

文章编号: 1004-0374(2010)04-0307-06

DNA 条形码在鳞翅目昆虫中的应用

李青青¹, 李地艳^{1,2}, 段焰青³, 李加敏¹, 刘晓飞⁴, 曹能¹, 叶辉^{4*}

(1 云南师范大学生命科学学院, 昆明 650092; 2 四川农业大学动物科学技术学院, 雅安 625014;
3 红云红河烟草(集团)有限责任公司技术中心, 昆明 650202; 4 云南大学生命科学学院, 昆明 650091)

摘要: 2003年, Hebert等提出DNA条形码后, 快速而精确的特点使它在物种鉴定中得到了广泛的应用。鳞翅目是昆虫纲中第二大目, 其物种鉴定任务复杂而艰巨, 因此DNA条形码具有广阔的应用前景。该文主要针对DNA条形码概况以及近年来它在鳞翅目昆虫中的研究情况予以综述。

关键词: DNA条形码; 鳞翅目昆虫; 物种鉴定

中图分类号: Q969.420.9; Q969.42 **文献标识码:** A

Application of DNA barcoding in lepidopteran insects

LI Qing-qing¹, LI Di-yan^{1,2}, DUAN Yan-qing³, LI Jia-ming¹, LIU Xiao-fei⁴, CAO Neng¹, YE Hui^{4*}

(1 Life Science College, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China; 2 College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, China; 3 Technology Center, Hongyun Honghe Tobacco (Group) Co., Ltd., Kunming 650202, China; 4 Life Science College, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: The utility of DNA barcoding for fast and accurate species identification has been widely applied since Herbert et al. advocated in 2003. Lepidoptera is the second-most diverse order of insects and the task for the identification of Lepidopteran insects is difficult and complex. Therefore, DNA barcoding has been heralded as a major new tool for the identification of Lepidopteran insects. In this paper, DNA barcoding has been briefly summarized and studies using DNA barcoding in Lepidopteran insects have also been reviewed.

Key words: DNA barcoding; Lepidopteran insects; species identification

鳞翅目属有翅亚纲、全变态类, 是昆虫纲中仅次于鞘翅目的第二大目。全世界已知约180 000种, 是哺乳动物的30倍, 但尚有30万种鳞翅目昆虫有待我们去发现、描述和命名^[1], 因此其物种鉴定任务复杂而艰巨。近年来, DNA条形码为物种分类鉴定提供了新的研究方法和手段^[2]。本文主要针对DNA条形码概况以及近年来它在鳞翅目昆虫中的研究情况予以综述。

1 DNA条形码概述

快速而准确的物种鉴定是深入开展其行为学、生态学以及生理学等相关方面研究的必要前提和基础^[3]。多年来, 生物分类学家一直在寻找能够快速、准确对物种进行鉴定和分类的方法。传统的物种鉴定和分类主要依赖于分类学家花费大量时间和

精力整理积累后所描述的形态特征, 如物种外观或者解剖特征的认识。这种鉴定物种的方法存在较大的局限, 不仅费时费力, 而且常受主观因素干扰, 极易混淆出错^[4], 有些生物的形态学数据, 甚至是不可能获得的, 如腰鞭毛虫(Dinoflagellate)^[5]和硅藻^[6]等。

20世纪90年代, 随着分子生物学的迅速发展, 尤其是PCR技术的日趋完善, 越来越多的分子生物学技术应用于物种鉴定和分类, 但这些研究没有统一的分子标记, 因而适用范围极为有限。近年来, 基于分子鉴定, DNA条形码应运而生, 旨在形成

收稿日期: 2009-09-07; 修回日期: 2009-11-05

基金项目: 云南省自然科学基金项目(2006C0027Q)

