

基于线粒体 Cyt *b* 基因的线蛱蝶亚科的系统发育

吴冬霞, 郝家胜*, 朱国萍, 陈娜, 苏成勇, 潘鸿春, 张小平

(安徽师范大学 生命科学学院 分子进化与生物多样性研究室, 安徽 芜湖 241000)

摘要: 基于线粒体 Cyt *b* 基因部分序列, 以波蛱蝶为外群, 采用邻接法、最大简约法和贝叶斯法分别构建了中国线蛱蝶亚科 10 属 25 种蝶类的系统发育树, 探讨了各主要类群间的系统发育关系。其结果表明, 所有线蛱蝶亚科聚为两大枝: 第一枝包括环蛱蝶属、菲蛱蝶属、蟠蛱蝶属和缕蛱蝶属, 其中缕蛱蝶属与环蛱蝶族亲缘关系较近; 第二枝包括丽蛱蝶属、穆蛱蝶属、线蛱蝶属、带蛱蝶属、律蛱蝶属和翠蛱蝶属, 其中线蛱蝶属为非单系群, 翠蛱蝶属和律蛱蝶属则为单系发生, 并构成姐妹群。

关键词: 线蛱蝶亚科; Cyt *b*; 系统发育

中图分类号: Q969.439.2; Q951.4 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853 (2007) 01-0001-08

Phylogenetic Relationships of Butterflies in the Subfamily Limenitinae Based on Mitochondrial Cytochrome *b* Gene Sequences

WU Dong-xia, HAO Jia-sheng*, ZHU Guo-ping, CHEN Na, SU Cheng-yong, PAN Hong-chun, ZHANG Xiao-ping

(Laboratory of Molecular Evolution and Biodiversity, College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China)

Abstract: The present study investigated phylogenetic relationships of the subfamily Limenitinae based on sequence data of the mitochondrial Cyt *b* gene of 25 species, covering 10 genera of the subfamily, using *Ariadne ariadne* as out-group. Phylogenetic trees were reconstructed with neighbor-joining (NJ), maximum parsimony (MP) and Bayesian inference (BI) methods. It is indicated that the involved species of this subfamily clustered into two clades: the first clade includes those of the genus *Neptis*, *Phaedyma*, *Pantoporia* and *Lintinga*; the second one includes those of the genus *Parthenos*, *Moduza*, *Limenitis*, *Athyma*, *Lexias* and *Euthalia*. The genus *Limenitis* is suggested to be monophyletic; and the genera *Euthalia* and *Lexias* proved to be sister to each other and form a monophyletic group. The genus *Lintinga* appears to be more closely related to Neptini than to Limenitini. However, phylogenetic positions of some genera, such as *Phaedyma*, *Pantoporia* and *Lintinga*, are not well-resolved in the present study.

Key words: Limenitinae; Cyt *b*; Phylogeny

线蛱蝶亚科 (Limenitinae) 隶属于鳞翅目 (Lepidoptera) 蛱蝶科 (Nymphalidae), 由 Behr 于 1864 年建立, 是蛱蝶科中较大的亚科之一。线蛱蝶亚科多数为中型或大型种类, 主要分布在东洋区和古北区。按最新的分类研究结果, 全世界共有

46 属 808 种, 中国分布有其中的 22 个属共 118 个种, 主要分布于我国南方 (Zhou, 1998)。和大多数蝶类一样, 该亚科的形态学分类系统还存在较大争议: 不同的研究者认为该亚科可能是一个多系群或并系群 (Harvey, 1991; Ackery, 1999)。在系统

* 收稿日期: 2006-11-07; 接受日期: 2006-12-11

基金项目: 教育部自然科学基金重点项目 (206066); 安徽省高等学校“十五”优秀人才专项基金; 安徽省“重要生物资源保护与利用”重点实验室以及安徽省高校“生物环境与生态安全”重点实验室专项基金

* 通讯作者 (corresponding author), E-mail: jshaonigpas@sina.com

第一作者简介: 硕士研究生, 研究方向为动物分子系统学。E-mail: wudongxia520@sina.com

学研究方面,该亚科内的族及一些属、种的归属也存在着争议:Harvey(1991)将该亚科划分为5个族:线蛱蝶族(Limenitini)、朱履蛱蝶族(Biblidini)、丝蛱蝶族(Cyrestini)、秀蛱蝶族(Pseudergolini)及黄肱蛱蝶族(Coeini);Freitas(1999)基于成体和精子形态学特征,将朱履蛱蝶族和黄肱蛱蝶族从线蛱蝶亚科中划分出去。近几年来,国外一些研究者利用分子证据(COI、EF-1 α 和wingless等基因)来重建蛱蝶科的系统树,结果都表明,朱履蛱蝶族、丝蛱蝶族、秀蛱蝶族及黄肱蛱蝶族应从线蛱蝶亚科中划分出来(Brower, 2000; Wahlberg et al, 2003; Freitas, 2004)。我国目前的线蛱蝶亚科分类现采用周尧的分类系统(Zhou, 1998),包括5个族:翠蛱蝶族(Euthaliini)、线蛱蝶族(Limenitini)、环蛱蝶族(Neptini)、蛇蛱蝶族(Chalingini)和丽蛱蝶族(Parthenini),其中蛇蛱蝶族是在Zhou(1994)的基础上新增的一个族,该族所包含的4个属以前是置于线蛱蝶族当中。

