

蛱蝶科亚科间的分歧时间估计

张敏^①, 曹天文^②, 金科^③, 任竹梅^①, 郭亚平^①, 施婧^③, 钟扬^{③④*}, 马恩波^{①*}

① 山西大学应用生物研究所, 太原 030006;

② 山西省农业科学院植物保护研究所, 太原 030031;

③ 复旦大学生命科学学院, 上海 200433;

④ 上海生物信息技术研究中心, 上海 201203

* 联系人, E-mail: yangzhong@fudan.edu.cn; maenbo2003@sxu.edu.cn

2008-03-24 收稿, 2008-05-16 接受

国家自然科学基金(批准号: 30570247, 30670361)、国家科技资源平台(批准号: 2005DKA21403)、国家基础科学人才培养基金(批准号: J0630643)和山西省自然科学基金(批准号: 2006011075)资助项目

摘要 基于自行测定的以及 GenBank 收录的线粒体 *COI* 基因和核 *EF-1 α* 基因序列, 应用最大似然法、贝叶斯推断法及马尔可夫链蒙特卡罗方法探讨了世界蝶类最大科——蛱蝶科亚科间的系统发育关系, 并对该科分子系统发育树各分支间的进化速率进行了差异显著性检验. 结合眼蝶亚科、蛱蝶亚科和苾蛱蝶亚科的化石资料, 获得了蛱蝶科所有 12 个亚科间首次分歧时间的平均估计值, 为 44.2~87.1 Ma. 研究结果有助于人们深入了解该科的起源与进化以及估计蝶类和其他复杂类群的分歧时间.

关键词
蛱蝶科
系统发育分析
分歧时间
COI
EF-1 α

蝴蝶是昆虫纲中研究最为透彻的类群^[1], 蛱蝶科(Nymphalidae)则是蝶类中已知物种最多的一个科, 计有 12 个亚科 550 个属约 6000 余种, 分布于古北区、东洋区、新热带区及澳洲区等区域^[2~5]. 然而, 由于蛱蝶科物种形态多变且生活史各不相同, 该科的系统发育关系一直比较混乱, 成为昆虫分类学家争论的焦点^[2,3,6~10]. 对该科起源与进化进行深入研究的一个障碍是化石资料极其缺乏, 仅凭生物地理事件来评估该科高阶类群的分歧时间一直困难重重, 是一项十分重要但也具有挑战性的工作.

近来, Wahlberg 等人^[8,11~13]采用分子和形态数据探讨了蛱蝶科的系统发育学关系, 认为该科为单系类群. 结合当时的化石证据, 他们粗略地推测了蛱蝶科在 70 百万年前(Ma)就已出现, 但未给出各亚科分歧时间的估计值. 鉴此, 我们结合自行测定的线粒体 *COI* 基因和核 *EF-1 α* 基因序列以及 GenBank 收录的序列, 应用多种统计方法, 估算出蛱蝶科所有 12 亚科的首次分歧时间, 以期加深对该科起源和进化的认识, 并对蝴蝶及其他复杂类群的时间估计问题提供依据.

1 材料与方法

(i) 实验材料. 将从四川、云南、广西等地采集的蛱蝶科闪蛱蝶亚科 8 个种(代表 8 个属)和线蛱蝶亚科 5 个种(代表 5 个属)活体制成干标本(凭证标本存于山西大学昆虫标本馆), 供序列测定之用.

(ii) DNA 提取与测序. 取蝶类干标本的足用 TE (pH 9.0)浸泡 24 h 后剪碎, 加入含蛋白酶 K 的溶液(在 1 倍的 TES 和 1% 的 SDS 中加入 0.5 mg/mL 蛋白酶 K)于 56°C 消化 8~12 h. 消化液采用饱和酚/氯仿法进行基因组 DNA 的抽提. 无水乙醇沉淀 DNA 完毕用 70% 的乙醇洗涤, 最后溶于 30 μ L 的 TE (pH 8.0)中-20°C 保存备用.

