

Jiang Y J, Zhao Y J, Tang F H. Population differentiation and denetic diversity of *Paratrichodina africana* parasitic on gills of tilapia [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, 49(9): 092504. [蒋玉椒, 赵元若, 唐发辉. 罗非鱼鳃寄生非洲拟车轮虫群体分化及遗传多样性 [J]. 水生生物学报, 2025, 49(9): 092504.]

罗非鱼鳃寄生非洲拟车轮虫群体分化及遗传多样性

蒋玉椒¹ 赵元若¹ 唐发辉^{1,2}

(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: 研究聚集于罗非鱼的鳃寄生非洲拟车轮虫(*Paratrichodina africana* El-Tantawy & Kazubski, 1986), 基于附着盘形态量化与SSU rDNA分子数据对采自重庆与广东两地的罗非鱼鳃寄生非洲拟车轮虫进行了群体分化与遗传多样性研究。基于附着盘形态量化研究结果表明: 重庆与广东两种群除了在齿体形态(齿体纵长、齿长、齿钩长)和齿体比方面具显著性差异($P<0.05$)外, 其他方面均无差异; PCA分析结果显示广东种群的散点图分布包含于重庆种群之中, 表明两种群的形态相似度高。遗传多样性研究结果: 28个SSU rDNA分子序列共计检测到10个单倍型, 含7个特有单倍型和3个共享单倍型, 其中Hap 3是最大的共享单倍型, 且重庆、广东两地均有分布; 广东种群(高 H_d 高 P_i 型)的遗传多样性高于重庆种群(高 H_d 低 P_i 型), 推测水温与地理分布可能是影响非洲拟车轮虫遗传多样性的重要因素。分子系统发育分析结果显示: 来自广东的Hap5位于系统树底部, 且广东样本遍布于每个分支; 而遗传分化指数(F_{st})和基因流(N_m)结果显示两群体间的基因交流不频繁, 具有中等程度的遗传分化, 以此推测重庆种群起源于广东种群, 且分子变异分析(AMOVA)结果进一步证明其种群变异主要来源于群体内(变异率为92.18%)。中性检验(Tajima's D 和Fu's F_s)和核苷酸错配分析结果认为, 非洲拟车轮虫整个群体可能经历过早期的种群扩张, 但近期未发生; 而不同地理群体(广东种群与重庆种群)均未经历过种群扩张事件。研究为后续车轮虫的群体遗传及谱系地理学研究奠定基础, 同时为水产养殖的车轮虫病防控提供参考资料。

关键词: 群体分化; 遗传多样性; 种群历史; 非洲拟车轮虫; 罗非鱼

中图分类号: S941.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2025)09-092504-09

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0099 **CSTR:** 32229.14.SSSWXB.2025.0099



罗非鱼是人类最早驯化繁育的鱼类之一, 沿热带和亚热带地区广泛分布, 因其生长迅速、适应性强、繁殖快, 已成为全球水产养殖业的重要经济鱼类^[1]。我国内陆地区于20世纪50年代开始引入罗非鱼, 目前全国多省均有养殖, 但主要集中于南方温暖地区, 并以广东、广西、海南和云南为主^[2]。然而, 随着罗非鱼养殖业的快速发展, 发现其易受各种寄生虫^[3]、真菌和病毒^[4]等感染。其中, 车轮虫病是罗非鱼常见的寄生虫病之一, 以其鳃组织为主

要寄生部位, 导致罗非鱼鳃部损伤而致其呼吸窘迫^[5], 严重时引起罗非鱼死亡, 故在一定程度上影响罗非鱼养殖业的健康发展。

车轮虫作为一类世界性分布且具危害性的游走类纤毛虫, 多寄生于鱼类和贝类, 偶见于两栖类和扁形动物等。据统计, 目前已报道的寄生于罗非鱼的车轮虫多达30种, 包括车轮虫科的4个属^[6], 且大多为车轮虫属(*Trichodina*)的种类。而非洲拟车轮虫(*Paratrichodina africana* El-Tantawy & Kazub-

收稿日期: 2025-03-25; **修订日期:** 2025-04-29

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)]

作者简介: 蒋玉椒(2000—), 女, 硕士研究生; 研究方向为鱼类寄生虫学。E-mail: 203410436@qq.com

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

ski, 1986)作为拟车轮虫属(*Paratrichodina*)目前发现的唯一感染罗非鱼的种类,表现出极高的宿主专一性和寄生部位专一性^[7]。非洲拟车轮虫一般存在于温暖的水域环境,通常与刺纹车轮虫(*Trichodina centrostrigata*)^[8]、扁平车轮虫(*Trichodina compacta*)^[5]等交叉感染罗非鱼的鳃组织。自1986年Kazubski等^[9]在非洲尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)中首次发现并报道非洲拟车轮虫后,后续国内外的相关研究则主要聚焦于形态学^[7]、系统进化^[10]及养殖病害^[5, 11]等方面;鉴于当前GenBank中车轮虫分子数据的匮乏,迄今针对非洲拟车轮虫遗传多样性和群体分化的研究则处于滞后状态。研究非洲拟车轮虫的群体遗传多样性不仅是评估其适应力和进化潜力的重要指标,也是揭示其传播机制、虫病暴发风险及病害防治的科学依据^[12]。因此,本研究以重庆和广东两地养殖罗非鱼的鳃寄生非洲拟车轮虫为研究对象,结合形态学和分子生物学方法,首次系统探讨其遗传多样性及群体分化,以期为进一步揭示该虫种的群体遗传结构及其谱系地理提供理论参考;同时亦为水产养殖的寄生虫病害防控与可持续养殖业的发展提供基础数据的支撑。

