

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2013.05.011

菲律宾蛤仔对镉、铜暴露的蓄积作用及其 抗氧化酶系统的响应研究

张林宝¹, 吴惠丰², 孙伟¹, 蔡文贵¹, 贾晓平¹

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东省渔业生态环境重点实验室, 广东广州 510300; 2. 中国科学院烟台海岸带研究所, 海岸带环境过程重点实验室, 山东烟台 264003)

摘要: 研究了镉(Cd)、铜(Cu)2种重金属单一暴露下菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)肝胰腺和鳃组织内的重金属富集特征和抗氧化酶活力变化特点。结果表明, 蛤仔肝胰腺与鳃对Cd、Cu的富集量随重金属浓度与暴露时间的增加而增大, 具有明显的浓度效应与时间效应; 菲律宾蛤仔对Cd的富集能力高于Cu, 且肝胰腺中重金属的蓄积量高于鳃; 蛤仔肝胰腺和鳃组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)活力在暴露的某些时段被显著诱导($P < 0.05$), 但随暴露时间延长或重金属浓度增加, SOD和GST活力则被显著抑制($P < 0.05$), 而GPx活力随暴露时间延长逐渐恢复至对照组水平。菲律宾蛤仔肝胰腺和鳃2种组织中SOD和GST的活性变化可作为海洋 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 污染的生物标志物。

关键词: 菲律宾蛤仔; Cd^{2+} ; Cu^{2+} ; 生物蓄积; 抗氧化酶

中图分类号: X 55, S 949

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2013)05-0064-07

Bioaccumulation and antioxidant responses in Manila clam (*Ruditapes philippinarum*) under cadmium and copper exposure

ZHANG Linbao¹, WU Huifeng², SUN Wei¹, CAI Weigui¹, JIA Xiaoping¹

(1. Key Lab. of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture; Key Lab. of Fishery Ecology Environment, Guangdong Province; South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China; 2. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China)

Abstract: We studied the bioaccumulation characteristics and antioxidant enzymes activity changes of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* under the exposure to cadmium (Cd) and copper (Cu). The bioconcentrations of Cd and Cu in gill and hepatopancreas of *R. philippinarum* showed obvious time and dose dependent responses. The clam showed higher bioaccumulation ability on Cd than that of Cu, and the heavy metal concentrations in hepatopancreas were greater than those in gill. Additionally, the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidases (GPx) and glutathione transferases (GST) were significantly promoted in hepatopancreas and gill of *R. philippinarum* at different concentrations and time intervals ($P < 0.05$), while the activities of SOD and GST were significantly inhibited at high concentrations of Cd and Cu ($P < 0.05$). The activities of GPx recovered to the original level with the time progressed. Taken together, the changes of SOD and GST activities in hepatopancreas and gills of *R. philippinarum* could be considered as potential biomarkers for copper and cadmium contamination in the marine environment.

Key words: *Ruditapes philippinarum*; copper ion; cadmium ion; bioaccumulation; antioxidant enzymes

收稿日期: 2013-06-03; 修回日期: 2013-06-27

资助项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院南海水产研究所)资助项目(2012TS28)

作者简介: 张林宝(1984-), 女, 博士, 助理研究员, 从事海洋环境毒理学研究。E-mail: zhanglinbao1984@163.com

通信作者: 贾晓平(1949-), 男, 研究员, 从事海洋生态环境研究。E-mail: jxp60@tom.com

随着中国经济的高速发展和城市化程度的不断提高, 各类污染物通过地表径流和大气沉降等方式输入近海, 沿海海域环境污染日趋严重, 其中重金属污染尤为突出, 引起了全世界广泛关注^[1-4]。重金属易富集于生物体内并通过食物链传递逐级放大, 不仅影响生物个体的生理生化过程, 甚至会损害整个生态系统的结构和功能, 最终对人类健康和生产活动产生影响。重金属过量富集会诱导生物体产生大量活性氧, 进而导致机体氧化损伤^[5]。生物体细胞内抗氧化酶活力和抗氧化物质含量的变化能直观反映有机体的抗氧化状态, 因此它们可作为判断机体受到氧化损伤程度的生物标志物。重金属对生物体抗氧化酶活性影响的大量研究发现, 低浓度或短时间的重金属暴露能诱导抗氧化酶的活性, 但是随着暴露时间延长或者浓度增加, 这种诱导幅度逐渐变小, 甚至出现抑制^[6]。王凡等^[7]报道随着铜离子(Cu)浓度的升高, 牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)体内过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性表现为低浓度诱导, 高浓度抑制。张红霞等^[8]报道4种重金属离子Cu、铅(Pb)、汞(Hg)、镉(Cd)对日本蛭(*Charybdis japonica*)血淋巴SOD活性的影响均表现为低浓度诱导, 高浓度抑制。近年来, 生态毒理学和环境科学领域越来越广泛地将双壳类体内各种抗氧化酶指标作为生物标志物来评估重金属的毒性效应以及海洋环境中重金属的污染状况^[9-12]。

