

马平佳,蔡康丽,王鑫伟,等. 纤丝裸藻对原始和铜掺杂碳点的生理代谢响应 [J]. 中国环境科学, 2025,45(5):2913-2925.

Ma P J, Cai K L, Wang X W, et al. Physiological and metabolic responses of *Euglena gracilis* to pristine and copper-doped carbon dots [J]. China Environmental Science, 2025,45(5):2913-2925.

## 纤丝裸藻对原始和铜掺杂碳点的生理代谢响应

马平佳,蔡康丽,王鑫伟,李梅\* (南京大学环境学院,水污染控制与资源绿色循环全国重点实验室,江苏 南京 210023)

**摘要:** 为明确新型纳米材料碳点的潜在生态风险,探讨了淡水微藻纤丝裸藻(*Euglena gracilis*)在原始碳点(CDs)及 Cu-N 掺杂碳点(Cu-CDs)暴露下的生理响应及其作用机制.结果表明:碳点对纤丝裸藻生长的影响呈现“先促进后抑制”的模式,与 CDs 相比,Cu-CDs 对微藻的光合作用和抗氧化系统影响更为显著.1mg/L 和 10mg/L 的 Cu-CDs 处理均导致微藻光合色素积累及光反应系统 II 活力下降,而在 CDs 暴露下,仅 10mg/L 组的光合色素含量出现显著变化.此外,CDs 和 Cu-CDs 对超氧化物歧化酶活性的最大抑制率分别达到 62.52%和 78.35%.代谢组学分析进一步证实,Cu-CDs 诱导了更强的代谢响应,其中脂质代谢通路差异最为显著,表明细胞膜稳定性受到破坏.氨基酸代谢及光合作用代谢通路的紊乱可能与氧化应激密切相关.CDs 和 Cu-CDs 主要通过丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢途径,以及糖酵解/糖异生途径影响纤丝裸藻的能量代谢.因此,光合系统及抗氧化系统的损伤可能是碳点毒性作用的主要机制.

**关键词:** 碳点; 纤丝裸藻; 生理响应; 毒性机制

中图分类号: X52 文献标识码: A 文章编号: 1000-6923(2025)05-2913-13

**Physiological and metabolic responses of *Euglena gracilis* to pristine and copper-doped carbon dots.** MA Ping-jia, CAI Kang-li, WANG Xin-wei, LI Mei\* (State Key Laboratory of Water Pollution Control and Green Resource Recycling, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210023, China). *China Environmental Science*, 2025,45(5): 2913~2925

**Abstract:** To elucidate the potential ecological risks of carbon dots, a novel nanomaterial, this study investigated the physiological responses and underlying mechanisms of the freshwater microalgae *Euglena gracilis* following exposure to pristine carbon dots (CDs) and Cu-N-doped carbon dots (Cu-CDs). The results demonstrated that both types of carbon dots initially promoted but subsequently inhibited the growth of *E. gracilis* over time. Compared to CDs, Cu-CDs exerted a more pronounced impact on key physiological processes, including photosynthesis and antioxidant defense. Exposure to 1mg/L and 10mg/L Cu-CDs resulted in the accumulation of photosynthetic pigments and a decline in photosystem II activity, whereas a significant change in photosynthetic pigment content was observed only at 10mg/L in the CDs-exposed group. The maximum inhibition rates of superoxide dismutase activity induced by CDs and Cu-CDs were 62.52% and 78.35%, respectively. Metabolomics analysis further confirmed that Cu-CDs triggered a stronger metabolic disturbances, with the most notable alterations observed in lipid metabolism pathways, indicating compromised membrane stability of *E. gracilis*. Disruptions in amino acid and photosynthetic metabolism pathways were primarily attributed to oxidative stress. Additionally, both CDs and Cu-CDs affected energy metabolism by altering in alanine, aspartate, and glutamate metabolism, as well as glycolysis/gluconeogenesis pathways. Overall, the impairment of photosynthetic and antioxidant system may represent the primary toxic mechanisms of carbon dots in *E. gracilis*.

**Key words:** carbon dots; *Euglena gracilis*; physiological response; toxic mechanism

目前,关于碳点的研究主要集中在制备和应用领域,而碳点对水生生态系统潜在风险的研究较为有限<sup>[1]</sup>.选取水环境中的典型生物,并通过反映生物关键功能的生理生化指标评估其毒性效应,可为污染物的潜在环境风险评估提供科学依据<sup>[2]</sup>.藻类作为淡水生态系统中的初级生产者,是食物链的重要基础,对生态系统稳定性起着关键作用.此外,由于藻类对外源污染物具有高敏感性,已被广泛用于水污染风险评估<sup>[3]</sup>.研究表明,CDs 可对藻类产生毒性效应.光合系统损伤和氧化应激是碳点对蛋白核小球

藻(*Chlorella pyrenoidosa*)的重要致毒机制<sup>[4]</sup>.同时,碳点对藻类的影响与其种类密切相关<sup>[5]</sup>.因此,进一步探讨不同类型碳点对藻类的毒性十分必要.然而,碳点对微藻的毒性作用机制仍不明确,深入解析其毒性机制对于识别潜在环境风险至关重要.纤丝裸藻(*Euglena gracilis*)是一种浮游单细胞原生物,不同

收稿日期: 2024-09-10

基金项目: 江苏省科技支撑项目(BZ2022006);国家自然科学基金资助项目(41773115,22176094)

\* 责任作者,教授,meili@nju.edu.cn

于多数藻类,其具有主动运动能力,可与微小颗粒相互作用<sup>[6]</sup>,更易被高营养级生物摄食,进而通过食物链影响生态系统<sup>[7]</sup>.此外,纤细裸藻具有生长快速、繁殖周期短的优点<sup>[8]</sup>,常被用于淡水微藻模型,以评估污染物的毒性效应<sup>[9]</sup>.由于其缺乏细胞壁,对环境污染物的胁迫更为敏感,因此是研究纳米材料毒性机制的理想生物模型.

代谢组学作为一种先进的分析技术,已广泛应用于污染物生物毒性效应研究.相比于藻类生长等传统毒性指标,代谢物对污染物的响应更为灵敏,可以作为新的生物标志物,为污染物的潜在环境损伤提供早期预警信号,并预测暴露的剂量-效应关系.这种方法有助于更精准地量化暴露风险,为环境风险管理和政策制定提供更科学的依据<sup>[10]</sup>.

基于以上背景,本研究以纤细裸藻为受试生物,选择原始碳点(CDs)及典型重金属掺杂碳点(Cu-CDs)为研究对象,探讨并比较 CDs 和 Cu-CDs 对纤细裸藻的生理响应差异,并基于代谢组学分析其潜在毒性机制,以期对碳点的生态风险评估提供科学支撑.

## 1 材料与方法

### 1.1 碳点制备和表征

参照 Cai 等<sup>[11]</sup>的方法,采用一步热解法合成 CDs 和 Cu-CDs.将 Na<sub>2</sub>[H<sub>2</sub>(EDTA)]置于管式炉中,通入 N<sub>2</sub> 气流,以 5°C/min 的速率升温至 250°C,并焙烧 2h,裂解后加入无水甲醇提取 CDs,超声搅拌 15min 后以 10000r/min 离心 20min,取上清液,重复一次合并上清液,经 0.22μm 滤膜过滤后,在 60°C 下干燥获得到纯 CDs 粉末.以 Na<sub>2</sub>[Cu(EDTA)]·2H<sub>2</sub>O 为前驱体,在 250°C 下采用相同方法制备 Cu-CDs.两种碳点的平均直径约为 2.3nm,Cu-CDs 中铜含量为 2.1%<sup>[12]</sup>.

碳点的表面电位和溶解体系稳定性采用 Zeta 粒度电位仪(ZEN3700, Malvern Instruments)进行表征.将 CDs 和 Cu-CDs 溶解于纤细裸藻培养基中,超声分散均匀后,通过动态光散射(DLS)分析仪测定两种碳点在 0h 和 96h 的流体动力学直径.为验证 Cu-CDs 上是否成功掺杂 Cu 元素,采用 X 射线光电子能谱(XPS)进行碳点元素组成表征.

### 1.2 纤细裸藻培养和暴露

纤细裸藻购自中国科学院淡水藻种库

(FACHB-848),培养基参照 Checcucci 等<sup>[13]</sup>的方法配制.实验使用处于对数生长期的藻细胞.3000r/min 离心 10min 后,去除原培养液,重新悬浮于新鲜培养基中,并转移至 150mL 无菌锥形瓶中,初始细胞浓度为 10<sup>5</sup>cells/mL,随后加入超声均匀分散的 CDs 和 Cu-CDs 溶液进行共培养.

参考细胞毒性实验的暴露浓度范围(0.019~300mg 碳/L)<sup>[14]</sup>,并考虑到 10mg/L 以上的浓度远超自然水体中的环境浓度,而较低浓度范围的碳点毒性研究较少.因此,本研究设定 CDs 和 Cu-CDs 的暴露浓度梯度为 0(对照),0.01,0.1,1 和 10mg/L,每组设 3 个平行.培养温度维持在 (25±1)°C,光照强度为 3000lux,光暗周期 12h:12h.并每日定时摇动 3 次,以防止藻细胞聚集或贴壁.

