

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15434

碳酸盐碱度对脊尾白虾生存、生长、繁殖及免疫酶活性的影响

柳飞^{1,2}, 李健^{2,3}, 李吉涛², 葛倩倩², 葛红星², 沈明明^{1,2}

1. 上海海洋大学 水产与生命学院 上海 201306;

2. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 中国水产科学研究院 黄海水产研究所 山东 青岛 266071;

3. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266235

摘要: 采用静态毒理学方法研究了不同碳酸盐碱度(3.5, 5, 6.5, 8 mmol/L)胁迫对脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)生存、生长、繁殖及免疫酶活性的影响。结果表明, 碳酸盐碱度对脊尾白虾的 96 h LC₅₀ 值为 8.73 mmol/L(pH 约为 9.15); 脊尾白虾的死亡率、特定生长率、抱卵率、孵化率、性腺发育及变态幼体成活率随碱度的上升而降低, 3.5 mmol/L 的低碳酸盐碱度对脊尾白虾生长繁殖影响不显著($P \geq 0.05$), 高于该碱度则会显著降低其生长及繁殖能力($P < 0.05$); 随着碳酸盐碱度胁迫时间的增加, 各碱度胁迫组脊尾白虾鳃和肝胰腺中的免疫酶活性均呈先升高后降低的变化趋势。研究结果表明, 脊尾白虾具有较高的碳酸盐碱度耐受性, 碳酸盐碱度为 3.5 mmol/L 时对生长和繁殖影响不显著, 高于 5 mmol/L 时影响显著; 高碳酸盐碱度胁迫下脊尾白虾可以通过调节免疫酶的活性更好地适应高碱环境。

关键词: 脊尾白虾; 碳酸盐碱度; 生存; 生长; 繁殖; 酶活力

中图分类号: S968

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)05-1137-11

中国有 9907 万 hm^2 盐碱地和 3067 万 hm^2 盐碱水域^[1], 但由于碳酸盐碱度和 pH 值较高, 离子组成成分复杂, 只在少数地区低盐碱水域开展了淡水鱼类养殖, 绝大部分仍处于荒废状态^[2-3], 因此加强对盐碱水土资源的开发和利用具有重要意义。碱度是指水中能与强酸发生中和作用的物质总量, 一般水体的总碱度主要由 HCO_3^- 、 CO_3^{2-} 构成, 称为碳酸盐碱度。高 pH 会导致对虾抗氧化酶活性升高^[4], 离子调控酶类活性上升^[5]等。高碳酸盐碱度条件下, 除了其高 pH 对生物造成的胁迫外, 高碳酸盐碱度对水生动物的生存、发育以及繁殖^[6-7]也产生重要影响。

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)又名白虾、迎春虾等, 隶属于十足目(Decapoda), 长臂虾科(Palaemon), 白虾属(*Exopalaemon*), 系温带海水底栖虾类, 在我国沿海均有分布, 尤以黄渤海产

量最高^[8]。近年来, 随着中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)、日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)等传统虾类养殖难度的加大以及沿海滩涂的开发利用, 脊尾白虾的养殖面积迅速扩大, 已成为沿海滩涂及池塘养殖的重要经济虾类^[9-10]。脊尾白虾对环境适应能力强^[11-13], 对氨氮和 pH 等逆境条件也具有很强的适应性^[4, 14], 可以作为盐碱水域养殖的目标虾类。

目前, 关于碳酸盐碱度对水生动物的影响研究, 主要集中于碳酸盐碱度对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[15]、青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)^[16]、牙鲆(*Paralichthys lethostigma*)^[17]、日本沼虾(*Macrobraachium nipponense*)^[18]、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[19-20]和瓦氏雅罗鱼(*Leuciscus waleckii*)^[21]生长和存活的影响等方面, 碳酸盐碱度对脊尾白虾生长、繁殖和免疫酶活性的影响研究尚未见相

收稿日期: 2015-11-19; 修订日期: 2016-01-29.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31472275); 国家虾产业技术体系项目(CARS-47); 山东省泰山产业领军人才工程项目.

作者简介: 柳飞(1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向为环境毒理学. E-mail: lfei919@126.com

通信作者: 李健, 研究员. E-mail: lijian@ysfri.ac.cn

关报道。本研究通过测定碳酸盐碱度对脊尾白虾的半致死浓度,分析碳酸盐碱度胁迫对脊尾白虾的生长与繁殖情况的影响,以及对体内酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)和超氧化物歧化酶(SOD)的影响,从而初步了解脊尾白虾对碳酸盐碱度胁迫的适应能力及其反应机制,为开展脊尾白虾盐碱水养殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用的脊尾白虾来自日照海辰水产有限公司,挑选活力较好、个体规格较一致的脊尾白虾作为实验用虾。实验所用脊尾白虾平均体长为 (3.05 ± 0.16) cm,体重为 (0.51 ± 0.02) g。

实验在 200 L 的白色 PVC 桶内进行,每天投喂基础饲料早晚各 1 次,以沙滤地下盐水为水源,离子组成与海水相似,水温 (27.5 ± 0.4) °C,盐度为 16,碳酸盐碱度为 2.0 mmol/L, pH 8.4, $p\text{CO}_2$ 约为 43.06 Pa, 24 h 充气。每天吸污并换水,暂养 7 d 后开始正式实验。

1.2 实验方法

1.2.1 实验用水 沙滤地下盐水作为基本水源,添加相应的 Na_2CO_3 、 NaHCO_3 进行碳酸盐碱度调节,以设置实验所需的碳酸盐碱度。用 0.1 mol/L 的 HCl 和 0.1 mol/L NaOH 微调,稳定 24 h 后用于实验。为了保证碳酸盐碱度及 pH 保持稳定,每天早晚各换水 1/2。碳酸盐碱度的测定,采用酸碱滴定法,以酚酞和甲基橙作为指示剂。

1.2.2 急性胁迫实验 山东地区盐碱地水域碳酸盐碱度极值范围为 1.7~12.0 mmol/L, 利津地区重盐碱水域碳酸盐碱度在 2.12~4.29 mmol/L^[22], 本养殖场养殖用水碱度为 3.5 mmol/L, 均属于中低碱度水。故本实验采用等对数间距法设置碳酸盐碱度梯度,为 2、3、4.6、6.9、10.5、15.8 mmol/L。每个梯度设置 3 个重复实验组,每个重复放置 10 尾虾。实验在 200 L 的白色 PVC 桶内进行,用沙滤地下盐水作为基本水源,采用 0.1 mol/L 的 HCl、 NaHCO_3 、 Na_2CO_3 、NaOH 溶液调整水体碳酸盐碱度,实验水体 100 L,实验中每天早晚各换

水 1 次,保持碳酸盐碱度稳定。整个实验周期不投喂饲料,统计各实验梯度组在 24 h、48 h、72 h、96 h 脊尾白虾死亡数量,计算死亡率,按改良寇氏法^[23]计算碳酸盐碱度对脊尾白虾的半致死浓度(LC₅₀)。安全浓度(SC)计算公式为: $SC = 0.3 \times 48 \text{ h LD}_{50} / (24 \text{ h LD}_{50} / 48 \text{ h LCD}_{50})^2$ 。

