

研究报告

## 不同光照强度对小球藻生长的影响

徐慧<sup>1</sup> 纪道斌<sup>1\*</sup> 崔玉洁<sup>1</sup> 龙良红<sup>1</sup> 刘德富<sup>2</sup>

(1. 三峡大学水利与环境学院 湖北 宜昌 443002)

(2. 湖北工业大学 河湖生态修复与藻类利用湖北省重点实验室 湖北 武汉 430068)

**摘要:**【目的】优化小球藻的培养与提高资源化利用效率,得到不同光照强度对小球藻生长的影响规律。【方法】通过室内控制实验,设置 0、1 000、3 000、5 500、7 000、9 000 lx 共 6 组光照强度,在温度为 20 °C 和曝气强度为 20%的条件下,采用 BG-11 培养基培养小球藻(*Chorella vulgaris*)至稳定生长,研究不同光照强度对小球藻生长的影响,建立光照强度与最大光密度  $OD_{max}$ 、最大比增长率  $\mu_{max}$  之间的抛物回归曲线。【结果】不同光照强度下,小球藻生长差异较大,培养初期叶绿素 a 浓度迅速增加直至峰值,后期迅速降低,其中 5 500 lx 强度下小球藻生长最好。藻类生长对溶解性总磷的消耗比溶解性总氮更大。【结论】光照强度( $x$ )与  $OD_{max}$  的拟合方程为:  $OD_{max} = -1E-07x^2 + 0.0016x + 0.1055$  ( $R^2 = 0.9872$ ,  $0 \leq x \leq 9000$  lx),光照强度( $x$ )与  $\mu_{max}$  的拟合方程为:  $\mu_{max} = -2E-08x^2 + 0.0003x - 0.0042$  ( $R^2 = 0.9986$ ,  $0 \leq x \leq 9000$  lx)。

**关键词:** 光照强度, 小球藻, 比增长率, 抛物回归曲线

## Effects of different light intensity on the growth of *Chorella vulgaris*

XU Hui<sup>1</sup> JI Dao-Bin<sup>1\*</sup> CUI Yu-Jie<sup>1</sup> LONG Liang-Hong<sup>1</sup> LIU De-Fu<sup>2</sup>

(1. College of Hydraulic & Environmental Engineering, China Three Gorges University, Yichang, Hubei 443002, China)

(2. Hubei Key Laboratory of Ecological Restoration of River-lakes and Algal Utilization, Hubei University of Technology, Wuhan, Hubei 430068, China)

**Abstract:** [Objective] This study provides the theoretical basis for optimal cultivation and nutrient utilization of *Chorella vulgaris*. The study aimed to discuss the effect of varying light intensity (0, 1 000, 3 000, 5 500, 7 000, 9 000 lx) on the growth of *Chorella vulgaris*. [Methods] The experiment was conducted under aeration rate of 20% and at 20 °C, and the *Chorella vulgaris* was cultivated on the

**Foundation item:** National Basic Research Program of China (No. 2014CB460601); International Science and Technology Cooperation Program of China (No. 2014DFE70070); National Natural Science Foundation of China (No. 51509086); National Water Pollution Control and Treatment Science and Technology Major Project (No. 2014ZX07104-005-01, 2014ZX07104-005-02)

\*Corresponding author: Tel: 86-717-6392318; E-mail: dbji01101@163.com

**Received:** October 18, 2015; **Accepted:** January 14, 2016; **Published online** (www.cnki.net): January 21, 2016

**基金项目:** 国家 973 计划前期研究专项(No. 2014CB460601); 国家科技合作与交流专项项目(No. 2014DFE70070); 国家自然科学基金青年基金项目(No. 51509086); 水体污染控制与治理科技重大专项(No. 2014ZX07104-005-01, 2014ZX07104-005-02)

\*通讯作者: Tel: 86-717-6392318; E-mail: dbji01101@163.com

**收稿日期:** 2015-10-18; **接受日期:** 2016-01-14; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-01-21

BG-11 culture medium under stable condition. Parabolic regression curves between light intensity and the maximum optical density ( $OD_{\max}$ ) and the maximum growth rate ( $\mu_{\max}$ ) were created. **[Results]** The growth rates varied different in different light intensity, and the chlorophyll a concentrations increased in the initial time until reached the maximum value and then decreased dramatically. The intensity of 5 500 lx was most suitable for the *Chorella vulgaris* growth. The demand of phosphorus of algal growth was greater than the nitrogen. **[Conclusion]** The mathematical relationships between light intensity and  $OD_{\max}$ ,  $\mu_{\max}$  simulated by cubic curve equation were shown as follows:  $OD_{\max} = -1E-07x^2 + 0.0016x + 0.1055$  ( $R^2 = 0.9872$ ,  $0 \leq x \leq 9\ 000$  lx),  $\mu_{\max} = -2E-08x^2 + 0.0003x - 0.0042$  ( $R^2 = 0.9986$ ,  $0 \leq x \leq 9\ 000$  lx).

