

米氏凯伦藻胞内多聚磷酸盐对环境磷变化的响应研究*

金文育¹ 姚炜民¹ 欧林坚² 郑立极³

(1. 国家海洋局温州海洋环境监测中心站 浙江温州 325035; 2. 暨南大学赤潮与海洋生物学研究中心 广东广州 510632;
3. 浙江浙能温州发电有限公司 浙江乐清 325602)

摘要 米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)赤潮常发生在磷限制海域,且能长时间维持,可能具有独特的胞内磷储库利用能力和机制,但相关认识很少。因此,论文通过研究不同磷浓度对米氏凯伦藻的生长和生理特征的影响,重点分析了胞内多聚磷酸盐(polyP)对环境不同磷含量的响应变化,初步阐明胞内磷储库对米氏凯伦藻生长和维持的作用。结果表明,当环境磷匮乏时,米氏凯伦藻以 0.15 d^{-1} 的比生长速率维持生长,光合活性和生长能力与磷饱和时无显著差异,表明其可适应低磷环境。米氏凯伦藻胞内磷库可支持细胞分裂近 2 次。磷胁迫下,米氏凯伦藻胞内 polyP 被保留,直到磷限制时才被利用,表明 polyP 不是其优先利用且唯一的磷储库。研究结果从营养生理学角度为磷储库在米氏凯伦藻赤潮发生中的作用提供一定的科学解释。

关键词 米氏凯伦藻; 磷限制; 颗粒磷; 多聚磷酸盐

中图分类号 X173 **doi:** 10.11693/hyhz20210600140

米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)是世界广布种,能够产生毒素,无需大量细胞就可以严重危害当地生态环境。近年来在我国珠江口、闽江口和长江口频发赤潮,给养殖业造成了巨大损失,受到广泛关注(郜钧璋等, 2017; 李晓东, 2018; 吕颂辉等, 2019)。通常认为赤潮的暴发与富营养化有关,但是米氏凯伦藻赤潮常发生在潜在的磷限制海区(Xu *et al.*, 2008; Liu *et al.*, 2009),可见其对于低磷环境可能有着特殊的适应机制。

目前学者认为浮游植物的低磷适应策略,主要有三个方面:提高对外界磷源的吸收水解利用能力(Ou *et al.*, 2015)、利用胞内磷储库(Martin *et al.*, 2014)和减少细胞磷需求(Martin *et al.*, 2011)。已有对米氏凯伦藻耐低磷机制的研究多集中在对胞外磷源利用方面,如米氏凯伦藻通过 5'-核苷酸酶水解 ATP, 吸收利用水解产物磷酸盐基团(Luo *et al.*, 2017); 直接吸收利

用葡萄糖-6-磷酸(Zhang *et al.*, 2017); 吞噬细菌和微藻获得颗粒态的磷源(Zhang *et al.*, 2011)。目前,有关米氏凯伦藻对胞内磷储库利用机制的研究很少,无法揭示其对胞内磷储库的利用能力和机制。

多聚磷酸盐(polyphosphate, polyP)作为胞内磷储库的重要组成部分,由几个到上百个磷酸基团经高能磷酸酐键连接形成的链状无机化合物,是细胞内重要的磷酸盐储库,也是细胞内能量储库及 ATP 来源(Achbergerová *et al.*, 2011)。在环境中无机磷酸盐基团(inorganic phosphate, Pi)充足时,大多数浮游植物具有过量吸收 Pi 的能力,在满足细胞代谢和生长的同时,将多余的 Pi 以 polyP 的形式储存起来。这部分磷将保证细胞在低磷时继续维持短时间的高生长速率(Rao *et al.*, 2009)。然而浮游植物调控 polyP 的机制并不完全清楚。近年来,对于 polyP 的研究大多是大规模的环境调查(Martin *et al.*, 2014, 2018; Diaz *et al.*,