1.2.3 碳酸盐碱度胁迫生长实验 筛选规格一致的脊尾白虾,参照文献[24]的方法进行慢性驯化。实验在 200 L 的白色 PVC 桶内进行,用沙滤地下盐水作为基本水源,碳酸盐碱度梯度设置为 3.5、5、6.5、8 mmol/L,实测 pH 值分别为 8.6、8.9、9.0、9.2,调节方法同 1.2.2。对照组为正常碱度海水(碱度为 2 mmol/L),每个梯度设置 3 个重复组,每个重复组放置 20 尾驯化好的脊尾白虾。每天投喂配合饲料 3 次(7:00, 12:00, 18:00),过量投喂,投饵 2 h 后吸污,实验周期为 30 d,每天记录死亡数量。记录实验开始前与结束时脊尾白虾体长及体重,精确至 0.01 g。称量时用滤纸吸去虾体表水分。存活率(SU, %)、特定生长率(SGR, %/d)、体重相对增长率(%)、体长相对增长率(%)按照以下公式进行计算:

$$\text{存活率(SU, \%)} = 100 \times (N_0 - N_t) / N_0$$

$$\text{特定生长率(SGR, \% / d)} = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / T$$

$$\text{体重相对增长率(\%)} = 100 \times (W_t - W_0) / W_0$$

$$\text{体长相对增长率(\%)} = 100 \times (L_t - L_0) / L_0$$

式中, N_0 、 N_t 分别为实验初始及结束时脊尾白虾的数量(尾); T 为实验持续时间(d); W_0 、 W_t 分别为实验开始及结束时对虾的体重(g); L_0 、 L_t 分别为实验开始及结束时对虾的体长(cm)。

1.2.4 碳酸盐碱度胁迫繁殖实验 挑选卵巢发育至 II 期,卵巢呈穗状且仅分布在胃区、乳白稍带黄色,卵粒不清晰的雌虾和精巢发育成熟的雄虾,分别进行驯化。碳酸盐碱度梯度设置为 3.5、5、6.5、8 mmol/L,对照组为正常海水,每个梯度设置 3 个重复组,每个重复组放置 10 尾雌虾和 5 尾雄虾。实验周期为 30 d,每天将抱卵的雌虾及时移出,放入相应梯度的水体中单独养殖。实验结束后,分别统计卵巢发育成熟的雌虾数量及抱卵虾的数量、亲虾抱卵率和蚤状幼体变态为仔虾存

活率。其计算方法如下:

绝对抱卵量的计算采用间接法, 即通过解剖相同体长或体重的抱卵虾计算抱卵量来进行推算:

孵化率=孵出幼体总量/抱卵总量

变态后仔虾存活率=变态后仔虾数量/蚤状幼体总数

1.2.5 ACP、AKP 和 SOD 酶活性测定 参照预实验结果, 实验梯度设置为 5、6.5、8 mmol/L, 对照组为养殖场沙滤地下水, 每个梯度设置 3 个重复实验组, 每个重复组中放 20 尾虾。分别于实验开始后 0、3、6、12、24、48 和 72 h, 从实验组和对照组随机抽取 3 尾虾, 取其鳃和肝胰腺, 迅速装入 1.5 mL 的离心管中放入液氮中以备测定。

从液氮中取出保存的组织样品, 置于冰盘内, 取适量组织称量, 将样品剪碎并加入 9 倍体积 (W/V) 预冷 PBS 缓冲液进行冰浴匀浆, 之后离心 (3000 r/min, 4℃) 10 min, 取上清液稀释后进行酶活力及总蛋白测定。采用南京建成科技有限公司生产的相应酶试剂盒, 分别测定酸性磷酸酶 (ACP)、碱性磷酸酶 (AKP) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 活力。其计算公式如下:

ACP[金氏单位/g(prot)]=[(测定 OD 值-空白 OD 值)/(标准 OD 值-空白 OD 值)]×酚标准品浓度 (0.1 mg/mL)÷待测样本蛋白浓度[g(prot)/mL]

AKP[金氏单位/g(prot)]=[(测定 OD 值-空白 OD 值)/(标准 OD 值-空白 OD 值)]×酚标准品浓度 (0.1 mg/mL)÷待测样本蛋白浓度[g(prot)/mL]

T-SOD[U/mg(prot)] = (对照 OD 值-测定 OD 值)÷50%×反应体系的稀释倍数÷待测样本蛋白浓度

[mg(prot)/mL]
待测样本蛋白浓度(g/L)=[(测定 OD 值-空白 OD 值)/(标准 OD 值-空白管 OD 值)]×标准品浓度 (0.563 g/L)

1.3 统计分析

实验数据用 3 个重复样本数据的平均值±标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。采用 SPSS 17.0 和 Excel 2010 进行统计分析。方差分析采用 (ANOVA) 进行显著性检测 (结果为百分数的先化为小数, 然后开平方再转换成反正弦函数进行统计分析), 方差分析前需要进行方差齐性分析, 如果符合方差齐性, 则再用 LSD 法进行多重比较, 显著性水平为 0.05。

2 结果与分析

2.1 碳酸盐碱度对脊尾白虾的半致死浓度

各浓度梯度在 24、48、72、96 h 的累积死亡率如表 1 所示。碱度为 4.6 mmol 时, 胁迫 24 h 未出现死亡个体, 96 h 的累积死亡率仅为 10%; 碱度为 10.5 mmol/L 时, 死亡高峰出现在 48~72 h, 至 96 h 累积死亡率为 50%; 碱度为 15.8 mmol/L 时, 72 h 累积死亡率达到 100%。

通过改良寇氏法计算碳酸盐碱度对脊尾白虾的 24 h、48 h、72 h、96 h LC₅₀ 值, 结果如表 2 所示。96 h LC₅₀ 值为 8.73 mmol/L, SC 值为 2.51 mmol/L。

2.2 碳酸盐碱度胁迫对脊尾白虾生长的影响

生长实验结果如表 3 所示。在实验的碳酸盐碱度范围内, 脊尾白虾存活率随着浓度的升高而逐渐降低。多重比较显示, 3.5 mmol/L 组的脊尾白虾存活率与对照组差异不显著 ($P \geq 0.05$); 随着浓度的升高, 对脊尾白虾存活率的影响也逐渐趋于

表 1 不同碳酸盐碱度下脊尾白虾的累积死亡率
Tab. 1 The cumulative mortality rates of *Exopalaemon carinicauda* under different carbonate alkalinities stresses
 $n=3; \bar{x} \pm SD$

碱度预设值/(mmol·L ⁻¹) designed carbonate alkalinity	碱度实测值/(mmol·L ⁻¹) measured carbonate alkalinity	实测 pH measured pH	累积死亡率/% cumulative mortality rate			
			24 h	48 h	72 h	96 h
2	2.07±0.06	8.33±0.12	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
3	3.00±0.10	8.53±0.06	0.00±0.00	0.00±0.00	3.00±0.00	3.33±5.77
4.6	4.67±0.15	8.90±0.00	0.00±0.00	6.67±5.77	10.0±0.00	10.0±0.00
6.9	7.00±0.10	9.10±0.10	6.67±11.5	10.0±0.00	30.0±10.0	33.3±5.77
10.5	10.57±0.15	9.27±0.06	33.3±5.77	36.7±5.77	46.6±5.77	50.0±10.0
15.8	15.93±0.06	9.60±0.10	70.0±10.0	90.0±0.00	100±0.00	100±0.00

表 2 碳酸盐碱度对脊尾白虾的半致死浓度
Tab. 2 The median lethal carbonate alkalinities of *Exopalaemon carinicauda*

