

不同碳源对溢油胁迫下小新月菱形藻毒性缓解作用研究

刘 瑀, 郝效玉, 范惟佳, 王国光

(大连海事大学 环境科学与工程学院, 辽宁 大连 116023)

摘要:为缓解海上溢油胁迫对海洋微藻的毒性效应,添加不同碳源可能是有效途径之一。本文以小新月菱形藻(*Nitzschia closterium*)为实验材料,通过添加不同浓度的葡萄糖($C_6H_{12}O_6$)和碳酸氢钠($NaHCO_3$),探究在 180#燃料油分散液(WAF)胁迫下外源碳源对其毒性效应的缓解作用。结果表明,在不同浓度 $NaHCO_3$ 的作用下,小新月菱形藻的细胞密度和叶绿素 *a* (Chl *a*) 含量增加,脂质过氧化水平降低,培养 4 天后,脂肪酸组成与正常组基本一致,毒性效应得到明显缓解。不同浓度的 $C_6H_{12}O_6$ 均降低了小新月菱形藻 Chl *a* 含量, C18:1*n*-9 比例明显增加。低浓度 $C_6H_{12}O_6$ 对 WAF 胁迫下小新月菱形藻毒性效应的缓解作用较小,高浓度 $C_6H_{12}O_6$ 加重了 WAF 的毒性效应,导致了更严重的脂质过氧化。因此,添加适宜浓度的 $NaHCO_3$ 能在一定程度上缓解 WAF 对小新月菱形藻的毒性效应。

关键词:小新月菱形藻; WAF; 脂质过氧化; 脂肪酸组成

中图分类号:X171.5

文献标识码:A

文章编号:1007-6336(2023)04-0534-08

Effects of different carbon sources on mitigation of toxicity of oil spill to *Nitzschia Closterium*

LIU Yu, HAO Xiaoyu, FAN Weijia, WANG Guoguang

(College of Environmental Science and Engineering, Dalian Maritime University, Dalian 116023, China)

Abstract: In order to alleviate the toxic effects of offshore oil spill stress on Marine microalgae, adding different carbon sources may be one of the effective ways. By adding different concentrations of glucose ($C_6H_{12}O_6$) and sodium bicarbonate ($NaHCO_3$), the alleviation effect of exogenous carbon sources on the toxicity of *Nitzschia closterium* under 180# fuel oil dispersion (WAF) stress was investigated. Under different concentrations of $NaHCO_3$, the cell density and Chl *a* content increased, while the level of lipid peroxidation decreased. Four days later, the fatty acid composition of *N. closterium* was basically the same as that of the normal group, and the toxic effect was obviously relieved. Different concentrations of $C_6H_{12}O_6$ reduced the content of Chl *a* in *N. closterium* and increased its C18:1*n*-9 ratio significantly. Low concentration of $C_6H_{12}O_6$ had less alleviation effect on the toxic effect of *N. closterium* under WAF stress, while high concentration of $C_6H_{12}O_6$ aggravated the toxic effect of WAF, resulting in more serious lipid peroxidation. Therefore, adding an appropriate concentration of $NaHCO_3$ could alleviate the toxic effect of WAF on *N. closterium* to a certain extent.

Key words: *Nitzschia closterium*; WAF; lipid peroxidation; fatty acid composition

收稿日期:2022-05-11, 修订日期:2022-07-26

基金项目:国家科技支撑计划项目(2015BAD17B05);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(3132016332);辽宁省“兴辽英才计划”项目(XLYC2001002)

作者简介:刘 瑀(1965—),男,陕西西安人,教授,博士,主要研究方向为海洋环境化学领域, E-mail: ylsibo@foxmail.com

随着经济的不断发展,石油等能源物质需求不断扩大,在石油的海上运输和开采过程中溢油事故不可避免,给海洋环境带来严重污染。海洋微藻作为生产者,最先与海洋表面的溢油污染物质接触,并将毒性富集到更高的营养级中,在生态系统中占据重要地位。在原油的短期和长期作用下,微藻的生长都会受到其毒性效应的影响,光合作用速率下降,呼吸作用增强,生长速率降低^[1]。WAF是溢油中最主要的毒性物质,含有大量的多环芳烃,溢油事件中即使不溶性部分被清除,它们也会溶解到水中^[2]。当原油WAF浓度高于2.28 mg/L时,将极大地抑制浮游植物的生长,降低Chl *a*含量和细胞密度^[3]。原油WAF的长期毒性效应还会使3种微藻的抗氧化酶活性下降,丙二醛(MDA)含量显著升高,脂质过氧化加剧^[4]。Chao等评价了4种燃油WAF对中肋骨条藻和绿藻的毒性效应,F180 WAF的毒性作用最大,其96h EC_{50} 分别为9.41 mg/L和13.63 mg/L^[5]。柴油或其WAF浓度的增加同样会增加两种受试微藻的毒性效应,使它们的生长受到不同程度的抑制^[6]。因此,寻找一种能够缓解WAF毒性效应、维持藻细胞正常生长代谢的方法十分重要。

