

重寄生车轮虫宿主新记录及种内分化研究

唐发辉 蒋玉椒 秦微微 夏萍 赵元若

NEW HOST RECORD AND STUDY ON INTRASPECIFIC DIFFERENTIATION OF *TRICHODINA HYPERPARASITIS* CHEN & HSIEH, 1984

TANG Fa-Hui, JIANG Yu-Jiao, QIN Wei-Wei, XIA Ping, ZHAO Yuan-Jun

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2025.2024.0314>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

基于SSU rDNA序列的网状车轮虫群体遗传结构及多样性研究

GENETIC STRUCTURE AND DIVERSITY OF *TRICHODINA RETICULATA* HIRSCHMAN & PARTSCH, 1955 POPULATIONS BASED ON SSU rDNA SEQUENCE

水生生物学报. 2022, 46(9): 1412–1419 <https://doi.org/10.7541/2022.2021.0328>

寄生于罗非鱼的刺纹车轮虫种群分析及其寄主偏好性研究

POPULATION ANALYSIS AND HOST PREFERENCE OF *TRICHODINA CENTROSTRIGATA* BASSON, VAN AS & PAPERNA, 1983 FROM TILAPIA

水生生物学报. 2020, 44(6): 1247–1255 <https://doi.org/10.7541/2020.145>

大亚湾养殖鱼类寄生车轮虫的种类组成与季节动态

SPECIES COMPOSITION AND SEASONAL DYNAMICS OF PARASITIC TRICHODINIDS OF CULTURED FISHES IN DAYA BAY

水生生物学报. 2020, 44(6): 1256–1262 <https://doi.org/10.7541/2020.146>

基于附着盘特征量化的眉溪小车轮虫种内研究

INTRASPECIFIC STUDY OF *TRICHODINELLA MYAKKAE* (MUELLER, 1937) RMEK–HUEK, 1953 BASED ON THE CHARACTERISTICS QUANTIZATION OF ADHESIVE DISC

水生生物学报. 2023, 47(10): 1649–1658 <https://doi.org/10.7541/2023.2022.0423>

重庆地区眉溪小车轮虫及其与近缘种的比较

TRICHODINELLA MYAKKAE (MUELLER, 1937) RMEK–HUEK, 1953 IN CHONGQING AREA AND COMPARAISON WITH ITS RELATED SPECIES

水生生物学报. 2021, 45(6): 1371–1380 <https://doi.org/10.7541/2021.2020.289>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2025.2024.0314

CSTR: 32229.14.SSSWXB.2024.0314

重寄生车轮虫宿主新记录及种内分化研究

唐发辉^{1*} 蒋玉椒¹ 秦微微² 夏萍² 赵元若^{1*}

(1. 重庆师范大学生命科学学院, 动物生物学重庆市高校重点实验室, 重庆 401331; 2. 重庆师范大学淡水鱼类资源保护与利用重庆市重点实验室, 重庆 401331)

摘要: 为探索重寄生车轮虫(*Trichodina hyperparasitis* Chen & Hsieh, 1984)种内分化的影响因素, 研究通过广泛采样分离获得寄生于乌鳢(*Channa argus*)与月鳢(*Channa asiatica*)鳃部的重寄生车轮虫3个地理株系, 即重庆沙坪坝乌鳢寄生株系(S株系)、重庆大足乌鳢寄生株系(D株系)与贵州凯里月鳢寄生株系(K株系), 其中贵州凯里为重寄生车轮虫的地理新记录, 月鳢为其宿主新记录。结合形态学与分子证据对重寄生车轮虫不同株系进行了比较研究, 基于附着盘形态学量化与主成分分析的研究结果显示: 三地理株系在虫体大小方面存在显著差异, 其中S株系是虫体最大的株系($P<0.05$), 也是齿体最长的株系($P<0.05$), K株系是齿体数最少的株系; S株系与K株系在附着盘整体结构与齿体形态方面存在一定的种内差异($P<0.05$); 基于SSU rDNA序列的株系比较结果显示, K株系与其他2株系间存在10个碱基变异位点, 但3株系间序列相似度为99.45%—100%, 遗传距离为0.001—0.003; 基于SSU rDNA的系统发育分析显示, 重寄生车轮虫与近缘种之间形成了宿主种类特有的单系, 即“鲈形目Perciformes支系”与“鲇形目Siluriformes支系”; 同时在其种内也形成了宿主种群特有的单系, 即“乌鳢支系”与“月鳢支系”。综合研究结果表明, 重寄生车轮虫并非一定营“重寄生”生活, 且偏好寄生于鳢属(*Channa*)鱼类; 其中乌鳢寄生的两株系间较近缘, 与月鳢寄生的株系间则较远缘, 且各株系间已存在一定程度的遗传分化与形态分化; 推测对于外寄生车轮虫而言, 第一生境即宿主的类型可能是影响车轮虫种间或种群分化最直接的因素。

关键词: 新记录; 种内分化; SSU rDNA; 鳢属鱼类; 重寄生车轮虫

中图分类号: S941.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2025)06-062506-10



车轮虫(Trichodinid)泛指一大类具有特征性圆形附着盘结构以便附着于宿主的游走类纤毛虫, 常包含2个科, 即车轮虫科(Trichodinidae)和壶形虫科(Urceolariidae), 其中以车轮虫科(Trichodinidae)的种类最多, 分布最为广泛, 海淡水均有分布^[1]。就寄生部位而言, 由于它们主要寄生于水生动物的体外或靠近体外的部位, 如鱼类的鳃部与体表、贝类的外套腔、两栖类的泄殖腔等, 故常称之为外寄生车轮虫^[2-5]。在水产养殖中, 大量暴发的车轮虫常成为水产养殖动物重要的致病病原, 从而引发鱼类种苗的大量死亡, 进而易造成严重的渔业经济损失^[6-8]。

乌鳢(*Channa argus*)俗称乌鱼, 隶属于鲈形目(Perciformes) 鳢科(Channidae) 鳢属(*Channa*), 主要分布于我国各大水系, 为一类淡水底栖肉食性鱼类; 由于生长快, 肉肥味美加少刺, 故成为重要经济养殖鱼类。月鳢(*Channa asiatica*) 俗称七星鱼, 同为鳢属底栖鱼类, 主要分布于我国长江以南等地, 因其具较高的食用、药用及观赏价值, 已成为我国的淡水养殖鱼类^[9]。二者野生类群极少生病, 养殖类群却频发寄生虫病, 尤其苗种常受车轮虫病害的影响。

重寄生车轮虫(*Trichodina hyperparasitis* Chen &

收稿日期: 2024-08-14; **修订日期:** 2024-09-06

基金项目: 国家自然科学基金(31970409); 重庆市自然科学基金(CSTC2018jcyjAX0808); 重庆市教委科学技术研究项目(KJQN201800508)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31970409); the National Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2018jcyjAX0808); Science & Technology Research Foundation of Education Committee of Chongqing (KJQN201800508)]

