



Cr³⁺和 Cd²⁺对普通小球藻生长及抗氧化酶活性的影响

蒯玉琴*, 赖金霞, 张明旭, 任春燕, 孔维宝, 贾凌云

西北师范大学生命科学学院, 甘肃 兰州 730070

摘要:【目的】为探究重金属对淡水绿藻生长的影响。【方法】选取对水质检测具有明显指示作用的普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)为实验材料, CdCl₂·2H₂O 和 CrCl₃·7H₂O 提供重金属离子, 探究不同浓度 Cr³⁺和 Cd²⁺在单一和复合胁迫下对藻细胞浓度、叶绿素 a 及相关抗氧化酶活性的影响。【结果】随着 Cr³⁺和 Cd²⁺浓度不断增加, 藻细胞浓度呈先增长后下降趋势; 叶绿素 a 含量呈现先下降后升高再下降的现象, 浓度为 1 mg/L 的单一和复合胁迫下有最大值, 且毒性作用表现为 Cr³⁺<Cd²⁺<Cr³⁺+Cd²⁺; 与藻细胞膜相关的丙二醛(MDA)和过氧化氢(H₂O₂)含量随着重金属离子浓度的增大而增长; 重金属离子浓度低于 10 mg/L 时对藻细胞内抗氧化酶系统中的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POD)表现为促进作用, 而大于 10 mg/L 时具有抑制作用。【结论】结果表明在单一或复合重金属胁迫下, 普通小球藻会充分调动与抗逆性相关的酶来维持自身的正常生长。

关键词: 普通小球藻, Cr³⁺和 Cd²⁺, 生物量, 抗氧化酶活性

近年来, 大量工业污水排放使水体环境中的重金属含量严重超标, 破坏了水生生态系统, 而且通过食物链威胁着人类健康^[1]。在重金属污染中不只是某一种重金属, 而是众多重金属的共同存在, 重金属之间加和、协同和拮抗等效应使重金属污染的评价和监测更加复杂困难^[2]。镉和铬是植物生长的非必需元素, 也是铬矿冶炼、耐火材料、电镀、制革、颜料和化工等工业生产以及

燃料燃烧排出的废气、废水及废渣等的典型污染物^[3]。三价铬是人体必需元素, 低剂量的情况下, 在促进合成胰岛素和葡萄糖代谢过程中有重要作用, 但在超过一定阈值的高剂量情况下, 会对生命体造成严重的毒害, 甚至死亡。镉通常以硫酸盐形式出现, 被认为是 IA 级致癌物, 对人类产生“三致性”危害(致癌、致畸、致突变), 浓度较高时会对机体造成严重的毒害作用^[4-5]。

基金项目: 甘肃省科技计划项目重点研发计划-社会发展类(20YF8FA050)

*通信作者。E-mail: xiuyuqin@nwnu.edu.cn

收稿日期: 2020-08-23; 修回日期: 2021-02-02; 网络出版日期: 2021-02-23

在各类水生生物中,微藻对重金属胁迫相对敏感,主要包括生长代谢受阻、光合作用受影响、细胞色素减少,膜脂质过氧化、细胞畸变甚至中毒死亡等^[6]。已有研究表明,当过量重金属进入水体后,会对藻类植物产生毒害作用,因此检测藻类生长情况、细胞组成和抗氧化酶系统等对研究污染水体中重金属对水生植物产生的毒性作用具有重要意义^[7]。普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)是地球进化过程中出现最早的生物之一,具有分布广、种类多、繁殖速度快和生长周期短等特点,同时也是水质检测的指示生物之一。目前,关于重金属对藻类的毒害作用的研究普遍较多,主要集中于各类单一重金属对藻类的毒性效应^[8-9]、生长生理^[10-11]、耐受性和吸附性^[12-13]等方面的研究,对有关复合重金属毒害作用的研究非常少。因此在之前的研究基础^[14-15]之上选取镉和铬,研究其在不同浓度的单一和复合情况下,对小球藻的生长及生理的影响,为研究水体重金属污染对水生植物的迫害提供参考依据,同时也为利用藻类净化重金属污染水体提供一定的理论基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

普通小球藻(*Chlorella vulgaris*)购自中国科学院水生生物研究所淡水藻种库(FACHB-8), $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (分析纯 AR)和 $\text{CrCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (分析纯 AR)提供重金属离子。

主要仪器:LDZX-40B1型立式自动电热压力蒸汽灭菌器(上海申安);超净工作台(江苏苏净);恒温光照摇床(江苏太仓);TDL-5000B低温冷冻

离心机;美国PE原子吸收光谱仪(AA800);日立UV-1800可见紫外分光光度计;电子天平(日本岛津);酸度计(美国奥利龙);GY92-2D超声波细胞破碎仪(浙江宁波)。

1.2 培养方法

将分别添加不同浓度(0.01、0.10、1.00、10.00、20.00 mg/L)的单一和复合重金属离子(含量为1:1) Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 的SoilEM培养基^[14]各90 mL装于250 mL的三角瓶中,以不加任何重金属离子的培养基为空白对照,每个处理设置3个平行,灭菌后加入10 mL培养至指数期的藻种进行接种,放置在恒温光照培养箱内,温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,转速为150 r/min,光照强度3000 Lux,光暗比12 h:12 h,pH 6.5,每天手动摇动2次随机摆放,连续培养6 d。

