

# 小型鲸目类动物尸检和样本采集方案

S. Platto<sup>1, 2</sup>, 薛彤彤<sup>2</sup>, 周晋峰<sup>2</sup>, 肖青<sup>2</sup>, 唐玲<sup>2</sup>, 张永飞<sup>2</sup>, 杨晓红<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 中国生物多样性保护与绿色发展基金会生物与科学伦理委员会, 北京, 中国

<sup>2</sup> 生物技术系, 生命科学学院, 江汉大学, 武汉, 中国

**摘要:** 鲸目类动物种群在全球范围内日益减少。包括黄海、东海和南海在内的地理区域, 被认为是鲸目类动物丰富度和多样性水平较高的海洋地区。鲸目类动物搁浅数据可以提供有关物种发现和/或多样性的基线信息, 而无需进行昂贵的实地调查工作。根据搁浅的数据, 人们可以进行科学研究、制定保护行动和管理策略。与其他国家相比, 中国还没有一个全国性的鲸目类动物搁浅信息网络, 这种网络将会使收集鲸类动物搁浅信息更为有效。此外, 制定所有研究团队都可以使用的尸检方案, 也有助于更加可靠地进行样本收集和共享。本文的目的是为提供一个详细的小型鲸目类动物尸检和样本采集方案, 该方案是从过去案例的宝贵观点中总结得出的。

**关键词:** 尸检, 样本, 采集, 鲸目类动物, 方案。

S. Platto, 薛彤彤, 周晋峰, 肖青, 唐玲, 张永飞, 杨晓红. 小型鲸目类动物尸检和样本采集方案. 生物多样性保护与绿色发展. 第1卷第10期. 2022年9月. ISSN2749-9065

## 1. 引言

包括黄海 (朝鲜半岛与中国东部沿海之间的分界线)、东海 (位于中国大陆以西、韩国以北、日本西南部以东、中国台湾以南) 和南海 (从台湾海峡到中国马六甲海峡) 在内的地理区域被认为是鲸目动物丰富度和多样性水平较高的海域 (Wang, 2011)。大多数鲸目动物物种的区域状况数据仅限于零星的搁浅记录 (Hao et al., 2011; Wang, 2011)), 只有少数物种在沿海水域进行了科学调查, 其中最著名的是中华白海豚 [*Sousachinensis*] (Wang et al., 2007; Zhou et al., 2007;

Huang et al., 2012; Jutapruet et al., 2015)。然而，由于这些海洋地理区域周边国家的人口迅速增长和经济发展，通过各种各样的人为因素，包括有针对性的开发造成的直接死亡、副渔获物和船只碰撞，以及生境破坏、猎物耗竭、化学和噪音污染等间接因素的影响，更为加剧了沿海鲸目动物种群的生存压力 (Wang and Han, 2007; Marcotte et al., 2015)。从 1997 年到 2016 年，在黄海、东海和南海进行的鲸目动物搁浅调查中，记录到的搁浅动物个体总数分别为 55 头、99 头和 1784 头 (Song 2016; Lin et al, 2019; Liu et al, 2018)。这些动物搁浅事件包括南海的 23 头齿科动物和 6 头须鲸，而在黄海和东海，73% 的搁浅动物包括小须鲸 (Balenoptera acutorostrata: 43 只)、江豚 (Phocaena asiaorientalis: 43 只)，剑齿鲸 (Mesoplodon stejnegeri: 15 只) 和普通海豚 (Delphinus delphis: 11 只) (Song, 2016; Lin et al, 2019; Liu et al, 2018)。鲸目动物搁浅数据可以提供有关物种发现和/或多样性的基线信息，而无需进行昂贵的实地调查工作，尤其是在研究较少的水域 (Meirelles et al, 2009; Pyenson, 2011)，这从而增加了人们有关鲸目动物死亡、饮食、形态和遗传学等方面的知识 (Arrigoni et al, 2011; Milani et al, 2017)。根据搁浅的数据，人们可以进行科学研究、制定保护行动和管理策略 (Macleod et al, 2004; Obusan et al, 2016)。由于无法完全记录动物搁浅事件，因此很难获得鲸目动物搁浅的全面总结 (Macleod et al, 2004; Lopez et al, 2002; Öztürk et al, 2011)，从而导致时空分析结果存在不可避免的偏差 (Silva and Sequiera, 2003; Arrigoni et al, 2011; Macleod et al, 2004; Lopez et al, 2002)。鲸目动物搁浅的空间格局取决于多种因素的组合，包括鲸目动物的分布、数量、它们的猎物、死亡原因 (例如自然因素和人为因素) 以及影响尸体是否到达海岸的洋流和风向。许多国家在该方面已作出长期努力，建立了搁浅报告制度、救援网络和 (或) 搁浅数据库。世

界许多地方也都建立了鲸目动物搁浅网络 (IWDG, 2016; Macleod, et al, 2004; Leeney et al, 2008; Peltier et al, 2014; Silva and Sequeria, 2003; Thompson et al, 2013; Meirelles et al, 2009; Milani et al, 2017; Öztürket al, 2011; McLellan et al, 2002; Pyenson, 2010; Nemiroff et al, 2010; Kemper et al, 2005; Kemper et al, 2008)。然而, 与这些国家相比, 包括中国在内的许多亚洲国家在获取鲸目动物搁浅信息方面所做的努力较少。因此, 目前对于亚洲水域鲸目动物的种类、多样性、分布格局、生存状况以及对这些顶级捕食者的生存威胁还没有很全面的了解, 这给该地区鲸目动物的进一步研究、保护和管理都带来了一定的困难 (Wang et al, 2015; Zhao et al, 2017)。1990年, 在中国香港附近水域建立了鲸目动物搁浅水域监测网络, 自2006年以来, 该网络已变得更加系统化 (Parsons et al, 1995; OPCFHK, 2016)。自1994年以来, 中国台湾也一直保持着鲸目动物搁浅记录 (Chou et al, 1995; TCSD, 2016)。2015年, 一个在线鲸目动物搁浅数据库建成 (DCSRHI, 海南岛周边鲸目动物搁浅记录数据库), 以记录海南岛和南海北部地区的鲸目动物搁浅事件 (DCSRHI, 2016; Zhang et al, 2016)。目前还缺乏包括中国周边海盆在内的搁浅系统数据库, 以及统一的鲸目动物尸检和样本采集方案。本文旨在借鉴现有国际方案的优点, 来制定一套系统的小型鲸目动物尸检和样本采集方案, 以用于中国鲸目动物搁浅事件的研究 (Duignan, 2000b; Kemper, unpublished; Rowles et al, 2001; IJsseldijk and Brownlow, 2018; Kuiken and GarciaHartmann, 1991; Mazarioland Centelleghé, 2007)。

## 2. 大体尸检方案

标准化尸检的目的是为了确定死因和收集基本的生物学数据, 如健康状况、疾病、搁浅个体的生物学数据, 同时也可以了解搁浅胴体的暴露程度、生物毒素、

化学污染物、病原体、噪音以及其他环境因素对其健康状况的影响，以供管理研究使用（Rowles et al, 2001）。

虽然已知的与鲸目动物有关的人兽共患病很少，但一些人兽共患疾病可能仍然不为人所知，因此如果人一旦感染，很可能难以诊断和治疗。在已知的人兽共患病中，丹毒丝菌是最为著名的，它是导致“海豹指”或类丹毒的常见原因，而且感染人体的渠道是通过皮肤破损（Dunn et al 2001）。支原体和弧菌也是目前已知的会从鲸目动物传染给人类的病原体（Dunn et al 2001）。此外，下列海洋哺乳动物所携带病菌也有可能感染人类（Duignan 2000a, Duignan 2000b）：

- 沙门氏菌（海豹）；
- 布鲁氏菌（海豹）；
- 在鲸目动物中还未发现分支杆菌（海豹）的报道，但是已经发生了从海豹到人类的传播；
- 鲸目动物中的海洋分支杆菌（Dunn et al 2001）；
- 甲型流感（海豹）港海豹- 人类结膜炎；
- 海豹痘病毒（痘病毒）北半球- 皮肤损伤/皮肤机能障碍；
- 杯状病毒，有广泛的宿主范围和潜在突变 - 水疱性皮肤病；
- 原虫 - 贾第虫、隐孢子虫，有广泛的宿主范围且会引起胃肠道疾病。

