

南黄海首次暴发“巨囊”生态型球形棕囊藻藻华*

张清春^{1, 2, 4} 向玲^{1, 3} 王锦秀^{1, 3} 刘扬^{1, 5} 宋敏杰^{1, 3} 王云峰^{1, 2, 4}
孔凡洲^{1, 2, 4} 耿慧霞^{1, 2, 4} 颜天^{1, 2, 4} 于仁成^{1, 2, 3, 4}

(1. 中国科学院海洋生态与环境科学重点实验室(中国科学院海洋研究所) 山东青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术国家试点实验室海洋生态与环境科学功能实验室 山东青岛 266071; 3. 中国科学院大学 北京 100049; 4. 中国科学院海洋大科学中心 山东青岛 266071; 5. 青岛科技大学 山东青岛 266045)

摘要 球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)常在热带至温带近海海域形成有害藻华, 该种具有种内遗传多态性, 且有囊体大小、特征色素组成等性状分化。在我国南海形成有害藻华的球形棕囊藻可形成“巨型囊体”, 以 19'-丁酰氧基岩藻黄素(But-fuco)为特征色素, 是一种独特的“巨囊”生态型。2021 年 11 月底至 12 月初, 南黄海青岛沿岸暴发大规模球形棕囊藻藻华。藻华发生期间, 对青岛沿岸 3 个站位的水文和化学要素进行了观测, 分析了球形棕囊藻囊体的数量、直径和色素组成, 并应用一种高分辨率种下分子标记——叶绿体 *rbcS-rpl27* 基因间隔区分析了其遗传特征。结果表明, 藻华发生期间青岛沿岸表层海水温度较低 (12~14 °C), 海域营养盐组成具有高溶解有机氮、低溶解无机氮的特征; 球形棕囊藻囊体丰度超过 20 个/L, 最大囊体直径为 18 μm, 以 But-fuco 为特征色素, *rbcS-rpl27* 序列分析表明其与南海“巨囊”生态型球形棕囊藻具有相同的遗传特征。南黄海首次暴发的球形棕囊藻藻华是由“巨囊”生态型形成, 该藻华可能对海洋生态系统、水产养殖业发展和核电设施运行等构成威胁, 亟待开展藻华成因与监测预警对策研究。

关键词 球形棕囊藻; “巨囊”生态型; 有害藻华; 南黄海

中图分类号 Q14 **doi:** 10.11693/hyh20220100017

2021 年 11 月底 12 月初, 南黄海青岛沿岸突发球形棕囊藻 (*Phaeocystis globosa*) 形成的有害藻华 (harmful algal bloom, HAB)。大量球形棕囊藻囊体聚集于青岛市黄岛至胶南沿岸海域, 这是南黄海海域首次暴发球形棕囊藻藻华。球形棕囊藻广泛分布于热带至温带海洋, 能产生二甲基丙酸盐, 对全球气候变化具有重要影响(Charlson *et al.*, 1987; Wassmann *et al.*, 2005; Whipple *et al.*, 2005)。球形棕囊藻具有复杂的异形生活史, 含有游离单细胞和囊体群体两种迥异的细胞形态(齐雨藻等, 2001), 其中囊体是由黏多糖包裹成千上万个藻细胞形成(Van Rijssel *et al.*, 1997)。球形棕囊藻常以囊体形式形成藻华, 在全球许多近海海域均有该藻藻华记录(Qi *et al.*, 2004; Smith *et al.*,

2014b)。在球形棕囊藻藻华衰退过程中, 死亡藻体分解消耗大量溶解氧, 囊体分解形成泡沫物质, 影响海洋生态系统和旅游景观, 亦会产生溶血毒素等有毒有害化学物质, 危害海水养殖业发展; 藻华期间形成的大量囊体易堵塞冷却水过滤网, 影响核电等沿海大型设施的安全运行(齐雨藻等, 2001; Yu *et al.*, 2017)。

1997 年, 球形棕囊藻首次在我国东南沿海形成有害藻华(陈菊芳等, 1999), 之后在广东、海南和广西近海海域连年暴发, 成为我国东南沿海最为突出的藻华灾害(李亚男等, 2012; 沈萍萍等, 2018)。在渤海也多次暴发该藻藻华(曲凌云等, 2008; 屠建波等, 2011)。在本次青岛沿岸藻华之前, 未见有东海和南黄海发生球形棕囊藻藻华的报道。

* 青岛海洋科学与技术试点国家实验室山东省专项经费, 2021QNL040001-2; 国家自然科学基金面上项目 42076140 号, U20A004 号, 41776127 号; 国家科技基础资源调查项目, 2018FY100200 号。张清春, 副研究员, E-mail: qc Zhang@qdio.ac.cn

通信作者: 于仁成, 博士生导师, 研究员, E-mail: rcyu@qdio.ac.cn

收稿日期: 2022-01-21, 收修改稿日期: 2022-02-09

球形棕囊藻具有囊体大小和特征色素组成等性状分化。包括我国近海在内的东亚至南亚一带沿海岸域, 球形棕囊藻囊体常达到厘米级, 称为“巨型囊体”(Giant colony) (齐雨藻等, 2001; Smith *et al.*, 2014b)。与之相比, 全球其他海域的球形棕囊藻囊体多为毫米级, 通常不超过 3 mm (Rousseau *et al.*, 1990; Smith *et al.*, 2014b)。除了囊体大小, 该藻的特征色素组成差异明显 (Vaulot *et al.*, 1994; Zapata *et al.*, 2004)。岩藻黄素(fucoxanthin, Fuco)的两种衍生物 19'-己酰氧基岩藻黄素(19'-hexanoyloxyfucoxanthin, Hex-fuco)和 19'-丁酰氧基岩藻黄素(19'-butanoyloxyfucoxanthin, But-fuco)为棕囊藻的特征色素 (Zapata *et al.*, 2000, 2004)。具体到球形棕囊藻, 部分株系含有上述两种特征色素, 但也有株系仅含有其中一种特征色素或两种特征色素都不含有 (Vaulot *et al.*, 1994; Antajan *et al.*, 2004; Zapata *et al.*, 2004; Seoane *et al.*, 2009; 王锦秀等, 2019)。基于核糖体 18S rDNA、28S rDNA 和 ITS 等常见分子标记的研究发现, 球形棕囊藻具有种下遗传多样性 (Lange *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2003; Medlin *et al.*, 2007), 但是现有分子标记过于保守或高变, 与性状特征分化或地理分布之间无法关联。近年的研究发现, 叶绿体和线粒体基因组中的高变区能较好地分辨球形棕囊藻不同地理株系, 与囊体大小、特征色素组成等也有很好的对应关系, 可以用作球形棕囊藻种下遗传分化的分子标记 (Song *et al.*, 2020, 2021; Zhang *et al.*, 2021; Niu *et al.*, 2022)。

