

福寿螺线粒体 DNA CO 基因 序列测定及分类地位

宋红梅 胡隐昌* 王培欣 牟希东 李小慧 汪学杰 罗建仁

(中国水产科学研究院珠江水产研究所 广州 510380)

摘要:对国内 6个地区共 29个福寿螺 (Apple Snails)个体 mtDNA CO 基因进行了扩增和序列分析 ,并结合 GenBank中报道的福寿螺 6个种 *Panacea canaliculata*、*P. insulanum*、*P. diffusa*、*P. haustor*、*P. paludosa*、*P. canena*和 *Pila*属 *P. conica*的同源序列 ,对国内入侵福寿螺的分类地位与分子系统发育进行了分析。结果表明 ,扩增的 mtDNA CO 基因序列长度为 619 bp,序列间未见插入和缺失 ,其中核苷酸多态位点 99个 ,简约信息位点 80个 ;碱基 A、T、C、G平均含量分别为 23.6%、39.1%、16.6%和 20.7% ,A + T的含量 (62.7%)明显高于 C + G的含量 (37.3%) ; 6个地区的福寿螺共有 13种单倍型 ,广州、钦州和吉安分别有 3种单倍型 ,茂名、厦门和成都分别有 2种单倍型 ,而广州、厦门和钦州 3个地区之间共享一种单倍型。进一步的分子遗传距离分析表明 ,这 6个地区福寿螺个体与 *P. diffusa*、*P. haustor*、*P. paludosa*和 *P. canena*的遗传距离为 0.114 ~ 0.191,而与 *P. insulanum*和 *P. canaliculata*的同源性较高 ,其中单倍型 1、2、3、7、8、10、11、12与 *P. canaliculata*的遗传距离为 0 ~ 0.074,单倍型 4、5、6、9、13与 *P. insulanum*的遗传距离为 0.011 ~ 0.063。构建的分子系统树显示 7个分支 ,分别为 *Panacea*属 6个种和 *Pila*属 *P. conica*,其中单倍型 1、2、3、7、8、10、11、12与 *Panacea canaliculata*聚成一支 ,单倍型 4、5、6、9、13与 *P. insulanum*聚成一支。序列同源性、遗传距离和系统进化树分析结果表明 ,国内入侵福寿螺有 *P. canaliculata*和 *P. insulanum*两个种 ,而且这两个种在入侵扩散过程中已相互混杂。本研究为今后开展福寿螺的资源调查、控制和管理等提供科学依据。

关键词:福寿螺 ;mtDNA CO ;分类 ;进化树

中图分类号:Q951 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263 (2010) 01-01-07

Sequencing Cytochrome Oxidase Subunit of Mitochondrial DNA and the Taxonomic Status of Apple Snails

SONG Hong-Mei HU Yin-Chang* WANG Pei-Xin MOU Xi-Dong LI Xiao-Hui
WANG Xue-Jie LUO Jian-Ren

(Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences,
Laboratory of Pet Fish, Guangzhou 510380, China)

Abstract The fragments of mitochondrial cytochrome oxidase subunit (CO) gene were amplified from 29 Apple Snails in 6 different locations, then sequenced and analyzed. Compared with the corresponding CO gene sequences of *Panacea canaliculata*, *P. insulanum*, *P. diffusa*, *P. haustor*, *P. paludosa*, *P. canena* and *Pila*

基金项目 农业部农作物病虫害疫情监测与防治项目 (No. 210380), 外来入侵生物监测预警项目;

* 通讯作者, Email: Huyc2@163.com;

