

杨吕娟,张子俊,张卫红. 新疆农牧区拟蛹螺属 2 种蜗牛形态特征和分子数据的比较研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(4):121-126.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.04.020

新疆农牧区拟蛹螺属 2 种蜗牛形态特征 和分子数据的比较研究

杨吕娟, 张子俊, 张卫红

(新疆大学生命科学与技术学院,新疆乌鲁木齐 830046)

摘要:拟蛹螺属(*Pseudonapaeus*)种类多为农牧业的害虫,不仅危害各种蔬菜、花卉,其中某些种类还是家畜、家禽双腔科吸虫的中间宿主。本研究主要探究该属形态相似 2 种蜗牛的形态解剖学和分子生物学特征,确定它们分类,为该类动物的防治和系统分类学研究提供数据基础。形态结果显示,2 种蜗牛的生境,贝壳质地、大小和颜色,齿舌以及颚片的形态结构相似;但贝壳形状、壳口齿数、生殖系统的解剖特征等存在显著差异。其中,一种为钻拟蛹螺 *Pseudonapaeus miser*(Martens,1874),另一种为新种,即吐尔根拟蛹螺 *Pseudonapaeus tuegenensis* sp. nov.。分子结果显示:(1)基于 *COI* 基因序列(651 bp)构建的系统发育树中,新种和钻拟蛹螺以高支持率(后验概率 96%)形成一个单系(支系 A),显示二者有密切的亲缘关系,但是钻拟蛹螺 3 个个体以高支持率(后验概率 100%)聚为一支,与新种产生分歧;(2)基于 *ITS1* 基因序列(610 bp),新种与钻拟蛹螺之间的遗传距离为 13.7%(12.5%~15.1%)(与本属其他种间的遗传距离更大),显著高于种内遗传距离 2.5%(1.3%~3.5%)。结合 *COI* 基因系统发育树的结果,支持二者为不同种。分子分析的结果支持比较形态学的结果,确定吐尔根拟蛹螺 *P. tuegenensis* sp. nov. 不同于钻拟蛹螺 *P. miser*(Martens,1874)为一新种,利用分子系统学方法研究该属的分类问题在国内为首次。

关键词:拟蛹螺属;形态解剖;*COI* 基因;*ITS1*;新种;新疆

中图分类号:S433.89

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2020)04-0121-06

拟蛹螺属(*Pseudonapaeus*)由 Westerlund 于 1887 年建立,隶属于腹足纲(Gastropoda)柄眼目(Stylommatophora)艾纳螺科(Enidae)。该属的多数种类是农业和畜牧业的害虫,常危害各种蔬菜、花卉的幼芽、嫩叶等,其中某些种类为家畜、家禽及野生动物双腔科吸虫的中间宿主^[1-2]。陈德牛等报道双腔吸虫病在新疆牧区广为流行,大大影响家畜的体膘和产毛量,甚至引起牲畜死亡,其中间宿主为

某些陆生螺类(包括艾纳螺科的一些种类)^[3]。

拟蛹螺属地理分布较窄,主要分布于中亚以及印度半岛西北部,现记载有 40 余种^[4]。我国对该属的研究相对不足,到目前为止仅报道一种,即钻拟蛹螺 *P. miser*(Martens,1874)。该种在国外分布于塔吉克斯坦、哈萨克斯坦、吉尔吉斯斯坦、俄罗斯、土耳其等地区,在我国仅在新疆阿勒泰、木垒、库勒勒、乌什、阿克苏及天山一带农田和牧区有分布^[5-8]。本研究采用比较形态解剖学和分子分析的方法,对采自新疆伊犁贝壳相似的拟蛹螺属 2 种蜗牛的贝壳形态,齿舌、颚片的电镜扫描结构,生殖系统的解剖特征,线粒体基因(*COI*)以及核基因(*ITS1*)的 DNA 序列进行详尽的比较研究,确定它们的分类,其中一种为钻拟蛹螺 *P. miser*,另一种为新

收稿日期:2018-11-17

基金项目:国家自然科学基金(编号:31260506)。

作者简介:杨吕娟(1992—),女,四川遂宁人,硕士,主要从事贝类学研究。E-mail:YLJ687592@163.com。

通信作者:张卫红,硕士,副教授,主要从事贝类学研究。E-mail:zwh6879a@163.com。

[8]顾春波,史晓斌,姜莉莉,等. 草莓枯萎病菌对多菌灵的抗性及其抗性菌株生物学特性[J]. 植物保护学报,2010,37(3):266-272.

