



基因序列在金龟总科 (Scarabaeoidea) 分子系统学研究中的应用*

方晨晨 郭晓华** 刘广纯 张卓

(沈阳大学生物与环境工程学院 沈阳 110044)

摘要 基因序列分析是揭示金龟总科系统发育关系的重要工具。统计了应用于金龟总科中 13 个科的线粒体和核基因序列,综述了 CO I、16S rRNA、28S rRNA、18S rRNA 等基因序列在金龟总科分子系统学的新进展,探讨了不同基因序列在分类鉴定、隐存种发现、系统发育关系重建等方面的作用,对未来研究趋势进行了展望,为进一步阐明金龟总科系统发育机制奠定基础。

关键词 金龟总科, 基因序列, 分子系统学, 线粒体基因, 核基因

Application of gene sequences to the molecular systematics of the Scarabaeoidea

FANG Chen-Chen GUO Xiao-Hua** LIU Guang-Chun ZHANG Zhuo

(College of Biological and Environmental Engineering, Shenyang University, Shenyang 110044, China)

Abstract Analysis of gene sequences is an important approach to revealing the phylogenetic relationships of the Scarabaeoidea. Here we summarize the mitochondrial and nuclear gene sequences of 13 families of the Scarabaeoidea. Advances in gene sequences (CO I, 16S rRNA, 28S rRNA, 18S rRNA, etc.) and their application to the molecular systematics of Scarabaeoidea are reviewed. The application of these sequences in species' identification and classification, the discovery of cryptic species and the phylogenetic analysis of the Scarabaeoidea are discussed. Developmental trends in the molecular systematics of the Scarabaeoidea are summarized in order to provide a basis for further recovering the phylogenetic dynamics of this group.

Key words Scarabaeoidea, gene sequences, molecular systematics, mitochondrial genes, nuclear genes

金龟总科 Scarabaeoidea 隶属鞘翅目 Coleoptera, 多食亚目 Polyphaga, 目前全球记载约 3.5 万种 (Grebennikov and Scholtz, 2004)。金龟子是该类昆虫的统称,按其食性可分为植食性、粪食性或腐食性 (白明和杨星科, 2008)。金龟子的幼虫是重要土栖性农业害虫。该总科多数种类可危害农作物、果树、蔬菜等,给农业生产带来严重影响,但部分粪食性或腐食性种类可清洁粪便和生物残骸,对保护环境,维持生态平衡有重要作用。

国内外对金龟总科分类和系统发育关系研究

始于林奈 (Linnaeus) 时期,至今已有 200 多年的历史,涉及金龟子外部形态、内部结构、食性选择、行为特征、生态意义、化石记录、地理分布、染色体核型、基因序列和表达等诸多方面。国内学者也曾对金龟子成虫、蛹、幼虫的形态分类 (包括新种发现)、系统发育、生活习性、化石记录、生态学价值以及防治措施等方面进行了许多研究 (林平, 1980; 张芝利, 1983; 马文珍, 1990; 方红等, 2000; 任国栋, 2003; 白明和杨星科, 2005; Bai *et al.*, 2006, 2010; 白明和杨星科, 2010)。但由于受金龟

* 资助项目:辽宁省科技厅农业攻关计划项目 (2008214001)、辽宁省自然科学基金 (201102157)。

** 通讯作者, E-mail: zikexi@163.com

收稿日期:2011-03-06, 接受日期:2011-04-28

子不同形态学鉴定标准、地理生态环境、发育阶段和鉴定者个人主观意见等因素影响,国内外依据形态的分类鉴定和系统发育关系始终存在模糊和争议的现象,尤其对金龟总科下某些类群作为科级或亚科分类单元没有获得一致认可(Lawrence and Newton, 1995; 刘广瑞等, 1997; Browne and Scholtz, 1999; Grebennikov and Scholtz, 2004; Smith, 2006)。

基因序列分析不受昆虫发育阶段、形态特征不全、分类专家不足等因素的限制,是形态分类鉴定的重要补充,可解决近缘种、新种、隐存种和多型现象等形态学问题,揭示不同分类阶元种群的系统发育关系,有望成为物种快速分类鉴定的新型工具(Hebert *et al.*, 2003)。与其它昆虫比较,金龟子分类基础较为雄厚,将其作为形态学与分子水平联合分析的代表性昆虫具有一定优势(Forgie *et al.*, 2006; 中国科协学会学术部, 2010)。目前,应用基因序列对金龟总科分子系统学研究正在逐步深入。