第一作者介绍 宋红梅,女,硕士;研究方向:水生生物技术与生态入侵;Email: shm1227@126.com。

收稿日期:2009-03-03,修回日期:2009-09-04

conica in the ampullariids published in GenBank, the taxonomic status of introduced Apple Snails in six regions of China was examined. The results showed that the length of CO₁ gene sequence was 619 bp, including 99 variable sites and 80 parsimony sites. The average contents of A, T, C and G were 23.6%, 39.1%, 16.6% and 20.7%, respectively. Total 13 different haplotypes of apple snails were found in 6 different locations. There were 3 haplotypes in Guangzhou, Qinzhous and Jian, and two haplotypes in Maoming, Xiamen and Yaan. In addition, 3 locations of Guangzhou, Xiamen and Qinzhous all existed a uniform haplotype. Molecular analyses showed that the genetic distances ranged from 0.114 to 0.191 between apple snails in six locations in China and *Panacea diffusa*, *P. haustrium*, *P. paludosa*, *P. canena*, 0.011 to 0.063 between *P. insularum* and Haplotype 4, 5, 6, 9, 13, and 0 to 0.074 between *P. canaliculata* and other eight haplotypes. Phylogenetic analysis based on the mitochondrial CO₁ gene segregated them into seven major clades including 6 species of the genus *Panacea* and one of the genus *Pila*. Haplotype 1, 2, 3, 7, 8, 10, 11, 12 and *Panacea canaliculata* formed a clade that was sister to the *P. insularum* clade including Haplotype 4, 5, 6, 9, 13. Sequence analysis, genetic distances and Phylogenetic trees suggested that there were two species of non-native apple snails in China continent including *P. canaliculata* and *P. insularum*, and this two species had mixed with each other in the course of invasion. This study will provide a scientific basis for developing resources investigation, control and management of apple snails in the future.

Key words Apple Snail; mtDNA CO₁; Taxonomic; Phylogenetic tree

福寿螺 (Apple Snails), 又称大瓶螺、苹果螺, 隶属于中腹足目 (Mesogastropoda) 瓶螺科 (Ampullariidae) 瓶螺属 (*Panacea*), 主要分布于南美洲亚马逊河流域^[1]。最早是作为高蛋白食物于 20 世纪 70 年代末被引入美国和东南亚部分地区^[2]。1981 年作为特种经济动物被引入我国广东和广西养殖, 其后, 陆续引入其他省份, 因其肉质太松且养殖过度而失去市场, 故被大量遗弃或逃逸^[3]。其食性杂、抗逆性和繁殖力极强, 又缺乏自然天敌控制, 因而不断扩散为害, 在入侵不过 30 多年时间, 已迅速侵占了福建、广西、浙江、江西、四川等地, 现已成为我国危害水稻 (*Oryza sativa*)、茭白 (*Zizania aquatica*) 和芡实 (*Euryale ferox salisb*) 等水生作物的恶性水生动物, 引起人们的普遍重视^[3]。据估计 2000 年全国福寿螺发生面积为 165 000 hm², 推算福寿螺引起的直接经济损失达 10 666 万元^[4]。此外, 福寿螺还是卷棘口吸虫 (*Echinostoma revolutum*)、广州管圆线虫 (*Angiostrongylus cantonensis*) 等寄生虫的中间宿主^[5-6]。因为福寿螺所引起的经济与生态问题之突出, 早在 2000 年, IUCN 外来入侵物种专家委员会就已将福寿螺列为世界 100 种恶性外来

入侵物种之一, 2003 年 3 月, 中国环保总局将福寿螺列入首批入侵我国的 16 种外来物种“黑名单”。国内外学者迅速对其展开研究, 国内曾报道过福寿螺繁殖习性、繁殖能力及若干理化因子对其产生的影响^[7]、胚胎发育^[8]、形态构造^[1]及一般生态学观察^[9-10], 但对于其具体的遗传背景, 尤其是基于分子证据的种质来源、分类地位和遗传结构等仍然未知。

线粒体 DNA 细胞色素氧化酶 亚基 (cytochrome oxidase subunit I, CO₁) 是线粒体氧化呼吸链的重要成员, 其 DNA 序列变异性较大, 可提供丰富的 DNA 多态信息, 是研究种间、种内分子进化和系统发育最有用的基因之一^[11-12]。本文拟对国内不同地理区域入侵的福寿螺 CO₁ 基因进行分析, 探讨入侵福寿螺的分类地位, 为了解福寿螺的群体动态、阐明其入侵途径和提出有效的控制策略等提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料采集

福寿螺样品分别采自广州、茂名、厦门、钦州、雅安、吉安市 6 个地区, 样品数量分别为 5、5、5、4、5、5 只。取肌肉样品保

存于 95% 酒精中 , 放入 -20 ℃ 冰箱备用。样品的具体信息见表 1。

1.2 基因组 DNA 样品的制备 分别取约 20 mg 福寿螺肌肉组织 , 剪碎 , 加入 60 μl 细胞裂解缓冲液和 500 μl STE (50 mmol/L Tris-HCl , pH 9.0; 100 mmol/L EDTA; 200 mmol/L NaCl) ,

