

# 普通鸬鹚鸟卵溶菌酶与巢密度及卵顺序和新城疫病毒母源抗体关系

曹建<sup>①②③</sup> 王稳<sup>①②</sup> 李继荣<sup>①②③</sup> 杨芳<sup>①②</sup> 王雪莲<sup>①②</sup>  
郑思思<sup>①②③</sup> 李来兴<sup>①②③\*</sup>

① 中国科学院西北高原生物研究所 西宁 810008; ② 中国科学院高原适应与进化重点实验室 西宁 810008;

③ 中国科学院大学 北京 100049

**摘要:** 亲鸟可通过母体作用向鸟卵传递不同的免疫物质,用于免疫防御,对提高子代生存率至关重要。本研究在青海湖鸬鹚岛共采集 60 枚普通鸬鹚 (*Phalacrocorax carbo*) 鸟卵,并同时记录巢密度和卵顺序,通过血凝抑制试验和溶解实验分别测定鸟卵溶菌酶浓度和新城疫病毒 (*Newcastle disease virus*, NDV) 母源抗体效价。对鸟卵溶菌酶浓度与巢密度进行 Pearson 相关分析,利用单因素方差 (One way ANOVA) 分析鸟卵溶菌酶浓度与卵顺序关系,利用 *t* 检验分析新城疫病毒阳性鸟卵与阴性鸟卵溶菌酶浓度差异性,对新城疫病毒阳性鸟卵抗体效价与溶菌酶浓度进行 Spearman 相关分析。(1) 不同窝的鸟卵溶菌酶浓度与巢密度呈正相关性 ( $r = 0.886, P < 0.0001$ ); (2) 同一窝内鸟卵溶菌酶浓度随着卵顺序的增加而增加 ( $F = 3.95, P < 0.05$ ),且新城疫病毒阳性鸟卵的溶菌酶量高于阴性鸟卵 ( $t = 4.08, df = 58, P < 0.001$ ); (3) 在新城疫病毒阳性鸟卵中,其新城疫病毒抗体效价与溶菌酶含量呈负相关关系 ( $r = -0.840, P < 0.001$ )。上述结果表明,亲鸟会根据繁殖密度和卵顺序来调节向鸟卵分配的溶菌酶,同时会调节向鸟卵中传递抗新城疫病毒母源抗体和溶菌酶浓度,从而使免疫防御作用最大化。

**关键词:** 普通鸬鹚; 卵顺序; 繁殖密度; 溶菌酶; 母源抗体

中图分类号: Q958 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2016) 02-310-09

## Lysozyme Concentration Related to Nest Density, Laying Order and Maternal Antibody of *Newcastle disease virus* in the Egg of Great Cormorant (*Phalacrocorax carbo*)

CAO Jian<sup>①②③</sup> WANG Wen<sup>①②</sup> LI Ji-Rong<sup>①②③</sup> YANG Fang<sup>①②</sup> WANG Xue-Lian<sup>①②</sup>  
ZHENG Si-Si<sup>①②③</sup> LI Lai-Xing<sup>①②③\*</sup>

① Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Science, Xining 810008; ② Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Chinese Academy of Science, Xining 810008; ③ University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China

**基金项目** 国家自然科学基金项目 (No. 31071936), 国家重点基础研究发展计划项目 (No. 2010CB530301);

\* 通讯作者, E-mail: lilx@nwipb.ac.cn;

**第一作者介绍** 曹建, 男, 硕士研究生; 研究方向: 鸟类免疫生态学; E-mail: caojianaymx@126.com.

收稿日期: 2015-08-05, 修回日期: 2015-10-26 DOI: 10.13859/j.cjz.201602017

**Abstract:** Female birds can transmit immune factors into eggs to defense pathogen by maternal effect, including innate immune factor lysozyme and adaptive maternal antibody. To investigate how the female birds allocate immune factors into the eggs laid, we totally collected 60 eggs from 20 clutches of great cormorant (*Phalacrocorax carbo*) in Qinghai Lake and recorded the nest density and the egg laying order for each egg. Then we determined the Newcastle disease virus (NDV for short) antibody titer by Hemagglutinin Inhibition Test and the lysozyme concentration by lysoplate assay, respectively. The Pearson correlation and Spearman correlation were employed to analyze the correlation between lysozyme concentration and nest density, the correlation between NDV antibody titer and lysozyme concentration respectively. Meanwhile, the relationship between lysozyme level and egg laying order was performed by One way ANOVA and student's *t* test was applied to determine the difference of lysozyme concentration between the eggs with NDV positively and negatively. We found out that (1) lysozyme concentration was positively related to nest density between eggs from different clutches ( $r = 0.886$ ,  $P < 0.0001$ , Pearson correlation, Table 1); (2) lysozyme concentration increased with egg laying order within a clutch ( $F = 3.95$ ,  $P < 0.05$ , Fig. 1) and the level of lysozyme was higher in the eggs with NDV positively than those negatively ( $t = 4.08$ ,  $df = 58$ ,  $P < 0.001$ , Fig. 2); (3) the NDV antibody titer had negative relationship with lysozyme concentration in eggs with NDV positively ( $r = -0.840$ ,  $P < 0.001$ , Table 2). Hence, we concluded that female birds transmitted lysozyme into their eggs according to the nest density and laying order, meanwhile, effectively transferring lysozyme and NDV maternal antibody into eggs to provide optimal protection for the offspring.

