



新疆南疆部分地区 3 种璃眼蜱的分子生物学鉴定

李凯瑞¹, 李 飞^{1,2}, 何 波¹, 张路瑶^{1,3}, 赵 丽^{1,4}, 刘永宏^{1,4}

(1. 塔里木大学 动物科学学院, 新疆阿拉尔 843300; 2. 新疆阿克苏地区动物疫病控制诊断中心, 新疆阿克苏 843000; 3. 巴里坤哈萨克自治县畜牧兽医工作站, 新疆哈密 839200; 4. 新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室, 新疆阿拉尔 843300)

摘 要 旨在对新疆南疆部分地区璃眼蜱属的蜱进行分子生物学鉴定, 了解其分布情况。采集新疆南疆部分地区蜱, 通过形态学鉴定将璃眼蜱属蜱作为样本, 通过 *12S rDNA* 和 *16S rDNA* 基因扩增、测序及序列分析进行蜱种类鉴定。13 个采样点共 559 只璃眼蜱属蜱, 鉴定为 3 种, 分别为小亚璃眼蜱、亚洲璃眼蜱和残缘璃眼蜱。

关键词 *12S rDNA*; *16S rDNA*; 璃眼蜱属; 分子生物学鉴定

中图分类号 S855.9

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2018)12-1716-07

蜱隶属节肢动物门 (Arthropoda) 蜘蛛纲 (Arachnida) 螨亚纲 (Acari) 寄螨总目 (Parasitiformes) 蜱目 (Ixodida) 蜱总科 (Ixodoidea), 是一类专性吸血的体外寄生虫, 能寄生包括人在内的多种脊椎动物^[1-2]。对宿主最直接的危害为生产性能降低和增量变慢, 严重的会导致死亡。除直接危害, 蜱也是传染性动物疾病最常见的媒介, 能够传播多种病原, 包括细菌、病毒、血液原虫、螺旋体和立克次体等, 对人类、宠物、野生动物和牲畜构成严重威胁, 在很大程度上给诊断和防治带来严峻挑战^[3-4]。

全世界蜱类大约 900 多种, 分为 3 个科: 硬蜱科 (Ixodidae)、软蜱科 (Argasidae) 和纳蜱科 (Nuttalliellidae)。硬蜱科中的璃眼蜱属 (*Hyalomma*) 包括 3 个亚属, 共有 27 个种。中国的璃眼蜱均属于同一亚属, 已记载的有 9 个种^[5-6]。新疆是中国陆地面积最大的省级行政区, 占中国总面积的 1/6, 无论是地理气候, 还是牲畜种群, 都为蜱提供良好的生存环境, 其中天山横亘于新疆中部, 把新疆分为南疆和北疆, 璃眼蜱属是南疆的优势蜱属之一^[7]。

蜱类的鉴定主要有形态学鉴定和分子生物学

鉴定, 后者近年在系统分类学中的应用越来越广泛^[8]。常用鉴定基因有: 核糖体 RNA 基因, 分为 *18S rRNA*、*28S rRNA*、*5.8S rRNA*、非转录间隔区 (NTS)、转录间隔区 (ITS) 和基因间隔区 (IGS); 线粒体 DNA, 分为 *12S rRNA*、*16S rRNA*、细胞色素氧化酶、细胞色素 b、22 个 tRNA 和 2 个 ATP 酶基因^[9-10]。线粒体 DNA 中的 *12S rDNA* 和 *16S rDNA* 通常用来分析蜱的种间变异、种内变异和种群水平, 在多个蜱种中均有应用^[11-13]。这 2 个基因均较保守, 相比于其他同类基因进化速率不高, 可以被通用引物或者保守引物 PCR 扩增, *16S rDNA* 在蜱的分类系统进化分析中扩增序列可获得更多位点信息, 扩增的物种也更多^[14]。本研究通过 *12S rDNA* 和 *16S rDNA* 进行分子生物学鉴定, 确定南疆部分地区璃眼蜱分布情况, 为蜱传病的流行病学调查及疫病风险防控工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 蜱 共采集 559 只璃眼蜱属蜱, 采集时间、地点和分布见表 1。

收稿日期: 2018-03-30 修回日期: 2018-07-03

基金项目: 国家自然科学基金 (31460655); 新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室开放课题 (HS201501, HS201801)。