时间/h time	半致死碳酸盐碱度/(mmol·L ⁻¹) LC ₅₀ of carbonate alkalinity
24	12.40
48	10.88
72	9.34
96	8.73

表 3 碳酸盐碱度对脊尾白虾生长的影响
Tab. 3 Effects of carbonate alkalinity on the growth of *Exopalaemon carinicauda*

n=3; $\bar{X} \pm SD$				
碳酸盐碱度/(mmol·L ⁻¹) carbonate alkalinity	存活率/% survival rate	特定生长率/(%·d ⁻¹) specific growth rate	体长相对增长率/% relative length gain rate	体重相对增长率/% relative weight gain rate
对照组 control	83.34±4.72 ^a	2.83±0.05 ^a	36.97±0.98 ^a	133.42±3.12 ^a
3.5	84.44±3.85 ^a	2.70±0.10 ^a	36.03±0.23 ^a	124.58±6.54 ^b
5.0	80.00±6.67 ^b	2.47±0.06 ^b	30.80±0.50 ^b	117.48±3.70 ^b
6.5	46.67±0.00 ^c	1.63±0.08 ^c	28.49±0.23 ^c	62.96±3.71 ^c
8.0	22.22±3.85 ^d	1.23±0.00 ^d	23.46±0.03 ^d	44.05±1.03 ^d

注：同列上标不同小写字母的各项间差异显著(P<0.05).
Note: Values with different small letters in the same column are significantly different (P<0.05).

2.3 碳酸盐碱度胁迫对脊尾白虾繁殖的影响

从图 1 可见, 对照组和 3.5、5、6.5、8 mmol/L 组的脊尾白虾抱卵率分别为 63.34%、61.96%、44.45%、15%和 0%; 对照组与 3.5 mmol/L 组间无显著差异(P>0.05), 但显著高于其他组(P<0.05); 碳酸盐碱度为 8 mmol/L 时, 亲虾无法正常抱卵。本实验条件下, 碳酸盐碱度为 3.5 mmol/L 时, 对脊尾白虾亲虾抱卵率的影响不显著(P≥0.05); 高于该碱度均导致抱卵率显著降低(P<0.05)。

实验结束时, 各组中未抱卵亲虾的性腺发育均达到 IV 期(图 2), 其中对照组与 3.5 mmol/L 组的亲虾性腺发育达到 IV 期的比例均>80%, 两组间无显著差异(P>0.05); 8 mmol/L 组的亲虾性腺发育最慢, 性腺发育到 IV 期的亲虾比例和 6.5 mmol/L 组的差异不显著(P≥0.05), 分别为 16.67%和 36.11%。

从图 3 中可以看出, 与对照组相比, 随着碳酸盐碱度的升高, 脊尾白虾受精卵孵化率逐渐降低; 3.5 mmol/L 组比对照组虽有所降低但差异不显著(P≥0.05), 其他组与对照组差异显著(P<0.05); 当达到 8 mmol/L 时, 亲虾已无法抱卵。

显著(P<0.05)。3.5 mmol/L 组的特定生长率、体长相对增长率与对照组的差异均不显著(P≥0.05); 高于该浓度后, 特定生长率与体长相对增长率均随着碳酸盐碱度的升高而降低, 且差异显著(P<0.05)。与对照组相比, 脊尾白虾的体重相对增长率受碳酸盐碱度的影响显著(P<0.05), 并随着浓度的增加而降低。

变态幼体存活率与孵化率呈现出相同的变化趋势(图 4)。3.5 mmol/L 组比对照组虽有所降低但差异不显著(P≥0.05); 6.5、8 mmol/L 组孵化出的幼体分别在 12 h、6 h 内全部死亡。

2.4 碳酸盐碱度胁迫对脊尾白虾体内免疫酶活力的影响

2.4.1 对 ACP 活力的影响 碳酸盐碱度胁迫下脊尾白虾鳃和肝胰腺中 ACP 酶活力变化情况如

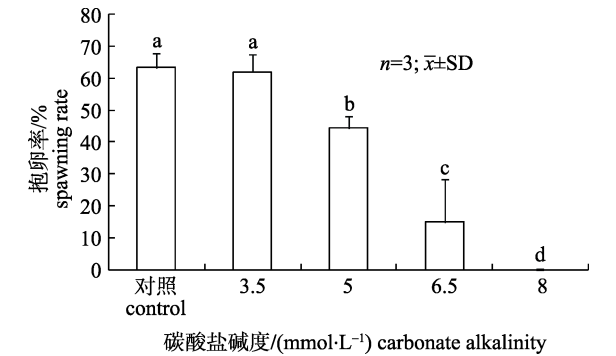


图 1 碳酸盐碱度对脊尾白虾亲虾抱卵率的影响
不同字母代表处理组间差异显著(P<0.05).
Fig. 1 Effects of carbonate alkalinity on spawning rate of *Exopalaemon carinicauda*
Different letters mean significant difference among treatments at 0.05 level.

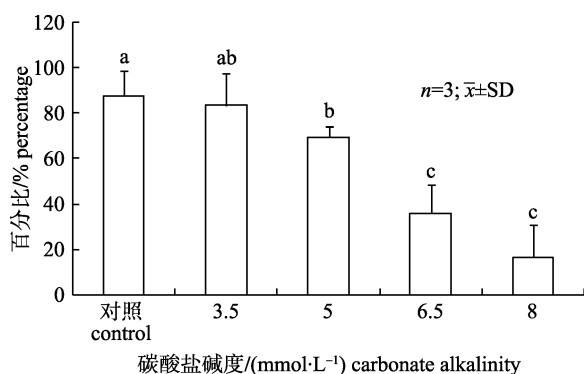


图2 碳酸盐碱度对脊尾白虾性腺发育的影响

百分比代表性腺发育至IV期的未抱卵亲虾占未抱卵亲虾总数的比例。不同字母代表处理组间差异显著($P<0.05$)。

Fig. 2 Effects of carbonate alkalinity on ovarian maturation of *Exopalaemon carinicauda*

The percentage represents the proportion of shrimps with stage IV ovarian maturation to total shrimps. Different letters mean significant difference among treatments at 0.05 level.

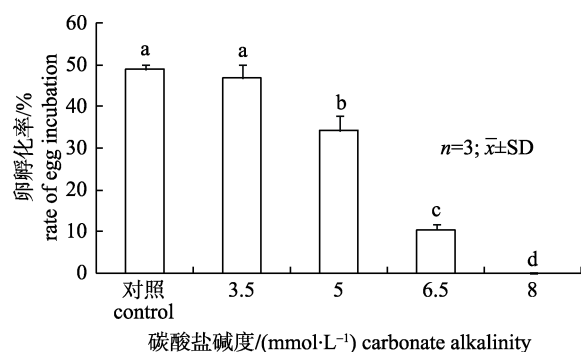


图3 碳酸盐碱度对脊尾白虾孵化率的影响

不同字母代表处理组间差异显著($P<0.05$)。

Fig. 3 Effects of carbonate alkalinity on the rate of egg incubation of *Exopalaemon carinicauda*

Different letters mean significant difference among treatments at 0.05 level.