### 1.3 生理响应参数测定

在暴露后第 0,24,48,72 和 96h,从各锥形瓶取 200μL 藻液至 96 孔板,测定 680nm 处的吸光度,并依据藻密度与吸光度的线性关系计算细胞密度,绘制微藻 96h 生长曲线.藻生长抑制率(IR)计算公式如下:

$$IR(\%) = \left(1 - \frac{N_{96} - N_0}{N_{C(96)} - N_{C(0)}}\right) \times 100 \quad (1)$$

式中:IR 为抑制率(%),N<sub>96</sub> 和 N<sub>0</sub> 分别为 96h 和 0h 时处理组的藻密度,N<sub>C(96)</sub>和 N<sub>C(0)</sub>分别为对照组在 96h 和 0h 时的藻密度.

藻细胞的超微结构采用透射电子显微镜(TEM, H-7650,HITACHI)观察.取 3000r/min 离心 10min 后得藻细胞,加入 1mL 的 2.5%戊二醛常温固定 2h,4°C 保存.实验前,样品依次经 30%、50%、70%、85%、95%和 100%乙醇梯度脱水,包埋、切片、染色后进行 TEM 观察.

光合色素含量采用丙酮提取法测定.藻液经 3000r/min 离心 15min 后弃去上清,加入 1mL 的 80% (V/V) 丙酮充分混匀,室温下避光提取 24h 后,3000r/min 离心 15min,取上清液于 96 孔板,用酶标仪测定 470,646 和 663nm 处的吸光度,以 80%丙酮调零,并根据以下公式计算叶绿素 a(Chl<sub>a</sub>)、叶绿素 b(Chl<sub>b</sub>) 和类胡萝卜素(CAR)含量:

$$Chl_a = 12.21D_{663} - 2.81D_{646} \text{ (mg/L)} \quad (2)$$

$$Chl_b = 20.13D_{646} - 5.03D_{663} \text{ (mg/L)} \quad (3)$$

$$CAR = \frac{1000D_{470} - 3.27Chl_a - 104Chl_b}{229} \text{ (mg/L)} \quad (4)$$

初始荧光( $F_0$ )、最大荧光产量( $F_m$ )、最大光化学量子产量( $F_v/F_m$ )采用 WATER-PAM 叶绿素荧光仪测定,测定前用避光暗适应 10~15min, $F_v/F_0$  计算如下公式如下:

$$F_v/F_0 = (F_m - F_0)/F_0 \quad (5)$$

氧化损伤指标包括活性氧(ROS)和超氧化物歧化酶(SOD)水平.取 9mL 藻液,3500r/min 离心 15min 收集藻细胞后以 1mL 预冷 PBS 悬浮,冰浴超声破碎 5min(50Hz,5s 工作,3s 间隔),5000r/min 离心 15min,取上清液测定总蛋白(TP),ROS 和 SOD 含量,试剂盒购自南京建成生物工程研究所.

#### 1.4 代谢组学分析

收集 50mL 藻液( $>10^7$  个细胞),预冷 PBS 清洗 3 次.按相同细胞数分装样本,彻底弃去上清液,液氮速冻 5min 后,-80℃ 保存.上机分析前,以 0.02mg/mL 的 L-2-氯苯丙氨酸作为内标.向样本中加入 400 $\mu$ L 甲醇-水提取液( $V/V=4:1$ )充分混匀后,采用冷冻组织研磨仪研磨,低温超声 30min 提取代谢产物,离心取上清液上机测定.

非靶向代谢组学分析由上海美吉生物医药科技有限公司完成.采用超高效液相色谱串联飞行时间质谱 UHPLC-Q Exactive 系统进行检测.分离代谢物采用 HSS T3 色谱柱(100mm $\times$ 2.1mm,1.8 $\mu$ m),流动相 A 为 5%乙腈-水(含 0.1%甲酸),流动相 B 为 47.5%乙腈+47.5%异丙醇+5%水(含 0.1%甲酸),进样体积

设定为 2 $\mu$ L,柱温控制在 40℃,质谱信号采集采用正负离子扫描模式.为保证数据的稳定性,每个样本取 20 $\mu$ L 上清液混合制备质控(QC)样本,并在每 8 个分析样本间插入一个 QC 样本进行质量控制.

原始数据采用代谢组学处理软件 Progenesis QI(Waters Corporation,USA)进行基线校正和重叠峰识别,并去除每组缺失值 $>50\%$ 的变量.随后,对缺失值模拟填充,并采用总和归一化法进行数据归一化,同时剔除 QC 样本相对标准偏差(RSD) $>30\%$ 的变量.最后,对数字化处理数据,并在美吉生物云平台(<https://cloud.majorbio.com>)进行进一步分析.

#### 1.5 统计分析

所有数据均采用 Excel 2021 和 SPSS 26.0 软件进行统计分析,图表绘制使用 Origin 2025 和 Adobe illustrator 2022 软件.组间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA), $P<0.05$  表示具有显著性差异.

代谢组学数据的多元统计分析通过 Majorbio I-Sanger Cloud 平台([www.i-sanger.com](http://www.i-sanger.com))完成,并利用 KEGG(<https://www.genome.jp/kegg/>)数据库对特征代谢物进行代谢通路比对,以解析其可能的生理功能和代谢机制.

## 2 结果与讨论

### 2.1 碳点表征结果

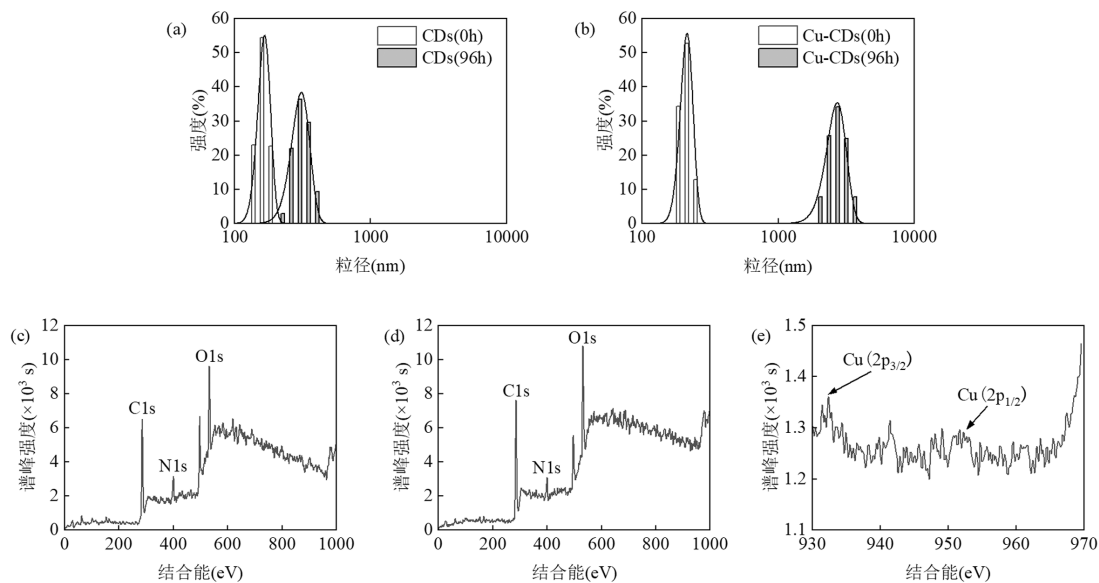


图 1 CDs 和 Cu-CDs 的 DLS 和 XPS 表征

Fig.1 DLS and XPS characterization of CDs and Cu-CDs

(a) CDs 在培养基中的水动力学直径变化;(b) Cu-CDs 在培养基中的水动力学直径变化;(c) CDs 的 XPS 全谱图;(d) Cu-CDs 的 XPS 全谱图;(e) Cu-CDs 的 XPS 铜元素特征峰

CDs 和 Cu-CDs 的 Zeta 电位分别为-21.1 和 -30.2mV,该结果与 DLS 测定结果一致,均表明碳点在培养液中存在一定的聚集趋势(图 1).在纤细裸藻培养液中,CDs 和 Cu-CDs 的平均水动力学粒径均有所增加,初始平均粒径分别为 188.5 和 244.7nm.经过 96h 处理后,CDs 和 Cu-CDs 的平均粒径分别增至 195.27 和 2877.67nm,表明随着时间的推移,Cu-CDs 在水中聚集的程度远高于 CDs.

XPS 分析结果表明,CDs 和 Cu-CDs 主要由碳(C)、氮(N)和氧(O)元素组成.其中,CDs 的 C、N 和 O 比例分别为 48.47%、10.78%和 40.75%,而 Cu-CDs 中相应元素的比例分别为 50.54%、6.82%和 42.64%.此外,Cu-CDs 的 XPS 光谱中出现铜的特征峰,表明铜原子已成功负载到碳点上.

## 2.2 不同碳点对纤细裸藻生长和超微结构的影响

藻细胞密度可反映不同浓度 CDs 和 Cu-CDs 胁迫下微藻的生长情况.结果表示,在 96h 内,低浓度(0.01,0.1 和 1mg/L)的 CDs 对纤细裸藻细胞密度无显著影响( $P>0.05$ ),仅当 CDs 浓度达到 10mg/L 时,在 72~96h 培养阶段,纤细裸藻生物量出现下降,96h 时的生长抑制率为 10.30%( $P=0.4434$ )(图 2(a)),表明高浓度 CDs 可能对纤细裸藻的生长具有一定的抑制作用.

