

· 综 述 ·

血吸虫遗传变异的研究进展

俞小淙* 吴观陵

南京医科大学寄生虫学教研室 南京 210029

遗传和变异是生物体保持种的属性和进化发展的共有生命现象。目前,对血吸虫系统分类的研究主要基于成虫和虫卵形态特征、中间宿主特异性、尾蚴逸出周期性、潜伏期、产卵量、致病性和免疫性以及地理分布等。寄生哺乳动物的血吸虫,主要分三个种团。曼氏血吸虫种团包括流行于非洲、南美洲及加勒比地区的4个虫种:曼氏血吸虫(*S. mansoni*)、罗氏血吸虫(*S. rodhaini*)、爱德华血吸虫(*S. edwardsiense*)、河马血吸虫(*S. hippopotami*),虫卵以侧刺形为主,中间宿主为双脐螺(*Biomphalaria* spp.);埃及血吸虫种团包括流行于非洲及邻近地区的7种血吸虫:埃及血吸虫(*S. haematobium*)、间插血吸虫(*S. intercalatum*)、麦氏血吸虫(*S. matthei*)、牛血吸虫(*S. bovis*)、柯拉松血吸虫(*S. curasoni*)、马格里血吸虫(*S. margrebowiei*)、莱氏血吸虫(*S. leiperi*),虫卵以端刺形为主,中间宿主为小泡螺(*Bulinus* spp.);日本血吸虫种团包括流行于我国和东南亚的4种血吸虫:日本血吸虫(*S. japonicum*)、湄公血吸虫(*S. mekongi*)、中华血吸虫(*S. sinensis*)、马来血吸虫(*S. malayensis*),以圆刺或微刺形虫卵为主,中间宿主为钉螺(*Oncomelania*)或拟钉螺(*Tricula aperta*),小罗伯特螺(*Robertsiella*)。除以上三个主要种团外,尚有人提及印地血吸虫种团(*Schistosoma indicum* group),包括印地血吸虫(*S. indicum*)、棱形血吸虫(*S. spindale*)、鼻血吸虫(*S. nasale*)、未明血吸虫(*S. ineognitum*),虫卵为端刺形,中间宿主为印度扁卷螺(*Indoplanorbis*),流行于印度次大陆及东南亚^[1,2]。1993年,WHO提出存在有间插血吸虫与埃及血吸虫的杂交种(*Hybridization*),见于Loum和喀麦隆各处。此外,尚有可以在两个中间宿主*Bulinus truncatus*和*Planorbis*体内发育的牛血吸虫(*S. bovis*)^[3]。但这种分类法不能全面地反映血吸虫种系发生的遗传变异关系。生物的表型变异并不能完全或真实地反映遗传变异,同一种基因型在不同的环境条件下,可发育出不同的形态生理特征,而有些有明显遗传变异的生物并不一定表现出形态学改变。因此,对血吸虫病的深入研究,必然要重视有关血吸虫种内和种间的遗传多样性(genetic diversity),以便对各种血吸虫病的临床、免疫学、流行病学、治疗药物和耐药机制等进行研究,特别是为DNA疫苗的研制和防治策略的制订提供理论依据。

1 遗传标志的选择

研究遗传变异的基础是选择合适的遗传标志。早期主要采用一些易于鉴别的形态和生物学性状作遗传标志,但数量

有限,易受环境因素的影响;随着生化技术的发展,蛋白的多态性和抗原组分被作为遗传标志,前者检测的重要手段是同工酶电泳技术,绝大多数同工酶位点呈共显性,等位基因及基因频率可以直接计算,因此可精确地测量生物自然种群的遗传变异的程度,但同工酶是基因表达产物,本身不是基因^[2]。本世纪70年代末,限制性内切酶技术和重组DNA技术的出现以及分子杂交、PCR等分子生物学技术的飞速发展,使遗传标志的研究开始转向遗传基因-DNA分子,由于各种遗传信息均来自于基因,生物个体间的遗传变异本质上就是DNA分子的差异,因此直接检测DNA序列的多态性,可认为是最可靠的遗传标志。

