动 物 学 研 究 2005，Apr. 26（2）：214－219 CN 53－1040/Q ISSN 0254－5853
Zoological Research

锥虫系统发育的研究进展

顾泽茂，龚小宁，汪建国*
（中国科学院水生生物研究所，湖北 武汉 430072）

摘要：锥虫（trypanosome）是最早在鱼类血液中发现、随后在几乎所有的脊椎动物血液里都有发现的原生动物寄生虫。它主要通过水蛭和吸血昆虫传播，使宿主受到不同程度的危害。为了较全面地了解锥虫系统发育的研究进展，本文综述了国内外有关锥虫系统发育研究的四个方面的内容：锥虫的起源（介绍了锥虫起源于脊椎动物和起源于无脊椎动物的两种不同观点）；锥虫的系统发育方式（单系发育）；锥虫的进化是否与寄主存在协同性及进化史上分歧时间的差异性；目前研究中存在的问题。

关键词：锥虫；系统发育；单系发育；协同性；分歧时间
中图分类号：Q951.3；Q959.11 **文献标识码**：A **文章编号**：0254－5853（2005）02－0214－06

Progress of Phylogeny in Trypanosomes

GU Ze-mao, GONG Xiao-ling, WANG Jiang-guo
(Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

Abstract: Protozoan flagellates of the genus *Trypanosoma* are first found in fish, subsequently found in almost all classes of vertebrates and transmitted from host to host by blood-sucking arthropod or leech vectors. They are harmful to host. Based on the data of phylogeny in trypanosome, the origin, phylogeny and evolution of trypanosome, coevolution between host and trypanosome parasite, and present existing problems were reviewed in this article.

Key words: Trypanosome; Phylogeny; Monophyletic; Coevolution; Divergence time

锥虫（trypanosome）是血鞭毛原生动物，隶属于原生动物亚界（Subkindom Protozoa）肉鞭门（Sarcomastigophora Honighberg *et* Balamuth），动鞭毛纲（Zoomastigophorea），动基体目（Kinetoplastida Honigberg，1963 emend. Vickerman，1976），锥虫亚目（Trypanosomatina）（Shen & Wang，1999）。锥虫自1841年首次在鳟鱼中被发现以来（Shen & Zhen，1993），至今国内外报道的已有数百种，其中淡水鱼类就有140多种（Simon et al，1992）。除枯氏锥虫的无鞭体期可寄生在宿主细胞内以外，所有锥虫都是细胞外寄生的（Overath et al，2001），因此众多学者认为锥虫是一种细胞外的血液寄生虫。锥虫寄生在牛、马、骆驼及鱼类等脊椎动物体内，可以引起机体消瘦，严重时致死，给养殖业带来巨大经济损失（Huang et al，2001）。同时，锥虫也侵害人体，寄生在人体神经系统可以引起昏睡病（sleeping sickness），在心肌里会引起恰加斯病（Chaga's disease）。锥虫病已被国际卫生组织列为重要传染病之一（Qu et al，1991）。

锥虫引起的巨大危害使人们开始对它进行深入研究。经过一个多世纪的探索，在锥虫形态、超微结构、传播途径和侵染方式等方面，取得了一系列研究成果。近几年，研究者借助分子生物学技术，对锥虫的起源及进化做了进一步研究。本文就锥虫系统发育研究的进展进行综述，以期为开展锥虫系统发育的研究提供参考。

* 收稿日期：2004－11－09；接受日期：2004－12－22
基金项目：中国科学院知识创新工程课题（KSCX 2－1－04）
* 通讯作者：汪建国，研究员，博士生导师。E-mail：wangjg@ihb.ac.cn。
第一作者简介：顾泽茂（1976－），男，硕士，从事鱼类寄生原生动物学研究。

