

栉孔扇贝不同组织中镉的微区分布特征及其变化规律

赵艳芳^{1,2}, 宁劲松^{1,2}, 翟毓秀^{1,2}, 尚德荣^{1,2*},
盛晓风^{1,2}, 丁海燕^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所,
农业部水产品质量安全检测与评价重点实验室, 山东 青岛 266071;
2. 农业部水产品质量安全风险评估实验室, 山东 青岛 266071)

摘要: 为阐明扇贝特异性富集镉(Cd)的机理, 研究了栉孔扇贝不同组织中Cd的微区分布特征, 并结合Cd的生物动力学实验研究了其变化规律。结果显示空白对照组栉孔扇贝内脏、鳃和性腺组织的Cd主要分布在类金属硫蛋白(MTLP)和细胞器中, 闭壳肌组织中Cd主要分布在MTLP(占84.6%)。在Cd的富集实验中, 内脏和鳃组织中MTLP和富含金属颗粒(MRG)中Cd的含量和所占百分比升高最显著, 而细胞器中Cd的百分比明显下降; 性腺组织中MTLP、细胞器和MRG组分中Cd的含量均明显升高, 其中MRG中Cd的百分比升高, MTLP和细胞器中Cd的百分比逐渐下降; 闭壳肌组织中MTLP和MRG中Cd的含量均显著上升, 其中MRG组分中Cd的百分比显著升高。在释放Cd的实验中, 内脏和鳃组织的MTLP中Cd的含量显著下降, 而细胞器、热敏感蛋白(HSP)和MRG中Cd的含量和所占百分比逐渐升高, 性腺组织各亚细胞组分中Cd含量均明显下降, 但各亚细胞组分中Cd的百分比变化不明显; 闭壳肌组织MTLP和MRG中Cd的含量下降, 且MRG组分中Cd所占的百分比不断下降。本研究首次表明栉孔扇贝不同组织中Cd在亚细胞组分中的分布特征不同, 并且在富集和释放Cd的过程中, 内脏和鳃组织中的Cd在各亚细胞组分中不断发生调节和重新分配。

关键词: 栉孔扇贝; 镉(Cd); 亚细胞组分分布; 生物动力学

中图分类号: S 968.31

文献标志码: A

扇贝具有高富集镉(Cd)的特性, 同一海区内, 扇贝组织内Cd的含量最高, 约为樱蛤(*Macoma balthica*)的10倍^[1]。由于扇贝对海水的泵吸速率最快, 因此扇贝对Cd具有最高的吸收速率, 而同时扇贝对组织内Cd的排出速率最低, 因此, 在无Cd污染的正常环境中, 扇贝能够在体内积累高浓度的Cd, 但是对其他元素如锌、铜等具有很好的代谢调节作用^[2]。扇贝富集的高浓度Cd成为影响扇贝食用安全的重要因素, 因此探究扇贝特异性富集Cd的机制已成为海洋生物学和水产品质量安全研究的重点。

重金属在双壳贝类亚细胞组分中的微区分布特征可以反映该重金属的生物毒性和生物可利用性, 对于解释贝类对不同重金属的富集差异性具有重要意义。Wallace等^[3]提出将亚细胞组分分成富含金属的颗粒(metal-rich granules, MRG)、细胞碎片、细胞器、热敏感蛋白(heat sensitive protein, HSP)和类金属硫蛋白(metallothionein-like protein, MTLP)5部分。每一亚细胞组分具有不同的生物功能, 如重金属敏感组分包括细胞器和HSP, 是生物体组织内最易受到重金属侵害的组分, 而MRG和MTLP可以作为生物体

收稿日期: 2015-06-03 修回日期: 2016-04-20

资助项目: 国家自然科学基金(41206101)

通信作者: 尚德荣, E-mail: shangdr@ysfri.ac.cn

的解毒组分,因此明确Cd在扇贝各组织亚细胞组分中的定位分布可以提供有关扇贝积累、耐受、解毒Cd的信息^[4-5]。而目前有关扇贝对Cd的富集能力研究主要集中在组织水平对Cd的富集与代谢规律研究,如有研究表明扇贝不同组织对Cd的富集具有明显的差异,内脏团中Cd的含量最高,闭壳肌次之^[6]。在同样Cd浓度的海水中,海湾扇贝(*Argopecten irradians*)和栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)内脏对Cd的富集速率、富集最高值以及富集最大倍数均远高于闭壳肌,研究同时表明扇贝不同组织对Cd的富集和代谢能力不同,对Cd的富集次序为内脏>鳃>肌肉,排出顺序为鳃>内脏>肌肉^[7-10]。由于生物体组织内的所有重金属并不是都能被吸收利用并产生毒性,因此,目前的研究并不能解释扇贝对Cd的特异性富集与高耐受能力^[11-13]。扇贝是我国主要的海水养殖经济贝类,已成为我国乃至全球需求量最大的贝类,因此,阐明扇贝对Cd的特异性富集机理,解决扇贝中Cd的食用安全问题成为保障扇贝产业健康可持续发展的重要支撑。本研究以栉孔扇贝为实验对象,在前期研究的基础上进一步开展扇贝不同组织中Cd的亚细胞分布特征研究,并且结合Cd的生物动力学,探讨不同组织中Cd的亚细胞分布变化规律,这对于解释扇贝特异性富集Cd的机理具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