蝶类所蕴含的多样性信息在无脊椎动物中是十分丰富的,并一直作为进化生物学和生态学研究的模型系统之一(Boggs et al, 2003)。动物线粒体DNA(mitochondrial DNA; mtDNA)具有严格的母系遗传、进化速率较快且不同区域进化速度存在差异等特点,已广泛用于昆虫系统学研究中(Chen & Jiang, 2004; Shao & Mao, 2002)。在线粒体中Cyt *b*基因是目前结构和功能研究得最为清楚的基因之一(Gray, 1989)。该基因进化速度适中,在较短的一个基因片段内就能包含种下水平乃至科水平的系统发育信息(Irwin et al, 1991)。目前国内外应用Cyt *b*基因对蝴蝶的系统发育研究已有一些报道,如:Torres et al(2001)利用Cyt *b*基因较系统地研究了眼蝶亚科眉眼蝶族的单系性;Joyce & Pullin(2001)对蛱蝶科堇蛱蝶的Cyt *b*基因全序列进行了研究;Chen et al(1999)应用Cyt *b*基因序列研究了中国产5种绢蝶系统发育关系。本文拟通过对线蛱蝶亚科25种蝴蝶的Cyt *b*基因片段进行序列测定和分析,构建分子系统树,探讨该亚科主要分类群间的系统发生关系。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验所用昆虫标本均为2005—2006年采集的新鲜标本,样品采集后立即放入75%酒精中固

定,带回实验室后放入-20℃冰箱保存。材料来源和时间见表1。

1.2 基因组DNA的提取与扩增

采用蛋白酶K-玻璃粉法提取和纯化基因组DNA。具体方法参照Hao et al(2005)。PCR使用扩增昆虫Cyt *b*基因的一对通用引物,序列为:CB1:5'-TATGT ACTAC CATGA GGACA AATAT C-3';CB2:5'-ATTAC ACCTC CTAAT TTATT AGGAA T-3'(Simon et al, 1994)。PCR反应的总体积为50 μ L,包括10 \times buffer 5.0 μ L;25 mmol/L的MgCl₂ 7.0 μ L;0.2 μ g/ μ L的BSA 5.0 μ L;0.25 mmol/L的dNTPs 1.25 μ L;10 μ mol/L引物各1.5 μ L;1.0 U Taq酶和2 μ L模板溶液(含10—25 ng DNA)。扩增条件为:94℃预变性5 min后,按下列参数进行35个热循环:94℃变性1 min;47℃退火1 min;72℃延伸1 min 30 s;最后一个循环结束后,72℃总延伸10 min。PCR产物用1.2%琼脂糖凝胶电泳检测,经纯化试剂盒纯化后,在ABI-377型测序仪上直接测序。

1.3 DNA序列数据处理及分子系统树的构建

为确保得到的序列为目标序列,数据分析前首先将测序结果在NCBI中用BLAST进行相似性搜索。最后将这些序列用Clustal X(1.8)软件(Thompson et al, 1997)进行序列比对。采用分子进化遗传分析软件Mega 3.1(Kumar et al, 2004)计算不同序列间的可变位点、简约信息位点、转换颠换比值、对遗传距离及各碱基含量。由软件DAMBE(Xia & Xie, 2001)分析序列间的不同特质,如不同密码子位点的转换与颠换比等。

根据Modeltest 3.06(Posada & Crandall, 1998)估算出数据最优模型。用Mega 3.1(Kumar et al, 2004),基于Kimura-2-parameter(K2P; Kimura, 1980)模型,采用邻接法构建Neighbor-joining(NJ)树;用PAUP*4.0b10(Swofford, 2002),采用最大简约法构建Maximum parsimony(MP)树,对NJ树和MP树分别进行了内部分支检验与1000次bootstrap重复分析(Felsenstein, 1985),以确定各节点的置信度。在Modeltest 3.06中产生最佳核苷酸模型为GTR + I + G。用MrBayes2.01(Huelsenbeck & Ronquist, 2001)构建Bayes树,替换模型参数设置为核苷酸替换类型数=6(nst=6);设置位点间速率变异呈gamma分布(rates=invgamma)。对MCMCMC变量运行4条马尔科夫链,以随机树为起始树,共运行1百万代,每100代进行一次抽样。在舍弃老化样本(burn-

表 1 样品采集地、采集时间及对应 Cyt b 序列的 GenBank 序列号

Tab. 1 Collection localities and times and GenBank accession number for Cyt b sequences of each sample

