

基于 16S rDNA 和 CO I 基因的 3 种血蜱分子生物学鉴定

刘琴* 张仪 方圆 朱丹 兰勤娴 施文琦

【摘要】目的 利用 16S rDNA 基因及线粒体 DNA 细胞色素氧化酶亚基 I (cytochrome oxidase subunit I gene, CO I) 基因建立 3 种形态学特征相近的血蜱属蜱类—长角血蜱、褐黄血蜱及铃头血蜱的分子生物学鉴定方法, 探讨它们的系统发生关系。 **方法** 在上海市动物体表采集寄生蜱, 在解剖显微镜下进行形态学鉴定后, 提取蜱样本基因组 DNA, 采用 PCR 方法从蜱基因组中扩增 16S rDNA 及 CO I 基因, 测序后进行同源性分析, 用 Mega 6.0 软件分别构建系统发生树并进行系统进化分析。 **结果** 3 种血蜱中长角血蜱的 16S rDNA 序列和 CO I 序列与 GenBank 中的长角血蜱的 16S rDNA 序列和 CO I 序列同源性分别为 96.0%~97.2%, 96.9%~98.8%; 褐黄血蜱的 16S rDNA 序列和 CO I 序列与 GenBank 中的褐黄血蜱的 16S rDNA 序列和 CO I 序列同源性分别为 95.9%~98.3%、87.1%~91.9%; 铃头血蜱的 16S rDNA 序列与 GenBank 中来自日本的铃头血蜱 (AB819170) 的 16S rDNA 序列同源性为 97.5%; 3 种血蜱 16S rDNA 基因之间的同源性分别为 88.0%、87.0%、86.9%, CO I 基因之间的同源性分别为 80.4%、80.8%、82.8%。用 16S rDNA 及 CO I 基因构建系统发生树中, 长角血蜱、褐黄血蜱分别与已知的长角血蜱和褐黄血蜱聚在一起, 长角血蜱、褐黄血蜱均形成独立的分支。 **结论** 在传统形态学分类的基础上结合分子生物学鉴定方法能更准确地鉴定蜱的种类, 并能更好地了解其系统发育进化关系。

【关键词】 长角血蜱; 褐黄血蜱; 铃头血蜱; 种类鉴定; 系统发生分析

Identification of *Haemaphysalis longicornis*, *H. flava* and *H. campanulata* based on molecular markers of 16S rDNA and CO I gene Liu Qin*, Zhang Yi, Fang Yuan, Zhu Dan, Lan Qinxian, Shi Wenqi. National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Public Health, WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China

*Corresponding author: Liu Qin, Email: liuqin1@chinacdc.cn

Supported by National Science and Technology Major Program (2012ZX10004-220), Special Fund for Health Research in Public Interest (201202019)

【Abstract】 Objective To establish a molecular biological method for identifying *Haemaphysalis longicornis*, *H. flava* and *H. campanulata* with markers of 16S rDNA gene and cytochrome oxidase subunit I gene (CO I), and analyze the phylogenetic relationship of these three species of ticks. **Methods** Ticks were collected from the body of animals in Shanghai, and identified by their morphological characteristics under the dissecting microscope. Then the genomic DNA was extracted from these samples and the 16S rDNA and CO I gene were amplified by PCR from the genomes of the three species of ticks and they were sequenced for homology analysis. Mega 6.0 software was used to construct the phylogenetic trees of the gene sequences for phylogenetic analysis. **Results** In this three species of *Haemaphysalis* ticks, the identities of the 16S rDNA gene and CO I gene of *H. longicornis* to the 16S rDNA gene and CO I gene of other isolates in GenBank were 96.0%~97.2% and 96.9%~98.8%, respectively. The identities of the 16S rDNA gene and CO I gene of *H. flava* to the 16S rDNA gene and CO I gene of other isolates in GenBank were 95.9%~98.3% and 87.1%~91.9%, respectively. The identities of the 16S rDNA gene of *H. campanulata* to that from Japan (AB819170) in GenBank was 97.5%. The identities between the three species of *Haemaphysalis* ticks were 88.0%, 87.0%, 86.9%

