

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.01057

基于线粒体和核基因序列的蜜蜂属系统发育分析

曹联飞¹, 牛德芳¹, 和绍禹², 匡海鸥², 胡福良¹

1. 浙江大学动物科学学院, 杭州 310058;
2. 云南农业大学东方蜜蜂研究所, 昆明 650201

摘要: 文章测定了中国分布的蜜蜂属(*Apis*)5种蜜蜂22个样本的线粒体基因 *ND2*、*CO2*、*16S rRNA* 以及核基因 *ITPR* 的序列, 对序列的碱基组成和蜜蜂种间的遗传距离进行了分析。结合下载的蜜蜂属其他4个种的相关序列, 采用最大简约法、邻接法和最大似然法重建了蜜蜂属系统发育关系。系统发育分析结果支持蜜蜂属划分为3个类群, 即小蜜蜂类群(包括小蜜蜂和黑小蜜蜂)、大蜜蜂类群(包括大蜜蜂和黑大蜜蜂)和穴居蜜蜂类群(西方蜜蜂、东方蜜蜂、沙巴蜂、苏拉威西蜂、绿努蜂), 且小蜜蜂类群较早分化。结果还显示, 我国海南岛的大蜜蜂和大陆的大蜜蜂之间可能存在较大的遗传分歧。

关键词: 蜜蜂属; *ND2* 基因; *CO2* 基因; *16S rRNA* 基因; *ITPR* 基因; 系统发育

Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera: Apinae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA sequences

CAO Lian-Fei¹, NIU De-Fang¹, HE Shao-Yu², KUANG Hai-Ou², HU Fu-Liang¹

1. College of Animal Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;
2. Eastern Bee Research Institute, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract: The sequences of mitochondrial *ND2*, *CO2*, and *16S rRNA* genes and nuclear *ITPR* gene were obtained from 22 samples of 5 *Apis* species from China. The characteristics of the sequences and the pairwise distances among species were analyzed. Phylogenetic trees were reconstructed for *Apis* species using maximum parsimony, neighbor-joining and maximum likelihood methods together with the sequences of the other 4 *Apis* species downloaded from GenBank. Results supported that *Apis* species were divided into three major clusters: dwarf bees (*A. florea* and *A. andreniformis*), giant bees (*A. dorsata* and *A. laboriosa*), and cavity-nesting bees (*A. mellifera*, *A. cerana*, *A. koschevnikovi*, *A. nigrocinta*, and *A. nuluensis*). The dwarf honey bees were confirmed as basal lineage. Our study also revealed a high level of genetic divergence between *A. dorsata* from Hainan Island and China mainland.

Keywords: *Apis*; *ND2*; *CO2*; *16S rRNA*; *ITPR*; molecular phylogeny

收稿日期: 2012-01-06; 修回日期: 2012-02-24

基金项目: 国家蜂产业技术体系项目(编号: CARS-45)资助

作者简介: 曹联飞, 博士研究生, 研究方向: 蜜蜂生物学和遗传育种。Tel: 0871-88982840; E-mail: caolianfei1981@163.com

通讯作者: 胡福良, 博士, 教授, 研究方向: 蜜蜂科学。E-mail: flhu@zju.edu.cn

网络出版时间: 2012-6-28 10:36:33

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120628.1036.003.html>

蜜蜂属(*Apis*)隶属膜翅目、蜜蜂总科、蜜蜂科,不仅是重要的经济昆虫和授粉昆虫,而且还是研究社会性行为的重要模式生物^[1,2]。目前,世界上蜜蜂属公认有 9 个种,西方蜜蜂的原产地在欧洲、非洲和中东等地区,现已分布于世界绝大部分地区,蜜蜂属其他种主要分布在亚洲地区^[3]。众多学者利用形态特征和分子数据等对蜜蜂属的系统发育关系进行了研究,并且得到了一致的结论,将蜜蜂属划分为 3 个大的类群,即露天营巢的小蜜蜂类群(包括小蜜蜂(*Apis florea* F.)和黑小蜜蜂(*Apis andreniformis* Smith))、大蜜蜂类群(包括大蜜蜂(*Apis dorsata* F.)和黑大蜜蜂(*Apis laboriosa* Smith))和穴居蜜蜂类群(西方蜜蜂(*Apis mellifera* L.)、东方蜜蜂(*Apis cerana* F.)、沙巴蜂(*Apis koschevnikovi* Enderlein)、苏拉威西蜂(*Apis nigrocincta* Smith)、绿努蜂(*Apis nuluensis* Tingek, Koeniger and Koeniger)),小蜜蜂类群较早分化,其次是大蜜蜂类群,最后是穴居蜜蜂类群^[4]。

