斜生栅藻的研究现状及发展趋势

李立欣^{1,2,3}, 朴庸健², 马放^{3*}, 张福贵², 李甜裕¹ (1. 黑龙江科技大学环境与化工学院, 黑龙江哈尔滨 150022; 2. 龙江环保集团股份有限公司, 黑龙江哈尔滨 150050; 3. 哈尔滨工业大学城市水资源与水环境国家重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150090)

摘要 综述了斜生栅藻的生长条件(光照强度、温度、pH 和培养基成分)、基因工程及应用方面(动物饲料、指示生物、污水处理和能源领域)的研究现状,并展望了斜生栅藻今后的研究方向。

关键词 斜生栅藻; 影响因素; 基因工程; 应用

中图分类号 S-3 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)25-0001-02

Present Status and Development Trend of *Scenedesmus obliquus*

LI Li-xin^{1,2,3}, PIAO Yong-jian², MA Fang^{3*} et al (1. School of Environment and Chemical Engineering, Heilongjiang University of Science and Technology, Harbin, Heilongjiang 150022; 2. Longjiang Environmental Protection Group Co., Ltd., Harbin, Heilongjiang 150050; 3. State Key Lab of Urban Resource and Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin, Heilongjiang 150090)

Abstract The culturing conditions (light intensity, temperature, pH and medium component), genetic engineering and the applications animal feed, biological indicator, sewage treatment and energy field of *Scenedesmus obliquus* were summarized in detail, and the research directions of *Scenedesmus obliquus* were also prospected in the future.

Key words *Scenedesmus obliquus*; Influence factor; Genetic engineering; Application

斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 是一种常见的淡水微藻, 属植物界, 绿藻门, 绿球藻目, 栅藻科, 栅藻属^[1]。在温暖地区, 它是一种广泛分布于湖泊、水库、池塘、沼泽等静水水体中的淡水单细胞绿藻, 因具有易存活、繁殖能力强、环境耐受性强、氮磷利用率高等特点而被广泛用于废水培养和废水处理^[2-3]。斜生栅藻是迄今已知含油量较高的藻种之一, 可作为生产生物柴油的原料^[4]。斜生栅藻体内能够积累较高的虾青素, 还可以作为动物饲料或食品添加剂等^[5]。因此, 斜生栅藻的经济价值较高, 在食品、能源及污染物治理领域具有较好的发展前景。笔者综述了斜生栅藻的生长条件、基因工程及应用方面研究进展, 并展望了斜生栅藻今后的研究方向, 以期对斜生栅藻的进一步研究及应用提供参考。

1 斜生栅藻生长条件及优化培养

斜生栅藻的生长除了受光照、温度等外界条件的影响外, 还受营养条件等因素的影响。因此, 可以通过控制培养条件实现对斜生栅藻的扩大培养。

1.1 光照强度 光是影响藻生长的重要因素之一, 在适光范围内, 增加光照强度可加快光合作用速率, 从而有利于藻细胞的生长^[6]。殷燕等^[6]认为光照强度为 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下, 斜生栅藻的藻细胞密度、叶绿素 a 浓度及吸收系数数值相对最大, 可以看出光照强度对其生长有重要影响。

1.2 温度 温度是影响藻类生长的一个重要的环境因子, 温度对植物生长的影响程度是由其对光合作用以及能量代

谢等生理生化过程的平衡关系来决定的。郭锁莲^[7]研究了温度对斜生栅藻 FSP-3 生长的影响, 当培养温度为 28 $^{\circ}\text{C}$ 时, 藻细胞的生物量最大, 细胞密度和叶绿素含量等各项指标均达到较高水平。当温度下降 3 $^{\circ}\text{C}$ 时, 总脂的最高值出现, 显示出低温促进油脂积累的现象, 由此可以得出最适生长温度与最佳油脂积累温度具有一定差异。

1.3 pH pH 是藻类生长环境的重要理化指标, 在微藻自培养时影响光合作用中 CO_2 的可用性, 并对微藻细胞新陈代谢有着重要作用^[2]。当 pH 在 6.5~7.5 时, 斜生栅藻生长程度较好, 藻密度较高。当斜生栅藻的颜色由绿色变成黄色时, 培养基的初始 pH 为 6.0 或 8.0, 此时斜生栅藻生长速度缓慢, 光密度较低。斜生栅藻最适宜的 pH 为 7.5, 该 pH 与模拟污水处理时所需的 pH 相符^[3]。斜生栅藻 FSP-3 的最适培养条件: 接种量 1×10^6 个/mL, 培养温度 28 $^{\circ}\text{C}$, 光照强度 6 000 lx 和初始 pH 为 6.0~6.5。在优化的培养条件下, 斜生栅藻的生长状况良好, 生物量不断增加, 斜生栅藻的胞内组分的含量进一步提高^[7]。

