

文章编号: 1674-5566(2013)04-0609-07

## 中华绒螯蟹体表的钟形钟虫重描述及其系统发育地位分析

王宁<sup>1,2,3</sup>, 陆宏达<sup>1,2,3</sup>, 余伟楠<sup>1,2,3</sup>

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 3. 上海市水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306)

**摘要:** 通过活体观察、蛋白银染色法和硝酸银染色法对附生于中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 上的一种钟形钟虫 (*Vorticella campanula*) 的形态学进行了重描述, 并且补充了该虫未曾描述过的一些形态学特征, 这些补充的特征为: 伸缩泡一个, 直径为 7.5~8.7  $\mu\text{m}$ ; 胞质内分布着自由运动的黄色、绿色、褐色及黑色小颗粒; 直径为 9~15  $\mu\text{m}$  的圆形食物泡; 茎宽为 5.1~7.6  $\mu\text{m}$ ; 茎内肌丝宽为 2.7~3.2  $\mu\text{m}$ , 肌丝上密集分布着直径为 0.5~0.7  $\mu\text{m}$  的黑色小颗粒; 虫体表膜外侧明显横纹, 内侧颗粒状; 小膜 3 外侧 2 列动基较内侧动基长, 小膜 2 的 3 列动基等长且终止于小膜 1 和小膜 3 的交汇处, 小膜 1 内侧 2 列动基较外侧动基长; 嗜银颗粒明显、密集且分布不均。对钟形钟虫 SSU rRNA 序列的分子生物学分析对比, 与 *Vorticella campanula* (JN120250) 的相似率为 99.61%。系统发育分析表明, 钟形钟虫属与蟪状独缩虫亲缘关系较近, 钟形钟虫比同属中其他钟形钟虫更原始, 较早地从钟形钟虫属中分化了出来。

**研究亮点:** 对附生于中华绒螯蟹上的钟形钟虫的形态学进行了重描述, 补充了该虫种未曾描述过的一些形态学特征, 并分析讨论了虫体在该类群中的系统发育地位。

**关键词:** 中华绒螯蟹; 钟形钟虫; 重描述; 系统发育; SSU rRNA

**中图分类号:** S 917; S 945  
**文献标志码:** A

固着亚目缘毛类纤毛虫是淡水和海水中一类常见的原生动物, 钟形钟虫属作为该类群中的一属, 以其特有的茎附着于甲壳类等水生生物或水体非生命物质上。虽然它不以附着体为营养来源, 但由于附着作用却可以不同程度地危害淡水、海水养殖中的各种虾、蟹等甲壳类动物, 成为水产养殖中的一个广受关注的危害性类群<sup>[1-3]</sup>。本研究采集于上海市崇明地区附生于蟹体表的一种钟形钟虫, 经分析研究该虫为钟形钟虫 (*Vorticella campanula*)。该虫体附生于蟹体上并大量繁殖, 妨碍蟹的运动、觅食和脱壳等生命活动, 尤其附生于蟹鳃上影响其呼吸, 严重者导致死亡。蟹越小, 受到影响和危害越大。尽管对成蟹危害相对较小, 但大量寄生影响其商品价值。

钟形钟虫是最早依据光镜下活体观察的结果而建立的种, 以虫体的大小、伸缩泡位置和核

形为主要鉴定特征<sup>[4]</sup>, 后来, 采用了银线系<sup>[5]</sup>和纤维系统<sup>[6]</sup>作为鉴定依据的补充。本研究在已报道的研究基础上对虫体进行重描述, 并且对一些未曾描述过的伸缩泡和食物泡大小、胞质内颗粒、虫体表膜内外特征、茎宽、肌丝宽、肌丝上有无颗粒及颗粒大小、银线上嗜银颗粒、小膜的排列方式等形态特征进行补充, 通过分子生物学分析确定了钟形钟虫在钟形钟虫属中的系统发育地位, 不仅丰富了钟形钟虫的形态学和系统发育方面的内容, 而且为中华绒螯蟹养殖过程中的固着亚目缘毛类纤毛虫病原调查、检测、鉴定和防治等方面提供基础性的研究资料。

### 1 材料与方法

#### 1.1 虫体采集与形态学研究

虫体采集于上海市崇明福岛水产养殖合作

收稿日期: 2013-02-27 修回日期: 2013-03-25

基金项目: 上海市农委中华绒螯蟹产业技术体系建设项目 (D8003100208); 上海海洋大学研究生科研基金项目 (A2500110033); 上海高校知识服务平台上海海洋大学水产动物遗传育种中心项目 (ZF1206)

