

车轮虫齿体特征的量化及其种内种间系统发育的研究

龚迎春 余育和 沈韞芬

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 齿体特征是车轮虫物种鉴定的一个重要依据。本文首次提出一种齿体结构面积比例量化法, 即通过对齿钩、齿锥、齿棘、齿体环各部分反口面观面积的测量, 分别计算出前三者与所在齿体的面积比以及所有齿体总面积与齿体环的面积比, 从而将齿体特征转换为量化指标。依据所测量化值, 采用相似性聚类法, 我们首先探讨了显著车轮虫(*Trichodina nobilllis* Chen, 1963)的三个种群的亲缘关系, 然后以劳牧小车轮虫(*Trichodinella lomi* Xu, Song & Warren, 1999)为外类群, 选择显著车轮虫(*Trichodina nobilllis* Chen, 1963)、异齿车轮虫(*Trichodina heterodontata* Duncan, 1977)、杜氏车轮虫(*Trichodina dormergui* Wallengren, 1897)和 *Trichodina fahaka* (Khaled A. S. Al Rasheid, 2000) 为研究对象, 对车轮虫种间亲缘关系进行了分析。结果表明, Pdr 值可以有效地表现种群间的差异; 同时还发现齿棘面积比例较高的杜氏车轮虫和异齿车轮虫进化较晚, 而齿棘面积比例较低的显著车轮虫进化较早, 并得出了齿棘越发达, 车轮虫越进化这一结论, 支持了徐奎栋等所提出的游走亚目六种基本齿型的进化顺序。这种量化研究方法不但可对车轮虫齿体的各部分结构以及它们之间的相互关系进行定量描述, 而且还可以这些数据为基础对车轮虫种群间及物种间亲缘关系进行研究。

关键词: 车轮虫; 量化; 亲缘关系

中图分类号: Q959.11 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2004)03-0225-09

车轮虫 *Trichodina* 是一类寄生原生动物纤毛虫, 广泛寄生于淡海水鱼类、贝类、甲壳类、两栖类等的腮、皮肤、鳍、膀胱、输尿管、生殖系统等部位。自 Ehrenberg(1838)首次对水螅上的 *Trichodina pediculus* 描述以来, 国内外已报道的车轮虫有 260 多种, 其中在中国已发现有近 70 种^[1-4]。

自二十世纪 50 年代末以来, 国际上对车轮虫形态分类学进行了大量的研究。Lom^[5] 首先倡导了“统一的特定方法”(Uniform specific characteristic system), 国内外许多学者据此对车轮虫形态分类学进行了大量的研究^[6, 7]。嗣后, Van As 和 Basson^[8] 提出了一种从车轮虫附着盘中央引线至齿钩边缘的“定位描述法”, 丰富和补充了 Lom 对齿体比较描述的不足, 使得经典形态学研究方法进一步规范化。Lom(1973)^[9]。首次运用扫描电镜和透射电镜对车轮虫科(Trichodinidae)小车轮虫属(*Trichodinella*)中的流行皮生小车轮虫(*Tepizootica* Rabbe, 1950)进行

了超微结构研究, 紧接着不少学者通过电镜对车轮虫进行观察研究^[10-17]。电镜技术的引入, 使对车轮虫表面和内部构造有了更多的了解, 无疑有助于车轮虫分类学的发展, 但由于受制于车轮虫材料收集量及实验室条件, 目前给予电镜观察研究的物种仍然非常有限。Xu 等^[2] 曾指出扫描电镜虽然扩大了对车轮虫的了解, 但是银染法依然是认识这种非常特殊的寄生纤毛虫最基本而且是最主要的技术。现在, 新物种的报道几乎都匹配表膜下纤维系统图片, 大量的车轮虫银染标本资料是否得到了充分的利用? 如何挖掘和利用银线染色标本所提供的信息, 利用其为车轮虫的系统发育研究服务? 这里面有较多的思考空间。

作者在阅读了大量文献后, 对上述问题形成了一些想法, 并在“统一的特定方法”和“定位描述法”的基础上, 将车轮虫齿体结构特征量化并选择几种车轮虫进行种群及种间亲缘关系研究。

收稿日期: 2003-10-30; 修订日期: 2003-11-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(302701408); 中国科学院创新基金资助项目(220207); 中国科学院分类特别支持费(201408)资助

作者简介: 龚迎春(1979—), 湖北省鄂州市人; 硕士; 研究方向: 车轮虫分子系统发育

通讯作者: 余育和 Email: yhyu@ihb.ac.cn

1 材料和方法

1.1 样品采集与处理 2003 年 6—7 月, 带有虫体的鱼苗, 分别采自武昌东湖鱼苗场、南湖渔场、牛山湖渔场。鱼苗杀死后, 立即置于盛有二次蒸馏水的胚胎皿中, 在解剖镜下观察, 待虫体游离寄主后, 用微吸管吸出置于凹玻片中。一部分用于活体观察; 一部分用于活体甲基绿-派若宁染色观察^[18]; 另一

部分用于 AgNO₃ 染色观察^[19]。物种鉴定主要依据湖北省鱼病病原区系图志^[20]与正在编辑的中国缘毛目志。活体及染色制片用倒置显微镜和 Zeiss 显微镜拍摄系统观察。

1.2 标本测量与数据统计 标本测量参考 Lom^[5]及 Van As 和 Basson^[8], 后者的定位描述图总结于图 1。标本量为 10, 数据统计采用统计模式 Mir Max (Mean ±SD); 使用 Statistc6.0 进行聚类分析。