在 Cu-CDs 胁迫下,与对照组相比,培养前 48h 藻细胞密度无显著变化.72h 时,处理组生物量显著高于对照组,0.01,0.1,1 和 10mg/L 的 Cu-CDs 分别使微藻生物量显著提高了 19.24%( $P=0.002$ )、17.89%( $P=0.0041$ )、16.35%( $P=0.0074$ )和 13.10%( $P=0.0271$ ),Cu-CDs 浓度越低生长促进效应越显著.然而,在 72~96h 阶段,藻细胞密度开始回落,呈现“先促进后抑制”的生长趋势(图 2(b)).这一结果表明,Cu-N 掺杂改变了 CDs 对微藻生长的影响模式,使其在低浓度短时间胁迫下具有促进作用,而在长时间胁迫后可能产生抑制效应.上述结果表明,随着浓度的升高,Cu-CDs 比 CDs 更容易诱导纤细裸藻生长的变化.Zhang 等<sup>[15]</sup>的研究也表明,低浓度 CDs 处理可提高小球藻的细胞生物量和生长速率,可能时由于 CDs 能为微藻提供额外的营养成分.然而,当 CDs 浓度升高至 10mg/L 时,小球藻的生长受到抑制.研究还表明,碳点可通过上调细胞生长相关基因的表达来加速细胞生长<sup>[16]</sup>.但在高浓度碳点的持续暴露下,CDs 和 Cu-CDs 可能在细胞中不断积累,超出纤细裸藻的自我调节能力,从而导致生长受抑制.此外,碳点可能在环境中发生转化,生成具有毒性的代谢产物,进一步加剧对微藻的毒性效应<sup>[17-18]</sup>.

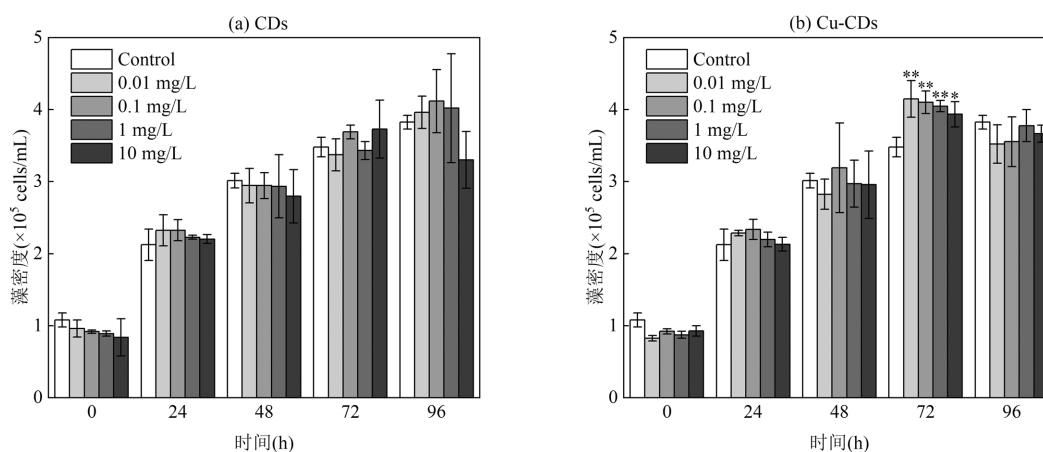


图 2 CDs 和 Cu-CDs 对纤细裸藻生长的影响

Fig.2 Effect of CDs and Cu-CDs on the growth of *E. gracilis*

\*\*和\*\*\*分别表示  $P<0.05$  和  $P<0.01$  的显著性水平

此外,在 1mg/L 及以下浓度时,两种碳点对纤细裸藻生长的影响方式存在明显差异.CDs 处理未引起藻细胞生长的显著变化,而 Cu-CDs 暴露则导致生物量增加.因此,选择 1mg/L 作为研究浓度,

以进一步比较 CDs 和 Cu-CDs 对纤细裸藻超微结构的影响.

TEM 观察结果表明,相较于对照组,CDs 和 Cu-CDs 处理组的藻细胞膜结构较为松散,色素体发

生膨胀,片层结构变得松散,并且色素体周围的副淀粉颗粒显著增多(图 3)。色素体是光合作用的关键细胞器,其内部含有直接参与光合反应的色素和蛋白,如叶绿素、类胡萝卜素、质体醌、质体蓝素、铁氧化还原蛋白等。因此,色素体的膨胀及片层结构的松散变化可能表明 CDs 和 Cu-CDs 对光合系统产生了影响<sup>[19]</sup>。进一步分析发现,Cu-CDs 处理组的色素体膨胀程度比 CDs 处理组更严重,并且细胞内部出现明显的空泡化现象。空泡化程度的加剧可能反映了藻细胞对环境胁迫的响应机制,即通过增加液泡体积,以缓冲外界刺激对细胞结构和代谢途径的不利影响,同时吸收由其他细胞器胁迫反应所释放的物质<sup>[20]</sup>。Zhang 等<sup>[21]</sup>的 SEM 研究同样发现,CDs 处理后的小球藻细胞胚层受损。此外,PI 荧光探针检测为进一步证实细胞膜损伤,可能归因于 CDs 诱导的过量 ROS 生成。这一现象与本研究中观察到的细胞膜超微结构变化趋势一致。

### 2.3 不同碳点对纤细裸藻光合系统的影响

光合色素含量是评价微藻光合系统受污染物影响的重要指标。Chl<sub>a</sub>、Chl<sub>b</sub> 和 CAR 含量测定结果表明,与对照组相比,CDs 处理仅在 10mg/L 组显著提高了藻细胞中的光合色素浓度;而 Cu-CDs 处理则在 1mg/L 和 10mg/L 组均显著提高光合色素含量(图 4(a)和 4(b))。这一结果表明,相较于 CDs,Cu-CDs 对纤细裸藻光合色素含量的影响更为显著。光合作用于微藻的生理活动提供能量,并通过碳固定为代谢和细胞周期过程提供碳骨架。研究表明,叶绿素含量的增加可能是藻细胞应对环境胁迫的一种适应性机制,可通过中和胞内积累的 ROS 保护细胞<sup>[22]</sup>。此外,类胡萝卜素作为重要的抗氧化色素,能够清除自由基,从而减轻氧化胁迫<sup>[23]</sup>。本研究结果提示,纤细裸藻可能通过增加光合色素积累来缓解 ROS 诱导的氧化应激,从而抵御高浓度 CDs 和 Cu-CDs 胁迫,维持光合系统的稳定性。

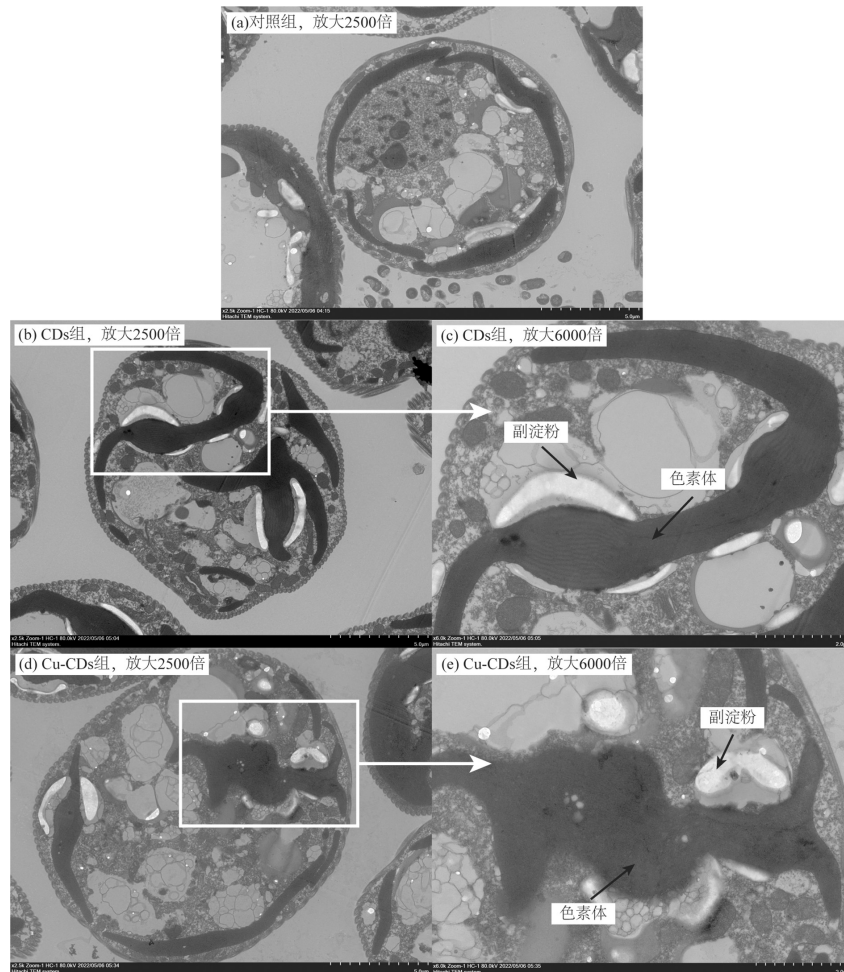


图 3 碳点对纤细裸藻超微结构的影响  
Fig.3 Effect of carbon dots on the ultra-structure of *E. gracilis*

光合效率参数  $F_v/F_m$  反映光合系统 II (PS II) 的最大光能转换效率,而  $F_v/F_0$  反映了 PS II 的潜在活性<sup>[24]</sup>.实验结果表明,CDs 处理未对纤细裸藻光合系统的 PS II 潜在活性产生显著抑制作用.然而,与对照组相比,Cu-CDs 处理在 1mg/L 浓度下显著降低了  $F_v/F_m$  (降低 1.93%,  $P < 0.05$ ) 和  $F_v/F_0$  (降低 4.16%,  $P < 0.05$ );在 10mg/L 浓度下,  $F_v/F_m$  和  $F_v/F_0$  分别下降了 2.96% ( $P < 0.01$ ) 和 6.46% ( $P < 0.01$ ) (图 4(c) 和 4(d)).上述结果表明,Cu-CDs 处理对纤细裸藻 PSII 的最大光能

转换效率和潜在活性产生了浓度依赖性的抑制作用,并且随着 Cu-CDs 浓度升高,抑制效应更显著.