1 金龟总科研究中的主要基因序列

随着分子生物学的发展,基因序列广泛应用于昆虫系统学研究,并得到迅速发展。截至 2011 年 2 月 10 日,GenBank 有关金龟总科的核苷酸序

列有 7 494 条记录。应用于不同分类阶元研究的基因片段取决于序列的进化速率。线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 序列进化速率较快,具有区别形态相近种群的足够核苷酸变异(Avise, 1994),是研究种、属间系统发育关系的良好标记(Simon *et al.*, 1994)。核基因进化速率相对较慢,碱基组成较均匀,不存在替代偏好性,更适于解决高级分类阶元的系统发育关系(Lin and Danforth, 2004),也有学者将核基因片段应用于低等分类的研究(Borer *et al.*, 2010)。金龟总科研究常用的 mtDNA 基因主要有编码细胞色素氧化酶亚基 I (cytochrome oxidase subunit I, CO I / *cox1*)、16S rRNA (*rrnL*)、12S rRNA、细胞色素氧化酶亚基 II (cytochrome oxidase subunit II, CO II)、细胞色素 b (cytochrome b, *Cyt b*)、NADH 氧化还原酶 1 (dehydrogenase subunit 1, ND1) 的基因等,核基因有编码 28S rRNA、18S rRNA、氨基甲酰磷酸合成酶(carbamoyl-phosphate synthase, CAD) 的基因和无翅基因 *wingless (wg)* 等。国外应用于金龟总科的基因序列主要集中在金龟科 Scarabaeidae (表 1)。国内研究报道较少(何平, 2004; 孙娜等, 2009)。CO I 基因在 mtDNA 中分布普遍,具有多态性较高、基因进化速率适中、适于通用引物扩增等特点,是分子系统学研究中应用最多的分子标

表 1 金龟总科(Scarabaeoidea)研究应用的基因序列(来自 GenBank, 截止 2011 年 2 月)*

Table 1 Gene sequences used in Scarabaeoidea (from GenBank, up to February, 2011)

科名 Family	线粒体基因 Mitochondrial genes						核基因 Nuclear genes				
	CO I	16S	12S	CO II	ND1/16S	<i>Cyt b</i>	28S	CAD	<i>wg</i>	18S	
金龟科 Scarabaeidae	2 063	1 663	53	235	399	254	1 587	61	2	460	
粪金龟科 Geotrupidae	168	3	0	0	0	0	1	0	0	5	
绒毛金龟科 Glaphyridae	2	3	0	0	0	0	3	0	0	3	
驼金龟科 Hybosoridae	6	1	0	0	5	0	16	0	0	4	
锹甲科 Lucanidae	147	91	0	0	70	1	5	0	66	12	
红金龟科 Ochodaeidae	0	0	0	0	0	0	3	0	0	2	
黑蜣科 Passalidae	25	2	0	0	0	0	0	0	0	16	
皮金龟科 Trogidae	1	57	0	0	1	0	0	0	0	1	
角金龟科 Ceratocanthidae	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
毛金龟科 Pleocomidae	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	
重口金龟科 Diphlostomatidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
砂金龟科 Glaresidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
刺金龟科 Belohinidae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

* 分类体系依照 Lawrence and Newton(1995)。

Taxonomy following Lawrence and Newton(1995)。

记,也是 DNA 条形码(DNA barcoding)标准基因应用的理想序列(Pfenninger *et al.*, 2007)。16S rRNA 基因在不同种群之间较为保守,进化速率较慢,适于高级阶元的分类鉴定研究(Flook and Rowell, 1997),常单独使用(Han *et al.*, 2010)或与 ND1 基因联合使用。ND1 是 NADH 氧化还原酶的第 1 个亚基,是线粒体电子传递链复合体的组分之一。与线粒体其他编码蛋白质和 rRNA 基因相比,ND1 基因具有更快的进化速率,多数是和其他基因联合使用(Knisley *et al.*, 2008)。CO II 基因为细胞色素 C 提供重要的结合位点,进化速率较快,常用于分析亚属、亲缘关系密切的种、亚种之间的系统发育关系(Emlen *et al.*, 2005)。Cyt *b* 是参与氧化磷酸化合成 ATP 过程电子传递链中的重要物质,进化速度适中,用于研究种间乃至科间的系统发育关系(任竹梅等, 2002; Cruz and Whiting, 2003)。28S rRNA 基因是进化过程中比较保守的核基因,包含较多的系统发育信息,且基因序列不存在替换饱和现象,可用于探讨属和科级水平以上的系统发生关系(Mardulyn and Whitfield, 1999; Dietrich *et al.*, 2001)。18S rRNA 基因在蛋白质合成中具有重要的功能,是至今发现的最为保守的核 DNA 序列,经常被作为昆虫高级分类时的分子标记(Dohlen and Moran, 1995)。无翅基因(*wingless, wg*)是昆虫飞行能力的重要决定基因,对昆虫翅的形成起主要作用(Brower and Desalle, 1998)。CAD 是由参与嘧啶核苷酸从头合成途径的氨甲酰磷酸合成酶(CPS)、天冬氨酸转氨甲酰酶(ATC)和二氢乳清酸酶(DHO)构成的融合蛋白基因,具有片段较长、单拷贝、普遍存在、低杂合性等特点(Moulton and Wiegmann, 2004)。