第一作者: 李凯瑞, 男, 硕士研究生, 研究方向为动物群发性疾病的防控检测。E-mail: 419173879@qq.com

通信作者: 刘永宏, 男, 博士, 副教授, 研究方向为传染病与免疫病理学。E-mail: lyhdky@126.com

表 1 蜱的来源

Table 1 Source of ticks collection

样品编号 Sample number	采样地点 Sampling site	采样时间 Sampling time	宿主 Host	总数 Total number	雌蜱数 Female number	雄蜱数 Male number
1	喀什地区莎车县 Shache county, Kashgar prefecture	2012-11	羊 Sheep	58	32	26
2	阿克苏地区库车县 Kuqa county, Aksu prefecture	2014-03	羊 Sheep	89	77	12
3	新疆生产建设兵团第三师 50 团 50th regimen of the third division, Xinjiang production and construction corps	2015-10	羊 Sheep	25	0	25
4	新疆生产建设兵团第三师 50 团 50th regiment of the third division , Xinjiang production and construction corps	2015-10	羊 Sheep	22	22	0
5	阿克苏地区温宿县 Wensu county, Aksu prefecture	2014-05	羊 Sheep	2	2	0
6	阿克苏地区温宿县 Wensu county, Aksu prefecture	2014-05	羊 Sheep	12	12	0
7	和田地区策勒县 Qira county, Hotan prefecture	2014-04	羊 Sheep	11	4	7
8	巴音郭楞蒙古自治州和静县 Hejing county, Mongolian Autonom ous prefecture of Bayingolin	2015-04	羊 Sheep	15	7	8
9	阿克苏地区库车县 Kuqa county, Aksu prefecture	2013-03	牛 Cattle	6	6	0
10	阿克苏地区阿瓦提县 Awat county, Aksu prefecture	2013-03	羊 Sheep	8	8	0
11	和田地区和田县 Hotan county, Hotan prefecture	2015-04	牛 Cattle	35	10	25
12	吐鲁番地区鄯善县 Shanshan county, Tulufan prefecture	2016-05	羊 Sheep	271	114	157
13	和田地区皮山县 Pishan county, Hotan prefecture	2013-04	牛 Cattle	5	1	4
合 计 Total				559	295	264

1.1.2 主要试剂及仪器 TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver. 5.0 (Code No. 9765)、Premix TaqTM (TaKaRa TaqTM vesion 2.0)(Code No. R004A)和 DNA marker DL2000(Code No. 3427A)购自宝生物工程(大连)有限公司。PCR 仪(TC-5000, Bibby scientific Ltd),小型高速冷冻离心机(R134a, Hermetically sealed refrigeration system),电泳仪(DYY-12,北京市六一仪器厂),紫外分析仪

(JY02S,北京君意东方电泳仪设备有限公司)等。

1.1.3 线粒体 12S rDNA 和 16S rDNA 基因扩增引物 蜱类线粒体 12S rDNA 和 16S rDNA 特异性基因片段 PCR 扩增引物^[15-16]由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,序列见表 2。

1.1.4 蜱物种鉴定参考序列 亚洲璃眼蜱、小亚璃眼蜱和残缘璃眼蜱物种鉴定所选取的参考序列见表 3。

表 2 蜱 12S rDNA 和 16S rDNA 基因片段扩增引物

Table 2 Primers for amplification of 12S rDNA and 16S rDNA gene fragments of ticks

基因 Gene	长度/bp Length	序列(5'→3') Sequence(5'→3')
12S rDNA	320	F:AAACTAGGATTAGATACCCCT R:AATGAGAGCGACGGCGATGT
16S rDNA	455	F:TTAAATTGCTGTRGTATT R:CCGGTCTGAACTCASA WC

注：W 对 A 或 T(W 为兼并引物,表明该位置 2 种碱基择 1)。
Note:W pairs A or T (W is merger primer to indicate location of two bases).

表 3 蜱物种鉴定参考序列

Table 3 Reference sequences for identification of tick species

目的基因 Objective gene	参考序列 GenBank 登录号 Accession number
12S rDNA	KF583607 KU880618 KF583591 KF583634 AF031855 KF583615 KF583616 KU364280 KR809577 U95864 KX264490
16S rDNA	KT391058 KU130429 KU130480 KU130440 MF946465 KY512797 JX051077 KU880612 KU364378 KR809587 KU880613 KC203340 KC203338 JX051108 JX051101 KU664518 KR297209 JF784001

1.2 方法

试验在新疆阿拉尔市塔里木大学动物科学学院和新疆生产建设兵团塔里木畜牧科技重点实验室进行。

1.2.1 蜱样本筛选 收集新疆南疆蜱虫样本,通过形态学鉴定初步筛选出璃眼蜱属蜱做好标记,用蒸馏水反复冲洗掉体表的异物,置于滴加甘油的 $\varphi=75\%$ 酒精中保存,供鉴定,其他于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,备用。

