

中国大陆两种东毕吸虫 rDNA-LSU 基因的序列分析

张广军 陈勤 邱持平 夏明仪**

【摘要】 目的 测定程氏东毕吸虫、土耳其斯坦东毕吸虫结节变种 rDNA-LSU 基因序列, 并对照已发表的土耳其斯坦东毕吸虫同一基因序列, 比较三者的差异, 探讨东毕吸虫虫种分类问题。方法 收集两虫种成虫, GNT-K 法抽提基因组 DNA, PCR 扩增目的基因, 并将其产物克隆入质粒再次扩增, 提取质粒 DNA, 以 M13(F/R) 作为测序引物进行测序。从 GenBank 获得土耳其斯坦东毕吸虫 rDNA-LSU 基因序列, 用 BioEdit 软件将 3 种血吸虫基因序列排序并比较分析。结果 程氏东毕吸虫、土耳其斯坦东毕吸虫结节变种的 LSU 序列完全一致, 与土耳其斯坦东毕吸虫 rDNA-LSU 基因序列仅相差一个碱基, 同源性高达 99.99%。结论 rDNA-LSU 基因序列分析结果不支持程氏东毕吸虫为独立种, 土耳其斯坦东毕吸虫结节变种可能是土耳其斯坦东毕吸虫的同种异名。

【关键词】 rDNA-LSU; 东毕吸虫; 序列分析

中图分类号: R 383.24

文献标识码: A

Sequence Analysis of rDNA-LSU Gene of *Orientobilharzia turkestanicum* from Mainland of China

ZHANG Guang-jun, CHEN Qin, QIU Chi-ping, XIA Ming-yi**

(*Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention*, Shanghai 200025)

【Abstract】 Objective To classify the taxonomic status of *O. cheni* in relation to *O. turkestanicum* var. *tuberculata* from the mainland of China by comparing their nucleotide sequences of nuclear ribosomal partial large subunit gene (LSU).

Methods The genomic DNA of adult worms were extracted by the GNT-K method. The target gene was amplified by PCR using specific primers. The PCR products were purified before ligation into the plasmid PCR-blunt (Invitrogen). Recombinant plasmids were amplified in *E. coli*, extracted and purified using routine methods and then sequenced using M13 primers (F/R) on a Licor long-read auto-sequencer. Sequences of *O. turkestanicum* was retrieved from GenBank and aligned with our data in BioEdit.

Results The nucleotide sequences of LSU between *O. turkestanicum* var. *tuberculata* and *O. cheni* was 100% identical, and 99.99% identical between *O. turkestanicum* var. *tuberculata* and *O. turkestanicum*.

Conclusion This study demonstrated high similarity in LSU nucleotide sequences, and the results do not support *O. cheni* as an independent species. *O. cheni* may be a synonym of *O. turkestanicum* var. *tuberculata*, and *O. turkestanicum* var. *tuberculata* is probably also a synonym of *O. turkestanicum*.

【Key words】 rDNA-LSU, *Orientobilharzia*, sequence analysis

Supported by the Scientific Research Funds of the Ministry of Health of China (No. 97-1-023) * WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis ** To whom correspondence should be addressed

目前东毕吸虫 (*Orientobilharzia* Dutt et Srivastava, 1955) 分类地位为: 吸虫纲, 复殖目, 裂体科, 裂体亚科^[1]。这是一种人兽共患病病原, 其尾蚴可引起尾蚴性皮炎 (也称稻田皮炎), 是北方尾蚴性皮炎的主要病原之一^[2-4], 其成虫寄生于家畜门静脉内, 引起家畜血吸虫病。该虫在长江以北地区多见, 对畜牧业构成一定危害^[5]。许绶泰认为我国有 4 种东毕属吸虫: 土耳其斯坦东毕吸虫 (*O. turkestanicum*)、土耳其斯坦东毕吸虫结节变种 (*O. turkestanicum* var. *tuberculata*)、程氏东毕吸虫 (*O. cheni*) 和彭氏东毕吸

