

# 海洋酸化对青蛤免疫指标的影响

梁 健<sup>1</sup>, 高 山<sup>1</sup>, 李永仁<sup>1</sup>, 殷 潇<sup>1</sup>, 刘金桥<sup>1</sup>, 郭永军<sup>1</sup>, 闫喜武<sup>2</sup>

(1. 天津农学院 水产学院, 天津市水产生态及养殖重点实验室, 天津 300384; 2. 大连海洋大学, 辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 辽宁 大连 116023)

**摘要:** 通过向水体中通入 CO<sub>2</sub> 的方法模拟海洋酸化环境, 测定青蛤(*Cyclina sinensis*) 在酸化条件下各免疫指标的变化情况。结果显示: 将青蛤置于酸化的海中(pH 分别为 7.4 和 7.7), 并以自然海水做对照组(pH 8.1)后, 血细胞总数随海水酸化胁迫时间的延长, 表现为下降趋势, 且差异显著( $P < 0.05$ ); 海水 pH 降低抑制了溶菌酶的活性, 但差异性不显著( $P > 0.05$ ); ACP 活性总体呈下降趋势, 对照组活性要高于酸化组, 而 ALP 活性表现为上升趋势。酸化胁迫初期诱导 SOD 活性升高, 后期 SOD 活性受到抑制, 而 CAT 变化却截然相反; 脂质过氧化产物 MDA 在酸化后期出现显著降低( $P < 0.05$ )。

**关键词:** 海洋酸化; 青蛤(*Cyclina sinensis*); 免疫

中图分类号: S917.4 文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2017)11-0038-07

DOI: 10.11759/hyxx20170715002

海洋吸收空气中的二氧化碳形成碳酸, 增加海水的酸度, 这种现象称为海洋酸化<sup>[1]</sup>。这是由 Caldeira 等<sup>[2]</sup>于 2003 年首次提出, 得到了科学界的广泛关注, 成为当今国际海洋科学研究前沿领域的重要方向。同工业革命前的水平相比, 目前海洋的 pH 降低 0.1 个单位, 据预测到 21 世纪末期将持续降低 0.3 至 0.5 个单位, 到 2300 年大气中增加的 CO<sub>2</sub> 浓度将会引起 pH 降低 0.7 个单位<sup>[1]</sup>。海洋酸化对海洋生态系统的平衡产生重大的影响, 可能导致物种组成(珊瑚、贝类、棘皮动物、甲壳动物和鱼类等)发生变化。贝类作为主要的钙化生物, 是近年来研究海洋酸化对生态系统的影响的主要对象。

贝类相对低等, 不能完成特异性免疫, 只能依靠血细胞完成非特异性免疫。贝类的非特异性免疫较为完善, 包括细胞免疫和体液免疫。细胞免疫的主要承担者是血淋巴细胞, 参与了机体损伤的修复、贝壳的重建、吞噬异物颗粒和消除有毒物质等过程<sup>[3]</sup>。体液免疫的手段主要包括由血淋巴细胞分泌的各种水解酶类、非特异的抗菌肽类、高等动物细胞因子类似物、调理素和凝集素等<sup>[4]</sup>。

青蛤(*Cyclina sinensis*), 别称赤嘴仔, 属软体动物门、双壳纲、帘蛤目, 是我国沿海滩涂重要的经济贝类之一。其味道鲜美, 营养价值高、生长快速、滤水效果好、抗逆性强、耐盐范围广(8~37, 最适 15~25)、耐碱能力强(0~40 mmol/L)等特点, 深得沿海贝类养殖者的青睐, 形成较大规模的养殖产业。本实验

以通过设定两组低 pH 条件(pH 7.7 和 pH 7.4)的酸化海水组, 并以正常海水 pH 做为对照, 探究酸化对青蛤免疫指标的影响, 从免疫学角度评估酸化对青蛤所造成的影响程度, 对预测青蛤养殖业和物种本身的未来发展趋势提供一定的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

青蛤取自天津独流减河口, 个体健康、大小相似, 平均壳长 34.13 mm±0.61 mm ( $n=400$ )。在室内暂养 7 d 后进行实验, 养殖用水为砂滤海水, 盐度 25, 温度 25~28℃, 暂养期间连续充氧, 每天全量换水 1

收稿日期: 2017-07-15; 修回日期: 2017-09-22

基金项目: 天津市现代产业技术体系-水产-贝类养殖岗位(ITTFRS2017013); 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-49); 天津市农业科技成果转化与推广项目(201502350); 天津市科技特派员项目(16JCTPJC46200); 天津市应用基础与前沿技术研究计划(15JCYBJC30400); 天津市科技计划项目(15ZXZYNC00010)

