

## 葡萄糖对异养小球藻利用水体中氮磷的影响

王 玲<sup>1,2</sup>, 林嫦娥<sup>1,2</sup>, 张 辉<sup>1,2</sup>, 谢仰杰<sup>1,2</sup>, 张春晓<sup>1,2</sup>

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

**[摘要]** 研究了不同质量浓度的葡萄糖对异养小球藻的生长和氮磷利用的影响。实验设计6个添加葡萄糖的质量浓度梯度: 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L, 分别记为C0、C1、C2、C3、C4和C5组, 每组3个平行, 进行为期16 d的暗培养。实验结果表明: 1) 葡萄糖的质量浓度显著影响小球藻的生长( $P < 0.05$ ), 其中C3组小球藻增长最快。2) 葡萄糖的质量浓度显著影响小球藻对水体氮的利用( $P < 0.05$ )。培养第3天, C2和C3组水体中氮的质量浓度显著低于其他各组( $P < 0.05$ ); 第5天, C2、C3和C5组显著低于其他3组( $P < 0.05$ ); 第8天后, C1~C5各组氮的质量浓度差异不显著, 但均显著低于对照组( $P < 0.05$ ), 其中以C3组氮的质量浓度最低。3) 葡萄糖的质量浓度显著影响小球藻对水体磷的利用( $P < 0.05$ )。实验开始第3~5天, C3、C4和C5组磷的浓度显著低于C0、C1和C2组( $P < 0.05$ ); 在实验进行第8天后, 各组磷的浓度变化趋于平缓。实验结果说明添加葡萄糖可以促进异养小球藻的生长, 增加异养小球藻对水体氮、磷的利用, 其最适葡萄糖的质量浓度为30 mg/L。根据本实验结果推测, 小球藻异养8 d后需补充葡萄糖、氮和磷等营养物质, 以维持小球藻的持续快速生长。

**[关键词]** 小球藻; 葡萄糖; 异养; 氮; 磷

**[中图分类号]** S 949; S968.41

## The Effects of Different Concentrations of Glucose on Nitrogen and Phosphorus Utilization of Heterotrophic *Chlorella*

WANG Ling<sup>1,2</sup>, LIN Chang'e<sup>1,2</sup>, ZHANG Hui, XIE Yangjie<sup>1,2</sup>, ZHANG Chunxiao<sup>1,2</sup>

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** The present study investigated the effects of different concentrations of glucose on growth and utilization of nitrogen and phosphorus of heterotrophic *Chlorella*. Six culture medias with 0, 10, 20, 30, 40 and 50 mg/L glucose (marked as C0, C1, C2, C3, C4 and C5) were prepared to culture heterotrophic *Chlorella* for 16 days. Each treatment contained 3 replicates. The results showed that: 1) With the increase of glucose concentration, the cell concentration of *Chlorella* was firstly increased and then decreased. The growth of *Chlorella* in C3 group was the fastest, followed by C2 and C4 group, while growth curve of C0, C1 and C5 were gentler during the experiment. 2) In the third day, the concentration of nitrogen in the culture media was significantly lower than that of the other groups ( $P < 0.05$ ). In the 5th day, the concentration of nitrogen of C2, C3 and C5 were significantly lower than those of the other three groups ( $P < 0.05$ ). After 8 days, the concentrations of nitrogen in cell media of C1~C5 groups were not significantly different, but all of them were significantly lower

[收稿日期] 2018-10-01

[修回日期] 2018-10-26

[基金项目] 福建省中青年教育科研项目 (JA15284); 现代农业产业技术体系岗位项目 (CARS-47)

[作者简介] 王玲 (1977—), 副教授, 主要从事水产动物营养生理和水产养殖的研究。E-mail: lingwang@jmu.edu.cn

http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb

than the control group ( $P < 0.05$ ). The lowest nitrogen concentration was observed in the C3 group. 3) The phosphorus concentrations in cell medias of C3, C4 and C5 were significantly lower than C0, C1 and C2 in the 3–5 days after the experiment started ( $P < 0.05$ ). The phosphorus concentration of each group reached plateau in the 8th day of the experiment. The present results suggested that 30 mg/L glucose supplementation in the water could promote the growth of heterotrophic chlorella and improve the utilization of nitrogen and phosphorus in the water for 8 days, after that glucose, nitrogen and phosphorus need to be supplied to the water to sustain the rapid growth of *Chlorella*.