* 国家重点研发计划, 2017YFC1404300 号; 国家自然科学基金, 41776121 号。金文育, 硕士研究生, E-mail: jinwenyu@stu2016.jnu.edu.cn

通信作者: 姚炜民, 高级工程师, E-mail: ywm@ecs.mnr.gov.cn

收稿日期: 2021-06-19, 收修改稿日期: 2021-09-30

2016)。有必要开展更精细的室内研究,在复杂的磷变化下,研究 polyP 的动态响应。本研究通过分析外界环境磷浓度变化下米氏凯伦藻的生理生长状态,分析细胞 polyP 含量变化,阐明米氏凯伦藻对 polyP 储存和利用策略,以期从磷营养盐动力学角度为米氏凯伦藻赤潮的发生提供科学解释。

1 材料与方法

1.1 藻种来源与培养条件

米氏凯伦藻(No. HK-5)由暨南大学赤潮与海洋生物研究中心藻种室提供,采用人工海水 L1 培养基进行培养,温度(20±1) °C,光照条件为 100 μmol/(m²·s),光暗周期为 12 h : 12 h。培养期间添加抗生素合剂(氨苄青霉素 200 μg/mL、链霉素 100 μg/mL 和卡那霉素 100 μg/mL)抑制细菌的生长。正式实验前,培养藻液经 5 μg/mL DAPI (Sigma) 染色过滤到黑膜上(Millipore),置于荧光显微镜(Olympus, BX61)下用 100×镜观察计数,检测藻液是否受到细菌污染。

1.2 不同磷浓度及磷恢复下对米氏凯伦藻的影响实验设计

米氏凯伦藻的起始细胞密度为 5.0×10³ cells/mL,设置 2 个实验组别:高磷组(NaH₂PO₄ 终浓度为 40 μmol/L)和低磷组(NaH₂PO₄ 终浓度为 5 μmol/L),每组 3 个平行样。每天检测细胞密度、溶解态无机磷(dissolved inorganic phosphorus, DIP)含量。选择在第 0、3、4、7 和 10 d 检测颗粒磷(particulate phosphorus, PP)和 polyP 含量。待低磷组 DIP 浓度低于检出限(0.10 μmol/L) 7 d 后,进行磷恢复实验。两组处理组同时添加 NaH₂PO₄ 恢复 DIP 含量至~32 μmol/L,在添加后的 0、24 和 48 h,检测细胞密度、叶绿素 *a* (chl *a*) 含量、最大光化学量子效率(F_v/F_m)、碱性磷酸酶活性(alkaline phosphatase activity, APA)、polyP 和 PP 含量。

1.3 磷酸盐及生理参数检测方法

浮游植物细胞样品经酸性 Lugol's 试剂固定后,采用 100 μL 浮游计数框在光学显微镜(Olympus CX23, Japan)下计数。微藻培养液经离心(2 400 *g*, 5 min)收集,用于 polyP 测定;微藻培养液经 GF/F 滤膜(450 °C 煅烧 2 h)过滤,滤液和滤膜分别用于 DIP 和 PP 测定。采用磷钼蓝法(Murphy *et al.*, 1962)检测 DIP、Solórzano 等(1980)方法测定 PP、Ou 等(2015)方法测定 APA、丙酮萃取法测定 chl *a* 含量(Jespersen *et al.*, 1987),以及 Phyto-PAM 法测定光化学效率 F_v/F_m 。PolyP 样品通过离心(2 400 *g*, 5 min)方法收集。

测定方法参照 Martin 等(2013) DAPI 荧光定量法:收集的藻细胞超声破碎细胞后,添加 DNA 酶、RNA 酶和蛋白酶 K,重复萃取 3~4 次;取 500 μL 萃取液加入 60 μL 100 μmol/L DAPI 溶液,黑暗染色 7 min,摇匀定容至 1.5 mL,采用荧光分光光度计(HITACHI, F-4600)在 Ex: 415 nm 和 Em: 550 nm 条件下检测。