COI 基因扩增引物为 HCO/LCO^[14]和 C1-J-2183/TL2-N-3014^[15], *EF-1 α* 基因扩增引物(Starsky/Luke 和 Cho/Verdi)参照文献^[16]. PCR 扩增采用 50 μ L 体系, 包括 50 mmol/L KCL, 10 mmol/L Tris (pH 8.3), 1.5 mmol/L MgCl₂, 0.1% 明胶, 0.25 mmol/L dNTP, 0.6 μ mol/L 的各种引物, 1.5 U *Taq* DNA 聚合酶(华美生物工程公司), 以及 3 μ L 的模板 DNA (包括 20~50 ng

DNA). *COI*基因扩增条件为: 95℃预变性 5 min; 94℃, 30 s, 47℃, 30 s, 72℃, 90 s, 35 个循环; 72℃ 10 min. *EF-1α*基因的扩增条件为: 95℃预变性 7 min; 95℃, 1 min, 55℃, 1 min, 72℃, 2 min, 35 个循环; 72℃, 10 min. 扩增产物通过华舜PCR产物纯化试剂盒纯化, 纯化产物由大连宝生物公司进行测序.

(iii) 系统发育分析. 所测序列经校对后投送 GenBank, 蛱蝶科其余 10 个亚科 43 个种的序列由 GenBank 下载, 详见表 1.

*COI*和*EF-1α*基因序列分别用Clustal X 1.83 软件

[17]进行多重对位排列分析, 并辅以手工校正; 利用 PAUP* 4.0b4a [18]软件对两个已排列矩阵进行分划同质性检测(partition homogeneity test) [19], 由于 $P < 0.001$ (重复 1000 次抽样), 表明两个基因合并后不宜用最大简约法(maximum parsimony, MP)进行分析, 需要采用最大似然法(maximum likelihood, ML)来构建系统发育树 [20]; 选择弥尺蛾属 *Archiearis parthenias* 作为外类群, 采用 RAxML 7.0.0 软件 [21] 构树, 最佳核苷酸置换模型(GTR + I + Γ)由 Modeltest 3.7 [22] 确定; 数据自展(bootstrap)次数均为 1000.

表1 蛱蝶科和外类群的线粒体*COI*和核*EF-1α*基因序列

亚科名	种名	GenBank 收录号	
		<i>COI</i>	<i>EF-1α</i>
Apaturinae	<i>Apatura iris</i>	EF534090 ^{a)}	EF683655 ^{a)}
	<i>Mimathyma schrenckii</i>	EF534088 ^{a)}	EF683659 ^{a)}
	<i>Chitoria ulupi</i>	EF534093 ^{a)}	EF683660 ^{a)}
	<i>Timelaea maculate</i>	EF534099 ^{a)}	EF683661 ^{a)}
	<i>Sephisia chandra</i>	EF534084 ^{a)}	EF683656 ^{a)}
	<i>Euripus nyctelius</i>	EF534096 ^{a)}	EF683658 ^{a)}
	<i>Hestina assimilis</i>	EF534097 ^{a)}	EF683641 ^{a)}
	<i>Sasakia charonda</i>	EF534092 ^{a)}	EF683657 ^{a)}
	<i>Eulaceura osteria</i>	AY788593	AY788695
Libytheinae	<i>Libythea celtis</i>	AY090198	AY090164
Calinaginae	<i>Calinaga buddha</i>	AY090208	AY090174
Danainae	<i>Greta oto</i>	AY090206	AY090172
	<i>Amauris elliotti</i>	AY218234	AY218253
	<i>Danaus plexippus</i>	DQ018954	DQ018921
	<i>Euploea camaralzeman</i>	AY090205	AY090171
Charaxinae	<i>Charaxes castor</i>	AY090219	AY090185
	<i>Palla decius</i>	DQ338576	DQ338884
	<i>Memphis appias</i>	DQ338575	DQ338883
	<i>Hypna clytemnestra</i>	DQ338574	DQ338882
	<i>Anaea troglodyta</i>	DQ338573	DQ338881
	<i>Archaeoprepona demophon</i>	AY090186	AY090220
Satyrinae	<i>Elymnias casiphone</i>	DQ338760	DQ338900
	<i>Zethera incerta</i>	DQ338776	DQ338918
	<i>Aeropetes tulbaghia</i>	DQ338579	DQ338907
	<i>Melanitis leda</i>	AY090207	AY090173
	<i>Haetera piera</i>	DQ018959	DQ018926
	<i>Amathusia phidippus</i>	DQ018956	DQ018923
	<i>Morpho peleides</i>	AY090210	AY090176
	<i>Bia actorion</i>	DQ338753	DQ338893
Nymphalinae	<i>Nymphalis l-album</i>	AY248791	AY248816
	<i>Historis acheronta</i>	AY788631	AY788751
	<i>Vanessa atalanta</i>	AY090221	AY090187
	<i>Hypanartia kefersteini</i>	AY788640	AY788759
	<i>Aglais urticae</i>	AY248786	AY248811
	<i>Smyrna blomfildia</i>	AY788678	AY788816
	<i>Kaniska canace</i>	AY248792	AY248817

