

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2025.09.009

杜青青, 付凤洋, 贾丰繁, 等. 大头金蝇的形态及分子鉴定方法 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2025, 47(9): 89-99.

大头金蝇的形态及分子鉴定方法

杜青青, 付凤洋, 贾丰繁, 陈斌

重庆师范大学 生命科学学院/昆虫与分子生物学研究所/媒介生物控制与利用重庆市重点实验室, 重庆 401331

摘要: 鉴于大头金蝇(*Chrysomya megacephala*)及其幼虫在法医昆虫学领域的关键应用价值, 构建该物种各发育阶段的形态学及分子生物学鉴定体系具有重要意义。通过采集样本、实验室人工繁殖、持续观察记录, 并结合 DNA 条形码技术进行物种鉴定。利用显微成像技术详细记录卵、幼虫、蛹、成虫各阶段的形态学特征并完成形态鉴定。从单头雌性成虫个体中提取全基因组 DNA, 采用蝇类特异性引物扩增线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I (cytochrome c oxidase subunit I, *COI*) 基因以及 16S 核糖体脱氧核糖核酸 (ribosomal deoxyribonucleic acid, *rDNA*) 基因片段进行测序, 将所得序列提交至 NCBI 数据库进行 BLAST 同源比对, 筛选高匹配度序列构建系统发育树并计算遗传距离, 完成分子层面的物种鉴定。经形态学特征与分子生物学特征的综合鉴定分析, 确认目标物种为大头金蝇 (*Chrysomya megacephala*)。结果表明: *COI* 和 16S *rDNA* 基因序列均能有效区分该物种与其他近缘蝇类, 具备显著的种属鉴别能力。

关键词: 大头金蝇; 细胞色素 c 氧化酶亚基 I; 16S 核糖体脱氧核糖核酸; 形态鉴定; 分子鉴定

中图分类号: Q969.453.2

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2025)09-0089-11

Morphological and Molecular Identification Methods for *Chrysomya megacephala*

DU Qingqing, FU Fengyang, JIA Fengfan, CHEN Bin

College of Life Sciences, Chongqing Normal University / Institute of Entomology and Molecular Biology /
Chongqing Key Laboratory of Vector Pest Control and Utilization, Chongqing 401331, China

收稿日期: 2025-05-13

基金项目: 重庆市技术创新与应用发展专项重点项目 (CSTB2024TIAD-KPX0085); 重庆市教育委员会科学技术研究项目 (KJZD-M202100502); 国家自然科学基金项目 (31672363, 31872262)

作者简介: 杜青青, 硕士研究生, 主要从事蝇种分类研究。

通信作者: 陈斌, 二级教授, 博士研究生导师。

Abstract: *Chrysomya megacephala* and its larvae are of significant importance in forensic entomology investigations. Establishing morphological and molecular identification system for each developmental stage of *C. megacephala* is crucial. Species identification was conducted by collecting specimens, artificial propagation in the laboratory, continuous observation and recording, and DNA barcoding technology. Morphological characteristics of eggs, larvae, pupae, and adults were photographed and recorded under a microscope for morphological identification. Genomic DNA was extracted from a single female adult, and mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (*COI*) and 16S ribosomal DNA (*rDNA*) genes were amplified using fly-specific primers and sequenced. The obtained sequences were submitted to the NCBI database for BLAST homology comparison. Closely related sequences were downloaded to construct phylogenetic trees and calculate genetic distances for molecular identification. Morphological and molecular analyses confirmed that the target species was *C. megacephala*. The results showed that both *COI* and 16S *rDNA* gene sequences could effectively distinguish this species and other related flies, and can be used for species and genus discrimination.

Key words: *Chrysomya megacephala*; cytochrome c oxidase subunit I; 16S ribosomal DNA; morphological identification; molecular identification

大头金蝇 (*Chrysomya megacephala*) 隶属于双翅目 (Diptera)、丽蝇科 (Calliphoridae)、伏蝇亚科 (Phormiinae)、金蝇属 (*Chrysomya*) 昆虫^[1]。在法医学领域, 双翅目丽蝇科昆虫因幼虫具有典型的尸食性特征, 且常作为尸体上的首现昆虫类群, 其发育规律对死亡时间推断具有关键价值, 已成为刑事侦查中判定死亡时间、案发地点及死因的重要生物证据^[2]。目前, 蝇类成虫的形态学鉴定主要依赖体视显微镜或放大镜下的特征观察, 包括翅脉结构、鬃毛分布、触角形态与色泽、体表斑纹及尾器特征等^[3-4]。例如, Nihei 等^[5]对全球常见蝇科 (Muscidae) 昆虫开展了分属研究; Vairo 等^[6]针对巴西南部地区 10 属 22 种麻蝇科 (Sarcophagidae) 昆虫建立了形态学鉴别体系。上述研究表明在鉴定蝇种上主要依赖雄性成虫尾器特征。针对嗜尸性蝇类幼虫的分类, 则主要依靠口咽器形态、气门结构等关键特征, 同时结合体节棘刺排列模式、腹节锥状突起及体表微结构 (微棘、微毛、微疣) 等辅助特征^[7]。然而, 形态学方法在丽蝇种类鉴定中存在显著的局限性, 特别是幼虫阶段因形态差异微小而难以准确鉴别。自 1994 年 Sperling 等^[8]首次将 DNA 技术引入嗜尸性昆虫鉴定领域后, 分子生物学方法逐渐成为形态学鉴定的重要补充手段^[9]。目前, 线粒体基因 (如 *COI*、*COII*) 是最常用的分子标记。例如, Wallman 等^[10]通过分析南澳大利亚蝇种的 *mtDNA* 序列, 证实了分子标记的有效性; Vincent 等^[11]对欧洲蝇种的 *COI* 序列研究也显示该标记具备种间区分能力; 蔡继峰等^[12-13]利用 *COI*、*COII* 基因建立了全国多地区嗜尸性蝇类的分子鉴别体系; 王江峰等^[14]进一步通过 *COI* 基因成功区分了西安、广州、中山 3 地的 5 种近缘蝇种。值得注意的是, 对于丝光绿蝇 (*Lucilia seri-cata*) 和铜绿蝇 (*Lucilia cuprina*) 等近缘种, 由于自然界存在杂交现象^[15], 仅依靠 *COI*、*COII* 片段可能无法实现有效鉴定。为此, 研究人员尝试引入其他分子标记, 包括核糖体 RNA (如 28S rRNA、16S rRNA)^[16-19]、第二内转录间隔区 (ITS2)^[20] 以及线粒体基因 (如 *ND1*、*ND5*)^[21-22] 等。尽管这些标记各有优劣, 但

