水产学报
JOURNAL OF FISHERIES OF CHINA
DOI: 10.11964/jfc.20241214795
Science Press

管西涛, 张潇艺, 丁鹏, 等. 锦鲤寄生葡萄碘泡虫的形态特征、组织病理及分子系统发育 [J]. 水产学报, 2026, 50(1): 019416.
Guan X T, Zhang X Y, Ding P, *et al*. Morphological, histopathological, and molecular phylogenetic analysis of *Myxobolus acinosus* from *Cyprinus carpio* var. *koi* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2026, 50(1): 019416 (in Chinese).

锦鲤寄生葡萄碘泡虫的形态特征、组织病理及分子系统发育

管西涛[1]，张潇艺[1]，丁　鹏[1]，周　凡[1]，缪祥军[2]，柳　阳[1*]
(1. 青岛农业大学海洋科学与工程学院，山东 青岛　266109；
2. 云南省渔业科学研究院，云南 昆明　650034)

摘要：【目的】鉴定从锦鲤鳃中分离的碘泡虫种类。**【方法】**采用形态特征、寄生特性以及分子标记综合比较的方法，对该碘泡虫进行了描述和分析，并探讨了其系统发育关系。**【结果】**该碘泡虫寄生于锦鲤鳃中，并在所有鳃片上形成大量白色孢囊。将该碘泡虫与已知碘泡虫的形态特征比较后发现，其孢子形态特征与葡萄碘泡虫一致。组织学分析发现，该碘泡虫寄生于鳃小片中，导致宿主鳃组织上皮细胞增生和充血，其寄生特性与葡萄碘泡虫一致。分子序列分析发现，该碘泡虫的 SSU rDNA 序列与葡萄碘泡虫的分子序列一致。**【结论】**根据形态特征、寄生特征和分子标记的综合分析，本研究从锦鲤鳃中分离的碘泡虫为葡萄碘泡虫。系统发育分析发现，大部分寄生于相同宿主和相同组织的粘体动物形成了独立分系，但是寄生不同宿主、相同组织的粘体动物形成了独立的大支，说明与宿主种类相比，寄生部位对粘体动物的进化提供了更强的驱动力。

关键词：锦鲤；粘孢子虫；物种鉴定；系统发育分析
中图分类号：S 941.5　　**文献标志码：**A

粘体动物 (Myxozoa) 隶属于刺胞动物门 (Cnidaria)，所有种类营寄生生活[1]。目前，全世界已报道 2 600 余种粘体动物，除少数种类寄生两栖类、爬行类、鸟类和哺乳动物外，绝大部分种类寄生鱼类[2]。粘体动物寄生于鱼类的各种组织器官，根据寄生部位可分为腔寄生 (如寄生胆囊、膀胱、输尿管等部位) 和组织寄生 (如寄生于鳃、肝脏、肾脏等部位)[3]。大部分粘体动物不会对鱼类宿主造成严重损伤，但是个别种类是鱼类重要的寄生虫病原，严重寄生时导致鱼类的大量死亡[4-6]。例如，寄生异育银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 咽部的洪湖碘泡虫 (*Myxobolus honghuensis*)，能够引起异育银鲫苗种的大量死亡[7]；寄生鲤 (*Cyprinus carpio*) 肠道的吉陶单极虫 (*Thelohanellus kitauei*)，能够导致鲤营养不良，甚至死亡[8]。

葡萄碘泡虫 (*M. acinosus*) 最早由倪达书和李连祥从湖北省孝感市的一尾鲤鳃上分离并鉴定 (该研究仅留存手稿)[9]。随后，该碘泡虫又在湖北、

收稿日期：2024-12-06　　**修回日期：**2025-04-01
资助项目：国家自然科学基金 (32073012)
第一作者：管西涛，从事水生动物寄生虫学研究，E-mail：17862336826@163.com
通信作者：柳阳，从事水生动物寄生虫学研究，E-mail：liuyangqzh@qau.edu.cn

浙江、湖南、贵州等地的鲤、镜鲤 (*C. carpio haematopterus*)、鲫 (*C. auratus*) 的鳃上被分离到[3]。近年来，黄明军[10] 于湖北和重庆两地再次采集到葡萄碘泡虫，对其进行了详细的形态学和组织学描述，并首次提供了该碘泡虫的 SSU rDNA 序列。最近，谭禄奇等[11] 在重庆和贵州地区采集了 4 个葡萄碘泡虫株系，并对其孢子形态特征和 SSU rDNA 序列进行了比较和分析。在上述研究中，学者们发现葡萄碘泡虫在宿主鳃上仅形成少量的孢囊，未对宿主造成严重危害。

近来，本研究团队发现葡萄碘泡虫大量寄生于锦鲤 (*C. carpio* var. *koi*) 鳃，并对宿主造成了严重的组织损伤。为了全面了解寄生锦鲤的葡萄碘泡虫，对其孢子形态特征、组织病理以及分子系统发育进行了系统研究。