尽管蜜蜂属系统发育关系研究已臻成熟,但是一些问题还有待阐明。黑大蜜蜂是蜜蜂属个体最大的蜜蜂,主要栖息在喜马拉雅山区和横断山脉地区的岩隙中,也是蜜蜂和无刺蜂中(超过 500 种)唯一不在热带或亚热带地区生活的蜂类^[3]。尽管系统发育分析结果支持黑大蜜蜂的分类地位^[5,6],然而包含的样本却十分有限。由于分布局限,黑大蜜蜂相关资料也很少,和大蜜蜂的生殖隔离机制还不明确,其分类地位还存在争议^[3]。大蜜蜂的内部分化问题也是蜜蜂属的研究热点。最近,基于线粒体基因 *16S rRNA*、*CO2* 和核基因 *ITPR* 的联合分析结果认为,分布于菲律宾的大蜜蜂亚种可能是一个新种^[7]。线粒体基因 *ND2* 序列差异分析也显示不同地区间的大蜜蜂的遗传分化也很明显^[5]。

中国分布有蜜蜂属 6 个种,西方蜜蜂为外来引入种,其他 5 个种都是自然分布种。东方蜜蜂广布于我国除新疆以外的各省区,大蜜蜂主要分布于我国的云南、海南和广西等地,黑大蜜蜂主要分布于我国云南西部和西北部,小蜜蜂分布于广西、云南等地,黑小蜜蜂分布于云南^[8]。然而迄今为止,还没有基于 DNA 分子数据的我国蜜蜂属的系统发育关系研究。相关基础资料也十分匮乏,在大蜜蜂世界分布的相关研究文献中,甚至没有我国海南分布的数据^[3,9]。

鉴于此,本研究以中国分布的蜜蜂属为主要研究对象,利用线粒体基因和核基因序列进行蜜蜂属系统发育分析,探讨蜜蜂属各个种尤其是黑大蜜蜂的系统发育地位,同时分析了我国不同地区大蜜蜂的遗传分化。从而为黑大蜜蜂的分类地位、大蜜蜂的种内分化等提供数据支撑。

1 材料和方法

1.1 实验材料和 DNA 数据来源

样本采集时间为 2010 年 4 月~6 月。采集获得我国自然分布的 5 种蜜蜂共 22 群。具体样本信息见表 1。除东方蜜蜂采自旧法饲养的自然蜂群外,其他蜜蜂均采自野外种群。每群随机采几十到几百只工蜂,放入无水乙醇中,置-20℃ 冰箱保存备用。

从 GenBank 数据库下载蜜蜂属其他 4 种蜜蜂的相关序列用于比较分析,麦蜂(*Melipona bicolor*)作为系统发育分析的外群。下载序列的文献来源及登录号见表 1。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增及序列测定

每群随机取一只工蜂,剪取胸部肌肉,采用常规的酚/氯仿法提取总 DNA,置-20℃ 冰箱保存备用。PCR 扩增线粒体 *ND2*、*CO2*、*16S rRNA* 基因以及核 *1,4,5*-三磷酸肌醇受体基因(*ITPR*)的序列。所用引物序列来自相关文献,具体序列见表 2,由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。PCR 反应体系为 40 μ L,其中 10 \times buffer 4 μ L, 25 mmol/L $MgCl_2$ 4 μ L, 10 mmol/L dNTP 4 μ L, 10 nmol/L 引物各 1.6 μ L, DNA 模板 3 μ L, *Taq* 酶 0.5 μ L。反应程序为: 94℃ 5 min; 94℃ 1 min, 55~58℃ 1 min, 72℃ 1 min, 35 个循环; 72℃ 10 min。PCR 产物送上海生工生物工程技术服务有限公司进行双向测序。对于直接测序效果不好的样品进行克隆后测序。最终获得 22 个样本的 88 条序列,序列已提交至 GenBank,序列登录号见表 1。

