

福寿螺 3 个地理群体遗传多样性的 AFLP 分析

徐建荣^{1,2}, 韩晓磊², 李 宁¹, 郁建锋², 钱春花², 包振民^{1,*}

(1. 中国海洋大学海洋生命学院, 山东青岛 266003; 2. 常熟理工学院生物与食品工程系, 江苏常熟 215500)

摘要:应用 AFLP 分子标记技术对我国江苏苏州、福建漳州和广东珠海 3 个地理群体福寿螺进行了遗传多样性分析。8 对选择性引物在 3 个群体的 90 个个体中, 共扩增出 382 个位点, 多态位点 369 个。江苏、福建和广东 3 个福寿螺群体的多态位点比率和 Shannon's 指数分别为 84.82%、85.08%、79.06%, 0.4259、0.4308、0.4079; 表明 3 个群体遗传多样性在同一水平上。不同地理来源的福寿螺个体归群分析聚成 3 类, 与地理分布一致, 表明 3 个地理群体间已出现遗传分化, 广东群体和福建群体首先聚在一起, 再与江苏群体聚类。Shannon's 指数和 AMOVA 分析估算均显示福寿螺的遗传变异主要来自于群体内个体间。综上所述, 3 个福寿螺群体具有丰富的遗传多样性而且已形成相对独立的遗传结构; 并找到了 3 个群体间遗传特异性 AFLP 标记, 可用于群体间分子鉴定和辅助分类。

关键词:福寿螺; AFLP 分子标记; 遗传多样性

文章编号: 1000-0933(2009)08-4119-08 中图分类号: Q143 文献标识码: A

Analysis of genetic diversity of three geographic populations of *Pomacea canaliculata* by AFLP

XU Jian-Rong^{1,2}, HAN Xiao-Lei², LI Ning¹, YU Jian-Feng², QIAN Chun-Hua², BAO Zhen-Min^{1,*}

1 College of Ocean Life, Ocean University of China, Qingdao 266003, China

2 Department of Biology and Food Engineering, Changshu Institute of Technology, Changshu 215500, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(8): 4119 ~ 4126.

Abstract: In this study, the amplified fragment length polymorphism (AFLP) was used to analyze the genetic diversity of three populations of *Pomacea canaliculata* from Jiangsu, Fujian and Guangdong regions. A total of 369 polymorphic loci out of the total of 382 bands were amplified from 90 individuals. The proportion of polymorphic loci were 84.82%, 85.08%, 79.06% and Shannon's Information index were 0.4259, 0.4308, 0.4079 in Jiangsu, Fujian and Guangdong population, respectively. These showed that there were high genetic diversity in all the three populations and the genetic diversity of three populations were in the same level. Shannon's Information index and AMOVA analysis indicated that the genetic variation mainly came from intra-populations. The UPGMA tree based on AFLP data demonstrated that each population had independent genetic structure — individuals from the same population clustered together, Guangdong population and Fujian population first jointed, then Jiangsu population. In addition, the population specific loci were found in all the three populations which could be used as markers for inter-population molecular characterization and to assist the classification in *P. canaliculata*.

Key Words: *Pomacea canaliculata*; AFLP; genetic diversity

福寿螺 (*Pomacea canaliculata*) 又称大瓶螺、苹果螺, 属软体动物门 (Mollusca), 腹足纲 (Gastropoda), 中腹足目 (Mesogastropoda), 瓶螺科 (Ampullariidae), 瓶螺属 (*Pomacea*), 是一种原产于南美洲亚马逊河流域的大型

基金项目: 江苏省教育厅资助项目 (JHZD07-032)