1　材料与方法

1.1　样品采集

2023 年 5 月从湖北省黄石市某观赏鱼养殖场 (30° N，115° E) 采集 20 尾锦鲤 (体长 19.5~28.9 cm)。使用 MS222 麻醉后，肉眼和显微观察锦鲤各器官组织中是否存在粘体动物孢子或者孢囊。在锦鲤鳃部发现粘体动物孢囊后，将鳃部组织和孢囊分别用 10% 多聚甲醛和无水乙醇固定，用于形态学、组织学和分子生物学研究。

1.2　形态学观察

将 10% 多聚甲醛固定的孢囊放置在载玻片上，利用解剖针刺破孢囊释放其中的孢子。利用光学显微镜 (A1，Zeiss，德国) 观察孢子的形态特征并测序其形态学数据[12]。测量数字均以微米(μm) 为单位，以平均值±标准差 (变化范围) 的形式表示。本研究获得了中国山东省实验动物管理和使用伦理委员会批准 (批号：SD2007695)，实验过程中操作人员严格遵守山东省实验动物管理和使用伦理委员会伦理规范，并按照山东省实验动物管理和使用伦理委员会制定的规章制度执行。

1.3　组织病理学分析

利用 10% 多聚甲醛将鳃组织固定 48 h 后，按照常规组织学方法制作石蜡切片，包括系列乙醇脱水、二甲苯透明、浸蜡、包埋、切片 (厚度为 45 μm)、苏木精-伊红 (H.E) 染色等[10]。随后，利用光学显微镜对鳃组织切片进行观察和拍照。

1.4　基因组 DNA 提取、SSU rDNA 序列扩增与测序

取无水乙醇保存的孢囊，利用通用型基因组提取试剂盒 (CWBio，中国) 提取基因组 DNA。利用引物对 ERIB1/ERIB10[13] 扩增粘体动物的 SSU rDNA 序列。PCR 扩增体系为 25 μL，包括每条引物各 0.5 μL (10 μmol/L)，基因组 DNA 模版 1 μL，2 × Ace*Taq* Master Mix (Vazyme，中国)12.5 μL、双蒸水 10.5 μL。扩增条件：95 ℃ 预变性 5 min，95 ℃ 变性 1 min，55 ℃ 退火 1 min，72 ℃ 延伸 2 min，进行 35 次循环，最后 72 ℃ 终延伸 7 min。利用 1% 琼脂糖凝胶分离 PCR 扩增产物。利用 ABIPRISM® 3730XL DNA 测序仪 (Applied Biosystems Inc.，美国) 完成 PCR 产物的双向测序。利用 BioEdit[14] 对测序结果进行拼接，并根据测序峰图对拼接结果进行人工校正。最后，将拼接完成的序列提交至 GenBank。

1.5　分子系统发育分析

将本研究获得的葡萄碘泡虫 SSU rDNA 序列在 NCBI 网站进行 BLAST 比对，从中选取 51 条与葡萄碘泡虫序列相似性较高的粘体动物序列，同时选择楔形两极虫 (*Myxidium cuneiforme*) 和干地亚楚克拉虫 (*Zschokkella candia*) 为外群。使用 MAFFT v.7.490[15] 对选取的序列进行多重比对，并经过人工编辑、校对。然后，分别利用最大似然法 (ML) 和贝叶斯法 (BI) 对序列进行系统发育分析。在 Akaike 信息标准下，利用 jModeltest[16] 筛选所选择序列的最佳核苷酸替代模型。结果显示，最佳模型为 GTR + I + G，并将其应用于 ML 和 BI。利用 IQ-TREE v2.0[17] 设置 10 000 个 Ultrafast Bootstrap Replicates 进行最大似然分析。利用 MrBayes v3.2.7[18] 软件进行贝叶斯推理分析，替换模型参数 Nst 设置为 6，通过马尔可夫链蒙特卡罗方法 (Markov Chain Monte process) 设置为 4 条链同时运行 2×10^6 代，每 100 代采 1 次。获得的系统发育树由 MEGA v.7[19] 或 Figtree v.1.4.3 (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/Figtree/) 进行查看、编辑和注释。