海洋双壳类多栖息于滨海滩涂或河口地区, 其成体移动性差, 活动范围有限, 容易暴露于各种海洋污染物中并进行生物富集, 因此是一种较为理想的海洋污染指示生物。菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)广泛分布于中国沿海滩涂或河口等重金属污染相对严重的地区, 是研究重金属生态毒理效应的理想试验材料, 而且是中国“贻贝监测计划”的主要指示生物之一。同时, 菲律宾蛤仔也是中国重要的海水经济养殖贝类, 年产量高达 180×10^4 t, 是沿海居民最常食用的海产品之一^[13]。

1 材料与方法

1.1 试验样品及处理

试验用菲律宾蛤仔购自烟台市水产市场, 选取壳长3~4 cm具有斑马纹壳纹的个体进行试验。试验开始前蛤仔驯养于25℃的充气过滤海水中(海水盐度为32, pH为8.1), 每日换水, 整个试验过

程中投喂小球藻(密度约为 10^5 细胞·mL⁻¹), 驯养1周以适应试验条件。然后随机将蛤仔分为5个试验组, 其中一组为海水对照组, 其余为重金属暴露组, 分别暴露于含有不同质量浓度Cd[氯化镉(CdCl₂), 10 μg·L⁻¹, 40 μg·L⁻¹, 理论值]与Cu[氯化铜(CuCl₂), 10 μg·L⁻¹, 40 μg·L⁻¹, 理论值]的海水中。笔者试验设置的重金属暴露浓度参考渤海重度污染区重金属的污染浓度^[14-15]。每组投放60只蛤仔, 试验期间控制对照组与暴露组的培养条件一致, 培养体系含20 L净化海水, 保持通气并控制海水温度为25℃。暴露期间每日定时更换新鲜海水, 并投喂小球藻, 滤食2 h后再更换至含有重金属的新鲜海水中。暴露24 h、48 h和96 h后, 各组分别取10只蛤仔进行解剖获取肝胰腺与鳃组织, 液氮速冻并长期保存于超低温冰箱中, 用于分析重金属蓄积特征和酶活性变化特点。

1.2 肝胰腺与鳃组织中重金属质量分数测定

将上述组织样品放入80℃电热恒温鼓风干燥箱内, 烘干至恒质量后称量。每个样品加入2 mL硝酸(HNO₃), 室温放置过夜, 通风橱内60℃加热24 h, 80℃赶酸12 h。待消化液变为澄清或淡黄色恒定不变时, 即为消化完全, 消化液定容至20 mL, ICP-MS进行重金属离子质量分数的测定。重金属质量分数以μg·g⁻¹干质量表示。重金属元素标准溶液为安捷伦公司商品化的标准溶液。用1.0 μg·mL⁻¹的硒(Se, 45)、锗(Ge, 72)、铟(In, 115)、Bi(铋, 209)的混合标准溶液(溶于体积分数为1%的HNO₃)作为在线内标。

1.3 重金属作用下蛤仔体内抗氧化酶活力测定

取出蛤仔肝胰腺和鳃组织, 加9倍匀浆缓冲液(50 mmol·L⁻¹磷酸缓冲液、1 mmol·L⁻¹ DDT、1 mmol·L⁻¹ EDTA和150 mmol·L⁻¹ KCl)匀浆, 匀浆混合物在4℃ 1 000 g离心15 min, 取其上清液-80℃保存, 用于蛋白质质量分数, SOD、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)和谷胱甘肽硫转移酶(GST)酶活力测定。

总蛋白质量分数使用考马斯亮蓝染色法测定^[16]。以牛血清白蛋白为标准蛋白, 绘制标准工作曲线。

SOD采用黄嘌呤氧化酶法测定^[17]。活力单位定义为每毫克组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为1个SOD活力单位。

基于GPx促进还原型谷胱甘肽(GSH)和过氧

化氢(H_2O_2)反应,用酶促反应还原型 GSH 的消耗来表示 GPx 的活力^[18]。活力单位定义为每毫克组织蛋白每分钟扣除非酶反应的作用,使反应体系中 GSH 浓度降低 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为 1 个 GPx 酶活力单位。

GST 参考任加云等^[19]的方法。活力单位定义为每毫克组织蛋白在 37°C 反应 1 min 扣除非酶促反应,使反应体系中 GSH 浓度降低 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 为 1 个酶活力单位。

SOD、GPx 和 GST 的测定结果用 $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{prot}$ 表示。以上指标均采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒进行测定。

1.4 数据处理

所有试验数据用平均数 \pm 标准差 ($\bar{X} \pm \text{SD}$) 表示,采用 SPSS 13.0 软件,经 One-way ANOVA 方差分析比较海水对照组与重金属暴露组之间是否存在显著性差异, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 肝胰腺与鳃中重金属累积规律

海水对照组菲律宾蛤仔组织中 Cd 与 Cu 的质量分数在所检测时间范围内未出现明显变化,重金属暴露组蛤仔肝胰腺与鳃组织中重金属富集情况见图 1 和图 2。蛤仔在 $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 暴露 96 h 后,其肝胰腺组织内 Cd 富集量随着暴露时间的延长而增加,并在第 96 小时显著高于海水对照组水平(2.65 倍) ($P < 0.05$)。在 $40 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Cd 暴露下蛤仔肝胰腺组织内 Cd 富集也呈现明显的时间效应,在第 24、第 48 和第 96 小时均呈现显著性增加,第 96 小时肝胰腺组织内 Cd 积累量为 $21.2 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,为对照组的 12 倍 ($P < 0.05$) (图 1-a)。Cd 暴露下蛤仔鳃组织内 Cd 富集量也随着 $\rho(\text{Cd})$ 的增加以及暴露时间的延长而显著升高,最高累积量达到 $10.1 \mu\text{g}$