1　锥虫的起源

锥虫的起源在上世纪初就吸引了许多科学家的注意力，不少研究者还提出了自己的观点，而最具代表性的有两种。这两种观点的分歧主要集中于锥虫的第一寄主是脊椎动物还是无脊椎动物、起源时间及世代交替生活史的获得模式。观点之一，首先由 Minchin（1908）提出，随后 Lavier（1943）和 Wallace（1996）又有了进一步的阐述。他们认为锥虫最早寄生在水生脊椎动物的内脏里，随后又侵入到血液。当水蛭或吸血昆虫叮咬水生脊椎动物时，锥虫随血液进入水蛭或吸血昆虫体内，而当它们再去叮咬其他脊椎动物时，锥虫便随之传播开来。Maslov et al（2001）通过对动基体目系统发育树拓扑结构的分析，也支持“脊椎动物第一”的观点。这种观点很好地解释了为什么在所有的脊椎动物血液里都有锥虫寄生，但对为何优先出现在无脊椎动物体内，该观点不能给出合理的解释。观点之二，首先由 Leger（1904）提出，Grasse（1952）深入研究后得出了“脊椎动物体内的寄生虫来自于吸血昆虫或水蛭”，即“无脊椎动物第一”的观点。这与 Baker（1963）、Hoare（1972）的研究结论一致，他们认为锥虫最早出现在古无脊椎动物体内，随着无脊椎动物的进化而进化。这种观点很好地解释了无脊椎动物体内锥虫的出现为什么比脊椎动物的早。

这两种观点的共识之处是锥虫的单性生殖（monogenetic）生活史出现在世代交替（digenetic）生活史之前。然而，Gomez et al（1991）、Briones et al（1992）、Fernandes et al（1993）用现代分子生物学方法重建动基体目进化树（evolution tree）时，发现进化树并不支持这种观点，相反，最早的分枝是具有世代交替生活史的哺乳类寄生虫——布氏锥虫（*Trypanosoma brucei*）和枯氏锥虫，而具有单性生殖生活史的昆虫类寄生虫形成了最近的分枝种群。因此，从系统发育树中可得出如下结论：古锥虫的生活史是世代交替的。Fernandes et al（1993）指出在进化史上，当锥虫从自由生活的动基体目中分歧时，吸血昆虫可能还没有出现，这说明从锥虫到昆虫寄生虫的一段时间里，其世代交替生活史是独自进化的。同时，Maslov et al（1996）提出在锥虫进化枝（clade）形成之前锥虫就有寄生习性和世代交替生活史，Lukes et al（1997）和 Haag et al（1998）也支持这种观点，他们认为在几个锥虫进化枝里，锥虫的寄生习性和世代交替生活史之间并不存在任何联系（图 1d）。

Molyneux（1986）认为世代交替锥虫是多源起源（polyphyletic origin）的。在假设昆虫的单性生殖分枝系与世代交替分枝系是姊妹（sister）关系的前提下，具有世代交替生活史的 *Trypanosoma*、*Leishmania*、*Endotrypanum* 应该与 *Crithidia*、*Leptomonas*、*Blastocrithidia* 有相对较近的亲缘关系，但在昆虫类锥虫的姊妹进化枝上仅发现了 *Leishmania* 和 *Endotrypanum*，说明这些种类是来自于单性生殖分枝系，然而令人奇怪的是哺乳类锥虫与昆虫锥虫存在较近的亲缘关系，同时 Woo（1970）认为哺乳类锥虫可能起源于更古老的锥虫。

2　锥虫的系统发育方式

由于具有单一的线粒体－动基体（single mitochondrion-kinetoplast）等一系列超微结构及相似的外部形态，Honigberg et al（1964）将锥虫亚目（Trypanosomatina）和波豆亚目（Bodonina）归为动基体目。波豆亚目的系统发育方式是并系发育（paraphyletic），这已经得到了广大研究者的认可（Dolezel et al，2000；Hughes & Piontkivska，2003；Wright et al，1999），但对锥虫亚目的系统发育方式一直存在较大的争论。早期，人们认为锥虫亚目的系统发育方式与波豆亚目的系统发育方式一样，都是并系发育。Maslov & Simpson（1995）用 18*S* rRNA 基因分析法对动基体目原生动物寄生虫进行分析，系统发育树中包括了布氏锥虫、枯氏锥虫和一种鱼类锥虫，系统发育树显示锥虫是并系发育的（图 1a），这与 Gomez et al（1991）、Fernandes et al（1993）、Landweber & Gilbert（1994）的研究结果一致。随着更多锥虫种类被发现和报道，锥虫系统发育研究有了新的进展。Maslov et al（1996）采用 SSU rRNA 和 LSU rRNA 基因分析法构建了系统发育树，在这株树中锥虫种类有 7 种，聚类分析的结果是，布氏锥虫仍在锥虫的主进化枝外，新引入的 *Leishmania* 和 *Crithidia* 也不在锥虫的进化枝里（图 1b），但从进化树上第一次发现，除布氏锥虫之外，锥虫可能是单系发育的（monophyletic）。随后，Lukes et al（1997）明确提出锥虫是单系发育的（图 1c）。Haag et al（1998）和 Stevens et al（1999）在构建锥虫系统发育树（图 1d）时，分别引入 24 种和47种，结果都很明确地支持单系发育的观点。