2　结果

2.1　孢囊和孢子的形态学特征描述

对采集的 20 尾锦鲤进行检查，发现 4 尾锦鲤的鳃上存在大量白色孢囊，孢囊存在于每个鳃片上 (图 1)，其他组织和器官中未发现孢子或孢囊。

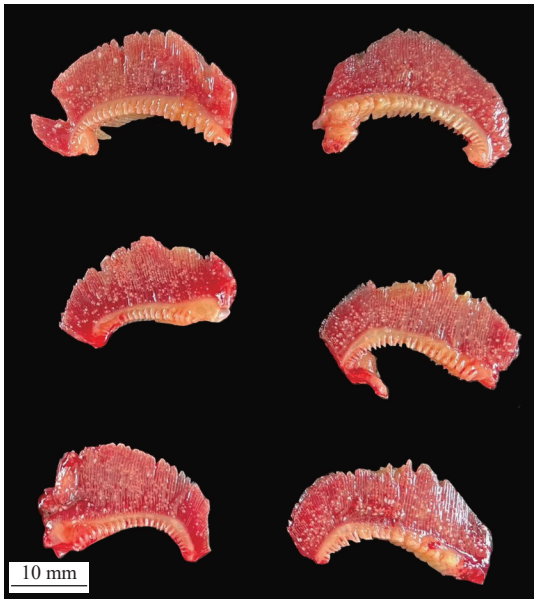
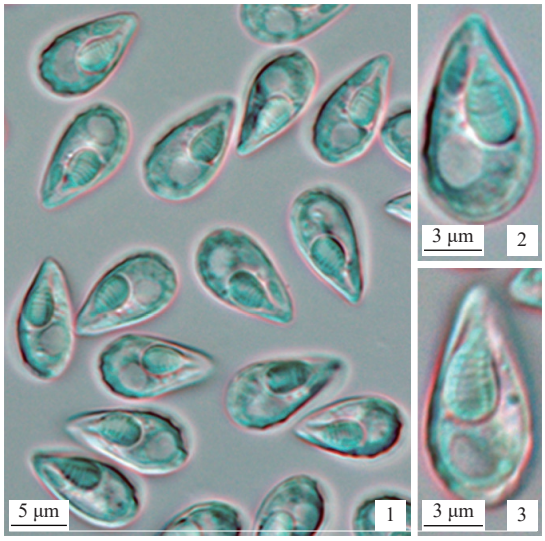


图 1　寄生锦鲤鳃的葡萄碘泡虫孢囊

Fig. 1　Plasmodia of *M. acinosus* infecting gills of *C. carpio* var. *koi*



图版 Ⅰ　葡萄碘泡虫的孢子

1. 孢囊内大量的孢子；2. 壳面观的孢子；3. 缝面观的孢子。

Plate Ⅰ　Spores of *M. acinosus*

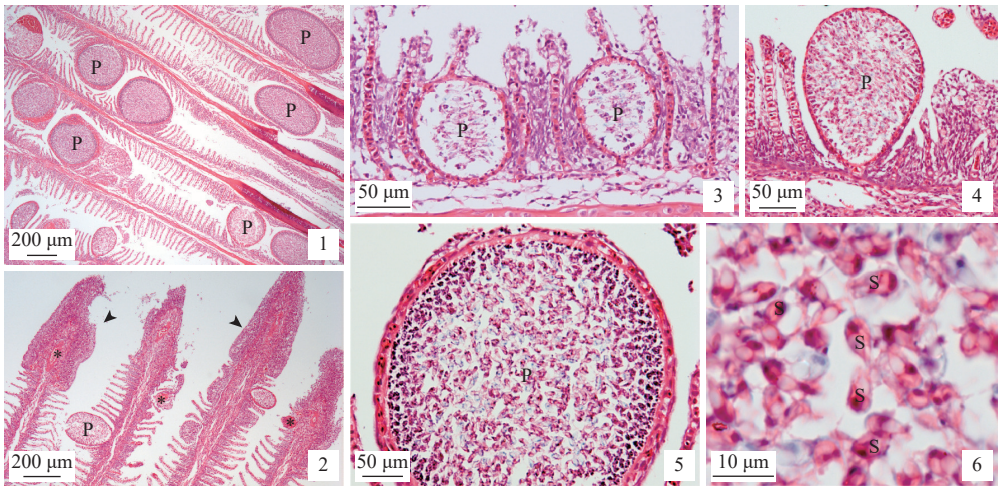
1. a number of spores from a plasmodium; 2. spore in frontal view; 3. spore in sutural view.

孢囊形状为圆形、椭圆形、长椭圆形或不规则形状，孢囊长 0.4~1.0 mm，孢囊宽 0.3~0.6 mm。

孢囊内存在大量孢子 (图版 Ⅰ-1)，孢子壳面观 (图版 Ⅰ-2) 和缝面观 (图版 Ⅰ-3) 均呈长葡萄形，孢质中存在 1 个明显的嗜碘泡。孢子长 [(11.3±0.3) μm，10.7~11.7 μm]，孢子宽 [(5.9±0.4) μm，5.2~6.8 μm]。两极囊大小不等，大极囊长 [(5.0±0.2) μm，4.4~5.6 μm]，大极囊宽 [(2.8±0.1) μm，2.5~3.0 μm]；小极囊长 [(2.6±0.2) μm，2.3~3.0 μm]，小极囊宽 [(1.1±0.1) μm，1.0~1.3 μm]。大极囊内极丝为 6~7 圈，小极囊内极丝为 2~3 圈。

