

长期高温驯化对尼罗罗非鱼血液学的影响

廖萍得^{1,2}, 林一川^{1,2}, 张文娜^{1,2}, 江守文^{3,4}, 许强华^{1,2,3}

(1. 上海海洋大学 海洋生物资源与管理学院, 上海 201306; 2. 大洋渔业资源可持续开发省部共建教育部重点实验室, 上海 201306; 3. 国家海洋生物科学国际联合研究中心, 上海 201306; 4. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘 要: 为了解长期高温对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)血液相关指标及组织结构的影响, 采用尾静脉血液分析与显微观察技术, 比较了常温(28 °C)与长期高温驯化(34 °C)下, 尼罗罗非鱼血液学参数及脾脏、肝脏的显微结构变化。结果表明, 高温组尼罗罗非鱼的红细胞数量和血红蛋白含量均显著高于常温组; 尽管血细胞形态在两组温度条件下未见差异, 但红细胞、单核细胞和嗜中性粒细胞的大小在高温组中呈现显著减小的趋势。此外, 组织切片观察显示, 长期高温驯化导致尼罗罗非鱼脾脏组织中红细胞数量增多, 红髓面积扩大, 白髓面积相对减小, 黑色素巨噬细胞数量有所增加; 肝脏组织中肝细胞空泡化加剧且黑色素巨噬细胞数量增多。这些结果表明, 长期高温环境对尼罗罗非鱼的血液指标及造血组织产生了显著影响, 推测其通过调节造血功能和免疫应答来适应高温环境。本研究为理解尼罗罗非鱼在长期高温下的生理适应机制提供了重要参考, 也为全球气候变暖背景下的尼罗罗非鱼养殖实践提供了科学依据。

关键词: 尼罗罗非鱼; 高温驯化; 血液指标; 脾脏; 肝脏

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)原产于非洲, 俗称非洲鲫鱼, 隶属鲈形目(Perciformes)丽鱼科(Cichlidae)罗非鱼属(*Oreochromis*), 其以饲养简单、生长迅速、环境适应能力强以及耐高温等特性, 发展成为全球范围内广泛养殖与引种的鱼类之一, 且被视为未来动物性蛋白质的重要来源^[1]。

温度作为一种重要的非生物环境因子, 对鱼类的新陈代谢、摄食行为、生长性能等生命活动具有显著影响^[2-5]。鱼类作为变温动物, 其生长与水温之间存在着密切的关联, 在适宜的温度范围内, 水温的升高能够促进鱼类的生长和发育; 而一旦超过其自身极限的温度, 则会产生负面影响, 甚至导致死亡^[6-8]。

尼罗罗非鱼属于暖水性鱼类, 是一种比较耐受高温的养殖鱼类。然而, 在实际养殖过程中发现, 水温过高会对尼罗罗非鱼的生长产生明显的负面影响。孙儒泳等^[9]研究指出, 26~32 °C是罗

非鱼的适宜生长水温, 高于或低于这一范围均会对罗非鱼的生长和摄食产生不利影响。郭恩彦等^[10]研究结果也进一步支持了这一结论, 他们发现水温高于32 °C时, 吉富罗非鱼的生长和摄食会受到较大抑制。

血液是鱼类重要的结缔组织, 承担着气体交换、物质运输、免疫防御等多种功能, 是机体的重要组成部分^[11-12]。当鱼类的生理状态因内在变化或受到外界环境因子的影响而发生变动时, 这些生理或病理上的细微变化则会通过血液指标来反映^[13]。因此, 血液指标在评估鱼类的健康状况、营养状况以及对环境的适应状况等方面有着十分重要的意义^[14-16]。在血液学的研究中, 血细胞被视为评价鱼类生理状态的关键参数之一, 它们不仅与维持鱼类体内各种生理环境的稳定性密切相关^[17], 而且其形态与数量变化更是判断鱼类健康、诊断与预防疾病的重要依据^[18]。此外,

收稿日期: 2024-06-05

修回日期: 2025-04-20

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFD2400800); 国家自然科学基金面上项目(32470557)

作者简介: 廖萍得(2003—), 男, 研究方向为分子生物学。E-mail: 2055819104@qq.com

通信作者: 许强华, E-mail: qhxu@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

脾脏和肝脏作为大多数鱼类的主要造血和免疫器官,在受到外界因素的干扰时,它们的形态和结构可能发生变化,这些变化也将影响着血细胞的生成和分布,进而反映出鱼类整体生理状况的变动。

在全球变暖的大背景下,养殖水体温度的上升对罗非鱼的生存构成了严峻的挑战^[19]。国内外关于温度对罗非鱼影响的研究大多集中于短期温度胁迫对各类罗非鱼生理机能的影响^[20-23],而对于长期高温驯化下的生理响应研究相对缺乏。为全面、系统地了解长期高温环境对罗非鱼生理机制的影响,本研究采取 34 °C 高温水体对尼罗罗非鱼进行了长达半年的驯化实验,旨在观察和分析高温环境对其血液指标和组织结构的影响。研究结果将为全球气候变暖背景下的罗非鱼养殖提供一定的理论参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取同一批次、规格一致的尼罗罗非鱼幼苗共 120 尾,平均体长(3.52±0.35)cm,平均体质量(1.25±0.25)g。随机平均分为两个试验组,即常温组(28 °C)和高温组(34 °C),除温度条件以外,其他环境和饲养方式均保持一致。每天 9:00 和 18:00 各投喂 1 次,喂食 1 h 后将残饵及粪使用虹吸法吸出。饲料选用天邦饲料科技有限公司生产的罗非鱼漂浮性配合饲料。经过 6 个月的常温、高温驯化后进行下一步的试验和分析。