均未能完全替代传统的 *COI*、*COII* 组合。近年来, 随着高通量测序技术的发展, 分子鉴定方法在嗜尸性蝇类研究中得到更广泛的应用, 尤其在近缘种区分中展现出优势, 但较高的检测成本仍是实际应用的主要限制因素^[23]。在这些方法中, 以 DNA 测序为基础的分子分类方法由于通过分子差异去探究不同蝇种(特别是亲缘关系较近的蝇种)之间的差别, 精确程度较高, 因而得到了广泛运用^[24-25]。然而, 由于大头金蝇分子标准不一致, 为该蝇种的分子分类工作带来了极大的困难。

本研究在室内对蝇类进行饲养, 同时细致观察并记录其各个生长阶段的形态特征。在此基础上, 借助线粒体细胞色素 c 氧化酶亚基 I(cytochrome c oxidase subunit I, *COI*)和 16S 核糖体脱氧核糖核酸(ribosomal deoxyribonucleic acid, *rDNA*)的基因片段序列, 对实验室中的蝇类开展分子层面的种属鉴定, 明确该种为大头金蝇(*Chrysomya megacephala*), 达到了准确鉴定大头金蝇的目的。

1 材料与方法

1.1 试虫采集

研究样本由重庆师范大学媒介昆虫重点实验室从重庆市沙坪坝区歌乐山国家森林公园垃圾堆放点采集, 后续已完成前期驯化、饲养多代呈现稳定性状的蝇虫。

1.2 形态鉴定

将昆虫经实验室饲养, 所得到的卵(100 粒)、幼虫(1 龄、2 龄、3 龄各 50 条)、蛹(50 只)、成虫(雌、雄各 25 只)分别制作成标本, 采用 KEYENCE-VHX-5000 超景拍照系统(日本, 基恩士)拍照, 并采用 OLYMPUS SZ61 昆虫解剖镜进行观察。

1.3 分子鉴定

1.3.1 DNA 提取

根据通用型柱式基因组提取试剂盒说明提取 DNA, 将所得的 DNA 样本放在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存, 以备后续使用。

1.3.2 PCR 扩增与测序

PCR 扩增引物信息如表 1 所示。参照表 1 文献中的引物序列合成引物, 扩增 *COI*、16S *rDNA* 基因序列。

表 1 PCR 扩增引物信息

引物	引物序列(5'-3')	参考文献
<i>COI</i> C1-J-2495-F	5'-CAGCTACTTTATGAGCTTTAGG-3'	Sperling 等 ^[8]
<i>COI</i> C1-N-2800-R	5'-CATTTC AAGCTGTGTAAGCATC-3'	
16S <i>rDNA</i> Chme-F	5'-CGCTGTTATCCCTAAGGTAA-3'	石坚等 ^[18]
16S <i>rDNA</i> Chme-R	5'-CTGGTATGAAAGGTTTGACG-3'	

PCR 反应体系(50 μL): 模板 DNA 1 μL , 正反引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 2 μL , 2X San Taq PCR Mix 25 μL , Sterilized ddH₂O 补充到 50 μL 。PCR 反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 20 s, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s; 35 个循环后, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。PCR 扩增完成后, 取 1 μL 扩增产物进

行 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 将凝胶板置于紫外灯下观察, 并利用凝胶成像系统进行拍照分析。扩增产物由北京擎科生物科技股份有限公司测序。

1.3.3 数据分析

将获得的 *COI* 和 16S *rDNA* 碱基序列片段通过 DNAMAN 9.0 软件进行拼接处理, 并各截取 250 bp 和 278 bp 长度的核酸序列。将获取的 *COI* 和 16S *rDNA* 碱基序列片段提交至 BLAST 平台(网址: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), 并上传至 GenBank 数据库完成登录注册, 进而获得序列登录号。借助 MEGA 11.0 软件内置的 ClustalW 工具执行序列比对操作, 采用 Kimura 2-parameter 模型来计算遗传距离, 并通过 Bootstrap 检验方法进行验证, 设置 1 000 次重复抽样^[26]。借助 PhyloSuite V 1.2 软件整合样品序列与下载序列, 构建序列矩阵, 通过 MAFFT(Multiple Alignment using Fast Fourier Transform)序列比对工具进行矩阵序列的排列对齐, 并结合 BioEdit 进行人工微调, 随后采用最大似然法(Maximum Likelihood)和贝叶斯法(Bayesian Inference)构建系统发育树。在最大似然法构建系统发育树过程中, 通过 IQ-TREE 筛选出最优模型 TIM2+R5+F, 并基于 1 000 次重复序列, 采用逐步添加法计算分支支持值^[27]。对于贝叶斯法构建系统发育树, 采用 MrBayes 软件筛选出最佳适配模型 GTR+I+G4+F, 设置双链并行运算, 每条链独立生成随机树, 共运行 200 万代, 每 100 代进行抽样^[28], 最终确保平均标准偏差值(ASDSF)低于 0.01 的收敛标准。

2 结果与分析

2.1 各阶段形态特征鉴定

2.1.1 卵

利用配制的饲料吸引蝇虫进行产卵。实验室培养的卵为乳白色, 呈椭圆形米粒状, 100 粒卵的长度均在 1~1.5 mm 范围, 宽度在 0.25~0.35 mm 范围(图 1)。在实验室环境中, 当温度控制在 30 ℃, 光照条件为 12 L(光亮): 12 D(黑暗), 湿度保持在 70% 时, 卵期约 13 h。卵孔位于卵一端, 呈圆形。

