

[文章编号] 1005-6661(2009)06-0473-04

· 论著 ·

湖北钉螺空间遗传信息管理系统的设计与构建

李石柱¹, 马琳^{2△}, 王艺秀², 王强¹, 胡纓¹, 张仪¹, 周晓农^{1*}

[摘要] 目的 探讨基于空间分析基础上的湖北钉螺群体遗传变异, 构建湖北钉螺空间分布和遗传信息数据库及其管理系统, 为相关研究、信息管理和开发利用提供先进的方法和手段。方法 采集现场钉螺样本, 以逸蚰法鉴定阴性钉螺。利用 Microsoft SQL 2000 建立采集点空间分布数据库、样本数据库和遗传信息数据库, 用 Visual Basic 6.0 建立相应管理系统。结果 完成现场钉螺收集, 初步建立了 10 个省 73 个采集点的数据库, 676 个记录的样本数据库和部分遗传信息数据库, 管理系统实现添加、查询、删除、统计和数据导出导入等功能, 界面清晰, 操作简便。结论 建立的湖北钉螺空间遗传信息管理系统对湖北钉螺空间分布和群体遗传研究具有一定的应用价值, 但还需进一步补充和完善相关数据。

[关键词] 湖北钉螺; 空间分布; 遗传变异; 数据库

[中图分类号] R383.24 **[文献标识码]** A

Preliminary study on spatial distribution and genetic variation database of *Oncomelania hupensis* in mainland China

Li Shi-zhu¹, Ma Lin^{2△}, Wang Yi-xiu², Wang Qiang¹, Hu Ying¹, Zhang Yi¹, Zhou Xiao-nong^{1*}

1 National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China; 2 College of Life Science, Shanxi Normal University, China
△ Co-first author * Corresponding author

[Abstract] Objective To construct a spatial genetic database of *Oncomelania hupensis* and a managing system for spatial distribution and population studies based on landscape genetics theory. Methods The uninfected *Oncomelania* snails were collected from the field. Collected sites database, specimen database and genetic information database were set up by using Microsoft SQL 2000, and the managing system was set up by using Visual Basic 6.0. Results The *Oncomelania* snails were collected from the field. The database were consummated with 676 specimens, 73 collected sites from 10 provinces, and the database could be used as a series of efficiency tools with appending, querying, deleting, statistics and export functions. Conclusion The spatial genetic database and managing system of *Oncomelania hupensis* can be used to manage snail specimens for different studies with a clear interface and simple operation. It is worthy to renew the database for further spatial genetic studies.

[Key words] *Oncomelania hupensis*; Spatial distribution; Genetics variation; Database

湖北钉螺 (*Oncomelania hupensis*) 是日本血吸虫唯一的中间宿主, 在日本血吸虫病传播过程中起着重要作用^[1-4]。湖北钉螺主要分布于东南亚地区, 并以我国长江以南为主^[5], 其在中国大陆的分布区按孳生地区生态、环境类型可划分为 4 类, 一是以湖南、湖北、江西、安徽、江苏和浙江等省为主的湖沼型地区, 二是以云南和四川 2 省为主的高山型地区, 三是福建省沿海的山丘型地区, 四是广西壮族自治区的内陆型山丘型

地区^[6]。由于分布广泛, 受地理隔离的影响, 湖北钉螺不同地理群体发生了显著的遗传分化和变异^[6-8]。近年来的研究表明, 湖北钉螺不同种型对血吸虫的易感性不尽相同, 对其分型及种型的鉴别在血吸虫病流行病学研究和防治、钉螺控制等方面具有重要意义^[7, 9]。由于湖北钉螺在血吸虫病的流行和传播中的重要作用, 其种群空间分布、种群遗传学等研究内容吸引了众多学者的关注。景观遗传学 (landscape genetics) 集合了空间分析技术、景观生态学和群体遗传学等领域的研究内容和方法, 是目前广为关注的热点研究领域^[10-11], 该学科的发展为湖北钉螺分子系统地理学和群体遗传分化研究提供了新的研究手段^[12]。为深入探讨基于空间分析基础上的湖北钉螺群体遗传变异, 我们收集了我国大陆不同地理分布的多个生态景观类型的湖北钉螺种群标本, 这些标本是当前和今后一段时间内开展相关研究工作的重要基础和资源, 是研究