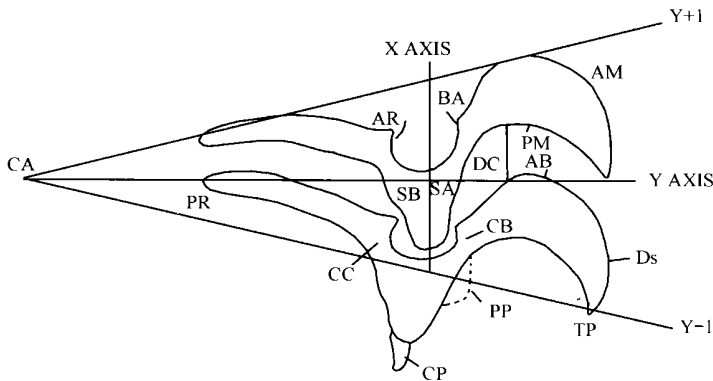


图 1 车轮虫齿体结构鉴别特征(仿自 Van As & Basson, 1989)。

AB, 齿钩凸点; AM, 齿钩前缘; AR, 棘突; BA, 钩突; CA, 附着盘中央; CB, 齿钩连接; CC, 齿棘连接; CP, 齿锥顶点; DC, 齿钩凹点; DS, 齿钩外切缘; PM, 齿钩后缘; PP, 后突起; PR, 齿棘顶点; S, 齿锥; SA, X 轴上锥形; SB, X 轴下锥形; TP, 骨突; X, 齿钩; Y, 齿棘

Fig. 1 Diagram to illustrate denticulating structure and construction of X and Y axes as fixed references for description of denticles (after Van As & Basson, 1989). AB, apex of blade; AM, anterior margin of blade; AR, apophysis of ray (= thorn); BA, apophysis of blade; CA, centre of adhesive disc; CB, section connecting blade and central part; CC, section connecting central part and ray; CP, central conical part; DC, deepest point of curve; DS, distal surface of blade; PM, posterior margin of blade; PP, posterior projection; PR, point of ray; S, central part; SA, section of central part above X axis; SB, section of central part below X axis; TP, tangent point; X, blade; Y, thorn

1.3 齿体特征量化法 车轮虫齿体的研究, 一直受学者所关注。在 Lom^[5]的“统一的特定方法”中, 齿体除定性地描述外, 它的齿钩、齿锥及齿棘还以长度定量表述; Van As 与 Basson^[8]提出的“定位描述法”则揉进了技术处理方法, 他们通过从车轮虫附着盘中央引线至齿钩边缘的方法, 对齿体的各部分进行定位, 以此对齿体进行准确的定位描述。结合上述两种方法, 考虑到齿体结构各部分之间的相关关系, 本文拟以反口面观齿体表面积之比进行量化。将齿体分割成齿钩、齿锥、齿棘三部分, 求出每一部分占所在齿体的面积百分比, 以及所有齿体的总面积占齿体环的面积百分比(如图 2A, B)。齿钩、齿锥、齿棘等不规则图形面积的计算运用 Map Inf V6.5 地理信息系统。

齿体(denticle) 分为三部分: 齿钩(Blade)、齿锥

(Central part)、齿棘(Thorn), 其反口面观面积分别用 Sb、Sc、St 表示; 齿体反口面观面积用 Sd 表示; 齿体数用 n 表示; 所有齿体反口面观总面积用 nSd 表示; 齿体环(Denticulating ring) 反口面观面积用 Sr 表示, 可由齿体环外切圆(Excircle of denticulating ring) 面积与中央区(Central circle) 面积相减求得(图 2A)。简化如下:

齿体占齿体环的面积百分比 Pdr(Percentage of the area of denticles to the denticulating ring's) = nSd/ Sr;

齿钩占齿体的面积百分比 Pbd(Percentage of the area of blade to the denticle's) = Sb/ Sd;

齿锥占齿体的面积百分比 Pod(Percentage of the area of central part to the denticle's) = Sc/ Sd;

齿棘占齿体的面积百分比 Ptd(Percentage of the area of thorn to the denticle's) = St/ Sd.。

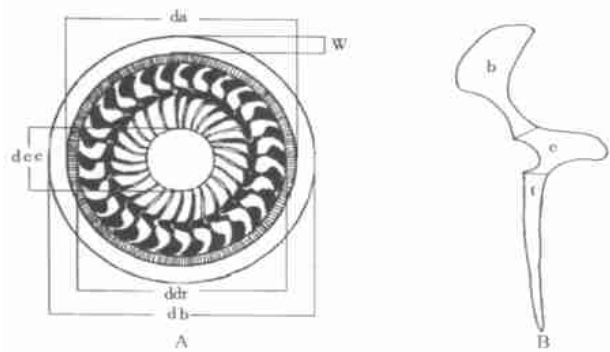


图 2 齿体特征量化图(反口面观).

da, 附着盘直径; db, 虫体直径; dcc, 中央区; ddr, 齿体环直径; w, 缘膜宽; b, 齿钩; c, 齿锥; t, 齿棘

Fig. 2 Quantitative diagram to illustrate denticating characters of Trichodinid (from adoral view). da, adhesive diameter; db, body diameter; dcc, central circle diameter; ddr, excircle of denticle ring diameter; w, border membrane width; b, blade; c, central part; t, thorn

2 结果

2.1 显著车轮虫种群亲缘关系

2.1.1 显著车轮虫描述及种群比较 形态描述(图3, 图4, 表1): 虫体较大, 活体直径约 63—76μm, 虫体高与直径之比约为 1: 4, 反口面观呈扇碟状, 侧面观较扁, 约呈“一字形”, 口围绕体 390°, 大核马蹄形, 小核位于“+ y”。齿钩扇状, 外切缘稍微弯曲, 且比骨突略高, 齿钩前缘弯曲, 后缘较直, 并形成弯月形, 齿钩凸点一般未到达 Y+ 1 轴, 钩突明显, 钩柄特别细长, 这是该种区别于其他种的鉴别特征。齿锥较发达, 其顶端距 Y- 1 轴的距离超过一半, 锥间嵌合紧密, 齿锥 X 轴上下两部分相似。齿棘呈细长针状, 略微弯曲至 Y+ 1 轴。其长度超过齿钩, 棘突明显。

