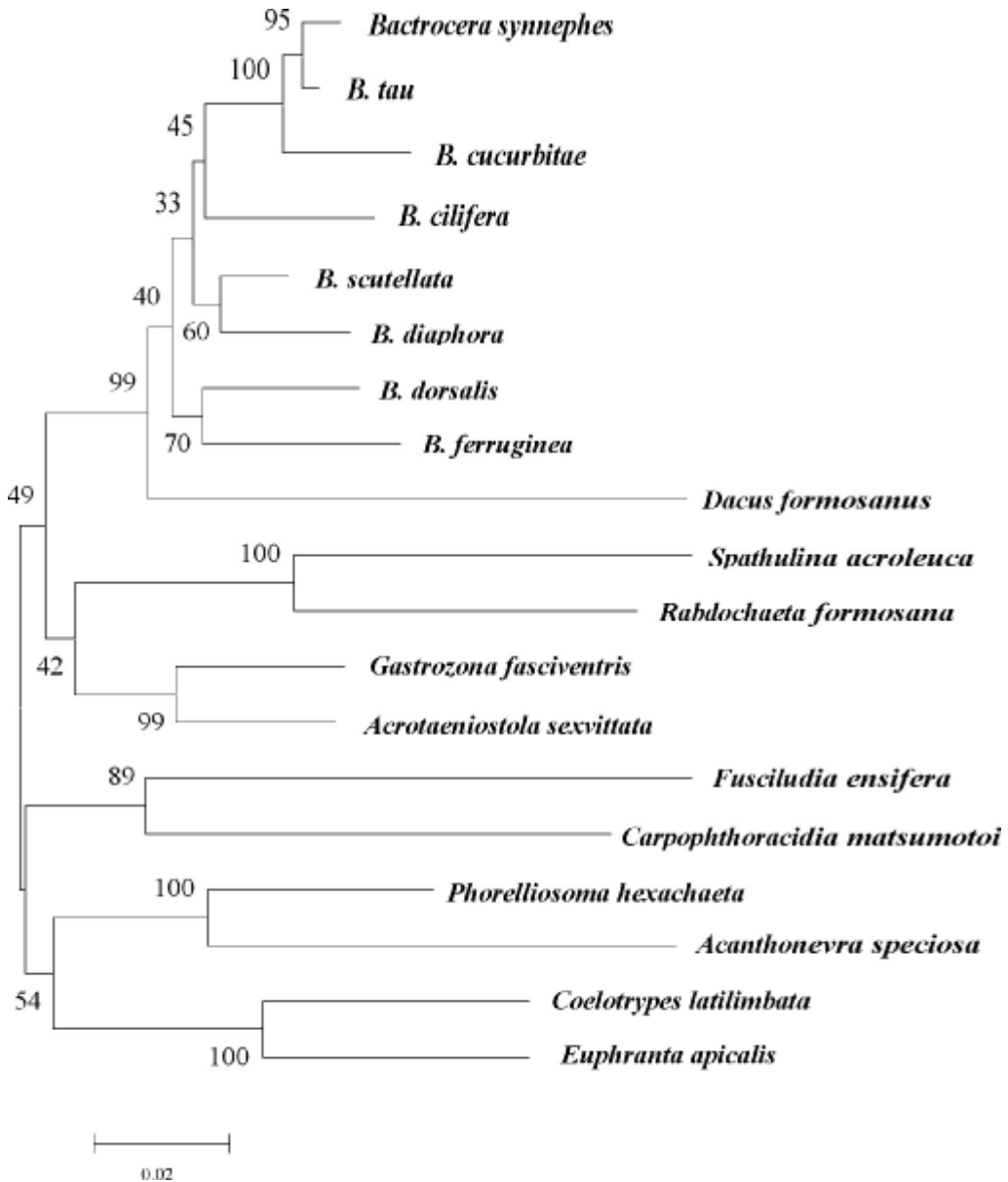
Fig. 2. Relationships of 19 fruit flies, analyzed with the software, DNASIS[®]. The program takes as input a dendrogram produced by applying the UPGMA method to a matrix of similarity scores for all aligned sequences⁽²⁴⁾. The Higgins-Sharp branch-scoring operation used these default parameters (gap penalty: 5, no. of top diagonals: 5, fixed gap penalty: 10, floating gap penalty: 10, K-tuple: 4, window size: 5).

