

E方知库  
Eco-Environmental  
Knowledge Web

# 环境科学

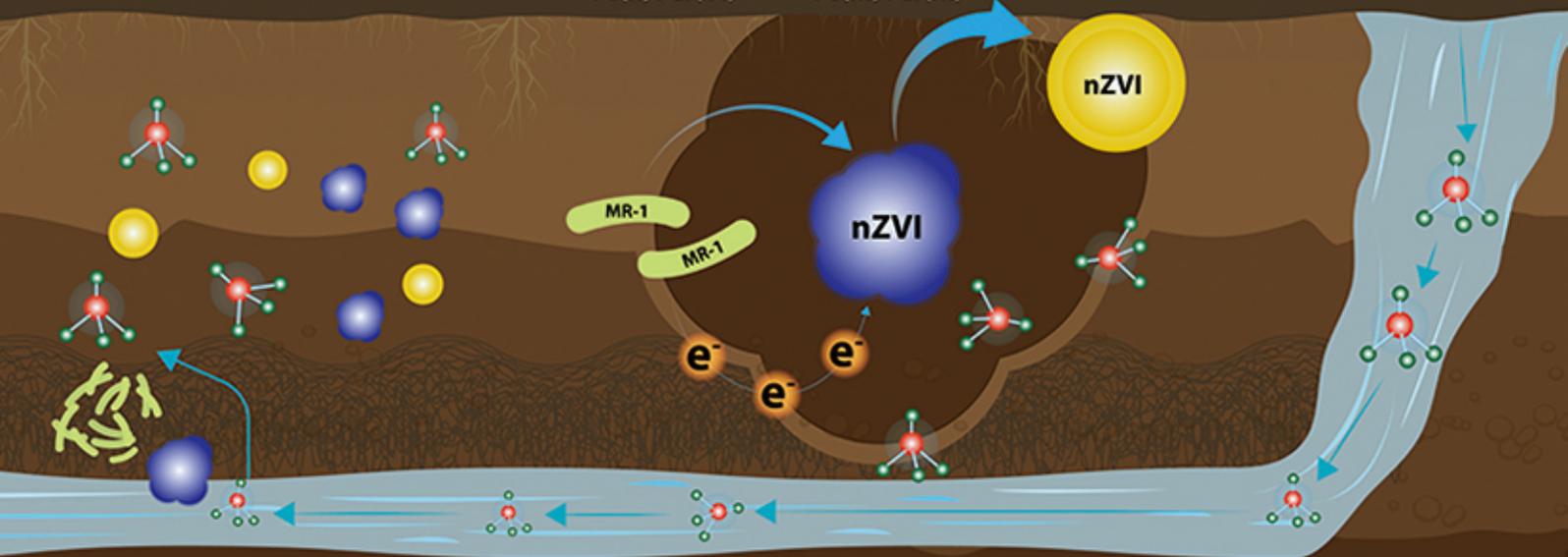
ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJIANG KEXUE

电活性微生物激活生物质炭/零价铁协同钝化Cr(VI)及机制

廖聪坚, 赵晓蕾, 刘凯, 钟松雄, 李芳柏, 方利平, 叶挺进, 石虎砚



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2021年9月

第42卷 第9期  
Vol.42 No.9

目次

北京市2014~2020年PM<sub>2.5</sub>和O<sub>3</sub>时空分布与健康效应评估..... 陈菁, 彭金龙, 徐彦森 (4071)

京津冀地区高分辨率PM<sub>2.5</sub>浓度时空变化模拟与分析..... 杨晓辉, 宋春杰, 范丽行, 张凌云, 魏强, 李夫星, 王丽艳, 王卫 (4083)

京津冀典型城市冬季人为源减排与气象条件对PM<sub>2.5</sub>污染影响..... 邵玄逸, 王晓琦, 钟焜盛, 王瑞鹏 (4095)

太行山两侧污染物传输对横谷城市气溶胶的影响分析..... 王雁, 郭伟, 闫世明, 裴坤宁, 李明明, 陈二萍 (4104)

嘉善冬季碳质气溶胶变化特征及其来源解析..... 张颖龙, 李莉, 吴伟超, 吕升, 秦阳, 祝新明, 高晋徽, 唐倩, 夏崢 (4116)

基于机器学习算法的新冠疫情管控对河南省空气质量影响的模拟分析..... 魏煜, 徐起翔, 赵金帅, 张瑞芹 (4126)

新乡市大气PM<sub>2.5</sub>载带金属元素季节分布、来源特征与健康风险..... 刘桓嘉, 贾梦珂, 刘永丽, 赵艺洁, 郑爱华, 刘恒志, 徐肃阳, 肖晴晴, 苏晓燕, 任言 (4140)

黄渤海气溶胶中砷的分布特征和季节变化..... 袁帅, 王艳, 刘汝海, 种习习, 刘晓雨, 邵龙 (4151)

天津市2020年冬季重污染过程气溶胶消光特性及其来源..... 李立伟, 肖致美, 杨宁, 蔡子颖, 闫斌峰, 元洁, 白宇, 郑乃源, 唐逸 (4158)

中国暖季近地面臭氧浓度空间格局演变及主要气象驱动因素..... 何超, 慕航, 杨璐, 王丹璐, 邸彦峰, 叶志祥, 易嘉慧, 柯碧钦, 田雅, 洪松 (4168)

乌海市夏季臭氧污染特征及基于过程分析的成因探究..... 张瑞欣, 陈强, 夏佳琦, 刘晓, 郭文凯, 李光耀, 陈梅 (4180)

珠江三角洲海岸背景区大气VOCs污染特征与来源..... 云龙, 李成柳, 张明棣, 何龙, 郭键锋 (4191)

永定河上游地表水-地下水水化学特征及其成因分析..... 孔晓乐, 杨永辉, 曹博, 王艺璇, 裴宏伟, 沈彦军 (4202)

汉江中下游水质时空变异与驱动因素识别..... 程兵芬, 张远, 夏瑞, 张楠, 张新飞 (4211)

环境持久性药物在江苏省地表水中的污染水平、分布特征及生态风险评估..... 赵美美, 范德玲, 古文, 汪贞, 梁梦园, 刘济宁, 张志 (4222)

柳江流域河流溶解态重金属时空分布及污染评价..... 张婉军, 辛存林, 于爽, 刘齐, 曾鹏 (4234)

雷州半岛地下水重金属来源解析及健康风险评价..... 师环环, 潘羽杰, 曾敏, 黄长生, 侯清芹, 皮鹏程, 彭红霞 (4246)

龙子祠泉域地下水金属元素分布特征及健康风险评价..... 谢浩, 梁永平, 李军, 邹胜章, 申豪勇, 赵春红, 王志恒 (4257)

硫氧同位素解析典型岩溶地下河流域硫酸盐季节变化特征和来源..... 任坤, 潘晓东, 兰干江, 彭聪, 梁嘉鹏, 曾洁 (4267)

包头南海湿地磷形态及污染源定量识别..... 拜亚红, 钱晨歌, 袁思静, 谢子嫣, 来凌子, 张敏, 刘颖, 苗春林 (4275)

城市新城区公园沟塘沉积物磷释放风险及影响因素分析..... 李如忠, 宋敏, 杨继伟 (4287)

水力停留时间对潜流湿地净化效果影响及脱氮途径解析..... 齐冉, 张灵, 杨帆, 颜昌宙 (4296)

锰砂人工湿地对污染物的强化去除..... 马权, 王东麟, 林慧, 柏耀辉 (4304)

4种典型沉水植物对去除磷污染底泥的应用效果..... 陶理, 王沛芳, 袁秋生, 王洵, 胡斌 (4311)

输水情景下白洋淀好氧反硝化菌群落对溶解性有机物的响应..... 周石磊, 张甜娜, 陈召莹, 张紫薇, 于明会, 姚波, 崔建升, 罗晓 (4319)

木屑生物炭在雨水径流中的氮磷淋出和吸附特性..... 孟依柯, 王媛, 汪传跃 (4332)

海州湾潮间带沙蚕对沉积物微塑料的指示作用..... 王嘉旋, 宋可心, 孙一鑫, 方涛, 李瑾祯, 张涛, 冯志华 (4341)

纳米二氧化钛与镉对斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)生长的拮抗效应及其作用机制..... 王璞, 赵丽红, 朱小山 (4350)

螺旋霉素废水处理过程中菌群结构、水质特征及抗性基因之间关系分析..... 武彩云, 李慧莉, 覃彩霞, 佟娟, 魏源送 (4358)

螯合铁对厌氧铁氨氧化脱氮效能及微生物群落的影响..... 廖宏燕, 宋诚, 万柳杨, 时绍鹏, 王兴祖 (4366)

溶解氧对低碳源城市污水处理系统脱氮性能与微生物群落的影响..... 池玉蕾, 石炬, 任童, 王晓昌, 金鹏康 (4374)

间歇梯度曝气下缩短SRT强化短程SNEDPR系统脱氮除磷..... 张玉君, 李冬, 王歆鑫, 张杰 (4383)

生物膜系统中部分反硝化实现特性..... 于莉芳, 张兴秀, 张琼, 王晓玉, 彭党聪, 张日霞 (4390)

厌氧推流进水对反硝化除磷好氧颗粒污泥系统的影响..... 李冬, 曹思雨, 王琪, 张杰 (4399)