基于球形棕囊藻叶绿体 *rbcS-rpl27* 基因间隔区和线粒体 *atp8* 基因高分辨率分子标记, 可以将全球不同海域 20 余株球形棕囊藻分为 4 个基因型, 其中 I 型和 II 型广布于世界各海域, 而 III 型株系仅分布于大西洋北海海域, IV 型仅分布于我国南海海域。前 3 个基因型的球形棕囊藻仅形成直径 ≤ 3 mm 小囊体, 含有 Hex-fuco 和 But-fuco 两种特征色素, 但 IV 型可形成“巨型囊体”, 仅含 But-fuco 一种特征色素 (王锦秀等, 2019; Zhang *et al.*, 2021, 2022; Niu *et al.*, 2022)。综合其遗传特征、囊体大小和特征色素组成, IV 型球形棕囊藻被定义为一个独特的“巨囊”生态型 (Zhang *et al.*, 2022)。2015~2021 年间, 南海多起球形棕囊藻藻华期间采集的囊体均以 But-fuco 为特征色素, 且都属于 IV 型, 表明“巨囊”生态型引发了南海球形棕囊藻藻华 (Wang *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022)。

目前对引发青岛沿岸藻华的球形棕囊藻色素组成和遗传特征都不了解。在球形棕囊藻藻华发生期间, 本文在青岛沿岸采集了球形棕囊藻囊体, 对囊体大

小、色素组成以及遗传信息进行了分析, 初步研判了此次球形棕囊藻藻华原因种的生物学特征, 以期为解析南黄海球形棕囊藻发生机制和有效防控藻华危害提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2021 年 12 月 6 日, 分别在青岛市黄岛区沿岸的唐岛湾(TDW)、星光岛(XGD)和古镇口(GZK)海域设置采样点(图 1)。在每个采样点采集表层海水 1~2 L, 倒入白瓷盘中, 以刻度尺测量囊体直径, 最小可测量囊体直径约 0.5 mm。每个采样点挑取单个或多个囊体, 测量并记录直径后, 以灭菌海水清洗去除囊体表面附着物, 分别在低负压下过滤到孔径为 0.4 μm 聚碳酸酯膜(Millipore, 美国)和孔径约为 0.68 μm GF/F 玻璃纤维滤膜(Whatman, 英国)上, 迅速放入液氮中保存, 带回实验室于 -80°C 冰箱中存放, 用于囊体分子和色素特征分析。取 80 mL 海水样品用经 450°C 灼烧的 GF/F 玻璃纤维滤膜过滤, 装入 100 mL 聚碳酸酯瓶中, 带回实验室存放于 -40°C 冰箱, 用于营养盐分析。现场海水温度、盐度、pH 以及溶解氧(DO)由梅特勒多参数测试仪(Mettler Toledo, Columbus, 美国)测定。

1.2 营养盐样品分析

用铜-镉还原法测定硝酸盐(NO_3^--N), 用重氮-偶氮法测定亚硝酸盐(NO_2^--N), 用水杨酸法测定氨氮(NH_4^+-N), 用抗坏血酸还原磷钼蓝法测定活性磷酸盐($\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$)。溶解态总氮总磷比(DTN/DTP)样品经过硫酸钾氧化后, 分别使用铜-镉还原法和磷钼蓝法测定。各项营养盐均借助连续流动分析仪(QuAAtro39, Seal, 德国)进行测定。获得的标准曲线满足相关系数 ≥ 0.999 , 样品分析过程中借助营养盐标准溶液(采购自自然资源部第二海洋研究所)进行校准以控制数据质量。

1.3 色素样品分析

棕囊藻囊体色素提取和分析参照 Zapata 等(2000)和 Kong 等(2012)的方法。将囊体色素滤膜剪碎后, 加入 1 400 μL 95%甲醇水溶液进行色素提取, 同时加入 100 μL 8'-apo- β,ψ -carotoldehyde (750 $\mu\text{g/L}$)作为内标, 充分搅拌后冰浴超声处理 5 min。以孔径 0.22 μm 有机相针头滤器对提取液进行过滤, 吸取 800 μL 滤液至 1.5 mL 棕色样品瓶中, 加入 160 μL 超纯水, 震荡混匀, 立即进行高效液相色谱(HPLC)色素分析。

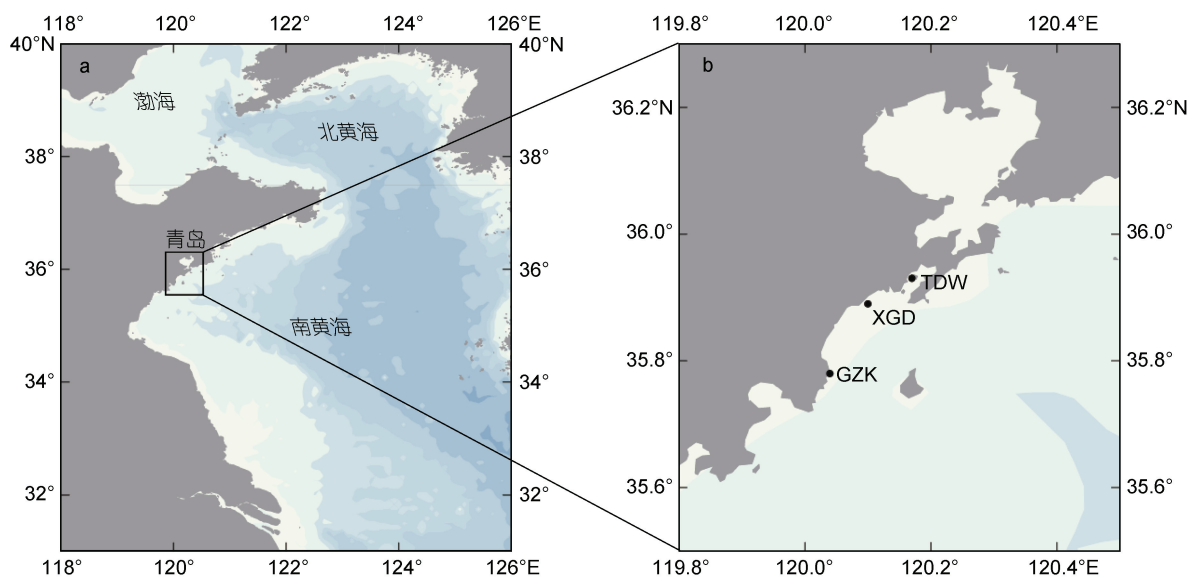


图 1 我国渤海和黄海(a)和青岛沿岸采样站位地图(b)

Fig.1 Maps of the Bohai Sea and the Yellow Sea (a), and the sampling sites in coastal waters of Qingdao (b)

注: TDW: 唐岛湾站; XGD: 星光岛站; GZK: 古镇口站

1.4 DNA 提取、PCR 扩增和测序

采用十六烷基三甲基溴化铵(Hexadecyl trimethyl ammonium Bromide, CTAB)提取法提取囊体过滤膜样基因组 DNA (Winnepeninckx *et al*, 1993), 提取的 DNA 溶解于 TE 溶液中, 保存于 -20°C 用于 PCR 扩增。利用前期研发的高分辨分子标志扩增球形棕囊藻叶绿体 *rbcS-rpl27* 基因间隔区, 引物为 *rbcS-rpl27*-F (5'-GAAGCATACGCACCAAGC-3') 和 *rbcS-rpl27*-3R (5'-ATTGTTGAGTTTACGACGGATA-3') (Zhang *et al*, 2021), PCR 体系和扩增条件分别参照 Zhang 等 (2021)。用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物, 然后送测序公司进行双端测序, 测序获得序列用 Invitrogen 11.0 ContigExpress (ThermoFisher, 美国)进行组装。

