

DOI: 10.3969/j.issn.1007-9580.2022.06.011

pH 急性胁迫对方斑东风螺行为及免疫酶活性的影响

丁瑞霞^{1,2,3,4}, 黄星美^{2,3,4}, 赵旺^{2,3}, 邓正华^{2,3,4}, 陈恒大³,
温为庚^{2,3,4}, 马振华^{2,3,4}, 王江勇⁵, 郑忠明⁶

(1 天津农学院水产学院, 天津 300384;

2 三亚热带水产研究院, 海南 三亚 572426;

3 海南省深远海渔业资源高效利用与加工重点实验室, 海南 三亚, 572426;

4 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300;

5 惠州学院生命科学学院, 广东 惠州 516007;

6 宁波大学海洋学院, 浙江 宁波 315822)

摘要:为揭示方斑东风螺(*Babylonia areolata*) 在低 pH 和高 pH 胁迫时的急性毒性和生理变化, 以 pH=8.0 为对照组, pH=5.0、6.0、7.0 和 9.0 为试验组, 测定方斑东风螺体内 4 种免疫酶: 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和酸性磷酸酶(ACP)活性。结果显示: 不同时间 pH 胁迫对免疫酶活性有显著影响($P<0.05$), 而不同 pH 胁迫对免疫酶的活力没有显著影响($P>0.05$); 方斑东风螺经过 pH 急性胁迫后, 在低 pH 和高 pH 的水体养殖 6 h 后都出现了活力下降、爬壁缓慢, 而在 48 h 后开始出现死亡; 各试验组 GSH-PX 活性均呈现“抑制-诱导”的变化趋势; 随着时间的不断延长, 各 pH 处理组 CAT 活力均呈现“诱导-抑制-诱导”的变化趋势; POD 活性总体表现出了“诱导-抑制”的趋势; 低 pH 处理组(pH=5.0、6.0) ACP 活性表现出“诱导-抑制”的趋势。该研究对方斑东风螺的养殖具有参考意义, 同时丰富贝类免疫系统方面的基础资料。

关键词:方斑东风螺(*Babylonia areolata*); 免疫酶; 行为; pH 急性胁迫

中图分类号: S967.6

文献标志码: A

文章编号: 1007-9580(2022)06-0084-007

方斑东风螺(*Babylonia areolata*) 俗称香螺、花螺, 属于腹足纲, 蛾螺科, 主要生长在中国东南亚和日本沿海, 是热带和亚热带的海洋物种, 也是中国东南沿海主要的养殖产品和经济贝类^[1]。其营养丰富、肉质鲜美, 是一种传统海味, 深受人们的喜爱, 市场容量较大。近年来, 随着苗种繁育及养殖技术的突破与升级, 方斑东风螺工业化养殖在中国东南沿海地区发展迅速^[2]。

水环境在水生生物的生长繁殖中起着重要作用, 而不适宜的环境则会抑制水生生物的发育、生长和繁殖。pH 是水产养殖水环境的重要指标, 过高、过低都会直接影响水产养殖生物的生长、摄食

和代谢^[3-4]。在贝类工业化的养殖过程中, 大量的贝类死亡、藻类的过度喂养甚至海水的红潮都会降低水体的 pH, 而且在养殖过程中, 为了净化水质, 栽植大量的水生植物, 由于光合作用, 水中的二氧化碳(CO₂) 被大量消耗, 导致水体 pH 增加^[5], pH 的变化会对水生生物造成慢性或急性的应激, 影响其活动及免疫功能^[6-10]。方斑东风螺在中国南方沿海的养殖方式主要以露天陆地水泥池的流水养殖为主, 水产养殖池 pH 的变化会对其生理和生长过程产生不同影响。酸性和碱性环境会降低幼贝的附着力, 两壳紧密闭合、触手不伸出^[11]。

收稿日期: 2022-04-07

基金项目: 国家重点研发计划项目(2020YFD0900201); 三亚市院地科技合作项目(2018YD19, 2019YD21); 现代农业产业技术体系专项资金(CARS-49); 农业农村部财政专项(NHYYSWZZZYKZX2020); 农业行业标准制定和修订项目(20191818); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(2022YJ10; 2020TD55); 国家(省)重点科技项目三亚市配套资金(2019PT61); 揭阳市科技计划重点项目(SKJCX020)

