

doi: 10.3969/j.issn.1003-2029.2023.05.012

磷限制对球形棕囊藻生长及 TEP 形成的影响

蓝彩碧^{1,2}, 李杰^{1,2}, 赖俊翔^{1,2,3}, 许铭本^{1,2,3}

(1. 广西科学院, 广西 南宁 530007; 2. 广西近海海洋环境科学重点实验室 (广西海洋科学院), 广西 南宁 530007; 3. 北部湾海洋产业研究院, 广西 防城港 538001)

摘要: 广西北部湾近岸海域虽常年为磷限制状态, 但球形棕囊藻 (*Phaeocystis Globosa*) 赤潮灾害频繁发生。球形棕囊藻暴发时主要以囊体形式存在, 赤潮衰退后, 囊体破裂产生大量的透明胞外聚合颗粒物 (Transparent Exopolymer Particles, TEP), 在海洋动力作用下形成高碳、高黏性泡沫, 影响渔业和核电取水安全。本文通过设置氮磷比为 32:1 和 64:1 的半连续培养实验, 探讨磷限制对球形棕囊藻的生长, 以及透明胞外聚合颗粒物产量的影响。结果表明: 在氮磷比为 32:1 和 64:1 的磷限制条件下, 球形棕囊藻的细胞密度、叶绿素 a 浓度、囊体密度及囊体表面细胞数, 在培养的后半期都受到了抑制。与控制组相比, 两个磷限制的处理组在囊体直径上并没有表现出显著的差异 (显著性水平 $p > 0.05$)。在氮磷比为 32:1 的条件下, 球形棕囊藻的 TEP 生产量与控制组相比没有显著差异 ($p > 0.05$), 在氮磷比为 64:1 的条件下, TEP 的生产量显著降低 ($p < 0.05$), 磷限制程度的加剧对球形棕囊藻细胞分泌 TEP 产生影响。研究结果为进一步研究环境胁迫下球形棕囊藻 TEP 形成机制提供了依据。

关键词: 球形棕囊藻; 赤潮; 生长; 透明胞外聚合颗粒物; 磷限制

中图分类号: P76 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-2029 (2023) 05-0094-08

2011 年 11 月, 我国北部湾海域首次暴发大规模棕囊藻赤潮, 之后几年呈持续暴发的状态, 尤其是 2014 年至 2015 年棕囊藻赤潮在多地暴发, 2015 年几乎覆盖整个北部湾海域, 对海洋环境、旅游业、水产养殖业及核电安全造成严重影响^[1-3]。研究人员将涠洲岛、钦州湾和防城港海域采集到的样品进行分离纯化, 通过电镜扫描及分子生物学等方式确认为球形棕囊藻^[1,4-5]。

球形棕囊藻是海洋里为数不多存在表型可塑性的微藻, 即同样的基因型可以表现出不同的表型现象: 群体形态和单细胞态。球形棕囊藻广泛分布于热带和亚热带海域, 在调节碳和硫的生物地球化学

循环及全球气候方面有重要的地位^[6-8]。在赤潮暴发期间, 球形棕囊藻一般以囊体的形态存在。在水体中形成的囊体结构会堵塞鱼类的鳃部, 造成鱼类缺氧死亡。赤潮衰退后, 囊体破裂, 在透明胞外聚合颗粒物作用下, 形成高碳含量的泡沫留在海水表层和滩涂上, 会影响沿岸海水养殖业及核电设施的取水安全^[9-10]。

透明胞外聚合颗粒物是一种能被阿利新蓝染色由酸性多糖组成的胶质状颗粒物^[11], 是胞外聚合物 (Extracellular Polymeric Substances, EPS) 的子形式, 大多数浮游植物细胞由于主动释放或者裂解外溢形成的微纤维 EPS 通过起泡或者凝结等方式形成

收稿日期: 2023-05-16

基金项目: 中央引导地方科技发展资金资助项目 (桂科 ZY21195027); 国家自然科学基金资助项目 (41506146); 广西科技重大专项项目 (桂科 AA17202020)