1.3 检测方法

将小球藻在恒温摇床上连续培养6 d后,取培养结束后的各处理组藻液离心(12000 r/min,20 min),弃去上清液,用pH 7.8的PBS缓冲液将沉淀洗涤下来,用超声波细胞破碎仪破碎细胞(400 W,10 min,超声时间5 s,间歇时间5 s),收集细胞破碎液备用。

普通小球藻光密度与藻类生物量的对应关系参考Wan等^[16]的方法; EC_{50} (半数效应浓度)计算参考刘益浩^[17]的方法;采用热乙醇和超声波结合法^[18]测叶绿素a的含量;丙二醛测定选用硫代巴比妥酸法^[19];参考Sergiev等^[20]的方法测定 H_2O_2 的含量;氮蓝四唑(NBT)法^[21]测SOD,CAT活性的测定参考Aebi等^[22]方法,Rao等^[23]的方法测定POD酶活性。

1.4 数据统计与分析

运用Origin 8.0软件作图,SPSS 22.0统计学软件对实验数据进行分析。

2 结果和分析

2.1 不同浓度的 Cr³⁺和 Cd²⁺胁迫对小球藻生物量的影响

由图 1-A 可知, 随着小球藻生物量的不断增长, 其相应的光密度值也不断增大, 通过对藻细胞的光密度值与其生物量进行线性方程拟合可知其呈正线性相关关系($R^2>0.99$), 由此可以说明藻细胞的光密度值可以反映藻生物量。

在相同初始生长情况下, 连续培养 5 d 后发现在单一 Cr³⁺或 Cd²⁺胁迫下, 其浓度在 0.1–1.0 mg/L

范围内, 小球藻的生物量较对照组呈增长趋势, 1 mg/L 时生物量最大且相对于对照组分别高出 15% (图 1-B)和 18% (图 1-C); 当浓度大于 1 mg/L 时, 藻生物量呈明显降低趋势, 在培养第 4 天后藻生物量增长缓慢, 第 5 天相比于第 4 天只增长了 0.01。Cr³⁺和 Cd²⁺复合胁迫下, 藻生物量整体低于对照组(图 1-D), 说明两者可能发生了加和作用; 当重金属离子浓度为 1 mg/L 时, 其生物量仅次于复合胁迫下的对照组; 重金属离子浓度低于 1 mg/L 时, 藻生物量逐渐降低, 大于 1 mg/L 时, 小球藻生长随浓度的增大受到更严重的抑制。这一研究结