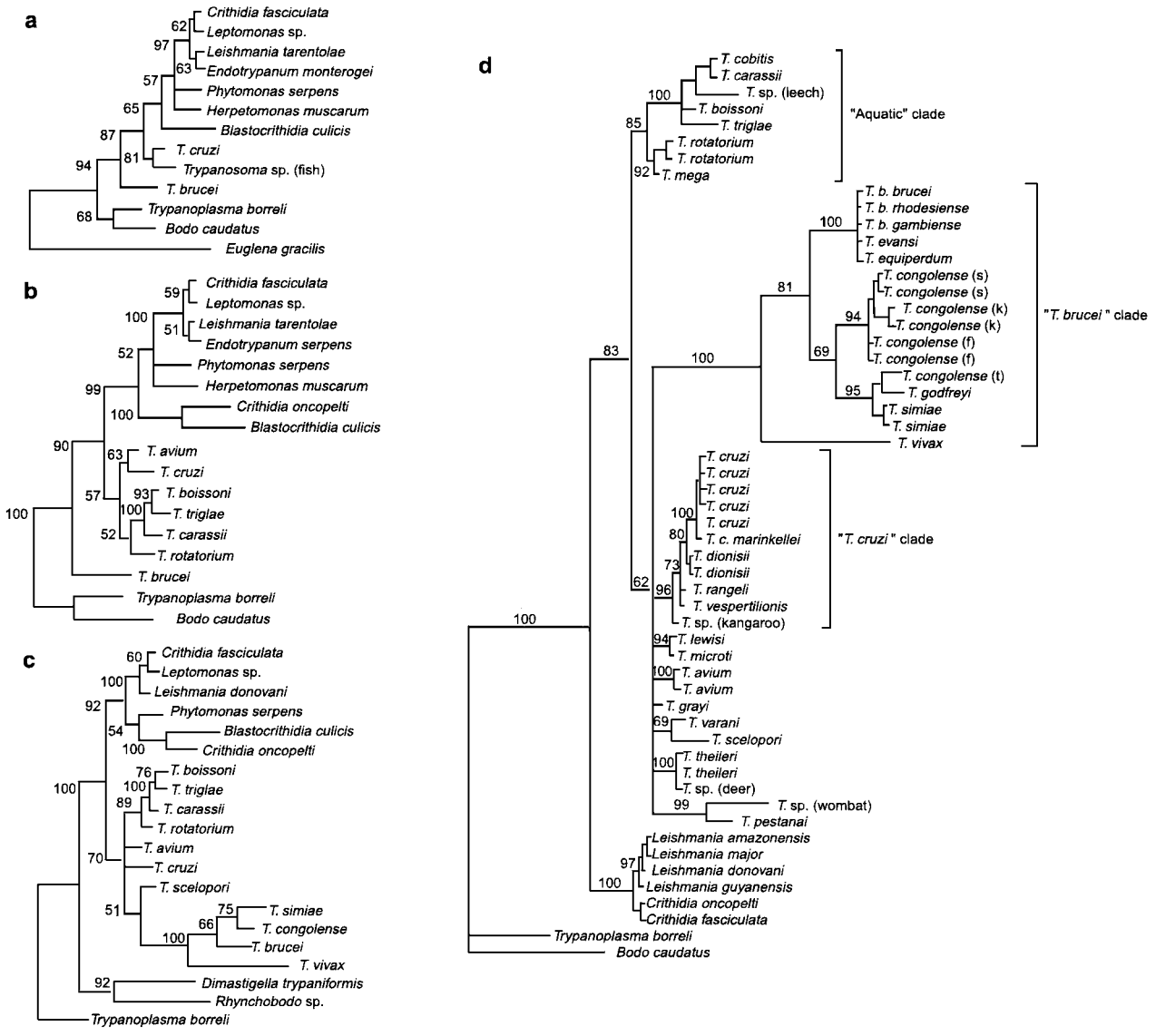

图 1 基于 18*S* rRNA 基因采用最大简约法构建的 4 株系统发育树的比较

Fig. 1 Comparison of four phylogenetic trees based on bootstrapped maximum parsimony analysis of the 18*S* rRNA gene

进化树（a）（Maslov & Simpson，1995）和（b）（Maslov et al，1996）显示锥虫是并系发育的，（c）（Lukes et al，1997）和（d）（Stevens et al，1999）显示锥虫是单系发育的。

In tree (a) (Maslov & Simpson, 1995) and (b) (Maslov et al, 1996), the genus *Trypanosoma* is paraphyletic, whereas in (c) (Lukes et al, 1997) and (d) (Stevens et al, 1999), it is shown to be monophyletic.

