•研究报告•

巴尔通体在滇西南蝙蝠中高度流行并具有丰富的遗传变异特征

栗冬梅^{ID1#*}, 杨卫红^{ID2#}, 李庆多^{ID1}, 韩茜^{ID2}, 宋秀平^{ID1}, 潘虹^{ID2}, 冯云^{ID2*}

1. 中国疾病预防控制中心传染病预防控制所媒介生物控制室, 传染病预防控制国家重点实验室, 感染性疾病诊治协同创新中心, 北京 102206; 2. 云南省地方病防治所病毒立克次体病防治科, 云南省自然疫源性疾病防控技术重点实验室, 云南大理 671000

摘要: 蝙蝠是很多病原微生物的自然宿主, 全球多项研究表明蝙蝠是巴尔通体(*Bartonella* species)的主要宿主。为了解滇西南地区蝙蝠中巴尔通体的流行特征, 我们于2015–2017年间在云南省4个地区应用网捕法捕获蝙蝠3种305只。经种类鉴定后采集肝脾组织, 提取核酸, 通过TaqMan实时荧光定量PCR方法检测巴尔通体的tmRNA基因*ssrA*, 并进行测序鉴定和系统发育分析。结果发现172只蝙蝠检出该基因, 总感染率为56.4%; 其中临沧、西双版纳、保山和瑞丽4个采样点的蝙蝠感染率分别为50.0% (22/44)、61.7% (29/47)、62.1% (18/29)和55.7% (103/185)。中菊头蝠(*Rhinolophus affinis*)、小菊头蝠(*R. blythi*)和棕果蝠(*Rousettus leschenaultii*)的感染率分别为50.0% (22/44)、62.1% (18/29)和56.9% (132/232), 差异没有统计学意义($\chi^2 = 1.135$, $P = 0.567$), 表明巴尔通体在云南当地的蝙蝠种群中高度流行。定量PCR扩增产物2次扩增后测序获得37个巴尔通体*ssrA*序列, 属于10个系统发育分支, 其中1个为伊丽莎白巴尔通体(*B. elizabethae*)、特利波契巴尔通体(*B. tribocorum*)和克拉斯诺夫巴尔通体(*B. krasnovii*)的近缘种。其余序列与已知巴尔通体距离较远, 与亚洲、欧洲和美洲等其他地域来源于蝙蝠的巴尔通体近缘。遗传多样性分析显示, *ssrA*基因的核苷酸多样性指数(π)为 0.11381 ± 0.00928 , 基因型多样性指数(H_d)为 0.985 ± 0.010 , 形成29个基因型(单倍型), 说明云南蝙蝠巴尔通体具有丰富的遗传多样性。通过对本研究标本与全球相关序列的系统发育网络重建, 分析全球蝙蝠巴尔通体的地理和宿主分布特征, 可以看出巴尔通体与蝙蝠之间存在显著的宿主特异性关联。因此可初步确定蝙蝠-巴尔通体具有协同进化特征, 同时受到地理隔离的影响。

关键词: 巴尔通体; 蝙蝠; 遗传多样性; 系统发育分析; 宿主动物

栗冬梅, 杨卫红, 李庆多, 韩茜, 宋秀平, 潘虹, 冯云 (2021) 巴尔通体在滇西南蝙蝠中高度流行并具有丰富的遗传变异特征. 生物多样性, 29, 1245–1255. doi: 10.17520/biods.2021028.

Li DM, Yang WH, Li QD, Han Q, Song XP, Pan H, Feng Y (2021) High prevalence and genetic variation of *Bartonella* species inhabiting the bats in southwestern Yunnan. Biodiversity Science, 29, 1245–1255. doi: 10.17520/biods.2021028.

High prevalence and genetic variation of *Bartonella* species inhabiting the bats in southwestern Yunnan

Dongmei Li^{ID1#*}, Weihong Yang^{ID2#}, Qingduo Li^{ID1}, Xi Han^{ID2}, Xiuping Song^{ID1}, Hong Pan^{ID2}, Yun Feng^{ID2*}

1 State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, Department of Vector Biology and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206

2 Yunnan Provincial Key Laboratory for Zoonosis Control and Prevention, Department of Viral and Rickettsial Disease Control, Yunnan Institute of Endemic Disease Control and Prevention, Dali, Yunnan 671000

ABSTRACT

Aims: Bats are natural reservoir hosts of many zoonotic viruses and non-viral pathogens. Several lines of evidence indicate that bats harbor diverse groups of *Bartonella* species and genotypes. Little is still known about how prevalence varies and the genetic diversity of *Bartonella* spp. in bats in China.

收稿日期: 2021-01-19; 接受日期: 2021-04-09

基金项目: 国家自然科学基金(31970005; 31560049)、国家科技重大专项(2017ZX10303404)、云南省中青年学术和技术带头人后备人才(2019HB 052)和云南省医学学科带头人(D-2017055)

共同第一作者 Co-first authors

* 共同通讯作者 Co-authors for correspondence. E-mail: lidongmei@icdc.cn; ynfy428@163.com

Methods: Between 2015 and 2017, bats were captured in four areas in southwestern Yunnan by the net trapping method. Liver and spleen tissues of bats were collected, and nucleic acids were extracted after mixing and grinding. The *ssrA* gene of *Bartonella* spp. was detected by using the TaqMan real-time fluorescent quantitative PCR assay (qPCR). The positive products of qPCR were amplified and sequenced to identify the species of *Bartonella*. The phylogenetic relationships were constructed by binary and network methods.

Results: We present the results of the investigation of bat-borne *Bartonella* in four areas of Yunnan Province, which have shown a high prevalence of *Bartonella* and high genetic diversity in the local bat population. *Bartonella* gene *ssrA* was detected by using qPCR in 56.4% (172/305) bats captured from four sampling sites, including 22 *Rhinolophus affinis*, 18 *Rhinolophus blythi*, and 132 *Rousettus leschenaultii*. There was no statistically significant difference ($\chi^2 = 1.135$, $P = 0.567$) in the infection rates among species. The infection rates of Lincang, Xishuangbanna, Baoshan, and Ruili were 50.0% (22/44), 61.7% (29/47), 62.1% (18/29), and 55.7% (103/185), respectively. Thirty-seven *ssrA* sequences of *Bartonella* were obtained by second amplification from qPCR and sequencing. The binary tree revealed 10 phylogroups, one of which was related to *B. elizabethae*, *B. tribocorum* and *B. krasnovii*, the other sequences were far from the known *Bartonella* spp. and were closely related to bat-borne *Bartonella* from bats in Asia, Europe, and America. The genetic diversity analysis showed that the nucleotide diversity index (π) was 0.11381 ± 0.00928 , and the genotypic diversity index (H_d) was 0.985 ± 0.010 , which brought about 29 genotypes. The genetic networks constructed by 115 *ssrA* sequences exhibited that *Bartonella* spp. from global bats had an incomplete geographical distribution and host specificity.

Conclusion: We found that the bat-borne *Bartonella* in Yunnan was genetically diverse, geographically widespread, and endemic and that bats play a part in transmitting *Bartonella* species locally. The analysis of phylogenetic networks based on the global dataset of *ssrA* sequences of bat-borne *Bartonella* points to an evolutionary association of *Bartonella* spp. with their bat hosts and the effect of geographical isolation.

Key words: *Bartonella*; bat; genetic diversity; phylogenetic analysis; reservoir

巴尔通体是根瘤菌目巴尔通体科下的一群革兰氏阴性杆菌,在哺乳动物中分布较为广泛,吸血节肢动物是其主要传播媒介,可引起人类和动物多种疾病,如猫抓病(cat-scratch disease, CSD)、卡瑞恩病(Carrion's disease)、战壕热(trench fever)、心内膜炎和淋巴结炎等(Gutiérrez et al, 2017)。近年来,各国研究人员发现的巴尔通体新种数量越来越多,目前正式命名的有37种,还有很多未经认证和命名的新种,特别是在蝙蝠及其体外寄生虫中不断发现新的变种(variant),分布于欧洲、非洲、美洲以及亚洲,具有高度遗传多样性和部分宿主特异性特征(Mühldorfer, 2013; McKee et al, 2017),这些蝙蝠巴尔通体(bat-borne *Bartonella*)呈世界性、多宿主广泛分布。蝙蝠是唯一能够真正飞行的哺乳动物,隶属于翼手目,包括Yinpterochiroptera亚目(狐蝠科和菊头蝠超科的蝙蝠)和Yangochiroptera亚目(其他蝙蝠),超过1,200余种,是哺乳动物中的第二大类群(Teeling et al, 2005)。除了回声定位和自主飞翔能力,现生蝙蝠还进化出了以昆虫、小型脊椎动物、鱼、血液、水果和花蜜等为食物的复杂多样的食性(沈斌, 2014)。在公共卫生领域,人们关注蝙蝠多由于其在相关传染病传播中起着重要的生态-流行病学作用

