

螺蛳分子系统发育的初步研究

田明¹, 范彪¹, 杨瑜玲¹, 方福康¹, 王文林², 陈元晓¹

(1) 昆明医科大学细胞生物学与医学遗传学系; 2) 病原生物学系, 云南昆明 650500)

[摘要] 目的 建立田螺科已有种类的系统发育关系, 探讨螺蛳 (*Margarya melanioides*) 的分类地位. 方法 测定采自云南高原湖泊中的螺蛳、方形环棱螺和中华圆田螺的线粒体 COI、16S rRNA 基因序列, 并结合 GenBank 中田螺科已有物种序列, 计算螺蛳和其他主要类群的遗传距离, 用最大简约法 (MP)、最大似然法 (ML) 和贝叶斯法 (BI) 构建包含螺蛳的田螺科部分物种系统发育树. 结果 COI 基因第三位密码子转换已达到饱和. 在 COI 基因片段数据集、COI 第 1, 2 位密码子数据子集、16S 基因片段数据集中, 螺蛳与圆田螺属的遗传距离最小. 在 MP 法、ML 法、BI 法构建的系统发育树中, 螺蛳和中华圆田螺聚为一支, 我国的环棱螺属种类和非洲该属未聚在一起. 结论 螺蛳与中华圆田螺的亲缘关系较近, 线粒体 COI 联合 16S 基因片段可以弥补形态学在研究田螺科物种系统发育关系时的不足.

[关键词] 螺蛳; 田螺科; 分子系统发育; 16S; COI

[中图分类号] Q179 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2015) 03-0004-05

Studies On Molecular Phylogeny of *Margarya melanioides* (Gastropoda: Viviparidae)

TIAN Ming¹, FAN Biao¹, YANG Yu-ling¹, FANG Fu-kang¹, WANG Wen-lin², CHEN Yuan-xiao¹

(1) Dept. of Cell Biology and Medical Genetics; 2) Dept. of Pathogenic Biology, Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

[Abstract] **Objective** To infer the phylogenetic relationship among Viviparidae, and to assess the phylogenetic position of *M. melanioides*. **Methods** Sequence mitochondrial COI and 16s gene of *M. melanioides*, *Bellamya quadrata* and *Cipangopaludina cathayensis* collected from Yunnan plateau of China were tested. Kimura-2 parameters including genetic distance and Ts/Tv ratios were generated, and the molecular phylogenetic trees of 26 species in Viviparidae, including *M. melanioides*, were established by using Maximum likelihood (ML), maximum parsimony (MP) and Bayesian inference (BI) methods. **Results** The 3rd codon position of COI, which get high saturation, had negative impact on phylogenetic analysis. The nearest genetic neighbor of *M. melanioides* in Viviparidae was *C. cathayensis* among DNA sequence set with COI, or COI-1st and COI-2nd codon positions, or 16S gene. In using MP, ML and BI methods, *M. melanioides* and *C. cathayensis* form one phylogenetic clade, but *Bellamya* species from china and Africa were in different phylogenetic units. **Conclusion** *C. cathayensis* is closest to *M. melanioides*, and molecular data of COI and 16S gene could cover shortage of phylogenetic research based on morphological characters in viviparidae.

[Key words] *Margarya melanioides*; Viviparidae; Molecular phylogeny; 16S; COI

螺蛳 (*Margarya melanioides*) 属田螺科 (Viviparidae Gray, 1847), 螺蛳属 (*Margarya* Nevill, 1877),

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (31160425, 31101616, 81360252); 云南省科技厅应用基础研究基金项目 (2010ZC108); 云南省教育厅科学研究基金资助项目 (2010Y208)

[作者简介] 田明 (1976~), 男, 湖北荆门市人, 理学硕士, 副教授, 主要从事医学生物学、贝类学研究工作.

[通讯作者] 陈元晓. E-mail: cyx616@hotmail.com; 王文林. E-mail: wenlinwang331@hotmail.com

现仅分布于滇池、洱海等云南高原湖泊^[1],为云南特有种.近年来,工业化、城市化引起的环境污染,以及过度捕捞等人类活动导致螺蛳种群数量锐减^[2].但迄今为止,螺蛳的系统发育研究较少,其分类地位一直存有争议.螺蛳具有螺壳大、壳质厚、螺棱明显、伴有棘状或念珠状突起等特殊性状,是我国田螺科中一支独特的进化分支.据此,Nevill(1877)以螺蛳为模式种建立螺蛳属.Mabille(1886)和Neumayr(1883,1898)将其并入田螺属(*Viviparus*).国内贝类学研究前辈张玺曾对螺蛳的齿舌、螺壳等形态特征做过系统研究,支持Nevill的观点^[3].

