

裳卷蛾变形孢虫 SSU rRNA 核心序列的克隆与系统发育分析

马露芸, 涂增, 薛英伟, 王金芳, 万永继*

(西南大学生物技术学院, 重庆 400716)

摘要:【目的】利用分子生物学手段探索裳卷蛾变形孢虫的遗传发育地位。【方法】微孢子虫的 SSU rRNA 序列是构建系统发育进化树的重要工具。试验通过 T-A 克隆法对裳卷蛾变形孢虫 (*Vairimorpha ceraces*) SSU rRNA 核心序列进行了克隆, 并采用近邻法构建了系统发育进化树。【结果】克隆得到了长为 1228bp 的核苷酸序列 (GenBank EU267796)。系统发育分析结果表明: 裳卷蛾变形孢虫与分离于小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 的 *Vairimorpha* sp. Germany (GenBank AF124331) 和 *Vairimorpha imperfecta* (GenBank AJ131645) 相似性最高, 它们在系统发育进化树中与寄主为鳞翅目昆虫的 *Nosema* 属聚为一类, 与纳卡变形孢虫 (*Vairimorpha necatrix*) 为代表的 *Vairimorpha* 属为相邻集。【结论】结合其生物学特征, 裳卷蛾变形孢虫确实为 *Vairimorpha* 属的成员, 但根据系统发育分析归入 *Nosematidae* 科可能更为合适。

关键词: 裳卷蛾变形孢虫, 龙眼裳卷蛾, SSU rRNA, 克隆, 系统发育分析

中图分类号: Q939 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2008) 11-1439-06

微孢子虫虽是一种真核生物, 但是它具有原核生物型的核糖体 RNA (Peyretailade *et al*, 1998), 即 70S 型核糖体^[1]。70S 型核糖体包含 50S 和 30S 大小两个亚基, 其中小亚基中的 rRNA 为 16S rRNA, 它与其它真核生物小亚基核糖体中的 18S rRNA 一起常被称作小亚基核糖体 RNA (small subunit ribosomal RNA, SSU rRNA)^[2]。SSU rRNA 的编码基因具有高度保守性, 是构建系统发育树的一种重要的辅助工具^[3], 如将以形态、生活史等为主的微孢子虫生物学分类系统与分子生物学等方面的信息有机结合, 将有助于构建更有价值的微孢子虫分类系统 (Hatakeyama, 1997)^[4]。根据 Sprague (1992) 的微孢子虫分类系统, 微孢子虫门分属 2 个纲, 4 个目, 6 个总科和一个未确定位置分类群, 共 37 个科 117 个属^[5]。迄今为止, 发现的微孢子虫数量已超过 1200 个种, 约有 150 多个属^[6]。

Kramer (1965) 发现寄生粘虫 *Pseudaletia unipuncta* 的微孢虫后, 因为在其生活史发育形态中既有 *Nosema* 属的二孢子母细胞又有 *Thelohania* 属的八孢囊体出现, 最初认为是 *Nosema necatrix* 和 *Thelohania diazoma* 的混合, 后来进一步的研究发现 *Nosema necatrix* 和 *Thelohania diazoma* 是同一物种 (Fower and Reeves, 1974), 于是 Pilly 在 1976 年建立和描述了 *Vairimorpha* 属, 将 *Nosema necatrix* 和 *Thelohania diazoma* 重新命名为纳卡变形孢虫 (*Vairimorpha necatrix*) (Kramer, 1965)^[7], 并作为 *Vairimorpha* 属的模式种。迄今该属发现并记录的微孢子虫已超过 20 多种。

裳卷蛾变形孢虫是从四川阆中林木害虫龙眼裳卷蛾 *Cerace stipatana* Walker 幼虫体内发现并分离, 通过生物学研究, 分类隶属于布雷孢虫科

基金项目: 国家自然科学基金 (30271006)

