

doi:10.11918/j.issn.0367-6234.2015.04.002

微藻高 CO₂ 耐受机制及其在生物减碳领域的应用

李凤娟¹, 高大文¹, 胡晗华²
(1.城市水资源与水环境国家重点实验室(哈尔滨工业大学), 150090 哈尔滨;
2.中国科学院 水生生物研究所 藻类生物学重点实验室, 430072 武汉)

摘 要:为更好地利用微藻实现碳捕获和生物质生产,研究微藻高 CO₂ 耐受/驯化的过程及其基本机制尤为必要.综述了微藻对高 CO₂ 耐受的生理现象、可能的耐受机制及分子响应机制的研究进展,分析了耐受高 CO₂ 微藻在生物减排、生物燃料开发等领域的应用前景,指出筛选耐受高 CO₂ 微藻并结合合理利用生理和基因工程手段以达到高效固碳的目标,是解决环境问题同时提高大规模微藻培养生产力的有效途径.
关键词:生物减排;微藻;高 CO₂ 耐受;生物质转化
中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 0367-6234(2015)04-0009-06

High-CO₂ tolerance mechanisms in microalgae and application to biomitigation

LI Fengjuan¹, GAO Dawen¹, HU Hanhua²
(1.State Key Laboratory of Urban Water Resource and Environment(Harbin Institute of Technology), 150090 Harbin, China;
2.Key Laboratory of Algal Biology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 430072 Wuhan, China)

Abstract: This paper reviews the mechanisms governing high CO₂ acclimation. Acclimation of the photosynthetic apparatus and robustness of pH homeostasis in the cell, rapid shutdown of CO₂-concentrating mechanisms, and adjustment of membranes' fatty acid composition are currently believed to be the key mechanisms governing microalgae's tolerance to high CO₂ levels. The potential applications of high CO₂ tolerate microalgae in biological, bio-fuel development and other fields are analyzed. Screening species with high CO₂ tolerance and utilization of physiological and genetic engineering are effective ways to reduce CO₂ emissions and increase microalgae productivity of large-scale cultivation.
Keywords: biomitigation; microalgae; high-CO₂ tolerance; biomass conversion

随着工业的进步,人类过度依赖化石燃料,造成 CO₂ 排放量大增,导致环境恶化.作为主要的温室气体,全球 CO₂ 排放量迄今已达 290 亿 t/a,大气中 CO₂ 的质量分数也由 0.027% 上升至约 0.04%^[1].面对愈发严重的温室效应及减排需求,国内外针对 CO₂ 减量开展了许多研究,而生物法固碳作为固碳处理技术之一,是减碳的重要方向.其顺应自然法则,所需能源来自太阳能,具有安全、经济、高效等优点,是目前环境友好型 CO₂ 减

排的重要方法之一^[2].目前生物固碳的两个大方向为植物固碳和微藻固碳,而利用后者进行 CO₂ 封存被认为是降低 CO₂ 水平最环保、安全和可持续的方式.微藻生长周期短、光合效率高^[3],可以完全回收 CO₂,减少 CO₂ 排放的同时降低了培养成本.此外,微藻含油量高,还可积累多种活性物质(蛋白质、多糖和色素等),开发潜力巨大.同时,CO₂ 的微藻生物减排结合其他过程如污水处理可以变得更经济,在环境上又是可持续的^[4].由此可见,藻类在生物固碳领域具有相当广阔的应用前景.使用来源于煤-热电厂烟道气中的 CO₂ 培养微藻已经有了成功的尝试^[5].然而,由于对微藻生物减排 CO₂ 生理效应和高水平 CO₂ 驯化机制认识不足,在发展高效生物减排 CO₂ 的方法时遇到了很大难题.

收稿日期: 2014-03-20.
基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目(2011CB200901).
作者简介: 李凤娟(1982—),女,博士研究生;
高大文(1967—),男,教授,博士生导师.
通信作者: 高大文, gaodw@hit.edu.cn;
胡晗华, hanhuahu@ihb.ac.cn.

