

中国湖北钉螺(腹足纲:圆口螺科)分类现状

George M. Davis* 張 儀** 郭源華** Christina Spolsky*

(美國費城自然科學院)*

(中國預防醫學科學院寄生蟲病研究所, 全國醫學貝類分類學研究中心, 上海 200025)**

提要 本文對采自中國境內不同水域、不同螺殼類型的 14 個螺群的同工酶數據進行了遺傳分化研究, 探討中國湖北釘螺的分類現狀。結果表明, 中國釘螺存在重要的遺傳分化及與遺傳分化相關的可分辨的類型。對此進行研究后還發現了縣城交叉傳播和亞種間可能存在 3 個例外雜合螺群的依據; 此外, 螺群遺傳分化類型與地理分布、螺殼刻紋和形態特征相一致。以此為基礎, 湖北釘螺(*Oncomelania hupensis*)再分成 3 個獨立的亞種: 滇川亞種(*O. h. robertsoni*)、福建亞種(*O. h. tangi*)和湖北亞種(*O. h. hupensis*)。

關鍵詞 湖北釘螺, 分類, 遺傳分化

據形態學研究, 腹足綱鹿眼螺超科(Rissoacean)釘螺屬在亞洲有 2 個種(Davis, 1994): 湖北釘螺(*Oncomelania hupensis*)多型種和微小釘螺(*Oncomelania minima*)。前者分布于緬甸北部(化石)以及從中國西部至日本、菲律賓和印度尼西亞蘇拉威西; 后者分布于日本西北部的本州。

中國湖北釘螺和日本血吸蟲的共進化關係, 了解寄生蟲在其間的分化, 對生物進化學家和醫學家都相當重要(Davis, 1980; 1992)。由于釘螺從近中國雲南的緬甸西部, 通過中國向日本和菲律賓方向散布和分化(Davis, 1979), 寄生蟲被迫隨螺群遺傳變化而變化, 或被區域性滅絕。這種假設預言螺群間的遺傳距離估算值與寄生蟲群間的遺傳分化是平行的。釘螺群散布的估算值可從殼的特征、解剖特征或分子遺傳距離中得到。本文對采自我國境內不同水域、不同螺殼類型的 14 個螺群的同工酶數據進行了遺傳分化的研究, 目的在于探討中國湖北釘螺的分類現狀。

一、材 料 和 方 法

1. 釘螺螺群及螺殼表現型

14 個釘螺螺群分別采自云南大理; 四川西昌; 湖北監利、江陵、漢陽; 江西彭澤; 安徽貴池、銅陵、寧國; 福建福清、霞浦; 廣西桂平; 湖南岳陽; 浙江長興。采集點從螺群集中的中心向東, 主要在湖北-湖南-安徽三角區。

按螺殼不同分成 5 個表現型: (1) 光滑, 無唇嵴=S; (2) 光滑, 有顯著唇嵴=S, V; (3) 光滑, 有唇嵴, 倒數第二體螺旋上偶見似深的生長線的細肋=St; (4) 有肋、唇嵴, 肋多且顯著(較低螺旋上有 15—18 條), 但在輪廓上較少=R; (5) 有顯著強輪廓肋, 低螺旋上很少