续表1

亚科名	种名	GenBank 收录号	
		COI	EF-1a
Biblidinae	<i>Dynamine maeon</i>	AY090228	AY090196
	<i>Byblia anvatarata</i>	AY788595	AY788697
	<i>Eurytela dryope</i>	AY218242	AY218262
	<i>Ariadne enotrea</i>	AY218237	AY218256
	<i>Hamadryas februa</i>	AY090216	AY090182
	<i>Sevenia boisduvali</i>	AY218247	AY218267
	<i>Callicore pacifica</i>	AY788596	AY788698
	<i>Nica flavilla</i>	AY218245	AY218265
	<i>Catonephele numilia</i>	AY090215	AY090181
	<i>Myscelia capensis</i>	AY788599	AY788701
Limenitidinae	<i>Parthenos sylvia</i>	AY090218	AY090184
	<i>Euphaedra herberti</i>	AY218241	AY218261
	<i>Limenitis reducta</i>	AY090217	AY090183
	<i>Adelpha bredowi</i>	AY788591	AY788693
	<i>Litinga mimica</i>	EF683679 ^{a)}	EF683643 ^{a)}
	<i>Athyma jina</i>	EF534100 ^{a)}	EF683644 ^{a)}
	<i>Auzakia danava</i>	EF683683 ^{a)}	EF683646 ^{a)}
	<i>Neptis sappho</i>	EF683682 ^{a)}	EF683648 ^{a)}
	<i>Euthalia monina</i>	EF683680 ^{a)}	EF683645 ^{a)}
Cyrestinae	<i>Cyrestis thyodamas</i>	AY218240	AY218260
	<i>Chersonesia rahria</i>	AY788601	AY788703
	<i>Marpesia orsilochus</i>	AY788604	AY788706
Pseudergolinae	<i>Amnosia decora</i>	AY218235	AY218254
	<i>Stibochiona nicea</i>	AY218249	AY218269
	<i>Pseudergolis wedah</i>	AY788605	AY788707
	<i>Dichorragia nesimachus</i>	AY788602	AY788704
Heliconiinae	<i>Argynnis paphia</i>	AY090200	AY090166
	<i>Clossiana selene</i>	AY090201	AY090167
	<i>Heliconius hecale</i>	AY090202	AY090168
	<i>Vagrans egista</i>	AY090203	AY090169
Archiearinae (外类群)	<i>Archiearis parthenias</i>	DQ018928	DQ018899

a) 本研究自测序列

(iv) 分歧时间估计. 分别应用相对速率检验法和似然比检验法检测系统发育树各分支间核苷酸置换速率的差异显著性: 用PAUP*软件对各分支间的进化速率进行似然比检验, $2\Delta\ell$ 和 χ^2_{71} 分布($P<0.001$)表明存在显著性差异, 即严格分子钟假设不成立; 用RRTREE^[23]软件检测各分支间的相对速率, 得到类似结果. 因而, 不能采用简单的线性拟合来估计各亚科间的分歧时间.

