

小球藻对不同盐度海水养殖尾水的净化效果研究

宋元照^{1,2}, 李佳蕙², 董晓晓², 杜文勇^{1,2}, 姜海滨², 李 贤³, 李 军⁴

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 山东省海洋资源与环境研究院, 山东 烟台 264006; 3. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 266071; 4. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 微藻处理养殖尾水已成为热点研究方向, 有关一定盐度范围内海水养殖尾水的微藻处理研究较少。本试验调配了两种盐度(16和26)的海水养殖尾水, 以空白组作对照, 设置小球藻(*Chlorella salina*)初始接种密度梯度(5×10^5 、 1×10^6 、 2×10^6 和 3×10^6 个/mL), 研究小球藻对海水养殖尾水中不同形态氮和磷的去除效果。结果表明, 小球藻在海水养殖尾水中生长良好, 可有效去除尾水中的氮磷营养盐, 16盐度组中各初始藻密度组对 NH_4^+ 、 NO_3^- 和总溶解态氮(total dissolved nitrogen, TDN)的去除率分别为85.03%~85.87%、60.87%~63.70%和54.53%~57.64%, 组间无显著差异($P > 0.05$); 26盐度组中除 5×10^5 组外, 其余藻密度组对 NH_4^+ 、 NO_3^- 和TDN的去除率分别为87.23%~88.16%、56.70%~57.79%和53.31%~54.62%, 且组间无显著差异($P > 0.05$), 表明小球藻初始接种密度对尾水中氮盐的去除无显著影响。除 5×10^5 个/mL组外, 16与26盐度组中对TDN的去除率无显著差异, 表明盐度变化对氮的去除无影响。随着初始藻密度的升高, 16和26处理组对总溶解态磷(total dissolved phosphorus, TDP)的去除率均上升, 分别为76.13%~99.53%和63.72%~96.83%, 表明藻初始接种密度的升高可促进尾水中磷的去除, 且盐度升高没有影响小球藻对磷的去除。本研究获得了不同初始接种密度小球藻对一定盐度范围的海水养殖尾水的吸收利用特点, 可为海水养殖尾水的生态化处理提供一定的理论基础。

关键词: 小球藻(*Chlorella salina*); 盐度; 接种密度; 海水; 水产养殖尾水

中图分类号: S949 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2022)11-0126-13

DOI: 10.11759/hyxx20220525005

在当前生态文明建设、水产养殖绿色健康发展的国家方针政策的指导下, 高效处理海水养殖尾水并达到排放标准^[1]是保障水产养殖产业健康发展的关键。海水养殖尾水中含有较高浓度的有机物和N、P营养盐, 具有排放水量大、盐度高等特点^[2-3]。近年来, 随着海水养殖业的快速发展, 大量未经处理的养殖尾水直接排放到周围环境中, 导致海洋环境恶化^[4-5]。为有效治理养殖尾水污染, 防止养殖水体富营养化及赤潮等灾害的发生, 国内外学者针对水质调控开展了大量的研究工作^[6-8]。物理法可滤除大颗粒悬浮物, 但无法深度处理养殖尾水; 化学法须注意药剂残留及副产物问题^[9]; 生物法对无机营养盐的去除效果有限^[10]; 微藻能够高效利用水体中的氮磷营养盐、净化养殖水体、在养殖尾水中生长迅速, 回收的藻类生物质可用于开发生物燃料等高价值产品, 是一种优良的生态处理方法^[10-11]。

丁一等^[12]对比了固定化海水小球藻(*Chlorella salina*)和悬浮藻液对海水养殖尾水的处理效果, 发现固定化小球藻对氮磷去除效果更好, 将固定化藻

球应用于光生物反应器可去除84.49%和72.17%的氨氮和磷酸盐。对比不同接种浓度(0.1、0.2、0.3和0.4 g/L)海水小球藻对海水养殖尾水的去除效果, 结果表明0.2 g/L组小球藻生长状况最好, 且对总溶解态氮(total dissolved nitrogen, TDN)和总溶解态磷(total dissolved phosphorus, TDP)的去除率最高, 分别为66.4%和94.3%^[13]。现今国内外研究主要涉及不同种类微藻^[14]、光生物反应器^[15-16]、藻菌共生^[17-18]和固定化技术^[12, 19]等对水产养殖尾水的处理, 而对海水养殖尾水的研究较少。海水养殖水体因养殖对象的适盐范围不同而具有不同的盐度差异, 如凡纳滨对虾和斑

收稿日期: 2022-05-25; 修回日期: 2022-06-27

基金项目: 国家重点研发计划资助项目(2020YFD0900600); 现代农业产业技术体系专项(CARS-47); 山东省农业重大应用技术创新项目(SD2019YY011)

[Foundation: The National Key R&D Program of China, No. 2020YFD0900600; China Agriculture Research System, No. CARS-47; Major Agricultural Application Technology Innovation Project of Shandong Province, No. SD2019YY011]

作者简介: 宋元照(1997—), 男, 山西文水人, 硕士研究生, 主要从事养殖尾水处理及资源化利用研究, E-mail: 1324055403@qq.com; 李贤(1985—), 通信作者, E-mail: lixian@ouc.edu.cn

节对虾养殖尾水盐度分别为 20 和 21~24^[20-21], 红鳍东方鲀适宜盐度范围为 15~35^[22], 对一定盐度范围内的海水养殖尾水研究较为匮乏, 对不同接种密度微藻处理一定盐度范围内的海水养殖尾水研究甚少。

本研究以小球藻为研究对象, 将其接种于 16 和 26 ‰ 海水养殖尾水中, 分析小球藻在两种盐度海水养殖尾水中的生长状况, 对比不同接种密度小球藻对海水养殖尾水中氮、磷的去除效果。旨在确定最佳藻接种密度, 为小球藻处理海水养殖尾水提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 藻种的制备

试验藻种海水小球藻(编号: ToCL007)由中国水产科学院黄海水产研究所提供, 适应盐度为 16 ‰。试验前, 将藻种接入 250 mL 锥形瓶(含有 100 mL 的 16 ‰ 灭菌 f/2 培养基)中, 进行扩大培养, 生长 7~8 d 后, 将藻液分别转移至 16 ‰ 和 26 ‰ 海水 f/2 培养基, 进行 16 ‰ 和 26 ‰ 的扩繁和盐度驯化培养。每 7~8 d 转接 1 次, 共转接 3~4 次, 待小球藻处于对数生长期, 且藻数目达到试验要求时, 即可作为试验藻种, 离心(5 000 r/min, 4 ℃, 10 min)浓缩备用。

1.1.2 海水养殖尾水

基于前期对海水养殖尾水的调查测定, 配置了模拟养殖尾水, 高温高压灭菌后冷却至室温待用, 水质指标如表 1 所示。

表 1 模拟养殖尾水水质指标

Tab. 1 Water quality of simulated mariculture wastewater

项目	水质指标	
	16‰	26‰
NH ₄ ⁺ (mg/L)	1.18±0.02	1.18±0.05
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0.21±0.01	0.21±0.01
NO ₃ ⁻ (mg/L)	7.39±0.06	7.41±0.29
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	1.77±0.09	1.76±0.10
TDN(mg/L)	10.83±0.42	10.86±0.58
TDP(mg/L)	2.06±0.09	2.07±0.09
COD(mg/L)	10.77±0.31	10.51±0.47
pH	8.0	8.0
DO(mg/L)	5.9	5.6
电导率(mS/cm)	24.61	34.92

1.2 试验设计

试验组共设 9 组, 分为 16 和 26 两个盐度及空白

对照组, 每个盐度组设 4 个藻浓度梯度, 分别为 5×10⁵、1×10⁶、2×10⁶ 和 3×10⁶ 个/mL。每组设 3 个平行。在 1 000 mL 锥形瓶中加入 500 mL 模拟养殖尾水, 分别接入不同浓度的小球藻, 使锥形瓶中的初始藻数目分别达到 5×10⁵、1×10⁶、2×10⁶、3×10⁶ 个/mL, 16 ‰ 系列表示为 16 S-LD(5×10⁵, Low Density)、16 S-MD(1×10⁶, Medium Density)、16 S-HD(2×10⁶, High Density) 和 16 S-MAD(3×10⁶, Maximum Density), 对照组表示为 16 S-Control; 26 ‰ 系列表示为 26 S-LD、26 S-MD、26 S-HD 和 26 S-MAD, 对照组表示为 26 S-Control。

1.3 培养条件及指标测定

所有处理组锥形瓶在光照培养箱中连续培养, 设置温度为 25 ℃, 光照强度 4 600 lx, 光暗比为 24 h: 0 h 进行培养。试验持续 72 h, 每隔 8 h 取样 45 mL, 测定藻液光密度 OD₇₅₀ 和叶绿素 *a* 等藻生长指标, 经 0.45 μm 滤膜过滤后测定氨氮、亚硝态氮、硝态氮、磷酸盐、总氮和总磷等水质指标。

