



疾病诊断与防控 Disease Diagnosis, Treatment and Prevention

朱鹮应激性猝死的环境诱因及
行为学、影像学与病理研究邱国强¹, 冉金时², 石 坚¹, 刘小甜¹, 陈奕洁¹,
袁李莹³, 王 涛³, 代雯雯³, 金佶宸², 张鹏奇², 席咏梅^{2*}

- 德清县生态林业综合服务中心, 德清 313200;
- 浙江大学遗传所, 杭州 310000;
- 浙江省朱鹮抢救保护基地, 德清 313200)

稿件运行过程

收稿日期: 2025-09-09

修回日期: 2025-10-17



关键词: 朱鹮;

人工圈养管理;

应激性猝死;

病理研究;

NGS病原筛查

Keywords: Crested ibis (*Nipponia nippon*);

Captive management;

Stress-induced sudden death;

Pathology;

NGS-based pathogen screening

中图分类号: S858.9; Q959.7

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2026)-01-0086-14

DOI: 10.12375/ysdwx.202509005

摘要

朱鹮(*Nipponia nippon*)曾因栖息地破坏、环境污染和人为捕猎等因素,于1981年全球野生种群锐减至7只,濒临灭绝。经过40余年的保护管理,目前全球数量已恢复至1万余只,但其对应激刺激的高度敏感性和猝死风险仍对保护管理带来挑战。本研究基于对1990—2024年多个繁育基地事故报告的回顾性分析总结了其频繁猝死的环境诱因、行为表现和最终结局,并通过3例典型猝死案例对这类事件的病理生理学进行深入探究。在人工饲养条件下,朱鹮遭遇雷鸣、天敌干扰或环境变化时,易出现惊飞、撞击笼舍,导致外伤或突发性死亡。为探明其应激性猝死机制,本研究对3例猝死个体开展了剖检、CT与MRI影像评估、组织病理学分析及宏基因组测序(NGS)病原筛查。结果显示:主要脏器未见明显器质性病变,仅消化道上皮轻度脱落及脑部局限性硬膜下出血,未见明显脑实质损伤。NGS未检测到病毒、真菌或寄生虫感染,仅检出部分机会致病菌,但肠道菌群多样性较低。朱鹮中可能存在一种可被定义为应激性猝死综合征的病理现象。研究结果从多维度揭示了朱鹮应激性猝死的病理特征与可能机制,为濒危朱鹮的保护管理与健康干预提供了科学依据。

基金项目: 德清县生态林业综合服务中心项目(ZJXRQ-2024-JC64)

第一作者简介: 邱国强(1969—),男,高级工程师;主要从事濒危野生动物保护管理与研究。E-mail: qiuquoqiang7777@163.com

* 通信作者: 席咏梅, E-mail: xyongm@zju.edu.cn

Environmental Triggers and Behavioral, Imaging and Pathological Correlates of Stress-Induced Sudden Death in the Crested Ibis

QIU Guoqiang¹, RAN Jinshi², SHI Jian¹, LIU Xiaotian¹, CHEN Yijie¹, YUAN Liying³,
WANG Tao³, DAI Wenwen³, JIN Jichen², ZHANG Pengqi², XI Yongmei^{2*}

(1. Deqing County Ecological Forestry Integrated Service Center, Deqing 313200, China;

2. Institute of Genetics, Zhejiang University, Hangzhou 310000, China;

3. Zhejiang Crested Ibis Rescue and Conservation Base, Deqing 313200, China)

Abstract: The crested ibis (*Nipponia nippon*) declined to just seven wild individuals in 1981 due to habitat loss, environmental pollution and hunting, approaching extinction. After more than four decades of conservation, the global population has recovered to more than 10 000; however, high sensitivity to stressors and the risk of stress-induced sudden death continue to challenge to the protection and management. Based on the retrospective analysis of accident reports at multiple breeding bases from 1990 to 2024, the environmental triggers and behavioral performance and the ultimate results of frequent sudden death were summarized respectively, and the pathophysiology of such events through three typical sudden death cases was explored deeply. In captivity, exposure to thunder or predator disturbances or abrupt environmental changes often provokes the panic flight and collisions with enclosures of crested ibis, resulting in trauma or unexpected death. To elucidate the mechanism of stress-induced sudden death, three sudden-death cases were examined by using necropsy, CT and MRI imaging, histopathology and metagenomic next-generation sequencing (NGS)-based pathogen screening. Major organs showed no overt lesions except for mild epithelial sloughing in the digestive tract, and the focal subdural hemorrhage was present without obvious parenchymal brain injury. NGS did not detect viral, fungal or parasitic infections, only opportunistic pathogens were detected, but the diversity of intestinal flora was low. There might be a pathological phenomenon in the crested ibis that could be defined as stress-induced sudden death syndrome. The results revealed that the pathological features and potential mechanism of stress-induced sudden death of crested ibis from multiple dimensions, and provided a scientific basis for the conservation management and health interventions of endangered crested ibis.

朱鹮(*Nipponia nippon*)是全球濒危鸟类之一,曾广泛分布于中国、日本、朝鲜半岛及俄罗斯远东等东北亚地区^[1]。自20世纪中叶以来,野生朱鹮种群因栖息地破坏、环境污染和非法捕猎等因素而急剧减少^[2]。栖息地的快速丧失严重限制了其觅食与繁殖活动,而大量农药的使用又降低了食物资源的质量,进一步削弱了种群的生存能力。此外,非法猎杀也对朱鹮种群造成直接威胁。至1981年,全球仅在中国陕西洋县的偏远山区发现了最后7只野生个体(4只亲本和3只幼鸟),这标志着该物种已处于濒危状态^[3]。为应对这一危机,中国、日本与韩国相继启动了以栖息地保护和人工繁育为核心的拯救计划,

包括栖息地恢复、打击非法捕猎及开展人工繁殖与种群再引入。其中,中国基于陕西洋县残存的7只野生种群开展人工繁殖与野生种群重建,日本和韩国则通过引进中国的种源建立了本国的人工种群并逐步实现再引入。目前,朱鹮的全球种群总数(人工与野生)已突破11 000只^[4],成为世界濒危物种保护的成功案例之一。

然而,随着朱鹮种群规模的扩大,其保护和管理面临更加复杂的挑战,尤其是遗传多样性降低(现有的1万多只朱鹮全部源于残存的7只野生个体)、病原感染、意外伤害及应激性猝死(stress-induced sudden death)等问题。特别是在人工饲养环境下,应激

性猝死尤为频繁,不仅严重影响个体的存活率,也对种群的整体稳定性构成威胁。

应激性猝死是一类机制尚未完全明确的急性死亡现象,其诱因主要有急性应激与慢性应激两种。急性应激是指因突发环境变化或人为干扰,迅速激活交感神经系统,从而可能诱发致命性心律失常或呼吸衰竭并最终导致猝死的一种现象^[5]。研究发现,在鸚鵡、大鼠等实验动物模型中,急性应激通过交感神经系统及下丘脑—垂体—肾上腺轴(HPA轴)的过度激活,引发致命的心血管事件^[6-9]。其中,交感神经剧烈兴奋引起的室性心律失常是诱发心源性猝死的主要机制^[10];此外,HPA轴的持续激活会导致皮质酮水平升高,引发代谢紊乱和免疫抑制,使机体进入高耗能、高氧化应激状态,显著增加器官损伤风险^[9]。与急性应激不同,慢性应激如长期社交冲突或环境限制,可通过削弱HPA轴反馈调节,降低个体对应激刺激的耐受能力^[11],长期基础皮质酮水平升高也会显著提高猝死风险^[12-13]。在朱鸚相关的研究中发现,其粪便中皮质酮水平随游客数量增加而显著升高^[14],提示人为干扰可引发慢性应激反应。此外,幼鸟在发育早期对应激的敏感性随日龄增长而增强,可能与HPA轴成熟度相关^[15-16],表明减少早期人为干预可提高其生存能力。

在大鼠、小鼠及肉鸡等动物中,均有“猝死综合征”(sudden death syndrome, SDS)的相关研究,尸检特征多为非特异性表现,如器官淤血和轻度水肿^[17],而朱鸚中尚无系统的描述与定义。朱鸚的应激性猝死多由突发环境刺激所诱发,个体常表现出剧烈的行为反应(如惊飞和撞击),并迅速发生生理功能紊乱与猝死。虽然当前的人工饲养设施在设计上已进行显著优化,但仍难以完全避免环境变化或自然因素(如雷鸣、闪电)诱发的惊飞与撞击事故。在自然环境中,朱鸚生性胆小且防御能力差,其栖息地的伴生动物(如乌鸦、隼、蛇、鼬类)常袭击朱鸚巢中的卵与幼鸟,严重威胁其繁殖成效^[2,18]。这一现象也凸显了朱鸚对应激反应的高度敏感性和脆弱性。