在分类学上,有效、稳定的形态特征少,且易受外界环境影响等,至今未能有效弄清螺蛳或螺蛳属的分类地位^[4].陈元晓等^[5]曾研究过螺蛳的核型($2n=18$),但核型多态性低,亦未解决其分类问题.近年来,DNA分子实验技术的快速发展,以及数值分类方法的完善,利用DNA序列进行物种系统发育关系的研究取得了很大进展,解决了许多传统分类学中难以解决的问题.国外学者结合DNA分子数据重建了田螺科的系统发育关系,将田螺科分为3个亚科:*Viviparinae* Gray 1847, *Bellamyinae* Rohrbach 1837 和 *Lioplacinae* Gill 1863^[6].黄晓燕(2008)用线粒体COI部分序列初步探讨过螺蛳属内5种以及中华圆田螺的亲缘关系,认为螺蛳和中华圆田螺的亲缘关系较远^[7].线粒体DNA具有拷贝数多、突变率高、母系遗传等优点,已成为研究分子系统发育的首选标记.笔者将测定螺蛳、中华圆田螺(*Cipangopaludina cathayensis*)和方形环棱螺(*Bellamya quadrata*)的COI和16S rDNA序列,并结合GenBank中已发表田螺科物种的序列,构建分子系统发育树,以此进一步探讨螺蛳在田螺科中的分类地位.

1 材料与方法

1.1 材料

所有标本均是2010年7月至2012年10月期间采自云南省(见表1).螺蛳标本通过底拖网采自滇池湖底,环棱螺标本分别采集于抚仙湖、异龙湖和阳宗海,中华圆田螺标本分别采集于异龙湖和阳宗海.标本采集后,浸泡于95%酒精,现存放在昆明医科大学细胞生物学与医学遗传学系标本室.

1.2 基因组DNA的提取

标本取20 mg足部肌肉组织,按常规酚-氯仿

法提取总DNA,用1%的琼脂糖凝胶电泳进行检测.总DNA保存于 -20°C .

1.3 PCR扩增

PCR扩增引物:16S基因片段采用16Sar-L(5'-CGCCGGTCTGAACTCAGATCA-3'),16Sbr-H(5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3'),COI基因片段采用LCO1490,HCO2198^[7].PCR反应体系为25 μL ,包含50 ng模板DNA,0.2 $\mu\text{mol/L}$ 引物,0.2 mmol/L dNTP,缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl,1.5 mmol/L MgCl_2 ,50 mmol/L KCl)和0.5 U Taq聚合酶(大连宝生物工程有限公司),2 mmol/L Mg^{2+} .每次实验均设置阴性对照.Bio-red PCR仪反应程序为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性3 min后,94 $^{\circ}\text{C}$ 变性1 min,52 $^{\circ}\text{C}$ 复性1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min,共35个循环,72 $^{\circ}\text{C}$ 后延伸7 min.取2 μL PCR产物用含有溴化乙锭的1.5%琼脂糖凝胶电泳检测.

1.4 PCR产物纯化及测序

PCR产物经1.5%琼脂糖凝胶进行电泳分离,紫外灯下切取所需条带,用小量胶回收试剂盒(大连宝生物工程有限公司)纯化回收,送至公司(上海生工生物工程股份有限公司)双向测序.

1.5 序列分析

所测序列用DNASTAR 8.0软件包(DNAStar Inc.,Madison,WI,USA)进行正、反链比对,去除两端引物序列后提交GenBank.从GenBank下载田螺科相关物种的COI和16S序列,根据文献选取瓶螺科的*Marisa cornuarietis*为外群^[8],见表1.

