

基于线粒体 12S 基因对青海地区细粒棘球 蚴种群遗传多态性研究

延 宁¹, 聂华明¹, 蒋忠荣², 邓世金², 余 华³, 严玉宝³, 达瓦次仁⁴,
谢 跃¹, 付 彦¹, 杨德英¹, 郝桂英¹, 古小彬¹, 杨光友^{1*}

(1. 四川农业大学动物医学院, 雅安 625014; 2. 四川省甘孜州畜牧科学研究所, 康定 626000;
3. 四川出入境检验检疫局, 成都 610041; 4. 西藏自治区动物疫病预防控制中心, 拉萨 850000)

摘 要: 本研究旨在分析青海地区细粒棘球蚴的种群基因多态性, 为细粒棘球蚴病的防控提供基础资料。对采自青海地区的 42 株细粒棘球蚴(33 株采自绵羊肝脏, 9 株采自绵羊肺脏)进行了线粒体 12S 基因的全序列测序并构建了 NJ 系统发生树。结果显示: 在本研究样品的线粒体 12S 基因序列中共检测出 5 种单倍型(即 H₁~H₅), 其中以单倍型 H₅ 为主(占 32 株), 并且系统发生树分析支持这一结果。单倍型多样性(H)和核苷酸多样性(Pi)分别为 0.418、0.000 66, 与 *E. granulosus* G1(AF297617)的 12S 基因序列的核苷酸相似性达到 99.86% 以上。采自青海地区的 42 株细粒棘球蚴均鉴定为 *E. granulosus sensu stricto*(基因型 G1-G3), 在检测出的 5 种单倍型中, 单倍型 H₁~H₄ 是本地区特有的单倍型。

关键词: 细粒棘球蚴; 12S 基因; 遗传多态性; 青海

中图分类号: S852.734

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)06-0972-07

Genetic Polymorphisms of *Echinococcus granulosus* in Qinghai Based on the Mitochondrial DNA 12S Gene

YAN Ning¹, NIE Hua-ming¹, JIANG Zhong-rong², DENG Shi-jin², YU Hua³, YAN Yu-bao³,
Dawa Ciren⁴, XIE Yue¹, FU Yan¹, YANG De-ying¹, HAO Gui-ying¹, GU Xiao-bin¹,
YANG Guang-you^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;
2. Ganzi Animal Science Research Institute, Kangding 626000, China; 3. Sichuan Entry-Exit
Inspection and Quarantine Bureau, Chengdu 610041, China; 4. Xizang Preventive and Control
Center for Animal disease, Lasa 850000, China)

Abstract: The aim of the current study was to investigate the genetic polymorphisms of *Echinococcus granulosus* obtained from sheep in Qinghai Province, and provide the foundational data for prevention and control of echinococcus disease. The complete mitochondrial DNA 12S genes of 42 isolates(33 were from liver and 9 were from lung) were sequenced, and phylogenetic analyses were conducted using neighbor-joining tree-building methods. There were five haplotypes (H₁ to H₅) detected among the samples, and H₅ was the main type. Phylogenetic analysis supported these observations. The haplotype diversity (H) and nucleotide diversity (Pi) were 0.418 and 0.000 66, respectively. It was demonstrated that the genetic homology of these isolates with the 12S gene of *E. granulosus* G1 genotype(AF297617) was over 99.86%. All 42 samples were identified as *E. granulosus sensu stricto* (G1-G3 clusters). In this study, genotypes H₁ to H₄ has not

收稿日期: 2011-11-07

基金项目: 国家科技支持计划项目(2006BAI06B09); 国家质检总局科技计划项目(2009IK019)

作者简介: 延 宁(1985-), 男, 山东东营人, 硕士, 主要从事动物寄生虫病学研究, E-mail: yn2524117@163.com

* 通讯作者: 杨光友, 教授, 博导, 从事动物寄生虫病学研究, E-mail: guangyou1963@yahoo.com.cn

been identified elsewhere.

