

微藻培养过程中生物污染及防治

赵璐 张新明

日照职业技术学院海洋工程学院, 山东日照 276826

摘要 微藻具有非常重要的应用价值, 在生产中防止污染十分关键。为此, 本文综述了微藻培养过程中常见的污染生物有: 浮游动物、细菌、其他微藻、病毒; 防治方法有: 过滤法、化学防治法、改变培养条件、充 CO₂ 法、筛绢过滤法等。

关键词 微藻; 生物污染; 控制法

微藻体积微小, 但光合能力强, 脂质含量高, 是当今最具开发前途的能源之一^[1]。微藻营养丰富, 在水产养殖、环境治理、食品行业、医药行业中具有非常重要的应用价值, 常见的有价值的藻类如小球藻、螺旋藻、盐藻、雨生红球藻、等边金藻、三角褐指藻等, 不同的藻类营养价值和营养功用有所差异, 在实际生产中通常需要进行单一藻类的规模化大量培养, 在培养过程中若遭遇生物污染就会造成培养失败, 给生产带来损失。本文综述了微藻培养过程中常见的污染生物及控制方法, 以期对相关人士提供有价值的参考。

1 微藻培养过程中的生物污染种类

1.1 浮游动物

藻类大规模养殖中容易受浮游动物的影响(如轮虫和枝角类动物), 这些浮游动物会严重影响藻类的生长, 如果在培养过程中感染这些浮游动物, 培养的微藻在几天之内就会大量减少生物产量^[2]。浮游动物包括超微型浮游生物(<2 μm)、微型浮游动物(2~20 μm)、小型浮游生物(20~200 μm)、中型浮游生物(0.2~2 mm)和大型浮游生物(>2 mm)。在这些浮游生物当中, 纤毛虫^[3]、轮虫^[4]、枝角类和桡足类动物^[5]是微藻养殖中常见的侵染性物种。Li 等^[6]用

足量的杜氏盐藻作为食物培养纤毛虫, 结果发现在培养 2 d 之后, 微藻的密度从 2.7×10^4 下降到 1.2×10^4 。Moreno-Garrido 等^[7]发现捕食性纤毛虫可以使大量的杜氏盐藻在 2 d 之内被食光, 对经济造成严重损失。

1.2 细菌

一些称为浮游植物溶菌细菌对微藻的生长有潜在的影响。他们最初是在赤潮的消亡中发现的^[8-11]。后来被证实其对微藻生长有不良影响, 对微藻大量培养有破坏作用^[12]。这些菌株主要包括噬胞菌(*Cytophaga sp.*)、粘细菌(*Myxobacter sp.*)^[13]、芽孢杆菌(*Bacillus sp.*)和假单胞菌(*Pseudomonas sp.*)^[14]等。这些细菌通过直接的细胞接触或者间接通过胞外复合物对微藻产生影响^[15], 以间接接触为主。

1.3 其他微藻

在微藻规模化养殖中, 其他微藻的交叉污染是不可避免的^[16]。如果微藻培养体系不干净, 那么其他藻类就会快速繁殖, 并且其繁殖速度可能会超过要培养的藻株^[17], 在实际生产中, 污染藻株生长状况超过要培养藻株的情况经常发生。

1.4 病毒

在微藻培养过程中, 病毒性感染往往会导致微藻产量明显降低, 或者导致优势种发生改变^[18]。病毒

收稿日期: 2020-09-11

基金项目: 山东省高等学校青创人才引育计划应用微藻技术创新团队项目(S190007170001); 首批山东省职业教育名师工作室项目(鲁教师函[2018]1号, 编号15)

赵璐, 女, 1988年生, 博士, 讲师。

复制快、对宿主的感染率高,这些都是导致微藻的规模化养殖减产的重要原因。

2 控制生物污染的主要方法

科学家做了大量的工作来研究控制生物污染的方法。一些学者尝试用过滤藻液的方法或者是加入药物来阻断生物污染,还有一些人试图改变微藻养殖的环境来控制生物污染^[19]。