通信作者: 唐发辉, 女, 博士, 教授; 主要从事鱼类寄生虫学研究。E-mail: trichodina@126.com 赵元若, 女, 博士, 教授; 主要从事鱼类寄生虫学研究。E-mail: zhaoyuanjuncnu@126.com *共同通信作者

Hsieh, 1984)是淡水养殖中的车轮虫病原之一,最早由我国著名学者陈启鏊与谢杏人^[10]于1984年首次发现寄生于我国湖北地区的乌鳢(*Channa argus*)鳃上的中华狭腹蛭(*Lampraglena chinensis*),当时发现主要附着于中华狭腹蛭的腹部,从蛭体上脱落后,亦可在乌鳢鳃上寄生。由于蛭寄生于乌鳢,车轮虫寄生于蛭,进而产生了双重寄生现象,故名重寄生车轮虫。自该虫被首次定种描述后,近40年来仅在四川成都与江西鄱阳湖地区的乌鳢鳃上发现其寄生(但并未在乌鳢鳃上发现中华狭腹蛭)^[11-13],迄今暂未发现乌鳢之外的宿主。因此,重寄生车轮虫是否一定营“重寄生”生活方式?是否为乌鳢的专性寄生虫或存在宿主偏好性?如果存在其他宿主,那么来自不同地区或不同宿主的重寄生车轮虫群体或种群是否存在差异?这些都是有待进一步解决的问题。此外,鉴于当前GenBank中缺乏有效的重寄生车轮虫分子数据,故在一定程度上阻碍了该物种相关研究的纵深拓展。因此,本研究在广泛采样的基础之上,首次获得重寄生车轮虫的分子数据,并基于形态量化与分子数据对重寄生车轮虫进行种群差异性比较研究,旨在探索影响该类寄生纤毛虫种内分化的因素,以及与近缘种之间的进化关系,同时也为水产养殖中车轮虫病害的防治提供第一手的参考资料。

1 材料与方法

1.1 样本采集与物种鉴定

宿主鱼乌鳢与月鳢于2019—2024年期间分别采自重庆与贵州两地的养殖渔场,其中乌鳢分别采自于重庆大足区与沙坪坝区,月鳢采自贵州凯里地区。由于本研究中的重寄生车轮虫分别来自3个不同的地区(重庆大足、重庆沙坪坝和贵州凯里),因此,为了后续简要便捷地描述,现将3个不同地区来源的重寄生车轮虫株系分别命名为重庆大足株系(D株系)、重庆沙坪坝株系(S株系)与贵州凯里株系(K株系),分别简称*T. hyperparasitis* (D)、*T. hyperparasitis* (S)与*T. hyperparasitis* (K)。

野外采集的宿主鱼首先进行肉眼观察以检查鱼体是否具有明显的病症;如果为活体样本,经MS-222麻醉剂安乐死后立即进行解剖镜检,重点对感染车轮虫的宿主鱼进行鳃涂片,空干后的鳃涂片采用干银法进行车轮虫附着盘的染色^[14]。LEICA DM6000B全自动光学显微镜进行车轮虫附着盘银染标本的显微拍照(1000×)。车轮虫的形态描述及测量依据Lom^[15]的统一特定方法进行;齿体定位图借助软件CorelDRAW X8绘制;齿体定位描述则依

据Van As和Basson^[16]倡导、唐发辉等^[17]补充的方法进行。重寄生车轮虫的物种鉴定主要结合形态学与分子生物学证据完成。

1.2 附着盘形态量化的差异性分析

基于重寄生车轮虫3株系的附着盘结构的形态学测量数据,利用SPSS Statistics进行附着盘的形态量化比较分析,具体参照唐发辉等^[18]提出的方法进行,重点开展单因素方差分析(ANOVA)。同时采用Past3软件对11项附着盘形态学特征(虫体直径、附着盘直径、缘膜宽、齿环直径、齿体纵长、齿长、齿钩长、齿锥宽、齿棘长、齿体数及辐线数)进行了主成分分析(PCA)。

1.3 DNA提取、扩增、克隆与测序

对于重寄生车轮虫每个株系的样本,于Nikon SMZ1500显微操作系统下使用玻璃微吸管吸取1—2只虫体,无菌水洗涤纯化后,采用Sigma试剂盒(REDEExtract-N-AmpTM Tissue PCR Kit)进行基因组DNA的提取,并将成功提取的基因组DNA置于-20℃冰箱保存备用。SSU rDNA扩增的上下游引物分别为82F (5'-GAAACTGGGAATGGCTC-3')和LSUR (5'-GTTAGTTTCTTTCTCCCGC-3'),PCR反应程序参照相关文献^[19, 20]设定。所获PCR产物进行1%的琼脂糖凝胶电泳检测,并将带有目的片段的PCR产物采用DNA凝胶回收试剂盒(Omega Bio-Tek, Norcross City, GA)进行纯化回收,然后再将回收产物与pMD18-T载体(TaKaRa, Japan)联结后进行单克隆培养,成功克隆的每个样本选送3个克隆子送至英潍捷基(上海)贸易有限公司测序,测序结果完全一致后方可使用。

1.4 序列来源与分析

本研究新获得重寄生车轮虫3株系(S株系、D株系与K株系)各1条SSU rDNA序列,其序列长度分别为1838、1903和1833 nt,提交GenBank后获得序列登录号分别为PQ145195、PQ149211与PQ149212。基于这3条序列,使用GenBank的BLAST工具进行序列同源性比对,根据比对结果,选取同源性较高的30条游走类纤毛虫的有效序列,其中包含车轮虫科4属(车轮虫属*Trichodina* 22条、小车轮虫属*Trichodinella* 3条、三分虫属*Tripartiella* 2条、拟车轮虫属*Paratrachodina* 1条)与壶形虫科1属(壶虫形属*Urceolaria* 2条)。另外,选用两种固着类纤毛虫(聚缩虫属*Zoothamnium* 1条与钟虫属*Vorticella* 1条)为外群构建系统发育树。

通过Clustal W程序按照默认参数进行序列多重比对,序列相似度采用在线比对工具(<http://www.ebi.ac.uk/Tools/psa/>)计算完成;遗传距离基于K2P

模型并通过软件MEGA 6.0计算完成^[21]; SSU rDNA一级结构序列的变异位点分析则采用 Bioedit 软件完成。

1.5 系统发育分析

本研究共计选用35条纤毛虫序列(包括本研究新获得的重寄生车轮虫3个序列)进行贝叶斯树(BI树)与最大似然树(ML树)的构建; 其中BI树借助MrBayes 3.1.2 软件构建完成, Modeltest 3.7 计算筛选最优进化模型为GTR+I+G, 共运行 10000000 代, 每 200 代抽样 1 次, 在舍弃25%的老化样本后, 再依据剩余样本构建一致树。ML树则采用在线网站软件CIPRES Science Gateway V.3.1 (http://www.phylo.org/sub_sections/portal), 选用 RAxMLHPC2 XSEDE (8.2.12)模式构建完成^[22, 23]。最后通过FigTree v1.4.2 及Photoshop CS6 软件完成系统发育树的绘制。

