

# 基于线粒体细胞色素 b 基因的细颈囊尾蚴 种群遗传多样性研究

郝桂英<sup>1,2</sup>, 杨光友<sup>1\*</sup>, 古小彬<sup>1</sup>, 阳爱国<sup>3</sup>, 杨应东<sup>4</sup>, 王淑贤<sup>1</sup>

(1. 四川农业大学动物医学院, 雅安 625014; 2. 西昌学院, 西昌 615013; 3. 四川省动物疫病预防控制中心, 成都 610041; 4. 四川省攀枝花市农林科学研究院畜牧水产所, 攀枝花 617061)

**摘要:** 为探讨我国细颈囊尾蚴种群之间的遗传相似性及与其他带科带属绦虫的亲缘关系, 用线粒体细胞色素 b (Cyt b) 基因全序列研究了分离自我国四川和云南 2 省 7 地区猪、山羊和绵羊共 33 个细颈囊尾蚴的遗传变异, 并用 MEGA 4.0 程序 NJ 法和 PAUP 4.0 程序 MP 法绘制种系发育树。本研究结果显示: 细颈囊尾蚴分离株的 Cyt b 基因全长为 1 068 bp, 共检测到 22 个单倍型, 单倍型间核苷酸相似性较高 (97.3%~99.9%), 其与带科带属其他 5 种绦虫的相似性均在 82% 以下。系统发育树显示, 7 个不同地域的细颈囊尾蚴聚为一支, 分为 3 个亚群, 且与地理区域、宿主没有直接的相关性, 呈现混杂的分布格局, 未形成明显的地理分支或宿主分支。研究结果表明: 细颈囊尾蚴 Cyt b 基因存在一定的遗传差异, 但种内相对保守, 与其他带科绦虫种间差异较大, 故可作为种间遗传变异的标记, 并为细颈囊尾蚴的种群遗传学研究及其与其他带科绦虫病的鉴别诊断的建立奠定基础。

**关键词:** 细颈囊尾蚴; 线粒体细胞色素 b 基因; 遗传多样性; 四川株; 云南株

中图分类号: S852.734

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)01-0119-07

## Analysis of Genetic Variation in Different Populations of *Cysticercus tenuicollis* Based on the Mitochondrial Cytochrome b Gene

HAO Gui-ying<sup>1,2</sup>, YANG Guang-you<sup>1\*</sup>, GU Xiao-bin<sup>1</sup>, YANG Ai-guo<sup>3</sup>,  
YANG Ying-dong<sup>4</sup>, WANG Shu-xian<sup>1</sup>

(1. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;  
2. Xichang College, Xichang 615013, China; 3. Epidemic Disease Prevention Centers of  
Sichuan Province, Chengdu 610041, China; 4. Animal Science and Fisheries Research Institute,  
Panzhihua Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Panzhihua 617061, China)

**Abstract:** The objective of this study was to examine genetic similarity of *C. tenuicollis* among populations from different regions, and the phylogenetic relationships with other taenia species. The complete sequences of mitochondrial *Cytochrome b* (Cyt b) gene were used to investigate the intraspecific genetic subdivision of 33 *C. tenuicollis* isolated from seven different cities in Sichuan and Yunnan Province, NJ tree and MP tree were constructed using the MEGA version 4.0 software and PAUP version 4.0, respectively. The results showed that the complete sequence of Cyt b gene of *C. tenuicollis* was 1 068 bp, and 22 haplotypes were detected, homology analysis indicated that the homology identity levels of nucleotides of Cyt b gene among haplotypes were high, ranged from 97.3% to 99.9%, but the homology identity levels of nucleotides of isolates in this study and other 5 kinds of *taenia* spp. cestodes in taeniidae were below 82%. The phylogenetic trees based on Cyt b gene showed that all the haplotypes of seven populations were formed a sim-

收稿日期: 2011-04-20

基金项目: 教育部《长江学者和创新团队发展计划》创新团队项目 (IRT0848)

作者简介: 郝桂英 (1980-), 女, 四川自贡人, 讲师, 博士, 主要从事动物寄生虫病学研究, E-mail: haoguiying@163.com

\* 通讯作者: 杨光友, E-mail: guangyou1963@yahoo.com.cn

gle cluster that could be divided into three subgroups. There was no direct relationship to geography or host, appeared disordered distribution pattern which there was not obvious geography cluster or host cluster. There were some genetic differences in *Cyt b* gene within *C. tenuicollis*, but no significant variation, while interspecies difference was obvious. It was concluded that *Cyt b* gene can be used as genetic marker for population genetic studies of cestodes. The results of the present study provided foundation for further studies of population genetics of *C. tenuicollis*, and for the differential diagnosis of taeniid tapeworm infections.