虫 (*O. bomfordi*), 某些形态学指标因受环境等诸多因素影响而不稳定。关于东毕吸虫虫种问题存在一些争议, 尤其怀疑程氏东毕吸虫能否作为独立种存在^[6-10]。20 世纪 70 年代, 分子生物学迅速发展, 分子生物技术成为研究分类学、种系发生学的工具之一。DNA 序列分析成为鉴定生物物种、亚种及地理株的最直接方法^[11-12]。本文克隆并测定了程氏东毕吸虫和土耳其斯坦东毕吸虫结节变种核糖体大亚基 (28S) 基因 (rDNA-LSU) 序列, 并比较了两者间及其与土耳其斯坦东毕吸虫该基因序列的差异。

材料与方法

1 血吸虫成虫的采集

程氏东毕吸虫和土耳其斯坦东毕吸虫结节变种采

基金项目: 卫生部科学研究基金资助项目 (No. 97-1-023)

作者单位: 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、血吸虫病和丝虫病合作中心, 上海 200025 * 单行本索阅函寄夏明仪

自黑龙江省富裕县, 经粪检确定的带虫绵羊。解剖后, 从肠系膜小静脉中取出成虫, 置生理盐水中洗涤, 分开合抱的雌雄虫, 并制作封片用于形态学鉴定, 单个成虫装于有 100% 甲醇的 1.5 ml 离心管中备用。

2 基因组 DNA 抽提

以 GNT-K 法抽提成虫基因组 DNA: 取出冰冻的程氏东毕吸虫雌雄虫各 5 条, 用 0.1 × TE (pH 8.0) 溶液洗涤 3 次, 在每只装有虫体的离心管中加 50 μl 含蛋白酶 K (100 g/ml) 的 GNT 缓冲液 (50 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L MgCl₂, 10 mmol/L pH 8.5, 0.01% 明胶, 0.45% Tween-200, 0.45% NP-40), 56 °C 消化过夜。次日 95 °C 15 min 灭活蛋白酶 K, 12 000 g 离心 2 min, 取上清液备用。

3 PCR 扩增 LSU 基因

引物选用 LSU5 和 LSU3^[13]: LSU5 (forward): 5'-TAG GTC GAC CCG CTG AAY TTA AGC A-3' LSU3 (reverse): 5'-TAG AAG CTT CCT GAG GGA AAC TTC GG-3' 反应体系为: 模板 DNA 5 μl, 10 × 缓冲液 5 μl, 2.5 mmol/L dNTP 4 μl, 100 mmol/L MgSO₄ 1 μl, 引物各 20 μmol, Vent(exo-) (Biolab) 热聚合酶 1 U, 加水至总体积为 50 μl, 最后用 50 μl 石蜡油覆盖。扩增反应: 95 °C 2 min 变性, 94 °C 1 min, 50 °C 1.5 min, 72 °C 1.75 min, 35 个循环, 72 °C 延伸 10 min。取反应产物 5 μl, 加 1 μl 6 × 溴酚蓝, 混匀后于 2% 琼脂糖凝胶 (EB 浓度为 5 μg/ml) 中 100 V 电泳 15 min, 用 Polaroid 1 次成像照相机 (Fisher Scientific) 拍照。

4 PCR 产物的纯化

用 MoBio 公司的 Ultraclean Kit 割胶纯化 PCR 产物, 所有操作均按产品说明书进行。

5 PCR 产物的克隆及测序

用 Zero Blunt™ PCR 试剂盒 (Invitrogen 公司) 将纯化后的 PCR 产物克隆入质粒载体, 每个样本取 3 个阳性重组体, 用标准方法提取质粒 DNA, EcoRI 酶切检查为阳性后, 纯化质粒 DNA^[14]。用 Licor auto-sequencer-400L 测序仪测序, 测序反应系统为 Thermo sequenase fluorescent labelled primer cycle sequencing kit with 7-deaza-dGTP RPN2538 (Amershampharmacia Biotech)。