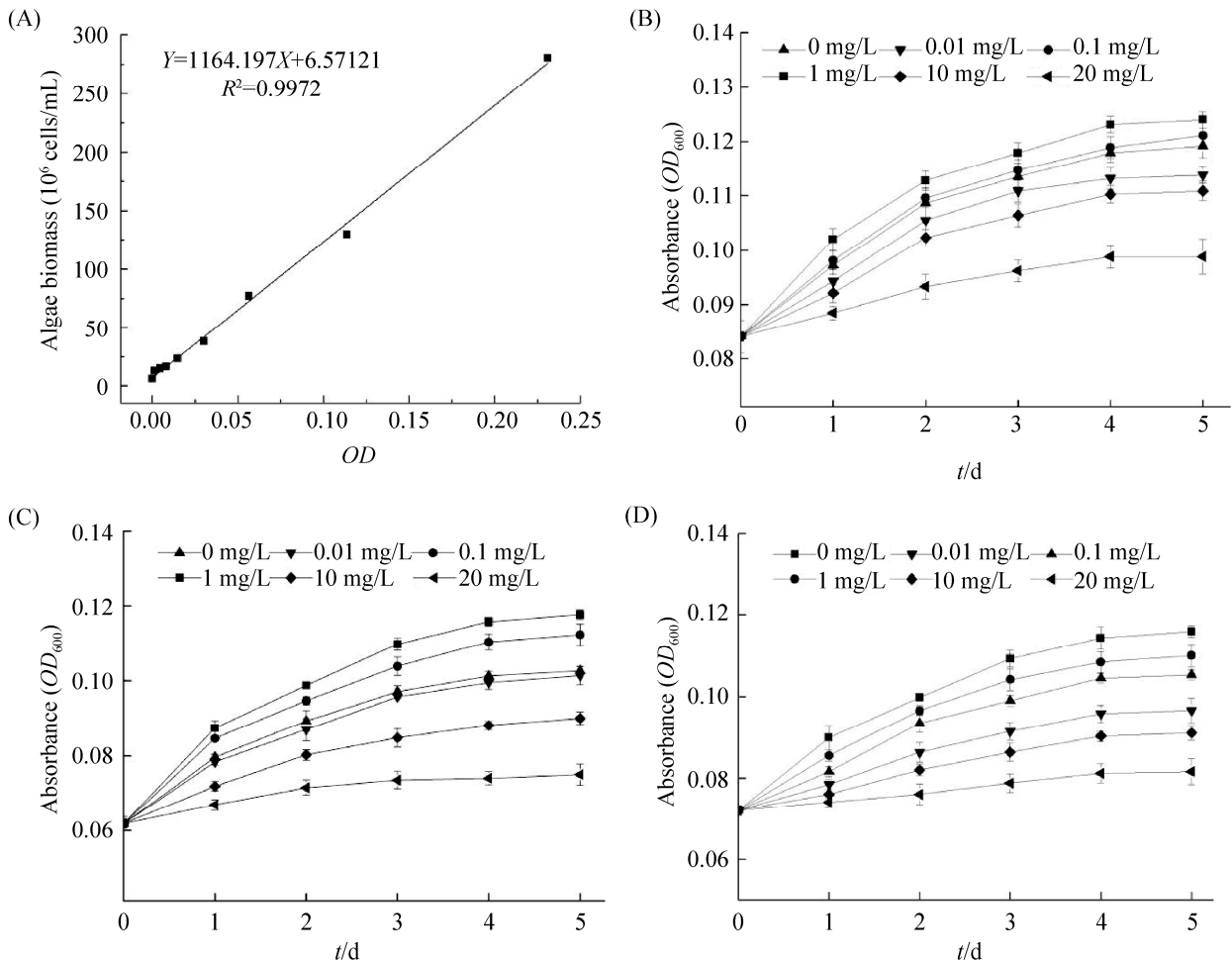


图 1. 普通小球藻与光度值线性关系(A)及在单一 Cr³⁺(B)和 Cd²⁺(C)和复合(D)下的生物量变化曲线

Figure 1. The linear relationship between *Chlorella vulgaris* and the optical density value (A) and the biomass under single Cr³⁺(B) and Cd²⁺(C) and compound (D).

果表明小球藻对单一和复合 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 均有一定的耐受性, 且在一定浓度下有益于其生长, 而高浓度则会严重影响小球藻的正常生长。通过计算 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 对小球藻胁迫 96 h 后的半数效应浓度 (EC_{50}), 得出单一的 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 胁迫 96 h 后小球藻的 EC_{50} 分别是 19.76 mg/L 和 15.26 mg/L, 复合胁迫 96 h 后小球藻的 EC_{50} 为 8.04 mg/L, 可知其半数抑制浓度大小为 $\text{Cr}^{3+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cr}^{3+} + \text{Cd}^{2+}$, 由于毒性的大小与 EC_{50} 成反比, 所以得出它们的毒性大小顺序为 $\text{Cr}^{3+} + \text{Cd}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Cr}^{3+}$ 。

2.2 不同浓度的 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 胁迫下小球藻叶绿素 a 含量的变化

小球藻叶绿素 a 是判断小球藻生长状况的一个重要指标, Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 对小球藻叶绿素 a 含量的影响见图 2。由图 2 可知, 在 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 单一胁迫下, 浓度为 0.01–1.00 mg/L 之间, 叶绿素 a 的含量表现为先下降后升高再下降, 且在 1 mg/L 时出现最大值, 分别较对照组增加 10% (Cr^{3+}) 和 15% (Cd^{2+}); 浓度为 20 mg/L 时, 叶绿素 a 含量较对照组分别降低 25% (Cr^{3+}) 和 32% (Cd^{2+}), 说明单一 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 在一定浓度下可促进小球藻生长, 且 Cd^{2+} 的促进作用更为显著, 浓度过高或过低都会对小球藻生长产生抑制作用, 且高浓度胁迫下, Cd^{2+} 对叶绿体的毒害作用更大, 说明小球藻对 Cd^{2+} 更敏感。复合胁迫下, 叶绿素 a 的含量均低于对照组, 重金属离子浓度为 1 mg/L 时的最大值较对照组仍降低 3.6%, 可能由于两种重金属产生加和作用, 抑制了小球藻生长。

2.3 不同浓度的 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 胁迫下小球藻丙二醛 (MDA) 的变化

丙二醛 (MDA) 是膜脂氧化的最终分解产物, 其含量可以反映机体受逆境伤害的程度。由

图 3 可知, 重金属离子浓度低于 1 mg/L 时, MDA 含量变化均不明显; 当浓度在 10–20 mg/L 时, MDA 含量明显上升且在 20 mg/L 处达最大值, 与对照组的 MDA 相比单独 Cr^{3+} 增长了 1 倍, Cd^{2+} 增长了 1.20 倍, Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 加和后增长了 2.01 倍。说明 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 对小球藻的细胞膜有较强的破坏性, 且随着重金属离子浓度增加破坏性逐渐增强,

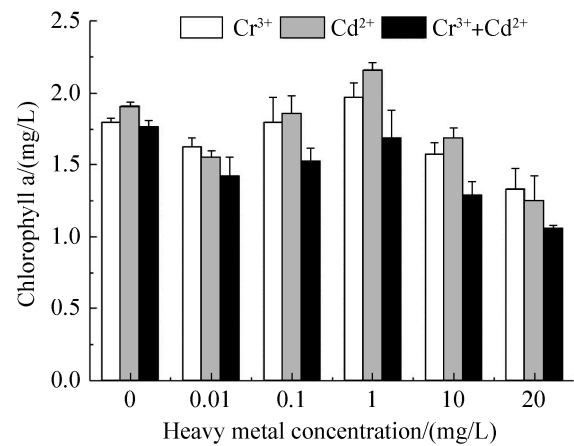


图 2. 普通小球藻在 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 胁迫下叶绿素 a 含量变化

Figure 2. Chl-a content of *C. vulgaris* was changed under Cr^{3+} and Cd^{2+} .