表 1 样品采集地、样本量和代号

Table 1 Sampling localities, sample sizes and code of the samples

采集地点 Collection location	样本量 (n) Sample size	平均重量 (g) Average weight	壳色 Shell color	条纹 Stria	代号 Code
广州荔湾区 L iwan District of Guangzhou	5	39.03	黑色	有	广州
茂名高州市 Gaozhou District of Maoming	5	25.85	黄色	无	茂名
厦门集美区 J i mei District of Xiamen	5	16.51	褐或黄	无	厦门
钦州钦北区 Q inbei District of Q inzhou	5	6.93	褐或黑色	无	钦州
雅安雨城区 Yucheng District of Yaan	4	9.25	褐或黑色	有或无	雅安
吉安泰和县 Taihe District of Jian	5	3.97	淡或深黄	有或无	吉安

的 PCR 扩增引物设计参照文献 [13] , 引物序列为 L1490: 5'-GGTCAACAAA TCA TAAA GA TA TT-GG-3' 与 H2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGAC-CAAAAAA TCA -3' , 由上海英骏生物技术服务有限公司合成。 PCR 反应总体积为 50 μl , 反应体系为 : 10 × buferr (含 Mg²⁺ , 25 mmol/L) 5 μl , 0.25 mmol/L 的 dNTP 1 μl , 10 μmol/L 的引物各 1 μl , 0.5 μl Taq 酶 (5 U/μl) , 0.4 μl DNA 模板 , 双蒸水补足至 50 μl 。反应条件为 : 94 预变性 4 min; 94 变性 30 s , 50 退火 30 s , 72 延伸 1 min , 32 个循环 ; 最后 72 延伸 7 min 。 PCR 结束后取 5 μl 扩增产物于 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 测序与数据分析 PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳回收纯化后送至上海生工生物工程技术服务有限公司直接进行正反双向测序 , 将测得的 CO 序列用 Vector NTI 8.0 软件进行拼接并辅以人工核对 , 利用 DNAsp 4.0 软件^[14] 统计单倍型及变异位点 , 计算单倍型多样性 (h) 和核苷酸多样性 () 。另外采用 MEGA 4.0 软件^[15] 中的 Kumar 2-parameter 模型计算个体间遗传距离、分析序列碱基组成 (base composition) 及核苷酸位点的替换数。根据本实验所测福寿螺线粒体 CO 基因序列 , 结合 GenBank 数据库中登录的 *Pomacea canaliculata*

再加入 150 μl SDS (10%) 和 5 μl 蛋白酶 K (10 mg/ml) 于 56 ℃ 消化至溶液澄清 , 然后用酚、氯仿、异戊醇常规方法抽提 DNA , 用去离子超纯水溶解。提取的基因组 DNA 定量后配成 20 ng/μl 的溶液 , -20 ℃ 保存备用。

1.3 引物设计和 PCR 扩增 所用 CO 基因

(EU523129) 、 *P. insula num* (EF514942) 、 *P. cam ena* (EF515059) 、 *P. paludosa* (EF514958) 、 *P. haustri num* (EF51506) 、 *P. diffusa* (EF515081) 、 *Pila conica* (EF514948) 各一条 CO 基因序列^[16] , 用 Clustal X 软件^[17] 进行排序 , 生成供系统发育分析的矩阵。再用 Mega 4.0 软件邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 和非加权组平均法 (unweighted pair group method using arithmetic average, UPCMA) 进行 500 次的自助重抽样 (bootstrap) 构建系统进化树。

2 结果

2.1 福寿螺 mtDNA CO 基因的 PCR 扩增结果 以国内 6 个地区共 29 份福寿螺 DNA 样品为模板进行 mtDNA CO 基因的 PCR 扩增 , 均得到大小相同的扩增片段 , 约为 700 bp 。图 1 显示部分样品 PCR 扩增后的电泳检测结果。

