

湘华鲮外周血细胞形态特征及嗜中性粒细胞吞噬与杀菌能力

邓时铭^① 田兴^① 曾春芳^① 刘丽^① 邹利^① 李传武^{①②*} 蒋国民^{①*}

① 湖南省水产科学研究所 长沙 410153; ② 湖南省水产原种场 长沙 410153

摘要: 采用血涂片、显微测量、血细胞计数及嗜中性粒细胞吞噬功能和氯化硝基四氮唑蓝还原试验方法, 于光学显微镜下观察分析三种水体湘华鲮 (*Sinilabeo decorus tungting*) 外周血细胞形态结构、大小、种类及数量。结果表明, 湘华鲮外周血细胞中有红细胞、血栓细胞、粒细胞、淋巴细胞和单核细胞, 红细胞比例最高, 达 80% 以上, 白细胞中血栓细胞最多, 占 70% ~ 74%。大水面网箱养殖的湘华鲮外周血红细胞数量显著低于水泥池和土池养殖个体 ($0.01 < P < 0.05$), 而白细胞的数量、种类及各类白细胞所占比例较为稳定, 不随养殖方式的变化而发生显著变化 ($P > 0.05$), 但水泥池湘华鲮嗜中性粒细胞的吞噬与杀菌能力较其他两种养殖方式显著下降 ($0.01 < P < 0.05$)。因此, 建议湘华鲮宜在水质良好的流水环境中养殖。

关键词: 湘华鲮; 外周血细胞; 形态特征; 吞噬与杀菌能力

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2020) 06-768-08

Morphological Characters of Peripheral Blood Cells and Phagocytotic, Bactericidal Function of Neutrophils in *Sinilabeo decorus tungting*

DENG Shi-Ming^① TIAN Xing^① ZENG Chun-Fang^① LIU Li^①
ZOU Li^① LI Chuan-Wu^{①②*} JIANG Guo-Min^{①*}

① *Fisheries Research Institute of Hunan Province, Changsha 410153;*

② *The Aquatic Seed Farm of Hunan Province, Changsha 410153, China*

Abstract: *Sinilabeo decorus tungting*, which belongs to Cyprinidae, Barbiniae and *Sinilabeo*, is a large fish and endangered species distributed only in Hunan Province of China. In order to find a suitable culture environment, we studied the characteristics, immunofunctions and impact factors of peripheral hematocytes in *S. d. tungting* under different cultivation conditions (cage culture, cement-pond culture and soil-pond culture) (Table 1). The peripheral blood cells from 30 individuals were examined, classified, counted and photographed under the light microscope by blood smear, the diameters of various hematocytes and their nuclei in shortest and longest axes were measured using routine methods, and the immunofunctions of

基金项目 湖南省科技重点研发计划项目 (No. 2016NK2177) ;

* 通讯作者, E-mail: lichuanwu1219@126.com, 24048576@qq.com;

第一作者简介 邓时铭, 女, 副研究员; 研究方向: 鱼类病害与生态防控; E-mail: dsmjgm@126.com。

收稿日期: 2020-03-30, 修回日期: 2020-09-04 DOI: 10.13859/j.cjz.202006010

neutrophils were detected through phagocytosis test and nitroblue tetrazolium reduction test (NBT). The experimental data were analyzed with SPSS23.0, and the pictures were processed with photoshopCS. The results showed that the peripheral blood cells of *S. d. tungting* could be divided into five types as erythrocytes, thrombocytes, granulocytes, lymphocytes and monocytes, as shown in Fig. 1. The mean size of mature erythrocytes in length \times width was $7.36 \pm 0.58 \mu\text{m} \times 5.16 \pm 0.33 \mu\text{m}$, while the largest blood cell in the peripheral blood cells was monocyte with a mean size of $11.93 \pm 0.86 \mu\text{m} \times 10.16 \pm 0.76 \mu\text{m}$ (Table 2). The red blood cells consist of the largest proportion (over 80%) of peripheral blood cells, whereas the content of thrombocytes in low proportion white blood cells was as high as 70% - 74% (Table 3). Among the three cultivation methods, the red blood cells number in cage culture was significantly lower than that in cement-pond culture or soil-pond culture ($0.01 < P < 0.05$); the number, type and ratio of white blood cells were relatively stable and did not change significantly with cultivation methods ($P > 0.05$, Table 3). In the phagocytosis test and nitroblue tetrazolium reduction test, results showed that the phagocytic percentage and phagocytosis index of neutrophils in cement-pond culture were significantly lower than in cage culture and soil-pond culture ($0.01 < P < 0.05$), and the positive rate of nitroblue tetrazolium reduction test was the lowest ($P > 0.05$). Therefore, the phagocytic and bactericidal ability of neutrophils in cement-pond culture was the worst (Table 4). According to the results of our experiment, *S. d. tungting* is suitable to live in a flowing, good quality water environment.

