

球形棕囊藻北部湾株对不同形态磷源的利用及碱性磷酸酶特性研究*

Study on the Utilization of Different Phosphorus and Alkaline Phosphatase Characteristics of *Phaeocystis globosa* Cultivated from Beibu Gulf

覃仙玲,陈波**,赖俊翔,陆家昌,牙韩争

QIN Xianling, CHEN Bo, LAI Junxiang, LU Jiachang, YA Hanzheng

(广西科学院广西近海海洋环境科学重点实验室,广西南宁 530007)

(Guangxi Key Laboratory of Marine Environmental Science, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China)

摘要:【目的】探讨球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)北部湾株 BBW PG-01 对不同磷源利用能力的差异以及碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AP)特性,揭示溶解有机磷(Dissolved organic phosphorus, DOP)在该藻赤潮发生时的重要作用。【方法】在实验室培养条件下,以 KH_2PO_4 (PO_4^{3-})、核糖核酸(RNA)、葡萄糖-6-磷酸钠盐(G-6-P)、三磷酸腺苷二钠(ATP)和卵磷脂(LEC)作为磷源,对比研究 BBW PG-01 在这 5 种不同磷源培养条件下的生长特征及碱性磷酸酶活性(Alkaline phosphatase activity, APA),并结合磷饥饿条件下的无机磷吸收动力学及碱性磷酸酶动力学分析其对无机磷和有机磷的竞争机制。【结果】5 种形态磷源均可被 BBW PG-01 利用, RNA 为其最优化生长磷源,而以大分子有机磷 LEC 为磷源时生长最差,两者最大细胞密度分别为 4.40×10^8 cells/L 和 2.39×10^8 cells/L,水解大分子 DOP 可能需要更高的酶活性。动力学研究表明,在磷缺乏的条件下, BBW PG-01 具有通过高亲和力来竞争磷源以维持生长的能力。【结论】球形棕囊藻北部湾株在 AP 的作用下,能够利用多种 DOP 进行生长,且在低磷条件下对无机磷(DIP)和 DOP 均具有较强的竞争能力,海洋中 DOP 可能是球形棕囊藻赤潮暴发和维持的重要磷源。

关键词:球形棕囊藻 北部湾 有机磷 碱性磷酸酶

中图分类号:Q175 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-9164(2018)01-0080-07

Abstract:【Objective】To explore the differences of *Phaeocystis globosa* BBW PG-01 from Beibu Gulf in utilizing different phosphorus and its characteristic of alkaline phosphatase(AP) can reveal the important role that DOP played when the algae bloom occurs.【Methods】Under laboratory culture condition and taking KH_2PO_4 (PO_4^{3-}), RNA, Glucose 6 phosphate(G-6-P), adeno-

sine triphosphate (ATP) and lecithin(LEC) as phosphorus sources, the growth characteristics and Alkaline phosphatase activity (APA) of BBW PG-01 in these five different phosphorus sources were compared. Combining the inorganic phosphorus absorption kinetics and alkaline phosphatase kinetics under phosphorus starvation, the competitive mechanism of inorganic phosphorus and organic phosphorus was ana-

收稿日期:2017-11-20

修回日期:2018-01-07

作者简介:覃仙玲(1989-),女,硕士,助理研究员,主要从事海洋微生物生态研究。

* 国家自然科学基金项目(41576024),广西重点研发计划项目(桂科 AB16380282)和广西科学院基本科研业务费项目(15YJ22HY07)资助。

** 通信作者:陈波(1953-),男,研究员,主要从事海洋动力学研究, E-mail:cbgxkxy@163.com。

lyzed. **【Results】**It was found that five morphological phosphorus sources could be utilized by BBW PG-01. RNA was the optimal source of phosphorus for its growth, however, with macromolecular organic phosphorus LEC as the phosphorus source, the growth was the worst. The maximum cell density for these two sources was 4.40×10^8 cells/L and 2.39×10^8 cells/L, hydrolysis of macromolecules DOP might require higher enzyme activity. Kinetic studies indicated that BBW PG-01 had the ability to compete for phosphorus sources to sustain growth with high affinity in the deficiency of phosphorus. **【Conclusion】**Under the action of AP, *Phaeocystis globosa* from Beibu Gulf could grow with many kinds of DOPs and had strong competitive ability to both DIP and DOP under low phosphorus conditions. DOP in the ocean might be an important phosphorus source for the outbreak and maintenance of *Phaeocystis globosa* red tide.

