

抗氧化剂耦合非生物胁迫调控微藻油脂 和类胡萝卜素合成的研究进展

顾 聃, 赵永腾, 乔腾生, 余旭亚

(昆明理工大学 生命科学与技术学院, 昆明 650500)

摘要:微藻代谢物产率低的问题制约了微藻的产业化发展,近年来利用抗氧化剂耦合非生物胁迫成为有效解决微藻代谢物产率低的方法之一。为了对微藻在非生物胁迫条件下高效合成油脂和类胡萝卜素提供新的思路,综述了抗氧化剂耦合非生物胁迫调控微藻合成油脂和类胡萝卜素的研究进展,并进一步分析了抗氧化剂调控次级代谢产物合成和微藻细胞抗性的作用机制。抗氧化剂可通过调控微藻细胞内氧化还原平衡、信号转导和相关基因的转录水平,维持微藻生长,促进代谢产物的积累,并缓解氧化损伤。

关键词:微藻;生物量;油脂;类胡萝卜素;抗氧化剂;非生物胁迫

中图分类号:Q939.97;O69

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2022)07-0132-07

Progress on combination of antioxidant and abiotic stress in the regulation of lipid and carotenoid production in microalgae

GU Dan, ZHAO Yongteng, QIAO Tengsheng, YU Xuya

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: The low yield of microalgae metabolites restricts the industrialization development of microalgae. Recently, coupling of antioxidant and abiotic stress is an efficient method to cope with the low yield of metabolites by microalgae. In order to provide new ideas for the efficient synthesis of lipid and carotenoid by microalgae under abiotic stress conditions, the research progress on the effects of combined antioxidant and abiotic stresses in regulating lipid and carotenoid synthesis by microalgae were reviewed, and the mechanism of action of antioxidants in regulating the synthesis of secondary metabolites and resistance of algal cells was further analyzed. It can be concluded that antioxidants could maintain the growth of microalgae, promote the accumulation of metabolites, and alleviate oxidative damage by regulating intracellular redox balance, signal transduction and the transcription level of related genes.

Key words: microalgae; biomass; lipid; carotenoid; antioxidant; abiotic stress

近年来,生物质资源受到了人们的广泛关注,其中微藻生物质作为一种绿色可持续性原料,已成为传统陆生植物生产可再生化学品和生物燃料的有效替代者^[1]。微藻的细胞结构简单,具有生长速度

快、光合效率高、CO₂净排放、不与人争粮、不与粮争地等优点,并且在温室气体减排方面有着巨大的经济价值和应用潜能^[2]。此外,微藻的代谢产物种类丰富而且应用广泛,如:栅藻、三角褐指藻、单针藻等可以积累油脂,可作为生物柴油的潜在原料^[3];雨生红球藻可以生产属于类胡萝卜素的虾青素,在食品、化妆品等领域中被大量使用^[4];螺旋藻中的藻蓝蛋白,是一种天然的食物色素,可用作保健品^[5];小球藻中的叶黄素,也是一种天然类胡萝卜素,具有多种保健功能^[6]。微藻油脂和类胡萝卜素在微藻

收稿日期:2021-07-19;修回日期:2022-03-02

基金项目:国家自然科学基金项目(32160868)

作者简介:顾 聃(1997),男,硕士研究生,研究方向为微藻资源开发(E-mail) gudangu@126.com。

通信作者:余旭亚,教授,博士(E-mail) xuya_yu@163.com。

代谢产物中具有较高的附加值,近年来被广泛研究。

虽然微藻可大量积累油脂或类胡萝卜素等高附加值代谢产物,但其产率低、生产成本低,一直是制约微藻规模化生产的主要问题。传统的诱导微藻次级代谢产物积累的方式包括改变培养条件、非生物胁迫、添加化学诱导剂等,其中非生物胁迫是最常用的诱导方式之一,主要包括营养缺乏胁迫、高盐胁迫、高光胁迫、重金属胁迫等^[7-10]。虽然非生物胁迫可诱导微藻油脂或类胡萝卜素的合成,但常常会抑制微藻细胞的生长^[11],从而影响其整体的产率。有研究表明化学诱导剂耦合非生物胁迫,可在维持微藻细胞生长的同时促进微藻细胞中高附加值代谢产物的积累,是一种非常有效且经济的方法^[12-13]。抗氧化剂是一类可减轻细胞氧化损伤的化学诱导剂,能够在生物体内通过调控电子转移、络合金属离子、影响基因表达等起作用^[14]。此外,在非生物胁迫下,外源添加抗氧化剂,对提高微藻代谢产物产量和胁迫耐受性有正调控的作用^[15]。