(eco-epidemiological role)。蝙蝠可以适应各种环境条件,密集的群居生活、复杂的分离-融合(fission-fusion)社会结构与行为以及较长的生命周期和广泛的地理分布,使其成为病毒(Moratelli & Calisher, 2015; Rodhain, 2015)、细菌(Mühldorfer et al, 2011; Mühldorfer, 2013)和寄生虫(Hornok et al, 2015)等病原微生物的理想自然宿主和多样性形成的温床。分布在全球各区域的蝙蝠巴尔通体在系统发育关系中部分呈现出地域聚集性,相关研究多见于欧洲、非洲和中美洲(McKee et al, 2016; Becker et al, 2018),中国乃至整个亚洲这方面的数据较少。

云南地处中国西南边陲,复杂的地质地貌和特殊多样的气候条件促成了丰富的动植物资源,是世界生物多样性热点区域之一。滇西南地区与老挝和缅甸接壤,以亚热带、热带季风和热带雨林气候为主,喀斯特地貌形成的众多洞穴成为蝙蝠天然的栖息地,使翼手目物种在这一地区相当丰富。此前一些调查显示在云南啮齿动物中巴尔通体有较高的流行率(栗冬梅等, 2004),部分人群抗体也呈阳性(王跃兵等, 2014)。但这一区域蝙蝠是否携带巴尔通体、流行情况如何尚属未知。为了解此区域蝙蝠中巴尔通体的流行特征,我们采集了4个地区的蝙蝠

标本, 将部分采样点设置在靠近中老和中缅边境沿线。应用TaqMan实时荧光定量PCR (real time fluorescent quantitative PCR, qPCR)方法检测巴尔通体特异靶基因, 评估蝙蝠种群中巴尔通体感染的流行率, 对所获巴尔通体基因序列与全球序列进行比较和系统发育关系重建, 以评价在中国滇西南地区蝙蝠种群中巴尔通体的遗传多样性、宿主特异性和地理分布特征。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂

本研究应用的主要仪器为7500 Fast Real-Time PCR Systems (美国Applied Biosystems公司)、Senso LabCycler Standard P PCR仪(德国SensoQuest)、百泰克核酸提取仪AU1001 (北京百泰克生物技术有限公司)和Qubit®3.0荧光定量仪(美国Invitrogen公司)。主要试剂为HR qPCR Master Mix (上海辉睿生物科技有限公司)、组织基因组DNA提取试剂盒(磁珠法)(北京百泰克生物技术有限公司)、ROX荧光背景染料CXR (美国Promega公司)、TaKaRa EASY Dilution (宝日医生物技术有限公司)和2 × Trans Taq®-T PCR Super Mix (北京全式金生物技术有限公司)。本实验所用引物和探针均由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成。用于绘制标准曲线和阳性对照的标准质粒为本实验室制备并保存。

1.2 标本采集

2015年6月至2017年1月在云南省保山市隆阳区潞江镇的山洞(25°06' N, 99°09' E)、临沧市镇康县南伞乡的山洞(23°46' N, 98°49' E)、德宏州瑞丽市畹町镇的荔枝果园(24°04' N, 98°03' E)和西双版纳州勐腊县瑶区乡的山洞(21°27' N, 101°33' E)共4个采样点采集蝙蝠标本。在蝙蝠栖息地应用网捕法, 将捕获的蝙蝠从挂网取下装袋, 运输至生物安全实验室使用乙醚麻醉后进行形态学分类和解剖, 切取肝和脾组织装入2 mL无菌离心管中, 保存于-80°C。详细记录种类、数量和采样点等信息。

1.3 蝙蝠标本DNA提取和qPCR检测

肝和脾组织混合研磨后, 应用组织基因组DNA提取试剂盒(磁珠法)提取DNA, 应用Qubit®3.0荧光定量仪测定浓度。核酸浓度低于10 ng/μL的标本不用于检测。用于qPCR检测的上下游引物分别为(ssrA-F) ' 5'-GCTATGGTAATAAATGGACAATG

AAATAA-3' 和(ssrA-R) 5'-GCTTCTGTTGCCAGG TG-3', 探针(ssrA-T)为FAM-ACCCCGCTTAAAC CTGCGACG-BHQ1 (Diaz et al, 2012)。反应体系为20 μL, ssrA-F、ssrA-R、探针ssrA-T各0.8 μL (10 μM), HR qPCR Master Mix 10 μL, CXR 0.2 μL (3 μM), DNA模板3 μL和去离子水4.4 μL。qPCR扩增反应程序为: 95°C预变性5 min, 95°C变性15 s, 60°C退火和延伸45 s, 40个循环。

1.4 qPCR检测效能和检测限确定

应用TaKaRa EASY Dilution把标准质粒按照10×倍比稀释为 10^0 – 10^5 拷贝/μL, 用于绘制qPCR标准曲线和确定检测限(limit of detection, LOD)。组内实验每个稀释度做5个重复反应(即平行孔), 组间实验做5次重复。以仪器扩增结果的定量循环值(quantification cycle, Cq)为纵坐标, 以质粒浓度(拷贝/μL)的对数值为横坐标制作标准曲线, 确定检测效能和检测限。拷贝数浓度换算公式为拷贝数浓度(拷贝/μL) = DNA浓度(ng/μL)/标准质粒碱基数 $\times 660 \times 6.02 \times 10^{23}$ 。

1.5 蝙蝠标本检测与分析

用qPCR反应体系检测305份蝙蝠标本DNA。每个标本做2个平行孔, ddH₂O作空白对照。对于核酸浓度 $\geq 1,000$ ng/μL的标本稀释10倍后再加样检测。所得实验结果以LOD作为阳性判断标准。出现以下情况需要进行重复实验: (1) Cq值接近LOD时出现不稳定情况, 同一标本2个平行孔Cq值相差1; (2) 一个平行孔Cq值为阴性, 另一个平行孔Cq值为阳性的标本。重做qPCR时, 改为每个标本3个平行孔。重测标本的判断标准为至少2个孔Cq值达到LOD判断为阳性, 否则判断为阴性。

1.6 常规PCR

为进一步鉴定巴尔通体种类, 应用ssrA-F和ssrA-R引物扩增靶基因ssrA片段。反应体系为50 μL, 引物ssrA-F和ssrA-R各1 μL (10 μM), 2 × TransTaq®-T PCR SuperMix 25 μL, DNA模板(qPCR扩增产物) 1 μL, 去离子水22 μL。PCR扩增反应程序为: 94°C预变性5 min; 94°C变性30 s, 56°C退火40 s, 72°C延伸1 min, 40个循环; 最后72°C延伸10 min。1%琼脂糖凝胶电泳观察扩增产物, ssrA扩增片段长度约为298 bp。

1.7 ssrA序列数据及系统发育分析

1.7.1 序列相似性比较和系统发育树构建

应用DNASTAR Lasergene软件包中SeqMan程序进行序列拼接,将手工校对后的序列应用BLAST (Basic Local Alignment Search Tool, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 在 Nucleotide Collection (nr/nt)数据库中进行搜索,获取序列相似性值。应用MEGA X10.1.8软件(Kumar et al, 2018)中MUSLE程序进行序列比对。应用DAMBE软件中Measure Substitution Saturation程序进行序列饱和度检测(test of substitution saturation)。

应用TOPALi v2软件(Milne et al, 2009)中Model Selection程序选择最适核苷酸替代模型,应用贝叶斯(MrBayes)分析法(K80 + G + I模型, 2 Runs, 8,000,000 generations, 10 Sample Freq, 25% Burnin)构建系统发育树。选择与巴尔通体近缘的布氏杆菌(*Brucella melitensis*)和根瘤菌(*Rhizobium* sp.)作为外群。应用iTOL 5.6.3 (<https://itol.embl.de>)修饰系统发育树,注释宿主和采样点信息。构建系统发育树的已知巴尔通体参考序列下载自GenBank。

1.7.2 遗传多样性分析

应用DnaSP 6.12软件计算核苷酸多样性指数(π)、基因型多样性指数(Hd)、平均核苷酸差异数(k)、基因型(单倍型)数目和Tajima's D中性检验(Rozas et al, 2017)。使用Network 10.2以最大简约法为原则构建了基因型中介连接网络图(median-joining network, MJ)。

1.7.3 全球蝙蝠巴尔通体 $ssrA$ 序列系统发育网络构建

应用SplitsTree 4.14.8软件(Huson & Bryant, 2006)中邻接网法(NeighborNet)构建系统发育网络(phylogenetic network),序列间距离计算应用Uncorrected P参数,自展值(bootstrap)设置为1,000,图形绘制应用EqualAngle参数。构建网络图所用115个 $ssrA$ 基因参考序列下载自GenBank (附录1)。