2.2　组织病理学特征描述

组织学观察发现，鳃上寄生了大量粘孢子虫的孢囊 (图版 Ⅱ-1)，鳃组织出现了明显的上皮细



图版 Ⅱ　寄生葡萄碘泡虫的锦鲤鳃的组织切片

1. 鳃上寄生大量孢囊 (P)；2. 鳃组织上的上皮细胞增生 (箭头) 和充血 (*)；3. 发育早期的孢囊 (P) 位于鳃小片基部；4. 孢囊 (P) 充满整个鳃小片；5. 孢囊 (P) 被鳃小片的上皮细胞和血细胞包裹；6. 孢囊中的孢子 (S)。

Plate Ⅱ　Histological sections of gills of *C. carpio* var. *koi* infected by *M. acinosus*

1. a number of plasmodia (P) infecting gills; 2. epithelial cell proliferation (arrow) and congestion (*) observed in the gill tissue; 3. early developmental plasmodium (P) located in the base of gill lamella; 4. gill lamella filled with a plasmodium (P); 5. plasmodium (P) enveloped by the epithelial cells and blood cells of the gill lamella; 6. spores (S) in the plasmodium.

胞增生和充血 (图版 Ⅱ-2)。发育早期的孢囊位于鳃小片基部 (图版 Ⅱ-3)，随着孢囊进一步发育，充满整个鳃小片 (图版 Ⅱ-4)。孢囊被鳃小片中的血细胞和鳃小片的上皮细胞包裹 (图版 Ⅱ-5)，孢囊中存在大量孢子 (图版 Ⅱ-6)。

2.3　分子序列特征与系统发育分析

本研究获得了 1 925 bp 的 SSU rDNA 序列 (序列号：PP838947)。BLAST 分析发现，该 SSU rDNA 序列与葡萄碘泡虫的分子序列 (序列号：KX810021~KX810022、MW821466~MW821468，相似度均为 100%) 一致。系统发育分析显示，本研究分离的碘泡虫与葡萄碘泡虫聚为一支 (图 2)。另外，大部分寄生于相同宿主和相同组织的粘孢子虫形成了独立的支系，葡萄碘泡虫位于寄生鲤科 (Cyprinidae) 鱼类的粘孢子虫形成的支系和寄生鳃组织的粘孢子虫形成的支系。