为了对微藻高效合成油脂和类胡萝卜素提供新的思路,同时为利用基因工程改造微藻提供新的靶点,本文首次较为全面地综述了抗氧化剂耦合非生物胁迫对微藻积累油脂和类胡萝卜素的作用,并分析了抗氧化剂调控微藻合成高附加值代谢产物的作用机制。

1 非生物胁迫

应用于微藻培养的非生物胁迫方法有很多,其中营养缺乏,包括氮、磷等元素的缺乏,已经被广泛用于促进微藻油脂和类胡萝卜素的积累^[7]。尤其是在氮缺乏条件下^[16],微藻的生长受限,并积累大量活性氧(ROS),为应对这种不利条件,一些微藻能够大量地积累油脂^[16-18],还有一些微藻能积累虾青素以及其他类胡萝卜素^[7, 19-20]。研究表明,氮缺乏引发的氧化应激促进了栅藻 *Acutodesmus dimorphus* 中脱落酸(ABA)和吲哚-3-乙酸(IAA)的生物合成^[21],它们作为植物激素可以调节微藻在非生物胁迫下的生命活动,从而提高微藻的抗逆能力,促进高附加值代谢产物的积累^[11, 22]。

此外,由于盐的廉价和易获得性,使高盐胁迫成为培养微藻的普遍方式之一,并且高盐胁迫对微藻积累高附加值代谢产物的效果也十分显著^[23]。以微藻积累油脂为例,高盐胁迫下衣藻 *Chlamydomonas* sp. JSC4 中大量丙酮酸会转化为乙酰辅酶A,可为油脂生物合成提供更多的前体物质,同时微藻中脂质生物合成和淀粉降解相关基因表达上调,使微藻中的碳流向发生改变,由合成碳水化合物转向合成油脂^[24]。马瑞娟等^[25]的研究也证明,高盐胁迫下减少了小球藻

Chlorella sorokiniana FZU60 中碳水化合物的含量,促进了蛋白质和油脂的积累。

光照作为复杂的一类环境因子,主要影响藻类的光合作用、细胞组成和代谢途径^[9]。当微藻细胞受到强光照射时,光合电子传递链中的过量电子诱导会产生大量 ROS,从而导致光合作用受到抑制、色素共氧化、脂质过氧化、膜被破坏和蛋白质变性^[9]。为了减轻和修复 ROS 造成的损害,微藻细胞中通常会清除自由基的非酶抗氧化剂(如 β -胡萝卜素)和抗氧化酶[如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)]^[26]。研究表明,在高光照条件下雨生红球藻会大量积累具有抗氧化作用的虾青素^[15, 19, 27]。He等^[9]的研究证明,在高光照条件下小球藻 *Chlorella* sp. L1 和单针藻 *Monoraphidium dybowskii* Y2 中的抗氧化酶活性显著提高,同时伴随着油脂的大量积累。

高浓度的重金属对微藻的影响有很多方面,如抑制微藻生长,导致形态、代谢和生理异常^[28],影响碳水化合物、核酸或蛋白质水平^[29],导致 ROS 积累,引起氧化应激,造成微藻细胞损伤等^[30]。但在高浓度重金属存在的培养条件下,微藻会通过积累如油脂、虾青素这种保护性物质来应对重金属胁迫环境^[28]。Yang等^[29]发现在0.2~0.6 mmol/L 镉处理下,微拟小球藻 *Chlorella minutissima* UTEX2341 油脂含量显著增加。同时,Zhao等^[28]的研究也证实,单针藻 *Monoraphidium* sp. QLY-1 在镉胁迫下能促进油脂积累,80 $\mu\text{mol/L}$ 的镉胁迫下油脂含量比对照增加了1.59倍。

尽管非生物胁迫对微藻积累高附加值代谢产物的作用十分显著,但会对微藻的生长造成不利影响,这也局限了微藻的产业化发展^[11]。为减轻这一弊端,外源添加抗氧化剂是一个有效的策略^[31]。在非生物胁迫下外源添加抗氧化剂可以增强微藻的抗逆性,促进微藻生长,同时协调微藻生长和代谢产物积累之间的关系。

2 抗氧化剂耦合非生物胁迫促进微藻积累油脂和类胡萝卜素的作用

抗氧化剂是一类可以清除自由基的物质,应用在微藻培养上可以减轻非生物胁迫对微藻细胞的氧化损伤,使微藻可以在胁迫条件下维持正常的生长和代谢活动^[32]。此外,抗氧化剂还可以促进微藻次级代谢产物的积累,从而增加生物量和代谢产物得率^[15]。近年来应用在微藻上的抗氧化剂有两类,包括可作为食品添加剂的二丁基羟基甲苯(BHT)、丁基羟基茴香醚(BHA)和多酚类的抗氧化剂表没食子儿茶素没食