1.8 统计学分析

应用SPSS 24.0软件进行统计学分析。应用卡方检验进行感染率的比较,检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。

1.9 提交序列

本研究中序列已提交至GenBank,序列登录号为MW481260–MW481296。

2 结果

2.1 标准曲线和检测限

应用 $ssrA$ 引物和探针分别对浓度 10^0 – 10^5 拷贝

/ μ L的标准质粒进行qPCR,汇总组内与组间数据,实验结果稳定,变异系数(coefficient of variation, CV)在1.03%–3.17%之间(附录2)。依据附录2数据得到标准曲线线性方程为 $Y = -3.517X + 33.744$, R^2 为0.9982,平均检测效能E值为92.5%。根据灵敏度实验结果得到的LOD为 $Cq = 33$,拷贝数浓度为1.6拷贝/ μ L,以此值作为标本检测结果的判断标准。

2.2 蝙蝠采集及qPCR检测结果

2.2.1 蝙蝠采集情况

在云南省4个地区共计捕获蝙蝠305只,其中,临沧市镇康县南伞乡44只,保山市隆阳区潞江镇29只,西双版纳州勐腊县瑶区乡47只,德宏州瑞丽市畹町镇185只。其中,中菊头蝠(*Rhinolophus affinis*) 44只(14.4%)和小菊头蝠(*R. blythi*) 29只(9.5%),属于菊头蝠科;棕果蝠(*Rousettus leschenaultii*) 232只(76.1%),属于狐蝠科。

2.2.2 qPCR检测结果

305份蝙蝠标本中有172份为阳性,总感染率为56.4%。其中保山市隆阳区潞江镇的感染率最高(62.1%),其他3个采样点包括临沧市镇康县南伞乡、西双版纳州勐腊县瑶区乡和德宏州瑞丽市畹町镇的感染率都在50.0%以上。不同种类蝙蝠感染率分别为中菊头蝠50.0%、小菊头蝠62.1%、棕果蝠56.9% (表1),巴尔通体感染率之间的差异没有统计学意义($\chi^2 = 1.135$, $P = 0.567$)。菊头蝠科的总感染率为54.8%,与狐蝠科(棕果蝠)相比,感染率差异没有统计学意义($\chi^2 = 0.100$, $P = 0.752$)。

采集自西双版纳州勐腊县瑶区乡和德宏州瑞丽市畹町镇两个地区的棕果蝠感染率分别为61.7%和55.7%,差异没有统计学意义($\chi^2 = 0.555$, $P = 0.456$)。

2.3 常规PCR及序列相似性分析

经2次扩增和测序,获得了37个 $ssrA$ 序列,经BLAST搜索比对,证实均为巴尔通体(附录3),比对序列长度为247–267 bp,序列覆盖度(query cover)为100%。这些序列分别与文森巴尔通体文森亚种(*Bartonella vinsonii* subsp. *vinsonii*)、特利波契巴尔通体(*B. tribocorum*)等10种巴尔通体序列相似值为84.21%–96.37%;与37个 $ssrA$ 序列相似值最高的序列的宿主来源分别是蝙蝠和梅花鹿(*Cervus nippon*),其中蝙蝠有6种,来自非洲和中美洲。

表1 不同种类和地理来源的蝙蝠感染巴尔通体的情况

Table 1 Number of species and geographical origins of the bats infected with *Bartonella* spp.

蝙蝠种类 Species of bats	感染率(阳性数/检测数) Infection rate (positive/detected)				合计 Total
	临沧市 Lincang City	西双版纳州 Xishuangbanna Prefecture	保山市 Baoshan City	德宏州 Dehong Prefecture	
中菊头蝠 <i>Rhinolophus affinis</i>	50.0% (22/44)	0	0	0	50.0% (22/44)
小菊头蝠 <i>Rhinolophus blythi</i>	0	0	62.1% (18/29)	0	62.1% (18/29)
棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	0	61.7% (29/47)	0	55.7% (103/185)	56.9% (132/232)
合计 Total	50.0% (22/44)	61.7% (29/47)	62.1% (18/29)	55.7% (103/185)	56.4% (172/305)

2.4 ssrA序列数据及系统发育分析

在ssrA序列的系统发育树中(图1), 本研究中的37个蝙蝠巴尔通体序列分布到10个分支中, 用I-X表示。其中, 分支I、III、V、VIII和IX拓扑位置稳定, 分支节点的后验概率是100%; IV、VI和X的拓扑位置亦属可信, 分支节点的后验概率大于90%; 分支II和VII在树中没有稳定结构关系, 后验概率小于60%。在本研究序列中, 处于分支VI的NS1541与伊丽莎白巴尔通体(*B. elizabethae*)、特利波契巴尔通体和克拉斯诺夫巴尔通体(*B. krasnovii*)亲缘关系较近, 聚在一起, 由于序列相似值较低(附录3), 不能确认是哪种巴尔通体; 剩余其他分支的序列均与已知巴尔通体距离较远, 序列相似值较低, 无法确定巴尔通体种类。从系统发育树中还可以看出, 分支I、III、V、VIII和IX分别是来自相同或不同地区的同种蝙蝠宿主的巴尔通体序列, 呈现出聚集性, 如分支I包括来自西双版纳州和德宏州的棕果蝠巴尔通体序列, 分支VIII包括来自保山市的小菊头蝠巴尔通体。

37条包含278 bp的ssrA序列代表37株蝙蝠巴尔通体, 共检测到106个多态位点、27个单变异位点、79个简约信息位点, 生成29个基因型, 核苷酸多样性指数(π)为 0.11381 ± 0.00928 , 基因型多样性指数(H_d)为 0.985 ± 0.010 , 平均核苷酸差异数(k)为27.883, 中性检验Tajima's D值为 -0.73641 ($P > 0.10$)。由29个基因型构建的MJ网络图呈现出较为复杂的拓扑结构(图2), 3株小菊头蝠形成一个基因型; 3株中菊头蝠形成3个基因型, 散落在整个网络中, 距离较远, 这与二叉树(图1)中的结构一致; 31株棕果蝠形成了25个基因型, 只有3个明确的系统发生关系(图中用蓝色虚线框标识), 其余基因型均被mv (median vectors)即假想的共同祖先序列分隔开来。

在文献和GenBank中搜索到115个来自蝙蝠宿

主的巴尔通体ssrA序列, 结合本研究的数据所构建的系统发育网络图基部呈现明显的网状结构, 释放出网状分支间距离矩阵中相互矛盾的信号, 同时也显现出明显的簇状分支, 具有潜在的树结构, 末端分支的自展值均 $>85\%$, 多数为100%, 外部节点位置稳定(图3A)。依据蝙蝠的地理来源标识外部节点, 可以看出地理聚集的趋势, 本研究所涉及的中国云南地区序列形成明显的两大类群, 其余个别序列分散到其他地域中, 但没有与泰国序列聚集; 中南美洲形成较为明显的2大类群和一些小分支; 非洲和欧洲的序列也有各自在局部聚集的趋势。总体看, 整个网络图中序列的地理分区明显, 但是有个别序列相互渗透的现象, 比如南美洲秘鲁序列分散在中美洲的2个大分支中, 本研究的数个序列与非洲的聚集在一起, 中美洲也有数个序列靠近非洲分支。

为解析地理分布图中不同地域相互渗透掺杂的原因, 我们按照蝙蝠宿主分类重绘了网络图(图3B), 外部节点以彩色圆点标识, 网络图结构没有变化。从图3B可以看出, 云南菊头蝠、棕果蝠以及泰国犬吻蝠来源的序列处于不同分支, 而云南和泰国菊头蝠来源的序列仍没有聚在一起, 表明同一物种来源的巴尔通体在地理上被分隔开; 中南美洲来自秘鲁与来自危地马拉的蝙蝠科的序列聚在一起, 同样, 来自这2个地区的叶口蝠科的巴尔通体也聚在一起, 另外还有5个危地马拉的髯蝠科的巴尔通体分散形成3个分支, 表明在蝙蝠宿主的科水平上巴尔通体与其有一定的特异性关联, 但并不严格; 非洲及泰国的菊头蝠科来源的巴尔通体聚在一起, 与本研究中的菊头蝠科来源的巴尔通体彼此分开; 非洲狐蝠科来源的序列也形成了数个分支, 呈放射状; 欧洲只有蝙蝠科来源的序列, 形成了数个较为分散的分支, 个别序列与南美洲的同宿主来源的序列形成1个分支。

图1 基于蝙蝠标本及巴尔通体参考菌株的*ssrA*序列构建的贝叶斯系统发育树。蝙蝠种类在系统树中内圈，以红、蓝和棕色线段表示；本研究中蝙蝠序列名称用红色字体标识，同附录3中的标本名称。图中心BSLY、LCZK、BNML和DHRL分别代表保山市隆阳区潞江镇、临沧市镇康县南伞乡、西双版纳州勐腊县瑶区乡和德宏州瑞丽市畹町镇；图中心I-X代表本研究中蝙蝠*ssrA*序列所在的进化分支；*Brucella melitensis* CP044985和*Rhizobium* sp. NXC24 CP024311为外群。

Fig. 1 Phylogenetic tree highlighting the position of *ssrA* sequences of *Bartonella* from bats relative to reference species of *Bartonella* spp. The bat species in the inner circle of the phylogenetic tree, represented by red, blue, and brown lines; bat sequence names in this study are marked with red font, the same as specimen no. in Appendix 2. BSLY, Lujiang Town, Longyang district, Baoshan City; LCZK, Nansan Town, Zhenkang County, Lincang City; BNML, Yaoqu Town, Mengla County, Xishuangbanna Prefecture; DHRL, Wanding Town, Ruili City, Dehong Prefecture; I-X in the center represent the phylogroups of *ssrA* sequence from bats in this study, while *Brucella melitensis* CP044985 and *Rhizobium* sp. NXC24 CP024311 are outgroups.