1.5 系统进化分析

从 GenBank 下载全球不同海域的 20 株球形棕囊藻叶绿体 *rbcS-rpl27* 基因间隔区序列(表 1), 加上本研究获得的 6 条序列, 并以南极棕囊藻(*Phaeocystis antarctica*) CCMP1374 和约氏棕囊藻(*Phaeocystis jahnii*) CCMP2496 为外群进行系统进化分析。使用 ClustalW 对序列进行比对; 使用 MEGA10.0 程序中 Find Best DNA/Protein Models (ML)功能选择最适合替换模型 T92, 构建最大似然进化树(maximum-likelihood tree), bootstrap 值为 1 000 (Kumar *et al*, 2018);使用 Modelfinder 程序选择贝叶斯树(Bayesian tree)最适合替换模型为 HKY+F+G4 (Kalyaanamoorthy

et al, 2017), 使用 MrBayes3.2.6 构建贝叶斯树, 四条 MCMC 链运行 2 000 000 代, 每 1 000 代进行一次取样(Ronquist *et al*, 2012)。

2 研究结果

2.1 环境参数

调查期间, 青岛沿岸三个站位表层海水的温度和盐度分别为 $12.2\sim 13.8^{\circ}\text{C}$ 和 $28.02\sim 29.47$, pH 值为 $8.18\sim 8.28$, DO 为 $8.73\sim 9.54\text{ mg/L}$ 。溶解无机氮(DIN)浓度范围为 $5.04\sim 9.45\text{ }\mu\text{mol/L}$, 唐岛湾氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)浓度为 $5.42\text{ }\mu\text{mol/L}$, 是 DIN 主要的组分, 占比 57.3%; 星光岛硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)浓度为 $5.18\text{ }\mu\text{mol/L}$, 是 DIN 的主要组分, 占比 62.0%; 古镇口 $\text{NH}_4\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 浓度均较低, 为 2.52 和 $2.14\text{ }\mu\text{mol/L}$ 。唐岛湾溶解无机磷(DIP)浓度较高, 为 $0.66\text{ }\mu\text{mol/L}$, 星光岛和古镇口的活性磷酸盐浓度低, 仅为 0.21 和 $0.11\text{ }\mu\text{mol/L}$ 。三个站位的硅酸盐浓度均较低, 在 $2.06\sim 7.68\text{ }\mu\text{mol/L}$ 之间。三个站位的溶解有机氮(DON)浓度明显高于溶解无机氮(DIN), 达到 $22.07\sim 23.10\text{ }\mu\text{mol/L}$, 溶解有机磷(DOP)浓度与溶解无机磷浓度差异不大, 为 $0.29\sim 0.47\text{ }\mu\text{mol/L}$ (表 2)。

2.2 球形棕囊藻囊体数量与大小

在唐岛湾采集 1 L 表层海水中, 观测到直径介于 $0.5\sim 18\text{ mm}$ 的球形棕囊藻囊体 27 个; 星光岛采集 2 L 表层海水中直径介于 $1\sim 12\text{ mm}$ 的球形棕囊藻囊

表 1 本研究中球形棕囊藻和南极棕囊藻的信息
Tab.1 Information of *Phaeocystis globosa* and *P. Antarctica* strains for this study

种名	株系	分离年份	分离地	囊体直径	特征色素	GenBank ID	参考文献
球形棕囊藻	MEL42	2015	中国南海北部湾	厘米级巨型囊体	But-fuco	MW981522	(Zhang <i>et al</i> , 2022)
球形棕囊藻	MEL43	2018	中国南海北部湾	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MN935489	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	MEL44	2017	中国南海北部湾	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MN935490	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	MEL45	—	中国南海珠江口	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MN935491	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	MEL47	2017	中国东海泉州海域	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MN935492	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	MEL68	2018	中国南海北部湾	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MW981524	(Zhang <i>et al</i> , 2022)
球形棕囊藻	MEL69	2017	中国南海北部湾	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MN935493	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	MEL70	2019	中国南海北部湾	厘米级巨型囊体	But-fuco	MW981525	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	MEL71	2019	中国东海霞浦海域	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MN935494	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	MEL78	2019	越南海域	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MW981526	(Zhang <i>et al</i> , 2022)
球形棕囊藻	TIO393	2016	中国南海大亚湾	厘米级巨型囊体	But-fuco	MW981523	(Zhang <i>et al</i> , 2022)
球形棕囊藻	CCMP628	1965	大西洋加勒比海	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MN935496	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	CCMP629	1982	大西洋墨西哥湾	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MN935497	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	CCMP1524	1992	泰国湾海域	/	Hex-fuco、But-fuco	MN935498	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	CCMP2754	2003	大西洋北美海域	/	Hex-fuco、But-fuco	MN935499	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	RCC678	2000	大西洋北海海域	/	Hex-fuco、But-fuco	MW981528	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	RCC736	1991	大西洋北海海域	/	Hex-fuco、But-fuco	MN935501	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	RCC1736	1991	大西洋北海海域	/	Hex-fuco、But-fuco	MW981527	(Zhang <i>et al</i> , 2022)
球形棕囊藻	RCC2055	2003	大西洋英吉利海峡	≤ 3 mm 小囊体	Hex-fuco、But-fuco	MN935500	(Zhang <i>et al</i> , 2021, 2022)
球形棕囊藻	Pg-G(A)	—	大西洋北海海域	—	—	NC021637	(Smith <i>et al</i> , 2014a)
南极棕囊藻	CCP1374	—	南极罗斯海	—	—	JN117275	(Smith <i>et al</i> , 2014a)
约氏棕囊藻	CCMP2496	—	地中海	—	—	—	(Zhang <i>et al</i> , 2021)

注: /表示株系不成囊或偶尔形成直径 ≤ 3 mm 小囊体; —表示具体信息不详

表 2 2021 年 12 月青岛沿岸三个调查站位的环境因子
Tab.2 Environmental parameters measured at the three sampling sites in the coastal water of Qingdao in December 2021

站位	温度 /°C	盐度	pH	DO /(mg/L)	NH ₄ ⁺ -N /(μmol/L)	NO ₂ ⁻ -N /(μmol/L)	NO ₃ ⁻ -N /(μmol/L)	DIN /(μmol/L)	DON /(μmol/L)	DOP /(μmol/L)	DIP /(μmol/L)	DSi /(μmol/L)	DIN /DIP	DSi /DIN
唐岛湾 (TDW)	13.8	28.46	8.18	8.73	5.42	0.56	3.48	9.45	23.10	0.47	0.66	7.68	14.2	0.8
星光岛 (XGD)	12.2	28.02	8.25	9.54	2.69	0.48	5.18	8.36	20.98	0.30	0.21	3.55	40.4	0.4
古镇口 (GZK)	12.9	29.47	8.28	9.42	2.52	0.38	2.14	5.04	22.07	0.29	0.11	2.06	47.8	0.4

体 37 个; 古镇口 1 L 表层海水中直径介于 4~8 mm 球形棕囊藻囊体 3 个(图 2)。将 3 个站位的囊体信息综合分析表明, 现场海水中直径在 5~10 mm 的囊体占优势(55%), 其次是直径 1~5 mm 的囊体(30%), 直径大于 10 mm 囊体数量较低, 最大囊体直径可达 18 mm (图 3)。