2 结果

2.1 重寄生车轮虫形态学重描述与株系比较

中型淡水车轮虫虫体较高且侧面观似盔状(图 1A 和 1B)。附着盘中构成齿体的齿钩较发达呈镰刀状, 位于Y到Y+1轴空间中, 齿钩外切缘与缘膜不平行, 骨突略钝且大多数略低于外切缘, 齿钩前后缘光滑近平行, 无明显钩突及后突起; 齿钩连接纤细; 齿锥较发达且嵌合紧密, 齿锥顶点圆钝, 超过1/2YY-1且接近Y-1轴; 齿棘细长略向前倾或紧贴Y轴, 齿棘顶点稍钝并指向附着盘中央, 无明显棘突(图 1C)。

关于重寄生车轮虫不同株系的采集信息及形态测量数据比较具体见表 1, 其中采集信息所涉及的感染强度的具体划分标准界定: 光镜下放大 10×10倍后1个视野内平均虫体数为1—5为轻度; 虫体数6—10为中度; 虫体数>10为重度。

2.2 重寄生车轮虫附着盘形态量化差异分析

根据附着盘形态结构多重比较结果(表 2): S株

系同时与D、K两株系在虫体直径与附着盘直径方面存在显著差异($P<0.05$), 说明S株系显著大于二者; 就齿环直径而言, 仅S株系与K株系间存在显著差异($P<0.05$), 说明S株系显著大于K株系; 就缘膜宽而言, D株系与两个株系(S株系与K株系)存在显著差异($P<0.05$), 说明D株系显著小于其他两株系; 在齿体纵长方面, S株系也同时与D、K两株系间存在显著差异($P<0.05$), 说明S株系显著长于后两者; 就齿体数而言, K株系显著少于其他二者($P<0.05$)。

附着盘形态结构比值的统计分析结果显示(表 3): S株系与K株系在两大比值, 即齿环直径/虫体直径(dd/db)与齿长/齿体纵长(l/s)方面均存在显著差异($P<0.05$), D株系与K株系则在齿长/齿体纵长(l/s)与齿钩长/齿体纵长(b/s)方面均存在显著差异($P<0.05$)。

基于附着盘结构的主成分分析(PCA)结果(图 2): 3株系的散点图均不同程度相互重叠, 但相较而言, S株系与K株系重叠最少, 以此说明在3株中, S株系与K株系间差异最大。

2.3 重寄生车轮虫SSU rDNA的分子特征

基于重寄生车轮虫3株系的SSU rDNA一级结构的序列比对结果: 以S株系序列(1832 nt)为参照模板, K株系较之有10个碱基变异位点(5个转换位点, 4个颠换位点, 1个插入位点), D株系较之则仅存在2个颠换变异位点。

基于SSU rDNA的遗传距离与序列相似度分析结果(表 4), 本研究中的重寄生车轮虫3株系间的序列相似度在99.45%—100%, 遗传距离 0.001—0.003。当其与GenBank中序列相似度最高的几种近缘车轮虫, 即马氏车轮虫*Trichodina matsu* Basson & Van As, 1994, 桑瓦拉车轮虫*Trichodina sangwala* Van As & Basson, 1992, 以及GenBank中登录号为KX904933的同名“重寄生车轮虫”进行比较时, 其序列相

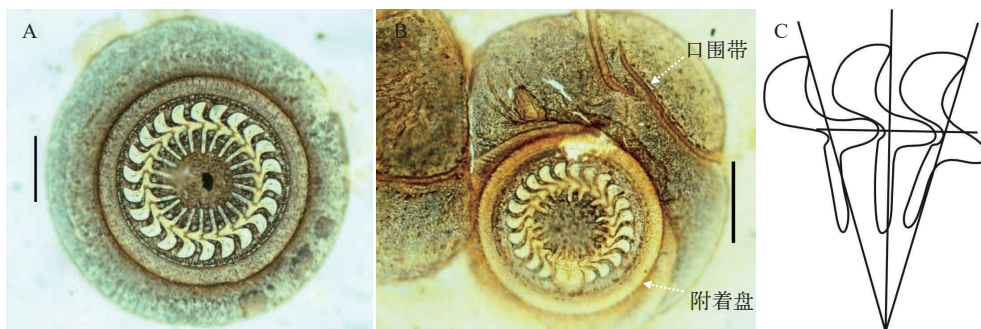


图 1 重寄生车轮虫银染标本及齿体定位线条图(比例尺: 20 μ m)

Fig. 1 Silver impregnated specimens and denticle diagrammatic drawing of *Trichodina hyperparasitis* Chen & Hsieh, 1984 (scale bar: 20 μ m)

A. 反口面结构(发育完全个体); B. 口面与反口面结构(发育中个体); C. 齿体定位线条图

A. aboral structure (developed individual); B. oral and aboral structures (developing individual); C. denticle diagrammatic drawing

似度在97.0%—98.2%, 遗传距离为0.017—0.019。值得注意的是, 登录号为KX904933的所谓“重寄生车轮虫”与本研究的重寄生车轮虫各株系间的序列相似度在98.0%—98.2%, 遗传距离在0.017—0.018, 却与登录号为MN072368的马氏车轮虫序列相似度高达99.81%, 遗传距离为0.001。

2.4 系统发育分析

本研究基于SSU rDNA为分子标记构建的BI树和ML树呈现出完全一致的拓扑结构。系统发育分析结果显示(图3): 本研究中涉及的重寄生车轮虫3株系聚为一支, 其中S株系与D株系先聚支, 然后再与K株系共同形成一大支。另外, 马氏车轮虫*T. matsu* (宿主为黄颡鱼*Tachysurus fulvidraco*)与登录号为KX904933的“重寄生车轮虫”(宿主同为黄颡鱼*T. fulvidraco*)先聚支, 然后再与桑瓦拉车轮虫*T. sangwala* (宿主为鲇*Silurus asotus*)聚成一大支, 该大支与包含重寄生车轮虫三株系的大枝形成姊妹支, 并且该姊妹支正是按宿主鱼类(鲇形目Perci-

formes与鲇形目Siluriformes)分别进行聚支。

3 讨论

3.1 重寄生车轮虫宿主偏好性及种类厘定

正如前言所述, 重寄生车轮虫最早发现寄生于乌鳢(*C. argus*)鳃上的中华狭腹蚤(*L. chinensis*), 属于双重寄生, 故命名为重寄生车轮虫^[10]。但自此之后, 有关该虫种的所有报道均来自乌鳢鳃表^[11–13], 且从未发现乌鳢鳃上同时有中华狭腹蚤寄生。本研究通过广泛采样, 从重庆、贵州两地检获的3株系, 无论在虫体大小、附着盘形态结构及其量度方面, 均与原始种群基本一致(表1), 3株系中的2株系(重庆S株系与D株系)均为乌鳢鳃寄生, 另一株系(贵州K株系)则首次从另一宿主—月鳢(*C. asiatica*)鳃上获取, 同样3株系均未见蚤类的寄生。因此结合前期报道数据, 本研究进一步支持了重寄生车轮虫并非必须营“重寄生”生活。此外, 乌鳢与月鳢同为鳢属(*Channa*)鱼类, 二者生活习性相近, 加上在