作者简介: 王宁 (1985—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产动物病害及防治。E-mail: wangning293@163.com

通信作者: 陆宏达, E-mail: hdlu@shou.edu.cn

社,在解剖镜下用解剖针从蟹体上刮取部分虫体进行形态学研究,另取少许虫体于培养皿中,加入少许大肠杆菌扩大培养后,虫体用于分子生物学研究分析材料。

活体观察在 OLYMPUS BX41 显微镜及 OLYMPUS IX71 微分干涉显微镜下进行。蛋白银染色法参照 WILBERT<sup>[7]</sup>,硝酸银染色法参照宋微波<sup>[8]</sup>。虫体模式图均参照活体及蛋白银染色制片并通过手绘和画图软件(Adobe Photoshop CS5)绘制。形态学术语参照 CORLISS<sup>[9]</sup>和 SHI 等<sup>[10]</sup>。

### 1.2 SSU rRNA 的扩增、测序和分析

虫体收集后,用无菌水洗 3 遍后加入 500  $\mu\text{L}$  裂解液(100 mmol/L NaCl;10 mmol/L Tris-Cl pH 8.0;10 mmol/L EDTA;0.2% SDS;0.2 mg/mL 蛋白酶 K),55  $^{\circ}\text{C}$  水浴中 12 h 使虫体裂解,裂解过程中每 2~3 h 颠倒混匀虫体。样品裂解后,用苯酚/氯仿法抽提基因组 DNA<sup>[11]</sup>,将 DNA 溶于 TE(pH 8.0)中,于 4  $^{\circ}\text{C}$  下保存备用。

PCR 扩增的正向引物:5'-GAAACTGCGAATG GCTC-3',反向引物:5'-TGATCCTCTGCAGGTTAC CTAC-3'<sup>[12]</sup>。PCR 反应体系为:2  $\mu\text{L}$  的模板 DNA,2  $\mu\text{L}$  的上游引物,2  $\mu\text{L}$  的下游引物,25  $\mu\text{L}$  的 Mixture(0.1 U *Taq* DNA 聚合酶;500  $\mu\text{mol/L}$  的每种 dNTP;20 mmol/L Tris-Cl pH 8.3;100 mmol/L KCl;3 mM  $\text{MgCl}_2$ ,天根生化科技有限公司),加双蒸水至 50  $\mu\text{L}$ 。反应条件为:反应前 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 5 min,94  $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min,60  $^{\circ}\text{C}$  退火 2 min,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 2 min,共 30 个循环,72  $^{\circ}\text{C}$  再延伸 10 min。

PCR 产物经纯化回收、连接 pUCm-T vector、转化 *Escherichia coli* Top 10F<sup>1</sup> 和克隆后,送上海生工生物工程有限公司测序。同源核酸序列来自 GenBank,用 ClustalX2 程序进行序列重排和同源比较。通过 MEGA4 软件 Bootstrap 自检,以邻接法(Neighbor-joining, NJ)构建分子系统树。