**Keywords:** *Chlorella*; glucose; heterotrophic culture; nitrogen; phosphorus

## 0 引言

近年来随着集约化水产养殖业的发展, 由养殖水体污染引发的病害问题成为影响养殖成功率的关键因素, 因而养殖用水的水质调控已经成为水产养殖者和科研工作者最关注的问题之一。导致水体污染的主要因素有残饵、养殖生物的排泄物以及有机碎屑等<sup>[1]</sup>。换水可以减缓养殖水体污染, 但是频繁换水在增加养殖成本的同时也污染了周围海区。生物修复技术成为当今水产养殖水体处理研究的一大热点。生物修复指通过生物和生态措施, 修复受损水体的生态系统, 改善生态系统的物质和能量循环, 增加养殖水体溶解氧含量, 提高水质和水体自净能力<sup>[2]</sup>。生物修复法包括向水体中添加有益微生物<sup>[2–3]</sup>和定向培育有益微藻等措施<sup>[4]</sup>, 目标是分解水体中的污染物, 提高水体的自净能力。有研究表明利用藻类的吸收、富集和降解作用可以有效去除污水中的营养物质、重金属离子和有机毒物等<sup>[1, 4–9]</sup>, 而且小球藻的异养培养可以克服光自养培养的受光照限制及产量低等缺陷, 快速有效地提高小球藻产量与产率<sup>[8, 11–15]</sup>。Jinsoo 等<sup>[16]</sup>用废水培养小球藻时发现, 小球藻对污水中的氮(氨和铵离子) 有较高的利用率, 由生物质获得的量几乎等于从废水中去除无机碳和氮的量。殷国梁<sup>[6]</sup>通过味精废水对小球藻进行自养、混养和异养培养的研究发现, 异养时小球藻对 COD、Cr 和氮的去除率分别能达到 76.8%、77.9% 和 68.2%。另有研究<sup>[16–19]</sup>表明在高碳氮比时, 异养藻的优势更明显, 从而水体中的氮、磷也消耗更多。因此, 维持合适的碳氮比可以更好地发挥异养藻类对养殖水体的净化作用。本文拟以养殖水体中分离得到的异养微藻为研究对象, 研究水体中不同浓度的葡萄糖对藻类异养生长和对氮、磷利用的影响, 以期利用微藻进行水质调控时把握碳源的添加量提供理论依据, 为养殖池塘水质调控探索新途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

本实验采用陈涛等<sup>[11]</sup>的无碳基础培养基。配方如下:  $\text{NaNO}_3$  0.75 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.175 g/L,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.075 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.075 g/L,  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.025 g/L,  $\text{NaCl}$  0.025 g/L,  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.005 g/L,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.287 mg/L,  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  0.169 mg/L,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  0.061 mg/L,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  0.0025 mg/L,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.001 24 g/L, pH = 6.5。

向基础培养基中添加 25 mg/L 的葡萄糖和 100 IU/mL 青霉素形成藻种分离培养基。

从福建漳浦某养殖池采集水样, 均匀涂布到平板分离培养基上, 进行暗培养, 待 5~7 d 后培养基上生长出异养藻类, 再进行分离培养, 得到可异养的单株藻类。选取其中数量最多生长最旺盛的一株, 通过形态学观察, 鉴定为小球藻 (*Chloralla* sp.)。将已获得的异养小球藻转为光照培养后保种。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 藻类驯化

由光培养保种的小球藻转接入液体培养基中, 置于光照培养箱, 温度为 28 °C, 光照强度为 3000~4000 lx, 光暗周期为 14 h: 10 h, 培养 5~7 d, 至指数生长期。

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

### 1.2.2 藻株无菌处理

将青霉素加入处于指数生长期的藻液中,至最终浓度为 100 IU/mL。培养 3 d 后,取 10 mL 藻液加入到 90 mL 无菌培养液内,再加入庆大霉素至其浓度为 100 IU/mL,继续培养 3 d 后,取 10 mL 加入 90 mL 无菌培养液内,再加入卡那霉素至其最终浓度为 100 IU/mL,再培养 3 d。