[9]陈宏州,庄义庆,杨敬辉. 黄麻链霉菌 NF0919 菌株对草莓枯萎病的生防活性初探[J]. 江西农业学报,2014,26(11):54-57.

[10]杨焕青,王开运,范 昆,等. 草莓枯萎病菌的生物学特性及 7 种杀菌剂对其抑制作用[J]. 植物保护学报,2008,35(2):

169-174.

[11]裴龙飞,朱发娣,柴阿丽,等. 中国华北地区瓜类尖孢镰刀菌对咪鲜胺的敏感性抗药突变株生物学性状研究[J]. 农药学报,2016,18(5):575-581.

[12]林才华,王开运,顾春波,等. 山东省草莓枯萎病菌对四种三唑类杀菌剂的敏感性检测[J]. 植物保护学报,2009,36(1):55-60.

种吐尔根拟蛹螺 *P. tuegenensis* sp. nov.。本研究首次应用比较形态解剖学和分子序列分析的方法探讨该属的分类问题,研究结果可以促进我国陆生贝类系统分类学的研究,也可为该类动物的防治提供数据基础。

1 材料与方法

1.1 样本

钻拟蛹螺 *P. miser* (Martens, 1874) 6 只标本 (XJU E. 13031) 于 2013 年 8 月 12 日,采自新疆伊宁县多浪农场 3 队 (81° 38' E, 43° 46' N, 海拔 721 m), 采集人为张卫红; 53 只标本 (XJU E. 13003) 于 2015 年 4 月 17 日,采自新疆新源县铁木

里克村 (83°08'E, 43°33'N, 海拔 887 m), 采集人为杨松 (新种采集信息见新种描述)。标本处理参考陈德牛等的方法^[9], 保存于无水乙醇中。Orculidae 科与艾纳螺科 (Enidae) 亲缘关系较近^[10], 故在 NCBI 数据库中选取 Orculidae 科 2 个种: *Schileykula trapezensis* (Stojaspal, 1981)、*Sphyradium doliolum* (Bruguiere, 1792) 的 *COI* 基因序列作为外群用于系统发育关系分析, 并选取数据库中拟蛹螺属所有种类的 *ITS1* 基因共 4 条序列以及艾纳螺科相关种类 *COI* 基因共 7 条序列用于参考分析 (NCBI 数据库中仅有拟蛹螺属部分种类 *ITS1* 的基因序列, 没有该属种类 *COI* 基因的序列) (表 1)。

表 1 本研究所用物种基因序列的 GenBank 登录号

物种名	<i>COI</i> 登录号	物种名	<i>ITS1</i> 登录号
<i>Sphyradium doliolum</i>	KY512678	<i>P. miser</i> 1	MK131271
<i>Schileykula trapezensis</i>	KY512676	<i>P. miser</i> 2	MK131272
<i>Bulimulus guadalupensis</i> (Bruguiere, 1789)	KP117243	<i>P. miser</i> 3	MK131276
<i>B. sporadicus</i> (Orbigny, 1835)	JF514632	<i>P. tuegenensis</i> sp. nov. 1	MK131273
<i>Chondrula tridens</i> (Rossmassler, 1835)	KX463466	<i>P. tuegenensis</i> sp. nov. 2	MK131275
<i>Jaminia quadridens</i> (Muller, 1774)	LT549607	<i>P. tuegenensis</i> sp. nov. 3	MK131274
<i>Ena montana</i> (Draparnaud, 1801)	KY512649	<i>P. sogdianus</i> (Martens, 1874)	MF398495
<i>P. miser</i>	MK138524	<i>P. sp.</i> AEK - 2017	MF398538
<i>P. tuegenensis</i> sp. nov.	MK138523	<i>P. maydanica</i>	MF398491
		<i>P. albiplicatus</i> (Martens, 1874)	MF398497

