

苏州市入侵福寿螺的遗传多样性

钱子衿^① 林友福^② 杨雨婷^② 陈书涵^③ 胡亚萍^{④⑤}
周旭^{④⑤} 李宏^① 丁晖^{④⑤} 陈炼^{②*}

① 南京师范大学生命科学学院 南京 210023; ② 南京林业大学生物与环境学院 南京 210037;

③ 南京林业大学林学院 南京 210037; ④ 生态环境部南京环境科学研究所自然保护与生物多样性研究中心

南京 210042; ⑤ 国家环境保护武夷山生态环境科学观测研究站 南京 210042

摘要: 福寿螺属 (*Pomacea*) 中的小管福寿螺 (*P. canaliculata*) 和斑点福寿螺 (*P. maculata*) 形态相似, 入侵能力很强, 严重危害水稻和其他水生植物。本研究基于线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (COI) 基因和核基因 *EF1 α* 序列, 应用软件 DnaSP 5.0、Arlequin 3.1.1、MEGA 7.0 和 PhyloSuite 进行遗传参数统计、构建贝叶斯系统发育树, 分析了来自江苏省苏州市虎丘区、吴中区、昆山周市镇、千灯镇和玉山镇共 5 个采样地的 40 只福寿螺 (*Pomacea* spp.) 的种类及其遗传多样性。结果表明, 获得 40 条长度为 605 bp 的线粒体 COI 基因序列, 经序列比对后发现有 74 个变异位点、4 种单倍型。小管福寿螺有 34 只, 分属 3 种单倍型 (PcaH1 ~ PcaH3), 小管福寿螺的单倍型多样性 (h) 和核苷酸多样性 (π) 分别为 0.399 和 0.017。斑点福寿螺有 6 只, 仅有 1 种单倍型 (PmaH1)。苏州地区小管福寿螺和斑点福寿螺遗传多样性均较低。基于线粒体 COI 基因系统发育分析结果表明, 苏州市的小管福寿螺可能与阿根廷的小管福寿螺亲缘关系较近, 而苏州市的斑点福寿螺可能与巴西的斑点福寿螺亲缘关系较近。此外, 昆山市周市镇是新发现的小管福寿螺和斑点福寿螺同域分布地区。苏州、昆山的 9 个福寿螺样本共获得 430 bp 的核基因 *EF1 α* 序列 28 条, 发现有 40 个变异位点和 9 种单倍型 (EFHAP1 ~ EFHAP9), 其中, 小管福寿螺有 8 种单倍型 (EFHAP1 ~ EFHAP5 和 EFHAP7 ~ EFHAP9), 斑点福寿螺有 2 种单倍型 (EFHAP5 和 EFHAP6)。基于线粒体 COI 基因和核基因 *EF1 α* 序列构建的系统发育树, 小管福寿螺和斑点福寿螺存在遗传信息混杂的现象, 提示两种螺存在杂交。

关键词: 福寿螺; 线粒体 COI 基因; *EF1 α* 基因; 遗传多样性

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2021) 06-929-10

Genetic Diversity of Invasive *Pomacea* Snails in Suzhou City

QIAN Zi-Jin^① LIN You-Fu^② YANG Yu-Ting^② CHEN Shu-Han^③ HU Ya-Ping^{④⑤}
ZHOU Xu^{④⑤} LI Hong^① DING Hui^{④⑤} CHEN Lian^{②*}

① *School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023;* ② *College of Biology and Environment, Nanjing Forestry University,*

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31770402), 生态环境部生物多样性保护重大工程项目 (No. ZDGC2019-013-01), 南京林业大学大学生创新训练计划项目 (No. 2020NFUSPITP0711);

* 通讯作者, E-mail: chenlian_2004@163.com;

第一作者介绍 钱子衿, 女, 硕士; 研究方向: 分子生态学; E-mail: 18120150250@163.com.

收稿日期: 2021-03-12, 修回日期: 2021-09-29 DOI: 10.13859/j.cjz.202106015

Nanjing 210037; ③ College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037; ④ Research Center for Nature Conservation and Biodiversity, Nanjing 210042, China; ⑤ State Environmental Protection Scientific Observation and Research Station for Ecological Environment of Wuyi Mountains, Nanjing 210042, China;

Abstract: *Pomacea canaliculata* and *P. maculata* have similar morphological characteristics. They are the two most common and highly invasive apple snail species, which seriously damage crops and aquatic ecosystem in China. The present study identified the species and analyzed the genetic diversity of 40 samples of *Pomacea* spp. from five sampling sites in Suzhou city, Jiangsu Province, based on their mitochondrial cytochrome I oxidase subunit (*COI*) and nuclear gene (*EF1 α*) sequences. Some genetic diversity parameters were analyzed by DnaSP 5.0, and the base composition, the number of nucleic site replacement were analyzed by MEGA 7.0. A Bayesian phylogenetic tree was constructed using PhyloSuite. The results showed that a total of 40 mitochondrial *COI* gene sequences with a length of 605 bp were obtained in 40 samples, and a total of 74 variable sites and 4 haplotypes were detected among all sequences (Table 1). The 34 samples in Suzhou were *P. canaliculata*, and the other 6 samples were *P. maculata*. Among them, three haplotypes (PcaH1 - PcaH3) were found in *P. canaliculata* and one haplotype (PmaH1) was found in *P. maculata* (Table 1). The haplotype diversity (*h*) and nucleotide diversity (π) of *P. canaliculata* were 0.399 and 0.017, respectively. Only one haplotype was found in *P. maculata*. Compared with other invasive areas of China, the genetic diversity of *P. canaliculata* and *P. maculata* from Suzhou city were low. Based on the phylogenetic relationship of mitochondrial *COI* gene, it was suggested that *P. canaliculata* probably traced back to Argentina, while *P. maculata* in Suzhou city were probably originated from Brazil. In addition, Zhoushi town in Kunshan city was a newly discovered sympatric distribution area of these two species. Based on nuclear gene (*EF1 α*) sequences, 28 nuclear gene (*EF1 α*) sequences with a length of 430 bp were obtained in 9 samples selected from Suzhou City and Kunshan City after cycle sequencing. A total of 40 variable sites and 9 haplotypes (EFHAP1 - EFHAP9) were detected among all sequences (Table 1). Eight haplotypes (EFHAP1 - EFHAP5, EFHAP7 - EFHAP9) were found in *P. canaliculata* and two haplotypes (EFHAP5 and EFHAP6) were found in *P. maculata* (Table 1). Phylogenetic tree analysis based on mitochondrial *COI* gene and nuclear *EF1 α* gene suggested that there was genetic exchange between *P. canaliculata* and *P. maculata* (Fig. 1 and Fig. 2), indicating that hybridization between *P. canaliculata* and *P. maculata* exists.

