

不同氮源对 4 种海洋微藻生长的影响

胡章喜, 徐宁, 段舜山

暨南大学水生生物研究中心//水体富营养化与赤潮防治广东省教育厅重点实验室//热带亚热带水生态工程教育部工程中心, 广东 广州 510632

摘要: 采用实验室一次性培养的方法, 研究了硝氮、氨氮、尿素和混合氨基酸等 4 种不同氮源对典型赤潮藻赤潮异弯藻 *Heterosigma akashiwo*、凯伦藻 *Karenia* sp.、球形棕囊藻 *Phaeocystis globosa* 和常见浮游植物优势种类角毛藻 *Chaetoceros* sp. 生长的影响。结果表明, 这 4 种海洋微藻不仅能利用无机氮硝氮和氨氮, 而且也均能利用有机氮尿素和混合氨基酸。赤潮异弯藻、凯伦藻和角毛藻均在以硝氮为唯一氮源时, 比生长速率分别达到最大值 0.45、0.52 和 0.70 d⁻¹; 而球形棕囊藻在以硝氮和尿素为唯一氮源时, 比生长速率均达最大值 0.65 d⁻¹。可溶性有机氮库中的重要组成成分尿素和氨基酸均能显著促进 4 种海洋微藻的生长; 相比较而言, 赤潮异弯藻和凯伦藻更加喜好有机氮氨基酸, 而球形棕囊藻和角毛藻更加喜好尿素。海洋微藻具备利用有机氮源的能力, 无疑扩展了其氮营养来源, 在无机氮缺乏而有机氮丰富的水体中, 它们在浮游植物群落中更具有竞争优势。

关键词: 赤潮藻; 有机氮; 尿素; 氨基酸; 生长速率

中图分类号: X173; Q948

文献标识码: A

文章编号: 1674-5906 (2010) 10-2452-06

有害赤潮已经成为一种全球性的自然灾害, 不仅给海洋环境、海洋渔业和海水养殖业造成严重的危害和损失, 而且还可能因误食被有毒赤潮生物污染的海产品而造成人体中毒, 因此赤潮的防治已经成为世界邻海各国亟待解决的生态环境问题^[1]。赤潮的发生与沿岸海域富营养化的关系是人们关注的焦点问题之一^[1-4]。大量研究表明, 氮在海洋环境中的含量、形态构成、数量变动不仅影响着赤潮生物的生理、生化组成, 而且也决定了赤潮形成的规模和程度^[5]。在自然海水中, 氮不仅以可溶性无机氮(Dissolved inorganic nitrogen, DIN) (NO₃⁻-N、NO₂⁻-N、NH₄⁺-N)形式存在, 还以可溶性有机氮(Dissolved organic nitrogen, DON)(尿素、游离氨基酸、酰胺、维生素、次黄嘌呤、鸟嘌呤)^[6-7]、氨基葡萄糖^[6]、腐殖质^[8]、多聚胺^[9]、有机氮混合物(如动物排泄物等)^[10-11]和颗粒有机氮(有机氮碎屑和浮游生物成分)的形式存在。近年来, 随着农业和海水养殖业的发展, 以及沿海地区人口的增加, 大量工业废水、生活污水和化学肥料随着河流径流和地下水进入到近海海洋生态系统中, 这些污染物中含有大量的有机氮营养物质, 而且海洋生物自身的代谢或死亡^[12-14]、大气沉降^[15]等也产生了大量的有机氮化合物, 这些含氮化合物在水体中过量蓄积就会造成富营养化, 因此有机氮营养物质在海洋生态系统中的作用不能被忽视。

目前, 国内外大多数的研究主要集中于无机氮

与赤潮发生之间的关系, 尤其是我国, 对于有机氮的研究还没有引起足够的重视, 事实上在大多数水域生态系统中, 最大的可溶性氮库是溶解有机氮^[16]。那么浮游植物尤其是赤潮藻类对有机氮的响应如何? 本研究选取我国主要赤潮原因种赤潮异弯藻 *Heterosigma akashiwo* 和凯伦藻 *Karenia* sp.、球形棕囊藻 *Phaeocystis globosa* 以及常见浮游植物优势种类角毛藻 *Chaetoceros* sp., 初步研究了它们对无机氮 NO₃⁻-N、NH₄⁺-N 和有机氮尿素、氨基酸的响应特征, 比较其对不同氮源的利用差异, 研究结果有助于了解有机氮源对赤潮藻生长的作用及其对浮游植物群落演替的潜在影响, 并可为赤潮的预测和防治工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验藻种