2.3 球形棕囊藻色素组成

藻华现场采集 9 个直径介于 4~18 mm 的球形棕囊藻囊体进行色素分析, 结果如图 4 所示。检测到的主要色素包括脱植基叶绿素 *a* (chl *a*)、甲基脱植基叶绿素 *a* (Me-chl *a*)、19'-丁酰氧基岩藻黄素

(But-fuco)、岩藻黄素(fuco)、硅甲藻黄素(diad)、硅藻黄素(diat)、叶绿素 *a* (chl *a*)、α-胡萝卜素(β_E-Car)和 β-胡萝卜素(β_B-Car)。所有囊体样品中都未检测到 Hex-fuco, 仅检测到 But-fuco。结果表明形成藻华的球形棕囊藻以 But-fuco 为特征色素。

参照王锦秀等(2019)前期建立的囊体直径-囊体细胞数方程 $Y=0.0076X^{2.1204}$, 根据囊体直径换算得出每个囊体样品中含有藻细胞数, 计算出囊体中单细胞主要色素含量(表 3)。fuco 和 chl *a* 是球形棕囊藻囊体细胞中的主要色素组分, 含量分别为 0.120~0.279 pg/cell 和 0.076~0.303 pg/cell; 其次为 diad, 含量为

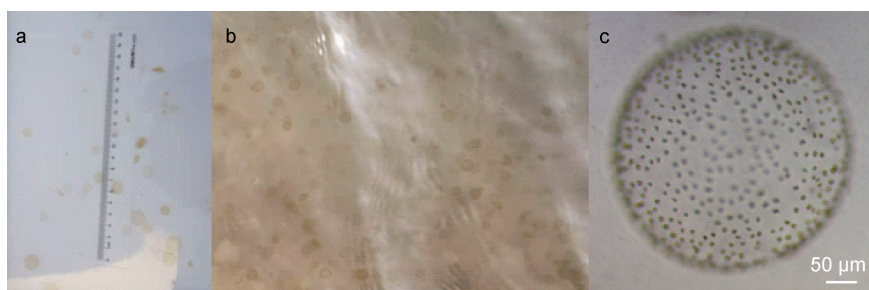


图2 球形棕囊藻藻华囊体的现场照片(a, b)和显微照片(c)

Fig.2 Field (a, b) and microscope (c) pictures of *Phaeocystis globosa* colonies in the coastal waters of Qingdao in December 2021

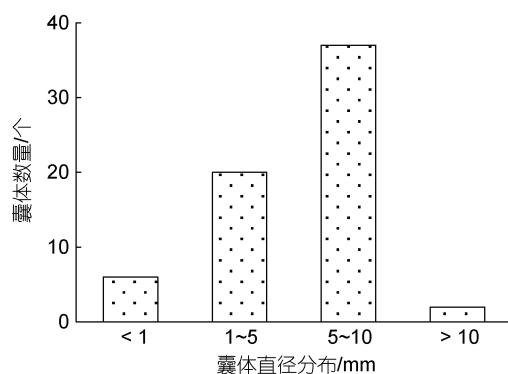


图3 2021年12月青岛沿岸球形棕囊藻藻华期间囊体直径分布状况

Fig.3 Distribution of colony sizes during the bloom of *Phaeocystis globosa* in the coastal waters of Qingdao in December 2021

0.009~0.092 pg/cell; 细胞特征色素 But-fuco 含量为 0.005~0.019 pg/cell。

2.4 球形棕囊藻种下多态性分析

采自三个站位的 6 个球形棕囊藻囊体的叶绿体 *rbcS-rpl27* 基因间隔区序列完全一致。根据构建的系统进化树可以看出, 所有球形棕囊藻聚集在一起, 远离南极棕囊藻和约氏棕囊藻。球形棕囊藻可分为 4 个独立簇, 其中第 1 和 2 簇聚集在一起, 第 3 和 4 簇聚集在一起。第 1 簇包括中国南海北部湾株系 MEL43、MEL44、MEL68 和 MEL69, 南海珠江口株系 MEL45、

东海泉州海域株系 MEL47, 越南海域株系 MEL78、泰国湾株系 CCMP1524 以及大西洋加勒比海、墨西哥湾和英吉利海峡株系 CCMP628、CCMP629 和 RCC055, 这 11 个株系内部还有遗传分化。第 2 簇包括分离自东海霞浦海域西株系 MEL71 以及大西洋北美海域株系 CCMP2754。第 3 簇包括分离自大西洋北海海域株系 RCC678、RCC736、RCC1736 和 Pg-G(A)。第 4 簇包括分离自南海北部湾和大亚湾株系 MEL42、MEL70 和 TIO393, 以及本研究中从青岛沿岸采集的 6 个囊体(图 5)。

3 讨论

3.1 青岛沿岸球形棕囊藻藻华是由“巨囊”生态型形成

本研究首次报道了南黄海海域暴发的球形棕囊藻藻华。球形棕囊藻主要分布于热带至温带大洋和近海海域, 可引发有害藻华。20 世纪 80~90 年代, 球形棕囊藻藻华主要出现在北大西洋的北海及其邻近海域(Rousseau *et al*, 1990; Lancelot *et al*, 2009)。20 世纪末, 太平洋西部的东亚和东南亚海域频发球形棕囊藻藻华, 位于印度洋的阿拉伯海等也有零星出现(Madhupratap *et al*, 2000; Qi *et al*, 2004; Hai *et al*, 2010; Smith *et al*, 2014b)。1997 年 10 月, 中国东南沿海首次暴发大规模球形棕囊藻藻华, 随后, 广东、海南和广西沿海亦频频

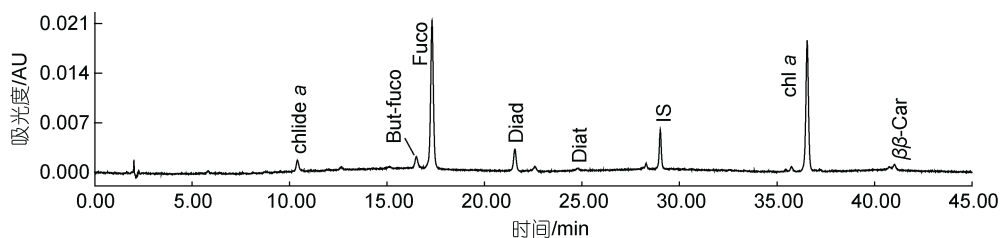


图4 球形棕囊藻囊体色素色谱图(440 nm)

Fig.4 Chromatogram of *Phaeocystis globosa* colonies in the coastal waters of Qingdao in December 2021 (absorbance detected at 440 nm)

表 3 2021 年 12 月青岛沿岸三个调查站位球形棕囊藻囊体细胞中的主要色素含量*
Tab.3 Content of pigments in colony cells collected from the three sampling sites in the coastal water of Qingdao in December 2021

