

DOI: 10.12264/JFSC2021-0077

Cd 胁迫对泥蚶 Cd 积累及相关生理代谢的影响

李宗访^{1,2,3}, 滕爽爽², 张炯明², 方军², 肖国强^{1,2}, 谢尚庶³

1. 浙江海洋大学, 浙江 舟山 316022;

2. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室温州市海洋生物遗传育种重点实验室, 浙江 温州 325005;

3. 瑞安市农业农村局, 浙江 温州 325200

摘要: 为了探讨镉(Cd)胁迫对泥蚶(*Tegillarca granosa*)体内重金属 Cd 含量积累、相关酶活力变化及基因表达水平的影响, 本研究将泥蚶暴露于 Cd 质量浓度为 0 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L 的海水中, 对其软体部 Cd 含量, 超氧化物歧化酶(SOD)和三磷酸腺苷酶(ATP)的酶活力, 丙二醛(MDA)含量以及 ATP 结合盒转运子 A 家族(ABCA3)、金属硫蛋白(MT)、ATP 合酶(ATP)、超氧化物歧化酶(SOD)基因表达等指标的变化进行分析。结果显示, Cd 胁迫后泥蚶软体部 Cd 含量明显增加, 呈现明显的时间-剂量效应; Cd 胁迫后 0.05 mg/L 和 0.1 mg/L 质量浓度组中鳃和外套膜 Cd 含量显著高于其他组织($P<0.05$), 0.5 mg/L 组内脏团 Cd 含量最高。Cd 胁迫后泥蚶内脏团中 SOD 酶和 ATP 酶活力及 MDA 含量前期呈上升趋势, 后期呈现下降趋势, 且均高于对照组。Cd 胁迫后 ABCA3、SOD、MT 基因表达上调, ATP 合酶基因的表达与对照组相比没有显著变化。胁迫后泥蚶软体部 Cd 大量增加, 诱导机体产生氧化应激反应, 泥蚶通过调整自身酶活力和相关基因表达水平的变化, 减少 Cd 胁迫产生的氧自由基对自身的毒害作用。

关键词: 泥蚶; Cd 胁迫; Cd 积累; 酶活力; 基因表达

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)11-1436-11

泥蚶(*Tegillarca granosa* Linnaeus)隶属于软体动物门(Mollusca)、瓣鳃纲(Lamellibranchia)、列齿目(Taxodonta)、蚶科(Arcidae)、泥蚶属, 是一种广温性双壳贝类, 一般分布在我国山东以南沿海地区, 如浙江、福建、广东等。泥蚶因为没有水管, 运动能力比较差, 容易暴露在海洋污染物中。泥蚶属于滤食性生物, 在进食时容易将水体中的重金属污染物吸附到体内, 对重金属有较强的富集能力^[1]。

海洋中 Cd 的污染源分为天然来源和人为来源。天然来源主要是海底火山喷发或自然风化侵蚀通过大气循环将 Cd 带入海洋。人为来源包括矿山废水的排放、生活废水以及工业废水的大量

排放^[2]。海域水体中重金属污染的来源有很多, 其中工业生产废水和人类生活中产生的生活废水是造成重金属污染的直接来源^[3]。海洋环境中的 Cd 主要以 CdCl 的胶体状态存在, CdCl 易溶于水, 对海洋生物的毒性较高^[4]。

Cd 是一种生物非必需的毒副作用很强的重金属元素^[5], 它通过消化道、鳃和体表渗透等方式进入生物体^[6], 能长期停留在生物体内。Cd 进入生物体内将对其造成一定的危害, 能加快生物体内的活性氧和自由基的形成, 活性氧会对细胞膜中的多不饱和脂肪酸进行攻击, 造成机体组织损伤从而导致机体产生各种病理反应^[7]。Cd 对水生生物的毒害作用主要表现为对早期发育^[8-9]、生理生

收稿日期: 2021-02-22; 修订日期: 2021-04-06.

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31902358); 国家重点研发计划项目(2018YFD0901405-2); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-49); 温州市农业新品种选育协作组项目(2019ZX001-1).

作者简介: 李宗访(1992-), 女, 硕士研究生, 主要从事滩涂贝类遗传育种研究. E-mail: 1542185347@qq.com

通信作者: 肖国强, 研究员, 主要从事遗传育种和养殖环境生态修复研究. E-mail: xiaogq1978@163.com

化指标^[10-11]、细胞超微结构^[12-13]等方面的影响。

目前, 泥蚶在重金属 Cd 胁迫下的研究主要集中在泥蚶对重金属 Cd 的生物富集动力学研究^[14]、急性毒性^[15]、免疫响应^[16]等方面。例如, 李学鹏等^[17]对杭州市近江市场上泥蚶、文蛤(*Meretrix meretrix* Linnaeus)等食用贝类进行重金属含量调查, 发现 Pb 和 Cd 超标, 其中 Cd 超标严重。顾海龙等^[11]研究了低浓度 Cd 28 d 暴露下, 泥蚶内脏团和鳃两种组织抗氧化酶活性的变化。Bao 等^[18]利用代谢组学和蛋白质组学方法研究了泥蚶经 Cd 暴露后鳃组织蛋白质和代谢产物的变化, 揭示了 Cd 潜在的毒理学途径。王召根等^[15]研究了重金属 Cu、Cd 对泥蚶的急性毒性影响。陈彩芳等^[12]从细胞显微和超微结构方面进行研究, 分析了 Cd 胁迫对鳃和肝脏的影响。Chen 等^[19]通过克隆卵黄原蛋白基因(Vg)全长, 发现 Cd 胁迫后泥蚶体内金属硫蛋白基因(MT)和卵黄原蛋白基因(Vg)表达量上升, 说明 Cd 的累积对泥蚶产生一定的危害使泥蚶的解毒机制启动。本研究从 Cd 含量、酶活力、基因转录这 3 个层次综合起来研究 Cd 胁迫对泥蚶的影响, 揭示泥蚶 Cd 富集表型与基因表达、生化变化的相关关系, 以期为滩涂贝类分子生态毒理学研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验泥蚶采自浙江省台州市三门县(28°53'N, 121°36'E), 泥蚶为二龄群体, 壳长为(33.58±1.53) mm, 湿重为(13.27±1.81) g, 沙滤海水暂养 7 d, 暂养期间进行曝气, 每天定时进行换水、投喂亚心型扁藻(*Platymonas subcordiformis*)1 次, 扁藻数量为(1.0~4.0)×10⁴/mL。

1.2 胁迫实验及取样

用蒸馏水将氯化 Cd (CdCl₂·2.5H₂O 分析纯)配制成浓度为 20000 mg/L 的母液备用; 参照《海水水质标准》(GB 3097-1997)和文献[20], 设置实验组 Cd 质量浓度梯度为 0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L, 并以未添加 Cd 的沙滤海水作为对照组, 沙滤海水中 Cd 的本底值为(0.24±0.06) μg/L, 各组均设 3 个平行, 每个平行中放 100 个泥蚶, 实验在

