缺氧胁迫及对贝类免疫系统的影响*

刘凯凯[1,2,3],唐君玮[4],袁廷柱[4],宋静静[1,2,3],刘洪军[1,2,3],盖珊珊[1,2,3],迟雯丹[1,2,3],于道德[1,2,3]**
(1.山东省海洋生物研究院,山东青岛 266104;2.山东省海水养殖病害防治重点实验室,山东青岛 266104;3.青岛市浅海底栖渔业增殖重点实验室,山东青岛 266104;4.长岛海洋生态文明综合试验区海洋经济促进中心,山东烟台 265800)

摘要:人为压力源的强度和多样性日益增加已引发全球海洋生态系统中栖息地和生物多样性丧失。与全球变暖、海洋酸化类似,海域缺氧现象的频发使得缺氧现象成为重要的全球压力源。本文以贝类为研究对象,综述了缺氧的定义和等级、缺氧的原因,并集中探讨了缺氧胁迫对贝类免疫系统的影响,以期为贝类养殖和病害防治提供理论依据,并为我国贝类产业能够及时应对未来环境变化提供参考资料。

关键词:贝类 缺氧胁迫 适应性进化 细胞免疫 体液免疫

中图分类号:S944 **文献标识码**:A **文章编号**:1002-7378(2020)02-0124-07
DOI:10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20200603.006

0 引言

溶氧(Dissolved Oxygen,DO)作为水域环境的一个重要参数,与所有水域生物的生存密切相关。水体中的溶氧含量是影响水生生物生长发育的重要因子。溶氧含量过低时,底层鱼类和其他活动性较强的无脊椎动物可以通过迁徙来逃避低氧环境,而活动性能力差的贝类更容易受到缺氧胁迫的影响;在溶氧回升后,某些受损害群落(如牡蛎礁)难以恢复到以前的状态[1-2]。在长期的进化过程中,潮间带的贝类形成了相应的应激机制,已成为最耐低氧的生物类群之一。

在过去的几十年内,由于人类活动的影响,水域的溶氧(尤其是海洋)已发生了明显的变化,出现了大量的低氧区域(Oxygen Minimum Zones,OMZs)[3-4]。低氧(Hypoxia)泛指水体溶氧含量低于2.0 mL/L(相当于2.8 mg/L或者91.4 mmol/L),并可细分为3个等级:(1)≤2.0 mL/L DO,氧气不足,生物体开始表现出异常行为;(2)≤1.0 mL/L DO,轻度缺氧,生物开始出现死亡;(3)≤0.5 mL/L DO,严重缺氧,生物大量死亡。而缺氧(Anoxia)则是指氧分压小于0.07 mL/L DO的水域,或者严格的无氧状态(0 mL/L DO)[5-6]。

利用缺氧来检测环境胁迫对贝类的负面影响具有很多优势,包括操作简易、重复性高以及成本低等[7-8]。海洋贝类作为滤食动物,对环境保护的贡献不容忽视。因此,研究贝类的缺氧胁迫不仅对于养殖业具有重要的实践指导意义,同时对于整个海洋生态

*烟台科技计划项目(2018SFBF084,2019ZDCX018)和国家重点研发计划项目(2018YFC1406406)资助。

【作者简介】
刘凯凯(1992—),男,研究实习员,主要从事养殖贝类生态学研究。
【**通信作者】
于道德(1978—),男,副研究员,主要从事海洋生物学与生态学研究,E-mail:yudaode@shandong.cn。

【引用本文】
刘凯凯,唐君玮,袁廷柱,等.缺氧胁迫及对贝类免疫系统的影响[J].广西科学院学报,2020,36(2):124-130.
LIU K K,TANG J W,YUAN T Z,et al. Hypoxia Stress and Its Effects on Immune System of Shellfish [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences,2020,36(2):124-130.

