

# 长角血蜱和微小扇头蜱的形态与分子生物学鉴定

覃新程 田俊华 王剑波 卢昕 孙强正 金东 周敦金 徐建国 张永振

**【摘要】目的** 建立鉴定长角血蜱和微小扇头蜱的形态学和分子生物学相结合的方法。**方法** 采集自湖北和河南省布尼亚新病毒疫区家养动物体表寄生的蜱及草丛、灌木中的蜱;先以形态学鉴定,后用 PCR 方法扩增得到蜱的 12S rDNA,测序后进行同源性和系统进化分析。**结果** 形态学方法鉴定采集到两种蜱:长角血蜱(*Haemaphysalis longicornis*)和微小扇头蜱(*Rhipicephalus microplus*)。蜱的 12S rDNA 经克隆、测序,用 PAUP 4.0 软件构建系统发生树,湖北、河南省两种蜱的 12S rDNA 序列分别与长角血蜱和微小扇头蜱聚类,与形态学鉴定结果一致。**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。

**【关键词】** 长角血蜱;微小扇头蜱;鉴定

**Identification of *Haemaphysalis longicornis* and *Rhipicephalus microplus*** QIN Xin-cheng<sup>1</sup>, TIAN Jun-hua<sup>2</sup>, WANG Jian-bo<sup>1</sup>, LU Xin<sup>1</sup>, SUN Qiang-zheng<sup>1</sup>, JIN Dong<sup>1</sup>, ZHOU Dun-jin<sup>2</sup>, XU Jian-guo<sup>1</sup>, ZHANG Yong-zhen<sup>1</sup>. 1 State Key Laboratory for Infectious Disease Control and Prevention, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China; 2 Wuhan Center for Disease Control and Prevention  
Corresponding author: ZHANG Yong-zhen, Email: yongzhenzhang@sohu.com

**【Abstract】Objective** To establish a method combined morphology and molecular marker for identifying *Haemaphysalis longicornis* and *Rhipicephalus microplus*. **Methods** Ticks were collected from domestic animals and wild environment in epidemic area of Hubei and Henan provinces where cases of fever with thrombocytopenia syndrome were prevalent. We classified the ticks by morphology characteristics before 12S rDNA of ticks were amplified by PCR and subsequently sequenced. Phylogenetic tree was constructed by PAUP4.0. **Results** The ticks belonged to *Haemaphysalis longicornis* and *Rhipicephalus microplus* through observation and analysed by the morphological characteristics of the ticks. 12S rDNA was cloned and sequenced while data confirmed the morphological identification of the results. **Conclusion** The method based on morphology that combined with molecular marker seemed a good method for the identification of ticks.

**【Key words】** *Haemaphysalis longicornis*; *Rhipicephalus microplus*; Identification

蜱可以携带多种病原体,通过叮咬,吸食宿主动物或人类的血液,传播疾病。蜱不但种类繁多、数量庞大,且地理分布广泛。蜱的生物学分类系统经过多次变更,至今沿用的分类体系仍将蜱类归为节肢动物门,蛛形纲(Arachida),蜱螨亚纲(Acari),寄螨总目(Parasitiformes),蜱目(Ixodida)。蜱目又可分为硬蜱科(Ixodidae)、软蜱科(Argasidae)和纳蜱科(Nuttalliellidae)<sup>[1]</sup>。但对蜱的这种分类地位至今存在不同的意见。到 2008 年为止,我国已发现的蜱可

分为 2 科(6 亚科)、10 属、119 种<sup>[2]</sup>。

蜱是我国近年来重要新发传染病的传播媒介。2006 年安徽省出现由蜱传播的人无形体病疫情<sup>[3]</sup>。2007—2009 年的春夏两季,桐柏山与大别山地区(信阳、随州、黄冈等地)出现高热、白细胞减少、血小板下降等不明原因的急性传染病;该病由于与人无形体病临床症状有一定的相似性,曾被称为无形体病;现场流行病学调查发现部分病例有蜱叮咬史,个别病例就诊时体表还存在吸血的蜱,近期研究发现该病是由蜱携带的新型布尼亚科病毒引起<sup>[4]</sup>。为了更好地认识蜱的生物学特性,方便开展病原学研究,为疾病的预防控制提供依据,我们在河南与湖北两省桐柏山和大别山地区开展了蜱的生物学研究,并对该地区广泛存在的两种主要蜱的形态及分子生