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4122.2015.03.006

基金项目: 国家科技重大专项 (2012ZX10004-220); 卫生行业科研专项 (201202019)

作者单位: 上海 200025, 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心

*通信作者: 刘琴, Email: liuqin1@chinacdc.cn

for 16S rDNA and 80.4%, 80.8%, 82.8% for CO I. The phylogenetic trees were constructed with the nucleotide sequence of 16S rDNA and CO I gene among three species of ticks and other *Haemaphysalis* genus ticks, respectively. The results showed that *H. longicornis* and *H. flava* were clustered together respectively and they all had formed independent branches. **Conclusions** It can more accurately identify ticks species by combination of molecular biological identification methods and traditional morphological classification.

【Key words】 *Haemaphysalis longicornis*; *H. flava*; *H. campanulata*; Species identification; Phylogenetic analysis

蜱 (tick) 是一类专性寄生的节肢动物, 属于蜱螨亚纲 (Parasitiformes)、蜱总科 (Ixodidea), 分为 3 个科 (硬蜱科、软蜱科和纳蜱科)、19 个属。目前世界上已知蜱种 897 种, 其中以硬蜱种类最多, 包括 13 个属 705 种^[1]。我国蜱类种类繁多, 约占世界蜱类总数的 13%, 已记录的硬蜱有 119 种^[2]。

蜱不仅是吸血性体外寄生虫, 而且是人 and 动物诸多重要疾病的传播媒介。据报道, 蜱可携带或传播 83 种病毒、14 种细菌、17 种回归热螺旋体和 32 种原虫^[3-5], 而且许多新发传染病 (如伯氏疏螺旋体引起的莱姆病、人单核细胞埃立克体病等) 均为蜱传性疾病^[6-7]。近年我国的蜱传性疾病呈不断上升趋势, 并出现新发蜱媒传染病。例如, 2006 年安徽省的人无形体病^[8], 2009 年湖北、河南等地出现的由布尼亚病毒引起的发热伴血小板减少综合征^[9], 2011 年在浙江出现的人巴贝虫病^[10]等。因此, 媒介蜱及蜱传性疾病也越来越受到人们的关注。

对蜱的分类和鉴定是进行其生物学及其他研究的基本条件。DNA 分子鉴定已成为生物分类学中引人注目的新方向, 成为物种鉴定的有利工具^[11]。其中, 以线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I 基因 (cytochrome oxidase subunit I, CO I) 序列 500~700 bp 片段为基础的 DNA 条形码技术在物种鉴定方面的优势已经在学术界备受关注^[11-12]。现有的数据统计分析表明, CO I 基因序列变异适中, 序列差异程度正好能够区分绝大多数动物物种, 目前已在哺乳动物、鸟类、鱼类、软体动物以及昆虫等物种的鉴定方面得到应用^[13-14]。而 16S rDNA 进化速率较慢, 结构相对保守, 其序列包含较少的信息位点, 比较适合于研究属间、种间的系统关系^[15-16]。

血蜱属的长角血蜱 (*Haemaphysalis longicornis*)、褐黄血蜱 (*H. flava*) 和铃头血蜱 (*H. campanulata*) 的形态极为相近, 采用传统形态学方法进行蜱种鉴定易混淆。为了更好地进行 3 种血蜱的种类鉴定, 进一步探讨 DNA 分子用于蜱的分类鉴定的可行性, 本研究利用 16S rDNA 基因和 CO I

基因对在上海市采集的 3 种血蜱进行了分子鉴定及系统进化分析。

1 材料和方法

1.1 材料

2011 年 3—12 月, 在上海市动物犬、牛、羊及野生动物羴体表采集蜱虫样本, 采集的蜱放入统一编号的采集管内, 带回实验室进行形态学和分子生物学鉴定。

1.2 蜱的形态鉴定

选择成蜱, 在解剖镜下观察蜱的盾板、假头、假头基形状、口下板、生殖孔、肛沟、气门等形态特征, 参照《中国重要医学昆虫分类学与鉴别》^[17]的硬蜱科分类检索表逐一对成蜱形态特征进行鉴定, 确定蜱的种类。