古外群之分析方面，由圖 2 至圖 4 中亦可發現，純翅實蠅亞科的純翅實蠅族之松木實蠅和劍角白楯實蠅，少毛實蠅族的闊緣實蠅和端翅優阜實蠅；菲實蠅亞科刺實蠅族的四點刺實蠅和六毛那瑞實蠅；翅

實蠅亞科翅翅實蠅族的端白翅實蠅和裂翅實翅實蠅族的寶島棒毛實蠅；蠟實蠅亞科的六條實蠅和腹帶實蠅等外群各亞科、各族，均互相接近成群，並且與寡毛實蠅亞科之種類明顯遠離，顯示該些果實蠅類

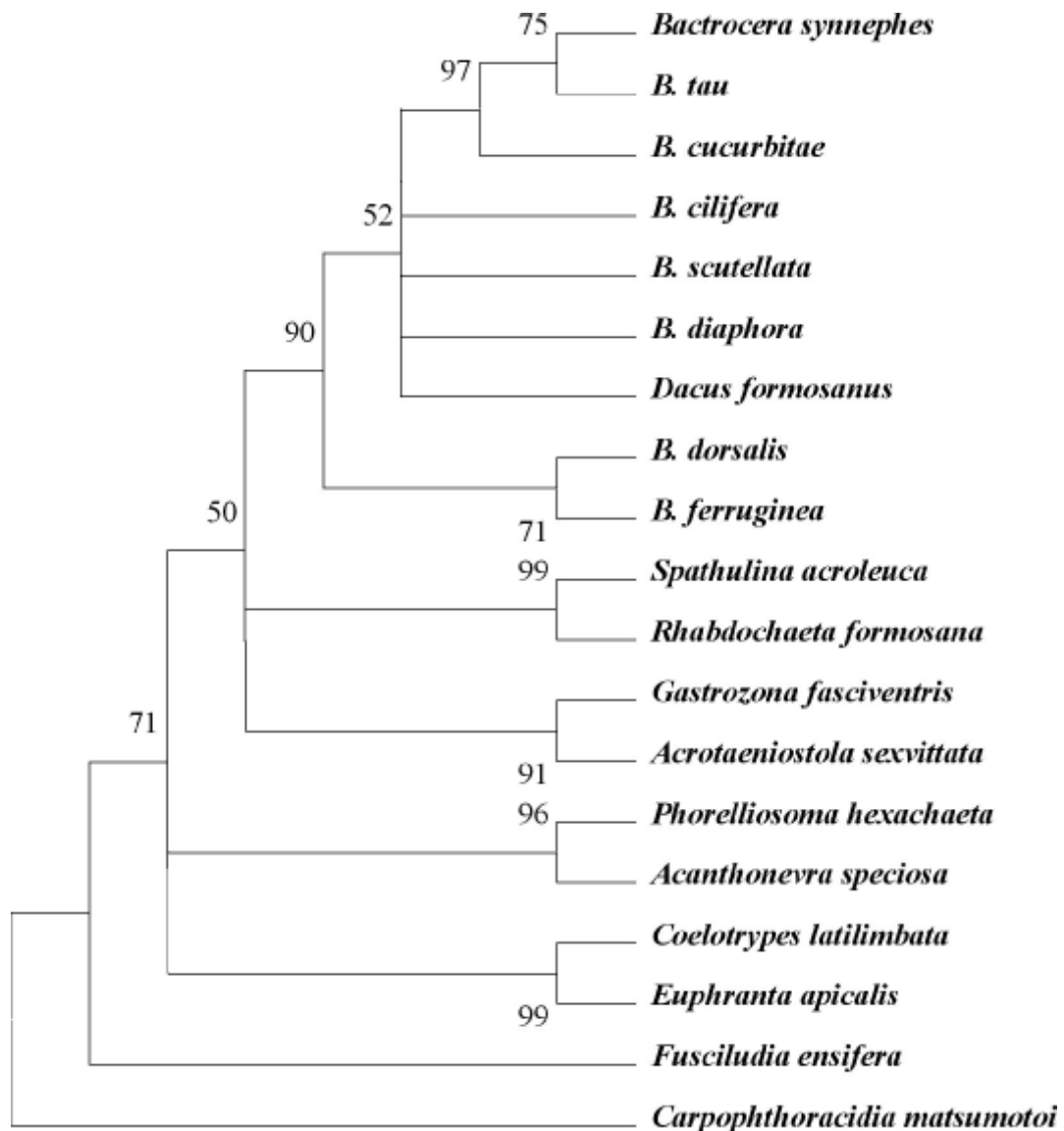
古分子特徵上所顯示的親緣關係與形態分類吻合，此亦可由圖三及圖四中其兩兩間有較高的拔靴值可看出。此外，表二則顯示其兩兩間 DNA 序列差異分別為：松木實