检测DNA序列的多态性技术,一类为检测特定的DNA片段,即候选标志(candidate marker),如限制性片段长度多态性(RFLP)和DNA指纹图谱分析。已有证据表明,在基因组DNA中某些区域在生物进化中表现出高度的多态性,可用于生物种群的遗传变异和亲缘关系以及系统发育的研究,如rRNA基因、线粒体DNA等。此外,还有影响某些特殊生物性状的结构基因,如蠕虫中的 β 微管基因与苯并咪唑的抗性有关^[3,4];DHFR-TS基因是识别疟原虫乙胺嘧啶抗性虫株的最好标志^[5];血吸虫理想疫苗候选分子GST的基因变异会影响其免疫效应^[20]等等。检测这类遗传标志,需先了解检测物种的信息。制备DNA探针,易受性状所限,即使发现了候选位点的变异并明显表现于表型特征中,也需区别其邻近连锁位点变异所造成的影响。另一类为随机遗传标志(random marker),是对全基因组中多态性位点的研究,如随机扩增多态DNA(RAPD),RAPD分析是采用合成的较短的单个随机引物对基因组DNA进行PCR扩增,用琼脂糖凝胶电泳对扩增产物检测,方法比较简便,可快速获得许多位点的DNA序列多态性资料。此外,新近又发现一种微卫星DNA标志,具有种类多、分布广、高度多态、重组率低和在种群中表现出高度的个体特异性等优点,正受到人们的重视^[6]。

2 血吸虫研究中已采用的主要遗传标志

2.1 核糖体RNA基因(rRNA gene)

真核生物rRNA基因(mDNA)的组成包括小亚基rRNA基因和大亚基rRNA基因以及将两者分隔开的转录间隔区,在每个转录单位之间有非转录间隔区。在每个细胞中,rD-

* 现在北京中国科学院遗传研究所 北京 100101

NA 的拷贝可达几十或几百个,这些基因按头尾相随的顺序组成一个个基因簇,分布于不同染色体上,不同的生物其 rDNA 的拷贝数可在几个到几千个范围内变化。曼氏血吸虫 (*Sm*) rRNA 基因复合体长约 10 kb,串联重复排列,拷贝数约 100 个。在物种进化过程中,不仅 rDNA 的数目会发生改变,而且每个 rDNA 拷贝都会独立地发生变异,导致同种生物 rDNA 结构的多态性。rDNA 分子中的一个微小变化(一个核苷酸的突变),就有可能导致生物对环境的适应力的改变(如某些抗性的产生等),所以,当多态现象处于一个重要功能位点时,它可能具有特殊的意义^[4]。因此 rRNA 基因是研究遗传变异较理想的遗传标志。

Simpson 等(1984)用限制性内切酶 *Bam*H I 将 *Sm* 的基因切成三个片段,并用 PBR 322 重组质粒克隆,在克隆的重组质粒中,分别显示有 4.4 kb (p_{sm} 889), 3.1 kb (p_{sm} 389) 和 2.4 kb (p_{sm} 890) 三个插入片段,用同位素标记制备成探针,并与限制性内切酶消化的血吸虫基因组 DNA 进行杂交,对血吸虫的遗传变异和系统发育进行了一系列研究,发现在 *Sm*、埃及血吸虫 (*Sh*)、日本血吸虫 (*Sj*) 之间 RFLP 有明显差异,对非洲和加勒比地区的多个 *Sm* 虫株比较发现虽然主带一致,但次带明显不同。对波多黎各 *Sm* 不同虫株比较也显示出带型差异,而这三个虫株在对螺的感染性及同工酶电泳均有明显差别。用该方法构建了非洲端刺虫卵种群中 6 种血吸虫的 rRNA 基因限制性位点图谱。在 *Sh* 的非转录间隔区发现了一个 0.5 kb 缺失,明显有别于其它的虫种,根据转录间隔区的插入片段还可区别麦氏血吸虫 (*S. mattheei*) 和马格里血吸虫 (*S. margrebowiei*), 同是侧刺虫卵的 *Sm* 和罗氏血吸虫 (*S. rodhaini*) 之间由于非转录和转录间隔区限制性位点的缺失或插入,使得印迹杂交显示出明显的种间差异。^[7-10]