截至目前,国内外的研究主要侧重于石油烃等有毒物质对藻类的毒性效应,关于外加碳源缓解溢油毒性效应的研究较少。碳元素是海洋微藻生长所需的重要营养元素,是维持海洋初级生产力的要素之一。适量添加碳源可促进微藻的生长^[7-9]。本文以近岸海洋生态系统中常见的小新月菱形藻(*Nitzschia Closterium*)为实验对象,研究不同碳源对WAF作用下小新月菱形藻的细胞密度、Chl *a*、超氧化物歧化酶(SOD)活力、丙二醛含量和脂肪酸组成的影响,以期缓解WAF对微藻的毒性效应提供新思路,进而为海洋石油烃污染的生态修复提供新方法。

1 材料与方法

1.1 材料

小新月菱形藻由国家海洋监测中心(大连)提供。海水取自大连黑石礁海域,盐度为35。用添加Conway培养液的灭菌海水作为营养源,设置温度为20℃±1℃,光照强度为3000 Lx,光

暗周期为12 h:12 h。实验前,微藻需反复扩培,每天摇动3次,以防微藻下沉或粘附在锥形瓶瓶壁上。

1.2 WAF的制备及浓度测定

180#燃料油与灭菌海水按1:9(v/v)混合,用磁力搅拌器避光搅拌24 h,静置4 h,所得下清液即为石油分散液(WAF),于4℃条件下避光保存,使用时按需稀释。

油浓度参考《海洋监测规范 第4部分:海水分析》(GB 17378.4—2007)中的方法测定,测得油浓度为14.2 mg/L。

1.3 实验设置

在预实验中,5%体积的WAF(对应油浓度为0.71 mg/L)对小新月菱形藻的毒性作用最大,具体设置见表1。实验培养周期为9天,正常组为正常条件下培养的微藻,对照组为溢油胁迫条件下培养的微藻,实验组为溢油胁迫下加入C₆H₁₂O₆或NaHCO₃培养的微藻。C₆H₁₂O₆浓度为3.0 g/L、6.0 g/L、9.0 g/L;NaHCO₃浓度为0.5 g/L、1.5 g/L、3.0 g/L,每组设置3个平行。

表1 各组实验设定
Tab.1 Experimental Settings of each group

	正常组	对照组	实验组
海水/mL	450	425	425
WAF/mL	0	25	25
藻液/mL	50	50	50

1.4 细胞密度及Chl *a*含量测定

将小新月菱形藻藻液按比例稀释成浓度梯度,用紫外—可见分光光度计测定其在684 nm处的吸光度,采用浮游生物计数框法确定细胞密度,建立OD₆₈₄与对应细胞个数的关系。Chl *a*的测定采用混合溶剂法,每隔两天取样测定^[10]。

1.5 MDA含量、SOD活力的测定

由于小新月菱形藻细胞密度和Chl *a*含量在第6天和第8天产生的变化较为明显,故选择这两天来探究其不同条件下的氧化损伤情况。MDA含量、SOD活力均采用试剂盒(Solarbio)测定,每次测定取样10 mL。

1.6 脂肪酸组成的测定

在第2、4、6、8天分别抽取50 mL藻液,经

玻璃纤维滤膜(Whatman, GF/F, UK)过滤,于4℃条件下保存。将滤膜放入具塞比色管中,加入2 mL 盐酸—甲醇混合溶液(14:86, v/v),70℃水浴加热60 min,冷却至室温,加入2 mL 正己烷,振荡30 s。静置分层,取上清液到样品瓶。待测样品采用气相色谱—质谱联用仪(GC-MS, Thermo Fisher Scientific, USA)进行分析和鉴定。

1.7 数据处理

使用SPSS 20.0和Microsoft Excel软件进行数据的处理及分析,使用Origin 2021制图。

2 结果与讨论

2.1 碳源对WAF胁迫下小新月菱形藻细胞密度的影响

各条件下小新月菱形藻细胞密度的变化情况如图1所示。培养期间,对照组小新月菱形藻的细胞密度最低,第6天、第8天的细胞密度分别为正常组的67.9%、79.9%。这是由于WAF中的毒性物质进入藻细胞,对藻细胞造成损伤和破坏,导致藻细胞生长速率下降^[4]。

从图1(NaHCO_3)可以看出,第1~4天,细胞生长缓慢,4天后,各组细胞密度明显增加,比生长速率最高可达到0.39/d。第8天, NaHCO_3 浓度为0.5 g/L、1.5 g/L、3.0 g/L组的小新月菱形藻的细胞密度分别为正常组的122%、164%、147%,1.5 g/L NaHCO_3 对小新月菱形藻细胞密度的作用效果最好。Zhao等探究了 NaHCO_3 对微藻的影响,结果表明, NaHCO_3 在一定程度上可以增加微藻的生物量^[11]。石油烃进入细胞的方式主要为被动运输、主动运输和吞入,只有一小部分分子量小的石油烃可以通过自由扩散进入细胞,且转运过程需要载体蛋白参与^[12]。而 NaHCO_3 的利用相对容易,微藻优先利用 NaHCO_3 提供的碳源,减弱了对WAF的降解利用。因此,水中毒性物质减少,细胞密度增加。