**Keywords:** Light intensity, *Chorella vulgaris*, Growth rate, Parabolic regression curves

小球藻(*Chorella vulgaris*)是一类普生性单细胞绿藻,属于绿藻门(Chlorophyta)、绿藻纲(Chlorophyceae)、小球藻科(*Chorella vulgaris*ceae)<sup>[1]</sup>。小球藻生态分布广,并具有易于培养、生长速度快等优点,是进行生物技术研究的很好材料,而且富含蛋白质、生物活性物质以及微量元素等多种营养物质,在环保、医药保健、食品、养殖业等领域里具有较高应用价值<sup>[2]</sup>。因此,小球藻最适培养条件的研究是提高其生物质产量和促进其资源化高效利用的关键,也是当前微藻研究的一个重要领域<sup>[3]</sup>。目前,国内外关于小球藻培养条件的研究很多,其中关于对小球藻最适光照强度的研究较少,而光对于藻类来说是其进行光合作用的主要能量来源<sup>[4]</sup>,在一定 pH、温度和营养条件下,光照的强弱和时间的长短决定着藻类光合作用的效率,对藻类的生长、形态结构、光合作用和物质代谢等方面具有一定的调控作用<sup>[5]</sup>。因此,本研究试图探究不同光照强度对小球藻生长的影响,旨在为其优化培养条件和工业化生产生物能源提供一定科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 藻种及其培养

普通小球藻(*Chorella vulgaris*)采用划线培养方法从香溪河藻种中分离纯化<sup>[6]</sup>而来。采取自养培养方式,用 BG-11 培养液<sup>[7]</sup>扩大培养小球藻。达到指数生长期后,取适量藻液于 3 000 r/min 离心 5 min,去除上清液,再用 15 mg/L 的  $Na_2CO_3$  溶液清洗后再次离心,重复 3 次<sup>[8]</sup>,用于接种。

### 1.2 实验设计

实验容器均为外径 5 cm、内径为 4.6 cm,长度为 100 cm 的长玻璃管。玻璃管中注入 BG-11 培养液 1 L,采用多排密集日光灯管提供光照强度,均设置 6 个光照强度,即 0、1 000、3 000、5 500、7 000、9 000 (分别依次简称为 1 号、2 号、3 号、4 号、5 号、6 号)。培养温度为 20 °C,同时采用 24 h 不间断曝气,曝气强度为 20% (曝气体积占原体积的 20%)<sup>[3]</sup>。在长玻璃管中加入等量处理后的藻液。为保证结果的可靠性,每个梯度均设置 2 个平行样。培养方式为一次性培养,培养时间为 9 d,每隔 24 h 定时取样,连续观测 9 d。

### 1.3 指标测定

每天 9:00 进行相关指标测定及取样,光照强度采用 AS813 照度计(1–100 000 lx)测定;温度采用普通温度计;pH 采用 pH 计来测定;光密度  $OD$  用紫外可见分光光度计测定小球藻活体细胞在 680 nm 处的吸光度换算<sup>[9–10]</sup>;叶绿素 a 用紫外可见分光光度计测定;DTN (溶解性总氮)、DTP (溶解性总磷)采用全自动间断化学分析仪测定。考虑紫外可见分光光度计的测量范围和实验误差等因素,取样 10 mL,稀释 25 倍后测定  $OD$ 、叶绿素 a 浓度及藻密度等指标。由于取样和蒸发将导致各强度水样损失,为维持营养盐浓度基本不变,使营养盐绝对充足,因此每次采样结束后用 BG-11 培养基将玻璃管中培养液补充至 1 L。

藻类比增长率,计算公式为<sup>[11]</sup>:

$$\mu = (\ln N_t - \ln N_0) / \Delta t \quad (1)$$

式中： $\mu$  为藻类比增长率； $N_t$  为第  $t$  天光密度； $N_0$  为初始光密度； $\Delta t$  为初始至第  $t$  天的时间(d)。各指标测定参考《水和废水监测分析方法》(第 4 版)<sup>[12]</sup> 和《湖泊生态调查观测与分析》<sup>[13]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 光照强度分布特征

实验期间，每天利用照度计读取各强度下的光照强度，用于判断实际值与设计值之间是否存在差异(图 1)。结果显示，各梯度下光照强度控制效果较好，实际值与理论值的标准偏差在 100 lx 以内。最大标准偏差为 64.084 lx，最小标准偏差为 43.868 lx；1 号至 6 号下的光照强度相对误差分别为 0、8.600%、4.500%、2.527%、1.829%、1.539%，从数据上看，实际光照强度波动范围极小，可忽略其影响。因此，本实验光照强度设计值能有效代表理论值，则不同的光照强度是小球藻生物量差异的影响因素。