*通讯作者. Tel: +86-23-68251585; E-mail: canb13312@126.com

作者简介: 马露芸 (1983-), 女, 四川金堂人, 硕士研究生, 从事病理与病原微生物研究. E-mail: wingmq@163.com

收稿日期: 2008-05-19; 修回日期: 2008-08-01

(Burenellidae), 变形孢虫属 (*Vairimorpha*), 命名为裳卷蛾变形孢虫 *Vairimorpha ceraces* sp.nov. (万永继等, 2005)^[8]。本实验进一步对裳卷蛾变形孢虫的 SSU rRNA 核心序列进行了克隆和系统发育分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料: 裳卷蛾变形孢虫 (*Vairimorpha ceraces*) 由西南大学无脊椎动物病理及应用微生物实验室从四川省川北地区患病龙眼裳卷蛾幼虫体内分离鉴定并保存。

1.1.2 主要试剂和仪器: 引物由本实验室设计, 委托上海生工生物工程技术有限公司合成; *Taq* DNA 聚合酶购自 Promega 公司; Bacto-yeast extract、Microbiology tryptone power 购自上海生工生物工程技术有限公司; 电泳级琼脂糖购自辛创生物技术有限公司; DL2000、大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 感受态细胞 (受体菌为 JM109)、pMD18-T Vector 均为 TaKaRa 产品; E.Z.N.A Gel Extraction Kit 购自 OMEGA 公司。TGL-20M 型高速台式冷冻离心机为长沙湘仪离心机有限公司产品; TGL-16G 离心机为上海菲哈尔分析仪器有限公司产品; TC-312 DNA 热循环仪为英国 Techne 公司产品; YLN-2000 凝胶成像分析系统为京亚力恩机研究所产品。

1.2 裳卷蛾变形孢虫的纯化

从患病龙眼裳卷蛾幼虫的中肠组织及中肠肌肉、脂肪体和体壁表皮细胞中收集到的裳卷蛾变形孢虫先采用差速离心法制得粗提液, 再用甘油法和 Percoll 法进行纯化。

1.3 DNA 的制备

通常提取微孢子虫的方法有常规的碳酸钠法和 TEK 法^[9]。除此两种方法外, 也尝试了提取植物和真菌常用的 CTAB 法^[10]。提取的 DNA 用灭菌双蒸水溶解在 1.5 mL 离心管中, 纯度在 1.85~1.9 之间, 贮存在 -20 。

1.4 PCR 扩增反应

1.4.1 PCR 引物的设计: 对 GenBank 中有关微孢子虫 SSU rRNA 基因进行同源性分析, 利用共有的保守序列对裳卷蛾变形孢虫的 SSU rRNA 基因核心序列的引物进行了设计, 其引物序列为: 上游引物 F: 5'-CTGCA GGTAC CACCA GGTTG ATTCT GCCTG AC-3'; 下游引物 R: 5'-GAGCT CGCAT GCGGT TTACC TTGTT ACGAC TT-3'。其中, 上游引物与裳卷蛾变形孢虫 SSU rRNA 基因序列的 1~32 位碱基相同, 而下游引物与序列的 1197~1228 位碱基互补。

1.4.2 PCR 扩增: PCR 反应体系为 25 μ l, 分别含有裳卷蛾变形孢虫的基因组 DNA 30 ng, 引物 F、R 各 0.05 μ M, 0.2 mM 的 dNTP, 1.5 mM 的 $MgCl_2$ 、10 \times PCR 缓冲液 2.5 μ l 和 1 U 的 *Taq* DNA 聚合酶。扩增程序为: 94 3 min; 94 30 s, 60 1 min, 72 90 s, 循环 35 次; 72 10 min。