收稿日期: 2008-10-20; 修订日期: 2008-12-22

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zmbao@ouc.edu.cn

食用螺类^[1]。1979 年作为一种高蛋白质食物被引入台湾,1981 年从台湾引入广东,1984 年引入福建,以后迅速扩展到其他地方。目前,主要分布于我国的广东、广西、云南、福建、浙江、江苏等地^[2]。由于盲目引进、缺乏科学管理与监督;加上福寿螺肉质不受欢迎,市场发展不如预期,导致一些养殖户随意抛弃,使福寿螺流入农田、池塘、沟渠及各类淡水水域。因为该螺耐逆力、繁殖力高,且食性杂、食量大,可啃食咬断很粗壮的植物,还能刮食藻类,严重威胁了我国水生经济作物的生长,成为一种新的农业有害生物^[3]。此外该螺还是卷棘口吸虫、广州管圆线虫(一种人兽共患寄生虫)的中间宿主,人生吃或食用未煮熟的带寄生虫螺肉,会引起食源性“广州管圆线虫病”。由于福寿螺所引起的经济与生态问题之突出,1993 年被列入世界 100 种恶性外来入侵生物名录之中;同时,福寿螺也是国家环保局 2000 年首批公布的入侵我国的 16 种“危害最大的外来物种”之一^[4]。现有资料显示,有关福寿螺的生物学、生态学、危害与防治等已有大量报道^[5],而从分子水平上研究福寿螺的特征,了解其来源、进化与发展趋势,特别是利用分子标记技术来分析福寿螺的遗传多样性和遗传结构等只有少量报导。如:Thaewnon-ngiw 用 RAPD 技术分析了泰国引进福寿螺和泰国本地福寿螺的遗传多样性,获得其特征标记可用于分子识别^[6]。Hayes 用 Cyt C 基因片段来区分入侵福寿螺的来源^[7]。福寿螺引入我国已有 20 多年,目前在我国南方(北纬 30°以南地区)均有福寿螺危害农作物的报导,江苏以北地区自然条件下福寿螺难以越冬。这些引入我国的福寿螺在我国多样的生态环境中,经过 20 余年的引进与养殖,不同地区的福寿螺群体间的遗传结构组成出现了哪些变化,而这些变化与福寿螺传播与环境适应等相关问题尚未得到清晰的了解。AFLP 具有灵敏度高、信息量大、呈孟德尔遗传等特点,能够检测亲缘关系非常近的材料之间的差异,且不需预先知道研究生物的遗传背景,因此在水生动物方面广泛用于遗传多样性分析、遗传图谱构建、特征分子标记等研究^[8,9]。本试验应用 AFLP 分子技术,以我国江苏苏州、福建漳州、广东珠海 3 个来自不同纬度地区、有着不同繁殖周期的福寿螺群体为研究对象,探讨福寿螺的遗传多样性和遗传结构,了解福寿螺群体的适应变异规律,为进一步开展福寿螺的研究和防治提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验所用福寿螺取自江苏苏州(E120°62', N31°32')、广东珠海(E113°52', N22°3')和福建漳州(E117°35', N24°52')3 个地区,分别命名为江苏群体(简称 J 群体)、广东群体(简称 G 群体)和福建群体(简称 F 群体)。取活体福寿螺的斧足肌为材料,于无水乙醇中 -20℃ 保存备用。每个群体随机选取 30 个个体进行 DNA 提取和 AFLP 分析。

1.2 实验方法

1.2.1 DNA 制备

基因组 DNA 的提取参照《分子克隆实验指南》^[10]。获得 DNA 样品以 Hind III 酶切的 λDNA 为标准,在 0.8% 的琼脂糖凝胶中电泳,EB 染色,在凝胶成像系统下估测 DNA 溶液浓度与纯度,并将浓度稀释至 30 ng/μl,置 -20℃ 保存备用。

1.2.2 AFLP 分析

参照 Vos 等^[11]和潘洁等^[12]的方法优化实验条件,确立 AFLP 最佳反应体系。引物人工接头由上海生工合成。引物及接头序列参照 Qi 等^[13],选择性扩增使用了 8 种 EcoRI 引物和 12 种 MseI 引物共 96 个引物组合。根据预实验结果,从扩增带数目适中、分布均匀和多态性高的引物组合中随机选取了 E32M54, E32M59, E32M61, E32M62, E39M54, E42M54, E42M61, E45M62 八组引物组合,相应的接头序列、预扩增引物序列和选择性引物序列见表 1。扩增产物在 4.5% 聚丙烯酰胺凝胶上进行 60W 恒功率高压电泳,电泳结果参照《分子克隆试验指南》^[10]进行银染检测。

1.3 数据处理

记录下电泳凝胶上清晰可见的扩增条带,假定凝胶上迁移位置相同的所有条带均来自同一位点上的同一等位基因,每条扩增片段记作一个位点。电泳图上的扩增条带以 1 或 0 记录,出现扩增条带的记为 1,相应位

表 1 AFLP 分析所用的接头、预扩增和选择性扩增引物
Table 1 Adaptor and primer sequences used in AFLP analysis

