

# pH值对日本三角涡虫种群增长、无性生殖及6种酶活力的影响

潘红春 范杰 王芳芳 孙祯

(安徽师范大学生命科学学院,生物大分子进化重点实验室,芜湖 241000)

**摘要:**应用种群累积培养法,就培养液的pH值对日本三角涡虫的生存、种群增长、无性生殖以及涡虫超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、乳酸脱氢酶(LDH)、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶等6种酶活力的影响进行了探讨。结果表明,涡虫存活的pH上限为11.0,下限为3.0,涡虫存活的最适pH范围为4.5—8.5;pH值对涡虫种群增长有显著影响,种群密度及种群瞬时增长率均随pH的不同而明显改变。培养27d后,pH4.0—9.0时涡虫种群为正增长;pH4.5—6.5时,涡虫种群密度最高,pH7.5—8.5时次之,pH7.0时较低,pH4.0和9.0时最低;而pH9.5时为负增长。当pH值偏离7.0(偏酸或偏碱)时CAT、GSH-PX、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活力整体均呈现增加的趋势,而SOD和LDH活力整体呈下降趋势。pH值偏离7.0(偏酸或偏碱)时涡虫6种酶活力均产生明显的变化,这与pH4.5—6.5和pH7.5—8.5时涡虫具有比pH7.0实验组涡虫较高的无性横裂生殖率之间可能存在一定的内在联系。本文研究结果可为实验室培养日本三角涡虫提供适宜的pH值指标。

**关键词:**日本三角涡虫;pH值;种群增长;无性横裂生殖;抗氧化酶;代谢酶

**中图分类号:**Q958.11 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3207(2008)03-0339-06

日本三角涡虫(*Dugesia japonica*)是广泛分布于我国各类淡水水体、特别是山区溪流中常见的涡虫种类之一,具有取材方便、在实验室易培养以及无性横裂生殖速度快等优点<sup>[1]</sup>,是一种常用的试验动物。在动物再生、干细胞和生殖生物学等研究领域中具有较高的科研价值,另外极强的再生能力使其成为研究胚胎发育和细胞分化的好材料。pH值是影响水生生物种群消长、生殖等生命活动的重要因子<sup>[2]</sup>,是实验室培养涡虫的重要培养条件之一,但目前未见pH值对涡虫无性生殖及种群动态影响方面的报道。

本研究采用种群累积培养法,探讨了培养液pH值对日本三角涡虫无性横裂生殖和种群增长的影响,并测定了涡虫的3种抗氧化酶(CAT、SOD和GSH-PX)以及3种代谢酶(LDH、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶)活力的变化,旨在为实验室大规模培养该种涡虫提供适宜的pH指标,为涡虫对环境的适应性研究提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料 日本三角涡虫采自安徽省芜湖市

汀棠公园水塘(31°21′39.2″N,118°22′51.46″E)。涡虫在实验室培养箱(温度为 $(22 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ )内暂养1个月左右,每隔4天喂1次新鲜猪肝,培养液为煮沸冷却后充氧的自来水。总蛋白定量试剂盒、SOD、CAT、GSH-PX、LDH、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活力测定试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

### 1.2 实验方法

**1.2.1 不同pH值培养液中涡虫的存活情况** 不同pH值培养液的配制方法如下:先用NaOH将备用水调至pH值为10.0,再用稀HCl和NaOH溶液调至所需的pH值,保证了 $\text{Na}^+$ 浓度的一致性<sup>[5]</sup>。实验pH梯度为pH1.0—14.0(间隔1.0),每组20条涡虫,观察不同pH值对涡虫的急性致死作用以获得大致的涡虫存活的pH值范围,作为种群累积培养实验设定pH梯度的依据。试验用涡虫在温度为 $(22 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 及自然光线的条件下培养。

