

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017073001

刘青青, 张闪闪, 邹华, 等. 斜生栅藻与氰化钾的相互作用[J]. 环境化学, 2018, 37(3): 552-558.

LIU Qingqing, ZHANG Shanshan, ZOU Hua, et al. Interactions between *Scenedesmus obliquus* and potassium cyanide [J]. Environmental Chemistry, 2018, 37(3): 552-558.

## 斜生栅藻与氰化钾的相互作用\*

刘青青<sup>1</sup> 张闪闪<sup>1</sup> 邹 华<sup>1\*\*</sup> 史红星<sup>2</sup> 黄超群<sup>2</sup>

(1. 江南大学环境与土木工程学院, 无锡, 214122; 2. 防化研究院国民核生化灾害防护国家重点实验室, 北京, 102205)

**摘 要** 以斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)为实验对象,研究斜生栅藻对氰化钾(KCN)的去除效果及 KCN 胁迫对斜生栅藻生长和抗氧化系统的影响.结果表明,斜生栅藻对 0.1—100 mg·L<sup>-1</sup>浓度范围内的 KCN 都有一定的去除能力,最大去除率达 65.3%;在氰化钾胁迫下,栅藻生长速率降低,叶绿素 a 含量受到明显抑制且明显低于对照.KCN 对斜生栅藻的 96 h 半数抑制浓度 EC<sub>50</sub> 值为 0.84 mg·L<sup>-1</sup>.此外,超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性随 KCN 胁迫浓度的增大而升高;栅藻丙二醛(MDA)含量在 KCN 胁迫下变高.通过本研究发现,绿藻对氰化物有潜在的去除能力,为含氰废水的生物处理提供了理论基础.

**关键词** 斜生栅藻, 氰化钾胁迫, EC<sub>50</sub>, 生长, 抗氧化酶.

## Interactions between *Scenedesmus obliquus* and potassium cyanide

LIU Qingqing<sup>1</sup> ZHANG Shanshan<sup>1</sup> ZOU Hua<sup>1\*\*</sup> SHI Hongxing<sup>2</sup> HUANG Chaoqun<sup>2</sup>

(1. School of Environmental and Civil Engineering, Jiangnan University, Wuxi, 214122, China;

2. State Key Laboratory of NBC Protection for Civilian, Institute of Chemical Defence, Beijing, 102205, China)

**Abstract:** Removal efficiency of potassium cyanide (KCN) and its effect on the growth and antioxidant activity of *Scenedesmus obliquus* were investigated. The results showed that *S. obliquus* had removal capacity for KCN in the range of 0.1 to 100 mg·L<sup>-1</sup> concentration. Under the exposure of KCN, the growth rate of *S. obliquus* decreased, the content of chlorophyll a was significantly reduced and lower than the control. The 96 h-EC<sub>50</sub> value for KCN was found to be 0.84 mg·L<sup>-1</sup>. Moreover, the activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) were enhanced with the increasing KCN concentrations. Malondialdehyde (MDA) content of *S. obliquus* increased significantly, especially under high KCN exposure. These results suggest that green algae has the potential to remove cyanide, which provides a theoretical basis for biological treatment of cyanide-contaminated wastewater.

**Keywords:** *Scenedesmus obliquus*, KCN stress, EC<sub>50</sub>, growth, antioxidant activity.

氰化物是指有氰根的化合物,毒性强且易挥发.常见的氰化物是氰化钠(NaCN)和氰化钾(KCN),人的平均口服致死量分别约为 100 mg 和 120 mg<sup>[1]</sup>.氰化物分子中含有的 CN<sup>-</sup>,通过抑制细胞色素氧化酶,阻断呼吸电子链传递,造成人体急性中毒,甚至死亡,对人体健康造成巨大威胁;若使用超过一定标

2017 年 7 月 30 日收稿 (Received: July 30, 2017).

\* 普通高校学术学位研究生科研创新计划项目 (KYLX16\_0810) 和国民核生化灾害防护国家重点实验室资助.

**Supported by** the Fundamental Research Funds for the Central Universities (KYLX16\_0810) and the Basic Research Project of the State Key Laboratory of NBC Protection for Civilian of China.