族 Tribe	物种 Species	采集地点和时间 Sampling time and locality	GenBank 序列号 GenBank accession No.	
翠蛱蝶族 Euthaliini	渡带翠蛱蝶 <i>Euthalia duda</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095683	
	波纹翠蛱蝶 <i>Euthalia undosa</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095685	
	暗斑翠蛱蝶 <i>Euthalia monina</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095686	
	嘉翠蛱蝶 <i>Euthalia karadama</i>	云南景洪, 2006-07	EF095684	
	小豹律蛱蝶 <i>Lexias pardalis</i>	四川都江堰, 2006-08	EF095688	
	尖翅律蛱蝶 <i>Lexias acutipennia</i>	云南景洪, 2006-07	EF095687	
线蛱蝶族 Limenitini	残颚线蛱蝶 <i>Limenitis sulphita</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095692	
	断眉线蛱蝶 <i>Limenitis doerriesi</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095690	
	戟眉线蛱蝶 <i>Limenitis homeyeri</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095691	
	重眉线蛱蝶 <i>Limenitis amphysa</i>	甘肃麻沿, 2005-08	EF095689	
	幸福带蛱蝶 <i>Athyma fortuna</i>	甘肃麻沿, 2005-08	EF095679	
	玉杵带蛱蝶 <i>Athyma jina</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095680	
	新月带蛱蝶 <i>Athyma selenophora</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095682	
	离斑带蛱蝶 <i>Athyma ranga</i>	云南景洪, 2006-07	EF095681	
	穆蛱蝶 <i>Modusa procris</i>	云南景洪, 2006-07	EF095694	
	拟缕蛱蝶 <i>Litinga mimica</i>	云南景洪, 2006-07	EF095693	
	环蛱蝶族 Neptini	小环蛱蝶 <i>Neptis sappho</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095699
		仿柯环蛱蝶 <i>Neptis clinioides</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095696
		链环蛱蝶 <i>Neptis pryri</i>	安徽黄山, 2005-08	EF095698
中环蛱蝶 <i>Neptis hylas</i>		海南文昌, 2005-08	EF095697	
折环蛱蝶 <i>Neptis beroe</i>		安徽黄山, 2005-08	EF095695	
柱菲蛱蝶 <i>Phaedyma columella</i>		安徽黄山, 2005-08	EF095703	
蒿菲蛱蝶 <i>Phaedyma aspasia</i>		海南文昌, 2005-08	EF095702	
金蟠蛱蝶 <i>Pantoporia hordonia</i>		安徽黄山, 2006-06	EF095700	
丽蛱蝶族 Parthenini		云南丽蛱蝶 <i>Parthenos sylvia</i>	云南景洪, 2006-07	EF095701
		蕊蛱蝶亚科 Bybliinae	波蛱蝶 <i>Ariadne ariadne</i>	云南景洪, 2006-07

in samples) 后, 根据剩余的样本构建一致树, 将所得结果进行统计, 获得系统树的支系结构以及各支系的后验概率。

通常认为转换与颠换比小于 2.0 时, 该基因的突变已达到饱和状态, 在系统发生分子时需进行特别的加权 (Knight & Mindell, 1993)。本研究中 25 个类群的转换与颠换比的平均值为 1.2, 小于临界值, 因此在简约法分析中采用替换类型加权和不加权两种策略。加权分析中赋予转换与颠换 1:1.2 的权重。

2 结果

2.1 序列组成和变异

共测定了蛱蝶科线蛱蝶亚科 4 族 25 种的 Cyt b 基因的部分序列, 已提交 GenBank, 登录号见表 1。所选外类群为蕊蛱蝶亚科的电蛱蝶。序列经比对后共 432 个位点, 其中有 169 个可变位点, 含 133 个简约信息位点。各碱基的平均含量及 3 个不同密码子位点的变异及信息位点数比较见表 2。从表 2 中

可以看出, 该基因表现出明显的 A + T 含量 (平均 74.4%) 偏斜。就每个氨基酸密码子来看, 碱基组成在不同位点差异很大, 第三位点的 A + T 含量很高, 达到 91.3%。第三位点 G 的含量最低, 平均为 1.6%, T 的含量最高, 达到 52.1%, 这表明密码子的碱基使用频率存在明显的偏向性。

2.2 碱基替换和遗传距离分析

采用 Mega3.1 (Kumar et al, 2004) 对 Cyt b 基因序列的两两间替换数进行分析, 结果表明核苷酸替换主要发生在密码子第 3 位点上, 转换主要以 T 与 C 之间为主, 颠换主要以 T 与 A 之间为主, 且颠换频率高于转换。密码子第二位点最为保守, 替换频率最低。所有物种转换与颠换数的平均值为 1.2, 第一、二位点的转换频率高于颠换频率, 转换/颠换比分别为 4.5 和 3.2, 而第三位点为 0.9, 表现出一定的替换饱和。以 (转换 + 颠换) 为横坐标, 转换/颠换的比值 (r) 为纵坐标作图 (图 1), 从图中可以看出, 大多数位点的 r 值均在 0.8 和 3 之间, 当总的替换数在 0.05—0.12 之间时, 部分位点的

表 2 线蛱蝶亚科 25 种蝴蝶 Cyt *b* 序列 (432 bp) 碱基组成
 Tab. 2 Base composition in the Cyt *b* sequences (432 bp) of 25 species of Limenitinae

	所有位点	密码子第一位	密码子第二位	密码子第三位
	Total	1st codon position	2nd codon position	3rd codon position
位点数 Number of sites	432	114	114	114
变异位点数	169	40	13	116
Number of variable sites				
简约信息位点数	133	32	9	92
Number of parsimony informative sites				
T (%)	43.3	33.3	44.6	52.1
C (%)	16.0	18.1	22.7	7.1
A (%)	31.1	31.8	22.4	39.2
G (%)	9.5	16.8	10.3	1.6
A + T (%)	74.4	65.1	67.0	91.3