**1.2.2 种群累积培养实验** 挑取体长约为1.5cm的涡虫,进行种群累积培养实验。培养器皿容积1.5L,培养液体积1.35L。根据上述预备实验的结

收稿日期:2007-06-15;修订日期:2008-01-25

基金项目:安徽省“重要生物资源保护与利用研究”省级重点实验室专项基金;安徽省高校“生物环境与生态安全”省级重点实验室专项基金;安徽师范大学博士科研启动基金项目资助

通讯作者:潘红春,教授;主要从事无脊椎动物生理生态学及动物分子生物学研究。E-mail:panhongchun@126.com

果,确定正式实验 pH 梯度分别为 pH 3.0—12.0(间隔 0.5)共 19 组,每组放入涡虫 20 条,在 1h 内分 5min、15min、30min 和 60min 观察并记录;以后每 24h 观察记录其死亡和增殖情况。每 12h 用稀 HCl 和 NaOH 溶液将培养液 pH 值调至初始值;每周喂食、换水两次,换水时所用的不同 pH 值培养液提前配制。种群累积培养实验共进行 27d。

**1.2.3 SOD、CAT、GSH-PX、LDH、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶和  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$  酶活力的测定** 种群累积培养实验结束后,每组取 10 条涡虫,以去离子水洗涤两遍分组研磨,加去离子水至 300 $\mu\text{L}$  制成组织匀浆,再以 3000r/min 低温离心 10min,提取上清液,测定总蛋白含量及 6 种酶活力,测定方法按试剂盒说明书进行。

**1.3 数据计算及分析** 试验数据用 EXCEL 软件进行计算、作图,用 SPSS12.0 软件进行回归分析。涡虫种群瞬时增长率采用公式  $r = (\ln N_t - \ln N_0) / t$  得出,其中  $N_0$  为涡虫的起始种群密度,  $N_t$  为培养  $t$  天后涡虫的种群密度,  $t$  为培养持续时间。涡虫死亡标准为全部解体。

## 2 结果

### 2.1 pH 对涡虫生存的影响

当培养液 pH 为 3.0 时,涡虫在 5min、15min、30min 和 60min 的死亡率分别为 0、45%、50%、100%;pH 为 11 时,涡虫在 5min 和 15min 的死亡率分别为 0 和 100%。在 pH 为 3.5、10.0、10.5 时,涡虫分别在 3d、8d 和 12d 全部死亡;在 pH 为 4.0 和 9.0 时,虽然涡虫种群为正增长但在实验期间也有一定死亡率;pH 4.5—8.5 时涡虫种群不但为正增长并且存活率均为 100%(图 1)。以上结果表明,涡虫存活的 pH 上限为 11.0,下限为 3.0;涡虫 pH 不适上限为 10.5,不适下限为 3.5;而涡虫存活的最适 pH 范围为 4.5—8.5。

### 2.2 pH 对涡虫种群密度和种群瞬时增长率的影响

培养 19d 后,pH 值对涡虫无性横裂生殖及种群密度的影响规律趋于明显和稳定;pH 4.0—9.0 时涡虫种群为正增长,pH 4.5—6.5 时涡虫种群密度最高,pH 7.5—8.5 时次之,pH 7.0 时较低,pH 4.0 和 9.0 时最低;而 pH 9.5 时涡虫种群为负增长(图 2)。种群密度 ( $Y$ ) 与 pH 值 ( $X$ ) 之间回归关系为:  $Y = -6.5793X^2 + 71.5451X - 100.4886$  ( $R^2 = 0.7916$ ,  $p < 0.01$ )。另外,培养 27d 时,pH 值对涡虫种群瞬时增长率的影响规律与 pH 值对涡虫种群密度的影响