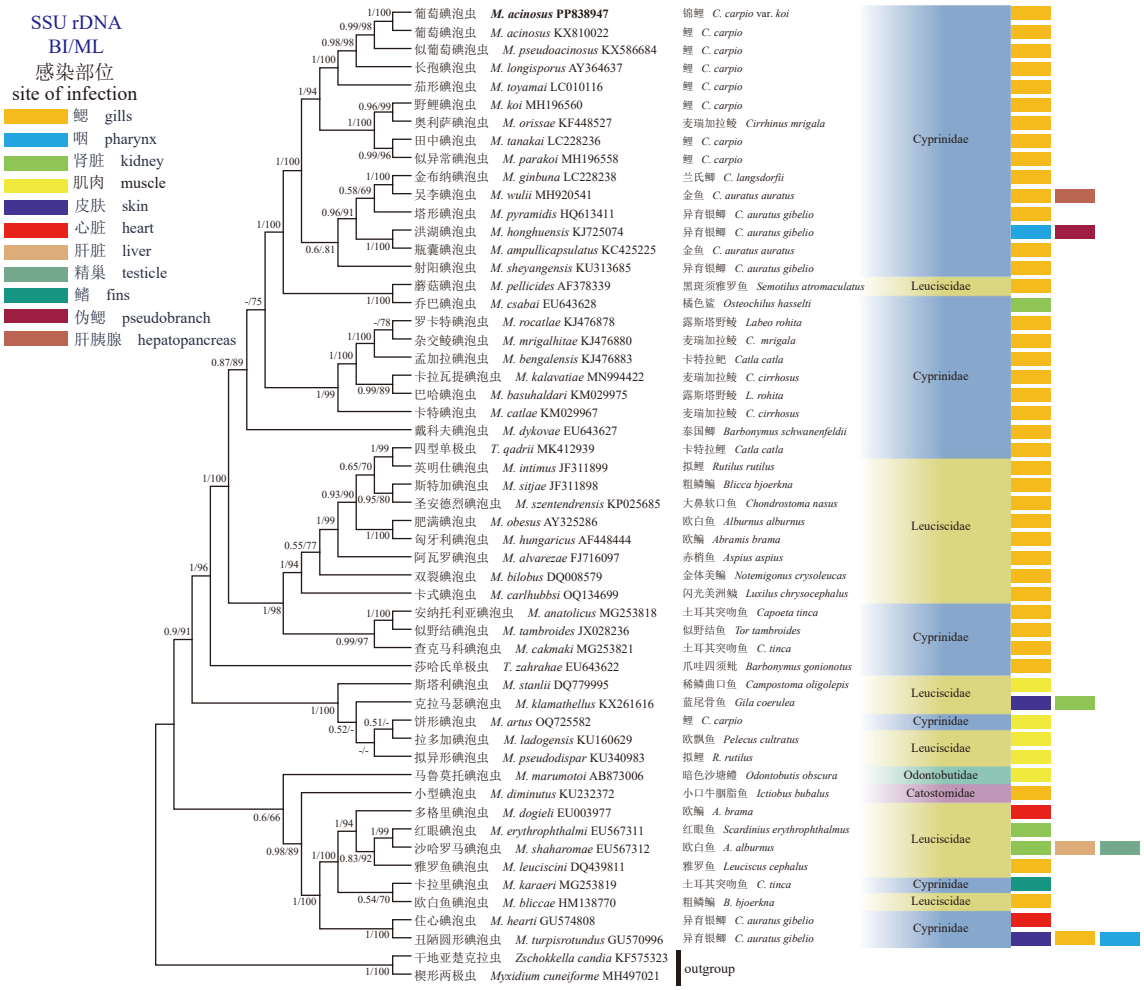


图 2　基于葡萄碘泡虫及其相近物种的 SSU rDNA 序列构建的系统发育树

分支点的数字为贝叶斯后验概率/最大似然法分析的自举值；“-”表示支持率小于 0.5 (BI) 或 50 (ML)。

Fig. 2　Phylogenetic tree generated based on the aligned partial SSU rDNA sequences of *M. acinosus* and related species

Support values at branching points listed as Bayesian posterior probabilities/bootstrap values from maximum likelihood analysis; "-" indicating support values below 0.5 (BI) or 50 (ML).

3　讨论

锦鲤是一种源自我国的淡水观赏鱼类，因其绚烂的色彩、优雅的体态和吉祥的寓意，深受全球水族爱好者的喜爱[20]。粘体动物是锦鲤重要的寄生虫病原[21-22]。目前，已发现多种粘体动物寄

生于锦鲤各种器官组织，并引起严重的病理损伤，例如寄生锦鲤鳃的野鲤碘泡虫[23]和寄生锦鲤肠道的吉陶单极虫[24]。然而，由于缺少对锦鲤的系统调查，锦鲤寄生粘体动物的物种名录尚未建立。近年来，本研究团队开展了锦鲤寄生粘体动物的物种多样性调查，并发现一种对锦鲤造成严重危害的粘体动物。为了鉴定该粘体动物，本研究对其形态特征、寄生特性和分子系统发育进行了系统研究和比较。

将本研究分离的碘泡虫与已描述的碘泡虫物种进行形态学比较，发现该碘泡虫与葡萄碘泡虫的形态特征一致 (表 1)。在葡萄碘泡虫不同的记录中，部分记录将其孢子形状描述为长葡萄形[9,11]，另一些记录将其描述为茄形[3,10]。笔者通过对所有记录进行比较后发现，不同记录中葡萄碘泡虫的孢子形状是一致的，只是不同作者描述不同。为了避免引起歧义，同时与葡萄碘泡虫物种名中的“葡萄”一词保持一致，建议统一将其孢子形状描述为长葡萄形。碘泡虫具有严格的宿主、器官和组织特异性，该寄生特性也是碘泡虫物种鉴定的重要依据[25-27]。葡萄碘泡虫最早从鲤鳃分离并鉴定[9]。随后，多位学者从鲤鳃和镜鲤鳃分离到该碘泡虫[3,10-11]。另外，根据孢子形态特征，陈启鎏等[3]将一种从鲫鳃分离的碘泡虫也鉴定为葡萄碘泡虫。但是，在随后的二十余年中再未从鲫鳃分离到葡萄碘泡虫，笔者推测他们可能在鲫鳃发现了类似葡萄碘泡虫的其他碘泡虫种类。通过组织学分析，黄明军[10]发现葡萄碘泡虫寄生于宿主的鳃小片中。本研究分离的碘泡虫寄生于锦鲤的鳃小片中。该碘泡虫的宿主与葡萄碘泡虫的宿主具有较近的亲缘关系，寄生部位和组织向性一致，支持该碘泡虫与葡萄碘泡虫的物种一致性。分子标记序列分析发现，本研究分离的碘泡虫的 SSU rDNA 序列与葡萄碘泡虫的分子序列一致。因此，综合形态特征、寄生特性和分子标记的比较和分析，本研究从锦鲤鳃分离的碘泡虫应鉴定为葡萄碘泡虫。在以往的研究中，葡萄碘泡虫在鲤和镜鲤鳃上的寄生强度较小，且未对宿主造成严重的病理损伤[3,9-11]。在本研究中，葡萄碘泡虫在锦鲤鳃上的寄生强度较大，且对宿主造成明显的病理损伤。作者推测，导致这种差异的原因有两个方面：锦鲤是葡萄碘泡虫的易感宿主或者本研究分