1 材料与方法

1.1 样本采集与鉴定

宿主罗非鱼(单性吉富系列: *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*)于2020—2024年期间分别采自重庆与广东两地的养殖渔场。将采集的宿主罗非鱼带回实验室,首先对其进行全身的肉眼观察,检查鱼体是否具有明显的病症(图1A);然后对体表各部位进行镜检,重点进行鳃组织的镜检,对感染车轮虫的宿主鱼进行鳃涂片,采用干银法^[13]制作银染标本用以形态学的物种鉴定。使用

全自动光学显微镜(LEICA DM6000B)对车轮虫附着盘的银染标本进行显微观察和拍照(图1)。依据Lom^[14]的“统一特定方法”进行车轮虫附着盘的形态学数据的测量和统计。

1.2 DNA的提取、扩增和测序

使用玻璃微量吸管吸取单个车轮虫,多次洗涤后放置于1.5 mL的EP离心管中,根据Sigma试剂盒(REDExtract-N-AmpTM Tissue PCR Kit)提取基因组DNA,然后放置于-20℃冰箱保存。使用上引物82F(5'-GAAACTGGGAATGGCTC-3')和下游引物LSUR(5'-GTTAGTTTCTTTTCCTCCGC-3')对18S rDNA基因进行扩增^[15]。反应条件:94℃预变性2min;94℃变性30s, 52℃退火30s, 72℃延伸1min,共进行35个循环;72℃终延伸5min。采用2%琼脂糖凝胶电泳分离PCR产物,然后在Gel Doc XR凝胶成像系统中检测目标条带,采用DNA凝胶回收试剂盒(Omega Bio-Tek, Norcross City, GA)对带目的片段的PCR产物进行纯化回收,将回收产物与pMD18-T载体(TaKaRa, Japan)连接后进行单克隆培养,筛选成功的克隆子送至生工生物工程(上海)有限公司完成测序。

本研究共计获得28条非洲拟车轮虫的SSU rDNA分子样本序列,其中广东地区15条(简称GD),重庆地区13条(简称CQ),具体样本采集信息详见表1。

1.3 系统发育树的构建

将本研究的28条非洲拟车轮虫SSU rDNA序列,使用MEGA6软件进行序列的多重比对后,运用DnaSP软件分析其单倍型类型及数量。以登录号为GU906246的周丛小车轮虫(*Trichodinella epizootica*)为外群,利用在线软件CIPRES Science Gateway构建单倍型ML系统发育树;使用FigTree v1.4.2检查系统树的拓扑结构,并利用Photoshop 2020完

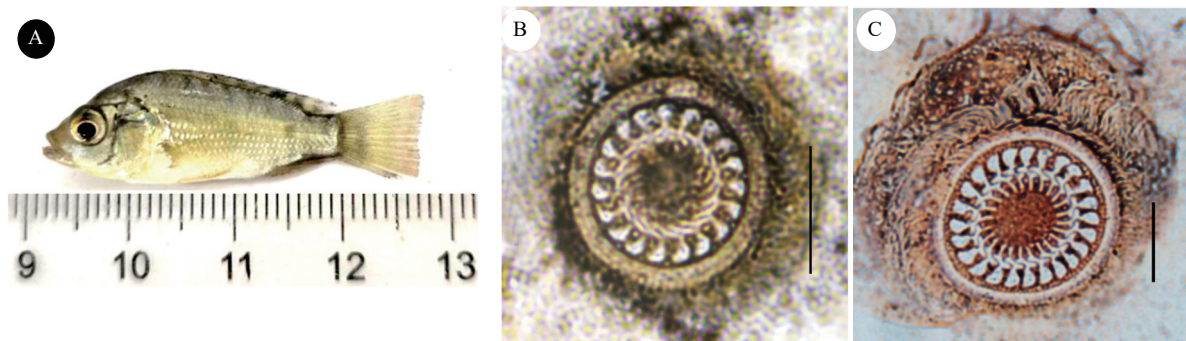


图1 宿主罗非鱼和基于银染标本的非洲拟车轮虫附着盘显微结构(比例尺: 10 μm)

Fig. 1 Host tilapia and microscopic structure of adhesive disc of *Paratrichodina africana* based on silver impregnated specimens (scale bar: 10 μm)

A. 吉富罗非鱼; B. 重庆种群; C. 广东种群

A. *Oreochromis niloticus* × *Oreochromis mossambicus*; B. Chongqing population; C. Guangdong population

成系统发育树的绘制。

1.4 附着盘形态量化的差异性分析

基于非洲拟车轮虫两地区的附着盘形态学测量数据(重庆地区样本量273个;广东地区样本量52个),根据唐发辉等^[16]提出的方法,使用SPSS软件进行附着盘形态量化的统计学比较分析。应用Past3软件对车轮虫的11项形态学特征(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、齿体数和辐线数)进行主成分分析(PCA)。

1.5 核苷酸数据的处理与分析

使用MEGA6软件对序列进行多重比对,采用DnaSP软件计算不同群体的单倍型多样性(H_d)、核苷酸多样性(P_i)、遗传分化指数(F_{st})、基因流(N_m)及绘制核苷酸的错配分布图等。运用Arlequin 3.1软件进行中性检验(Tajima's D 检验和Fu's F_s 检验)和分子方差分析(AMOVA)。

2 结果

2.1 非洲拟车轮虫的附着盘形态量化差异分析

基于非洲拟车轮虫的附着盘形态结构量化比较结果(表2):重庆和广东地区的非洲拟车轮虫在虫体直径、附着盘直径、缘膜宽、齿锥宽、齿棘长、齿体数及辐线数方面均无显著差异($P>0.05$);但在齿环直径、齿体纵长、齿长、齿钩长、齿体比五方面具有显著性差异($P<0.05$),以此表明重庆、广东两地的非洲拟车轮虫主要在齿环大小(齿环直径)与齿体形态(齿体纵长、齿长、齿钩长、齿