1.4 polyP 净产生速率计算及数据分析

参考 Anderson 等(1990)毒素净产生速率的计算公式计算 polyP 净产生速率,如下:

$$R_{\text{polyP}} = \frac{(P_{t_1} - P_{t_0})}{(\bar{N})(t_1 - t_0)}, \quad (1)$$

$$\bar{N} = \frac{N_{t_1} - N_{t_0}}{\ln N_{t_1} - \ln N_{t_0}}, \quad (2)$$

式中 P_{t_1} 、 P_{t_0} 代表 t_1 和 t_0 时 polyP 含量, \bar{N} 为细胞密度均值对数, N_{t_1} 、 N_{t_0} 代表 t_1 和 t_0 时细胞密度。

实验数据采用 Sigmaplot 14 作图,采用 One-way ANOVA(Turkey test)分析显著性水平($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 米氏凯伦藻的生长和生理活性

高磷组和低磷组 DIP 浓度均随时间逐渐下降,从第 4 d 起低磷组 DIP 浓度低于检出限,而高磷组至第 10 d DIP 浓度为(8.02±0.64) μmol/L;在第 11 d 重新添加 NaH₂PO₄,恢复 DIP 含量至~32 μmol/L,添加后低磷组 DIP 被快速消耗,至第 13 d DIP 浓度再次低于检出限(图 1a)。低磷组细胞生长与高磷组无显著差异($P > 0.05$),均以 0.15 d⁻¹ 生长速率生长,细胞密度从(5.17±0.26)×10³ cells/mL 增至(2.22±0.14)×10⁴ cells/mL,约增长 4.29 倍(图 1b);在磷恢复阶段,低磷组米氏凯伦藻以 0.12 d⁻¹ 生长速率持续生长,在实验结束时达到最大细胞密度(4.64±0.26)×10⁴ cells/mL,而高磷组在第 12 d 进入稳定期,最大细胞密度到达(3.68±0.12)×10⁴ cells/mL,高、低磷组最大细胞密度无显著差异($P > 0.05$)。

在长时间的磷饥饿后,低磷组第 11 d 检测到 APA 为(208.58±27.56) fmol/(cell·h),约为高磷组的 25 倍($P < 0.05$, 图 2a);加磷恢复后,低磷组 APA 迅速降至(73.04±10.67) fmol/(cell·h),但仍显著高于高磷组($P < 0.05$)。磷恢复当天和之后两天,两组间的单位细胞 chl *a* 含量及 F_v/F_m 无显著性差异($P > 0.05$, 图 2b, 2c)。

2.2 米氏凯伦藻细胞 PP 和 polyP 含量

第 1 d,高磷组细胞 PP 含量显著上升至

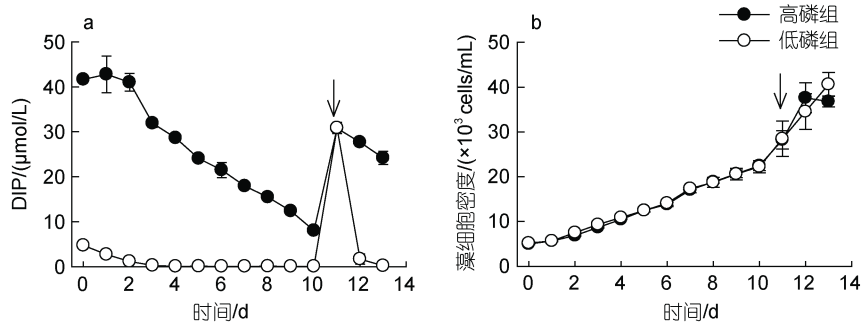


图1 培养基中溶解态无机磷酸盐浓度(DIP, a)和米氏凯伦藻细胞密度(b)变化

Fig.1 Variations of concentrations of dissolved inorganic phosphorus (DIP) (a) and densities of *Karenia mikimotoi* (b) 注: 箭头表示加磷恢复