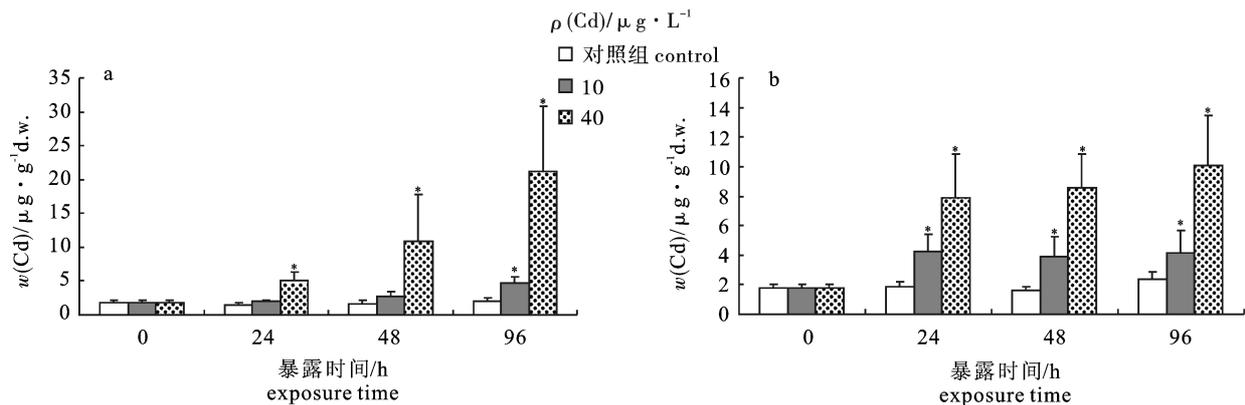


图 1 镉在菲律宾蛤仔肝胰腺(a)与鳃(b)中的累积规律

*. 差异显著 $P < 0.05$, 后图同此

Fig. 1 Bioaccumulation of Cd in hepatopancreas (a) and gill (b) of *R. philippinarum*

*. significant difference ($P < 0.05$). The same case in the following figures.

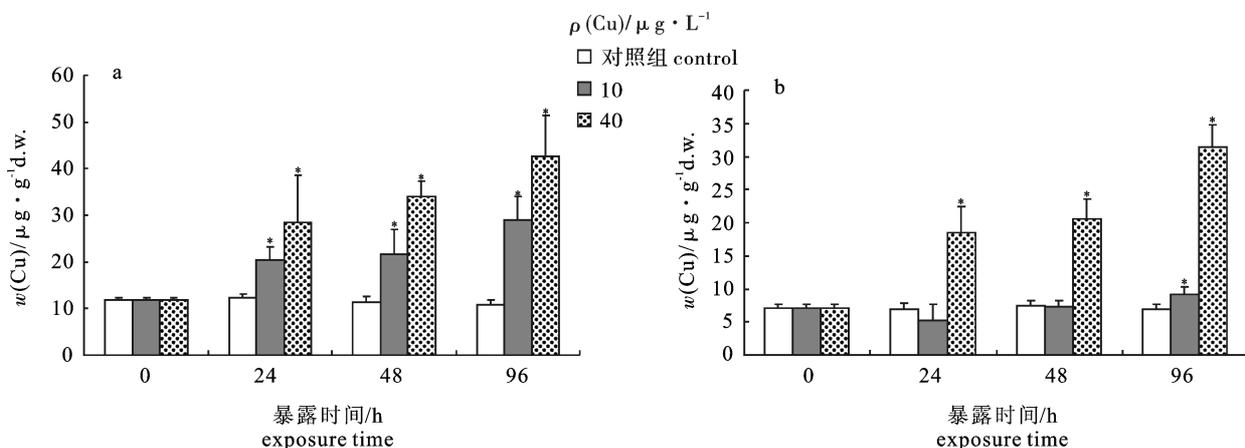


图 2 铜在菲律宾蛤仔肝胰腺(a)与鳃(b)中的累积规律

Fig. 2 Bioaccumulation of Cu in hepatopancreas (a) and gill (b) of *R. philippinarum*