从图1($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$)可以看出,第4~7天,添加 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 使小新月菱形藻细胞密度高于对照组,最高为正常组的156%。第6天, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 浓度为3.0 g/L、6.0 g/L、9.0 g/L组的细胞密度分别为正常组的120%、113%、103%。随着 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 浓度的升高,细胞密度增长减缓。8天以后,

3个 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 组的细胞密度都低于对照组。高浓度 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 组培养后期,藻液浑浊发白,生长状况变差,可能是小新月菱形藻对 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 的利用效果不佳。

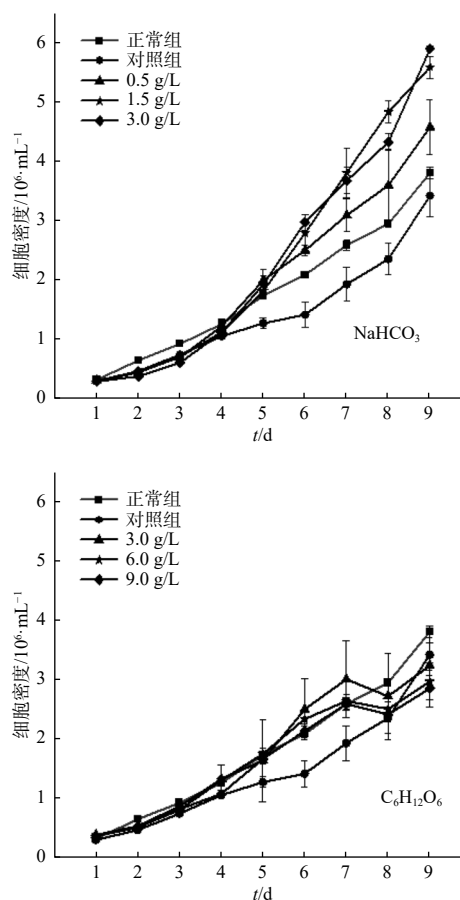


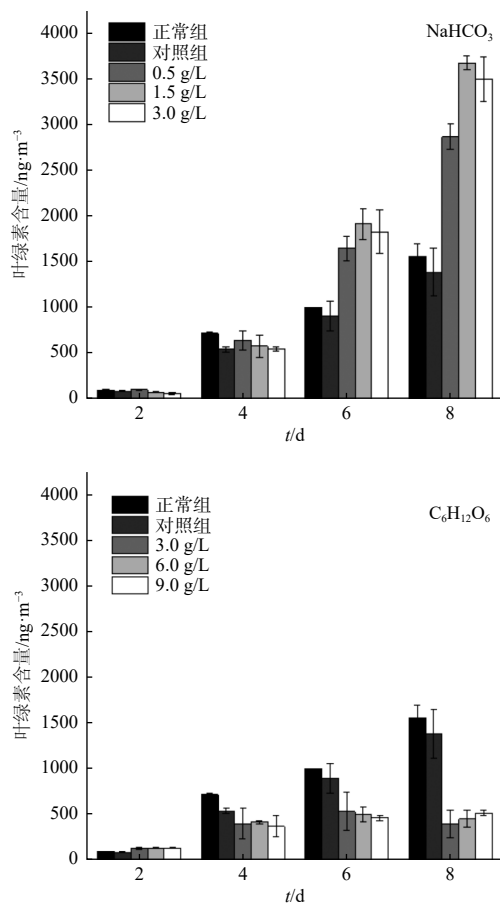
图1 不同条件下小新月菱形藻的细胞密度

Fig. 1 The cell density of *N. closterium* under different conditions

2.2 碳源对WAF胁迫下小新月菱形藻Chl a含量的影响

图2是小新月菱形藻Chl a含量随时间的变化情况。在整个培养过程中,对照组小新月菱形藻的Chl a含量一直低于正常组。第8天,WAF对小新月菱形藻Chl a的抑制率为11.22%。WAF在微藻中的积累能够造成叶绿体收缩、基质减少、类囊体膨胀等现象,使叶绿体结构遭到破坏。因此,微藻的初级光化学产量降低,电子运输能力下降,PSII和释放氧中心活性被抑制,同时,微藻的呼吸作用增强,能量消耗加速^[13]。

从图2(NaHCO_3)可以看出,前4天, NaHCO_3

图2 不同条件下小新月菱形藻的 Chl *a* 含量Fig. 2 The Chl *a* content of *N. closterium* Under different conditions