1.2 血液学参数测定

分别从常温组和高温组中随机选取 3 尾尼罗罗非鱼进行试验。用含肝素钠(1 mg/mL)的 2 mL 一次性注射器,通过尾静脉采集血液样本,一部分用磷酸缓冲盐溶液(PBS)以 1:200 的比例混合稀释,每尾尼罗罗非鱼设 3 个生物学重复。将 100 μL 稀释后的血液样本滴于血球计数板(上海睿钰生物科技有限公司,CO010101)上,于数码显微镜(麦克奥迪公司,BA210Digital)下进行血细胞计数,计数四角及中央共 5 个中方格内的所有红细胞数。红细胞数通过公式(1)计算:

$$M=N \times 25 \times 10^4 \times D \quad (1)$$

式中: M 为红细胞计数,个/mL; N 为 5 个中方格内的平均红细胞数; D 为稀释倍数。

剩余血液样本则用于血红蛋白含量的测定,

采用氰化高铁血红蛋白(Hemiglobincyanide, HICN)比色法,按照南京建成生物工程研究所生产的试剂盒说明书进行,计算公式:

$$C=(A-A_0) \times 367.7 \quad (2)$$

式中: C 为血红蛋白含量, g/L; A 为待测样品的吸光度值; A_0 为双蒸水的吸光度值。

1.3 血细胞形态观察与大小测量

分别从常温组与高温组随机选取 3 尾,并从每尾尼罗罗非鱼中收集少许血液制备血涂片。将血涂片用 Wright Giemsa 染料(北京索莱宝科技有限公司)染色,在 400×放大倍数的光学显微镜(尼康公司,ECLIPSE Ti2-U)下观察红细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、淋巴细胞和血栓细胞的形态并拍照。每种细胞随机选择 50 个使用 SlideViewer 软件测量其细胞与细胞核的长短径。

1.4 组织切片制作与光镜观察

从常温组与高温组中各随机选取 3 尾尼罗罗非鱼,用 MS-222(100 mg/L)溶液麻醉后迅速解剖其腹腔,取出脾脏、肝脏组织样品,分别放入 1.5 mL 离心管中,倒入体积分数为 4% 的多聚甲醛溶液进行固定。随后对固定组织进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明和石蜡包埋。包埋块经切片机连续切片(厚度 6 μm)、采用 H.E 染色和中性树胶封片后,分别于 40×、100×和 200×放大倍数的光学显微镜下观察这两种组织的形态变化并拍照记录。

1.5 统计分析

所有统计数据均使用 R 4.1.3 软件进行 One-way ANOVA 检验法进行显著性分析, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。实验结果均以平均值±标准差(Mean±SD)表示。使用 GraphPad prism 9.0 作图。

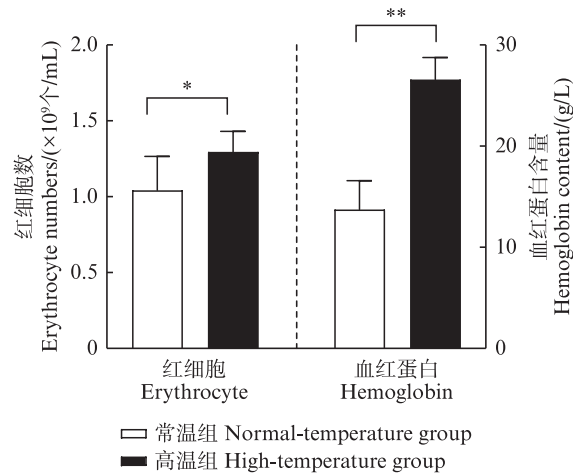
2 结果

2.1 红细胞计数与血红蛋白含量测定

本实验通过采集尼罗罗非鱼尾静脉血液 1 mL 进行红细胞计数与血红蛋白含量测定,实验结果见图 1。常温组红细胞数为(1.04±0.22)×10⁹个/mL,而高温组红细胞数为(1.30±0.13)×10⁹个/mL。可见,长期高温驯化尼罗罗非鱼的红细胞数量显著高于常温组($P<0.05$)。此外,对血红蛋白含量的测定结果也有类似趋势。常温组

的血红蛋白含量为 (13.73 ± 2.86) g/L,高温组的血红蛋白含量为 (26.60 ± 2.15) g/L。不同温度组尼罗罗非鱼的血红蛋白含量差异极显著($P < 0.01$)。

这些结果表明,长期高温驯化促进了尼罗罗非鱼红细胞的生成和血红蛋白的合成,从而提高了其在高温环境下的生理适应能力。



*. 同一时期下高温组与常温组相比差异显著($P < 0.05$); **. 差异极显著($P < 0.01$)。

*. There are significant differences between the high-temperature group and the normal-temperature group during the same period ($P < 0.05$); **. Extremely significant differences ($P < 0.01$).

图1 常温组和高温组尼罗罗非鱼的红细胞数量与血红蛋白含量比较

Fig. 1 Comparison of erythrocyte numbers and hemoglobin content between normal-temperature and high-temperature groups of Nile tilapia

2.2 血细胞的形态与大小测定

采用Wright Giemsa染料进行鱼类血细胞染色,并在光学显微镜下进行观察。根据细胞内各组分、颗粒物质、大小形态和染色特征^[24],观察到的鱼类血细胞有红细胞、白细胞和血栓细胞等,其中白细胞进一步分为单核细胞、嗜中性粒细胞和大小淋巴细胞。

鱼类血液中红细胞占血细胞总量的90%以上。成熟红细胞呈典型的椭圆形,表面光滑;核呈椭圆形,位于细胞中央;核染色质致密、被染成深紫红色;胞质内充满血红蛋白,呈均匀的粉色或浅紫红色(图版 I-1、II-1)。

单核细胞的细胞体较大,呈圆形或不规则形状;核形态多样,以肾形或不规则形状为主,常偏于细胞的一侧;胞质呈淡蓝色,可见空泡;有时可见一些伪足状突起和紫红色颗粒(图版 I-2、II-2)。