2 基因序列在金龟总科分子系统学中的应用

分子系统学是检测、描述并揭示生物在分子水平上的多样性及其演化规律的科学(黄原, 1998)。目前应用基因序列对昆虫分子系统学研究主要是结合形态学和地理生态学,通过扩增候选基因片段、比对基因序列、分析核苷酸替代信息、构建分子树等方法,探讨不同种群的系统发育关系,追溯物种的起源和进化进程,构建种群系统发育模式,解决现行系统发育关系中的疑难问题,并对传统的分类系统加以验证。国内外对于金龟

总科的分子系统发育研究还处在初始阶段,已有的研究数据还较为零散,要明确系统演化关系还需获得大量的分子数据。目前研究主要集中在金龟子种群的分类鉴定、隐存分类单元的发现及系统发育和进化关系等方面。

2.1 基因序列在分类鉴定中的应用

基因序列包含一定的物种亲缘关系和系统发育信息,可以用于种群的分类鉴定,探讨低级阶元(Zhang and Hewitt, 1997)以及高级阶元(刘殿锋和蒋国芳, 2005)的分类。Piau 等(1999)基于 CO I 基因研究了蜉金亚龟科的 *Aphodius obsurus* 及 *A. immaturus* 的种间亲缘关系,并通过印度洋金龟子形态学、生态学、CO I 序列分析,明确 *Hoplia freyi* Baraud 与 *H. chlorophana* Erichson 为同物异名(Piau *et al.*, 2003)。Miller 等(1999)对澳大利亚东部鳃金龟族(Melolonthini)幼虫 CO II 基因进行分析,以确定种间 mtDNA 的多态性及其特定分类地位。Carisio 等(2004)应用 CO I 序列对粪金龟科 Geotrupidae 的 *Trypocopris* 属的地理位置谱系和种群内结构进行分析,证明 CO I 序列分析结果与形态学中亚种分类地位一致。Villalba 等(2002)对金龟科 Scarabaeidae 的 33 种样本进行了 CO I 与 CO II 序列研究,证实了大多数已知类群的组成及其合理性。Ocampo 等(2010)利用 28S rRNA 基因序列和形态学的支序分析,对阿根廷特有属 *Neogutierrezia* (Scarabaeidae: Rutelinae) 的系统发育地位进行修订,认为 *Neogutierrezia* 属为丽金龟亚科 Rutelinae 比鳃金龟金亚科 Melolonthinae 更合理。我国学者在对金龟总科进行形态分类时,将丽金龟和鳃金龟列为科级(Rutelidae 和 Melolonthidae),分别下设不同的属和种(刘广瑞等, 1997),这与国外分类地位划分存在较大差异。Ahrens 等(2007)对金龟子幼虫及成虫的线粒体 *cox1*、16S rRNA (*rrnL*) 和核 28S rRNA 基因片段分别进行了分析对比,证明 DNA 标准序列能对不同发育阶段的金龟子进行有效的种类鉴定。Smith 等(2006)对金龟总科 600 个样本的 28S rRNA 和 150 个样本的 18S rRNA 基因序列进行分析,把金龟总科划分为 3 个类群:粪金龟科 Geotrupidae、黑蜣科 Passalidae 和毛金龟科 Pleocomidae 为一个类群;锹甲科 Lucanidae、重口金龟科 Diphylostomatidae、皮金龟科 Trogidae 和砂金龟科

Glaresidae 为一个类群; 驼金龟科 Hybosoridae、红金龟科 Ochodaeidae、绒毛金龟科 Glaphyridae 和金龟子科 Scarabaeidae 为一个类群。Hunt 等(2007)等采用 18S rRNA、16S rRNA (*rrnL*)、*cox1* 基因研究了鞘翅目高阶分类阶元, 对代表 80% 甲虫的科, 1 900 种鞘翅目个体的系统发育关系进行了全面分析, 定义了 3 万个种的多食亚目的基本关系, 并确立了最早的五大家族谱系分支。Orsini 等(2007)利用线粒体基因 CO I、16S rRNA、12S rRNA、CO II、Cyt *b* 和核基因 28S rRNA、18S rRNA 序列, 对马达加斯加 Canthonini 和 Helictopleurini 类群的 44 种蜣螂 (dung beetle) 的分类地位进行了分析。

2.2 基因序列在鉴定隐存分类单位中的应用

有些金龟子群体包含隐存种 (cryptic species) 或近缘种 (siblings species), 但由于形态极为相似常被视为同一物种, 给分类学研究带来混乱。在依据外部形态难以鉴定隐存分类单元的情况下, 基因信息无疑是发现隐存分类单元的有效方法, 这对揭示隐存生物多样性具有重要意义。

