



中国特有腹足类——螺蛳属(*Margarya*)的系统发育学

杜丽娜^①, 杨君兴^{①*}, von RINTELEN Thomas^{②*}, 陈小勇^①, ALDRIDGE David^③

① 中国科学院昆明动物研究所, 遗传资源与进化国家重点实验室, 昆明 650223;

② Museum für Naturkunde, Leibniz-Institut für Evolutions-und Biodiversitätsforschung an der Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin 10115, Germany;

③ Aquatic Ecology Group, Department of Zoology, Cambridge University, Cambridge CB2 3EJ, UK

* 联系人, E-mail: yangjx@mail.kiz.ac.cn; Thomas.Rintelen@mf-n-berlin.de

2012-02-28 收稿, 2012-05-25 接受

世界银行项目 Lake Dianchi Freshwater Biodiversity Restoration Project (TF051795)、世界银行发展银行项目 Development Marketplace Global Competition Project (DM01333)、云南省科技厅项目(2008CA001)和国家自然科学基金(30730017)资助

摘要 利用线粒体基因 *COI* 和 *16S rRNA* 构建了中国特有腹足类——螺蛳属(*Margarya*)的系统发育关系。系统发育结果揭示, 螺蛳属并非是一个单系, 其主要被分为 3 大支, 即阳宗海支、抚仙湖-星云湖-杞麓湖支、滇池-洱海支。另外, 滇池-洱海支中螺蛳属种类与圆田螺属种类交错聚在一起。这一结果暗示, 亚洲田螺科的种类需要进一步详细的整理, 螺蛳属现存种类的分类地位也需要重新确定。

关键词

螺蛳属
系统发育
多态性
mtDNA
中国

云南十大高原湖泊是生物多样性热点区域, 分布有较多特有的水生植物、鱼类、软体动物和甲壳类等^[1-9]。云南的洱海、滇池和抚仙湖是 3 个较大的高原湖泊, 其形成于上新世晚期和更新世早期, 而如今, 他们分属于 3 条不同的水系, 即澜沧江水系、金沙江水系和珠江水系(图 1)^[10,11]。

螺蛳属(*Margarya*)是云南高原湖泊特有的腹足类。*Margary* 首先在洱海(Ta-li fu)采集到该种标本, 后被 Nevill 在 1877 年以螺蛳(*Margarya melanioides*)为模式种描述了螺蛳属^[12,13]。螺蛳属种类较大且壳面上被有瘤状结节或棘等特征, 可以将其与亚洲或云南田螺科的其他种类区分开来^[14,15]。即便如此, 螺蛳属种内的壳型变异也已经出现, 如 Tchang 和 Xia^[16]记录了分布于滇池的螺蛳属种类在滇池从北到南壳型的变化(图 2)。到目前为止, 螺蛳属共有 10 个种被有效记录, 其中 3 种为化石种、1 种为灭绝种、6 种为现生种^[12,14,17-20]。这 6 个现生种主要分布在洱海、滇池、阳宗海、抚仙湖、星云湖、杞麓湖、异龙湖和

大屯海, 除阳宗海螺蛳(*Margarya yangtsunghaiensis*)仅分布于阳宗海外, 其他 5 种均分布在 2 或 2 个以上的湖泊中^[15,19,21]。

螺蛳属种类与亚洲田螺科属种的系统发育关系尚不明确。虽然螺蛳属种类的外部形态结构已被描述, 但其内部构造尚无研究, 其属内种间的系统发育关系也无报道。Tchang 和 Tsi^[12]根据壳顶的形状认为尖顶的阳宗海螺蛳为“古老”种类。但是, 陈元晓和张迺光^[22]通过对阳宗海螺蛳和螺蛳的核型研究结果显示, 螺蛳为较古老的种类。黄晓燕和王丽珍^[23]利用线粒体基因 *COI* 构建了螺蛳属的系统发育关系 NJ 树, 并提出螺蛳属为一个单系, 但由于该研究中所选用的螺蛳属种类均只有一个个体, 且选用了圆田螺属(*Cipangopaludina*)种类为外群, 因此该结论尚不充分。本研究选用线粒体基因 *COI* 和 *16S rRNA* 构建螺蛳属与田螺科其他种类的系统发育树, 探讨螺蛳属的单系性及其与田螺科其他属种间的系统发育关系, 也希望了解分布于不同湖泊的螺蛳属种类间的关系以及分

引用格式: 杜丽娜, 杨君兴, von Rintelen T, 等. 中国特有腹足类——螺蛳属(*Margarya*)的系统发育学. 科学通报, 2013, 58: 1483-1491

英文版见: Du L N, Yang J X, von Rintelen T, et al. Molecular phylogenetic evidence that the Chinese Viviparid genus *Margarya* (Gastropoda: Viviparidae) is polyphyletic. Chin Sci Bull, 2013, 58: 2154-2162, doi: 10.1007/s11434-012-5632-y