用 *Sm* 探针 p_{sm} 750 对 *Sm* 14 个地理隔离群用 RFLP 法进行种内遗传变异的研究,发现在不同株间虽然存在具有鉴别意义的带型,但在这些种群的株内遗传变异很小^[11]。RFLP 的研究还可适用于血吸虫定性分析,如在塞内加尔,有三种具有端刺虫卵形态的血吸虫: *Sh*、牛血吸虫和 *S. curassoni*, 后者主要寄生于绵羊、山羊和牛,但是否可在人体内寄生尚有争议, *Sh* 和 *S. curassoni* 的虫卵形态一致,因此在两者共同流行地区单依据形态区别这两个虫种很困难,然而初步的研究显示两者的 rRNA 基因明显不同,由此可为虫体定性^[12]。研究发现 *Sh* 尾蚴 RFLP 明显区别于中间宿主同小泡螺的其它血吸虫尾蚴。用探针 p_{sm} 389 比较 *Sm* 感染的抗性双脐螺和敏感性双脐螺 (*B. glabrata*), 发现在 *Eco*R V 消化的双脐螺 rRNA 基因中, RFLP 带型明显不同,即使在抗性双脐螺不同分离株中也存在频率很高的遗传变异^[13]。

随着分子生物学技术的发展,对 DNA 的序列的测定已大为简化,对 DNA 序列的直接分析使研究遗传变异更直观,结果更可靠,对于研究生物进化历程和确定物种间的进化关系以及寻找突变位点具有明显的优越性。对梭形血吸

虫、*Sh*、*Sj* 以及 *Sm* 的 18S rRNA 基因的序列分析,发现虽然血吸虫 18S 高度保守,但仍可用序列资料初步建立该属分子系统发育体系,认为梭形血吸虫与 *Sh* 作为一个并列的分类单位 (sister taxon) 与 *Sm* 处于同一分支中,而 *Sj* 与该支的距离较远,所观察到的变异绝大多数处于基因高度变异的延伸区内,即相当于 18S rRNA 的 V4 区^[14]。有资料表明 28S rRNA 基因保守的核区中夹杂着一些可塑性较高的扩张片段或区域,命名为 D1 至 D18, Littlewood 测定了 *Sm*、*Sh*、*Sj* 梭形血吸虫 28S rRNA 5' 端三个高变区的序列,对序列数据用最大节省法和最大相似性法进行种系发生分析,认为 *Sj* 是最早的分支,迄今尚未确定种系发生关系的梭形血吸虫并列于 *Sm* 同支, *Sm* 虽是独立的,但与 *Sh* 有密切的亲缘关系^[15], 该结果与 18S rRNA 的分析结果相似。

用 PCR 扩增法获得了 *Sh*、麦氏和间插血吸虫 rRNA 基因的内部转录间隔区 (ITS), 序列比较显示 *Sh* 和间插血吸虫有 2 个重复单位, *Sm* 有 4 个重复单位,重复单位的序列高度一致,在 ITS2 区,三种血吸虫主要部分高度保守。研究结果表明这三种血吸虫 ITS 区所有的性质和重复单位均非常相似,因此不能用作探针来鉴别三种血吸虫^[16]。对 rRNA 18S V4 区及 28S D1 区的序列分析与前述的结果相似,支持血吸虫属中传统的分类结果^[17]。

2.2 线粒体 DNA

线粒体 DNA (mtDNA) 的进化明显较核 DNA 快,由母系遗传不会发生重组, mtDNA 序列的变化可反映生物种群内和群体 (population) 间的遗传变异。因此 mtDNA 是一个研究进化的理想工具,尤其是在相近虫种之间。早期的研究显示 *Sm* 的 mtDNA 在大小方面有较大的差异^[18]。一个非洲株 *Sm* 和 5 个美洲株 *Sm* 之间线粒体 16S rRNA 有微小的变异,进一步用 12 种限制性酶分析这 6 株 *Sm* 的 mtDNA, 发现株间存在广泛的长度多态性,在 40 个位点中,有 5 个限制性酶切位点呈多态性,系统发育分析的结果支持美洲株 *Sm* 是在几百年前由非洲传至美洲的假说^[19]。