基于宽松分子钟条件, 采用贝叶斯马尔可夫链蒙特卡罗(MCMC)算法估计分歧时间. 在描述化石标定的不确定性时, 一并考虑任意分布. 核苷酸置换模型为HKY85+ Γ 5, 用PAML软件包中的MCMC-

TREE^[24,25]程序分析数据. 选择独立速率模型, 由物种抽样的生-灭过程确定分歧时间的先验值. 本研究采用6个化石标定, 其中4个属蛱蝶亚科, 分别为34 Ma的红蛱蝶属*Vanessa amerindica*, 与斑蛱蝶属相关的两个已灭绝物种*Prodryas persephone*和*Lithopsyche styx*以及14 Ma的麻蛱蝶属^[1]. 第5个是发生于中新世的*Dynamine alexaen*^[26]. 最后一个化石的年代鉴定为始新世中期(约48~51 Ma), 其所代表的物种应属眼蝶亚科, 与Elyminiini中物种相近^[27]. 通过符合上下限界的 Γ 分布确定6个化石标定分别代表2.5%和97.5%的分布密度. 在去除10000次重复后, MCMC程序重复运行200000次. 在每次分析中,

算法用不同初始值运算两次以确认收敛于同一后验值. 此外, 采用BEAST v1.4.6 软件将各物种按照其所属亚科的不同分别设置了相应的亚类群, 并对亚类群进行了自动优化处理^[20].

2 结果与讨论

传统分类学主要依据蛱蝶科各亚科物种形态、生活史及其寄主植物等可观察到的特征作为分类学的重要依据. 但由于该科内各亚科物种形态学和生态学特征较为复杂, 因而不同的分类学者依据不同的分类特征得到的分类系统存在较多争议. 1991 年 Harvey^[10]将蛱蝶科分为 13 个亚科, 分别为袖蛱蝶亚科、蛱蝶亚科、线蛱蝶亚科、螯蛱蝶亚科、闪蛱蝶亚科、眼蝶亚科、摩尔福蝶亚科、绢蛱蝶亚科、斑蝶亚科、猫头鹰蝶亚科、蛱斑蝶亚科、苾蛱蝶亚科以及 Tellervinae. 国内蛱蝶科研究则主要依据周尧^[2]在《中国蝶类志》中描述的分类系统, 包括 10 个亚科, 分别为螯蛱蝶亚科、袖蛱蝶亚科、闪蛱蝶亚科、秀蛱蝶亚科、豹蛱蝶亚科、线蛱蝶亚科、苾蛱蝶亚科、丝蛱蝶亚科、蛱蝶亚科以及绢蛱蝶亚科. 此外, 该分类系统中眼蝶亚科和斑蝶亚科被分类为眼蝶科和斑蝶科. 多年来, 该科各亚科的分类系统曾经过多次修正, 目前国际较为公认的分类系统包括 12 个亚科, 分别为袖蛱蝶亚科、蛱蝶亚科、线蛱蝶亚科、螯蛱蝶亚科、闪蛱蝶亚科、绢蛱蝶亚科、眼蝶亚科、丝蛱蝶亚科、秀蛱蝶亚科、斑蝶亚科、喙蝶亚科以及苾蛱蝶亚科. 尽管当前对于蛱蝶科各物种的研究较多, 但是蛱蝶科各亚科之间的系统发育学关系尚缺乏系统研究. 因此, 得到蛱蝶科各亚科之间的系统发育学关系是根据现有化石估计各亚科分歧时间的前提.

根据最大似然法得出的系统发育树(图 1)显示大部分物种均以较高自展支持率各自聚为相应的亚科分支. 除眼蝶亚科外其余 11 个亚科分支的自展支持率均在 82%以上, 部分分支在 90%以上, 其中斑蝶亚科、螯蛱蝶亚科、闪蛱蝶亚科、袖蛱蝶亚科、线蛱蝶亚科、丝蛱蝶亚科和苾蛱蝶亚科各分支的自展支持率达 95%以上, 支持这些亚科为单系类群; 喙蝶亚科位于系统发育树的基部, 袖蛱蝶亚科与线蛱蝶亚科以及眼蝶亚科、螯蛱蝶亚科与绢蛱蝶亚科分别以 100% 的自展支持率各自聚为一支. 闪蛱蝶亚科与蛱蝶亚

科聚为一支, 随后与丝蛱蝶亚科与苾蛱蝶亚科形成的分支相聚, 秀蛱蝶亚科的物种再同这 4 个亚科以较高自展支持率(90%)形成一个聚类簇. 总的来说, 我们用最大似然法获得的蛱蝶科系统发育树与根据前人研究获得的拓扑结构除绢蛱蝶亚科的系统发育位置有所不同外, 其余各亚科的系统发育位置和各亚科间的系统发育学关系较为一致^[11,20,29,30], 为进一步估计蛱蝶科各亚科间的分歧时间关系奠定了基础.