Ahrens 和 Vogler (2008) 基于 *cox1*、16S rRNA (*rrnL*) 和 28S rRNA 基因序列比对, 分析了 183 种金龟亚科个体的分子数据, 获得了 Sericini 族与 Ablaberini 族的姐妹关系。Wirta (2009) 利用 CO I 和 ITS2 (internal transcribed spacer 2) 序列研究了马达加斯加东部热带雨林金龟科 (Coleoptera: Scarabaeidae) 优势种群 *Nanos* 属的 3 个种的基因渗入和隐存种, 提出该地区北部的 2 个种 *Nanos clypeatus* 和 *N. dubitatus* 形态区别明显, 而在基因序列上不存在明显差异; 南部的 *N. viettei* 种形态差异不明显, 但基因序列差异较大, 推测在 100 ~ 200 万年间的北半球冰川周期运动时期已经发生了从 *N. dubitatus* 种到 *N. viettei* 种的基因渗入, 并在后续的基因杂交以及进化过程中形成了复杂的遗传模式。

昆虫 DNA 条形码标准基因的应用研究正在逐步深入 (Frézal and Leblois, 2008)。DNA 条形码提供了精细分类学标准和有效分类手段, 是快速识别物种的崭新途径。但金龟子 DNA 条形码研究涉及的种群还不够广泛。Monaghan 等 (2005) 探讨了金龟科 Scarabaeidae 的 Scarabaeinae 亚科的 *Canthon* 属的 28S rRNA 和 *cox1* 基因作为 DNA 条形码应用的可行性, 认为线粒体 DNA 和核基因片

段联合分析可界定物种并提高分类鉴定的速度。Monaghan 等 (2009) 用 GMYC 模型 (the general mixed Yule-coalescent) 分析了包括金龟亚科 (Scarabaeidae: Scarabaeinae) 在内的 4 个目 12 个科 270 个种的 mtDNA 和核 28S rRNA 序列, 比较了形态学数据, 提出了发现物种和生物多样性评估的方法, 对基因序列的 DNA 条形码应用做了深入探讨。鉴定隐存种和近缘种, 揭示隐存生物多样性, 是 DNA 条形码对分类学的特殊贡献, 在金龟子隐存分类方面的研究需要进一步深入和拓展。

2.3 基因序列在系统发育研究中的应用

金龟子种群多样性和进化趋势反映了对食物类型的适应性和避免生境竞争的不同策略。众多学者基于金龟子形态特征 (幼虫、蛹、成虫)、滚粪球和挖洞等行为、植食和粪食等生物学特性, 广泛研究了种群多样性和演化趋势等系统发育学问题 (Scholtz and Chown, 1995; Šípek *et al.*, 2009)。目前, 基于基因序列的系统发育研究也有诸多报道。

Cabrero-Sañudo 和 Zardoya (2004) 结合翅脉、口器、生殖器等 84 个外部形态性状以及 COI、tRNA—Leu、CO II 部分序列, 重建了伊比利亚金龟科 Scarabaeidae 的 Aphodiini 族的系统发育树, 显示了 Aphodiini 族起源的快速辐射及替换饱和现象。Hosoya 和 Araya (2005) 基于 16S rRNA 基因和形态性状对锹甲科 (Lucanidae) 属间系统发育关系进行分析, 并提出甲虫的下颌骨具异形性。Muraji 等 (2010) 基于 CO I 和 16S rRNA 基因分析了日本琉球群岛的 *Dasylepida ishigakiensis* 种 (Coleoptera: Scarabaeidae) 150 个幼虫标本的遗传分化现象, 将其分成 6 个单倍型 (haplotype), 并认为 Ishigaki-jima 岛森林与 Miyako 岛甘蔗林的不同单倍型之间存在基因交流。Price (2009) 扩增了 CO I、28S rRNA 基因, 并结合 67 个形态学性状, 利用最大简约法和贝叶斯法分析了金龟科 Scarabaeidae 的 *Phanaeus* 属的 28 个种的分类地位和生物地理进化关系。

金龟子的行为多样性使系统学及进化关系变得更为复杂, 行为进化可促进形态的适应性进化 (葛斯琴等, 2008)。Sole 和 Scholtz (2010) 利用 CO I、16S rRNA、CAD、28S rRNA 基因序列, 结合化石研究结论, 分析了金龟亚科 Scarabaeinae 的

Canthonini 族甲虫的滚球行为和 Dichotomiini 族甲虫的挖掘行为的进化关系,认为 2 个族的分化时间约在 5 600 万年前。Wirta 等(2008)采用分子系统学方法对 Scarabaeidae 的 Onthophagini 和 Oniticellini 族的食性进化进行了推测,认为 3 700 ~ 2 300 万年前该类群主要取食哺乳动物,随着祖先移居至开放的腐蚀性生境地带,食性进化为粪食性,其生存的地理范围大大增加,体型逐渐增大。