引物 primer	序列 sequence	引物 primer	序列 sequence
接头 adaptors		选择性扩增引物 selective amplification primer	
EcoRI 接头	5'-CTCGTAGACTGCGTACC-3'	EcoRI + 3	
	5'-AATTGGTACGCAGTC-3'	E32	5'- GACTGCGTACCAATTCAAC -3'
MseI 接头	5'-TACTCAGGACTCAT-3'	E39	5'-GACTGCGTACCAATTCAGA-3'
	5'-GACGATGAGTCCTGAG-3'	E42	5'- GACTGCGTACCAATTCAGT -3'
预扩增引物 pre-amplification primer		E45	5'- GACTGCGTACCAATTCATG -3'
EcoRI + 1	5'-GACTGCGTACCAATTC-3'	MseI + 3	
MseI + 1	5'-GATGAGTCCTGAGTAA-3'	M54	5'- GATGAGTCCTGAGTAACCT -3'
		M59	5'- GATGAGTCCTGAGTAACIA-3'
		M61	5'- GATGAGTCCTGAGTAAC TG -3'
		M62	5'- GATGAGTCCTGAGTAAC TT -3'

点无扩增条带的记为 0,列出 0,1 原始矩阵,将此结果进行相应统计运算得出结果。各扩增位点以所使用的引物组合名称及其在该引物组合所有扩增位点中的序号命名。引物组合名称与序号间用“-”连接。每一引物组合的扩增位点按照片段从大至小依次编号。统计的遗传学参数主要如下:

显性基因型频率 $Pd = n_i/n$

式中, n_i 为位点 i 上有带的个体数, n 为总个体数。

多态位点比率 $P = \text{多态位点数} / \text{位点总数} \times 100\%$

遗传相似系数 $S_{xy} = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$

式中, N_{xy} 是个体 x 和个体 y 共有位点数, N_x 和 N_y 分别是个体 x 和个体 y 总位点数。

遗传距离 $D = 1 - S$

式中, S 为相似系数。

Shannon 遗传多样性指数 H

群体内遗传多样性指数 $H_0 = - \sum X_i \ln X_i / N$

式中, X_i 表示位点 i 在某一个群体中的出现频率, N 表示该群体中检测到的位点总数;

n 个不同群体内的平均多样性 $H_{\text{pop}} = - \sum H_0 / n$

式中, n 为所研究的群体数;

群体多样性 $H_{\text{sp}} = - \sum X \ln X / n$

式中, X 为位点 i 在 n 个群体中的总显性频率;群体内及群体间遗传多样性所占的比例分别为 $H_{\text{pop}}/H_{\text{sp}}$ 和 $(H_{\text{sp}} - H_{\text{pop}})/H_{\text{sp}}$ 。

利用 PopGen32 计算遗传相似度、遗传距离、遗传多样性等;利用 Arlequin 进行 AMOVA 分析;利用 MEGA3.0 软件构建 UPGMA 系统树。

2 结果

2.1 AFLP 扩增结果

8 对引物组合分别对福寿螺 G、F、J 3 个群体,共计 90 个 DNA 样品进行了 AFLP 扩增,共扩增出 382 条清晰的条带,扩增片段的大小为 100 到 2000bp,其中多态性带为 369 条,多态位点比率为 96.60%。不同引物组合产生的扩增条带为 35~61 条,平均每对引物组合可得到 47.75 条扩增条带,扩增出的多态条带范围为 3~59 条,多态位点比率范围为 88.52%~100%,不同群体获得的扩增条带亦不同,G、F 和 J 3 个群体分别扩增出 302、325 和 324 条扩增片段,平均多态位点比率分别为 79.06%、85.08% 和 84.82%(表 2 和表 3)。图 1 显示了引物 E39M54 在福寿螺群体中的扩增图谱。

表 2 不同引物扩增位点数及多态位点比率

Table 2 Number of amplified loci and the percentages of polymorphic loci in different primers						
引物 Primer	总位点数 Number of all loci	总多态位点数 Number of all polymorphic loci	总多态位点比率(%) Percentage of all polymorphic loci	多态位点比率(%) Percentage of polymorphic loci		
				G	F	J
E32M54	35	33	94.29	68.57	80.00	80.00
E42M61	54	54	100	87.04	81.48	92.59
E42M54	48	48	100	79.47	95.83	91.67
E45M62	42	41	97.62	73.81	80.95	92.86
E32M61	38	36	94.74	76.32	92.11	84.21
E32M62	59	59	100	96.61	94.30	76.27
E32M59	45	44	97.78	77.23	82.22	87.16
E39M54	61	54	88.52	73.77	73.77	73.77
平均 Average	47.75	46.13	96.60	79.06	85.08	84.82