栉孔扇贝于2014年4月购自青岛黄岛贝类养殖场,平均壳长(58±3) mm。实验前,将栉孔扇贝刷洗干净,清除附着物,暂养7 d,养殖海水为自然海水,经沉淀、曝气、砂滤处理,海水Cd本底值为0.21 μg/L,平均水温为(18±2) °C,盐度为30±1, pH为8.1±0.2。为避免残饵和粪便对金属形态影响,暂养及实验期间不投喂,每天定时更换海水1次。

1.2 富集、释放实验

实验分为富集和释放两个阶段,均在50 L玻璃缸中进行。富集实验持续20 d,释放实验持续20 d。本实验Cd浓度的选择是基于前期研究发现海湾扇贝对Cd的96 h LC₅₀为1.48 mg/L^[14],计算其安全浓度(按96 h LC₅₀×0.1求得)约为0.15 mg/L,

本实验设置Cd(CdCl₂·2.5H₂O,以Cd计)的暴露浓度为0.1 mg/L。实验设置1组空白对照组(自然海水),1组Cd实验组,每处理组设3个重复,每缸均放栉孔扇贝30只。实验期间24 h充气,保证溶氧量>5 mg/L,每天换水1次。于富集实验的第2、6、14和20天分别从各处理组取扇贝5只,解剖取鳃、内脏团、性腺、闭壳肌组织,迅速冷冻,以备分析。富集阶段结束后将容器中的溶液全部排出,将富集了Cd的扇贝置于自然海水进行释放实验,于实验的第30和40天分别从各处理组随机取5只活体扇贝,取样方法与富集阶段一致。空白对照组取样时间与取样量与Cd实验组相同。

1.3 扇贝各组织中Cd的亚细胞分布

参考文献[15-16]方法并稍作修改,取扇贝鳃、性腺、内脏团、闭壳肌等组织,用Tris缓冲溶液(0.02 mol/L Tris, 0.01 mol/L NaCl, pH=8.6, 0.1 mmol/L PMSF, 0.1 mmol/L DTT)在4 °C冰浴条件下匀浆。匀浆液于4 °C, 1450×g离心15 min,沉淀为细胞碎片,将细胞碎片用1 mol/L NaOH在80 °C条件下消化10 min,之后于5000×g离心10 min。沉淀为MRG,上清液为细胞碎片部分。第1次离心所得的上清液继续于4 °C, 100 000×g离心1 h,沉淀为细胞器部分。上清液经过80 °C热处理后,HSP发生变性,冰水冷却,于4 °C, 50 000×g离心,最后的上清液为MTLP。所有亚细胞组分分别加硝酸—高氯酸消化,待消解完全后用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)仪(ELAN DRC II, PE)测定Cd的含量,确定Cd在扇贝各组织亚细胞组分中的分布特征。

1.4 数据处理

采用SPSS 16.0 统计软件对实验数据进行分析,数据用平均值±标准差(mean±SD)表示。Tukey's HSD进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),*P*<0.05表示差异显著。