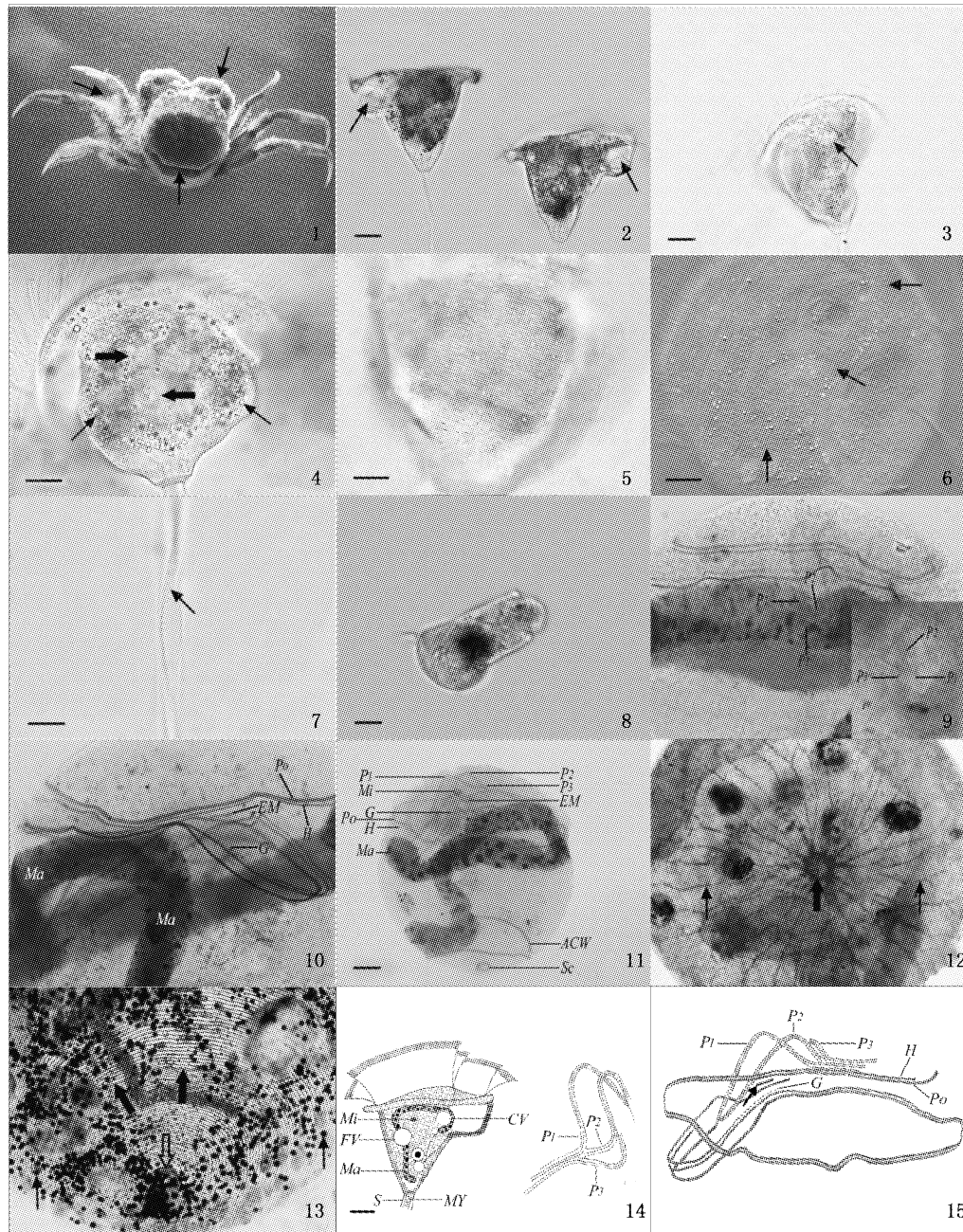
## 2 结果

### 2.1 钟形钟虫形态学重描述及补充描述

对钟形钟虫形态学进行了重描述,该虫体聚生于中华绒螯蟹的步足、螯足和甲壳上,眼部及触角也有附生,虫体生长旺盛时呈现为白色絮状物附着(图版-1);虫体口围盘完全展开时,可见一个很大“空泡”状(图版-2);虫体呈倒置的钟

形(图版-2,14),长宽为 56~82  $\mu\text{m}$   $\times$  50~75  $\mu\text{m}$ ,长宽比约为 1:1;口围唇宽大,为 76~102  $\mu\text{m}$ ;伸缩泡一个,位于虫体上 1/3,口前庭部位(图版-3);游泳体为柱状,长宽为 90~103  $\mu\text{m}$   $\times$  52~59  $\mu\text{m}$ (图版-8);大核“J”形,在口围唇旋转约一周后延伸到虫体的下部,小核很小,椭圆形,位于大核上部转弯处(图版-11);蛋白银染色制片,可见口区单、复动基列围绕口围盘逆时针方向 1.5 圈后进入口前庭,并在口前庭内继续旋转约一周,复动基列在口前庭的下半部分形成由 3 片小膜组成的修长口区小膜,3 片小膜均由 3 列动基组成,小膜 2(P2)终止于小膜 1(P1)和小膜 3(P3)的交汇处(图版-9,14,15);芽动基列位于口前庭的上部,与单动基列平行,口外小膜位于口前庭的开口处(图版-10,15);虫体表面可见稀疏细微的纵向纤维,自帚胚处分出约 20 条,向两端延伸的过程中发出分支,然后彼此相连接,形成一个网状的纤维系统。纵向纤维经过反口纤毛环后逐渐汇合连接,终止于帚胚处(图版-12);硝酸银染色制片,可见口围唇到反口纤毛环的横向银线数为 72~85 条,反口纤毛环到帚胚为 30~48 条(图版-13)。