100 L 的塑料桶中进行。

实验前将所用容器用配制好的含有 Cd 的实验海水浸泡 2 d, 使得其对重金属的吸附达到饱和状态。实验共进行 30 d, 实验期间持续充气, 每 24 h 换水 1 次, 并投喂扁藻。为避免重金属对环境造成污染, 实验期间所产生的废水用金属离子螯合剂 EDTA 处理后排出生。

在实验第 0、2、5、10、20、30 天进行取样, 每个实验组每次取样 25 个, 其中 10 个样品取整个软体部 60 °C 烘干, 用于重金属 Cd 含量检测; 5 个样品取鳃液氮速冻后保存于-80 °C, 用于荧光定量 PCR 分析; 10 个样品取内脏团-80 °C 保存用于酶的活性测定。另外在实验开始(0 d)和实验结束(30 d、0.5 mg/L 浓度组所取泥蚶为胁迫 10 d 后的)时每个组取 30 个泥蚶, 分别取外套膜、内脏团、鳃、足、闭壳肌 5 个组织 60 °C 烘干, 用于检测泥蚶各组织的重金属 Cd 含量。

1.3 实验方法

1.3.1 重金属含量测定 取泥蚶所需检测部位(软体部和 5 个组织), 纯水冲洗表面 60 °C 烘干, 消解前 105 °C 烘 2 h。称取 0.2 g 样品放到微波消解罐中, 加入 10 mL HNO₃ 和 2 mL H₂O₂ 混匀, 旋紧密封盖放置过夜, 第 2 天进行微波消解。消解结束后冷却至室温, 200 °C 将酸维持在 0.5~1.0 mL。冷却后用纯水定容至 10 mL, 混匀。用 0.45 μm 和 0.22 μm 滤膜过滤后备用。标准样品 GBW10024 (GSB-15) 扇贝-生物成分分析标准物质和试剂空白样品, 采用相同方法消解。使用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS-7700, Agilent)进行上机检测。

1.3.2 酶活力测定 解剖泥蚶取其内脏团, 在冰上操作, 按照质量体积比 1 : 9 将组织样品与预冷生理盐水(已灭菌)加入 1.5 mL 离心管中, 电动匀浆器冰浴匀浆, 制成 10% 的组织匀浆液; 随后将组织匀浆液于 4 °C、2500 r/min 条件下离心 10 min, 吸取上清液分装到新离心管中, -80 °C 保存待测。

丙二醛(MDA)含量的测定使用硫代巴比妥酸法(TBA), 超氧化物歧化酶(SOD)检测采用黄嘌呤氧化酶法, 三磷酸腺苷(ATP)检测采用化学比色法。以上所需试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。样品总蛋白含量的测定使用碧云天 BCA

试剂盒。

1.3.3 基因表达实时定量分析 用 EASYspin Plus 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司, RN2802)提取总 RNA, 并检测其完整性和纯度。用 PrimeScript™ RTreagent Kit with gDNA Eraser (Perfect Real Time)反转录试剂盒(大连宝生物工程有限公司, RR047A)反转合成 cDNA 第一链。用 TB Green® Premix Ex Taq™ II(Tli RNaseH Plus)试剂盒(大连宝生物工程有限公司, RR820A)进行 qRT-PCR。引物序列见表 1。

表 1 实验所用到的引物序列
Tab. 1 Primer sequences for experiment

引物 primer	序列(5'-3') sequence (5'-3')	引物来源 source of primer
18S-F	CTTTCAAATGTCTGCCCTATCAACT	[21]
18S-R	TCCCGTATTGTTATTTTCGTCAC	
β-actin-F	GCCGCTTCTTCATCCTCAT	[22]
β-actin-R	GTCGGCAATACCTGGGAAC	
ATP-F	ATACGGACAGATGAACGAG	[23]
ATP-R	GGAATACGACCCAACAAA-3	
SOD-F	TCCAAATAGCTTCCGTTTACGTG	[22]
SOD-R	CACTGTTTAGCAGCAGCAAGTC	
MT-F	TGCCGGCGATAACTGCCGAT	[24]
MT-R	TGTCACGTGTTACACGGACACGA	
ABCA3-F	AACGGATCTGGTGCAAACGC	自主设计, 序列来源于泥蚶全基因组, 未发表
ABCA3-R	CCCCTAACAGCCTGGAATGAG	self-disgning

1.4 数据处理

实验所得数据用 Excel 分析处理, 以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 并用 SPSS22.0 对数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA), 采用 Tukey 和 Dunnett's T3 多重比较法分析组间差异水平, 以 $P < 0.05$ 作为差异的显著性水平。

2 结果与分析

2.1 不同 Cd 浓度下泥蚶的死亡率

实验期间泥蚶死亡率如图 1 所示, 0.05 mg/L 组和 0.1 mg/L 组死亡变化趋势基本一致, 死亡率较低且都低于 5%。0.5 mg/L 组从第 4 天开始死亡率明显上升, 第 6 天累积死亡率为 17%, 第 10 天

累积死亡率达到 71%; 在第 12 天时, 该实验组泥蚶全部死亡, 累计死亡率达 100%。

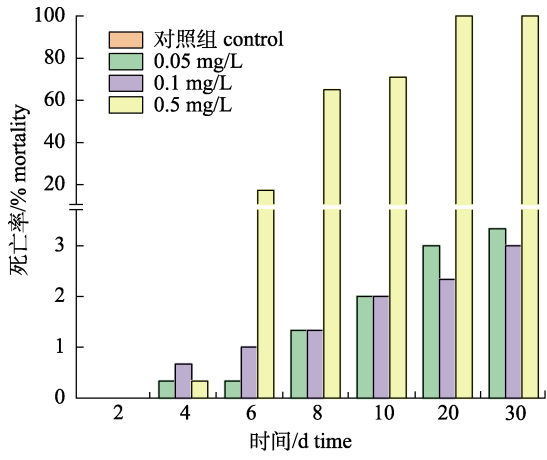


图 1 不同 Cd 浓度下泥蚶的死亡率
Fig. 1 Mortality of *Tegillarca granosa* under different concentrations of Cd

2.2 胁迫后泥蚶体内 Cd 含量的变化

泥蚶软体部 Cd 含量的检测结果如图 2 所示, 胁迫后泥蚶软体部 Cd 含量明显增加, 0.05 mg/L 组和 0.1 mg/L 组变化趋势基本一致, 胁迫 10 d 后 Cd 含量增长速度加快, 到 30 d 胁迫结束时 0.05 mg/L 浓度组的 Cd 含量约是初始浓度的 13 倍[(136.99±29.66) mg/kg], 0.1 mg/L 组的 Cd 含量约是初始浓度的 20 倍[(212.12±76.57) mg/kg], 0.5 mg/L 组 Cd 含量的增长速度从开始时就较快, 到 10 d 时泥蚶

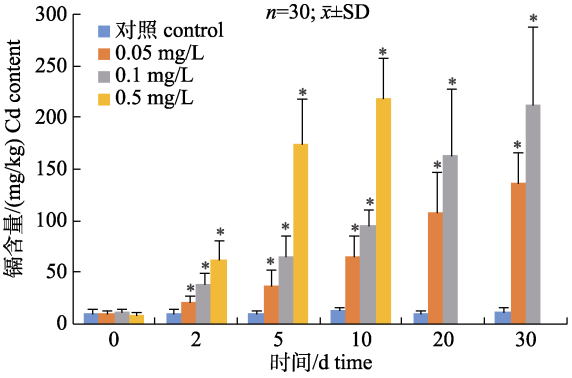


图 2 Cd 胁迫下泥蚶软体部 Cd 含量的变化
*表示在相同时间段, 实验组与对照组有显著性差异($P < 0.05$).