氨氮、亚硝态氮、硝态氮和磷酸盐测定分别采用次溴酸钠氧化法、萘乙二胺分光光度法、紫外分光光度法和磷钼蓝分光光度法^[23], 总氮和总磷测定采用联合消化法^[24]。DO、pH 和电导率测定采用 YSI Professional Plus 型水质分析仪, 藻计数使用光学显微镜(XSP-BM-8ACS, 彼爱姆)和血球计数板。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Office Excel™ 处理数据, 使用 SPSS Statistics 24.0 对水质指标进行单因素方差分析(one-way ANOVA), *P*<0.05 为差异显著, 试验制图采用 Originlab Origin Pro 2021™。比生长速率公式如下:

$$K = \frac{\ln N_t - \ln N_0}{t}, \quad (1)$$

式中, *K* 为比生长速率(单位为 d⁻¹), *N*₀ 是初始藻细胞密度(个/mL), *N*_{*t*} 是 *t* 时间后的藻细胞密度(个/mL), *t* 为培养时间(d)。

营养盐去除率(*R*)计算公式如下:

$$R = \frac{C_0 - C_t}{t}, \quad (2)$$

*C*₀ 和 *C*_{*t*} 分别为营养盐初始浓度和 *t* 小时之后的质量浓度(mg/L)

叶绿素 *a* 测定参照 RITCHIE^[25]的公式, 如下:

$$\text{Chl } a = 0.060 \ 4 \times A_{632 \text{ nm}} - 4.522 \ 4 \times A_{649 \text{ nm}} + 13.296 \ 9 \times A_{665 \text{ nm}} - 1.745 \ 3 \times A_{696 \text{ nm}}. \quad (3)$$

2 结果与分析

2.1 小球藻生长情况

由图 1 可知, 在 72 h 的培养期中, 小球藻的 OD₇₅₀ 值和叶绿素 *a* 含量显著增加($P<0.05$), 且没有明显的停滞期, 表明在不同盐度、不同接种密度条件下, 小球藻均能快速适应, 且生长良好。如图 2(a)所示, 16 S 中 LD、MD、HD 和 MAD 各组间的比生长

速率均有显著性差异($P<0.05$), 且随着接种密度的升高, 小球藻比生长速率逐渐下降, 各组比生长速率分别为 0.612、0.505、0.360 和 0.272/d。藻接种密度和比生长速率的相关性分析显示两者呈显著负相关($r=-0.989, P<0.05$), 26 S 中各组间比生长速率也是如此($r=-0.975, P<0.05$), 各组比生长速率分别为 0.648、0.512、0.412 和 0.312/d。这一结果表明, 低接种密度有利于小球藻在养殖尾水保持较高的比生长速率。

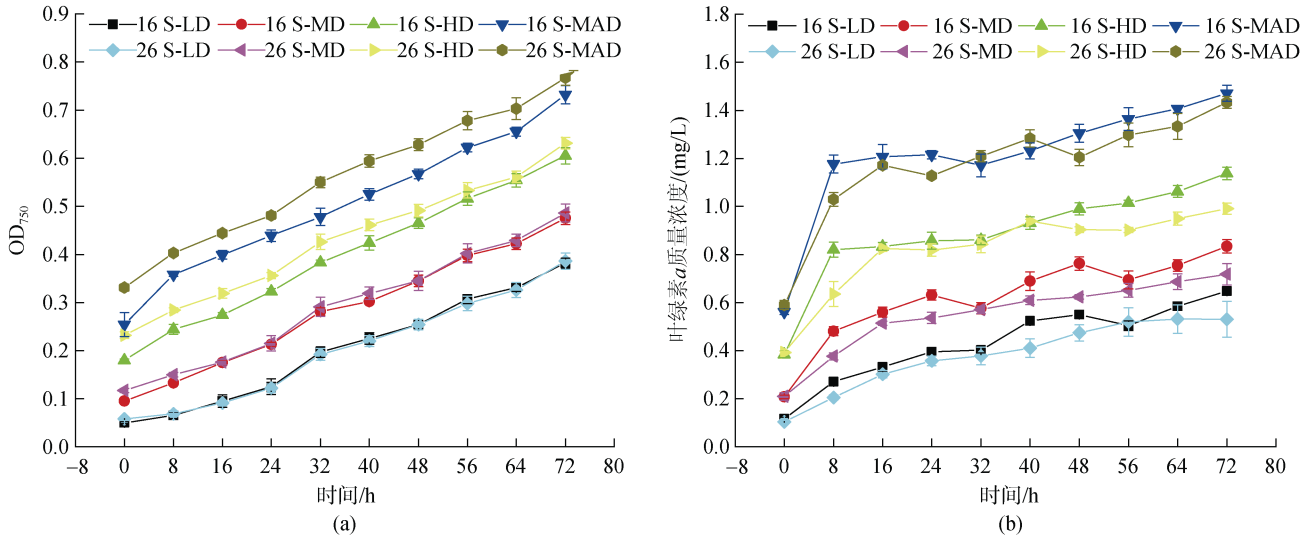


图 1 不同接种密度小球藻在海水养殖尾水中的 OD₇₅₀ 值(a)和叶绿素 *a* 浓度(b)变化特征

Fig. 1 OD₇₅₀ (a) and chlorophyll-*a* concentration (b) of *C. salina* with different inoculation densities in the mariculture wastewater

16 S-LD, 16 S- 5×10^5 组; 16 S-MD, 16 S- 1×10^6 组; 16 S-HD, 16 S- 2×10^6 组; 16 S-MAD, 16 S- 3×10^6 组; 26 S-LD, 26 S- 5×10^5 组; 26 S-MD, 26 S- 1×10^6 组; 26 S-HD, 26 S- 2×10^6 组; 26 S-MAD, 26 S- 3×10^6 组; 下同
16 S-LD, 16 S- 5×10^5 group; 16 S-MD, 16 S- 1×10^6 group; 16 S-HD, 16 S- 2×10^6 group; 16 S-MAD, 16 S- 3×10^6 group; 26 S-LD, 26 S- 5×10^5 group; 26 S-MD, 26 S- 1×10^6 group; 26 S-HD, 26 S- 2×10^6 group; 26 S-MAD, 26 S- 3×10^6 group; et sequential

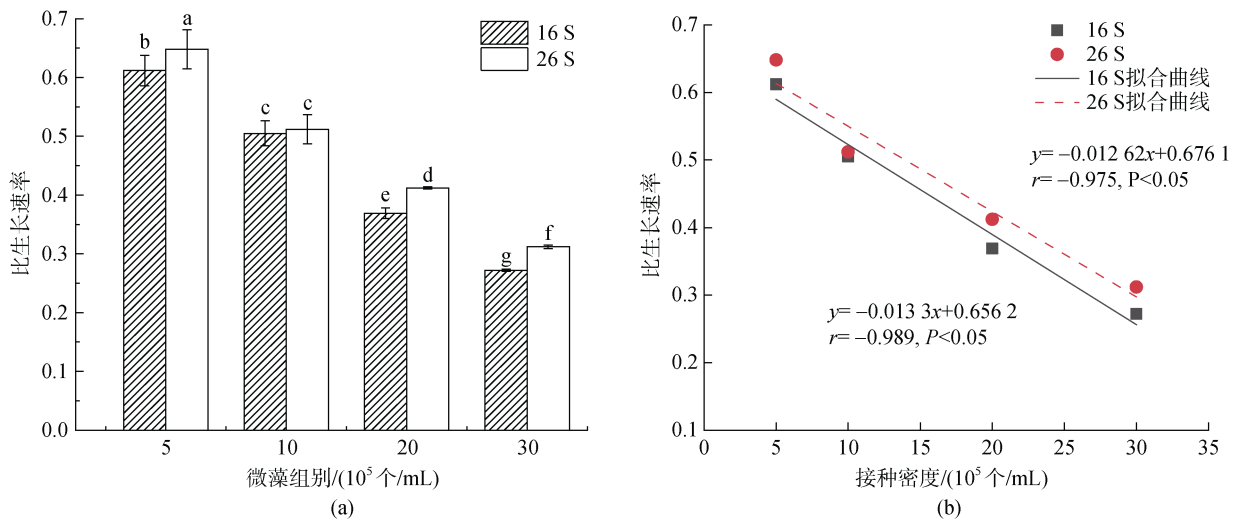


图 2 不同接种密度小球藻在海水养殖尾水中的比生长速率(a)及相关性分析图(b)

Fig. 2 Specific growth rates (a) and correlation analysis diagram (b) of *C. salina* with different inoculation densities in the mariculture wastewater

如图 2(a)所示, 26 S 中 LD、HD 和 MAD 组的比生长速率显著高于 16 S 中对应藻密度组($P<0.05$), 分别高出 5.56%、10.44%和 12.82%, 而两个盐度间 MD 藻密度的比生长速率无显著差异($P>0.05$)。金伟^[26]指出在一定盐度范围内, 藻类增长随着盐度的升高而加快, 而超过一定范围后, 盐度越大, 藻生长越慢。

2.2 小球藻对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除效果

由图 3 可知, 试验一开始 16 S 和 26 S 中各个藻密度组的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度均显著低于对照组($P<0.05$),