Monaghan 等(2007)基于 28S rRNA、CO I、16S rRNA (*rrnL*) 基因,构建了系统树,对金龟亚科 Scarabaeinae 中代表 6 个不同地理位置的 12 个类群的 214 个种进行了研究,提出非挖洞型的 *Sarophorus* + *Coptorhina* 位于进化树的分支基部,与滚粪球型 *Odontoloma* + *Dicranocara* 有较近的亲缘关系,得出其在早期获得滚粪球行为的结论。Emerson 和 Wallis(1995)基于 CO II 基因研究了新西兰南部 *Prodontria* 属 (Scarabaeidae: Melolonthinae) 金龟子的飞行行为,建树结果支持 *P. modesta* 与 *P. bicolorata* 种的翅退化的形态相似性,但不支持与 *P. lewisi* 的姐妹种关系。Ohta 等(2009)应用 CO I 基因,研究了日本不同地理区域粪金龟科 Geotrupidae 的 *Phelotrupes laevistriatus* 种的飞行肌类型,认为中南部金龟有发达的飞行肌,而北部金龟不具发达的飞行肌,致使飞行能力存在差异。

Ocamp 和 Hawks (2006) 扩增了 28S rRNA 和 18S rRNA 基因片段,研究了南美金龟亚科 Scarabaeinae 的不同族的行为进化关系,得出 Eucraniini 族为单系群,并与 Phanaeini 和 Dichotomiini 族为姐妹群的结论。Ahrens 和 Ribera (2009) 分析了 CO I (*cox1*)、tRNA-Leu、ND1、16S rRNA 序列,结合性别特征,推测了伊比利亚 *Hymenoplia* 属的物种形成模式。Hanski 等(2008)也基于 CO I 基因分析,结合形态、地理、食性,对马达加斯加的 *Helictopleurus* 属 (Scarabaeidae) 不同种的系统发育关系进行了研究。

3 结语及展望

金龟子为鞘翅目中较大的昆虫类群。虽然研究历史久远,但仍有诸多需要探索的问题,如不同分类阶元鉴定存在分歧,系统发育关系模糊不清,大量物种有待于描述、鉴定,行为机制有待于深入

探讨,资源利用途径有待于研究等。基因序列应用于金龟子系统学的研究虽日趋深入,但目前的研究报道还十分有限,主要集中在少数科和局部地区代表性物种,缺乏宏观、大尺度范围的全球高级阶元的系统研究。金龟子地理系统学是研究者关注重点之一,但始终以形态学为主要依据。研究证明,不同地域、不同生态环境下的系统发育关系研究更需要得到分子数据的支持,以便能更合理地追溯物种的起源与进化规律,重建系统发育模式。未来的研究强调增加样本的数量、代表性,增加基因序列的重要性;强调形态性状、地理生态特征和分子标记的综合分析;主张将 mtDNA 序列和核 DNA 序列结合起来进行研究,以克服两者核苷酸不平衡偏好和假基因等带来的影响。DNA 条形码在金龟子研究中的应用刚刚起步,筛选 DNA 条形码标准基因,发展 DNA 条形码技术,建立 DNA 条形码数据库,拓展 DNA 分类鉴定理论基础和应用范围,是未来金龟子分子系统学研究主要任务。

参考文献 (References)

- Ahrens D, Monaghan MT, Vogler AP, 2007. DNA-based taxonomy for associating adults and larvae in multi-species assemblages of chafers (Coleoptera: Scarabaeidae). *Mol. Phyl. Evol.*, 44 (1): 436—449.
- Ahrens D, Ribera I, 2009. Inferring speciation modes in a clade of Iberian chafers from rates of morphological evolution in different character systems. *BMC Evol. Biol.*, 9: 234—235.
- Ahrens D, Vogler AP, 2008. Towards the phylogeny of chafers (Sericini): analysis of alignment-variable sequences and the evolution of segment numbers in the antennal club. *Mol. Phyl. Evol.*, 47 (2): 783—798.
- Avise JC, 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman and Hall, New York, NY. 511—512.
- Bai M, Krell F, Ren D, Yang XK, 2010. A new, well-preserved species of Glaresidae (Coleoptera: Scarabaeoidea) from the Jehol Biota of China. *Acta Geol. Sin.*, 84 (4): 676—679.
- Bai M, Yang XK, Zhang YW, 2006. A key to species of the genus *Onitis* Fabricius (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) from China, with the description of a new species and a new record for China. *P. Entomol. Soc. Wash.*, 108 (1): 388—394.