### 2.2 生物量

**2.2.1 光密度值：**图 2 为不同光照强度下光密度(OD)的变化特性。由图 2 可知，不同光照强度下，小球藻 OD 差异较大，各强度(除 0 lx 强度)下 OD 变化趋势相近，随培养时间的增加，OD 逐渐增大，后期逐渐稳定。初始 OD 均为 0.15。实验初期，各强度(除 0 lx 强度)下 OD 上升速度较快，此后 OD 增长幅度较小，变化较为平缓。5 500 lx 下小球藻

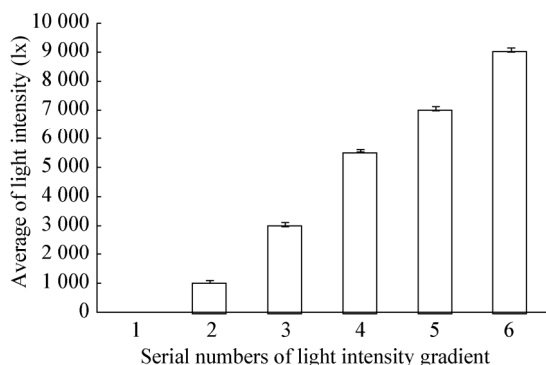


图 1 不同梯度下的实际光照强度分布特性

Figure 1 Distribution characteristics of the actual light intensity in different gradients

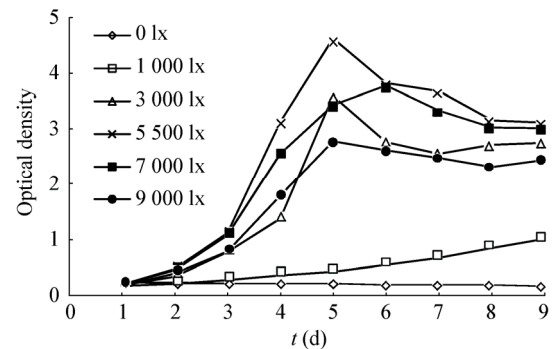


图 2 不同光照强度下光密度随实验时间变化特性

Figure 2 Characteristics of optical density with the experimental time in different light intensity

生长良好，其 OD 值高于其他强度，第 5 天 OD 达到最大，为 4.625。而 0 lx 下的 OD<sub>max</sub> 出现在第 1 天，随后该强度下 OD 逐渐降低，这是由于长期处于黑暗环境，无法吸收光进行光合作用，死亡速率大于生长速率，小球藻生物量降低，OD 下降，至实验结束时降低至 0.089。从数据上看，各强度 OD<sub>max</sub> 顺序依次为 5 500 lx>7 000 lx>3 000 lx>9 000 lx>1 000 lx>0 lx。

同时，小球藻在高光照强度下生长也较好。在 7 000 lx 光强下，前 3 天小球藻生长趋势与 5 500 lx 下最相近，第 4 天生长较缓，第 6 天 OD 达到最大值 3.775，后期趋于稳定。在 9 000 lx 条件下，OD 在第 5 天达到最大值 2.775，与 5 500 lx 和 7 000 lx 相比，其生长趋势明显较缓，可见光照过强，小球藻生长会受到光抑制作用。

**2.2.2 叶绿素 a 浓度及其与光密度的关系：**由图 3 可知，不同光照强度下，小球藻叶绿素 a 差异较大，但都呈现出先升高后降低的趋势。实验初期，各光照强度下叶绿素 a 浓度较低，实验前 3 天各强度叶绿素 a 浓度大幅度上升，5 500 lx 强度下叶绿素 a 浓度高于其他强度，至实验结束时叶绿素 a 浓度达到 2 297.538 mg/L。其他光照强度下，叶绿素 a 浓度均相对较低。0 lx 强度下的小球藻死亡速率大于生长速率，叶绿素 a 浓度下降，实验结束时仅为 17.738 mg/L。

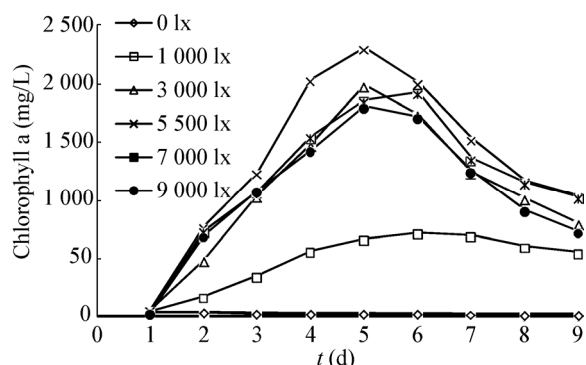


图3 不同光照强度下叶绿素 a 随实验时间变化特性

Figure 3 Characteristics of chlorophyll a with the experimental time in different light intensity

叶绿素 a 浓度与 OD 变化趋势较为一致,通过线性回归可得两者线性关系显著( $R^2=0.853\ 2$ ),见图 4。

2.2.3 藻密度及其与光密度的关系:由图 5 可知,不同光照强度下,小球藻藻密度差异较大,各强度下(除 0 lx 强度)藻密度变化趋势相近,随培养时间的增加,藻密度逐渐增大,后期逐渐稳定。5 500 lx 强度下小球藻生长良好,其藻密度值高于其他强度,第 5 天藻密度达到最大,为  $10\ 233 \times 10^4$  cells/mL,而 0 lx 强度下的小球藻由于长期处于黑暗环境,无法吸收光进行光合作用,死亡速率大于生长速率,小球藻生物量降低,藻密度下降。

