

# 不同氮磷水平下微小原甲藻对营养盐的吸收及光合特性

石岩峻<sup>1,2</sup>, 胡晗华<sup>2</sup>, 马润宇<sup>1</sup>, 丛威<sup>2</sup>, 蔡昭铃<sup>2</sup>

(1. 北京化工大学化学工程学院, 北京 100029;

2. 中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100080)

**摘要:**研究了微小原甲藻对无机氮、磷的吸收特性和在室内批量培养条件下, 无机氮、磷浓度对微小原甲藻生长和光合作用的影响. 结果表明, 低氮(0.0882 mmol/L NaNO<sub>3</sub>)条件下, 微小原甲藻具有最高的比生长速率, 为 0.46 d<sup>-1</sup>, 而中氮(0.882 mmol/L NaNO<sub>3</sub>)条件下具有最大的细胞密度, 为 54 900 个/mL, 分别比低氮和高氮(2.646 mmol/L NaNO<sub>3</sub>)下增加 7.2%和 20.1%. 随着培养基中磷浓度的升高, 最大细胞密度和比生长速率也增加, 在高磷(0.108 mmol/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)条件下达到最大值, 分别为 57 400 个/mL 和 0.45 d<sup>-1</sup>. 高营养源(高氮或高磷)状态下生长的藻细胞具有更高的单位细胞和单位叶绿素 a 表示的光饱和的光合作用速率( $P_m^{chl\ a}$  和  $P_m^{cell}$ )和光饱和点. 低氮和高氮条件下的藻细胞同样具有高的单位细胞和单位叶绿素 a 表示的光合效率( $\alpha^{chl\ a}$  和  $\alpha^{cell}$ ), 而单位叶绿素 a 表示的光合效率( $\alpha^{chl\ a}$ )则在高磷下最大. 在氮源充足条件下, 低的 N/P 有利于微小原甲藻细胞的生长.

**关键词:** 赤潮; 微小原甲藻; 氮; 磷; 生长; 光合作用

中图分类号: Q949.2

文献标识码: A

文章编号: 1009-606X(2004)06-0554-07

## 1 前言

赤潮发生原因众多且因种而异. 在诸多原因中(如气候、气象、流况和海水理化特性等), 海域污染、海域富营养化是重要原因之一<sup>[1]</sup>. 香港吐露港<sup>[2]</sup>、日本 Seto 内海<sup>[3]</sup>赤潮频发就是富营养化导致赤潮的经典例证. 中国沿海的杭州湾、长江口及珠江口目前仍处于严重污染状态, 无机氮和磷酸盐是其主要污染物, 它们为赤潮的爆发提供了充足的营养条件<sup>[4]</sup>. 但是营养盐供应与赤潮发生之间的关系还有许多不确定因素<sup>[5]</sup>, 例如由甲藻繁殖引起的赤潮不仅发生于富营养化程度高的海区, 而且也常常发生在氮浓度较低的表层海水中<sup>[6]</sup>. Hodgkiss 等<sup>[5]</sup>通过总结香港吐露港、日本以及北欧一些沿海赤潮数据指出, 长期或短期的 N/P 比值变化常常伴随有非硅藻类浮游植物的爆长, 与其它影响因子相比, N/P 比值则是更重要的调控因子. 因此, 研究营养盐的相对变化对赤潮藻的影响有助于更深入地了解富营养条件下某种特定藻种引发赤潮的机理.

微小原甲藻广泛分布于世界诸多海域, 形成赤潮时密度高达  $1.78 \times 10^9$  个/L<sup>[7]</sup>. 近几年由于富营养化造成微小原甲藻赤潮爆发有许多报道<sup>[8,9]</sup>, 同时它也是我国沿海常见的赤潮藻种类之一<sup>[10]</sup>, 如在渤海湾引起赤潮时的密度最高达  $7.20 \times 10^8$  个/L<sup>[11]</sup>. 在形成赤潮的微小原甲藻株中有一些具有毒性<sup>[12]</sup>, 这些毒性物质对鱼贝类及人类有潜在的危害. 为了解微小原甲藻的增殖规律, 增加对赤潮发生与富营养化之间关系的认识, 本工作对几种不同氮、磷条件下微小原甲藻的生长和光合特性进行了研究.