\*\* 通讯联系人, Tel: 86-510-85197893, E-mail: zouhua@jiangnan.edu.cn

**Corresponding author**, Tel: 86-510-85197893, E-mail: zouhua@jiangnan.edu.cn

准的含氰水灌溉农田还会造成农作物减产甚至死亡,因含氰废水导致家畜、鱼类及人群中中毒的事例,国内外均有报道<sup>[2]</sup>.尽管氰化物毒性很强,却广泛应用于冶金、炼钢、电镀和采矿等工业生产中<sup>[3-5]</sup>,所产生的废水严重污染环境,甚至危害到饮用水<sup>[6]</sup>.因此针对氰化物的处理展开研究是十分必要的.

目前氰化物废水处理方法以化学法和物理法为主,但普遍存在运行成本高,操作复杂等问题<sup>[7]</sup>,还可能导致二次污染.相对而言,生物法成本较低,且降低了二次污染的可能性,可见生物法已成为处理氰化物废水的关键方法之一.生物法主要用到的微生物是细菌和真菌<sup>[8-9]</sup>,同时微藻也被证明对氰化物也有一定的去除作用<sup>[10-11]</sup>.国外利用微藻来处理其他有毒物质方面已做了大量研究<sup>[12-14]</sup>,但在国内用微藻来处理氰化物的研究还未出现.

微藻是一类分布广泛的光合自养型生物,具有种类繁多、生长周期短、太阳能利用效率高、能有效利用氰化物作为自身生长所需碳氮源等特点<sup>[15-17]</sup>.因此,应用微藻来处理氰化物具有重要的生态价值.研究微藻与氰化物两者之间的相互作用,可以更好地了解水生生物的致毒机理和微藻的抗性机制,从而达到防治水体氰化物污染的目的.

## 1 材料与方法 (Materials and methods)

### 1.1 实验试剂

氰化钾(KCN, potassium cyanide, CAS 151-50-8)、氢氧化钠(NaOH)、异烟酸、巴比妥酸、磷酸二氢钾等均购于国药集团化学试剂有限公司,且均为分析纯.超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性测定试剂盒和丙二醛(MDA)含量测定试剂盒购自苏州科铭生物技术有限公司.

### 1.2 实验藻种与培养

斜生栅藻(FACHB-417)购于中国科学院水生生物研究所淡水藻种库.培养条件:以BG11培养基(pH=7.1)为基础培养基,置于光照培养箱里培养.温度设置在 $25\pm 1$  °C,光照强度为6000 lux,昼夜比为12 h/12 h,每天人工摇荡3—4次.

### 1.3 KCN胁迫实验

在无菌条件下,选取生长状态良好且处于对数增长期的斜生栅藻进行胁迫实验.实验设置KCN浓度梯度分为低( $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )、中( $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )和高( $100\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )的3个级别,4个浓度.初始藻浓度为 $10^6\text{ 个}\cdot\text{mL}^{-1}$ .实验连续胁迫96 h,每个胁迫3次重复,分别于0、6、12、24、48、72、96 h测定每个胁迫组中培养基中KCN的浓度.以无KCN仅有BG11培养基和栅藻为对照组(CK).每天取 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  KCN胁迫样品和对照组样品,测定藻胞生物量,计算得到96 h的半数抑制浓度( $EC_{50}$ ).经KCN胁迫96 h后,测定对照组及胁迫组中叶绿素a含量,抗氧化物酶活及MDA含量.

### 1.4 分析方法

#### 1.4.1 氰化物的测定

采用异烟酸-巴比妥酸分光光度法(HJ 484—2009)测定培养基中的氰化物含量.取1—5 mL胁迫组的藻液通过 $0.45\ \mu\text{m}$ 滤膜后加入NaOH溶液稀释至10 mL.然后继续向各管中加入5.0 mL磷酸缓冲液和0.30 mL氯胺T溶液,混匀放置1—2 min后加入6.0 mL异烟酸-巴比妥酸显色剂,加蒸馏水稀释至25 mL标线,混匀,用分光光度计测定 $OD_{600}$ .

#### 1.4.2 生物量的测定

每隔24 h,取胁迫组和对照组中样品,进行细胞计数.细胞计数是在显微镜下,用血球计数板(XB-K-25)进行计数.

