

DOI: 10.12264/JFSC2024-0165

pH 急性胁迫对许氏平鲷幼鱼生理及群体行为的影响

王轲翔¹, 田涛^{1,2,3}, 岳跃¹, 于晓明^{1,2,3}, 吴忠鑫^{1,2,3}, 李青霞^{1,2,3}

1. 大连海洋大学辽宁省海洋牧场工程技术研究中心, 辽宁 大连 116023;

2. 大连海洋大学海洋牧场产业研究院, 辽宁 大连 116023;

3. 设施渔业教育部重点实验室, 辽宁 大连 116023

摘要: 为研究 pH 急性胁迫对许氏平鲷(*Sebastes schlegelii*)幼鱼生理及行为的影响, 以平均体重(19.80±1.36) g、平均体长(9.03±0.24) cm 的许氏平鲷幼鱼为研究对象, 设置 6.5、7.5、8.5 (对照组)、9.5 这 4 个 pH 梯度开展 96 h 室内模拟养殖实验, 研究许氏平鲷幼鱼在不同 pH 条件下的抗氧化性、免疫能力、肝脏损伤情况及群体行为反应。结果显示: (1) 与对照组相比, 许氏平鲷幼鱼各实验组抗氧化酶活性显著升高($P<0.05$), 免疫酶和肝脏酶类活性随时间均有显著变化($P<0.05$), 各实验组超氧化物歧化酶(SOD)活性在 72 h 较 24 h 显著升高($P<0.05$), 免疫酶类活性呈现逐渐降低趋势。各实验组谷丙转氨酶(GPT)活性呈先降低后升高趋势, pH 6.5 实验组中于 24 h 后显著降低($P<0.05$), pH 7.5 实验组无显著变化($P>0.05$)。pH 7.5、9.5 实验组谷草转氨酶(GOT)活性在 72 h 内呈现逐渐升高趋势, 在 72 h 开始显著降低($P<0.05$)。 (2) 在 pH 6.5 条件下, 许氏平鲷集群行为明显, 其个体间距离较对照组显著减小($P<0.05$), 活跃性显著降低($P<0.05$)。研究表明, 不同的 pH 会影响许氏平鲷幼鱼生理和行为。在 pH 6.5 和 pH 9.5 环境中, 许氏平鲷会降低活跃性来应对 pH 胁迫, 同时激活抗氧化系统、提高酸、碱性磷酸酶活性以增强免疫力从而主动调节体内生理平衡。

关键词: 许氏平鲷; pH 急性胁迫; 生理机能; 群体行为

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)10-1163-11

水环境是影响水生生物生存的重要因素, 当鱼类面临胁迫时, 脑交感神经-嗜铬细胞(BSC)轴将通过嗜铬细胞释放血浆儿茶酚胺使肾上腺素和去甲肾上腺素快速升高引发应激反应^[1-3], 而长时间的应激反应可能对水生生物生理功能、生长发育、繁殖造成不良影响。据调查, 全球 2021 整年 CO₂ 排放量达 363 亿 t, 创历史新高^[4], 大量 CO₂ 被海洋吸收, H⁺、HCO₃⁻ 浓度上升使 pH 降低^[5], 这使得水体 pH 成为一种重要的环境胁迫因子, 其变化会影响水生动物的行为反应, 即鱼类会通过体色变化、提升群体凝聚力、回避等行为对外在 pH 环境作出响应或改变鱼群空间结构、鱼类迁徙等使鱼群适应外在环境变化; 另一方面 pH

变化也会影响鱼体免疫、抗氧化、代谢等多种酶的活性^[6-8], 当鱼类受到外源性刺激时, 生理生化指标能直接反映健康状况和对环境的适应能力。研究证明, 翘嘴鲮(*Siniperca chuatsi*)可以通过提高耗氧率的途径适应酸碱胁迫^[9]; 尼罗罗非鱼(*Oreochromis nilotica*)在 pH 胁迫影响下通过乳酸脱氢酶(LDH)升高激发无氧代谢消耗体内蛋白质、脂肪来维持机体的能量平衡^[10]。因此, pH 在适宜范围内变化是水生生物免疫系统正常运作的必要条件, 对鱼病防治、鱼类健康养殖具有重要意义。

在环境胁迫条件下, 鱼类通常通过降低耗氧率、升高排氨率及相关酶类如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活性适应 pH 变化^[11-12]。

收稿日期: 2024-07-22; 修订日期: 2024-09-10.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2023YFD2401103); 国家自然科学基金重点项目(42030408).

作者简介: 王轲翔(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水生生物环境胁迫. E-mail: 1158532872@qq.com

通信作者: 田涛, 教授, 研究方向为人工鱼礁、海洋牧场和鱼类行为学. E-mail: tian2007@dlou.edu.cn

研究显示,酸化 pH 慢性胁迫能够减缓菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)生理活动、损伤鳃组织结构(pH 6.4)、降低免疫酶活性增加患病几率^[13],pH 过低或过高的 pH 慢性胁迫均显著影响褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)的抗氧化性和免疫反应^[14],pH 急性酸化胁迫对番红砗磲(*Tridacna crocea*)消化酶没有显著影响^[15]。此外,与直接降低 pH 的方法相比,逐渐降低 pH 能增加鲈(*Parasilurus asotus*)对 pH 胁迫的抵抗力^[16]。

许氏平鲈(*Sebastes schlegelii*)属于鲈形目(Scorpaeniformes),鲈科(Scorpaenidae),俗称黑鱼^[17],为近海底层岩礁性肉食性鱼类^[18],主要分布在西北太平洋,在我国主要分布在渤海、黄海和东海区域,是我国主要的经济鱼类之一。以往对许氏平鲈的胁迫影响研究多集中于温度、密度、氨氮、致死、饥饿等因子^[19-23],许氏平鲈酸碱耐受及 pH 胁迫后行为和生理的变化特征尚未见报道。基于此,本研究以许氏平鲈幼鱼为实验对象,通过 pH 急性胁迫实验,考察 pH 急性胁迫下许氏平鲈幼鱼免疫生理指标及行为的变化趋势及其表型关联,旨在为后续阐明许氏平鲈幼鱼对 pH 的适应机制及其健康养殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用幼鱼[平均体重(19.80±1.36) g,平均体长(9.03±0.24) cm]于 2023 年 6 月从大连天正实

业有限公司采购。实验前暂养 14 d,暂养期间水温 20 °C、溶氧量>8 mg/L、盐度 31, pH 8.2±0.2,每天饱食投喂海童牌鱼饲料 1 次,投喂 2 h 后清除残饵及粪便。实验在长宽高 67 cm×65 cm×55 cm 的长方体玻璃钢水槽进行,实验开始前停食 24 h。