1.3 蜱的基因组 DNA 提取

取单个样本置 1.5 ml 离心管中, 用 75% 乙醇洗 1 次, PBS 洗 3 次, 液氮研磨粉碎, 使用 Qiagen 公司的 DNeasy Blood & Tissue Kit 提取蜱基因组总 DNA, 具体操作参照试剂说明书。每个种类选取了 3~4 个蜱提取 DNA。

1.4 16S rDNA 基因和 CO I 基因的扩增

以提取的 DNA 为模板, 以 16S-F1 和 16S-R1 为引物扩增 16S rDNA 基因片段^[18], 以 CO I -F1 和 CO I -R1 为引物扩增 CO I 基因片段^[19]。PCR 扩增体系包括: 5×PCR 缓冲液 10 μl, dNTPs 混合物 (2.5 mmol/L) 4 μl, MgCl₂ (25 mmol/L) 3 μl, 上下游引物 (10 mmol/L) 各 1 μl, Taq DNA 聚合酶 0.5 μl, 模板 3.0 μl, 补充无菌水使总体积达到 25 μl。16S rDNA PCR 反应条件: 94 °C 3 min; 94 °C 30 s, 52 °C 30 s, 72 °C 1 min, 36 个循环; 72 °C 10 min。CO I PCR 反应条件: 94 °C 3 min; 94 °C 30 s, 43 °C 30 s, 72 °C 1 min, 36 个循环; 72 °C 10 min。

用 TaKaRa 胶回收试剂盒回收纯化 PCR 产物，将纯化产物送赛音生物（上海）有限公司进行测序。

1.5 系统进化树分析

将测定的核苷酸序列用 BioEdit 软件进行编辑及同源性分析；用 Mega 6.0 软件以邻位相连法（neighbor-joining method, NJ）构建系统进化树，并进行 1 000 次的自举检验（bootstrap test）。用于比较分析的其他 16S rDNA 和 CO I 基因序列来自于 GenBank（表 1）。

2 结果

2.1 蜱的形态学鉴定

在上海市松江区、金山区及嘉定区采集的蜱，经实验室鉴定为长角血蜱、褐黄血蜱和铃头血蜱。

2.2 16S rDNA 和 CO I 基因的扩增

利用扩增蜱的 16S rDNA 和 CO I 基因的通用引物，对长角血蜱、褐黄血蜱和铃头血蜱的基因组 DNA 进行扩增，3 种血蜱的 16S rDNA 和 CO I 基因片段长度分别约为：400 bp 和 600 bp。将 3 种血蜱的 16S rDNA 提交 NCBI 数据库，其 GenBank 登录号分别为：KP324925~KP324927。

2.3 16S rDNA 和 CO I 的同源性分析

2.3.1 16S rDNA 基因

长角血蜱的 16S rDNA 序列与来自中国云南（JX051064、JX051065）及四川（JF979373）长角血蜱的同源性最高，为 97.2%；与来自日本（AB819205）、中国湖北（KJ710086）及山东（KC203360）、北京（KC203341）的长角血蜱的同源性为 96.0%~96.5%。

褐黄血蜱的 16S rDNA 序列与来自日本的褐黄血蜱（AB075954、AB819182、AB861937、AB819195、AB819196）的同源性为 98.0%；与来自中国陕西的褐黄血蜱（KC844858、KC844864、KC844865、KC844866）同源性为 95.9%~98.3%。

铃头血蜱的 16S rDNA 序列与来自日本的铃头血蜱（AB819170）的同源性最高，为 97.5%；与来自中国山东的长角血蜱（KC203360）和日本的嗜群血蜱（KF547982）的同源性分别为 90.1%和 89.8%。

