

日本血吸虫中间宿主钉螺的 种群遗传变异研究*

江苏省寄生虫病防治研究所 (无锡 214064) 周晓农

泰国玛希伦大学 E. S. Upatham R. Kaewjam

提要 以采自中国湖北、江苏、四川省三地现场钉螺和饲养在泰国玛希伦大学实验室的菲律宾钉螺为研究种群,用水平淀粉凝胶电泳方法研究各种群间的遗传变异。实验共观察 7 个酶中的 14 个等位点,并以杂合子、多态位点百分比和每位点平均等位基因数衡量遗传变异,结果表明中国大陆钉螺种群的变异程度较高。湖北省钉螺与菲律宾钉螺间的遗传距离最大,为 0.44,湖北省与江苏省钉螺间遗传距离最小,为 0.03。以 UPGMA 相似性聚类分析而构建的分支图谱显示中国大陆钉螺存在多亚种。

关键词 钉螺 遗传变异

湖北钉螺(*Oncomelania hupensis*)在日本血吸虫病传播中起着特殊作用。以往实验显示不同种群钉螺对不同地理株的日本血吸虫易感性有所不同^[1]。由于寄生虫与螺宿主一起进化,螺宿主必然在某些生物学上有所不同。因此在血吸虫病传播动力学及钉螺分类学中,鉴定不同种群钉螺显得尤为重要。最近的电泳证据提示湖北钉螺夸氏亚种和指名亚种间有特殊地位^[2]。本实验旨在为大陆钉螺分类提供遗传学证据。

材料和方法

钉螺分别采自湖北省潜江、江苏省南京的江湖滩,四川省大邑的山区现场,并取自泰国玛希伦大学螺类中心实验室的菲律宾钉螺(夸氏钉螺)。钉螺经匀浆后行水平淀粉凝胶

电泳,然后以酶促偶联染色(浸染法)进行特殊酶染色^[3]。共观察了 7 种酶,它们为 α -甘油磷酸脱氢酶(α -GPDH)、磷酸葡萄糖异构酶(PGI)、脂酶(EST)、磷酸葡萄糖变位酶(PGM)、酸性磷酸酶(ACPH)、黄嘌呤脱氢酶(XDH)、 β -羟丁酸脱氢酶(β -HBDH)。等位点与等位基因按电泳图谱正极迁移率比较分析。计算等位基因频率、各等位点的平均等位基因数、多态等位基因位点的百分比和平均杂合子数^[4]。卡方检验用于检验等位基因频率与 Hardy-Weinberg 预测值以示自由交配种群^[3]。Nei 氏(1978)非偏差遗传距离系数和 Roger 氏(1972)遗传相似系数根据各基因频率进行计算^[4,5],并用 UPGMA 聚类分析方法绘画酶系分枝图谱^[3]。

表 2 4 个种群钉螺 14 个位点的遗传变异(括号内为标准误)

种群	各位点平均	各位点平均	多态位点的 百分比	平均杂合子			
	样本数	等位基因		各等位点	H-W 方程	χ^2	P 值
四川省	9.64	1.471	41.18	0.0979	0.1605	1.3700	>0.05
	(3.50)	(0.62)		(0.1757)	(0.2120)		
菲律宾	9.64	1.176	17.65	0.0266	0.0636	1.3072	>0.05
	(3.50)	(0.39)		(0.0756)	(0.1503)		
江苏省	12.12	1.588	47.06	0.0911	0.1805	1.6384	>0.05
	(4.43)	(0.71)		(0.1414)	(0.2192)		
湖北省	12.12	1.647	47.06	0.1028	0.1931	1.6008	>0.05
	(4.43)	(0.79)		(0.1630)	(0.2200)		

* 本文得到联合国开发署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训规划处的资助

结 果

4 个种群钉螺 14 个等位基因酶带频率见表 1。7 种多态等位基因位点分别为 Pgi-2,

表 1 4 个种群钉螺 14 个等位点的

等位基因频率

等位点/等位基因	四川省	菲律宾	江苏省	湖北省
α -Gpdh	(11)	(11)	(11)	(11)
0.25	1.00	1.00	1.00	1.00
Pgi-1	(3)	(3)	(3)	(3)
0.40	1.00	1.00	1.00	1.00
Pgi-2	(6)	(6)	(12)	(12)
0.25	0.75	0.75	0.75	0.708
0.18	0.25	0	0.125	0.125
0.14	0	0.25	0.125	0.167
Est-1	(11)	(11)	(14)	(14)
0.95	1.00	1.00	1.00	1.00
Est-2	(11)	(11)	(14)	(14)
0.85	1.00	1.00	1.00	1.00
Est-3	(11)	(11)	(14)	(14)
0.78	0.55	1.00	0.11	0
0.68	0.32	0	0.78	0.75
0.60	0.13	0	0	0.11
0.56	0	0	0.11	0.14
Est-4	(11)	(11)	(14)	(14)
0.48	0.32	0.55	0.36	0.61
0.43	0.68	0.45	0.64	0.39
Est-5	(11)	(11)	(14)	(14)
0.34	0.73	0	0.71	0.65
0.31	0.27	1.00	0.29	0.35
Est-6	(11)	(11)	(14)	(14)
0.25	1.00	1.00	1.00	1.00
Pgm-1	(14)	(14)	(20)	(20)
0.52	0.89	1.00	0.50	0.475
0.45	0.11	0	0.50	0.525
Pgm-2	(12)	(12)	(15)	(15)
0.13	0.83	1.00	0.47	0.03
0.09	0.17	0	0.53	0.97
Acph	(17)	(17)	(20)	(20)
0.46	0	0.88	0	0.075
0.40	1.00	0.12	0.975	0.80
0.30	0	0	0.025	0.125
Xdh	(4)	(4)	(4)	(4)
0.25	1.00	1.00	1.00	1.00
Hbdh-2	(8)	(8)	(8)	(8)
0.43	1.00	1.00	1.00	1.00

