

不同锌质量浓度下海洋微藻生长对磷形态的响应

陈小煌^{1,2}, 杨航¹, 田永强³, 邹毅彬^{1,2}, 黄旭光^{1,2}

- (1. 闽南师范大学化学化工与环境学院, 福建漳州 363000;
2. 污染监测与控制福建省高校重点实验室, 福建漳州 363000;
3. 福建省厦门环境监测中心站, 福建厦门 361022)

[摘要] 以3种常见海洋微藻——三角褐指藻 (*Phaeodactylum tricornutum*)、威氏海链藻 (*Thalassiosira weissflogii*) 和东海原甲藻 (*Prorocentrum donghaiense*) 为实验对象, 通过室内培养, 研究其在不同锌质量浓度下的生长差异及其对不同形态磷源 (β -甘油磷酸钠 (有机磷) 和磷酸二氢钠 (无机磷)) 的响应。结果表明: 低质量浓度锌在有机磷环境下对三种藻细胞密度的促进作用均高于无机磷环境 ($P < 0.05$), 但对PSII的最大光转换效率 (F_v/F_m) 影响不显著 ($P > 0.05$); 在高质量浓度锌环境下, 锌对三种海洋微藻呈现明显的毒害作用。通过拟合S型剂量-响应曲线发现, 3种微藻对锌毒性的耐受性由高至低分别为三角褐指藻 > 威氏海链藻 > 东海原甲藻; 与无机磷环境相比, 有机磷环境下锌对威氏海链藻 96 h 半抑制效应 (EC_{50}) 值增加 20.4%, 对东海原甲藻 96 h- EC_{50} 值却减少 9.5%, 而三角褐指藻在两种磷源环境下 96 h- EC_{50} 值基本相等。

[关键词] 锌; 海洋微藻; 有机磷; 毒性

[中图分类号] X 171.5

Response of Marine Microalgae Growth to Phosphorus Forms Under Different Zinc Concentrations

CHEN Xiaohuang^{1,2}, YANG Hang¹, TIAN Yongqiang³, ZOU Yibin^{1,2}, HUANG Xuguang^{1,2}

- (1. College of Chemistry, Chemical Engineering and Environment, Minnan Normal University, Zhangzhou 363000, China;
2. Pollution Monitoring and Control Key Laboratory of Universities of Fujian Province, Zhangzhou 363000, China;
3. Xiamen Environmental Monitoring Center Station, Xiamen 361022, China)

Abstract: In this study, three marine microalgae in the offshore, *Phaeodactylum tricornutum*, *Thalassiosira weissflogii* and *Prorocentrum donghaiense*, were selected as experimental organism. The different growth of them under different zinc concentrations and their responses to different forms of phosphorus sources (β -glycerophosphate sodium (DOP) and sodium dihydrogen phosphate (DIP)) were analyzed by indoor culture. The results showed that low concentrations of zinc promoted higher cell density of the three algae in the DOP than that of DIP compared to the control ($P < 0.05$), but had no significant effect on the F_v/F_m of PS II ($P > 0.05$). High zinc concentration showed obvious toxic effect on three marine microalgae. Through fitting the S-shaped dose-response curve, it was found that the tolerance of the three microalgae to zinc toxicity from high to low was *P. tricornutum* > *T. weissflogii* > *P. donghaiense*. Compared with DIP, the 96 h- EC_{50} value of zinc in DOP increased by 20.4% for *T. weissflogii* and decreased by 9.5% for *P. donghaiense*, while the 96 h- EC_{50} of *P.*

[收稿日期] 2024-06-17

[基金项目] 福建省自然科学基金项目 (2021J05195); 福建省中青年教师教育科研项目 (JAT200294, JZ230029); 福建省环保科技计划项目 (2024R018)

[通信作者] 陈小煌 (1988—), 博士, 实验师, 从事海洋环境生态学方向研究。E-mail: cxh1965@mnnu.edu.cn

tricornutum were almost equal under two phosphorus forms.

Keywords: zinc; marine microalgae; organic phosphorus; toxicity

0 引言

工业废水、农业用水和生活污水向河流、海湾和近岸排放, 极易造成水域富营养化。磷(P)是导致水体富营养化的关键因子。有研究^[1]表明, 21世纪以来, 排入海洋中的P比工业化前增加了3倍以上, 这种增加已成为一个严重的环境问题。由于藻类可直接利用的是无机磷(dissolved inorganic phosphorus, DIP), 因此先前的研究多认为藻类更适宜生长在DIP的环境中。但藻类也可通过胞外碱性磷酸酶(ALP)将有机磷(dissolved organic phosphorus, DOP)转化为DIP来吸收利用。近海不同海区P的形态和浓度由于受附近河流的径流输入、季风、洋流等多种因素影响, 呈现季节变化和地域差异^[2]。总体而言, 由于近海水深较浅, 各形态P分布较均匀, DIP与DOP浓度的空间分布均呈现从海岸到近海逐渐降低的变化趋势。从时间上看, DIP在冬季浓度较高, 而DOP浓度多在夏、秋季迎来峰值^[3-5]。因此, 对不同P源利用率上的差异往往会对藻种间的竞争产生影响, 进而对近海初级生产力、浮游植物群落结构和演替产生显著的影响^[6]。

Zn是微藻生长所必需的微量金属元素, 在各种代谢过程中起着关键作用, 包括在叶绿素合成、光合作用电子传递、呼吸作用、DOP的吸收利用和硅藻的硅质化过程等^[7-9]。Zn是ALP的重要辅基, 在DOP转化为DIP的过程中起着重要作用^[10-11]。但Zn含量高会对生物体有毒害作用, 不仅会对藻细胞的生长、增殖和光合作用产生负面影响, 还会使藻细胞的渗透性增大、细胞内电解质流失、延长藻细胞生长周期, 而毒性严重时甚至可使藻细胞裂解死亡^[12-13]。