#### 1.4.3 叶绿素a含量的测定

利用丙酮萃取法<sup>[18]</sup>,取20 mL藻液用乙酸纤维滤膜过滤后,加入90%丙酮萃取20—24 h,提取叶绿素.在 $3000\text{—}4000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心后取上清液在分光光度计读取750、663、645、630nm的4个波长下的吸光度.叶绿素a的计算公式如下:

$$\text{Chla} = \frac{(11.64 \times (D_{663} - D_{750}) - 2.16 \times (D_{645} - D_{750}) + 0.10 \times (D_{630} - D_{750})) / V_1}{V \cdot \delta} \quad (1)$$

式中,  $D_{630}$ 、 $D_{645}$ 、 $D_{663}$  和  $D_{750}$  分别是对应波长下的吸光度值,  $V_1$  是丙酮萃取液体积 (mL),  $V$  是藻液体积 (L),  $\delta$  是比色皿的量程 (cm).

比生长速率  $\mu$  计算公式:

$$\mu = \ln (E_t / E_0) / \Delta t \quad (2)$$

式中,  $\mu$  是比生长速率 ( $d^{-1}$ ),  $E_t$  和  $E_0$  分别是  $t$  时刻和初始时的叶绿素 a 的浓度,  $\Delta t$  是胁迫时间 (4 d) [19].

#### 1.4.4 藻细胞内抗氧化酶及 MDA 含量的测定

取胁迫组和对照组的藻液,  $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min 后加入相应的提取液进行超声破碎, 然后在  $8000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  下离心 10 min 收集上清液, 即酶提取液. 然后分别按照试剂盒的方法进行 SOD、CAT 活性及 MDA 含量的测定.

#### 1.5 数据处理

所有数据均使用 Origin8.5 软件绘图进行数据处理和作图, 用平均值  $\pm$  标准误差表示, 实验数据中胁迫组和对照组之间的显著性差异采用 SPSS17.0 统计分析软件中的单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行统计分析, 用 Dunnett's t-test 法对均值进行多重比较, 以  $P < 0.05$  表示显著差异.

## 2 结果与讨论 (Results and discussion)

### 2.1 微藻去除 KCN 作用的研究

由图 1 可以看出, 斜生栅藻对本实验中设定的不同浓度的 KCN 都有一定的去除作用. 数据显示, 斜生栅藻胁迫在  $0.1$ 、 $1$ 、 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  KCN 中 96 h 的对应的去除率分别为 41.67%、63.80%、65.30% 和 43.60%, 发现低浓度和高浓度的去除率相对于中等浓度的去除率稍低. 在低浓度组, 前 6 h  $\text{CN}^-$  的量没有显著减少 ( $P > 0.05$ ), 第 12 小时,  $\text{CN}^-$  已明显减少 ( $P < 0.05$ ), 之后  $\text{CN}^-$  去除缓慢, 可能是因为栅藻对低浓度 KCN 的去除有饱和和作用 [20], 饱和之后 KCN 的去除靠本身自然挥发. 有研究表明, 氰化物的挥发性好, 自然降解速度较快 [21]. 而高浓度的 KCN 一方面对栅藻有致毒作用, 降低了栅藻对  $\text{CN}^-$  的代谢的能力, 另一方面可能长时间的胁迫和高浓度的氰化钾减弱了栅藻细胞自身清除系统的能力 [22], 降低细胞对  $\text{CN}^-$  清除能力, 进而降低了去除率. 这些数据充分说明  $\text{CN}^-$  的去除率与初始胁迫浓度有关. 此外, 胁迫组培养基中  $\text{CN}^-$  浓度随着胁迫时间的延长持续降低. 低浓度胁迫组第 6 小时与初始没有显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 但 12 h 后每个胁迫组的  $\text{CN}^-$  浓度显著下降 ( $P < 0.05$ ), 这可能由于初始栅藻对外源 KCN 不适应, 在 12 h 后, 栅藻细胞自身清除机制对外源 KCN 发挥作用, 使得培养基中的  $\text{CN}^-$  进一步被去除.