1.2 形态测量与比较

用游标卡尺 (锡工牌 0 ~ 150 mm) 对 2 种各 14 只成体螺进行了测量。螺层数的计算采用 Kerney 等描述的方法^[11]。贝壳照片用 Nikon SMZ25 数码体式显微镜拍摄。在 Olympus SZ2 - ILST 解剖镜下对 2 种各 3 只成体螺进行软体解剖^[12] 及齿舌、颚片电镜样品制备^[13-14]。生殖系统解剖图参考 iphone 手机拍摄的照片手绘完成。齿舌、颚片用 LEO143OVT 电子扫描显微镜扫描拍照。标本保存于新疆大学生命科学与技术学院。

1.3 分子分析

每种各 3 只标本, 分别取腹足肌肉约 30 mg, 采用血液/细胞/组织基因组提取试剂盒 (TIANGEN, 北京) 提取基因组 DNA。线粒体 *COI* 基因 PCR 扩增引物参照文献^[15]: LCO1490 (5' - GGTCAACAAA TCATAAAGATATTG - 3'), HCO2198 (5' - TAAACTT CAGGGTGACCAAAAAATCA - 3'); 核基因内部转录间隔区 *ITS1* 基因 PCR 扩增引物参照文献^[16]: ITS1L (5' - TCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGAT -

3'), 58C (5' - TGC GTTCAAGATATCGATGTTCAA - 3'), 引物由北京华大基因公司合成。PCR 反应体系为 20.0 μL, 其中包括 2 × *Taq* PCR Master Mix 10.0 μL、7.0 μL ddH₂O、正反向引物各 0.5 μL、DNA 模板 2.0 μL。PCR 扩增反应条件: 94 °C 预变性 1 min; 94 °C 变性 30 s, 45 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 运行 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min。通过 MEGA 5.0 进行序列比对和编辑^[17], 基于 Kimura - 2 - parameter (K2P) 模型进行遗传距离分析, 采用邻接法 (NJ) 构建分子系统树, 利用 Sequin 软件将序列上传至 NCBI 数据库中。

2 结果与分析

2.1 钻拟蛹螺 *Pseudonapaeus miser* (Martens, 1874) (图 1, 图 2 - a)

Buliminus miser Martens, 1874: 21 - 22, fig. 17.

Pseudonapaeus miser (Martens, 1874) Schileyko, 1952: 204, fig. 117.

Pseudonapaeus miser (Martens, 1874) 陈德牛,

1987:56, fig. 67.

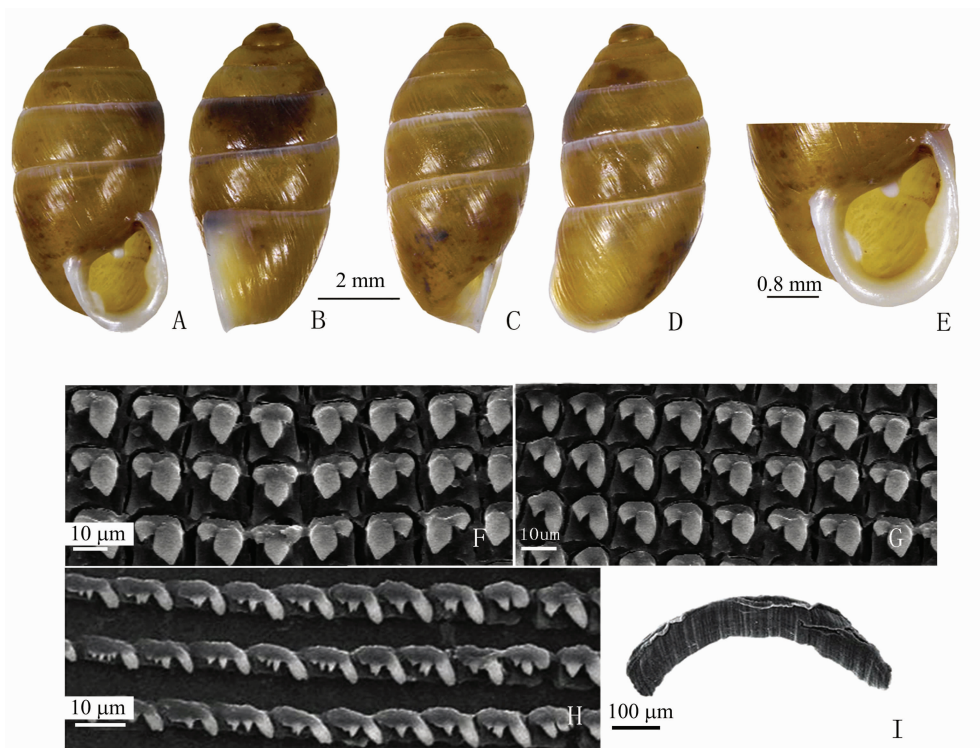
Pseudonapaeus miser (Martens, 1874) Sysoev, 2009:68–69, fig. 291.

