

捕食风险对越冬根田鼠肠道寄生物易感性的影响

朱亚辉^{1 A#} 尚国珍^{1#} 杨彦宾^{1 A} 张鑫^{1 A} 吴雁³ 曹伊凡^{1 2} 边疆晖^{1 2*}

(1 中国科学院西北高原生物研究所, 高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810001) (2 青海省动物生态基因组学重点实验室, 西宁 810001)

(3 杭州师范大学生命与环境科学学院, 杭州 310012) (4 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 在自然生态系统中, 不同营养级物种可通过特征介导间接效应对生态系统的稳定及种群产生深刻的影响。但目前有关特征介导间接效应的实验研究多见于无脊椎动物、鱼类和两爬类。本研究以根田鼠为对象, 在野外围栏内建立预防捕食者和未预防捕食者两种实验处理种群, 并通过采用麦克马斯特法测定两种处理种群实验个体肠道寄生物感染种类及感染率和感染强度, 采用 PHA (phytohemagglutinin) 反应和白细胞分类计数测定不同处理种群实验个体免疫能力, 以分析捕食风险对根田鼠肠道寄生物的感染效应。结果表明, 未预防捕食者处理组根田鼠 PHA 反应、白细胞计数和淋巴细胞计数较预防捕食者处理组实验个体显著降低, 而球虫 *E. wenrichi* 的感染率和感染强度则显著增加, 但绦虫和线虫以及其他 3 种球虫的感染率和感染强度无显著差异。结果表明, 捕食者可通过介导猎物免疫力特征而间接影响猎物肠道寄生物感染, 验证了本项提出的捕食风险可通过降低根田鼠的免疫能力而增加其肠道寄生物感染的假设。

关键词: 捕食; 根田鼠; 免疫能力; 球虫; 特征介导间接效应

中图分类号: Q958.12

文献标识码: A

文章编号: 1000-1050 (2018) 05-0467-10

The susceptibility of intestinal parasites induced by predation risk to over-wintering root voles (*Microtus oeconomus*)

ZHU Yahui^{1 A#}, SHANG Guozhen^{1#}, YANG Yanbin^{1 A}, ZHANG Xin^{1 A}, WU Yan³, CAO Yifan^{1 2}, BI-AN Jianghui^{1 2*}

(1 Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

(2 Qinghai Key Laboratory of Animal Ecological Genomics, Xining 810001, China)

(3 School of Life and Environment Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310012, China)

(4 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: In natural ecosystems, different trophic levels can have a profound impact on ecosystem stability and population by trait-mediated indirect effects (TMIEs). However, at present, experimental studies on TMIEs are more common in invertebrates, fish, amphibians and reptiles. In this study, root voles (*Microtus oeconomus*) were used as experimental animals to establish two treatment populations in field enclosures: one in which predation was prevented and one in which predation was allowed to occur. We then systematically examined the types of intestinal parasites, parasitic infection prevalence and intensity of infection by a modified McMaster method. Phytohemagglutinin (PHA) response and white blood cell count were used to test the individual immunities of the different treatment populations to analyze the infection effect of predation risk on intestinal parasites in root voles. The results showed that the PHA response, leukocyte counts and lymphocyte counts of root voles exposed to predation treatment was significantly decreased compared to voles in which predation was prevented, while infection prevalence and intensity of infection of *E. wenrichi* were significantly increased. However, there were no significant changes in infection prevalence and intensity of infection of cestodes and nematodes and three other coccidias. It shows that predators can indirectly affect the intestinal parasites of prey by mediating the immune system and validated the hypothesis that the predation risk can increase the intestinal parasitic infection by decrease the immunocompetence

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31570421); 国家科技重点研发计划 (2016YFC0501901)

作者简介: 朱亚辉 (1990-), 男, 硕士研究生, 主要从事动物生理生态学研究. # 共同第一作者

收稿日期: 2017-12-01; 修回日期: 2018-03-12

* 通讯作者, Corresponding author, E-mail: bjh@nwipb.cas.cn

of root voles.

Key words: Coccidia; Immunocompetence; Predation; Root voles; Trait-mediated indirect effects

在自然生态系统中,各营养级物种间存在复杂的食物网,彼此产生直接或间接的互作效应,如捕食者对猎物的下行效应 (Top-down)、食物资源对捕食者的上行效应 (Up-down) 以及不同物种间的似然竞争 (apparent competition)。特征介导间接效应是生态系统存在的最为普遍的一种多物种通过食物网产生的间接互作效应,并引起生态学家的高度关注 (Werner and Peacor, 2003; Raffel *et al.*, 2010; Duffy *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2014), 研究认为高营养级物种的出现可导致低营养物种表型特征的改化,而低营养物种表型特征的改变又可影响其他营养级物种的适合度。例如在鸟类或哺乳类中,寄生物可增加捕食者对宿主的捕食率 (红尾鵟 *Buteo jamaicensis*, Temple, 1987; 赤松鸡 *Lagopus lagopus scoticus*, Hudson, 1992; 西岸田鼠 *Microtus townsendii*, Steen *et al.*, 2002; 野兔 *Lepus granatensis*, Alzaga *et al.*, 2008; 驼鹿 *Alces alces*, Joly and Messier, 2004), 并推测寄生物可能是通过改变宿主表型特征 (如免疫反应、体重和肾脂指数), 而导致宿主面临更大的捕食压力 (Steen *et al.*, 2002; Alzaga *et al.*, 2008; Banerji *et al.*, 2015)。这种不同营养级物种间的间接互作效应对群落及种群动态具有重要的作用 (Bolker *et al.*, 2003)。

捕食者可通过捕食风险影响猎物的适合度及种群波动 (Boonstra *et al.*, 1998; Sheriff *et al.*, 2011)。当猎物应对捕食者威胁时,可激活下丘脑—垂体—肾上腺 (hypothalamo-pituitary-adrenal, HPA) 轴介导的应激反应,增加个体糖皮质激素水平 (Sapolsky, 1992; Boonstra *et al.*, 1998; Wing-Weld and Romero, 2001; Bian *et al.*, 2005; Owen *et al.*, 2005; Sheriff *et al.*, 2011)。当猎物处于慢性捕食应激状态时,可降低其免疫能力和身体状况指数 (如体重和血浆蛋白指数), 而免疫力的降低可能增加寄生物感染的风险 (Boonstra *et al.*, 1998; Sheriff *et al.*, 2011), 感染寄生物的猎物可能更容易被捕食者猎杀。因此,捕食与寄生物通过特征介导间接效应共同作用于目标动物时,可对目标动物表型和适合度产生负的协同作用 (synergis-

tic effects) (Marino and Werner, 2013)。小哺乳动物种群调节是世界性难题。在几种因子的耦合作用条件下,探讨种群自动调节机理,阐明其生态学过程及生理学效应,以解释小型哺乳动物种群波动是种群调节领域的主要发展趋势。因此,探讨特征介导间接效应在小型哺乳动物种群调节中的作用具有重要的理论价值。但是,迄今有关特征介导间接效应的实验研究多见于无脊椎动物、鱼类和两爬类。