与采集样本有关的安全预防措施一般包括基本卫生以及尖锐物体周围的安全性防护（Dunn et al 2001）。

因此，进行胴体尸检的人员须配备合适的安全防护装备，以避免污染。

## 2.1. 形态测量学

应收集所有海洋哺乳动物尸体的标准形态学和描述性数据。这些数据有助于物种识别、年龄估计和身体状况。为了解释污染物对海洋哺乳动物造成的负担和影响，以及为确定所患疾病和死亡事件的流行病学解释，需要确定动物的身体状况、年龄等级和生殖类别（Rowles et al, 2001）。

### 2.1.1 胴体状况评分系统

通过沿动物的背轴查看，可以评估该动物的营养状况。较为健壮的动物背鳍两侧的背肌块（轴向肌肉）呈圆形或凸形。而消瘦动物的后臀围会略有减少，且背侧身体可能会凹陷。瘦弱的动物会损失较大的内侧肌肉，并且会在背侧身体处凹陷。消瘦的动物在颈背上也可能会有更明显的凹痕（Rowles et al, 2001; Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

对动物尸体的外部评估旨在记录尸体表面任何不规则/反常现象，例如尸体表面是否有伤痕、其位置、部位肿胀程度、孔口分泌物、眼睛凹陷程度、较明显的脊椎突起、颈部凹陷以及粘膜是否干燥或出血。该评估应通过使用摄影来进行。照片应当尽可能地与拍摄对象成直角，并需使用背板（Duignan, 2000b）。以下图片对于物种、性别和性别分类的识别至关重要：

1. 整个动物的左右侧视图；
2. 尾部测量；
3. 背鳍测量；
4. 头部从左侧到右侧测量；
5. 自头顶测量；

6. 牙齿；
7. 整个腹部；
8. 生殖器裂口、肛门、脐部（三处完整一体测量）；
9. 疤痕、伤口、受伤部位、其他异常；
10. 左右鳍部；
11. 外部寄生虫（若有的话：检查凹陷处和孔口）；
12. 解剖过程中的任何其他病变；
13. 应对胴体状况所有阶段的牙齿计数。从前到后计数牙齿，并按顺序记录任何缺失的牙齿。注意是否未长出的牙齿。应当对左右上颌和下颌的牙齿进行计数（Kemper, unpublished）。

此外，Geraci 和 Lounsbury（1993）开发了标准的动物胴体状况评分系统，该系统可以根据胴体状况确定可以收集哪些样本。评分系统基于从 1 级（活着的/有效的）到 5 级（木乃伊化的/尸体干瘪）的 5 个分级。在 48 小时后，或是在更温暖的气候中，尸体便可能会处于 4 级状态。因此，最为重要的是只从足够质量的动物尸体中采集样本，以便进行适当的分析（Duignan, 2006b; Mazzariol and Centelleghé, 2007）。胴体状况评分系统具体如下：

- 1 级：活着的/刚刚死亡；
- 2 级：（胴体完好）－ 身体有新鲜的气味，眼睛清澈，没有肿胀。舌头和阴茎未突出。脂肪紧实而白净，肌肉紧实，呈暗红色且轮廓分明。大脑坚固，肠内气体很少；
- 3 级：（虽然有腐烂，但器官完好无损）－ 身体可能出现肿胀，舌头和阴茎

突出。尸体散发出轻微的气味，粘膜干燥。眼球可能会萎缩或消失，脂质血液可能会微染或含油，肌肉可能会变得柔软且轮廓模糊。血液可以被溶解，器官柔软、易碎、有斑点，但仍然完好无损。肠道被气体扩张，大脑仍然可以呈现出明显的表面特征，但是它同样具有柔软和易碎的一致性，且呈红色；

4级：（状况较差-高度腐烂）尸体腐烂，皮肤脱落，散发出强烈的气味。脂肪很柔软，可能有气泡或油泡，肌肉液化或很容易撕裂，可能会脱离骨骼。血液稀薄，呈黑色，器官仍然可以辨认，但非常脆弱，容易撕裂，难以发现。肠道充满气体，大脑柔软，像布丁一样，暗红色，还有气囊；

5级：（已及木乃伊化或已变成骨骼化的残骸）- 皮肤可能会覆盖在骨骼残骸上，但剩下其余的组织都已脱水干瘪（Geraci and Lounsbury, 1993）（图1）（表1）。



图 1：胴体状况评分系统从 1 级（活着的/刚刚死亡）至 5 级（已及木乃伊化或已变成骨骼化的残骸）（图片来自：IJseldijk and Brownlow (2018), Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University）

样本采集	1	2	3	4	5
分诊、治疗和后续研究的临床资料	+				
测量和形态描述	+	+	+	?	
照片/说明	+	+	+	+	+
皮肤置于乙醇或饱和盐/有或没有二甲	+	+	+	+	?



基亚砷					
10%的福尔马林缓冲液中进行活组织检查	+	+	+		
将血液置于 EDTA、F10x、LiH 和普通试管中——最好进行两次	+				
运送介质中的受影响部位拭子并冷冻	+	+			
冷冻受影响的组织(取 2cm <sup>3</sup> 置于无菌容器中)		+	+		
冷冻无污染的鲸脂、肌肉、肝脏、肾脏(用于病毒学、毒理学、脂肪酸、稳定同位素和激素分析)		+	+		
将安乐死时的心脏血液置于 EDTA、F10x、LiH 和普通试管中		+	+		
大体病理描述		+	+	?	
所有器官和病灶边缘小于 1 厘米的切片置于 10 倍体积的 10%缓冲福尔马林中		+	+		
寄生虫: 酒精(外部)、淡水、酒精/		+	+	+	

福尔马林（内部）					
胃和胃内容物（用于饲料分析和毒理学分析）		+	+	?	
粪便（用于寄生虫学和激素分析）		+	+		
骨骼样本、牙齿		+	+	+	+
鼻塞、眼睛		+	+		
生殖器官		+	+		
头部（用于 MRI 或 CT 扫描下的听觉检查）- 需要手动摘除且不能使用电锯；或采用原位耳朵摘除术（适用股骨头关节分离器），通过“圆窗”使用注射器将其固定在福尔马林中。若条件不允许，则建议将整个耳骨浸于福尔马林中		+	+		

?= 次要的。样本的收集取决于胴体的状况。

表 1: 根据胴体状况评分系统, 在不同的腐烂阶段从胴体中收集样本( Kemper unpublished; Geraci and Lounsbury, 1993; Duignan 2000b )。

### 2.1.2. 胴体测量

胴体的测量只针对尸体状况进行, 仅对级数为 1 级至 4 级的进行测量( Geraci and Lounsbury, 1993; Rowles et al, 2001 )。

1. 总长度：从上颚尖端到尾鳍缺口最深处；
2. 上颚顶端至眼睛中央；
3. 张口长度（上颚至嘴角）；
4. 上颚尖至鼻孔；
5. 翼尖上颚至前翼插入部分；
6. 上颚顶端到背鳍顶端；
7. 上颚顶端至肛门中心；
8. 最大周长（测量的是全部周长并非一半，需将其加倍）；
9. 鳍状尖端到前端的插入部分；
10. 鳍状肢最大宽度；
- 11.尾鳍尖部至尖部；
12. 尾鳍缺口深度；
- 13.背鳍顶端至基部（图2）。

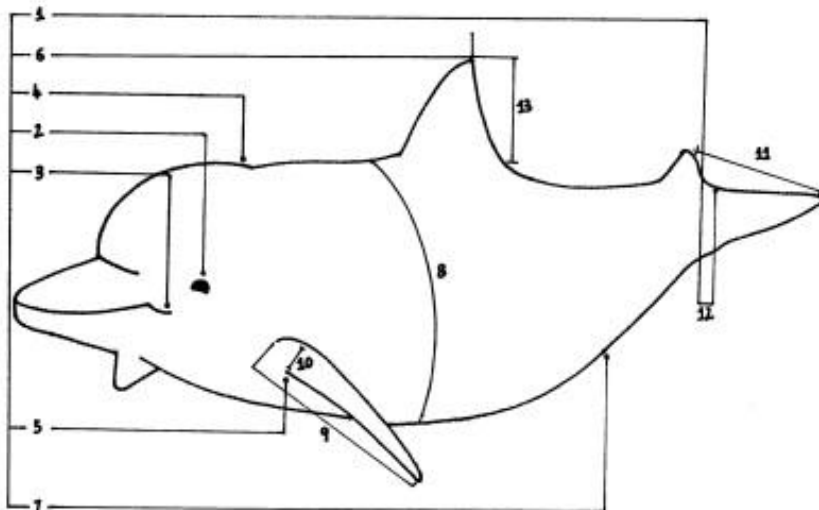


图2：身体测量（GiorgiaSeleliadis）

其他测量信息还包括体重,是否存在“咽喉沟”、“舌头羽毛”和“鼻毛”(Rowles et al, 2001)。

鲸脂在不同位置的厚度测量能确定动物营养状况的重要信息。可以根据图 3 中的图表测量鲸脂。从皮肤底部到肌肉表面切开。用游标卡尺测量鲸脂,以毫米为单位,精确到 0.1 毫米 (Rowles et al, 2001; Evans et al, 2003)。可截取与皮肤表面成直角的横切条,宽度和长度均为 20 厘米,位于背鳍尾侧插入处,采集后进行有机氯分析 (Kuiken and GarciaHartmann, 1991)。