## 2 材料与方法

### 2.1 材料与培养

微小原甲藻(*Prorocentrum minimum*)由中国科学院海洋研究所提供. 将少量对数生长期的藻细

收稿日期: 2003-11-04, 修回日期: 2004-01-02

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)资助项目(编号: 2001CB409706); 国家自然科学基金资助项目(编号: 20176060)

作者简介: 石岩峻(1968-), 女, 山西省浑源县人, 博士研究生, 高级工程师, 生化工程专业; 胡晗华, 通讯联系人.

胞接入盛有 100 mL 相应培养基的 250 mL 三角瓶中,置于温度为 22°C、光强为 100  $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、连续光照的植物培养箱中培养. 实验分成 6 组,营养盐浓度除提到外均按照 f/2AW(f/2 加富的人工海水)<sup>[13]</sup>培养基所设浓度添加. 设定低、中、高 3 种氮浓度,分别为 0.0882, 0.882 和 2.646 mmol/L; 低、中、高 3 种磷浓度,分别为 0.0036, 0.036 和 0.108 mmol/L.

## 2.2 常规分析

用浮游生物计数框(0.1 mL)隔天计算藻细胞数;比生长速率通过对数生长期藻细胞数的变化用公式  $\mu = (\ln X_t - \ln X_0)/t$  计算,  $X_0$  表示初始细胞密度,  $X_t$  表示  $t$  天后细胞密度. 根据 Jeffrey 等<sup>[14]</sup>的方法按公式  $\text{Chl } a = 11.47\text{OD}_{664} - 0.40\text{OD}_{630}$ (在 90%丙酮中)计算叶绿素 a 含量.

## 2.3 氮、磷吸收速率的测定

生长在不同氮、磷浓度下对数生长期的适量藻细胞经离心收获、人工海水洗 1 次后,用新鲜的 100 mL f/2AW(氮、磷按要求另加)重悬,置于植物生长箱中培养,定时取样测定藻细胞对氮、磷的吸收速率. 调节培养液中  $\text{NaNO}_3$  浓度为 88.2  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ,用分光光度法( $A_{220}$ )<sup>[15]</sup>测定藻细胞对氮的吸收;调节培养液中  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  浓度为 7.2  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ,用磷钼酸分光光度法<sup>[16]</sup>测定藻细胞对磷的吸收.

## 2.4 光合作用对光强的响应曲线(P-I 曲线)测定

对数生长期的藻经离心后重新悬浮于新鲜的 f/2AW 培养基中. 温度以循环水浴控制在 22°C 左右,用 Clark 型氧电极(Hansatech Instruments Ltd., UK)测量不同光强下藻的光合作用速率. 根据 Henley 的方法<sup>[17]</sup>以方程  $P = P_m \tanh(\alpha I/P_m) + R_d$  对实验数据进行非线性参数估计,并计算各参数.

# 3 结果与分析

## 3.1 $\text{NO}_3^-$ 和 $\text{PO}_4^{3-}$ 浓度对生长的影响

不同  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{PO}_4^{3-}$  浓度下微小原甲藻的生长曲线如图 1. 由图知,各种条件下藻细胞的生长趋势基本相同,在 0~14 d,藻细胞呈现出对数生长,然后生长进入稳定期. 低氮条件下对数期藻细胞数明显高于中氮和高氮条件下,因而,低氮下藻细胞的比生长速率最高,为  $0.46 \text{ d}^{-1}$ ,中氮和高氮下藻细胞的比生长速率相同,均为  $0.43 \text{ d}^{-1}$ . 进入稳定期后,低氮条件下生长的微小原甲藻细胞密度下降,而中氮和高氮下生长的藻细胞密度则基本维持恒定. 中氮条件下最大藻细胞密度最高,达到了  $5.49 \times 10^4$  个/mL,而高氮下最低,仅为  $4.57 \times 10^4$  个/mL. 不同磷浓度下藻细胞的比生长速率差异不大,并随培养基中磷浓度增加而略有增加,在高磷下藻细胞比生长速率达到最大  $0.45 \text{ d}^{-1}$ . 进