表2 非洲拟车轮虫两种群附着盘形态结构量化比较

Tab. 2 Comparison of adhesive disc morphological structures between two populations of *P. africana*

分析类别 Categories	重庆种群均值 Mean value of the Chongqing population (C)	广东种群均值 Mean value of the Guangdong population (G)	均值差 Mean difference (C—G)	<i>P</i>
虫体直径 Body diameter	21.760	21.999	-0.239	0.483
附着盘直径 Adhesive disc	18.311	18.549	-0.238	0.404
缘膜宽Border membrane	1.725	1.650	0.075	0.052
齿环直径 Denticular ring	11.133	10.531	0.602	0.043*
齿体纵长 Denticle span	5.356	5.731	-0.375	0.002*
齿长 Denticle length	2.660	2.516	0.144	0.017*
齿体比 Denticle rate	2.047	2.298	-0.251	0.000*
齿钩长 Blade length	2.481	2.747	-0.266	0.000*
齿锥宽Central part width	1.127	1.127	0.000	0.994
齿棘长 Ray length	1.743	1.846	-0.103	0.150
齿体数 Denticle number	21.090	20.330	0.760	0.058
辐线数Radial pins	4.380	4.330	0.050	0.873

注: *代表显著性差异 ($P<0.05$); 除了齿体数与辐线数单位为个或条之外, 其余单位均为 μm ; 齿体比=齿体纵长/齿长

Note: * represents a significant difference ($P<0.05$); except the unit of denticle number and radial pin is piece, the other statistical units are μm ; denticle rate=denticle span/denticle length

体比)方面存在形态差异。

基于附着盘形态学结构的主成分分析(PCA)的分析结果(图2):广东种群与重庆种群具有明显的“嵌套关系”,即广东种群(GD)的散点分布图包含在重庆种群(CQ)的散点分布图之中。

2.2 单倍型组成分析

经分析,本研究所获取的28条非洲拟车轮虫的SSU rDNA序列共检测到10个单倍型(表3),其中Hap 3是广东与重庆两地的共享单倍型,也是最大的单倍型,占比10%;另外,广东地区的特有单倍型有6个,分别为Hap 1、Hap 2、Hap 4、Hap 5、Hap 6和Hap 7,占比60%;而重庆地区的特有单倍型则仅有3个,分别为Hap 8、Hap 9和Hap 10,占比30%。因此,广东地区的单倍型数量明显多于重庆地区。

2.3 单倍型系统发育树分析

以周丛小车轮虫为外群,基于10个单倍型的SSU rDNA序列,并采用ML法构建单倍型基因系统发育树。系统发育树显示(图3):Hap5单独为一支系,位于系统树的基部,与其他所有单倍型构成的大支互为姐妹支。在大支中,Hap1和Hap6构成的

表1 罗非鱼鳃寄生非洲拟车轮虫样本采集信息表

Tab. 1 Sample information of *P. africana* from gills of tilapia

样本 Sample	样本号 Sample number	采集地 Localization	样本 Sample	样本号 Sample number	采集地 Localization
1	J0406	广东揭阳	15	J0132	广东中山
2	J0118	广东汕头	16	Z0043	重庆江津
3	J0134	广东汕头	17	Z0049	重庆江津
4	J0121	广东汕头	18	Z0053	重庆江津
5	J021601	广东汕头	19	X0106	重庆沙坪坝
6	J02118	广东汕头	20	XY102	重庆歇马
7	J0227	广东汕头	21	W0101	重庆江津
8	J023201	广东汕头	22	W0503	重庆江津
9	J0251	广东汕头	23	W0602	重庆江津
10	J0282	广东汕头	24	W0702	重庆江津
11	J021602	广东汕头	25	Q0103	重庆江津
12	J023202	广东汕头	26	Q0401	重庆江津
13	J0242	广东汕头	27	Q0504	重庆江津
14	J1110	广东中山	28	L0617	重庆沙坪坝

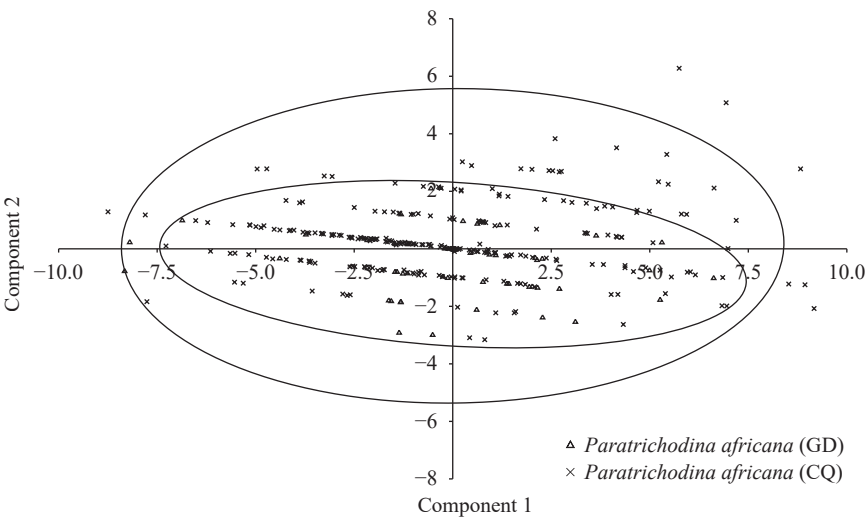


图2 非洲拟车轮虫两种群的主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis (PCA) of two *P. africana* populations