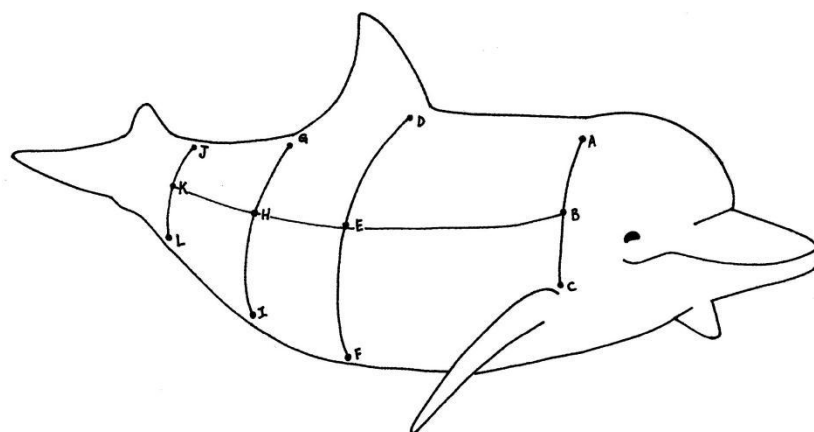


图 3: 鲸脂解剖区域及测量 (GiorgiaSeleliadis)

### 2.1.3. 性别和年龄确定

性别和年龄确定的部分是来自于 Mazzariol 和 Centelleghé 的方案 (2007)。为确定一条小鲸的性别,需检查动物的腹侧中线。雄性和雌性鲸目动物在肚脐和肛门之间都有生殖器部位。对雌性鲸目动物来说,肛门开口中心与生殖器裂缝之间的距离一般应小于 10 厘米。而对于雄性,肛门和生殖器裂缝之间的距离要大得多。在大多数雌性鲸目动物的生殖器裂缝两侧可以看到一条较短的乳腺裂缝,尽管一些雄性也可能具有这一特征。性别的最终确认将始终是内部检查的结果

( Mazzariol and Centellegh, 2007 ) ( 图 4 )。

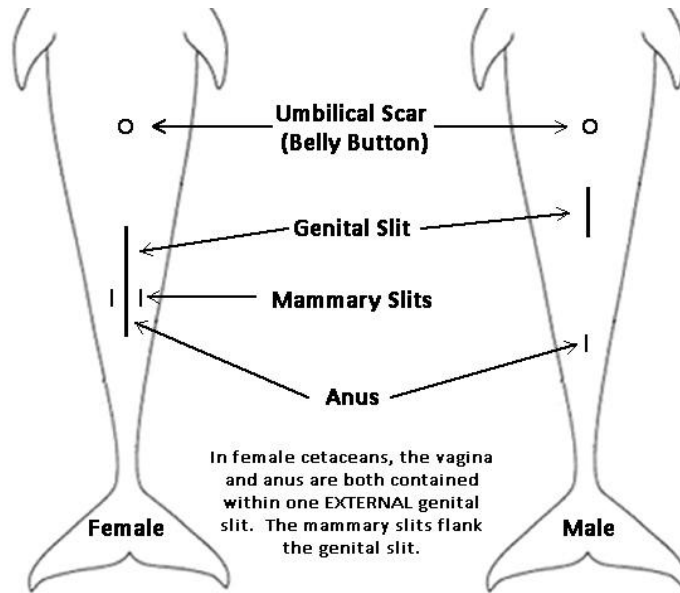


图 4: 鲸目动物性别判定 (MMAPL.ucsc.edu- Cetacean gender ID)

年龄预估对于了解特定物种的基本生物学特征非常重要。可以通过不同的参数来评估年龄，例如牙齿的磨损程度、肤色、颅骨缝隙的融合、体型（长度）或生殖参数 (Rowles et al, 2001)。在物理参数中，长度无疑有助于确定估计年龄。平均长度首先允许区分该动物是新生动物还是成年动物。仅出生几天的新生动物可以通过出现舌乳头和肚脐特征来进行鉴别 (Duignan, 2000b)。介于成年动物和新生动物之间的中间长度动物可将其归类为年轻动物。最后，老年动物的特征与成年动物相当，与躯干肌肉萎缩以及牙齿缺失或过度磨损有关。此外，还可以根据沉积在几种持久性组织（主要是牙齿，很少是骨骼）中生长层的数量来估算年龄 (Geraci and Lounsbury, 2005; Mazzariol and Centellegh, 2007)。

## 2.2. 胴体解剖

胴体解剖方案是基于几个现有方案的不同点，例如：来自 Duignan (2000b)、Kemper (unpublished)、Rowles et al (2001)、IJseldijk and Brownlow (2018)、Kuiken

和 GarciaHartmann (1991)、以及 Mazariol&Centellegh (2007)的不同解剖方案。

在开始解剖动物之前,记录任何体外寄生虫的存在并将其收集以进行进一步分析是尤为重要的。它们最有可能出现在胴体的开口处或附近部位,紧挨着鳍和尾鳍 (Kuiken andGarciaHartmann, 1991)。检查口腔 (包括牙齿、舌头和颊腔)、眼睛、耳朵、开口处、鼻孔、肛门、生殖器缝隙和乳腺缝隙,以检查病变和任何分泌物。为明确乳腺中存在的任何液体,在尾端方向对颅骨的乳腺缝隙区域进行按摩。若可以将液体压出,请取样进行有机氯分析 (请参阅“样本收集和储存”部分)。注意液体的体积、稠度和颜色 (Kuiken and GarciaHartmann, 1991)。

尸体的第一个切口应位于腹侧中线,动物在右侧,从下颌骨联合处到肛门绕过生殖器裂口和肛门的后一小段距离 (Duignan, 2000b)。自腹侧切口的后端和前端在背侧中线处做第二个切口。去掉最上面的皮肤和油脂 (Kuiken and GarciaHartmann, 1991) (图 5)。必须检查鲸脂是否有寄生虫囊肿,记录囊肿的数量,然后收集并放置在淡水中。这些可能发生的直径小于 1 厘米的白色囊肿,通常位于生殖器外区或胸壁背侧 (Kuiken and GarciaHartmann, 1991; Pugliares et al, 2007)。

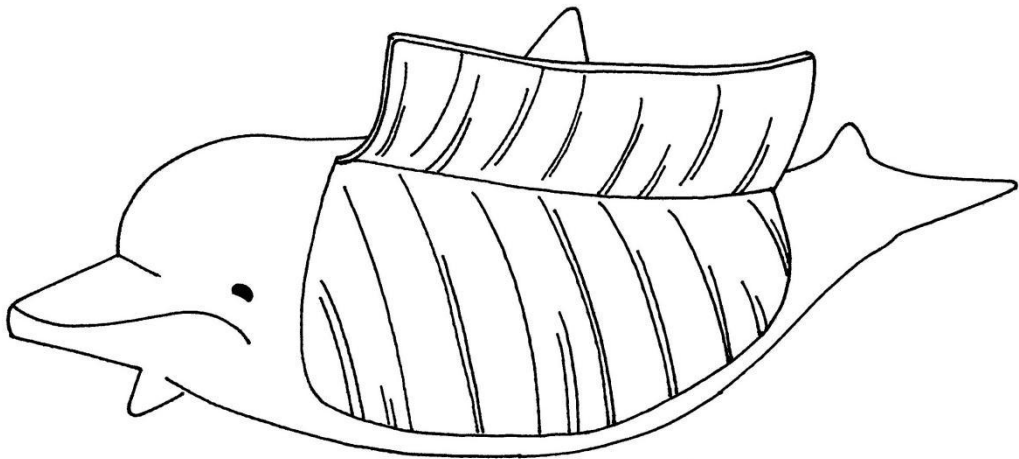


图 5: 胴体解剖 (GiorgiaSeleliadis)