试验藻种赤潮异弯藻、凯伦藻、球形棕囊藻和角毛藻由暨南大学水生生物研究中心藻种室提供。

1.2 培养条件

试验藻种于室内光照培养箱(CC275TL2H 型人工气候箱, 杭州雪中炭)中, 培养温度均为(24±1)光照强度约为 120 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光暗比为 12L 12D。基础介质为人工海水(盐度为 30.5)^[17]。选用 f/2 培养基^[18], 其中氮浓度根据需要调整为 100 μmol·L⁻¹(以 N 计, 下同)。

1.3 试验设计

试验选取 4 种氮源, 2 种无机氮: 硝氮和氨氮,

基金项目: 国家自然科学基金项目(40776078; 40876074); 暨南大学创新基金项目

作者简介: 胡章喜 (1982 年生), 男, 博士研究生, 主要从事浮游植物生理生态学研究; E-mail: hzx0527@126.com

*通讯作者: 徐宁, 段舜山。

收稿日期: 2010-10-09

两种有机氮：尿素和混合氨基酸(20 种基本氨基酸，每种 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)，每种氮源浓度均为 $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ，以不添加氮源组为对照，培养条件与试验组均相同。试验开始前，先将藻细胞接种于不同氮源中，进行至少 3 轮以上的适应性培养，以使藻细胞完全适应于不同氮源。将不同氮源适应的藻细胞分别接种于含有不同氮源的 f/2 培养基，分装至 50 mL 带盖玻璃试管(PYREX, USA)中，培养液体积均为 35 mL，置于光照培养箱中进行一次性培养。每种氮源浓度重复 3 次。赤潮异弯藻、凯伦藻、球形棕囊藻和角毛藻接种密度分别为 30、25、12 和 20(以相对叶绿素 *a* 荧光值计算)。

每天固定时间将培养液置于黑暗处 10 min，然后用 TD-700 型荧光仪(Turner Designs)测定培养液相对叶绿素 *a* 荧光值(Relative Fluorescence Unit, RFU)^[19]，并每天计数细胞密度。比生长速率根据指数生长期的 RFU 值或细胞密度通过最小二乘法拟合得到^[20]。

$$\mu = \frac{\text{Ln}N_1 - \text{Ln}N_0}{T_1 - T_0}$$

其中， μ 为比生长速率(d^{-1})， N_1 和 N_0 分别是 T_1 时刻和 T_0 时刻的细胞密度或相对叶绿素*a*荧光值。

所有数据均使用 Origin 7.0 或 SPSS 13.0 软件进行统计分析。

2 结果

2.1 赤潮异弯藻

4 种氮源均能明显的促进赤潮异弯藻的生长(图 1, 图 2)。1 d 后藻细胞进入指数生长期，相对叶绿素 *a* 荧光值显著增大，而对照组相对叶绿素 *a* 荧光值变化不明显，基本上维持在起始值水平。当以硝氮、氨氮、尿素和混合氨基酸为氮源时，最大比

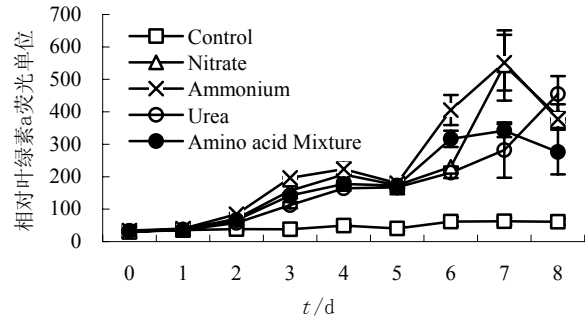


图 1 不同氮源下赤潮异弯藻的生长曲线

Fig.1 Growth curves of *H. akashiwo* with nitrate, ammonia, urea and amino acid mixture

生长速率分别为 0.45、0.44、0.33、和 0.37 d^{-1} ，均显著高于对照组($p < 0.05$)。经方差分析，以硝氮和氨氮为氮源时，其比生长速率无差异，但均显著高于混合氨基酸处理组($p < 0.01$)。

2.2 凯伦藻

4 种氮源对凯伦藻生长的影响见图 2、图 3。经 1 d 短暂适应后进入指数增长期。对照组开始保持缓慢增长，3 d 后相对叶绿素 *a* 荧光值逐渐下降，而各处理组刚好相反，保持快速增长态势。当以硝氮为氮源时，其比生长速率达最大值 0.52 d^{-1} ，与氨氮处理组无显著差异($p > 0.05$)，但均显著高于尿素和混合氨基酸处理组($p < 0.01$)。