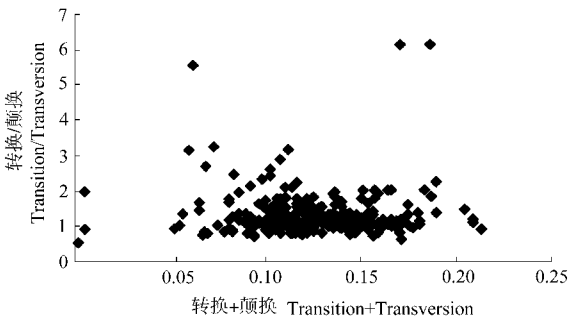


图 1 Cyt *b* 基因替代饱和度

Fig. 1 The plot of substitution saturation for the cytochrome *b* gene in this study

r 值呈上升趋势, 总的替换数大于 0.12 时, r 值呈现平稳趋势。

采用 Mega 3.1 计算线蛱蝶亚科 (包括外群) 蝴蝶之间 K2P 距离。内群 25 个种当中, 最大和最小遗传距离分别为 0.184 和 0, 平均距离为 0.121。其中同属种间的遗传距离最小, 如渡带翠蛱蝶与波纹翠蛱蝶之间为 0, 线蛱蝶属 4 种之间的遗传距离介于 0.061—0.085 之间; 属间则从 0.056 至 0.173。外群和内群之间遗传距离从 0.148 至 0.212。

2.3 系统发育分析

本研究以蕊蛱蝶亚科的波蛱蝶 (*Ariadne ariadne*) 作为外类群, 构建了线蛱蝶亚科 4 族 25 种的分子系统树。NJ、MP 和贝叶斯分析得到的系统发育树的拓扑结构大致相似, 其中 MP 树采用未加权 and 加权两种方法进行分析, 未加权简约分析得到简约树的树长为 538, 一致性指数 (CI) 为 0.4201, 保留指数 (RI) 为 0.5016, 但这两种树拓扑结构非常相似 (限于篇幅, 本文均未显示)。NJ 树和 Bayes 树, 如图 2、3 所示, 以 NJ 树为例, 内

群的 10 属 25 种明显分为二个大枝, 第一大枝包括环蛱蝶属、菲蛱蝶属、蟠蛱蝶属和缕蛱蝶属 (BP = 79); 第二大枝包括丽蛱蝶属、穆蛱蝶属、线蛱蝶属、带蛱蝶属、律蛱蝶属和翠蛱蝶属 (BP = 69)。在第二大枝中, 带蛱蝶属和线蛱蝶属聚成一簇 (BP = 86), 但两属各自都不聚成单系群; 翠蛱蝶属物种聚为单系 (BP = 99), 并与律蛱蝶属构成姐妹群 (BP = 65)。丽蛱蝶和穆蛱蝶则位于第二大枝的基部。系统树显示, 翠蛱蝶族和环蛱蝶族 (除缕蛱蝶属外) 分别为单系群, 并支持翠蛱蝶属和律蛱蝶属分别为单系发生。在 Bayes 树中, 单系的翠蛱蝶属 (PP = 99) 和律蛱蝶属 (PP = 100) 亦构成姐妹群, 并得到较高后验概率 (PP = 96) 的支持; 带蛱蝶属的嘉翠蛱蝶和暗斑翠蛱蝶与该属其他物种及线蛱蝶属相聚的支持率较低, 且环蛱蝶族的 3 个属大部分物种均形成了平行支。MP 树与 NJ 树和 Bayes 树的主要区别则在于系统树内分支的自展值相对较低。

3 讨论

3.1 Cyt *b* 基因序列变异分析

通过对所测得的 Cyt *b* 基因部分序列进行分析, 结果表明, 线蛱蝶亚科 25 种蝴蝶 Cyt *b* 序列的 A + T 平均含量为 74.4%, 明显高 G + C 含量 (25.6%), 与其他文献报道的昆虫线粒体序列的结果较为一致 (DeSalle et al, 1987; Brower & DeSalle, 1998; Dai & Zheng, 2004)。第三位点的 A + T 含量高达 91.3%, 表明 Cyt *b* 基因在碱基组成上具有明显的偏倚。对于编码重要功能蛋白质的 Cyt *b* 基因来说, 密码子第三位点的碱基替换速率明显高于第一位点和第二位点, 这是由于第三位点的突变大多属于同义突变, 受到的自然选择压力较小, 突变后易