$\cdot g^{-1}$ ，为对照组的 5.8 倍 ($P < 0.05$) (图 1 - b)。可见菲律宾蛤仔肝胰腺对 Cd 的蓄积倍率高于鳃组织。

菲律宾蛤仔肝胰腺与鳃组织对 Cu 的蓄积能力见图 2。Cu 暴露试验中蛤仔肝胰腺对 Cu 的积累量随着暴露浓度的增加和暴露时间的延长而显著升高，最高蓄积量达到 $42.6 \mu g \cdot g^{-1}$ ，为对照组的 3.6 倍 ($P < 0.05$) (图 2 - a)。蛤仔鳃组织对 Cu 蓄积也表现出明显的剂量效应与时间效应。10 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cu 暴露 96 h 后，蛤仔鳃中 Cu 的蓄积量呈现显著变化，为 $9.12 \mu g \cdot g^{-1}$ (为对照组的 1.3 倍) ($P < 0.05$)。40 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cu 暴露 24 h、48 h 和 96 h 后，蛤仔鳃中 Cu 的累积量均显著增加，最高累积量达到 $31.5 \mu g \cdot g^{-1}$ ，为对照组的 4.5 倍 ($P < 0.05$) (图 2 - b)。

综上所述，菲律宾蛤仔 2 种组织对重金属 Cd 与 Cu 的富集具有以下 3 点特征：1) 蛤仔肝胰腺与鳃组织对重金属 Cd 与 Cu 的积累随着暴露浓度与暴露时间的增加而增大，具有明显的浓度效应与时间效应；2) 蛤仔肝胰腺对重金属的富集能力大于鳃组织；3) 菲律宾蛤仔对 Cd 的富集倍率明显高于 Cu。

2.2 Cd 暴露对蛤仔肝胰腺与鳃组织 SOD、GPx 和 GST 活力的影响

10 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cd 处理组蛤仔肝胰腺中 SOD 活力在第 48 小时被显著诱导，而 GPx、GST 活力则未见被显著诱导，与对照组水平相当 (图 3)。40 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cd 暴露 24 h 蛤仔肝胰腺 SOD 活力与海水对照组相比被显著抑制 ($P < 0.05$)，并在第 48 小时快速回升，至第 96 小时 SOD 活力被显著诱导 ($P < 0.05$)。40 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cd 处理后蛤仔肝胰腺 GPx 活力在第 24 小时显著升高 ($P < 0.05$)，并在 48 ~ 96 h 后恢复到对照组水平，GST 活力在 40 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cd 的作用下逐渐降低，并在第 48 小时被显著抑制 ($P < 0.05$)，至第 96 小时恢复到对照组水平。

Cd 暴露对菲律宾蛤仔鳃组织 SOD、GPx 和 GST 活力的影响见图 4。10 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cd 处理后蛤仔鳃 SOD、GPx 和 GST 活力在暴露 24 h 和/或 48 h 后显著升高 ($P < 0.05$)，至第 96 小时恢复到对照组水平。40 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cd 胁迫 24 h，蛤仔鳃 SOD、GPx 活力在第 48 小时被显著诱导 ($P < 0.05$)，GST 活力则在暴露 24 h 后被显著抑制 ($P < 0.05$)。以上结果表明，1) Cd 作用下 3 种抗氧化酶活力在多数时段被显著诱导，但 40 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cd

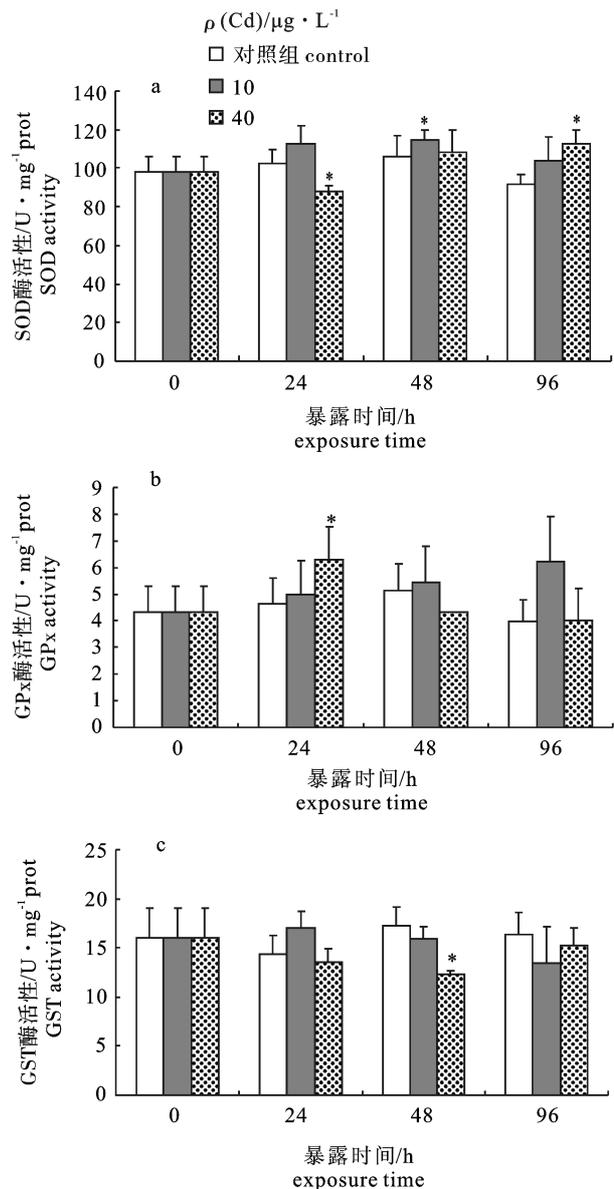


图 3 镉对菲律宾蛤仔肝胰腺超氧化物歧化酶(a)、谷胱甘肽过氧化物酶(b)与谷胱甘肽硫转移酶(c)活力的影响
Fig. 3 Effects of Cd exposure on activities of SOD(a), GPx (b) and GST (c) in hepatopancreas of *R. philippinarum*

