

番鸭呼肠孤病毒感染对体液免疫功能的影响

王全溪¹, 吴宝成², 李国平¹, 黄一帆²

(¹福建农林大学动物科学学院, 福州 350002; ²福建农林大学动物保健研究所, 福州 350002)

摘要:【目的】探讨番鸭呼肠孤病毒感染对体液免疫功能的影响。【方法】将 60 只 5 日龄健康番鸭, 随机平均分为两组, 分室隔离饲养。试验组雏鸭每只腿部肌肉注射番鸭呼肠孤病毒细胞毒 0.2 mL (0.01 个 TCID₅₀=10^{-3.7558}), 对照组相同部位注射等量灭菌生理盐水, 每隔 5 d, 应用组织化学法检测脾脏和法氏囊中浆细胞数量, 间接血凝法检测血清中禽流感抗体水平和放射免疫法检测血清中 IL-2、IL-6 含量的变化。【结果】番鸭感染呼肠孤病毒, 法氏囊和脾脏中浆细胞数量试验组均比对照组少, 在感染后 15 d 达到最少, 试验组极显著地低于对照组 ($P < 0.01$); 同时, 番鸭感染呼肠孤病毒可抑制禽流感抗体形成, 感染后 15d 抗体水平最低, 试验组极显著地低于对照组 ($P < 0.01$), 此后又逐渐升高; 血清中 IL-2 和 IL-6 的含量也在感染初期降低后又逐渐回升, 感染后 10 d 均达最低, 试验组极显著地低于对照组 ($P < 0.01$)。【结论】番鸭呼肠孤病毒感染 5 日龄雏番鸭, 通过破坏免疫器官(法氏囊, 脾脏)中的浆细胞, 降低了机体抗体形成能力, 同时, 也通过对免疫分子的影响反过来影响机体的体液免疫功能。提示, 增强机体体液免疫功能是防制该病的一个途径。

关键词: 番鸭呼肠孤病毒; 体液免疫; 浆细胞; IL-2; IL-6

Effects of Duck Infected by Muscovy Duck Reovirus on Humoral Immunity Function

WANG Quan-xi¹, WU Bao-cheng², LI Guo-ping¹, HUANG Yi-fan²

(¹College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002; ²Institute of Animal Health, College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)

Abstract: 【Objective】 The purpose of the test was to investigate the effect of muscovy duck infected by muscovy duck reovirus on humoral immunity. 【Method】 Sixty healthy ducks at 5-day-old of age were randomly divided into two groups. The experimental group was injected 0.2ml muscovy duck reovirus (one penent of TCID₅₀, TCID₅₀=10^{-3.7558}) on leg, and the controll group was injected normal saline at the same quantity. The quantity of plasma cells in bursa fabricius and the spleen was tested by the histochemical test method. The level of avian influenza antibodies in serum was tested by the method of indirect hemagglutination, also the content change of IL-2 and IL-6 in the serum was tested by the testing method of radiation immunization. 【Result】 Results showed that the quantity of plasma cells in bursa of fabricius and spleen in the experiment group was less than the controll group, had different degrees of decrease respectively during the time after attack test by using reovirus, especially after 15 day of infection the antibody of experiment group was the lowest ($P < 0.01$). The ability of antibody-producing decreased too. The avian influence antibody of experiment group was very significantly less than the controll group ($P < 0.01$), especially after 15 day of infection the antibody of experiment group was the lowest. But they all increased at 15 days after attack test. The content of IL-2 and IL-6 in the serum of experiment group ducks decreased on the first stage of the test, but they all increased on the later stage compared with the former. However the content of IL-2 and IL-6 in the serum of experiment group ducks was lower than the control group ($P < 0.01$). 【Conclusion】 Ducks at five day old of age are infected by muscovy duck reovirus, plasma cells in immune organs (bursa of fabricius and spleen) are damaged and the ability of antibody forming decrease. The immunity function of ducks decrease because the virus decreased the content of immunity molecular (IL-2, IL-6) in serum. Therefore it is an effective way to enhance the humoral

收稿日期: 2008-10-23; 接受日期: 2009-09-09

基金项目: 福建省自然科学基金 (2006J0298)

作者简介: 王全溪, 讲师, 硕士。Tel: 0591-87134075; E-mail: wxq608@126.com

immunity of duck to control muscovy duck reovirus.