2.3 球形棕囊藻

四种氮源均能显著的促进球形棕囊藻的生长(图 2, 图 4)。1 d 后藻细胞即进入指数生长期，尤其是当分别以硝氮、氨氮和尿素为唯一氮源时，藻细胞保持快速生长态势，相对叶绿素 *a* 荧光值不断增加，6 d 后基本上进入平台期，而当以混合氨基酸为唯一氮源时，4 d 后即进入平台期。当以硝氮、

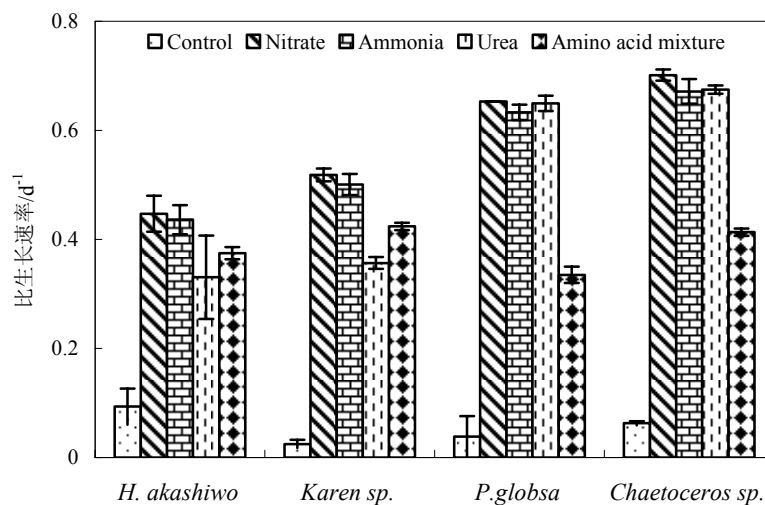


图 2 不同氮源下赤潮异弯藻、凯伦藻、球形棕囊藻和角毛藻的比生长速率

Fig.2 Specific growth rates of *H. akashiwo*, *Karenia sp.*, *P. globosa*, and *Chaetoceros sp.* with nitrate, ammonia, urea and amino acid mixture

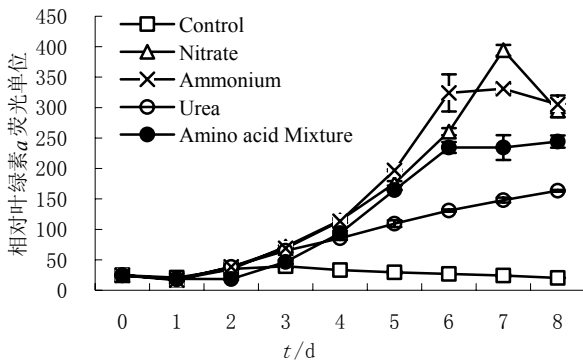


图3 不同氮源下凯伦藻的生长曲线

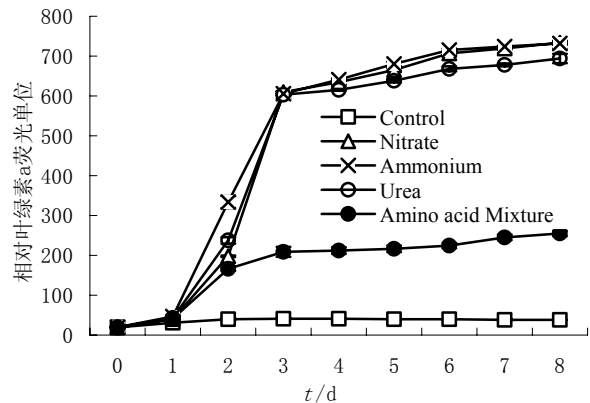
Fig.3 Growth curves of *Karenia* sp. with nitrate, ammonia, urea and amino acid mixture

图5 不同氮源下角毛藻的生长曲线

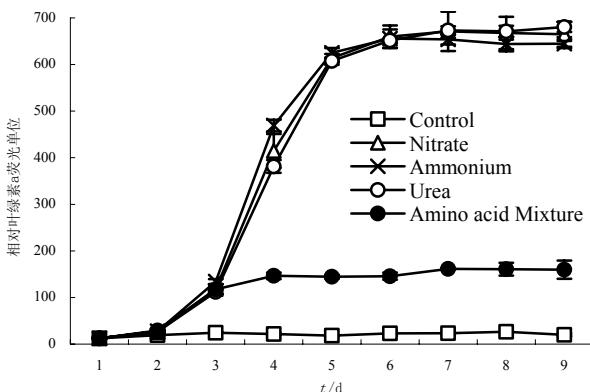
Fig.5 Growth curves of *Chaetoceros* sp. with nitrate, ammonia, urea and amino acid mixture