根田鼠 (*Microtus oeconomus*) 是栖息于青海高寒草甸的植食性哺乳动物 (刘季科等, 1982)。分布于这一地区的鸟类和兽类捕食者有红隼 (*Falca tinnunculus*)、大鵟 (*Buteo hemilasius*)、香鼬 (*Mustela altaica*)、艾虎 (*Mustela euersmanni*)、狼 (*Canis lupus*)、赤狐 (*Vulpes vulpes*) 及藏狐 (*Vulpes ferrilata*) 等。其优势种类为大鵟、红隼、香鼬和艾虎 (刘季科等, 1994)。在该地区生活的根田鼠肠道感染的寄生物有球虫、绦虫和线虫,其中球虫有4种,分别为 *Eimeria wenrichi*、*Eimeria saxei*、*Isospora mexicanasubsimi* 和 *Eimeria ochrogasteri*, 感染根田鼠的绦虫为 *Paranoplocephala* 属,线虫为 *Mastophorus* 属 (Cao *et al.*, 2014)。球虫是根田鼠肠道内感染的主要寄生物,而 *E. wenrichi* 为球虫中的优势种 (聂绪恒等, 2014)。

本研究以根田鼠为研究对象,通过在野外围栏内建立预防捕食者和未预防捕食者根田鼠种群,测定根田鼠肠道内寄生物的感染率和感染强度、PHA反应参数以及血液中的白细胞分类计数,分析捕食风险与根田鼠的免疫能力、肠道寄生物感染率和感染强度的关系,目的在于验证捕食风险可通过降低根田鼠的免疫能力而增加其肠道寄生物感染的假设。据此假设,本研究预测,未预防捕食者处理组种群的免疫力低于预防捕食者处理组种群,而未预防捕食者处理组的根田鼠肠道寄生感染状况高于预防捕食者处理组个体。

1 研究方法

1.1 围栏实验

1.1.1 野外围栏设置

本实验在中国科学院海北高寒草甸生态系统定

位站的野外围栏内进行。中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站地处北纬 $37^{\circ}29' \sim 37^{\circ}45'$, 东经 $101^{\circ}12' \sim 101^{\circ}23'$, 位于祁连山东段冷龙岭南麓, 大通河河谷西北部, 地形开阔, 定位站海拔 $3\ 200 \sim 3\ 600\ \text{m}$ (杨福国, 1982)。该地区无四季之分, 仅有冷暖季之别。

实验样地围栏由 4 个 $30\ \text{m} \times 50\ \text{m}$ 小栏组成。围栏以 $2\ \text{m} \times 1\ \text{m}$ 的镀锌钢板用铆钉镶嵌构成, 钢板埋入地下 $0.5\ \text{m}$, 地上部分高 $1.5\ \text{m}$, 钢板之间用 $L45 \times 45$ 角钢固定。

实验处理设为预防捕食者 (PR-) 和未预防捕食者 (PR+) 围栏。PR+ 处理围栏地上部分的钢板每隔 $10\ \text{m}$ 设置一个距地面 $30\ \text{cm}$ 的 $30\ \text{cm} \times 120\ \text{cm}$ 缺刻, 以便兽类捕食者进出, 围栏上方完全开放, 允许鸟类捕食者进出; PR- 处理围栏的地上部分钢板无缺刻, 且上方以 $3\ \text{cm} \times 3\ \text{cm}$ 的铁丝格网封闭, 并以长 $250\ \text{cm}$ 、直径 $10\ \text{cm}$ 的木柱支撑, 以阻止鸟类捕食者进入。实验开始前, 将围栏内留居的根田鼠或非靶动物捕尽, 以连续 3 d 捕获不到根田鼠或非靶动物作为围栏被清理干净的标准。

1.1.2 实验种群

本研究于 2016 年 10 月初建立实验种群, 建群者全部来自实验室饲养的性成熟个体。所有围栏建群者个体的体重无显著性差异 ($F_{1,76} = 0.008$; $P = 0.930$)。对建群者实验个体用耳标法和剪趾法双重标志后, 放入围栏以建立捕食者和预防捕食者实验种群。每个处理设置 2 个重复。建群者放入围栏前, 对每个实验个体经口腔灌注孢子化球虫卵囊液 $0.1\ \text{mL}$ (浓度: 2×10^4 个/mL), 提供寄生虫感染源, 之后诱捕期不再进行人工感染, 让其自然感染。每个围栏随机放入 10 对个体, 该密度相当于研究地区根田鼠自然种群的中等密度水平 (刘季科等, 1982; 姜永进等, 1991)。

1.1.3 标志重捕

建群者在围栏适应 2 周后, 逐月标记重捕一次。具体方法: 以 $5\ \text{m} \times 5\ \text{m}$ 的间隔设置笼站 (Bian *et al.*, 2011, 2015), 每个笼站放置 1 个小型木质的自制活捕笼, 活捕笼顶部用木板遮挡, 以防降雨或降雪造成进入笼内的根田鼠死亡。标志重捕期间, 在每个活捕笼内放少量胡萝卜块作为诱饵, 每天 08:00 ~ 17:30 开启活捕笼, 其余时间

关闭, 以防温度过低而导致个体死亡。每处理组围栏诱捕 3 ~ 4 d, 每天查笼 4 ~ 6 次。

1.2 生理指标测定

1.2.1 粪便取样及寄生虫感染率和感染强度测定

在每个诱捕期的下午收集根田鼠粪便样品。诱捕前对活捕笼进行清扫, 以避免残留粪便及其它杂物对结果造成影响。收集的粪便样品装于聚乙烯样品袋中 (Ocaido *et al.*, 1999), 并记录围栏号、耳标号、性别及收集日期, 随即放入 4°C 冷藏柜保存。每诱捕期内, 所有诱捕到的个体仅取样 1 次, 以避免数据假重复 (Hurlbert, 1984)。待诱捕期结束后把根田鼠粪便样品带回实验室进行检测、计数。粪便寄生虫计数采用改良的麦克马斯特法 (Wetzel, 1951)。样品带回实验室后, 用电子天平称约 $0.5\ \text{g}$ 粪样 (精确到 $0.001\ \text{g}$), 加 $15\ \text{mL}$ $2.5\% \text{K}_2\text{CrO}_7$ 研磨, 依次通过 40 目铜筛和 100 目的尼龙网筛后, 26°C 培养 48 h, 使其孢子化。当孢子化率达 85% 以上时, 用水冲洗到 $45\ \text{mL}$ 的离心管中, $1\ 500\ \text{r/min}$ 离心 5 min, 倾倒离心液, 剩余沉淀液加入饱和盐水并定容至 $10\ \text{mL}$, 采用饱和盐水漂浮法, 显微镜下观察漂浮液以检测卵囊 (Ocaido *et al.*, 1999; Gillespie and Chapman, 2006; Vadlejch *et al.*, 2011)。并依据孢子化卵囊的外部形态和内部结构进行分类 (Ocaido *et al.*, 1999; Gillespie and Chapman, 2006; Cao *et al.*, 2014)。球虫卵识别到种, 绦虫卵和线虫卵则识别到属, 并计算其感染率和感染强度。感染率 = 围栏种群感染个体数/围栏种群的总个体数, 感染强度为每克粪便中的卵囊数 (OPG), $\text{OPG} = (\text{球虫计数} \times 10\ \text{mL}) / (0.15\ \text{mL} \times 2 \times \text{粪便重})$ (Bush *et al.*, 1997)。在卵囊的检测过程中, 为了减少误差, 实验过程由一人完成。