Key words: muscovy duck reovirus; humoral immunity; plasma cell; IL-2; IL-6

0 引言

【研究意义】1997年以来,在福建、广东、浙江和江苏一带番鸭饲养区发生了一种临床上以软脚为主要症状,以肝、脾表面有大量坏死点为主要病理变化的传染病,俗称番鸭“肝白点病”或番鸭“花肝病”。仅福建省莆田县2000年因该病死亡番鸭即达2000万羽以上。目前本病主要见于番鸭^[1]、半番鸭^[2]、鹅也见有报道^[3-4]。【前人研究进展】2001年福建农林大学动物保健研究所吴宝成研究员从福建省患“花肝病”番鸭脏器中得到的病原分离物,经致病性鉴定、电镜观察及血清学检查,首次证实其病原为番鸭呼肠孤病毒^[1]。此外,2000年福建省农科院胡奇林等也从病鸭组织中分离到一株RNA病毒,2004年鉴定结果表明也是番鸭呼肠孤病毒^[5]。同时,吴宝成等先后在呼肠孤病毒感染的番鸭胚的肝、脾、肾和脑的超微结构研究中发现番鸭呼肠孤病毒能诱导番鸭组织细胞的凋亡^[6-8]。国外,1950年在南非首次报道番鸭呼肠孤病毒感染,此后法国(1972)、以色列(1981)、意大利(1984)和德国(1988)等相继报道并证实本病。但是与中国报道相比,其发病率、死亡率都较低,肝、脾等内脏的病变没那么严重,也就是说国外所发生的番鸭呼肠孤病毒病其临床症状和病变与中国不尽一致。同时,中国研究表明,番鸭感染呼肠孤病毒比鸡感染呼肠孤病毒在致病性、组织嗜性上存在明显的差异^[9]。【本研究切入点】番鸭呼肠孤病毒(muscovy duck reovirus, DRV)是呼肠孤病毒属(reovirus genus)第II亚群中禽类呼肠孤病毒(avian reovirus, ARV)的成员,具有禽类呼肠孤病毒的共同特征。该病毒基因组由10个基因节段组成,根据电泳迁移率的不同,可以分为含有3个大基因(L)、3个中基因(M)和4个小基因(S)3组^[10-11]。呼肠孤病毒不同毒株在抗原结构、致病性、细胞培养特性以及宿主特异性上都存在一定差异。因此目前,大量的研究主要针对病原学研究^[12-14],而番鸭呼肠孤病毒感染对机体免疫应答方面的研究较少^[15-17]。姚金水等研究认为,番鸭呼肠病毒感染存在免疫抑制^[18-19],但是病毒感染后其与宿主免疫应答之间的关系,是否对其它传染病疫苗抗体的形成有影响,免疫抑制机制等都有待进一步的研究。

【拟解决的关键问题】研究雏番鸭感染呼肠孤病毒在

一定的时间内,其法氏囊、脾脏中浆细胞数量的变化,机体对其它疫苗的反应能力及对血清中IL-2和IL-6含量的影响,从而进一步了解番鸭呼肠孤病毒感染对体液免疫功能的影响,为防制该病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 病毒

番鸭呼肠孤病毒B3分离株^[3],由福建农林大学动物科学学院微生物实验室分离鉴定并保存,TCID₅₀=10^{-3.7558}。

1.2 试验动物

5日龄健康法国白羽番鸭,无注射番鸭呼肠孤病毒疫苗,无感染番鸭呼肠孤病毒,福建农林大学实验鸭场提供。

1.3 试剂

甲基绿、派咯宁、福尔马林、丙酮、酒精、二甲苯购自福州泰晶生物技术有限公司,禽流感H5亚型灭活疫苗(H₅N₁亚型Re-1株)、禽流感H5亚型抗体检测试剂盒(血凝)购自哈尔滨兽医研究所维科生物技术公司,IL-2、IL-6放射性免疫试剂盒购自北京华英生物技术研究所。

1.4 试验方法

1.4.1 动物分组与攻毒 将60只5日龄健康雏番鸭,随机分为试验组30只和对照组30只,分室隔离饲养。试验组雏鸭每只腿部肌肉注射番鸭呼肠孤病毒细胞毒0.2 mL(0.01个TCID₅₀=10^{-3.7558})。对照组相同部位注射等量灭菌生理盐水。

