

艾美尔球虫防治高原鼠兔实验及对 胚胎发育的影响

杜寅^{1,2} 曹伊凡¹ 景增春¹ 何慧^{1,2} 边疆晖^{1*}

(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 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 高原鼠兔是青藏高原地区危害高寒草甸植被的主要有害小哺乳动物。生物控制为有害动物防治的主要发展方向, 但存在防治效果见效慢的缺点。艾美尔球虫是高原鼠兔肠道内的主要寄生物, 并对宿主具有专一性寄生的特点。为将艾美尔球虫研发成新型的高原鼠兔无公害生物防治制剂, 本文测定了球虫毒饵对高原鼠兔致死率并在野外进行了灭鼠实验。结果表明, 添加增效剂的 300 万球虫毒饵在室内可导致 63.6% 的成年个体死亡, 在野外可导致 54.9% 成体和 71.0% 幼体死亡。灭鼠后残存高原鼠兔的球虫感染率和感染强度显著大于对照个体, 且妊娠雌体的胚胎重较对照显著降低。上述结果说明, 艾美尔球虫防治高原鼠兔具有较好的速效性, 并能影响残存妊娠雌体的胚胎发育。

关键词: 艾美尔球虫; 生物防治; 胚胎; 高原鼠兔

中图分类号: Q958

文献标识码: A

文章编号: 1000–1050 (2012) 03–0221–07

Efficacies of coccidian parasites (Protozoa) in control of plateau pika (*Ochotona curzoniae*) and their effects on embryo development

DU Yin^{1,2}, CAO Yifan¹, JING Zengchun¹, HE Hui^{1,2}, BIAN Jianghui^{1*}

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

(2 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The plateau pika (*Ochotona curzoniae*) has been recorded as one of the serious pests in alpine meadows on the Qinghai-Tibet Plateau. However, biological control, recognized as a primary way in pest control, generally does not display visible effectiveness in the short term. Coccidian parasites are intestinal protozoans, and are currently recognized as the main parasite infecting plateau pika populations. Infection with coccidia seriously impairs the survival of hosts. In order to test whether coccidia could be used for control pikas, we incorporated coccidia into bait and tested its efficacies in both laboratory and field. Our results showed that the bait (containing 300×10^4 oocysts and synergist) led 63.6% adults to die in the laboratory, and 54.9% and 71.0% decreases in numbers of adults and juveniles in field, respectively. In addition, embryo weight was significant lower in the treatment group than that in the control group. Infection rate and infection intensity were significantly higher in treatment plots than those in control plots. Our results suggest that coccidian parasites have good effectiveness in pika control, and it may also influence embryo development of pregnant female infected in the field.

Key words: Biological control; Coccidia, Eimeria; Embryo; Plateau pika

高原鼠兔 (*Ochotona curzoniae*) 是青藏高原特有的植食性小哺乳动物, 对维系高寒草甸生态系统的稳定有重要作用 (Smith and Foggin, 1999)。但是, 由于人类长期对草地的不合理利用, 近十几年来, 高原鼠兔种群数量剧增, 由此引发的鼠害问题

已成为制约青藏高原畜牧业经济发展的瓶颈 (侯秀敏, 2007)。

长期以来, 对高原鼠兔的防治主要采用化学药物及肉毒素防治。但此类方法对非靶动物及生态环境的安全有很大负效应 (李晓华等, 1998; 张宏

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30970463, 31170394); 中国科学院西部之光联合学者项目

作者简介: 杜寅 (1986-), 女, 硕士研究生, 主要从事种群生态及有害动物防治工作。

收稿日期: 2012-02-10; 修回日期: 2012-05-25

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

利等, 2003)。生物控制 (Biological control) 为目前有害生物防治的主要发展方向, 但相对化学药物而言, 其防治效果存在见效慢的缺点 (慈海鑫等, 2007)。在对环境和非靶动物具有较好安全性的前提下, 寻求鼠害爆发时能迅速降低其种群数量的新型生物防治技术, 是青藏高原地区防治高原鼠兔及畜牧业可持续发展的主要需求。

艾美耳球虫是高原鼠兔的主要肠道寄生物, 隶属原生动物门艾美耳科艾美耳属 (*Eimeria*)。目前, 在高原鼠兔中已发现有 7 个艾美耳属球虫种 (Cao et al., 2009; 曹伊凡等, 2011)。球虫的生物学特性使其具备将其研发为防治高原鼠兔的生物控制剂的条件。首先, 球虫对宿主的感染具有种属特异性 (Hnida and Duszynski, 1999), 可保证对非靶动物及环境的安全。其次, 寄生物是调节小哺乳动物种群动态的重要因子 (Hakkilainen et al., 2006; Ostfeld, 2008; Tompkins et al., 2011)。再次, 球虫对宿主具有较强的致死性, 特别是对幼体和亚成体具有很高的感染率和致死率。对家兔球虫病的调查表明, 幼兔对球虫的感染率高达 90% 以上, 患病幼兔的死亡率高达 40% ~ 70% (张龙现等, 1999)。人工感染 100×10^4 肠艾美尔球虫孢子化卵囊可导致 100% 的幼兔死亡 (殷佩云等, 1990)。高原鼠兔的死亡率与球虫感染剂量呈正相关关系, 且死亡率存在年龄间的差异 (边疆晖等, 2011)。