结合图 2、3 可知,藻密度与 OD 变化趋势几乎一致,与叶绿素 a 趋势也较为相近。通过线性回归可得两者线性关系十分显著,见图 6。藻密度与

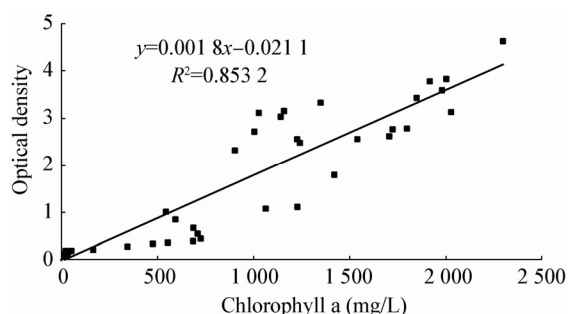


图4 叶绿素 a 与光密度相关性

Figure 4 Correlation between chlorophyll a and optical density

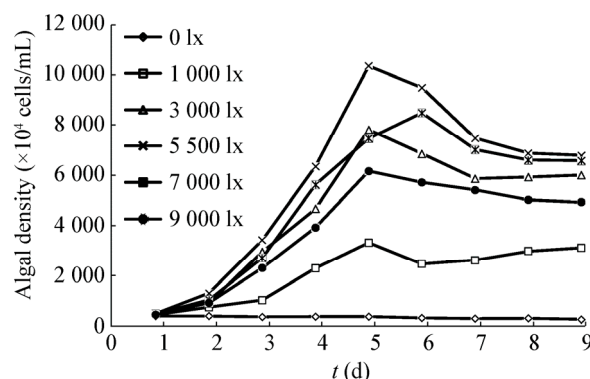


图5 不同光照强度下藻密度随试实验时间变化特性

Figure 5 Characteristics of algal density with the experimental time in different light intensity

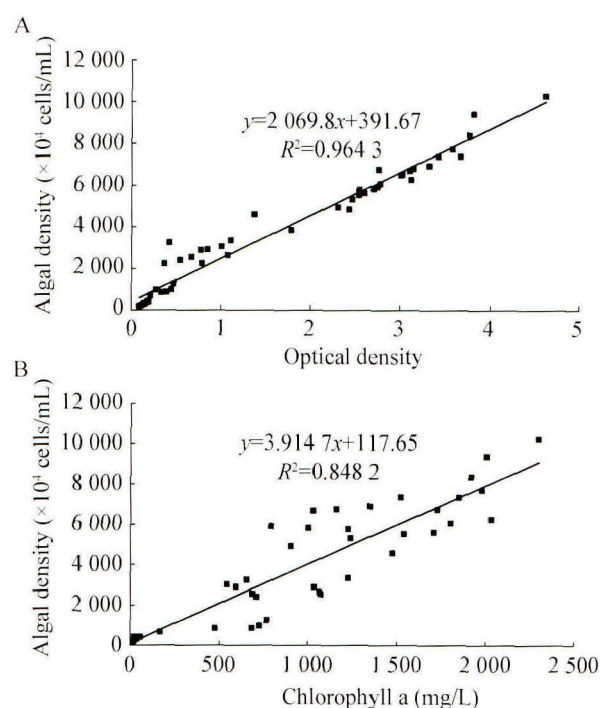


图6 藻密度与光密度(A)、叶绿素 a (B)相关性

Figure 6 Correlation between algal density and optical density (A), chlorophyll a (B)

光密度 OD 相关性图中  $R^2=0.964\ 3$ , 可见藻密度与光密度之间密切相关。藻密度与叶绿素 a 相关性图中  $R^2=0.848\ 2$ , 小于藻密度与光密度之间的相关性值,这可能是因为叶绿素 a 浓度达到最大值后即开始下降,不像细胞数量一样在较高浓度仍然维持一定水平<sup>[14]</sup>。

### 2.3 营养盐

实验采用 BG-11 培养液提供营养物质,实验初期各强度下的 DTN 含量为 247 mg/L, DTP 含量为 7.13 mg/L。如图 7 所示,可知光照强度较高时,营养盐消耗较多也较快。在光照强度为 1 000 lx 时,实验时间越长,营养盐消耗越多,这可能是由于连续的低光照对小球藻的生长有诱导作用。WestLake 认为在河流里当  $P > 0.03$  mg/L 且  $N > 1$  mg/L 时就不存在限制元素<sup>[15]</sup>。而在本实验中,由于每日取样结束后会补充培养液,DTN 含量最低值为 90.74 mg/L, DTP 含量最低值为 0.09 mg/L,均出现于实验第 8 天的 5 500 lx 光照强度下,结合叶绿素 a 和藻密度数据分析可知,第 8 天各梯度小球藻的生长已趋于稳定,可以推断实验最后小球藻生长缓慢甚至死亡的限制因素不是营养盐的缺失,而是因为受到不同光照强度的影响其本身生长已达到稳定期。