种群比较: 表1列出了分别采自东湖、南湖、牛山湖的显著车轮虫种群的统计特征, 从中可以看出3个种群各特征基本一致, 主要是在附着盘的齿钩的形态和大小上略微有差异(图3, 图4)。齿钩大致分为两种形状: 东湖与牛山湖种群的齿钩前缘略微弯曲(如图4a), 而南湖种群弯曲程度较深, 且齿钩相较而言更大(如图4b)。另外, 还发现东湖种群齿体较粗壮, 特别是齿棘较其他两种群发达(如图3)。

2.1.2 显著车轮虫齿体特征量化以及种群亲缘关系分析 根据齿体环外切圆直径 ddr 和中央区直径 dcc, 求出齿体环的面积 Sr; 通过 map infV6.5 软件分别求出不规则图形齿钩、齿锥、齿棘的面积 (Sb、Sc、St), 将三部分相加得出齿体的面积 (Sd), 然后依据前面的公式算出 Pdr、Pbd、Pcd、Ptd, 再经统计处

理, 用 Mir Max (Mean ±SD) 表示, 结果列于表2。

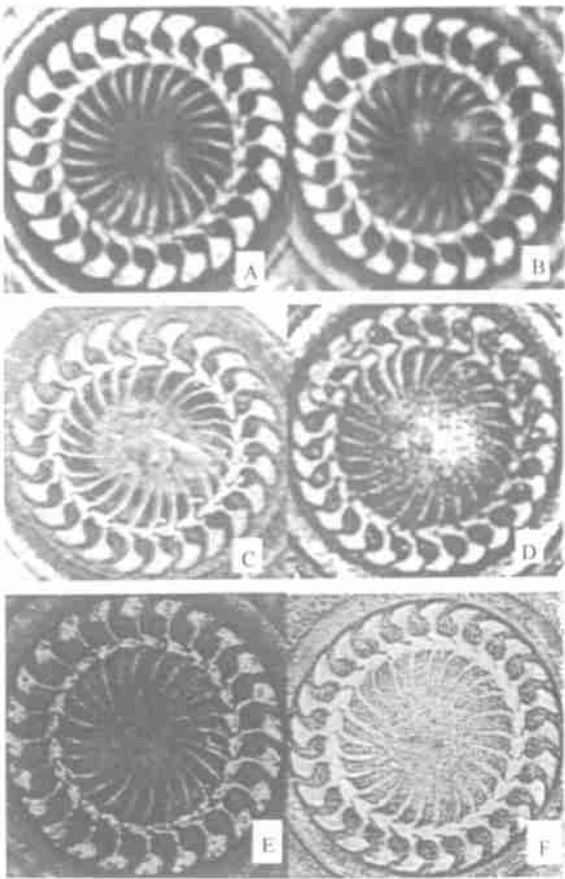


图 3 显著车轮虫的附着盘结构(自 AgNO₃ 染色标本)。

A 和 B 采自东湖; C 和 D 采自南湖; E 和 F 采自牛山湖

Fig. 3 Photomicrographs of silver impregnated adhesive disc of *Trichalina nobillis*. A and B, populations from the Donghu Lake; C and D, populations from the Nanhu Lake; E and F, populations from the Niushanhu Lake

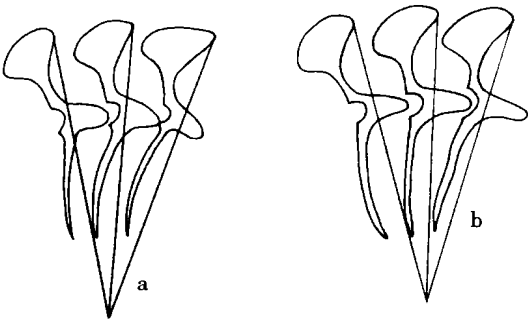


图 4 显著车轮虫的齿体定位图

Fig. 4 Diagrammatic drawings of the two types of the denticles of *Trichalina nobillis*

从表2可以看出, 3个种群的齿体量化值基本一致, 只是 Pdr 表现一定的波动性。东湖种群的齿体较发达, 因此 Pdr 高达 50%; 而南湖和牛山湖种群的齿体较瘦小, Pdr 只有 35% 和 37%。同时, 因为南湖种群的齿钩较大, 其 Pbd (54%) 比另两个种群的

表 1 显著车轮虫的形态学统计特征(自硝酸银染色标本, 测量单位: μm)
Tab. 1 Biometrical characterization of *T. nobillis* (Data based on dry silver nitrate impregnated specimens)

采集地 Locality	东湖 Donghu Lake	牛山湖 Niushanhu Lake	南湖 Nanhu Lake
寄主 Host	鲢 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	鲢 <i>H. molitrix</i>	草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>
寄生部位 Location	皮肤、腮	皮肤、腮	皮肤、腮
虫体直径 Body diameter	66.9—75.8(71.1 $\pm$ 2.7)	67.6—74.8(71.8 $\pm$ 2.1)	63.0—75.7(71.6 $\pm$ 4.2)
吸附盘直径 Adhesive disc diameter	55.0—63.1(59 $\pm$ 2.6)	58.1—64.8(60.9 $\pm$ 1.9)	54.7—64.8(60.6 $\pm$ 3.7)
缘膜宽 Border membrane width	5.7—6.8(6.3 $\pm$ 0.3)	4.5—6.8(5.5 $\pm$ 0.7)	4.5—6.7(5.1 $\pm$ 0.5)
齿环直径 Denticle ring diameter	34.7—42.9(38.1 $\pm$ 2.3)	36.6—43.2(39.6 $\pm$ 1.8)	36.4—42.4(39.4 $\pm$ 2.1)
齿体数 Denticle number	24—26(24.8 $\pm$ 0.8)	24—26(25.1 $\pm$ 0.9)	24—27(25.7 $\pm$ 1)
辐线数 Radial pins per denticle	10—12	11—12	11—12
齿体纵长 Denticle length	19.8—24.2(22.5 $\pm$ 1.1)	22.4—25.9(22.7 $\pm$ 1.2)	18.5—24.1(21.5 $\pm$ 1.3)
齿钩长 Blade length	7.8—9.8(8.7 $\pm$ 0.5)	7.3—9.3(8.1 $\pm$ 0.5)	7.2—9.2(8.3 $\pm$ 0.5)
齿锥宽 Central part width	2.4—3.6(3.0 $\pm$ 0.3)	3.0—3.8(3.3 $\pm$ 0.2)	2.3—3.6(2.8 $\pm$ 0.3)
齿棘长 Thorn length	8.0—12.4(10.9 $\pm$ 0.9)	9.9—15(11.2 $\pm$ 1.2)	8.7—12.5(10.5 $\pm$ 0.9)
口围绕体度数 Adoral ciliary spiral	390°	390°	390°
标本数 No. of specimens measured	10	10	10