在切除筋膜和肌肉之前,重要的是要检查它们的颜色、质地、厚度和异常情况,如大出血、死后血管内的积血(瘀血或死后的软肿)和瘀伤(血肿)(Mazzariol and Centelleghé, 2007)。瘀伤通常为凝胶状质地,呈深紫红色到紫色。去除从枕骨脊到尾股的背外侧大块肌肉或横跨的内侧肌肉。使用脊髓背侧和外侧突起作为这块肌肉的标志性边界。尽可能多地修剪脊椎和肋骨上的肌肉。获取组织学和污染物的肌肉样本。肌肉样本应在鲸脂样本的相同位置和下方采集 (Duignam, 2006b; Pugliares et al, 2007)。

分开检查胸腔和腹腔,以避免一个腔体的液体溢入另一个腔体而造成污染。

### 2.2.1. 去除肩胛骨和前角淋巴结

通过切开骨下的结缔组织和肌肉,除去左肩胛骨和附肢(它们与其余的胸部没有骨质附着)。如果将肩胛骨向外侧拉,使其像鲸脂层一样向下反应,则肩胛骨很容易分离。在拉动和切割时,您应该听到噼里啪啦的响声,这表明您处于肌肉群之间的正确位置 (Kuiken and GarciaHartmann, 1991; Mazzariol and Centelleghé, 2007)。

肩胛前淋巴结位于肩胛骨的颅角下方,靠近外耳。全身正常的淋巴结通常具有相同的特征:边界清晰的椭圆形,质地稍硬,颜色由米色渐变为桃色,皮质(外层)和髓质(中心区)之间的差别很小。如果组织开始从均匀的桃色变为棕褐色,这表明有反应。注意颈前淋巴结的大小、形状、颜色和质地。一定要区分皮质的变化和髓质的变化 (Mazzariol and Centelleghé, 2007)。

### 2.2.2. 胸腔

在采集样本或切断肋骨之前,应该先用手术刀或剪刀刺穿横膈膜,腹腔一侧

应该注意放气。如果隔膜已经放气,就有可能存在气胸或重症肺炎(Mazzariol and Centelleghé, 2007)。

打开胸腔的方法是从左侧肋骨的尾端开始,寻找每个肋骨和椎骨之间的关节。如果你用手术刀或小刀切断关节,则肋骨和椎骨应该很容易分开,不会断裂。还要注意的,年龄和疾病可能会影响关节脱臼的方式。从一根肋骨移动到另一根肋骨,在切割和移动肋骨时保持手术刀的恒定角度,以找到关节。注意,大多数颅肋骨沿脊椎呈双头状(Pugliares et al, 2007)。肋骨关节应触感光滑,而非颗粒状。检查肋骨骨折和骨刺情况。以这种方式取下骨骼,对于将来的骨病理学研究、教育推广或作为博物馆样本可能具有更大的价值。取下肋骨后,检查体腔内所有器官的位置。注意任何变色、损伤、粘附、气味或液体(Pugliares et al, 2007)。

沿着每个下颌骨的内侧切开一个切口,以使舌头自由活动。一旦舌头可以自由移动后,将其向后拉,并在靠近颅骨处切开舌骨。在执行此步骤之前,将食道在胃入口处打结,并将两个结扎线之间切开。将喉部从固定喉部的括约肌中解放出来,并将舌头向后拉到颈部以释放气管和食道。然后,将胸腔背侧和腹侧切开,以释放心脏和肺部。留意肺部与胸壁的任何附着物。在您执行此步骤时,应使其舌头、喉、气管、食道、胸腺、心脏和肺部仍然紧固在一起(Kuiken and Garcia Hartmann, 1991)。将器官置于干净的表面进行检查。

气管应当用剪刀剪开,并检查其粘膜是否有异常(泡沫、液体、血液)。在气管分叉附近,沿着肺的远端颅腹面,可见气管支气管淋巴结。这些淋巴结的检查对于确定皮质与髓质之间的差异、大小、形状、颜色或质地的变化非常重要(Rowles et al, 2001)。

甲状腺是最难定位和识别的组织之一。它位于气管的颅侧腹部,并横跨气管



的宽度。甲状腺的颜色和质地通常类似于平滑肌。甲状旁腺是沿着甲状腺的颅缘附着在甲状腺上的一个较小的浅色组织，若能将其找到，可以帮助正确识别组织（Geraci and Lounsbury, 2005）。

胸腺是大型淋巴器官，是许多动物免疫系统发育的地方。它位于胸腔入口的底部，在颅骨到颅膈的前缘。动物断奶后，胸腺会随时间吸收，因此在成年海洋哺乳动物中通常不可见。检查组织的颜色、大小和质地的变化（Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

食管以与气管相同的方式打开。重要的是观察食道的浆膜和粘膜表面的颜色，质地和内含物是否异常（Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

肺应在分叉处与气管分离。检查胸膜表面是否有颜色图案和质地变化。正常情况下，充满空气的肺组织应在用手指压下后立即反弹（类似海绵），并且会在水或福尔马林中漂浮。检查肺内部结构的方法是从支气管分叉处切开气管，经支气管进入每个肺的细支气管。注意是否存在液体、泡沫和/或寄生虫，并描述其数量和颜色（Kuiken and GarciaHartmann, 1991; Rowles et al, 2001; Mazzariol and Centelleghé, 2007）。肺实质的检查是在垂直于动物身体长轴的组织上进行连续切割（类似“切片面包”：在组织上进行多个平行切片）（Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

心脏的评估应始于心包（包括心脏的薄囊）。心包内应有少量的清澈液体，以便润滑。心包积液的异常表现为有气泡、血液、纤维蛋白链或纤维蛋白标记标记和粘连（Kuiken and GarciaHartmann, 1991）。通过切除心包，将心外膜（心脏的外表面）露出以供观察。注意每个结构（左右心房、心室、主动脉和肺动脉）的大小、颜色和质地。横向切断主动脉和肺动脉，切除心脏，并保证每条血管大

约有 6 厘米仍连接在心肌上。为检查心脏的内部结构，用剪刀在颅骨右心房开一个小口，沿着右心室内侧边缘向下剪到心尖。继续沿着右心室间隔的一侧切开，直到该腔室连接肺动脉并切开血管。接下来，剪断心尖部的左心室侧面，沿着隔膜切开肌肉，然后向上穿过主动脉。这个过程应使心脏的两侧保持完整( **Mazzariol and Centelleghé, 2007; Pugliarès et al, 2007** )。检查每个心房是否有蠕虫或其他异物。注意每个心房和心室的大小、厚度、颜色和纹理。左心室实质上应该比右心室厚。彻底检查其内部结构或厚度的变化。正常的二尖瓣和三尖瓣应该略薄且略微不透明。一旦心内膜检查完毕，将心室切成薄片以观察心肌的变化。对右心室、左心室、房间隔、心尖、心房和主动脉进行组织学检查( **Mazzariol and Centelleghé, 2007** )。用无菌注射器从心脏抽出血液，并放置在普通或血清分离管中。如果尚未凝结，则在 EDTA 试管中放入几毫升（心脏血液可用于检测各种传染原和某些毒素）( **Kuiken and GarciaHartmann, 1991** )。

所有在胸腔内遇到的异常体液应用无菌注射器抽取收集并擦拭，收集组织损伤并放入福尔马林进行固定( 请参阅“样本收集和储存”部分)( **Duignan, 2000b** )。

### **2.2.3. 腹腔**

通过从动物尸体上移除胃（先前是在心脏口处绑扎）、肠、脾、胰腺和彼此相连的肠系膜淋巴结，将胃肠道与腹腔的其他部分分开。将胃肠道检查留到尸检结束，以防止其他器官的物质污染（ **Mazzariol and Centelleghé, 2007** ）。

肝脏在顶叶（朝向体壁）和内脏（朝向器官）的表面进行检查，以确定叶片颜色、纹理和大小是否有异常。肝脏应被切成薄片（和肺一样），用来检查胆管是否有寄生虫，并采集样本进行有机氯和重金属分析。这些样本应该包含同样数量的来自左叶边缘、右叶边缘和肝门的组织（ **Kuiken and GarciaHartmann, 1991** ）。

大多数海豚的脾脏呈掌状，似球形，有斑驳的深紫色至白色，外表纹理光滑。这个器官通常位于主胃下方，靠近身体的左侧。通过将脾脏从网膜上分离来切除脾脏（稀薄的网状结缔组织）。在某些情况下，副脾可附着在脾脏表面，体积较小（0.2cm — 1.0 cm）。这些小脾脏与大脾脏具有相同的特征。应检查脾脏的颜色、大小、形状和质地是否有异常（Kuiken and GarciaHartmann, 1991; Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