**Key words:** Great cormorant (*Phalacrocorax carbo*); Laying order; Breeding density; Lysozyme; Maternal antibody

环境中的病原体是影响动物,尤其是鸟类生存的重要影响因素(Sheldon 1998)。在长期进化过程中,野生鸟类形成各种各样的进化特征来应对病原体的感染,包括形态、行为和生理免疫(Mousseau et al. 1998),其中最有效的是免疫系统。在成鸟中,免疫系统由非特异性的先天性免疫系统和特异性的获得性免疫系统组成,其中先天性免疫反应快速,能量消耗低,而获得性免疫反应较慢,能量消耗高。鉴于鸟卵和幼鸟在生活史早期阶段由于没有完善的免疫机制,因此易受到病原体的侵害(Mangel et al. 2001, Cook et al. 2005)。因此亲鸟可通过母体作用向鸟卵传递不同的免疫物质用于免疫防御,对提高子代生存率至关重要(Saino et al. 2002, Pihlaja et al. 2006)。

亲鸟向鸟卵传递的免疫物质分为两类:一类为先天性免疫物质,包括溶菌酶、卵转铁蛋白和抗生物素蛋白。溶菌酶可作用于细菌细胞

壁肽聚糖 $\beta$ -1,4糖苷键,从而抑制细菌生长(Salton 1957);卵转铁蛋白能与微生物生长必需的 $Fe^{3+}$ 、 $Cu^{2+}$ 和 $Zn^{2+}$ 结合抑制微生物生长(Valenti et al. 1982, Valenti et al. 1985);抗生物素蛋白可与微生物生长必需的维生素结合(Board et al. 1974)。其中,溶菌酶最为重要,不仅可以抑制细菌生长(Rogers et al. 1969),同时也可以提高幼鸟早期免疫能力(Saino et al. 2002)。另一类为获得性免疫物质母源抗体,它可以特异性地与病原体结合,从而起保护作用(Fadly et al. 1989, Graczyk et al. 1994, Smith et al. 1994, Gasparini et al. 2001)。

野生鸟类在繁殖期间向鸟卵传递这些免疫物质与产卵顺序相关。例如在家燕(*Hirundo rustica*)卵中溶菌酶含量随着卵顺序增加而下降(Shawkey et al. 2008);在鸥类中,母源抗体浓度随着卵顺序增加而下降(Blount et al. 2002, Müller et al. 2004),但这些研究都没有

涉及溶菌酶与母源抗体之间的相互消长关系。

青海湖国家级自然保护区位于青海省(36°58'N, 99°54'E, 海拔3 200 m左右), 每年繁殖季节都有大量斑头雁(*Anser indicus*)、棕头鸥(*Larus brunnicephalus*)、渔鸥(*L. ichthyaetus*)和普通鸬鹚(*Phalacrocorax carbo*)来此繁殖。普通鸬鹚在保护区的主要繁殖地为鸬鹚岛。普通鸬鹚属于鹈形目(Pelecaniformes)鸬鹚科(Phalacrocoracidae), 全身黑色, 两肩和翅膀具有青铜色金属反光, 繁殖期时, 头羽冠及颈杂以白羽, 下胁具有白斑。主要以各种鱼类为食, 每年3月底迁徙至青海湖鸬鹚岛, 集群筑巢, 单配制, 成对繁殖, 异步孵化且雌雄共同孵卵和育雏, 平均窝卵数为4(柳劲松等1994)。

由于普通鸬鹚是新城疫病毒(Newcastle disease virus, NDV)的天然宿主之一(Kuiken 1999), 且此病毒对其有一定致死率, 成鸟的免疫系统会产生相应的抗体以抵御病毒的侵害。然而幼鸟早期免疫系统不成熟, 亲鸟通过母体作用向鸟卵传递母源抗体以保护幼鸟, 从而提高子代生存率。为了研究普通鸬鹚如何分配溶菌酶以及溶菌酶浓度与新城疫病毒母源抗体的关系, 我们选择青海湖的普通鸬鹚作为研究对象, 分别研究鸟卵中溶菌酶与巢密度的关系, 鸟卵中溶菌酶与卵顺序的关系, 以及鸟卵中溶菌酶与抗新城疫病毒母源抗体的关系。