表1 重寄生车轮虫不同株系的采集信息及形态测量数据比较

Tab. 1 Morphometric comparison for strains of *T. hyperparasitis*

指标Index	重寄生车轮虫 <i>T. hyperparasitis</i>			
	D株系D strain	K株系K strain	S株系S strain	原始株系Original strain
宿主Host	乌鳢 <i>Channa argus</i>	月鳢 <i>Channa asiatica</i>	乌鳢 <i>Channa argus</i>	乌鳢鳃上中华狭腹蚤 <i>Lampraglena chinensis</i> 湖北武汉
采集地Locality	重庆大足	贵州凯里	重庆沙坪坝	
采集时间Sample time	2019年	2020年	2024年	1984年
采集部位Location	鳃	鳃	鳃	体表(乌鳢鳃)
感染率Prevalence	66.67% (6/9)	58.3% (7/12)	100% (3/3)	75% (9/12)
感染强度Intensity	中度	中度	轻度	/
虫体直径 Body diameter	31.21—54.06 μm (44.12 $\pm$ 5.79)	38.39—49.72 μm (44.5 $\pm$ 3.32)	35.60—59.40 μm (50.61 $\pm$ 5.91)	44.4—58.9 μm (50.2)
附着盘直径 Adhesive disc	25.01—44.75 μm (36.89 $\pm$ 6.33)	29.40—41.16 μm (35.79 $\pm$ 3.21)	28.80—51.80 μm (42.48 $\pm$ 5.79)	36.0—48.0 μm (42.8)
齿环直径 Denticular ring	16.19—26.63 μm (22.87 $\pm$ 4.00)	17.88—24.86 μm (21.83 $\pm$ 1.74)	16.20—30.60 μm (25.67 $\pm$ 3.77)	18.2—22.8 μm (20.2)
缘膜宽 Border membrane	2.62—4.16 μm (3.61 $\pm$ 0.47)	3.82—4.72 μm (4.28 $\pm$ 0.26)	3.40—5.50 μm (4.25 $\pm$ 0.49)	/
齿体数Denticle number	20—25	20—23	21—25	22—26
辐线数Radial pins	7	7—8	8	7—8
齿体纵长 Denticle span	8.95—14.97 μm (11.91 $\pm$ 1.88)	9.39—13.13 μm (11.91 $\pm$ 0.99)	9.50—15.60 μm (13.20 $\pm$ 1.54)	/
齿长 Denticle length	4.42—6.30 μm (5.87 $\pm$ 0.82)	4.18—6.24 μm (5.20 $\pm$ 0.75)	4.10—7.90 μm (6.84 $\pm$ 0.99)	/
齿钩长 Blade length	3.35—4.79 μm (4.04 $\pm$ 0.40)	3.89—6.20 μm (4.78 $\pm$ 0.61)	3.70—6.40 μm (5.24 $\pm$ 0.68)	4.8—6.0 μm (5.4)
齿锥宽 Central part width	1.12—2.07 μm (1.82 $\pm$ 0.35)	1.41—3.43 μm (2.29 $\pm$ 0.59)	1.70—2.80 μm (2.31 $\pm$ 0.35)	/
齿棘长 Ray length	4.04—6.98 μm (5.36 $\pm$ 0.98)	3.45—6.04 μm (4.78 $\pm$ 0.79)	3.10—7.10 μm (5.65 $\pm$ 1.00)	3.6—7.2 μm (5.7)
口围角度	400°	400°	400°	400°
Adoral ciliary spiral				
数据来源Resource	本研究	本研究	本研究	Chen & Hsieh (1984)

注: 本研究的数据统计模式为最小值-最大值(平均值 $\pm$ 标准差); “/”无描述或无数据

Note: The statistic mode of present study is mix-max (mean $\pm$ SD); “/”. No description or data

水产养殖中可将二者混养^[24], 因此这可能为重寄生车轮虫在不同宿主间的传播提供了条件。由于迄今所有关于该种的报道毫无例外地均在乌鳢鳃上发现, 此次的月鳢寄生为首次报道, 故月鳢为重寄生车轮虫的宿主新记录, 贵州为地区新记录。综合当前已有研究推测, 重寄生车轮虫不仅寄生于乌鳢,

也可寄生月鳢, 而二者为鳢属近缘种^[25], 因此推测在宿主寄生特异性方面, 该虫更偏好寄生于鳢属鱼类。当然, 当宿主鱼类被其他类群的大型寄生虫, 如中华狭腹鲩寄生时, 它们亦可在这些寄生虫身上临时附着, 亦或产生对狭腹鲩的偶然寄生? 但这种关系需要更多的研究证据加以验证或揭示。

表 2 重寄生车轮虫不同株系附着盘形态结构多重比较

Tab. 2 Multiple comparison of morphological structure in different stains of *T. hyperparasitis*

分析类别Categories	I 株系Strain	J 株系Strain	均值差 (I—J) Mean difference	显著性P	95% 置信区间95% confidence interval	
					下限Lower limit	上限Upper limit
虫体直径Body diameter	D株系	K株系	-0.382	0.853	-4.520	3.757
		S株系	-6.491*	0.002	-10.457	-2.525
	K株系	D株系	0.382	0.853	-3.757	4.520
		S株系	-6.109*	0.001	-9.653	-2.565
	S株系	D株系	6.491*	0.002	2.525	10.457
附着盘直径Adhesive disc	D株系	K株系	6.109*	0.001	2.565	9.653
		S株系	1.097	0.601	-3.096	5.290
	K株系	D株系	-5.594*	0.007	-9.612	-1.575
		S株系	-1.097	0.601	-5.290	3.096
	S株系	D株系	-6.690*	0.001	-10.28	-3.100
齿环直径Denticular ring	D株系	K株系	5.594*	0.007	1.575	9.612
		S株系	6.690*	0.001	3.100	10.281
	K株系	D株系	1.047	0.834	-2.649	4.743
		S株系	-2.801	0.225	-6.783	1.182
	S株系	D株系	-1.047	0.834	-4.743	2.649
缘膜宽Border membrane	D株系	K株系	-3.847*	0.001	-6.272	-1.423
		S株系	2.801	0.225	-1.182	6.783
	K株系	D株系	3.847*	0.001	1.423	6.272
		S株系	-0.736*	0.000	-1.070	-0.401
	S株系	D株系	-0.642*	0.000	-0.962	-0.321
齿体纵长Denticle span	D株系	K株系	0.736*	0.000	0.401	1.070
		S株系	0.094	0.513	-0.193	0.380
	K株系	D株系	0.642*	0.000	0.321	0.962
		S株系	-0.094	0.513	-0.380	0.193
	S株系	D株系	0.003	0.997	-1.185	1.190
齿体数Denticle number	D株系	K株系	-1.293*	0.027	-2.431	-0.155
		S株系	-0.003	0.997	-1.190	1.185
	K株系	D株系	-1.295*	0.014	-2.313	-0.278
		S株系	1.293*	0.027	0.155	2.431
	S株系	D株系	1.295*	0.014	0.278	2.313
齿体数Denticle number	D株系	K株系	1.688*	0.003	0.614	2.761
		S株系	0.724	0.169	-0.321	1.768
	K株系	D株系	-1.688*	0.003	-2.761	-0.614
		S株系	-0.964*	0.026	-1.805	-0.123
	S株系	D株系	-0.724	0.169	-1.768	0.321
		K株系	0.964*	0.026	0.123	1.805