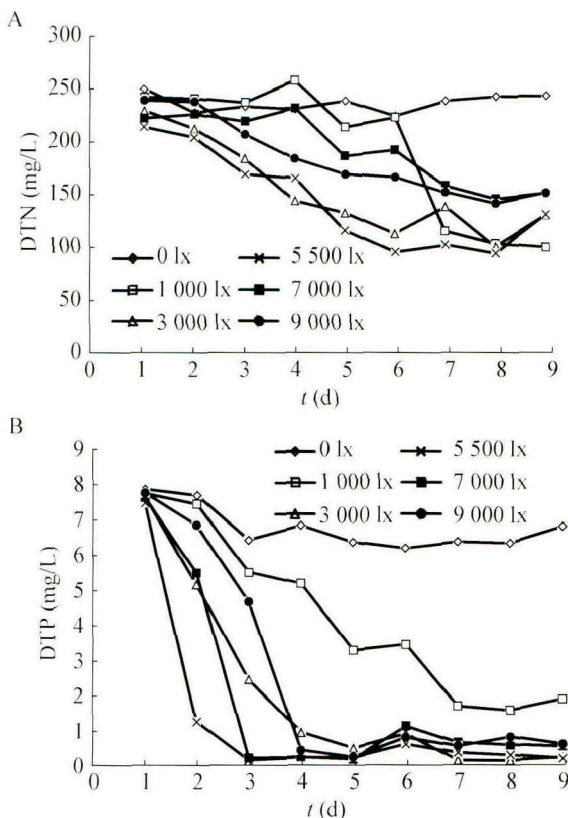


图 7 不同光照强度下 DTN (A)、DTP (B)变化特性  
Figure 7 Characteristics of DTN (A) and DTP (B) in different light intensity

### 2.4 pH 值

藻液中的 pH 值会影响小球藻的光合作用及其对磷和无机碳的有效利用,同时还会影响其代谢产物的再利用性和毒性,pH 值是影响藻类生长代谢的重要因子之一<sup>[16]</sup>。实验过程中,不同光照强度下的 pH 变化特性如图 8 所示。由图 8 可知,各强度 pH 在 7.3–9.5 之间变化,不同强度间 pH 差异较大,除了 0 lx 强度外,其余各强度下的 pH 大约在前 5 天先上升,后下降至趋于稳定。其中 5 500 lx 强度下的 pH 值在第 5 天最大为 9.5。结合图 2、图 3 及图 4 分析看出,pH 变化趋势与 OD、叶绿素 a 和藻密度相近,由此可知 pH 随生物量的增加而升高,小球藻也较适宜中性偏碱的环境。

### 2.5 比增长率

图 9 为不同光照强度下的比增长率  $\mu$  的变化特性。由图 9 可知,各强度  $\mu$  (除 0 lx)变化趋势一致,均随时间变化  $\mu$  先逐渐升高再逐渐降低。0 lx 下的藻类比增长率  $\mu$  小于 0,小球藻死亡速率大于生长速率,藻类呈负增长趋势。1 000、3 000、5 500 和 7 000 lx 下的  $\mu_{\max}$  出现在第 4 天,而 9 000 lx 强度下的  $\mu_{\max}$  在第 5 天达到最大值,5 500 lx 和 7 000 lx 强度下的  $\mu_{\max}$  差异较小,3 000、9 000 lx 下  $\mu_{\max}$  也相近,但与 5 500 lx 和 7 000 lx 下相比差异较大。另外,结合图 2 和图 9 可知,各光照强度间比增长率  $\mu$  大小变化趋势与 OD 变化趋势较相近。这是因为初始 OD 值相对较低,藻细胞密度较小,各个细胞均能接受光照进行光合作用,而且每天的营养盐绝对充

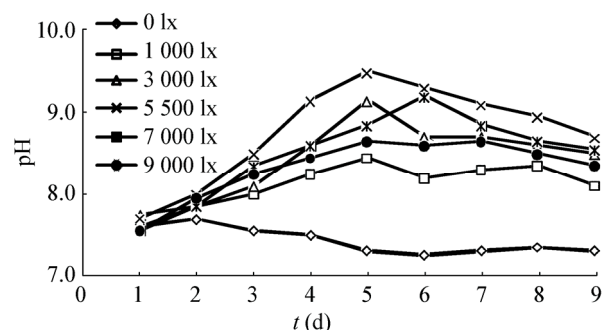


图 8 不同光照强度下 pH 变化特性  
Figure 8 Characteristics of pH in different light intensity