2.1.2 幼虫

幼虫呈蠕虫状, 体色介于淡黄色与乳白色之间, 体表光滑, 身体近透明, 消化道清晰可见, 虫体有 12 节, 前尖后粗。在第二节段和第三节段之间观察到前螺旋瓣, 有 10~12 个螺旋瓣分支和孔, 幼虫第三节的刺呈单尖排列(图 2a)。在腹面终末节的水平面上有两个棕色圆形区域是后气门。幼虫尾节的边缘被突起包围, 称为结节。不同的幼虫期通过后气孔裂口数量来确定, 分为 3 龄。

1 龄期幼虫体壁极薄, 通体透明, 50 条幼虫平均体长约为 3 mm。头咽部骨架发育未完全, 呈浅黄色半透明状, 口钩细长且呈特征性“7”字形弯曲, 基部狭长, 无附属骨片结构。呼吸器官未发育, 无前气门, 仅见极小后气门单裂结构(图 2b)。在 30 ℃, 12 L: 12 D 光照周期及 70% 湿度条件下, 该龄期持续约 23 h。

2 龄期幼虫体壁增厚至半透明, 50 条幼虫体长均增至 4~6 mm(图 2c), 头咽部骨架几乎完整呈不规则“H”形, 在不完整的周膜上有色素沉着, 口钩增粗并形成“C”形弯曲。呼吸器官开始分化, 前

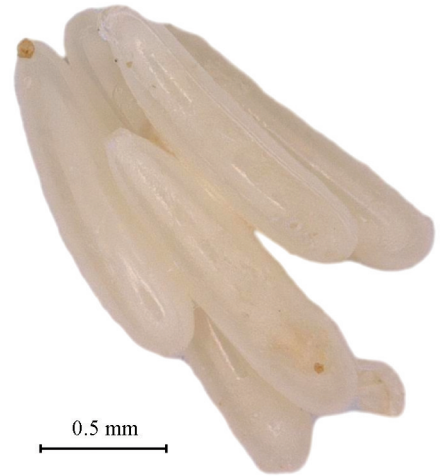


图 1 卵

气门出现淡黄色细长色素管(图 2d)。后气门扩大为双裂结构(图 2e), 龄期后期可见腹缘气门环开口。该龄期持续约 53 h。

3 龄幼虫进入预蛹阶段, 体色转为黄白, 体壁高度几丁质化接近不透明, 长度达到最大值, 50 条幼虫平均体长约为 9 mm(图 2f), 虫体前端较细, 头咽部骨架结实, 背角比腹角长, 附口骨点状出现, 口钩退化为倒“L”形, 基部矩形扩展并出现腹角突(图 2g)。呼吸器官完全成熟, 前气门具 11 个指状突起且色素沉积加深(图 2h)。后气门显著增宽呈三裂结构, 下方伴生凹陷区(图 2i)。该龄期最长持续 72 h, 后期幼虫停止进食, 呈现扩散行为并寻找化蛹场所。