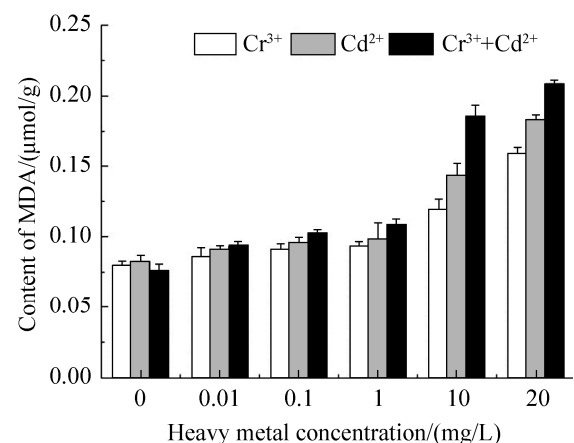


图 3 普通小球藻在 Cr^{3+} 和 Cd^{2+} 胁迫下丙二醛含量变化
Figure 3. MDA content of *C. vulgaris* was changed under Cr^{3+} and Cd^{2+} .

而在两种重金属离子复合的情况下可能增强了这种破坏性, 使得大量有毒物质进入藻细胞, 破坏了藻细胞的正常代谢活动。

2.4 不同浓度 Cr³⁺和 Cd²⁺胁迫下小球藻细胞内 H₂O₂ 含量的变化

小球藻在不同浓度的单一和复合 Cd²⁺和 Cr³⁺胁迫下其细胞内 H₂O₂ 含量变化如图 4 所示。当重金属离子浓度低于 10 mg/L 时 H₂O₂ 含量与重金属离子浓度变化呈正相关, 在 10 mg/L 时单一和复合组的 H₂O₂ 含量达到最大值, 并且添加的重金属离子对小球藻胞内 H₂O₂ 含量的影响趋势为 Cr³⁺+Cd²⁺>Cd²⁺>Cr³⁺; 当 Cd²⁺和 Cr³⁺浓度在 20 mg/L 时各组中的 H₂O₂ 含量均有所下降, 说明过量的重金属可能引起藻细胞严重的代谢及功能障碍, 对细胞造成不可逆转的损伤, 抑制细胞生长, 甚至导致藻细胞死亡。

2.5 不同浓度的 Cr³⁺和 Cd²⁺胁迫下小球藻 SOD、CAT 和 POD 含量的变化

由图 5 可知, 随着 Cr³⁺和 Cd²⁺浓度的升高,

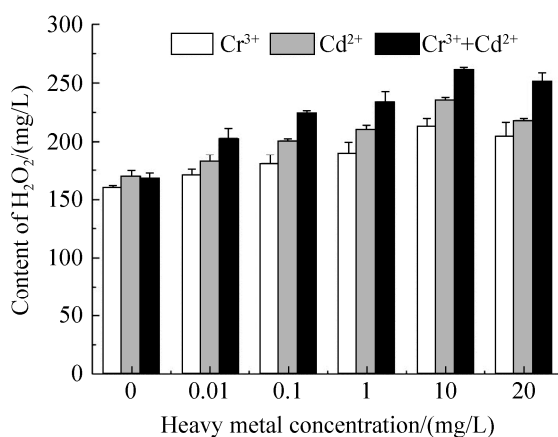


图 4. 普通小球藻在 Cr³⁺和 Cd²⁺胁迫下过氧化氢含量变化

Figure 4. H₂O₂ content of *C. vulgaris* was changed under Cr³⁺ and Cd²⁺.

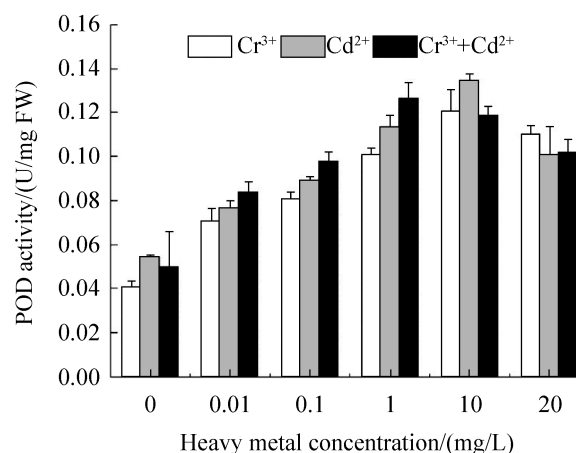
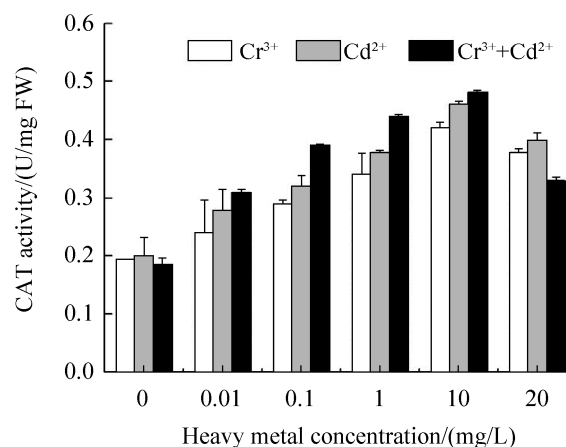
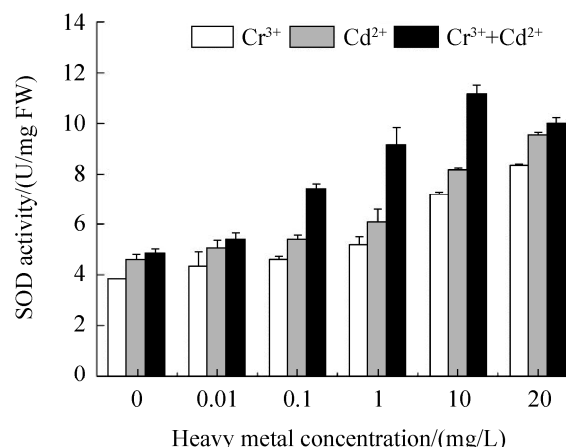