作者简介: 丁瑞霞(1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 海水贝类生理与生化。E-mail: 582750695@qq.com

通信作者: 马振华(1981—), 男, 研究员, 从事海水鱼类繁育与发育研究。E-mail: zhenhua.ma@hotmail.com

本研究通过 pH 胁迫试验确定了方斑东风螺免疫活性的变化,更好地了解方斑东风螺的免疫反应,为深入研究方斑东风螺提供参考。

1 材料和方法

1.1 试验材料

中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心(海南省陵水县)提供了试验用的方斑东风螺,并且在该实验基地进行试验。试验用的方斑东风螺的体长为 (2.80 ± 0.32) cm,平均质量为 (2.50 ± 0.13) g,先暂养 2 d 再进行试验。养殖过程的水质参数为:盐度 33.00 ± 0.80 ,温度 (26.00 ± 1.00) °C, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 质量浓度小于 0.01 mg/L,亚硝酸盐质量浓度小于 0.04 mg/L,溶氧(DO)质量浓度大于 6.50 mg/L。试验海水经沉淀、沙滤。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

据试验要求放入健康、大小均匀且活力强的方斑东风螺,观察活动和生存情况,试验过程中观察 24 h 内百分百死亡 pH (LC100/24 h) 和 96 h 内百分百无死亡 pH (LC100/96 h),据试验结果确定试验液 pH 的上、下限,然后用等间距方法分别设置了 5.0~9.0 等 5 个 pH 浓度梯度,利用氢氧化钠(NaOH)或者氯化氢(HCl)来调节至相应 pH,使用 pH 分析仪测定相应的 pH,并将已经配置好的海水储存在单独的水箱中。以自然海水 pH=8.0 为基础,用 pH 分析仪对水体的 pH 每天早晚各矫正一次,控制 pH 日变化幅度不超 ± 0.2 。每组处理均为 3 个平衡,并将 30 只健康活跃的螺放在每个实验容器(40 L)中。试验用螺质量相近,来降低试验差异性,整个试验过程中螺不会重复使用,并在试验期间停止投喂。

试验开始后,从 6、12、24、48、72 和 96 h 内随机选择每组 3 只方斑东风螺,检测每种免疫酶的

活性。在这种情况下,每 6 h 从每个容器中取出水样,测量 pH 并及时调整到预定值。在试验中,对各试验组方斑东风螺的活动状况和死亡率进行持续观察和记录,评估死亡的标准是,螺肉向外翻,吻管向外突出,发白僵硬。

1.2.2 样品的处理

用 0.2 mol/L 的生理盐水以 1:2 的质量体积比研磨整个组织,将研磨液置于 5 000 r/min、4 °C 下离心 10 min,并将上清液置于洁净的 EP (eppendorf)管中,-80 °C 冰箱内保存、备用,POD、CAT、ACP 和 GSH-PX 活性的测定分别采用相关试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

1.2.3 试验数据的处理分析

获得的数据以平均值 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示,并使用 SPSS 21.0 对试验结果进行统计学分析。先对数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),若处理间有显著性差异,再用 Duncan 法对均值进行比较,显著性水平为 $P < 0.05$,极显著性水平为 $P < 0.01$ 。

2 结果

2.1 pH 胁迫对方斑东风螺的行为及存活率的影响

在 pH 试验组中,随着 pH 的改变,方斑东风螺出现不同程度的应激反应。pH 胁迫后,方斑东风螺主要表现为对外部刺激反应迟钝,运动缓慢,爬壁运动减少,沉到桶底,无法正立,身体硬死。方斑东风螺的死亡状态为发白僵硬,螺肉外翻,吻管向外伸出。pH=5.0 的试验组在 6 h 时出现了行动缓慢、翻背,在 72 h 开始死亡,死亡率为 13%。pH=9.0 试验组在 12 h 出现翻背,其翻背率为 50%至 27 h 出现死亡。其他 pH 试验组的方斑东风螺生活状况良好,存活率 100%,仅有个别螺出现翻背的现象(见表 1)。随着时间的推移,对照组的方斑东风螺也从最初的行动活跃到最后的行动缓慢、翻背。