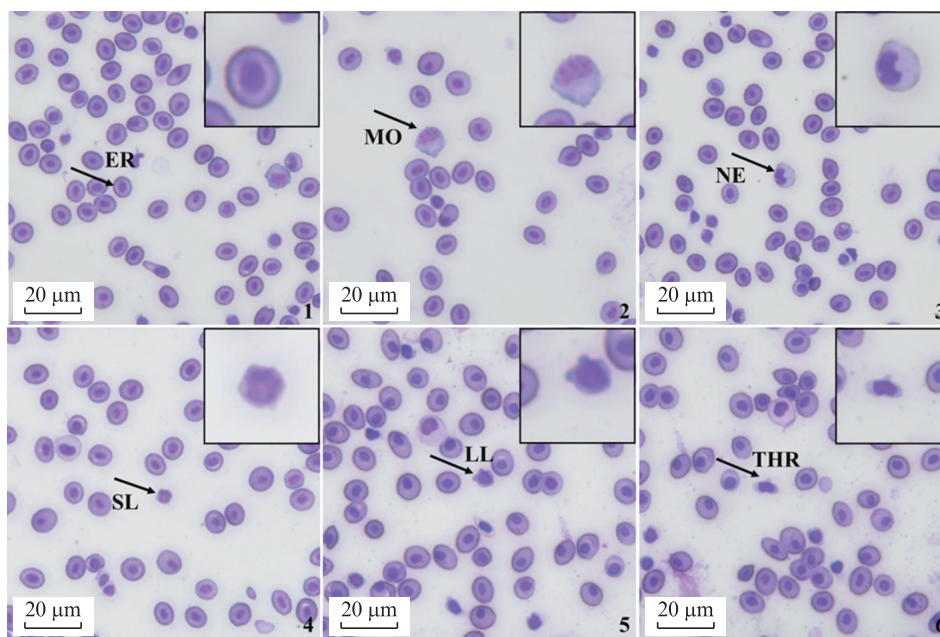
嗜中性粒细胞呈圆形或卵圆形,细胞较大;胞质丰富,呈淡粉色,少数无色,布满少量细小、紫红色颗粒;细胞核小而多样,有杆状、带状、肾形、分叶型等;分叶核通常为2叶居多,常偏于细胞一侧(图版 I-3、II-3)。

淋巴细胞呈圆形或椭圆形,大小不等,可分

为大淋巴细胞和小淋巴细胞两类。小淋巴细胞占多数,胞体小且核质比大;核多为圆形或不规则形;胞质浅蓝色,量很少,有时不可见(图版 I-4、II-4)。大淋巴细胞形态与小淋巴细胞相似,体积略大,表面可见一些伪足;胞质略多,淡蓝色,核染色较浅(图版 I-5、II-5)。

血栓细胞又称凝血细胞,常成群分布;胞体小,表面光滑,多呈纺锤形、卵圆形或短棒状等;核质比较大,染色质致密,呈深紫色(图版 I-6、II-6)。

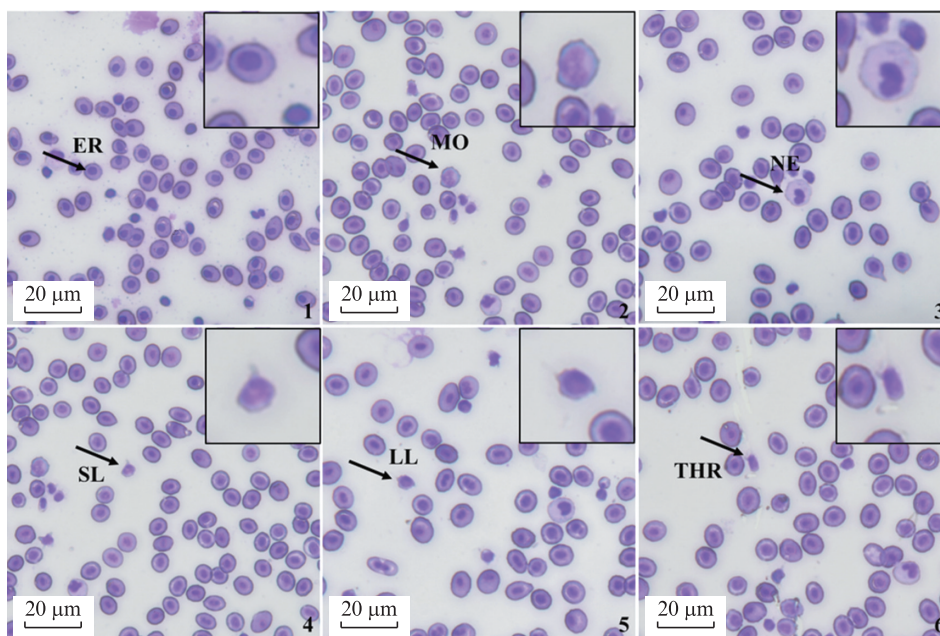
在对两组尼罗罗非鱼的血细胞进行区分和表征后,对红细胞、单核细胞、嗜中性粒细胞、大淋巴细胞、小淋巴细胞和血栓细胞6种主要血细胞进行了比较分析。结果发现,长期高温驯化的与常温条件下的尼罗罗非鱼在细胞形态结构上没有出现明显变化(图版 I, II)。然而,各类血细胞大小显示,长期高温驯化的尼罗罗非鱼在红细胞、单核细胞和嗜中性粒细胞的胞体大小与核大小均小于常温组,且差异极显著($P < 0.01$)(表1,图2)。而小淋巴细胞、大淋巴细胞、血栓细胞这3种类型细胞,高温组与常温组在细胞大小上无显著差异(表1)。



ER. 红细胞;MO. 单核细胞;NE. 嗜中性粒细胞;SL. 小淋巴细胞;LL. 大淋巴细胞;THR. 血栓细胞;采用Wright-Giemsa染色。
ER. Erythrocyte; MO. Monocyte; NE. Neutrophil; SL. Small lymphocyte; LL. Large lymphocyte; THR. Thrombocyte; Using Wright-Giemsa staining.

图版 I 常温组尼罗罗非鱼血细胞的显微结构观察

Plate I The microstructure of peripheral blood cells of normal-temperature Nile tilapia



ER. 红细胞;MO. 单核细胞;NE. 嗜中性粒细胞;SL. 小淋巴细胞;LL. 大淋巴细胞;THR. 血栓细胞;采用Wright-Giemsa染色。
ER. Erythrocyte; MO. Monocyte; NE. Neutrophil; SL. Small lymphocyte; LL. Large lymphocyte; THR. Thrombocyte; Using Wright-Giemsa staining.