作者简介: 蓝彩碧 (1993—), 女, 学士, 研究实习员, 主要从事海洋环境科学研究。E-mail: 761431539@qq.com

通讯作者: 赖俊翔 (1984—), 男, 博士, 研究员, 主要从事海洋环境科学研究。E-mail: jxlai@gxas.cn

许铭本 (1983—), 男, 博士, 高级工程师, 主要从事海洋环境科学研究。E-mail: xmben0771@126.com

TEP。TEP 的形成是溶解性有机碳转变为颗粒有机碳的主要步骤,被认为是海洋生态系统碳循环的重要组成部分^[12-13]。浮游植物产生 EPS 会受营养盐、温度、光照、重金属浓度及氧含量等多种因素的影响,而且还具有种间的特异性^[14]。目前对于微藻分泌 EPS 与营养盐的关系的研究大多集中于硅藻,关于营养盐限制对棕囊藻分泌多糖的影响的研究虽然较少,但也有学者开展了研究。比如 MARI X 等^[15]的围隔实验表明,球形棕囊藻的 TEP 释放是会受到营养盐的缺乏所驱动,尤其在磷限制的情况下,球形棕囊藻会比在氮限制的情况释放更多的 TEP。对于以囊体形态形成赤潮的球形棕囊藻而言,囊体结构可以说是 TEP 的一大来源,尤其是囊体衰败后,可以直接释放出 TEP。因此,球形棕囊藻赤潮消退时,除了巨大生物量消亡影响水生生态系统的结构和功能,赤潮衰亡过程还释放的大量 TEP 等黏性多糖物质也会对水体碳循环过程产生重要影响。TEP 被认为是球形棕囊藻赤潮除生物体细胞外的另一种形式有机碳汇。

磷是海洋浮游植物生长必需的营养元素,是限制海洋初级生产力水平的关键因子。杨静等^[16]通过梳理 1990—2014 年北部湾近岸海域监测数据,结果表明北部湾海域长期为磷限制状态,特别是钦州湾内、廉州湾及大风江口的氮磷比分别高达 202:1、132:1、142:1、224:1。若磷污染增高时可能会引发水体富营养化。在对球形棕囊藻的营养盐需求研究中发现,球形棕囊藻对磷酸盐具有较高的营养需求,磷是球形棕囊藻首要限制因子^[17-18]。许多研究者围绕磷营养盐限制对球形棕囊藻生长的影响开展了研究。王艳等^[17]的研究发现,在缺磷的情况下,球形棕囊藻的生长严重受阻,甚至无法形成正常的生长曲线。田晶晶^[19]的研究表明,磷限制会抑制球形棕囊藻细胞形成囊体。此外,在缺磷条件下,球形棕囊藻的生长速率要显著低于富磷条件下^[20]。这些研究表明磷的限制会对球形棕囊藻的生长产生抑制作用,但均未考虑球形棕囊藻 TEP 释放的情况,无法全面地评价在磷营养限制的情况下,对球形棕囊藻生长、形态变化和 TEP 释放的影响,以及球形棕囊藻赤潮对水体环境的影响。

本文通过研究球形棕囊藻在磷营养限制条件下

细胞的生长、细胞形态、TEP 生产量等的变化,探讨球形棕囊藻细胞对磷营养限制的响应及磷营养限制与藻细胞 TEP 分泌之间的关系,为阐明球形棕囊藻赤潮生消机制和其对海洋生态系统结构的影响提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

球形棕囊藻藻株于 2016 年采自钦州湾近岸赤潮发生海域,纯种培养,保存于广西海洋科学院微藻种质资源库,编号 BBW-PG02。藻液预培养:采用 f/10 培养基,设置温度为 20 ℃,盐度为 30‰,光照强度为 $80 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光暗比为 12 h:12 h。实验开始前,取指数生长期的球形棕囊藻藻液,在自然重力作用下经孔径为 $10 \mu\text{m}$ 的筛绢过滤 2 次去除囊体,收集游离的球形棕囊藻单细胞用于接种。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设置

设置 1 个对照组和 2 个实验处理组,分别是磷限制组 1、磷限制组 2。采用 f/10 培养基,设置硝酸盐浓度为 $116.18 \mu\text{mol/L}$,以 Redfield 值为基础,调整磷酸盐浓度使氮磷比分别为 16:1、32:1、64:1,其他营养组分不变,每个实验组设 3 个平行(表 1)。将球形棕囊藻单细胞接种至 9 个玻璃锥形瓶中,设置初始细胞密度为 $1\,000 \text{ cells/mL}$,使培养液终体积为 $2\,000 \text{ mL}$ 。其他的实验培养条件与预培养条件一致。实验周期为 33 天,每隔 2 天取 1 次样品。

表 1 磷营养盐限制实验组的氮磷比率

组别	硝酸盐浓度/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	磷酸盐浓度/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	氮磷比率
控制组	116.18	7.26	16:1
磷限制组 1	116.18	3.62	32:1
磷限制组 2	116.18	1.82	64:1

1.2.2 囊体密度、囊体直径、囊体细胞数、单细胞数的测定

将藻液摇匀后,取总体积为 80~100 mL 的藻液样品于样品瓶中,从中取 1 mL 藻液于 1.5 mL 的离心管中,加鲁哥氏剂固定使终浓度为 5%,用浮游

植物计数框在 Nikon ECLIPSE Ti 荧光倒置显微镜下进行计数,记录单细胞密度。当出现囊体时,取 2 mL 藻液于 24 孔板,在 Nikon ECLIPSE Ti 荧光倒置显微镜下,随机选取视野中的囊体,多于 30 个只计数 30 个囊体,数量少于 30 全部计数,利用万深藻类计数系统进行囊体数量、单位面积囊体表面细胞数的计数,以及囊体直径的测量。