基于球虫对宿主较强致死性的特点, 本研究假设艾美尔球虫毒饵对高原鼠兔的防治效果具速效性的优点。为验证该假设, 首先于室内测定了球虫毒饵对高原鼠兔的致死率, 筛选出用于野外灭鼠的球虫剂量, 并在此基础上进行了野外灭鼠实验。另外, 球虫寄生于宿主肠道上皮细胞, 破坏宿主对养分的吸收能力 (Crompton and Stephenson, 1990; Solomons, 1993; Daugschies et al., 1999)。若妊娠高原鼠兔感染球虫, 则可能影响其胚胎发育。因此, 本研究还测定了灭鼠后残存妊娠雌体的胚胎重量, 以分析球虫毒饵对胚胎发育的影响。上述研究目的在于为研发艾美尔球虫对高原鼠兔的防治技术提供理论基础和实践依据。

1 研究方法

1.1 室内球虫毒饵对高原鼠兔致死性的测定

于中国科学院高寒草甸生态系统定位站地区活捕高原鼠兔带回实验室, 单笼单只饲养。笼具为全不锈钢水冲式兔笼 (40 cm × 30 cm × 22 cm), 兔笼

底层有可抽取的活动托盘。为准确测定增效剂作用及毒饵对高原鼠兔致死率, 实验前, 全部个体在常温和自然光照条件下进行适应性饲养。每天冲洗饲养笼具, 并在 100℃ 干烤 1 h, 同时, 收集粪便, 用常规饱和盐水漂浮法检查球虫卵囊。若连续 3 d 未从粪便监测到球虫, 被认为是无球虫感染个体, 备选用于实验。实验前及实验期间, 给实验个体提供充足的兔颗粒饲料和饮水, 并提供少量胡萝卜。本研究所有实验均使用 *Eimeria cryptobarretti* 和 *E. klondikensis* 的混合球虫卵囊 (在混合卵囊中分别占 69% 和 31%) (边疆晖等, 2011)。

前期研究表明, 感染 600 万个卵囊可导致大部分高原鼠兔成体死亡 (边疆晖等, 2011)。鉴于该剂量较大, 本研究通过添加增效剂以降低球虫卵囊使用剂量, 为此, 测定了增效剂的增效作用及安全性。实验方法如下: 将 38 只实验个体随机分为 4 组处理, 分别为: 1) 复合组处理: 采用灌胃法, 经口注入 0.5 mL 的含 4 万个混合球虫卵囊和 4.90×10^{-3} mg 增效剂的水溶液 ($n = 10$); 2) 球虫组处理: 经口注入 0.5 mL 的含 4 万个混合球虫卵囊 ($n = 9$) 水溶液; 3) 增效剂组处理: 经口注入 0.5 mL 的含 4.85×10^{-3} mg 增效剂的水溶液; 4) 对照组处理: 经口注入 0.5 mL 水 ($n = 10$)。各组的平均体重分别为 98.00 ± 14.84 g, 106.56 ± 11.48 g, 97.22 ± 13.97 g, 97.00 ± 12.98 g。以上增效剂剂量按高原鼠兔每 1 000 g 体重需 0.05 mg 增效剂的标准计算。

为测定球虫毒饵对实验个体的致死率, 将 33 只高原鼠兔随机分为 3 组, 每组 11 只, 各组体重分别为 153.45 ± 14.27 g, 152.55 ± 10.57 g, 151.00 ± 13.74 g。实验期间, 对照组每只实验个体投喂 2 g 基饵, 另外 2 个处理组每只投喂 2 g 毒饵, 其中, 处理 I 的每克毒饵含 150 万个球虫卵囊及 3.84×10^{-3} mg 增效剂, 处理 II 的每克毒饵含 50 万个混合球虫卵囊及 3.82×10^{-3} mg 增效剂。在实验期间, 为排除实验个体感染球虫后排出的卵囊对实验结果的混淆效应, 每天换洗笼具, 并用沸水烫洗。每天 8:30、11:30、15:00 和 17:30 检查高原鼠兔死亡情况, 并对死亡个体尸检, 取肠道内容物, 检测球虫感染情况。若未检测到球虫, 该个体被视为是非球虫因素所致死。实验持续 15 d。