图版 II 高温组尼罗罗非鱼血细胞的显微结构观察

Plate II The microstructure of peripheral blood cells of high-temperature Nile tilapia

此外,从血细胞大小的排序来看,常温组各类细胞大小依次为单核细胞、嗜中性粒细胞、红细胞、大淋巴细胞、血栓细胞、小淋巴细胞;而高温组各类细胞大小依次为嗜中性粒细胞、单核细胞

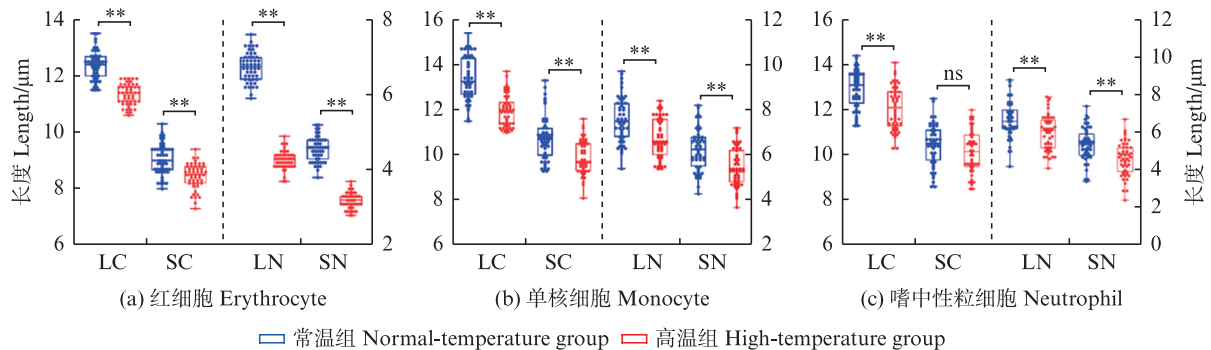
胞、红细胞、大淋巴细胞、血栓细胞、小淋巴细胞(表1)。比较两组数据,除了在高温组中嗜中性粒细胞的胞体略大于单核细胞外,其他细胞类型的排序在两组之间保持一致(表1)。

表1 常温组与高温组尼罗罗非鱼不同类型血细胞的大小
Tab. 1 The sizes of different types of blood cells in the normal-temperature group and the high-temperature group of Nile tilapia

参数 Parameters	常温 Normal-temperature		高温 High-temperature		常温 Normal-temperature		高温 High-temperature	
	细胞长径 Long diameter of cell	细胞短径 Short diameter of cell	细胞长径 Long diameter of cell	细胞短径 Short diameter of cell	核长径 Long diameter of nuclei	核短径 Short diameter of nuclei	核长径 Long diameter of nuclei	核短径 Short diameter of nuclei
红细胞 Erythrocyte	12.37±0.51	9.06±0.54	11.34±0.37**	8.46±0.45**	6.74±0.39	4.55±0.33	4.27±0.24**	3.19±0.21**
单核细胞 Monocyte	13.40±0.96	10.74±0.97	11.96±0.69**	9.92±0.74**	7.58±0.98	6.23±0.90	6.75±0.87**	5.46±0.83**
嗜中性粒细胞 Neutrophil	12.94±0.85	10.46±0.92	12.08±0.95**	10.15±0.94	6.66±0.96	5.37±0.87	5.98±0.93**	4.59±0.89**
小淋巴细胞 Small lymphocyte	6.84±0.51	5.97±0.59	6.79±0.66	5.98±0.65	4.43±0.92	3.80±1.00	4.76±0.41*	4.08±0.44
大淋巴细胞 Large lymphocyte	8.11±0.86	7.14±0.99	8.14±0.72	7.13±0.82	5.55±0.85	4.86±0.92	5.76±0.53	4.93±0.47
血栓细胞 Thrombocyte	7.18±0.62	5.85±0.70	7.21±0.68	5.56±0.60*	4.78±0.75	3.81±0.75	4.94±0.68	3.87±0.64

注:*.同一时期下高温组与常温组相比差异显著($P<0.05$);**.差异极显著($P<0.01$)。

Notes: *. There are significant differences between the high-temperature group and the normal-temperature group during the same period ($P<0.05$); **. Extremely significant differences ($P<0.01$).



LC. 细胞长径;SC. 细胞短径;LN. 核长径;SN. 核短径。

LC. Long diameter of cell;SC. Short diameter of cell;LN. Long diameter of nuclei;SN. Short diameter of nuclei.

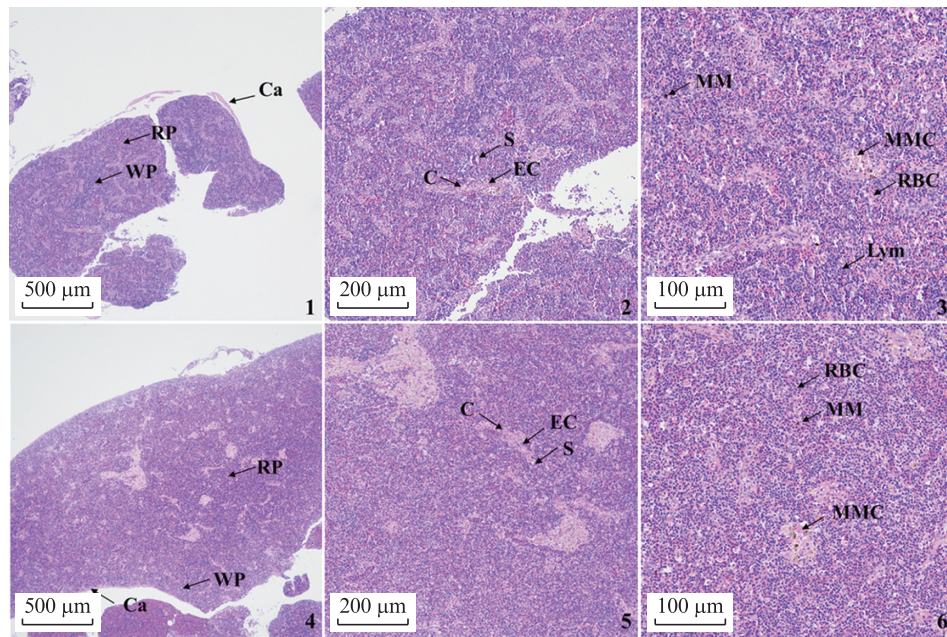
图2 常温和高温条件下尼罗罗非鱼血细胞胞体大小与核大小

Fig. 2 The size of blood cell bodies and nuclei of Nile tilapia under normal and high-temperature conditions