规律类似,pH 4.5—6.5 涡虫种群瞬时增长率值最大(图 3)。

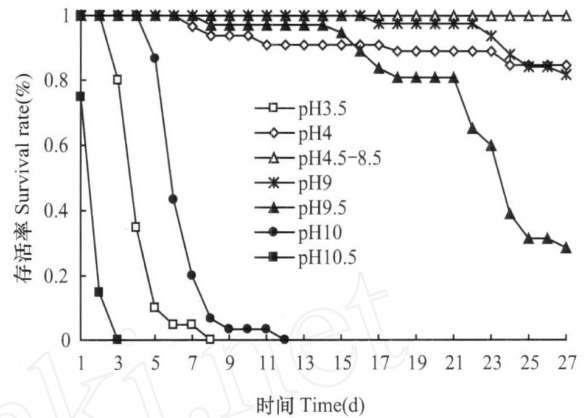


图 1 pH 值对日本三角涡虫存活率的影响

Fig. 1 The effect of pH on survival rate of *Dugesia japonica*

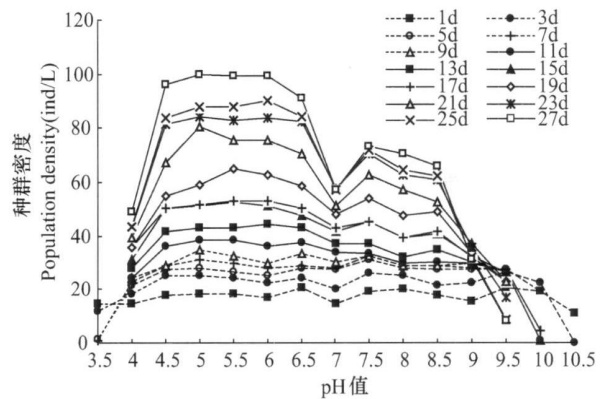


图 2 pH 值对日本三角涡虫种群密度的影响

Fig. 2 The effect of pH on population density of *Dugesia japonica*

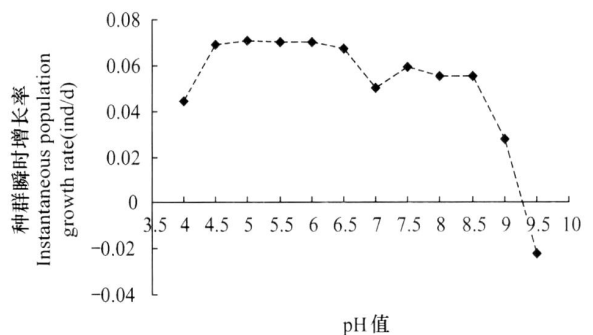


图 3 第 27 天日本三角涡虫种群瞬时增长率

Fig. 3 Instantaneous population growth rate of *Dugesia japonica* at the 27<sup>th</sup> day

### 2.3 pH 值对涡虫 3 种抗氧化酶活力的影响

#### 2.3.1 pH 值对 CAT 活力的影响

以 pH 7.0 为起始点,在酸性条件下随 pH 值的降低,CAT 活力上升趋势明显,pH 6.0 时达最大值,pH 低于 6.0 后酶活力又逐渐下降,但仍远高于 pH

7.0 时的酶活力(图 4);在碱性条件下,随 pH 值的升高,CAT 活力整体亦呈明显上升趋势,pH 8.5 时达最大值,pH 大于 8.5 时酶活力又迅速降低(图 4)。

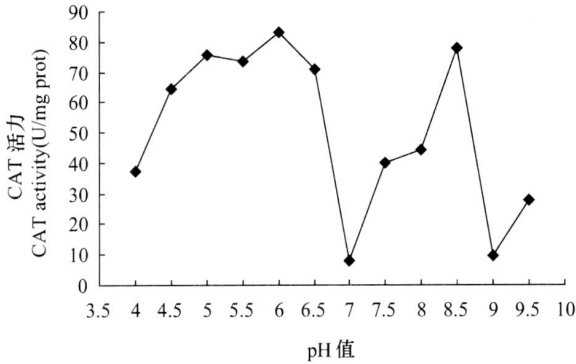


图 4 pH 值对日本三角涡虫 CAT 活力的影响

Fig. 4 The effect of pH on CAT activity of *Dugesia japonica*

### 2.3.2 pH 值对 SOD 活力的影响

以 pH 7.0 为起始点,在酸性条件下,SOD 活力随 pH 值的降低整体呈明显下降趋势,但 pH 低于 6.0 后酶活力又明显升高(图 5);在碱性条件下,SOD 活力随 pH 值的升高整体呈下降趋势,但 pH 9.5 时酶活力又迅速升高(图 5)。