[基金项目] 国家自然科学基金 (30590373); 世界卫生组织热带病研究和培训特别规划项目 (970990); 科技部重大支撑专项 (2003DIA6N009, 2005DKA21104, 2007BA03A02); 国家传染病防治重大专项 (2008ZX10004-011)

[作者单位] 1 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病、丝虫病合作中心, 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室 (上海 200025); 2 陕西师范大学生命科学学院

[作者简介] 李石柱, 男, 博士, 助理研究员。研究方向: 血吸虫病流行病学

△并列第 1 作者 *通信作者 E-mail: ipdzpx@sh163.net

我国大陆湖北钉螺种下遗传分化及其遗传变异空间分布的本底资料。建立较为科学和完善的湖北钉螺空间分布和遗传变异信息数据库, 可以为上述领域的研究、信息管理和开发利用提供先进的方法和手段。本文利用计算机技术设计并初步构建了湖北钉螺空间遗传信息管理系统。

材料与方法

1 样本采集与处置

参照卫生部下发的《血吸虫病防治项目查螺、灭螺、查病、化疗技术方案(试行)》和中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所下发的《新发现/重现钉螺地区的钉螺调查与标本采集保存规范》等技术方案^[13-14], 采集 4 种生态景观类型的湖北钉螺孳生地钉螺样本。根据技术方案要求, 由采集人员填写相应的信息采集表。采集信息包括采集地信息、血吸虫病流行区分类、生态环境、地理坐标等信息, 并按照地点和顺序对采集地进行编号。

所有钉螺样本采集后, 带回实验室饲养 1 周, 采用逸蚴法鉴定其是否感染血吸虫^[15], 选取阴性样本再次进行系统编号, 在蒸馏水中冲洗 3 次, 浸泡于 75% 乙醇, 4℃ 保存入库。

2 数据库构建

在对所收集的湖北钉螺样本信息进行分类整理的基础上设计数据库结构, 并利用 Microsoft SQL 2000 建立采集点数据库、钉螺样本数据库和遗传变异信息数据库。每个数据库分属不同的层次, 根据目的的不同, 每个库都包括多项字段, 但不同数据库之间可通过关键字段进行索引。其中采集点数据库的关键字段包括: 采集点编号、采集地信息、地理坐标、螺壳类型、环境类型等; 钉螺样本数据库的关键字段包括: 样本编号、螺壳类型、遗传标记记录等; 遗传变异信息数据库的关键字段包括: 样本编号、遗传标记类别、遗传标记信息等。

3 管理系统的构建

管理系统采用 Visual Basic 6.0 为开发语言, 以结构设计为主导思想, 根据系统的设计目标将整个系统划分成 4 个子系统: ① 采集点管理系统; ② 样本管理子系统; ③ 遗传信息管理子系统; ④ 系统应用程序和维护系统(图 1)。系统程序采用模块化设计和自顶向下分层的程序方法构造出系统的功能模块框架^[16]。

结 果

1 样本收集与处置

选择湖南、湖北、江西、安徽、江苏、浙江、云南、四川、福建和广西 10 个省(区), 在分属于 4 种生态景观类型的湖北钉螺孳生地随机抽取 73 个采集点(图 2), 每个采集点收集 500~2 000 只钉螺样本并填写信息采集表(表 1)。

表 1 湖北钉螺采集点基本信息表
Table 1 Information table of collected sites for Oncomelania hupensis

编号 Code				
登记日期 Enrolment date				
采集日期 Collection date				
采集人员 Personnel				
采集地点 Site	省 Province		县 County	
乡(镇) Town	村 Village		地名 Site	
流域 Valley		河流 River		
溪 Stream		湖(塘) Lake		
山 Hill	海拔 Altitude(m)		采集数量 (只) Number	
经度 Longitude	纬度 Latitude			

