

## 摘要

革蜱作为多种病原体的传播媒介，其宿主范围广泛，包括人类、家畜、啮齿动物以及小型兽类，对人类及动物的健康构成威胁。因此，对革蜱进行系统分类研究，有助于我们深入理解其生态习性、疾病传播能力以及制定有效的防控策略。

本文以革蜱为研究对象，一方面通过详细观察标本并查阅相关文献，分析了革蜱属的种间形态学差异，通过创建的形态学矩阵进行了系统发育分析；另一方面，采用 Long-PCR 扩增和二代测序技术，成功获取了银盾革蜱的线粒体基因组序列，并结合 NCBI 中已上传的其他革蜱线粒体基因组信息，从分子层面进行了革蜱属的系统发育分析。具体研究结果如下：

1. 总结了 23 种革蜱的 26 个形态特征，其中雌蜱 16 个，雄蜱 10 个。

2. 以形态特征构建的系统发育树表明来自新北界革蜱属指名亚属的变异革蜱与安氏革蜱聚为一支，并与其他革蜱相分离；白纹革蜱、异纹革蜱与堪察革蜱聚为一支；以梵蜱亚属为代表的寺氏革蜱、金泽革蜱、妖脸革蜱、坚实革蜱、台湾革蜱、太莫革蜱、美盾革蜱、菲氏革蜱、老泰革蜱和林氏革蜱形成另一支；革蜱属指名亚属的古北界种类包括网纹革蜱、西藏革蜱、森林革蜱、草原革蜱、边缘革蜱和扰克革蜱的支序关系不明确，仅森林革蜱、草原革蜱和边缘革蜱聚为一支，且支持率仅为 58%。

3. 通过线粒体基因组和线粒体蛋白质编码基因组得到的贝叶斯树拓扑结构一样，具体如下：犀牛革蜱单独形成一个进化枝；第二个进化枝包括白纹革蜱、光亮革蜱、安氏革蜱和变异革蜱；第三个进化枝包括金泽革蜱和寺氏革蜱；第四个进化枝包括西藏革蜱、边缘革蜱、银盾革蜱、草原革蜱、森林革蜱、中华革蜱和网纹革蜱。

4. 通过形态特征和线粒体基因组分别构建的系统发育树均表明革蜱属指名亚属存在两大分支，一个是古北界革蜱属指名亚属的种类，另一个则为新北界革蜱属指名亚属的种类。

综上所述，本文通过综合运用形态学和分子生物学两种研究方法，初步分析了革蜚属各类群的系统进化关系，为后续深入进行革蜚及其疾病的研究提供了重要的参考依据。

关键词：革蜚；形态特征；线粒体基因组；系统发育分析

## 英文缩略表

| 英文缩写     | 英文全称                           | 中文名称           |
|----------|--------------------------------|----------------|
| 16S rRNA | 16S ribosomal RNA              | 16S 核糖体核糖核酸    |
| 12S rRNA | 12S ribosomal RNA              | 12S 核糖体核糖核酸    |
| 18S rRNA | 18S ribosomal RNA              | 18S 核糖体核糖核酸    |
| 28S rRNA | 18S ribosomal RNA              | 28S 核糖体核糖核酸    |
| COXI     | Cytochrome c oxidase subunit 1 | 细胞色素 c 氧化酶亚基 1 |
| COXII    | Cytochrome c oxidase subunit 2 | 细胞色素 c 氧化酶亚基 2 |
| ITS1     | Internal transcribed spacer 1  | 内部转录间隔区 1      |
| ITS2     | Internal transcribed spacer 2  | 内部转录间隔区 2      |
| CYTB     | Cytochrome b                   | 细胞色素 b         |
| PCR      | Polymerase chain reaction      | 聚合酶链式反应        |
| mt DNA   | Mitochondrion DNA              | 线粒体 DNA        |
| nu DNA   | Nuclear genome DNA             | 细胞核 DNA        |
| PCGs     | Protein-codings genes          | 蛋白质编码基因        |