组小新月菱形藻的 Chl *a* 含量低于正常组, 4 天后, Chl *a* 含量明显超过正常组和对照组, NaHCO₃ 使受 WAF 毒性效应降低的 Chl *a* 含量有所增加, 这与细胞密度的变化趋势一致。1.5 g/L NaHCO₃ 的作用效果最明显, 第 8 天, 其 Chl *a* 含量是正常组的 2.35 倍, 是对照组的 2.65 倍。Chl *a* 含量的增加能够使微藻产生更高的光合效率, 这表明适量的 NaHCO₃ 能够促进微藻的生长和生物量的累积^[14]。

从图 2 (C₆H₁₂O₆) 可以看出, C₆H₁₂O₆ 使小新月菱形藻的 Chl *a* 含量远低于正常组和对照组水平, 对 Chl *a* 的抑制率最高达到 74.4%。外加 C₆H₁₂O₆ 使得 WAF 胁迫下小新月菱形藻的光合效率下调, 氧气释放停止, 光合器官丧失, 类囊体的超微结构随着膜的减少而发生显著变化, 从而导致小新月菱形藻的光合作用受到抑制, 呼吸作

用增强, 出现藻液发白和藻细胞裂解的现象^[15-16]。

两种碳源的添加形成了截然不同的结果, 这可能是因为微藻对不同碳源有不同的利用途径。当外加 C₆H₁₂O₆ 时, 微藻利用 C₆H₁₂O₆ 进行呼吸作用, 先通过糖代谢途径生成乙酰辅酶 A (acetyl-CoA), 再进入三羧酸循环 (TCA cycle)。当外加 NaHCO₃ 时, 微藻利用溶解无机碳 (主要以 CO₂、HCO₃⁻、CO₃²⁻ 和 H₂CO₃ 形式存在) 作为碳源进行光合作用。因此, NaHCO₃ 对 WAF 胁迫下小新月菱形藻的生长更有利。

2.3 碳源对 WAF 胁迫下小新月菱形藻 MDA 含量、SOD 活力的影响

MDA 是衡量细胞脂质过氧化程度最常见的指标, 其含量的变化可以间接反映藻细胞遭受胁迫的强弱以及细胞氧化损伤的程度^[17]。小新月菱形藻的 MDA 含量变化如图 3 所示。对照组第 6 天、第 8 天的 MDA 含量分别是正常组的

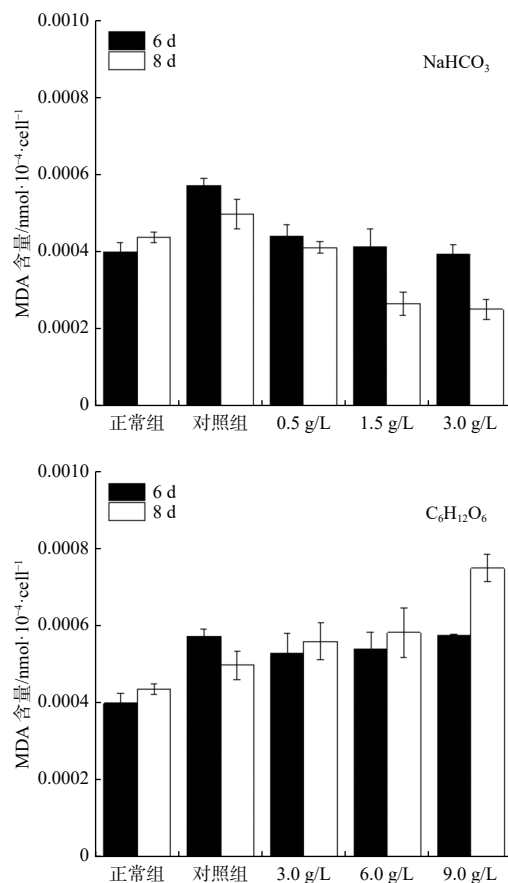


图3 不同条件下小新月菱形藻的 MDA 含量

Fig. 3 The MDA content of *N. closterium* Under different conditions

1.44倍、1.14倍,小新月菱形藻脂质过氧化严重。因为石油烃在进入藻细胞后,可通过自身或中间代谢产物的氧化还原反应产生大量活性氧自由基,如 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{O}^{2-}$ 、 H_2O_2 等。

NaHCO_3 组MDA含量均低于对照组,并且随着 NaHCO_3 浓度的升高,MDA含量逐渐降低。第8天,各浓度分别使胁迫下小新月菱形藻的MDA含量降低了17.5%、46.7%、49.7%。这意味着外加 NaHCO_3 可降低藻细胞因WAF胁迫产生的脂质过氧化。外加6.0 g/L和9.0 g/L $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 均使MDA含量高于对照组,特别是第8天,脂质过氧化加重,加深了WAF对小新月菱形藻的毒性效应。刘浩等的研究表明,低浓度 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 对藻细胞生长呈促进作用,而高浓度 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 可能会改变细胞渗透压,使藻细胞原有形态受到影响,并抑制自身代谢^[18],这与本实验的现象相似。