用CLUSTAL X软件对COI、16S基因序列进行比对^[9],并结合密码子或二级结构手工校正,删除无法正确比对的位点.应用DAMBE软件进行碱基替换饱和性和分析^[10],在构建系统发育树时排除明显的饱和位点.应用PAUP*4.0b10构建联合数据集的最大简约(MP)和最大似然(ML)系统发育树,MrBayes构建贝叶斯(BI)系统发育树^[11].构建MP树时,先用平等加权位点法进行启发式MP树搜索,参照RI一致性指数对位点再次加权,bootstrap值为1 000,分支交换方式为TBR,逐步加入算法为Random.构建ML树前,通过Modeltest选择GTR+I+G为联合数据集的核苷酸替换模型,其中,Base=(0.2781 0.1598 0.2040),Rmat=(0.1407 12.4554 2.9053 0.7561 5.8509),Rates=gamma,Shape=0.7532,Pinvar=0.4731.由于ML法计算量大,设置Bootstrap值为100次.MrBayes 3.2软件构建系统发育树时,应用MrModeltest 2.0选择COI数据集(不含第3密码子)和16S数据集的碱基替换模型分别为

HKY+I+G、GTR+I+G，设置 MCMC 迭代数设为 1 百万次，burnin 为 500^[12]。

2 结果

2.1 DNA 序列

扩增的 COI 基因片段长度为 656 bp，16S 基因片段为 510~511 bp。从 Genbank 下载了 19 个标本的对应序列，包含田螺科的圆田螺属、环棱螺属、田螺属 (*Viviparus*)、湄公螺属 (*Mekongia*)、石田螺属 (*Sinotaia*)、角螺属 (*Angulyagra*) 和 *Neothauma* 属。序列经比对后，以最短序列长度为标准，数据集中 COI 片段 596 bp，其中简约位点 189 个；16S 片段 478 bp，简约位点 146 个。

DAMBE 绘制的 COI 及其第 1、2、3 位密码子的转换 (V_i) 和颠换 (V_i) 速率图见图 1。第 1 密码子和第 2 密码子的转换未达饱和状态，总核苷酸碱基转换饱和现象因第 3 密码子饱和所致。COI 基因第 3 密码子不参与分子系统发育树的构建。

2.2 遗传距离

选择 K-2 碱基替代模型，不同属间的遗传距离如表 2 所示。螺蛳与不同属的遗传距离相距易受不同数据集的影响。螺蛳与外群 *Marisa cornuarietis* 的遗传距离在 COI 第一密码子和第二密码子数据集、16S 数据集中最大，但在 COI 全密码子数据集中小于与角螺属和田螺属的遗传距离，这与 COI 第三密码子的饱和性密切相关。在田螺科中，与螺蛳遗传距离较远的属在 COI 密码子 1 和密码子 2 数据集中依次为角螺属 (0.051)、田螺属 (0.047)、环棱螺属 (0.033) 和 *Neothauma* 属 (0.032)，在 16S 数据子集中为 *Neothauma* 属 (0.186)、角螺属 (0.184)、田螺属 (0.169)、环棱螺属 (0.150)。在表 2 的 3 个数据集中，螺蛳与圆田螺属的遗传距离最小。

2.3 系统发育树

ML 法和 BI 法构建的田螺科系统发育树见图 2 和图 3，MP 树与前二种方法构建的系统发育树基本一致。在 3 种构树法中，螺蛳都与中华圆田螺聚为一枝，并获得最高的支持率，在 ML 树和 MP 树中的自展值为 100，BI 树的后概率为 1.00。古北界的田螺属独立为一支，在 MP、ML 和 BI 构树法中都获得了较高的支持率，分别是 92、81 和 0.81。环棱螺属为世界性广布种，但是该属没有构成一个单系群，明显分为 2 个类群。来自欧洲和非洲的环棱螺类群与角螺属聚为一支，来自中国的环棱螺类

群与湄公河螺属聚为另一支，两支在 3 种构树法中都得到了最高支持率。

3 讨论

螺蛳线粒体 COI 基因的突变速率和 16S 基本相同，但其第 1、2 位密码子子集的突变率远低于 16S 基因 (表 2)。这是与 COI 各密码子的突变率不同有关，其第 2 位密码子的突变速率最慢，第 3 密码子最快，同编码基因的突变特点一致。COI 基因所有密码子都是转换高于颠换，但第三位密码子的转换率在图 1 中为曲线，其碱基转换已经饱和。表明 COI 碱基转换饱和现象与第 3 位密码子有关。为减少数据噪音对结果的干扰，本研究在系统发育树构建时删除 COI 基因的第 3 位密码子，并取得了较好的效果。