### 1.2.3 藻种的暗培养

配制 2 倍营养盐浓度的基础培养基 500 mL,加入无菌处理后指数生长期的藻液 500 mL,用锡箔纸包裹整个锥形瓶,进行暗培养驯化。每天镜检,观察藻细胞的变化,15 d 后,至藻种完全适应暗培养再进行分组实验。

### 1.2.4 实验设计

取异养小球藻液 500 mL 接入 2000 mL 的异养液体培养基中,葡萄糖质量浓度为 25 g/L,每天摇瓶 3 至 5 次,暗培养 7 d。

设计 6 个葡萄糖质量浓度梯度: 0、10、20、30、40 和 50 mg/L,分别记为 C0、C1、C2、C3、C4 和 C5 实验组,每组设 3 个平行。藻液和基础培养液按 1:5 的比例混合后,分配到 18 个 500 mL 的锥形瓶中,每瓶 300 mL,然后分别加入葡萄糖至设计的质量浓度。测定培养前混合液的藻细胞、总氮和总磷的含量。用锡箔纸包裹锥形瓶,使瓶内光照度为 0。放入恒温培养箱,温度为 28 ℃。每隔 1 d 对藻细胞、总氮和总磷的含量进行测定,实验持续 16 d。

### 1.2.5 测定方法

藻液含量的测定采用血球计数板观察计数,总磷的测定采用碱性过硫酸钾氧化法,总氮的测定采用过硫酸钾氧化法<sup>[20]</sup>。

### 1.3 数据处理

运用 SPSS 17.0 软件对所得数据中各组同一培养时间的藻细胞、总氮和总磷的含量分别进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)。如果差异显著,则通过 Tukey 多重检验来进行比较,显著性水平为  $P < 0.05$ ,所有数据以平均值  $\pm$  标准差 (Mean  $\pm$  SD) 表示。

利用氮含量和培养时间,建立折线回归模型  $Y = L - U(R - X_{RL})$ 。其中:  $R$ 、 $L$  为折点的坐标 ( $R$ 、 $L$ ),  $R$  为折点;  $X_{RL}$  是小于  $R$  的自变量 ( $X$ ) 值;  $U$  是指直线  $X_{RL}$  的斜率,当  $X > R$  时,定义  $(R - X_{RL}) = 0$ 。

## 2 实验结果

### 2.1 葡萄糖质量浓度对异养小球藻生长的影响

异养小球藻的生长情况如图 1 所示,各组小球藻浓度随培养时间显著增加 ( $P < 0.05$ ),所有处理组从培养第 5 天开始藻细胞快速增长。培养第 5 天后,C2、C3 和 C4 组小球藻浓度显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ ),第 12 天后,C3 组小球藻浓度显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 葡萄糖质量浓度对异养小球藻氮利用的影响

由表 1 可知,实验进行到第 3 天时,C2 和 C3 组培养液中氮的质量浓度显著低于其他各组 ( $P < 0.05$ )。培养至第 8~16 天,C1~C5 各组氮的质量浓度均显著低于对照组 ( $P < 0.05$ );而 C1、C2、C3、C4 和 C5 各组之间的差异性不显著 ( $P > 0.05$ ),但以 C3 组培养液中氮的质量浓度最低。

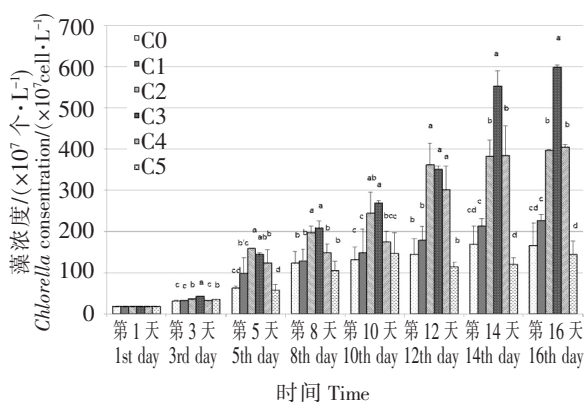


图 1 不同葡萄糖质量浓度对小球藻异养生长的影响

Fig.1 Effects of different glucose concentrations on heterotrophic growth of *Chlorella*

表 1 不同培养时间各组培养液中总氮的质量浓度 ( Mean  $\pm$  SD)Tab.1 Total nitrogen concentration in each group at different incubation time ( Mean  $\pm$  SD ) (  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  )