蠅和劍角白盾實蠅 14.9 %；闊緣實蠅和端斑優阜實蠅 7.9 %；四點刺實蠅和六毛那瑞實蠅 10.2 %；端白匙斑實蠅和寶島棒毛實蠅 10.9 %；六條實蠅和腹帶實蠅 4.8 %。



圖三、十九種果實蠅粒線體 16S rDNA 序列，以 Kimura-2-parameter 運算模式⁽²³⁾，再經 Neighbor-joining 群聚方法所推論之親緣關係。

Fig. 3. Phylogenetic analysis from 962 nucleotide sequences of the partial 16S rDNA of 19 species of fruit fly, constructed by Kimura 2-parameter distances⁽²³⁾ under the Neighbor-joining cluster method. One thousand bootstrap replications were used.



圖四、十九種果實蠅粒線體 16S rDNA 序列，以最大儉約之儉約原理及啟發式搜尋所推論之最佳序圖。

Fig. 4. Cladogram from 16S rDNA sequences of 19 species of fruit fly, constructed by maximum parsimony methods based on a heuristic search under the close-neighbor-interchange (CNI) method. One thousand bootstrap replications were used, and only consensus values greater than 50 are shown.

若分析上述各外群與寡毛實蠅亞科間之親緣關係，由圖1及圖2中可發現蠟實蠅亞科腹帶實蠅族的六條實蠅和腹帶實蠅與寡毛實蠅亞科的種類最為接近，甚至可

圖2中看出，腹帶實蠅族的該2種實蠅與背寡毛實蠅屬間之親緣關係還比寡毛實蠅屬的台灣長角實蠅更接近。此種結果亦支持部份分類學者，因其均具有2枚儲精囊

(Spermatheca) 之共同特徵，有別於其他亞科的 3 枚，而將蠟實蠅亞科併入寡毛實蠅族 (Dacini) 之下，即成為腹帶實蠅亞族 (Gastrozonina) 之分法⁽²⁷⁾。其實，隸屬蠟實蠅亞科的 2 個族，包括腹帶實蠅族及地中海果實蠅所屬的蠟實蠅族 (Ceratitisini)，古形態及分子特徵上亦均顯示其與寡毛實蠅類有較近的親緣關係^(15, 16, 36)。惟此情況並不盡然，從圖三及圖四中可發現，六條實蠅和腹帶實蠅間與端白匙翅實蠅和寶島棒毛實蠅 (翅實蠅亞科) 間之親緣關係亦相近，雖然其拔靴值均不高。故若依此分子特徵的分析結果，亦可對將蠟實蠅亞科自成獨立為一亞科之分法加以佐證。因此，為利進一步作為釐清究竟以上兩種分類方式何者較適當，仍需分析更多的 DNA 資料。