微藻固碳领域的绝大多数研究都致力于 CO_2 浓缩机制 (CCMs) 和相对较低 CO_2 水平 (<5%) 对微藻的影响. 尽管微藻耐受高 CO_2 水平这一现象已被发现超过 40 年^[6], 其机制方面的研究仍然很少. 高 CO_2 耐受/驯化是个复杂的过程, 涉及微藻细胞众多功能的调整. 了解其基本机制是富集 CO_2 以增加大规模微藻培养的生产力, 进而实现碳捕获和生物质生产的先决条件. 为此, 从利用微藻进行高效固碳的优势出发, 综述了微藻对高 CO_2 耐受的机理, 以期为更好地利用微藻进行高效 CO_2 减排提供理论依据.

1 微藻高效固碳的基础

核酮糖 - 1, 5 - 二磷酸羧化酶/加氧酶 (RubisCO) 是藻类及高等植物的固碳关键酶, 它的进化出现在 24~38 亿年前, 是地球历史上的高 CO_2 年代. 当今约 0.04% 的大气 CO_2 质量分数是光合作用的限制因素, 而光自养生物进化出了复杂的 CCMs. 通过这种机制促进 CO_2 的吸收, 使得 RubisCO 附近 CO_2 的质量分数相对于大气的水平增加 1~3 个数量级, 以保持充分的光合作用^[3]. 因此, 较低的 CO_2 质量分数, 比如 2%~5% 对于绝大多数当代光合自养生物是饱和的, 而较高的 CO_2 水平往往对其生长和光合作用有害. 正是由于微藻 RubisCO 起源的年代大气 CO_2 水平比当今要高得多, 使其具有低的 CO_2 亲和力, 从这一角度看, 微藻可以被认为是高 CO_2 适应/驯化细胞^[7]. 有些生境 CO_2 质量分数可以在大气水平和高至 10% 之间急剧变化, 如土壤表面和酸性环境等. 因而, 即使在现今 CO_2 水平下, 高 CO_2 适应对微藻仍然具有重要的生态学意义.

基于微藻对 CO_2 质量分数的耐受性可以简单地将其分成 CO_2 敏感和 CO_2 耐受两种类型. CO_2 敏感型 (不耐受) 的种类在通入小于 2%~5% CO_2 时生长和光合作用即被抑制. 耐受型的种类能够应付 5%~20% CO_2 , 能够耐受更高 CO_2 质量分数的物种被称为 CO_2 极耐受型. 尽管 CO_2 极耐受型微藻并不多见, 地球多变的生境及微藻广泛的分布使发掘出不同特性 CO_2 耐受藻株成为可能. 目前, 用于研究微藻对高 CO_2 耐受的几个常用物种包括小球藻属 (*Chlorella*)、栅藻属 (*Scenedesmus*)、微拟球藻 (*Nannochloropsis*) 和绿球藻属 (*Chlorococcum*) 的种类, 研究的 CO_2 质量分数高至 100%^[8-9]. 通常, 从极端环境中分离的物种能在很高的 CO_2 水平 (如 >40%) 下快速增长, 有的甚至在 CO_2 超过 60% 时生长才受到抑

制^[10-11]. 分离自酸性环境的微藻, 由于 CO_2 是主要的碳源, 没有胞外碳酸酐酶 (CA), 这种高 CO_2 环境下生长/驯化的细胞通常缺乏 CCMs, 但其 RubisCO 有相对较高的 CO_2 亲和力, 细胞通过利用跨细胞膜的 pH 梯度来促进 CO_2 的扩散吸收, 以保证光合作用所需的 CO_2 得到充足的供应. 在通入高 CO_2 时, 藻细胞可能先经历一个延迟期, 此时的生长速率明显低于空气培养条件时的细胞, CO_2 固定也下降, 随后, 藻的生长速度加快. 延迟期的长短与藻种及实际通入的 CO_2 质量分数有关^[12].

2 微藻耐高 CO_2 的可能机制

2.1 细胞内 pH 动态平衡的加强

高 CO_2 条件下观察到的光合作用的快速抑制, 可能是由高 CO_2 压力下叶绿体间质的酸化引起卡尔文循环的关键酶失活所致. Pronina 等^[13] 的研究表明, 海滩绿球藻 (*Chlorococcum littorale*) 即使在高达 40% 的 CO_2 水平下培养, 其细胞质中的 pH 也没有低于 7.0. 显然, 如何有效控制细胞内的 pH 对于高 CO_2 耐受至关重要, 这种控制可以通过从细胞质泵送质子进入液泡来完成. 研究证实, 高 CO_2 可以导致微藻细胞质中的液泡大小和/或数目增加, 同时伴随着 H^+ -ATP 酶活性显著增强^[14]. 此外, 对于 CO_2 耐受种, 还可以通过对硝酸盐的吸收提高培养基中的 pH. 对赫氏颗石藻 (*Emiliania huxleyi*) 和一种共生链带藻 (*Desmodesmus* sp.) 的研究表明, 细胞通过吸收硝酸盐以使培养基碱化, 从而缓解高浓度 CO_2 酸化产生的不利影响^[15]. 由此可见, 高 CO_2 驯化以及利用微藻培养捕捉烟气 CO_2 , 充足的 NO_3^- 供应是必须的.