时间 Time	组别 Group					
	C0	C1	C2	C3	C4	C5
第 1 天 1st day	200.0 $\pm$ 0.0	200.0 $\pm$ 0.0	200.0 $\pm$ 0.0	200.0 $\pm$ 0.0	200.0 $\pm$ 0.0	200.0 $\pm$ 0.0
第 3 天 3rd day	160.0 $\pm$ 5.3 <sup>a</sup>	150.0 $\pm$ 5.6 <sup>a</sup>	150.0 $\pm$ 5.5 <sup>b</sup>	140.0 $\pm$ 11.0 <sup>b</sup>	160.0 $\pm$ 2.6 <sup>a</sup>	160.0 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>
第 5 天 5th day	98.3 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>	91.0 $\pm$ 2.0 <sup>ac</sup>	74.7 $\pm$ 5.5 <sup>b</sup>	75.7 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>	98.7 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup>	80.0 $\pm$ 15.6 <sup>bc</sup>
第 8 天 8th day	26.3 $\pm$ 5.1 <sup>a</sup>	18.7 $\pm$ 5.1 <sup>b</sup>	10.7 $\pm$ 1.5 <sup>c</sup>	10.3 $\pm$ 2.5 <sup>c</sup>	11.7 $\pm$ 0.6 <sup>c</sup>	13.7 $\pm$ 3.5 <sup>bc</sup>
第 10 天 10th day	19.7 $\pm$ 6.4 <sup>a</sup>	16.7 $\pm$ 3.2 <sup>a</sup>	8.0 $\pm$ 3.0 <sup>b</sup>	6.0 $\pm$ 3.0 <sup>b</sup>	6.7 $\pm$ 2.1 <sup>b</sup>	11.0 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>
第 12 天 12th day	16.3 $\pm$ 5.1 <sup>a</sup>	7.7 $\pm$ 2.5 <sup>b</sup>	4.7 $\pm$ 2.1 <sup>b</sup>	5.0 $\pm$ 0.0 <sup>b</sup>	5.7 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>	5.3 $\pm$ 1.2 <sup>b</sup>
第 14 天 14th day	12.3 $\pm$ 3.8 <sup>a</sup>	5.7 $\pm$ 3.1 <sup>b</sup>	6.7 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	3.3 $\pm$ 2.1 <sup>b</sup>	5.0 $\pm$ 2.0 <sup>b</sup>	4.3 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>
第 16 天 16th day	10.3 $\pm$ 2.9 <sup>a</sup>	3.0 $\pm$ 2.6 <sup>b</sup>	4.3 $\pm$ 1.5 <sup>b</sup>	1.3 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	2.3 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	3.0 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>

说明: 同一行数据上标字母不同表示差异显著 (  $P < 0.05$  )

Note: Values with different small letter superscripts mean significant difference (  $P < 0.05$  )

选取对氮利用最快的 C3 组, 对氮质量浓度随培养时间的变化进行单因素方差分析, 发现氮的质量浓度随培养时间变化显著降低 (  $P < 0.05$  ), 经 Tukey 多重比较显示, 氮的质量浓度在第 1 天、第 3 天、第 5 天和第 8 天差异显著 (  $P < 0.05$  ), 而第 8 天至第 16 天差异不显著 (  $P > 0.05$  )。经回归分析, 绘制折线图 ( 如图 2 )。由图 2 可以看出, 当葡萄糖添加的质量浓度为 30  $\text{mg/L}$  时, 培养 7 d 后培养液中氮的质量浓度开始出现缓慢下降的趋势。

### 2.3 葡萄糖质量浓度对异养小球藻磷利用的影响

由表 2 可见, 实验开始第 3 天, C0 对照组培养液中磷的浓度与 C2 组无显著差异, 但显著高于 C1、C3、C4 和 C5 组 (  $P < 0.05$  ); 在实验进行第 5 天, C3、C4 和 C5 组的磷浓度无显著差异 (  $P > 0.05$  ), 但显著低于 C0、C1 和 C2 组 (  $P < 0.05$  ); 在实验进行第 8 天时, 各组间均无显著性差异 (  $P > 0.05$  )。

表 2 不同培养时间各组培养液中磷的浓度 ( Mean  $\pm$  SD)Tab.2 The concentration of phosphorus in each group ( Mean  $\pm$  SD ) (  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  )

