

微藻去除重金属镉的抗性机理研究进展

孔祥雪 李宝珍 杨金水*

(农业生物技术国家重点实验室 中国农业大学生物学院 北京 100193)

摘要: 与水体中重金属去除的传统方法相比,生物吸附法是一种更具经济效益和环境效益的技术。微藻由于自身的廉价性和高吸附性已成为高效生物吸附剂的材料来源。要评价微藻在镉(Cd)去除方面的应用潜力,解析微藻抗重金属的机理是必要条件。因此,本文从抗 Cd 微藻种类, Cd 对微藻光合作用、生长及结构的影响,胞外吸附的机理,胞内积累的机理,以及基因调控水平,阐述了目前微藻抗 Cd 的研究进展,以为后续的研究提供理论帮助。

关键词: 微藻, 镉, 抗性机理, 胞外吸附, 胞内积累

Research progress in microalgae resistance to cadmium stress

KONG Xiang-Xue LI Bao-Zhen YANG Jin-Shui*

(State Key Laboratory of Agrobiotechnology, College of Biological Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Compared with traditional methods, removal of heavy metals from water by biosorption is a more economic and environmental friendly technology. Microalgae have become a potential biological adsorbent for their low cost and high adsorption rate. To evaluate the potential application value of microalgae in the removal of cadmium, the mechanism of microalgae resistance to heavy metals needs to be analyzed. This review summarizes the microalgae species resistant to Cd, the effects of Cd on microalgae growth, photosynthesis and cell structure, the mechanism of extracellular adsorption and intracellular accumulation, and the cadmium resistance gene regulation. It is of reference value for further heavy metal removal researches.

Keywords: Microalgae, Cadmium, Resistance mechanism, Extracellular adsorption, Intracellular accumulation

镉(Cd)是严重污染水体的重金属元素之一,主要来源于电镀、冶炼、合金制造、塑料、电池、采矿、肥料生产等^[1]。Cd 对人体的毒性仅次于汞和铅,人长期食用 Cd 污染的食物会引起痛痛病(即骨癌病)和肾衰竭。2004 年 1 月 1 日至 2013 年 12 月,

我国共发生 Cd 污染事件 19 起。国务院发布的《“十三五”国家食品安全规划》中明确强调“十三五”期间将严格推进重金属污染源头治理,因此水体中重金属 Cd 的去除至关重要。

常见的重金属处理方法有化学沉降、离子螯

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 31570117)

*Corresponding author: Tel: 86-10-62733464; E-mail: yangjsh1999@163.com

Received: March 01, 2017; Accepted: May 02, 2017; Published online (www.cnki.net): May 09, 2017
基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 31570117)

*通讯作者: Tel: 86-10-62733464; E-mail: yangjsh1999@163.com

收稿日期: 2017-03-01; 接受日期: 2017-05-02; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2017-05-09

合、活性炭吸附和离子交换法^[2-3]，但这些方法不仅复杂、昂贵，而且应用起来还会受技术和经济条件的限制^[4]。然而生物吸附所用的生物材料具有廉价、环保、易回收金属离子等优点，使其具有明显的优势^[5]。因此，生物吸附技术在重金属处理方面受到了广泛的关注。

具有吸收重金属能力的生物有多种，如植物、真菌、细菌和微藻。微藻种类多、分布广、适应性强、价廉易得、对重金属具有较高的吸附能力^[6]，而且微藻具有高的含油量(含量占细胞干重的10%–80%)，是生产生物柴油的绝佳材料^[7]。Yang等^[8]研究了Cd胁迫下产油微藻 *Chlorella minutissima* UTEX 2341 对 Cd 的吸附积累能力和产油能力，发现其在吸附 Cd 的同时胞内油脂含量可以达到20.98% (对照为 10.82%)，是对照组的 1.9 倍以上，而且提取后的油脂中 Cd 含量极低，为微克级，符合中国柴油的生产标准。因此，采用水体重金属的微藻吸附技术同时耦合微藻柴油的生产技术，不仅可以提升污水处理的经济效益，而且可以促进微藻柴油的产业化发展。但是目前对 Cd 抗性机理的研究多以细菌、真菌、植物为主，以微藻为对象的研究较少，因此本文针对目前关于微藻抗 Cd 胁迫的

研究成果进行综述，以期对今后该领域的研究提供帮助。主要集中在以下 3 个方面：(1) Cd 胁迫对微藻叶绿素和细胞结构的影响；(2) Cd 的胞外吸附积累机理；(3) Cd 的胞内积累脱毒机理。

