

【综述】

文章编号: 1000-7423(2001)-02-0116-05

医学贝类学研究进展及发展方向

周晓农¹ 张仪² 曾肖梵³ 洪青标¹ 杨国静¹ 孙乐平¹

中图分类号: Q178.51

文献标识码: A

作为传播寄生虫病媒介动物的软体动物称为“医学软体动物”,简称“医学贝类(medical mollusca)”。医学贝类研究已成为贝类学及医学研究中一个方面,逐渐形成医学动物学(medical zoology)的重要分支-医学贝类学(medical malacology)。贝类作为某些寄生虫的中间宿主而传播疾病,绝大多数为吸虫的中间宿主,极少数为线虫的中间宿主。自 Bequart (1928) 报道 28 种贝类为人、畜寄生虫中间宿主后,许多学者相继报道了不同种数的贝类。刘月英等(1993)编写的《医学贝类学》中则描述了 78 种及亚种医学贝类,隶属于 13 科、29 属。随着寄生虫学、热带医学的不断发展,与寄生虫共进化的医学贝类学研究也从形态生物学研究逐步走向分子生物学、分子遗传学的研究,越来越多的高新技术应用于医学贝类学的研究。现就我国医学贝类的研究现状、今后发展的方向等作一综述。

1 研究现状

贝类学的研究是在发现贝类与某些疾病的特殊关系后,有了快速发展。较早发现螺与疾病关系是在 19 世纪后期,Leuckart (1882) 和 Thomas (1883) 分别在德国及英国发现肝片吸虫(*Fasciola hepatica* Linnaeus, 1758) 幼虫寄生于淡水椎实螺(*Lymnaea petregtr*) 和(*L. truncatula*) 的体内,人们才认识了肝片吸虫生活史。后来在 20 世纪初期相继发现了一些重要人体寄生虫生活史。

我国的医学贝类学研究在解放后有了较大进展。以钉螺为例,50 多年来的大量调查、研究,对钉螺的分类、生态、形态、分布及钉螺与血吸虫地域株的关系,及钉螺的生理、生化、遗传、灭螺方法等方面进行了大量研究。Davis (1979 ~ 1986) 根据世界螺类的地域分布及形态学,结合钉螺解剖、遗传变异

等特征,认为分布于亚洲及北美的种类应为圆口螺科(Pomatiopsidae, 刘月英将其译为盖螺科)。Madsen (1987)、Webber 等(1994) 已采纳这一科名。

Davis (1968) 应用凝胶电泳分析及形态解剖学等方面研究,认为我国台湾原定名为 *Tricola chiui* (Habe & Miyazaki 1962) 是一新的钉螺亚种,即 *O. h. chiui*。1971 年 Davis 又对钉螺进行了概括性总结,认为钉螺 *Oncomelania* 应为一属,下隶 *O. minuma* 和 *O. hupensis* 两种,前者为单型种,分布在日本,后者为多型种,下分 6 个亚种^[1]。周晓农等(1992 ~ 1995) 通过系列研究发现,中国大陆钉螺存在着不同亚群,这与环境和行为障碍有关。在同一亚群内,钉螺间的交配随机发生,且经长距离的扩散(如通过长江扩散)后仍能生存。等位基因酶图谱分析发现,中国大陆的钉螺较早地从喜马拉雅山脉进入云南省后,迁入与长江相通的四川平原,尔后扩散迁移至中国大陆的东海岸;而处于长江中下游的光壳钉螺为相间种群。由此扩散到长江湖区的钉螺,因环境明显不同发生了剧烈的基因漂流,控制纵肋发生的新突变基因在自然选择作用下保留下来,而形成肋壳钉螺种群。根据光壳与肋壳间的 D 值 0.15 估算,肋壳钉螺从光壳钉螺分化出来的时间约在 75 万年前^[2-4]。Woodruff 等(1986)、Viganant 等(1987) 应用等位基因酶、等电点聚焦电泳等方法研究世界各地的钉螺,发现各地区间钉螺等位基因的变异较大,虽然它们的形态相似并缺乏交配生殖隔离,湖北钉螺(*Oncomelania hupensis*)、菲律宾钉螺(*O. quadrasi*)、日本钉螺(*O. nosophora*)、台湾钉螺(*O. formosana*) 和印尼钉螺(*O. lindoensis*) 间可能存在种间差异^[5]。