的维持和可持续发展更具有深远的影响。

1 海洋缺氧的原因与发展趋势

由自然界物理作用引起的水体温度和盐度的分层,以及温盐跃层的出现是导致近岸海底缺氧的主要原因,缺氧通常可引起底栖动物死亡。如果水体能够自然交换,或者说没有分层现象,自然界就根本不会存在缺氧的区域[9]。近年来的研究表明,分层现象导致全球海洋上层和温跃层氧气含量减少[10-11]。这种自然发生的缺氧现象最早记录于19世纪80年代,并且呈现出一定的周期性[12]。例如,发生在美国亚拉巴马州莫比尔湾的"Jubilee"现象可以追溯到18世纪60年代。"Jubilee"现象就是一个典型的季节性缺氧,几乎每年夏季发生一次,主要是由有机物的沉积造成的[13]。

人类活动导致水体富营养化,是造成水体缺氧的另一个重要原因。近岸水域由于陆源输入大量的N、P和Si等营养物质和大量可供微生物分解利用的有机物(包括城市生活污水、工业废水、农业化肥过量使用等)[14],造成了水体富营养化,使缺氧现象发生在从未发生过的区域,这样的区域被生态学家称为"死亡区域"(Dead Zone)。目前,世界范围内共发现500多个死亡区域,共涉及245 000 km^2 的海域[15]。而且在每年的夏季(水温最高时,分层最强)超过一半的区域都会发生缺氧现象,导致海洋底栖生物大量死亡[5-6]。水体缺氧已经成为全球生态与环境问题的主要关注点之一。我国近海水体缺氧现象也日趋严重,在长江口、珠江口等区域已出现了季节性的缺氧[16-17]。

2 贝类对缺氧胁迫的适应性进化

生活于潮间带的海洋无脊椎动物每天都会经历一段低氧时期,降低代谢率是其对低氧胁迫的首要适应性进化机制[18-19]。研究发现,美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)在低氧期的基础代谢率仅为正常状态的75%[20],其主要通过可逆的蛋白磷酸化修饰来限制大多数酶和功能蛋白的活性,从而降低基础代谢率[21];当环境条件改善后,则可恢复相关酶类和功能蛋白的活性,从而维持机体的正常生理活动。其次,贝类适应缺氧环境的另一个机制是通过消耗贮存的能源物质(如糖原和天冬氨酸盐类等),改变其代谢途径(如糖酵解),并联合底物水平的磷酸化而产生更多的能量供给机体[19]。例如翡翠股贻贝(*Perna viridis*)就是通过肝糖原的糖酵解,产生更多的ATP来维持基础代谢[22-23]。再次,就是改变糖酵解的终产物,避免乳酸过多而破坏机体的酸碱平衡。欧洲鸟尾蛤(*Cerastoderma edule*)会产生L-丙氨酸和D-乳酸盐两种糖酵解物质,大大降低了代谢产物的酸性[24],其中L-丙氨酸主要是通过转氨作用产生,与天冬氨酸向琥珀酸的转变相偶联[19]。当环境达到缺氧状态,贝类会进一步降低基础代谢率和ATP的产生及利用,甚至可以降低到基础水平的10%[25]。许多耗能过程都会受到不同程度的抑制,包括大分子物质,如DNA、RNA和蛋白质的合成等[19]。

3 缺氧对贝类免疫系统的影响

缺氧胁迫能够影响贝类很多重要的生理和生化过程[19,26]。其中对免疫系统的影响最大,因此通过免疫指标的变化来检测环境压力对贝类的影响已成为该领域研究的热点[27]。贝类作为无脊椎动物,体内没有特异性免疫细胞和相应的抗体。贝类的免疫防御机制可分为细胞免疫与体液免疫,两者相辅相成,共同抵御外来物质的入侵,并对应激做出免疫应答。

3.1 缺氧对细胞免疫的影响

双壳贝类的血淋巴细胞具有多种功能,包括免疫防御、营养物质的消化和转运、排泄以及贝壳的修复、矿化等[28]。异物侵入机体能够刺激血淋巴细胞介导的吞噬作用[29]。在血淋巴细胞吞噬过程中,同时会释放一些水解酶和溶菌酶,这样能够帮助灭活其他部位的入侵病原菌[30]。因此,血淋巴细胞的任何参数,包括比容、数量、分布、吸附能力、吞噬活性、相关溶酶体酶活性以及血淋巴产生的活性氧等都成为检测环境胁迫对免疫系统影响程度的重要指标[27,31]。