Key words: *Pomacea*; mtDNA *COI* gene; *EF1 α* gene; Genetic diversity

福寿螺属 (*Pomacea*) 隶属于软体动物门 (Mollusca) 腹足纲 (Gastropoda) 前鳃亚纲 (Prosobranchia) 中腹足目 (Mesogastropoda) 瓶螺科 (Ampullariidae)。福寿螺属是瓶螺科现存 9 个属中种类最多的属, 原产于南美洲和中美洲的淡水流域 (Hayes et al. 2008)。福寿螺属中的小管福寿螺 (*P. canaliculata*) 和斑点福寿螺 (*P. maculata*) 形态相似, 是入侵能力最强、分布最广的两种福寿螺 (Hayes et al. 2009), 其

中, 小管福寿螺已被世界自然保护联盟 (IUCN) 列为世界 100 种恶性外来入侵物种之一 (Lowe et al. 2000)。

小管福寿螺作为水产品于 1981 年引入中国广东省中山市 (Lv et al. 2009), 后在全国各地推广养殖, 但因其口感不佳逐渐失去市场, 大量小管福寿螺被弃养。小管福寿螺具有食性广、适应性强、繁殖快的特点 (郭靖等 2014), 在广西、福建、浙江、江西、云南、四川等省

野外迅速扩散,严重危害水稻和其他水生植物。2003 年原国家环境保护总局将小管福寿螺列入了首批入侵中国的 16 种外来入侵物种名单。2012 年,原农业部将其列入第一批国家重点管理外来入侵物种。近年来研究发现,入侵中国大陆地区的福寿螺除小管福寿螺和斑点福寿螺以外,还有中国特有的隐存种团(cryptic groups)(Lv et al. 2013),近期有研究者提出该隐存种团是入侵中国的福寿螺新种(*P. occulta* nov. sp.)(Yang et al. 2019a)。小管福寿螺在中国长江以南大部分地区广泛分布,而斑点福寿螺目前仅在重庆、四川以及浙江报道有分布,并且在这些地区小管福寿螺与斑点福寿螺同域分布(Yang et al. 2018)。已有研究者基于线粒体 *COI* 基因(the cytochrome c oxidase subunit I gene, *COI*)和核基因 *EF1 α* (the nuclear elongation factor 1 α , *EF1 α*)序列分析,发现小管福寿螺与斑点福寿螺在原产地乌拉圭和巴西以及入侵地如日本、越南、菲律宾等多个国家存在杂交。室内杂交实验也表明,这两种福寿螺之间可以进行交配并产生可育后代(Matsukura et al. 2013, 2016, Glasheen et al. 2020)。此外,小管福寿螺与斑点福寿螺的杂交个体具有杂种优势(hybrid vigour),对环境压力具有更强的耐受性,有利于其进一步扩大入侵范围(Matsukura et al. 2016)。已有研究表明,我国小管福寿螺和斑点福寿螺存在杂交(Yang et al. 2019b)。

2004 年,因江苏省苏州市养殖场福寿螺逃逸,导致大量福寿螺随水系扩散蔓延,在护城河、金鸡湖、阳澄湖等水域均发现福寿螺分布(查国贤等 2018)。2017 年 8 月底调查统计,全市福寿螺总发生面积为 2 103.1 hm²,其中,农田发生面积为 921.24 hm²,造成水生作物严重减产,被江苏省列为补充植物检疫对象(查国贤等 2018)。快速准确的物种识别是外来有害生物检测监测、阻截控制和根除扑灭,保障生态环境安全的必要前提;同时,也是深入开展外来物种生物学、生态学研究和综合防控技

术研究的基础(王玉生等 2015)。本研究拟基于线粒体 *COI* 基因和核基因 *EF1 α* 序列探讨苏州地区入侵福寿螺的种类、分布以及遗传多样性,分析其入侵来源,以期入侵福寿螺的科学防治提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 样品采集

本研究中福寿螺样本于 2015 年至 2020 年采集于江苏省苏州市吴中区、虎丘区、昆山市玉山镇、千灯镇和周市镇共 5 个采样点,共计 40 个样本(表 1)。参考 Hayes 等(2012)对两种福寿螺螺壳的形态学特征描述,初步判断采集的样本为福寿螺属物种。剪取所有福寿螺样本的腹足肌于无菌的冻存管中,置于 -20 °C 冰箱中保存。

1.2 基因组 DNA 提取及 PCR 扩增和测序

利用动物组织基因组 DNA 提取试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)提取福寿螺样本基因组 DNA,按照试剂盒说明书步骤进行操作,提取的基因组 DNA 通过 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。