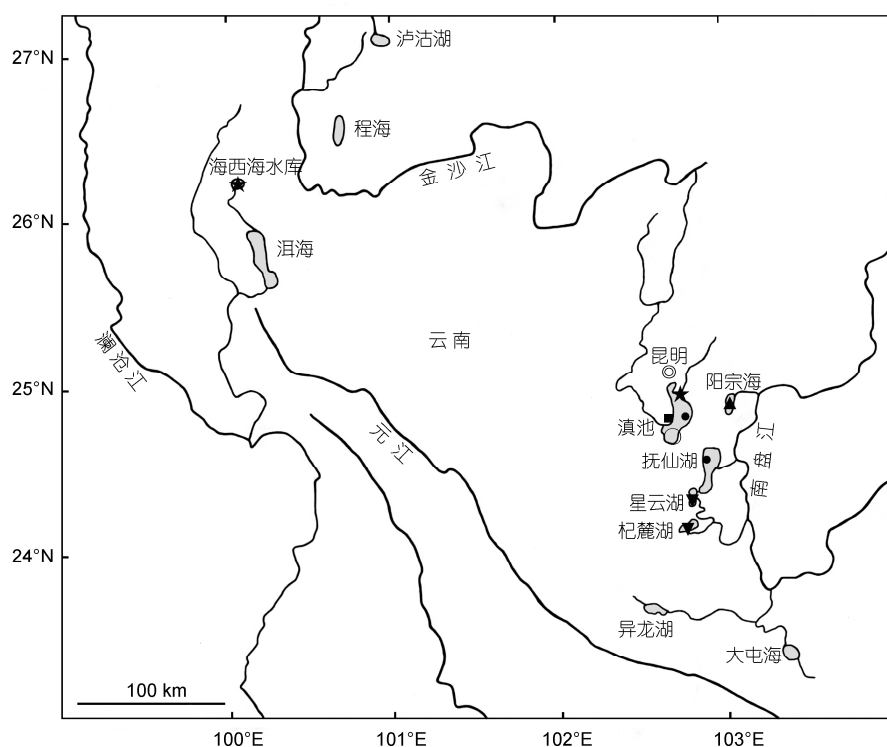


图 1 云南十大高原湖泊分布图及螺蛳属现生种的采样点

★, 螺蛳(*M. melanioides*); ▲, 阳宗海螺蛳(*M. yangtsunghaiensis*); ▼, 光肋螺蛳(*M. mansuyi*); ●, 二肋螺蛳(*M. bicotata*); ■, 牟氏螺蛳(*M. monodi*); ○, 乳顶螺蛳(*M. tropidophora*)

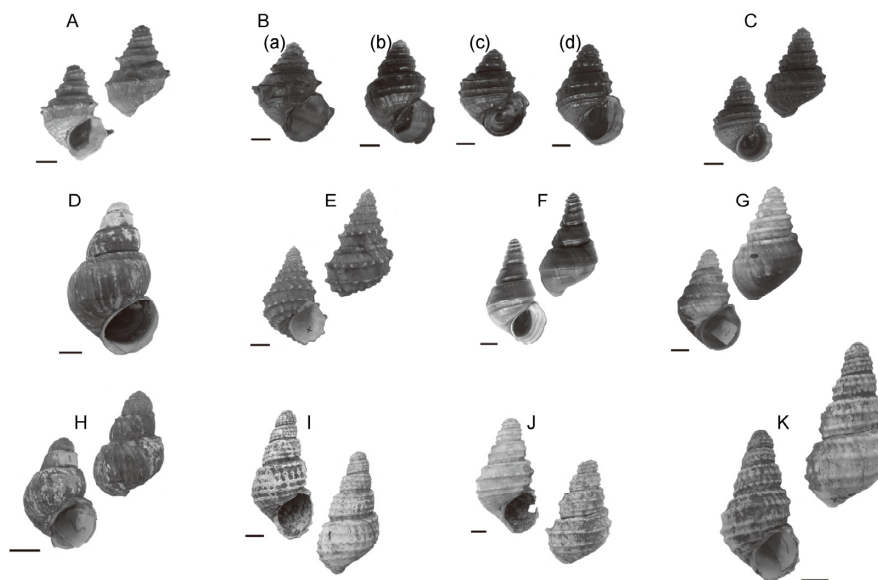


图 2 收集的田螺科螺蛳属种类标本

A, 螺蛳 *Margarya melanioides* (IOZ-FG164208), 洱海. B, 螺蛳 4 型, 滇池. (a) A 型 (KIZ-DA2005002); (b) B 型(KIZ-DLN2008002); (c) C 型 (KIZ-45); (d) D 型(KIZ-DLN2008080). C, 牟氏螺蛳 *Margarya monodi* (KIZ-13), 滇池. D, 乳顶螺蛳 *Margarya tropidophora* (IOZ-FG89708), 洱海. E, 阳宗海螺蛳 *M. yangtsunghaiensis* (正模 IOZ-00001), 阳宗海. F, 光肋螺蛳 *Margarya mansuyi* (KIZ-DLN2007008), 星云湖. G, 二肋螺蛳 *Margarya bicotata* (正模, IOZ), 抚仙湖. H, 方氏螺蛳 *Margarya francheti* (IOZ-FG89664), 滇池. I, 长螺蛳 *Margarya elongata* (正模, IOZ-FG00074), 滇池. J, 尹氏螺蛳 *Margarya yini* (正模, IOZ), 滇池. K, 张氏螺蛳 *Margarya tchangsii* (副模, IOZ-FG89703), 滇池. 比例尺为 1 cm