1.5 PCR 产物的克隆和测序

PCR 产物经过 1% 琼脂糖电泳分离后, 用 E.Z.N.A Gel Extraction Kit 进行目的片段的纯化回收。回收产物经连接反应连接到 pMD18-T Vector 上, 再将重组质粒转化到大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 感受态细胞中, 通过挑斑培养、菌液电泳筛选出滞后菌液, 提取滞后菌液的质粒同时进行 PCR 检测和酶切鉴定。PCR 的体系和程序同前, 只是用质粒 DNA 替代了基因组 DNA; 根据载体的酶切位点, 选取了 *EcoR*、*Hind* 两种限制性内切酶进行双酶切, 37 恒温消化 2~3 h 后再 65 灭活酶活性 5 min。最后将可能带有目的片段的 3 管独立的菌液送由 Invitrogen 公司用通用引物进行正、反双向测序。

1.6 序列的系统发育进化分析

登录 NCBI 进行在线 BLAST 比对选取序列, 首先选取 *Vairimorpha* 属的模式种纳卡变形孢虫 (*Vairimorpha necatrix*) 及同属的其他微孢子虫, 由于 *Vairimorpha* 属的其中一种孢子发育形态与 *Nosema* 属相似, 说明 *Nosema* 属与 *Vairimorpha* 属可能存在亲缘关系, 故选取 *Nosema* 属的模式种家蚕微孢子虫 (*Nosema bombycis*), 同时参考序列相近长度选择与裳卷蛾变形孢虫相似性很高和中等的微孢子虫, 并选取寄生哺乳动物且 DNA 基因组最小的脑炎微孢子虫 *Encephalitozoon cuniculi* (GenBank X98470) 为外群, 采用 ClustalX1.83 和 MEGA4.0 软件构建系统发育进化树, 方法为 NJ (Neighbor-joining) 法。

2 结果和分析

2.1 裳卷蛾变形孢虫 SSU rRNA 基因的核苷酸序列

以裳卷蛾变形孢虫 DNA 为模板进行 PCR 扩增反应后, 电泳检测, 在 DL2000 的对照下, 明显看到 1000 bp 到 2000 bp 之间约 1/3 处有一条清晰的条带 (图 1-A); 将两个滞后菌液的质粒同时进行 PCR 检验和双酶切检验, 酶切片段形成两个条带, 2000 bp 以上的为载体序列, 1000~2000 bp 之间的条带为目的片段, PCR 检验也证实了目的片段的存在 (图 1-B)。

经过 3 个独立克隆测定序列相同, 序列长度为 1228 bp, 在 NCBI/GenBank 核苷酸数据库中的登录号为 EU267796。

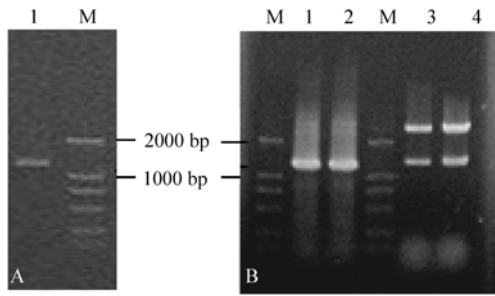


图 1 裳卷蛾变形孢虫 SSU rRNA 基因的 PCR 扩增(A)和阳性克隆的鉴定(B)

Fig.1 PCR Amplification (A) and Identification of fragment positive bacteria clones (B) of *Vairimorpha ceraces* SSU rRNA gene. M. Marker DL2000; A: 1. F, R/ *Vairimorpha ceraces* genomic DNA; B: 1,2. The product of recombinant Plasmid amplified by PCR; 3, 4. Recombinant plasmid digested by enzyme *EcoR* and *Hind* .

2.2 裳卷蛾变形孢虫与 *Vairimorpha* 属的同源分析

将裳卷蛾变形孢虫的 SSU rRNA 序列在 NCBI 上通过 BLAST 比对, 发现与其相似的序列基本都来自于 *Vairimorpha* 属和 *Nosema* 属, 它与 *Vairimorpha* 属的模式种 *Vairimorpha necatrix* 的相似性为 71%。GenBank 上登录的 *Vairimorpha* 属 SSU rRNA 序列中长度在 1100~1400bp 之间的序列有 11 条。用 Bioxm2.6 软件进行序列的两两比对, 发现裳卷蛾变形孢虫与 *Vairimorpha* sp. (GenBank AF124331) 和 *Vairimorpha imperfecta* (GenBank AJ131645) 的相似性均达到了 99%。用 ClustalX1.83 和 MEGA4.0 软件进行多序列的比对分析, 并构建了系统发育进化树 (图 2)。