本研究分别以 β -甘油磷酸钠和磷酸二氢钠作为DOP和DIP, 通过室内培养实验, 探究东海原甲藻(*Prorocentrum donghaiense*)、三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)、威氏海链藻(*Thalassiosira weissflogii*) 3种常见海洋微藻在不同锌质量浓度下的生长差异及其对不同形态磷源的响应, 以期为更深入了解P形态及Zn含量变动对近海初级生产力及浮游植物群落结构的影响提供参考依据。

1 材料及方法

1.1 实验生物

实验所用的三角褐指藻、威氏海链藻和东海原甲藻均来自厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 保存在闽南师范大学化学化工与环境学院, 培养在人工海水配置的f/2培养基中, 光照强度 $300\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光暗周期L:D=14:10, 温度 $(20\pm1)^\circ\text{C}$ 。

1.2 实验设计与培养条件

取4 L自然海水, 用 $0.22\ \mu\text{m}$ 醋酸纤维滤膜抽滤后置于高压蒸汽灭菌锅中, 121°C , 灭菌20 min。待海水冷却后于超净工作台内分装至36个100 mL锥形瓶中, 各瓶装海水90 mL。将扩培养藻种取适量于50 mL离心管中, 4°C 、4000 r/min离心10 min, 倒去上清液, 将藻体分散在不含营养盐的培养基中平衡24 h。分别向各培养瓶中接入平衡后的微藻10 mL。实验设计有P形态(有机P源: β -甘油磷酸钠; 无机P源: 磷酸二氢钠)和Zn质量浓度(0、0.01、0.1、1、10、100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)两个变量, 两者交互共有12个处理。 β -甘油磷酸钠须现配现用, 且浓度与f/2培养基中磷酸二氢钠浓度保持一致, 都为 $36.2\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。接种后将其培养在f/2培养基中, 光照强度 $300\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光暗周期L:D=14:10, 温度 $(20\pm1)^\circ\text{C}$ 。每天定时摇动锥形瓶3次, 每次10 s, 使浮游植物悬浮。自接种起, 每天定时取样进行细胞密度及叶绿素荧光各项参数的测定。本实验共持续96 h。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞密度的测定

采用BD Accuri C6 Plus 流式细胞仪对藻细胞进行计数^[14]。用移液枪吸取各样品1 mL于2 mL离心

管中,并用振荡器摇匀。选择进样体积为 20 μL ,流速设置为慢速,通过运行程序测得藻细胞个数。

1.3.2 叶绿素荧光参数的测定

参照文献 [15] 的方法,采用浮游植物分类荧光仪测定 3 种藻的 Chl *a* 浓度、最大光转化效率 (F_v/F_m)。

1.3.3 半抑制效应 EC_{50} 的计算方法和数据统计检验方法

参照 Irina 的方法^[16],使用 Origin 8.5 软件,利用 Chl *a* 浓度进行 S 型剂量-响应曲线拟合。拟合公式为: $e = e_{\min} + \frac{e_{\max} - e_{\min}}{1 + 10^{(\lg \rho_{50} - \rho(\text{Zn})) \times H}}$ 。其中: e 为生物生长响应值; $e_{\max}$ 和 $e_{\min}$ 分别指最大和最小生物响应值; $\rho(\text{Zn})$ 指培养液中 Zn 的质量浓度; ρ_{50} 是对应于抑制率为 50% 的半抑制效应 (EC_{50}) 质量浓度; H 是指曲线的坡度。

1.3.4 实验数据处理

所得数据利用 Origin 8.5 软件作图,实验数据采用 IBM SPSS Statistics 22.0 软件的 ANOVA 单因素方差分析及 Duncan 检验进行统计学差异分析。

2 结果与分析

2.1 细胞密度

如图 1 所示,不同 P 源、Zn 质量浓度对 3 种常见微藻的生长所起的作用存在明显差异。在 DIP 下 (见图 1a、1c、1e),3 种微藻经过 96 h 的培养后,与对照组 (Zn 质量浓度 0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 相比,仅 0.01 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Zn 促进了东海原甲藻细胞数目的增长,增长了 13.34%。DOP 下 (见图 1b、1d、1f),两种较低质量浓度的 Zn (0.01、0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 均促进了 3 种微藻细胞数目的增长,这两质量浓度下培养 96 h 分别增加了 13.34%、12.86% (东海原甲藻),26.61%、27.13% (三角褐指藻) 和 1.08%、4.20% (威氏海链藻)。高质量浓度的 Zn (10、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 在两种 P 源下均对 3 种微藻有较强的毒性,东海原甲藻和威氏海链藻在胁迫 24 h 后几乎无细胞数检出,但三角褐指藻在 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Zn 条件下培养 96 h 仍分别有 $3.92 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ (DIP) 和 $5.11 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ (DOP) 被检出。

2.2 Chl *a* 浓度与细胞密度间的关系

如图 2 所示,两种 P 源下 3 种藻的细胞密度与 Chl *a* 浓度之间的相关性呈现出一定的差异。培养至第 96 h,在 0、0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Zn 的处理下,东海原甲藻在 DIP 和 DOP 培养环境中,其细胞密度较 72 h 前增长变缓,但 Chl *a* 浓度却显著升高 ($P < 0.01$),因此,东海原甲藻在两种 P 源、不同 Zn 质量浓度下,细胞密度与 Chl *a* 浓度间的相关性较弱 (见图 2a、2b)。威氏海链藻在两种 P 源下,以及三角褐指藻在 DOP 下,细胞密度与 Chl *a* 浓度均显示出较好的相关性 (见图 2d、2e、2f)。