布于滇池内不同类型螺蛳及其与其他种类间的关系。

1 材料与方法

(i) 材料. 2005~2008 年对云南十大高原湖泊进行了全面系统地调查采样, 收集田螺科种类标本. 尽管螺蛳属种类被记录分布在云南 8 个高原湖泊中, 但仅在 6 个湖泊收集到活体标本(图 1). 由于湖泊污染, 光肋螺蛳(*Margarya mansuyi*)已经在异龙湖和大屯海中消失, 螺蛳在洱海中消失, 但幸运的是在洱海上游的海西海水库中采集到少量的螺蛳活体标本. 螺蛳属种类的鉴定主要依据 Tchang 和 Tsi^[12]. 另外, 我们也查看了保存在中国科学院动物研究所的螺蛳属种类标本. 本研究所用的螺蛳属标本均存放在中国科学院昆明动物研究所.

共计测序了 55 个样本, 其中螺蛳属种类 42 个样本, 圆田螺属种类 13 个样本(采自云南滇池). 田螺科其他属种的序列从 GenBank 上获得(表 1). 选用瓶螺科的 *Pomacea bridgesii* (Reeve, 1856)和 *P. canalicu-*

lata (Lamarck, 1819), 以及田螺亚科的 *Viviparus ater* (De Cristofori & Jan, 1832)和 *V. contectus* (Millet, 1813)为阶梯外群构建系统发育树^[24].

(ii) DNA 提取、PCR 扩增和测序. 取腹足类足部肌肉, 并将其放在无水乙醇中保存, 先用蛋白酶 K 消化, 随后用异丙醇 DNA 提取法提取 DNA. *COI* 基因扩增引物采用 LCO1490/HCO2198^[25], *16S rRNA* 基因扩增引物采用 16Sar-L/16Sbr-H^[26]. PCR 反应条件为: 94℃预变性 10 min; 94℃变性 1 min, *COI* 基因 46℃退火 3 min, *16S rRNA* 基因 50℃退火 1 min, *COI* 基因 72℃延伸 1 min 45 s, *16S rRNA* 基因 72℃延伸 1 min, 35 个循环; 最后 72℃终延伸 10 min. 测序所用引物与 PCR 引物相同, 每条序列经过正反链双向测定, 以保证序列的准确性. 产物扩增用 BigDye Terminator v3.1 在 ABI PRISM 3730 PCR 仪中完成. 所有测得的序列已提交到 GenBank (序列号: GU198765~GU198873).

(iii) 数据分析. 利用 Clustal X v1.83 软件对序

表 1 研究中所用样本信息

种类	编号	采自地	国家	COI	16S
外群					
<i>Pomacea bridgesii</i>	—	GenBank	南美	—	EU274500
<i>P. canaliculata</i>	—	GenBank	南美	EU2744574	EU2744501
<i>Viviparus ater</i>	—	Goldbach	瑞士	FJ405882	FJ405734
<i>V. contectus</i>	—	Hellebaek lakes	丹麦	FJ405835	FJ405692
内群					
<i>Bellamya jeffreysi</i>	—	Cape Mclear	马拉维	FJ405873	FJ405719
<i>B. jeffreysi</i>	—	River Songwe	坦桑尼亚	FJ405857	FJ405702
<i>B. crawshayi</i>	—	Mkolo	赞比亚	FJ405867	FJ405710
<i>Neothauma tanganyicense</i>	—	Mpulungu	赞比亚	FJ405843	FJ405709
角螺 <i>Angulyagra</i> sp.	—	Nam Dinh	越南	FJ405879	FJ405723
肥螺 <i>Larina</i> sp.	—	Queensland	澳大利亚	—	FJ405733
湄公螺 <i>Mekongia</i> sp.	—	河内	越南	FJ405875	FJ405722
残螺 <i>Sinotaia</i> sp.	—	河内	越南	FJ405883	FJ405728
<i>Taia polyzonata</i>	—	Lower pierce reservoir	新加坡	—	FJ405727
中国圆田螺 <i>Cipangopaludina chinensis</i>	—	GenBank	—	FJ710298	FJ710214
中国圆田螺 <i>C. chinensis</i>	—	GenBank	—	EU528474	FJ710213
滇池圆田螺 <i>C. dianchiensis</i>	D43	滇池	中国	GU198781	GU198835
滇池圆田螺 <i>C. dianchiensis</i>	D44	滇池	中国	GU198782	GU198836
滇池圆田螺 <i>C. dianchiensis</i>	D178	滇池	中国	GU198818	GU198872
滇池圆田螺 <i>C. dianchiensis</i>	D177	滇池	中国	GU198817	GU198871
长螺旋圆田螺 <i>C. longispria</i>	D148	异龙湖	中国	GU198809	GU198863
长螺旋圆田螺 <i>C. longispria</i>	D149	异龙湖	中国	GU198810	GU198864
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D59	滇池	中国	GU198783	GU198837

(续表 1)

