杨浩,顾泽茂.日本鲺(*Argulus japonicus*)寄生大口黑鲈的首次报道及分子系统发育研究[J].华中农业大学学报,2021,40(4):141-148.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2021.04.017

日本鲺(*Argulus japonicus*)寄生大口黑鲈的首次报道及分子系统发育研究

杨浩,顾泽茂

华中农业大学水产学院/湖北省水生动物病害防控工程技术研究中心,武汉 430070

摘要　通过形态学和分子生物学的方法对 1 种寄生于大口黑鲈体表的鲺(*Argulus* sp.)进行鉴定,并根据 SSU rDNA 序列探究鲺属内物种的系统发育关系。结果显示:鲺体呈淡黄色;雌性体长 1.93±0.46(1.42～2.54) mm,雄性体长 2.18±0.49(1.57～2.87) mm;背甲马蹄形,侧叶末端伸达第三游泳足后缘;吸盘由多条(雌性:44～52;雄性:46～47)几丁质条组成,每条几丁质条含不等数量(雌性:5～6;雄性:7～8)的几丁质片。形态学与形态测量学结果与日本鲺(*Argulus japonicus* Thiele,1900)最为相似。比对该物种 SSU rDNA 序列发现与日本鲺 JN558647 的序列相似性高达 99.77%(1 274/1 277),进一步支持鉴定为日本鲺。ML 系统进化树显示:鲺属内物种主要分为 3 个进化支;其中,日本鲺株系多位于 Clade I 中且与 *A. foliaceus* 和 *A. rhipidiophorus* 呈并系类群;本次采集的日本鲺(MW866569)聚于 Clade I 的基部,与日本鲺 KF747859 和 KF747860 株系亲缘关系最近。

关键词　日本鲺; 大口黑鲈; 形态特征; 分子系统发育; 新宿主; 物种鉴定

中图分类号　S 941.53　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1000-2421(2021)04-0141-08

鲺(*Argulus*)是一类世界分布的甲壳动物寄生虫,可感染多种淡水鱼类,引发鲺病,造成宿主的大量死亡[1-2]。目前,鲺属内已报道的物种有 129 个[3]。其中,日本鲺(*Argulus japonicus* Thiele 1900)是最常见的种类之一,最早由 Thiele 在日本发现并命名,之后随着渔业贸易的全球化,在世界各流域均有发现和报道[4-5]。日本鲺在我国分布的首次记载是在 1939 年[6],遗憾的是该研究未对宿主进行说明。之后,王耕南[7]、黄琪琰等[8]分别在显微和亚显微水平上详细描述了日本鲺的形态学特征。2014 年,Alsarakibi 等[9]调查了广东地区青鱼、鲢、虹鳟和鳜等日本鲺的寄生情况,发现在 8 种淡水鱼上均存在寄生和感染,且池塘养殖条件下日本鲺的感染率和感染强度显著高于野生环境,提出在水产养殖过程中应尤其重视日本鲺病。

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*),俗称加州鲈,隶属于鲈形目(Perciformes)、太阳鱼科(Centrachidae)、黑鲈属(*Micropterus*),原产于北美洲的密西西比河流域,20 世纪 80 年代引入我国[10]。近年来,大口黑鲈已成为我国重要的特色淡水养殖品种之一。然而,随着养殖规模的扩大、集约化程度的提高,大口黑鲈病害频发,严重限制了其养殖产业的发展。2020 年 5 月,湖北省武汉市某养殖场的大口黑鲈发生了一种鲺病,并造成大口黑鲈大量死亡。本文采用形态学和分子生物学的方法,研究了鲺的种类和系统发育关系,将其鉴定为日本鲺,这是日本鲺寄生大口黑鲈的首次报道。

1　材料与方法

1.1　病鱼采集与寄生虫分离

2020 年 5 月,湖北省武汉市某养殖场的大口黑鲈发病,取 4 尾病鱼(全长 30～40 cm,体质量 750～850 g),肉眼观察并记录病鱼体表症状,吸管吸取少量蒸馏水浸湿病鱼体表,用镊子轻轻夹取体表寄生虫转移至装有蒸馏水的培养皿中,用于后续形态学和分子生物学鉴定。

收稿日期:2021-01-23
基金项目:现代农业产业技术体系专项(CARS-46); 湖北省农业科技创新中心(高品质水产品养殖关键技术研究与示范)(2019-620-000-001-33)
杨浩,E-mail: yh2077@webmail.hzau.edu.cn
通信作者:顾泽茂,E-mail: guzemao@mail.hzau.edu.cn

1.2 寄生虫形态学观察

挑选形态完整的虫体于 1.5 mL 的离心管中，加入 4%多聚甲醛于－4 ℃固定 24 h。用镊子将固定好的虫体转移到干净的载玻片上，使用 Olympus BX53 显微镜和 Olympus DP72 数码成像系统从低倍镜到高倍镜依次观察并记录虫体的形态特征。