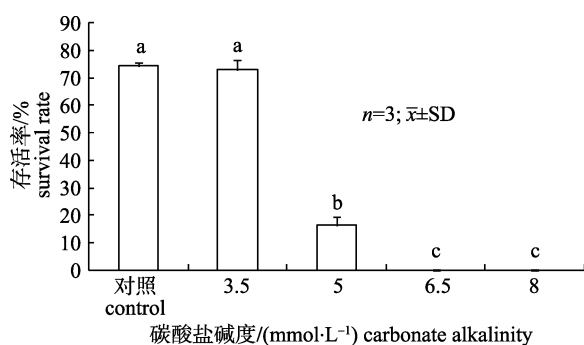


图4 碳酸盐碱度对脊尾白虾幼体变态为仔虾存活率的影响

不同字母代表处理组间差异显著($P<0.05$)。

Fig. 4 Effects of carbonate alkalinity on metamorphosis survival rate of *Exopalaemon carinicauda* larvae
Different letters mean significant difference among treatments at 0.05 level.

图5、6所示。从图中可以看出,不同梯度组鳃和肝胰腺ACP活力具有“升高—降低—升高—降低”的变化趋势,到72 h趋于稳定;在3 h和72 h时与对照组均有显著性差异($P<0.05$),各梯度组在72 h均显著低于对照组($P<0.05$);5 mmol/L组在12 h达到最高值,6.5和8 mmol/L组在3 h达到最高值。

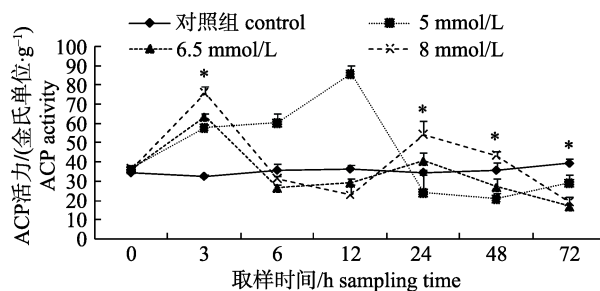


图5 碳酸盐碱度对脊尾白虾鳃ACP活力的影响

“*”表示同一时间点实验组与对照组酶活力具有显著差异($P<0.05$)。

Fig. 5 Effect of carbonate alkalinity on ACP activity in gill of *Exopalaemon carinicauda*

“*” represented the significant difference between the experiment group and control group at the same time point ($P<0.05$).

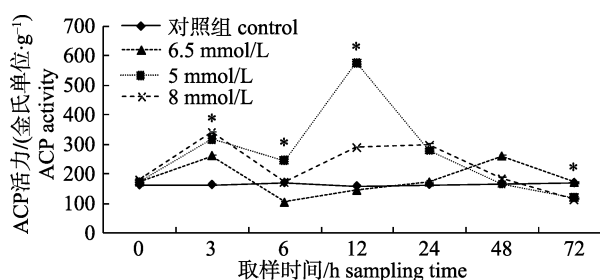


图6 碳酸盐碱度对脊尾白虾肝胰腺ACP活力的影响

“*”表示同一时间点实验组与对照组酶活力具有显著差异($P<0.05$)。

Fig. 6 Effect of carbonate alkalinity on ACP activity in hepatopancreas of *Exopalaemon carinicauda*

“*” represented the significant difference between the experiment group and control group at the same time point ($P<0.05$).

2.4.2 对 AKP 活力的影响 如图7、8所示,碳酸盐碱度胁迫后,各碱度梯度组的脊尾白虾鳃和肝胰腺AKP活力具有先上升后下降的趋势,且均显著高于对照组($P<0.05$);5 mmol/L与6.5 mmol/L组在12 h达到最高值,之后随着胁迫时间的增加而逐渐降低;8 mmol/L组在48 h达到最高值,而后逐渐降低。肝胰腺中AKP酶活力与鳃具有相同

的变化趋势,但各组均在 24 h 达到最高值,之后随着时间的增加逐渐降低,但在 72 h 时仍显著高于对照组($P<0.05$)。

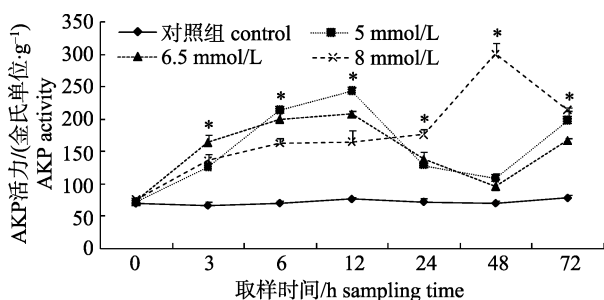


图 7 碳酸盐碱度对脊尾白虾鳃 AKP 活力的影响

“*”表示同一时间点实验组与对照组酶活力

具有显著差异($P<0.05$)。

Fig. 7 Effect of carbonate alkalinites on AKP activity in gill of *Exopalaemon carinicauda*

“*” represented the significant difference between the experiment group and control group at the same time point ($P<0.05$).

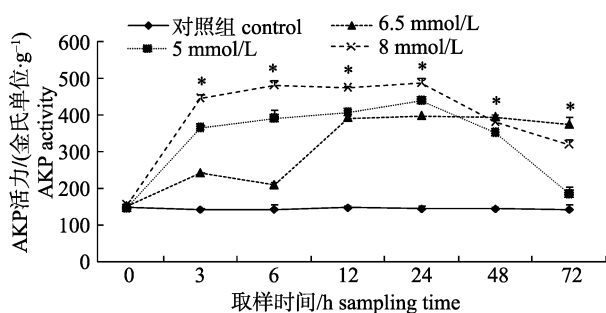


图 8 盐碱度对脊尾白虾肝胰腺 AKP 活力的影响

“*”表示同一时间点实验组与对照组酶活力

具有显著差异($P<0.05$)。

Fig. 8 Effect of carbonate alkalinites on AKP activity in hepatopancreas of *Exopalaemon carinicauda*

“*” represented the significant difference between the experiment group and control group at the same time point ($P<0.05$).

2.4.3 对 SOD 活力的影响 如图 9、10 所示,各梯度组鳃和肝胰腺 SOD 活力均先上升后下降。5、6.5 和 8 mmol/L 组鳃 SOD 酶活力分别在 12、24、48 h 达到最高值,而后随着胁迫时间的增加而逐渐降低,在 72 h 时均显著低于对照组($P<0.05$)。肝胰腺中 SOD 酶活力与鳃具有相同的变化趋势;3.5 mmol/L 组在 12 h 达到最高值,之后随着时间的增加逐渐降低;6.5、8 mmol/L 组在 3 h 时达到最大值,而后随着时间的增加而逐渐降低,在 72 h 时均显著高于对照组($P<0.05$)。

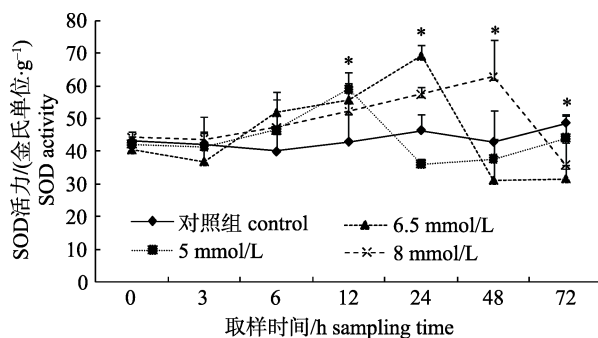


图 9 碳酸盐碱度对脊尾白虾鳃 SOD 活力的影响

“*”表示同一时间点实验组与对照组酶活力

具有显著差异($P<0.05$)。

Fig. 9 Effect of carbonate alkalinites on SOD activity in gill of *Exopalaemon carinicauda*

“*” represented the significant difference between the experiment group and control group at the same time point ($P<0.05$).