不同好氧/缺氧时长联合分区排泥优化生活污水短程硝化反硝化除磷颗粒系统运行..... 王文琪, 李冬, 高鑫, 张杰 (4406)

中国西南地区金属矿开采对矿区土壤重金属影响的Meta分析..... 张健琳, 瞿明凯, 陈剑, 杨兰芳, 赵永存, 黄标 (4414)

青藏高原典型流域土壤重金属分布特征及其生态风险评价..... 杜昊霖, 王莺, 王劲松, 姚玉璧, 周悦, 刘晓云, 芦亚玲 (4422)

电子垃圾拆解区土壤-农作物系统中镉元素的空间分布特征及其风险评价..... 张璐瑶, 赵科理, 傅伟军 (4432)

改性生物炭特性表征及对冶炼厂周边农田土壤铜镉形态的影响..... 王鑫宇, 孟海波, 沈玉君, 王佳锐, 张曦, 丁京涛, 周海滨, 李春燕, 程琼仪 (4441)

组配改良剂联合锌肥对土壤-水稻系统镉迁移转运的影响..... 周坤华, 周航, 王子钰, 刘雅, 刘佳伟, 辜娇峰, 曾鹏, 廖柏寒 (4452)

不同结构改良剂对铜镉污染土壤水稻生长和重金属吸收的影响..... 魏玮, 李平, 郎漫 (4462)

1株草螺属植物内生菌R-13的分离鉴定及对龙葵吸收土壤镉的影响..... 鹿杰, 刘月敏, 黄永春, 王常荣, 刘斌, 刘仲齐, 黄益宗, 黄雁飞, 张长波 (4471)

不同地区土壤古菌群落对重金属污染响应..... 李雨桐, 杨杉, 张艺, 范例, 刘坤, 张晟 (4481)

高通量测序分析黄土高原退耕还林区土壤细菌群落特征..... 刘晓华, 魏天兴 (4489)

餐厨垃圾生物发酵液对黄土丘陵区土壤质量的影响试验..... 邵立明, 任俊达, 吕凡, 章骅, 何品晶 (4500)

秦岭不同海拔土壤团聚体稳定性及其与土壤酶活性的耦合关系..... 马宸菲, 胡汗, 李益, 郭鑫鑫, 任成杰, 赵发珠 (4510)

电活性微生物激活生物质炭/零价铁协同钝化Cr(VI)及机制..... 廖聪坚, 赵晓蕾, 刘凯, 钟松雄, 李芳柏, 方利平, 叶挺进, 石虎砚 (4520)

降水变化对荒漠草原土壤呼吸的影响..... 蒿廉伊, 张丽华, 谢忠奎, 赵锐锋, 王军锋, 郭亚飞, 高江平 (4527)

氮肥分施次数及硝化抑制剂对盆栽玉米N<sub>2</sub>O排放的影响..... 符佩娇, 吉恒宽, 何秋香, 汤水荣, 王鸿浩, 伍延正, 孟磊 (4538)

负载NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N生物炭对土壤N<sub>2</sub>O-N排放和NH<sub>3</sub>-N挥发的影响..... 马晓刚, 何建桥, 陈玉蓝, 李德天, 刘川, 董建新, 郑学博 (4548)

微塑料添加对橘园土壤有机碳矿化的影响..... 张秀玲, 鄢紫薇, 王峰, 王玺, 徐晗, 胡荣桂, 严昶, 林杉 (4558)

1985~2019年中国全氟辛酸磺酰基化合物的动态物质流分析..... 王佳钰, 陈景文, 唐伟豪, 崔蕴晗, 王中钰, 宋国宝, 陈伟强 (4566)

《环境科学》征订启事(4201) 《环境科学》征稿简则(4340) 信息(4382, 4537, 4565)

# 纳米二氧化钛与镉对斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 生长的拮抗效应及其作用机制

王璞<sup>1,2</sup>, 赵丽红<sup>1,2</sup>, 朱小山<sup>1,2\*</sup>

(1. 清华大学深圳国际研究生院, 深圳 518055; 2. 清华大学环境学院, 北京 100084)

**摘要:** 人工纳米材料(MNMs)进入水环境将改变传统环境污染物的环境归趋及其毒性作用,两者的相互作用及其机制一直是环境科学领域的热点问题. 迄今为止,已有大量 MNMs 与现存污染物联合毒性作用的研究成果发表,但其潜在的作用机制,尤其是联合作用下的生物响应机制仍未清楚. 本文以典型 MNMs——纳米二氧化钛( $n\text{TiO}_2$ )与重金属镉( $\text{Cd}^{2+}$ )为研究目标,以斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)为受试生物,考察在等效剂量(毒性比 1:1)下不同浓度组合  $n\text{TiO}_2$  和  $\text{Cd}^{2+}$  对斜生栅藻的联合毒性作用模式及其分子机制. 结果表明,等效剂量下  $\text{Cd}^{2+}$  和  $n\text{TiO}_2$  的 72h  $\text{EC}_{50}$  值对比单独暴露时均有显著升高,呈拮抗效应. 进一步开展转录组学分析发现, $n\text{TiO}_2$  存在下斜生栅藻能量代谢所涉及的光合作用、叶绿素代谢以及淀粉与蔗糖代谢通路发生了显著上调,与藻细胞抗逆效应相关的精氨酸与脯氨酸代谢通路同样呈正向刺激表现. 本文首次报道了  $n\text{TiO}_2$  与  $\text{Cd}^{2+}$  等效剂量联合暴露下,浮游植物通过改变藻细胞抗逆能力与加强能量代谢来降低毒性的生物响应机制. 本研究结果为深入理解 MNMs 与现存污染物的复合环境健康效应提供重要参考和研究基础.

**关键词:** 纳米二氧化钛( $n\text{TiO}_2$ ); 镉; 等效剂量; 拮抗; 转录组学; 人工纳米材料(MNMs)

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)09-4350-08 DOI: 10.13227/j.hjkk.202101078

## Antagonistic Effect and Mechanism of Nano Titanium Dioxide and Cadmium on the Growth of *Scenedesmus obliquus*

WANG Pu<sup>1,2</sup>, ZHAO Li-hong<sup>1,2</sup>, ZHU Xiao-shan<sup>1,2\*</sup>

(1. Shenzhen International Graduate School, Tsinghua University, Shenzhen 518055, China; 2. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

**Abstract:** The release of manufactured nanomaterials (MNMs) into the environment has raised concerns about combined toxicological risks, as MNMs could significantly alter the environmental behavior and fate of co-existing contaminants. Numerous studies have been published on the combined toxicity of MNMs and co-existing contaminants, but the potential mechanisms controlling the combined toxicity, especially the biological response mechanism, remain unclear. This study investigated the combined toxicity of nano-titanium dioxide ( $n\text{TiO}_2$ ), a typical MNM, and the heavy metal cadmium ( $\text{Cd}^{2+}$ ), using *Scenedesmus obliquus* as the test organism. The molecular mechanism was examined under different concentrations, using an equivalent dose (toxic ratio 1:1) on *S. obliquus*. The results showed that the 72h- $\text{EC}_{50}$  of  $n\text{TiO}_2$  and  $\text{Cd}^{2+}$  at the equivalent dose was significantly higher than that of single exposure, indicating an antagonistic effect. Further transcriptomics analysis revealed that the photosynthesis, chlorophyll metabolism, and starch and sucrose metabolism pathways involved in the energy metabolism of *S. obliquus* were significantly up-regulated in the presence of  $n\text{TiO}_2$ . The arginine and proline metabolic pathways related to the anti-stress effect of algae cells also showed positive stimulation. The results of this study provide an important reference and a research basis for in-depth understanding of the environmental effects of MNMs and co-existing contaminants.

**Key words:** nano-titanium dioxide ( $n\text{TiO}_2$ ); cadmium; equivalent dose; antagonism; transcriptomics; manufactured nanomaterials (MNMs)

随着人工纳米材料(manufactured nanomaterials, MNMs)的广泛使用和产量的不断提高,其环境暴露不断增加. 已有越来越多的证据表明 MNMs 在水环境中的存在<sup>[1,2]</sup>,其环境安全与健康风险难以忽视<sup>[3]</sup>. 尽管已有大量针对 MNMs 的生态毒性研究,但是考虑到实际环境的复杂性,分析单一污染物的毒性不足以满足环境风险评估的要求. 因此研究 MNMs 和现存污染物的复合毒性作用已成为评估 MNMs 环境风险的一个主要内容<sup>[4~7]</sup>.