2 结果

2.1 扇贝各组织中Cd的含量及变化规律

扇贝内脏团、鳃、性腺和闭壳肌组织对Cd的富集随暴露时间延长均呈升高趋势,释放实验期间,Cd的含量均呈下降的趋势(图1)。另外,

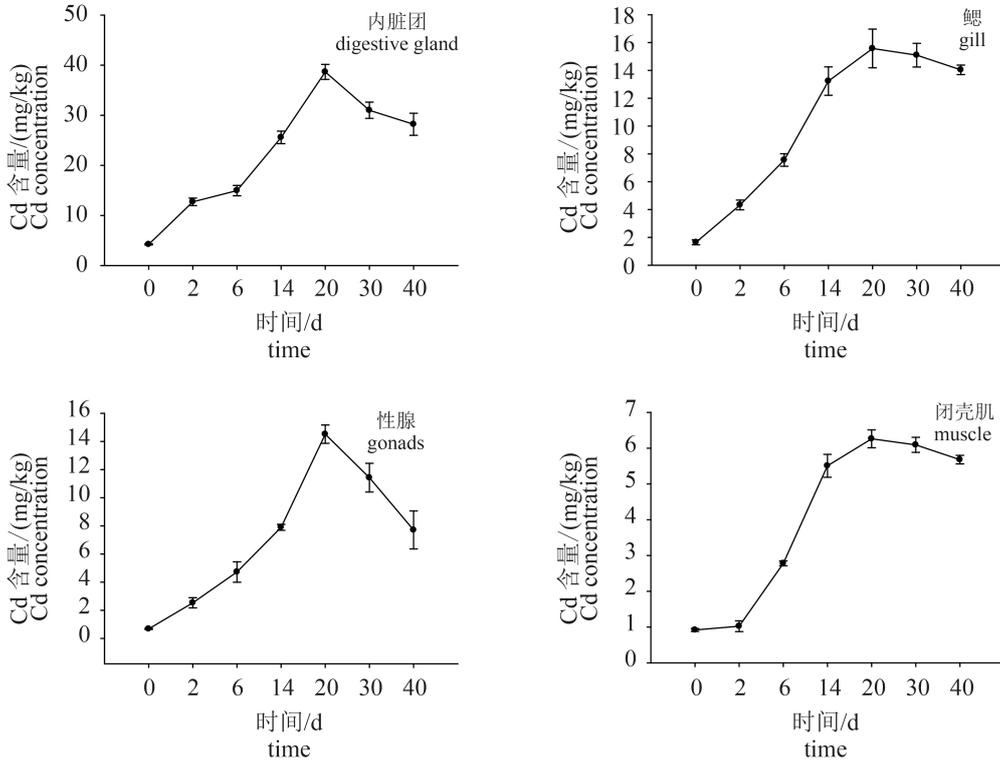


图 1 扇贝不同组织中Cd的含量变化

Fig. 1 Cd content in different tissues in the scallop

不同组织对Cd的富集差异很大。对于空白对照组,在整个实验过程中各组织中Cd的含量未发生显著性变化,各组织富集的Cd平均含量为内脏团(4.2 mg/kg)>鳃(1.6 mg/kg)>闭壳肌(0.92 mg/kg)>性腺(0.68 mg/kg),在暴露20 d和释放20 d的过程中,内脏团中Cd的含量最高为38.7 mg/kg,鳃中富集的Cd最高含量为15.6 mg/kg,性腺中的Cd最高升至14.5 mg/kg,而闭壳肌富集的Cd含量较低,为6.3 mg/kg。因此,各组织对Cd的富集顺序为内脏团>鳃>闭壳肌>性腺。

2.2 扇贝不同组织各亚细胞组分中Cd的含量及所占百分比变化规律

内脏团,空白对照组MTLP组分Cd的含量最高,细胞器中次之,MRG中Cd含量略高于HSP,细胞碎片中最低。随着暴露时间延长,MTLP中的含量增加且显著高于空白对照组($P<0.05$),释放实验期间,MTLP中Cd的含量呈显著下降趋势($P<0.05$)(表1)。细胞器、HSP和MRG中Cd的含量变化趋势相似,均在富集和释放实验期呈明显升高趋势($P<0.05$),而细胞碎片中Cd的含量最低,至富集实验和释放实验结束后,5个亚细胞组分中Cd含量顺序均变为MTLP>MRG>细胞器

>HSP>细胞碎片。对于鳃,无论是空白对照组还是实验组各亚细胞组分中Cd的含量变化规律同内脏团相似。对于性腺,空白对照组各亚细胞组分中Cd含量均较低,其中,MTLP和细胞器中含量一样为0.30 mg/kg,HSP中次之。但对于实验组,MTLP、细胞器、HSP和MRG中Cd的含量均显著升高而后下降,实验结束时,MTLP和MRG中Cd的含量相似,其次为细胞器和HSP组分,细胞碎片中Cd含量最低。对于闭壳肌,空白对照组中MTLP中Cd的含量最高,为0.78 mg/kg,其次为MRG和细胞器组分,但是对于实验组,MRG中Cd的含量随富集实验时间延长显著升高($P<0.05$),而后随着释放时间的延长显著降低,MTLP中Cd的含量也呈先升高后降低的趋势,至实验结束时,MTLP和MRG中Cd的含量相似。

在所有组织中,Cd主要分布在MTLP、细胞器和MRG组分中,其次为HSP,细胞碎片中最低(图2)。在富集和释放实验期间,各组织不同亚细胞组分中Cd的百分比变化不同。另外发现对于空白对照组,各组织不同亚细胞组分中Cd的含量与百分比在整个实验过程中变化不显著。