[Foundation: Tianjin modern Agro-industry technology research system-aquaculture-shellfish breeding positions, No.ITTFRS2017013; earmarked fund for modern Agro-industry technology research system, No. CARS-49; Tianjin agricultural science and technology achievements transformation and promotion project, No. 201502350; Tianjin Science and Technology Commissioner project, No. 16JCTPJC46200; Tianjin Application basic and Frontier Technology Research Project, No.15JCYBJC30400; Tianjin Science and Technology Project, No. 15ZXZYNC00010]

作者简介: 梁健(1988-), 男, 内蒙古扎兰屯人, 实验师, 硕士, 主要从事贝类遗传育种研究, 电话: 022-23787855, E-mail: liangjian1230123@126.com; 郭永军, 通信作者, 研究员, E-mail: guoyongjun@tjau.edu.cn

次, 投喂小球藻。暂养后选择闭壳能力强、反应迅速的个体作为试验用贝。

### 1.2 酸化条件的建立

通过像水体中通入 CO<sub>2</sub> 的方法来模拟海洋酸化的过程。使用气体质量流量控制器和积算仪(七星华创电子股份有限公司)精确控制 CO<sub>2</sub> 通入量, 维持养殖水槽(400 L)中海水 pH 值在所设定的范围内。实验用水槽均配有独立的循环过滤系统以达到去除粪便、降低氨氮和净化水质, 并加有充气设备。CO<sub>2</sub> 通过水族缸使用的气体细水器充入海水中, 溶解充分提高酸化效率。

### 1.3 实验方法

建立酸化实验组以模拟 2100 年和 2300 年海洋所达到的海水 pH (分别为 7.7、7.4)<sup>[1]</sup>, 并以正常海水作为实验对照组(pH 8.1)。各实验组放置青蛤 120 枚, 每天 3 次测量各实验组的 pH 值、溶解氧 DO、盐度、温度, 并根据实际测得数值调整 CO<sub>2</sub> 通入量, 保证酸化实验组的 pH 正负偏差不超过 0.1。试验期间投喂小球藻、等鞭金藻、新月菱形藻, 投喂后再次调整 pH。每两天换水四分之一, 及时挑出死亡个体并记录。

### 1.4 血淋巴液的制备

在酸化的第 0、7、14、21、28 天, 从各实验组随机选取 15 枚青蛤, 用 1 mL 针管从闭壳肌处抽取血淋巴液, 将 5 个青蛤的血淋巴液混合作为一个测定样品放入 2.5 mL 离心管中, 置于冰上保存, 待后面指标的测定。

### 1.5 指标测定方法

血细胞总数的测定采用血细胞计数板进行测定。稀释液为贝类生理盐水, 配方: 0.02 mol/L HEPES, 0.4 mol/L NaCl, 0.1 mol/L MgSO<sub>4</sub>, 0.01 mol/L KCl, 0.01 mol/L CaCl<sub>2</sub>, 调节 pH 为 7.4。

酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(ALP)、超氧化物歧化酶(SOD)、氧化氢酶(CAT)、戊二醛(MDA)、溶菌酶活性均采用南京建成生产的检测试剂盒, 参照随之附送的各使用说明书进行操作。

### 1.6 数据处理与分析

数据使用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析。结果用平均数±标准差表示, 采用单因子方差分析法(one-way ANOVA)进行方差分析, 运用 Duncan test 对数据进行显著性检验, 显著性水平为  $P < 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 海水温度、盐度、溶解氧和 pH

为尽量减少其他环境因子对结果的影响, 本试验维持海水温度和盐度在较小的变化范围内。图 1 表明, 在酸化期间海水温度整体范围保持在 26~31℃, 盐度保持在 25。

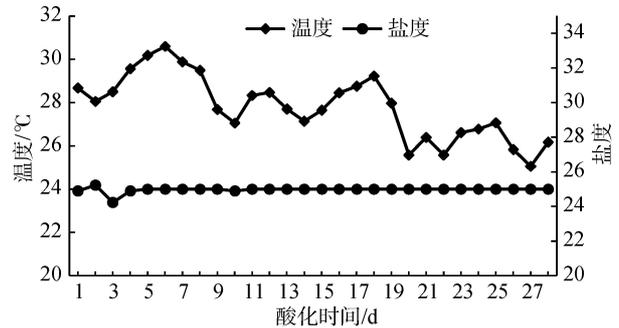


图 1 海水温度和盐度变化

Fig. 1 Changes in seawater temperature and salinity

图 2 所示整个试验期间溶解氧含量均保持在较高水平, 三实验组的溶解氧含量范围均在(7.4±0.3) mg/L~(8.5±0.5)mg/L, 能够保证青蛤正常生理活动的耗氧需求。