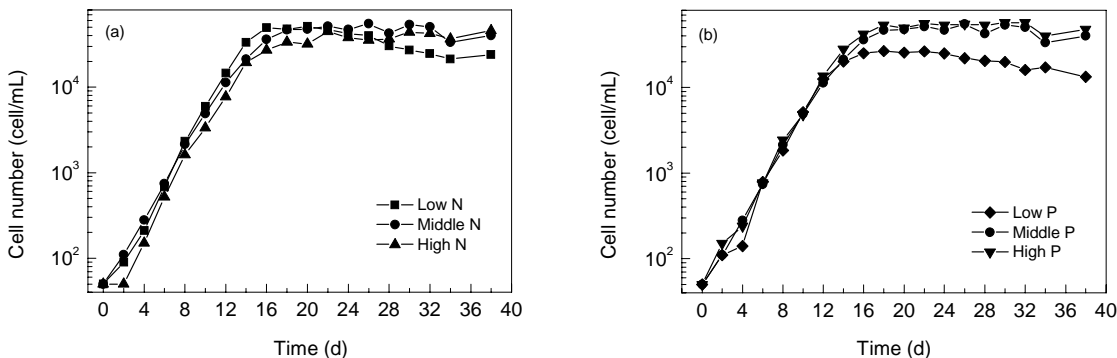


图 1 不同氮、磷浓度下微小原甲藻的生长

Fig.1 Growth curves of *Prorocentrum minimum* cultured at different  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  levels

入稳定期后,除了低磷条件下藻细胞密度显著下降外,中磷和高磷下藻细胞密度变化不大. 最大藻细胞密度在高磷条件下最高,为  $5.74 \times 10^4$  个/mL,与中磷条件下相当,是低磷下的2倍多(表1).

### 3.2 $\text{NO}_3^-$ 和 $\text{PO}_4^{3-}$ 浓度对叶绿素 a 含量的影响

随着培养基中氮浓度降低,单位藻细胞叶绿素 a 的含量明显下降,特别是低氮条件下明显低于中氮和高氮条件. 中氮和高氮条件下藻细胞的叶绿素 a 含量差异不大. 与此相反,在高磷条件下单位细胞的叶绿素 a 含量明显低于低磷和中磷条件(表1).

表1 不同氮、磷浓度下微小原甲藻的最大细胞密度、比生长速率( $\mu$ )和叶绿素 a 含量

Table 1 Maximum cell density, specific growth rate ( $\mu$ ) and chlorophyll a content of *Prorocentrum minimum* cultured at different  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  levels

Nutrient conc. (mmol/L)	N/P	Specific growth rate ( $\text{d}^{-1}$ )	Biomass ( $\times 10^4$ cells/mL)	Chlorophyll a (g/cell)
Low N (0.0882)	2.45	0.46	5.12	4.06
Middle N (0.882)	24.5	0.43	5.49	4.39
High N (2.646)	73.5	0.43	4.57	4.41
Low P (0.0036)	245	0.42	2.65	4.20
Middle P (0.036)	24.5	0.43	5.49	4.39
High P (0.108)	8.17	0.45	5.74	4.11

### 3.3 藻细胞对 $\text{NO}_3^-$ 和 $\text{PO}_4^{3-}$ 的吸收速率

如表2所示,低氮条件下生长的微小原甲藻细胞对  $\text{NO}_3^-$ 有较高的吸收速率,氮浓度增加,藻细胞对  $\text{NO}_3^-$ 的吸收速率下降. 微小原甲藻细胞对  $\text{PO}_4^{3-}$ 的吸收速率随着培养基中氮浓度的升高而增加. 低氮、中氮和高氮下藻细胞对氮、磷的吸收比值(N/P)分别为6:1, 2:1和1:1.

藻细胞对  $\text{PO}_4^{3-}$ 的吸收速率在中磷条件下最大. 而在短期内高磷条件下生长的藻细胞表现出向外分泌磷酸盐,检测到吸收速率为负值. 微小原甲藻细胞对  $\text{NO}_3^-$ 的吸收速率随培养基中磷浓度增加而下降. 低磷条件下的藻细胞对  $\text{NO}_3^-$ 的吸收速率最大. 低磷和中磷条件下藻细胞对氮、磷的吸收比值(N/P)分别为12:1和2:1.