1.3 基因组 DNA 提取，SSU rDNA 扩增、测序及系统发育分析

1)基因组总 DNA 提取。将本文“1.1”中的虫体收集到1.5 mL的离心管中，滴加 95%的乙醇于－4 ℃下固定24 h。取出虫体置于新的 1.5 mL 的 EP 中，待乙醇挥发后，用基因组提取试剂盒(康为世纪，北京)提取虫体基因组总 DNA，保存于－20 ℃备用。

2)PCR 扩增 SSU rDNA 基因序列。选用 SSU rDNA 通用引物，上游引物：5′-AACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3′，下游引物：5′-TGATCCTTCTGCAGGTTCACCTAC-3′[11]，以材料与方法“1.3 1)”中提取的总 DNA 为模板，进行 PCR 扩增。50 μL 的 PCR 反应体系包括：2 × Es *Taq* MasterMix(25 μL)、游引物(2 μL)、下游引物(2 μL)、模板 DNA(2 μL)、ddH_2O(19 μL)。PCR 扩增条件：94 ℃预变性 5 min；94 ℃变性 45 s，56 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 1 min，35 个循环；72 ℃终延伸 10 min。

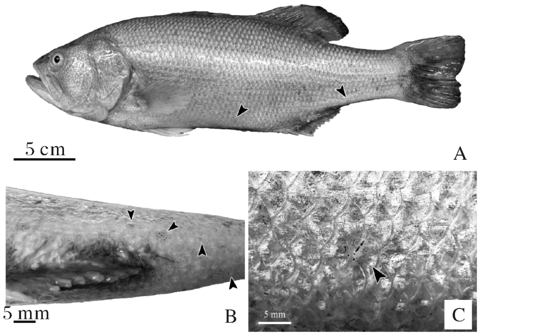
3)基因克隆与测序。对本文“1.3 2)”中 PCR 产物进行 1.5%琼脂糖凝胶电泳，采用琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(Omega，美国)纯化回收 PCR 产物，将纯化后的 PCR 产物连接至 pMD™-19T 载体中，转化至感受态细胞 DH5α，接于含有 Amp 的 LB 固体培养基中，37 ℃培养 12 h 后挑取单克隆于 LB 液体培养基中震荡培养 5 h，经 PCR 验证后，将阳性菌株送北京奥科鼎盛生物科技有限公司进行测序。

4)序列比对与分析。将测序结果进行 Blast 比对，下载 BLASTn 相似序列以及鲺属中已收录的小亚基核糖体序列。经 MAFFT(v7.273)[12]软件比对后，使用 G-blocks(v0.91b)[13]删除模糊比对片段，利用 IQ-TREE (v1.6.12)[14]软件构建 ML 系统进化树。

2 结果与分析

2.1 患病鱼症状

病鱼沿池塘四周漫游，呈缺氧状态，活力不强，易捕捉，死亡率达 30%。肉眼可见鳍条处有出血症状，体表有淡黄色的圆盘状寄生虫吸附或移行(图 1)。镜检鳃部无寄生虫，剖检内脏器官无明显病变。



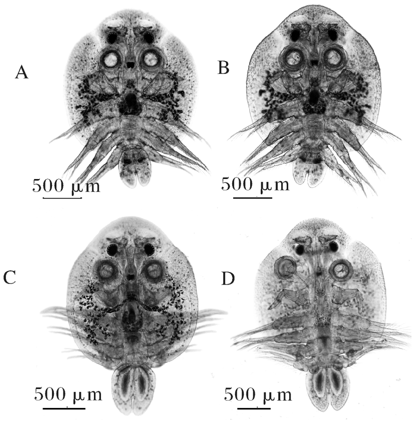
A.患病大口黑鲈的整体图，箭头指示寄生在体表的鲺；B.大口黑鲈体表病灶图，箭头指示病灶周围的鲺；C.寄生大口黑鲈的鲺(箭头指示)。A. Holistic view of the largemouth bass，arrowheads indicated the parasites；B.The focus of the parasitic infection，arrowheads indicated the parasites；C.Holistic view of the fish louse.

图 1 患病大口黑鲈

Fig.1 Morphological observations of the largemouth bass infected by fish louse

2.2 寄生虫形态特征

镜检观察发现虫体背部有马蹄形背甲，长度略大于宽度，两侧叶上有明显的树状色素条，侧叶末端钝圆，伸达第三游泳足的后缘(图 2A)；腹面观虫体背甲前缘和两侧覆盖有尖端向后的小刺(图 2B)，由前向后依次为第一触角、第二触角、复眼、吸盘、口器、颚足、游泳足。腹部呈对称的两椭圆状结构，根据腹部中是否含卵或者对称的纺锤状精巢可判断虫体性别(图2A～D)。形态学数据显示，雌性虫体体



A.雌性背面观；B.雌性腹面观；C.雄性背面观；D.雄性腹面观。A. Dorsal view of the female；B. Ventral view of the female；C. Dorsal view of the male；D. Ventral view of the male.