朱鸚的应激性猝死已成为中国、日本和韩国繁育中心面临的共同挑战,其死亡率甚至超过部分感染性疾病。这一急性死亡特征,与家禽等动物中已被定义的猝死综合征^[17]具有相似性,后者通常也由应激因素触发且仅存在轻度器官水肿或难以检出的特异性解剖病变。然而,在朱鸚中,其确切的触发诱

因、病理特征、影像学表现及具体机制仍缺乏系统研究。因此,为深入揭示这一长期被观察到的应激性猝死现象的内在机制,并探讨其在朱鸚中是否构成一种特征性的应激性猝死综合征,本研究首次综合行为学、影像学、解剖学与组织病理学及宏基因组测序(NGS)病原筛查等手段,通过3例具有典型行为学特征的猝死个体系统分析朱鸚应激性猝死的潜在机制,不仅有助于理解朱鸚在极端应激条件下生理病理变化,也为人工饲养管理、野化放归及种群健康干预提供重要科学依据,旨在最终提升朱鸚的生存率与长期繁殖成功率。

1 材料与方法

1.1 研究对象

以浙江德清某朱鸚繁育基地3例(雌性)因环境应激发生猝死的人工饲养朱鸚个体为研究对象,其环志编号分别为395号(4.0岁)、374号(6.0岁)和048号(1.5岁),死亡前均处于非繁殖期,日常监测未发现明显疾病表现,且均有生前影像记录。

1.2 行为学观察分析

饲养环境中设有高清摄像设备,通过视频回看个体死亡前48 h内的日常活动与行为状态,分析其摄食行为、活动水平、社交行为及异常反应(如惊恐、异常鸣叫、运动失调等)。视频记录由两名观察员采用双盲法独立分析,评估与应激相关的行为变化。

1.3 尸体剖检与组织样本采集

在个体死亡后16 h内,按照标准兽医病理程序进行无菌解剖。重点检查心血管、呼吸、神经及消化道等系统,并系统性采集脑、心、肝、肾、脾等29种主要脏器组织样本。样本分为两部分,分别用于后续的组织病理学分析及分子病原检测。

1.4 影像学检查与分析

采用计算机断层扫描(CT)和磁共振成像(MRI)技术对死亡个体进行影像学评估。CT检查设备为西门子SOMATOM Scope 16排螺旋CT,扫描参数为层厚0.625 mm,电压100 kVp,电流180 mA,重建软组织窗及骨窗图像,以评估颅内出血、骨骼损伤及创伤情况。MRI检查设备为西门子MAGNETOM Skyra 3.0 Tesla,扫描序列包括轴位与矢状位T1加权成像(T1WI)、轴位与冠状位T2加权成像(T2WI)及弥散加权成像(DWI),层厚1.5 mm,用于检测脑实质病变、水肿或缺血区域。影像判读由浙江大学动物医

学中心兽医放射学专家完成,以鉴别真实病理改变与死后伪影。

1.5 组织病理学检查

组织样本采用10%中性缓冲福尔马林固定48 h后进行石蜡包埋,使用Leica RM2245切片机制备4 μm 切片。常规病理检查采用苏木精-伊红(H&E)染色;同时进行Masson三色染色评估纤维化情况,使用过碘酸雪夫(PAS)染色评估糖原和黏多糖的存在。

1.6 高通量测序病原检测

选取关键脏器(如肺、脾、肝)组织及肠道内容物进行宏基因组测序(next-generation sequencing, NGS)分析,检测可能的病毒、细菌及真菌感染。核酸提取使用Qiagen AllPrep DNA/RNA Mini Kit, RNA和DNA文库分别采用Illumina TruSeq Stranded mRNA及Illumina Nextera XT DNA试剂盒构建。测序平台为Illumina NovaSeq 6000(paired-end 150 bp reads)。生物信息学分析基于Kraken2和MetaPhlan3软件比对NCBI RefSeq数据库,鉴定病原微生物种类。

2 结果

2.1 应激性猝死的环境诱因与行为学特征

通过长期的系统观察与分析,朱鹮在人工饲养条件下表现出显著的对新笼舍环境和外界刺激因素的高度敏感性,极易因外界干扰而诱发急性应激反应,甚至猝死。根据1990—2024年在中国、日本、韩国多个朱鹮人工繁育基地报道的朱鹮撞笼死亡情况,本研究将导致朱鹮应激性死亡的环境诱因归纳为4类:①饲养条件变化(如搬迁或笼舍环境调整);②人为操作干扰(如人员突然接近、捕捉体检);③异常声光刺激(如雷鸣、爆炸声或闪电);④天敌侵扰(如猛禽、鼬类等)。受刺激后,朱鹮会突出剧烈的应激行为,主要表现为爆发性惊飞。受笼舍空间限制,惊飞过程中常因撞击笼舍或相向飞行的个体间相互冲撞,致使某些脆弱个体失去平衡、跌落并剧烈扑翼,最终在1~2 min内死亡。部分存活个体则可能继发喙、腿等部位的机械性损伤(表1)。

表1 朱鹮应激性猝死的环境诱因、行为表现和最终结局

Table 1 Environmental triggers, typical behaviors and physiological outcomes of stress-induced death in the crested ibis

类别 Category	具体内容 Content	详细说明 Description
环境诱因 Environmental trigger	环境适应性应激源	笼舍搬迁、饲养环境突然调整
	人为操作应激源	工作人员或访客突然接近;体检、捕捉等程序性操作
	异常声光刺激	突发的噪声(如雷鸣、爆炸声)或闪电
	天敌侵扰	猛禽、果子狸(<i>Paguma larvata</i>)、黄鼬(<i>Mustela sibirica</i>)等
行为表现 Typical behavior	惊飞行为	突然爆发性飞行,方向不定
	撞击损伤	飞行过程中与笼舍或设施等发生碰撞
	特征性扑翼	撞击后剧烈扑动翅膀,随后迅速失衡或意识丧失
最终结局 Physiological outcome	急性猝死	常无明显外伤而迅速死亡(1~2 min)
	机械性损伤	部分个体发生喙、腿等骨折,致残并丧失繁殖能力,存活期数月至数年不等

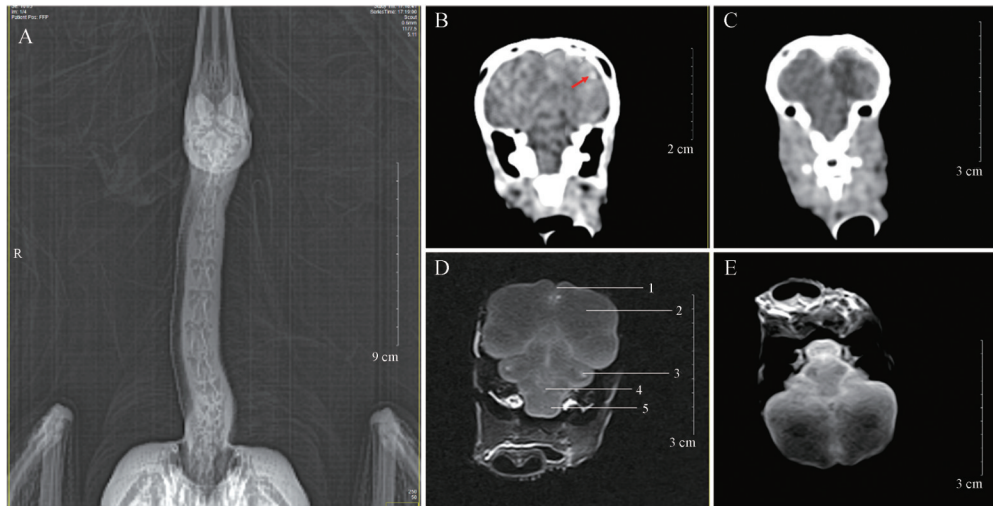
2.2 影像学评估

采用CT与MRI多模态影像学技术对3例死亡个体进行系统评估。CT扫描显示,所有个体骨骼结构完整,未见明显骨折征象。其中,395号个体大脑背侧中线偏前区域发现一个直径(2.1 \pm 0.3) mm局灶性硬膜下出血灶,其余两个个体未见异常。MRI检查显示,脑实质信号均匀,各解剖结构清晰,未见明确脑水肿或弥散受限区域。影像学分析提示,局限性硬膜下出血与急性机械性损伤(撞击)相符,未

发现慢性病变或全身性疾病特征(图1)。

2.3 尸检发现

尸检于个体死亡后16 h内完成。外部检查可见口鼻黏膜苍白,泄殖腔周围附有少量绿色粪便,皮肤和羽毛未见异常。内部解剖未发现明显的器官病变,观察到皮下脂肪减少、肌肉色泽偏淡,所有个体的胃肠道均内容物稀少且黏膜呈苍白色。其中,374号与048号个体头面部有擦伤,但未发现中枢神经系统损伤;395号个体中枢神经系统局限性硬膜下



A. 头颈部CT矢状位重建图像;B,C. 头部CT轴位(红箭头指示大脑背侧中线偏前区域的硬膜下小血块);D. 头部冠状位MRI(1. 大脑纵裂;2. 大脑半球;3. 视叶及中脑顶盖脑室;4. 小脑;5. 脑桥);E. 头部轴位MRI。

A. Head and neck CT with sagittal reconstruction; B, C. Axial head CT (B red arrow: small subdural clot at the dorsomedial anterior brain); D. Head coronal MRI (1. Interhemispheric fissure; 2. Cerebral hemispheres; 3. Optic lobe & tectal ventricles; 4. Cerebellum; 5. Pons); E. Axial head MRI.