表 1 GenBank 中血蜱属 16S rDNA 及 CO I 基因序列

Table 1 The gene sequence of 16S rDNA and CO I of *Haemaphysalis* spp. in GenBank

种名 Species	16S rDNA		CO I	
	登录号 Accession no.	来源地 Resource	登录号 Accession no.	来源地 Resource
长角血蜱 <i>H. longicornis</i>	JF979373	四川	KF284075	上海
	KC203360	山东	KF284074	山东
	KJ710091	广西	KF284073	安徽
	KC203341	北京	JQ737090	河南
	KJ710086	湖北	JQ737092	浙江
	KJ710104	贵州	JQ737093	湖北
	AB819205	日本	JX051122	云南
青海血蜱 <i>H. qinghaiensis</i>	FJ712720	甘肃	JQ737100	青海
		青海		
	KJ609201			
褐黄血蜱 <i>H. flava</i>	AB819182	日本	JQ737097	河南
	AB861937	日本	KJ195464	湖南
台岛血蜱 <i>H. formosensis</i>	AB819195	日本	JX573136	澳大利亚
豪猪血蜱 <i>H. hystrix</i>	AB819196	日本	JX573137	澳大利亚
北岗血蜱 <i>H. kitaokai</i>	AB819203	日本		
日本血蜱 <i>H. japonica</i>	AB819201	日本		
大刺血蜱 <i>H. megaspinosa</i>	AB819216	日本		
嗜群血蜱 <i>H. concinna</i>	AB819173	日本	JX394180	罗马利亚
野兔血蜱 <i>H. leporispalustris</i>	L34309	美国		
铃头血蜱 <i>H. campanulata</i>	AB819170	日本		
缺角血蜱 <i>H. inermis</i>	U95872	美国		
椭圆血蜱 <i>H. elliptica</i>	HM068961	南非		
越原血蜱 <i>H. yeni</i>	AB819222	日本		
钝刺血蜱 <i>H. doenitzi</i>	JF979402	湖北		
具角血蜱 <i>H. cornigera</i>	AB819174	日本	AF132819	澳大利亚
硕鼠血蜱 <i>H. humerosa</i>				
微小血蜱 <i>H. parva</i>			JX573136	澳大利亚

2.3.2 CO I 基因

长角血蜱的 CO I 序列与来自中国上海的长角血蜱（KF284075、KF284074）的同源性最高，为 98.8%，与来自中国湖北（JQ737093）、安徽（KF284073）、河南（JQ737090）、浙江（JQ737092）、云南（JX051122）、甘肃（JQ737091）及山东（KF284074）、北京（KC203450）的长角血蜱的同源性为 96.9%~98.7%。

褐黄血蜱的 CO I 序列与来自日本的褐黄血蜱（AB075954）的同源性最高，为 91.9%，与来自中国河南（JQ737097）、湖南（KJ195464）的褐黄血

蜱的同源性较高，分别为 89.4%、87.1%；与青海血蜱 (JQ737100、JQ737099) 同源性为 81.1%。

GenBank 中尚无铃头血蜱的 CO I 基因序列、铃头血蜱的 CO I 序列与来自日本的褐黄血蜱 (AB075954)、澳大利亚的豪猪血蜱 (JX573137) 及长角血蜱 (KF284075、KF284074、KF284073) 的同源性最高，分别为 85.2%、85.5%和 84.0%。

2.3.3 3 种血蜱的同源性

3 种血蜱 16S rDNA 基因之间的同源性分别为 88.0%、87.0%、86.9%，CO I 基因之间的同源性分别为 80.4%、80.8%、82.8%。

2.4 系统进化树的建立及分析

2.4.1 16S rDNA

用 Mega 6.0 软件以 NJ 法构建 3 种血蜱与 GenBank 中其他血蜱 16S rDNA 基因的系统发生树 (图 1)，以全沟硬蜱 (*Ixodes persulcatus*, JF934742) 作外源组。结果表明，长角血蜱、褐黄血蜱、铃头血蜱分别与已知的长角血蜱、褐黄血蜱和铃头血蜱聚在一起；长角血蜱、褐黄血蜱及铃头血蜱均形成独立的分支。