PS II 是光合系统中最易受到损伤的部分,其功能受损会直接影响光合作用的效率.叶绿素荧光参数可用于指示污染物胁迫下光合系统的能量交换和电子转移状态<sup>[25]</sup>.本研究发现,高浓度 Cu-CDs 处理下,叶绿素荧光参数显著降低,表明纤细裸藻的光合电子传递受到阻碍,PS II 反应中心活性下降,最终导致光合系统整体活性受抑制.

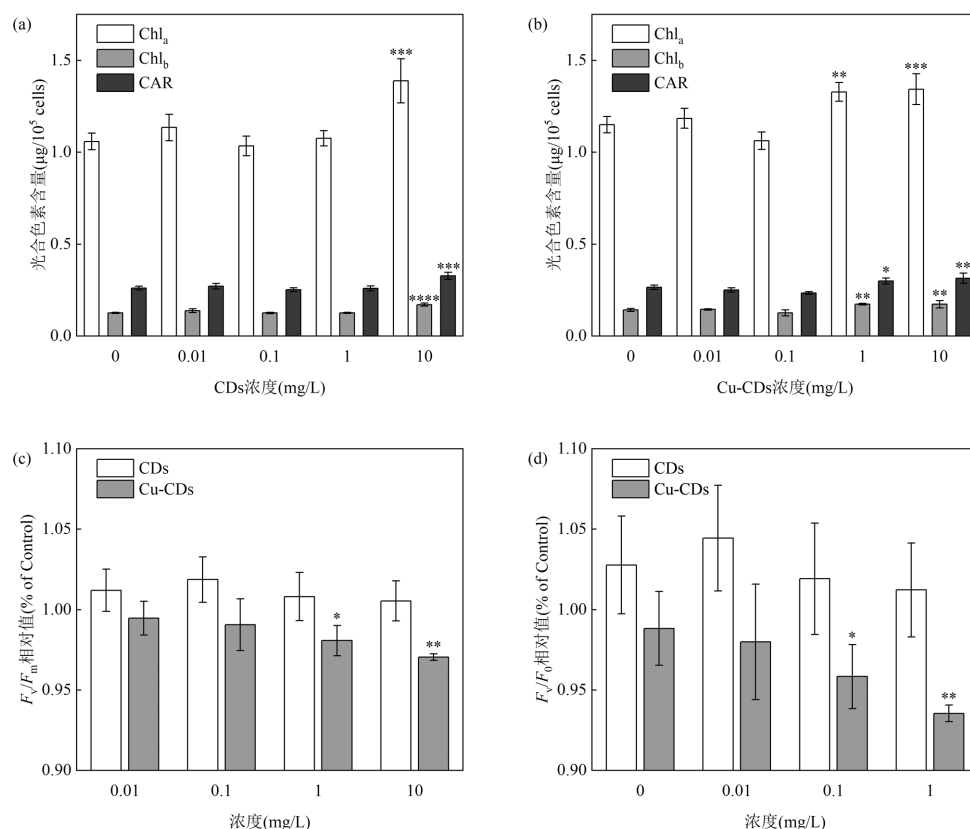


图 4 不同浓度 CDs 和 Cu-CDs 对纤细裸藻光合系统的影响

Fig.4 Effect of different concentrations of CDs and Cu-CDs on the photosynthetic system of *E. gracilis*

“\*”、“\*\*”、“\*\*\*”和“\*\*\*\*”分别表示  $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.001$  和  $P < 0.0001$  的显著性水平

Zhang 等<sup>[15]</sup>研究表明,低浓度 CDs 光降解产生的 CO<sub>2</sub> 可被叶绿素固定,从而促进光合色素的积累,提高小球藻的生长速率.然而,高浓度 CDs 可能对生长产生抑制作用.类似的,Yan 等<sup>[26]</sup>发现,高浓度碳点或金属掺杂碳点会对微藻产生负面影响,而低浓度碳点在暴露前 48h 可导致铜绿微囊藻 Chl<sub>a</sub> 含量短暂升高,但随后迅速下降.这一现象表明,低浓度碳点在暴露早期可能促进光合色素积累,而高浓度碳点或长时间暴露则会抑制光合系统活性,该结果与本研

究的观察一致.

此外,Zhang 等<sup>[21]</sup>报道,随着 CDs 浓度的增加,小球藻中叶绿素、类胡萝卜素含量和 Rubisco 酶活性均呈下降趋势,光合作用相关基因的转录丰度降低,CDs 可能通过干扰 PSII 活性影响光合系统.然而,Xue 等<sup>[16]</sup>研究得出相反结论,认为 CDs 可提高莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) PS II 的能量传递效率,增强 PS II 的光化学活性和光合电子传递能力.这种差异可能与 CDs 的浓度及受试生物种类的不

同有关。

碳点作为新型荧光纳米材料,具有独特的光吸收和发射特性,能够作为潜在电子受体和供体影响光合系统的电子传递<sup>[16]</sup>。由于 Cu-CDs 和 CDs 结构不同,它们对纤细裸藻光合系统的影响存在差异。已有研究指出,纳米颗粒对藻类生长的抑制效应与其化学成分密切相关,碳点的毒性可能取决于表面修饰及掺杂元素<sup>[4,26]</sup>。在本研究的培养过程中,Cu-CDs 可能逐步释放 Cu,而 Cu 是微藻代谢的重要元素之一,参与电子传递及多种酶系统的功能,特别是在叶绿体光合膜脂合成和 PS II 电子传递中发挥关键作用<sup>[27]</sup>。低浓度 Cu 有助于促进光合色素的积累<sup>[28]</sup>,但高浓度 Cu 长期暴露可能抑制 PS II 电子传递,并破坏叶绿体超微结构。

值得注意的是,与 Xue 等<sup>[16]</sup>提出的“CDs 可促进电子向光化学反应定向传递”相反,本研究发现,在 10mg/L Cu-CDs 组中,非光化学淬灭吸收(qN)随光强增加的速率显著提升,表明 Cu-CDs 可能降低了纤细裸藻对光能的利用效率,使更多光能用于热耗散而非光化学反应。这种效应导致光合作用效率下降,从而解释了 10mg/L Cu-CDs 组光合系统活性严重受损的现象<sup>[29]</sup>。

#### 2.4 不同碳点对纤细裸藻抗氧化系统的影响

在环境胁迫条件下,细胞内 ROS 的大量积累可能导致细胞损伤。本研究发现,在暴露 96h 后,各处理组纤细裸藻细胞的 ROS 含量均显著升高( $P < 0.05$ )。随着 CDs 和 Cu-CDs 浓度的增加,0.01,0.1 和 1mg/L 处理组的 ROS 含量逐渐升高,而 10mg/L 处理组的 ROS 含量较 1mg/L 组略有下降。1mg/L CDs 处理组的 ROS 含量为对照组的 2.62 倍,而 1mg/L Cu-CDs 组的 ROS 含量更是高达对照组的 3.05 倍(图 5(a)),表明 Cu-CDs 对 ROS 积累的影响大于 CDs。ROS 的大量生成可能破坏细胞结构,导致氧化损伤,并进一步抑制细胞生长和光合作用<sup>[30]</sup>。

SOD 是抗氧化防御系统的重要组成部分,能够清除细胞内的超氧自由基。本研究发现,除最低浓度(0.01mg/L)CDs 处理组外,其余处理组的 SOD 活性均显著低于对照组( $P < 0.05$ )。相比对照组,CDs 处理在 0.1,1 和 10mg/L 浓度下分别使 SOD 活性下降 62.52%、51.20%和 45.62%;Cu-CDs 处理组的 SOD 活性则分别下降 48.31%、68.68%和 78.35%(图

5(b))。SOD 活性的降低表明,在 CDs 和 Cu-CDs 胁迫下,纤细裸藻抗氧化能力受到削弱,导致 ROS 生成与清除之间的平衡被破坏。由于胞内 ROS 未能及时清除,其积累可能进一步影响对 ROS 变化敏感的光合系统,最终加剧细胞氧化损伤<sup>[31-32]</sup>。