纳米二氧化钛( $n\text{TiO}_2$ )作为典型 MNMs,其单独

生态毒性以及与现存污染物的联合毒性已获得广泛研究<sup>[8,9]</sup>. 有研究显示  $n\text{TiO}_2$  在不同程度上促进了现存污染物的毒性效应. 例如,单独暴露于  $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $n\text{TiO}_2$  或  $2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  三丁基锡不会影响鲍鱼(*Haliotis*

收稿日期: 2021-01-14; 修订日期: 2021-02-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(41877352, 42077227); 广东省促进海洋经济发展专项项目(GDOE[2019]A06); 广东省自然科学基金项目(2114050000281); 深圳市基础研究项目(JCYJ20180507182227257)

作者简介: 王璞(1991~),男,博士研究生,主要研究方向为人工纳米材料环境毒理, E-mail: wang-p19@mails.tsinghua.edu.cn

\* 通信作者, E-mail: zhu.xiaoshan@sz.tsinghua.edu.cn

*diversicolor supertexta*) 的孵化或畸形率, 而联合暴露能够显著影响鲍鱼的孵化率和变形率, 表现出明显的协同效应<sup>[10]</sup>. 类似研究还有添加  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{nTiO}_2$  可以促进  $\text{Cd}^{2+}$  在鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 中的积累<sup>[11]</sup>. Yang 等<sup>[12]</sup> 的研究指出存在  $13.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{nTiO}_2$  可以增强  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Cd}^{2+}$  对四膜虫 (*Tetrahymena thermophile*) 生长的抑制作用.  $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{nTiO}_2$  的存在增加了 Ag 对大型蚤 (*Daphnia magna*) 的毒性, 其 72 h  $\text{EC}_{50}$  值降低了 40%<sup>[13]</sup>. Fan 等<sup>[14]</sup> 的研究证明,  $\text{nTiO}_2$  ( $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 显著增强了  $\text{Cu}^{2+}$  对大型蚤 (*Daphnia magna*) 的毒性,  $\text{LC}_{50}$  值从  $111 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  降低至  $42 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . 以上结果均表明  $\text{nTiO}_2$  与现存污染物存在协同作用. 但是需要指出, 在上述研究中  $\text{nTiO}_2$  与现存污染物往往为单一浓度配比, 且  $\text{nTiO}_2$  的浓度高于现存污染物浓度. 在真实环境中 MNMs 的环境浓度较低<sup>[15,16]</sup>, 相对应的毒性效应甚至可能小于其现存污染物. 然而  $\text{nTiO}_2$  在低毒性效应或者与现存污染物等毒性效应下的联合毒性研究仍较少, 且目前仍不清楚  $\text{nTiO}_2$  与现存污染物联合作用下生物响应机制.

本研究以典型 MNMs  $\text{nTiO}_2$  与重金属镉 ( $\text{Cd}^{2+}$ ) 为研究目标, 以斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 为受试生物 (该藻分布广泛、易于实验室培养, 是国内外典型的生态毒理学研究模式生物), 采用经典联合毒性实验方法考察在等效剂量 (毒性比 1:1) 下不同浓度组合的  $\text{nTiO}_2$  和  $\text{Cd}^{2+}$  对斜生栅藻的联合毒性作用模式, 并采用转录组学手段分析该联合毒性效应下生物分子响应机制, 以期为客观评估 MNMs 与现存污染物的联合毒性作用, 深入理解其复杂的环境健康效应提供重要参考和研究基础.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

$\text{nTiO}_2$  粉末 (平均粒径  $\leq 15 \text{ nm}$ ,  $\geq 99.5\%$ ) 购买于南京埃普瑞纳米材料有限公司.  $\text{CdCl}_2 \cdot (5/2) \text{H}_2\text{O}$  (99.0%) 购自天津市光复科技发展有限公司. 制备 OECD201 培养基所需的化合物均购自上海阿拉丁实业有限公司, 纯度均高于 99.0%. 实验所涉及玻璃仪器在使用前均在  $\text{HNO}_3$  (10%) 中浸泡超过 24 h, 随后使用自来水与超纯水分别冲洗 3 次. 冲洗结束后高温灭菌 ( $121^\circ\text{C}$ , 15 min), 备用.

### 1.2 $\text{nTiO}_2$ 在斜生栅藻培养液中的理化性质

$\text{nTiO}_2$  粉末采用超纯水 (Billerica, Millipore, 美国) 超声处理 10 min (功率密度  $50 \text{ W}\cdot\text{L}^{-1}$ , 频率 40 kHz), 制备  $\text{nTiO}_2$  悬浮液 ( $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ ). 为了鉴定

$\text{nTiO}_2$  在斜生栅藻培养体系中的特性, 使用 OECD201 培养基稀释  $\text{nTiO}_2$  悬浮液至  $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 并置于摇床上, 设定离心力  $0.25 \text{ g}$ , 保持旋转. 定时收集 0、24、48 和 72 h 样品, 使用动态光粒度仪 (DLS, DelsaNano, Beckman Coulter, 美国) 对  $\text{nTiO}_2$  的流体动力学直径、Zeta 电位进行表征. 用透射电子显微镜 (TEM, FEI Tecnai GF30, 美国) 对  $\text{nTiO}_2$  进行团聚粒径、状态和形貌特征检测.

### 1.3 斜生栅藻的培养

实验所用模式生物斜生栅藻 (*S. obliquus*, FACHB-417) 获自中国科学院水生生物研究所, 并参照 OECD 标准方法进行培养<sup>[17]</sup>. 培养条件如下: 光暗比 12 h: 12 h; 光强  $45 \mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$ ; 温度:  $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ; 摇床转速:  $150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ . 为使斜生栅藻生长状况稳定, 对其驯化 4~5 周后用于实验.

### 1.4 $\text{Cd}^{2+}$ 和 $\text{nTiO}_2$ 对斜生栅藻的单独暴露

实验设计遵循 OECD 标准方法<sup>[17]</sup>. 收集处于对数生长期的斜生栅藻, 并在无菌条件下以藻细胞浓度为  $2 \times 10^4 \text{ cell}\cdot\text{L}^{-1}$  的最终密度接种到新制备的培养基中. 然后在培养体系中添加等体积的  $\text{nTiO}_2$  或  $\text{Cd}^{2+}$  测试溶液 (用 OECD 培养基稀释储备液得到,  $\text{nTiO}_2$  或  $\text{Cd}^{2+}$  浓度为最终浓度的 2 倍) 至设计浓度. 每个实验单元的最终体积为 100 mL.  $\text{nTiO}_2$  终浓度为: 0.5、1、2.5、5、10、50 和  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $\text{Cd}^{2+}$  终浓度为: 0.001、0.0025、0.005、0.0075、0.01、0.025 和  $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . 此外还准备了一个不含  $\text{nTiO}_2$  或  $\text{Cd}^{2+}$  的对照组. 对照组与每个暴露组均设置 3 组平行. 培养条件与上述相同. 在暴露实验期间, 每 24 h 测量一次藻细胞密度. 实验结束时, 根据 OECD 标准方法计算不同处理条件下藻类在 72 h 内的生长抑制率和  $\text{EC}_{50}$  值<sup>[17]</sup>. 采用 SPSS 20.0 对数据进行方差分析 (one way ANOVA) 及 Turkey's test 分析,  $P < 0.05$  表示有显著性差异. 采用 Origin 进行相应图片的绘制.

### 1.5 $\text{Cd}^{2+}$ + $\text{nTiO}_2$ 联合暴露及其毒性效应评价方法

联合毒性评价将污染物各自的  $\text{EC}_{50}$  值定义为一个毒性单位 (1 TU). 本研究结果表明,  $\text{nTiO}_2$  和  $\text{Cd}^{2+}$  的  $\text{EC}_{50}$  值分别为  $28.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $0.011 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 相当于  $\text{nTiO}_2$  和  $\text{Cd}^{2+}$  的 1 TU. 在本实验中, 为考察两者毒性相同, 及毒性比 1:1 下  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{nTiO}_2$  的联合毒性作用, 依据污染物浓度的高低, 分别设置 7 个浓度组合 (表 1), 考察各浓度组合对斜生栅藻的生长抑制情况, 并计算联合毒性下各污染物  $\text{EC}_{50}$  值.

目前, 常用的联合毒性作用类型分为: 简单相加、协同、部分相加、单独和拮抗这 5 种作用模

表 1 不同实验组浓度配比/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Table 1 Concentration ratio of different experimental groups/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 

项目	实验组							
	1	2	3	4	5	6	7	
仅 $\text{nTiO}_2$	0.5	1	2.5	5	10	50	100	
仅 $\text{Cd}^{2+}$	0.001	0.002 5	0.005	0.007 5	0.01	0.025	0.05	
$\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$	$\text{Cd}^{2+}$	0.000 7	0.001 4	0.002 8	0.005 5	0.011	0.022	0.044
	$\text{nTiO}_2$	1.794	3.588	7.175	14.35	28.7	57.4	114.8

式<sup>[18,19]</sup>. 本研究使用 3 种方法对联合毒性作用进行评价,分别为毒性单位法(TU)、添加指数法(AI)和混合毒性指数法(MTI),具体计算方法为<sup>[20]</sup>:

$$\text{TU}_i = c_i/\text{EC}_{50i}$$

$$\text{TU} = \sum \text{TU}_i$$

$$\text{TU}_0 = \text{TU}/\max(\text{TU}_i)$$

式中, $c_i$ 为化合物*i*的浓度; $\text{EC}_{50i}$ 为化合物*i*半抑制浓度.

#### (1) 毒性单位法(TU)

$\text{TU} = 1$ , 相加作用;  $\text{TU} > \text{TU}_0$ , 拮抗作用;  $\text{TU} < 1$ , 协同作用;  $\text{TU} = \text{TU}_0$ , 独立作用;  $\text{TU}_0 > \text{TU} > 1$ , 部分相加和作用.

#### (2) 相加指数法(AI)

当  $\text{TU} \leq 1.0$  时,  $\text{AI} = (1/\text{TU}) - 1$ ; 当  $\text{TU} \geq 1.0$  时,  $\text{AI} = 1 - \text{TU}$ .

当  $\text{AI} > 0$ , 化学物质为大于相加作用, 而  $\text{AI} < 0$  表示小于相加作用,  $\text{AI} = 0$  表示等于相加作用.