## 1 材料与方 法

### 1.1 样本采集

2013年4~5月份对青海湖鸬鹚岛普通鸬鹚进行观察和样本采集, 每天18:00~19:00时标记所确定巢中的卵顺序并收集鸟卵, 同时记录收集卵的巢3 m半径内的巢数, 作为巢密度, 为了降低对种群数量造成影响, 共采集20巢, 每巢3枚卵, 共60枚卵。在样本收集过程中, 为了防止亲鸟弃巢行为, 我们用自制的鸟卵代替取出的卵。利用电子称(光顺MH01, 精度0.1 g, 量程500 g)称量鸟卵质量, 用游标卡尺

(哈量0-150, 上海新量螺纹工具有限公司, 精度0.01 mm, 量程150 mm)测定鸟卵宽度和长度, 进而计算鸟卵体积, 卵体积 = 卵宽度<sup>2</sup> × 卵长度 × 0.51。在无菌操作台上分离蛋清和蛋黄, 并保存在-20℃冰箱中。

### 1.2 溶菌酶实验

参照文献(Millet et al. 2007)测定蛋清内溶菌酶浓度, 加入25 μl干燥的溶壁微球菌(Sigma, M3770)于50 ml 1%琼脂糖(生工生物工程有限公司)中, 50℃培养制成悬浮液; 在96孔微量反应板上, 设置标准孔和样品孔, 标准孔每孔加入150 μl上述悬浮液和经过梯度稀释的标准溶菌酶溶液, 浓度分别为0.05、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 g/L(Sigma, L4919), 样品孔每孔加入150 μl上述悬浮液和10 μl蛋清; 利用酶标仪(DNM-9602G, 北京普朗技术有限公司)测定850 nm处样品孔和标准孔吸光度值, 并根据标准孔的吸光度绘出标准曲线, 利用标准曲线求出蛋清中溶菌酶含量。

### 1.3 卵黄新城疫病毒抗体检测

**1.3.1 抗体制备** 参照文献(夏广忠等1988, Keck et al. 1993, Vaught 2006)提取卵黄抗体, 用针管吸取5 ml卵黄液, 加等量生理盐水和氯仿萃取, 静置30 min后, 以3 000 r/min离心, 上清液即为卵黄抗体, 含有多种母源抗体, 包括新城疫病毒抗体。

**1.3.2 血凝试验** 在96孔微量反应板中, 每孔加入25 μl PBS溶液, 在第1~6排第1孔加入25 μl灭活的新城疫病毒抗原(哈尔滨维科生物技术有限公司), 混匀, 从第1孔吸取25 μl加入第2孔, 混匀, 以此倍比稀至第12孔, 最后从第12孔吸取25 μl溶液弃置, 第7~8排不加抗原; 每孔加入50 μl 1%鸡(*Gallus gallus domestica*)红细胞液, 振荡混匀, 室温静置40 min观察, 结果判定, 能使红细胞完全凝集的最高稀释倍数为抗原的血凝效价, 此效价为一个血凝单位(hemagglutination units, HAU)。

**1.3.3 血凝抑制试验** 利用PBS溶液将新城疫病毒抗原稀释成4倍血凝单位, 配制成4 HAU抗

原 (HAU为一个血凝单位)。在96孔微量反应板中, 每孔加入25  $\mu\text{l}$  PBS溶液, 1~6排第1孔加入25  $\mu\text{l}$ 样品蛋清, 第7排第1孔加入25  $\mu\text{l}$ 新城疫病毒抗血清作为阳性对照 (哈尔滨维科生物技术有限公司), 第8排不加样品和抗血清作为阴性对照孔; 按照前一节的方法, 对1~7排进行同样的倍比稀释, 混匀; 每孔加入25  $\mu\text{l}$  4 HAU新城疫抗原, 室温静置30 min; 每孔加入50  $\mu\text{l}$  1%鸡红细胞液, 振荡混匀, 室温静置40 min观察。试验结果, 以完全抑制4 HAU新城疫抗原的最高稀释倍数为该样品的抗体效价 (hemagglutination Inhibition, HI), 若 $\text{HI} \leq 2\log_2 2$ , 判定结果为阴性; 若 $\text{HI} = 3\log_2 2$ , 结果可疑 (须重新检一次, 重检效价  $\geq 3\log_2 2$  为阳性,  $< 3\log_2 2$  为阴性); 若 $\text{HI} \geq 4\log_2 2$ , 判定结果为阳性 (WHO 2002)。

#### 1.4 数理统计分析

数据处理在SPSS20.0上进行, 利用Pearson

相关分析检验鸟卵溶菌酶浓度与巢密度的相关关系, 利用单因素方差分析检验鸟卵溶菌酶浓度与卵顺序的关系, 利用单因素成组设计  $t$ -检验分析新城疫病毒抗体阳性鸟卵溶菌酶浓度和新城疫病毒抗体阴性鸟卵溶菌酶浓度关系, 利用 Spearman 秩相关分析新城疫病毒抗体阳性鸟卵抗体效价与溶菌酶浓度关系。