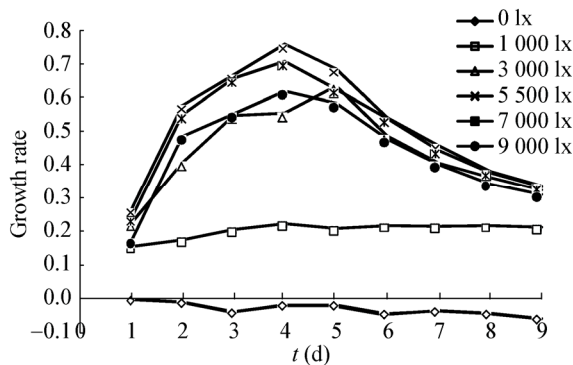
图9 不同光照强度下比增长率 $\mu$ 变化特性

Figure 9 Characteristics of growth rate in different light intensity

足,因此实验初期 $\mu$ 先逐渐升高,且小球藻增长速率较快。随着小球藻生长,藻细胞密度增高,藻液颜色变浓,相互细胞遮光效果增高,产生光限制现象<sup>[17]</sup>,一部分藻细胞无法接收有效的光强进行光合作用,小球藻生长速率变小, $\mu$ 逐渐降低。而高光照强度下的小球藻遮光影响相对较小,接受光照的藻细胞数目高于低光照强度,实验期间5 500 lx强度下的 $\mu$ 高于其他强度。所以,5 500 lx强度下的小球藻生长速率最快。

### 3 讨论

#### 3.1 小球藻生长最适光照强度范围的确定

光是藻类进行光合作用的主要能量来源,当光照强度太强,会导致光合色素的光氧化和细胞中的某些酶受到氧化伤害而使光合作用速率下降,因而存在一个适宜的光照强度<sup>[18]</sup>。实验中,不同光照强度下的小球藻最大 $OD_{max}$ 、最大比增长率 $\mu_{max}$ 及出

现时间各不相同,如表1所示。

若考虑小球藻的最终生物量,以 $OD$ 为评价指标,在本实验光照强度围内,5 500 lx强度下的小球藻的累计生物量最大,与初始 $OD$ 差异达到4.475。因此,5 500 lx强度下,小球藻生物量最大。

若以 $\mu_{max}$ 为最终评价指标,则1 000、3 000、5 500和7 000 lx下的 $\mu_{max}$ 出现时间较早,值较大,尤以5 500 lx最佳。因此5 500 lx强度下的小球藻生长速率最快。

由表1可知,不同的光强下小球藻生长差异明显。黑暗条件无法进行光合作用,小球藻停止生长, $OD$ 差、 $\mu$ 均为0。低光照强度(0、1 000 lx)下,光合作用受到限制,小球藻生长缓慢, $OD_{max}$ 、 $\mu_{max}$ 较小。而3 000 lx和5 500 lx下,小球藻吸收利用更多的光能,光合效率较高, $OD_{max}$ 、 $\mu_{max}$ 高于低强度光照,对于7 000 lx和9 000 lx强度,光强太高,使小球藻生长受到一定抑制作用,因此适宜小球藻生长的光照范围是3 000–9 000 lx,而5 500 lx下小球藻 $OD_{max}$ 、 $\mu_{max}$ 均高于其他强度,则此强度最适合小球藻生长。

#### 3.2 光照强度与小球藻生长适配曲线

由表1可知,不同光照强度下 $OD_{max}$ 、 $\mu_{max}$ 变化趋势并不相同,为了探究光照强度与小球藻生长的适配曲线,将光照强度与 $OD_{max}$ 、 $\mu_{max}$ 进行回归分析,结果如图10所示。光照强度与 $OD_{max}$ 、 $\mu_{max}$ 均为抛物线回归曲线,曲线系数 $R^2$ 较高,所拟合得到的曲线关系式能较好地反映不同光照强度与小球藻生长之间的数学关系。

表1 不同光照强度下 $OD_{max}$ 、 $\mu_{max}$ 及出现时间  
Table 1  $OD_{max}$ ,  $\mu_{max}$  and time in different light intensity

Light intensity (lx)	$OD_{max}$	Occurrence time of $OD_{max}$ (d)	$OD_{max}-OD_{initial}$	$\mu_{max}$	Occurrence time of $\mu_{max}$ (d)
0	0.150 0	1	0	0	1
1 000	1.012 5	9	0.862 5	0.222 3	4
3 000	3.587 5	5	3.437 5	0.553 9	4
5 500	4.625 0	5	4.475 0	0.759 1	4
7 000	3.775 0	6	3.625 0	0.703 8	4
9 000	2.775 0	5	2.625 0	0.551 7	5