- Borer M, Alvarez N, Buerki S, Margraf N, Rahier M, Naisbit RE, 2010. The phylogeography of an alpine leaf beetle: Divergence within *Oreina elongata* spans several ice ages. *Mol. Phyl. Evol.*, 57 (2):703—709.
- Brower AVZ, Desalle R, 1998. Patterns of mitochondrial versus nuclear DNA sequence divergence among nymphalid butterflies: The utility of wingless as a source of characters for phylogenetic inference. *Insect Mol. Biol.*, 7 (1):73—82.
- Browne DJ, Scholtz CH, 1999. A phylogeny of the families of Scarabaeoidea (Coleoptera). *Syst. Entomol.*, 24 (1):51—84.
- Cabrero-Sañudo FJ, Zardoya R, 2004. Phylogenetic relationships of Iberian Aphodiini (Coleoptera: Scarabaeidae) based on morphological and molecular data. *Mol. Phyl. Evol.*, 31 (3):1084—1100.
- Carisio L, Cervella P, Palestrini C, Delpero M, Rolo A, 2004. Biogeographical patterns of genetic differentiation in dung beetles of the genus *Trypocopris* (Coleoptera, Geotrupidae) inferred from mtDNA and AFLP analyses. *J. Biogeogr.*, 31 (7):1149—1162.
- Cruz KD, Whiting MF, 2003. Genetic and phylogeographic structure of populations of *Pulex simulans* (Siphonaptera) in Peru inferred from two genes (Cyt *b* and CO II). *Parasitol. Res.*, 91 (1):55—59.
- Dietrich CH, Rakitov RA, Holmes JL, Black WC, 2001. Phylogeny of the major lineages of Membracoidea based on 28S rDNA sequences. *Mol. Phyl. Evol.*, 18 (2):293—305.
- Dohlen CD, Moran NA, 1995. Molecular phylogeny of the Homoptera: a paraphyletic taxon. *J. Mol. Evol.*, 41 (2):211—223.
- Emerson BC, Wallis GP, 1995. Phylogenetic relationships of the Prodontria (Coleoptera: Scarabaeidae; subfamily Melolonthinae), derived from sequence variation in the mitochondrial cytochrome oxidase II gene. *Mol. Phyl. Evol.*, 4 (4):433—447.
- Emlen DJ, Marangelo J, Ball B, Cunningham CW, 2005. Diversity in the weapons of sexual selection: horn evolution in the beetle genus *Onthophagus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Evolution*, 59 (5):1060—1084.
- Flook PK, Rowell CHF, 1997. The phylogeny of the Caelifera (Insecta, Orthoptera) as deduced from mtrRNA gene sequences. *Mol. Phyl. Evol.*, 8 (1):89—103.
- Forgie SA, Kryger U, Bloomer P, Scholtz CH, 2006. Evolutionary relationships among the Scarabaeini (Coleoptera: Scarabaeidae) based on combined molecular and morphological data. *Mol. Phyl. Evol.*, 40 (2006):662—678.
- Frézal L, Leblois R, 2008. Four years of DNA barcoding: Current advances and prospects. *Infect. Genet. Evol.*, doi: 10.1016/j.meegid.2008.05.005
- Grebennikov VV, Scholtz CE, 2004. The basal phylogeny of Scarabaeoidea (Insecta: Coleoptera) inferred from larval morphology. *Invertebr. Syst.*, 18 (3):321—348.
- Han TM, Jeong JC, Kang TH, Lee YB, Park HC, 2010. Phylogenetic relationships of *Dorcus koreanus* Jang and Kawai, 2008. (Coleoptera, Lucanidae): species or subspecies? *Zool. Sci.*, 27 (4):362—368.
- Hanski I, Wirta H, Nyman T, Rahagalala P, 2008. Resource shifts in Malagasy dung beetles: contrasting processes revealed by dissimilar spatial genetic patterns. *Ecol. Lett.*, 11:1208—1215.
- Hebert PDN, Ratnasingham S, de Waard JR, 2003. Barcoding animal life: cytochrome *c* oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 270 (Suppl.):96—99.
- Hosoya T, Araya K, 2005. Phylogeny of Japanese stag beetles (Coleoptera: Lucanidae) inferred from 16s mt rRNA gene sequences, with reference to the evolution of sexual dimorphism of Mandibles. *Zool. Sci.*, 22 (12):1305—1318.
- Hunt T, Bergsten J, Levkanicova Z, Papadopoulou A, St John O, Wild R, Hammond PM, Ahrens D, Balke M, Caterino MS, Gómez-Zurita J, Ribera I, Barraclough TG, Bocakova M, Bocak L, Vogler AP, 2007. A comprehensive phylogeny of beetles reveals the evolutionary origins of a Superradiation. *Science*, 318 (5858):1913—1916.
- Knisley CB, Woodcock MR, Vogler AP, 2008. A new subspecies of *Cicindela limbata* (Coleoptera: Cicindelidae) from Alaska, and further review of the maritima group by using mitochondrial DNA analysis. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 101 (2):277—288.
- Lawrence JF, Newton AF, 1995. Families and subfamilies of Coleoptera (with selected genera, notes, references and data on family group names) // Pakaluk J, Slipinski SA (eds.). *Biology, Phylogeny, and Classification of Coleoptera: Papers Celebrating the 80th Birthday of Roy A. Crowson* Muzeum i Instytut Zoologii PAN. Warszawa. 779—1006.
- Lin CP, Danforth BN, 2004. How do insect nuclear and mitochondrial gene substitution patterns differ? Insights from Bayesian analyses of combined data sets. *Mol. Phyl. Evol.*, 30 (3):686—702.

