

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2023.01.002

警惕入侵物种盖罩大蜗牛随 进境邮寄物的传入

刘若思¹, 高 跃², 张丽杰¹, 江丽辉¹, 杨倩倩^{2*}

¹中国海关科学技术研究中心, 北京 100026; ²中国计量大学, 浙江 杭州 310018

摘要:【目的】明确北京口岸从进境邮寄物中截获的蜗牛种类, 及其分类地位、分布、潜在入侵危害性等情况。【方法】通过形态学特征和 DNA 条形码技术对截获的蜗牛样本进行物种鉴定, 并通过相关文献综合分析比较该物种与近似种的区别, 以及我国口岸检疫性蜗牛的截获情况。【结果】鉴定结果为检疫性软体动物盖罩大蜗牛, 隶属于腹足纲柄眼目大蜗牛科大蜗牛属。【结论】针对随邮寄物传入的检疫性蜗牛种类, 建议口岸在主要应用形态学进行鉴定的基础上, 利用 DNA 条形码技术进行辅助鉴定, 从而提高鉴定准确率。

关键词: 盖罩大蜗牛; 大蜗牛属; DNA 条形码; 检疫性软体动物



开放科学标识码
(OSID 码)

Precaution of a potentially invasive pest *Helix pomatia* invaded by mail

LIU Ruosi¹, GAO Yue², ZHANG Lijie¹, JIANG Lihui¹, YANG Qianqian^{2*}

¹Science and Technology Research Center of China Customs, Beijing 100026, China;

²China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China

Abstract: 【Aim】To clarify the species, classification status, distribution and potential invasion harmfulness of the snail intercepted in mail from Poland at Beijing port. 【Method】Both morphological characteristics and DNA barcoding were used to compare and identify the intercepted sample. The morphological characteristics of *Helix pomatia* were introduced, and also the similar species. The intercept situation quarantine snail in China is discussed. 【Result】The snail is identified as the quarantine pest, *Helix pomatia* Linnaeus, 1758, which belongs to class Gastropoda, order Stylommatophora, family Helicidae. 【Conclusion】The quarantine pests in mail should be paid attention by the customs departments. Our results suggested that the DNA barcoding method is effective in assisting species identification in quarantine routine.

Key words: *Helix pomatia*; *Helix*; DNA barcoding; quarantine snail

盖罩大蜗牛 *Helix pomatia* Linnaeus, 1758, 俗称法国蜗牛、葡萄蜗牛, 英文名 Burgundy snail、Roman snail、Bourgogne snail、Roman garden snail, 属软体动物门 Mollusca 腹足纲 Gastropoda 柄眼目 Stylommatophora 大蜗牛科 Helicidae 大蜗牛属 *Helix*。盖罩大蜗牛广泛分布于欧洲大部分地区, 在非洲和美洲局部地区也有分布(国家认证认可监督管理委员会, 2012c)。目前, 我国尚无分布记录。盖罩大蜗牛为杂食性, 取食各种植物及动物尸体。

近期, 北京口岸从波兰进境邮件中截获了一批活体蜗牛, 经形态学鉴定及 DNA 比对为盖罩大蜗牛。我国口岸曾多次检出散大蜗牛 *H. aspersa* Müller 及亮大蜗牛 *H. lucorum* L., 由于盖罩大蜗牛的形态学与这 2 种十分相似, 国内相关的鉴定资料较少, 容易误鉴。本文对该种进行了分子生物学与形态学方面的鉴定, 并汇总了大蜗牛属的口岸截获情况, 以期相关部门对其进行检疫鉴定和制定检疫决策提供参考依据。

收稿日期(Received): 2022-01-04 接受日期(Accepted): 2022-03-12

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFC2600601); 海关总署科研计划项目(2018IK002)

作者简介: 刘若思, 高级农艺师, 博士。研究方向: 植物昆虫检疫

* 通信作者(Corresponding author), 杨倩倩, E-mail: yqq@cjl.u.edu.cn

1 材料与方法

1.1 材料

波兰入境邮件中的 15 头活体蜗牛,均为成螺。

1.2 鉴定方法

1.2.1 形态观察方法 活体蜗牛的处理方法参照张国一和谢广龙(2021)。

对于检疫性蜗牛的形态学鉴定,国家标准和行业标准均以贝壳形态为基本鉴定依据,螺体和外生殖器官形态为辅助鉴定特征(国家认证认可监督管理委员会,2012a,2012b,2012c; 全国植物检疫标准化技术委员会,2013,2018)。