1.2 野外灭鼠实验

实验样地选择在中国科学院高寒草甸生态系统定位站地区。该地区地处青海海北藏族自治州门源

县境内，地理位置为 $37^{\circ}29' \sim 37^{\circ}45'N$, $101^{\circ}12' \sim 101^{\circ}23'E$ ，海拔 $3\,200 \sim 3\,600 m$ ，仅有冷暖二季之别；年平均温度为 $-0.4^{\circ}C \sim -2.5^{\circ}C$ ，年平均降水量为 $560 mm$ ，79%的降雨集中在5月至9月份（李英年等，2004）。

实验设两个处理，投饵组和对照组，每个处理5个样方，样方面积为 $0.25 hm^2$ ($50 m \times 50 m$)，样方间设 $50 m$ 的隔离带，处理间设 $200 m$ 的隔离带。投饵前用堵洞盗开法（景增春等，1991）调查每个样方有效洞口数，对处理组样方有效洞口进行饱和投饵，每洞投放球虫毒饵约 $2 g$ ，每克毒饵含150万个混合球虫卵囊和 $5.00 \times 10^{-3} mg$ 增效剂。毒饵投于离洞口 $10 cm$ 左右的鼠道上，处理各样方四周设 $10 m$ 保护带。投饵后第15天用堵洞盗开法测定样方有效洞口数，并按以下公式计算校正灭洞率：

$$\text{校正灭洞率} = \frac{A \times C - B}{A \times C} \times 100\%$$

$$C = (1 - \frac{a - b}{a}) \times 100\%$$

A 、 B 为处理组灭鼠前、后有效洞口数， a 、 b 为对照组灭鼠前、后有效洞口数， C 为对照样地洞口掘开率。

实验结束后，随机选择投饵组和对照组各3块样方，用弓形夹连续死捕3 d，以测定不同处理组高原鼠兔种群数量变化并分析灭鼠效果，期间，解剖死捕个体，取其直肠和结肠，分别保存于 $20 mL$ 的2.5%重铬酸钾溶液的离心管中，以检测球虫感染率和感染强度。

1.3 球虫毒饵对胚胎发育影响的测定

野外灭鼠实验结束后，对死捕样方所捕获的妊娠雌体解剖，记录其胚胎数，并在感量为 $0.001 g$ 的天平上称胚胎重。

1.4 球虫感染检测

取直肠及结肠内容物称重，精确到 $0.001 g$ ，充分研磨后经40目、100目漏斗过滤，滤液用改良的饱和食盐水法收集球虫卵囊，并用 $2 mL$ 饱和食盐水定量。采用麦克马斯特法（McMaster's method），在低倍显微镜下对2个计数室的卵囊计数，并重复一次，取其平均值，将其换算为感染强度。感染强度为每克粪便中的卵囊数（OPG）。 $OPG = (\text{计数卵囊数} \times \text{稀释倍数} \times 2 mL) / (\text{肠道内容物重量} \times 0.1 mL)$ 。感染率=感染球虫的个体数/处理内总个体数。

1.5 数据分析

为了测定毒饵对不同年龄高原鼠兔的灭效，依据高原鼠兔不同生长阶段的体重（周立和刘季科，1987；叶润荣和梁俊勋，1989），将其分为4个年龄段，幼体Ⅰ： < 20 日龄，体重 $< 70 g$ ；幼体Ⅱ： $20 \sim 30$ 日龄，体重 $70 \sim 110 g$ ；亚成体： $30 \sim 65$ 日龄，雌性体重 $110 \sim 120 g$ ，雄性体重 $110 \sim 130 g$ ；成体： > 65 日龄，雌性 $> 120 g$ ，雄性 $> 130 g$ 。

致死率=实验期间每组死亡个体数/该组总个体数。

妊娠率=妊娠雌性个体数/成年雌性个体数。

感染强度经 $\log_{10}(x + 1)$ 转换后进行统计分析。统计分析中的胚胎重为同窝胚胎的平均重量，并将其分为3个等级，成型： $\geq 1 g$ ；半成型： $0.5 \sim 1 g$ ；未成型： $\leq 0.5 g$ 。若胚胎重量不服从正态分布，将数据进行 $\log_{10}(x + 1)$ 转换后再进行统计分析。

采用 χ^2 检验分析不同处理组间的死亡率、投饵组与对照组间的感染率及胚胎重频次分布的差异。检验统计值采用对数似然比方法计算的卡方（Likelihood ratio, LR）。将有效洞口数以及胚胎数经平方根转换后，采用单因素ANOVA方法测定投饵前、投饵后第15 d各处理组有效洞口数差异。采用分层 χ^2 检验分析各处理组不同年龄个体的存活数差异。采用嵌套ANOVA方法测定各处理组胚胎数、胚胎重以及感染强度间的差异。以上分析均用SASS 8.0统计软件进行分析。