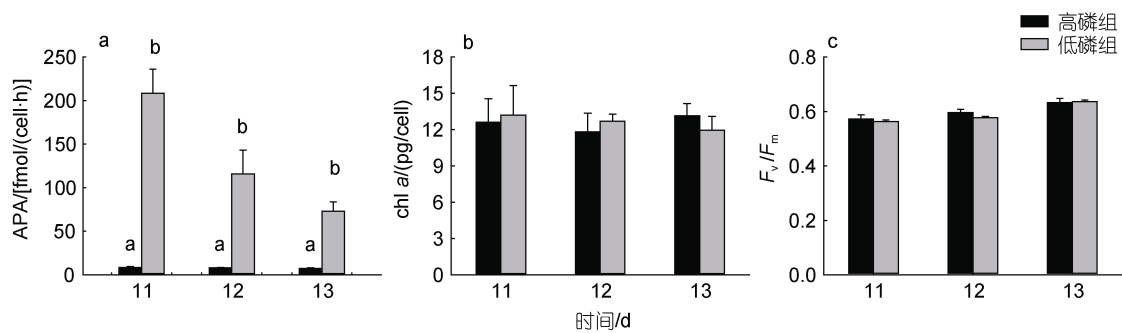


图2 米氏凯伦藻碱性磷酸酶活性(a)、叶绿素 a 含量(b)、光化学效率 F_v/F_m (c) 的变化

Fig.2 Variations of alkaline phosphatase activities (a), chlorophyll a contents (b), and photochemical efficiency (F_v/F_m) (c) of *Karenia mikimotoi* after phosphate replenishment 注: a, b 表示同一时间组别间存在显著差异, $P < 0.05$

(2.13 ± 0.13) pmol/cell, 维持在 $1.84 \sim 1.97$ pmol/cell 至第 11 d (图 3); 加磷恢复后, 小幅下降至 $1.41 \sim 1.64$ pmol/cell。第 1 d, 低磷组细胞 PP 含量达到最大 (1.63 ± 0.06) pmol/cell, 之后持续下降至 (0.42 ± 0.08) pmol/cell; 这个过程中低磷组细胞 PP 显著低于高磷组 ($P < 0.05$), 最大差别可达 3.88 倍。添加 NaH_2PO_4 后 24 h 即第 12 d, 低磷组单位细胞 PP 含量恢复至高磷组水平 ($P < 0.05$), 第 13 d 又开始下降, 与高磷组有显著差异 ($P < 0.05$)。

整个实验过程中, 高磷组和低磷组的米氏凯伦藻单位细胞 polyP 含量均呈现下降、上升再下降的变化趋势, 两组之间没有显著差异 ($P > 0.05$, 图 4a)。但低磷组 polyP : PP 比值在 DIP 耗尽时(第 4 d)开始高于高磷组, 约为高磷组的 2.9~3.3 倍 ($P < 0.05$) 至第 11 d 磷恢复前。加磷恢复后, 低磷组 polyP : PP 比值因 PP 上升而回落, 与高磷组无差异 ($P > 0.05$, 图 4b)。对比不同磷浓度下 polyP 净产生率, 发现环境磷酸盐富余时米氏凯伦藻合成 polyP。第 3 d 高磷组 polyP 净产生率到达 (8.57 ± 1.14) $\times 10^{-7}$ neq/(cell·d), 随后迅速下降达到稳态; 而低磷组在第 3 和 4 d 维持较高净产生率,

最大值为 (3.85 ± 2.93) $\times 10^{-7}$ neq/(cell·d), 第 7 d 达到稳态, 第 11 d 时再次发生下降(图 4c)。