对于内脏团,空白对照组中42.3% Cd分布

表 1 扇贝不同组织各亚细胞组分中Cd的含量

Tab. 1 Cd content in five subcellular compartments in different tissues of the scallop

| | | | | | | mg/kg |
|---------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------|
| 组织 tissue | 类金属硫蛋白 MTLP | 细胞器 cell organelles | 热敏感蛋白 HSP | 细胞碎片 cellular debris | 金属颗粒 MRG | |
| 内脏团 digestive gland | | | | | | |
| 0 d | 1.79±0.21 ^a | 1.55±0.02 ^a | 0.31±0.01 ^a | 0.15±0.02 ^a | 0.43±0.05 ^a | |
| 2 d | 8.84±0.36 ^a | 2.57±0.12 ^c | 0.51±0.02 ^b | 0.21±0.01 ^b | 0.59±0.03 ^a | |
| 6 d | 10.90±0.58 ^b | 1.72±0.04 ^{ab} | 0.35±0.02 ^a | 0.21±0.01 ^b | 1.79±0.25 ^b | |
| 14 d | 20.28±1.35 ^d | 2.00±0.02 ^b | 0.40±0.01 ^{ab} | 0.33±0.01 ^c | 2.57±0.21 ^c | |
| 20 d | 27.76±0.51 ^e | 4.43±0.13 ^d | 0.89±0.04 ^c | 0.43±0.02 ^d | 5.16±0.32 ^d | |
| 30 d | 14.88±1.08 ^c | 6.60±0.42 ^e | 1.32±0.17 ^d | 0.43±0.00 ^d | 7.78±0.51 ^c | |
| 40 d | 10.57±0.68 ^b | 7.17±0.21 ^f | 1.43±0.22 ^d | 0.49±0.02 ^c | 8.66±0.12 ^f | |
| 鳃 gills | | | | | | |
| 0 d | 1.11±0.14 ^a | 0.35±0.01 ^a | 0.07±0.01 ^a | 0.04±0.00 ^a | 0.073±0.01 ^a | |
| 2 d | 2.96±0.29 ^b | 0.43±0.03 ^a | 0.09±0.00 ^a | 0.24±0.01 ^d | 0.62±0.02 ^b | |
| 6 d | 5.02±0.11 ^c | 1.09±0.08 ^b | 0.22±0.02 ^b | 0.12±0.02 ^b | 1.11±0.15 ^c | |
| 14 d | 6.38±0.32 ^d | 1.17±0.14 ^b | 0.23±0.01 ^b | 0.35±0.01 ^f | 5.10±0.35 ^d | |
| 20 d | 9.35±0.28 ^f | 1.02±0.06 ^b | 0.21±0.00 ^b | 0.30±0.01 ^c | 4.70±0.22 ^d | |
| 30 d | 7.84±0.12 ^e | 2.05±0.11 ^c | 0.41±0.03 ^c | 0.21±0.02 ^{cd} | 4.88±0.20 ^d | |
| 40 d | 6.15±0.20 ^d | 2.23±0.05 ^d | 0.48±0.03 ^c | 0.19±0.01 ^c | 5.02±0.15 ^d | |
| 性腺 gonad | | | | | | |
| 0 d | 0.30±0.04 ^a | 0.30±0.02 ^a | 0.06±0.00 ^a | 0.01±0.00 ^a | 0.014±0.00 ^a | |
| 2 d | 1.16±0.19 ^b | 0.84±0.05 ^b | 0.17±0.02 ^b | 0.06±0.00 ^c | 0.30±0.02 ^a | |
| 6 d | 1.26±0.05 ^b | 1.78±0.15 ^d | 0.36±0.03 ^c | 0.03±0.00 ^c | 1.30±0.04 ^a | |
| 14 d | 1.63±0.08 ^c | 2.40±0.13 ^e | 0.48±0.02 ^d | 0.13±0.00 ^d | 3.27±0.25 ^b | |
| 20 d | 4.67±0.41 ^f | 2.55±0.02 ^f | 0.54±0.01 ^d | 0.18±0.00 ^f | 6.60±0.32 ^c | |
| 30 d | 3.58±0.10 ^e | 2.46±0.01 ^{ef} | 0.49±0.02 ^d | 0.16±0.00 ^c | 4.74±0.23 ^d | |
| 40 d | 2.89±0.12 ^d | 1.60±0.01 ^c | 0.32±0.02 ^c | 0.15±0.01 ^c | 2.75±0.12 ^c | |
| 闭壳肌 muscle | | | | | | |
| 0 d | 0.78±0.07 ^b | 0.03±0.00 ^a | 0.01±0.00 ^a | 0.01±0.00 ^a | 0.10±0.01 ^a | |
| 2 d | 0.47±0.02 ^a | 0.15±0.02 ^b | 0.02±0.00 ^{bc} | 0.03±0.02 ^{ab} | 0.38±0.10 ^a | |
| 6 d | 0.62±0.03 ^a | 0.20±0.01 ^c | 0.04±0.01 ^{cd} | 0.07±0.01 ^{cd} | 1.84±0.02 ^b | |
| 14 d | 1.22±0.08 ^c | 0.14±0.00 ^b | 0.02±0.00 ^b | 0.10±0.03 ^{de} | 4.05±0.15 ^d | |
| 20 d | 2.08±0.31 ^d | 0.35±0.01 ^d | 0.05±0.00 ^d | 0.05±0.01 ^{bc} | 3.84±0.08 ^d | |
| 30 d | 2.74±0.25 ^e | 0.41±0.03 ^e | 0.08±0.00 ^e | 0.10±0.00 ^{de} | 2.87±0.15 ^c | |
| 40 d | 2.59±0.11 ^e | 0.43±0.02 ^e | 0.08±0.00 ^e | 0.11±0.01 ^e | 2.48±0.12 ^c | |