**Key words:** *Cysticercus tenuicollis*; mitochondrial *Cytochrome b* gene; genetic diversity; Sichuan strain; Yunnan strain

细颈囊尾蚴(*Cysticercus tenuicollis*)隶属于绦虫纲(Cestoda)圆叶目(Cyclophyllidea)带科(Taeniidae)带属(*Taenia*)的泡状带绦虫(*Taenia hydatigena*)的中绦期幼虫,呈囊泡状,大小如黄豆至鸡蛋大不等,囊壁乳白色,囊内含透明液体和一个乳白色头节,俗称“水铃铛”、“水泡”,通常寄生于猪、黄牛、水牛、牦牛、绵羊、山羊、骆驼、马等多种家畜肝脏浆膜、网膜、肠系膜、腹腔等处,偶可感染人,对幼龄动物有一定的危害,可引起细颈囊尾蚴病。此病呈世界性分布,在我国见于四川、山东、福建等 31 个省区<sup>[1-2]</sup>。

目前,对于带科绦虫分类的研究,国内外研究者主要依靠传统的分类鉴定方法(主要依据生态学、生物学和成虫、囊尾蚴的形态特征)和分子生物学技术<sup>[3-4]</sup>。然而依靠传统的分类鉴定指标有时很难准确鉴定形态上相似,但在遗传学方面不同的虫种(隐藏种)。近年来分子生物学技术的发展尤其是 DNA 测序技术的普及,为寄生虫的准确鉴定和系统学研究提供了有力的工具,弥补了传统分类的不足。目前国内外已有学者利用线粒体 DNA 序列的差异对带科绦虫不同种、种内变异进行成功鉴定的报道<sup>[5-8]</sup>。

mtDNA-*Cyt b* 基因进化速度适中,被认为是解决系统发育问题最可信的 mt DNA 标记之一,适合于研究由种内到种间甚至于科间的系统进化关系、种群水平的检测<sup>[9-12]</sup>。

为探讨不同地区、不同宿主来源的细颈囊尾蚴间基因序列差异,不同分类水平上的细颈囊尾蚴间的系统发育和种群遗传差异,确定其地理分布和有无基因型别等,作者以 *Cyt b* 基因作为分子遗传标记,对我国四川省和云南省 7 个地理区域 33 株细颈囊尾蚴进行种群遗传分析,并用 *Cyt b* 基因重建该虫种与其他带科带属绦虫的系统进化关系,为细颈囊尾蚴的种群遗传结构、动物细颈囊尾蚴病的分子

诊断和分子流行病学研究奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 细颈囊尾蚴的采集

33 个细颈囊尾蚴样品分别采自四川省雅安、西昌、攀枝花、泸州、简阳、道孚和云南省永仁 7 个不同地理区域猪、山羊和绵羊的腹腔(表 1)。将采集的细颈囊尾蚴外层结缔组织膜剥离,用灭菌生理盐水清洗 3 次,编号, -20 °C 保存备用。仅泸州的 2 个样本用乙醇固定保存。分离自同一个宿主的细颈囊尾蚴为 1 个分离株。

### 1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 采用酚/氯仿法<sup>[13]</sup>提取细颈囊尾蚴基因组 DNA,于 -20 °C 保存备用。

1.2.2 *Cyt b* 基因的扩增、纯化与序列测定 根据 GenBank 上已发表泡状带绦虫线粒体全基因组(序列号:GQ228819)、多头带绦虫线粒体全基因组(序列号:NC\_012894)、猪带绦虫线粒体全基因组(序列号:NC\_004022)的 *Cyt b* 基因序列设计 1 对引物。引物序列为: P<sub>1</sub> 5'-AAACTGRTAGATT-GTGGTTC-3', P<sub>2</sub> 5'-ATATGACTRTCWT-TAGAAGA-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 50 μL: 2 × *Taq* PCR MasterMix 25 μL, 引物 P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub> (10 pmol · μL<sup>-1</sup>) 各 2 μL, 模板 DNA 2 μL, ddH<sub>2</sub>O 19 μL, 混匀后稍加离心。扩增条件: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 30 s, 48 °C 复性 45 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 30 个循环, 最后 72 °C 延伸 5 min。同时,以 ddH<sub>2</sub>O 代替模板 DNA 作空白对照。反应结束后取 5 μL PCR 扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其大小、纯度及亮度。