## 2 结果

### 2.1 普通鸬鹚鸟卵溶菌酶浓度与巢密度、卵顺序的关系

不同巢的普通鸬鹚鸟卵溶菌酶浓度与巢密度呈显著正相关 ( $r = 0.885$ ,  $P < 0.0001$ ), 即在高繁殖密度下的亲鸟会向鸟卵分配更多的溶菌酶 (表1)。同一巢中鸟卵溶菌酶浓度随着卵顺序的增加而增加 ( $F = 3.95$ ,  $P < 0.05$ ), 即最后1枚卵的溶菌酶浓度最高 (图1)。

表1 不同繁殖密度下的鸟卵溶菌酶浓度

Table 1 The lysozyme concentration under different nest density

巢编号 Clutch number	采集的鸟卵数 ( $n$ ) Collecting eggs	繁殖密度 (巢) Nest density (nest)	平均溶菌酶浓度 (g/L) Lysozyme concentration
I	3	7	0.171 1
G	3	7	0.183 3
H	3	7	0.189 1
B	3	7	0.189 2
N	3	7	0.190 9
C	3	8	0.184 6
S	3	9	0.189 7
A	3	9	0.190 5
K	3	9	0.195 9
O	3	10	0.199 7
Q	3	10	0.209 4
L	3	10	0.225 6
D	3	11	0.206 3
M	3	12	0.203 1
R	3	12	0.207 7
F	3	12	0.223 9
E	3	13	0.224 0
T	3	13	0.232 6
P	3	13	0.235 4
J	3	15	0.233 4

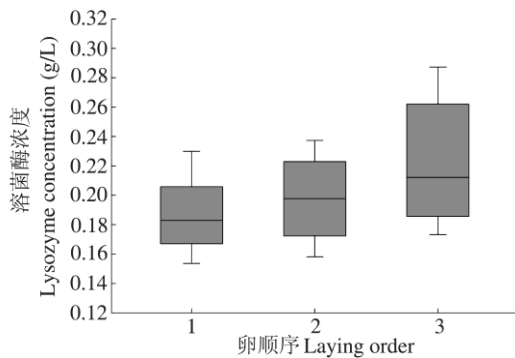


图1 溶菌酶浓度与卵顺序的关系(平均值 ± 标准差)

Fig. 1 The relationship between lysozyme concentration and egg laying order (Mean ± SD)

## 2.2 普通鸬鹚卵溶菌酶浓度和新城疫病毒抗体的关系

经过血凝抑制实验后,将来自不同巢的普通鸬鹚卵分为新城疫病毒抗体阳性卵 ( $n = 34$ ) 和新城疫病毒抗体阴性卵 ( $n = 26$ ),将二者溶菌酶浓度进行差异性检验,新城疫病毒抗体阴性卵溶菌酶浓度显著高于阳性卵 ( $t = 4.08$ ,  $df = 58$ ,  $P < 0.01$ )。

分别将新城疫病毒抗体阳性普通鸬鹚卵中的第1枚 ( $n_1 = 12$ )、第2枚 ( $n_2 = 11$ ) 和第3枚 ( $n_3 = 11$ ) 卵的溶菌酶浓度与新城疫病毒抗体阴性卵中对应顺序卵 ( $n_1' = 8$ ,  $n_2' = 9$ ,  $n_3' = 9$ ) 的溶菌酶浓度进行差异性检验,前者与后者均具有显著性差异(第1枚卵:  $t_1 = 2.82$ ,  $df_1 = 18$ ,  $P_1 < 0.05$ ; 第2枚卵:  $t_2 = 2.21$ ,  $df_2 = 18$ ,  $P_2 < 0.05$ ; 第3枚卵:  $t_3 = 2.42$ ,  $df_3 = 18$ ,  $P_3 < 0.05$ , 图2)。

## 2.3 新城疫病毒抗体阳性卵抗体效价与溶菌酶浓度关系

在新城疫病毒抗体阳性卵中,抗体效价与溶菌酶浓度呈显著负相关 ( $r = -0.840$ ,  $P < 0.001$ ,  $n = 34$ ) (表2)。

## 3 讨论与分析

从结果中,我们发现不同窝的鸟卵溶菌酶浓度与巢密度成正相关性且同一窝内鸟卵溶菌酶浓度随着卵顺序增加;新城疫病毒抗体阴性

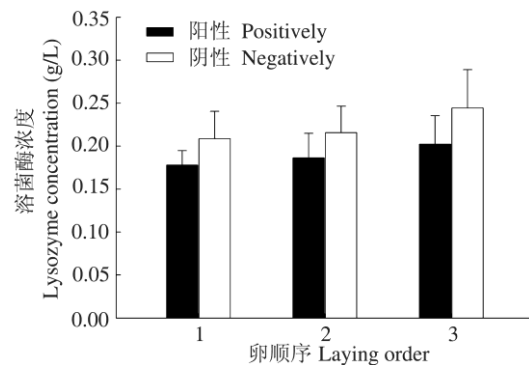


图2 新城疫病毒抗体阳性和阴性鸟卵中不同顺序卵溶菌酶浓度差异性比较(平均值 ± 标准差)