表2 不同氮、磷浓度下微小原甲藻对氮、磷的吸收速率

Table 2 Nutrient uptake rate of *Prorocentrum minimum* grown at different  $\text{NaNO}_3$  and  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  levels

Nutrient conc. (mmol/L)	N/P	Uptake rate [ $\times 10^{-14}$ mol/(cell·h)]	
		$\text{NaNO}_3$	$\text{NaH}_2\text{PO}_4$
Low N (0.0882)	2.45	51	8.72
Middle N (0.882)	24.5	25	10.97
High N (2.646)	73.5	20	20.82
Low P (0.0036)	245	57	4.75
Middle P (0.036)	24.5	25	10.97
High P (0.108)	8.17	16	-1.65

### 3.4 $\text{NO}_3^-$ 和 $\text{PO}_4^{3-}$ 浓度对光合作用的影响

图2和3显示了不同氮、磷浓度下微小原甲藻光合作用对光强的响应曲线. 显然,高营养源(高氮或高磷)状态下生长的藻细胞具有更高的单位细胞和单位叶绿素 a 表示的光饱和的光合作用速率( $P_m^{\text{chl a}}$ 和 $P_m^{\text{cell}}$ ). 表3和4显示出不同氮、磷浓度下微小原甲藻光合作用参数. 随着培养基中磷浓度升高,饱和光强增加,而光补偿点则降低. 同样,高氮条件下藻细胞具有更高的饱和光强. 说明在高营养状态中藻细胞需要更多的能量用于对氮、磷的吸收. 低磷条件下藻细胞的光饱和点最高,与此相关的是,低磷下暗呼吸速率最高,说明在磷缺乏条件下,藻细胞的代谢负荷加大. 不同氮、磷条件下培养的微小原甲藻光合作用效率差别不大.

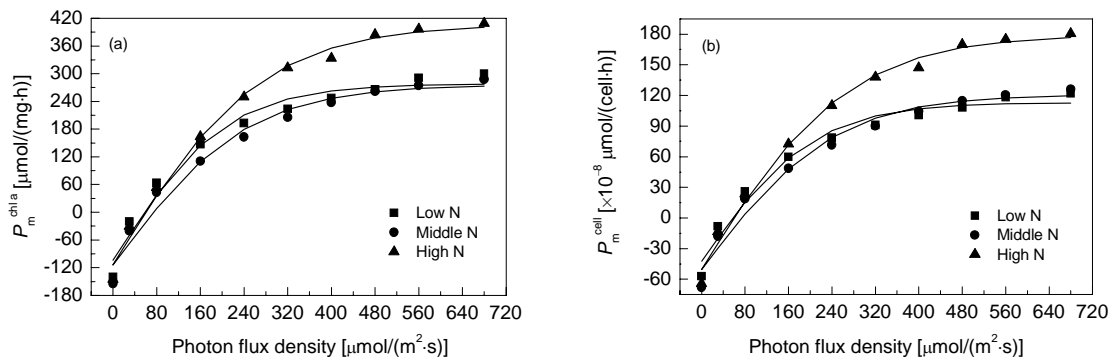


图 2 不同氮浓度下微小原甲藻光合作用对光照强度的响应曲线

Fig.2 Photosynthesis of *Prorocentrum minimum* as a function of photon flux density at different  $\text{NaNO}_3$  levels

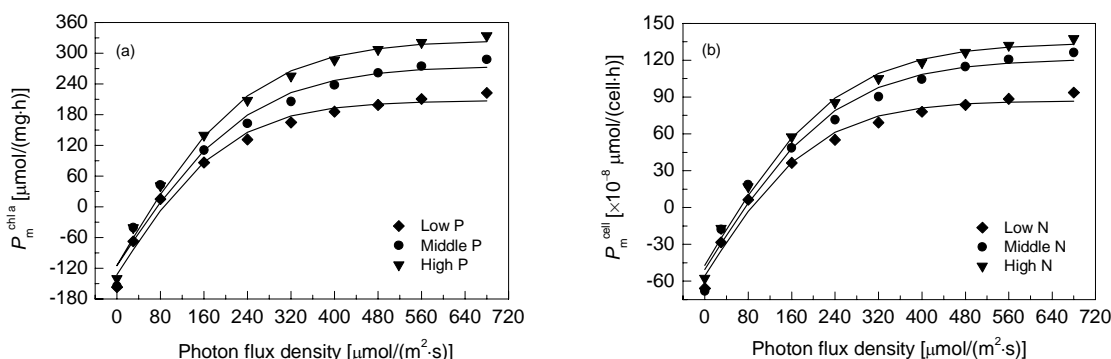


图 3 不同磷浓度下微小原甲藻光合作用对光照强度的响应曲线

Fig.3 Photosynthesis of *Prorocentrum minimum* as a function of photon flux density at different  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  levels