Pseudonapaeus miser (Martens, 1874) 钱周兴, 2013:56.

2.1.1 形态特征 贝壳:贝壳小型,壳质厚,坚实,不透明,呈蛹形。有 5.1~6.0 个螺层。壳高 7.78~10.92 mm[(9.26±0.36) mm],壳宽 3.34~4.72 mm[(4.10±0.36) mm],壳口高 2.76~4.12 mm[(3.47±0.31) mm],壳口宽 2.14~3.34 mm[(2.74±0.32) mm]。壳面黄棕色或浅黄

棕色、光滑、有光泽,具有不均匀分布的稀疏生长线和螺纹特点,壳顶钝、缝合线深,壳口呈椭圆形、口缘外折、脐孔狭小,呈缝隙状。壳口具 3 齿,为轴唇齿、腔壁齿、腭壁齿(图 1-A 至图 1-E)。

齿舌:角质,长带状,其上具 100~102 行齿,齿式为(12~13):(10~11):1:(10~11):(12~13)。中央齿三锥型、主锥尖、呈菱形,明显长于基板(图 1-F)。侧齿双锥型,主锥和外锥均比中央齿的大(图 1-G)。缘齿双锥型,靠近外侧的缘齿外锥常分裂为 2~4 枚小齿(图 1-H)。颚片小、几丁质、半月形、棕色,具明显的纵行肋纹(图 1-I)。



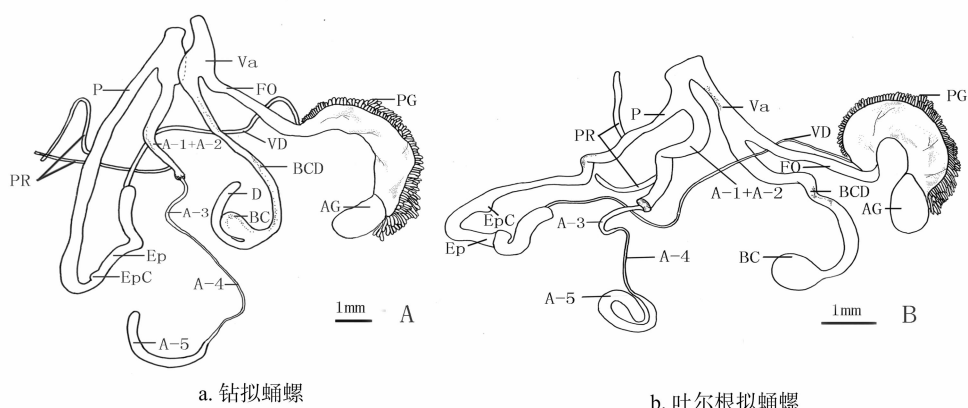
A—贝壳正侧面观; B—贝壳右侧面观; C—贝壳左侧面观; D—贝壳背侧面观; E—壳口放大;
F—中央齿及侧齿; G—侧齿; H—边缘齿; I—颚片