2.3 高温驯化后脾脏的显微结构变化

对两组温度下的尼罗罗非鱼脾脏组织的石蜡切片及显微观察发现,脾脏外层是由一层薄的结缔组织构成的被膜包裹,被膜下为实质,主要由分界不明显的红髓和白髓交替相互组成(图版Ⅲ-1, 4)。红髓区域富含脾窦和脾索,其中脾窦由网状结缔组织构成,形状多样,无固定形状,内含血细胞;脾索则主要分布在脾窦周围,呈长短

不一的条索状,内含长杆状的内皮细胞,细胞核比较大(图版Ⅲ-2, 5)。白髓区域主要由密集的淋巴细胞构成,这些细胞在脾脏的免疫应答中发挥关键作用(图版Ⅲ-3)。与常温组相比,高温组的脾脏组织中红髓面积扩大,充满大量红细胞,而白髓面积占比减小。此外,高温驯化组还出现了更多零星分散的单个黑色素巨噬细胞以及集合体黑色素巨噬细胞中心(图版Ⅲ-6)。



1~3 表示常温组的脾脏组织显微结构,采用 H.E 染色;4~6 表示高温组的脾脏组织显微结构,采用 H.E 染色。Ca. 被膜;WP. 白髓;RP. 红髓;C. 脾索;S. 脾窦;EC. 内皮细胞;Lym. 淋巴细胞;RBC. 红细胞;MM. 黑色素巨噬细胞;MMC. 黑色素巨噬细胞中心。
1-3 represents the microstructure of the spleen tissue from the normal-temperature group, using H. E staining; 4-6 represents the microstructure of the spleen tissue from the high-temperature group, using H. E staining. Ca. Capsule; WP. White pulp; RP. Red pulp; C. Splenic cord; S. Splenic sinus; EC. Endothelial cells; Lym. Lymphocyte; RBC. Erythrocyte; MM. Melano-macrophage; MMC. Melano-macrophage center.

图版 III 不同温度尼罗罗非鱼脾脏组织的显微结构

Plate III Microstructure of the spleen tissue of Nile tilapia under different temperatures

2.4 高温驯化后肝脏的显微结构变化

不同温度下肝脏组织的石蜡切片及显微观察结果如图版 IV 所示。在光学显微镜下观察,常温组的肝脏细胞表现出较规则的形态,细胞核主要位于细胞中央,排列有序。各细胞结构维持正常形态,其中肝细胞胞浆中存在空泡状变化(图版 IV-3)。肝板结构清晰可辨,肝脏细胞间存在大量肝血窦,且血窦内可见红细胞分布(图版 IV-2, 3)。相比之下,高温组的肝脏细胞空泡化现象相对增多(图版 IV-6),肝血窦数量减少,血窦内仅有少量的红细胞(图版 IV-5)。部分肝细胞的细胞核呈现缩小的趋势,并偏离细胞中心位置,移向细胞的一侧。同时,观察到零星分布的黑色素巨噬细胞(图版 IV-6)。

3 讨论

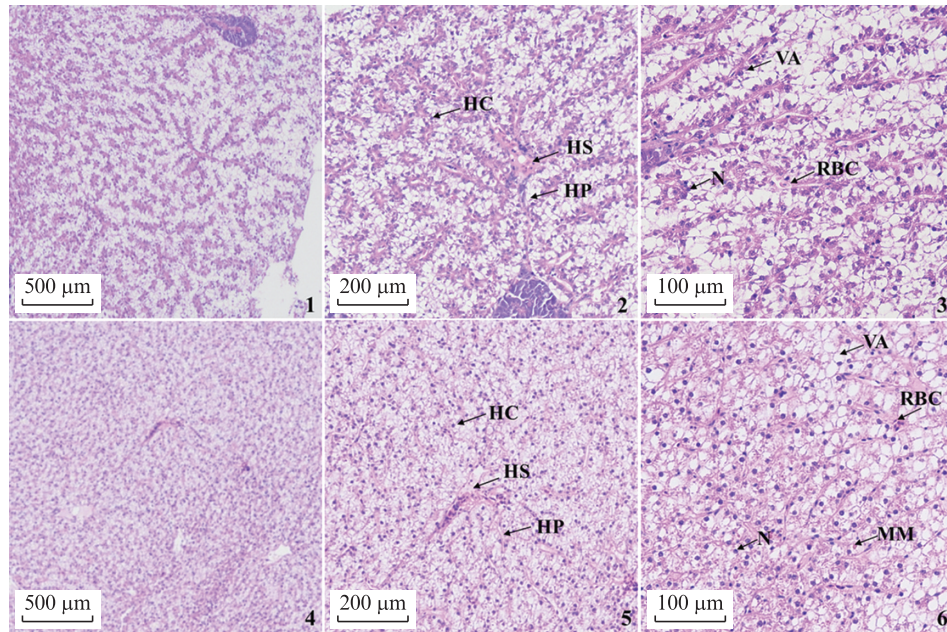
在评估鱼类的生理状态和生长情况时,血细胞数量是一个关键指标^[12]。红细胞作为血液含量最多的血细胞,承担着在动物体内运输氧气等重要物质的功能^[25]。血红蛋白是红细胞的重要组成部分,是血液运输氧气和二氧

化碳的主要载体,其含量与红细胞数量呈显著正相关^[26]。大量研究证实,在适温范围内,随温度的升高红细胞数量增多。张贤刚^[27]对尼罗罗非鱼在适温范围内的血液研究中发现,随水温的升高,红细胞数量和血红蛋白含量均有所增加。对许氏平鲈^[28]、哲罗鱼^[29]、虹鳟^[30]的研究表明均有类似的上升趋势。本研究发现,长期高温驯化下尼罗罗非鱼红细胞数量和血红蛋白含量均显著增多(图 1)。这是由于温度升高会导致水体溶解氧含量降低^[31],鱼类为了维持正常的呼吸和代谢,会加快呼吸频率和摄食能力,因此需要产生更多的红细胞和血红蛋白来运载氧气。

血涂片观察可见,长期高温驯化尚未导致试验鱼血细胞形态发生变化。但适应长期高温环境的尼罗罗非鱼,其红细胞、单核细胞和嗜中性粒细胞的细胞大小均极显著小于常温组;小淋巴细胞、大淋巴细胞和血栓细胞的大小没有明显变化(表 1,图 2)。红细胞大小直接决定单位体积血液中的红细胞数量,即红细胞体积越小,单位体积血液中所容纳的红细胞数量就越多^[32]。这