时间 Time	组别 Group					
	C0	C1	C2	C3	C4	C5
第 1 天 1st day	1.40 $\pm$ 0.00	1.40 $\pm$ 0.00	1.40 $\pm$ 0.00	1.40 $\pm$ 0.00	1.40 $\pm$ 0.00	1.40 $\pm$ 0.00
第 3 天 3rd day	1.26 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	1.16 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	1.30 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.15 $\pm$ 0.03 <sup>c</sup>	1.17 $\pm$ 0.06 <sup>c</sup>	1.19 $\pm$ 0.023 <sup>bc</sup>
第 5 天 5th day	0.91 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.81 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	0.89 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.79 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.82 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>	0.81 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
第 8 天 8th day	0.50 $\pm$ 0.06	0.51 $\pm$ 0.07	0.62 $\pm$ 0.13	0.60 $\pm$ 0.04	0.56 $\pm$ 0.03	0.56 $\pm$ 0.03
第 10 天 10th day	0.39 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.47 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.48 $\pm$ 0.08 <sup>ab</sup>	0.50 $\pm$ 0.03 <sup>ab</sup>	0.51 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	0.55 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>
第 12 天 12th day	0.31 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.39 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.45 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.47 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	0.49 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	0.52 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>
第 14 天 14th day	0.26 $\pm$ 0.11	0.30 $\pm$ 0.05	0.31 $\pm$ 0.02	0.29 $\pm$ 0.14	0.42 $\pm$ 0.04	0.36 $\pm$ 0.04
第 16 天 16th day	0.23 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.03	0.24 $\pm$ 0.02	0.15 $\pm$ 0.09	0.26 $\pm$ 0.09	0.29 $\pm$ 0.06

说明: 同一行数据上标字母不同表示差异显著 (  $P < 0.05$  )

Note: Values with different small letter superscripts mean significant difference (  $P < 0.05$  )

选取对磷利用最快的 C3 组, 对磷浓度随培养时间的变化进行单因素方差分析, 发现磷浓度随时间变化显著降低 (  $P < 0.05$  ), Tukey 多重检验显示, 磷浓度在第 1 天、第 3 天、第 5 天、第 8 天之间差异显著 (  $P < 0.05$  ), 第 8 ~ 12 天之间差异不显著 (  $P > 0.05$  ), 第 12 天与第 14 天差异不显著 (  $P > 0.05$  ), 第 14 与第 16 天差异不显著 (  $P > 0.05$  )。

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

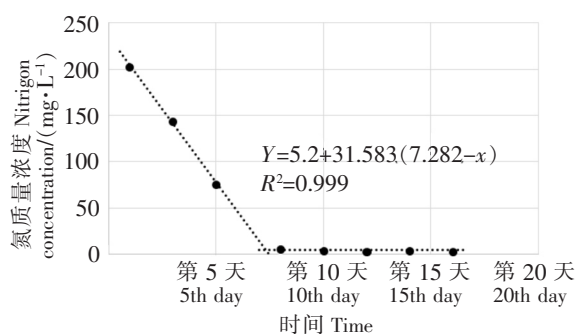


图 2 C3 组培养液总氮质量浓度与培养时间的关系

Fig.2 The relationship between total nitrogen concentration and incubation time for C3 group

### 3 讨论

#### 3.1 不同葡萄糖质量浓度对小球藻异养生长的影响

藻类的异养培养指藻细胞利用有机碳源在黑暗中生长。Lewin 等<sup>[7]</sup>于1953年首先发现了一些藻类能利用有机物作为唯一碳源和能源进行异养生长。Endo 等<sup>[8]</sup>筛选出了小球藻能够利用的有机碳源包括糖、有机酸和醇类等60多种。Liu 等<sup>[21]</sup>通过比较葡萄糖、果糖、蔗糖、可溶性淀粉、醋酸和乙醇6种不同的碳源,发现异养条件下培养小球藻最好的碳源是葡萄糖和果糖,其次是醋酸和乙醇,蔗糖和可溶性淀粉不适合作为碳源。本实验考虑葡萄糖比果糖成本更低,因此选用葡萄糖作为小球藻异养培养的碳源。