不同条件下小新月菱形藻的SOD活力如图4所示。第6天,WAF胁迫下小新月菱形藻SOD活力是正常组的2.43倍,这是藻细胞对不利环境积极应激的表现。随着培养时间的延长,藻细胞可能通过自身调节代谢掉部分毒性,SOD活力逐渐下降。

第6天和第8天, NaHCO_3 使WAF胁迫下SOD活力均低于对照组,第6天,3.0 g/L NaHCO_3 使SOD活力下降最多,为0.011 U/ 10^4 cell。外加 NaHCO_3 可能使藻细胞对WAF的利用率不高,细胞内产生的活性氧自由基较少,藻细胞的抗氧化防御系统能够将其清除。3.0 g/L $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 能够刺激SOD活力使其增加,但随着 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 浓度升高,SOD活力明显下降,表明 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 浓度过高会超出小新月菱形藻自身的调节范围,活性氧自由基产生和清除的平衡被打破,SOD活力受到抑制。

2.4 碳源对WAF胁迫下小新月菱形藻脂肪酸组成的影响

小新月菱形藻属硅藻门,其常见的4种脂肪酸为C14:0、C16:0、C16:1n-7、C20:5n-3(EPA)。脂肪酸是微藻体内重要的代谢产物,是脂质的组成单元,在环境受到污染时,它可以通过改变脂质代谢和脂肪酸组成来抵抗外界不良因素^[19]。

图5为不同浓度 NaHCO_3 对溢油胁迫下小新月菱形藻脂肪酸组成的影响。第2天,WAF胁迫使对照组C18:3n-6的比例增加4%,C16:0的比例减少2%,C16:1n-7的比例减少5%;0.5 g/L NaHCO_3 组与对照组脂肪酸比例相似,1.5 g/L和3.0 g/L NaHCO_3 则与正常组比例相似。这可能是由于1.5 g/L和3.0 g/L NaHCO_3 组的小新月菱形藻先利用外加的碳源来进行代谢活动,基本不受WAF胁迫影响,而对照组和0.5 g/L NaHCO_3 组的藻细胞受WAF毒性作用影响,通过加强PUFAs的合成来调节自身防御系统^[20]。

第4天,与正常组相比,对照组C20:5n-3的比例由26%减少到24%,而C16:0的比例由19%增加至22%。第6天,对照组C20:5n-3的比例比正常组低4%,这是因为不饱和脂肪酸受到活性氧自由基的攻击发生了脂质过氧化。 NaHCO_3 组C20:5n-3的比例则高于正常组和对