Key words: *Phaeocystis globosa*, Beibu Gulf, organic phosphorus, alkaline phosphatase

0 引言

【研究意义】近几年,球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)成为广西北部湾海域的典型有害赤潮原因种,赤潮发生时几乎覆盖北部湾的整个海域。该赤潮是一种有害赤潮,首次在我国广东沿海暴发时就造成了6500万元的经济损失^[1]。除了能产生对养殖业具有危害的溶血毒素,球形棕囊藻还跟酸雨以及大气状况有重要联系,这是因为棕囊藻细胞可以释放二甲基硫化物(DMS)到环境中^[2]。因此研究与该赤潮发生相关的影响因子对于揭示赤潮的发生原因及预防具有重要意义。**【前人研究进展】**磷是海洋初级生产力和食物链的基础元素,是浮游植物生长(如DNA、RNA及脂质等)、胞内能量(ATP)和信号通路所必需的大量营养元素,而无机态的正磷酸盐是浮游植物能够直接吸收利用的唯一磷源^[3]。然而越来越多的研究表明磷是近岸和寡营养海域的限制因子,甚至在远洋海域也因为固氮作用而逐步成为磷限制^[4]。在无机磷缺乏的条件下,很多浮游植物可以通过碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AP)的作用利用溶解有机磷(Dissolved organic phosphorus, DOP)^[5],洪华生等^[6]便采用³²P示踪法证实了小球藻在碱性磷酸酶的作用下可以直接利用DOP,而王艳等^[7]用球形棕囊藻南海株进行研究,结果表明该藻既能利用小分子DOP(β -甘油磷酸钠),也可以利用大分子DOP(卵磷脂LEC)进行生长,具槽帕拉藻在DOP培养下生长甚至更优于无机磷^[8]。磷饥饿条件下的吸收动力学参数可以指示藻类对无机磷的竞争能力。通过碱性磷酸酶动力学参数,可以计算底物的周转时间^[9],从而了解浮游植物对DOP的利用情况。韦蔓新等^[10]和马媛等^[11]发现钦州湾水域的营养盐结构已经由明显的氮限制逐渐演变为显著的磷限制,这主要表现在无机氮(DIN)呈明显递增趋势,而无机磷

(DIP)则与此相反。因此,研究球形棕囊藻北部湾株在不同磷源条件下的生长情况有利于分析其在自然海水中对磷的利用情况。**【本研究切入点】**在无机磷相对缺乏的条件下,球形棕囊藻能在北部湾海域维持长时间、大面积赤潮,了解DOP在其中所起的作用具有重要意义。而目前关于球形棕囊藻北部湾株对无机及有机磷源的竞争利用还不清楚。**【拟解决的关键问题】**本研究以球形棕囊藻北部湾株为材料,研究其在无机磷和不同形态磷源培养条件下的生长及碱性磷酸酶活性的变化,结合无机磷吸收动力学与酶动力学参数,分析球形棕囊藻利用磷源的策略机制,从营养生理学的角度为球形棕囊藻赤潮的发生提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验藻种

实验用球形棕囊藻于2016年分离自钦州湾赤潮发生区域,保存于北部湾海洋研究中心赤潮藻种质资源库,编号BBW PG-01。

1.1.2 主要仪器和试剂

Perkin Elmer LS55 荧光分光光度计、Olympus BX51 倒置显微镜、Agilent Cary 100 紫外-可见分光光度计。

KH_2PO_4 (国药试剂, AR)、核糖核酸(Ekear公司)、葡萄糖-6-磷酸钠盐(Ekear公司)、三磷酸腺苷二钠盐(Amresco公司)和大豆卵磷脂(Ruibio公司)、4-甲基伞形酮磷酸酯(Sigma-Aldrich公司)、4-甲基伞形酮(Sigma-Aldrich公司)。

1.2 方法

1.2.1 培养条件

藻种在f/2培养基中进行保种,实验开始前,为了避免培养液中的无机磷对实验造成影响,要进行磷

饥饿处理,具体方法:将保种用的天然海水更换为人工配置海水,取对数生长期的藻细胞逐代接种于逐渐降低磷源浓度的培养液中(即培养基中磷浓度先减半降低至 18 $\mu\text{mol/L}$,再传代时为 9 $\mu\text{mol/L}$,最后降至 4.5 $\mu\text{mol/L}$),除磷外的其他营养成分不变。待长到指数期时,经测定藻液中的无机磷浓度低于检出限,即可正式开始实验。