暴露则会导致 SOD、GST 活力被显著抑制；2) Cd 作用下蛤仔鳃组织中抗氧化酶活力变化比肝胰腺敏感。

2.3 Cu 暴露对蛤仔肝胰腺与鳃组织 SOD、GPx 和 GST 活力的影响

图 5 和图 6 显示，10 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cu 暴露 96 h 后蛤仔肝胰腺与鳃中 SOD 和 GPx 活力均没有显著变化，GST 活力在第 96 小时被显著抑制 ($P < 0.05$)。40 $\mu g \cdot L^{-1}$ Cu 作用下蛤仔肝胰腺 SOD、GPx 和 GST 活力在第 24 小时和/或第 48 小时被显著诱导 ($P <$

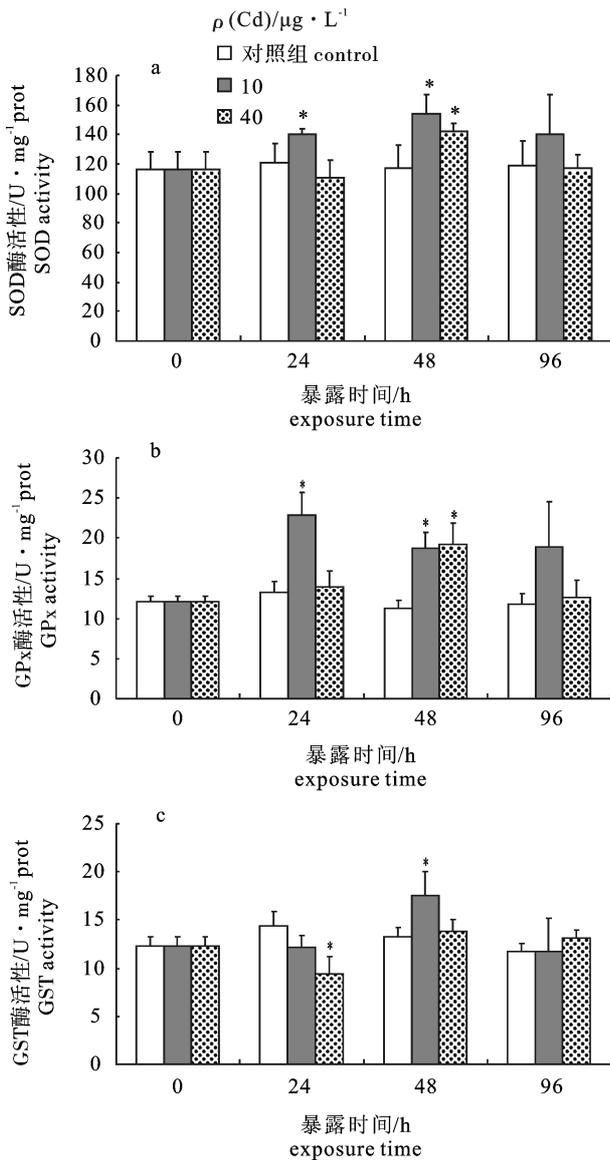


图4 镉对菲律宾蛤仔鳃超氧化物歧化酶(a)、谷胱甘肽过氧化物酶(b)与谷胱甘肽硫转移酶(c)活力的影响
Fig. 4 Effects of Cd exposure on activities of SOD (a), GPx (b) and GST (c) in gill of *R. philippinarum*

0.05), 96 h后恢复至对照组水平。40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu暴露下蛤仔鳃 SOD 活力在第 24 小时开始显著升高并持续至第 96 小时($P < 0.05$); GPx 活力逐渐升高至第 96 小时呈现显著性诱导($P < 0.05$); 而 GST 活力在 24 ~ 48 h 内有所升高, 但与对照组相比无显著差异, 当暴露持续至第 96 小时后鳃 GST 活力被显著抑制($P < 0.05$)。综上所述, Cu 作用下菲律宾蛤仔肝胰腺与鳃组织内抗氧化酶活力变化具有明显的剂量效应, 即低浓度作用下无显著变化, 而高浓度 Cu 作用下大部分抗氧化酶活力被显著诱导。