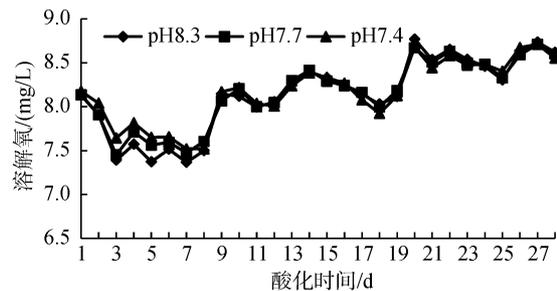


图 2 实验期间各组海水溶氧

Fig. 2 Variation of dissolved oxygen in each group

图 3 所示对照组在第 0~14 d 时 pH 波动较大, 随后逐渐趋于稳定。两实验组维持在实验设定的固定数值, pH 变化范围控制在±0.5。

实验期间, 只有在第 7 天对照组(pH8.1)和 21 d 酸化组(pH7.4)组各死亡一枚, 其余时间内并未死亡。

### 2.2 酸化对血细胞总数影响

图 4 所示, pH 8.1 组和 pH 7.7 组的血细胞总数整体趋势较稳定。pH 7.4 组的变化较大, 总体呈降低的趋势, 0~14 d 差异不显著( $P > 0.05$ ), 但与 21 d 和 28 d

差异均显著( $P < 0.05$ )。在 14 d 和 28 d 时三实验组彼此差异显著( $P < 0.05$ )。

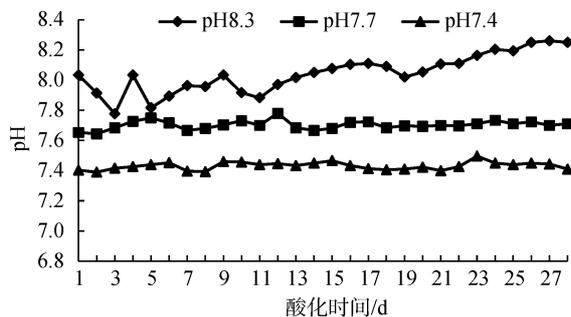


图 3 海水 pH 变化  
Fig. 3 Changes in seawater pH

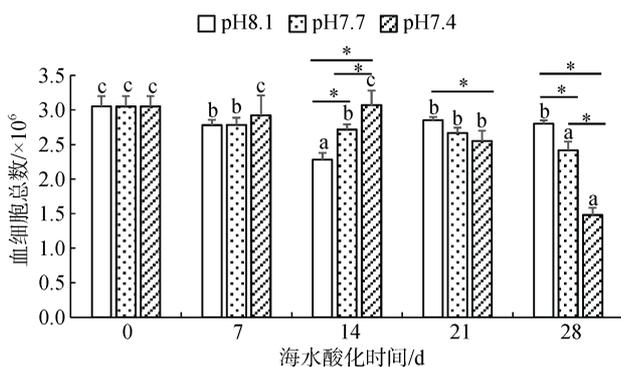


图 4 酸化对血细胞总数的影响

Fig. 4 Effects of acidification on the total number of blood cells

小写字母表示该实验组在不同时间点上的差异显著性, 含有不同字母表示差异显著; \*表示同一时间点上横线所连接的两实验组的差异显著, 无标示表示差异不显著, 下同

Lowercase letters indicate that the experimental group at different time points were significantly different, containing different letters indicated the significant difference; \* Indicates that there is a significant difference between the two experimental groups connected to the horizontal line at the same time point, and no indication shows that the difference is not significant, the same below

### 2.3 酸化对溶菌酶活性影响

图 5 所示溶菌酶活性, pH8.1 组整体趋于稳定; 而 pH7.7 呈逐渐降低趋势; pH7.4 组呈先升高后降低, 在第 14 天时到最大值。各实验组在各时间点差异均不显著( $P > 0.05$ ), 相同时间点三实验组之间的差异性也不显著( $P > 0.05$ )。

### 2.4 酸化对 ACP 活性影响

图 6 所示 ACP 活性, pH8.1 组整体保持基本不变; pH7.7 组和 pH7.4 组呈先降低后增长再降低的趋势。但各实验组在各时间点差异均不显著( $P > 0.05$ ), 相同时间点三实验组之间的差异性也不显著( $P > 0.05$ )。

