



•研究报告•

长江下游外来生物福寿螺的种类及其种群遗传结构

蒲佳佳¹, 杨平俊², 戴洋³, 陶可欣¹, 高磊⁴, 杜予州⁵, 曹俊³, 俞晓平¹, 杨倩倩^{1*}

1. 中国计量大学生命科学学院, 浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室, 杭州 310018; 2. 苏州市植物保护植物检疫站, 江苏苏州 215128; 3. 江苏省血吸虫病防治研究所, 江苏无锡 214064; 4. 上海市园林科学规划研究院, 上海 200232; 5. 扬州大学园艺与植物保护学院, 江苏扬州 225009

摘要: 福寿螺(*Pomacea* spp.)已广泛分布在我国长江以南各省,且逐年向北扩散。本研究采集了长江下游上海及江苏分布区11个种群的福寿螺样品,测序获得270条线粒体COI基因序列,生成10个单倍型(Hap1–10)。基于遗传距离及系统发育分析将Hap1–9鉴定为小管福寿螺(*Pomacea canaliculata*), Hap10为斑点福寿螺(*P. maculata*)。其中,小管福寿螺在所有采样点均有分布; AMOVA层次分析将小管福寿螺种群分成跨长江分布的3个组群,且分子变异主要来源于组群间。进一步结合已发表的我国其他地区(大陆和香港),以及日本和原产地阿根廷、巴西种群的福寿螺序列,形成包含972条COI序列的数据集进行种群遗传学分析。单倍型网络分析中,所采集的小管福寿螺种群分布于3个包含阿根廷单倍型的子网络,其中包含Hap5和Hap7的子网络在我国首次被发现,表明长江下游地区小管福寿螺从阿根廷多次入侵,并发现一个新的入侵历史事件。斑点福寿螺仅在长江以北江苏地区检测到,单倍型Hap10也是我国大陆其他地区的主要单倍型,表明长江以北江苏地区的斑点福寿螺可能由国内已有分布区扩散而来,均起源于巴西。我国不同地区种群的遗传多样性比较发现,长江以南的小管福寿螺遗传多样性最高($Hd = 0.627$),而香港种群斑点福寿螺的遗传多样性最高($Hd = 0.356$)。基于核EF1 α 基因分型分析检测表明,所采集福寿螺的杂交种比例为52.6%,高于原产地种群,表明种间渐渗杂交在入侵过程中持续发生。本研究对于福寿螺监测预警及有效防控具有重要意义。

关键词: 生物入侵; 分子鉴定; 种群遗传多样性; COI; 渐渗杂交; 扩散

蒲佳佳, 杨平俊, 戴洋, 陶可欣, 高磊, 杜予州, 曹俊, 俞晓平, 杨倩倩 (2023) 长江下游外来生物福寿螺的种类及其种群遗传结构. 生物多样性, 31, 22346. doi: 10.17520/biods.2022346.

Pu JJ, Yang PJ, Dai Y, Tao KX, Gao L, Du YZ, Cao J, Yu XP, Yang QQ (2023) Species identification and population genetic structure of non-native apple snails (Ampullariidea: *Pomacea*) in the lower reaches of the Yangtze River. Biodiversity Science, 31, 22346. doi: 10.17520/biods.2022346.

Species identification and population genetic structure of non-native apple snails (Ampullariidea: *Pomacea*) in the lower reaches of the Yangtze River

Jiajia Pu¹, Pingjun Yang², Yang Dai³, Kexin Tao¹, Lei Gao⁴, Yuzhou Du⁵, Jun Cao³, Xiaoping Yu¹, Qianqian Yang^{1*}

1 Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection & Quarantine, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018

2 Suzhou Station of Plant Protection and Plant Quarantine, Suzhou, Jiangsu 215128

3 Jiangsu Institute of Parasitic Diseases, Wuxi, Jiangsu 214064

4 Shanghai Academy of Landscape Architecture Science and Planning, Shanghai 200232

5 School of Horticulture and Plant Protection, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009

ABSTRACT

Aims: Apple snails (*Pomacea* spp.) distribute widely in the Chinese provinces south of the Yangtze River, which are spreading to the northern regions every year. We aimed to determine the identities and distributions of *Pomacea* species in the lower reaches of the Yangtze River.

Methods: In this study, we collected apple snail samples from 11 populations in Shanghai and Jiangsu Province at the

收稿日期: 2022-06-24; 接受日期: 2022-09-05

基金项目: 国家重点研发计划(2020YFC1200100)、国家自然科学基金(32171668)、国家留学基金委促进与加澳新拉美地区科研合作与高层次人才培养项目和浙江省属高校基本科研业务费专项资金(2021YW06)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: yqq@cjlu.edu.cn

lower reaches of the Yangtze River. From these samples, we sequenced 270 mitochondrial *COI* sequences. We retrieved the published *Pomacea* sequences of other Chinese populations (in the China's mainland and Hong Kong), Japanese populations, and the native populations in Argentina and Brazil to form a *COI* dataset of 972 sequences from GenBank. We first identified species based on genetic distance and phylogenetic analysis of haplotypes and then analyzed the population genetic structures based on the parsimony network under 95% parsimony limit using the *COI* dataset. To compare the genetic diversity of the populations from this study and other Chinese populations, we calculated the haplotype diversity (H_d), nucleotide diversity (π), and average number of nucleotide difference (k) for the populations of *P. canaliculata* and *P. maculata*. We conducted the hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) of the populations from the south and north of the Yangtze River for *P. canaliculata*, due to only this species distributed in both banks. Finally, we determined the introgression patterns by genotyping the nuclear *EF1a* using the primer-specific-multiplex polymerase chain reaction (PCR).

Results: We generated 10 haplotypes (Hap1–10) from the *COI* dataset, and identified Hap1–9 as *P. canaliculata*, and Hap10 as *P. maculata*. *Pomacea canaliculata* was found in all the surveyed populations, while *P. maculata* was only found in the Jiangsu populations north of the Yangtze River. The parsimony network of the populations of *P. canaliculata* split into three sub-networks, and each shared the haplotypes from Argentina. Notably, the sub-network containing Hap5 and Hap7 was firstly discovered in China. Both the parsimony network and the distribution frequencies of the haplotypes revealed that the population structures in this region were similar to the Japanese populations. Hap10 of *P. maculata* was identical with the dominant haplotype in other regions of China, which was shared with the haplotype from Brazil. The population diversity of *P. canaliculata* found in this study was the highest compared to other studies ($H_d = 0.627$), whereas the population diversity of *P. maculata* from the highest ($H_d = 0.356$) in Hong Kong. The populations of *P. canaliculata* across the Yangtze River were divided into three groups by AMOVA analysis, with the major source of molecular variance contributed from the groups. Genotyping the nuclear *EF1a* gene of the apple snails from this study revealed 52.6% hybrids, which was higher than that of the native populations.

Conclusion: The *P. canaliculata* populations in the lower reaches of the Yangtze River likely result from multiple introductions from Argentina, and provide a new history of introduction of *P. canaliculata* in Shanghai and Jiangsu Province. *Pomacea maculata* may be introduced from other existing populations in China mainly in Sichuan Basin and Zhejiang Province, which are derived originally from Brazil. The high proportion of hybrids suggest continuous introgressive hybridization during the invasion process. Our results provide important information for the monitoring and effective control of invasive apple snails.

Key words: biological invasion; molecular identification; population diversity; mitochondrial *COI*; introgressive hybridization; spread

福寿螺(Gastropoda: Ampullariidae: *Pomacea*)是原产于南美洲亚马孙流域的一类大型淡水螺(Cowie et al, 2006), 当前已扩散至亚洲、北美洲、欧洲、大洋洲的30余个国家和地区(Brito & Joshi, 2016)。在我国, 福寿螺最早以食用为目的引入到台湾养殖, 随后引入到广东省中山市, 并在20世纪80年代的养殖热中在全国迅速扩散(杨叶欣等, 2010; Yang et al, 2018)。由于福寿螺携带广州管圆线虫(*Angiostrongylus cantonensis*)等多种高风险人畜共患寄生虫, 导致其逐渐失去市场价值, 被大量弃养并逃逸到野外(Hayes et al, 2008)。迄今福寿螺已在我国南方17个省区市(海南、广东、广西、云南、贵州、福建、江西、四川、重庆、湖南、湖北、安徽、浙江、江苏、上海、香港、台湾)广泛扩散, 对入侵地的农业生产和人体健康造成严重威胁(Yang et al, 2018, 2022; 戢小梅等, 2020; 刘义满等, 2020)。此外,