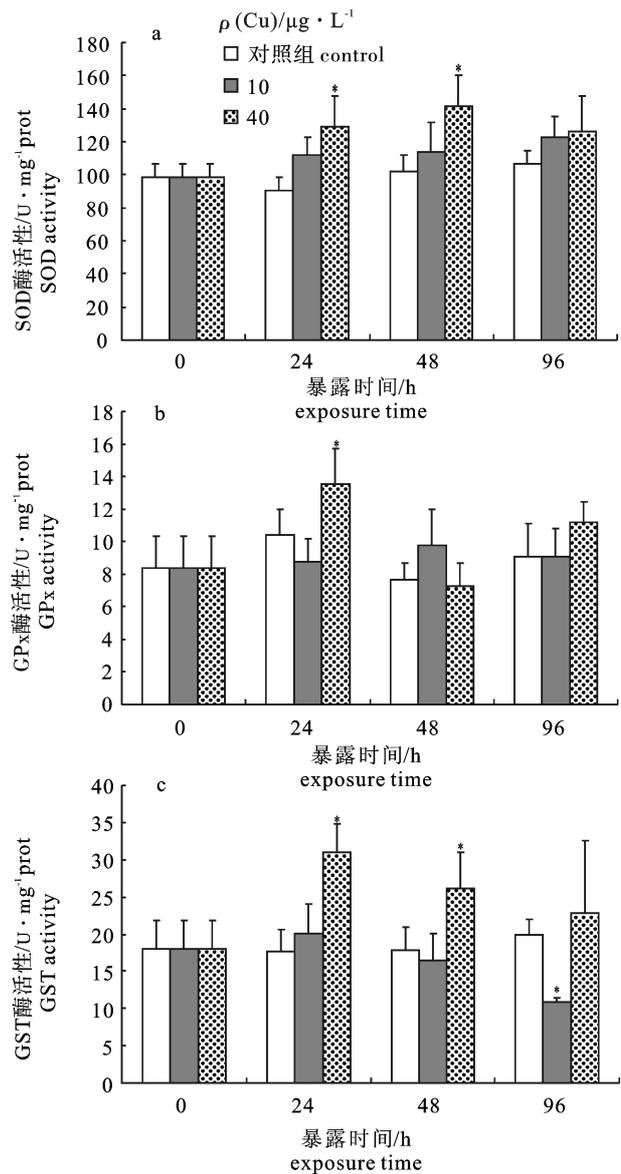


图5 铜对菲律宾蛤仔肝胰腺超氧化物歧化酶(a)、谷胱甘肽过氧化物酶(b)与谷胱甘肽硫转移酶(c)活力的影响
Fig. 5 Effects of Cu exposure on activities of SOD (a), GPx (b) and GST (c) in hepatopancreas of *R. philippinarum*

3 讨论

通常认为水生动物经过以下途径吸收重金属: 1) 经过鳃吸收水中溶解态重金属离子, 通过血液输送到各组织中; 2) 通过摄食经消化道吸收水体或残留在饵料中的重金属; 此外, 重金属也可通过体表与水体的渗透交换作用进入体内^[20-21]。目前有关贝类对重金属生物富集作用的研究较多。日本海虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 消化腺中 Cd 质量分数高达 150 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 干质量, 且随贝龄增加 Cd 质量分数显著增加^[22]; WANG 等^[23] 研究表明, 在

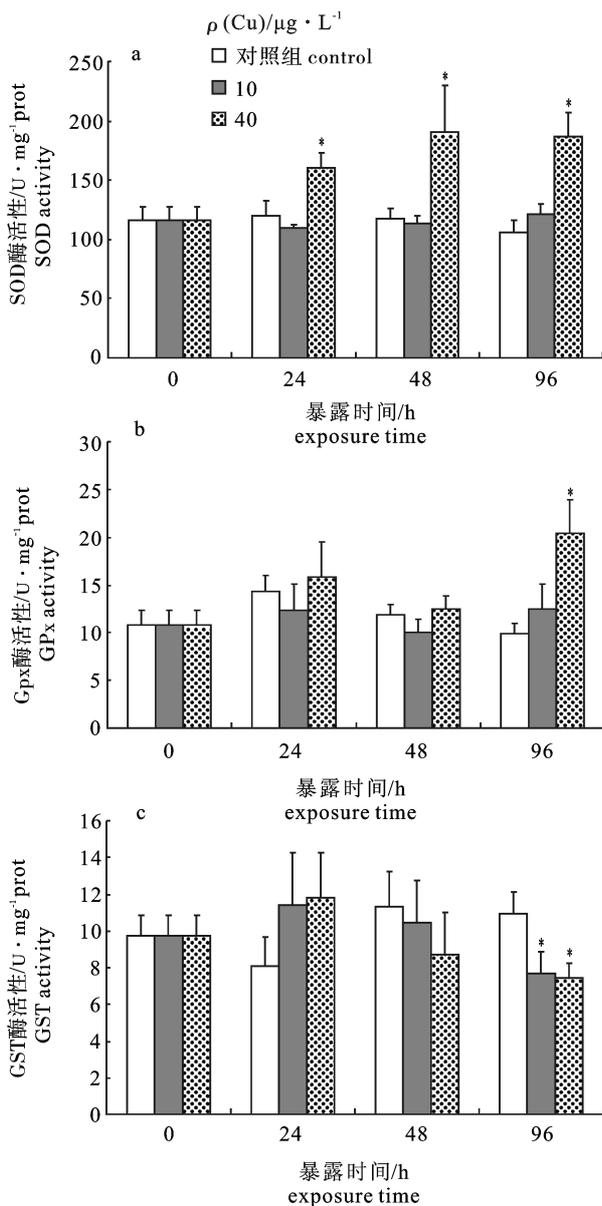


图6 铜对菲律宾蛤仔鳃超氧化物歧化酶(a)、谷胱甘肽过氧化物酶(b)与谷胱甘肽硫转移酶(c)活力的影响
Fig. 6 Effects of Cu exposure on activities of SOD (a), GPx (b) and GST (c) in gill of *R. philippinarum*