1.2 pH 急性胁迫实验

选取体色正常、无溃烂、身体健康的个体进行实验,依据预实验结果(pH 6.0、pH 10.0 条件下许氏平鲈幼鱼出现身体发黑、死亡现象)及渔业水质标准分别设置 1 个对照组(pH 8.5)和 3 个实验组(pH 6.5、pH 7.5、pH 9.5,表 1 为不调适下 12 h 内各组 pH 变化情况),各组设置 3 个平行,每个平行 20 尾实验鱼。实验前将实验水槽用无孔塑料挡板分割。根据周应祺等^[24]对最小鱼类群体数量的定义,每个平行组随机将 5 尾鱼置于挡板另一侧用于行为视频拍摄,另 15 尾用于取样。实验共进行 96 h。实验期间,每天换水 1 次(80%),换水前使用 2 mol/L 盐酸和氢氧化钠预先调制好对应的 pH 后每 3 h 进行一次调节,使 pH 稳定在±0.2 以内,实验期间不投喂。分别在实验的第 24、48、72 和 96 小时进行肝脏样品采集,每个平行取 3 尾鱼,即一组实验中对照组和每个实验组共取 12 尾鱼进行生理指标的测定。实验视频共拍摄 3 d,每个平行组每天上午拍摄 1 次,每次 20 min 用于记录许氏平鲈幼鱼的行为,后将视频转码后导入 Etho vision XT 软件进行群体行为分析。

表 1 未经调节下 12 h 内各实验组 pH 变化

Tab. 1 Changes in pH in each experimental group during 12 h without conditioning

分组	0 h	3 h	6 h	9 h	12 h
pH 6.5	6.47±0.113	6.81±0.051	7.37±0.047	7.16±0.152	6.94±0.101
pH 7.5	7.53±0.154	7.66±0.143	7.83±0.081	7.86±0.171	7.72±0.095
pH 9.5	9.56±0.094	9.37±0.073	9.48±0.106	9.24±0.064	8.96±0.114

n=3; \bar{x} ±SD

1.3 指标检测

使用 10% MS-222 麻醉剂加适量自然海水稀释后将实验鱼放入其中深度麻醉,用眼科小剪解剖取 1/3 肝脏,称量加 9 倍生理盐水,匀浆机匀浆并于 10000 r/min 离心 10 min,取上清液冷冻于 -30 °C 冰箱待测。

测定的生理指标包括: SOD 酶、CAT 酶(抗氧化酶类,其活性可判断鱼类氧化耐受能力),碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)(免疫酶类,可判断鱼类免疫功能), GOT、GPT 肝脏酶类,用于判断肝脏功能是否受损)。行为指标包括:个体游泳速度(个体的平均游泳速度)、趋近次数[鱼类群体

中两两个体相对靠近的次数,本研究设置为相对靠近 5 cm 计算 1 次趋近(此设定值为软件默认值)、个体间距离(个体间的平均距离)、到观察区边界的距离(焦点鱼到观察区边界的距离)指标数据由 Etho vision XT 软件中动态剪影法分析后自动生成。检测所用的指标试剂盒购置于南京建成生物工程研究所。

1.4 数据分析

使用 SPSS 27.0 软件对数据进行夏皮洛威尔克(Shapiro-Wilk-test)检验验证正态性, Levene 方差齐性检验, 对生理指标进行双因素重复测量方差分析 (two-way-repeated-measures-ANOVA), 使用 Duncan 法多重比较标注单个因素对指标的显著性, $P < 0.05$ 被认为具有显著差异, 对行为指标进行 K 个独立样本非参数检验并使用克鲁斯卡尔沃里斯(Kruskal-Wallis-H-test)检验并两两比较标志显著性。主体间效应检验结果为双因素、重复测量方差分析自动生成。

2 结果与分析

2.1 许氏平鲈幼鱼生理指标双因素重复测量检验

经正态检验、方差齐性检验, 许氏平鲈幼鱼生理指标均符合正态分布及方差齐性($P > 0.05$)。符

合方差分析条件。

2.1.1 抗氧化性 各实验组 CAT 酶活性均存在统计学差异($P < 0.05$), 主体内效应分析得到 $F_{\text{时间}} = 41.608$, $P < 0.001$, 可认为 CAT 酶活性在不同时间具有变化趋势, $F_{\text{pH}} = 11.72$, $P < 0.001$, 可以认为 CAT 酶活性在不同 pH 组间具有变化趋势。pH 胁迫过程中, CAT 酶活性在 pH 9.5 实验组中于 48 h 显著升高($P < 0.05$), 并于 96 h 显著降低($P < 0.05$), pH 6.5 实验组 CAT 酶活性在 72 h 显著升高($P < 0.05$)。许氏平鲈 CAT 酶活性受 pH 变化的影响显著($P < 0.05$), 各实验组于 72 h 后显著高于对照组($P < 0.05$)。详见表 2。

各实验组 SOD 酶活性均存在统计学差异($P < 0.05$), 主体内效应分析得到 $F_{\text{时间}} = 27.636$, $P < 0.001$, 可认为 SOD 酶在不同时间具有变化趋势, $F_{\text{pH}} = 7.491$, $P < 0.001$, 可以认为 SOD 酶在不同 pH 组间具有变化趋势。同 pH 条件下各组酶活性呈现显著性差异($P < 0.05$)。在同一 pH 条件下, 随着时间推进, 各个实验组 SOD 酶活性在 72 h 较 24 h 显著升高($P < 0.05$), 并在 72 h 后开始降低。在相同时间条件下, 各实验组于 72 h 显著高于对照组($P < 0.05$)。pH 6.5、pH 9.5 实验组在 48 h 显著高于对照组($P < 0.05$)。详见表 3。

表 2 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼过氧化氢酶(CAT)活性影响的双因素重复测量方差分析

Tab. 2 Two-factor repeated-measures ANOVA for the effect of acute pH stress on catalase (CAT) levels in juvenile *Sebastes schlegelii*

组别 group	24 h	48 h	72 h	96 h	F	P
pH 6.5	44.226±18.370 ^{Ab}	77.576±17.874 ^{Bb}	347.253±50.298 ^{Ba}	283.260±66.752 ^{Aa}	42.11	$P < 0.001$
pH 7.5	55.243±3.124 ^{Ac}	249.63±2.105 ^{Ab}	500.416±129.119 ^{Aa}	287.700±40.449 ^{ABb}	25.97	$P < 0.001$
对照组 control	58.533±7.196 ^{Aa}	115.23±16.121 ^{Ba}	85.636±24.76 ^{Ca}	41.050±34.080 ^{Ca}	11.96	0.002
pH 9.5	51.000±12.204 ^{Ac}	164.099±81.033 ^{ABb}	396.195±124.88 ^{ABa}	175.941±19.771 ^{Bb}	29.25	$P < 0.001$
pH					$F = 11.972$, $P < 0.001$	
时间 time					$F = 41.608$, $P < 0.001$	
pH×时间 pH×time					$F = 8.838$, $P < 0.001$	

注: 不同大写字母表示相同时间下不同 pH 组之间具有显著差异($P < 0.05$), 不同小写字母表示同一 pH 组中不同时间具有显著性差异($P < 0.05$), 相同字母代表无显著差异($P > 0.05$)。

Note: Different upper-case letters indicate significant differences between pH groups at the same time ($P < 0.05$); Different lower-case letters indicate significant differences in the same pH group at different times ($P < 0.05$); Similar letters indicate no significant differences ($P > 0.05$).