补充了钟形钟虫未曾描述过的一些形态学特征,(1)伸缩泡一个,直径为 7.5~8.7  $\mu\text{m}$ (图版-3);(2)虫体呈棕褐色,高倍镜下虫体胞质内分布着自由运动的黄色、绿色、褐色及黑色的小颗粒(图版-4);(3)胞质内分布着直径为 9~15  $\mu\text{m}$  的大小不等的圆形食物泡(图版-4);(4)高倍镜下表膜条纹明显(图版-5);(5)微分干涉显微镜下表膜内侧颗粒状(图版-6);(6)茎的表面光滑,最长可达 400  $\mu\text{m}$ ,茎宽为 5.1~7.6  $\mu\text{m}$ ;肌丝宽为 2.7~3.2  $\mu\text{m}$ ,肌丝上分布着直径为 0.5~0.7  $\mu\text{m}$  的黑色小颗粒,且较为密集(图版-7);(7)小膜 2 终止于小膜 1 和小膜 3 交汇处,小膜 3 内侧一列动基较短,终止于小膜 2 末端,小膜 1 和小膜 3 汇合后继续向下延伸形成的 5 列动基的口区小膜。小膜 3 的 2 列动基平行向下延伸且最长,小膜 1 外侧 1 列动基较内侧 2 列动基短,并且外侧 1 列动基与内侧 2 列动基分离距离较远(图版-9,14);(8)银线系统排列紧密,反口纤毛环以上的银线较下部稀疏,银线上散布嗜银颗粒明显、密集且分布不均匀(图版-13)。



图版 钟形钟虫活体(1~8)、蛋白银(11~12)、硝酸银(13)染色后的显微照片及模式图(14~15)

Plate Photomicrographs of *V. campanula* from life(1~8) and after protargol(11~12) and silver nitrate(13) and schematic drawing(14~15)

1. 虫体群体附生于中华绒螯蟹上,示虫体(↑);2. 虫体的“空泡”状结构(↑);3. 伸缩泡(↑);4. 胞质内的小颗粒(↑),食物泡(↑);5. 高倍镜下个体,示虫体表膜条纹;6. 微分干涉显微镜下个体,示虫体表膜内侧颗粒状(↑);7. 茎,茎内肌丝颗粒(↑);8. 游泳体;9. 口区小膜的排布模式;10,11. 膜内整体纤毛图式及大核、小核;12. 表膜纵向纤维(↑),带胚(↑);13. 银线系统,反口纤毛环(↑),带胚(↑),嗜银颗粒(↑);14. 活体形态及口区小膜的排布模式;图 15. 虫体内整体纤毛图式,口外小膜(↑)。ACW. 反口纤毛环;EM. 口外小膜;G. 芽动基列;H. 单动基列;Ma. 大核;Mi. 小核;P1-3. 咽膜 1-3;Po. 复动基列;Sc. 带胚;CV. 伸缩泡;FV. 食物泡;MY. 肌丝;S. 茎。标尺, 20 μm(图 2,3,8,14), 10 μm(图 4,5,6,7,11)。

扩增产物经测序其长度为 1 651 bp 的 SSU rRNA 序列(图 1), 登录号为 JX869064。经 BLAST,结果显示本钟形虫与 GenBank 上的钟形

钟虫 *V. campanula* (JN120250)、*V. campanula* (DQ662849) 和 *V. campanula* (AF335518) 的 SSU rRNA 序列相似度分别为 99.61%、98.19% 和