注: *. 均值差的显著性水平为 0.05
Note: *. the significance level of mean difference is 0.05

基于分子数据研究结果发现, 尽管本研究的重寄生车轮虫3株系来自不同的地区(重庆或贵州)或宿主(乌鳢或月鳢), 但3株系间的SSU rDNA序列相似度却在99.45%—100%, 遗传距离在 0.001—0.003 (表 4)。已有研究表明, SSU rDNA可以作为原生动物种间或种内鉴定的有效分子标记^[26], 并且基于以SSU rDNA为分子标记的寄生虫的相关研究认为, 序列相似度在99.0%—100%, 且遗传距离在0.001—0.005均属于种内水平^[27–29], 因此从分子水平进一

步证明了本研究的3株系为同一物种。但值得关注的一个问题出现了, GenBank中已有1条以“重寄生车轮虫”命名上传的SSU rDNA序列(登录号KX 904933), 但其与本研究中的重寄生车轮虫3株系的序列相似度仅98.0%—98.2%, 遗传距离为 0.017—0.019。反之却与登录号为MN072368的马氏车轮虫序列相似度却高达99.81%, 遗传距离为0.001 (表 4)。这说明KX904933的“重寄生车轮虫”与本研究中的重寄生车轮虫属于种间水平, 而与MN072368的马

表 3 重寄生车轮虫不同株系附着盘形态结构比值多重比较

Tab. 3 Multiple comparison of adhesive disc ratio for different stain of *T. hyperparasitis*

分析类别Categories	I 株系 Strain	J 株系 Strain	样本均值差及显著性检验 Mean difference and significance test		95%置信区间 95% confidence interval	
			均值差(I—J) Mean difference	P	下限Lower limit	上限Upper limit
齿环直径/虫体直径(dd/db)	D株系	K株系	0.029	0.402	−0.025	0.082
		S株系	−0.005	0.990	−0.059	0.049
	K株系	D株系	−0.029	0.402	−0.082	0.025
		S株系	−0.034 [*]	0.000	−0.053	−0.016
	S株系	D株系	0.005	0.990	−0.049	0.059
		K株系	0.034 [*]	0.000	0.016	0.053
齿长/齿体纵长(l/s)	D株系	K株系	0.060 [*]	0.005	0.019	0.101
		S株系	−0.021	0.295	−0.060	0.019
	K株系	D株系	−0.060 [*]	0.005	−0.101	−0.019
		S株系	−0.081 [*]	0.000	−0.116	−0.045
	S株系	D株系	0.021	0.295	−0.019	0.060
		K株系	0.080 [*]	0.000	0.045	0.116
齿钩长/齿体纵长(b/s)	D株系	K株系	−0.058 [*]	0.000	−0.084	−0.032
		S株系	−0.053 [*]	0.000	−0.078	−0.028
	K株系	D株系	0.058 [*]	0.000	0.032	0.084
		S株系	0.005	0.664	−0.018	0.027
	S株系	D株系	0.053 [*]	0.000	0.028	0.078
		K株系	−0.005	0.664	−0.027	0.018

注: *. 均值差的显著性水平为0.05
Note: *. the significance level of mean difference is 0.05

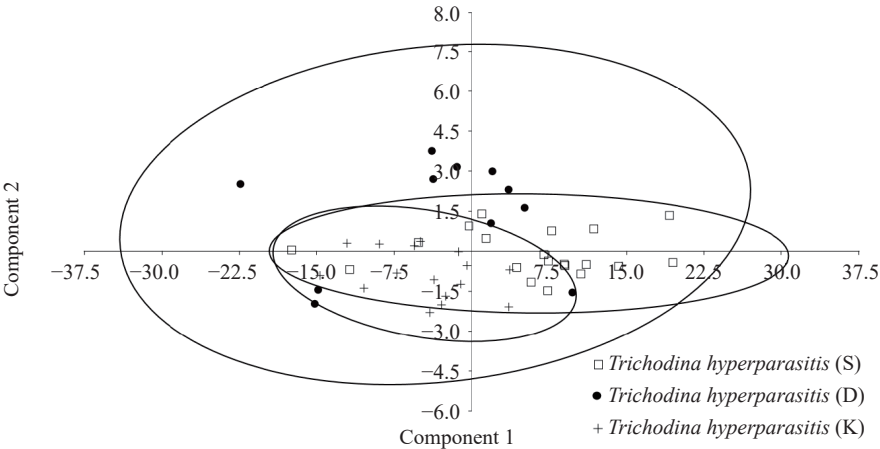


图 2 重寄生车轮虫3株系主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis (PCA) of three strains of *T. hyperparasitis*

氏车轮虫则属于种内水平。进一步通过分子系统树的聚支情况查证, KX904933的“重寄生车轮虫”并未和本研究中的重寄生车轮虫先聚支, 而是先和马氏车轮虫聚支, 再与桑瓦拉车轮虫*T. sangwala*聚为大支, 最后与本研究的重寄生车轮虫支系形成姊妹支(图 3)。基于该情况, 本文进一步追溯了 KX904933的“重寄生车轮虫”的原始报道数据后发现, 该虫的形态结构与马氏车轮虫高度相似, 且其宿主也与马氏车轮虫的宿主相同, 均为鲇形目的黄颡鱼(并非乌鳢)^[30]。相关研究表明, 部分车轮虫表现出明显的宿主专一性或偏好性。一般认为, 马氏车轮虫是鲇形目鱼类的专性寄生虫^[31], 刺纹车轮虫

则偏好寄生于鲈形目的广盐性罗非鱼^[32]。因此本研究基于序列相似度、遗传距离、系统发育与宿主类型等证据进一步证明了登录号为KX904933的“重寄生车轮虫”并非真正的重寄生车轮虫, 而应为马氏车轮虫的观点^[31]。综上, 本研究为首次向GenBank提供了真实有效的重寄生车轮虫分子数据。

3.2 重寄生车轮虫的种内分化

附着盘形态结构量化分析表明(表 2), 三大株系在虫体大小及齿体数量方面存在显著差异, 其中S株系是最大的株系($P<0.05$), 也是齿体最长的株系($P<0.05$); D株系是虫体最小且缘膜最窄的株系($P<0.05$), K株系是齿体数最少的株系($P<0.05$)。进