使用通用引物 LCO1490(5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3')和 HCO2198(5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3')(Hayes et al. 2008)扩增 40 只个体的线粒体 *COI* 基因。在 2020 年采集的样本中每个采样地选择 1~3 只个体,使用引物 F7(5'-TGT GAA TAA GAT GGA CAG CA-3')和 5R(5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3')(Hayes et al. 2009)共扩增 9 只个体的核基因 *EF1 α* 序列。

目的基因片段 PCR 扩增反应体系为 40 μ l,包括 2 \times Rapid Taq Master Mix(南京诺唯赞生物科技股份有限公司)20 μ l,上下游引物各 1 μ l(10 μ mol/L),基因组 DNA 100~200 ng,加无菌去离子水补足至 40 μ l。PCR 反应条件参照 Hayes 等(2009)。目的 PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测合格后,将获得的扩增产物送

表 1 福寿螺采样点信息、样品数目、单倍型

Table 1 The localities, numbers and haplotypes of *Pomacea* spp.

采样地点 Locality	经纬度 Longitude and latitude	样本数(ind) Sample number	采集时间(年-月) Collection date (Year-month)	COI 基因单倍型 Haplotypes of mtDNA COI gene	EF1 α 基因单倍型 Haplotypes of EF1 α
苏州吴中区 Wuzhong District, Suzhou	31°28' N 120°88' E	11	2015-05	PcaH1 (11)	—
苏州虎丘区 Huqiu District, Suzhou	31°37' N 120°45' E	5	2020-07	PcaH1 (5)	EFHAP1
昆山玉山镇 Yushan Town, Kunshan	31°34' N 120°95' E	5	2020-07	PcaH1 (5)	EFHAP2、EFHAP3、 EFHAP4、EFHAP5
昆山千灯镇 Qiandeng Town, Kunshan	31°25' N 120°99' E	2	2020-07	PcaH1 (2)	EFHAP2、EFHAP3、 EFHAP4
昆山周市镇 Zhoushi Town, Kunshan	31°46' N 120°95' E	17	2020-07	PcaH1 (3)、PcaH2 (4)、 PcaH3 (4)、PmaH1 (6)	EFHAP5、EFHAP6、EFHAP7、 EFHAP8、EFHAP9

“PcaH”和“PmaH”分别代表小管福寿螺和斑点福寿螺的线粒体 COI 基因单倍型，每个线粒体 COI 基因单倍型后括号内的数字表示属于该单倍型的个体数。“EFHAP”代表福寿螺的核基因 EF1 α 单倍型。

“PcaH” and “PmaH” represent the mitochondrial COI gene of haplotypes for *P. canaliculata* and *P. maculata*, respectively. The numbers in parentheses after each mitochondrial COI gene haplotype are the number of apple snails in each haplotype. “EFHAP” represents the EF1 α gene haplotypes of the apple snails.

至上海生工生物工程股份有限公司进行测序。

核基因 EF1 α 的 9 个 PCR 扩增产物中有 5 个样本直接测序未能成功，参考文献 Matsukura 等 (2013)，对这 5 个样本进行克隆测序。采用 PCR 纯化试剂盒 (南京捷倍思生物基因技术有限公司) 将 PCR 产物纯化，连接至 pMD19-T 载体 (TaKaRa 公司)，转化大肠杆菌 DH 5 α 感受态细胞。经菌落 PCR 鉴定后，将进行克隆测序的 5 个样本挑选 6 ~ 9 个阳性克隆，送至上海生工生物工程股份有限公司进行测序。

1.3 物种鉴定以及序列特征分析

本研究通过福寿螺螺壳形态特征初步判断福寿螺。通过 Chromas (<http://www.technelysium.com.au/chromas.html>) 软件读取测序结果，并结合峰图分别对获得的线粒体 COI 基因序列和核基因 EF1 α 序列进行人工校对。通过 NCBI 核酸数据库对获得的线粒体 COI 基因序列和核基因 EF1 α 序列分别进行 Blast 比对分析。进一步通过 NCBI 网上的 Nucleotide Blast 与 GenBank 中的同源序列进行线粒体 COI 基因序列相似度比对，再通过线粒体 COI 基因单倍型

构建的系统发育关系，进一步确定福寿螺种类。

利用 PhyloSuite 软件 (Zhang et al. 2020) 中的 MAFFT 7.313 (Katoh et al. 2002) 分别对获得的线粒体 COI 基因序列和核基因 EF1 α 序列进行多重序列比对，应用 MEGA 7.0 软件 (Kumar et al. 2016) 去除两端冗余序列，分别计算保守位点数 (conserved sites)、变异位点数 (variable sites)、简约信息位点数 (parsimony-information sites)、单一突变位点数 (singleton sites) 和序列碱基组成。

针对本研究获得的线粒体 COI 基因序列，利用 DnaSP 5.0 软件 (Rozas et al. 2003) 计算 40 个样本的单倍型、单倍型多样性 (haplotype diversity, h) 和核苷酸多样性 (nucleotide diversity, π)。

1.4 系统发育关系重建

从 GenBank 上分别下载已发表的小管福寿螺、斑点福寿螺和福寿螺属其他物种的线粒体 COI 基因单倍型序列 (36 条) 和核基因 EF1 α 单倍型序列 (29 条) (表 2)，结合本实验所获得的序列，分别构建线粒体 COI 基因序列数据

表 2 从 GenBank 下载的福寿螺属物种的线粒体 *COI* 基因序列和核基因 *EF1 α* 序列信息
Table 2 The information of mtDNA *COI* haplotypes sequences and *EF1 α* haplotypes sequences of *Pomacea canaliculata*, *P. maculata* and close related *Pomacea* species