1.2.2 DNA 提取及 CO I 测序 取 2 头蜗牛,每头取蜗牛约 10 mg 腹足肌肉,使用血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 (TIANGEN, 上海) 进行基因组 DNA 的提取。每个样品分别获得 200 μL 的总 DNA 溶液,使用微量紫外分光光度仪 (NanoDrop, ND-1000) 进行浓度及纯度检测。

使用通用引物 LCO1490 (5'-GGTCAACAAAT-CATAAAGATATGG-3') 和 HCO2198 (5'-TAAACT-TCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') 扩增线粒体 CO I 基因。PCR 体系为 25 μL、TaKaRa Premix Taq 12.5 μL,上下游引物 (10 μmol · L⁻¹) 各 1 μL, DNA 模板 1 μL, ddH₂O 9.5 μL。PCR 扩增程序为:94 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 30 s, 50 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 扩增 34 个循环;72 °C 延伸 10 min 后于 4 °C 保存。PCR 反应结束后,使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳对扩增产物进行检测,选择具有单一明亮条带的扩增产物送至上海生工生物工程股份有限公司进

行双向测序。

1.2.3 序列比对及构建系统发育树 将扩增获得的序列通过 BLASTn 软件在 GenBank 序列库中进行比对;下载大蜗牛属 11 个物种的 COI 序列,使用大蜗牛科近缘种 *Cepaea hortensis* (Müll.) 作为外群,构建系统发育树。针对扩增得到的序列与从 GenBank 下载的序列,使用在 MEGAX 中内置的 ClustalW 软件进行序列多重比对,将比对得到序列两端切齐后基于 Kimura 2-parameter (K2P) 距离模型构建邻接法 (neighboring method, NJ) 系统发育树。

2 结果

2.1 形态特征及鉴定结果

本次截获的蜗牛螺壳特征与盖罩大蜗牛一致 (图 1)。

在我国口岸截获的大蜗牛属中,较多的有 3 种,分别为盖罩大蜗牛、散大蜗牛及亮大蜗牛,且三者互为近似种,形态学不易区分。因此,在关键特征上需重点加以区分。通常情况下,盖罩大蜗牛相对其他 2 种,螺壳较大 (高 38 ~ 45 mm, 宽 45 ~ 50 mm), 螺层数较多 (5 ~ 6 个), 但并不能通过这 2 个特征准确鉴定。盖罩大蜗牛区别于散大蜗牛一般在于其脐孔较小,且常被外壳唇遮盖;而散大蜗牛成螺没有脐孔。盖罩大蜗牛区别于亮大蜗牛在于壳口 U 型,向下延伸,口缘不外折;而亮大蜗牛壳口椭圆形,不向下倾斜,口缘略外折。另外,3 种蜗牛的恋矢结构上略有差异 (国家认证认可监督管理委员会,2012c)。周卫川和吴宇芬 (2002) 介绍了 3 种蜗牛的形态特征。

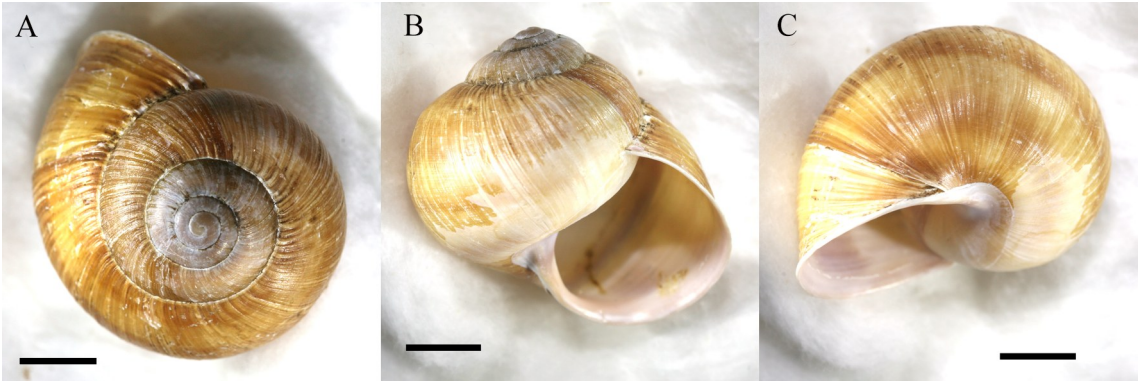


图 1 本次截获的盖罩大蜗牛螺壳

Fig.1 Shell of *H. pomatia* in this study

A: 壳顶观视图; B: 壳口观视图; C: 脐孔观视图; 标尺 = 1 cm。

A: Apical view; B: Apertural view; C: Basal view; Scale bar = 1 cm.

