

基于 CO I 和 Cyt b 基因序列的凤蝶科 六属分子系统学研究

秦 峰, 付文博, 周善义*

(广西师范大学生命科学学院, 广西环境工程与保护评价重点实验室, 广西桂林 541004)

摘要: 对凤蝶科 6 属 25 种的 CO I 基因和 20 种 Cyt b 基因的部分序列进行测定和分析, 探讨它们之间的系统发育关系; 以茶小卷叶蛾 *Adoxophyes honmai* 为外群, 用邻接法 (neighbor-joining, NJ)、最大简约法 (maximum parsimony, MP) 和贝叶斯法 (Bayesian inference, BI) 重建了凤蝶科 6 属的分子系统树。结果表明: CO I 基因部分序列长度为 661 bp, 其中保守位点 417 个, 可变位点 244 个, 简约信息位点 191 个; A + T 的平均含量为 70.3%, 明显高于 C + G 的平均含量 29.6%。Cyt b 基因部分序列长度为 433 bp, 其中保守位点 239 个, 可变位点 194 个, 简约信息位点 135 个; A + T 的平均含量为 74.2%, 明显高于 C + G 的平均含量 25.7%。分子系统树表明, 凤蝶属 *Papilio*、斑凤蝶属 *Chilasa*、尾凤蝶属 *Bhutanitis*、珠凤蝶属 *Pachliopta* 和喙凤蝶属 *Teinopalpus* 为单系性, 与传统形态分类结果相一致。但青凤蝶属 *Graphium* 单系性不够明确, 需要进一步探讨。研究结果为我国凤蝶科分子系统学研究积累了资料。

关键词: 凤蝶科; CO I 基因; Cyt b 基因; 序列分析; 分子系统学

中图分类号: Q968 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2011)03-0339-13

Molecular systematics of six genera of Papilionidae (Lepidoptera) based on mitochondrial cytochrome oxidase I and Cyt b gene sequences

QIN Feng, FU Wen-Bo, ZHOU Shan-Yi* (Guangxi Key Laboratory of Environmental Engineering and Assessment, College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004, China)

Abstract: Partial sequences of CO I genes of 25 species and Cyt b genes of 20 species in six genera of Papilionoidea were sequenced and analyzed for exploring their phylogenetic relationships. *Adoxophyes honmai* was used as outgroup to reconstruct the phylogenetic trees of six genera with neighbor-joining (NJ), maximum parsimony (MP) and Bayesian inference (BI) methods. The results indicated that CO I genes are 661 bp in length by alignment, including 417 conserved, 244 variable and 191 parsimonious-informative sites, and the average percentage of A + T is 70.3%, much higher than that of C + G (29.6%). The Cyt b genes are 433 bp in length by alignment, including 239 conserved, 194 variable and 135 parsimonious-informative sites; and the average percentage of A + T is 74.2%, much higher than that of C + G (25.7%). The molecular phylogenetic trees showed that the genera *Papilio*, *Chilasa*, *Bhutanitis*, *Pachliopta* and *Teinopalpus* are all monophyletic clades and separated from each other in the molecular phylogenetic trees. The results correspond with the classification based on traditional morphological characters. However, the monophyletic position of the genus *Graphium* is not certain and needs further study. The results accumulated data for the molecular systematic study of the family Papilionidae in China.

Key words: Papilionidae; CO I gene; Cyt b gene; sequence analysis; molecular systematics

凤蝶科 (Papilionidae) 隶属鳞翅目 (Lepidoptera), 种类较多, 分为 2 亚科、4 族、19 属、94 种, 157 亚种, 是蝶类中较大的科之一 (周尧, 2005)。凤蝶科蝶类体态优美、色彩艳丽, 具有极高的观赏价值, 部分种类受国家法律保护, 其中金斑喙凤蝶 *Teinopalpus aureus* 是我国一级保护物种。

线粒体基因 (mtDNA) 是动物体内唯一存在的核外遗传信息载体, 系共价闭合的环状分子, 结构简单, 分子量小, 严格遵循母系遗传, 几乎不发生倒位、易位等畸变与重组, 易于检测, 是研究属、种间系统发育的良好的分子标记, 目前已广泛用于昆虫和其他动物系统进化的研究 (印红等, 2003;

基金项目: 广西环境工程与保护评价重点实验室开放基金项目; 广西研究生创新科研项目 (2009106020710M52)

作者简介: 秦峰, 男, 1984 年生, 硕士, 研究方向为昆虫分子系统学, E-mail: k2003069@163.com

* 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhou5849192@163.com

收稿日期 Received: 2010-06-16; 接受日期 Accepted: 2011-02-15

郑福山等, 2007; 林嫦等, 2009)。

近年来, 蝶类的分子系统发育研究发展很快, 一些基因如 16S rRNA, 28S rRNA, Cyt b, EF-1 α , ND1, ND5, CO I 和 CO II 等被用来分析蝶类某些类群的系统发生关系 (Aubert *et al.*, 1999; Caterino and Sperling, 1999; 陈永久等, 1999; 陈娜等, 2007, 邹方振等, 2009)。Silva-Brandao 等(2005)通过 CO I, CO II 和 EF-1 α 序列, 对裳凤蝶族 (Troidini) 进行了系统发育研究, 分子系统树显示裳凤蝶族为单系群, 且与凤蝶族 (Papilionini) 的亲缘关系很近。时号等(2006)用 Cyt b 基因研究了蛱蝶科 (Nymphalidae) 各亚科的系统发育关系。殷先兵等(2007)对锯眼蝶亚科 (Elymninae) 和眼蝶亚科 (Satyrinae) 的系统发育进行了分析, 提出了眼蝶亚科、锯眼蝶亚科以及黛眼蝶族 (Lethini) 均为多系类群的观点。许丽等(2007)对粉蝶亚科 (Pierinae) 及黄粉蝶亚科 (Coliadinae) 部分种类的线粒体 CO I 和 Cyt b 基因进行分子系统发育分析, 结果表明黄粉蝶亚科不是单系发生, 因而提出将黄粉蝶提升为科级分类阶元的观点。刘晓燕等(2007)对黄粉蝶亚科 6 个属间的系统发育关系进行了分析, 认为该亚科中分化最早的属应为黄粉蝶属 *Eurema*, 而不是豆粉蝶属 *Colias* 和迁粉蝶属 *Catopsilia*。杨邦和等(2008)研究了我国蝶类 CO II 和 EF-1 α 基因部分序列的科间的系统发生关系; 邹方振等(2009)利用 ND1 基因和 16S rRNA 基因序列构建了中国 12 科蝶类的分子系统树, 探讨了其高级分类群的系统发育关系, 提出蛱蝶科为非单系群。张大秀等(2009)测定了国产豹蛱蝶亚科 (Argynninae) 10 个属 10 个代表种的 Cyt b 基因和 CO I 基因的部分序列, 结果支持将文蛱蝶属 *Vindula*、襟蛱蝶属 *Cupha* 和珙蛱蝶属 *Phalanta* 从豹蛱蝶亚科中分离出来的观点。倪艳等(2010)采用 CO I, CO II 和 Cyt b 基因部分序列研究了斑粉蝶属 *Delias* 的系统发育关系, 结果支持基于形态学分类的 *geraldina*, *cuningputi*, *dorimene* 和 *hyparete* 种组。汪江等(2010)测定了中国迁粉蝶属 *Catopsilia* 3 种 4 亚种及迁粉蝶指名亚种 *C. pomona pomona* 5 个生态型的线粒体 CO I 基因和 ND I 基因部分序列, 明确了迁粉蝶指名亚种 5 个生态型的亲缘关系。

Zimmermann 等(2000)以 CO I, ND1 和 16S rRNA 基因为分子标记, 对蛱蝶科堇蛱蝶属 *Euphydryas* 的系统发育进行了分析。Torres 等(2001)用 Cyt b 基因较系统地研究了锯眼蝶亚科眉

眼蝶族 (Mycalesini) 的单系性。Joyce 和 Pullin (2001)对蛱蝶科金堇蛱蝶 *Euphydryas aurinia* 的 Cyt b 基因全序列进行了研究。Wahlberg 等(2003)用 CO I, EF-1 α 及 *wingless* 基因对蛱蝶科的系统发育进行分析, 解决了蛱蝶科大部分亚科之间的系统发育关系。Murray 和 Prowell (2005)用 CO I 基因和 EF-1 α 基因的联合数据, 分析眼蝶族 (Satyrini) 28 个代表属的系统发育关系, 结果表明该亚族不是单系的, 而且大部分属是并系或多系的。Pena 等(2006)对眼蝶科 (Satyridae) 的 CO I, EF-1 α 和 *wingless* 基因片断进行单独和联合数据研究, 分析了眼蝶亚科内各族和亚族之间的分子系统发生关系。