关于螺与寄生虫的相互关系,既包含螺类自身悠久的进化和遗传过程以及寄生虫-螺的共同进化史,也涉及螺类所特有的防御系统。当寄生虫完全干扰宿主抵抗力时,血吸虫幼虫能生存;当寄生虫的干扰能力远小于宿主的抵抗力时,感染的螺会发生

作者单位:1 江苏省血吸虫病防治研究所,无锡 214064;2 中国预防医学科学院寄生虫病研究所,上海 200025;3 浙江省医学科学院寄生虫病研究所,杭州 310013

自愈;当螺抵抗力与寄生虫干扰能力处于平衡状态时,血吸虫胞蚴有存活可能,但发育不正常。寄生虫在螺体内生存是寄生虫干扰能力与宿主抵抗力相互作用的最后结果。就遗传学分子水平而论,寄生虫与其螺类宿主的相容程度取决于与之相关的寄生虫感染性基因和宿主的抗感染基因。同工酶(isoenzyme)是基因的表现型,受到基因的调控,因而寄生虫与其螺类宿主的同工酶等位基因比较,能为两者的相容性提供分子遗传学水平的证据。袁鸿昌等(1984)证明不同地区的钉螺对日本血吸虫相容性不同。周晓农等(1995)应用 Logistic 回归方程模型分析了中国 33 个采集点钉螺易感性与等位基因频率之间的关系,提出 MDH-2 基因位点与钉螺易感性相关。张仪等(1994)推测 PGM、MDH 酶与日本血吸虫/钉螺的相容性有关,因为这两种酶是中国大陆钉螺与日本血吸虫共有的多态位点酶。王晓勤(1994)比较了安徽、云南两省钉螺的 3 种溶酶体标记酶:ACP、PO 及 EST,提出 EST-3-F(快带)可能是钉螺对日本血吸虫安徽、湖北品系易感的同工酶等位基因标志。但在进行寄生虫与其螺类宿主相容性探讨时,不能简单地认为是某个等位基因位点、某种同工酶决定了其感染和抗感染能力。Michelson(1981)提出:相关关系并不表明不同酶带型决定了宿主对寄生虫的易感性,可能是编码同工酶的基因位点与抗性有关的基因相关联^[6-8]。

近年来用 DNA、RNA 分析方法于钉螺分类、分析螺-寄生虫间关系的研究已见报道^[9,10]。这些分子生物学的新技术促进了螺类研究的发展,并为遗传基因控制血吸虫和钉螺的研究提供了理论依据。

2 高新技术的应用

2.1 现代遗传学

遗传学研究方法应用于医学贝类历史较长,1957、1959 年 Wagner 应用世界上 4 种钉螺间 12 种可能组合进行杂交试验,并获成功。1954 年 Hubendick 倡导了螺类染色体技术,该技术在 70 年代发展了螺类染色体核型分析技术,对现代医学贝类学的发展起到了一定的推动作用。至 80 年代,医学贝类学引进了种群遗传学研究技术和染色体分带技术,使医学贝类学的研究更为深入。

2.1.1 种群遗传学 种群遗传学是研究群体的遗传组成以及每代遗传组成是怎样变化的,而通过酶蛋白的变异来估计一群体遗传物质变异程度为较简便的方法之一。利用同工酶尤其是同工酶等位基因