*通讯作者 E-mail: yehui@ynu.edu.cn

一种快速、精确、可自动化以及全球通用的分类鉴定工具,以满足不同研究领域和行业对于物种鉴定的迫切需求。

DNA条形码,也称DNA条形编码,类似于超级市场商品包装上用于识别商品的粗细、间隔不同的黑白条纹图案,是利用线粒体细胞色素C氧化酶亚基I(cytochrome C oxidase I, COI)的前部长约650 bp序列作为标记来实现快速、准确和自动化地对物种进行鉴定和分类^[7](图1)。用鳞翅目天蛾科的烟草天蛾(*Manduca sexta*, NC_010266)线粒体基因组作为参照,DNA条形码对应其COI基因5'端1 521~2 179位的序列。DNA条形码最初由加拿大圭尔夫大学(University of Guelph)的动物学家Hebert等^[7]于2003年提出。他们比较分析了GenBank里包括节肢动物门(Arthropoda)、环节动物门(Annelida)等11门共13 320个物种的线粒体COI基因序列数据后,发现除刺胞动物门(Cnidaria)外,同属种COI序列的平均差异度为11.3%,而种内的COI序列平均差异度仅为2%。同属种COI序列的平均差异度最大的是环节动物门,为15.7%;最小的是刺胞动物门(Cnidaria),为1%,但后者只涉及17个物种。据此Hebert等提出用约650 bp的COI基因来区别物种,作为物种的条形码,为全球生物编码。DNA条形码的提出基于两个假设:一是每个物种必须具有自身惟一特定的DNA条形码。从理论上讲,长为650 bp序列就有 4^{650} 种组合编码方式,远远超过了地球上可能存在的物种数^[8]。二是物种间的遗传差异必须大于物种内遗传差异^[7, 9]。DNA条形码快速而精确的特点弥补了传统形态鉴定的诸多不足,使其广泛应用于动物分类鉴定^[2]。

2003年,DNA条形码问世后不久,加拿大圭尔夫大学的研究者们组织发起了生物条形编码计划(The Barcode of Life)。2004年,生物条形码协会

(Consortium for the Barcode of Life, CBOL)成立;同年,一个专门获取、储存、分析和发表DNA条形码记录的数据库——生物DNA条形码数据库(DNA Barcode of Life Data, BOLD, <http://www.boldsystems.org>)成立,并于2007年获得官方认可^[10]。2009年1月,加拿大的国际推进协会(International Consortium Initiative, ICI)启动了一项恢宏的计划——国际生物条形码计划(International Barcode of Life Project, iBOL),该计划预计5年内获得50万个物种的500万DNA条形码数据,旨在为全球物种构建一个DNA条形码序列资料库,以便实行快速简捷,经济实惠地物种鉴定。到2009年9月,BOLD中与条形码有关的序列已达683 205条,其中,可作为鉴定物种水平的DNA条形码,即每个物种有三个以上且序列长度不低于500 bp的序列为600 753条序列,涉及37 849种(<http://www.barcodinglife.org/>)。利用DNA条形码鉴定的物种98%来自动物界,其中昆虫占了65%,利用DNA条形码对昆虫进行物种鉴定研究较多的是鳞翅目,其他如双翅目^[11]、鞘翅目^[12]和膜翅目^[13]等昆虫也有研究。

2 DNA条形码在鳞翅目昆虫中的应用

鳞翅目是昆虫中利用DNA条形码研究最多的目,2003~2009年间在鳞翅目中开展过DNA条形码研究的类群见表1。鳞翅目DNA条形码协会(All-Leps Barcodes of Life,网站为<http://www.lepbarcoding.org>专为鳞翅目而建,目前已收录了7 490个鳞翅目物种的近75 703条条形码序列。

2003年,Hebert等^[14]首次分析了200个亲缘关系较近的鳞翅目昆虫长为658 bp的COI片段,结果表明COI片段能够100%成功地鉴别出这些鳞翅目昆虫。同年,Hebert等^[7]提出DNA条形码,涉及了882个鳞翅目昆虫,并推算出这些鳞翅目昆虫间遗