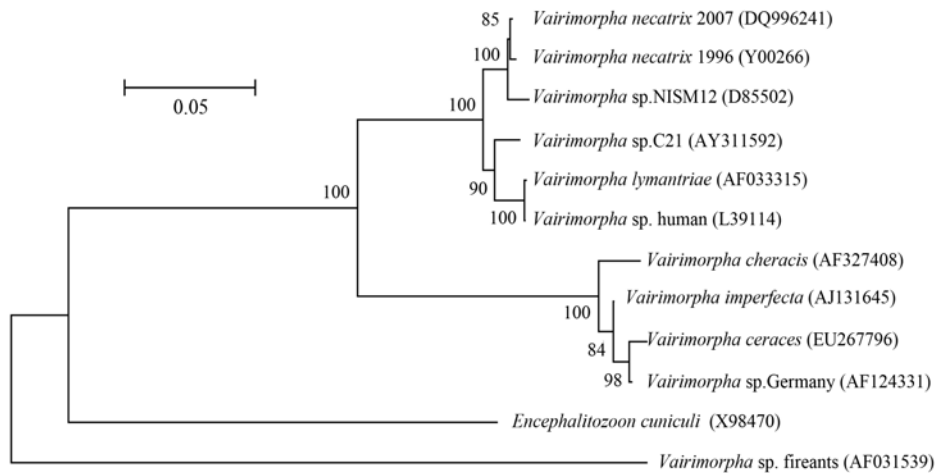


图 2 *Vairimorpha ceraces* 与 *Vairimorpha* 属部分序列的系统发育进化树

Fig.2 Phylogenetic tree based on comparing SSU rRNA sequences of *Vairimorpha ceraces* with those selected from other *Vairimorpha* species. The numbers at the nodes indicate the levels of bootstrap support (%) based on 1000 resampled data sets. Names in the brackets refer to GenBank accession number for each organism. The scale bar represents 0.05 substitutions per nucleotide position. Microsporidian species and its corresponding host is *Vairimorpha ceraces*-*Cerace stipatana*, *Vairimorpha* sp.NISM12-*Bombyxmori*, *Vairimorpha necatrix*2007-*Pseudaletia unipuncta*, *Vairimorpha necatrix*1996-*Pseudaletia unipuncta*, *Vairimorpha cheracis*-*Australian yabby*, *Vairimorpha* sp.C21-*No information given*, *Vairimorpha lymantriaae*-*gypsy moths*, *Vairimorpha imperfecta*-*Plutella xylostella*, *Vairimorpha* sp.Germany-*Plutella xylostella*, *Vairimorpha* sp.-*fire ants*, *Vairimorpha* sp.-*Human*, *Encephalitozoon cuniculi*-*Homo sapiens*, respectively.

Vairimorpha ceraces 与它们的相似性较高, 在进化树中聚为一个小类群, 表明它们的同源关系最近。*Vairimorpha* 属的模式种 *Vairimorpha necatrix* 以及 *Vairimorpha lymantriaae*、*Vairimorpha* sp.NISM12 虽然也分离于鳞翅目昆虫, 但与它们却分属两个相邻的大类群。

从火蚁 (fire ants) 上分离的 *Vairimorpha* sp. 在系统发育进化树中远离 *Vairimorpha* 属, 甚至处于更外群的位置, 表明它与 *Vairimorpha* 属间根本不存在近

的亲缘关系, 它的分类值得探讨^[11]。

2.3 裳卷蛾变形孢虫与 *Vairimorpha* 属和 *Nosema* 属的同源分析

在 NCBI 的在线 BLAST 比对结果中发现裳卷蛾变形孢虫与 *Nosema* 属的部分微孢子虫的相似性高达 97%, 于是选取了相似性从 70%~97% 不等的 *Nosema* 属微孢子虫与 *Vairimorpha* 属微孢子虫一同构建系统发育进化树 (图 3)。