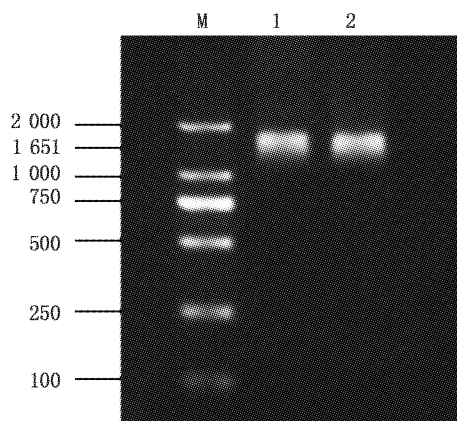


图1 钟形钟虫的 PCR 扩增产物电泳图谱

Fig. 1 Electrophoretogram of *Vorticella campanula*'s PCR product

M. Marker; 1. 样品 1; 2. 样品 2。

97.64%, 与 *V. campanula* (JN120250) 只有 6 个相对应碱基的差异。构建的 SSU rRNA 分子系统树 (图 2) 中, 钟虫属 *Vorticella*、伪钟虫属 *Pseudovorticella*、分离独缩虫属 *Apocarchesium*、聚缩虫属 *Zoothamnium* 和螳状独缩虫 *Cachesium polypinum* 按各自所属聚在一起。钟形虫属聚成的一枝与螳状独缩虫形成姐妹枝, 在钟形虫属聚成的一枝内, 钟形钟虫再单独分出一枝与这一大枝内其他钟形钟虫形成姐妹枝。从发育上来看, 钟形钟虫位于钟形虫属这一大分枝的基层, 并且介于螳状独缩虫 (*C. polypinum*) 与其他钟形虫之间。

## 2.2 SSU rRNA 序列分析和系统发育地位

本钟形虫在形态上与施心路所描述的钟形钟

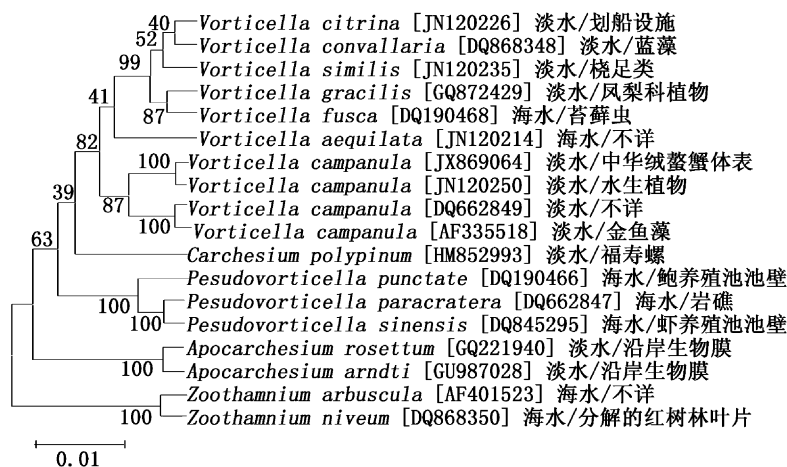


图2 利用 NJ 法根据 SSU rRNA 序列构建的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree generated by Neighbor-joining analysis method based on SSU rRNA sequences of ciliates

分枝间的数字代表 Bootstrap 自检 1 000 次的支持率。

虫一致, SSU rRNA 序列与钟形钟虫 *V. campanula* (JN120250) 相似度高达 99.61%, 本钟形虫为钟形钟虫 (*Vorticella campanula*)。

## 3 讨论

中华绒螯蟹是一种以淡水为主要生境的甲壳类动物, 为淡水缘毛类纤毛虫附生的对象之一。钟形钟虫是淡水中一种常见的缘毛类纤毛虫, 可附生于枝角类、桡足类<sup>[13]</sup> 和水生植物<sup>[6]</sup> 等生物上, 虽然通过活体形态、纤维系统及银线系统作为目前鉴定该类群的依据, 但该类群有些虫种表现性状差异很小, 仅通过形态学鉴别会产生差错, 因此除形态学外, 还应进行核酸序列比对

对虫种鉴定更为准确, 本研究虫体无论在形态特征上还是在 SSU rRNA 序列、生境上均与已报道的钟形钟虫<sup>[13, 18]</sup> 一致, 表明本钟形虫为钟形钟虫 *V. campanula*, 但附生于中华绒螯蟹体表的钟形钟虫未见报道。

本研究在对虫体形态学进行重描述的同时, 补充了一些未曾描述过的形态学特征: (1) 伸缩泡的大小在固着亚目缘毛类纤毛虫种间具有差异性, 已报道的研究中只描述其数量和位置, 对其大小也只表述为大、小或较小, 没有具体大小数据和范围, 如棕色钟形虫 *V. fusca*<sup>[14]</sup> 的伸缩泡描述为大, 拱钟形虫 *V. fornicata*<sup>[1]</sup> 为小, 海洋钟虫 *V. marine*<sup>[1]</sup> 为较小, 这种没有实际测量数据的表