物种 Species	线粒体 <i>COI</i> 基因序列单倍型 Haplotypes of mtDNA <i>COI</i> gene	核基因 <i>EF1α</i> 单倍型序列 Haplotypes of <i>EF1α</i>	来源 Source
小管福寿螺 <i>P. canaliculata</i>	Hap6 ~ Hap 23, KP310264, KP310290, KP310375, KR021020, KP310443, KP310439, KT852757	AB629956, AB629958 ~ AB629960, AB629964 ~ AB629966, AB629968, AB629969, AB620074, AB620075, AB629977, AB629979, AB629982, AB629983, AB629985 ~ AB629987, AB757866, AB757869	Lv et al. 2013, Matsukura et al. 2013, Yang et al. 2018
斑点福寿螺 <i>P. maculata</i>	Hap24, KT852782, KT852786	AB629989 ~ AB629992, AB629994, AB757872, AB757873	Lv et al. 2013, Matsukura et al. 2013, Yang et al. 2018
隐存种 Cryptic group	Hap1 ~ Hap5, KT852790	-	Lv et al. 2013, Yang et al. 2019b
沼地福寿螺 <i>P. paludosa</i>	EU528477	-	Hayes et al. 2008
<i>P. lineata</i>	FJ710310	FJ710338	Hayes et al. 2009
瓶状福寿螺 <i>P. dolioides</i>	-	FJ710341	Hayes et al. 2009

集和核基因 *EF1 α* 序列数据集。

使用 PhyloSuite 软件 (Zhang et al. 2020) 中的 MAFFT 7.313 (Kato et al. 2002) 分别对线粒体 *COI* 基因序列数据集和核基因 *EF1 α* 序列数据集进行多重序列比对。应用 MEGA 7.0 软件 (Kumar et al. 2016) 去除两端冗余序列, 利用 DnaSP 5.0 软件 (Rozas et al. 2003) 分别计算线粒体 *COI* 基因序列和核基因 *EF1 α* 序列的单倍型, 选取每个单倍型的一个代表性序列采用 MrBayes 3.7 软件 (Huelsenbeck et al. 2001) 构建贝叶斯系统发育树 (Bayesian Inference, BI)。当贝叶斯后验概率 (Bayesian posterior probabilities) 大于或等于 0.95 时, 支持单倍型之间的系统发育关系 (Busschau et al. 2020, Li et al. 2021)。运用 Modeltest 3.7 软件 (Posada et al. 1998) 分别对线粒体 *COI* 基因单倍型和核基因 *EF1 α* 单倍型进行最佳碱基替换模型估算, 根据赤池信息量准则 (akaike information criterion, AIC) (Posada et al. 2004) 发现线粒体 *COI* 基因单倍型和核基因 *EF1 α* 单倍型的最佳碱基替换模型均为 HKY。以 *P. lineata* (GenBank 序列号为 FJ710310) 和沼地福寿螺 (*P. paludosa*, GenBank 序列号为

EU528477) 线粒体 *COI* 基因作为外群, 构建线粒体 *COI* 基因系统发育树。以 *P. lineata* (GenBank 序列号为 FJ710338) 和瓶状福寿螺 (*P. dolioides*, GenBank 序列号为 FJ710341) 核基因 *EF1 α* 序列作为外群, 构建核基因 *EF1 α* 系统发育树。使用 iTOL (Letunic et al. 2019) 软件显示贝叶斯树的拓扑结构图。

2 结果

2.1 序列特征以及单倍型分析

基于形态特征初步判断所采集的 40 个福寿螺样本均为福寿螺, 但由于福寿螺属内种间螺壳形态近似, 仅通过形态学观察难以准确鉴定属内物种。

经多重比对、剪切后最终获得长度为 605 bp 的线粒体 *COI* 基因序列 40 条。获得的 40 条线粒体 *COI* 基因序列分属 4 个单倍型, 分别是 PcaH1、PcaH2、PcaH3 和 PmaH1。其中, PcaH1 共含有 26 条序列, 所占比例为 65%, 在 5 个采样点均有分布; PcaH2、PcaH3 和 PmaH1 仅在昆山周市镇分布 (表 1)。苏州吴中区、虎丘区、昆山玉山镇、千灯镇均以 PcaH1 为主单倍型, 昆山周市镇以 PmaH1 为主单倍型 (表 1)。

经 NCBI 核酸数据库比对, PcaH1、PcaH2、PcaH3 和 多条小管福寿螺序列的相似度均为 100%; PmaH1 与 多条斑点福寿螺序列的相似度均为 100%, 确定本研究采集的福寿螺为小管福寿螺和斑点福寿螺。所有分析序列中共发现核苷酸变异位点 74 个, 简约信息位点 74 个, 无单一变异位点。线粒体 *COI* 基因序列中 A、G、T、C 平均含量分别为 24.0%、19.4%、40.3%、16.4%。A + T (64.3%) 含量明显大于 C + G (35.8%) 含量, 存在明显的 A/T 碱基偏向, 符合线粒体组成特征。基于线粒体 *COI* 基因序列, 小管福寿螺的单倍型多样性 (h) 为 0.399, 核苷酸多样性 (π) 为 0.017。而斑点福寿螺仅有 1 个单倍型。

经多重比对、剪切后最终获得长度为 430 bp 的核基因 *EF1 α* 序列 28 条。所有分析序列中共有 40 个核苷酸变异位点, 1 个单一变异位点, 39 个简约信息位点。各碱基的百分比含量比为 A (28.8%)、G (23.7%)、C (22.7%)、T (24.9%), A + T 含量为 53.7%, 序列碱基组成有明显的 A/T 偏好性。获得的 28 条序列分属 9 种单倍型 (EFHAP1 ~ EFHAP9) (表 1)。