2.4.2 CO I 基因

用 Mega 6.0 软件以 NJ 法构建 3 种血蜱及其他血蜱 CO I 基因系统发生树，以图兰扇头蜱 (*Rhipicephalus turanicus*, KF6888136) 作外源组 (图 2)。结果长角血蜱、褐黄血蜱分别与已知的长角血蜱、褐黄血蜱聚在一起；长角血蜱和褐黄血蜱均形成独立的分支。由于 GenBank 尚无铃头血蜱 CO I 基因，铃头血蜱与微小血蜱 (*H. parva*) 和嗜群血蜱 (*H. concinna*) 的亲缘关系较近，形成一个分支 (图 2)。

3 讨论

血蜱属蜱的种类繁多，目前世界范围内已知血蜱属蜱种共 166 种，其中我国有记载的血蜱属蜱种共 54 种，约占世界血蜱属蜱类总数的 32.5%^[20]。血蜱属蜱常寄生于家畜和野生动物体表，通过吸血传播多种疾病，也可侵袭人类，给畜牧业发展和人类健康带来极大危害。血蜱属的长角血蜱、褐黄血蜱和铃头血蜱的形态极为相近，其须肢第二节均向后弯，主要不同之处在于长角血蜱须肢第二节背面上缘有刚毛 2~4 根，腹面上缘刚毛 4~7 根；褐黄

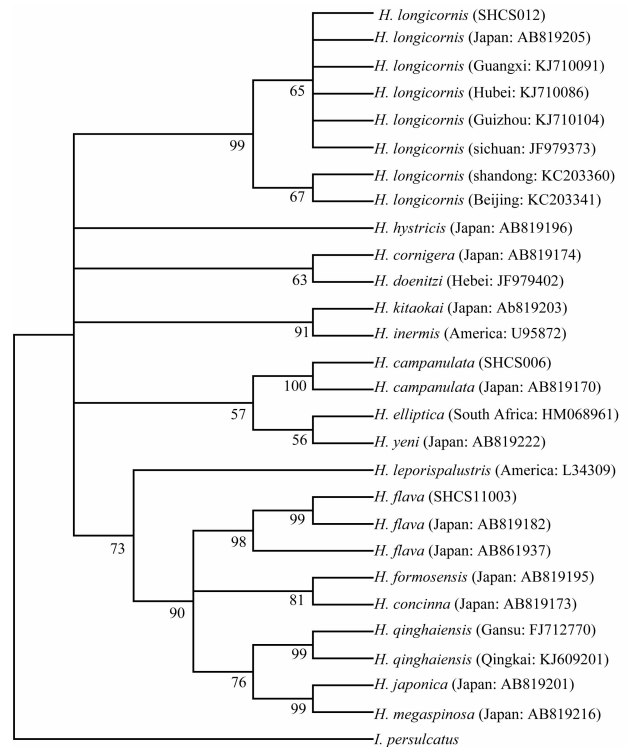


图 1 基于血蜱属 16S rDNA 构建的系统发生树
Fig. 1 The phylogenetic tree based on 16S rDNA of *Haemaphysalis* genus