注: 不同字母表示同一组织同一列数据变化差异显著($P<0.05$)Notes: the different letters in the same column were significantly different from each other ($P<0.05$)

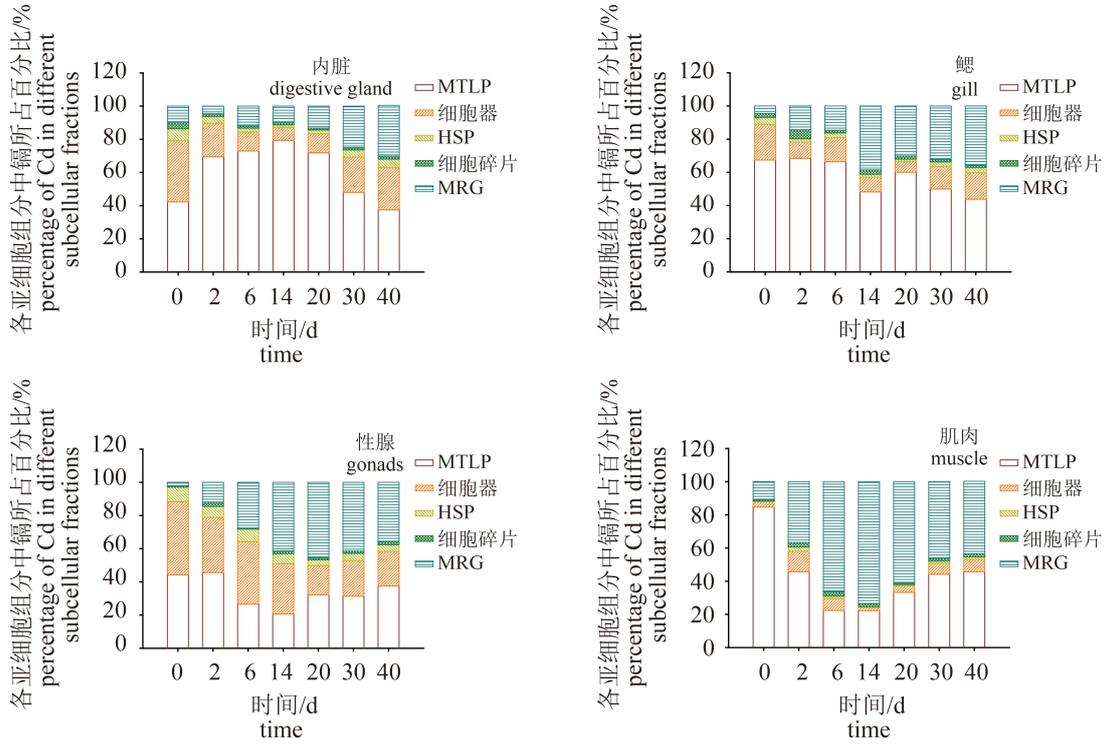


图 2 Cd在扇贝不同组织各亚细胞组分中的百分比

Fig. 2 The percentage of Cd in five subcellular compartments in the different tissues of the scallop

在MTLP组分, 约36.7%分布在细胞器组分, MRG组分中Cd的百分比为10.1%, 最后为HSP和细胞碎片中, 分别为7.3%和3.6%。富集实验期间, MTLP组分所占百分比呈升高的趋势, 而细胞器中Cd的百分比呈下降趋势, 富集实验结束时, MTLP组分、细胞器和MRG组分中Cd的百分比分别为71.8%、11.5%和13.3%。而在释放实验期间, 细胞器和MRG组分中Cd的百分比逐渐升高, MTLP组分中Cd的百分比逐渐下降。至释放实验结束时, MTLP、细胞器和MRG 3个主要组分中Cd所占的百分比依次为37.5%、25.4%和30.7%。

对于鳃组织, 空白对照组MTLP组分中Cd的百分比最高, 为67.4%, 其次为细胞器(21.5%)。富集实验期间, MTLP组分中Cd的百分比变化不明显, 而MRG组分中Cd的百分比显著上升, 细胞器组分中Cd的百分比呈下降趋势, 而在释放实验期间, MTLP组分中Cd的百分比明显下降, 而细胞器组分中百分比呈上升趋势, 释放实验结束时, MTLP、细胞器和MRG组分中Cd所占百分比分别为43.8%、15.9%和35.7%。