2.2 系统进化分析

本研究获得的线粒体 *COI* 基因序列以及 GenBank 上下载的线粒体 *COI* 基因序列经多重比对、剪切后, 共获得 76 条 503 bp 的线粒体 *COI* 基因序列, 分属 31 个单倍型。线粒体 *COI* 基因单倍型序列构建的贝叶斯系统发育树显示, PcaH1、PcaH2、PcaH3 与小管福寿螺的单倍型序列聚为一支, PmaH1 与斑点福寿螺的单倍型序列聚为一支 (图 1), 进一步表明苏州市存在两种福寿螺, 其中, PcaH1 ~ PcaH3 为小管福寿螺, PmaH1 为斑点福寿螺。

本研究获得的单倍型 EFHAP1 ~ EFHAP5 和 EFHAP7 ~ EFHAP9 来自小管福寿螺, 单倍型 EFHAP5 和 EFHAP6 来自斑点福寿螺。EFHAP5 是本研究中小管福寿螺和斑点福寿螺的共享单倍型。本研究获得的核基因 *EF1 α* 序列和 GenBank 上下载的核基因 *EF1 α* 序列经多

重比对、剪切后, 共获得 57 条 396 bp 的核基因 *EF1 α* 序列, 分属 32 个核基因 *EF1 α* 单倍型。基于核基因 *EF1 α* 单倍型序列构建的系统发育树表明, 本研究中来自小管福寿螺的部分单倍型 (EFHAP1 ~ EFHAP5) 序列与已报道的小管福寿螺核基因 *EF1 α* 序列聚为一支, 而另部分单倍型 (EFHAP7 ~ EFHAP9) 却与斑点福寿螺的核基因 *EF1 α* 单倍型聚为一支。本研究中来自斑点福寿螺单倍型 (EFHAP5 和 EFHAP6) 序列均与小管福寿螺的核基因 *EF1 α* 单倍型序列聚为一支 (图 2)。

3 讨论

本研究结果表明, 入侵苏州的福寿螺有小管福寿螺和斑点福寿螺两种, 其中小管福寿螺在苏州吴中区、苏州虎丘区和昆山玉山镇、千灯镇、周市镇有分布, 斑点福寿螺仅在昆山周市镇有分布。已有研究者基于线粒体 *COI* 基因序列分析中国大陆地区入侵福寿螺的分布范围, 发现仅在重庆沙坪坝区、铜梁区以及合川区, 四川成都、遂宁以及浙江杭州小管福寿螺和斑点福寿螺同域分布 (Lv et al. 2013, Yang et al. 2019b)。除上述地区外, 本研究报道的昆山市周市镇是国内新发现的斑点福寿螺入侵地区, 并且在该地区小管福寿螺和斑点福寿螺同域分布。

遗传多样性能够反映出物种的入侵潜力, 是物种在长期进化过程中对环境变化的一种适应 (Frankham et al. 2002)。本研究发现, 在苏州市 5 个采样点中, 仅昆山周市镇包含小管福寿螺 3 个单倍型, 在其余 4 个采样点均仅发现小管福寿螺 1 种单倍型。研究表明, 苏州市小管福寿螺的单倍型多样性 ($h = 0.399$) 比其他东南亚入侵地 ($h = 0.511$) 以及原产地巴西 ($h = 0.722$) 的小管福寿螺低, 小管福寿螺核苷酸多样性 ($\pi = 0.017$) 与东南亚入侵地区 ($\pi = 0.016$) 和原产地巴西 ($\pi = 0.018$) 相似 (Hayes et al. 2008)。本文研究结果也与我国福建、湖南、广东、广西等省市小管福寿螺的单倍型多