图1 DNA条形码的基本操作过程以鳞翅目昆虫为例

表1 2003~2009年鳞翅目DNA条形码研究类群

研究类群	分析样本数	片段长度(bp)	参考文献
Lepidoptera鳞翅目	882个样本	658	[7]
Geometridae尺蠖科等24个科	200个近缘物种	658	[14]
Tortricidae卷蛾科 <i>Xenothictisgnetivora</i>	124个样本	658	[15]
Hesperiidae弄蝶科	350种2640个样本	600	[16]
Hesperiidae弄蝶科	466个样本	658	[17]
Hesperiidae弄蝶科、Sphingidae天蛾科和Saturniidae大蛾科	521个种的4260个样本	600	[18]
Lymantriidae毒蛾科	20个种	617	[19]
Noctuidae夜蛾科 <i>Xylophanes libya</i>	33个样本	221和134	[20]
Gelechioidea麦蛾总科Elachistidae小潜蛾科	26个样本	705	[21]
Hesperiidae弄蝶科	215个样本	658	[22]
Tortricidae卷蛾科 <i>Homona mermerodes</i>	143000个样本	661	[23]
Hesperiidae弄蝶科	6种255个样本	510~658	[24]
Lepidoptera鳞翅目	188种	130	[25]
Papilioninae凤蝶科	34种89个样本	707	[26]
Papilionidae凤蝶科	12种	650	[27]
Crambidae草螟科 <i>Diatraea saccharalis</i>	1条序列	424	[1]
Pieridae粉蝶科 <i>Colias</i> 豆粉蝶属	11种	1502	[28]
Hesperiidae弄蝶科	489条序列	630~690	[29]
Saturniidae天蚕蛾科 <i>Cerodirphia</i> 属和 <i>Leucanella</i> 属	29个 <i>Leucanella</i> 属样本, 24个 <i>Cerodirphia</i> 属样本	658	[30]
Noctuidae夜蛾科 <i>Lithophane</i> 石冬夜蛾属	39种物种	658	[31]
Nymphalidae蛱蝶科 <i>Cymothoe caenis</i>	57个样本	658	[32]
Coleophoridae鞘蛾科 <i>Mompha</i> 属	201个样本	658	[33]
Saturniidae天蚕蛾科	9种	574	[34]

传差异为6.6%。2003年后, DNA条形码广泛用于鳞翅目昆虫中的分类和鉴定^[35], 尤其是种类最为丰富的热带鳞翅目昆虫^[9, 18]。Hajibabaei等^[18]研究了鳞翅目中三个科: 弄蝶科(Hesperiidae)、天蛾科(Sphingidae)和大蛾科(Saturniidae)的521个物种4260个样本, 结果显示97.9%的物种能够准确无误地被鉴定, 从而再次证明DNA条形码对于物种鉴定极为有效。

小蔗螟(sugarcane borer, *Diatraea saccharalis*)别称小蔗秆草螟, 是世界甘蔗的主要害虫, 我国将其列为进境二类检疫性有害生物。小蔗螟的分类地位一直争议不断, 基于COII和16S^[36]和CR^[37]均没有最终解决。2008年, Bravo等^[1]首次扩增了小蔗螟长为424 bp的COI片段后, 与13条秆草螟属(*Diatraea*)条形码序列、2条*Diatraea crambinoides*条形码序列和11条*Diatraea evanescens*条形码序列进行比对, 其结果表明, 小蔗螟条形码序列与草螟科(Crambidae)的条形码序列具有99%的同源性, 从而认为小蔗螟应归于草螟科。

Wheat和Watt^[28]利用长约3400 bp的COI和COII

基因对广布于北美的粉蝶科豆粉蝶(*Colias*butterflies)进行了系统发育研究, 发现低地(lowland)个体内系统树与前人报道不符, 并提出来自山区(montane)和北部的个体均可单独为一组。他们认为COI基因条形码在物种鉴定方面有所助益, 但在物种的系统发育关系研究中, 局限于基因片段长度太小, 并不能很好地解决很多物种间系统发育关系。

由于需要扩增出长为650 bp左右的序列片段, DNA条形码对样本要求较高, 多数情况下, 它主要用来分析近期采集的用低温或酒精保存的新鲜样本。对某些特殊的样本, 例如年代久远的博物馆样本(museum specimens), 研究人员往往无法获得长度为650 bp的完整序列^[38]。近年来, 在对年代久远的博物馆样本、DNA降解的残缺个体或样本碎片进行分类鉴定时, 研究人员更多地采用片段长度为200 bp左右的迷你条形码(mini-barcode)。2006年, Hajibabaei等^[20]对Noctuidae夜蛾科*Xylophanes libya*的两个隐存种(cryptic species)共33个保存时间为10~20年的博物馆样本进行长为134 bp和221 bp的