图1 朱鹮头颈部影像学结果(以395号个体为例)

Figure 1 Head and neck imaging results in the crested ibis (individual No. 395 as an example)

出血,直径2~3 mm(表2),与CT影像所见一致(图1B)。综合尸检、影像及行为观察结果推测,死亡个

体因突发惊飞撞击引发急性应激反应致死,排除慢性病变及感染性疾病可能。

表2 猝死朱鹮剖检观察结果

Table 2 Anatomical observations of stress-induced death in the crested ibis

系统/器官 System/Organ	观察结果 Observation
神经系统 Nervous system	395号个体在大脑背侧中线偏前区域硬膜下可见小型血块(直径2~3 mm),与CT所示硬膜下出血灶相符;其余两例大脑、小脑及脑干外观正常,未见出血、坏死或炎症反应;外周神经丛(臂丛、腰荐丛)结构完整,未见病变
颈及胸腔器官 Neck and thoracic organs	心包腔无明显积液,心外膜无出血,心脏外观正常;肺脏粉红色,大小形态正常,质地均匀,无实质性病变或异常渗出;气管壁结构完整,无出血或炎症浸润;食管结构完整,无明显淤血或出血点;嗉囊较小,内容物稀少;胸腺完全退化
胸腹腔器官 Thoracoabdominal organs	腹膜完整,未见脂肪异常沉积或积液;肝脏暗红色,边缘锐利,大小正常,无纤维化或坏死;胃外无脂肪附着,内容物较少(395号个体仅见一条完整泥鳅尸体),胃壁完整,黏膜光滑,无溃疡或出血;小肠、盲肠及结肠苍白,内容物较少,未见出血或梗阻
骨盆腔脏器 Pelvic organs	卵巢未发育,体积小、红褐色,形态正常;泄殖腔黏膜光滑,无出血点;法氏囊完全退化,与周围组织无明显界限

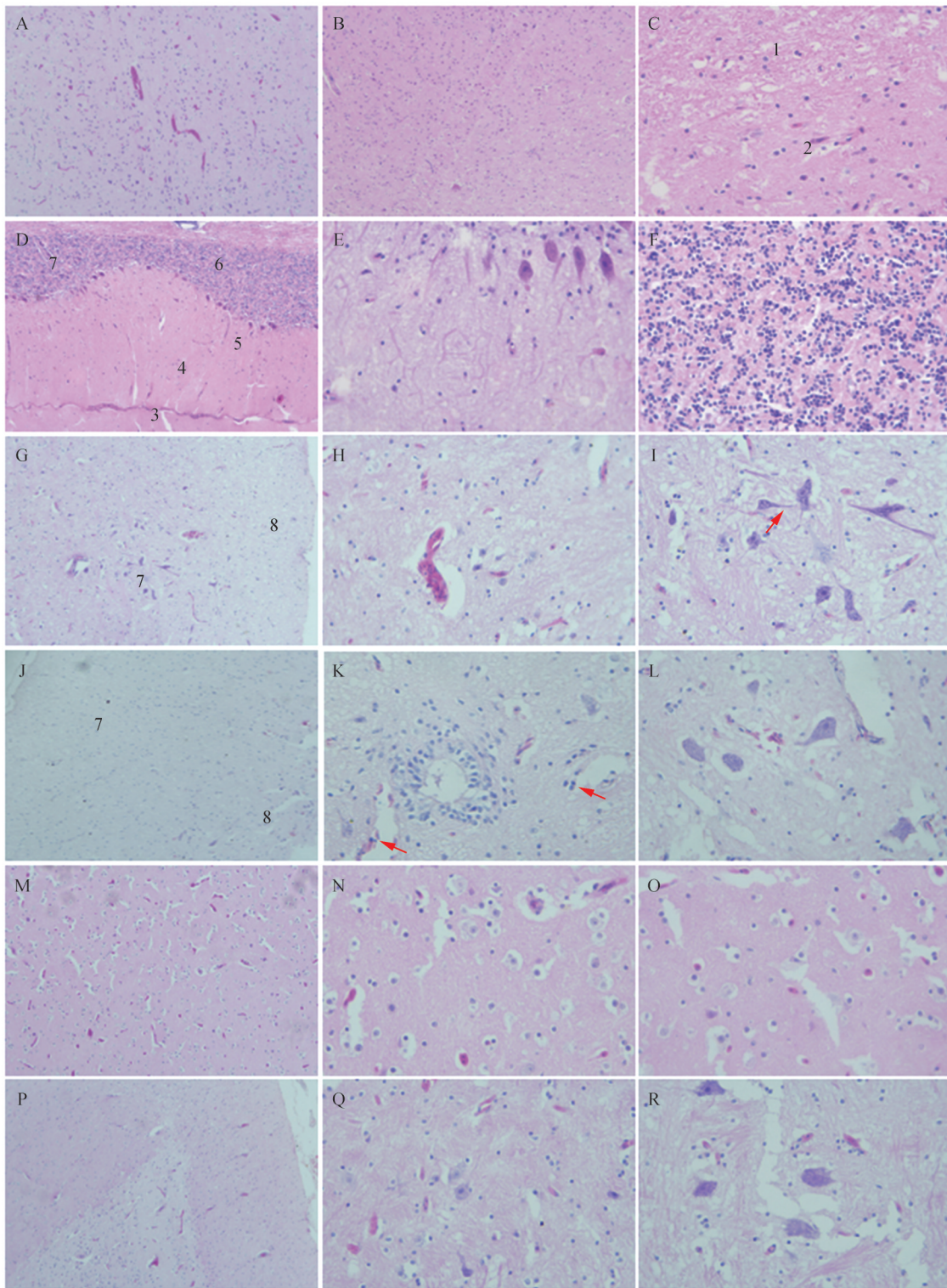
2.4 组织病理学分析

2.4.1 中枢神经系统

组织病理学检查(H&E染色)显示,所检个体的中枢神经组织结构完整,未见神经元坏死或明显炎症反应,与影像学评估结果一致。大脑、小脑、延髓、脊髓及膝状体等主要区域均未见特异性病变(表3)。其中,395号个体所见的局限性硬膜下出血灶,在组织学层面符合急性机械性损伤特征,排除慢性病变(图2,表3)。

2.4.2 消化系统

组织病理学检查显示,消化系统主要结构未见明显器质性病变。解剖及微观病理检查发现,胃内容物显著减少。小肠(十二指肠、空肠及回肠)可见局灶性上皮轻度脱落,绒毛结构基本保存,肠道淋巴滤泡轻度增生;后肠(盲肠与结肠)黏膜结构完整,未见溃疡或黏膜下层及肌层受累(图3,表4)。综上,消化道改变以轻度黏膜改变、局灶性炎症及胃内容物减少为主,无明显器质性病变,提示可能存在与应激相关的消化道功能紊乱。



A~C. 大脑(A,B, 10×; C, 40×);D~F. 小脑(D, 10×; E,F, 40×);G~I. 延髓(G, 10×; H,I, 40×);J~L. 脊髓(J, 10×; K,L, 40×);M~O. 外侧膝状体(M, 10×; N,O, 40×);P~R. 内侧膝状体(P, 10×; Q,R, 40×);1. 皮质;2. 白质;3. 脊膜;4. 分子层;5. 浦肯野细胞层;6. 颗粒层;7. 白质;8. 灰质。

A~C. Cerebrum (A,B, 10×; C, 40×); D~F. Cerebellum (D, 10×; E,F, 40×); G~I. Medulla oblongata (G, 10×; H,I, 40×); J~L. Spinal cord (J, 10×; K,L, 40×); M~O. Lateral geniculate nucleus (M, 10×; N,O, 40×); P~R. Medial geniculate nucleus (P, 10×; Q,R, 40×); 1. Cortex; 2. White matter; 3. Meninges; 4. Molecular layer; 5. Purkinje cell layer; 6. Granular layer; 7. White matter; 8. Gray matter.