联合数据集构建的 MP 树、ML 树和 BI 树都支持田螺属物种首先从田螺科独立为一支，都得到了较高的支持率，分别为 99、87 和 0.90，螺蛳未聚在田螺属分支中。显然，Mabille (1886) 和 Neumary (1877) 将螺蛳归为田螺属的观点未获得本研究中分子数据的支持。本研究结论和动物区系分布特点吻合。田螺属是典型的古北界类群，主要分布于欧洲、北美和北亚，仅在我国黑龙江省和吉林省等北方地区有分布。螺蛳主要分布与云南高原湖泊，并且是该地区的特有种，未见其分布于古北界的报道。在地层分布资料中，田螺属种类可发现于中生代的白垩纪，是田螺科最先出现的类群，而螺蛳化石的最早产出地层为第四纪的更新世^[1]。结合动物区系分布特点和地层学资料，本研究的分子数据支持 Nevill^[13]和张玺等^[3]学者将螺蛳从田螺属中独立出来的观点。

螺蛳与中华圆田螺聚为一支，在 3 种建树方法中都得到了最大支持，即贝叶斯法的后概率为 1、最大简约法和最大似然法的自展值均为 100。在 COI 全密码子数据集、COI 第 1、2 密码子数据集和 16S rRNA 基因数据集计算的遗传距离中，螺蛳与中华圆田螺的遗传距离明显最小，分别为 0.067、0.012 和 0.050。由此可见，在本文研究的类群中，螺蛳和中华圆田螺有较近的亲缘关系。所以，本研究结论不支持黄晓燕 (2008) 提出的螺蛳在田螺科中，与中华圆田螺具有较远亲缘关系的观点^[9]。除 DNA 分子数据外，也有明显支持螺蛳和圆田螺属有较近亲缘关系的形态学证据。螺壳大小是田螺科形态学分类的重要依据，如环棱螺属成体壳

表1 标本和序列来源清单
 Tab. 1 The source list of samples and sequences

编号	属名	种名	个体号	序列编号		来源
				COI	16S	
1	Cipangopaludina	chinensis		FJ710298	FJ710214	美国
2		japonica		FJ405876	FJ405736	美国
3		cathayensis *	149	KP009560	KP009573	异龙湖
4		cathayensis *	152	KP009566	KP009572	阳宗海
5	Bellamyia	costulata		FJ405868	FJ405706	非洲
6		trochlearis		FJ405837	FJ405691	非洲
7		unicolor		FJ405853	FJ405697	非洲
8		rubicunda		FJ405836	FJ405715	非洲
9		jeffreysi		FJ405859	FJ405700	非洲
10		crawshayi		FJ405867	FJ405710	非洲
11		capillata		FJ405874	FJ405693	非洲
12		sp.		FJ405880	FJ405725	中国
13		bengalensis		FJ405877	FJ405724	非洲
14		aeruginosa*	120	KP009563	FJ405724	异龙湖
15		aeruginosa*	121	KP009564	KP009571	阳宗海
16	aeruginosa*	144	KP009562	KP009569	滇池	
18		Neot.tanganyicense		FJ405843	FJ405709	非洲
19	Angulyagra	sp.		FJ405879	FJ405723	越南
20	Mekongia	sp.		FJ405875	FJ405722	越南
21	Sinotaia	sp.		FJ405883	FJ405728	越南
22	Viviparus	ater		FJ405882	FJ405734	瑞士
23		contectus		FJ405835	FJ405692	丹麦
24	Margarya	melanioides*	101	KP009561	KP009567	滇池
25		Melanioides*	102	KP009565	KP009568	滇池
26	Marisa	cornuarietis#		FJ439657	EU274493	-

表2 螺蛳与其它属的遗传距离

Tab. 2 Genetic distance between *M. melanioides* and other genus group

属名	Margarya melanioides		
	COI(code1+2+3)	COI(code1+2)	16S
Cipangopaludina	0.067[0.008]	0.012[0.003]	0.050[0.017]
Mekong	0.117[0.015]	0.024[0.008]	0.124[0.019]
Sinotaia	0.123[0.015]	0.029[0.008]	0.133[0.020]
Neothauma	0.144[0.018]	0.032[0.009]	0.186[0.024]
Bellamyia	0.153[0.013]	0.033[0.007]	0.150[0.017]
Angulyagra	0.200[0.020]	0.051[0.012]	0.184[0.024]
Viviparidae	0.203[0.020]	0.047[0.009]	0.169[0.021]
Marisa	0.180[0.020]	0.051[0.012]	0.318[0.032]