表 1　不同来源的葡萄碘泡虫之间的比较

Tab. 1　Comparison of *M. acinosus* described in the present study with its other records (all measurements in μm)

宿主 host	锦鲤 *C. carpio* var. *koi*	鲤/鲫/镜鲤 *C. carpio* /*C. auratus* / *C. carpio haematopterus*	鲤 *C. carpio*	鲤 *C. carpio*	鲤 *C. carpio*	鲤 *C. carpio*
孢子形状 spore shape	长葡萄形	茄形	茄形	茄形	长葡萄形	长葡萄形
孢子长 spore length	11.3 ± 0.3 (10.7~11.7)	12.6 (10.8~13.2)	10.7 ± 0.4 (10.1~11.3)	11.2 ± 0.4 (10.4~12.0)	10.8 ± 0.4 (9.3~11.9)	10.0 (9.6~10.8)
孢子宽 spore width	5.9 ± 0.4 (5.2~6.8)	6.4 (5.6~7.2)	5.9 ± 0.3 (5.5~6.7)	6.4 ± 0.3 (6.0~7.1)	6.2 ± 0.4 (5.0~7.1)	5.6 (5.4~6.0)
大极囊长 large polar capsule length	5.0 ± 0.2 (4.4~5.6)	5.3 (4.8~6.0)	4.9 ± 0.3 (4.3~5.4)	4.7 ± 0.2 (4.1~5.2)	8.0 (6.6~9.2)	4.6 (3.8~4.8)
大极囊宽 large polar capsule width	2.8 ± 0.1 (2.5~3.0)	2.8 (2.4~3.4)	3.0 ± 0.2 (2.7~3.3)	2.7 ± 0.2 (2.4~3.0)	2.6 ± 0.3 (1.8~3.2)	2.4
小极囊长 small polar capsule length	2.6 ± 0.2 (2.3~3.0)	2.4~3.0	3.0 ± 0.3 (2.6~3.3)	2.5 ± 0.2 (2.1~2.9)	2.3 ± 0.3 (1.7~2.9)	
小极囊宽 small polar capsule width	1.1 ± 0.1 (1.0~1.3)	1.0~1.4	1.3 ± 0.2 (1.0~1.5)	1.0 ± 0.1 (0.8~1.3)	0.9 ± 0.1 (0.7~1.3)	
极丝圈数 filament turns	6~7；2~3	5~6	7~8	7~8	5~6；2~3	6
寄生部位 infection site	鳃	鳃	鳃	鳃	鳃	鳃
采集地点 location	湖北省黄石市	湖北省孝感市	湖北省武汉市	重庆市	重庆市、贵州省铜仁市	湖北省孝感市
来源 source	本研究	[3]	[10]	[10]	[11]	[9]

离的葡萄碘泡虫的毒力较强。目前，尚无法对这两种推测进行验证。

系统发育分析显示，包括葡萄碘泡虫在内的寄生于鲤鳃的碘泡虫聚为一支，说明宿主种类和寄生部位在碘泡虫的进化过程中发挥重要作用。近年来，越来越多的研究者关注到宿主种类和寄生部位在粘体动物进化过程中的作用[6,28]。但是，宿主种类和寄生部位哪个特征能提供更强的进化驱动力存在争议。在对鳃寄生的碘泡虫进行系统发育分析时，Liu 等[29] 发现碘泡虫根据寄生部位进行聚类，指出与宿主种类相比，寄生部位提供了更强的进化驱动力。然而，有学者在系统发育分析时，发现粘体动物首先依据宿主类群进行聚类，然后根据寄生部位进行聚类，说明宿主种类在粘体动物的进化过程中发挥了更大的作用[30-31]。在本研究中，大部分寄生于相同宿主 (如鲤科) 和相同组织 (如鳃) 的粘体动物形成了独立的支系，但寄生于不同宿主、相同组织的粘体动物形成了独立的大支，说明寄生部位对粘体动物的进化提供了更强的驱动力。可见，宿主种类和寄生部位对粘体动物进化影响力的大小仍不能确定。

综上所述，本研究通过形态特征、寄生特性和分子序列比较和分析，鉴定寄生锦鲤鳃的碘泡虫为葡萄碘泡虫，首次报道锦鲤为该碘泡虫的新宿主。鉴于葡萄碘泡虫对锦鲤造成了严重的病理损伤，在锦鲤的养殖中应注意该寄生虫的检测和疾病预防。

（作者声明本文无利益冲突）

参考文献 (References):

[1] Okamura B, Gruhl A, Bartholomew J L. An introduction to myxozoan evolution, ecology and development[M]//Okamura B, Gruhl A, Bartholomew J L. Myxozoan evolution, ecology and development. Cham: Springer, 2015: 1-20.