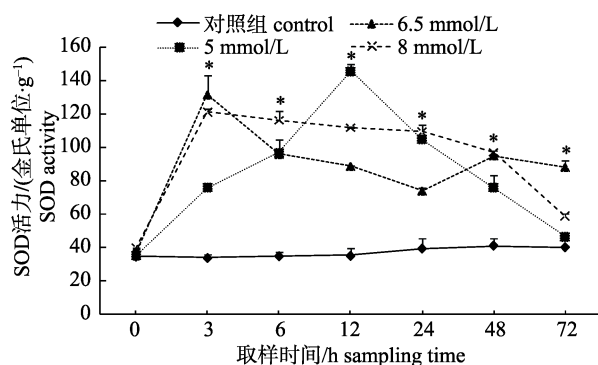


图 10 碳酸盐碱度对脊尾白虾肝胰腺 SOD 活力的影响

“*”表示同一时间点实验组与对照组酶活力

具有显著差异($P<0.05$)。

Fig. 10 Effect of carbonate alkalinites on SOD activity in hepatopancreas of *Exopalaemon carinicauda*

“*” represented the significant difference between the experiment group and control group at the same time point ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 脊尾白虾对碳酸盐碱度的耐受性

据雷衍之等^[6]的实验结果, pH 为 8.65 时,碳酸盐碱度对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)24 h LC_{50} 值为 82.2 mmol/L; 当 pH 分别为 8.30 和 8.74 时,对鲢鱼(*Hypophthalmichthys*)24 h LC_{50} 值分别为 109.0 和 95.0 mmol/L; pH 为 9.14 时,对鳙鱼(*Aristichthys nobilis*)的 24 h LC_{50} 值为 65.7 mmol/L。本实验 pH 为 8.4~9.6 条件下碳酸盐碱度对脊尾白虾的 24 h LC_{50} 值为 12.40 mmol/L, 与上述鱼类相差较大,说明脊尾白虾对于碳酸盐碱度的适应性

远低于淡水鱼类。杨富亿等^[24]研究发现, pH 为 8.11~8.72 的条件下, 碳酸盐碱度对凡纳滨对虾(*L. vannamei*)幼虾的 24 h LC_{50} 值为 12.40 mmol/L, 与脊尾白虾的基本一致, 但其实验 pH 值相对较低, 故脊尾白虾对碳酸盐碱度的适应性要强于凡纳滨对虾。于天基等^[4]的研究表明, pH 为 5.2~9.9 条件下, 脊尾白虾 96 h 几乎没有死亡, 说明脊尾白虾对低 pH 具有很高的耐受性。王慧等^[25]认为高碳酸盐碱度和高 pH 是制约盐碱地水产养殖的主要因子之一; 潘鲁青等^[26]认为 pH 与碳酸盐碱度对养殖生物生存与生长的影响具有协同作用。可见高 pH 条件下脊尾白虾对碳酸盐碱度的耐受性会显著降低。要提高脊尾白虾对碳酸盐碱度的耐受性, 应该将 pH 控制在较低范围。

3.2 碳酸盐碱度胁迫对脊尾白虾生长和繁殖的影响

水生动物的正常生长繁殖需要一定的碳酸盐碱度来保持水体缓冲能力, 在一定范围内调高碱度会提高养殖系统的生产力^[27]。有关碳酸盐碱度与鱼类生长的关系方面的研究较多。如碱度对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)生长有一定胁迫作用, 超过一定范围就会影响其生长^[28]; 高碱度胁迫对养殖 60 d 的卡拉白鱼(*Chalcalburnus chalcoides aralensis*)生长无影响^[29]。而碳酸盐碱度对虾类生长的影响研究则相对较少。本实验中, 3.5 mmol/L(pH 为 8.6)组的成活率、特定生长率、体长和体重相对增长率与对照组均无显著性差异($P < 0.05$), 但显著高于其他梯度组($P < 0.05$); 各梯度组的脊尾白虾体重相对增长率差异显著($P < 0.05$), 表明低碳酸盐碱度对脊尾白虾生长的影响不显著, 但高于 5 mmol/L(pH 为 8.9)时, 影响显著。说明低碳酸盐碱度对脊尾白虾特定生长率及体长生长的影响较小, 但对体重的增长影响较大; 而高碳酸盐碱度对虾的生长影响显著。综合考虑, 脊尾白虾的养殖应在低于 5 mmol/L(pH 为 8.9)的碳酸盐碱度条件下进行。此外, 高碳酸盐碱度条件下, Ca^{2+} 会以沉淀析出, 较低的 Ca^{2+} 浓度会进一步影响虾的蜕皮及其他正常生理活动^[30]。本实验中的死亡个体大多出现在蜕皮后不久, 可能是 Ca^{2+} 浓

度较低引起的。脊尾白虾的盐碱地养殖, 还需要进一步开展相关方面的研究。

有关碳酸盐碱度对水生动物繁殖影响的研究报道很少。研究表明, 在碱度为 2.05~4.58 mmol/L 条件下, 蒙古裸腹蚤(*Moina mongolica* Daday)生长发育和生殖的各项指标最佳; 碱度为 6.43~8.98 mmol/L 时, 各项指标都有递降的趋势^[31]。戈志强^[32]研究表明, 在碱度为 6 mmol/L 的水样中, 大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*)受精卵均可孵化, 仔鱼存活时间也无明显差异。徐伟等^[33]在大鳞鲃(*Barbus capito*)对盐碱的耐受性实验中显示, 在盐度 3.2、碱度 14.32 mmol/L 以下的水体中, 胚胎 72 h 成活率不受影响; 在盐度 5.1、碱度 14.32 mmol/L 以下的水体, 仔鱼 96 h 成活率不受影响。

本实验表明, 碳酸盐碱度为 3.5 mmol/L(pH 为 8.6)时, 对脊尾白虾抱卵率和性腺发育率的影响均不显著($P \geq 0.05$); 5 mmol/L(pH 为 8.9)时影响显著($P < 0.05$); 碳酸盐碱度为 8 mmol/L(pH 为 9.2)时, 对亲虾影响严重, 无法正常抱卵。受精卵孵化率随着碳酸盐碱度的升高逐渐降低, 3.5 mmol/L(pH 为 8.6)组与对照组差异不显著($P \geq 0.05$), 更高的碱度组与对照组差异显著($P < 0.05$); 6.5 mmol/L(pH 值为 9.0)组孵化出的幼体短时间内全部死亡。脊尾白虾繁殖所能耐受的碱度与蒙古裸腹蚤相似, 但远不如鱼类。综上所述, 在 3.5 mmol/L(pH 为 8.6)的低碳酸盐碱度环境中脊尾白虾可以正常生长繁殖, 高于 5 mmol/L(pH 为 8.9)时, 繁殖能力大大减弱。

3.3 碳酸盐碱度胁迫对脊尾白虾免疫酶活力影响的机制

通常认为酸碱调控、离子调控和渗透压调节在水生动物抗盐碱过程中起着关键的作用。ACP 和 AKP 是衡量机体免疫能力^[34]和健康状况的重要指标, 是甲壳类动物进行酸碱调控的重要因子。在外界胁迫条件下, 虾体内部分新陈代谢由物质的磷酸化和去磷酸化进行调节, 这些过程要靠不同的磷酸酶催化完成, ACP 与 AKP 直接参与磷酸基团的转移, 并与 DNA、蛋白质和脂质的代谢密切相关^[35], 对虾类的存活和生长繁殖具有重