6 3 种血吸虫基因序列的比较及其同源性分析

检索 GenBank 调出土耳其斯坦东毕吸虫 LSU 序列 (注册号: AF167092), 用 BioEdit 软件对所得基因进行同源性分析。

结 果

1 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳

东毕吸虫和日本血吸虫 LSU 基因的 PCR 产物长度约 1 300 bp, 2% 琼脂糖凝胶电泳结果见图 1。

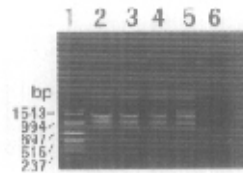


图 1 rDNA-LSU PCR 扩增产物 2% 琼脂糖凝胶电泳结果 1 分子量标志物 2 程氏东毕吸虫雌虫 3 程氏东毕吸虫雄虫 4 土耳其斯坦东毕吸虫结节变种雌虫 5 土耳其斯坦东毕吸虫结节变种雄虫 6 未加 DNA 模板的对照
Fig. 1 Electrophoresis of PCR products of rDNA-LSU 1 PCR marker 2 Female of *O. cheni* 3 Male of *O. cheni* 4 Female of *O. t. v. t.* 5 Male of *O. t. v. t.* 6 Control without template

2 3 种东毕吸虫 LSU 基因序列比较

3 种东毕吸虫的 LSU 基因序列比较见图 2。程氏东毕吸虫和土耳其斯坦东毕吸虫结节变种 LSU 基因的同源性为 100%, 两者与伊朗的土耳其斯坦东毕吸虫 LSU 基因的同源性为 99.99%。

讨 论

确定虫种及推测种间关系通常是以成虫、虫卵的形态特征、中间及终末宿主、地理分布等为依据。但有些指标, 尤其是成虫的形态易受环境影响。现代分子生物学基因工程技术、PCR 及 DNA 自动测序技术, 提供了新的研究手段。其中 DNA 序列分析易于定量, 是目前进行分类、分子进化和种系发生研究最有效、最可靠的方法。血吸虫种系发生研究内容涉及种和种下阶元的分类鉴定、种间相互关系, 种上阶元的种系分析及种群的遗传变异和进化等方面^[11, 12]。rDNA 是细胞核内编码核糖体 RNA 的基因, 为一类中度重复序列, 以串联多拷贝的形式存在于细胞核内染色体 DNA 中, 每个重复单位由非转录间隔区 (NTS)、内部转录间隔区 (ITS) 和 3 种核糖体基因编码区 (18S、5.8S、28S) 组成。rDNA 的 3 个区的进化速率不尽相同, 编码区进化速率较慢, 适合于构建生命树的较深分枝。编码区内可分为高度保守区、保守区、可变区和高度可变区, 这些不同的区域又可用于不同阶元的种