Fig. 2 Changes of Cd content in *Tegillarca granosa* after Cd exposed
* indicates that there is a significant difference between the experimental group and the control group at the same time ($P < 0.05$).

软体部 Cd 含量约是初始浓度的 21 倍 $[(218.64 \pm 39.06) \text{ mg/kg}]$ 。

对照组中泥蚶 5 个组织 Cd 含量在 0.76~29.59 mg/kg, 其中: 鳃>闭壳肌>内脏团>外套膜>足。胁迫 30 d 后, 0.05 mg/L 和 0.1 mg/L 浓度组趋势相同, 鳃中 Cd 含量最高, 外套膜次之, 足最低。0.5 mg/L 组胁迫 10 d 后泥蚶体内内脏团中 Cd 含量最高, 接下来依次为鳃、外套膜、足, 闭壳肌 Cd 含量最低(图 3)。

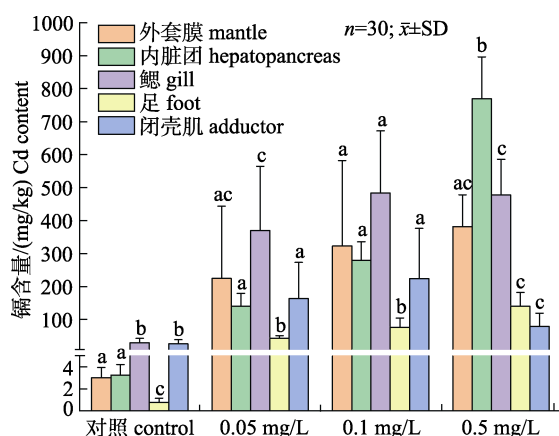


图 3 Cd 胁迫下泥蚶 5 个组织 Cd 含量的变化
不同字母表示在同一质量浓度下, 各组织中 Cd 含量有显著差异($P < 0.05$)。

Fig. 3 Changes of Cd content in the five tissues of *Tegillarca granosa* under the stress of Cd
Different letters indicate that the Cd content in different tissues is significantly different at the same concentration ($P < 0.05$).

2.3 Cd 对泥蚶生化水平的影响

SOD 酶活力变化如图 4a 所示。在实验 2 d 时, 3 个实验组的 SOD 酶活力开始上升, 第 5 天时 0.05 mg/L 浓度组、0.1 mg/L 浓度组和 0.5 mg/L 浓度组的 SOD 酶活力均达到最大值, 分别为 87.40 U/mg prot、94.22 U/mg prot、105.06 U/mgprot, 与对照组差别显著($P < 0.05$)。随后 3 个浓度组 SOD 酶活力略下降, 但都高于对照组, 并且无显著差别($P > 0.05$)。

如图 4b 所示, Cd 胁迫后 3 个实验组 ATP 酶活力变化趋势基本一致, 具体表现为先增加后减少再增加, 均高于对照组。其中, 0.5 mg/L 和 0.1 mg/L 组逐渐升高, 在 5 d 达到最大值, 分别为 7.70 U/mg prot、7.07 U/mg prot, 0.05 mg/L 组在 20 d 达到最大值 5.59 U/mg prot; 之后 0.05 mg/L 组 ATP 酶活

力基本维持在 5.30~5.59 U/mg prot, 0.1 mg/L 组 ATP 酶活力略微下降, 仍保持较高活力, 30 d 时约是对照组的 2.82 倍。

胁迫后泥蚶 3 个质量浓度组 MDA 含量均呈上升趋势, 10 d 时达到最大值, 分别为 10.53 nmol/mg prot、8.64 nmol/mg prot、6.49 nmol/mg prot, 随后 MDA 含量开始下降, 到 30 d 时 0.05 mg/L 组和 0.1 mg/L 组 MDA 含量与对照组无显著差异($P > 0.05$, 图 4c)。

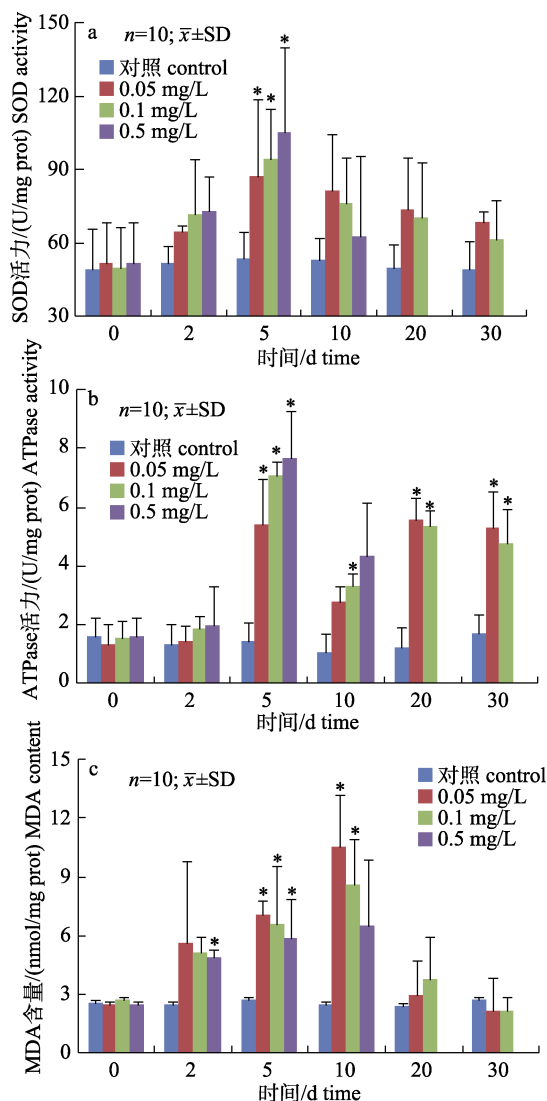


图 4 Cd 胁迫对泥蚶内脏团 SOD、ATP 酶活力及 MDA 含量的影响

*表示在相同时间段, 实验组与对照组有显著性差异($P < 0.05$)。

Fig. 4 Effects of Cd stress on SOD and ATPase activity, and MDA content in *Tegillarca granosa* hepatopancreas
* indicates that there is a significant difference between the experimental group and the control group at the same time ($P < 0.05$).