很显然，用 18*S* rRNA 基因方法分析，即使引入再多的种类，这个结论似乎不会再有改变（Stevens & Gibson，1999）。那么，用同样的分析方法，前后的观点为何不同呢？Stevens et al（1999）认为，早期锥虫的系统发育研究可能受到了引入锥虫种类少，种类分布不平衡和种类内部交错枝进化率差异的影响。Lukes et al（1997）则认为早期得出锥虫是并系发育的结论可能与锥虫基因里核苷高替代率有关，也可能与外群（outgroup）和布氏锥虫的 18*S* 基因序列里有高度重复序列有关。后来，Haag et al（1998）通过研究发现在不同的进化枝之间有折叠替代率差异，证实了 Lukes 的观点。

开展锥虫系统发育研究，SSU rRNA 基因方法并不是唯一的，其他 rRNA 基因序列和蛋白质编码基因也被用到了锥虫系统发育研究中。同时使用 18*S* rRNA 和部分 28*S* rRNA 基因序列，得出的结论与上面相同：引入较少种类时显示锥虫是并系发育的（Gomez et al，1991；Briones et al，1992；Fernan-

des et al，1993；Malsov et al，1996；Landweber & Gilbert，1994；Maslov et al，1994），而当引入的种类为 11 种时，锥虫是单系发育的（Lukes et al，1997）。Wiemer et al（1995）和 Hannaert et al（1998）用磷酸甘油醛脱氢酶（GAPDH）基因对锥虫进行系统发育分析时，仅用 2～5 个种类就得出了单系发育的结论，同样，Lake et al（1988）用线粒体的 9*S* 和 12*S* rRNA 基因，Hashimoto et al（1995）用延长因子 1α，Alvarez et al（1996）用 Trypanothione 还原酶和 α－微管蛋白，Adje et al（1998）用磷酸甘油酯激酶等方法进行系统发育分析，也发现锥虫是单系发育的，而且在他们的研究中，所引入的种类最多也只有 5 种。

3　锥虫的进化

20 世纪 70 年代，学者们提出了锥虫进化的各种观点。Baker（1963）认为，古锥虫包括两个分枝，一枝是依靠昆虫传播的，主要包括寄生于鸟类、爬行类及唾传锥虫外的哺乳类锥虫；另一枝是依靠水蛭传播的，主要包括寄生在鱼类、两栖类和水生爬行类的锥虫。布氏锥虫是唾传锥虫（salivarian），寄生于哺乳动物，它被认为是起源于水蛭－水生脊椎动物的种类。这种进化观点得到了 Woo（1970）的支持。同时 Woo（1970）认为唾传锥虫和粪传锥虫（stercorarian）之间，并没有较近的亲缘关系。Hoare（1972）则认为粪传锥虫可能比唾传锥虫更原始，唾传锥虫很有可能起源于粪传锥虫（Hoare，1967 ）。但 Hagg et al（1998）用 LSU rRNA 基因的核苷序列构建分子系统发育树时，锥虫分为两个主枝：唾传锥虫进化枝和非唾传锥虫进化枝。后者又分为三个进化枝，其一是鸟类、爬行类及感染哺乳类的粪传锥虫，其二是鱼类锥虫，另外一枝是两栖类和部分爬行类锥虫。