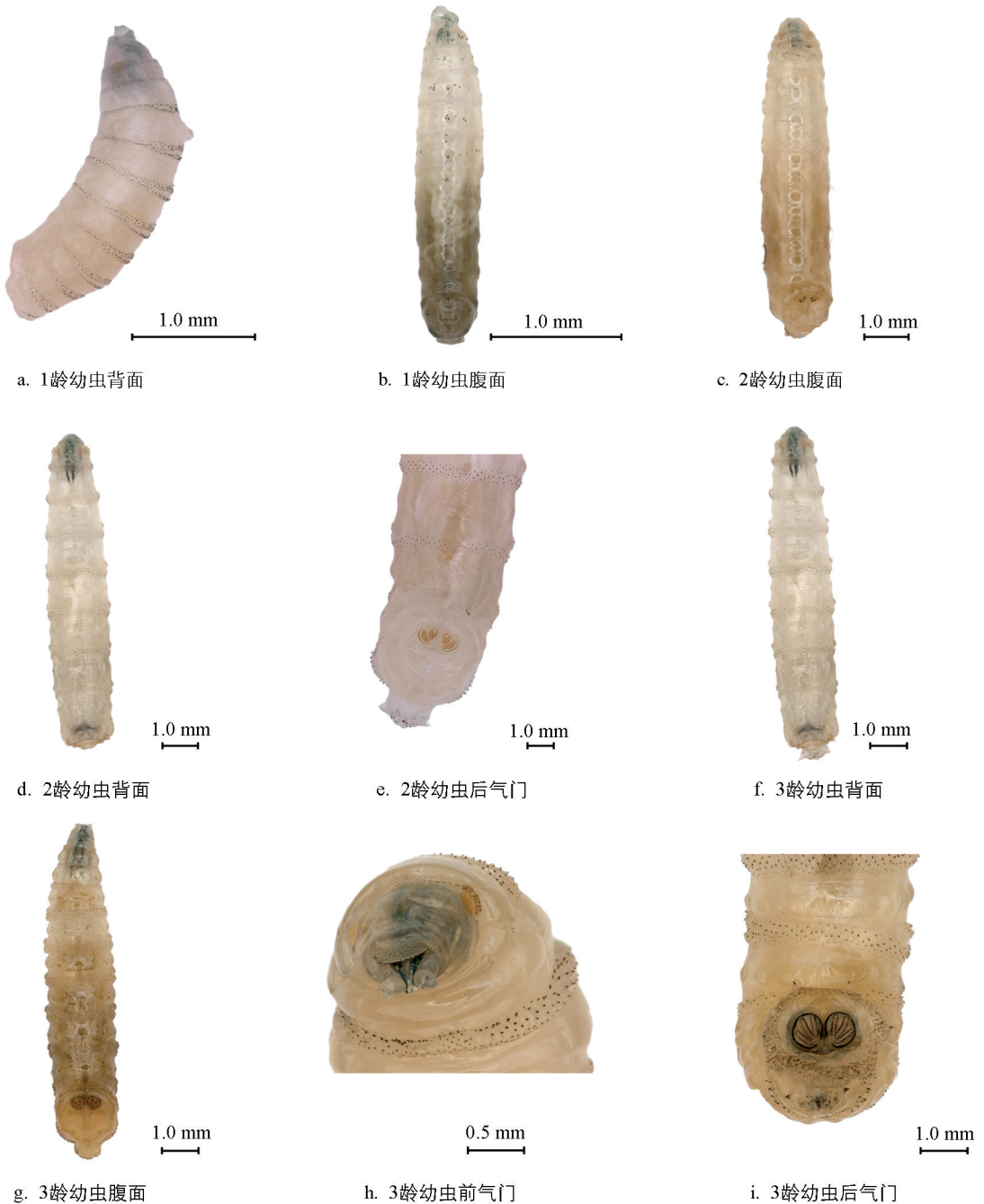


图 2 幼虫

2.1.3 蛹

该物种蛹属围蛹类型, 体呈纺锤形, 50 只蛹长度在 (8 ± 1) mm 范围, 宽度在 (3 ± 0.5) mm 范围。蛹的颜色随着蛹的发育逐渐加深, 由乳白色(早期蛹)变为淡黄褐色, 最后变为黑褐色(图 3a)。呼吸器官形成粗短的牛角状呼吸角, 后气门孔缘呈卵形, 包裹典型的三裂式气门结构(图 3b)。蛹期持续 4 d, 占整个未成熟发育阶段的 50%, 是大头金蝇完成变态发育的关键节点。

2.1.4 成虫

成虫属于中型类群, 50 只成虫体长均在 9~10 mm 范围, 体呈金属绿色, 具强光泽。头部可自由转动, 口器为典型舔吸式, 口器周围鬃毛丛发达。颊部呈现出杏黄至橙色的渐变色调, 颊毛呈黄色。胸部具铜绿金属光泽, 前盾片覆薄层灰白色毛, 侧片覆黑毛, 后小盾片退化。腹部呈蓝绿铜色, 各背板(除第 5 节)具紫黑后缘带, 第 1 腹板具黄毛, 其余腹板及背板侧缘呈现出黄黑毛混生足基节紧密排列, 后基节与触角密布刚毛。翅膜透明, 翅脉及腋瓣呈棕色调(图 3c, 雄蝇)。

性别二态性特征显著: 雄性复眼具大小眼面分区(上部 2/3 大型眼面与下部 1/3 小型眼面分界清晰)(图 3d), 第 5 腹节后缘具裂口, 尾毛显著长于雌性; 雌性额区在眼前缘处内凹(图 3e, 雌蝇), 复眼间距较宽(图 3f), 产卵器呈套筒状伸缩结构。

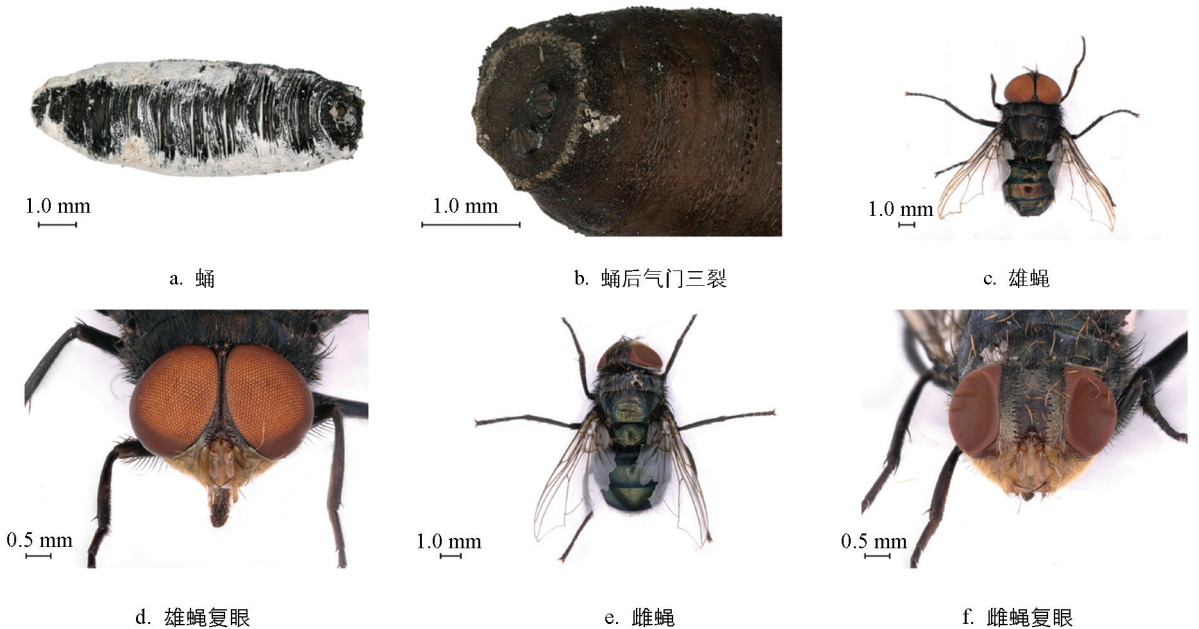


图 3 蛹和成虫

2.2 分子鉴定和系统发育

2.2.1 电泳检测结果

将实验室待鉴定蝇种的 DNA 提取后, 使用核酸检测仪测得蝇种胸部 DNA 体积质量比为 $132.666 \text{ ng}/\mu\text{L}$, 腿部 DNA 体积质量比为 $17.08 \text{ ng}/\mu\text{L}$ 。经 PCR 扩增, 扩增产物通过琼脂凝胶电泳可见两条条带, 分别为该物种的 *COI* 和 *16S rDNA* 扩增条带。

2.2.2 碱基位点分析

PCR 扩增蝇种 *COI* 基因和 *16S rDNA* 基因经测序, 获得 *COI* 基因片段序列为 278 bp, 碱基 A 占

30.2%, 碱基 T 占 37.8%, 碱基 C 占 17.6%, 碱基 G 占 14.4%, 其中 A+T(68.0%) 远高于 C+G(32.0%)。所采集样本 16S *rDNA* 基因片段序列为 250 bp, A、T、C、G 这 4 种碱基的平均组成为: 碱基 A 占 38.8%, 碱基 T 占 43.6%, 碱基 C 占 6.0%, 碱基 G 占 11.6%, 其中 A+T(82.4%) 远高于 C+G(17.6%)(表 2)。