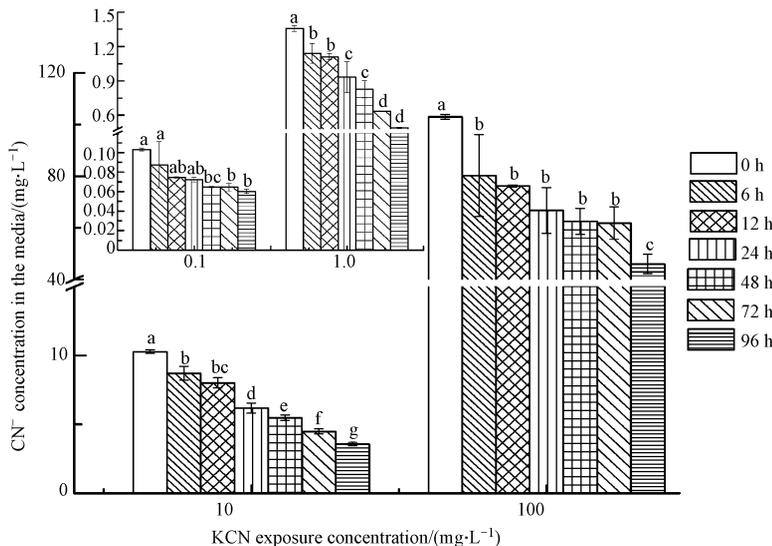


图 1 斜生栅藻在不同 KCN 胁迫浓度下对  $\text{CN}^-$  的去除 (不同字母表示差异显著,  $P < 0.05$ )

Fig.1 KCN Removal by *Scenedesmus obliquus* under different KCN exposure concentration (Different lowercases indicate significant differences  $P < 0.05$ )

## 2.2 KCN 对栅藻生长及叶绿素的影响

污染物对于植物生长影响的有效监测参数是细胞数和叶绿素<sup>[23]</sup>.从图 2a 可以明显看出,KCN 对斜生栅藻的生长具有抑制作用,且抑制作用与 KCN 胁迫浓度呈正相关.由于 KCN 对微生物具有一定的毒性,所以 KCN 胁迫浓度越高,对斜生栅藻的生长抑制作用越明显.低浓度 KCN 胁迫时,藻细胞和叶绿素含量均有明显的下降.而高浓度 KCN 胁迫 96 h 时,栅藻的细胞数和叶绿素含量与对照相比,分别减少 93.82% 和 96.14%,差异显著( $P < 0.05$ ),说明高浓度的 KCN 可能造成藻细胞叶绿素 a 结构破坏或抑制其合成.图 2b 显示了对照组和  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 KCN 胁迫下,藻细胞个数与胁迫时间的变化.对照组中,栅藻的细胞数随着时间的延长而不断显著增加,符合栅藻的指数型增长趋势.而在  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 KCN 胁迫下,细胞数随胁迫时间延长显著下降.24 h 后,藻胞数已明显减少( $P < 0.05$ ),与对照相比,减少了 14%.胁迫 96 h,藻胞数减少了 38%.

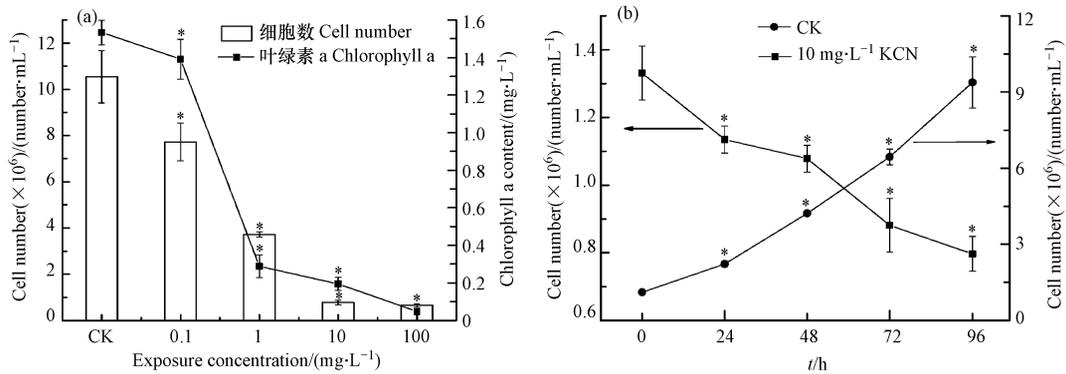


图 2 KCN 胁迫下斜生栅藻的细胞数与叶绿素 a 含量 (a) 及细胞数变化 (b)

Fig.2 Cell number and Chl a content of *Scenedesmus obliquus* under KCN exposure (a) and change in cell number (b)