Key words: *Sinilabeo decorus tungting*; Peripheral blood cells; Morphological character; Phagocytosis and bactericidal function

血液是鱼类体内的一种免疫组织, 主要由血细胞组成, 具有运输氧和二氧化碳、吞噬或粘附异物、分泌免疫因子等功能, 可参与机体的伤口修复、防御等免疫反应 (Passantino et al. 2002, 廖光勇等 2011)。当鱼体生理状况或者外界环境因子发生改变时, 机体内血细胞形态或数量出现改变 (Ellis 1977, 卓玉琛 2007)。因此, 鱼类正常血细胞的种类、数量及功能等指标可间接反映出机体的非特异性免疫能力, 现已广泛用来评价鱼体健康、营养及对环境的适应状况 (Anderson et al. 2010, 甄梦晓等 2017)。目前, 有关鱼类血液及血细胞方面的研究较多, 揭示出不同鱼类之间血液细胞特征与功能存在一定的特异性和差异性 (颜桂利等 1996)。

湘华鲮 (*Sinilabeo decorus tungting*) 属鲤科 (Cyprinidae) 鲃亚科 (Barbinae) 华鲮属, 是中国湖南省境内特有的一种大型鱼类。近几年来, 由于湘华鲮野生资源濒临枯竭, 天然产

量迅速下降, 已成为濒危品种 (卞伟等 2011)。自 2006 年以来, 湖南省水产科学研究所一直致力于湘华鲮引种驯养及繁育等方面的研究, 但由于其适应能力差, 对环境和饵料要求高, 人工驯食与养殖难度大, 易发病等原因 (蒋国民等 2019), 使得湘华鲮这一优良品种难以进入大规模生产养殖, 这可能与湘华鲮的免疫适应性机制有关。因此, 本研究通过观察不同水体湘华鲮外周血细胞, 比较分析研究血细胞种类、数量及部分免疫功能, 阐述其血细胞特征, 以为湘华鲮种质特性、血液学及机体免疫机制方面的研究提供部分参考资料, 为湘华鲮的健康养殖提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用湘华鲮为湖南省水产科学研究所人工繁殖的子一代, 体质健壮, 体表无病理特征, 无畸形, 体重 45 ~ 65 g, 全长 15 ~ 18 cm, 共

30 尾。分别来自养殖和管理模式相同的大水面网箱养殖、室外微流水水泥池养殖和土池养殖三种水体，每水体各 10 尾。三种水体的养殖密度及主要水质情况见表 1。

1.2 实验方法

1.2.1 血液采集及血细胞计数 采血前实验鱼饥饿 24 h，随机捞取 10 尾，MS-222 麻醉，75%酒精消毒尾部，然后用 2 ml 无菌注射器尾静脉采集 10~15 ml 血液，肝素钠抗凝，备用。采用常规方法制作血涂片，每尾 3~5 张，自然干燥，Wright's 染色，Olympus 显微镜下观察、拍照和测量细胞大小，统计分析外周血细胞种类及比例。分别用生理盐水和白细胞稀释液将抗凝血稀释 400 倍，用改良 Neubauer 计数板在光学显微镜下进行红细胞和白细胞计数，每个样品计数 5 次。

1.2.2 嗜中性粒细胞吞噬与杀菌功能试验 参考沈玉清等 (1989) 方法进行嗜中性粒细胞吞噬功能和氯化硝基四氮唑蓝还原试验 (nitroblue tetrazolium reduction test, NBT)。涂片，Wright's 染色，显微镜下观察统计参与吞噬细菌的嗜中性粒细胞个数、吞噬细菌总量及含有蓝黑色颗粒的嗜中性粒细胞数目。计算嗜中性粒细胞的吞噬百分率 (phagocytic percentage)、吞噬指数 (phagocytic index) 和 NBT 阳性细胞百分率 (positive rate of nitroblue tetrazolium reduction test)。吞噬百分率即所计数的 200 个嗜中性粒细胞中参与吞噬细菌的嗜