述无比较的标准,因此本研究对伸缩泡大小进行了测量,能更精确的区别种间伸缩泡大小的差异;(2)虫体灰褐色是钟形钟虫的一个常用鉴定特征之一<sup>[6,15]</sup>,但是部分虫种,如棕色钟形虫 *V. fusca*、格莱伪钟虫 *P. greli* 等也具有类似灰色的胞质内含物,因此将虫体的颜色作为一个鉴定指标还不是很准确,还需对引起其体色的物质进一步深入观察研究;(3)食物泡在钟形虫属、种间具有一定大小差异,如形态相似的多疣伪钟虫 *P. verrucosa* 和弗艾氏伪钟虫 *P. faurefremieti* 食物泡直径分别为 8 ~ 12  $\mu\text{m}$  和 6 ~ 12  $\mu\text{m}$ <sup>[16]</sup>,本研究测得钟形钟虫食物泡直径为 9 ~ 15  $\mu\text{m}$ ,超过这两个虫种的最大值,目前钟形虫属中没有发现比这更大的,因此食物泡的大小可以作为本种区别其他种的一个特征的可能;(4)该类群虫体表膜外侧条纹明显与否,各种间有所差异,如星云钟虫 *V. nebuliera* 外侧表膜条纹低倍镜下不可见,高倍镜下明显,而派氏钟虫 *V. petzi* 外侧表膜条纹在低倍镜下就很明显<sup>[16]</sup>,本研究虫体仅高倍镜下可见但不明显,这在钟形虫属中有别于其他种,可以作为本种的一个物征;(5)微干涉显微镜下观察,虫体皮膜内侧呈颗粒状(图版-6),这种结构目前尚未见报道,是否为本种所特有,有待进一步去研究和证明;(6)测量了钟形钟虫茎、茎内肌丝宽度及肌丝上颗粒大小,分别为 5.1 ~ 7.6  $\mu\text{m}$ 、2.7 ~ 3.2  $\mu\text{m}$  和 0.5 ~ 0.7  $\mu\text{m}$ ,这些特征大小在种间也不尽相同,与钟形钟虫形态相似的蒋氏钟虫 *V. chiangi*,其茎宽 4 ~ 5  $\mu\text{m}$ 、茎内肌丝宽 1.5 ~ 2  $\mu\text{m}$ 、肌丝上串状螺旋排列着 0.2 ~ 0.4  $\mu\text{m}$  的灰色小颗粒<sup>[16]</sup>,钟形钟虫的这些特征大小都与其具有很大的差异,因此这些测量的数据及特征对钟形钟虫的鉴定具有一定参考价值;(7)3 片口区小膜的排列方式具有高度的多样性和种内稳定性,因此可以作为区分同属不同种间,尤其是形态学高度相似的种之间的关键特征<sup>[17-18]</sup>。虽然钟形钟虫的表膜下纤维系统已有过研究<sup>[6]</sup>,但是对 3 片口区小膜的排列方式却没有能够描述,经蛋白银染色后,观察到本研究虫体小膜 3 内侧 1 列动基较短且终止于小膜 2 末端,外侧 2 列动基平行向下延伸且最长,小膜 1 外侧 1 列动基较内侧 2 列动基短,并且外侧 1 列动基与内侧 2 列动基分离距离较远;(8)钟形钟虫的嗜银颗粒密集且分布不均,这有别于其他钟形虫,如拟美丽钟虫(*V.*

*parapulchella*)嗜银颗粒较少,稀疏,而派氏钟虫则排列很规则<sup>[16]</sup>,对嗜银颗粒特征的描述补充了钟形钟虫鉴定学的内容。

此外,本研究中测得钟形钟虫长为 56 ~ 83  $\mu\text{m}$ ,与 GREEN<sup>[19]</sup>测得附生于枝角类的钟形钟虫长(60 ~ 70  $\mu\text{m}$ )相差较近,而与 WARREN<sup>[15]</sup>记录的附生于水生植物上的钟形钟虫长(50 ~ 157  $\mu\text{m}$ )相差较大,最大值与之相差一半。前两者虫体所附生的基质都具游动性和具甲壳的共同特征,因此作者认为附生于具有该类生物特征的钟形钟虫,其体形都要相对小一些,并且附生基质的不同对虫体大小具有一定的影响。至于水体中理化因子及食物对虫体大小的影响,目前尚无人研究,这有待进一步研究。虫体有一个很大“空泡”状(图版-2)结构,目前尚未发现其他虫种具有这种特征,因此可以作为该虫种表观鉴定特征的依据。