表 1 细颈囊尾蚴种群采集信息、单倍型和序列多样性

Table 1 Collecting data, haplotypes and diversity statistics of *C. tenuicollis*

样品编号 Sample number	采样地点 Location	中间宿主 Intermediate host	单倍型(n*) Haplotypes (n*)	单倍型多样性 Haplotypes diversity (H)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (Pi)
Thgy01, Thgy02, Thgy18, Thgy19, Thgy20	四川雅安市	山羊	H <sub>1</sub> (1), H <sub>2</sub> (1), H <sub>3</sub> (1), H <sub>4</sub> (1), H <sub>5</sub> (1)	1.000	0.005 24
Thgj03	四川简阳市	山羊	H <sub>6</sub> (1)	NA**	NA
Thgp04, Thgp05, Thgp06, Thgp07, Thgp08, Thgp09, Thgp10, Thgp11, Thgp12, Thgp13	四川攀枝花市	山羊	H <sub>7</sub> (1), H <sub>8</sub> (1), H <sub>9</sub> (1), H <sub>10</sub> (1), H <sub>11</sub> (1), H <sub>1</sub> (2), H <sub>12</sub> (1), H <sub>13</sub> (1), H <sub>14</sub> (1)	0.978	0.005 51
Thswp01, Thswp02, Thswp04	四川攀枝花市	猪	H <sub>15</sub> (1), H <sub>16</sub> (1), H <sub>17</sub> (1)	1.000	0.018 41
Thgx14, Thgx15, Thgx16, Thgx17	四川西昌市	山羊	H <sub>15</sub> (1), H <sub>18</sub> (1), H <sub>1</sub> (2)	0.833	0.010 30
Thswx03, Thswx06, Th- swx08, Thswx09, Thswx10	四川西昌市	猪	H <sub>19</sub> (1), H <sub>10</sub> (1), H <sub>1</sub> (1), H <sub>20</sub> (2)	0.900	0.005 62
Thswyn05, Thswyn07	云南永仁县	猪	H <sub>21</sub> (1), H <sub>1</sub> (1)	NA	NA
Thswl11, Thswl12	四川泸州市	猪	H <sub>22</sub> (2)	NA	NA
Thshd1	四川甘孜州 道孚县	绵羊	H <sub>18</sub> (1)	NA	NA

分离株编号 Th 表示泡状带绦虫, g 代表山羊源, sw 代表猪源, sh 代表绵羊源; y 代表雅安, j 代表简阳, p 代表攀枝花, x 代表西昌, yn 代表云南, l 代表泸州, d 代表道孚县; \* (n) 表示单倍型的样本数, \*\* NA 表示不适用

In Sample number, "Th" means *Taenia hydatigena*, "g" means goat originated, "sw(n)" means swine originated, "sh" means sheep originated; "y" means *C. tenuicollis* isolated from Ya'an, "j" means isolated from Jianyang, "p" means *C. tenuicollis* isolated from Panzhihua, "x" means *C. tenuicollis* isolated from Xichang, "yn" means *C. tenuicollis* isolated from Yunnan, "I" means *C. tenuicollis* isolated from Luzhou, "d" means *C. tenuicollis* isolated from Daofuxian; \* (n) means number of haplotypes, \*\* NA means not suitable

使用柱式 DNA 胶回收试剂盒进行 DNA 的回收纯化, 回收产物送上海英骏生物技术有限公司进行正反双向测序, 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, 搜索已发表的 6 种其他带科绦虫的线粒体全基因组(表 2), 下载其相应的 *Cyt b* 基因序列, 用 Clustal X 1.81 软件进行序列比对, 确定变异位点。用 DNASTAR 中的 MegAlign 程序进行同源性分析。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 树和 PAUP4.0 软件构建 MP 树, 均以细粒棘球绦虫作为外群进行分析, 并进行重复 1 000 次的自举检验(bootstrap test)。