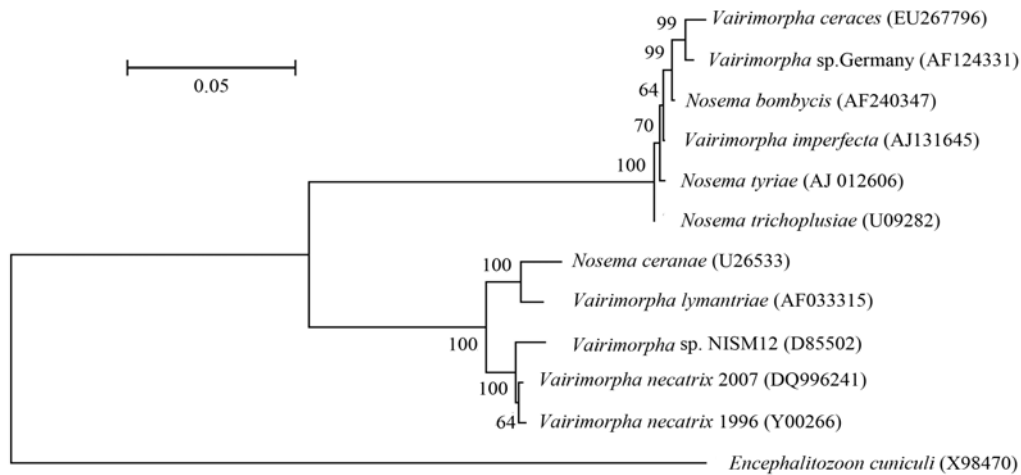


图3 *Vairimorpha ceraces* 与 *Vairimorpha* 属和 *Nosema* 属部分序列的系统发育进化树

Fig.3 Phylogenetic tree of SSU rRNA sequences to compare *Vairimorpha ceraces* with selected sequences from other *Vairimorpha* and *Nosema* species. The numbers at the nodes indicate the levels of bootstrap support (%) based on 1000 resampled data sets. Names in the brackets refer to GenBank accession number for each organism. The scale bar represents 0.05 substitutions per nucleotide position. Microsporidian species and its corresponding host is *Nosema ceranae*-*Apis cerana*, *Nosema trichoplusiae*-*Trichoplusia ni*, *Nosema bombycis*-silkworm, *Nosema tyriae*-*Tyria jacobaeae*, respectively.

加入部分 *Nosema* 属的微孢子虫 SSU rRNA 序列后,构建的进化树中出现了两个属交叉聚为一类的现象。*Vairimorpha imperfecta*、*Vairimorpha* sp.Germany 和 *Vairimorpha ceraces* 与分离于鳞翅目昆虫的 *Nosema bombycis*、*Nosema trichoplusiae*、*Nosema tyriae* 形成一个进化枝,可见它们的同源关系很近;与分离于鳞翅目昆虫的同属微孢子虫 *Vairimorpha necatrix*、*Vairimorpha* sp. NISM12 和 *Vairimorpha lymantriae* 仍分属两个相邻的类群。分离于双翅目昆虫的 *Nosema ceranae* 却与 *Vairimorpha* 属模式种 *Vairimorpha necatrix* 的相似性更高,处于相近的位置上而聚为一个类群。Pieniazek 等 (1996)测定了 *Nosema trichoplusiae* 的 SSUr DNA 序列(1233 bp),发现其与家蚕微孢子虫的 SSUr DNA 序列完全一致,认为它是家蚕微孢子虫的同种异名^[12]。

3 讨论

构建的系统进化树均采用 NJ 法 (Saitou and Nei, 1987)^[13]。它不仅会根据距离矩阵搜索最小的成对距离,而且会搜索使整个树高最小的相邻集,所以它是应用最广泛的距离建树方法,可以产生有意义的进化树,尤其适用于进化距离较短的情况^[14]。