古紋翅實蠅亞科紋翅實蠅族的親緣關係方面，Han⁽¹²⁾曾利用 35 個形態特徵進行該族 33 屬紋翅實蠅之親緣關係研究，認為該族可分為 2 個亞族，即紋翅實蠅亞族 (Trypetina) 及長鬚實蠅亞族 (Chetostomatina)。本試驗中所使用之劍角實蠅屬 (*Fusciludia*) 及緣紋實蠅屬 (*Carpophthoracidia*) 均為紋翅實蠅亞族之種類，但上述報告中並未就紋翅實蠅族以上之親緣關係加以探討。由圖三中可發現，該亞科的少毛實蠅族及紋翅實蠅族之分子親緣關係相近，古形態分類上將其歸為同一亞科應屬合理。但是，古圖一、圖二及圖四中則顯示，少毛實蠅族的種類古分子親緣關係上係介於四點刺實蠅和六毛弗瑞實蠅 (菲實蠅亞科) 與紋翅實蠅族的種類間。其實，以形態及器官輪廓特徵之相似性而言，筆者認為少毛實蠅之種類與菲實蠅亞科的種類相近。此點與利用粒線體之核醣體 DNA 所做的果實蠅科之分子支序圖⁽¹⁵⁾的結果是一致的，故筆者認為紋翅實蠅亞科可能來自非同一個單源群。

此外，利用粒線體之核醣體 DNA 所做

的果實蠅科之分子支序圖⁽¹⁵⁾，亦顯示同屬紋翅實蠅族之 *Trypeta* 及 *Euleia* 這 2 個屬的種類與寡毛實蠅亞科之種類之親緣關係較遠，而少毛實蠅族之種類與其較近。另外，值得一提的是革實蠅屬 (*Coelotrypes*) 長久以來因其形態特徵與優昂實蠅屬 (*Euphranta*) 相近，甚多分類學者一直認為兩者應也可以併為同屬⁽²⁹⁾，但以本研究之分子資料顯示，因該 2 種實蠅之 DNA 序列差異為 7.9% (表二)，故將其獨立成為革實蠅屬亦無不當，此方面可待將來再比較該兩屬的更多種類的分子資料，以更釐清。

古所有外群中，若將表二之資料加以換算各亞科所代表種類與寡毛實蠅亞科 8 種實蠅之 DNA 差異，可發現紋翅實蠅亞科紋翅實蠅族的 2 種實蠅為 13.3 %-15.0 %；翅實蠅亞科為 13.3 %-14.5 %；紋翅實蠅亞科少毛實蠅族為 13.3 %-13.6 %；菲實蠅亞科為 12.1 %-15.5 %；腹帶實蠅族為 9.4 %-9.6 %。同時，本試驗結果與 Han and McPherson⁽¹⁵⁾所報導同樣以分析 16S rDNA 所獲得的果實蠅科之親緣關係結果相近，即由分子資料之證據，發現紋翅實蠅亞科之少毛實蠅族與寡毛實蠅亞科較為相近，而其紋翅實蠅族則較遠，該兩族古分類上應各為一個單源群。古外群中，以蠟實蠅亞科之腹帶實蠅族與寡毛實蠅亞科之關係最近。

結 論

古果實蠅的分類上利用形態特徵之分類由於相近種間的差異小，近年來其可鑑別之分類特徵已逐漸朝向極細微結構，增加了鑑定上的困難。透過分子資料的建立，不僅有助於提升鑑定上的速度及準確性，利用分子資料進行果實蠅類親緣關係的研究亦已建立相當的成果。此外經由分子特徵的鑑別，對於論證果實蠅科以某些外部形態特徵作為分類特徵之合理性亦有相當之助益。本文所進行分子資料分析的