设置起始密度为 2×10^7 cells/L,将无磷的藻液接种于含有 5 种不同形态磷源的人工海水培养基中,各形态磷的初始浓度约为 5 $\mu\text{mol/L}$,其余按 f/2 的量添加,每个处理均设 3 个平行。培养条件为 22 $^{\circ}\text{C}$,光照强度 2 500 lx,光暗比为 12 h : 12 h。5 种不同形态磷源分别为 KH_2PO_4 (PO_4^{3-}),核糖核酸(RNA),葡萄糖-6-磷酸钠盐(G-6-P),三磷酸腺苷二钠盐(ATP)和卵磷脂(LEC)。每天取样进行细胞计数以及碱性磷酸酶活性(Alkaline phosphatase activity, APA)测定,实验开始当天记为第 0 天。

1.2.2 细胞计数

藻液摇匀后,取 1.0 mL 样品于 1.5 mL 离心管中,加入 20 μL 鲁哥氏碘液进行固定,采用 100 μL 浮游植物计数框进行计数。

1.2.3 APA 测定

APA 的测定参考 Hoppe^[12] 和 Pettersson^[13] 的方法进行,取 9 mL 的培养藻液,加入 1 mL 的 MUP 底物(终浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$),在 30 $^{\circ}\text{C}$ 黑暗条件下水浴 1 h,经 0.22 μm 滤膜过滤后在荧光分光光度计下检测。

1.2.4 碱性磷酸酶动力学实验

取磷饥饿状态下的藻液,按检测 APA 的方法,分别加入 MUP 底物使其终浓度为 0.0 $\mu\text{mol/L}$,0.1 $\mu\text{mol/L}$,0.2 $\mu\text{mol/L}$,0.5 $\mu\text{mol/L}$,2 $\mu\text{mol/L}$,5 $\mu\text{mol/L}$,10 $\mu\text{mol/L}$,20 $\mu\text{mol/L}$,50 $\mu\text{mol/L}$ (每个浓度 3 个平行)。水解速率 (V , fmol/cell/h) 遵循米氏方程(Michaelis-Menten equation):

$$V = \frac{V_{\max} \cdot S}{K_s + S}$$

式中, V_{\max} 为最大水解速率(fmol/cell/h), K_s 为半饱和常数($\mu\text{mol/L}$), S 为底物 MUP 的浓度($\mu\text{mol/L}$)。

1.2.5 无机磷吸收动力学实验

将磷饥饿条件下的藻液 45 mL 加入灭菌三角瓶中。分别添加 5 mL 的配好的各浓度的磷酸盐使其终浓度分别为 0.0 $\mu\text{mol/L}$,0.2 $\mu\text{mol/L}$,0.5 $\mu\text{mol/L}$,1.0 $\mu\text{mol/L}$,2.0 $\mu\text{mol/L}$,5.0 $\mu\text{mol/L}$,10 $\mu\text{mol/L}$ (每个浓度 3 个平行)。采用米氏方程拟合吸收速率 (ρ , fmol/cell/h) 与底物浓度 (S , $\mu\text{mol/L}$) 之间的

关系:

$$\rho = \frac{\rho_{\max} \cdot S}{K_s + S}$$

式中, ρ_{\max} 为最大吸收速率(fmol/cell/h), K_s 为半饱和常数($\mu\text{mol/L}$)。

1.2.6 数据处理与分析

文中的图采用 SigmaPlot 12.5 绘制,显著性分析使用 SPSS 13.0 完成。

2 结果与分析

2.1 不同磷源培养条件下球形棕囊藻的生长情况

由图 1 可知,5 种不同形态磷源培养条件下球形棕囊藻都能生长,但是生长情况有差异。其中以 RNA 为磷源条件下的藻细胞生长最好,甚至优于无机磷,该条件下的球形棕囊藻从第 2 天开始进入指数生长期且密度高于其它几种磷源,至第 4 天就进入稳定生长期,其稳定期内(4~7 d)细胞密度平均值为 $(4.28 \pm 0.20) \times 10^8$ cells/L;以 ATP 和 PO_4^{3-} 为磷源的实验组在前 5 d 生长情况较一致,到第 6 天时 PO_4^{3-} 组达到最大密度(3.33×10^8 cells/L)并进入稳定期,而 ATP 组第 7 天才长到最大密度(4.12×10^8 cells/L)进入稳定期。G-6-P 实验组球形棕囊藻细胞生长情况较前两种稍差,没有明显的稳定生长期,细胞密度在第 6 天达到峰值(2.75×10^8 cells/L)后迅速下降。以 LEC 为磷源的实验组的细胞生长情况最差,在第 6 天时细胞密度达到最大值(2.39×10^8 cells/L),之后马上进入衰亡期。