图4 不同氮源下球形棕囊藻的生长曲线

Fig.4 Growth curves of *P. globosa* with nitrate, ammonia, urea and amino acid mixture

氨氮、尿素和混合氨基酸为氮源时,比生长速率分别为 0.65、0.63、0.65、和 0.33 d^{-1} ,均显著高于对照组($p < 0.01$)。经方差分析,硝氮、氨氮和尿素处理组均无显著性差异,但均显著高于混合氨基酸处理组($p < 0.01$)。

2.4 角毛藻

不同氮源对角毛藻生长的影响见图 2、图 5。与赤潮异弯藻和凯伦藻相比,4 种氮源对角毛藻生长的促进作用明显强于二者,1 d 后藻细胞进入指数生长期,尤其是硝氮、氨氮和尿素处理组,在前 3 d 保持快速增长态势,氨基酸处理组在 3 d 后逐渐进入平台期。以硝氮、氨氮、尿素和混合氨基酸为氮源时,其比生长速率分别为 0.7、0.67、0.67 和 0.41,显著高于对照组($p < 0.01$)。经方差分析,硝氮处理组显著高于尿素处理组($p < 0.05$),而与氨氮处理组无显著差异($p > 0.05$),氨氮处理组与尿素处理组亦无显著差异($p > 0.05$),但均显著高于混合氨基酸处理组($p < 0.01$)。

3 讨论

3.1 无机氮源对浮游植物生长的影响

氮是浮游植物细胞内蛋白质、核酸、磷脂和叶绿素等的基本元素,在浮游植物生命活动中占有首要的地位。海水中的无机氮主要包括 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N,它们是能被海洋浮游植物可直接利用的氮源^[21]。试验中,赤潮异弯藻、凯伦藻、球形棕囊藻和角毛藻均能有效利用无机氮 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 进行生长,从实验结果看,这 4 种浮游植物都偏好于硝氮,而以氨氮为氮源时,其比生长速率也只是略低于硝氮,差异并不显著。通常认为浮游植物最先吸收 NH_4^+ -N,在 GS/GAGOT 酶的作用下,通过转氨基作用直接合成氨基酸;而 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N 则必须经过相应的硝酸还原酶和亚硝酸还原酶还原成 NH_4^+ -N^[22]。然而浮游植物对氮源的利用具有选择性。一般认为硅藻类偏好硝态氮(NO_3^- -N)丰富的水体,其快速增殖与 NO_3^- -N 的增加密切相关^[23-24];而鞭毛藻类(包括甲藻)更倾向于还原态氮,适应于低 NO_3^- -N、高 NH_4^+ -N 或尿素的水体环境^[25-26]。在大多数情况下,甚至当氧化态氮源(如 NO_3^- -N 和 NO_2^- -N)更充足的时候,浮游植物更倾向于利用还原态氮源(NH_4^+ -N 和尿素)^[27]。事实上,不同海域或同一海域不同季节各种形态氮在海水中的含量、组成有很大差异^[5]对浮游植物的生理生化特征、赤潮发生的种群及规模有着重要的影响。浮游植物对 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 的吸收竞争不仅决定于浮游植物的种类和其营养状态,还受制于介质中 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 的相对浓度。Balode 等^[28]对波罗的海 Riga 湾夏季自然水体进行营养盐富集实验研究,发现多数情况下 NH_4^+ -N 先于 NO_3^- -N 被吸收利用,但在个别培养瓶中 NH_4^+ -N 还剩余大约 $7.5 \mu mol \cdot L^{-1}$ 时, NO_3^- -N 就开始被消耗;张清春等研究了尿素、氯化铵、酵母浸出粉和硝酸钠等不同氮源对微小亚历山大藻生长和毒素产生的影响,发现硝酸钠和酵母浸出粉能显著促进微小亚历山大藻的生长,但是四种