## 2 结 果

### 2.1 *Cyt b* 基因序列的组成

对 33 株细颈囊尾蚴的 *Cyt b* 基因序列进行排序分析后, 得到 1 068 bp 的全长序列(GenBank 登陆号为 JF720925-JF720957), 没有碱基插入/缺失, 其中保守位点 1 001 个, 变异位点 67 个(占 6.27%), 包括 36 个简约性信息位点和 31 个单变异

位点。大多数的变异发生在密码子的第 3 位(占 78.3%),其次是第 1 位(占 14.5%),第 2 位最少(占 7.2%)。A、T、C、G 碱基的平均含量分别为 23.1%、47.0%、9.6%、20.3%,其中 A+T 含量(70.1%)明显高于 G+C 含量(29.9%)。就每个氨基酸密码子来看,第 3 位点的 A+T 平均含量最高

(76.4%),而第 1 位点 A+T 平均含量最低(65.9%)。序列中转换多于颠换,平均转换与颠换比为 6.7。其中 T 与 C、A 与 G 间的转换分别为 33 个和 25 个,A 与 T、T 与 G、A 与 C 间的颠换分别为 2 个、8 个和 1 个,无 C 与 G 之间的颠换。

表 2 不同带科绦虫的 *Cyt b* 基因序列信息

Table 2 Information of *Cyt b* gene sequences of different Taeniidae cestodes

种名 Species name	地区 Locality	宿主/发育阶段 Host/Developmental stage	数据库登录号 Database accession No.	作者(年) Author(Year)
猪带绦虫 <i>T. solium</i> (Tso)	中国 China	猪/囊尾蚴 Pig/cysticercus	NC_004022, AB086256	Nakao et al(2003) <sup>[14]</sup>
亚洲带绦虫 <i>T. asiatica</i> (Tas)	韩国 Korea	人/成虫 Human/adult tapeworm	AF445798, NC_004826	Joen et al(2006) <sup>[15]</sup>
牛带绦虫 <i>T. saginata</i> (Tsa)	比利时 Belgian	人/成虫 Human/adult tapeworm	NC_009938, AY684274	Joen et al(2007) <sup>[16]</sup>
多头绦虫 <i>T. multiceps</i> (Tm)	中国 China	犬/成虫 Dog/tapeworm	NC_012894	Jia et al (2009) <sup>[17]</sup>
豆状带绦虫 <i>T. pisiiformis</i> (Tp)	中国 China	犬/成虫 Dog/tapeworm	NC_013844	Jia et al (2009) <sup>[17]</sup>
泡状带绦虫 <i>T. hydatigena</i> (Th)	中国 China	绵羊/囊尾蚴 Sheep/cysticercus	NC_012896, GQ228819	Jia et al (2009) <sup>[17]</sup>
细粒棘球绦虫 <i>Echinococcus granulosus</i> (EG) (G1/绵羊株)	英国 England	绵羊/棘球蚴 Sheep/echinococcus	NC_008075, AF297617	Yang et al (2005) <sup>[18]</sup>
泡状带绦虫 <i>T. hydatigena</i> (Th)	中国 China	山羊、猪、绵羊/囊尾蚴 Goat, pig, sheep/cysticercus	JF720925- JF720944 JF720945- JF720956 JF720957	本文测定 This study

## 2.2 *Cyt b* 基因序列相似性

各地理种群的 *Cyt b* 基因碱基变化不大(变异率为 0.0%~2.8%),部分地理种群间和种群内序列相同,其中雅安(Thgy01)、攀枝花(Thgp09、Thgp12)、西昌(Thgx16、Thgx17、Thswx08)和云南(Thswyn07);西昌和攀枝花(Thswx06 和 Thgp 07; Thgx14 和 Thswp04);西昌(Thgx15)和道孚(Thshd1)各地理种群间部分个体序列完全相同;西昌(Thswx09 与 Thswx10)、泸州(Thswl11 与 Thswl12)内部部分序列完全相同。序列间核苷酸相似性较高(97.3%~100%),而与其他带属绦虫的