#### (3) 混合毒性指数法(MTI)

$$\text{MTI} = 1 - (\lg\text{TU}/\lg\text{TU}_0)$$

若  $\text{MTI} < 0$ , 拮抗作用; 若  $\text{MTI} = 0$ , 独立作用; 若  $0 < \text{MTI} < 1$ , 部分相加作用; 若  $\text{MTI} = 1$ , 浓度相加作用; 若  $\text{MTI} > 1$ , 协同作用.

### 1.6 转录组测序

#### 1.6.1 样品制备、RNA 提取和建库

将斜生栅藻分别暴露于  $\text{Cd}^{2+}$  ( $0.011 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 和  $\text{Cd}^{2+}$  ( $0.011 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) +  $\text{nTiO}_2$  ( $28.70 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 中 72 h, 按照 TRIzol 试剂盒 (Molecular Research

Center, 美国) 要求进行 RNA 提取. 然后使用 RNeasy 试剂盒 (Qiagen, Valencia, 美国) 分离总 RNA. 使用 Agilent Bioanalyzer 2100 系统 (Agilent Technologies, 美国) 分析评估 RNA 完整性. 用带有 Oligo (dT) 的磁珠对提取的总 RNA 进行 mRNA 富集和纯化, 然后加入片段化试剂将 mRNA 打断成短片段, 以片段化的 mRNA 为模板合成一链 cDNA 和二链 cDNA, 并使用试剂盒进行纯化回收、粘性末端修复和 cDNA 3' 末端加上碱基 "A" 并连接接头, 然后进行片段大小选择, 最后进行 PCR 扩增. 并在 Agilent Bioanalyzer 2100 系统上评估文库质量. 在 Illumina HiSeqTM 2000 平台上进行测序.

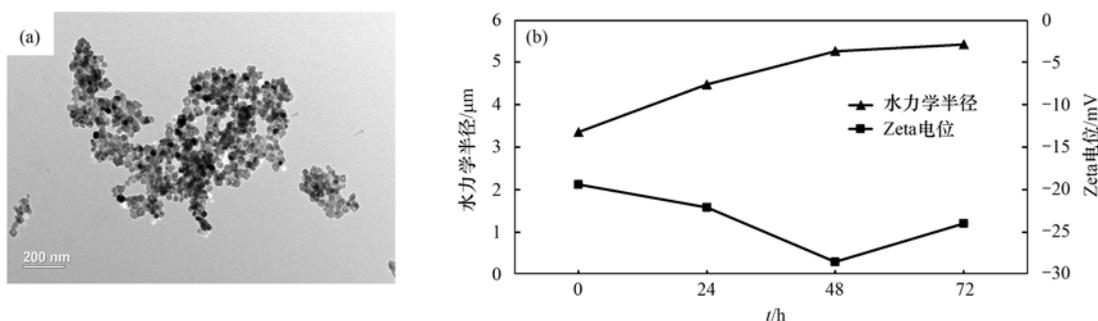
#### 1.6.2 差异表达基因筛选及分析

测序得到的原始序列过滤掉低质量、接头污染以及未知碱基 N 含量过高的序列, 得到待分析数据. 采用 Trinity 软件对待分析数据进行组装, 然后使用 Tgicl 将组装的转录本进行聚类去冗余得到 Unigene. 使用 FPKM (每个千个碱基的转录每百万映射读取的碎片) 值计算出标准化的转录本的数量, 然后将其用于计算每个单基因的相对表达水平. 使用 edgeR 鉴定差异表达基因 (DEG, Fold-change > 2 或 < 0.5, FDR < 0.01,  $P < 0.05$ ). 使用 KOBAS 进行了 KEGG 途径的富集.

## 2 结果与讨论

### 2.1 $\text{nTiO}_2$ 在暴露体系中的动态变化

透射电镜观察显示二氧化钛在 OECD 培养基中



(a) OECD201 培养液中  $\text{nTiO}_2$  的形貌特征, (b)  $\text{nTiO}_2$  于 OECD201 培养液中平均水力学半径和 Zeta 电位随时间的变化

图 1  $\text{nTiO}_2$  进入 OECD201 培养液中的团聚状态

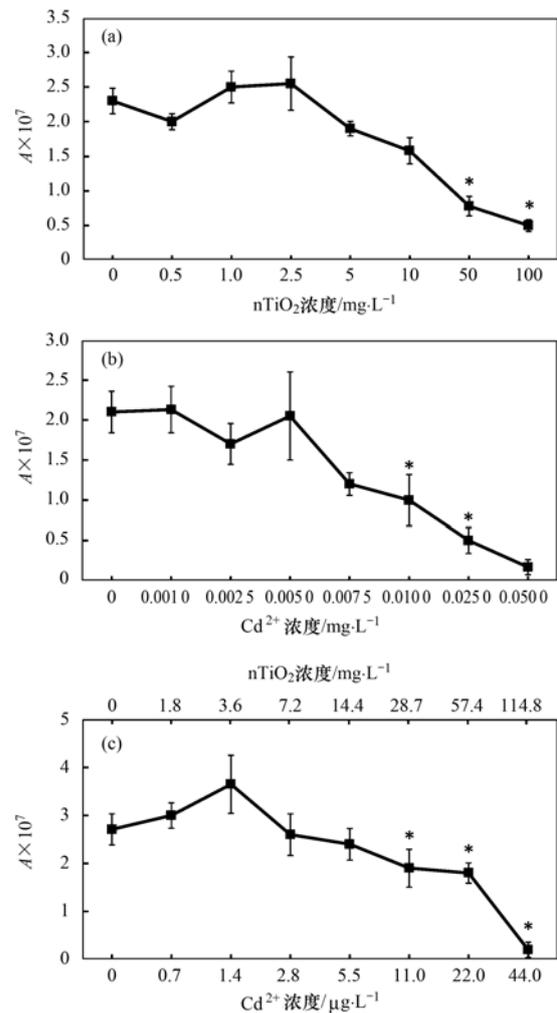
Fig. 1 Agglomeration state of  $\text{nTiO}_2$  particles entering the OECD201 culture solution

发生团聚,其团聚体呈不规则形状,长度达数百纳米到微米[图1(a)]. DLS 测试也证实了 nTiO<sub>2</sub> 的团聚现象. 结果表明,随着暴露时间的延长,nTiO<sub>2</sub> 的水力半径逐渐增大,平均在 3 ~ 5 μm 之间,0 h 时粒径最小,48 ~ 72 h 时最大[图1(b)]. 本研究表明,随着暴露时间的延长,nTiO<sub>2</sub> 在斜生栅藻培养基中聚集形成较大的聚集体. 这些聚集体的结合形式相对松散,边缘仍为纳米级结构. Zeta 电位表明 nTiO<sub>2</sub> 悬浮液的表面电荷随着暴露时间的延长而增加. Zeta 电位分布相对集中,最高电位为 -19.6 mV. nTiO<sub>2</sub> 在不同时间的 Zeta 电位在 -25 mV 左右浮动[图1(b)]. 由于 Zeta 电位绝对值较大,nTiO<sub>2</sub> 在培养基中稳定存在. 这一结果与类似研究中的文献报道相近<sup>[21,22]</sup>.

## 2.2 Cd<sup>2+</sup> 和 nTiO<sub>2</sub> 对斜生栅藻的毒性效应

单独暴露于 nTiO<sub>2</sub> 和 Cd<sup>2+</sup> 后,根据 OECD 标准方法得到毒性剂量方程式,并计算得到 nTiO<sub>2</sub> 和 Cd<sup>2+</sup> 对斜生栅藻的 72 h EC<sub>50</sub> 值分别为 28.7 mg·L<sup>-1</sup> 和 0.011 mg·L<sup>-1</sup> (表 2),与前人报道的 EC<sub>50</sub> 值相近<sup>[23,24]</sup>.

nTiO<sub>2</sub> 单独暴露时对斜生栅藻的生长抑制具有明显的剂量-效应关系[图2(a)]. 培养 72 h 后与对照组相比,低浓度(0.5、1、2.5 和 5 mg·L<sup>-1</sup>) 处理组中斜生栅藻的生长没有显著差异;但高浓度(50 mg·L<sup>-1</sup> 和 100 mg·L<sup>-1</sup>) nTiO<sub>2</sub> 显著抑制斜生栅藻的生长速率. 斜生栅藻对镉的毒性非常敏感,不同浓度的镉对斜生栅藻的毒性效应见图2(b). 随着镉浓度的增加,藻细胞密度逐渐减小. 镉对斜生栅藻的毒性可能与镉的表面吸附和内部积累有关. 斜生栅藻表面带负电荷<sup>[25]</sup>,由于静电吸附和络合作用,对镉具有较强的亲和力<sup>[26]</sup>. Cd<sup>2+</sup> 进入藻细胞后可竞争性地取代 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup><sup>[27]</sup>,抑制需要 Ca<sup>2+</sup> 或 Mg<sup>2+</sup> 的酶,从而影响代谢活性和光合作用. 此外, Cd<sup>2+</sup> 会诱导产生活性氧,触发氧化应激,破坏细胞成分<sup>[28]</sup>.