KCN 胁迫浓度越高,各胁迫组的比生长速率  $\mu$  值越小.对照组的  $\mu$  值为  $0.35 \text{ d}^{-1}$ ,而胁迫在低浓度 KCN 中, $\mu$  值为  $0.3 \text{ d}^{-1}$ .然而当栅藻胁迫于中、高浓度 KCN 中, $\mu$  值为负,且胁迫浓度越高, $\mu$  值越负.Lim<sup>[24]</sup>等通过将小球藻胁迫于一种弱酸性染料得到的  $\mu$  值也小于对照  $\mu$  值 ( $0.40 \text{ d}^{-1}$ ).这是由于微藻对外界胁迫的耐受力 and 敏感性不一样.比如斜生栅藻能在  $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 KCN 下存活<sup>[11]</sup>.虽然微藻对外界胁迫很敏感,但是对低浓度的 KCN 有一定的耐受力,生长速率有所下降;而在中高浓度超过了栅藻的耐受范围,栅藻的生长受到严重的抑制.

表 1 不同 KCN 胁迫浓度对斜生栅藻比生长速率 ( $\mu$ ) 的影响

Table 1 Growth rate ( $\mu$ ) of *Scenedesmus obliquus* under KCN exposure

胁迫浓度 Exposure concentration/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	100	10	1	0.1	CK
比生长速率 Growth rate/ $\mu \cdot \text{d}^{-1}$	-0.55	-0.18	-0.09	0.3	0.35

KCN 对微藻的毒性可用半数抑制浓度  $\text{EC}_{50}$  来表示.本研究中用生物量的 96 h 的  $\text{EC}_{50}$  来表示 KCN 的毒性.就第 96 小时的生物量来计算  $\text{EC}_{50}$  值.通过拟合胁迫浓度 ( $x$ ) 与抑制率 ( $y$ ) 之间的关系,得到线性方程为:

$$y = 68.19 \times (1 + 1.20x)^{-1.78} + 93.44 \quad (3)$$

计算得到 KCN 对斜生栅藻的 96 h- $\text{EC}_{50}$  值为  $0.84 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .根据表 2<sup>[25]</sup>可知,KCN 属于极高毒物质.与重金属<sup>[26]</sup>对斜生栅藻的  $\text{EC}_{50}$  值相比, $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cr}^{3+}$ 、 $\text{Cr}^{6+}$ 对斜生栅藻的 96 h- $\text{EC}_{50}$  值分别为  $17.17 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $6.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $1.23 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,KCN 的毒性是  $\text{Pb}^{2+}$  的 20 倍,比  $\text{Cr}^{6+}$  还要毒,说明 KCN 是具极高毒性的物质.

表 2 藻类生长抑制毒性分级标准<sup>[25]</sup>

Table 2 Toxicity grading standard of algae growth inhibition

96 h- $\text{EC}_{50}$ / ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	<1	1—10	10—100	>100
毒性分级 Toxicity grading	极高毒	高毒	中毒	低毒

### 2.3 KCN 对栅藻抗氧化系统及 MDA 含量的影响

KCN 对斜生栅藻 SOD 活性的影响如图 3a 所示.由图 3a 可见,相同胁迫时间下,随着 KCN 胁迫浓度的升高,SOD 活性总体呈上升趋势.当 KCN 浓度为  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,SOD 活性有所上升,与对照组相比增长了 21.6%,说明低浓度 KCN 已诱导出 SOD 酶的活性.随着胁迫浓度的增加,SOD 活性一直增加.当 KCN 浓度为  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,SOD 活性达到了最大值,是对照组的 5.9 倍.不同 KCN 浓度胁迫下栅藻内 CAT 酶活性变化趋势与 SOD 变化趋势不尽相同.随胁迫浓度的增加,CAT 酶活随着胁迫浓度的升高先增加后减少,不过与对照组的 CAT 酶活性相比仍较高.图 3c 为 KCN 对栅藻细胞内 MDA 含量的影响.胁迫组的 MDA 含量呈逐渐上升的趋势.低浓度 KCN 胁迫下,MDA 含量有所增加,说明低浓度胁迫诱导栅藻细胞发生膜过氧化反应.当 KCN 浓度达到  $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,MDA 含量明显增加 ( $P < 0.05$ ),与对照组相比增加了 66.7%.之后随着 KCN 浓度的逐渐升高,MDA 含量逐渐上升,在  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  KCN 暴露浓度下 MDA 含量为对照组的 6 倍.