样品名称	采样站位	囊体数量	囊体大小/mm	色素含量/(pg/cell)							
				But-fuco	fuco	diad	diat	$\beta\epsilon$ -Car	$\beta\beta$ -Car	chl <i>a</i>	Me-chlide <i>a</i>
TDW-1	唐岛湾	1	12	0.010	0.184	0.015	0.000	0.001	0.008	0.186	0.010
TDW-2	唐岛湾	1	11	0.005	0.181	0.017	0.000	0.002	0.010	0.146	0.007
TDW-3	唐岛湾	3	6	0.006	0.279	0.023	0.000	0.003	0.012	0.152	0.009
TDW-4	唐岛湾	3	8	0.007	0.158	0.012	0.001	0.001	0.005	0.161	0.009
TDW-5	唐岛湾	3	10	0.008	0.108	0.009	0.001	0.001	0.005	0.165	0.005
TDW-6	唐岛湾	1	18	0.007	0.120	0.010	0.001	0.001	0.005	0.076	0.017
XGD-1	星光岛	2	4	0.019	1.187	0.092	0.000	0.000	0.043	0.303	0.000
XGD-2	星光岛	3	8	0.012	0.244	0.019	0.001	0.002	0.007	0.220	0.010
XGD-3	星光岛	2	7	0.012	0.279	0.020	0.001	0.002	0.009	0.214	0.013

注: *因缺少 childe *a* 标准品, 未计算细胞内 childe *a* 色素含量

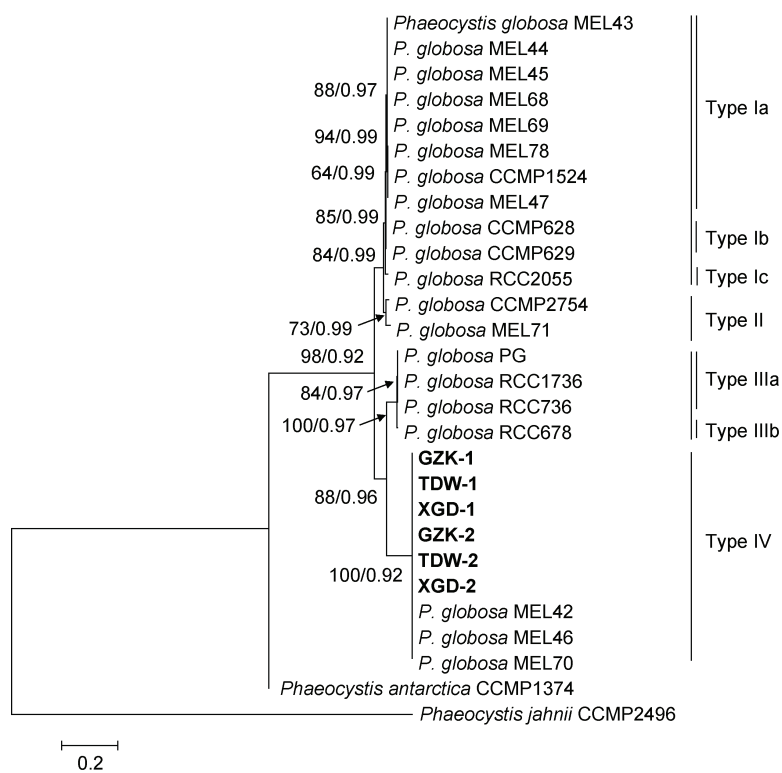


图 5 基于 *rbcS-rpl27* 序列建立的球形棕囊藻系统进化树

Figure 5 Phylogenetic tree established for *Phaeocystis globosa* based on the *rbcS-rpl27* intergenic spacer
注: 图中数值斜线左边是最大似然 bootstrap 值, 右边是贝叶斯分析值, 图中加粗的为本研究从青岛沿岸采集的 6 个球形棕囊藻囊体

发生。2004 年 6 月至 2006 年 10 月, 渤海沿海多次发生球形棕囊藻藻华(曲凌云等, 2008; 屠建波等, 2011)。在本次青岛沿岸发生球形棕囊藻藻华之前, 未曾有南黄海发生球形棕囊藻藻华的报道。

前期研究发现, 球形棕囊藻具有种下遗传多态性, 且存在囊体大小和特征色素等性状分化(Vaulot *et al*, 1994; Zapata *et al*, 2004; Medlin *et al*, 2007; Smith *et al*, 2014b)。基于核糖体 18S rDNA、28S

rDNA、ITS 和 *rbcL* 等常见分子标记研究表明, 球形棕囊藻具有复杂的种下遗传多态性(Medlin *et al*, 2007)。在大西洋北海海域, 球形棕囊藻囊体一般小于 3 mm, 含 Hex-fuco 和 But-fuco 两种特征色素。而在东南亚沿海, 球形棕囊藻藻华中常出现厘米级大小的“巨型囊体”, 且仅含有 But-fuco 一种特征色素。随着研究深入, 在我国近海也陆续发现了仅形成小囊体、以 Hex-fuco 和 But-fuco 为特征色素的球形棕囊

藻株系(王锦秀等, 2019)。尽管球形棕囊藻囊体形成受到光照、温度、营养盐、硅藻, 以及浮游动物摄食等多种因素影响(Tang, 2003; Sazhin *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2010, 2011), 但上述因素并非决定球形棕囊藻大小的根本因素。棕囊藻特征色素含量会受到光照等环境因素影响(Buma *et al.*, 1991; van Leeuwe *et al.*, 1998, 2014; Schlüter *et al.*, 2000; DiTullio *et al.*, 2007), 但其特征色素组成与环境因素无关。因此, 球形棕囊藻囊体大小和特征色素等性状应当具有其遗传基础。早期研究中采用的分子标记因过于保守或高变, 无法合理解释球形棕囊藻的生物地理分布状况, 与其性状特征分化也没有清晰的关联。

生态型(ecotype)是指同一物种的不同种群长期生活在不同环境中, 由于环境选择和隔离产生趋异适应, 成为遗传上有差异、适应不同生态环境的类群, 相当于分类学上的亚种(Turesson, 1922; Begon *et al.*, 2005)。基于叶绿体 *rbcS-rpl27* 基因间隔区和线粒体 *atp8* 基因分子标记研究都表明, 分离于南海的部分球形棕囊藻藻株能形成厘米级“巨型囊体”, 以 But-fuco 作为特征色素, 且其在基因型属于IV型。在南海海域 2015~2021 年期间的调查发现, 该海域存在包括 I、II 和IV型之内多种基因型球形棕囊藻游离细胞, 但藻华期间采集的球形棕囊藻囊体都属于IV型(Zhang *et al.*, 2021, 2022; Niu *et al.*, 2022)。室内模拟实验也发现, IV型球形棕囊藻比 I 和 II 型具有更高的溶血活性和生物毒性。因此, “巨型囊体”球形棕囊藻与其他球形棕囊藻相比具有明显的性状和遗传差异, 应属于一类独特的生态型——“巨囊”生态型(Zhang *et al.*, 2022)。本研究发现, 在青岛沿岸形成藻华的球形棕囊藻可以形成厘米级“巨型囊体”, 囊体叶绿体 *rbcS-rpl27* 基因间隔区与“巨囊”生态型球形棕囊藻完全一致, 均属于IV型, 且以 But-fuco 作为特征色素。上述结果表明此次青岛沿岸球形棕囊藻藻华是由“巨囊”生态型形成。

3.2 南黄海球形棕囊藻藻华的监测和研究展望

球形棕囊藻藻华暴发具有规模大、时间长等特征。如 2016~2017 年北部湾球形棕囊藻藻华影响海域覆盖了从广西防城港至广东雷州半岛的近岸海域, 持续时间从 2016 年 12 月至次年 3 月(贺成等, 2019); 1997 年我国东南沿海首次暴发球形棕囊藻藻华, 面积超过 3 000 km², 持续 6 个月(陈菊芳等, 1999)。此外, 球形棕囊藻藻华往往会在暴发海域多年持续发生, 很难消除。20 世纪 80~90 年代, 球形棕囊藻藻华在北大西洋的北海及邻近海域几乎连年出现, 1997 年以来, 我国南海海