相似性较低(74.5%~81.4%)。在氨基酸组成上,共编码 355 个氨基酸,其中有 30 个氨基酸发生了变异(占 8.45%)。氨基酸相似性为 93.8%~100%,其中 Thgp08 与 Thswl11 相似性最低(93.8%),Thgp04、Thgp05、Thgy01; Thgx15、Thswp01、Thswy05; Thgx14 与 Thswx09 的序列完全相同。

## 2.3 细颈囊尾蚴地理种群的遗传多样性

33 个样品的 *Cyt b* 基因序列共检测出 22 种单倍型,即 H<sub>1</sub>-H<sub>22</sub>(见表 1),其中 16 种单倍型仅见于单个个体。除简阳、泸州、道孚只有 1 个单倍型外,其余均有多个单倍型,最多为 12 种单倍型(攀枝花)。其中

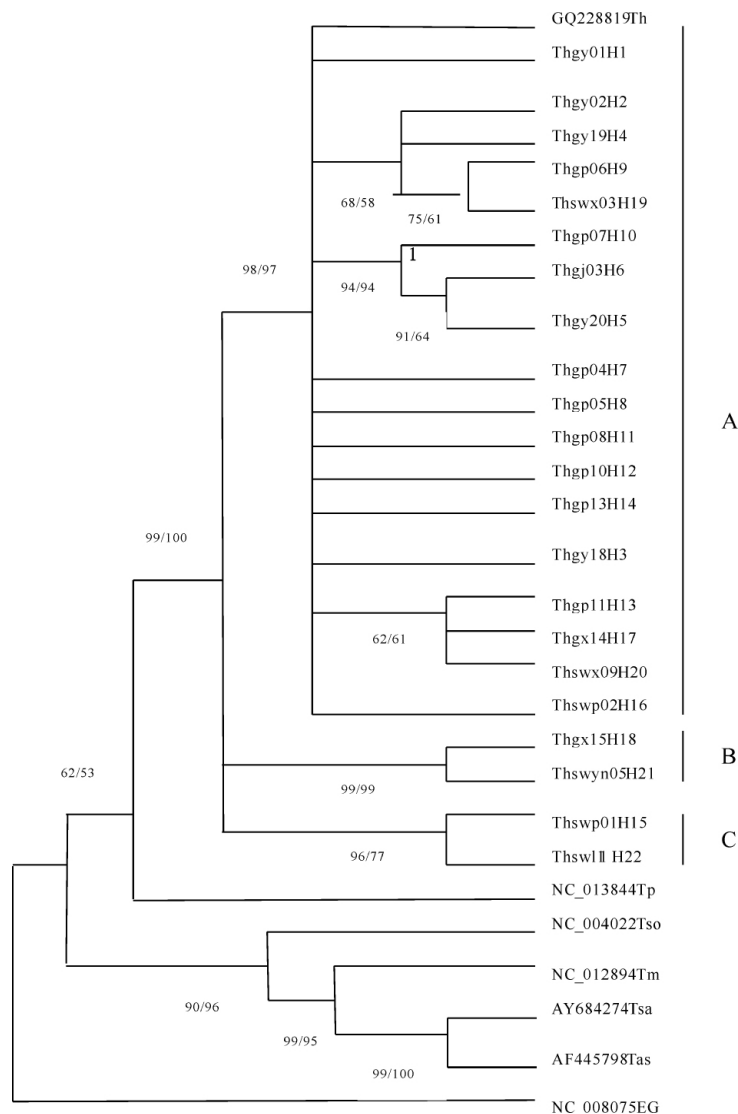
西昌和雅安、永仁共享单倍型  $H_1$ , 西昌和攀枝花共享  $H_1$ 、 $H_{10}$  和  $H_{17}$ , 西昌和道孚共享  $H_{18}$ , 其余的单倍型为各种群所特有。单倍型多样性( $H$ )为 0.951, 核苷酸多样性( $P_i$ )为 0.010 55。其中山羊源、猪源种群的  $H$  分别为 0.947、0.955,  $P_i$  分别为 0.006 33、0.014 87; 攀枝花、西昌、雅安种群的  $H$  分别为 0.987、0.889 和 1.000,  $P_i$  分别为 0.008 51、0.007 54 和 0.005 24。