将耐高 CO_2 的海滩绿球藻转至 40% 的 CO_2 水平培养 1 h, 细胞内的 pH 就会下降^[9], 而加入胞内 CA 抑制剂后这种效应可被消除. CA 作为 CCMs 的一个主要成分, 其活性的抑制将导致 CCMs 的完全或部分关闭. 抑制或下调 CCMs 将使得碳酸氢盐的利用受阻, 减少由此导致的胞内 pH 的降低. 许多研究显示可耐受高质量分数 CO_2 的微藻明显缺乏 CCMs. 因此, 迅速下调或关闭 CCMs 也是微藻适应高 CO_2 水平的一个重要方式.

2.2 光合器官 (PSA) 的驯化

分离自盐水池塘的海滩绿球藻能在高达 60% CO_2 水平下快速生长. 研究表明, 将这种绿球藻转移到高 CO_2 条件时, 藻细胞 PSA

(photosynthetic apparatus)发生了由状态 I 到状态 II 的快速转换,光系统 (PS) I 的循环电子传递增加,以生成维持藻细胞 pH 动态平衡所必需的额外 ATP^[16]. PSA 状态转换的一个常见原因是 NADPH 的积累导致的质体醌库的减少,这种情况通常是由于一种压力因素(如 CO₂ 质量分数升高)将光合作用暗反应抑制到一定程度而产生^[17].因此,PSI/II 比率的增加表明,高 CO₂ 耐受性需要增加 PSI 捕光天线的大小.事实上,在转移到高 CO₂ 条件的几天内,相应的变化已经在高 CO₂ 耐受微藻的 PSA 中观察到^[12].值得注意的是,该 PSI/II 比率的变化是可逆的,可以回到其初始的水平,这可能是由于微藻细胞整体驯化到高 CO₂ 或 CCM 的活性下降,导致对 ATP 的需求减少.与此相反,不耐受高 CO₂ 的杜氏盐藻 (*Dunaliella salina*) 缺乏状态转换的响应,而且在高 CO₂ 条件下出现 PSI 损伤^[18].另外,与在大气 CO₂ 水平培养相比,CO₂ 质量分数升高可减轻高 CO₂ 耐受的蛋白核小球藻 (*Chlorella pyrenoidosa*) 和斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*) 高光诱导的光抑制,且从光抑制恢复的速度更快.相反,CO₂ 敏感型的莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 光抑制在这种条件下更为明显^[7].

2.3 脂肪含量及组成的调整

通常认为,适度增加(2%~5%) CO₂ 质量分数可以促进微藻细胞的生长及脂质积累^[19].当 CO₂ 水平从 0.04% 增至 5% 时,一种栅藻 (*Scenedesmus obtusiusculus*) 细胞的中性脂质量分数从 15% 提高到 55%,相应地碳水化合物减少^[20].对其他许多绿藻的研究也得到相似的结论^[21].对 CO₂ 耐受种而言,脂质(特别是甘油三酯)可以作为过剩光合固碳产物的一个库,过量的 CO₂ 最终流向脂质的合成.由此看来,脂质合成代谢与 CO₂ 耐受密切相关.然而,不同藻种脂质变化对高 CO₂ 的响应存在差异,特别是当 CO₂ 质量分数超过 10% 后,提高 CO₂ 质量分数并不总是能增加细胞的总脂含量.研究表明,在高 CO₂ 耐受的栅藻中,提高 CO₂ 质量分数到 20%,总脂含量减少,但中性脂和胞内游离脂肪酸的含量增加.高质量分数 CO₂ 条件下,从头合成脂肪酸受到促进,总脂肪酸含量显著升高,这些脂肪酸可能流向脂酰基最终形成甘油三酯,也可能在细胞内积累.