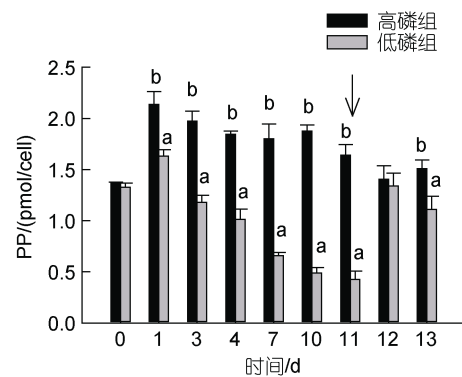


图3 米氏凯伦藻单位细胞颗粒磷含量变化

Fig.3 Variations of particulate phosphorus (PP) concentrations in *Karenia mikimotoi* cells 注: 箭头表示加磷恢复时间, a, b 表示组别间存在显著差异, $P < 0.05$

3 讨论

本研究发现米氏凯伦藻有较强的耐磷特性。在环境中 DIP 耗尽 (< 0.12 $\mu\text{mol/L}$) 后的 7 d 内, 仍以 0.15 d^{-1}

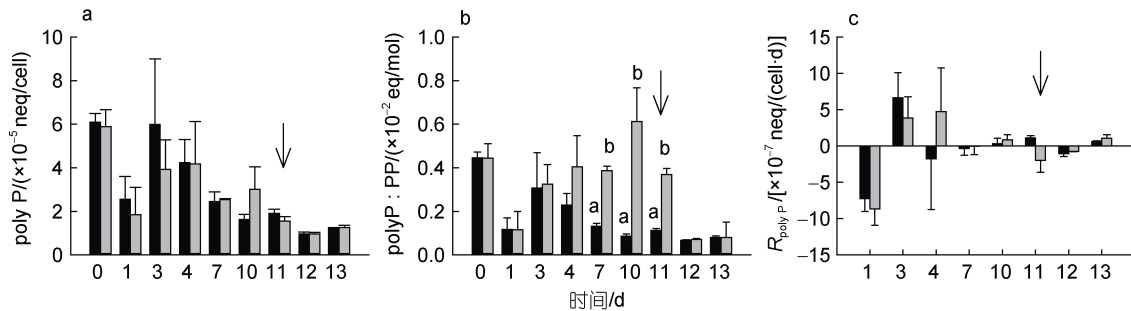


图4 米氏凯伦藻胞内多聚磷酸盐(polyP)含量(a)、多聚磷酸盐与颗粒磷比例(polyP: PP)(b)及多磷酸盐净产生率(R_{polyP})(c)变化

Fig.4 Variations of polyphosphate (polyP) contents (a), polyP: particulate P (PP) ratios (b), and net production rate of polyP (R_{polyP})(c) of *Karenia mikimotoi*

生长速率维持生长, 细胞密度增长 4.29 倍, 其生物量及 F_v/F_m 与同时期高磷组无显著差异, 同时, 缺磷条件下, 米氏凯伦藻单位细胞 PP 含量逐渐下降, 不断接近最低阈值, 为米氏凯伦藻细胞最低磷需求, 高低磷组间 PP 含量最大差别可达 3.88 倍, 表明米氏凯伦藻在 DIP 不足时能够立刻转向利用胞内磷储库来维持生长, 满足细胞分裂将近 2 次, 同时光合速率不受影响。该结果与冯青靓(2021)研究一致。而在磷补充后, 经过一段时间磷胁迫下的米氏凯伦藻从环境中快速获取 DIP, 单位细胞 PP 含量迅速恢复至磷饱和水平, 这表明在外界波动的磷环境条件下, 米氏凯伦藻的胞内磷储库具有具有重要的调节作用。