1.2.3 叶绿素 a 与营养盐的测定

取 20~30 mL 的藻液,用 GF/F 滤膜(经 450 °C, 3 h 烧灼)过滤,分别收集滤膜和滤液于 -20 °C 冷冻保存,用于测定叶绿素 a、硝酸盐和磷酸盐。用紫外分光光度法测定叶绿素 a 样品在 664 nm、647 nm、630 nm、750 nm 波长下的吸光值,并通过公式计算出叶绿素 a 的浓度^[21]。滤液解冻后用 Skalar San++ 营养盐连续流动分析仪测定硝酸盐、亚硝酸盐、磷酸盐浓度。

1.2.4 TEP 浓度的测定

每瓶取 15 mL 新鲜藻液,用孔径为 0.4 μm 的聚碳酸酯滤膜(Waterman)过滤,注意负压不能超过 0.02 MPa,加入 0.5 mL 含量为 0.02% 爱尔新蓝染色剂(pH 值为 2.5,醋酸含量为 0.06%),快速地对滤膜进行染色。然后用 1 mL 超纯水分 2 次进行洗涤。将滤膜转移到 10 mL 玻璃比色管中,加入 6 mL 80% 的硫酸溶液,浸泡 2 h,期间每隔半小时轻轻摇匀,使 TEP 充分酸化。随后用紫外可见分光光度计在 787 nm 波长下测定样品的吸光值。同时用黄原胶做标准曲线计算出 TEP 含量^[22]。

1.3 统计分析方法

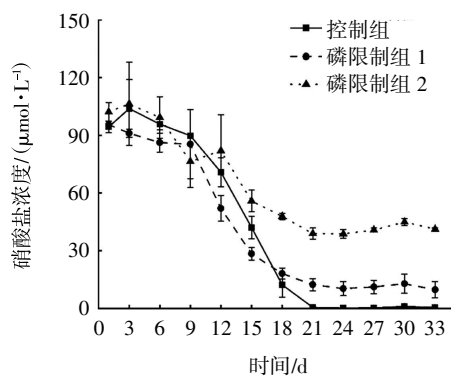
应用 SPSS 20.0 对数据进行统计分析,采用单因素方差分析(one way-ANOVA)对球形棕囊藻的囊体直径、囊体密度、囊体表面细胞密度、细胞密度和叶绿素 a 含量进行组间差异性分析。采用 t-test 对球形棕囊藻衰亡期的 TEP 产量进行差异分析。设置显著性水平为 $p < 0.05$ 。

2 结果与分析

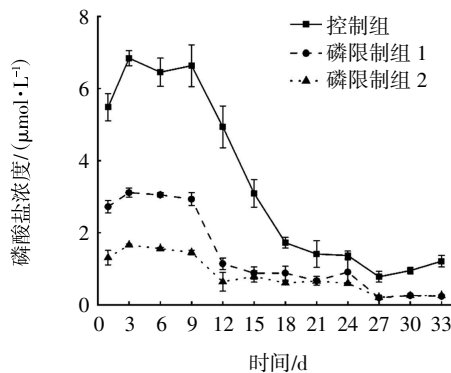
2.1 培养液中氮磷营养盐浓度变化情况

培养液中营养盐浓度变化如图 1 所示。自实验开始后,控制组和磷限制组 1 培养液中硝酸盐被快

速消耗。控制组和磷限制组培养液中硝酸盐浓度均在第 21 天后趋向稳定。控制组培养液中的硝酸盐浓度于第 21 天后基本消耗殆尽,显著低于磷限制组 1 和磷限制组 2。控制组、磷限制组 1 和磷限制组 2 培养液中磷酸盐消耗浓度范围分别为 $5.63 \pm 0.14 \mu\text{mol/L}$ 、 $2.87 \pm 0.15 \mu\text{mol/L}$ 和 $1.40 \pm 0.00 \mu\text{mol/L}$ 。如图 1(b)所示,整个培养过程,磷限制组 1 和磷限制组 2 的磷酸盐浓度都显著低于控制组。



(a) 硝酸盐浓度



(b) 磷酸盐浓度

图 1 硝酸盐浓度和磷酸盐浓度变化情况

2.2 磷限制条件下球形棕囊藻的生长情况

2.2.1 叶绿素 a 含量和细胞密度的变化

在磷限制条件下,球形棕囊藻细胞丰度和叶绿素 a 含量变化结果如图 2 所示。各处理组球形棕囊藻细胞叶绿素 a 含量均在第 15 天达到最大值,其中磷限制组 1 和控制组藻细胞叶绿素 a 含量相近,分别为 $104.42 \pm 6.67 \mu\text{g/L}$ 、 $109.56 \pm 15.98 \mu\text{g/L}$,如图 2(a)所示;而磷限制组 2 叶绿素 a 含量为 $66.46 \pm 2.81 \mu\text{g/L}$,显著低于控制组 ($p < 0.05$)。第 15 天以后,两个磷限制组 1 和磷限制 2 的叶绿素 a 含量开始迅速下降,第 30 天以后低于检测限,显著低于控制组的叶绿素 a 含量 ($p < 0.05$)。培养液中球形