果實蠅種類僅是該科種類之極少數，但透過此種特徵之鑑別，對於推定東方果實蠅相近種間之同種異名狀態及確認果實蠅屬的分類地位均能發揮很好的輔助功能。未來透過更多相關資料之建立及與國外相關研究單位之交流，對於探究果實蠅科亞屬或屬以上之親緣關係與釐清其形態分類上的瓶頸預期將會有更好的遠景。

謝 辭

承蒙台灣大學昆蟲系許洞慶、吳文哲教授指導及羅四維及周文允先生協助採集標本；高雄醫學大學葉文斌助理教授指導；農委會農業藥物毒物試驗所郭雪、吳淑盈小姐協助採集標本及余玉琴、郭雪小姐協助分析，謹此一併誌謝。

引用文獻

- 張弘毅。2001。台灣中北部竹林中活動的果實蠅之種類多樣性及其季節變動（雙翅目：果實蠅科）。國立台灣大學植物病蟲害學研究所博士論文。台北。362 頁。
- 曾義雄、林自新。1974。台灣果實蠅科之審定(I)—果實蠅科。經濟部商品檢驗局印。檢驗研究專刊之四。56 頁。
- 曾義雄、張弘毅。1998。寡毛果實蠅亞科之地理分布及古植物檢疫上之重要種類敘述。台灣果實蠅防治技術研討會專刊。70-129 頁。劉玉章、陳昭鈞編輯。國立中興大學昆蟲學系編印。台中。
- 葉文斌、楊仲圖、許祖法。1999。依粒線體 16S 核醣體次級核醣核醣酸序列分析蠅蟬總科類緣關係。昆蟲分類及進化研討會專刊。57-82 頁。楊曼妙編輯。國立中興大學昆蟲學系、台灣省立博物館編印。台中。
- 劉玉章、林明榮。2000。南瓜實蠅 (*Bactrocera tau*) (雙翅目：果實蠅科) 之形態、發育、壽命及其交尾行為。中華昆蟲 20: 311-25。
- Allwood, A. J., Chinajariyawong, A., Drew, R. A. I., Hamacek, E. L., Hancock, D. L., Hengsawad, C., Jipanin, J. C., Jirasurat, M., Kong, C., Krong, C., Kritsaneepaiboon, S., Leong, C. T. S., and Vijaysegaran, S. 1999. Host plant records for fruit flies (Diptera: Tephritidae) in South East Asia. Raffles Bull. Zool. Suppl. 7, 92 pp.
- Armstrong, K. F., Cameron, C. M., and Frampton, E. R. 1997. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) species identification: a rapid molecular diagnostic technique for quarantine application. Bull. Entomol. Res. 87: 111-118.
- Chang, H. Y., Hsu, T. C., and Wu, W. J. 2001. Species diversity and seasonal fluctuation of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in bamboo stands in Taipei. Formosan Entomol. 21: 47-64.
- Drew, R. A. J., and Hancock, D. L. 1994. The *Bactrocera dorsalis* complex of fruit flies (Diptera: Tephritidae) in Asia. Bull. Entomol. Res. Suppl. 2, 68 pp.
- Drew, R. A. J., and Hancock, D. L. 1999. Phylogeny of the tribe Dacini (Dacinae) based on morphological, distributional, and biological data. pp. 491-533. In: Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior. CRC Press LLC. 944 pp.
- Fletcher, B. S. 1987. The biology of dacine fruit flies. Annu. Rev. Entomol. 32: 115-144.
- Han, H. Y. 1992. Classification of the tribe Trypetini (Diptera: Tephritidae):