1.4.2 浆细胞的检测 在攻毒后第5、10、15、20、25天,每组取6只鸭处死,快速采取脾脏、法氏囊,置于中性福尔马林中固定24 h。按组织学常规技术脱水、透明、包埋、连续切片,每隔5个取一张切片,每个组织取五张切片,甲基绿-派咯宁染色。结果判定,浆细胞胞质红色,核深绿色。计算每个视野中的浆细胞数,每张切片观察5个视野,计算其平均值。

1.4.3 禽流感H5亚型抗体水平检测 试验组和对照组均在5日龄时注射禽流感H5亚型灭活疫苗(H₅N₁亚型Re-1株)0.5 mL。分别在攻毒后第5、10、15、20、25天,每组取6只番鸭采血,通过血凝(HA)和血凝抑制(HI)试验对不同时期的血清进行禽流感H₅亚型抗体效价检测(结果以log₂表示)。

1.4.4 血清中 IL-2 和 IL-6 水平检测 攻毒后第 5、10、15、20、25 天, 采血分离血清送北京华英生物技术研究所放射性免疫法检测 IL-2 和 IL-6 水平。

1.4.5 统计分析 数据用平均值±标准差表示, *t* 检验分析。

2 结果

2.1 番鸭呼肠孤病毒感染对法氏囊和脾脏中浆细胞数量的影响 (表 1)

由表 1 可知, 番鸭感染呼肠孤病毒后, 试验组法氏囊中的浆细胞数量都低于对照组, 攻毒后第 5 天试验组与对照组差异不显著 ($P>0.05$), 攻毒后第 10 天和第 20 天试验组显著的低于对照组 ($P<0.05$),

攻毒后第 15 天试验组极显著低于对照组 ($P<0.01$), 攻毒后第 25 天两组差异不显著 ($P>0.05$); 在感染后第 15 天, 试验组法氏囊中的浆细胞数量最少。

试验组脾脏在攻毒后第 5 天, 浆细胞数量比对照组少, 差异极显著 ($P<0.01$), 第 20 天时试验组比对照组少, 但差异不显著 ($P>0.05$), 第 10 和 15 天试验组比对照组少, 差异显著 ($P<0.05$), 第 25 天时, 两组差异不显著 ($P>0.05$)。

可见, 雏番鸭感染呼肠孤病毒, 在感染后第 5 天对法氏囊和脾脏中的浆细胞影响较小, 而感染第 10 天后影响加大, 特别是感染后第 15 天对法氏囊和脾脏中的浆细胞的影响最大, 数量均达到最少, 此后, 影响逐渐变小, 到第 25 天时试验组与对照组差异不显

表 1 番鸭呼肠孤病毒感染对法氏囊和脾脏中浆细胞数量的影响

Table 1 Effect on the quantity of plasmocytes in bursa of fabricius and spleen of duck infected by muscovy duck reovirus (cells/view)

攻毒后时间 Time after attack test (d)	法氏囊 Bursa of fabricius		脾脏 Spleen	
	试验组 Experimental group	对照组 Control group	试验组 Experimental group	对照组 Control group
5	4.0±0.31a	4.8±0.45a	14.4±3.65a	15.6±3.98a
10	3.8±0.44a	4.8±0.55b	12.2±2.21A	17.0±2.85B
15	2.4±0.55A	5.0±0.41B	9.8±1.93A	17.4±1.58B
20	3.8±0.55a	5.1±0.50b	15.2±2.94a	18.0±3.39b
25	4.6±0.55a	5.5±0.71a	17.6±1.52a	18.6±1.58a

同一列中标有不同小写字母的数据之间差异显著 ($P<0.05$), 标有不同大写字母的数据之间差异极显著 ($P<0.01$)。下同

The difference between data with the different small letter within a column is significant ($P<0.05$), and the difference between data with the different capital letter is very significant ($P<0.01$). The same as below

著, 表明此时机体耐过, 免疫功能逐渐恢复。

2.2 番鸭呼肠孤病毒感染对禽流感 H5 亚型抗体水平的影响 (表 2)