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.06.017

作者单位:102206 北京,中国疾病预防控制中心传染病预防控制所 传染病预防控制国家重点实验室(覃新程、王剑波、卢昕、孙强正、金东、徐建国、张永振);武汉市疾病预防控制中心(田俊华、周敦金)覃新程、田俊华、王剑波同为第一作者

通信作者:张永振, Email: yongzhenzhang@sohu.com

物学特征进行鉴定。

## 材料与方法

1. 实验材料:2010年5—7月在湖北、河南省疫区患者住所周围,用布旗法采集草地、灌木丛中的蜱,用体表查捉法采集患者家及附近的家养动物(牛、水牛、羊、犬、猫)体表(主要腋下、腹股沟、耳廓等皮肤柔软处)寄生的蜱,发现有正在吸食或吸足血液的蜱,用小镊子迅速地从皮肤上拔出,置5 ml采集管内,塞入潮湿脱脂棉,盖紧,带回实验室进行形态学分析。

### 2. 蜱的形态学检查:

通过体视显微镜(XTZ-06上海光学仪器五厂)观察蜱的头基形状、须肢、口下板、盾板、肛沟、气门板、肛侧板、生殖孔等形态特征,根据分类检索表进行形态学的分类<sup>[5]</sup>。

3. 总DNA提取和PCR扩增:蜱的总DNA用Qiagen公司的组织DNA提取试剂盒,按说明书操作。将单只蜱加入180 μl的ALT溶液,用眼科剪将蜱剪碎,加入20 μl的蛋白酶K,56℃水浴锅中孵育2 h至蜱被完全消化后,取出加入200 μl的AL溶液混匀,再加入200 μl无水乙醇,涡旋混匀,加入DNA吸附柱,12 000 r/min离心,弃去液体,加入500 μl溶液W1离心冲洗柱子,再加入500 μl溶液W2离心冲洗柱子,加入200 μl洗脱液AE,12 000 r/min离心1 min洗脱DNA,-20℃保存备用。

50 μl的PCR反应体系中包括10 μl 5×Buffer,3 μl(25 mmol/L)MgCl<sub>2</sub>,3 μl(2.5 mmol/L)dNTPs,上下游引物(10 mmol/L)各2.0 μl,模板DNA 2.0 μl,双

蒸水27.5 μl, Taq酶0.5 μl。PCR反应条件:94℃预变性5 min;94℃变性15 s,51℃退火30 s,68℃延伸30 s,5个循环;94℃变性15 s,53℃退火30 s,70℃延伸30 s,25个循环;72℃延伸5 min。扩增结束后取5 μl的PCR产物于1.0%琼脂糖凝胶中电泳检查结果。上下游引物序列分别为T1B:5'-AAA CTA GGA TTA GAT ACC CT-3', T2A:5'-AAT GAG AGC GAC GGG CGA TGT-3'<sup>[6]</sup>。

4. PCR扩增产物的克隆及测序:用TaKaRa胶回收试剂盒回收PCR产物,将纯化产物接入pMD19-T载体,转化JM109感受态细胞,蓝白斑筛选阳性克隆后,每个片段挑取3个克隆,少量抽提阳性质粒进行PCR检验。将扩增结果为阳性的重组质粒送上海生工生物工程有限公司进行测序。

5. 系统进化分析:将测定的核酸序列用DNAStar软件的SeqMan进行人工辅助校对,再利用MegAlign软件进行同源性比较,用PAUP 4.0软件以邻位相连法(neighbor-joining method)构建系统发生树。GenBank获得蜱类的相应序列见表1。

## 结 果

1. 调查点地理概况:在河南省信阳与湖北省随州、孝感、黄冈等地的山区丘陵地带采集蜱。该地区主要有大别山和桐柏山。在山脉的南北两侧,地势逐渐降低,以低矮的丘陵为主。该地区为亚热带季风气候,四季分明、日照充足、无霜期长,降雨充沛,年平均气温在15℃以上。温暖的气候条件及其地貌特点,形成了良好的生态环境,是动植物栖息繁衍的理想场地。