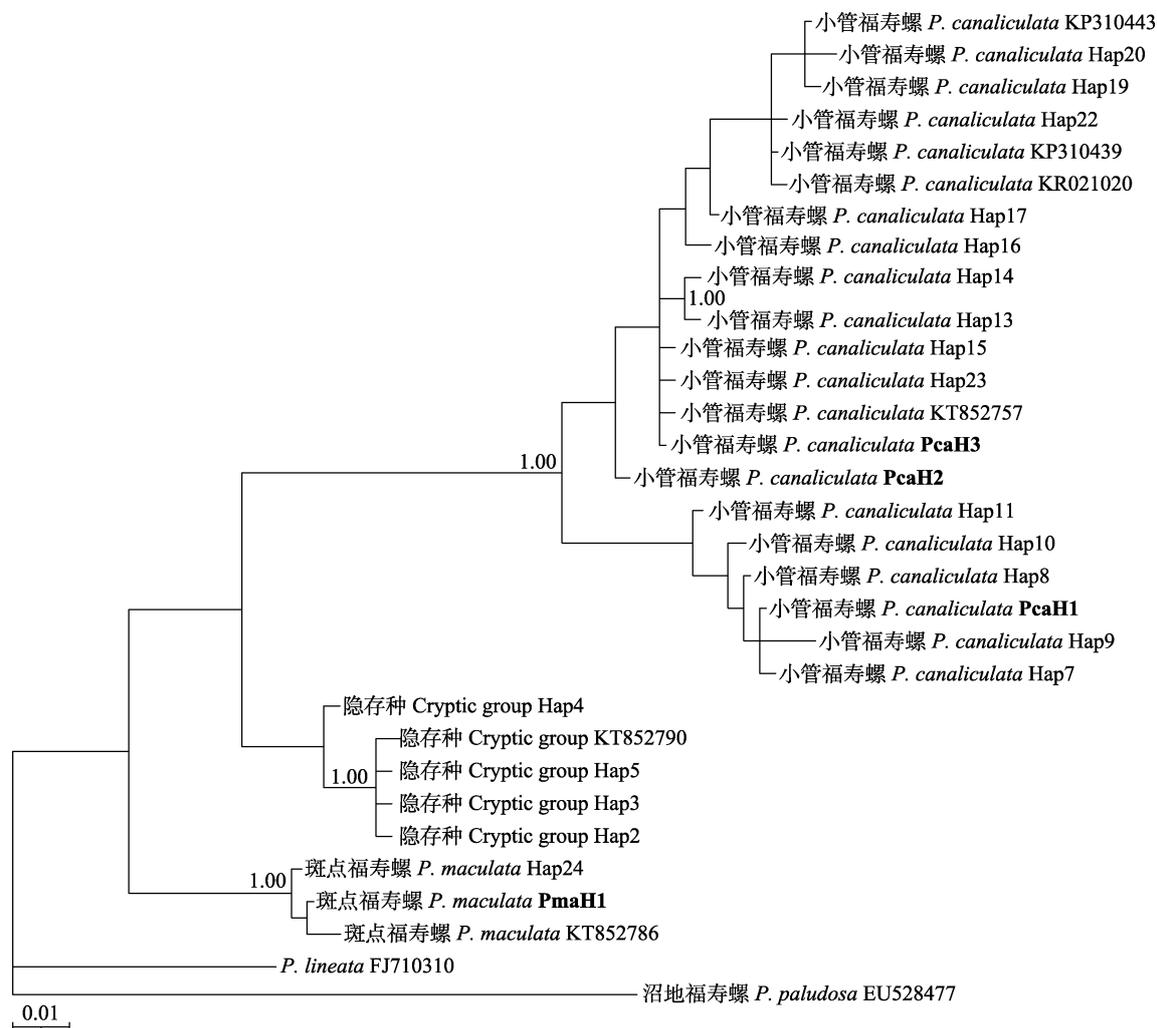


图 1 基于福寿螺线粒体 *COI* 基因单倍型构建的贝叶斯树

Fig. 1 Bayesian inferences (BI) tree of *Pomacea* spp. based on Mitochondrial *COI* gene haplotypes sequences

图中粗体“PcaH”表示小管福寿螺的单倍型, 粗体“PmaH”代表斑点福寿螺的单倍型, 其后的编号代表单倍型的编号。节点的数值为贝叶斯后验概率 (≥ 0.95)。

The haplotypes in bold represent the haplotypes detected in this study. “PcaH” denotes Haplotype of *P. canaliculata* in this study, “PmaH” denotes Haplotype of *P. maculata* in this study, subsequent number means haplotype code. Numbers above branches specify posterior probabilities from Bayesian inference (BI). The posterior probability ≥ 0.95 is shown.

多样性相似 (Yang et al. 2018)。同上述研究相比, 苏州市小管福寿螺的遗传多样性水平较低。已有研究者通过线粒体 D-loop 区研究巴西南部 4 个入侵大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 种群的遗传多样性, 发现其受奠基者效应 (founder effect) 的影响具有低水平的遗传多样性 (Frehse et al. 2020)。Bondareva 等 (2017) 基于线粒体

COI 基因对比分析了西欧以及列宁格勒州 (Leningrad Oblast) 共 7 个采样地的灌丛蜗牛 (*Arianta arbustorum*) 种群, 结果表明列宁格勒州的入侵灌丛蜗牛种群具有非常低的遗传多样性, 可能是由桥头堡效应 (bridge-head effect) 造成的。推测苏州市小管福寿螺具有较低水平的遗传多样性可能是因为入侵种群经历了瓶颈