Cd 暴露下菲律宾蛤仔鳃、消化盲囊、软体部 Cd 质量分数显著升高, 表现出良好的时间剂量效应, 且各组织对重金属的累积量高低依次为消化盲囊 > 鳃 > 闭壳肌。淡水贻贝 (*Anodonta anatina*) 在 $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu 作用下, 各组织内 Cu 离子均大量累积, 且消化腺中含量最高, 外套膜和鳃次之^[24]。笔者研究发现, 菲律宾蛤仔肝胰腺和鳃组织对重金属 Cd、Cu 的积累随暴露浓度与暴露时间的增加而增大, 具有明显的剂量效应与时间效应。蛤仔肝胰腺对重金属的富集能力大于鳃。以上研究表明重金属在贝

类不同组织器官中的积累量是不均衡的, 一般来说肝胰腺中的含量最高。同种生物各个组织器官对重金属蓄积能力的差异, 与对应组织对重金属的吸收、代谢及调节能力有关, 对于贝类来说, 肝胰腺和鳃是重金属亲和力最大的器官。污染物一般首先通过鳃进入体内, 最终通过血淋巴流经全身, 从而在肝胰腺内被截留而蓄积。另外, TOPCUOĞLU 等^[25] 研究表明重金属在贝类体内的累积浓度由高到低依次为 Pb、钴 (Co)、Cd、铬 (Cr)、Cu、锰 (Mn)、镍 (Ni) 和锌 (Zn), 这与笔者研究中蛤仔组织对 Cd 富集倍率高于 Cu 的结果一致。

为了探讨重金属对菲律宾蛤仔的氧化损伤效应, 该研究考察了重金属 Cd、Cu 作用下蛤仔抗氧化酶活力的变化情况。菲律宾蛤仔肝胰腺和鳃组织内 SOD、GPx 与 GST 活力在暴露的某些时段均显著升高, 但随着暴露时间延长 SOD 与 GST 活力可被高浓度 Cd、Cu 所抑制。上述结果表明, 重金属在菲律宾蛤仔体内的富集对机体造成了氧化胁迫, 体内产生的大量活性氧产物刺激抗氧化酶迅速合成来清除和转运活性氧产物, 即抗氧化防御系统在低氧化胁迫下受到激活。类似的结果在其他贝类也有发现, 如 $80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ Cd 对紫贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*) 作用 21 d 后, 其消化盲囊 SOD 活力被显著诱导^[26]。在受到亚致死浓度 Cu 和 Pb 胁迫 24 h 后, 珠母贝 (*Pinctada fucata*) 外套膜 SOD 活力显著增加^[27]。有关重金属抑制 SOD 和 GST 活力的现象在以前的研究中亦有报道。酶活力的降低可能是因为重金属对细胞的氧化损伤已经超过了细胞本身的承受能力, 大量活性氧产物得不到有效清除, 削弱了抗氧化酶的活力, 甚至抑制了抗氧化酶的表达^[28]。无论抗氧化酶活性增加还是下降, 均表示机体内生成了大量的活性氧产物, 菲律宾蛤仔抗氧化防御系统的正常功能已被扰乱。另外, 菲律宾蛤仔鳃和肝胰腺中 SOD 和 GST 活力对 Cd 或者 Cu 胁迫较为敏感, 可作为重金属污染的潜在生物标志物之一, 但其应用的有效性还需在现场试验中进行验证。

参考文献:

- [1] YUAN Chungang, SHI Jianbo, HE Bin, et al. Speciation of heavy metals in marine sediments from the East China Sea by ICP-MS with sequential extraction[J]. Environ Int, 2004, 30(6): 769-783.
- [2] WANG Changyou, WANG Xiulin. Spatial distribution of dissolved Pb, Hg, Cd, Cu and As in the Bohai Sea[J]. J Environ Sci,