1 不同微藻去除 Cd 的性能比较

微藻是需要用显微镜观察的微型藻类的总称，占藻种的 70%，多数属于绿藻门和硅藻门。影响微藻去除重金属的因素很多，如微藻种类、生物量及其细胞大小，pH，温度，与重金属的接触时间，重金属的初始浓度，其他有竞争性的金属离子的存在等^[5]。每种微藻由于自身生理特性的原因而对 Cd 的耐受能力不同，即使同一属的微藻对 Cd 的耐受能力也有很大差异，如 Cd 对扁藻属的 *Tetraselmis gracilis* 和 *Tetraselmis suecica* 的半抑制浓度(EC₅₀)分别为 1.8 mg/L 和 7.9 mg/L^[9]。此外，耐受能力高的微藻对 Cd 的去除能力不一定高。Folgar 等研究了杜氏盐藻 *Dunaliella salina* 对 Cd 的耐受能力与去除能力的关系，发现 *Dunaliella salina* 具有较高的耐受能力(EC₅₀：48.9 mg/L)，但其对 Cd 的去除量仅有 0.565 mg/L^[9]。对几种不同绿藻和硅藻去除 Cd 的能力进行比较，具体如表 1 所示。从表 1 中可以看出，不同藻种对 Cd 的去除能力存在很大的差异。其

表 1 不同微藻去除 Cd 的性能比较
Table 1 The comparison of Cd removal by different microalgae

藻		pH	镉去除量	年份
Algae			Cd removal (mg/g)	Year
硅藻	<i>Navicula pelliculosa</i>	—	~0.025	2009 ^[10]
	<i>Planothidium lanceolatum</i>	7.0	275.510	2012 ^[11]
	<i>Chaetoceros calcitrans</i>	8.0	1 055.270	2012 ^[12]
	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	8.2	67.100	2014 ^[13]
绿藻	<i>Scenedesmus abundans</i>	8.0	574.000	2009 ^[14]
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	7.0	0.087	2009 ^[14]
	<i>Desmodesmus pleiomorphus</i> (ACOI 561)	4.0	85.300	2010 ^[15]
	<i>Desmodesmus pleiomorphus</i> (L)	4.0	61.200	2010 ^[15]
	<i>Tetraselmis suecica</i>	—	40.220	2010 ^[16]
	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	—	24.960	2011 ^[17]
	<i>Pseudochlorococcum typium</i>	7.0	5.480	2012 ^[18]
	<i>Tetraselmis chuii</i>	8.0	13.460	2012 ^[12]
	<i>Chlorella vulgaris</i>	6.6	3.600	2014 ^[19]
	<i>Chlorella minutissima</i> UTEX 2341	6.0	303.030	2015 ^[8]
	<i>Chlorella sorokiniana</i>	5.0	29.080	2016 ^[20]

中硅藻 *Chaetoceros calcitrans* 对 Cd 的去除量可达 1 055.27 mg/g, 比细菌 *Staphylococcus xylosus* (250 mg/g)高出 3 倍; 绿藻 *Chlorella minutissima* UTEX 2341 和 *Scenedesmus abundans* 对 Cd 也具有很好的去除能力。因此筛选高 Cd 去除能力的藻种并以其为研究材料, 无论是对微藻抗 Cd 机制的研究, 还是高效微藻生物吸附剂的开发, 都是十分必要的。

2 Cd 胁迫对叶绿素含量和细胞结构的影响

光合作用是植物生长发育的基础, 是植物生长的物质和能量来源。Cd 胁迫能够影响微藻细胞叶绿素含量和细胞结构的变化, 进而影响光合作用和藻的生长。

2.1 Cd 胁迫对叶绿素含量的影响

有研究表明低浓度的 Cd 不影响藻体的生长或对微藻生长有略微的促进作用。Nowicka 等^[21]研究发现, 1.12 mg/L CdCl₂ 胁迫 *Chlamydomonas reinhardtii* 一周后, 其叶绿素的合成几乎不受影响。Shanab 等^[18]研究了拟绿球藻 *Pseudochlorococcum typicum*、栅藻 *Scenedesmus quadricauda* var. *quadripina* (Chlorophyta)对 5–100 mg/L Cd 的抗性及其去除能力, 结果表明低浓度的 Cd (5–20 mg/L) 可促进叶绿素 a 的合成。但是低浓度 Cd 促进叶绿素合成的作用机理目前尚不清楚。Cheng 等^[22]研究了不同浓度 Cd 对绿藻 *Chlorella vulgaris* 的胁迫影响, 发现随着 Cd 含量的增加, 叶绿素 a、b 和类胡萝卜素的含量减少, 在 Cd 含量为 7 mg/L 时藻的生长受到抑制, 此时叶绿素 a、b 和类胡萝卜素含量分别下降 93.37%、74.32%和 71.88%。Nowicka 等^[21]研究发现 *Chlamydomonas reinhardtii* 在 11.24 mg/L CdCl₂ 胁迫培养一周后, 50%的叶绿素合成受到抑制, 当 Cd 浓度达到 22.48 mg/L 时, 叶绿素完全降解。孔祥雪^[23]发现 *Auxenochlorella protothecoides* UTEX 2341 在 224.82 mg/L Cd 胁迫培养 120 h 时叶绿素含量相比对照下降了 11.25%; 337.23 mg/L Cd 胁迫下叶绿素的含量相比对照下降了 57.5%。这一方面证实了高浓度 Cd 胁迫确实