1.2.2 白细胞计数

11 月诱捕期活捕到的实验个体, 用内径为 $0.3\ \text{mm}$ 的石英点样毛细玻璃管 (华西医科大学仪器厂生产) 眼眶静脉丛取血 $100\ \mu\text{L}$, 放入 $\text{K}_2\text{-EDTA}$ 抗凝的 $1.5\ \text{mL}$ 离心管中, 血液样品放于冰盒中, 2 h 内带回实验室。另取一洁净小试管, 加入 $0.38\ \text{mL}$ 白细胞稀释液, 用移液枪准确吸取 $\text{K}_2\text{-EDTA}$ 抗凝的全血 $20\ \mu\text{L}$, 混匀后, 用 Hausser 白细胞计数板计数。白细胞数量计算公式如下: $(4\ \text{个大格白细胞数}/4) \times 2 \times 10^8$ (10^8 个细胞/L)

(杨秀平, 2004)。

1.2.3 白细胞分类计数

瑞氏染色法(试剂来源于南京建成生物工程有限公司)检测淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞和单核细胞的数量。取 K_2 -EDTA 抗凝的全血 $3 \mu\text{L}$ 滴于洁净的载玻片上,用另一载玻片轻推将血膜均匀涂满载玻片,待血膜干燥后,滴加适量吉姆萨染色液 1 覆盖血膜, $60 \sim 90 \text{ s}$ 后滴加适量吉姆萨染液 2,混合均匀,染色 $6 \sim 8 \text{ min}$ 后,用清水冲洗多余液体,自然干燥保存(张鑫等, 2017)。镜检采用油镜检测,计数淋巴细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞等白细胞共 100 个,计算各种细胞的百分比,最后乘以白细胞总数,得到最终各种细胞的数量 (10^8 个细胞/L)。

1.2.4 细胞免疫测定

细胞免疫的测定在 11 月诱捕期进行。野外围栏诱捕到的根田鼠,带回实验室后用 mitutoyo 547-301 厚度表(产自瑞士)测量注射前实验动物初始的左后脚掌厚度(0 h)(精确到 $\pm 0.01 \text{ mm}$),用 75% 酒精擦拭足垫,随后用微量注射器在每只实验动物左后脚掌中心皮下注射浓度为 3.3 mg/mL 的 PHA (phytohemagglutinin 植物血球凝集素 Sigma L-8754) 无菌溶液,在注射 6 h 后(Xu and Wang, 2010)测量左后脚掌的厚度。每只实验动物重复测量 6 次,取 6 次测量的平均值。PHA 反应的计算公式如下: $\text{PHA 反应} = (\text{PHA 反应后} - \text{PHA 反应前}) / \text{PHA 反应后}$ (Smits *et al.*, 1999; Bellocq *et al.*, 2006; Xu and Wang, 2010; Xu *et al.*, 2011)。

1.3 数据的统计分析

采用广义线性混合模型 (Generalized Linear Mixed Model, GLMM) (Schabenberger, 2005; Bolker *et al.*, 2009) 统计分析数据。在该模型中,寄生虫感染率、寄生虫感染强度、白细胞总数、各白细胞种类计数和 PHA 值作为因变量,处理、性别作为自变量,时间作为重复测量变量,围栏作为随机变量。本研究中,感染强度(OPG)经 $\ln(\text{OPG} + 1)$ 转换后进行统计分析。运用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,采用 Bonferroni 进行多重比较。数据表示为平均值 \pm 标准误 (mean \pm SE), $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 球虫的感染率

在野外围栏实验中,不同处理对 *E. wenrichi* 的感染率有显著性效应,且 PR+ 处理组球虫 *E. wenrichi* 的感染率显著高于 PR- 处理组 ($F_{1,41} = 5.112$, $P < 0.05$, 图 1A),但对球虫 *E. ochrogasteri* ($F_{1,41} = 0.006$, $P > 0.05$, 图 1B) 和 *E. saxei* ($F_{1,41} = 0.005$, $P > 0.05$, 图 1C) 未发现此类效应,且在 PR+ 和 PR- 两处理组中均未检测到 *Isospora mexicanasubsimi* 球虫感染。此外,未发现 3 种球虫的感染率在性别间的显著差异 (*E. wenrichi*: $F_{1,41} = 2.944$, $P > 0.05$; *E. ochrogasteri*: $F_{1,41} = 0$, $P > 0.05$; *E. saxei*: $F_{1,41} = 0.003$, $P > 0.05$),但存在显著的时间效应 (*E. wenrichi*: $F_{6,33} = 4.656$,

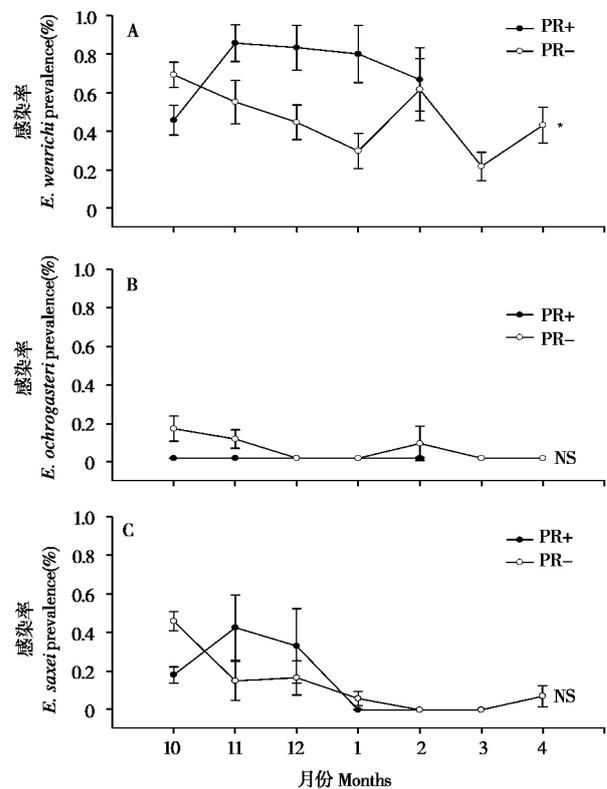


图 1 PR+ 和 PR- 组处理球虫 *wenrichi* (A)、*E. ochrogasteri* (B) 及 *E. saxei* (C) 的感染率 (mean \pm SE)。PR+ 为无预防捕食处理组, PR- 为预防捕食处理组。NS: 处理间无差异, * 处理间差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 1 The infection prevalence of coccidia types in *E. wenrichi* (A), *E. ochrogasteri* (B), and *E. saxei* (C) in PR+ and PR- treatment, respectively (mean \pm SE). PR+ was treatment permitting predation, PR- was treatment preventing predation. NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$