迷你条形码以及长为658 bp的条形码数据对比,其结果显示,基于三种不同长度的条形码数据所构建的NJ树(neighbor-joining)极为相似。2008年,Meusnier等^[25]对真菌(Fungi)、原生生物(Protist)、植物(Plant)、哺乳动物(Mammals)以及昆虫(Insect)等10大类生物的1587个物种的6695条序列进行了650 bp和130 bp对比分析,其中鳞翅目有188条序列。基于采自1871~1944年间的18种鞘蛾属(*Coleophora*)博物馆昆虫样本的130 bp迷你条形码序列,他们用Kimura双参数遗传距离构建了NJ树,其结果表明,与基于长为650 bp的条形码结果一致,长仅为130 bp的迷你条形码同样可以将这些年代久远的博物馆样本区别鉴定出来;但是,无论从理论上还是实际中,迷你条形码都备受争议,物种鉴定要求的特征片段越小,那么对这个片段的精度要求就越高^[39]。而长度仅为200 bp左右的片段是不可能精确地代表整个基因组的遗传变异情况,因此,依靠如此短的DNA序列片段来鉴定和界定一个物种是极其危险的^[39]。

获取物种的DNA条形码后,如何处理和解读其包含的信息是DNA条形码必须面临的问题^[40]。目前研究者们多采取物种聚类分析(species affiliation),具体包括两个方法,一种是从网上数据库中直接进行简单的BLAST搜索^[41, 42];另一种是基于物种间遗传距离构建分子系统树^[7, 14, 43]。这些方法在序列转换为遗传距离时会不可避免地丢失一些有用信息,最终导致误差,甚至产生与传统形态学数据相反的结果^[40, 44]。BP(back propagation)神经网络是一种神经网络学习算法,全称基于误差反向传递算法的人工神经网络,简称BP网络,是目前应用最广、通用性最好的能用于分类、模式识别和函数逼近的网络。Zhang等^[29]将BP网络与DNA条形码结合起来,创建了BP物种鉴定(BP-based species identification),并用这个方法对东亚步甲和哥斯达黎加森林中的弄蝶进行了物种鉴定,其结果表明,80条未知步甲序列中可明确鉴定出97.5%;275条、205条和9条未知弄蝶序列中分别鉴定出95.63%、96.10%和100%。同时,他们还指出,物种鉴定的准确度取决于序列差异、序列长度和参照序列数目。

国内的研究工作主要包括濮佳明等^[34]首次扩增了长为574 bp的COI基因对柳蚕(*Actias selene*)种质资源进行分子鉴定。与GenBank数据库中已登录的大蚕蛾科绢丝昆虫的序列相比,其序列平均差异程

度达到13.6%,表明该序列可以作为DNA条形码用于柳蚕种质资源的分子鉴定,其鉴定结果与传统形态分类及其他分子结论完全吻合。

3 展望

DNA条形码开启了物种分类鉴定的新时代,它的显著特点是可以及时快速获得分子数据,极大地简化了物种分类和鉴定工作^[45]。自2003年面世至今,DNA条形码已成为一种物种鉴定的“权威工具”(tremendous tool^[2, 46])。尤其是某些研究涉及样品量较大时,如“克雷格·文特全球海洋取样考察计划”(Craig Venter's Global Ocean Sampling Team)^[47],DNA条形码更能发挥其快速简捷、成本低廉的特性。

但目前DNA条形码也有一些争议,有些分类学家认为DNA条形码作为物种分类鉴定依据时其分子数据权重过大^[48],片段单一^[39, 49],以及受限于数据库中参照序列的多少^[50, 51]等。另外,核基因组中的线粒体假基因(nuclear mitochondrial DNA segment, numt序列)^[52]和共生菌,如*Wolbachia*^[53, 54]的存在也会成为PCR扩增线粒体DNA的不利因素。