图2 猝死朱鹮中枢神经系统组织病理学图像(H&E染色)

Figure 2 CNS histopathological images of stress-induced death in the crested ibis (H&E)

表3 猝死朱鹮中枢神经系统组织病理学观察结果

Table 3 Histopathological observations of the central nervous system of stress-induced death in crested ibis

结构 Structure	组织学观察结果 Histological observation	对应图示 Figure panel
大脑 Cerebrum	大脑皮质和白质分界清晰,神经元排列规则,未见坏死或变性;脑膜无增厚,软脑膜下未见炎性细胞浸润;脑实质毛细血管周围无渗出,未见明显脑水肿;皮质和白质结构正常,未见脱髓鞘病变或神经纤维紊乱	图2A~C
小脑 Cerebellum	组织层次分明,脑膜、分子层、蒲肯野细胞层、颗粒层及白质结构完整;无神经元丢失或胶质细胞异常增生;蒲肯野细胞形态完整、排列整齐,无坏死;颗粒层无炎症细胞浸润	图2D~F
延髓 Medulla oblongata	灰质与白质分界清晰,结构正常;局部可见小血管周围少量炎性细胞浸润;未见明显出血或血管损伤;神经元胞体结构正常,胶质细胞轻度增生,无神经元变性或坏死	图2G~I
脊髓 Spinal cord	白质和灰质界限清晰,无炎症细胞浸润或神经元坏死;部分脊髓血管周围可见少量炎性细胞浸润;髓鞘完整,神经纤维排列规则,无脱髓鞘病变	图2J~L
外侧膝状体 Lateral geniculate nucleus	组织结构完整,神经元密度正常;局部可见微小空泡变性,未见广泛神经元坏死;胶质细胞无明显增生,血管结构正常	图2M~O
内侧膝状体 Medial geniculate nucleus	神经元排列规则,无炎症细胞浸润;部分神经元可见染色质轻度浓缩,未见广泛坏死或明显炎症反应;髓鞘结构完整,无显著脱髓鞘病变	图2P~R

表4 猝死朱鹮消化系统组织病理学检查观察结果

Table 4 Histological examination of the digestive system of stress-induced death in crested ibis

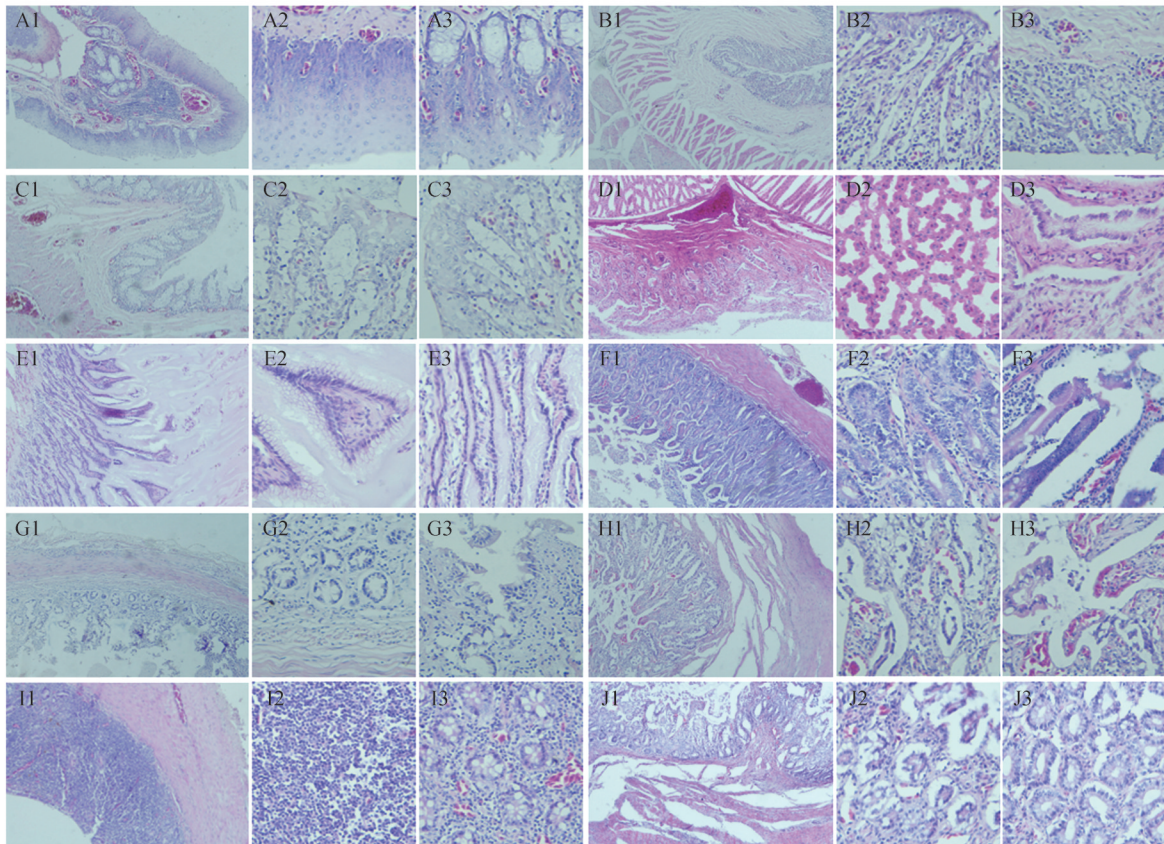
结构 Structure	组织学观察结果 Histological observation	对应图示 Figure panel
食管 Esophagus	黏膜为复层扁平上皮,固有层内有丰富的淋巴组织;食管腺体分布均匀,未见炎性细胞浸润或上皮溃疡	图3B1~B3
嗉囊 Crop	黏膜表面完整,腺体清晰可见;固有层血管结构正常,无扩张或出血;未见明显脱落或坏死	图3C1~C3
腺胃与肌胃 Proventriculus and gizzard	腺胃黏膜局部上皮轻度脱落,腺体排列规则,肌层结构完整;肌胃角质层完整,无糜烂或坏死,肌层肌纤维排列规则,未见炎性细胞浸润	图3D1~D3,3E1~E3
十二指肠与空肠 Duodenum and jejunum	小肠绒毛细长,排列紧密,固有层血管丰富;利伯昆隐窝(肠腺)排列规则、深浅适中,上皮呈轻度再生性改变(核稍拥挤、嗜碱性略增),散在杯状细胞;未见隐窝脓肿或显著中性粒细胞浸润,腺体/隐窝结构整体保存良好;黏膜下层细胞稀疏,固有肌层完整	图3F1~F3,3G1~G3
回肠与盲肠 Ileum and cecum	回肠绒毛较短,绒毛顶端可见局灶性上皮轻度脱落;李伯克隐窝(crypts of Lieberkühn)结构基本完整,偶见轻度扩张/腔内少量脱落细胞与中等数量杯状细胞,未见隐窝脓肿或明显上皮异型性,固有层淋巴细胞浸润增加;盲肠黏膜以隐窝为主(无绒毛),隐窝排列大致规则,杯状细胞较丰富,腔内可见少量脱落细胞;盲肠扁桃体区可见聚集性淋巴组织/滤泡;未见溃疡或深部组织破坏	图3H1~H3,3I1~I3
结直肠 Colon and rectum	部分黏膜上皮轻度脱落,但腺体结构未见破坏;固有层无明显充血或炎性细胞浸润;隐窝(利伯昆隐窝)排列规则,杯状细胞可见,未见隐窝脓肿或明显扩张;肠腔内内容物较少	图3J1~J3

2.4.3 肝、胰、肺、心、脾、肾等脏器

组织病理学检查显示,所检主要内脏器官(肝、胰、肺、心、脾、肾)结构完整,均未见明确坏死、纤维化、异常增生或急慢性炎症等特异性病变,所有器官的微观结构与其正常生理状态相符,无慢性器质性损伤或感染性病变征象(图4,表5),进一步支持死亡并非由潜在的慢性疾病导致。

2.4.4 生殖系统

雌性个体的生殖系统(卵巢、输卵管、子宫和阴道)组织结构正常,未见炎症、坏死、异常增生或纤维化等病变,卵巢处于未发育的状态(图5,表6),未发现生殖系统存在可导致急性死亡的器质性病变。



A1~A3. 舌(A1. 中轴软骨;A2. 上皮;A3. 小型唾液腺);B1~B3. 食管(B1. 全层;B2. 固有层血管;B3. 食管腺);C1~C3. 嗉囊(C1. 上皮与固有层血管;C2. 腺体;C3. 概览);D1~D3. 腺胃(D1. 壁/腺体;D2. 腺腔;D3. 黏膜);E1~E3. 肌胃(E1. 角质层与肌层;E2、E3. 黏膜);F1~F3. 十二指肠(F1. 绒毛;F2. 固有层血管;F3. 绒毛顶端上皮);G1~G3. 空肠(G1. 绒毛;G2. 固有层腺体/淋巴细胞;G3. 黏膜);H1~H3. 回肠(H1. 绒毛;H2. 腺体;H3. 黏膜);I1~I3. 盲肠(I1. 黏膜与集合性淋巴组织;I2、I3. 黏膜);J1~J3. 结直肠(J1. 黏膜上皮;J2、J3. 腺体)。在每组图中,子图1为10×;子图2、3为40×。

A1~A3. Tongue (A1. Midline cartilage; A2. Epithelium; A3. Minor salivary glands); B1~B3. Esophagus (B1. Wall; B2. Lamina propria vessels; B3. Esophageal glands); C1~C3. Crop (C1. Epithelium & lamina propria vessels; C2. Glands; C3. Overview); D1~D3. Proventriculus (D1. Wall/glands; D2. Gland lumen; D3. Mucosa); E1~E3. Gizzard (E1. Cuticle & muscularis; E2, E3. Mucosa); F1~F3. Duodenum (F1. Villi; F2. Lamina propria vessels; F3. Villus tips); G1~G3. Jejunum (G1. Villi; G2. Lamina propria glands/lymphocytes; G3. Mucosa); H1~H3. Ileum (H1. Villi; H2. Glands; H3. Mucosa); I1~I3. Cecum (I1. Mucosa with aggregated lymphoid tissue; I2, I3. Mucosa); J1~J3. Colon and rectum (J1. Epithelium; J2, J3. Glands). Magnification: panel 1, 10×; panels 2, 3, 40×.