2.2 序列组成与单倍型 本研究对国内 6 个地区共 29 个福寿螺样本的 mtDNA CO 基因部分序列进行了测定 , 通过比对和人工校对后 , 对 619 bp 的序列进行分析。共检测到 99 个核苷酸多态位点 , 占总位点数的 16.0% , 其中简约信息位点为 80 个 , 无插入和缺失位点。序列中有 31 个转换位点 (Ts) , 6 个颠换位点 (Tv) , 转换颠换比 (Ts/Tv) 为 5.6 。碱基含量的平均

值分别为:A = 23.6%, T = 39.1%, C = 16.6%, G = 20.7%, 且 A + T 的含量(62.7%)明显高于 C + G 的含量(37.3%)。经统计 6 个地区共有 13 种单倍型, 广州、钦州和吉安分别有 3 种单倍型, 茂名、厦门和成都分别有 2 种单倍型, 且广州、厦门和钦州 3 个地区之间共享 1 种单倍型(表 2)。

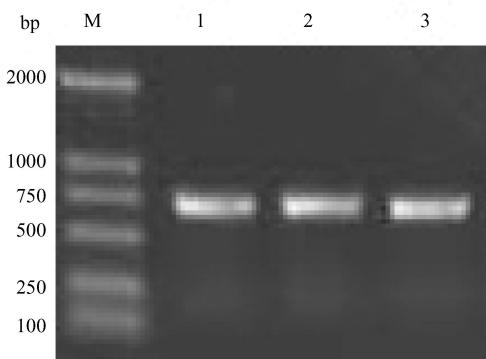


图 1 福寿螺 CO 基因的部分样品扩增结果

Fig 1 The amplification results of CO Gene

1. 广州地区; 2. 钦州地区; 3. 雅安地区;
- M. DL 2000 DNA 分子量标准。
1. Guangzhou; 2. Qinzhou; 3. Yaan;
- M. DL2000 DNA marker

2.3 福寿螺 mtDNA CO 基因序列差异 将本实验获得的福寿螺 6 个地区的 13 种单倍型登录到 NCB I 数据库中, 序列登录号为 FJ946816 ~ FJ946828。与 NCB I 数据库中报道的福寿螺 *Panacea canaliculata*、*P. insulanum*、*P. diffusa*、*P. haustrium*、*P. paludosa*、*P. camena* 6 个种和外类群 *Pila conica* mtDNA CO 基因相应序列进行排序, 并依据 Kimura 2-parameter 模型

计算出个体间的进化分歧矩阵(表 3)。序列排序结果和进化分歧矩阵表明, 6 个地区福寿螺个体与 *P. conica* 的遗传距离最大(0.219 ~ 0.248), 碱基相差为 117 个以上, 与 *Panacea diffusa*、*P. haustrium*、*P. paludosa* 和 *P. camena* 的遗传距离为 0.114 ~ 0.191, 碱基相差为 65 ~ 102, 而与 *P. insulanum* 和 *P. canaliculata* 的同源性较高, 其中单倍型 4、5、6、9、13 与 *P. insulanum* 的遗传距离为 0.011 ~ 0.062, 碱基相差 7 ~ 37 个, 单倍型 1、2、3、7、8、10、11、12 与 *P. canaliculata* 的遗传距离为 0 ~ 0.074, 碱基相差 0 ~ 52 个。进一步对福寿螺 6 个地区 13 种单倍型间的遗传距离分析表明, 单倍型 4、5、6、9、13 个体间的遗传距离范围为 0.003 ~ 0.063, 单倍型 1、2、3、7、8、10、11、12 个体的遗传距离范围为 0 ~ 0.058, 单倍型 4、5、6、9、13 与单倍型 1、2、3、7、8、10、11、12 之间的遗传距离范围为 0.058 ~ 0.112。以上结果表明福寿螺在国内应该分布有 2 个种 *P. insulanum* 和 *P. canaliculata*, 并且这 2 个种的亲缘关系较近, 与 *Panacea* 属中的其他 4 个种 (*P. diffusa*、*P. haustrium*、*P. paludosa* 和 *P. camena*) 的亲缘关系较远。