2.3 最大光转化效率 (F_v/F_m)

两种 P 源下 3 种微藻的 F_v/F_m 随培养时间变化情况如图 3 所示,低质量浓度 Zn 对藻细胞生长的促进作用并未在 F_v/F_m 的结果中体现;但在 10、100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 高质量浓度 Zn 的作用下,东海原甲藻和威氏海链藻的 F_v/F_m 均显著降低 ($P < 0.05$),分别下降 84.72% 和 84.99% (100 mg/L)、18.54% 和 17.71% (10 mg/L)。

2.4 培养时间、Zn 质量浓度和 P 形态对 3 种藻各指标影响的差异分析

由表 1 可知,培养时间对 3 种藻的 Chl *a* 浓度和细胞密度的影响有高度统计学意义 ($P < 0.01$),但对东海原甲藻和威氏海链藻的 F_v/F_m 影响不具统计学意义。3 种藻的 Chl *a* 浓度、细胞密度和 F_v/F_m 均对 Zn 质量浓度变化的响应展现出具有统计学意义的差异 ($P < 0.05$);而 P 形态和 Zn 质量浓度-P 形态交互作用仅对东海原甲藻和威氏海链藻的 Chl *a* 浓度、细胞密度的影响有高度统计学意义 ($P < 0.05$),对三角褐指藻的影响不具统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.5 半抑制效应 EC_{50}

两种不同 P 形态下 Zn 质量浓度对 3 种微藻的 96 h 生长胁迫 S 型剂量-响应曲线如图 4 所示。由图

4 可知, 3 种微藻对 Zn 毒性的耐受性由高至低分别为三角褐指藻 > 威氏海链藻 > 东海原甲藻。

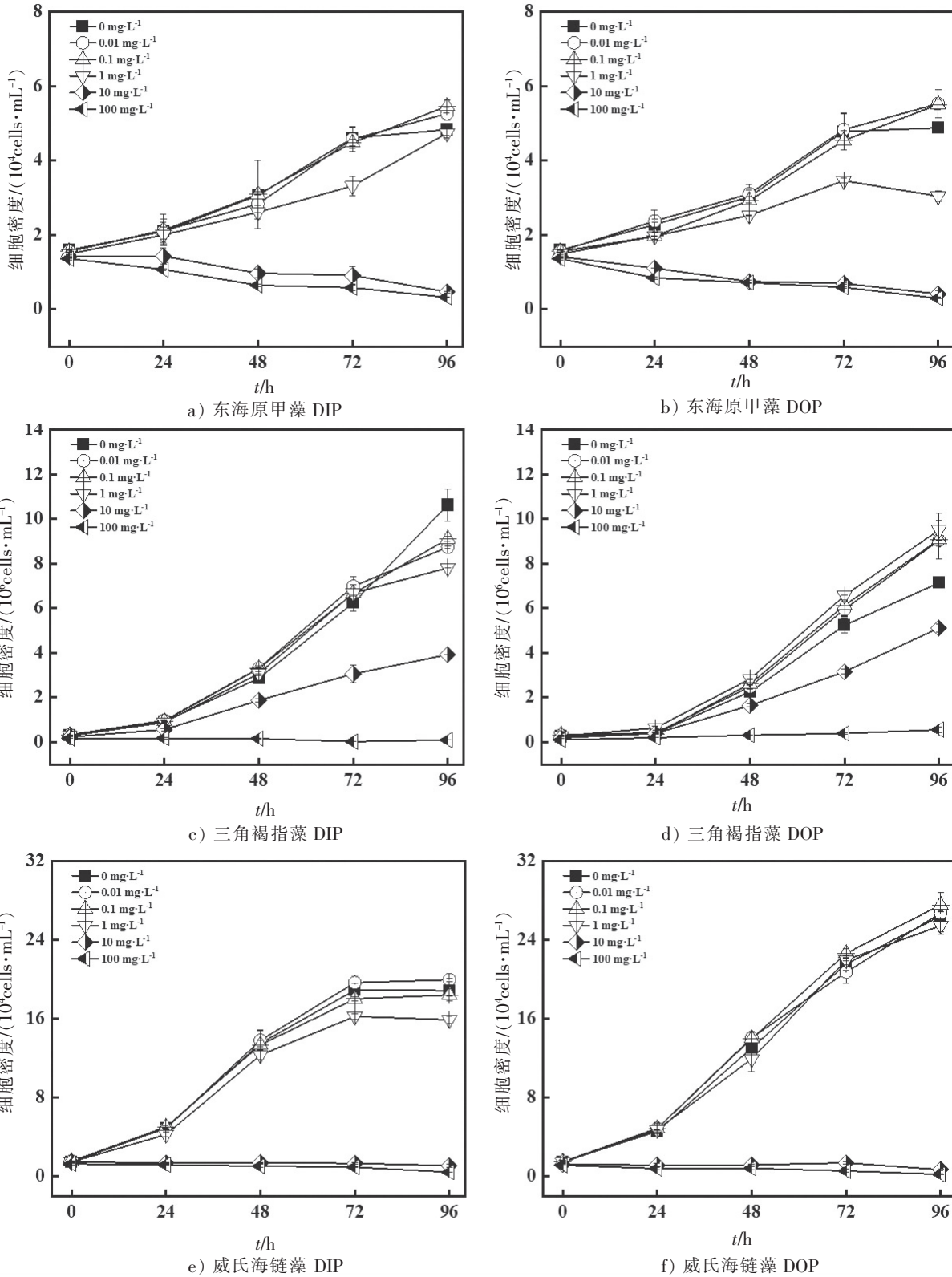


图1 不同P形态下Zn质量浓度对3种藻细胞密度随时间变化的影响

Fig. 1 Effects of Zn concentration on the number of three algal cells with time under different P forms