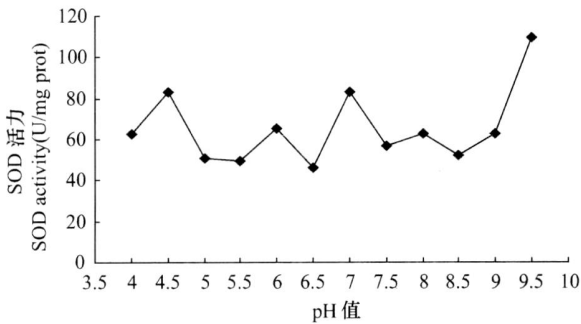


图 5 pH 值对日本三角涡虫 SOD 活力的影响

Fig. 5 The effect of pH on SOD activity of *Dugesia japonica*

### 2.3.3 pH 值对 GSH-PX 活力的影响

随 pH 的改变 GSH-PX 活力波动较大。以 pH 7.0 为起始点,在酸性条件下,pH 6.5 时 GSH-PX 活力降低而 pH 低于 6.0 后酶活力随 pH 值的降低整体呈明显升高趋势(图 6);在碱性条件下,除 pH 9.0 外,pH 7.5—8.5 及 pH 9.5 时 GSH-PX 活力高于 pH 7.0 时的酶活力(图 6)。

## 2.4 pH 值对涡虫 LDH, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶, $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活力的影响

### 2.4.1 pH 值对 LDH 活力的影响

LDH 活力受 pH 值的影响明显,以 pH 7.0 为起

始点,在酸性条件下,LDH 活力随 pH 值的降低整体呈现降低趋势(图 7);在碱性条件下,随 pH 值的升高 LDH 活力整体亦呈降低趋势(图 7)。

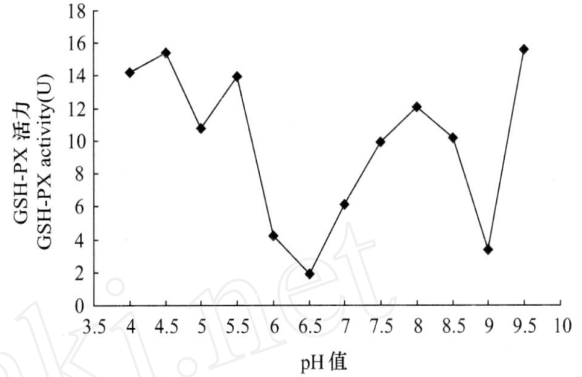


图 6 pH 值对日本三角涡虫 GSH-PX 活力的影响

Fig. 6 The effect of pH on GSH-PX activity of *Dugesia japonica*

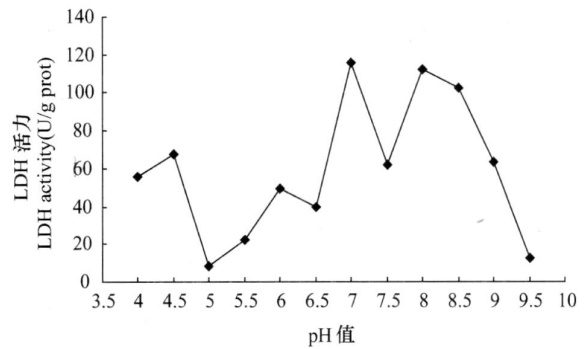


图 7 pH 值对日本三角涡虫 LDH 活力的影响

Fig. 7 The effect of pH on LDH activity of *Dugesia japonica*

### 2.4.2 pH 值对 ATP 酶活力的影响

以 pH 7.0 为起始点,在酸性条件下, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活力随 pH 值的降低整体呈现缓慢上升趋势(图 8);在碱性条件下,pH 7.5—9.0 时  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活力均高于 pH 7.0 时的酶活力,pH 9.5 时酶活力急剧下降(图 8)。