要意义。

本实验中鳃、肝胰腺中的 ACP 酶活性在受到碳酸盐碱度胁迫后, 具有相似的变化趋势, 随着胁迫的时间的增加先上升后下降, 在 72 h 后显著低于对照组。这与李晓英等^[36]、周素琴^[37]的研究相似, 即青蛤(*Cyclina sinensis*) 在温度骤然升高后, 0~3 h 内肝胰腺 ACP 比活力显著提高, 5 h 后明显下降, 9 h 后趋于稳定, 15 h 后 ACP 的比活力基本恢复, 达到对照组水平; 锯缘青蟹(*Scylla serrata*) 在低浓度氨氮胁迫条件下, 血清中的 ACP 酶活力先升高后下降, 在长时间胁迫后, ACP 酶活性被抑制。本研究说明, 在碳酸盐碱度胁迫下, 脊尾白虾能够通过提高 ACP 活力来调节内环境的稳定。但在 72 h 时, 各梯度组 ACP 酶活力显著低于对照组, 说明长期的碳酸盐碱度胁迫对 ACP 酶活性具有抑制作用。

脊尾白虾对碳酸盐碱度的适应性较强, 高碱度胁迫下酶活性也具有很好的恢复功能。碳酸盐碱度胁迫后, AKP 活力先升高后降低, 但在 72 h 时, 显著高于对照组浓度。栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)^[38]、文昌鱼(*Branchiostoma lanceolatum*) 和鲫鱼(*Carassius cuvieri*)^[39-40] 中也有类似的变化趋势。说明碳酸盐碱度对脊尾白虾 AKP 酶活具有诱导作用, 使 AKP 酶活处于较高活力状态下, 以应对高碱度对机体的损伤作用。

超氧化物歧化酶(SOD) 是重要的抗氧化免疫酶之一, 在清除自由基、防止自由基对生物分子损伤方面有十分重要的作用^[41-42]。正常虾体内的自由基处于动态的平衡状态中, 当受到外界的刺激后, 就会引发正常的应激反应, 其活性会在一定范围内升高, 但达到一定强度后就会降低^[43], 这是机体产生的一种保护机制。在急性碳酸盐碱度胁迫下, 脊尾白虾鳃中的 SOD 酶活性急剧升高, 而后又逐渐下降, 最后显著低于对照组; 肝胰腺中 SOD 酶活性具有相同的变化趋势, 但 72 h 后显著高于对照组, 这与中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)^[44] 和青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)^[16] 具有相似的变化趋势。鳃中 SOD 酶活性受到抑制可能是由于高碳酸盐碱度对鳃产生损伤

而引起的, 这还需要对鳃进行组织观察来进一步确定, 说明在碳酸盐碱度胁迫下, 机体通过增加 SOD 酶活性来调节内环境的稳定。

3.4 脊尾白虾在盐碱水域养殖的可行性

脊尾白虾对 pH 的耐受性很强, 移入内陆盐碱水域养殖基本不存在 pH 上的限制^[11]。但是盐碱水域具有碱度较高的特点, 过高的碱度对水体高 pH 有着维持作用。本实验表明, 在高碳酸盐碱度下, 脊尾白虾的抗氧化能力及磷酸化调节能力能够很快恢复, 表现出较强的适应性。

脊尾白虾在 pH 值为 4.8~10.5 的水环境中能够正常生活, 最适 pH 值为 7.9~8.6。在本实验条件下, 3.5 mmol/L 的碳酸盐碱度值对应的 pH 值为 8.6, 符合脊尾白虾的正常生长范围。综合本研究结果, 碳酸盐碱度在 3.5 mmol/L, pH 控制在 8.6 的水域能够保证脊尾白虾的正常生长, 可以正常养殖, 但超过 5 mmol/L 且 pH 达到 8.9, 必须进行人工处理以达到最佳养殖效果^[45]。建议用以下方法进行处理: 加注淡水改良盐碱水, 能在一定程度上降低碱度和 pH; 合理施肥, 如使用氯化钙等, 不仅可补钙还可以降低碱度值; 使用微生物制剂, 利用有益微生物控制和改良盐碱地水质的生态环境。

参考文献:

- [1] Jia H X. Soil salinization control and sustainable agriculture in north-west endoland region of China[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2003, 23(6): 1063-1068. [贾恢先. 中国西北内陆盐渍化防治与可持续农业的研究[J]. 西北植物学报, 2003, 23(6): 1063-1068.]
- [2] Wang H, Geng L K, Fang W H, et al. Studies on the commercially experimental culture of penaeid shrimp, *Peneaus chinensis*, transplanted to the northwest inland salt waters[J]. Marine Fisheries, 1997, 19(1): 9-12. [王慧, 耿隆坤, 房文红. 中国对虾往西北内陆咸水水域移植的生产性试养研究[J]. 海洋渔业, 1997, 19(1): 9-12.]
- [3] Wang J L, Huang X J, Zhong T Y, et al. Review on sustainable utilization of salt-affected land[J]. Acta Geographica Sinica, 2011, 66(5): 673-684. [王佳丽, 黄贤金, 钟太洋, 等. 盐碱地可持续利用研究综述[J]. 地理学报, 2011, 66(5): 673-684.]
- [4] Yu T J, Li J, Li J T, et al. The effects of pH changes on anti-oxidant enzyme activities of ridgetail white prawn (*Palae-*