图2 基于本研究蝙蝠标本中巴尔通体*ssrA*序列构建的中介连接网络图。图中圆饼和其中数字分别代表基因型和个体数量，直径与个体数量成正比。

Fig. 2 Median-joining network of *ssrA* genotypes for *Bartonella* spp. from bat specimens in this study. Genotypes are denoted as pies, in which the numbers are number of individuals, with a size proportional to genotype frequency.

图3 基于蝙蝠标本和GenBank中巴尔通体 $ssrA$ 序列构建的邻接网系统发育网络图。网络图中有152个巴尔通体 $ssrA$ 序列, 其中本研究序列37个, GenBank数据库下载序列115个。图A和B分别为依据蝙蝠宿主的地理来源和其分类绘制的网络图。

Fig. 3 Phylogenetic network diagram generated from $ssrA$ sequences of *Bartonella* spp. from bat specimens in this study and GenBank using NeighborNet algorithm. There are 152 $ssrA$ sequences of *Bartonella* spp. in the network diagram, including 37 sequences in this study and 115 sequences downloaded from the GenBank database. A and B are the networks of bat-borne *Bartonella* from the globe according to the geographic distributions and the host taxonomy associations.

3 讨论

近10年, 对于蝙蝠及其体表寄生虫感染巴尔通体的调查主要集中在欧美地区, 调查所涉及的蝙蝠种类非常丰富, 包括植食、食虫和吸血蝙蝠

(Concannon et al, 2005; Reeves et al, 2005; Bai et al, 2011; Hornok et al, 2012; Wray et al, 2016; do Amaral et al, 2018)。在非洲和东南亚一些国家和地区也有少量相关调查, 同样显示了多种蝙蝠中巴尔通体高度的流行率和遗传多样性(Kosoy et al, 2010; Lin et al, 2012; Han et al, 2017; McKee et al, 2017)。

全球可感染巴尔通体的蝙蝠有12科数十种之多, 感染率在7.3%–54.4% (Stuckey et al, 2017)。为初步了解国内蝙蝠巴尔通体流行情况, 我们用2年时间在云南4个地区进行了蝙蝠标本采集、qPCR检测和核酸序列系统发育分析。为保证检测结果准确, 我们首先绘制了qPCR检测标准曲线, 确认该方法检测效能好、敏感性高, 确立的检测限统一了结果判定标准。本研究中, 我们发现在靠近中国云南边境的4个地区捕获的2个科3种蝙蝠均携带巴尔通体, 地区间和宿主物种间感染率均没有显著性差异, 表明这些地区的蝙蝠普遍携带巴尔通体。Han等(2017)在我国山东蒙阴地区调查了菊头蝠科和蝙蝠科5种蝙蝠巴尔通体的流行情况, 总感染率(25.2%, 27/107)显著低于本研究结果($\chi^2 = 30.799$, $P = 0.000$), 其中菊头蝠科的马铁菊头蝠(*Rhinolophus ferrumequinum*)和小菊头蝠的总感染率(23.1%, 3/13)显著低于本研究结果($\chi^2 = 4.440$, $P = 0.035$), 小菊头蝠的感染率(20.0%, 2/10)显著低于本研究结果($\chi^2 = 5.267$, $P = 0.031$)。由于Han等(2017)的调查样本数量较少, 代表性不足; 加之检测方法是常规PCR技术, 可能降低检测敏感度, 使得感染率被低估, 因此与本研究相比可能出现2种判断: 一是由于地域和气候差异使得南北方感染率确有差异, 二是由于检测方法敏感性不同造成感染率出现显著差异。因此, 为摸清我国蝙蝠巴尔通体大体流行特征, 包括地域、宿主感染率差异以及气候、地理等影响因素, 需要今后进一步扩大采样范围和采样量, 使样本具有代表性, 统一检测方法, 使结果具有可比性。

$ssrA$ 基因编码转运信使RNA (Transfer-messenger RNA), 是一种存在于细菌中的特殊结构小分子RNA, 长约260–430 bp。tmRNA的5'和3'端序列构成类似tRNA的结构, 中间序列编码肽标签(tag peptide), 兼有tRNA和mRNA的双重功能。tmRNA最主要作用是参与细菌蛋白质翻译过程, 可释放停滞在mRNA上的核糖体, 然后将肽标签加在新生肽链C末端, 使之利于被水解, 这一过程被称为

“ribosome rescue” (Janssen & Hayes, 2012)。除了参与细菌生命循环的质量控制系统中,在其发育调控、环境应激反应以及致病机制等方面也起到重要作用。该基因按照功能可划分为2个部分:其一为tRNA类似域,包括5'-端(~50 nt)和3'-端(~70 nt),序列相对保守;另一部分为mRNA类似域,是中间部分序列包含1个ORF,序列差异较大。巴尔通体的*ssrA*基因最早被用于属特异性qPCR检测靶标(Diaz et al, 2012),是巴尔通体检测较为常用的靶基因之一(Kosoy et al, 2018),而用此基因序列构建巴尔通体系统发育树的研究相对较少(Sato et al, 2020)。巴尔通体的*ssrA*基因长约297–358 bp,在多序列比对时,我们发现该基因既有保守区也有高变异区,且变异位点较多,存在多段高变异和缺失区域,为确定其是否适用于构建系统发育树,对序列进行了饱和度检测,结果为 $I_{ss} (0.342) < I_{ss.c} (0.780)$ ($P = 0.000$, 小于0.05),核酸序列不趋于饱和,可以用来建树。从序列相似性和系统发育树可以分辨出10个分支,均与已知巴尔通体距离较远,似乎形成了蝙蝠种群特有的巴尔通体,整体上与猫、犬、灵长类和啮齿类等动物相关的巴尔通体距离较远。这10个分支的蝙蝠巴尔通体可初步判定为一些新种,详细分类鉴定还需要分离菌株做进一步生化特征、细胞壁脂肪酸构成、多位点序列和基因组特征分析等。37个云南蝙蝠巴尔通体的*ssrA*基因型多样性丰富(0.985 ± 0.010),核苷酸变异度较高(0.11381 ± 0.00928),形成了29个基因型,表明我国云南地区的蝙蝠巴尔通体遗传变异丰富,与全球多地的调查结果一致。中性检验Tajima's D为负值,没有统计检验的支持,无法说明群体是否在扩张,标本数量过少、采样不均匀可能是影响统计检验的主要原因。此外,基因型网络图中,小菊头蝠的3个序列形成了1个基因型,而中菊头蝠和棕果蝠巴尔通体没有聚集现象,不能完全展示出巴尔通体与宿主物种间的关联,这可能是由于这2种蝙蝠相关巴尔通体遗传多样性丰富、宿主关联性不强,也可能是由于样本量过少,无法体现真实情况,这是本研究存在的缺陷。

在本研究中,异地同种蝙蝠来源的巴尔通体呈现出聚集现象,这反映出潜在的巴尔通体-宿主关联特征,这一现象在我国山东以及全球其他地区的蝙蝠巴尔通体中也有发现(Han et al, 2017)。为进一