子酸酯(EGCG),以及属于植物生长调节剂的褪黑素(MT)、甜菜碱(GB)和黄腐酸(FA)。

2.1 食品添加剂型抗氧化剂

2.1.1 二丁基羟基甲苯(BHT)

BHT是一种白色结晶物质,具有抗氧化和防腐等作用^[33]。BHT可通过上调微藻细胞中抗氧化酶(SOD、CAT和POD)的活性以及抗氧化剂谷胱甘肽(GSH)的水平,来保护微藻细胞免受非生物胁迫带来的氧化损伤^[15]。Zhao等^[15]研究表明,相比于高光照和缺氮条件的对照组,用BHT处理雨生红球藻*H. pluvialis* LUGU,可以在不影响生物量的基础上,明显提高细胞内虾青素的含量,同时BHT处理后内源性NO的含量显著升高,与虾青素含量变化趋势相符。有研究表明,提高胶球藻*Coccomyxa subellipsoidea*中NO的含量能刺激次级代谢产物的积累^[34];此外,外源添加NO供体可提高微藻在镉胁迫下的抗性^[35]。上述研究说明NO是BHT调控微藻积累代谢产物过程中的重要信号分子,BHT耦合非生物胁迫是促使微藻积累次级代谢产物的有效方式。

2.1.2 丁基羟基茴香醚(BHA)

BHA是一种白色或微黄色结晶状物,被广泛应用于各种食品和药品中,因其明确的抗氧化性被广泛认可^[36]。Franz等^[32]发现BHA可用于光氧化保护的氧化信号通路的新探针,加强了盐藻*N. salina*的光保护。Ding等^[37]研究表明,BHA可以参与调控雨生红球藻*H. pluvialis* LUGU中糖酵解、三羧酸循环、氨基酸代谢和磷脂酰肌醇等关键代谢通路,同时上调虾青素和脂肪酸关键酶基因的表达,并降低胞内ROS的水平,从而增加虾青素和油脂含量。同时有研究证明,BHA通过参与代谢调控提高了寇式隐甲藻*Cryptocodinium cohnii*的油脂合成^[31]。另外,外源添加2 mg/L BHA促进了氮缺乏和高光照条件下雨生红球藻*H. pluvialis* LUGU虾青素和脂肪酸的生物合成,虾青素最高含量达到29.03 mg/g,是对照组的2.03倍,此外观测到了类胡萝卜素合成相关基因转录水平的上调^[38]。由此可知,BHA可调控微藻关键代谢通路和酶基因的表达,促进高附加值代谢产物的积累。

2.1.3 表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)

多酚类化合物都具有良好的抗氧化活性,其中表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)是从绿茶中提取的一种多酚,具有抗氧化、抗癌、抗突变等活性^[39]。近年来,EGCG也被应用于调控微藻的生长和代谢。

EGCG是2-连苯酚基苯并吡喃与没食子酸形成的酯,具有酚类抗氧化剂的通用性,同时因其结构

中有6个邻位酚羟基而有优于其他儿茶素的许多性质^[40]。因此,EGCG可作为强有力的抗氧化剂在微藻油脂积累过程中防止脂质过氧化^[32],并且EGCG与微藻自身合成的抗氧化成分共同作用而产生的抗氧化环境对维护细胞内稳态十分有效^[41]。此外,EGCG可以参与调节光氧化应激途径,从而减少光氧化胁迫,提高光合作用效率^[32]。研究表明,在氮缺乏条件下外源添加EGCG能维持藻细胞的生长,并且能显著增加油脂含量^[14]。Franz等^[32]研究同样证明,添加EGCG增加了实验中涉及到的4株微藻(*Nannochloropsis salina*, *Nannochloropsis oculata*, *Nannochloris* sp, *Phaeodactylum tricornutum*)细胞的生长速率和油脂含量。因此,EGCG能促进微藻在胁迫环境中的生长,同时可以提高次级代谢产物得率。

2.2 植物生长调节剂型抗氧化剂

植物生长调节剂作为一类可以调控植物生长发育的物质被人们熟知,其中一些植物生长调节剂具有抗氧化功能,如褪黑素(MT)、甜菜碱(GB)和黄腐酸(FA),它们可以调控微藻在非生物胁迫下的代谢活动,维持内环境稳态,促进微藻的生长和次级代谢产物合成。

2.2.1 褪黑素(MT)

