

不同盐度下镉对太平洋牡蛎不同组织热休克蛋白 70 基因表达的影响^{*}

荆圆圆¹, 张天文^{1,2}, 刘恩孚¹, 陈群¹, 孙铭¹, 郭文^{1,2}, 刘广斌^{1,3**}

(1. 山东省海洋生物研究院, 山东青岛 266104; 2. 山东省海水健康养殖工程技术研究中心, 山东青岛 266104; 3. 山东省海水养殖病害防治重点实验室, 山东青岛 266104)

摘要: 研究不同盐度作用下, 镉对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)热休克蛋白 70(Hsp70)基因表达的影响, 为从养殖源头加强贝类的安全生产提供技术支撑, 并为其产品质量控制提供基础数据。分别将太平洋牡蛎在盐度 13 psu、20 psu、27 psu 和 34 psu 下驯化 14 d 后, 将其暴露于 10 μg/L 镉溶液中 28 d 进行蓄积实验, 随后转移至干净的海水中进行排出实验; 将未暴露于镉溶液的对应盐度处理组设置为空白组; 最后采用实时荧光定量 PCR 法进行基因表达量测定。研究结果显示: 4 个盐度作用下, 外套膜中 Hsp70 基因的 mRNA 表达趋势大体相同, 体内镉浓度较低时 Hsp70 基因被诱导, 镉浓度较高时 Hsp70 基因被抑制。消化腺 Hsp70 基因表达大部分受到抑制, 盐度 20 psu 组于第 42 天受到诱导, 盐度 27 psu 组于第 28 天受到诱导, 盐度 34 psu 组于第 7, 21 和 42 天受到诱导。表明 Hsp70 基因对重金属镉具有显著的反应性, 作为镉早期污染综合预警指示分子具有可行性。

关键词: 太平洋牡蛎 镉 盐度 热休克蛋白 70 基因表达

中图分类号: S968.3 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2019)04-0332-05



微信扫一扫, 与作者在线交流(OSID)

0 引言

重金属在生物体内的浓度受到周围环境中重金属浓度、蓄积能力及其他因素的影响, 如生物利用度、盐度及食物摄取程度^[1]。随着我国沿海地区经济的迅速发展, 大量重金属元素进入到附近水体, 对养殖

水域特别是水产动物的污染越来越严重, 即使在较低浓度下, 重金属也可以进入水生生物体内, 并通过食物链进入人体, 危害人体健康。其中, 镉是毒性较大的重金属之一, 能够诱发人类患癌症^[2-3]。

牡蛎是我国主要的海水贝类养殖品种之一, 具有营养丰富、味道鲜美、生长速度快、经济效益高等优

^{*} 山东省农业重大应用技术创新课题“单体三倍体牡蛎生态化养殖模式构建与示范”项目和山东省现代农业产业技术体系贝类创新团队项目(STAID-14)资助。

【作者简介】

荆圆圆(1989—), 女, 研究实习员, 主要从事海水增养殖研究, E-mail: jingyuanyuan0226@126.com。

【**通信作者】

刘广斌(1972—), 男, 副研究员, 主要从事海水增养殖与养殖设施研究, E-mail: liuguangbin72@126.com。

【引用本文】

DOI: 10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20191129.002

荆圆圆, 张天文, 刘恩孚, 等. 不同盐度下镉对太平洋牡蛎不同组织热休克蛋白 70 基因表达的影响[J]. 广西科学院学报, 2019, 35(4): 332-336, 344.

JING Y Y, ZHANG T W, LIU E F, et al. Effects of cadmium on heat shock protein 70 gene expression in different tissues of *Crassostrea gigas* under different salinity [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2019, 35(4): 332-336, 344.