1.2.2 蜱 DNA 提取 选取要鉴定的璃眼蜱样本,将蜱依次在 $\varphi=50\%$ 、 $\varphi=30\%$ 、 $\varphi=10\%$ 的酒精、自来水和蒸馏水中各浸泡 1 h。清洗洁净后,剪成小块置于 EP 灭菌管中,根据 TaKaRa MiniBEST Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver. 5.0 试剂盒说明提取蜱组织 DNA。

1.2.3 分子生物学鉴定 根据 TakaRa TaqTM Version 2.0 试剂盒说明设置 12S rDNA 和 16S rDNA 基因 PCR 反应体系,具体见表 4。

表 4 PCR 反应体系
Table 4 PCR reaction system

试剂名称 Reagent name	体积/ μL Volume
Premix Taq TM Version 2.0	25
蜱样本 DNA Tick sample DNA	2
上游引物 Forward primer	1
下游引物 Reverse primer	1
灭菌蒸馏水 Sterile purified water	21

12S rDNA 基因 PCR 反应条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s,51 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,5 个循环;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s,53 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,70 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,25 个循环;70 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。

16S rDNA 基因 PCR 反应条件:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,49 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,5 个循环;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,47 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,5 个循环;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,45 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,5 个循环;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s,43 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s,68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s,25 个循环;68 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min。

1.2.4 电泳及凝胶成像观察 取 5 μL PCR 产物用 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测,凝胶成像系统观察结果并记录。

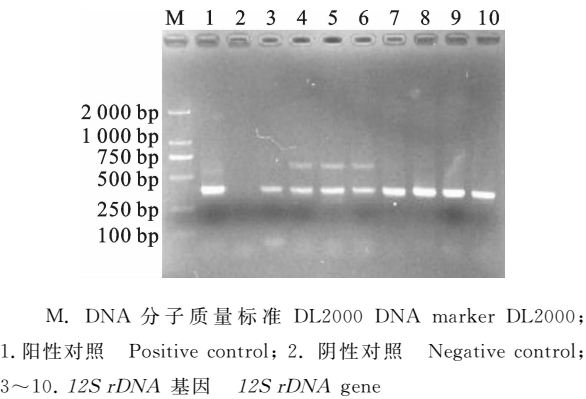
1.2.5 测序及序列分析 将 PCR 阳性产物送生工生物工程(上海)股份有限公司测序,利用邻接法(Neighbor-joining method, NJ)将测序结果与

亚洲璃眼蜱、小亚璃眼蜱和璃眼蜱属其他序列,以及图兰扇头蜱(*Rhipicephalus turanicus*)、血红扇头蜱(*Rhipicephalus sanguineus*)、波斯锐缘蜱(*Argas persicus*)、锐跗硬蜱(*Ixodes acutitarsus*)和蠕形螨(*Demodex canis*)作为外缘种(Out-group)进行同源性及系统进化分析。

2 结果与分析

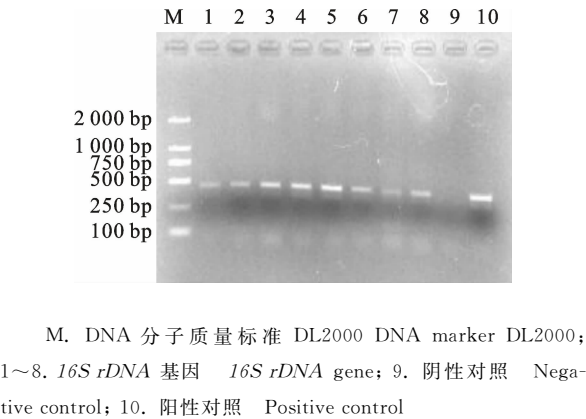
2.1 PCR 扩增

提取经形态学鉴定为璃眼蜱属 13 只蜱的基因组 DNA,对 12S rDNA 和 16S rDNA 基因进行 PCR 扩增。由图 1 和图 2 可知,试验阴、阳性对照成立,且样品获得目的片段与预期大小一致。初步分析 12S rDNA 和 16S rDNA 基因均成功扩增,蜱种类确定需要结合测序结果进行分析。



M. DNA 分子质量标准 DL2000 DNA marker DL2000; 1. 阳性对照 Positive control; 2. 阴性对照 Negative control; 3~10. 12S rDNA 基因 12S rDNA gene