含氮营养盐对微小亚历山大藻毒素组成的影响都很小^[29]。

3.2 有机氮源的重要性及其对浮游植物生长的影响

早期的观点认为 DON 是由难溶化合物组成,不能被浮游植物所利用,但是随着研究手段和技术的进步,某些浮游植物能够利用 DON 的观点逐渐被接受^[30]。事实上在大多数水域生态系统中,最大的 N 库就是 DON 库^[16]。Berman^[6]在 1994 年 9 月份的调查中发现表层海水中 DON 质量浓度高达 380 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,而 DIN 质量浓度只有 42 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Mulholland 等^[31]在 2002 年 4 月到 11 月对 Quantuck Bay, Long Island 的一次调查时发现, DON 浓度为 13.6~36.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,而 DIN 的浓度除 11 月份为 18.48 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (占 DON 的 80%)外 4—10 月均很低,变化范围为 0.34~2.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,占 DON 的比例仅为 1%~10%,可见这一区域 DON 浓度较高。同年, Mulholland 等^[32]在 Lafayette River, VA 的调查中发现 DON 浓度为 17.4~52.3 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,而 DIN 浓度仅为 0.4~11.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。目前,尿素和氨基酸是 DON 库中研究最为广泛、而且含量也是最为丰富的两类有机氮源。在美国马里兰州海湾和切萨皮克海湾,尿素质量浓度在几至几百 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间波动^[33]。在我国的大亚湾、广州市的一些河流和水库中^[34],尿素的质量浓度在几十到几百 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。氨基酸的浓度变化范围也很大,如 Chen 等^[35]研究了珠江三角洲河口水体中氨基酸的来源和转化,发现珠江三角洲河口水体中颗粒态可水解氨基酸(PHAA)、溶解态可水解氨基酸(THAA)和游离态氨基酸(DFAA)的浓度分别为 0.41~12.6、1.1~4.0 和 0.15~1.10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。Yang 等^[36]于 2006 年 4 月的一个航次中对中国黄海海域的 41 个站位的 DFAA 进行了调查,发现在亚表层 DFAA 的浓度范围为 0.13~1.62 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,平均浓度为(0.57±0.05) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,而在微表层 DFAA 的浓度范围则为 0.22~2.6 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,平均浓度为(0.94±0.08) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,主要的氨基酸是甘氨酸、丙氨酸、谷氨酸、丝氨酸和组氨酸。这些有机氮对浮游植物尤其是某些赤潮藻生长影响较大,如有些浮游植物细胞体内含有脲酶^[37],尿素经分解成 NH_4^+ 和 H_2CO_3 ,能明显的促进褐潮藻 *Aureococcus anophagefferens* 以及其他赤潮藻的生长^[25,38-40]。而且,一些浮游植物还能水解多肽,将其转化成小分子的氨基酸,在氨基酸氧化酶的作用下分解成可利用的小分子 NH_4^+-N ,或直接将某些氨基酸吸收到体内利用^[31-32,41]。本实验中,尿素和氨基酸均能显著促进赤潮异弯藻、凯伦藻、球形棕囊藻和角毛藻的生长,赤潮异弯藻和凯伦藻偏好于混合氨基酸,而球形棕囊藻和角毛藻则明显偏好于尿素,这可能与每

种浮游植物的生理状态以及所具有的酶类有关,但是具体的机制还待进一步研究。另外,有机氮源还能促进毒素含量的升高,如对于有毒硅藻 *Pseudo-nitzschia australis* 的研究表明,以尿素为氮源时的生长速率要明显低于以 NH_4^+-N 或 NO_3^--N 时,但是以尿素为氮源时的毒素产量却是以 NO_3^--N 为氮源时的 2 倍,以 NH_4^+-N 时的 3 倍^[42]。因此,在 DON 浓度较高的海域^[43],能够利用尿素、氨基酸等有机氮源的浮游植物,无疑扩展了其氮营养来源,与其他仅能利用无机氮或氮利用能力较差的种类相比,生存几率和竞争能力也大大提高^[25]。虽然 NO_3^--N 和 NH_4^+-N 均是赤潮异弯藻、凯伦藻和角毛藻的最佳氮源,但是有机氮尿素和氨基酸对其生长的影响也非常显著。在无机氮缺乏的条件下,作为来源广泛、循环周期短的尿素和氨基酸,对于这几种藻来说无疑是一种较好的选择,相比其他有机氮利用能力较差的种类来说,有较强的竞争优势,在维持种群大小方面具有重要意义。