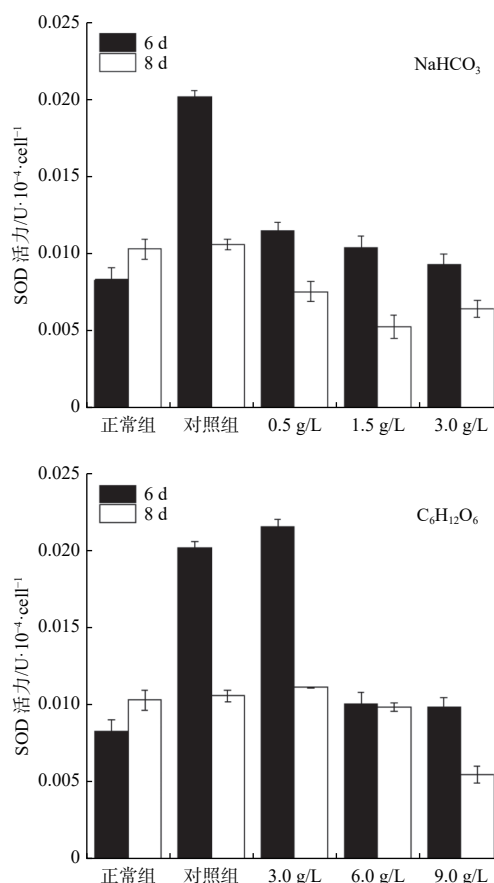
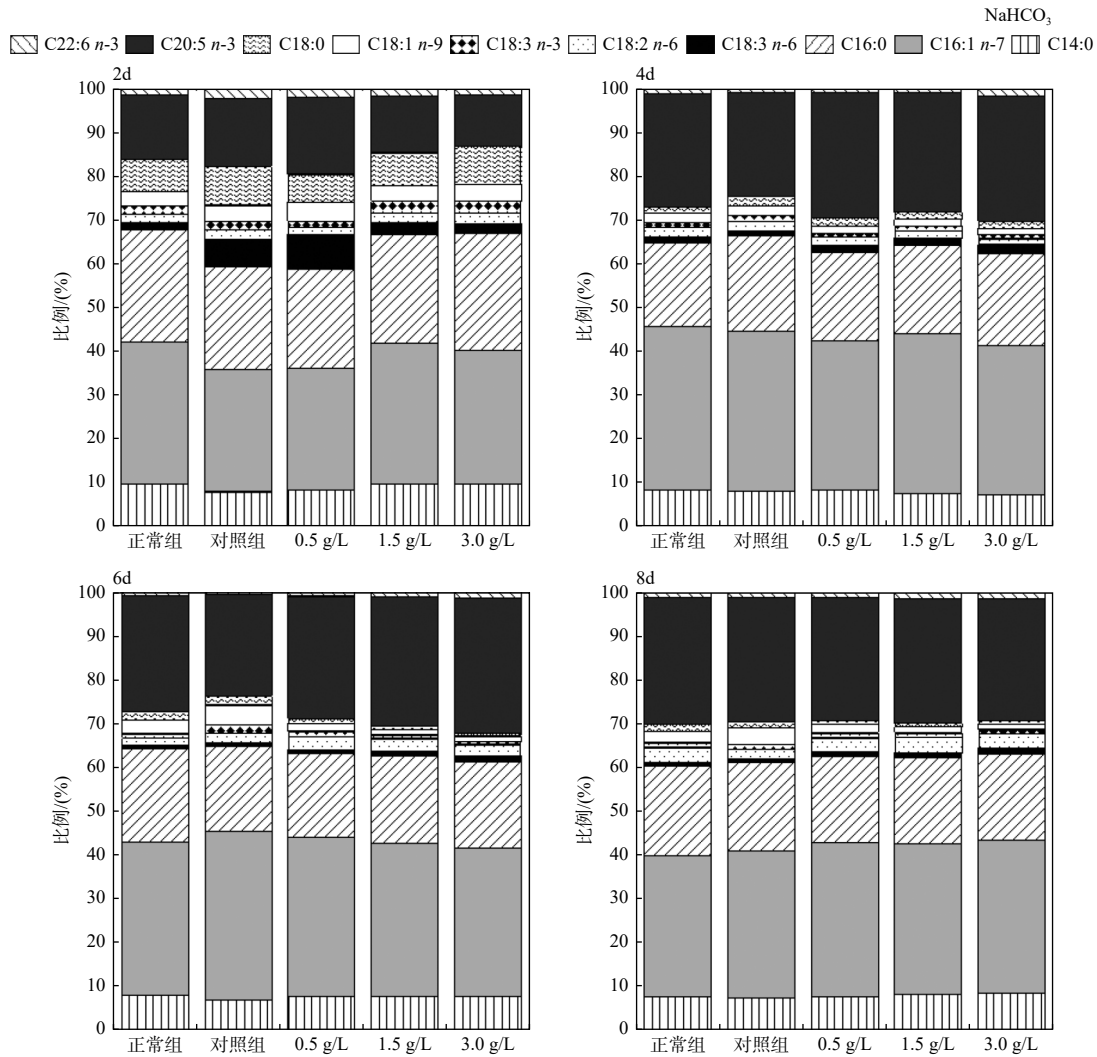


图4 不同条件下小新月菱形藻的SOD活力

Fig. 4 The SOD activity of *N. closterium* Under different conditions

图5 NaHCO_3 对溢油胁迫下小新月菱形藻脂肪酸组成的影响Fig. 5 The effects of NaHCO_3 on fatty acid composition of *N. closterium* under oil spill stress

照组, NaHCO_3 的添加使藻细胞密度和代谢速度增加, 促进脂肪酸从饱和脂肪酸向不饱和脂肪酸转化, 从而使脂肪酸组成发生改变^[21,22]。培养第8天, 各处理组脂肪酸组成基本相同。

图6为不同浓度 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 对溢油胁迫下小新月菱形藻脂肪酸组成的影响, 变化最明显的是 C18:1n-9 和 C20:5n-3 。培养期间, C18:1n-9 的比例一直高于正常组和对照组, 最高可达27%, 随培养时间先增加后减少, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 浓度越高, C18:1n-9 的比例越小。与正常组、对照组相比, C20:5n-3 的比例在第2天减少5%~9%, 第4天减少16%~21%, 合成受到明显抑制, 从第6天开始慢慢增加。外加 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 还使小新月菱形藻 C16:0 的比例增加, 随 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 浓度升高而增

加。Regnault 等利用有机碳源培养纤细裸藻 (*Euglena gracilis*) 得到的结果与本实验现象一致^[23]。单不饱和脂肪酸(MUFAs)增加的原因可能是外加 $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ 使 WAF 胁迫下小新月菱形藻脂质过氧化加重, 与光合作用有关的 PUFAs 减少, PSI 和 PSII 活性降低。小新月菱形藻的光合作用受到抑制, 导致细胞密度增长较慢, 甚至不增长, 不需要合成更多的膜化合物, 对 PUFAs 的需求下降, 而 MUFAs 以 TAG 的形式被存储起来^[24]。