在凤蝶科蝶类的研究中, Martin 和 Pashley (1992)对凤蝶总科中的科和一些亚科的系统发育关系进行了分析。Weller 等(1996)根据线粒体基因组 ND1 和核基因组 28S rDNA 序列, 重建了凤蝶总科部分蝶类的分子系统树。Aubert 等(1999)对凤蝶族各属的代表种以及其他一些主要类群的 16S rRNA + ND1 基因部分序列进行了系统学分析, 结果表明, 裳凤蝶族不是凤蝶族的姐妹群, 钩凤蝶 *Meandrusa payeni* 与凤蝶族聚为一支。Makita 等(2000)用 ND5 扩增构建了虎凤蝶属 *Luehdorfia* 4 个种分子系统树, 提出和传统分类不同的虎凤蝶分化次序。Zakharov 等(2004)基于 CO I + CO II + EF-1 α 序列综合分析凤蝶属的系统发育关系。苏成勇等(2007)利用 16S rRNA 基因序列对分布于我国凤蝶亚科主要类群(包括族和属)间的系统发生关系做了初步探讨。诸立新等(2006, 2007)以 CO I 基因为分子标记, 对尾凤蝶属 4 种的系统发育关系及相关问题进行探讨, 并以 CO I 和 CO II 基因为标记, 研究了中国翠凤蝶亚属 *Princeps* 的系统发育关系。Silva-Brandao 等(2008)以 CO I, CO II 和 EF-1 α 基因为分子标记, 对巴西著名的布番凤蝶 *Parides burchellanus* 和豹番凤蝶 *P. panthonus jaguarae* 的分类问题进行了分析, 结果表明两者是同种异名。Tsao 和 Yeh (2008)以 CO I 基因为分子标记, 对采自台湾、香港和中国大陆的凤蝶科一些属间的系统发育进行了分析。

迄今为止, 我国凤蝶科中还有很多属如斑凤蝶属 *Chilasa*、凤蝶属 *Papilio*、青凤蝶属 *Graphium*、尾凤蝶属 *Bhutanitis*、珠凤蝶属 *Pachliopta* 和喙凤蝶属 *Teinopalpus* 之间的系统发育研究尚未见报道, 尤其是喙凤蝶属的国家一级保护物种金斑喙凤蝶还没有任何分子生物学数据。细胞色素氧化酶 I 基因(

CO I 基因) 进化速度快, 较其他的线粒体基因保守, 在鳞翅类昆虫的分子系统研究中能有效地解决一些争议 (Brower, 1994; Caterino and Sperling, 1999; Rand *et al.*, 2000; Wahlberg *et al.*, 2003; 诸立新等, 2007; 汪江等, 2010), Cyt b 基因进化速度适中, 适合与其他基因结合研究种内到种间甚至科间的系统发育关系 (Joyce and Pullin, 2001; 张敏等, 2007; 许丽等, 2007; 张大秀等, 2009; 倪艳等, 2010)。在本研究中, 我们选择了上述 6 个属的代表种, 测定了其中 25 个种的 CO I 基因和 20 个种的 Cyt b 基因序列, 以茶小卷叶蛾 *Adoxophyes*

honmai 为外群构建了 6 个属代表种的分子系统树, 从分子水平上探讨它们之间的系统发育关系, 为我国凤蝶科的分子系统学研究积累资料。

1 材料和方法

1.1 实验材料

本实验所用凤蝶科标本均为 2007 - 2009 年间采集的新鲜标本和干制标本, 新鲜标本保存于无水乙醇中, 放入 -20℃ 冰箱内; 干制标本则用昆虫针固定, 放入昆虫盒内保存。材料采集信息见表 1。

表 1 样品采集地、采集时间及对应 Cyt b 和 CO I 序列的 GenBank 序列号
Table 1 Sampling localities and dates of the materials in this study and GenBank accession numbers for their Cyt b and CO I sequences

属名 Genus	种名 Species	代号 Code	采集地点 Collecting locality	采集时间 Collecting date	GenBank 登录号 GenBank accession no.	
					CO I	Cyt b
斑凤蝶属 <i>Chilasa</i>	斑凤蝶 <i>C. clytia</i>	CC	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2007-6	HM246468	
	褐斑凤蝶 <i>C. agestor</i>	CA	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2007-6	HM246467	HM246445
	小黑斑凤蝶 <i>C. epycides</i>	CE	福建武夷山 Wuyishan, Fujian	2007-6	HM246470	HM246448
	臀珠斑凤蝶 <i>C. slateri</i>	CS	福建武夷山 Wuyishan, Fujian	2007-6	HM246469	HM246446
	翠蓝斑凤蝶 <i>C. paradoxa</i>	CP	广西临桂 Lingui, Guangxi	2009-8	HM246471	HM246447
凤蝶属 <i>Papilio</i>	美凤蝶 <i>P. memnon</i>	PM	广西贺州 Hezhou, Guangxi	2008-6	HM246453	HM565277
	蓝凤蝶 <i>P. protenor</i>	PP	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2008-6	HM246460	HM246437
	玉带凤蝶 <i>P. polytes</i>	PPO	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2008-6	HM246458	HM246439
	宽带凤蝶 <i>P. nephelus</i>	PN	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2008-6	HM246455	HM565280
	巴黎翠凤蝶 <i>P. paris</i>	PPA	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2007-6	HM246454	HM246438
	碧凤蝶 <i>P. bianor</i>	PB	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2007-6	HM246459	
	窄斑翠凤蝶 <i>P. arcturus</i>	PA	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2007-6	HM246457	HM565278
	柑橘凤蝶 <i>P. xuthus</i>	PX	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2008-6	HM246456	HM246436
	金凤蝶 <i>P. machaon</i>	PMA	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2007-6	HM246461	

续表 1 Table 1 continued

属名 Genus	种名 Species	代号 Code	采集地点 Collecting locality	采集时间 Collecting date	GenBank 登录号 GenBank accession no.	
					CO I	Cyt b
青凤蝶属 <i>Graphium</i>	青凤蝶 <i>G. sarpedon</i>	GS	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2007-6	HM246464	HM246441
	木兰青凤蝶 <i>G. doson</i>	GD	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2008-6	HM565276	HM246440
	碎斑青凤蝶 <i>G. chironides</i>	GC	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2008-6	HM246463	HM246443
	黎氏青凤蝶 <i>G. leechi</i>	GL	福建武夷山 Wuyishan, Fujian	2007-6	HM246465	HM246444
	宽带青凤蝶 <i>G. cloanthus</i>	GCL	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2008-6	HM246462	HM246442
	统帅青凤蝶 <i>G. agamemnon</i>	GA	福建武夷山 Wuyishan, Fujian	2007-6	HM246466	
尾凤蝶属 <i>Bhutanitis</i>	三尾凤蝶 <i>B. thaidina</i>	BT	云南丽江 Lijiang, Yunnan	2009-6	HM246474 HM246473	HM246450
	二尾凤蝶 <i>B. mansfieldi</i>	BM	云南丽江 Lijiang, Yunnan	2009-6	HM246472	HM246451
珠凤蝶属 <i>Pachliopta</i>	红珠凤蝶 <i>P. aristolochiae adaeus</i>	PAA	广西兴安 Xing'an, Guangxi	2009-8	AB377335 *	HM246449
	红珠凤蝶多斑亚种 <i>P. aristolochiae interposita</i>	PAI			HM246475	
喙凤蝶属 <i>Teinopalpus</i>	金斑喙凤蝶广西亚种 <i>T. aureus guangxiensis</i>	TA	广西金秀 Jinxu, Guangxi	2009-5	DQ073916 *	HM246452
卷叶蛾科 Tortricidae	茶小卷叶蛾 <i>Adoxophyes honmai</i>	AH				DQ073916 *

* 从 GenBank 下载的序列编号 The sequence from GenBank.