根据MCMCTREE软件的计算结果, 图 1 显示了蛱蝶科各亚科首次分歧时间的平均估计值及 95%置信区间, 其中蛱蝶科的首次时间分歧约为 87.1 Ma, 其 95%置信区间为(68.9, 120.7), 与 Wahlberg根据化石资料和地质事件发生所估计的蛱蝶科年龄应 >70 Ma的结果相一致^[11]. 基于分子证据和统计方法, 估计出斑蝶亚科与其他亚科的分歧时间为 71.0 (60.4, 87.4) Ma, 螯蛱蝶亚科与眼蝶亚科的分歧时间为 53.9 (50.2, 59.2) Ma, 秀蛱蝶亚科与丝蛱蝶亚科、苾蛱蝶亚科、闪蛱蝶亚科及蛱蝶亚科等 4 个亚科的分歧时间为 49.8 (45.6, 59.4) Ma, 闪蛱蝶亚科与蛱蝶亚科的分歧时间为 44.2 (39.0, 49.0) Ma, 线蛱蝶亚科与袖蛱蝶亚科的分歧时间为 48.6 (43.0, 58.3) Ma, 丝蛱蝶亚科与苾蛱蝶亚科的分歧时间为 44.4 (39.8, 49.4) Ma. 综上所述, 本研究所获得的蛱蝶科所有 12 个亚科间首次分歧时间的平均估计值为 44.2~87.1 Ma. 我们用 BEAST v1.4.6 软件计算也获得了类似的结果, 表明上述估计较为稳定可靠.

迄今为止, 世界范围内从古新世到中新世所发现的蝴蝶成虫形成的化石约有 50 个, 其中 33 个与现存蝶类物种相同. 由于各方面条件所限, 目前所发现的蝴蝶化石只占化石记录的很少部分, 这给我们分析蝴蝶种群的演化规律带来了困难. 本文所开展的蝴蝶分歧时间估计的研究为探究早期蝴蝶生命演化提供了一个新的途径, 不仅可用来对基于蝴蝶化石记录的传统结论加以验证, 同时对于化石记录不完整的蝴蝶类群起源的推测具有重要意义, 有助于人们在分子水平上探索蝶类的系统发育与进化规律. 尤为重要的是, 沿相同思路, 人们可以在古DNA证据不足的情况下, 根据现代基因库的材料以及化石资料在分子水平上讨论和推断其他复杂昆虫门类的起源时间.