从上述可看出，锥虫进化枝主要是依据宿主来区别，那么，锥虫与宿主之间究竟有怎样的联系呢？在图 1d 中可以发现，一些水生进化枝（aquatic clade）的锥虫主要是通过水蛭传播的，而布氏锥虫（*T. brucei*）进化枝是依靠舌蝇传播的。这样可以推论，锥虫和寄主之间可能存在着某种协同进化（coevolution）关系。而且，图 1d 显示，水生进化枝形成了锥虫的第一个进化枝，而脊椎动物的发展是从水生到陆生的过程，这在一定程度上说明，寄生虫和寄主之间存在协同进化关系。同时，Grasse（1952）也认为锥虫开始是寄生在无脊椎动物上，随后寄生虫与寄主一起协同进化。但 Maslov et al（1996）通过 SSU rRNA 和 LSU rRNA 对锥虫的进化进行研究时，认为它们之间并不存在协同进化关系。因此，锥虫和其寄主之间是否存在协同进化关系，仍无定论，还需要进一步的研究。

锥虫在进化史上存在着分歧时间（divergence time）的差异，这种差异可能会受到寄主及其地理分布的影响。对分歧时间的差异有几种方法可以测定。Zuckerkandl & Pauling（1965）首先采用分子钟（molecular clock）的方法估测锥虫进化枝的分歧时间。他指出分子序列的分歧度与分歧时间之间有紧密的联系，对不同物种的特定基因而言，分子序列的变异基本上是恒定的，根据两个序列之间的差异，就可以估测它们的分歧时间。但 Gillespie（1991）通过研究发现，某些基因的进化率在不同阶元间具有相当的差异，并不存在所谓的分子钟。因此这种方法在过去一直处于讨论和争论之中。但是在一个给定的分类群和具有遗传标记（genetic marks）的种里，分子钟的概念对估测分歧时间是一个非常有用的工具（Stevens & Gibson，1999）。例如，用 0.85% 的替代率表示 1 亿年，则唾传锥虫从其他锥虫分歧的时间距今大约 3 亿年（Fernandes et al，1993）。

另一种测定分歧时间的方法依靠寄主与寄生虫系统发育的相和性（congruence），寄主分歧时间的估测主要依靠化石进行，寄生虫进化树可通过相应时间寄主的系统发育进行校正（Stevens & Gibson，1999）。不过这种方法有一个假设前提，即寄生虫与寄主现在的关系能够反应它们过去的关系。用这种方法，鱼类与较它高等的脊椎动物的分歧时间是 400 Mybp，鸟类与啮齿动物的为 220 Mybp，而用这种分歧时间来估测唾传锥虫与其他锥虫的分歧时间分别是 260 Mybp 和 500 Mybp（Lukes et al，1997）。

如果用地质时间衡量这些分歧时间，在二叠纪（permian）唾传锥虫是 260 Mybp，当时，爬行动物是最高等的脊椎动物，这就是说，在唾传锥虫目前寄主最原始祖先出现以前，它们已经出现很久了。在研究锥虫系统发育时，对生物地理事件有一定的了解，将有利于我们获得更现实的估测分歧时间的方法。Nelson & Rosen（1981）在隔离分化生物地理学中报道了系统发育校正的方法，这种方法已经

应用到了锥虫系统发育的研究中。例如，用非洲和南美洲的分离时间去估测利什曼虫属（*Leishmanian*）和锥虫属（*Trypanosoma*）的分歧时间（Hannaert et al，1998），证实了 Fernandes et al（1993）提出的利什曼属的分歧是介于新生代和古生代之间的观点。最近 Stevens et al（1999）还用这种方法估测了布氏锥虫进化枝和枯氏锥虫进化枝的分歧时间。非洲哺乳类锥虫是依靠舌蝇传播的，布氏锥虫进化枝是这种种类的唯一组成，而且非洲的爬行类和两栖类没有什么相关关系，根据这一现象，用上面的方法可以估测唾传锥虫进化枝的分歧时间大约在 100 Mybp，当时非洲大陆正好与其他大陆分离。那时，许多现存哺乳类动物群的祖先已经存在，只是还没有形成种类的多样化。因此很容易想象后来这枝进化枝与非洲寄主之间的协同进化关系。有趣的是 Lambrecht（1980）用古生物学的数据也得出了相同的结论。而且，这个进化枝上的澳大利亚有袋总目锥虫（*Trypanosoma* sp. *kangaroo*）也强调这个进化枝是起源于新生代的观点（Landweber & Gilbert，1994）；这个进化枝里唯一的在古生代发现的锥虫是寄生在蝙蝠体内的锥虫，蝙蝠是具有翅膀的哺乳动物，它能飞到世界各大洲。