缺氧胁迫几乎能够影响到与血淋巴细胞相关的所有的功能,整合作用导致双壳贝类血淋巴细胞的免疫活性大大降低[32],进而是双壳贝类的免疫功能受到抑制,对病原体的易感性也随之增加,是贝类死亡的主要原因[33]。

3.1.1 缺氧对血细胞总数的影响

贝类的免疫防御反应中,血淋巴细胞对病原菌和异物的吞噬作用是其主要的防御机制。血细胞总数(THC)增加不仅仅包括血淋巴细胞的增殖,还包括从组织中迁徙到血淋巴循环中的细胞数量。相反地,贝类血淋巴细胞溶解或从血淋巴移入组织,将会导致THC降低,从而降低其防御能力,更容易受到病原菌

的攻击[34]。实验表明,低氧胁迫 24 h,鸡帘蛤(*Chamelea gallina*)的 THC 就开始急剧降低,并持续 4 d 左右[31]。缺氧条件下,翡翠贻贝(*Perna viridis*)血淋巴中的 THC 显著低于正常溶氧组[35]。THC 的降低可能是贝类血淋巴细胞溶解以及大量血淋巴细胞移入组织所致,在这一点上与其他胁迫类似[34,36]。

3.1.2 缺氧对细胞吞噬作用的影响

贝类血淋巴细胞的吞噬作用是其抵御外来微生物的第一道防线,有时也是最重要的免疫手段[34,37-38]。实际上,除免疫功能外,血淋巴细胞的吞噬作用在神经内分泌调节上也发挥重要作用[39]。因此,血淋巴细胞的吞噬活性通常被作为评估贝类对环境胁迫耐受力的生物指标[40-41]。

贝类血细胞的粘附能力是其发挥免疫功能的前提和基础。细胞的粘附能力依赖于自身细胞膜和细胞骨架结构的完整性[42],在粘附分子与配体介导的细胞信号转导途径的调控下,改变细胞形态而发生粘附[43]。由于此过程为耗能过程,依赖于细胞自身能量储备,在低氧期细胞能量的重新分配使得用于粘附的能量大大降低,从而降低了血细胞的粘附能力。在粘附发生后,通过细胞骨架变化调控伪足形成的过程等是发生吞噬作用的基础,此过程为耗能过程,需要联合 ATP 的生成,但是在缺氧条件下不能获得足够的能量,因此吞噬活性大大降低[44]。利用血液涂片发现,受缺氧胁迫的鸡帘蛤(*Chamelea gallina*)的血淋巴细胞完全不能吞噬酵母细胞。缺氧导致血细胞吞噬活性的降低,除了与耗能关联外,还可能与血淋巴细胞膜受体的改变相关[27]。

3.1.3 缺氧对活性氧的影响

活性氧(Reactive Oxygen Species,ROS)及其中间产物(Reactive Oxygen Intermediate Species,ROIs)是血淋巴细胞在吞噬过程中伴随呼吸爆发现象产生的,是贝类免疫的重要组成部分[45]。贝类产生的 ROS 包括超氧化物阴离子、过氧化氢、羟基自由基、超卤化物等。在受到病原菌感染时,贝类的血淋巴细胞会产生更多的 ROS,过多的 ROS 会造成细胞的膜损伤,DNA 断裂,酶抑制和氨基酸过氧化等毒性效应[46]。而在缺氧胁迫下,牡蛎血淋巴细胞产生 ROS 的能力大大降低,仅为正常情况的 1/3[32]。从生存的角度考虑,是为了降低基础代谢率牺牲了抗氧化酶的活性[47],同时也可以减少 ROS 对自身组织的损伤以及修复所需的大量能量。