种类	编号	采自地	国家	COI	16S
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D60	滇池	中国	GU198784	GU198838
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D61	滇池	中国	GU198785	GU198839
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D62	滇池	中国	GU198786	GU198840
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D63	滇池	中国	GU198787	GU198841
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D65	滇池	中国	GU198788	GU198842
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D66	滇池	中国	GU198789	GU198843
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D67	滇池	中国	GU198790	GU198844
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D68	滇池	中国	GU198791	GU198845
圆田螺 <i>C. sp.</i>	D179	滇池	中国	GU198819	GU198873
螺蛳 A 型 <i>Margarya melanioides</i> A	D8	滇池	中国	GU198766	GU198821
螺蛳 A 型 <i>M. melanioides</i> A	D17	海西海水库	中国	GU198767	GU198822
螺蛳 A 型 <i>M. melanioides</i> A	D79	海西海水库	中国	GU198792	GU198846
螺蛳 A 型 <i>M. melanioides</i> A	D80	海西海水库	中国	GU198793	GU198847
螺蛳 A 型 <i>M. melanioides</i> A	D81	海西海水库	中国	GU198794	GU198848
螺蛳 B 型 <i>M. melanioides</i> B	D86	滇池	中国	GU198795	GU198849
螺蛳 B 型 <i>M. melanioides</i> B	D129	滇池	中国	GU198800	GU198854
螺蛳 B 型 <i>M. melanioides</i> B	D134	滇池	中国	GU198801	GU198855
螺蛳 B 型 <i>M. melanioides</i> B	D135	滇池	中国	GU198802	GU198856
螺蛳 C 型 <i>M. melanioides</i> C	D2	滇池	中国	GU198765	GU198820
螺蛳 C 型 <i>M. melanioides</i> C	D122	滇池	中国	GU198797	GU198851
螺蛳 C 型 <i>M. melanioides</i> C	D123	滇池	中国	GU198798	GU198852
螺蛳 C 型 <i>M. melanioides</i> C	D127	滇池	中国	GU198799	GU198853
螺蛳 D 型 <i>M. melanioides</i> D	D136	滇池	中国	GU198803	GU198857
螺蛳 D 型 <i>M. melanioides</i> D	D141	滇池	中国	GU198808	GU198862
二肋螺蛳 <i>M. bicotata</i>	D39	抚仙湖	中国	GU198780	—
二肋螺蛳 <i>M. bicotata</i>	D172	滇池	中国	GU198812	GU198866
二肋螺蛳 <i>M. bicotata</i>	D173	滇池	中国	GU198813	GU198867
二肋螺蛳 <i>M. bicotata</i>	D174	滇池	中国	GU198814	GU198868
二肋螺蛳 <i>M. bicotata</i>	D175	滇池	中国	GU198815	GU198869
二肋螺蛳 <i>M. bicotata</i>	D176	滇池	中国	GU198816	GU198870
光肋螺蛳 <i>M. mansuyi</i>	D21	星云湖	中国	GU198768	GU198823
光肋螺蛳 <i>M. mansuyi</i>	D22	星云湖	中国	GU198769	GU198824
光肋螺蛳 <i>M. mansuyi</i>	D24	星云湖	中国	GU198770	GU198825
光肋螺蛳 <i>M. mansuyi</i>	D25	星云湖	中国	GU198771	GU198826
光肋螺蛳 <i>M. mansuyi</i>	D26	杞麓湖	中国	GU198772	GU198827
光肋螺蛳 <i>M. mansuyi</i>	D27	杞麓湖	中国	GU198773	GU198828
光肋螺蛳 <i>M. mansuyi</i>	D28	杞麓湖	中国	GU198774	GU198829
光肋螺蛳 <i>M. mansuyi</i>	D29	杞麓湖	中国	GU198775	GU198830
光肋螺蛳 <i>M. mansuyi</i>	D30	杞麓湖	中国	GU198776	GU198831
牟氏螺蛳 <i>M. monodi</i>	D87	滇池	中国	GU198796	GU198850
牟氏螺蛳 <i>M. monodi</i>	D137	滇池	中国	GU198804	GU198858
牟氏螺蛳 <i>M. monodi</i>	D138	滇池	中国	GU198805	GU198859
牟氏螺蛳 <i>M. monodi</i>	D139	滇池	中国	GU198806	GU198860
牟氏螺蛳 <i>M. monodi</i>	D140	滇池	中国	GU198807	GU198861
乳顶螺蛳 <i>M. tropidophora</i>	D171	滇池	中国	GU198811	GU198865
阳宗海螺蛳 <i>M. yangtsunghaiensis</i>	D33	阳宗海	中国	GU198777	GU198832
阳宗海螺蛳 <i>M. yangtsunghaiensis</i>	D35	阳宗海	中国	GU198778	GU198833
阳宗海螺蛳 <i>M. yangtsunghaiensis</i>	D36	阳宗海	中国	GU198779	GU198834

列进行比对, 比对后再根据观察稍作修正以尽量获得位点间的最大同源性^[27]. 2 个基因片段被拼接在一起组合成一个数据集, 数据集的序列长度为 1148 bp, 其中 *COI* 片段长度 641 bp, *I6S* 片段长度 507 bp. 在 DAMBE (ver. 4.1.19) 软件中, 通过观察转换和颠换数目与分类单元间的遗传距离来检验序列是否饱和^[28]. 在将不同基因片段合并之前, 同质性检验 (partition-homogeneity test) 被用来检验各片段间的异质性程度^[29].