图 2 鲺整体形态图

Fig.2 Morphology of *Argulus* sp.

长 1.93±0.46(1.42～2.54)(n=13) mm，背甲大小为(1.17～2.09) mm× (1.00～1.78) mm；雄性虫体体长 2.18±0.49(1.57～2.87)(n=11) mm，背甲大小为(1.18～2.08) mm× (1.00～1.96) mm。

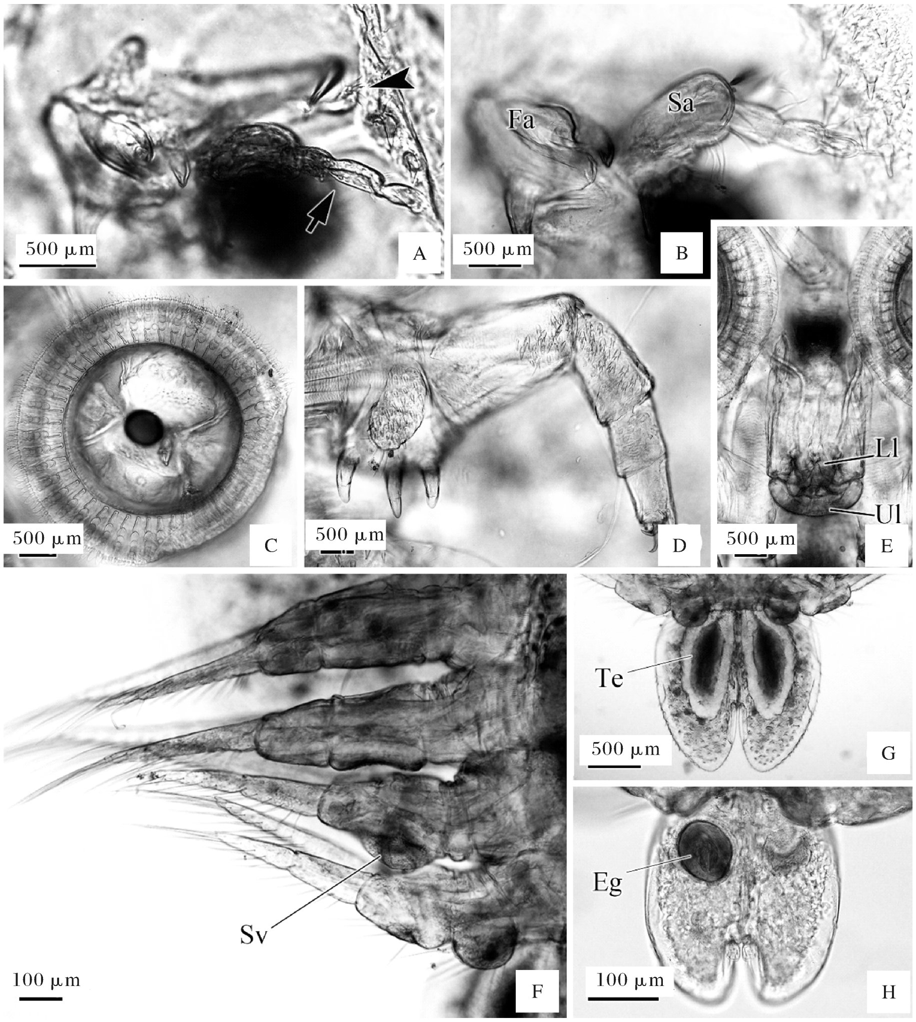
寄生虫各部位形态描述如下：

第一触角(Fa)的基节由 2 节组成。第 1 节和第 2 节的基部各着生 1 根刺。第 2 节的基部外侧有一凸起。第 2 节末端着生 1 个尖端向腹面的钩状刺。鞭由 2 节组成，末端着生 5 根刚毛(图 3A)。

第二触角(Sa)由 5 节组成。在第 1 节基部有 1 根刺，在第 1 到第 4 节的末端各着生 3～4 根刚毛。第 5 节末端着生 5 根刚毛(图 3B)。

小颚特化为吸盘。雌性吸盘几丁质条数为44～52，每条几丁质条由 1 枚长基片和 4～5 枚圆形几丁质片组成。雄性吸盘几丁质条数为 46～47，每条几丁质条由 1 枚长基片和 6～7 枚圆形几丁质片组成(图 3C)。

颚足：共 5 节，第 1 节基部有 3 根粗壮的刺，在第 1 节的腹面有一椭圆状的突起，凸起的表面分布有尖端向后的小刺，在凸起的后缘着生有中间的 3 根长刚毛和两侧的 5 根短刚毛。第 2 节至第 5 节长度逐渐减小，在第 2 节的前端至第 4 节，表面有分叉的倒刺。在第 5 节末端，着生有 2 根倒刺和 1 个指状凸起(图 3D)。



A：触角，无尾箭头示第一触角鞭，有尾箭头示第二触角；B：第二触角；C：吸盘；D：颚足；E：口管；F：游泳足(雄性)；G：雄性腹部；H：雌性腹部。Eg：卵；Fa：第一触角；Ll：下唇；Sa：第二触角；Sv：精囊；Te：精巢；Ul：上唇。A：Antenna，arrowhead showed the scourge of first antenna，arrow indicated the second antenna；B：Second antenna；C：Sucker，which supportedby sclerites；D：Maxilla；E：Mouth tube；F：Male swimming legs；G：Male abdomen；H：Female abdomen. Eg：Egg；Fa：First antenna；Ll：Lower lip；Sa：Second antenna；Sv：Seminal vesicle；Te：Testis；Ul：Upper lip.