单因素方差结果表明,在 4~7 d,各组的平均细胞密度之间均存在显著差异,RNA 组平均密度极显著高于其他磷源组 ($P < 0.01$),而 ATP 组和 PO_4^{3-} 组极显著高于 LEC 组 ($P < 0.01$) 并显著高于 G-6-P 组 ($P < 0.05$)。

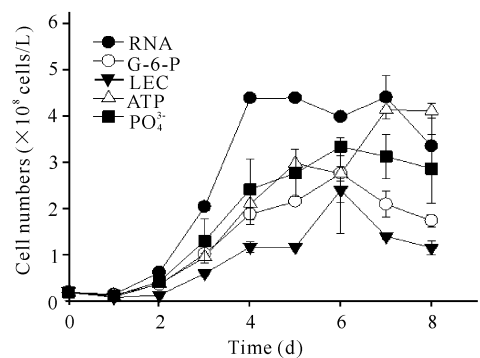


图 1 不同形态磷源对球形棕囊藻生长的影响

Fig. 1 Effects of different phosphorus substrates on the growth of *Phaeocystis globosa*

2.2 不同磷源培养条件下碱性磷酸酶活性的变化

如图2所示,在以LEC为磷源培养条件下,球形棕囊藻APA呈现先极速上升而后稳定的趋势,且该组的APA值始终保持最高,在0~3 d极显著高于其他组($P < 0.01$)。而其他4种磷源条件下,APA均先下降,后上升至一个稳定值,且在0~3 d 4个实验组之间无显著差异($P > 0.05$),G-6-P组APA在第4天激增,APA达 $6.53 \mu\text{mol/L/h}$,随后维持在相对稳定水平。RNA组在第5天快速升高至 $6.82 \mu\text{mol/L/h}$,5~8 d平均值为 $(7.11 \pm 0.20) \mu\text{mol/L/h}$ 。其次是 PO_4^{3-} 组,4~8 d APA平均值为 $(5.18 \pm 0.32) \mu\text{mol/L/h}$,ATP组的APA水平最低,最高值出现在第8天为 $4.97 \mu\text{mol/L/h}$ 。当各组的APA均达到稳定后(第5天),APA由高到低的顺序为 $\text{LEC} > \text{RNA} > \text{G-6-P} > \text{PO}_4^{3-} > \text{ATP}$ 。经SPSS分析,在5~8 d,LEC组APA平均值极显著高于ATP组和 PO_4^{3-} 组($P < 0.01$)并显著高于G-6-P组($P < 0.05$),而ATP组和 PO_4^{3-} 组的APA水平极显著低于其他3个实验组($P < 0.01$),RNA组、LEC组及G-6-P组之间无显著差异($P > 0.05$)。

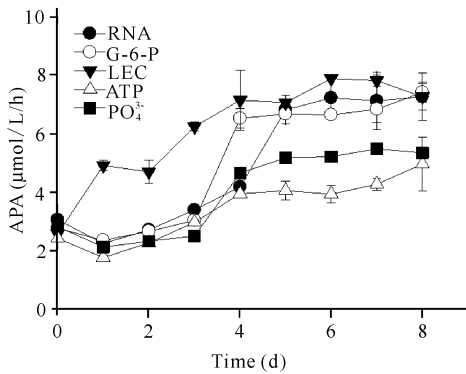


图2 不同形态磷源培养下球形棕囊藻碱性磷酸酶活性(APA)随时间的变化

Fig. 2 The variation of APA of *Phaeocystis globosa* cultivated in different phosphorus sources with time

2.3 磷饥饿条件下的碱性磷酸酶动力学和无机磷吸收动力学实验

碱性磷酸酶动力学研究表明(图3a),磷饥饿条件下球形棕囊藻碱性磷酸酶的最大水解速率 V_{\max} 为 $50.81 \text{ fmol/cell/h}$,对底物DOP的半饱和常数 K_s 为 $2.78 \mu\text{mol/L}$,拟合曲线 $R^2 = 0.96$ 。在磷饥饿条件下,球形棕囊藻对无机磷的吸收速率在一定浓度范围内随着浓度的增大而变大,到一定浓度时呈饱和状态(图3b),球形棕囊藻对无机磷的最大吸收速率 ρ_{\max} 为 7.56 fmol/cell/h ,对底物无机磷的半饱和