2.1.2 免疫能力 pH 6.5、9.5 实验组 ACP 酶活性存在统计学差异($P < 0.05$), 主体内效应分析得到 $F_{\text{时间}} = 77.615$, $P < 0.001$, 可认为 ACP 酶活性具

有时间变化趋势, $F_{\text{pH}} = 5.335$, $P < 0.05$, 可以认为 ACP 酶活性在不同 pH 组间具有变化趋势。在同一 pH 条件下, 随着时间推进, pH 6.5、pH 9.5 实

验组 ACP 酶活性呈逐渐降低趋势, pH 7.5 实验组和对对照组呈平稳变化趋势($P>0.05$)。在同一时间条件下, pH 6.5、pH 9.5 实验组酶活性于 24 h 显著高于对照组($P<0.05$)。详见表 4。

表 3 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼超氧化物歧化酶(SOD)活性影响的双因素重复测量方差分析

Tab. 3 Two-factor repeated-measures ANOVA for the effect of acute pH stress on superoxide dismutase (SOD) levels in juvenile *Sebastes schlegelii*

组别 group	24 h	48 h	72 h	96 h	F	P
pH 6.5	54.035±11.476 ^{Abc}	69.315±2.171 ^{Aab}	82.665±5.098 ^{Aa}	55.95±10.726 ^{Abc}	17.688	0.021
pH 7.5	42.770±11.682 ^{Bbc}	49.680±4.108 ^{Bab}	68.027±6.682 ^{Aa}	52.297±11.263 ^{Aab}	4.471	0.035
对照组 control	46.310±14.096 ^{ABa}	51.945±4.356 ^{Ba}	44.813±12.002 ^{Ba}	43.347±14.045 ^{Aa}	0.408	0.751
pH 9.5	45.193±3.972 ^{ABb}	65.156±11.346 ^{Aab}	82.066±5.866 ^{Aa}	49.763±15.173 ^{Ab}	9.123	0.012
pH	$F=7.491, P<0.05$					
时间 time	$F=27.636, P<0.001$					
pH×时间 pH×time	$F=15.061, P<0.001$					

注: 不同大写字母表示相同时间下不同 pH 组之间具有显著差异($P<0.05$), 不同小写字母表示同一 pH 组中不同时间具有显著性差异($P<0.05$), 相同字母代表无显著差异($P>0.05$)。

Note: Different upper-case letters indicate significant differences between pH groups at the same time ($P<0.05$); Different lower-case letters indicate significant differences in the same pH group at different times ($P<0.05$); Similar letters indicate no significant differences ($P>0.05$).

表 4 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼酸性磷酸酶(ACP)活性影响的双因素重复测量方差分析

Tab. 4 Two-factor repeated-measures ANOVA for the effect of acute pH stress on acid phosphatase (ACP) levels in juvenile *Sebastes schlegelii*

组别 group	24 h	48 h	72 h	96 h	F	P
pH 6.5	209.657±3.909 ^{Aa}	68.832±10.091 ^{Ab}	65.000±9.015 ^{Ab}	47.585±18.726 ^{ABb}	186.07	$P<0.01$
pH 7.5	72.043±9.2488 ^{Ba}	68.436±19.064 ^{Aa}	64.813±2.542 ^{Aa}	85.576±33.373 ^{Aa}	0.892	0.482
对照组 control	81.55±21.035 ^{Ba}	88.625±6.491 ^{Aa}	63.808±18.005 ^{Aa}	61.384±17.382 ^{ABa}	4.335	0.038
pH 9.5	185.17±2.192 ^{Aa}	80.625±6.314 ^{Aab}	59.750±25.456 ^{Ab}	47.795±19.438 ^{ABb}	65.131	$P<0.01$
pH	$F=5.335, P<0.05$					
时间 time	$F=77.615, P<0.001$					
pH×时间 pH×time	$F=26.621, P<0.001$					

注: 不同大写字母表示相同时间下不同 pH 组之间具有显著差异($P<0.05$), 不同小写字母表示不同时间下同一 pH 组中不同时间具有显著性差异($P<0.05$), 相同字母代表无显著差异($P>0.05$), A 和 AB 同时存在代表无显著差异但 A 较 AB 偏高。

Note: Different upper-case letters indicate significant differences between pH groups at the same time ($P<0.05$); Different lower-case letters indicate significant differences in the same pH group at different times without using time ($P<0.05$); Similar letters indicate no significant differences ($P>0.05$). When A and AB exist together, the data with A and AB have no significant difference, but data with A is higher than that with AB.

AKP 酶 pH 6.5、pH 9.5 实验组总体存在统计学差异($P<0.05$), 主体内效应分析得到 $F_{\text{时间}}=31.207, P<0.001$, 可认为 AKP 酶活性在不同时间具有变化趋势, $F_{\text{pH}}=7.118, P<0.05$, 可以认为 AKP 酶活性在不同 pH 组间具有变化趋势。pH 胁迫中, AKP 酶在 pH 6.5、pH 9.5 实验组中于 48 h 显著降低($P<0.05$), 其中 pH 6.5 实验组在 72 h 略有回升($P>0.05$), pH 7.5 实验组虽有变化但无显著差异($P>0.05$)。pH 6.5、pH 9.5 实验组在 96 h 显著低于对照组($P<0.05$)。详见表 5。

2.1.3 肝脏酶类 各实验组 GOT 酶活性均存在

统计学差异($P<0.05$), 主体内效应分析得到 $F_{\text{时间}}=7.884, P<0.05$, 可认为 GOT 酶活性在不同时间具有变化趋势, $F_{\text{pH}}=4.517, P<0.05$, 可以认为 GOT 酶在不同 pH 组间具有变化趋势。除对照组无显著差异外, 其他各组在组内均有显著性差异($P<0.05$)。在同一 pH 条件下, 随着时间推进, pH 6.5、7.5 实验组 GOT 酶活性在 72 h 内呈现逐渐升高趋势, 其中 pH 7.5 实验组在 96 h 显著降低($P<0.05$)。在相同时间条件下, pH 6.5、pH 7.5 实验组酶活性在 24 h 显著低于对照组, pH 9.5 实验组于 72 h、96 h 显著低于其他各组($P<0.05$)。详见表 6。

表 5 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼碱性磷酸酶(AKP)活性影响的双因素重复测量方差分析
Tab. 5 Two-factor repeated-measures ANOVA for the effect of acute pH stress on alkaline phosphatase (AKP) levels in juvenile *Sebastes schlegelii*