图 3　鲺的形态特征

Fig.3　Morphology of *Argulus* sp.

口管呈短圆筒形，位于两吸盘之间。口管由上、下唇组成，上唇（Ul）向腹面呈半圆形，下唇（Ll）形状不规则，在两侧及中间有凸起（图 3E）。

游泳足 4 对。每对游泳足可分为 4 节，且表面分布有倒刺。每对游泳足在第 4 节出现 2 个分支，分支上着生有 8 根刚毛。在第 1 对游泳足第 2 节的内侧，着生有 1 根刚毛（图 3F）。雄性第 2 游泳足基节腹面有基节突，第三游泳足的内侧有一直径约为 200 μm 的隆起，为精囊（Sv）。雌、雄虫体在第四游泳足的基节内侧均有一乳头状凸起，在凸起以及第 3 节上均着生许多刚毛（图 3F）。

腹部长度与全长的比值为 0.21～0.29，长度略大于宽度（长 0.36～0.83 mm，宽 0.31～0.65 mm）。中央裂深度为腹长的 1/2～1/4。尾叉基位，其上着生 4 根刚毛。雄性腹部中可见两对称的卵圆形的精巢（T）（图 3 G），雌性成虫腹部中可见未孵化的卵（E）（图 3H）。

本研究采集到的物种与鲺属内其他物种的形态测量学指标比较见表 1。

2.3 系统发育分析

获得 SSU rDNA 基因片段长度 1 800 bp，经 BLAST 比对发现，本研究中日本鲺株系（MW866569）与 *Argulus coregoni*（JQ740820）、*Argulus foliaceus*（JQ740819）、*Argulus* sp.（JN558648）的相似度均为 99.84%，与日本鲺（JN558647）和 *Argulus nobilis*（MH458748）的相似度为 99.77%，与鲺属内其他物种的相似度在 94.00%～99.70%。基于 SSU rDNA 序列构建 ML 系统进化树，结果显示，鲺属内物种存在 3 个支系（Clade），除 JN558647 株系外，日本鲺已报道株系均聚为一支（Clade Ⅰ），本研究采集的日本鲺（*Argulus* sp.）位于 Clade Ⅰ 基部，与日本鲺 KF747859 和 KF747860 株系亲缘关系最近（图 4）。同时，*A. foliaceus*（KF747861）和 *A. rhipidiophorus*（747862）也聚于 Clade Ⅰ 中，与日本鲺在进化树中呈并系关系。

表 1 本研究物种与鲺属其他物种的形态测量学数据

Table 1 Measurements of *Argulus* sp. in this study with other species of *Argulus*

物种 Species	性别 Gender	体长/mm Total length	背甲大小/mm Size of carapace	腹叶形状 Abdomen lobes shape	几丁质条数 No. rods in rim	几丁质片数量 No. sclerites	参考文献 Reference
日本鲺 *A. japonicus*	雌 Female	1.5～3.1	1.1～2.5 × 0.9～2.2	钝圆 Round	44～52	5～6	本研究 This study
	雄 Male	1.7～4.4	1.3～3.5 × 1.1～3.0		46～47	7～8	
日本鲺 *A. japonicus*	雌 Female	3.8～8.2	2.8～6.6 × 2.7～6.1	钝圆 Round	44～50	5～8	[2,7]
	雄 Male	1.9～4.4	2.1～3.8× 2.1～3.0		43～48	3～4	
中华鲺 *A. chinensis*	雌 Female	5.7	4.9 × 4.3	钝圆 Round	73	4～5	[7]
	雄 Male	5.4	4.5 × 3.8		68	3～4	
A. foliaceus	雌 Female 雄 Male	1.3～7.0 1.6～6.8	—	钝圆 Round	42	2～9	[15-16]
A. gracilis	雄 Male	5.7	—	钝圆 Round	—	7	[17]
A. vittatus	雌 Female	3.9～17.0	—	钝圆 Round	—	10～28	[18]
A. ellipticaudatus	雄 Male	4.9	3.9 × 3.6	钝圆 Round	73	6～7	[7]
喻氏鲺 *A. yui*	雌 Female	6.1	3.6 × 3.2	尖形 Acuminate	64	11～13	[7]
	雄 Male	5.2	3.4 × 2.8		61	6～8	
A. melanostictus	雌 Female	4.1～9.3	1.1～2.5 × 0.9～2.2	尖形 Acuminate	60～73	<18	[19]
	雄 Male	2.2～4.9	1.3～3.5 × 1.1～3.0				