对于性腺组织, 空白对照组MTLP和细胞器组分中Cd所占百分比相似, 分别为44.2%和44.1%, HSP组分中次之, 为8.8%。富集实验期间, 所有

组分中Cd的百分比发生显著变化, 其中MTLP组分和细胞器中Cd的百分比不断降低, 而MRG组分中Cd的百分比明显升高, 富集实验结束时, MTLP、细胞器和MRG 3个主要组分中Cd占百分比分别为32.2%、17.6%和45.5%。而在释放实验期间, 3个主要组分Cd的百分比变化较小, 释放实验结束时, MTLP、细胞器和MRG 3个主要组分中Cd所占的百分比分别为37.5%、20.8%和35.7%。

对于闭壳肌肉组织, 空白对照组中Cd主要分布在MTLP中, 占84.6%, 其次是分布在MRG组分中, 占10.8%。在富集实验期间, MTLP组分中Cd的百分比显著下降, MRG组分中Cd的百分比显著上升, 至富集实验结束时, MTLP和MRG组分中Cd的百分比分别为33.2%和61.2%。而在释放实验期间, 二者呈现相反的变化趋势。至实验结束时, MTLP和MRG组分中Cd所占的百分比分别为45.6%和43.7%。

3 讨论

3.1 扇贝不同组织中Cd的微区分布特征

具有不同Cd富集能力的双壳贝类中Cd的微

区分布特征不同。一些亚细胞组分如MRG、细胞碎片、细胞器等在调节贝类体内金属浓度、保护生物体抵抗重金属毒害等方面起到关键作用,另外这些亚细胞组分在双壳贝类重金属排出过程中也起到重要作用^[16-18]。翡翠贻贝(*Perna viridis*)体内,约60%~80%的Cd分布在不可溶组分(IF)中,约5%~25%的Cd与MTLP结合,菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)中50%~60%的Cd分布在IF中,黑扇贝(*C. varia*)中大部分(78%)的Cd分布在IF中^[19],MTLP是华贵栉孔扇贝(*C. nobilis*)体内Cd最主要的储存库^[16]。本研究首次表明扇贝不同组织中Cd的微区分布特征不同。对于空白对照组,内脏团、鳃和性腺中Cd主要分布在MTLP和细胞器组分中,而对于闭壳肌组织,84.6%的Cd主要分布在MTLP中,进一步证明MTLP是扇贝中Cd的主要储存库。MRG和MTLP可以与重金属结合,当生物体内累积的金属过量时,这两种组分可以帮助生物对金属进行解毒,被划为生物解毒金属组分(biological detoxified metal fraction, BDM),而细胞器和HSP组分被认定为金属敏感组分(metal sensitive fraction, MSF)^[3]。另外,本研究表明,对于自然海水中正常生长的扇贝,内脏、性腺和鳃中有一大部分Cd储存在细胞器中,分别约占36.7%、44.1%和21.5%。已有研究指出细胞器中大部分的Cd主要被储存在溶酶体中,溶酶体为单层膜包被的含有水解酶的细胞器,具有细胞内消化功能,用于处理细胞吞噬物^[20]。而消化腺细胞、性腺细胞和鳃细胞中含有大量溶酶体,尤其是由于消化腺具有很强的胞内消化功能,因此一般认为贝类的内脏团组织细胞中含有丰富的溶酶体。在扇贝消化腺细胞溶酶体中曾发现了两类富含重金属小颗粒的囊泡。因此,除了MTLP和MRG,将Cd储存在细胞器中也是扇贝解毒Cd的一个重要策略。

3.2 扇贝不同组织中Cd的微区分布变化规律

本实验同时发现扇贝不同组织中Cd的微区分布随富集和释放过程不断发生变化。内脏团和鳃组织中,MTLP组分中Cd的含量在富集过程中均显著升高,在释放过程中显著下降,而细胞器和MRG组分中Cd的含量在富集和释放过程中一直呈升高趋势,但从各组分中Cd的百分比变

化来看,富集过程中内脏和鳃组织中MTLP和MRG组分中Cd的百分比明显升高,细胞器中Cd所占的百分比不断下降,说明当受到Cd污染时,MTLP和MRG组分是扇贝内脏和鳃组织细胞储存解毒Cd的最主要工具。在释放过程中,内脏和鳃组织中蓄积的Cd含量显著下降主要表现在MTLP组分中Cd含量的下降,说明许多结合Cd的金属硫蛋白被转移到细胞器溶酶体中,使Cd通过细胞内消化过程被排出体外,或者以金属颗粒的形式被蓄积在体内^[21],因此导致细胞器、HSP组分和MRG组分中Cd的含量和所占总Cd百分比在释放Cd的过程中逐渐增加。所以在Cd的释放过程中,内脏和鳃组织中富集的Cd在各亚细胞组分之间不断发生动态调节和重新分配现象。