Est-3, Est-4, Est-5, Pgm-1, Pgm-2, Acph。湖北、江苏和四川三省钉螺及菲律宾钉螺的等位点平均等位基因数分别为 1.65

(± 0.79), 1.59(± 0.71) 1.47(± 0.62) 和 1.18(± 0.39), 多态等位基因位点的百分比分别为 47.06%、47.06%、41.18% 和 17.65%, 平均杂合子数分别为 0.10、0.09、0.10 和 0.03(表 2)。该三项数据均显示湖北、江苏、四川三省钉螺的遗传变异程度较菲律宾钉螺的大, 并以湖北省钉螺与菲律宾钉螺间的遗传距离最大(0.44), 而湖北与江苏省钉螺间的距离最小(0.03)(表 3)。遗传相似系数聚类分析的谱系分枝图(图 1)显示湖北、江苏二省钉螺最为相近, 其次为四川省钉螺, 最后为菲律宾钉螺。

表 3 4 个种群钉螺的尼氏非偏差

基因距离(对角线以上)和罗

氏基因相似系数(对角线以下)

	四川	菲律宾	江苏	湖北
四川	—	0.1774	0.0460	0.1107
菲律宾	0.8021	—	0.3814	0.4376
江苏	0.8981	0.7459	—	0.0267
湖北	0.8275	0.7173	0.9226	—

讨 论

湖北、江苏二省钉螺为江湖滩肋壳钉螺, 壳形粗大。按刘氏分类为湖北钉螺指名亚种(*Oncomelania hupensis hupensis*), 四川省钉螺为山区光壳钉螺, 壳形较小, 刘氏分类为湖北钉螺指名亚种(*O. h. robertsoni*)^[6], 菲律宾钉螺则为光壳螺, 体形最小, Davis 氏分类为湖北钉螺夸氏亚种(*O. h. quadrasi*)^[7]。本实验结果, 4 地钉螺种群内遗传变异程度以湖北、江苏省的最大, 其次四川省, 菲律宾钉螺的遗传变异最小, 聚类分析图谱表明 4 地钉螺间的关系为一种连续的梯度变异规律, 湖北、江苏两地钉螺最相似, 相似系数(S)为 0.92, 四川省钉螺与前两者差别较大(S=0.86), 菲律宾钉螺与前三者差别更大(S=0.79)。结合各地钉螺的壳形、地理位置和环境可见, 4 地钉螺的遗传变异与它们的形态、生态特征及地理分布相平行。表明钉螺进化过程中, 随着地理距离的增加和空间隔离的

出现,钉螺的变异过程不但反映在形态及生态特性上,而且还反映在螺体内染色体的等位基因酶上,该遗传学上的变异是钉螺进化的物质基础,导致新物种的产生。本文遗传学证据提示,外国学者将中国大陆钉螺统称为指名亚种不妥,至少有多亚种存在。因此,有必要对中国大陆钉螺进行深入的遗传学研究,为遗传控制钉螺及血吸虫病开辟新途径。

参 考 文 献

1. Cross, J. H. et al. Southeast Asian J. Trop Med Pub Health 1984 15(2):155—160.
2. Woodruff, D. S.; Stub, K. C.; Upatham, E. S. ;

Viyanant, V. ; Yuan. H. C Malacologia 1988, 29 (2):347—361.

3. Richardson, B. J. ;Baverstoch, P. R. ;Adams, M. Allozyme Electrophoresis. Academic Press. Sydney 1986, 410.
4. Nei, M. Genetics 1978, 89, 583—590.
5. Rogors, J. S. University of Texas Studies in Genetics 1972, 7, 145—153.
6. 刘月英,等. 动物分类学杂志 1981, 6:253—267.
7. Davis, G. M. Malacological Review, Supplement 1980, 2:195—238.

1993 年 11 月 15 日收稿 1994 年 9 月 20 日修回

(编辑:秦时君)

VARIATION IN POPULATIONS OF *ONCOMELANIA* SPP

Zhou Xiaonong Jiangsu Institute of Parasitic Diseases(Wuxi 214064)

E. S. Upatham, R Kaewjam Department of Biology, Faculty of Science,
Mahidol University(Bangkok 10400, Thailand)

ABSTRACT

Intrapopulation genetic variation and genetic distance between the populations of *Oncomelania* spp. were investigated using horizontal starch gel electrophoresis among 4 populations from field of Hubei, Jiangsu, Sichuan in China, and laboratory colony original from Philippines (*O. quadrasi*) at Mahidol University, Thailand. 14 loci out of 7 selected enzymatic activities were studied: α -glycerophosphate dehydrogenase, phosphoglucose isomerase, esterase, phosphoglucomutase, acid phosphatase, xanthine dehydrogenase, and β -hydroxybutyrate dehydrogenase. Genetic variation as measured by allozyme heterozygosity, percentages of polymorphic loci and mean number of alleles per locus tended to be higher in the populations from China. The highest genetic distance (Nei unbiased, 1978) was 0.44 between the snails from Hubei and Philippines, the lowest was 0.03 between those from Hubei and Jiangsu. The phenogram constructed by UPGMA cluster analysis employing similarity in 4 populations showed different subspecies of *O. hupensis* existed in mainland China and the patterns of genetic variation was correlated with their local environment.

Key words: *Oncomelania* spp, population genetics

This work was supported by UNDP/World Bank/WHO special Programme for Research and Training in Tropical Diseases