表3 非洲拟车轮虫单倍型分布情况
Tab. 3 Haplotype distribution of *P. africana*

单倍型 Haplotype	重庆种群CQ		广东种群GD	
	样本号 Sample number	具体来源 Specific source	样本号 Sample number	具体来源 Specific source
Hap 1			J0406、J0242	揭阳、汕头
Hap 2			J0118	汕头
Hap 3	Z0043、Z0049、Z0053、XY102、W0503、W0602、W0702、Q0103、Q0401	江津北碚	J0134、J021601、J023201、J0251、J0282、J021602、J0132、J023202	汕头 中山
Hap 4			J0121	汕头
Hap 5			J02118	汕头
Hap 6			J0227	汕头
Hap 7			J1110	中山
Hap 8	X0106、L0617	沙坪坝		
Hap 9	W0101	江津		
Hap 10	Q0504	江津		

小支位于大支的基部, 并与剩余的其他单倍型形成姐妹支; 在该姐妹支中, Hap8位于基部, 再与剩下其他单倍型再行聚支。综上, 来自广东地区的样本遍布于系统树的每个分支。

2.4 遗传多样性及遗传分化分析

根据遗传多样性(表4)分析结果可知: 非洲拟车轮虫各群体均具高单倍型多样性($H_d \geq 0.5$), 整个群体(GD+CQ)单倍型多样性为 $H_d=0.63492$, 其中分支种群, 即广东种群(GD)的单倍型多样性最高, 达0.72381, 明显高于整体水平, 而重庆种群(CQ) H_d 值

为0.52564, 则显著低于整体水平。另外, 同样的情况也表现在核苷酸多样性的差异, 广东种群最高($P_i=0.00673$), 表现为高核苷酸多样性($P_i \geq 0.005$), 仍高于整体水平($P_i=0.00314$); 重庆种群核苷酸多样性最低($P_i=0.00069$), 低于整体水平($P_i=0.00314$), 且重庆种群和整个群体均表现为低核苷酸多样性($P_i < 0.005$)。综上, 广东种群为高单倍型多样性和高核苷酸多样性(高 H_d 高 P_i 型), 重庆种群及整个群体则为高单倍型多样性与低核苷酸多样性(高 H_d 低 P_i 型)。

根据遗传分化指数(F_{st})与基因流(N_m)分析结果(表5): 广东与重庆两个种群间的遗传分化指数(F_{st})为0.08910、基因流(N_m)为2.56, 属于中等遗传分化水平($0.15 > F_{st} > 0.05$), 且两种群间具较高水平

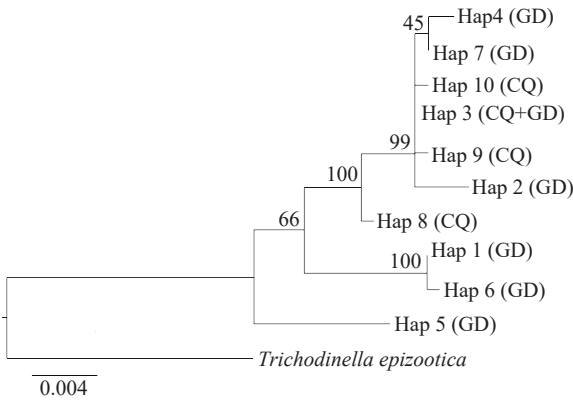


图3 基于非洲拟车轮虫SSU rDNA的单倍型基因的ML系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of haplotype ML based on SSU rDNA of *P. africana*

地理种群分类同表3

The geographical population classification is same as Tab. 3

表 4 非洲拟车轮虫遗传多样性分析及中性检验

Tab. 4 Genetic diversity analysis and neutral test of *P. africana*

群体选择 Group selection	样本数量 Sample number	单倍型数量 Haplotype number	单倍型多样性(H_d) Haplotype diversity	核苷酸多样性(P_i) Nucleotide diversity	Tajima's D	P	Fu's F_s	P
GD	15	7	0.72381	0.00673	-0.79043	0.200	1.40404	0.771
CQ	13	4	0.52564	0.00069	-1.09932	0.164	-0.80976	0.139
GD+CQ	28	10	0.63492	0.00314	-1.57870*	0.034	-0.64750	0.403

注: *代表显著性差异($P<0.05$)Note: * represents a significant difference ($P<0.05$)表 5 非洲拟车轮虫种群间遗传分化指数 (F_{st} , 左下方) 与基因流 (N_m , 右上方)Tab. 5 Genetic differentiation index (F_{st} , below the diagonal) and gene flow (N_m , above the diagonal) of *P. africana* populations

群体选择 Group selection	地区: 广东 Location: Guangdong	地区: 重庆 Location: Chongqing
GD		2.56
CQ	0.08910	

的基因交流($N_m>1$)。

2.5 遗传多样性中性检验及核苷酸错配分析

中性检验结果表明(表 4): 非洲拟车轮虫各种群的Tajima's D 值均为负值, 且整个群体 (Tajima's $D=-1.57870$, $P=0.034$) 表现为显著负值($P<0.05$); 而两个分支种群, 广东种群(Tajima's $D=-0.79043$, $P=0.200$)和重庆种群(Tajima's $D=-1.09932$, $P=0.164$)均表现为不显著负值($P>0.05$)。对于Fu's F_s , 除了广东种群为正值外, 重庆种群与整体种群均为负值, 且所有Fu's F_s 值均不显著($P>0.05$)。换言之, Fu's F_s 值在广东种群($F_s=1.40404$, $P=0.771$)的中性检测结果为不显著正值, 而在整个群体($F_s=-0.64750$, $P=0.403$)和重庆种群($F_s=-0.80976$, $P=0.139$)的检验结果均为不显著负值。

核苷酸错配分析结果显示(图 4): 非洲拟车轮虫整体和广东种群具多峰曲线, 其中整体种群由2个连续且参差不齐的锯齿形峰曲线构成(图 4A), 广东种群则具3个明显的峰曲线(图 4B), 而重庆种群则呈现近似“L”形曲线(图 4C)。

2.6 分子变异分析

基于进一步的非洲拟车轮虫的分子变异分析(AMOVA)结果(表 6): 非洲拟车轮虫的种群间变异率为7.82%, 种群内的变异率为92.18%, 说明非洲拟车轮虫的种群变异贡献率主要来源于种群内。