本试验结果表明,葡萄糖能明显影响小球藻的异养生长,在一定葡萄糖质量浓度范围内异养小球藻生长速度随葡萄糖质量浓度的升高而加快,葡萄糖质量浓度为30 mg/L时达最大值,葡萄糖质量浓度再升高则出现下降趋势,说明葡萄糖质量浓度不足会限制小球藻生长,而高质量浓度的葡萄糖对小球藻的异养生长也有抑制作用。Sasaki 等<sup>[22]</sup>研究了小球藻与细菌混合培养的污水处理体系中葡萄糖质量浓度对小球藻生长的影响,发现当葡萄糖质量浓度较低时,藻细胞浓度也低,相对高的葡萄糖起始质量浓度可用于培养高浓度的小球藻。诸多学者的研究也表明,小球藻异养过程中对葡萄糖的利用率很高,但高质量浓度的葡萄糖对小球藻生长有抑制作用<sup>[12-15 23]</sup>。

#### 3.2 不同葡萄糖质量浓度对异养小球藻氮利用的影响

氮元素是微藻用于合成氨基酸、蛋白质和酶等的必需元素,氮约占小球藻干重的10%,因此,小球藻的生长必须要提供氮元素。Liu 等<sup>[21]</sup>研究了不同氮源对异养培养小球藻生长的影响,发现 $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 抑制异养培养的小球藻生长,而 $\text{KNO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{Cl}$ 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 等4种氮源对异养培养的小球藻生长都有不同程度促进作用。已有研究<sup>[9-10 24 25]</sup>表明,小球藻在异养条件下可以持续利用水体中的氮,从而起到净化水体的作用。而养殖水体中的氮源主要有硝酸氮和铵态氮,据此,本实验培养基中以 $\text{NO}_3^-$ 和 $\text{NH}_4^+$ 为主要的氮源。本实验结果表明,在培养第3天时实验组培养液中氮的质量浓度显著低于对照组,这表明葡萄糖的添加对异养小球藻的氮利用有促进作用。实验开始后的第3~8天,C2和C3组培养液中总氮的质量浓度显著低于其他组,说明添加20~30 mg/L葡萄糖能够更好地促进小球藻对水体中氮的利用。在本实验条件下,C3组小球藻异养培养的第3~7天,其对培养液中氮的利用率速率最快,第7天后趋于平缓。并且本实验中,异养小球藻的快速生长出现在第3~14天,即异养小球藻快速生长期持续到对氮最大利用的时间之后。马宇翔等的研究<sup>[26]</sup>也发现类似的现象,他们发现在异养条件下,小球藻对氮、磷的利用在第2天达最大值,但第3天后藻体仍在快速生长。说明在异养条件下小球藻可能可以利用蓄积的氮元素用于生长。

#### 3.3 不同葡萄糖质量浓度对异养小球藻磷利用的影响

藻类对水体中的氮、磷元素的利用常被应用于净化污水<sup>[9-10 16 19 24-26]</sup>。在本试验开始的前8天内,各组培养液中总磷的浓度下降迅速,且在第5天时C3组培养液中磷的浓度显著低于其他各组,说明短期内,30 mg/L的葡萄糖质量浓度能够更好地促进藻细胞吸收水体中的磷;实验开始8 d后,总磷的浓度下降缓慢,且各实验组水体中的磷含量差异不显著。由图3可知,葡萄糖添加量在30 mg/L时,异养小球藻对培养液中磷的快速利用发生在培养的前8天,而后磷浓度缓慢下降,这种现象与氮元素的变化相似,由此可以推测,在异养小球藻培养7~8天时需补充氮和磷等营养物质,以维持小球藻的持续快速生长。

### [参考文献]

- [1] 王志敏,张文香. 在循环养殖系统中添加微生态制剂去除氨氮和亚硝酸氮的试验 [J]. 水产科学, 2006, 25(4): 171-174.
- [2] 刘军,斌谢骏. 生物修复技术在水产养殖中的应用 [J]. 水利渔业, 2005, 25(1): 63-65.