Key words: *Echinococcus granulosus*; 12S gene; genetic diversity; Qinghai

细粒棘球蚴为绦虫纲(Cestoda)圆叶目(Cyclophyllidea)带科(Taeniidae)棘球属(*Echinococcus*)的细粒棘球绦虫(*Echinococcus granulosus*)的中绦期幼虫,细粒棘球蚴寄生于牛、羊、猪、马、骆驼等家畜及多种野生动物和人的肝、肺及其它器官内,引起动物和人的细粒棘球蚴病。该病又称为囊型包虫病(Cystic echinococcosis, CE),是呈世界性分布的重要人兽共患寄生虫病。我国多个省、市、自治区有此病发生,其中以新疆、西藏、青海、四川西北部牧区发病率最高^[1-2]。对细粒棘球绦虫种群进行遗传多态性的调查研究,将有助于更好地掌握它的流行病学特征。

细粒棘球蚴是一种生物学类型较复杂、遗传变异较大的虫种,有学者通过对线粒体基因 CO1、ND1 及核糖体基因 ITS1 的基因分析将细粒棘球绦虫(细粒棘球蚴)分为 10 个主要的基因型(即 G1-G10)^[3-8]。然而,Nakao 等^[9]提出了不同的意见,他们认为近年来的研究表明细粒棘球蚴是由 4 或 5 个隐藏种组成的,细粒棘球蚴基因型又可以概括为 *E. granulosus sensu strict*(基因型 G1~G3)、*E. equinus*(基因型 G4)、*E. ortleppi*(基因型 G5)和 *E. canadensis*(基因型 G6~G10)。其中,*E. canadensis* 的分类地位仍然存在争议。

线粒体基因(Mitochondrial DNA, mtDNA)因其母系遗传、无内含子、缺少重组的遗传特质,常用于物种的系统进化和分类地位的研究。其中,12S rRNA 基因进化速度适中,常作为分子标记用寄生虫物种种群遗传和系统进化的研究^[10-13]。青海省地处青藏高原东北部,大部分地区海拔在 3 000~5 000 m,西高东低,西北高中间低,地形复杂多样,形成了独具特色的高原大陆性气候,降水少、温差大、日照时间长。青海是中国五大牧区之一和重要的畜牧业生产基地,有 5 亿亩可利用草场,有各类牲畜 2 300 多万头,其中绵羊 1 400 多万只。青海高原存在特殊的地理气候条件,并有特有的中间宿主(牦牛和藏羊)的存在,可能成为细粒棘球绦虫发生变异的外在因素。为探索青海这一特殊地理环境下细粒棘球蚴株系间的种群遗传变异特点,本研究采用细粒棘球蚴线粒体 12S 基因全序列测序的方法,对我国青海省 42 株细粒棘球蚴绵羊株进行种群遗传多

态性分析,为细粒棘球蚴的种群遗传结构、细粒棘球蚴病的分子诊断和分子流行病学研究提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 细粒棘球蚴的采集

42 株细粒棘球蚴包囊样品于 2010 年 6—7 月采自青海省西宁市两家屠宰场所屠宰的绵羊肝脏和肺脏,绵羊来自青海省各地。将样品的包裹与绵羊组织分离,用生理盐水漂洗 5 次,编号,于 -20 ℃ 保存备用。分离自同一个宿主的细粒棘球蚴包囊为 1 个分离株样品。QH-S1~QH-S23、QH-S30~QH-S38、QH-S42 采自绵羊的肝脏,QH-S24~QH-S29、QH-S39~QH-S41 采自绵羊的肺脏。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 采用酚/氯仿法^[14]提取细粒棘球蚴基因组 DNA,于 -20 ℃ 保存备用。

1.2.2 12S 基因的扩增、纯化与序列测定 根据 GenBank 已发表 G1 型细粒棘球绦虫线粒体全基因组(序列号:AF297617)的 12S 基因序列设计 1 对引物。引物序列:P1 5'-AGCCAGGTTCGGTTCT-TATCTATT-3', P2 5'-CAACGCCAACACCA-CATTC-3'。引物序列由上海英骏生物技术有限公司合成。

扩增体系为 25 μ L: 2 \times Taq PCR MasterMix 12.5 μ L,引物 P1、P2(10 pmol $\cdot\mu$ L⁻¹)各 1 μ L,模板 DNA 1 μ L, ddH₂O 9.5 μ L,混匀后稍加离心。扩增条件:95 ℃ 预变性 5 min,95 ℃ 变性 50 s,48 ℃ 复性 55 s,72 ℃ 延伸 60 s,共 35 个循环,最后 72 ℃ 延伸 10 min。同时,以 ddH₂O 代替模板 DNA 作空白对照。反应结束后,取 5 μ L PCR 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其大小、纯度及亮度。