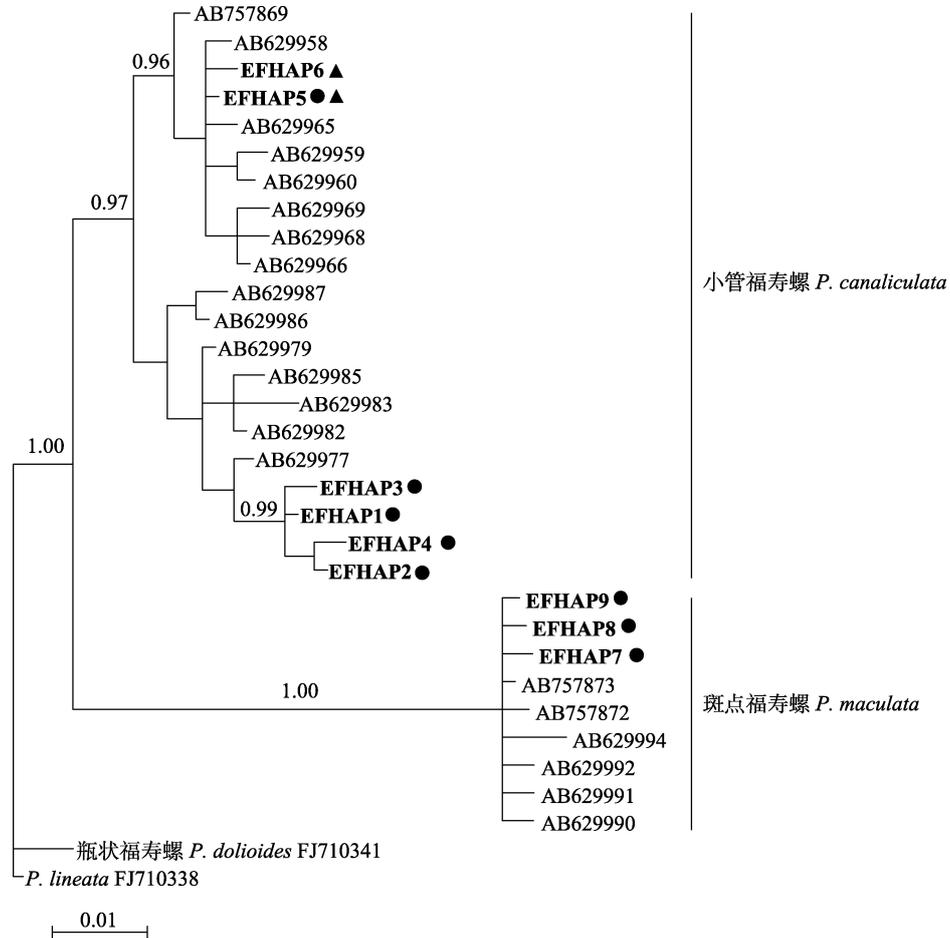


图 2 基于核基因 *EF1α* 构建的福寿螺贝叶斯树

Fig. 2 Phylogenetic trees constructed from the haplotypes of *EF1α* gene in apple snails derived by Bayesian method

图中粗体表示本研究检测到的单倍型，节点的数值为 BI 的后验概率 (≥ 0.95)。图中圆形代表该单倍型来源于本研究中的小管福寿螺，三角形代表该单倍型来源于本研究中的斑点福寿螺。

The haplotypes in bold represent the haplotypes detected in this study. Numbers above branches specify posterior probabilities from Bayesian inference (BI). The posterior probability ≥ 0.95 is shown. “Circle” represents *P. canaliculata*, “triangle” represents *P. maculata*, as identified by the mtDNA *COI* gene sequences.

效应或者随机漂变，即奠基者效应造成的，也可能是因为苏州市入侵福寿螺并非来自原产地，而是从其他成功入侵的种群引入的，即桥头堡效应造成的。

本研究中苏州市斑点福寿螺仅发现 1 种线粒体 *COI* 基因单倍型，表明苏州市 5 个采样点的斑点福寿螺总体呈现较低的遗传多样性。基于线粒体 *COI* 基因研究发现重庆、四川和浙江

等地的斑点福寿螺仅有 1 或 2 种单倍型 (Lv et al. 2011, Yang et al. 2018)。

已有研究表明，入侵亚洲地区的斑点福寿螺来自于巴西或阿根廷的一个种群，而小管福寿螺则来自阿根廷的多个地理种群并存在多次引入 (Hayes et al. 2008)。Yang 等 (2018) 基于线粒体 *COI* 基因对中国 12 个省市共 31 个采样地的福寿螺进行研究，认为中国的小管福寿

螺种群来源于阿根廷并存在多次引入, 而斑点福寿螺种群来源于巴西的一个种群。本研究获得的两种福寿螺线粒体 *COI* 基因单倍型 PcaH1、PcaH2、PcaH3、PmaH1 分别与 Yang 等 (2018) 报道的小管福寿螺线粒体 *COI* 基因单倍型 PcH2、PcH6、PcH1 以及斑点福寿螺单倍型 PmH1 相同。PcH2 为祖先单倍型并且在中国大部分省市广泛分布, 本研究中 PcaH1 (PcH2) 在苏州市 5 个采样点均有分布, 并且分布频率最高。通过与原产地小管福寿螺的线粒体 *COI* 基因序列比较以及系统进化分析, 结合已有研究结果 (Hayes et al. 2008, Yang et al. 2018), 推测苏州市小管福寿螺可能与阿根廷的小管福寿螺亲缘关系较近, 而苏州市的斑点福寿螺可能与巴西的斑点福寿螺亲缘关系较近。

基于核基因 *EF1 α* 系统发育树结果显示, 小管福寿螺 EFHAP7、EFHAP8、EFHAP9 与斑点福寿螺单倍型聚为一支, 斑点福寿螺的 EFHAP5、EFHAP6 与小管福寿螺单倍型聚为一支, 共享单倍型可能是不完全谱系分选或物种进化过程中渐渗杂交造成的 (Belton et al. 2021, Lawson et al. 2021)。线粒体基因序列表现出与核基因序列明显不同的系统进化模式的现象称为核质不一致现象 (cytonuclear discordance) (Hunter et al. 2018, Lee-Yaw et al. 2019)。Matsukura 等 (2013) 发现, 在原产地阿根廷和入侵地菲律宾、越南、日本、韩国等国家, 基于核基因 *EF1 α* 序列, 存在小管福寿螺与斑点福寿螺聚为一支, 斑点福寿螺与小管福寿螺聚为一支的现象。这种现象在原产地乌拉圭和巴西均有发现 (Glasheen et al. 2020), 表明在原产地阿根廷、乌拉圭和巴西以及入侵地如日本、韩国、越南、菲律宾等国家这两种福寿螺之间已经存在杂交 (Matsukura et al. 2013, Glasheen et al. 2020)。Yang 等 (2019b) 基于线粒体 *COI* 基因和核基因 *EF1 α* 序列发现, 在中国小管福寿螺和斑点福寿螺已存在杂交。已有室内杂交实验证明, 两种福寿螺可以交配并产生可育后代 (Matsukura et al. 2013, 2016)。