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

- [3] 罗国芝, 朱泽闻, 潘云峰, 等. 微生物絮凝技术在水产养殖中的应用 [J]. 中国水产, 2010( 2): 62-63.
- [4] 黄翔鸽, 李长玲, 刘楚吾, 等. 两种微藻改善虾池环境增强凡纳对虾抗病力的研究 [J]. 水生生物学报, 2002, 26( 4): 342-347.
- [5] WU J X, TIMOTHY C M, TZACHI M S. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system [J]. Aquaculture, 2016, 453( 20): 169-175.
- [6] 殷国梁. 普通小球藻对味精废水的净化 [D]. 天津: 天津大学, 2007.
- [7] LEWIN J C. Heterotrophy in diatoms [J]. Gen Microbiol, 1953, 9( 2): 305-313.
- [8] ENDO H, HOSOYA H, KOIBUCHI T. Growth yields of *Chlorella regularis* in dark-heterotrophic continuous cultures using acetate [J]. Journal of Fermentation Technology, 1977, 55( 4): 369-379.
- [9] 余云龙, 邹华, 张强, 等. 黑暗条件下普通小球藻处理废水的研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31( 9): 938-943.
- [10] 曲春波, 史贤明. 利用啤酒废水小球藻异养培养 [J]. 微生物学报, 2009, 49( 6): 780-785.
- [11] 陈涛, 向文洲, 何慧, 等. 不同碳源对小球藻 *Chlorella zofingiensis* 异养产虾青素的影响 [J]. 微生物学通报, 2007, 34( 5): 856-858.
- [12] SHI X M, LIU H J, CHEN F. Production of biomass and lutein by *Chlorella protothecoides* at various glucose concentrations in heterotrophic cultures [J]. Process Biochemistry, 1999, 34( 4): 341-347.
- [13] 王素琴, 闫海, 张宾, 等. 不同氮源形态和植物激素对小球 USTB01 生长及叶黄素含量的效应 [J]. 科技导报, 2005( 12): 37-40.
- [14] 李玉芹, 袁正求, 冯岳, 等. 不同碳氮组合对小球藻异养培养油脂积累的影响 [J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 23( 9): 1009-1013.
- [15] QIAO H J, WANG G C. Effect of carbon source on growth and lipid accumulation in *Chlorella sorokiniana* GXNN01 [J]. Chinese Academy of Sciences, 2009( 4): 762-768.
- [16] JIN SOO K, BALA P L, RACHAEL R, et al. Removal of ammonia from wastewater effluent by *Chlorella vulgaris* [J]. Tsinghua Science and Technology, 2010, 15( 4): 391-396.
- [17] SHISHECHIAN F, YUSOFF F M, HARIFF F. The effects of commercial bacterial products on macrobenthos community in shrimp culture ponds [J]. Aquaculture International, 2001, 9( 5): 429-436.
- [18] 闫海林, 毅雄. 海水微生物菌群去除铵氮和亚硝酸氮研究 [J]. 环境污染治理技术与设备, 2003, 4( 11): 44-47.
- [19] HARIB, KURUP B M, VARGHESE J T, et al. The effect of carbohydrate addition on water quality and the nitrogen budget in extensive shrimp culture systems [J]. Aquaculture, 2006, 252( 2): 248-263.
- [20] 国家海洋局. 中华人民共和国海洋调查规范: GB12763. 4-2007 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [21] LIU S M, CHEN F, LIANG S Z. Researches on the heterotrophic culture of *Chlorella vulgaris*: optimization of carbon sources, nitrogen sources, inoculum size and initial pH [J]. Journal of South China University of Technology ( Natural Science), 1999, 27( 4): 111-115.
- [22] SASAKI K, WATANABE K, TANAKA T, et al. 5-aminolevulinic acid production by *Chlorella* sp. during heterotrophic cultivation in the dark world [J]. Microbiol Biotechnol, 1995, 11: 361-362.
- [23] 吴庆余, 匡梅. 小球藻两个品系在自养与异养条件下的生长、能荷与色素差异 [J]. 植物生理学报, 1992, 18( 3): 293-299.
- [24] 余若黔, 刘学铭, 梁世中, 等. 低氮异养小球藻对氨氮的去除及其成分变化 [J]. 华南理工大学学报 ( 自然科学版), 2000, 28( 8): 11-15.
- [25] 李扬海, 吴颖豪, 杨世平, 等. 葡萄糖对对虾养殖水体水质的影响 [J]. 河北渔业, 2014( 7): 1-5.
- [26] 马宇翔, 李建宏, 浩云涛. 自养与异养条件下小球藻对氮、磷的利用 [J]. 南京师大学报 ( 自然科学版), 2002, 25( 2): 37-41.

( 责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)