图1 钻拟蛹螺形态特征

生殖系统:阴茎圆柱状,较长,阴茎基背板中等长度,鞭状器退化几乎阙如,具盲突、阴茎附属器官各部分(A-1+A-2、A-3、A-4、A-5)均有发育。阴道短,阴道与游离输卵管长度比为1:3。受精囊管长,受精囊无柄,少数质地较薄,受精囊管分支盲囊不膨大(图2-A)。

栖息环境:钻拟蛹螺生活在山区、丘陵地带灌木丛以及农田附近潮湿的草丛中,石块或落叶下,有时也躲在石缝里。本研究的标本采自海拔为700~900 m天然草场的草丛中。

2.1.2 分类学比较 本研究的标本贝壳形态及大小与文献中对钻拟蛹螺 *P. miser* (Martens, 1874) 的描述^[4-7,18] 总体一致。但陈德牛等^[5] 和钱周兴等^[7] 描述的该种标本贝壳呈角褐色,与本研究的标本略有差异;钱周兴等描述的标本壳口具2枚齿^[7],与本研究的标本存在差异。本研究的标本贝壳形态与部分文献中的描述略有差异,但是与模式标本的描述总体一致,并且陆生贝类同种不同种群、不同个体间贝壳形态会存在一定的变化^[19],综合分析本研究的标本为钻拟蛹螺。



a. 钻拟蛹螺 b. 吐尔根拟蛹螺
A—阴茎附属器官; Va—阴道; VD—输精管; FO—游离输卵管; BCD—受精囊管; D—受精囊管分支盲囊;
BC—受精囊; AG—蛋白腺; Ep—阴茎基背板; EpC—盲突; P—阴茎; PG—前列腺; PR—阴茎牵引肌

图2 生殖系统

2.2 吐尔根拟蛹螺

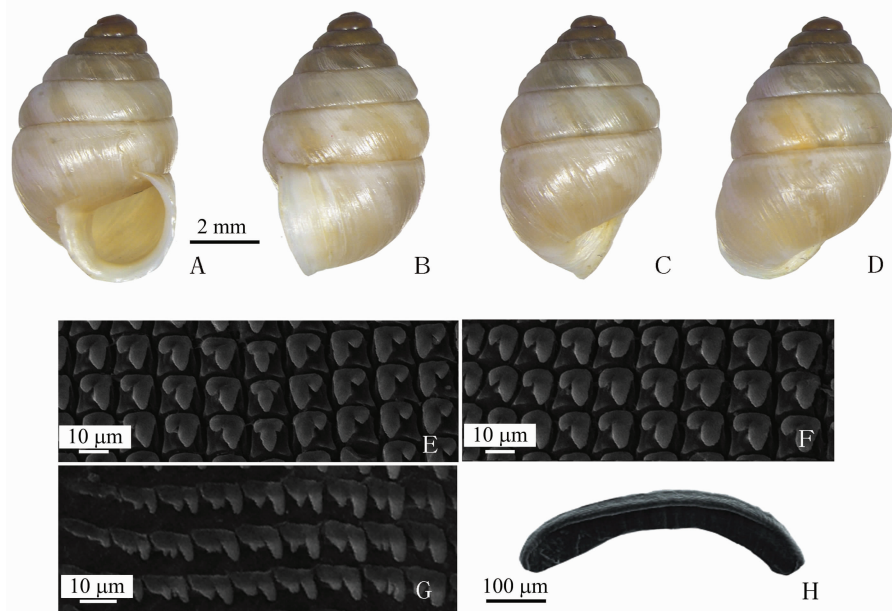
新种 *Pseudonapaeus tuergenensis* sp. nov. (图2-B、图3), 正模标本: 壳高 9.42 mm, 壳宽 4.48 mm, 壳口高 3.52 mm, 壳口宽 3.38 mm。2015 年 4 月 21 日采自新疆伊犁新源县吐尔根农场 (83°20'E, 43°32'N, 海拔 911 m), 1 只 (XJU E. 13001), 采集人杨松。

副模标本: 壳高 9.42 ~ 11.12 mm [(10.14 ± 0.62) mm], 壳宽 4.48 ~ 5.9 mm [(5.10 ± 0.40) mm], 壳口高 3.52 ~ 4.60 mm [(4.06 ± 0.30) mm], 壳口宽 3.38 ~ 4.00 mm [(3.70 ± 0.23) mm], 43 只 (XJU E. 13002), 采集信息同正模。