在 Sprague (1992) 建立的微孢子虫生物学分类系统中, *Vairimorpha* 属归属于 Burenellidae 科

(Jouvenaz and Hazard, 1978), 而 *Nosema* 属归属于 Nosematidae 科 (Labbe, 1899)^[15]。但用 SSUr RNA 序列构建这两个属之间的进化树时,如图 4 这种 *Nosema* 属和 *Vairimorpha* 属交叉聚为一类的现象一直存在。Baker et al. (1994) 用多种 *Nosema* 属和 *Vairimorpha* 属微孢子虫 SSU rDNA 序列构建的系统发育进化树中,寄主同为鳞翅目昆虫的 *Vairimorpha* 属和 *Nosema* 属微孢子虫同源关系更近;1996 年, Fries et al. 也发现寄生于蜜蜂的 *Nosema apis* 和 *Nosema ceranae*, 与 *Vairimorpha necatrix* 的同源程度甚于其他寄主为鳞翅目昆虫的 *Nosema* 属;1999 年 Canning et al. 同样发现寄主为鳞翅目昆虫的 *Vairimorpha imperfecta* 与寄主为鳞翅目昆虫的 *Nosema* 属同源性更高^[16]。用 LSU rRNA 序列进行 *Nosema* 属和 *Vairimorpha* 属的进化分析时,同样也证实了这一现象^[17]。因此, Canning et al. (1999) 曾建议在更多的序列数据可利用之前,将 *Nosema* 属和 *Vairimorpha* 属的所有种同归属于 Nosematidae 科更为合适^[16]。

也有研究认为 *Nosema* 属和 *Vairimorpha* 属的祖先同时存在着二孢子生殖和八孢子生殖的能力,只是在漫长的进化过程中, *Nosema* 属已经丧失了进行八孢子生殖的能力,而 *Vairimorpha* 属的部分种,如 *Vairimorpha imperfecta*、*Vairimorpha* sp.Germany 和 *Vairimorpha ceraces* 丧失了部分八孢子生殖的能力,

而像 *Vairimorpha necatrix* 则完全保留着八孢子生殖的能力。Pilley^[18] 和井上等^[19] 也分别描述过 *Vairimorpha* 属的其中一种孢子二型性与 *Nosema* 属相似,这也说明了 *Nosema* 属与 *Vairimorpha* 属存在着较近的亲缘关系。另外 Andersson 的观点认为专营细胞内寄生的生物与独立生长的生物所处的环境是不同的,它们生长在受宿主基因组控制的环境里,在进化过程中可能会和宿主协同进化^[20]。

Canning *et al.* (1999) 对 *Vairimorpha imperfecta* 的分类和命名进行研究时,虽然在构建的系统发育进化树中它与分离于鳞翅目昆虫的 *Nosema* 属微孢子虫聚为一个类群,但是结合它的形态学特征,确定了它是 *Vairimorpha* 属的成员。本实验对裳卷蛾变形孢虫 (*Vairimorpha ceraces*) SSU rRNA 核心序列进行了克隆和进化分析,虽然它也与分离于鳞翅目昆虫的 *Nosema* 属微孢子虫聚为一个类群,但与之同源性最高的仍是分离于小菜蛾的 *Vairimorpha* sp. Germany。而且在万永继等(2005)对其进行的生物学研究中,观察到孢子形成方式既有八孢囊体也有二孢子母细胞的生活史发育特征,二孢子母细胞发育类型产生双核孢子,八孢囊体孢子为单核^[8],属于变形孢虫属的典型特征,因此,裳卷蛾变形孢虫确实是 *Vairimorpha* 属的成员,但根据 Canning *et al.* (1999) 将 *Vairimorpha* 属归入 Nosematidae 科的建议^[16],裳卷蛾变形孢虫归入 Nosematidae 科也许更为合适。