1.4 培养基成分 季祥等^[8]为了提高可作为生物质能源微藻原料的富油斜生栅藻的生物量, 以 BG11 培养基为基础培养基, 对碳(C)、氮(N)、磷(P)3 种营养盐进行了优化。结果表明, 异养培养斜生栅藻的最适碳源为葡萄糖; 最适氮源为硝酸钠; 3 种营养盐最佳水平组合为 0.15 mg/mL 磷酸氢二钾、20.00 mg/mL 葡萄糖、2.00 mg/mL 硝酸钠。并进行了扩大培养, 取得了良好的效果^[4]。

微量元素钴是浮游藻类代谢、生长所需要的一种元素。当 Co^{2+} 质量浓度在 0.120 0~0.229 1 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时, 斜生栅藻的生长增殖较快; 当 Co^{2+} 质量浓度大于 0.284 9 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时, 斜生栅藻的生长增殖则受到不同程度的抑制^[9]。

低浓度重金属离子对斜生栅藻和铜绿微囊藻生长均无明显抑制作用, 低浓度 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 对斜生栅藻生长影响不显著, 但浓度较高时, 抑制作用较强^[10]。

李静静^[11]认为栅生栅藻生长的适宜 Mn^{2+} 浓度是 0.5~

基金项目 国家自然科学基金项目(51408200, 51478140); 城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学)自主课题(2015DX06); 哈尔滨市科技创新人才研究专项(2015RQXJ015); 黑龙江科技大学青年才俊培养计划项目(Q20120201); 黑龙江科技大学大学生科研项目。

作者简介 李立欣(1980—), 男, 黑龙江哈尔滨人, 副教授, 博士, 从事能源微藻技术开发与应用研究。* 通讯作者, 教授, 博士, 从事环境生物技术研究。

收稿日期 2016-12-21

10.0 mg/L, 适宜 Zn^{2+} 浓度是 1.0 ~ 10.0 mg/L, 超过最适浓度范围的上限, 则表现出对斜生栅藻的生长抑制作用。

2 斜生栅藻基因工程的研究

藻类的基因工程研究主要集中在模式藻株中, 目前仍未建立斜生栅藻等大部分经济藻的遗传转化体系。另外, 由于藻株间的个体差异性, 模式藻株的转化体系直接应用于其他藻株中有很大难度。通过提高斜生栅藻外源基因的转化效率及其基因的表达水平, 才能进一步研究基因功能及代谢调控, 提高斜生栅藻代谢产物的利用效率^[7]。郭锁莲^[7]利用斜生栅藻为试验材料, 建立了高效的遗传转化体系, 从而实现了酵母絮凝基因在斜生栅藻体内的成功表达, 转基因栅藻细胞具有较强的自絮凝能力。

3 斜生栅藻的应用

3.1 动物饲料

虾青素是类胡萝卜素的含氧衍生物, 属于类胡萝卜素的一种, 有较强的抗氧化活性, 并且具有多种保健功效, 是一种极具应用潜力的次生代谢物质, 目前虾青素主要用于水产养殖的色素添加剂, 售价高达 1 200 万元/t, 估计全球每年需求量超过 20 亿美元^[5]。凌善锋^[12]考察了亚硝酸钠浓度对斜生栅藻生物量的影响以及 2.0 g/L 亚硝基胍和不同紫外辐射照射度胁迫对斜生栅藻中虾青素含量的影响, 获得了较高的虾青素含量。并证实了添加水杨酸诱导斜生栅藻积累虾青素的分子机制^[5]。斜生栅藻除了生产虾青素外, 由于其细胞内富含丰富的蛋白质, 还可以用作某些经济鱼类、甲壳类及软体动物的饲料或饲料添加剂^[13-14]。

3.2 指示生物

因斜生栅藻对水环境污染物质具有一定的耐受性, 可以用作水质评价的指示性生物。朱术超等^[15]研究了 3 种药物及个人护理品对斜生栅藻生长及光合系统的影响。结果表明, 光合系统相关参数对于反映 PPCPs 对藻类的毒性特征具有较高的敏感性及一定的特异性, 可作为 PPCPs 污染生态风险评价的潜在候选生物标志物。