福寿螺食性杂, 通过牧食淡水植物、捕食淡水无脊椎动物及底栖生物、竞争淡水水生资源等对水体食物链结构、生物多样性产生系列损害, 严重威胁水生生态安全。

尽管人们对于福寿螺的入侵危害已有较深刻的认识, 但在很长时间内对福寿螺的种类及分布并不清楚。福寿螺属的许多物种形态近似、可塑性高, 根据螺壳等形态学特征很难准确鉴别种类(Hayes et al, 2012)。早期国内外普遍认为入侵福寿螺仅包括小管福寿螺(*Pomacea canaliculata*) (Hayes et al, 2015), 近年来, 利用母系遗传的线粒体基因, 通过序列相似度比对、系统发育关系分析、序列特征分析等(刘青青和董志军, 2018), 可以实现福寿螺种类的有效鉴定(杨倩倩等, 2016), 从而为福寿螺的分类提供了有力支撑。例如, Yang等(2019)基于线粒体细胞色素c氧化酶亚基I (cytochrome c oxidase subunit I,

*COI*基因序列的DNA条形码分析从我国分布的福寿螺种群中鉴别出小管福寿螺、斑点福寿螺(*Pomacea maculata*), 并发现1个隐存种; 进一步结合螺壳、软体解剖特征、卵及幼螺形态等的系统研究, 将这一隐存种命名为隐秘福寿螺(*Pomacea occulta*) (Yang & Yu, 2019)。当前已明确小管福寿螺在我国分布范围最广, 在南方各省份均有分布; 隐秘福寿螺已扩散至13省份; 斑点福寿螺分布于四川盆地、浙江、江苏与香港(Yang et al, 2018, 2022; 钱子衿等, 2021)。

受气候变化、经济一体化等影响, 福寿螺在全球的扩散趋势日益加剧。Lei等(2017)根据物种分布模型(SDMs)分析, 发现限制小管福寿螺在全球扩散的最主要气候因子是最寒冷月份的最低气温, 推测在今后50年内小管福寿螺将在亚洲和北美洲向北、欧洲向东进一步扩散, 全球适生区将增加3.3%–10.3%。我国学者以多种气候因子为基础, 针对福寿螺的分布北界和扩散趋势开展了系列研究。

Lv等(2011)首次以环境温度与小管福寿螺世代构建模型并结合GIS绘图, 预测2020年小管福寿螺在我国的最北分布范围可达31°N; 杨海芳等(2018)以气温和降水量等作为气候影响因子, 预测福寿螺在我国的适生区北界为35°N; Yin等(2022)研究发现, 最暖季度的降水量和最冷月份的最高气温对小管福寿螺在我国的分布起重要作用, 随着全球气候变暖, 小管福寿螺未来将会进一步向我国北方地区扩散。近年来, 福寿螺在江苏及上海地区大面积发生, 在农田等水生生态系统中为害严重, 引起广泛关注(Yang et al, 2019)。田间调研发现, 2019年福寿螺分布最北已达32.43°N的江苏省泰州市(戢小梅等, 2020)。

此外, 福寿螺种间渐渗杂交的发现成为其入侵机制研究的新热点。Matsukura等(2013)首次利用限制性内切酶*Apa*LI对核*EF1a*基因的酶切图谱多态性进行分析, 发现日本、韩国、菲律宾、越南的小管福寿螺和斑点福寿螺发生了种间杂交渐渗。Yang等(2020)构建了检测福寿螺杂交型的特异引物多重PCR方法, 检测了采集自中国12省份的福寿螺, 结果表明线粒体为小管福寿螺、核基因为小管福寿螺和斑点福寿螺杂合型的杂交种在我国分布最广泛, 并揭示了杂交种的卵形态, 如卵块大小和卵粒直径

介于两纯种福寿螺之间。此外, 在原产地阿根廷、巴西、乌拉圭等也检测到小管福寿螺和斑点福寿螺的种间渐渗杂交(Yoshida et al, 2014; Glasheen et al, 2020)。通过实验室交配试验, 揭示了小管福寿螺比斑点福寿螺具有更高的耐低温能力, 而二者的杂交种耐低温水平介于两个纯种之间, 这与日本田间调研的结果一致, 即杂交种福寿螺在日本分布的纬度范围介于两纯种之间, 推测渐渗杂交有助于提升斑点福寿螺的耐寒性, 促进其向低温地区扩散(Matsukura et al, 2013, 2016)。

本研究从上海及江苏跨长江分布区广泛采集了福寿螺样品, 利用线粒体*COI*基因序列进行种类鉴定, 结合入侵地与原产地种群已发表的*COI*序列进行种群遗传结构和遗传多样性分析, 并通过核*EF1a*基因分型分析探明该地区福寿螺种群的种间渐渗杂交情况。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2020年10月至2021年10月采集长江下游11个地理种群的福寿螺样本。其中, 长江下游以南地区有8个种群, 即上海市宝山区种群(SHBS)、太湖沿岸的苏州市吴中区(WZLZ、WZMJB)、昆山市周庄镇(KSZZ)和常熟市尚湖镇(CSSH)4个种群, 以及临近长江南岸的常熟市古里镇(CSGL)和张家港市(ZJGFH、ZJGXSC)种群; 长江下游以北包括扬州市广陵区(JSYZ)、泰州市兴化市(JSTZ)和宿迁市泗洪县(JSSQ)3个种群(表1, 图1)。其中, 宿迁市泗洪县(118.25°E, 33.47°N)为最北的采样点。上海种群及长江下游以北的种群主要来自河道, JSTZ除灌溉河道外还包括蟹田, JSSQ种群采自湖泊, ZJGFH种群采自沟渠, 其他种群采自稻田或水生蔬菜田。

田间采集样本时, 参考福寿螺属外壳形态特征(Hayes et al, 2012)及我国田间淡水蜗牛种群的形态测量特征(罗渡等, 2018)进行鉴定, 初步鉴定所采集的样本为福寿螺属(附录1)。

所用样品中, 张家港市凤凰镇(ZJGFH)和宿迁市泗洪县(JSSQ)样点分别包含13个和10个卵块, 其余均为成螺。其中, 采集样本量多于30个的种群从中随机抽取30个, 样本不足30个的种群取全部, 共计270个样本用于分子实验。

表1 长江下游分布区福寿螺样品采集信息

Table 1 Sampling information of the apple snails collected from the lower reaches of the Yangtze River

序号 Code	地点 Locality	编号 Code	经度 Longitude (E)	纬度 Latitude (N)	生境 Habitat	序列数量 No. of sequences
1	上海市宝山区三星村 Sanxing Village, Baoshan District, Shanghai	SHBS	121.36°	31.31°	河道 River	20
2	苏州市吴中区角直镇 Luzhi Town, Wuzhong District, Suzhou City	WZLZ	120.48°	31.14°	水生蔬菜田 Aquatic vegetable field	30
3	苏州市吴中区马家浜村 Majiabang Village, Wuzhong District, Suzhou City	WZMJB	120.46°	31.14°	水生蔬菜田 Aquatic vegetable field	30
4	昆山市周庄镇 Zhouzhuang Town, Kunshan City	KSZZ	120.56°	31.21°	稻田 Paddy field	30
5	常熟市尚湖镇 Shanghu Town, Changshu City	CSSH	120.42°	31.36°	稻田 Paddy field	30
6	常熟市古里镇 Guli Town, Changshu City	CSGL	120.85°	31.65°	稻田 Paddy field	15
7	张家港市凤凰镇鸢山 Fenghuang Town, Zhangjiagang City	ZJGFH	120.62°	31.76°	沟渠 Ditch	17
8	张家港市凤凰镇杏市村 Xingshi Village, Fenghuang Town, Zhangjiagang City	ZJGXSC	120.68°	31.78°	稻田 Paddy field	28
9	扬州市广陵区沙头镇 Shatou Town, Guangling District, Yangzhou City	JSYZ	119.50°	32.34°	河道 River	30
10	泰州市兴化市大邹镇顾马村 Guma Village, Dazou Town, Xinghua City, Taizhou City	JSTZ	119.92°	33.15°	河道、蟹田 River, crab field	30
11	宿迁市泗洪县 Sihong County, Suqian City	JSSQ	118.25°	33.47°	湖泊 Lake	10

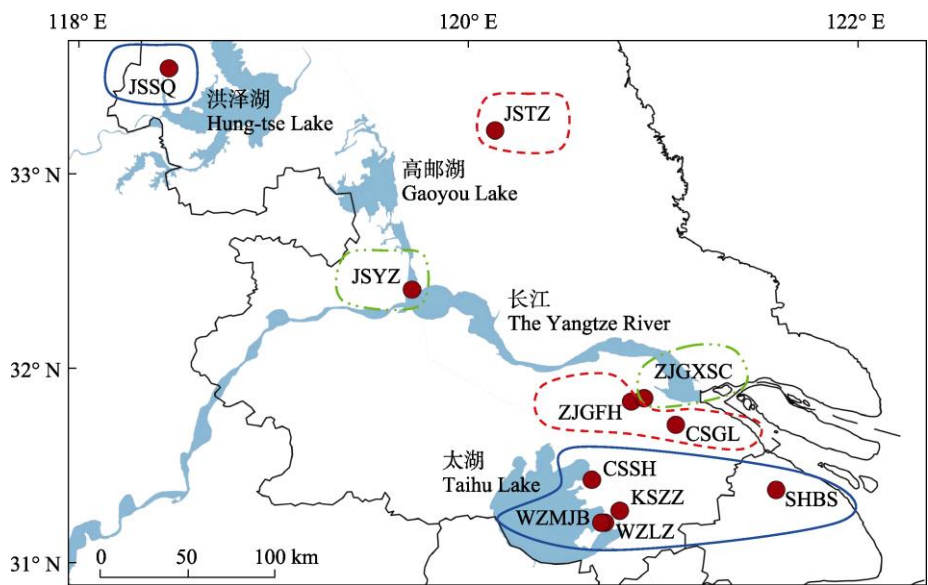


图1 本研究福寿螺采样点及基于AMOVA层次分析的分组。实心圆表示采样点，同一线型框表示同一组群，图中缩写含义见表1。

Fig. 1 Sampling locations of the apple snails and grouping based on AMOVA hierarchical analysis. Solid circles represent sampling points, the frames in same linetype indicates a population group, the meaning of the abbreviation in the figure is shown in Table 1.