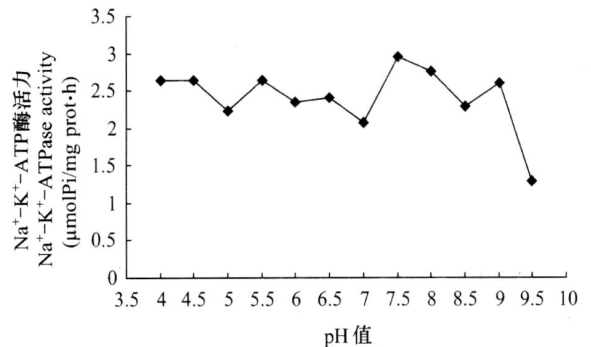


图 8 pH 值对涡虫  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活力的影响

Fig. 8 The effect of pH on  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  activity of *Dugesia japonica*

以 pH 7.0 为起始点,在碱性条件下,随 pH 值的增大  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活力虽波动大但上升趋势明显(图 9);在酸性条件下,除 pH 5.0 外, pH 5.5—7.5 和 pH 4.0—4.5 时  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活力均高于 pH 7.0 时的酶活力(图 9)。

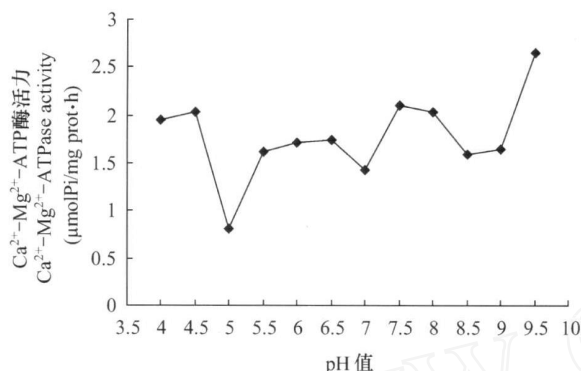


图 9 pH 值对日本三角涡虫  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶活力的影响

Fig. 9 The effect of pH on  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase activity of *Dugesia japonica*

### 3 讨论

pH 值与温度、盐度及溶氧等环境因素同样是水生生态系中主要的生态因子<sup>[2,3]</sup>,可能直接或间接地影响水生生物的生长、生殖及能量代谢等生命过程和种群消长<sup>[2,4-6]</sup>。本文结果表明,pH 值对日本三角涡虫的种群消长和无性横裂生殖具有明显的影响。培养 19d 后,培养液 pH 4.0—9.0 时涡虫种群均为正增长(图 2),但不同 pH 值下涡虫种群密度差异较大,pH 4.5—6.5 时,涡虫种群密度最高,pH 7.5—8.5 时次之,pH 7.0 时较低。显然,适度酸性环境和适度碱性环境能促进日本三角涡虫的无性横裂生殖,而中性环境(pH 7.0)涡虫的种群密度和种群瞬时增长率都不及适度酸性环境和适度碱性环境下的涡虫(图 2、图 3)。由于本研究采用的培养温度( $22 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 为适合日本三角涡虫进行无性横裂生殖的温度条件,所以涡虫种群瞬时增长率实际上反映的是无性横裂生殖率。许多研究表明,pH 7.0 是大多数水生生物生存适宜的酸碱度水平<sup>[3]</sup>,同样本研究 pH 7.0 实验组涡虫生存状况良好(运动、摄食等行为正常、保持一定的无性横裂生殖率以及零死亡率),但该实验组涡虫的无性横裂生殖率低于 pH 4.5—6.5 实验组和 pH 7.5—8.5 实验组。适度酸或碱性环境能促进无性横裂生殖的原因可以从以下两个方面考虑:(1)假定 pH 7.0 是日本三角涡虫生存的最适酸碱度,pH 4.5—6.5 实验组和 pH 7.5—8.5