尽管如此,DNA条形码仍不失为一种极为有效的昆虫物种鉴定工具^[1, 55],但很多学者建议适当增加和补充一些其他基因序列信息也很必要,如*ITS2*^[11]、*rRNA*^[6, 56]、*cytb*^[57]以及*EF-1 α* 和*wingless*^[58]等。另外,来自形态学和生态学方面的数据的验证和支持也极为重要。因此,集形态、分子及生态数据为一体的综合学科分类法(amultidisciplinary approach to taxonomy)将会使昆虫未来物种鉴定更为科学和准确^[6, 11, 57, 59]。

[参 考 文 献]

- [1] Bravo JP, Silva JL, Munhoz RE, et al. DNA barcode information for the sugar cane moth borer *Diatraea saccharalis*. Genet Mol Res, 2008, 7: 741-8
- [2] Frézal L, Leblois R. Four years of DNA barcoding: current advances and prospects. Infect Genet Evol, 2008, 8: 727-36
- [3] Dayrat B. Towards integrative taxonomy. Biol J Linn Soc, 2005, 85: 407-15
- [4] Schindel DE, Miller SE. DNA barcoding a useful tool for taxonomists. Nature, 2005, 435: 17
- [5] Litaker RW, Vandersea MW, Kibler SR, et al. Recognizing dinoflagellate species using ITS rDNA sequences. J Phycol, 2007, 43: 344-55
- [6] Evans KM, Wortley AH, Mann DG. An assessment of potential diatom "barcode" genes (*cox1*, *rbcl*, 18S and ITS rDNA) and their effectiveness in determining relationships in *Seiellaphora* (Bacillariophyta). Protist, 2007, 158: 349-64