表 1 pH 胁迫下方斑东风螺的行为和存活率影响

Tab. 1 Effects of pH stress on the behavior and survival of *Babylonia areolata*

pH	死亡率/%						行为					
	6h	12h	24h	48h	72h	96h	6h	12h	24h	48h	72h	96h
5.0	0	0	0	0	13 \pm 0.6	16 \pm 1.1	翻背	翻背	翻背	迟缓	死亡	死亡
6.0	0	0	0	0	0	0	正常	正常	翻背	翻背	翻背	迟缓
7.0	0	0	0	0	0	0	正常	正常	正常	正常	翻背	迟缓
8.0	0	0	0	0	0	0	正常	正常	正常	正常	正常	翻背
9.0	0	0	0	0	13 \pm 0.9	23 \pm 2.7	正常	翻背	翻背	迟缓	死亡	死亡

注:翻背表示方斑东风螺腹面朝上,螺壳朝下的不健康状态

2.2 pH胁迫对方斑东风螺 GSH-PX 活性的影响

pH胁迫对方斑东风螺 GSH-PX 活性的影响如图 1a 所示。可以看出,不同 pH 的处理时间对方斑东风螺 GSH-PX 活力影响显著($P<0.05$),不同 pH 下 GSH-PX 活性短时间内无显著性差异($P>0.05$)。在 pH=5.0 时,GSH-PX 的活性先升高后又降低,并在 48 h 活性达到 7.48 U/mgprot 的峰值。同样的 pH=8.0 时,GSH-PX 活性在 6 h 也达到了最大值 9.44 U/mgprot。然而,GSH-PX 活性在其他各试验组中随着时间的推移,GSH-PX 显示出“诱导-抑制”的趋势。

2.3 pH胁迫对方斑东风螺 CAT 活性的影响

pH胁迫对方斑东风螺 CAT 活性的影响如图 1b 所示。可以看出,不同 pH 的处理时间对方斑东风螺 CAT 活力影响显著($P<0.05$),不同 pH 下 CAT 活性短时间内无显著性差异($P>0.05$)。在 pH=9.0 时,CAT 活性变化显著,在 12 h 试验组活性出现峰值,达到 58.26 U/mgprot,随着时间的推移,活性逐渐降低;在 pH=7.0 时,试验组在 6 h 活性达到最低值 15.23 U/mgprot。总体来看,随着时间的不断延长,各 pH 处理组 CAT 活性显示出“诱导-抑制-诱导”的变化趋势。

2.4 pH胁迫对方斑东风螺 POD 活性的影响

pH胁迫对方斑东风螺 POD 活性的影响如图

1c 所示。可以看出,不同 pH 的处理时间对方斑东风螺 POD 活力影响显著($P<0.05$),不同 pH 下 POD 的活性短时间内无显著性差异($P>0.05$)。当 pH=7.0、8.0 时,POD 活力呈现先降低后升高最后降低的趋势,其他实验组 POD 活力均呈现为先升高后降低的趋势。当 pH=9.0 时,POD 活力变化显著,在 24 h 活力出现峰值,达到 15.19 U/mgprot,当 pH=5.0 时,试验组 POD 活力在 96 h 达到最低值,活力为 5.03 U/mgprot。虽然各试验组 POD 活力的变化规律不同,总体看来,POD 活性显示出“诱导-抑制”的变化趋势。

2.5 pH胁迫对方斑东风螺 ACP 活性的影响

pH胁迫对方斑东风螺 ACP 活性水平的主要影响如图 1d 所示。可以看出,不同 pH 的处理时间对方斑东风螺 ACP 活力影响显著($P<0.05$),当 pH=5.0、8.0、9.0 时,ACP 的活性显著上升,并可在 12 h 达到最高,但随着时间的推移,ACP 的活性逐渐出现抑制。pH=7.0 时,ACP 活性由 6 h 的最高值 173.09 U/mgprot 逐渐降低,后虽然随着时间的变化有所提高,但总体 ACP 活性仍然是受到抑制。pH=6.0 时,ACP 活性受到轻微抑制后随时间显著升高,在 24 h 后又呈现抑制的现象。因此,低 pH 处理组 (pH=5.0、6.0) ACP 活性显示出“诱导-抑制”的变化趋势。