Fig. 2 The difference of lysozyme concentration of NDV between eggs positively and negatively with NDV by the laying order (Mean ± SD)

鸟卵溶菌酶浓度显著高于新城疫病毒抗体阳性鸟卵溶菌酶浓度且在阳性鸟卵中其抗体效价与溶菌酶浓度呈负相关关系,这表明亲鸟可能不是随机分配溶菌酶和新城疫病毒母源抗体到鸟卵中,而是存在一定的规律性。

## 3.1 溶菌酶浓度与巢密度关系

普通鸬鹚集群繁殖,在增加抵御捕食者能力(Ward et al. 1973, Gärmark et al. 1984, Danchin et al. 1997)的同时,也增加种群感染病原微生物的风险(Brown et al. 1986, Tella 2002)。在鸟卵中,溶菌酶不仅可以形成物理性防御而且可以形成化学性防御(Trziszka 1994),因此在胚胎发育期间,更高浓度的溶菌酶可以更有效地抵御病原微生物。而病原微生物数量又与宿主繁殖密度成正相关(Tella 2002),本研究结果支持在高繁殖密度下,成鸟会向鸟卵分配更多溶菌酶以适应环境。

鸟卵溶菌酶浓度与繁殖密度的关系也可能是成鸟身体状况的一种体现。成鸟在形成鸟卵之前,将会消耗体内能量和蛋白质用于提高血液内溶菌酶含量(Klasing 1998, Saino et al. 2002),这意味着身体状况不好的成鸟由于营养的限制,体内的溶菌酶含量低。根据环志信息,在青海湖繁殖的普通鸬鹚可能从印度飞越喜马拉雅山迁徙而来,迁徙过程中需要消耗大量能

表 2 新城疫病毒抗体效价与溶菌酶浓度关系  
Table 2 The relationship between antibody titer of  
Newcastle disease virus and lysozyme concentration

巢编号 Clutch number	卵顺序 Laying order	溶菌酶浓度 (g/L) Lysozyme concentration	抗体效价 Antibody titer
A	1	0.162 9	2 <sup>6</sup>
	2	0.235 1	2 <sup>4</sup>
B	2	0.147 4	2 <sup>7</sup>
	3	0.189 9	2 <sup>5</sup>
C	1	0.201 0	2 <sup>4</sup>
	2	0.188 3	2 <sup>5</sup>
	3	0.164 5	2 <sup>6</sup>
D	1	0.196 7	2 <sup>5</sup>
	2	0.161 0	2 <sup>7</sup>
E	1	0.208 0	2 <sup>4</sup>
	2	0.184 3	2 <sup>6</sup>
F	1	0.181 6	2 <sup>6</sup>
G	1	0.195 1	2 <sup>6</sup>
	2	0.173 2	2 <sup>6</sup>
H	1	0.196 5	2 <sup>5</sup>
	2	0.158 0	2 <sup>6</sup>
	3	0.212 8	2 <sup>5</sup>
I	2	0.165 1	2 <sup>6</sup>
	3	0.195 5	2 <sup>5</sup>
J	1	0.181 6	2 <sup>6</sup>
	3	0.242 6	2 <sup>4</sup>
K	2	0.174 0	2 <sup>6</sup>
	3	0.195 3	2 <sup>5</sup>
M	2	0.223 3	2 <sup>4</sup>
	3	0.173 6	2 <sup>5</sup>
N	1	0.145 1	2 <sup>6</sup>
	3	0.189 9	2 <sup>4</sup>
O	1	0.162 9	2 <sup>6</sup>
	2	0.159 2	2 <sup>6</sup>
	3	0.276 9	2 <sup>4</sup>
P	3	0.211 6	2 <sup>5</sup>
Q	1	0.181 4	2 <sup>5</sup>
R	1	0.196 8	2 <sup>5</sup>
S	1	0.179 4	2 <sup>6</sup>

量, 身体状况良好的成鸟一般先到达 (马志军等 2005)。据我们的野外观察, 先迁徙到的普通鸬鹚往往占据繁殖地的中央, 且中央的繁殖密度高于周边, 不易于被捕食 (Ward et al. 1973, Gömark et al. 1984, Danchin et al. 1997)。由于繁殖地中央的普通鸬鹚可能具有良好的身体状况, 体内含有更高的溶菌酶, 因此可能会向鸟卵分配更多溶菌酶。