# 目 录

|                        |     |
|------------------------|-----|
| 摘 要.....               | I   |
| Abstract.....          | III |
| 英文缩略表.....             | V   |
| 第一章 综述.....            | 1   |
| 1.1 蜚的基本概况.....        | 1   |
| 1.1.1 蜚的分类与鉴定.....     | 1   |
| 1.1.2 蜚的危害.....        | 2   |
| 1.1.3 蜚的生物学特性.....     | 3   |
| 1.1.4 蜚的生态学特性.....     | 5   |
| 1.1.5 蜚的系统发育研究.....    | 6   |
| 1.2 革蜚属研究概况.....       | 8   |
| 1.2.1 革蜚属形态特征.....     | 8   |
| 1.2.2 革蜚属分类与分界.....    | 11  |
| 1.2.3 革蜚携带病原及其危害.....  | 17  |
| 1.2.4 革蜚属系统发育研究进展..... | 19  |
| 1.3 研究目的及意义.....       | 19  |
| 第二章 基于形态特征的系统分类.....   | 21  |
| 2.1 材料与方法.....         | 21  |
| 2.1.1 标本来源.....        | 21  |
| 2.1.2 仪器与试剂.....       | 21  |
| 2.1.3 电镜拍摄.....        | 22  |
| 2.1.4 文献查阅.....        | 24  |
| 2.1.5 系统发育分析.....      | 25  |
| 2.2 结果与分析.....         | 26  |
| 2.2.1 革蜚形态学特征.....     | 26  |
| 2.2.2 标本拍摄.....        | 30  |

|                           |    |
|---------------------------|----|
| 2.2.3 依据形态学特征构建系统发育树..... | 34 |
| 2.3 讨论.....               | 35 |
| 2.4 小结.....               | 39 |
| 第三章 基于线粒体基因组的分类研究.....    | 40 |
| 3.1 材料与方法.....            | 40 |
| 3.1.1 材料.....             | 40 |
| 3.1.2 仪器与试剂.....          | 40 |
| 3.1.3 目的基因扩增与数据处理.....    | 40 |
| 3.1.4 系统发育树的构建.....       | 42 |
| 3.2 结果与分析.....            | 44 |
| 3.2.1 PCR 扩增结果 .....      | 44 |
| 3.2.2 银盾革蜚注释结果.....       | 44 |
| 3.2.3 系统发育结果.....         | 46 |
| 3.3 讨论.....               | 48 |
| 3.4 小结.....               | 51 |
| 第四章 结论与展望.....            | 52 |
| 参考文献.....                 | 53 |
| 附 录.....                  | 61 |
| 致 谢.....                  | 70 |
| 作者简介.....                 | 72 |

# 第一章 综述

## 1.1 蜱的基本概况

### 1.1.1 蜱的分类与鉴定

蜱 (tick) 是寄生于哺乳动物、爬行动物、鸟类和两栖动物的体外寄生虫，隶属节肢动物门 (Arthropoda)，蛛形纲 (Arachnida)，蜱螨亚纲 (Acari)，寄螨总目 (Parasitiformes)，蜱目 (Ixodida)，包括硬蜱科 (Ixodidae)、软蜱科 (Argasidae)、纳蜱科 (Nuttalliellidae)、恐蜱科 (Deinocerotonidae) 和奇蜱科 (Khimairidae) (陈泽和刘敬泽, 2020; Chitimia-Dobler L et al., 2022)。蜱适应性非常强，尤其适应于热带和温带地区。纳蜱科的那马纳蜱只在非洲出现；恐蜱科的德氏恐蜱发现于恐龙化石，是已经灭绝的古生物种 (张敬凯, 2023)；奇蜱科的化石奇蜱只在琥珀中被发现。

中国已报道硬蜱科和软蜱科 9 属 124 种，约占全球蜱种总数 16% (陈泽和杨晓军, 2021)。蜱在中国各地均有分布，新疆是记录蜱种类最多的地区，其次是青海、甘肃、云南、福建和台湾 (Zhang et al., 2019)。在中国常见的蜱种有长角血蜱 *Haemaphysalis longicornis*、青海血蜱 *H. qinghaiensis*、银盾革蜱 *Dermacentor niveus*、森林革蜱 *D. silvarum*、草原革蜱 *D. nuttalli*、血红扇头蜱 *Rhipicephalus sanguineus* 和全沟硬蜱 *Ixodes persulcatus* 等。