中性粒细胞数所占的百分比；吞噬指数即所计数的 200 个嗜中性粒细胞所吞噬细菌总数占这 200 个细胞的百分比；NBT 阳性细胞百分率，即 100 个嗜中性粒细胞中含有蓝黑色颗粒的细胞个数。

1.3 数据处理

用 Excel 进行数据统计，数据结果用平均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD) 表示，用 SPSS23.0 软件进行实验数据单因素方差分析 (One-way ANOVA)，差异显著性设置 $P < 0.05$ ，若差异显著，则采用 Duncan 法进行多重比较。照片用 PhotoshopCS 软件处理，同比例缩放图像与标尺。

2 结果

2.1 湘华鲮血液细胞种类与大小

显微镜下可看到，不同水体湘华鲮外周血液均有大量红细胞、血栓细胞、淋巴细胞和嗜中性粒细胞，还有少量单核细胞 (图 1)。拍照、测量不同水体成熟红细胞、血栓细胞、粒细胞等多种细胞的大小，结果见表 2。

2.1.1 红细胞 (erythrocyte) 湘华鲮血液中以成熟红细胞为主。成熟红细胞呈椭圆形，表面圆滑，细胞核为椭圆形，中位。不成熟红细胞为圆形或近似圆形，胞核为圆形，中位。正在分裂的红细胞胞核呈纺锤形，核染色质较为疏松，向两端移动。Wright's 染色，红细胞胞质为淡粉红色，色泽均匀，细胞核呈紫红色，

表 1 养殖密度及水体水质

Table 1 Indicators of water quality and stocking density

指标 Indicator	网箱养殖 Cage culture	水泥池养殖 Cement-pond culture	土池养殖 Soil-pond culture
养殖密度 Stocking density (kg/m ²)	4.5 - 5.0	1.0 - 1.5	1.0 - 1.5
水深 Depth (m)	3.0	1.0 - 1.2	1.5 - 2.0
pH	7.22 - 7.67	6.43 - 6.60	6.74 - 7.08
溶解氧 Dissolved oxygen (mg/L)	5.25 - 7.95	3.70 - 6.53	4.20 - 7.12
氨氮 Ammonia nitrogen (mg/L)	0.020 - 0.060	1.276 - 1.592	0.596 - 0.830
亚硝酸盐 Nitrite (mg/L)	0.005 - 0.027	0.046 - 0.115	0.045 - 0.077
硫化物 Sulfide (mg/L)	0.006 - 0.009	0.059 - 0.103	0.011 - 0.055

着色深, 无核仁 (图 1a)。

2.1.2 血栓细胞 (thrombocyte) 湘华鲮血液中含有大量血栓细胞, 常常多个聚齐一起, 形状各异, 有圆形、梭形和不规则形状, 大小不一。圆形血栓细胞外形与淋巴细胞极为相似, 小于淋巴细胞, 大部分核质呈裸露状, 胞质少; 梭形血栓细胞的胞核与整个细胞形状相似, 核

质比大, 胞核长短径之比大于 2, 胞质较圆形血栓细胞多, 包被在胞核外, 以细胞两端居多; 不规则形态血栓细胞胞核几乎裸露, 胞质很少。Wright's 染色, 染色质紧密, 胞核呈深紫色, 胞质染色浅, 为浅灰白色 (图 1b)。