使用柱式 DNA 胶回收试剂盒进行 DNA 的回收纯化,回收产物送英潍捷基(上海)贸易有限公司(Invitrogen Trading (Shanghai) Co., Ltd)进行双向测序,以保证所测序列的准确性。

1.2.3 序列分析与系统进化分析 检索 GenBank 数据库,检索已发表的 7 种基因型的细粒棘球蚴及 4 种其它棘球属绦虫的线粒体全基因组(表 1),下载其相应的 12S 基因序列,并检索各大洲细粒

棘球绦虫 G1~G3 型的 12S 序列(表 2),用 Clustal W 软件进行序列比对,确定变异位点。用 DNAMAN 进行序列比对分析。用 DnaSP 4.0 分析软件计算种群的核苷酸多样性(Nucleotide diversity,

Pi)、单倍型数及单倍型多样性(Haplotypes diversity, H)。用 MEGA 4.0 软件构建 NJ 树,选择 Kimura 2-parameter 模式,进行重复 1 000 次的自举检验。

表 1 不同棘球属绦虫的 12S 基因序列信息

Table 1 Information of 12S gene sequences of different *Echinococcus* cestodes

种(株)名称 Specie (Genotype)	地理位置 Geographical position	宿主 Host	登录号 Database accession No.	参考 Reference
<i>E. granulosus</i> (G1/绵羊株)	英国	绵羊	AF297617	Le et al. (2002) ^[15]
<i>E. granulosus</i> (G4/马株)	英国	马	AF346403	Le et al. (2002) ^[15]
<i>E. granulosus</i> (G5/牛株)	阿根廷	牛	AB235846	NAKAO et al. (2007) ^[16]
<i>E. granulosus</i> (G6/骆驼株)	哈萨克斯坦	骆驼	AB208063	NAKAO et al. (2007) ^[16]
<i>E. granulosus</i> (G7/猪株)	波兰	猪	AB235847	NAKAO et al. (2007) ^[16]
<i>E. granulosus</i> (G8/鹿株)	美国	北美麋鹿(驼鹿)	AB235848	NAKAO et al. (2007) ^[16]
<i>E. multicularis</i>	日本	棕背鼠平(仓鼠)	AB018440	NAKAO et al. (2002) ^[17]
<i>E. oligarthrus</i>	巴拿马	实验室小鼠	AB208545	NAKAO et al. (2007) ^[16]
<i>E. shiquicus</i>	中国	高原鼠兔	AB208064	NAKAO et al. (2007) ^[16]
<i>E. vogeli</i>	哥伦比亚	未知	AB297617	NAKAO et al. (2007) ^[16]

表 2 各大洲细粒棘球绦虫 G1~G3 型种群的 12S 基因序列信息

Table 2 Information of 12S gene sequences of different continents *Echinococcus granulosus* G1 to G3 genetic cluster

种名称 Specie	地理位置 Geographical position	宿主 Host	登录号 Database accession No.	序列长度/bp Sequence length	参考 Reference
E. g G1-G3	中国青海省	绵羊	JN981087~JN981128	700	This study
E. g G1	伊朗	绵羊	GQ856705~GQ856709, GQ856714~GQ856717, GQ913678~GQ913681,GQ913683	259	Nejad, M. et al. (2009)
E. g G1	伊朗	山羊	GQ856699~GQ856704, GQ913682, GQ913684~GQ913687	259	Nejad, M. et al. (2009)
E. g G1	伊朗	牛	GQ856694~GQ856698	259	Nejad, M. et al. (2009)
E. g G1	伊朗	骆驼	GQ856710~GQ856713	259	Nejad, M. et al. (2009)
E. g G1	印度	绵羊	GQ168814	700	Pan, D. et al. (2009)
E. g G1	哈萨克斯坦	绵羊	DQ408422	313	Trachsel, D. (2009)
E. g G1	意大利	绵羊	FJ608716, FJ608741~FJ608744	282	Gabrielli, S. et al. (2009)
E. g G1	意大利	牛	FJ608747	307	Gabrielli, S. et al. (2009)
E. g G1	巴西	绵羊	AY462129	317	Dinkel, A. et al. (2004)
E. g G1	乌拉圭	未知	AB024515	313	Yagi, K. et al. (2008)
E. g G1	苏丹	犬	HM988991	201	Omer, R. A. et al. (2010)