1.2 DNA提取、PCR扩增及测序

取约10 mg成螺腹足或单粒卵提取基因组DNA, 步骤参考血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒 (TIANGEN, 上海)说明书。每个样品获得的DNA溶于100 μ L ddH₂O中, 使用微量紫外分光光度仪 (NanoDrop, ND-2000)检测浓度及纯度后, 置于-20℃保存。

使用通用引物对LCO1490/HCO2198 (Folmer et al, 1994)扩增线粒体COI基因片段。PCR体系包括12.5 μ L的TaKaRa Premix Taq, 9.5 μ L的ddH₂O, 上下游引物(10 μ M)各1 μ L以及1 μ L的基因组DNA。PCR反应条件为: 94℃预变性3 min; 94℃变性30 s, 50℃退火30 s, 72℃延伸1 min, 共34个循环; 72℃延伸10 min, 4℃终止反应。使用1%的琼脂糖凝胶对

PCR产物进行电泳检测, 将获得的阳性扩增产物交由上海生工生物工程股份有限公司纯化测序。使用Geneious v11.1.5 (Kearse et al, 2012)软件对原始序列进行人工校正并剪切两端引物后获得最终序列。

1.3 COI数据集

我们获取了文献中已发表的中国、中国香港以及日本、巴西和阿根廷种群的福寿螺COI序列702条, 与本研究测得的270条序列形成包含972条序列的数据集。其中, 中国大陆种群包括319条小管福寿螺序列、30条斑点福寿螺序列(Yang et al, 2018), 以及68条隐秘福寿螺序列(Yang et al, 2019); 香港种群分别包括小管福寿螺、斑点福寿螺和隐秘福寿螺序列139条、10条和13条(Yang et al, 2022); 日本种群的19条小管福寿螺序列和29条斑点福寿螺序列(Matsukura et al, 2008); 阿根廷种群的32条小管福寿螺序列和13条斑点福寿螺序列(Rawlings et al, 2007; Hayes et al, 2008, 2009); 巴西种群的斑点福寿螺序列30条(Hayes et al, 2008; Glasheen et al, 2020) (附录2)。其中, 中国、中国香港以及日本种群的序列为地理种群序列, 而阿根廷和巴西种群的序列主要是单倍型序列。

1.4 序列相似性与系统发育分析

将数据集使用Geneious v11.1.5 (Kearse et al, 2012)进行全局比对后, 使用DnaSP v5.1 (Rozas et al, 2017)生成单倍型, 使用Geneious v11.1.5计算单倍型之间的K2P遗传距离。

以神秘福寿螺(*Pomacea diffusa*) (EF515067)作为外群, 基于相邻连接法(neighbor-joining, NJ)和贝叶斯法(Bayesian inference, BI)构建系统发育树。使用MEGA X软件(Kagawa & Takimoto, 2018)基于K2P模型构建NJ树, 置信值设置为1,000次; 使用jModeltest v2.1.10中的BIC计算出最佳核苷酸替代模型为HKY + G, 并使用MrBayes v3.2.5软件(Ronquist & Huelsenbeck, 2003)构建BI树, 同时运行4个马尔可夫链(MCMC), 共运算5,000,000代, 每1,000代储存一次树, 用burnin参数舍弃前25%后, 计算合一树。

1.5 种群遗传结构和种群遗传多样性分析

在鉴定福寿螺物种的基础上, 对COI数据集生成的小管福寿螺和斑点福寿螺单倍型进行种群遗传结构分析。使用TCS v1.21 (Clement et al, 2000)对

数据集进行单倍型网络分析, 网络重建的统计简约连接界限(parsimony limit)设置为95%。

针对本研究所测定的长江下游江苏和上海种群、已发表的中国大陆种群及香港种群的小管福寿螺和斑点福寿螺进行种群遗传多样性比较分析。使用DnaSP v5.1 (Rozas et al, 2017)计算小管福寿螺和斑点福寿螺的单倍型多样性(haplotype diversity, H_d), 核苷酸多样性(nucleotide diversity, π)和平均核苷酸差异数(average number of nucleotide difference, k)等遗传多样性参数。对江苏和上海地区长江南、北小管福寿螺种群进行了遗传多样性比较分析, 以揭示该地区长江南北福寿螺种群遗传多样性的关系。

为了揭示江苏和上海地区长江南北福寿螺种群的关系, 使用SAMOVA v2.0软件(Excoffier et al, 1992)对11个地理种群的小管福寿螺进行AMOVA层次分析, 设置分组为2-7组, 采用标准计算中的Tamura & Nei模型进行1,023个置换检验, 计算11个地理种群的分组以及各种群变异来源和变异程度。

1.6 杂交渐渗分析

使用Yang等(2020)发表的特异引物多重PCR方法, 利用引物组EF3Fc/EF3Rc/EF1Fm/EF3Rm进行核基因*EF1 α* 分型分析。使用3.5% (w/v)琼脂糖凝胶电泳检测3 μ L的扩增产物。

根据线粒体COI基因(C、M型)和核基因*EF1 α* (C、M、B型)共同判断福寿螺个体的杂交型。其中, 线粒体COI基因鉴定为小管福寿螺时, 核基因*EF1 α* 也鉴定为小管福寿螺的是CC型; 核基因*EF1 α* 鉴定为斑点福寿螺的是CM型; 核基因*EF1 α* 鉴定为小管福寿螺和斑点福寿螺杂合型的是CB型。同样地, 线粒体COI基因鉴定为斑点福寿螺时, 根据不同的核基因*EF1 α* 分型可分为MC型、MM型和MB型3种杂交型。

2 结果

2.1 福寿螺物种鉴定

本研究共测序获得长江下游江苏和上海种群福寿螺的270条COI序列(GenBank序列号MZ396656-MZ396815, ON054061-ON054170)。所构建的包含中国、中国香港以及日本、巴西和阿根廷福寿螺种群的972条COI序列数据集, 经序列多

重比对后剪切为579 bp的一致性序列, 并生成73个单倍型(Hap1-73, 附录3)。所测长江下游江苏和上海种群的福寿螺COI序列分布于单倍型Hap1-10。

依据序列相似性分析73个单倍型聚类为3组(图2)。其中, 第一组共包含30个单倍型, Hap1-9和小管福寿螺单倍型Hap11-31, 组内遗传距离为94.0%–99.8%, 组间遗传距离为89.0%–92.8%; 第二组包括38个单倍型, Hap10和斑点福寿螺单倍型Hap32-68, 组内遗传距离为94.8%–99.8%, 组间遗传距离为89.0%–94.3%; 第三组包含隐秘福寿螺的单倍型Hap69-73, 组内遗传距离为99.1%–99.8%, 组间遗传距离为89.6%–94.3%。

所构建的NJ和BI系统发育树的拓扑结构一致, 均具有较高的置信值支持度(图3)。小管福寿螺、斑点福寿螺和隐秘福寿螺分别聚类为一支, 且斑点福寿螺与隐秘福寿螺具有较近的系统发育关系。小管福寿螺包含Hap1-9和Hap11-31; 斑点福寿螺包含Hap10和Hap32-68; 隐秘福寿螺包括Hap69-73(图3)。

序列相似性和系统发育关系结果共同表明, 本研究种群共鉴定出两种福寿螺, Hap1-9为小管福寿螺, 包含234个样本, 占总样本数量的86.67%; Hap10为斑点福寿螺, 包含36个样品, 占比13.33%。