2.4 国内福寿螺的分类地位 依据 CO 基因序列差异, 用 Mega 4.0 软件构建 6 个地区福寿螺的 13 种单倍型和 NCB I 基因库中已报道的福寿螺 6 个种 (*P. canaliculata*、*P. insulanum*、*P. diffusa*、*P. haustrium*、*P. paludosa* 和 *P. camena*) 与外类群 *Pila conica* 的 UPGMA 分子系统树(图 1)。分子系统树形成 7 个分支, 分别为福

表 2 13 种单倍型在福寿螺 6 个地区中的分布情况

Table 2 Distribution of the 13 haplotypes in 6 locations of Apple Snails

采集地区 Collection location	样品数量 Sample size	单倍型 Haplotypes												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
广州 Guangzhou	5		3	1	1									
茂名 Maoming	5									3	2			
厦门 Xiamen	5		1	4										
钦州 Qinzhou	4			2								2	1	
雅安 Yaan	5												1	4
吉安 Jian	5					1	2	1						

寿螺 6 个种 (*Pomacea canaliculata*, *P. insulanum*、*P. diffusa*、*P. haustorium*、*P. paludosa* 和 *P. camena*) 和 *Pila conica*, 其中单倍型 1、2、3、7、8、10、11、12 与 *P. canaliculata* 聚成一支, 单倍

型 4、5、6、9、13 与 *P. insulanum* 聚成一支, 表明入侵的福寿螺在国内分布有 *P. canaliculata* 和 *P. insulanum* 两个种。使用邻接法构建的系统树与 UPGMA 方法的结果一致。

表 3 基于线粒体 CO 基因序列的福寿螺个体与外群 *Pila conica* 间相对遗传距离
(下三角) 及碱基差异(上三角)

Table 3 Genetic distance(below diagonal) and divergence(above diagonal) based on mitochondrial CO gene sequences in 13 haplotypes of Apple Snails and the outgroup

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	
1	2	1	2	34	35	57	57	54	55	56	56	57	60	36	81	83	80	99	122	
2	0.003		3	4	36	37	59	59	56	57	58	58	59	62	38	83	85	82	101	124
3	0.002	0.005		3	34	35	58	58	53	54	55	55	56	59	35	81	83	80	98	123
4	0.003	0.006	0.005		34	35	55	55	52	53	54	54	55	58	34	79	82	79	98	122
5	0.058	0.061	0.058	0.058		7	61	61	60	61	62	59	60	63	49	87	82	75	102	126
6	0.060	0.063	0.060	0.060	0.011		56	56	57	58	59	60	61	62	52	88	82	80	103	123
7	0.100	0.104	0.102	0.097	0.108	0.099		0	30	29	30	30	31	34	43	65	87	88	95	117
8	0.100	0.104	0.102	0.097	0.108	0.099	0.000		30	29	30	30	31	34	43	65	87	88	95	117
9	0.095	0.098	0.093	0.091	0.106	0.100	0.051	0.051		1	4	13	14	17	29	77	89	89	96	129
10	0.096	0.100	0.095	0.093	0.108	0.102	0.049	0.049	0.002		3	12	13	16	30	76	88	88	95	128
11	0.098	0.102	0.097	0.095	0.110	0.104	0.051	0.051	0.007	0.005		13	14	17	31	73	89	91	94	126
12	0.099	0.102	0.097	0.095	0.105	0.107	0.051	0.051	0.021	0.020	0.021		1	4	20	74	86	86	88	127
13	0.100	0.104	0.099	0.097	0.107	0.108	0.052	0.052	0.023	0.021	0.023	0.002		5	21	75	87	87	89	128
14	0.106	0.110	0.104	0.102	0.112	0.110	0.058	0.058	0.028	0.026	0.028	0.006	0.008		24	76	88	89	91	127
15	0.061	0.065	0.060	0.058	0.086	0.091	0.074	0.074	0.049	0.051	0.052	0.033	0.035	0.040		75	87	88	94	130
16	0.146	0.150	0.146	0.143	0.159	0.161	0.114	0.114	0.138	0.136	0.130	0.132	0.134	0.136	0.135		107	95	100	122
17	0.149	0.153	0.149	0.147	0.147	0.147	0.158	0.158	0.162	0.160	0.162	0.156	0.158	0.160	0.158	0.200		94	97	123
18	0.143	0.147	0.143	0.141	0.133	0.143	0.160	0.160	0.162	0.160	0.166	0.156	0.158	0.162	0.160	0.174	0.172		91	122
19	0.182	0.186	0.180	0.180	0.189	0.191	0.174	0.174	0.176	0.174	0.172	0.159	0.161	0.165	0.172	0.184	0.177	0.168		127
20	0.230	0.234	0.232	0.230	0.239	0.232	0.219	0.219	0.246	0.244	0.239	0.242	0.244	0.241	0.248	0.231	0.233	0.230	0.242	