2 结 果

2.1 12S 基因序列的组成及相似性

对 42 株细粒棘球蚴线粒体 12S 基因进行测序,得到 700 bp 的 12S 基因全序列(登录号:JN981087~JN981128)。基因序列中没有碱基插入和缺失,其中保守位点 696 个,变异位点 4 个(占 0.57%),包括 3 个简约性信息位点和 1 个单变异位点。A、T、C、G 碱基的平均含量分别为 25.0%、41.7%、9.0%、24.3%,其中 A+T 含量(66.7%)明显高于 G+C 含量(33.3%)。序列中只有转换,没有颠换。其中,第 82 位碱基发生 A 与 G 的转换 5 个;第 286 位碱基发生 T 与 C 的转换 2 个;第 402 位碱基发生 A 与 G 的转换 2 个;第 561 位碱基发生 T 与 C 的转换 1 个。本次测得分离株的 12S 基因序列间核苷酸相似性较高,为 99.86%~100%,与细粒棘球蚴基因型 G1、G4-G8 的相似性为 87.77%~100%,而与棘球属其它虫种的相似性为 85.93%~89.35%。

在本次研究中,青海地区细粒棘球蚴绵羊分离株有 32 株的 12S 基因序列与参考株 *E. granulosus* (基因型 G1 AF297617)中的 12S 基因序列完全相同。用此 32 株中的分离株 QH-S1 的 12S 基因序列与 GenBank 上检索到的不同地域不同宿主 *E. granulosus* G1 型的 12S 基因序列(表 2)进行分析比较发现:非洲地方株(苏丹 HM988991)、哈萨克斯坦地方株(DQ408422)和印度地方株(GQ168814)与本研究所测基因序列(QH-S1)完全相同;南美地方株(巴西 AY462129 和乌拉圭 AB024515)在 546 位碱基都发生 T 插入;亚洲伊朗地方株(GQ8566694~GQ856717, GQ913678~GQ913687)在 200、352 位碱基有 T 插入各 1 个,在 352 为碱基有 A 插入 1 个,在 199、202、450 位碱基发生 G→T 的颠换(分别为 1 个、2 个、1 个),在 440、447 位碱基发生 T→G 的颠换(分别为 1 个、1 个),在 350 位碱基发生 A→G 的转换 1 个。

2.2 细粒棘球蚴种群的遗传多样性

42 个分离株的 12S 基因序列共检测出 5 种单倍型,即 H₁~H₅。其中 QH-S3、QH-S5、QH-S7、QH-S15、QH-S38 为 H₁(5 株),QH-S11、QH-S32 为 H₂(2 株),QH-S2、QH-S9 为 H₃(2 株),QH-S26 为 H₄(1 株),其余为 H₅(32 株)。单倍型多样性

(H)为 0.418,核苷酸多样性(Pi)为 0.000 66。单倍型间的遗传距离为 0.001~0.003(平均遗传距离为 0.002)。与 *E. granulosus* G4~G8 基因的遗传距离为 0.073~0.094(平均遗传距离为 0.057);与其它棘球属绦虫(多房棘球绦虫、少节棘球绦虫、伏氏棘球绦虫、石渠棘球绦虫)基因的遗传距离为 0.087~0.124(平均遗传距离为 0.108)(表 1)。