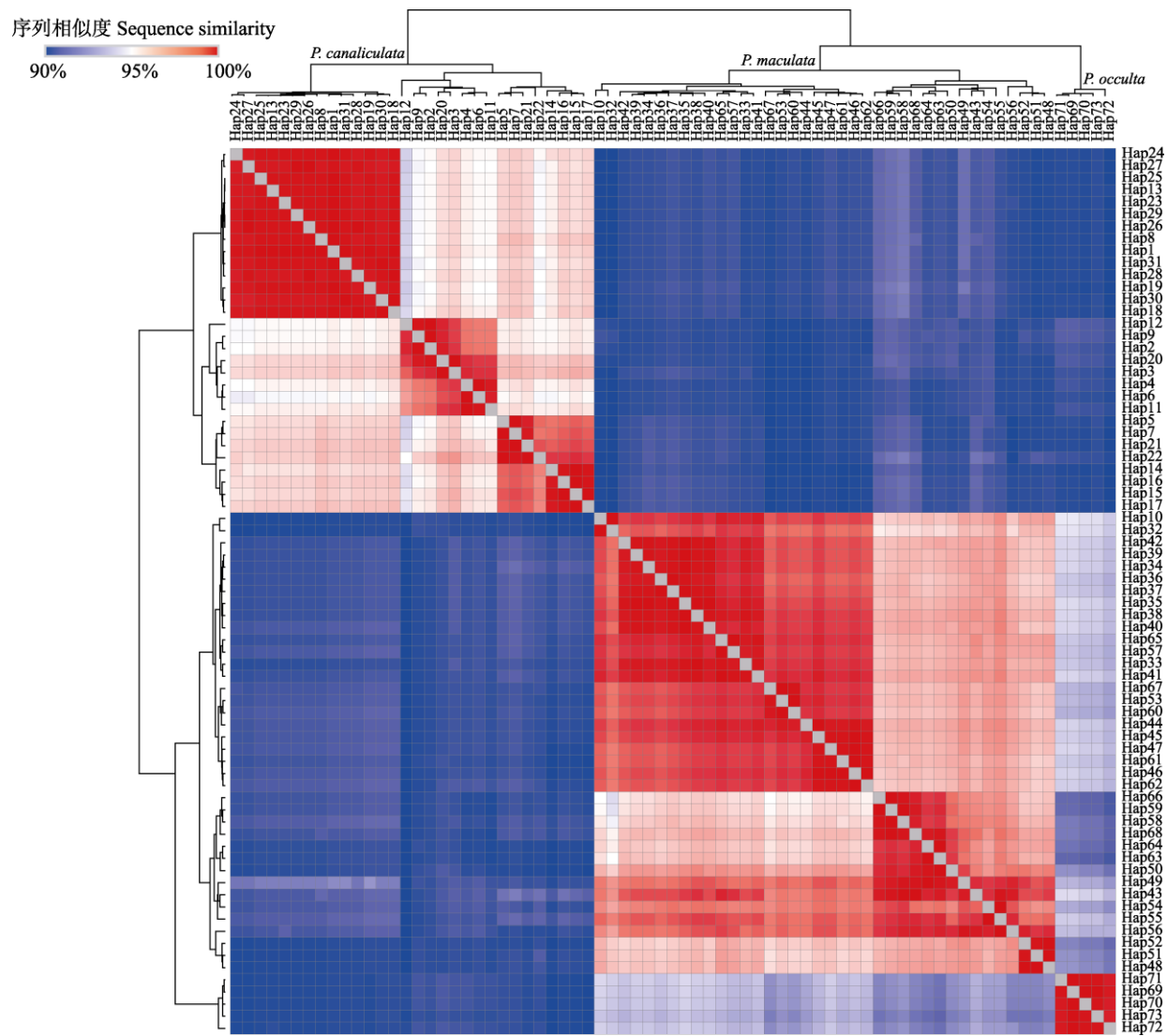


图2 基于K2P遗传距离的单倍型序列相似性热图。P. canaliculata: 小管福寿螺; P. maculata: 斑点福寿螺; P. occulta: 隐秘福寿螺。

Fig. 2 Heatmap of the sequence similarities based on K2P genetic distance of the haplotypes

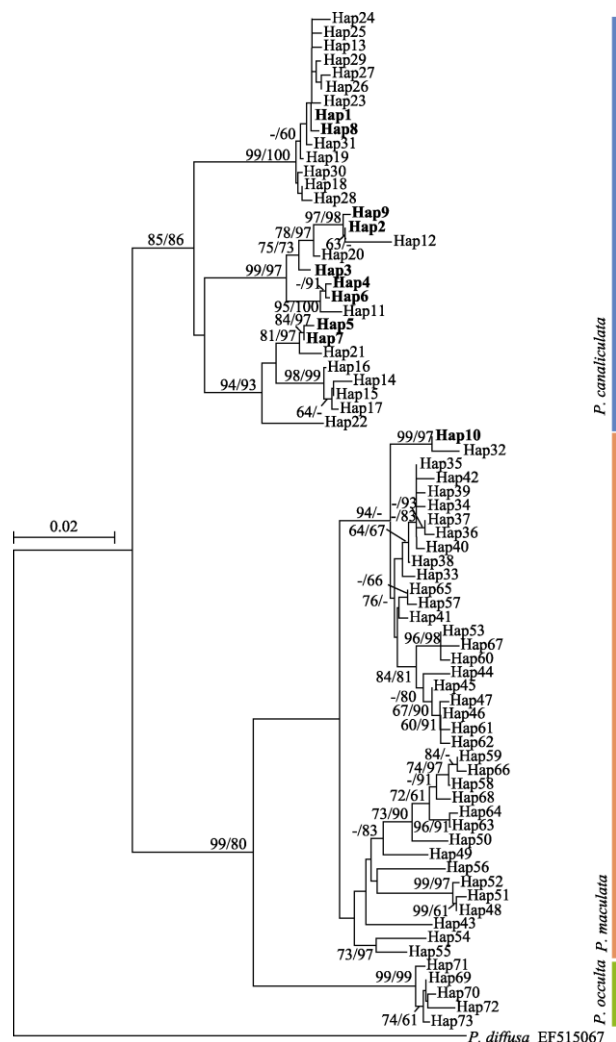


图3 长江下游福寿螺单倍型构建的系统发育树。系统发育分支节点为相邻连接法/贝叶斯法(NJ/BI)系统发育树的置信值, 仅显示> 60%的数值; 其中加粗显示的Hap1-10为本研究所测COI序列生成的单倍型。

Fig. 3 The phylogenetic tree constructed by the haplotypes of apple snails from the lower reaches of the Yangtze River. The branch nodes of phylogenetic trees denote neighbor-joining/Bayesian inference bootstrap supports. Only the values > 60% are displayed; Hap1-10 shown in bold are haplotypes generated from COI sequences from this study.

2.2 单倍型分布

小管福寿螺在所采集的11个地理种群中均有分布(Hap1-9), 上海种群(SHBS)仅分布有小管福寿螺, 包含Hap1和Hap7, 其中Hap7仅包含1条序列。斑点福寿螺(Hap10)仅分布在江苏地区长江以北的3个地理种群, 即扬州种群(JSYZ)、泰州种群(JSTZ)和宿迁种群(JSSQ); 仅泰州种群以斑点福寿螺为优势种(占76.67%), 其他种群均以小管福寿螺为优势种(表2)。

Hap1是小管福寿螺的优势单倍型, 包含126条序列, 占所测序列总数的46.67%, 分布于上海市(SHBS)、苏州市(WZLZ、WZMJB)、昆山市(KSZZ)、常熟市(CSSH)、泰州市(JSTZ)和宿迁市(JSSQ)等7个种群(表2)。Hap2-6分别包含15条、21条、28条、22条、18条序列; 其中, Hap2和Hap3各分布于2个种群, Hap4和Hap6分别仅在张家港市(ZJGXSC)和扬州市(JSYZ)分布, Hap5在苏州市吴中区(WZLZ、WZMJB)及常熟市(CSSH)发现(表2)。通过NCBI数据库的BLASTn比对发现, Hap8-9尚未在其他地区报道, 是本研究所检测到的特有单倍型, 分别分布于常熟种群(CSSH)和张家港种群(ZJGFH)(表2)。

2.3 小管福寿螺的种群遗传结构

本研究所构建的COI数据集共包含小管福寿螺30个单倍型(Hap1-9和Hap11-31, 附录3)。其中, Hap1是最大的单倍型, 共包含370条序列, 由阿根廷种群与各入侵地种群共享; Hap1是中国长江下游江苏和上海种群(126条)、香港种群(99条)以及日本种群(7条)的优势单倍型, 是已发表的中国大陆种群的第二大单倍型(129条)。Hap2-4由中国种群和日本种群共享: Hap2是已发表的中国大陆种群的最大的单倍型(159条), 也是香港种群的第二大单倍型(32条), 但在中国江苏种群和日本种群分别仅检测到15条和1条序列; Hap3在中国江苏种群和日本种群分别包含多条序列, 但仅包含1条已发表的中国大陆种群序列(GenBank号KP310290); Hap4在张家港种群(ZJGXSC)、已发表的中国大陆种群和日本种群均包含多条序列, 但仅包含1条香港种群序列(附录3)。Hap5由中国的苏州市吴中区种群(WZLZ、WZMJB)、常熟市种群(CSSH), 以及日本种群共享; Hap6由江苏扬州种群、已发表中国大陆种群(浙江绍兴)和日本种群共享; Hap7是上海种群和阿根廷种群的共享单倍型(附录3, 表2)。

单倍型网络分析表明, 在95%的简约连接界限下小管福寿螺的单倍型共分成4个子网络A-D, 本研究所测种群分布于单倍型网络A-C, 网络D仅包含来自阿根廷种群的Hap22(图4)。其中, 网络A-B均除包含本研究测序种群外, 还包含中国大陆已发表种群、香港种群, 以及日本种群和阿根廷种群, 而网络C仅由本研究测序种群、日本种群和阿根廷种群共享(图4)。网络A包含14个单倍型, 以Hap1为

表2 本研究福寿螺种群的COI单倍型分布。地点编号见表1。
Table 2 Distribution of COI haplotypes of the populations from this study. Location code see Table 1.