其中 16 S 中各个藻密度组的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度在 48~56 h 降至最低值, 26 S 在 16~24 h 降至最低。72 h 后, 16 S 中 LD、MD、HD 和 MAD 组的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率分别为 85.03%、85.59%、85.87%和 85.31%(表 2), 组间无显著性差异($P>0.05$); 72 h 后, 26 S 中 LD、MD、HD 和 MAD 组的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除率分别为 86.92%、87.59%、88.16%和 87.23%, 组间无显著性差异($P>0.05$)。由图 3 可知, 几乎所有处理组均可实现 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的高效去除, 且藻初始接种密度对氨氮的最终去除率无显著影响。

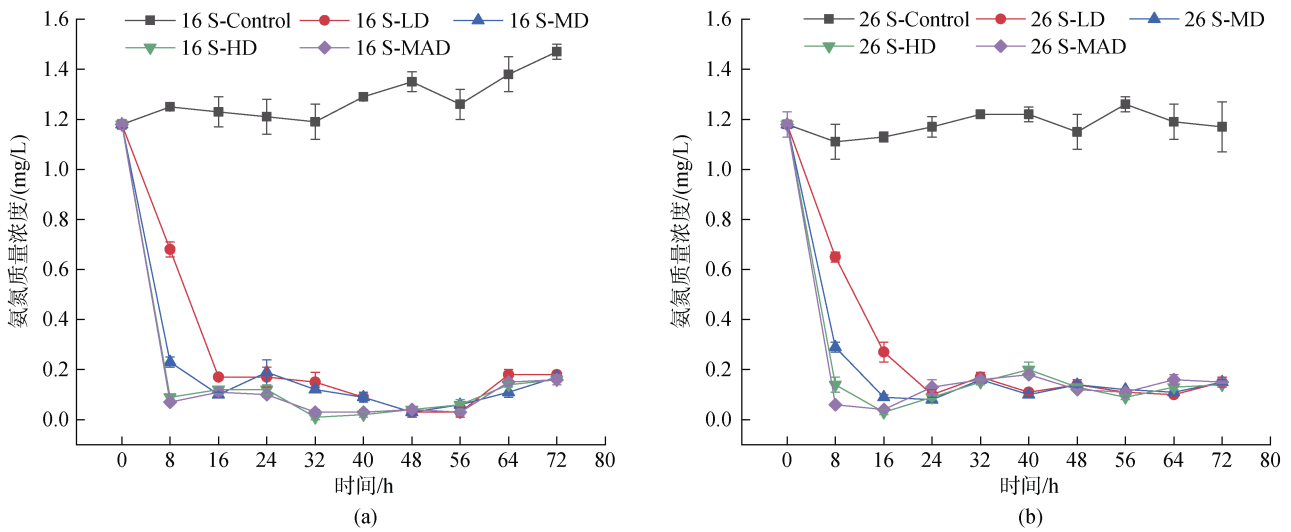


图 3 不同处理组对海水养殖尾水 16 S(a)和 26 S(b)氨氮的去除效果分析

Fig. 3 Ammonia nitrogen removal efficiencies of mariculture wastewater for salinities of 16 (a) and 26 (b) in different treatment groups

表 2 不同初始接种密度对小球藻去除营养盐效率的影响

Tab. 2 *C. salina's* nutrient removal efficiencies with different initial inoculation densities

初始接种密度	营养盐去除率/%				
	氨氮	硝态氮	总溶解态氮	磷酸盐	总溶解态磷
16 S-LD	85.03±0.48 ^a	62.57±2.29 ^{ac}	54.53±2.95 ^a	79.38±1.75 ^a	76.13±1.47 ^a
16 S-MD	85.59±0.00 ^{abc}	61.66±3.48 ^{ac}	57.64±1.09 ^a	88.27±1.19 ^b	86.07±1.95 ^b
16 S-HD	85.87±0.49 ^{abc}	63.70±3.22 ^a	55.53±1.93 ^a	97.72±0.33 ^c	98.31±0.72 ^{cf}
16 S-MAD	85.31±0.48 ^{ab}	60.87±1.57 ^{ac}	54.98±3.69 ^a	99.71±0.06 ^c	99.53±0.15 ^c
26 S-LD	86.92±2.12 ^{bcd}	45.68±1.83 ^b	44.23±0.52 ^b	59.87±4.00 ^d	63.72±1.71 ^d
26 S-MD	87.59±1.16 ^d	57.79±3.18 ^c	54.13±3.79 ^a	91.25±0.72 ^b	91.80±2.08 ^e
26 S-HD	88.16±0.30 ^d	56.70±5.30 ^c	54.62±4.70 ^a	98.90±0.23 ^c	96.83±0.43 ^f
26 S-MAD	87.23±0.24 ^{cd}	56.99±2.78 ^c	53.31±3.33 ^a	99.05±0.06 ^c	96.52±0.16 ^f

注: 表中数值为平均值±标准差, 同一列右上角含有相同英文字母表示无显著差异($P>0.05$)

由于 16 S 中的各藻密度组的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 从 56 h 开始缓慢上升, 而 26 S 中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 一直保持低浓度至试验结束, 使得同一藻密度组在两个盐度间对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$

的去除率具有显著性差异($P<0.05$), 且 26 S 对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率整体高于 16 S 体系(表 2), 因此小球藻在 26 S 中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除效果好于 16 S 中的去除效果。

2.3 小球藻对 NO_3^- -N 的去除效果

由图 4 可知,所有藻密度组均表现出很好的 NO_3^- -N 去除能力。16 S 中各藻密度组的 NO_3^- -N 浓度从 24 h 后开始显著下降($P<0.05$),至 72 h 时 LD、MD、HD 和 MAD 组的 NO_3^- -N 去除率分别为 62.57%、61.66%、63.70%和 60.87%(表 2),各组间没有显著差异($P>0.05$),表明 16 S 中的藻初始接种密度对 NO_3^- -N 去除率无显著影响。26 S 中的各藻密度组间 NO_3^- -N 开始下降的时间有差别,MAD 组的 NO_3^- -N 从 8 h 后开始下降,MD 和 HD 组的 NO_3^- -N

从 16 h 后开始下降,而 LD 组的 NO_3^- -N 从 24 h 开始减少,至 72 h 时 LD、MD、HD 和 MAD 组的 NO_3^- -N 去除率分别为 45.68%、57.79%、56.70%和 56.99%,其中 LD 组对 NO_3^- -N 去除效果不佳,去除率显著低于其余组别($P<0.05$);而随着接种密度的升高, NO_3^- -N 去除率并未表现出差异,表明 26 S 中较高的藻初始接种密度对 NO_3^- -N 去除率无显著影响。从经济方面考虑,在去除率无显著差异的情况下,优先选择低接种密度,因此 16 S-LD、16 S-MD 和 26 S-MD 组效果最好。

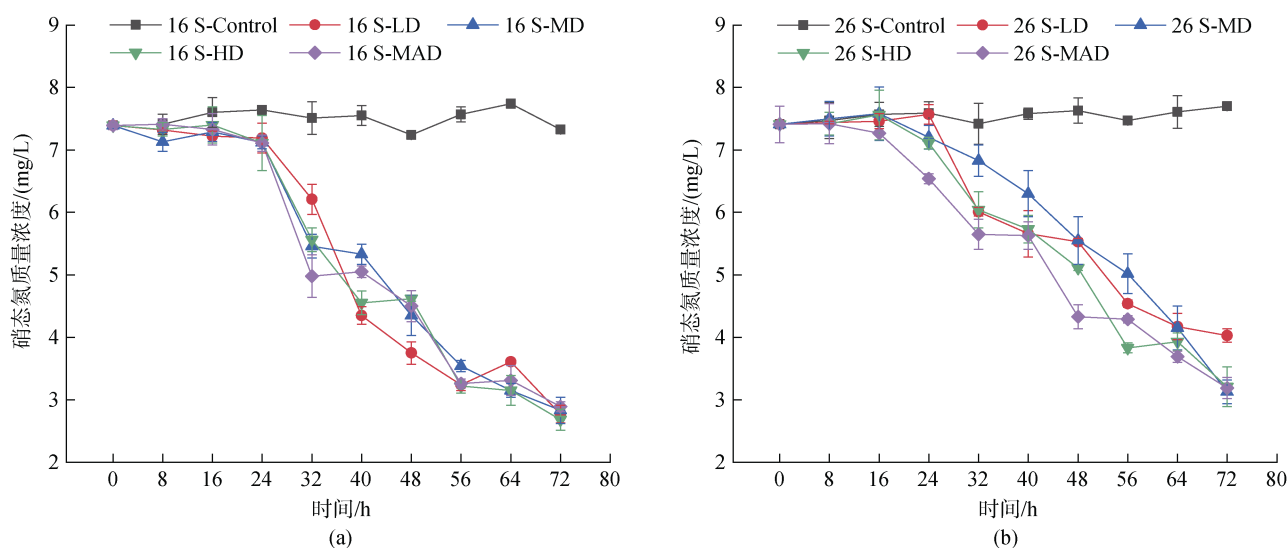


图 4 不同处理组对海水养殖尾水 16 S(a)和 26 S(b)硝态氮的去除效果分析

Fig. 4 Nitrate nitrogen removal efficiency analysis of mariculture wastewater for 16 S (a) and 26 S (b) in different treatment groups