- Trypetinae). Ph.D. thesis, The Pennsylvania State University, 274 pp.
13. Han, H. Y. 2000. Molecular phylogenetic study of the tribe Trypetini (Diptera: Tephritidae), using mitochondrial 16S ribosomal DNA sequences. *Biochem. Syst. Ecol.* 28: 501-513.
 14. Han, H. Y., and McPheron, B. A. 1994. Phylogenetic study of selected tephritid flies (Insecta: Diptera: Tephritidae) using partial segments of the nuclear 18S ribosomal DNA. *Biochem. Syst. Ecol.* 22: 447-457.
 15. Han, H. Y., and McPheron, B. A. 1997. Molecular phylogenetic study of Tephritidae (Insecta: Diptera) using partial sequences of the mitochondrial 16S ribosomal DNA. *Mol. Phylogenet. Evol.* 7: 17-32.
 16. Han, H. Y., and McPheron, B. A. 2000. Nucleotide sequence data as a tool to test phylogenetic relationships among higher groups of Tephritidae: a case study using mitochondria ribosomal DNA. pp. 115-131. *In: Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior.* M. Aluja and A. L. Norrbom, eds. CCRC Press. Boca Raton, Florida.
 17. Hardy, D. E. 1973. The fruit flies (Tephritidae-Diptera) of Thailand and bordering countries. *Pacific Insects Monograph* 31: 1-353.
 18. Haymer, D. S. 1995. Genetic analysis of laboratory and wild strains of the melon fly (Diptera: Tephritidae) using random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 88: 705-710.
 19. Haymer, D. S., McInnis, D. O., and Arcangeli, L. 1992. Genetic variation between strains of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* detected by DNA fingerprinting. *Genome* 35: 528-533.
 20. Haymer, D. S., Tanaka, T., and Teramae, C. 1994. DNA probes can be used to discriminate between Tephritid species at all stages of the life cycle (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 87: 741-746.
 21. Ito, S. 1983-85. *Die Japanischen Bohrfliegen.* Maruzen Co., Ltd., Osaka. 352 pp.
 22. Iwaizumi, R., Kaneda, M., and Iwahashi, O. 1997. Correlation of length of terminalia of males and females among nine species of *Bactrocera* (Diptera: Tephritidae) and difference among sympatric species of *B. dorsalis* complex. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 90: 664-666.
 23. Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evo.* 16: 111-120.
 24. Kumar S., Tamura K., Jakobsen I. B., and Nei, M. 2001. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics* 17: 1244-1245.
 25. Liang, G. Q., Hancock, D. L., Xu, W., and Liang, F. 1993. Notes on the Dacinae of Southern China (Diptera: Tephritidae). *J. Aust. Entomol. Soc.* 32: 137-140.
 26. McPheron, B. A., and Han, H. Y. 1997. Phylogenetic analysis of North American *Rhagoletis* (Diptera: Tephritidae) and related genera using mitochondria DNA sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.* 7: 1-16.

27. Norrbom, A. L., Carroll, L. E., and Friedberg, A. 1998. Status of knowledge. pp. 9-48. *In*: F. C. Thompson ed. Fruit Fly Expert Identification System and Systematic Information Database. Myia 9. Leiden, Netherlands. 534 pp.
28. Palacio, I. P., Adorada, J. L., and Mora, J. G. 1992. Tephritids infesting *Eclipta alba* (L.) Hassk. The Phillipine Entmol. 8: 1189-1192.
29. Permkam, S., and Hancock, D. L. 1995. Australian Trypetinae (Diptera: Tephritidae). Invertebr. Taxon. 9: 1047-1209.
30. Sheppard, W. S., Steck, G. J., and McPheron, B. A. 1992. Geographic populations of the medfly may be differentiated by mitochondrial DNA variation. Experientia 48: 1010-1013.
31. Shiraki, T. 1933. A systematic study of Trypetidae in the Japanese Empire. Mem. Fac. Sci. Agric. Taihoku Imp. Univ. 8. 509 pp.
32. Shiraki, T. 1968. Fruit flies of Ryukyu Islands. U.S. Natl. Mus. Bull. 263: 1-104.
33. Sueyoshi, M. 1999. Immature stages of three Oriental species of the genus *Rhabdochaeta* de Meijere (Diptera: Tephritidae), with brief biological notes. Entomol. Sci. 2: 217-230.
34. Tseng, Y. H., and Chu, Y. I. 1983. A new fruit fly *Callentra formosana* from Taiwan (Tephritidae, Diptera). Chinese J. Entomol. 3: 119-122.
35. Tseng, Y. H., Chen, C. C., and Chu, Y. I. 1992. The fruit flies, genus *Dacus* Fabricius of Taiwan (Diptera: Tephritidae). J. Taiwan Mus. 45: 15-91.
36. Wang, X. J. 1996. The fruit flies (Diptera: Tephritidae) of the East Asian region. Acta Zootaxon. Sinica 21, Supplement. 338 pp.
37. White, I. M. 1999. Morphological features of the tribe Dacini (Dacinae): their significance to behavior and classification. pp. 505-533. *In*: F. C. Thompson ed. Fruit Fly Expert Identification System and Systematic Information Database. Myia 9. Leiden, Netherlands. 534 pp.