实验组涡虫具有比 pH 7.0 实验组涡虫较高的无性横裂生殖率可能是涡虫对偏酸或偏碱的酸碱度胁迫的响应;(2)涡虫生存最适酸碱度与涡虫无性横裂生殖最适酸碱度可能不一致。上述两种可能性导致的结果是一致的,即涡虫在水环境 pH 值偏酸或偏碱的逆性环境时无性横裂生殖率得到一定的提高以保持种群的数量,无性横裂生殖率的提高更可能是涡虫抗逆性环境时的应急反应。同时,本实验的结果也表明,刺激涡虫无性横裂生殖率提高的 pH 值偏离范围是有限度的,pH 值低于 4.5 或高于 8.5 时涡虫无性横裂生殖率下降、或种群负增长或涡虫死亡。

SOD、CAT 和 GSH-PX 是生物体中协同发挥保护作用的 3 种重要的抗氧化酶<sup>[7]</sup>。SOD 的生理作用是将超氧阴离子自由基通过歧化反应生成过氧化氢和氧分子,而 CAT 可以将过氧化氢转变成水和氧,从而防止氧自由基对机体中生物大分子(DNA、蛋白质等)的氧化损伤。GSH-PX 的主要生物学作用是清除脂类过氧化物,并在 CAT 含量很少或  $\text{H}_2\text{O}_2$  产量很低的组织中,替代 CAT 清除  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;此外,该酶尚可广泛地清除有机氢过氧化物。有研究表明,在逆性环境因子如紫外线辐射胁迫下,涡虫体内的 SOD、CAT、GSH-PX 活力都呈现增加的趋势<sup>[8]</sup>;而本研究中,当 pH 值偏离 7.0 (偏酸或偏碱)时,CAT 和 GSH-PX 活力整体都呈现增加的趋势,唯独 SOD 活力明显下降。酸碱度胁迫和紫外线辐射胁迫对涡虫的影响程度和机制可能存在一定的差异,因而涡虫体内主要由 SOD、CAT 和 GSH-PX 组成的保护酶系对这两种不同的逆性环境因子胁迫的响应也产生了差别。

LDH 是一种重要的葡萄糖代谢酶,它能催化丙酮酸还原成乳酸,完成葡萄糖的无氧酵解过程;同时 LDH 又可调节 NAD 与 NADH 的比率,从而对细胞内的一系列的生化反应起调控作用<sup>[9]</sup>。本实验结果表明,当 pH 值偏离 7.0 (偏酸或偏碱)时,涡虫 LDH 的活力总体呈下降趋势,这与紫外线辐射胁迫抑制涡虫 LDH 活力的结果类似<sup>[8]</sup>。

$\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATP 酶和  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶对维持细胞膜内外离子梯度差具有重要的生理意义<sup>[10]</sup>。pH 值对水环境中各种离子的存在形式及迁移过程都有明显影响<sup>[3]</sup>,酸碱度胁迫有可能间接或直接影响涡虫细胞内外的离子转运,pH 值偏离 7.0 (偏酸或偏碱)整体促进涡虫  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATP 酶和  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶的活力说明了这一点。

值得注意的是,CAT、 $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATP 酶和  $\text{Ca}^{2+}$ - $\text{Mg}^{2+}$ -ATP 酶在 pH 6.5 和 7.5 时的活力与 pH 7.0 时