表 3 不同地理群体福寿螺遗传多样性

Table 3 Genetic variation from different populations of <i>Pomacea canaliculata</i>						
群体* Population	多态位点数 N. of polymorphic loci	多态位点比率(%) P. of polymorphic loci	Shannon's 信息指数 Shannon's information index (I)	Nei's 基因多样性指数 Nei's gene diversity index (H)	基因分化系数 G_{st}	
G	302	79.06	0.4079	0.2710	-	
F	325	85.08	0.4308	0.2860	-	
J	324	84.82	0.4259	0.2819	-	
群体水平 Population level	317	82.99	0.4215	0.2796	-	
物种水平 Species level	369	96.60	0.5087	0.3417	0.1350	

* 下同 the same below

2.2 个体归群分析

为分析 3 个地区样品间是否出现地理群体分化,对 3 个地区样品共 90 个个体进行了个体归群分析。由 MEGA3.0 软件对福寿螺 90 个个体进行归类,结果显示 90 个个体分成 3 类,不同来源的福寿螺个体以 G、F 和 J 群体分别聚类,G 群体先与 F 群体聚类,再与 J 群体聚类(图 2),说明福寿螺 3 个不同地理群体已形成各自的遗传结构。由图 3 显示 3 个群体的遗传结构总趋势一致,但部分位点的基因频率已发生变异。

2.3 群体遗传多样性分析

利用 PopGen32 对福寿螺 3 个地理群体进行分析,可以看到 3 个群体的多态位点比率和 Shannon's 指数基本处于同一水平。F、J 和 G 的 Shannon's 信息指数和 Nei's 基因多样性指数分别为 0.4308、0.4259、0.4079 和 0.2860、0.2819、0.2710。物种水平 Shannon's 信息指数和 Nei's 基因多样性指数分别为 0.5087 和 0.3417。进一步计算福寿螺 3 个群体间的遗传相似度,其中以 F 和 G 之间的最高(0.9190),J 和 G 之间的最低(0.9033),即 F 和 G 的遗传距离最小,J 和 G 的遗传距离最大(表 4)。

根据遗传多样性水平在物种水平的基因多样性

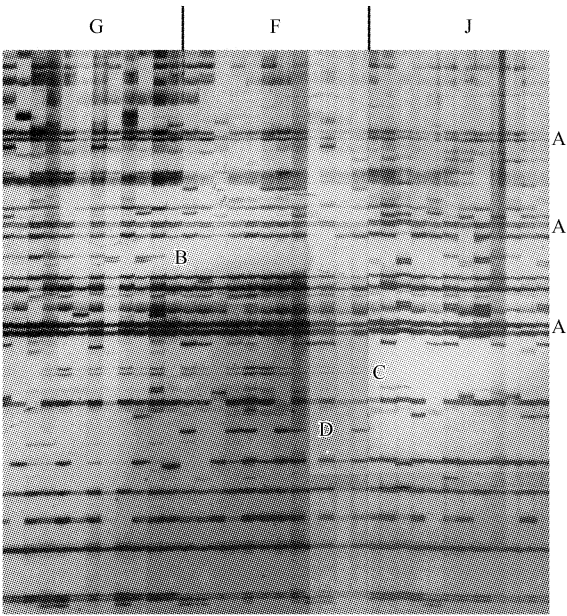


图 1 引物组合 E39 M54 在福寿螺群体的扩增图谱
Fig. 1 AFLP loci by primer combinations E39 M54 in *Pomacea canaliculata*
A: 3 群体共享带; B: G 和 J 群体共享带; C: G 和 F 群体共享带 D: F 群体特异性带 A: the sharing loci of three populations; B: the sharing loci of Guangdong and Jiangsu; C: the sharing loci of Guangdong and Fujian D: the specific loci of Fujian

(H_{sp})和群体水平的基因多样性(H_{pop})的分析,各群体间由 Shannon's 指数估算的遗传变异($H_{sp} - H_{pop}$)/ H_{sp} 为 0.1861,表明群体间的遗传变异为 18.61%,相应群体内的遗传变异为 81.39%,因此变异主要来源于群体内个体间。基于 Nei's 基因多样性的群体间基因分化系数(G_{st})结果表明,群体间的遗传分化为 13.50%,说明遗传分化主要来源于群体内个体间。AMOVA 分析同样显示,23.85%的遗传变异由群体间贡献,76.15%的变异分布于群体内个体之间(表 5)。3 种方法均显示福寿螺的遗传变异主要来源于群体内个体间。