图 5. 普通小球藻在 Cr³⁺和 Cd²⁺胁迫下抗氧化酶活性含量变化

Figure 5. Changes of antioxidant enzyme activity in *C. vulgaris* under the stress of Cr³⁺ and Cd²⁺.

SOD 活性在单一胁迫下呈现随浓度增大而增高的趋势;复合胁迫下呈先增高后降低的趋势,10 mg/L 时出现最大值(11.32±0.5) U/mg,其活性是对照的 142%。CAT 活性在单一和复合 Cr³⁺和 Cd²⁺浓度为 10 mg/L 时均出现最大值(0.418±0.01)、(0.457±0.01)、(0.476±0.01) U/mg,较对照组分别提高 166% (Cr³⁺)、147% (Cd²⁺)和 177% (Cr³⁺+Cd²⁺);大于 10 mg/L 时,其活性开始降低。复合胁迫下 SOD 和 CAT 活性均大于单一胁迫下的活性,再次说明复合胁迫对小球藻产生更严重的损害。单一胁迫下 POD 活性在 10 mg/L 时出现最大值(0.120±0.01)、(0.135±0.01) U/mg,相比于对照组分别提高 200%和 150%。复合胁迫下 POD 活性在 1 mg/L 时就出现了最大值(0.126±0.01) U/mg。说明 Cr³⁺和 Cd²⁺浓度的增加会促进 SOD、CAT 和 POD 的活性增加,以清除重金属离子刺激而产生的过量超氧阴离子,保护细胞免受损伤。当重金属离子浓度超出一定范围时,会对小球藻的抗氧化机制造成破坏,细胞内的抗氧化酶不能将快速产生的大量自由基及时清理,使得细胞的新陈代谢紊乱,甚至藻细胞出现死亡,导致 SOD、POD 和 CAT 活性出现先升高后降低的现象。

3 讨论

藻类是水生生态系统中的初级生产者,它对水生生态系统有着重要影响^[24]。重金属等对藻类植物的影响迅速且复杂。Ababna 等^[25]在研究小球藻对某些重金属离子毒性效应时发现,重金属离子对小球藻的抑制和刺激作用均取决于浓度,低剂量对小球藻生物量有促进作用,高剂量则会产生抑制作用。本研究通过对比小球藻在不同浓度 Cr³⁺和 Cd²⁺单一和复合胁迫下的生物量和叶绿素

变化发现 Cr³⁺和 Cd²⁺在浓度为 1 mg/L 时可促进小球藻生长,但浓度过高时会产生抑制作用。通过计算 Cr³⁺和 Cd²⁺对小球藻胁迫 96 h 后的半数效应浓度 (EC₅₀),发现它们的毒性大小顺序为 Cr³⁺+Cd²⁺>Cd²⁺>Cr³⁺;由于 Cr 和 Cd 两种金属的原子量几乎相差一倍,在质量浓度相同的情况下,Cr³⁺的物质的量浓度是 Cd²⁺的 2.16 倍,但 Cd²⁺对小球藻生长仍表现出更强的抑制作用,这说明两种重金属离子中,Cd²⁺对藻细胞具有更大的毒害作用。蒺玉琴等^[14]和耿红等^[26]分别在研究 Cr³⁺和汞离子与镉离子对小球藻生理生化特性影响时发现,当 Cr³⁺和 Cd²⁺浓度分别超过 3 mg/L 和 2 mg/L 时,两种重金属离子都对小球藻产生了明显的抑制作用。这与本研究结果相符,即高剂量会对藻细胞的生长产生抑制作用,也进一步表明小球藻对 Cd²⁺更为敏感,Cd²⁺对内膜、类囊体片层和光合色素等会造成更为严重的危害^[27]。这主要是因为 Cd²⁺半径大于 Cr³⁺半径而使 Cd²⁺更有利于与较远的功能团结合,且小球藻对 Cd²⁺的吸附能力高于对 Cr³⁺的吸附能力^[28],说明小球藻对 Cd²⁺有更强的亲和性,所以 Cd²⁺较 Cr³⁺更容易被小球藻吸附进入藻细胞产生更大的毒性。复合胁迫下可能由于 Cr³⁺和 Cd²⁺发生加和作用,其产生的毒性更强,导致藻的生物量和叶绿素 a 均显著低于对照组和单一胁迫。