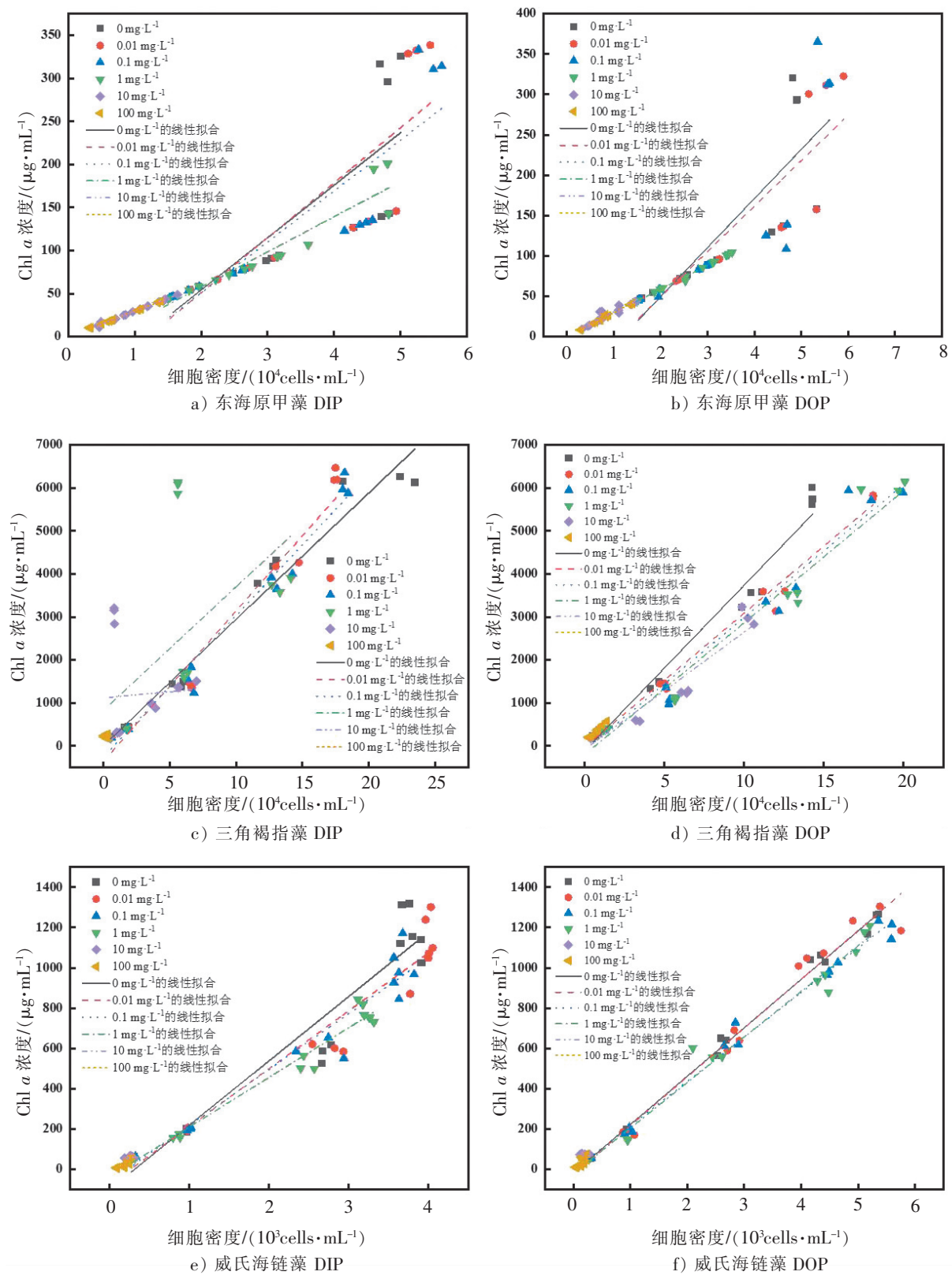


图 2 不同 P 形态下 Zn 质量浓度对 3 种藻细胞密度与 Chl *a* 浓度影响的相关性分析

Fig. 2 Correlation analysis between cell number and Chl *a* concentration of three algae affected by Zn concentration under different P forms