试验结束时,两个盐度中同一初始藻密度对 NO_3^- -N 的去除率显示,26 S-LD 组去除率显著低于 16 S-LD 组($P<0.05$),HD 组也存在相同的现象($P<0.05$),其余藻密度(MD 和 MAD)在两个盐度间对 NO_3^- -N 的去除率无显著性差异($P>0.05$)。如表 2 所示,16 S 的 NO_3^- -N 去除率整体高于 26 S,表明小球藻在 16 S 中的 NO_3^- -N 去除效果好于 26 S 中的去除效果。

2.4 小球藻对 NO_2^- -N 浓度的影响

从图 5 可知,16 S 和 26 S 各藻密度组的 NO_2^- -N 浓度呈整体上升趋势。72 h 后,16 S 中 LD、MD、HD 和 MAD 组的 NO_2^- -N 浓度分别由最初的 0.209 mg/L 上升至 0.354、0.562、0.559 和 0.513 mg/L,26 S 中 LD、MD、HD 和 MAD 组分别由最初的 0.198 mg/L 上升至 0.368、0.452、0.516 和 0.526 mg/L。表明小球藻在吸收营养盐的过程中,水体中产生了 NO_2^- -N 的积累。

2.5 小球藻对 TDN 的去除效果

16 S 和 26 S 中各藻密度组(LD、MD、HD 和 MAD 组)对养殖尾水中 TDN 的去除效果如图 6 所示。16 S 中,TDN 浓度从第 0 小时开始下降,至试验结束时,LD、MD、HD 和 MAD 组的 TDN 去除率分别为 54.53%、57.64%、55.53%和 54.98%,各组间没有显著差异($P>0.05$),表明 16 S 中的藻接种密度对 TDN 去除率无显著影响;26 S 中,TDN 浓度从第 0 小时开始下降,至试验结束时,LD、MD、HD 和 MAD 组总氮去除率分别为 44.23%、54.13%、54.62%和 53.31%。其中 MD 组在 16~56 h 内去除效果不及其余各组,但至试验结束时对 TDN 的去除率升至 54.13%,与 HD 和 MAD 组(去除率为 54.62%)没有显著差异($P>0.05$)。LD 组对 TDN 的去除率最低,为 44.23%($P<0.05$),表明 26 S 中较高接种密度组对 TDN 的去除率没有差异,因此从经济方面考虑,16 S-LD、16 S-MD 和 26 S-MD 组去除 TDN 效果最好。

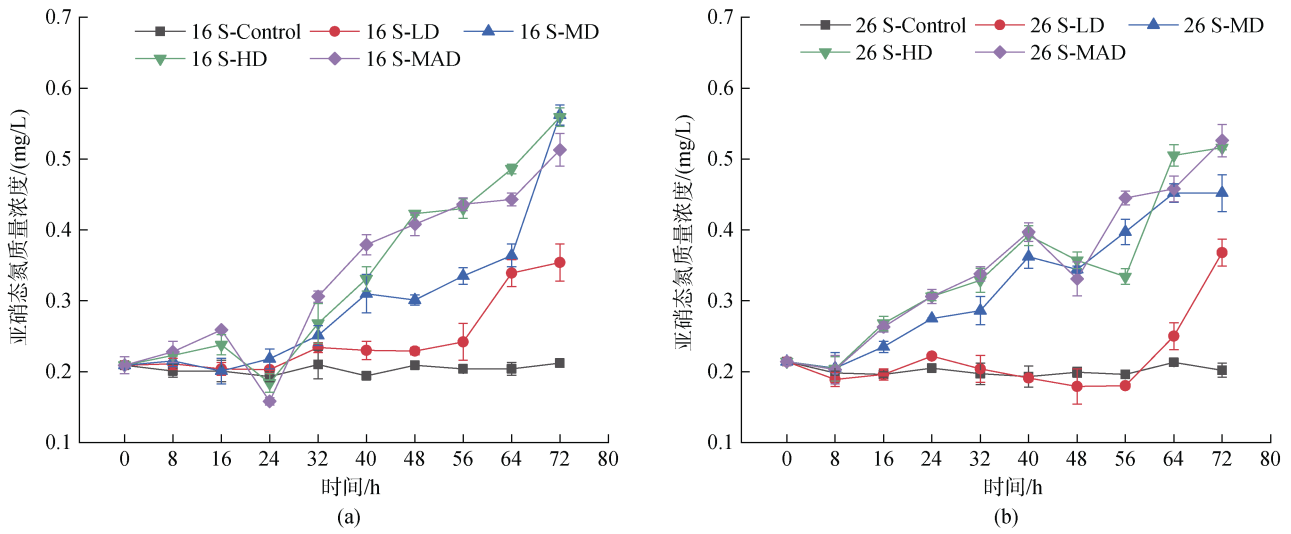


图 5 不同处理组在海水养殖尾水 16 S(a)和 26 S(b)亚硝态氮的变化情况

Fig. 5 Changes of nitrite nitrogen in the mariculture wastewater for 16 S (a) and 26 S (b) in different treatment groups

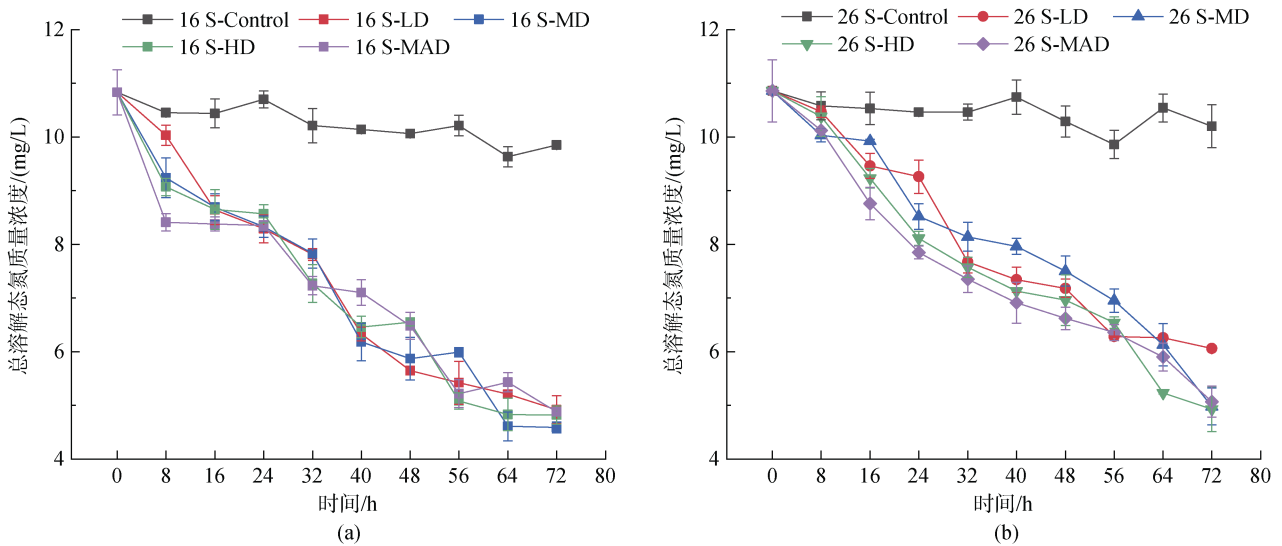


图 6 不同处理组对海水养殖尾水 16 S(a)和 26 S(b)总溶解态氮的去除效果分析

Fig. 6 Total dissolved nitrogen removal efficiency of mariculture wastewater for 16 S (a) and 26 S (b) in different treatment groups

两个盐度下同一接种密度对 TDN 的去除率显示, 26 S-LD组的TDN去除率显著低于16 S-LD组($P < 0.05$); 其余藻密度对 TDN 的去除率均无显著差异($P > 0.05$), 表明小球藻在 16 S 和 26 S 中对 TDN 的去除效果相同。

2.6 小球藻对 $PO_4^{3-}-P$ 的去除效果

对尾水中 $PO_4^{3-}-P$ 的去除结果显示(图 7), 各个藻密度组从试验开始即对 $PO_4^{3-}-P$ 表现出迅速吸收的趋势。至试验结束, 16 S 中的 LD、MD、HD 和 MAD 藻密度组对 $PO_4^{3-}-P$ 的去除率分别为 79.38%、88.27%、97.72%和 99.71%(表 2), HD 组和 MAD 组间无显著差

异($P > 0.05$), 且去除率均显著高于其余组别($P < 0.05$), LD 的 $PO_4^{3-}-P$ 去除率显著低于 MD 组($P < 0.05$), 表明 16 S 中 HD 和 MAD 组的 $PO_4^{3-}-P$ 去除效果最好; 26 S 的 LD、MD、HD 和 MAD 藻密度组对 $PO_4^{3-}-P$ 的去除率分别为 59.87%、91.25%、98.90%和 99.05%, HD 和 MAD 组无显著性差异($P > 0.05$), 且去除率均显著高于其余组别($P < 0.05$), LD 组的 $PO_4^{3-}-P$ 去除率显著低于 MD 组($P < 0.05$), 即初始接种密度升高, $PO_4^{3-}-P$ 去除率随之升高, 表明 26 S 中 HD 和 MAD 组的 $PO_4^{3-}-P$ 去除效果最好。