可破坏叶绿素的合成, 另一方面也证实了 *Auxenochlorella protothecoides* UTEX 2341 对 Cd 具有较强的耐受能力, 在高浓度 Cd 存在条件下叶绿素的抑制程度远远低于已有研究报道。

2.2 Cd 胁迫对微藻细胞结构的影响

Cd 胁迫能够导致微藻细胞器发生退化或形态呈现多样化等。Shanab 等^[18]采用 10 mg/L Cd 胁迫拟绿球藻 *Pseudochlorococcum typicum* 48 h 后观察, 在其细胞表面观察到高电子密度图层, 同时淀粉颗粒在蛋白核周围大量积累且细胞器发生衰退。作者认为细胞表面的高电子密度图层是藻在 Cd 胁迫下的一种自我保护机制, 同时淀粉颗粒的积累是其细胞器(叶绿体、蛋白核、线粒体)衰退后的一种能量储存形式。Wang 等^[24]对 Cd 胁迫 96 h 的小球藻 *Chlorella pyrenoidosa* 进行超微结构观察, 发现对照中的细胞器易于区分, 结构完整而清晰。相反, Cd 胁迫的藻细胞结构明显破坏, 胞质异质化、空泡化, 液泡形态呈现多样化, 细胞壁也发生了改变。Yang 等^[8]采用透射电镜观察了 *Chlorella minutissima* UTEX 2341 在 67.45 mg/L Cd 胁迫下的形态特征, 发现正常藻细胞呈圆形, 表面较光滑, 细胞内部及外部均无明显高电子密度颗粒; Cd 胁迫下大部分细胞器解体不易区分, 细胞壁和细胞内部出现明显的电子密度较高的 Cd 的聚集体, 表明藻细胞可通过胞外吸附和胞内聚集降低 Cd 对细胞的毒性。

虽然 Cd 可引起微藻细胞结构的破坏, 但微藻可通过以下方式来解除镉的毒性作用。(1) 细胞表面的快速被动吸附: 该过程不需要代谢活动, 速度快, 可逆。该过程中重金属被吸附在细胞表面的功能基团上, 从而避免 Cd 进入胞内造成破坏; (2) 细胞外到内的慢速主动运输: 该过程为代谢依赖的过程, 速度慢, 不可逆。包括金属离子经过细胞膜的运输进入胞内细胞器中积累, 或者和胞内富含巯基的复合物结合从而脱毒^[15]。当胞外吸附不足以应对过量的重金属时, 胞内机制开启脱毒功能^[25]。

3 Cd 的胞外吸附机理

微藻细胞抵抗 Cd 胁迫的第一道防线为细胞

壁, 其在微藻吸附 Cd 的过程中起着重要的作用。Chojnacka 等^[26]认为藻细胞壁的组分如肽聚糖、糖醛酸、磷壁酸、多糖、蛋白质, 这些物质均属于聚合电解质, 聚合电解质携带的带电基团对于不同金属有不同的亲和力和特异性, 能通过物理吸附、离子交换、化学吸附、络合、螯合、微沉降和截留作用结合环境中的 Cd 并形成沉淀, 这一过程不需要代谢活动, 速度快, 可逆, 从而阻止 Cd 进入细胞产生毒性。

Belghith 等^[27]发现在 150 mg/L Cd 胁迫下, 杜氏盐藻的细胞表面大约吸附了 95% 的 Cd 离子。Macfie 等^[28]研究了有细胞壁的莱茵衣藻和无细胞壁的莱茵衣藻对 Cd 的吸附能力, 发现有细胞壁的莱茵衣藻吸附的 Cd 量是无细胞壁莱茵衣藻的 2 倍左右。Santiago-Martínez 等^[29]研究了纤细裸藻 *Euglena gracilis* 对 Cd 的吸附依赖于细胞壁的组分, 发现可能具有结合 Cd 离子能力的氨基酸(谷氨酸, 天冬氨酸, 半胱氨酸)和一些糖类(木糖, 鼠李糖, 海藻糖)所占比例较高。

4 Cd 的胞内脱毒机理

重金属对生物的毒性一部分体现在胞内产生的活性氧(ROS)对细胞造成的氧化胁迫。在正常条件下, 生物体内产生的活性氧与其清除系统保持平衡, 当细胞处于 Cd 胁迫时会刺激 ROS 的过量产生。Cd 通过与一些抗氧化酶类和谷胱甘肽(GSH)的巯基基团等活性位点结合而导致生物抗氧化防御系统的失活, 从而间接地诱导 ROS 的产生。藻类的抗氧化系统由抗氧化酶和抗氧化剂组成, 在胁迫条件下, 抗氧化酶和抗氧化剂的活性提高, 抗氧化系统得到增强, 从而增加对逆境的抗性。此外, 进入到细胞内的 Cd 离子可以被一些金属螯合物如植物螯合素 PCs、金属硫蛋白类似物 MTs-like、GSH 等所结合形成稳定的金属复合物, 或者被进一步运输至亚细胞器如液泡、叶绿体中, 降低金属离子对细胞质的毒性。