1.2 基因组 DNA 的提取

干制标本的 DNA 提取采用朴美花等(2002)的方法,新鲜标本 DNA 的提取则按改进的 SDS/蛋白酶 K 方法进行(汪永庆等, 2001)。

1.3 PCR 扩增及序列测定

Cyt b 基因序列片段扩增,引物设计参考 Simon 等(1994),序列为:

CB1: 5'-TATGTACTACCATGAGGACAAATATC-3'

CB2: 5'-ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT-3'

CO I 基因序列片段扩增,引物设计参考 Folmer 等(1994)所用引物:

L1490: 5'-GGTCAACAAAATCATAAAGATATTG-3'

H2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAAT-3'

引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

Cyt b 扩增反应体系: 10 × PCR Buffer 5.0 μL,

2.5 mmol/L MgCl₂ 4.5 μL, 10 mmol/L dNTP 1.0 μL, 10 mg/mL BSA 3.0 μL, 25 μmol/L 引物各 1.0 μL, 1 U Taq 酶以及 1 μL (20 ~ 50 ng) DNA 模板,加水补足 50 μL。Cyt b 基因扩增反应程序: 94℃ 预变性 5 min 后进入循环: 94℃ 变性 30 s, 47℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 30 s, 30 个循环后 72℃ 终延伸 10 min。CO I 基因扩增反应程序: 94℃ 预变性 5 min 后进入循环: 94℃ 变性 1 min, 47℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 35 个循环后 72℃ 终延伸 10 min。PCR 产物全部委托上海生工生物工程技术有限公司进行双向测序。

1.4 序列分析

Cyt b 和 CO I 基因序列以茶小卷叶蛾为外群,用分子进化遗传分析软件 MEGA 3.1 (Kumar *et al.*, 2004)、Dnasp4 (Rozas *et al.*, 2003) 计算不同序列间的可变位点、简约信息位点、转换颠换比值、遗

传距离及各碱基含量。用 MEGA 3.1, 基于 Kimura-2-parameter 模型, 采用邻接法构建邻接 (neighbor-joining, NJ) 树; 用 PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2002) 构建最大简约 (maximum parsimony, MP) 树, 对 MP 树进行了内部分支检验与 1 000 次 bootstrap 重复分析, 确定各节点的置信度。同时采用 MrBayes v3.1.2 软件 (Huelsenbeck and Ronquist, 2001) 构建贝叶斯 (Bayesian inference, BI) 树。

2 结果

2.1 碱基组成及序列变异

2.1.1 基于 Cyt b 基因序列组成及变异: 本研究共获得凤蝶科 6 属 20 种的 Cyt b 序列, 从 GenBank 中下载茶小卷叶蛾序列作为外群。通过 Clustal X 1.83 软件经序列比对后得到 433 个同源位点, 其中保守位点 239 个, 变异位点 194 个, 简约信息位点 135 个, 自裔位点 59 个。简约信息位点占总位点数的 31.2%, 占变异位点总数的 69.6%。序列中 T, C, A 和 G 的平均含量分别为 30.6%, 9.7%, 43.6% 和 16.0%。A + T 平均含量达到 74.2%, G + C 平均含量为 25.7%, A + T 的含量明显高于 G + C 的含量, 表现出较高的 A + T 含量偏向性。

2.1.2 基于 CO I 基因序列组成及变异: 本研究共获得凤蝶科 6 属 25 种 (包括从 GenBank 下载的红珠凤蝶多斑亚种 *Pachliopta aristolochiae interposita*) 的 CO I 序列。通过 Clustal X 1.83 软件经序列比对后得到 661 个同源位点, 其中保守位点 417 个, 变异位点 244 个, 简约信息位点 191 个, 自裔位点 53 个。简约信息位点占总位点数的 28.9%, 占变异位点总数的 78.3%。T, C, A, G 的平均含量分别为 30.4%, 14.2%, 39.9% 和 15.4%。A + T 平均含量达到 70.3%, G + C 平均含量为 29.6%, A + T 的含量明显高于 G + C 的含量, 也表现出显著的 A + T 含量偏向性。

上述结果与其他文献报道的昆虫线粒体序列的结果基本一致 (Nardi *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2006)。

2.2 遗传距离分析

2.2.1 基于 Cyt b 基因数据分析: 采用 MEGA3.1 计算 20 种凤蝶 (不包括外群) 之间的遗传距离 (表 2)。内群 20 个种中, 最小和最大遗传距离分别为 0.002 和 0.234, 平均距离为 0.158。其中同属种间的遗传距离最小, 如蓝凤蝶与玉带凤蝶之间的遗传

距离为 0.002, 尾凤蝶属 2 个种之间的遗传距离为 0.107; 斑凤蝶属 4 种之间的遗传距离介于 0.107 ~ 0.163 之间; 青凤蝶属 5 种之间的遗传距离介于 0.041 ~ 0.210 之间; 凤蝶属 7 种之间的遗传距离介于 0.002 ~ 0.216 之间; 属间遗传距离介于 0.107 ~ 0.216 之间。外群和内群之间遗传距离介于 0.168 ~ 0.234 之间。

2.2.2 基于 CO I 基因数据分析: 采用 MEGA3.1 计算 25 种凤蝶 (不包括外群) 之间的遗传距离 (表 3)。内群 25 个种中, 最小和最大遗传距离分别为 0.003 和 0.175, 平均距离为 0.131。其中同属种间的遗传距离最小, 如蓝凤蝶与玉带凤蝶之间的遗传距离为 0.003, 珠凤蝶属 2 种之间的遗传距离介于 0.055 ~ 0.134 之间; 尾凤蝶属 2 种之间的遗传距离介于 0.079 ~ 0.118 之间; 斑凤蝶属 5 种之间的遗传距离介于 0.092 ~ 0.175 之间; 青凤蝶属 6 种之间的遗传距离介于 0.085 ~ 0.158 之间; 凤蝶属 9 种之间的遗传距离介于 0.003 ~ 0.152 之间; 属间遗传距离介于 0.107 ~ 0.168 之间。外群和内群之间遗传距离介于 0.139 ~ 0.171 之间。

2.3 分子系统树的构建

2.3.1 基于 Cyt b 基因构建的分子系统树: 在 NJ 树中 (图 1), 凤蝶科 6 个属明显分开, 凤蝶属 7 种聚为一支; 青凤蝶属 5 种分为二支, 然后相聚; 喙凤蝶属的金斑喙凤蝶广西亚种 *Teinopalpus aureus guangxiensis* 独立成单系结构, 位于青凤蝶属的基部; 尾凤蝶属 2 种聚为一支, 斑凤蝶属 4 种聚为一支, 而珠凤蝶属的红珠凤蝶 *Pachliopta aristolochiae adaeus* 独立成单系结构, 位于系统树的基部。

MP 树 (图 2) 与 NJ 树的拓扑结构相似, 6 个属之间也明显分开。凤蝶属 7 种聚为一支, 位于系统树的上方; 青凤蝶属 5 种同样分为二支, 然后相聚; 斑凤蝶属 4 种聚为一支, 但金斑喙凤蝶广西亚种没有完全独立, 而位于斑凤蝶属基部; 尾凤蝶属 2 种聚为一支, 但珠凤蝶属的红珠凤蝶独立成单系结构, 位于系统树的基部。Bayes 系统树 (图 3) 与 MP 和 NJ 结构相似, 各属间关系明确。

2.3.2 基于 CO I 基因构建的分子系统树: 基于 CO I 基因部分序列构建了 NJ, MP 和 Bayes 树 (图 4~6), 拓扑结构基本相同, 25 种蝴蝶分为三大支。斑凤蝶属、尾凤蝶属和青凤蝶属聚为一大支, 凤蝶属和珠凤蝶属组成第二大支, 第三支则由喙凤蝶属的金斑喙凤蝶广西亚种独立成单系结构。

表 2 Cytb 基因片段种间遗传距离(下三角)和 R 值(T_s/T_v) (上三角)
 Table 2 Pairwise genetic distance (below diagonal) and the transition/transversion ratio (T_s/T_v) (above diagonal) based on Cyt b gene sequences