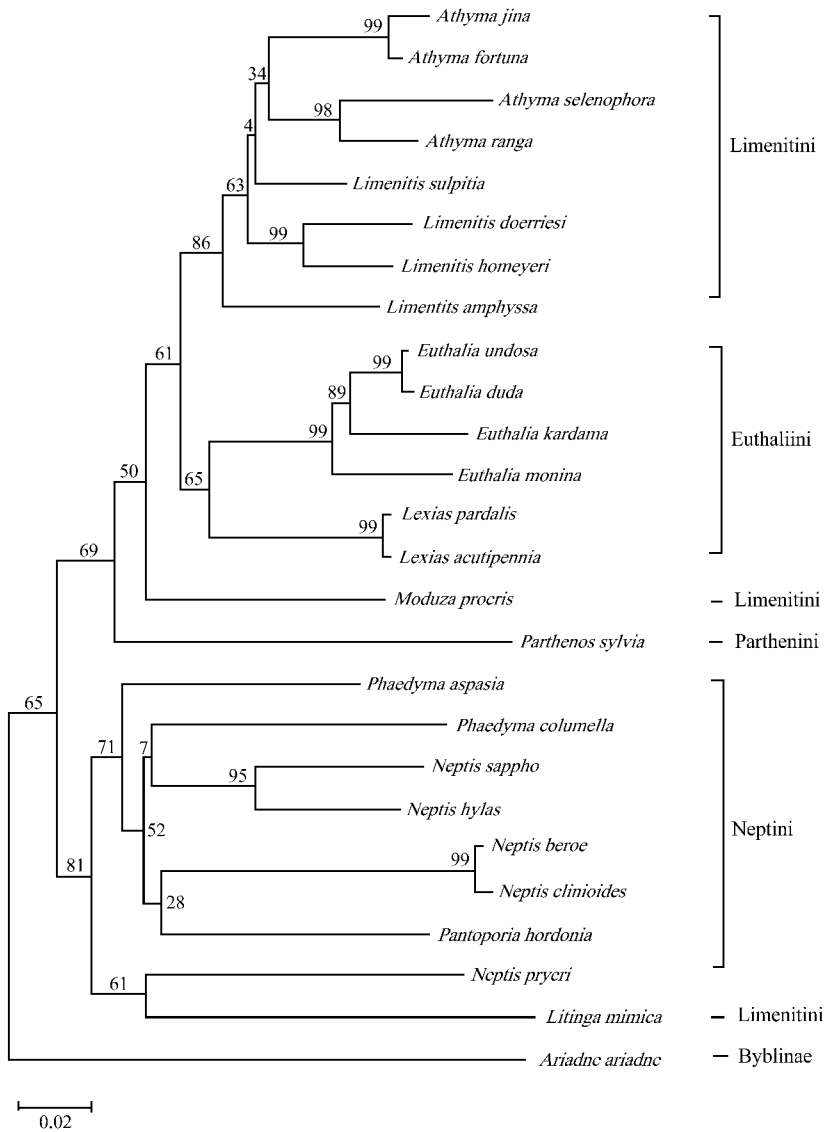


图 2 基于线粒体 Cyt *b* 基因部分序列构建的 NJ 树

Fig. 2 NJ tree based on partial mitochondrial Cyt *b* gene sequence data
各分支上数字为对应节点的 Bootstrap 支持率 (1 000 次重复)。
Numbers on each node are bootstrap values of 1 000 replicates.

固定; 第一、第二位点则相反 (Zhou et al, 2001)。物种间序列的碱基替换基本是转换多于颠换, 密码子第三位点的替换频率显著高于前两个位点, 占变异总数的 68.6%, 第二位点最少, 占 7.7%。本文的研究结果也显示 C-T 间发生的转换比 A-G 间的多, 这可能与 T、C 碱基的结构易发生错配有关。已有的研究表明, 脊椎动物线粒体 DNA 中 Cyt *b* 基因序列转换与颠换之比随相邻碱基 A+T 含量的增高而增加; 无脊椎动物 Cyt *b* 基因序列中的核苷酸替换没有显著的偏好性 (Hugall et al, 1997)。本研究所揭示的线蛱蝶亚科 25 种蝴蝶 Cyt

b 基因序列种中的高 A+T 含量与核苷酸替换之间的关系与该结论是一致的。

3.2 环蛱蝶族和翠蛱蝶族各类群间的系统发生关系

环蛱蝶族在早期是独立于线蛱蝶亚科之外的 (Chermock, 1950)。Eliot (1978) 和 Amiet (2000a) 也认为应将环蛱蝶族从线蛱蝶亚科中分离出来。然而后来的研究还是支持将其纳入线蛱蝶亚科 (Willmott, 2003; Zhou, 1998)。Harvey (1991) 基于幼虫形态特征等将本文所涉及的环蛱蝶族划分为 5 属: 蟠蛱蝶属 (*Pantoporia*)、蜡蛱蝶属 (*Lasippa*)、菲蛱蝶