(a) 不同浓度 nTiO<sub>2</sub> 对斜生栅藻的生长抑制效应, (b) 不同浓度 Cd<sup>2+</sup> 对斜生栅藻的生长抑制效应, (c) nTiO<sub>2</sub> 与 Cd<sup>2+</sup> 毒性比 1:1 时不同浓度组合对斜生栅藻的生长抑制效应, A 表示斜生栅藻 72 h 生长曲线下所包围的面积, \* 表示 P < 0.05

图 2 在不同浓度下 nTiO<sub>2</sub> 和/或 Cd<sup>2+</sup> 对斜生栅藻的生长抑制效应

Fig. 2 Varying concentrations of Cd<sup>2+</sup> and/or nTiO<sub>2</sub> inhibit the growth of *Scenedesmus obliquus*

表 2 各实验组对斜生栅藻生长抑制的剂量-效应关系及 72 h EC<sub>50</sub> 值

Table 2 Dose-effect relationship and the 72 h EC<sub>50</sub> of each experimental group on the growth inhibition of *Scenedesmus obliquus*

实验组	回归方程	相关系数(R <sup>2</sup> )	EC <sub>50</sub> 值(Cd <sup>2+</sup> )/mg·L <sup>-1</sup>	EC <sub>50</sub> 值(nTiO <sub>2</sub> )/mg·L <sup>-1</sup>
仅 nTiO <sub>2</sub>	y = 0.368x - 0.036	0.795	—	28.7
仅 Cd <sup>2+</sup>	y = 0.594x + 1.672	0.881 1	0.011	—
Cd <sup>2+</sup> + nTiO <sub>2</sub>	y = 0.576x + 1.496	0.811	0.019	49.573

## 2.3 Cd<sup>2+</sup> + nTiO<sub>2</sub> 对斜生栅藻的联合毒性效应

考察 Cd<sup>2+</sup> 与 nTiO<sub>2</sub> 在等毒性比 1:1 时不同浓度组合对斜生栅藻的生长抑制作用,并采用 TU、AI 和 MTI 这 3 种经典联合毒性评价方法研究 Cd<sup>2+</sup> 与 nTiO<sub>2</sub> 的联合毒性作用模式. 结果如图 2(c) 所示. 在两者毒性比 1:1 共存时,各浓度组合依旧呈现出明显的毒性-剂量效应关系,随着两者浓度的增高,毒

性效应逐渐增强. 在浓度组合为 (Cd<sup>2+</sup> : nTiO<sub>2</sub>, mg·L<sup>-1</sup>) 0.011 : 28.7、0.022 : 57.4 和 0.044 : 114.8 中斜生栅藻的生长受到显著抑制. 通过计算,得出 Cd<sup>2+</sup> + nTiO<sub>2</sub> 不同组合下的 72 h EC<sub>50</sub> 值(表 2),对于 Cd<sup>2+</sup> 和 nTiO<sub>2</sub> 而言,72 h EC<sub>50</sub> 值分别为 0.019 mg·L<sup>-1</sup> 和 49.573 mg·L<sup>-1</sup>,均高于单独暴露时所对应的 EC<sub>50</sub> 值.

进一步对上述结果采用 3 种联合毒性评价方法 (TU、AI 和 MTI) 评价联合毒性效应. 3 种评价方法

均显示当  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{nTiO}_2$  毒性比 1:1 时, 两者对斜生栅藻的联合毒性作用为拮抗效应(表 3).

表 3 毒性比 1:1 时  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{nTiO}_2$  对斜生栅藻的联合毒性评价方法相关参数

Table 3 Parameters for evaluating the combined toxicity of  $\text{Cd}^{2+}$  and  $\text{nTiO}_2$  to *Scenedesmus obliquus*, at a toxicity ratio of 1:1

项目	毒性单位法		相加指数法	混合毒性指数法	联合毒性作用模式
	TU	TU <sub>0</sub>			
参数	3.4	2	-2.4	-0.766	拮抗

## 2.4 转录组分析

为阐明  $\text{nTiO}_2 + \text{Cd}^{2+}$  等效剂量下对斜生栅藻呈拮抗效应的生物响应机制, 本文进一步开展了转录组测序和分析. 转录组测序 3 组样品分别为对照、 $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$ , 净读数分别为 33 854 868、33 017 612 和 38 037 462 Mb, 并且所有样品的 Q20 值均高于 96.96%, 能定位到参考序列上的测序序列数量在 80.2% 以上, 表明测序数据合格(表 4).

表 4 测序数据产出质量情况

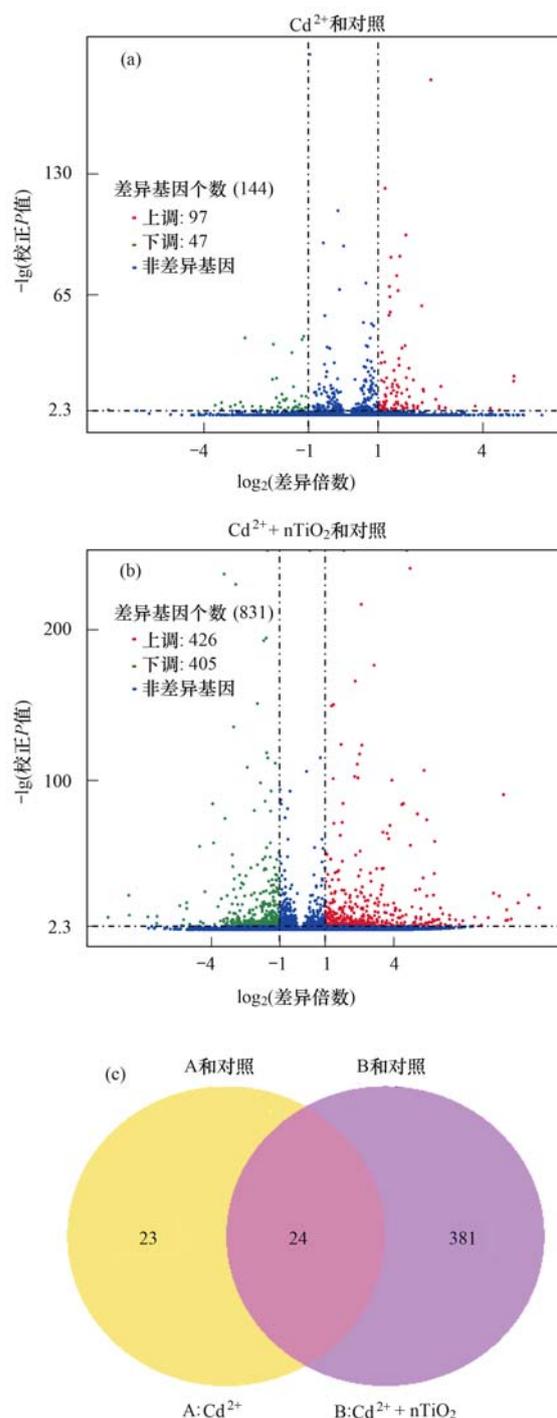
Table 4 Quality of sequencing data output

类别	对照	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$
原始序列长度/Mb	34 524 670	33 633 516	38 756 424
洁净序列长度/Mb	33 854 868	33 017 612	38 037 462
Q20/%	96.96	97.31	97.31
GC 含量/%	59.4	59.16	59.57
总映射量/%	81.85	82.10	80.20

与对照组相比, 在  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$  的暴露组中, 显著表达基因共 428 个. 其中用  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$  分别与对照相比显著上调 12 个和 312 个单基因, 分别显著下调 35 个和 93 个基因 (Fold-change >2 或 <0.5, FDR <0.01, P 值 <0.05, 图 3). 此外, 通过比较  $\text{Cd}^{2+}$  和对照组, 以及  $\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$  和对照组, 发现共同变化基因 24 个[图 3(c)], 这些都可能是涉及拮抗作用的关键基因.

对  $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$  和对照之间的 24 个共同差异基因进行 KEGG 通路富集分析(表 5). 各实验组相较对照组的富集程度如图 4 所示. 可以将其归类为 4 个基本生物学功能: 精氨酸与脯氨酸代谢功能、光合作用功能、吡啶与叶绿素代谢功能和淀粉与蔗糖代谢功能. 精氨酸与脯氨酸的主要作用是参与藻细胞的抗逆作用, 而光合作用、吡啶与叶绿素代谢和淀粉与蔗糖代谢主要涉及藻细胞的能量循环.