是因为体积较小的红细胞具有更大的比表面积,可以提高输送氧气和二氧化碳的效率,起到提高呼吸机能的作用^[33]。在血细胞中,细胞胞径减小意味着细胞正在进行分裂过程,这将导致血液中该细胞类型的数目增多^[34]。单核细胞和嗜中性

粒细胞作为鱼类的白细胞,具有通过伪足样胞突吞噬异物和衰老细胞的能力来参与免疫反应^[12]。这两种细胞大小的减小,可能说明它们在血液中的数量增加。因此,推测长期高温驯化会影响尼罗罗非鱼的免疫功能。



1~3表示常温组的肝脏组织显微结构,采用H.E染色;4~6表示高温组的肝脏组织显微结构,采用H.E染色。HC. 肝细胞;HS. 肝血窦;HP. 肝板;RBC. 红细胞;N. 细胞核;VA. 细胞空泡;MM. 黑色素巨噬细胞。

1-3 represents the microstructure of the liver tissue from the normal-temperature group, using H. E staining; 4-6 represents the microstructure of the liver tissue from the high-temperature group, using H. E staining. HC. Hepatocyte; HS. Hepatic sinus; HP. Hepatic plate; RBC. Erythrocyte; N. Nucleus; VA. Cellular vacuoles; MM. Melano-macrophage.

图版IV 不同温度尼罗罗非鱼肝脏组织的显微结构

Plate IV Microstructure of the liver tissue of Nile tilapia under different temperatures

脾脏是鱼类主要的造血、储血和免疫器官,在抗原呈递、免疫细胞释放和清除血液中病原体方面发挥着重要作用^[35]。已有研究表明,长期高温会损伤脾脏的组织结构,降低机体的免疫能力^[36]。本研究发现,长期高温驯化下的尼罗罗非鱼相比于常温组,其脾脏组织中红细胞数量增多,红髓面积扩大,而白髓面积相对减小(图版Ⅲ)。这种变化趋势与林欣等^[37]在重度低氧下观察到的结果一致,表明尼罗罗非鱼在高温环境下可能通过调节脾脏的造血功能以适应由于水体环境温度的升高导致的低氧状态。进一步观察发现,长期高温驯化的尼罗罗非鱼脾脏中,黑色素巨噬细胞的数量明显增加,其中多数黑色素巨噬细胞聚集成群,形成巨噬细胞中心。许志城^[38]通过光镜观察大口黑鲈脾脏组织发现,在34℃高温胁迫下,脾脏中黑色素巨噬细胞的数量随胁

迫时间延长而增加,与本研究结果一致。黑色素巨噬细胞作为重要的免疫细胞类群,具有清除病原微生物和促进血细胞生成的能力,其内部的血清铁蛋白和铁血黄素有助于血细胞的及时更新和代谢^[39-40]。可以推测,长期高温驯化下黑色素巨噬细胞数量的增加,可能为鱼类的高温环境适应提供有力支持。

肝脏是鱼类重要的腺体和消化器官,主要负责代谢调控、免疫防御和血液储存等生命活动^[41]。研究表明,长期高温可引起鱼体肝脏组织结构变化,造成其基本功能受损,进而导致机体代谢紊乱并损害健康^[42]。王国成^[43]对白梭吻鲈进行不同高温胁迫2 h后,34和36℃试验组与对照组相比,出现结构模糊、肝细胞核浓缩、核溶解以及细胞空泡化等组织变化,说明高温胁迫会造成肝脏细胞、组织发生损伤。本研究中,长期高

温驯化下尼罗罗非鱼肝细胞的细胞核呈现缩小和偏移趋势,严重的甚至出现溶解(图版IV)。为适应高温环境,高温组罗非鱼肝糖原被溶解加剧以提供大量消耗的能量,故表现为肝细胞空泡化增多。该研究结果与长期高温对大口黑鲈^[44]、虹鳟^[45]的肝组织病变症状相似,说明长期高温环境会导致鱼类肝脏组织结构损伤,甚至影响其正常功能。此外,与常温组相比,高温组肝脏中出现零星分布的黑色素巨噬细胞,表明在长期高温驯化下,尼罗罗非鱼的免疫系统可能被激活,以增强对环境压力的适应和防御能力。

4 总结

综上,长期高温驯化对尼罗罗非鱼的生理适应机制具有明显影响。首先,高温组的罗非鱼红细胞数量和血红蛋白含量较常温组均显著增加($P<0.05$);红细胞、单核细胞和嗜中性粒细胞的大小呈显著减小的趋势($P<0.05$),以适应高温导致的低氧环境。此外,长期高温驯化对尼罗罗非鱼的脾脏与肝脏组织产生了影响,两种组织都显示出不同程度的损伤,与常温组相比,均出现了更多的黑色素巨噬细胞。由此推测尼罗罗非鱼可能通过调整造血功能和激发免疫应答来适应高温环境。

参考文献:

- [1] 唐瞻杨. 广西罗非鱼产业化发展现状的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2011.
TANG Z Y. The study of tilapia industry development situation in Guangxi[D]. Nanning: Guangxi University, 2011.
- [2] EL-HACK M E A, ABDELNOUR S A, TAHA A E, et al. Herbs as thermoregulatory agents in poultry: an overview[J]. Science of the Total Environment, 2020, 703: 134399.
- [3] LIU X X, SHI H N, LIU Z, et al. Effect of heat stress on heat shock protein 30 (Hsp30) mRNA expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 2019, 19(8): 681-688.
- [4] WU F, YANG C G, WEN H, et al. Improving low-temperature stress tolerance of tilapia, *Oreochromis niloticus*: a functional analysis of *Astragalus membranaceus* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2019, 50(4): 749-762.
- [5] HE Y F, WU X B, ZHU Y J, et al. Effect of rearing temperature on growth and thermal tolerance of *Schizothorax (Racoma) kozlovi* larvae and juveniles [J]. Journal of Thermal Biology, 2014, 46: 24-30.
- [6] ABDEL-TAWWAB M, WAFEEK M. Fluctuations in water temperature affected waterborne cadmium toxicity: hematology, anaerobic glucose pathway, and oxidative stress status of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) [J]. Aquaculture, 2017, 477: 106-111.
- [7] YANAR M, ERDOĞAN E, KUMLU M. Thermal tolerance of thirteen popular ornamental fish species [J]. Aquaculture, 2019, 501: 382-386.
- [8] XU H, ZHANG D L, YU D H, et al. Molecular cloning and expression analysis of *scd1* gene from large yellow croaker *Larimichthys crocea* under cold stress [J]. Gene, 2015, 568(1): 100-108.
- [9] 孙儒泳, 张玉书. 温度对罗非鱼生长的影响[J]. 生态学报, 1982, 2(2): 181-188.
SUN R Y, ZHANG Y S. The influence of temperatures on growth of tilapia [J]. Acta Ecologica Sinica, 1982, 2(2): 181-188.
- [10] 郭恩彦, 郭忠宝, 罗永巨. 吉富罗非鱼最适生长水温研究[J]. 广东海洋大学学报, 2011, 31(1): 88-93.
GUO E Y, GUO Z B, LUO Y J. Optimum water temperature for growth of GIFT, *Oreochromis niloticus* [J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2011, 31(1): 88-93.
- [11] 米博瀚. 碳酸盐胁迫下瓦氏雅罗鱼磷酸酶基因差异表达与生理应答[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
MI B H. Effects of alkalinity stress on phosphatase gene expression and physiology response in *Leuciscus waleckii* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [12] 晋伟, 刘逸尘, 张树花, 等. 鱼类血细胞研究进展[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(12): 27-30.
JIN W, LIU Y C, ZHANG S H, et al. Research progress on fish haemocyte [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(12): 27-30.
- [13] 赵柳兰, 陈侨兰, 杨淞, 等. “优鲈1号”大口黑鲈血细胞的形态特征及吞噬功能的研究[J]. 南方水产科学, 2016, 12(3): 43-50.
ZHAO L L, CHEN Q L, YANG S, et al. Morphological characterization and phagocytosis of blood cells in “Youlu No. 1” largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. South China Fisheries Science, 2016, 12(3): 43-50.
- [14] 陈刚, 周晖, 张健东, 等. 军曹鱼血液指标及血细胞发生的观察[J]. 水生生物学报, 2005, 29(5): 564-570.
CHEN G, ZHOU H, ZHANG J D, et al. Hematological study and observation on development of blood cells in Cobia, *Rachycentron canadum* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, 29(5): 564-570.
- [15] GRANT K R. Fish hematology and associated disorders

- [J]. Clinics in Laboratory Medicine, 2015, 35(3): 681-701.
- [16] CAMPBELL T W. Evaluation of the blood film [J]. Clinics in Laboratory Medicine, 2015, 35(3): 703-721.
- [17] 周玉, 郭文场, 杨振国. 鱼类血细胞的研究进展[J]. 动物学杂志, 2001, 36(6): 55-57.
- ZHOU Y, GUO W C, YANG Z G. The progress of studies on fish blood cells [J]. Chinese Journal of Zoology, 2001, 36(6): 55-57.
- [18] 石金凤, 刘小红, 汪浩宇, 等. 四川华鲮外周血液及血细胞发生的观察[J]. 水产学报, 2024, 48(3): 039107.
- SHI J F, LIU X H, WANG H Y, et al. Observation of hematocytes in peripheral blood and the hematopoiesis in *Sinibrama taeniatus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2024, 48(3): 039107.
- [19] BRANDER K M. Global fish production and climate change [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(50): 19709-19714.
- [20] 魏亚丽, 周艳, 黄思婕, 等. 高温胁迫下尼罗罗非鱼肝脏组织的转录组分析[J]. 大连海洋大学学报, 2021, 36(2): 222-228.
- WEI Y L, ZHOU Y, HUANG S J, et al. Transcriptome analysis of liver tissue of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to high temperature stress [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2021, 36(2): 222-228.
- [21] 陈智. 低温胁迫对荷那龙罗非鱼血液生理生化指标的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2011.
- CHEN Z. Effects of low temperature stress on blood physiological and biochemical indexes of *Oreochromis hornorum* [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2011.
- [22] LI S L, WANG R J, DAI Z L, et al. Dietary supplementation with *Yucca schidigera* extract alleviated heat stress-induced unfolded protein response and oxidative stress in the intestine of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 219: 112299.
- [23] ZHOU T, GUI L, LIU M L, et al. Transcriptomic responses to low temperature stress in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 84: 1145-1156.
- [24] 周永灿, 邢玉娜, 冯全英. 鱼类血细胞研究进展[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2003, 21(2): 171-176.
- ZHOU Y C, XING Y N, FENG Q Y. Research advance in the haemocytes of fishes [J]. Natural Science of Hainan University, 2003, 21(2): 171-176.
- [25] 符兵, 彭凯, 赵红霞, 等. 鱼类脆化作用机理的研究进展[J]. 饲料研究, 2023, 46(3): 140-143.
- FU B, PENG K, ZHAO H X, et al. Research progress on the mechanism of fish embrittlement [J]. Feed Research, 2023, 46(3): 140-143.
- [26] JENEY V, EATON J W, BALLA G, et al. Natural history of the bruise: formation, elimination, and biological effects of oxidized hemoglobin [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2013, 2013: 703571.
- [27] 张贤刚. 水温对尼罗罗非鱼几种血液学指标影响的初步研究[J]. 淡水渔业, 1991(2): 15-17.
- ZHANG X G. Preliminary study on the effect of water temperature on hematology indices of *Tilapia nilotica* [J]. Freshwater Fisheries, 1991(2): 15-17.
- [28] 张亚晨. 急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲷血液生理和生殖内分泌机能的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
- ZHANG Y C. Effect of acute temperature stress on hematological physiology and reproductive endocrine functions of gestational ovoviviparous black rockfish, *Sebastes schlegelii* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015.
- [29] 佟广香, 唐国盘, 董乐, 等. 高温胁迫对哲罗鱼血液指标和热休克蛋白基因的影响[J]. 淡水渔业, 2021, 51(2): 23-28.
- TONG G X, TANG G P, DONG L, et al. Effects of heat stress on blood parameters and gene expression of heat shock proteins in *Hucho taimen* [J]. Freshwater Fisheries, 2021, 51(2): 23-28.
- [30] DEWILDE M A, HOUSTON A H. Hematological aspects of the thermoacclimatory process in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1967, 24(11): 2267-2281.
- [31] ISLAM M J, KUNZMANN A, SLATER M J. Responses of aquaculture fish to climate change-induced extreme temperatures: a review [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2022, 53(2): 314-366.
- [32] 陈永祥, 肖玲远, 严太明, 等. 野生和养殖裂腹鱼血液学指标的比较研究[J]. 水生生物学报, 2009, 33(5): 905-910.
- CHEN Y X, XIAO L Y, YAN T M, et al. Hematological of wild and cultured *Schizothorac* in fishes [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2009, 33(5): 905-910.
- [33] XIAO W H. The hypoxia signaling pathway and hypoxic adaptation in fishes [J]. Science China Life Sciences, 2015, 58(2): 148-155.
- [34] SHI L H, CHEN L, JIANG S W, et al. Hematogenesis adaptation to long-term hypoxia acclimation in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Fishes, 2022, 7(3): 98.
- [35] 朱玲, 高心明, 刘思琪, 等. 唇鲮成鱼脾和肾的解剖学与组织学特征[J]. 上海海洋大学学报, 2024, 33(3): 635-645.
- ZHU L, GAO X M, LIU S Q, et al. Anatomical and histological characteristics of spleen and kidney in adult *Hemibarbus labeo* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2024, 33(3): 635-645.