2.4 Cd 对泥蚶基因转录水平的影响

SOD 基因的变化趋势如图 5a 所示, 0.1 mg/L 组 *SOD* 基因的表达量在实验 2 d 时开始呈现上升趋势, 20 d 时达到最大值随后开始下降, 到 30 d 时表达量显著低于对照组。0.5 mg/L 和 0.05 mg/L 组 *SOD* 基因的表达量在实验 2 d 和 5 d 时略低于对照组, 10 d 时高于对照组但差异不显著, 随后又逐渐降低直到实验结束。

整个实验期间 3 个浓度组 *ATP* 合酶基因的表达量与对照组相比都没有显著变化(图 5b)。

如图 5c 所示, 整个实验期间 0.5 mg/L 组 *ABCA3* 基因的表达量高于 0.1 mg/L 组和 0.05 mg/L 组。实验 2 d 时 0.5 mg/L 浓度组 *ABCA3* 基因表达量开始上调, 5 d 时 0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L 组的表达量达到最大值, 分别是对照组的 1.32 倍、1.58 倍、1.67 倍, 到实验 30 d 时 0.05 mg/L 和 0.1 mg/L

浓度组的表达量略低于对照组。

如图 5d 所示, Cd 胁迫后各质量浓度组 *MT* 基因表达量与 Cd 浓度呈正相关, 具有明显的剂量效应($P<0.05$)。0.5 mg/L 组在实验 5 d 时达到最大值, 约是对照组的 22.36 倍, 0.1 mg/L 组和 0.05 mg/L 组在 10 d 达到最大值, 分别是对照组的 8.83 倍和 5.26 倍左右, 随后逐渐降低, 但仍高于对照组。

3 讨论

3.1 Cd 胁迫对泥蚶体内 Cd 含量的影响

本研究采用 ICP-MS 检测泥蚶软体部 Cd 含量, 发现胁迫后泥蚶软体部 Cd 含量明显增加, 0.5 mg/L 组泥蚶软体部 Cd 含量的增长速度要快于 0.1 mg/L 组和 0.05 mg/L 组。实验结束时 0.5 mg/L、0.1 mg/L、0.05 mg/L 3 个质量浓度组泥蚶软体部 Cd 含量终含量分别是初始质量浓度时的 21 倍、20 倍、13 倍。

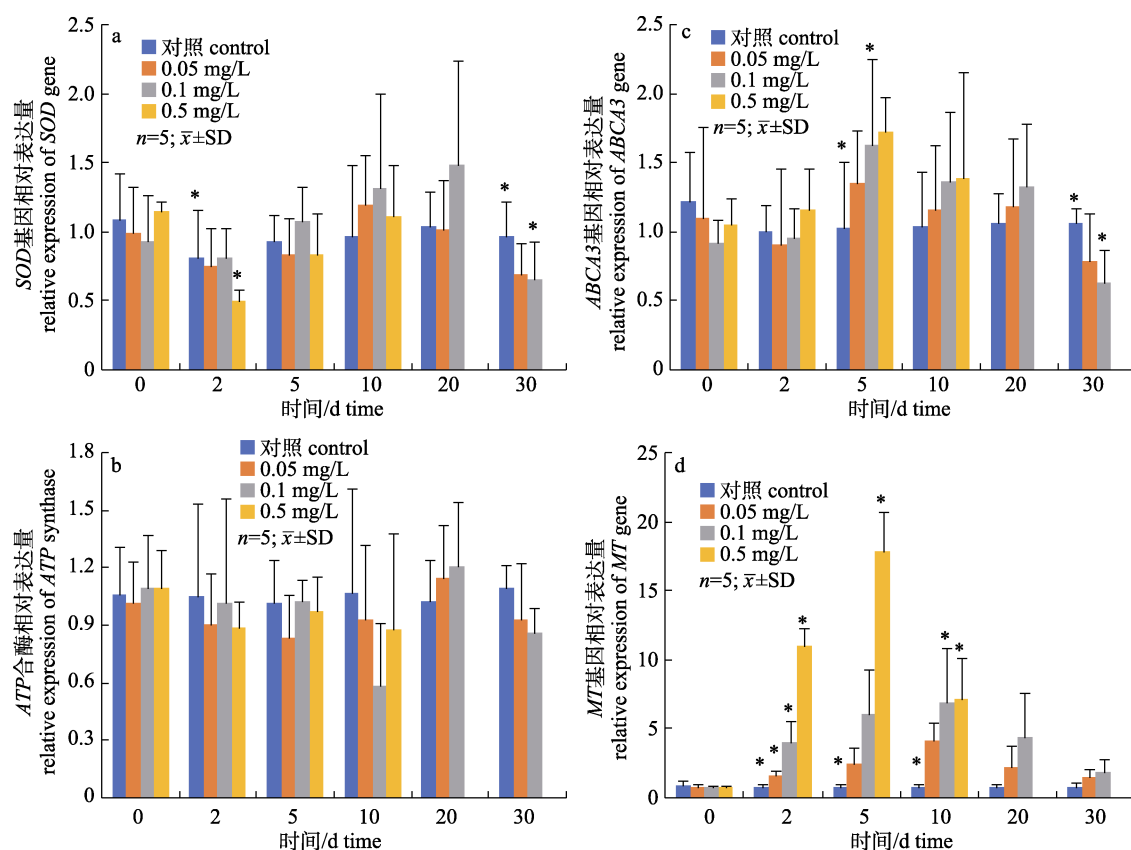


图 5 Cd 胁迫对泥蚶基因转录水平的影响

*表示在相同时间段, 实验组与对照组有显著性差异($P<0.05$)。

Fig. 5 Effects of Cd stress on the transcription level of *Tegillarca granosa* genes

* indicates that there is a significant difference between the experimental group and the control group at the same time ($P<0.05$).

说明泥蚶通过外套膜和鳃的滤食、呼吸作用能够将水体中的重金属吸附到体内,达到几十倍的累积,并且随着胁迫时间的延长和水中 Cd 水平的增加,泥蚶软体部的 Cd 含量会快速积累,呈现明显的时间-剂量效应。

泥蚶不同组织中 Cd 含量测定结果显示,在对照组中 Cd 含量最高的部位为鳃组织,胁迫 30 d 后 0.05 mg/L 组、0.1 mg/L 组泥蚶 5 个组织同样是鳃中 Cd 含量最高,鳃作为泥蚶的呼吸器官和滤食器官,可以直接、不间断地从海水中累积大量的 Cd,因此泥蚶鳃组织中 Cd 含量较高,与霍礼辉等^[25]的研究结果相似。他们发现泥蚶各组织器官对 Cd 的富集能力是鳃>肌肉>内脏团。而 0.5 mg/L 组胁迫 10 d 后泥蚶内脏团中的 Cd 含量大于鳃组织中的 Cd 含量,可能原因是该实验组 Cd 浓度较高,对鳃组织造成一定程度的损伤,鳃组织因此发挥其潜在的解毒功能。陈彩芳等^[12]研究发现随着重金属 Cd 浓度的增加,在显微结构方面鳃丝内腔隙显著增大,鳃丝出现相互融合、断裂的现象;超微结构方面发现鳃上皮细胞出现黑色嗜钼性物质和次级溶酶体,他们推测嗜钼性物质为重金属在贝体内的累积,并且出现的次级溶酶体对重金属累积有一定的解毒功效。