单倍型 Haplotype	序列数量 No. of sequences (%)	SHBS	WZLZ	WZMJB	KSZZ	CSSH	CSGL	ZJGFH	ZJGXSC	JSYZ	JSTZ	JSSQ	物种 Species
Hap1	126 (46.67)	19	23	16	30	27	—	—	—	—	2	9	小管福寿螺 <i>Pomacea canaliculata</i>
Hap2	15 (5.56)	—	—	—	—	—	—	10	—	—	5	—	小管福寿螺 <i>P. canaliculata</i>
Hap3	21 (7.78)	—	—	—	—	—	15	6	—	—	—	—	小管福寿螺 <i>P. canaliculata</i>
Hap4	28 (10.37)	—	—	—	—	—	—	—	28	—	—	—	小管福寿螺 <i>P. canaliculata</i>
Hap5	22 (8.15)	—	7	14	—	1	—	—	—	—	—	—	小管福寿螺 <i>P. canaliculata</i>
Hap6	18 (6.67)	—	—	—	—	—	—	—	—	18	—	—	小管福寿螺 <i>P. canaliculata</i>
Hap7	1 (0.37)	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	小管福寿螺 <i>P. canaliculata</i>
Hap8	2 (0.74)	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	小管福寿螺 <i>P. canaliculata</i>
Hap9	1 (0.37)	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	小管福寿螺 <i>P. canaliculata</i>
Hap10	36 (13.33)	—	—	—	—	—	—	—	—	12	23	1	斑点福寿螺 <i>P. maculata</i>

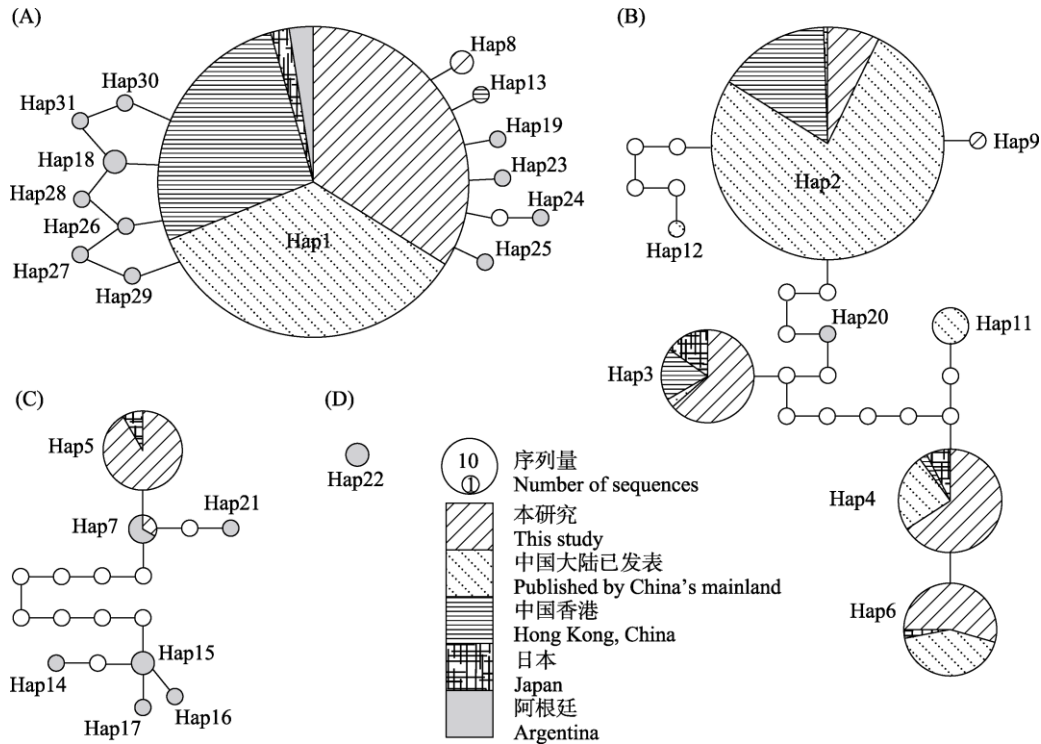


图4 基于TCS模型建立的小管福寿螺单倍型网络。95%简约连接界限下分成4个子网络(A-D); 圆的大小与序列量成正比, 不同图案代表不同地理种群, 白色圆表示缺失单倍型。
Fig. 4 Haplotype network of *Pomacea canaliculata* based on TCS model. The haplotypes network of *P. canaliculata* splits into four sub-networks (A-D) under 95% parsimony limit. The size of the circles represents the number of sequences. Pattern types represent different geographical populations, with the white circles indicating missing haplotypes.

中心, 其他单倍型以1–2步的距离分布于四周; 除Hap8和Hap13外, 其余均为阿根廷种群的单倍型(图4)。网络B包含8个单倍型, 仅Hap20来自阿根廷种群, 通过缺失单倍型与其他单倍型(Hap2、Hap3–4、Hap6、Hap9、Hap11–12)连接(图4)。网络C由中国的江苏、上海种群, 以及日本和阿根廷种群的单倍型共享, 除Hap5和Hap7外, 其余单倍型均来自阿根廷(表2, 图4)。

2.4 斑点福寿螺的种群遗传结构

COI数据集所生成的单倍型中包含38个斑点福寿螺单倍型(Hap10和Hap32–68, 附录3)。在95%的简约连接界限下, 斑点福寿螺的单倍型网络分成7个子网络(A–G); 其中, 除网络A外其他网络仅含有巴西种群的单倍型(图5)。网络A共包含23个单倍型, Hap10是最大的斑点福寿螺单倍型, 由中国的江苏种群、已发表的中国大陆种群、香港种群, 以及日本种群和巴西种群共享, 表明入侵来源于巴西。Hap32为已发表的中国大陆种群的单倍型, 与Hap10通过两个缺失单倍型连接; Hap33为香港种群单倍型, 通过1个缺失单倍型与阿根廷单倍型Hap35连接;

Hap34由日本与阿根廷种群共享(附录3, 图5)。

2.5 种群遗传多样性

本研究小管福寿螺长江以南种群的种群遗传多样性最高, Hd 、 π 和 k 值分别为0.627、0.02546和14.744, 其次是长江以北种群; 斑点福寿螺种群中, 香港种群遗传多样性最高, 江苏种群遗传多样性最低(表3)。江苏和上海地区小管福寿螺的长江以南种群(SHBS、WZLZ、WZMJB、KSZZ、CSSH、CSGL、ZJGFH、ZJGXSC)与长江以北种群(JSYZ、JSTZ、JSSQ)具有相近的种群遗传多样性, Hd 分别为0.627和0.611, π 分别为0.02546和0.02541, k 分别为14.744和14.713(表3)。

AMOVA层次分析分组结果显示, 组群数设置为2–7组时, 江苏和上海地区小管福寿螺均有长江以北种群与长江以南种群构成的组群, 分为7组时组间分化指数(FCT)最大为0.78503(附录4)。在FCT = 0.77374时将所采集的小管福寿螺种群分成3大组群: 第一组群包括上海种群(SHBS)、太湖沿岸种群(WZLZ、WZMJB、KSZZ、CSSH)以及宿迁种群(JSSQ); 第二组群包括长江南岸的张家港(ZJGFH)、