单倍型间的序列差异为 0.1%~2.8%, 遗传距离(Kimura 2-parameters)为 0.001~0.028, 其中 Thgy01 与 Thgp08、Thgy18 和 Thgx14; Thgp06 与 Thswx03; Thgy20 与 Thgj03; Thswx09 与 Thgp11、Thgx14 的遗传距离最小, 而 Thswp01 和 Th-

swl11 与 Thswx03、Thgp07 和 Thgy20 的遗传距离最大。平均遗传距离 0.012, 与其他带科绦虫基因的遗传距离均大于 0.200 以上。山羊源、猪源单倍型间遗传距离分别为 0.001~0.025 和 0.008~0.028, 平均遗传距离分别为 0.008 和 0.020。攀枝花、西昌、雅安各种群内单倍型间遗传距离分别为 0.001~0.028、0.000~0.023 和 0.001~0.010, 平均遗传距离分别为 0.009、0.008 和 0.005。攀枝花与西昌、雅安种群间遗传距离均为 0.008, 西昌与雅安种群间遗传距离为 0.007。

## 2.4 基于 Cyt b 序列的系统发育分析

以细粒棘球绦虫作为外群, 采用 NJ 法和 MP 法构建细颈囊尾蚴种群间的系统发育树(图 1)。系



支持率标注在分支上

Numbers on the trees represent the supporting value

图 1 细颈囊尾蚴 Cyt b 单倍型 NJ/MP 树

Fig. 1 NJ tree/MP tree of Cyt b haplotypes for *C. tenuicollis*

统发育树的结果显示, NJ 树和 MP 树相似, 共形成 2 个分支(图 1)。亚洲带绦虫、牛带绦虫、多头带绦虫和猪带绦虫聚在一起形成一支; 豆状带绦虫与细颈囊尾蚴分离株(含泡状带绦虫参考株 Th)位于另一支上, 可与其他带科带属绦虫予以鉴别, 且有较高的节点支持率。细颈囊尾蚴分离株(含泡状带绦虫参考株 Th)分别聚在 3 个主要簇群中, Thswp01 与 Thswl11 为姐妹群(C 簇), Thgx15 与 Thswyn05 为姐妹群(B 簇), 其他序列聚成一簇(A 簇)。从系统发育树可知单倍型未形成明显的地理分支或宿主分支。

### 3 讨论

#### 3.1 序列变异分析

本研究中, 细颈囊尾蚴 *Cyt b* 基因的碱基组成 A+T 平均含量(70.1%)明显高于 G+C 平均含量(29.9%), 反映出 *Cyt b* 基因在密码子使用上的偏倚性, 与贾万忠等<sup>[19]</sup>报道的结果相似, 他们发现猪带绦虫、牛带绦虫、亚洲带绦虫、多头带绦虫、泡状带绦虫和肥头绦虫的 mt DNA 全序列富含 AT, 超过 70%(71%~74%), 可见带科带属绦虫碱基组成均存在明显偏倚, 这可能由序列变异或选择压力造成的。

对所测序列分析发现密码子第 3 位点的转换明显多于第 1、2 位点的转换, 这是由于密码子的第 3 位发生转换后, 可能发生同义突变, 被编码的蛋白质没有改变, 面临较小的选择压力, 而发生在第 1、2 位上的突变, 很可能会引起错义突变和无义突变, 造成编码蛋白质丧失功能而面临较大的选择压力, 因而第 1、2 位上的突变较少被保留下来, 与马秀敏<sup>[20]</sup>对细粒棘球绦虫基因多态性研究的结果相似。

#### 3.2 细颈囊尾蚴地理种群的遗传多样性和系统发育分析

衡量一个种群线粒体遗传变异有 2 个重要的指标: 单倍型间的平均遗传距离和核苷酸多样性。一般而言, 单倍型间的核酸多态性指数  $P_i$  是衡量群体内遗传多样性的重要指标之一。由于核苷酸多样性考虑了各种线粒体单倍型在群体中所占的比例, 因此反映一个群体的线粒体多态程度时比单纯的平均遗传距离更准确<sup>[21]</sup>。对于大多数动物来说,  $P_i$  值在 0.01 以上时被认为变异较大<sup>[22]</sup>。本研究结果显示, 细颈囊尾蚴单倍型间的  $P_i$  为 0.010 55, 也在一定程度上说明其各主要种群间的遗传多样性较高。从以上 2 个指标可以判断猪源细颈囊尾蚴遗传多样性高于山羊源, 但不同地理种群间的遗传多样性小。