续表 1 Continued Table 1

物种 Species	性别 Gender	体长/mm Total length	背甲大小/mm Size of carapace	腹叶形状 Abdomen lobes shape	几丁质条数 No. rods in rim	几丁质片数量 No. sclerites	参考文献 References
A. quadristriatus	雌 Female	7.7～10.6	6.2～9.0×4.2～6.0	尖形 Acuminate	58～61	8～11	[3]
	雄 Male	6.0	4.3 × 3.4				
A. fryeri	雌 Female	6.6	—	尖形 Acuminate	63～70	10	[17]
A. brachypeltis	雄 Male	1.6～5.7	—	尖形 Acuminate	50～51	10	[17]
A. major	雌 Female	15.0～16.0	12.0～13.0 × 10.0～11.0	尖形 Acuminate	71	11～15	[19]
A. mangalorensis	雌 Female	8.0	7.5 × 5.6	尖形 Acuminate	115～118	38～40	[20]
A. coregoni	雌 Female 雄 Male	5.7 4.0～4.5	4.2 × 3.7 3.1 ×2.8	尖形 Acuminate	64 62～71	7～8 6～9	[7,21]
A. kosus	雌 Female	5.9	—	尖形 Acuminate	54～59	6～11	[21]

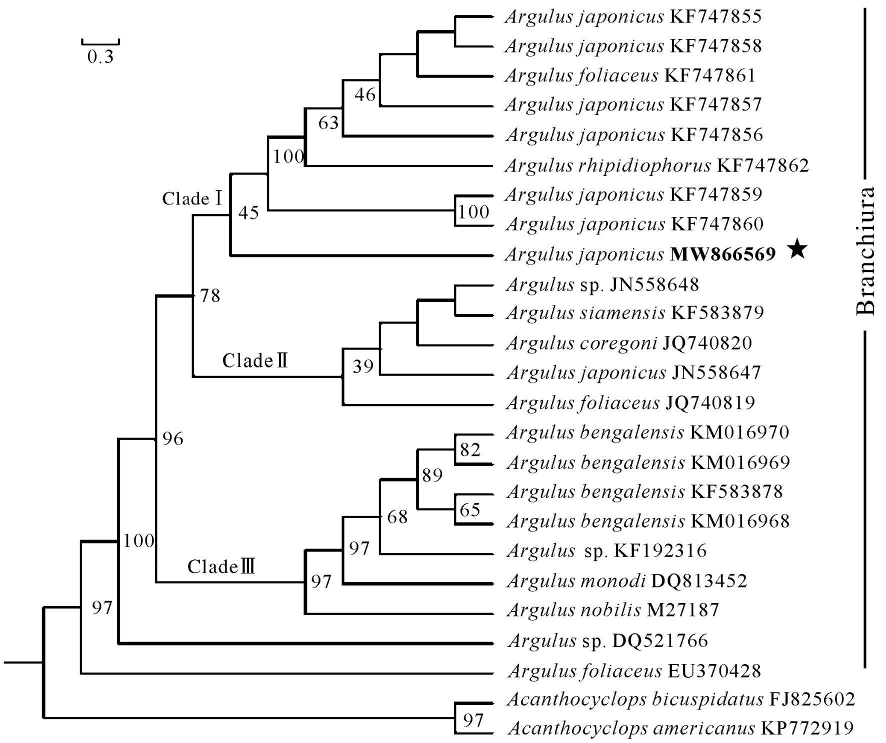


图 4　基于 SSU rDNA 序列构建的 ML 系统进化树(本研究物种标星号表示)

Fig.4　ML phylogenetic tree of SSU rDNA(asterisk indicated the isolate in this study)

3 讨　论

日本鲺引起的鲺病常导致多种水产动物的大量死亡，给水产养殖业造成严重的经济损失[21-23]。大口黑鲈是我国重要的淡水养殖品种，然而，在其寄生虫病的研究中，鲜有鲺病的相关报道。Bauer[24]、Angelina 等[25]、Ingham 等[26]以及邓国成等[27]开展了大口黑鲈的寄生虫病调查，报道了单殖吸虫、复殖吸虫、绦虫、棘头虫、线虫以及其他甲壳动物寄生虫，但均未发现鲺的寄生。Troxel[28]在加利福利亚州 13 尾大口黑鲈中检测到 1 只鲺，并将其鉴定为 *A. flavescens*。Cloutman[29]和 Mcalister 等[30]分别调查了阿肯色州大口黑鲈的寄生虫感染情况，前者发现并报道了 *A. mississippiensis* 的寄生和感染，后者分离到一种形态有所差异的鲺，遗憾的是他们未对该鲺作进一步的鉴定。在我国，梁芝源等[31]在 300 份患病大口黑鲈样本中检测 1 种鲺的寄生和感染，但该研究仅限于发现报道，尚未对病原在种级阶