正常情况下,藻细胞中活性氧的合成和分解处于动态平衡。当 Cr³⁺和 Cd²⁺浓度达到阈值时藻生长明显受到抑制,较高的重金属离子浓度提高了藻细胞初始阶段抗氧化系统的活性,藻细胞中活性氧含量不断增加,诱导 SOD、CAT 和 POD 等抗氧化酶活性提高,将藻细胞内产生的过量 H₂O₂ 等活性氧分解为分子氧和水为自身解毒,此

时重金属离子主要被细胞壁功能基团吸附, 而随着毒害作用时间的增长, 活性氧分子的大量产生使细胞膜发生过氧化作用。MDA 的含量恰好反映了机体细胞受自由基攻击的严重程度, 会随着膜系统的损伤程度而逐渐升高, 此时细胞膜通透性增大, 重金属不断转移到细胞体内^[29]。藻细胞内重金属离子含量超出了藻细胞的耐受限度, 使得细胞内积累过多 H₂O₂ 和超氧阴离子, 导致藻细胞的生物量减少, 产生的酶的量也减少, 同时对细胞内多成分造成破坏, 细胞功能降低, MDA 含量不断增大, 最终导致藻体死亡。本研究中当 Cr³⁺ 和 Cd²⁺ 浓度低于 10 mg/L 时, SOD、CAT 和 POD 等抗氧化酶活性呈增大趋势, 重金属离子浓度为 1 mg/L 时, H₂O₂、SOD、CAT 和 POD 等含量均有所提高, 但单一胁迫下藻生物量均高于对照组, 说明在该浓度的单一胁迫下藻体通过加强抗氧化酶活性进行抗逆来维持藻细胞的正常代谢; 大于 10 mg/L 时, 重金属离子浓度远超过藻细胞的耐受限度, 使藻细胞内的抗氧化机制被破坏, H₂O₂ 和 MDA 含量不断增加, SOD、CAT 和 POD 等抗氧化酶活性明显降低。蔡卓平等^[30]研究表明重金属离子能胁迫抑制藻的光合作用, 影响藻的生长繁殖; 藻细胞膜的通透性增加, 藻细胞被破坏。Deng 等^[31]研究铜绿微囊藻对锌(Zn)和镉(Cd)离子的生理反应及其离子积累能力过程中发现较高浓度的重金属离子对藻细胞都有着明显的氧化损伤。刘璐等^[32]研究镉对铜绿微囊藻和斜生栅藻的毒性效应, 也发现随 Cd²⁺ 浓度的增加氧自由基含量升高, 过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性早期均上升。这说明小球藻对重金属离子有一定的耐受性, 但超过藻细胞的耐受限度则会对藻细胞产生严重的毒害作用, 甚至使藻细胞死亡。陈和祥等^[33]

研究发现小球藻可作为去除污水中重金属 Cd²⁺、Pb²⁺、Cu²⁺ 的生物吸附剂, 本研究对培养前后重金属离子浓度进行检测发现小球藻对 Cd²⁺ 和 Cr³⁺ 吸附率可分别达到 84.5% 和 75.2%。因此, 此研究可为小球藻的规模化培养以及重金属离子对水生生物的毒性效应研究提供参考, 也可利用小球藻对重金属的吸附作用清除水体中小球藻耐受范围内的重金属铬和镉, 为水环境中重金属污染修复提供理论支持。

参 考 文 献

- [1] Chen JX. The present situation and countenmeasures of heavy metal pollution monitoring of surface water. *Nonferrous Metals Abstract*, 2015, 30(2): 22, 24. (in Chinese)
陈金霞. 地表水重金属污染监测现状与对策. 有色金属文摘, 2015, 30(2): 22, 24.
- [2] Coughtrey PJ, Martin MH. Tolerance of *Holcus lanatus* to lead, zinc and cadmium in factorial combination. *New Phytologist*, 1978, 81(1): 147–154.
- [3] Jin XH, Zhou Q, Yang YH, Cai ZH. Treatment technology for cadmium, chromium compound pollution source water. *Environmental Science and Management*, 2016, 41(2): 73–77. (in Chinese)
靳小虎, 周勤, 阳宇恒, 蔡展航. 镉、铬复合污染源水的处理技术研究. 环境科学与管理, 2016, 41(2): 73–77.
- [4] 郝群华. 丝藻对水体中 Pb²⁺、Cd²⁺、Cr⁶⁺ 的去除作用研究. 四川师范大学硕士学位论文, 2015.
- [5] Ran XF, Liu R, Bai F, Shi JQ, Wu ZX. The response on the growth and photosystem ii of *Microcystis aeruginosa* to cadmium, a heavy metal. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, 39(3): 627–632. (in Chinese)
冉小飞, 刘瑞, 白芳, 施军琼, 吴忠兴. 微囊藻生长及光合系统 II 对重金属镉的响应. 水生生物学报, 2015, 39(3): 627–632.
- [6] Peng C, Ma YH, Ding YY, He X, Zhang P, Lan T, Wang DQ, Zhang ZH, Zhang ZY. Influence of speciation of thorium on toxic effects to green algae *Chlorella pyrenoidosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(4): E795.
- [7] Wang HD, Fang FM, Xie HF. Research situation and outlook