CP	CA	CE	CS	PPO	PP	PPA	PX	PM	PA	PN	GC	GL	GD	GS	GCL	TA	BT	BM	PAA	AH
CP	1.4	1.2	1.2	0.8	0.7	0.7	0.7	0.6	1.0	0.9	0.8	0.8	0.8	0.6	1.0	0.8	0.7	0.6	0.6	0.7
CA		1.1	1.1	0.8	0.8	0.7	0.8	0.7	0.9	0.8	0.6	0.7	0.6	0.7	1.0	1.1	0.7	0.8	0.7	0.7
CE			1.1	0.9	0.9	0.8	0.9	0.7	1.1	1.1	0.7	0.6	0.6	0.7	1.3	0.8	0.7	0.7	0.7	0.7
CS				0.7	0.7	0.7	0.8	0.6	1.0	0.8	0.7	0.7	1.0	0.7	1.0	0.8	0.7	0.7	0.9	0.6
PPO					n/c	0.3	0.3	0.3	2.0	1.6	0.9	1.1	0.7	0.8	1.1	0.6	0.6	0.8	0.7	0.5
PP						0.3	0.3	0.3	1.9	1.5	0.8	1.0	0.6	0.8	1.0	0.6	0.6	0.8	0.6	0.5
PPA							0.4	0.3	1.5	1.3	0.8	0.9	0.6	0.8	0.9	0.6	0.6	0.8	0.6	0.5
PX								0.3	1.7	1.6	1.0	1.2	0.8	1.0	1.0	0.6	0.5	0.8	0.7	0.5
PM									1.1	1.1	0.7	0.8	0.6	0.7	0.9	0.6	0.6	0.8	0.6	0.5
PA										1.3	1.5	1.3	1.1	1.4	1.1	0.8	0.9	0.9	0.7	0.7
PN											1.3	1.7	1.0	0.9	1.1	1.1	0.8	0.8	0.8	0.7
GC												1.7	0.7	1.0	0.7	0.4	0.5	0.6	0.6	0.7
GL													1.5	0.6	1.2	0.8	0.6	0.6	0.8	0.7
GD														0.6	0.8	0.8	0.4	0.5	0.6	0.5
GS															1.2	1.0	0.6	0.8	0.6	0.5
GCL																1.0	0.9	0.7	1.1	0.8
TA																	0.7	0.7	0.7	0.9
BT																		1.3	0.7	0.6
BM																			0.6	0.7
PAA																				0.5
AH																				

总体平均值为 0.158。The overall average is 0.158.

表3 CO I 基因片段种间遗传距离(下三角)和 R 值(T_s/T_v) (上三角)
 Table 3 Pairwise genetic distance (below diagonal) and the transition/transversion ratio (T_s/T_v) (above diagonal) based on CO I gene sequences

	GA	GL	BT	BM	GC	GD	PA	PP	PM	PPO	PN	PX	PMA	PPA	PB	PAA	PAI	TA	AH	GCL	GS	CE	GP	CA	CC	CS
GA	0.7	0.8	0.7	1.2	0.5	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0	0.6	0.6	0.6	0.7	0.9	0.9	0.6	0.7	0.9	0.6	0.6
GL	0.088	0.7	0.7	1.0	0.6	0.8	0.8	0.8	0.7	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	1.0	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	1.0	0.7	0.6	0.6	0.5	0.6
BT	0.118	0.114	1.9	0.9	0.6	1.2	1.1	1.1	0.9	0.8	0.9	1.0	0.9	0.8	1.1	0.8	0.7	0.9	0.9	0.7	0.8	0.8	0.7	0.7	0.6	0.7
BM	0.118	0.116	0.079	1.0	0.7	0.8	0.8	0.8	0.7	0.6	0.8	0.7	0.6	0.6	0.9	0.6	0.6	0.8	0.8	0.6	0.9	0.8	0.9	0.7	0.7	0.7
GC	0.113	0.127	0.140	0.129	0.8	1.1	1.0	1.0	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	1.0	0.6	0.7	0.8	0.7	0.8	1.1	0.6	0.8	0.7	0.6	0.7
GD	0.102	0.109	0.119	0.112	0.085	0.7	0.7	0.7	0.7	0.7	0.5	0.6	0.6	0.6	0.8	0.5	0.5	0.6	0.6	0.6	0.8	0.6	0.5	0.7	0.4	0.5
PA	0.114	0.147	0.146	0.136	0.136	0.120	n/c	1.5	1.2	1.0	1.1	1.2	1.4	1.2	1.4	0.8	0.7	1.0	0.7	0.7	1.1	0.7	0.9	0.8	0.7	0.8
PP	0.114	0.147	0.144	0.134	0.134	0.116	0.005	n/c	1.5	1.1	1.0	1.1	1.2	1.3	1.3	0.7	0.6	0.9	0.7	0.7	1.1	0.7	0.9	0.8	0.7	0.8
PM	0.114	0.143	0.140	0.130	0.131	0.114	0.005	0.003	1.5	1.0	0.9	1.0	1.1	1.3	1.3	0.7	0.6	0.9	0.6	0.7	1.0	0.7	0.9	0.8	0.7	0.7
PPO	0.123	0.138	0.149	0.150	0.132	0.123	0.062	0.060	0.060	1.0	0.9	0.8	1.4	1.2	1.2	0.6	0.4	1.0	0.6	0.7	1.0	0.7	0.7	0.7	0.6	0.6
PN	0.118	0.141	0.147	0.154	0.145	0.136	0.077	0.072	0.078	0.7	0.6	0.5	0.8	0.5	0.8	0.5	0.4	0.6	0.5	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
PX	0.121	0.123	0.140	0.149	0.138	0.136	0.111	0.109	0.106	0.107	0.109	1.2	1.2	1.2	1.1	0.7	0.8	0.8	0.7	0.7	0.8	0.6	0.8	0.7	0.7	0.8
PMA	0.113	0.105	0.147	0.147	0.130	0.128	0.094	0.094	0.090	0.092	0.090	0.070	1.5	1.3	1.3	0.8	0.8	0.8	0.8	0.7	1.0	0.7	0.8	0.6	0.6	0.7
PPA	0.114	0.109	0.152	0.143	0.132	0.119	0.087	0.087	0.083	0.083	0.092	0.082	0.067	1.1	1.1	0.7	0.6	0.6	0.5	0.7	0.8	0.7	0.8	0.7	0.5	0.7
PB	0.127	0.127	0.153	0.152	0.136	0.130	0.117	0.115	0.111	0.118	0.114	0.104	0.097	0.085	0.8	0.9	0.9	0.8	0.8	1.0	1.1	0.7	0.9	0.7	0.6	0.7
PAA	0.125	0.134	0.130	0.134	0.132	0.109	0.138	0.136	0.132	0.134	0.134	0.121	0.120	0.118	0.130	0.9	0.5	0.5	0.5	0.5	0.9	0.5	0.6	0.6	0.5	0.6
PAI	0.114	0.128	0.127	0.127	0.128	0.121	0.128	0.127	0.123	0.127	0.125	0.116	0.118	0.118	0.136	0.055	0.6	0.6	0.6	0.6	0.9	0.6	0.6	0.6	0.5	0.6
TA	0.127	0.136	0.136	0.134	0.129	0.127	0.120	0.118	0.116	0.131	0.139	0.123	0.123	0.112	0.131	0.137	0.141	0.6	0.6	0.8	0.8	0.6	0.7	0.7	0.6	0.6
AH	0.150	0.139	0.171	0.154	0.158	0.139	0.152	0.152	0.148	0.152	0.161	0.160	0.152	0.136	0.154	0.154	0.152	0.141	0.6	0.6	0.7	0.7	0.7	0.8	0.6	0.6
GCL	0.129	0.125	0.149	0.158	0.143	0.130	0.147	0.147	0.143	0.150	0.145	0.132	0.130	0.116	0.131	0.137	0.145	0.132	0.152	0.8	0.6	0.6	0.7	0.8	0.6	0.8
GS	0.114	0.123	0.125	0.129	0.118	0.093	0.138	0.136	0.132	0.149	0.141	0.143	0.143	0.121	0.138	0.121	0.125	0.129	0.143	0.113	0.6	0.6	0.8	0.8	0.5	0.6
CE	0.107	0.116	0.129	0.130	0.127	0.127	0.130	0.130	0.127	0.134	0.136	0.148	0.128	0.132	0.150	0.141	0.130	0.136	0.132	0.134	0.147	1.3	0.8	0.6	0.6	0.7
CP	0.128	0.130	0.132	0.140	0.150	0.147	0.156	0.156	0.152	0.150	0.175	0.171	0.171	0.162	0.164	0.150	0.139	0.147	0.165	0.150	0.154	0.092	0.8	0.6	0.6	0.8
CA	0.116	0.130	0.150	0.149	0.128	0.128	0.141	0.145	0.141	0.141	0.152	0.156	0.141	0.147	0.141	0.161	0.136	0.150	0.160	0.143	0.151	0.107	0.121	0.7	0.8	
CC	0.141	0.137	0.128	0.149	0.130	0.136	0.169	0.165	0.163	0.154	0.163	0.156	0.147	0.173	0.154	0.156	0.160	0.173	0.158	0.154	0.137	0.152	0.143	1.2	0.8	
CS	0.147	0.152	0.162	0.175	0.143	0.156	0.173	0.173	0.169	0.161	0.169	0.165	0.167	0.145	0.175	0.167	0.158	0.163	0.175	0.147	0.161	0.136	0.139	0.154	0.116	

总体平均值为 0.131。The overall average is 0.131.