### 3.2 溶菌酶浓度与卵顺序关系

由于成鸟产卵时间存在间隔, 第 1 枚鸟卵最早产下并在环境中暴露时间最长, 当湿度和温度适宜时, 环境中的病原微生物可在鸟卵表面快速繁殖, 进而影响鸟卵的发育 (Cook et al. 2003), 因此成鸟往往在产下第 1 枚卵就开始孵卵 (Clark et al. 1981), 可有效降低卵被病原微生物感染的机会 (Cook et al. 2005)。然而, 这又是以降低最后一枚鸟卵存活率为代价的, 因为异步孵化将导致同一窝不同个体间存在重量差异, 而这种差异又与幼鸟存活率息息相关 (Price et al. 1995, Viñuela 2000)。

普通鸬鹚属于异步孵化, 同一窝不同个体的食物竞争能力存在差异, 这将会影响个体获得能量的多少, 从而进一步加大个体间差异。成鸟可通过向鸟卵中储存不同的物质来降低这种差异, 其中包括溶菌酶 (Saino et al. 2002) 等。科学家也提出各种假说来解释, 其中最重要的是育雏生存假说 (brood-survival strategy), 当环境中食物资源丰富时, 亲鸟可通过卵顺序来调节溶菌酶的分配, 从而提高总体生存率 (Clark et al. 1981, Schwabl 1993)。虽然没有直接证据表明溶菌酶浓度可以有效提高子代生存力, 但是幼鸟 12 日龄之前其体内溶菌酶主要来自于成鸟 (Saino et al. 2002)。由于免疫物质 (包括溶菌酶) 的产生和个体的生长都需要消耗大量能量 (Lochmiller et al. 2000), 当成鸟向最后一枚鸟卵分配更多溶菌酶时, 不仅可以有效帮助其抵御微生物感染, 同时其孵化出的幼鸟可以节约有限的能量用于生长 (Heeb et al. 1998, Buechler et al. 2002), 降低其与同一窝其

他个体间的重量差异,从而提高总体生存率(Lindén 1992)。

### 3.3 溶菌酶浓度与抗新城疫病毒母源抗体关系

亲鸟通过母体作用向鸟卵传递抗新城疫病毒母源抗体,可以使幼鸟在第一次面对新城疫病毒侵染时,形成有效的抵御,从而提高幼鸟的生存率,同时母源抗体可影响子代免疫系统发育(Carlier et al. 1995, Lemke et al. 1999, Buechler et al. 2002, Lozano et al. 2002)。抵御病原体感染的风险与免疫物质多少相关,然而过高的母源抗体浓度会对子代免疫系统的发育产生抑制作用(Carlier et al. 1995),其作用机制可能为:(1)母源抗体通过其抗原结合位点[antigen-binding fragment, F(ab)<sub>2</sub>]与寄生物释放的抗原相结合,可以抑制特定免疫细胞激活,从而子代T细胞和B细胞免疫反应被抑制,使子代免疫系统不能成熟(Harte et al. 1983);(2)母源抗体通过其可结晶片段(crystallizable fragment, Fc)可以与B细胞表面可结晶片段受体(crystallizable fragment receptor, FcR)相结合,激活B细胞但是不能产生抗体(Kazatchkine 1997);(3)母源抗体可增强吞噬细胞膜表面表达更多FcR,吞噬更多寄生物,而幼鸟早期阶段吞噬细胞没有活化,寄生物在吞噬细胞内不能被清除,造成更多寄生物感染。

由于母源抗体主要针对于亲鸟环境中病原体,而病原体处于不断变异状态,当子代环境中病原体与亲鸟环境中病原体有差异时,母源抗体作用有限;同时完全消除病原体感染需要多种亚型抗体参与,如IgA和IgM,但是亲代传递给子代的母源抗体亚型有限,主要为IgG。

鸟卵中溶菌酶不仅可以非特异性的溶解病原微生物细胞壁肽聚糖,以此来消除环境中病原微生物感染(Salton 1957)。同时也能作为免疫球蛋白刺激生长因子(Murakami et al. 1997),促进淋巴细胞产生更多的IgG和IgM抗体,其作用机制是进入细胞内加速免疫球蛋白的翻译过程,并不是加速细胞的扩增,且作

用方式不依赖于其酶活性(Sugahara et al. 2000),这无疑使子代更有效地抵御病原体侵染。

包括溶菌酶和母源抗体的免疫物质生成都需要消耗大量能量,在繁殖期间,成鸟将更多能量用于生殖,少量能量用于免疫物质的生成。因此,当免疫物质溶菌酶和新城疫病毒母源抗体有限,我们提出假说:亲鸟会调节向鸟卵中分配新城疫病毒母源抗体浓度和溶菌酶浓度,二者可能呈负相关性。本研究结果,新城疫病毒抗体阴性鸟卵溶菌酶浓度高于阳性鸟卵,以及新城疫病毒抗体效价与溶菌酶浓度呈负相关性,都支持我们的假说。在未来时间,我们将精确测定新城疫病毒浓度和溶菌酶浓度,研究二者关系,为假说提供支持。