组别 group	24 h	48 h	72 h	96 h	F	P
pH 6.5	1.47±0.086 ^{ABa}	0.52±0.045 ^{Ab}	0.752±0.099 ^{ABb}	0.455±0.159 ^{Bb}	71.301	0.002
pH 7.5	1.025±0.297 ^{Ba}	0.807±0.365 ^{Aa}	0.977±0.295 ^{Aa}	0.747±0.118 ^{ABa}	0.778	0.535
对照组 control	1.03±0.199 ^{Ba}	0.815±0.231 ^{Aa}	1.135±0.083 ^{Aa}	1.142±0.074 ^{Aa}	3.364	0.058
pH 9.5	1.722±0.294 ^{ABa}	0.54±0.222 ^{Ab}	0.43±0.133 ^{Bb}	0.442±0.182 ^{Bb}	29.214	$P<0.01$
pH	$F=7.188, P<0.05$					
时间 time	$F=31.207, P<0.001$					
pH×时间 pH×time	$F=8.628, P<0.001$					

注: 不同大写字母表示相同时间下不同 pH 组之间具有显著差异($P<0.05$), 不同小写字母表示同一 pH 组中不同时间具有显著性差异($P<0.05$), 相同字母代表无显著差异($P>0.05$), A 和 AB 同时存在代表无显著差异但 A 较 AB 偏高。

Note: Different upper-case letters indicate significant differences between pH groups at the same time ($P<0.05$); Different lower-case letters indicate significant differences in the same pH group at different times ($P<0.05$); Similar letters indicate no significant differences ($P>0.05$). When A and AB exist together, the data with A and AB have no significant difference, but data with A is higher than that with AB.

表 6 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼谷草转氨酶酶(GOT)活性影响的双因素重复测量方差分析
Tab. 6 Two-factor repeated-measures ANOVA for the effect of acute pH stress on glutamate transaminase enzyme (GOT) levels in juvenile *Sebastes schlegelii*

组别 group	24 h	48 h	72 h	96 h	F	P
pH 6.5	42.222±28.864 ^{Bb}	181.89±75.002 ^{ABa}	243.555±43.993 ^{ABa}	153.977±37.053 ^{ABa}	10.234	0.003
pH 7.5	5.000±1.146 ^{Bc}	229.465±33.127 ^{ABab}	257.375±58.696 ^{Aa}	174.150±55.479 ^{ABb}	10.395	0.043
对照组 control	166.193±9.322 ^{Aa}	268.656±69.421 ^{Aa}	187.086±19.412 ^{ABa}	271.726±69.794 ^{Aa}	3.058	0.113
pH 9.5	165.73±2.927 ^{Aa}	212.645±24.431 ^{ABa}	55.435±36.918 ^{Cb}	15.250±.471 ^{Bb}	36.115	0.007
pH	$F=4.517, P<0.05$					
时间 time	$F=7.884, 0.001$					
pH×时间 pH×time	$F=3.415, 0.01$					

注: 不同大写字母表示相同时间下不同 pH 组之间具有显著差异($P<0.05$), 不同小写字母表示同一 pH 组中不同时间具有显著性差异($P<0.05$), 相同字母代表无显著差异($P>0.05$).

Note: Different upper-case letters indicate significant differences between pH groups at the same time ($P<0.05$); Different lower-case letters indicate significant differences in the same pH group at different times ($P<0.05$); Similar letters indicate no significant differences ($P>0.05$).

GPT 酶活性仅在 pH 9.5 实验组存在统计学差异($P<0.05$), 主体内效应分析得到 $F_{\text{时间}}=7.284, P<0.05$, 可认为 GPT 酶在不同时间具有变化趋势, $F_{\text{pH}}=1.728, P>0.05$, 可以认为 GPT 酶活性在不同 pH 组间没有变化趋势。pH 胁迫中, 各实验组许氏平鲈幼鱼 GPT 酶活性呈先降低后升高趋势, 其中 pH 9.5 实验组中于 96 h 显著回升($P<0.05$), pH 6.5 实验组中于 48 h 显著降低($P<0.05$), pH 7.5 实验组无显著差异($P>0.05$)。详见表 7。

2.2 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼群体行为的影响

2.2.1 相同时间条件下不同 pH 对许氏平鲈幼鱼行为的影响

由于行为学指标不符合正态分布($P<0.05$), 故采用非参数检验对指标进行分析, pH 对许氏平鲈幼鱼行为影响见表 8, 不同 pH 组的个体间平均速度[中位数(P25, P75)分别为 0.32

(0.256, 0.378), 0.193 (0.096, 0.273), 0.446 (0.175, 0.547), 0.129 (0.0614, 0.2005)]、个体间距离[中位数(P25, P75)分别为 19.416 (16.947, 21.639), 13.886 (9.782, 19.563), 20.073 (18.883, 22.437), 20.603 (15.942, 22.222)]、趋近[中位数(P25, P75)分别为 6.5 (5.7, 7.25), 2.5 (0.75, 4.25), 7 (1, 18), 0 (0, 2)]进行非参数 Kruskal-Wallis-H 检验, H 值, P 值分别为 17.143, 0.01、9.698, 0.021、26.229, 0.000, 具有统计学差异。两两比较结果显示, 个体平均速度 pH 9.5 实验组显著低于 pH 7.5 实验组和对照组($P<0.05$)。个体间距离 pH 6.5 实验组显著低于 pH 7.5、pH 9.5 实验组与对照组($P<0.05$)。趋近 pH 9.5 实验组显著低于 pH 7.5 实验组和对照组($P<0.05$), 且 pH 6.5 实验组显著低于对照组($P<0.05$)。

表 7 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼谷丙转氨酶(GPT)活性影响的双因素重复测量方差分析
Tab. 7 Two-factor repeated-measures ANOVA for the effect of acute pH stress on Glutamate transaminase enzyme (GPT) levels in juvenile *Sebastes schlegelii*

组别 group	24 h	48 h	72 h	96 h	F	P
pH 6.5	767.940±47.899 ^{Aa}	514.825±127.950 ^{Bb}	363.300±27.534 ^{Bb}	660.170±133.416 ^{Aa}	5.014	0.109
pH 7.5	755.857±65.204 ^{Aa}	457.762±229.821 ^{Ba}	555.047±69.685 ^{Aa}	853.072±108.278 ^{Aa}	3.612	0.058
对照组 control	690.560±143.909 ^{Aa}	738.843±190.639 ^{Aa}	730.316±203.026 ^{Aa}	843.210±77.374 ^{Aa}	0.488	0.703
pH 9.5	762.616±66.920 ^{Ab}	620.890±77.148 ^{Ab}	590.693±139.141 ^{Ab}	892.173±83.025 ^{Aa}	8.305	0.015
pH	F=1.728, 0.238					
时间 time	F=7.284, 0.001					
pH×时间 pH×time	F=1.068, 0.42					

注: 大写字母表示相同时间下不同 pH 组之间具有显著差异($P<0.05$), 小写字母表示同一 pH 组中不同时间具有显著性差异($P<0.05$), 相同字母代表无显著差异($P>0.05$).

Note: Different upper-case letters indicate significant differences between pH groups at the same time ($P<0.05$); Different lower-case letters indicate significant differences in the same pH group at different times ($P<0.05$); Similar letters indicate no significant differences ($P>0.05$).