- mon carinicauda*)[J]. Marine Sciences, 2015, 39(5): 47–53. [于天基, 李健, 李吉涛, 等. pH 胁迫对脊尾白虾抗氧化酶活力的影响[J]. 海洋科学, 2015, 39(5): 47–53.]
- [5] Pan L Q, Zhang L J, Liu H Y. Effects of salinity and pH on ion-transport enzyme activities, survival and growth of *Litopenaeus vannamei* postlarvae[J]. Aquaculture, 2007, 273(4): 711–720.
- [6] Lei Y Z, Dong S L, Shen C G. Study on the toxicity of carbonate-alkaline to fish[J]. Journal of Fisheries of China, 1985, 9(2): 171–183. [雷衍之, 董双林, 沈成钢. 碳酸盐碱度对鱼类毒性作用的研究[J]. 水产学报, 1985, 9(2): 171–183.]
- [7] Yao Z L, Lai Q F, Zhou K, et al. Developmental biology of medaka fish (*Oryzias latipes*) exposed to alkalinity stress[J]. J Appl Ichthyol, 2010, 26(3): 397–402.
- [8] Li X Z, Liu R Y, Liang X Q. The zoogeography of Chinese Palaemonoidea fauna[J]. Biodiversity Science, 2003, 11(5): 393–406. [李新正, 刘瑞玉, 梁象秋. 中国长臂虾总科的动物地理学特点[J]. 生物多样性, 2003, 11(5): 393–406.]
- [9] Zhang Z H, Li G F, Yan S H. Aquaculture technology of *Exopalaemon carinicauda* in the coastal brackish water[J]. Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, 2002(1): 62–65. [张振华, 李国峰, 严少华. 沿海咸淡水滩塘脊尾白虾的养殖技术[J]. 江苏农业科学, 2002(1): 62–65.]
- [10] Wang X Q, Yan B L, Ma S. Study on the biology and cultural ecology of *Exopalaemon carinicauda*[J]. Shandong Fisheries, 2005, 22(8): 21–23. [王兴强, 阎斌伦, 马甦, 等. 脊尾白虾生物学及养殖生态学研究进展[J]. 齐鲁渔业, 2005, 22(8): 21–23.]
- [11] Dong C Y. Some biological observations of *Exopalaemon carinicauda* in the Pearl River Estuary[J]. Sichuan Journal of Zoology, 1989, 8(4): 36–38. [董存有. 珠江口脊尾白虾的一些生物学观察[J]. 四川动物, 1989, 8(4): 36–38.]
- [12] Li G F, Zhang Z H, Yan Y Z. Artificial propagation experiment of *Exopalaemon carinicauda* in low salinity water[J]. Journal of Aquaculture, 2000(1): 6–7. [李国峰, 张振华, 严玉洲. 脊尾白虾在低盐度水体中的人工繁育试验[J]. 水产养殖, 2000(1): 6–7.]
- [13] Gu J, Li G F, Zhang Z H, et al. The adaptability experiment of *Exopalaemon carinicauda* to salinity[J]. Journal of Aquaculture, 2004, 25(2): 39–40. [顾军, 李国峰, 张振华, 等. 脊尾白虾对水体盐度的适应性试验[J]. 水产养殖, 2004, 25(2): 39–40.]
- [14] Liang J P, Li J, Li J T, et al. Acute toxicity ammonia nitrogen to juvenile and adult ridgetail white prawn, *Exopalaemon carinicauda*[J]. Fisheries Science, 2012, 31(9): 526–529. [梁俊平, 李健, 李吉涛, 等. 氨氮对脊尾白虾幼虾和成虾的毒性实验[J]. 水产科学, 2012, 31(9): 526–529.]
- [15] Zhao L H. Effects of salinity-alkalinity on growth, osmophysiology and relative expression of gill ion transport enzymes of *Oreochromis niloticus*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014. [赵丽慧. 盐碱度对尼罗罗非鱼生长、渗透生理及鳃离子转运酶基因表达的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.]
- [16] Wang Z, Yao Z L, Li T T, et al. Effects of carbonate alkalinity stress on SOD, ACP, and AKP activities in the liver and kidney of juvenile *Gymnocypris przewalskii*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(6): 1212–1218. [王卓, 么宗利, 林听听, 等. 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肝和肾 SOD, ACP 和 AKP 酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2013, 20(6): 1212–1218.]
- [17] Zhang Z Y, Liu R J. Aquaculture experiment of *Paralichthys thostigma* in saline-alkali water pond[J]. Hebei Fisheries, 2006(8): 27–29. [张忠悦, 刘荣杰. 盐碱水池塘养殖漠斑牙鲆试验[J]. 河北渔业, 2006(8): 27–29.]
- [18] Yang F Y, Li X J, Yang X Q. Adaptability of *Macrobrachium nipponense* juvenile to water alkalinity and pH[J]. Chinese Journal of Zoology, 2005, 40(6): 74–79. [杨富亿, 李秀军, 杨欣乔. 日本沼虾幼虾对碱度和 pH 的适应性[J]. 动物学杂志, 2005, 40(6): 74–79.]
- [19] Yao Z L, Wang H, Zhou K, et al. Effect of water carbonate alkalinity and pH on survival rate of post-larval *Litopenaeus vannamei*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2010, 29(5): 945–950. [么宗利, 王慧, 周凯, 等. 碳酸盐碱度和 pH 对凡纳滨对虾仔虾存活率的影响[J]. 生态学杂志, 2010, 29(5): 945–950.]
- [20] Yang F Y, Li X J, Yang X Q, et al. Adaptability of *Litopenaeus vannamei* to carbonate saline-alkaline waters in northeast China[J]. Marine Sciences, 2008, 32(1): 41–44. [杨富亿, 李秀军, 杨欣乔, 等. 凡纳滨对虾对东北碳酸盐型盐碱水域的适应能力[J]. 海洋科学, 2008, 32(1): 41–44.]
- [21] Chang Y M, He Q, Sun Y C, et al. Changes in plasma free amino acid levels in *Leuciscus waleckii* exposed to different environmental alkalinity levels[J]. Chinese Journal of Fishery Sciences, 2016, 23(1): 117–124. [常玉梅, 何强, 孙言春, 等. 碳酸盐碱度胁迫下瓦氏雅罗鱼血浆游离氨基酸水平的变化[J]. 中国水产科学, 2016, 23(1): 117–124.]
- [22] Shi Y L. Studies on water quality characteristics and change regulations of culture ponds with heavy saline-alkaline soil[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2009. [石玉龙. 重盐碱地养殖池塘水质特征及变化规律的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2009.]
- [23] Wang X R, Zhou Z C. Methods and techniques for toxicological testing[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008: 34–37. [王心如, 周忠灿. 毒理学试验方法与技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 34–37.]
- [24] Liang J P, Li J, Li J T, et al. Effects of salinity on spawning and larval development of *Exopalaemon carinicauda*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25(7): 2105–