点, 现已成为世界上最重要的经济贝类之一。牡蛎由于其滤食特性和移动性差极易富集重金属^[4-5], 而重金属超标已对我国牡蛎养殖及相关产业发展产生严重的影响。生物体对重金属的吸收, 主要取决于有效的金属离子浓度, 而有效的金属离子浓度又受到盐度的影响^[2-3]。因此, 盐度是影响重金属离子分配的控制因素之一。河口是牡蛎的主产区之一, 盐度随着潮汐和季节变化而波动, 潜在地影响水环境中重金属的吸收率。有研究表明盐度对水生生物吸收重金属离子具有重要作用, 且对不同的重金属作用不同^[1-8]。如: 铬的吸收不受盐度的影响^[6]; 镉受盐度影响最大且呈负相关的关系^[6]; 在盐度为 0~25 psu 时, 砷、二价汞、甲基汞的吸收率随盐度的增加而增加^[8]。

基因表达有助于从分子水平上阐明贝类对于重金属离子的吸收与排出机制。海洋生物受到污染物作用时会对其损伤效应产生综合反应, 通过检查分子水平的损伤程度可进行污染早期预警预报。现有研究表明, 热休克蛋白 70 (*Hsp70*) 是受到热激、重金属、干旱、疾病、寄生虫感染等多种环境污染条件胁迫后产生的诱导蛋白^[9], 在贝类不同组织中均有表达, 其表达量随水环境和季节的变化而变化, 具有广泛的反应性和较高反应灵敏度, 可作为一种潜在的生物标记来检测环境污染。通过研究太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) *Hsp70* 基因对镉的响应规律和特点, 以期评价 *Hsp70* 作为污染物镉早期污染综合预警指示分子的可行性。

1 材料与方法

1.1 材料

实验生物及饵料: 太平洋牡蛎采自山东日照贝类养殖区, 实验前暂养 2 周, 每天投喂小新月菱形藻。牡蛎平均壳长 91.56 mm, 壳高 33.73 mm。挑选体格健壮、活力旺盛、贝壳无破损、个体差异小的太平洋牡蛎为实验动物。

试剂: CdCl_2 (CAS: 7790-78-5)。

1.2 镉的富集和排出

富集和排出两个阶段在 200 L 聚乙烯桶中进行, 实验过程中水体溶解氧含量 ≥ 6.5 mg/L。实验中盐度梯度分别为 13 psu、20 psu、27 psu、34 psu, 每 24 h 调盐度 1 次, 先将自然海水加海盐调至盐度 35 psu, 再添加淡水调至实验所需浓度, 盐度波动范围控制在 ± 0.5 psu。

1.2.1 富集阶段

向 PVC 桶内实验海水直接添加配好的含镉贮备液, 加入镉贮备液后实验海水中镉的终浓度为 0.01 mg/L。每个盐度梯度设置 3 个平行组, 每组放入牡蛎 70 粒, 水体为 150 L。实验期间每个桶内放两个气石进行连续充氧, 以保持实验期间水体中溶解氧含量充足和水体重金属的浓度分布均匀。实验过程中每日 8:00 投喂小新月菱形藻, 投喂前先将实验桶内的海水排尽并更换上新配置的同浓度实验海水, 以保证试验期间海水中重金属浓度的恒定。每个盐度梯度设未添加镉的组作为相应的空白对照组。

富集实验持续 28 d, 期间平均水温为 $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$, pH 值为 8.0 ± 0.5 。分别于 0.083 d、7 d、14 d、28 d 取牡蛎样品, 每次取 3 个牡蛎, 用不锈钢刀去壳, 分别取 0.1 g 外套膜、消化腺及闭壳肌转入 RNA 保护液中, 置于 -20°C 冰箱中, 用于测定相关基因表达量。

1.2.2 排出阶段

富集阶段结束后, 将每个水桶中的实验溶液全部排掉, 在干净的海水中进行贝体内富集重金属的排出实验。实验过程中每日 8:00 投喂小新月菱形藻。排出实验从第 29 天开始, 持续 35 d, 期间平均水温为 $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$, pH 值为 8.0 ± 0.5 。分别于 35 d、42 d、49 d、56 d、63 d 取牡蛎样品进行基因表达含量测定。取样方法与富集阶段相同。