2 结果

2.1 室内球虫毒饵的致死性

对于增效剂的增效作用以及安全性的测定结果表明，复合组、球虫组、增效剂组和对照组中高原鼠兔死亡率分别为50%、20%、10%和0%。不同处理组高原鼠兔死亡率有显著差异（ $df = 3$, $\chi^2 = 9.660$, $P = 0.022$ ）。球虫组死亡率低于复合组，但二者无显著差异（ $df = 1$, $\chi^2 = 2.027$, $P = 0.155$ ）。复合组死亡率显著大于增效剂组（ $df = 1$, $\chi^2 = 4.070$, $P = 0.044$ ）和对照组（ $df = 1$, $\chi^2 = 8.631$, $P = 0.003$ ），对照组死亡率分别与球虫组（ $df = 1$, $\chi^2 = 8.631$, $P = 0.003$ ）和增效剂组（ $df = 1$, $\chi^2 = 1.439$, $P = 0.230$ ）无显著差异。复合组和球虫组的死亡个体肠道内均有球虫卵囊，而增效剂组死亡个体未感染球虫。

球虫毒饵对高原鼠兔致死性的测定结果表明，300万球虫毒饵组、100万球虫毒饵组及对照组的实验个体死亡率分别为63.6%、27.3%和0%。不

同处理组死亡率具有显著差异 ($df = 2, \chi^2 = 13.174, P = 0.001$)。300万组和100万组死亡率均显著大于对照组 (300万组: $df = 1, \chi^2 = 13.101, P = 0.0003$; 100万组: $df = 1, \chi^2 = 4.635, P = 0.031$)，但300万组与100万组间的死亡率无显著差异 ($df = 1, \chi^2 = 3.005, P = 0.083$)，而这两组死亡个体的肠道内均有球虫卵囊。

表1 300×10^4 卵囊剂量的球虫毒饵对高原鼠兔的防治效果Table 1 Control effectiveness of the bait (containing 300×10^4 oocysts and synergist) on plateau pika

	灭前有效洞口数(个) Activ hole pre-treat ent	灭有效洞口 (个) Active holes post-treatment	灭洞率 Killing efficiency	校正灭洞率 Corrected killing efficiency
处理组 Treatment	121 ± 10^{ns}	$75 \pm 11^*$	38.0%	38.7%
对照组 Control	103 ± 23	104 ± 15	0.0%	—

ns: 处理组与对照组之间无显著差异; * $P < 0.05$

ns means not significant at the level 0.05; * $P < 0.05$

对不同处理组残存个体的死捕结果表明，投饵组成体及幼体 I 的数量分别较对照组降低了 54.9% 和 71.0% (成体: $df = 1, \chi^2 = 4.082, P = 0.042$; 幼体 I: $df = 1, \chi^2 = 17.930, P < 0.0001$; 图 1)。虽然投饵组亚成体数量低于对照组，但二者间无显著差异 ($df = 1, \chi^2 = 0.001, P = 0.980$; 图 1)，投饵组幼体 II 数量却显著大于对照组 ($df = 1, \chi^2 = 43.928, P < 0.0001$; 图 1)。灭鼠 15 d 后，投饵组存活个体的球虫感染率和感染强度均显著大于对照组 (感染率: $df = 1, \chi^2 = 29.782, P < 0.0001$; 图 2a; 感染强度: $F_{5,212} = 31.320, P < 0.0001$; 图 2b)。

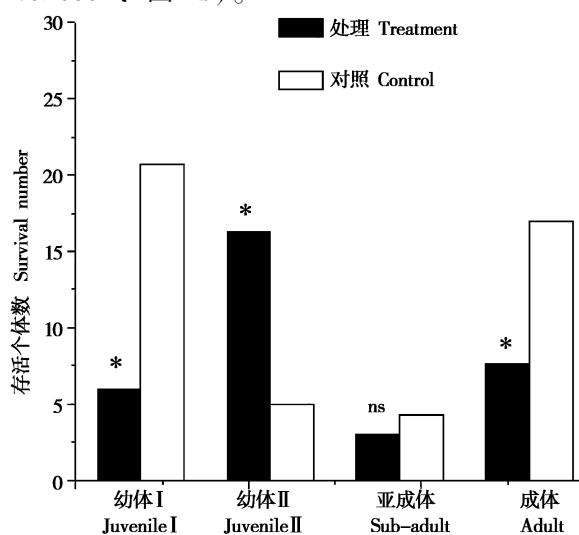
图 1 灭鼠后各年龄高原鼠兔存活个体数。* $P < 0.05$; ns: 无显著差异

Fig. 1 Survival number of plateau pika at different ages in treatment and control groups. ns means not significant between treatment and control group at the level 0.05; * $P < 0.05$

2.2 球虫毒饵防治高原鼠兔的速效性

实验前，投饵组与对照组的有效洞口数分别为 121 ± 10 个和 103 ± 23 个，二者无显著差异 ($F_{1,8} = 2.610, P = 0.145$)。实验结束后，投饵组与对照组的有效洞口数分别为 75 ± 11 个和 104 ± 15 个，投饵组有效洞口数显著低于对照组 ($F_{1,8} = 12.990, P = 0.007$)，校正灭洞率为 38.7% (表 1)。