3.3 在污水处理方面的应用

斜生栅藻通过光合作用为微生物降解有机污染物提供氧气, 其本身可直接利用水体中的氮、磷等物质不断生长, 进而降低水体中有机物、氮、磷的含量, 达到净化水质的功效。Ho 等^[16]利用分离得到的 7 株斜生栅藻处理污水, 氮去除率均超过 70%, 除氮效果显著; Li 等^[17]得到一株淡水斜生栅藻 LX1, 利用污水二级出水进行生长, 对二级出水氮、磷物质去除明显, 所得的生物量和油脂含量均高于其他文献报道的生物量和油脂含量。好氧颗粒污泥和斜生栅藻的耦合系统对模拟污水的 COD、氨氮和总磷的去除率分别稳定在 93.89%、87.64% 和 91.35%, 结果表明, 共生体系优于单独体系, 可强化提高污水中有机物和氮、磷的去除效果^[3]。张玉琳等^[18]通过固定化斜生栅藻来净化畜禽废水中氨氮和磷, 取得了较好的效果。张莹等^[19]证实斜生栅藻能够完全去除低浓度无机磷, 并且去磷效果明显。唐霞等^[20]认为纯栅藻对石油降解菌表现出非常良好的促进作用, 并利用除菌后的斜生栅藻与石油组分降解菌构建了一个高效降解原油的菌藻共生体系。

斜生栅藻除了对有机废水有优良的去磷效果, 同时对无

机重金属废水也表现出了良好的吸附特性。刘益浩^[21]研究了斜生栅藻对重金属的吸附效果, 分别从温度、pH、藻的投加量和吸附时间等方面考察了斜生栅藻对铜、锌、锰、铅 4 种重金属的影响, 证明了斜生栅藻对重金属具有较强的吸附性。Bahar 等^[22]报道斜生栅藻对重金属砷具有良好的吸附性能, 在砷污染地下水修复方面具有巨大应用前景。Jie 等^[23]研究了斜生栅藻对金属钒的吸附能力, 认为在正常情况下对钒的吸附率达 43%, 当添加 SO_4^{2-} 和 Zn^{2+} 时, 斜生栅藻对金属钒的吸附率高达 77%, 并对其吸附机理进行了解析。

3.4 在能源领域的应用

在传统能源消耗量日益增加情况下, 斜生栅藻在生物能源方面的巨大潜力引起了较大关注。斜生栅藻不仅可用于生产生物柴油, 在生产氢气和燃料乙醇方面也有巨大潜能。

有研究者通过对微拟球藻和斜生栅藻等 6 株产油微藻的产油性能进行比较, 发现斜生栅藻不仅有较高的油脂含量, 而且还具有优良的脂肪酸组成, 细胞中富含亚麻酸等多种不饱和脂肪酸, 为生物柴油的生产奠定了良好的基础^[19]。研究者随后进一步证明了斜生栅藻可以作为生产生物柴油的理想菌株^[24]。Xiao 等^[25]报道称, 斜生栅藻具有良好的产油能力, 在一定条件下, 油脂含量最高可占干重的 55.0%, 且产率最高可达 58.6 mg/(L·d), 可作为生产生物柴油的理想材料。Mandal 等^[13]通过研究发现在磷源缺乏时, 油脂含量达到干重的 30%。在氮源缺乏的情况下, 油脂含量可达干重的 43%, 远高于对照组, 且比磷缺乏时油脂含量高; Li 等^[17]通过研究发现, 在氮浓度为 2.5 mg/L、磷浓度为 0.1 mg/L 时, 斜生栅藻的油脂含量最高可达 53%。Breuer 等^[26]报道斜生栅藻在合成生产甘油三酰(生物柴油半成品)方面具有巨大前景, 最多可积累油脂达干重的 35%, 油脂产率在 250 ~ 320 mg/(L·d)。丛威等^[27]通过建立共生菌体系来提高斜生栅藻生物量、油脂质量, 取得了很好的效果。Miranda 等^[28]、Choi 等^[29]对斜生栅藻产乙醇、产氢等方面进行了大量研究, 证实了其在产乙醇、产氢方面具有较高产率。