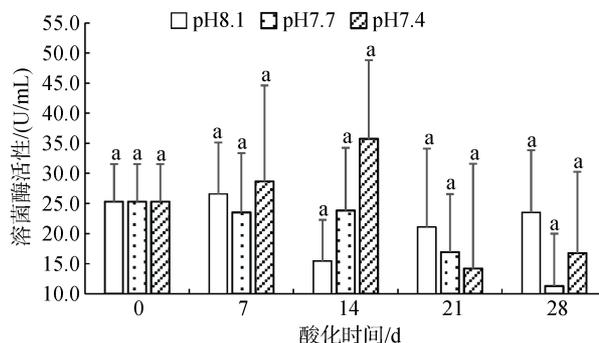


图 5 酸化对溶菌酶活性的影响  
Fig. 5 Effects of acidification on the lysozyme activity

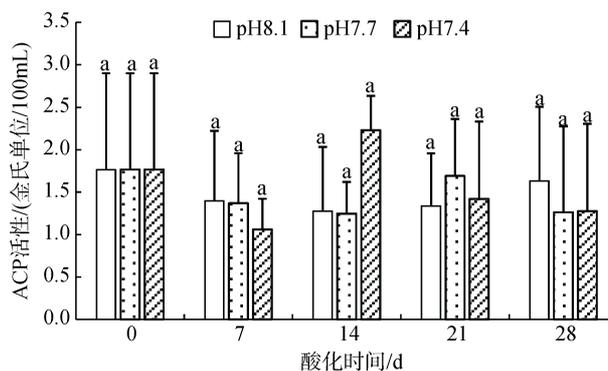


图 6 酸化对青蛤 ACP 活性的影响  
Fig. 6 Effects of acidification on the ACP activity

### 2.5 酸化对 ALP 活性影响

图 7 所示, 三实验组的 ALP 活性随时间增长均呈递增的趋势, 相同时间点上三实验组之间 ALP 活性的差异性不显著( $P > 0.05$ ), 且 pH 7.7 实验组 ALP 活性最低。

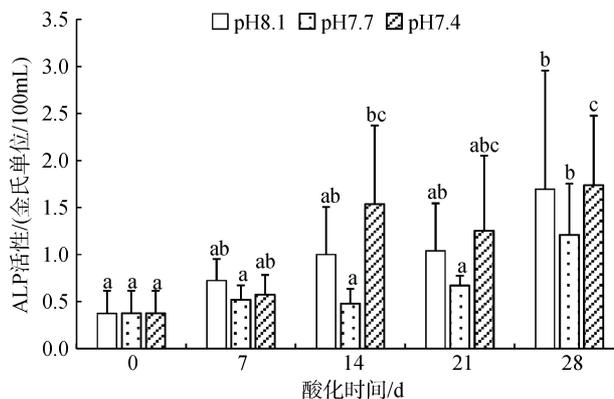


图 7 酸化对青蛤 ALP 活性的影响  
Fig. 7 Effects of acidification on the ALP activity

### 2.6 酸化对 SOD 活性影响

图 8 所示, 三实验组 SOD 活性在第 21 天均有

显著增加的趋势( $P < 0.05$ ), 其余时间内相对平稳。在 14 d 酸化组 SOD 要高于对照组。到 21~28 d 时, 酸化组降低, 对照组高于酸化组。在第 14 天和第 21 天三实验组彼此差异显著( $P < 0.05$ ), 其他时间差异均不显著( $P > 0.05$ )。

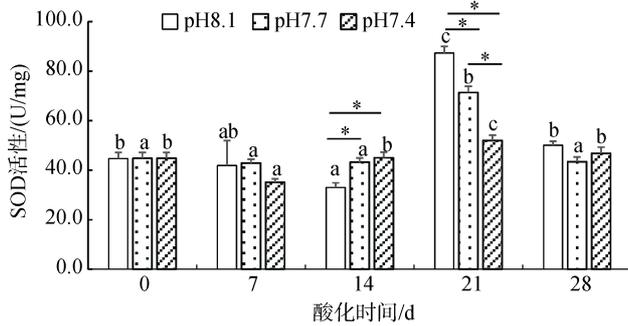


图 8 酸化对青蛤 SOD 活性的影响

Fig. 8 Effects of acidification on the SOD activity

### 2.7 酸化对 CAT 活性影响

图 9 所示, pH7.7 组 CAT 活性在第 28 天有较为突出的升高( $P < 0.05$ ), 其余时间基本稳定不变。pH7.4 组则表现为不断增长的趋势。21 d 达到最大值, 28 d 时略下降。酸化胁迫下各时间点上三实验组彼此差异显著( $P < 0.05$ )。