$P = 0.002$; *E. ochrogasteri*: $F_{6,33} = 13.043$, $P < 0.001$; *E. saxei*: $F_{6,33} = 27.407$, $P < 0.001$ 。

2.2 球虫的感染强度

在野外围栏实验中,不同处理对 *E. wenrichi* 的感染强度有显著性效应,且 PR+ 处理组球虫 *E. wenrichi* 的感染强度显著高于 PR- 处理组 ($F_{1,152} = 16.438$, $P < 0.001$, 图 2A),但球虫 *E. ochrogasteri* ($F_{1,152} = 2.370$, $P > 0.05$, 图 2B) 和球虫 *E. saxei* ($F_{1,152} = 2.517$, $P > 0.05$, 图 2C) 的感染强度在 PR+ 处理组和 PR- 处理组间无显著效应。此外,并未发现 3 种球虫的感染强度在性别间的显著差异 (*E. wenrichi*: $F_{1,152} = 0.789$, $P > 0.05$; *E. ochrogasteri*: $F_{1,152} = 3.468$, $P > 0.05$; *E. saxei*: $F_{1,152} = 0.704$, $P > 0.05$)。但球虫

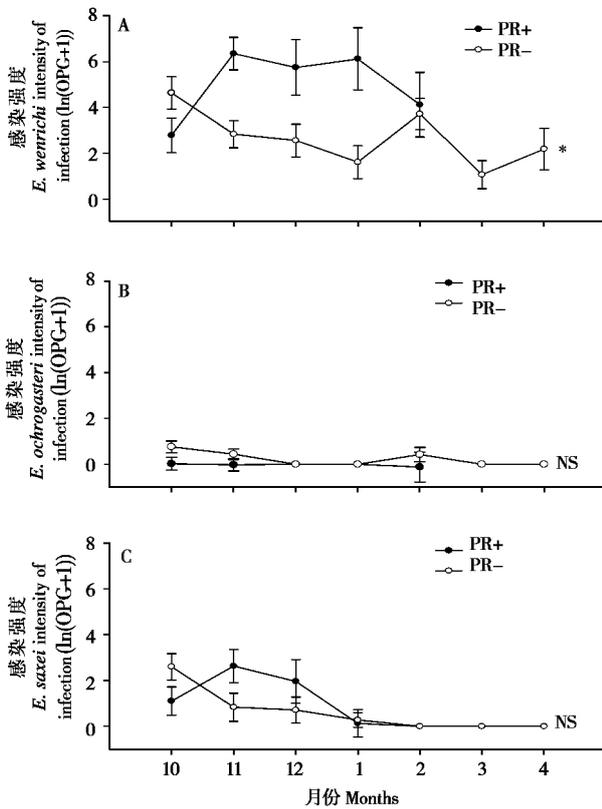


图2 PR+ 和 PR- 组处理球虫 *E. wenrichi* (A)、*E. ochrogasteri* (B) 及 *E. saxei* (C) 的感染强度 (mean ± SE)。PR+ 为无预防捕食处理组, PR- 为预防捕食处理组。NS 表示处理间无差异, * 表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 2 The infection intensity of coccidia types in *E. wenrichi* (A), *E. ochrogasteri* (B), and *E. saxei* (C) in PR+ and PR- treatment, respectively (mean ± SE). PR+ was treatment permitting predation, PR- was treatment preventing predation. NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$

E. wenrichi、*E. saxei* 的感染强度存在显著的时间效应 (*E. wenrichi*: $F_{6,152} = 4.144$, $P = 0.001$; *E. saxei*: $F_{6,152} = 6.594$, $P < 0.001$), *E. ochrogasteri* 的感染强度却不存在显著的时间效应 ($F_{6,152} = 0.997$, $P > 0.05$)。

2.3 绦虫和线虫的感染率和感染强度

在整个诱捕期内,绦虫和线虫的感染率和感染强度都未发现显著的处理效应(感染率: 绦虫 $F_{1,41} = 0.009$, $P > 0.05$, 线虫 $F_{1,41} = 0.002$, $P > 0.05$, 图 3A、B; 感染强度: 绦虫 $F_{1,152} = 2.192$, $P > 0.05$, 线虫 $F_{1,152} = 3.191$, $P > 0.05$, 图 3C、D)。也未发现性别间的显著差异(感染率: 绦虫 $F_{1,41} = 0.144$, $P > 0.05$, 线虫 $F_{1,41} = 0$, $P > 0.05$; 感染强度: 绦虫 $F_{1,152} = 0.086$, $P > 0.05$, 线虫 $F_{1,152} = 0.087$, $P > 0.05$)。此外,绦虫的感染强度在时间上有显著差异 ($F_{6,152} = 4.425$, $P < 0.001$),但在感染率上未发现此类效应 ($F_{6,33} = 0.274$, $P > 0.05$)。类似地,线虫的感染率有显著的时间效应 ($F_{6,33} = 2004.650$, $P < 0.001$),但在感染强度没有显著的时间效应 ($F_{6,152} = 0.798$, $P > 0.05$)。

2.4 白细胞计数、白细胞分类计数和迟发性超敏反应

在血细胞数量上,不同处理对白细胞和淋巴细胞数量有显著的处理效应,且 PR+ 处理组根田鼠的白细胞计数、淋巴细胞计数显著低于 PR- 处理组(白细胞, $F_{1,28} = 35.365$, $P < 0.001$; 淋巴细胞, $F_{1,29} = 10.510$, $P = 0.003$, 图 4A)。但在嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、嗜中性粒细胞和单核细胞中未发现此类效应(嗜酸性粒细胞, $F_{1,29} = 0.191$, $P > 0.05$; 嗜碱性粒细胞, $F_{1,29} = 3.913$, $P > 0.05$; 嗜中性粒细胞, $F_{1,29} = 4.064$, $P > 0.05$; 单核细胞, $F_{1,29} = 1.110$, $P > 0.05$, 图 4A)。此外,白细胞 ($F_{1,28} = 0.054$, $P > 0.05$)、淋巴细胞 ($F_{1,29} = 0.144$, $P > 0.05$)、嗜酸性粒细胞 ($F_{1,29} = 0.001$, $P > 0.05$)、嗜碱性粒细胞 ($F_{1,29} = 0.254$, $P > 0.05$) 和嗜中性粒细胞 ($F_{1,29} = 0.458$, $P > 0.05$) 数量性别间无显著差异,仅雄性的单核细胞计数显著高于雌性 ($F_{1,29} = 11.519$, $P = 0.002$)。