- [7] Hebert PDN, Ratnasingham S, deWaard JR. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit I divergences among closely related species. *Proc R Soc Lond B*, 2003, 270: S96-9
- [8] Wilson OE. The encyclopedia of life. *Trends Ecol Evol*, 2003, 18: 77-80
- [9] Hebert PDN, Penton EH, Burns JM, et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 14812-7
- [10] Ratnasingham S, Hebert PDN. BOLD: the barcode of life data system. *Mol Ecol Notes*, 2007, 7: 355-64
- [11] Nelson LA, Wallman JF, Dowton M. Using COI barcodes to identify forensically and medically important blowflies. *Med Vet Entomol*, 2007, 21: 44-52
- [12] Monaghan MT, Balke M, Gregory TR, et al. DNA-based species delineation in tropical beetles using mitochondrial and nuclear markers. *Philos Trans R Soc Lond B: Biol sci*, 2005, 360: 1925-33
- [13] Fisher BL, Smith MA. A revision of Malagasy species of *Anochetus mayr* and *Odontomachus latreille* (Hymenoptera: Formicidae). *PLoS ONE*, 2008, 3: e1787
- [14] Hebert PDN, Cywinska A, Ball S, et al. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc R Soc Lond B*, 2003, 270: 313-21
- [15] Brown JW, Miller SE, Horak M. Studies on new guinea moths. 2. description of a new species of *Xenothictismeyrick* (Lepidoptera: Tortricidae: Archipini). *Proc Entomol Soc Wash*, 2003, 105: 1043-50
- [16] Janzen DH, Hajibabaei M, Burns JM, et al. Wedding biodiversity inventory of a large and complex Lepidoptera fauna with DNA barcoding. *Philos Trans R Soc B*, 2005, 360: 1835-45
- [17] Brower AVZ. Problems with DNA barcodes for species delimitation: "tenspecies" of *Astraptes fulgerator* reassessed (Lepidoptera: HesperIIDae). *Syst Biodiv*, 2006, 4: 127-32
- [18] Hajibabaei M, Janzen DH, Burns JM, et al. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 968-71
- [19] Ball SL, Armstrong KF. DNA barcodes for insect pest identification: a test case with tussock moths (Lepidoptera: *Lymantriidae*). *Can J For Res*, 2006, 36: 337-50
- [20] Hajibabaei M, SMITH MA, Janzen DH, et al. A minimalist barcode can identify a specimen whose DNA is degraded. *Mol Ecol Notes*, 2006c, 6: 959-64
- [21] Kaila L, Stahls G. DNA barcodes: evaluating the potential of COI to differentiate closely related species of *Elachista* (Lepidoptera: Gelechioidea: Elachistidae) from Australia. *Zootaxa*, 2006, 1170: 1-26
- [22] Burns JM, Janzen DH, Hajibabaei M, et al. DNA barcodes of closely related (but morphologically and ecologically distinct) species of skipper butterflies (HesperIIDae) can differ by only one to three nucleotides. *J Lepidopterists Soc*, 2007, 61: 138-53
- [23] Hulcr J, Miller SE, Setliff GP, et al. DNA barcoding confirms polyphagy in a generalist moth, *Homona mermerodes* (Lepidoptera: Tortricidae). *Mol Ecol Notes*, 2007, 7: 549-57
- [24] Burns JM, Janzen DH, Hajibabaei M, et al. DNA barcodes and cryptic species of skipper butterflies in the genus *Perichares* in Area de Conservacion Guanacaste, Costa Rica. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 6350-5
- [25] Meusnier I, Singer GAC, Landry JF, et al. A universal DNA mini-barcode for biodiversity analysis. *BMC Genomics*, 2008, 9: 214
- [26] Tsao W, Yeh W. DNA-based discrimination of subspecies of swallowtail butterflies (Lepidoptera: Papilioninae) from Taiwan. *Zool Stud*, 2008, 47: 633-43
- [27] Silva-Brandão KL, Azeredo-Espin AML, Freitas AVL. New evidence on the systematic and phylogenetic position of *Parides burcheIIanus* (Lepidoptera: Papilionidae). *Mol Ecol Resour*, 2008, 8: 502-11
- [28] Wheat CW, Watt WB. A mitochondrial-DNA-based phylogeny for some evolutionary-genetic model species of *Colias* butterflies (Lepidoptera, Pieridae). *Mol Phylogenet Evol*, 2008, 47: 893-902
- [29] Zhang AB, Sikes DS, Muster C, et al. Inferring species membership using DNA sequences with back-propagation neural networks. *Syst Biol*, 2008, 57: 202-15
- [30] Decaëns T, Rougerie R. Descriptions of two new species of Hemileucinae (Lepidoptera: Saturniidae) from the region of Muzo in Colombia - evidence from morphology and DNA barcodes. *Zootaxa*, 2008, 1944: 34-52
- [31] Brou Jr VA, Lafontaine JD. A new species of *Lithophane* Hbn. (Lepidoptera: Noctuidae: Xyleninae) from southeastern United States. *ZooKeys*, 2009, 9: 11-20
- [32] Velzen RV, Larsen TB, Bakker FT. A new hidden species of the *Cymothoe caenis-complex* (Lepidoptera: Nymphalidae) from western Africa. *Zootaxa*, 2009, 2197: 53-63
- [33] Emery VJ, Landry JF, Eckert CG. Combining DNA barcoding and morphological analysis to identify specialist floral parasites (Lepidoptera: Coleophoridae: Momphinae: *Mompha*). *Mol Ecol Resour*, 2009, 9: 217-23
- [34] 濮佳明, 武松, 霍锡敏, 等. 珍稀绢丝昆虫柳蚕的DNA条形码编码与系统进化初步分析. *蚕业科学*, 2009, 35: 154-9
- [35] 李青青, 段焰青, 李佛琳, 等. 线粒体基因在鳞翅目昆虫分子系统学中的研究进展. *昆虫知识*, 2009, 46: 372-82
- [36] Lange CL, Scott KD, Graham GC, et al. Sugarcane moth borers (Lepidoptera: Noctuidae and Pyraloidea): phylogenetics constructed using COII and 16S mitochondrial partial gene sequences. *Bull Entomol Res*, 2004, 94: 457-64
- [37] Bravo JP, Felipes J, Zanatta DB, et al. Sequence and analysis of the mitochondrial DNA control region in the sugarcane borer *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Braz Arch Biol Technol*, 2008, 51: 671-7
- [38] Hajibabaei M, deWaard JR, Ivanova NV, et al. Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. *Phil Trans R Soc Lond B: Biol Sci*, 2005, 360: 1959-67
- [39] Roe AD, Sperling FAH. Patterns of evolution of mitochondrial cytochrome c oxidase I and II DNA and implications for DNA barcoding. *Mol Phylogenet Evol*, 2007, 44: 325-45
- [40] DeSalle R, Egan MG, Siddall M. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding. *Phil Trans R Soc Lond B: Biol Sci*, 2005, 360: 1905-16