Zhang 等<sup>[21]</sup>研究表明,可降解碳点可穿透小球藻细胞膜并诱导 ROS 生成,进而引起小球藻 SOD 含量增加,激活微藻的氧化应激防御机制。类似地,Xiao 等<sup>[4]</sup>发现,碳点暴露可破坏藻类细胞结构,导致 ROS 快速积累且诱发氧化应激。此外,有研究证实,ROS 主要由小球藻细胞自身产生,而非碳点直接释放<sup>[21]</sup>。本研究的结果与前人研究一致,即 ROS 的快速积累是碳点的主要毒性机制。然而,与小球藻的研究不同,本研究中 CDs 和 Cu-CDs 对纤细裸藻的氧化系统的损伤更为严重。Xiao 等<sup>[4]</sup>进一步指出,在高浓度碳点暴露下,藻类的抗氧化结构可能受损,抗氧化剂水平下降,从而削弱其抗氧化防御能力。碳点对水生生物的生物效应受其理化性质的影响,而不同生物对碳点的敏感性也存在差异<sup>[18]</sup>。纤细裸藻由于缺乏细胞壁,使其比小球藻对污染物更为敏感,因此更易受到氧化损伤,抗氧化系统的稳定性更容易受到破坏。

值得注意的是,10mg/L Cu-CDs 处理组的 ROS 水平增幅显著低于 0.1,1 和 10mg/L 浓度组,这可能与 Cu-CDs 和 CDs 之间的物理化学特性差异有关。He 等<sup>[33]</sup>综述了碳点作为纳米酶的最新应用进展,发现碳点因其良好的生物相容性及催化特性,可表现出类似酶的活性。Li 等<sup>[34]</sup>成功制备了 Co-N 掺杂碳点,并证实其具有类似过氧化物酶的催化活性。此外,Zhang 等<sup>[15]</sup>发现,碳点本身可作为抗氧化剂,保护微藻免受紫外辐射伤害。因此,在 SOD 活力显著降低的情况下,10mg/L Cu-CDs 组 ROS 水平较其他浓度组有所下降,可能是由于 Cu-N 掺杂赋予 Cu-CDs 类似纳米酶的功能,使其能够有效清除 ROS,从而缓解氧化应激。

综上所述,碳点暴露可诱导纤细裸藻过氧化应激,并抑制其抗氧化酶活性。PSII 活性的破坏与细胞 ROS 水平的升高密切相关,ROS 的积累可能进一步抑制光合作用。Debroy 等<sup>[35]</sup>的相关性分析模型证实,微藻的生长抑制和 ROS 之间呈显著正相关,而 ROS 水平与 PSII 活性之间存在负相关,与一结果与本研

究的发现一致.此外,光合电子传递速率的降低可能导致电子堆积,引发 ROS 进一步累积,从而加剧光

合作用的抑制效应.这一机制可能是碳点对纤细裸藻产生毒性作用的关键途径<sup>[4]</sup>.

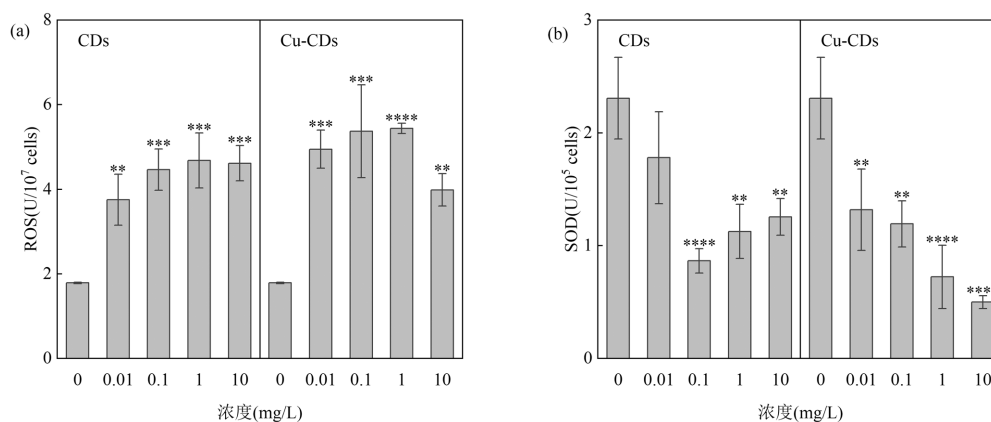


图5 碳点对纤细裸藻抗氧化系统的影响

Fig.5 Effect of CDs and Cu-CDs on the antioxidant system of *E. gracilis*

\*\*、\*\*\*、\*\*\*\*和\*\*\*\*\*分别表示  $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$  和  $P<0.0001$  的显著性水平

## 2.5 不同碳点暴露下纤细裸藻的代谢组学分析

### 2.5.1 代谢物组间差异分析

选取最低浓度 (0.01mg/L) 以及能引起不同生理效应的 1mg/L 作为研究浓度,分别设置 4 个处理组,并与对照组(CK)进行代谢组学比较分析.具体分析包括:CK 组、0.01mg/L CDs 组(CDs-L)、1mg/L CDs 组(CDs-H)、0.01mg/L Cu-CDs 组(Cu-CDs-L)和 1mg/L Cu-CDs 组(Cu-CDs-H).采用主成分分析(PCA)评估不同组别样本的整体差异及变异程度(图 6(a)和 6(b)).

在正、负离子模式下,Cu-CDs-L 和 Cu-CDs-H 组均与 CK 组发生明显分离,其中 Cu-CDs-H 组与 CK 组的分离程度最为显著,Cu-CDs-L 组次之,表明 Cu-CDs 处理对纤细裸藻代谢物组成的影响较大.相比之下 CDs 处理组与 CK 组的差异较小,CDs-L 组与 CK 组在 PCA 空间的重叠度较高,表明 CDs 低浓度暴露对代谢过程影响较小,而高浓度 CDs 处理对代谢物组成的影响更显著.此外,Cu-CDs 处理引起的比代谢变化幅度普遍大于 CDs 处理(图 6(c)).进一步分析差异代谢物的数量,CDs-L、CDs-H、Cu-CDs-L 和 Cu-CDs-H 组分别有 123,303,332 和 352 种代谢物与 CK 组相比存在显著差异,且差异代谢物的数量随暴露浓度升高而增加,同时 Cu-CDs 处理导致的差异代谢物数量高于相同浓度下的 CDs 处理.

综合分析 4 个处理组与 CK 组的差异代谢物排

序,并筛选 KEGG 通路中差异最显著的前 10 种代谢物.结果表明,相较于 CDs,Cu-CDs 处理对这些代谢物的影响更为显著(图 6(d)).在碳点胁迫下,部分代谢物显著上调,包括:粪卟啉 I、伊立替康、果糖酰胺赖氨酸、四肽和桃叶珊瑚苷,而显著下调的代谢物包括:龙胆二糖、丙酰肉、L-艾杜糖醇、次黄嘌呤和十八碳三烯酸.其中,粪卟啉 I 参与叶绿素代谢,其水平变化可能表明碳点对纤细裸藻光合系统的影响.L-艾杜糖醇的下调表明碳点可能干扰了纤细裸藻的碳水化合物代谢途径.桃叶珊瑚苷、丙酰肉碱和十八碳三烯酸的显著变化则代表了脂质代谢途径的紊乱,其中,桃叶珊瑚苷有助于维持膜稳定性,而丙酰肉碱参与脂质过氧化过程,其水平变化可能反映出细胞膜收到的氧化损伤.

### 2.5.2 代谢通路富集分析

基于代谢物的富集程度,对各处理组显著富集的前 10 条 KEGG 代谢通路 ( $P<0.05$ )进行了筛选(图 7).结果表明,在所有处理组中,甘油磷脂代谢(Glycerophospholipid metabolism)富集显著性最高,甘氨酸,丝氨酸和苏氨酸代谢(Glycine,serine and threonine metabolism)也是所有处理组均显著富集的通路.此外,辅助因子生物合成(Biosynthesis of cofactors),嘌呤代谢(Purine metabolism),乙醛酸和二羧酸代谢(Glyoxylate and dicarboxylate metabolism)和光合生物的碳固定(Carbon fixation in photosynthetic organisms)在

CDs-H, Cu-CDs-L 和 Cu-CDs-H 处理组均表现出显著富集.