图 1 12S rDNA 基因 PCR 扩增电泳图
Fig. 1 Amplification of 12S rDNA gene by PCR



M. DNA 分子质量标准 DL2000 DNA marker DL2000; 1~8. 16S rDNA 基因 16S rDNA gene; 9. 阴性对照 Negative control; 10. 阳性对照 Positive control

图 2 16S rDNA 基因 PCR 扩增电泳图
Fig. 2 Amplification of 16S rDNA gene by PCR

2.2 12S rDNA 序列分析

基于璃眼蜱 12S rDNA 基因扩增片段,13 段自测序列间的同源性为 85.7%~99.7%。1、5、7、11、13 的同源性较高,2、3、4、8、9、10、12 的同源

性较高,6 与其他序列的同源性均较低(表 5)。结合形态学鉴定结果认为:1、5、7、11、13 为同一种璃眼蜉,2、3、4、8、9、10、12 为同一种璃眼蜉,6 为单独一种璃眼蜉。

表 5 基于璃眼蜉 12S rDNA 基因的 13 段自测序列同源性比对

Table 5 Homology comparison of 13 self test sequences based on 12S rDNA gene fragments of Hyalomma													
序列号 Sequence No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1		89.3	89.2	89	98.6	92.5	98.8	88.7	87.9	88.5	98.8	88	98.8
2	11.6		98.6	98.9	89.1	86	88.5	98.9	98.6	98.3	88.2	98	88.5
3	11.6	1.4		98.6	88.2	85.7	87.8	98	97.5	98	87.8	97.7	88.1
4	12	1.1	1.4		88.7	86.5	88.3	98.9	98	98.9	88.7	98.6	89
5	1.5	11.8	12.9	12.2		92	98.6	88.2	88.3	88.3	98	88.7	98
6	7.9	15.5	16	15	8.5		92.5	86.3	85.8	86.1	92.2	85.8	91.6
7	1.2	12.5	13.3	12.7	1.5	7.9		87.8	88.2	87.6	99.7	88	98.8
8	12.2	1.1	2	1.1	12.8	15.2	13.3		98.3	99.4	87.8	98.3	88.1
9	13.2	1.4	2.6	2	12.8	15.8	12.8	1.7		98.3	87.6	98.9	87.1
10	12.5	1.7	2	1.1	12.8	15.5	13.5	0.6	1.7		87.3	98.9	87.1
11	1.2	12.9	13.3	12.3	2	8.2	0.3	13.3	13.6	13.9		87.8	99.1
12	13	2	2.3	1.4	12.3	15.8	13.1	1.7	1.1	1.1	13.4		88
13	1.2	12.5	13	12	2	8.9	1.2	12.9	14.2	14.2	0.9	13.1	

同源性分析结果显示,序列 8 与小亚璃眼蜉(登录号:KF583616)同源性为 100%,2、3、4、9、10 和 12 与小亚璃眼蜉(登录号:KF583616)同源性均为 99%;6 与亚洲璃眼蜉(登录号:KF583591)同源性为 98%;1 和 13 与残缘璃眼蜉(登录号:KF583607)同源性为 99%,5、7 和 11 与残缘璃眼蜉(登录号:KF583607)同源性为 98%。系统进化关系显示,1、5、7、11、13 与残缘璃眼蜉位于同一个进化支上;2、3、4、8、9、10、12 与小亚璃眼蜉位于同一个进化支上;6 与亚洲璃眼蜉位于同一个进化支上,且与不同属的扇头蜉和其他外围群处于不同分支(图 3)。进化树中,同一属或同一种的璃眼蜉均能聚为一支,12S rDNA 基因可以为这 3 种璃眼蜉提供分类依据。综合序列分析结果及形态学鉴定结果,可以确定此次采集的璃眼蜉属于样本残缘璃眼蜉、小亚璃眼蜉和亚洲璃眼蜉。

2.3 16S rDNA 序列分析

测序结果显示,序列 2(阿克苏地区库车县)和 10 与小亚璃眼蜉(登录号:JX051108)同源性分别为 98%和 99%,6 与亚洲璃眼蜉(登录号:KU880611)同源性为 99%。