的酶谱分析方法,可分析螺类种间分类和种内遗传变异、进化程度。应用等位基因酶谱电泳技术进行钉螺的分类及种群间遗传分化的研究,受到国内外重视。Woodruff 等(1988)的研究表明,湖北钉螺菲律宾亚种的 7 个种群间的遗传距离为 0.001 ~ 0.118,中国湖北钉螺的 2 个种群间的遗传距离为 0.035,而菲律宾亚种与中国指名亚种间的遗传距离为 0.628。钱宝珍等(1994)的研究结果也表明亚种间差异显著而同一亚种的种群间未见明显变异。陈翠娥等(1992)对浙江三个地区不同外壳特征的钉螺(有肋、微肋、光壳)作了 24 种等位基因酶谱检测,发现三者基因结构基本相似,少数酶谱存在差异,推测不同螺壳的钉螺与其对日本血吸虫易感性有关。Davis 等(1994)在此基础上比较光壳钉螺与微肋钉螺间的遗传距离为 0.051,而光壳与有肋钉螺间为 0.154,提示光壳与微肋钉螺间的亲缘关系更为密切。周晓农、孙乐平等对中国大陆钉螺进行了种群遗传学的系列研究^[11],对采自 34 个现场螺点的钉螺进行了 13 种酶系统研究,结果 17 个等位基因中,7 个为多态位点,种群间遗传距离的变化范围为 0.03 ~ 0.27,肋壳钉螺种群显著地不同于光壳钉螺种群,两组间的遗传距离为 0.15,聚类分析图显示,聚类的组别与形态学和/或地理分布相一致。通过检测钉螺等位基因频率和种群遗传变异与地理分布之关系,认为分裂亚群模型是中国大陆钉螺种群的基本结构模型。对中国大陆 7 个地区钉螺的 13 种等位基因酶谱进行了分析,结果 7 个为变异的多态位点,提示这 7 个基因位点可能为影响中国大陆钉螺遗传变异较为重要的等位基因位点^[6]。张仪等 1987 ~ 1994 年间,对国内 37 个钉螺螺群进行了等位基因酶谱研究,提示大陆钉螺存在遗传多态现象^[7]。

等位基因酶谱电泳分析同样应用于其他螺类的分类与比较,如曼氏血吸虫中间宿主双脐螺、并殖吸虫的中间宿主拟钉螺、小泡螺等^[12-14]。Mulvey 等(1988)通过等位基因酶谱电泳,得出了西印度群岛光滑双脐螺群体间的差异与该群岛地理位置上的隔离相一致。曾肖芄等(1998)采用微量平面淀粉电泳法检测了采自浙江、四川两省的宋氏拟钉螺、拟钉螺及钉螺 5 个螺群的 21 种等位基因酶谱,结果显示三者螺类有较近的亲缘关系^[15]。

2.1.2 染色体 有关贝类的染色体核型分析文献报道较多。Patterson(1969)、Raicu 等(1973)已对一些螺类核型分析作过详细综述。1960 年, Burch

发现 *O. formosana* (台湾)、*O. hupensis* (中国大陆)、*O. nosophora* (日本) 和 *O. quadrasi* (菲律宾) 4 种钉螺皆具有 17 对 ($2n = 34$) 染色体, 认为这 4 种钉螺为同一个种的 4 个地理亚种^[1]。中国的 3 种螺 *Semisulcospira libertina*, *S. dolichostoma* 和 *Viviparus rivularis* 的双倍体染色体数目分别为 36 (中着丝点 9 对, 亚中着丝点 9 对)、34 (中着丝点 3 对, 亚中着丝点 14 对) 和 64 (中着丝点 2 对, 亚中着丝点 30 对) 条。何昌浩 (1994) 用采自湖北纹沼螺 (*Parafossarulus striatulus*) 和赤豆螺 (*Bithynia fuchsianus*) 的生殖腺制备染色体, 发现纹沼螺的染色体为 $n = 17$, $2n = 34$, 其中一对为性染色体。赤豆螺的染色体为 $n = 16$, $2n = 32$, 可以配对成 16 对, 其中一对为性染色体。

近年发展的染色体带型分析, 为螺类的研究提供了新技术。如 Goderman 等已应用 C-带技术对 *A. p. albicauda* 的染色体进行分析, 发现 2 对大的同源染色体具有 2/3 的长臂, 因此, 在 C-带染色后非常容易区分。在比较 *A. lenticula* 与 *A. p. albicauda* 的 C 带时, 可见 *A. p. albicauda* 具有 4nr-qct 和 5mr-qct, 而 *A. lenticula* 则不具有。从两者的杂交体 C 带染色体显示, 在 *A. p. albicauda* 螺中所见的 4 个标记在杂交螺体中仅有一半。

另外, G 带的核型研究已在一些非洲血吸虫的螺类中间宿主的研究中应用, 如 *Biomphalaria glabrata*, *B. straminea*, *Bulinus tropicus*, *B. natalensis*, *B. truncatus* 等。杨国静等^[16] 对钉螺进行了染色体的 G 带分析, 使染色体带型应用于钉螺的研究中。Q 带分析技术也已应用于一些陆生螺类的研究。