4 存在的问题及展望

以上综述是近年来对锥虫系统发育研究的重点和热点，在一定程度上代表了该领域的研究方向。但前人的研究中仍存在许多问题。如由于缺乏充分的化石记录，对锥虫起源的探讨只能依据锥虫的形态学、生活史和 DNA 序列分析来进行，而目前这些数据非常有限，这就给锥虫起源的问题蒙上了一层面纱。在研究锥虫的系统发育方式时，虽然在建树时引入较多的种类可以克服长枝吸引（long branch attraction）现象，但是在 18*S* rRNA 的研究中布氏锥虫进化枝具远高于其他进化枝的替代率，这种进化枝间不平衡的进化率在一定程度上可能影响进化树的拓扑结构（topology），从而影响整体进化的分析。另外，在前人的研究中，认为锥虫是单系发育的，对此人们好像确信无疑，然而最近 Hughes & Piontkivska（2003）却提出锥虫不是单系发育而是并系发育的观点。他们认为，以前所有关于锥虫系统发育的研究都应该受到批评，主要原因是系统发育树中锥虫种类数较少，且种类的来源不平衡，不能代表所有的锥虫种类，即使目前最广泛的系统发育研究也只有四个属的代表种（Stevens & Rambaut，2001）。同时，系统发育树的外群大部分来自相近的波豆亚目，而波豆亚目是并系发育的，不适合作为锥虫系统发育的外群。因此，对锥虫的系统发育方式仍存在较大争议，需要进一步的研究探讨。

在锥虫系统发育研究中，当前的研究多采用 PCR 技术，将锥虫的某一基因片段扩增后进行比对、建树，然后再做分析。其实，还有很多方法可以用到锥虫系统发育的研究中去，如采用 DNA 分子杂交技术，将某一种锥虫的 DNA 提取出来，用 P^{32}标记其 dNTP 制成 DNA 探针然后与其他锥虫杂交，判断它们之间的关系。对锥虫系统发育研究的分歧主要是由系统发育树中锥虫种类太少引起的，可是到目前为止，锥虫系统发育研究仅限于国外的种类，国内种类几乎没有涉及。我国幅员辽阔，水体丰富，各种饲养的和野生的水生脊椎动物均有锥虫寄生，仅淡水鱼中发现的锥虫就有 30 多种（Pan，1988），且对该类群的研究仅限于形态学上的描述性研究，种的命名也是根据传统分类学的方法确定，对其分子系统发育方面的研究尚未开展。虽然分子分析包含的仅是现存锥虫的数据，反映的是趋同型的发育方式，但分子生物学技术的数据能为传统分类方法起到佐证和修正的作用。因此，作者将以我国水生脊椎动物锥虫为研究对象，将形态学、生活史和宿主特异性等传统方法与现代分子生物学技术结合起来，对我国水生脊椎动物锥虫进行较全面的系统发育研究。

参考文献：

Adje CA，Opperdoes FR，Michels PAM. 1998. Molecular analysis of phosphoglycerate kinase in *Trypanosoma borelli* [J]. *Gene*.，**217**：91－99.

Alvarez F，Cortinas MN，Musto H. 1996. The analysis of protein coding genes suggests monophyly of *Trypanosoma* [J]. *Mol*. *Phylog*. *Evol*.，**5**：333－343.

Baker J. 1963. Speculations on the evolution of the family Trypanosomatide Dofein [J]. *Exp*. *Parasitol*.，**13**：219－233.

Briones MRS，Nelson K，Beverley SM，Affonoso HT，Camargo EP，Floeter-Winter LM. 1992. *Leishmania tarentolae* taxonomic relatedness inferred from phylogenetic analysis of the small subunit ribosomal RNA gene [J]. *Mol*. *Biochem*. *Parasitol*.，**53**：121－128.

Dolezel DJ，Milan DA，Maslov DA，Lukes JM. 2000. Phylogeny of the bodonid flagellates（Kinetoplasteda）based on small-subunit rRNA

gene sequences [J]. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **50**: 1943 – 1951.

Fernandes AP, Nelson K, Beverley SM. 1993. Evolution of nuclear ribosomal RNAs in kinetoplastid protoza: Perspectives on the age origins of parasitism [J]. *Proc. Natl. Academic Science USA*, **90**: 11608 – 11612.

Gillespie JH. 1991. The Cause of Molecular Evolution [M]. Oxford: Oxford University Press.