1:单倍型 6; 2:单倍型 5; 3:单倍型 4; 4:单倍型 9; 5:单倍型 13; 6: *Pomacea insulanum* (EF514942); 7:单倍型 12; 8:单倍型 1; 9: *P. canaliculata* (EU523129); 10:单倍型 10; 11:单倍型 2; 12:单倍型 3; 13:单倍型 8; 14:单倍型 11; 15:单倍型 7; 16: *P. camena* (EF515059); 17: *P. paludosa* (EF514958); 18: *P. haustorium* (EF51506); 19: *P. diffusa* (EF515081); 20: *Pila conica* (EF514948)。

1: Haplotype (Hap) 6; 2: Hap 5; 3: Hap 4; 4: Hap 9; 5: Hap 13; 6: *Pomacea insulanum* (EF514942); 7: Hap 12; 8: Hap 1; 9: *Pomacea canaliculata* (EU523129); 10: Hap 10; 11: Hap 2; 12: Hap 3; 13: Hap 8; 14: Hap 11; 15: Hap 7; 16: *P. camena* (EF515059); 17: *P. paludosa* (EF514958); 18: *P. haustorium* (EF51506); 19: *P. diffusa* (EF515081); 20: *Pila conica* (EF514948)。

3 讨 论

瓶螺科种类都是淡水螺, 主要分布在南美洲、非洲和亚洲的热带及亚热带潮湿地区^[18]。在已知的瓶螺科 10 个属中, 最大的两个属为 *Pomacea* 属和 *Pila* 属, 依据传统的形态学特征, 如肺吸管和厣甲形态等特征各被分为 50 和 30 个种, 其中 *Pomacea* 属被建议译名为“福寿螺属”^[19], 包含的种类都称为苹果螺或福寿

螺^[20-21]。据报道, 中国大陆只有云南西双版纳和海南分别存在 *Pila* 属的光瓶螺 (*P. polita*) 和带瓶螺 (*P. tischbeini*), 但很少危害农作物, 而经中国台湾引入的福寿螺却对农作物生产及生态环境造成了严重威胁^[22]。然而对其具体入侵的种类及分类一直未曾开展过系统研究, 本研究基于线粒体 CO 基因序列分析, 发现入侵的福寿螺有 *Pomacea canaliculata* 和 *P. insulanum* 两个种, 据报道, 周边国家如泰国、越南、韩国和