2.1.3 淋巴细胞 (lymphocyte) 近似圆形或椭圆形, 核大, 位于细胞中央或稍偏于细胞一

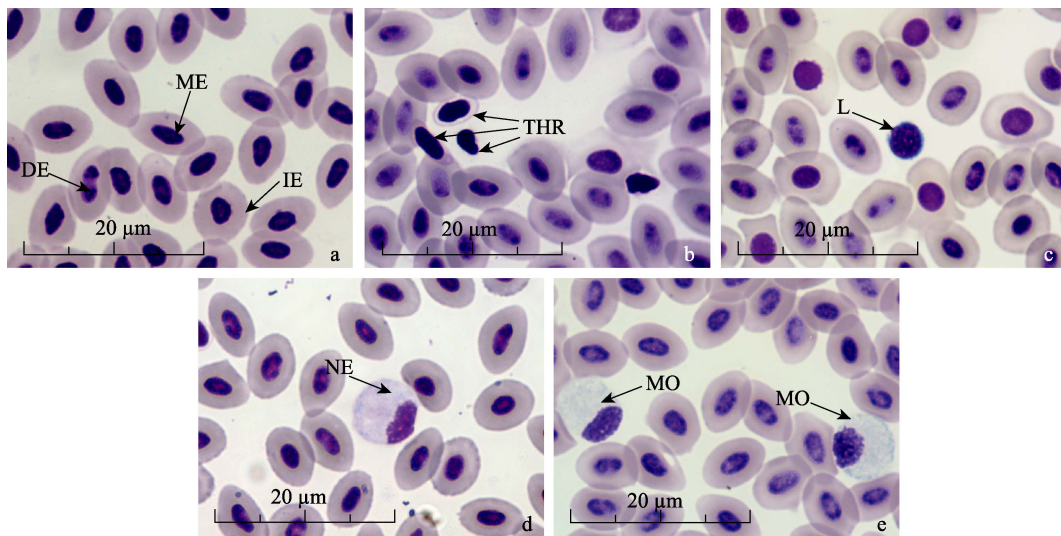


图 1 湘华鲮外周血细胞 Wright's 染色图

Fig. 1 Wright's staining of peripheral blood cells in *Sinilabeo decorus tungting*

a. 成熟红细胞 (ME)、不成熟红细胞 (IE) 和分裂中的红细胞 (DE); b. 血栓细胞 (THR); c. 淋巴细胞 (L); d. 嗜中性粒细胞 (NE); e. 单核细胞 (MO)。

a. Mature erythrocyte (ME), immature erythrocyte (IE) and dividing erythrocyte (DE); b. Thrombocyte (THR); c. Lymphocyte (L); d. Neutrophil (NE); e. Monocyte (MO).

表 2 湘华鲮各种外周血细胞大小

Table 2 Cell and nucleus sizes of various haematopoietic cells in peripheral blood cells of *Sinilabeo decorus tungting*

细胞类型 Cell types	细胞大小 Size of cell (μm)		核大小 Size of nuclei (μm)	
	长径 Major-axis	短径 Minor-axis	长径 Major-axis	短径 Minor-axis
成熟红细胞 Mature erythrocyte	7.36 ± 0.58	5.16 ± 0.33	3.34 ± 0.26	2.22 ± 0.25
淋巴细胞 Lymphoid	5.27 ± 0.29	4.98 ± 0.21	4.13 ± 0.54	3.69 ± 0.62
单核细胞 Monocyte	11.93 ± 0.86	10.16 ± 0.76		
嗜中性粒细胞 Neutrophilic	6.67 ± 0.71	6.09 ± 0.58	4.80 ± 0.51	2.82 ± 0.47
血栓细胞 Thrombocyte	梭形 Spindle	5.02 ± 0.99	2.89 ± 0.48	4.17 ± 0.65
	圆形 Round	3.51 ± 0.53	2.53 ± 0.32	2.05 ± 0.37

侧，甚至占据整个细胞空间，核形状与细胞形状接近，胞质很少。Wright's 染色，胞质为蓝色，绕胞核一周，胞核为紫红色（图 1c）。

2.1.4 嗜中性粒细胞 (neutrophil) 粒细胞中数量最多的一种细胞，细胞呈圆形或卵圆形，边缘圆滑，胞核位于细胞一端，较小，呈半椭圆形或肾型，核质致密，胞质较多，呈颗粒状。Wright's 染色，胞核为紫红色，胞质为淡淡的紫红色（图 1d）。

2.1.5 单核细胞 (monocyte) 外周血细胞中最大的细胞。细胞呈圆形或卵圆形，胞核位于细胞一侧或细胞中部，呈半圆形、肾形、分叶型等，染色质致密，表面有凹凸不平感，Wright's 染色呈紫红色。细胞胞质多，着色不均匀，Wright's 染色呈浅蓝灰色，有的可在胞质中看见不均匀、大小不一的空泡，但无颗