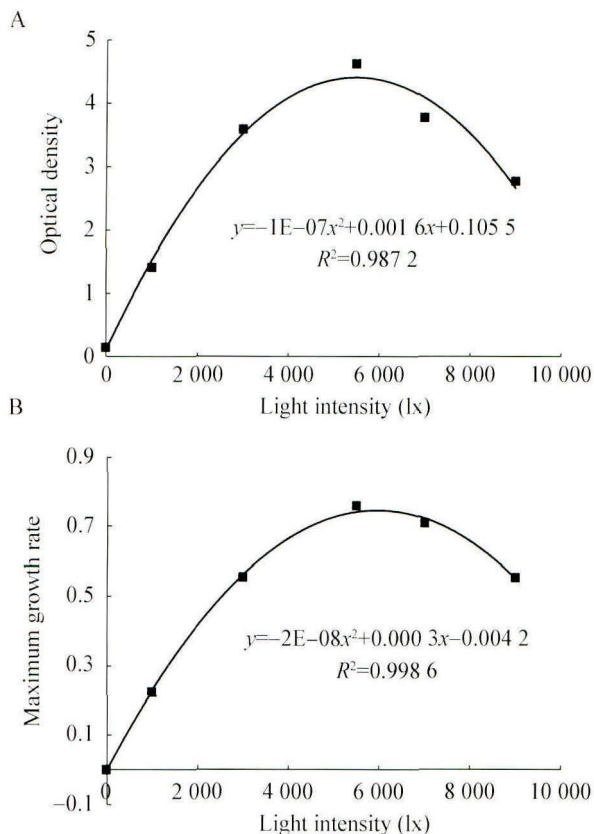


图 10 光照强度与  $OD_{\max}$  (A)、 $\mu_{\max}$  (B) 的回归曲线  
Figure 10 Parabolic regression curves between light intensity and  $OD_{\max}$  (A),  $\mu_{\max}$  (B)

光照强度在 0–5 500 lx 时  $OD_{\max}$  逐渐增大, 5 500 lx 强度下,  $OD_{\max}$  最大, 随着光照强度的增大,  $OD_{\max}$  逐渐减小。拟合曲线显示光照强度(x)与  $OD_{\max}$  的关系式为:  $OD_{\max} = -1E-07x^2 + 0.0016x + 0.1055$  ( $R^2 = 0.9872$ )。

光照强度在 0–5 500 lx 区间内时,  $\mu_{\max}$  随光照强度的增加而增大。当光照继续增加, 在 5 500–9 000 lx 范围内变化时,  $\mu_{\max}$  变化逐渐减小。拟合曲线显示光照强度在 5 500–7 000 lx 区间内时, 小球藻最大比增长率  $\mu_{\max}$  可达到最大值。光照强度(x)与  $\mu_{\max}$  的关系式为:  $\mu_{\max} = -2E-08x^2 + 0.0003x - 0.0042$  ( $R^2 = 0.9986$ ,  $0 \leq x \leq 9000$  lx)。

#### 4 结论

(1) 不同光照强度下, 小球藻生长差异较大。适宜的光照强度能促进小球藻的生长, 在光照强度

为 0–9 000 lx 时, 小球藻光密度  $OD$ 、叶绿素 a、藻密度等均呈先增大后减小的变化规律, 峰值出现在 5 500–7 000 lx。0 lx 条件下无法进行光合作用, 不适合小球藻生长。

(2) 小球藻生物量会影响培养液的 pH 值。光照强度适宜时, pH 随小球藻生物量的增加而升高, 小球藻也较适宜中性偏碱的环境。

(3) 光照强度与光密度  $OD_{\max}$ 、比增长率  $\mu_{\max}$  均为抛物线回归曲线, 曲线系数  $R^2$  较高, 可较好地反应光照强度与小球藻的数学关系。光照强度(x)与  $OD_{\max}$  的拟合方程为:  $OD_{\max} = -1E-07x^2 + 0.0016x + 0.1055$  ( $R^2 = 0.9872$ ,  $0 \leq x \leq 9000$  lx), 光照强度(x)与  $\mu_{\max}$  的拟合方程为:  $\mu_{\max} = -2E-08x^2 + 0.0003x - 0.0042$  ( $R^2 = 0.9986$ ,  $0 \leq x \leq 9000$  lx)。