- on heavy metal pollution in water environment of China. *Guangdong Trace Elements Science*, 2010, 17(1): 14–18. (in Chinese)
- 王海东, 方凤满, 谢宏芳. 中国水体重金属污染研究现状与展望. *广东微量元素科学*, 2010, 17(1): 14–18.
- [8] Zhan YJ, Yang RJ, Wang XL, Zhang YY, Wang SR. Acute toxic effect of Hg(II) and Pb(II) on marine unicellular algae. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2011, 6(5): 523–531. (in Chinese)
- 战玉杰, 杨茹君, 王修林, 张莹莹, 王世荣. Hg(II)和Pb(II)对海洋单细胞藻的急性毒性效应. *生态毒理学报*, 2011, 6(5): 523–531.
- [9] Zhang BW, Zhao JT, Wu EW, Li YY, Li N, Li B, Qiao XW, Wu G, Gao YX. Water pollution characteristics of heavy metals in Fuyang river system and their toxicity to *Vibrio qinghaiensis* sp. Q67 and *Scenedesmus obliquus*. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2018, 13(1): 179–189. (in Chinese)
- 张博文, 赵甲亭, 吴二威, 李云云, 李娜, 李柏, 乔秀文, 吴刚, 高愈希. 湟阳河河流水体中重金属污染特征及其对青海弧菌和斜生栅藻的毒性效应. *生态毒理学报*, 2018, 13(1): 179–189.
- [10] Wei PJ, Jiang YL. Effects of heavy metals Cd²⁺, Cu²⁺ and Zn²⁺ on growth and lipid accumulation of *Conticribra weissflogii*. *Periodical of Ocean University of China*, 2018, 48(7): 47–54. (in Chinese)
- 魏鹏骥, 姜玥璐. Cd²⁺、Cu²⁺与 Zn²⁺对威氏海链藻生长生理和油脂积累的影响. *中国海洋大学学报: 自然科学版*, 2018, 48(7): 47–54.
- [11] Cai ZP, Liu WJ, Duan SS. Growth and physiological response of *Karenia mikimotoi* to heavy metal Zn²⁺ stress. *Ecological Science*, 2019, 38(2): 176–181. (in Chinese)
- 蔡卓平, 刘伟杰, 段舜山. 重金属 Zn²⁺胁迫下米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*)的生长生理响应研究. *生态科学*, 2019, 38(2): 176–181.
- [12] Jiamali Jimilamu, Maimaiti Guhainisha, Tumier Ainiwaer. Study on characteristics of tolerance and absorption of four heavy metals by three photobionts. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39(7): 1230–1240. (in Chinese)
- 吉米拉木·加马力, 古海尼沙·买买提, 艾尼瓦尔·吐米尔. 3种地衣体内藻类对4种重金属离子的耐受能力及其吸附特性研究. *西北植物学报*, 2019, 39(7): 1230–1240.
- [13] Romera E, González F, Ballester A, Blázquez ML, Muñoz JA. Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae. *Bioresource Technology*, 2007, 98(17): 3344–3353.
- [14] Xi YQ, Ren CY, Zhu QQ, Chong M, Yang H, Sun DX. The effect of Cr³⁺ stress on physiological and biochemical characteristics of *Chlorella vulgaris*. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(1): 228–233. (in Chinese)
- 惠玉琴, 任春燕, 朱巧巧, 崇梅, 杨红, 孙对兄. Cr³⁺胁迫对小球藻生理生化特性的影响. *生态毒理学报*, 2017, 12(1): 228–233.
- [15] Xi YQ, Ren CY, Zhu QQ, Kong WB, Sun DX. The physical responses of *Chlorella* to cadmium stress under different concentrations. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(5): 1106–1111. (in Chinese)
- 惠玉琴, 任春燕, 朱巧巧, 孔维宝, 孙对兄. 普通小球藻对不同浓度镉胁迫的生理应答. *水生生物学报*, 2017, 41(5): 1106–1111.
- [16] Wan JJ, Guo PY, Peng XF, Wen KQ. Effect of erythromycin exposure on the growth, antioxidant system and photosynthesis of *Microcystis flos-aquae*. *Journal of Hazardous Materials*, 2015(283): 778–786.
- [17] 刘益浩. 斜生栅藻与重金属的相互作用研究. 河海大学硕士学位论文, 2007.
- [18] 王学奎, 黄见良. 植物生理生化实验原理和技术. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 2015.
- [19] 王秀奇, 秦淑媛, 高天慧, 颜卉君. 基础生物化学实验. 第2版. 北京: 高等教育出版社, 1999: 105–157.
- [20] Sergiev I, Alexieva V, Karanov E. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus de Academie Bulgare des Sciences*. 1997(51): 121–124.
- [21] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 1971, 44(1): 276–287.
- [22] Aebi H. Catalase *in vitro*. *Methods in Enzymology*. Amsterdam: Elsevier, 1984: 121–126.
- [23] Rao MV, Paliyath G, Ormrod DP. Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 1996, 110(1): 125–136.
- [24] Yang GY, Wan LL, Lei XQ, Wang YJ, Li AF, Zhang CW. Effects of lead and chromium on the growth, photosynthetic