2.2.1 形态特征 贝壳: 贝壳小型、壳质厚、坚实、

不透明、呈塔形。有 6.1 ~ 7.0 个螺层, 倒数第一、二螺层呈不均匀的灰白色或黄灰色, 其余螺层呈浅棕色。壳面有光泽, 具不均匀分布的稀疏生长线和螺旋纹; 壳顶钝; 缝合线深; 壳口呈椭圆形, 口缘向外扩大。脐孔狭小, 呈缝隙状 (图3-A 至图3-D)。

齿舌: 角质, 长带状, 其上具 90 ~ 92 行齿, 齿式为 (12 ~ 13) : (9 ~ 10) : 1 : (9 ~ 10) : (12 ~ 13)。中央齿三锥型, 主锥尖、呈菱形、略长于基板 (图3-E)。侧齿双锥型, 主锥和外锥均比中央齿的大 (图3-F)。缘齿双锥型, 靠近外侧的缘齿外锥常分裂为 2 ~ 4 枚小齿 (图3-G)。颚片: 小, 几丁质, 半月形, 棕色, 具纵行肋纹 (图3-H)。



A—贝壳正侧面观; B—贝壳右侧面观; C—贝壳左侧面观; D—贝壳背侧面观; E—中央齿及侧齿;
F—侧齿; G—边缘齿; H—颚片

图3 吐尔根拟蛹螺形态特征

生殖系统:阴茎圆柱状,较短,阴茎基背板中等长度,鞭状器退化几乎阙如,具盲突。阴茎附属器官(A-1+A-2、A-3、A-4、A-5)均有发育。阴道长,阴道与游离输卵管长度比为1:1.6。受精囊管中等长度,受精囊中等大小,椭球形,受精囊管无分支盲囊(图2-B)。

2.2.2 分类学比较 吐尔根拟蛹螺 *P. tuergenensis* sp. nov. 与新种钻拟蛹螺 *P. miser* (Martens, 1874) 均分布于新疆伊犁,它们的生境,贝壳质地、大小和颜色及齿舌和颚片的形态结构相似。但钻拟蛹螺贝壳较小,呈蛹形,壳口具3枚齿,阴茎较长,阴道较短,受精囊管有分支盲囊。新种贝壳较大,呈塔形,壳口无齿,阴茎较短,阴道较长,受精囊管无分支盲囊,与前者差异明显^[4,6-7]。

P. submucronatus (Lindholm, 1927) 分布于吉尔吉斯斯坦天山山脉,其贝壳呈塔形、壳口无齿,形态与新种相似。但 *P. submucronatus* 贝壳较大(壳高13~17 mm,壳宽7~9 mm),阴茎较长,鞭状器明显,阴道长(阴道与游离输卵管长度比为3:1),受精囊管有分支盲囊,与新种差异明显^[18]。由于缺少 *P. submucronatus* 的分子系统学数据,对于2种的比较有待进一步研究。

2.3 分子系统学分析

共测得10条基因序列,其中 *ITS1* 基因序列6条(钻拟蛹螺、吐尔根拟蛹螺各3条),有效长度为610 bp; *COI* 基因序列4条(钻拟蛹螺3条、吐尔根拟蛹螺1条),有效长度为651 bp,其中3条钻拟蛹螺 *COI* 基因共享一个单倍型。8条序列上传至 GenBank (MK131271 ~ MK131276、MK138523 ~ MK138524)。

基于 *COI* 基因序列构建的系统发育树结果(图4)显示,新种和钻拟蛹螺以高支持率(后验概率96%)与其他各属种分开,形成一个单系(支系A),显示二者有密切的亲缘关系;但钻拟蛹螺3个个体以高支持率(后验概率100%)聚为一支,与新种产生分异。基于 *ITS1* 基因序列遗传距离的结果(表2)显示,新种与钻拟蛹螺之间的遗传距离为13.7% (12.5% ~ 15.1%),显著高于种内遗传距离(吐尔根拟蛹螺种内遗传距离为2.5% (1.3% ~ 3.5%),钻拟蛹螺的种内遗传距离为1.4% (1.2% ~ 1.5%) 且无重叠,显示二者之间的遗传分异已达到种的水平,为不同种。结合比较形态学的结果,进一步确定吐尔根拟蛹螺为一新种。