表 8 相同时间条件下不同 pH 对许氏平鲈幼鱼行为的影响

Tab. 8 Effects of different pH on the behavior of juvenile *Sebastes schlegelii* under the same time condition

指标 index	对照组 control	pH 6.5	pH 7.5	pH 9.5	H	P
个体平均速度 individual average speed	0.32 (0.256, 0.378) ^a	0.193 (0.096, 0.273)	0.446 (0.175, 0.547) ^a	0.129 (0.0614, 0.2005)	17.143	0.011
到观察区边界的距离 distance to the boundary of the observation zone	4.655 (3.65, 5.81)	4.769 (2.878, 7.456)	4.735 (4.162, 5.229)	3.991 (3.062, 4.76)	3.047	0.384
个体间距离 distance between individuals	19.416 (16.947, 21.639) ^b	13.886 (9.782, 19.563)	20.073 (18.883, 22.437) ^b	20.603 (15.942, 22.222) ^b	9.698	0.021
趋近 approach	6.5 (5.7, 7.25) ^{cd}	2.5 (0.75, 4.25)	7 (1, 18) ^e	0 (0, 2)	26.229	<0.001

注: 克鲁斯卡尔-沃利斯检验, 括号中为上下四分位数。a 代表个体平均速度与 pH 9.5 实验组存在显著差异($P<0.05$), b 代表个体间距离与 pH 6.5 实验组存在显著差异($P<0.05$), c 代表趋近与 pH 9.5 实验组存在显著差异($P<0.05$), d 代表趋近与 pH 6.5 实验组存在显著差异($P<0.05$), 无字母标注代表无显著差异($P>0.05$), 两两比较均经过 Bonferroni 矫正。

Note: Kruskal-Wallis test with upper and lower quartiles in parentheses. The lower-case letter a represents a significant difference between the groups and the pH 9.5 experimental group in the average individual velocity ($P<0.05$), the lower-case letter b represents a significant difference between the groups and the pH 6.5 experimental group in the distance between individuals ($P<0.05$), the lower-case letter c represents a significant difference between the groups and the pH 9.5 experimental group ($P<0.05$), and the lower-case letter d represents a significant difference between the groups and the pH 6.5 experimental group ($P<0.05$). No letter marking represents no significant difference ($P>0.05$). Pairwise comparisons were corrected using Bonferroni correction.

2.2.2 相同 pH 条件下不同胁迫时间对许氏平鲈幼鱼行为的影响 pH 影响下时间对许氏平鲈幼鱼行为影响见表 9, 不同时间的个体间距离[中位数 (P25, P75) 分别为 16.181 (13.407, 19.608), 20.706 (1.794, 22.355), 20.02 (18.694, 21.508)] 进行非参数 Kruskal-Wallis-H 检验, $H=12.206$, $P=0.002$, 存在统计学差异, 两两比较结果显示, 个体间距离中 48 h、72 h 显著高于 24 h ($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼抗氧化性及免疫的影响

动物体内自由基多为内源性自由基, 产生于

动物自身代谢^[25]。在胁迫条件下, 机体产生的氧自由基(ROS)无法被及时清除, 而这些过量的 ROS 会导致机体出现氧化损伤^[26]。SOD、CAT 是传统的抗氧化酶, 其中 SOD 具有清除超氧阴离子自由基的功能^[27], CAT 则将多余的过氧化氢酶分解为水和氧气以确保细胞不受氧化损伤^[28]。本研究中, pH 胁迫开始后 72 h, 各实验组 SOD、CAT 酶活性较对照组显著升高, 表明许氏平鲈幼鱼为应对 pH 变化带来的压力和自身产生的自由基, 通过调节激活抗氧化系统来应对 pH 胁迫。96 h 时实验组 SOD 略高于对照组、CAT 酶活性显著高于对照组, 证明许氏平鲈幼鱼已逐渐适应相应 pH 环境且短时间内许氏平鲈幼鱼对 pH 胁迫具有一

表 9 相同 pH 条件下不同时间对许氏平鲈幼鱼行为的影响

Tab. 9 Effects of different times under the same pH conditions on the behavior of juvenile *Sebastes schlegelii*

指标 index	24 h	48 h	72 h	H	P
个体平均速度 individual average speed	0.217 (0.124, 0.306)	0.191 (0.103, 0.36)	0.370 (0.194, 0.534)	4.208	0.122
到观察区边界的距离 distance to the boundary of the observation zone	4.734 (3.603, 5.674)	4.461 (3.281, 5.74)	4.586 (3.524, 5.208)	0.282	0.869
个体间距离 distance between individuals	16.181 (13.407, 19.608)	20.706 (1.794, 22.355) ^a	20.02 (18.694, 21.508) ^a	12.206	0.002
趋近 approach	3.5 (2, 6.75)	2 (0, 5)	0 (0, 17.5)	4.442	0.108

注: 克鲁斯卡尔沃里斯检验, 括号中为上下四分位数, a 表示个体间距离各时间与 24 h 存在显著差异, 两两比较均经过 Bonferroni 校正。
Note: Kruskalvoris test, with upper and lower quartiles in parentheses. The lower-case letter a indicates that there is a significant difference between the time and 24 h in the distance between individuals, and the comparison between the two is corrected by Bonferroni.

定的抗氧化能力。

磷酸酶是机体重要的功能酶类, 依据其酸碱度特性可以分为 AKP、ACP 两种^[29], 二者在动物免疫防御中起到重要作用, 其中 AKP 在碱性条件下起到水解磷酸酯的作用^[30], 而 ACP 活性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^[31]。已有研究证明青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)受盐度胁迫时不同组织中的 ACP 和 AKP 酶活性有不同程度的升高或抑制^[32]。高 pH 胁迫可损伤克氏原螯虾免疫系统^[33]。在本研究中, 胁迫开始 24 h 时 pH 6.5 实验组和 pH 9.5 实验组中的许氏平鲈幼鱼 ACP 酶活性显著高于对照组, 表明许氏平鲈幼鱼处于 pH 胁迫下为调节自身酸碱平衡采用了主动调节措施, 免疫功能暂时增强。pH 6.5 实验组和 pH 9.5 实验组 AKP 酶活性在 96 h 显著低于对照组, 可能是由于 pH 变化超出许氏平鲈适应范围导致组织损坏致使 AKP 酶活性不能恢复正常水平。综合研究结果, pH 急性胁迫下许氏平鲈幼鱼 ACP 及 AKP 酶活性会在一定范围内做出调整增强免疫力来应对 pH 胁迫。

3.2 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼肝脏酶类的影响

GOT、GPT 是广泛存在于动物肝脏中的重要转氨酶, 通常认为, GPT 酶活性升高标志着肝脏功能障碍, GOT 酶活性升高标志着心脏功能障碍^[34], 两者共同参与氨基酸代谢, 其活性高低可判断肝脏健康状况^[35]。本研究中 48 h、72 h 时 GPT 酶活性在 pH 6.5 实验组中显著降低, 这可能是由于细胞膜通透性改变导致 GPT 酶外流, 肝脏轻微