1.3 荧光定量法检测不同组织中 *Hsp70* 基因表达水平

1.3.1 总 RNA 提取

称取 0.1 g 组织 (外套膜、消化腺) 置于 1.5 mL 离心管中, 加入 1 mL TriPure Isolation Reagent, 振荡混匀, 在冰上裂解 5 min 后, 4°C , 12 000 r/min 离心 10 min, 取上清 850 μL 置于新离心管中, 加入 200 μL 三氯甲烷, 剧烈震荡 15 s, 冰上静置 2 min, 于 4°C , 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清 350 μL 置于新离心管中, 再次加入 200 μL 三氯甲烷, 震荡混匀, 冰上静置 5 min 后, 4°C , 12 000 r/min 离心 15 min, 取上清 250 μL 置于新离心管中, 加入等体积异丙醇, 上下颠倒混匀, 室温静置 10 min (出现絮状沉淀)。 4°C , 12 000 r/min 离心 15 min, 倒掉上清, 加入 1 mL 75% 乙醇洗沉淀后, 4°C , 7 500 r/min 离心 5 min, 倒掉上清。室温风干去除乙醇, 然后加入 100 μL DEPC 处理水溶解 RNA, -80°C 保存。

1.3.2 RNA 质量检测

采用 Nanodrop 2000 检测 RNA 的纯度。Real-

time qPCR 参照 SYBR[®] Premix Ex Taq[™] (TaKaRa) 的说明, 内参基因使用太平洋牡蛎 actin rRNA 基因。20 μ L 扩增体系: SYBR[®] Premix Ex Taq[™] 10 μ L, PCR Forward Primer (10 μ mol/L) 0.8 μ L, PCR Reverse Primer (10 μ mol/L) 0.8 μ L, ROX Reference Dye II (50 \times) 0.4 μ L, cDNA 模板 2.0 μ L, DEPC 水 6.0 μ L。反应程序: 95 $^{\circ}$ C 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 34 s, 40 个循环; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s。荧光定量所用引物见表 1。

表 1 荧光定量 PCR 所用引物

Table 1 Primer sequences for qRT-PCR

基因名称 Name of gene	引物序列 (5'-3') Sequence of primer (5'-3')	扩增片段大小 Size of amplicon (bp)
<i>Hsp70</i>	F: CTTGCTCCTGTTGGATGTCAC R: AAGGTCTGCGTCTGTTTGGT	114
<i>Actin</i>	F: CCCATCTACGAAGGTTACGC R: TCGGCTGTGGTGGTGA AAA	125

1.3.3 数据统计分析

根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目标基因的相对表达量^[10]。数据间的显著性差异分析使用 SPSS 17.0 软件的 one-way ANOVA 方法, $P < 0.05$ 认为有显著差异。

2 结果与分析

2.1 不同盐度作用下海水中镉的浓度

在镉中暴露后, 盐度 13 psu、20 psu、27 psu、34 psu 组中太平洋牡蛎的平均死亡率分别为 2.85%、7.14%、8.57% 和 4.28%。整个实验期间, 各个处理组盐度波动成功保持在 ± 0.3 psu 范围内, 水体中镉