Gomez E, Valdes AM, Pinero D, Hernandez R. 1991. What is a genus in the Trypanosomatid family? Phylogenetic analysis of two small rRNA sequences [J]. *Mol. Biol. Evol.*, **8**: 254 – 259.

Grasse P-P. 1952. Ordre des Trypanosomides [A]. In: Grasse P-P. Traite de Zoologie [M]. Paris: Masson & Cie. 603 – 668.

Haag J, O'Huigin C, Overath P. 1998. The molecular phylogeny of trypanosomes: Evidence for an early divergence of the Salivaria [J]. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **91**: 37 – 49.

Hannaert V, Opperdoes FR, Michels PAM. 1998. Comparison and evolutionary analysis of the glycosomal glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase from different kinetoplastida [J]. *J. Mol. Evol.*, **47**: 728 – 738.

Hashimoto T, Nakamura Y, Kamaishi T, Adachi J, Nakamura F, Okamoto K, Hasegawa M. 1995. Phylogenetic place of kinetoplastid protozoa inferred from a protein phylogeny of elongation factor 1α [J]. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **70**: 181 – 185.

Hoare CA. 1967. Evolutionary trends in mammalian trypanosomes [J]. *Advaced Parasitol.*, **5**: 47 – 91.

Hoare CA. 1972. The Trypanosomes of Mammals [M]. Oxford: Blackwell Scientific Publications.

Honigberg BM, Balamuth W, Bovee EC, Corliss JO, Godjics M, Hall RP, Kudo RR, Levine ND, Loebich AR, Weiser J, Wenrich DH. 1964. A revised classification of the Phylum Protozoa [J]. *J. Protozool.*, **11**: 7 – 20.

Huang DY, Feng YH, Wang XS, Wang DZ, Liu Q. 2001. Observation on effects of farm cattle immunized with *Trypanosoma evasi* vaccine from endemic strains [J]. *Hubei J. Far. Vet.*, **2**: 25 – 26. [黄定余，冯运红，王祥生，王德照，刘 全. 2001. 地方虫株灭活苗对耕牛伊氏锥虫病免疫效果观察. 湖北畜牧兽医，**2**: 25 – 26.]

Hughes AL, Piontkivska H. 2003. Phylogeny of Trypanosomatidae and Bodonidae (Kinetoplastida) based on 18*S* rRNA: Evidence for paraphyly of *Trypanosoma* and six other genera [J]. *Mol. Biol. Evol.*, **20** (4): 644 – 652.

Jones SRM, Woo TK. 1992. Vector of specificity of *Trypanosoma catostomi* and its infectivity to freshwater fishes [J]. *J. Parasitol.*, **78** (1): 87 – 92.

Lake JA, de la Cruz VF, Ferreira PC, Morel C, Simpson L. 1988. Evolution of parasitism: Kinetoplastid protozoa history reconstructed from mitochondrial rRNA genes sequences [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**: 4779 – 4783.

Lambrecht FL. 1980. Palaeoecology of tsetse flies and sleeping sickness in Africa [J]. *Proc. Am. Philos. Soc.*, **124**: 367 – 385.

Landweber LF, Gilbert W. 1994. Phylogenetic analysis of RNA editing: A primitive genetic phenomenon [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**: 918 – 921.

Lavier GL. 1943. Evolution de la morphologies dans le genre *Trypanosoma* [J]. *Annaul. Parasitol.*, **19**: 168 – 196.

Leger L. 1904. Sur les affinities de l'*Herpetomonas subulata* et la phylogene des trypanosomes [J]. *Comp. Rend. Seances Soc. Biol. Ses Fil.*, **56**: 615 – 617.

Lukes J, Jirku M, Dolezel D, Hollar L, Maslov DA. 1997. Analysis of ribosomal RNA genes suggests that trypanosomes are monophyletic [J]. *J. Mol. Evol.*, **44**: 521 – 527.

Maslov DA, Simpson L. 1995. Evolution of parasitism in kinetoplastid protozoa [J]. *Parasitol.*, **91**: 37 – 49.

Maslov DA, Avila AH, James A, Lake JA, Simpson L. 1994. Evolution of RNA editing in kinetoplastid protozoa [J]. *Nature*, **368**: 345 – 348.

Maslov DA, Lukes J, Jirku M, Simpson L. 1996. Phylogeny of trypanosomes as inferred from the small and large subunit rRNAs: Implications for the evolution of parasitism in the Trypanosomatid protozoa [J]. *Mol. Biochem. Parasitol.*, **75**: 197 – 205.