系统进化关系显示,2 和 10 与小亚璃眼蜉位于同一个进化支上;6 与亚洲璃眼蜉位于同一个进化支上,且与同属不同种的其他璃眼蜉、不同属

的扇头蜉及其他外围群处于不同分支(图 4)。进化树中,同一属或同一种的璃眼蜉均能聚类,表明 16S rDNA 基因可以为小亚璃眼蜉和亚洲璃眼蜉提供分类依据。

3 讨论

近年来,关于蜉类的研究越来越深入和广泛。在蜉实验室人工饲养^[17]及制备蜉疫苗候选抗原^[18]等诸多研究中,蜉准确分类鉴定是前提和基础。形态学鉴定结果容易受到外界因素影响,如蜉样本不完整或处于不同的发育阶段、鉴定人员经验不足、以及形态非常相似的其他隐藏种和姐妹种等,都会影响鉴定的准确性^[19]。目前,常用形态学结合分子生物学方法进行蜉种类鉴定,从分子水平提高鉴定的准确性,可为蜉类分布提供可靠依据。本研究基于 12S rDNA 和 16S rDNA 基因,将新疆南疆部分地区形态学鉴定的璃眼蜉属蜉鉴定为 3 种。

另一方面,蜉类分布可能会因当地气候、地理分隔和历史上的国际牲畜贸易而发生变化^[20]。璃眼蜉属中小亚璃眼蜉(*Hyalomma anatolicum*)、亚洲璃眼蜉(*Hyalomma asiaticum*)和残缘璃眼蜉(*Hyalomma detritum*)不同地区分布均有差别^[21]。王冰洁^[22]在新疆哈密、克拉玛依等多个地区的调查中得出璃眼蜉的区系分布指数由低