表 4 群体间遗传相似度(对角线*上)及遗传距离(对角线*下)
Table 4 Inter-population genetic similarities(above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

	G	F	J
G	* * * *	0.9190	0.9033
F	0.0845	* * * *	0.9153
J	0.1017	0.0885	* * * *

表 5 福寿螺群体的 AMOVA 分析

Table 5 AMOVA analyses of three populations of *Pomacea canaliculata*

变异来源 Source of variation	自由度 Degrees of freedom	方差总和 Sum of squares	方差分量 Variance components	变异比例(%) Percentage of variation
群体间 Among populations	2	794.635	17.14338	23.85
群体内 Within populations	59	3228.849	54.72626	76.15
总计 Total	61	4023.484	71.86964	100

表 6 不同引物组合在不同群体中得到的扩增位点

Table 6 Distribution of dominant loci from different populations of *Pomacea canaliculata*

群体 Population		E32M54	E42M61	E42M54	E45M62	E32M61	E32M62	E32M59	E39M54	合计 Total
在 1 个群体中出现 的扩增位点数 ^①	F	3	1	4	0	1	0	2	0	11
	G	0	0	0	0	0	2	1	1	4
	J	0	1	0	2	0	0	2	1	6
在 2 个群体中出现 的扩增位点数 ^②	G-F	2	3	1	1	1	24	0	6	38
	G-J	0	4	2	5	4	0	2	3	20
	F-J	4	3	5	4	1	1	9	5	32
3 群体均出现 的扩增位点数 ^③	G-F-J	26	42	37	29	31	32	29	45	271
总扩增位点数 ^④		35	54	49	41	38	59	45	61	382

①The specific loci; ②The sharing loci of two population; ③The sharing loci of three population; ④Number of all loci

2.4 不同福寿螺群体的特征性位点

AFLP 扩增图谱能提供大量的 DNA 信息,在预试验基础上,本研究选取了 E32M54, E32M59, E32M61, E32M62, E39M54, E42M54, E42M61, E45M62 等 8 组引物组合对 3 个地理群体的福寿螺进行 AFLP 扩增,共获得 382 个显性扩增位点,其中 3 个地理群体共享的位点有 271 个, G 和 F 群体间共享位点为 38 个, F 和 J 群体间共有位点为 32 个, G 和 J 群体间共有位点为 20 个(表 6), G 和 F 群体间的共享位点最多,表明其亲缘关系最近。从 8 组 AFLP 引物中发现了 3 个群体的数个特异性特征位点,其中 G 群体的特征位点为 E42M54-17、E32M59-15, F 群体的特征位点为 E32M62-36、E32M59-40, J 群体的特征位点为 E39M54-61、E32M59-29 等。这些特异性位点可以作为不同地理群体福寿螺的分子识别标记。

3 讨论

3.1 遗传多样性水平

生物群体的遗传多样性是评价生物资源状况的一个重要依据,它是物种适应多变的环境,维持长期生存和进化的遗传基础^[14]。多态位点比率和基因多样性指数是检验群体遗传多样性的常用指标^[15],本研究通过比较福寿螺 3 个地理群体的多态位点比率和基因多样性指数发现,其遗传多样性处于相同水平,多态位点比

例变化范围为 79.06% ~ 85.08%, 基因多样性指数变化范围为 0.2710 ~ 0.2860, 通过 Shannon's 指数分析同样得出了以上结论。与已有贝类生物 AFLP 研究数据^[16-18]比较表明, 福寿螺具有丰富的遗传多样性, 且与同属外来入侵生物的紫茎泽兰 (*Eupatorium adenophorum*)、加拿大一枝黄花 (*Solidago canadensis*)^[19,20] 等的遗传多样性比较, 福寿螺的遗传多样性处于较高水平。遗传多样性越高说明物种对环境变化的潜在适应能力越强, 越容易扩展其分布范围和开拓新的环境, 福寿螺较高的遗传多样性有利于其适应新的环境, 从遗传学角度揭示了其对不同环境具有较强适应能力的原因。福寿螺是 20 世纪 80 年代初人为引入的外来生物, 在我国南方地区都能很好地生存并大量繁殖, 其顽强的环境适应能力能抑制小群体交配产生的瓶颈效应, 保持其丰富的遗传多样性。