参 考 文 献

- [1] Peyretailade E, Biderre C, Peyret P, *et al.* Microsporidium *Encephalitozoon cuniculi*, a unicellular eukaryote with an unusual chromosomal dispersion of ribosomal genes and a LSU rRNA reduced to the universal core. *Nucl Acids Res*, 1998, 26(15): 3513–3520.
- [2] Turner PC, McLennan AG, Bates AD, *et al.* 分子生物学. 刘进元,李文君,王薛林,等译.第二版.北京:科学出版社,2001.
- [3] 潘敏慧,万永继,鲁成,等.家蚕内网虫属微孢子虫核糖体小亚单位 RNA(SSU rRNA)核心序列的克隆和序列分析.动物学报(*Acta Zoologica Sinica*), 2003, 49(3): 414–420.
- [4] Hatakeyama Y, Kawakami Y, Iwano H, *et al.* Analyses and taxonomic inferences of small subunit ribosomal RNA sequences of five microsporidia pathogenic to the silkworm, *Bombyx mori*. *J Invertebr Pathol*, 1997, 66(4): 242–252.
- [5] Sprague V, Becnel J, Hazard EI. Taxonomy of phylum microsporidia. *Crit Rev Microbiol*, 1992, 18: 285–395.
- [6] 万永继,沈佐锐.微孢子虫归类于真菌的评论.菌物学报(*Mycosystema*), 2005, 24(3): 468–471.
- [7] Medeiros J, Tavares J, Simoes N. A new isolate of the microsporidium *Vairimorpha necatrix* (Microsporidia, Burenellidae) recorded in the azores. *J Invertebr Pathol*, 2004, 85: 58–60.
- [8] 万永继,刘仁华,沈佐锐.寄生于龙眼裳卷蛾的微孢子虫一新种(微孢子虫门,布雷孢虫科).动物分类学报(*Acta Zootaxonomica Sinica*), 2005, 30(2): 291–294.
- [9] 潘敏慧,万永继,鲁成.不同种类微孢子虫 DNA 制备方法的研究.西南农业大学学报(*Journal of Southwest Agricultural University*), 2001, 23(2): 111–116.
- [10] 林加涵,魏文玲,彭宣宪.现代生物学实验.第一版.北京:高等教育出版社,2001.
- [11] Bettina A, Moser B A, James J, *et al.* Analysis of the ribosomal DNA sequences of the microsporidia *Thelohania* and *Vairimorpha* of fire ants. *J Invertebr Pathol*, 1998, 72: 154–159.
- [12] Pieniazek N J, da Silva A J, Slemenda S B, *et al.* *Nosema trichoplusiae* is a synonym of *Nosema bombycis* based on the sequence of small subunit ribosomal RNA coding region. *J Invertebr Pathol*, 1996, 67 (3): 316–317.
- [13] 蔡禄编著.生物信息学教程.第一版.北京:化学工业出版社,2006.
- [14] Gibas C, Jambeck P. 生物信息学中的计算机技术.孙超,郭庆民,刘相国,等译.第一版.北京:中国电力出版社,2002.
- [15] Elizabeth G, Moodie LF, Jambre L, *et al.* Ultrastructural characteristics and small subunit ribosomal DNA sequence of *Vairimorpha cheracis* sp. nov., (Microspora: Burenellidae), a parasite of the Australian yabby, *Cherax destructor* (Decapoda: Parastacidae). *J Invertebr Pathol*, 2003, 84: 198–213.
- [16] Canning EU, Curry A, Cheney S, *et al.* *Vairimorpha imperfecta* n.sp., a microsporidian exhibiting an abortive octosporous sporogony in *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Parasitology*, 1999, 119: 273–286.
- [17] Baker MD, Vossbrinck CR, Maddox JV. Phylogenetic relationships among *Vairimorpha* and *Nosema* species (microspora) based on ribosomal RNA sequence data. *J Invertebr Pathol*, 1994, 64: 100–106.
- [18] Pilley BM. A new genus, *Vairimorpha* (Protozoa:Microspora) for *Nosema necatrix* Kramer 1965: pathogenicity and life cycle in *Spodoptera exempta* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Invertebr Pathol*, 1976, 28(2): 177–183.
- [19] 井上志の,安永智佐,舟越正子,等.家蚕病原性微孢子虫 *Vairimorpha* sp. NIS- M12 在昆虫培养细胞系中的接种与感染增殖.日蚕杂,1995, 64(1): 39–45.
- [20] Andersson S, Kurland C. Reductive evolution of resident genomes. *Trends Microbiol*, 1998, 6: 263–268.