表 3 不同氮浓度下微小原甲藻光合作用对光强响应参数

Table 3 Parameters for photosynthetic-light responses of *Prorocentrum minimum* cultured under different  $\text{NaNO}_3$  concentrations

Photosynthetic parameter	Low N	Middle N	High N
$P_m^{\text{cell}} [\times 10^{-8} \mu\text{mol}/(\text{cell}\cdot\text{h})]$	155.4±8.9	171.5±9.1	229.9±9.3
$P_m^{\text{chla}} [\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})]$	382.3±20.9	390.5±21.2	521.0±21.9
$\alpha^{\text{cell}} \{[\times 10^{-8} \mu\text{mol O}_2/(\text{cell}\cdot\text{h})]/[\mu\text{mol photon}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]\}$	0.8±0.1	0.7±0.1	0.8±0.1
$\alpha^{\text{chla}} [\mu\text{mol O}_2/(\text{mg}\cdot\text{h})]/[\mu\text{mol photon}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$	1.9±0.3	1.6±0.2	1.9±0.2
$R_d^{\text{cell}} [\times 10^{-8} \mu\text{mol}/(\text{cell}\cdot\text{h})]$	-42.3±7.9	-50.4±7.6	-50.1±7.5
$R_d^{\text{chla}} [\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})]$	-104.1±18.5	-114.7±17.9	-113.6±17.5
$I_k [\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$	205.8	244.5	271.0
$I_c [\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$	56.0	71.8	59.1

Note: Data are represented as means±standard deviation of three experiments.

表 4 不同磷浓度下微小原甲藻光合作用对光强响应参数

Table 4 Parameters for photosynthetic-light responses of *Prorocentrum minimum* cultured under different  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  concentrations

Photosynthetic parameter	Low P	Middle P	High P
$P_m^{\text{cell}} [\times 10^{-8} \mu\text{mol}/(\text{cell}\cdot\text{h})]$	142.8±7.5	171.5±7.6	181.3±7.6
$P_m^{\text{chla}} [\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})]$	339.8±17.5	390.5±17.8	440.4±17.8
$\alpha^{\text{cell}} \{[\times 10^{-8} \mu\text{mol O}_2/(\text{cell}\cdot\text{h})]/[\mu\text{mol photon}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]\}$	0.7±0.1	0.7±0.1	0.7±0.1
$\alpha^{\text{chla}} [\mu\text{mol O}_2/(\text{mg}\cdot\text{h})]/[\mu\text{mol photon}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$	1.6±0.2	1.6±0.2	1.8±0.2
$R_d^{\text{cell}} [\times 10^{-8} \mu\text{mol}/(\text{cell}\cdot\text{h})]$	-55.7±6.6	-50.4±6.4	-47.0±6.4
$R_d^{\text{chla}} [\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})]$	-132.5±15.5	-114.7±15.0	-114.2±15.0
$I_k [\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$	207.8	244.5	245.9
$I_c [\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]$	81.0	71.8	63.7

Note: Data are represented as means±standard deviation of three experiments.

## 4 讨论

### 4.1 微小原甲藻的生长特性

氮和磷是限制微藻细胞生长最重要的营养因子. 在本实验设定的氮浓度范围内, 不同氮浓度对微小原甲藻稳定期生物量和比生长速率都有影响. 低氮条件下微小原甲藻具有最快的比生长速率, 说明适当的氮限制可以促进微小原甲藻细胞的分裂. 但在生长后期, 细胞数大量增加, 由于培养液中氮源不足, 导致叶绿素 a 含量降低, 细胞的光合作用受到限制<sup>[18]</sup>, 并最终使低氮条件下藻细胞的生物量快速下降. 高氮与中氮条件下微小原甲藻的比生长速率没有差别, 但是最大细胞密度却相差较大, 高氮条件下的生物量最低. 这可能是由于在生长后期, 磷源被耗尽, N/P 比例失调, 而藻细胞对氮源的过量吸收, 不利于细胞的分裂.