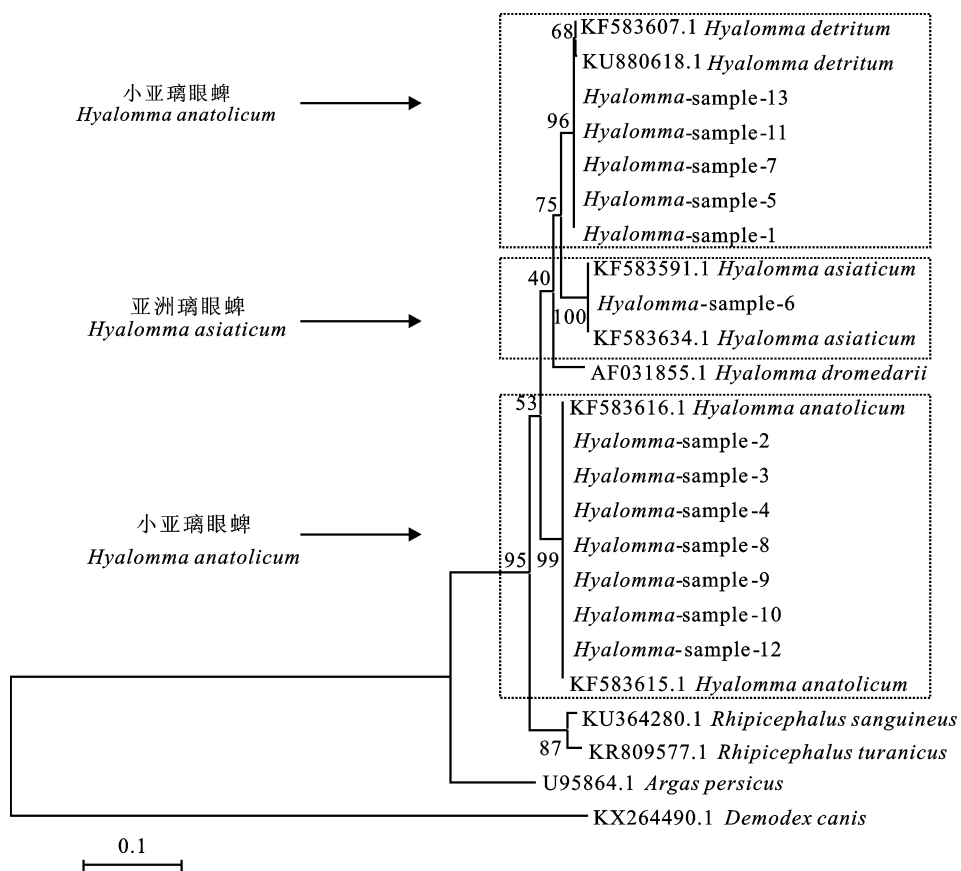


图 3 12S rDNA 基因核苷酸序列 NJ 法种系发育进化树

Fig. 3 Phylogenetic tree of 12S rDNA gene nucleotide sequence by NJ method

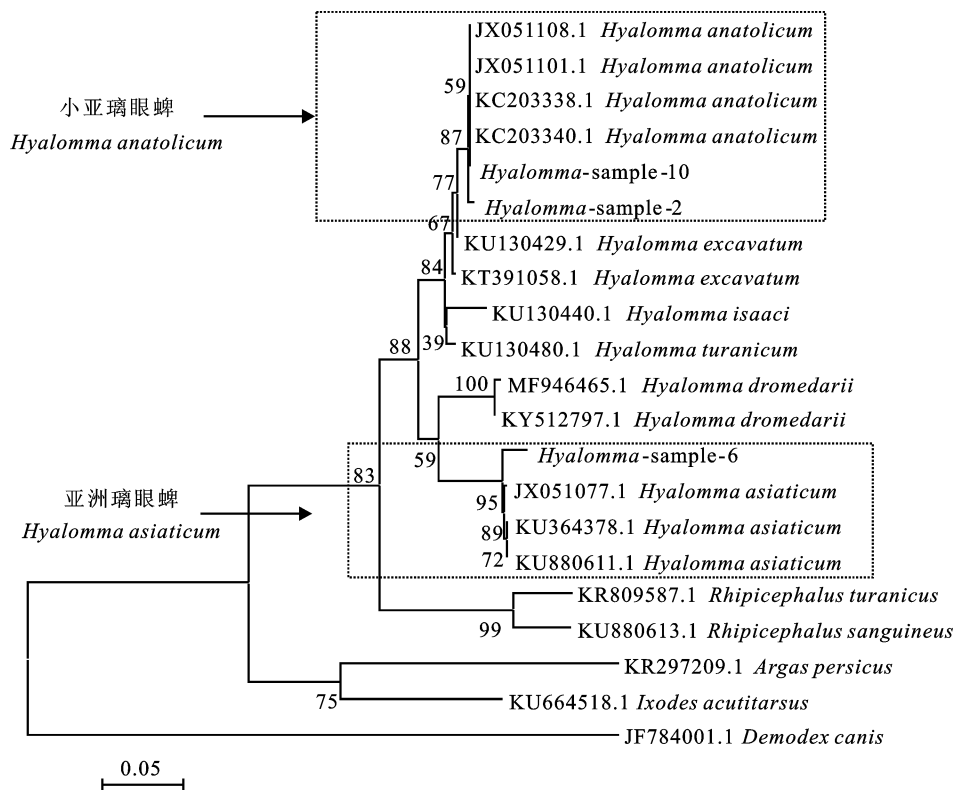


图 4 16S rDNA 基因核苷酸序列 NJ 法种系发育进化树

Fig. 4 Phylogenetic tree of 16S rDNA gene nucleotide sequence by NJ method

到高为：亚洲璃眼蜱(*H. asiaticum*)、残缘璃眼蜱(*H. detritum*)和小亚璃眼蜱(*H. anatolicum*)。刘继荣等^[23]发现在吉木萨尔县、木垒县、布尔津县和石河子莫索湾等地均有小亚璃眼蜱(*H. anatolicum*)、亚洲璃眼蜱(*H. asiaticum*)和残缘璃眼蜱(*H. detritum*)分布。蜱在当地分布的系统性调查对蜱种群分布变化、新种发现和蜱传病的流行病学评估等至关重要^[24]。本研究确定巴音郭楞蒙古自治州和静县、阿克苏地区库车县、新疆生产建设兵团第三师 50 团、阿克苏地区阿瓦提县、吐鲁番地区鄯善县分布有小亚璃眼蜱；阿克苏地区温宿县分布有亚洲璃眼蜱；喀什地区莎车县、和田地区皮山县、阿克苏地区温宿县、和田地区策勒县、和田地区和田县分布有残缘璃眼蜱。调查结果为新疆南疆部分地区蜱及蜱传病的防控奠定基础。

参考文献 Reference:

- [1] 温廷恒, 陈 泽. 世界蜱类名录 1. 软蜱科与纳蜱科(螨亚纲: 蜱目)[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2016, 34(1): 58-69.
WEN T H, CHEN Z. The world list of ticks. 1. Argasidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) [J]. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 2016, 34(1): 58-69.
- [2] YU P, LIU Z, NIU Q, *et al.* Molecular evidence of tick-borne pathogens in *Hyalomma anatolicum* ticks infesting cattle in Xinjiang Uygur Autonomous Region, Northwestern China [J]. *Experimental & Applied Acarology*, 2017, 73(2): 269-281.
- [3] CHEN Z, YANG X J, BU F J, *et al.* Ticks (Acari: Ixodoidea: Argasidae, Ixodidae) of China [J]. *Experimental & Applied Acarology*, 2010, 51(4): 393-404.
- [4] JIANG B G, JIA N, JIANG J F, *et al.* *Borrelia miyamotoi* infections in humans and ticks, northeastern China [J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2018, 24(2): 236-241.
- [5] 陈 泽, 温廷恒. 世界蜱类名录 2. 硬蜱亚科(螨亚纲: 蜱目: 硬蜱科)[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2017, 35(4): 371-381.
CHEN Z, WEN T H. The world list of ticks. 2. Ixodinae (Acari: Ixodida: Ixodidae) [J]. *Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases*, 2017, 35(4): 371-381.
- [6] 邓国藩, 姜在阶. 中国经济昆虫志. 第三十九册, 蜱螨亚纲、硬蜱科[M]. 北京: 科学出版社, 1991: 295-319.
DENG G F, JIANG Z J. Chinese Economic Insects. Volume 39, Acari, Ixodidae [M]. Beijing: Science Press, 1991: 295-319.
- [7] 刘永宏, 代艳艳, 周 桐, 等. 新疆南疆地区牛羊寄生蜱类调查研究[J]. 塔里木大学学报, 2015, 27(1): 40-42.
LIU Y H, DAI Y Y, ZHOU T, *et al.* Investigation on parasitic ticks from cattle and sheep in the region of south Xinjiang [J]. *Journal of Tarim University*, 2015, 27(1): 40-42.
- [8] 陈 泽. 中国蜱类的系统分类及两种硬蜱的生物学特性分析[D]. 河北石家庄: 河北师范大学, 2010.
CHEN Z. Taxonomic and systematic research of Chinese ticks and biological characteristics analysis of two hard ticks species [D]. Shijiazhuang Hebei: Hebei Normal University, 2010.
- [9] 黄华平, 杨腊英, 王国芬, 等. rDNA 和 mtDNA 在昆虫系统发育与区系研究中的应用[J]. 热带生物学报, 2006, 12(4): 45-49.
HUANG H P, YANG L Y, WANG G F, *et al.* The application of rDNA and mtDNA in insect phylogeny and fauna [J]. *Journal of Tropical Biology*, 2006, 12(4): 45-49.
- [10] 成新跃, 周红章, 张广学. 分子生物学技术在昆虫系统学研究中的应用[J]. 动物分类学报, 2000, 25(2): 121-133.
CHENG X Y, ZHOU H ZH, ZHANG G X. Perspective of molecular biological techniques applied in insect systematics [J]. *Zoological Systematics*, 2000, 25(2): 121-133.
- [11] BEATI L, KEIRANS J. 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]. *Journal of Parasitology*, 2001, 87(1): 32-48.
- [12] 刘 琴, 张 仪, 方 圆, 等. 基于 16S rDNA 和 CO I 基因的 3 种血蜱分子生物学鉴定[J]. 国际医学寄生虫病杂志, 2015, 42(3): 146-151.
LIU Q, ZHANG Y, FANG Y, *et al.* Identification of *Haemaphysalis longicornis*, *H. flava* and *H. campanulata* based on molecular markers of 16S rDNA and CO I genes [J]. *International Journal of Medical Parasitic Diseases*, 2015, 42(3): 146-151.
- [13] 吕继洲, 吴绍强, 张永宁, 等. 小亚璃眼蜱、亚洲璃眼蜱和残缘璃眼蜱的分子生物学鉴定[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(6): 7-14.
LÜ J ZH, WU SH Q, ZHANG Y N, *et al.* Molecular identification of *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma asiaticum* and *Hyalomma detritum* [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2013, 40(6): 7-14.
- [14] 张 璘. 新疆北疆地区蜱种分布及蜱源性病原检测方法的建立[D]. 新疆石河子: 石河子大学, 2014.
ZHANG L. Study on geographical distribution and detection pathogeny of ticks, north of Xinjiang [D]. Shihezi Xinjiang: Shihezi University, 2014.
- [15] TH B W, PIESMAN J. Phylogeny of hard- and soft-tick taxa (Acari: Ixodida) based on mitochondrial 16S rDNA sequences [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1994, 91(21): 10034-8.
- [16] NORRIS D E, KLOMPEN J S, KEIRANS J E, *et al.* Population genetics of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae) based on mitochondrial 16S and 12S genes [J]. *Journal of Medical Entomology*, 1996, 33(1): 78-89.
- [17] 邵志然, 李 飞, 张路瑶, 等. 血红扇头蜱的人工饲养及生活史观察[J]. 西北农业学报, 2017, 26(5): 671-677.
SHAO ZH R, LI F, ZHANG L Y, *et al.* Artificial rearing