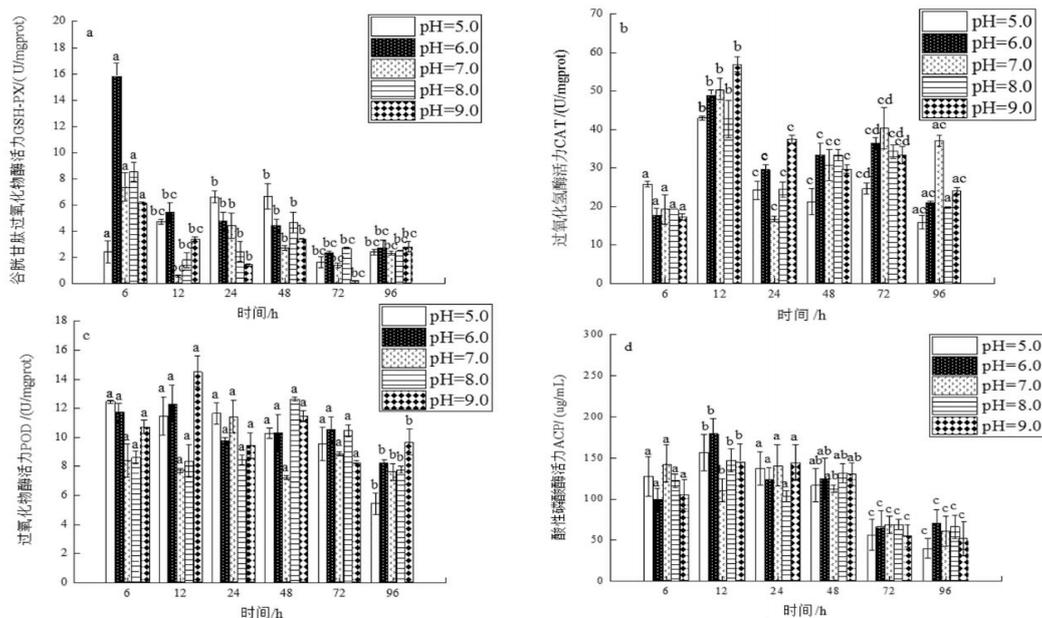


图 1 pH胁迫对方斑东风螺免疫酶活性水平的主要影响

Fig. 1 pH stress is the main effect of immunoenzyme activity levels on the *Babylonia areolata*

3 讨论

3.1 pH 对方斑东风螺行为和存活率的影响

在适宜的环境条件下,水生生物体内的代谢会加强,有利于其生长发育。反之,会对水生生物产生代谢压力进而影响其生长^[12-13]。pH 作为一个重要的环境因子,其变化可能会导致水生生物的免疫能力受损甚至死亡^[14]。本试验中,在 pH 为 5.0、9.0 处理 72 h 时的平均死亡率超过 10%,在 96 h 的死亡率达到 20%。试验发现,方斑东风螺的最适 pH 为 8.0,其最高和最低的临界 pH 分别为 9.0 和 5.0,超出这个临界范围,方斑东风螺的存活率会大大降低。这和刘洋等^[15]的研究结果相似,不同 pH 对海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 胚胎发育的影响,随着 pH 的降低,存活率逐渐下降。水体 pH 会直接地影响水生生物代谢功能,造成其免疫系统受损、酸碱平衡紊乱、导致个体的死亡。覃玉莲等^[16]研究低 pH 对小龙虾 (*Procambarus clarkia*) 免疫功能影响时发现,在低 pH 水环境条件下,时间越长,死亡率也就越高,这是因为小龙虾长期的处于酸性条件下,破坏了小龙虾的免疫系统从而影响小龙虾自身的修复功能,使其无法有效抵御疾病。本研究中,随着时间的延长,方斑东风螺在过高、过低 pH 下,死亡率都逐渐上升,这可能因为 pH 破坏了方斑东风螺的免疫系统,使其失去抵御外来病原体入侵的能力而死亡。