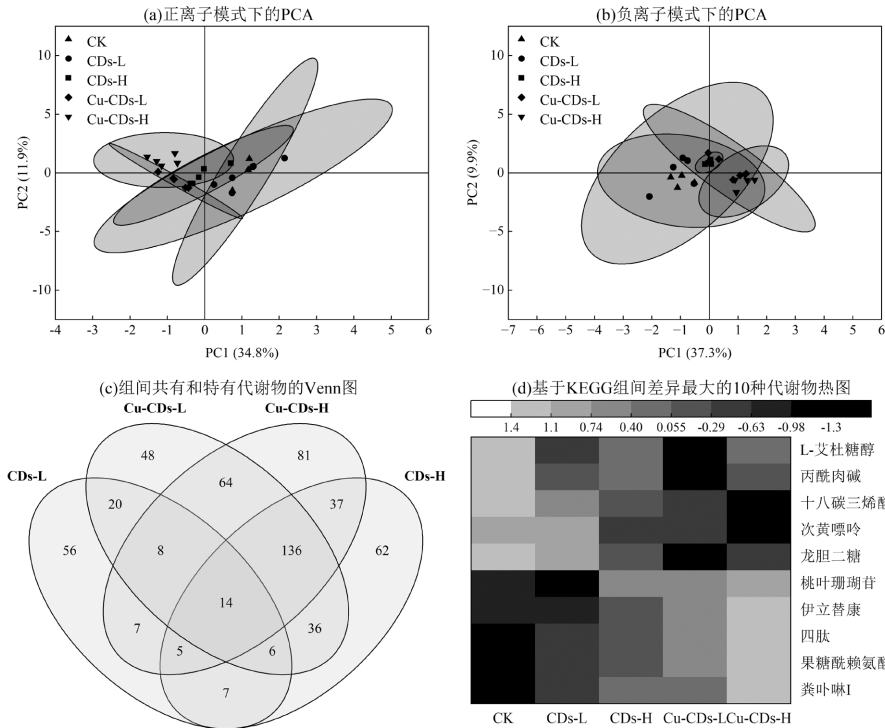


图 6 代谢物组间差异分析

Fig.6 Difference analysis of metabolites among groups

值得注意的是,两种碳点处理对某些 KEGG 通路的影响存在差异.例如,在光合生物的碳固定途径中,CDs-H 组主要富集了磷酸烯醇丙酮酸、3-磷酸甘油酯和天冬氨酸 3 个差异代谢物,而 Cu-CDs-L 和 Cu-CDs-H 处理组则主要富集磷酸烯醇丙酮酸、3-磷酸甘油酯和 D-核酮糖 1,5-二磷酸(RuBP) 3 个差异代谢物.这表明,尽管两种碳点均影响光合碳固定过程,但 Cu-CDs 可能通过干扰 RuBP 的代谢途径进一步影响碳代谢平衡.

此外,丙氨酸,天冬氨酸和谷氨酸代谢(Alanine, aspartate and glutamate metabolism)在 CDs 处理组中的富集显著性远高于 Cu-CDs 处理组,CDs-L 组主要富集了 L-丙氨酸和柠檬酸 2 个差异代谢物,而 CDs-H 组则富集了 5 个差异代谢物:腺苷酸基丁二酸、腺苷酸琥珀酸、琥珀酸、柠檬酸和天冬氨酸.相比之下,糖酵解/糖异生途径则仅在 Cu-CDs 处理组表现出显著富集,包括 4 种差异代谢物:磷酸烯醇丙酮酸、3-磷酸甘油酯、2-磷酸-D-甘油酸和 D-葡萄糖.

综上所述,本研究表明,Cu-CDs 处理对糖代谢途

径(如糖酵解/糖异生)的影响更为显著,而 CDs 处理更倾向于影响氨基酸代谢(如丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢),即使是受两种碳点影响的代谢途径,显著变化的代谢物也有一定差异,这可能与 Cu-CDs 处理引起的更强氧化胁迫有关,导致纤细裸藻在能量代谢和抗氧化防御机制上表现出不同的代谢应答.

**2.5.3 脂质代谢通路分析** 甘油磷脂代谢是受 CDs 和 Cu-CDs 影响最显著的 KEGG 代谢通路,所有处理组均与 CK 组存在显著差异.甘油磷脂是细胞膜的主要组成成分,在维持膜稳定性、信号转导及蛋白质识别等生物过程中发挥关键作用<sup>[36-37]</sup>.甘油磷脂代谢紊乱通常被视为微藻对外界胁迫的响应机制,表明碳点可能首先破坏藻细胞膜结构,从而诱导细胞的适应性调节.酪氨酸和桃叶珊瑚苷水平的上调可能有助于增强细胞膜稳定性,以抵抗外界胁迫<sup>[38]</sup>.

KEGG 化合物分类统计结果显示,CDs-L 组的代谢物组成和 CK 组相似,CDs-H 组、Cu-CDs-L 组和 Cu-CDs-H 组的脂质类差异代谢物数量明显增多.其中,二酰基甘油类磷脂(DAG)的变化最为显著,这类脂质不仅是细胞膜的重要组成部分,同时在外界

胁迫条件下可作为能量储备物质,以维持增殖和分化<sup>[37]</sup>.磷脂酰胆碱(PC)是生物膜的重要组成部分,在细胞结构中起支架作用.本研究共鉴定出 10 种显著增加的 PC,表明细胞膜的流动性发生了变化<sup>[39]</sup>.此

外,脂质代谢通路的变化与超微结构结果一致,表明 CDs 和 Cu-CDs 可能通过物理作用损伤藻细胞的生物膜,进而导致膜结构的破坏.已有研究表明,膜损伤是纳米材料引发生物毒性的关键机制之一<sup>[40]</sup>.

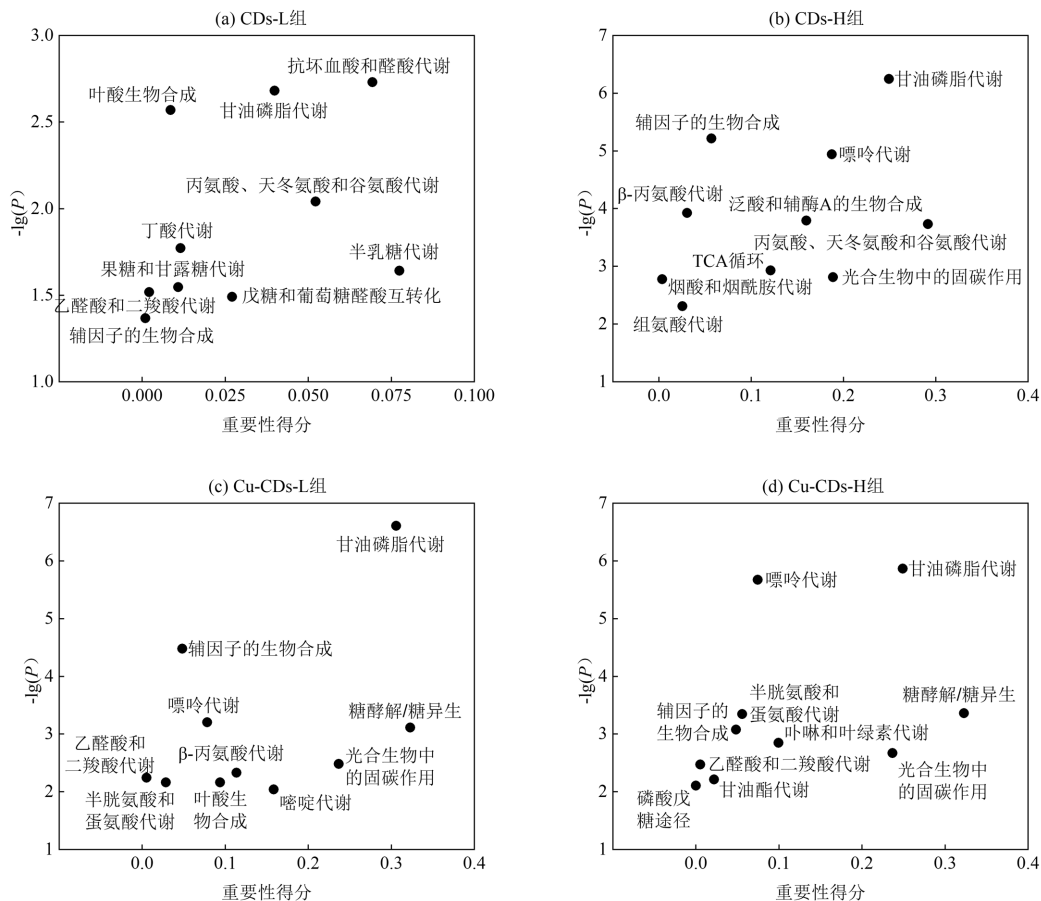


图7 显著变化代谢物的KEGG通路富集分析

Fig.7 KEGG pathway enrichment analysis of significantly changed metabolites

综上所述,本研究结果进一步证实,碳点暴露引起的氧化应激可能通过干扰脂质代谢途径,导致细胞膜损伤,从而影响细胞的稳定性和功能(图8)<sup>[41]</sup>.

**2.5.4 氨基酸代谢通路分析** 氧化应激可能引起氨基酸合成通路的下调,从而显著抑制氨基酸代谢<sup>[37]</sup>.研究表明,氨基酸代谢的紊乱与脂质代谢失衡密切相关<sup>[39]</sup>.氨基酸不仅参与蛋白质合成,还在多种代谢途径中充当重要的中间体,对于生物体的稳态调节至关重要.

与 Cu-CDs 处理组相比,CDs-L 和 CDs-H 组丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢途径的影响更为显著,这可能导致纤细裸藻清除胞内 ROS 的能力下降<sup>[42]</sup>.此外,天冬氨酸的上调可能是细胞对环境胁迫的适

应性响应,以维持细胞生长.作为糖原氨基酸,天冬氨酸是三羧酸(TCA)循环和糖酵解途径的关键中间体<sup>[43]</sup>.尽管甘氨酸,丝氨酸和苏氨酸代谢在所有处理组中均显著富集,但 Cu-CDs 处理组引起的差异代谢物数量远高于 CDs 处理组.在该代谢途径中,3-磷酸甘油酸和 2-磷酸-D-甘油酸均显著下调,这可能会降低光呼吸速率.此外,3-磷酸甘油酸还参与 TCA 循环和糖酵解过程<sup>[44-45]</sup>.因此,氧化应激可能通过影响氨基酸代谢途径,进一步损害藻细胞的光合作用和能量代谢过程.