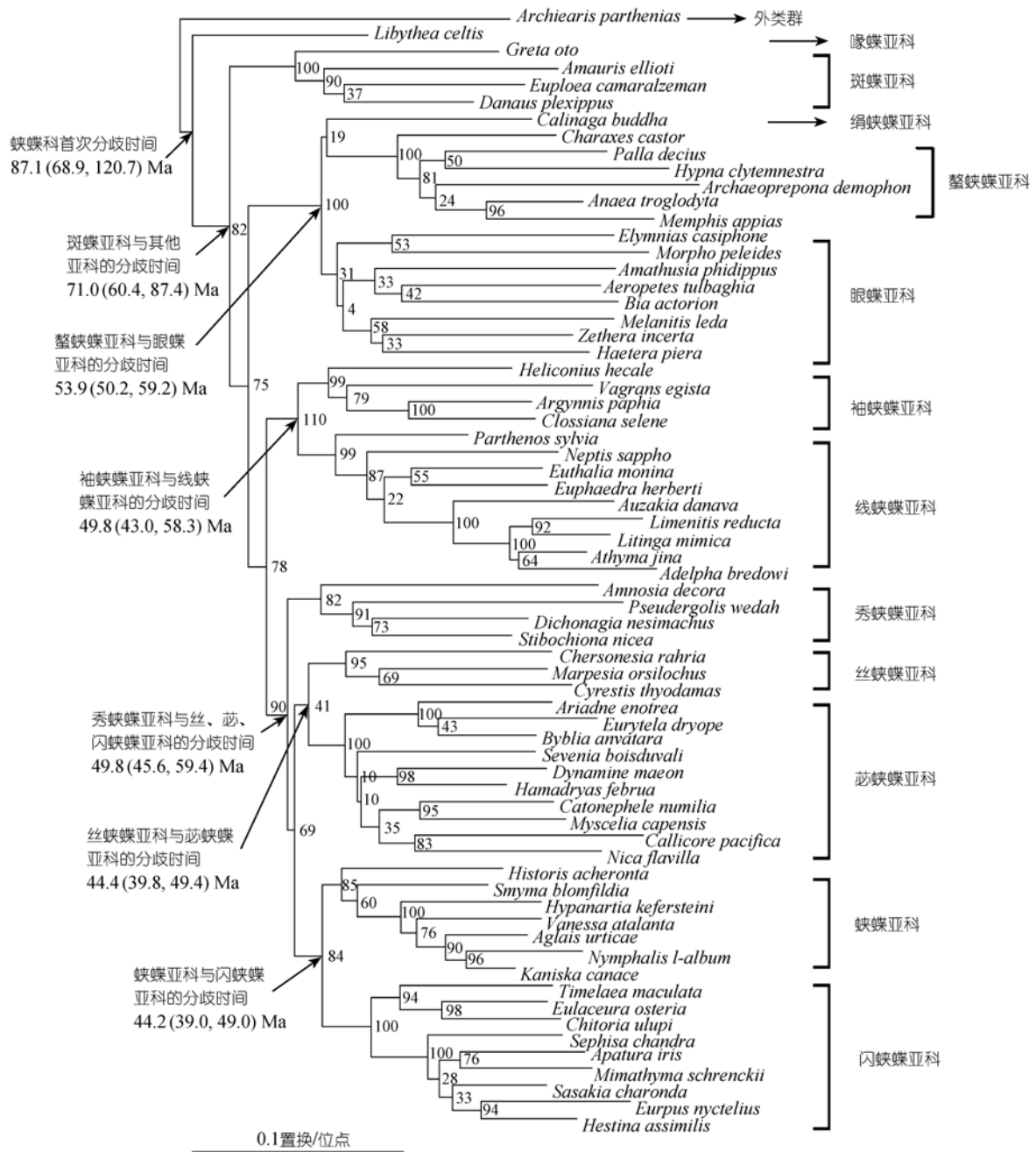


图 1 蛱蝶科 12 亚科的系统发育树
树枝节点处数值为该分支的自展支持率(%)

致谢 感谢杨子恒教授和长谷川政美(Masami Hasegawa)教授提供宝贵意见, 感谢 Lee Weigt 教授帮助修改润色英文稿, 感谢张原博士等协助计算。

参考文献

- Wahlberg N. That awkward age for butterflies: Insights from the age of the butterfly subfamily Nymphalinae (Lepidoptera: Nym-