不同处理对根田鼠 PHA 反应有显著的处理效应,PR+ 处理组的 PHA 反应显著低于 PR- 处理组

($F_{1,33} = 29.987, P < 0.001$, 图 4B), 但未发现性别间的显著差异 ($F_{1,33} = 0.010, P > 0.05$)。

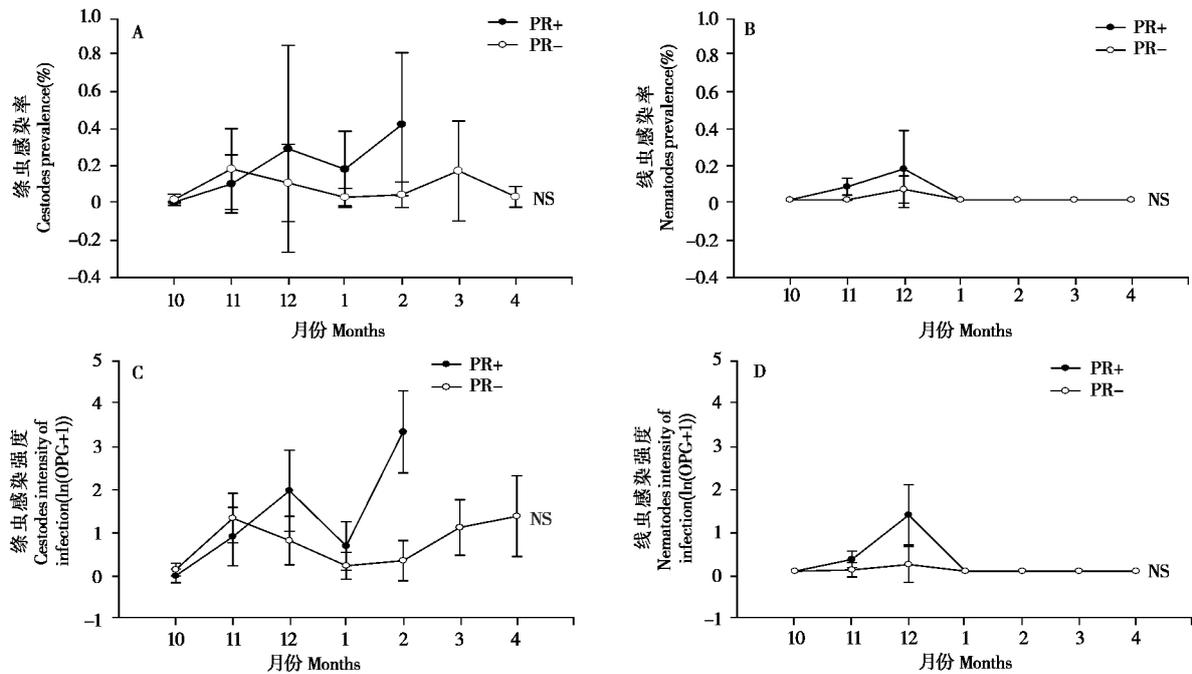


图 3 PR+ 和 PR- 组处理下绦虫和线虫的感染率和感染强度 (mean ± SE). PR+ 为无预防捕食处理组, PR- 为预防捕食处理组. A、B 分别为绦虫和线虫的感染率, C、D 分别为绦虫和线虫的感染强度. NS 表示处理间无差异

Fig. 3 The infection prevalence and infection intensity of types in cestodes and nematodes in PR+ and PR- treatment, respectively (mean ± SE). PR+ was treatment permitting predation, PR- was treatment preventing predation. A, B were infection prevalence of cestodes and nematodes, respectively. C, D were infection intensity of cestodes and nematodes, respectively. NS: $P > 0.05$

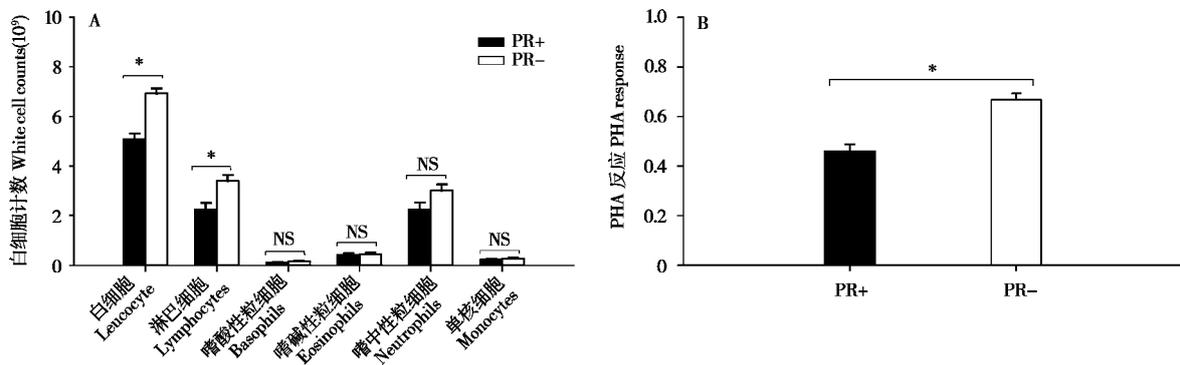


图 4 PR+ 和 PR- 处理组白细胞计数、白细胞分类计数和 PHA 反应 (mean ± SE). PR+ 为无预防捕食处理组, PR- 为预防捕食处理组. A 为白细胞计数和白细胞分类计数, B 为 PHA 反应. NS 表示处理间无差异, * 表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 4 Leucocyte count, white blood cell count and PHA response in PR+ and PR- treatment, respectively (mean ± SE). PR+ was treatment permitting predation, PR- was treatment preventing predation. A is leucocyte count and white blood cell count, and B is PHA response in PR+ and PR- treatment, respectively. NS: $P > 0.05$; * $P < 0.05$