域也连续多年暴发, 2011 年至今, 北部湾几乎每年冬季都会发生(沈萍萍等, 2021)。南黄海海域的球形棕囊藻藻华是否会连年出现, 值得密切关注。

球形棕囊藻藻华是典型的有害藻华, 对海洋生态系统、水产养殖业以及沿岸大型设施运行等有不利影响(沈萍萍等, 2021)。南黄海球形棕囊藻藻华的潜在危害同样值得密切关注。球形棕囊藻藻华暴发时会产生二甲基硫化物和硫丙酸等有毒物质, 常造成海洋生物死亡。藻华消亡时, 高生物量囊体细胞分解消耗大量氧气, 造成水体缺氧, 威胁海洋生物生存(沈萍萍等, 2018)。1997 年我国东南沿海暴发的大规模藻华造成养殖生物大量死亡, 仅广东拓林湾的渔业直接损失超过 6 000 万元(陈菊芳等, 1999)。前人研究发现, 球形棕囊藻南海株系可产生溶血毒素, 是造成大量海洋生物死亡的原因之一(何家苑等, 1999)。本文近期研究也发现, “巨囊”生态型球形棕囊藻(IV型)比 I 和 II 型具有更高的溶血活性, 对轮虫和卤虫等浮游生物的生物毒性更强(Zhang *et al.*, 2022)。南海的“巨囊”生态型球形棕囊藻有可能对该海域的水产养殖活动造成损害。球形棕囊藻具有胶质囊体, 容易堵塞冷却系统过滤网, 威胁沿海地区核电和热点设施的安全运行, 南海北部湾海域的球形棕囊藻藻华对核电运行的影响是备受关注的热点问题(曹西华等, 2017)。近年来, 我国沿海大力发展核电和火电工程, 南黄海沿岸已建立和正在建立多个核电和火电厂, 依赖大量海水来维持冷源系统正常运行。南黄海海域“巨囊”生态型球形棕囊藻藻华对核电和火电冷源系统安全运行的影响值得高度关注。

球形棕囊藻藻华在渤海和南海都有多次形成大规模藻华的记录, 但在黄、东海海域很少发生, 其原因有待深入研究。本研究发现, 此次南黄海的球形棕囊藻藻华是由“巨囊”生态型形成。以往渤海和北黄海球形棕囊藻藻华期间, 也有“巨型囊体”出现的记录(李伟才等, 2006; 曲凌云等, 2008), 但由于缺乏现场样品和分离的球形棕囊藻培养系, 无法进行进一步验证。基于 2021 年对渤海、黄海和东海浮游植物群样品的分析, 我们发现渤海也存在IV型球形棕囊藻, 而黄海、东海海域的球形棕囊藻则以其他基因型为主。这表明渤海海域以往的球形棕囊藻藻华极有可能也是由“巨囊”生态型形成。但是, 此次藻华过程中的“巨囊”生态型球形棕囊藻从何而来, 我国南方、北方海域的“巨囊”生态型球形棕囊藻是否存在种群隔离和生理生态特征的差异等, 目前并不清楚。其次,

这次南黄海球形棕囊藻藻华也具有一些独有的特征: 藻华期海水温度仅为 12~14 °C, 远低于南海海域藻华发生时的海水温度(水温 20 °C 左右)(徐宁等, 2003; 贺成等, 2019)。此外, 以往研究认为高浓度硝态氮是球形棕囊藻大量繁殖和形成藻华的重要物质基础(Lancelot *et al*, 2007; Wang *et al*, 2021), 但在南黄海球形棕囊藻藻华期间, 海水中 DON 浓度(21~23 $\mu\text{mol/L}$)远高于 DIN 浓度(5.0~9.5 $\mu\text{mol/L}$), 高浓度 DON 是否有利于此次球形棕囊藻藻华形成仍有待阐明。鉴于球形棕囊藻藻华对海洋生态系统、水产养殖业、沿岸核电和火电等设施的潜在危险, 有必要开展针对性的研究, 深入揭示我国北方海域球形棕囊藻藻华的发生机制, 在此基础上进一步强化对北方海域球形棕囊藻藻华的监测预警。

本次南黄海球形棕囊藻藻华已被证实是由“巨囊”生态型形成。在海水中, 球形棕囊藻可以游离单细胞和囊状群体两种形态存在(齐雨藻等, 2001), 囊体出现常被视为藻华形成的标志。在藻华形成前, 球形棕囊藻以游离单细胞形式存活于海水中。球形棕囊藻游离单细胞大小仅为 3~8 μm , 通过传统的显微镜观察手段难以实现对游离细胞的鉴定和监测。“巨囊”生态型球形棕囊藻以 But-fuco 作为特征色素, 在北部湾藻华的研究中, Wang 等(2022)将 But-fuco 含量作为诊断色素, 成功应用于球形棕囊藻藻华的过程研究和早期诊断。根据“巨囊”生态型球形棕囊藻的遗传序列信息, Niu 等(2022)开发了以线粒体 *atp8* 基因为靶区的特异性 qPCR 定量方法, 检测限可达到 30 cells/L, 成功应用于北部湾海域球形棕囊藻藻华监测和研究中。对青岛沿岸采集的球形棕囊藻线粒体 *atp8* 基因扩增测序结果表明, 其序列信息与南海“巨囊”生态型序列一致, 这表明前期研发的“巨囊”生态型球形棕囊藻特异性 qPCR 方法可以用于北方海域球形棕囊藻的检测。这些研究手段为进一步开展北方海域球形棕囊藻的监测和研究工作奠定了基础。

4 结论

2021 年 11 月底至 12 月初, 青岛沿岸暴发球形棕囊藻藻华, 藻华中产生大量囊体主要集聚于青岛黄岛至胶南沿岸。藻华发生时, 青岛沿岸表层海水温度低, 仅为 12~14 °C, 呈现高 DON、低 DIN 营养盐组成特征。海水中囊体丰度可超过 20 个/L, 最大直径超过 1 cm。藻华中形成的囊体与南海“巨囊”生态型球形棕囊藻一样, 均以 But-fuco 为特征色素; 叶绿体

rbcS-rpl27 序列完全一致, 与南海“巨囊”生态型球形棕囊藻同属于基因 IV 型。“巨囊”生态型球形棕囊藻藻华可能会对南黄海生态系统、水产养殖业和沿岸核电、热电冷却系统构成威胁, 亟需加强我国北方海域球形棕囊藻藻华形成机制研究, 进一步提高监测预警能力, 防控藻华危害。