图3 猝死朱鹮消化道组织病理学图像(H&E染色)

Figure 3 Gastrointestinal histopathology of stress-induced death in crested ibis (H&E)

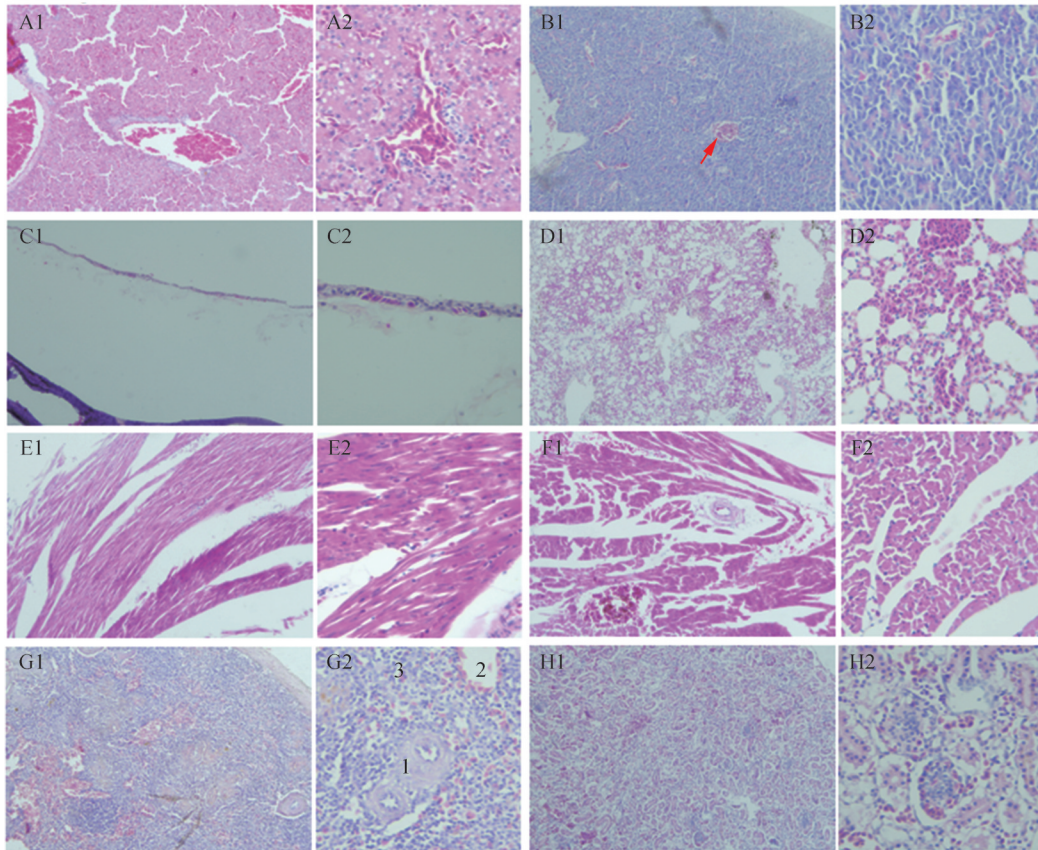
2.4.5 骨骼肌、皮肤、动脉及眼

骨骼肌、皮肤、动脉及眼等组织的结构均完整。骨骼肌未见变性、坏死或炎症;皮肤各层结构清晰,无损伤或感染迹象;动脉管壁结构正常,无硬化性改变;眼视网膜各层排列有序,脉络膜及玻璃体视网膜界面未见异常(图6,表7)。这些发现进一步排除了肌源性、血管源性或眼部器质性疾病作为直接死因的可能,为朱鹮急性应激性死亡的诊断提供了支持性形态学依据。

2.5 病原微生物筛查与肠道宏基因组分析

为揭示猝死朱鹮的肠道微生物群落结构及潜在

致病风险,采用高通量测序技术对深部组织(气管、肺、脾和肝)及肠道内容物进行病原筛查和注释分类。结果显示,肺部,脾脏及肝组织微生物序列读数极低,未检出致病性病毒、细菌、真菌或寄生虫的核酸序列。对肠道内容物的宏基因组进一步分析表明,其菌群多样性较低,且结构具有特异性(图7)。优势菌为索氏鲸杆菌(*Cetobacterium somerae*),占总丰度的54.83%,该杆菌主要见于淡水鱼类肠道。同时,检出多种具有产毒素潜力的机会致病菌,如产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*, 1.10%)、索德氏副梭菌(*Paraclostridium sordellii*, 3.09%)等,而具有抗



A1、A2. 肝脏;B1、B2. 胰腺(B1中红色箭头指示胰岛);C1、C2. 气管;D1、D2. 肺;E1、E2. 心脏(纵切面);F1、F2. 心脏(横切面);G1、G2. 脾脏(1. 脾小体;2. 脾窦;3. 脾索);H1、H2. 肾脏。在每组图中,子图1为10×;子图2为40×。

A1、A2. Liver; B1、B3. Pancreas (B1. Red arrow: islet); C1、C2. Trachea; D1、D2. Lung; E1、E2. Heart (longitudinal); F1、F2. Heart (transverse); G1、G2. Spleen (1. Splenic corpuscle; 2. Sinus; 3. Cord); H1、H2. Kidney. Magnification: pnael 1, 10×; panel 2, 40×.

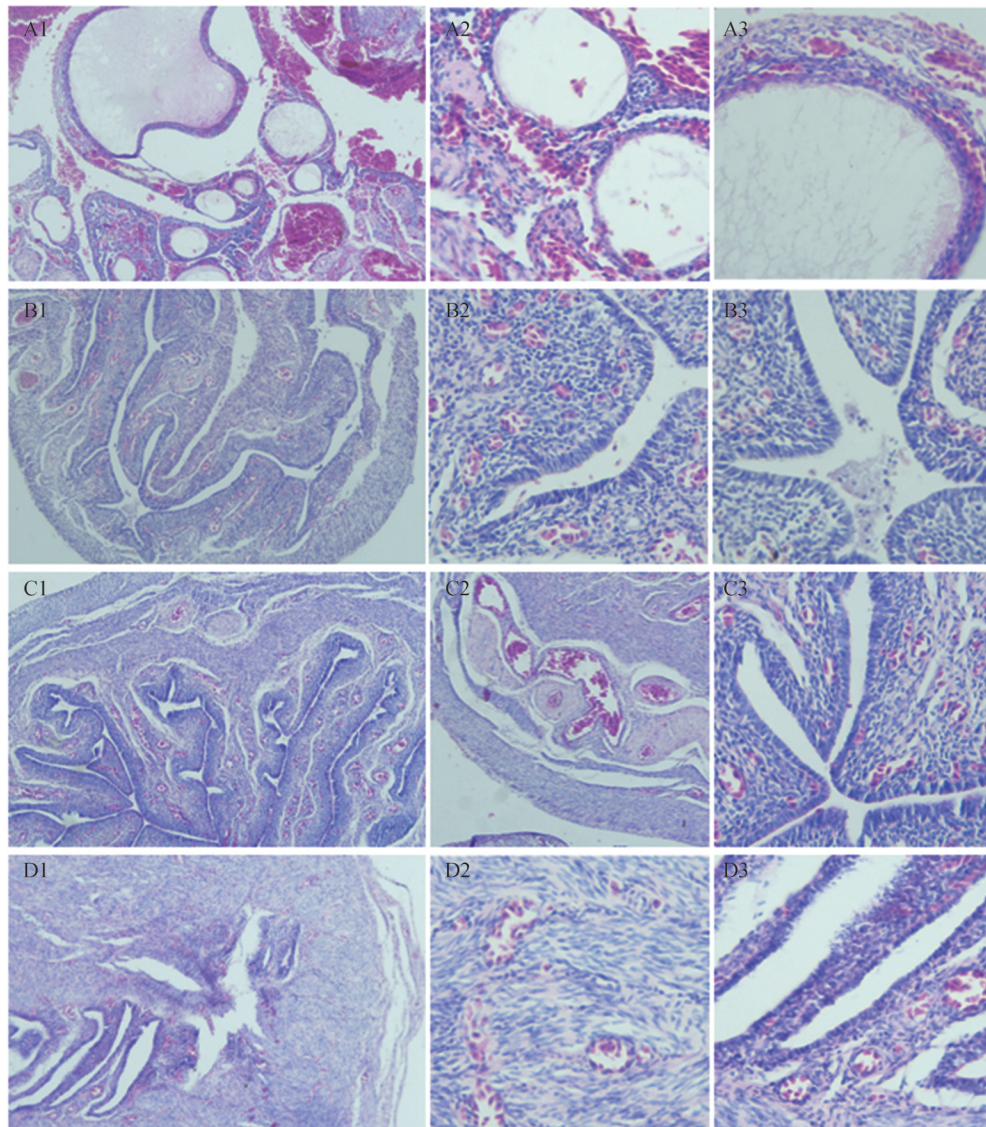
图4 猝死朱鹮的主要内脏器官组织病理学图像(H&E染色)