胰腺是呈桃红色的锥形器官，附着在十二指肠（小肠）的弯曲处。将胰腺的薄壁组织切成薄片，检查胰管中颜色、质地和寄生虫的变化（Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

肠系膜是一大片连接肠道（和其他脏器）和肠系膜根部的结缔组织。这个结缔组织应该是半透明的，在试图直接解剖时会表现出一些阻力。检查肠系膜是否有寄生虫或真菌附着，以及肠系膜厚度和颜色是否有异常。肠系膜淋巴结呈手指状，灰色至黄褐色，较大的淋巴结位于肠系膜的中央，与先前讨论的淋巴结不同，肠系膜淋巴结的皮质和髓质更加清晰（Mazzariol and Centelleghé, 2007; Pugliares et al, 2007）。

大多数齿科动物的胃由三部分组成：前胃、主胃和幽门胃。检查胃的浆膜（外部）表面是否有变色和病变。如果存在内部病理，则附着在胃周围的淋巴结应明显增大。去除胃表面所有多余的附着组织，称量胃的重量。使用手术刀，沿着每个胃的大弯曲处在胃壁上切开一个足够大的切口，以便检查胃内容物和整个胃粘膜表面。分别描述每个隔间的内容物，注意胃内容物的成分（液体、整个或部分消化的鱼、鱼骨、寄生虫、其他异物）。一定要描述数量、颜色和质地。在进一步处理之前，收集一份生物毒素的样本。剩下的内容物可以倒出并过筛，以确保

固体物质不会丢失，并进行彻底检查。保存所有异物以进行人-物交互作用记录。一旦排空，立即检查胃粘膜。分别注意每个隔间粘膜的颜色和质地。前胃的粘膜由鳞状组织构成，通常呈白色。主胃壁是分层的，通常比前胃壁厚，粘膜通常呈暗红色。幽门胃呈薄壁腺状，粘膜呈粉红色或胆汁色。寻找溃疡、变色区域和其他异常。称重空胃。取样每个隔室进行组织学检查（Geraci and Lounsbury, 2005; Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

小肠的检查需留到尸检结束进行，以免其他器官受到污染。从十二指肠开始切开肠道，寻找出血、变色和寄生虫的部位。小肠的内部可以通过抽样检查：在5至10个随机的、分开的区域，用剪刀沿着肠腔长度剪下大约10厘米。注意其颜色、浓度、内容物数量、管腔厚度、粘膜质地和颜色（Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

大肠的起点位于回肠-盲肠-结肠绞合处，通常是直径较小的小肠和直径较大的大肠之间的脊状连接部。大肠的检查方法与小肠相同。结肠的检查与大肠相同，是通过切开从肛门到大肠的结肠腔来进行的（Pugliares et al, 2007）。

右肾上腺和左肾上腺位于每个肾脏的颅极之前，并附着在背腹壁上。肾上腺是较小的、长方形的浅褐红色组织，在其表面具有不规则的沟纹。强烈建议在移除肾脏之前先定位并摘取肾上腺，因为如果没有肾脏作为解剖参考，可能很难找到它们。在切开肾上腺之前，测量（长、宽、高）并称重每个肾上腺。当肾上腺被切成两半时，正常的肾上腺中心（髓质）会明显变暗，周长（皮质）会变浅。检查外部和内部组织的颜色、纹理和形状是否有异常。另外，请注意髓质开口的相对大小，这将指示血管的使用情况。正常的孔径不应大于针尖（Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

左肾和右肾是褐红色、卵圆形的组织，由大量聚集的肾小管（微型肾）组成，附在尾侧腹侧壁上。检查肾包膜（肾脏周围的结缔组织）是否有液体、出血或气泡，注意颜色、厚度和不透明度。在被膜上做一个纵向切口，将边缘反应到被膜上，观察是否有粘连或被膜下出血。通过切薄片检查每个肾脏的内部结构。注意颜色和结石的存在。观察皮质与髓质分化的程度，以及每个肾小管内髓质与皮质的比例。肾小管之间界限清楚，但在肾脏内部聚集（Duignan, 2000b）。

膀胱是一个较小、呈浅粉红色、壁厚、且肌肉发达的器官，但是如果由于尿液而膨胀，膀胱壁可能会变薄并且呈半透明。在取出器官之前，用无菌注射器抽取膀胱内的任何物质。沿着器官的长度切开，露出粘膜表面并检查其颜色和质地。对膀胱顶端进行组织学取样（Mazzariol and Centelleghé, 2007）。

#### **2.2.4. 生殖道**

雌性（卵巢和子宫）。子宫和卵巢最容易识别的方法是沿着从阴道到子宫的生殖道分为左、右两个角，每个末端都与卵巢相连。子宫是呈棕褐色到粉红色的组织，其大小和厚度取决于动物的成熟度和生殖历史。如果胎儿存在，且体积过小，不足以进行足够的单独剖检，则切开腹部，收集微生物学和分子样本，然后用福尔马林保存整个胎儿。如果肺组织漂浮在福尔马林（或水）中，这表示胎儿肺发生了细支气管扩张（Mazzariol and Centelleghé, 2007）。将每个卵巢从子宫角上分离出来，检查外表面。一个成熟的卵巢具有随机发暗的凹痕或疤痕（白色体），这表示以前的排卵。怀孕雌性的卵巢会有一个黄体或一个较大的黄色物质附着在上面。内部检查前，测量每个卵巢（长、宽、高）并称重。还要计算和注意疤痕的数量以及有无黄体存在（Rowles et al, 2001）。

雄性（睾丸和阴茎）。睾丸位于沿腹侧壁的尾侧腹腔内，在肾脏后方，每个

睾丸都位于腹侧中线外。睾丸应与附睾一起从体内取出。测量睾丸(长、宽、高)并分别称重。附睾需检查是否有精子,检查每个睾丸的内部形状、颜色和质地变化。从外部检查阴茎,寻找分泌物、乳头状瘤或其他病变的存在(Rowles et al, 2001)。

### 2.3. 头骨

在整个身体中,大脑是最脆弱也是最容易受到破坏的组织,因此在将大脑从头骨中取出时必须格外小心。在移除头部之前,可以收集脑脊液进行细胞学和培养。要做到这一点,需要切除头部和颈部后面覆盖的软组织,以便进入寰枕关节,插入无菌针头和注射器,收集透明粘稠的脑脊液。头部必须从身体分离出来,方法是从气孔后面切到头骨和颈椎的连接处,然后在腹部完成切口(Rowles et al, 2001; Mazzariol and Centelleghé, 2007)。然后,使用电锯或钢锯,从左到右切开每个枕骨髁的中间,直至侧颅骨的每一侧,然后穿过背部,正好位于头骨顶端标记的横脊的后面。一定要确保完全穿透骨头,但要避免与大脑接触。小心地在被切开的骨头中间放一个凿子,然后用工具把剩下的骨头敲开,直到颅骨的后部完整地脱落。要小心地均匀地拉开它,不要用一边作为杠杆,否则位于大脑部分之间的骨架(小脑幕)会穿透组织,损害大脑。用手指轻轻地将脑膜(包裹大脑的薄膜)从头骨上分离出来,然后在大脑下方切断每一根脑神经。头部倒置通常会使大脑轻轻地落到解剖人员的手掌上(Mazzariol and Centelleghé, 2007)。

观察大脑外表面,注意每个不同结构(左右大脑半球、小脑和脑干)的对称性,同时注意蠕虫或损伤的颜色、质地和存在。血管充血可能是动物体位或死后尸斑造成的。用一把大而薄的刀,从头到尾一次性切开大脑,使两个半球均匀分开,观察其形状、颜色、蠕虫的存在和质地变化。在视神经交叉处,可以在切口

上通过覆盖在上面的硬脑膜（脑膜之一）来识别和提取小脑垂体。该器官位于骨质凹陷处，必须用解剖刀和小镊子取出。取大脑、小脑和脊髓样本进行微生物学和分子学研究。修复剩余的脑组织做组织学检查。在组织学样本集中包括正常和异常的脑膜样本是非常重要的（Pugliares et al, 2007）。

## 2.4. 声音/噪声刺激

在 Mazzariol 和 Centelleghé 的鲸目动物尸检方案中，也考虑了人类活动所产生的声纳刺激对鲸目动物造成的损害（2007）。当组织被溶解的氮气过饱和，并且在组织内刺激了气泡的生长、促进扩散时，搁浅和声纳暴露刺激之间的非听觉联系便被提出。气泡的生长可能导致栓子诱导的组织分离和组织局部压力的增加，这也可能是人类潜水员患减压症（DCS）的原因（Fernandez et al, 2005）。DCS 是机体组织在氮气的过饱和作用下释放出氮气泡的结果。最近，研究人员提出了强有力的证据，证明搁浅的鲸目动物的肝脏和肾脏有慢性气泡病变。这些病变表明，在体内形成的气泡可能持续存在并导致潜水鲸目动物的纤维化，也可能导致其大脑、耳朵和听觉脂肪出血（Fernandez et al, 2005）。