除总脂或总脂肪酸含量的变化,提高 CO₂ 质量分数还会引起脂质和脂肪酸组成的改变.Tang 等^[22]的研究显示,增加 CO₂ 质量分数促进 C18 多不饱和脂肪酸的合成.与这一结论相反,对一种

CO₂ 敏感的盐藻的研究表明,短期的高 CO₂ 质量分数处理抑制脂肪酸的延伸与去饱和.在高 CO₂ 条件下,由于脂肪酸修饰酶类的活性可能维持不变,并不足以转换过量涌入的从头合成脂肪酸.由此导致盐藻细胞主要的半乳糖脂——单半乳糖二酰甘油酯 (MGDG) 中的 C16 饱和脂肪酸和 C18 单不饱和脂肪酸的比例增加.MGDG 中饱和脂肪酸含量的增加可能改变细胞的膜结构.

3 微藻高 CO₂ 响应的分子机制

如上所述,微藻可以通过改变其光合特性如 CCMs 来适应高 CO₂ 条件.高 CO₂ 条件下生长的一些绿藻通过丧失 CA 和无机碳主动运输系统来下调 CCMs,以避免因过量无机碳积累引起的二次抑制效应.对莱茵衣藻的研究表明,高 CO₂ 下藻细胞胞外蛋白质组成发生了急剧的变化^[23].蛋白质组学的分析显示,高 CO₂ 诱导许多配子发育相关蛋白质的表达,但其与高 CO₂ 耐受的关系并不清楚.一种可能的解释是,高 CO₂ 下生长的细胞需要更多的氮源,往往容易达到氮限制状态,在此条件下光呼吸的抑制将减少氮的固定,由此 NH₄⁺ 水平降低.细胞内 NH₄⁺ 水平的下降可以诱导莱茵衣藻配子发生相关基因的表达.

此外,对蓝藻的研究表明,CO₂ 质量分数与无机氮同化有密切的联系,可能影响细胞对氮的吸收.聚球藻 (*Synechococcus* sp.) PCC7942 高亲和碳酸盐转运子 *cnpABCD* 的分子结构与硝酸盐/亚硝酸盐转运子 *nrtABCD* 非常相似^[19].高亲和硝酸和亚硝酸盐转运子 (HANT/HANit) 的表达是由低 CO₂ 而不是 NH₄⁺ 触发的^[24].因而,在利用 CO₂ 时必须考虑无机氮的影响.

除胞内 CA 外,许多微藻还有胞外 CA.与前面分析相反,衣藻中一个定位于周质腔的 α -型 CA, CAH2 可受高 CO₂ 条件诱导.尽管表达量低,受高 CO₂ 诱导的机理仍不清楚.衣藻中一个可能与铵和/或 CO₂ 转运相关的蛋白 Rh1 也受高 CO₂ 的诱导,Rh1 表达下调的衣藻突变体在高 CO₂ 条件下的生长受到明显抑制^[25].

与研究较多的低 CO₂ 诱导机制相比,微藻在分子水平上对高 CO₂ 响应机制的研究才刚刚开始.深入研究微藻对高 CO₂ 响应的机制,有助于理解微藻如何响应环境 CO₂ 升高,也利于揭示细胞的整个代谢网络如何调控,以合理通过各种手段提高固碳效率,为大规模养殖藻类时最大化高 CO₂ 条件下的藻生物量提供理论依据.根据已有的研究进展,Baba 等^[7]总结了高 CO₂ 下衣藻的碳

利用及光呼吸.图 1 显示,高 CO_2 下 HCO_3^- 不能直接由胞外转运至胞内,而胞外 CA 可能上调,碳以 CO_2 的形式经自由扩散或 Rh 主动运输进入细胞内,胞内的 CA 可能活性下调或降解, CO_2 依次进入叶绿体的蛋白核中,在 RubisCO 作用下固定形成有机物.高 CO_2 下藻细胞的光呼吸受到抑制.