3.2 Cd 胁迫对泥蚶生化酶活性的影响

Cd 可以通过多种方式从外界进入到泥蚶体内,如通过消化道、鳃、体表渗透等,Cd 进入生物体内可以加快体内自由基和活性氧(ROS)的形成,ROS 会对细胞膜中的多不饱和脂肪酸进行攻击,伤害细胞使其产生大量的 MDA,对机体造成严重危害^[26]。泥蚶在遇到外界环境干扰时可以启动抗氧化防御系统,细胞及体液免疫防御系统、通过调节各种生理因子来保持机体正常生理代谢的稳定。

SOD 是机体用来防御过氧化损害系统的一种酶,作用是清除生物体内过量的自由基,使体内自由基的代谢保持平衡,保护细胞正常的代谢不受破坏^[25]。研究表明,当受到轻度外界环境干扰时,低浓度毒物可使生物体中 SOD 活性升高,此种现象被称为“毒物兴奋效应”^[27]。而受到严重的外界环境干扰时,SOD 活性将受到抑制呈现下降

趋势,使生物体内的活性氧大量聚集,对生物体造成一定的损伤^[9]。孙彬等^[10]的研究表明,SOD 的活性与 Cd 胁迫时间和浓度有较强的相关性,在实验前期各浓度组 SOD 活性受到诱导,随着胁迫时间的增加各浓度组的 SOD 活性逐渐下降,高浓度组活性显著低于对照组($P<0.05$)。在鱼类研究中也出现类似现象,鲫暴露在一定范围的 Cd 浓度下可以诱导其鳃和肝胰腺组织 SOD 的活性,但是随着实验时间的增加以及 Cd^{2+} 的不断累积,SOD 活性出现显著的抑制现象^[28]。

本研究结果显示 Cd 对泥蚶的 SOD 酶活性影响基本处于诱导状态,变化趋势为先升高后降低。和孙彬等^[10]的研究结果相似,SOD 酶的活性在胁迫前期受到诱导活性上升,这是因为泥蚶受到外界刺激,机体自身防御系统做出响应,通过增加 SOD 酶活性,来降低 Cd 诱导的 ROS 对机体造成的毒害作用;随着胁迫时间的延长,泥蚶体内的 Cd 不断进行累积,泥蚶通过调整 SOD 酶活性来适应外界环境的干扰。

ATP 酶又称为三磷酸腺苷酶,是一类能将三磷酸腺苷(ATP)催化水解为二磷酸腺苷(ADP)和磷酸根离子的酶,可为生物提供能量,参与生物体内的能量代谢。本研究结果中 ATP 酶活性的变化趋势为上升-下降-上升-趋于平稳,但均高于对照组,这说明泥蚶机体应对重金属离子引起的一系列毒害作用进行响应,在此过程中需要大量的 ATP 为解毒系统提供能量。这与吴婷婷等^[29]研究结果相似,他们对 Cd 诱导鲫肝细胞 Ca^{2+} -ATP 酶活性的变化进行研究,发现 Cd 可以导致胞内 Ca^{2+} 浓度和 Ca^{2+} -ATP 酶活性升高。

重金属胁迫能促进机体氧自由基的形成,氧自由基不但能通过生物膜中多不饱和酸的过氧化引起细胞损伤,还可以通过脂氢过氧化物的分解产物引起细胞损伤。脂质氧化终产物为丙二醛(MDA),其含量的变化能够反映脂质过氧化程度及重金属对机体损伤程度,间接地反映环境中重金属污染的程度。研究发现,重金属胁迫会导致软体动物、鱼类等^[7,11,26,30]脂质过氧化水平的提高。刘浩明等^[31]研究发现,暴露在不同 Cu^{2+} 浓度下,各组缢蛭(*Sinonovacula constricta*)稚贝的

MDA 含量均高于对照组,尤其是 6 h 内 MDA 的含量显著增加。本研究同样发现不同 Cd 浓度胁迫组泥蚶 MDA 含量明显高于对照组($P<0.05$),在 10 d 时均达到最大值,随后开始下降但高于对照组,30 d 时与对照组没有显著差异,说明 Cd 胁迫可以加快泥蚶体内 ROS 的形成,ROS 会对细胞膜中的多不饱和脂肪酸进行攻击,伤害细胞从而使机体产生大量的 MDA。Vlahogianni 等^[26]研究发现,不同重金属离子(Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 和 Fe^{2+})亚致死浓度能对地中海贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)脂质过氧化作用产生一定影响,发现 4 种重金属均能增加其体内 MDA 的含量。

3.3 Cd 胁迫对泥蚶基因转录水平的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是机体防御过氧化损伤系统的关键酶之一,作为重金属防御氧化应激的第一道防线在防御机体氧化损伤方面具有重要作用^[32]。本研究中 0.05 mg/L (低浓度)组和 0.1 mg/L (中浓度)组 SOD 基因的表达量整体呈现先上升后下降的趋势,0.5 mg/L (高浓度)组 SOD 表达量为降低-上升-降低趋势,与胡利腾等^[33]在文章中提到的“在单一重金属离子组 SOD 表达量呈现出低中浓度组先升高后降低,高浓度组先降低后升高再降低的低浓度诱导高浓度抑制的变化趋势”的结论相似,说明低浓度的重金属离子对代谢有一定的“促进”作用,而高浓度的重金属离子则会阻碍机体生理代谢的正常进行。本研究中 SOD 酶活性的变化趋势与 SOD 基因略有不同,可能原因如下:一方面是二者的研究部位不同,酶活检测的是泥蚶的内脏团,即生理代谢的主要场所,基因检测的是鳃组织,即呼吸和滤食器官,一个是生理代谢的主要场所,另一方面,二者的研究层面不同,前者是从生化水平研究酶活性,后者是从转录水平研究基因表达变化,因此二者在相同的胁迫条件下结果变化略有差异。

ATP 是一种高能化合物,水解时能够释放大量的能量,是进行生命活动所需能量的直接来源。而 ATP 合酶是生物体内催化合成 ATP 的关键酶,位于 ATP 合酶上的 β 亚基在无脊椎动物的能量代谢中起到了至关重要的作用^[34]。本研究发现胁迫后 3 个浓度组的 ATP 合酶 20 d 时呈上升趋势,