PP 作为浮游植物总磷储库概念, 包括细胞内绝大部分磷组分, 能够在磷匮乏时提供磷源(Karl, 2014)。本研究中, PP 能够支持米氏凯伦藻至少 7 d 的生长, 该结果与黄银爽(2018)和冯青靓(2021)研究相近, 两者结果均显示 PP 能够满足米氏凯伦藻 5 d 生长。若将胞内磷储库细分, 一般认为浮游植物中有 4 种重要的磷储库: polyP、磷脂、核酸和胞内 DIP(Karl, 2014)。其中, polyP 作为重要的胞内磷储库, 广泛存在于原核和真核细胞中(Kulaev *et al.*, 2004)。在外界环境营养充足的情况下, 浮游植物会过量摄取 P_i , 满足自身生长分裂需求后, 将多余的磷以 polyP 形式储存(Rao *et al.*, 2009)。此外, polyP 也是能量储库, 是 ATP 的主要来源(Achbergerová *et al.*, 2011)。本次实验米氏凯伦藻中检测到 polyP 含量约 4×10^{-5} neq/cell, 第 4 d 后单位细胞 polyP 含量逐渐下降, 即使磷恢复也无明显增加。推测磷恢复后, 米氏凯伦藻细胞分裂加快, 稀释细胞 polyP 含量增加, 掩盖了其变化趋势。

细胞 polyP 净产生率较细胞 polyP 含量更好地反映细胞内 polyP 合成与利用。通过 polyP 净产生率结

果发现, 米氏凯伦藻可能通过利用胞内 polyP 度过适应阶段, 随后吸收 DIP 合成 polyP 以补充消耗及储存, 即磷的过量吸收(luxury uptake, Elizabeth *et al.*, 2010)。磷饱和状态下, 米氏凯伦藻先达到稳态, polyP 净产生率 0.33×10^{-7} neq/(cell·d), polyP 合成与利用达到平衡。磷胁迫状态下, 米氏凯伦藻前期维持相对较高 polyP 净产生率 [4.72×10^{-7} neq/(cell·d)], 以充分利用外界的磷酸盐, 直至环境中磷耗尽, 合成过程终止。此时 polyP: PP 比值上升, 这与 Martin 等(2014)的研究结果一致。若浮游植物受到磷胁迫时主要动用 polyP 储库来维持生长, polyP: PP 应下降, 相较于传统观点认为胞内 polyP 是浮游植物在磷胁迫下利用的最重要的胞内磷库, 可见 polyP 不是米氏凯伦藻优先利用且唯一的磷储库。这可能与细胞大小有关, polyP 相比 P_i 所需的空间要小(聚集形成颗粒), 小细胞的浮游植物更加需要累积 polyP 做为磷储库(Raven *et al.*, 2010)。因此 polyP 对大细胞的米氏凯伦藻可能不是首选, 只有达到极度磷限制时才被利用[polyP 的净产生率为 -1.98×10^{-7} neq/(cell·d)]。在实验后期的磷补充恢复阶段, 极度磷限制的米氏凯伦藻吸收大量 DIP, 此时 polyP 净产生率为 -0.76×10^{-7} neq/(cell·d), 未出现过剩反应(overplus response, 即磷胁迫下因另补充 P_i 出现 polyP 累积现象(Elizabeth *et al.*, 2010)), 表明吸收入细胞内的磷并未用于合成 polyP, 而是优先补充其他磷储库。如甘油磷脂是细胞膜的基本组成部分, 占细胞总磷 10%~20%, 在营养限制条件下是一个可被利用潜在的磷库(Liang *et al.*, 2019)。假威海链藻(*Thalassiosira pseudonana*)添加磷恢复后能够快速将非磷脂转换回磷脂(Martin *et al.*, 2011)。米氏凯伦藻也可能存在这种能力, 随后将富余的磷酸盐逐渐合成 polyP。

4 结论

米氏凯伦藻有较强的耐磷特性能, 利用胞内磷储库应对低磷环境, 维持生长速率并保持生理活性。PP 能够支持米氏凯伦藻至少 7 d, 比生长速率 0.15 d^{-1} 的生长, 可以满足细胞分裂将近 2 次, 同时光合速率不受影响。一旦磷恢复, 米氏凯伦藻会迅速吸收 DIP 补充自身 PP 消耗。磷胁迫状态下米氏凯伦藻 polyP : PP 比值上升, 可见 polyP 不是米氏凯伦藻优先利用且唯一的磷储库, 相较于传统观点认为胞内 polyP 是浮游植物在磷胁迫下利用的最重要的胞内磷库, 米氏凯伦藻对胞内磷资源的分配利用上可能存在其他更为经济、高效的通路, 值得进一步研究。