的活力相比均有大幅度提高,SOD和LDH在pH 6.5和7.5时的活力与pH 7.0时的活力相比均有大幅度下降,这与涡虫在pH 6.5和7.5时种群瞬时增长率明显高于pH 7.0时的种群瞬时增长率(图3)这一现象之间可能有内在的联系;至少在一定程度上证实了pH 4.5—6.5和pH 7.5—8.5时涡虫的无性横裂生殖率比pH 7.0时的高可能是涡虫对酸碱度胁迫产生响应的推测。特别是反映生物体抗氧化水平的重要指标CAT活力pH 4.0—9.5范围内与涡虫种群密度呈现明显的正相关(CAT活力( $Y$ )与培养第27天涡虫种群密度( $X$ )之间的回归关系: $Y = 0.706X + 1.567$ ,  $R^2 = 0.614$ ,  $p = 0.003$ ),pH 4.5—6.5和pH 7.5—8.5时的CAT活力是pH 7.0时酶活力的3—8倍(图4),抗氧化酶活力提高往往是生物体对逆性环境的应急反应<sup>[8]</sup>,涡虫pH 7.0时CAT活力最低暗示了pH 7.0是涡虫最适宜的酸碱度水平。

#### 参考文献:

- [1] Hickman C P, Roberts L S, Larson A. Animal diversity (third edition) [M]. New York: McGraw-Hill Higher Education. 2003, 139—155
- [2] Zhang S L, Ma H G, Song W B. Experimental ecology studies on the marine ciliate *Paranophrys magna* III The effects of pH on population growth [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2001, 7(3): 244—247 [张绍丽, 马洪钢, 宋微波. 海洋纤毛虫—巨大拟阿脑虫的实验生态学研究 III pH对种群生长的影响. 应用与环境生物学报, 2001, 7(3): 244—247]
- [3] Lin Y Z. Ecology [M]. Beijing: Science Press. 2004, 11—45 [林育真. 生态学. 北京: 科学出版社. 2004, 11—45]
- [4] Zhuang D H. The effects of low pH value on survival, growth and reproduction of *Daphnia magna* [J]. *China Environmental Science*, 1994, 14(2): 107—111 [庄德辉. 低pH值对大型溞存活、生长和生殖的影响. 中国环境科学, 1994, 14(2): 107—111]
- [5] Yang C Z, Zhang Q, Yu M H. The pH effect of hatching solution on hatching percentage of *Artemia cysis* and on survive percentage of *Artemia* Larvae [J]. *Journal of August 1<sup>st</sup> Agriculture College*, 1994, 17(2): 25—28 [杨承忠, 张强, 俞梅辉. 孵化液pH值对卤虫卵孵化率及无节幼体存活率的影响. 八一农学院学报, 1994, 17(2): 25—28]
- [6] Zhou Z J, Liu Q, Song Z X, et al. The effect of pH and several metal ions on the reproduction of *Brachionus plicatilis* [J]. *Journal of Dalian Fisheries College*, 2000, 15(2): 119—124 [周竹君, 刘青, 宋智修, 等. pH和几种金属离子对褶皱臂尾轮虫增殖的影响. 大连水产学院学报, 2000, 15(2): 119—124]
- [7] Li J, Zhao H Y, Zhao X D. Study on effect of ecological characteristics and enzyme activity of Aphid radiated by different intensities of ultra-violet [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2005, 33(4): 61—64 [李军, 赵惠燕, 赵学达. 不同强度紫外线对蚜虫生态学特征及有关酶活性的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33(4): 61—64]
- [8] Pan H C, Wang F F, Wu B S, et al. Damage of *Dugesia japonica* Radiated by Shortwave Ultraviolet (UV-C) and Effect of the Radiation on Activities of Its Six Kinds of Enzymes [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2007, 16(5): 563—568 [潘红春, 王芳芳, 吴宝山, 等. 短波紫外线(UV-C)对日本三角涡虫的损伤及6种酶活力的影响. 激光生物学报, 2007, 16(5): 563—568]
- [9] Zhang X, Zhu H S. Effects of He-Ne laser on LDH, DH and peroxidase in *Poecilia Reticulata* [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 1997, 6(2): 1062—1067 [张欣, 朱鹤孙. 氦—氖激光照射对孔雀鱼乳酸脱氢酶等的作用效应. 激光生物学报, 1997, 6(2): 1062—1067]
- [10] Lu Y M, Lu L, Lin Y H, et al. The effect of low pH on  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activity of gill tissues of the common carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, 25(1): 101—103 [卢健民, 卢玲, 蔺玉华, 等. 低pH对鲤鳃组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性的影响. 水生生物学报, 2001, 25(1): 101—103]