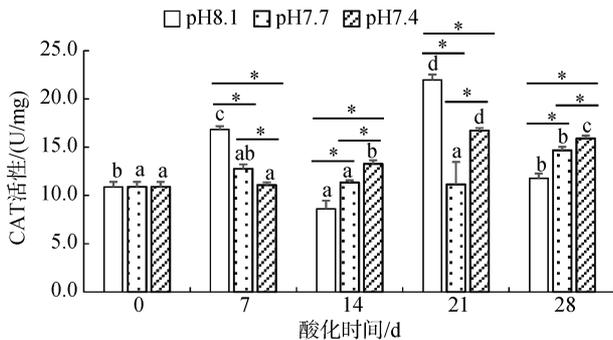


图 9 酸化对青蛤 CAT 活性的影响

Fig. 9 Effects of acidification on the CAT activity

### 2.8 酸化对 MDA 含量影响

图 10 所示, pH8.1 和 pH7.7 组 MDA 含量均呈先增加后降低再增加的趋势。pH7.4 组为先降低再升高最后降低, 第 21 天时达到最大值。总体上看, 试验期间两个酸化实验组的 MDA 含量要低于对照组。

## 3 讨论

作为细胞免疫承担者的血细胞, 其数量作为重

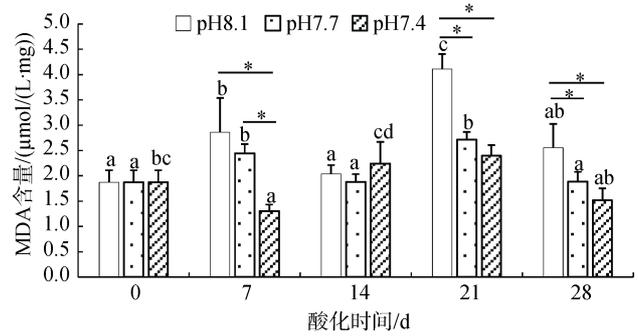


图 10 酸化对青蛤 MDA 含量的影响

Fig. 10 Effects of acidification on the MAD count

要的生理指标, 受种类、年龄、生态状态和环境胁迫的影响较大<sup>[5]</sup>。本次试验前期血细胞总数出现短暂的升高, 原因可能由于青蛤自身免疫的应激性。一些学者认为短时间污染物的刺激可以导致血细胞数量增加<sup>[6]</sup>, 造成的原因可能是刺激物让血细胞进入循环系统或者是细胞膜稳定性降低的补偿的结果<sup>[7]</sup>。但当机体长时间受酸化胁迫后, 超出自身耐受范围, 血细胞总数将受到影响开始下降。丁鉴锋等<sup>[8]</sup>指出高浓度  $\text{Cu}^{2+}$  等重金属长期胁迫下, 菲律宾蛤仔血细胞总数明显降低, 与本次试验结果一致。Cheng 等<sup>[9]</sup>发现 pH 变化(7.6~4.8 和 9.3)7 d 时罗氏沼虾血细胞数量明显降低。Matozzo 等<sup>[10]</sup>也研究了海洋酸化和暖化对贝类免疫力的影响, 结果表明血细胞并非一直呈线性变动, 但也受到酸化显著影响。所得结论不仅和本试验结果一致, 还提出了另外一条结论: 即在酸化条件相同情况下, 不同的种类, 酸化效果各异。本试验结果说明青蛤血细胞对外界 pH 存在一定耐受范围, 当受到的 pH 胁迫超出机体的适应范围时, 其数量会减少, 并显示出血细胞总数随酸化程度及其相关( $P < 0.05$ )。

溶菌酶、ALP 和 ACP 均来自血细胞溶酶体中, 是研究血细胞体液免疫的重要指标。低浓度氨氮胁迫对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)时, 溶菌酶活性升高, 随着浓度的升高, 溶菌酶反而下降<sup>[11]</sup>。本试验也有相似结论, 0~14 d 时, 随着酸化时间段的增加, 溶菌酶逐渐呈现上升趋势, 14 d 时酸化组均大于对照组, 这可能是刺激源改变了溶酶体膜的通透性, 溶菌酶外渗, 参与对刺激源的杀伤和清除<sup>[8]</sup>。此后 14~28 d 时, 溶菌酶又呈下降趋势, 28 d 达到最小值。这可能是机体由于应激反应使其活性升高, 超过自身阈值, 活性受到抑制。对于同样是 pH 的改变作为外源刺激, 李晓梅等<sup>[12]</sup>在研究海洋酸化背景下铅