2.1 过滤法

由于微藻较小,过滤被认为是在微藻的大规模养殖中除去微生物的最有效的方式,例如可以有效去除轮虫和桡足类动物,在微藻制备过程和藻液回收过程中,常用尼龙网进行过滤,以除去这些体型较大的浮游动物^[20]。成年轮虫因为其体型较大,可以通过该尼龙网过滤的方式去除,但是轮虫卵以及体型较小的个体则不能通过这种方式完全去除。所以,要连续过滤几天才能从根本上除去污染生物。

2.2 化学防治法

化学药剂可有效控制生物污染,但有可能对微藻生长产生影响。通过添加化学物抑制或杀灭污染生物的研究较多。在螺旋藻培养液中加入 10 mg/L 的硫酸钙可以抑制轮虫的繁殖^[21]。Moreno-Garrido 等^[6]报道,在杜氏藻(*Dunaliella salina*)培养过程中,奎宁对纤毛虫污染有明显的杀灭作用,而对细胞本身影响不大。

2.3 改变培养条件

由于浮游动物对环境因素的响应不同,可以将环境因素调到一个合适的水平,以降浮游动物的繁殖。限制浮游动物对微藻的捕食活动,同时保证在该条件下微藻能快速地增长,这样就能实现微藻的高速培养。有机体正常的生命活动需要适宜的 pH 值,可以调节微藻养殖环境的 pH 值,这样既能保证微藻快速地繁殖,同时又能杀死或者抑制浮游动物的污染。Becher^[22]建议将微藻培养液的 pH 瞬间降低至 3.0,并持续 1~2 h 就可以阻止轮虫的污染。在杜氏盐藻的培养池中,当盐浓度降低至 20% 以下时,变形虫和纤毛虫将很难再对微藻造成污染^[23]。

2.4 充 CO₂ 法

浮游动物和单细胞的藻类营养方式不同,因此对氧气的需求也不同。单细胞藻类一般是自养型植物,能吸收光能和二氧化碳进行光合作用,而浮游动物多为异养型动物,只进行呼吸作用,吸入氧气,

释放二氧化碳。在微藻的培养池中,充入大量的二氧化碳,水中就会严重缺氧。这样就有利于微藻的生长,从而抑制浮游动物的繁殖。但是,大量地充入二氧化碳会降低培养液的 pH 值,对藻的生长繁殖也会产生影响。

2.5 筛绢过滤法

单细胞藻类体型较小,一般在几到十几微米之间。如小球藻(*C. vulgaris*)直径一般在 5~10 μm,微拟球藻在 3~5 μm。所以,通常采用网孔小于 60 μm 的筛绢过滤,并连续过滤 2~3 d,很多大型的原生动物,例如草履虫(*Paramecium*, 180~280 μm)、大变形虫(*Amoeba proteus* Pallas, 200~600 μm)等除尽。

在微藻规模化培养过程中,为防止生物污染源的侵染和污染,可以灵活采用过滤法、化学法、改变培养环境的方法,只有对生物污染源与微藻之间相互作用的机制很了解,防治生物污染的方法才能被更好地应用^[24]。

参 考 文 献

- [1] 杨晓,梁成伟.微藻中二酰基甘油酰基转移酶基因结构及进化分析[J].华中农业大学学报,2018,37(6):30-39.
- [2] BENEMANN J R. Open ponds and closed photobioreactors-comparative economics [C]. 5th Annual World Congress on Industrial Biotechnology and Bioprocessing, Chicago, 2008.
- [3] ROSETTA C H, MCMANUS G B. Feeding by ciliates on two harmful algal bloom species, *Prymnesium parvum* and *Prorocentrum minimum*[J]. Harmful algae, 2003, 2(2):109-126.
- [4] LURLING M, BEEKMAN W. Influence of food-type on the population growth rate of the rotifer *Brachionus calyciflorus* in shortchronic assays[J]. Acta zool. Sinica, 2006, 52(1):70-78.
- [5] FREDERIKSEN M, EDWARDS M, RICHARDSON A J, et al. From plankton to top predators: bottom-up control of a marine food web across four trophic levels [J]. J. Animal ecol, 2006, 75(6):1259-1268.
- [6] LI J L, ZHANG X P, WU S Z, et al. Effects of nutrient concentrations on the growth and accumulation of exopolysaccharides of spaceflight *Dunaliella salina* [J]. J. Wuhan bot. Res, 2006, 24(2):149-153.
- [7] MORENO-GARRIDO I, CANAVATE J P. Assessing chemical compounds for controlling predator ciliates in outdoor mass cultures of the green algae *Dunaliella salina*[J]. Aquacult. Eng, 2001(24):107-114.
- [8] IMAI I, SUNAHARA T, NISHIKAWA T, et al. Fluctuations of the red tide flagellates *Chatonella* spp. (Raphidophyceae) and the algicidal bacterium *Cytophaga* sp. in the Seto Inland Sea,