元上作出鉴定。本研究在湖北省武汉市的大口黑鲈体表分离到1种鲺,并采用形态学和分子生物学的方法,将其鉴定为日本鲺(*A. japonicus*),通过检索资料发现,这是日本鲺寄生大口黑鲈的首次报道。

鲺的物种鉴定主要是通过比较形态学特征的差异,常用的形态特征包括腹部侧叶的形状[1]、吸盘几丁质条数以及几丁质片的数量[7]等。日本鲺腹部侧叶钝圆,可明显区别于腹部侧叶尖形的物种,如*A. coregoni*[21]以及喻氏鲺(*Argulus yui*)[7]等(表1)。另外,王耕南[7]、Wadeh等[2]发现日本鲺吸盘的几丁质条通常由3～8个数量不等的几丁质片组成,雄性(3～4)少于雌性(5～8)。本研究发现,雌性个体几丁质片的数量(5～6)与前人研究相符,但是雄性个体几丁质片数量高达7～8,这可能是由于日本鲺处于的发育阶段不同,导致在形态上有所差异[32-33]。*A. foliaceus*在形态上与日本鲺相似,肉眼观察难以将二者区分。Yildiz等[34]及Noaman等[35]经过观察发现日本鲺和*A. foliaceus*的区别在于前者背甲的侧叶末端盖过腹部,且腹部中央裂的深度可延伸至中部,这与本研究结果相符。另外,Soes等[5]发现日本鲺的雄性个体的游泳足基部有基节突,而*A. foliaceus*无此特征。本研究发现雄性个体的第二游泳足有明显的基节凸起(图3F),进一步证实了Soes等[5]的观点。日本鲺在体色方面也表现出较大差异,本研究中的日本鲺体色淡黄,而在Zoysa等[1]、Wadeh等[2]和王耕南[7]的研究中表现为乳白色,体色的差异可能与宿主的种类及养殖生境有关。

因此,传统的形态学方法鉴定鲺存在一定的难度,尤其是对处于幼体阶段的鲺,几乎无法进行准确鉴定[32]。近年来,分子生物学技术已广泛用于寄生虫的物种鉴定。Sahoo等[36]利用随机扩增多态DNA技术分析了印度13个地区鲺的遗传多样性,发现该技术可以准确区分日本鲺和*Argulussiamensis*。Patra等[37]利用SSU rDNA序列分析了鲺属内物种的系统发育关系,发现SSU rDNA序列能有效区分该属内的物种。本研究基于SSU rDNA序列构建了ML系统进化树,发现鲺属内物种主要聚为3个支系,拓扑结构与Patra等[37]的相同。然而,日本鲺所在支系(CladeⅠ)中其株系与*A. foliaceus*和*A. rhipidiophorus*呈多系类群,日本鲺JN558647株系甚至聚于CladeⅡ中,这给确定日本鲺的系统进化位置带来困难。检索GenBank数据库中的序列信息发现,大部分鲺物种的SSU rDNA序列仅限于序列信息,缺乏相关文献报道的支持,存在误定种的可能。因此,在今后的工作中,应补充更多鲺物种分子数据,同时,结合其他的分子标记探究鲺属物种的系统进化关系。

综上所述,本研究首次报道日本鲺在大口黑鲈体表的寄生,丰富了日本鲺生物学特性的基础数据,增补了大口黑鲈的寄生虫病名录,可为今后大口黑鲈鲺病的诊断和防治提供理论依据。

参考文献 References

[1] ZOYSA M D,RYU S Y,KIM H C,et al.A scanning electron microscopic study of *Argulus japonicus* (Crustacea:Branchiura) isolated from goldfish (*Carassius auratus*) in Korea[J].Pakistan journal of zoology,2017,49(2):727-732.

[2] WADEH H,YANG J W,LI G Q.Ultrastructure of *Argulus japonicus* Thiele,1900 (Crustacea:*Branchiura*) collected from Guangdong,China[J].Parasitology research,2008,102(4):765-770.

[3] UYENO D,MIYAZAKI W,NAGASAWA K.First record of the fish louse *Argulus quadristriatus* (Branchiura:Arguloida:Argulidae) from Japanese waters,with three new host records[J].Species diversity,2017,22(1):37-44.

[4] RUSHTON-MELLOR S K.Discovery of the fish louse,*Argulus japonicus* Thiele (Crustacea:Branchiura),in Britain[J].Aquaculture and fisheries management,1992(23):269-271.

[5] SOES D M,WALKER P D,KRUIJT D B.The Japanese fish louse *Argulus japonicus* new for the Netherlands[J].Lauterbornia,2010,70:11-17.

[6] 川村多实二.关东州及满洲国陆水生物调查书[M].大连:关东州厅土木部,1940:304-308.KAWAMURA T.Survey of land and water biology in guandong and manchuria[M].Dalian:Civil Engineering Department of Guandong State Office,1940:304-308(in Chinese).