(4) 综合考虑各评价指标, 认为小球藻最适光照强度为 5 500 lx。只要有光照时, 小球藻比增长率均大于 0, 而光照过强时会抑制小球藻生长。

#### 参考文献

- [1] Ding YC, Gao Q, Liu JY, et al. Effect of environmental factors on growth of *Chorella vulgaris* sp. and optimization of culture conditions for high oil production[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 18(31): 5307-5315 (in Chinese)  
丁彦聪, 高群, 刘家尧, 等. 环境因子对小球藻生长的影响及高产油培养条件的优化[J]. 生态学报, 2011, 18(31): 5307-5315
- [2] Chen Y, Li WB, Sun YR. Status and prospects of researches and applications of *Chorella vulgaris* spp. biotechnology[J]. Progress in Biotechnology, 1998, 18(6): 12-16 (in Chinese)  
陈颖, 李文彬, 孙勇如. 小球藻生物技术研究应用现状及展望[J]. 生物工程进展, 1998, 18(6): 12-16
- [3] Wan XA, Liu DF, Yang ZJ, et al. Effects of different aeration rates on the growth of *Chorella vulgaris*[J]. Journal of Hydroecology, 2014, 35(4): 48-54 (in Chinese)  
万晓安, 刘德富, 杨正建, 等. 不同曝气比率对蛋白核小球藻生长的影响[J]. 水生态学杂志, 2014, 35(4): 48-54
- [4] Shi FH, Liu GX, Zhu YH, et al. Effect of light on the cause of algal-bloom[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(16): 9801-9803 (in Chinese)  
施丰华, 刘光照, 朱月华, 等. 光照对微藻水华的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(16): 9801-9803
- [5] Korb N, Figueroa FL, Aguilera J. Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta)[J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2005, 80(2): 71-78
- [6] Liang Y, Feng JL, Xu FJ, et al. Identification of an oil-producing microalgae-*Chorella vulgaris* and its medium selected[J]. Bulletin of Science and Technology, 2013, 29(3): 40-46 (in Chinese)  
梁颖, 冯俊丽, 徐方娇, 等. 一株产油微藻——小球藻的纯化鉴定与培养基的筛选[J]. 科技通报, 2013, 29(3): 40-46

- [7] Bhatnagar A, Bhatnagar M, Chinnasamy S, et al. *Chorella vulgaris minutissima*-a promising fuel alga for cultivation in municipal wastewaters[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2010, 161(1/8): 523-536
- [8] Huang YY, Chen XC, Kong HN, et al. The effect on algae decay by aeration under light-shading condition[J]. Environmental Pollution & Control, 2008, 30(10): 44-47 (in Chinese)  
黄莹莹, 陈雪初, 孔海南, 等. 曝气对遮光条件下藻类消亡的影响[J]. 环境污染与防治, 2008, 30(10): 44-47
- [9] Shen PP, Wang ZH, Qi YZ, et al. An optical density method for determination of microalgal biomass[J]. Journal of Jinan University (Natural Science), 2001, 22(3): 115-119 (in Chinese)  
沈萍萍, 王朝晖, 齐雨藻, 等. 光密度法测定微藻生物量[J]. 暨南大学学报: 自然科学版, 2001, 22(3): 115-119
- [10] Chen CY, Zhuang YY, Fang SQ. Study on N, P removed in culturing wastewater by *Chorella vulgaris*[J]. Marine Environmental Science, 2009, 28(1): 9-11 (in Chinese)  
陈春云, 庄源益, 方圣琼. 小球藻对养殖废水中 N、P 的去除研究[J]. 海洋环境科学, 2009, 28(1): 9-11
- [11] Jin XC, Tu QY. The Standard of Lake Autrophication Investigation[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 1990 (in Chinese)  
金相灿, 屠清瑛. 湖泊富营养化调查规范[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990
- [12] Wei FS. Analysis Method for Water and Wastewater Monitoring[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002 (in Chinese)  
魏复盛. 水和废水监测分析方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002
- [13] Chen WM, Huang XF, Zhou WP. Standard Method for Observation and Analysis of China Ecosystem Research Network, Observation and Analysis of Lake Ecological Investigation[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2005 (in Chinese)  
陈伟民, 黄翔飞, 周万平. 中国生态系统研究网络观测与分析标准方法—湖泊生态调查观测与分析[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2005
- [14] Liu H, Gao YL, Yin KD, et al. Effects of N to P ratio on the growth of two red tide diatom *Skeletonema costatum* and *Thalassiosira weissflogii*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2010, 29(6): 92-97 (in Chinese)  
刘皓, 高永利, 殷克东, 等. 不同氮磷比对中肋骨条藻和威氏海链藻生长特性的影响[J]. 热带海洋学报, 2010, 29(6): 92-97
- [15] Westlake DF. Temporal changes in aquatic macrophytes and their environment[A]//Hoestlandt H. Dynamique de Populations et Qualité de L'eau, Actes Symp Inst Ecol Bassin Somme, Chantilly[M]. Paris: Gauthier-Villars, 1981
- [16] Wang C, Li H, Wang QQ, et al. Effect of pH on growth and lipid content of *Chorella vulgaris vulgaris* cultured in biogas slurry[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2010, 26(8): 1074-1079 (in Chinese)  
王翠, 李环, 王钦琪, 等. pH 值对沼液培养的普通小球藻生长及油含量积累的影响[J]. 生物工程学报, 2010, 26(8): 1074-1079
- [17] Li Bo. The technology research of refining the biogas from cultivating the *Chorella vulgaris vulgaris* based on the biogas slurry[D]. Shanghai: Master's Thesis of Fudan University, 2012 (in Chinese)  
李博. 基于沼液培养小球藻(*Chorella vulgaris vulgaris*)提纯沼气技术研究[D]. 上海: 复旦大学硕士学位论文, 2012
- [18] Wang CH. Overview of Marine Biochemical Engineering[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004 (in Chinese)  
王长海. 海洋生化工程概论[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004