- and life cycle observation of *Rhinipicephalus sanguineus* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2017, 26(5):671-677.
- [18] 代艳艳,赵 丽,周 桐,等. 新疆南疆微小牛蜱 *Bm86* / *Bm91* 双基因原核表达载体的构建[J]. 西北农业学报, 2014,23(6):33-37.
- DAI Y Y,ZHAO L,ZHOU T,*et al.* Construction of prokaryotic expression vector of *Bm86* and *Bm91* dual genes of *Boophilus microplus* in south Xinjiang [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2014,23(6):33-37.
- [19] 苟惠天,薛慧文,殷 宏,等. 基于 *ITS* 和 *COI* 基因对于我国璃眼蜱的分类研究[J]. 中国兽医科学, 2016, 46(5):563-567.
- GOU H T,XUE H W,YIN H,*et al.* Phylogenetic study of *Hyalomma* spp. from China based on *ITS* and *COI* genes [J]. *China Veterinary Science*, 2016,46(5):563-567.
- [20] WANG Y Z,MU L M,ZHANG K,*et al.* A broad-range survey of ticks from livestock in Northern Xinjiang: changes in tick distribution and the isolation of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto [J]. *Parasites & Vectors*, 2015, 8(1):1-9.
- [21] 于 心,叶瑞玉,龚正达. 新疆蜱类志[M]. 乌鲁木齐:新疆科技卫生出版社,1997:77-86.
- YU X,YE R Y,GONG ZH D. The Ticks Fauna of Xinjiang [M]. Urumqi: Xinjiang Scientific, Technological and Medical Publishing House, 1997:77-86.
- [22] 王冰洁. 新疆璃眼蜱种属鉴定、进化分析及其携带泰勒虫的分子检测[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2016.
- WANG B J. Species identification, phylogenetic analysis of *Hyalomma* species and molecular detection of carried Theileriosis, Xinjiang [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2016.
- [23] 刘继荣,米 来,王平福,等. 准噶尔盆地硬蜱区系考察与名录记述[J]. 中国动物传染病学报, 2013, 21(1):60-65.
- LIU J R,MI L,WANG P F,*et al.* Faunal distribution and checklist of ticks in the Junggar Basin [J]. *Chinese Journal of Animal Infectious Diseases*, 2013, 21(1):60-65.
- [24] HEKIMOGLU O,OZER A N. Distribution and phylogeny of *Hyalomma* ticks (Acari: Ixodidae) in Turkey [J]. *Experimental & Applied Acarology*, 2017,73(1):1-19.

Molecular Identification of Three Species of Ticks in Southern Xinjiang

LI Kairui¹, LI Fei^{1,2}, HE Bo¹, ZHANG Luyao^{1,3}, ZHAO Li^{1,4} and LIU Yonghong^{1,4}

(1. College of Animal Science, Tarim University, Aral Xinjiang 843300, China; 2. Animal Loimia Controlling and Diagnostic Center of Aksu Region Xinjiang, Aksu Xinjiang 843000, China; 3. Animal Husbandry and Veterinary Workstation of Barkol Kazak Autonomous County, Hami Xinjiang 839200, China; 4. Key Laboratory of Tarim Animal Husbandry Science and Technology of Xinjiang Production & Construction Corps, Aral Xinjiang 843300, China)

Abstract Molecular identification of *Hyalomma* ticks in parts of Southern Xinjiang was conducted to understand their distribution. Ticks were collected from parts of Southern Xinjiang and taken as samples of *Hyalomma* ticks by morphological identification, the species identification was carried out by *12S rDNA* and *16S rDNA* gene amplification, sequencing and sequence analysis. A total of 559 *Hyalomma* ticks from 13 sampling sites had been identified as 3 species of *Hyalomma* ticks, *Hyalomma anatolicum*, *Hyalomma asiaticum*, and *Hyalomma detritum* respectively. The results laid foundation for prevention and control of *Hyalomma* ticks and tick-borne diseases.

Key words *12S rDNA*; *16S rDNA*; *Hyalomma*; Molecular identification

Received 2018-03-30 **Returned** 2018-07-03

Foundation item The National Natural Science Foundation of China (No. 31460655); Open Research Project of Tarim Animal Husbandry Science and Technology Key Laboratory of Xinjiang Production and Construction Corps (No. HS201501, No. HS201801).

First author LI Kairui, male, master student. Research area: prevention and control of mass animal diseases. E-mail: 419173879@qq.com

Corresponding author LIU Yonghong, male, Ph. D, associate professor. Research area: infectious diseases and immune pathology. E-mail: lyhdky@126.com

(责任编辑:顾玉兰 Responsible editor: GU Yulan)