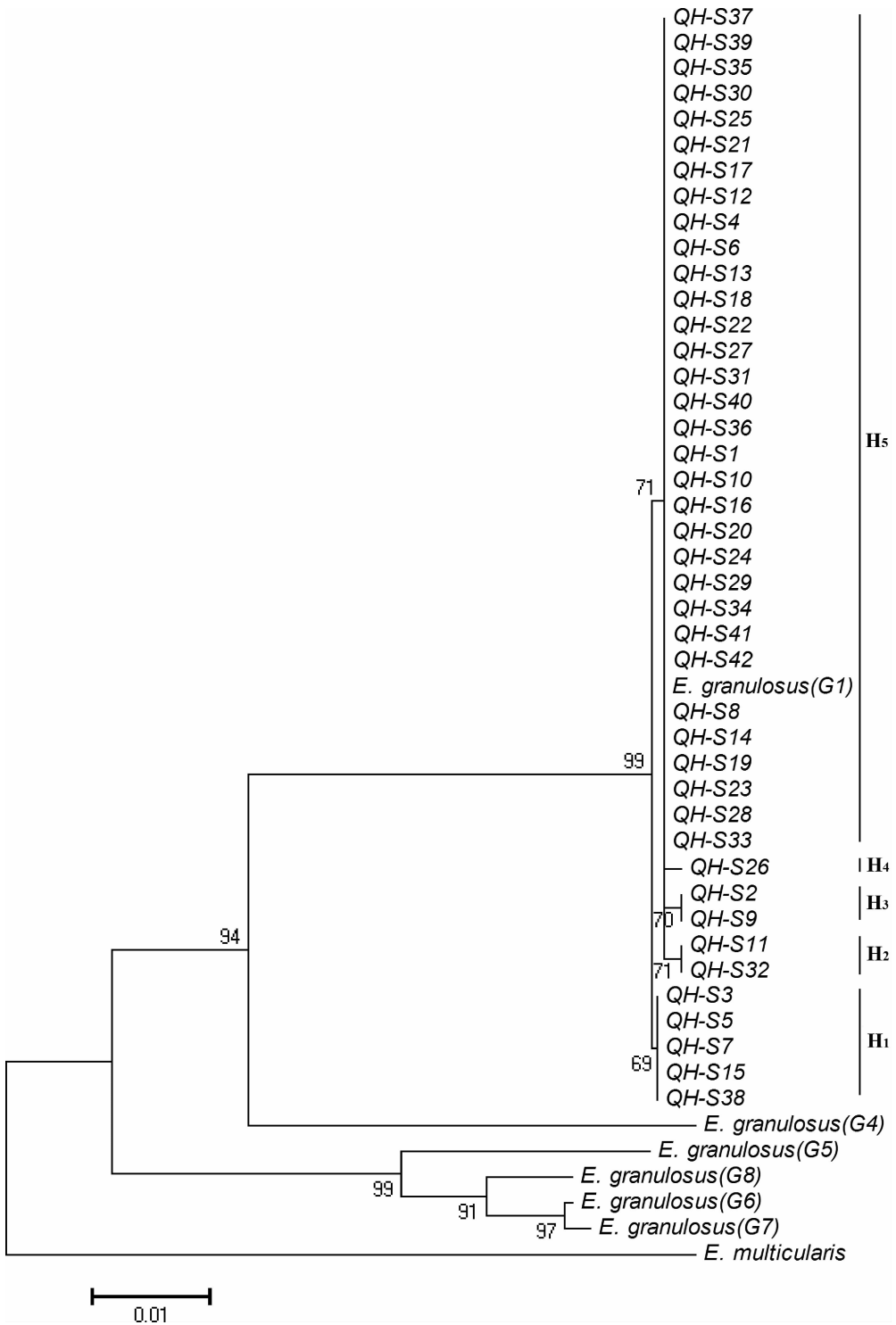
2.3 基于 12S 序列的系统发生分析

基于线粒体 12S 基因全序列,以多房棘球绦虫(AB018440)为外群,采用 NJ 法构建细粒棘球蚴种群间的系统发生树(图 1)。系统发生树结果显示,青海细粒棘球蚴绵羊分离株和参考株 *E. granulosus* G1 明显位于一个分支上,可以与细粒棘球蚴其它基因型参考株相鉴别。同时,本次研究得出的青海细粒棘球蚴各单倍型(H₁~H₅)也可以通过系统发生树区分开来。

3 讨 论

本研究首次扩增了我国青海地区细粒棘球蚴种群 12S 基因全序列,并进行了种群遗传多态性的分析研究。对青海地区绵羊体内的 42 株细粒棘球蚴线粒体 12S 基因序列分析表明该基因的 A+T 含量(66.7%)明显高于 G+C 含量(33.3%),在 4 种碱基成分中, T 含量最高(41.7%),其次为 A(25.0%)和 G(24.3%),C(9.0%)含量最低,碱基组成存在明显的偏倚性。这与贾万忠等^[18]研究的结果相符合,他们发现带科绦虫线粒体基因组中富含 AT,约 70%,带属的 AT 含量最高,棘球属的 AT 含量较带属的稍低。