2113. [梁俊平, 李健, 李吉涛. 盐度对脊尾白虾亲虾抱卵及其子代生长发育的影响[J]. 应用生态学报, 2014, 25(7): 2105–2113.]
- [25] Wang H, Li Q F, Fang W H. The influence of saline water resources on carrying out fishing in Yundong, Cangzhou[J]. Hebei Fisheries, 2003(5): 16–18. [王慧, 来琦芳, 房文红. 沧州运东地区盐碱水资源对开展渔业的影响[J]. 河北渔业, 2003(5): 16–18.]
- [26] Pan L Q, Liu Z, Jiang L X. The effect of salinity and pH changes on gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity of *Litopenaeus vannamei*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2004, 34(5): 787–790. [潘鲁青, 刘志, 姜令绪. 盐度, pH 变化对凡纳滨对虾鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(5): 787–790.]
- [27] Ballester E L C, Abreu P C, Cavalli R O, et al. Effect of practical diets with different protein levels on the performance of *Farfantepenaeus paulensis* juveniles nursed in a zero exchange suspended microbial flocs intensive system[J]. Aquac Nutr, 2010, 16(2): 163–172.
- [28] Zhao L H, Zhao J L, Jeerawat T, et al. Effects of salinity-alkalinity on serum osmolality, ion concentration and mRNA expression of ion transport enzymes of *Oreochromis niloticus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(10): 1696–1704. [赵丽慧, 赵金良, Jeerawat T, 等. 盐碱胁迫对尼罗罗非鱼血清渗透压、离子浓度及离子转运酶基因表达的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(10): 1696–1704.]
- [29] Lan Y H, Geng L W, Lu J X, Liu Y, et al. Studies on tolerance of *Chalcalburnus chalcoides aralensis* to salinity and alkalinity[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2004, 26(5): 561–565. [蔺玉华, 耿龙武, 卢金星, 等. 咸海卡拉白鱼对盐碱耐受性研究[J]. 吉林农业大学学报, 2004, 26(5): 561–565.]
- [30] Zhang L J, Pan L Q, Luan Z H. Effects of pH on ion-transport enzyme activities and survival, growth of *Marsipenaeus japonicus* postlarvae[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(5): 758–764. [张林娟, 潘鲁青, 栾治华. pH 变化对日本囊对虾仔虾离子转运酶活力和存活, 生长的影响[J]. 水产学报, 2008, 32(5): 758–764.]
- [31] Zhao W, Wang C, Zhang L, et al. Effects of alkalinity and pH on the survival, growth and neonate production of two strains of *Moina mongolica* Daday[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(2): 589–598. [赵文, 王超, 张路, 等. 碱度和 pH 对两品系蒙古裸腹溞存活, 生长和生殖的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(2): 589–598.]
- [32] Ge Z Q. Effects of different salinity-alkalinity on hatchability of the fertilized eggs and larval survival of *Protosalanx hyalocranius*[J]. Reservoir Fisheries, 1996(2): 40–41. [戈志强. 不同盐碱度对大银鱼受精卵孵化和仔鱼存活的影响[J]. 水利渔业, 1996(2): 40–41.]
- [33] Xu W, Geng L W, Li C T, et al. The artificial propagation, embryonic development and saline-alkali tolerant experiment of *Barbus capito*[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(2): 255–260. [徐伟, 耿龙武, 李池陶, 等. 大鳞鲂的人工繁殖, 胚胎发育和耐盐碱测定[J]. 水产学报, 2011, 35(2): 255–260.]
- [34] 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研究特性[J]. 海洋与湖沼, 1992, 23(5): 555–560.]
- [35] Vutukuru S S, Chintada S, Madhavi K R, et al. Acute effects of copper on superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation in the freshwater teleost fish, *Esomus danricus*[J]. Fish Physiol Biochem, 2006, 32(3): 221–229.
- [36] Li X Y, Dong Z G, Xue Y, et al. The impact of sharp increase in water temperature and hypoxia on activities of acid phosphatase and lysozyme in Clam *Cyclina sinensis*[J]. Fisheries Science, 2009, 28(6): 321–324. [李晓英, 董志国, 薛洋, 等. 温度骤升和窒息条件对青蛤酸性磷酸酶和溶菌酶的影响[J]. 水产科学, 2009, 28(6): 321–324.]
- [37] Zhou S Q. Effects of environmental stress on the immune factors in *Scylla serrata*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006. [周素琴. 环境胁迫对养殖锯缘青蟹主要免疫因子的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006.]
- [38] Mu H J, Jiang X L. Effects of immunopolysaccharide on the activities of acid phosphatase, alkaline phosphatase and superoxide dismutase in *Chlamys farreri*[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 1999, 29(3): 463–468. [牟海津, 江晓路. 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, 1999, 29(3): 463–468.]
- [39] Zhan F F, Zhao X P. Effects of cadmium on ACP and AKP in *Carassias auratus*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2007, 26(3): 641–643. [詹付凤, 赵欣平. 重金属镉对鲫鱼碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性的影响[J]. 四川动物, 2007, 26(3): 641–643.]
- [40] Bai X J, Lu H S, Tang F H. Effects of Cu^{2+} , Zn^{2+} and Cd^{2+} ions on acid phosphatase and alkaline phosphatase in *Branchiostoma belcheri* in coastal Maoming, Guangdong province[J]. Fisheries Science, 2009, 28(9): 513–517. [白秀娟, 卢伙胜, 唐峰华. Cu^{2+} , Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 对茂名海域文昌鱼酸、碱性磷酸酶的影响[J]. 水产科学, 2009, 28(9): 513–517.]
- [41] Lu X, Wang C, Liu B. The role of Cu/Zn-SOD and Mn-SOD in the immune response to oxidative stress and pathogen challenge in the clam *Meretrix meretrix*[J]. Fish Immunol, 2015, 42(1): 58–65.
- [42] Zhao H X, Zhang Y Q, Huang L, et al. The immune system of shrimp and immune prevention[J]. Chinese Journal of Traditional Veterinary Science, 2003, 39(1): 41–44. [赵红霞,

- 张艳秋, 黄磊, 等. 虾类的免疫系统与免疫防治[J]. 中国兽医杂志, 2003, 39(1): 41–44.]
- [43] Hu G F, Li Z, Liang H W, et al. Effect of cadmium on SOD and CAT in hepatopancreas, antennary gland and gill of *Procambarus clarkia*[J]. J Agro-Environ Sci, 2009, 28(9): 1806–1811.
- [44] Liang Z X, Li J, Tan Z J, et al. Effects of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on MDA, SOD and GST in hepatopancreas and gill of *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(8): 1192–1197. [梁忠秀, 李健, 谭志军, 等. 塔玛亚历山大藻对中国明对虾肝胰腺及鳃 SOD, GST 和 MDA 的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(8): 1192–1197.]
- [45] Sun D, Ma R L, Chen J P, et al. Water quality characteristics and regulation mechanism of the saline-alkaline pond water along the Yellow River[J]. Freshwater Fisheries, 2005, 35(1): 29–31. [孙栋, 马荣棣, 陈金萍, 等. 沿黄低洼盐碱地池塘水质特点及调控机理[J]. 淡水渔业, 2005, 35(1): 29–31.]

Effects of carbonate alkalinity stress on the survival, growth, reproduction, and immune enzyme activities of *Exopalaemon carinicauda*

LIU Fei^{1,2}, LI Jian^{2,3}, LI Jitao², GE Qianqian², GE Hongxing², SHEN Mingming^{1,2}

1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;
3. Function Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266235, China

Abstract: Saline-alkaline water is relatively prevalent throughout China, where there are about 99.07 million hm² of saline-alkaline land and more than 30.67 million hm² of saline-alkaline waters. Because of the complex ion composition and high pH value, only a few bodies of saline-alkaline waters have been used to farm freshwater fish. Many of these ventures have been unsuccessful, and so the fish farms have fallen into a state of neglect. Consequently, it is important to find ways to develop and use saline-alkaline soil and water resources. In recent years, *Exopalaemon carinicauda* has become one of the most important and extensively farmed shrimp species. Because of its strong ability to adapt to harsh environmental conditions, including ammonia nitrogen and pH stresses, *E. carinicauda* could be the ideal species for farming in saline-alkaline waters. Therefore, the aim of these experiments was to explore the effects of water carbonate alkalinity on the survival, growth, reproduction, and immune enzyme activities of *E. carinicauda*. The carbonate alkalinity dose lethal to 50% of *E. carinicauda* individuals (LC₅₀) was determined in an acute stress experiment. For the LC₅₀ experiment, individuals of *E. carinicauda* were subjected to various levels of carbonate alkalinity (3.5, 5, 6.5 and 8 mmol/L) and then their growth and reproduction were evaluated. The LC₅₀ was 8.73 mmol/L at 96 h. With increasing carbonate alkalinity, the mortality rate, specific growth rate, spawning rate, egg incubation rate, ovarian maturation, and metamorphosis larval survival rate of *E. carinicauda* decreased. In another set of experiments, the carbonate alkalinity levels were set to 5, 6.5, and 8 mmol/L, and the activities of acid phosphatase, alkaline phosphatase, and superoxide dismutase were determined at 0, 3, 6, 12, 24, 48, and 72 h. The activities of all three enzymes in the gill and hepatopancreas of *E. carinicauda* first increased and then decreased over time during carbonate-alkalinity stress. Our results indicated that *E. carinicauda* can adapt to a highly alkaline environment by regulating the activity of immune enzymes. *E. carinicauda* can be farmed in water with 3.5 mmol/L carbonate alkalinity, but cannot grow or develop normally in water with >5 mmol/L carbonate alkalinity. Therefore, water with high carbonate alkalinity must be treated to render it suitable for farming *E. carinicauda*. This study provides a scientific basis for the development of *E. carinicauda* aquaculture in saline-alkaline waters.

Key words: *Exopalaemon carinicauda*; carbonate alkalinity; survival; growth; reproduction; enzyme activities

Corresponding author: LI Jian. E-mail: lijian@ysfri.ac.cn