常数 K_s 为 $1.09 \mu\text{mol/L}$,拟合曲线的相关系数 $R^2 = 0.94$ 。

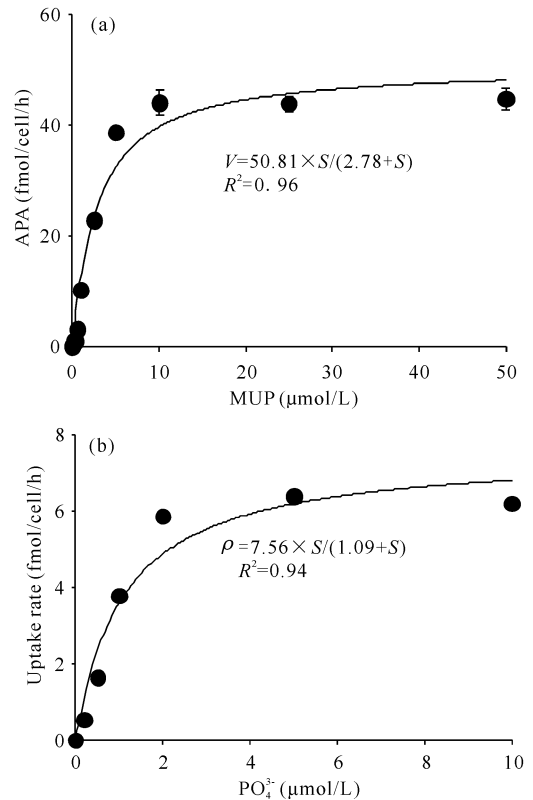


图3 球形棕囊藻磷饥饿条件下碱性磷酸酶活性(APA)随MUP浓度变化(a)和对无机磷吸收速率随DIP浓度变化(b)的Michaelis-Menten拟合曲线

Fig. 3 The Michaelis-Menten matched curve of changes of alkaline phosphatase activities (APA) varying with MUP concentrations (a) and phosphate uptake rate of *Phaeocystis globosa* with phosphate concentrations (b)

3 讨论

天然海水中DOP的组成成分种类繁多,结构复杂,主要有G-6-P、2-磷酸甘油酸、磷肌酸、核苷酸、ATP等形态。为了模拟天然海水中DOP的组成,在研究浮游植物对海水中DOP的利用特性时,人们常以上述几种有机磷作为研究对象^[14]。在关于藻类对不同形态磷源的研究中,大部分种类都以DIP为最优生长磷源^[15]。而不同种类浮游植物在无机磷缺乏条件下对DOP的利用策略存在差异,如骨条藻对DOP的利用能力低于塔玛亚历山大藻、海洋卡盾藻和赤潮异弯藻等鞭毛藻类^[16]。海洋卡盾藻能利用磷酸三乙酯(TEP),而赤潮异弯藻却不能利用TEP进行生长^[17]。海洋卡盾藻不能利用LEC进行生长^[18],而槽帕拉藻在LEC下能良好生长^[8]。王艳等^[7]在研究球形棕囊藻南海株对不同磷源中的生长情况时发现,该菌株在无机磷与DOP中生长很接近,其中

大分子 DOP(LEC) 的生长曲线介于 DIP 和小分子 DOP(β -甘油磷酸钠)之间。在本研究中,球形棕囊藻北部湾株可以利用多种形态的磷源进行生长,意味着在自然海水中该藻具有广泛的磷源。但是对不同形态的磷源吸收具有差异性,球形棕囊藻北部湾株在小分子 RNA 下生长最好,其次是 DIP、小分子有机磷 G-6-P 及 ATP,而在大分子有机磷 LEC 为磷源条件下生长最差。这意味着即使是同一种类,对 DOP 的利用能力也会因株系不同而存在差异。

藻类对 DOP 的利用需要 AP 的水解作用,大多数浮游植物的 AP 都是诱导酶,在低磷条件下诱导产生。在实验起始期检测到了 $(2.74 \pm 0.24) \mu\text{mol/L/h}$ 的 APA,这是因为为了消除原藻液培养基中无机磷的影响,本实验所用藻种是经过磷饥饿处理的,所以在实验开始时藻液就具有较高的 APA。随着培养时间的延长,APA 有所上升,其中 LEC 组的 APA 始终高于其他处理组,且在第 1 天便开始增大至 1.9 倍,这意味着在大分子 DOP 培养条件下,球形棕囊藻处于更严重的磷限制状态,因而表达更高水平的 APA。大多数情况下总 APA 会随着细胞数目的增大而升高,因而光从单位水体总 APA 上可能无法用来验证浮游植物的磷限制状态,借助额外的指标,例如 K_s 的降低或周转时间的减少可以用来辅助验证浮游植物处于磷限制状态^[19],所以对浮游植物碱性磷酸酶特征的研究还需要结合酶动力学参数分析^[20],本研究中球形棕囊藻对 DOP 模拟底物 MUP 的亲合常数(K_s)为 $2.78 \mu\text{mol/L}$,其潜在最大水解速率为 $50.81 \text{ fmol/cell/h}$ ($6.45 \mu\text{mol/L/h}$),对 DOP 的周转时间仅为 0.43 h。与其他同样使用 MUP 为底物研究藻类碱性磷酸酶的动力学参数进行比较(表 1)可知,当环境中的 DOP 较低时,球形棕囊藻凭借较高的 $1/K_s$ 和周转速率,在竞争 DOP 上具有优势。