有研究表明,水生生物可以通过体内缓冲系统调节渗透压,使体内 pH 接近中性,维持机体酸碱平衡,使其能适应一定范围内外界 pH 的变化,但是,如果超过缓冲限值,机体的 pH 会发生显著变化,破坏体液的酸碱平衡,影响机体正常生理活动^[17-18]。本研究结果表明,方斑东风螺对于 pH 有着一定程度的耐受性,因此在短时间内,pH 过高或者过低,方斑东风螺仅仅表现出翻背,运动迟缓,并没有立即死亡,并且这与李健等^[19]研究结果相似,pH 胁迫对中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 死亡率有一定的影响,高和低 pH 胁迫都会使 3 种对虾的存活率随时间的延长而逐渐降低。梁从飞等^[20]研究表明,pH 升高会导致罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 血清渗透压发生显著变化,从而破坏鱼类体内的酸碱平衡,对罗非鱼

造成危害。本研究中方斑东风螺在高、低 pH 条件下均会出现翻背,这是因为在 pH 突变环境中方斑东风螺采取主动调节措施,维持体内离子和酸碱平衡,这既是机体的被动病理表现,也是主动的保护反应^[21],这跟荣小军等^[22]研究的不适 pH 下海参 (*Holothuria*) 会出现身体蜷曲、棘刺收缩,粪便变细变短相类似。

3.2 pH 对方斑东风螺个体免疫酶活性的影响

CAT 和 POD 是动物体内重要的抗氧化酶,GSH-PX 可以将过氧化氢 (H_2O_2) 分解成氢气 (H_2) 和氧气 (O_2),来有效阻止体内膜脂质细胞的过氧化,进而有效减缓膜细胞因氧化和应激而引起细胞的破坏。正常的状态条件下,CAT 和 POD 可以与 GSH-PX 联合作用清除动物基体内存在的过氧反应性自由基,使得动物基细胞体内的自由基化合物的氧化形成过程和氧化消除过程达到一个动态的平衡,从而可以保证使其自身免遭有害自由基化合物的破坏^[23-25]。研究发现,CAT 和 POD 的活性越强,抗逆性也就越强,其消除自由基能力也越强。而当动物的生存环境发生变化,受到胁迫时,这两种酶的活性就会发生应激变化以适应新的环境^[26-27]。该研究中,方斑东风螺受到 pH 胁迫 CAT 和 POD 的酶活性在短时间内显著上升,随着时间的延长这两种酶的活性又逐渐降低。这可能是因为方斑东风螺体内的 CAT 和 POD 产生适应环境的诱导反应,因此提高了这两种酶的活性,使其达到新的动态平衡。然而,随着时间不断延长,由于方斑东风螺初始产生的活性氧超过了其抗氧化系统的捕获能力,抗氧化系统无法及时捕捉自由基,从而导致氧化损伤,使得 CAT 和 POD 活性均降低或者丧失。GSH-PX 具备单独去除过氧化物的能力,随时间延长,GSH-PX 逐渐适应新的 pH 环境,当生物受到胁迫,体内脂质过氧化时,GSH-PX 活性就会升高进而去清除体内的过氧化物。田立立^[5]在研究 pH 胁迫克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 时也发现,GSH-PX 活性受到 pH 胁迫在短时间内迅速下降,而后又随着适应新环境而升高。这也与刘鹏飞等^[28]研究凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) CAT 和 POD 基因表达的机理相似。