注: 标本的统计格式为 Min Max (Mean $\pm$ SD). Adopting Min Max (mean $\pm$ SD)

(49% 和 51%) 略高; 而东湖种群的齿棘较发达, 所以其 Ptd (23%) 比另两个种群 (21% 和 17%) 也略高。

依据显著车轮虫齿体特征的 4 个量化值: Pdr、Pbd、Pcd 和 Ptd, 采用相似性聚类分析得出以下结果 (图 5): 牛山湖种群与南湖种群的亲缘关系较近, 成为一个姊妹群; 而东湖种群构成为他们的另一支。结合表 2 可知, 东湖显著车轮虫的 Pdr 为 50%, 而南湖和牛山湖种群个体的相应参数仅分别为 35% 和 37%。这个差别是它们在聚类分析图上布局的主要原因。

2.2 车轮虫物种间亲缘关系

本文利用所提出的方法仅分析车轮虫属物种间亲缘关系。选用与该属关系很近、同属车轮虫科的小车轮虫属劳牧小车轮虫^[21]为参考物种。共分析了四种车轮虫: 显著车轮虫 *T. nobillis* Chen, 1963), 异齿车轮虫 (*T. heterodontata* Duncan, 1977)^[22] *T. fa-*

haka (Khaled A. S. Al Rasheid, 2000)^[22] 与杜氏车轮虫 (*T. dormergui* Wallengren, 1897)^[23], 其中显著车轮虫为作者所采, 其他四种车轮虫均引自其他文献。车轮虫齿体特征量化值结果列于表 3。

由表 3 可知, 小车轮虫属中的劳牧小车轮虫的齿体特征量化值与车轮虫属其他四种车轮虫有很大的区别, 其中最重要的一点是因其无齿棘, 齿棘的面积百分比为 0%, 且齿体的总面积只占齿体环很小的比例, 只有 22%。另外可发现车轮虫属的四种车轮虫的齿体特征值有很大的相似性, Pbd 都在 50% (49%—60%) 左右, Pcd 一般比 Ptd 稍大一些, 前者在 26% (22%—30%) 左右, 后者在 22% (18%—26%) 左右。当然这四种车轮虫也存在一些差异, 从表 3 可以看出, 从上至下四种车轮虫的 Ptd 有不断增加的趋势, 除异齿车轮虫的 Pdr 外, Pdr 增加的趋势更明显。

表 2 显著车轮虫的齿体特征量化值表
Tab. 2 Quantitative values of the denticulating characters of *T. nobillis*

车轮虫种类	齿体占齿体环的 面积百分比(Pdr)	齿钩占齿体的 面积百分比(Pbd)	齿锥占齿体的 面积百分比(Ped)	齿棘占齿体的 面积百分比(Ptd)
显著车轮虫(<i>T. nobillis</i>) ^①	50%	46% —55% (51% ±2%)	23% —30% (26% ±2%)	24% —28% (23% ±2%)
显著车轮虫(<i>T. nobillis</i>) ^②	37%	45% —60% (49% ±4%)	24% —34% (30% ±2%)	15% —26% (21% ±3%)
显著车轮虫(<i>T. nobillis</i>) ^③	35%	48% —58% (54% ±3%)	27% —32% (30% ±2%)	15% —24% (17% ±3%)

注: Pdr 采用的是平均值; Pbd、Ped 和 Ptd 采用的是 Mir Max(Mean±SD) 格式; 标本数为 10. ①表示东湖的种群, ②表示南湖的种群, ③表示牛山湖的种群
Pdr adopting mean; Pbd, Ped and Ptd adopting Mir Max(Mean±SD) ; number of specimens measured is 10. ①Population from the Donghu Lake; ②population from the Nanhu Lake; ③population from the Niushanhu Lake

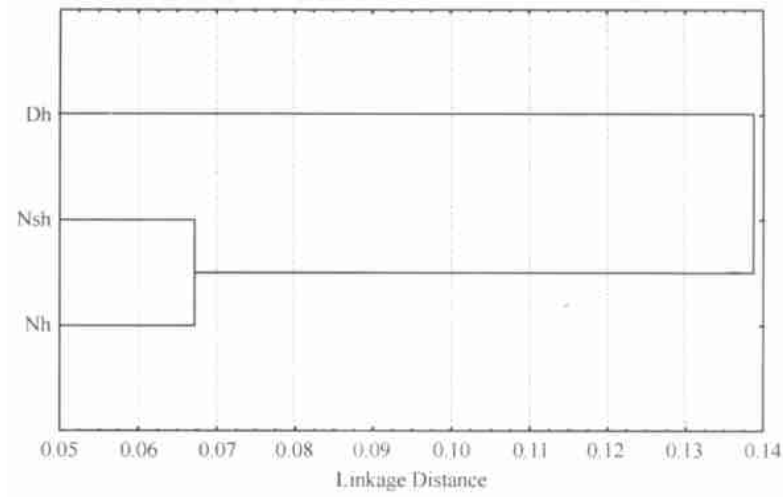


图 5 显著车轮虫种群聚类分析(用 static6.0 分析)
Dh, 东湖种群; Nsh, 牛山湖种群; Nh, 南湖种群

Fig. 5 Clustering analysis diagram to illustrate the phylogeny relation of populations of *T. nobillis*(by static 6.0) . Dh, population from the Donghu Lake; Nsh, population from the Niushanhu Lake; Nh, population from the Nanhu Lake