(12—13),有唇嵴=Rt。每一螺群仅属于一个表现型。

2. 电泳方法

采用微量平面淀粉胶电泳(Davis *et al.* 1994b),按如下 30 个位点而染色:AAT-1, AAT-2(天门冬氨基转换酶,EC2. 6. 1. 1);ACPH(酸性磷酸酶,EC3. 1. 3. 2);AK(腺苷酸激酶,EC2. 7. 1. 20);AO(醛氧化酶,EC1. 2. 3. 1);APH(碱性磷酸酶,EC3. 1. 3. 1);CK(肌酸激酶,EC2. 7. 3. 2);EST-1,EST-2,EST-3(酯酶,EC3. 1. 1. 1);GDH-1,GDH-2(谷氨酸脱氢酶,EC1. 4. 1. 2);G6PD-1,G6PD-2(磷酸葡萄糖脱氢酶,EC1. 1. 1. 49);GPI(磷酸葡萄糖异构酶,EC5. 3. 1. 9);ISDH-1,ISDH-2,ISDH-3(异柠檬酸脱氢酶,EC1. 1. 1. 42);MDH(苹果酸脱氢酶,EC1. 1. 1. 37);ME-1,ME-2(苹果酸酶,EC1. 1. 1. 40);MPI(6-磷酸甘露糖酶,EC5. 3. 1. 8);NADD-1(尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸酶,EC1. 66. 99. 3);OCT(辛松果脱氢酶,EC1. 5. 1. 11);6PGO(6-磷酸葡萄糖脱氢酶,EC1. 1. 1. 44);PGM-1,PGM-2(葡萄糖磷酸变位酶,EC5. 4. 2. 2);SDH-1,SDH-2(山梨醇脱氢酶,EC1. 1. 1. 14);XDH(黄嘌呤脱氢酶,EC1. 1. 1. 204)。

遗传参数用BISYS-1进行计算(Swofford & Selander, 1981)。哈留-温伯格平衡式用于所有多态位点的分析。计算Nei氏(1978)遗传距离,用UPGMA方法进行分析。由于螺的数量不足,已定位点上同源等位基因不能重复检测,所以用Nei氏非偏正最小距离(mD),从而不至于影响D值。依据mD而得的无根树用于PHYLP(3. 4)的FITCH图的构建(Dillon & Davis, 1980)。假设种系发生的分析程序与进化比率不等,随机增加次序,通过最优化全面分支重排进行20次FITCH的重复。

二、结 果

平均杂合率0.008—0.093(每位点1.1—1.6个等位基因)。多态位点百分率4.0—28.0%,最低(4.0—8.0%)为福建、四川(西部)以及浙江(东部)采集到的光壳螺,光壳螺群的多态位点百分率,平均值为 9.3 ± 6.0 (4.0—20.0, $N=6$);最高(20.0—28.0%)为从湖北、安徽、江西采集到的有肋螺,有肋螺间的多态位点百分率是 20.6 ± 4.7 (16—28, $N=7$)。Nei氏(1978)mD见表1。从西到东,长江流域螺群中,Nei氏平均D值如下,云南-四川:0.107;湖北-湖南:0.089—0.102($N=3$);安徽0.231($N=2$)。依此数据而得的UPGMA聚类图见图1。从图中可见,代表遗传一致的3个群体是:云南、四川、浙江光壳螺群;福建低宽壳和低宽唇嵴的2个光壳螺群;2个期待以后讨论的、内聚性的有肋螺群。另在聚类图上面一群中,可能有3个杂合螺群。聚类图的一般拓扑学被FITCH分析证实。图2为最佳无根FITCH树(总平方=2.165);20次重复出现的仅4个唯一树,每一情况有3个明显组群:云南-四川-浙江(大理组);福清-霞浦(福建组);6个螺群(汉阳、桂平、岳阳、彭泽、江陵、宁国)组成的有肋螺群组。4个FITCH树的差异仅在3个可能杂合螺群的相关地方和分支长度;然而,不论那个树,此3个可能杂合螺群均处于一头为2个光壳螺群组 and 另一头为肋壳螺群组之间。前2组处在聚类图的上面一群;后面组与聚类图下面一群相一致。因此,UPGMA和FITCH分析间的差异主要存在于3个推测为杂合的螺群。

表 1 14 螺群遺傳距離(mD)