与内脏团和鳃组织不同,性腺组织在富集Cd的过程中,MTLP、细胞器和MRG组分中Cd的含量均呈明显升高趋势,但MTLP和细胞器组分中Cd的百分比逐渐下降,而MRG组分中的百分比升高,说明当受到Cd污染时,以富含金属颗粒形式存在是性腺组织中储存解毒Cd的主要方式,在释放过程中,三者中Cd的含量均呈明显下降趋势,且三者中Cd的百分比变化较小,由于生物体的生殖系统对Cd污染的应激反应较敏感,可以推断性腺组织富集的Cd在释放过程中分别以尽快的速率排出体外,再加上性腺组织富集的Cd含量相对较少,因此Cd在不同亚细胞组分之间的调节相比内脏和鳃组织不明显。

而闭壳肌组织中的Cd主要分布在MTLP和MRG组分中,在富集过程中,两种组分中Cd的含量均呈显著上升趋势,并且MRG组分中Cd所占百分比显著提高,在富集实验结束时已远高于MTLP组分,说明除了与金属硫蛋白结合外,以富含金属颗粒的形式存在是闭壳肌组织蓄积、储存过量Cd的主要方式。而在Cd的释放过程中,两种组分中Cd的含量均呈明显下降趋势,并且MRG组分中Cd所占的百分比不断下降,可以推断出MRG组分是扇贝闭壳肌组织中应对和调节过量Cd的主要工具。

参考文献:

- [1] Pigeot J, Miramand P, Guyot T, *et al.* Cadmium pathways in an exploited intertidal ecosystem with chronic cadmium inputs (Marennes-Oléron, Atlantic

- coast, France)[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2006, 307: 101-114. DOI: 10.3354/meps307101.
- [2] Bustamante P, Miramand P. Interspecific and geographical variations of trace element concentrations in Pectinidae from European waters[J]. *Chemosphere*, 2004, 57(10): 1355-1362. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.08.077.
- [3] Wallace W G, Lee B G, Luoma S N. Subcellular compartmentalization of Cd and Zn in two bivalves. I. significance of metal-sensitive fractions (MSF) and biologically detoxified metal (BDM)[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 249: 183-197. DOI: 10.3354/meps249183.
- [4] Wang W X, Yang Y, Guo X Y, *et al.* Copper and zinc contamination in oysters: subcellular distribution and detoxification[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2011, 30(8): 1767-1774. DOI: 10.1002/etc.571.
- [5] Amiard J C, Amiard-Triquet C, Barka S, *et al.* Metallothioneins in aquatic invertebrates: their role in metal detoxification and their use as biomarkers[J]. *Aquatic Toxicology*, 2006, 76(2): 160-202. DOI: 10.1016/j.aquatox.2005.08.015.
- [6] 赵艳芳, 尚德荣, 宁劲松, 等. 虾夷扇贝组织中微量元素分布特性[J]. *水产科学*, 2011, 30(6): 356-358. Zhao Y F, Shang D R, Ning J S, *et al.* Distribution of some heavy metals in Japanese scallop *Patinopectin yessoensis*[J]. *Fisheries Science*, 2011, 30(6): 356-358(in Chinese).
- [7] 王凡, 赵元凤, 吕景才, 等. 栉孔扇贝对铜、铅、镉的累积效应[J]. *水产科学*, 2007, 26(2): 63-66. Wang F, Zhao Y F, Lü J C, *et al.* Accumulation of copper, lead and cadmium ions in tissues of *Chlamys farreri*[J]. *Fisheries Science*, 2007, 26(2): 63-66(in Chinese).
- [8] 王凡, 赵元凤, 吴益春, 等. 栉孔扇贝对Cd的累积和排出[J]. *湛江海洋大学学报*, 2005, 25(4): 95-98. Wang F, Zhao Y F, Wu Y C, *et al.* Accumulation and elimination of Cd in *Chlamys farreri*[J]. *Journal of Zhanjiang Ocean University*, 2005, 25(4): 95-98(in Chinese).
- [9] 季相山, 赵燕, 丁雷, 等. 海湾扇贝对海水中镉的富集规律研究[J]. *水产学报*, 2006, 30(6): 801-805. Ji X S, Zhao Y, Ding L, *et al.* Research on cadmium bioaccumulation in *Argopecten irradians*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2006, 30(6): 801-805(in Chinese).
- [10] 李玉环, 黄海, 王佃伟. 海湾扇贝体内重金属镉的富集和消除规律的研究[J]. *微量元素与健康研究*, 2008, 25(5): 30-33. Li Y H, Huang H, Wang D W. The study of accumulation and elimination of the heavy metal cadmium in *Argopecten irradians*[J]. *Studies of Trace Elements and Health*, 2008, 25(5): 30-33(in Chinese).
- [11] Rainbow P S. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what?.[J] *Environmental Pollution*, 2002, 120(3): 497-507. DOI: 10.1016/S0269-7491(02)00238-5.
- [12] Rainbow P S. Trace metal bioaccumulation: models, metabolic availability and toxicity[J]. *Environment International*, 2007, 33(4): 576-582. DOI: 10.1016/j.envint.2006.05.007.
- [13] Kamunde C, MacPhail R. Subcellular interactions of dietary cadmium, copper and zinc in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 105(3-4): 518-527. DOI: 10.1016/j.aquatox.2011.08.005.
- [14] Engel D W, Fowler B A. Factors influencing cadmium accumulation and its toxicity to marine organisms[J]. *Environmental Health Perspectives*, 1979, 28: 81-88.
- [15] Ng T Y T, Wang W X. Dynamics of metal subcellular distribution and its relationship with metal uptake in marine mussels[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2005, 24(9): 2365-2372. DOI: 10.1897/04-637R.1.
- [16] Pan K, Wang W X. The subcellular fate of cadmium and zinc in the scallop *Chlamys nobilis* during waterborne and dietary metal exposure[J]. *Aquatic Toxicology*, 2008, 90(4): 253-260. DOI: 10.1016/j.aquatox.2008.09.010.
- [17] Rainbow P S, Amiard J C, Amiard-Triquet C, *et al.* Trophic transfer of trace metals: subcellular compartmentalization in bivalve prey, assimilation by a gastropod predator and *in vitro* digestion simulations[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2007, 348: 125-138. DOI: 10.3354/meps07086.
- [18] Cooper S, Hare L, Campbell P G C. Subcellular partitioning of cadmium in the freshwater bivalve, *Pyganodon grandis*, after separate short-term exposures to waterborne or diet-borne metal[J]. *Aquatic Toxicology*, 2010, 100(4): 303-312. DOI: 10.1016/j.aquatox.2008.09.010.
- [19] Wang W X, Rainbow P S. Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2008, 148(4): 315-323.