由表 2 可见, 禽流感 H5 亚型抗体水平在整个试验期间, 试验组都低于对照组。感染后第 5 和 10 天, 试验组的抗体水平较显著的低于对照组 ($P<0.05$)。

表 2 番鸭呼肠孤病毒感染对禽流感抗体水平的影响(log2)
Table 2 Effect on anti-avian influenza antibody titers of muscovy duck infected by reovirus (log2)

攻毒后时间 Time after attack test (d)	试验组 Experimental group	对照组 Control group
5	1.74±0.14a	2.04±0.16b
10	1.48±0.39a	2.09 ±0.23b
15	1.42±0.11A	2.33±0.13B
20	1.80±0.25A	2.29±0.18B
25	2.10±0.28a	2.34±0.13a

感染后 15 d 和 20 d, 机体的抗体水平则极显著的低于对照组 ($P<0.01$), 感染后 25 d, 两组差异不显著。可见, 番鸭感染呼肠孤病毒在感染前期可抑制其它病毒疫苗抗体的形成, 而随着机体的耐过, 其抗体水平也在逐渐恢复, 但无法达到对照组的水平。

2.3 番鸭呼肠孤病毒感染对血清中 IL-2 和 IL-6 水平的影响 (表 3)

由表 3 可见, 试验组鸭外周血中 IL-2 和 IL-6 均低于对照组, 但是, 在感染后第 10 天时, 就出现了最低值。IL-2 在攻毒后第 5 和 10 天, 试验组与对照组差异极显著 ($P<0.01$), 第 10 天时最低, 此后逐渐回升, 差异均显著 ($P<0.05$)。IL-6 的变化规律与 IL-2 相似, 但是, 第 5 天时, 两组差异不显著, 第 10 天时, 最低, 此后逐渐回升。因此, 雏番鸭感染呼肠孤病毒, 在感染前期就能降低外周血中 IL-2 和 IL-6 的含量, 从而影响机体的体液免疫功能, 虽然随时间推移, 有

表 3 番鸭呼肠孤病毒感染对番鸭外周血 IL-2 和 IL-6 含量的影响

Table 3 Effect on the contents of IL-2 and IL-6 in serum of muscovy duck infected by reovirus (ng·mL⁻¹)

攻毒后时间 Time after attack test (d)	IL-2		IL-6	
	试验组 Experimental group	对照组 Control group	试验组 Experimental group	对照组 Control group
5	3.75±0.35A	5.36±0.34B	118.12±5.72 a	126.37±3.00a
10	3.45±0.49A	5.42±0.44B	111.99±12.89a	156.34±6.01a
15	4.24±0.16a	6.03±0.09b	160.72±9.02a	186.60±4.79b
20	4.41±0.58a	6.24±0.31b	204.95±6.97a	204.33±7.91a
25	5.40±0.75a	6.88±0.39b	218.70 ±4.87a	221.97±7.93a

所回升,但仍较对照组低。可见,雏番鸭感染呼肠孤病毒也从分子水平上降低了部分免疫分子的水平,从而影响机体的免疫应答。

3 讨论

姚金水等先后证实番鸭呼肠孤病毒可诱导感染细胞凋亡,特别是免疫细胞凋亡而引起免疫抑制^[18]。陈志胜等也发现了番鸭感染呼肠孤病毒后,免疫器官脾脏和法氏囊中的淋巴细胞出现坏死和凋亡,使得淋巴细胞大量减少甚至消失,表明番鸭呼肠孤病毒能导致番鸭的免疫抑制^[19]。本试验结果也证实番鸭呼肠孤病毒感染严重影响了机体的体液免疫应答,诱导了机体的免疫抑制。

本试验结果发现,番鸭呼肠孤病毒感染脾脏、法氏囊中浆细胞数在感染后明显低于对照组,特别是感染前期表现更为明显,作者认为番鸭呼肠孤病毒感染诱导免疫器官中浆细胞坏死或凋亡,使法氏囊和脾脏中浆细胞数量减少,从而使体液免疫功能的发挥受到抑制。