表 3 几种车轮虫的齿体特征量化值表
Tab. 3 Quantitative values of the denticle characters of pieces of Trichodinids

车轮虫种类 Trichodinid sp.	齿体占齿体环的 面积百分比(Pdr)	齿钩占齿体的 面积百分比(Pbd)	齿锥占齿体的 面积百分比(Ped)	齿棘占齿体的 面积百分比(Ptd)
劳牧小车轮虫(<i>T. lomi</i>)	34%	81% —86% (84% ±2%)	14% —19% (16% ±2%)	0%
显著车轮虫(<i>T. nobillis</i>)	35%	48% —58% (54% ±3%)	27% —32% (30% ±2%)	15% —24% (17% ±3%)
<i>T. fahaka</i>	51%	51% —64% (60% ±3%)	19% —24% (22% ±2%)	16% —25% (18% ±2%)
杜氏车轮虫(<i>T. dormergui</i>)	64%	50% —57% (52% ±2%)	25% —29% (27% ±1%)	15% —23% (21% ±3%)
异齿车轮虫(<i>T. heterodentata</i>)	54%	49% —53% (51% ±1%)	22% —25% (23% ±1%)	25% —27% (26% ±1%)

注: Pdr 采用平均值, Pbd、Ped、Pbd 统计格式为 Mir Max(Mean±SD) ; Pdr adopting mean; Pbd, Ped and Pbd adopting Mir Max(Mean±SD)

以上述 5 种车轮虫的 4 个量化值为特征, 以劳牧小车轮虫为参考物种, 采用相似性聚类法分析, 研究这 4 种车轮虫的种间亲缘关系。从图 7 可以看到劳牧小车轮虫与其他四种车轮虫可明显区别开来, 它们之间的相似距离大于 0. 35, 而四种车轮虫之间的距离落在 0. 12—0. 15 范围内。

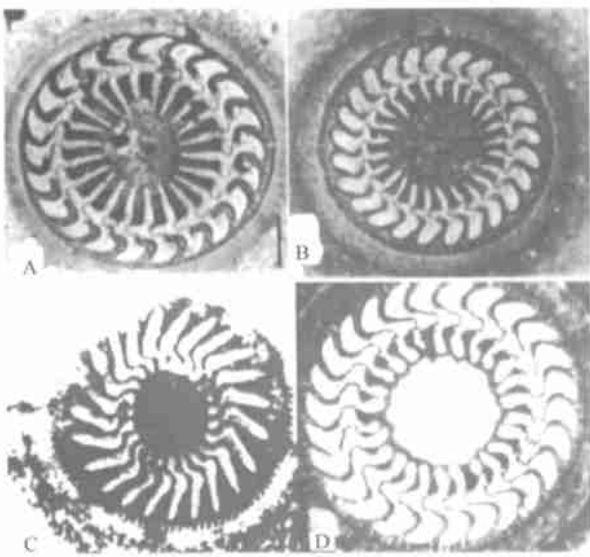


图6 自其他文献的四种车轮虫

A 异齿车轮虫, B *T. fahaka*^[22], C 劳牧小车轮虫^[21], D 杜氏车轮虫^[23]
Fig. 6 Four pieces of trichodinids from other literatures A *T. heterodontata*, B *T. fahaka*, C *T. lomi*, D *T. dormergui*

徐奎栋^[24]分析了游走亚目内各属的系统关系,得出小车轮虫属比车轮虫属更为原始,结合图7可知,劳牧小车轮虫物种最为原始,其次是显著车轮虫和 *T. fahaka*, 杜氏车轮虫与异齿车轮虫亲缘关系较近,在分析图上聚为一枝,进化最晚。结合表3可以看到显著车轮虫的 Ptd 在四种车轮虫中最小,在亲缘关系图上其进化较晚;异齿车轮虫的 Ptd 在四种车轮虫中最大,在亲缘关系图上其进化较早。因此,可得出结论:车轮虫越进化,其 Ptd 就越大。

3 讨论

3.1 齿体特征量化与系统进化研究的关系

在车轮虫的研究历史上,有两座里程碑,一个是 Lom 倡导的“统一的特定方法”,另一个是 Van As 和 Basson 提出的“定位描述法”,依据这两种方法可以有效地进行种类鉴定。作者在观察了大量标本后发现了一个不为前人注意的现象:不同车轮虫之间齿钩、齿锥、齿棘以及齿体的发达程度不同,而这种程

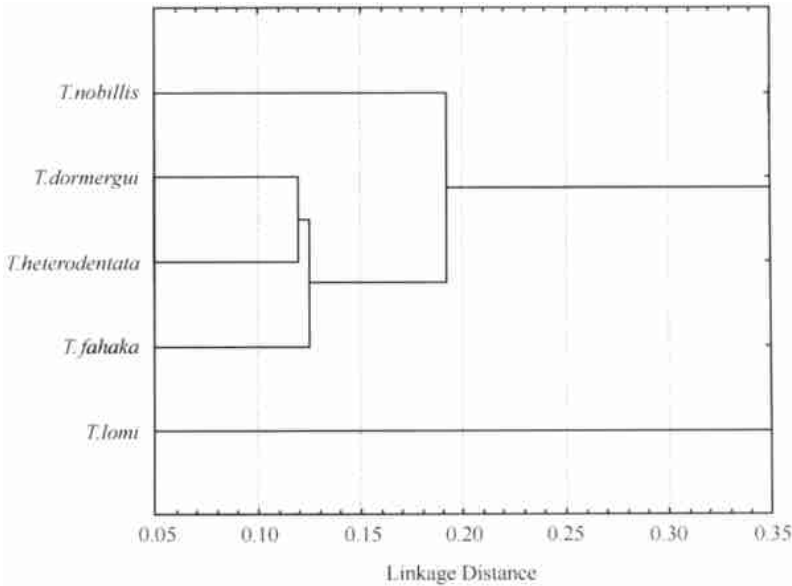


图7 车轮虫的亲缘关系聚类分析(static6.0分析)

Fig. 7 Clustering analysis diagram to illustrate the phylogeny relation of five pieces of trichodinids(by static6.0).