[7] 王耕南.沪宁一带四种鲺以及中华鲺生活史的初步研究[J].动物学报,1958(3):100-118.WANG G N.Preliminary studies on four species of *Argulus* parasitic on freshwater fishes taken from the area between Nanking and Shanghai,with notes on the early larval development of *Argulus chinensis*[J].Acta zoologicasinica,1958(3):100-118(in Chinese).

[8] 黄琪琰,郑德崇,邓柏仁.大中华鱼蚤和日本鲺的超微结构[J].上海水产大学学报,1992(3):120-123.HUANG Q Y,ZHENG D C,DENG B R.Ultrastructure of *Singergasilus* major and *Argulus japonicus*[J].Journal of Shanghai Fisheries University,1992(3):120-123(in Chinese with English abstract).

[9] ALSARAKIBI M,WADEH H,LI G Q.Parasitism of *Argulus japonicus* in cultured and wild fish of Guangdong,China with new record of three hosts[J].Parasitology research,2014,113

(2):769-775.

[10] 王裕玉,徐跑,聂志娟,等.池塘工程化循环水养殖模式下养殖密度对大口黑鲈生长性能和生理指标的影响[J].淡水渔业,2019,49(3):90-95.WANG Y Y,XU P,NIE Z J,et al.Growth performance and serum biochemical parameters of juvenile largemouth bass(*Micropterus salmoides*) reared at different stocking densities in an in-pond raceway recirculating culture system[J]. Freshwater fisheries, 2019, 49(3): 90-95(in Chinese).

[11] MEDLIN L,ELWOOD H J,STICKEL S,et al.The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions[J].Gene,1988,71(2):491-499.

[12] KATOH K,STANDLEY D M.MAFFT multiple sequence alignment software version 7:improvements in performance and usability[J].Molecular biology and evolution,2013,30(4):772-780.

[13] CASTRESANA J.Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis[J].Molecular biology and evolution,2000,17(4):540-552.

[14] NGUYEN L T,SCHMIDT H A,VON HAESELER A,et al. IQ-TREE:a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies[J]. Molecular biology and evolution,2015,32(1):268-274.

[15] ALAS A,OKTENER A,SOLAK K.A study on the morphology of *Argulus foliaceus* Lin. 1758 (Crustacea; Branchiura) procured from Cavuscu lake (Central Anatolia-Turkey) with scanning electron microscopy[J]. Turkish journal of biology, 2010,34(2):147-151.

[16] MIRZAEI M,KHOVAND H.Prevalence of *Argulus foliaceus* in ornamental fishes [goldfish (*Carassius auratus*) and Koi (*Cyprinus carpio*)] in Kerman, southeast of Iran[J]. Journal of parasitic diseases,2015,39(4):780-782.

[17] RUSHTON-MELLOR S K. The genus *Argulus* (Crustacea: *Branchiura*) in Africa:two new species,*A.fryeri* and *A. gracilis*,the previously undescribed male of *A. brachypeltis* Fryer and the identity of the male described as *A. ambloplites* Wilson[J].Systematic parasitology,1994,28(1):23-31.

[18] IDER D,RAMDANE Z,COURCOT L,et al.A scanning electron microscopy study of *Argulus vittatus* (Rafinesque-Schmaltz,1814) (Crustacea:Branchiura) from Algerian Coast [J].Parasitology research,2014,113(6):2265-2276.

[19] 王耕南.中国淡水鱼体上寄生的两种新鲺[J].动物学报,1960,12(12:):242-247.WANG G N. Two new species of *Argulus* from fresh-water fishes in China[J]. Acta zoological sinica, 1960,12(2):242-247(in Chinese).

[20] NATARAJAN P.A new species of *Argulus* Muller (Crustacea: *Branchiura*), with a note on the distribution of different species of *Argulus* in India[J]. Proceedings: animal sciences, 1982,91(4):375-380.

[21] KAZUYA N.Survival of *Argulus japonicus* (Branchiura: Argulidae) on a cyprinid in drought-induced brackish waters in a Japanese lake[J].Crustacean research,2019,48:99-103.

[22] NAGASAWA K,KATAHIRA H,MIZUNO K.New host and locality of the fish ectoparasite *Argulus japonicus* (Crustacea, Branchiura,Argulidae) in Japan,with a note on its heavy infection[J].Biogeography,2010,12:17-20.

[23] EVERT L,AVENANT-OLDEWAGE A.First record of *Argulus coregoni*:a fish ectoparasitic crustacean from Malaysia and additional notes on the morphology[J].Malaysian applied biology,2009,38(2):61-71.

[24] BAUER S E.Infectious diseases,parasites,and diet of game fish from lakes,rivers,and streams on Fort McCoy Military Installation [D]. Wisconsin: University of Wisconsin-La Crosse, 2010,26-33.

[25] ANGELINA D P,ERNEST H W J.Yearly parasite variation in the temperate centrarchid,*Micropterus salmoides* (Lacépède),largemouth bass,twenty-eight years after introduction into a tropical environment[J/OL].Journal of parasitology,1980,66(1):81[2021-01-23]. https://doi. org/10.2307/3280594.