应用贝叶斯法 (Bayesian, BI)、最大简约法 (maximum parsimony, MP) 和最大似然法 (maximum likelihood method, ML) 构建系统发育树. ML 和 MP 分析在 PAUP*v4.0b10 软件中完成^[30]. 用 MP 构建系统发育关系时, 序列变异中的转换和颠换被赋予相同的加权值, 其他参数设置为: 使用启发式搜索 (heuristic search), 序列加入顺序为重复 1000 次逐步加入随机选项 (1000 random-addition sequence replicates), 分支交换算法为二等分再连接 (tree-bisection-reconnection; TBR). ML 构建系统发育关系时, 先在 Modeltest v3.7 软件中找出最适合的进化模型, 用启发式搜索, 以序列加入顺序为 10 次逐步加入随机选项, 模型的选择标准为 Akaike 信息标准 (Akaike information criterion, AIC)^[31,32]. 分别用 1000 和 100 次重复的自展检验估计 MP 和 ML 树中各结点的支持率, 该分析在 PAUP*v4.0b10 软件中完成^[33]. MrBayes v3.1.2 用来获得贝叶斯树, Modeltest 计算的最适合模型以及序列信息参数运用到 BI 分析中^[34]. 为了减少系统误差, 采用 2 个独立的马尔科夫蒙特卡罗程式, 每个程式运行 2000000 代, 每隔 100 代抽样一次^[35,36]. 利用 Tracer v1.3 显示的似然峰图判断分析过程是否收敛, 将稳定之前的运行结果进行舍弃. 对剩余的树

构建 50% 的多数一致树, 并计算其后验概率 (posterior probabilities, BPPs)^[37]. 各大支间的 *p* 距离 (*p*-distances) 在 MEGA v3.1 中计算^[38].

2 结果

2.1 序列特征和统计信息

经检验序列未达到饱和. 联合数据集 1148 bp 有 489 个变异位点和 386 个简约信息位点, 分别占序列片段的 42.6% 和 33.6%. 另外, 在 386 个信息位点中, 有 196 个信息位点来自 *COI* 基因, 190 个信息位点来自 *I6S*. *COI* 和 *I6S* 基因各支间的遗传距离详见表 2 和 3.

GTR+G+I 模型被选择进行其他系统发育分析, 具体参数设置如下: *R*-matrix = (0.3434, 8.9517, 1.3819, 0.5061, 3.9593 和 1.0000); base frequencies = (A, 0.2961; C, 0.1199; G, 0.1796; T, 0.4044); Proportion of invariable sites = 0.2924; the shape-parameter of the γ distribution = 0.6243. *COI* 和 *I6S* 拼接数据集进行启发式搜索, 得到 12 棵最大简约树 (树长 *L*: 1132; 一致性指数 *CI*: 0.593; 保留指数 *RI*: 0.849). ML 树的似然率 $\ln L = -7043.23$, 贝叶斯树两条链的似然率分别为 -6925.65 和 -6937.17. 片段的同质性检验表明, 2 个基因片段没有明显的不一致性 ($P=0.265$), 因此, 将 *COI* 和 *I6S* 基因片段合并成一个数据集进行分析是合理的.

2.2 系统发育关系

MP, ML 和 BI 树的拓扑结构相同, 因此本文仅列出 BI 树 (图 3). 螺蛳属的单系性并没有被支持, 其主要被分为 3 大支, 即 clades 1~3, 并且其中一支与圆田螺属的种类聚集在一起. 螺蛳属各支间的遗传距

表 2 *I6S rRNA* 基因各种间遗传距离^{a)}

	Myan	Mbic	Mman	Mekong	Cch	Clo	Mdian
Myan	0.004~0.012						
Mbic	0.129	—					
Mman	0.118	0.006	0~0.107				
Mekong	0.119	0.045	0.029	0.020			
Cch	0.108	0.099	0.087	0.108	0		
Clo	0.102	0.093	0.077	0.092	0.033	0	
Mdian	0.095	0.090	0.076	0.091	0.035	0.006	0~0.016

a) Myan, 阳宗海螺蛳支; Mbic, 二肋螺蛳 (抚仙湖); Mman, 光肋螺蛳支; Cch, 中国圆田螺支; Clo, 长螺蛳支; Mdian 包括分布于滇池和海西海水库螺蛳属种类和圆田螺属种类; Mekong, 湄公螺. 下同

表 3 *COI* 基因各种间遗传距离

	Myan	Mbic	Mman	Mekong	Cch	Clo	Mdian
Myan	0.006~0.010						
Mbic	0.1565	—					
Mman	0.1541	0.0158	0~0.009				
Mekong	0.1629	0.0462	0.0449	—			
Cch	0.1574	0.1105	0.1125	0.1122	0.0080		
Clo	0.1448	0.1100	0.1091	0.1139	0.0602	0.0060	
Mdian	0.1408	0.1100	0.1100	0.1150	0.0645	0.0363	0~0.01

离也较大,最小的遗传距离也有 7.7%(16S RNA)和 11.0% (*COI*)(表 2 和 3).

在系统发育树中,阳宗海螺属(*Clade 1*)位于基部,与螺属其他种类、圆田螺属种类、湄公螺(*Mekongia*)和 *Sinotaia* 聚为一支.