粒感（图 1e）。

2.2 湘华鲮主要血细胞数量及比例

统计分析湘华鲮血细胞，不同养殖水体个体间红细胞数量存在一定的差异，大水面网箱养殖水体湘华鲮红细胞数量显著低于水泥池养殖和土池养殖个体 ($0.01 < P < 0.05$)，水泥池养殖和土池养殖组水体间差异不显著 ($P > 0.05$)。湘华鲮白细胞主要由血栓细胞构成，其次是淋巴细胞和嗜中性粒细胞，还有少量单核细胞。不同养殖水体间白细胞的数量、细胞类型及比例均无显著性差异 ($P > 0.05$ ，表 3)。

2.3 湘华鲮外周嗜中性粒细胞吞噬与杀菌功能

三个养殖水体湘华鲮外周血液中嗜中性粒细胞的吞噬百分率、吞噬指数和氯化硝基四氮唑蓝阳性细胞百分率存在一定的差异性(表 4)。

表 3 各种类型细胞数量及百分比

Table 3 The number and percentage of different blood cells in peripheral blood cells

	细胞类型 Cell types	网箱养殖 Cage culture	水泥池养殖 Cement-pond culture	土池养殖 Soil-pond culture
细胞数目 Cell number	红细胞 Erythrocyte ($\times 10^{12}$ cell/L)	1.18 \pm 0.37 ^a	1.40 \pm 0.15 ^b	1.45 \pm 0.28 ^b
	白细胞 Leukocyte ($\times 10^9$ cell/L)	2.77 \pm 1.42 ^a	3.90 \pm 1.72 ^a	4.30 \pm 2.45 ^a
不同白细胞比例 (%) Percentage of different leukocytes	血栓细胞 Thrombocyte	71.71 \pm 3.84 ^a	70.31 \pm 2.06 ^a	74.11 \pm 3.56 ^a
	淋巴细胞 Lymphocyte	16.16 \pm 0.96 ^a	11.72 \pm 1.02 ^a	13.04 \pm 0.98 ^a
	嗜中性粒细胞 Neutrophil	9.09 \pm 0.26 ^a	10.64 \pm 0.46 ^a	9.60 \pm 0.67 ^a

同行中上标字母不同，表示差异显著 ($0.01 < P < 0.05$)，字母相同，表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

The means with different letters within the same line indicate significant differences ($0.01 < P < 0.05$), and the means with the same letters within the same line show no significant differences ($P > 0.05$).

表 4 湘华鲮外周中性粒细胞吞噬杀菌功能

Table 4 Phagocytic and bactericidal function of neutrophils in peripheral blood cells of *Sinilabeo decorus tungting*

组别 Group	吞噬百分率 (%) Phagocytic percentage	吞噬指数 Phagocytosis index	氯化硝基四氮唑蓝阳性细胞百分率 (%) Positive rate of nitroblue tetrazolium reduction test
网箱养殖 Cage culture	29.40 \pm 1.50 ^a	10.43 \pm 6.78 ^a	31.18 \pm 2.02 ^a
水泥池养殖 Cement-pond culture	17.88 \pm 2.82 ^b	4.36 \pm 4.38 ^b	25.38 \pm 2.54 ^a
土池养殖 Soil-pond culture	30.63 \pm 0.88 ^a	12.52 \pm 2.16 ^a	38.71 \pm 2.31 ^b

同列中上标字母不同，表示差异显著 ($0.01 < P < 0.05$)，字母相同，表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

The means with different letters within the same column indicate significant differences ($0.01 < P < 0.05$), and the means with the same letters within the same column show not significant differences ($P > 0.05$).

大水面网箱养殖组与土池养殖组嗜中性粒细胞吞噬百分率和吞噬指数差异不显著($P > 0.05$), 氯化硝基四氮唑蓝阳性细胞百分率差异显著($0.01 < P < 0.05$)。水泥池养殖组嗜中性粒细胞的吞噬百分率、吞噬指数和氯化硝基四氮唑蓝阳性细胞百分率均为最低值, 与大水面网箱养殖组和土池养殖组比较, 其中吞噬百分率、吞噬指数差异显著($0.01 < P < 0.05$), 氯化硝基四氮唑蓝阳性细胞百分率与大水面网箱养殖组差异不显著($P > 0.05$), 与土池养殖组差异显著($0.01 < P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 湘华鲮外周血红细胞形态大小与数目