- Japan[J]. Mar. Biol, 2001, 138(5):1043-1049.
- [9] MU R M, FAN Z Q, PEI H Y, et al. Isolation and algae-lysing characteristics of the algicidal bacterium B5 [J]. J Environ. Sci. , 2008, 19(11):1336-1340.
- [10] WANG B X, YANG X R, LU J L, et al. A marine bacterium producing protein with algicidal activity against *Alexandrium tamarense*[J]. Harmful algae, 2010(13):83-88.
- [11] WANG H, LIU L, LIU Z P, et al. Investigations of the characteristics and mode of action of an algalytic bacterium isolated from Tai Lake[J]. J. Appl phycol, 2010, 22(4):473-478.
- [12] ZHOU W L, QIAO X T, SUN J F, et al. Ecological effect of z-qs01 strain on chlorella vulgaris and its response to uv-b radiation stress[J]. Procedia environ. Sci, 2011(11):741-748.
- [13] JUNICHI K, JUNYA A, YOSHINORI M, et al. Development of a genetic transformation system for an algal-lysing bacterium [J]. Appl environ microbiol, 1998, 64(6):2061-2064.
- [14] KIM J D, KIM B, LEE C G. Alga-lytic activity of *Pseudomonas fluorescens* against the red tide causing marine alga *heterosigma akashiwo*[J]. Biol control, 2007(41):296-303.
- [15] KANG Y H, KIM J D, KIM B H, et al. Isolation and characterization of a bio-agent antagonistic to diatom, *Stephanodiscus hantzschii*[J]. J appl microbiol, 2005(98):1030-1038.
- [16] PIAZZI L, CECCHERELLI G. Effects of competition between two introduced *Caulerpa* [J]. Mar Ecol-Prog Ser, 2002, 225(11):189-195.
- [17] VASUDEVAN P T, BRIGGS M. Biodiesel production-current state of the art and challenges[J]. J microbiol biotechnol, 2008(35):421-430.
- [18] KAGAMI M, BRUIN A D, IBELINGS B, et al. Parasitic chytrids: their effects on phytoplankton communities and food-web dynamics[J]. Hydrobiologica, 2007(578):113-129.
- [19] JOHN G D, STEPHEN P S, MICHELE S S. Overcoming biological constraints to enable the exploitation of microalgae for biofuels[J]. Bioresour technol, 2012(109):245-251.
- [20] BOROWITZKA M A. Culturing microalgae in outdoor ponds [M]. New York:Academic Press, 2005:205-217.
- [21] 封涛, 董育红, 张振兰. 螺旋藻养殖过程中生物污染的发生与防治[J].水利渔业, 2003(5):50-51.
- [22] BECHER E W. Microalgae biotechnology microbiology [M]. Cambridge:Cambridge University Press,1994.
- [23] POST F J, BOROWITZKA L J, BOROWITZKA M A, et al. The protozoa of a Western Australian hypersaline lagoon[J]. Hydrobiologia, 1983(105):95-113.
- [24] PARK J B K, CRAGGS R J, SHILTON A N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production[J]. Biore-sour technol, 2001(102):35-42.

【责任编辑:刘少雷】