迫近江牡蛎(*Crassostrea rivularis* Gould)对溶菌酶活性的试验中, 所得结论也与本试验相同。

酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(ALP)是重要的体液免疫水解酶, ACP 和 ALP 具有相同的作用效果: 辅助吞噬作用消除异物。不同作用效果在于 ACP 有催化效果, 而 ALP 更多在于起到调理、调节的作用<sup>[4]</sup>。梁健等<sup>[13]</sup>指出  $\text{Cu}^{2+}$  半致死浓度胁迫下青蛤血淋巴液中 ACP 活性呈现出先升高后抑制的趋势。饶玉才<sup>[14]</sup>发现背角无齿蚌(*Anodonta woodiana*)的 ACP 活性随 pH 下降先上升后下降, 在 pH 高于对照条件下, ACP 活性在 pH7.5 略下降, 然后随 pH 增高分别急剧上升和下降。本研究中机体自身受到酸化胁迫后 ACP 活性逐渐升高最后在 28 d 时酸化组(pH7.7 和 pH7.4)出现明显的下降。活性升高可能是由于“应激”导致; 胁迫后期 ACP 活性的降低可能通过以下两条途径所导致: 一是由于环境刺激造成的贝类血细胞溶解, 导致含有 ACP 的溶酶体失活; 二是可能改变了血细胞内溶酶体的膜通透性, 导致 ACP 渗漏。ALP 活性表现与 ACP 存在差异, 于第 28 天时, ALP 处于上升趋势, 且酸化组(pH7.4)略大于对照组(pH8.1), 推测是因为酸化组 pH 为 7.4 只能引起自身产生相应的应激效果, 并未达到抑制 ALP 的最小 pH。任加云等<sup>[15]</sup>在指出在 0.3 和 0.5 mg/L 石油烃的胁迫下, 栉孔扇贝的 ALP 活性呈上升趋势, 而 1 mg/L 时 ALP 活性明显下降, 这一现象充分证明了本文的推测。彭怀明等<sup>[16]</sup>也有相同结论, 但其认为原因可能是血细胞的破坏造成溶酶体的释放。

SOD、CAT 和 MDA 是免疫能力检测的重要指标。当刺激源侵害机体时, 机体便会产生氧化应激反应, 从而产生一系列的脂质过氧化产物, 如丙二醛(MDA), 它可以影响细胞膜流动性和通透性, 导致功能的改变<sup>[17]</sup>。于庆云等<sup>[18]</sup>测定菲律宾蛤仔消化腺和鳃 SOD 活性在酸化条件下随着时间的增长, 呈现先增加后降低的趋势。有学者指出草鱼 SOD 活性随着 pH 不断地下降和酸化时间的增长呈先上升后下降的趋势<sup>[19]</sup>。陈琳琳等<sup>[20]</sup>提出重金属能够在短期内增加紫贻贝抗氧化酶的活性, 但随着胁迫时间的延长, 便会抑制相关抗氧化酶的活性。本试验酸化试验初期, 7~14 d 时, SOD 活性出现短暂的升高, pH 的降低使体内迅速产生活性氧, 抗氧化能力被激活, SOD 活性上升, 以降低其细胞膜的脂质氧化程度; 随着酸化胁迫时间的增长, 18~21 d, 低 pH 诱导产生的活性氧超出调控阈值, 便抑制了 SOD 活性, 使 SOD 活

性低于对照组。

CAT 能够分解清除由 SOD 歧化作用产生的  $\text{H}_2\text{O}_2$  从而保护细胞不受损伤, CAT 和 SOD 在抗氧化, 清除刺激胁迫产生的活性氧自由基时, 往往是共同协作。本试验中试验组随酸化时间的增长呈上升的趋势, 究其原因可能是: 1) 酸化组所设 pH 梯度不能抑制 CAT 活性, 使 CAT 活性仍然处在“诱导”阶段。2) 酸化的时间较短, 不能够导致对 CAT 活性的抑制。另外结果中对照组 CAT 活性在酸化胁迫中并不稳定, 出现有规律性的波动, 这可能是来自于温度的影响, 本次试验是在夏天进行, 水温较高, 有学者认为, 在夏天贝类 CAT 会普遍较高, 呈季节性变化<sup>[21]</sup>。