参 考 文 献

- 冯青靓, 2021. 米氏凯伦藻细胞膜脂对环境磷变化的生理生化响应机制[D]. 广州: 暨南大学.
- 吕颂辉, 岑竞仪, 王建艳, 等, 2019. 我国近海米氏凯伦藻 (*Karenia mikimotoi*) 藻华发生概况、危害及其生态学机制 [J]. 海洋与湖沼, 50(3): 487-494.
- 李晓东, 2018. 米氏凯伦藻(福建株)毒性效应与毒理机制的研究[D]. 青岛: 中国科学院大学(中国科学院海洋研究所).
- 郜钧璋, 刘亚林, 林义, 等, 2017. 近 10 年温州近岸海域赤潮灾害特征分析[J]. 海洋湖沼通报(4): 86-90.
- 黄银爽, 2018. 米氏凯伦藻(*Karenia mikimotoi*)对胞外磷源转运及水解机制的初步研究[D]. 广州: 暨南大学.
- ACHBERGEROVÁ L, NAHÁLKA J, 2011. Polyphosphate-an ancient energy source and active metabolic regulator [J]. Microbial Cell Factories, 10(1): 63.
- ANDERSON D M, KULIS D M, SULLIVAN J J, *et al*, 1990. Dynamics and physiology of saxitoxin production by the dinoflagellates *Alexandrium* spp. [J]. Marine Biology, 104(3): 511-524.
- DAZ J M, BJÖRKMAN K M, HALEY S T, *et al*, 2016. Polyphosphate dynamics at Station ALOHA, North Pacific subtropical gyre [J]. Limnology and Oceanography, 61(1): 227-239.
- JESPERSEN A M, CHRISTOFFERSEN K, 1987. Measurements of chlorophyll-a from phytoplankton using ethanol as extraction solvent. *Archiv für Hydrobiologie*, 109(3): 445-454.
- KARL D M, 2014. Microbially mediated transformations of phosphorus in the sea: new views of an old cycle [J]. Annual Review of Marine Science, 6: 279-337.
- KULAEV I S, VAGABOV V M, KULAKOVSKAYA T V, 2004. The Biochemistry of Inorganic Polyphosphates [M]. Chichester, UK: Wiley.
- LIANG J B, IQBAL S Y, WEN F, *et al*, 2019. Phosphorus-induced lipid class alteration revealed by lipidomic and transcriptomic profiling in oleaginous microalga *Nannochloropsis* sp. PJ12 [J]. Marine Drugs, 17(9): 519.
- LIU S M, HONG G H, ZHANG J, *et al*, 2009. Nutrient budgets for large Chinese estuaries [J]. Biogeosciences, 6(10): 2245-2263.
- LUO H, LIN X, LI L, *et al*, 2017. Transcriptomic and physiological analyses of the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* reveal non-alkaline phosphatase-based molecular machinery of ATP utilisation [J]. Environmental Microbiology, 19(11): 4506-4518.
- MARTIN P, DYHRMAN S T, LOMAS M W, *et al*, 2014. Accumulation and enhanced cycling of polyphosphate by Sargasso Sea plankton in response to low phosphorus [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 111(22): 8089-8094.
- MARTIN P, LAURO F M, SARKAR A, *et al*, 2018. Particulate polyphosphate and alkaline phosphatase activity across a latitudinal transect in the tropical Indian Ocean [J]. Limnology and Oceanography, 63(3): 1395-1406.
- MARTIN P, VAN MOOY B A S, 2013. Fluorometric quantification of polyphosphate in environmental plankton samples: extraction protocols, matrix effects, and nucleic acid interference [J]. Applied and Environmental Microbiology, 79(1): 273-281.
- MARTIN P, VAN MOOY B A S, HEITHOFF A, *et al*, 2011. Phosphorus supply drives rapid turnover of membrane phospholipids in the diatom *Thalassiosira pseudonana* [J]. The ISME Journal, 5(6): 1057-1060.
- MURPHY J, RILEY J P, 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters [J]. Analytica Chimica Acta, 27: 31-36.
- ORCHARD E D, BENITEZ-NELSON C, PELLECHIA P J, *et al*, 2010. Polyphosphate in *Trichodesmium* from the low-phosphorus Sargasso Sea [J]. Limnology and Oceanography, 55(5): 2161-2169.
- OU L J, HUANG X Y, HUANG B Q, *et al*, 2015. Growth and competition for different forms of organic phosphorus by the dinoflagellate *Prorocentrum donghaiense* with the dinoflagellate *Alexandrium catenella* and the diatom *Skeletonema costatum* s.l. [J]. Hydrobiologia, 754(1): 29-41.
- RAO N N, GÓMEZ-GARCÍA M R, KORNBERG A, 2009. Inorganic polyphosphate: essential for growth and survival [J]. Annual Review of Biochemistry, 78: 605-647.
- RAVEN J A, KNOLL A H, 2010. Non-skeletal biomineralization by eukaryotes: matters of moment and gravity [J]. Geomicrobiology Journal, 27(6/7): 572-584.
- SOLÓRZANO L, SHARP J H, 1980. Determination of total dissolved phosphorus and particulate phosphorus in natural waters [J]. Limnology and Oceanography, 25(4): 754-758.
- XU J, YIN K D, HE L, *et al*, 2008. Phosphorus limitation in the northern South China Sea during late summer: influence of the Pearl River [J]. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 55(10): 1330-1342.
- ZHANG C, LUO H, HUANG L M, *et al*, 2017. Molecular mechanism of glucose-6-phosphate utilization in the dinoflagellate *Karenia mikimotoi* [J]. Harmful Algae, 67: 74-84.
- ZHANG Q C, YU R C, SONG J J, *et al*, 2011. Will harmful dinoflagellate *Karenia mikimotoi* grow phagotrophically? [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 29(4): 849-859.