不同群体间的遗传距离反映其群体间遗传组成分化的程度, 因此猪源细颈囊尾蚴分化程度高于山羊源, 攀枝花种群的分化程度最高(0.009), 雅安种群的分化程度最低(0.005)。

所测序列间核苷酸相似性较高(97.3%~100%), 反映出细颈囊尾蚴各种种群间的遗传差异非常小。

系统树拓扑结构显示, 不同种群间的系统发生与它们分布的地理区域、宿主没有直接的相关性, 尚未形成显著的地理种群结构。跨地域不同个体之间拥有相同的单倍型, 且空间位置相距较远的群体并不一定在核苷酸序列上有大的差异, 单倍型的出现没有一定的规律可循。

目前对于细颈囊尾蚴群体遗传学的研究尚未开展, 对于各地理种群的遗传多样性、种群结构及分化方面知之甚少。Shrivastava 等<sup>[23]</sup>利用微卫星 DNA 技术发现日本血吸虫遗传结构与中间宿主湖北钉螺的地域株和分布有关系, 同时国内外学者发现山区和湖区流行区的显著差异造成日本血吸虫遗传结构的多样性<sup>[23-25]</sup>。因此细颈囊尾蚴的遗传结构是否与地理区域、宿主相关, 还需进一步扩大样本数量来研究。

#### 3.3 *Cyt b* 基因序列在带科绦虫鉴别诊断中的应用

近年来国内外学者应用 *Cyt b* 基因构建进化树进行种系发育分析, 确定带科绦虫的进化位置并进行鉴别。Nakao 等<sup>[9]</sup>报道 *cox I* 基因在猪带绦虫 2 个基因型碱基变异率为 0.9%~1.3%, *Cyt b* 基因碱基变异率为 1.6%~2.1%, 均高于同一基因型间核苷酸的差异, 与 Okamoto 等<sup>[10]</sup>报道的结果一致。Jeon 等<sup>[15]</sup>用 *cox I* 和 *Cyt b* 基因序列的差异认为亚洲带绦虫和牛带绦虫是分属于 2 个种的绦虫。张晨昊等<sup>[11]</sup>用 *Cyt b* 作为分子遗传标记对采自云南西部三地带绦虫进行生物多态性研究, 发现大理和怒江带绦虫属于亚洲带绦虫, 云南楚雄带绦虫属于牛带绦虫。罗浪等<sup>[12]</sup>对云南一带绦虫进行分析, 发现当地同时存在亚洲带绦虫和猪带绦虫, 认为 *Cyt b* 基因序列分析可以用于带绦虫生物多态性研究。本研究结果表明 *Cyt b* 基因可以作为细颈囊尾蚴的遗传标记, 用于细颈囊尾蚴与其他带科绦虫的鉴别诊断。本研究为今后细颈囊尾蚴的种群遗传学研究及其与其他带科绦虫病的鉴别诊断的建立奠定了一定的基础。

### 4 结论

本研究对我国部分细颈囊尾蚴分离株 *Cyt b* 基

因序列进行了测定和分析,结果显示细颈囊尾蚴 *Cyt b* 基因存在一定的遗传差异,但种内相对保守,与其他带科绦虫种间差异较大,故可作为细颈囊尾蚴的遗传标记用于种类鉴定,但不能很好地区分不同地理来源、宿主的分离株,各种群之间还未达到具有显著遗传分化的单系水平,这可能更需要更多来自不同宿主、地理分布的分离株来进一步研究或需选择进化速率更快的遗传标记来研究各种群的演化。