棕囊藻总细胞丰度变化见图 2(b), 控制组的最高细胞密度达到 $(821.30 \pm 150.74) \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$, 磷限制 1 组和限制 2 组的最高密度分别是 $(630.56 \pm 93.36) \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $(356.98 \pm 24.20) \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。与叶绿素 a 含量变化趋势相似, 到培养的第 30 天和第 33 天时, 在显微镜下基本未观察到棕囊藻细胞, 显著低于控制组的细胞密度 ($p < 0.05$)。此外, 从图 2 还可以看出, 在对数期, 磷限制组 1 的生长速率高于控制组和磷限制组 2, 而磷限制组 2 则低于控制组。

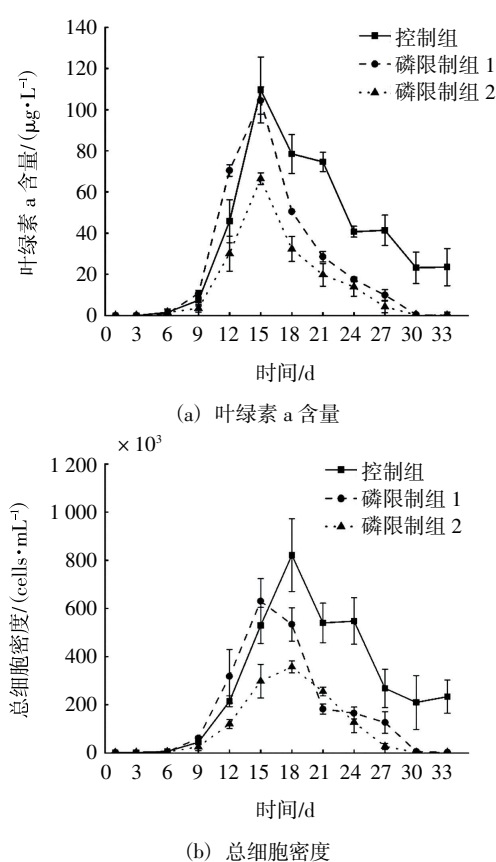


图 2 球形棕囊藻叶绿素 a 含量和细胞丰度变化

2.2.2 磷限制条件下球形棕囊藻囊体数量及形态特征

各处理组培养液中囊体密度、囊体直径和囊体表面细胞密度变化情况如图 3 所示。实验结果显示, 对照组与实验组培养液中球形棕囊藻都能形成囊体。整个实验期磷限制组 1 和磷限制组 2 培养液中囊体密度均低于控制组, 但磷限制组 1 和磷限制组 2 之间并无显著差异 ($p > 0.05$)。控制组、磷限制组 1 和磷限制组 2 培养液中囊体平均直径范围分别是 $99.70 \pm 3.98 \sim 422.80 \pm 58.31 \mu\text{m}$ 、 $163.50 \pm 24.26 \sim 398.16 \pm 10.32 \mu\text{m}$ 和 $120.76 \pm 21.98 \sim 353.21 \pm$

$30.73 \mu\text{m}$ 。差异分析结果显示, 各组间囊体直径差异不显著 ($p > 0.05$)。如图 3(c)所示, 培养液中囊体表面细胞密度从第 15 天后逐渐下降。第 30 和 33 天, 磷限制组 1 和磷限制组 2 囊体表面细胞密度基本趋近于 0, 显著低于控制组 ($p < 0.05$), 与培养液中叶绿素 a 含量和棕囊藻细胞密度变化情况一致。