步观察本研究中我国云南巴尔通体在系统地理发生、宿主关联性特征以及在全球蝙蝠巴尔通体中的系统发生位置,我们构建了系统发育网络图,外部节点分别以蝙蝠来源地域(洲水平)和宿主种类(科水平)标识,用以判断不同来源的序列的分布模式。在地域分布的系统发育网络图中(图3A),亚洲、美洲和非洲的聚集特征非常明显,可以看出地域分化趋势,欧洲序列数据由于较少,分散在非洲和中美洲分支中,很难看出趋势。这种系统地理发生分析有可能存在一个混杂因素,即宿主因素(McKee et al, 2016)。因此,我们在网络图(图3A)中看到不同地域的巴尔通体有相互渗透的现象。旧大陆和新大陆的蝙蝠物种分布不同,这种宿主物种差异很可能是形成巴尔通体系统发育分化和网络图拓扑结构的主要原因,进一步分析宿主类别差异对聚类所起的作用可以帮助我们辨识巴尔通体-蝙蝠的宿主特异性关联。在宿主分布网络图(图3B)中,同科蝙蝠巴尔通体明显聚集,可以解释不同地域聚集的原因,如南美洲秘鲁和中美洲危地马拉的蝙蝠科及叶口蝠科巴尔通体形成的2个分支。在宿主分布网络图中还呈现出蝙蝠科、髯蝠科和菊头蝠科巴尔通体较为分散的样式,在亚、非、欧、美及中南美洲的分支间相互渗透分布,表明这些物种的巴尔通体遗传变异相当丰富,且早已随宿主在全球扩散。总体来看,巴尔通体与蝙蝠之间存在明显宿主特异性特征,在更高一级的宿主分类水平,这一特征就显得更为严格,McKee等(2016)构建的蝙蝠亚目分类水平的巴尔通体二叉树,非常整齐地将巴尔通体划分为2大进化分支,即Yinpterochiroptera亚目和Yangochiroptera亚目分支,从此推断巴尔通体很早就与蝙蝠形成协同进化(coevolution)关系(Morse et al, 2012),随着蝙蝠物种的分化而共同分化(codivergence),呈现出适应性辐射(adaptive radiation)的进化模式,蝙蝠宿主的同域分布与巴尔通体系统发生具有显著的一致性。

随着蝙蝠物种的扩散,地理隔离作用也会通过宿主影响巴尔通体的基因交流,显现出某些广布种蝙蝠宿主的巴尔通体形成较远的遗传距离。如同其他很多寄主-寄生物的关系,寄生物的遗传进化模式受到其与寄主寄生关系模式的影响,相对专性的寄生关系,谱系地理发生一致性较好。巴尔通体寄生于哺乳动物细胞内,通过媒介节肢动物传播,因

此其传播受到宿主、媒介、环境以及溢出效应(spillover)等共同因素影响(Stuckey et al, 2017), 进而影响其遗传进化模式, 与其宿主形成大体的协同进化关系, 由于受诸多因素影响, 又使其显示出复杂和多样的谱系地理发生样式(Lei & Olival, 2014)。

包括本研究在内, 目前收集到的蝙蝠巴尔通体序列相对较少, 特别是亚洲地区, 使用的基因序列信息也较少, 进一步增加代表性地域的样本量, 并进行全面的基因组序列分析, 将会为我们解读巴尔通体与蝙蝠协同进化关系提供更细致和全面的信息。研究蝙蝠-巴尔通体的进化关联即它们是如何在自然宿主中保持和进化的, 可作为宿主-病原微生物相互作用关系的一个范例, 这不仅是从生物学研究的兴趣出发, 还有助于我们了解促发新宿主出现并引起疾病的机制, 进而有助于识别人兽共患病。

关于人类暴露于蝙蝠巴尔通体的报道很少, 从蝙蝠中分离的巴尔通体多为新种或新基因型, 是否对人类致病尚属未知, 但人类作为偶然宿主而感染患病的可能性是存在的。有些调查提示从蝙蝠中分离的*B. mayotimonensis*可能与人类心内膜炎感染相关(Veikkolainen et al, 2014; Stuckey et al, 2017), 有些调查则发现与蝙蝠密切接触的人群中出现相关巴尔通体的抗体(Bai et al, 2018)。巴尔通体可引起多种人兽共患病, 被世界卫生组织认定为新发传染病病原体, 不同种类巴尔通体引起的疾病种类有所不同, 可累及机体多个器官和系统, 临床表现复杂, 有些不明原因发热(fever unknown origin, FUO)及感染性心内膜炎或与此病原体有关(Kuncova et al, 2019)。有些蝙蝠活动区域与人类有交叉, 比如经常出入果园的果蝠会使果农或者采摘的人们增加暴露于巴尔通体的风险。还有很多洞栖蝙蝠, 虽然在时空上几乎与人类无重叠, 但是随着人类活动的扩展, 比如时下方兴未艾的洞穴旅游开发, 对蝙蝠的栖息生境造成扰动, 释放了传染病流行的危险因素, 增加了相关人群的暴露风险。最近几年, 拉丁美洲的吸血蝙蝠不断袭扰人类, 使受袭击者感染狂犬病而死亡, 这是由于过度采伐导致吸血蝙蝠栖息地缩小, 能够为吸血蝙蝠提供“血源”的野生动物数量减少而造成的。环境与人类行为的改变已经开始增加人类与蝙蝠的接触机会, 蝙蝠中大量存在的巴尔通

体也许会成为未来导致人类疾病的新病原体。因此, 关注蝙蝠巴尔通体在我国的流行, 提早制定科学有效的防控措施具有重要公共卫生意义, 还可为我国野生动物病原微生物自然贮存情况提供基础数据。

ORCID

栗冬梅 <https://orcid.org/0000-0002-0757-4264>
 杨卫红 <https://orcid.org/0000-0003-2348-7504>
 李庆多 <https://orcid.org/0000-0003-2641-3957>
 韩茜 <https://orcid.org/0000-0002-2911-2263>
 宋秀平 <https://orcid.org/0000-0002-1306-2097>
 潘虹 <https://orcid.org/0000-0002-7179-0236>
 冯云 <https://orcid.org/0000-0002-7354-0513>

参考文献

- Bai Y, Kosoy M, Recuenco S, Alvarez D, Moran D, Turmelle A, Ellison J, Garcia DL, Estevez A, Lindblade K, Rupprecht C (2011) *Bartonella* spp. in bats, Guatemala. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 1269–1272.
- Bai Y, Osinubi MOV, Osikowicz L, McKee C, Vora NM, Rizzo MR, Recuenco S, Davis L, Niezgoda M, Ehimiyein AM, Kia GSN, Oyemakinde A, Adeniyi OS, Gbadegesin YH, Saliman OA, Ogunniyi A, Ogunkoya AB, Kosoy MY, Team IBFI (2018) Human exposure to novel *Bartonella* species from contact with fruit bats. *Emerging Infectious Diseases*, 24, 2317–2323.
- Becker DJ, Bergner LM, Bentz AB, Orton RJ, Altizer S, Streicker DG (2018) Genetic diversity, infection prevalence, and possible transmission routes of *Bartonella* spp. in vampire bats. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 12, e0006786.
- Concannon R, Wynn-Owen K, Simpson VR, Birtles RJ (2005) Molecular characterization of haemoparasites infecting bats (Microchiroptera) in Cornwall, UK. *Parasitology*, 131, 489–496.
- Diaz MH, Bai Y, Malania L, Winchell JM, Kosoy MY (2012) Development of a novel genus-specific real-time PCR assay for detection and differentiation of *Bartonella* species and genotypes. *Journal of Clinical Microbiology*, 50, 1645–1649.
- do Amaral RB, Lourenço EC, Famadas KM, Garcia AB, Machado RZ, André MR (2018) Molecular detection of *Bartonella* spp. and *Rickettsia* spp. in bat ectoparasites in Brazil. *PLoS ONE*, 13, e0198629.
- Gutiérrez R, Vayssier-Taussat M, Buffet JP, Harrus S (2017) Guidelines for the isolation, molecular detection, and characterization of *Bartonella* species. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* (Larchmont, NY), 17, 42–50.
- Han HJ, Wen HL, Zhao L, Liu JW, Luo LM, Zhou CM, Qin XR, Zhu YL, Zheng XX, Yu XJ (2017) Novel *Bartonella*

species in insectivorous bats, Northern China. PLoS ONE, 12, e0167915.