- 2007, 19(9): 1061–1066.
- [3] ZHANG Luoping, YE Xin, FENG Huan, et al. Heavy metal contamination in western Xiamen Bay sediments and its vicinity, China [J]. *Mar Pollut Bull*, 2007, 54(7): 974–982.
- [4] PAN Ke, WANG Wenxiong. Trace metal contamination in estuarine and coastal environments in China [J]. *Sci Total Environ*, 2012, 421/422: 3–16.
- [5] PYTHAROPOULOU S, GRINTZALIS K, SAZAKLI E, et al. Translational responses and oxidative stress of mussels experimentally exposed to Hg, Cu and Cd: one pattern does not fit at all [J]. *Aquat Toxicol*, 2011, 105(1/2): 157–165.
- [6] 孟范平, 高鹰, 赵顺顺, 等. 双壳类分子生物标志物对海水重金属的响应综述 [J]. *中国海洋大学学报*, 2011, 41(5): 100–109.
- [7] 王凡, 赵元凤, 吕景才. 铜对牙鲆 CAT、SOD 和 GSH-PX 活性的影响 [J]. *华中农业大学学报*, 2007, 26(6): 836–838.
- [8] 张红霞, 潘鲁青, 刘静. 重金属离子对日本蛎血淋巴抗氧化酶(SOD, CAT, GPx)活力的影响 [J]. *中国海洋大学学报*, 2006, 36(S1): 49–53.
- [9] VLAHOGIANNI T, DASSENAKIS M, SCULLOS M J, et al. Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals' pollution in coastal areas from the Saronikos Gulf of Greece [J]. *Mar Pollut Bull*, 2007, 54(9): 1361–1371.
- [10] FERNÁNDEZ B, CAMPILLO J A, MARTÍNEZ-GÓMEZ C, et al. Antioxidant responses in gills of mussel (*Mytilus galloprovincialis*) as biomarkers of environmental stress along the Spanish Mediterranean coast [J]. *Aquat Toxicol*, 2010, 99(2): 186–97.
- [11] DUARTE C A, GIARRATANO E, AMIN O A, et al. Heavy metal concentrations and biomarkers of oxidative stress in native mussels (*Mytilus edulis chilensis*) from Beagle Channel coast (Tierra del Fuego, Argentina) [J]. *Mar Pollut Bull*, 2011, 62(8): 1895–1904.
- [12] 王群, 孟范平, 李永富, 等. 北部湾文蛤体内氧化逆境标志物对重金属积累响应研究 [J]. *中国科学: 化学*, 2013, 43(1): 1–11.
- [13] ZHANG Guofan, YAN Xiwu. A new three-phase culture method for Manila clam, *Ruditapes philippinarum*, farming in northern China [J]. *Aquaculture*, 2006, 258(1/2/3/4): 452–461.
- [14] LI Xu, WANG Tiejyu, NI Kun, et al. Metals contamination along the watershed and estuarine areas of southern Bohai Sea, China [J]. *Mar Pollut Bull*, 2013. doi: org/10.1016/j.marpolbul.2013.06.010.
- [15] LI Xiaoyu, LIU Lijuan, WANG Yugang, et al. Integrated assessment of heavy metal contamination in sediments from a coastal industrial basin, NE China [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(6): e39690.
- [16] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248–254.
- [17] HUANG Xuxiong, ZHOU Hongqi, ZHANG Hui. The effect of *Sargassum fusiforme* polysaccharide extracts on vibriosis resistance and immune activity of the shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2006, 20(5): 750–757.
- [18] LI Lijun, ZHANG Feng, LIU Xuemei, et al. Oxidative stress related enzymes in response to chromium (VI) toxicity in *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acridoidea) [J]. *J Environ Sci China*, 2005, 17(5): 823–826.
- [19] 任加云, 潘鲁青, 苗晶晶. 苯并(a)芘和苯并(k)荧蒽混合物对栉孔扇贝毒理学指标的影响 [J]. *环境科学学报*, 2006, 26(7): 1150–1156.
- [20] 吴益春, 赵元凤, 吕景才, 等. 水生生物对重金属吸收和积累研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2006(S1): 133–137.
- [21] HERVÉ-FERNÁNDEZ P, HOULBRÉQUEB F, BOISSONB F, et al. Cadmium bioaccumulation and retention kinetics in the Chilean blue mussel *Mytilus chilensis*: seawater and food exposure pathways [J]. *Aquat Toxicol*, 2010, 99(4): 448–456.
- [22] BELCHEVA N N, ZAKHARTSEV M, SILINA A M, et al. Relationship between shell weight and cadmium content in whole digestive gland of the Japanese scallop *Patinopecten yessoensis* (Jay) [J]. *Mar Environ Res*, 2006, 61(4): 396–409.
- [23] WANG Lin, PAN Luqing, LIU Na, et al. Biomarkers and bioaccumulation of clam *Ruditapes philippinarum* in response to combined cadmium and benzo[a]pyrene exposure [J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 59(12): 3407–3417.
- [24] NUGROHO A P, FRANK H. Uptake, distribution, and bioaccumulation of copper in the freshwater mussel *Anodonta anatina* [J]. *Toxicol Environ Chem*, 2011, 93(9): 1838–1850.
- [25] TOPCUOĞLU S, KIRBASOĞLU C, GÜNGÖR N. Heavy metals in organisms and sediments from Turkish Coast of the Black Sea, 1997–1998 [J]. *Environ Int*, 2002, 27(7): 521–526.
- [26] ORBEA A, ORTIZ-ZARRAGOITIA M, CAJARAVILLE M P. Interactive effects of benzo(a)pyrene and cadmium and effects of di(2-ethylhexyl) phthalate on antioxidant and peroxisomal enzymes and peroxisomal volume density in the digestive gland of mussel *Mytilus galloprovincialis* Lmk [J]. *Biomarkers*, 2002, 7(1): 33–48.
- [27] JING Gu, LI Yu, XIE Liping, et al. Metal accumulation and enzyme activities in gills and digestive gland of pearl oyster (*Pinctada fucata*) exposed to copper [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2002, 144(2): 184–190.
- [28] ZHANG J F, WANG X R, GUO H Y, et al. Effects of water soluble fractions of diesel oil on the antioxidant defenses of the goldfish, *Carassius auratus* [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2004, 58(1): 110–116.