ABSTRACT

Chang, H. Y.^{1*}, Tzeng, C. C.², Tsai, W. H.³, Kao, S. S.², and Tseng, Y. H.⁴ 2003.
Phylogenetic study of the Dacinae (Diptera: Tephritidae) using partial sequences of mitochondrial 16S ribosomal DNA. Plant Prot. Bull. 45: 1- 15. (¹Bureau of Animal and Plant Health Inspection and Quarantine, Council of Agriculture, Taipei, Taiwan 100, ROC; ²Department of Bio-pesticide, Taiwan Agricultural Chemicals and Toxic Substances Research Institute, COA, Wufeng, Taichung, Taiwan 413, ROC; ³Department of Entomology, National Taiwan University, Taipei, Taiwan 106, ROC; ⁴Kaohsiung Branch, Bureau of Standards, Metrology and Inspection, MOEA, Kaohsiung, Taiwan 802, ROC)

Nineteen species of fruit flies trapped from northern and central Taiwan were examined, including 9 species of the tribe Dacini, *Bactrocera dorsalis*, *B. ferruginea*, *B. cilifera*, *B. cucurbitae*, *B. diaphora*, *B. scutellata*, *B. synnephes*, *B. tau*, and *Dacus formosonus*, and 10 outgroup taxa from the other 4 subfamilies of the Tephritidae, *Acrotaeniostola sexvittata*, *Gastrozona fasciventris*, *Acanthonevra speciosa*, *Phorelliosoma hexachaeta*, *Euphranta apicalis*, *Coelotrypes latilimbata*, *Carpophthoracidia matsumotoi*, *Fusciludia ensifera*, *Spathulina acroleuca*, and *Rhabdochaeta formosana*. Sequence data from about 900 bp within the mitochondrial 16S ribosomal DNA were amplified by polymerase chain reaction and sequenced using the dideoxy chain determination method. Based on sequence comparisons, phylogenetic relationships among the included taxa were inferred using Neighbor-joining and maximum parsimony methods. Trees were congruent with the morphological classification and suggested the following phylogenetic relationships: (1) monophyly of the tribe Dacini including *Bactrocera* and *Dacus*; (2) a sister group relationship between the tribes Gastrozonini and Dacini; (3) respective monophyly of the tribe Adramini, tribe Trypetini, and tribe Acanthonevrini, and a possible relationship between them and the tribe Dacini remain to be clarified; and (4) the non-monophyletic nature of the Trypetinae between the tribes Adramini and Trypetini. From 16S ribosomal DNA data, we also propose that (1) *B. ferruginea* is a definite species, and its previous combination as a synonym of *B. dorsalis* should be revised; and (2) *Coelotrypes* can be maintained as a separate genus distinct from *Euphranta*.

(Key words: Tephritidae, Dacinae, 16S rDNA, phylogeny)

*Corresponding author. E-mail: hychang@mail.baphiq.gov.tw