- Hornok S, Estók P, Kovács D, Flaisz B, Takács N, Szőke K, Krawczyk A, Kontschán J, Gyuranecz M, Fedák A, Farkas R, Haarsma AJ, Sprong H (2015) Screening of bat faeces for arthropod-borne apicomplexan protozoa: *Babesia canis* and *Besnoitia besnoiti*-like sequences from Chiroptera. Parasites & Vectors, 8, 1–6.
- Hornok S, Kovács R, Meli ML, Gönczi E, Hofmann-Lehmann R, Kontschán J, Gyuranecz M, Dán A, Molnár V (2012) First detection of bartonellae in a broad range of bat ectoparasites. Veterinary Microbiology, 159, 541–543.
- Huson DH, Bryant D (2006) Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. Molecular Biology and Evolution, 23, 254–267.
- Janssen BD, Hayes CS (2012) The tmRNA ribosome-rescue system. Advances in Protein Chemistry and Structural Biology, 86, 151–191.
- Kosoy M, Bai Y, Lynch T, Kuzmin IV, Niezgoda M, Franka R, Agwanda B, Breiman RF, Rupprecht CE (2010) *Bartonella* spp. in bats, Kenya. Emerging Infectious Diseases, 16, 1875–1881.
- Kosoy M, McKee C, Albayrak L, Fofanov Y (2018) Genotyping of *Bartonella* bacteria and their animal hosts: Current status and perspectives. Parasitology, 145, 543–562.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Molecular Biology and Evolution, 35, 1547–1549.
- Kuncova K, Zemlickova H, Jager J, Ryskova L, Pliskova L, Bolehovska R, Pojar M (2019) Diagnosis and treatment of *Bartonella* endocarditis. Epidemiologie Mikrobiologie Immunologie, 68, 104–108.
- Lei BR, Olival KJ (2014) Contrasting patterns in mammal-bacteria coevolution: *Bartonella* and *Leptospira* in bats and rodents. PLoS Neglected Tropical Diseases, 8, e2738.
- Li DM, Yu DZ, Liu QY, Gong ZD (2004) Study on the prevalence of *Bartonella* species in rodent hosts from different environmental areas in Yunnan. Chinese Journal of Epidemiology, 25, 934–937. (in Chinese with English abstract) [栗冬梅, 俞东征, 刘起勇, 龚正达 (2004) 云南省不同环境鼠形动物巴尔通体感染情况的研究. 中华流行病学杂志, 25, 934–937.]
- Lin JW, Hsu YM, Chomel BB, Lin LK, Pei JC, Wu SH, Chang CC (2012) Identification of novel *Bartonella* spp. in bats and evidence of Asian gray shrew as a new potential reservoir of *Bartonella*. Veterinary Microbiology, 156, 119–126.
- McKee CD, Hayman DTS, Kosoy MY, Webb CT (2016) Phylogenetic and geographic patterns of *Bartonella* host shifts among bat species. Infection, Genetics and Evolution, 44, 382–394.
- McKee CD, Kosoy MY, Bai Y, Osikowicz LM, Franka R, Gilbert AT, Boonmar S, Rupprecht CE, Peruski LF (2017) Diversity and phylogenetic relationships among *Bartonella* strains from Thai bats. PLoS ONE, 12, e0181696.
- Milne I, Lindner D, Bayer M, Husmeier D, McGuire G, Marshall DF, Wright F (2009) TOPALi v2: A rich graphical interface for evolutionary analyses of multiple alignments on HPC clusters and multi-core desktops. Bioinformatics, 25, 126–127.
- Moratelli R, Calisher CH (2015) Bats and zoonotic viruses: Can we confidently link bats with emerging deadly viruses? Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz, 110, 1–22.
- Morse SF, Olival KJ, Kosoy M, Billeter S, Patterson BD, Dick CW, Dittmar K (2012) Global distribution and genetic diversity of *Bartonella* in bat flies (Hippoboscoidea, Streblidae, Nycteribiidae). Infection, Genetics and Evolution, 12, 1717–1723.
- Mühldorfer K (2013) Bats and bacterial pathogens: A review. Zoonoses and Public Health, 60, 93–103.
- Mühldorfer K, Speck S, Wibbelt G (2011) Diseases in free-ranging bats from Germany. BMC Veterinary Research, 7, 61.
- Reeves WK, Loftis AD, Gore JA, Dasch GA (2005) Molecular evidence for novel *Bartonella* species in *Trichobius major* (Diptera: Streblidae) and *Cimex adjunctus* (Hemiptera: Cimicidae) from two southeastern bat caves, U.S.A. Journal of Vector Ecology, 30, 339–341.
- Rodhain F (2015) Bats and viruses: Complex relationships. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique, 108, 272–289.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-Delbarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. Molecular Biology and Evolution, 34, 3299–3302.
- Sato S, Brinkerhoff RJ, Hollis E, Funada S, Shannon AB, Maruyama S (2020) Detection of zoonotic *Bartonella* pathogens in rabbit fleas, Colorado, USA. Emerging Infectious Diseases, 26, 778–781.
- Shen B (2014) Molecular evolutionary studies of metabolic genes in bats. PhD dissertation, East China Normal University, Shanghai. (in Chinese with English abstract) [沈斌 (2014) 蝙蝠代谢基因分子进化遗传学研究. 华东师范大学博士学位论文, 上海.]
- Stuckey MJ, Boulouis HJ, Cliquet F, Picard-Meyer E, Servat A, Aréchiga-Ceballos N, Echevarría JE, Chomel BB (2017) Potentially zoonotic *Bartonella* in bats from France and Spain. Emerging Infectious Diseases, 23, 539–541.
- Stuckey MJ, Chomel BB, de Fleurieu EC, Aguilar-Setién A, Boulouis HJ, Chang CC (2017) *Bartonella*, bats and bugs: A review. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 55, 20–29.
- Teeling EC, Springer MS, Madsen O, Bates P, O'Brien SJ, Murphy WJ (2005) A molecular phylogeny for bats

- illuminates biogeography and the fossil record. *Science*, 307, 580–584.
- Veikkolainen V, Vesterinen EJ, Lilley TM, Pulliainen AT (2014) Bats as reservoir hosts of human bacterial pathogen, *Bartonella mayotimonensis*. *Emerging Infectious Diseases*, 20, 960–967.
- Wang YB, Yang FL, Peng HY, Yang XD, Yang H, Yu BB, Zhang Q, Li ZQ, Yang QJ, Xia ST (2014) Investigation of *Bartonella* infection in patients with fever of unknown origin in Yunnan Province. *China Tropical Medicine*, 14, 1446–1448. (in Chinese with English abstract) [王跃兵, 杨发莲, 彭海燕, 杨向东, 杨慧, 于彬彬, 张青, 李志强, 杨秋菊, 夏淑婷 (2014) 云南省不明原因发热病人巴尔通体感染调查. *中国热带医学*, 14, 1446–1448.]
- Wray AK, Olival KJ, Morán D, Lopez MR, Alvarez D, Navarrete-Macias I, Liang E, Simmons NB, Lipkin WI, Daszak P, Anthony SJ (2016) Viral diversity, prey preference, and *Bartonella* prevalence in *Desmodus rotundus* in Guatemala. *EcoHealth*, 13, 761–774.
- (责任编辑: 东秀珠 责任编辑: 时意专)

附录 Supplementary Material

附录1 GenBank数据库中下载的来自蝙蝠巴尔通体*ssrA*基因序列信息

Appendix 1 The information of *ssrA* sequences of *Bartonella* spp. from bats downloaded in the GenBank database
<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021028-1.pdf>

附录2 荧光定量PCR标准曲线数据表

Appendix 2 The datasheet for the standard curve of the fluorescent quantitative PCR
<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021028-2.pdf>

附录3 蝙蝠标本中*ssrA*序列在Nucleotide Collection (nr/nt)数据库中的搜索结果

Appendix 3 The search results of *ssrA* sequences from bat specimens using BLAST in database of nucleotide collection (nr/nt)
<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021028-3.pdf>

栗冬梅, 杨卫红, 李庆多, 韩茜, 宋秀平, 潘虹, 冯云 (2021) 巴尔通体在滇西南蝙蝠中高度流行并具有丰富的遗传变异特征. 生物多样性, 29, 1245–1255.

<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021028>

附录1 GenBank数据库中下载的来自蝙蝠巴尔通体*ssrA*基因序列信息

Appendix 1 The information of *ssrA* sequences of *Bartonella* spp. from bats downloaded in the GenBank database