其余时间段都略低于对照组但没有显著差异。张春丹等^[23]研究结果与本研究结果不同,他们发现经 Cd^{2+} 处理后,泥蚶 ATP 合酶基因表达量在血细胞和肝胰腺中呈上调趋势,说明泥蚶在遇到外界毒害刺激时需要 ATP 合酶合成大量的 ATP 提供能量给防御系统。出现这种结果的原因可能是二者研究的部位不同以及 3 种组织的功能不同。肝胰腺是生理代谢的主要场所,可以把有害物质转化为无害或毒害性比较小的物质,使其快速排出体外保证机体正常生理活动的稳定。血细胞在机体遇到外界刺激时可以发挥抵御外界环境刺激、保持机体正常代谢的重要作用。而鳃作为泥蚶的呼吸和滤食器官可以将部分有毒物质过滤掉。研究发现 ATP 酶活性对 Cd 的响应比基因表达要剧烈一些,推测出现该现象的原因与上述 SOD 的原因一样。

在无脊椎动物中,ABCA 转运蛋白参与细胞内离子、维生素、脂质等物质转运,被认为是生物体维持细胞内稳态、应对外界污染物质的第一道防线^[35]。已有研究发现,珊瑚、桡足类、鱼、牡蛎等生物重金属暴露后,它们的 ABCB1 基因或者蛋白表达水平都出现显著上调^[36-37]。Leslie 等^[38]研究发现,在水生生物和哺乳类中,ABC 转运蛋白可以把金属物质或者是它们的谷胱甘肽共轭化合物从细胞内转运到细胞外。在本研究中,Cd 胁迫泥蚶相关结果和其他研究结论相似,ABCA3 基因在 Cd 胁迫下出现表达上调现象,呈现时间和剂量效应,在实验 5 d 时表达量达到最大值,表明当环境中 Cd 浓度较高时,泥蚶细胞内外离子稳态被破坏,ABCA3 基因持续不断地将细胞内 Cd 离子转运出细胞外。史博^[39]研究发现牡蛎(*Crassostrea angulata*) 在 Cu 暴露实验下 ABCB1 基因表达量显著上调,表现出时间和剂量效应,并且在第 3 天出现表达量高峰,与本研究结果相似。

金属硫蛋白(metallothionein, MT)在维持生物体内必需金属含量的平衡以及对自身重金属解毒机制方面发挥重要作用。此外,MT 同样可作为检测水域重金属污染的指标。目前已发现 Zn、Cu、Cd 对生物体内 MT 的诱导有显著作用^[40]。任玉娟等^[41]研究发现背角无齿蚌(*Andonta woodiana*)暴

露在不同 Cd^{2+} 浓度组(0.5 mg/L、5 mg/L、50 mg/L)下,在攻毒 14 d 时 *MT* 含量出现显著诱导。谢清清等^[42]研究发现在 1 $\mu\text{g/L}$ 、3 $\mu\text{g/L}$ 、6 $\mu\text{g/L}$ 及 9 $\mu\text{g/L}$ 4 个浓度组重金属 Pb^{2+} 攻毒实验中, *MT* 基因表达量在 14 d 显著上调,但在暴露 14 d 后,基因表达量开始下降。整体随着时间的累积出现先上升后下降的变化趋势。本研究发现 Cd 胁迫下 3 个浓度组 *MT* 基因表达量在 2 d 时显著上调($P < 0.05$),在 5 d 时达到最大值,说明 Cd 的胁迫使 *MT* 大量表达参与机体的解毒。10 d 后 *MT* 基因的表达量增长速度逐渐降低,30 d 时表达量降至对照组附近,说明 Cd 刺激能诱导 *MT* 基因表达,合成大量的 *MT* 与 Cd 结合,当 *MT* 含量过高时会对自身的转录机制产生影响从而抑制其表达^[43]。

4 结论

本实验以泥蚶为研究对象,进行 Cd 胁迫实验,研究泥蚶对重金属 Cd 胁迫的响应,得到以下结论:(1) 随着胁迫时间的延长和 Cd 浓度的增加,泥蚶软体部的 Cd 含量会快速积累,呈现明显的时间-剂量效应。(2) 泥蚶内脏团组织中 SOD、ATP 酶活力和 MDA 含量均发生显著变化,Cd 胁迫后泥蚶体内 SOD、ATP 酶活力及 MDA 含量前期呈上升趋势,后期呈现下降趋势,但均高于对照组。(3) Cd 胁迫对泥蚶转录水平也造成了一定影响,上调了 *ABCA3*、*SOD*、*MT* 基因的表达,ATP 合酶基因的表达与对照组相比没有显著变化。

参考文献:

- [1] Wang X Y, Yang H S, Wang Q. Ecotoxicological effects of heavy metal pollution on bivalves: A review[J]. *Marine Sciences*, 2009, 33(10): 112-118. [王晓宇, 杨红生, 王清. 重金属污染胁迫对双壳贝类生态毒理效应研究进展[J]. *海洋科学*, 2009, 33(10): 112-118.]
- [2] Pekey H. The distribution and sources of heavy metals in Izmit Bay surface sediments affected by a polluted stream[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2006, 52(10): 1197-1208.
- [3] Zhang L J, Wang G, Yao D, et al. Environmental significance and research of heavy metals in offshore sediments[J]. *Marine Geology Letters*, 2003, 19(3): 6-9. [张丽洁, 王贵, 姚德, 等. 近海沉积物重金属研究及环境意义[J]. *海洋地质动态*, 2003, 19(3): 6-9.]
- [4] Xu Y. Studies on immune responses to heavy metal ions- Cd^{2+} , Pb^{2+} in *Ruditapes philippinarum*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012. [徐彦. 菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)对重金属离子- Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 免疫应激响应的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.]
- [5] Wang K. Trace Elements in Life Sciences[M]. Beijing: China Metrology Press, 1996: 850-885. [王夔. 生命科学中的微量元素[M]. 北京: 中国计量出版社, 1996: 850-885.]
- [6] Zyadah M A, Abdel-Baky T E. Toxicity and bioaccumulation of copper, zinc, and cadmium in some aquatic organisms[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2000, 64(5): 740-747.
- [7] Liu W C, Li M Y, Huang F Y, et al. Effects of cadmium stress on xanthine oxidase and antioxidant enzyme activities in *Boleophthalmus pectinirostris* liver[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(7): 1310-1314. [刘伟成, 李明云, 黄福勇, 等. 镉胁迫对大弹涂鱼肝脏黄嘌呤氧化酶和抗氧化酶活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(7): 1310-1314.]
- [8] Zhou L H, Chen X H, Qin D Z. The study on the toxicity of four kinds of heavy metal to *Misgurnus anguillicaudatus* embryo and juvenile fish[J]. *Journal of Xiamen Fisheries College*, 1994, 16(1): 11-19. [周立红, 陈学豪, 秦德忠. 四种重金属对泥鳅胚胎和仔鱼毒性的研究[J]. *厦门水产学院学报*, 1994, 16(1): 11-19.]
- [9] Wu D X, Hong W S. Study on toxicity of four heavy metals to embryo and larval of *Nibea miichthioides*[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 1999, 18(2): 186-190. [吴鼎勋, 洪万树. 四种重金属对鲢状黄姑鱼胚胎和仔鱼的毒性[J]. *台湾海峡*, 1999, 18(2): 186-190.]
- [10] Sun B, Ge Q W, Lu H X, et al. Effects of cadmium exposure on antioxidant enzyme system of *Tegillarca granosa*[J]. *Ecological Science*, 2011, 30(4): 383-388. [孙彬, 葛奇伟, 陆慧贤, 等. 镉对泥蚶抗氧化酶系统的影响[J]. *生态科学*, 2011, 30(4): 383-388.]
- [11] Gu H L, Shen W L, Sun C S, et al. Effect of long-term stress of low concentrations of Cd^{2+} on antioxidant defense system and the content of MDA in bloody clam (*Tegillarca granosa*)[J]. *Marine Environmental Science*, 2013, 32(5): 741-745. [顾海龙, 沈伟良, 孙长森, 等. 低浓度 Cd^{2+} 长期胁迫对泥蚶抗氧化防御系统及 MDA 含量的影响[J]. *海洋环境科学*, 2013, 32(5): 741-745.]
- [12] Chen C F, Shen W L, Huo L H, et al. Effects of cadmium on the microstructure and ultrastructure of gill and hepatopancreas in *Tegillarca granosa*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(4): 522-528. [陈彩芳, 沈伟良, 霍礼辉, 等. 重金属离子 Cd^{2+} 对泥蚶鳃及肝脏细胞显微和超微结构的影响