3 讨论

本研究结果表明, PR+ 处理组根田鼠免疫能力较 PR- 组显著降低, 且球虫 *E. wenrichi* 感染率和感染强度显著增加。在本实验 PR+ 处理中, 捕食者可自由进出围栏, 虽没有进行捕食者数量调查, 但在诱捕期观察到围栏周围有红隼 (3 次)、大鸮 (7 次)、香鼬 (2 次) 和赤狐 (1 次) 等捕食者的出现。其次, 围栏建群者放入围栏前对每个实验个体进行同量孢子化球虫卵囊感染, 使其球虫感染均一化。因此, PR+ 处理组较 PR- 处理组有较高球虫感染的结果, 只能归结于捕食风险的间接效应。在本研究中, 捕食风险对球虫感染的间接效应可能是通过根田鼠免疫力特征介导所致。动物具有复杂的免疫系统, 单一的免疫参数指标往往不能准确反映其免疫能力。本研究采用迟发性超敏反应和血细胞参数评估根田鼠个体免疫力。PHA 可诱导 T 细胞活化和增殖而导致肿胀, 该指标一般用于评价 T 细胞介导的细胞免疫功能 (Smits *et al.*, 1999; Bellocq *et al.*, 2006)。在本研究中, PR+ 处理组的 PHA 反应显著低于对照组, 表明 PR+ 处理组个体具有较低的细胞免疫能力。另一方面, 白细胞是有机体重要的非特异性免疫细胞, 而淋巴细胞则是特异性免疫细胞, 它们在抗感染中具有重要的防御作用。Boonstra 等 (1998) 的研究结果表明, 捕食应激可导致美洲兔 (*Lepus americanus*) 单核细胞、淋巴细胞和嗜中性粒细胞数量显著降低。在本研究中, PR+ 处理组的白细胞和淋巴细胞数量显著低于对照组, 该结果与 Boonstra 等 (1998) 的结果一致。白细胞和淋巴细胞数量的变化与机体感染病菌有关, 机体感染病菌可增加血细胞数量。本研究中 PR+ 处理组的寄生物感染率及感染强度显著高于对照组, 这说明 PR+ 处理组在感染较高球虫的情况下, 其白细胞和淋巴细胞数量依然降低, 反映了根田鼠个体天然免疫能力的下降。因此, 结合 PHA 反应及血象参数, 本研究结果表明, 捕食风险可降低根田鼠个体的免疫能力。

动物的免疫系统功能受 HPA 轴多途径调控 (Padgett and Glaser, 2003; Bartolomucci, 2007)。在对美洲兔的研究中发现, 当捕食者数量增加或捕食风险增大时, 其个体的粪便皮质酮水平显著升高, 免疫能力降低 (Boonstra *et al.*, 1998; Sheriff

et al., 2009, 2010)。Navarro 等 (2004) 也发现, 家雀 (*Passer domesticus*) 暴露给猫后, 显著降低了其 T 细胞的反应能力。Du 等 (2016) 对根田鼠的研究结果也表明, 当母体密度应激子代处于当前密度应激环境时, 子代的粪便皮质酮水平显著增高, 细胞免疫反应和体液免疫反应显著降低。上述结果提示, 本研究中捕食对根田鼠免疫力的抑制可能与捕食应激有关。

大量研究表明, 机体免疫力的降低可增加感染病原体及寄生物的风险 (Seed *et al.*, 1976; Ader and Cohen, 1993; Black, 1994; Nordling *et al.*, 1998; Llorente *et al.*, 2002; Cornell *et al.*, 2008; Auld *et al.*, 2012)。Nordling 等 (1998) 通过调控雌性白颈姬鹀 (*Ficedula albicollis*) 的繁殖投入发现, 白颈姬鹀增加繁殖投入后, 其免疫能力显著低于对照组, 且血液变形虫 (*Haemoproteus*) 的感染强度显著增加。对根田鼠的研究发现, 母体密度应激与当前密度应激处理不仅降低子代免疫力, 而且增加球虫感染率和感染强度 (Du *et al.*, 2016)。本研究中 PR+ 处理组球虫 *E. wenrichi* 的感染率和感染强度显著增加, 与上述他人的研究结果相一致, 表明捕食风险对球虫感染的效应可归结于对根田鼠免疫力的抑制作用。

本研究未发现预防捕食者和未预防捕食者处理组间在球虫 *E. ochrogasteri*、*E. saxei* 以及绦虫和线虫的感染率和感染强度的显著性差异, 也未检测到球虫 *I. mexicanasubsimi*, 这可能与这些寄生物较低的感染率有关。聂绪恒等 (2014) 的研究表明 *E. ochrogasteri* 和 *E. saxei* 在繁殖期的感染率为 4.1% 和 1.2%, 而 *I. mexicanasubsimi* 感染率仅为 0.5%, 而线虫和绦虫的感染率均在 5% 以下。

在本研究中, 捕食风险降低了根田鼠免疫力, 而根田鼠免疫力的降低又增加了球虫对根田鼠的感染, 表明了捕食者可通过影响猎物的免疫力特征而间接增加寄生物感染, 从而表现为捕食风险对寄生物的间接作用。由此, 验证了本文提出的捕食风险可通过降低根田鼠的免疫能力而增加其肠道寄生物感染率和感染强度的假设。在自然界中, 这种特征介导间接效应普遍存在于水生和陆地生态系统中。Thiemann 和 Wassersug (2000) 对石蛙 (*Rana sylvatica*) 和格林蛙 (*Rana clamitans*) 的研究中发现, 捕食者 (*Fundulus diaphanus*) 的出现可导致

蝌蚪体内蝌蚪吸虫 (*Echinostoma*) 感染率的增加。Duffy 等 (2011) 研究结果表明, 捕食风险可导致水蚤 (*Daphnia dentifera*) 体型变长, 而长体型水蚤则更易感染酵母 (*Metschnikowia*) 寄生物。此类特征介导间接效应可对动物适合度及其种群动态产生复杂的结果 (Hatcher *et al.*, 2006)。理论模型表明, 在松鸡—线虫系统模型中, 加入具有选择性猎杀感染寄生物个体的捕食者时, 可减弱松鸡 (*Lagopus lagopus scoticus*) 种群的震荡幅度 (Hudson *et al.*, 1992); 但是在美洲兔—捕食者系统模型中, 加入非致死性寄生物且寄生物可导致个体更容易被捕食者猎杀时, 可使美洲兔种群从阻尼震荡向周期性震荡转变 (Ives and Murray, 1997)。大量研究表明, 在小哺乳动物种群中, 感染寄生物的小哺乳动物更易遭致天敌捕食 (Hudson *et al.*, 1992; Steen *et al.*, 2002; Alzaga *et al.*, 2008)。这提示如果捕食者和寄生物通过特征介导间接效应而共同作用于猎物/宿主时, 可对猎物/宿主种群波动产生重要影响。在小哺乳动物种群调节研究中, Martínez-Padilla 等 (2014) 强调, 多因子间的相互作用能更好地解释种群密度的时空变化, 而作为镶嵌在食物网中的小哺乳动物, 必然与其他物种有着复杂的营养级关联。因此, 在本项研究基础上, 进一步开展捕食与寄生物对小哺乳动物种群的调节效应的研究, 对揭示小哺乳动物种群波动机制将具有重要意义。