3 讨论

3.1 非洲拟车轮虫的遗传多样性

遗传多样性是指物种内部个体之间DNA序列的变异, 也称多态性^[17], 通常用种群中的基因型、单倍型多样性和核苷酸多样性来衡量, 是评价生物

适应性、进化潜力及生态稳定性的关键指标^[18]。Grant等^[19]认为 $H_d=0.5$, $P_i=0.005$ 是评价群体或种群遗传多样性的一个阈值, 当 $H_d\geq 0.5$, $P_i\geq 0.005$ 时, 表明种群稳定, 具有较长进化历史; 当 $H_d\geq 0.5$, $P_i<0.005$ 时, 表明种群发生瓶颈效应后种群数量快速增长、积累变异; 当 $H_d<0.5$, $P_i<0.005$ 时, 表明种群近期经历过瓶颈效应; 当 $H_d<0.5$, $P_i\geq 0.005$ 时, 表明种群因地理隔离或环境变化产生差异。在本研究中, 非洲拟车轮虫广东种群(GD)高 H_d 高 P_i 的结果表明, 该种群的数量和结构比较稳定, 并且经过了较长时间的进化过程, 积累了较为丰富的遗传变异。而重庆种群(CQ)高 H_d 低 P_i 的结果表明, 该种群经历过瓶颈效应或奠基者效应, 随后种群数量快速增长、积累变异, 但核苷酸突变尚未充分积累^[20]。此外, 非洲拟车轮虫整个群体与重庆种群一样, 推测是整体受重庆种群的影响较大, 进而成为相同的高 H_d 低 P_i 型。非洲拟车轮虫的这种高 H_d 低 P_i 的多样性分布格局还发现存在于其他车轮虫与鱼类中, 如网状车轮虫(*Trichodina reticulata*)^[21]、大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)^[22]、叶尔羌高原鳅(*Triplophysa yarkandensis*)^[23]。

一般认为, 核苷酸多样性(P_i)比单倍型多样性(H_d)更能反映种群的遗传多样性^[18]。因此, 本研究中的广东种群(高 H_d 高 P_i 型)的遗传多样性高于重庆种群(高 H_d 低 P_i 型), 推测可能与当地气候与水域温度密切相关。广东属沿海低纬度地区, 且为典型的亚热带季风气候, 其水体温度温暖且稳定, 有助于非洲拟车轮虫的种群持续与快速繁殖, 缩短其代际周期, 使得基因突变发生更加频繁, 从而促进遗传多样性的积累。相比之下, 重庆则属于亚热带湿润季风气候, 水域温度受辐射影响较大, 冬季寒冷、夏季高温, 一年四季温差显著^[24], 较大的季节温差可能导致非洲拟车轮虫不能持续稳定地繁殖, 较低的繁殖速率导致基因突变积累速率减缓, 进而对其遗传多样性的形成产生一定限制。已有研究表明, 水域温度的季节性波动对一些车轮虫, 如杜氏车轮虫(*Trichodina domerguei*)、周丛小车轮虫(*Trichodina epizootica*)的繁殖具有一定影响, 且认为在一

定温度范围内, 车轮虫的种群密度将随着水体温度的升高而增加^[25, 26]。综上, 水温与地理分布可能是影响非洲拟车轮虫遗传多样性的重要因素之一。

3.2 非洲拟车轮虫的群体分化

群体分化聚焦于不同群体或种群间的遗传差异, 常用遗传分化指数(F_{st})衡量群体分化程度, 反映群体间的遗传差异^[27]。Rousset^[28]认为 F_{st} 可以划分为5个范围值, 即 $F_{st} \leq 0$, 表明种群间几乎没有遗传分化; $0 < F_{st} < 0.05$, 表明种群间的分化程度较低; $0.05 < F_{st} < 0.15$, 表明种群间有中等程度的分化; $0.15 < F_{st} < 0.25$, 表明种群间分化程度较高; $F_{st} > 0.25$, 表示种群间具极高的分化程度。本研究中广东种群和重庆种群的 F_{st} 为0.08910 (表5), 表明这两个种群在遗传上达到了中等程度的分化。此外, 基因流(N_m)也是影响种群分化的重要因素, Wright^[29]认为 $N_m < 1$, 表明种群间基因流不足以平衡遗传漂变, 遗传分化加剧; $1 \leq N_m < 4$, 表明种群间有较多的基因交流, 遗传分化较小; $N_m > 4$, 表明种群间有足够的基因交流, 遗传分化更小。本研究结果显示, 广东种群和重庆种群的 N_m 为2.56 (表5), 表明两个种群的基因交流相对较多, 遗传差异较小。经分子变异分析(AMOVA)探索种群分化的来源, 其结果表明(表6), 非洲拟车轮虫的遗传变异主要来源于种群内。

本研究结合附着盘形态量化、PCA分析与分子系统学证据进一步探讨了解非洲拟车轮虫的种内分化关系。附着盘的形态量化研究结果显示(表2): 除齿环大小(齿环直径)与齿体形态(齿体纵长、齿长、齿钩长、齿体比)方面存在显著性差异($P <$