- [J]. 水产学报, 2012, 36(4): 522-528.]
- [13] Wu L D, Lin Z H, Shen W L, et al. Effect of Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} on the microstructure and ultrastructure of gill and hepatopancreas in *Tegillarca granosa*[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2015(2): 45-52. [吴林德, 林志华, 沈伟良, 等. Cd^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Hg^{2+} 对泥蚶鳃及消化腺显微结构和超微结构的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2015(2): 45-52.]
- [14] Li X P, Li J R, Duan Q Y, et al. Kinetic study on the bio-concentration of three heavy metals (Cu, Pb, Cd) in *Tegillarca granosa* Linnaeus[J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(4): 592-600. [李学鹏, 励建荣, 段青源, 等. 泥蚶对重金属铜、铅、镉的生物富集动力学[J]. 水产学报, 2008, 32(4): 592-600.]
- [15] Wang Z G, Wu H X, Wang Y H, et al. Acute toxic and joint toxic experiments of Cd^{2+} and Cu^{2+} on *Tegillarca granosa*[J]. Marine Sciences, 2014, 38(8): 16-20. [王召根, 吴洪喜, 王瑶华, 等. Cd^{2+} 和 Cu^{2+} 对泥蚶的急性毒性和联合毒性试验[J]. 海洋科学, 2014, 38(8): 16-20.]
- [16] Li P F, Lin Z H, Bao Y B. A novel tissue inhibitor of metalloproteinase 3 in blood clam *Tegillarca granosa*: Molecular cloning and immune-related research of Cd[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(3): 336-344. [李佩芬, 林志华, 包永波. 泥蚶基质金属蛋白酶组织抑制因子3基因的克隆及镉免疫表达研究[J]. 水产学报, 2015, 39(3): 336-344.]
- [17] Li X P, Li J R, Duan Q Y, et al. Investigation and assessment of heavy metal in edible bivalves collected from the Jinjiang market of Hangzhou[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2008, 8(4): 14-20. [李学鹏, 励建荣, 段青源, 等. 杭州市近江市场食用贝类中重金属含量调查及评价[J]. 中国食品学报, 2008, 8(4): 14-20.]
- [18] Bao Y B, Liu X, Zhang W W, et al. Identification of a regulation network in response to cadmium toxicity using blood clam *Tegillarca granosa* as model[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 35704.
- [19] Chen C F, Shen W L, Gu H L, et al. Vitellogenin's putative role in *Tegillarca granosa*'s cadmium detoxification[J]. Genes & Genomics, 2017, 39(2): 143-154.
- [20] Shi W, Han Y, Guan X F, et al. Anthropogenic noise aggravates the toxicity of cadmium on some physiological characteristics of the blood clam *Tegillarca granosa*[J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10: 377.
- [21] Bao Y B, Wang Q, Liu H M, et al. A small HSP gene of bloody clam (*Tegillarca granosa*) involved in the immune response against *Vibrio parahaemolyticus* and lipopolysaccharide[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 30(2): 729-733.
- [22] Li C H, He J J, Su X R, et al. A manganese superoxide dismutase in blood clam *Tegillarca granosa*: Molecular cloning, tissue distribution and expression analysis[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2011, 159(1): 64-70.
- [23] Zhang C D, Zhou J, Li Y, et al. The study of heavy metal stress effects on the transcriptional level of energy metabolism enzymes of *Tegillarca granosa*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(5): 919-923. [张春丹, 周君, 李晔, 等. 重金属胁迫对泥蚶(*Tegillarca granosa*)能量代谢酶转录水平的研究[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(5): 919-923.]
- [24] Xie J S, Xu T, Liu W, et al. Identification and subcellular distribution of metallothionein from *Tegillarca granosa*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(5): 955-964. [解家松, 许婷, 刘玮, 等. 泥蚶金属硫蛋白的鉴定、原核重组表达及其组织细胞分布[J]. 中国水产科学, 2011, 18(5): 955-964.]
- [25] Huo L H, Lin Z H, You Z J, et al. Accumulation mechanism of heavy metals (Cu, Pb, Cd) in different tissues of *Tegillarca granosa*[J]. Marine Environmental Science, 2012, 31(3): 395-399. [霍礼辉, 林志华, 尤仲杰, 等. 泥蚶不同组织器官对重金属(Cu、Pb、Cd)的富集规律[J]. 海洋环境科学, 2012, 31(3): 395-399.]
- [26] Vlahogianni T H, Valavanidis A. Heavy-metal effects on lipid peroxidation and antioxidant defence enzymes in mussels *Mytilus galloprovincialis*[J]. Chemistry and Ecology, 2007, 23(5): 361-371.
- [27] Stebbing A R D. Hormesis—The stimulation of growth by low levels of inhibitors[J]. Science of the Total Environment, 1982, 22(3): 213-234.
- [28] Zhang Y P, Sun Z Z, Hao Y M. Effects of cadmium on superoxide dismutase activities in liver of bluespotted mudhopper *Boleophthalmus pectinirostris*[J]. Fisheries Science, 2008, 27(2): 79-81. [张玉平, 孙振中, 郝永梅. 镉对大弹涂鱼肝脏超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 水产科学, 2008, 27(2): 79-81.]
- [29] Wu T T, Wei H, Guo M, et al. Ca^{2+} -ATPase and metallothionein expressing induced by cadmium in the primary cultured hepatocytes of crucian carp (*Carassius auratus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(6): 824-830. [吴婷婷, 魏华, 郭敏, 等. 镉诱导鲫肝细胞内 Ca^{2+} -ATP酶与金属硫蛋白的表达[J]. 水产学报, 2011, 35(6): 824-830.]
- [30] Cao L. Toxic effects of cadmium and copper to early life stages of flounder (*Paralichthys olivaceus*)[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2010. [曹亮. 铜、镉对褐牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)早期发育阶段的毒理效应研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2010.]