浓度接近 10 μ g/L, 整个实验期间镉浓度未见显著性变化(图 1)。

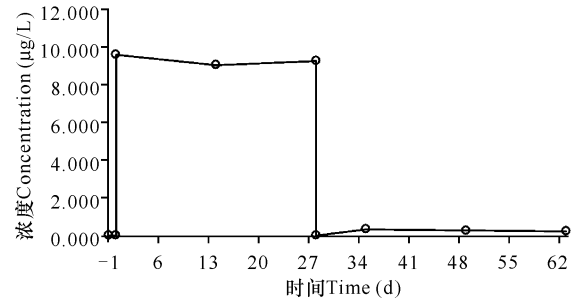
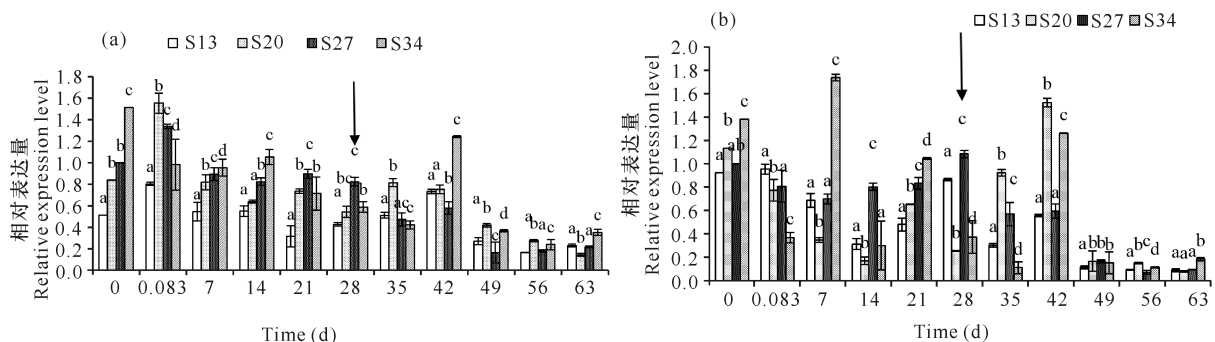


图 1 水体中镉的浓度

Fig. 1 Cadmium concentration in water

2.2 不同盐度作用下太平洋牡蛎 *Hsp70* 基因的表达

4 个盐度作用下, 外套膜中 *Hsp70* 基因的 mRNA 表达趋势大体相同。盐度 13 组, *Hsp70* 基因在富集和排出阶段均被抑制(图 2a)。富集阶段, 0.083~28 d, 抑制作用增强, 净化阶段开始后, 抑制作用于前 2 周减弱, 随后增强。盐度 20 psu 组, *Hsp70* 基因于 0.083 d 先被诱导, 随后抑制作用逐渐增强, 排出阶段开始后, 抑制作用于 35~42 d 减弱, 随后增强。盐度 27 psu 组, *Hsp70* 基因于 0.083 d 被诱导, 随后诱导作用减弱, 恢复至对照组水平, 排出阶段开始后, 抑制作用增强。盐度 34 psu 组, *Hsp70* 基因于 14 d 被轻微诱导, 21~35 d 被抑制, 抑制作用随着时间的延长而增强, 42 d 时被诱导, 随后至实验结束均被抑制。按盐度由低到高, 外套膜中 *Hsp70* 基因表达峰值分别为 0.804 ± 0.085 , 1.558 ± 0.071 , 1.339 ± 0.059 , 1.518 ± 0.237 。



以盐度 27 psu 未暴露组为空白对照; 0 时间点的样品未暴露镉; 数值代表平均值 \pm 标准误 ($n=3$); 箭头代表富集阶段末期及排出阶段的开始; 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

The samples acclimated in salinity of 27 without Cd exposure are the reference samples. The samples at 0 d were out of Cd exposure. Vertical bars represent the mean \pm S. E. ($n=3$). Arrows represent the end of the contamination phase and the beginning of the decontamination phase. Data with different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$)

图 2 不同盐度下镉对牡蛎外套膜(a)和消化腺(b) *Hsp70* 基因表达的影响

Fig. 2 Effects of Cd on *Hsp70* gene expression in different tissues (a. mantle; b. digestive gland) of *C. gigas* under different salinities

消化腺 *Hsp70* 基因表达大部分受到抑制, 盐度 20 psu 组于 42 d 受到诱导, 盐度 27 psu 组于 28 d 受到诱导, 盐度 34 psu 组于 7 d、21 d 和 42 d 受到诱导 (图 2b)。盐度 13 psu 组, 镉对 *Hsp70* 基因的抑制作用呈波动性变化, *Hsp70* 基因的表达于第 7 d 开始被抑制, 于 21~28 d 抑制作用减弱, 并恢复至对照组水平, 排出阶段开始后, 前 2 周抑制作用减弱, 随后增强。盐度 20 psu 组, *Hsp70* 基因于 0.083~14 d, 抑制作用增强, 随后抑制作用呈波动性变化, 排出阶段开始后, *Hsp70* 基因先被诱导, 随后被抑制。盐度 27 psu 组, *Hsp70* 基因富集阶段被轻微抑制, 于 28 d 被轻微诱导, 随后被抑制。盐度 34 psu 组, *Hsp70* 基因于 0.083 d 被抑制, 于第 7 d 被诱导, 随后除了第 21 d 和 42 d, 于其他时间点均被抑制。按盐度由低到高, 内脏团中 *Hsp70* 基因表达峰值分别为 0.952 ± 0.059 , 1.522 ± 0.087 , 1.082 ± 0.099 , 1.734 ± 0.210 。