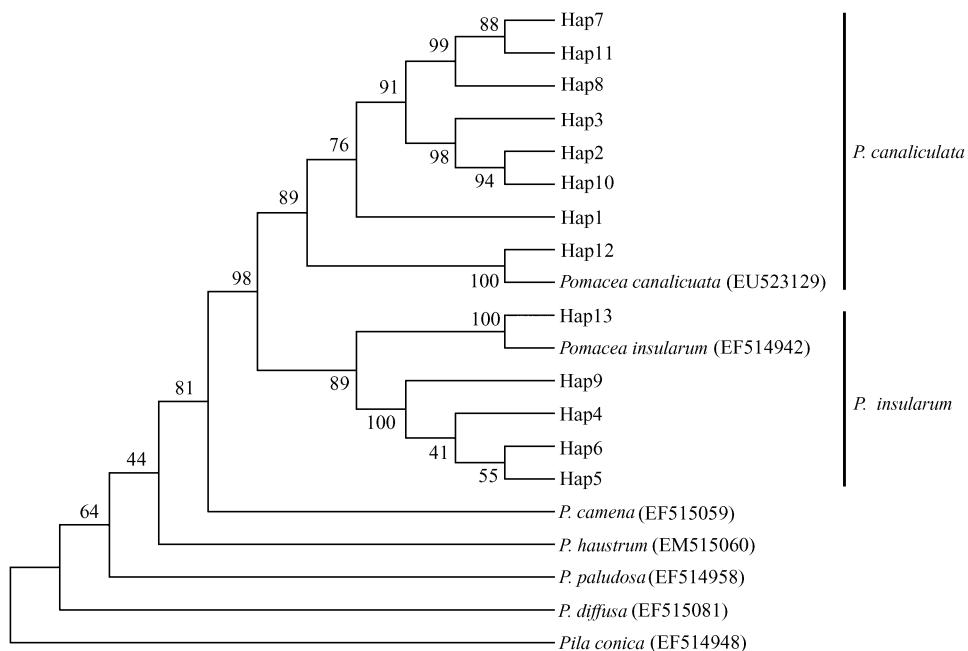


图 2 依据 UPGMA 法构建的 CO 基因序列的分子系统树

Fig 2 Molecular phylogenetic trees of Apple Snails using UPGMA method based on mtDNA CO sequence data with bootstrap test

Hap1 ~ Hap13: 6个地区的 13种福寿螺单倍型。

Hap1 - Hap13: 13 haplotypes of Apple Snails in 6 locations

日本境内也均发现有这两种^[21, 23],而 Hayes 等^[21]报道中国大陆仅有 *P. canaliculata* 一个种,这可能是由于其所用实验样本仅采集于一个地点且样本数量较少(共 5 个样本)造成的,未能检测到 *P. insularum* 种。分子系统发育关系的进一步分析表明, *P. canaliculata* 和 *P. insularum* 两者的亲缘关系较近,首先相互聚成姐妹群,然后再与福寿螺属其他种形成姐妹群,这与 Rawlings 等^[16]的研究结果一致。

P. insularum 和 *P. canaliculata* 均为阿根廷和巴西等南美洲国家的当地种^[24]。有研究报道这些地区的 *P. insularum* 种的单倍型和核苷酸多样性都要比 *P. canaliculata* 种高^[16, 21]。但本实验中,6个地区的福寿螺中 *P. insularum* 种的单倍型和核苷酸多样性($h = 0.200$ 和 $= 0.0124$)反而都比 *P. canaliculata* 种($h = 0.722$, $= 0.018$)低($P < 0.001$),推测其可能是由于国内 *P. insularum* 种引入的基础群体数

量少,群体本身的遗传多样性不高造成的。这与 Hayes 等^[21]的研究结果相吻合,他认为亚洲地区入侵的 *P. insularum* 种为来自巴西或阿根廷的一个种群,而 *P. canaliculata* 种则来自阿根廷多个地方的种群且被多次引入。

据报道,亚洲地区最初引入的福寿螺是单一种 *P. canaliculata*, 1980 年从阿根廷引入到中国台湾,其后转引到东亚和东南亚地区^[25], Hayes 等^[21]报道了东亚及东南亚地区经多次人工引入和水族交易引入的福寿螺外来种有 *P. canaliculata*、*P. insularum*、*P. scalaris* 和 *P. diffusa* 4 个种。本研究结果显示,引入的福寿螺在广州、钦州、吉安、雅安市均分布有 *P. canaliculata* 和 *P. insularum* 2 个种,但厦门市仅为 *P. canaliculata* 一个种,可能是样品采集数量较少而未能检测到另外一个种。福寿螺 *P. canaliculata* 与 *P. insularum* 种亲缘关系最近,但不存在种间杂交,两者在外部形态特征上非常