土耳其斯坦东毕吸虫	TATCACTAAG	CGAGAGAAA	GAACATAACA	AGBATTGCGT	TABTAACTCG	50
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	TATCACTAAG	CGAGAGAAA	GAACATAACA	AGBATTGCGT	TABTAACTCG	50
程氏东毕吸虫	TATCACTAAG	CGAGAGAAA	GAACATAACA	AGBATTGCGT	TABTAACTCG	50
土耳其斯坦东毕吸虫	GAQTGAACAG	GGATTABGCC	AGACCGAAG	CGTGGGGTTG	TTTGAATGRTG	100
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GAQTGAACAG	GGATTABGCC	AGACCGAAG	CGTGGGGTTG	TTTGAATGRTG	100
程氏东毕吸虫	GAQTGAACAG	GGATTABGCC	AGACCGAAG	CGTGGGGTTG	TTTGAATGRTG	100
土耳其斯坦东毕吸虫	ABGCATATGT	GTGTTTAAGT	TGGCTTCTGG	GATTACTGCT	CTTCCGCAAG	150
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	ABGCATATGT	GTGTTTAAGT	TGGCTTCTGG	GATTACTGCT	CTTCCGCAAG	150
程氏东毕吸虫	ABGCATATGT	GTGTTTAAGT	TGGCTTCTGG	GATTACTGCT	CTTCCGCAAG	150
土耳其斯坦东毕吸虫	TCGACGA18	AGTAGGCGTT	CCGATCTG8G	CCGATAGAGG	GTGAAAG9CG	200
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	TCGACGA18	AGTAGGCGTT	CCGATCTG8G	CCGATAGAGG	GTGAAAG9CG	200
程氏东毕吸虫	TCGACGA18	AGTAGGCGTT	CCGATCTG8G	CCGATAGAGG	GTGAAAG9CG	200
土耳其斯坦东毕吸虫	CGTGGGGGTA	GABACCAAT	GTBACAGTTC	TGCTGAGAGG	TCCGCTTAA8	250
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	CGTGGGGGTA	GABACCAAT	GTBACAGTTC	TGCTGAGAGG	TCCGCTTAA8	250
程氏东毕吸虫	CGTGGGGGTA	GABACCAAT	GTBACAGTTC	TGCTGAGAGG	TCCGCTTAA8	250
土耳其斯坦东毕吸虫	GTG0891TGT	TTGTGAATGC	AGCCCAAAAT	GGTGTGTAA	GTGATTCGAA	300
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GTG0891TGT	TTGTGAATGC	AGCCCAAAAT	GGTGTGTAA	GTGATTCGAA	300
程氏东毕吸虫	GTG0891TGT	TTGTGAATGC	AGCCCAAAAT	GGTGTGTAA	GTGATTCGAA	300
土耳其斯坦东毕吸虫	GGCTAAATAG	TTAGAGGAGT	CCGATAGCAA	ACAAGTACCG	TGAGGAAAG	350
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GGCTAAATAG	TTAGAGGAGT	CCGATAGCAA	ACAAGTACCG	TGAGGAAAG	350
程氏东毕吸虫	GGCTAAATAG	TTAGAGGAGT	CCGATAGCAA	ACAAGTACCG	TGAGGAAAG	350
土耳其斯坦东毕吸虫	TTGAAAGTA	CTTTGAAGAG	AGAGTAAACA	GTGCTGAAA	CGGCTCAAG	400
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	TTGAAAGTA	CTTTGAAGAG	AGAGTAAACA	GTGCTGAAA	CGGCTCAAG	400
程氏东毕吸虫	TTGAAAGTA	CTTTGAAGAG	AGAGTAAACA	GTGCTGAAA	CGGCTCAAG	400
土耳其斯坦东毕吸虫	GTAAAGCGGT	GGAGTTGAAC	GGCAAGCGCT	GGGAAATTCAG	GTGATGAATG	450
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GTAAAGCGGT	GGAGTTGAAC	GGCAAGCGCT	GGGAAATTCAG	GTGATGAATG	450
程氏东毕吸虫	GTAAAGCGGT	GGAGTTGAAC	GGCAAGCGCT	GGGAAATTCAG	GTGATGAATG	450
土耳其斯坦东毕吸虫	TGATTTGTG	TTGGGATAC	TGGCGCGCTT	CAATGTCCGT	TTAAAGCGAG	500
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	TGATTTGTG	TTGGGATAC	TGGCGCGCTT	CAATGTCCGT	TTAAAGCGAG	500
程氏东毕吸虫	TGATTTGTG	TTGGGATAC	TGGCGCGCTT	CAATGTCCGT	TTAAAGCGAG	500
土耳其斯坦东毕吸虫	GTG0CCTGCT	TATGCTGAG	TGTGTGTAA	TGTTTGTGAA	GGAGCGAAG	550
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GTG0CCTGCT	TATGCTGAG	TGTGTGTAA	TGTTTGTGAA	GGAGCGAAG	550