### 2.4.1. 耳朵

耳部取样可用于声纳暴露或其他声音暴露的情况。最初，收集耳朵，分离下巴，将鼓膜泡露出，并将其从软组织中清除。用手术刀或小刀切断鼓室复合体、枕骨和颞骨之间的韧带，将整个骨骼完全切除。一旦取出，找到鼓膜，慢慢注入10%的福尔马林溶液（Morell et al, 2009）。为了进行内耳的微观和宏观检查，根据 Morell 等人提出的方案（2009），该步骤有必要使用基于盐酸的脂肪商业脱钙剂（RDO®）对骨骼进行脱钙。RDO®脱钙的时间必须适应于不同物种的骨骼大小。脱钙完成后，继续进行耳朵本身的连续切片。在体积较大的物种中，应去除

鼓室复合体，以周期性过程的脱钙（Fernandez et al, 2005）。

### 3. 样本采集和储存

样本采集的方案是基于 Kuiken 和 GarciaHartmann(1991)、Rowles 等人(2001) 以及 Mazzariol 和 Centelleghé (2007) 的工作。

#### 3.1. 寄生虫采集与储存

从分级为 1 级至 4 级的动物胴体中采集的样本较适合进行检验（Duignam, 2006b）（表 2）。

寄生虫	储存说明
藤壶	首先将其在 10% 的 NBC 中固定 24 小时以上，然后将其转移至 70% 的乙醇中。
桡足类和两足类	将它们直接放入 70% 的乙醇中。
线虫（蛔虫）	如果条件允许的话可将其在 GAA 中修复 5-10 分钟，否则将其置于使用 70% 的乙醇或 10% 的 NBF。如果使用 NBF，则仅需将寄生虫固定几个小时，然后将其转移到 70% 的甘油酒精中。
吸虫（鳞片/扁虫）	不论是存活着的或是已经死亡的动物，都将其蠕虫在 AFA 中修复达 3 天，



	然后将其转移至 70% 的乙醇中。注意不要使用甘油酒精。
绦虫	将蠕虫置于 AFA 溶液中，用水浸泡 5-10 分钟，比例为 4:1。然后，将蠕虫转移至 70% 的乙醇中。从宿主中去除蠕虫时需包含绦虫头部。
棘头虫	将寄生虫固定于 AFA 溶液中达 24 小时，然后将其转移至 70% 的甘油酒精中。

表 2: 寄生虫储存方法 (Geraci and Lounsbury, 2005; Mazzariol and Centelleghé, 2007)

### 3.1.1. 胃

为收集包括可能存在的寄生虫在内的胃内容物，打开胃，在流动的自来水下清洗所有内容物，然后把这些东西收集在一个桶中。用 0.2 毫米或更小的筛网将内容物过筛。在筛网中收集所有寄生虫，并置于 4% 的福尔马林溶液内。如果内容物很多 (1/10)，则可能需要对胃和肠内容物进行一次取样。在这种情况下，您需要将寄生虫的数量乘以 10 才能估算总数。如果您收集了所有寄生虫，请将它们放入分级的烧杯中，然后读取估计的寄生虫数量。如果寄生虫不多，则将其计数 (Kuiken and GarciaHartmann, 1991)。应检查胃壁上有无囊肿。如果有囊肿，测量由囊肿引起的增厚周长，然后将其剪下并挤压以收集蠕虫和内容物 (Rowles et al, 2001)。

### 3.1.2. 肠

将肠与腹腔的其余部分分离后，测量其总长度并将其分成相同长度的部分。在流水下分别打开并清洗各个部分，并将其内容物收集在一个桶中。将内容物在网眼尺寸为 0.2 毫米或更小的网中过筛。从筛网中收集所有寄生虫，并置于 4% 的福尔马林溶液中。收集蠕虫并将其放入分级烧杯中以记录寄生虫的数量。仔细检查是否有寄生虫附着在肠壁上（Kuiken and GarciaHartmann, 1991）。

### 3.1.3. 肝和胰腺

将整个肝脏切成 1 厘米厚的切片。洗净切片，并将其压在装满水的桶中。取出压片，用直径为 0.3 毫米的筛网将内容物过筛。计数蠕虫数量，修复并存储。将相同的步骤应用于胰管（Kuiken and GarciaHartmann, 1991）。

### 3.1.4. 肺

将整个肺部切出 1 厘米厚的切片，然后将其压入装满水的桶中。挑出蠕虫，并在分级烧杯中估算其总体积。若遇到结节，请按照“胃”一节中的说明进行测量，然后将其切下并压出以收集蠕虫和内容物。用水洗净支气管和细支气管，收集内容物，并用 0.2 毫米或更小的筛网过筛（Kuiken and GarciaHartmann, 1991）。

### 3.1.5. 循环系统

将心脏切出 1 厘米厚的切片，然后在装满水的桶中将切片压出。收集所有蠕虫并计数（Kuiken and GarciaHartmann, 1991）。

### 3.1.6. 颅窝

收集颅窝中存在的所有蠕虫并将其计数。确定遇到蠕虫的位置（Kuiken and GarciaHartmann, 1991）。

## 3.2. 牙齿采集和储存

分级为 1 级至 4 级的动物胴体适合牙齿和骨骼的采集。每人必须至少收集 4

颗牙齿。最好从下颌中部取下牙齿，因为它们通常是最直的牙齿。在小型江豚中，可以通过插入一把锋利的刀或手术刀，首先插入牙齿和结缔组织之间的牙龈的一侧，然后进入另一侧，便可很容易的拔掉牙齿。稍加拉动就可以去除整个齿条。在诸如宽吻海豚之类的较大物种中，可以通过使用尖锐的尖头工具在牙齿和牙槽之间的空隙处撬动来松动牙齿。若条件不允许，则可以锯下一块包含 4 个牙齿的下颌骨。松动的牙齿和颌骨部分可被冷冻。它们被冷冻的温度条件并无严格规定。或者，也可以将它们置于 70% 的乙醇或 10% 的中性福尔马林溶液中。不要将其干燥存放，因为这可能导致牙齿破裂（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

### 3.3. 食物残留（猎物研究）

分级为 1 级至 4 级的动物胴体可进行胃内容物分析。胃中残留的食物可以冷冻保存，也可以储存在 70% 的乙醇中。它们被冷冻的温度并无严格规定（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

### 3.4. 用于 DNA 研究的皮肤

从分级为 1 级、2 级至 4 级的动物胴体中采集的样本可用于当前的分析。皮肤样本可以置于饱和氯化钠的二甲基亚砷中，然后在零下 20℃ 温度条件下保存（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

### 3.5. 用于生殖研究的生殖腺

从分级为 1 级至 3 级的动物胴体中采集的样本可用于当前的分析。卵巢应全部置于 10% 的中性福尔马林（**NBF**）中。每个睾丸应分别称重，不要附睾，每隔 1 厘米切开，然后置于 10% 的中性缓冲福尔马林中，以便福尔马林充分渗透组织。固定时，使用的福尔马林应至少是组织的 10 倍。固定 24 小时后，可以将样本储存在较小体积的 10% 福尔马林中。如果每个睾丸重于 50 克左右，则在称重睾丸

后，将约 1 厘米厚的横截面切片沿长度方向从中间置于福尔马林中（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

### 3.6. 组织病理学样本

可以从分级为 1 级至 3 级的动物胴体中采集样本。稀有或濒危物种应进行彻底取样。除非另有说明，否则在大体正常的器官中，随机抽取 1 立方厘米的样本。将样本固定在 10% 的中性福尔马林溶液中。通常，福尔马林只能沿任何方向穿透约 1 厘米，因此需注射或切割直径大于 2 厘米的样本，以使更多组织暴露于福尔马林中。同样，在固定时，福尔马林含量应是组织的 10 倍这一点也尤为重要。组织应在该固定剂中保留至少 24 小时。固定后，可以将样本储存在较小体积的 10% 福尔马林溶液中（**Rowles et al, 2001; Mazzariol and Centelleghé, 2007**）。