3 讨论

海水及海洋生物体内重金属镉的浓度已经被多次报道过, 如 Wan 等^[11] 2008 年调查了锦州湾海水中溶解态重金属的时空分布, 发现镉的浓度为 $1.65 \sim 2.01 \mu\text{g/g}$; Gao 等^[12] 统计了 1996—2008 年渤海溶解的微量元素量, 发现镉的浓度为 $0.007 \sim 5.000 \mu\text{g/L}$; Liang 等^[13] 调查了渤海沿海岸线的 3 种生物, 结果表明贻贝、大连湾牡蛎、菲律宾蛤仔体内镉的浓度分别为 $0.34 \sim 1.96 \mu\text{g/g}$ 、 $0.51 \sim 3.29 \mu\text{g/g}$ 、 $0.14 \sim 0.63 \mu\text{g/g}$ 。Sun 等^[14] 对日照海域太平洋牡蛎不同组织中镉的浓度进行了分析, 发现镉在外套膜、消化腺、闭壳肌中的背景值分别为 $(0.75 \pm 0.07) \mu\text{g/g}$ 、 $(1.5 \pm 0.26) \mu\text{g/g}$ 和 $(0.45 \pm 0.06) \mu\text{g/g}$ 。本研究结果表明, $10 \mu\text{g/L}$ 镉暴露下, *Hsp70* 基因的表达受到了影响, 大部分时间点被抑制。Taylor 等^[15] 于 2013 年指出: 低浓度的重金属可以诱导双壳贝类体内 *Hsp70* 基因的表达。 *Hsp70* 基因受到抑制的情况也同样存在。Boutet 等^[16] 于 2003 年发现当太平洋牡蛎同时受到铜和镉的胁迫时, *Hsp70* 的表达受到抑制。Thompson 等^[17] 于 2011 年也发现, 当受到 Cd、Pb、Zn 胁迫时, *Hsp70* 的表达受到抑制。

热休克蛋白也称应激蛋白, 是一组在结构上高度保守的多肽类蛋白质家族分子, 在正常情况和应激条件下都发挥重要生理功能。Hsp70s 是广泛存在于原核和真核生物细胞中的 70 kDa 热休克蛋白家族成员之一。Hsp70 是一种诱导型表达蛋白, 是细胞损伤

时最早出现的保护分子, 帮助变性蛋白复性和清除永久性变性蛋白, 在污染物的刺激下, 其表达量会显著增加。Eckwer 等^[18] 研究发现, 壁潮虫 (*Oniscus asellus*) 受到重金属胁迫后, 机体中 *Hsp70* 基因的表达大致划分为 3 种情况: 第一种情况是自我平衡阶段, 此时重金属浓度较低, 细胞可自我平衡, 应激反应开始后, *Hsp70* 基因表达水平变化不明显; 第二种情况是补偿作用阶段, 随着重金属浓度升高, 细胞应激反应亦提高, *Hsp70* 表达水平逐步提高, 并最终达到最大值; 第三种情况是非补偿作用阶段, 重金属浓度继续升高, 导致细胞蛋白质合成的病理损伤, 从而导致 *Hsp70* 基因表达水平出现下降。本研究中, 太平洋牡蛎外套膜和消化腺中 *Hsp70* 基因表达水平表现出类似的情况, 镉暴露初期, 机体遇到重金属胁迫时, *Hsp70* 可通过防止蛋白的凝聚及变性, 维持细胞内环境稳定, 增强机体抗刺激及生存能力, 表达被诱导; 当浓度超过阈值时, 机体细胞的生物合成能力遭到破坏, 如转录和翻译过程, *Hsp70* 基因的表达受到显著性抑制, 呈现出补偿作用, 说明热休克蛋白的表达对细胞的保护是有一定范围的, 它并不会无限制地持续增加。