王全溪等建立间接 ELISA 检测方法,对人工感染呼肠孤病毒的雏番鸭抗体水平进行检测,结果在感染后的很长一段时间内检测不到呼肠孤病毒阳性抗体^[15-16]。可见,番鸭呼肠孤病毒感染抑制了自身抗体的形成。因此,为进一步探讨番鸭呼肠孤病毒感染对其它疫苗免疫后抗体的形成的影响,本试验在攻毒的同时免疫禽流感疫苗,检测其抗体水平,结果表明,在整个试验期间,受番鸭呼肠孤病毒感染的鸭禽流感抗体水平均明显的低于对照组,这与病毒感染大量破坏淋巴组织的组织结构,使得机体的体液免疫应答能力下降有关,同时也与本试验中发现,脾脏中浆细胞数量的大量减少有关,因为浆细胞的减少,势必会导致机体调动抗体水平的能力下降。可见,番鸭呼肠孤病毒感染严重影响抗体的形成能力,从而影响体液免

疫功能。

鸭的 IL-2 可以刺激淋巴细胞发生增殖。有研究者以鸭的重组 IL-2 (浓度为 3.12 ng/1.56 μL 脾细胞)体外刺激鸭的淋巴细胞 3 h,发现鸭的淋巴细胞发生显著的增殖。在注射 AIV (H9N2) 疫苗同时肌肉注射 IL-2 (200 ng/头份)可以在体内引起强烈的免疫应答效应。免疫后 4 周 HI 抗体滴度可以达到 10 log₂,明显高于未注射 IL-2 的对照组 (8 log₂) 的 HI 抗体滴度^[10]。有人研究发现,12 周龄的雏鸡消化道内相关淋巴组织 IL-2 的 mRNA 量显著增加,IL-2 又反过来作用于这些淋巴组织促使其分化成熟,从而使消化道粘膜免疫系统趋于完善^[20-21]。本试验中,在攻毒鸭血清中 IL-2 出现比对照组明显的下降,这可能与正处于发育阶段的番鸭受到呼肠孤病毒感染诱导大量的免疫细胞凋亡,从而使得 IL-2 的分泌也减少,IL-2 分泌的减少又反过来,抑制了淋巴细胞的增殖,从而使机体的免疫系统处于抑制状态。

细胞因子环境对体液免疫是非常关键的。IL-6 是 B 细胞分化因子或肝细胞刺激因子,有助于 B 细胞在生发中心转变成成熟的浆细胞,促进抗体形成。IL-6 可由许多细胞产生,包括 T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、成纤维细胞和内皮细胞。它作用于大多数细胞,尤其对诱导 B 细胞分化为抗体形成细胞特别重要^[22]。本试验研究发现,番鸭感染呼肠孤病毒后 IL-6 与对照组有显著的降低,先减少,而后有一定上升,这与本试验中浆细胞数量规律和抗体形成规律有一定的相似性,可能是机体感染呼肠孤病毒后,病毒破坏了淋巴细胞后导致 IL-6 的分泌减少,从而抑制了 B 细胞进一步分化为浆细胞的进程,使得抗体的形成受阻,进一步抑制了体液免疫应答。但是在感染的初期,应该有一个上升的过程,本试验主要是考虑对病毒感染后,机体的整个感染恢复过程的研究,所以感染的病毒量只有 0.01 个 TCID₅₀=10^{-3.7558},每隔 5d 采集一次样品,所以

未对感染初期作详细研究。

4 结 论

番鸭呼肠孤病毒感染五日龄雏番鸭后, 通过破坏免疫器官中的浆细胞, 降低了机体抗体形成能力, 同时, 也影响免疫因子 (IL-2 和 IL-6) 的形成。可见, 番鸭呼肠孤病毒感染抑制了机体的体液免疫功能, 通过增强机体的体液免疫功能是防制该病的一个途径。