致谢: 感谢青海海北高寒草地生态系统国家野外科学观测研究站的大力支持, 特别感谢堵守杨博士对本研究提出的建议和张建民对野外工作的帮助, 感谢杨元罡和侯楚在本实验过程中给予的帮助。

参考文献:

- Ader R, Cohen N. 1993. Psychoneuroimmunology: conditioning and stress. *Annual Review of Psychology*, **44**: 53–85.
- Alzaga V, Vicente J, Villanua D, Acevedo P, Casas F, Gortazar C. 2008. Body condition and parasite intensity correlates with escape capacity in Iberian hares (*Lepus granatensis*). *Behav Ecol Sociobiol*, **62**: 769–775.
- Auld S, Graham A, Wilson P, Little T. 2012. Elevated haemocyte number is associated with infection and low fitness potential in wild *Daphnia magna*. *Functional Ecology*, **26** (2): 434–440.
- Banerji A, Duncan A B, Griffin J S, Humphries S, Petchey O L, Kaltz O. 2015. Density- and trait-mediated effects of a parasite and a predator in a tri-trophic food web. *Journal of Animal Ecology*, **84**: 723–733.
- Bartolomucci A. 2007. Social stress, immune functions and disease in rodents. *Front Neuroendocrinol*, **28**: 28–49.
- Belloq J G, Krasnov B R, Khokhlova I S, Pinshow B. 2006. Temporal dynamics of a T-cell mediated immune response in desert rodents. *Comp Biochem Physiol A*, **145**: 554–559.
- Bian J H, Wu Y, Liu J K. 2005. Effects of predator-induced maternal stress during gestation on growth in root voles (*Microtus oeconomus*). *Acta Theriologica*, **50**: 473–482.
- Bian J H, Wu Y, Getz L L, Cao Y F, Chen F, Yang L. 2011. Does maternal stress influence winter survival of offspring in root voles *Microtus oeconomus*? A field experiment. *Oikos*, **120**: 47–56.
- Bian J H, Du S Y, Wu Y, Cao Y F, Nie X H, He H, You Z B. 2015. Maternal effects and population regulation: maternal density-induced reproduction suppression impairs offspring capacity in response to immediate environment in root voles *Microtus oeconomus*. *Journal of Animal Ecology*, **84** (2): 326–336.
- Black P H. 1994. Central nervous system-immune system interactions: psychoneuroendocrinology of stress and its immune consequences. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **38** (1): 1–6.
- Bolker B M, Holyoak M, Krivan V, Rowe L, Schmitz O. 2003. Connecting theoretical and empirical studies of trait-mediated interactions. *Ecology*, **84**: 1101–1114.
- Bolker B M, Brooks M E, Clark C J, Geange S W, Poulsen J R, Stevens M H H, White J S. 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology and Evolution*, **24** (3): 127–135.
- Boonstra R, Hik D, Singelton G R, Tinnikov A. 1998. The impact of predator-induced stress on the snowshoe hare cycle. *Ecol Monogr*, **79**: 317–394.
- Cao Y F, Nie X H, He H, Du S Y, Duszynski D W, Bian J H. 2014. Gastrointestinal parasites of root voles, *Microtus oeconomus* (Rodentia: Muridae) from Haibei area, Qinghai Province, China. *Comparative Parasitology*, **81** (2): 185–190.
- Cornell S, Bjornstad O, Cattadori I, Boag B, Hudson P. 2008. Seasonality, cohort-dependence and the development of immunity in a natural host-nematode system. *Proceedings: Biological Sciences*, **275** (1634): 511–518.
- Du S Y, Cao Y F, Nie X H, Wu Y, Bian J H. 2016. The synergistic effect of density stress during the maternal period and adulthood on immune traits of root vole (*Microtus oeconomus*) individuals – a field experiment. *Oecologia*, **181** (2): 335–346.
- Duffy M, Housley J, Penczykowski R, Cáceres C, Hall S. 2011. Unhealthy herds: indirect effects of predators enhance two drivers of disease spread. *Functional Ecology*, **25** (5): 945–953.
- Gillespie T, Chapman C A. 2006. Prediction of parasite infection dynamics in primate meta-populations based on attributes of forest fragmentation. *Conservation Biology*, **20** (2): 441–448.
- Hatcher M J, Dick J T A, Dunn A M. 2006. How parasites affect inter-