4.1 抗氧化防御系统

藻类的抗氧化系统包括抗氧化酶和抗氧化剂。抗氧化酶主要包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、谷胱甘肽还原酶(GR)等。SOD 是活性氧清除反应过程中第一个发挥作用的抗氧化酶, 能将超氧化物阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)快速歧化为过氧化氢(H_2O_2)和分子氧, 随后, H_2O_2 在过氧化氢酶(CAT)、各种过氧化物酶和抗坏血酸/谷胱甘肽循环系统的作用下转变为水和分子氧。抗氧化剂主要包括维生素 C (抗坏血酸)、还原性谷胱甘肽(GSH)、类胡萝卜素(CAR)、生育酚(维生素 E)、脯氨酸等, 其中抗坏血酸和谷胱甘肽对清除活性氧有相当重要的作用。Okamoto 等^[30]发现纤细裸藻在 Cd 浓度为 1.5 mg/L 和 3.0 mg/L 时 SOD 活性分别提高了 41% 和 107%。Figueira 等^[31]发现在 0.2 mg/L Cd 胁迫下硅藻 *Nitzschia palea* 的 SOD、CAT 活性和 GSH 含量明显增加, 表明细胞处于一个高度氧化胁迫水平。Cheng 等^[22]研究表明随着 Cd 浓度的增加 *Chlorella vulgaris* 中 SOD、CAT、GR 的活性先增加后降低, 当 Cd 浓度为 0.5 mg/L 时 SOD 和 CAT 的活性达到最大, 分别提高了 34.18% 和 38.79%; 当 Cd 浓度为 1 mg/L 时 GR 的活性达到最高, 提高了 92.38%; 当 Cd 浓度增加为 7 mg/L 时 SOD、CAT、GR 的活性显著低于对照。本课题组孔祥雪^[23]发现高 Cd 胁迫确实可显著降低绿藻 *Auxenochlorella protothecoides* UTEX 2341 胞内 SOD 和 CAT 的活性, 在 224.82 mg/L Cd 胁迫 120 h 时 SOD、CAT 的活性与对照相比分别降低了 38.2% 和 69.98%, 表明微藻的抗氧化酶活性与重金属浓度之间具有一定的剂量相关性。

Belghith 等^[27]发现 100 mg/L Cd 胁迫下, 杜氏盐藻胞内一些具有抗氧化能力的次级代谢产物如多酚类、黄酮类和类胡萝卜素类含量增加。Haghighi 等^[32]研究了 Cd 胁迫下蓝藻的类胡萝卜素含量的变化, 发现随着 Cd 浓度的增加, 类胡萝卜素增加, 指出类胡萝卜素不仅能够保护光合作用, 还能够清除体内的 ROS, 保护细胞免受重金属的

毒害作用。本课题组^[23]也发现在 224.82 mg/L Cd 胁迫 *Auxenochlorella protothecoides* UTEX 2341 96 h 时总类胡萝卜素(CAR)含量相比于对照增加了 41.67%, 进一步证实了绿藻可通过增加胞内抗氧化剂 CAR 的含量抵抗 Cd 的毒性。Hasan 等^[33]发现当抑制番茄胞内 GSH 合成后, 细胞内 ROS 含量增加, 此时, 添加外源 GSH 能够减小 Cd 造成的毒性。本课题组的孔祥雪^[23]也发现 Cd 胁迫对绿藻 *Auxenochlorella protothecoides* UTEX 2341 GSH 含量有显著的影响($P \leq 0.05$), Cd 胁迫使 GSH 含量显著增加, 随着 Cd 浓度的增加, 胞内 GSH 含量持续增加, 在 337.23 mg/L Cd 胁迫 120 h 时 GSH 的含量与对照相比增加了 479.41%, 并通过添加 GSH 合成关键酶的特异性抑制剂 L-丁硫氨酸-亚砷亚胺(BSO)证实了 GSH 在绿藻抗 Cd 过程中起着重要作用。