度可以转化为面积比例量化描述,使得种与种之间具有很直观的可比性。本论文首次提出了依据齿体特征量化值,采用相似性聚类法分析研究车轮虫的亲缘关系,在原生动物的系统进化研究中,还没有人利用量化方法研究生物进化,但在其他领域却有人尝试过,吕志南等^[25]是选取14种不同生物为样本,以细胞色素的一级结构为特征,应用模糊聚类分析,建立了数学模型,还对生物进化系统进行量化识别,

绘出了生物进化系统树,并证明该法与经典法画出的进化树十分相似,从而为研究生物分子进化提供了一种量化研究方法。当今十分提倡应用DNA分子标记研究系统发育学,如RFLP分析,RAPD分析,AFLP分析和DNA序列分析等^[26],因为分子标记可以从分子和基因水平上检测物种的细微变异和亲缘关系,最大限度地摒弃了主观因素,因而更符合自然分类要求。在这里作者提出将齿体特征量化法来研

究亲缘关系, 并不是否定分子系统发育学, 而是从车轮虫本身而言, 因其营寄生生活, 爆发和流行受季节和地点的限制, 材料的获得和纯化都比较困难, 并不是每种车轮虫都能很方便地作分子系统发育学研究, 因此充分挖掘并利用银染标本提供的信息, 有效地为车轮虫的种类鉴定和亲缘关系研究提供更多的数据, 寻找更合理的研究方法, 才是切实可行的。

先将这种面积量化法应用于显著车轮虫的种群比较, 发现三个种群的 P_{bd} 、 P_{cd} 、 P_{td} 相差不大, 而有一个种群的 P_{dr} 与另两个相差较远, 可见 P_{dr} 可以有效地表现种群间的差异。另外还将这种方法应用于车轮虫属种间的亲缘关系研究, 选取与该属关系很近, 但是进化较早的小车轮虫属中的劳牧小车轮虫为参考物种, 采用相似性聚类法试探性地分析了四种车轮虫的亲缘关系, 发现 P_{td} 较大的异齿车轮虫和杜氏车轮虫进化最晚, 而 P_{td} 最小的显著车轮虫进化最晚, 得出 P_{td} 越大, 即齿棘占齿体的面积比例越大, 车轮虫就越进化。当然这个结论还有待于用分子生物学手段进一步证实其可靠性, 这也是以后的工作方向。

3.2 齿体形态上的演化过程与齿体各特征值的关系

依据生物发生规律(即个体发育是系统演化简单而迅速的重演), 依据车轮虫属的齿体在形态发生上的时序关系以及可能的演化过程, 可将游泳亚目下的 11 属归结为 6 种基本类型:

- 1) 壶形虫型(*Urceolaria*-type): 齿体为呈覆瓦状排列的、简单的片状, 无棘、钩的分化(如图 8a)。
- 2) 两分虫型(*Dipartiella*-type): 具明显的齿钩, 齿锥不发达, 无齿棘(如图 8b)。
- 3) 小车轮虫型(*Trichodinella*-type): 齿锥及齿钩连接处形成突出并嵌合于前方齿体的凹口, 齿棘呈短小的弯钩状(或近消失)(如图 8c)。

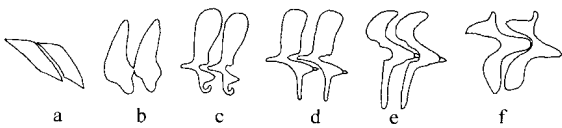


图 8 齿体的 6 种基本类型(徐奎栋, 1999)

Fig. 8 Scheme of 6 types of denticles among trichodinids (Kuidong Xu, 1999)

- 4) 三分虫型(*Tripartiella*-type): 齿锥和齿钩连接处形成突出并嵌合于前方齿体的凹口, 齿棘明显直(如图 8d)。
- 5) 车轮虫型(*Trichodina*-type, includes *Paratri-*

chodina, *Pallitrichodina*, *Semitrichodina*, *Trichodina*, *Trichodoxa*, *Vauchomia*): 齿钩、齿锥和齿棘均完备, 齿体间主要以齿锥相嵌合(如图 8e)。

6) 偏车轮虫型(*Hemitrichodina*-type): 齿锥和齿棘非常发达, 齿钩趋于退化(如图 8f)。

如果将游走亚目看作是一个自然分类系统, 则齿体的 6 种基本类型可能的进化顺序应为: 壶形虫型→两分虫型→小车轮虫型→三分虫型→车轮虫型→(?)偏车轮虫型。基本体现出游走亚目下各类群从简单到复杂, 从低等到高等的进化顺序, 显示本类群在系统进化上连续性与间断性的统一^[24]。从齿体的进化顺序上可以看出, 齿体的形成过程为: 最先形成齿钩, 随后依次出现齿锥、齿棘, 到最后齿钩退化消失, 齿棘变发达。如果用齿体特征量化值表述, 即是: 最先齿钩占齿体面积的百分之百, 随着齿体的进化, 齿锥、齿棘依次出现, 齿钩的面积百分比逐渐降低, 待齿钩退化后, 其值降为零, 相反齿棘占齿体的面积百分比却随着齿体的进化在不断上升。本论文的结论“齿棘越发达, 车轮虫越进化”有力地支持了这一观点, 为游走亚目的系统进化研究提供了理论依据。