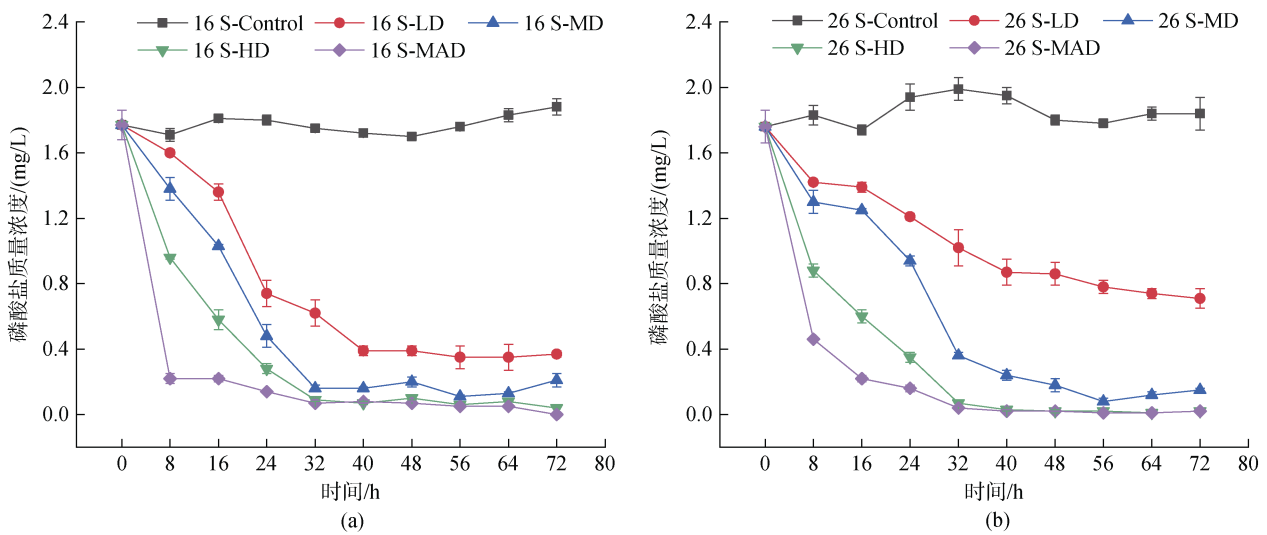


图7 不同处理组对海水养殖尾水 16 S(a)和 26 S(b)磷酸盐的去除效果分析

Fig. 7 Phosphate removal efficiency analysis of mariculture wastewater for 16 S (a) and 26 S (b) in different treatment groups

两个盐度中同一藻密度组对 $PO_4^{3-}-P$ 的最终去除率显示, 16 S-LD 组显著高于 26 S-LD 组($P<0.05$), 16 S-MD 和 26 S-MD 组间无显著差异($P>0.05$), HD 组和 MAD 组均存在相同的现象($P>0.05$), 表明在较高藻密度(MD、HD 和 MAD)下, 盐度对同一初始藻接种密度的 $PO_4^{3-}-P$ 去除率无显著影响。

2.7 小球藻对海水养殖尾水中 TDP 的去除效果

如图 8 所示, TDP 下降趋势与 $PO_4^{3-}-P$ 下降趋势一致。72 h 后, 16 S 中的 LD、MD、HD 和 MAD 藻密度

组对 TDP 的去除率分别为 76.13%、86.07%、98.31% 和 99.53%, HD 组和 MAD 组间无显著差异($P>0.05$), 且去除率均显著高于其余组别($P<0.05$), LD 的 TDP 去除率显著低于 MD 组($P<0.05$), 表明 16 S 中 HD 和 MAD 组的 TDP 去除效果最好; 26 S 中的 LD、MD、HD 和 MAD 组对 TDP 的去除率分别为 63.72%、91.80%、96.83% 和 96.52%, HD 和 MAD 组间无显著性差异($P>0.05$), 且去除率均显著高于其余组别($P<0.05$), LD 组的 TDP 去除率显著低于 MD 组($P<0.05$), 表明 26 S 中 HD 和 MAD 组的 TDP 去除效果最好。

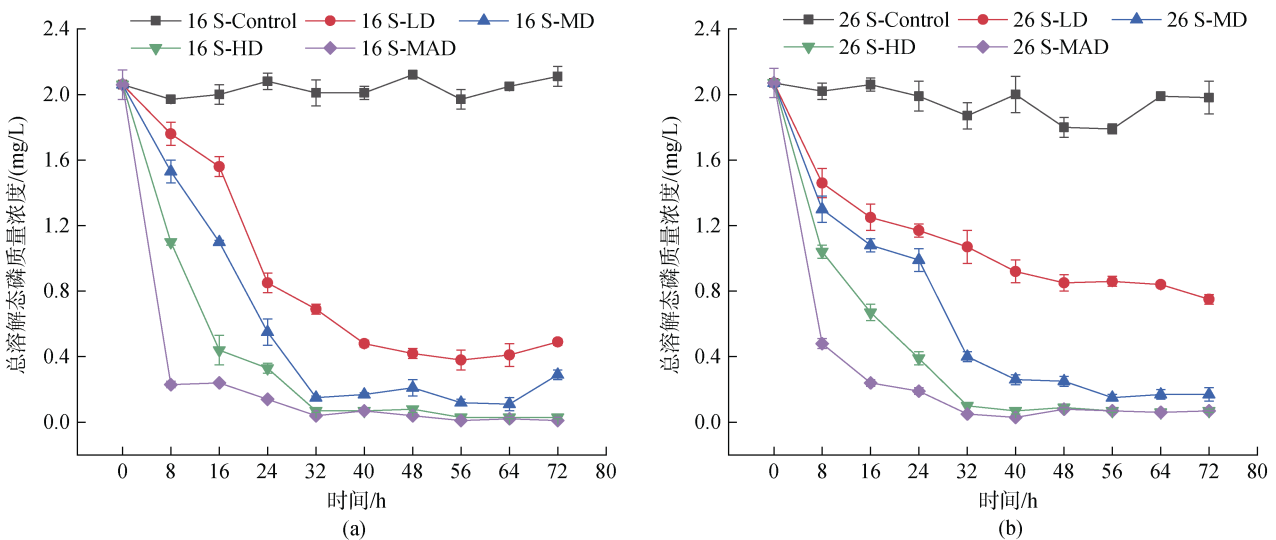


图8 不同处理组对海水养殖尾水 16 S(a)和 26 S(b)总溶解态磷的去除效果分析

Fig. 8 Total dissolved phosphate removal efficiency analysis of mariculture wastewater for 16 S (a) and 26 S (b) in different treatment groups

对比两个盐度中同一藻密度组对 TDP 的去除率, 16 S-LD 组 TDP 去除率显著高于 26 S-LD 组的去除率($P < 0.05$), 16 S-MD 组 TDP 去除率显著低于 26 S-MD 组, 16 S-HD 和 26 S-HD 组间无显著性差异($P > 0.05$), 16 S-MAD 组 TDP 去除率显著低于 26 S-MAD 组, 表明较高接种密度(HD 和 MAD)下, 盐度变化没有对小球藻去除 TDP 产生影响。

3 讨论

3.1 不同接种密度对藻细胞生长的影响

本研究中, 盐度和藻接种密度的变化未对小球藻生长造成影响, 该藻株在 16 和 26 尾水中均表现出良好的生长状况。16 S 和 26 S 中, 随着藻初始接种密度的升高, 小球藻的比生长速率显著下降, 表明起始接种密度影响了小球藻的生长, 两者呈负相关关系。NASIR 等^[27]研究发现, 小球藻在初始接种浓度 10%、20% 和 30% 时的比生长速率较高, 而在 40%、50% 和 60% 时的比生长速率降低。LIU 等^[28]报道, 拟小球藻(*Parachlorella kessleri* TY) 的最大比生长速率出现在 25~100 mg/L 接种浓度范围内, 显著高于 200 和 400 mg/L 的藻接种浓度, 与本研究结果趋势一致。本研究使用批次模式培养小球藻, 一个培养周期内尾水中的营养物质是有限的, 随着初始接种密度的升高, 藻对有限养分的竞争加剧, 抑制了藻生物量对氮磷营养盐的吸收同化, 致使高接种密度藻比生长速率下降^[29-30]。低密度藻生长迅速, 在节省成本的同时可以获得较好的藻生长状况。