1.3 数据处理

1.3.1 序列特征分析

使用 DNASTar 5.0 (DNASTAR Inc., Madison, WI) 和 Clustal X 1.81 进行序列拼接和比对^[13]。MEGA 4.0 输出各数据组的碱基组成、变异位点、简约信息位点、转换/颠换比率等信息并计算不同蜜

表 1 材料来源及 GenBank 登录号

种名	样本名	采集地	GenBank 序列号			
			ND2	CO2	16S rRNA	ITPR
大蜜蜂 (<i>A. dorsata</i>)	DORSAT1	云南西双版纳	JN107664	JN107699	JQ317310	JQ320414
	DORSAT2	云南西双版纳	JN107667	JN107702	JQ317311	JQ320415
	DORSAT3	云南普洱	JN107671	JN107703	JQ317312	JQ320416
	DORSAT4	广西南宁	JN107673	JN107706	JQ317313	JQ320417
	DORSAT5	广西南宁	JN107672	JN107707	JQ317314	JQ320418
	DORSAT6	海南琼中	JN107680	JN107716	JQ317315	JQ320419
	DORSAT7	海南琼中	JN107681	JN107719	JQ317316	JQ320420
	DORSAT8	海南保亭	JN107682	JN107718	JQ317317	JQ320421
	DORSAT9	海南保亭	JN107684	JN107717	JQ317318	JQ320422
黑大蜜蜂 (<i>A. laboriosa</i>)	LABORI1	云南保山	JN107676	JN107710	JQ317319	JQ320423
	LABORI2	云南红河	JN107675	JN107709	JQ317320	JQ320424
小蜜蜂 (<i>A. florea</i>)	FLOREA1	云南普洱	JN107686	JN107722	JQ317323	JQ320427
	FLOREA2	广西南宁	JN107688	JN107726	JQ317324	JQ320428
	FLOREA3	云南红河	JN107687	JN107725	JQ317325	JQ320429
	FLOREA4	云南西双版纳	JN107685	JN107721	JQ317326	JQ320430
黑小蜜蜂 (<i>A. andreniformis</i>)	ANDRENI1	云南西双版纳	JN107677	JN107713	JQ317321	JQ320425
	ANDRENI2	云南西双版纳	JN107678	JN107713	JQ317322	JQ320426
东方蜜蜂 (<i>A. cerana</i>)	CERANA1	广西南宁	JN107658	JN107695	JQ317305	JQ320409
	CERANA2	云南保山	JN107662	JN107696	JQ317306	JQ320410
	CERANA3	云南红河	JN107659	JN107697	JQ317307	JQ320411
	CERANA4	云南普洱	JN107655	JN107690	JQ317308	JQ320412
	CERANA5	云南西双版纳	JN107656	JN107693	JQ317309	JQ320413
西方蜜蜂 ^[6,10] (<i>A. mellifera</i>)	MELLIF	未知	NC001566	NC001566	NC001566	DQ468657
沙巴蜂 ^[5,6] (<i>A. koschevnikovi</i>)	KOSCHE	马来西亚沙巴州	AY712677	AY587546	L22895	DQ468661
绿努蜂 ^[5,6] (<i>A. nuluensis</i>)	NULUENS	马来西亚沙巴州	AY712683	AY587543	AY588420	DQ468658
苏拉威西蜂 ^[5,6] (<i>A. nigrocincta</i>)	NIGROCI	印度尼西亚苏拉威西岛	AY712684	AY587545	AY588421	DQ468660
麦蜂 (<i>Melipona bicolor</i>)	MBICOLO	未知	AF466146	AF466146	AF466146	na