程氏东毕吸虫	GTG0CCTGCT	TATGCTGAG	TGTGTGTAA	TGTTTGTGAA	GGAGCGAAG	550
土耳其斯坦东毕吸虫	CAGCTGTGAT	GTAGGGGCTG	CGTTGTGAGT	GCAGTCTTCT	AGGGTGTGTA	600
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	CAGCTGTGAT	GTAGGGGCTG	CGTTGTGAGT	GCAGTCTTCT	AGGGTGTGTA	600
程氏东毕吸虫	CAGCTGTGAT	GTAGGGGCTG	CGTTGTGAGT	GCAGTCTTCT	AGGGTGTGTA	600
土耳其斯坦东毕吸虫	CCAGAGCGGG	CGCTGCTGCG	TGTGTGTGAT	GATGAAAGCT	GTGAGGCTG	650
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	CCAGAGCGGG	CGCTGCTGCG	TGTGTGTGAT	GATGAAAGCT	GTGAGGCTG	650
程氏东毕吸虫	CCAGAGCGGG	CGCTGCTGCG	TGTGTGTGAT	GATGAAAGCT	GTGAGGCTG	650
土耳其斯坦东毕吸虫	GCATTGTGAG	GCTTGGCTGG	GTG08CAAGT	GCAGTCTTGG	GTGATGAGT	700
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GCATTGTGAG	GCTTGGCTGG	GTG08CAAGT	GCAGTCTTGG	GTGATGAGT	700
程氏东毕吸虫	GCATTGTGAG	GCTTGGCTGG	GTG08CAAGT	GCAGTCTTGG	GTGATGAGT	700
土耳其斯坦东毕吸虫	GGCGGTGAGT	GTTACTAGCT	GGTTTGTAGT	GATCTGTGAG	GTGATGAGT	750
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GGCGGTGAGT	GTTACTAGCT	GGTTTGTAGT	GATCTGTGAG	GTGATGAGT	750
程氏东毕吸虫	GGCGGTGAGT	GTTACTAGCT	GGTTTGTAGT	GATCTGTGAG	GTGATGAGT	750
土耳其斯坦东毕吸虫	GATGGCGGCT	TGCAATGCTT	GGTTAGAGT	GGGACATTTG	TTGAGTGTG	800
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GATGGCGGCT	TGCAATGCTT	GGTTAGAGT	GGGACATTTG	TTGAGTGTG	800
程氏东毕吸虫	GATGGCGGCT	TGCAATGCTT	GGTTAGAGT	GGGACATTTG	TTGAGTGTG	800
土耳其斯坦东毕吸虫	TGGGTTTGT	ACTGCGTGG	CGTGGTGGG	TGATGCGTTG	ATTTTGTG	850
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	TGGGTTTGT	ACTGCGTGG	CGTGGTGGG	TGATGCGTTG	ATTTTGTG	850
程氏东毕吸虫	TGGGTTTGT	ACTGCGTGG	CGTGGTGGG	TGATGCGTTG	ATTTTGTG	850
土耳其斯坦东毕吸虫	GTG0CAGTT	CGS1GTGTA	AG88GTG8G	CGCATAGTCT	GTG08TAA8	900
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GTG0CAGTT	CGS1GTGTA	AG88GTG8G	CGCATAGTCT	GTG08TAA8	900
程氏东毕吸虫	GTG0CAGTT	CGS1GTGTA	AG88GTG8G	CGCATAGTCT	GTG08TAA8	900
土耳其斯坦东毕吸虫	GTGATAGAGT	CCAGCTGAGC	CGTCTTGAAG	CAAGGACGAA	GGAGTTTAA8	950
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	GTGATAGAGT	CCAGCTGAGC	CGTCTTGAAG	CAAGGACGAA	GGAGTTTAA8	950
程氏东毕吸虫	GTGATAGAGT	CCAGCTGAGC	CGTCTTGAAG	CAAGGACGAA	GGAGTTTAA8	950
土耳其斯坦东毕吸虫	ATGTGGGGA	GTGAT198T	GTTACAAAC	CCAAAGGCGA	AGTGAAGTA	1000
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	ATGTGGGGA	GTGAT198T	GTTACAAAC	CCAAAGGCGA	AGTGAAGTA	1000
程氏东毕吸虫	ATGTGGGGA	GTGAT198T	GTTACAAAC	CCAAAGGCGA	AGTGAAGTA	1000
土耳其斯坦东毕吸虫	AA8GTTG8G	TTTGTG8GG	TGA8GTGAA	TGCTGTGTC	TTGCTGATC	1050
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	AA8GTTG8G	TTTGTG8GG	TGA8GTGAA	TGCTGTGTC	TTGCTGATC	1050
程氏东毕吸虫	AA8GTTG8G	TTTGTG8GG	TGA8GTGAA	TGCTGTGTC	TTGCTGATC	1050
土耳其斯坦东毕吸虫	TTTCCAGTT	CGAGCAATG	GGCG	1070		
土耳其斯坦东毕吸虫结节变种	TTTCCAGTT	CGAGCAATG	GGCG	1070		
程氏东毕吸虫	TTTCCAGTT	CGAGCAATG	GGCG	1070		