对比两个盐度中同一藻密度组的比生长速率, 除 1×10^6 组无显著差异外, 16 S 体系中的其余藻密度组的比生长速率均低于 26 S 中的对应藻密度组($P < 0.05$), 表明小球藻在 26 S 中的生长效果整体优于 16 S。尽管有许多研究表明盐度升高抑制藻生长^[31-33], 然而对于适盐范围广的藻而言, 在一定盐度范围内, 藻类增长随着盐度的升高而加快, 而超过一定范围后, 盐度越大, 藻生长越慢^[26]。刘加慧等^[34]的研究表明, 小球藻(*Chlorella* sp. CHX-1) 比生长速率在 15~30 的盐度范围内随盐度升高呈上升趋势。MOHSENI 等^[35]发现, 在 5~15 g/L 总盐度(Total Dissolved Salinity, TDS)范围内, 微拟球藻(*Nannochloropsis salina*) 的比生长速率(SGR)由 0.24/d 上升至 0.30/d。本试验结果表明小球藻在 16~26 盐度范围内生长良好, 可应用于海水养殖尾水的生态处理。

3.2 不同接种密度小球藻对养殖尾水中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除

16 S 和 26 S 各个藻密度组对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 展现了很高的去除率。至试验结束, 同一盐度(16 S 或 26 S)中不同接种密度小球藻对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率没有显著性差异($P > 0.05$)。然而 LIU 等^[28]的研究发现, 在 25~400 mg/L 拟小球藻接种浓度范围内, 100 mg/L 组对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率最高, 从高浓度 6.25 mg/L 降至 0.24 mg/L; 而庞昊^[36]接种 0.1、0.2、0.3 和 0.4 g/L 海水小球藻处理海水养殖废水, 发现 0.2 g/L 组对废水中 1 mg/L 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除效果最好。本试验结果与前人研究不一致, 可能是因为该株小球藻具有较强的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 去除能力, 且初始 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度较低。相比吸收其他形态的氮(如硝酸盐), 藻吸收 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 消耗的能量最低, 因而吸收速率较快^[37]。试验后期 16 S 体系养殖尾水的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度有所上升, 26 S 中的小球藻对 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的去除率整体高于 16 S 体系, 可能是因为使用微藻等生物方法去除营养盐的过程中会伴随生物体的衰亡^[38], 实验过程中可能出现了部分藻的死亡分解而导致氨氮升高。

3.3 不同接种密度小球藻对养殖尾水中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除

由于藻细胞吸收 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 所需的能量最少, 能量效率最高, 因此绝大部分藻类优先利用水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$, 而 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 吸收顺序在 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 之后, 这是因为 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 需通过酶还原为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 再还原成 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 才能被同化利用^[37, 39]。本研究中, 小球藻对 3 种形态氮的吸收具有明显的先后特性。首先是 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度快速下降, 而后开始吸收 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 。16 S 中, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 从 24 h 开始下降, 此时各组 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度均已降至 0.2 mg/L 以下; 26 S 体系中, 尽管各组 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 下降时间不一致, 但 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度均降至 0.2 mg/L 以下后 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 开始下降。

16 S 和 26 S 各个藻密度组对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 展现了较高的去除率。16 S 中不同接种密度小球藻对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除率没有显著性差异($P > 0.05$); 26 S 体系中, 5×10^5 组去除率显著低于其余组别($P < 0.05$), 其余组间无显著性差异($P > 0.05$)。表明小球藻的接种密度对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除率没有显著影响。微藻同化吸收是去除水体中营养盐的主要途径, 因此微藻的生长是影响废水中营养物质去除的主要因素^[40-41], 对比图 1、图 2 和图 4 可知, 尾水中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的去除与小球藻生长明显

相关,因此可以推断小球藻的生长促进了 NO_3^- -N 的去除。对比两个盐度中同一藻密度组对 NO_3^- -N 的去除量,除 5×10^5 个/mL 组外,其余组间对 NO_3^- -N 的去除率均无显著差异,表明盐度变化对小球藻吸收 NO_3^- -N 无显著影响,因此从经济方面考虑,可选择低接种密度,16 S- 5×10^5 、16 S- 1×10^6 和 26 S- 1×10^6 组效果最好,该株小球藻可以应用于 16~26 盐度范围内的养殖尾水的处理。

3.4 养殖尾水中 NO_2^- -N 浓度升高

16 S 和 26 S 中的不同藻密度组的 NO_2^- -N 从第 8 小时开始均明显上升,这一结果与吴楠^[42]的研究结果类似,可能是小球藻对 NO_3^- -N 的利用转化造成的。藻细胞吸收 NO_3^- -N 需要通过硝酸盐还原酶和亚硝酸盐还原酶将其转化为 NH_4^+ -N 才能被同化利用^[39]。同时硝酸盐还原酶是一种底物诱导酶,水体中高浓度的 NO_3^- -N 会导致藻体内的硝酸盐还原酶活性升高,当硝酸盐还原酶形成的亚硝酸盐大于亚硝酸盐还原酶降低的亚硝酸盐时,水体中亚硝酸盐就会发生积累^[43-45]。本试验中 NO_2^- -N 持续上升至试验结束,可能是因为试验时间较短, NO_3^- -N 还未降至较低浓度,而后藻细胞才能大量吸收利用 NO_2^- -N。马红芳等^[44]利用栅藻处理水产养殖废水时发现,随着 NO_3^- -N 浓度的降低,试验第 8 天后,废水中试验前期所积累的 NO_2^- -N 含量迅速降低,至第 16 天试验结束时 NO_2^- -N 已降至 0.07 mg/L。

3.5 不同接种密度小球藻对养殖尾水中 TDN 的去除

各处理组对 TDN 的去除趋势与 NO_3^- -N 的一致,即从试验开始至结束一直保持快速下降趋势,最终 16 S 体系中各藻密度组的 TDN 去除率无显著差异,26 S 中除 LD 组外,MD、HD 和 MAD 组的 TDN 去除率均较高,且无显著差异。PANG 等^[13]接种不同浓度(0.1、0.2、0.3 和 0.4 g/L 干质量)海水小球藻,其中 0.2 g/L 组的 TDN 去除率显著高于其余组别,本试验结果与其不一致,可解释为本试验所用小球藻不同于前人所用藻,且营养物质的去除与生物量增长密切相关^[38],表明小球藻的生长促进了 TDN 的去除。

对比两个盐度中同一藻密度组对 TDN 的去除率,除 16 S- 5×10^5 组去除率显著高于 26 S- 5×10^5 组外,其余各组间均无显著差异($P > 0.05$),表明盐度变化对小

球藻吸收 TDN 无显著影响,并可选择合适的接种密度(1×10^6 和 2×10^6 个/mL)处理 16‰和 26‰海水养殖尾水。

3.6 不同接种密度小球藻对磷的去除

尾水中磷浓度在试验初期呈快速下降趋势(图 7、图 8)。16 S 中,各接种密度组对 PO_4^{3-} -P 的去除率为 79.38%~99.71%,对 TDP 的去除率为 76.13%~99.53%;26 S 中,各接种密度下的小球藻对 PO_4^{3-} -P 的去除率为 59.87%~99.05%,对 TDP 的去除率为 63.72%~96.83%(表 2)。随着藻接种密度的升高,磷的去除率也随之升高,表明藻初始接种密度的升高可促进尾水中磷的去除。吕俊平等^[46]设置 25、50、100、200 和 400 mg/L 接种浓度绿球藻(*Chlorococcum sphacosum* GD)处理水产养殖废水,其中 100 mg/L 接种浓度藻的总磷去除率最高,为 97.44%。NASIR 等^[27]研究发现,相较于其他体积分数(10%、20%、40%和 50%)的小球藻接种浓度,30%接种浓度对 PO_4^{3-} -P 去除率最高。本试验结果不同于前人的研究,这是因为微藻对磷的吸收有两种机制,分别为藻生物量的同化(例如磷脂等)和奢侈性吸收,其中奢侈性吸收指的是微藻可以过量吸收 PO_4^{3-} -P,并以聚磷酸盐的形式储存在细胞中^[47-48]。已有研究发现在一些微藻中观察到了 PO_4^{3-} -P 的过量吸收,如栅藻(*Scenedesmus* sp.)、小球藻(*Chlorella* sp. KJ654316)和微拟球藻等^[48-50]。本试验中可能存在奢侈性磷吸收现象,同时小球藻生物量的增加促进了磷的同化。

本试验结果表明,盐度变化对 PO_4^{3-} -P 去除率无显著影响,且在较高初始藻密度(2×10^6 和 3×10^6 个/mL)下对 TDP 的去除率在 96.52%~99.53%范围内,盐度变化未对 TDP 去除造成影响。MOHSENI 等^[35]发现盐度升高(5~15 g/L TDS)并未导致微拟球藻对城市污水反渗透浓缩液中 PO_4^{3-} -P 去除率的下降,一方面是与 NO_3^- 和 Cl^- 在高盐度水平(>5 g/L TDS)的竞争相比, PO_4^{3-} 和 Cl^- 离子的吸收不具有竞争性^[51],另一方面则是奢侈性吸收机制保证了盐度升高期间的磷吸收速率。

4 结论

尽管有研究认为藻初始浓度越高,氮磷去除速率越快、最终去除量也越高^[52],但本研究发现,在低密度范围($5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/mL)内,氮磷去除率会随着藻接种密度的升高而升高,然而藻接种密度超过