Cloning and phylogenetic analysis of small subunit ribosomal RNA core sequence of *Vairimorpha ceraces* (Microspora : Burenellidae) from the insect of Lepidoptera, *Cerace stipatana* (Walker)

Luyun Ma, Zeng Tu, Yingwei Xue, Jinfang Wang, Yongji Wan*

(College of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: [Objective] *Vairimorpha ceraces* is a new microsporidium that isolated from the insect of *Lepidoptera*, *Cerace Stipatana* (Walker). We used 16S rDNA sequence to explore genetic status of *Vairimorpha ceraces*. [Methods] SSU rDNA (small subunit ribosomal RNA) of *Vairimorpha ceraces* was cloned and sequenced for constructing phylogenetic tree through Neighbor-joining. [Results] The core sequence of SSU rRNA of *Vairimorpha ceraces* with a length of 1228 nucleotides (GenBank EU267796) was successfully cloned and sequenced. Phylogenetic analysis showed that *Vairimorpha ceraces* was closer to the species of *Vairimorpha* sp. Germany (GenBank AF124331) and *Vairimorpha imperfecta* (GenBank AJ131645), both isolated from *Plutella xylostella*. The three species of genera *Vairimorpha* included *Vairimorpha ceraces* formed a clade with the *Nosema* spp. which from *Lepidoptera* host in phylogenetic tree. Conversely, other three *Vairimorpha* spp. from *Lepidoptera* (*Vairimorpha necatrix*, *Vairimorpha* sp. NISM12 and *Vairimorpha lymantriae*) were mixed with *Nosema* spp. from non-lepidopteran host in the other clade. [Conclusion] Combined with the biological characters, *Vairimorpha ceraces* was a member of genera *Vairimorpha*, Family Nosematidae.

Keywords: *Vairimorpha ceraces*, *Cerace stipatana* Walker, SSU rRNA (small subunit ribosomal RNA), Cloning, Phylogenetic analysis

Supported by the Chinese National Natural Science Foundation (30271006)

*Corresponding author. Tel: +86-23-68251585; E-mail: canbl3312@126.com

Received: 19 May 2008/ Revised: 1 August 2008

1953 年创刊以来所有文章全文上网

2008 年 1 月中旬,《微生物学报》自 1953 年创刊以来的文章全文上网啦!欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文!

建立全文数据库的工作是从 2007 年初开始的,经过多方人员的共同努力,历经半年多时间成功完成。由于《微生物学报》历史悠久,其间经历了期刊的变化,变化情况统计如下,以供读者查阅参考。

《微生物学报》刊、期统计表

2008 年 11 月统计

| 时间 | 刊期 | 卷号 | 期号 |
|-----------|---------|-------|------|
| 1953~1956 | 半年刊 | 1~4 | 1~2 |
| 1957~1958 | 季刊 | 5~6 | 1~4 |
| 1959 | 季刊 | 7 | 1~2 |
| 1959~1962 | 停刊 3 年 | | |
| 1962 | 季刊 | 8 | 3~4 |
| 1963~1965 | 季刊 | 9~11 | 1~4 |
| 1966 | 季刊 | 12 | 1~2 |
| 1966~1972 | 停刊 6 年半 | | |
| 1973~1988 | 季刊 | 13~28 | 1~4 |
| 1989~2007 | 双月刊 | 29~47 | 1~6 |
| 2008 | 月刊 | 48 | 1~11 |