2 数据库

2.1 采集点数据库 采集点是湖北钉螺空间分析的最小单位, 1 组信息就是 1 个数据阶元, 每个采集点的信息组合起来即形成 1 个采集点数据库。其数据阶元包括: 采集地信息(省、地、县、乡、村、点、水系及湖泊)、分类属性(环境类型和亚型)、地理空间特征(经纬度、海拔高度)。为确保数据的完整性和规范性, 提高系统查询和统计的效率, 采集点数据库采用了简捷的采集点地理信息编码。该编码共分 3 层, 每层由 2

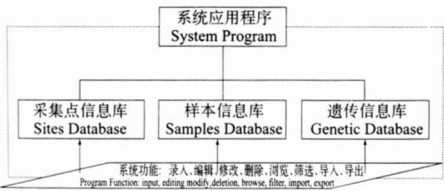


图 1 湖北钉螺空间遗传信息管理系统总体结构图

Fig 1 Framework of spatial genetic database system of Oncomelania hupensis

个数字组成,第 1层代表省份,第 2层代表县(市、区),第 3层代表采集点,如湖南省汉寿县南堤采集点编码为“HNHSND”。同时,建立省份、环境类型、螺壳性状 3个主要检索关键词,以满足不同研究目的的需求。

目前该数据库已完成 73个采集点和 676个钉螺样本数据的录入,并已初步建立了我国大陆湖北钉螺空间分布数据库(表 2)。

表 2 湖北钉螺空间分布数据库构成
Table 2 Composing of spatial distribution database for *Oncomelania hupensis*

省(区) Province	县数 No. county	采集点数 No. collected sites	已记录样本数 No. specimens	已收集样本数 No. total specimens collected
湖南 Hunan	4	16	136	3 200
湖北 Hubei	5	11	86	2 200
江西 Jiangxi	4	11	88	2 200
安徽 Anhui	7	11	104	2 200
江苏 Jiangsu	1	3	46	600
四川 Sichuan	5	10	80	2 000
云南 Yunnan	3	5	40	1 000
浙江 Zhejiang	1	2	48	400
福建 Fujian	2	2	24	400
广西 Guangxi	2	2	24	400
合计 Total	34	73	676	14 600

2.2 样本数据库 采集点数据库中的每条记录对应 1个样本,所有采集点的一系列样本形成了样本数据库。样本信息包括钉螺螺壳形态属性(光亮或肋壳),样本处置信息包括个体编号、存放地点、基因组抽提和保存结果。结合研究目的和方法的不同,对样本数据库中的每个样本根据入库的顺序或样本处置的顺序以阿拉伯数字进行编码,如第 12个样本编码为“012”,编码时不允许重复,每个样本均具有严格的唯一性。截至目前,本数据库已经记录 4个景观群体 676个钉螺样本。

2.3 遗传信息数据库 利用所有经实验室检测的样本的遗传标记信息生成遗传信息数据库。遗传信息库用来描述选用的遗传标记名称、筛选方法、条件和获得的标记信息等。每个遗传信息编码由采集点编码和样本编号组合后自动生成,三者之间形成有效关联。每个样本对应 1组遗传标记信息,将不同样本的遗传标记筛选记录和结果进行归类和整理,经录入和修改,可实现研究结果的保藏、利用及快速检索。部分样本已在实验室开展了遗传标记的检测,并完成了部分样本遗传信息的数据导入。本数据库已分别获得 4个景观群体近 100余条线粒体 DNA(mtDNA)的 16 S rRNA 基因片段和核糖体 DNA(rDNA) ITS-5.8 S ITS2 基因片段的序列信息。