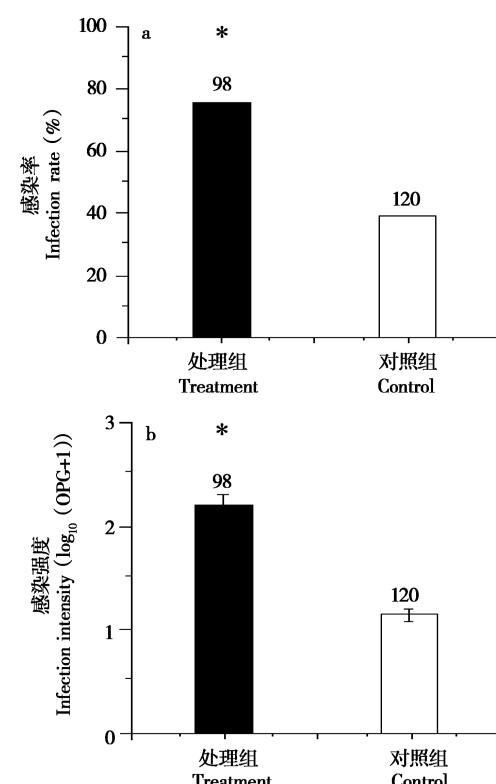
图 2 灭鼠后处理组与对照组高原鼠兔对艾美尔球虫的(a)感染率和(b)感染强度。* $P < 0.05$; 图中标注数字表示样本数

Fig. 2 (a) Infection rate and (b) infection intensity of plateau pika in treatment and control groups. * $P < 0.05$; Numbers above the bars show the number of samples

2.3 球虫毒饵对高原鼠兔胚胎重的影响

野外灭鼠实验结束后，投饵组残存妊娠雌体的胚胎数与对照组间无显著差异 ($F_{5,25} = 0.150, P = 0.699$; 图 3a)，但投饵组胚胎重显著低于对照组

($F_{5,25} = 12.900$, $P = 0.001$; 图 3c), 二者胚胎重的频次分布也有显著差异 ($df = 2$, $\chi^2 = 5.440$, $P = 0.020$; 图 3b)。

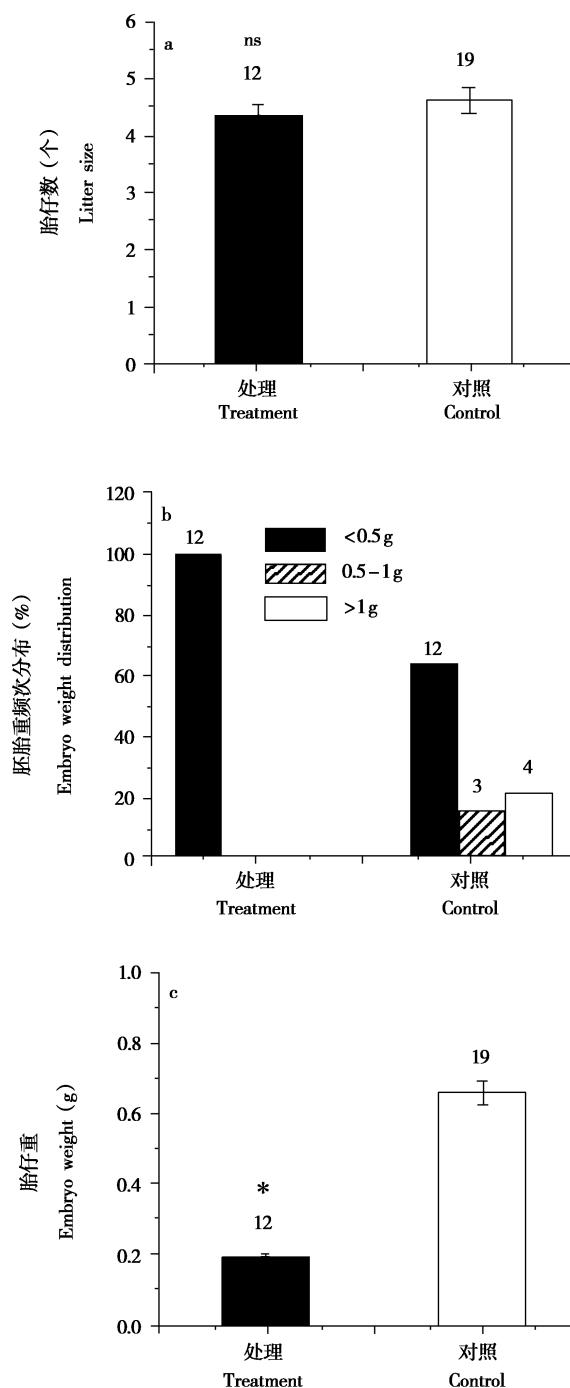


图 3 复合毒饵对高原鼠兔(a)胚胎数、(b)胚胎重频次分布以及(c)胚胎重的影响。* $P < 0.05$; ns: 差异不显著; 图中标注数字表示样本数

Fig. 3 (a) Litter size, (b) embryo weight distribution, and (c) embryo weight of surviving females in treatment and control groups. ns means not significant between treatment and control group at the level 0.05; * $P < 0.05$. Numbers above the bars show the number of samples