细粒棘球蚴遗传多态性的研究对该虫种传染性(尤其是对人的感染性),流行性及诊断与预防有重要意义^[19-23]。青海不同地域细粒棘球蚴种群间 12S 基因的变异情况存在一些差异,但差异性较小。本研究结果显示,细粒棘球蚴单倍型多样性(H)为 0.418,核苷酸多样性(Pi)为 0.000 66。这一研究结果一定程度上说明青海株细粒棘球蚴绵羊分离株种群间遗传多样性程度较低。同时,所测 42 株细粒棘球蚴线粒体 12S 基因的序列相似性非常高(99.86%~100%),这也说明青海细粒棘球蚴绵羊分离株各种群间遗传差异性较小。



H₁ ~ H₅. 单倍型

H₁ to H₅. Haplotypes

图 1 基于线粒体 12S 基因全序列的细粒棘球绦虫 NJ 树

Fig. 1 NJ phylogenetic tree of complete mitochondrial *E. granulosus* 12S sequence

近年来,12S 基因被多个学者用于细粒棘球绦虫种群遗传的研究。一项研究中,Simsek 等^[13, 25]通过 12S 基因的部分序列对土耳其东部绵羊和牛的

细粒棘球绦虫分离株进行分析,鉴定为 *E. granulosus* s. s.。另一项研究中,de la Rue 等^[11]利用 CO1 和 12S 基因对巴西南部细粒棘球绦虫进行种内变异分

析,通过 12S 基因把 147 株鉴定为 *E. granulosus* s. s.。而在葡萄牙,Beato 等^[10]利用 CO1、12S、16S 和 ATP6 基因对当地细粒棘球绦种群进行分析,CO1 将样品鉴定为 G1 型、G3 型或 G1-G3 混合型,其他 3 种基因也得出了相似的结果。在本次研究中,青海地区细粒棘球绦绵羊分离株有 32 株的 12S 基因序列与参考株 *E. granulosus* (基因型 G1, AF297617)中的 12S 基因序列完全相同,其它 10 株的 12S 基因序列也与其序列相似性达到 99.86%。序列遗传距离数据及生物系统发生树从分子水平较准确地反映了青海细粒棘球绦分离株之间的遗传差异及它们的分类地位。因此,本次研究中的青海细粒棘球绦绵羊分离株均鉴定为 *E. granulosus sensu stricto* (基因型 G1-G3)。

不同虫株所寄生的终末宿主和中间寄主稍有不同,其致病性、地理分布等方面存在不同程度的差异^[24]。了解细粒棘球绦在不同地域和不同宿主内的变异特点不仅促进寄生虫分类学的进展,而且对人们认识棘球绦和棘球绦病的流行病学及找出合理的预防措施有十分重要的意义。通过与非洲、南美、欧洲和亚洲其它地区的 G1 型细粒棘球绦 12S 基因序列比较分析,发现单倍型 H₁~H₄ 是不同于其它地区的单倍型,表明青海这一特殊环境可能导致细粒棘球绦的特殊的核苷酸变异。基因型 H₅ 在世界范围内广泛分布,该基因型遍布于不同地理环境、不同气候的国家及不同的宿主体内,这也充分说明青海地区细粒棘球绦具有广泛性与普遍性的流行病学特征。

4 结 论

本文对采自我国青海地区绵羊体内的 42 株细粒棘球绦的线粒体 12S 基因进行了全序列测序及种群遗传多态性分析,42 株细粒棘球绦均鉴定为 *E. granulosus* s. s. (基因型 G1-G3)。利用其线粒体 12S 基因序列共检测出 5 种单倍型(即 H₁~H₅),其中单倍型 H₁~H₄ 为本地区特有的单倍型。

参考文献:

[1] CRAIG P S. Epidemiology of human alveolar echinococcosis in China [J]. *Parasitol Int*, 2006, 55: 221-225.
 [2] MORO P, SCHANTZ P M. Echinococcosis: A Review[J]. *Int J Infect Dis*, 2009, 13(2): 125-133.