SSU rRNA 序列与钟形钟虫 *V. campanula* (JN120250)、*V. campanula* (DQ662849) 和 *V. campanula* (AF335518) 的相似度分别为 99.61%、98.19% 和 97.64%,钟形钟虫的这种序列间的差异性可能是由于虫种处于不同环境或地域所造成变异的结果。SUN 对取自不同地区的钟形钟虫的遗传距离作了研究,3 个采集于武汉及两个采集于日本的钟形钟虫间的遗传距离没有差别,但是在澳大利亚和中国其他地区采集的钟形钟虫,其遗传距离为 2.38%<sup>[20]</sup>。本研究的虫体取自上海崇明中华绒螯蟹体表,测得的序列与已报道的存在差异,这种原因很可能是由于地理差异的变化以及钟形钟虫作为单细胞动物,对环境的变化较为敏感,繁殖快速,世代时间短,生境又复杂,更易变异的结果。

SSU rRNA 基因序列高度保守,拥有充足的信息量和变异位点,能够保障在分析低阶元间系统发育关系时具有足够的分辨率,也能很好地应用于高阶元间系统发育关系的分析<sup>[14]</sup>,因此本研究采用 SSU rRNA 基因序列分析钟形钟虫的系统发育地位。在系统发育树中,钟形虫属、螳状独缩虫和伪钟虫属按各自所属聚集在一起,钟形虫属聚成的一枝与螳状独缩虫形成姐妹枝,表明螳状独缩虫与钟形虫的亲缘关系较近,这一点从其各自形态学结构上也体现了出来。如,虽然螳状独缩虫的分枝群体有别于钟形虫的单独个体,但

是他们拥有螺旋收缩的茎和肌丝这一共同特征,这种依靠形态学的分类方法也一直被沿用<sup>[21]</sup>。在钟虫属组成的一枝内,钟形钟虫单独分出聚成一枝与其他钟形虫聚成的一枝形成姐妹枝。从发育上看,钟形钟虫位于钟形虫属所聚成的这一大分枝的基层,介于螳状独缩虫与同属中其他钟形虫之间,表明了钟形虫属与螳状独缩虫亲缘关系较近,钟形钟虫与螳状独缩虫的亲缘关系比其他钟形虫更近。钟形钟虫比同属中其他钟形虫更原始,较早地从钟形虫属中分化了出来。从发育树上来看,该类群附生的基质广泛,种属间并没有按照附生的基质而聚类,而且也没有完全按照生境而聚类,如 *V. fusca* (海水) 不与 *V. aequilata* (海水) 聚在一起,而与 *V. gracilis* (淡水) 聚在一起,因此该类群的系统发育与附生的基质和生境没有关系。

钟形钟虫的蛋白银染色得到上海海洋大学水产与生命学院的潘宏博老师的帮助,在此表示感谢!