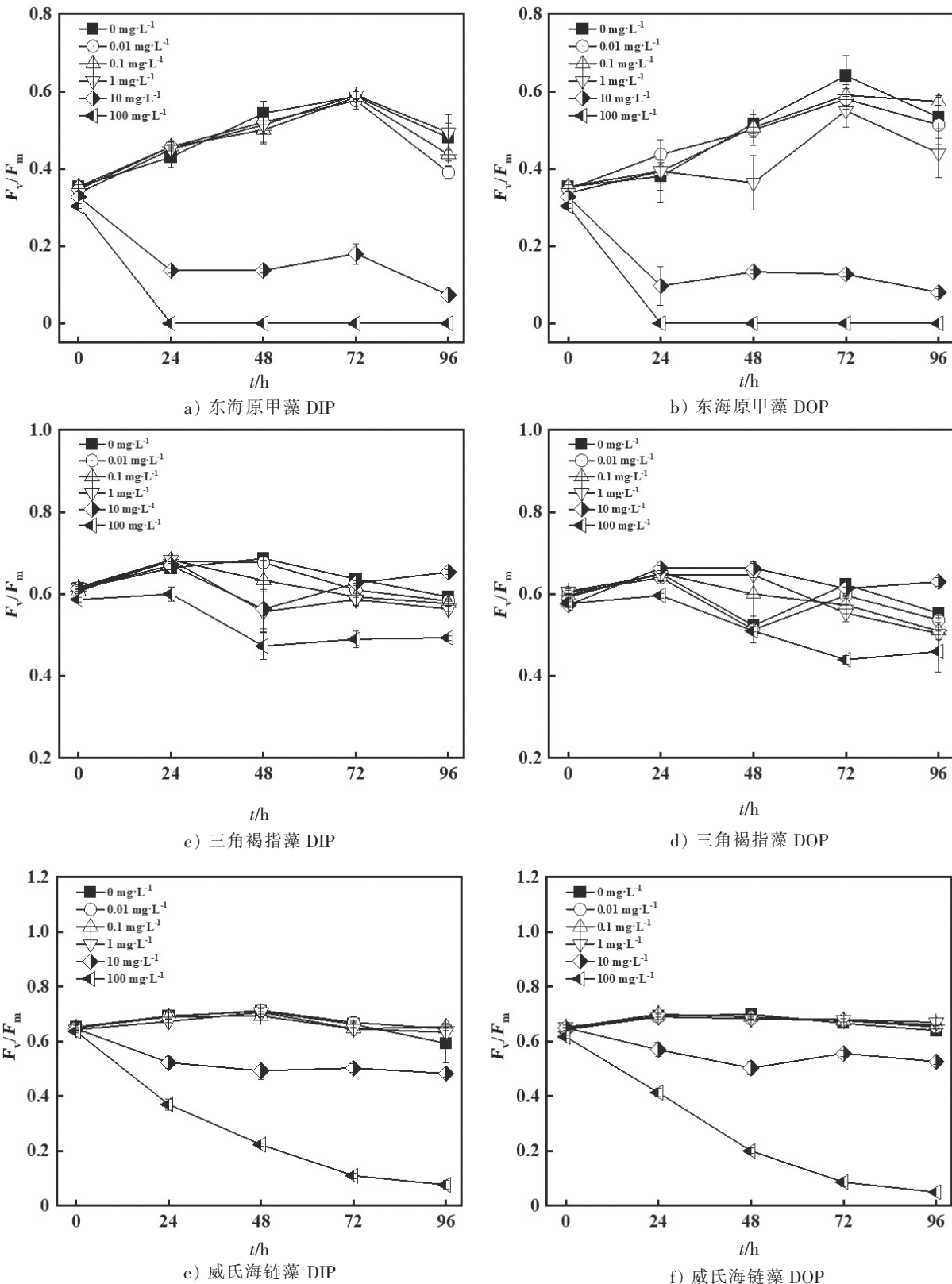


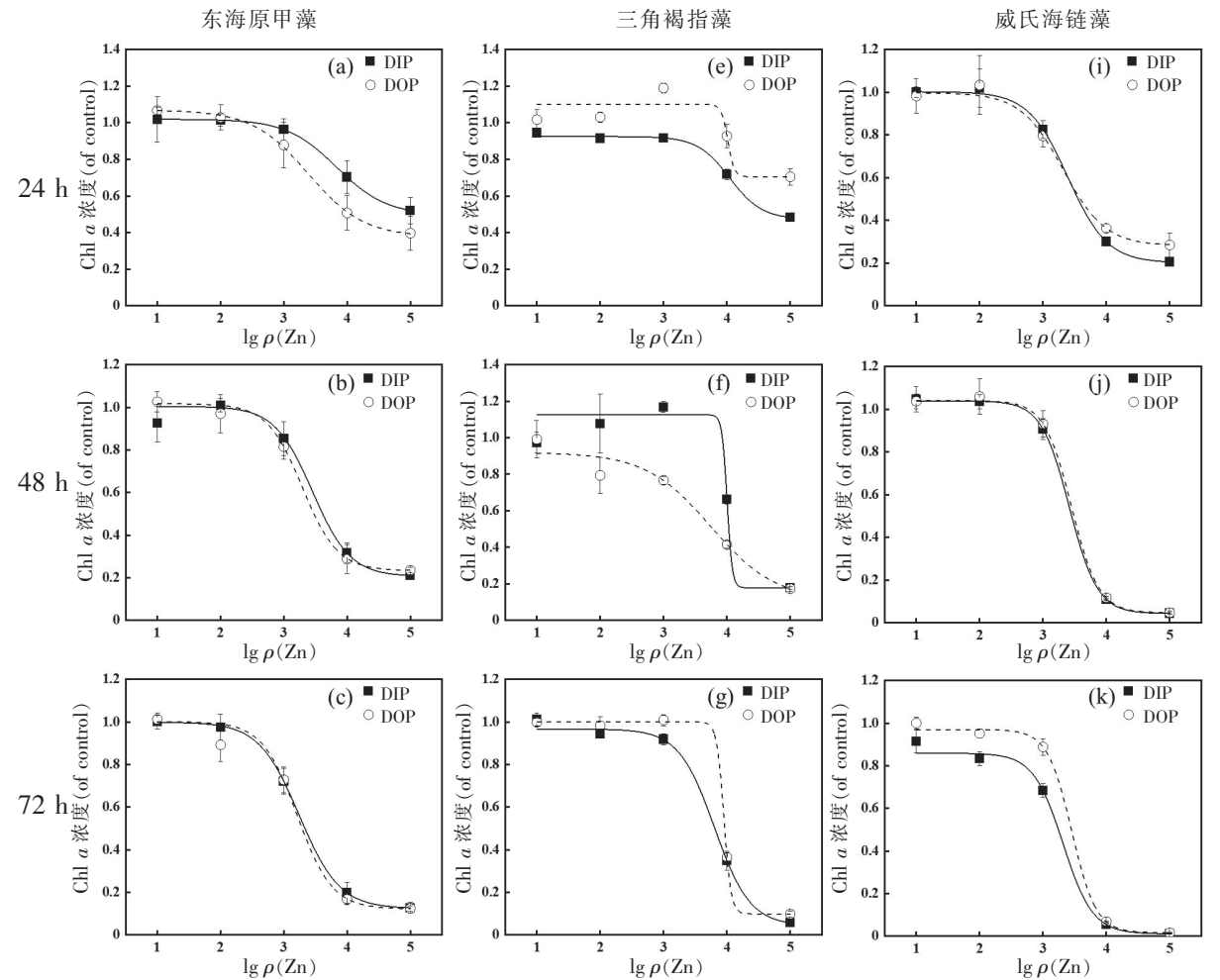
图3 不同P形态下Zn质量浓度对3种藻 F_v/F_m 的影响

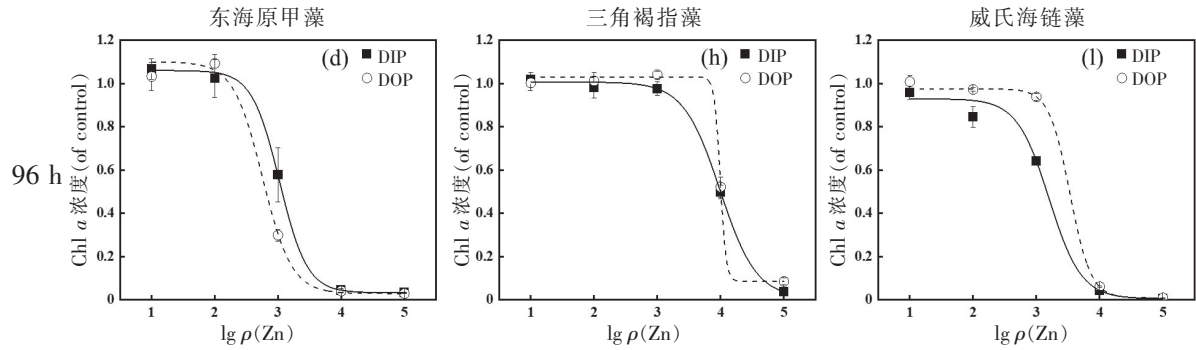
Fig. 3 Variation of F_v/F_m of three algae with Zn concentration under different P forms

表 1 培养时间、Zn 质量浓度和 P 形态对 3 种藻各指标影响的统计学差异分析
Tab. 1 Statistical difference analysis of the effects of cultivation time,
Zn concentration, and P forms on the indicators of three algae

指标		东海原甲藻		三角褐指藻		威氏海链藻	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
细胞密度	时间/h	10.45	< 0.01	24.95	< 0.01	18.31	< 0.01
	Zn 质量浓度	15.59	< 0.01	7.19	< 0.01	14.43	< 0.01
	P 形态	8.05	0.02	0.02	0.90	6.39	0.03
	Zn 质量浓度 × P 形态	7.13	0.01	0.62	0.69	4.22	0.03
Chl <i>a</i> 浓度	时间/h	11.63	< 0.01	41.68	< 0.01	19.79	< 0.01
	Zn 质量浓度	7.71	< 0.01	8.02	< 0.01	13.47	< 0.01
	P 形态	5.18	0.02	0.35	0.56	12.14	< 0.01
	Zn 质量浓度 × P 形态	6.36	0.02	0.04	1.00	4.83	0.01
F_v/F_m	时间/h	2.21	0.08	11.43	< 0.01	3.39	0.75
	Zn 质量浓度	35.86	< 0.01	9.82	< 0.01	29.09	< 0.01
	P 形态	0.06	0.81	7.36	0.01	0.11	0.75
	Zn 质量浓度 × P 形态	0.22	0.95	1.00	0.43	0.06	1.00

注： $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义； $P > 0.05$ 表示差异不具有统计学意义； $P < 0.01$ 表示差异具有高度统计学意义。