表 4 基于SSU rDNA的重寄生车轮虫各株系及与近缘物种间的序列相似度(右上)与遗传距离(左下)

Tab. 4 Similarities (upper right diagonal) and genetic distances (lower left diagonal) for strains of *T. hyperparasitis* with the closely trichodinids based on SSU rDNA sequences

编号 Number	车轮虫种名 Trichodinid species	登录号 Accession	编号 Number					
			1	2	3	4	5	6
1	<i>T. hyperparasitis</i> (S)	PQ145195		99.84%	99.45%	97.28%	98.15%	97.27%
2	<i>T. hyperparasitis</i> (D)	PQ149211	0.001		99.45%	97.20%	98.09%	97.21%
3	<i>T. hyperparasitis</i> (K)	PQ149212	0.003	0.003		97.16%	98.15%	97.20%
4	<i>T. matsu</i>	MN072368	0.017	0.017	0.017		99.81%	98.52%
5	<i>T. Hyperparasitis</i>	KX904933	0.017	0.017	0.018	0.001		98.82%
6	<i>T. sangwala</i>	ON042771	0.019	0.019	0.019	0.010	0.011	

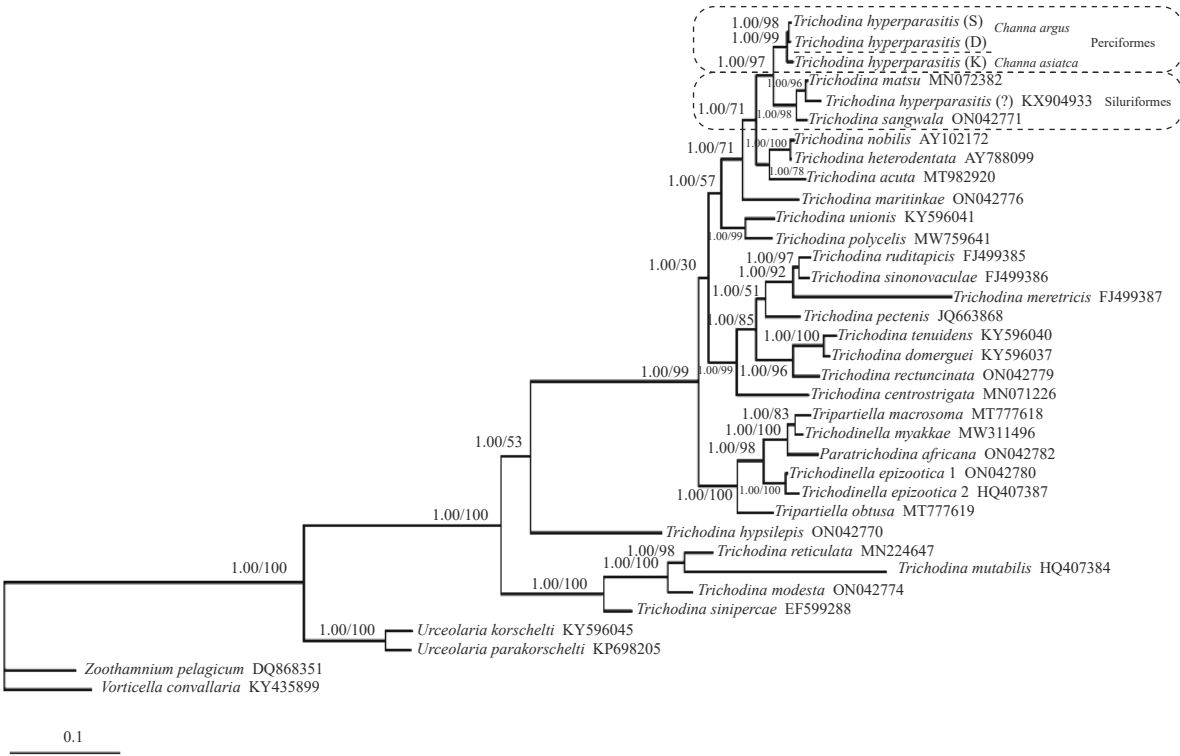


图 3 基于SSU rDNA 序列构建的BI/ML 系统发育树

Fig. 3 BI/ML Phylogenetic tree based on SSU rDNA sequences of *T. hyperparasitis* with the related species

节点处数值分别为BI树和ML树的支持率

Support values at branching points are listed as Bayesian posterior probabilities/bootstrap values from maximum likelihood analysis

一步将附着盘结构比值化处理, 以将量化的结构差异转化为形态化差异, 其分析结果显示(表 3), 由于 S 株系与 K 株系在齿环直径/虫体直径(dd/db)与齿长/齿体纵长(l/s)两方面均存在显著差异($P < 0.05$)。而 dd/db 比值可反映车轮虫齿体构成的齿环在附着盘中的位置, 故表明 S 株系与 K 株系在附着盘整体结构上存在差异; 同时 l/s 比值可反映每个独立齿体的纵横比例, 故能间接揭示齿体的整体形态, 因此, l/s 比值的显著差异揭示了 S 株系与 K 株系在齿体形态方面也存在一定的种内差异。此外, PCA 的分析结果也进一步支持了 S 株系与 K 株系间差异的存在(图 2)。

基于分子证据显示, S 株系与 K 株系间存在 10 个碱基变异位点, 而与 D 株系间则仅存在 2 个变异位点; 并且 S 株系与 K 株系的遗传距离大于与 D 株系的遗传距离(0.003 vs. 0.001), 而序列相似度却小于后者(99.45% vs. 99.84%); 同时结合系统树的聚支情况, S 株系与 D 株系先聚支, 然后再与 K 株系共同形成一大支(图 3)。该结果共同表明了 S 株系与 D 株系间更近缘, 而二者与 K 株系间则较远缘。