受损。各实验组 GPT 酶活性于 96 h 恢复到对照组水平, 表明短时间内许氏平鲈对 pH 胁迫具有一定耐受能力。此外, 肝脏是鱼类重要的消化器官及解毒器官, 而在碱性环境中, pH 过高导致 OH⁻浓度过高促使 NH₄⁺离子转化为毒性更大的 NH₃, 从而对肝脏进一步造成损伤。例如, 低 pH 胁迫可使克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)肝脏组织结构损伤^[36], 高浓度氨氮对大口黑鲈幼鱼(*Macropterus salmoides*)肝脏 GOT、GPT 酶有显著抑制作用^[37]。在本研究中, pH 9.5 实验组肝脏 GOT 酶活性在 96 h 显著低于对照组, 证明许氏平鲈幼鱼氨基酸代谢能力由于 pH 影响受到抑制, 这可能导致氨在鱼机体内积累, 但本研究未对呼吸代谢进行研究, 日后将作为重点进行实验。实验结束后 pH 6.5 实验组和 pH 9.5 实验组剩余实验鱼出现大量死亡进一步证实了适宜的 pH 范围对许氏平鲈幼鱼的生存具有重要影响。

3.3 pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼群体行为的影响

集群有利于鱼类捕食、增强群体保护力和攻击力^[38], 集群的群体凝聚力表征了群体成员之间的吸引程度, 用以评估鱼类觅食、共同抵抗天敌、繁衍等一系列行为。因此, 群体行为是判断鱼类群体协调性、综合能力的重要指标之一。在胁迫条件下, 不同鱼群在应对恶劣环境时会表现出不同程度的活跃度下降, 游泳能力降低等现象^[39-41]。本研究中, 在 pH 影响下时间仅对个体间距离有显著影响, 各实验组到观察区边的距离无显著差异, 但 pH 过低或过高会降低许氏平鲈群体的平均游

泳速度与趋近次数, 这表明 pH 过低或过高抑制了鱼类自身活动, 降低了许氏平鲈幼鱼的活跃性, 可能由于过酸或过碱性环境对许氏平鲈幼鱼机体生理造成了影响, 无法有效调节有关^[42]。此外, pH 过低也会降低许氏平鲈幼鱼个体间距离增强群体凝聚力, 但本实验未拍摄下午与晚上的许氏平鲈视频, 因此本研究结果仅代表 pH 影响下许氏平鲈上午的行为节律, 其余节律在后续研究中作为重点进行研究。

结合以上分析及生理指标, 推测 pH 胁迫下许氏平鲈幼鱼行为和生理存在一定联系, 可通过外在行为逻辑判断生理状况, 即许氏平鲈外在行为是机体内在生理向外表现的综合结果^[42-43]。综上, pH 高低对鱼体本身及鱼群行为及活动具有显著影响, 通过鱼类活跃性及聚集度判断鱼体健康状况在水产养殖中具有重要意义。

4 总结

本研究证明, pH 急性胁迫对许氏平鲈幼鱼造成了重大影响, 分析得出许氏平鲈在 pH 胁迫下 6 种免疫酶的变化导致许氏平鲈幼鱼免疫能力下降且会出现病理损伤, 许氏平鲈幼鱼在受到 pH 胁迫时通过降低活跃性来适应 pH 胁迫, 同时激活抗氧化系统、提高酸、碱性磷酸酶活性以增强免疫力从而主动调节体内生理平衡以避免胁迫带来的损伤。综上所述, 本研究探明了许氏平鲈幼鱼在 pH 急性胁迫下的生理变化规律, 为后续阐明许氏平鲈幼鱼对 pH 的适应机制及其健康养殖提供了理论依据及基础资料, 但本研究仅对较大个体的许氏平鲈幼鱼进行了实验, 未来将对仔鱼、成鱼的行为生理变化、pH 胁迫对许氏平鲈摄食营养学影响及不同部位酶活性差异、pH 胁迫对许氏平鲈行为节律等影响进行进一步研究。

参考文献:

- [1] Servili A, Lévêque E, Mouchel O, et al. Ocean acidification alters the acute stress response of a marine fish[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 858: 159804.
- [2] Wendelaar Bonga S E. The stress response in fish[J]. *Physiological Reviews*, 1997, 77(3): 591-625.
- [3] Balasch J C, Tort L. Netting the stress responses in fish[J].

- Frontiers in Endocrinology, 2019, 10: 62.
- [4] International Energy Agency. Global Energy Review 2021 [R]. Paris: International Energy Agency, 2021.
- [5] Orr J C, Fabry V J, Aumont O, et al. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms[J]. *Nature*, 2005, 437(7059): 681-686.
- [6] Qin Y L, Han Q, Huang Q, et al. Effect of low pH value on immune function and mortality of *Procambarus clarkii*[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2020(23): 198-200, 205. [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.]
- [7] Li Y Q. Effects of pH stress on activities of phosphatase in *Exopalaemon carinicauda* Holthuis[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2014, 45(6): 1098-1101. [李玉全. pH 胁迫对脊尾白虾代谢酶活力的影响[J]. *南方农业学报*, 2014, 45(6): 1098-1101.]
- [8] Wang Y, Li J, Li J T, et al. Effects of pH stress on antioxidant system enzyme activities and gene expression of *Fenneropenaeus chinensis*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2011, 18(3): 556-564. [王芸, 李健, 李吉涛, 等. pH 胁迫对中国明对虾抗氧化系统酶活力及基因表达的影响[J]. *中国水产科学*, 2011, 18(3): 556-564.]
- [9] Zhang C S, Zhou H T, Zeng M D, et al. Effects of pH stress on serum pH, oxygen consumption rate and detoxification-related gene expression of *Siniperca chuatsi*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2020, 50(5): 31-38. [张成硕, 周昊天, 曾萌冬, 等. 酸碱胁迫对鳊血清 pH、耗氧率及解毒相关基因表达的影响[J]. *淡水渔业*, 2020, 50(5): 31-38.]
- [10] Qiang J, Wang H, Li R W, et al. Effects of acid and alkaline stress on energy metabolism of *Oreochromis niloticus* juveniles with different body mass[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(9): 2438-2446. [强俊, 王辉, 李瑞伟, 等. 酸碱胁迫对不同体质量尼罗罗非鱼幼鱼能量代谢的影响[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(9): 2438-2446.]
- [11] Pichavant K, Person-Le-Ruyet J, Le Bayon N, et al. Effects of hypoxia on growth and metabolism of juvenile turbot[J]. *Aquaculture*, 2000, 188(1-2): 103-114.
- [12] Ding Lu, Liu Y J, Wei X F, et al. Effects of α -ketoglutarate supplementation on serum metabolism of crucian carp under carbonate alkaline stress based on UPLC-Q-TOF/MS metabolomics[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(2): 138-149. [丁璐, 刘英杰, 魏晓凤, 等. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 代谢组学技术探究 α -酮戊二酸对碳酸盐碱胁迫下鲫血清代谢的影响[J]. *中国水产科学*, 2023, 30(2):