4.2 胞内螯合作用

Cd 对巯基有较强的亲和力, 因此 Cd 可以被富含巯基的蛋白如 PCs (植物螯合素)所结合, 从而降低自由 Cd 离子对细胞的毒害作用^[34]。PCs 是一种小的金属结合肽(2–10 kD), 它以谷胱甘肽为底物由植物螯合素合酶(PCS)催化形成, 大部分藻类均能合成 PCs。Wang 等^[35]发现 Cd 胁迫硅藻 *Thalassiosira nordenskioldii* 15 d 后, 胞内 PC₃ 和 PC₄ 的含量增加。Santiago-Martínez 等^[29]发现纤裸藻 *Euglena gracilis* 为了响应 Cd 胁迫, 其 GSH、PCs 和 Cys 含量明显增加, 胞内硫化物的含量也增加。Figueira 等^[31]研究了 0.1 和 0.2 mg/L Cd 胁迫下硅藻 *Nitzschia palea* 中 PC 对 Cd 的螯合效率, 发现胞内 75.2%–91.2%的 Cd 被 PCs 螯合。Morelli 等^[36]发现三角褐指藻在短期 Cd 胁迫下几乎 50%的谷胱甘肽转化为 PC, 且将 Cd 胁迫下的藻转至正常培养基中, PC 含量降低、谷胱甘肽含量升高, 进一步阐明了金属-PC 络合物的降解和释放机制。

金属硫蛋白(MT)分子量较低(6–7 kD), 富含半胱氨酸, 不含芳香族氨基酸, 具有金属结合能力, 在 1957 年由 Vallee 首次发现。Yoshida 等^[37]发现 *Chlorella sorokiniana* ANA9 在 100 mg/L Cd 胁迫

4 d 后胞内出现了 MT-like 蛋白。Huang 等^[38]发现当 Cd 浓度小于 9 mg/L 时, 随着 Cd 浓度的增加, *Chlorella vulgaris* 中 MT-like 蛋白含量也增加, 在 Cd 浓度为 6.74 mg/L 时 MT-like 蛋白含量达到最大, 而杜氏盐藻在 100 mg/L Cd 胁迫下, 胞内总的 MT 含量增加了 29 倍^[27]。Perales-Vela 等^[39]发现 Cd 能够诱导 *Scenedesmus subspicatus* 和 *Thalassiosira weissflogii* 产生 MtIII, 长链 MtIII能够结合重金属形成稳定的复合物。Han 等^[40]将紫羊茅的 MT-like 基因转化进入莱茵衣藻叶绿体中, 发现转基因藻株的 Cd 结合能力增强, 且 Cd 胁迫 3 d 下转基因藻株的 IC₅₀ 比对照高 55.43%。综上所述, Cd 胁迫对 MT 的产生有一定的剂量诱导效应, 但是 Cd 胁迫对 MT 的调控机制还有待于进一步研究。

5 Cd 胁迫下微藻的组学研究

近些年来, 随着测序技术的发展, 各种组学技术, 尤其是转录组学技术被广泛应用于生态毒理学的研究领域。Jamers 等^[41]研究发现在 Cd 胁迫条件下, 莱茵衣藻中与氧化胁迫相关的基因转录情况发生了不同程度的上调, 与谷胱甘肽合成代谢相关的代谢物也发生了较大的变化。Puente-Sánchez 等^[42]在杜氏盐藻中也发现 Cd 胁迫下与微藻光合作用相关, 与转移酶活性相关, 与色素、类囊体膜、细胞壁和液泡膜相关, 以及氧化胁迫、谷胱甘肽合成相关的转录本均得到上调。Brembu 等^[43]发现 Cd 胁迫时, 硅藻中与金属转运、细胞信号、脱毒有关蛋白的基因发生了明显的转录调控变化, 并进一步预测 ATPase5-1B 能够将 Cd 运至细胞外, VIT1/CCC1 能够将 Cd 扣押在液泡中。除了采用转录组学分析 Cd 胁迫下的基因调控变化, Gillet 等^[44]采用蛋白组学的方法研究了 Cd 胁迫下莱茵衣藻胞内蛋白水平的变化, 发现和光合作用、卡尔文循环、叶绿素合成相关的酶类表达下调, 与谷胱甘肽合成、ATP 代谢、氧化胁迫响应、蛋白折叠相关的蛋白表达上调。这些研究虽然为阐明微藻抗 Cd 的机理奠定了一定理论基础, 但仍需进一步从基因功能调控和蛋白功能互作方面做深入研究。

6 小结和展望

综上所述,微藻抗 Cd 的机理可概括如下:(1) 细胞壁上的功能基团如羧基、羟基、氨基、巯基、磷酸根等是微藻抗 Cd 的第一防线;(2) 微藻胞内的金属螯合物如 PCs 和 MTs 是降低胞内游离 Cd 毒性的关键保障;(3) 微藻胞内的抗氧化酶类如 SOD、CAT、APX 和抗氧化剂 GSH、ASA、CAR 是清除胞内 Cd 的又一保障;(4) 微藻全基因组的整体代谢网络调控是保障藻体活性的关键。基于以上分析我们建立了微藻去除 Cd 的机理模型(图 1)。

虽然目前对微藻抗 Cd 胁迫的机理研究已经取得了一定的进展,但尚有许多方面需要深入研究:

(1) 由于大多数重金属是亲水性的,因此其经过亲脂性的膜进入细胞及亚细胞器的相关转运蛋白仍然没有明确的报道;(2) Cd 胁迫下,微藻合成 MTs 和 PCs 清除 ROS 的具体作用机制及 Cd-PCs 的形成、转运和贮存仍不清楚;(3) 低浓度 Cd 促进微藻生长,高浓度 Cd 抑制微藻生长的分子机理仍不清楚;(4) 微藻 Cd 胁迫下的信号传递通路并不清楚。对以上问题的深入研究,将有助于最终阐明微藻抗 Cd 分子机理。

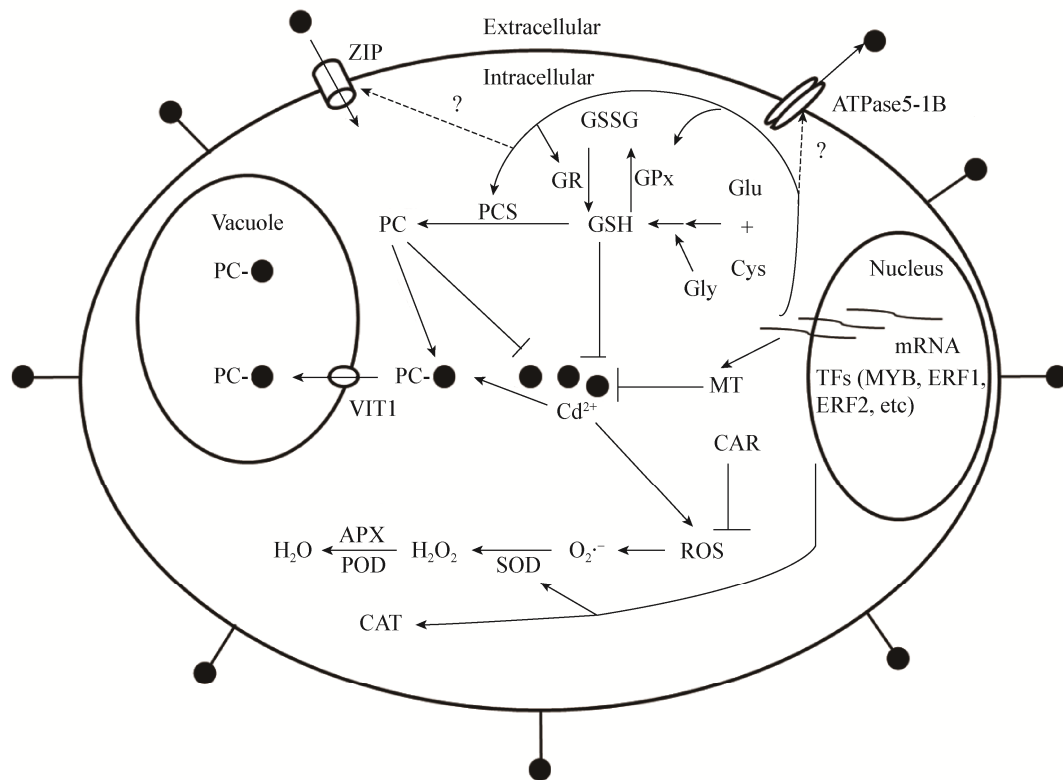


图 1 微藻去除镉的机理模型

Figure 1 The model of Cd removal by microalgae

注: ROS: 活性氧; SOD: 超氧化物歧化酶; APX: 抗坏血酸过氧化物酶; POD: 过氧化物酶; CAT: 过氧化氢酶; MT: 金属硫蛋白; PC: 植物螯合素; PCS: 植物螯合素合酶; GR: 谷胱甘肽还原酶; GPx: 谷胱甘肽过氧化物酶; GSH: 还原型谷胱甘肽; GSSG: 氧化型谷胱甘肽; CAR: 类胡萝卜素; VIT1, ZIP, ATPase5-1B: 金属转运蛋白; TFs: 转录因子; ●: Cd²⁺; ●—: 细胞表面的功能基团吸附 Cd²⁺。

Note: ROS: Reactive oxygenspecies; SOD: Superoxide dismutase; APX: Ascorbate peroxidase; POD: Peroxidase; CAT: Catalase; MT: Metallothionein; PC: Phytochelatin; PCS: Phytochelatin synthase; GR: Glutathione reductase; GPx: Glutathione peroxidase; GSH: Reduced glutathione; GSSG: Oxidized glutathione; CAR: Carotenoids; VIT1, ZIP, ATPase5-1B: Metal transporters; TFs: Transcription factor; ●: Cd²⁺; ●—: Cd²⁺ sorption by the functional groups of cellsurface.