综合形态与分子证据表明, 重寄生车轮虫 3 株系存在一定的遗传分化与形态分化, 贵州地区月鳢寄生的 K 株系与重庆地区乌鳢寄生的两株系(S 株系与 D 株系)具有较远的亲缘关系, 说明地理分布与宿主的差异与株系的分化密切相关。相关研究认为, 作为影响寄生虫进化的各类因素中, 地理分布与宿主类型等均可不同程度地影响虫体的种间或种内进化^[33-35], 如地理隔离被认为是蛇鯖库道虫种群分化的主要影响因素^[36], 而宿主的差异则被认为是影响眉溪小车轮虫种内分化的主要因素^[37]。因此, 进一步结合本研究中系统发育树的聚支结果(图 3), 重寄生车轮虫与近缘种之间形成了宿主种类特有的单系, 即“鲈形目 Perciformes 支系”与“鲇形目 Siluriformes 支系”两支; 同时在重寄生车轮虫种内也形成了宿主种群特有的单系, 即“乌鳢支系”与“月鳢支系”, 推测对于外寄生的车轮虫而言, 第一生境即宿主的类型可能是影响车轮虫种间或种群分化最直接的因素。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Lynn D H. The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification, and Guide to the Literature [M]. Berlin: Pergamon Press, 2008: 428-435.
- [2] Lom J, Dyková I. Protozoan Parasites of Fishes [M]. Developments in Aquaculture & Fisheries Science, 1992: 1-315.
- [3] Song W B, Zhao Y J, Xu K D, et al. Pathogenic Protozoa in Mariculture [M]. Beijing: Science Press, 2003: 433-473. [宋微波, 赵元著, 徐奎栋, 等. 海水养殖中的危害性原生动物 [M]. 北京: 科学出版社, 2003: 433-473.]
- [4] Van As J G, Basson L. Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of freshwater fishes of the Zambesi River System, with a reappraisal of host specificity [J]. *Systematic Parasitology*, 1992, **22**(2): 81-109.
- [5] Dias R J P, Fernandes N M, Sartini B, et al. Occurrence of *Trichodina heterodentata* (Ciliophora: Trichodinidae) infesting tadpoles of *Rhinella pombali* (Anura: Bufonidae) in the Neotropical area [J]. *Parasitology International*, 2009, **58**(4): 471-474.
- [6] Hubei Institute of Hydrobiology. Hubei Province Fish Disease Pathogen Map [M]. Beijing: Science Press, 1973: 15. [湖北省水生生物研究所. 湖北省鱼病病原区系图志 [M]. 北京: 科学出版社, 1973: 15.]
- [7] Tang F H, Zhao Y J. Taxonomic studies of three species of *Trichodina* Ehrenberg, 1838 with pathologic research into gill tissue of *Carassius auratus* caused by *Trichodina heterodentata* Duncan, 1977: a study of trichodinids from freshwater fishes in Chongqing II [J]. *Journal of Chongqing Normal University* (Natural Science Edition), 2007, **24**(3): 8-12. [唐发辉, 赵元著. 三种鲫鱼外寄生车轮虫分类学及异齿车轮虫致鳃组织病理学研究——重庆地区淡水车轮虫研究 II [J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2007, **24**(3): 8-12.]
- [8] Valladão G M R, Gallani S U, Pádua S B D, et al. *Trichodina heterodentata* (Ciliophora) infestation on *Prochilodus lineatus* larvae: a host-parasite relationship study [J]. *Parasitology*, 2014, **141**(5): 662-669.
- [9] Meng Q W, Su J X, Miao X Z. Systematics of Fishes [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995: 934-935. [孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖. 鱼类分类学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 934-935.]
- [10] Chen Q L, Hsieh S R. Description of Three New Species of Ciliates (Urceolariidae) Parasitized Freshwater Fishes, with Classification of Family Urceolariidae [C]. Parasitic Organisms of Freshwater Fishes of China. Beijing: Agriculture Publishing House, 1984. [陈启瑛, 谢杏人. 淡水鱼类寄生壶形科(Urceolariidae)纤毛虫三新种的描述及科分类问题的讨论 [C]. 中国淡水鱼类寄生虫论文集. 北京: 农业出版社, 1984.]
- [11] Han X Y, Zhao Y J. Study on ectoparasitic trichodinids from cultured common fishes from Minjiang River Valley, Sichuan province [J]. *Journal of Neijiang Normal University*, 2011, **26**(10): 22-31. [韩小燕, 赵元著. 四川岷江流域常见养殖经济鱼类外寄生车轮虫的研究 [J]. 内江师范学院学报, 2011, **26**(10): 22-31.]
- [12] Hu Y H, Zhao Y J, Tang F H. Redescription and new distribution of *Trichodina hyperparasitis* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2005, **40**(4): 91-91. [胡银亨, 赵元著, 唐发辉. 重寄生车轮虫的新分布和再描述 [J]. 动物学杂

- 志, 2005, **40**(4): 91-91.]
- [13] Xie Z G, Tang F H, Zhao Y J. Study on ectoparasitic trichodinids from Perciformes fishes along the area of Poyang Lake, Jiangxi province [J]. *Journal of Chongqing Normal University* (Natural Science Edition), 2013, **30**(3): 9-15+4. [谢志刚, 唐发辉, 赵元茗. 江西鄱阳湖地区鲈形目鱼类外寄生车轮虫的研究 [J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2013, **30**(3): 9-15+4.]
- [14] Klein B M. The dry silver method and its proper use [J]. *Journal of Protozoology*, 1958, **5**(2): 99-103.
- [15] Lom J. A contribution to the systematics and morphology of endoparasitic trichodinids from amphibians, with a proposal of uniform specific characteristics [J]. *The Journal of Protozoology*, 1958, **5**(4): 251-263.
- [16] Van As J G, Basson L. A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritrichia) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids [J]. *Systematic Parasitology*, 1989, **14**(3): 157-179.
- [17] Tang F H, Zhao Y J, Chen H. Trichodind ectoparasites from golden carp, with a description of *Trichodina parani-gra* sp. nov [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29**(1): 75-80. [唐发辉, 赵元茗, 陈辉. 鲫寄生车轮虫一新种的描述 [J]. 水生生物学报, 2005, **29**(1): 75-80.]
- [18] Tang F H, Liu M, Xia P, *et al.* Intraspecific study of *Trichodinella myakkae* (Mueller, 1937) Šrámek-HuŠek, 1953 based on the characteristics quantization of adhesive disc [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(10): 1649-1658. [唐发辉, 刘媚, 夏萍, 等. 基于附着盘特征量化的眉溪小车轮虫种内研究 [J]. 水生生物学报, 2023, **47**(10): 1649-1658.]
- [19] Irwin N A T, Lynn D H. Molecular phylogeny of mobilid and sessilid ciliates symbiotic in eastern pacific limpets (Mollusca: Patellogastropoda) [J]. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2015, **62**(4): 543-552.
- [20] Wang S B, Zhao Y J, Du Y H, *et al.* Morphological redescription and molecular identification of *Trichodina reticulata* Hirschmann & Partsch, 1955 (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) with the supplemental new data of SSU rDNA and ITS-5.8S rDNA [J]. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2019, **66**(3): 447-459.
- [21] Tamura K, Stecher G, Peterson D, *et al.* MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, **30**(12): 2725-2729.
- [22] Ronquist F, Huelsenbeck J P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. *Bioinformatics*, 2003, **19**(12): 1572-1574.
- [23] Gao F, Gao S, Wang P, *et al.* Phylogenetic analyses of cyclidiids (Protista, Ciliophora, Scuticociliatia) based on multiple genes suggest their close relationship with thigmotrichids [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2014, **75**(6): 219-226.
- [24] Xie Z M, Li S W, Lin G. Cultivation Technique of Wuli and Yueli [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2002. [谢忠明, 李生武, 林岗. 乌鳢月鳢养殖技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.]
- [25] Yang C Y, Liu L G, Yang P H, *et al.* Karyotypes of three Channidae fish species in Dongting Lake water system [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2016, **34**(4): 493-498. [杨春英, 刘良国, 杨品红, 等. 洞庭湖水系 3 种鳢科鱼类的染色体组型分析 [J]. 四川农业大学学报, 2016, **34**(4): 493-498.]
- [26] Yi Z Z, Miao M, Gao S, *et al.* On molecular biology of ciliated protozoa: frontier areas and progresses [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2016, **61**(20): 2227-2238.
- [27] Tang F H, Zhao Y J. Molecular phylogenetic evidences on mobilida based on genetic distance and GC content of 18S rDNA using broad taxon sampling [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, **40**(2): 358-369.
- [28] Karlsbakk E, Kristmundsson Á, Albano M, *et al.* Redescription and phylogenetic position of *Myxobolus aeglefini* and *Myxobolus platessae* n. comb. (Myxosporea), parasites in the cartilage of some North Atlantic marine fishes, with notes on the phylogeny and classification of the Platysporina [J]. *Parasitology International*, 2017, **66**(1): 952-959.
- [29] Molnár K, Eszterbauer E, Marton S, *et al.* Comparison of the *Myxobolus* fauna of common barbel from Hungary and Iberian barbel from Portugal [J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2012, **100**(3): 231-248.
- [30] Wang Z, Zhou T, Gu Z. New data of two trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Trichodinidae) from farmed freshwater fishes in Hubei, China [J]. *European Journal of Protistology*, 2017(60): 50-59.
- [31] Zhou Q, Tang F H, Zhao Y J. Morphological redescription and molecular characterization of *Trichodina matsu* Basson & Van As, 1994 (Ciliophora, Mobilida, Trichodinidae) infecting *Tachysurus fulvidraco* (Richardson, 1846) from Chongqing, China [J]. *Zootaxa*, 2021, **4995**(2): 334-344.
- [32] Qin W W, Zhao Y J, Tang F H. Study on the population analysis and host preference of *Trichodina centrostrigata* Basson, Van As & Paperna, 1983 from tilapia [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2020, **44**(6): 1247-1255. [秦微微, 赵元茗, 唐发辉. 寄生于罗非鱼的刺纹车轮虫种群分析及其寄主偏好性研究 [J]. 水生生物学报, 2020, **44**(6): 1247-1255.]
- [33] Criscione C D, Poulin R, Blouin M S. Molecular ecology of parasites: elucidating ecological and microevolutionary processes [J]. *Molecular Ecology*, 2005, **14**(8): 2247-2257.
- [34] Dietrich M, Gómez-Díaz E, McCoy K D. Worldwide distribution and diversity of seabird ticks: implications for the ecology and epidemiology of tick-borne pathogens [J]. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 2011, **11**(5): 453-470.