- 138-149.]
- [13] Chen Q, Lin Y, Li Z B, et al. Effects of pH stress on oxygen consumption rate, ammonia excretion rate, immune and antioxidant enzyme activity and tissue morphology of clam *Ruditapes philippinarum*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2023, 54(5): 1424-1433. [陈强, 林毅, 黎中宝, 等. pH 胁迫对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)耗氧率、排氨率、免疫和抗氧化酶活性以及组织形态的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2023, 54(5): 1424-1433.]
- [14] Kim J H, Kim S R, Kim S K, et al. Effects of pH changes on blood physiology, antioxidant responses and Ig M of juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*[J]. *Aquaculture Reports*, 2021, 21: 100790.
- [15] Ma S B, Qin G, Zhang B, et al. Acute effects of temperature, pH, and suspended solids on antioxidant and digestive enzyme activities and stress-response gene expressions in the boring giant clam *Tridacna crocea*[J]. *North American Journal of Aquaculture*, 2021, 83(2): 95-104.
- [16] J.D, T.D.K.P, J.H. The effect of gradual decrease in pH level on the survival rate and glucose levels of catfish (*Pangasius sp.*) [J]. *AACL Bioflux*, 2021, 14(3): 1231-1241.
- [17] Chen Y, Liu X D, Wu X Y, et al. Distribution of Schlegel's rockfish (*Sebastes schlegeli* Hilgendorf) in different artificial reef models[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2006, 21(2): 153-157. [陈勇, 刘晓丹, 吴晓郁, 等. 不同结构模型礁对许氏平鲷幼鱼的诱集效果[J]. *大连水产学院学报*, 2006, 21(2): 153-157.]
- [18] Wang X J, Zhang X M, Huang G Q. Compensatory growth of rockfish (*Sebastes schlegeli*) following low temperature stress[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(4): 566-572. [王晓杰, 张秀梅, 黄国强. 低温胁迫对许氏平鲷补偿生长的影响[J]. *中国水产科学*, 2006, 13(4): 566-572.]
- [19] Zhang S. Effects of aquaculture density and models on growth environment and growth performance of *Sebastes schlegelii*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2023. [张赛. 密度和模式对许氏平鲷生长环境和性能的影响[D]. 大连: 大连海洋大学, 2023.]
- [20] Zhang Y C, Wen H S, Li L M, et al. Effects of acute temperature stress on the reproductive endocrine function of gestational ovoviviparous black rockfish(*Sebastes schlegelii*) [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2016, 46(9): 29-37. [张亚晨, 温海深, 李兰敏, 等. 急性温度胁迫对妊娠期许氏平鲷生殖内分泌机能的影响[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2016, 46(9): 29-37.]
- [21] Han X Z. Study on feeding method of Korean rockfish (*Sebastes schlegelii*) and its response mechanism to starvation stress[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2023. [韩晓钊. 许氏平鲷养殖投喂策略及其应对饥饿胁迫的机制研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2023.]
- [22] Zhao Q, Liu J R, Zhou J, et al. Effects of slaughter stress on freshness-locked products of *Sebastes schlegelii*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(7): 1043-1053. [赵前, 刘俊荣, 周进, 等. 致死胁迫对许氏平鲷锁鲜效果的影响[J]. *水产学报*, 2021, 45(7): 1043-1053.]
- [23] Gao Y T, Gao Y H, Wang J W, et al. Effect of acute ammonia stress on the plasma biochemical indexes of *Sebastes schlegelii*[J]. *Marine Sciences*, 2023, 47(8): 49-59. [高云涛, 高云红, 王嘉伟, 等. 氨氮急性胁迫对许氏平鲷血液生化指标影响[J]. *海洋科学*, 2023, 47(8): 49-59.]
- [24] Zhou Y Q, Wang J, Qian W G, et al. Review of fish schooling behavior study[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(5): 734-743. [周应祺, 王军, 钱卫国, 等. 鱼类集群行为的研究进展[J]. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(5): 734-743.]
- [25] Shi B M, Chi Z H. Research progress on harm of free radical to animals and its elimination technology[J]. *Feed Industry*, 2021, 42(9): 1-6. [石宝明, 迟子涵. 自由基对动物的危害及消除技术研究进展[J]. *饲料工业*, 2021, 42(9): 1-6.]
- [26] Franco R, Sánchez-Olea R, Reyes-Reyes E M, et al. Environmental toxicity, oxidative stress and apoptosis: Ménage à trois[J]. *Mutation Research*, 2009, 674(1-2): 3-22.
- [27] Zhuang H S, Yang G. Study on the acute and subacute toxicities of bisphenol a on the carp[J]. *Environmental Chemistry*, 2005, 24(6): 682-684. [庄惠生, 杨光. 双酚 A 对鲤鱼急性和亚急性毒性的研究[J]. *环境化学*, 2005, 24(6): 682-684.]
- [28] Zheng D C, Huang Q Y, Cai W Q, et al. Histopathological studies on the hemorrhage disease of grass carp[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1986, 10(2): 151-159. [郑德崇, 黄琪琰, 蔡完其, 等. 草鱼出血病的组织病理研究[J]. *水产学报*, 1986, 10(2): 151-159.]
- [29] He H Q, Sun F. Studies on the characteristics of acid and alkaline phosphatases in Chinese shrimp, *Penaeus chinensis*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1992, 23(5): 555-560. [何海琪, 孙凤. 中国对虾酸性和碱性磷酸酶的特性研究[J]. *海洋与湖沼*, 1992, 23(5): 555-560.]
- [30] Bai X J, Lu H S, Liu X B, et al. Effect of salinity and pH on the ACP and ALP of *Branchiostoma belcheri* in Maoming Sea Area[J]. *Marine Science Bulletin*, 2009, 28(4): 42-46. [白秀娟, 卢伙胜, 刘晓彬, 等. 盐度、pH 胁迫对茂名海域文昌鱼磷酸酶活性的影响[J]. *海洋通报*, 2009, 28(4): 42-46.]
- [31] Ding R X, Huang X M, Zhao W, et al. Effects of pH acute stress on the behavior and immune enzyme activity of