表 2 实验所用引物序列

目的基因	引物名称	引物序列 (5' 3')
ND2 ^[5]	ILE	TGATAA AAGAAATATTTTGA
	L2	TGA AACTATTATATAAATTG
CO2 ^[11]	tRNA(L)	CCGGGAATTGCAATGAGTGCATTGAACTTA
	tRNA(D)	GGCCGTCTGACAAACTAATGTTAT
16S rRNA ^[12]	16SmF	TTATTCACCTGTTTATCAAAACAT
	16S1R	TATAGATAGAAACCAAYCTG
ITPR ^[6]	IP3F	GAATATCCTCTGGTGATGGATACA
	IP3R	CCATGTTCTTCTGATGCTTTAGA
	IP3W3F	GGTTTCCGATAGTGATGTTGAAT
	IP3R1781	AGGATTAAGAAATAAATCTAA

蜂种间的遗传距离^[14]。

1.3.2 系统发育分析

结合下载的序列,运用PAUP 4.0b10 软件,分别采用最大简约法(MP)、邻接法(NJ)和最大似然法(ML)构建系统发育树^[15]。系统树各分支的置信度由 Bootstrap 1 000 次重抽样检验。NJ法和ML法建树时模型及参数设置根据 Modeltest 3.07 计算得到^[16]。

2 结果与分析

2.1 碱基组成和序列变异

测定获得我国分布的蜜蜂属 5 个种的 22 个样本的相关序列。其中,线粒体 *ND2* 基因为 432~503 bp,线粒体 *CO2* 基因为 678 bp(东方蜜蜂为 681 bp),线粒体 *16S rRNA* 基因为 467~474 bp,核 *ITPR* 基因为 1024~1059 bp。

线粒体 *ND2* 基因序列长度变异较大,主要是由于所扩增的序列包含了与 *ND2* 序列相邻的一段 *tRNA^{ile}* 序列,在一些蜜蜂种中 *ND2* 序列和 *tRNA^{ile}* 序列间存在一个较长的插入片段。为了便于序列比对和数据分析,我们删除了插入片段,从而获得长度一致的序列用于比较分析。线粒体 *CO2* 基因序列末端由于无法正确比对,为避免误差也进行了删除。*16S rRNA*和 *ITPR* 基因序列的长度变异主要是由于插入和缺失位点。

比对校正后获得的序列长度及碱基组成和变异位点信息见表 3。线粒体基因和核 *ITPR* 基因都具有较高的 AT 含量。

分别基于线粒体基因和核基因单倍型序列计算 5 种蜜蜂间的遗传距离(*P*-距离法),如表 4 所示。基于线粒体基因序列的平均遗传距离为 9.22%。种间距离从 8.25%(小蜜蜂与黑小蜜蜂)到 13.44%(东方蜜蜂与黑小蜜蜂)。大蜜蜂和黑大蜜蜂之间的遗传距离也较小,为 8.77%。基于核基因序列计算得到的平均遗传距离为 2.67%。种间距离从 1.35%(大蜜蜂与黑大蜜蜂)到 3.76%(大蜜蜂与黑小蜜蜂)。小蜜蜂和黑小蜜蜂之间的遗传距离为 1.42%。

2.2 系统发育关系

结合下载的 4 种蜜蜂的相关序列,分别基于线粒体基因序列和核基因序列以及合并序列,采用最大简约法(MP)、邻接法(NJ)和最大似然法(ML)构建蜜蜂属 9 个种系统发育树。结果显示不同基因序列的构树结果以及合并序列的构树结果基本一致。

基于合并序列构建的系统发育树如图 1 所示。系统发育分析结果显示,我国分布的蜜蜂属 5 个种和下载的蜜蜂属 4 个种之间遗传分化明显,黑大蜜蜂的分类地位也得到了支持。蜜蜂属 9 个种可以划分为 3 个类群,小蜜蜂和黑小蜜蜂为一个类群,大蜜蜂和黑大蜜蜂为一个类群,其他 5 种穴居蜜蜂为一个类群。结果表明,小蜜蜂和黑小蜜蜂具有较近的