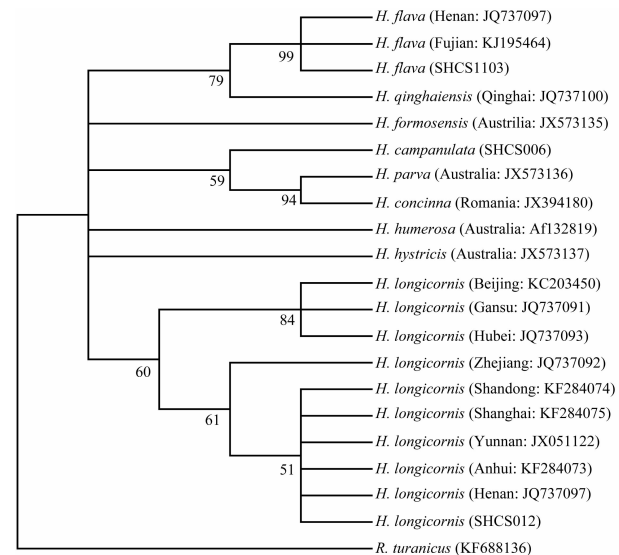


图 2 基于血蜱属 CO I 构建的系统发生树
Fig. 2 The phylogenetic tree based on CO I of *Haemaphysalis* genus

血蜱是须肢第二节外缘浅弯；铃头血蜱是须肢第二节腹面后缘后弯，须肢第二节内缘有刚毛 1~2 根，腹面内缘有刚毛 3~4 根。但是由于其表型可塑性以及遗传多样性，以及生长环境的不同，不同个体有些差异，常易导致鉴定错误，加之现阶段经验丰

富的蜱类形态学鉴定人才匮乏, 因此其形态学准确鉴定尤为困难。

近些年来, 分子生物学技术在物种鉴定和系统研究中起了非常重要的作用, 尤其是分子标记序列为鉴定物种、种群研究及系统进化分析提供了有效途径。与传统的形态学鉴定相比, 分子标记具有无与伦比的优势: (1) 分子标记直接利用 DNA 序列进行物种的鉴定, 具有独一无二的可重复性和准确性; (2) 分子标记序列具有通用性, 在不同物种之间具有可比性, 可在全球物种鉴定中可以形成统一的标准, 更利于系统进化的研究; (3) 分子标记不需要特定生命周期的物种样本, 扩大了检测样本的范围; (4) 分子标记不需要物种样本特定的组织材料, 所有组织材料信息一致, 即便样本具有重要形态学鉴定特征的部分缺失也不影响结果^[21-23]。目前, 用于分子标记的基因主要有线粒体 12S 和 16S rDNA 序列、线粒体 CO I 和 CO II 序列以及 ITS DNA 序列^[16,18,24-26]。16S rDNA 是物种鉴定及系统分类学研究较为常见的基因。一般认为, 16S rDNA 进化速率较慢, 结构相对保守, 其序列包含较少的信息位点, 比较适合于研究属间、不同种间的系统关系, 但不太适合种内关系的研究^[15-16,26]。CO I 基因是线粒体 DNA 13 种细胞色素氧化酶亚基中最大的一个编码蛋白基因, 演化速率是其他蛋白编码基因的 3 倍, 能够很好地将不同物种区分开来^[27]; CO I 基因较少存在插入和缺失, 两端的序列相对保守, 是应用最为广泛的分子标记之一, 已经越来越多地应用于物种的系统发育研究^[23,26-28]。目前 16S rDNA 和 CO I 基因分子标记已在节肢动物的鉴定方面得到广泛应用。Wang 等^[29]应用 CO I 基因分子标记分析了中国的 122 种蚊虫, 种间的差异为 2.3%~21.9%, 而种内个体间的差异为 0~1.67%。Lv 等^[30]应用 CO I、16S rDNA、ITS2 及 12S rDNA 分子标记分析了 84 种蜱, 结果表明这 4 种分子标记的鉴定准确率均达到 96% 以上。高亚东等^[24]应用 12S rDNA、16S rDNA 及 CO I 分子标记鉴定了湖北省的褐黄血蜱和铃头血蜱, 其构建系统发生树的结果表明, 褐黄血蜱和铃头血蜱均形成独立分支, 但 3 种基因构建的系统发生树中血蜱属不同的种间亲缘关系不同。本研究应用 16S rDNA 和 CO I 分子标记分析了血蜱属形态相近的长角血蜱、褐黄血蜱和铃头血蜱, 其结果表明, 3 种的分子生物学鉴定结果与形态学鉴定结果一致。其 16S rDNA 和 CO I 分别构建系统发生树, 结果在 16S rDNA