3 管理系统

3.1 管理系统的关系 采集点、样本及遗传标记信息的管理涉及到的数据种类、层次较多,所构建的管理系统通过程序语言实现面向数据库的各类业务活动功能,这些业务活动功能基本相同。采集点数据库包含多条采集点信息,每个采集点又包含多个样本,不同的样本组成样本数据库。每个样本具有多种遗传信息,不同的遗传信息数据组成遗传信息数据库。采集点数据库、样本数据库和遗传信息数据库共同形成了逐级对应关系的数据库,3个数据库又通过系统管理程序在不同层次实现的数据录入、编辑、删除、浏览、筛选、导入、导出和维护等功能,形成一个有机的整体。

3.2 管理系统的功能 管理系统通过程序化的语言实现添加、删除、修改和查询及统计等功能,并建立相应的索引文件。主要功能包括:① 数据添加。在采集点、样本和遗传信息库 3个层次上均可添加新的数据。采集点数据库需要根据采集点信息进行编码,每个采集点信息对应一系列样本,每个样本的编号按顺序自动生成;遗传信息库每条记录编码由采集点编码和样本编号组合后自动生成,每条记录具有唯一性。② 数据删除。3个数据库中均可单选或复选数据,执行系统删除功能。③ 数据修改。任意选中某一数据库中的某条记录,系统即可自动显示记录的各种信息,可在

各类信息框中进行快速修改并保存。④ 数据查询。可按不同的条件如采集省份、螺壳形态属性、遗传标记等进行单项查询或组合条件筛选, 系统即可显示满足给定条件的数据。⑤ 数据统计。即时显示 3 个数据库的动态记录数量或筛选的统计结果。⑥ 导出和导入。采集点数据记录可按数据库的结构实现异地输入, 并导入本系统; 筛选结果可导出至 Excel 表格, 供后续分析时使用。

讨 论

应用计算机语言对物种标本及其信息进行系统管理, 在国内外已有普遍应用^[17-18]。我国重要寄生虫种质资源平台也已完成初步建设, 形成了覆盖全国的种质资源网络平台和管理系统, 为重要寄生虫及寄生虫病的防治、研究提供了大量的虫种资源和基础^[19-20]。但就单个虫种或媒介生物而言, 特别是针对湖北钉螺空间分布和遗传变异信息数据库及其信息管理系统的构建, 目前尚无正式报道。

样本的规范采集和有效管理是湖北钉螺分子系统地理学、种群遗传学研究的前提和保证。对于信息量逐渐增多、信息类型多元化的钉螺样本来说, 建立数据库显得尤为必要。因此, 对采集点、样本个体和遗传变异信息进行归类、整理、记录, 可以为下一步研究工作提供系统的资源。本文基于景观遗传学的理念, 在初步收集湖北钉螺不同地理景观种群的基础上, 利用计算机语言设计、编制了湖北钉螺空间遗传信息管理系统。该系统总体结构分为 2 部分, 一是基础数据库, 包括采集点数据库、样本数据库和遗传信息数据库; 二是应用程序实现的管理系统。

目前已完成各类数据库的初步构建, 收集了 73 个采集点、600 余条样本记录, 完成了部分遗传标记的检测及其信息的录入^[12]。该系统除具备对采集点、钉螺样本数据和遗传信息数据的日常管理功能外, 还可以根据不同研究目的对采集点、钉螺螺壳形态类型等特征进行筛选, 以满足研究的需求。尽管系统已初步形成, 但其目前所收集的采集点、样本数据和遗传信息尚不完全, 某些数据还需在今后的研究工作中不断完善 (本文图 2 见封三)。

【参考文献】

- [1] Wang LD, Chen HG, Guo JG, et al. A strategy to control transmission of *Schistosoma japonicum* in China. *J. N Engl J Med* 2009, 360 (2): 121-128