3.2 缺氧对体液免疫的影响

在缺氧胁迫下,贝类除了细胞免疫方式外,血淋巴中的体液因子也发挥重要的防御作用。参与体液免疫的活性因子主要包括:溶酶体酶、过氧化氢酶、抗菌肽等。

3.2.1 缺氧对溶酶体酶活性的影响

缺氧同样可影响贝类溶酶体酶的活性。溶酶体酶由血淋巴细胞合成,并在吞噬过程中通过脱颗粒的方式释放入血淋巴循环中,参与体液免疫[48]。双壳贝类溶酶体酶包括溶菌酶、β-葡糖苷酸酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、脂肪酶、氨基肽酶、乳酸脱氢酶和淀粉酶等。其中,酸性磷酸酶和 β-葡糖苷酸酶是后生动物典型的两种溶酶体酶,而溶菌酶则具有免疫防御功能,可对抗多种革兰氏阴性和阳性细菌[49]。研究发现,缺氧能够导致硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)血细胞和血淋巴循环中溶菌酶、酸性磷酸酶等活性明显降低[27,50]。但是,作为诱导型酶的 β-葡糖苷酸酶在缺氧胁迫时活性增加,可能该酶参与了抑制缺氧状态下厌氧细菌(硫酸还原菌等)的大量繁殖[4]。菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)在受低氧胁迫时间越长的条件下,乳酸脱氢酶(LDH)和琥珀酸脱氢酶(SDH)的活力逐渐降低,而碱性磷酸酶(AKP)活力逐渐增大,不同的酶活在低氧条件下表现出不同的变化规律[51]。

3.2.2 缺氧对抗氧化防御系统的影响

抗氧化酶系统也是无脊椎动物非特异性免疫的重要组成部分。过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化酶类与抗氧化因子(如谷胱甘肽等)共同组成了抗氧化酶系统,共同作用于体内氧化还原反应产生的氧自由基,用于清除体内多余的活性氧,以维持体内氧化还原平衡。王化敏等[52]研究结果表明,随着低氧胁迫时间的延长,4 种壳色的菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)的硫氧化还蛋白过氧化物酶(TPx)和铜锌超氧化物歧化酶(Cu-Zn-SOD)表达量均表现出先升高后恢复的趋势,而 CAT 和锰超氧化物歧化酶(Mn-SOD)表达量呈现先升高后降低的趋势。紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)在 2 $mg \cdot L^{-1}$ 的低氧环境下胁迫 24 h 后,肌肉组织的 CAT、SOD 基因表达量显著降低[53]。这表明低氧会诱导贝类体内抗氧化酶表达量发生变化,而抗氧化酶表达量的高低,能够反映出动物对低氧耐受能力的差异[52]。

3.3 缺氧对化学递质的影响

缺氧胁迫几乎影响到贝类细胞免疫和体液免疫的所有参数,但是确切的机制尚不明了。缺氧可能导致应激反应综合征或全身适应综合征(General Adaptation Syndrome,GAS),从而影响到血淋巴细胞的功能性反应。贝类虽然仅具有简单的神经内分泌系统,但是面对环境胁迫,同样会启动类似脊椎动物的应激反应系统:即促肾上腺皮质释放激素(Corticotropin-releasing Hormone,CRH)—促肾上腺皮质激素(Adrenocorticotropin Hormone,ACTH)—生物胺(Biogenic Amines)神经内分泌轴,分泌以儿茶酚胺类物质为主的应激激素(主要是去甲肾上腺素,肾上腺素和多巴胺)[39,54-55]。研究发现,去甲肾上腺素(Noradrenalin,NA)作为贝类中最重要的儿茶酚胺类,同样是由血淋巴细胞合成并释放入血淋巴中发挥作用[54]。NA 能够抑制双壳贝类特定的免疫反应,例如吞噬作用[56]和活性氧 ROS 的产生[57]。因此,缺氧状态可能首先作用于神经内分泌系统,通过诱导 NA 的释放从而抑制血淋巴细胞的活性。这从侧面也说明了,在低等的无脊椎动物中,仍然存在复杂的免疫系统和神经内分泌系统之间的调节网络[58]。

3.4 缺氧对免疫相关基因表达的影响

在缺氧胁迫下,贝类部分基因的表达和蛋白的合成过程会受到抑制,例如呼吸作用、糖/脂类代谢、免疫系统调节过程[59]。但是,某些特定基因的表达量也会出现上调趋势。在缺氧胁迫 24 d 后,牡蛎肝糖原磷酸化酶 mRNA 的表达量上调,目的就是通过以无氧糖酵解的方式降解肝糖原来维持机体对能量的需求[60-61]。其中,缺氧胁迫对活性氧产生相关基因以及维持机体氧化还原平衡基因表达的抑制效应,与环境污染物(烃基化合物)[62]、感染寄生虫[63]以及杀虫剂[64]等环境胁迫的作用类似。