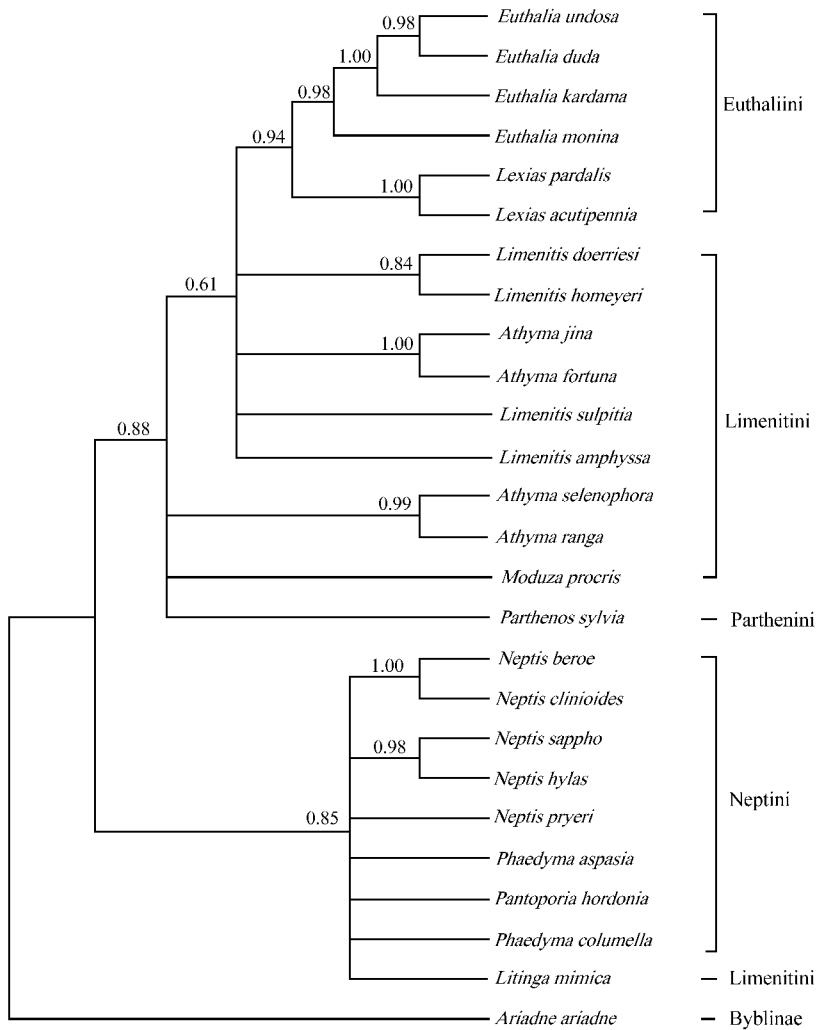


图 3 基于线粒体 Cyt *b* 基因部分序列构建的 Bayes 树 (各分支上数字为后验概率)

Fig. 3 The Bayes tree based on partial Cyt *b* gene sequences data (numbers on each node are posterior probability value)

属 (*Phaedyman*)、环蛱蝶属 (*Neptis*) 和伞蛱蝶属 (*Aldania*)。其他国外学者对环蛱蝶族的划分大致相同 (Ackery et al, 1999; Freitas, 1999)。这 5 个属在中国均有代表种, 本文研究涉及其中的蛱蛱蝶属、菲蛱蝶属和环蛱蝶属, 在我们所得到的系统树中, 这 3 个属聚为一枝, 除聚在该族的蛱蛱蝶属的拟蛱蛱蝶外, 环蛱蝶族的这 3 属构成一个单系群。但是这 3 个属之间的系统发育关系没有得到很好的解决。蛱蛱蝶属和菲蛱蝶属是从环蛱蝶属中分离出来的, 从形态学上来看, 两者与环蛱蝶属的主要差别在于: 环蛱蝶属翅的斑纹白色, 少数为淡黄色或土黄色, 各室斑纹分界明显, 不愈合; 而蛱蛱蝶属翅面斑纹橙色或黄色, 前翅斑纹愈合成三大块; 菲蛱蝶属与环蛱蝶属的不同表现在雄蝶后翅 Sc + R₁

脉比环蛱蝶属稍长, 而镜区稍显著。综合分子和形态的研究结果, 笔者倾向于环蛱蝶族为单系群的观点。

关于翠蛱蝶族, Amiet (2000b) 通过对该族形态学共源性状的研究, 认为它们是一个单系群。本研究中, 翠蛱蝶属的 4 个种组成一个单系群, 在 NJ、MP 和 Bayes 树中自展值及后验概率分别为 99, 93 和 1.00; 律蛱蝶属的二个种也聚在了一起, 自展值及后验概率也很高。上述两属构成了姐妹群。与形态学研究结果有较高的一致性, NJ 和 MP 树上它们所构成的分枝与带蛱蝶属和线蛱蝶属所形成的聚类族形成了姐妹群关系。

3.3 蛱蛱蝶属和穆蛱蝶属的系统发育地位

从线蛱蝶亚科蝴蝶分子系统树可以看出, 3 种

建树方法得到的系统树拓扑结构是基本相似的, 但它们之间存在一些差异。线蛱蝶族在线蛱蝶亚科中是一个较大的类群, 我国包括有其中的 8 个属, 本文涉及到 4 个属。从各系统树来看, 线蛱蝶族并非单系类群。其中带蛱蝶属和线蛱蝶属关系较近, 聚在一起, 这与形态学的分类是一致的。而该族的另外两个属穆蛱蝶属和缕蛱蝶属的位置则有所变化, 它们并没有与以上两属聚在一起。本文所涉及的该族的代表物种相对较少, 并不能说明整个线蛱蝶族的系统关系。

三棵分子系统树均显示穆蛱蝶属的穆蛱蝶构成了一个较早分化的独立支系(除丽蛱蝶外)。此外, NJ、MP 和 Bayes 树均表明缕蛱蝶属与环蛱蝶族亲缘关系比较接近, 与线蛱蝶族的其他几个属相比, 它们可能具有较近的共同祖先。Zhou (1998) 的分类是在前人的基础上将这两属(缕蛱蝶属和穆蛱蝶属)从线蛱蝶属中分离出来, 从形态学角度上看, 它们与线蛱蝶属的差别比较明显: 如缕蛱蝶属翅的斑纹比线蛱蝶属原始, 翅白色, 沿脉纹黑色, 无中横带; 穆蛱蝶属与线蛱蝶属相比, 前翅中室无白色纵带, 后翅反面基部无成组的黑色点。因此结合形态学的结果, 缕蛱蝶属和穆蛱蝶属可能是线蛱蝶族中线蛱蝶属和带蛱蝶属更为原始的分化类群。缕蛱蝶属为我国特有的属, 其系统分类位置一直不