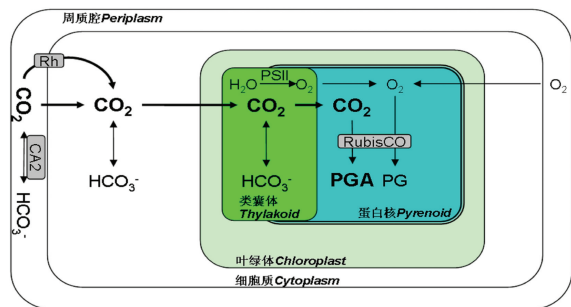


图 1 高 CO_2 下莱茵藻对碳利用的模式^[7]

4 耐高 CO_2 微藻培养的应用

电厂烟道气是 CO_2 、 N_2 、 O_2 、 SO_x 、 NO_x 和粉尘等的混合物,其中 CO_2 质量分数可达 15%^[26],是 CO_2 排放的主要来源之一,占全球 CO_2 排放量的 7% 以上^[27].通常, SO_x 和 NO_x 对藻类的培养也有不利影响^[28].如果含高质量分数 CO_2 的烟道气不经预处理直接用于培养微藻,将简化培养程序,同时可降低生产成本.已有利用蓝藻和绿藻进行烟气减排的研究报道,根据这些结果,许多耐高质量分数 CO_2 微藻对中等水平的 SO_x 和 NO_x (体积分数约 150×10^{-6}) 也具有良好的耐受性^[29-30].Yoshihara 等^[31]报道,微拟球藻在通入 100×10^{-6} 的 NO 时可以正常生长.Matsumoto 等^[32]的研究表明,扁藻 (*Tetraselmis* sp.) 可耐受含 185×10^{-6} 的 SO_x 和 125×10^{-6} 的 NO_x 以及 14.1% CO_2 的烟道气.岳丽宏等^[9]筛选出一株小球藻 ZY1 可在 10%~15% 的 CO_2 环境中保持旺盛生长,还可耐受 50×10^{-6} 的 SO_2 和 300×10^{-6} 的 NO . CO_2 生物减排的另一个重要功效是在 CO_2 固定过程中产生的生物质可以被转化为生物燃料.尽管生物燃料生产成本远高于化石燃料,且微藻培养过程中消耗与产出的能量相当,但生物燃料包括微藻生物质在替代减排上的潜力巨大,使得微藻生物质仍被认为是最有前途的生物燃料之一.利用高 CO_2 培养微藻在提高生物量的同时可增加油脂产率,进而控制培养成本.Chiu 等^[21]的结果表明,半连续系统中的眼点微拟球藻 (*N. oculata*) 在通入 5%~15% 的 CO_2 质量分数下生长良好,脂质积累从对数期的 31% 增加至稳定期的 50%.Kishimoto 等^[33]利用 CO_2 作为碳源,培养 1 周后杜氏盐藻生

物产量达 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,显示出其有效的生物燃料生产和固定 CO_2 的能力.杜氏盐藻是一种嗜盐绿藻,可在无需消毒的高盐度条件(氯化钠水溶液 6%)下生长,在大规模培养同时进行 CO_2 减排时具有很大的优势.此外,还可以积累高达 10% 以上的 β -胡萝卜素,为生物减排 CO_2 提供了商业利益的新途径.因而,将生物燃料生产、 CO_2 减排和高附加值的次生代谢物的生产结合起来,是实现利用微藻进行经济减排的有效途径.

另外,微藻 CO_2 的固定还可与废水处理相结合进行.Yun 等^[34]用从炼钢厂排出的废水培养普通小球藻 (*C. vulgaris*),当藻类通入 15% 的 CO_2 培养时,不控制 pH,在废水中补充一定量的磷, CO_2 固定率可达 $0.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,氨的去除率为 $22 \text{ g} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{d}^{-1}$.市政废水的处理非常昂贵且在技术上有挑战性,微藻培养可以转移污水中的 N 和 P,有助于避免河流与湖泊富营养化的危害.刘玉环等^[35]尝试利用高产油栅藻 (*Scenedesmus dimorphus*) 进行市政废水处理和火电厂烟道气利用.结果显示,在高达 33.3% 的 CO_2 条件下,该栅藻可以高效利用市政废水中的 N 和 P.污水处理和微藻 CO_2 固定的组合,提供了生物固碳,从废水中除去氮、磷和金属,同时获得生物燃料的途径,且无需使用宝贵的淡水资源,既可节约营养物质又可带来环境效益.

5 结语与展望

许多微藻能耐受中等水平的 CO_2 ,而能够耐受极端 CO_2 质量分数 (20%~40% 或更高) 的物种不常见.因而,为利用微藻高效捕获 CO_2 ,首先需要分离出更多高 CO_2 耐受的微藻种类.欲实现污水处理与微藻固碳的结合,可考虑在污水处理单元分离筛选更快利用氮、磷等营养物的藻种.其次,通过深入研究微藻对高 CO_2 耐受的机制,以利用生理或遗传手段应对高 CO_2 的伤害也是行之有效的方法.