本试验中实验组 MDA 含量随酸化时间的延长呈先升高后降低的趋势, 但试验组 MDA 含量始终小于对照组且差异明显, 说明生物体内活性氧的累积程度和细胞的损伤程度均处于较低水平, 非酶促反应起主要作用。机体自身的抗氧化防御系统有两类, 一类是酶促防御系统, 包括 SOD、CAT 等; 另一类是非酶促反应, 包括还原型谷胱甘肽(GSH)、维生素 E 等<sup>[22]</sup>。当酶促防御系统 SOD 等受到酸化的胁迫, 导致活性降低, 机体可能提高非酶促反应, 来弥补酶促反应的不足, 导致 MDA 含量较低。

#### 参考文献:

- [1] 许友卿, 唐旒, 丁兆坤, 等. 海水酸化对水生动物主要抗氧化酶的影响及机理[J]. 水产科学, 2016, 35(4): 453-458.  
Xu Youqing, Tang Ni, Ding Zhaokun, et al. Effect and mechanism of ocean acidification on main antioxidant enzyme activity in aquatic animals[J]. Fisheries Science, 2016, 35(4): 453-458.
- [2] Caldeira K, Wickett M E. Anthropogenic carbon and ocean pH[J]. Nature, 2003, 425: 365.
- [3] 张朝霞, 王军, 丁少雄, 等. 贝类免疫学研究新进展[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(2): 90-96.  
Zhang Zhaoxia, Wang Jun, Ding Shaoxiong, et al. Recent progresses of shellfish's immunology[J]. Journal of Xiamen University (natural science), 2006, 45(2): 90-96.
- [4] 刘世良, 麦康森. 贝类免疫系统和机理的研究进展[J]. 海洋学报. 2003, 25(2): 95-105.  
Liu Shiliang, Mai Kangsen. The progress of studies on molluscs immunological system and mechanism-a review[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2003, 25(2): 95-105.
- [5] Thompson R J, Bayne C J, Moore M N, et al. Haemolymph volume changes in the biochemical composition of the blood, and cytological responses of the digestive cells in *Mytilus californianus* Conrad, induced by nu-