表 2 扩增蝇种基因序列组成分析

序列名	A/%	T/%	C/%	G/%	C+G/%	A+T/%	序列长度/bp
COI	30.2	37.8	17.6	14.4	32.0	68.0	278
16S <i>rDNA</i>	38.8	43.6	6.0	11.6	17.6	82.4	250

2.2.3 遗传距离及系统发育树分析

将所测得的大头金蝇 COI 基因和 16S *rDNA* 基因片段序列在 GenBank 上进行 Blast 比对, 结果显示两个基因片段均与大头金蝇参考序列呈现出高度同源性(核苷酸一致性大于 99%)。其中, COI 基因遗传距离为 0.000~0.000, 16S *rDNA* 基因遗传距离为 0.000~0.004, 均显著低于与丽蝇科其他物种的遗传距离($p < 0.01$)。该序列已上传至 GenBank 数据库, 登录号分别为 COI: PQ680654 和 16S *rDNA*: PQ676744。

在美国国家生物技术信息中心(NCBI)上下载蝇科家蝇(*Musca domestica*)COI 序列和 16S *rDNA* 序列作为外群, 根据形态及基因遗传距离分析待鉴定物种为丽蝇科金蝇属的大头金蝇(*Chrysomya megacephala*)。在麻蝇科中下载棕尾别麻蝇(*Sarcophaga peregrina*)16S *rDNA* 序列; 在丽蝇科中分别下载与鉴定物种相似及相关种的 COI 序列和 16S *rDNA* 序列: 绿蝇属的丝光绿蝇(*Lucilia sericata*)、叉叶绿蝇(*Lucilia caesar*), 阿丽蝇属的巨尾阿丽蝇(*Aldrichina graham*), 金蝇属的肥躯金蝇(*Chrysomya pinguis*)、裸金蝇属的绯颜裸金蝇(*Chrysomya rufifacies*)及 6 个大头金蝇(*Chrysomya megacephala*)数据(确保待鉴定物种序列的准确性), 采用 PhyloSuite V 1.2 软件对以上 12 个 COI 序列、11 个 16S *rDNA* 序列(肥躯金蝇、绯颜裸金蝇无 16S *rDNA* 序列)进行单基因建树(图 4a、b, 图 5a、b)和多基因建树(图 4c、图 5c)分析。IQ-TREE 和 MrBayes 两种方法构建的系统发育树均显示: 以家蝇(*Musca domestica*)为外群时, 待鉴定样本与大头金蝇在 3 种基因树上均形成高置信度分支(COI: 83%、76.5%, 16S *rDNA*: 80%、82.7%, 多基因: 88%、61.2%), 而与丽蝇科其他物种显著分离(图 4、图 5)。在丽蝇属中, 丝光绿蝇(*Lucilia sericata*)与叉叶绿蝇(*Lucilia caesar*)在部分进化树中聚为一支, 获得 66%、89% 等 Bootstrap 支持率, 体现了较近的亲缘关系; 金蝇属的大头金蝇(*Chrysomya megacephala*)多个序列形成明显聚类分支, 其中待测序列 PQ680654 与大头金蝇序列分支支持率达 83%, 且在图 5 带置信值的进化树中分支数值进一步验证了聚类可靠性; 阿丽蝇属的巨尾阿丽蝇(*Aldrichina graham*)亦呈现出独立分支特征。进化树结果、分子系统学分析结果与 BLAST 比对结论一致, 明确支持待测样本为大头金蝇的物种鉴定。

系统发育树的结果进一步证实了待鉴定蝇种与大头金蝇的亲缘关系最近, 从分子进化角度为大头金蝇鉴定提供了有力的支持。通过对 COI 基因和 16S *rDNA* 基因的分析, 不仅能够准确鉴定大头金蝇, 还能够揭示其与其他蝇类的进化关系, 为大头金蝇分类和系统发育研究提供了重要的分子依据。