国家 Country	科 Family	种属 Species and genus	GenBank 登录 号 Accession No.	国家 Country	科 Family	种属 Species and genus	GenBank 登录 号 Accession No.
加纳(Ghana)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN276436	危地马拉 (Guatemala)	蝙蝠科 (Vespertilionidae)	黑毛鼠耳蝠 (<i>Myotis nigricans</i>)	MN529312
加纳(Ghana)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN276438	危地马拉 (Guatemala)	狐蝠科 (Pteropodidae)	大食果蝠 (<i>Artibeus lituratus</i>)	MN529285
加纳(Ghana)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN276439	危地马拉 (Guatemala)	狐蝠科 (Pteropodidae)	大食果蝠 (<i>Artibeus lituratus</i>)	MN529292
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	北非果蝠 (<i>Rousettus aegyptiacus</i>)	MN276367	危地马拉 (Guatemala)	狐蝠科 (Pteropodidae)	大食果蝠 (<i>Artibeus lituratus</i>)	MN529293
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233456	危地马拉 (Guatemala)	髯蝠科 (Mormoopidae)	红斑裸背蝠 (<i>Pteronotus parnellii</i>)	MN529277
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233457	危地马拉 (Guatemala)	髯蝠科 (Mormoopidae)	红斑裸背蝠 (<i>Pteronotus parnellii</i>)	MN529298
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233458	危地马拉 (Guatemala)	髯蝠科 (Mormoopidae)	红斑裸背蝠 (<i>Pteronotus parnellii</i>)	MN529299
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233459	危地马拉 (Guatemala)	髯蝠科 (Mormoopidae)	裸背蝠 (<i>Pteronotus davyi</i>)	MN276374
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233460	危地马拉 (Guatemala)	髯蝠科 (Mormoopidae)	裸背蝠 (<i>Pteronotus davyi</i>)	MN276381
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233461	危地马拉 (Guatemala)	髯蝠科 (Mormoopidae)	裸背蝠 (<i>Pteronotus davyi</i>)	MN276383
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233462	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	黄肩蝠 (<i>Sturmira lilium</i>)	MN276384
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233463	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	黄肩蝠 (<i>Sturmira lilium</i>)	MN529279
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233464	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	黄肩蝠 (<i>Sturmira lilium</i>)	MN529280
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233465	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	黄肩蝠 (<i>Sturmira lilium</i>)	MN529286
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233466	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	黄肩蝠 (<i>Sturmira lilium</i>)	MN529304
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233467	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	黄肩蝠 (<i>Sturmira lilium</i>)	MN529305
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233468	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	苍白矛吻 蝠 (<i>Phyllostomus discolor</i>)	MN276379
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233469	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	苍白矛吻 蝠 (<i>Phyllostomus discolor</i>)	MN276382
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	KM233470	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	苍白矛吻 蝠 (<i>Phyllostomus discolor</i>)	MN276386
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN276371	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	苍白矛吻 蝠 (<i>Phyllostomus discolor</i>)	MN529288
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN276413	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	短尾莱口蝠属 (<i>Carollia howelli</i>)	MN529278
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN276434	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	海勒白线蝠 (<i>Platyrrhinus helleri</i>)	MN529313
肯尼亚(Kenya)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN276435	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	黄耳蝠属 (<i>Vampyressa pusilla</i>)	MN529314
尼日利亚 (Nigeria)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN276437	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	金剑鼻蝠 (<i>Lonchorhina aurita</i>)	MN529289
尼日利亚 (Nigeria)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN529267	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	金剑鼻蝠 (<i>Lonchorhina aurita</i>)	MN529290
乌干达 (Uganda)	狐蝠科 (Pteropodidae)	黄毛果蝠 (<i>Eidolon helvum</i>)	MN276440	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	考氏矛吻蝠 (<i>Mimon cozumelae</i>)	MN529296
赞比亚 (Zambia)	狐蝠科 (Pteropodidae)	北非果蝠 (<i>Rousettus aegyptiacus</i>)	LC460845	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	考氏矛吻蝠 (<i>Mimon cozumelae</i>)	MN529297
赞比亚 (Zambia)	狐蝠科 (Pteropodidae)	北非果蝠 (<i>Rousettus aegyptiacus</i>)	LC460846	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	毛腿吸血蝠 (<i>Diphylla eacaudata</i>)	MN529295
赞比亚 (Zambia)	狐蝠科 (Pteropodidae)	北非果蝠 (<i>Rousettus aegyptiacus</i>)	LC460850	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	美洲大耳蝠属 (<i>Micronycteris microtis</i>)	MN276385
赞比亚 (Zambia)	菊头蝠科 (Rhinolophidae)	蹄蝠属 (<i>Hipposideros vittatus</i>)	LC460847	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	鼯形长舌蝠 (<i>Glossophaga soricina</i>)	MN529274
赞比亚 (Zambia)	菊头蝠科 (Rhinolophidae)	蹄蝠属 (<i>Hipposideros vittatus</i>)	LC460848	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	鼯形长舌蝠 (<i>Glossophaga soricina</i>)	MN529308
赞比亚 (Zambia)	菊头蝠科 (Rhinolophidae)	蹄蝠属 (<i>Hipposideros vittatus</i>)	LC460849	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	沙氏大眼蝠 (<i>Chiroderma salvini</i>)	MN529273
芬兰(Finland)	蝙蝠科 (Vespertilionidae)	北棕蝠 (<i>Eptesicus nilssonii</i>)	KF003119	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	牙买加果蝠 (<i>Artibeus jamaicensis</i>)	MN529275

栗冬梅, 杨卫红, 李庆多, 韩茜, 宋秀平, 潘虹, 冯云 (2021) 巴尔通体在滇西南蝙蝠中高度流行并具有丰富的遗传变异特征. 生物多样性, 29, 1245–1255.

<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021028>

国家 Country	科 Family	种属 Species and genus	GenBank 登录 号 Accession No.	国家 Country	科 Family	种属 Species and genus	GenBank 登录 号 Accession No.
芬兰(Finland)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	水鼠耳蝠 (<i>Myotis daubentonii</i>)	KF003126	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	牙买加果蝠 (<i>Artibeus jamaicensis</i>)	MN529281
芬兰(Finland)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	水鼠耳蝠 (<i>Myotis daubentonii</i>)	KF003133	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	牙买加果蝠 (<i>Artibeus jamaicensis</i>)	MN529283
格鲁吉亚 (Georgia)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	尖耳鼠耳蝠 (<i>Myotis blythii</i>)	MN276417	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	牙买加果蝠 (<i>Artibeus jamaicensis</i>)	MN529284
格鲁吉亚 (Georgia)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	尖耳鼠耳蝠 (<i>Myotis blythii</i>)	MN276418	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	牙买加果蝠 (<i>Artibeus jamaicensis</i>)	MN529291
格鲁吉亚 (Georgia)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	尖耳鼠耳蝠 (<i>Myotis blythii</i>)	MN276422	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	牙买加果蝠 (<i>Artibeus jamaicensis</i>)	MN529315
格鲁吉亚 (Georgia)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	尖耳鼠耳蝠 (<i>Myotis blythii</i>)	MN276428	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	缨唇蝠 (<i>Trachops cirrhosus</i>)	MN529310
格鲁吉亚 (Georgia)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	尖耳鼠耳蝠 (<i>Myotis blythii</i>)	MN276432	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN276376
格鲁吉亚 (Georgia)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	普通长翼蝠 (<i>Miniopterus schreibersii</i>)	MN276412	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529270
格鲁吉亚 (Georgia)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	普通长翼蝠 (<i>Miniopterus schreibersii</i>)	MN276415	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529271
格鲁吉亚 (Georgia)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	棕蝠 (<i>Eptesicus serotinus</i>)	MN276427	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529272
格鲁吉亚 (Georgia)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	佐氏鼠耳蝠 (<i>Myotis emarginatus</i>)	MN276429	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529287
泰国(Thailand)	犬吻蝠科 (Molossidae)	皱唇犬吻蝠 (<i>Chaerephon plicatus</i>)	MN276392	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529294
泰国(Thailand)	犬吻蝠科 (Molossidae)	皱唇犬吻蝠 (<i>Chaerephon plicatus</i>)	MN276398	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529300
泰国(Thailand)	犬吻蝠科 (Molossidae)	皱唇犬吻蝠 (<i>Chaerephon plicatus</i>)	MN276400	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529301
泰国(Thailand)	犬吻蝠科 (Molossidae)	皱唇犬吻蝠 (<i>Chaerephon plicatus</i>)	MN276402	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529302
泰国(Thailand)	菊头蝠科 (Rhinolophidae)	大耳小蹄蝠 (<i>Hipposideros fulvus</i>)	MN276396	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529303
泰国(Thailand)	菊头蝠科 (Rhinolophidae)	大马蹄蝠 (<i>Hipposideros armiger</i>)	MN276393	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529306
泰国(Thailand)	菊头蝠科 (Rhinolophidae)	大马蹄蝠 (<i>Hipposideros armiger</i>)	MN276394	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN529307
泰国(Thailand)	菊头蝠科 (Rhinolophidae)	中蹄蝠 (<i>Hipposideros larvatus</i>)	MN276404	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	长叶蝠 (<i>Macrophyllum macrophyllum</i>)	MN529309
波多黎各 (Puerto Rico)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	安德列斯长舌蝠属 (<i>Monophyllus redmani</i>)	MN276405	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	昭短尾叶鼻蝠 (<i>Carollia perspicillata</i>)	MN276378
波多黎各 (Puerto Rico)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	安德列斯长舌蝠属 (<i>Monophyllus redmani</i>)	MN276409	危地马拉 (Guatemala)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	中美果蝠 (<i>Artibeus toltecus</i>)	MN276377
波多黎各 (Puerto Rico)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	安德列斯长舌蝠属 (<i>Monophyllus redmani</i>)	MN276410	秘鲁(Peru)	蝙蝠科 (Vespertilionidae)	鼠耳蝠属 (<i>Myotis</i> sp.)	MN276391
波多黎各 (Puerto Rico)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	牙买加果蝠 (<i>Artibeus jamaicensis</i>)	MN276407	秘鲁(Peru)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	烟青美洲果蝠 (<i>Artibeus obscurus</i>)	MN276388
危地马拉 (Guatemala)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	黑毛鼠耳蝠 (<i>Myotis nigricans</i>)	MN529282	秘鲁(Peru)	叶口蝠科 (Phyllostomidae)	圆头叶口蝠 (<i>Desmodus rotundus</i>)	MN276390
危地马拉 (Guatemala)	蝙蝠科 (Vespertilionida e)	黑毛鼠耳蝠 (<i>Myotis nigricans</i>)	MN529311	无描述(No description)	—	—	—

栗冬梅, 杨卫红, 李庆多, 韩茜, 宋秀平, 潘虹, 冯云 (2021) 巴尔通体在滇西南蝙蝠中高度流行并具有丰富的遗传变异特征. 生物多样性, 29, 1245–1255.