与氮限制相比, 微小原甲藻对磷限制更加敏感. 在低磷条件下, 比生长速率和稳定期生物量大大低于磷充足条件. 磷限制条件下, 细胞内 ATP 的合成、 $H^+$ -ATP 酶的活性受到限制, 细胞代谢活性低, 从而严重影响细胞的分裂增殖. 低磷条件下单位细胞的叶绿素 a 含量较高则是因为低磷对细胞分裂的抑制而使藻细胞增大所致. 高磷条件下, 由于磷源供应充足, 细胞的代谢活性强, 光合作用效率高, 而且氮盐也并不缺乏, 故具有较快的比生长速率和最大的稳定期生物量. 与此相反, 高氮(600  $\mu\text{mol/L}$ )下海洋原甲藻生长速率是低氮(60  $\mu\text{mol/L}$ )下的 1.36 倍<sup>[19]</sup>, 其生物量在 0~0.8  $\mu\text{mol/L}$  范围内随磷浓度增大呈线性增加, 而当磷浓度大于 0.8  $\mu\text{mol/L}$  时, 它的生长受到抑制, 生物量明显下降<sup>[20]</sup>.

研究<sup>[21]</sup>表明, 藻细胞的生长特性不仅与环境中的营养盐浓度有关, 而且与 N/P 比值有很大关系. 从本实验可以看出, 相对低的 N/P 比有利于微小原甲藻细胞的分裂繁殖. 在低氮中磷(N/P=2.5)和中氮高磷(N/P=8.2)条件下分别得到最大比生长速率和最大生物量. 而高氮中磷(N/P=73.5)和中氮低磷(N/P=245)下比生长速率和生物量均较低. 无机氮、磷的吸收实验结果表明, 不同营养状态下培养的微小原甲藻和塔玛亚历山大藻对无机氮、磷的吸收比分别为(2~12):1 和(62~73):1<sup>[22]</sup>, 微小原甲藻对氮、磷的吸收比例较低. 过高的 N/P 比不利于微小原甲藻细胞对营养盐的吸收与利用, 所以在磷源充足的条件下过高的氮浓度会抑制微小原甲藻细胞的生长.

### 4.2 环境中氮、磷浓度在微小原甲藻赤潮形成中的作用

富营养化是造成赤潮的重要原因. 长期的 Si/N 和 Si/P 比下降不仅导致非硅藻类赤潮的爆发, 而且还可能造成非硅藻类取代硅藻成为海域的优势物种<sup>[23]</sup>. 而近年来的研究表明 N/P 比的下降也可引起赤潮的增加和赤潮藻种的变化, 甲藻有可能取代硅藻成为优势藻种并在适宜的条件下引发赤藻<sup>[5]</sup>. Hodgkiss 等<sup>[24]</sup>提出对赤潮的控制要同时考虑对氮盐和磷盐输入的控制, 海域中 N/P 比值的下降有可能是有害甲藻赤潮发生的前兆. 微小原甲藻生长最适宜的 N/P 比为(4~13):1<sup>[5]</sup>, 与本实验中最佳生长的 N/P 比范围相当. 在氮源相对充足而且 N/P 比较低的环境中, 可能引发微小原甲藻赤潮, 而磷浓度决定其最终生物量, 所以同塔玛亚历山大藻<sup>[22]</sup>相似, 磷盐的耗尽在微小原甲藻赤潮的消亡中起重要作用.

符号表:

$I_c$	光补偿点 [ $\mu\text{mol photon}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ]	$I_k$	光饱和点 [ $\mu\text{mol photon}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ ]
$P_m^{\text{cell}}$	单位细胞表示的光饱和和光合作用速率 [ $\times 10^{-8} \mu\text{mol}/(\text{cell}\cdot\text{h})$ ]		
$P_m^{\text{chl a}}$	单位叶绿素 a 表示的光饱和和光合作用速率 [ $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})$ ]		
$R_d^{\text{cell}}$	单位细胞表示的暗呼吸速率 [ $\times 10^{-8} \mu\text{mol}/(\text{cell}\cdot\text{h})$ ]	$R_d^{\text{chl a}}$	单位叶绿素 a 表示的暗呼吸速率 [ $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})$ ]
$t$	时间 (d)	$\mu$	比生长速率 ( $\text{d}^{-1}$ )
$\alpha^{\text{cell}}$	单位细胞表示的光合效率 $\{[\times 10^{-8} \mu\text{mol O}_2/(\text{cell}\cdot\text{h})]/[\mu\text{mol photon}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]\}$		
$\alpha^{\text{chl a}}$	单位叶绿素 a 表示的光合效率 $\{[\mu\text{mol O}_2/(\text{mg}\cdot\text{h})]/[\mu\text{mol photon}/(\text{m}^2\cdot\text{s})]\}$		