参考文献

- [1] Bayramoglu G, Arica MY. Preparation of a composite biosorbent using *Scenedesmus quadricauda* biomass and alginate/polyvinyl alcohol for removal of Cu(II) and Cd(II) ions: isotherms, kinetics, and thermodynamic studies[J]. Water, Air, & Soil Pollution, 2011, 221(1/4): 391-403
- [2] Ahluwalia SS, Goyal D. Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(12): 2243-2257
- [3] Bhattacharya AK, Mandal SN, Das SK. Adsorption of Zn(II) from aqueous solution by using different adsorbents[J]. Chemical Engineering Journal, 2006, 123(1/2): 43-51
- [4] Liang S, Guo XY, Feng NC, et al. Effective removal of heavy metals from aqueous solutions by orange peel xanthate[J]. Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 2010, 20(S1): s187-s191
- [5] Hansda A, Kumar V, Anshumali. A comparative review towards potential of microbial cells for heavy metal removal with emphasis on biosorption and bioaccumulation[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 32: 170
- [6] Singh R, Sinha S. Bioremediation of heavy metals by algae: a review on evaluation of low cost and high performance biosorbents[J]. Indian Journal of Agricultural Biochemistry, 2013, 26(1): 1-9
- [7] García-García JD, Sánchez-Thomas R, Moreno-Sánchez R. Bio-recovery of non-essential heavy metals by intra- and extracellular mechanisms in free-living microorganisms[J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(5): 859-873
- [8] Yang JS, Cao J, Xing GL, et al. Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX 2341[J]. Bioresource Technology, 2015, 175: 537-544
- [9] Folgar S, Torres E, Pérez-Rama M, et al. *Dunaliella salina* as marine microalga highly tolerant to but a poor remover of cadmium[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 165(1/3): 486-493
- [10] Irving EC, Baird DJ, Culp JM. Cadmium toxicity and uptake by mats of the freshwater diatom: *Navicula pelliculosa* (Bréb) Hilse[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2009, 57(3): 524-530
- [11] Sbihi K, Cherifi O, El Gharmali A, et al. Accumulation and toxicological effects of cadmium, copper and zinc on the growth and photosynthesis of the freshwater diatom *Planorhodium lanceolatum* (Brébisson) Lange-Bertalot: a laboratory study[J]. Journal of Materials and Environmental Science, 2012, 3(3): 497-506
- [12] Sjahrul M, Arifin. Phytoremediation of Cd²⁺ by marine phytoplanktons, *Tetraselmis chuii* and *Chaetoceros calcitrans*[J]. International Journal of Chemistry, 2012, 4(1): 69-74
- [13] Torres E, Mera R, Herrero C, et al. Isotherm studies for the determination of Cd(II) ions removal capacity in living biomass of a microalga with high tolerance to cadmium toxicity[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2014, 21(22): 12616-12628
- [14] Monteiro CM, Castro PML, Malcata FX. Use of the microalga *Scenedesmus obliquus* to remove cadmium cations from aqueous solutions[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2009, 25(9): 1573-1578
- [15] Monteiro CM, Castro PML, Malcata FX. Cadmium removal by two strains of *Desmodesmus pleiomorphus* cells[J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2010, 208(1/4): 17-27
- [16] Pérez-Rama M, Torres E, Suárez C, et al. Sorption isotherm studies of Cd(II) ions using living cells of the marine microalga *Tetraselmis suecica* (Kütz.) Butch[J]. Journal of Environmental Management, 2010, 91(10): 2045-2050
- [17] Kızılkaya B, Türker G, Akgül R, et al. Comparative study of biosorption of heavy metals using living green algae *Scenedesmus quadricauda* and *Neochloris pseudoalveolaris*: equilibrium and kinetics[J]. Journal of Dispersion Science and Technology, 2012, 33(3): 410-419
- [18] Shanab S, Essa A, Shalaby E. Bioremoval capacity of three heavy metals by some microalgae species (Egyptian Isolates)[J]. Plant Signaling & Behavior, 2012, 7(3): 392-399
- [19] de Abreu FCP, da Costa PNM, Brondi AM, et al. Effects of cadmium and copper biosorption on *Chlorella vulgaris*[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2014, 93(4): 405-409
- [20] Petrovič A, Simonič M. Removal of heavy metal ions from drinking water by alginate-immobilised *Chlorella sorokiniana*[J]. International Journal of Environmental Science and Technology, 2016, 13(7): 1761-1780
- [21] Nowicka B, Pluciński B, Kuczyńska P, et al. Physiological characterization of *Chlamydomonas reinhardtii* acclimated to chronic stress induced by Ag, Cd, Cr, Cu and Hg ions[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2016, 130: 133-145
- [22] Cheng JF, Qiu HC, Chang ZY, et al. The effect of cadmium on the growth and antioxidant response for freshwater algae *Chlorella vulgaris*[J]. SpringerPlus, 2016, 5: 1290
- [23] Kong XX. Mechanism of cadmium resistance in oil microalgae *Auxenochlorella protothecoides* UTEX 2341[D]. Beijing: Master's Thesis of China Agricultural University, 2017 (in Chinese)
孔祥雪. 产油微藻 *Auxenochlorella protothecoides* UTEX 2341 抗镉机理的初步研究[D]. 北京: 中国农业大学硕士学位论文, 2017
- [24] Wang SZ, Zhang DY, Pan XL. Effects of cadmium on the activities of photosystems of *Chlorella pyrenoidosa* and the protective role of cyclic electron flow[J]. Chemosphere, 2013, 93(2): 230-237
- [25] Moenne A, González A, Sáez CA. Mechanisms of metal tolerance in marine macroalgae, with emphasis on copper tolerance in Chlorophyta and Rhodophyta[J]. Aquatic Toxicology, 2016, 176: 30-37
- [26] Chojnacka K, Chojnacki A, Górecka H. Biosorption of Cr³⁺, Cd²⁺ and Cu²⁺ ions by blue-green algae *Spirulina* sp.: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process[J]. Chemosphere, 2005, 59(1): 75-84
- [27] Belghith T, Athmouni K, Bellassoued K, et al. Physiological and biochemical response of *Dunaliella salina* to cadmium pollution[J]. Journal of Applied Phycology, 2016, 28(2): 991-999