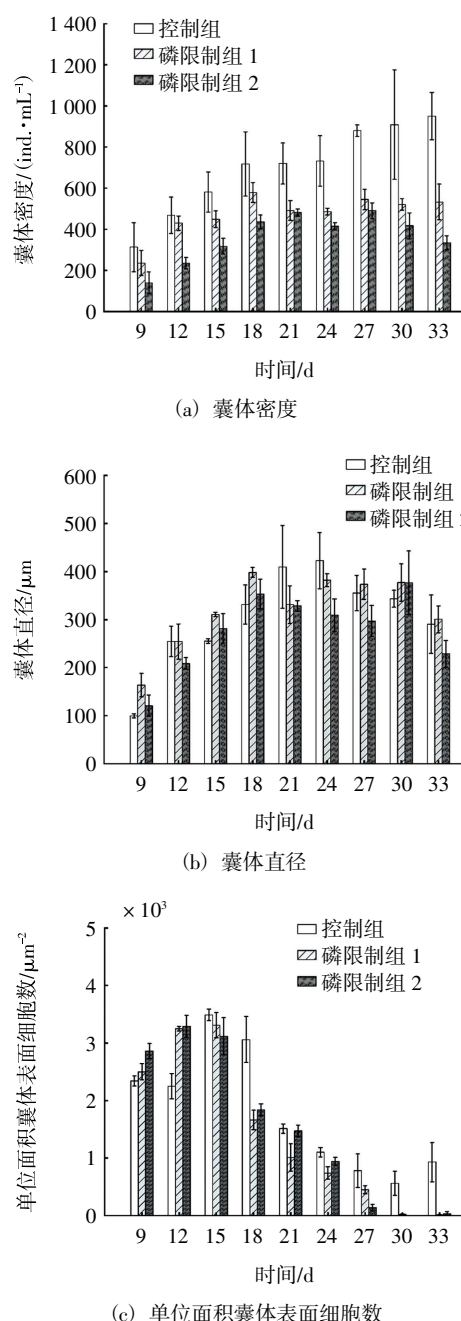
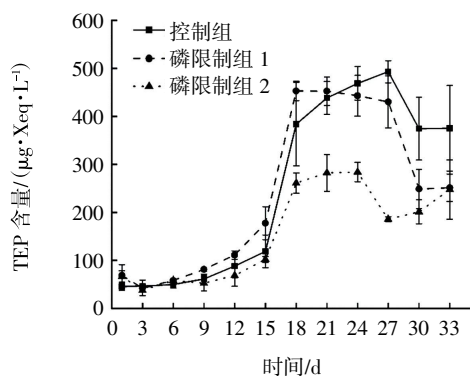


图 3 磷限制条件下囊体表征变化

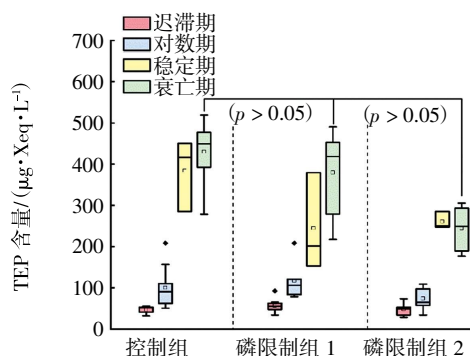
2.3 磷限制条件下球形棕囊藻 TEP 的含量

如图 4 所示, 培养实验开始后, 培养液中 TEP 浓度随球形棕囊藻生长缓慢增长, 在叶绿素 a 含量

下降时指数增长。控制组、磷限制组 1 和磷限制组 2 的 TEP 浓度变化范围分别是 $45.72 \pm 8.60 \sim 493.16 \pm 22.82 \mu\text{g} \cdot \text{Xeq} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $68.94 \pm 22.45 \sim 453.18 \pm 20.15 \mu\text{g} \cdot \text{Xeq} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $66.48 \pm 11.82 \sim 284.06 \pm 20.13 \mu\text{g} \cdot \text{Xeq} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在第 18 天, 磷限制组 2 培养液中 TEP 浓度与控制组和磷限制组 1 培养液中 TEP 浓度呈显著差异。如图 4(b) 所示, 在衰亡期, 磷限制组 2 的 TEP 浓度要显著低于控制组和磷限制组 1 ($p < 0.05$), 然而控制组和磷限制组 1 之间没有显著差异 ($p > 0.05$)。



(a) TEP 含量变化



(b) 各生长时期的 TEP 含量

图 4 磷限制条件下 TEP 含量变化及各个时期 TEP 含量

3 讨论

3.1 磷限制对球形棕囊藻北部湾株生长的影响

本文通过测定叶绿素 a 含量、细胞丰度、囊体密度、囊体表面细胞密度、囊体直径分析磷限制对球形棕囊藻的生长影响。由培养液中营养盐变化的趋势可以看出, 化学计量营养盐限制标准磷限制组 1 和磷限制组 2 的氮磷营养盐比值要大于 16, 同时按浮游植物生长阈值标准 ($C_{\text{DN}} = 1 \mu\text{mol/L}$ 和 $C_P = 0.1 \mu\text{mol/L}$)^[23], 在本实验第 27 天后, 磷限制组培