分布于星云湖和杞麓湖的光肋螺属与抚仙湖的二肋螺属(*Margarya bicotata*)聚为一支,并与湄公螺和 *Sinotaia* 形成姐妹群. 光肋螺属与抚仙湖二肋螺属间的支持率较低(除 BPP 外).

Clade 3 包括所有的分布于滇池的螺属种类和分布于海西海水库的螺属,即螺属、乳顶螺属(*Margarya tropidophora*)、牟氏螺属(*Margarya monodi*)、二肋螺属(滇池). 另外,在该支中也混有分布于滇池的圆田螺未定种(*Cipangopaludina* sp.)和滇池圆田螺(*Cipangopaludina dianchiensis*),它们与长螺旋圆田螺(*Cipangopaludina longispira*)和中国圆田螺(*Cipangopaludina chinensis*)互为姐妹群. 采自海西海水库的螺属样本没有相互聚在一起,形成一个亚支,而是与分布于滇池的螺属种类交错聚在一起.

另外,分布于抚仙湖的二肋螺属并没有与分布于滇池的二肋螺属形成一个单系. 抚仙湖的二肋螺属与光肋螺属构成姐妹群(*Clade 2*),而滇池的二肋螺属与滇池里分布的其他螺属种类交错聚在一起 (*Clade 3*).

3 讨论

螺属独特的壳型结构可以将其与东亚、东南亚分布的田螺科的其他种类明显区分,但系统发育关系却不支持螺属为一个单系,而是被分为 3 大支. 尽管 Annandale 根据田螺科螺壳从光滑到有壳饰等特征已经提及螺属可能为多起源^[15],但是仍然很难解释在系统发育关系所暗示的壳面较光滑的湄公螺、圆田螺、*Sinotaia* 与壳饰较复杂的螺属种类同起源.

在 *Clade 3* 圆田螺属种类和螺属种类并没有各自形成一个单系(图 3),这可能暗示在田螺科壳饰在进化上经历了多次的演化. 圆田螺属种类和螺属种类在壳饰上的不同不仅仅体现在成体上,在胚胎上也存在着明显的差异,螺属种类的胚胎壳面上具有瘤状结节,而圆田螺属种类胚胎上具有 3 行纤毛^[39]. 螺壳形态会受环境压力的影响,有关螺壳受环境因素影响这方面的报道较多^[20,40,41],因此不同的螺壳形状有可能为不同的生态型.

解剖学的数据可以补充分子系统学的结果,但由于螺属的内部结构尚无研究,而其他田螺科属种的研究也相对较少,特别是圆田螺属、湄公螺属和 *Sinotaia* 内部解剖结构的研究尚无报道. 因此,对于螺属及其相关类群的解剖学研究是十分必要的^[37,42]. 另外,在本研究中圆田螺属样本也没有构成一个单系. 在 *Clade 3* 中滇池圆田螺和圆田螺未定种与分布于滇池的螺属种类交错聚在一起,而后与长螺旋圆田螺构成姐妹群,再与圆田螺属的模式种中国圆田螺构成姐妹群. 田螺科各种间分类地位的复杂化不仅仅体现在亚洲田螺科中,分布在非洲坦噶尼喀湖(Lake Tanganyika)中的 *Neothauma* 同样也表现出各种间分类地位的复杂化^[24].

尽管壳形受环境影响较大,但螺壳的结构仍可以为分类提供重要的依据. Shu 等人^[21]认为光肋螺属(*Clade2*)与螺属(*Clade3*)在壳型比例上具有较大的差异,而阳宗海螺属(*Clade1*)壳面规则的瘤状结节和尖的壳顶,可以将其与螺属的其他种类相区别. 因此,无论从分子,还是形态上都支持将螺属分为 3 个类群. 本研究结果可能暗示着现有的螺属应为几个属或有新属存在,但因其模式种螺属的样本并非来源于模式产地洱海(螺属可能在洱海中灭绝),因此,很难根据现有的数据将螺属分为几个属.