ACP 是参与动物免疫防御功能的主要水解酶,它也是吞噬细胞的主要成分^[29],主要来源于粒细胞颗粒,在细胞吞噬作用、钙磷代谢、体内蛋白质合成和磷酸基团转移等过程起重要作用^[30],它的活力变化是判断水产动物免疫力的重要指标^[31-34],因此在动物免疫学中 ACP 作为关键的免疫指标,长期以来一直被广泛研究。Suresh 等^[35]研究了铜离子(Cu^{2+})胁迫下贝类血细胞 ACP 活性变化,发现在低或者高 pH 胁迫下,ACP 活性明显升高。本研究中,较低和较高 pH 条件下,方斑东风螺的 ACP 酶活性的变化也趋于相同,均是呈先缓慢上升后逐渐下降的态势,这是由于方斑东风螺处于 pH 变化的环境中,为维持自身体内酸碱平衡而采取的主动调节措施,也是一种被动的病理表现。当环境因子存在胁迫时,方斑东风螺的免疫功能将出现暂时的增强。也就是说,ACP 活力提高是机体在病理条件下急性激活反应中免疫功能的表现,提高活性有助于保护机体并减少氧化损伤。这跟樊甄娇等^[36]研究结果一致,pH 对栉孔扇贝(*Azumapecten farreri*) ACP 活性都有明显的影响,随着 pH 急剧变化,ACP 活性明显升高。当贝类受到损伤时,为防止外来病原生物入侵,激活溶酶体中以 ACP 为主的一系列水解酶,使这些酶活力大大提高^[37-38]。由此看来,除了作为自身防御的反应外,ACP 活力升高也被认为是一种被动病理表现。

4 结论

研究表明,pH 对方斑东风螺免疫酶活性有显著影响,高 pH 和低 pH 水体养殖一段时间之后,都会表现出不能保持正立、腹面朝上、运动缓慢等状态,甚至还会导致方斑东风螺死亡。当受到重度 pH 胁迫时,方斑东风螺的 GSH-PX、CAT、POD、ACP 活性被抑制;当受到轻度 pH 胁迫时,免疫酶活性则被诱导。试验结果显示,在 pH 改变时,这些免疫酶活性变化得较特异,与方斑东风螺所处的发育阶段不同、抗逆能力较强、免疫能力强等生物习性有关。pH 处理组中方斑东风螺免疫酶活力变化规律,很好地指引了养殖水体 pH 调控范围。未来对东风螺的进一步研究将考虑方

斑东风螺对不同环境胁迫反应的种内变异性,以及种间差异性。 □

参考文献

- [1] 翁文明,蔡岩,卢明辉等. 方斑东风螺工厂化半循环水养殖试验[J]. 科学养鱼,2021,39(3):64-65.
- [2] 谭春明,赵旺,吴开畅,等. 盐度胁迫对方斑东风螺免疫酶活性的影响[J]. 水产科学,2020,39(5):677-684.
- [3] DIONÍSIO R D, DANIEL F. ARENASET, et al. Effects of pH on salicylic acid toxicity in terms of biomarkers determined in the marine gastropod *Gibbula umbilicalis* [J]. Marine Environmental Research, 2020, 158:1-10.
- [4] 姜人源,朱顺妮,王忠铭,等. 不同 pH 条件下小球藻氮处理及生物质生产能力[J]. 环境工程,2021,39(9):42-47.
- [5] 田立立,王金娟,孟祥龙,等. 高 pH 急性和慢性胁迫对克氏原螯虾非特异性免疫和抗氧化能力的影响[J]. 淡水渔业,2021,51(4):101-107.
- [6] 蔡娟. pH 对青蛤胚胎发育、幼虫生长及相关酶活性的影响[D]. 上海:上海海洋大学 2016.
- [7] 彭建华,陈文祥,栾建国,等. 温度、pH 对二种淡水贝类滤水率的影响[J]. 动物学杂志,2004,39(6):2-6.
- [8] 王婷,郑佳慧,胡梦红,等. 海洋酸化对贝类的生理生态学影响研究进展[J]. 海洋科学,2022,46(1):192-202.
- [9] 郑惠娜,张晶晶,章超桦等. pH 调节法提取 4 种贝类蛋白及其氨基酸、蛋白组成分析[C]. 中国食品科学技术学会第十一届年会论文摘要集,杭州:中国食品科学技术学会,2014:359-360.
- [10] SINGH S K, TIWARI V K, CHADHAET NK, et al. Effect of dietary synbiotic supplementation on growth, immune and physiological status of *Labeo rohita* juveniles exposed to low pH stress[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2019, 91:358-368.
- [11] 谭春明,赵旺,吴开畅,等. 氨氮胁迫对方斑东风螺六种免疫酶活性的影响[J]. 海洋科学,2019,43(4):8-15.
- [12] 朱坚真,杨锐. 我国南海海水养殖环境的集成管理研究[J]. 河北渔业,2016,266(2):47-52,68.
- [13] 巫旗生,祁剑飞,宁岳,等. 盐度、pH、氨氮对钝缙锦蛤稚贝生长及存活的影响[J]. 渔业研究,2021,43(6):621-627.
- [14] CHANGL E Q, XIAODAN W, FENGLUETH, et al. Dietary arginine alleviates the oxidative stress, inflammation and immunosuppression of juvenile *Chinese mitten crab Eriocheir sinensis* under high pH stress[J]. Aquaculture Reports, 2021, 19:2352-5134.
- [15] 刘洋,于瑞海,张哲,等. 不同 pH 对海湾扇贝胚胎发育及幼虫生长发育的影响[J]. 渔业科学进展,2020,41(6):108-114.
- [16] 覃玉莲,韩庆,黄强,等. 低 pH 值胁迫对小龙虾免疫功能及死亡率的影响[J]. 现代农业科技,2020(23):198-200,205.
- [17] 韩莎,赵斌,李成林,等. pH 急性胁迫对刺参非特异性免疫酶活性的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2020,49