明。根据本文的研究结果, 笔者倾向于将缕蛱蝶属从线蛱蝶族中独立出来。

3.4 线蛱蝶亚科内的系统发育关系

本文研究的线蛱蝶亚科 25 种蝴蝶隶属于 10 个不同的属。Willmott (2003) 的形态学支序分析中涉及到了线蛱蝶亚科的几个属, 结果表明, 线蛱蝶属和带蛱蝶属关系较近, 环蛱蝶属比以上两属较早地分化出来, 而丽蛱蝶属则比环蛱蝶属更早。本文作者曾根据线粒体 *COI* 基因探讨了线蛱蝶亚科 22 种蝴蝶的系统发育关系, 所构建的系统树也表明丽蛱蝶族是线蛱蝶亚科较早分化出来的类群。而本研究结果显示, 环蛱蝶族早于丽蛱蝶族从该亚科中分化出来, 而且翠蛱蝶族类群与线蛱蝶族的线蛱蝶属和带蛱蝶属的关系比环蛱蝶族要近, 翠蛱蝶族则可能是较晚分化的类群。

本研究运用 *Cyt b* 基因序列对线蛱蝶亚科蝴蝶进行系统关系研究时, 各属种间的关系比较明确, 由不同分析方法所得到的系统树的拓扑结构较为一致。但由于测得的 *Cyt b* 基因片段中所含的信息量有限, 加之代表物种的数量及构树的方法等因素对分析结果所产生的影响, 线蛱蝶亚科特别是线蛱蝶族各类群的系统发生关系还有待于应用更多分类群和多基因联合数据的分析。

参考文献:

- Ackery PR, de Jong R, Vane-Wright RI. 1999. The Butterflies: Hedyloidea, Hesperoidea, and Papilionoidea [A]. In: Kristensen, NP (Ed.), The Butterflies: Hedyloidea, Hesperoidea, and Pilionoidea [M]. Berlin: De Gruyter, 263 - 300.
- Amiet JL. 2000a. Premiers etats de Pseudacraea et Neptis du Cameroun: Morphologie et ethologie coparees, phylogenie (Lepidoptera, Nymphalidae) [J]. *Bull Soc Entomol Fr*, **105**: 131 - 174.
- Amiet JL. 2000b. Les premiers etats des cymothoe: Morphologie et interet phylogenie (Lepidoptera, Nymphalidae) [J]. *Bull Soc Entomol Fr*, **106**: 349 - 390.
- Barker FK, Lanyon SM. 2000. The impact of parsimony weighting schemes on inferred relationships among toucana and neotropical barbets (Aves: Piciformes) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **15**: 215 - 234.
- Boggs CL, Watt WB, Ehrlich PR. 2003. Butterflies: Evolution and Ecology Taking Flight [M]. Chicago: University of Chicago Press.
- Brower AVZ. 1994. Rapid morphological radiation and convergence among races the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **91**: 6491 - 6495.
- Brower AVZ, Desalle R. 1998. Patterns of mitochondrial versus nuclear DNA sequence divergence among Nymphalidae butterflies: The utility of wingless as a source of characters for phylogenetic inference [J]. *Insect Mol Biol*, **7**: 73 - 82.
- Brower AVZ. 2000. Phylogenetic relationships among Nymphalidae (Lepidoptera), inferred from partial sequences of the wingless gene [J]. *Proc R Soc Lond B*, **267**: 1201 - 1211.
- Chen YJ, Zhang YP. 1999. The phylogeny of 5 Chinese peculiar Parnassius butterflies using noninvasive mtDNA sequences [J]. *Acta Genet Sin*, **26** (3): 203 - 207. [陈永久, 张亚平. 1999. 中国 5 种珍稀绢蝶非损伤性取样的 mtDNA 序列及系统进化. 遗传学报, **26** (3): 203 - 207.]
- Chen AH, Jiang GF. 2004. Phylogenetic relationships among 12 species of Tetrigidae (Orthoptera: Tetrigoidea) based on partial sequences of 12S and 16S ribosomal RNA [J]. *Zool Res*, **25** (6): 510 - 514. [陈爱辉, 蒋国芳. 2004. 基于线粒体 12S 和 16S rRNA 基因部分序列探讨蚱科 12 种的系统发育关系. 动物学研究, **25** (6): 510 - 514.]
- Chermock JL. 1950. A generic revision of the Limentini of the world [J]. *Am Mid Nat*, **43**: 513 - 569.
- Dai JX, Zheng ZM. 2004. Discussion on the phylogenetic relationships of partial pentatomidae insects based on sequences of cytochrome *b* gene [J]. *Zool Res*, **25** (5): 392 - 402. [代金霞, 郑哲民. 2004. 蝽科部分昆虫细胞色素 *b* 基因序列及其系统发育关系的探讨. 动物学研究, **25** (5): 392 - 402.]
- DeSalle R, Freedman T, Prager EM. 1987. Tempo and mode of se-