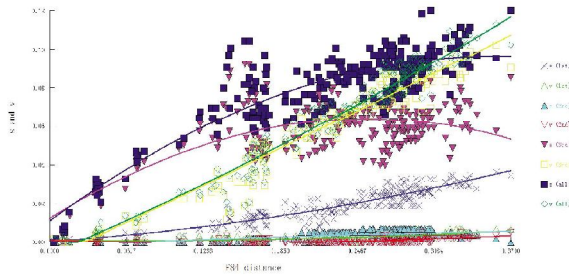


图 1 COI 基因第 1,2,3 密码子转换和颠换速率图

Fig. 1 The ratio chart of transversion (V) to transition(S) at the 1st , 2nd , 3rd position of COI

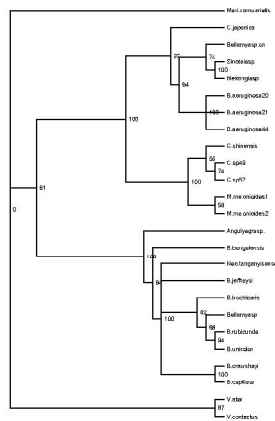


图 2 最大似然法构建的田螺科系统发育树. 节点处数值为该枝聚在一起的自展值

Fig. 2 A consensus cladogram of ML based on combined dataset16S and COI(exclude 3rd code), the number at each node is the bootstrap support. The shells are not in relative scale

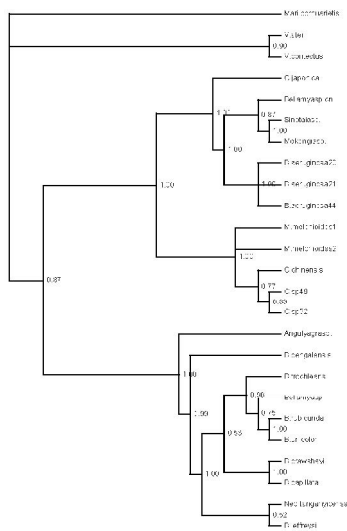


图 3 贝叶斯法构建的田螺科系统发育树. 节点处数值为该枝聚在一起的后概率

Fig. 3 A consensus cladogram of BI based on combined dataset16S and COI(exclude 3rd code), the number at each node is the posterior probability. The shells are not in relative scale

高一般都小于 40 mm. 在田螺科中, 圆田螺属种类与螺蛳具有相近的壳高, 大于 40 mm^[4]. 螺蛳的壳厚、具念珠状突起和棘等独特特征可能与其长期栖息于深水湖泊环境相关. 张玺通过统计大量标本后认为螺蛳的棘数量呈正态分布, 认为棘不能稳定的特征, 不建议用于区分螺蛳属新种的主要特征, 并把具棘的螺蛳模式种和无棘螺蛳应归并为一个种^[5]. 螺壳的主要成分是碳酸钙, 其厚度常受到环境中碳酸钙含量、酸度等的影响. 螺蛳多生活于石灰岩断陷湖泊中, 如滇池、洱海、抚仙湖、杞麓湖等, 水中钙离子的含量高, 利于形成较厚的螺壳. 在已有核型数据中, 螺蛳和中华圆田螺的染色体数目都是 2n = 18 条, 也为螺蛳和中华圆田螺具有较近的近缘关系提供支持^[6].

在系统发育树中, 螺蛳不与圆田螺属的 *C. japonica* 聚在一起 (见图 2、图 3), 这可能和田螺科内部属、种的系统发育关系未弄清有关, 因为圆田螺属的 *C. japonica* 和 *C. chinensis* 未首先聚在一起. 亚洲的环棱螺属和涓公螺属聚为一支, 然后与螺蛳、圆田螺属聚为一枝, 而且支持率很高. 这与 Mita (2009) 发现的亚洲的环棱螺属与欧洲、非洲的该属不相容现象一致^[6]. 虽然亚洲的环棱螺属的种类众多, 分布于中国的就有 18 种, 但是环棱螺属的模式种是非洲的 *B. unicolor*, 所以 Mita 建议对亚洲的环棱螺属进行修订. 本文通过研究螺蛳和田螺科部分物种的分子系统发育, 揭示出螺蛳和中华圆田螺在现有研究类群中具有很近的亲缘关系, 证明了线粒体 COI 联合 16S rRNA 基因研究田螺科物种系统发育关系的可行性.

[参考文献]

[1] 刘月英, 张文珍, 王跃先. 中国田螺科的地理分布[J]. 贝类学论文集, 1995, 5-6(1): 8-16.

[2] 罗民波, 段昌群, 沈新强, 等. 滇池水环境退化与区域内物种多样性的丧失[J]. 海洋渔业, 2006, 28(1): 71-78.