[3] BOWLES J, BLAIR D, MCMANUS D P. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing [J]. *Mol Biochem Parasitol*, 1992, 54(2): 165-173.
 [4] BOWLES J, MCMANUS D P. Molecular variation in *Echinococcus*[J]. *Acta Trop*, 1993, 53(3-4): 291-305.
 [5] THOMPSON R C, LYMBERG A J, CONSTANTINE C C. Variation in *Echinococcus*: towards a taxonomic revision of the genus [J]. *Adv Parasitol*, 1995, 35: 145-176.
 [6] ECKERT J, THOMPSON R. Intraspecific variation of *Echinococcus granulosus* and related species with emphasis on their infectivity to humans [J]. *Acta Trop*, 1997, 64(1-2): 19-34.
 [7] THOMPSON R, MCMANUS D, ECKERT J, et al. Aetiology: parasites and life-cycles[M]. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals; a public health problem of global concern, 2001: 1-16.
 [8] LAVIKAINEN A, LEHTINEN M J, MERI T, et al. Molecular genetic characterization of the fenoscandian cervid strain, a new genotypic group (G10) of *Echinococcus granulosus*[J]. *Parasitology*, 2003, 127(3): 207-215.
 [9] NAKAO M, YANAGIDA T, OKAMOTO M, et al. State-of-the-Art *Echinococcus* and *Taenia*: phylogenetic taxonomy of human-pathogenic tapeworms and its application to molecular diagnosis[J]. *Infect Genet Evol*, 2010, 10(4): 444-452.
 [10] BEATO S, PARREIRA R, CALADO M, et al. Apparent dominance of the G1-G3 genetic cluster of *Echinococcus granulosus* strains in the central inland region of Portugal [J]. *Parasitol Int*, 2010, 59: 638-642.
 [11] DE LA RUE M L, TAKANO K, BROCHADO J F, et al. Infection of humans and animals with *Echinococcus granulosus* (G1 and G3 Strains) and *E. Ortleppi* in Southern Brazil [J]. *Vet Parasitol*, 2011, 177:97-103.
 [12] SIMSEK S, BALKAYA I, CIFTCI A T, et al. Molecular discrimination of sheep and cattle isolates of *Echinococcus granulosus* by Sspc and conventional Pcr in turkey[J]. *Vet Parasitol*, 2011, 178:367-369.
 [13] SIMSEK S, BALKAYA I, KOROGLU E. Epidemiological survey and molecular characterization of *Echinococcus granulosus* in cattle in an endemic area of Eastern Turkey[J]. *Vet Parasitol*, 2010, 172(3-4): 347-349.

- [14] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂等译. 第 3 版. 北京: 科学出版社, 2002.
- [15] LE T H, PEARSON M S, BLAIR D, et al. Complete mitochondrial genomes confirm the distinctiveness of the horse-dog and sheep-dog strains of *Echinococcus granulosus*[J]. *Parasitology*, 2002, 124(Pt 1): 97-112.
- [16] NAKAO M, MCMANUS D P, SCHANTZ P M, et al. A Molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes [J]. *Parasitology*, 2007, 134(Pt 5): 713-722.
- [17] NAKAO M, OKAMOTO M, SAKO Y, et al. A Phylogenetic hypothesis for the distribution of two genotypes of the pig tapeworm *Taenia Solium* worldwide[J]. *Parasitology*, 2002, 124(Pt 6): 657-662.
- [18] 贾万忠, 闫鸿斌, 郭爱疆, 等. 带科绦虫线粒体基因组全序列研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2010, 26(6): 596-600.
- [19] LYMBERY A J, THOMPSON R C. Electrophoretic analysis of genetic variation in *Echinococcus Granulosus* from domestic hosts in Australia[J]. *Int J Parasitol*, 1988, 18(6): 803-811.
- [20] MCMANUS D P, DING Z, BOWLES J. A molecular genetic survey indicates the presence of a single, homogeneous strain of *Echinococcus granulosus* in North-Western China[J]. *Acta Trop*, 1994, 56(1): 7-14.
- [21] GASSER R B. Pcr-based technology in veterinary parasitology[J]. *Vet Parasitol*, 1999, 84(3-4): 229-258.
- [22] THOMPSON R C, MCMANUS D P. Towards a taxonomic revision of the genus *Echinococcus* [J]. *Trends Parasitol*, 2002, 18(10): 452-457.
- [23] MCMANUS D P. Molecular discrimination of taeniid cestodes [J]. *Parasitol Int*, 2006, 55 (Suppl): S31-37.
- [24] ROMIG T. Epidemiology of echinococcosis[J]. *Lan-genbecks Arch Surg*, 2003, 388(4): 209-217.
- [25] SIMSEK S, BALKAYA I, CIFTCI A T, et al. Molecular discrimination of sheep and cattle isolates of *Echinococcus Granulosus* by Sscp and conventional Pcr in Turkey[J]. *Vet Parasitol*, 2011, 178(3-4): 367-369.

(编辑 白永平)