3 讨论

已有的野外调查发现, 寄生于高原鼠兔小肠和大肠上皮细胞的艾美耳球虫是导致鼠兔大批死亡的重要原因 (范薇, 2007)。边疆晖等 (2011) 研究结果表明, 感染 600 万剂量卵囊可导致大部分成体高原鼠兔死亡。然而, 该剂量用于野外灭鼠时所需的球虫量很大, 为此, 本研究在球虫毒饵中使用增效剂, 以降低球虫用量。由于艾美耳球虫寄生于宿主肠道上皮细胞中, 破坏肠道上皮粘膜系统, 导致肠道内出血, 因此, 本研究筛选了可影响凝血功能的药物作为增效剂。结果表明, 该增效剂可使毒饵致死率提高 30%。更需强调的是, 该增效剂的单独用量不会直接导致高原鼠兔死亡。因此, 本研究中球虫毒饵对高原鼠兔的致死作用为球虫所致, 而增效剂仅起增效作用。

为筛选野外灭鼠实验所需的球虫剂量, 本研究首先在室内测定了不同剂量球虫毒饵对高原鼠兔的致死率。结果表明, 300 万和 100 万剂量毒饵对高原鼠兔都具有显著的致死效果。虽然二者致死率无显著差异, 但 300 万比 100 万剂量的致死率提高了 36.3%。考虑到野外不可控因素较多, 本研究选用 300 万剂量的球虫毒饵用于野外灭鼠实验。

野外灭鼠实验结果表明, 球虫毒饵的校正灭洞率明显低于 C 和 D 型肉毒素 (景增春等, 2006; 张绪校等, 2007; 张明, 2008)。然而, 在防治鼠害的灭效调查中所使用的校正灭洞率是个相对粗糙的灭效指标。为进一步分析球虫毒饵的灭鼠效果, 在实验结束后, 捕尽了各处理组残存高原鼠兔个体。结果表明, 球虫毒饵可使成体数量降低 54.9%, 并对未断乳幼体可产生 71.0% 的连带致死效应。说明球虫毒饵对高原鼠兔成体及幼体的灭效有较好的速效性。但是, 球虫毒饵对亚成体的灭杀效果不显著, 且投饵组幼体 II 数量反而较对照组显著增高。其原因是, 在中国科学院高寒草甸生态系统定位站地区, 高原鼠兔繁殖启动期为 4 月初。5 月中旬, 大部分第一胎幼鼠断乳且可独立生活 (殷宝法等, 2004), 而此类幼体喜食含水分较多的嫩叶, 从而影响了对毒饵的取食及灭杀效果。另一方面, 由于投饵组有超过一半的成体死亡, 导致种群数量下降, 种内攻击行为减弱 (王学高和戴克华, 1990), 加之样方面积相对较小 (50 m × 50 m), 使得投饵组样方外的断乳子代常侵入该样地活动, 导致投饵组的亚成体数量无显著变化, 以及

幼鼠Ⅱ的捕获量增加。上述结果提示,球虫防治高原鼠兔的最佳时间应在繁殖启动期或其之前。Jäkel等(2006)应用原生动物肉孢子虫(*Sarcocystis singaporensis*)对稻田中家鼠(*Rattus argentiventer*)和黄毛鼠(*R. losea*)的防治结果表明,在投放肉孢子虫毒饵10~14 d后,灭效达到70%~90%,显著降低了对稻田的危害。这表明,应用寄生物控制鼠害是可行的。边疆晖等(2011)研究结果表明,球虫对高原鼠兔的致死率与球虫的感染剂量成正相关关系。因此,如果增加球虫毒饵量,其对高原鼠兔的灭效则有望进一步提高。

对畜禽的研究表明,大量球虫侵入动物肠道组织,破坏肠黏膜,引起肠上皮细胞崩解(张龙现等,1999;张勤生等,2006)。边疆晖等(2011)对高原鼠兔的研究发现,个体在感染混合球虫后逐渐呈现食欲不振甚至废绝、体重大幅下降等病理性特征。在本研究野外灭鼠实验中,处理组残存妊娠雌体胚胎重量较对照组显著降低的结果说明,球虫可通过影响妊娠雌体的营养吸收而抑制胚胎发育。个体的胚胎发育与出生后的发育密切相关,个体早期发育对其以后的行为、繁殖以及存活有深远影响(Mousseau and Fox, 1998; Lindstrom, 1999; Beckerman et al., 2002),进而对种群动态产生深刻效应(Beckerman et al., 2002; Bian et al., 2011)。因此,该效应具有重要的生态学及防控意义。可以推断,球虫毒饵对妊娠雌体胚胎发育的影响对维持其防治效果有重要的作用。