2.2 分子生物学

贝类分子生物学技术的应用进展很快。从开始的酶谱分析, 发展到 DNA 片段分析, 逐步深入到随机扩增多态 DNA (RAPD) 技术及微卫星序列的检测。PCR 技术应用于贝类学研究, 使贝类分子生物学更前进一步。由于神经生理学和螺类抗性研究的需要, 贝类的基因核苷酸、蛋白质序列分析和表达的研究又相继出现。

蛋白酶谱分析技术在 80 年代中期应用较多, 使用的方法有等电聚焦电泳法、多维等电聚焦电泳法、SDS 凝胶电泳、淀粉凝胶水平电泳法等, 这些方法已应用于多种螺类, 如钉螺, 拟钉螺, *Lanistes carinatus*, *Lanistes bolteni*, *Lymnaea viatrix*, *Lymnaea truncatula*, *Lymnaea cubensis* 等等^[17-19]。

RFLP 技术和 RAPD 技术分析螺类的基因组 DNA 也已应用于不同的螺类, 如钉螺, 小泡螺, 扁蝓螺等。两种技术有差别, 前者对基因组 DNA 使用不同的限制性内切酶切成不同的分子量的片段后, 经电泳分析比较不同片段的差异。酶切片段的电泳方式不同, 所获结果也不同。可用小凝胶水平电泳、大量琼脂糖凝胶电泳。前者适用于 DNA 样本量较少的情况, 后者适合于需精细分出不同酶切片段的带型。而 RAPD 方法, 则是以一条短而非特异性随机寡核苷酸序列作引物, 与模板 DNA 进行聚合酶链反应, 造成未知各区域扩增, 不同物种基因序列 RAPD 反应产生的片段显示不同的指纹图谱, 称之为多态性。Simpson 等用 RAPD 研究血吸虫及中间宿主种间差异效果较好。

PCR 技术发展后, 分别与 RFLP 和 RAPD 技术结合应用于螺类的研究, 主要用于研究螺类的遗传变异、探索遗传杂交原理、检测螺-寄生虫关系等方面^[12]。如 Hope 等 (1994) 以 PCR-RFLP 方法分析来自不同地区的钉螺, 发现该方法的结果支持已用同工酶等位基因酶方法研究的结果, 即中国大陆钉螺显著地与菲律宾钉螺不同, 而同是菲律宾钉螺的不同种群则区别较小。Caldeira 等 (1998) 报道用 PCR-RFLP 方法检测形态基本相似的几种螺类: *Biomphalaria straminea*, *B. intermedia*, *B. kuhniiana*, *B. peregrina*, 结果可根据共同带型分析来估计各种螺间的遗传距离。Stothard 等 (1996) 则应用 PCR-RFLP 方法检测了 5 种埃及血吸虫中间宿主小泡螺的遗传变异。Larson 等 (1996) 以 RAPD-PCR 方法观察了 *Biomphalaria glabrata* 的不同株, 发现抗性株和易感株间的不同标记物。

新发展的微卫星等位基因技术, 主要基于遗传物质 DNA 具有简单重复序列或短串联重复序列, 以 1~6 个碱基为核心, 单位串联重复排列而成的一类 DNA 序列。由于该序列种类多, 分布广, 高度多态, 因而很快成为核酸基因遗传标志而应用于种群间变异分析。已有报道分别用于 *Bulinus truncatus*, *Bulinus terrestris*, *Melanoides tuberculat*, *Biomphalaria glabrata* 等螺类。近年又发展了简单重复序列锚定 PCR (SSR-PCR), 是基于微卫星 DNA 分析技术发展的, 不仅具有 RAPD 优点, 而且重复性和稳定性均好, 多种物种及虫株只需一种引物, 简化了研究种株差异及分类的进程, 可望用于贝类的分类学研究^[20-22]。

由于螺类对寄生虫感染抗性的研究, 已有许多

作者着手于有关基因的筛选、分离、测序和表达等多方面工作,以找出螺类抗性基因。如英国 Rollinson 等报道,分析 *Bulinus* 抗性株中线粒体 DNA 的 ITS 基因及质粒过氧化酶 I (COI) 基因。上海中美热带病医学中心正在进行对钉螺抗性株过氧化酶 I (COI) 基因的测序工作。而在神经生理学研究中, Hermann 等 (1997) 以 *Lymnaea stagnalis* 为样本分离出 CDCH-1 基因,该基因有促进成螺产卵的作用。Van Minnen (1994) 则以原位杂交方法分析 *Lymnaea stagnalis* 螺的神经多肽 mRNA,以在神经索上定位,有利于神经多肽基因的表达^[19,23-25]。