螺群 采集地	螺殼* 類型	雲南 大理	福建 福清	安徽 貴池	湖北 監利	江西 彭澤	四川 西昌	福建 霞浦	浙江 長興	安徽 銅陵	湖北 江陵	湖南 岳陽	廣西 桂平	安徽 寧國	湖北 漢陽
雲南大理	S,NV	—	0.218	0.209	0.166	0.297	0.110	0.215	0.007	0.101	0.344	0.308	0.296	0.294	0.225
福建福清	S,V			0.266	0.241	0.276	0.255	0.154	0.205	0.254	0.334	0.376	0.453	0.296	0.404
安徽貴池	Rt,V			—	0.202	0.247	0.270	0.262	0.203	0.204	0.299	0.245	0.260	0.325	0.286
湖北監利	R,V				—	0.274	0.232	0.234	0.169	0.156	0.339	0.280	0.378	0.372	0.324
江西彭澤	Rt,V					—	0.275	0.349	0.291	0.208	0.097	0.129	0.231	0.256	0.167
四川西昌	S,NV						—	0.266	0.127	0.155	0.292	0.367	0.361	0.328	0.307
福建霞浦	S,V							—	0.201	0.243	0.306	0.286	0.357	0.253	0.315
浙江長興	S,NV								—	0.092	0.337	0.300	0.290	0.281	0.249
安徽銅陵	Rt,V									—	0.262	0.203	0.221	0.217	0.167
湖北江陵	R,V										—	0.059	0.199	0.242	0.092
湖南岳陽	Rt,V											—	0.150	0.222	0.048
廣西桂平	St,V												—	0.232	0.098
安徽寧國	S,V													—	0.185
湖北漢陽	Rt,V														—

* 螺殼類型: R 表示有肋, S 表示光滑, V 表示有唇嵴, NV 表示無唇嵴。

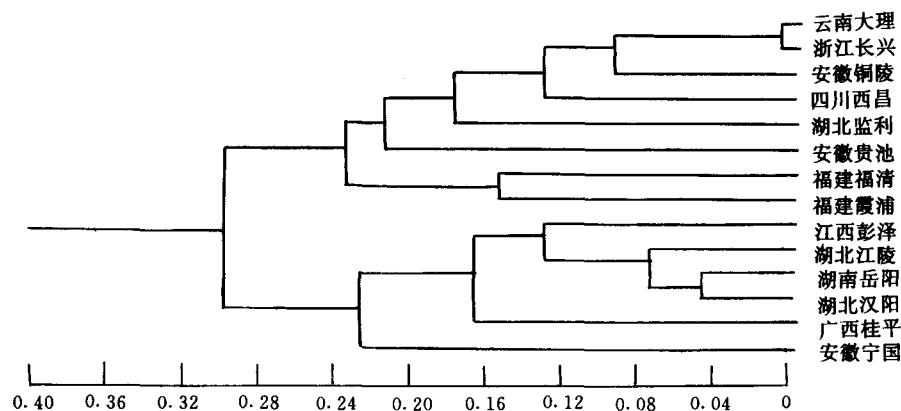


圖 1 依 Nei 氏遺傳距離繪制的 14 螺群 UPGMA 聚類圖

三、 讨 论

本研究获得的结果与在鹿眼螺超科觸螺科(Hydrobiidae)觸螺属(*Hydrobia*)的姐妹螺种研究中获得的数据相似(Davis, Forbes *et al.*, 1988; Davis, McKee *et al.*, 1989; Haase, 1993; Rosenberg, 1989),是在正常超育,鹿眼螺超科级内进行,它明显带有低杂合率和低多态位点百分率的一般模式。