#### 参考文献:

- [1] 杨光友. 动物寄生虫病学[M]. 第3版. 四川:四川科学技术出版社,2009.
- [2] 沈杰,黄兵. 中国家畜家禽寄生虫名录[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2004.
- [3] MCMANUS D P. Molecular discrimination of taeniid cestodes [J]. *Int J Parasitol*, 2006, 55 (Suppl):31-37.
- [4] YAMASAKI H, NAKAO M, SAKO Y, et al. Mitochondrial DNA diagnosis for taeniasis and cysticercosis [J]. *Int J Parasitol*, 2006, 55(Suppl):81-85.
- [5] 王正蓉,包怀恩. 用 mt CO I 技术测定云南及贵州四地区的牛带绦虫[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2003,21(1): 20-23.
- [6] ZHANG L, HU M, JONES A, et al. Characterization of *Taenia madoquae* and *Taenia regis* from carnivores in Kenya using genetic markers in nuclear and mitochondrial DNA, and their relationships with other selected taeniids [J]. *Mol Cell Probes*, 2007,21(5-6): 379-385.
- [7] COLLOMB J, MACHOUART M, BIAVA M F, et al. Contribution of NADH dehydrogenase subunit I and cytochrome C oxidase subunit I sequences toward identifying a case of human coenuriasis in France [J]. *J Parasitol*, 2007,93(4): 934-937.
- [8] LAVIKAINEN A, HAUKISALMI V, LEHTINEN M J, et al. A phylogeny of members of the family Taeniidae based on the mitochondrial *cox1* and *nad1* gene data [J]. *J Parasitol*, 2008,135(12):1457-1467.
- [9] 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]. *J Parasitol*, 2002, 124(6): 657-662.
- [10] OKAMOTO M, NAKAO M, SAKO Y, et al. Molecular variation of *Taenia solium* in the world [J]. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 2001, 32(Suppl 2): 90-93.
- [11] 张晨昊,杨毅梅. 云南西部三地带绦虫多态性分子遗传学标记的研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2009, 4(4):283-286.
- [12] 罗浪,杨毅梅. 云南大理白族带绦虫 mt DNA-Cytb 序列测定及分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2010, 26(5):425-428.
- [13] 萨姆布鲁克,费里奇,曼尼阿蒂斯. 分子克隆实验指南[M]. 第2版. 北京:科学出版社,1999.
- [14] NAKAO M, SAKO Y, ITO A. The mitochondrial genome of the tapeworm *Taenia solium*: a finding of the abbreviated stop codon U [J]. *J Parasitol*, 2003, 89(3): 633-635.
- [15] JOEN H K, EOM K S. *Taenia asiatica* and *Taenia saginata*: Genetic divergence estimated from their mitochondrial genomes [J]. *Exp Parasitol*, 2006, 113(1): 58-61.
- [16] JOEN H K, KIM K H, EOM K S. Complete sequence of the mitochondrial genome of *Taenia saginata*: comparison with *T. solium* and *T. asiatica* [J]. *Int J Parasitol*, 2007, 56(3): 243-246.
- [17] JIA W Z, YAN H B, GUO A J, et al. The complete mitochondrial genomes of *Taenia multiceps*, *T. hydatigena* and *T. pisiformis*, additional molecular markers for a tapeworm genus of human and animal health significance [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11:447.
- [18] YANG Y R, ROSENZVIT M C, ZHANG L H, et al. Molecular study of *Echinococcus* in west-central China [J]. *J Parasitol*, 2005, 131 (PT 4): 547-555.
- [19] 贾万忠,闫鸿斌,史万贵,等. 带属绦虫线粒体基因组全序列生物信息学分析[J]. 中国兽医学报, 2010, 30(11):1480-1485.
- [20] 马秀敏. 新疆细粒棘球绦虫基因多态性及实验诊断学研究[D]. 新疆:新疆医科大学,2007.
- [21] 周慧,李迪强,张于光,等. 藏羚羊 mtDNA D-loop 区遗传多样性研究[J]. 遗传, 2006,28(3):299-305.
- [22] NEIGEL J E, AVISE J C. Application of random walk model to geographic distribution of animal mitochondrial DNA variation [J]. *Genetics*, 1993, 135(4):1209-1220.
- [23] SHRIVASTAVA J, QIAN B Z, MCVEAN G, et al. An insight into the genetic variation of *Schistosoma japonicum* in mainland China using DNA microsatellite markers [J]. *Mol Ecol*, 2005, 14(3):839-849.
- [24] SHRIVASTAVA J, BARKER G C, JOHANSERN M V, et al. Isolation and characterization of polymorphic DNA microsatellite markers from *Schistosoma japonicum* [J]. *Mol Ecol Notes*, 2003, 3(3):406-408.
- [25] 牛安欧,冯友仁,方正明. 中国日本血吸虫 DNA 遗传变异及聚类分析[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 2003, 10(2):70-73.

(编辑 白永平)