表1 用于同源性分析的12S rDNA序列及来源

科/亚科	属 名	种 名	GenBank序列号
硬蜱科 Ixodidae			
血蜱亚科 Haemaphysalinae	血蜱属 <i>Haemaphysalis</i>	刻点血蜱 <i>Haemaphysalis punctata</i>	AF150032
		褐黄血蜱 <i>Haemaphysalis flava</i>	AB075954
		长角血蜱 <i>Haemaphysalis longicornis</i>	AF031853
扇头蜱亚科 Rhipicephalinae	扇头蜱属 <i>Rhipicephalus</i>	微小扇头蜱 <i>Rhipicephalus microplus</i> India	EU921772
		微小扇头蜱 <i>Rhipicephalus microplus</i> S. Africa	EU921764
		微小扇头蜱 <i>Rhipicephalus microplus</i> Indonesia	EU921771
		镰形扇头蜱 <i>Rhipicephalus haemaphysaloides</i>	DQ003007
		血红扇头蜱 <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	NC002074
硬蜱亚科 Ixodinae	硬蜱属 <i>Ixodes</i>	长辐硬蜱 <i>Ixodes vespertilionis</i>	IVU95909
		卵形硬蜱 <i>Ixodes ovatus</i>	IOU95899
		锐跗硬蜱 <i>Ixodes acutitarsus</i>	IAU95876
		粒形硬蜱 <i>Ixodes granulatus</i>	IGU95884
软蜱科 Argasidae			
锐缘蜱亚科 Argasinae	锐缘蜱属 <i>Argas</i>	波斯锐缘蜱 <i>Argas persicus</i>	APU95864

2. 蜱形态学分类及其特征:本次调查湖北、河南两省 15 个乡镇的 19 个村,在患者所在村的牛、羊、犬、猫等宿主动物体表及村里草地、茶园等自然环境中捕蜱,共采集 6000 多只蜱。经鉴定,发现这些蜱可分为两类(图 1),形态学特征与长角血蜱和微小牛蜱较接近。微小牛蜱原属于牛蜱属,现已成为扇头蜱属的一个亚属<sup>[7,8]</sup>,改为微小扇头蜱。长角血蜱隶属于硬蜱科,血蜱亚科,血蜱属;微小扇头蜱隶属于硬蜱科扇头蜱亚科,扇头蜱属。两种蜱成虫个体大小未吸血时差别不大,形态上最突出的特征是长角血蜱假头基为矩形,微小扇头蜱为六角形。该两种蜱的形态特征与陆宝麟和吴厚永<sup>[5]</sup>描述的特征对比见表 2。检索表中长角血蜱的主要形态学特征描述较为详细,此次采集到的其中一种蜱与检索表描述十分接近;而对微小扇头蜱的形态学特征描述较少,因此不易准确鉴定微小扇头蜱。若蜱和幼蜱基本无鉴定特征,因此需要分子生物学鉴定方法确证。

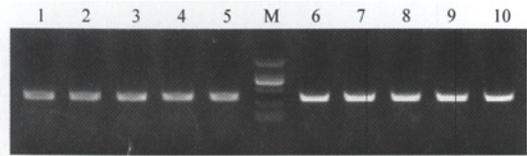


长角血蜱雄蜱 微小扇头蜱雌蜱

图 1 湖北、河南省调查点捕获的蜱

3. PCR 扩增:采用根据多种节肢动物 12S rDNA 序列同源区设计的通用引物扩增蜱线粒体 12S rDNA,PCR 扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳后,长

角血蜱和微小扇头蜱均扩增到预期 360 bp 的 12S rDNA 目的片段(图 2)。



注:1~5:长角血蜱;6~10:微小扇头蜱;M:分子量标记

图 2 调查点捕获蜱的 12S rDNA 电泳结果

4. 12S rDNA 序列的同源性分析:在湖北、河南省采集的蜱样品中,各选取 1 条长角血蜱与微小扇头蜱的 12S rDNA 序列,用 MegAlign 分析发现,序列的保守性和分歧度差异较大(表 3)。本次采集长角血蜱 12S rDNA 序列与已知长角血蜱的同源性最高(分别为 91.5% 和 92.1%),与其他血蜱属的同源性在 84.9%~89.4%、分歧度在 10.1%~12.1% 之间,与扇头蜱属、硬蜱属和锐缘蜱属的同源性均不足 83.9%;而微小扇头蜱与已知微小扇头蜱的同源性最高,达到 98.0%,与其他扇头蜱属序列间同源性在 90.0%~90.5%、分歧度在 1.8%~4.2% 之间。湖北省长角血蜱和微小扇头蜱之间的同源性为 83.9%,河南省长角血蜱和微小扇头蜱之间的同源性为 83.1%。