蜱的鉴定分为形态学鉴定和分子鉴定。蜱的形态学鉴定是通过显微镜、超景深显微镜或扫描电子显微镜观察样本形态特征，以此确定物种。蜱鉴定依据的外在特征主要有：假头基形状，假头基基突大小；背突有无、长短；孔区形状、大小及间距；口下板齿式，盾板形状，珐琅斑分布，颈沟、侧沟的有无、深浅；盾板是否具眼及眼的位置，生殖孔形状，足基节及各基节距情况，气门板形状等。形态学鉴定具有快速、直观、经济的优点。同时该方法也有其固有缺点：一是部分物种之间有很强的形态特征重叠性为近缘种鉴定带来困难；其次标本在保存或运输过程中会受到物理损伤，可能导致典型形态特征缺失；还有饱血状态标本由于表皮过度膨胀会导致一些种类尤其是争议种鉴定困难；未

成熟期的标本由于其鉴定特征有限一直是物种鉴定难点；最后依据形态鉴定蜚易受个人主观因素的影响，对熟练性要求较高，所以依靠形态鉴定进行蜚系统分类有不足之处。

随着显微镜技术精细化及分子生物学技术的发展，精细结构和分子标记有效提升了蜚分类水平。例如利用扫描电镜观察及 16S rDNA 序列确定长角血蜚孤雌生殖和两性生殖两种生殖种群的相互关系 (Chen et al., 2012)。对西藏革蜚 *D. everestianus* 线粒体全基因组进行组装，同时基于西藏革蜚和其它 32 种硬蜚线粒体基因组构建系统发育树，以评估它们的系统发育关系，发现西藏革蜚在系统发育上与草原革蜚、森林革蜚关系密切 (Yu et al., 2018)。

目前蜚分类更多的是采用形态与分子相结合的方法。两者的双重应用克服了单一形态学鉴别所带来的缺点，使蜚鉴定更准确、客观。例如 2016 年天津口岸研究人员提取澳大利亚返回游客体表寄生蜚，DNA 提取后进行蜚线粒体基因 ND4、ND4L、tRNA-Thr、tRNA-Pro、ND6 及部分 Cytb 基因扩增，测序结果表明其基因序列与澳大利亚本土花蜚三痕花蜚 *Amblyomma triguttatum* 的基因序列同源性为 99%，同时结合该蜚符合花蜚属形态学特征，最终鉴定为三痕花蜚 (赵丹云等, 2016)。

### 1.1.2 蜚的危害

蜚侵扰会导致动物体重和牛奶产量减少，而蜚叮咬也会降低皮革质量，减少经济效益。由于蜚携带多种病原体 (病毒、细菌、支原体、立克次氏体等)，并在宿主上吸血，蜚也被认为是一类极具危害性的传播媒介。蜚叮咬可引起莱姆病、蜚瘫、蜚出血热等疾病以及一些人畜共患病 (de la Fuente et al., 2008)，对畜牧业和人类健康造成极大危害。蜚叮咬宿主后会使病原体进入蜚体内。病原体一般在蜚唾液腺和中肠等部位繁殖，一般不会危及蜚自身。蜚叮咬人类宿主后，病原体感染人类并引起人类患病 (Ergünay, 2020)。携带病原体的蜚叮咬野生动物或家畜，也会导致动物患病，对畜牧业发展造成威胁。

严重发热伴血小板减少综合征是由发热伴血小板减少综合征病毒 (Severe fever with thrombocytopenia syndrome virus, SFTSV)引起的急性传染病，蜚叮咬可传播此病毒。该病临床表现为发烧，出现恶心、呕吐、腹泻等胃肠消化道症状。

对长角血蜱各发育阶段间以及蜱和小鼠间的传播研究表明幼蜱可从感染的小鼠体内获得 SFTSV，幼蜱可携带病毒至若蜱，若蜱可携带病毒至成蜱。雌蜱可经卵传播 SFTSV。幼蜱、若蜱都可通过叮咬摄食过程使小鼠感染 SFTSV (Li et al., 2015)。因此长角血蜱是 SFTSV 的传播媒介和宿主之一。