- Babylonia Areolata*[J]. Fishery Modernization, 2022, 49(6): 84-90. [丁瑞霞, 黄星美, 赵旺, 等. pH 急性胁迫对方斑东风螺行为及免疫酶活性的影响[J]. 渔业现代化, 2022, 49(6): 84-90.]
- [32] Liu Y H, Qi H F, Jin W J, et al. Effects of different salinity stresses on the antioxidant and immune-related enzyme activities of *Gymnocypris przewalskii*[J]. Journal of Qinghai University, 2024, 42(3): 25-31. [刘艳慧, 祁洪芳, 金文杰, 等. 不同盐度胁迫对青海湖裸鲤幼鱼抗氧化和免疫相关酶活性的影响[J]. 青海大学学报, 2024, 42(3): 25-31.]
- [33] Tian L L, Wan J J, Meng X L, et al. Effects of acute and chronic high pH stress on non-specific immunity and antioxidant capacity in *Procambarus Clarkii*[J]. Freshwater Fisheries, 2021, 51(4): 101-107. [田立立, 万金娟, 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.]
- [34] Liu W, Li Z F. Effects of temperatures on the physiological and biochemical indexes of silver carp and bighead carp[J]. Journal of Northeast Normal University (Natural Science Edition), 1996, 28(2): 108-112. [刘伟, 李佐锋. 温度对链鳊鱼生理生化指标的影响[J]. 东北师大学报(自然科学版), 1996, 28(2): 108-112.]
- [35] Zheng Y H, Pu F Y. Effect of mercury on transaminase activities of tissues in *C. carpio* & *C. auratus*[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 1997, 19(1): 41-45. [郑永华, 蒲富永. 汞对鲤鲫鱼组织转氨酶活性的影响[J]. 西南农业大学学报, 1997, 19(1): 41-45.]
- [36] Tao Y F, Qiang J, Wang H, et al. Acute toxicity of low-pH stress and its effect on enzyme activity and histological structure of gill and hepatopancreas in *Procambarus clarkii*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(6): 1279-1289. [陶易凡, 强俊, 王辉, 等. 低 pH 胁迫对克氏原螯虾鳃和肝胰腺酶活力及组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(6): 1279-1289.]
- [37] Wei M S, Zheng T, Lu S Q, et al. Ammonia-n stress on tissue structure, enzyme activity and intestinal microbiota of *Macropterus salmoides*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2024, 48(1): 10-22. [魏孟申, 郑涛, 路思琪, 等. 氨氮胁迫对大口黑鲈幼鱼组织结构、酶活及肠道微生物的影响[J]. 水生生物学报, 2024, 48(1): 10-22.]
- [38] Zhao H J, Han J R, Jin Y Q, et al. Effects of population size on the collective behavior of juvenile bighead carp[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2022, 38(23): 143-149. [赵涵婧, 韩建蓉, 金渝钦, 等. 群体大小对鳊幼鱼的集群行为影响[J]. 中国农学通报, 2022, 38(23): 143-149.]
- [39] Speedie N, Gerlai R. Alarm substance induced behavioral responses in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Behavioural Brain Research, 2008, 188(1): 168-177.
- [40] Fu C, Peng J L, Fu S J. Effects of acclimation temperature on locomotion performance and behavior of pale chub[J]. Chinese Journal of Ecology, 2018, 37(6): 1889-1896. [付成, 彭姜岚, 付世建. 温度对宽鳍鱲运动能力和行为特征的影响[J]. 生态学杂志, 2018, 37(6): 1889-1896.]
- [41] Yuan X. Adaptation (tolerance) strategies of fish swimming behavior to environmental stresses[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2016. [袁喜. 鱼类游泳行为对环境胁迫的适应性(耐受性)策略研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2016.]
- [42] Zhang S K, Xu J H, Sun X Q, et al. Effects of acute ammonia nitrogen stress on behavior pattern and hematological parameters of juvenile spotted knifejaw (*Oplegnathus punctatus*)[J]. Periodical of Ocean University of China, 2023, 53(3): 120-132. [张盛坤, 徐进虎, 孙雪倩, 等. 氨氮急性胁迫对斑石鲷幼鱼行为模式和血液学参数的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2023, 53(3): 120-132.]
- [43] Liu Q, Ren Z M. Study on behavioral response of zebrafish(*Danio rerio*)under cadmium stress[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2024, 55(3): 566-576. [刘琪, 任宗明. 镉胁迫下斑马鱼(*Danio rerio*)的行为响应研究[J]. 海洋与湖沼, 2024, 55(3): 566-576.]

Effects of acute pH stress on physiology and group behavior of juveniles *Sebastes schlegelii*

WANG Kexiang¹, TIAN Tao^{1,2,3}, YUE Yue¹, YU Xiaoming^{1,2,3}, WU Zhongxin^{1,2,3}, LI Qingxia^{1,2,3}

1. Center for Marine Ranch Engineering Science Research of Liaoning, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

2. Industry Institute of Marine Ranching, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

3. Key Laboratory of Environment Controlled Aquaculture of Ministry of Education, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

Abstract: The purpose of this study was to examine how *Sebastes schlegelii* responded to acute pH stress in terms of group behavior and physiological variations. The pH of the water column is lowered during industrial aquaculture due to the high shellfish mortality, excessive algae cultivation, and seawater red tides. Water's pH rises as a result of the massive consumption of carbon dioxide in the water caused by photosynthesis. Numerous enzymes, including those involved in immunology, antioxidant, and metabolism in aquatic organisms, are impacted by pH variations. Under stress, fish frequently run, reduce their metabolism, and increase the activity of related enzymes such as SOD and CAT. When fish are subjected to external stimuli, physiological and biochemical indices can represent their overall health ability to adapt to their environment. In this study, the effects of acute pH stress on the immunity, liver function, antioxidant activity, and group behavior of juvenile *S. schlegelii* were investigated. Different pH values (pH 6.5, pH 7.5, pH 8.5, and pH 9.5) in seawater were studied to identify the effects of pH stress on immunity, liver function, antioxidant activity, and group behavior of juvenile *S. schlegelii*. The results show that *S. schlegelii* CAT activity significantly increased in the pH 7.5 and pH 9.5 experimental groups at 48 h ($P < 0.05$), SOD enzyme activity increased significantly ($P < 0.05$) at 72 h compared to 24 h in all experimental groups and started to decrease after 72 h. ACP activity showed a gradual decrease in the pH 6.5 and pH 9.5 experimental groups, with a rebound in the pH 9.5 experimental group at 96 h but the change was not significant ($P > 0.05$). At 48 h, AKP fell dramatically in the pH 6.5 and pH 9.5 experiment groups ($P < 0.05$), but rebounded somewhat in the pH 6.5 group at 72 h ($P > 0.05$). GPT decreased and then increased in all experimental groups with a significant drop in the pH 6.5 group after 24 h ($P < 0.05$). There was no significant difference among the pH 7.5 experiment groups ($P > 0.05$). Throughout the 48 h–72 h period, GOT activity gradually increased in the pH 7.5 and pH 9.5 experimental groups, although it significantly decreased at the start of the 72 h ($P < 0.05$). In comparison to the control group, *S. schlegelii*'s degree of aggregation increased greatly and its activity dramatically decreased under pH 6.5 and pH 9.5 ($P < 0.05$). The results showed that different pH levels influenced *S. schlegelii*'s physiological processes and behavioral decisions. The immunity of juvenile *S. schlegelii* was lower in the pH 6.5 and pH 9.5 experimental groups.

Key words: *Sebastes schlegelii*; pH-base stress; group behavior; immunophysiology

Corresponding author: TIAN Tao. Email: tian2007@dlou.edu.cn