4 结论

斜生栅藻可以用于 CO_2 的减排、废水处理和生物能源的生产, 对社会经济的可持续发展具有重大意义。然而, 因其研究时间相对较晚、实验室以及实际应用程度不高等因素限制了其大规模应用。综上所述, 对斜生栅藻研究和应用提出以下意见: 针对斜生栅藻的应用领域偏少问题, 应扩大其领域的应用范围, 特别是污水处理及能源、资源回收方面; 借助传统育种以及基因工程育种手段, 将选育出具有自絮凝特性的高效产油斜生栅藻, 降低其采收成本; 斜生栅藻的绿色、经济、高效油脂提取技术有待进一步开发及完善; 利用实际污水规模化培养富油斜生栅藻也是今后研究的重点。

参考文献

- [1] 赵昕宇, 廖利民, 成杰, 等. 基于斜生栅藻培养的城市生活废水资源化利用研究[J]. 水资源保护, 2016, 32(3): 44-49.
- [2] 季祥, 王金荣, 丁潇, 等. 一株斜生栅藻的筛选及生长条件的优化[J]. 水产科技情报, 2010, 37(6): 265-268.

拔节孕穗期是小麦渍害的最敏感阶段,但也是恢复能力最强的阶段^[5]。对不同补救措施效应进行方差分析可以得出:无论采取何种补救措施,不同滞水期间的产量均达到了显著差异,说明滞水越早,危害越大,证明拔节孕穗期是小麦

渍害的最敏感阶段,但也是恢复能力最强的阶段。同时,各试验处理均无绝收现象,在3期均连续滞水无沟系处理条件下,小麦单产虽急剧下降至2 850 kg/hm²以下,但未达绝收程度,证明小麦耐渍性能较强。

表8 不同滞水期的R₃补救恢复效应Table 8 Recovery effect of R₃ treatment in perched water period

主区 Main plots	有效穗 Effective spike		穗粒数 Grain number per spike		千粒重 1 000-grain weight		理论产量 Theoretical yield	
	实测值 Measured value	增减 Compared with CK//%	实测值 Measured value	增减 Compared with CK//%	实测值 Measured value	增减 Compared with CK//%	实测值 Measured value	增减 Compared with CK//%
	万穗/hm ²		粒/穗		g		kg/hm ²	
W ₁	462.00	-12.08	32.20	-20.03	37.80	-10.78	5 623.35 cC	-37.26
W ₂	508.50	-3.24	30.40	-24.50	37.10	-12.43	5 735.10 bB	-36.01
W ₃	535.50	1.90	34.30	-14.82	37.50	-11.49	6 887.85 aA	-23.15
平均 Average	502.00	-4.47	32.30	-19.78	37.47	-11.57	6 082.10	-32.14
CK	525.45	0	40.27	0	42.37	0	8 962.50	0

3 结论与讨论

试验及生产实践调研表明:①一次降水超过15 mm可致浅洼平原耕层滞水抬升至危害高度;②拔节孕穗期是小麦涝渍灾害最敏感阶段,也是补救措施恢复效果最佳时段;③稻茬小麦耐涝渍性能较强,连续滞水7 d以上不会绝收,耐渍极限天数可在15 d以上;④稻茬小麦涝渍后恢复能力较强,连阴雨渍害拔节期恢复指数最高可达36.00,孕穗期最高可达29.79,扬花灌浆期最高可达32.15。

该试验土壤类型为里下河平原地区的水稻土,常年以稻

麦两熟制为主,其他地区尚待进一步研究。

参考文献

(上接第2页)

[3] 宋志伟,王秋旭,李立欣,等. 斜生栅藻培养基优化及菌藻共生体系处理污水[J]. 黑龙江科技大学学报,2015,25(3):274-279.

[4] 季祥,成杰,廖利民,等. 1株斜生栅藻扩大培养条件的优化[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):303-305.

[5] 凌善锋,蔡福欢,刘彦文,等. 3.5 mg/L水杨酸诱导斜生栅藻积累虾青素的分子机理[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):287-290.

[6] 殷燕,张运林,王明珠,等. 光照强度对铜绿微囊藻(*Microcystis aeruginosa*)和斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)生长及吸收特性的影响[J]. 湖泊科学,2012,24(5):755-764.

[7] 郭锁莲. 转基因絮凝斜生栅藻的构建和自絮凝斜生栅藻细胞絮凝的研究[D]. 大连:大连理工大学,2013:105-106.