图 2 3种东毕吸虫 LSU 部分基因序列 1 土耳其斯坦东毕吸虫 2 土耳其斯坦东毕吸虫结节变种 3 程氏东毕吸虫

Fig. 2 The Alignment of three *Orientobilharzia* species 1 O. 1. 2 O. 2. 3 O. 3.

系发生研究。LSU 基因适用于种以上分类阶元的研究, 其中 D1 结构域具有很强的种特异性。rDNA 普遍存在于生物界, 具有多拷贝以及不同区域具有不同的进化速率。便于设计通用引物、便于排列 (alignment), 利于扩增等特点使得 rDNA 成为目前生

物系统进化研究中常用的分子标记^[15]。rDNA 在血吸虫的分类、分子流行病学和耐药性研究中的应用亦十分成功^[12]。本研究即选用适合种水平研究的 rDNA-LSU(28S) 基因。

本研究测定了土耳其斯坦东毕吸虫结节变种和程氏东毕吸虫 rDNA-LSU 基因。两者基因序列完全一致, 与 Snyder 测定的伊朗境内的土耳其斯坦东毕吸虫同一基因序列在 1 075 个碱基中仅有一个碱基不同, 且种水平特异性很高的 D1 结构域完全一致^[16,17]。本结果不支持程氏东毕吸虫作为独立种, 提示土耳其斯坦东毕吸虫结节变种和程氏东毕吸虫极可能是同种异名。

许绥泰提出程氏东毕吸虫为新种的依据是: 其睾丸较大, 椭圆形, 53~99 个, 并按拥挤单行排列, 而土耳其斯坦东毕吸虫及其结节变种的睾丸较小, 小颗粒状, 不规则双行排列^[6]。但实际上, 睾丸的形状和排列与雌雄合抱与否、观察时虫体所处的介质环境、观察角度以及虫龄均有密切联系。合抱的雄虫睾丸较大, 不合抱者睾丸就成小颗粒状^[9]; 侧面观察为单排, 而背腹面观察则为双排^[9]; 生理盐水中观察睾丸密集成一排, 清水中观察睾丸则排列松散^[7]; 雄虫虫龄较小时睾丸较大, 而虫龄较长的则睾丸萎缩变小^[18]。以上观察报道说明东毕吸虫的睾丸形状、大小和排列不宜作为分类依据, 这与沈杰经多年观察得到的结论相一致^[10]。

作者曾对土耳其斯坦东毕吸虫结节变种和程氏东毕吸虫进行扫描电镜观察 (SEM), 两者的雄虫体表超微结构基本一致, 与唐崇惕等^[19,20]报道的土耳其斯坦东毕吸虫的主要区别是其体表的感覺球较多, 较大, 但感覺球种类是一致的。作者认为成虫体表 SEM 结构特征不足以证明程氏东毕吸虫为独立种。

土耳其斯坦东毕吸虫结节变种是 Bhalerao 于 1932 年确定的, 它与土耳其斯坦东毕吸虫的唯一区别就是其成虫体表具有明显的结节, 尽管 Yamaguti (1958) 将其收入《蠕虫分类》一书, McHattie 和 Srivastava 却认为该虫种无效。唐崇惕、唐仲璋提出光镜下所见到的光滑和具有结节的差别是感覺球被皮层遮蔽, 其在皮层下突起情况以及皮层破损感覺球裸露情况不同所致; 并认为土耳其斯坦东毕吸虫结节变种与土耳其斯坦东毕吸虫是同一虫种^[8]。本研究发现两者的 rDNA-LSU 基因 1 075 个碱基中仅相差一个碱基, 还可能是由于测序方法不同造成的。作者另外克隆了我国两种东毕吸虫的第 2 内转录间隔区 (ITS2), 其序列亦完全一致。我们的结果支持三者是同种异名, 至少未达到种与种之间的差异水平。

另外,3种东毕吸虫的虫卵形态一致;地理分布均较广泛,且多数情况下一致;中间宿主螺均为椎实螺,螺种类存在交叉。虽然3种东毕吸虫对应的中间宿主螺略有不同^[4],但尚无系统的感染实验证明三者之间存在螺感染特异性。综上,认为程氏东毕吸虫不宜定为独立种,所谓程氏东毕吸虫即为土耳其斯坦东毕吸虫结节变种的同种异名。土耳其斯坦东毕吸虫结节变种本身很可能就是土耳其斯坦东毕吸虫的同种异名。三者之间的关系,尤其是后两者之间,有待于进一步探究。

致谢 黑龙江省兽医科学研究所王春仁副教授等协助收集东毕吸虫,特此致谢!