2.3 GST 和其它蛋白的编码核酸

谷胱甘肽 S 转移酶 (GST 28 kDa) 是血吸虫一个理想的候选疫苗分子,但对血吸虫种间异源抗原交叉保护的可能性尚不完全了解,因此比较不同血吸虫 GST 并评价其亲缘关系是必要的。对牛血吸虫 (*Sb*)、*Sh*、*Sm* 和 *Sj* 的 GST 碱基序列及肽链序列进行比较认为 *Sm*、*Sh*、*Sb* GST 是相似的, 28 kDa 组分内的微小多态性可能为群体异源性或不同的 RNA 的共同表达所致。 *Sh* 和 *Sb* 28GST 蛋白具有高度保守性,提示它们在进化上密切相关,而 *Sj* 与其它三种血吸虫的 GST 同源性较低^[20]。

血吸虫卵壳蛋白基因在 *Sm*、*Sh* 和 *Sj* 之间高度保守,然而 *Sm* 与 *Sh* 的相似程度明显地大于各自与 *Sj* 的相似程度^[21]。

2.4 随机扩增多态 DNA (RAPD)

RAPD 是 90 年代建立的一种随机扩增检测 DNA 的遗传标志系统,具有分布广、多态性高、操作简便、高效等明显

的优越性,目前已广泛地运用于血吸虫的系统发育和遗传变异研究。

RAPD 最早应用于血吸虫的研究是 1993 年, Dias-Neto 研究发现编号为 3301 的随机引物在 *Sm* 的 5 个虫株之间呈现扩增条带的多态性,而引物 3303 在株间则带型一致,但在 8 个不同的血吸虫种间存在明显差异^[22]。Barral 用 40 种随机引物对 5 种血吸虫(曼氏、罗氏、牛、间插、日本血吸虫)研究显示,有 37 个引物在种间呈现明显的多态性,并据此绘制了这 5 种血吸虫的系统发育的进化树,此外在 *Sm* 株间、同一虫株的不同个体之间以及雌雄之间也发现了有限的多态性^[23]。

用 RAPD 对种团的种系发生研究显示:4 株间插血吸虫、3 株 *Sh* 和 2 株 *Sm* 形成三个独立的种系,这三个独立的种系又分别是 *S. curassoni* 牛血吸虫和罗氏血吸虫的姐妹组,麦氏血吸虫和 *S. leiperi* 可形成一个独立的种系,此外马格里血吸虫是唯一与其他血吸虫关系疏远的虫种,值得注意的是该虫种是唯一产生类似于日本血吸虫侧刺虫卵的非洲血吸虫^[24]。

对血吸虫种下分类的研究 RAPD 也显示了其较高的敏感性,Barral 从 10 个自然感染 *Sm* 的大鼠中检获的 212 条虫体中发现共有 78 种基因型,在同一个宿主内虫体之间的最大变异达 28 种基因型,同一宿主之内的变异程度大于宿主之间的变异程度,由于在该流行区钉螺感染率很低,而脊椎动物宿主的感染率高,因此认为造成宿主内部虫体发生遗传变异的原因可能是脊椎动物很高的迁移率和/或钉螺的多毛蚴感染所致^[25]。

早期的研究已经表明中间宿主的遗传因素影响寄生虫感染的存活与否,用 RAPD 比较血吸虫和中间宿主的遗传变异发现,血吸虫种内的遗传变异有限,而其中间宿主 *B. imphalaria glabrata* 却显示了很强的遗传变异,提示光滑双脐螺在血吸虫病流行学学的确定中起重要作用^[26]。用 RAPD 在抗性钉螺和敏感钉螺间发现了与抗性有关的特异性扩增片段,这些特异性标志,以显性或等显性方式遗传^[27]。