References

- [1] 吴宝成, 陈家祥, 姚金水, 陈枝华, 陈文列, 李国平, 曾显成. 番鸭呼肠孤病毒的分离与鉴定. 福建农林大学学报, 2001, 3(2): 227-230.
- Wu B C, Chen J X, Yao J S, Chen Z H, Chen W L, Li G P, Zeng X C. Isolation and identification of muscovy duck reovirus. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2001, 3(2): 227-230. (in Chinese)
- [2] 黄 喻, 程龙飞, 李文杨, 施少华. 雏半番鸭呼肠孤病毒的分离与鉴定. 中国兽医学报, 2004, (1): 323-326.
- Huang Y, Cheng L F, Li W Y, Shi S H. Isolation and identification of reovirus in semi-muscovy duckling. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2004, (1): 323-326. (in Chinese)
- [3] 王光锋, 王永坤, 王建业, 朱国强, 严维巍, 周继宏, 庄国宏, 钱钟. 一株鹅源呼肠孤病毒的分离与鉴定. 中国家禽, 2003, 25(5): 8-10.
- Wang G F, Wang Y K, Wang J Y, Zhu G Q, Yan W W, Zhou J H, Zhuang G H, Qian Z. Isolation and identification of one goose reovirus strain. *China Poultry*, 2003, 25(5): 8-10. (in Chinese)
- [4] 郭东春, 张 云, 刘 明, 欧阳岁东, 胡奇林, 张 序, 刘怀然. 鹅呼肠孤病毒 GRV1 株分离鉴定及其 σC 基因特征性分析. 中国预防兽医学报, 2006, 28 (3): 257-260.
- Guo D C, Zhang Y, Liu M, Ouyang S D, Hu Q L, Zhang X, Liu H R. Isolation and characterization of minor core protein σC from goose reovirus GRV1. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2006, 28 (3) : 257-260. (in Chinese)
- [5] 胡奇林, 陈少莺, 林锋强, 程晓霞, 林天龙, 江 斌, 陈仕龙, 程由铨, 李怡英, 朱小丽. 番鸭呼肠孤病毒的鉴定. 病毒学报, 2004, 20 (3): 242-247.
- Hu Q L, Chen S Y, Lin F Q, Cheng X X, Lin T L, Jiang B, Chen S L, Cheng Y Q, Li Y Y, Zhu X L. The identification of muscovy duck reovirus. *Chinese Journal of Virology*, 2004, 20(3): 242-247. (in Chinese)
- [6] 吴宝成, 姚金水, 陈家祥, 卢惠明, 陈枝华. 呼肠孤病毒 B3 分离株感染番鸭的病毒病理组织学研究. 福建农林大学学报, 2001, 30(4): 514-517.
- Wu B C, Yao J S, Chen J X, Lu H M, Chen Z H. Pathology of infection with reovirus isolate B3 in muscovy ducks. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2001, 30(4): 514-517. (in Chinese)
- [7] 吴宝成, 陈家祥, 姚金水. 番鸭呼肠孤病毒 B3 分离株的致病性研究. 中国预防兽医学报, 2001, 23(6): 422-425.
- Wu B C, Chen J X, Yao J S. Pathogenicity of muscovy duck reovirus isolate B3. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2001, 23(6): 422-425. (in Chinese)
- [8] 陈少莺, 胡奇林, 程晓霞, 陈仕龙, 江 斌, 林天龙, 林锋强, 朱小丽, 程由铨. 番鸭呼肠孤病毒病雏番鸭实质器官的超微结构. 中国兽医学报, 2006, 26 (6): 662-664.
- Chen S Y, Hu Q L, Cheng X X, Chen S L, Jiang B, Lin T L, Lin F Q, Zhu X L, Cheng Y Q. Ultrastructure observation of muscovy ducks infected with muscovy duck reovirus. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2006, 26(6): 662-664. (in Chinese)
- [9] Louis V H, 刘文波. 呼肠孤病毒简介. 国外畜牧科技, 2002, 29(1): 50-51.
- Louis V H, Liu W B. About reovirus. *Animal Science Abroad*, 2002, 29(1): 50-51. (in Chinese)
- [10] 殷 震, 刘景华. 动物病毒学, 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1997.
- Yin Z, Liu J H. *Animal Virology*, Second Edition. Beijing: Science Press, 1997. (in Chinese)
- [11] Kuntz S G, Le G G, Claire D B. Muscovy duck reovirus δC protein is atypically encoded by the smallest genome segment. *Journal of General Virology*, 2002, 83: 1192-1200.
- [12] 刘文兴, 陈枝华, 游伟铭, 吴宝成. 中国禽呼肠孤病毒番鸭分离株的纯化及其核酸与结构蛋白分析. 中国兽医科学, 2004, 12(24): 10-14.
- Liu W X, Chen Z H, You W M, Wu B C. Purification and analysis of genomes and structural proteins of muscovy duck reovirus isolated in China. *Veterinary Science in China*, 2004, 24(12): 10-14. (in Chinese)
- [13] 林锋强, 胡奇林, 欧阳岁东, 陈仕龙, 程晓霞, 王 劭, 朱小丽. 番鸭呼肠孤病毒 σB 和 $\sigma N S$ 基因克隆及序列分析. 中国预防兽医学报, 2006, 28 (6): 672-675.
- Lin F Q, Hu Q L, Ouyang S D, Chen S L, Cheng X X, Wang S, Zhu X L. Cloning and sequence analysis of σB and $\sigma N S$ gene in muscovy muck reovirus. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2006, 28(6): 672-675. (in Chinese)
- [14] 余旭平, 刘慧芳, 何世成, 郑新添, 沈琴芳, 张秀亮, 刘江梅. 番鸭呼肠孤病毒 ZJ99 株 σC 基因在甲醇酵母中的表达, 黑龙江畜牧兽医, 2006(12): 15-18.