**2.5.5 光合代谢通路分析** 光合系统相关代谢通路中,光合生物的碳固定是 CDs-H,Cu-CDs-L 和 Cu-CDs-H 组均显著富集的通路.该通路中磷酸烯

醇丙酮酸和 3-磷酸甘油酸均呈下调趋势,而 Cu-CDs-L 和 Cu-CDs-H 组的 RuBP 上调.作为二氧化碳固定的关键底物,RuBP 可与  $\text{CO}_2$  结合,生成六碳

磷酸盐,最终转化为 3-磷酸甘油酸.与此同时,磷酸烯醇丙酮酸和 3-磷酸甘油酸均是糖酵解途径的重要中间体,表明碳固定与能量代谢过程密切相关.

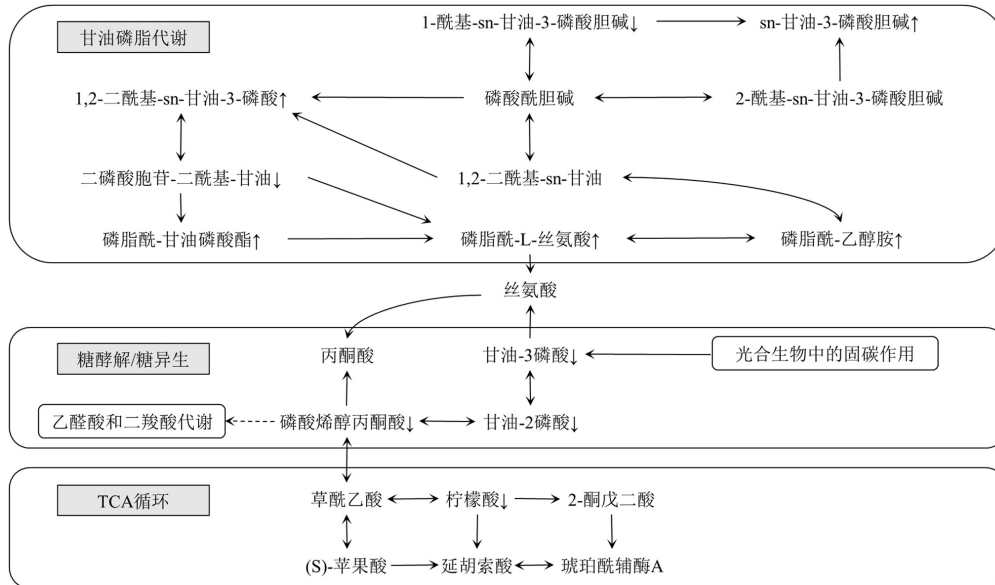


图 8 Cu-CDs-H 组纤细裸藻受影响的主要代谢途径

Fig.8 Major metabolic pathways of *E.gracilis* affected in Cu-CDs-H group

卟啉与叶绿素代谢(Porphyrin and chlorophyll metabolism)直接影响光合作用,该通路中,Cu-CDs-L 和 Cu-CDs-H 组分别有 5 和 7 种代谢物显著上调,原卟啉IX是叶绿素合成的前体物质,其上调可能是由于原卟啉氧化酶受到抑制,导致单线态氧生成增加,并引发细胞膜过氧化,进一步影响光合作用<sup>[46]</sup>.此外, $\text{Chl}_a$ 及其合成前体原叶绿素内酯在 Cu-CDs 组显著上调, $\text{Chl}_a$ 的合成依赖于光照和 NADPH 供能<sup>[47]</sup>.与此对应,藻细胞中  $\text{NADP}^+$ (NADPH 的前体物质)在 Cu-CDs 处理组中下调,而戊糖磷酸途径中提供 NADPH 的关键中间体 3-磷酸甘油酯和 2-磷酸-D-甘油酸亦呈下调趋势.值得注意的是,3-磷酸甘油酯和 2-磷酸-D-甘油酸也是糖酵解/糖异生途径的关键代谢物.研究表明,糖酵解/糖异生途径是 Cu-CDs 直接影响纤细裸藻能量代谢过程的主要通路,而 CDs 处理则是主要通过上调支链氨基酸(如天冬氨酸)作为潜在底物,影响 TCA 循环,进而影响能量代谢<sup>[48]</sup>.

能量代谢通路的变化反映了微藻的碳同化能力,表明纳米材料可能通过干扰碳固定过程,抑制藻细胞的能量生物合成和抗氧化功能.随着能量供给

的减少,藻细胞清除 ROS 毒害作用的能力降低,最终影响生长状态<sup>[49]</sup>.本研究发现,Cu-CDs 通过直接影响光合作用和能量代谢途径,对纤细裸藻的光合活力抑制和氧化损伤程度均大于 CDs.

## 2.6 展望

(1)随着碳点的大规模生产和广泛应用,其在水环境中的检出频率和浓度可能持续上升.因此,需建立准确、高效的定量检测方法,以明确碳点在水体中的环境归趋.(2)由于碳点在水体中的迁移能力较强,可能会对不同类型的水生生物产生毒性效应.因此,评估碳点在水生食物链/食物网中的迁移转化特性及其潜在生态风险具有重要意义.(3)未来研究应结合生理学和代谢组学方法,以系统评估低浓度污染物的毒性效应.此外,还需综合考虑碳点的环境行为及生态效应,以全面评估其环境风险,为纳米材料的安全管理和政策制定提供科学依据.

## 3 结论

3.1 CDs 和 Cu-CDs 暴露对纤细裸藻的生长影响呈“先促进后抑制”的趋势,在低浓度和短时间暴露条件下,碳点可作为微藻的额外营养来源,促进光合色素

的积累,并在一定程度上提高了微藻的生长能力。

**3.2** 在高浓度和长时间暴露条件下,CDs 和 Cu-CDs 可导致 ROS 过度积累,从而损伤抗氧化系统。ROS 的累积不仅干扰了光合电子传递过程,还导致细胞膜结构破坏,最终抑制微藻的生长。由于物质组成和光化学特性的差异,Cu-CDs 对光合电子传递的抑制效应强于 CDs,并在高浓度条件下,Cu-CDs 可能表现出一定的纳米酶活性。