2.2 分子鉴定结果

将测序得到的序列在 NCBI 中进行 BLAST 对比,2 组样品均与 GenBank 中已知盖罩大蜗牛序列相似性为 100%。

在系统发育树中,外群 *Thiessa sphaerostoma* 位于 NJ 树的最下方,独自成为一支,3 条 *H. poma-*

tia (*H. pomati*-1 为样品 1,*H. pomati*-2 为样品 2) 序列聚为一支,其中,*H. pomati*-1 (样品 1) 与 NCBI 中下载的 *H. pomatia* 序列亲缘关系更近。*H. pomatia* 所在分支与 *H. schlaeflii*、*H. thessalica* 和 *H. straminea* 所在分支互为姐妹支(图 2)。

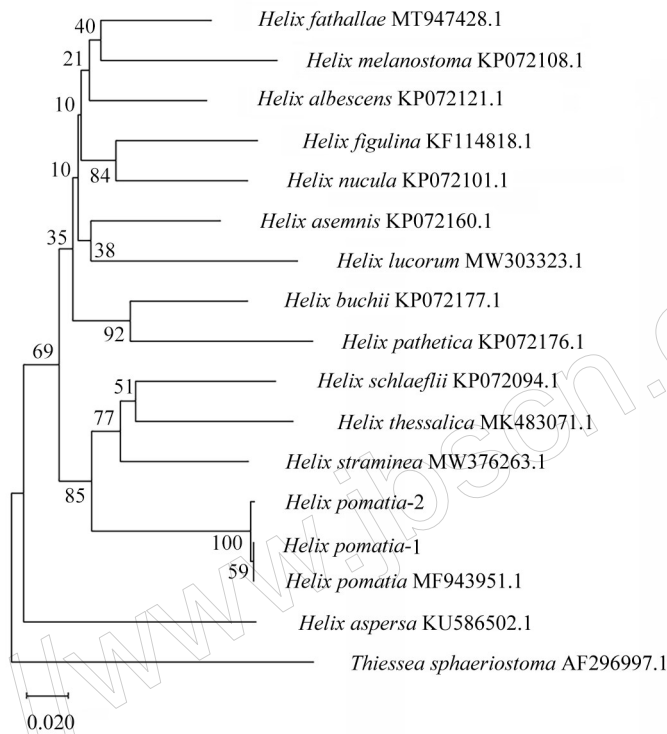


图 2 基于邻接法(NJ)构建的系统发育树

Fig.2 Phylogenetic tree based on neighboring method (NJ)

2.3 我国大蜗牛属的截获情况

大蜗牛属为起源于欧洲地中海沿岸的一类陆生蜗牛,现有 300 多个有效种,大多数具有经济意义(Korábek, 2015)。在我国口岸截获的大蜗牛属中,除上述盖罩大蜗牛、散大蜗牛、亮大蜗牛外,还截获过白果蜗牛 *H. cincta*,该种分布在地中海东部(意大利北部到黎巴嫩一带),具有 3 个地理亚种,该种也可通过贝壳形态及生殖系统特征进行鉴定,但其不同的亚种与 *H. nucula*、*H. valentini* 在分子特征上表现为并系(Psonis et al., 2014)。

3 讨论

2021 年 4 月 9 日《中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录》(中华人民共和国农业农村部/中华人民共和国海关总署, 2021)更新后,检疫性有害生物共计 446 种(属),其中软体动物共计 9 种,大蜗牛属 2 种,即为散大蜗牛和盖罩大蜗牛;其他

的检疫性软体动物还包括非洲大蜗牛 *Achatina fulica* Bowdich、硫球球壳蜗牛 *Acusta despecta* Gray、花园葱蜗牛 *Cepaea hortensis* Müller、地中海白蜗牛 *Cernuella virgata* Da Costa、玫瑰蜗牛 *Euglandina rosea* (Ferussac)、乳状耳形螺 *Otala lactea* (Müller) 和比萨茶蜗牛 *Theba pisana* Müller。近年来,在实际工作中,越来越多的软体动物被海关检疫系统截获,并通过风险分析认定为可能产生重大的潜在风险,而检疫性软体动物也由 2007 年的 6 种增至 2021 年的 9 种,这个增幅在所有类群(昆虫、线虫、真菌、细菌、病毒等)中最大。