4 结论

赤潮异弯藻、凯伦藻、球形棕囊藻和角毛藻不仅能利用无机氮硝氮和氨氮,而且也能利用有机氮尿素和氨基酸。在可溶性有机氮中,赤潮异弯藻和凯伦藻偏好于氨基酸,而球形棕囊藻和角毛藻则偏好于尿素。对于具备利用可溶性有机氮能力的浮游植物来说,无疑扩展了其氮营养来源,在可溶性无机氮缺乏的水体中,其生存几率和竞争能力也大大提高。

参考文献:

- [1] ANDERSON D M, GLIBERT P M, BURKHOLDER J M. Harmful algal blooms and eutrophication: nutrient sources, composition, and consequences[J]. *Estuaries*, 2002, 25(4): 704-726.
- [2] ANDERSON D M, BURKHOLDER J M, COCHLAN W P, et al. Harmful algal blooms and eutrophication: Examining linkages from selected coastal regions of the United States[J]. *Harmful Algae*, 2008, 8:39-53.
- [3] 胡章喜, 徐宁, 李爱芬, 等. 氮磷比率对 3 种典型赤潮藻生长的影响[J]. *水生生物学报*, 2008a, 32(4): 482-487.
HU Zhangxi, XU Ning, DUAN Shunshan, et al. Effects of urea on the growth of *Phaeocystis globosa*, *Scrippsiella trochoidea*, *Skeletonema costatum*[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2010, 30(6): 1265-1270.
- [4] XU N, DUAN S S, LI A F, et al. Effects of temperature, salinity and irradiance on the growth of the harmful dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* Lu[J]. *Harmful Algae*, 2010, 9(1): 13-17.
- [5] YIN K, HARRISON P J. Nitrogen over enrichment in subtropical Pearl River estuarine coastal waters: possible causes and consequences[J]. *Continental Shelf Research*, 2008, 28: 1435-1442.
- [6] BERMAN T. Dissolved organic nitrogen utilization by an *Aphanizomenon* bloom in Lake Kinneret[J]. *Journal of Plankton Research*, 1997, 19(5):577-586.