3 结论

(1) 在 180#燃料油 WAF 胁迫下, 小新月菱形藻细胞内活性氧自由基产生过量, 脂质过氧化

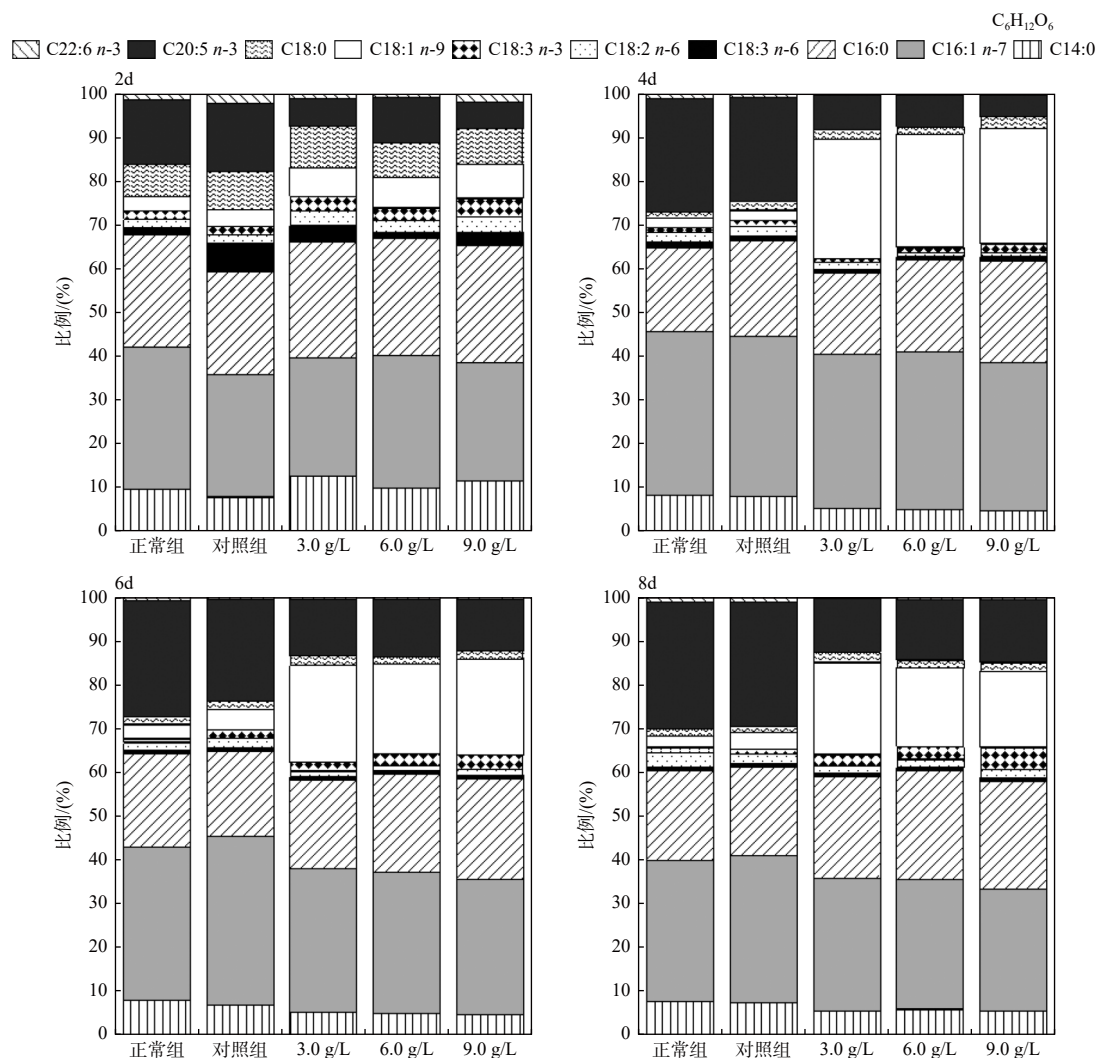


图 6 $C_6H_{12}O_6$ 对溢油胁迫下小新月菱形藻脂肪酸组成的影响

Fig. 6 The effects of $C_6H_{12}O_6$ on fatty acid composition of *N. closterium* under oil spill stress

加剧,可能导致藻的细胞膜、类囊体膜被破坏。小新月菱形藻的光合作用和脂肪酸合成途径受到影响,细胞密度下降。

(2)添加 $NaHCO_3$ 为小新月菱形藻提供了充足的无机碳源,减少了对 WAF 中碳的利用,使细胞内活性氧自由基减少,脂质过氧化水平降低;同时,小新月菱形藻的光合作用增强,细胞密度增加,对膜化合物的需求增加,需要合成更多的 PUFAs。微藻生长状况良好, WAF 形成的毒性效应得到有效缓解。

(3)低浓度 $C_6H_{12}O_6$ 对 WAF 毒性效应的缓解效果一般,而在高浓度 $C_6H_{12}O_6$ 作用下小新月菱形藻的 MDA 含量增加, PUFAs 比例下降,光合速率和细胞密度的增加受到抑制,导致 WAF

毒性效应加重。MUFAs 比例上升,并转为 TAG 被存储起来。

参考文献:

- [1] STEPANIYAN O V. Effects of crude oil on major functional characteristics of macroalgae of the Barents Sea[J]. *Russian Journal of Marine Biology*, 2008, 34(2): 131-134.
- [2] GONZÁLEZ J J, VIÑAS L, FRANCO M A, et al. Spatial and temporal distribution of dissolved/dispersed aromatic hydrocarbons in seawater in the area affected by the *Prestige* oil spill[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2006, 53(5/6/7): 250-259.
- [3] HUANG Y J, JIANG Z B, ZENG J N, et al. The chronic effects of oil pollution on marine phytoplankton in a subtropical bay, China[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2011, 176(1/2/3/4): 517-530.