5. 12S rDNA 序列的系统进化分析:根据两省已查明蜱的种类及其分布,从 GenBank 中选取已知相应蜱的 12S rDNA 序列,用 PAUP 4.0 软件,以邻位相连法构建系统发生树(图 3),进一步鉴定该两种蜱,以及与已知蜱的进化关系。从图 3 可见,此次采集的长角血蜱和微小扇头蜱都分别与已知的长角血蜱和微小扇头蜱各分在一个分支,同一属蜱均能很好地聚类,说明分子生物学的鉴定结果与形态学鉴定

表 2 调查点捕获的蜱标本形态学特征与检索表描述特征对比

形态特征	长角血蜱				微小扇头蜱			
	雄		雌		雄		雌	
	检索表	标本	检索表	标本	检索表	标本	检索表	标本
颜色	-	黄褐色	-	暗褐色	-	浅褐色	-	浅赤褐色
须肢	前窄后宽,第 2 节外角突出	向外中度突出,成钝角	第 3 节背缘有三角刺突	第 3 节背缘有短刺,腹刺长	很短,第 2,3 节有横脊	-	很短,第 2,3 节有横脊	短粗
假头基	矩形	矩形,两侧缘平行,基突大,三角形	矩形	矩形,基突短小	六角形	假头基六角形,基突短	-	六角形,基突很短
盾板	近似圆形,中部最宽	约长卵形	近似圆形,中部最宽	亚圆形	较窄,完全覆盖躯体	-	-	长大于宽
气门板	未见描述	卵圆形	未见描述	约呈“D”字形,背突短钝	长圆形,稍短	-	-	长圆形
爪垫	未见描述	较长,超过爪 2/3	未见描述	中等,达爪的 2/3	较短	-	-	短,不足爪 1/2
距	未见描述	基节 I 内距长,锥形	未见描述	基节 I 内距长,锥形	-	-	基节 I 有 2 个距	基节 I 距裂较宽,2 距短粗
尾突	-	-	-	-	体后缘具尾突	尾突明显,三角形	-	无尾突

表 3 湖北、河南省长角血蜱和微小扇头蜱与其他蜱 12S rDNA 同源性和分歧度(%)