表 3 序列特征分析

基因区域	序列长度	变异位点个数	简约信息位点个数	A+T 含量	转换/颠换
<i>ND2</i>	392	138	136	86.7%	4.03
<i>CO2</i>	669	151	144	79.7%	1.97
<i>16S rRNA</i>	467~474	80	80	78.5%	0.17
<i>ITPR</i>	1024~1059	77	64	71.5%	4.52

表 4 蜜蜂种间遗传距离

	大蜜蜂 (<i>A. dorsata</i>)	黑大蜜蜂 (<i>A. laboriosa</i>)	小蜜蜂 (<i>A. florea</i>)	黑小蜜蜂 (<i>A. andreniformis</i>)	东方蜜蜂 (<i>A. cerana</i>)
大蜜蜂 (<i>A. dorsata</i>)		1.35	3.49	3.76	3.36
黑大蜜蜂 (<i>A. laboriosa</i>)	8.77		3.18	3.51	3.21
小蜜蜂 (<i>A. florea</i>)	10.88	10.10		1.42	3.03
黑小蜜蜂 (<i>A. andreniformis</i>)	12.18	12.46	8.25		3.56
东方蜜蜂 (<i>A. cerana</i>)	13.25	12.54	12.31	13.44	

注:左下角为基于线粒体基因序列,右上角为基于核基因序列。

亲缘关系, 大蜜蜂和黑大蜜蜂具有较近的亲缘关系。

基于线粒体基因序列的构树结果也支持了相同的结论(图 2), 同时显示小蜜蜂和黑小蜜蜂位于蜜蜂属系统发育树的基部, 说明小蜜蜂和黑小蜜蜂较原始, 分化较早。

此外, 由图 1 所示, 3 个分布于海南岛的大蜜蜂样本单独聚在一起, 而另外 1 个海南岛的大蜜蜂样本和广西的 1 个大蜜蜂样本聚在一起。图 2 也支持了相同的结论。说明分布于我国的大蜜蜂内部可能存在地理分化。

3 讨论

3.1 蜜蜂属系统发育关系

本研究基于我国分布的蜜蜂属 5 种蜜蜂样本, 同时下载其他 4 种蜜蜂的相关序列, 系统发育分析结果支持现有蜜蜂种的分类地位, 同时将蜜蜂属 9 个种划分为 3 个大的类群, 即小蜜蜂类群、大蜜蜂类群和穴居蜜蜂类群, 且小蜜蜂类群较早分化。种间遗传距离分析结果也显示小蜜蜂类群内的小蜜蜂和黑小蜜蜂之间以及大蜜蜂类群内的大蜜蜂和黑大

