

不同地区日本血吸虫 及钉螺的聚丙烯酰胺凝胶电泳比较

邱则吟 江梦雪 苏永芳 罗宇初
王文霓 蒋仲茵 巫俊侠 胡忠勤
周贤坤 辜学广 赵文贤 许发森

(四川省医学科学院寄生虫病防治研究所)

有关寄生虫种间差异的研究,陈桂光(1965)、Yoshimura(1968)以及七十年代以来国内各有关学者都进行过一些研究,至于各流行区的日本血吸虫及其中间宿主是否存在种以下的生物学差异,尤其在同一省是否存在不同生物特性的虫株尚未见报道,故本文就四川地区不同水系分布和专区划分,选用不同地区的血吸虫及钉螺,用凝胶盘电泳及等电聚焦方法进行水溶性蛋白分离,并分别与浙江杭州血吸虫和安徽贵池钉螺进行比较。

一、材 料 和 方 法

(一)样品来源及制备

1. 钉螺:由四川天全、眉山、德阳、西昌及安徽贵池现场采集的阴性成螺,经室内一段时间饲养后,压碎、切取钉螺足肌并磨成匀浆,离心沉淀(12000转/分),取上清液稀释成1:8浓度。

2. 血吸虫成虫:取四川天全、德阳、西昌及眉山现场自然感染钉螺,和由人工感染浙江杭州血吸虫株的安徽贵池钉螺,分别压碎漂逸后取尾蚴感染家兔(每兔接种1000—1200条)。感染后42天解剖家兔,用灌注法取虫,分离雌雄虫体,用0.9%盐水洗涤三次(供等电聚焦分离蛋白的虫体再经0.25M蔗糖液洗2次),吸干虫体表面水份,称得鲜重,磨成匀浆,离心沉淀,取上清液稀释成所需浓度。

(二)试剂及凝胶制备

盘电泳各种试剂和凝胶配方按莽克强等(1975)方法。其分离胶浓度为8%,隔离胶浓度为3%。

等电聚焦试剂配方及电泳条件、程序等基本上均按中国科学院上海寄生虫病研究所的方法进行。

上述两种方法电泳后的染色胶柱经照相、鉴定区带数后用日本ATAGO“KEM I C—H”型、波长590nm光密度计进行光密度扫描。

(三)差异系数的计算

两个样品标准差之和除两个平均数的差数所得之值为差异系数。

二、结 果 和 讨 论

(一)钉螺足肌蛋白的盘电泳分离

对四川德阳、天全,西昌、眉山及安徽贵池钉螺足肌水溶性蛋白各进行5—8次试

验，共电泳336支胶条，用110支进行光密度扫描。

结果：五地区钉螺足肌蛋白的电泳图谱各次实验重复性较好，均有三组染色较深的谱带，但电泳区带数以安徽贵池最少，至多可分辨18条谱带，而四川四个地区均较多，可多达25条谱带，且20带以上者占75—100% (见表1)。

根据亚种划分的“75%”规则，Mayr等(1953)提出当差异系数达到1.28时，表明样品A与B可区分为两个亚种。本实验中，安徽与四川四地区的钉螺足肌电泳区带差异系数均大于1.28，即分别为2.24(贵池—德阳)、2.31(贵池—西昌)、1.78(贵池—眉山)、2.07(贵池—天全)；而四川省内四地区间区带差异系数均小于1.28，即分别为0.08(德阳—天全)、0.16(德阳—西昌)、0.11(德阳—眉山)、0.02(眉山—西昌)、0.17(眉山—天全)、0.24(西昌—天全)。这些生化参数与有关学者根据生殖隔离为基础的生物物种的概念并综合形态、生态、生理及地理分布等资料划分我国钉螺为一个种7个亚种，将安徽与四川钉螺分属于指名亚种(*O. h. hupensis*)和滇川亚种(*O. h. robertsoni*)的结论一致，而四川省内上述四地区之间出现亚种分化的可能性甚小。

(二)血吸虫蛋白质的盘电泳及等电聚焦分离

用盘电泳方法对浙江杭州及四川德阳、天全、西昌四地区血吸虫雄虫水溶性蛋白进行21次实验，共电泳胶条252支。用等电聚焦方法对杭州、眉山、天全三地区血吸虫雄虫水溶性蛋白进行20次实验，共电泳胶条168支。