0.05)外, 两种群在其他方面(包含虫体直径、附着盘直径、缘膜宽、齿锥宽、齿棘长、齿体数及辐线数)均无显著差异($P > 0.05$)。结合PCA的分析结果(图2): 广东种群和重庆种群的散点高度聚集, 且重庆种群嵌套于广东种群之中, 表明两种群的形态相似度极高。因此, 结合形态量化与PCA的研究分析认为两种群在形态方面虽具有高度相似性, 但仍存在一定的种内差异, 且该差异主要体现在附着盘中的齿体形态方面。分子系统树(图3)显示, 来自广东的样本(Hap5)位于系统树基部, 且每个分支中均有广东样本, 以此表明重庆种群来源于广东种群。由于非洲拟车轮虫目前仅专性寄生于罗非鱼, 而广东省不仅是我国大陆最早引进罗非鱼的地区之一^[30], 也是罗非鱼鱼苗产量最大的省份^[31], 相比之下, 内陆包括重庆地区的罗非鱼鱼苗直接或间接地来源于两广地区(广东、广西)等; 并且进一步结合前述的广东种群单倍型多样性(H_d)与核苷酸多样性(P_i)均远远高于重庆种群(表4)^[32], 因此推测广东地区是非洲拟车轮虫在我国的原始分布区之一。

3.3 非洲拟车轮虫的种群历史动态

中性检验(Tajima's D 和Fu's F_s)可以反映种群的历史动态和选择压力。如果Tajima's D 和Fu's F_s 同为显著负值($P < 0.05$), 表明种群曾经历过扩张事件^[33]。一般认为Tajima's D 检验更侧重于识别早期的突变, 并反映古老种群的扩张历史, 而Fu's F_s 检验则对近期的种群扩张更具灵敏度^[34]。本研究中非洲拟车轮虫整体(CQ+GD)的Tajima's D 检验结果为显著负值, 表明非洲拟车轮虫整体早期可能

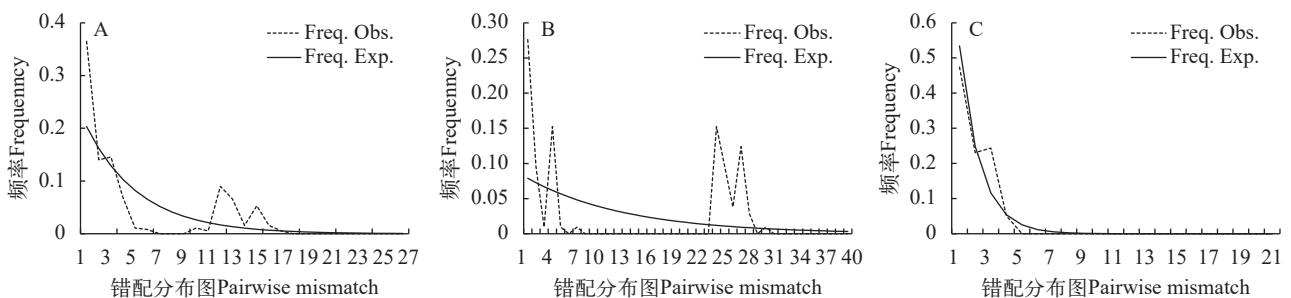


图4 非洲拟车轮虫不同种群的SSU rDNA核苷酸的错配分布图

Fig. 4 Map of SSU rDNA nucleotide mismatch for different populations of *P. africana*

A. 整个群体; B. 广东种群; C. 重庆种群; Freq. Obs表示观测频率; Freq. Exp表示期望频率

A. Whole population; B. Guangdong population; C. Chongqing population; Freq. Obs represents the observed frequency; Freq. Exp represents the expected frequency

表6 基于非洲拟车轮虫SSU rDNA的种群间分子变异分析(AMOVA)

Tab. 6 Molecular variation analysis between populations of *P. africana* based on SSU rDNA

变异来源 Source of genetic variation	自由度 Degree of freedom	平方和 Sum of square	变异组分 Variance component	变异百分比 Percentage of variation (%)
种群间Among populations	1	4.098	0.15936 Va	7.82
种群内Within populations	26	48.831	1.87811 Vb	92.18

发生过种群扩张,但整体的Fu's F_s 检验结果则为不显著负值($P>0.05$),因此认为非洲拟车轮虫群体在早期历史阶段曾经历种群扩张,但近期未再发生类似事件。广东种群的中性检验结果显示,Tajima's D 值为不显著负值($P>0.05$),Fu's F_s 值为不显著正值($P>0.05$),均说明该种群未经历过种群扩张,可能处于遗传平衡状态。重庆种群Tajima's D 和Fu's F_s 的检验结果均为不显著负值($P>0.05$),说明重庆种群未经历历史的种群扩张事件。