- [7] BERMAN T, CHAVA S. Algal growth on organic compounds as nitrogen sources[J]. Journal of Plankton Research, 1999,21(8):1423-1437.
- [8] DOBLIN M, LEGRAND C, CARLSSON P, et al. Uptake of humic substance by the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella*[C]//HALLEGRAEFF G M, BLACKBURN S I, BOLCH C J, et al, eds. Harmful Algal Blooms. Intergovernmental Oceanographic commission of UNESCO,2000: 336-339.
- [9] LEGRAND C, JOHNSEN G, GRANÉLI E, et al. Effect of polyamine on growth and toxicity of *Chrysochromulina leadbeateri* (Haptophyte) [C]//HALLEGRAEFF G M, BLACKBURN S I, BOLCH C J, et al, eds. Harmful algal Blooms. Intergovernmental Oceanographic commission of UNESCO, 2000: 332-335.
- [10] OGATA T, KOIKE K, NOMURA S, et al. Utilization of organic substance for growth and toxin production by *Alexandrium tamarense*[C]. //YASUMOTO T, OSHIMA Y, FUKUYO Y, eds. Harmful and Toxic Algal Blooms. Intergovernmental Oceanographic commission of UNESCO, 1996: 343-346.
- [11] ARZUL G, SEGUEL M, CLÉMENT A. Effect of marine animal excretions on differential growth of phytoplankton species[J]. ICES Journal of Marine Science, 2001, 58:386-390.
- [12] BRONK D A, GLIBERT P M, WARD B B. Nitrogen uptake, dissolved organic nitrogen release and new production[J]. Science, 1994, 265: 1843-1846.
- [13] BRONK D A, WARD B B. Gross and net nitrogen uptake and DON release in the euphotic zone of Monterey Bay, California[J]. Limnology and Oceanography, 1999, 44: 573-585.
- [14] CONDON R H, STEINBERG D K, BRONK D A. Production of dissolved organic matter and inorganic nutrients by gelatinous zooplankton in the York River estuary, Chesapeake Bay[J]. Journal of Plankton Research, 2010, 32(2):153-170.
- [15] CORNELL S, RENDELL A, JICKELLS T. Atmospheric inputs of dissolved organic nitrogen to the oceans[J]. Nature, 1995, 376: 243-246.
- [16] BRONK D A. Dynamics of DON[M]// HANSELL D A,CARLSON C A, eds. Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter[M]. San Diego: Academic Press, 2002:153-247.
- [17] HARRISON P J, WATERS R E, TAYLOR F J R. A broad spectrum artificial seawater medium for coastal and open ocean phytoplankton [J]. Journal of Phycology, 1980, 16:28-35.
- [18] GUILLARD R R L. Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates[M]//SMITH W L, CHANLEY M H ,eds. Culture of Marine Invertebrate Animals. New York : Plenum Press, 1975:26-60.
- [19] BRAND L E, GUILLARD R R L, MURPHY L S. A method for the rapid and precise determination of acclimated phytoplankton reproduction rates[J]. Journal of Plankton Research, 1981,3(2): 193-201.
- [20] GUILLARD R R L. Division Rates[M]//STEIN J R ,ed. Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements. Cambridge: Cambridge University Press,1973:289-311.
- [21] STROM S L, BRIGHT K J. Inter-strain differences in nitrogen use by the coccolithophore *Emiliania huxleyi*, and consequences for predation by a planktonic ciliate[J]. Harmful Algae, 2009,8:811-816.
- [22] BERGES J A, MULHOLLAND M R . Enzymes and Nitrogen Cycling[M]// CAPONE D G, BRONK D A, MULHOLLAND M R, et al , eds. Nitrogen in the Marine Environment. Elsevier Press, 2008:1385-1444.
- [23] GOLDMAN J C. Potential role of large oceanic diatoms in new primary production[J]. Deep-Sea Research, 1993,40:159-168.
- [24] LOMAS M W, GLIBERT P M. Comparisons of nitrate uptake, storage, and reduction in marine diatoms and flagellates[J]. Journal of Phycology, 2000,36:903-913.
- [25] BERG G M, GLIBERT P M, LOMAS M W, et al. Organic nitrogen uptake and growth by the chrysophyte *Aureococcus anophagefferens* during a brown tide event[J]. Marine Biology, 1997,129:377-387.
- [26] CARLSSON P, EDLING H, BECHEMIN C. Interactions between a marine dinoflagellate (*Alexandrium catenella*) and a bacterial community utilizing riverine humic substances[J]. Aquatic Microbial Ecology, 1998,16:65-80.
- [27] FAN C, GLIBERT P M, ALEXANDER J, et al. Characterization of urease activity in three marine phytoplankton species, *Aureococcus anophagefferens*, *Prorocentrum minimum*, and *Thalassiosira weissflogii*[J]. Marine Biology, 2003,142: 949-958.
- [28] BALODE M, PURINA I, BEÉCHEMIN C, et al. Effects of nutrient enrichment on the growth rates and community structure of summer phytoplankton from the Gulf of Riga, Baltic Sea[J]. Journal of Plankton Research, 1998, 20(12):2251-2272.
- [29] 张清春, 于仁诚, 周名江, 等. 不同氮源对微小亚历山大藻生长和毒素产生的影响[J]. 海洋学报, 2005, 27(6): 138-145
ZHANG Qingchun, YU Rencheng, ZHOU Mingjiang , et al. Effects of four nitrogen substrates on growth and toxin production of *Alexandrium minutum* (Dinophyceae) [J]. Acta Oceanologica Sinica, 2005, 27(6): 138-145.
- [30] ANTIA N J, HARRISON P J, OLIVEIRA L. Phycological reviews: the role of dissolved organic nitrogen in phytoplankton nutrition, cell biology, and ecology[J]. Phycologia, 1991, 30:1-89.
- [31] MULHOLLAND M R, GOBLER C J, LEE C. Peptide hydrolysis, amino acid oxidation and nitrogen uptake in communities seasonally dominated by *Aureococcus anophagefferens*[J]. Limnology and Oceanography, 2002,47: 1094-1108.
- [32] MULHOLLAND M R, LEE C. Peptide hydrolysis and the uptake of dipeptides by phytoplankton[J]. Limnology and Oceanography, 2009,54(3): 856-868.
- [33] GLIBERT P M, TRICE T M, MICHAEL B, et al. Urea in the tributaries of the Chesapeake and Coastal Bays of Maryland [J]. Water, Air, and Soil Pollution, 2005,160: 229-243.
- [34] 胡章喜, 徐宁, 李爱芬, 等. 广州淡水水体尿素的分布特征[J]. 生态科学, 2008b, 27(5): 418-420.
HU Zhangxi, XU Ning, LI Aifen, et al.. Distribution characteristics of urea in the freshwaters, Guangzhou[J]. Ecological Science, 2008b,27(5): 418-420.
- [35] CHEN J F, LI Y, YIN K D, et al. Amino acids in the Pearl River Estuary and adjacent waters: origins, transformation and degradation [J]. Continental Shelf Research, 2004,24: 1877-1894.
- [36] YANG G P, CHEN Y, GAO X C. Distribution of dissolved free amino acids, dissolved inorganic nitrogen and chlorophyll a in the surface microlayer and subsurface water of the Yellow Sea China[J]. Continental Shelf Research, 2009,29(4): 1737-1747.
- [37] 徐宁, 孙树刚, 段舜山, 等. 海洋微藻脲酶活性测定方法的实验研