哺乳动物红细胞无核、个体小、数量多、携氧功能强, 而较低等的鱼类红细胞有核、个体大、数量少、携氧能力低。因此, 动物红细胞的形态大小与其生态位和适应性息息相关。

正常鱼类血细胞数量都有一个相对稳定的范围, 但受营养、环境等外界理化因素影响, 血细胞的组成和数量会发生变化(杨严鸥等 2006)。本实验三种水体养殖湘华鲮外周血均有红细胞、血栓细胞、粒细胞、淋巴细胞和单核细胞, 红细胞数量多, 占 80% 以上, 有核, 呈椭圆形, 可在外周血中直接分裂。成熟红细胞是仅小于单核细胞的血细胞, 与绝大部分鱼类红细胞比较(Krystan 2015), 体积略偏小。

本实验湘华鲮外周血红细胞含量与王亚楠等(2008)实验结果(0.62 ± 0.11) $\times 10^{12}$ 个/L 有所不同, 可能是检测方法不同, 或是实验鱼个体差异所致。生活不同水体的湘华鲮, 其外周血红细胞数量也存有明显差异, 大水面网箱养殖组的最低。这可能是大水面网箱养殖, 水体溶氧丰富, 养殖密度大, 鱼体活动量少, 无须增加红细胞数量来输送大量生理耗氧(林艳华 2011)。低密度水泥池养殖和土池养殖, 水体溶解氧含量低, 诱导外周血中红细胞增多(黄国强等 2013), 接近鲤鱼(*Cyprinus carpio*)(杨严鸥等 2006)外周红细胞数目, 但显著多于大

水面网箱养殖组, 也较异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)(杨严鸥等 2006)和湘云鲫(Triploid Crucian Carp)(刘巧 2005)多。

湘华鲮通过调节外周血红细胞数量来满足身体机能生理耗氧需求, 以适应外界不同溶氧水平条件, 显示出了机体机能与生存环境的强适应性。与生活同一水层的鲤和鲫鱼比较, 湘华鲮红细胞体积小, 数量多, 血液中红细胞总表面积就大, 呼吸机能就强, 运动量也就大, 表明适宜生活于流水的河流生境(代应贵等 2014), 这与其偏好流水环境的生活习性相一致。

3.2 湘华鲮外周白细胞数量、组成及比例

鱼类白细胞在机体免疫中起着重要作用, 粒细胞、单核细胞等能吞噬和杀伤病原体等异物, 淋巴细胞能参与机体适应性免疫应答等。其数量与比例相对稳定, 只有当机体出现炎症时, 白细胞数目才会增多(Ellis 1999), 白细胞血相才会发生改变(卓玉琛 2007)。因此, 通过测定鱼类血液白细胞数量、组成及比例, 在一定程度上可反映出被测鱼体当时的免疫状态。湘华鲮外周血液白细胞主要由血栓细胞构成, 不同水体实验组白细胞总量及比例基本维持在同一水平, 统计分析无明显差异性, 即与养殖水环境的相关性不大, 也就说明实验湘华鲮机体免疫状态正常。

大量的研究资料表明, 鱼类血栓细胞在数量上是次于淋巴细胞的白细胞(Parish et al. 1986), 而湘华鲮白细胞主要由血栓细胞构成, 淋巴细胞比例大为降低, 淋巴细胞数量少可能会导致湘华鲮适应性免疫应答能力弱, 抵抗力低, 易患病。

3.3 嗜中性粒细胞的免疫功能

嗜中性粒细胞属白细胞, 是鱼体免疫细胞, 能参与机体炎症反应杀灭病原菌, 也可吞噬或吞饮细菌及寄生虫幼虫, 起到免疫防御的功效(Dalmo et al. 1997, Whyte et al. 2006)。因此, 其数量与活性可在一定程度上反映出机体非特异性免疫能力。