通过对亲鸟如何向鸟卵分配先天性免疫物质和获得性母源抗体的研究,可以让我们认识在自然界长期进化过程中,野生鸟类如何适应病原体环境,从而为我们在防控人畜共患重大传染病方面提供思路。

**致谢** 感谢青海湖国家级自然保护区管理局全体工作人员在野外采集样品期间提供的帮助和支持。

### 参 考 文 献

- Blount J D, Surai P F, Nager R G, et al. 2002. Carotenoids and egg quality in the lesser black-backed gull *Larus fuscus*: a supplemental feeding study of maternal effects. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 269(1486): 29–36.
- Board R G, Fuller R. 1974. Non-specific antimicrobial defences of the avian egg, embryo and neonate. *Biological Reviews*, 49(1): 15–49.
- Brown C R, Brown M B. 1986. Ectoparasitism as a cost of coloniality in cliff swallows (*Hirundo pyrrhonota*). *Ecology*, 67(5): 1206–1218.
- Buechler K, Fitze P S, Gottstein B, et al. 2002. Parasite-induced maternal response in a natural bird population. *Journal of Animal Ecology*, 71(2): 247–252.

- Carlier Y, Truysens C. 1995. Influence of maternal infection on offspring resistance towards parasites. *Parasitology Today*, 11(3): 94–99.
- Clark A B, Wilson D S. 1981. Avian breeding adaptations: hatching asynchrony, brood reduction, and nest failure. *The Quarterly Review of Biology*, 56(3): 253–277.
- Cook M I, Beissinger S R, Toranzos G A, et al. 2003. Trans-shell infection by pathogenic micro-organisms reduces the shelf life of non-incubated bird's eggs: a constraint on the onset of incubation? *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 270(1530): 2233–2240.
- Cook M I, Beissinger S R, Toranzos G A, et al. 2005. Incubation reduces microbial growth on eggshells and the opportunity for trans-shell infection. *Ecology Letters*, 8(5): 532–537.
- Danchin E, Wagner R H. 1997. The evolution of coloniality: the emergence of new perspectives. *Trends in Ecology & Evolution*, 12(9): 342–347.
- Fadly A M, Nazerian K. 1989. Hemorrhagic enteritis of turkeys: Influence of maternal antibody and age at exposure. *Avian Diseases*, 33(4): 778–786.
- Gasparini J, McCoy K D, Haussy C, et al. 2001. Induced maternal response to the Lyme disease spirochaete *Borrelia burgdorferi sensu lato* in a colonial seabird, the kittiwake *Rissa tridactyla*. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 268(1467): 647–650.
- Götmark F, Andersson M. 1984. Colonial breeding reduces nest predation in the common Gull (*Larus canus*). *Animal Behaviour*, 32(2): 485–492.
- Graczyk T K, Cranfield M R, Shaw M L, et al. 1994. Maternal antibodies against *Plasmodium* spp. in African black-footed penguin (*Spheniscus demersus*) chicks. *Journal of Wildlife Diseases*, 30(3): 365–371.
- Harte P G, Playfair J H. 1983. Failure of malaria vaccination in mice born to immune mothers. II. Induction of specific suppressor cells by maternal IgG. *Clinical & Experimental Immunology*, 51(1): 157–164.
- Heeb P, Werner I, Kölliker M, et al. 1998. Benefits of induced host responses against an ectoparasite. *Proceedings of the Royal Society London B: Biological Sciences*, 265(1390): 51–56.
- Kazatchkine M D, Kaveri S V. 1997. Therapeutic immunomodulation with normal polyspecific immunoglobulin G (intravenous immunoglobulin, IVIg) // Zanetti M, Capra J D. *The Antibodies*. Amsterdam: Harwood Academic, 3: 141–173.
- Keck L D, Skeeles, J K, McNew R W. 1993. Antibody detection in matched chicken sera and egg-yolk samples by commercial enzyme-linked-immunosorbent assay kits for Newcastle disease virus, infectious bronchitis virus, infectious bursal disease virus, and avian reovirus. *Avian Diseases*, 37(3): 825–828.
- Klasing K C. 1998. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. *Poultry Science*, 77(8): 1119–1125.
- Kuiken T. 1999. Review of Newcastle disease in cormorants. *Waterbirds: The International Journal of Waterbird Biology*, 22(3): 333–347.
- Lemke H, Lange H. 1999. Is there a maternally induced immunological imprinting phase à la Konrad Lorenz? *Scandinavian Journal of Immunology*, 50(4): 348–354.
- Lindén M, Gustafsson L, Pärt T. 1992. Selection on fledging mass in the collared flycatcher and the great tit. *Ecology*, 73(1): 336–343.
- Lochmiller R L, Deerenberg C. 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos*, 88(1): 87–98.
- Lozano G A, Ydenberg R C. 2002. Transgenerational effects of maternal immune challenge in tree swallows (*Tachycineta bicolor*). *Canadian Journal of Zoology*, 80(5): 918–925.
- Mangel M, Stamps J. 2001. Trade-offs between growth and mortality and the maintenance of individual variation in growth. *Evolutionary Ecology Research*, 3(5): 583–593.
- Millet S, Bennett J, Lee K A, et al. 2007. Quantifying and comparing constitutive immunity across avian species. *Developmental & Comparative Immunology*, 31(2): 188–201.
- Mousseau T A, Fox C W. 1998. The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(10): 403–407.
- Müller W, Groothuis T G, Dijkstra C, et al. 2004. Maternal antibody transmission and breeding densities in the Black-headed Gull *Larus ridibundus*. *Functional Ecology*, 18(5): 719–724.
- Murakami F, Sasaki T, Sugahara T. 1997. Lysozyme stimulates immunoglobulin production by human-human hybridoma and human peripheral blood lymphocytes. *Cytotechnology*, 24(2):