4 展望

综上所述,缺氧胁迫对贝类免疫系统的影响深远,影响贝类血淋巴细胞的所有免疫参数,并降低贝类的免疫监视作用,引起贝类免疫应激并造成免疫损伤。除此之外,缺氧条件(尤其是在静水条件下)还会增加贝类机会性致病菌的繁殖,进一步降低水体的氧气含量,例如厌氧的硫酸盐还原菌能够导致水域的酸性化以及硫化物的积累[65]。而水体 pH 值的改变会破坏贝类酸碱平衡,导致贝类更易感染病菌而大量死亡,破坏海洋生态系统的平衡。

除自然因素外,人为活动是造成水体缺氧的主要原因。近年来,由于经济的发展与市场需求,水产养殖业的集约化程度越来越高,规模越来越大,由此造成的水体富营养化使贝类因缺氧大量死亡,造成巨大的经济损失,制约了水产养殖业的健康发展。因此应当采取适当的保护措施,减小海洋缺氧区域面积,维护海洋生态健康,促进人与自然的和谐相处。除此之外,研究贝类在缺氧环境中的免疫应答具有重要的实践意义。相关的研究已有很多报道,但细胞免疫与体液免疫之间的协同关系以及不同细胞之间的协作机制尚不明确,与其他环境因子(如藻毒素、有机污染物等)共同对贝类造成影响的研究相对较少,贝类抗逆基因的筛选与抗逆、抗病品种的培育等都是这方面研究的新方向。

参考文献

[1] LENIHAN H S,PETERSON C H. How habitat degradation through fishery disturbance enhances impacts of hypoxia on oyster reefs [J]. Ecological Applications,1998,8(1):128-140.

[2] RABALAIS N N,TURNER R E,WISEMAN W J. Hypoxia in the Gulf of Mexico [J]. Journal of Environmental Quality,2001,30(2):320-329.

[3] DIAZ R J. Overview of hypoxia around the world [J]. Journal of Environmental Quality,2001,30(2):275-281.

[4] DIAZ R J,ROSENBERG R. Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems [J]. Science,2008. 321(5891):926-929.

[5] DIAZ R J,ROSENBERG R. Marine benthic hypoxia:A review of its ecological effects and the behavioural responses of benthic macrofauna [J]. Oceanography and Marine Biology,1995,33:245-303.

[6] WU R S S. Hypoxia:From molecular responses to ecosystem responses [J]. Marine Pollution Bulletin,2002,45(1-12):35-45.

[7] ZWAAN A D,CORTESI P,CATTANI O. Resistance of bivalves to anoxia as a response to pollution-induced environmental stress [J]. Science of the Total Environment,1995,171(1/2/3):121-125.

[8] ZWAAN A D,EERTMAN R H M. Anoxic or aerial survival of bivalves and other euryoxic invertebrates as a useful response to environmental stress-A comprehensive review [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C:Pharmacology,Toxicology and Endocrinology,1996,113(2):299-312.

[9] CONLEY D J,CARSTENSEN J,VAQUER-SUNYER

R,et al. Ecosystem thresholds with hypoxia [J]. Hydrobiologia,2009,629(1):21-29.

[10] HELM K P,BINDOFF N L,CHURCH J A. Observed decreases in oxygen content of the global ocean [J]. Geophysical Research Letters,2011,38(23):L23602.

[11] TALLEY L D,FEELY R A,SLOYAN B M,et al. Changes in ocean heat,carbon content,and ventilation: A review of the first decade of go-ship global repeat hydrography [J]. Annual Review of Marine Science, 2016,8(1):185-215.

[12] CREMA R,CASTELLI A,PREVEDELLI D. Long term eutrophication effects on macrofaunal communities in Northern Adriatic Sea [J]. Marine Pollution Bulletin,1991,22(10):503-508.

[13] MAY E B. Extensive oxygen depletion in Mobile Bay, Alabama [J]. Limnology & Oceanography, 1973, 18 (3):353-366.

[14] 张瑜斌,章洁香,孙省利. 海水富营养化对海洋细菌影响的研究进展[J]. 生态学报,2012,32(10):3225-3232.