基于高 CO_2 耐受和有效利用温度较高的烟道气考虑,可以从如间歇泉和温泉等极端环境分离藻种.培养时可增加培养基中硝酸盐浓度以及利用基因工程技术下调 CCMs 等手段增进微藻对高 CO_2 的耐受力,还可进一步改造细胞的脂质代谢,使过剩的光合固碳产物快速贮存在脂质中,提高微藻生物质作为生物燃料的价值.

总之,尽管对微藻高 CO_2 耐受的研究已有一些进展,对其机制的了解还不够深入.利用目前快

速发展的“组学”工具可望阐明微藻高CO₂耐受的机理,并最终为高效利用微藻固碳提供有力的理论支撑。

参考文献

- [1] 邝生鲁. 全球变暖与二氧化碳减排[J]. 现代化工, 2007, 27(1): 1-12.
- [2] 司建伟, 何少华, 周雪飞, 等. 水生微藻固定空气中CO₂的研究进展[J]. 环境保护科学, 2009, 35(5): 1-4.
- [3] BILANOVIC D, ANDARGATCHEW A, KROEGER T, et al. Freshwater and marine microalgae sequestering of CO₂ at different C and N concentrations: response surface methodology analysis[J]. Energy Conversion and Management, 2009, 50(2): 262-267.
- [4] KUMAR A, ERGAS S, YUAN X, et al. Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions [J]. Trends in Biotechnology, 2010, 28(7): 371-380.
- [5] KOBERG M, COHEN M, BEN-AMOTZ A, et al. Biodiesel production directly from the microalgae biomass of *Nannochloropsis* by microwave and ultrasound radiation[J]. Bioresource Technology, 2011, 102(5): 4265-4269.
- [6] SOLOVCHENKO A, KHOZIN-GOLDBER I. High-CO₂ tolerance in microalgae: possible mechanisms and implications for biotechnology and bioremediation [J]. Biotechnology Letters, 2013, 35(11): 1745-1752.
- [7] BABA M, SHIRAIWA Y. High-CO₂ response mechanisms in microalgae[J]. Tech Rijeka, 2012, 2: 299-320.
- [8] OLAIZOLA M. Microalgal removal of CO₂ from flue gases: changes in medium pH and flue gas composition do not appear to affect the photochemical yield of microalgae cultures [J]. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2003, 8(6): 360-367.
- [9] 岳丽宏, 陈为公, 李建国, 等. 烟气环境条件下小球藻的生长及其 CO₂ 固定 [J]. 青岛理工大学学报, 2005, 26(6): 15-19.
- [10] SATOH A, KURANO N, HARAYAMA S, et al. Effects of chloramphenicol on photosynthesis, protein profiles and transketolase activity under extremely high CO₂ concentration in an extremely-high-CO₂-tolerant green microalga, *Chlorococcum littorale* [J]. Plant and Cell Physiology, 2004, 45(12): 1857-1862.
- [11] 徐敏, 陈珊, 刘国祥, 等. 极高 CO₂ 胁迫对被甲栅藻 (*Scenedesmus armatus*) 生理活性和细胞结构影响 [J]. 植物科学学报, 2004, 22(5): 439-444.
- [12] SATOH A, KURANO N, SENGHER H, et al. Regulation of energy balance in photosystems in response to changes in CO₂ concentrations and light intensities during growth in extremely-high-CO₂-tolerant green microalgae [J]. Plant and Cell Physiology, 2002, 43(4): 440-451.
- [13] PRONINA N, KODAMA M, MIYACHI S. Changes in intracellular pH values in various microalgae induced by raising CO₂ concentrations [M]. Yokohama: Furuya M (ed) XV International Botanical Congress, 1993: 419.
- [14] SASAKI T, PRONINA N A, MAESHIMA M, et al. Development of vacuoles and vacuolar H⁺-ATPase activity under extremely high CO₂ conditions in *Chlorococcum littorale* cells [J]. Plant Biology, 1999, 1(1): 68-75.
- [15] FUKUDA S, SUZUKI I, HAMA T, et al. Compensatory response of the unicellular-calcifying alga *Emiliania huxleyi* (Coccolithophorales, Haptophyta) to ocean acidification [J]. Journal of Oceanography, 2011, 67(1): 17-25.
- [16] MIYACHI S, IWASAKI I, SHIRAIWA Y. Historical perspective on microalgal and cyanobacterial acclimation to low-and extremely high-CO₂ conditions [J]. Photosynthesis Research, 2003, 77(2/3): 139-153.
- [17] STRASSER R, TSIMILLI-MICHAEL M, SRIVASTAVA A. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient [M]. Dordrecht: Springer, 2004: 321-362.
- [18] MURADYAN E A, KLYACHKO-GURVICH G L, TSOGLIN L N, et al. Changes in lipid metabolism during adaptation of the *Dunaliella salina* photosynthetic apparatus to high CO₂ concentration [J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2004, 51(1): 53-62.
- [19] BADGER M R, PRICE G D. CO₂ concentrating mechanisms in cyanobacteria: molecular components, their diversity and evolution [J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(383): 609-622.
- [20] TOLEDO-CERVANTES A, MORALES M, NOVELO E, et al. Carbon dioxide fixation and lipid storage by *Scenedesmus obtusiusculus* [J]. Bioresource Technology, 2013, 130: 652-658.
- [21] CHIU S Y, KAO C Y, TSAI M T, et al. Lipid accumulation and CO₂ utilization of *Nannochloropsis oculata* in response to CO₂ aeration [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(2): 833-838.
- [22] TANG D, HAN W, LI P, et al. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(3): 3071-3076.
- [23] BABA M, SUZUKI I, SHIRAIWA Y. Proteomic analysis of high-CO₂-inducible extracellular proteins in the unicellular green alga, *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. Plant and Cell Physiology, 2011, 52(8): 1302-1314.