表 1 不同浮游植物的碱性磷酸酶动力学参数比较

Table 1 The comparison of alkaline phosphatase dynamics parameters of different phytoplankton

种类 Species	底物 Substrate	K_s ($\mu\text{mol/L}$)	V_{max} (fmol/cell/h)	参考文献 References
链状亚历山大藻 <i>Alexandrium catenella</i>	MUF-P	1.32	747.00	[20]
角毛藻 <i>Chaetoceros</i> sp.	MUF-P	—	62.40	[21]
旋链角毛藻 <i>Chaetoceros curvisetus</i>	MUF-P	13.79	659.42	[22]
玛氏骨条藻 <i>Skeletonema marinoi</i>	MUF-P	47.39	219.87	[22]
球形棕囊藻 <i>Phaeocystis globosa</i>	MUF-P	2.78	50.81	本研究 This research

浮游植物对营养盐的亲合力决定了在营养盐限制的环境中,浮游植物群落间竞争营养盐的能力,而最常用的表达浮游植物对营养盐亲和力的方法就是通过营养盐吸收动力学方程求得浮游植物的最大吸收速率 ρ_{max} 与半饱和常数 K_s ^[23-24]。当环境中无机磷浓度较高时, ρ_{max} 越大的浮游植物越能够迅速吸收磷储存于细胞内,而在环境中的无机磷浓度较低时,较高的 $1/K_s$ 值意味着对无机磷具有更高的亲和力。球形棕囊藻北部湾株对无机磷的 K_s 为 $1.09 \mu\text{mol/L}$,比文献中大部分研究藻类稍低,如王丹等^[22] 研究中旋链角毛藻和玛氏骨条藻的 K_s 分别为 $0.90 \mu\text{mol/L}$ 和 $2.02 \mu\text{mol/L}$,其他藻类如古老卡盾藻 (*Chattonella antique*),链状裸甲藻 (*Gymnodium catenatum*) 和浮动弯角藻 (*Eucampia zoodiacus*) 对无机磷吸收动力学的 K_s 分别为 $1.76 \mu\text{mol/L}$ 、 $3.4 \mu\text{mol/L}$ 和 $4.85 \mu\text{mol/L}$ ^[25-27],相比较而言,球形棕囊藻北部湾株对无机磷的亲合力较高。由于藻类的体积不同,因此在此它们的单位细胞 ρ_{max} 之间不具有可比性。

Li 等^[28] 指出在长江口藻华发生过程中有机营养盐具有很重要的作用,尤其是 DOP 在磷限制的海域在早期藻华发生时起重要作用。在赤潮爆发的季节,长江口海域 DOP 约占总溶解磷(TDP)的 40% 左右^[29]。我们前期调查发现,钦州湾海域夏季和冬季 DOP 占 TDP 之比均超过 50%,大于 DIP 成为海区的最主要磷源^[30],结合本研究的结果,可以推测,在广西北部湾球形棕囊藻赤潮的发生与维持期间,DOP 为藻类的繁殖提供了重要磷源。

4 结论

球形棕囊藻北部湾株在无机磷缺乏的条件下可以利用不同形态的 DOP 进行生长,在以小分子 DOP 为唯一磷源的条件下生长甚至优于无机磷。球形棕囊藻北部湾株对大分子 DOP 如 LEC 的利用能力比较差,需要较高的碱性磷酸酶活性水平的水解作用。DOP 是北部湾 TDP 的主要成分,因此在广西北部湾球形棕囊藻赤潮的发生与维持期间,DOP 为藻类的繁殖提供了重要磷源。

参考文献:

- [1] QI Y Z, CHEN J F, WANG Z H, et al. Some observations on harmful algal bloom (HAB) events along the coast of Guangdong, southern China in 1998[J]. Hydrobiology, 2004, 512: 209-214.
- [2] 王艳, 齐雨藻, 沈萍萍, 等. 温度和盐度对球形棕囊藻

- 胞 DMSP 产量的影响[J]. 水生生物学报, 2003, 27(4): 367-371.
- WANG Y, QI Y Z, SHEN P P, et al. Effects of temperature and salinity on DMSP production in *Phaeocystis globosa* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2003, 27(4): 367-371.
- [3] 覃仙玲, 欧林坚, 吕颂辉. 尖刺拟菱形藻和抑食金球藻碱性磷酸酶生理学特性的比较研究[J]. 生态科学, 2014, 33(1): 1-6.
- QIN X L, OU L J, LU S H. Comparative alkaline phosphatase physiological characteristics of *Pseudonitzschia pungens* and *Aureococcus anophagefferens* [J]. Ecological Science, 2014, 33(1): 1-6.
- [4] INGRID I, MARTIN P, JELENA G, et al. Alkaline phosphatase activity related to phosphorus stress of microphytoplankton in different trophic conditions[J]. Progress in Oceanography, 2016, 146: 175-186.
- [5] HUANG B Q, OU L J, WANG X L, et al. Alkaline phosphatase activity of phytoplankton in East China Sea coastal waters with frequent harmful algal bloom occurrences[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2007, 49: 195-206.
- [6] 洪华生, 戴民汉, 郑效成. 海水中碱性磷酸酶活力的测定及其在磷的循环中的作用初探[J]. 海洋与湖沼, 1992, 23(4): 415-420.
- HONG H S, DAI M H, ZHENG X C. Measurement of alkaline phosphatase activity in seawater substrates and investigation on the role of alkaline phosphatase in the cycling of phosphorus [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 1992, 23(4): 415-420.
- [7] 王艳, 唐海溶. 不同形态的磷源对球形棕囊藻生长及碱性磷酸酶的影响[J]. 生态科学, 2006, 25(1): 38-40.
- WANG Y, TANG H R. Effects of different phosphorus on the growth and alkaline phosphatase activity in *Phaeocystis globosa* [J]. Ecological Science, 2006, 25(1): 38-40.
- [8] 于倩, 王清, 袁泽轶, 等. 不同形态磷源对具槽帕拉藻 (*Paralia sulcata*) 生长和磷酸酶活性的影响[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(5): 1018-1023.
- YU Q, WANG Q, YUAN Z Y, et al. Effects of different phosphorus substrates on growth and phosphatase activity of algae *Paralis sulcata* [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2015, 46(5): 1018-1023.
- [9] LABRY C, DELMAS D, HERBLAND A. Phytoplankton and bacterial alkaline phosphatase activities in relation to phosphate and DOP availability within the Gironde plume waters (Bay of Biscay)[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2005, 318(2): 213-225.
- [10] 韦蔓新, 赖廷和, 何本茂. 钦州湾近 20 a 来水环境指标广西科学 2018 年 2 月 第 25 卷第 1 期
- 的变化趋势 I 平水期营养盐状况[J]. 海洋环境科学, 2002, 21(3): 49-52.
- WEI M X, LAI T H, HE B M. Change trend of the chemical items in Qinzhou Bay in the last twenty years I Nutrient condition in usual discharged period [J]. Marine Environmental Science, 2002, 21(3): 49-52.
- [11] 马媛, 魏巍, 高振会, 等. 钦州湾营养盐的分布特征及影响因素[J]. 海洋通报, 2013, 32(5): 481-487.
- MA Y, WEI W, GAO Z H, et al. Study of the nutrient distribution and its influence factors in the Qinzhou Bay [J]. Marine Science Bulletin, 2013, 32(5): 481-487.
- [12] HOPPE H G. Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water; Measurements by means of methylumbelliferyl- substrates [J]. Marine Ecology Progress Series, 1983, 11: 299-308.
- [13] PETTERSSON K. Alkaline phosphatase activity and algal surplus phosphorus as phosphorus-deficiency indicators in Lake Erken [J]. Arch Hydrobiol, 1980, 89: 54-87.
- [14] 李英, 吕颂辉, 徐宁, 等. 东海原甲藻对不同磷源的利用特征[J]. 生态科学, 2005, 24(4): 314-317.
- LI Y, LV S H, XU N, et al. The utilization of *Prorocentrum donghaiense* to four different types of phosphorus [J]. Ecologic Science, 2005, 24(4): 314-317.
- [15] REN L X, WANG P F, WANG C, et al. Algal growth and utilization of phosphorus studied by combined mono-culture and co-culture experiments [J]. Environmental Pollution, 2017, 220: 274-285.
- [16] WANG Z H, LIANG Y, KANG W. Utilization of dissolved organic phosphorus by different groups of phytoplankton taxa [J]. Harmful Algae, 2011, 12: 113-118.
- [17] WANG Z H, LIANG Y. Growth and alkaline phosphatase activity of *Chattonella marina* and *Heterosigma akashiwo* in response to phosphorus limitation [J]. Journal of Environmental Sciences, 2015, 28: 1-7.
- [18] 庞勇, 李斌, 吕颂辉. 不同磷源对海洋卡盾藻生长和碱性磷酸酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(17): 9146-9148.
- PANG Y, LI B, LV S H. Effects of different kinds of phosphorus sources on growth and alkaline phosphatase activity (APA) of *Chattnella marina* (raphidophyceae) [J]. Journal of Anhui Agriculture Sciences, 2010, 38(17): 9146-9148.
- [19] LLUIS B, MARTA R P, XAVIER P C, et al. Phosphorus deficiency and kinetics of alkaline phosphatase in isolates and natural populations of phototrophic sulphur bacteria [J]. FEMS Microbiology Ecol, 2010, 73(2): 243-253.
- [20] JAUZEIN C, LABRY C, YOUENOU A, et al. Growth