蜱在北美引发多起重大疾病，包括蜱传脑炎 (Tick borne encephalitis, TBE)、伯氏疏螺旋体引起的莱姆病 (Lyme disease)，被布尼亚病毒感染后会导致克里米亚-刚果出血热 (Crimean-Congo hemorrhagic fever, CCHF)、无浆体菌感染会引发无浆体病(Anaplasmosis) (又叫边虫病)、由科罗拉多病毒引起的急性病毒性疾病—科罗拉多蜱热 (Colorado tick fever, CTF)，还有落基山斑点热(Rocky Mountain spotted fever, RMSF)是由立氏立克次体引起的 (McFee, 2018)。在欧洲，大多数蜱叮咬事件是由蓖子硬蜱 *I. ricinus* 造成的，在东欧则是全沟硬蜱 *I. persulcatus* (Süss et al., 2008)。蜱媒传播病毒 (Tick borne disease virus, TBEV) 在欧洲 27 个国家的地区流行，风险地区数量每年都在增加。

近年来由于气候变化和其它人为因素，如土地利用变化、森林砍伐、城市化、全球贸易和旅游等因素，许多蜱传病流行率有所上升，如巴贝斯虫、泰勒虫和疏螺旋体 (Hussain et al., 2022)。随着全球气候变暖及降雨量减少，欧洲国家蜱传细菌性疾病流行率显著上升 (Socolovschi et al., 2009)。

### 1.1.3 蜱的生物学特性

蜱的生活史分为四个阶段：卵、幼蜱、若蜱和成蜱，后三个阶段蜱为自由活动阶段。若蜱在形态上与成蜱相似，不同之处在于若蜱生殖器官没有发育完全，所以性二态性特征只在成蜱阶段才能显现。幼蜱、若蜱需要在特定时期以宿主血液为食，脱离宿主后在合适的环境中寻找庇护，消化血餐并蜕皮到下一阶段。成蜱吸血交配后在附近隐蔽环境中产卵，产卵一段时间后死亡完成其生命周期。硬蜱吸完血后便会从宿主上脱落，软蜱可多次吸血并多次产卵。蜱繁殖力较强，不同蜱种之间产卵量存在很大的差异。据统计长角血蜱一次产卵 2000 多粒 (邹亚学等, 2011)，森林革蜱可产卵 5000 多粒 (巴音查汗等, 2001)。

有些蜱每个阶段会在不同宿主体表吸附，有些则不是，据此可将蜱生活史可以分为单宿主型、二宿主型和三宿主型。其中三宿主型的蜱最为常见，包括



硬蜱属 *Ixodes*、和血蜱属 *Haemaphysalis*、花蜱属 *Amblyomma* 所有种，以及大部分革蜱属 *Dermacentor*、扇头蜱属 *Rhipicephalus* 和璃眼蜱属 *Hyalomma* 物种。二宿主型的幼蜱在饱血后会依然寄生在宿主体表，经过一段时间后蜕皮为若蜱，若蜱饱血后才会离开宿主。白纹革蜱 *D. albipatus* 是一宿主型蜱，幼蜱在宿主体表经历 3 次吸血和 2 次蜕皮，直至饱血成蜱阶段脱离宿主 (Reynolds et al, 2022)。蜱摄食期间体壁和体内肠壁不断生长，以容纳更多血液。成蜱吸完血后的重量能达到其饥饿时重量的 200 至 600 倍。相反软蜱仅吸食较小体积血液，体积是未进食的 5 到 10 倍 (Domingos et al., 2013)。

蜱的寿命较长。侏仔花蜱 *Am. parvum* 是一种分布广泛且寄生在多种家畜体表的新热带界蜱。当该蜱吸附在牛、羊、犬、马等家畜体表时，其生命时长从 97 天到 102 天不等 (Olegario, et al., 2011)。在实验室中饲养圆形花蜱 *Am. rotundatum* 发现其生活史从 126 天到 228 天不等。从幼蜱到成年雌蜱，进食和蜕皮期随着生命不同时期的发展而增加。产卵持续约 20 天。若蜱和成年雌蜱的寿命非常相似 (分别约为 250 天和 240 天)，略长于幼蜱 (Luz et al., 2013)。在小鼠体表喂养草原革蜱发现饱血雌蜱产卵天数是 13~18 天。卵放置 25~29 天后幼蜱孵化出来。幼蜱的吸血天数是 4~6 天，蜕化天数是 4~15 天。若蜱吸血时长为 4~8 天，蜕皮前期可达 12~21 天。从卵发育成成蜱平均需 90.66 天 (马懿敏等, 2023)。