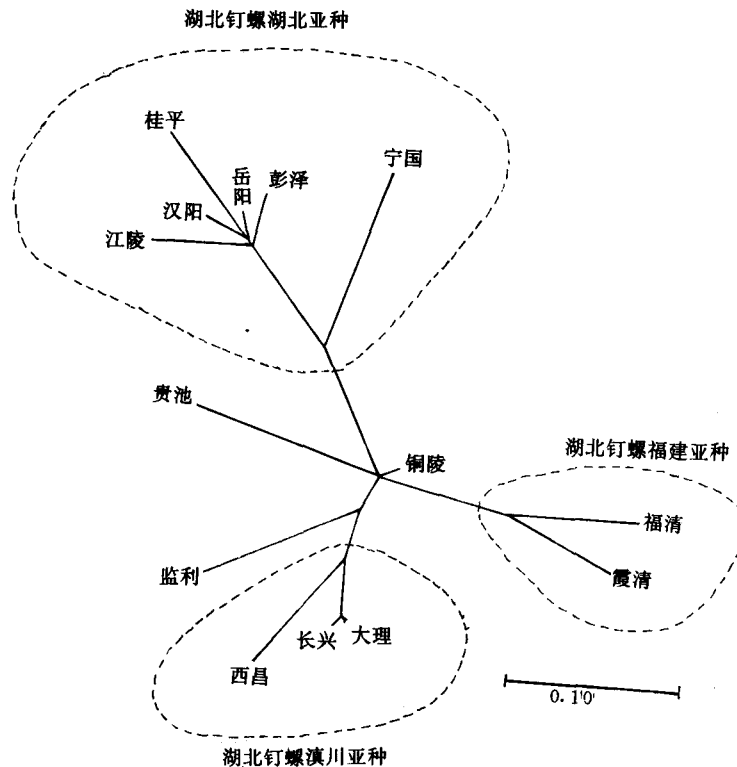


圖 2 依 Nei 氏遺傳距離繪制的 14 螺群無根 FITCH 圖

研究中发现 Nei 氏 D 值可渐升到 0.400 水准, 还不包括排除的 3 个待定杂合螺群。传统以湖北钉螺湖北亚种为分类的有助螺群的 Nei 氏 mD 值, 螺群间变异相当大(0.048—0.324)。

湖北钉螺多型种复合种已有的数据(形态学、遗传学和生态学)表明, 在中国境内外的许多分布区不重叠的螺群内, 向“种”级别进化已到变化的程度。依据贝壳差异, 刘月英等(1981)将我国大陆钉螺分成 5 个亚种: 指名亚种、滇川亚种、福建亚种、丘陵亚种及广西亚种, 这种分类还有争论。据本文数据, 我们倾向认为有 3 个独立亚种: 滇川亚种(*O. h. robertsoni*)、福建亚种(*O. h. targi*)和湖北亚种(*O. h. hupensis*)。

湖北钉螺湖北亚种包括原来的丘陵亚种和广西亚种, 散布在长江中下游流域, 特别是在湖北、湖南、安徽及广东的北江。它有粗肋并有似粗肋的唇嵴, 螺壳高、大。本研究此螺群间的 $mD = 0.204 \pm 0.085$ ($N = 21$)。原丘陵亚种生活在远离长江及其支流滩地的高地上, 螺壳大小与湖北亚种相当, 光壳, 厚唇嵴。原广西亚种据刘月英等描述分布在广西西北郁江和红水流域。螺壳中等大小、相当薄, 光壳, 弱唇嵴并有深的缝合线, 体螺层特别圆。2 个原亚种生活在相同地理区域。楼子康等(1982)断定它们是同一种。在湖北省发现一条河流, 其源地及上游为光壳形式螺, 沿江滩溪流为有助形式螺, 中间地带出现 2 种类型的中间渐变型。显然, 有助与江滩有关, 光壳与远离滩地的高地有关。两类型间并无自然或

生殖障碍;高地生境有异的仅是高程和河汛的反应,而微生境并无差异。从系统发育分析得知,“丘陵”类型与优势种有肋螺群相聚集。以前研究注意到后者螺群的 $mD=0.160\pm 0.07$ 。由此,我们认为湖北钉螺丘陵亚种不能作为一个亚种,它只是湖北钉螺湖北亚种的一种光壳形式。本研究所采集的广西螺群螺壳上有弱的、散布的肋或明显的生长线。与“丘陵亚种”螺群相似,这个螺群更紧密地聚集于湖北钉螺湖北亚种相关组。某些贝壳可见不明显肋以及它聚集于聚类图下面一群所显示的种间遗传姻亲关系表明,它是有肋螺壳组的一部分,似湖北钉螺湖北亚种,而不是另一个亚种。当然,还须进行地模标本研究加以证实。

图1上面一个聚集中的铜陵、监利和贵池3个有肋螺群似是湖北亚种,但在遗传和系统发育上,它们与光壳螺组更相关联,由此我们认为此3个螺群可能是光壳螺——滇川亚种和有肋的湖北亚种杂交的结果。