养液中磷酸盐浓度 d 低至 $0.24 \mu\text{mol/L}$ (图 1), 虽略高于浮游植物生长阈值, 但球形棕囊藻细胞已处于磷绝对限制环境。在衰亡期磷限制组 1 和磷限制组 2 细胞丰度、叶绿素含量及囊体密度显著低于控制组 ($p < 0.05$, 图 2、图 3) 此外, 磷限制组的囊体表面细胞密度要显著低于控制组 ($p < 0.05$)。这些结果表明磷营养盐的缺乏, 抑制了球形棕囊藻的细胞生长和繁殖。磷元素对海洋浮游植物生长繁殖具有不可替代的生物学作用, 是遗传信息、蛋白质、生物膜的重要组成成分, 参与了浮游植物细胞的生长繁殖及能量传递等重要的过程^[24]。胡章喜等^[20]的研究也表明磷限制影响球形棕囊藻细胞的增殖, 其特定的生长率少于 0.3 d^{-1} 。类似的结果也出现在铜绿微囊藻的研究中, HARKE M J 等^[25]通过无磷条件下培养铜绿微囊藻发现, 实验组的细胞生长速率仅为 0.13 d^{-1} , 远低于控制的生长速率 0.37 d^{-1} 。值得注意的是, 从囊体的直径方面看来, 控制组与两个磷限制实验组并没有显著的差异 ($p > 0.05$)。王艳等^[26]的研究也有类似的现象, 即磷限制组的囊体直径与其他实验组并没有显著的差异。这可能是由于磷限制条件下球形棕囊藻细胞物质和能量更多用于多糖物质的分泌而减少细胞的分裂和繁殖。此外, 从对数期的生长速率看, 磷限制组 1 $\geq$ 控制组 $>$ 磷限制组 2, 且磷限制组 1 先于控制组和磷限制组 2 进入稳定期。这可能是球形棕囊藻的应激反应, 使生物量的快速积累, 具体过程有待进一步的研究。

3.2 磷限制对球形棕囊藻产生 TEP 的影响

球形棕囊藻细胞分泌多糖, 而后多糖分子之间通过盐桥相互连接在一起构建成囊体^[27]。球形棕囊藻囊体黏液的主要成分是多糖^[28], 且含有酸性基团, 可以被阿利新蓝染色, 因此可以被定性为透明胞外颗粒聚合物^[27]。囊体结构衰败后带来的碎片可以作为水体中 TEP 的直接来源^[14]。本文中的 TEP 含量变化表明, 在衰亡期控制组的 TEP 含量与磷限制组 1 并无显著差异 ($p > 0.05$), 但要显著高于磷限制组 2 ($p < 0.05$)。这说明在一定范围内的磷限制 (氮磷比 32:1) 并不会对球形棕囊藻产生 TEP 造成阻碍, 当磷限制进一步加强时 (氮磷比 64:1), 球形棕囊藻 TEP 的产量显著下降。

研究发现,磷元素的限制并不会导致藻细胞的EPS分泌量下降^[29-30],还有研究认为这归因于藻细胞在不良环境中产生的应激反应^[31]。但磷限制组2的TEP生产量显著低于控制组,与REN X Z等^[32]的研究结果一致。该研究中,磷限制(氮磷比25.16:1、52.14:1、128.5:1)实验处理组球形棕囊藻EPS产量低于控制组(氮磷比17.41:1)EPS产量。一方面,可能是磷限制环境导致细胞胞内环境的pH值升高,从而引起卡尔文循环(Calvin Cycle)下降;另一方面,实验结果表明,即使磷限制条件下囊体密度和囊体表面细胞密度下降,但囊体的直径变化不大(图3)。我们推测球形棕囊藻的囊体含有大量的碳水化合物,一定程度的磷限制(氮磷比32:1)降低了细胞生长繁殖,但并不影响碳水化合物分泌;而更高层次的磷限制(氮磷比64:1)则会阻碍细胞的生长和分泌碳水化合物,从而影响TEP的释放。

4 结 论

磷限制营养盐环境抑制了球形棕囊藻细胞的生长繁殖,主要表现为:生长周期缩短,磷限制组在第30天时几乎看不到藻细胞;磷限制组的叶绿素含量、细胞量、囊体密度及囊体表面细胞均小于控制组且衰亡期具有显著差异。

低磷限制营养盐环境即氮磷比为32:1时,球形棕囊藻的生长和TEP产量表现出差异性。①低磷限制组在对数期促进球形总囊藻的生长并先于控制组进入稳定期;②低磷限制条件促进TEP释放,虽然细胞量占控制组77%,囊体密度占56%,但是TEP的释放量仍达到控制组的92%。

高磷限制营养条件下即氮磷比为64:1时,由于球形棕囊藻的生长受到抑制,间接导致TEP产量降低,但仍然有43%的生物量和57%的TEP。尽管磷浓度降低,磷限制增强,但是球形棕囊藻形成的生物量和TEP产量不容忽视。