- (5):666-670.
- [18] 赵旺,谭春明,张玥,等. 盐度胁迫对方斑东风螺行为活动及消化酶活性的影响[J]. 渔业现代化,2019,46(5):41-45.
- [19] 赵先银,李健,陈萍,等. pH 胁迫对3种对虾存活率、离子转运酶和免疫酶活力的影响[J]. 上海海洋大学学报,2011,20(5):720-728.
- [20] 梁从飞,赵金良,甘远迪,等. 盐碱胁迫对尼罗罗非鱼鳃 $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ 共转运子、碳酸酐酶基因表达的影响[J]. 中国水产科学,2016,23(2):274-283.
- [21] 赵旺,杨蕊,吴开畅,等. “翻背症”对方斑东风螺主要消化酶及免疫相关酶的影响[J]. 水产学报,2020,44(9):1502-1512.
- [22] 荣小军,李彬,廖梅杰,等. 刺参“参优1号”苗种在不同pH条件下的代谢特征和适应性研究[J]. 渔业科学进展,2021,42(3):116-124.
- [23] 文春根,张丽红,胡宝庆,等. pH对背角无齿蚌(*Anodonta woodiana*)5种免疫因子的影响[J]. 南昌大学学报(理科版),2009,33(2):172-176.
- [24] 陈丹群. 合浦珠母贝家系选育及免疫酶和消化酶活性研究[J]. 武汉:华中农业大学,2009.
- [25] 哈承旭,刘萍,何玉英,等. 高pH胁迫对“黄海1号”中国对虾免疫相关酶的影响[J]. 中国水产科学,2009,16(2):303-306.
- [26] 金建丽,李伟航,陆灏,等. 拟赤梢鱼消化酶和免疫酶的分布与活性[J]. 贵州农业科学,2019,47(7):75-79.
- [27] 姜燕,徐永江,于超勇,等. 大黄鱼消化道菌群结构、消化酶和非特异性免疫酶活力分析[J]. 渔业科学进展,2020,41(5):61-72.
- [28] 刘鹏飞,刘庆慧,吴垠,等. 白斑综合征病毒感染凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)TRx、LvP38、CAT、POD基因的表达[J]. 渔业科学进展,2015,36(4):89-93.
- [29] ZHU Z H, YANG Q H, TAN BP, et al. Effects of replacing fishmeal with soybean protein concentrate (SPC) on growth, blood biochemical indexes, non-specific immune enzyme activity, and nutrient apparent digestibility for juvenile *Litopenaeus vannamei* [J]. Aquaculture International, 2021. 29(6):1-20.
- [30] 宋红利,董晓慧,谭北平,等. 蛋白酶和有机酸盐对凡纳滨对虾生长性能、免疫酶和消化酶的影响[J]. 广东饲料,2016,25(4):29-34.
- [31] KONG X D, YUAN S, LI L, et al. Engineering of an epoxide hydrolase for efficient bioresolution of bulky pharmaco substrates [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(44):17-22.
- [32] 牟海津,江晓路,刘树青,等. 免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 青岛海洋大学学报(自然科学版),1999(3):124-129.
- [33] 孙虎山,李光友. 硒化卡拉胶和酵母葡聚糖对栉孔扇贝血淋巴中两种水解酶活力的影响[J]. 海洋与湖沼,2002(3):245-249.
- [34] 魏炜,张洪渊,石安静. 育珠蚌酸性磷酸酶活力与免疫反应关系的研究[J]. 水生生物学报,2001,25(4):413-415.
- [35] SURESH P G, REJU M K, MOHANDAS A. et al. Haemolymph phosphatase activity levels in two fresh-water gastropods exposed to copper [J]. Science of The Total Environment, 1993, 134:1265-1277.
- [36] 樊甄姣,杨爱国,刘志鸿,等. pH对栉孔扇贝体内几种免疫因子的影响[J]. 中国水产科学,2006,13(4):650-654.
- [37] 董小敬,赵孟杰,张志豪,等. 盐度对大口黑鲈生长、肌肉营养成分及肝脏免疫酶活性的影响[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版),2021,42(6):106-110.
- [38] 江天琪,张扬,姜亚洲,等. 高温胁迫厚壳贻贝摄食、代谢和相关酶活性的影响[J]. 生态学杂志,2020,39(9):3048-3056.