致谢 感谢参与现场调查和采样全体科研人员, 以及烟台大学江涛教授提供部分现场调查信息。

参 考 文 献

- 王锦秀, 孔凡洲, 陈振帆, 等, 2019. 六株球形棕囊藻的色素组成特征研究[J]. 海洋与湖沼, 50(3): 611-620.
- 曲凌云, 吕颂辉, 高春蕾, 等, 2008. 棕囊藻渤海株核糖体 18S rDNA 和 ITS 基因结构序列分析[J]. 海洋科学进展, 26(2): 200-206.
- 齐雨藻, 沈萍萍, 王艳, 2001. 棕囊藻属(*Phaeocystis*)的分类与生活史(综述)[J]. 热带亚热带植物学报, 9(2): 174-184.
- 李亚男, 沈萍萍, 黄良民, 等, 2012. 棕囊藻的分类及系统进化研究进展[J]. 生态学杂志, 31(3): 745-754.
- 李伟才, 孙军, 宋书群, 等, 2006. 烟台港和邻近锚地及其入境船舶压舱水中的浮游植物[J]. 海洋湖沼通报(4): 70-77.
- 何家苑, 施之新, 张银华, 等, 1999. 一种棕囊藻的形态特征与毒素分析[J]. 海洋与湖沼, 30(2): 172-179.
- 沈萍萍, 齐雨藻, 2021. 棕囊藻属(*Phaeocystis*)的种多样性及地理分布特征研究进展[J]. 海洋与湖沼, 52(1): 1-15.
- 沈萍萍, 齐雨藻, 欧林坚, 2018. 中国沿海球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)的分类、分布及其藻华[J]. 海洋科学, 42(10): 146-162.
- 陈菊芳, 徐宁, 江天久, 等, 1999. 中国赤潮新记录种——球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa*)[J]. 暨南大学学报(自然科学版), 20(3): 124-129.
- 贺成, 宋书群, 李才文, 2019. 广西北部湾海域球形棕囊藻囊体时空分布及其影响因素[J]. 海洋与湖沼, 50(3): 630-643.
- 徐宁, 齐雨藻, 陈菊芳, 等, 2003. 球形棕囊藻(*Phaeocystis globosa* Scherffel)赤潮成因分析[J]. 环境科学学报, 23(1): 113-118.
- 曹西华, 俞志明, 邱丽霞, 2017. 改性黏土法消除球形棕囊藻赤潮的现场实验与效果评估[J]. 海洋与湖沼, 48(4): 753-759.
- 屠建波, 张秋丰, 徐玉山, 等, 2011. 渤海湾天津近岸海域首次棕囊藻赤潮初探[J]. 海洋通报, 30(3): 334-337.
- ANTAJAN E, CHRÉTIENNOT-DINET M J, LEBLANC C, *et al*, 2004. 19'-hexanoyloxyfucoxanthin may not be the appropriate pigment to trace occurrence and fate of *Phaeocystis*: the case of *P. globosa* in Belgian coastal waters [J]. Journal of Sea Research, 52(3): 165-177.
- BEGON M, TOWNSEND C R, HARPER J L, 2005. Ecology: From Individuals to Ecosystems [M]. 4th ed. Oxford: Wiley-Blackwell.
- BUMA A G J, BANO N, VELDHUIS M J W, *et al*, 1991. Comparison of the pigmentation of two strains of the prymnesiophyte *Phaeocystis* sp. [J]. Netherlands Journal of Sea Research, 27(2): 173-182.
- CHARLSON R J, LOVELOCK J E, ANDREAE M O, *et al*, 1987.

- Oceanic phytoplankton, atmospheric sulphur, cloud albedo and climate [J]. *Nature*, 326(6114): 655-661.
- CHEN Y Q, SHAO P, WANG N, *et al*, 2003. Molecular identification of bloom-forming species *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyta) and its dispersal based on rDNA ITS sequence analysis [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 22(2): 243-253.
- DITULLIO G R, GARCIA N, RISEMAN S F, *et al*, 2007. Effects of iron concentration on pigment composition in *Phaeocystis antarctica* grown at low irradiance [J]. *Biogeochemistry*, 83(1/2/3): 71-81.
- HAI D N, LAM N N, DIPPNER J W, 2010. Development of *Phaeocystis globosa* blooms in the upwelling waters of the South Central coast of Viet Nam [J]. *Journal of Marine Systems*, 83(3/4): 253-261.
- KALYAANAMOORTHY S, MINH B Q, WONG T K F, *et al*, 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates [J]. *Nature Methods*, 14(6): 587-589.
- KONG F Z, YU R C, ZHANG Q C, *et al*, 2012. Pigment characterization for the 2011 bloom in Qinhuangdao implicated "brown tide" events in China [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 30(3): 361-370.
- KUMAR S, STECHER G, LI M, *et al*, 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547-1549.
- LANCELOT C, GYPENS N, BILLEN G, *et al*, 2007. Testing an integrated river-ocean mathematical tool for linking marine eutrophication to land use: the *Phaeocystis*-dominated Belgian coastal zone (Southern North Sea) over the past 50 years [J]. *Journal of Marine Systems*, 64(1/2/3/4): 216-228.
- LANCELOT C, ROUSSEAU V, GYPENS N, 2009. Ecologically based indicators for *Phaeocystis* disturbance in eutrophied Belgian coastal waters (Southern North Sea) based on field observations and ecological modelling [J]. *Journal of Sea Research*, 61(1/2): 44-49.
- LANGE M, CHEN Y Q, MEDLIN L K, 2002. Molecular genetic delineation of *Phaeocystis* species (Prymnesiophyceae) using coding and non-coding regions of nuclear and plastid genomes [J]. *European Journal of Phycology*, 37(1): 77-92.
- MADHUPRATAP M, SAWANT S, GAUNS M, 2000. A first report on a bloom of the marine prymnesiophycean, *Phaeocystis globosa* from the Arabian Sea [J]. *Oceanologica Acta*, 23(1): 83-90.
- MEDLIN L, ZINGONE A, 2007. A taxonomic review of the genus *Phaeocystis* [J]. *Biogeochemistry*, 83(1/2/3): 3-18.
- NIU Z, LIU C, ZHANG Q C, *et al*, 2022. Development of sensitive genotype-specific quantitative polymerase chain reaction methods for detection of *Phaeocystis globosa* in the South China Sea [J]. *Limnology and Oceanography: Methods*, 20(3): 131-145.
- QI Y Z, CHEN J F, WANG Z H, *et al*, 2004. Some observations on harmful algal bloom (HAB) events along the coast of Guangdong, southern China in 1998 [J]. *Hydrobiologia*, 512(1/2/3): 209-214.
- RONQUIST F, TESLENKO M, VAN DER MARK P, *et al*, 2012. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. *Systematic Biology*, 61(3): 539-542.
- ROUSSEAU V, MATHOT S, LANCELOT C, 1990. Calculating carbon biomass of *Phaeocystis* sp. from microscopic observations [J]. *Marine Biology*, 107(2): 305-314.
- SAZHIN A F, ARTIGAS L F, NEJSTGAARD J C, *et al*, 2007. The colonization of two *Phaeocystis* species (Prymnesiophyceae) by pennate diatoms and other protists: a significant contribution to colony biomass [J]. *Biogeochemistry*, 83(1/2/3): 137-145.
- SCHLÜTER L, MØHLENBERG F, HAVSKUM H, *et al*, 2000. The use of phytoplankton pigments for identifying and quantifying phytoplankton groups in coastal areas: testing the influence of light and nutrients on pigment/chlorophyll *a* ratios [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 192: 49-63.
- SEOANE S, ZAPATA M, ORIVE E, 2009. Growth rates and pigment patterns of haptophytes isolated from estuarine waters [J]. *Journal of Sea Research*, 62(4): 286-294.
- SMITH D R, ARRIGO K R, ALDERKAMP A C, *et al*, 2014a. Massive difference in synonymous substitution rates among mitochondrial, plastid, and nuclear genes of *Phaeocystis* algae [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 71: 36-40.
- SMITH JR W O, LIU X, TANG K W, *et al*, 2014b. Giantism and its role in the harmful algal bloom species *Phaeocystis globosa* [J]. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 101: 95-106.
- SONG H Y, CHEN Y, GIBSON K, *et al*, 2021. High genetic diversity of the harmful algal bloom species *Phaeocystis globosa* revealed using the molecular marker *COXI* [J]. *Harmful Algae*, 107: 102065.
- SONG H Y, LIU F, LI Z L, *et al*, 2020. Development of a high-resolution molecular marker for tracking *Phaeocystis globosa* genetic diversity through comparative analysis of chloroplast genomes [J]. *Harmful Algae*, 99: 101911.
- TANG K W, 2003. Grazing and colony size development in *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae): the role of a chemical signal [J]. *Journal of Plankton Research*, 25(7): 831-842.
- TURESSON G, 1922. The genotypical response of the plant species to the habitat [J]. *Hereditas*, 3(3): 211-350.
- VAN LEEUWE M A, STEFELS J, 1998. Effects of iron and light stress on the biochemical composition of Antarctic *Phaeocystis* sp. (Prymnesiophyceae). II. Pigment composition [J]. *Journal of Phycology*, 34(3): 496-503.
- VAN LEEUWE M A, VISSER R J W, STEFELS J, 2014. The pigment composition of *Phaeocystis antarctica* (Haptophyceae) under various conditions of light, temperature, salinity, and iron [J]. *Journal of Phycology*, 50(6): 1070-1080.
- VAN RIJSEL M, HAMM C, GIESKES W, 1997. *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) colonies: hollow structures built with small amounts of polysaccharides [J]. *European Journal of Phycology*, 32(2): 185-192.
- VAULOT D, BIRRIEN J L, MARIE D, *et al*, 1994. Morphology, ploidy, pigment composition, and genome size of cultured strains of *Phaeocystis* (Prymnesiophyceae) [J]. *Journal of Phycology*, 30(6): 1022-1035.
- WANG J X, KONG F Z, GENG H X, *et al*, 2022. Pigment characterization of the giant-colony-forming haptophyte *Phaeocystis globosa* in the Beibu Gulf reveals blooms of different origins [J]. *Applied and Environmental*