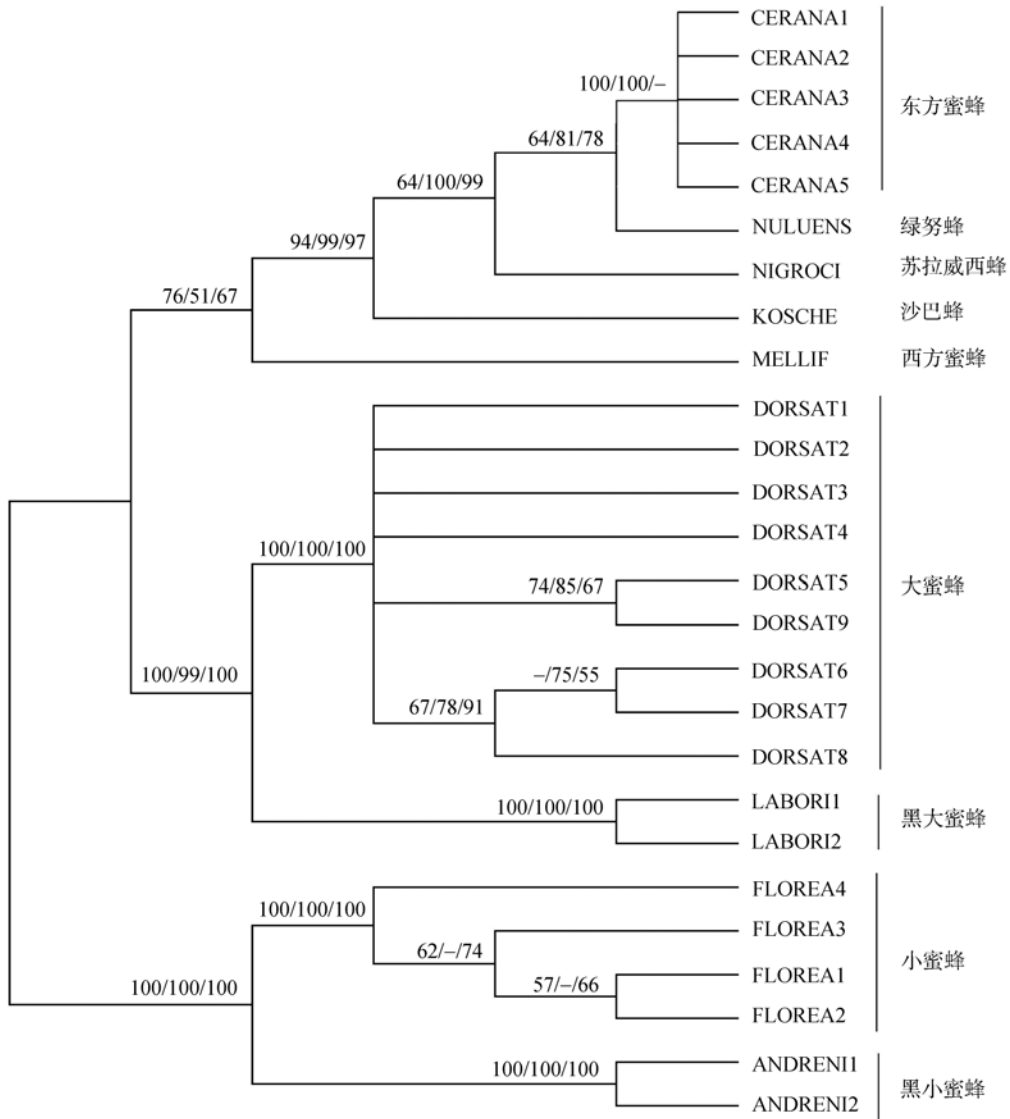


图 1 基于线粒体和核基因序列联合分析的蜜蜂属系统发育树
图中数字分别表示 MP 法、NJ 法和 ML 法的自展值(低于 50%未展示)。

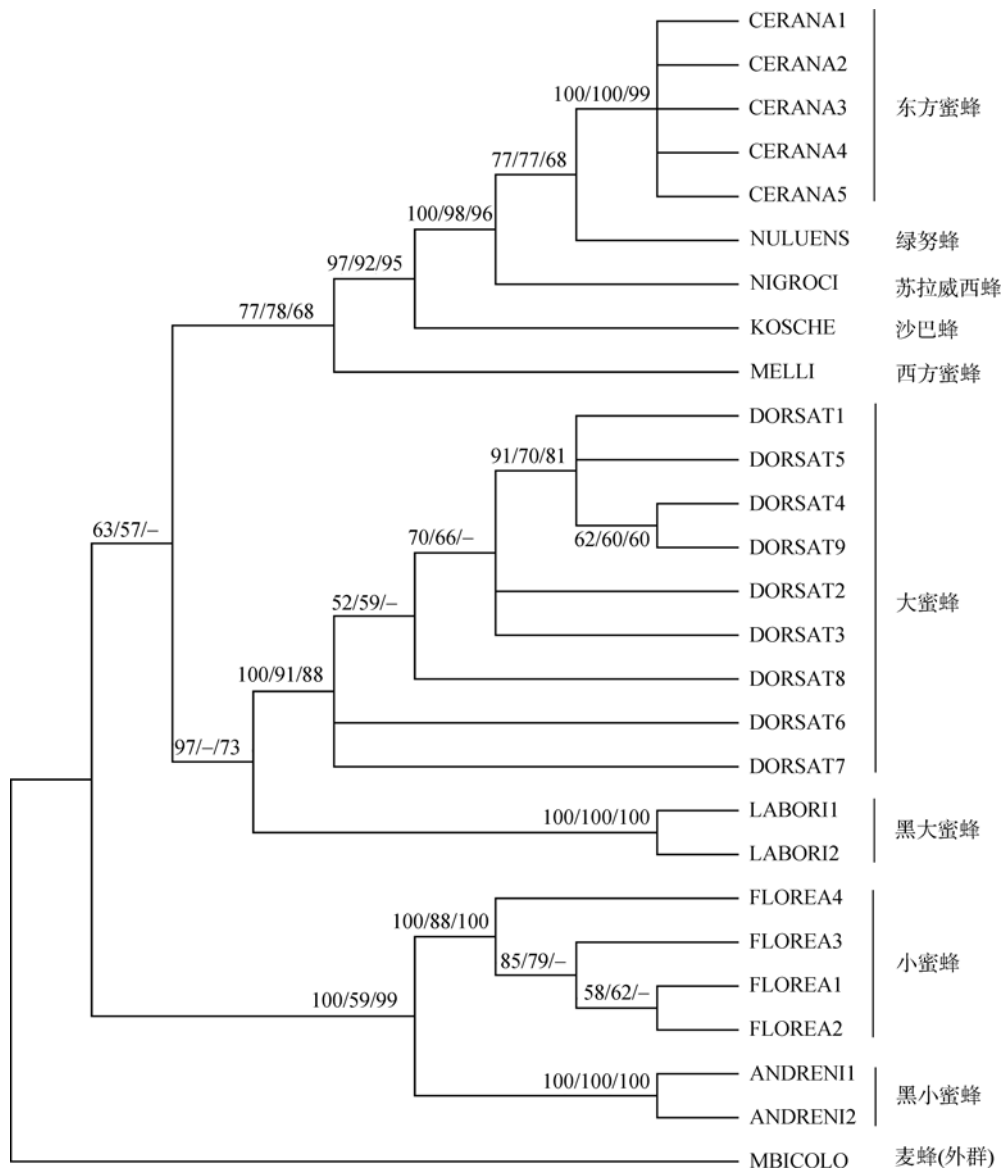


图 2 基于线粒体基因序列的蜜蜂属系统发育树(麦蜂(*Melipona bicolor*)作为外群)
图中数字分别表示 MP 法、NJ 法和 ML 法的自展值(低于 50%未展示)。

蜜蜂之间的遗传距离较小。我们的研究结果支持国际上普遍认可的蜜蜂属系统发育关系。本研究首次基于 DNA 分子数据对我国分布的蜜蜂属样本进行系统发育分析,相关数据可为世界范围蜜蜂属的起源、进化及系统地理学等研究提供宝贵资料。

3.2 黑大蜜蜂分类地位

尽管黑大蜜蜂的分类地位已经得到了基本认可,但是黑大蜜蜂和大蜜蜂遗传关系较近,生殖隔离机制还未完全阐明,有的学者对黑大蜜蜂的分类地位

提出了质疑。近些年,基于DNA分子数据的研究逐渐兴起,线粒体和核基因的研究结果支持黑大蜜蜂的分类地位^[5,6]。然而已有研究中黑大蜜蜂的样本很少,且和大蜜蜂样本的采样地点距离很远,考虑到大蜜蜂类群内部明显的遗传分化,需要更全面更深入的研究。黑大蜜蜂和大蜜蜂在我国云南均有分布,地理距离较近。本研究基于分布于我国云南的黑大蜜蜂和大蜜蜂样本的研究结果显示,尽管两者分布区域较近,两者之间已经形成了明显的遗传分化。我们的研究结果进一步支持了黑大蜜蜂的分类地