3 日本血吸虫遗传变异研究的历史与现状

50 年代中期以前,人们一直认为亚洲血吸虫病均由单一的日本血吸虫种所引起,以后根据各地 *Sj* 的生物学特性,提出 *Sj* 至少存在中国大陆、中国台湾、日本和菲律宾 4 个地域品系(geographic strain)。70 年代后期,对湄公河下游岛屿和河谷地区血吸虫病流行区的调查,发现 *Sj* 湄公品系在虫卵形态和大小以及中间宿主上有明显不同而重新定名为湄公血吸虫(*S. mekongi*)。近年来又陆续在马来西亚彭亨州山区土著病人的肝组织中发现类似 *Sj* 的虫卵,结合一些其它生物学性状的研究,将其定名为马来血吸虫(*S. malayensis*)。综合各方面的研究成果有人认为是日本血吸虫为一超种复合体(superspecies complex),存在着明显的种内和品系间的变异^[28]。

Flecher(1980)最早对亚洲的湄公血吸虫和 *Sj* 进行了同工酶研究,在 10 个位点上,两者的差异达 82%~91%,认为湄公血吸虫是独立的一个种,而 *Sj* 的不同地理品系中国大陆、中国台湾、日本和菲律宾也有较少的种内变异。由于其所用虫株为实验室传代的虫株,似难以代表血吸虫的自然状况^[29]。Woodruff 及 Marenlander(1987)应用多位点酶电泳技术分析亚洲各地 *Sj* 及其近似种的 10 余个等位基因的变异情况,计算 Nei 氏遗传距离,以非加权配对聚类分析法绘制了亚洲各地人体血吸虫的遗传距离图。研究发现 *Sj* 的不同品系(中国大陆、台湾、菲律宾、日本)之间遗传距离平均 > 0.3,远远地大于 *Sm* 株间的遗传距离,*Sj* 与湄公血吸虫和马来血吸虫之间的遗传距离 > 1,表示达到了独立虫种的水平,中国贵池(皖)与菲律宾 *M. indoro* 之间 *Sj* 的遗传距离 $D = 0.575 \pm 0.20$,该值比其他同种动物的一般遗传距离明显为大。结果表明中国大陆 *Sj* 品系具有非常突出的特点,与其他品系 *Sj* 及其近似种如湄公血吸虫和马来血吸虫有明显的差异^[30,31]。

何毅勋等对中国大陆安徽、湖北、广西、四川、云南五个不同地理隔离群的 *Sj* 进行了一系列的比较研究,主要包括了形态度量学、哺乳动物的易感性、幼虫与钉螺的相容性、对宿主的致病性、感染动物的血清免疫学反应、对吡喹酮药物的敏感性、蛋白电泳和抗原组分的测定、DNA 杂交、多位点酶电泳分析等。其中用同工酶电泳技术对 9 个基因位点的分析显示遗传距离为 0.001~0.039,遗传一致性 *I* 为 0.962~0.999,平均基因杂合度为 0.332,表明在这 5 个隔离群间基因结构基本相似,亲缘关系密切。与亚洲其他地区资料比较,中国大陆群体间的遗传距离明显较亚洲 4 大地区群体间的值为小,表明大陆境内 *Sj* 群体间的遗传分化程度较亚洲各地群体间为低^[32]。用 *Sm* 特异性克隆片段 *p_{sm} 889* 制备的探针分析中国大陆 5 个隔离群 RFLP 的差异,发现经 *Bam*H I 酶切的杂交图谱完全相同,经 *Eco*R I 酶切的杂交图谱中,主带完全一致,但弱杂交带有明显差异^[33]。曾宪芳(1993)用 *Sm p_{sm} 889*, *p_{sm} 389* 探针比较了 *Sm* 和 *Sj* 中国大陆品系的 RFLP 多态性,发现在种间存在有明显的差异,在 *Sj* 中国大陆湖南、湖北、江西、浙江、云南隔离群之间探针 *p_{sm} 389* 的杂交主带完全相同,但次带则有不同程度的区别,其中湖南、湖北、浙江互相接近,而江西及云南的次带与前三者有明显区别,且两者间亦显著不同。作者认为由于中国大陆各血吸虫流行区相距很远,钉螺的孳生环境及气候条件互不相同,各地 *Sj* 形成基因水平上不同的地理株是完全可能的^[34]。何毅勋综合分析了各种生物学性状、生化特性及分子生物学中有限的资料以后,认为目前所称的中国大陆品系 *Sj* 是由若干不同分化的品系所组成的品系复合体,至少包括 4 个不同地域品系:云南品系、广西品系、四川品系、皖鄂品系^[35]。本文作者曾用 PCR-SSCP 对中国大陆湖南、湖北、江西、安徽、四川、云南以及一个实验室驯化品系 *Sj* 28S rDNA-D2 区进行了多态性分析,该特异性 DNA 片段具有血吸虫虫种鉴别意义,但研究显示其在中国大陆不同隔离群之间单链带型