- University, 2024, 33(3): 635-645.
- [36] 卢军浩. 纳米硒对热应激下虹鳟抗氧化能力和免疫能力的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2022.
- LU J H. Effects of nano selenium on antioxidant capacity and immune capacity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) under heat stress [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2022.
- [37] 林欣, 区又君, 谢希尧, 等. 急性低氧胁迫对四指马鲛幼鱼脾脏、心脏组织结构的影响[J]. 广东农业科学, 2024, 51(6): 109-116.
- LIN X, OU Y J, XIE X Y, et al. Effects of acute hypoxia stress on the tissue structure of spleen and heart of juvenile *Eleutheronema tetradactylum* [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2024, 51(6): 109-116.
- [38] 许志城. 高温胁迫下大口黑鲈免疫响应及细菌易感性的机制研究[D]. 重庆: 西南大学, 2023.
- XU Z C. Mechanism study on immune response and bacterial susceptibility of Largemouth bass (*Micropterus salmoides*) under high temperature stress [D]. Chongqing: Southwest University, 2023.
- [39] STEINEL N C, BOLNICK D I. Melanomacrophage centers as a histological indicator of immune function in fish and other poikilotherms [J]. Frontiers in Immunology, 2017, 8: 827.
- [40] 季益平, 匡思雯, 袁子, 等. 银鲈脾脏和头肾的形态与组织学特征[J]. 宁波大学学报(理工版), 2020, 33(4): 1-5.
- JI Y P, KUANG S W, YUAN Z, et al. Morphological and histological characteristics of spleen and head-kidney of *Pampus argenteus* [J]. Journal of Ningbo University (Natural Science & Engineering Edition), 2020, 33(4): 1-5.
- [41] SAAD M J A, SANTOS A, PRADA P O. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance[J]. Physiology, 2016, 31(4): 283-293.
- [42] 张潭, 佟广香, 徐欢, 等. 高温胁迫对哲罗鲑鳃和肝脏组织病理学及血清生化指标的影响[J]. 水产学报, 2025, 49(6): 069106.
- ZHANG T, TONG G X, XU H, et al. Effects of high-temperature stress on the histopathology of gills and liver tissues and serum biochemical indicators of *Hucho taimen* [J]. Journal of Fisheries of China, 2025, 49(6): 069106.
- [43] 王国成. 高温胁迫对白梭吻鲈生理生化的影响及其HSC70基因的克隆与表达[D]. 苏州: 苏州大学, 2017.
- WANG G C. Effect of high temperature stress on physiology and biochemistry, HSC70 gene cloning and expression of pikeperch (*Sander lucioperca*) [D]. Suzhou: Soochow University, 2017.
- [44] VELMURUGAN B, SELVANAYAGAM M, CENGIZ E I, et al. Histopathology of lambda-cyhalothrin on tissues (gill, kidney, liver and intestine) of *Cirrhinus mrigala* [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2007, 24(3): 286-291.
- [45] 周彦静. 持续热应激下虹鳟热应激蛋白基因HSP90 α 和HSP10 mRNA表达、组织损伤及血细胞凋亡变化[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2017.
- ZHOU Y J. Effects of continuing heat stress on heat-shock protein HSP90 α and HSP10 mRNA expression, tissue injury and blood cell apoptosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2017.

Effects of long-term high-temperature domestication on the hematology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

LIAO Pingde^{1,2}, LIN Yichuan^{1,2}, ZHANG Wenna^{1,2}, JIANG Shouwen^{3,4}, XU Qianghua^{1,2,3}

(1. College of Marine Living Resource Sciences and Management, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Ocean Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai 201306, China; 3. International Research Center for Marine Biosciences, Ministry of Science and Technology, Shanghai 201306, China; 4. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to understand the effects of long-term high-temperature on blood-related indexes and tissue structure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), tail vein blood analysis and microscopic observation techniques were used to compare the hematological parameters and microstructural changes of the spleen and liver of Nile tilapia at normal-temperature (28 °C) with those at long-term high-temperature domestication (34 °C). The results showed that the number of erythrocytes and hemoglobin content of tilapia in the high-temperature group were significantly higher than those in the normal-temperature group; although the morphology of hemocytes did not show any difference between the two groups of temperature conditions, the sizes of erythrocytes, monocytes, and neutrophils tended to decrease significantly in the high-temperature group. In addition, observations of tissue sections showed that long-term high-temperature domestication led to an increase in the number of erythrocytes, an expansion of the red pulp area, a relative decrease in the white pulp area, and an increase in the number of melano-macrophage in tilapia spleen tissues, as well as an intensification of hepatocyte vacuolization and an increase in the number of melano-macrophage in liver tissues. These results indicated that the long-term high-temperature environment had significant effects on blood indices and hematopoietic tissues of Nile tilapia, and it was hypothesized that they adapted to the high-temperature environment by regulating their hematopoietic function and immune response. This study provides an important reference for understanding the physiological adaptation mechanism of Nile tilapia under long-term high-temperature, and also provides a scientific basis for tilapia aquaculture practice in the context of global warming.

Key words: Nile tilapia; high-temperature domestication; blood indices; spleen; liver