[8] 季祥,王金荣,王新平,等. 富油能源微藻斜生栅藻异养培养条件的优化[J]. 渔业现代化,2011,38(5):1-6.

[9] 张玮玮,王家官. 微量元素钴对脆杆藻和斜生栅藻增殖的影响[J]. 山西农业科学,2012,40(3):207-211.

[10] 陈雷. 重金属胁迫对斜生栅藻和铜绿微囊藻生长及叶绿素荧光特性研究[D]. 南京:南京农业大学,2009:15-28.

[11] 李静静. 重金属元素对斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)生长及叶绿素荧光特性的影响[D]. 长沙:湖南农业大学,2011:41-42.

[12] 凌善锋. 产虾青素的斜生栅藻藻种的培育[J]. 湖北农业科学,2014,53(2):283-284.

[13] MANDAL S, MALLICK N. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2009,84(2):281-291.

[14] GREENWELL H C, LAURENS L M L, SHIELDS R J, et al. Placing microalgae on the biofuels priority list: A review of the technological challenges[J]. Journal of the royal society interface, 2010,7(46):703-726.

[15] 朱未超,刘滨扬,陈本亮,等. 3种药物及个人护理品对斜生栅藻生长及光系统II的影响[J]. 中山大学学报(自然科学版),2014,53(1):121-126,134.

[16] HO S H, CHEN C Y, YEH K L, et al. Characterization of photosynthetic carbon dioxide fixation ability of indigenous *Scenedesmus obliquus* isolates[J]. Biochemical engineering journal, 2010,53(1):57-62.

[17] LI X, HU H Y, YANG J. Lipid accumulation and nutrient removal proper-

ties of a newly isolated freshwater microalga, *Scenedesmus* sp. LX1, growing in secondary effluent[J]. New biotechnology, 2010,27(1):59-63.

[18] 张玉琳,王应军,李伟雨,等. 固定化斜生栅藻净化畜禽废水中氨氮和磷的影响因素[J]. 环境工程学报,2015,9(5):2253-2258.

[19] 张莹,李宝珍,屈建航,等. 斜生栅藻对低浓度无机磷去除和生长情况的研究[J]. 环境科学,2010,31(11):2661-2665.

[20] 唐霞,何丽霞,刘瞳,等. 斜生栅藻的无菌化培养及其在原液降解中的应用研究[J]. 环境工程学报,2010,4(5):1079-1083.

[21] 刘益浩. 斜生栅藻与重金属的相互作用研究[D]. 南京:河海大学,2007:46-52.

[22] BAHAR M M, MEGHARAJ M, NAIDU R. Bioremediation of arsenic-contaminated water: Recent advances and future prospects[J]. Water, air, & soil pollution, 2013,224(12):1722.

[23] JIE N, ZHANG Q, YAO G. Study on the adsorption of vanadium (V) with *Scenedesmus obliquus*[J]. Bulletin of environmental contamination & toxicology, 2001,67(3):431-437.

[24] DA SILVA T L, REIS A, MEDEIROS R, et al. Oil production towards biofuel from autotrophic microalgae semicontinuous cultivations monitored by flow cytometry[J]. Applied biochemistry and biotechnology, 2009,159(2):568-578.

[25] XIAO M Z, SHIN H J, DONG Q H. Advances in cultivation and processing techniques for microalgal biodiesel: A review[J]. Korean journal of chemical engineering, 2013,30(12):2119-2126.

[26] BREUER G, LAMERS P P, MARTENS D E, et al. The impact of nitrogen starvation on the dynamics of triacylglycerol accumulation in nine microalga strains[J]. Bioresource technology, 2012,124:217-226.

[27] 从威,王瑞民,颜成虎,等. 一种提高斜生栅藻生物量和油脂质量的共生菌体系及其应用:CN 105296376A[P]. 2016-02-03.

[28] MIRANDA J R, PASSARINHO P C, GOUVEIA L. Pre-treatment optimization of *Scenedesmus obliquus* microalga for bioethanol production[J]. Bioresource technology, 2012,104:342-348.

[29] CHOI J A, HWANG J H, DEMPSEY B A, et al. Enhancement of fermentative bioenergy (ethanol/hydrogen) production using ultrasonication of *Scenedesmus obliquus* YSW15 cultivated in swine wastewater effluent[J]. Energy & environmental science, 2011,4(9):3513-3520.