蜱	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1(波斯锐缘蜱)		<b>72.2</b>	<b>72.8</b>	<b>75.5</b>	<b>71.0</b>	<b>70.3</b>	<b>80.1</b>	<b>77.6</b>	<b>79.2</b>	<b>77.7</b>	<b>75.1</b>	<b>75.2</b>	<b>73.3</b>	<b>74.1</b>	<b>73.5</b>	<b>74.7</b>	<b>75.3</b>
2(刻点血蜱)	33.3		<b>83.4</b>	<b>90.3</b>	<b>84.9</b>	<b>84.9</b>	<b>77.0</b>	<b>76.6</b>	<b>77.5</b>	<b>77.5</b>	<b>81.4</b>	<b>80.8</b>	<b>85.8</b>	<b>84.6</b>	<b>85.5</b>	<b>84.6</b>	<b>84.6</b>
3(褐黄血蜱)	33.0	11.9		<b>80.8</b>	<b>89.4</b>	<b>89.4</b>	<b>74.5</b>	<b>77.9</b>	<b>76.7</b>	<b>76.4</b>	<b>83.1</b>	<b>77.6</b>	<b>78.9</b>	<b>79.2</b>	<b>81.0</b>	<b>84.3</b>	<b>84.3</b>
4(长角血蜱)	32.0	9.1	10.8		<b>91.5</b>	<b>92.1</b>	<b>72.3</b>	<b>79.2</b>	<b>79.6</b>	<b>75.8</b>	<b>83.0</b>	<b>83.3</b>	<b>86.2</b>	<b>85.5</b>	<b>86.5</b>	<b>85.2</b>	<b>85.2</b>
5(长角血蜱-中国湖北)	35.9	11.5	10.1	2.8		<b>99.4</b>	<b>74.2</b>	<b>76.2</b>	<b>78.3</b>	<b>76.5</b>	<b>79.8</b>	<b>76.8</b>	<b>79.2</b>	<b>78.9</b>	<b>80.4</b>	<b>83.9</b>	<b>83.9</b>
6(长角血蜱-中国河南)	36.9	12.1	10.4	3.1	0.6		<b>69.6</b>	<b>75.6</b>	<b>77.6</b>	<b>75.9</b>	<b>79.7</b>	<b>76.7</b>	<b>78.8</b>	<b>78.2</b>	<b>79.7</b>	<b>83.1</b>	<b>83.1</b>
7(锐跗硬蜱)	25.8	27.7	24.0	22.8	27.0	28.1		<b>87.6</b>	<b>88.5</b>	<b>88.8</b>	<b>85.4</b>	<b>79.8</b>	<b>78.9</b>	<b>79.2</b>	<b>83.5</b>	<b>86.6</b>	<b>86.0</b>
8(粒形硬蜱)	25.3	28.6	25.7	23.9	25.9	26.9	13.3		<b>87.7</b>	<b>84.7</b>	<b>78.5</b>	<b>78.7</b>	<b>78.5</b>	<b>76.7</b>	<b>77.5</b>	<b>79.4</b>	<b>80.0</b>
9(卵形硬蜱)	22.5	28.2	27.7	24.3	26.5	27.5	11.8	11.9		<b>85.7</b>	<b>78.2</b>	<b>78.4</b>	<b>77.9</b>	<b>78.2</b>	<b>78.8</b>	<b>79.9</b>	<b>80.5</b>
10(长蝠硬蜱)	26.3	30.0	28.8	27.5	28.9	29.9	11.4	16.4	14.9		<b>79.0</b>	<b>76.9</b>	<b>77.0</b>	<b>77.3</b>	<b>76.7</b>	<b>77.8</b>	<b>78.4</b>
11(镰形扇头蜱)	31.9	23.3	20.9	19.4	22.6	22.8	19.9	25.0	24.6	25.4		<b>92.5</b>	<b>89.5</b>	<b>89.0</b>	<b>86.5</b>	<b>90.0</b>	<b>90.0</b>
12(血红扇头蜱)	33.5	23.8	23.2	19.1	23.8	24.4	21.7	26.5	25.9	28.7	7.6		<b>89.2</b>	<b>88.1</b>	<b>89.6</b>	<b>90.2</b>	<b>90.5</b>
13(微小扇头蜱-印度)	33.5	18.8	19.7	16.3	21.2	21.4	21.0	28.3	25.4	27.2	10.4	10.8		<b>97.7</b>	<b>97.7</b>	<b>98.0</b>	<b>98.0</b>
14(微小扇头蜱-印度尼西亚)	32.1	19.9	19.7	17.9	22.4	23.4	20.6	27.9	25.0	26.8	10.8	11.1	2.4		<b>98.5</b>	<b>98.0</b>	<b>98.0</b>
15(微小扇头蜱-南非)	33.1	19.2	18.6	16.9	21.2	22.2	19.7	27.3	24.9	27.4	10.9	10.5	2.4	1.5		<b>93.9</b>	<b>93.9</b>
16(微小扇头蜱-中国湖北)	30.5	19.6	19.3	18.1	21.3	22.2	19.9	24.7	23.4	24.8	10.2	10.5	1.8	1.8	4.2		<b>99.7</b>
17(微小扇头蜱-中国河南)	30.0	19.6	19.3	18.1	21.0	21.9	19.9	24.4	23.1	24.5	10.2	10.5	1.8	1.8	3.9	0.0	

注:黑体字表示同源性,白体字表示分歧度

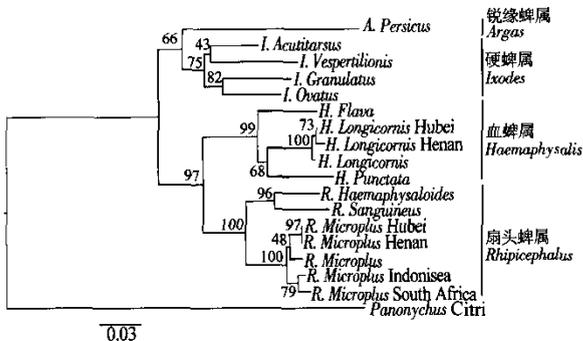


图 3 湖北、河南省调查点捕获蜱与其他蜱 12S rDNA 部分序列构建系统发生树

结果相吻合。在血蜱属中长角血蜱和刻点血蜱的亲缘关系比与褐黄血蜱的关系近。在扇头蜱属中,湖北、河南省的微小扇头蜱与邻国印度的聚在一个小分支,与印度尼西亚和南非的关系较远。长角血蜱和扇头蜱属的亲缘关系,与硬蜱属和锐缘蜱属的关系较远。