### 3.7. 病毒学样本

分级为 1 级和 2 级的动物胴体适合于当前分析，而第 3 级胴体的可分析度十分有限，4 级和 5 级胴体则对分析无用。病毒学检查所需的组织是脑、肺和肾，但任何疑似病毒病因的损害都应以同样的方式取样。在病毒分离方面，应无菌采集相关器官 2x2x2 厘米的样本，并置于无菌容器内。如果它们在 24 小时内被送到病毒实验室，则应该将其保持在 0° c - 4° c 的温度条件下，否则它们应当被冷冻在零下 70° c 的温度中，直到开始进行分析。冷冻样本可以适当地在固体二氧化碳（干冰）中运输。为了进行病毒和其他疾病的血清学检查，必须采集至少 1 毫升的血液样本以获得血清。在分析之前，血清可以冷冻于零下 20° c 的环境。即使血清有溶血性，但它仍然具有价值（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

### 3.8. 细菌学样本

分级为 1 级和 2 级的动物胴体适合于当前分析，而第 3 级胴体的可分析度十

分有限，4级和5级胴体则对分析无用。应当对肺组织、心脏血液以及任何疑似细菌病因的病灶样本进行细菌学检查。尽可能在无菌环境下工作是非常关键的。可以使用拭子或组织块取样进行细菌学检查。每种方法都各有利弊，具体选择哪一种取决于执行人员的偏好（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

取一块组织，用无菌手术刀和镊子切出一块大约4x4x4厘米的组织，放入无菌容器中。样本应保存在0°c - 4°c的温度条件下直至处理，并应尽快进行处理程序（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

应使用拭子，并用70%的乙醇等对器官表面进行消毒，然后用无菌手术刀将其切开，将无菌拭子放在切口中。将棉签插入带有传输介质的无菌管中。具有传输介质的无菌拭子和容器可以作为包装商购。合适的选择是好氧菌和厌氧菌的包装，例如含有木炭的传输介质。拭子应保持在0°c - 4°c的温度条件下直至处理（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

要采集心脏血液样本，应使用例如70%的乙醇对右心室表面进行消毒，并使用无菌注射器和针头从管腔中采集血液样本。也可以使用无菌移液器。在这两种情况下，血液样本都应在0°c - 4°c的无菌容器中保存，直至进一步处理（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

组织样本涂片应固定，并用革兰氏染色法进行染色。肺部涂片和疑似分枝杆菌病原学的病灶涂片也应使用**Ziehl-Nielsen**方法进行染色。样本应该接种到哥伦比亚血琼脂培养基上，并在37°c的有氧和厌氧条件下培养5天，但肺部样本除外，它只需要有氧培养（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

### 3.9. 毒理学样本

分级为2级的动物胴体适合于当前分析，而第1级和3级胴体的可分析度十

分有限，4级和5级胴体则对分析无用或会出现问题。应采集脂肪、肌肉、肝脏和肾脏样本进行有机氯分析。这些样本只能与不锈钢、铝、玻璃或聚四氟乙烯接触，并且可以储存在无污染的洗涤己烷铝箔中。如果该动物正在哺乳期，则应采集牛奶样本进行有机氯分析。它可以储存在一个无污染的洗己烷玻璃容器中，用无污染的洗己烷铝箔保持样本不接触容器的（塑料）盖子。如果胎儿太小而无法进行全面尸检，则可将整个胎儿及胎盘包裹在无污染的己烷洗涤铝箔中进行有机氯分析。肌肉、肝脏和肾脏的样本应该采样进行重金属分析。这些样本不能与不锈钢以外的任何金属接触，并且可以用塑料保存（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

用于重金属和有机氯分析样本的最小尺寸为10克（牛奶为10毫升），如果要冷冻，则应将样本称重，以补偿存储过程中的脱水状况。如果样本在收集后直接进行分析，则无需冷却。否则，应将它们在零下20℃的温度条件下冷冻直至分析，并且在存储过程中不要解冻，否则组织会破裂（**Kuiken and GarciaHartmann, 1991**）。

#### 4. 结语

在全球范围内，鲸目动物的数量正在日益减少（**Taylor et al, 2007; Schpper et al, 2008**）。鲸目动物法医科学是了解这些动物的生物学、其死亡原因、生活环境变化的重要工具，可以帮助人们制定适当的保护措施。通过使用系统化方案进行小型鲸目动物尸检和样本采集，可以收集尽可能多的详细样本，并且还可以在使用相同类型解剖方案的不同研究小组之间进行数据对比分析。此外，在中国建立国家鲸目动物搁浅网络非常重要，它能够协调不同研究机构之间对搁浅动物的营救，有助于建立国家数据库，从而以更有效的方式收集重要信息，这对于海洋保

护区的管理也同样至关重要。

#### 参考文献:

- [1] Arrigoni M, Manfredi P, Panigada S, Bramanti L, Santangelo G (2011). Life-history tables of the Mediterranean fin whale from stranding data, *Mar. Ecol.* 32 (s1): 1–9.
- [2] Chou L-S, Yao C-R, Wang JY (1995). Stranding network and recent records of cetaceans in Taiwan. National Taiwan University. In: Proceedings of the third Symposium on Cetacean Ecology and Conservation: 21-23.
- [3] Database of Cetacean Stranding Records around Hainan Island, DCSRHI (2016). <http://www.cetacean.csdb.cn/>
- [4] Duignan PJ (2000a). Diseases of Cetaceans and Pinnipeds. *Marine Wildlife: The Fabian Fay Course for Veterinarians (Proceedings 335)*. Post Graduate Foundation in Veterinary Science, Sea World, Gold Coast, Australia: 431-462.
- [5] Duignan PJ (2000b). Marine Mammal Autopsy Techniques and Sample Collection. *Marine Wildlife: The Fabian Fay Course for Veterinarians (Proceedings 335)*. Post graduate Foundation in Veterinary Science, Sea World, Gold Coast, Australia: 387-428.
- [6] Dunn JL, Buck JD, Robeck TD (2001). Bacterial diseases of cetaceans and pinnipeds. in L. A. Dierauf and F. M. D: 309-335
- [7] Fernandez A, Edwaeds JF, Rodriguez S, Espinosa de los Monteros A, Herraez P, Castro P, Haber JR, Martin V, aArbelo M (2005). ‘Gas and fat embolic syndrome’ involving a mass stranding of beaked whales (family Ziphiidae) exposed to anthropogenic sonar signals. *Veterinary Pathology*, 42: 446-457.
- [8] Geraci JR, Lounsbury VL (2005). *Marine mammals ashore: a field guide for strandings*, Second Edition. National Aquarium in Baltimore, Baltimore, MD.
- [9] Geraci JR, Lounsbury VJ (1993). *Marine Mammals Ashore: A Field Guide for Strandings*. Texas A&M Sea Grant.
- [10] Hao Y, Wang K, Han J, Zheng J, Xian Y, Yao Z, Lu Z, Li H, Zhang X (2011). Marine mammal researches in China. *Acta Theriol. Sin.* 31: 20–36.
- [11] Huang SL, Karczmarski L, Chen J, Zhou R, Lin W, Zhang H, Li H, Wu Y (2012).