及构象完全相同, 具有高度的保守性^[36]。

显然, 用DNA 分子标志技术对Sj的系统发育和遗传变异的研究还较粗浅, 由于RFLP技术的敏感性有限, 尚难以全面地反映Sj种下的遗传变异程度, 此外所用探针来自Sm是否存在种间遗传变异的影响尚不能确定。因此需采用一些较敏感的遗传标志对Sj的种群遗传及遗传变异的程度做更精确的分析, 并结合生物学性状进行综合评估, 尤其不容忽视环境因素对Sj遗传分化的影响。

参 考 文 献

- Rollinson D, Simpson AJG. The biology of Schistosomes: from genes to latrines London U. K. Academic Press, 1987 1~ 49
- 赵慰先, 高淑芬主编 实用血吸虫病学 第1版 北京: 人民卫生出版社, 1996 13~ 20
- WHO. The control of Schistosomiasis, second report of the WHO expert committee Geneva, 1993 49~ 80
- Prichard R. Anthelmintic resistance Vet Parasitol 1994; 54 259~ 268
- van Dijk MR, McConkey GA, Vinkenooog R, et al Mechanism of pyrimethamine resistance in two different strains of *Plasmodium berghei* Mol Biochem Parasitol 1994; 68 167~ 171
- 俞小淙, 吴观陵 微卫星DNA 及其在寄生虫学研究中的应用 国外医学寄生虫病分册 1998; 25 97~ 100
- Simpson AJG, Dame JB, Lewis FA, et al The arrangement of ribosomal RNA genes in *Schistosoma mansoni* identification of polymorphic structural variants Eur J Biochem 1984; 139 41~ 45
- McCutchan TF, Simpson AJG, Mullins JA, et al Differentiation of schistosomes by species, strain, and sex by using cloned DNA markers Proc Natl Acad Sci USA 1984; 81 889~ 893
- Fletcher M, Loverde PT, Woodruff DS. Genetic variation in *Schistosoma mansoni*: enzyme polymorphisms in populations from Africa, Southeast Asia, South America and the West Indies Am J Trop Med Hyg 1981; 30 406~ 421
- Walker TK, Simpson AJG, Rollinson D. Differentiation of *Schistosoma mansoni* from *S. rodhaini* using cloned DNA probes Parasitology 1989; 98 (Pt 1); 75~ 80
- Minchella DJ, Lewis FA, Solleaberger KM, et al Genetic diversity of *Schistosoma mansoni*: quantifying strain heterogeneity using a polymorphic DNA element Mol Biochem Parasitol 1994; 68 307~ 313
- Rollinson D, Walker TK, Simpson AJG. New approaches to schistosome identification Parasitology Today 1986; 2 24~ 25
- Knigt M, Brindley PJ, Richards CS, et al *Schistosoma mansoni* identification use of cloned ribosomal RNA gene probe to detect restriction fragment length polymorphism in the intermediate host *Biomphalaria glabrata* Exp Parasitol 1991; 73 285~ 290
- Johnston DA, Kane RA, Rollinson D. Small subunit (18S) ribosomal RNA gene divergence in the genus *Schistosoma* Parasitology 1993; 107 147~ 156
- Littlewood DTJ, Johnston DA. Molecular phylogenetics of the four *Schistosoma* species groups determined with partial 28S ribosomal RNA gene sequences Parasitology 1995; 111 167~ 175
- Kane RA, Rollinson D. Repetitive sequences in the ribosomal DNA internal transcribed spacer of *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma intercalatum* and *Schistosoma mattheei* Mol Biochem Parasitol 1994; 63 153~ 156
- Barker SC, Blair D. Molecular phylogeny of *Schistosoma* species supports traditional groupings within the genus J Parasitol 1996; 82 292~ 298
- Despres L, Imbert-Establet D, Combes C, et al Isolation and polymorphism in mitochondria DNA from *Schistosoma mansoni* Mol Biochem Parasitol 1991; 47 139~ 142