- Mardulyn P, Whitfield JB, 1999. Phylogenetic signal in the CO I, 16S, and Sgenes for inferring relationships among genera of Microgastrinae (Hymenoptera: Braconidae): evidence of a high diversification rate in this group of parasitoids. *Mol. Phyl. Evol.*, 12(3):282—294.
- Miller L, Allsopp PG, Graham G, Yeates DK, 1999. Identification of morphologically similar canegrubs (Coleoptera: Scarabaeidae: Melolonthini) using a molecular diagnostic technique. *Ann. Soc. Entomol. Fr.*, 38(3):189—196.
- Monaghan MT, Balke M, Gregory TR, Vogler AP, 2005. DNA-based species delineation in tropical beetles using mitochondrial and nuclear markers. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 360(1462):1925—1933.
- Monaghan MT, Inward DJG, Hunt T, Vogler AP, 2007. A molecular phylogenetic analysis of the Scarabaeinae (dung beetles). *Mol. Phyl. Evol.*, 45(2):674—692.
- Monaghan MT, Wild R, Elliot M, Fujisawa T, Balke M, Inward DJG, Lees DC, Ranaivosolo R, Eggleston P, Barraclough TG, Vogler AP, 2009. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. *Syst. Biol.*, 58(3):298—311.
- Moulton JK, Wiegmann BM, 2004. Evolution and phylogenetic utility of CAD (rudimentary) among Mesozoic-aged Eremoneuran. *Mol. Phyl. Evol.*, 31(1):363—378.
- Muraji M, Hirai Y, Akino T, Wakamura S, Yasui H, Arakaki N, Nagayama A, Ando T, Tanizaki S, Hokama Y, 2010. Relationship among local populations of the white grub beetle, *Dasylepida ishigakiensis* (Coleoptera: Scarabaeidae), detected by phylogenetic analysis based on the mitochondrial DNA sequence. *Appl. Entomol. Zool.*, 45(2):2289—2296.
- Ocampo FC, Hawks DC, 2006. Molecular phylogenetics and evolution of the food relocation behaviour of the dung beetle tribe Eucraniini (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae). *Invertebr. Syst.*, 20(5):557—570.
- Ocampo FC, Ruiz-Manzanos E, Marvaldi AE, 2010. Systematic revision, cladistics and biogeography of the genus *Neogutierrezia* Martínez (Coleoptera: Scarabaeidae) and its phylogenetic placement in Rutelinae based on structural alignment of 28S rDNA sequences. *Invertebr. Syst.*, 24(1):81—111.
- Ohta Y, Kobayashi N, Suzuki S, Kato T, Hori S, Yamauchi S, Katakura H, 2009. Evolution of flight-muscle polymorphism in the dung beetle *Phelotrupes laevistriatus* (Coleoptera: Geotrupidae): A phylogeographic analysis. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 102(5):826—834.
- Orsini L, Koivulehto H, Hanski I, 2007. Molecular evolution and radiation of dung beetles in Madagascar. *Cladistics*, 23(2):145—168.
- Pfenninger M, Nowak C, Kley C, Steinke D, Streit B, 2007. Utility of DNA taxonomy and barcoding for the inference of larval community structure in morphologically cryptic *Chironomus* (Diptera) species. *Mol. Ecol.*, 16(9):1957—1968.
- Piau O, Lumaret JP, De Stordeur E, 1999. Within and among population divergence levels in mtDNA of *Aphodius obsurus* and *A. immaturus* from France. *Ann. Soc. Entomol. Fr.*, 35(Suppl.):117—123.
- Piau O, Micó E, Galante E, Lumaret JP, 2003. Taxonomy of Iberian *Hoplia* (Col., Scarabaeoidea, Hopliinae) based on mtDNA analysis. *Mol. Phyl. Evol.*, 26(3):348—353.
- Price DL, 2009. Phylogeny and biogeography of the dung beetle genus *Phanaeus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Syst. Entomol.*, 34(1):137—150.
- Scholtz CH, Chown SL, 1995. The evolution of habitat use and diet in the Scarabaeoidea: a phylogenetic approach // Pakaluk J, Slipinski SA (eds.). *Biology, Phylogeny, and Classification of Coleoptera: Papers Celebrating the 80th Birthday of Roy A. Crowson* Muzeum i Instytut Zoologii PAN. Warszawa. 356—374.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87(6):651—701.
- Šípek P, Gill BD, Grebennikov VV, 2009. Afromontane *Coelocorynus* (Coleoptera: Scarabaeidae: Cetoniinae): Larval descriptions, biological notes and phylogenetic placement. *Eur. J. Entomol.*, 106:95—106.
- Smith ABT, 2006. A review of the family-group names for the superfamily Scarabaeoidea (Coleoptera) with corrections to nomenclature and a current classification. *Coleopt. Bull.*, 60(5):144—204.
- Smith ABT, Hawks DC, Heraty JM, 2006. An overview of the classification and evolution of the major scarab beetle clades (Coleoptera: Scarabaeoidea) based on preliminary molecular analyses. *Coleopt. Bull.*, 60(5):35—46.
- Sole CL, Scholtz CH, 2010. Did dung beetles arise in Africa? A phylogenetic hypothesis based on five gene regions. *Mol. Phyl. Evol.*, 56(2):631—641.
- Villalba S, Lobo JM, Martín-Piera M, Zardoya R, 2002. Phylogenetic relationships of Iberian dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae): insights on the evolution of