[3] TCHANG S, CHUNG-YEN T. A revision of the genus *Margaritana* of the family Viviparidae [J]. Contributions from institute of zoology, national academy of Peiping, 1949, 5(1): 1-26.

[4] 陈元晓, 张乃光, 张闻, 等. 阳宗海螺蛳和螺蛳的核型研究[J]. 动物学研究, 1996, 17(1): 94-96.

[5] BOUCHER P, ROCROI P, FRYDA J. Classification and nomenclator of gastropod families [J]. Malacologia, 2005, 47(3): 1-97.

(下转第 33 页)

在百草枯所致急性肺损伤的病理形成过程中有着比较重要的作用. bcl-2/bax 的相互作用是诱导细胞凋亡的途径之一, 而此途径在转录水平受 NF- κ β 的调控. 进一步明确该凋亡途径作用机制并予以干预, 对于治疗百草枯中毒可能是一种新的启发.

[参考文献]

- [1] 李敬, 王岚. 川芎嗪治疗百草枯中毒急性肺损伤的疗效分析[J]. 河北医药, 2011, 33(15): 2 269 - 2 270.
- [2] ATREYA I, ATREYA R, NEURATH M F. NF- κ B in inflammatory Bowel disease [J]. J Intern Med, 2008, 263 (6): 591 - 596.
- [3] YAMAMOTO Y, GAYNOR R B. KappaB kinases: key regulators of the NF- κ B pathway [J]. Trends Biochem Sci, 2004, 29(2): 72 - 79.
- [4] KASTELAN M, MASSARI L P, BRAJAC I. The role of bcl-2 family proteins in psoriasis [J]. Lijec Vjesn, 2010, 132(1/2): 31 - 33.
- [5] SUZUKI C, ISAKA Y, SHIMIZU S. Bcl-2 protects tubular epithelial cells from ischemia reperfusion injury by inhibiting apoptosis [J]. Cell Transplant, 2008, 17(1-2): 223 - 229.
- [6] 李立萍, 张建新, 李兰芳, 等. LPS性肺损伤大鼠一氧化氮合酶表达和肺细胞凋亡变化[J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23(10): 1 996 - 2 000.
- [7] Wei X, ZHOU D, WANG H, et al. Effects of pyridine analogs of curcumin on growth, apoptosis and NF- κ β activity in prostate cancer PC-3 cells [J]. Anticancer Res, 2013, 33(4): 1 343 - 1 350.
- [8] ISHIDA Y, TAKAYASU T, KIMURA A, et al. Gene expression of cytokines and growth factors in the lung after paraquat administration in mice [J]. Le Med, 2006, 8(3): 102 - 109.
- (2014 - 12 - 03 收稿)
- (上接第 8 页码)
- [6] 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[J]. 水生态学杂志, 2008, 1(1): 106 - 108.
- [7] SCHWENDINGER P J, GIRIBET G. The systematics of the south-east asian genus fangensis rambla (Opiliones: Cyphophthalmi: Stylocellidae) [J]. Invertebrate Systematics, 2005, 19(4): 297 - 323.
- [8] MITA E S, THOMAS K K, HENRY M, et al. Molecular phylogenetic investigations of the Viviparidae (Gastropoda: Caenogastropoda) in the lakes of the rift valley area of Africa [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2009, 52(3): 797 - 805.
- [9] THOMPSON J D, HIGGINS D G, GIBSON T G, et al. Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice [J]. Nucleic Acids Res, 1994, 22(22): 4 673 - 4 680.
- [10] XIA X, XIE Z, DAMBE. Data analysis in molecular biology and evolution [J]. Journal of Heredity, 2001, 92(4): 371 - 373.
- [11] SWOFFORD D L, OLSEN P. Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) Version 4 [M]. Sunderland: Sinauer Associates, 2003: 1 - 134.
- [12] POSADA D, BUCKLEY T R. Model selection and model averaging in phylogenetics: advantages of the AIC and Bayesian approaches over likelihood ratio tests [J]. Systematic Biology, 2004, 53(5): 793 - 808.
- [13] NEVILL G. List of the Mollusca brought back by Dr. J. Anderson from Yunnan and Upper Burma, with descriptions of new species [J]. Journal of the Asiatic Society of Bengal, 1877, 46(1): 14 - 41.
- [14] 刘月英, 张文珍, 王跃先, 等. 中国经济动物志: 淡水软体动物 [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 9 - 10.
- (2015 - 01 - 16 收稿)