- Yu X P, Liu H F, He S C, Zheng X T, Shen Q F, Zhang X L, Liu J M. Expression of the muscovy duck reovirus ZJ99 σ C gene in pichia pastoris. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2006(12): 15-18. (in Chinese)
- [15] 王全溪, 吴异健, 陈枝华, 李国平, 吴宝成. 番鸭呼肠病毒抗体间接 ELISA 方法的建立. *动物医学进展*, 2005, 26(8): 8-12.
Wang Q X, Wu Y J, Chen Z H, Li G P, Wu B C. Study on the establishment of indirect ELISA for detecting the muscovy duck antibody of reovirus infection. *Progress in Veterinary Medicine*, 2005, 26(8): 8-12. (in Chinese)
- [16] 张云, 耿宏伟, 郭东春, 胡奇林, 刘明, 张序, 王立群. 以番鸭呼肠病毒 σ C 表达蛋白为抗原的 ELISA 检测方法的建立. *水禽世界*, 2001, 1: 34-39.
Zhang Y, Geng H W, Guo D C, Hu Q L, Liu M, Zhang X, Wang L Q. Development of an indirect ELISA assay for the detection of muscovy duck reovirus using recombinant σ C protein. *Waterfowl World*, 2001, 1: 34-39. (in Chinese)
- [17] Ghislaine L G, Martine C, Claire A. Molecular characterization and expression of the S3 gene of muscovy duck reovirus stain 89026. *Journal of General Virology*, 1999, 80: 195-203.
- [18] 姚金水, 吴宝成, 陈文列, 陈家祥, 吴异健. 禽(番鸭)呼肠病毒诱导脾脏单核—巨噬细胞和淋巴细胞凋亡的超微观察. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2004, 33 (4): 501-504.
- Yao J S, Wu B C, Chen W L, Chen J X, Wu Y J. Ultrastructural observation on spleen cell, mononuclear macrophage and lymphocytes incurring apoptosis induced by avian (muscovy duck) reovirus. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University (Natural Science Edition)*, 2004, 33 (4): 501-504. (in Chinese)
- [19] 陈志胜, 马春全, 卢玉葵, 肖静芸. 番鸭呼肠病毒诱导雏番鸭免疫器官细胞凋亡的研究. *中国预防兽医学报*, 2005, (6): 4-6.
Chen Z S, Ma C Q, Lu Y K, Xiao J Y. Apoptosis induced by the muscovy duck reovirus infection in young ducks. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2005, (6): 4-6. (in Chinese)
- [20] Zhou L Y, Wang J Y, Chen J G. Cloning *in vitro* expression and bioactivity of duck interleukin-2. *Molecular Immunology*, 2004, 42: 589-598.
- [21] E BS, D S, A F. Establishment of immune competence in the avian GALT during the immediatepost-hatch period. *Developmental and Comparative Immunology*, 2003, 27: 147-157.
- [22] 张玲华, 郭勇, 田兴山, 邝哲师, 周风珍. 白细胞介素-6 的分子生物学研究进展及其在畜禽业中的应用前景. *中国畜牧兽医*, 2005, 32(2): 31-33.
Zhang L H, Guo Y, Tian X S, Kuang Z S, Zhou F Z. Molecular biology progress and application of IL-6. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2005, 32(2): 31-33. (in Chinese)

(责任编辑 林鉴非)