- [31] Liu H M, Dong Y H, Huo L H, et al. Acute toxicity of Cu^{2+} and its effects on antioxidant enzymes in *Sinonovacula constricta* juveniles[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(1): 182-187. [刘浩明, 董迎辉, 霍礼辉, 等. Cu^{2+} 对缢蛏稚贝的急性毒性及对抗氧化酶活力和丙二醛含量的影响[J]. 中国水产科学, 2012, 19(1): 182-187.]
- [32] Xu L H, Zhang Y Y, Chen Y Y. The advances of molecular ecotoxicology and its significance in water environment protection[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1995, 19(2): 171-185. [徐立红, 张甬元, 陈宜瑜. 分子生态毒理学研究进展及其在水环境保护中的意义[J]. 水生生物学报, 1995, 19(2): 171-185.]
- [33] Hu L T, Xia L P, Wu M M, et al. Cloning and expression analysis of Cu/Zn SOD gene of *Eurytemora pacifica* under metal stress[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2018, 49(2): 384-394. [胡利腾, 夏立萍, 武敏敏, 等. 太平洋真宽水蚤(*Eurytemora pacifica*) Cu/Zn SOD 基因克隆及在重金属胁迫下的表达分析[J]. 海洋与湖沼, 2018, 49(2): 384-394.]
- [34] Lai C C, Lai Z X, Fang Z Z, et al. Cloning of mitochondrial F1-ATPase beta subunit gene from embryogenic callus and its expression analysis by qRT-PCR during somatic embryogenesis in longan[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(16): 3392-3401. [赖呈纯, 赖钟雄, 方智振, 等. 龙眼胚性愈伤组织线粒体 ATP 合酶 β 亚基基因克隆及其在龙眼体胚发生过程中的表达分析[J]. 中国农业科学, 2010, 43(16): 3392-3401.]
- [35] Epel D. Use of multidrug transporters as first lines of defense against toxins in aquatic organisms[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 1998, 120(1): 23-28.
- [36] Della Torre C, Zaja R, Loncar J, et al. Interaction of ABC transport proteins with toxic metals at the level of gene and transport activity in the PLHC-1 fish cell line[J]. Chemo-Biological Interactions, 2012, 198(1-3): 9-17.
- [37] Ivanina A V, Sokolova I M. Effects of cadmium exposure on expression and activity of P-glycoprotein in eastern oysters, *Crassostrea virginica* Gmelin[J]. Aquatic Toxicology, 2008, 88(1): 19-28.
- [38] Leslie E M, Deeley R G, Cole S P C. Toxicological relevance of the multidrug resistance protein 1, MRP1 (ABCC₁) and related transporters[J]. Toxicology, 2001, 167(1): 3-23.
- [39] Shi B. Studies on genes related to copper accumulation of the Fujian oyster *Crassostrea angulata*[D]. Xiamen: Xiamen University, 2015. [史博. 福建牡蛎(*Crassostrea angulata*)铜富集相关基因的研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2015.]
- [40] Paris-Palacios S, Biagianti-Risbourg S, Fouley A, et al. Metallothioneins in liver of *Rutilus rutilus* exposed to Cu^{2+} . Analysis by metal summation, SH determination and spectrofluorimetry[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology, 2000, 126(2): 113-122.
- [41] Ren Y J, Liu M N, Wang L, et al. Effect of cadmium on the content of metallothionein in the tissues of the freshwater mussel, *Anodonta woodiana*[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2017, 45(2): 211-214. [任玉娟, 刘蒙南, 王兰, 等. 镉对背角无齿蚌组织中金属硫蛋白含量的影响[J]. 山西农业科学, 2017, 45(2): 211-214.]
- [42] Xie Q Q, Chen C F, Wu L D, et al. Effects of lead (Pb) stress on MT and Vg gene expression in the blood of *Tegillarca granosa*[J]. Marine Sciences, 2017, 41(11): 75-81. [谢清清, 陈彩芳, 吴林德, 等. 铅(Pb)胁迫对泥蚶血液 MT 及 Vg 基因表达的诱导效应研究[J]. 海洋科学, 2017, 41(11): 75-81.]
- [43] Escobedo-Fregoso C, Mendez-Rodriguez L C, Monsalvo-Spencer P, et al. Assessment of metallothioneins in tissues of the clam *Megapitaria squalida* as biomarkers for environmental cadmium pollution from areas enriched in phosphorite[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2010, 59(2): 255-263.

Effects of Cd stress on cadmium accumulation and related physiological metabolism of *Tegillarca granosa*

LI Zongfang^{1,2,3}, TENG Shuangshuang², ZHANG Jiongming², FANG Jun², XIAO Guoqiang^{1,2}, XIE Shangshu³

1. Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China;

2. Zhejiang Mariculture Research Institute; Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-resource; Wenzhou Key Laboratory of Marine Biological Genetics and Breeding, Wenzhou 325005, China;

3. Rui'an Agriculture and Rural Bureau, Wenzhou 325200, China

Abstract: In recent years, heavy metal pollution has become increasingly serious. *Tegillarca granosa* lives in a certain water body for a long time. Because of its poor movement ability, it is prone to heavy metal poisoning, especially cadmium poisoning. At present, the researches on Cd stress of *T. granosa* mainly focus on the bioaccumulation kinetics, acute toxicity and immune response of *T. granosa* to Cd, most of them are unilateral researches, and few of them are studied together. Therefore, this experiment studied the accumulation of cadmium, the changes of related enzyme activities and the effect on gene expression level after water treatment with cadmium concentrations of 0, 0.05, 0.1 and 0.5 mg/L respectively. The results showed that the content of cadmium in *T. granosa* increased significantly under the stress of cadmium, and the changes of cadmium content presented obvious time-dose effect. After cadmium stress, the content of cadmium in the gills and mantle was significantly higher in the 0.05 and 0.1 mg/L groups than in other tissues, and the content of cadmium in the visceral mass was the highest in the 0.5 mg/L group. SOD and ATPase activities and MDA contents in *T. granosa* liver and pancreas tissues under cadmium stress showed an upward trend in the early stage and a downward trend in the later stage, and were all higher than those in the control group. Cd stress up-regulated the transcription levels of *ABCA3*, *SOD* and *MT* genes. The results show that the increase of cadmium content can cause the changes of enzyme activity and related gene expression, and the changes of the relationship between the three can provide basic data for the molecular ecotoxicology study of beach shellfish.

Key words: *Tegillarca granosa*; cadmium stress; cadmium content; enzyme activity; gene expression

Corresponding author: XIAO Guoqiang. E-mail: xiaogq1978@163.com