#### 参考文献:

- [1] 宋微波. 共栖于对虾体表的致病性纤毛虫 I (纤毛动物门, 缘毛目) [J]. 青岛海洋大学学报, 1991, 21 (3): 119 - 128.
- [2] 宋微波. 共栖于对虾体表的致病性纤毛虫 II (纤毛动物门, 缘毛目) [J]. 青岛海洋大学学报, 1991, 21 (4): 45 - 55.
- [3] 宋微波. 共栖于对虾体表的致病性纤毛虫 III (纤毛动物门, 缘毛目) [J]. 青岛海洋大学学报, 1992, 22 (2): 107 - 117.
- [4] KAHL A. Urtiere oder Protozoa. I: Wimpertiere oder Ciliata (Infusoria), eine bearbeitung der freilebenden und ectommensalen Infusorien der marinen Tintinnidae. 4. Peritricha und chonotricha [M]. Jena: Verlag von Gustar Fischer, 1935: 651 - 864.
- [5] Foissner W. Taxonomische und ökologische revision der ciliaten des saprobiensystems: peritrichia, Heterotrichida, odontostomatide [M]. Bayerisches Landesamt für wasserwirtschaft, 1992: 1 - 502.
- [6] 施心路, 余育和, 沈韞芬. 钟形钟虫形态学及表膜下纤维系统的研究 [J]. 水生生物学报, 2003, 27 (1): 64 - 68.
- [7] WILBERT N. Eine verbesserte Technik der Protargolimpregnation für Ciliaten [J]. Mikrokosmos, 1975, 64 (6): 171 - 179.
- [8] 宋微波, 王梅. 应用于纤毛虫银线系染色的干银法新改良 [J]. 动物学杂志, 1995, 30 (1): 38 - 39.
- [9] CORLISS J O. The Ciliate Protozoa: Characterization, Classification and Guide to the Literature [M]. 2nd ed. Pergamon Press, Oxford, 1979.
- [10] SHI X, WARREN A, YU Y, et al. Infraciliature and myoneme system of *Campanella umbellaria* (Protozoa, Ciliophora, Peritrichida) [J]. Journal of morphology, 2004, 261 (1): 43 - 51.
- [11] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T. Molecular Cloning: a Laboratory Manual [M]. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989.
- [12] CLAMP J C, WILLIAMS D. A Molecular Phylogenetic Investigation of Zoothamnium (Ciliophora, Peritrichia, Sessilida) [J]. Journal of Eukaryotic Microbiology, 2006, 53 (6): 494 - 498.
- [13] GREGORIO F L, MARIA L T. A review of the species of protozoan epibionts on crustaceans. I. Peritrich ciliates [J]. Crustaceana, 2000, 73 (6): 643 - 683.
- [14] SUN P, SONG W B, CLAMP J, et al. Taxonomic Characterization of *Vorticella fusca* Precht, 1935 and *Vorticella parapulchella* n. sp., Two Marine Peritrichs (Ciliophora, Oligohymenophorea) from China [J]. Journal of Eukaryotic Microbiology, 2006, 53 (5): 348 - 357.
- [15] WARREN A. A revision of the genus *Vorticella* (Ciliophora: Peritrichida) [J]. Bulletin of the British Museum (Natural History). Zoology, 1986, 50: 1 - 57.
- [16] 孙萍, 宋微波. 山东沿海固着亚目缘毛类纤毛虫的分类学研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [17] CLAMP J C. Three new species of lagenophryid peritrichs (Ciliophora) ectocommensal on freshwater decapod crustaceans from Madagascar [J]. Journal of Eukaryotic Microbiology, 1992, 39: 732 - 740.
- [18] CLAMP J C. Redescription of *Ellobiophrya brevipes* (Laird, 1959) n. comb. (Ciliophora, Peritrichia) and the fine structure of its pellicle and cinctum [J]. Journal of Eukaryotic Microbiology, 1997, 44: 374 - 382.
- [19] GREEN J. Parasites and epibionts of Cladocera [J]. The Transactions of the zoological society of London, 1974, 32: 417 - 515.
- [20] SUN P, CLAMP J C, XU D, et al. *Vorticella* Linnaeus, 1767 (Ciliophora, Oligohymenophora, Peritrichia) is a grade not a clade: redefinition of vorticella and the families vorticellidae and astylozoidae using molecular characters derived from the gene coding for small subunit ribosomal RNA [J]. Protist, 2012, 163 (1): 129 - 142.
- [21] LYNN D H, SMALL E. Phylum Ciliophora Doflein, 1901 [M] // LEE J J, LEEDALE G F, BRADBURY P. An Illustrated Guide to the protozoa, 2nd ed. Allen press, Lawrence, 2002: 371 - 656.

## Redescription and phylogenic analysis of *Vorticella campanula* attached on *Eriocheir sinensis*

WANG Ning<sup>1,2,3</sup>, LU Hong-da<sup>1,2,3</sup>, YU Wei-nan<sup>1,2,3</sup>

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Freshwater Fishery Germplasm Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306 China; 3. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** The morphological characteristics of *Vorticella campanula* attached on *Eriocheir sinensis* were redescriptioned by the observations of living bodies and protargol and silver nitrate impregnated bodies. Some new morphological supplemented characteristics were: One contractile vacuole was 7.5 – 8.7  $\mu\text{m}$  in diameter. Freedom movements of some yellow, green, brown and black granules were within the protoplasm. Food vacuoles were 9 – 15  $\mu\text{m}$  in diameter. Stalks were 5.1 – 7.6  $\mu\text{m}$  in width. Myonemes were 2.7 – 3.2  $\mu\text{m}$  in width, on which some black granules in the diameter of 0.5 – 0.7  $\mu\text{m}$  were densely distributed. The clear striae were on the outside of pellicle and the granulars were in the inside of pellicle. The outer two kineties were longer than the inner kinety of *P3*. The three kineties of *P2* were equal in length and end of junction of *P1* and *P2*. The outer two kineties were longer than the inner kinety of *P1*. The argyrophilic grains were obvious and densely and unevenly distributed. Phylogenetic analysis indicates that *V. campanula* was more original than other *Vorticellas* and was divided from *Vorticella* at the earliest stage.

**Key words:** *Eriocheir sinensis*; *Vorticella campanula*; redescription; phylogenic; SSU rRNA