1×10^6 个/mL 后, 不同形态氮盐的去除率并未明显升高。因此需要选择合适的藻接种密度, 提高氮磷去除效果的同时节省成本。本试验结果表明, 初始接种密度为 1×10^6 个/mL(即 MD 组)时, 小球藻对海水养殖尾水中富营养化物质的去除效果优于其他接种密度的处理效果, 或在去除效果相同的情况下, 单位藻密度的处理效率更高, 因此以 1×10^6 个/mL 作为小球藻接种的最佳密度, 其能够高效处理 16~26 盐度范围内的海水养殖尾水, 在吸收营养盐的同时高效积累生物质, 对小球藻用于海水养殖尾水的大规模处理很有裨益。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国农业部渔业局. SC/T 9103-2007 海水养殖水排放要求[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
The People's Republic of China Ministry of Agriculture, Fisheries Bureau. SC/T 9103-2007 Water drainage standard for sea water mariculture[S]. Beijing: Standards Press of China, 2007.
- [2] 马晓娜. 复合湿地系统净化海水养殖废水中杀鲑气单胞菌及湿地微生物菌群研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2018.
MA Xiaona. *Aeromonas salmonicida* reduction and microbial community characterization in integrated constructed wetlands for treatment of marine aquaculture effluents[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2018.
- [3] TOVAR A, MORENO C, MÂNUEL-VEZ M P, et al. Environmental impacts of intensive aquaculture in marine waters[J]. *Water Research*, 2000, 34(1): 334-342.
- [4] YANG P, LAI D Y F, JIN B, et al. Dynamics of dissolved nutrients in the aquaculture shrimp ponds of the Min River estuary, China: Concentrations, fluxes and environmental loads[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 603/604: 256-267.
- [5] 崔毅, 陈碧鹃, 陈聚法. 黄渤海海水养殖自身污染的评估[J]. *应用生态学报*, 2005, 1: 180-185.
CUI Yi, CHEN Bijuan, CHEN Jufa. Evaluation on self-pollution of marine culture in the Yellow Sea and Bohai Sea[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 1: 180-185.
- [6] BEYER C P, GÓMEZ S, LARA G, et al. *Sarcocornia neei*: A novel halophyte species for bioremediation of marine aquaculture wastewater and production diversification in integrated systems[J]. *Aquaculture*, 2021, 543: 736971.
- [7] AQUILINO F, PARADISO A, TRANI R, et al. *Chaetomorpha linum* in the bioremediation of aquaculture wastewater: Optimization of nutrient removal efficiency at the laboratory scale[J]. *Aquaculture*, 2020, 523: 735133.
- [8] 杨坤, 胡星明, 卢文轩. 三角帆蚌对综合养殖水体水质及鱼蚌生长的影响[J]. *淡水渔业*, 2020, 50(1): 82-86.
YANG Kun, HU Xingming, LU Wenxuan. Effects of *Hyriopsis cumingii* on water quality and growth of other mussel and fish in the integrated culture[J]. *Freshwater Fisheries*, 2020, 50(1): 82-86.
- [9] 宋红桥, 顾川川, 张宇雷. 水产养殖系统的尾水处理方法[J]. *安徽农学通报*, 2019, 25(22): 85-87.
SONG Hongqiao, GU Chuanchuan, ZHANG Yulei. Tail water treatment of aquaculture system[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2019, 25(22): 85-87.
- [10] 牛旭东, 李梅, 王宁, 等. 利用微藻处理废水研究进展[J]. *山东农业科学*, 2022, 54(2): 146-152.
NIU Xudong, LI Mei, WANG Ning, et al. Research progress of treating wastewater with microalgae[J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2022, 54(2): 146-152.
- [11] ANSARI F A, SINGH P, GULDHE A, et al. Microalgal cultivation using aquaculture wastewater: Integrated biomass generation and nutrient remediation[J]. *Algal Research-Biomass Biofuels and Bioproducts*, 2017, 21: 169-177.
- [12] 丁一, 侯旭光, 郭战胜, 等. 固定化小球藻对海水养殖废水氮磷的处理[J]. *中国环境科学*, 2019, 39(1): 336-342.
DING Yi, HOU Xuguang, GUO Zhansheng, et al. Studies on the treatment of nitrogen and phosphorus in seawater aquaculture wastewater by immobilized chlorella[J]. *China Environmental Science*, 2019, 39(1): 336-342.
- [13] PANG H, WANG Y N, CHI Z Y, et al. Enhanced aquaculture effluent polishing by once and repetitive nutrients deprived seawater *Chlorella* sp.[J]. *Algal Research*, 2021, 60: 102555.
- [14] TEJIDO-NUÑEZ Y, AYMERICH E, SANCHO L, et al. Co-cultivation of microalgae in aquaculture water: Interactions, growth and nutrient removal efficiency at laboratory- and pilot-scale[J]. *Algal Research*, 2020, 49: 101940.
- [15] PENG Y Y, GAO F, YANG H L, et al. Simultaneous removal of nutrient and sulfonamides from marine aquaculture wastewater by concentrated and attached cultivation of *Chlorella vulgaris* in an algal biofilm membrane photobioreactor (BF-MPBR)[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 725: 138524.
- [16] ANDREOTTI V, SOLIMENO A, ROSSI S, et al. Bioremediation of aquaculture wastewater with the microalgae *Tetraselmis suecica*: Semi-continuous experiments, simulation and photo-respirometric tests[J].

- Science of the Total Environment, 2020, 738: 139859.
- [17] JI X, JIANG M, ZHANG J, et al. The interactions of algae-bacteria symbiotic system and its effects on nutrients removal from synthetic wastewater[J]. Biore-source Technology, 2018, 247: 44-50.
- [18] WICKER R, BHATNAGAR A. Application of nordic microalgal-bacterial consortia for nutrient removal from wastewater[J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 398: 125567.
- [19] KHATOON H, PENZ PENZ K, BANERJEE S, et al. Immobilized *Tetraselmis* sp. for reducing nitrogenous and phosphorous compounds from aquaculture wastewater[J]. Bioresource Technology, 2021, 338: 125529.
- [20] 鲁敏, 曹煜成, 胡晓娟, 等. 钝顶螺旋藻 SP1 (*Spirulina platensis*)对集约化养殖尾水氮磷的去除效果[J]. 生态科学, 2021, 40(2): 125-132.
LU Min, CAO Yucheng, HU Xiaojuan, et al. Removal effect of *Spirulina platensis* SP1 on the inorganic nitrogen and phosphorus from the intensive aquaculture tailwater[J]. Ecological Science, 2021, 40(2): 125-132.
- [21] 杨菁, 管崇武, 宋红桥, 等. 斑节对虾循环水养殖系统构建与运行试验[J]. 农业工程学报, 2021, 37(3): 198-204.
YANG Jing, GUAN Chongwu, SONG Hongqiao, et al. Construction and operation experiment of Penaeus monodon recycling aquaculture system[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2021, 37(3): 198-204.
- [22] 景琦琦. 不同养殖模式下红鳍东方鲀生长、血液生理及抗逆能力研究[D]. 济南: 山东农业大学, 2018.
JING Qiqi. The growth performance, hematological physiology and stress resistance of tiger pufferfish (*Takifugu rubripes*) under different culture systems[D]. Jinan: Shandong Agricultural University, 2018.
- [23] 国家海洋环境监测中心. 海洋监测规范 第4部分: 海水分析[M]. 北京: 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局; 中国国家标准化管理委员会, 2007: 172.
National Marine Environment Monitoring Center. The specification for marine monitoring - Part 4: seawater analysis[M]. Beijing: General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China; Standardization Administration of China, 2007: 172.
- [24] 邢殿楼, 霍堂斌, 吴会民, 等. 总磷、总氮联合消化的测定方法[J]. 大连水产学院学报, 2006, 3: 219-225.
XING Dianlou, HUO Tangbin, WU Huimin, et al. Simultaneous digestion for determination of total phosphorus and total nitrogen in sea water[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2006, 3: 219-225.
- [25] RITCHIE R J. Universal chlorophyll equations for estimating chlorophylls a, b, c, and d and total chlorophylls in natural assemblages of photosynthetic organisms using acetone, methanol, or ethanol solvents[J]. Photosynthetica, 2008, 46(1): 115-126.
- [26] 金伟. 盐和铬对单细胞藻生理生化的影响[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2002, 1: 44-50.
JIN Wei. Effect of salt and Cr(3+) on physiology and biochemistry of single-cell algae[J]. Journal of Hebei University (Natural Science Edition), 2002, 1: 44-50.
- [27] NASIR N M, BAKAR N S A, LANANAN F, et al. Treatment of African catfish, *Clarias gariepinus* wastewater utilizing phytoremediation of microalgae, *Chlorella* sp. with *Aspergillus niger* bio-harvesting[J]. Bioresource Technology, 2015, 190: 492-498.
- [28] LIU Y, LV J, FENG J, et al. Treatment of real aquaculture wastewater from a fishery utilizing phytoremediation with microalgae[J]. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 2019, 94(3): 900-910.
- [29] CHEN C Y, YEH K L, AISYAH R, et al. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review[J]. Biore-source Technology, 2011, 102(1): 71-81.
- [30] SOOKNAH R D, WILKIE A C. Nutrient removal by floating aquatic macrophytes cultured in anaerobically digested flushed dairy manure wastewater[J]. Ecological Engineering, 2004, 22(1): 27-42.
- [31] CHEIRSILP B, MANDIK Y I, PRASERTSAN P. Evaluation of optimal conditions for cultivation of marine *Chlorella* sp. as potential sources of lipids, exopolymetric substances and pigments[J]. Aquaculture International, 2016, 24(1): 313-326.
- [32] SINGH R, UPADHYAY A K, CHANDRA P, et al. Sodium chloride incites reactive oxygen species in green algae *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris*: Implication on lipid synthesis, mineral nutrients and antioxidant system[J]. Bioresource Technology, 2018, 270: 489-497.
- [33] 郑逸, 刘宪斌, 褚强. 盐度对小球藻生长胁迫及氮磷利用影响[J]. 环境科学与技术, 2019, 42(11): 31-39.
ZHENG Yi, LIU Xianbin, CHU Qiang. Effects of Salinity stress on growth and nitrogen and phosphorus utilization of two chlorella species[J]. Environmental Science & Technology, 2019, 42(11): 31-39.
- [34] 刘加慧, 杨洪帅, 王辉. 温度、盐度和 pH 对小球藻生长率的联合效应[J]. 水生生物学报, 2014, 38(3): 446-453.
LIU Jiahui, YANG Hongshuai, WANG Hui. Combined effects of temperature, salinity and pH on the specific growth rate of chlorella[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(3): 446-453.
- [35] MOHSENI A, FAN L, RODDICK F A. Impact of mic-