三种养殖水体, 水泥池水体浅, 鱼体生活

水层温度较网箱养殖和土池养殖高,可能导致湘华鲮嗜中性粒细胞增加,使得其在白细胞中所占比例略有提升(Pettersen et al. 2005)。但由于水泥池养殖水体小,水温缓冲能力弱,水体自净能力差,氨氮、亚硝酸盐氮和硫化物含量较网箱养殖和土池养殖组高,毒性强,使得长期处于这种环境的湘华鲮对低浓度氨氮、亚硝酸盐氮和硫化物也产生了应激反应,体内产生大量氧化性自由基,从而诱导氧化胁迫(郭慧等 2015,黎庆等 2015,汪蕾等 2016),影响血液吞噬细胞活性,降低吞噬与杀菌能力(Pegg et al. 1995),导致水泥池养殖组嗜中性粒细胞的吞噬百分率、吞噬指数和杀菌能力(氯化硝基四氮唑蓝阳性细胞百分率)显著低于网箱养殖和土池养殖两组,形成免疫抑制(Zhang et al. 2018),对机体免疫机能产生影响(Randall et al. 2002, Pinto et al. 2007)。

综上所述,养殖水体环境对湘华鲮幼鱼外周血细胞数目及免疫功能会产生一定的影响。因此建议湘华鲮宜在水质稳定的流水环境中养殖,以减少应激反应,增强机体的非特异性免疫功能。

参 考 文 献

- Anderson E T, Stoskopf M K, Morris J A, et al. 2010. Hematology, plasma biochemistry, and tissue enzyme activities of invasive red lionfish captured off North Carolina, USA. *Journal of Aquatic Animal Health*, 22(4): 266–273.
- Dalmo R A, Ingebrigtsen K, Bogwald J. 1997. Non-specific defence mechanisms in fish, with particular reference to the reticuloendothelial system (RES). *Journal of Fish Diseases*, 20(4): 241–273.
- Ellis A E. 1977. The leucocytes of fish: a review. *Journal of Fish Biology*, 11: 453–491.
- Ellis A E. 1999. Immunity to bacteria in fish. *fish & Shellfish Immunology*, 9(4): 291–308.
- Krystan R. 2015. Fish hematology and associated disorders. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(3): 681–701.
- Parish N, Wrathmell A, Hart S, et al. 1986. The leucocytes of the elasmobranch *Scyliorhinus canicula* L.—A morphological study. *Journal of Fish Biology*, 28(5): 545–561.
- Passantino L, Altamura M, Cianciotta A, et al. 2003. Fish immunology. i. binding and engulfment of candida albicans by erythrocytes of rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 24(4): 665–678.
- Pegg J R, Balfry S K, Gordon L, et al. 1995. Stress immune function and disease resistance in juvenile salmonids. *Bulletin of the Aquacult Association of Canada*, 95(4): 28–35.
- Pettersen E F, Bjørlov I, Hagland T J, et al. 2005. Effect of seawater temperature on leucocyte populations in Atlantic salmon post-smolts. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 106(1/2): 65–76.
- Pinto W, Aragao C, Soares F, et al. 2007. Growth, stress response and free amino acid levels in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) chronically exposed to exogenous ammonia. *Aquaculture Research*, 38(11): 1198–1204.
- Randall D J, Tsui T K N. 2002. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin*, 45(1): 17–23.
- Whyte S K, Chappell L H, Secombes C J. 2006. Cytotoxic reactions of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, macrophages for larvae of the eye fluke *Diplosornum sphaeum* (Digenea). *Journal Fish Biology*, 35(3): 333–345.
- Zhang M, Li M, Wang R, et al. 2018. Effects of acute ammonia toxicity on oxidative stress, immune response and apoptosis of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* and the mitigation of exogenous taurine. *Fish & Shellfish Immunology*, 79: 313–320.
- 卞伟, 李传武, 梁志强, 等. 2011. 湘华鲮的生物学特征及资源动态研究. *水生态学杂志*, 32(4): 67–73.
- 代应贵, 岳晓炯, 尹邦一. 2014. 濒危鱼类稀有白甲鱼外周血细胞特征. *动物学杂志*, 49(6): 875–885.
- 郭慧, 冼健安, 王安利. 2015. 亚硝酸盐对凡纳滨对虾血细胞毒性及 p53 基因表达的影响. *水生态学杂志*, 36(2): 61–67.
- 黄国强, 李洁, 柳意樊. 2013. 不同溶氧水平对褐牙鲈幼鱼呼吸行为和血液指标的影响. *广西科学*, 20(1): 54–58.
- 蒋国民, 邓时铭, 邹利, 等. 2019. 湘华鲮一种急性细菌性肠炎的病源分离及组织病理研究. *中国预防兽医学报*, 41(9): 906–910.
- 黎庆, 龚诗雁, 黎明. 2015. 慢性氨氮暴露诱发黄颡鱼幼鱼谷氨酰胺积累、氧化损伤及免疫抑制的研究. *水产学报*, 39(5): 728–734.