4 结论

4 个盐度作用下, 用 $10 \mu\text{g/L}$ 镉处理太平洋牡蛎, 其外套膜和消化腺中 *Hsp70* 基因的表达均受到影响, 对镉的响应较灵敏, 且持续时间达 60 d。因此, *Hsp70* 基因可作为镉污染的早期预警分子, 而外套膜和消化腺都是适宜的材料。

参考文献

- [1] DUTTON J, FISHER N S. Salinity effects on the bio-availability of aqueous metals for the estuarine killifish *Fundulus heteroclitus* [J]. Environmental and Toxicology Chemistry, 2011, 30(9): 2107-2114.
- [2] BENAVIDES M P, GALLEGO S M, TOMARO M L. Cadmium toxicity in plants [J]. Brazilian Journal of Plant Physiology, 2005, 17(1): 21-34.
- [3] NORDBERG G F. Biomarkers of exposure, effects and susceptibility in humans and their application in studies of interactions among metals in China [J]. Toxicology Letter, 2010, 192(1): 45-49.
- [4] LAZOSKI C, GUSMÃO J, BOUDRY P, et al. Phylogeny and phylogeography of Atlantic oyster species: Evolutionary history, limited genetic connectivity and isolation

- by distance [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2011, 426:197-212.
- [5] LÜCHMANN K H, CLARK M S, BAINY A C D, et al. Key metabolic pathways involved in xenobiotic biotransformation and stress responses revealed by transcriptomics of the mangrove oyster *Crassostrea brasiliana* [J]. *Aquatic Toxicology*, 2015, 166:10-20.
- [6] BLACKMORE G, WANG W X. Inter-population differences in Cd, Cr, Se and Zn accumulation by the green mussel *Perna viridis* acclimated at different salinities [J]. *Aquatic Toxicology*, 2003, 62(3):205-218.
- [7] PAVLAKI M D, MORGADO R G, GESTEL C A M, et al. Influence of environmental conditions on the toxicokinetics of cadmium in the marine copepod *Acartia tonsa* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 145:142-149.
- [8] PAN J F, WANG W X. Uptake of Hg (II) and methylmercury by the green mussel *Perna viridis* under different organic carbon conditions [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2004, 276(1):125-136.
- [9] MAUREEN E C, ROLAND S, KARL F. Different expression patterns of heat shock proteins HSP60 and HSP70 in zebra mussels (*Dreissena polymorpha*) exposed to copper and tributyltin [J]. *Aquatic Toxicology*, 2000, 47(3/4):213-226.
- [10] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2⁻($\Delta\Delta C_T$) method [J]. *Methods*, 2001, 25(4):402-408.
- [11] WAN L, WANG N B, LI Q B, et al. Distribution of dissolved metals in seawater of Jinzhou Bay, China [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, 27(1):43-48.
- [12] GAO X L, ZHOU F X, CHEN C A T. Pollution status of the Bohai Sea: An overview of the environmental quality assessment related trace metals [J]. *Environment International*, 2014, 62:12-30.
- [13] LIANG L N, HE B, JIANG G B, et al. Evaluation of mollusks as biomonitors to investigate heavy metal contaminations along the Chinese Bohai Sea [J]. *Science of the Total Environment*, 2004, 324(1/2/3):105-113.
- [14] SUN M, LIU G B, LIN H, et al. Effect of salinity on the bioaccumulation and depuration of cadmium in the pacific cupped oyster, *Crassostrea gigas* [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2018, 62:88-97.
- [15] TAYLOR D A, THOMPSON E L, NAIR S V, et al. Differential effects of metal contamination on the transcript expression of immune and stress-response genes in the Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata* [J]. *Environmental Pollution*, 2013, 178:65-71.
- [16] BOUTET I, TANGUY A, ROUSSEAU S, et al. Molecular identification and expression of heat shock cognate 70 (HSC 70) and heat shock protein 70 (hsp70) genes in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. *Cell Stress & Chaperon*, 2003, 8(1):76-85.
- [17] THOMPSON E L, TAYLOR D A, NAIR S V, et al. A proteomic analysis of the effects of metal contamination on Sydney rock oyster (*Saccostrea glomerata*) haemolymph [J]. *Aquatic Toxicology*, 2011, 103(3/4):241-249.
- [18] ECKWERT H, ALBERTI G, KOHLER H R. The induction of stress proteins (hsp) in *Oniscus asellus* (Isopoda) as a molecular marker of multiple heavy metal exposure: I. Principles and Toxicological assessment [J]. *Ecotoxicology*, 1997, 6(5):249-262.