参 考 文 献

[1] Farley BJ. A review of the family Schistosomatidae; excluding the Genus *Schistosoma* from mammals[J]. J Helminth, 1971,45:289-320.
 [2] 徐振华,王惠孚,关绍卿,等.稻田皮炎的调查及病原虫程氏东毕吸虫尾蚴的研究[J].中华皮肤科杂志,1964,10:147-153.
 [3] 白功懋.我国的血吸虫尾蚴皮炎.其病原尾蚴及对裂体吸虫的分类研究[J].中国人兽共患病杂志,1994,5-A:126-128.
 [4] 耿贯一主编.流行病学(下册)[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1996:1221-1221.
 [5] 王溪云.家畜血吸虫病[M].上海科学技术出版社,1959:6-11.
 [6] 许授泰,杨平.甘肃省牛羊血吸虫的初步研究,包括一新种的描述[J].畜牧兽医学报,1957,2:117-124.
 [7] 唐崇惕,唐仲璋,曹华,等.内蒙古东部绵羊土耳其斯坦东毕吸虫的研究[J].动物学报,1983,29:707-708.

[8] 唐崇惕,崔贵文,钱玉春,等.土耳其斯坦东毕吸虫的扫描电镜观察[J].动物学报,1983,29:159-162.
 [9] 刘忠,赵鑫,牛淑范.吉林省稻田皮炎病因的调查及土耳其斯坦东毕吸虫结节变种生活史的观察[J].动物学报,1976,22:279-287.
 [10] 沈杰.程氏东毕吸虫不宜定为独立种[J].中国兽医寄生虫病,2001,9(1):14.
 [11] McManus DP, Bowles J. Molecular genetic approaches to parasite identification: their value in diagnostic parasitology and systematics[J]. Int J Parasitol, 1996,26:687-704.
 [12] Rolliston D, Kaukas A, Johnston D, et al. Some molecular insights into schistosome evolution[J]. Int J Parasitol, 1997,27:11-28.
 [13] Littlewood DTJ, Johnston DA. Molecular phylogenetics of the four *Schistosoma* species groups determined with partial 28S ribosomal RNA gene sequences[J]. Parasitology, 1995,111:167-175.
 [14] Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory manual[M]. 2nd ed. Cold Spring Harbour Laboratory Press, 1989:1.22-1.23.
 [15] Hillis DM, Moritz C, Mable BK. Molecular Systematics[M]. 2nd ed. USA, 1996:266-282.
 [16] Synder S, Loker ES. Evolutionary relationships among the Schistosomatidae (Platyhelminthes: Digenea) and an Asian origin for *Schistosoma*[J]. J Parasitol, 2000,86:283-288.
 [17] Barker SC, Blair D. Molecular phylogeny of *Schistosoma* species supports traditional groups within the Genus[J]. J Parasitol, 1996,82:292-298.
 [18] 唐崇惕,崔贵文,钱玉春,等.内蒙古科尔沁草原绵羊不同虫龄土耳其斯坦东毕吸虫及虫卵孵化的实验观察[J].动物学报,1990,36:366-375.
 [19] 王春仁,张广军,王文军,等.程氏东毕吸虫成虫体表扫描电镜观察[J].中国人兽共患病杂志,2001,17(2):59-63.
 [20] 张广军,邱东川,王春仁,等.中华血吸虫、土耳其斯坦东毕吸虫结节变种与其它几种血吸虫 SEM 结构的比较[J].中国兽医寄生虫病,2001,9(3):1-5.

(收稿日期:2001-04-06 编辑:富秀兰)

文章编号:1000-7423(2002)-02-0089-01

【消息】

2002 年环境与职业医学学术研讨会

“2002 年环境与职业医学学术研讨会”定于 2002 年 10 月 21-23 日在上海市召开,会期 3 天,由《环境与职业医学》杂志编委会主办。本次会议的主题是“环境、生态、职业与健康”,欢迎参会学者就“环境与职业医学”所涉及各领域专题作论文或口头交流。会上交流的论文,将由《环境与职业医学》杂志择优发表。

联系人:忻震萍、洪琪;邮编:200336;地址:上海市中山西路 1380 号《环境与职业医学》杂志编辑部;电话:021-62758710-198;传真:021-62957458;E-mail: ldyzz@online.sh.cn 或 hjzyyx@online.sh.cn。

征文截止时间:2002 年 9 月 30 日

《环境与职业医学》杂志编辑委员会
2002 年 4 月 12 日