综上所述,应用艾美尔球虫防治高原鼠兔可克服生物防治效果见效慢的缺点,其防治效果具有较好的速效性,并能影响残存妊娠个体的胚胎发育。

致谢:感谢杨乐、瓦金龙及马洪芳等在实验期间提供的诸多帮助。

参考文献:

- Beckerman A P, Benton T G, Ranta E, Kaitala V, Lundberg P. 2002. Population dynamic consequences of delayed life-history effects. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**: 263~269.
- Bian J H, Cao Y F, Du Y, Yang L, Jing Z C. 2011. Effects of parasitic Eimerians (*Eimeria cryptobarretti* and *E. klondikensis*) on mortality of plateau pika (*Ochotona curzoniae*). *Acta Theriologica Sinica*, **31** (3): 299~305. (in Chinese)
- 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.
- Cao Y F, Du Y, Yang L, Bian J H. 2011. Two new records species of *Eimeria* (Apicomplexa, Eimeriidae) from plateau pika in China. *Sichuan Journal of Zoology*, **30**: 402~403. (in Chinese)
- Cao Y F, Ye R R, Wu J H, Bian J H, Duszynski D W. 2009. *Eimeria* spp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the plateau pika, *Ochotona curzoniae*, from Haibei area, Qinghai Province, China, with the description of two new species. *Journal of Parasitology*, **95**: 1192~1196.
- Crompton D W T, Stephenson L S. 1990. Hookworm infection, nutritional status and productivity. In: Warren K S, Schad G A eds. *Hookworm Disease: Current Status and New Directions*. Taylor & Francis, London, 231~264.
- Daugsches A, Imarom S, Bollwahn W. 1999. Differentiation of porcine *Eimeria* spp. by morphologic algorithms. *Vet Parasitol*, **81**: 201~210.
- Fan W. 2007. Observation on the effects of combined application of compound Ivermectin and Tianziquiuchongfen in expelling coccidian of altitude pika. *Laboratory Animal Science*, **24**: 50~51. (in Chinese)
- Jäkel T, Khoprasert Y, Promkerd P, Hongnark S. 2006. An experimental field study to assess the effectiveness of bait containing the parasitic protozoan *Sarcocystis singaporensis* for protecting rice crops against rodent damage. *Crop Protection*, **25**: 773~780.
- Hakkarainen H, Huhta E, Koskela E, Mappes T, Soveri T, Suorea P. 2006. Eimeria-parasites are associated with a lowered mother's and offspring's body condition in island and mainland populations of the bank vole. *Parasitology*, **134**: 23~31.
- Hnida J A, Duszynski D W. 1999. Cross-transmission studies with *Eimeria arizonensis*, *E. arizonensis*-like oocysts and *E. langebarteli*: host specificity within the Muridae and other rodents. *Journal of Parasitology*, **85**: 873~877.
- Jing Z C, Fan N C, Zhou W Y, Bian J H. 1991. Integrated management of grassland rodent pest in Panpo area. *Chinese Journal of Applied Ecology*, **2**: 32~38. (in Chinese)
- Jing Z C, Wang Q J, Shi H L, Ma Y S, Shi J J. 2006. The poison effect experiment of Botulin model D for plateau pikas (*Ochotona curzoniae*). *Pratacultural Science*, **23**: 89~91. (in Chinese)
- Li Y N, Zhao X Q, Cao G M, Zhao L, Wang Q X. 2004. Analyses on climates and vegetation productivity background at Haibei Alpine Meadow Ecosystem Research Station. *Plateau Meteorology*, **23**: 558~567. (in Chinese)
- Lindstrom J. 1999. Early development and fitness in birds and mammals. *Trends Ecology & Evolution*, **14**: 343~348.
- Mousseau T A, Fox C W. 1998. The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution*, **13**: 403~407.
- Ostfeld R S. 2008. Parasites as weapons of mouse destruction. *Journal of Animal Ecology*, **77**: 201~204.
- Smith A T, Foggin J M. 1999. The plateau pika (*Ochotona curzoniae*) is a keystone species for biodiversity on the Tibetan plateau. *Animal Conservation*, **2**: 235~240.
- Solomon N G. 1993. Body-size and social preferences of male and female prairie voles, *Microtus ochrogaster*. *Animal Behaviour*, **45**: 1031~1033.