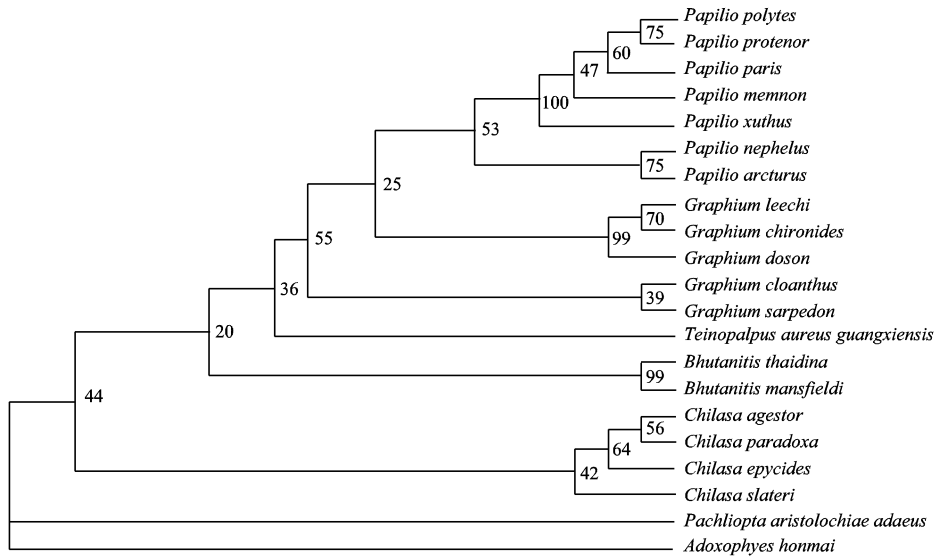


图 1 基于 Cyt b 基因构建的 20 种蝴蝶的邻接树

Fig. 1 The neighbor-joining (NJ) tree of 20 butterfly species resulted from the Cyt b sequence data

图中数字为 1 000 次自展检验置信值; 图 2,4,5 同。Numbers on the nodes correspond to percentage bootstrap values for 1 000 replicates. The same for Figs. 2, 4 and 5. 以茶小卷叶蛾为外群; 下图同。Adoxophyes honmai is used as the outgroup. The same for the following figures.

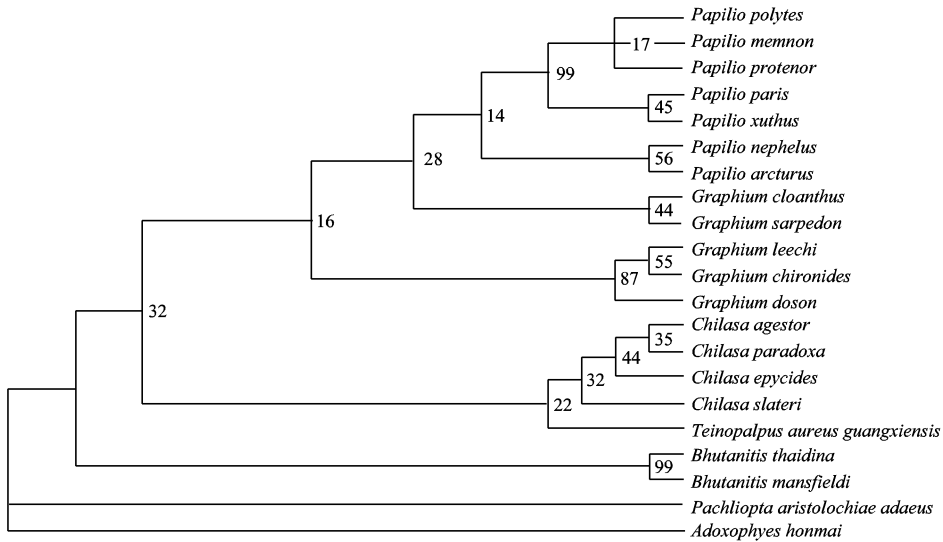


图 2 基于 Cyt b 基因构建的 20 种蝴蝶的最大简约树

Fig. 2 The maximum parsimony (MP) tree of 20 butterfly species resulted from the Cyt b gene sequence data

3 讨论

3.1 系统发育分析

3.1.1 基于 Cyt b 基因的系统发育分析: 基于 Cyt b 基因所构建的 NJ, MP 和 Bayes 3 种系统树中, 凤蝶科 6 属明显分开。其中, 凤蝶属 7 种聚为一支; 斑凤蝶属 4 种聚为一支; 尾凤蝶属 2 种也聚为一支; 珠凤蝶属的红珠凤蝶和喙凤蝶属的金斑喙凤蝶广西亚种分别独立成单系结构; 这些结果与传统形

态分类相同。然而, 青凤蝶属 5 种分为二支, 没有形成独立的单系结构。

3.1.2 基于 CO I 基因的系统发育分析: 基于 CO I 基因的 3 种发育树中, 所研究的 6 属也能分开。NJ 树、MP 树和 Bayes 树的拓扑结构基本相同, 斑凤蝶属、尾凤蝶属和青凤蝶属聚为一大支; 凤蝶属和珠凤蝶属组成第二大支; 但青凤蝶属没有呈现单系性。喙凤蝶属的金斑喙凤蝶广西亚种独立成单系结构, 位于系统树的最基部。

Caterino 和 Sperling (1999) 利用 CO I 和 CO II

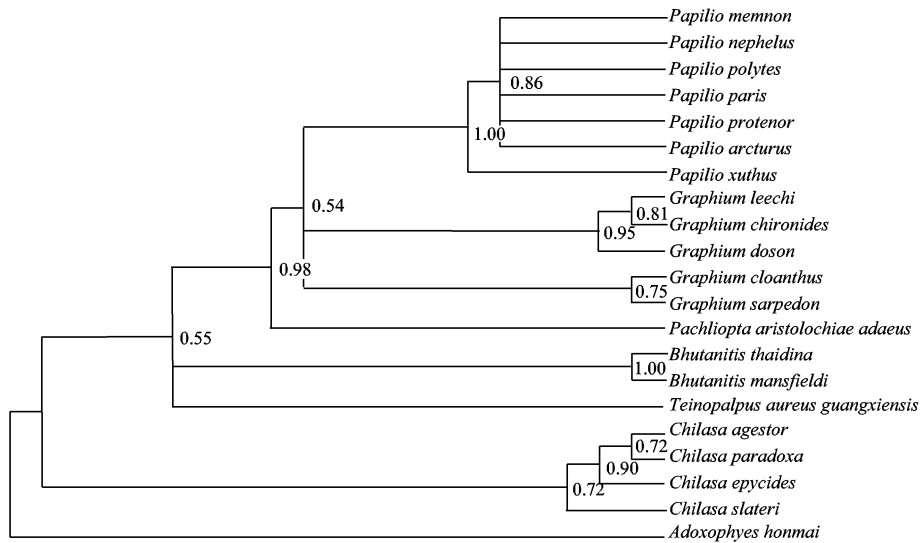


图 3 基于 Cyt b 基因构建的 20 种蝴蝶的贝叶斯树

Fig. 3 Bayesian inference (BI) tree of 20 butterfly species based on partial Cyt b gene sequence data 各分支上的数字为后验概率; 图 6 同。Numbers on the nodes are Bayesian posterior probability values. The same for Fig. 6.