- actions between competitors and predators. *Ecology Letters*, **9**: 1253 – 1271.
- Hudson P J, Dobson A P, Newborn D. 1992. Do parasites make prey vulnerable to predation? Red grouse and parasites. *Journal of Animal Ecology*, **61**: 681 – 692.
- Hurlbert S H. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments. *Ecological Monographs*, **54** (2): 187 – 211.
- Ives A R, Murray D L. 1997. Can sublethal parasitism destabilize predator-prey population dynamics? A model of snowshoe hares, predators and parasites. *Journal of Animal Ecology*, **66**: 265 – 278.
- Jiang Y J, Wei S W, Wang Z W, Zheng S W, Cui R X, Sun R Y. 1991. Productivity investigation of the root vole (*Microtus oeconomus*) population in the Haibei alpine bushland (*Potentilla fruticosa*) I. Population dynamics. *Acta Theriologica Sinica*, **11** (4): 270 – 278. (in Chinese).
- Joly D, Messier F. 2004. The distribution of *Echinococcus granulosus* in moose: evidence for parasite-induced vulnerability to predation by wolves? *Oecologia*, **140** (4): 586 – 590.
- Liu J K, Liang J R, Zhou X M, et al. 1982. The rodents community and quantity in Alpine Meadow Ecosystem Research Station. In: Xia W P ed. *Alpine Meadow Ecosystem*, **1**: 34 – 43. (in Chinese).
- Liu J K, Su J P, Liu W, Wang X, Nie H Y, Wang Y M. 1994. Field experimental studies on the multifactorial hypothesis of population system regulation for small rodents: an analysis of effects of food availability and predation on population dynamics of root vole. *Acta Theriologica Sinica*, **14** (2): 117 – 129. (in Chinese).
- Llorente E, Brito M L, Machado P, Gonzalez M C. 2002. Effect of prenatal stress on the hormonal response to acute and chronic stress and on immune parameters in the offspring. *Physiol Biochem*, **58** (3): 143 – 149.
- Marino J A, Werner E E. 2013. Synergistic effects of predators and trematode parasites on larval green frog (*Rana clamitans*) survival. *Ecology*, **94**: 2697 – 2708.
- Martínez-Padilla J, Redpath S M, Zeineddine M, Mougeot F. 2014. Insights into population ecology from long-term studies of red grouse *Lagopus lagopus scoticus*. *Journal of Animal Ecology*, **83**: 85 – 98.
- Navarro C, de Lope F, Marzal A, Moller A P. 2004. Predation risk, host immune response and parasitism. *Behavioral Ecology*, **15**: 629 – 635.
- Nie X H, Cao Y F, Du S Y, He H, Bian J H. 2014. Intestinal parasites prevalence in root voles (*Microtus oeconomus*) from field enclosures. *Acta Theriologica Sinica*, **34** (2): 172 – 180. (in Chinese).
- Nordling D, Andersson M, Zohari S, Gustafsson L. 1998. Reproductive effort reduces specific immune response and parasite resistance. *Biological Sciences*, **265** (1403): 1291 – 1298.
- Ocaido M, Siefert L, Baranga J. 1999. Seasonal changes of impala (*Aepyceros melampus*, Lichtenstein, 1812) faecal helminth egg counts through a one-year period. *African Journal of Ecology*, **37** (3): 327 – 333.
- Owen D, Andrews M H, Matthews S G. 2005. Maternal adversity, glucocorticoids and programming of neuroendocrine function and behaviour. *Neurosci Biobehav Rev*, **29**: 209 – 226.
- Padgett D A, Glaser R. 2003. How stress influences the immune response. *Trends in Immunology*, **24**: 444 – 448.
- Raffel T R, Hoverman J T, Halstead N T, Michel P J, Rohr J R. 2010. Parasitism in a community context: trait-mediated interactions with competition and predation. *Ecology*, **91**: 1900 – 1907.
- Sapolsky R M. 1992. Neuroendocrinology of the stress-response. In: Becker J B, Breedlove S M, Crews D eds. *Behavioural Endocrinology*. MIT Press, 287 – 324.
- Schabenberger O. 2005. Introducing the GLIMMIX procedure for generalized linear mixed models. *SUGI Proceedings*, **30**: 196 – 30.
- Seed J, Ashman P, Pinter A, Ackerman S, King L. 1976. Weight of the spleen, adrenals and gonads during a chronic *Trypanosoma brucei gambiense* infection of laboratory-reared *Microtus montanus*. *The American Midland Naturalist*, **96** (2): 379 – 390.
- Sheriff M J, Krebs C J, Boonstra R. 2009. The sensitive hare: sublethal effects of predator stress on reproduction in snowshoe hares. *J Anim Ecol*, **78**: 1249 – 1258.
- Sheriff M J, Krebs C J, Boonstra R. 2010. Assessing stress in animal populations: do feces and plasma glucocorticoids tell the same story? *Gen Comp Endocrinol*, **166**: 614 – 619.
- Sheriff M J, Krebs C J, Boonstra R. 2011. From process to pattern: how fluctuating predation risk impacts the stress axis of snowshoe hares during the 10-year cycle. *Oecologia*, **166**: 593 – 605.
- Smits J E, Bortolotti G R, Tella J L. 1999. Simplifying the phytohaemagglutinin skin-testing technique in studies of avian immunocompetence. *Funct Ecol*, **13**: 567 – 572.
- Steen H, Taitt M, Krebs C J. 2002. Risk of parasite-induced predation: an experimental field study on Townsend's voles (*Microtus townsendii*). *Can J Zool*, **80**: 1286 – 1292.
- Temple S. 1987. Do predators always capture substandard individuals disproportionately from prey populations? *Ecology*, **68** (3): 669 – 674.
- Thiemann G W, Wassersug R J. 2000. Patterns and consequences of behavioural responses to predators and parasites in *Rana* tadpoles. *Biological Journal of the Linnean Society*, **71**: 513 – 528.
- Vadlejch J, Petrl M, Zaichenko I, adková Z, Jankovská I, Langrová I, Moravec M. 2011. Which McMaster egg counting technique is the most reliable? *Parasitology Research*, **109** (5): 1387 – 1394.
- Werner E E, Peacor S D. 2003. A review of trait-mediated indirect interactions in ecological communities. *Ecology*, **84**: 1083 – 1100.
- Wetzel R. 1951. Verbesserte McMaster-Kammer zura Auszahlen von Wurmeiera. *Tierärztliche Umschau*, **6** (11/12): 209 – 210.
- Wingfeld J C, Romero L M. 2001. Adrenocortical responses to stress and their modulation in free-living vertebrates. In: McEwen B S

- ed. Handbook of Physiology, Section 7. Coping with the Environment: Neural and Endocrine Mechanisms. Oxford University Press, 211–236.
- Wu X W, Griffin J N, Sun S C. 2014. Cascading effects of predator–detritivore interactions depend on environmental context in a Tibetan alpine meadow. *Journal of Animal Ecology*, **83**: 546–556.
- Xu D L, Wang D H. 2010. Fasting suppresses T cell-mediated immunity in female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Comparative and Biochemical Physiology-Part A: Molecular and Integrative Physiology*, **155** (1): 25–33.
- Xu D, Liu X, Wang D. 2011. Impairment of cellular and humoral immunity in overweight Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Integr Zool*, **6**: 352–365.
- Yang F T. 1982. The natural profile in Alpine Meadow Ecosystem Research Station. In: Xia W P ed. Alpine Meadow Ecosystem, **1**: 1–8. (in Chinese).
- Yang X P. 2004. Laboratory Manual in Animal Physiology. Beijing: Higher Education Press, 91–94. (in Chinese)
- Zhang X, Yang Y B, Du S Y, Cao Y F, Zhou H K, Bian J H. 2018. Effects of maternal density stress and coccidiosis infection on immunity in root vole offsprings. *Acta Theriologica Sinica*, **38** (1): 56–65. (in Chinese).
- 刘季科, 苏建平, 刘伟, 王溪, 聂海燕, 李玉敏. 1994. 小型啮齿动物种群系统调节复合因子理论的野外实验研究: 食物可利用性和捕食对根田鼠种群动态作用的分析. *兽类学报*, **14** (2): 117–129.
- 刘季科, 梁杰荣, 周兴民等. 1982. 高寒草甸生态系统定位站的啮齿动物群落与数量. 见: 夏武平主编. 高寒草甸生态系统, **1**: 34–43.
- 杨福国. 1982. 高寒草甸生态系统定位站自然概况. 见: 夏武平主编. 高寒草甸生态系统, **1**: 1–8.
- 杨秀平. 2004. 动物生理学实验. 北京: 高等教育出版社, 91–94.
- 张鑫, 杨彦宾, 堵守杨, 曹伊凡, 周华坤, 边疆晖. 2018. 母体密度应激与球虫感染对子代根田鼠免疫力的影响. *兽类学报*, **38** (1): 56–65.
- 姜永进, 魏善武, 王祖望, 郑生武, 崔瑞贤, 孙儒泳. 1991. 海北高寒草甸金露梅灌丛根田鼠种群生产力的研究 I. 种群动态. *兽类学报*, **11** (4): 270–278.
- 聂绪恒, 曹伊凡, 堵守杨, 何慧, 边疆晖. 2014. 野外围栏条件下根田鼠肠道球虫感染率的研究. *兽类学报*, **34** (2): 172–180.