[15] GOPAL M. Of sunken ships and oil spills: Emergence of marine pollution from ships in mainstream environmental jurisprudence in India [J]. Env't L & Soc'y J, 2018,4:1.

[16] LI D J,ZHANG J,HUANG D J,et al. Oxygen depletion off the Changjiang (Yangtze River) Estuary [J]. Science in China Series D: Earth Sciences, 2002, 45: 1137-1146.

[17] CHEN C C,GONG G C,SHIAH F K. Hypoxia in the East China Sea: One of the largest coastal low-oxygen areas in the world [J]. Marine Environmental Research,2007,64(4):399-408.

[18] STOREY K B. Molecular mechanisms of metabolic arrest in molluscs [M]// HOCHACHKA P W,LUTZ P L,SICK T J,et al. Surviving hypoxia: Mechanisms of control and adaptation. Boca Raton:CRC Press,1993.

[19] LARADE K,STOREY K B. A profile of the metabolic responses to anoxia in marine invertebrates [J]. Cell and Molecular Response to Stress,2002,3:27-46.

[20] STICKE W B,KAPPER M A,LIU L L,et al. Metabolic adaptations of several species of crustaceans and molluscs to hypoxia: Tolerance and microcalorimetric studies[J]. The Biological Bulletin,1989,177(2):303-312.

[21] GREENWAY S C,STOREY K B. Effects of seasonal change and prolonged anoxia on metabolic enzymes of *Littorina littorea* [J]. Canadian Journal of Zoology, 2001,79(5):907-915.

[22] HOCHACHKA P W,FIELDS J,MUSTAFA T. Animal life without oxygen: Basic biochemical mechanisms [J]. American Zoologist,1973,13(2):543-555.

[23] MATTHEW S,DOMODARAN R. Carotenoids and anoxic/hypoxic stress in bivalves *Sunsetta scripta* and *Perna viridis* [J]. Indian Journal of Experimental Biology,1997,35:176-179.

[24] BABARRO J M F,ZWAAN A D. Factors involved in the (near) anoxic survival time of *Cerastoderma edule*: Associated bacteria vs. endogenous fuel [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology,2001,128(3):325-337.

[25] STOREY K B,STOREY J M. Metabolic rate depression and biochemical adaptation in anaerobiosis,hibernation and estivation [J]. Quarterly Review of Biology, 1990,65(2):145-174.

[26] GREENWAY S C,STOREY K B. Seasonal change and prolonged anoxia affect the kinetic properties of phosphofructokinase and pyruvate kinase in oysters [J]. Journal of Comparative Physiology B, 2000, 170 (4): 285-293.

[27] MATOZZO V,MONARI M,FOSCHI J,et al. Exposure to anoxia of the clam *Chamelea gallina*: Ⅰ. Effects on immune responses [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,2005,325(2):163-174.

[28] CHENG T C. Bivalves in invertebrate blood cells [M] New York: America Press,1981:233-300.

[29] LÓPEZ C,CARBALLAL M J,AZEVEDO C,et al. Enzyme characterisation of the circulating haemocytes of the carpet shell clam,*Ruditapes decussatus* (Mollusca: bivalvia) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 1997, 7 (8):595-608.

[30] MOHANDAS A,CHENG T C,CHENG J B. Mechanism of lysosomal enzyme release from *Mercenaria mercenaria* granulocytes: A scanning electron microscope study [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1985,46(2):189-197.

[31] PAMPANIN D M,BALLARIN L,CAROTENUTO L,et al. Air exposure and functionality of *Chamelea gallina* haemocytes: Effects on haematocrit,adhesion, phagocytosis and enzyme contents [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology,2002,131(3):605-614.

[32] BOYD J N,BURNETT L E. Reactive oxygen intermediate production by oyster hemocytes exposed to hypoxia [J]. Journal of Experimental Biology,1999,202:

3135-3143.

[33] ZWAAN A D,BABARRO J M F,MONARI M,et al. Anoxic survival potential of bivalves:(arte) facts [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2000,131(3):615-624.

[34] PIPE R K,COLES J A. Environmental contaminants influencing immunefunction in marine bivalve molluscs [J]. Fish & Shellfish Immunology,1995,5:581-595.