Chl *a* 浓度 (of control)指与对照组样品 Chl *a* 浓度标准化后的数值;曲线表示模型与 S 型剂量曲线的拟合;a~d 分别为东海原甲藻培养 24、48、72 和 96 h,e~h 分别为三角褐指藻培养 24、48、72 和 96 h,i~l 分别为威氏海链藻培养 24、48、72 和 96 h。

图 4 不同 P 形态下 Zn 对三种海洋微藻在培养 24~96 h 的生长胁迫及 S 型剂量-响应曲线拟合
Fig. 4 Growth stress and S-type dose-response curve fitting of three algae from 24 to 96 h affected by Zn under different P forms

基于图 4, 分别求出各藻 EC_{50} 值 (见表 2)。在培养 24 h 和 96 h, 东海原甲藻的 EC_{50} 值分别为 $6.84\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (DIP)、 $1.09\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (DIP) 和 $3.52\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (DOP)、 $0.85\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (DOP)。随着培养时间增加, 东海原甲藻在 2 种 P 源下的 EC_{50} 值均降低, 且在 DIP 环境下各培养时间的 EC_{50} 值均高于 DOP。

Zn 对威氏海链藻的 EC_{50} 因 P 形态不同而呈现出不同的变化。由表 2 可见, DOP 下威氏海链藻 EC_{50} 随培养时间增加而逐渐升高, 而 DIP 下却是逐渐降低 (48~96 h); 96 h 时, DOP 环境下 Zn 对威氏海链藻的 96 h- EC_{50} 是 DIP 环境下的 1.82 倍。

Zn 对三角褐指藻的 EC_{50} 值随培养时间的变化差异不大 ($8.08 \sim 11.33\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。

表 2 不同 P 形态下 Zn 对 3 种藻在不同胁迫时间的 EC_{50}
Tab. 2 EC_{50} at different stress times of Zn on three algae under different P forms