- [35] Wang M, Zhao Y J, Yang C Z. The impacts of geographic and host species isolation on population divergence of *Myxobolus lentisuturalis* [J]. *Parasitology Research*, 2019, **118**(3): 1061-1066.
- [36] Whipps C M, Kent M L. Phylogeography of the cosmopolitan marine parasite *Kudoa thyrsites* (Myxozoa: Myxosporea) [J]. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2006, **53**(5): 364-373.
- [37] Xia P, Tang F H, Zhao Y J. *Trichodinella myakkae* (Mueller, 1937) Šrámek-Hušek, 1953 in Chongqing area and comparison with its related species [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, **45**(6): 1371-1280. [夏萍, 唐发辉, 赵元著. 重庆地区眉溪小车轮虫及其与近缘种的比较 [J]. 水生生物学报, 2021, **45**(6): 1371-1280.]

NEW HOST RECORD AND STUDY ON INTRASPECIFIC DIFFERENTIATION OF *TRICHODINA HYPERPARASITIS* CHEN & HSIEH, 1984

TANG Fa-Hui¹, JIANG Yu-Jiao¹, QIN Wei-Wei², XIA Ping² and ZHAO Yuan-Jun¹

(1. Animal Biology Key Laboratory of Chongqing Education Commission of China, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China; 2. Chongqing Key Laboratory of Conservation and Utilization of Freshwater Fishes, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: Trichodinid is regarded as one of microscopic parasitic ciliates with high diversity, which is mainly parasitic in fishes, mollusks, some tadpoles of amphibian, and minority of coelenterates in aquaculture. Some trichodinid infections can cause significant damage to their hosts. Trichodinids are diverse and distributed worldwide, with around 400 *Trichodina* species reported in different environments. However, despite advancements in molecular technology, the research on trichodinids lags behind other ciliate groups mainly due to insufficient or invalid molecular data in GenBank, which inhibited in depth studies. *Trichodina hyperparasitis* Chen & Hsieh, 1984, a freshwater trichodinid, parasitizes the crustacean *Lampraglena chinensis*, parasitizing on gills of *Channa argus*. Consequently, it was named *T. hyperparasitis*. Reports on *T. hyperparasitis* are fragmented, and molecular data are nearly blank, underscoring the need for additional valuable data to better understand this species, which is the focus of the present work. In order to explore the factors influencing population differentiation of *T. hyperparasitis*, three geographic strains were isolated from gills of *C. argus* and *Channa asiatica* through extensive sampling. These strains include S strain from *C. argus* in Shapingba, Chongqing, D strain from *C. argus* in Dazu, Chongqing, and K strain from *C. asiatica* in Kaili, Guizhou. Among them, Guizhou represents a new geographic record, and *C. asiatica* is a new host record for *T. hyperparasitis*. Three SSU rDNA sequences from the three strains were sequenced and submitted to the GenBank, with further comparative study conducted based on morphological and molecular evidence. Morphological quantization of adhesive disc and PCA showed significant differences among the three geographic strains. The S strain was the largest in body size and denticle span ($P < 0.05$), while K strain was the least one in denticle number ($P < 0.05$). Intraspecific differences were also noted in adhesive disc structure and denticle morphology between both S and K strain ($P < 0.05$). The comparative result of SSU rDNA sequences showed that ten base variant sites between K strain and the others, with a similarity range of 99.45% to 100% and genetic distance ranging from 0.001 to 0.003 among the three strains. The phylogenetic analysis based on SSU rDNA showed that *T. hyperparasitis* and its related species formed monophyletic lineages specific to host types, including the Perciformes and Siluriformes clades. Additionally, *T. hyperparasitis* formed host specific monophyletic lineages, viz. *C. argus* and *C. asiatica* clades. The comprehensive results indicate that *T. hyperparasitis* does not necessarily exhibit a hyperparasitic lifestyle and has a strong parasitic specificity to *Channa* species. Two strains from *C. argus* are closely related, while the strain from *C. asiatica* shows greater genetic and morphological divergence. This indicates that the host type, particularly initial habitat, may be the most direct factor influencing inter-specific and intraspecific differentiation in ectoparasitic trichodinids.

Key words: New record; Population differentiation; SSU rDNA; *Channa*; *Trichodina hyperparasitis*