- 177–182.
- Pihlaja M, Siitari H, Alatalo R V. 2006. Maternal antibodies in a wild altricial bird: effects on offspring immunity, growth and survival. *Journal of Animal Ecology*, 75(5): 1154–1164.
- Price K, Ydenberg R. 1995. Begging and provisioning in broods of asynchronously-hatched yellow-headed blackbird nestlings. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 37(3): 201–208.
- Rogers H J, Perkins H. 1969. Cell walls and membranes. *The American Journal of the Medical Sciences*, 257(6): 423.
- Saino N, Dall'ara P, Martinelli R, et al. 2002. Early maternal effects and antibacterial immune factors in the eggs, nestlings and adults of the barn swallow. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(5): 735–743.
- Salton M R J. 1957. The properties of lysozyme and its action on microorganisms. *Bacteriological Reviews*, 21(2): 82–100.
- Schwabl H. 1993. Yolk is a source of maternal testosterone for developing birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(24): 11446–11450.
- Shawkey M D, Kosciuch K L, Liu M, et al. 2008. Do birds differentially distribute antimicrobial proteins within clutches of eggs? *Behavioral Ecology*, 19(4): 920–927.
- Sheldon B. 1998. Host-parasite evolution: general principles and avian models. *Parasitology Today*, 14(2): 84.
- Smith N C, Wallach M, Miller C M, et al. 1994. Maternal transmission of immunity to *Eimeria maxima*: enzyme-linked immunosorbent assay analysis of protective antibodies induced by infection. *Infection and Immunity*, 62(4): 1348–1357.
- Sugahara T, Murakami F, Yamada Y, et al. 2000. The mode of actions of lysozyme as an immunoglobulin production stimulating factor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) General Subjects*, 1475(1): 27–34.
- Tella J L. 2002. The evolutionary transition to coloniality promotes higher blood parasitism in birds. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(1): 32–41.
- Trziszka T. 1994. Lysozyme and its functions in the egg. *Archiv Für Geflügelkunde*, 58(2): 49–54.
- Valenti P, Antonini G, Von Hunolstein C, et al. 1983. Studies of the antimicrobial activity of ovotransferrin. *International Journal of Tissue Reactions*, 5(1): 97–105.
- Valenti P, Visca P, Antonini G, et al. 1985. Antifungal activity of ovotransferrin towards genus *Candida*. *Mycopathologia*, 89(3): 169–175.
- Vaught J B. 2006. Blood collection, shipment, processing, and storage. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 15(9): 1582–1584.
- Viñuela J. 2000. Opposing selective pressures on hatching asynchrony: egg viability, brood reduction, and nestling growth. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 48(5): 333–343.
- Ward P, Zahavi A. 1973. The importance of certain assemblages of birds as “information-centres” for food-finding. *Ibis*, 115(4): 517–534.
- World Health Organization (WHO), Department of Communicable Disease Surveillance and Response, WHO Global Influenza Programme. 2002. WHO manual on animal influenza diagnosis and surveillance. Geneva: World Health Organization, 28–35.
- 柳劲松, 王俊森, 费殿金, 等. 1994. 鸬鹚繁殖习性和恒温能力发育的初步研究. *野生动物*, (5): 19–21.
- 马志军, 王勇, 陈家宽. 2005. 迁徙鸟类中途停歇期的生理生态学. *生态学报*, 25(11): 3067–3075.
- 夏广忠, 张嘉栋, 孙振维. 1988. 血清与氯仿处理卵黄测定鸡新城疫 HI 抗体的对比试验. *中国农学通报*, (3): 10–11.