[35] WANG Y J,HU M H,CHEUNG S G,et al. Immune parameter changes of hemocytes in green-lipped mussel *Perna viridis* exposure to hypoxia and hyposalinity [J]. Aquaculture,2012,356:22-29.

[36] MARIGOMEZ I,CAJARAVILLE M P,ANGULO E. Histopathology of the digestive glandy-gonad complex of the marine prosobranch *Littorina littorina* exposed to cadmium [J]. Diseases of Aquatic Organisms,1990,9(3):229-238.

[37] LAURA C,BETTI M,CATERINA C,et al. Cell signalling in the immune response of mussel immunocytes [J]. Invertebrate Survival Journal,2006,3(1):40-49.

[38] CHENG T C,SULLIVAN J T. Effects of heavy metals on phagocytosis by Molluscan hemocytes [J]. Marine Environmental Research,1984,14:305-315.

[39] OTTAVIANI E,FRANCESCHI C. The invertebrate phagocytic immunocyte:Clues to a common evolution of immune and neuroendocrine systems [J]. Immunology Today,1997,18(4):169-174.

[40] MONARI M,MATOZZO V,FOSCHI J,et al. Effects of high temperatures on functional responses of haemocytes in the clam *Chamelea gallina* [J]. Fish & Shellfish Immunology,2007,22(1/2):98-114.

[41] GAGNAIRE B,FROUIN H,MOREAU K,et al. Effects of temperature and salinity on haemocyte activities of the Pacific oyster,*Crassostrea gigas* (Thunberg) [J]. Fish & Shellfish Immunology,2006,20(4):536-547.

[42] ALVAREZ M R,FRIEDL F E. Effects of a fungicide on in vitro hemocyte viability,phagocytosis and attachment in the American oyster,*Crassostrea virginica* [J]. Aquaculture,1992,107(2/3):135-140.

[43] HYNES R O. Cell adhesion:Old and new questions [J]. Trends in Cell Biology,1999,24:M33-M37.

[44] WEI J,SHAW L M,MERCURIO A M. Integrin signaling in leukocytes:Lessons from the alpha6beta1 integrin [J]. Journal of Leukocyte Biology,1997,61(4):397-407.

[45] PIPE R K. Generation of reactive oxygen metabolites by the haemocytes of the mussel *Mytilus edulis* [J]. Developmental & Comparative Immunology,1992,16(2/3):111-122.

[46] ANDERSON R S,PAYNTER K T,BURRESON E M. Increased reactive oxygen intermediate production by hemocytes withdrawn from crassostrea virginica infected with perkinsus marinus [J]. The Biological Bulletin,1992,183(3):476-481.

[47] HERMES-LIMA M,STOREY J M,STOREY K B. Antioxidant defenses and animal adaptation to oxygen availability during environmental stress [J]. Cell and Molecular Responses to Stress,2001,2:263-287.

[48] PIPE R K. Hydrolytic enzymes associated with the granular haemocytes of the marine mussel *Mytilus eduli* [J]. The Histochemical Journal,1990,22(11):595-603.

[49] JOLLÈS J,FIALA-MÉDIONI A,JOLLÈS P. The Ruminant digestion model using bacteria already employed early in evolution by symbiotic molluscs [J]. Journal of Molecular Evolution,1996,43(5):523-527.

[50] HAWKINS L E,BROOKS J D,BROOKS S,et al. The effect of tidal exposure on aspects of metabolic and immunological activity in the hard clam *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Physiology,1993,104(2):225-228.

[51] 聂鸿涛,卢长炜,柴成林,等. 低氧胁迫对菲律宾蛤仔抗氧化酶的影响[J]. 海洋科学,2017,41(11):32-37.

[52] 王化敏,丁鉴锋,杨东敏,等. 4 种壳色菲律宾蛤仔在低氧胁迫下的耐受能力比较研究[J]. 大连海洋大学学报,2018,33(2):181-189.

[53] WOO S,DENIS V,WON H,et al. Expressions of oxidative stress-related genes and antioxidant enzyme activities in *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia,Mollusca) exposed to hypoxia [J]. Zoological Studies,2013,52:15.