藻种	P 源	胁迫时间			
		24h	48h	72h	96h
东海原甲藻	DIP	6.84	3.12	1.76	1.09
	DOP	3.52	2.04	1.87	0.85
三角褐指藻	DIP	11.33	10.22	8.08	9.77
	DOP	10.63	10.45	8.89	9.83
威氏海链藻	DIP	2.37	2.59	2.03	1.74
	DOP	1.92	2.75	2.80	3.16

3 讨论

本研究发现 3 种微藻在 DOP、低质量浓度 Zn (0.01 和 $0.1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 作用下细胞密度均明显增加 (见图 1)。该结果说明, DOP、低质量浓度 Zn 能显著促进 3 种微藻的生长。当环境中的 DIP 含量低时, 浮游植物需分泌碱性磷酸酶 (ALP) 分解利用 DOP^[8]。而 Zn 作为 ALP 的辅基, 对于浮游植物吸收利用环境中的 DOP 具有重要作用^[8]。在以 DOP 为主要 P 形态的环境中, 微量 Zn 的添加会促进浮游植物对 P 的吸收利用, 促进其生长。此外, 本研究还发现, 在 DIP 下, 低质量浓度 Zn 的添加对威氏海链藻和三角褐指藻细胞密度的影响不明显, 原因可能是对照组培养基所用的自然海水中的微量 Zn 已能满足这两种藻的生长必需, 因此, 进一步增加 Zn 的质量浓度对生长的促进不明显。

本研究中, 随着 Zn 质量浓度的增加, 高质量浓度 Zn 对 3 种微藻的生长显示出明显的胁迫毒性

(见图 1)。3 种藻 Chl *a* 含量和细胞密度表现出不一致的变化规律,如东海原甲藻出现 Chl *a* 累积但细胞不分裂的现象(见图 2)。高质量浓度 Zn 下,东海原甲藻和威氏海链藻的 F_v/F_m 值也下降明显。本结果与文献 [17] 中微藻对重金属的响应结果基本一致。 F_v/F_m 一般认为是反映藻细胞生长潜能的重要指标,Zn 毒性会通过影响藻细胞中光合色素的含量,来影响藻细胞光合作用的能力和强度^[18]。

本研究中,Zn 对 3 种海洋微藻 96 h-EC₅₀ 的影响有较大的差异(见图 4、表 2),即三角褐指藻对 Zn 的耐受性最强,威氏海链藻次之,东海原甲藻最弱。这与文献 [19] 一致,都认为,不同的微藻对重金属的耐受性存在显著的差异。由表 2 可见,随着培养时间的变化,3 种海洋微藻 EC₅₀ 值的变化规律各不相同。Zn 对东海原甲藻 EC₅₀ 的影响随时间增加而降低,说明东海原甲藻对 Zn 毒性的耐受性会随培养时间逐渐减弱,并且 DOP 下 Zn 对于东海原甲藻的毒性高于 DIP 环境。而威氏海链藻在培养初期,DIP 环境下 EC₅₀ 值高于 DOP;随培养时间的增长,DOP 环境下的 EC₅₀ 值逐渐升高,而 DIP 环境下的 EC₅₀ 值逐渐降低。这与文献 [20] 一致,都说明随培养时间增加,DIP 能加剧 Zn 对威氏海链藻的胁迫,而 DOP 能够缓解 Zn 对威氏海链藻的胁迫。以含 Zn 的 ALP 为代表的酶系统参与了 DOP 的利用,可能提高威氏海链藻对 Zn 的需求^[21]。由于这一部分 Zn 被用于酶合成过程,而降低了其对细胞的毒性效应。此外,胞外分泌物已被广泛认为是藻类抵抗重金属胁迫的生理响应之一^[22-23],有研究^[24-25]表明 DOP 可促进不同藻类细胞分泌不同浓度的胞外分泌物。还有研究^[26]表明,种间差异可以表现出非常不同的重金属抗性,这与藻细胞表面含有的官能团的类型和数量的不同有关。这些都可能是不同 P 形态下 3 种微藻对 Zn 耐受差异的原因。

4 结论

1) DOP 下,低质量浓度 Zn 能促进 3 种藻细胞密度的增长 ($P < 0.05$),但对 F_v/F_m 的影响不显著 ($P > 0.05$);高质量浓度 Zn 环境下,Zn 对 3 种海洋微藻呈现明显的毒害作用。

2) 随着培养时间增加,Zn 对东海原甲藻的毒性增强,而对三角褐指藻和威氏海链藻的毒性变化较小;Zn 对各藻 96 h-EC₅₀ 的影响为三角褐指藻 > 威氏海链藻 > 东海原甲藻。

3) Zn 胁迫下,东海原甲藻和威氏海链藻对 P 形态变化较为敏感。DOP 能加剧 Zn 对东海原甲藻的毒性,缓解 Zn 对威氏海链藻胁迫,但对 Zn 胁迫下的三角褐指藻无明显影响。

以上结果说明,P 形态和 Zn 质量浓度可对海水中浮游植物的不同种群产生差异化影响,因此,其陆源输入变动可能会对近海初级生产力、浮游植物群落结构和群落演替过程产生较大影响。

[参 考 文 献]