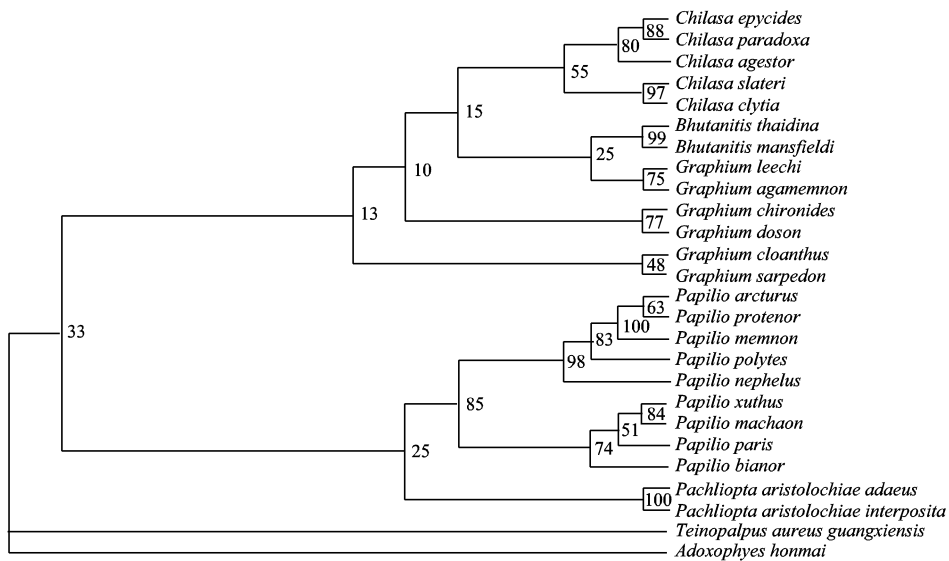


图 4 基于 CO I 基因构建的 25 种蝴蝶的邻接树

Fig. 4 The neighbor-joining (NJ) tree of 25 butterfly species in this study resulted from CO I gene sequence data

对凤蝶属进行了系统发育分析, 23 个种中除了亚力山诺凤蝶 *Papilio alexanor* 没有聚到凤蝶亚属中外, 其他亚属得到分子系统树的支持。Aubert 等 (1999) 对凤蝶族各属代表种以及凤蝶其他一些主要类群的 16S rRNA + ND1 基因部分序列进行了系统学分析, 结果支持凤蝶属的单系性。Tsao 和 Yeh (2008) 利用 CO I 基因对采自台湾、香港和中国大陆凤蝶科的 34 种进行比较, 系统树显示各属关系清晰, 斑凤蝶属与宽尾凤蝶属 *Agehana*、凤蝶属和曙凤蝶属 *Atrophaneura* 亲缘关系最近; 而青凤蝶属、

燕凤蝶属 *Lamproptera*、纹凤蝶属 *Paranticopsis*、绿凤蝶属 *Pathysa* 和剑凤蝶属 *Pazala* 聚为一支。本文基于 CO I 基因部分序列构建的 NJ, MP 和 Bayes 树均在属、种间水平具有很好的分辨率, 在属级水平上的结果与传统分类学结果基本相同, 支持凤蝶属、斑凤蝶属、尾凤蝶属、喙凤蝶属和珠凤蝶属的单系性。特别值得一提的是, 传统形态分类学认为喙凤蝶属在凤蝶科中分化较早, 为较原始的类群, 本研究中的金斑喙凤蝶广西亚种在 CO I 3 种系统树都是位于树的最基部, 结果支持形态分类学的观点。

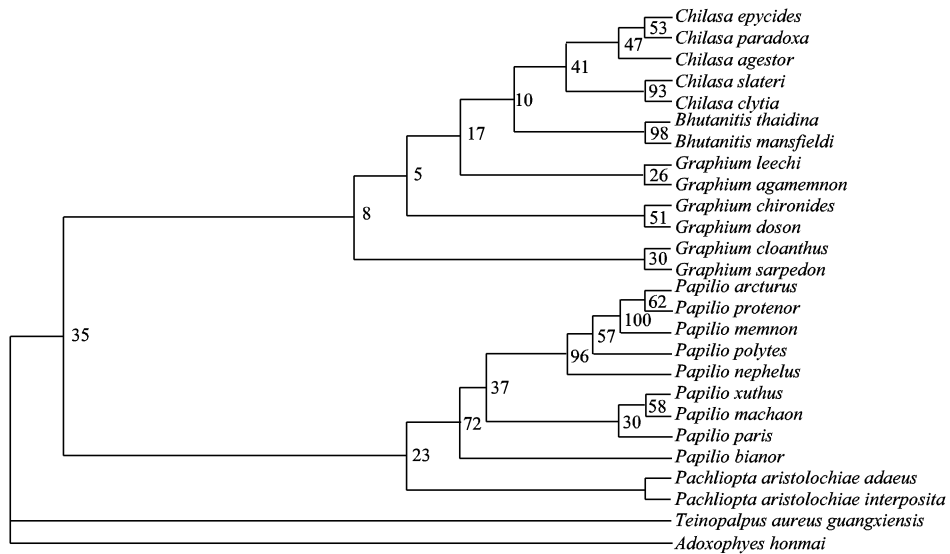


图5 基于 CO I 基因构建的 25 种蝴蝶的最大简约树

Fig. 5 The maximum parsimony (MP) tree of 25 butterfly species resulted from the CO I gene sequence data

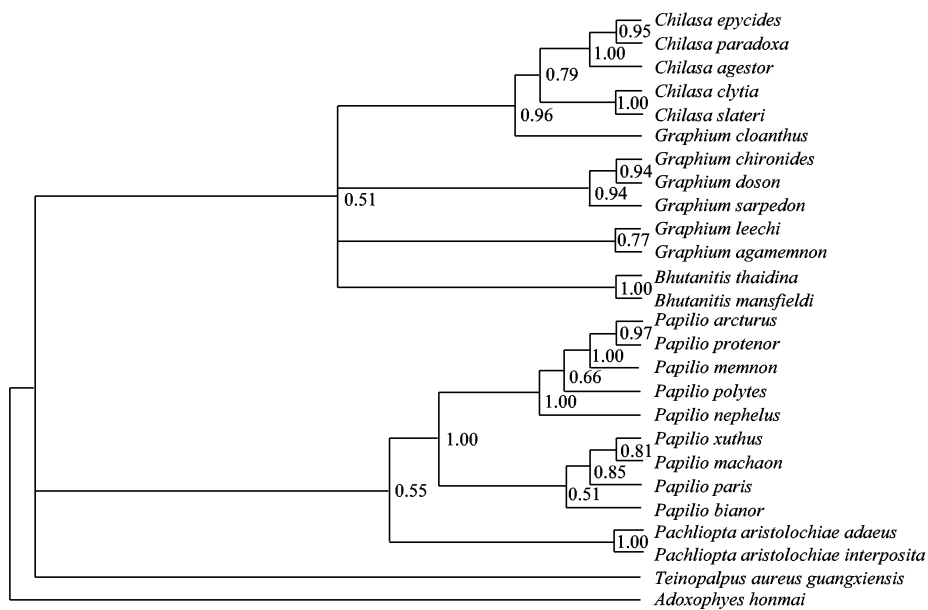


图6 基于 CO I 基因构建的 25 种蝴蝶的贝叶斯树

Fig. 6 Bayesian inference (BI) tree of 25 butterfly species based on partial CO I sequence data

苏成勇等(2007)利用 16S rRNA 基因对凤蝶亚科主要类群间的系统发育关系进行研究,发现燕凤蝶族(Leptocircini)的 5 种蝶类(青凤蝶 *G. sarpedon*、宽带青凤蝶 *G. cloanthus*、银钩青凤蝶 *G. eurypylus*、统帅青凤蝶 *G. agamemnon* 和红绶绿凤蝶 *P. nomius*)首先与其他类群分离,构成凤蝶亚科系统树基部的一个独立支系,呈现较好单系性。但本文利用 Cyt b 和 CO I 基因所构建的系统树中青凤蝶属均没有表现出单系性。另外,锯凤蝶亚科的尾凤蝶属没有与凤蝶亚科的其他属分开。这些现象在一

些蝶类的系统发育研究中有过报道,如杨邦和等(2008)利用 CO I 和 EF-1 α 基因部分序列对我国蝶类科间系统发生关系研究中也出现所构建的 MP 树没有得到被认为是单系性种群的传统分类,而发现了许多非传统的系统发育关系,其主要表现为绿弄蝶没有位于树的基部,而是与碧凤蝶聚在一起;相反,冰清绢蝶 *Parnassius glacialis* 位于树的基部。苏成勇等(2007)以 16S rRNA 基因为遗传标记,对凤蝶亚科进行系统发育研究,结果表明亚科中各属的关系明确,但也发现裳凤蝶族(Troidini)与凤蝶族

(Papilionini) 相聚。Aubert 等 (1999) 在凤蝶属的系统发生研究中也出现钩凤蝶 *Meandrusa payeni* 与凤蝶族相聚的现象。Zakharov 等 (2004) 采用 CO I + CO II + EF-1 α 序列综合对凤蝶属分析, 其结果除了支持 *Heracles*, *Pterourus*, *Chilasa*, *Papilio* 和 *Eleppone* 5 个亚属的传统分类外, 也发现了一些与传统分类不一致的现象。