MT是一种吲哚环类化合物,为N-乙酰基-5-甲氧基色胺,具有极强的清除氧/氮自由基的功能,同时它还能通过激发细胞内抗氧化系统间接清除氧/氮自由基,从而增强植物对非生物胁迫的抗性^[42-43]。此外,MT也是一种在植物发育过程和多种生物、非生物胁迫应答过程中重要的信号分子^[44]。所以,MT在植物和微藻的生命活动中发挥着多种功能,如激活抗氧化系统、缓解非生物胁迫导致的氧化损伤、参与信号转导和细胞代谢过程等^[20, 45]。研究表明,外源MT调控了胁迫条件下微藻中信号分子NO、ROS和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)的信号转导和应激激素水平,并上调了与油脂和类胡萝卜素合成相关基因的表达,从而促进了油脂和虾青素的合成^[12, 19-20]。Ding等^[19]研究表明,在高光缺氮的条件下,10 μmol/L MT诱导雨生红球藻*H. pluvialis* LUGU,虾青素含量可达31.32 mg/g,是对照组的2.36倍,与虾青素合成基因(*dxs*, *ipi-1*, *pds*, *ptox2*, *bkt2*)的变化趋势一致。因此,MT可以作为信号分子调控氧化胁迫和相关信号转导途径,上调与油脂和类胡萝卜素合成相关基因的表达,从而提高非生物胁迫下微藻的代谢产物含量及胁迫抗性。

2.2.2 甜菜碱(GB)

GB是一种植物生长调节剂,可参与微藻细胞

对多种胁迫条件的响应^[46]。GB能有效稳定酶和复杂蛋白质的空间结构,并能在非生理温度和高盐胁迫下维持膜的高度有序状态^[47],从而增强植物的抗逆性。Kurepin等^[48]研究发现,在非生物胁迫下GB和应激激素相互作用保护了光合作用的正常进行,维持了胁迫条件下植物细胞的正常发育。Zhao等^[46]研究表明,在高光条件下以5 mmol/L GB处理单针藻 *Monoraphidium* sp. QLY-1,其生物量保持在较高水平,说明GB在非生物胁迫下维持了微藻细胞的正常生长发育,此外微藻的油脂产率最大达到了121.27 mg/(L·d),是对照组的1.27倍,并且细胞的ROS水平显著上升,这可能与油脂的合成相关。Wang等^[49]研究发现,GB可以调控通过光合作用参与碳固定的关键酶基因的表达,以及油脂合成相关基因的表达,从而调控微藻代谢产物的积累。因此,GB通过保护细胞结构以及调控应激激素水平,共同参与维持微藻细胞在非生物胁迫下的生命活动,并通过调控基因表达和信号分子水平来促进油脂等次级代谢产物的积累。

2.2.3 黄腐酸(FA)

FA作为植物生长调节剂,参与调控细胞膜透性、光合作用、氧吸收、呼吸作用和磷酸盐吸收等生理活动,并能调控应激激素水平,增强次级代谢产物的积累^[50]。同时,FA在细胞信号转导中也发挥着重要作用,通过调节抗氧化系统,可以减少氧化损伤^[51]。Zhao等^[52]在高光照和氮缺乏条件下,利用FA诱导雨生红球藻 *H. pluvialis* 积累虾青素,发现FA可通过上调虾青素合成相关基因的转录水平,促进雨生红球藻中虾青素的合成,同时在一定程度上促进微藻细胞的生长。FA通过调控高盐胁迫下微藻细胞内ROS水平、GSH含量和油脂合成相关基因的表达水平,以及NO和MAPK的水平,提高微藻的胁迫耐受性,并显著增加次级代谢产物的积累^[53]。Li等^[54]使用20 g/L NaCl耦合25 mg/L FA处理单针藻 *Monoraphidium* sp. QLY-1,发现油脂含量最高达到59.53%,比对照组提高了1.46倍。因此,与MT相似,FA同样可激活胁迫条件下的抗氧化系统,调控基因的表达,从而缓解氧化胁迫,促进微藻中油脂和虾青素的积累。

3 抗氧化剂调控微藻抗逆和次级代谢产物合成的作用机制

大多数非生物胁迫都可引起微藻细胞内ROS水平的上升^[7-8]。ROS作为一种信号分子,能激活微藻细胞内应对多种非生物胁迫的防御反应,并增

强次级代谢产物的积累^[55]。同时ROS能激发抗氧化体系,以清除细胞内过量的ROS,从而缓解非生物胁迫导致的氧化损伤,保持细胞处于氧化还原平衡状态^[21, 56]。但非生物胁迫引发ROS的大量迸发可能会超出微藻细胞的承受能力,从而造成细胞的结构被破坏,导致细胞凋亡^[7]。外源添加抗氧化剂可以缓解细胞中过高的ROS水平。