<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021028>

附录2 荧光定量PCR标准曲线数据表

Appendix 2 The datasheet for the standard curve of the fluorescent quantitative PCR

拷贝数浓度 Copy number concentration (copies/μL)	Cq 平均值 Cq mean value						CV 值 CV value (%)
	组 1 Group 1	组 2 Group 2	组 3 Group 3	组 4 Group 4	组 5 Group 5	总平均值 Total mean	
1.13E+05	16.09	16.37	15.22	15.35	15.50	15.70	3.17
1.13E+04	19.69	20.26	19.83	19.60	19.64	19.80	1.35
1.13E+03	23.24	23.78	22.59	22.80	22.64	23.01	2.17
1.13E+02	26.59	27.30	26.30	26.93	26.21	26.67	1.70
1.13E+01	29.97	30.93	29.63	29.47	29.30	29.86	2.16
1.13E+00	33.73	33.93	33.67	33.65	33.02	33.57	1.03

栗冬梅, 杨卫红, 李庆多, 韩茜, 宋秀平, 潘虹, 冯云 (2021) 巴尔通体在滇西南蝙蝠中高度流行并具有丰富的遗传变异特征. 生物多样性, 29, 1245–1255.

<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021028>

附录3 蝙蝠标本中*ssrA*序列在Nucleotide Collection (nr/nt)数据库中的搜索结果

Appendix 3 The search results of *ssrA* sequences from bat specimens using BLAST in database of nucleotide collection (nr/nt)

标本编号 Specimen no.	宿主种类 Host species	最相似序列(相似值) Most similar sequences (similarity value, %)	最相似序列宿主 Hosts of the most similar sequences	最相似已知巴尔通体(相似值) Most similar to known <i>Bartonella</i> spp. (similarity value, %)
LJ1507	小菊头蝠 <i>Rhinolophus blythi</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain B43870 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (84.64%)	红斑裸背蝠 <i>Pteronotus parnellii</i>	牛巴尔通体 <i>Bartonella bovis</i> (84.64%)
LJ1555	小菊头蝠 <i>Rhinolophus blythi</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain B43870 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (84.64%)	红斑裸背蝠 <i>Pteronotus parnellii</i>	牛巴尔通体 <i>B. bovis</i> (84.64%)
LJ1557	小菊头蝠 <i>Rhinolophus blythi</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain B43870 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (84.64%)	红斑裸背蝠 <i>Pteronotus parnellii</i>	牛巴尔通体 <i>B. bovis</i> (84.64%)
ML1531	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (89.88%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (88.66%)
ML1538	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. B39301 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (95.56%)	黄毛果蝠 <i>Eidolon helvum</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (91.57%)
ML1547	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (91.09%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	乔麦尔巴尔通体 <i>B. chomelii</i> (89.52%)
NS1522	中菊头蝠 <i>Rhinolophus affinis</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain CR224 B43010 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (86.56%)	美洲矛吻蝠 <i>Mimon cozumelae</i>	格拉汉姆巴尔通体 <i>B. grahamii</i> (86.27%)
NS1541	中菊头蝠 <i>Rhinolophus affinis</i>	<i>B. tribocorum</i> strain GDGZ26 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (96.37%)	无描述 no description	特利波契巴尔通体 <i>B. tribocorum</i> (96.37%)
NS1542	中菊头蝠 <i>Rhinolophus affinis</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain B29105 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (89.33%)	裸背蝠 <i>Pteronotus davyi</i>	日本巴尔通体 <i>B. japonica</i> (87.15%)
WD1522	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain AR B32851 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (86.35%)	美洲果蝠 <i>Artibeus obscurus</i>	森林巴尔通体 <i>B. silvatica</i> (85.26%)
WD1524	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (91.09%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	汉赛巴尔通体 <i>B. henselae</i> (89.96%)
WD1525	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain GU-21 B43023 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (89.92%)	裸背蝠 <i>Pteronotus davyi</i>	汉赛巴尔通体 <i>B. henselae</i> (88.35%)
WD1529	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (89.07%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (87.85%)
WD1606	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (88.26%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (87.04%)
WD1607	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain B29105 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (85.83%)	裸背蝠 <i>Pteronotus davyi</i>	文森巴尔通体文森亚种 <i>B. vinsonii</i> subsp. <i>vinsonii</i> (84.21%)
WD1609	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (90.28%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	汉赛巴尔通体 <i>B. henselae</i> (88.76%)
WD1613	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (90.73%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (89.52%)
WD1634	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (89.07%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (87.85%)
WD1638	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (89.47%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (88.26%)
WD1643	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (89.07%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (87.85%)
WD1646	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (91.90%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	乔麦尔巴尔通体 <i>B. chomelii</i> (89.92%)
WD1649	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (90.36%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (88.71%)
WD1673	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (87.85%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	汉赛巴尔通体 <i>B. henselae</i> (86.29%)
WD1677	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. B23983 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (94.76%)	黄毛果蝠 <i>Eidolon helvum</i>	五日热巴尔通体 <i>B. quintana</i> (92.08%)
WD1680	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain B32728 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (90.73%)	长叶蝠 <i>Macrophyllum macrophyllum</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (90.32%)
WD1688	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. B39233 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (98.79%)	无描述(No description)	文森巴尔通体文森亚种 <i>B. vinsonii</i> subsp. <i>vinsonii</i> (93.55%)
WD1689	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. B39233 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (98.79%)	无描述(No description)	文森巴尔通体文森亚种 <i>B. vinsonii</i> subsp. <i>vinsonii</i> (93.55%)

栗冬梅, 杨卫红, 李庆多, 韩茜, 宋秀平, 潘虹, 冯云 (2021) 巴尔通体在滇西南蝙蝠中高度流行并具有丰富的遗传变异特征. 生物多样性, 29, 1245–1255.

<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021028>

标本编号 Specimen no.	宿主种类 Host species	最相似序列(相似值) Most similar sequences (similarity value, %)	最相似序列宿主 Hosts of the most similar sequences	最相似已知巴尔通体(相似值) Most similar to known <i>Bartonella</i> spp. (similarity value, %)
WD1693	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain B32728 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (89.20%)	长叶蝠 <i>Macrophyllum macrophyllum</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (88.35%)
WD1702	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (88.26%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (87.04%)
WD1704	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (88.66%)	裸背蝠 <i>Pteronotus davyi</i>	汉赛巴尔通体 <i>B. henselae</i> (86.75%)
WD1711	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (88.76%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	汉赛巴尔通体 <i>B. henselae</i> (88.10%)
WD1722	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (89.47%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (88.26%)
WD1723	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (89.88%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	乔麦尔巴尔通体 <i>B. chomelii</i> (87.90%)
WD1725	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (90.28%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	汉赛巴尔通体 <i>B. henselae</i> (88.76%)
WD1733	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (89.47%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	舍恩布赫巴尔通体 <i>B. schoenbuchensis</i> (88.26%)
WD1749	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. WD16.2, complete genome (88.26%)	梅花鹿 <i>Cervus nippon</i>	文森巴尔通体文森亚种 <i>B. vinsonii</i> subsp. <i>vinsonii</i> (87.10%)
WD1759	棕果蝠 <i>Rousettus leschenaultii</i>	<i>Bartonella</i> sp. strain B29105 tmRNA gene (<i>ssrA</i>) (85.94%)	裸背蝠 <i>Pteronotus davyi</i>	特利波契巴尔通体 <i>B. tribocorum</i> (85.55%)

LJ1507–LJ1557、ML1531–ML1547、NS1522–NS1542 和 WD1522–WD1759 分别采集自保山市隆阳区潞江镇、西双版纳州勐腊县瑶区乡、临沧市镇康县南伞乡和德宏州瑞丽市畹町镇。The samples of LJ1507–LJ1557 were collected from Lujiang town, Longyang district, Baoshan city; ML1531–ML1547 from Yaoqu town, Mengla county, Xishuangbanna prefecture; NS1522–NS1542 from Nansan town, zhenkang county, Lincang city; WD1522–WD1759 from Wanding town, Ruili city, Dehong prefecture.