基因系统发生树中, 长角血蜱、褐黄血蜱和铃头血蜱均形成独立的分支, 而 CO I 系统发生树中, 由于 GenBank 数据库中缺少铃头血蜱的 CO I 基因序列, 因此仅长角血蜱和褐黄血蜱形成独立的分支。从本研究的结果可以看出, 由于 GenBank 蜱的序列中, 血蜱属 16S rDNA 比重较大, 种类较多, 而 CO I 的基因序列较少, 种类有限, 因此, 对于血蜱属蜱的种间的分类分子标记中, 16S rDNA 比 CO I 基因更具优势。

参 考 文 献

- [1] Vesco U, Knap N, Labruna MB, et al. An integrated database on ticks and tick-borne zoonoses in the tropics and subtropics with special reference to developing and emerging countries[J]. Exp Appl Acarol, 2011, 54(1): 65-83.
- [2] 陈泽, 李思思, 刘敬泽. 蜱总科新分类系统的科、属检索表[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2011, 29(4): 302-304.
- [3] 冯云, 张海林. 重要虫媒病毒传播媒介的研究进展[J]. 医学动物防制, 2008, 24(3): 165-169.
- [4] Jääskeläinen AE, Tonteri E, Sironen T, et al. European subtype tick-borne encephalitis virus in *Ixodes persulcatus* ticks[J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(2): 323-325.
- [5] Tijssen-Klasen E, Jacobs JJ, Swart A, et al. Small risk of developing symptomatic tick-borne diseases following a tick bite in The Netherlands[J]. Parasit Vectors, 2011, 4: 17.
- [6] Herrin BH, Zajac AM, Little SE. Confirmation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes scapularis*, Southwestern Virginia[J]. Vector Borne Zoonotic Dis, 2014, 14(11): 821-823.
- [7] Jia N, Zheng YC, Ma L, et al. Human infections with *Rickettsia raoultii*, China[J]. Emerg Infect Dis, 2014, 20(5): 866-868.
- [8] Zhang L, Liu Y, Ni D, et al. Nosocomial transmission of human granulocytic anaplasmosis in China[J]. JAMA, 2008, 300(19): 2263-2270.
- [9] Xu B, Liu L, Huang X, et al. Metagenomic analysis of fever, thrombocytopenia and leukopenia syndrome (FTLS) in Henan Province, China: discovery of a new bunyavirus[J]. PLoS Pathog, 2011, 7(11): e1002369.
- [10] 姚立农, 阮卫, 曾长佑, 等. 1 例人感染巴贝虫的诊断与病原体鉴定[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2012, 30(2): 118-121.
- [11] Zuo Y, Chen Z, Kondo K, et al. DNA barcoding of *Panax* species[J]. Planta Med, 2011, 77(2): 182-187.
- [12] Hebert PD, Gregory TR. The promise of DNA barcoding for taxonomy[J]. Syst Biol, 2005, 54(5): 852-859.
- [13] Cywinska A, Hannan MA, Kevan PG, et al. Evaluation of DNA barcoding and identification of new haplotypes in Canadian deerflies and horseflies[J]. Med Vet Entomol, 2010, 24(4): 382-410.