蜱宿主包括哺乳动物、爬行动物和鸟类。哺乳动物是最常见的宿主。少数蜱只在特定生物中发现，例如专门寄生在牛和蝙蝠体表的蜱。在哺乳动物宿主中，大多数蜱寄生在偶蹄目和啮齿目动物体表，如牛、羊、鹿、猪、鼠等。爬行动物宿主包括蜥蜴、蛇和陆龟；寄生的鸟类宿主主要是家禽、鸽子和野生鸟类 (李娟等, 2019)。

大多数硬蜱会选择在隐蔽的地方生存，属于非巢居型，该类型主要生活在落叶、草地、腐烂的植被中，或者藏在沙子和石头下。大多数软蜱会生活在宿主的巢穴、洞穴中，趋向于巢居型。蜱大部分生命周期都在远离宿主的环境中度过，暴露在自然环境中，该阶段称为非寄生阶段。此阶段会进行重要的几项生理过程，如饱血幼蜱和若蜱的蜕皮、饱血雌蜱产卵、卵孵化与寻找宿主。蜱

在等待脊椎动物宿主时，进化出几种不同策略来促进它们的生存包括伏击策略和猎人策略。在非巢居性蜱中，蜱会爬上植被，抱在茎秆或树枝顶端，在那里等待经过的宿主（伏击策略），探索期会持续数周甚至数月，一旦有宿主经过便会快速爬到宿主体表。另外一些蜱在寻找宿主时采用猎人策略，被二氧化碳、氨和其他气味所吸引，从栖息地爬向宿主。

与其他节肢动物相比蜱代谢率非常低，这是因为能忍受长期饥饿是维持生存的必要条件。蜱代谢率随时间推移而增加，推测蜱对宿主存在的环境条件（例如宿主的呼吸）变得更加敏感。随着饥饿时间延长，活动和探索行为也在增加。另一个需要能量的过程是吸收水蒸气。蜱无法通过喝水来补充体内的水分，因此必须通过主动吸收水蒸气来补充流失的水分（Gibbs, 2019）。许多蜱能够长期存活，因为它们可以最大限度地减少蒸发损失。在恒温 20℃ 条件下，研究未取食边缘革蜱 *D. marginatus* 和网纹革蜱 *D. reticulatus* 成蜱在不同相对湿度下的水分含量、存活时间，发现这两种蜱含水量与体重没有显著差异，存活时间随着相对湿度增加而延长。平均而言雄蜱存活时间长于雌蜱，边缘革蜱存活时间长于网纹革蜱。边缘革蜱 50%死亡率期在 33% RH 下的 40 天到 95% RH 下的 420 天之间，网状革蜱的死亡率期在 33% RH 的 43 天到 95% RH 下的 366 天之间（Meyer-Konig et al., 2001）。

滞育是一种特殊形式的休眠，是蜱常见的适应策略，包括行为滞育和形态发生滞育。多数蜱能通过滞育度过外界不利条件，包括寒冷的冬季或炎热干旱的夏季，进而调整其种群发生和增长。森林革蜱以行为滞育越冬，边缘革蜱以形态滞育越冬，而长角血蜱越冬过程不出现滞育行为。温度过低对蜱类的滞育具有影响。低温可终止森林革蜱饱血成蜱滞育，但可诱导翘缘锐缘蜱 *Argas reflexus* 幼蜱和红润硬蜱 *I. rubicundus* 若蜱滞育起始（于志军等, 2014）。

#### 1.1.4 蜱的生态学特性

蜱的动态分布受宿主和栖息地环境影响，蜱适应不同环境生态位。作为一个分类学群体，蜱适应广泛的气候条件，在热带、温带甚至寒带繁衍生息。蜱与其它昆虫一样，也易受气候影响。温度会改变发育周期、卵产量、种群密度和分布。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/785104244012012010>