3.3 显著车轮虫的种群比较分析

显著车轮虫是陈启鏊^[7]首次发现, 现在已在全国乃至世界很多地方都有发现。虽然 Van As & Basson 早在 1989 年就提出了“定位描述法”, 但是将这种方法应用于对显著车轮虫的研究, 还未见有报道。本文结合了“统一的特定方法”和“定位描述法”对显著车轮虫的三个种群进行了比较, 同时应用齿体特征量化法分析了它们的亲缘关系。从亲缘关系图上可以看出南湖种群与牛山湖种群的亲缘关系较近, 为姐妹群, 与东湖种群相距较远, 这可能与寄主和生长环境有关, 前者的宿主都是草鱼, 而后者是鲢鱼; 又因为显著车轮虫喜欢生活在有机物质较高的水体, 东湖位于武汉市东北部, 周围人口密集, 其富营养化程度一直在加剧^[27], 很适合显著车轮虫的生长; 牛山湖位于武汉市江夏区境内, 属于梁子湖体系, 水质清澈, 受污染程度低, 南湖位于武汉市郊区, 污染也不那么严重, 显著车轮虫可能在这种有机质含量较低的环境下生长得稍差一些。

3.4 在对齿体量化时应注意的问题

齿体特征值是依据银染标本求出, 染色效果的好坏, 直接影响到测量值的准确性, 因为在利用 Map inf 测量齿钩、齿锥、齿棘这些不规则图形的面积时, 需要很清楚地知道它们的轮廓, 所以作出较好的染

色标本, 是进行齿体特征量化研究的前提; 其次, 要很好地区分齿钩、齿锥、齿棘这三部分, 因为有些车轮虫的齿钩连接和齿棘连接不明显, 如果区分错误, 就会导致量化值有所偏差; 最后, 标本要有代表性, 要选齿体发育完全的车轮虫, 而且标本数量要尽可能多, 只有这样, 才能避免由少量变异种带来的误差。

参考文献:

- [1] Asmat G S M. *Trichalina canningensis* sp. n. (Ciliophora: Trichodinidae) from an Indian Estuarine Fish, *Mystus gulio* (Hamilton) (Bagridae) [J]. *Acta protazool.*, 2001 **40**: 147—151
- [2] Xu K D, Song W B, Warren. Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritricha) from the gills of mariculture molluscs in China, with the descriptions of four new species of *Trichalina* Ehrenberg, 1838 [J]. *Syst. Parasitol.*, 1999b, **42**: 229—237
- [3] Xu K D, Song W B, Warren. Observations on trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritricha) from the gills of mariculture molluscs in China, with the descriptions of three new species of *Trichodina* Ehrenberg, 1838 [J]. *Syst. Parasitol.*, 2000, **45**: 17—24
- [4] Li L X. Descriptions of two new species of Trichodinids from freshwater fishes, *Qenagobius giurnus* Retter [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **25**: 503—507. [李连祥. 虎鱼寄生车轮虫两新种的记述. 水生生物学报, 2001, **25**: 503—507.]
- [5] Lom J. A contribution to the systematics and morphology of endoparasitic trichodinids from amphibians with a proposal of uniform specific characteristics [J]. *J. Protozool.*, 1958, **5**: 251—263
- [6] Stein G A. New data on Parasitic ciliates of the family Urceolariidae (Peritricha, Mobilina) from some marine invertebrates [J]. *Zool. Zhurn.*, 1979, **53**: 965—973
- [7] Chen Q L. Studies on the ectoparasitic Trichodinids from fishes, tadpoles and crustaceas [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1963, **3**: 99—111. [陈启盛. 鱼类、蝌蚪和甲壳动物体外寄生车轮虫 (*Trichodina*) 的研究. 水生生物学集刊, 1963, **3**: 99—111.]
- [8] Van As J G, Basson L. A further contribution to the taxonomy of the Trichodinidae (Ciliophora: Peritricha) and a review of the taxonomic status of some fish ectoparasitic trichodinids [J]. *Syst. Parasitol.*, 1989, **14**: 157—179
- [9] Lom J. The adhesive disc of *Trichodinella quizootica* ultrastructure and injury to the host tissue [J]. *Folia Parasitol.*, 1973b, **20**: 913—202
- [10] Hausmann K, Hausmann E. Structural studies on *Trichodina pedialis* (Ciliophora, Peritricha). I. The locomotor fringe and the oral apparatus [J]. *Journal of Ultrastructure Research*, 1981a, **74**: 131—143
- [11] Hausmann K, Hausmann E. Structural studies on *Trichodina pedialis* (Ciliophora, Peritricha). II. The adhesive disc [J]. *Journal of Ultrastructure Research*, 1981b, **74**: 144—155
- [12] Van As J G, Basson L. An articulated internal skeleton resembling a spinal column in a ciliated protozoan [J]. *Syst. Parasitol.*, 1990, **14**: 157—179
- [13] Urawa S, Arthur J R. First record of the parasitic ciliate *Trichalina truttae* Mueller, 1937 on chum salmon fry (*Oncorhynchus keta*) from Japan [J]. *Gyobyo Kenkyu*, 1991, **26**: 83—89
- [14] Kruger J, Basson L, Van As J G. On the ultrastructure of the adhesive disc of *Trichodina xenfados* Fantham, 1924 and *T. heterodontata* Duncan, 1977 (Ciliophora: Peritricha) [J]. *Acta Protazool.*, 1993, **32**: 245—253
- [15] Gaze W H, Wooten R. An SEM study of adhesive disc skeletal structures isolated from trichodinids (Ciliophora: Peritrichida) of the genera *Trichalina* Ehrenberg, 1838 and *Paratrichalina* Lom, 1963 [J]. *Syst. Parasitol.*, 1999, **43**: 167—174
- [16] Kruger J, Basson L, Van As J. Observations on the adhesive disc of *Trichalina xenfados* Fantham, 1924 and *T. heterodontata* Duncan, 1977 during binary fission (Ciliophora: Peritricha) [J]. *Acta Protazool.*, 1995, **34**: 203—209
- [17] Li L X. Observations on Ultrastructure of *Trichodina algonquensis* Li et Desser, 1983 and its location of classification [C]. Proceedings of the 11th symposium of the Chinese Protozoological society (abstracts). Wuhan: 2001, 134—139. [李连祥. 阿冈车轮虫的超微结构观察及其分类位置. 中国原生动物学学会第十一次学术讨论会 (论文摘要汇编), 武汉: 2001, 134—139.]
- [18] Song W B. Progress in Protozoology [M]. Qingdao: Qingdao Ocean University Press, 1999. [宋微波, 原生动物学专论. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1999.]
- [19] Shen Y F. Protozoology [M]. Beijing: Science Press, 1999. [沈蕴芬. 原生动物学. 北京: 科学出版社, 1999.]
- [20] Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences. The pathogeny graphy of fishes in Hubei province [M]. Beijing: Science Press, 1973, 194—202 [中国科学院水生生物研究所. 湖北省鱼病病原区系图志. 北京: 科学出版社, 1973, 194—202]
- [21] Xu K D, Song W B. Parasitic Trichodinid Ciliates (Ciliophora, Peritrichida) from Mariculture Fishes II, Genera *Paratrichodina*, *Trichodinella* and *Dipartiella* [J]. *J. of Ocean Univ. Qingdao*, 2000, **30** (3): 413—417. [徐奎栋 宋微波. 海水养殖鱼类外寄生车轮虫 II. 拟车轮虫属、小车轮虫属、及两分虫属. 青岛海洋大学学报, 2000, **30** (3): 413—417]
- [22] Al-Rasheed K A S, Ali M A, Sakran T, et al. Trichodinid ectoparasites (Ciliophora: Peritrichida) of some River Nile fish, Egypt [J]. *Parasitol. Internat.*, 2000, **49**: 131—137
- [23] Ahmet ÖZER. The Occurrence of *Trichodina domergui* Wallengren, 1897 and *Trichodina tenuidens* Fauré-Fremiet 1944 (Peritrichia) on Three spined Stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L., 1758 Found in a Brackish and Freshwater Environment [J]. *Acta Protazool.*, 2003, **42**: 41—46
- [24] Xu K D. Parasitic and Commensal Ciliated Protozoa from Marine Molluscs and Fishes off the Coast of the Yellow Sea and the Bohai Bay, with the Review of Mobile Peritrichous Ciliates (Protozoa, Ciliophora) [D]. Qingdao: Ocean University of Qingdao. 1999. [徐奎栋. 黄渤海常见经济贝类及鱼类的危害性纤毛虫原生动物. 青岛: 青岛海洋大学, 1999.]
- [25] Lv Z N, Lv Y Y. Studies on biology evolution system with fuzzy clustering analysis [J]. *J. Agricul. Eng.*, 1997, **12**: 278—281. [吕志