球形棕囊藻赤潮是广西沿岸海域,乃至整个北部湾海域的典型的频发性有害赤潮。而广西近岸海域作为常年性的磷限制条件水体,研究磷限制情况下球形棕囊藻的生长及TEP生产情况对于分析判断赤潮形势和评价生态影响有重要意义。球形棕囊藻在一定程度的磷限制水平情况下,尽管会在细胞生长和囊体丰度上出现下降,但囊体的大小和TEP的产量并不会受到显著的影响。当球形棕囊藻在高水平的磷限制情况才会出现TEP的生产量减少。因此,在广西北部湾近岸海域水体中,一定程度的磷限制水平可能并不会削弱球形棕囊藻赤潮带来的危害,即使在磷缺乏的情况下也应对球形棕囊藻赤潮的爆发风险保持关注。

参考文献:

- [1] 覃仙玲, 赖俊翔, 陈波, 等. 棕囊藻北部湾株的18S rDNA分子鉴定[J]. 热带亚热带植物学报, 2016, 24(2): 176-181.
- [2] 姜宁. 广西北部湾海域赤潮演变趋势分析及其防控思路[J]. 海洋开发与管理, 2019, 36(11): 82-85.
- [3] 罗金福, 李天深, 蓝文陆. 北部湾海域赤潮演变趋势及防控思路[J]. 环境保护, 2016, 44(20): 40-42.
- [4] 徐铁肖, 何喜林, 张腾, 等. 北部湾棕囊藻藻华原因种分析[J]. 热带海洋学报, 2020, 39(6): 122-130.
- [5] 胡章喜, 邓蕴彦, 唐赢中. 我国北部湾球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)的表面形态和细胞超微结构的电镜观察[J]. 海洋与湖沼, 2019, 50(3): 621-629.
- [6] SCHOEMANN V, BECQUEVORT S, STEFELS J, et al. *Phaeocystis* blooms in the global ocean and their controlling mechanisms: A review[J]. Journal of Sea Research, 2005, 53(1-2): 43-46.
- [7] BLAUW A N, LOS F J, HUISMAN J, et al. Nuisance foam events and *Phaeocystis globosa* blooms in Dutch coastal waters analyzed with fuzzy logic[J]. Journal of Marine Systems, 2010, 83(3-4): 115-126.
- [8] BUCHAN A, LECLEIR G R, GULVIK C A, et al. Master recyclers: Features and functions of bacteria associated with phytoplankton blooms[J]. Nature Reviews Microbiology, 2014, 12(10): 686-689.
- [9] 陈菊芳, 徐宁. 中国赤潮新记录种: 球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)[J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 1999, 20(3): 124-129.