Maslov DA, Podlipave SA, Lukes J. 2001. Phylogeny of the kinetoplastida: Taxonomic problems and insight into the evolution of parasitism [J]. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, **96** (3): 397 – 402.

Minchin EA. 1908. Investigation on the development of trypanosomes in tsetse-flies and other Diptera [J]. *Q. Microc. Sci.*, **52**: 159 – 260.

Molyneux DH. 1986. Evolution of trypanosomatide considerations of polyphyletic origins of mammalian parasites [A]. In: Rioux JA. Leishmania, Taxonomie et Phylogenese, Applications Eco-epidemiologiques [M]. (Coll. Int. CNRS/INSERM, 1984). Montpelier: IMEEE. 231 – 240.

Nelson G, Rosen DE. 1981. Vicariance Biogeography: A Critique [M]. New York: Columbia University Press.

Overath P, Haag J, Lischke A. 2001. The surface of trypanosome in relation to their molecular phylogeny [J]. *Inter. J. Parasitol.*, **31**: 468 – 471.

Pan JP. 1988. Handbook of the Diagnoses and the Prophylaetics and Therapeutics of Fish Diseases [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers. [潘金培. 1988. 鱼病诊断与防治手册. 上海：上海科学技术出版社.]

Qu LH, Lun ZR, Zhou H, Yu XQ. 1991. Trypanosome Ls-RNA analysis and application for trypanosome rDNA probes [J]. *Acta Scientisrum Naturalium Universiatis Sunyatsi.*, **38** (1): 55 – 59. [屈良鹄，伦照荣，周 惠，余小强. 1991. 锥虫 Ls-rRNA 序列分析与锥虫 rDNA 探针群. 中山大学学报（自然科学版），**38** (1): 55 – 59.]

Shen YF, Wang JG. 1999. Protozoology [M]. Beijing: Science Press. [沈韫芬，汪建国. 1999. 原生动物学. 北京：科学出版社.]

Shen J, Zhen RJ. 1993. Trypanosome and Trypanosome Diseases of Livestock [M]. Beijing: Chinese. Agr. Sci. Tech. Press. [沈杰，郑韧坚. 1993. 家畜锥虫和锥虫病. 北京：中国农业科技出版社.]

Stevens JR, Gibson W. 1999. The molecular evolution of trypanosomes [J]. *Parasitol. Today*, **15** (11): 432 – 443.

Stevens J, Rambaut A. 2001. The molecular evolution of Trypanosomatidae [J]. *Adv. Parasitol.*, **48**: 1 – 56.

Stevens JR, Noyes HA, Dover GA, Gibson WC. 1999. The ancient and divergent origins of the human pathogenic trypanosomes, *Trypanosoma brucei* and *T. cruzi* [J]. *Parasitol.*, **118**: 107 – 116.

Vickerman K. 1976. The diversity of the Kinetoplastid flagellates [A]. In: Lumsden WHR, Evans DA. Biology of the Kinetoplastid [M]. London: Academic Press. 1 – 34.

Wallace FG. 1996. The Trypanosomatid parasites of insects and arachnids [J]. *Exp. Parasitol.*, **18**: 124 – 193.

Wiemer EAC, Hannaert V, Van den IJssel PRLA, Roy JR, Opperdoes FR, Michels PAM. 1995. Molecular analysis of glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase in *Trypanosoma borreli*: An evolutionary scenario of subcellar compartmentation in kinetoplastida [J]. *J. Mol. Evol.*, **40**: 443 – 454.

Woo PTK. 1970. Origin of mammalian trypanosomes which develop in the anterior-station of blood-sucking arthtopods [J]. *Nature*, **228**: 1059 – 1062.

Wright ADG, Sen L, Feng S. 1999. Phylogenetic position of the kinetoplastids, *Cryptobia bullocki*, *Cryptobia catastomi*, and *Cryptobia salmositica* and monophyly of the genus *Trypanosoma* inferred from small subunit ribosomal RNA sequences [J]. *Mo. Biochem. Parasitol.*, **99**: 69 – 76.

Zuckerkandl E, Pauling L. 1965. Evolutionary divergence and convergence in proteins [A]. In: Bryson V, Vogel HJ. Evolving Genes and Proteins [M]. New York: Academic Press. 97 – 166.