螺属种间的分类地位也有待进一步研究. 现

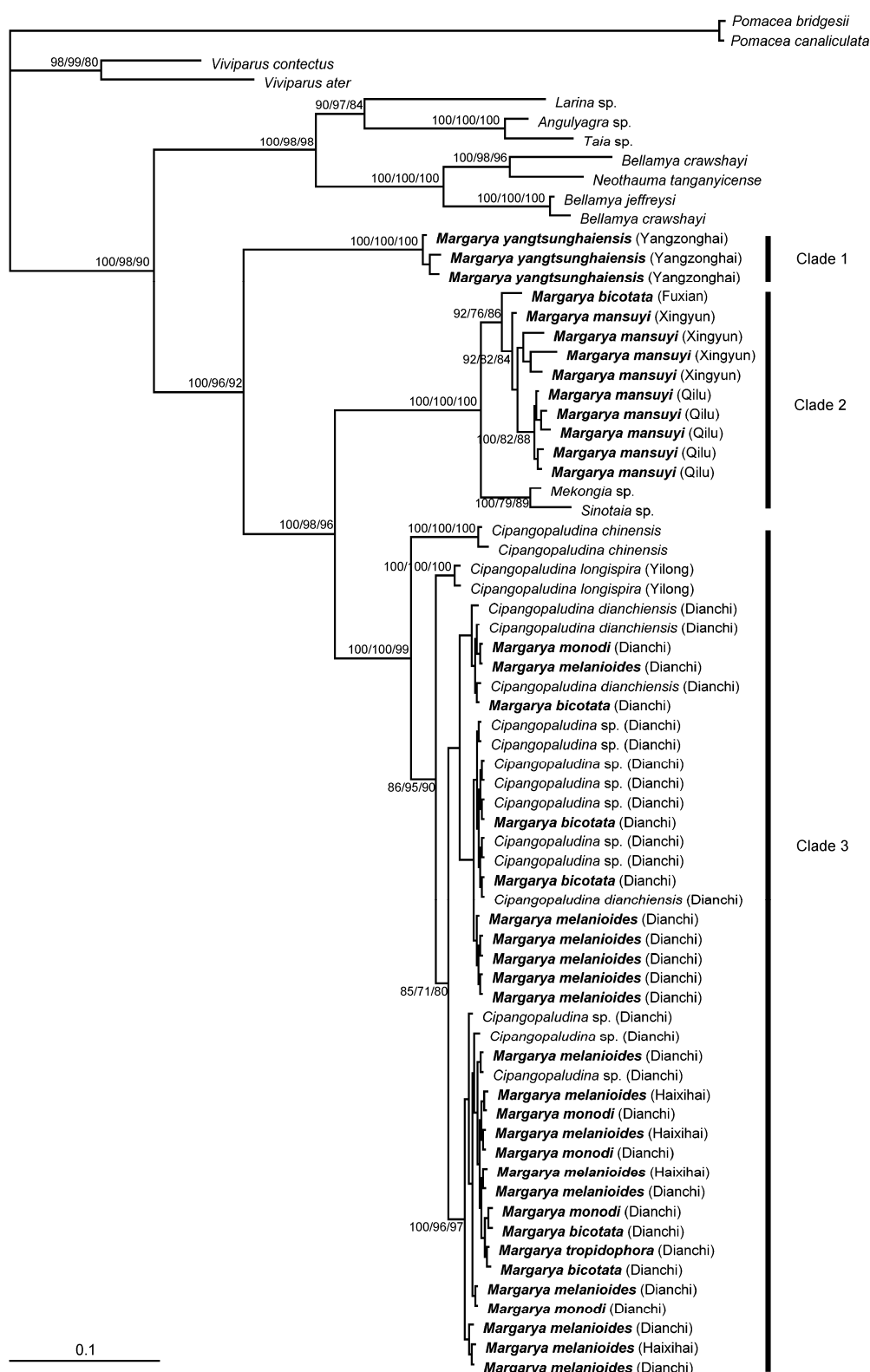


图 3 螺蛳属 *COI* 和 *16S* 基因联合数据集的贝叶斯系统发育树
数字为节点的后验概率, 支持率小于 50 的未标出

有的系统关系结果支持将螺蛳属依据湖泊分为3个支,即(1)阳宗海支、(2)抚仙湖-星云湖-杞麓湖支和(3)滇池-海西海支。最有趣的是在Clade 3中,分布于滇池的螺蛳、乳顶螺蛳、牟氏螺蛳、二肋螺蛳和滇池圆田螺、圆田螺未定种在分子树中构成一个单系。但彼此间交错分布及各支点较低的支持率可能暗示

原认为分布于滇池的6个种类为同一种。但是,基因树并不等同于物种树,因此,关于螺蛳属种间的分类地位还需进一步研究,如利用核基因或微卫星方法。Sengupta等人^[24]用核基因构建的非洲环棱螺属的系统发育关系已经揭示广泛分布的种间非同源性,并认为该现象广泛存在于田螺科。

致谢 感谢中国科学院昆明动物研究所崔桂华、刘春、李原和舒树森在野外标本采集过程中给予的无私帮助。特别感谢中国科学院昆明动物研究所余国华、贾黎在分子实验及数据分析中给予的帮助。