[2] Okamura B, Hartigan A, Naldoni J. Extensive uncharted biodiversity: the parasite dimension[J]. Integrative and Comparative Biology, 2018, 58(6): 1132-1145.

[3] 陈启鎏, 马成伦. 中国动物志-粘体动物门-粘孢子纲 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
Chen Q L, Ma C L. Fauna Sinica. Myxozoa. Myxosporea[M]. Beijing: Science Press, 1998 (in Chinese).

[4] Xi B W, Xie J, Zhou Q L, *et al*. Mass mortality of pond-reared *Carassius gibelio* caused by *Myxobolus ampullicapsulatus* in China[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2011, 93(3): 257-260.

[5] Hallet S L, Bartholomew J L. *Myxobolus cerebralis* and *Ceratomyxa shasta*[M]//Woo P T K, Buchmann K. Fish parasites: pathobiology and protection. Oxfordshire: CAB International, 2011: 131-162.

[6] Zhang B, Gu Z M, Liu Y. Morphological, histological and molecular characterization of three *Myxobolus* species (Cnidaria: Myxosporea) from silver carp *Hypophthalmichthys molitrix* Valenciennes and bighead carp *Hypophthalmichthys nobilis* Richardson in China[J]. Parasitology International, 2018, 67(4): 509-516.

[7] Liu Y, Whipps C M, Gu Z M, *et al*. *Myxobolus honghuensis* n. sp. (Myxosporea: Bivalvulida) parasitizing the pharynx of allogynogenetic gibel carp *Carassius auratus gibelio* (Bloch) from Honghu Lake, China[J]. Parasitology Research, 2012, 110(4): 1331-1336.

[8] Liu Y, Whipps C M, Liu W S, *et al*. Supplemental diagnosis of a myxozoan parasite from common carp *Cyprinus carpio*: synonymy of *Thelohanellus xinyangensis* with *Thelohanellus kitauei*[J]. Veterinary Parasitology, 2011, 178(3-4): 355-359.

[9] 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.
Institute of Hydrobiology of Hubei Province. An illustrated guide to the fish diseases and causative pathogenic fauna and flora in the Hubei Province[M]. Beijing: Science Press, 1973 (in Chinese).

[10] 黄明军. 寄生于鲤 4 种碘泡虫的分类学研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
Huang M J. Taxonomic study of 4 *Myxobolus* spp. From the common carp (*Cyprinus carpio*)[D] Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2014 (in Chinese).

[11] 谭禄奇, 周杨, 王苗苗, 等. 葡萄碘泡虫、似葡萄碘泡虫和茄形碘泡虫的鉴别及系统发育 [J]. 水生生物学报, 2022, 46(4): 545-554.
Tan L Q, Zhou Y, Wang M M, *et al*. Identification and phylogenetic analysis on *Myxobolus acinosu* Nie & Li, 1973, *Myxobolus pseudoacinosus* Guo, *et al*. , 2018 and *Myxobolus toyamai* Kudo, 1917[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2022, 46(4): 545-554 (in Chinese).

[12] Lom J, Arthur J R. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporea[J]. Journal of Fish Diseases, 1989, 12(2): 151-156.

[13] Barta J R, Martin D S, Liberator P A, *et al*. Phylogenetic relationships among eight *Eimeria* species infecting domestic fowl

inferred using complete small subunit ribosomal DNA sequences[J]. The Journal of Parasitology, 1997, 83(2): 262-271.

[14] Hall T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/ NT[J]. Nucleic Acids Symposium Series, 1999, 41: 95-98.

[15] 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.

[16] Nylander J A A, Ronquist F, Huelsenbeck J P, *et al*. Bayesian phylogenetic analysis of combined data[J]. Systematic Biology, 2004, 53(1): 47-67.

[17] Minh B Q, Schmidt H A, Chernomor O, *et al*. IQ-TREE 2: new models and efficient methods for phylogenetic inference in the genomic era[J]. Molecular Biology and Evolution, 2020, 37(5): 1530-1534.

[18] Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, *et al*. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space[J]. Systematic Biology, 2012, 61(3): 539-542.

[19] Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2016, 33(7): 1870-1874.

[20] 罗明坤. 基于 RNA-seq 的锦鲤体色相关功能基因筛选及其调控途径研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020.
Luo M K. Studies on the functional genes and regulatory pathways related to skin color of Koi carp (*Cyprinus carpio* L.) based on RNA-seq[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020 (in Chinese).

[21] Maftuch M, Sanoesi E, Farichin I, *et al*. Histopathology of gill, muscle, intestine, kidney, and liver on *Myxobolus* sp. -infected Koi carp (*Cyprinus carpio*)[J]. Journal of Parasitic Diseases, 2018, 42(1): 137-143, doi: 10.1007/s12639-017-0955-x.