位。黑大蜜蜂和大蜜蜂在栖息环境、习性等方面差异很大, 其分化及适应性进化有待于深入研究。

3.3 大蜜蜂内部分化

大蜜蜂在我国分布较广, 在云南、广西和海南均有分布。我们的研究结果显示我国大蜜蜂可能存在地理分化。海南分布的大蜜蜂绝大部分聚在一起, 形成了单独分支, 且支持率很高, 推测可能和海南岛的隔离环境有关。琼州海峡阻碍了海南岛和大陆间大蜜蜂的基因交流, 造成了海南岛大蜜蜂和大陆大蜜蜂之间的分化。然而, 少量海南岛大蜜蜂样本和广西的大蜜蜂样本聚在了一起, 推测其可能与海南岛是大陆岛且隔离时间较短有关, 也不排除大蜜蜂随船迁移等因素的影响, 具体原因还有待进一步阐明。我国大蜜蜂的研究不仅完善了世界大蜜蜂的分布资料, 而且为世界大蜜蜂的分化研究提供了重要资料。

参考文献(References):

- [1] Morse RA, Calderone NW. The value of honey bees as pollinators of U.S. crops in 2000. *Bee Culture*, 2000, 128: 1–15. [DOI](#)
- [2] 郑火青, 胡福良. 蜜蜂 - 新兴的模式生物. *昆虫学报*, 2009, 52(2): 210–215. [DOI](#)
- [3] Oldroyd BP, Wongsiri S. *Asian Honey Bees: Biology, Conservation, and Human Interactions*. Cambridge: Harvard University Press, 2006: 13–35. [DOI](#)
- [4] Koeniger N, Koeniger G, Smith D. Phylogeny of the Genus *Apis*. In: Hepburn HR, Radloff SE, eds. *Honeybees of Asia*. Berlin: Springer, 2011: 23–50. [DOI](#)
- [5] Arias MC, Sheppard WS. Phylogenetic relationships of honey bees (Hymenoptera: Apinae: Apini) inferred from nuclear and mitochondrial DNA sequence data. *Mol Phylogenet Evol*, 2005, 37(1): 25–35. [DOI](#)
- [6] Raffiudin R, Crozier RH. Phylogenetic analysis of honey bee behavioral evolution. *Mol Phylogenet Evol*, 2007, 43(2): 543–552. [DOI](#)
- [7] Lo N, Gloag RS, Anderson DL, Oldroyd BP. A molecular phylogeny of the genus *Apis* suggests that the Giant Honey Bee of the Philippines, *A. breviligula* Maa, and the Plains Honey Bee of southern India, *A. indica* Fabricius, are valid species. *Syst Entomol*, 2010, 35(2): 226–233. [DOI](#)
- [8] 吴燕如. 中国动物志昆虫纲, 第二十卷. 膜翅目: 准蜂科-蜜蜂科. 北京: 科学出版社, 2000: 370–383. [DOI](#)
- [9] Hepburn HR, Radloff SE. Biogeography. In: Hepburn HR, Radloff SE, eds. *Honeybees of Asia*. Berlin: Springer, 2011: 62–63. [DOI](#)
- [10] Crozier RH, Crozier YC. The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization. *Genetics*, 1993, 133(1): 97–117. [DOI](#)
- [11] Willis LG, Winston ML, Honda BM. Phylogenetic relationships in the honeybee (genus *Apis*) as determined by the sequence of the cytochrome oxidase II region of mitochondrial DNA. *Mol Phylogenet Evol*, 1992, 1(3): 169–178. [DOI](#)
- [12] Cameron SA, Derr JN, Austin AD, Wharton RA. The application of nucleotide sequence data to phylogeny of the Hymenoptera: a review. *J Hym Res*, 1992, 1(1): 63–79. [DOI](#)
- [13] Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(24): 4876–4882. [DOI](#)
- [14] Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol*, 2007, 24(8): 1596–1599. [DOI](#)
- [15] Swofford DL. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods), Version 4. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2003. [DOI](#)
- [16] Posada D, Crandall KA. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 1998, 14(9): 817–818. [DOI](#)