## 参考文献:

- [1] Hallegraeff G M. A Review of Harmful Algal Blooms and Their Apparent Global Increase [J]. *Phycologia*, 1993, 32: 79–99.
- [2] Lam C W Y, Ho K C. Red Tides in Tolo Harbor, Hong Kong [A]. Okaichi T, Anderson D M, Nemoto T. Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology [C]. New York: Elsevier, 1989. 49–52.
- [3] Okaichi T. Red Tide Problems in the Seto Inland Sea, Japan [A]. Okaichi T, Anderson D M, Nemoto T. Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology [C]. New York: Elsevier, 1989. 137–142.
- [4] 颜天, 周名江, 邹景忠, 等. 香港及珠江口海域有害赤潮发生机制初步探讨 [J]. *生态学报*, 2001, 21(10): 1634–1641.
- [5] Hodgkiss I J, Ho K C. Are Changes in N:P Ratios in Coastal Waters the Key to Increased Red Tide Blooms? [J]. *Hydrobiologia*, 1997, 352: 141–147.
- [6] Taylor F J R, Pollinger U. Ecology of Dinoflagellates [A]. Taylor F J R. The Biology of Dinoflagellates [C]. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1987. 785.
- [7] Tangen K. Brown Water in the Oslofjord, Norway, in September 1979 Caused by the Toxic *Prorocentrum minimum* and Other Dinoflagellates [J]. *Blyttia*, 1979, 38: 145–155.
- [8] Burns C L, Pennock J R, Lores E M, et al. The Effect of Nitrogen Source on the Growth and Toxicity of Three Potentially Harmful Dinoflagellates [J]. *J. Phycol.*, 2000, 36(s3): 9.
- [9] Chunlei F, Patricia M G, JoAnn M B. Characterization of the Affinity for Nitrogen, Uptake Kinetics, and Environmental Relationships for *Prorocentrum minimum* in Natural Blooms and Laboratory Cultures [J]. *Harmful Algae*, 2003, 2: 283–299.
- [10] 周名江, 朱明远, 张经. 中国赤潮的发生趋势和研究进展 [J]. *生命科学*, 2001, 13(2): 54–59.
- [11] 邹景忠, 董丽萍, 秦保平. 渤海湾富营养化和赤潮问题的初步探讨 [J]. *海洋环境科学*, 1983, 2(2): 41–54.
- [12] Shimizu Y. Dinoflagellate Toxins [A]. Taylor F J R. The Biology of Dinoflagellates: Botanical Monographs Vol. 21 [C]. Boston: Blackwell Scientific Publications, 1987. 282–315.
- [13] Harrison P J, Waters R E, Taylor F J R. A Broad Spectrum Artificial Seawater Medium for Coastal and Open Ocean Phytoplankton [J]. *J. Phycol.*, 1980, 16: 28–35.
- [14] Jeffrey S W, Humphrey G F. New Spectrophotometric Equations for Determining Chlorophylls a, b, c<sub>1</sub> and c<sub>2</sub> in Higher Plants, Algae and Natural Phytoplankton [J]. *Biochem. Physiol., Pflanz.*, 1975, 167: 191–194.
- [15] Collos Y, Mornet F, Sciandra A, et al. An Optical Method for the Rapid Measurement of Micromolar Concentrations of Nitrate in Marine Phytoplankton Cultures [J]. *J. Appl. Phycol.*, 1999, 11: 179–184.
- [16] Harrison P J. Determining Phosphate Uptake Rates of Phytoplankton [A]. Lobban C S, Chapman D J, Kremer B P. Experimental Phycology: A Laboratory Manual [C]. New York: Cambridge University Press, 1988. 186–195.
- [17] Henley W J. Measurement and Interpretation of Photosynthetic Light-response Curves in Alga in the Context of Photoinhibition and Diel Changes [J]. *J. Phycol.*, 1993, 29: 729–739.
- [18] Kolber Z S, Zehr J, Falkowski P G. Effects of Growth Irradiance and Nitrogen Limitation on Photosynthetic Energy Conversion in Photosystem II [J]. *Plant Physiol.*, 1988, 88: 923–929.
- [19] 黄晓航, 史东梅, 张京浦, 等. 赤潮发生机理研究—海洋原甲藻的氮营养生理特征 [J]. *海洋与湖沼*, 1997, 28(1): 33–37.
- [20] Wang Z F, Zhang Q, Gong M. The Effects of Nitrogen, Phosphorus, Vitamins and Trace Metals on the Growth of the Red Tide Organism *Prorocentrum micans* [J]. *Chin. J. Oceanol. Limnol.*, 1995, 13(4): 338–342.
- [21] John E H, Flynn K J. Growth Dynamics and Toxicity of *Alexandrium fundyense* (Dinophyceae): The Effect of Changing N:P Supply Ratios on Internal Toxin and Nutrient Levels [J]. *Eur. J. Phycol.*, 2000, 35: 11–23.
- [22] 石岩峻, 胡晗华, 马润宇, 等. 塔玛亚历山大藻对氮和磷的吸收及其生长特性 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14(7): 1143–1146.
- [23] Smayda T S. Primary Production and the Global Epidemic of Phytoplankton Blooms in the Sea: A Linkage? [A]. Cosper E M, Briceli V M, Carpenter E J. Novel Phytoplankton Blooms: Causes and Impacts of Recurrent Brown Tides and Other Unusual Blooms [C]. New York: Springer, 1989. 449–483.
- [24] Hodgkiss I J, Chan B S S. Phytoplankton Dynamics in Tolo Harbour [J]. *Asian Mar. Biol.*, 1987, 4: 103–112.