结果表明，等电聚焦的分辨力显著高于盘电泳，前者最多可分辨39条谱带，后者最多只分辨24带。但两种方法分离血吸虫雄虫蛋白区带的结果，均一致表明浙江杭州与四川上述四地区血吸虫的蛋白电泳图谱、区带主峰的泳动率(Rf值)及等电点pH值均基本近似(见表2)，且区带分布均偏向正极。虽然区带数各地略有差异，但计算其差异系数均小于1.28(0.02—0.44)，表明无分类学上的意义。

表2 用盘电泳及等电聚焦方法分离血吸虫雄虫蛋白区带比较

地 区	盘 电 泳					等 电 聚 焦		
	测量胶条数(支)	区带数范围	蛋白质主峰 Rf 值($X \pm 2S$)			测量胶条数(支)	区带数范围	等电点分布范围(pH)
			I 峰	峰	峰			
浙江杭州	26	16—19	0.50+0.03	0.78+0.04	0.92 ± 0.01	16	21—35	5.1—7.6
四川眉山	—	—	—	—	—	28	24—39	5.3—7.6
四川天全	26	19—22	0.51+0.03	0.76 ± 0.05	0.91 ± 0.02	17	24—37	4.8—6.7
四川德阳	25	18—21	0.49+0.02	0.74 ± 0.04	0.92+0.03	—	—	—
四川西昌	30	20—24	0.49+0.02	0.79 ± 0.02	0.93+0.02	—	—	—

(下转第39页)

三、讨 论

(一)在成蝇羽化过程中,最初分别用1000毫升的玻璃瓶饲养,每只放1对,内放糖水浸透的棉球,奶粉及供黑蝇产卵的猪粪,数天后不见产卵,考虑可能是范围太小,后分别转入18×18×18厘米和30×30×30厘米的笼内,经11天后仅发现有一雌蝇产了卵,但都没有孵化、可能没有受精,也就是说未经交尾。而后又将新羽化的成蝇放入36×36×50厘米的大笼内,仍出现以上的情况,看来可能因斑蹠黑蝇具有群飞现象,在笼内不易交尾。故要解决笼内繁殖问题,似应先从了解自然情况下黑蝇的交尾繁殖习性入手。

(二)据观察黑蝇捕食家蝇的方式为先用口钩插入家蝇幼虫的表皮内,然后吸取体内的内含物。在捕食二龄幼虫时,可把内含物吸尽,仅剩外皮。当捕食三龄幼虫时,一般只吸少量的内含物或者仅把幼虫的肠管拉出。因此在比较杀伤二龄或三龄幼虫时,尽管三龄幼虫较大,而每条斑蹠黑蝇幼虫平均每天杀伤的幼虫数以及三龄期间平均杀伤总数基本相同。

(三)斑蹠黑蝇幼虫每天捕食杀伤的家蝇幼虫数虽较多,但实际上若作为家蝇的天敌去控制虫口的密度意义不大:

1. 繁殖力:黑蝇每次产卵间隔4—5天,而家蝇是2—3天。即一只雌黑蝇12天产3批卵时,家蝇已产了6批,而每次产卵数目家蝇又比黑蝇多2倍,黑蝇每次约产出70粒卵,而家蝇可达200粒左右。从卵发育至成虫所需的时间来看,黑蝇为16—18天,而家蝇仅10—12天,可以看出家蝇的生活史很短,因此在繁殖代数 and 数量上,都比黑蝇多。

2. 捕食情况:由于黑蝇幼虫要待三龄时才能捕食,也就是说从一批卵发育至三龄幼虫需2—3天才能捕食,而这时家蝇已又产了第二批卵,所以黑蝇的捕食能力也远低于家蝇的繁殖力。

根据以上分析可以看出,在自然界,黑蝇幼虫虽能捕食一定数量的家蝇幼虫,但家蝇的繁殖力要比黑蝇强得多,在繁殖速度、繁殖数量等方面,黑蝇都远远赶不上家蝇,因而黑蝇虽是家蝇的一种天敌,仍不能成为影响家蝇虫口密度的重要因子,因此单独利用的意义不大。

参 考 文 献

杰尔本尼娃,乌霍娃 B. . 1957 家蝇的生态及其在传染病学上的意义。41—42页,科学出版社

(上接第41页)

参 考 文 献

陈桂光 1965 中国的血吸虫种株研究进展 动物学杂志, 7(5): 149—152

莽克强等 1975 聚丙烯酰胺凝胶电泳 科学出版社。

刘月英等 1981 钉螺的亚种分化 动物分类学报6(3): 253。

Mayr等 1965 动物分类学的方法和原理 科学出版社(中译本)

Yoshimura, K. 1968 Disc electrophoretic comparison between *Schistosoma japonicum* and *S. mansoni* adult worms. Jap. J. Parasit. 17(5): 382 - 394 .