Nanning, Guangxi, 530001, China)

Abstract: In order to understand the changes and development of the spatial structure of Nanning's urban population in the past 10 years in the 21st century, Geographic information system (GIS) technology and SPSS statistical analysis software were used to analyze the urban population distribution in Nanning in 2000 and 2010. The results showed that the overall spatial structure of Nanning's urban population was clustered. In 2000 and 2010, the population density of Nanning City was highest in the area of Xixiangtang Sub-district Office. The population density of each street in Xingning District increased rapidly. From 2000 to 2010, the population center of gravity moved about 1.2 km to the northwest. The population density function in 2000 and the 2010 population density function were best fitted with an inverse function model and a quadratic function model, respectively. As the distance from the city center increased, the population density decreased. It had a large centripetal effect near the center of the city, which brought about the increase of population in the surrounding areas.

Key words: GIS, population distribution, urban internal structure, Nanning City

责任编辑: 陆 雁

(上接第 336 页 Continued from page 336)

Effects of Cadmium on Heat Shock Protein 70 Gene Expression in Different Tissues of *Crassostrea gigas* under Different Salinity

JING Yuanyuan¹, ZHANG Tianwen^{1,2}, LIU Enfu¹, CHEN Qun¹, SUN Ming¹, GUO Wen^{1,2}, LIU Guangbin^{1,3}

(1. Marine Biology Institute of Shandong Province, Qingdao, Shandong, 266104, China; 2. Healthy Mariculture Engineering Research Center of Shandong Province, Qingdao, Shandong, 266104, China; 3. Shandong Key Laboratory of Disease Control in Mariculture, Qingdao, Shandong, 266104, China)

Abstract: The effect of cadmium on the expression of heat shock protein 70 (*Hsp70*) in *Crassostrea gigas* under different salinity was studied to provide technical support for strengthening the safe production of shellfish from breeding sources, and provide basic data for product quality control. Oysters were acclimatized to different salinities (13 psu, 20 psu, 27 psu, and 34 psu) for 14 d, and exposed to 10 $\mu\text{g/L}$ Cd solution for 28 d for storage experiments, and then transferred to clean seawater for discharge experiment. The corresponding salinity treatment group not exposed to the cadmium solution was set as the blank group. Finally, the real-time fluorescence quantitative PCR method was used to determine the gene expression level. The results showed that the mRNA expression trend of *Hsp70* gene in the mantle was generally the same under the effect of four salinities. *Hsp70* gene was induced when the cadmium concentration in the body was low, and *Hsp70* gene was suppressed when the cadmium concentration was high. *Hsp70* expression in the digestive gland was mostly inhibited. The salinity 20 psu group was induced on day 42. The salinity 27 psu group was induced on day 28. The salinity 34 psu group was induced on days 7, 21, and 42. It shows that *Hsp70* gene has significant reactivity to heavy metal cadmium, and it is feasible as a comprehensive early warning indicator of cadmium pollution.

Key words: *Crassostrea gigas*, cadmium, salinity, heat shock protein 70, gene expression

责任编辑: 陆 雁