- roalgae species and solution salinity on algal treatment of wastewater reverse osmosis concentrate[J]. *Chemosphere*, 2021, 285: 131487.
- [36] 庞昊. 微藻处理海水养殖废水及工艺提升研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2021.
PANG Hao. Mariculture wastewater treatment with microalgae and process enhancement[D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2021.
- [37] WILHELM C, BÜCHEL C, FISAHN J, et al. The regulation of carbon and nutrient assimilation in diatoms is significantly different from green algae[J]. *Protist*, 2006, 157(2): 91-124.
- [38] KUMAR S D, SANTHANAM P, LEWIS-OSCAR F, et al. A dual role of marine microalga *Chlorella* sp. (PSDK01) in aquaculture effluent with emphasis on initial population density[J]. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 2015, 40(1): 29-35.
- [39] FERNANDEZ E, GALVAN A. Inorganic nitrogen assimilation in *Chlamydomonas*[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(9): 2279-2287.
- [40] GAO F, YANG H L, LI C, et al. Effect of organic carbon to nitrogen ratio in wastewater on growth, nutrient uptake and lipid accumulation of a mixotrophic microalgae *Chlorella* sp.[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 282: 118-124.
- [41] 刘盼, 贾成霞, 杨慕, 等. 2种微藻对养殖水体中氨氮和亚硝态氮的净化作用[J]. *水产科学*, 2018, 37(3): 389-393.
LIU Pan, JIA Chengxia, YANG Mu, et al. Removal of ammonia and nitrite nitrogen in aquaculture water by two species of microalgae[J]. *Fisheries Science*, 2018, 37(3): 389-393.
- [42] 吴楠. 钝顶螺旋藻处理海产养殖废水的效能及其在MPBR中的连续运行效果[D]. 济南: 山东大学, 2020.
WU Nan. Efficacy of *Spirulina platensis* in treating marine aquaculture wastewater and its continuous operation effect in MPBR[D]. Jinan: Shandong University, 2020.
- [43] CHEN W, ZHANG Q, DAI S. Effects of nitrate on intracellular nitrite and growth of *Microcystis aeruginosa*[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2009, 21(6): 701-706.
- [44] 马红芳, 李鑫, 胡洪营, 等. 栅藻 LX1 在水产养殖废水中的生长、脱氮除磷和油脂积累特性[J]. *环境科学*, 2012, 33(6): 1891-1896.
MA Hongfang, LI Xin, HU Hongying, et al. Growth, removal of nitrogen and phosphorus, and lipid accumulation property of *Scenedesmus* sp. LX1 in aquaculture wastewater[J]. *Environmental Science*, 2012, 33(6): 1891-1896.
- [45] 王金花, 唐洪杰, 杨茹君, 等. 氮磷营养盐对中肋骨条藻生长及硝酸还原酶活性的影响[J]. *海洋科学*, 2008, 32(12): 64-68.
WANG Jinhua, TANG Hongjie, YANG Rujun, et al. The effects of nitrate and phosphate on the growth and nitrate reductase activity of *Skeletonema costatum*[J]. *Marine Sciences*, 2008, 32(12): 64-68.
- [46] 吕俊平, 折雨亭, 刘洋, 等. 不同接种浓度绿球藻对水产养殖废水净化的影响[J]. *水生生物学报*, 2021, 45(3): 617-624.
LV Junping, ZHE Yuting, LIU Yang, et al. Effects of *Chlorococcum sphaeosum* GD with different inoculation concentrations on the purification of aquaculture wastewater[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, 45(3): 617-624.
- [47] SCHMIDT J J, GAGNON G A, JAMIESON R C. Microalgae growth and phosphorus uptake in wastewater under simulated cold region conditions[J]. *Ecological Engineering*, 2016, 95: 588-593.
- [48] POWELL N, SHILTON A, CHISTI Y, et al. Towards a luxury uptake process via microalgae – Defining the polyphosphate dynamics[J]. *Water Research*, 2009, 43(17): 4207-4213.
- [49] CHANDAN M, RAJOJIT C, KRISHNA R. Phosphorus recycling from an unexplored source by polyphosphate accumulating microalgae and cyanobacteria—A step to phosphorus security in agriculture[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1421.
- [50] SFORZA E, CALVARUSO C, LA ROCCA N, et al. Luxury uptake of phosphorus in *Nannochloropsis salina*: Effect of P concentration and light on P uptake in batch and continuous cultures[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2018, 134: 69-79.
- [51] MIURA K. Ecophysiology and responses of plants under salt stress - chapter 16: Nitrogen and phosphorus nutrition under salinity stress[M]. New York: Springer, 2013.
- [52] 李飞, 邢丽贞, 闫春玲, 等. 环境因素对微藻去除氮磷的影响[J]. *山东建筑工程学院学报*, 2006, 3: 268-272.
LI Fei, XING Lizhen, YAN Chunling, et al. Influence of environmental factors on removal of nitrogen and phosphorus by microalgae[J]. *Journal of Shandong University of Architecture and Engineering*, 2006, 3: 268-272.

Study on the purification effect of *Chlorella salina* on mariculture wastewater at different salinities

SONG Yuan-zhao^{1, 2}, LI Jia-hui², DONG Xiao-xiao², DU Wen-yong^{1, 2},
JIANG Hai-bin², LI Xian³, LI Jun⁴

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006, China; 3. Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266001, China; 4. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: May 25, 2022

Key words: *Chlorella salina*; salinity; inoculation density; seawater; aquaculture wastewater

Abstract: Aquaculture wastewater treatment by microalgae has become a research hotspot, but few studies on mariculture wastewater treatment by microalgae in a certain salinity range have been published. In this work, we prepared two salinities (16 and 26) of mariculture wastewater, with four initial inoculation density gradients (5×10^5 , 1×10^6 , 2×10^6 , and 3×10^6 cells/mL) of *Chlorella salina* (ToCL007) and blank as control. We investigated the effects of *C. salina* on the removal of nitrogen and phosphorus in different ratios in mariculture wastewater. Both the satisfactory growth of *C. salina* and its effective removal of nitrogen and phosphorus nutrients in the mariculture wastewater were observed. At a salinity of 16, removal rates of 85.03%–85.87%, 60.87%–63.70%, and 54.53%–57.64% for NH_4^+ , NO_3^- , and total dissolved nitrogen (TDN) were measured in the initial algae density groups, respectively [no significant difference between groups ($P > 0.05$)]. At a salinity of 26, except for the 5×10^5 group, removal rates of 87.23%–88.16%, 56.70%–57.79%, and 53.31%–54.62% for NH_4^+ , NO_3^- , and TDN, respectively, were calculated in the other algae density groups [no significant differences among groups ($P > 0.05$)]. This shows that the initial inoculation density had no significant effect on nitrogen removal in wastewater. Except for the 5×10^5 cells·mL⁻¹ group, there was no significant difference in TDN removal rates between salinities of 16 and 26, indicating that a change in salinity had no effect on nitrogen removal. With increasing initial algal density, the total dissolved phosphorus (TDP) removal rate increased for the 16 and 26 treatment groups, from 76.13% to 99.53% and 63.72% to 96.83%, indicating that increasing initial algal density promoted phosphorus removal in wastewater and increasing salinity did not inhibit phosphate removal by *C. salina*. In addition, the characteristics of assimilation and utilization of mariculture wastewater by *C. salina* with different initial inoculation densities were obtained, providing a theoretical basis for the ecological treatment of mariculture wastewater.

(本文编辑: 谭雪静)