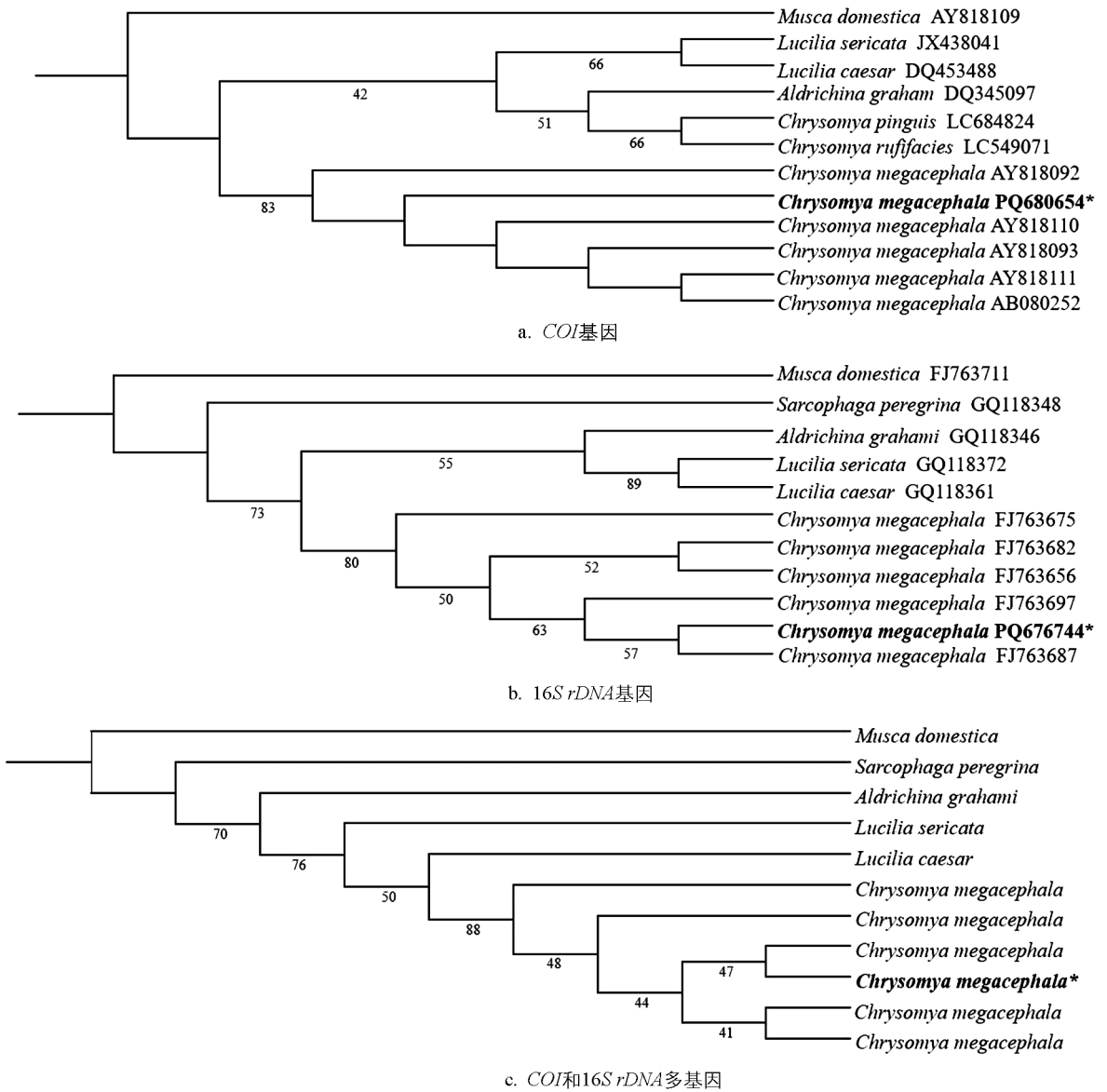
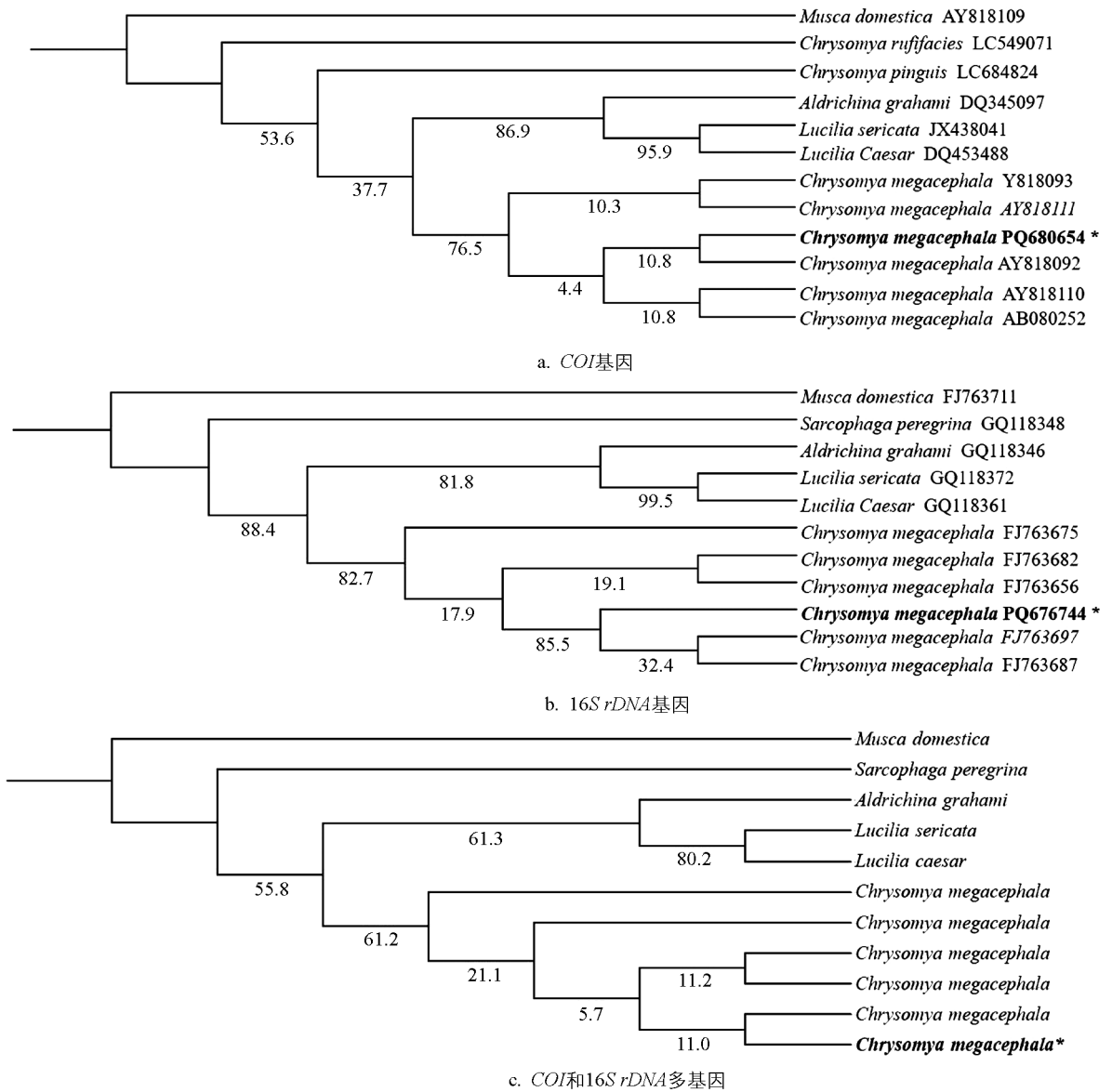