- and phosphorus uptake by the toxic dinoflagellate *Alexandrium catenella* (dinophyceae) in response to phosphate limitation[J]. *Journal of Phycology*, 2010, 46:926-936.
- [21] YAMAGUCHI H, SAKOU H, FUKAMI K, et al. Utilization of organic phosphorus and production of alkaline phosphatase by the marine phytoplankton, *Heterocapsa circularisquama*, *Fibrocapsa japonica* and *Chaetoceros ceratosporum* [J]. *Plankton Biology and Ecology*. 2005, 52(2):67-75.
- [22] 王丹, 黄春秀, 黄邦钦, 等. 黄海两种典型硅藻的磷胁迫生理研究[J]. *海洋科学*, 2008, 32(5):22-27.
WANG D, HUANG C X, HUANG B Q, et al. Physiological responses of two typical species of diatoms to phosphorus stress in Yellow Sea[J]. *Marine Sciences*, 2008, 32(5):22-27.
- [23] BUTTON D. Biochemical basis for whole-cell uptake kinetics: Specific affinity, oligotrophic capacity, and the meaning of the Michaelis constant[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(7):2033-2038.
- [24] HEALEY F P, HENDZEL L L. Physiological indicators of nutrient deficiency in lake phytoplankton[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1980, 37:442-453.
- [25] NAKAMURA Y. Kinetics of nitrogen- or phosphorus-limited growth and effects of growth conditions on nutrient uptake in *Chattonella antiqua* [J]. *Journal of the Oceanographical Society of Japan*, 1985, 41:381-387.
- [26] YAMAMOTO T, OH S J, KATAOKA Y. Growth and uptake kinetics for nitrate, ammonium and phosphate by the toxic dinoflagellate *Gymnodium catenatum* isolate from Hiroshima Bay, Japan[J]. *Fisheries Science*, 2004, 70:108-115.
- [27] NISHIKAWA T, TARUTANI K, YAMAMOTO T. Nitrate and phosphate uptake kinetics of the harmful diatom *Eucampia zodiacus* Ehrenberg, a causative organism in the bleaching of aquacultured *Porphyra thalli* [J]. *Harmful Algae*, 2009, 8:513-517.
- [28] LI J, GLIBERT P M, ZHOU M J, et al. Relationships between nitrogen and phosphorus forms and ratios and the development of dinoflagellate blooms in the East China Sea[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2009, 383:11-26.
- [29] HUANG B Q, OU L J, HONG H S, et al. Bioavailability of dissolved organic phosphorus compounds to typical harmful dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* Lu[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2005, 51:838-844.
- [30] 覃仙玲, 陈宪云, 赖俊翔, 等. 钦州湾表层海水中总溶解态氮磷分布特征及季节变化[J]. *海洋环境科学*, 2017, 36(3):349-353.
QIN X L, CHEN X Y, LAI J X, et al. The distribution characteristics and seasonal variation of total dissolved nitrogen and phosphorus in the surface of Qinzhou Bay [J]. *Marine Environmental Science*, 2017, 36(3):349-353.

(责任编辑:陆雁)