- quence evolution in mitochondrial DNA of Hawaiian *Drosophila* [J]. *J Mol Evol*, **26**: 157–164.
- Eliot JN. 1978. The Butterflies of the Malay Peninsula. 3rd edition [M]. Kuala Lumpur, Malay Nature Society.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap [J]. *Evolution*, **39**: 783–791.
- Folmer O, Black MB, Hoch W, Lutz RA, Vrijehock RC. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. *Mol Mar Biol Biotechnol*, **3**: 294–299.
- Freitas AVL. 1999. Nymphalidae (Lepidoptera), Filogenia com Base em Caracteres de Imaturos, com Experimentos de Troca de Plantas Hospedeiras, Nymphalidae (Lepidoptera), Filogenia com Base em Caracteres de Imaturoa, com Experimentos de Troca de Plantas Hospedeiras [M]. Sao paulo: University Estadual de Campinas, 12–170.
- Freitas AVL, Brown JR. 2004. Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidoptera) [J]. *Syst Biol*, **53** (3): 363–383.
- Gray MW. 1989. Origin and evolution of mitochondrial DNA [J]. *Annu Rev Cell Biol*, **5**: 25–50.
- Hao JS, Li CX, Sun XY, Yang Q. 2005. Phylogeny and divergence time estimation of cheilostome bryozoans based on mitochondrial 16S rRNA sequences [J]. *Chn Sci Bull*, **50** (12): 1205–1211.
- Harvery DJ. 1991. Higher classification of the Nymphalidae [A]. In: Nijhout HF. Higher Classification of the Nymphalidae, Appendix B [M]. Washington: Smithsonian Institution Press, 255–273.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees [J]. *Bioinformatics*, **17** (8): 754–755.
- Hugall A, Stanton J, Moritz C. 1997. Evolution of the A-T rich mitochondrial DNA of the root knot nematode *Meloidogyne hapla* [J]. *Mol Biol Evol*, **14** (1): 40–48.
- Irwin DM, Kocher TD, Wilson AC. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals [J]. *J Mol Evol*, **32**: 128–144.
- Joyce DA, Pullin AS. 2001. Phylogeography of the Marsh Fritillary *Euphydryas aurinia* (Lepidoptera: Nymphalidae) in the UK [J]. *Biol J Linn Soc*, **72** (1): 129–141.
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment [J]. *Brief Bioinform*, **5**: 150–163.
- Knight A, Mindell DP. 1993. Substitutions, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogeny position of Fea's viper [J]. *Syst Biol*, **42** (1): 18–31.
- Murray D, Prowell DP. 2005. Molecular phylogenetics and evolutionary history of the neotropical satyrine subtribe Euphychiina (Nymphalidae: Satyrinae) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **34**: 67–80.
- Posada D, Crandall KA. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution [J]. *Bioinformatics*, **14**: 817–818.
- Reeder TW. 1995. Phylogenetic relationships among phrynosomatid lizards as inferred from mitochondrial ribosomal DNA sequences: Substitutional bias and information content of transition relative to transversion [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **4**: 203–222.
- Shao ZY, Mao HX. 2002. Phylogenetic relationships of 11 bumblebee species (Hymenoptera: Apidae) based on mitochondrial cytochrome b gene sequences [J]. *Zool Res*, **23** (5): 361–366. [邵志勇, 茅红新. 2002. 细胞色素 b 基因序列与 11 种熊蜂的系统进化. 动物学研究, **23** (5): 361–366.]
- 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 [J]. *Ann Entomol Soc Am*, **87**: 651–701.
- Swofford DL. 2002. "PAUP * : Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other methods)," ver. 4.0b10 [M]. Sunderland, M: Sinauer Associate.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The Clustal X windows interface; Flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Res*, **24**: 4876–4882.
- 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 [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **20** (3): 460–473.
- Wang BX, Yang LF. 2002. Phylogenetic utilities of mitochondrial DNA sequences in the study of insect systematics [J]. *Entomol Knowl*, **39** (2): 88–92. [王备新, 杨莲芳. 2002. 线粒体 DNA 序列特点与昆虫系统学研究. 昆虫知识, **39** (2): 88–92.]
- Willmott K. 2003. Cladistic analysis of the Neotropical butterfly genus *Adelpha* (Lepidoptera: Nymphalidae), with comments on the subtribal classification of Limenitidi [J]. *Syst Entomol*, **28**: 279–322.
- Wahlberg N, Weingartner E, Nylin S. 2003. Towards a better understanding of the higher systematics of Nymphalidae (Lepidoptera: Papilionoidea) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **28**: 473–484.
- Xia X, Xie Z. 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution [J]. *J Heredity*, **92**: 371–373.
- Zhou JL, Zhang YP, Huang MH, Chen YJ, Chen XQ, Yao GD. 2001. Phylogenetic relationships among Crotalinae based on mitochondrial cytochrome b gene sequence variations [J]. *Acta Zool Sin*, **47** (4): 361–366. [周继亮, 张亚平, 黄美华, 陈永久, 陈小青, 姚耿东. 2001. 腹亚科蛇线粒体细胞色素 b 基因序列分析与系统发育. 动物学报, **47** (4): 361–366.]
- Zhou Y. 1994. Monographia Rhopalocerorum Sinensium [M]. Zhengzhou: Henan Scientific and Technological Publishing House. [周尧. 1994. 中国蝶类志. 郑州: 河南科学技术出版社.]
- Zhou Y. 1998. Classification and Identification of Chinese Butterflies [M]. Zhengzhou: Henan Scientific and Technological Publishing House. [周尧. 1998. 中国蝴蝶分类与鉴定. 郑州: 河南科学技术出版社.]