- [24] REXACH J, MONTERO B, FERNANDEZ E, et al. Differential regulation of the high affinity nitrite transport systems III and IV in *Chlamydomonas reinhardtii*[J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274 (39): 27801-27806.
- [25] SOUPENE E, INWOOD W, KUSTU S. Lack of the Rhesus protein Rh1 impairs growth of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* at high CO₂ [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101(20): 7787-7792.
- [26] MAEDA K, OWADA M, KIMURA N, et al. CO₂ fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae [J]. Energy Conversion and Management, 1995, 36(6) : 717-720.
- [27] SAKAI N, SAKAMOTO Y, KISHIMOTO N, et al. Chlorella strains from hot springs tolerant to high temperature and high CO₂[J]. Energy Conversion and Management, 1995, 36(6): 693-696.
- [28] 张一昕, 赵兵涛, 熊锴彬, 等. 微藻固定燃烧烟气中 CO₂ 的研究进展[J]. 生物工程学报, 2011, 27(2): 164-171.
- [29] MATSUMOTO H, HAMASAKI A, SHIOJI N, et al. Influence of CO₂, SO₂ and NO in flue gas on microalgae productivity [J]. Journal of Chemical Engineering of Japan, 1997, 30(4) : 620-624.
- [30] 徐少琨, 张峰, 向文洲, 等. 微藻应用于煤炭烟气减排的研究进展[J]. 地球科学进展, 2011, 26(9): 944-953.
- [31] YOSHIHARA K I, NAGASE H, EGUCHI K, et al. Biological elimination of nitric oxide and carbon dioxide from flue gas by marine microalga NOA-113 cultivated in a long tubular photobioreactor [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1996, 82(4): 351-354.
- [32] MATSUMOTO H, SHIOJI N, HAMASAKI A, et al. Carbon dioxide fixation by microalgae photosynthesis using actual flue gas discharged from a boiler [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1995, 51(1): 681-692.
- [33] KISHIMOTO M, OKAKURA T, NAGASHIMA H, et al. CO₂ fixation and oil production using micro-algae [J]. Journal of Fermentation and Bioengineering, 1994, 78(6): 479-482.
- [34] YUN Y S, LEE S B, PARK J M, et al. Carbon dioxide fixation by algal cultivation using wastewater nutrients[J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1997, 69(4): 451-455.
- [35] 刘玉环, 阮榕生, 孔庆学, 等. 利用市政废水和火电厂烟道气大规模培养高油微藻[J]. 生物加工过程, 2008, 6(3): 29-33.

(编辑 刘 彤)