2.3 数值分类法

自 1963 年 Sakal 和 Sneath 提出数值分类学 (numerical taxonomy) 至今,已有 30 多年。而数值法应用于螺类分类的时间更短。70 年代末,随着计算机的普遍应用,生物学家开始将数值分类法应用于螺类的分类学研究。数值分类法是根据生物性状的数值对分类单元进行分组,以评价分类特征关系中客观的、可解释的和可重复的方法。常用的有多元变量分析法,以确定种群间的差异(距离),并根据尽可能少的维性指标找出最佳判别方程。

在螺类种属水平的分类学中, Brown 等 (1971)、Kristensen 等 (1987、1989) 已分别应用数值分类法中的多元变量分析法,在非洲小泡螺种的形态上发现有明显的区别特征。Davis (1979) 则应用主成份分析和 Q 模型分类距离的多维测量值,建立了圆口螺属各种间的关系图。而在螺类种群水平上,王经邦等 (1979)、刘月英等 (1981) 发现钉螺壳体角度、壳形指数可作为区别钉螺不同种群的壳型指数特征。周晓农等 (1997) 对中国大陆 9 省 37 个现场点的钉螺形态学(壳形、钉螺解剖特征)进行了定量研究。主成份分析钉螺壳形特征显示,在描述钉螺壳的特征时应同时以壳体大小、壳形和壳厚等特征来表示。根据螺壳 16 项特征的主成份分析所描绘的图形,很清楚地区分出光亮与肋壳两组钉螺,并显示肋壳钉螺的壳大而厚,光亮钉螺的壳小而薄。逐步判别分析结果表明除 2 项特征(体螺旋肋数、次螺旋肋数)外,两组(肋壳、光亮) 14 个相同螺壳特征显著性地进入了判别分析方程,以分别判别两组中的不同钉螺种群。结果提示以纵肋为依据可将钉螺分为光亮螺和肋壳螺两大组,但在肋壳螺组内进行分类时,纵肋特征的重要性有所下降。在光亮组内分类时,壳形特征较壳体大小和壳厚特征更重要,而在肋壳组内,三者的重要性基本相同。壳顶角度是表示

壳形和螺壳发育的综合性特征,在两组分类中均为最重要特征。在壳体大小特征中, TW、L、LPC 为钉螺种群分类较为重要的特征。从判别分析中选择出来的特征是鉴定不同种群螺壳的关键而有用的特征,因为应用这些特征进行聚类分析,其结果与钉螺的地理分布相一致,分类正确率为 56.08% ~ 75.85%^[4,26,27]。

2.4 地理信息系统

地理信息系统 (GIS) 是集计算机科学、地理学、测绘学、空间科学、信息科学等为一体的新兴科学,并已逐渐应用于卫生管理决策和疾病监测中。GIS 结合遥感技术也将是医学贝类学研究的实用工具之一。Malone 等在埃及尼罗河利用 NOAA-AVHRR 气温资料确定了曼氏血吸虫病和双脐螺相对危害性。周晓农等 (1998) 应用 GIS 数据空间分析和地图重叠分析,显示血吸虫-螺传播指数(指数值大于 900)的分布基本上与中国南部地区的血吸虫病流行区相吻合,并得出结论血吸虫病的流行范围与温度、高程、雨量等因素密切相关,利用气象资料和卫星遥感资料对预测血吸虫病的潜在流行区有一定意义。同时选用地理信息系统和遥感技术建立气象-水文平衡数学模型对南京和江苏省周围地区钉螺扩散及血吸虫病流行进行了预测,并在洪水后利用陆地卫星遥感图像监测江滩变化以了解钉螺孳生地的变化。利用已有的钉螺种群遗传学数据库结合相关环境资料进行了 GIS 分析,得出直观而正确的中国大陆钉螺种群分布区域。因此,应用 GIS 这一工具,通过特定尺度的土地坐标和横截面,可展示和分析各种数据,如雨量、土壤类型、湿度、卫生实施基础结构、疾病媒介分布等等,尤其是结合某些时段的遥感资料后,有可能及时正确地预测、预报螺宿主和疾病扩散范围和强度^[28]。