本研究综合线粒体 *COI* 基因和核基因 *EF1 α* 序列的分析结果表明, 苏州市除小管福寿螺外还有斑点福寿螺, 并且这两种福寿螺之间存在杂交的可能。

参 考 文 献

- Belton S, Cubry P, Fox E, et al. 2021. Novel post-glacial haplotype evolution in birch—A case for conserving local adaptation. *Forests*, 12(9): 1246.
- Bondareva O V, Orlova M I, Abramson N I. 2017. Genetic diversity of the Pulmonate Mollusk *Arianta arbustorum* L. in Leningrad Region. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*, 7(6): 640–647.
- Busschau T, Conradie W, Daniels S R. 2020. One species hides many: Molecular and morphological evidence for cryptic speciation in a thread snack (Leptotyphlopidae: *Leptotyphlops sylvicolus* Broadley & Wallach, 1997). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 59: 195–221.
- Frankham R, Ballou J D, Briscoe D A. 2002. *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press, 78–104.
- Frehse F A, Hargrove J S, Weyl O L F, et al. 2020. The genetic characteristics of invasive *Largemouth Bass* in southern Brazil. *Journal of Applied Ichthyology*, 36(1): 46–54.
- Glasheen P M, Burks R L, Campos S R, et al. 2020. First evidence of introgressive hybridization of apple snails (*Pomacea* spp.) in their native range. *Journal of Molluscan Studies*, 86(2): 96–103.
- Hayes K A, Cowie R H, Thiengo S C. 2009. A global phylogeny of apple snails: Gondwanan origin, generic relationships, and the influence of outgroup choice (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 98(1): 61–76.
- Hayes K A, Cowie R H, Thiengo S C, et al. 2012. Comparing apples with apples: clarifying the identities of two highly invasive Neotropical Ampullariidae (Caenogastropoda). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166(4): 723–753.
- Hayes K A, Joshi R C, Thiengo S C, et al. 2008. Out of South America: multiple origins of non-native apple snails in Asia. *Diversity and Distributions*, 14(4): 701–712.
- Huelsenbeck J P, Ronquist F. 2001. MyBayes: Bayesian inference of

- phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17(8): 754–755.
- Hunter M E, Johnson N A, Smith B J, et al. 2018. Cytonuclear discordance in the Florida Everglades invasive Burmese python (*Python bivittatus*) population reveals possible hybridization with the Indian python (*P. molurus*). *Ecology and Evolution*, 8(17): 9034–9047.
- Katoh K, Misawa K, Kuma K I, et al. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, 30(14): 3059–3066.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7): 1870–1874.
- Lawson L, Castruita J A S, Haile J S, et al. 2021. Unraveling elephant shrews: phylogenetic relationships and unexpected introgression among giant sengis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 154: 107001.
- Lee-Yaw J A, Grassa C J, Joly S, et al. 2019. An evaluation of alternative explanations for widespread cytonuclear discordance in annual sunflowers (*Helianthus*). *New Phytol*, 221(1): 515–526.
- Letunic L, Bork P. 2019. Interactive Tree of life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic Acids Research*, 47(W1): 256–259.
- Li X M, Bai X L, Kergoat G J, Pan Z, Ren G D. 2021. Phylogenetics, historical biogeography and molecular species delimitation of *Gnaptorina reitter* (Coleoptera: Tenebrionidae: Blaptini). *Systematic Entomology*, 46: 239–251.
- Lowe S, Browne M, Boudjelas S, et al. 2000. 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. The Invasive Species Specialist Group (ISSG), Species Survival Commission (SSC), World Conservation Union (IUCN), 12.
- Lv S, Zhang Y, Liu H X, et al. 2013. Phylogenetic evidence for multiple and secondary introductions of invasive snails: *Pomacea* species in the People's Republic of China. *Diversity and Distributions*, 19(2): 147–156.
- Lv S, Zhang Y, Liu H X, et al. 2009. Invasive Snails and an emerging infectious disease: results from the first national survey on *Angiostrongylus cantonensis* in China. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 3(2): e368.
- Matsukura K, Izumi Y, Yoshida K, et al. 2016. Cold tolerance of invasive freshwater snails, *Pomacea canaliculata*, *P. maculata*, and their hybrids helps explain their different distributions. *Freshwater Biology*, 61(1): 80–87.
- Matsukura K, Okuda M, Cazzaniga N J, et al. 2013. Genetic exchange between two freshwater apple snails, *Pomacea canaliculata* and *Pomacea maculata* invading East and Southeast Asia. *Biological Invasions*, 15(9): 2039–2048.
- Posada D, Buckley T R. 2004. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of Akaike information criterion and Bayesian approaches over likelihood ratio tests. *Systematic Biology*, 53(5): 793–808.
- Posada D, Crandall K A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14(9): 817–818.
- Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, et al. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics*, 19(18): 2496–2497.
- Yang Q Q, Liu S W, He C, et al. 2019b. Invisible apple snail invasions: importance of continued vigilance and rigorous taxonomic assessments. *Pest Management Science*, 75(5): 1277–1286.
- Yang Q Q, Liu S W, He C, et al. 2018. Distribution and the origin of invasive apple snails, *Pomacea canaliculata* and *P. maculata* (Gastropoda: Ampullariidae) in China. *Scientific Reports*, 8(1): 1–8.
- Yang Q Q, Yu X P. 2019a. A New Species of Apple Snail in the Genus *Pomacea* (Gastropoda: Caenogastropoda: Ampullariidae). *Zoological Studies*, 58: 13.
- Zhang D, Gao F L, Jakovlić I, et al. 2020. PhyloSuite: An integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies. *Molecular Ecology Resources*, 20(1): 348–355.
- 郭靖, 章家恩. 2014. 福寿螺入侵机制的研究进展. *生态学杂志*, 33(3): 806–815.
- 查国贤, 李俊, 沈晴, 等. 2018. 苏州市农业植物检疫性有害生物发生现状及防控对策. *植物检疫*, 32(5): 75–79.
- 王玉生, 万方浩, 张桂芬. 2015. DNA 条形码技术在农林入侵害虫鉴定与溯源研究中的应用. *中国科学: 生命科学*, 46(5): 596–612.