**3.3** CDs 和 Cu-CDs 通过不同机制调控纤细裸藻的能量代谢。相比之下,Cu-CDs 的作用更为直接,对纤细裸藻光合系统和抗氧化系统的损伤更为显著,表明其潜在生态风险高于 CDs。

#### 参考文献:

- [1] Ma Y, Liu Y, Chen W, et al. Carbon quantum dot-induced developmental toxicity in *Daphnia magna* involves disturbance of symbiotic microorganisms [J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 904:166825.
- [2] MacCormack T J, Goss G G. Identifying and predicting biological risks associated with manufactured nanoparticles in aquatic ecosystems [J]. *Journal of Industrial Ecology*, 2008,12(3):286-296.
- [3] Ding T, Wei L, Hou Z, et al. Biological responses of alga *Euglena gracilis* to triclosan and galaxolide and the regulation of humic acid [J]. *Chemosphere*, 2022,307:135667.
- [4] Xiao A, Wang C, Chen J, et al. Carbon and metal quantum dots toxicity on the microalgae *Chlorella pyrenoidosa* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016,133:211-217.
- [5] Kuznietsova H, Géloën A, Dziubenko N, et al. *In vitro* and *in vivo* toxicity of carbon dots with different chemical compositions [J]. *Discover Nano*, 2023,18(1):111.
- [6] Sun L, Sun S, Bai M, et al. Internalization of polystyrene microplastics in *Euglena gracilis* and its effects on the protozoan photosynthesis and motility [J]. *Aquatic Toxicology*, 2021,236:105840.
- [7] 王祎哲,姚奕炯,王梓懿,等.光照对纤细裸藻生长及光合色素含量影响的研究 [J]. *水产科学*, 2021,40(2):179-187.  
Wang Y Z, Yao Y J, Wang Z Y, et al. Effect of light on growth and pigment content of alga *Euglena gracilis* [J]. *Fisheries Science*, 2021, 40(2):179-187.
- [8] 孙明礼.纳米 CuO 对纤细裸藻的毒性效应及分子机制研究 [D].天津:天津农学院, 2021.  
Sun M L. Toxic effects and molecular mechanism of CuO NPs on *euglena gracilis* [D]. Tianjin: Tianjin Agricultural College, 2021.
- [9] Xiao Y, Jiang X, Liao Y, et al. Adverse physiological and molecular level effects of polystyrene microplastics on freshwater microalgae [J]. *Chemosphere*, 2020,255:126914.
- [10] Kluender C, Sans-Piché F, Riedl J, et al. A metabolomics approach to assessing phytotoxic effects on the green alga *Scenedesmus vacuolatus* [J]. *Metabolomics*, 2009,5:59-71.
- [11] Cai Y, Fu J, Zhou Y, et al. Insights on forming N, O-coordinated Cu single-atom catalysts for electrochemical reduction CO<sub>2</sub> to methane [J]. *Nature Communications*, 2021,12(1):586.
- [12] Wu W, Zhan L, Fan W, et al. Cu-N dopants boost electron transfer and photooxidation reactions of carbon dots [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015,54(22):6540-6544.
- [13] Checcucci A, Colombetti G, Ferrara R, et al. Action spectra for photoaccumulation of green and colorless *Euglena*: evidence for identification of receptor pigments [J]. *Photochemistry and Photobiology*, 1976,23(1):51-54.
- [14] Liu Y Y, Yu N Y, Fang W D, et al. Photodegradation of carbon dots cause cytotoxicity [J]. *Nature Communications*, 2021,12(1):812.
- [15] Zhang M, Wang H, Song Y, et al. Pristine carbon dots boost the growth of *Chlorella vulgaris* by enhancing photosynthesis [J]. *ACS Applied Bio Materials*, 2018,1(3):894-902.
- [16] Xue H, Dong Y, Li Z, et al. Transcriptome analysis reveals the molecular mechanisms by which carbon dots regulate the growth of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2023,649:22-35.
- [17] 李家梦.碳点的光化学行为及其对两种海洋甲藻的富集动力学与毒性研究 [D]. 南京:南京大学, 2016.  
Li J M. The photochemical behavior of carbon dots, and its bioaccumulation kinetics and toxicity on two types of marine dinoflagellates [D]. Nanjing: Nanjing University, 2016.
- [18] Liu Y Y, Li J M, Ji R, et al. Bioaccumulation determines the toxicity of carbon dots to two marine dinoflagellates [J]. *Chemosphere*, 2023,321:138155.
- [19] Gao G, Zhao X, Jin P, et al. Current understanding and challenges for aquatic primary producers in a world with rising micro- and nano-plastic levels [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021,406:124685.
- [20] Hernández-García C I, Martínez-Jerónimo F. Changes in the morphology and cell ultrastructure of a microalgal community exposed to a commercial glyphosate formulation and a toxigenic cyanobacterium [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023,14:1195776.
- [21] Zhang M, Wang H, Liu P, et al. Biototoxicity of degradable carbon dots towards microalgae *Chlorella vulgaris* [J]. *Environmental Science: Nano*, 2019,6(11):3316-3323.
- [22] Xiong J Q, Kurade M B, Abou-Shanab R A I, et al. Biodegradation of carbamazepine using freshwater microalgae *Chlamydomonas mexicana* and *Scenedesmus obliquus* and the determination of its metabolic fate [J]. *Bioresource Technology*, 2016,205:183-190.
- [23] Chen Z, Xiong J Q. Recovery mechanism of a microalgal species, *Chlorella* sp. from toxicity of doxylamine: Physiological and biochemical changes, and transcriptomics [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024,474:134752.
- [24] 张守仁.叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论 [J]. *植物学通报*, 1999,16(4):444-448.  
Zhang S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1999,16(4):444-448.
- [25] Chen Z, Li L, Hao L, et al. Hormesis-like growth and photosynthetic physiology of marine diatom *Phaeodactylum tricoratum* Bohlin exposed to polystyrene microplastics [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2022,16(1):2.

- [26] Yan Z, Chen J, Xiao A, et al. Effects of representative quantum dots on microorganisms and phytoplankton: a comparative study [J]. RSC Advances, 2015,5(129):106406–106412.
- [27] Barros Marangoni L F, Marques J A, Duarte G A S, et al. Copper effects on biomarkers associated with photosynthesis, oxidative status and calcification in the Brazilian coral *Mussismilia hartii* (*Scleractinia, Mussidae*) [J]. Marine Environmental Research, 2017, 130:248–257.
- [28] Rodríguez F E, Laporte D, González A, et al. Copper-induced increased expression of genes involved in photosynthesis, carotenoid synthesis and C assimilation in the marine alga *Ulva compressa* [J]. BMC Genomics, 2018,19:1–15.
- [29] Gebara R C, Alho L O G, Mansano A S, et al. Single and combined effects of Zn and Al on photosystem II of the green microalgae *Raphidocelis subcapitata* assessed by pulse-amplitude modulated (PAM) fluorometry [J]. Aquatic Toxicology, 2023,254:106369.
- [30] 郎小平,何真,陈岩,等. 微塑料对微藻生长及其释放三卤代甲烷的影响 [J]. 中国环境科学, 2021,41(12):5857–5865.
- Lang X P, He Z, Chen Y, et al. The influence of microplastic on the growth of microalgae and their release of trihalomethane [J]. China Environmental Science, 2021,41(12):5857–5865.
- [31] Zhang Y, Li M, Chang F, et al. The distinct resistance mechanisms of cyanobacteria and green algae to sulfamethoxazole and its implications for environmental risk assessment [J]. Science of the Total Environment, 2023,854:158723.
- [32] Huang W, Zhao T, Zhu X, et al. The effects and mechanisms of polystyrene and polymethyl methacrylate with different sizes and concentrations on *Gymnodinium aeruginosum* [J]. Environmental Pollution, 2021,287:117626.
- [33] He D, Yan M, Sun P, et al. Recent progress in carbon-dots-based nanozymes for chemosensing and biomedical applications [J]. Chinese Chemical Letters, 2021,32(10):2994–3006.
- [34] Li S, Sainan Q, Yexi C, et al. Co, N-doped carbon dot nanozymes with acid pH-independence and substrate selectivity for biosensing and bioimaging [J]. Sensors and Actuators: B Chemical, 2022,353:13115.
- [35] Debroy A, Saravanan J S, Nirmala M J, et al. Algal EPS modifies the toxicity potential of the mixture of polystyrene nanoplastics (PSNPs) and triphenyl phosphate in freshwater microalgae *Chlorella* sp. [J]. Chemosphere, 2024,366:143471.
- [36] Liu A, Zhang L, Zhou A, et al. Metabolomic and physiological changes of acid-tolerant *Graesiella* sp. MA1 during long-term acid stress [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023,30(43): 97209–97218.
- [37] Zhang X, Zhu Q, Chen C, et al. The growth inhibitory effects and non-targeted metabolomic profiling of *Microcystis aeruginosa* treated by *Scenedesmus* sp. [J]. Chemosphere, 2023,338:139446.
- [38] Hussain S S, Ali M, Ahmad M, et al. Polyamines: natural and engineered abiotic and biotic stress tolerance in plants [J]. Biotechnology Advances, 2011,29(3):300–311.
- [39] Liang Y, Zhang H, Cai Z. New insights into the cellular mechanism of triclosan-induced dermal toxicity from a combined metabolomic and lipidomic approach [J]. Science of the Total Environment, 2021,757: 143976.
- [40] Pikula K, Johari S A, Santos-Oliveira R, et al. Toxicity and biotransformation of carbon-based nanomaterials in marine microalgae *Heterosigma akashiwo* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2023,24(12):10020.
- [41] Zhao Y, Qiao R, Zhang S, et al. Metabolomic profiling reveals the intestinal toxicity of different length of microplastic fibers on zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Journal of Hazardous Materials, 2021,403:123663.
- [42] Li X, Luo J, Zeng H, et al. Microplastics decrease the toxicity of sulfamethoxazole to marine algae (*Skeletonema costatum*) at the cellular and molecular levels [J]. Science of the Total Environment, 2022,824:153855.
- [43] Huang Y, Wan X, Zhao Z, et al. Metabolomic analysis and pathway profiling of paramylon production in *Euglena gracilis* grown on different carbon sources [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023,246:125661.
- [44] Zhang C, Zhang L, Liu J. The interrelation between photorespiration and astaxanthin accumulation in *Haematococcus pluvialis* using metabolomic analysis [J]. Algal Research, 2019,41:101520.
- [45] Bauwe H, Hagemann M, Kern R, et al. Photorespiration has a dual origin and manifold links to central metabolism [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2012,15(3):269–275.
- [46] 孔玄庆,喻快,罗泽伟,等. 双唑草腈对斜生栅藻的毒性效应 [J]. 农药科学与管理, 2021,42(7):23–29,38.
- Kong X Q, Yu K, Luo Z W, et al. Toxic effects of pyraclonil on *Scenedesmus Obliquus* [J]. Pesticide Science and Administration, 2021,42(7):23–29,38.
- [47] Dong C S, Zhang W L, Wang Q, et al. Crystal structures of cyanobacterial light-dependent protochlorophyllide oxidoreductase [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2020,117(15): 8455–8461.
- [48] Slaveykova V I, Majumdar S, Regier N, et al. Metabolomic responses of green alga *Chlamydomonas reinhardtii* exposed to sublethal concentrations of inorganic and methylmercury [J]. Environmental Science & Technology, 2021,55(6):3876–3887.
- [49] Zou W, Huo Y, Zhang X, et al. Toxicity of hexagonal boron nitride nanosheets to freshwater algae: phospholipid membrane damage and carbon assimilation inhibition [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024,465:133204.

**致谢:** 本文所用碳点材料制备由我院朱文磊课题组协助完成,在此表示感谢。

**作者简介:** 马平佳(2000-),女,江苏如皋人,南京大学硕士研究生,研究方向为水生生态毒理学。mpjpyq@163.com。