Effects of pH acute stress on the behavior and immune enzyme activity of *Babylonia Areolata*

DING Ruixia^{1,2,3,4}, HUANG Xingmei^{2,3,4}, ZHAO Wang^{2,3}, DENG Zhenghua^{2,3,4}, CHEN Hengda³, WEN Weigeng^{2,3,4}, MA Zhenhua^{2,3,4}, WANG Jiangyong⁵, ZHENG Zhongming⁵

(1 Tianjin Agricultural College, College of Fisheries, Tianjin 300384, China;

2 Sanya Tropical Fisheries Research Institute, Sanya 572426, Hainan, China;

3 Key Laboratory of Efficient Utilization and Processing of Marine Fishery Resources of Hainan Province, Sanya 572426, Hainan, China;

4 Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization by the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, Guangdong, China;

5 Huizhou College, College of Life Sciences, Huizhou 516007, Guangdong, China;

6 College of Oceanography, Ningbo University, Ningbo 315832, Zhejiang, China)

Abstract: To reveal the acute toxicity and physiological changes of *Babylonia areolata* in response to low pH and high pH stress, the pH = 8.0 control group and pH = 5.0, 6.0, 7.0, and 9.0 were used as the experimental group to investigate the activities of four immune enzymes glutathione peroxidase (GSH-PX), catalase (CAT), peroxidase (POD) and acid phosphatase (ACP) in the body of the *Babylonia areolata*. The results of the experiment show that pH stress has a significant effect on immune enzyme activity at different times ($P < 0.05$), while different pH stresses have no significant effect on immune enzyme activity ($P > 0.05$). After pH acute stress, 1) after 6h of low pH and high pH water culture, there is a decrease in vitality and slow climbing, and death begins to appear after 48h; 2) The activity of GSH-PX in each experimental group shows a trend of "inhibition-induction"; 3) with the continuous extension of time, the CAT activity of each pH treatment group shows a trend of "induction-inhibition-induction"; 4) the POD activity generally show a trend of "induction-inhibition"; 5) the ACP activity of the low pH treatment group (pH = 5.0, 6.0) show a trend of "induction-inhibition". This study has practical significance for the cultivation of *Babylonia areolata*, and also enriches the basic data on the immune performance of other shellfish.

Key words: babylonia areolata; immune enzymes; behavior; pH acute stress