[54] LACOSTE A,MALHAM S K,CUEFF A,et al. Evidence for a form of adrenergic response to stress in the oyster *Crassostrea gigas* [J]. Journal of Experimental Biology,2001,204(7):1247-1255.

[55] OTTAVIANI E,CASELGRANDI E,KLETSAS D. The CRH-ACTH-biogenic amine axis in invertebrate immunocytes activated by PDGF and TGF-β [J]. FEBS Letters,1998,427(2):255-258.

[56] LACOSTE A,MALHAM S K,CUEFF A,et al. Noradrenaline modulates oyster hemocyte phagocytosis via a β-Adrenergic Receptor-cAMP signaling pathway [J].

General and Comparative Endocrinology,2001,122(3):252-259.

[57] LACOSTE A,MALHAM S K,CUEFF A,et al. Noradrenaline modulates hemocyte reactive oxygen species production via beta-adrenergic receptors in the oyster *Crassostrea gigas* [J]. Developmental & Comparative Immunology,2001,25(4):285-289.

[58] OTTAVIANI E,FRANCESCHI C. The invertebrate phagocytic immunocyte:Clues to a common evolution of immune and neuroendocrine systems [J]. Immunology Today,1997,18(4):169-174.

[59] DAVID E,TANGUY A,PICHAVANT K,et al. Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hypoxia exposure under experimental conditions [J]. The FEBS Journal,2005,272(21):5635-5652.

[60] THEEN J,GILBOE D P,NUTTALL F Q. Liver glycogen synthase and phosphorylase changes in vivo with hypoxia and anesthetics [J]. American Journal of Physiology,1982,243(3):182-187.

[61] MEHRANI H,STOREY K B. Enzymatic control of glycogenolysis during anoxic submergence in the freshwater turtle *Trachemys scripta* [J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology,1995,27(8):821-830.

[62] BOUTET I,TANGUY A ,MORAGA D. Response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* to hydrocarbon contamination under experimental conditions [J]. Gene,2004,329:147-157.

[63] TANGUY A,GUO X,FORD S E. Discovery of genes expressed in response to *Perkinsus marinus* challenge in Eastern (*Crassostrea virginica*) and Pacific (*C. gigas*) oysters [J]. Gene,2004,338(1):121-131.

[64] TANGUY A,BOUTET I,LAROCHE J,et al. Molecular identification and expression study of differentially regulated genes in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* in response to pesticide exposure [J]. FEBS Journal,2005,272(2):390-403.

[65] ZWAAN A D,BABARRO J M F. Studies on the causes of mortality of the estuarine bivalve *Macoma balthica* under conditions of (near) anoxia [J]. Marine Biology,2001,138(5):1021-1028.

Hypoxia Stress and Its Effects on Immune System of Shellfish

LIU Kaikai[1,2,3],TANG Junwei[4],YUAN Tingzhu[4],SONG Jingjing[1,2,3],LIU Hongjun[1,2,3],GE Shanshan[1,2,3],CHI Wendan[1,2,3],YU Daode[1,2,3]

(1. Marine Biology Institute of Shandong Province,Qingdao,Shandong,266104,China;2. Key Laboratory of Disease Control for Aquaculture in Shandong Province,Qingdao,Shandong,266104,China;3. Key Laboratory of Berthic Fisheries Aquaculture and Enhancement,Qingdao,Shandong,266104,China;4. Marine Economic Promotion Center of Chang Island Marine Ecological Civilization Comprehensive Test Zone,Yantai,Shandong,265800,China)

Abstract:The increasing intensity and diversity of anthropogenic stressors have triggered the loss of habitat and biodiversity in global marine ecosystems. The occurrence and development of coastal hypoxia and anoxia have become a global key stressor to marine ecosystems,and also the consequences of human activities,just like global warming and ocean acidification. This paper takes shellfish as the research object,and reviews the definition of hypoxia,the grade of hypoxia and the causes of hypoxia. We focus on the effects of hypoxia stress on the immune system of shellfish,so as to provide a theoretical basis for shellfish cultivation and disease control,and provide data for the shellfish industry in China to timely respond to future environmental changes.

Key words:shellfish,hypoxia stress,adaptive evolution,cellular immunity,humoral immunity

责任编辑:陆　雁