本次截获的盖罩大蜗牛为进境邮件中截获。近些年来,海关系统从进境邮件中还截获过大量活体昆虫、蜘蛛、鼠妇、蜈蚣等节肢动物,均是国内玩家在网上海淘的新型宠物。随着 2021 年 4 月 15 日《生物安全法》的正式实施,以及 2021 年 10 月 20 日《中华人民共和国禁止携带、寄递进境的动植物

及其产品和其他检疫物名录》的发布,生物安全尤其是对外来物种的防范已经被提升到国家高度。作为国内没有分布的物种,其入侵后可能占据本地生态位,改变本地农业生态平衡,其影响不可预估。如非洲大蜗牛因其贝壳具有美丽的玛瑙状花纹,被儿童作为宠物从美国夏威夷岛带到美国本土佛罗里达,从而传入该州,给当地农作物造成了重大的经济损失,当地政府不得不通过出巨资收购的办法来控制非洲大蜗牛,且祸延至今,难以根绝(周卫川,2002)。

本文应用分子序列成功鉴别了盖罩大蜗牛。多年来,由于软体动物鉴定专业人才的匮乏,形态学鉴定资料也较匮乏,导致各口岸截获的软体动物样品很难鉴定到具体种类,特别是在贝壳形态不易确认的情况下,没有软体动物形态学鉴定背景的检疫人员很难独立解剖出完整的生殖系统,从而进一步通过组织解剖学进行确认。文中截获样品与散大蜗牛在形态特征上较为相似,不易区分,通过测定样品的 CO I 基因片段序列,经比对分析,发现与近似种散大蜗牛、亮大蜗牛在分子序列上存在较大差异,通过构建系统发育树显示该虫应该为盖罩大蜗牛。因此,笔者建议针对该类群蜗牛主要应用形态学进行鉴定的基础上,利用 DNA 条形码技术进行比对辅助鉴定,从而提高鉴定准确率。

参考文献

国家认证认可监督管理委员会,2012a. 比萨茶蜗牛检疫鉴定

方法: SN/T 3045-2012. 北京: 中国标准出版社.
国家认证认可监督管理委员会,2012b. 散大蜗牛检疫鉴定方法: SN/T 3171-2012. 北京: 中国标准出版社.
国家认证认可监督管理委员会,2012c. 盖罩大蜗牛检疫鉴定方法: SN/T 3641-2012. 北京: 中国标准出版社.
全国植物检疫标准化技术委员会,2013. 非洲大蜗牛检疫鉴定方法: GB/T 29576-2013. 北京: 中国标准出版社.
全国植物检疫标准化技术委员会,2018. 蠕虫尹氏蜗牛检疫鉴定方法: GB/T 36825-2018. 北京: 中国标准出版社.
张国一, 谢广龙,2021. 陆生贝类形态学研究方法. Bio-101; e1010631. DOI: 10.21769/Bio Protoc.1010631.
周卫川, 吴宇芬,2002. *Helix* 属几种重要有害蜗牛. 植物检疫, 16(4): 222-223.
周卫川,2002. 非洲大蜗牛及其检疫. 北京: 中国农业出版社.
中华人民共和国农业农村部/中华人民共和国海关总署,2021. 农业农村部 海关总署公告第 413 号. (2021-04-09) [2021-12-23]. http://www.moa.gov.cn/govpublic/ZZYGLS/202104/t20210416_6366027.htm.
KORABEK O, PETRUSEK A, NEUBERT E, JURICKOVA L,2015. Molecular phylogeny of the genus *Helix* (Pulmonata: Helicidae). *Zoologica Scripta*, 44(3): 263-280.
PSONIS N, VARDINOYANNIS K, MYLONAS M, POULAKAKIS N,2014. Evaluation of the taxonomy of *Helix cincta* (Müller, 1774) and *Helix nucula* (Mousson, 1854); insights using mitochondrial DNA sequence data. *Journal of Natural History*, 49(5/6/7/8): 383-392.

(责任编辑:郭莹)