Figure 4 Visceral organ histopathology of stress-induced death in crested ibis(H&E)

表5 猝死朱鹮主要内脏器官组织病理学观察结果

Table 5 Histopathological sections of major viscera of stress-induced death in the crested ibis

结构 Structure	组织学观察结果 Histological observation	对应图示 Figure panel
肝脏 Liver	肝细胞索排列整齐,中央静脉及门静脉周围结构完整,未见坏死或纤维化;肝窦内红细胞分布均匀,无显著出血或淤血;Kupffer细胞数量正常,无明显增生或聚集	图4A1、A2
胰腺 Pancreas	腺泡和胰岛结构清晰,间质未见明显炎性细胞浸润;胰岛形态规则,未见异常增生;导管未扩张,组织未见出血或坏死	图4B1、B2
气管与肺 Trachea and lung	气管软骨环完整,管腔通畅,无增生;气管黏膜上皮完整,无脱落或溃疡;黏膜假复层纤毛柱状上皮未见明显异常;肺泡结构正常,无肺气肿或塌陷;支气管通畅,肺泡无炎症细胞聚集;肺组织无水肿、出血或毛细血管充血	图4C1、C2,4D1、D2
心脏 Heart	纵切面显示心肌纤维排列规则,无断裂或坏死;心肌细胞致密排列,无水肿或炎症;横切面心肌横纹清晰,间质无炎性细胞或纤维化;心内膜完整,瓣膜无增厚或退行性病变,心肌未见变性或坏死	图4E1、F2
脾脏 Spleen	脾小体数量较少,白髓与红髓结构正常,无明显纤维化或萎缩;脾小体形态正常,无增生或萎缩;脾窦与脾索结构完整	图4G1、G2
肾脏 Kidney	皮质与髓质界限清晰,无实质性病变;肾小管和肾小球结构正常,基底膜无增厚或玻璃样变;肾间质无纤维化,血管壁无增厚	图4H1、H2



A1 ~ A3. 卵巢; B1 ~ B3. 输卵管; C1 ~ C3. 子宫; D1 ~ D3. 阴道; 每组图中, 子图1为10×, 子图2, 3为40×。
 A1-A3. Ovary; B1-B3. Oviduct; C1-C3. Uterus; D1-D3. Vagina. Magnification: panel 1, 10×; panels 2, 3, 40×.

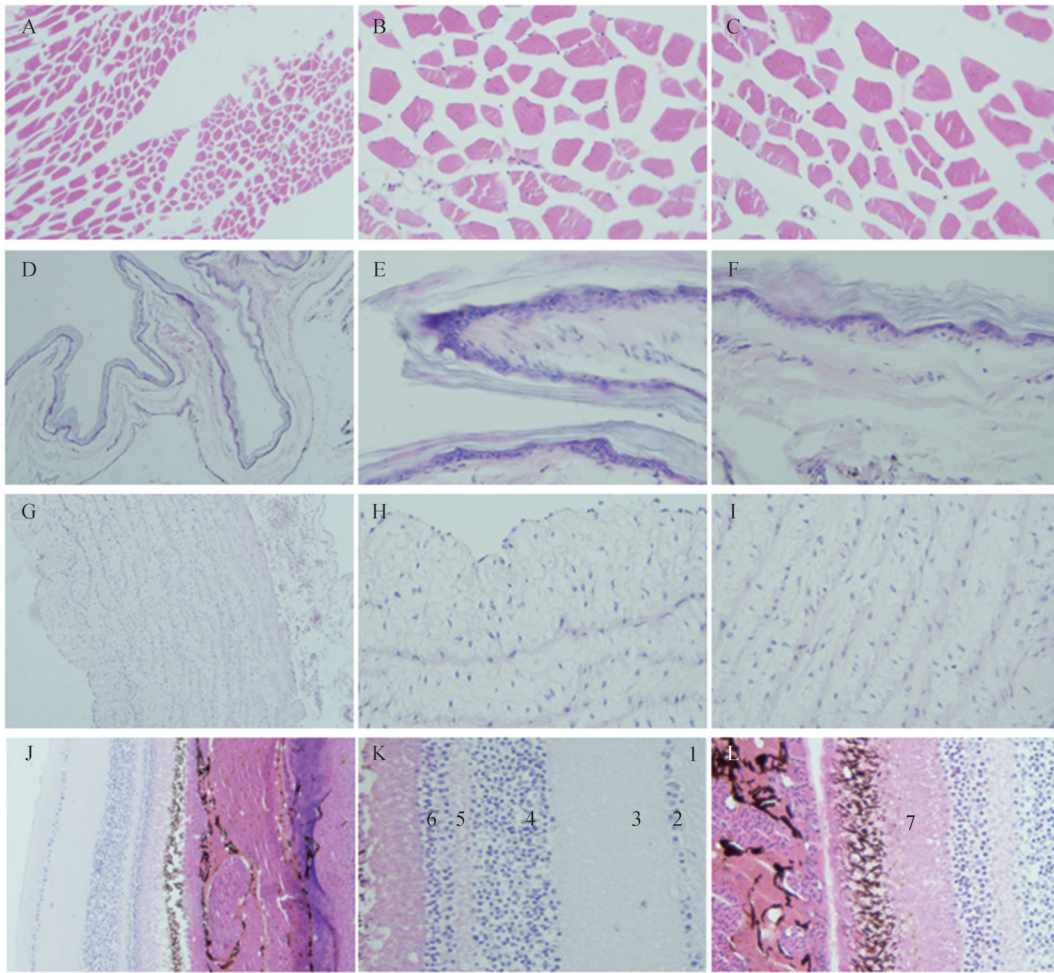
图5 猝死朱鹮生殖系统组织病理学图像(H&E染色)

Figure 5 Reproductive system histopathology of stress-induced death in crested ibis (H&E)

表6 猝死朱鹮生殖系统组织病理学观察结果

Table 6 Histopathological examination of the reproductive system of stress-induced death in crested ibis

结构 Structure	组织学观察结果 Histological observation	对应图示 Figure panel
卵巢 Ovary	卵巢处于未发育状态, 卵泡数量少, 均为早期生长卵泡, 未见成熟卵泡或排卵迹象; 基质疏松, 血管分布正常, 无纤维化或炎性细胞浸润; 卵泡腔结构完整, 未见坏死或异常增生	图5A1 ~ A3
输卵管 Oviduct	黏膜为单层纤毛柱状上皮, 纤毛排列整齐, 无脱落或紊乱; 固有层血管分布均匀, 无扩张或充血; 肌层发育良好, 未见炎性细胞或腺体异常增生	图5B1 ~ B3
子宫 Uterus	子宫壁被覆纤毛柱状上皮, 腺体分布均匀, 无异常增生或萎缩; 基质无炎性细胞浸润, 血管结构完整; 黏膜层无溃疡或炎症细胞聚集	图5C1 ~ C3
阴道 Vagina	阴道管腔结构完整, 内衬复层鳞状上皮, 未见异常角化、糜烂/溃疡或坏死。黏膜固有层/黏膜下层为纤维性基质(纤维性结缔组织), 排列致密, 未见明显炎性细胞浸润	图5D1 ~ D3



A ~ C. 骨骼肌(A, 10×;B,C, 40×);D ~ F. 皮肤(D, 10×;E,F, 40×);G ~ I. 动脉(G, 10×;H,I, 40×);J ~ L. 眼(J, 10×;K,L, 40×);1. 视神经纤维层;2. 神经节细胞层;3. 内丛状层;4. 内核层;5. 外丛状层;6. 外核层;7. 视锥/视杆细胞内外节层。
 A~C. Skeletal muscle (A, 10×; B,C, 40×); D~F. Skin (D, 10×; E,F, 40×); G~I. Artery (G, 10×; H,I, 40×); J~L. Eye (J, 10×; K,L, 40×); 1. Nerve fiber layer; 2. Ganglion cell layer; 3. Inner plexiform layer; 4. Inner nuclear layer; 5. Outer plexiform layer; 6. Outer nuclear layer; 7. Photoreceptor inner/outer segments.