- DOI: 10.1016/j.cbpc.2008.04.003. 10.1016/0048-9697(85)90117-2.
- [20] Viarengo A, Moore M N, Pertica M, *et al.* Detoxification of copper in the cells of the digestive gland of mussel: the role of lysosomes and thioneins[J]. *Science of the Total Environment*, 1985, 44(2): 135-145. DOI: 10.1016/0048-9697(85)90117-2.
- [21] Marigómez I, Soto M, Cajaraville M P, *et al.* Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs[J]. *Microscopy Research and Technique*, 2002, 56(5): 358-392. DOI: 10.1002/jemt.10040.

Research on the subcellular fate and transformation of cadmium in different tissues of the scallop *Chlamys farreri*

ZHAO Yanfang^{1,2}, NING Jinsong^{1,2}, ZHAI Yuxiu^{1,2}, SHANG Derong^{1,2*},
SHENG Xiaofeng^{1,2}, DING Haiyan^{1,2}

(1. Key Laboratory of Testing and Evaluation for Aquatic Product Safety and Quality, Ministry of Agriculture;
Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Aquatic Products, Ministry of Agriculture, Qingdao 266071, China)

Abstract: In order to explain the high capability of the scallop *Chlamys farreri* for cadmium accumulation, the subcellular distribution of Cd in the different tissues of the scallop *C. farreri* and its relationship between subcellular distribution and metal biokinetics was investigated. The results showed that for the control group, the metallothionein-like protein (MTLP) and the cell organelles were the main detoxification pools for the digestive gland, gills and gonad, and MTLP was the main pool for the adductor muscle. During the accumulation experiment, for the digestive glands and gills, the content and the percentage of Cd in the MTLP and the metal-rich granule(MRG) were all significantly increased, but the percentage of Cd in the cell organelles decreased. The Cd content in the MTLP, cell organelles and MRG in the gonad were all significantly increased, but the percentage of Cd in the MTLP and cell organelles kept decreasing with the percentage of Cd in the MRG increased. For the adductor muscle, when exposed to Cd, the Cd content in the MTLP and MRG significantly increased, and the percentage of Cd in the MRG was also significantly increased. During the elimination experiment, for the digestive glands and gills, the content of Cd in the MTLP was significantly decreased, at the same time, the content of Cd and the percentage of Cd in the cell organelles, heat-sensitive protein (HSP) and MRG kept increasing; for the gonad, the Cd content in every subcellular fractions decreased obviously, but the percentage of Cd in different subcellular fractions had no obvious change. For the adductor muscle, Cd content in the MTLP and MRG significantly decreased, and the percentage of Cd in MRG also kept decreasing. Present results first disclosed that the subcellular distribution of Cd was different for different tissues in the scallop *C. farreri*, and the redistribution of Cd in different subcellular fractions in the digestive gland and gills occurred during Cd accumulation and elimination.

Key words: *Chlamys farreri*; cadmium; subcellular distribution; metal biokinetics

Corresponding author: SHANG Derong. E-mail: shangdr@ysfri.ac.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (41206101)