3 研究方向

随着医学贝类学的深入发展,医学贝类学的研究必须引入高新技术及边缘学科,并充分发挥基础研究对应用研究的指导作用,使 21 世纪的医学贝类学对人类健康及经济发展作出贡献。结合近年来医学贝类学的研究进展,拟提出今后医学贝类学的研究方向及重点:

3.1 中国医学贝类地理信息系统

中国医学贝类种类繁多,在新世纪中开展一次较大范围的医学贝类学调查很有必要,并与全国寄生虫普查资料作相应的对照比较,可积累我国医学

贝类区系资源的资料。

3.2 医学贝类现代分类检索表

建立一套较完整的医学贝类分类检索,以完善以往的分类检索表,使之更为实用。

3.3 钉螺基因文库及抗性基因的研究

研究钉螺抗性基因,有望对控制钉螺传播血吸虫病方面有所突破。已发现全国各地钉螺的感染性不同,甚至出现不感染现象,这些发现为利用抗性基因控制钉螺传播血吸虫病提供线索。筛选抗性基因,可利用钉螺的基因文库,对目的基因进行筛选,以寻找出确有抗性的目的基因,为进行转基因工程控制传播血吸虫病服务。

3.4 医学贝类无害化工程

所谓医学贝类无害化工程,即寻找出一种方法使贝类物种继续生存,但不能传播寄生虫,使贝类对人类健康无害化。但医学贝类种类繁多,生态、生理、生化学基础均不一致。因此需寻找不同的途径以达到医学贝类无害化目的,目前可利用的方法有遗传工程和转基因工程。

医学贝类学作为一门古老的学科,起初主要应用形态分类法确定贝类的分类学地位。随着经济的发展,医学贝类学与渔业贝类学(fishery malacology)已成为应用贝类学(applied malacology)。随着现代高新技术的发展,这门学科必将会发展成现代应用贝类学(modern applied malacology),并且这门学科的重要性也将进一步被人们所认识。

参 考 文 献

[1] 周晓农. 钉螺的生物学研究进展. 中国血吸虫病防治杂志, 1994, 6(增刊): 25 - 31.

[2] 周晓农, 孙乐平, 洪青标, 等. 中国大陆钉螺种群遗传学研究 I、种群遗传变异. 中国血吸虫病防治杂志, 1995, 7: 67 - 71.

[3] 周晓农, 洪青标, 孙乐平, 等. 中国大陆钉螺种群遗传学研究 III、遗传变异与地理分布的关系. 中国血吸虫病防治杂志, 1995, 7: 202 - 205.

[4] Zhou XN, Kristensen TK. Genetic and morphological variation in populations of *Oncomelania* spp in China. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth, 1999, 30: 166 - 176.

[5] 刘月英, 楼子康, 王耀先, 等. 钉螺的亚种分化. 动物分类学报, 1981, 6: 253 - 267.

[6] 周晓农, Kristensen TK, 吴中兴, 等. 中国大陆钉螺种群遗传学研究 II、钉螺易感性与等位基因频率间的关系. 中国血吸虫病防治杂志, 1995, 7: 1 - 5.

[7] 张仪, 冯婷, Davis GM. 中国大陆钉螺等位基因位点研究. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1994, 12: 172 - 177.

[8] Zhou XN, Kristensen TK. Relationship between susceptibility and genotype frequency of *Oncomelania* spp. to *Schistosoma japonicum* from mainland China analysed by logistic regression. J Moll Stud, 1995, 61: 500 - 502.

[9] Van Minnen J. Axonal localization of neuropeptide-encoding mRNA in identified neurons of the snail *Lymnaea stagnalis*. Cell Tissue

Res, 1994, 276: 155 - 161.

[10] Langand J, Barral V, Delay B, et al. Detection of genetic diversity within snail intermediate hosts of the genus *Bulinus* by using random amplified polymorphic DNA markers (RAPDs). Acta Trop, 1993, 55: 205 - 215.