- Microbiology, 88(4): e0165421.
- WANG X D, SONG H Y, WANG Y, *et al*, 2021. Research on the biology and ecology of the harmful algal bloom species *Phaeocystis globosa* in China: progresses in the last 20 years [J]. Harmful Algae, 107: 102057.
- WANG X D, TANG K W, WANG Y, *et al*, 2010. Temperature effects on growth, colony development and carbon partitioning in three *Phaeocystis* species [J]. Aquatic Biology, 9(3): 239-249.
- WANG X D, WANG Y, SMITH W O, 2011. The role of nitrogen on the growth and colony development of *Phaeocystis globosa* (Prymnesiophyceae) [J]. European Journal of Phycology, 46(3): 305-314.
- WASSMANN P, RATKOVA T, REIGSTAD M, 2005. The contribution of single and colonial cells of *Phaeocystis pouchetii* to spring and summer blooms in the north-eastern North Atlantic [J]. Harmful Algae, 4(5): 823-840.
- WHIPPLE S J, PATTEN B C, VERITY P G, 2005. Life cycle of the marine alga *Phaeocystis*: a conceptual model to summarize literature and guide research [J]. Journal of Marine Systems, 57(1/2): 83-110.
- WINNEPENINCKX B, BACKELJAU T, DEWACHTER R, 1993. Extraction of high molecular weight DNA from molluscs [J]. Trends in Genetics, 9(12): 407.
- YU Z M, SONG X X, CAO X H, *et al*, 2017. Mitigation of harmful algal blooms using modified clays: theory, mechanisms, and applications [J]. Harmful Algae, 69: 48-64.
- ZAPATA M, JEFFREY S W, WRIGHT S W, *et al*, 2004. Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of Haptophyta: implications for oceanography and chemotaxonomy [J]. Marine Ecology Progress Series, 270: 83-102.
- ZAPATA M, RODRÍGUEZ F, GARRIDO J L, 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C₈ column and pyridine-containing mobile phases [J]. Marine Ecology Progress Series, 195: 29-45.
- ZHANG Q C, NIU Z, WANG J X, *et al*, 2021. Development of high-resolution chloroplast markers for intraspecific phylogeographic studies of *Phaeocystis globosa* [J]. Journal of Oceanology and Limnology, 39(2): 508-524.
- ZHANG Q C, LIU C, WANG J X, *et al*, 2022. Intense blooms of *Phaeocystis globosa* in the South China Sea are caused by a unique “giant-colony” ecotype [J]. Harmful Algae, 114: 102227.

FIRST REPORT OF *PHAEOCYSTIS GLOBOSA* BLOOM CAUSED BY “GIANT-COLONY” ECOTYPE IN THE SOUTH YELLOW SEA

ZHANG Qing-Chun^{1,2,4}, XIANG Ling^{1,3}, WANG Jin-Xiu^{1,3}, LIU Yang^{1,5}, SONG Min-Jie^{1,3}, WANG Yun-Feng^{1,2,4}, KONG Fan-Zhou^{1,2,4}, GENG Hui-Xia^{1,2,4}, YAN Tian^{1,2,4}, YU Ren-Cheng^{1,2,3,4}

(1. CAS Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 5. Qingdao University of Science & Technology, Qingdao 266045, China)

Abstract *Phaeocystis globosa*, an important causative species of harmful algal blooms worldwide, exhibits varying morphological and physiological features and high genetic diversity. The bloom-forming *P. globosa* in the South China Sea (SCS) is proposed to be a unique “giant-colony” ecotype, which features giant colonies and possesses 19'-butanoyloxyfucoxanthin (But-fuco) as its diagnostic pigment, and is genetically distinct from other strains of *P. globosa*. *P. globosa* blooms occur frequently in the SCS, as well as several times in the Bohai Sea and the North Yellow Sea, but never in the South Yellow Sea (SYS). A *P. globosa* bloom broke out in the coastal waters of Qingdao from late November to early December, 2021. During the bloom, it was found that the surface temperature ranged 12~14 °C, and exhibited high DON (dissolved organic nitrogen) content and low DIN (dissolved inorganic nitrogen) content in the Qingdao coastal waters. The colony abundance was more than 20 colonies/L with the maximum diameter of 18 mm. The sampled colonies from the Qingdao coastal waters contained a unique diagnostic pigment But-fuco, and belonged to the same genetic clade of “giant-colony” ecotype of *P. globosa* distributed in the SCS. This study firstly reported that the *P. globosa* bloom in the SYS caused by the “giant-colony” ecotype. The “giant-colony” *P. globosa* bloom may threaten local plankton ecosystem, aquaculture, and coastal nuclear power plant. Therefore, it is our key task to detect and monitor *P. globosa* blooms, and study the mechanism of its occurrence in the northern waters of China.

Key words *Phaeocystis globosa*; “giant-colony” ecotype; harmful algal bloom (HAB); South Yellow Sea