- phalidae). Syst Biol, 2006, 55: 703—714[[doi](#)]
- 2 周尧. 中国蝶类志. 郑州: 河南科学技术出版社, 1994
- 3 周尧. 中国蝴蝶分类与鉴定. 郑州: 河南科学技术出版社, 1998
- 4 Braby M F. Phenotypic variation in adult *Mycalesis Hübner* (Lepidoptera: Nymphalidae: Satyrinae) from the Australian wet-dry tropics. J Aust Entomol Soc, 1994, 33: 327—336[[doi](#)]
- 5 Freitas A V L, Oliveira P S. Biology and behavior of the neotropical butterfly *Eunica bechina* (Nymphalidae) with special reference to larval defence against ant predation. J Res Lepidoptera, 1992, 31: 1—11
- 6 李传隆. 中国蝶类图谱. 上海: 上海远东出版社, 1992
- 7 Freitas A V L, Brown K S Jr. Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidoptera). Syst Biol, 2004, 53: 363—383[[doi](#)]
- 8 Wahlberg N, Brower A V Z, Nylin S. Phylogenetic relationships and historical biogeography of tribes and genera in the subfamily Nymphalinae (Lepidoptera: Nymphalidae). Biol J Linn Soc, 2005, 86: 227—251[[doi](#)]
- 9 Ackery P R. Hostplants and classification: A review of nymphalid butterflies. Biol J Linn Soc, 1988, 33: 95—203[[doi](#)]
- 10 Harvey D J. Higher classification of the Nymphalidae, Appendix B. In: Nijhout H F, ed. Higher Classification of the Nymphalidae, Appendix B. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 1991. 255—273
- 11 Wahlberg N, Weingartner E, Nylin S. Towards a better understanding of the higher systematics of Nymphalidae (Lepidoptera: Papilionoidea). Mol Phylogen Evol, 2003, 28: 473—484[[doi](#)]
- 12 Wahlberg N, Zimmermann M. Pattern of phylogenetic relationships among members of the tribe Melitaeini (Lepidoptera: Nymphalidae) inferred from mitochondrial DNA sequences. Cladistics, 2000, 16: 347—363[[doi](#)]
- 13 Wahlberg N. The phylogenetics and biochemistry of host plant specialization in melitaeine butterflies (Lepidoptera: Nymphalidae). Evolution, 2001, 55: 522—537[[doi](#)]
- 14 Folmer O, Black M B, Hoch W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol Mar Biol Biotech, 1994, 3: 294—299[[doi](#)]
- 15 Simon C, Frati F, Beckenbach A, et al. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. Ann Entomol Soc Amer, 1994, 87: 651—701
- 16 Monteiro A, Pierce N E. Phylogeny of bicyclus (Lepidoptera: Nymphalidae) inferred from *CO I*, *CO II* and *EF-1a* gene sequences. Mol Phylogen Evol, 2001, 18: 264—281
- 17 Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The Clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res, 1997, 25: 4876—4882[[doi](#)]
- 18 Swofford D L. PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods) sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 1998
- 19 Farris J S, Källersjö M, Kluge A G, et al. Testing significance of incongruence. Cladistics, 1995, 10: 315—319[[doi](#)]
- 20 Brower A V Z. Phylogenetic relationships among the Nymphalidae (Lepidoptera), inferred from partial sequences of the wingless gene. Proc R Soc Lond B Biol Sci, 2000, 267: 1201—1211[[doi](#)]
- 21 Stamatakis A. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. Bioinformatics, 2006, 22: 2688—2690[[doi](#)]
- 22 Posada D, Crandall K A. MODELTEST: Testing the model of DNA substitution. Bioinformatics, 1998, 14: 817—818[[doi](#)]
- 23 Marc R R, Dorothée H. RRTree: Relative-rate tests between groups of sequences on a phylogenetic tree. Bioinformatics, 2000, 16: 296—297[[doi](#)]
- 24 Rannala B, Yang Z H. Inferring speciation times under an episodic molecular clock. Syst Biol, 2007, 56: 453—466[[doi](#)]
- 25 Yang Z H, Rannala B. Bayesian estimation of species divergence times under a molecular clock using multiple fossil calibrations with soft bounds. Mol Biol Evol, 2006, 23: 212—226[[doi](#)]
- 26 Penalver E, Grimaldi D A. New data on Miocene butterflies in *Dominican Amber* (Lepidoptera: Riodinidae and Nymphalidae) with the description of a new nymphalid. Amer Mus Nov, 2006, 3519: 1—5[[doi](#)]
- 27 Murray D, Prowell D P. Molecular phylogenetics and evolutionary history of the neotropical Satyrine Subtribe Euptychiina (Nymphalidae: Satyrinae). Mol Phylogen Evol, 2005, 34: 67—80
- 28 Drummond A J, Rambaut A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evol Biol, 2007, 7: 214[[doi](#)]
- 29 Ackery P R, de Jong R, Vane-Wright R I. The butterflies: Hedyloidea, Hesperioidea, and Papilionoidea. In: Kristensen N P, ed. Lepidoptera: Moths and Butterflies. 1. Evolution, Systematics, and Biogeography. Handbook of Zoology IV, Part 35. De Gruyter, Berlin and New York, 1999: 264—300
- 30 Freitas A V L, Brown K S. Phylogeny of the Nymphalidae (Lepidoptera). Syst Biol, 2004, 53: 363—383[[doi](#)]