进一步结合核苷酸的错配分析来检测种群在长期进化过程中的动态变化。一般认为,核苷酸分布图呈“L”形曲线或单峰“泊松分布”,则表明种群经历过扩张^[35,36];核苷酸分布图呈多峰曲线,表明种群处于平衡或稳定状态^[37]。本研究中的非洲拟车轮虫的整体和广东种群均呈多峰错配分析曲线(图4A和4B),表明非洲拟车轮虫整个群体和广东种群近期未经历过种群扩张。而重庆种群的错配分析曲线(图4C)为近“L”形曲线,根据已有相关研究认为,这种曲线提示该种群可能长期处于平衡状态,未经历过显著的种群扩张^[38]。综上所述,非洲拟车轮虫整个群体可能经历过早期的种群扩张,但近期未发生;而不同地理群体(广东种群与重庆种群)均未经历过种群扩张事件,故均处于较为稳定或平衡状态,推测这可能与其对宿主罗非鱼的专性寄生密切相关。因为在寄生虫的生活史中,专性寄生可避免在更换宿主时发生大量后裔死亡,这在一定程度上保持了其种群的相对稳定,同时也是对其寄生生活适应的一种表现。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Vajargah M F. A review of the physiology and biology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Journal of Aquaculture & Marine Biology*, 2021, **10**(5): 244-246.
- [2] Xu P, Ming J. Status and Trends of the Tilapia Farming Industry Development [M]//Gui J F, Tang Q S, Li Z J, et al (Eds.), *Aquaculture in China: Success Stories and Modern Trends*. New York: John Wiley & Sons, Inc, 2018: 404-420.
- [3] El Asely A M, El-Gawad E A A, Soror E I, et al. Studies on some parasitic diseases in *Oreochromis niloticus* fish hatchery with emphasis to life stages [J]. *Journal of Advanced Veterinary Research*, 2015, **5**(3): 99-108.
- [4] Behera B K, Pradhan P K, Swaminathan T R, et al. Emergence of tilapia lake virus associated with mortalities of farmed Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus 1758) in India [J]. *Aquaculture*, 2018(484): 168-174.
- [5] Abdelkhalek N K, El-Adl M A, Salama M F, et al. Molecular identification of *Trichodina compacta* Van As and Basson, 1989 (Ciliophora: Peritrichia) from cultured *Oreochromis niloticus* in Egypt and its impact on immune responses and tissue pathology [J]. *Parasitology Research*, 2018, **117**(6): 1907-1914.
- [6] Qin W W, Zhao Y J, Tang F H. 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, 赵元著, 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.]
- [7] Jiang Y Y, Zhao Y J, Tang F H. Studies on the taxonomy and biodiversity of ectoparasitic trichodinids from cultured tilapia in Guangxi Province, China [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2015, **34**(4): 584-593. [姜艳妍, 赵元著, 唐发辉. 广西地区罗非鱼外寄生车轮虫的形态分类学及多样性研究 [J]. *四川动物*, 2015, **34**(4): 584-593.]
- [8] Bittencourt L S, Pinheiro D A, Cárdenas M Q, et al. Parasites of native Cichlidae populations and invasive *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) in tributary of Amazonas River (Brazil) [J]. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 2014, **23**(1): 44-54.
- [9] Kazubski S L, El-Tantawy S A M. The ciliate *Paratrichodina africana* sp. n. (Peritricha, Trichodinidae) from Tilapia fish (Cichlidae) from Africa [J]. *Acta Protozoologica*, 1986, **25**(4): 433-438.
- [10] Qin W, Wang S, Xia P, et al. Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Paratrichodina africana* Kazubski and El-Tantawy, 1986 based on 18S rRNA gene data with the evolutionary hypothesis of trichodinids [J]. *Parasitology International*, 2023(94): 102735.
- [11] Valladão G M R, Pádua S B, Gallani S U, et al. *Paratrichodina africana* (Ciliophora): a pathogenic gill parasite in farmed Nile tilapia [J]. *Veterinary Parasitology*, 2013, **197**(3-4): 705-710.
- [12] Merrell D J. *Ecological Genetics* [M]. London: Longman, 1981: 453-491.
- [13] Klein B M. The “dry” silver method and its proper use [J]. *The Journal of Protozoology*, 1958, **5**(2): 99-103.
- [14] 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, 刘娟, 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.]
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] Ellegren H, Galtier N. Determinants of genetic diversity [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2016, **17**(7): 422-433.
- [18] Garcia E, Wright D, Gatins R, et al. Haplotype network branch diversity, a new metric combining genetic and topological diversity to compare the complexity of haplotype networks [J]. *PLoS One*, 2021, **16**(6): e0251878.
- [19] Grant W A S, Bowen B W. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation [J]. *Journal of Heredity*, 1998, **89**(5): 415-426.
- [20] Luo L L, Meng Z H, Li S, et al. Genetic differentiation analysis of geographical populations of *Dendrothrips minowai* (Thysanoptera: Thripidae) in South China [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2022, **65**(4): 500-511. [罗林丽, 孟泽洪, 李帅, 等. 中国南方茶棍蓟马地理种群遗传分化分析 [J]. 昆虫学报, 2022, **65**(4): 500-511.]
- [21] Xu Z X, Tang F H, Zhao Y J. Genetic structure and diversity of *Trichodina reticulata* Hirschman & Partsch, 1955 populations based on SSU rDNA sequence [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, **46**(9): 1412-1419. [许治祥, 唐发辉, 赵元菴. 基于SSU rDNA序列的网状车轮虫群体遗传结构及多样性研究 [J]. 水生生物学报, 2022, **46**(9): 1412-1419.]
- [22] Zhang D, Qiang J, Fu J J, et al. Genetic analysis of five stocks of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) with microsatellite and mitochondrial D-loop sequences [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2022, **29**(9): 1277-1289. [张帝, 强俊, 傅建军, 等. 基于微卫星标记和线粒体D-loop序列的5个大口黑鲈群体遗传变异分析 [J]. 中国水产科学, 2022, **29**(9): 1277-1289.]
- [23] Zhao W H, Yi S K, Zhou Q, et al. Population genetic study of *Triplophysa yarkandensis* in Tarim River Basin in Xinjiang [J]. *Fisheries Science*, 2023, **42**(4): 664-673. [赵文浩, 易少奎, 周琼, 等. 新疆塔里木河叶尔羌高原鳅群体遗传学研究 [J]. 水产科学, 2023, **42**(4): 664-673.]
- [24] Zhao Y J, Tang F H, Tang A K. A taxonomic study of species of *Trichodinella* Sramek-Husek, and *Tripartiella* Lom, with seasonal population dynamics of *Trichodinella epizootica* Sramek-Husek - A study of trichodinids from freshwater fishes in Chongqing I [J]. *Journal of Chongqing Normal University* (Natural Science Edition), 2007, **24**(1): 1-6. [赵元菴, 唐发辉, 唐安科. 小车轮虫、三分虫种类及周丛小车轮虫种群周年动态——重庆地区淡水车轮虫研究 I [J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2007, **24**(1): 1-6.]
- [25] Guan Y Q, Li W H, Zhu L Y, et al. Population dynamics of *Carassius auratus* ectoparasitic *Trichodinella epizootica* in Baiyangdian lake and treatment of trichodiniasis [J]. *Journal of Hebei University* (Natural Science Edition), 2012, **32**(6): 639-644. [管越强, 李文会, 朱凌宇, 等. 白洋淀鲫外寄生周丛小车轮虫种群动态及车轮虫病的药物治疗 [J]. 河北大学学报(自然科学版), 2012, **32**(6): 639-644.]
- [26] Özer A. *Trichodina domerguei* wallengren, 1897 (Ciliophora: Peritrichia) infestations on the round goby, *Neogobius melanostomus* Pallas, 1811 in relation to seasonality and host factors [J]. *Comparative Parasitology*, 2003, **70**(2): 132-135.
- [27] Wang J. On the measurements of genetic differentiation among populations [J]. *Genetics Research*, 2012, **94**(5): 275-289.
- [28] Rousset F. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance [J]. *Genetics*, 1997, **145**(4): 1219-1228.
- [29] Wright S. Variability Within and Among Natural Populations [M]. Chicago: The University of Chicago Press, 1978: 65-134.
- [30] Liang Q C, Che N Q. On the development process of Tilapia culture industry in Maoming City [J]. *Fishery Information & Strategy*, 2018, **33**(2): 98-103. [梁前才, 车南青. 茂名市罗非鱼产业发展历程、问题及对策 [J]. 渔业信息与战略, 2018, **33**(2): 98-103.]
- [31] He Y H, Yuan Y M, Wang H W, et al. Present situation and development strategy of tilapia fingerling production in China [J]. *Journal of Agriculture*, 2018, **8**(9): 67-70. [贺艳辉, 袁永明, 王红卫, 等. 中国罗非鱼苗种生产现状及发展对策建议 [J]. 农学报, 2018, **8**(9): 67-70.]
- [32] Oficialdegui F J, Clavero M, Sánchez M I, et al. Unraveling the global invasion routes of a worldwide invader, the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. *Freshwater Biology*, 2019, **64**(8): 1382-1400.
- [33] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. *Genetics*, 1989, **123**(3): 585-595.
- [34] Ramos-Onsins S E, Rozas J. Statistical properties of new neutrality tests against population growth [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2002, **19**(12): 2092-2100.
- [35] Yang X G, Xia M Q, Jiang J C, et al. Genetic diversity of *Pseudorasbora elongata* based on mitochondrial Cyt b gene and D-loop region sequences [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, **30**(8): 1031-1041. [杨晓鸽, 夏美琪, 姜洁晨, 等. 基于线粒体Cyt b基因和D-loop区序列的长麦穗鱼遗传多样性研究 [J]. 中国水产科学, 2023, **30**(8): 1031-1041.]
- [36] Yang L Q, Liu Y B, Gou J M, et al. Genetic diversity analysis of *Rhinogobio nasutus* in the upper Yellow River based on mtDNA *COXI* and *NDI* gene sequences [J]. *Freshwater Fisheries*, 2024, **54**(2): 58-66. [杨立强, 刘彦斌, 苟金明, 等. 基于线粒体 $COXI$ 和 NDI 基因顺序的黄河上游大鼻吻遗传多样性分析 [J]. 淡水渔业, 2024, **54**(2): 58-66.]
- [37] Fu Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection [J]. *Genetics*, 1997, **147**(2): 915-925.