RESPONSE OF INTRACELLULAR POLYPHOSPHATE IN *KARENIA MIKIMOTOI* TO THE VARIATION OF PHOSPHORUS IN THE ENVIRONMENT

JIN Wen-Yu¹, YAO Wei-Min¹, OU Lin-Jian², ZHENG Li-Ji³

(1. Wenzhou Marine Environmental Monitoring Center Station, Wenzhou 325035, China; 2. Research Center of Harmful Algae and Marine Biology, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 3. Zhejiang Zheneng Wenzhou Power Co., Ltd., Yueqing 325602, China)

Abstract *Karenia mikimotoi* blooms often occur in phosphorus (P)-limited sea areas and can last for a long time under P deficiency. To classify the major role of P pool during blooms, the growth and the physiological response of intracellular P pool, especially polyphosphate, in *K. mikimotoi* were examined under different P conditions. *K. mikimotoi* could sustain growth at a growth rate of 0.15 d^{-1} under P depleted environment and its photosynthetic activity and growth capability showed no difference with those in P-replete conditions, showing the ability of acclimation of *K. mikimotoi* to P deficiency. The particulate phosphorus content in the intracellular P pool could support cells to divide almost twice. Under a low-phosphate condition, intracellular polyphosphate was synthesized adequately, and did not decrease until cell growth was suppressed under P-limited condition, suggesting that polyphosphate was not a preferred utilized intracellular P pool nor the unique P pool. This study provided an insight for understanding P regulation in *K. mikimotoi* during its bloom from the perspective of nutritional physiology.

Key words *Karenia mikimotoi*; P-limitation; particulate phosphorus; polyphosphate