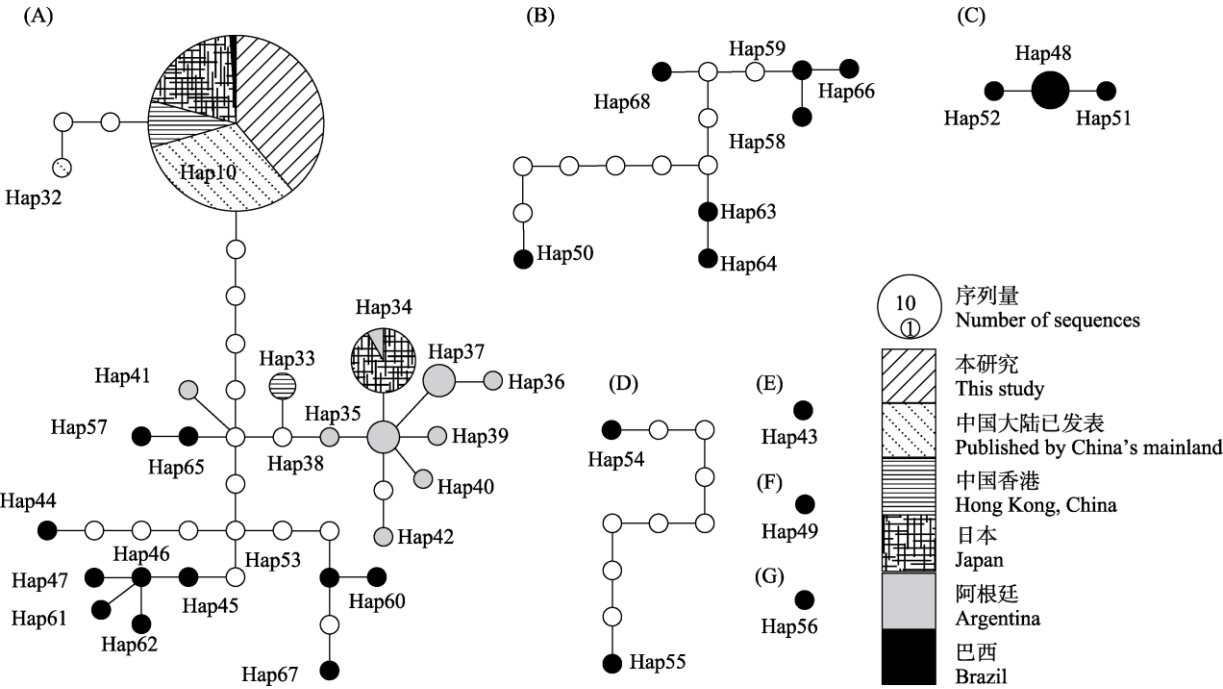


图5 基于TCS模型建立的斑点福寿螺单倍型网络。95%简约连接界限下分成7个子网络(A–G); 圆的大小与序列量成正比, 不同图案代表不同地理种群, 白色圆表示缺失单倍型。

Fig. 5 Haplotype network of *Pomacea maculata* based on TCS model. The haplotypes network of *P. maculata* splits into seven sub-networks (A–G) under 95% parsimony limit. The size of the circles represents the number of sequences. Pattern types represent different geographical populations, with the white circles indicating missing haplotypes.

表3 本研究种群、已发表的中国大陆及香港种群的小管福寿螺和斑点福寿螺的遗传多样性
Table 3 Distribution of population genetic diversity of *Pomacea canaliculata* and *P. maculata* from this study, published by China's mainland and Hong Kong, and this study

物种 Species	地理种群 Region	序列数 No. of sequences	单倍型数 No. of haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity (<i>H_d</i>)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (π)	核苷酸平均差异数 Average number of nucleotide difference (<i>k</i>)
小管福寿螺 <i>Pomacea canaliculata</i>	长江以南 South of the Yangtze River	200	8	0.627	0.02546	14.744
	长江以北 North of the Yangtze River	34	3	0.611	0.02541	14.713
	中国大陆已发表 Published by China's mainland	319	7	0.587	0.02543	14.722
	香港 Hong Kong	139	5	0.441	0.01956	11.324
斑点福寿螺 <i>P. maculata</i>	江苏 Jiangsu	36	1	0.000	0.00000	0.000
	中国大陆已发表 Published by China's mainland	30	2	0.067	0.00035	0.200
	香港 Hong Kong	10	2	0.356	0.00430	2.489

表4 长江下游分布区小管福寿螺种群COI分子变异方差分析
Table 4 Variance analysis of *COI* molecular variation among populations of *Pomacea canaliculata* in the lower reaches of the Yangtze River

变异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	变异百分率 Percentage of variation (%)
组群间 Among groups	2	122.265	9.56034	7.37
组群内种群间 Among populations within groups	8	165.622	0.89486	7.24
种群内个体间 Among individuals within populations	223	423.865	1.90074	15.38
总变异 Total variation	233	1,811.752	12.35594	100.00

常熟古里(CSGL)以及泰州(JSTZ)种群; 第三组群包括张家港(ZJGXSC)和扬州(JSYZ)种群(图1, 附录4)。遗传变异组成表明, 组群间、组群内种群间以及种群内个体间变异分别占总变异的7.37%、7.24%和15.38%, 表明遗传变异主要来源于组群间(表4)。

2.6 种间杂交渐渗

基于特异引物多重PCR的方法针对核*EF1 α* 基因分型, 若扩增产物仅包含125 bp的片段则判断为小管福寿螺型(C型), 若仅包含151 bp的片段则判断为斑点福寿螺型(M型), 同时仅包含125 bp和151 bp的两条片段则判断为小管福寿螺和斑点福寿螺杂合型(B型) (图6) (Yang et al, 2020)。结合线粒体*COI*基因和核基因*EF1 α* 分析, 共检测到6种杂交型。在小管福寿螺中共检测到126个纯种(CC型), 占比53.85%; CB型和CM型分别占35.90%和10.26%。其中, 常熟古里种群(CSGL)和宿迁种群(JSSQ)的小管福寿螺均为纯种, 仅在上海种群(SHBS)、太湖沿岸种群(WZLZ、WZMJB、CSSH)和张家港种群

(ZJGXSC) 4个种群检测到CM型。与小管福寿螺不同, 斑点福寿螺样本中杂种比例较高。其中, MB型和MC型分别检测到11个(30.56%)和23个(63.89%),

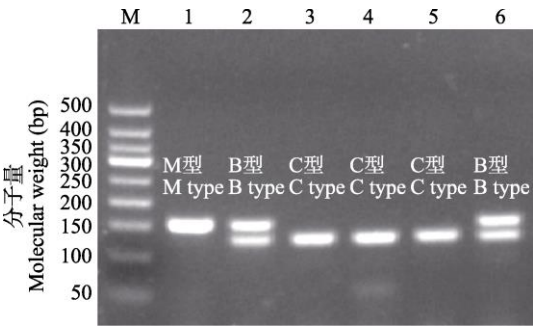


图6 基于核*EF1 α* 基因多重PCR扩增的长江下游福寿螺杂交渐渗型检测。M为50 bp DNA梯带; 1-6为长江下游福寿螺样品, 分别为M型、B型、C型、C型、C型、B型。
Fig. 6 Introgressive hybridization of the apple snails in the lower reaches of the Yangtze River based on *EF1 α* gene multiplex PCR method. M, 50 bp DNA ladder; 1-6 represent for M type, B type, C type, C type, C type, and B type of samples of apple snails collected in the lower reaches of the Yangtze River.

仅在扬州种群(JSYZ)检测到2个纯种斑点福寿螺(MM型), 占比5.56%。

3 讨论

福寿螺持续向冬季低温区扩散引发全球广泛关注。本研究针对长江下游南北分布区开展调研, 发现福寿螺向北已扩散至宿迁市泗洪县, 表明福寿螺在江苏大部分地区具有适生性。长江以北江苏地区有小管福寿螺和斑点福寿螺两个物种, 在长江以南的江苏种群和上海种群仅检测到小管福寿螺发生。已有研究显示我国斑点福寿螺主要发生在四川盆地、浙江、江苏和香港地区(Yang et al, 2018, 2022; 钱子衿等, 2021); 其中, 钱子衿等(2021)仅在长江以南的江苏苏州发现斑点福寿螺, 而本研究发现了长江以北江苏地区斑点福寿螺的分布, 进一步扩大了我们对该物种分布范围的认识。尽管隐秘福寿螺已在我国十余省份发生(Yang et al, 2018), 但我们未在长江下游地区检测到这一物种。小管福寿螺生成9个单倍型, 其中发现2个特有的单倍型(Hap8-9); 斑点福寿螺仅检测到1个单倍型。与原产地阿根廷和巴西福寿螺种群相比, 该地区的种群单倍型数量较少, 表明入侵种群经历了奠基者效应, 仅保留了少量祖先单倍型(Nei et al, 1975)。

已有报道表明, 小管福寿螺是亚洲许多入侵地的优势物种(Hayes et al, 2008; Yang et al, 2018)。本研究所采集的地点均有小管福寿螺分布, 但在长江以北地区的泰州市种群中斑点福寿螺为优势物种(占76.67%), 扬州市种群也具有较高的斑点福寿螺比例(60%)。这与所预期的斑点福寿螺低温耐受力低、难以向北扩散相悖(Matsukura et al, 2016)。例如, Matsukura等(2013)针对日本分布的福寿螺物种鉴定表明, 斑点福寿螺仅分布在南部地区, 在高纬低温的北部仅有小管福寿螺分布。本研究调研显示, 长江以北江苏地区福寿螺主要发生在河流、湖泊等深水生境, 在稻田等浅水湿地极少发生。这可能是由于冬季深水底部及淤泥中仍能保持较高的温度(Wang et al, 2019), 对福寿螺的存活起到保护作用有关。此外, 泰州种群主要在蟹田周边, 福寿螺的最初来源可能主要作为蟹饲料而人为引入的。由于斑点福寿螺与小管福寿螺具有相似的取食偏好性, 但斑点福寿螺具有更高的生长速率, 产卵多、生长速度快、成螺个体大等优势, 使其在养殖