- [4] 张聿柏. 石油烃对海洋微藻的毒性效应及其机理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [5] CHAO M, SHEN X Q, LUN F X, et al. Toxicity of fuel oil water accommodated fractions on two marine microalgae, *Skeletonema costatum* and *Chlorella spp*[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2012, 88(5): 712-716.
- [6] RAMADASS K, MEGHARAJ M, VENKATESWARLU K, et al. Toxicity of diesel water accommodated fraction toward microalgae, *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlorella sp.* MM3[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, 142: 538-543.
- [7] TU Z M, LIU L T, LIN W T, et al. Potential of using sodium bicarbonate as external carbon source to cultivate microalga in non-sterile condition[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 266: 109-115.
- [8] ABINANDAN S, SHANTHAKUMAR S. Erratum to: evaluation of photosynthetic efficacy and CO₂ removal of microalgae grown in an enriched bicarbonate medium[J]. *3 Biotech*, 2016, 6(1): 77.
- [9] 贺迎霞. 一株绿球藻对不同浓度葡萄糖的响应机制研究[D]. 太原: 山西大学, 2021.
- [10] 王 曼. 浮游植物叶绿素a4种提取方法的比较[J]. *中国实用医药*, 2013, 8(22): 263-264.
- [11] ZHAO Z Y, MA S S, LI A, et al. Effects of trophic modes, carbon sources, and salinity on the cell growth and lipid accumulation of tropic ocean oilgae strain *Desmodesmus sp.* WC08[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2016, 180(3): 452-463.
- [12] CLAUS S, JEZIERSKA S, VAN BOGAERT I N A. Protein - facilitated transport of hydrophobic molecules across the yeast plasma membrane[J]. *FEBS Letters*, 2019, 593(13): 1508-1527.
- [13] LIU F J, TU T X, LI S X, et al. Relationship between plankton-based β -carotene and biodegradable adaptability to petroleum-derived hydrocarbon[J]. *Chemosphere*, 2019, 237: 124430.
- [14] MOKASHI K, SHETTY V, GEORGE S A, et al. Sodium bicarbonate as inorganic carbon source for higher biomass and lipid production integrated carbon capture in *Chlorella vulgaris*[J]. *Achievements in the Life Sciences*, 2016, 10(1): 111-117.
- [15] 彭文琴. 不同碳源和光照周期对三种微藻生长及油脂积累的影响[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- [16] ROTH M S, GALLAHER S D, WESTCOTT D J, et al. Regulation of oxygenic photosynthesis during trophic transitions in the green alga *Chromochloris zofingiensis*[J]. *The Plant Cell*, 2019, 31(3): 579-601.
- [17] FOYER C H, NOCTOR G. Stress - triggered redox signalling: what's in pROSpect?[J]. *Plant, Cell & Environment*, 2016, 39(5): 951-964.
- [18] 刘 浩, 杭雨晴, 朱帅旗, 等. 葡萄糖对三角褐指藻生长、岩藻黄素含量及相关基因表达的影响[J]. *中国药理学杂志*, 2016, 51(14): 1230-1234.
- [19] DE JESÚS-CAMPOS D, LÓPEZ-ELÍAS J A, MEDINA-JUAREZ L Á, et al. Chemical composition, fatty acid profile and molecular changes derived from nitrogen stress in the diatom *Chaetoceros muelleri*[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 16: 100281.
- [20] 姚敬元. 溢油对微藻脂肪酸稳定同位素组成的影响[D]. 大连: 大连海事大学, 2017.
- [21] 吴华莲, 苏娇娇, 向文洲, 等. 碳酸氢钠、氯化钠和pH对菱形藻EPA累积的影响[J]. *渔业现代化*, 2014, 41(3): 5-10.
- [22] JEGAN G, SRINIVASAN M, SENTHILKUMAR N S. Influence of different concentrations of sodium bicarbonate on growth rate and biochemical composition of micro algae[J]. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 2013, 4(4): 81-87.
- [23] REGNAULT A, CHERVIN D, CHAMMAI A, et al. Lipid composition of *Euglena gracilis* in relation to carbon-nitrogen balance[J]. *Phytochemistry*, 1995, 40(3): 725-733.
- [24] LIU J, HUANG J C, SUN Z, et al. Differential lipid and fatty acid profiles of photoautotrophic and heterotrophic *Chlorella zofingiensis*: assessment of algal oils for biodiesel production[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(1): 106-110.