- 南、吕艳燕. 模糊聚类分析在研究生物进化系统中的应用. 农业工程学报, 1997, **12**: 278—281.]
- [26] Miao W. Molecular Phylogeny of Peritrichous Ciliates[D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, 2002.
- [廖伟. 缘毛类纤毛虫分子系统发育学研究. 武汉: 中国科学
- 院水生生物研究所, 2002.]
- [27] Lei A P, Shi Z X, Wei X Y. Diversity of the phytoplankton in Donghu Lake, Wuhan[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2003, **27**: 179—184.
- [雷安平 施之新 魏心印. 武汉东湖浮游藻类物种多样性的研究. 水生生物学报, 2003, **27**: 179—184.]

QUANTITATIVE ANALYSIS OF *TRICHODINA* DENTICLATING CHARACTERS AND PHYLOGENETIC RELATIONSHIP STUDIES ON INTERSPECIES AND INTRASPECIES

GONG Ying-Chun, YU YurHe and SHEN YurFen

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract: Since Ehrenberg(1838) firstly reported *Tricadina pediculus*, there were two milestones in the research work on trichodinids. The first was the widespread acceptance of the uniform specific characteristics proposed by Lom(1958), which resulted in a standardization of the taxonomy of trichodinids. The second was the appliance of guidelines for elucidating the shape of denticles advanced by Van As & Basson(1989), which can also be used to re evaluate previous work on trichodinids and especially to distinguish denticles between closely related species. As an important diagnosis marker, denticlating character has been widely used in species identification of the trichodine ciliates. In this paper, we firstly introduced a quantitative method of area percentage to describe denticlating. Quantitative description was achieved by measuring the percentages of the respective area of blade, central part and thorn to the denticle's and the total area of denticles to the denticlating ring's from aboral view. Basing on these quantitative values, first, we discussed the phylogenetic relationship of intraspecies of *Trichadina nobillis* from three populations; then we selected *Trichodinella lomi* as an outer group, and tentatively performed fuzzy clustering analysis on *Trichodina nobillis*, *Trichodina heterodentata*, *Trichodina dormergui*, and *Trichodina fahaka*, and studied the phylogenetic relationship of intraspecies among the four trichodinids. The results revealed the Pdr(Percentage of the area of denticles to the denticlating ring's) showed distinct difference in interspecies, and we also found *Trichodina heterodentata* and *Trichodina dormergui* with higher Ptd(Percentage of thorn area to denticle's) formed a sister group, and evolved lately, but *Trichodina nobillis* with lower Ptd evolved more early relatively. So, we concluded that the higher the Ptd was, the more lately *Trichodina* evolved. The conclusion approved the theory of evolutionary order of 6 types of denticles of Mobilina that Kuidong Xu et al. had put forward. It may not only describe quantitatively the structure of the three parts of the denticle and their interrelation, but also provide a method for the research of *Trichodina* phylogeny by this quantitative mean.

Key words: *Trichodina*; Quantitative analysis; Phylogeny relationship