类似,外壳从金黄色到纯黑色均有分布,多数为棕色和墨绿色,被认为是入侵能力最强、最难区分的两个种^[26-27],这两个种在入侵扩散过程中已相互混淆。本实验采用线粒体 CO 基因序列可区分这两个种,为今后开展福寿螺的资源调查、控制和管理等提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] 胡自强,胡运瑾.福寿螺的形态构造.动物学杂志,1991,26(5):4-6.
- [2] Wada T. Strategies for controlling the apple snail *Panacea canaliculata* (Lamarck) (Gastropoda: Ampullariidae) in Japanese Direct-Sown Paddy Fields JARQ, 2004, 38(2): 75 - 80.
- [3] 成新跃,徐汝梅.中国外来动物入侵概况.生物学通报,2007,42(9):1-4.
- [4] 徐海根,王健民,强胜,等.外来物种入侵生物安全遗传资源.北京:科学出版社,2004,88.
- [5] 汪官余,于孝东,姚维志.外来水生生物入侵对我国渔业水域的影响.水利渔业,2006,23(3):62.
- [6] 周卫川,余书生,陈德牛,等.广州管圆线虫中间宿主——软体动物概述.中国人兽共患病学报,2007,23(4):401-408.
- [7] 尹邵武,颜亨梅,王洪全,等.福寿螺的生物学研究.湖南师范大学自然科学学报,2000,23(2):76-83.
- [8] 谢嗣光.大瓶螺胚胎发育的初步观察.水产学报,1994,18(1):40-43.
- [9] 王彝豪.福寿螺的养殖和生态特点.动物学杂志,1988,23(1):1-3.
- [10] 毛盛贤.福寿螺的生态习性及在北京地区的可行性.生物学通报,1989,3:36-37.
- [11] 关申民,高邦权. CO 序列:影响动物分类学与生态学的 DNA barcode 生态学杂志,2008,27(8):1406-1412.
- [12] 贾名静,李家乐,牛东红,等.长江中下游褶纹冠蚌 10 个群体 CO 基因序列变异分析.动物学杂志,2009,44(1):1-8.
- [13] Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5): 294 - 297.
- [14] Rozas J, Sanchez-delbarrio C, Meseguer X, et al. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. Bioinformatics, 2003, 19(18): 2496 - 2497.
- [15] Excoffier L G L, Schneider S. Arlequinver 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1: 47 - 50.
- [16] Rawlings T A, Hayes K A, Cowie R H, et al. The identity, distribution, and impacts of non-native apple snails in the continental United States. BMC Evol Biol, 2007, 7: 97.
- [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(24): 4876 - 4882.
- [18] 董朝莉.福寿螺配偶个体大小选择性初步观察.广西植保,2006,19(1):4-6.
- [19] 周晓农,张仪,吕山.“福寿螺”学名中译名的探讨.中国寄生虫学与寄生虫病杂志,2009,27(1):62-64.
- [20] Cowie R H. Apple snails (Ampullariidae) as agricultural pests: their biology, impacts and management. Barker G M. Molluscs as Crop Pests Wallingford: CAB International, 2002, 145 - 192.
- [21] Hayes K A, Joshi R C, Thiengo S C, et al. Out of South America: multiple origins of non-native apple snails in Asia. Diversity and Distributions, 2008, 14: 701 - 712.
- [22] 董朝莉.福寿螺的生物生态学特性及在广西的分布与危害现状研究.桂林:广西师范大学硕士学位论文,2006.
- [23] Matsukura K, Okuda M, Kubota K, et al. Genetic divergence of the genus *Panacea* (Gastropoda: Ampullariidae) distributed in Japan, and a simple molecular method to distinguish *P. canaliculata* and *P. insulanum*. Applied Entomology and Zoology, 2008, 43(4): 535 - 540.
- [24] Cowie R H, Thiengo S C. The apple snails of the Americas (Mollusca: Gastropoda: Ampullariidae: *A solene*, *Felipponea*, *Marisa*, *Pomacea*, *Pomella*): a nomenclatural and type catalog. Malacologia, 2003, 45: 41 - 100.
- [25] Joshi R C. Problems with the management of golden apple snail *Panacea canaliculata*: an important exotic pest of rice in Asia. Vreysen M J B, Robinson A S, Hendrichs J. Area-Wide Control of Insect Pests Maligaya: Springer Netherlands, 2007, 257 - 264.
- [26] Cowie R H, Hayes K A, Thiengo S C. What are apple snails? Confused taxonomy and some preliminary resolution. Joshi R C, Sebastian L S. Global Advances in the Ecology and Management of Golden Apple Snails Munoz, Nueva Ecija: Philippine Rice Research Institute, 2006, 3 - 23.
- [27] Bachmann A O. Apuntes para una hidrobiología argentina II. Ampullaria insularum Orb. y A. canaliculata Lam. (Moll. Prosobr. Ampullariidae). In Congreso Sudamericano de Zoológia 1 Observaciones biológicas y ecológicas Argentina, La Plata: Actas y Trabajos, 1960, 19 - 26.