中更受青睐(Morrison & Hay, 2011; Hayes et al, 2012)。

单倍型组成与单倍型网络结构共同表明, 长江下游江苏和上海地区的小管福寿螺种群遗传结构与我国已发表的大陆和香港种群具有较大差异, 而与日本种群更相似。种群遗传结构表明, 长江下游江苏和上海地区的小管福寿螺可能从阿根廷多次入侵, 并发现一个新的单倍型网络(图4C), 表明该地区具有独立的入侵事件。多次入侵可以从原产地的基因库里获得更多的基因型, 是提升入侵种群遗传多样性的重要原因之一(Eyer et al, 2021)。这可能是导致长江下游江苏和上海分布区的小管福寿螺比我国大陆其他地区种群、香港种群等具有较高的种群遗传多样性的重要原因。种群遗传多样性对于外来生物在新生境中的环境适应性至关重要, 种群遗传多样性越高越有利于扩散(VanWallendael et al, 2021)。多次入侵及其所导致的较高的种群遗传多样性对福寿螺在长江下游江苏和上海地区的快速适应性进化和种群扩张具有重要促进作用。

江苏和上海地区长江南部和北部的小管福寿螺种群遗传多样性相似, 表明长江以南种群间、长江以北种群间均不具有明显的遗传分化; 然而, 长江下游江苏和上海地区的小管福寿螺种群形成跨长江分布的3个组群, 且组群间遗传变异是主要的分子变异来源。这一结果表明, 江苏和上海地区长江以北的小管福寿螺可能由长江以南种群扩散而来。中国四川盆地、浙江和长江以南江苏地区的斑点福寿螺来源于巴西, 而中国香港和日本的斑点福寿螺种群来源于巴西和阿根廷(Matsukura et al, 2008; Yang et al, 2018, 2022; 钱子衿等, 2021)。种群遗传结构分析表明, 中国长江以北江苏地区的斑点福寿螺与四川盆地和浙江种群的福寿螺一样, 均来源于巴西。福寿螺自主扩散能力有限, 主要通过引种等人类活动进行远距离扩散(Cowie et al, 2006)。本研究的斑点福寿螺种群仅形成1个单倍型, 这与中国大陆其他分布区的斑点福寿螺主单倍型相一致, 我们推测长江以北的斑点福寿螺可能由国内其他分布区随人类活动扩散而来。小管福寿螺与斑点福寿螺的种群共同揭示了长江以北江苏地区的福寿螺种群具有多元的入侵来源。

杂交是适应性进化的重要驱动因素(Kagawa &


Takimoto, 2018)。基因渐渗是提升种群遗传多样性的重要机制之一(Freeland & Boag, 1999)。福寿螺种间渐渗杂交在原产地就已突破种间生殖障碍, 发生渐渗杂交(Glasheen et al, 2020), 并扩散到世界其他地区。其中, 乌拉圭和巴西的杂种比例约为30%(Glasheen et al, 2020)。针对核基因分型分析结果, 本研究中小管福寿螺和斑点福寿螺种群的杂交种比例均高于原产地, 表明渐渗杂交在入侵过程中持续发生, 可能在促进入侵扩散中发挥重要作用。此外, Yang等(2020)对中国30个种群的小管福寿螺和斑点福寿螺进行种间渐渗检测, 发现纯种小管福寿螺(CC型)比例为26.86%、线粒体为斑点福寿螺而核基因为小管福寿螺的MC型占比35.29%。与全国其他地区福寿螺种群相比, 本研究种群中CC型(53.85%)和MC型(63.89%)比例均较高。这可能是由于小管福寿螺耐寒性显著高于斑点福寿螺, 斑点福寿螺通过与小管福寿螺杂交提升了子代的耐低温水平(Matsukura et al, 2013, 2016)。此外, 当前仅在香港发现了1头纯种斑点福寿螺, 而在中国大陆、日本和韩国等地区尚未发现(Matsukura et al, 2016; Yang et al, 2020, 2022)。本研究在江苏省扬州市种群检测到2头纯种斑点福寿螺样本, 这是否与上述深水生境的温度保护作用或渐渗杂交对福寿螺低温适应性的影响机制有关, 仍有待深入研究。

综上所述, 本研究探明了长江下游江苏和上海地区的福寿螺种类及分布, 明确了该地区长江南北福寿螺的种群遗传结构, 揭示了长江以北江苏地区的福寿螺具有多元的入侵来源, 并首次发现了小管福寿螺在中国的一个新的入侵历史事件。多元入侵来源、种间渐渗杂交等因素有利于提升福寿螺的种群遗传多样性, 进而对其快速适应环境及扩张种群提供了有利的遗传基础。全球气候变暖以及频繁的水运、灌溉、引种等人类活动, 为福寿螺持续向北扩散提供了有利条件。鉴于福寿螺有进一步向我国北方扩散的风险, 有必要严格检疫、加强监测, 深入开展福寿螺低温可塑性内在机制研究, 同时加强植物保护、水生生态、疾控中心、水利及交通运输等多部门协同, 对福寿螺的扩散范围和发生程度进行有效控制。

致谢: 感谢中国计量大学的李迦南、赵星星、高跃,

昆山市耕植保植检站的周斌, 常熟市植保植检站的黄亚川, 常熟市尚湖镇农技推广服务中心的顾立丹在样品采集中给予的支持与帮助。

ORCID

蒲佳佳  <https://orcid.org/0009-0007-0385-0472>

杨倩倩  <https://orcid.org/0000-0003-1259-7177>

参考文献

- Brito FC, Joshi RC (2016) The golden apple snail *Pomacea canaliculata*: A review on invasion, dispersion and control. *Outlooks on Pest Management*, 27, 157–163.
- Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: A computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology*, 9, 1657–1659.
- Cowie RH, Hayes KA, Thiengo SC (2006) What are apple snails? Confused taxonomy and some preliminary resolution. In: *Global Advances in Ecology and Management of Golden Apple Snails* (eds Joshi RC, Sebastian LS), pp. 3–23. Philippine Rice Research Institute, Mun ñoz.
- Excoffier L, Smouse PE, Quattro JM (1992) Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131, 479–491.
- Eyer PA, Blumenfeld AJ, Johnson LNL, Perdureau E, Shults P, Wang SC, Dedeine F, Dupont S, Bagnères AG, Vargo EL (2021) Extensive human-mediated jump dispersal within and across the native and introduced ranges of the invasive termite *Reticulitermes flavipes*. *Molecular Ecology*, 30, 3948–3964.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.
- Freeland JR, Boag PT (1999) The mitochondrial and nuclear genetic homogeneity of the phenotypically diverse Darwin's ground finches. *Evolution*, 53, 1553–1563.
- Glasheen PM, Burks RL, Campos SR, Hayes KA (2020) First evidence of introgressive hybridization of apple snails (*Pomacea* spp.) in their native range. *Journal of Molluscan Studies*, 86, 96–103.
- Hayes KA, Burks RL, Castro-Vazquez A, Darby PC, Heras H, Mart í PR, Qiu JW, Thiengo SC, Vega IA, Wada T, Yusa Y, Burela S, Pilar Cadierno M, Cueto JA, Dellagnola FA, Dreon MS, Victoria Frassa M, Giraud-Billoud M, Godoy MS, Ituarte S, Koch E, Matsukura K, Yanina Pasquevich M, Rodriguez C, Saveanu L, Seuffert ME, Strong EE, Sun J, Tamburi NE, Tiecher MJ, Turner RL, Valentine-Darby PL, Cowie RH (2015) Insights from an integrated view of the biology of apple snails (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 58, 245–302.