[26] INGHAM R,DRONEN N.Some effects of seasonality on parasitic infection in largemouth bass, *Micropterus salmoides*, (Lacepede)[J]. The southwestern naturalist, 1984, 27: 223-224.

[27] 邓国成,白俊杰,李胜杰,等.大口黑鲈池塘养殖常见病害及其防治[J].广东农业科学,2011,38(18):102-103,137.DENG G C,BAI J J,LI S J,et al.Diseases of cultured largemouth bass and their managements[J]. Guangdong agricultural sciences, 2011,38(18):102-103,137(in Chinese).

[28] TROXEL D J.Parasites of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) in Northern California[D].California:Humboldt State University,2010:41-43.

[29] CLOUTMAN D G.Parasite community structure of largemouth bass,warmouth,and bluegill in lake Fort Smith,Arkansas[J]. Transactions of the American fisheries society,1975,104(2): 277-283.

[30] MCALISTERC T,POLY W J,CLOUTMAN D G,et al. *Argulus* spp. (Crustacea:Branchiura) on fishes from Arkansas and Oklahoma:new geographic distribution records[J]. Proceeding of Oklahoma academy of science,2016(96):70-72.

[31] 梁芝源,胡雄,胡飞.加州鲈寄生虫病及防控建议[J].当代水产,2019,44(7):80-84.LIANG Z Y,HU X,HU F.Parasitic diseases of largemouth bass with some suggestions for prevention [J].Current fisheries,2019,44(7):80-84(in Chinese).

[32] RUSHTON-MELLOR S K, BOXSHALL G A. The developmental sequence of *Argulus foliaceus* (Crustacea:*Branchiura*) [J].Journal of natural history,1994,28(4):763-785.

[33] BOUCHET G C.Redescription of *Argulus varians* Bere,1936 (Branchiura,Argulidae) including a description of its early development and first larval stage[J].Crustaceana,1985,49(1): 30-35.

[34] YILDIZ K,KUMANTAS A.*Argulus foliaceus* infection in a goldfish (*Carassius auratus*)[J]. Israel journal of veterinary

medicine,2002,57(2):118-120.

[35] NOAMAN V,CHELONGAR Y,SHAHMORADI A.The First record of *Argulus foliacesus* (Crustacea:Branchiura) infestation on lionhead goldfish (*Carassius auratus*) in Iran[J].Iranian journal of parasitology,2010,5(2):71-76.

[36] SAHOO P K,MOHANTY J,GARNAYAK S K,et al.Genetic diversity and species identification of *Argulus* parasites collected from major aquaculture regions of India using RAPD-PCR [J].Aquaculture research,2013,44(2):220-230.

[37] PATRA A,MONDAL A,BANERJEE S,et al.Molecular characterization of *Argulus bengalensis* and *Argulus siamensis* (Crustacea:Argulidae) infecting the cultured carps in West Bengal,India using 18S rRNA gene sequences[J].Molecular biology research communications,2016,5(3):156-166.

First report of *Argulus japonicus* on largemouth bass and phylogenetic analysis of *Argulus*

YANG Hao,GU Zemao

College of Fisheries,Huazhong Agricultural University /Hubei Engineering Technology Research Center for Aquatic Animal Diseases Control and Prevention,Wuhan 430070,*China*

Abstract During a survey of parasitic disease,a species of *Argulus* was isolated from the cultured largemouth bass (*Micropterus salmoides*) at a fish farm in Wuhan,China. Morphological and morphometric analysis were conducted to identify the species and phylogenetic analysis of *Argulus* were carried out based on SSU rDNA. The results showed that the parasite was in faint yellow. The total length was 1.93±0.46 (1.42-2.54) mm for female and 2.18±0.49 (1.57-2.87) mm for male. The carapace was horseshoe shaped,with branched pigments scattered throughout the lobes. The sucker consisted of chitinous strips (female:44-52,male:46-47),each of which contains varying amounts of chitinous tablets (female:5-6,male:7-8). Unreleased eggs were founded in the abdomen of female and symmetrical testis were observed in the male's abdomen. Morphological and morphometric data was in consistent with *Argulus japonicus* Thiele 1900. Phylogenetic analysis based on ML phylogenetic tree of SSU rDNA showed that *Argulus* species was divided into three clades. *A. japonicus* isolates were mainly clustered into Clade I and paraphyletic grouped with *Argulus foliaceus* and *Argulus rhipidiophorus*. In conclusion,we identified the *Argulus* sp. isolated from the largemouth bass as *A. japonicus* based on the above morphological and morphometric data. Further phylogenetic analysis was also conducted to discuss the phylogenetic relationship within *Argulus*. To our knowledge,this is the first report of the parasitism of *A. japonicus* on largemouth bass.

Keywords *Argulus japonicus*; largemouth bass; morphology; molecular phylogeny; new host; species identification

(责任编辑:边书京)