- [2] 周晓农, 姜庆五, 吴晓华, 等. 我国控制和消灭血吸虫标准的作用与演变 [J]. 中国血吸虫防治杂志, 2007, 19 (1): 1-4.
- [3] 林丹丹, 汪世平, 姜庆五, 等. 我国血吸虫病疫性控制标准技术指标的探讨 [J]. 2007, 19 (1): 5-8
- [4] 张世清, 朱荫昌, 汪天平, 等. 我国血吸虫病传播阻断标准技术指标的探讨 [J]. 2007, 19 (1): 9-11.
- [5] Davis GM, Zhang Y, Guo YH, et al. Population genetics and systematic status of *Oncomelania hupensis* (Gastropoda: Pomatiopsidae) throughout China. *J. Malacologia* 1995, 37 (1): 133-156
- [6] 周艺彪, 姜庆五, 赵根明, 等. 中国大陆钉螺的亚种分化 [J]. 中国血吸虫防治杂志, 2007, 19 (6): 485-487
- [7] Shi CH, Wilke T, Davis GM, et al. Population genetics, microphylogeography, ecology and infectivity of Chinese *Oncomelania hupensis* (Gastropoda: Rissoidea: Pomatiopsidae) in the Miao River system: is there a relationship to shell sculpture? [J]. *Malacologia* 2002, 44 (1): 333-347
- [8] 李石柱, 王强, 钱颖骏, 等. 中国大陆湖北钉螺种下分化研究进展 [J]. 中国血吸虫防治杂志, 2009, 21 (2): 150-153
- [9] Davis GM, Wilke T, Zhang Y, et al. Snail-Schistosoma-Paragonimus interactions in China: population ecology, genetic diversity, coevolution and emerging diseases. *J. Malacologia* 1999, 41 (2): 355-377.
- [10] Manel S, Schwanz MK, Luikart G, et al. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *J. Trends Ecol Evol* 2003, 18 (4): 189-197
- [11] Leclerc F, Mailhot Y, Mingebier M, et al. The landscape genetics of yellow perch (*Perca flavescens*) in a large fluvial ecosystem [J]. *Mol Ecol* 2008, 17 (7): 1702-1717.
- [12] Li SZ, Wang YX, Yang K, et al. Landscape genetics: the correlation of spatial and genetic distances of *Oncomelania hupensis*, the intermediate host snail of *Schistosoma japonicum* in mainland China. *J. Geospat Health* 2009, 3 (2): 221-231.
- [13] 卫生部疾病预防控制局. 血吸虫病防治项目查螺、灭螺、查病、化疗技术方案 (试行) [S]. 2005
- [14] 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所. 《新发现/重现钉螺地区的钉螺调查与标本采集保存规范》[S]. 2007
- [15] 周晓农. 实用钉螺学 [M]. 北京: 科学出版社, 2005, 9-27
- [16] 陈鸣. 计算机网络自顶向下方法 [M]. 北京: 机械工业出版社, 2009, 56-77.
- [17] Zhou XN, Guo JG, Wu XH, et al. Epidemiology of schistosomiasis in the People's Republic of China. 2004. *J. Emerg Infect Dis* 2007, 13 (10): 1470-1476
- [18] 何远辉, 朱建国. 鱼类资源信息管理系统建立及应用 [J]. 生物多样性, 1997, 5 (3): 231-236
- [19] 周晓农, 林矫矫, 曹建平, 等. 中国寄生虫种质资源平台建设的理论与实践 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24 (增刊): 1-10.
- [20] 沈海默, 胡薇, 陈韶红, 等. 基于 JEEF 平台的寄生虫种质资源库的构建 [J]. 中国兽医寄生虫病, 2007, 15 (1): 8-12

【收稿日期】 2009-08-11 【编辑】 邓瑶

2008 年全国血吸虫病疫情通报 Schistosomiasis status in People's Republic of China in 2008

(正文见第451页)