[11] Davis GM, Chen CE, Zeng XP, et al. Molecular genetic and anatomical relationships among Pomatiopsid (Gastropoda: Prosobranchia) genera from southern China. Proc Acad Nat Sci Philadelphia, 1994: 145:191.

[12] Caldeira RL, Vidigal TH, Paulinelli ST, et al. Molecular identification of similar species of the genus *Biomphalaria* (Mollusca: Planorbidae) determined by a polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. Mem Inst Oswaldo Cruz, 1998, 93 (suppl 1): 219 - 225.

[13] Stothard JR, Hughes S, Rollinson D. Variation within the internal transcribed spacer (ITS) of ribosomal DNA genes of intermediate snail hosts within the genus *Bulinus* (Gastropoda: Planorbidae). Acta Trop, 1996, 61: 19 - 29.

[14] Sire C, Durand P, Pointier JP, et al. Genetic diversity and recruitment pattern of *Schistosoma mansoni* in a *Biomphalaria glabrata* snail population: a field study using random amplified polymorphic DNA markers. J Parasitol, 1999, 85: 436 - 441.

[15] 曾肖芃, 陈翠娥, 丁建祖, 等. 宋氏拟钉螺等位基因酶谱的研究及探讨其传病意义. 实用预防医学, 1998, 5: 17 - 20.

[16] 杨国静, 周晓农, 孙乐平, 等. 钉螺染色体制备方法的改进和核型分析. 中国血吸虫病防治杂志, 2001, 13: 94 - 95.

[17] Jabbour-Zahab R, Pointier JP, Jourdan J, et al. Phylogeography and genetic divergence of some lymnaeid snails, intermediate hosts of human and animal fascioliasis with special reference to lymnaeids from the Bolivian Altiplano. Acta Trop, 1997, 64: 191 - 203.

[18] Abdelmordy MB, Sleem SH, Tantawi TA. Isozyme polymorphism of esterases in the genus *Lanistes* (Mollusca: Prosobranchiata) and genetic analysis of populations. Biochem Gene, 1997, 35: 77 - 89.

[19] 曾肖芃, 陈翠娥, 沈丽英. 同工酶等位基因酶谱分析在吸虫及其螺类宿主分类研究上的应用. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1998, 16: 226 - 229.

[20] Viard F, Bremond P, Labbo R, et al. Microsatellites and the genetics of highly selfing populations in the freshwater snail *Bulinus truncatus*. Genetics, 1996, 142: 1237 - 1247.

[21] Viard F, Justy F, Jarne P. Population dynamics inferred from temporal variation at microsatellite loci in the selfing snail *Bulinus truncatus*. Genetics, 1997, 146: 973 - 982.

[22] Viard F, Franck P, Dubois MP, et al. Variation of microsatellite size homoplasy across electromorphic loci, and populations in three invertebrate species. J Mol Evol, 1998, 47: 42 - 51.

[23] Kellett E, Perry SI, Santama N, et al. Myomidulin gene of *Lymnaea*: structure, expression, and analysis of neuropeptides. J Neurol Sci, 1996, 16: 4949 - 4957.

[24] Santama N, Li KW, Geraerts WP, et al. Post-translational processing of the alternative neuropeptide precursor encoded by the FMRF amid gene in the pulmonate snail *Lymnaea stagnalis*. Eur J Neurol Sci, 1996, 8: 968 - 977.

[25] Hermann PM, de Lange RP, Pieneman AW, et al. Role of neuropeptides encoded on CDCH1 gene in the organization of egg-laying behavior in the pond snail, *Lymnaea stagnalis*. J Neurol Physiol, 1997, 78: 2859 - 2869.

[26] Davis GM, 陈翠娥, 康在彬, 等. 亚洲和美洲的并殖吸虫的螺类宿主. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1994, 12: 279 - 281.

[27] Davis GM, Ghen CE, Yu SH. Unique morphological innovation and population variation in *Gammaricula songi*, a new species of *Triculinae* from China (Gastropoda: Rissoacea). Proc Acad Nat Sci Philadelphia, 1994, 145: 107.

[28] 周晓农, Kristensen TK, 洪青标, 等. 利用地理信息系统数据库分析钉螺空间区域的分布. 中华预防医学杂志, 1999, 33: 343 - 345.

(收稿日期: 2000-09-18 编辑: 庄兆农)