- [41] Altschul SF, Gish W, Miller W, et al. Basic local alignment search tool. *J Mol Evol*, 1990, 215: 403-10
- [42] Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25: 3389-402
- [43] Steinke D, Vences M, Salzburger W, et al. TaxI: a software tool for DNA barcoding using distance methods. *Philos Trans R Soc Lond B; Biol Sci*, 2005, 360: 1975-80
- [44] Koski LB, Golding GB. The closest BLAST hit is often not the nearest neighbor. *J Mol Evol*, 2001, 52: 540-2
- [45] DeSalle R. Species discovery versus species identification in DNA barcoding efforts: response to Rubinoff. *Cons Biol*, 2006, 20: 1545-7
- [46] Rubinoff D, Holland BS. Between two extremes: mitochondrial DNA is neither the panacea nor the nemesis of phylogenetic and taxonomic inference. *Syst Biol*, 2005, 54: 952-61
- [47] Rusch DB, Halpern AL, Sutton G, et al. The Sorcerer II Global Ocean Sampling expedition: northwest Atlantic through eastern tropical Pacific. *PLoS Biol*, 2007, 5: 398-431
- [48] Will KW, Mishler BD, Wheeler QD. The perils of DNA barcoding and need for integrative taxonomy. *Syst Biol*, 2005, 54: 844-51
- [49] Elias M, Hill RI, Willmott KR, et al. Limited performance of DNA barcoding in a diverse community of tropical butterflies. *Proc Biol Sci*, 2007, 274: 2881-9
- [50] Cameron S, Rubinoff D, Will KW. Who will actually use DNA barcoding and what will it cost? *Syst Biol*, 2006, 55: 844-7
- [51] Ekrem T, Willassen E, Stur E. A comprehensive DNA sequence library is essential for identification with DNA barcodes. *Mol Phylogenet Evol*, 2007, 43: 530-42
- [52] Bensasson D, Zhang DX, Hartl DL, et al. Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses. *Trends Ecol Evol*, 2001, 16: 314-21
- [53] Whitworth TL, Dawson RD, Magalon H, et al. DNA barcoding cannot reliably identify species of the blowfly genus *Protophila* (Diptera: Calliphoridae). *Proc R Soc B*, 2007, 274: 1731-9
- [54] Charlat S, Duplouy A, Hornett EA, et al. The joint evolutionary histories of *Wolbachia* and mitochondria in *Hypolimnas bolina*. *BMC Evol Biol*, 2009, 9: 64
- [55] Miller SE. DNA barcoding and the renaissance of taxonomy. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 4775-6
- [56] Blaxter M, Mann J, Chapman T, et al. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2005, 360: 1935-43
- [57] Teletchea F, Bernillon J, Duffrais M, et al. Molecular identification of vertebrate species by oligonucleotide microarray in food and forensic samples. *J Appl Ecol*, 2008, 45: 967-75
- [58] Linares MC, Soto-Calderón ID, Lees DC, et al. High mitochondrial diversity in geographically widespread butterflies of Madagascar: a test of the DNA barcoding approach. *Mol Phylogenet Evol*, 2009, 50: 485-95
- [59] Wahlberg N, Braby MF, Brower AV, et al. Synergistic effects of combining morphological and molecular data in resolving the phylogeny of butterflies and skippers. *Proc Biol Sci*, 2005, 272: 1577-86

更正启事:

本刊 2010 年第三期第 278 页“肾脏免疫区室化与肾小管间质损伤”一文的“基金项目: 国家自然科学基金项目(02ZB14041; 034119916)”更改为“基金项目: 国家自然科学基金项目(39970340; 30570865; 30770999); 上海市自然科学基金项目(02ZB14041; 034119916)”