图 4 各蝇种运用 IQ-TREE 基于 *COI* 基因、16S *rDNA* 基因及 *COI* 和 16S *rDNA* 多基因序列构建的系统发育树

3 讨论与结论

本研究运用形态学与分子生物学相结合的手段对未知蝇种进行鉴定,明确了从室外诱捕经实验室多代培养的蝇种为大头金蝇 *Chrysomya megacephala*。在鉴定大头金蝇时要基于形态学特征和多个基因分析,才能得到准确的结果。本研究从卵、幼虫(3个龄期)、蛹、成虫(雌、雄)各阶段分别对大头金蝇进行了形态特征描述,提供了各虫态的特征彩图。同时,扩增了 *COI* 基因、16S *rDNA* 基因,发现基因序列片段小且基因两端序列较为保守是大头金蝇鉴定和系统进化分析常用的分子靶标。

研究证实,16S *rDNA* 与 *COI* 基因片段的种内遗传距离(均值 <0.01)显著低于种间距离(>0.03),且两者分布区间无重叠,符合分子鉴定标记的有效性标准^[29-30]。以大头金蝇为例,其 16S *rDNA* 基因种内距离为 0.000~0.004,最大种内距离小于与其他蝇种的种间距离;*COI* 基因种内距离为 0.000~0.000,与丽蝇科其他物种的种间距离形成显著差异。双基因标记体系(16S *rDNA*+*COI*)在蝇类种属鉴定中展现出了高效的鉴定能力^[31-33]。



* 表示待鉴定蝇种 COI 基因、16S rDNA 基因及 COI 和 16S rDNA 多基因序列; 节点上的数字表示分支支持率 (%)。

图 5 各蝇种运用 MrBayes 方法基于 COI 基因、16S rDNA 基因及 COI 和 16S rDNA 多基因序列构建的系统发育树

本研究采用 PhyloSuite V 1.2 软件构建 IQ-TREE 和 MrBayes 系统发育树, 通过统计距离法推断亲缘关系, 分子鉴定结果与形态学特征高度一致。不同蝇种在系统发育树上形成显著分离的分支, 证明该方法可实现嗜尸性蝇类的种级鉴定。实验获得的 COI 和 16S rDNA 序列与 GenBank 大头金蝇序列相似度达 99.85%~100%, 在系统发育树中稳定聚于同一分支, 明确支持物种鉴定结论。该方法通过检测 mtDNA 中 16S rDNA (250 bp) 和 COI (278 bp) 短片段即可实现种属鉴别, 具有操作简便、成本低廉的优势, 对实验设备及操作人员要求较低, 适合在基础实验室推广, 为传统形态学鉴定提供了高效辅助手段^[34-36]。尽管小片段分子标记存在局限性, 但其快速经济的特点在基层应用中具有重要价值。未来结合表皮碳氢化合物等生化特征的多维鉴定体系, 有望突破近缘种鉴定难题^[37-39], 推动嗜尸性蝇类鉴定技术的精准化发展。

明确大头金蝇的形态及生物学特征, 有助于开展后续实验。虽然已有关于大头金蝇鉴定及形态特征的报告, 但反映该昆虫各阶段详细且清晰的彩图较少, 本研究展示的大头金蝇不同虫态图片可增加对该虫的直观认识。基于 IQ-TREE 和 MrBayes 系统发育树的分子系统发育分析, 同时结合形态特征进行鉴定和分类, 为蝇种分类和鉴定提供了新的思路和方案。

参考文献:

- [1] 王一, 谢桂林. 大头金蝇 3 龄幼虫细菌多样性分析及其分离菌株分解纤维素的应用研究 [J]. 东北农业大学学报, 2024, 55(3): 52-61.
- [2] LIU Q L, CAI J F, CHANG Y F, et al. Identification of Forensically Important Blow Fly Species (Diptera: Calliphoridae) in China by Mitochondrial Cytochrome Oxidase I Gene Differentiation [J]. Insect Science, 2011, 18(5): 554-564.
- [3] 陈禄仕. 中国尸食性蝇类图鉴 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 2020.
- [4] DE CARVALHO C J B, DE MELLO-PATIU C A. Key to the Adults of the Most Common Forensic Species of Diptera in South America [J]. Revista Brasileira de Entomologia, 2008, 52(3): 390-406.
- [5] NIHEI S S, DE CARVALHO C J B. The Muscini Flies of the World (Diptera, Muscidae): Identification Key and Generic Diagnoses [J]. Zootaxa, 2009, 1976(1): 1-24.
- [6] VAIRO K P E, DE MELLO-PATIU C A, DE CARVALHO C J B. Pictorial Identification Key for Species of Sarcophagidae (Diptera) of Potential Forensic Importance in Southern Brazil [J]. Revista Brasileira de Entomologia, 2011, 55(3): 333-347.
- [7] 王江峰. 实用法医昆虫学 [M]. 西安: 西安交通大学出版社, 2019.
- [8] SPERLING F A, ANDERSON G S, HICKEY D A. A DNA-Based Approach to the Identification of Insect Species Used for Postmortem Interval Estimation [J]. Journal of Forensic Sciences, 1994, 39(2): 418-427.
- [9] 赵琳琳, 翟仙敦, 郑哲, 等. 我国嗜尸性蝇类分子鉴定的研究现状与分析 [J]. 中国司法鉴定, 2018(3): 39-44.
- [10] WALLMAN J F, DONNELLAN S C. The Utility of Mitochondrial DNA Sequences for the Identification of Forensically Important Blowflies (Diptera: Calliphoridae) in Southeastern Australia [J]. Forensic Science International, 2001, 120(1/2): 60-67.
- [11] VINCENT S, VIAN J M, CARLOTTI M P. Partial Sequencing of the Cytochrome Oxidase b Subunit Gene I: a Tool for the Identification of European Species of Blow Flies for Postmortem Interval Estimation [J]. Journal of Forensic Sciences, 2000, 45(4): 820-823.
- [12] 蔡继峰, 董建国, 刘敏, 等. 呼和浩特等地区嗜尸性苍蝇 mtDNA 中 COI 基因序列检测及法医学应用 [J]. 法医学杂志, 2005, 21(2): 100-103, 106.
- [13] 蔡继峰, 刘敏, 应斌武, 等. 成都地区四种食尸性蝇类 mtDNA 中 COI 基因序列检测 [J]. 昆虫学报, 2005, 48(1): 101-106.
- [14] 王江峰, 尹晓宏, 陈玉川. 五种常见嗜尸性蝇类的分子鉴定 [J]. 昆虫学报, 2007, 50(4): 423-428.
- [15] 蔡继峰, 常云峰, 廖志钢, 等. 嗜尸性苍蝇 mtDNA 中 COII 基因序列检测 [J]. 中国法医学杂志, 2005, 20(4): 193-195.
- [16] WILLIAMS K, VILLET M H. Ancient and Modern Hybridization Between *Lucilia sericata* and *L. cuprina* (Diptera: Calliphoridae) [J]. European Journal of Entomology, 2013, 110(2): 187-196.
- [17] 郑武, 杨堃, 郭燕红, 等. 提取 COI 基因片段鉴定嗜尸性蝇类 [J]. 中国法医学杂志, 2017, 32(2): 168-170.
- [18] 石坚, 郭亚东, 匡栩源, 等. 应用 16S rDNA 短序列片段鉴定常见嗜尸性丽蝇 [J]. 法医学杂志, 2012, 28(4): 281-286.
- [19] 孙晓明, 蔡继峰, 应斌武, 等. 16S rDNA 序列分析在嗜尸性蝇类鉴定中的应用 [J]. 法医学杂志, 2006, 22(1): 36-38.
- [20] SHAYYA S, DEBRUYNE R, NEL A, et al. Forensically Relevant Blow Flies in Lebanon Survey and Identification Using Molecular Markers (Diptera: Calliphoridae) [J]. Journal of Medical Entomology, 2018, 55(5): 1113-1123.
- [21] 郭亚东. 常见嗜尸性麻蝇分子标记的检测及地区基因库的建立 [D]. 长沙: 中南大学, 2012.
- [22] 杨静波, 姜建军, 王江峰. mtDNA COI 和 ND5 基因用于鉴别常见嗜尸性蝇类 [J]. 中国法医学杂志, 2012, 27(3): 201-204.