3.2 群体遗传分化分析

福寿螺在食物充足情况下主动迁移能力较弱, 其活动范围有限, 这种生态习性有助于种群间的隔离, 因而产生种群差异。而性成熟周期短、繁殖力强的习性能加速不同群体间差异的积累和形成。Pulumi^[21] 认为数量较少的种群间易产生遗传差异, 这也符合福寿螺这一外来物种。由 UPGMA 聚类图分析表明, 不同来源的 90 个个体可聚成 3 类, 与地理分布一致, 没有发生不同地区的个体聚类时混合交叉的现象, 不同地理群体的福寿螺个体以 G、F 和 J 群体分别聚类, 说明各群体已出现一定的遗传分化, 显性基因频率分布图也显示 3 个群体的部分基因频率发生了变异, 各群体已形成相对较独立遗传结构。本研究找到了不同地理群体福寿螺的特异性分子标记, 也支持了 3 个地理群体已出现一定遗传分化的结论。由遗传相似性分析可知, 3 群体亲缘关系较近, 遗传相似度为 0.9033 ~ 0.9190, 遗传距离为 0.0845 ~ 0.1017。Thorp^[22] 认为: 同一物种不同群体遗传距离 D 的变化范围为 0.03 ~ 0.2 (遗传相似系数 S 为 0.8 ~ 0.97), 可见本文福寿螺 G、F 和 J 3 个群体虽然产生一定的遗传趋异, 但仍为同一物种。

3.3 福寿螺产生危害本质分析

福寿螺在我国是一种人为引进的外来入侵生物, 目前在我国南方 (北纬 30° 以南地区) 造成了巨大的危害。台湾 1979 年引入, 1986 年发生福寿螺危害; 广东 1981 年引进养殖福寿螺, 1988 年遭受不同程度的危害; 福建 1984 年引入, 1993 年出现福寿螺危害, 以后广西、浙江、云南、江西等省相继有福寿螺危害的报导^[2]。由此可见, 福寿螺从引入到遗弃、扩散、产生危害需要一定