- performance, and antioxidant activity of *Scenedesmus obliquus*. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2014, 34(6): 1606–1614. (in Chinese)
- 杨国远, 万凌琳, 雷学青, 汪亚俊, 李爱芬, 张成武. 重金属铅、铬胁迫对斜生栅藻的生长、光合性能及抗氧化系统的影响. *环境科学学报*, 2014, 34(6): 1606–1614.
- [25] Afkar. Toxicological response of the green alga *Chlorella vulgaris*, to some heavy metals. *American Journal of Environmental Sciences*, 2010, 6(3): 230–237.
- [26] Geng H, Liu JF, Wang N. Effect of mercury and cadmium on the growth of *Chlorella vulgaris*. *Journal of South-Central University for Nationalities: Natural Science Edition*, 2014, 33(3): 41–43. (in Chinese)
- 耿红, 刘剑锋, 王诺. 重金属汞和镉对普通小球藻生长的影响. *中南民族大学学报: 自然科学版*, 2014, 33(3): 41–43.
- [27] Wang GX, Zhang LM, Chua H, Li XD, Xia MF, Pu PM. A mosaic community of macrophytes for the ecological remediation of eutrophic shallow lakes. *Ecological Engineering*, 2009, 35(4): 582–590.
- [28] 任春燕. 小球藻对镉和铬的生物吸附及其在镉和铬复合胁迫下的生理生化响应. 西北师范大学硕士学位论文, 2018.
- [29] 唐青青. 蛋白核小球藻对单一及复合污染水中重金属的生物吸附研究. 浙江工商大学硕士学位论文, 2015.
- [30] Cai ZP, Liu WJ, Luo YM, Wu H, Diao PP, Duan SS. Toxicity of Cd^{2+} and Pb^{2+} to the growth and physiology of *Marina* microalga *Karenia mikimotoi*. *Ecological Science*, 2019, 38(3): 211–217. (in Chinese)
- 蔡卓平, 刘伟杰, 骆育敏, 吴皓, 刁盼盼, 段舜山. 重金属镉和铅胁迫对海洋微藻的毒性效应研究. *生态科学*, 2019, 38(3): 211–217.
- [31] Deng JC, Fu DW, Hu WP, Lu, X, Wu YH, Bryan H. Physiological responses and accumulation ability of *Microcystis aeruginosa* to zinc and cadmium: implications for bioremediation of heavy metal pollution. *Bioresource Technology*, 2020(303): 122963.
- [32] Liu L, Yan H, Xia WT, Li C, Zhang TT. Toxic effect of cadmium on *Microcystis aeruginosa* and *Scenedesmus obliquus*. *China Environmental Science*, 2014, 34(2): 478–484. (in Chinese)
- 刘璐, 闫浩, 夏文彤, 李诚, 张庭廷. 镉对铜绿微囊藻和斜生栅藻的毒性效应. *中国环境科学*, 2014, 34(2): 478–484.
- [33] Chen HX, Tan FY, Deng D, Zhao CB. Effect of pretreatment of *Chlorella vulgaris* beijerinck biomass on adsorption of $Cd(II)$, $Pb(II)$ and $Cu(II)$. *Environmental Science & Technology*, 2015, 38(4): 160–165, 188. (in Chinese)
- 陈和祥, 谭凤仪, 邓丹, 赵春宝. 预处理对小球藻吸附 $Cd(II)$ 、 $Pb(II)$ 和 $Cu(II)$ 的影响. *环境科学与技术*, 2015, 38(4): 160–165, 188.

Effects of Cr^{3+} and Cd^{2+} on the growth and antioxidant enzyme activity of *Chlorella vulgaris*

Yuqin Xi*, Jinxia Lai, Mingxu Zhang, Chunyan Ren, Weibao Kong, Lingyun Jia

The College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, Gansu Province, China

Abstract: [Objective] In order to explore the effect of heavy metals on the growth of freshwater green algae. [Methods] *Chlorella vulgaris*, which has been taken as an obvious indicator of water quality detection, was selected as the experimental material. $\text{CdCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and $\text{CrCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ provided heavy metal ions, and different concentrations of Cr^{3+} and Cd^{2+} were explored effects of single and compound stress on its biomass, chlorophyll a and related antioxidant enzyme activities. [Results] With the continuous increase of Cr^{3+} and Cd^{2+} concentrations, the concentration of algae cells increased first and then decreased; the content of chlorophyll a first decreased, then increased, and then decreased, with a maximum of 1 mg/L single and combined stress value, and the toxic effect is $\text{Cr}^{3+} < \text{Cd}^{2+} < \text{Cr}^{3+} + \text{Cd}^{2+}$; The content of malondialdehyde (MDA) and hydrogen peroxide (H_2O_2) related to the cell membrane of algae increases with the increase of the concentration of heavy metal ions; When the concentration of heavy metal ions is lower than 10 mg/L, it will promote superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and peroxidase (POD) in the antioxidant enzyme system in algae cells, and it has inhibitory effect when it is greater than 10 mg/L. [Conclusion] The results show that under single or compound heavy metal stress, *Chlorella vulgaris* will fully mobilize enzymes related to stress resistance to maintain its normal growth.

Keywords: *Chlorella vulgaris*, Cr^{3+} and Cd^{2+} , biomass, antioxidant enzyme activity

(本文责编: 李磊)

Supported by the Gansu Province Science and Technology Planning Project Key-Program-Social Development (20YF8FA050)

*Corresponding author. E-mail: xiyuqin@nwnu.edu.cn

Received: 23 August 2020; Revised: 2 February 2021; Published online: 23 February 2021