[38] Du Y Y, Zhang Y P, Lou Z Y, *et al.* Unrecognized diversity, genetic structuring, and phylogeography of the genus *Triplophysa* (Cypriniformes: Nemacheilidae) sheds light

on two opposite colonization routes during Quaternary glaciation that occurred in the Qilian Mountains [J]. *Ecology and Evolution*, 2023, **13**(4): e10003.

POPULATION DIFFERENTIATION AND GENETIC DIVERSITY OF *PARATRICHODINA AFRICANA* PARASITIC ON GILLS OF TILAPIA

JIANG Yu-Jiao¹, ZHAO Yuan-Jun¹ and TANG Fa-Hui^{1,2}

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

Abstract: This study focused on *Paratrachodina africana* El-Tantawy & Kazubski, 1986 from gills of tilapia, aiming to investigate population differentiation and genetic diversity based on the morphometric quantization of adhesive disc and molecular evidence of SSU rDNA in Chongqing and Guangdong populations. Morphometric analysis of the adhesive disc revealed significant differences ($P < 0.05$) in denticle morphology, including denticle span, denticle length, blade length, and denticle ratio, while no significant differences were observed in other aspects. Principal component analysis (PCA) indicated that the scatter plot distribution of Guangdong population was nearly contained within that of Chongqing population, suggesting a high degree of morphological similarity between the two populations. Genetic diversity analysis identified 10 haplotypes among 28 SSU rDNA samples, including seven unique haplotypes and three shared haplotypes. Hap3 was the largest haplotype, present in both Chongqing and Guangdong population. The genetic diversity of Guangdong population (high H_d , high P_i) was higher than that of Chongqing population (high H_d , low P_i), implying that water temperature and geographic distribution may influence the genetic diversity of *P. africana*. Molecular phylogenetic analysis placed Hap 5 from Guangdong at the basal position of phylogenetic tree, with Guangdong samples distributed across all branches. The genetic differentiation index (F_{st}) and gene flow (N_m) indicated moderate genetic differentiation with limited gene exchange between the two populations. The above results suggested that the Chongqing population probably originated from the Guangdong population. Analysis of molecular variance (AMOVA) study further confirmed that the majority of genetic variation (92.18%) originated within populations. Neutrality tests (Tajima's D and Fu's F_s) and nucleotide mismatch analysis indicated that the whole population of *P. africana* (CQ+GD) might have undergone a population expansion event in the early stage but not recently, however the different geographic populations (Guangdong and Chongqing populations) had not undergone any population expansion events. The present study has laid a foundation for the future research on population genetics and phylogeography of trichodinids, which could provide reference data for the prevention and control of trichodiniasis in aquaculture.

Key words: Population differentiation; Genetic diversity; Population history; *Paratrachodina africana*; Tilapia