出现上述现象的原因可能有三方面: 第一, 分子数据所提供的信息位点较少; 第二, 由于基因在进化过程中存在差异, 不同基因用于研究同一类群研究时得到不一致的结果 (Holland *et al.*, 2004; Jeffroy *et al.*, 2006); 第三, 分子数据确实反映了这些蝶类的真正进化格局。Kimball 等 (1999) 指出, 任何自举检验值小于 50% 的分支都应谨慎对待。在我们所构建的系统树中, 青凤蝶属的一些分支自举检验值偏低 (>50%)。本文所涉及凤蝶科的属和种数相对较少, 因此青凤蝶的非单系性还有待今后采集更多的样品, 并结合形态学特征和多基因联合数据进行深入研究。

参 考 文 献 (References)

- Aubert J, Legal L, Descimon H, Michel F, 1999. Molecular phylogeny of swallowtail butterflies of the tribe Papilionini (Papilionidae, Lepidoptera). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 12: 156–167.
- Brower AVZ, 1994. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 91: 6491–6495.
- Caterino MS, Sperling FAH, 1999. *Papilio* phylogeny based on mitochondrial cytochrome oxidase I and II genes. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 11: 122–137.
- Chen N, Zhu GP, Hao JS, Zhang XP, Su CY, Pan HC, Wu DX, 2007. Molecular phylogenetic analysis of the main lineages of Nymphalidae (Lepidoptera, Rhopalocera) based on mitochondrial 16S rDNA sequences. *Acta Zoologica Sinica*, 53(1): 106–115. [陈娜, 朱国萍, 郝家胜, 张小平, 苏成勇, 潘鸿春, 吴冬霞, 2007. 基于线粒体 16S rDNA 序列探讨蛱蝶科(鳞翅目, 蝶亚目)主要分类群的系统发生关系. *动物学报*, 53(1): 106–115]
- Chen YJ, Zhang YP, Shen FR, Zhang YW, Yang DR, Nie L, Yang YX, 1999. The phylogeny of 5 Chinese peculiar *Parnassius* butterflies using noninvasive sampling mtDNA sequences. *Acta Genet. Sin.*, 26(3): 203–207. [陈永久, 张亚平, 沈发荣, 张云武, 杨大荣, 聂龙, 杨跃雄, 1999. 中国 5 种珍稀绢蝶非损伤性取样 mtDNA 序列及系统进化. *遗传学报*, 26(3): 203–207]
- Chou I, 2005. Monographia Rhopalocerorum Sinensium. Henan Scientific and Technological Publishing House, Zhengzhou. 93–190. [周尧, 2005. 中国蝶类志, 郑州: 河南科学技术出版社. 93–190]
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotech.*, 3(5): 294–299.
- Holland BR, Huber KT, Moulton V, Lockhart PJ, 2004. Using consensus networks to visualize contradictory evidence for species phylogeny. *Mol. Biol. Evol.*, 21: 1459–1461.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F, 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 17: 754–755.
- Jeffroy O, Brinkmann H, Delsuc F, Philippe H, 2006. Phylogenomics: the beginning of incongruence? *Trends in Genetics*, 22: 225–231.
- Joyce DA, Pullin AS, 2001. Phylogeography of the marsh fritillary *Euphydryas aurinia* (Lepidoptera: Nymphalidae) in the UK. *Biol. J. Linn. Soc.*, 72(1): 129–141.
- Kim I, Lee EM, Seol KY, Yun EY, Lee YB, Hwang JS, Jin BR, 2006. The mitochondrial genome of the Korean hairstreak, *Coreana raphaelis* (Lepidoptera: Lycaenidae). *Insect Mol. Biol.*, 15(2): 217–225.
- Kimball RT, Braun EL, Zwartjes PW, Crowe TM, Ligon JD, 1999. A molecular phylogeny of the pheasants and part-ridges suggests that these lineages are not monophyletic. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 11: 38–54.
- Kumar S, Tamura K, Nei M, 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Brief. Bioinformatics*, 5: 150–163.
- Lin C, Zhou SY, Qin F, Yan XB, Fu WB, 2009. Molecular systematics of nine species of the genus *Polyrhachis* (Hymenoptera: Formicidae), based on mitochondrial cytochrome b gene sequences. *Genomics Appl. Biol.*, 6: 1071–1080. [林端, 周善义, 秦峰, 颜杏冰, 付文博, 2009. 基于 Cyt b 基因的九种多刺蚁(膜翅目: 蚁科)的分子系统学. *基因组学与应用生物学*, 6: 1071–1080]
- Liu XY, Wu XB, Zhu LX, 2007. Phylogenetic relationship of six genera of the Coliadinae (Lepidoptera: Pieridae) in China based on partial sequences of EF-1 α and CO II genes. *Acta Entomol. Sin.*, 50(6): 604–609. [刘晓燕, 吴孝兵, 诸立新, 2007. 中国黄粉蝶亚科六属间基于 CO II 和 EF-1 α 基因部分序列的系统发育关系(鳞翅目: 粉蝶科). *昆虫学报*, 50(6): 604–609]
- Makita H, Shinkawa T, Ohta K, Kondo A, Nakazawa T, 2000. Phylogeny of *Luehdorfia* butterflies inferred from mitochondrial ND5 gene sequences. *Entomol. Sci.*, 3(2): 321–329.
- Martin JA, Pashley DP, 1992. Molecular systematic analysis of butterfly family and some subfamily relationships (Lepidoptera: Papilionoidea). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 85: 127–139.
- Murray D, Prowell DP, 2005. Molecular phylogenetics and evolutionary history of the neotropical Satyrine subtribe Euptychiina (Nymphalidae: Satyrinae). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 34: 67–80.
- Nardi F, Spinsanti G, Boore JL, Carapelli A, Dallai R, Frati F, 2003. Hexapod origins: monophyletic or paraphyletic? *Science*, 299: 1887–1889.
- Ni Y, Zhu LX, Wang ZS, 2010. Phylogenetic relationship of *Delias* (Lepidoptera, Papilionoidea) based on partial sequences of CO I, CO II and Cyt b genes. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 35(3): 504–