湖北钉螺滇川亚种分布在四川、云南海拔200—2000m的沿丘陵斜坡的沟渠、田边和盆地灌溉渠中;光壳、无唇嵴。此地理区域与长江流域的其它有关省被湖北省西部延续的长江三峡相隔离。此亚种的一个螺群不可思议地采自东部浙江省,其所在地与本研究的四川-云南螺群所在地相离最远、然与云南螺群趋异却最少($mD=0.007$)。此螺群传播了这样大的距离而遗传相当一致,不可能是沿长江漂游而散布到该处的,所以,非常可能是近期由人或鸟带入的。此3螺群经2种方法分析都紧密的聚集在一起($mD=0.081$),它与有肋组(湖北亚种) $mD=0.305\pm 0.071$ ($N=34$),与光壳福建组(福建亚种) $mD=0.220\pm 0.024$ 。2个光壳螺组在遗传距离上有明显差异。

湖北钉螺福建亚种生活在沿福建省海岸的山丘环境(海拔50—500m)及海岸低的小沟渠内。此地区与钉螺其它分布区隔离。此亚种光壳,有低且宽的唇嵴,螺壳宽度比滇川亚种的相关高度还宽。它们与其它所有的光壳螺 $mD=0.285\pm 0.066$ ($N=24$);与有肋组 $mD=0.336\pm 0.089$ ($N=10$)。从得到的螺群内 $mD=0.154$ 来看,此亚种与湖北亚种或滇川亚种间有明显的分歧。

任何一个名义上亚种,都无固定的特征性的唯一等位基因。遗传距离本身不是一种亚种状态的测量值,亚种应与遗传和形态相关。图1显示的系统发育聚类图为遗传内聚力提供了依据,同时为本文提出的3个亚种,以及有关“福建亚种”、“广西亚种”及可能杂合种的论点提供了依据。

Hope 和 McManus(1994)曾以PCR为基础,通过RFLP差异分析,发现中国的云南和四川螺群间有最大的趋异,然其数据令人费解。我们把这两螺群归为湖北钉螺滇川亚种,是因为它们在同工酶、螺壳刻纹、唇嵴缺失及生物地理等方面相近或一致,在细胞色素b基因序列中,它们几乎没有差异(未发表)。由此,我们认为在阐明螺群趋异时要注意所选用的方法;所有螺群的研究应该有对螺壳及确定的螺壳表型的阐述;作为证据的种应保存,用以对照。

四、小 结

特殊的地理区域和区域传染性模式的4种螺壳特征分类,用于对亚种状态的讨论。2

个光壳螺种的同工酶杂合性低,结合其螺壳特征、相关遗传聚类图及地理上的隔离,表明对重新认识其为亚种是有用的。这2个名义上亚种螺壳上存在不同类型的唇嵴表明它们有独立的起源,系统发育分析证实了这点。

据本文研究,应考虑:

(1) 3个地区螺群应被认作亚种。除地理位置和螺壳特征外,仅是它们自身的同工酶差异不适用于对每一螺群作为亚种的公正认可。

(2) 在受长江影响的山丘地区,螺壳上肋减少并消失,这并不影响其亚种状态。

(3) 3个有肋螺群的形态与遗传距离间的间断分布表明,可能在亚种间有杂交,特别在滇川亚种和湖北亚种间。

(4) 螺壳类型相同、分布区不重叠的重要螺群间的遗传距离,显示了在解剖学变化中所没有的遗传变化,特别是湖北钉螺湖北亚种复合种(包括所有有肋螺群)。我们预言,由这些分布区不重叠的螺群传播的日本血吸虫可能有与其平行的遗传差异,这种遗传差异将在细胞色素b的DNA基因序列上发现。在不同的速度和形式上,螺及其寄生虫内的分子差异比解剖学大体内容包含得多。能否发现用于确定一系列由Davis(1992)提出的紧密的共进系统,由地方寄生现象控制的亚种状态的足够差异,还是一个问题。

(5) 目前研究还需:对沿省内水道系统内的螺群进行详细分析,从高地开始一直到江河入口;为增加估计多态位点的可靠性,选择不同亚种的螺群,每螺群取50只以上螺进行比较;仔细分析湖北钉螺湖北亚种螺群,这些螺群应采自钉螺螺壳变化明显的河流:在江滩上有有肋钉螺,在较高的高程上有光壳钉螺。