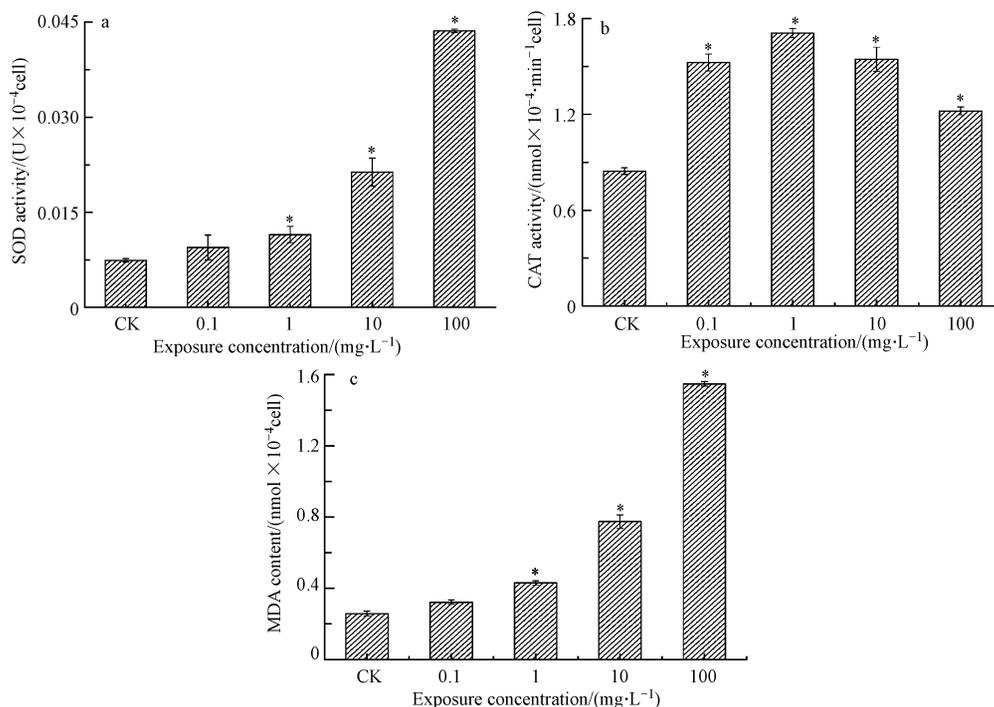


图 3 KCN 胁迫下斜生栅藻抗氧化酶活性及 MDA 含量变化

Fig.3 Antioxidant activity and MDA content of *Scenedesmus obliquus* under KCN exposure

正常情况下,植物体内活性氧自由基的产生与保护酶系统及非保护酶系统有效的清除作用之间维持氧化-还原的动态平衡,从而不会引起氧化伤害<sup>[27]</sup>.当植物处于逆境胁迫时,活性氧在细胞内大量积累,抗氧化酶的活性受到影响,引起细胞膜脂的过氧化<sup>[28]</sup>.SOD 是抗氧化的第一道防线,它能催化  $\text{O}_2^-$  发生歧化反应生成  $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $\text{O}_2$ <sup>[23]</sup>,而 CAT 是负责去除  $\text{H}_2\text{O}_2$  的主要抗氧化酶.试验结果表明,与对照组相比,在低浓度胁迫下,微藻体内的活性氧清除系统被激活,表现为两种抗氧化酶活性均升高.这一结果与 Jin 等<sup>[20]</sup>用不同浓度扑草净对绿藻进行胁迫处理的结果一致.抗氧化酶活性的升高维持了活性氧产生与清除的动态平衡,从而缓解活性氧对植株的伤害作用.

MDA 是自由基引发的脂质过氧化作用的最终分解产物,是细胞发生脂质过氧化反应中最具代表性的产物,其含量的多少可直接反应脂质过氧化的程度<sup>[29]</sup>.实验中 MDA 含量在低浓度 KCN 胁迫下上升不明显,在受到中、高浓度胁迫时才会明显上升,可能是因为低浓度的胁迫使得微藻体内各种抗氧化酶活性相对较高,有利于清除活性氧自由基,减弱膜脂过氧化作用,减少了 MDA 在细胞体内的累积.高浓度胁迫下,抗氧化酶活性(主要是 CAT 酶)有所下降,清除自由基能力下降,MDA 含量升高,说明 KCN 引起藻细胞膜过氧化程度加剧,加重对细胞膜的伤害.