图6 猝死朱鹮骨骼肌、皮肤、血管及眼组织病理学图像(H&E染色)

Figure 6 Histopathology of skeletal muscle, skin, artery and eye of stress-induced death in crested ibis (H&E)

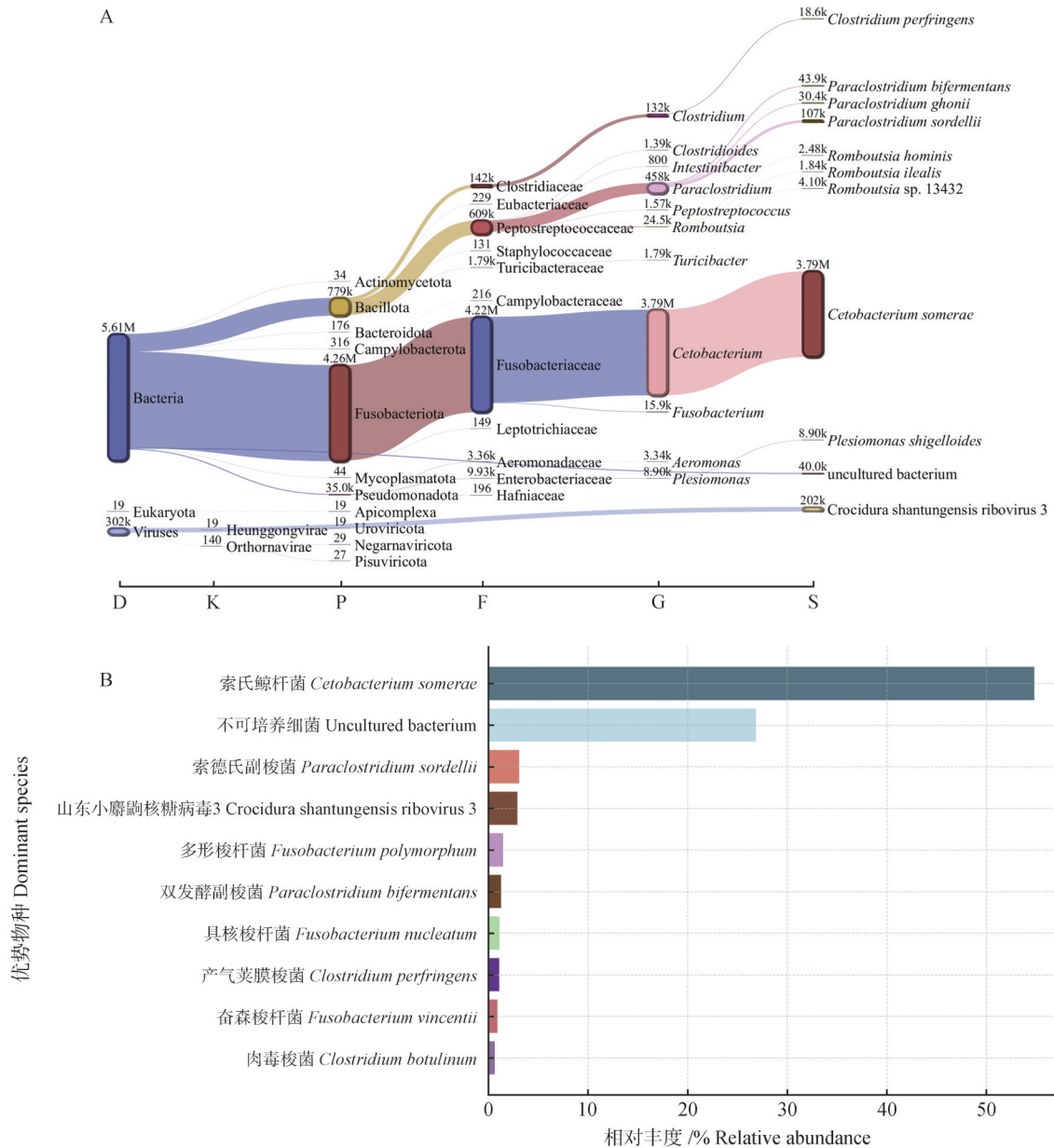
表7 猝死朱鹮其他组织结构组织病理学观察结果

Table 7 Histopathological examination of other tissue structures of stress-induced death in crested ibis

结构 Structure	组织学观察结果 Histological observation	对应图示 Figure panel
骨骼肌 Skeletal muscle	肌纤维排列整齐,肌束完整,未见断裂或坏死;肌纤维横截面呈多边形,结缔组织无增生或炎性细胞浸润;未见空泡变性或肌溶解	图6A~C
皮肤 Skin	皮肤各层结构完整,表皮无角化异常或溃疡;表皮细胞排列紧密,无增生或萎缩,基底膜完整;角质层附着牢固,真皮层未见炎症细胞或出血	图6D~F
动脉 Artery	动脉壁结构完整,管腔通畅,无狭窄或血栓;内皮细胞排列规则,无脱落或坏死;血管壁弹性纤维排列均匀,无玻璃样变性或钙化	图6G~I
眼 Eye	眼球组织结构完整,视网膜各层(视神经纤维层至外核层)结构清晰、排列正常,无变性或坏死;脉络膜血管分布正常,无渗出或出血;玻璃体-视网膜交界区结构完整,未见玻璃体积聚或沉积	图6J~L

炎作用的产丁酸菌(如罗姆菌布茨属 *Romboutsia* spp.)丰度(0.27%)显著低于健康水平。此外,对肠道内容物的定向培养也未检出沙门菌(*Salmonella enterica*)等常见病原菌。综合上述结果,当前病原学证据不支持急性消化道感染性疾病作为本例死亡的主要原因,该类意外死亡朱鹮的肠道菌群总体以鱼

类来源的有益共生菌为主导,而低多样性及梭菌潜在致病菌群的积累及产丁酸菌丰度降低的特征,可能与应激背景下的肠道生态失衡相关(例如摄食下降、肠道动力改变或应激相关因素均可能影响菌群结构)。这一结果为深入研究朱鹮的肠道健康与疾病预防策略提供了重要参考。



A. 分类层级 Sankey 图,基于 Kraken2/Bracken 分类结果与 Krona 报表绘制,从域/界(D/K)到门(P)、科(F)、属(G)与种(S)的分类流程,节点宽度与连线粗细与该进化分支(clade)的相对丰度(剔除 *Nipponia nippon*)成正比; B. 物种水平 Top 10 丰度,条形长度表示各物种相对丰度(taxon reads 占去宿主后总 reads 的百分比)。所有百分比均在去宿主与人源污染后重新归一化。

A. Rank-level Sankey (Kraken2/Bracken, Krona; D/K→P→F→G→S; widths ∝ relative clade abundance after removing *Nipponia nippon*); B. Top-10 species by relative abundance (taxon reads normalized after host/human decontamination). All percentages were renormalized after removal of host and human contaminating sequences.

图 7 猝死朱鹮肠道宏基因组的分类组成

Figure 7 Taxonomic composition of the intestinal metagenome of stress-induced death in the crested ibis

3 讨论与结论

基于对多个朱鹮繁育基地长期现场观察(1990—2024)所记录的频繁猝死事件,并结合本研究对3例猝死个体的影像学、组织病理学及病原学等多维度证据的系统分析,我们认为朱鹮中可能存在一种与急性应激触发相关的猝死表型,可暂定义为应激性猝死综合征。这种应激性死亡现象在中国、日本和韩国多年来建立的十几个人工繁殖种群中都频繁发生,目前难以完全避免。其环境诱因包括人为干扰,如搬迁后新环境刺激、体检、捕捉、访客突发惊扰,以及饲养笼舍外围掠过的猛禽、鼬类入侵/攀爬围栏,甚至台风、雷鸣、闪电等。在野外种群中,也经常观察到朱鹮因撞击电线、树桩、墙体等障碍物而突发死亡的现象^[19]。这些环境压力均能够增加朱鹮应激性猝死综合征发生的风险。

同时,朱鹮的应激性猝死也可能受到个体内在生理特征的影响,如现有朱鹮种群来自最初的7个体,遗传多样性偏低,可能加剧其对应激与环境压力的反应失调。在本研究解剖的3只死亡个体中,除其中一只观察到硬膜下出血,另有两只头面部擦伤外,其他如肠道轻微炎症及屏障受损等方面基本一致,且均未检测到病原微生物、真菌或寄生虫。这些死亡个体均在突发环境刺激后出现相似的行为表现,即受惊—逃逸—撞击,随后于数分钟内迅速倒地死亡。因此,朱鹮的应激性猝死属于特异性应激崩溃,而非由慢性病变或感染性疾病所致。