- Tompkins D M, Dunn A M, Smith M J, Telfer S. 2011. Wildlife diseases: from individuals to ecosystems. *Journal of Animal Ecology*, **80**: 19–38.
- Wang X G, Dai K H. 1990. A study on the breeding area and the territorial behavior in plateau pika (*Ochotona curzonae*). *Acta Theriologica Sinica*, **10** (3): 203–209. (in Chinese)
- Ye R R, Liang J X. 1989. Study on the growth and development of plateau pika under the condition of artificial feeding. *Acta Theriologica Sinica*, **9** (2): 110–118. (in Chinese)
- Yin B F, Wang J L, Wei W H, Zhang Y M, Cao Y F. 2004. Population reproductive characteristics of plateau pika in alpine meadow ecosystem. *Acta Theriologica Sinica*, **24** (3): 222–228. (in Chinese)
- Zhang H L, Bu S H, Han C X, Yang X J, Wang M C, Yang Q E, Lv N. 2003. Advances in the research of mouse plague and its control. *Journal of Northwest Sci-Tech Univ. of Agri. and For. (Nat. Sci. Ed.)*, **31**: 167–172. (in Chinese)
- Zhang X X, Yang T Y, Guo S Y, Ma J S, Xie H Q. 2007. Experiment of D type botulin control *Ochotona curzonae*. *Pratacultural Science*, **24**: 56–58. (in Chinese)
- Zhou L, Liu J K, Liu Y. 1987. Studies on the population productivity ecology of plateau pika I. A dynamic model of growth of body weight in the plateau pika. *Acta Theriologica Sinica*, **7** (1): 67–78. (in Chinese)
- 王学高, 戴克华. 1990. 高原鼠兔的繁殖空间及其护域行为的研究. 兽类学报, **10** (3): 203–209.
- 边疆晖, 曹伊凡, 杜寅, 杨乐, 景增春. 2011. 艾美尔混合球虫对高原鼠兔致死力的初步研究. 兽类学报, **31** (3): 299–305.
- 叶润荣, 梁俊勋. 1989. 人工饲养条件下高原鼠兔生长和发育的初步研究. 兽类学报, **9** (2): 110–118.
- 李英年, 赵新全, 曹广民, 赵亮, 王勤学. 2004. 海北高寒草甸生态系统定位站气候、制备生产力背景的分析. 高原气象, **23**: 558–567.
- 李晓华, 郭云祥, 孙承业, 鲁雁飞, 徐松华. 1998. 禁用杀鼠剂销售, 使用情况调查. 中国媒介生物学及控制杂志, **9** (1): 61–62.
- 张龙现, 殷佩云, 林昆华, 刘群, 索勋. 1999. 我国家兔球虫的研究现状. 动物学杂志, **34**: 45–52.
- 张宏利, 卜书海, 韩崇选, 杨学军, 王明春, 杨清娥, 吕宁. 2003. 鼠害及其防治方法研究进展. 西北农林科技大学学报, **31**: 167–172.
- 张明. 2008. 青海省贵南县D型肉毒毒素防治高原鼠兔小区实验报告. 养殖与饲料, **9**: 72–74.
- 张绪校, 杨廷勇, 郭时友, 马建生, 谢红旗. 2007. D型肉毒毒素灭高原鼠兔实验. 草业科学, **24**: 56–58.
- 张勤生, 肖乃森, 蕾复春, 张龙现, 邵兆霞. 2006. 固始鸡人工感染柔嫩艾美耳球虫的初步研究. 河南畜牧兽医, **7**: 4–5.
- 范薇. 2007. 复方伊维菌素和球虫粉联合应用于高原鼠兔球虫的驱治效果观察. 实验动物科学, **24**: 50–51.
- 周立, 刘季科, 刘阳. 1987. 高原鼠兔种群生产量生态学的研究 I. 高原鼠兔体重生长动态数学模型的研究. 兽类学报, **7** (1): 67–78.
- 曹伊凡, 杜寅, 杨乐, 边疆晖. 2011. 高原鼠兔寄生艾美尔球虫(顶复器门, 艾美尔科)二中国新纪录种. 四川动物, **30**: 402–403.
- 殷宝法, 王金龙, 魏万红, 张堰铭, 曹伊凡. 2004. 高寒草甸生态系统中高原鼠兔的繁殖特征. 兽类学报, **24** (3): 222–228.
- 殷佩云, 蒋金书, 刘伯义, 张伟薇. 1990. 人工感染肠艾美尔球虫致病力研究. 中国兽医杂志, **16**: 5–7.
- 侯秀敏. 2007. 青海省“十五”期间草地鼠害防治主要方法和措施. 草地与畜牧, **6**: 47–49.
- 景增春, 王启基, 史惠兰, 马玉寿, 施建军. 2006. D型肉毒杀鼠素防治高原鼠兔灭效实验. 草业科学, **23**: 89–91.
- 景增春, 樊乃昌, 周文扬, 边疆晖. 1991. 盘坡地区草场鼠害的综合治理. 应用生态学报, **2**: 32–38.
- 慈海鑫, 张中学, 雷晓水. 2007. 青藏高原特有有害鼠黑唇鼠兔的危害及防治对策. 中国媒介生物学及控制杂志, **18** (2): 167–169.