- [14] Yoo HS, Eah JY, Kim JS, et al. DNA barcoding Korean birds[J]. Mol Cells, 2006, 22(3): 323-327.
- [15] Krakowetz CN, Lindsay L, Chilton NB. Genetic variation in the mitochondrial 16S ribosomal RNA gene of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae)[J]. Parasit Vectors, 2014, 7(1): 530.
- [16] Norris DE, Klompen JS, Keirans JE, et al. Population genetics of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 16S and 12S genes[J]. J Med Entomol, 1996, 33(1): 78-89.
- [17] 陈宝麟, 吴厚勇. 中国重要医学昆虫分类学与鉴别[M]. 河南: 河南科学技术出版社, 2003: 21-52.
- [18] Chen Z, Yang X, Bu F, et al. Morphological, biological and molecular characteristics of bisexual and parthenogenetic *Haemaphysalis longicornis*[J]. Vet Parasitol, 2012, 189(2-4): 344-352.
- [19] Latrofa MS, Dantas-Torres F, Annoscia G, et al. Comparative analyses of mitochondrial and nuclear genetic markers for the molecular identification of *Rhipicephalus* spp.[J]. Infect Genet Evol, 2013, 20: 422-427.
- [20] 陈泽. 中国蜱类名录订正、区系分析及扇头蜱亚科 Rhipicephalinae 部分种类的生物学特性研究[D]. 河南: 河南师范大学, 2007, 21-22.
- [21] 韦健红, 吴文如, 喻良文, 等. DNA 条形码技术在生物分类中的应用[J]. 广东药学院学报, 2010, 26(4): 430-433.
- [22] Silvertown J. Taxonomy: include social networking[J]. Nature, 2010, 467(7317): 788.
- [23] Derycke S, Vanaverbeke J, Rigaux A, et al. Exploring the use of cytochrome oxidase c subunit 1(CO I) for DNA barcoding of free-living marine nematodes[J]. PLoS One, 2010, 5(10): e13716.
- [24] 高东亚, 田俊华, 覃新程, 等. 褐黄血蜱与铃头血蜱的分子生物学鉴定[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2012, 23(4): 280-284.
- [25] Marrelli MT, Souza LF, Marques RC, et al. Taxonomic and phylogenetic relationships between neotropical species of ticks form genus *Amblyomma*(Acari: Ixodidae)inferred from second internal transcribed spacer sequences of rDNA[J]. J Med Entomol, 2007, 44(2): 222-228.
- [26] Ketchum HR, Teel PD, Coates CJ, et al. Genetic variation in 12S and 16S mitochondrial rDNA genes of four geographically isolated populations of Gulf Coast ticks (Acari: Ixodidae)[J]. J Med Entomol, 2009, 46(3): 482-489.
- [27] Ball SL, Armstrong KF. DNA barcodes for insect pest identification: a test case with tussock moths(Lepidoptera: Lymantriidae)[J]. Can J For Res, 2006, 36(2): 337-350.
- [28] Ondrejicka DA, Locke SA, Morey K, et al. Status and prospects of DNA barcoding in medically important parasites and vectors[J]. Trends Parasitol, 2014, 30(12): 582-591.
- [29] Wang G, Li C, Guo X, et al. Identifying the main mosquito species in China based on DNA barcoding[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47051.
- [30] Lv J, Wu S, Zhang Y, et al. Assessment of four DNA fragments (CO I, 16S rDNA, ITS 2, 12S rDNA) for species identification of the Ixodida(Acari: Ixodida)[J]. Parasit Vectors, 2014, 7: 93.
(收稿日期: 2015-01-04)
(本文编辑: 孙雅雯, 陈勤)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊可直接用缩写的常用词汇

磷酸盐缓冲液(PBS)

十二烷基磺酸钠(SDS)

聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)

邻苯二胺(OPD)

辣根过氧化物酶(HRP)

树突状细胞(DC)

主要组织相容性复合体(MHC)

异硫氰酸荧光素(FITC)

二氨基联苯胺(DAB)

改良加藤法(Kato Katz)

间接血凝试验(IHA)

异丙基-β-D-硫代半乳糖苷(IPTG)

计算机 X 线断层照相术(CT)

磁共振成像(MRI)

核因子-κB(NF-κB)

聚合酶链反应(PCR)

逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)

酶联免疫吸附试验(ELISA)

蛋白质印迹(Western blot)

一氧化氮(NO)

辅助性 T 淋巴细胞(Th)

艾滋病(AIDS)

人类免疫缺陷病毒(HIV)

干扰素(IFN)

白细胞介素(IL)

肿瘤坏死因子(TNF)

自然杀伤细胞(NK 细胞)

随机对照研究(RCT)

美国食品药品监督管理局(FDA)

世界卫生组织(WHO)