在非生物胁迫下,外源抗氧化剂诱导的微藻代谢产物积累总是与抗氧化系统的激活以及ROS水平的降低有关^[20, 57]。抗氧化剂可以增加微藻内抗氧化酶(如SOD、POD和CAT)和一些抗氧化剂(如谷胱甘肽、类胡萝卜素等)的水平,以清除过量的ROS^[12, 20]。像MT这种天然的抗氧化剂,不仅可以直接清除过量的ROS,而且还可以在缺氮的条件下激活微藻细胞中的抗氧化系统来维持细胞在缺氮环境下的生长^[12]。

抗氧化剂也参与调控信号转导途径,包括NO、Ca²⁺和应激激素等信号^[58],它们构成了一个与生长、代谢和胁迫耐受性有关的信号网络^[59]。其中NO和Ca²⁺作为第二信使,介导微藻在非生物胁迫条件下的氧化应激和代谢产物的合成^[60]。有研究报道了Ca²⁺信号通过增强钙调蛋白的活性和增加钙传感器蛋白质的表达水平来调节缺氮胁迫下衣藻中脂质的生物合成^[61]。

综上所述,抗氧化剂通过调控微藻细胞内抗氧化系统,清除细胞内过量的ROS^[15],维持细胞内稳态。此外,抗氧化剂还能刺激细胞内应激激素水平上调^[59],调控关键信号分子NO、Ca²⁺等水平,引发一系列的信号转导和级联反应^[60],从而激活相关转录因子,上调与次级代谢产物合成相关基因的转录水平,进而促进次级代谢产物的积累。外源抗氧化剂调控微藻细胞在非生物胁迫下的耐受性和次级代谢产物积累的可能机制如图1所示。

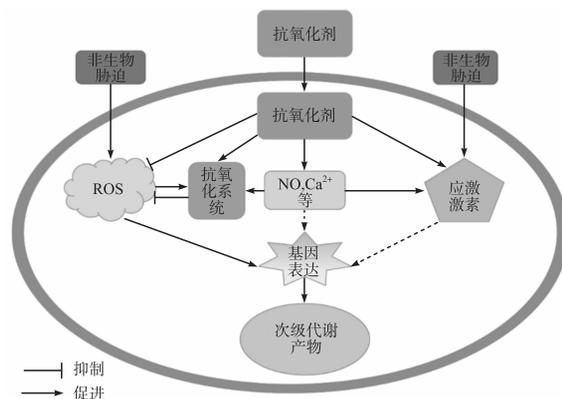


图1 外源抗氧化剂调控微藻在非生物胁迫下的耐受性和次级代谢产物积累的可能机制

4 结 语

提高微藻油脂和类胡萝卜素产率是推进微藻高附加值代谢产物规模化生产的关键之一。非生物胁迫会促进微藻中代谢产物的积累,但是会造成一些负面影响,而抗氧化剂耦合非生物胁迫可在维持甚至提高微藻生物量的同时进一步促进次级代谢产物的积累。这可能是因为抗氧化剂参与调节了抗氧化系统、复杂的信号分子转导和内源激素水平,并调控了次级代谢产物合成关键基因的表达,从而提高了微藻的胁迫抗性和次级代谢产物产量。此外,抗氧化剂对微藻生长、代谢和氧化胁迫的调控作用机制尚不完全清楚,内源抗氧化剂如何发挥作用也有待深入研究。因此,对于未来抗氧化剂应用于诱导微藻高效合成油脂、类胡萝卜素和其他高附加值代谢产物,可能有以下重点研究方向:①对抗氧化剂调节信号分子介导的微藻油脂、类胡萝卜素大量合成和微藻细胞胁迫抗性增强的分子机制还有待深入研究,为利用抗氧化剂耦合非生物胁迫条件促进微藻合成高附加值代谢产物具有十分重要的意义;②不同的抗氧化剂对微藻积累高附加值代谢产物的作用也不尽相同,寻找高效、廉价且安全的抗氧化剂是未来的一个发展方向,比如具有抗氧化活性的植物生长调节剂等;③随着分子机制的深入研究,可筛选关键抗性基因和调控因子,为基因工程改造微藻提供新的靶点。

参考文献:

- [1] BRENNAN L, OWENDE P. Biofuels from microalgae: a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products[J]. *Renew Sust Energ Rev*, 2010, 14(2): 557-577.
- [2] PAVLIK D, ZHONG Y, DAIEK C, et al. Microalgae cultivation for carbon dioxide sequestration and protein production using a high-efficiency photobioreactor system[J]. *Algal Res*, 2017, 25: 413-420.
- [3] 聂煜东, 耿媛媛, 张贤明, 等. 产油微藻胁迫培养策略研究综述[J]. *中国环境科学*, 2021, 41(8): 3853-3866.
- [4] 崔红利, 许文鑫, 崔玉琳, 等. 光诱导雨生红球藻虾青素积累的信号通路转录组分析[J]. *生物工程学报*, 2021, 37(4): 1260-1276.
- [5] 任顺成, 曹悦, 李林政, 等. 天然食用色素藻蓝蛋白研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(7): 203-208.
- [6] 陕梦迪, 张芳, 张怡, 等. 微藻产叶黄素研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(6): 210-217.
- [7] PALIWAL C, MITRA M, BHAYANI K, et al. Abiotic stresses as tools for metabolites in microalgae [J]. *Bioresour Technol*, 2017, 244: 1216-1226.
- [8] CHEN B L, WAN C, MEHMOOD M A, et al. Manipulating environmental stresses and stress tolerance of microalgae for enhanced production of lipids and value-added products: a review[J]. *Bioresour Technol*, 2017, 244: 1198-1206.
- [9] HE Q N, YANG H J, WU L, et al. Effect of light intensity on physiological changes, carbon allocation and neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 191: 219-228.
- [10] ACUNA V, GINEBREDA A, MOR J R, et al. Balancing the health benefits and environmental risks of pharmaceuticals: diclofenac as an example[J]. *Environ Int*, 2015, 85: 327-333.
- [11] 项琦, 姚长洪, 谢成林, 等. 植物激素调控微藻储能物质积累研究进展[J]. *生物加工过程*, 2020, 18(1): 57-64.
- [12] ZHAO Y T, LI D F, XU J W, et al. Melatonin enhances lipid production in *Monoraphidium* sp. QLY-1 under nitrogen deficiency conditions via a multi-level mechanism[J]. *Bioresour Technol*, 2018, 259: 46-53.
- [13] SUN X M, REN L J, ZHAO Q Y, et al. Application of chemicals for enhancing lipid production in microalgae: a short review [J/OL]. *Bioresour Technol*, 2019, 293: 122135[2021-07-19]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122135>.
- [14] 邱晨. 植物生长调节剂和抗氧化剂对微藻 *M. aer* 神经酸产量的影响[D]. 山东 青岛: 青岛大学, 2016.
- [15] ZHAO Y T, YUE C C, DING W, et al. Butylated hydroxytoluene induces astaxanthin and lipid production in *Haematococcus pluvialis* under high-light and nitrogen-deficiency conditions[J]. *Bioresour Technol*, 2018, 266: 315-321.
- [16] PANCHA I, CHOKSHI K, GEORGE B, et al. Nitrogen stress triggered biochemical and morphological changes in the microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077 [J]. *Bioresour Technol*, 2014, 156: 146-154.
- [17] CHEN M, TANG H Y, MA H Z, et al. Effect of nutrients on growth and lipid accumulation in the green algae *Dunaliella tertiolecta* [J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(2): 1649-1655.
- [18] FERNANDES B, TEIXEIRA J, DRAGONE G, et al. Relationship between starch and lipid accumulation induced by nutrient depletion and replenishment in the microalga *Parachlorella kessleri* [J]. *Bioresour Technol*, 2013, 144: 268-274.
- [19] DING W, ZHAO P, PENG J, et al. Melatonin enhances astaxanthin accumulation in the green microalga *Haematococcus pluvialis* by mechanisms possibly related to abiotic stress tolerance[J]. *Algal Res*, 2018, 33: 256-265.