- nesting. *J. Mol. Evol.*, 55(1):116—126.
- Wirta H, 2009. Complex phylogeographical patterns, introgression and cryptic species in a lineage of Malagasy dung beetles. *Biol. J. Linn. Soc.*, 96(4):942—955.
- Wirta H, Orsini L, Hanski I, 2008. An old adaptive radiation of forest dung beetles in Madagascar. *Mol. Phyl. Evol.*, 47(3):1076—1089.
- Zhang DX, Hewitt GM, 1997. Insect mitochondrial control region: A review of its structure, evolution and usefulness in evolutionary studies. *Biochem. Syst. Ecol.*, 25(2):99—120.
- 白明, 杨星科, 2005. 金龟总科(Coleoptera:Scarabaeoidea)分类系统研究进展. 第五届生物多样性保护与利用高新科学技术国际研讨会论文集. 北京:科学技术出版社. 499—511.
- 白明, 杨星科, 2008. 粪食性金龟的行为及其适应演化. *昆虫知识*, 45(3):499—505.
- 白明, 杨星科, 2010. 蜣螂的生态价值和保护意义. *昆虫知识*, 47(1):39—46.
- 方红, 张治良, 王宇, 2000. 金龟子幼虫种类研究 IV. *沈阳农业大学学报*, 31(5):511—514.
- 何平, 2004. 金龟子总科部分种类线粒体 DNA 序列及分子系统学研究. 硕士学位论文. 陕西:陕西师范大学.
- 黄原, 1998. 分子系统学—原理, 方法及应用. 北京:中国农业出版社. 1—372.
- 葛斯琴, 薛怀君, 白明, 杨星科, 2008. 鞘翅目的系统发生及与捻翅目之间的进化关系. 六足动物(昆虫)系统发生的研究. 北京:科学出版社. 168.
- 林平, 1980. 丽金龟科一新属二新种. *动物分类学报*, 5(1):77—80.
- 刘殿锋, 蒋国芳, 2005. 基于 18S rDNA 的蝗总科分子系统发育关系研究及分类系统探讨. *昆虫学报*, 48(2):232—241.
- 刘广瑞, 章有为, 王瑞, 1997. 中国北方常见金龟子彩色图鉴. 北京:中国林业出版社. 1—5.
- 马文珍, 1990. 中国莫花金龟属新种记述(鞘翅目:金龟总科). *动物分类学报*, 15(3):90—95.
- 任国栋, 2003. 中国皮金龟科分类研究(鞘翅目:金龟总科). *昆虫分类学报*, 25(2):109—117.
- 任竹梅, 马恩波, 郭亚平, 2002. 蝗总科部分种类 Cyt b 基因序列及系统进化研究. *遗传学报*, 29(4):314—321.
- 孙娜, 郭晓华, 刘广纯, 2009. 金龟子部分种类 CO I 基因序列比较分析. *沈阳农业大学学报*, 40(6):688—692.
- 张芝利, 1983. 中国经济昆虫志(第二十八册):鞘翅目:金龟总科幼虫. 北京:科学出版社. 1—10.
- 中国科协学会学术部, 2010. DNA 条形码可以改变人类认知生物物种的方式吗? 新观点新学说学术沙龙文集 31. 北京:中国科学技术出版社. 73—74.