- Hayes KA, Cowie RH, Thiengo SC (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, 61–76.
- Hayes KA, Cowie RH, Thiengo SC, Strong EE (2012) Comparing apples with apples: Clarifying the identities of two highly invasive Neotropical Ampullariidae (Caenogastropoda). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166, 723–753.
- Hayes KA, Joshi RC, Thiengo SC, Cowie RH (2008) Out of South America: Multiple origins of non-native apple snails in Asia. *Diversity and Distributions*, 14, 701–712.
- Ji XM, Wang AX, Fang LC, Li CL, Xu L, Yang SK, Liu XB, Zhong L, Liu YM (2020) Investigation on the distribution of apple snail (*Pomacea canaliculata*) in the lower reaches of Yangtze River in China. *Hubei Agricultural Sciences*, 59, 111–116, 124. (in Chinese with English abstract) [戢小梅, 王爱新, 方林川, 李长林, 许林, 杨守坤, 刘宪葆, 钟兰, 刘义满 (2020) 中国长江下游地区福寿螺分布现状考察. *湖北农业科学*, 59, 111–116, 124.]
- Kagawa K, Takimoto G (2018) Hybridization can promote adaptive radiation by means of transgressive segregation. *Ecology Letters*, 21, 264–274.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A (2012) Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28, 1647–1649.
- Lei JC, Chen L, Li H (2017) Using ensemble forecasting to examine how climate change promotes worldwide invasion of the golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). *Environmental Monitoring and Assessment*, 189, 404.
- Liu QQ, Dong ZJ (2018) Population genetic structure of *Gonionemus vertens* based on the mitochondrial *COI* sequence. *Biodiversity Science*, 26, 1204–1211. (in Chinese with English abstract) [刘青青, 董志军 (2018) 基于线粒体 COI 基因分析钩手水母的群体遗传结构. *生物多样性*, 26, 1204–1211.]
- Liu YM, Li CL, Jin L, Pei X, Chen XB, Wang AX, Ji XM, Zhong L (2020) Investigation on northernmost distribution areas of apple snail (*Pomacea canaliculata*) in upper reaches of Yangtze River. *Journal of Changjiang Vegetables*, (12), 53–57. (in Chinese with English abstract) [刘义满, 李长林, 金莉, 裴欣, 陈绪柏, 王爱新, 戢小梅, 钟兰 (2020) 长江上游地区福寿螺北缘分布地区调查. *长江蔬菜*, (12), 53–57.]
- Luo D, Wang XJ, Xu M, Gu DE, Mu XD, Wei H, Yang YX, Demayo CG, Hu YC (2018) Correlation between shell-body mass ratio and hydrostatic settling characteristics of mollusc species. *Acta Ecologica Sinica*, 38, 6778–6785. (in Chinese with English abstract) [罗渡, 汪学杰, 徐猛, 顾党恩, 牟希东, 韦慧, 杨叶欣, Cesar G. Demayo, 胡隐昌 (2018) 贝类壳-体质量比和静水沉降特性的相关性. *生态学报*, 38, 6778–6785.]
- Lv S, Zhang Y, Steinmann P, Yang GJ, Yang K, Zhou XN, Utzinger J (2011) The emergence of angiostrongyliasis in the People's Republic of China: The interplay between invasive snails, climate change and transmission dynamics. *Freshwater Biology*, 56, 717–734.
- Matsukura K, Izumi Y, Yoshida K, Wada T (2016) Cold tolerance of invasive freshwater snails, *Pomacea canaliculata*, *P. maculata*, and their hybrids helps explain their different distributions. *Freshwater Biology*, 61, 80–87.
- Matsukura K, Okuda M, Cazzaniga NJ, Wada T (2013) Genetic exchange between two freshwater apple snails, *Pomacea canaliculata* and *Pomacea maculata* invading East and Southeast Asia. *Biological Invasions*, 15, 2039–2048.
- Matsukura K, Okuda M, Kubota K, Wada T (2008) Genetic divergence of the genus *Pomacea* (Gastropoda: Ampullariidae) distributed in Japan, and a simple molecular method to distinguish *P. canaliculata* and *P. insularum*. *Applied Entomology and Zoology*, 43, 535–540.
- Morrison WE, Hay ME (2011) Feeding and growth of native, invasive and non-invasive alien apple snails (Ampullariidae) in the United States: Invasives eat more and grow more. *Biological Invasions*, 13, 945–955.
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R (1975) The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 29, 1–10.
- Qian ZJ, Lin YF, Yang YT, Chen SH, Hu YP, Zhou X, Li H, Ding H, Chen L (2021) Genetic diversity of invasive *Pomacea* snails in Suzhou City. *Chinese Journal of Zoology*, 56, 929–938. (in Chinese with English abstract) [钱子衿, 林友福, 杨雨婷, 陈书涵, 胡亚萍, 周旭, 李宏, 丁晖, 陈炼 (2021) 苏州市入侵福寿螺的遗传多样性. *动物学杂志*, 56, 929–938.]
- Rawlings TA, Hayes KA, Cowie RH, Collins TM (2007) The identity, distribution, and impacts of non-native apple snails in the continental United States. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 97.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572–1574.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34, 3299–3302.
- VanWallendael A, Alvarez M, Franks SJ (2021) Patterns of population genomic diversity in the invasive Japanese knotweed species complex. *American Journal of Botany*, 108, 857–868.
- Wang L, Mo KL, Chen QW, Zhang JY, Xia J, Lin YQ (2019) Estimating ecological flows for fish overwintering in plain rivers using a method based on water temperature and

- critical water depth. *Ecohydrology*, 12, e2098.
- Yang HF, Yang SP, Wang P, Zhou WC (2018) Prediction of potential geographical distribution area of golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) in China. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 30(3), 70–73. (in Chinese with English abstract) [杨海芳, 杨姗姗, 王沛, 周卫川 (2018) 福寿螺在中国的潜在地理分布区预测. *江西农业学报*, 30(3), 70–73.]
- Yang QQ, He C, Liu GF, Yin CL, Xu YP, Liu SW, Qiu JW, Yu XP (2020) Introgressive hybridization between two non-native apple snails in China: Widespread hybridization and homogenization in egg morphology. *Pest Management Science*, 76, 4231–4239.
- Yang QQ, Ip J C-H, Zhao XX, Li JN, Jin YJ, Yu XP, Qiu JW (2022) Molecular analyses revealed three morphologically similar species of non-native apple snails and their patterns of distribution in freshwater wetlands of Hong Kong. *Diversity and Distributions*, 28, 97–111.
- Yang QQ, Liu SW, He C, Cowie RH, Yu XP, Hayes KA (2019) Invisible apple snail invasions: Importance of continued vigilance and rigorous taxonomic assessments. *Pest Management Science*, 75, 1277–1286.
- Yang QQ, Liu SW, He C, Yu XP (2018) Distribution and the origin of invasive apple snails, *Pomacea canaliculata* and *P. maculata* (Gastropoda: Ampullariidae) in China. *Scientific Reports*, 8, 1185.
- Yang QQ, Liu SW, Ru WD, Liu GF, Yu XP (2016) Molecular identification of invasive golden apple snails in Zhejiang Province based on DNA barcoding. *Biodiversity Science*, 24, 341–350. (in Chinese with English abstract) [杨倩倩, 刘苏汶, 茹炜崇, 刘光富, 俞晓平 (2016) 基于DNA条形码技术对浙江省外来入侵福寿螺进行分子鉴定. *生物多样性*, 24, 341–350.]
- Yang QQ, Yu XP (2019) A new species of apple snail in the genus *Pomacea* (Gastropoda: Caenogastropoda: Ampullariidae). *Zoological Studies*, 58, e13.
- Yang YX, Hu YC, Li XH, Wang XJ, Mu XD, Song HM, Wang PX, Liu C, Luo JR (2010) Historical invasion, expansion process and harm investigation of *Pomacea canaliculata* in China. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 26, 245–250. (in Chinese with English abstract) [杨叶欣, 胡隐昌, 李小慧, 汪学杰, 牟希东, 宋红梅, 王培欣, 刘超, 罗建仁 (2010) 福寿螺在中国的入侵历史、扩散规律和危害的调查分析. *中国农学通报*, 26, 245–250.]
- Yin YX, He Q, Pan XW, Liu QY, Wu YJ, Li XR (2022) Predicting current potential distribution and the range dynamics of *Pomacea canaliculata* in China under global climate change. *Biology*, 11, 110.
- Yoshida K, Matsukura K, Cazzaniga NJ, Wada T (2014) Tolerance to low temperature and desiccation in two invasive apple snails, *Pomacea canaliculata* and *P. maculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae), collected in their original distribution area (northern and central Argentina). *Journal of Molluscan Studies*, 80, 62–66.
- (责任编辑: 高天翔 责任编辑: 李会丽)

附录 Supplementary Material

附录1 本研究采集的福寿螺外壳形态

Appendix 1 Shell morphology of apple snails collected from this study
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022346-1.pdf>

附录2 从GenBank中下载的福寿螺COI序列及参考文献

Appendix 2 The COI sequences of apple snails retrieved from GenBank and their references
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022346-2.pdf>

附录3 本研究及已发表的中国、中国香港以及日本、阿根廷、巴西福寿螺种群的COI单倍型分布及序列信息

Appendix 3 The COI haplotype distribution and sequence information of apple snails from this study and the populations published by China's mainland, Hong Kong, and Japan, Argentina, Brazil
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022346-3.pdf>

附录4 基于AMOVA层次分析的本研究小管福寿螺种群的分组

Appendix 4 Grouping of the *Pomacea canaliculata* populations from this study based on AMOVA hierarchical analysis
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2022346-4.pdf>