### 3 结论 (Conclusions)

本文通过实验研究斜生栅藻与氰化钾的相互作用,一方面研究了斜生栅藻对氰化钾的去除效果,发现斜生栅藻对一定浓度范围内的 KCN 均有去除作用,且最高去除率达到了 65.3%,说明栅藻对氰化物的去除是可行的;另一方面研究了氰化钾对斜生栅藻的生长及抗氧化系统的影响,发现斜生栅藻受氰化物毒性效应显著,低浓度的 KCN 会降低斜生栅藻的生长速率和叶绿素 a 合成速率,减缓栅藻的生长;而中、高浓度的 KCN 则抑制了斜生栅藻的生长。外源 KCN 胁迫诱导了 SOD 和 CAT 活性的上升,减少了 MDA 的积累;而当 CAT 活性下降时,清除自由基能力下降,导致 MDA 累积,造成膜脂过氧化程度加剧,进而导致对藻细胞的伤害,使得对氰化物的去除能力减弱。

#### 参考文献 (References)

- [ 1 ] 郑伟,周林成,徐艳艳,等.含氰化物废水生物处理研究进展[J].化工环保,2011,31(2):123-128.  
ZHENG W, ZHOU L C, XU Y Y, et al. Research progresses in bio-treatment of wastewater containing cyanide [J]. Environmental Protection of Chemical Industry, 2011, 31(2):123-128 (in Chinese).
- [ 2 ] 陈华进.高浓度含氰废水处理[D].南京:南京工业大学,2005.  
CHEN H J. Study on treatment for high concentration cyanide-contained wastewater [D]. Nanjing: Nanjing University of Technology, 2005 (in Chinese).
- [ 3 ] 仲崇波,王成功,陈炳辰.氰化物的危害及其处理方法综述[J].金属矿山,2001(5):44-47.  
ZHONG C B, WANG C G, CHEN B C. Review of the dangers of cyanides and their treatment methods [J]. Metal Mine, 2001(5):44-47 (in Chinese).
- [ 4 ] 夏亚穆,郭英兰,孙岩.生物法降解氰化物的研究进展[J].化学与生物工程,2010,27(1):6-8,29.  
XIA Y M, GUO Y L, SUN Y. Research progress of degradation of cyanide by biological methods [J]. Chemistry & Bioengineering, 2010, 27(1):6-8, 29 (in Chinese).
- [ 5 ] ARELLANO C A P, MARTINEZ S S. Indirect electrochemical oxidation of cyanide by hydrogen peroxide generated at a carbon cathode [J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2007, 32(15):3163-3169.
- [ 6 ] 王同蕾,王丽荣,田海燕.饮用水中氰化物的检测和处理技术[J].中国卫生检验杂志,2008(4):732-733.  
WANG T L, WANG L R, TIAN H Y. Detection and treatment of cyanide in drinking water [J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2008(4), 732-733 (in Chinese).
- [ 7 ] MARTINKOVA L, CHMATAL M. The integration of cyanide hydratase and tyrosinase catalysts enables effective degradation of cyanide and phenol in coking wastewaters [J]. Water Research, 2016, 102: 90-95.
- [ 8 ] AKCIL A, KARAHAN A G, CIFTCI H, et al. Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas* sp.) [J]. Minerals Engineering, 2003, 16(7):643-649.
- [ 9 ] DUMESTRE A, CHONE T, PORTAL J, et al. Cyanide degradation under alkaline conditions by a strain of *Fusarium solani* isolated from contaminated soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(7):2729-2734.
- [ 10 ] GURBUZ F, CIFTCI H, AKCIL A. Biodegradation of cyanide containing effluents by *Scenedesmus obliquus* [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 162(1):74-79.
- [ 11 ] GURBUZ F, CIFTCI H, AKCIL A, et al. Microbial detoxification of cyanide solutions: A new biotechnological approach using algae [J]. Hydrometallurgy, 2004, 72(1):167-176.
- [ 12 ] CHAN S M N, LUAN T, WONE M H, et al. Removal and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by *Selenastrum capricornutum* [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2006, 25(7):1772-1779.
- [ 13 ] ELBAZ A, WEI Y Y, MENG Q, et al. Mercury-induced oxidative stress and impact on antioxidant enzymes in *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Ecotoxicology, 2010, 19(7):1285-1293.
- [ 14 ] WONG J P K, WONG Y S, TAM N F Y. Nickel biosorption by two chlorella species, *C. Vulgaris* (a commercial species) and *C. Miniata* (a local isolate) [J]. Bioresource Technology, 2000, 73(2):133-137.
- [ 15 ] DASH R R, GAUR A, BALOMAJUMDER C. Cyanide in industrial wastewaters and its removal: A review on biotreatment [J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 163(1):1-11.
- [ 16 ] 辜博.高含油微藻选育与 DGAT2 基因功能研究[D].海南:海南大学,2011.  
GU B. Breeding of high lipid algae and DGAT2 gene function [D]. Hainan: Hainan University, 2011 (in Chinese).
- [ 17 ] 顾文辉.积累类胡萝卜素的绿藻类囊体膜蛋白组学研究[D].北京:中国科学院研究生院(海洋研究所),2014.  
GU W H. Quantitative proteomics of thylakoid membranes in carotenoids accumulating chlorophytes [D]. Beijing: Chinese Academy of Sciences (Institute of Oceanology), 2014 (in Chinese).