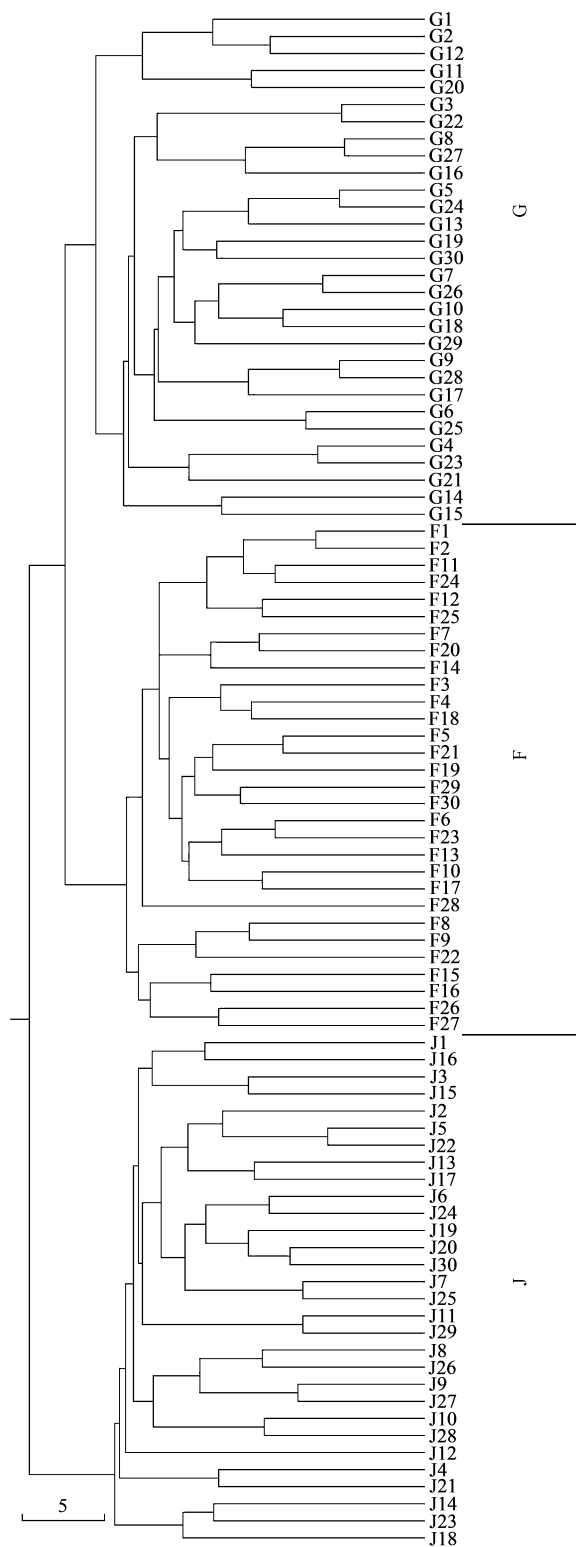


图2 用 UPGMA 方法构建的福寿螺 90 个个体的聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram of 90 individuals of *Pomacea canaliculata*

的时间,在这期间福寿螺完成了外来物种对新生境的适应和扩展过程,说明福寿螺具有外来入侵物种的生态适应能力强、繁殖率高等特点^[23]。实验结果显示福寿螺有较高的遗传多样性,遗传多样性越高说明物种对环境变化的潜在适应能力越强,这可能是福寿螺具有强大入侵能力和广适性的本质之一。其次,福寿螺生长周期短、繁殖力惊人,一个刚孵出的福寿螺幼螺温度适宜的环境下食物充足,3 个多月就能达到性成熟并交配繁殖。福寿螺的生长繁殖与水温密切相关,在广东一年能繁殖 3 代,1 只雌螺一年能产卵 3000 – 8000 粒;在福建一年繁殖 2 代,1 只雌螺一年能产卵 2000 ~ 5000 粒;在江苏一年只能繁殖 1 代,1 只雌螺一年产卵 1500 ~ 3000 粒,福寿螺强大的繁殖力保证其在入侵地能够快速适应当地环境并形成优势。但福寿螺不适应低温,当水温低于 5 ℃ 时会出现冻死现象,因此在江苏以北地区福寿螺在自然条件下难以越冬,因此对农业产生的危害较小,而在福建以南地区福寿螺周年生长,产生的危害较大,即纬度越低,温度越高,其危害越大。可见,温度是福寿螺生长、繁殖、以致能否造成危害的一个关键因子。

综上所述,福寿螺丰富的遗传多样性、快速的繁殖周期和惊人的繁殖力是福寿螺适应不同自然生境并形成优势的本质,也是福寿螺成功入侵,定居不同胁迫环境的有力武器之一,必须引起广泛重视。

References:

- [1] Mochida O. Spread of freshwater Pomacea snails (Pilidae, Mollusca) from Argentina to Asia. *Micronesica*, 1991, 3: 51 – 62.
- [2] Zhou W C, Wu Y F, Yang J Q. Viability of the ampullaria snail in China. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2003, 18(1): 25 – 28.
- [3] Li Z Y, Xie Y. *Invasive alien species in China*. Beijing: China Forestry Publishing House, 2002.
- [4] IUCN. 1996 IUCN Red List of Threatened Animals. IUCN, Gland, 1996, 70:368 – 1000.
- [5] Yin S W, Yan H M, Wang H Q, *et al.* Study on the Biology of Ampullaria gigas. *Acta Sci Nat Univ Norm Hunan*, 2000, 23(2): 76 – 82.
- [6] Thaewnon-ngiw B, Klinbunga S, Phanwichien K, *et al.* Genetic diversity of introduced (*Pomacea canaliculata*) and native (*Pila*) apple snails in Thailand revealed by randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. *Science Technology*, 2003, 20: 289 – 306.
- [7] Hayes K A, Joshi R C, Thiengo S C. Out of South America; multiple origins of non-native apple snails in Asia. *Diversity and distributions*, 2008, 14(4): 701 – 712.
- [8] Xian D L, Xiao L, Xi M G, *et al.* A Preliminary Genetic Linkage Map of the Pacific Abalone *Haliotis discus hannai* Ino. *Marine Biotechnology*, 2006, 8: 386 – 397.
- [9] Liu Z J, Cordes J F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*, 2004, 238(1): 1 – 37.
- [10] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1999.
- [11] Vos P, Hogers R, Bleeker M, *et al.* AFLP: a new technique for DNA finger printing. *Nucleic Acids Research*, 1995, 21: 4407 – 4414.
- [12] Pan J, Bao Z M, Zhao Y, *et al.* The Genetic Diversity of Different Geographical Zhikong Scallop (*Chlamys farreri*) Populations. *High Technology Letters*, 2002, 12: 78 – 82.
- [13] Qi X, Lindhout P. Development of AFLP markers in barley. *Molecular General Genetics*, 1997, 254: 330 – 336.
- [14] Richards C, Lekberg P L. Temporal changes in allele frequencies and a population's history of severe bottlenecks. *Conserv Biology*, 1996, 10: 832 – 839.
- [15] Gao B J, Gao L J, Hou J H, *et al.* Genetic diversity of *Dendrolimus* (*Lepidoptera*) population from different geographic area. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(2): 842 – 849.
- [16] Shi J H, He M X, Huang L M, *et al.* Study of genetic variation in the selected stocks of *Pinctada martensii* Dunker by AFLP. *Chinese High Technology Letters*, 2006, 5(16): 534 – 538.
- [17] Yu Z N, Guo X M. Genetic linkage of the Eastern Oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Biological Bulletin*, 2003, 204(3): 327 – 338.
- [18] Xian D L, Xiao L, Xi M G, *et al.* A Preliminary Genetic Linkage Map of the Pacific Abalone *Haliotis discus hannai* Ino. *Marine Biotechnology*,