此外,本研究对应激死亡朱鹮的内脏组织微生态也进行了探索,并对肠道微生物群落的特征进行了解析。总体而言,本例肠道菌群多样性偏低且组成呈明显优势化,以索氏鲸杆菌占据绝对优势(54.83%)。这一鱼类来源的菌群在多种以鱼为食的鸟类肠道中均大量存在,具有产维生素B₁₂与乙酸等代谢潜能,常被视为有益共生菌,这一结果提示了食物对朱鹮肠道微生态的塑造作用。与此同时,样本中检出多种具有产毒素潜力的机会致病菌/条件致病菌,需要强调的是,机会致病菌的检出并不等同于致病,其风险往往取决于宿主屏障状态、肠道环境等因素。本研究同时观察到小肠黏膜局灶性上皮轻度脱落和轻度淋巴组织反应,且具有短链脂肪酸(尤其丁酸)相关的菌群(如*Romboutsia* spp.)丰度相对较低。综合来看,上述低多样性、机会致病菌相对富

集、产丁酸相关菌减少的复合情况提示了肠道微生物稳态与抗炎代谢潜能下降,更符合微生态稳态下降及潜在屏障易损性的表现,而非典型急性肠道感染暴发的直接证据。因而,在缺乏明确感染性致死证据的前提下,朱鹮的应激性猝死更倾向于由急性应激触发的功能性致死通路导致。

从生理机制角度分析,尽管本研究病例心肺组织学所见基本正常,但不能排除以致命性室性心律失常所致的功能性死亡机制。应激触发的交感神经过度激活可在极短时间内引发儿茶酚胺风暴,导致离子稳态与动作电位时程紊乱、钙超载和传导系统不稳定,从而诱发室速/室颤并迅速致死^[20]。当发病至死亡的间隔仅数分钟时,早期心肌损伤往往尚未形成可被常规H&E染色识别的结构改变,这一现象在鸟类病理学研究中也有报道^[21],因而出现极少病变的组织学结果具有一定合理性。肉鸡猝死综合征相关研究^[17]亦提示,应激可显著提升心律失常风险并触发猝死,且个体在应激后数日才出现心肌凋亡等可识别的组织学改变,提示触发事件与形态学证据之间可能存在时间滞后。结合本研究的为时间线(突发干扰—惊飞—碰撞—数分钟内死亡)、影像与组织学所见(颅脑与主要脏器缺乏决定性病灶),交感神经过度激活引发的恶性室性心律失常的机制能够合理解释临床—影像—病理之间的表象不一致性,为朱鹮应激性猝死这一现象提供了更为充分的生理学依据。

值得注意的是,本研究所见朱鹮个体的病理表型与家禽文献中某些应激性猝死的典型表现并不完全一致,这提示两者在致死通路上可能存在物种特异性差异。朱鹮由极小初始种群扩增,群体遗传多态性总体偏贫乏,理论上这将增加应激相关通路(如心肌兴奋—传导、离子通道、交感—肾上腺轴调控)的隐性/有害变异的外显风险。朱鹮在人工饲养条件下频繁发生的猝死事件,或许反映其存在物种特异性的应激生理机制或遗传易感性。因此,我们认为,朱鹮对环境压力的高度敏感性和物种本身的脆弱性,可能是导致其濒危状态、威胁物种长期生存的重要因素之一。

总之,本研究聚焦于朱鹮应激性猝死这一现象,从多学科角度系统剖析其相关的外在和内在诱因。首次开展了组织病理学、影像学及病原宏基因组学等研究,较为系统地建立了相关基础数据,并初步揭

示了朱鹮应激性猝死的潜在机制。我们的研究结果表明,针对朱鹮这一高敏感性物种,无论是人工种群繁殖,还是野外种群的再引入与重建,均应在其饲养条件与栖息地环境管理中充分重视朱鹮应激性猝死发生的可能性。一方面,尽可能降低其环境诱因存在的风险;另一方面,在增加种群数量的同时,需进一步开展深入研究,例如应激相关激素水平的监测,遗传学背景分析等关键工作。为制定更加有效的朱鹮保护管理策略提供科学依据,最终使朱鹮这一物种完全摆脱濒危局面,在自然界中长久生存。

致谢:感谢浙江大学动物教学医院实验平台提供的技术支持。

参考文献:

- [1] YU F Y, SUN Y W, WANG T J, *et al.* Linking the past and present to predict the distribution of Asian crested ibis (*Nipponia nippon*) under global changes [J]. *Integrative Zoology*, 2022, 17(6): 1095-1105.
- [2] LI X H, LU B Z, ZHAI T Q, *et al.* Population viability analysis for the crested ibis (*Nipponia nippon*) [J]. *Biodiversity Science*, 1996, 4(2): 69-77.
- [3] 刘荫增. 朱鹮在秦岭的重新发现[J]. *动物学报*, 1981, 27(3): 273.
LIU Y Z. Recovery of Japanese crested ibis in Qin-Ling range [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1981, 27(3): 273.
- [4] 邱国强, 李瑞, 石坚, 等. 全基因组重测序解析德清朱鹮群体遗传多样性及群体遗传结构 [J]. *生命科学研究*, 2025, 29(2): 123-130;155.
QIU G Q, LI R, SHI J, *et al.* Genetic diversity and structure analysis of Deqing *Nipponia nippon* population based on whole-genome resequencing [J]. *Life Science Research*, 2025, 29(2): 123-130;155.
- [5] LAMPERT R. Behavioral influences on cardiac arrhythmias [J]. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 2016, 26(1): 68-77.
- [6] LIU J Y, HAKUCHO A, LIU X, *et al.* Acute restraint stress provokes sudden cardiac death in normotensive rats and enhances susceptibility to arrhythmogenic effects of adrenaline in spontaneously hypertensive rats [J]. *Legal Medicine*, 2016, 21: 19-28.
- [7] BREED D, MEYER L C R, STEYL J C A, *et al.* Conserving wildlife in a changing world: Understanding capture myopathy—a malignant outcome of stress during capture and translocation [J]. *Conservation Physiology*, 2019, 7(1): coz027.
- [8] MATSUOKA N, ARAKAWA H, KODAMA H, *et al.* Characterization of stress-induced sudden death in cardiomyopathic hamsters [J]. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1998, 284(1): 125-135.
- [9] SAPOLSKY R M, ROMERO L M, MUNCK A U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions [J]. *Endocrine Reviews*, 2000, 21(1): 55-89.
- [10] ZEPPENFELD K, Tfelt-Hansen J, DE RIVA M, *et al.* ESC guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death [J]. *European Heart Journal*, 2022, 43(40): 3997-4126.
- [11] HERMAN J P, MCKLVEEN J M, GHOSAL S, *et al.* Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical stress response [J]. *Comprehensive Physiology*, 2016, 6(2): 603-621.
- [12] MCEWEN B S. Allostasis and allostatic load: Implications for neuropsychopharmacology [J]. *Neuropsychopharmacology*, 2000, 22(2): 108-124.
- [13] YAMAJI M, TSUTAMOTO T, KAWAHARA C, *et al.* Serum cortisol as a useful predictor of cardiac events in patients with chronic heart failure: The impact of oxidative stress [J]. *Circulation Heart Failure*, 2009, 2(6): 608-615.
- [14] 郭彦娇. 朱鹮(*Nipponia nippon*)粪便中类固醇激素的研究 [D]. 北京:北京林业大学, 2013.
GUO Y J. Studies on fecal steroids of crested ibis (*Nipponia nippon*) [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2013.
- [15] 于海悦, 张军风, 邱国强, 等. 朱鹮雏鸟血浆皮质酮水平的日龄变化模式 [J]. *动物学杂志*, 2024, 59(4): 562-569.
YU H Y, ZHANG J F, QIU G Q, *et al.* Variation patterns of plasma corticosterone levels with age in nestlings of crested ibis *Nipponia nippon* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2024, 59(4): 562-569.
- [16] WADA H, SALVANTE K G, WAGNER E, *et al.* Ontogeny and individual variation in the adrenocortical response of zebra finch (*Taeniopygia guttata*) nestlings [J]. *Physiological and Biochemical Zoology*, 2009, 82(4): 325-331.
- [17] OLKOWSKI A A, WOJNAROWICZ C, NAIN S, *et al.* A study on pathogenesis of sudden death syndrome in broiler chickens [J]. *Research in Veterinary Science*, 2008, 85(1): 131-140.
- [18] YU X P, LI X, HUO Z P. Breeding ecology and success of a reintroduced population of the endangered crested ibis *Nipponia nippon* [J]. *Bird Conservation International*, 2015, 25(2): 207-219.
- [19] 庆保平, 叶元兴, 张亚祖, 等. 陕南地区野生朱鹮个体死亡原因分析 [J]. *野生动物学报*, 2022, 43(1): 93-98.
QING B P, YE Y X, ZHANG Y Z, *et al.* Causes of mortality of wild crested ibis (*Nipponia nippon*) in southern Shaanxi [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2022, 43(1): 93-98.
- [20] SETHI P, PEIRIS C D. A review of catecholamine associated cardiomyopathies and channelopathies [J]. *Cureus*, 2020, 12(2): e6957.
- [21] SCHMIDT R E. "Sudden" death in pet birds [C]//7th annual conference proceedings of the association of Avian Veterinarians Australian Committee 1999 annual conference, 23-25 September 1999. Noosa: AAVA, 1999: 133-140.