## EFFECT OF MEDIUM pH ON POPULATION GROWTH, ASEXUAL REPRODUCTION AND ACTIVITY OF SIX ENZYMES OF *DUGESIA JAPONICA*

PAN Hong-Chun, FAN Jie, WANG Fang-Fang and SUN Zhen

(Key Laboratory of Biological Macromolecular Evolution, College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000)

**Abstract :** The planarian *Dugesia japonica* has a very wide distribution throughout fresh water body in China, especially in mountain streams. Because of the advantages of easy laboratory culture and fast asexual reproduction rate, *Dugesia japonica* is generally used as an experimental animal for cell biology, reproductive biology and stem cell as well as animal regeneration research. pH is one of the important factor affecting population dynamics, reproductive and other life activities of aquatic organisms, and is also the basic laboratory culture condition of planarian. However, there were no reports about the effect of pH on planarian asexual reproduction and population dynamics. The purpose of the present study was to make certain appropriate pH value for large-scale laboratory cultivation of the planarian. In addition, the study can provide the first-hand information for the in-depth research about planarian adaptability to the environment.

With the method of population accumulation culture, the effect of medium pH on survival, population growth, asexual reproduction and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-PX), lactic dehydrogenase (LDH),  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  and  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  of *Dugesia japonica* was observed. The result indicates that the threshold of pH is 3.0—11.0, the appropriate pH range is 4.5—8.5. pH had evident effects on planarian population growth, population density and population instantaneous growth rate varied obviously with different media pH. After 27 days, the planarian population increased positively at pH 4.0—9.0, and at pH 4.5—6.5, the planarian population density was the highest, at pH 7.5—8.5, it was higher, at pH 7.0 was lower, and at pH 4.0 and pH 9.0, it was the lowest; whereas, at pH 9.5 the planarian population increased negatively. Planarian at pH 7.0 is in very good condition (such as normal feeding and locomotion behavior, maintaining a certain asexual reproductive rate and zero mortality), but the asexual reproductive rate of planarian at pH 7.0 is lower than that at pH 4.5—6.5 and pH 7.5—8.5. It is possibility that the higher asexual reproduction rate of the planarians at pH 4.5—6.5 and pH 7.5—8.5 than that at pH 7.0 is the response of planarian to the intimidation of acidity or alkalinity, another possibility is that the moderate pH value for planarian survival is not consistent with one for asexual reproduction by transverse fission.

When media pH departed from 7.0 (media pH becomes acid or alkali), the activities of CAT, GSH-PX,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  and  $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$  had the increasing trend, while the activities of SOD and LDH had the decreasing trend. That is to say, the activities of the planarian's six enzymes all changed evidently with the departure of media from pH 7.0. Especially, planarian population density in the range of pH 4.0—9.5 correlated positively with the level of CAT activity which is deemed as an important indicator of antioxidant level of organisms. For example, the formula of the regression relationship between CAT activity ( $Y$ ) and planarian population density ( $X$ ) at the 27<sup>th</sup> day is  $Y = 0.706 X + 1.567$  ( $R^2 = 0.614$ ,  $p = 0.003$ ). Furthermore, the level of CAT activity at pH 4.5—6.5 and pH 7.5—8.5 is 3—8 times higher than that at pH 7.0. Inverse environment usually causes the raise of antioxidant enzyme level, and it was a hint that pH 7.0 is the most suitable pH value for planarian survival.

**Key words :** *Dugesia japonica*; pH; Population growth; Asexual reproduction by transverse fission; Antioxidant enzyme; Metabolic enzyme