- [20] DING W, ZHAO Y T, XU J W, et al. Melatonin: a multifunctional molecule that triggers defense responses against high light and nitrogen starvation stress in *Haematococcus pluvialis* [J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(29): 7701–7711.
- [21] CHOKSHI K, PANCHA I, GHOSH A, et al. Nitrogen starvation – induced cellular crosstalk of ROS – scavenging antioxidants and phytohormone enhanced the biofuel potential of green microalga *Acutodesmus dimorphus* [J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2017, 10(1): 60 [2021–07–19]. <https://doi.org/10.1186/s13068-017-0747-7>.
- [22] ZHAO Y T, WANG H P, HAN B, et al. Coupling of abiotic stresses and phytohormones for the production of lipids and high – value by – products by microalgae: a review [J]. *Bioresour Technol*, 2019, 274: 549–556.
- [23] MINHAS A K, HODGSON P, BARROW C J, et al. A review on the assessment of stress conditions for simultaneous production of microalgal lipids and carotenoids [J/OL]. *Front Microbiol*, 2016, 7: 546 [2021–07–19]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00546>.
- [24] HO S H, NAKANISHI A, KATO Y, et al. Dynamic metabolic profiling together with transcription analysis reveals salinity – induced starch – to – lipid biosynthesis in alga *Chlamydomonas* sp. JSC4 [J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7: 45471 [2021–07–19]. <https://doi.org/10.1038/srep.45471>.
- [25] 马瑞娟, 唐珠珍, 赵旭蕊, 等. 高产叶黄素小球藻 (*Chlorella sorokiniana*) FZU60 高盐度适应性驯化及表征 [J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(15): 32–38.
- [26] SHARMA P, JHA A B, DUBEY R S, et al. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions [J/OL]. *J Bot*, 2012 (1): 217037 [2021–07–19]. <https://doi.org/10.1155/2021/217037>.
- [27] LI Q Q, ZHAO Y T, DING W, et al. γ – aminobutyric acid facilitates the simultaneous production of biomass, astaxanthin and lipids in *Haematococcus pluvialis* under salinity and high – light stress conditions [J/OL]. *Bioresour Technol*, 2021, 320: 124418 [2021–07–19]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.124418>.
- [28] ZHAO Y T, SONG X T, YU L, et al. Influence of cadmium stress on the lipid production and cadmium bioresorption by *Monoraphidium* sp. QLY – 1 [J]. *Energ Convers Manage*, 2019, 188: 76–85.
- [29] YANG J S, CAO J, XING G L, et al. Lipid production combined with biosorption and bioaccumulation of cadmium, copper, manganese and zinc by oleaginous microalgae *Chlorella minutissima* UTEX2341 [J]. *Bioresour Technol*, 2015, 175: 537–544.
- [30] WANG L U, KANG Y, LIANG S Y, et al. Synergistic effect of co – exposure to cadmium (II) and 4 – n – nonylphenol on growth inhibition and oxidative stress of *Chlorella sorokiniana* [J]. *Ecotox Environ Safe*, 2018, 154: 145–153.
- [31] SUI X, NIU X F, SHI M F, et al. Metabolomic analysis reveals mechanism of antioxidant butylated hydroxyanisole on lipid accumulation in *Cryptocodinium cohnii* [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(51): 12477–12484.
- [32] FRANZ A K, DANIELEWICZ M A, WONG D M, et al. Phenotypic screening with oleaginous microalgae reveals modulators of lipid productivity [J]. *ACS Chem Biol*, 2013, 8(5): 1053–1062.
- [33] 孙莹莹. 表面增强拉曼光谱法检测抗氧化剂 BHA, BHT 的研究 [D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2012.
- [34] KOVÁČIK J, KLEJDUS B, BABULA P, et al. Nitric oxide donor modulates cadmium – induced physiological and metabolic changes in the green alga *Coccomyxa subellipsoidea* [J]. *Algal Res*, 2015, 8: 45–52.
- [35] DOMINGOS P, PRADO A M, WONG A, et al. Nitric oxide: a multitasked signaling gas in plants [J]. *Mol Plant*, 2015, 8(4): 506–520.
- [36] DELANGHE T, HUYGHE J, LEE S, et al. Antioxidant and food additive BHA prevents TNF cytotoxicity by acting as a direct RIPK1 inhibitor [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2021, 12 (7): 699 [2021–07–19]. <http://hdl.handle.net/1854/LU-8717539>.
- [37] DING W, LI Q Q, HAN B Y, et al. Comparative physiological and metabolomic analyses of the hyper – accumulation of astaxanthin and lipids in *Haematococcus pluvialis* upon treatment with butylated hydroxyanisole [J/OL]. *Bioresour Technol*, 2019, 292: 122002 [2021–07–19]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122002>.
- [38] SHANG M M, DING W, ZHAO Y T, et al. Enhanced astaxanthin production from *Haematococcus pluvialis* using butylated hydroxyanisole [J]. *J Biotechnol*, 2016, 236: 199–207.
- [39] 温旭焯, 李记英, 蒋洁琳, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯的抗癌机制的研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2013 (5): 347–352.
- [40] 葛建, 林芳, 李明揆, 等. 表没食子儿茶素没食子酸酯 (EGCG) 生物活性研究进展 [J]. *安徽农业大学学报*, 2011, 38(2): 156–163.
- [41] ADALBJORNSSON B V, JONSDOTTIR R. Enzyme – enhanced extraction of antioxidant ingredients from algae [J]. *Methods Mol Biol*, 2015, 1308: 145–150.
- [42] GALANO A, TAN D X, REITER R J. Melatonin: a versatile protector against oxidative DNA damage [J/OL]. *Molecules*, 2018, 23 (3): 530 [2021–07–19].