藻细胞中的精氨酸主要作为氮素贮藏营养物质, 也是生成多胺(PA)和一氧化氮(NO)的主要前体物质. 而 PA 和 NO 都是生物参与抗逆生理生化过程的主要信使分子<sup>[29,30]</sup>. 脯氨酸是植物蛋白质的重要组成部分之一, 在逆境胁迫下藻细胞体内会大量积累脯氨酸<sup>[31]</sup>. 脯氨酸的抗逆作用主要表现为稳定细胞渗透压、维护生物大分子结构、降低细胞酸性、解除氨毒



(a)  $\text{Cd}^{2+}$  单独暴露组与对照组差异表达基因, (b)  $\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$  联合暴露组与对照组差异表达基因, (c) 差异表达基因数量的维恩图

图 3 差异表达基因的分析

Fig. 3 Analysis of differentially expressed genes

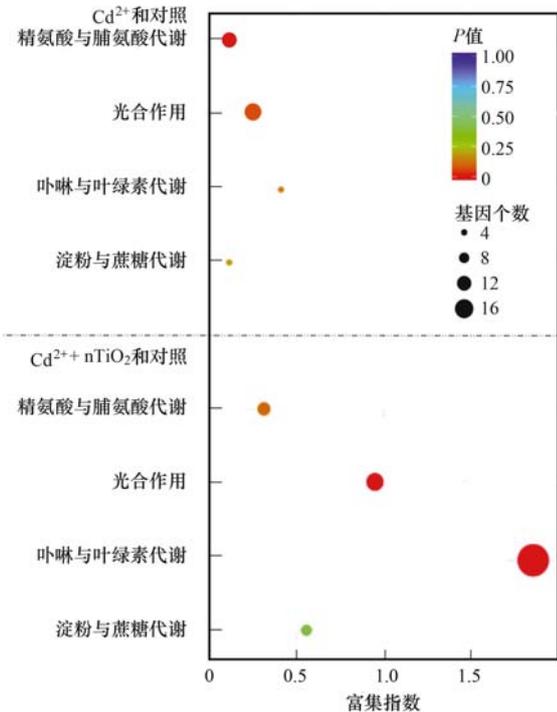


图 4 不同实验组相较于对照组显著富集的 KEGG 通路

Fig. 4 Significantly enriched KEGG pathway in each experimental group compared to the control

以及作为能量库调节细胞氧化还原<sup>[32]</sup>. 因此精氨酸与脯氨酸的代谢通路在斜生栅藻抗逆作用中显得尤为重要, 并且两者的合成与转化有密切的联系. 脯氨酸是由精氨酸通过两种主要途径进行合成, 一条途径是以谷氨酸为底物, 另一条途径是以鸟氨酸为底物. 通常在受到胁迫的情况下, 脯氨酸的主要来源是谷氨酸, 相反在生存环境适宜时转向鸟氨酸途径<sup>[33]</sup>. 本研究发现藻细胞在受到  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫的时候开启了通过谷氨酸为底物合成脯氨酸的通路, 具体表现为 *astA* 作为该途径的关键基因显著上调, 与此同时控制鸟氨酸为底物的合成通路关键基因 *arg* 发生显著下调. 这是藻细胞在受到  $\text{Cd}^{2+}$  胁迫时通过调

节脯氨酸合成途径适应逆境的表现. 当在  $\text{Cd}^{2+}$  与  $\text{nTiO}_2$  共存时再次分析该转化通路发现 *astA* 与 *arg* 表达趋势发生对调, 意味着鸟氨酸成为主要底物. 此时藻细胞生存状态与抗逆能力逐渐恢复正常 (表 5). 这表明有  $\text{nTiO}_2$  参与联合暴露对斜生栅藻的胁迫能力低于  $\text{Cd}^{2+}$  单独暴露, 同时藻细胞自生抗逆能力的调节也发挥了积极的作用.

除了抗逆涉及的精氨酸与脯氨酸代谢通路有显著变化之外, 有  $\text{nTiO}_2$  参与的联合毒性效应比  $\text{Cd}^{2+}$  单独存在时整体毒性效应降低还有一个重要的原因是,  $\text{nTiO}_2$  联合暴露促进了斜生栅藻细胞的能量代谢, 其中主要包括叶绿素代谢、光合作用和淀粉与蔗糖的代谢这 3 个通路. 在涉及光合作用的通路中发现关键基因 *psbA* 在  $\text{Cd}^{2+}$  单独暴露时显著下调, 在联合暴露时显著上调, 该基因是光合系统 II (PSII) 的主要调控基因<sup>[34]</sup>. 这表明  $\text{nTiO}_2$  与  $\text{Cd}^{2+}$  共存时  $\text{nTiO}_2$  有可能促进了 PSII 的活性, 提高了光反应效率. 而光反应的主要成分叶绿素在整个光合作用与能量循环中同样扮演着举足轻重的角色<sup>[34]</sup>. 叶绿素也是 PSII 反应的物质, 主要完成  $\text{NADPH}^+$  的生成、水的光解、电子传递和产生  $\text{O}_2$ , 从而参与藻细胞的能量循环<sup>[35]</sup>. 而在本研究中发现与光反应密切相关的叶绿素代谢通路也呈现出了类似的变化趋势.

光合作用主要的反应步骤包括光吸收、碳同化、光合磷酸化和电子传递. 光反应与叶绿素的变化主要涉及光吸收、电子传递、光合磷酸化, 而碳同化过程作为光合作用最后的反应阶段, 其产物为以淀粉为主的富能有机物<sup>[36]</sup>. 在显著富集的通路中同时发现淀粉与蔗糖的代谢通路中关键基因 *AGL* 在联合暴露时表达量转为显著上调. 这说明在整个藻细胞的能量循环过程中, 从储能物质的合成到代谢整个过程都在联合暴露下受到不同程度的正向刺激.

表 5 显著富集通路及差异表达基因

Table 5 Significantly enriched pathways and differentially expressed genes

KEGG 通路	基因	$\text{Cd}^{2+}$ 与对照			$\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$ 与对照			平均 FPKM		
		$\log_2$ (差异倍数)	P 值	调控	$\log_2$ (差异倍数)	P 值	调控	对照	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+} + \text{nTiO}_2$
精氨酸与脯氨酸代谢	<i>arg</i>	-2.943 4	6.88E-10	下调	7.415 1	3.65E-12	上调	3.54	0.16	28.88
	<i>astA</i>	1.761 1	2.47E-06	上调	-2.834 4	8.16E-5	下调	34.12	104.79	4.32
光合作用	<i>psbA</i>	-1.065 4	3.46E-08	下调	1.227 8	9.75E-11	上调	214.24	113.42	233.76
卟啉与叶绿素代谢	<i>CP</i>	-1.258 5	7.33E-18	下调	0.4722	4.53E-2	上调	41.41	33.73	72.91
	<i>CPOX</i> 和 <i>hemF</i>	-2.603 2	1.59E-07	下调	1.321 8	3.91E-5	上调	5.86	2.46	16.58
淀粉与蔗糖代谢	<i>AGL</i>	-1.004	2.30E-08	下调	1.365 6	2.00E-16	上调	88.1	48.63	110.77

总体观察  $\text{nTiO}_2$  与  $\text{Cd}^{2+}$  的联合毒性低于  $\text{Cd}^{2+}$  单独毒性, 呈现拮抗效应. 其在生物响应层面的主要作用机制在于联合暴露导致藻细胞的能量代谢从光

合作用合成富能化合物到该类化合物的代谢均有不同程度的促进. 与此同时藻细胞通过调整抗逆机制也在一定程度上使其生长状态得以恢复. 通过上述

生物功能相互配合,  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{nTiO}_2$  对斜生栅藻的等效联合作用表现为拮抗模式。

### 3 结论

本文通过研究  $\text{nTiO}_2$  与  $\text{Cd}^{2+}$  对斜生栅藻的联合毒性效应并采用 3 种联合毒性评价方法 (TU、AI 和 MTI) 综合评估, 结果均显示两者在等效剂量下呈现拮抗效应。运用转录组学分析该拮抗效应下的生物响应机制发现,  $\text{nTiO}_2$  和  $\text{Cd}^{2+}$  联合暴露促进了藻细胞的能量代谢, 具体涉及了光合作用、叶啉与叶绿素代谢和淀粉与蔗糖代谢 3 个通路。在藻细胞抗逆方面, 作为调节抗逆能力的主要物质精氨酸与脯氨酸的代谢通路富集较显著。从脯氨酸向精氨酸转化的通路变换也表明联合暴露对藻细胞的胁迫能力有所缓解。考虑到真实环境中以  $\text{nTiO}_2$  为代表的 MNMs 的环境浓度较低, 本研究的结果表明仅单独关注  $\text{nTiO}_2$  毒性或其与现存污染物的高浓度比联合毒性来分析  $\text{nTiO}_2$  的环境风险是不全面的。总体而言, 该研究结果将为现存污染物和 MNMs 的环境和健康风险评估提供新的参考, 并为今后评估真实环境中纳米材料的生态毒性提供基础。