参 考 文 献

- 刘月英、楼子康、王耀先等,1981,钉螺的亚种分化,动物分类学报,6(3):253。
- 楼子康、刘月英、张文珍等,1982,钉螺分类的探讨,动物学集刊,2:97。
- Davis, G. M., 1979, The origin and evolution of the gastropod family Pomatiopsidae, with emphasis on the Mekong River Triculinae, *Monograph. Aca. Nat. Sci. Philadelphia*, 20:1.
- Davis, G. M., 1980, Snail hosts of Asian *Schistosoma* infecting man; origin and coevolution, In: J. Bruce et al., (eds.) *The Mekong Schistosoma, Malacological Review, Supplement*, 2:195.
- Davis, G. M., V. Forbes, G. Lopez, 1988, Species status of northeastern American *Hydrobia* (Gastropoda: Prosobranchia); ecology, morphology and molecular genetics, *Pro. Aca. Nat. Sci. Philadelphia*, 140(2):191.
- Davis, G. M., M. McKee, G. Lopez, et al., 1989, The identity of *Hydrobia truncata* (Gastropoda: Hydrobiinae); Comparative anatomy, molecular genetics, ecology, *Pro. Aca. Nat. Sci. Philadelphia*, 141:333.
- Davis, G. M., 1992, Evolution of prosobranch snails transmitting Asian *Schistosoma*; coevolution with *Schistosoma*; A review, *Progress in Clinical Parasitology*, 3:145.
- Davis, G. M., 1994, Molecular genetics and taxonomic discrimination, *The Nautilus, Supplement*, 2:3.
- Davis, G. M., 陈翠娥, 曾小芄 et al., 1994b, Molecular genetic and anatomical relationships among pomatiopsid (Gastropoda: Prosobranchia) genera from southern China, *Pro. Aca. Nat. Sci. Philadelphia*, 145:191.
- Dillon, R., G. M. Davis, 1980, The *Goniobasis* of southern Virginia and northern North Carolina; genetic and shell morphometric relationships, *Malacologia*, 20:83.
- Haase, M., 1993, The genetic differentiation in three species of the genus *Hydrobia* and systematic implications (Caenogastropoda, Hydrobiidae), *Malacologia*, 35:389.

- Hope, M., D. P. Mcmauns, 1994, Genetic variation in geographically isolated populations and subspecies of *Oncomelania hupensis* determined by a PCR-based RFLP method, *Acta Tropica*, 57: 75.
- Rosenberg, G., 1989, Phylogeny and evolution of terrestriality of the Atlantic Truncatellidae (Prosobranchia; Gastropoda; Mollusca), (Unpubl. thesis) Harvard University.
- Swofford, D. L., R. Selander, 1981, BIOSYS-1, A computer program for the analysis of allelic variation in genetics, Univ. of Illinois, Urbana, 60.

SYSTEMATIC STATUS OF *ONCOMELANIA HUPENSIS* (GASTROPODA; POMATIOPSIDAE) THROUGHOUT CHINA

George M. Davis*, Zhang Yi**, Guo Yuanhua**, Christina Spolsky*

(Academy of Natural Sciences of Philadelphia, USA)*

(Institute of Parasitic Disease, Chinese Academy of Preventive Medicine, Shanghai 200025)**

ABSTRACT

Measures of population divergence for *Oncomelania* can be derived from shell characters, anatomical characters, or molecular genetics distances. This study explores genetic divergence based on allozyme data involving 14 populations widespread throughout China, are in divergent drainage systems, and have different shell phenotypes. The authors examined 25 loci. Nei's genetic distance ranged from 0.007 to 0.453.

While there is no correlation of increasing genetic distance with geographic distance, the authors found coherent discernable patterns to the genetic differentiation. Careful examination of these patterns provided evidence for one case of cross-country transport of snails, and for the existence of three exceptional populations that appear to indicate that hybridizations between subspecies may have occurred. Excluding these four populations, patterns of genetic differentiation were in general correlated with geographic distribution and shell sculptural and shape characters. These patterns thus served as the bases for subdivision of *O. hupensis* into three discrete subspecies: *O. h. robertsoni*, *O. h. tangi* and *O. h. hupensis*.

Key words *Oncomelania hupensis*, systematic molecular genetic differentiation