- tritional, thermal and exposure stress[J]. Journal of Comparative Physiology, 1978, 127: 287-298.
- [6] Rickwood C J, Galloway T S. Acetylcholinesterase inhibition as a biomarker of adverse effect: a study of *Mytilus edulis* exposed to the priority pollutant chlorfeniphons[J]. Aquatic Toxicology, 2004, 67(1): 45-56 .
- [7] Auffret M. Bivalves as models for marine immunology[M]. Investigative Immunotoxicology, 2005, 29-48.
- [8] 丁鉴锋, 闫喜武, 赵力强, 等. 海洋污染物对菲律宾蛤仔的免疫毒性[J]. 生态学报, 2013, 33(17): 5419-5425.  
Ding Jianfeng, Yan Xiwu, Zhao Liqiang, et al. Immunotoxicity of marine pollutants on the clam *Ruditapes philippinarum*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(17): 5419-5425.
- [9] Cheng W T, Chen J C. Effects of pH, temperature and salinity on immune parameters of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Fish & Shellfish Immunol, 2000, 10: 387-391.
- [10] Matozzo V, Chinellato A, Munari M, Finos L, et al. First evidence of immunomodulation in bivalves under seawater acidification and increased temperature[J]. PLOS One, 2012, 7(3): 1-14.
- [11] 姜令绪, 潘鲁青, 肖国强. 氨氮对凡纳对虾免疫指标的影响[J]. 中国水产科学. 2014, 11(6): 537-541.  
Jiang Lingxu, Pan Luqing, Xiao Guoqiang. Effects of ammonia-N on immune parameter of white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2014, 11(6): 537-541.
- [12] 李晓梅, 郭体环, 张来军, 等. 海洋酸化背景下铅胁迫对近江牡蛎溶菌酶活性的影响[J]. 江苏农业科学. 2016, 44(12): 297-299.  
Li Xiaomei, Guo Tihuan, Zhang Laijun, et al. Effect of lead stress on lysozyme activity of oyster near oplain under ocean acidification[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(12): 297-299.
- [13] 梁健, 雷雅云, 李永仁, 等.  $\text{Cu}^{2+}$ 对青蛤的胁迫效应[J]. 海洋科学, 2015, 39(11): 74-78.  
Liang Jian, Lei Yayun, Li Yongren, et al. Effects of  $\text{Cu}^{2+}$  stress on *Cyclina sinensis*[J]. Marine Sciences, 2015, 39(11): 74-78.
- [14] 饶玉才. 外界刺激与环境胁迫对背角无齿蚌免疫因子的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.  
Rao Yucai. Effect of external stimuli and environmental stress on immune factors in *Anodonta*[D]. Nanchang: Nanchang University, 2007.
- [15] 任加云, 苗晶晶, 李学平. 石油暴露对栉孔扇贝免疫酶活性及血细胞稳定性的影响[J]. 中国水产科学, 2015, 22(6): 1219-1226.  
Ren Jiayun, Miao Jingjing, Li Xueping. Effect of exposure on immune enzyme activity and hemocyte membrane stability in scallop, *Chlamys farreri*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(6): 1219-1226.
- [16] 彭怀明, 周书林. 软体动物免疫功能研究进展[J]. 动物医学进展, 2010, 31(8): 79-83.  
Peng Huaiming, Zhou Shulin. Progress on immune function of molluscs[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2010, 31(8): 79-83.
- [17] 张志杰, 张维平. 环境污染生物监测与评价[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1991: 9-71.  
Zhang Zhijie, Zhang Weiping. Environmental Pollution Monitoring and Assessment[M]. Beijing China: China Environmental Science Press, 1991: 9-71.
- [18] 于庆云, 王悠, 徐彦, 等. 镉和铅对菲律宾蛤仔脂质过氧化及抗氧化酶活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(4): 504-512.  
Yu Qingyun, Wang You, Xu Yan, et al. Effects of cadmium and lead on the lipid peroxidation and levels of antioxidant enzymes in *Ruditapes philippinarum*[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(4): 504-512.
- [19] 马广智, 唐玫, 徐军. 低 pH 对草鱼鳃和肝组织超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响[J]. 中国水产科学, 2001, 8(1): 23-25.  
Ma Guangzhi, Tang Mei, Xu Jun. Effects of low pH on superoxide dismutase (SOD) activities of branchial and liver tissue of grass carp[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2001, 8(1): 23-25.
- [20] 陈琳琳, 张高生, 陈静, 等. 汞、硒暴露对紫贻贝 (*Mytilus edulis*) 抗氧化酶系统的影响[J]. 生态毒理学报. 2011, 6(4): 383-388.  
Chen Linlin, Zhang Gaosheng, Chen Jing, et al. Exposure effects of mercury and selenium on antioxidant enzymes of blue mussel *Mytilus edulis*[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011, 6(4): 383-388.
- [21] Pellerin-Massicotte J. Influence of elevated temperature and air-exposure on MDA levels and catalase activities in digestive glands of the blue mussel (*Mytilus edulis* L)[J]. Journal de Recherche Oceanographique, 1997, 22: 91-98.
- [22] 常君瑞, 徐东群. 甲醛对机体超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和丙二醛的影响[J]. 卫生研究, 2006, 35(5): 653-655.  
Chang Junrui, Xu Dongqun. Effects of formaldehyde on the activity of superoxide dismutases and glutathione peroxidase and the concentration of malondialdehyde[J]. Journal of Hygiene Research, 2006, 35(5): 653-655.

## Effect of ocean acidification on the immune index of *Cyclina sinensis*

LIANG Jian<sup>1</sup>, GAO Shan<sup>1</sup>, LI Yong-ren<sup>1</sup>, YIN Xiao<sup>1</sup>, LIU Jin-qiao<sup>1</sup>, GUO Yong-jun<sup>1</sup>, YAN Xi-wu<sup>2</sup>

(1. Tianjin Key Lab of Aqua-Ecology and Aquaculture, College of Fisheries, Tian Jin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 2. Liaoning Engineering Research Center Breeding of Shellfish, Da Lian Ocean University, Dalian 116023, China)

**Received:** Jul. 15, 2017

**Key words:** Ocean acidification; *Cyclina sinensis*; Immune index

**Abstract:** To measure the immune index of *Cyclina sinensis* under acidification environments, CO<sub>2</sub> was dissolved into the seawater. It was found that the total blood cells count had a significantly decreasing trend with increasing acidification time ( $P < 0.05$ ); decrease in pH levels inhibited the activity of lysozyme, but the difference was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The ACP activity was generally decreased, but higher in the control group than the acidification group. However, the ALP activity showed an upward trend. On the other hand, the activity of SOD increased during the initial stages of acidification stress but was inhibited in the later stages. However, the opposite trend was observed for CAT activity; lipid peroxidation products-MDA decreased significantly in the later stage of acidification ( $P < 0.05$ ).

(本文编辑: 康亦兼)