参考文献

- 1 王丽珍. 滇池的大型无脊椎动物. 云南大学学报, 1985, 7(增刊): 73-84
- 2 王丽珍. 云南高原湖泊贝类种群的生态学研究. 云南大学学报(自然科学版), 1988, 10(增刊): 37-43
- 3 黄宝玉, 张立. 云南滇池淡水瓣鳃类动物群. 贝类学论文集 2. 北京: 科学出版社, 1986. 171
- 4 黄宝玉, 张立. 云南滇池和洱海蚌类的分布与环境. 贝类学论文集 3. 北京: 科学出版社, 1990. 69-75
- 5 杨君兴, 陈银瑞. 抚仙湖鱼类生物学和资源利用. 昆明: 云南科技出版社, 1995
- 6 张迺光, 郝天锡, 吴春云, 等. 云南省淡水腹足类的初步调查. 海洋科学集刊, 1997, 39: 15-25
- 7 Cai Y X, Liang X Q. Descriptions of three new species of freshwater shrimps (Crustacea: Decapoda: Atyidae) from Yunnan, southern China. Raff Bul Zool, 1999, 47: 73-80
- 8 Liang X Q, Cai Y X. *Sinodina*, a new genus of freshwater shrimps (Crustacea: Decapoda: Atyidae) from southern China, with descriptions of three new species. Raff Bul Zool, 1999, 47: 577-590
- 9 陈自明, 杨君兴, 苏瑞凤, 等. 滇池土著鱼类现状. 生物多样性, 2001, 9: 407-413
- 10 杨留法. 云南高原湖泊的成因类型及其分布规律的初步探讨. 海洋与湖沼通报, 1984, 1: 34-39
- 11 黎尚豪, 俞敏娟, 李光正, 等. 云南高原湖泊调查. 海洋与湖沼, 1963, 5: 87-114
- 12 Tchang S, Tsi C Y. A revision of the genus *Margarya* of the family Viviparidae. Inst Zool Nat Acad Peiping, 1949, 5: 1-25
- 13 Yen T C. A review of Chinese gastropods in the British museum. Proc Malac Soc London, 1942, 24: 170-289
- 14 Yen T C. A preliminary revision of the recent species of Chinese Viviparidae. Nautilus, 1943, 56: 124-130
- 15 Annandale N. The evolution of the shell-sculpture in fresh-water snails of the family Viviparidae. Proc R Soc B, 1924, 96: 60-76
- 16 Tchang S, Xia W P. The regional differences and the sexual dimorphism of two snails, *Margarya melanioides* Nevill and *Margarya monodi* Dautzenberge & Fischer, from the west coast of Kunming Lake. Inst Zool Nat Acad Peiping, 1949, 5: 67-77
- 17 汪松, 谢焱. 中国物种红色名录(无脊椎动物). 北京: 高等教育出版社, 2005
- 18 Tchang S, Cheng C T. Etude sur une paludine comestible, *Margarya melanioides*, de Tien-Chih. Culture Sino-Francaise, 1945, 1: 1-6
- 19 刘月英, 张文珍, 王耀先. 中国田螺科的地理分布. 贝类学论文集, 1995, 5-6: 8-16
- 20 张迺光, 黄宝宝, 陈元晓. 云南滇池和阳宗海沿岸腹足类化石调查. 贝类学论文集, 1995, 5-6: 178-180
- 21 Shu F Y, Köhler F, Wang H Z. On the shell and radular morphology of two endangered species of the genus *Margarya* Nevill, 1877 (Gastropoda: Viviparidae) from lakes of the Yunnan plateau, southwest China. Mollusc Res, 2010, 30: 17-24
- 22 陈元晓, 张迺光. 阳宗海螺蛳和螺蛳的核型研究. 动物学研究, 1996, 17: 94-96
- 23 黄晓燕, 王丽珍. 5种螺蛳属动物和中国圆田螺 *COI* 基因序列分析. 水生生态学杂志, 2008, 1: 106-108
- 24 Sengupta M E, Kristensen T K, Madsen H, et al. Molecular phylogenetic investigations of the Viviparidae (Gastropoda: Caenogastropoda) in the lakes of the Rift Valley area of Africa. Mol Phylogenet Evol, 2009, 52: 797-805
- 25 Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome *c* oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol Mar Biol Biotechnol, 1994, 3: 294-299
- 26 Palumbi S R, Martin A P, Romano S L, et al. The Simple Fool's Guide to PCR. Hawaii: University of Hawaii, 1991
- 27 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
- 28 Xia X, Lemey P. Assessing substitution saturation with DAMBE. In: Lemey P, ed. The Phylogenetic Handbook. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2009. 611-626

- 29 Farris J S, Kallersjo M, Kluge A G, et al. Testing significance of incongruence. *Cladistics*, 1994, 10: 315–319
- 30 Swofford D L. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), Version 4.0. Sinauer Associates, Sunderland, MA. 2002
- 31 Akaike H. Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. In: Petrov B N, Csaki F, eds. Second International Symposium on Information Theory. Budapest: Akademiai Kiado, 1973. 267–281
- 32 Posada D, Crandall K A. Modeltest: Testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 1998, 14: 817–818
- 33 Felsenstein J P. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evol*, 1985, 39: 783–791
- 34 Huelsenbeck J P, Bollback J P. Empirical and hierarchical Bayesian estimation of ancestral states. *Syst Biol*, 2001, 50: 351–366
- 35 Leaché A D, Reeder T W. Molecular systematics of the eastern fence lizard (*Sceloporus undulates*): A comparison of parsimony, likelihood, and Bayesian approaches. *Syst Biol*, 2002, 51: 44–68
- 36 Huelsenbeck J P, Ronquist F. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics*, 2001, 17: 754–755
- 37 Rambaut A, Drummond A J. Tracer version 1.0.0. model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 2003, 14: 817–818
- 38 Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Bioinformatics*, 2004, 5: 150–163
- 39 Rao H S. On the comparative anatomy of oriental Viviparidae. *Rec Indian Mus*, 1925, 27: 129–135
- 40 Palmer A R. Quantum changes in gastropod shell morphology need not reflect speciation. *Evol*, 1985, 39: 699–705
- 41 Trussell G C, Smith C D. Induced defenses in response to an invading crab predator: An explanation of historical and geographic phenotypic change. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 2123–2127
- 42 Taki I. Anatomical study of *Cipangopaludina migagii*, Kuroda. *Venus*, 1941, 16: 131–134
- 43 Funk D J, Omland K E. Species-level paraphyly and polyphyly: Frequency, causes and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annu Rev Ecol Syst*, 2003, 34: 397–423