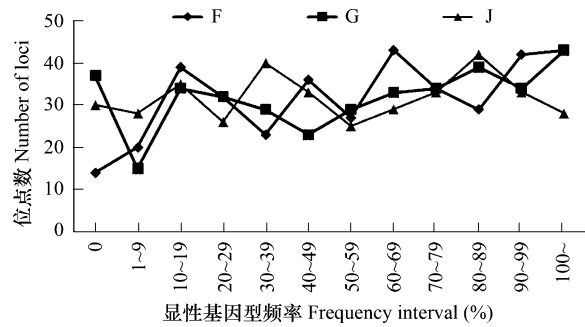


图 3 扩增位点数在不同显性基因型频率区间内的分布

Fig. 3 Distributions of amplified loci in different frequency intervals

2006, 8: 386—397.

- [19] Duan H, Qiang S, Su X H, *et al.* Genetic diversity of *Eupatorium adenophorum* determined by AFLP marker. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25 (8): 2109—2114.
- [20] Huang H, Guo S L. Analysis of population genetic differences of the invasive plant *Solidago canadensis*. *Bulletin Botanical Research*, 2005, 25(2): 197—204.
- [21] Palumbi S R. Genetic divergence, reproductive isolation, and marine speciation. *Annual Review Ecology System*, 1994, 25: 547—572.
- [22] Thorp J P. The molecular clock hypothesis: biochemical evolution, genetic differentiation, and systematics. *Annual Review Ecology System*, 1982, 13(1): 139—168.
- [23] Lonsdale W M. Global patterns of plant invasions and the concept of invisibility. *Ecology*, 1999, 80: 1522—1536.

参考文献:

- [2] 周卫川, 吴宇芬, 杨佳琪. 福寿螺在中国的适应性研究. *福建农业学报*, 2003, 18(1): 25~28.
- [3] 李振宇, 解焱主编. 中国外来入侵种. 北京: 中国林业出版社, 2002.
- [5] 尹绍武, 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): 76~82.
- [7] 王斌, 翁曼丽. AFLP 的原理及其应用. *杂交水稻*, 1996, 5: 27~30.
- [10] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. 分子克隆试验指南(第二版). 金东雁, 黎孟枫, 等译. 北京: 科学出版社, 1999.
- [12] 潘洁, 包振民, 赵洋. 栉孔扇贝不同地理种群的遗传多态性分析. *高技术通讯*, 2002, 12: 78~82.
- [15] 高宝嘉, 高立杰, 侯建华, 等. 三种松毛虫不同地理种群遗传多样性. *生态学报*, 2008, 28(2): 842~849.
- [16] 史兼华, 何毛贤, 黄良民, 等. 马氏珠母选育系遗传变异的 AFLP 分析. *高技术通讯*, 2006, 5(16): 534~538.
- [19] 段惠, 强胜, 苏秀红, 等. 用 AFLP 技术分析紫茎泽兰的遗传多样性. *生态学报*, 2005, 25(8): 2109~2114.
- [20] 黄华, 郭水良. 外来入侵植物加拿大一枝黄花居群间遗传差异分析. *植物研究*, 2005, 25(2): 197~204.