- <https://doi.org/10.3390/molecules23030530>.
- [43] REITER R J, ROSALES – CORRAL S, TAN D X, et al. Melatonin as a mitochondria – targeted antioxidant; one of evolution’s best ideas[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2017, 74: 3864 – 3881.
- [44] SHI H T, CHEN Y H, TAN D X, et al. Melatonin induces nitric oxide and the potential mechanisms relate to innate immunity against bacterial pathogen infection in *Arabidopsis*[J]. *J Pineal Res*, 2015, 59(1): 102 – 108.
- [45] ARNAO M B, HERNANDEZ – RUIZ J. Melatonin: a new plant hormone and/or a plant master regulator? [J]. *Trends Plant Sci*, 2019, 24(1): 38 – 48.
- [46] ZHAO Y T, LI D F, DING K, et al. Production of biomass and lipids by the oleaginous microalgae *Monoraphidium* sp. QLY – 1 through heterotrophic cultivation and photo – chemical modulator induction[J]. *Bioresour Technol*, 2016, 211: 669 – 676.
- [47] ANNUNZIATA M G, CIARMIELLO L F, WOODROW P, et al. Spatial and temporal profile of glycine betaine accumulation in plants under abiotic stresses [J/OL]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 230 [2021 – 07 – 19]. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00230>.
- [48] KUREPIN L V, IVANOV A G, ZAMAN M, et al. Stress – related hormones and glycinebetaine interplay in protection of photosynthesis under abiotic stress conditions [J]. *Photosynth Res*, 2015, 126(2/3): 221 – 235.
- [49] WANG Y C, HE B, SUN Z L, et al. Chemically enhanced lipid production from microalgae under low sub – optimal temperature [J]. *Algal Res*, 2016, 16: 20 – 27.
- [50] DING W, CUI J, ZHAO Y T, et al. Enhancing *Haematococcus pluvialis* biomass and *gamma* – aminobutyric acid accumulation by two – step cultivation and salt supplementation[J/OL]. *Bioresour Technol*, 2019, 285: 121334 [2021 – 07 – 19]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121334>.
- [51] JAROŠOVÁM, KLEJDUS B, KOVÁIK J, et al. Humic acid protects barley against salinity[J/OL]. *Acta physiol Plant*, 2016, 38(6): 161 [2021 – 07 – 19]. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2181-z>.
- [52] ZHAO Y T, SHANG M M, XU J W, et al. Enhanced astaxanthin production from a novel strain of *Haematococcus pluvialis* using fulvic acid[J]. *Process Biochem*, 2015, 50 (12): 2072 – 2077.
- [53] LI X M, ZHANG X N, ZHAO Y T, et al. Cross – talk between *gamma* – aminobutyric acid and calcium ion regulates lipid biosynthesis in *Monoraphidium* sp. QLY – 1 in response to combined treatment of fulvic acid and salinity stress [J/OL]. *Bioresour Technol*, 2020, 315: 123833 [2021 – 07 – 19]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123833>.
- [54] LI X M, LI X Y, HAN B Y, et al. Improvement in lipid production in *Monoraphidium* sp. QLY – 1 by combining fulvic acid treatment and salinity stress[J/OL]. *Bioresour Technol*, 2019, 294: 122179 [2021 – 07 – 19]. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122179>.
- [55] SHI K, GAO Z, SHI T Q, et al. Reactive oxygen species – mediated cellular stress response and lipid accumulation in oleaginous microorganisms; the state of the art and future perspectives[J/OL]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 793 [2021 – 07 – 19]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00793>.
- [56] PANCHI I, CHOKSHI K, MAURYA R, et al. Salinity induced oxidative stress enhanced biofuel production potential of microalgae *Scenedesmus* sp. CCNM 1077[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 189: 341 – 348.
- [57] TIWARI S, PATEL A, PRASAD S M. Kinetin alleviates chromium toxicity on growth and PS II photochemistry in *Nostoc muscorum* by regulating antioxidant system [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 161: 296 – 304.
- [58] LU Y D, XU J. Phytohormones in microalgae: a new opportunity for microalgal biotechnology? [J]. *Trends Plant Sci*, 2015, 20(5): 273 – 282.
- [59] RAJA V, MAJEED U, KANG H, et al. Abiotic stress: interplay between ROS, hormones and MAPKs [J]. *Environ Exp Bot*, 2017, 137: 142 – 157.
- [60] KOVACIK J, DRESLER S. Calcium availability but not its content modulates metal toxicity in *Scenedesmus quadricauda* [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2018, 147: 664 – 669.
- [61] CHEN G Q, WANG B B, HAN D X, et al. Molecular mechanisms of the coordination between astaxanthin and fatty acid biosynthesis in *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae)[J]. *Plant J*, 2015, 81(1): 95 – 107.