- [10] DOAN-NHU H, LAM N N, DIPPNER J W. Development of *Phaeocystis globosa* blooms in the upwelling waters of the South Central coast of Viet Nam[J]. Journal of Marine Systems, 2010, 83(3-4): 253-261.
- [11] ALLDREDGE A L, PASSOW U, LOGAN B E. The abundance and significance of a class of large, transparent organic particles in the ocean-ScienceDirect[J]. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 1993, 40(6): 1131-1140.
- [12] 郭康丽, 陈洁, 姚宝龙. 海洋浮游植物胞外多聚物的研究进展[J]. 海洋环境科学, 2019, 38(1): 139-145.
- [13] LEPPARD G G. The characterization of algal and microbial mucilages and their aggregates in aquatic ecosystems[J]. Science of the Total Environment, 1995, 165(1-3): 103-131.
- [14] RIJSSEL M V, JANSE I, NOORDKAMP D, et al. An inventory of factors that affect polysaccharide production by *Phaeocystis globosa*[J]. Journal of Sea Research, 2000, 43(3-4): 297-306.
- [15] MARI X, RASSOULZADEGAN F, BRUSSAARD C, et al. Dynamics of Transparent Exopolymeric Particles (TEP) production by *Phaeocystis globosa* under N- or P-limitation: A controlling factor of the retention/export balance[J]. Harmful Algae, 2005, 4(5): 895-914.
- [16] 杨静, 张仁铎, 赵庄明, 等. 近 25 年广西北部湾海域营养盐时空分布特征[J]. 生态环境学报, 2015, 24(9): 1493-1498.
- [17] 王艳, 齐雨藻, 李韶山. 球形棕囊藻生长的营养需求研究[J]. 水生生物学报, 2007, 31(1): 24-29.
- [18] EGGE J K, HEIMDAL B R. Blooms of phytoplankton including *Emiliania huxleyi* (Haptophyta). Effects of nutrient supply in different N: P ratios[J]. Sarsia, 1994, 79(4): 333-348.
- [19] 田晶晶. 环境因子对球形棕囊藻细胞群体形成的影响[D]. 广州: 暨南大学, 2010.
- [20] 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, 2008, 32(4): 482-487.
- [21] 全国海洋标准化技术委员会. 海洋监测规范: 第 7 部分 近海污染生态调查和生物监测: GB 17378.7—2007[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007: 24.
- [22] PASSOW U, ALLDREDGE A L. A dye-binding assay for the spectrophotometric measurement of Transparent Exopolymer Particles (TEP)[J]. Limnology and Oceanography, 1995, 40(7): 1326-1335.
- [23] SHEN Z L. Historical Changes in Nutrient Structure and its Influences on Phytoplankton Composition in Jiaozhou Bay[J]. Estuarine Coastal & Shelf Science, 2001, 52(2): 211-224.
- [24] PAYTAN A, MCLAUGHLIN K. The oceanic phosphorus cycle[J]. Chemical Reviews, 2007, 107(2): 563-576.
- [25] HARKE M J, GOBLER C J, ANDREW C D. Global Transcriptional Responses of the Toxic Cyanobacterium, *Microcystis aeruginosa*, to Nitrogen Stress, Phosphorus Stress, and Growth on Organic Matter[J]. Plos One, 2013, 8(7): e69834.
- [26] 王艳, 邓坤, 王小冬. 球形棕囊藻囊体形成中光照、营养盐和共存硅藻的影响[J]. 生态科学, 2013, 32(2): 165-170.
- [27] BOEKEL W V. *Phaeocystis* colony mucus components and the importance of calcium ions for colony stability[J]. Marine Ecology Progress, 1992, 87(3): 301-305.
- [28] RIJSSEL M V, JANSE I, NOORDKAMP D, et al. An inventory of factors that affect polysaccharide production by *Phaeocystis globosa*[J]. Journal of Sea Research, 2000, 43(3-4): 297-306.
- [29] BREMBU T, MÜHLROTH A, ALIPANAH L, et al. The effects of phosphorus limitation on carbon metabolism in diatoms[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences, 2017, 372(1728): 20160406.
- [30] GUERRINI F, CANGINI M, BONI L, et al. Metabolic responses of the diatom *Achnanthes brevipes* (bacillariophyceae) to nutrient limitation[J]. Journal of Phycology, 2000, 36(5): 882-890.
- [31] VANUCCI S, GUERRINI R, MILANDRI R, et al. Effects of different levels of N- and P-deficiency on cell yield, okadaic acid, DTX-1, protein and carbohydrate dynamics in the benthic dinoflagellate *Prorocentrum lima*[J]. Harmful Algae, 2010, 9(6): 590-599.
- [32] REN X Z, YU Z M, SONG X X, et al. Effects of modified clay on *Phaeocystis globosa* growth and colony formation[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2021, 18(19): 17.

Effect of Phosphorus Limitation on the Growth and TEP Formation of *Phaeocystis Globosa*

LAN Caibi^{1,2}, LI Jie^{1,2}, LAI Junxiang^{1,2,3}, XU Mingben^{1,2,3}

(1. Guangxi Academy of Sciences, Nanning 530007, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Marine Environmental Science (Guangxi Academy of Marine Sciences), Nanning 530007, China; 3. Beibu Gulf Marine Industry Research Institute, Fangchenggang 538001, China)

Abstract: Although the coastal waters of Beibu Gulf in Guangxi are in a phosphorus restricted state all the year round, the bloom of *Phaeocystis Globosa* occurs frequently. During the outbreak, *Phaeocystis globosa* mainly exists in the form of colony. After the bloom recession, the colony burst and produce a large number of Transparent Exopolymer Particles (TEP), which form a high-carbon and high-viscosity foam under the action of ocean dynamics, affecting the safety of fisheries and nuclear power water intake. This article explores the effects of phosphorus limitation on the growth of *Phaeocystis Globosa* and the production of transparent extracellular polymeric particles through semi-continuous culture experiments with nitrogen phosphorus ratios of 32 : 1 and 64 : 1. Exploring the effects of phosphorus limitation on the growth and production of transparent extracellular polymeric particulate matter in the *Phaeocystis globosa*. The results showed that cell density, chlorophyll a concentration, colony density and colony surface cell number of *Phaeocystis Globosa* were all inhibited in the second half of culture under the phosphorus restriction of nitrogen phosphorus ratios of 32 : 1 and 64 : 1. However, the two phosphorus-limited experimental groups did not show significant differences in colony diameter compared to the control group (Significance level $p > 0.05$). Under the condition of nitrogen phosphorus ratios of 32 : 1, TEP production of *Phaeocystis Globosa* was not significantly different from that of control group ($p > 0.05$), and under the condition of nitrogen phosphorus ratios of 64 : 1, TEP production was significantly decreased ($p < 0.05$). The increased degree of phosphorus restriction had an effect on TEP secretion of *Phaeocystis Globosa* cells. The results provided a basis for further study of TEP formation mechanism of *Phaeocystis Globosa* under environmental stress.

Key words: *Phaeocystis Globosa*; bloom; growth; Transparent Exopolymer Particles; phosphorus limitation