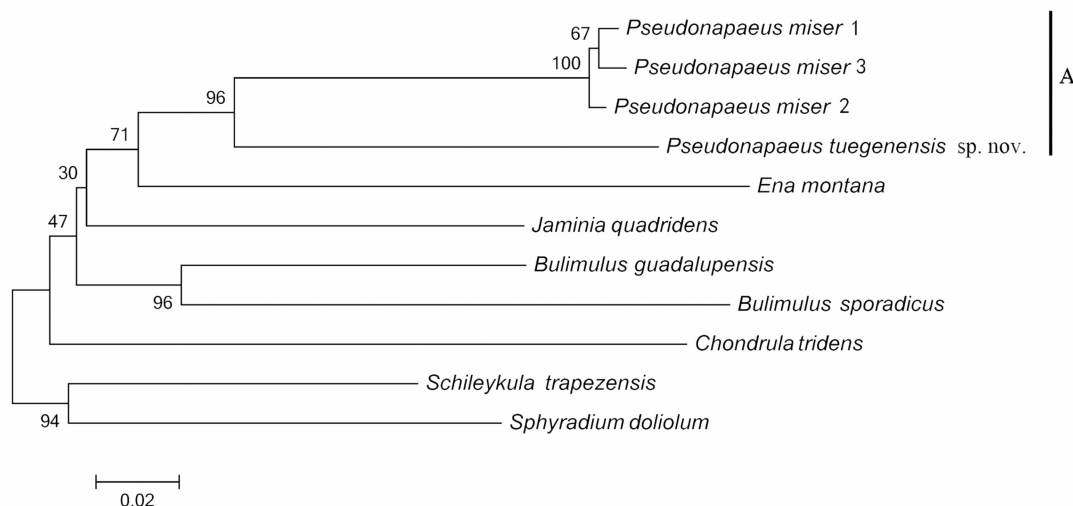


图4 基于 *COI* 基因 651 bp 序列构建的 NJ 系统树

3 结论与讨论

Martens 1874 年建立 *P. miser* 时将其归为 *Buliminus* 属,后 Schileyko (1952, 1998) 基于生殖系统的特征将其移入 *Pseudonapaeus* 属(*Pseudonapaeus* 属鞭状器退化几乎阙如、阴茎基背板具盲突、阴茎末端无膨大现象;而 *Buliminus* 属鞭状器长、阴茎基

背板无盲突、阴茎末端膨大)。依据线粒体 *COI* 基因序列构建的艾纳螺科 7 属 9 种间的系统发育树显示,本研究中 *P. miser* 和新种以高支持率(后验概率96%)形成支系 A,与 *Buliminus* 属 2 种形成的分支明显分开,该结果支持 *P. miser* 不应隶属于 *Buliminus* 属。钻拟蛹螺在我国仅分布于新疆,该种的内部解剖结构和分子序列过去未见报道,本研究

表 2 基于 *ITS1* 610 bp 序列的艾纳螺物种间 *P* - distance 遗传距离

序号	物种名	遗传距离								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	<i>P. miser</i> 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	<i>P. miser</i> 2	0.015	—	—	—	—	—	—	—	—
3	<i>P. miser</i> 3	0.015	0.012	—	—	—	—	—	—	—
4	<i>P. tuergenensis</i> sp. nov. 1	0.135	0.125	0.134	—	—	—	—	—	—
5	<i>P. tuergenensis</i> sp. nov. 2	0.149	0.143	0.151	0.027	—	—	—	—	—
6	<i>P. tuergenensis</i> sp. nov. 3	0.136	0.129	0.136	0.013	0.035	—	—	—	—
7	<i>P. sogdianus</i>	0.569	0.563	0.565	0.564	0.566	0.563	—	—	—
8	<i>P. albiplicatus</i>	0.298	0.292	0.293	0.329	0.347	0.325	0.525	—	—
9	<i>P.</i> sp. AEK - 2017	0.427	0.418	0.421	0.440	0.449	0.437	0.531	0.247	—
10	<i>P. maydanica</i>	0.354	0.348	0.352	0.375	0.377	0.375	0.557	0.370	0.483