- Despres L, Imbert-Establet D, Monnerot M. Molecular characterization of mitochondrial DNA provides evidence for the recent introduction of *Schistosoma mansoni* into America Mol Biochem Parasitol 1993; 60 221~ 230
- Trottein F, Godin C, Pierce RJ, et al Inter-species variation of schistosome 28-kDa glutathione transferase Mol Biochem Parasitol 1992; 54 63~ 65
- Bobek LA, Rekosh DM, Loverde PT. *Schistosoma japonicum*: analysis of eggshell protein genes, their expression and comparison with similar genes from other schistosomes Exp Parasitol 1991; 2 381~ 384
- Dias-Neto E, de Souza CP, Rollinson D et al The random amplification of polymorphic DNA allows the identification of strains and species of schistosome Mol Biochem Parasitol 1993; 57 83~ 88
- Barral V, This P, Imbert-Establet D et al Genetic variability and evolution of the *Schistosoma* genome analyses by using random amplified polymorphic DNA makers Mol Biochem Parasitol 1993; 59 211~ 222
- Kaukas A, Dias-Neto E, Simpson AJG et al A phylogenetic analysis of *Schistosoma haematobium* group species based of randomly amplified polymorphic DNA. Inter J Parasitol 1994; 24 285~ 290
- Barral V, Morand S, Pointier JP, et al Distribution of schistosome genetic diversity within naturally infected rattus detected by RAPD markers Parasitology 1996; 113 511~ 517
- Simpson AJG, Dias-Neto E, Vidigal TH, et al DNA polymorphism of schistosomes and their snail hosts Mem Inst Oswaldo Cruz 1995; 90 211~ 213
- Larson SE, Anderson PL, Miller AN. Use of RAPD-PCR to differentiate genetically defined lines of an intermediate host of *Schistosoma mansoni*, *Biomphalaria glabrata* J Parasitol 1996; 82 237~ 244
- 毛守白 主编 血吸虫病生物学与血吸虫病的防治 第1版 人民出版社, 1960: 203~ 209
- Fletcher M, Woodruff DS, Loverde PT, et al Genetic differentiation between *Schistosoma mekongi* and *S. japonicum*: An electrophoretic study. Malacol Rev 1980; Suppl 2 113~ 122
- Woodruff DS, Merenlender, AM Upatham ES, et al Genetic variation and differentiation of three *Schistosoma* species from the Philippines, Laos and Peninsular Malaysia Am J Trop Med Hyg 1987; 36 345~ 354
- Merenlender AM, Woodruff DS, Upatham ES, et al Large genetic distance between Chinese and Philippine *Schistosoma japonicum*. J Parasitol 1987; 73 861~ 863
- 何毅勋, 李新武 中国大陆日本血吸虫系的研究 V II. 五地隔离群的遗传变异及分化 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1992; 10 1~ 4
- 谢 冕, 何毅勋, 裘丽妹, 等 中国大陆日本血吸虫品系的研究 XII 五地隔离群血吸虫DNA 杂交 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1993; 11 6~ 8
- 曾宪芳, Rollinson D, Walder TK, 等 DNA 杂交鉴定血吸虫种株的研究 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1993; 11 1~ 5
- 何毅勋 中国大陆日本血吸虫品系的研究 I, 总结 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1993; 11 93~ 101
- 俞小淙, 吴观陵, 张耀娟, 等 日本血吸虫中国大陆株 rDNA-D2 区的基因多态性分析 中国人兽共患病杂志 1997; 13 141~ 143

1997年10月5日收稿 1998年9月21日修回
(编辑: 任燕芳)