## Photosynthetic Characteristics of *Prorocentrum minimum* and Its Nutrient Uptake at Different Nitrogen and Phosphorus Levels

SHI Yan-jun<sup>1,2</sup>, HU Han-hua<sup>2</sup>, MA Run-yu<sup>1</sup>, CONG Wei<sup>2</sup>, CAI Zhao-ling<sup>2</sup>

(1. School of Chemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China;

2. State Key Lab. Biochem. Eng., Institute of Process Engineering, CAS, Beijing 100080, China)

**Abstract:** The uptake of nitrate and phosphate by *Prorocentrum minimum* and its growth and photosynthesis characteristics were studied by laboratory culture. The results indicated that the maximum specific growth rate ( $0.46 \text{ d}^{-1}$ ) was observed at low nitrate level ( $0.0882 \text{ mmol/L NaNO}_3$ ), the maximum yield ( $54\,900 \text{ cell/mL}$ ) occurred at middle nitrate level ( $0.882 \text{ mmol/L NaNO}_3$ ), which increased by 7.2% and 20.1% respectively compared with those at low nitrate and high nitrate levels. The cell yield and specific growth rate increased with increasing phosphate concentrations in culture, and the maximum cell yield ( $57\,400 \text{ cell/mL}$ ) and the maximum specific growth rate ( $0.45 \text{ d}^{-1}$ ) were recorded at high phosphate concentration ( $0.108 \text{ mmol/L KH}_2\text{PO}_4$ ). The higher chlorophyll *a*-specific and cell-specific light-saturated photosynthetic rates ( $P_m^{\text{chl } a}$  and  $P_m^{\text{cell}}$ ) and higher light intensity at which photosynthesis is initially saturated were observed at high nutrient levels. The cells grown in the cultures with low nitrate and high nitrate levels showed the same values of apparent photosynthetic efficiency ( $\alpha^{\text{chl } a}$  and  $\alpha^{\text{cell}}$ ). The maximum chlorophyll *a*-specific apparent photosynthetic efficiency ( $\alpha^{\text{chl } a}$ ) was obtained at high phosphate level. The experimental results showed that the lower ratio of N/P with sufficient nitrate had a positive effect on the propagation of *Prorocentrum minimum*.

**Key words:** red tide; *Prorocentrum minimum*; nitrogen; phosphorus; growth; photosynthesis