- Demography and population trends of the largest population of Indo-Pacific humpback dolphins. *Biol. Conserv.* 147: 234–242
- [12] IJsseldijk LL and Brownlow AC (2018). Cetacean necropsy protocol-update. 24 th ASCOBANS Advisory Committee Meeting AC24/Inf.2.5.aPowerpoint presentation. 1-14 slides
- [13] Irish Whale, Dolphin Group, IWDG (2016). (<http://www.iwdg.ie/strandings>)
- [14] Jutapruet S, Huang SL, Li S, Lin M, Kittiwattanawong K, Pradit S (2015). Population size and habitat characteristics of the Indo-Pacific humpback dolphins (*Sousa chinensis*) off Donsak, Surat Thani, Thailand. *Aquat. Mamm.* 41: 129–142.
- [15] Kemper, C. Unpublished. Marine Mammal Stranding Manual. South Australian Museum.
- [16] Kemper CM, Flaherty A, Gibbs SE, Hill M, Long M, Byard RW (2005). Cetacean captures, strandings and mortalities in South Australia 1881–2000, with special reference to human interactions. *Austral. Mamm.* 27 (1): 37–47.
- [17] Kemper C, Coughran D, Warneke R, Pirzl R, Watson M, Gales R, Gibbs S (2008). Southern right whale (*Eubalaena australis*) mortalities and human interactions in Australia, 1950–2006. *J. Cetacea. Res. Manag.* 10 (1): 1–8.
- [18] Kuiken T and Garcia Hartmann M (1991). Cetacean pathology: dissection techniques and tissue sampling. *Proceedings of the first European Cetacean Society, newsletter 17 - special issue.* 1- 41.
- [19] Leeney RH, Amies R, Broderick AC, Witt MJ, Loveridge J, Doyle J, Godley BJ (2008). Spatio-temporal analysis of cetacean strandings and bycatch in a UK fisheries hotspot. *Biodivers. Conserv.* 17 (10): 2323.
- [20] Lin M, Luru X, Fang L, Huang S-L, Chiou-Ju Y, Turvey ST, Gozlanf RE, Li S (2019). Can local ecological knowledge provide meaningful information on coastal cetacean diversity? A case study from the northern South China Sea. *Ocean and Coastal Management* 172: 117–127
- [21] Liu M, Lin M, Zhang P, Xue T, Li S (2018). An overview of cetacean stranding around Hainan Island in the South China Sea, 1978–2016: Implications for research, conservation and management. *Marine Policy*: 1-7 <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2018.04.029>
- [22] López A, Santos MB, Pierce GJ, González AF, Valeiras X, Guerra A (2002). Trends in
- [23] strandings and by-catch of marine mammals in north-west Spain during the 1990s. *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 82 (3): 513–521.
- [24] Macleod CD, Pierce GJ, Santos MB (2004). Geographic and temporal variations in strandings of beaked whales (*Ziphiidae*) on the coasts of the UK and the Republic of Ireland from 1800–2002. *J. Cetacea. Res. Manag.* 6 (1): 79–86.
- [25] Marcotte D, Hung, S.K., Caquard, S (2015). Mapping cumulative impacts on Hong Kong's pink dolphin population. *Ocean Coast Manag.* 109: 51–63.
- [26] Mazzariol S, Centelleghè C (2007). Standard protocol for post-mortem examination on cetaceans. IPA Adriatic Cross-Border Cooperation Programme, University of Padua.
- [27] McLellan WA, Friedlaender AS, Mead JG, Potter CW, Pabst DA (2002). Analysing 25 years of bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) strandings along the Atlantic coast of the USA: do historic records support the coastal migratory stock hypothesis? *J. Cetacea. Res. Manag.* 4 (3): 297–304.



- [28] Meirelles ACO, Monteiro-Neto C, Martins AM, Costa AF, Barros HM, Alves MDO (2009). Cetacean strandings on the coast of Ceará, north-eastern Brazil (1992–2005), *J. Mar. Biol. Assoc. UK* 89 (5): 1083–1090.
- [29] Milani CB, Vella A, Vidoris P, Christidis A, Koutrakis E, Frantzis A, et al. (2017). Cetacean stranding and diet analyses in the North Aegean Sea (Greece). *J. Mar. Biol. Assoc. UK*:1–18.
- [30] Assoc. UK:1–18.
- [31] Morrel M, Degollada E, Alonso JM, Jauniaux T, Andre' M (2009). Decalcifying odontocete ears following a routine protocol with RDO. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 376: 55-58.
- [32] Nemiroff L, Wimmer T, Daoust PY, McAlpine DF (2010). Cetacean strandings in the Canadian Maritime provinces, 1990–2008, *Can. Field-Nat.* 124 (1): 32–44.
- [33] Obusan MCM, Rivera WL, Siringan MAT, Aragonés LV (2016). Stranding events in the Philippines provide evidence for impacts of human interactions on cetaceans. *Ocean Coast. Manag.* 134: 41–51.
- [34] Ocean Park Conservation Foundation Hong Kong, OPCFHK (2016). <http://www.opcf.org.hk/en/>
- [35] Öztürk AA, Tonay AM, Dede A (2011). Strandings of the beaked whales, Risso's dolphins, and a minke whale on the Turkish coast of the eastern Mediterranean Sea, *J. Black Sea/Mediterr. Environ.* 17: 3.
- [36] Parsons ECM, Felley ML, Porter LJ (1995). An annotated checklist of cetaceans recorded from Hong Kong's territorial waters. *Asian Mar. Biol.* 12 (79): 6.
- [37] Peltier H, Jepson PD, Dabin W, et al. (2014). The contribution of stranding data to monitoring and conservation strategies for cetaceans: developing spatially explicit mortality indicators for common dolphins (*Delphinus delphis*) in the eastern North Atlantic. *Ecol. Indic.* 39: 203–214.
- [38] Pugliares KR, Bogomolni A, Touhey KM, Herzig SM, Harry CT, Moore MJ (2007). *Marine Mammal Necropsy: An introductory guide for stranding responders and field biologists.* WHOI.
- [39] Pyenson ND (2011). The high fidelity of the cetacean stranding record: insights into measuring diversity by integrating taphonomy and macroecology. *Proc. R. Soc. Lond. B: Biol. Sci.* 278: 3608–3616.
- [40] Lond. B: Biol. Sci. 278: 3608–3616.
- [41] Lond. B: Biol. Sci. 278: 3608–3616.
- [42] Rowles TK, Van Dolah FM, Hohn AA (2001). Gross necropsy and specimen collection protocols. In *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*, edited by Dierauf LA and Gulland FMD. 449- 520.
- [43] Schipper J, Chanson JS, Chiozza F, Cox NA, Hoffmann M, Katariya V, Lamoreux J (2008). The status of the world's land and marine mammals: diversity, threat, and knowledge. *Science* 322: 225–230.
- [44] Silva MA, Sequeira M (2003). Patterns in the mortality of common dolphins (*Delphinus delphis*) on the Portuguese coast, using stranding records, 1975–1998. *Aqua Mamm.* 29 (1): 88–98.
- [45] Song K-F (2016). Cetacean Strandings in Korean Waters 1. *Pacific Science* 70(1): 35-44
- [46] Taiwan Cetacean Stranding Database, 1994–2005 [http://taibif.tw/whale/whale\\_browse.php](http://taibif.tw/whale/whale_browse.php)
- [47] Thompson KF, Millar CD, Baker CS, et al. (2013). A novel conservation approach provides insights into the management of rare cetaceans. *Biol. Conserv.* 157: 331–340.

- [48] Taylor BL, Martinez M, Gerrodette T, Barlow J, Hrovat YN (2007). Lessons from monitoring trends in abundance of marine mammals. *Mar. Mamm. Sci.* 23: 157–175.
- [49] Wang, PL (2011). *Chinese Cetaceans*. Chemical Industry Press, Beijing.
- [50] Wang PL, Han JB (2007). Present status of distribution and protection of Chinese white dolphins (*Sousa chinensis*) population in Chinese waters. *Mar. Environ. Sci.* 26:484–487.
- [51] Wang Y, Li W, Van Waerebeek K (2015). Strandings, bycatches and injuries of aquatic mammals in China, 2000–2006, as reviewed from official documents: a compelling argument for a nationwide strandings programme. *Mar. Policy* 51: 242–250.
- [52] Zhang P, Li S, Lin M, Xing L, Chen X, Jiang X (2016). Database of cetacean stranding records around Hainan Island (1993–2015). *Chin. Sci. Data* 1 (2): (In Chinese with English abstract).
- [53] Zhao L, Zhu Q, Miao X, Xu M, Wu F, Dai Y, Tao C, Mou J, Wang X (2017). An overview of cetacean strandings, bycatches and rescues along the western coast of the Taiwan Strait, China: 2010–2015. *Acta Oceanol. Sin.*: 1–6.
- [54] Zhou K, Xu X, Tian C (2007). Distribution and abundance of Indo-Pacific humpback dolphins in Leizhou Bay, China. *N. Z. J. Zool* 34: 35–42.

## **Small Cetaceans Necropsy and Specimen Collection Protocol**

Platto<sup>1</sup>, T. Xue<sup>2</sup>, J. Zhou<sup>2</sup>

<sup>1</sup> China Biodiversity Conservation and Green Development Foundation, Beijing, China

<sup>2</sup> Department of Biological Technology, School of Life Sciences, Jiangnan University, Wuhan, China

### **Abstract**

Cetacean populations are increasingly declining across the globe. The geographic region that includes the Yellow Sea, the East Chinese Sea, and the South China Sea it is considered a marine area with high historical levels of cetacean abundance and diversity. Cetacean stranding data can provide baseline information on species occurrence and/or diversity without costly field work. On the basis of stranding data, scientific research, conservation actions and management strategies can be conducted and developed. Compared to other countries, China does not possess yet a national cetacean stranding network which will allow to gather more effectively stranded cetacean information. In addition, the presence of a necropsy protocol that can be used by all research groups allows for a more reliable sample collection and data sharing. The aim of the current paper is to present a detailed small cetacean necropsy

and specimen collection protocol drawn from valuable points of previous protocols.

**Key words:**necropsy, specimen collection, cetacean, protocol