#### 参考文献:

- [1] Shi X M, Li Z X, Chen W, *et al.* Fate of  $\text{TiO}_2$  nanoparticles entering sewage treatment plants and bioaccumulation in fish in the receiving streams[J]. *NanoImpact*, 2016, **3-4**: 96-103.
- [2] Ouyang S H, Hu X G, Zhou Q X, *et al.* Nanocolloids in natural water: isolation, characterization, and toxicity [J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, **52**(8): 4850-4860.
- [3] Lu J, Tian S Y, Lv X H, *et al.*  $\text{TiO}_2$  nanoparticles in the marine environment: impact on the toxicity of phenanthrene and  $\text{Cd}^{2+}$  to marine zooplankton *Artemia salina* [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **615**: 375-380.
- [4] Qian W, Chen C C, Zhou S, *et al.*  $\text{TiO}_2$  nanoparticles in the marine environment: enhancing bioconcentration, while limiting biotransformation of arsenic in the mussel *Perna viridis* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, **54**(19): 12254-12261.
- [5] Lu J, Wang P, Tian S Y, *et al.*  $\text{TiO}_2$  nanoparticles enhanced bioaccumulation and toxic performance of PAHs via trophic transfer[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, **407**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.124834.
- [6] 汪小田, 仇雁翎, 朱志良. 纳米  $\text{TiO}_2$  材料对人类健康的环境风险分析[J]. *化学通报*, 2009, **72**(6): 501-506.  
Wang X T, Qiu Y L, Zhu L Z. Environmental risk analysis of nano- $\text{TiO}_2$  materials to human health[J]. *Chemistry*, 2009, **72**(6): 501-506.
- [7] Ren C X, Hu X G, Zhou Q X. Influence of environmental factors on nanotoxicity and knowledge gaps thereof [J]. *Nanoimpact*, 2016, **2**, doi: 10.1016/j.impact.2016.07.002.
- [8] Wang Y X, Zhu X S, Lao Y M, *et al.*  $\text{TiO}_2$  nanoparticles in the marine environment: Physical effects responsible for the toxicity on algae *Phaeodactylum tricorutum* [J]. *Science of the Total Environment*, 2016, **565**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.03.164.
- [9] Li M L, Chen D Y, Liu Y, *et al.* Exposure of engineered nanoparticles to *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae): healthy impacts of nanoparticles via toxin-producing dinoflagellate [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **610-611**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.170.
- [10] Zhu X S, Zhou J, Cai Z H.  $\text{TiO}_2$  nanoparticles in the marine environment: impact on the toxicity of tributyltin to abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*) embryos [J]. *Environmental Science & Technology*, 2011, **45**(8): 3753-3758.
- [11] Sun H W, Zhang X Z, Niu Q, *et al.* Enhanced accumulation of arsenate in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles [J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2007, **178**(1-4): 245-254.
- [12] Yang W W, Li Y, Miao A J, *et al.*  $\text{Cd}^{2+}$  toxicity as affected by bare  $\text{TiO}_2$  nanoparticles and their bulk counterpart [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2012, **85**, doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.08.024.
- [13] Rosenfeldt R R, Seitz F, Schulz R, *et al.* Heavy metal uptake and toxicity in the presence of titanium dioxide nanoparticles: a factorial approach using *Daphnia magna* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, **48**(12): 6965-6972.
- [14] Fan W H, Cui M M, Liu H, *et al.* Nano- $\text{TiO}_2$  enhances the toxicity of copper in natural water to *Daphnia magna* [J]. *Environmental Pollution*, 2011, **159**(3): 729-734.
- [15] Musee N. Simulated environmental risk estimation of engineered nanomaterials: a case of cosmetics in Johannesburg City [J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2011, **30**(9): 1181-1195.
- [16] Mueller N C, Nowack B. Exposure modeling of engineered nanoparticles in the environment [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, **42**(12): 4447-4453.
- [17] OECD. Guidelines for the testing of chemicals. Method 201, freshwater alga and cyanobacteria, growth inhibition test [M]. Organization for Economic Co-operation and Development, 1984.
- [18] Prakash J, Nirmalakhandan N, Sun B, *et al.* Toxicity of binary mixtures of organic chemicals to microorganisms [J]. *Water Research*, 1996, **30**(6): 1459-1463.
- [19] Bliss C I. The toxicity of poisons applied jointly [J]. *Annals of Applied Biology*, 1939, **26**(3): 585-615.
- [20] Tang Y L, Li S Y, Qiao J L, *et al.* Synergistic effects of nano-sized titanium dioxide and zinc on the photosynthetic capacity and survival of *Anabaena* sp. [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2013, **14**(7): 14395-14407.
- [21] Zhang X Z, Sun H W, Zhang Z Y, *et al.* Enhanced bioaccumulation of cadmium in carp in the presence of titanium dioxide nanoparticles [J]. *Chemosphere*, 2007, **67**(1): 160-166.
- [22] Fang Q, Shi X J, Zhang L P, *et al.* Effect of titanium dioxide nanoparticles on the bioavailability, metabolism, and toxicity of pentachlorophenol in zebrafish larvae [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, **283**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2014.10.039.
- [23] Hartmann N B, Von Der Kammer F, Hofmann T, *et al.* Algal testing of titanium dioxide nanoparticles-testing considerations, inhibitory effects and modification of cadmium bioavailability [J]. *Toxicology*, 2010, **269**(2-3): 190-197.
- [24] Menard A, Drobne D, Jemec A. Ecotoxicity of nanosized  $\text{TiO}_2$ . Review of in vivo data [J]. *Environmental Pollution*, 2011, **159**(3): 677-684.
- [25] Fargašová A, Filová A, Ondřejkovičová I, *et al.* The effect of  $\text{Cd}(\text{II})$  complexes with nicotinamide (NA) on microalgae

- growth, production of chlorophylls, oxygen evolution and Cd adsorption[J]. Chemical Papers, 2018, **72**(9): 2273-2281.
- [26] Aksu Z, Dönmez G. Binary biosorption of cadmium( II ) and nickel( II ) onto dried *Chlorella vulgaris*; Co-ion effect on mono-component isotherm parameters [ J ]. Process Biochemistry, 2006, **41**(4): 860-868.
- [27] Mehta S K, Gaur J P. Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater; progress and prospects[J]. Critical Reviews in Biotechnology, 2005, **25**(3): 113-152.
- [28] Mangal V, Nguyen T Q, Fiering Q, et al. An untargeted metabolomic approach for the putative characterization of metabolites from *Scenedesmus obliquus* in response to cadmium stress[J]. Environmental Pollution, 2020, **266**, doi: 10.1016/j.envpol.2020.115123.
- [29] Hidalgo-Castellanos J, Duque A S, Burgueño A, et al. Overexpression of the arginine decarboxylase gene promotes the symbiotic interaction *Medicago truncatula*-*Sinorhizobium meliloti* and induces the accumulation of proline and spermine in nodules under salt stress conditions [ J ]. Journal of Plant Physiology, 2019, **241**, doi: 10.1016/j.jplph.2019.153034.
- [30] Yan X, Hu S, Yang Y, et al. The twin-arginine translocation system is important for stress resistance and virulence of *Brucella melitensis*[J]. Infection and Immunity, 2020, **88**(11), doi: 10.1128/IAI.00389-20.
- [31] Ashraf M, Foolad M R. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance[J]. Environmental and Experimental Botany, 2007, **59**(2): 206-216.
- [32] Mouhoumed A Z, Mou Y N, Tong S M, et al. Three proline rotamases involved in calcium homeostasis play differential roles in stress tolerance, virulence and calcineurin regulation of *Beauveria bassiana*[J]. Cellular Microbiology, 2020, **22**(10), doi: 10.1111/cmi.13239.
- [33] Paschalidis K, Tsaniklidis G, Wang B Q, et al. The interplay among polyamines and nitrogen in plant stress responses [ J ]. Plants, 2019, **8**(9), doi: 10.3390/plants8090315.
- [34] Šesták Z. Blankenship, R. E. : molecular mechanisms of photosynthesis[J]. Photosynthetica, 2002, **40**(1): 12.
- [35] Wang Y, Wang J C, Zhang H H, et al. A intermediate concentration of atmospheric nitrogen dioxide enhances PSII activity and inhibits PSI activity in expanded leaves of tobacco seedlings [ J ]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, **209**, doi: 10.1016/j.ecoenv.2020.111844.
- [36] Goldschmidt E E, Huber S C. Regulation of photosynthesis by end-product accumulation in leaves of plants storing starch, sucrose, and hexose sugars [ J ]. Plant Physiology, 1992, **99**(4): 1443-1448.