首次对钻拟蛹螺生殖系统以及齿舌、颚片的形态结构进行了描述并对其线粒体基因 (*COI*) 和核基因 (*ITS1*) 的 DNA 序列进行了报道,为该种的准确鉴定提供了更详尽的数据依据。

拟蛹螺属目前在我国仅有本研究报道的 2 种。该属分子数据贫乏,NCBI 数据库中仅有该属 4 种 4 条 *ITS1* 基因序列数据,关于这 2 个种的系统发育位置有待后续研究。由于我国对该属缺乏系统的研究,该类群对新疆农牧区的危害情况尚属未知。本研究结果为进一步研究该类群的分类学、生物学、生态学和害虫防治提供了数据基础。

参考文献:

[1] 陈德牛, 高家祥. 中国经济动物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1987.

[2] 陈德牛, 高家祥. 蜗牛及其利用 [M]. 兰州: 甘肃人民出版社, 1982.

[3] 陈德牛, 高家祥. 新疆陆生螺类调查及药物灭螺试验 [J]. 新疆农业科学, 1980 (3): 35 - 38.

[4] Schileyko A A. Treatise on recent terrestrial pulmonate molluscs. Part 2. Gastrocoptidae, Hypselostomatidae, Vertiginidae, Truncatellinidae, Pachnodidae, Enidae, Sagdidae. Ruthenica (supplement 2) [M]. Moscow: Ruthenica, 1998b: 127 - 261.

[5] 陈德牛, 高家祥. 新疆部分地区陆生软体动物的初步调查 [J]. 四川动物, 1987, 6 (2): 20 - 23.

[6] Sysoev A V, Schileyko A A. Land snails and slugs of Russia and Adjacent countries [M]. Moscow: Pensoft, 2009: 66 - 72.

[7] 钱周兴, 周卫川. 中国常见陆生贝类图鉴 [M]. 杭州: 浙江人民

美术出版社, 2013.

[8] 张卫红, 钱周兴, 郭云海, 等. 新疆陆生贝类区系及动物地理学分析 [J]. 干旱区研究, 2009, 26 (2): 238 - 242.

[9] 陈德牛, 高家祥. 陆生贝类标本的采集、保存及外生殖器、齿舌、颚片的制作方法 [J]. 生物学通报, 1981 (6): 58 - 59.

[10] Wade C M M P, Clarke B. A phylogeny of the land snails (Gastropoda: Pulmonata) [J]. The royal society, 2001, 268 (1465): 413 - 422.

[11] Kerney M P, Cameron R. A field guide to the land snail of Britain and North - West Europe [M]. London: Collins, 1979: 24 - 288.

[12] 张卫红, 刘爱玲, 陈少丹, 等. 蜗牛的解剖 [J]. 生物学通报, 2010, 45 (3): 45 - 46.

[13] 郭阳阳, 谢敏, 钟小婷, 等. 陆生贝类齿舌、颚片电镜样品的制备方法 [J]. 四川动物, 2015, 34 (5): 725 - 728.

[14] 欧阳珊, 吴小平, 舒凤月. 小型腹足类齿舌的扫描电镜观察 [J]. 动物学杂志, 2001, 36 (5): 2 - 3.

[15] Folmer O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3 (5): 294 - 299.

[16] Georg F J, Coline H M, Edmund G. Conserved sequence patterns in non - coding ribosomal ITS1 of distantly related snail taxa [J]. J Moll Stud, 2000 (66): 570 - 573.

[17] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28 (10): 2731 - 2739.

[18] Liharev I M, Rammelmier I C. Land snails of the Soviet union [M]. Moscow: Moscow Soviet Academy of Sciences, 1952: 203 - 206.

[19] Patterson C M. Taxonomic studies of the land snail family Succineidae [J]. Malacological Review, 1971 (4): 131 - 135.