- [18] 张晓晶,李畅游,张生,等.乌梁素海叶绿素 a 与理化因子的统计分析[J].环境化学,2010,29(2):315-319.  
ZHANG X J, LI C Y, ZHANG S, et al. Statistical analysis between chlorophyll-a concentration and physical-chemical factors in the lake of Wuliangshuai[J]. Environmental Chemistry, 2010, 29(2):315-319 (in Chinese).
- [19] ONE E, CUELLO J L. Carbon dioxide mitigation using thermophilic cyanobacteria[J]. Biosystems Engineering, 2007, 96(1): 129-134.
- [20] JIN Z P, LUO K, ZHANG S, et al. Bioaccumulation and catabolism of prometryne in green algae[J]. Chemosphere, 2012, 87(3): 278-284.
- [21] BOTZ M M, MUDDER T I, AKCIL A U. Chapter 35-Cyanide treatment: Physical, chemical, and biological processes[J]. Gold Ore Processing, 2016:619-645.
- [22] ZHANG S, QIU C B, ZHOU Y, et al. Bioaccumulation and degradation of pesticide fluroxypyr are associated with toxic tolerance in green alga *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Ecotoxicology, 2011, 20(2): 337-347.
- [23] BI Y F, MIAO S S, LU Y C, et al. Phytotoxicity, bioaccumulation and degradation of isoproturon in green algae[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 243: 242-249.
- [24] LIM S L, CHU W L, PHANG S M. Use of *Chlorella vulgaris* for bioremediation of textile wastewater[J]. Bioresource Technology, 2010, 101(19): 7314-7322.
- [25] 国家环境保护总局.水和废水监测分析方法[M].北京:中国环境科学出版社,2002.  
State Environment Protection Administration. Monitoring and analysis method of water and waste and wastewater[M]. China Environment Science Press, 2002 (in Chinese).
- [26] 杨国远,万凌琳,雷学青,等.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[J].环境科学学报,2014,34(6): 1606-1614.  
YANG G Y, WAN L L, LEI X Q, et al. Effects of lead and chromium on the growth, photosynthetic performance, and antioxidant activity of *Scenedesmus obliquus*[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2014, 34(6):1606-1614 (in Chinese).
- [27] SUZUKI N, MITTLER R. Reactive oxygen species and temperature stresses: A delicate balance between signaling and destruction[J]. Physiologia Plantarum, 2006, 126: 45-51.
- [28] GUO L W, JING C, LING T, et al. Fluroxypyr triggers oxidative damage by producing superoxide and hydrogen peroxide in rice (*Oryza sativa*) [J]. Ecotoxicology, 2010, 19:124-132.
- [29] 惠竹梅,王智真,胡勇,等.24-表油菜素内酯对低温胁迫下葡萄幼苗抗氧化系统及渗透调节物质的影响[J].中国农业科学,2013, 46(5):1005-1013.  
HUI Z M, WANG Z Z, HU Y, et al. Effects of 24-epibrassinolide on the antioxidant system and osmotic adjustment substance in grape seedlings (*V. vinifera* L.) under chilling stress[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(5):1005-1013 (in Chinese).