- 廖光勇, 区又君, 李加儿. 2011. 波纹唇鱼血细胞显微结构和血液生化指标. 海洋科学进展, 29(3): 379–385.
- 林艳华. 2011. 鱼类血液学指标的影响因素. 安徽农业科学, 39(1): 8657–8659.
- 刘巧. 2005. 不同倍性鱼类血细胞研究. 长沙: 湖南师范大学硕士学位论文, 11–12.
- 沈玉清, 高德华, 王淑娟. 1989. 免疫学与免疫检验学. 北京: 中国医药科技出版社, 131–133.
- 汪蕾, 张秀霞, 郑佩华, 等. 2016. 硫化物胁迫对凡纳滨对虾血细胞抗氧化酶基因表达的影响. 四川动物, 35(6): 884–888.
- 王亚楠, 许宝红, 葛熹凯, 等. 2008. 湘华鲮血液生理生化性状的初步研究. 内陆水产, (4): 41–43.
- 颜桂利, 黄键, 江道提, 等. 1996. 四种脊椎动物血细胞亚显微结构的比较观察. 解剖学报, 27(1): 100–103.
- 杨严鸥, 余文斌, 姚峰, 等. 2006. 5 种鲤科鱼类血细胞数量、大小及血清生化成分的比较. 长江大学学报: 自科版, 3(2): 159–164.
- 甄梦晓, 邢婧, 绳秀珍, 等. 2017. 迟缓爱德华氏菌感染和疫苗免疫后牙鲆的血细胞数量变化. 中国海洋大学学报, 47(3): 34–42.
- 卓玉琛. 2007. 欧洲鳗鲡败血症病理学和组织化学的研究. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 5–6, 19–20.

中国黑头蝮形态补充描述

Extended Description of the Morphological Characters of *Azemiops feae* Occurring in China

杨典成^{①②} 黄松^{①②*}

① 安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000; ② 黄山诺尔生物多样性研究所 黄山 245000

黑头蝮 (*Azemiops feae*) 中文名原称为白头蝮, 是 George Albert Boulenger 于 1888 年依据缅甸北部克钦邦克钦山 (Kachien Hills, Burma = Kachin Hills, Myanmar) 1 号雄性标本 (MSNM 30891) 订名, 并以该种建立白头蝮属 (*Azemiops*)。Boulenger (1896)、Bourret (1936)、Pope (1935) 和 Smith (1943) 认为白头蝮属隶属蝮亚科 (Viperinae)。Liem 等 (1971) 根据黑头蝮头部骨骼及毒器的解剖特征, 认为黑头蝮兼有蝮亚科与蝮亚科 (Crotalinae) 二者的特点, 是蝮科 (Viperidae) 演化主干上分化出蝮亚科和蝮亚科之前的一支管牙类毒蛇, 白头蝮属代表了蝮科的原始类型, 并依此以白头蝮属为模式另立一新亚科, 即白头蝮亚科 (*Azemiopinae*), 与蝮亚科及蝮亚科共隶于蝮科。白头蝮亚科仅辖白头蝮属 1 属, 2013 年之前, 本属仅辖黑头蝮 1 种。Orlov 等 (2013) 比较了不同地理分布的黑头蝮的外部形态 (头背颜色和鳞片)、头部和椎骨骨骼及生态学的差异, 认为黑头蝮实际包括两个种, 即包括黑头蝮并命名了另外一种 *A. kharini*。蔡波等 (2015) 将头背白色的 *A. kharini* 中文名冠以白头蝮, 将头背黑色的 *A. feae* 中文名改称为黑头蝮。

(下转第 796 页)

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31471968);

* 通讯作者, E-mail: snakeman@ahnu.edu.cn, snakeman@sinoophis.com;

第一作者介绍 杨典成, 男, 博士研究生; 研究方向: 两栖爬行动物学; E-mail: snakeboy@sinoophis.com.

收稿日期: 2019-10-11, 修回日期: 2020-03-17 DOI: 10.13859/j.cjz.202006017