- [28] Macfie SM, Welbourn PM. The cell wall as a barrier to uptake of metal ions in the unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii* (Chlorophyceae)[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2000, 39(4): 413-419
- [29] Santiago-Martínez MG, Lira-Silva E, Encalada R, et al. Cadmium removal by *Euglena gracilis* is enhanced under anaerobic growth conditions[J]. Journal of Hazardous Materials, 2015, 288: 104-112
- [30] Okamoto OK, Asano CS, Aidar E, et al. Effects of cadmium on growth and superoxide dismutase activity of the marine microalga *Tetraselmis gracilis* (Prasinophyceae)[J]. Journal of Phycology, 1996, 32(1): 74-79
- [31] Figueira E, Freitas R, Guasch H, et al. Efficiency of cadmium chelation by phytochelatin in *Nitzschia palea* (Kützinger) W. Smith[J]. Ecotoxicology, 2014, 23(2): 285-292
- [32] Haghighi O, Shahryari S, Ebadi M, et al. *Limnothrix* sp. KO05: a newly characterized cyanobacterial biosorbent for cadmium removal: the enzymatic and non-enzymatic antioxidant reactions to cadmium toxicity[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2017, 51: 142-155
- [33] Hasan MK, Liu CC, Wang FN, et al. Glutathione-mediated regulation of nitric oxide, S-nitrosothiol and redox homeostasis confers cadmium tolerance by inducing transcription factors and stress response genes in tomato[J]. Chemosphere, 2016, 161: 536-545
- [34] Lehninger AL. Mitochondria and calcium ion transport[J]. Biochemical Journal, 1970, 119(2): 129-138
- [35] Wang MJ, Wang WX. Cadmium sensitivity, uptake, subcellular distribution and thiol induction in a marine diatom: exposure to cadmium[J]. Aquatic Toxicology, 2011, 101(2): 377-386
- [36] Morelli E, Scarano G. Synthesis and stability of phytochelatin induced by cadmium and lead in the marine diatom *Phaeodactylum tricornutum*[J]. Marine Environmental Research, 2001, 52(4): 383-395
- [37] Yoshida N, Ishii K, Okuno T, et al. Purification and characterization of cadmium-binding protein from unicellular alga *Chlorella sorokiniana*[J]. Current Microbiology, 2006, 52(6): 460-463
- [38] Huang ZY, Li LP, Huang GL, et al. Growth-inhibitory and metal-binding proteins in *Chlorella vulgaris* exposed to cadmium or zinc[J]. Aquatic Toxicology, 2009, 91(1): 54-61
- [39] Perales-Vela HV, Peña-Castro JM, Cañizares-Villanueva RO. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae[J]. Chemosphere, 2006, 64(1): 1-10
- [40] Han SH, Hu ZL, Lei AP. Expression and function analysis of the metallothionein-like (MT-like) gene from *Festuca rubra* in *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplast[J]. Science in China Series C: Life Sciences, 2008, 51(12): 1076-1081
- [41] Jaspers A, Blust R, de Coen W, et al. An omics based assessment of cadmium toxicity in the green alga *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Aquatic Toxicology, 2013, 126: 355-364
- [42] Puente-Sánchez F, Olsson S, Aguilera A. Comparative transcriptomic analysis of the response of *Dunaliella acidophila* (Chlorophyta) to short-term cadmium and chronic natural metal-rich water exposures[J]. Microbial Ecology, 2016, 72(3): 595-607
- [43] Brembu T, Jørstad M, Winge P, et al. Genome-wide profiling of responses to cadmium in the diatom *Phaeodactylum tricornutum*[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 45(18): 7640-7647
- [44] Gillet S, Decottignies P, Chardonnet S, et al. Cadmium response and redoxin targets in *Chlamydomonas reinhardtii*: a proteomic approach[J]. Photosynthesis Research, 2006, 89(2/3): 201-211