### 讨论

蜱的传统形态学分类方法不但需要研究人员具备丰富的媒介动物知识及现场工作经验,有时甚至需要借助高倍解剖镜才能看清某些分类特征,且还要对照参考书检索鉴定。如不具备蜱分类知识而要准确地从形态鉴定蜱的种属其难度较大。尤其是若蜱和幼蜱的分类特征不明显,容易混淆造成分类不准确。近年来国外学者采用分析线粒体 12S 和 16S

rDNA 序列<sup>[6,9-11]</sup>、线粒体 CO I 和 CO II 序列以及 ITS DNA 序列<sup>[11-14]</sup>,或将形态学特征数据与各种 DNA 分子序列综合数据相结合等方法<sup>[8,15]</sup>,进行蜱的系统分类学研究。与传统形态学分类方法相比,分子生物学鉴定不但分类更加准确,且增加了对蜱的系统发生及其进化关系的认识,更有助于对世界范围内蜱的有效属和有效种的重新厘定。我国在此方面的工作还较落后,GenBank 数据库几乎查不到国内学者提交的国内蜱的分子生物学标记序列。本研究构建的系统发生树所用序列均来自国外数据。到目前为止我国蜱类的数量和种类也没有一个完全准确的统计,其中原因就包括缺乏分子生物学证据以证实某些种的分类是否有效。本研究中采用传统形态鉴定方法对两种蜱的鉴定结果与分子生物学方法的鉴定结果一致,但采用 PCR 扩增线粒体 12S rDNA 序列,构建系统发生树,不但鉴定结果更加精准,而且揭示了我国这两种蜱与已知国外蜱的进化关系。因此,今后我国在努力加深蜱形态学分类学知识的同时,更应开展蜱的分子生物学分类研究,不但有助于研究我国蜱的生物学多样性、进化关系,提高在蜱系统分类学研究工作的国际地位,也有助于查清蜱所携带的病原体,为我国无形体病、新型布尼亚病毒病及其他新发传染病的预防控制提供依据。

本研究中不论是草地上还是羊、牛等家畜或家院的猫、犬体表均只有两种蜱,说明湖北与河南两省交界地区蜱的优势种为长角血蜱和微小扇头蜱。现有资料表明除河南、湖北两省外,该两种蜱

在我国分布极为广泛,长角血蜱在全国19个省(不包括直辖市)有分布,而微小扇头蜱在全国23个省有分布<sup>[16,17]</sup>。动物源性的病原体一般与宿主动物间存在一定的对应关系<sup>[18]</sup>。因此在河南、湖北省交界地区发现的新型布尼亚病毒可能也存在于其他省份。

近年来随着我国实施退耕还林等改善生态环境的重大决策,林草植被增加,原先一些生态遭破坏的山坡逐渐恢复了林地景观,野生动物的种群结构也得以改善,密度也有所增加。这些生态条件的改变为蜱等媒介动物生长与繁殖提供了有利生境。另外,我国南方农村的房屋散布在山坳、山坡,与自然环境融为一体无明显界限,散养的动物既可能被村子周围的蜱叮咬,也可与野生动物接触把蜱携带到住户家附近,导致了近年来暴发许多蜱传播的新发传染病。因此有必要在我国对蜱等生物媒介、宿主动物及其病原体进行系统的生态与分子流行病学研究。

参 考 文 献

[1] Evans GO. Principles of Acarology. Cambridge, CAB International, University Press, 1992:377-398.

[2] Yang XJ, Chen Z, Liu JZ. The valid genus and species names of ticks (Acari: Ixodida: Argasidae, Ixodidae) in China. J Hebei Normal University (Natural Science Edition), 2008, 32(4): 529-533. (in Chinese)  
杨晓军,陈泽,刘敬泽. 中国蜱类的有效属和有效种. 河北师范大学学报(自然科学版), 2008, 32(4):529-533.