- 究[J]. 中国环境科学, 2010,30(5): 328-332.
- XU N, SUN S G, DUAN S S, et al. Experimental study of urease activity in marine microalgae[J]. China Environmental Science, 2010,30(5): 328-332 .
- [38] GOBLER C J, SAÑUDO-WILHELMY S A. Effects of organic carbon, organic nitrogen, inorganic nutrients, and iron additions on the growth of phytoplankton and bacteria during a brown tide bloom[J]. Marine Ecology Progress Series, 2001,209:19-34.
- [39] HERNDON J, COCHLAN W P. Nitrogen utilization by the raphidophyte *Heterosigma akashiwo*: Growth and uptake kinetics in laboratory cultures[J]. Harmful Algae, 2007, 6:260-270.
- [40] 胡章喜, 徐宁, 段舜山, 等. 尿素对中国近海 3 种典型赤潮藻生长的影响[J]. 环境科学学报, 2010,30(6): 1265-1270.
- HU Z X, XU N, DUAN S S, et al. Effects of urea on the growth of *Phaeocystis globosa*, *Scrippsiella trochoidea*, *Skeletonema costatum*[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2010,30(6): 1265-1270.
- [41] PALENIK B, MOREL F M M. Amino acid utilization by marine marine phytoplankton: A novel mechanism[J]. Limnology and Oceanography, 1990,35: 260-269.
- [42] HOWARD M D A, COCHLAN W P, LADIZINSKY N, et al. Nitrogenous preference of toxigenic *Pseudo-nitzschia australis* (Bacillariophyceae) from field and laboratory experiments[J]. Harmful Algae, 2007 (6):206-217.
- [43] GLIBERT P M, TERLIZZI D E. Co-occurrence of elevated urea levels and dinoflagellate blooms in temperate estuarine aquaculture ponds[J]. Applied Environmental Microbiology, 1999, 65(12): 5594-5596.

Effects of nitrogen sources on the growth of *Heterosigma akashiwo*, *Karenia* sp., *Phaeocystis globosa* and *Chaetoceros* sp.

HU Zhangxi, XU Ning, DUAN Shunshan

Research Center of Hydrobiology, Jinan University//Key Lab of Water Eutrophication and Red-tide Control, Department of Education of Guangdong Province//Engineering Research Center of Tropical and Subtropical Aquatic Ecological Engineering, Ministry of Education, Guangzhou 510632, China

Abstract: Growth characteristics of four bloom-forming microalgae, *Heterosigma akashiwo*, *Karenia* sp. and *Phaeocystis globosa*, and one common dominant species *Chaetoceros* sp. isolated from the coastal waters of China were studied in the laboratory with nitrate, ammonium, urea and amino acid mixture provided as the sole nitrogen source respectively. All the four species were able to utilize both dissolved inorganic nitrogen forms as nitrate and ammonium and dissolved organic nitrogen substrates as urea and amino acid. The maximum specific growth rates of *H. akashiwo*, *Karenia* sp. and *Chaetoceros* sp. were 0.45, 0.52 and 0.70 d⁻¹ respectively when nitrate as their sole nitrogen source. When nitrate and urea were provided as sole nitrogen substrates, *P. globosa* exhibited the same maximum specific growth rate 0.65 d⁻¹. As fundamental components of dissolved organic nitrogen, urea and amino acid could significantly stimulate the growth of *H. akashiwo*, *Karenia* sp., *P. globosa* and *Chaetoceros* sp.. The results showed that among organic nitrogen sources, *H. akashiwo* and *Karenia* sp. preferred to amino acid, but *P. globosa* and *Chaetoceros* sp. urea. The ability to utilize urea or amino acid as the sole nitrogen source may broaden their nitrogen sources, and enhance the competition potential for *H. akashiwo*, *Karenia* sp., *P. globosa* and *Chaetoceros* sp. in the environment at lower availability of inorganic nitrogen sources.

Key words: harmful algae; dissolved organic nitrogen; urea; amino acid; growth rate