517. [倪艳, 诸立新, 王忠锁, 2010. 基于 CO I、CO II 和 Cyt b 基因部分序列研究斑粉蝶属(鳞翅目, 粉蝶科)分子系统关系. *动物分类学报*, 35(3): 504–517]
- Pena C, Wahlberg N, Weingartner E, Kodandaramaiah U, Nylin S, Freitas AVL, Brower AVZ, 2006. Higher level phylogeny of Satyrinae butterflies (Lepidoptera; Nymphalidae) based on DNA sequence data. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 40(1): 29–49.
- Piao MH, Chen XX, He JH, 2002. Extraction of genome DNA from dried specimens of hymenopteran insects (Insecta). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 27(4): 672–676. [朴美花, 陈学新, 何俊华, 2002. 膜翅目昆虫干标本的基因组 DNA 提取. *动物分类学报*, 27(4): 672–676]
- Rand DB, Heath A, Suderman T, Pierce NE, 2000. Phylogeny and life history evolution of the genus *Chrysoritis* within the Aphnaeini (Lepidoptera: Lycaenidae), inferred from mitochondrial cytochrome oxidase I sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 17: 85–96.
- Rozas J, Sanchez DJC, Messeguer X, Messeguer X, Rozas R, 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19: 2496–2497.
- Shi H, Zhang J, Jiang GF, 2006. A progress in the molecular systematics of butterflies based on mitochondrial gene and nuclear gene. *Guangxi Sciences*, 13(2): 12–18. [时号, 张婧, 蒋国芳, 2006. 线粒体基因和核基因在蝶类分子系统学中的研究进展. *广西科学*, 13(2): 12–18]
- Silva-Brandao KL, Azeredo-Espin AML, Freitas AVL, 2008. New evidence on the systematic and phylogenetic position of *Parides burchellanus* (Lepidoptera: Papilionidae). *Mol. Ecol. Resources*, 8: 502–511.
- Silva-Brandao KL, Freitas AVL, Brower AVZ, Solferini VN, 2005. Phylogenetic relationships of the New World Troidini swallowtails (Lepidoptera: Papilionidae) based on CO I, CO II, and EF-1 α genes. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 36: 468–483.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, Crespi B, Liu H, Flook P, 1994. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 87(6): 651–701.
- Su CY, Zhu GP, Hao JS, Chen N, Pan HC, Wu DX, Zhang XP, 2007. Molecular phylogenetic relationships of swallowtail butterflies of the subfamily Papilioninae (Papilionidae, Lepidoptera) based on 16S rRNA gene. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 32(2): 335–342. [苏成勇, 朱国萍, 郝家胜, 陈娜, 潘鸿春, 吴冬霞, 张小平, 2007. 凤蝶亚科(凤蝶科, 鳞翅目)16S rRNA 基因的分子系统发生分析. *动物分类学报*, 32(2): 335–342]
- Swofford DL, 2002. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods), ver. 4. 0b10. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Torres E, Lees DC, Vane-Wright RI, Kremen C, Leonard JA, Wayne RK, 2001. Examining monophyly in a large radiation of Madagascan butterflies (Lepidoptera: Satyrinae: Mycalesina) based on mitochondrial DNA data. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 20(3): 460–473.
- Tsao WC, Yeh WB, 2008. DNA-Based discrimination of subspecies of swallowtail butterflies (Lepidoptera: Papilioninae) from Taiwan. *Zoological Studies*, 47(5): 633–643.
- Wahlberg N, Weingartner E, Nylin S, 2003. Towards a better understanding of the higher systematics of Nymphalidae (Lepidoptera: Papilionoidea). *Mol. Phylogenet. Evol.*, 28: 473–484.
- Wang J, Shang SQ, Zhang YL, 2010. Phylogenetic relationship of genus *Catopsilia* (Lepidoptera, Pieridae) based on partial sequences of ND I and CO I genes from China. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 35(4): 776–781. [汪江, 尚素琴, 张雅林, 2010. 中国迁粉蝶属(鳞翅目, 粉蝶科)基于 ND I 和 CO I 基因部分序列的系统发育关系. *动物分类学报*, 35(4): 776–781]
- Wang YQ, Wang XG, Xu LX, Zhang ZB, 2001. A new rapid method for extraction of high quality of genomic DNA from animal tissues. *Chin. J. Zool.*, 36(1): 27–29. [汪永庆, 王新国, 徐来祥, 张知彬, 2001. 一种动物基因组 DNA 提取方法的改进. *动物学杂志*, 36(1): 27–29]
- Weller SJ, Pashley DP, Martin JA, 1996. Reassessment of butterfly family relationships using independent genes and morphology. *Ann. Ent. Soc. Am.*, 89: 184–192.
- Xu L, Hao JS, Zhu GP, Yin XB, Pan HC, Huang DY, Zhang XP, 2007. Molecular phylogenetic relationships of some species and genera in Pierinae and Coliadinae (Pieridae) based on partial sequence of mitochondrial CO I and Cyt b genes. *Acta Zoologica Sinica*, 33(4): 842–850. [许丽, 郝家胜, 朱国萍, 殷先兵, 潘鸿春, 黄敦元, 张小平, 2007. 基于线粒体 CO I 和 Cyt b 基因的粉蝶亚科及黄粉蝶亚科(粉蝶科)部分类群的分子系统发生. *动物分类学报*, 32(4): 842–850]
- Yang BH, Wu XB, Zhu LX, Liu XY, 2008. Phylogenetic analysis of butterflies at the family level (Lepidoptera: Rhopalocera) based on partial CO II and EF-1 α gene sequences. *Acta Zoologica Sinica*, 4(2): 233–244. [杨邦和, 吴孝兵, 诸立新, 刘晓燕, 2008. 基于 CO II 和 EF-1 α 基因部分序列的中国蝶类科间系统发生关系. *动物学报*, 4(2): 233–244]
- Yin H, Zhang DC, Bi ZL, Yin Z, Liu Y, Yin XC, 2003. Molecular phylogeny of some species of the Acridoidea based on 16S rDNA. *Acta Genetica Sinica*, 30(8): 766–772. [印红, 张道川, 毕智丽, 印展, 刘勇, 印象初, 2003. 蝗总科部分种类 16S rDNA 的分子系统学发育关系. *遗传学报*, 30(8): 766–772]
- Yin XB, Hao JS, Xu L, Zhu GP, Huang DY, Pan HC, Zhang XP, 2007. Phylogeny of butterflies of the subfamily Elymininae and Satyrinae (Lepidoptera: Satyridae) based on mitochondrial CO I and Cyt b gene sequence. *Acta Entomol. Sin.*, 50(12): 1263–1271. [殷先兵, 郝家胜, 许丽, 朱国萍, 黄敦元, 潘鸿春, 张小平, 2007. 基于线粒体 CO I 和 Cyt b 基因序列的锯眼蝶亚科和眼蝶亚科的系统发育分析(鳞翅目: 眼蝶科). *昆虫学报*, 50(12): 1263–1271]
- Zakharov EV, Caterino MS, Sperling FAH, 2004. Molecular phylogeny, historical biogeography, and divergence time estimates for swallowtail butterflies of the genus *Papilio* (Lepidoptera: Papilionidae). *Syst. Biology*, 53(2): 193–215.
- Zhang DX, Hao JS, Zou FZ, Zhu GP, Pan HC, Zhang XP, 2009.

- Phylogenetic relationships among the ten genera in the subfamily Argynninae (Lepidoptera, Nymphalidae) based on mitochondrial Cyt b and CO I gene sequences. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 34(3): 522–530. [张大秀, 郝家胜, 邹方振, 朱国萍, 潘鸿春, 张小平, 2009. 基于线粒体 Cyt b 基因和 CO I 基因序列研究豹蛱蝶亚科(鳞翅目, 蛱蝶科)10 属间的系统发生关系. *动物分类学报*, 34(3): 522–530]
- Zhang M, Cao TW, Guo YP, Zhang JZ, Ma EB, Wang R, 2007. Phylogeny of *Mimathyma* butterflies (Lepidoptera, Nymphalidae) inferred from partial cytochrome b gene sequences. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 32(2): 255–260. [张敏, 曹天文, 郭亚平, 张建珍, 马恩波, 王瑞, 2007. 迷蛱蝶属及相关物种细胞色素基因 b 序列及其分子系统学研究. *动物分类学报*, 32(2): 255–260]
- Zheng FS, Du YZ, Wang ZJ, Wang LP, 2007. Molecular phylogeny of *Galerucella* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae) based on mitochondrial cytochrome oxidase I gene. *Acta Entomol. Sin.*, 50(5): 501–507. [郑福山, 杜予州, 王志杰, 王莉萍, 2007. 基于线粒体 CO I 基因序列的小萤叶甲属部分种类分子系统学研究(鞘翅目: 叶甲科: 萤叶甲亚科). *昆虫学报*, 50(5): 501–507]
- Zhu LX, Wu XB, Yan P, 2006. Molecular phylogenetic relationships among four species of *Bhutanitis* (Lepidoptera, Papilionidae) based on partial CO I gene sequence. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 31(1): 25–30. [诸立新, 吴孝兵, 晏鹏, 2006. 基于 CO I 基因部分序列对尾凤蝶属(鳞翅目, 凤蝶科)四种蝴蝶分子系统关系及相关问题的探讨. *动物分类学报*, 31(1): 25–30]
- Zhu LX, Wu XB, Yan P, Wu CS, 2007. Phylogeny of *Princeps* butterflies from China: evidences from mitochondrial partial CO I and CO II gene sequences (Lepidoptera: Papilionidae). *Acta Zoologica Sinica*, 3(2): 257–263. [诸立新, 吴孝兵, 晏鹏, 武春生, 2007. 从 CO I 和 CO II 基因部分序列研究中国翠凤蝶亚属(鳞翅目: 凤蝶科)的分子系统关系. *动物学报*, 53(2): 257–263]
- Zimmermann M, Wahlberg N, Descimon H, 2000. Phylogeny of *Euphydryas* checkerspot butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae) based on mitochondrial DNA sequence data. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 93(3): 347–355.
- Zou FZ, Hao JS, Huang DY, Zhang DX, Zhu GP, Zhu CD, 2009. Molecular phylogeny of 12 families of the Chinese butterflies based on mitochondrial ND1 and 16S rRNA gene sequences (Lepidoptera: Ditrysia: Rhopalocera). *Acta Entomol. Sin.*, 52(2): 191–201. [邹方振, 郝家胜, 黄敦元, 张大秀, 朱国萍, 朱朝东, 2009. 基于线粒体 ND1 和 16S rRNA 基因序列探讨中国蝴蝶 12 科的系统发育关系(鳞翅目: 双孔次亚目: 蝶类). *昆虫学报*, 52(2): 191–201]

(责任编辑: 袁德成)