## CONTENTS

Spatiotemporal Distribution and Health Impacts of PM <sub>2.5</sub> and O <sub>3</sub> in Beijing, from 2014 to 2020	CHEN Jing, PENG Jin-long, XU Yan-sen (4071)
High-resolution Estimation of Spatio-temporal Variation in PM <sub>2.5</sub> Concentrations in the Beijing-Tianjin-Hebei Region	YANG Xiao-hui, SONG Chun-jie, FAN Li-hang, <i>et al.</i> (4083)
Impacts of Anthropogenic Emission Reduction and Meteorological Conditions on PM <sub>2.5</sub> Pollution in Typical Cities of Beijing-Tianjin-Hebei in Winter	SHAO Xuan-yi, WANG Xiao-qi, ZHONG Yi-sheng, <i>et al.</i> (4095)
Influence of Pollutant Transport from Both Sides of the Taihang Mountains on Cross-Valley Urban Aerosols	WANG Yan, GUO Wei, YAN Shi-ming, <i>et al.</i> (4104)
Variation Characteristics and Source Analysis of Carbonaceous Aerosols in Winter in Jiashan	ZHANG Ying-long, LI Li, WU Wei-chao, <i>et al.</i> (4116)
Simulation Analysis of the Impact of COVID-19 Pandemic Control on Air Quality in Henan Province based on Machine Learning Algorithm	WEI Yu, XU Qi-xiang, ZHAO Jin-shuai, <i>et al.</i> (4126)
Seasonal Variation, Source Identification, and Health Risk of PM <sub>2.5</sub> -bound Metals in Xinxiang	LIU Huan-jia, JIA Meng-ke, LIU Yong-li, <i>et al.</i> (4140)
Distribution Characteristics and Seasonal Variations of Arsenic in Atmospheric Aerosols over the Yellow Sea and Bohai Sea	YUAN Shuai, WANG Yan, LIU Ru-hai, <i>et al.</i> (4151)
Extinction Characteristics of Aerosols and the Contribution of Pollution Sources to Light Extinction During Three Heavy Pollution Episodes in the Winter of 2020 in Tianjin	LI Li-wei, XIAO Zhi-mei, YANG Ning, <i>et al.</i> (4158)
Spatial Variation of Surface Ozone Concentration During the Warm Season and Its Meteorological Driving Factors in China	HE Chao, MU Hang, YANG Lu, <i>et al.</i> (4168)
Exploring Characteristics and Causes of Summer Ozone Pollution Based on Process Analysis in Wuhai	ZHANG Rui-xin, CHEN Qiang, XIA Jia-qi, <i>et al.</i> (4180)
Pollution Characteristics and Source Analysis of Atmospheric VOCs in the Coastal Background of the Pearl River Delta	YUN Long, LI Cheng-liu, ZHANG Ming-di, <i>et al.</i> (4191)
Hydrochemical Characteristics and Factors of Surface Water and Groundwater in the Upper Yongding River Basin	KONG Xiao-le, YANG Yong-hui, CAO Bo, <i>et al.</i> (4202)
Temporal and Spatial Variations in Water Quality of Hanjiang River and Its Influencing Factors in Recent Years	CHENG Bing-fen, ZHANG Yuan, XIA Rui, <i>et al.</i> (4211)
Pollution Level, Distribution Characteristic, and Ecological Risk Assessment of Environmentally Persistent Pharmaceutical Pollutants in Surface Water of Jiangsu Province	ZHAO Mei-mei, FAN De-ling, GU Wen, <i>et al.</i> (4222)
Spatial and Temporal Distribution and Pollution Evaluation of Soluble Heavy Metals in Liujiang River Basin	ZHANG Wan-jun, XIN Cun-lin, YU Shi, <i>et al.</i> (4234)
Source Analysis and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Groundwater of Leizhou Peninsula	SHI Huan-huan, PAN Yu-jie, ZENG Min, <i>et al.</i> (4246)
Distribution Characteristics and Health Risk Assessment of Metal Elements in Groundwater of Longzici Spring Area	XIE Hao, LIANG Yong-ping, LI Jun, <i>et al.</i> (4257)
Seasonal Variation and Sources Identification of Dissolved Sulfate in a Typical Karst Subterranean Stream Basin Using Sulfur and Oxygen Isotopes	REN Kun, PAN Xiao-dong, LAN Gan-jiang, <i>et al.</i> (4267)
Phosphorus Fractions and Quantitative Identification of Pollution Sources in Nanhai Wetland, Baotou	BAI Ya-hong, QIAN Chen-ge, YUAN Si-jing, <i>et al.</i> (4275)
Release Risk of Phosphorus by Sediments and Its Influencing Factors in Ponds and Ditches of a New Urban District Park	LI Ru-zhong, SONG Min, YANG Ji-wei (4287)
Effect of Hydraulic Residence Time on Removal Efficiency of Pollutants in Subsurface Flow Constructed Wetlands and Analysis of Denitrification Mechanism	QI Ran, ZHANG Ling, YANG Fan, <i>et al.</i> (4296)
Enhanced Removal of Pollutants in Constructed Wetlands with Manganese Sands	MA Quan, WANG Dong-lin, LIN Hui, <i>et al.</i> (4304)
Application Effect of Four Typical Submerged Macrophytes on Removing Cadmium from Polluted Sediment	TAO Li, WANG Pei-fang, YUAN Qiu-sheng, <i>et al.</i> (4311)
Structure of Aerobic Denitrification Bacterial Community in Response to Dissolved Organic Matter in Baiyangdian Lake During the Water Delivery Period	ZHOU Shi-lei, ZHANG Tian-na, CHEN Zhao-ying, <i>et al.</i> (4319)
Nitrogen and Phosphorus Leaching Characteristics and Adsorption Properties of Hardwood Biochar in Stormwater Runoff	MENG Yi-ke, WANG Yuan, WANG Chuan-yue (4332)
Indicator Function of Ragworm ( <i>Nereididae</i> ) on Sediment Microplastic in Haizhou Bay Intertidal Zone	WANG Jia-xuan, SONG Ke-xin, SUN Yi-xin, <i>et al.</i> (4341)
Antagonistic Effect and Mechanism of Nano Titanium Dioxide and Cadmium on the Growth of <i>Scenedesmus obliquus</i>	WANG Pu, ZHAO Li-hong, ZHU Xiao-shan (4350)
Mutual Influence Between Microbial Community, Wastewater Characteristics, and Antibiotic Resistance Genes During Spiramycin Production Wastewater Treatment	WU Cai-yun, LI Hui-li, QIN Cai-xia, <i>et al.</i> (4358)
Effect of Chelated Iron on Nitrogen Removal Efficiency and Microbial Community Structure in the Anaerobic Ferric Ammonium Oxidation	LIAO Hong-yan, SONG Cheng, WAN Liu-yang, <i>et al.</i> (4366)
Effects of Dissolved Oxygen on Nutrient Removal Performance and Microbial Community in Low Carbon/Nitrogen Municipal Wastewater Treatment Process	CHI Yu-lei, SHI Xuan, REN Tong, <i>et al.</i> (4374)
Shortening SRT of Intermittent Gradient Aeration to Realize Nitrogen and Phosphorus Removal in Short-range SNEDPR System	ZHANG Yu-jun, LI Dong, WANG Xin-xin, <i>et al.</i> (4383)
Characteristics of Partial Denitrification in Biofilm System	YU Li-fang, ZHANG Xing-xiu, ZHANG Qiong, <i>et al.</i> (4390)
Effect of Anaerobic Plug-flow on Nitrification Denitrifying Phosphorus Removal Aerobic Granular Sludge with Intermittent Aeration	LI Dong, CAO Si-yu, WANG Qi, <i>et al.</i> (4399)
Combining Different Aerobic/Anoxic Durations with Zoned Sludge Discharge to Optimize Short-cut Nitrification Denitrifying Phosphorus Removal Granules in Domestic Sewage	WANG Wen-qi, LI Dong, GAO Xin, <i>et al.</i> (4406)
Meta-analysis of the Effects of Metal Mining on Soil Heavy Metal Concentrations in Southwest China	ZHANG Jian-lin, QU Ming-kai, CHEN Jian, <i>et al.</i> (4414)
Distribution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Soil Heavy Metals in Typical Watersheds of the Qinghai-Tibet Plateau	DU Hao-lin, WANG Ying, WANG Jin-song, <i>et al.</i> (4422)
Spatial Distribution Characteristics and Risk Assessment of Cadmium Pollution in Soil-crops system of an E-waste Dismantling Area	ZHANG Lu-yao, ZHAO Ke-li, FU Wei-jun (4432)
Characteristics of Modified Biochars and Their Immobilization Effect on Cu and Cd in Polluted Farmland Soil Around Smelter	WANG Xin-yu, MENG Hai-bo, SHEN Yu-jun, <i>et al.</i> (4441)
Combined Effects of Soil Amendment and Zinc Fertilizer on Accumulation and Transportation of Cadmium in Soil-Rice System	ZHOU Kun-hua, ZHOU Hang, WANG Zi-yu, <i>et al.</i> (4452)
Effects of Different Soil Conditioners on Rice Growth and Heavy Metal Uptake in Soil Contaminated with Copper and Cadmium	WEI Wei, LI Ping, LANG Man (4462)
Isolation and Identification of the Plant Endophyte R-13 and Its Effect on Cadmium Accumulation in <i>Solanum nigrum</i> L.	PANG Jie, LIU Yue-min, HUANG Yong-chun, <i>et al.</i> (4471)
Response of Soil Archaeal Community to Heavy Metal Pollution in Different Typical Regions	LI Yu-tong, YANG Shan, ZHANG Yi, <i>et al.</i> (4481)
High-throughput Sequencing Analysis of Soil Bacterial Community in the Grain for Green Project Areas of the Loess Plateau	LIU Xiao-hua, WEI Tian-xing (4489)
Experimental Influence of Food Waste Fermentation Broth on the Soil Quality in a Loess Hilly Area	SHAO Li-ming, REN Jun-da, LÜ Fan, <i>et al.</i> (4500)
Stability of Soil Aggregates at Different Altitudes in Qinling Mountains and Its Coupling Relationship with Soil Enzyme Activities	MA Huan-fei, HU Han, LI Yi, <i>et al.</i> (4510)
Reactivation of Passivated Biochar/Nanoscale Zero-Valent Iron by an Electroactive Microorganism for Cooperative Hexavalent Chromium Removal and Mechanisms	LIAO Cong-jian, ZHAO Xiao-lei, LIU Kai, <i>et al.</i> (4520)
Influence of Precipitation Change on Soil Respiration in Desert Grassland	HAO Lian-yi, ZHANG Li-hua, XIE Zhong-kui, <i>et al.</i> (4527)
Effects of Nitrogen Fertilizer Application Times and Nitrification Inhibitor on N <sub>2</sub> O Emission from Potted Maize	FU Pei-jiao, JI Heng-kuan, HE Qiu-xiang, <i>et al.</i> (4538)
Gaseous Nitrogen Emission from Soil After Application of NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N Loaded Biochar	MA Xiao-gang, HE Jian-qiao, CHEN Yu-lan, <i>et al.</i> (4548)
Effects of Microplastics Addition on Soil Organic Carbon Mineralization in Citrus Orchard	ZHANG Xiu-ling, YAN Zi-wei, WANG Feng, <i>et al.</i> (4558)
Dynamic Material Flow Analysis of Perfluorooctane Sulfonate in China, 1985-2019	WANG Jia-yu, CHEN Jing-wen, TANG Wei-hao, <i>et al.</i> (4566)