- [1] JILBERT T, COUTURE R M, HUSER B J, et al. Preface: restoration of eutrophic lakes: current practices and future challenges [J]. *Hydrobiologia*, 2020, 847(21): 4343-4357.
- [2] DING X, GUO X, GAO H, et al. Seasonal variations of nutrient concentrations and their ratios in the central Bohai Sea [J]. *Sci Total Environ*, 2021, 799: 149416.
- [3] LIU S M, QI X H, LI X, et al. Nutrient dynamics from the Changjiang (Yangtze River) Estuary to the East China Sea [J]. *J Marine Syst*, 2016, 154: 15-27.
- [4] YU Y, SONG J, LI X, et al. Distribution, sources and budgets of particulate phosphorus and nitrogen in the East China Sea [J]. *Cont Shelf Res*, 2012, 43: 142-155.
- [5] SUN X, DONG Z, ZHANG W, et al. Seasonal and spatial variations in nutrients under the influence of natural and anthropogenic factors in coastal waters of the northern Yellow Sea, China [J]. *Mar Pollut Bull*, 2022, 175: 113171.
- [6] PRENTICE M J, HAMILTON D P, WILLIS A, et al. Quantifying the role of organic phosphorus mineralisation on phytoplankton communities in a warm-monomictic lake [J]. *Inland Waters*, 2019, 9(1): 10-24.
- [7] ZHOU T, WANG J, ZHENG H, et al. Characterization of additional zinc ions on the growth, biochemical composition and photosynthetic performance from *Spirulina platensis* [J]. *Bioresour Technol*, 2018, 269: 285-291.

- [8] IVANCIC I, PFANNKUCHEN M, GODRIJAN J, et al. Alkaline phosphatase activity related to phosphorus stress of microphytoplankton in different trophic conditions [J]. Progress in Oceanography, 2016, 146: 175-186.
- [9] CASABIANCA S, PENNA A, CAPELLACCI S, et al. Silicification process in diatom algae using different silicon chemical sources: colloidal silicic acid interactions at cell surface [J]. Colloids Surf B Biointerfaces, 2018, 161: 620-627.
- [10] BOGE G, LESPILETTE M, JAMET D, et al. Role of sea water DIP and DOP in controlling bulk alkaline phosphatase activity in N. W. Mediterranean Sea (Toulon, France) [J]. Mar Pollut Bull, 2012, 64(10): 1989-1996.
- [11] SUZUKI E, OGAWA N, TAKEDA T A, et al. Detailed analyses of the crucial functions of Zn transporter proteins in alkaline phosphatase activation [J]. J Biol Chem, 2020, 295(17): 5669-5684.
- [12] GAO C, DE SCHAMPHELAERE K A C, SMOLDERS E. Zinc toxicity to the alga *Pseudokirchneriella subcapitata* decreases under phosphate limiting growth conditions [J]. Aquat Toxicol, 2016, 173: 74-82.
- [13] AL-HASAWI Z M, ABDEL-HAMID M I, ALMUTAIRI A W, et al. Response of *Pseudokirchneriella subcapitata* in free and alginate immobilized cells to heavy metals toxicity [J]. Molecules, 2020, 25(12): 28-47.
- [14] MASTERS A, HARRISON P. Platelet counting with the BD Accuri (TM) C6 flow cytometer [J]. Platelets, 2014, 25(3): 175-180.
- [15] STRAUCH S M, RICHTER P R, HAAG F W M, et al. Delayed fluorescence, steady state fluorescence, photosystem II quantum yield as endpoints for toxicity evaluation of Cu^{2+} and Ag^{+} [J]. Environ Exp Bot, 2016, 130: 174-180.
- [16] KARADJOVA I B, SLAVEYKOVA V I, TSALEV D L. The biouptake and toxicity of arsenic species on the green microalga *Chlorella salina* in seawater [J]. Aquat Toxicol, 2008, 87(4): 264-271.
- [17] JIAO Y, OUYANG H L, JIANG Y J, et al. Effects of phosphorus stress on the photosynthetic and physiological characteristics of *Chlorella vulgaris* based on chlorophyll fluorescence and flow cytometric analysis [J]. Ecological Indicators, 2017, 78: 131-141.
- [18] MA J, WANG W, LIU X, et al. Zinc toxicity alters the photosynthetic response of red alga *Pyropia yezoensis* to ocean acidification [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2020, 27(3): 3202-3212.
- [19] RATHNAYAKE I V N, MEGHARAJ M, BEER M, et al. Medium composition affects the heavy metal tolerance of microalgae: a comparison [J]. J Appl Phycol, 2021, 33(6): 3683-3695.
- [20] POCHODYLO A L, ARISTILDE L. Molecular dynamics of stability and structures in phytochelatin complexes with Zn, Cu, Fe, Mg, and Ca: implications for metal detoxification [J]. Environ Chem Lett, 2017, 15(3): 495-500.
- [21] LIN X, GUO C, LI L, et al. Non-conventional metal ion cofactor requirement of dinoflagellate alkaline phosphatase and translational regulation by phosphorus limitation [J]. Microorganisms, 2019, 7(8): 232.
- [22] SHEN L, LI Z, WANG J, et al. Characterization of extracellular polysaccharide/protein contents during the adsorption of Cd (II) by *Synechocystis* sp. PCC6803 [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2018, 25(21): 20713-20722.
- [23] LI Y P, YOU L X, YANG X J, et al. Extrapolymers (EPS) in *Mucilaginibacter rubeus* P2 displayed efficient metal(loid) bio-adsorption and production was induced by copper and zinc [J]. Chemosphere, 2022, 291(1): 132712.
- [24] WU Q, GUO L, WANG Y, et al. Phosphorus uptake, distribution and transformation with *Chlorella vulgaris* under different trophic modes [J]. Chemosphere, 2021, 285: 131366.
- [25] WU Q, GUO L, LI X, et al. Effect of phosphorus concentration and light/dark condition on phosphorus uptake and distribution with microalgae [J]. Bioresour Technol, 2021, 340: 125745.
- [26] ANDERSSON B, GODHE A, FILIPSSON H L, et al. Differences in metal tolerance among strains, populations, and species of marine diatoms-importance of exponential growth for quantification [J]. Aquat Toxicol, 2020, 226: 105551.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)