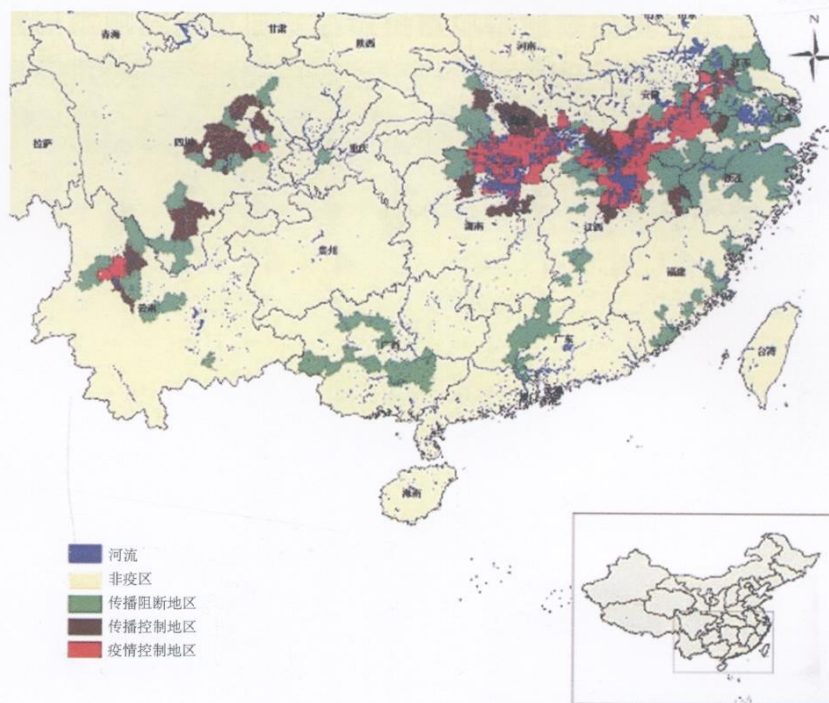


图1 2008 年全国血吸虫病疫情分布图

湖北钉螺空间遗传信息管理系统的设计与构建 Preliminary study on spatial distribution and genetic variation database of *Oncomelania hupensis* in mainland China

(正文见第473页)

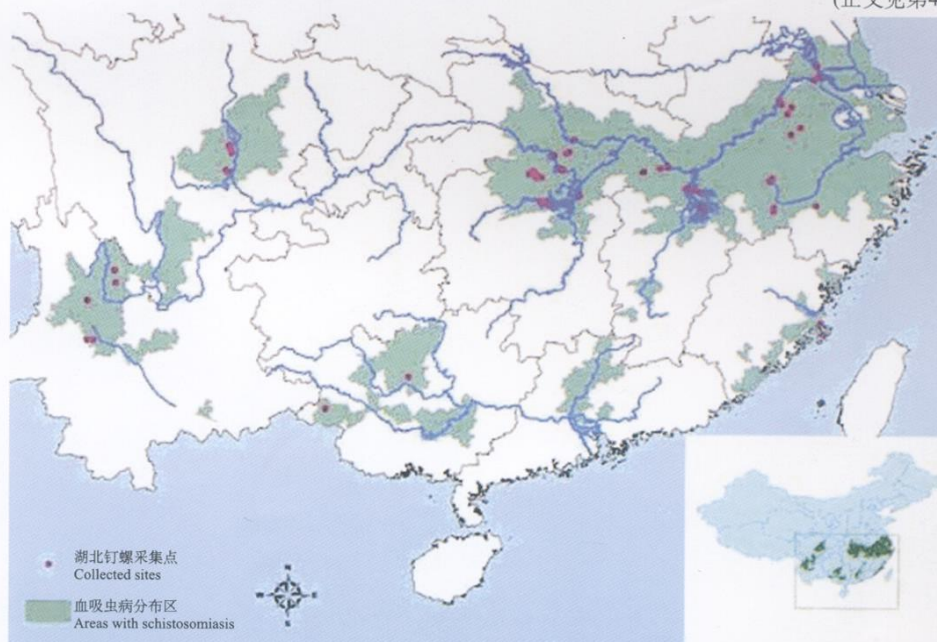


图2 湖北钉螺空间分布数据库采集点分布图 (截图)

Fig.2 Distribution of collected sites for *Oncomelania hupensis* (Part)