- [23] REN L P, SHANG Y J, YANG L, et al. Comparative Analysis of Mitochondrial Genomes among Four Species of Muscid Flies (Diptera: Muscidae) and Its Phylogenetic Implications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 127: 357-364.
- [24] BYRD J H, BUTLER J F. Effects of Temperature on *Chrysomya Rufifacies* (Diptera: Calliphoridae) Development [J]. Journal of Medical Entomology, 1997, 34(3): 353-358.
- [25] GREENBERG B, CHARLES J K. Entomology and the Law: Flies as Forensic Indicators [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2002.
- [26] 陈涛, 刘永杰, 李波, 等. 基于形态和分子数据的山东梨园新成灾害蝇柑橘全爪蝇的鉴定 [J]. 昆虫学报, 2023, 66(1): 92-98.
- [27] NGUYEN L T, SCHMIDT H A, VON HAESLER A, et al. IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies [J]. Molecular Biology and Evolution, 2015, 32(1): 268-274.
- [28] RONQUIST F, TESLENKO M, VAN DER MARK P, et al. MrBayes 3. 2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space [J]. Systematic Biology, 2012, 61(3): 539-542.
- [29] WELLS J D, SPERLING F A. A DNA-Based Approach to the Identification of Insect Species Used for Postmortem Interval Estimation and Partial Sequencing of the Cytochrome Oxidase B Subunit Gene I [J]. Journal of Forensic Sciences, 2000, 45(6): 1358-1359.
- [30] HEBERT P D, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological Identifications Through DNA Barcodes [J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2003, 270(1512): 313-321.
- [31] SHARMA M, SINGH D, SHARMA A K. Mitochondrial DNA Based Identification of Forensically Important Indian Flesh Flies (Diptera: Sarcophagidae) [J]. Forensic Science International, 2015, 247: 1-6.
- [32] 陈凤磊, 蔡继峰, 郭亚东, 等. 利用 16S *rDNA* 序列鉴定常见嗜尸性蝇类种属 [J]. 中国法医学杂志, 2011, 26(5): 362-364.
- [33] 卓萃, 毛佳雄, 陈建山, 等. 福建省常见尸食性蝇类的 *COI* 及 16S *rDNA* 序列鉴定 [J]. 法医学杂志, 2020, 36(6): 749-754.
- [34] MOHAMMADI H, GHOBARI H, GHADERI E, et al. Chironomidae (Diptera: Insecta) of Qeshlagh River, Kurdistan: DNA and Morphology Reveal New Genus, Species, and Faunistic Records for Iran [J]. Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 2021, 59(7): 1416-1437.
- [35] 夏冰, 刘玉铭, 王启燕, 等. 贵阳地区常见尸食性蝇类 *mtDNA* 分子标记的检测 [J]. 中国法医学杂志, 2015, 30(3): 244-248.
- [36] 翟仙敦, 赵琳琳, 郑哲, 等. 洛阳地区 5 种嗜尸性麻蝇分子鉴定研究 [J]. 中国法医学杂志, 2017, 32(5): 443-447, 452.
- [37] MOORE H E, ADAM C D, DRIJFHOUT F P. Identifying 1st Instar Larvae for Three Forensically Important Blowfly Species Using "Fingerprint" Cuticular Hydrocarbon Analysis [J]. Forensic Science International, 2014, 240: 48-53.
- [38] BARBOSA R R, BRAGA M V, BLOMQUIST G J, et al. Cuticular Hydrocarbon Profiles as a Chemotaxonomic Tool for Three Blowfly Species (Diptera: Calliphoridae) of Forensic Interest [J]. Journal of Natural History, 2017, 51(25): 1491-1498.
- [39] MOORE H E, PECHAL J L, BENBOW M E, et al. The Potential Use of Cuticular Hydrocarbons and Multivariate Analysis to Age Empty Puparial Cases of *Calliphora vicina* and *Lucilia sericata* [J]. Science Reports, 2017, 7(1): 1933.

责任编辑 夏娟

崔玉洁