[22] Zhang B, Tu X, Gu Z M. Morphological, histological, and phylogenetic identification of three species of *Myxobolus* (Myxosporea: Myxobolidae) infecting different carp lineages in China[J]. Journal of Fish Diseases, 2025, 48(9): e13861.

[23] Camus A C, Griffin M J. Molecular characterization and histopathology of *Myxobolus koi* infecting the gills of a koi, *Cyprinus carpio*, with an amended morphological description of the agent[J]. Journal of Parasitology, 2010, 96(1): 116-124.

[24] Shin S P, Jee H, Han J E, *et al*. Surgical removal of an anal cyst caused by a protozoan parasite (*Thelohanellus kitauei*) from a koi (*Cyprinus carpio*)[J]. Journal of the American Veterinary Medical Association, 2011, 238(6): 784-786.

[25] Liu Y, Gu Z M, Luo Y L. Some additional data to the occurrence, morphology and validity of *Myxobolus turpisrotundus* Zhang, 2009 (Myxozoa: Myxosporea)[J]. Parasitology Research, 2010, 107(1): 67-73.

[26] Liu Y, Whipps C M, Gu Z M, *et al*. *Myxobolus musseliusae* (Myxozoa: Myxobolidae) from the gills of common carp *Cyprinus carpio* and revision of *Myxobolus dispar* recorded in China[J]. Parasitology Research, 2013, 112(1): 289-296.

[27] Zhang X Y, Yao X, Zhou F, *et al*. Identification of *Thelohanellus pseudonikolskii* n. sp. and *Myxobolus koi* Kudo, 1920 from goldfish *Carassius auratus*[J]. Aquaculture Reports, 2022, 24: 101167.

[28] Fiala I, Bartošová-Sojková P, Whipps C M. Classification and phylogenetics of Myxozoa[M]//Okamura B, Gruhl A, Bartholomew J L. Myxozoan evolution, ecology and development. Cham: Springer, 2015: 85-110.

[29] Liu X H, Yuan S, Zhao Y L, *et al*. Morphological and molecular characterization of *Myxobolus sheyangensis* n. sp. (Myxosporea: Myxobolidae) with intralamellar sporulation in allogynogenetic gibel carp, *Carassius auratus gibelio* (Bloch) in China[J]. Parasitology Research, 2016, 115(9): 3567-3574.

[30] Liu Y, Lövy A, Gu Z M, *et al*. Phylogeny of Myxobolidae (Myxozoa) and the evolution of myxospore appendages in the *Myxobolus* clade[J]. International Journal for Parasitology, 2019, 49(7): 523-530.

[31] Zhang X P, Liu Y, Whipps C M, *et al*. Multiple evolutionary routes of the single polar capsule in *Thelohanellus* species (Myxozoa; Myxobolidae)[J]. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, 2019, 8: 56-62.

Morphological, histopathological, and molecular phylogenetic analysis of *Myxobolus acinosus* from *Cyprinus carpio* var. *koi*

GUAN Xitao [1], ZHANG Xiaoyi [1], DING Peng [1], ZHOU Fan [1], MIAO Xiangjun [2], LIU Yang [1*]

(1. *School of Marine Science and Engineering*, *Qingdao Agricultural University*, *Qingdao* 266109, *China*;
2. *Yunnan Academy of Fishery Science*, *Kunming* 650034, *China*)

Abstract: Myxozoans are important parasitic pathogens of koi carp. In the present study, a *Myxobolus* species was found to infect gills of *Cyprinus carpio* var. *koi*. In order to identify this *Myxobolus* species, it was comprehensively described by morphological, histological and molecular methods, and its phylogenetic relationship was inferred as well. We found that the present *Myxobolus* species infected the gills of koi carp and formed a number of white plasmodia in all gills. Compared with all reported *Myxobolus* species, the present *Myxobolus* species was morphologically indistinguishable from *M. acinosus*. Histological analysis showed that the plasmodia of the present *Myxobolus* species developed in gill lamella of host, causing significant epithelial cell proliferation and congestion in the gills. Its parasitic characteristics are consistent with those of *M. acinosus*. BLAST search showed that SSU rDNA sequence of the present *Myxobolus* species was identical to *M. acinosus* (Accession numbers: KX810021-KX810022, MW821466-MW821468). Thus, the morphological, histological and molecular analysis demonstrated that the present *Myxobolus* species was conspecific with *M. acinosus*. Phylogenetic analysis revealed that the majority of myxozoans infecting the same host and organ formed independent lineages. However, myxozoans infecting different hosts and the same organ formed larger independent branches, indicating that sites of infection provide a stronger driving force for the evolution of myxozoans compared to host group.

Key words: *Cyprinus carpio* var. *koi*; Myxosporea; species identification; phylogenetic analysis

Corresponding author: LIU Yang. E-mail: liuyangqzh@qau.edu.cn

Funding projects: National Nature Science Foundation of China (32073012)