[3] Zhang L, Liu Y, Ni D, et al. Nosocomial transmission of human granulocytic anaplasmosis in China. JAMA, 2008, 300(19): 2263-2270.

[4] Qin XC, Zhou DJ, Chen XP, et al. Viruses of the family Bunyavirus and their associated diseases. Chin J Epidemiol, 2010, 31(10):1081-1084. (in Chinese)  
覃新程,周敦金,陈小萍,等. 布尼亚病毒科病毒及其相关疾病. 中华流行病学杂志, 2010, 31(10):1081-1084.

[5] Lu BL, Wu HY. Classification and identification of important medical insects of China. Zhengzhou: Henan Science and Technology Publishing House, 2002:652-679. (in Chinese)  
陆宝麟,吴厚永. 中国重要医学昆虫分类与鉴别. 郑州:河南科学技术出版社, 2002:652-679.

[6] Beatil L, Keirans JE. Analysis of the systematic relationships among ticks of the genera *Rhipicephalus* and *Boophilus* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 12S ribosomal DNA gene sequences and morphological characters. J Parasitol, 2001, 87

(1):32-48.

[7] Murrell A, Barker SC. Synonymy of *Boophilus* Curtice, 1891 with *Rhipicephalus* Koch, 1844 (Acari: Ixodidae). Syst Parasitol, 2003, 56(3): 169-172.

[8] Horak IG, Camicas JL, Keirans JE. The argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodidae): a world list of valid tick names. Exp Appl Acarol, 2002, 28(1):27-54.

[9] Norris DE, Klompen JSH, Black WC, et al. Comparison of the mitochondrial 12S and 16S ribosomal DNA genes in resolving phylogenetic relationships among hard-ticks (Acari: Ixodidae). Ann Entomol Soc Am, 1999, 92(1):11-129.

[10] Mtambo J, Madder M, Van-Bortel W. *Rhipicephalus appendiculatus* and *R. zambeziensis* (Acari: Ixodidae) from Zambia: a molecular reassessment of their species status and identification. Exp Appl Acarol, 2007, 41(1): 115-128.

[11] Gu XB, Yu ZY, Yang GY, et al. Genetic relationship and sequence variation of *Haemaphysalis longicornis* and *H. conicina* based on ITS-2, CO I and CO II gene sequences. Acta Vetet Zootech Simica, 2010, 41(6):748-754. (in Chinese)  
占小彬,余增莹,杨光友,等. 嗜群血蜱和长角血蜱 ITS-2、CO I 和 CO II 基因序列变异与亲缘关系分析. 畜牧兽医学报, 2010, 41(6):748-754.

[12] Casati S, Bernasconi MV, Gern L. Assessment of intraspecific mtDNA variability of European *Ixodes ricinus* sensu Stricto (Acari: Ixodidae). Infect Genet Evol, 2008, 8(2): 152-158.

[13] Barker S. Distinguishing species and populations of *Rhipicephaline* ticks with ITS-2 ribosomal RNA. Parasitol, 1998, 84(2): 887-892.

[14] Chitimia L, Lin RQ, Cosoroaba I. Molecular characterization of hard and soft ticks from Romania by sequences of the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. Parasitol Res, 2009, 105(4):907-911.

[15] Murrell A, Campbell NJH, Barker SC. A total evidence phylogeny of ticks provides insights into the evolution of life cycles and biogeography. Mol Phylogenet Evol, 2001, 21(2): 244-258.

[16] Deng GF. Economic Insect Fauna of China. Volume 15. Beijing: Science Press, 1978: 1-174. (in Chinese)  
邓国藩. 中国经济昆虫志. 第15册. 北京: 科学出版社, 1978: 1-174.

[17] Deng GF, Jiang ZJ. Economic Insect Fauna of China. Volume 39. Beijing: Science Press, 1991: 1-43. (in Chinese)  
邓国藩,姜在阶. 中国经济昆虫志. 第39册. 北京: 科学出版社, 1991: 1-43.

[18] Switzer WM, Salemi M, Shanmugam V, et al. Ancient co-speciation of simian foamy viruses and primates. Nature, 2005, 434:376-380.

(收稿日期:2011-03-01)

(本文编辑:张林东)