

环境因子对 2 种南极绿藻脂肪含量和脂肪酸组成的影响

缪锦来¹, 王波², 阚光锋^{1,2}, 丁燊^{1,2}, 姜英辉¹, 侯旭光³, 李光友¹

(1. 国家海洋局海洋生物活性物质重点实验室, 山东青岛 266061; 2. 中国海洋大学生命学院, 山东青岛 266003; 3. 山东大学生命学院, 山东济南 250100)

摘要:通过气相色谱方法对南极冰藻的脂肪酸进行了分析, 发现环境因素对 2 种绿藻总脂含量有一定的影响: (1) 温度对 *Pyramidomonas* sp. 总脂含量影响不大, 一般为 8.3% ~ 8.9%, *Chlorophyceae* L-4 在 2℃ 时的总脂含量最高为 10.33%; (2) 光强显著地影响这 2 种绿藻脂肪在细胞内的积累。随着光强由限制生长的 39 lx 增加到 3 900 lx, 2 种绿藻的脂肪酸含量降低; (3) 盐度的提高有利于 2 种绿藻脂肪的积累; (4) 营养盐的限制也利于 2 种绿藻脂肪的积累。在氮源缺乏条件下, *Pyramidomonas* sp. 和 *Chlorophyceae* L-4 细胞内脂肪大量积累, 含量分别是以 NH_4Cl 为氮源的 2.2 和 3.2 倍。环境因素对 2 种绿藻脂肪酸组成和含量的影响不同, 其脂肪含量的改变反映了南极冰藻生长的改变。环境因子能够影响这 2 种绿藻的脂肪含量, 同样也影响到它们的生长。在适合南极冰藻生长的条件下, 脂肪酸积累降低; 反之, 在南极冰藻生长受到限制的情况下, 脂肪合成增加。这表明 2 种绿藻的脂肪含量随生存环境的变化而变化。环境因子同样影响到 2 种绿藻的脂肪酸组成, 尤其是不饱和脂肪酸的组成和含量, 但组成和其生长不存在相关性。环境因子(温度、光强、盐度和营养盐)对 2 种绿藻脂肪酸的测定结果表明, 在 2 种绿藻中, 多不饱和脂肪酸的含量高于单不饱和脂肪酸和饱和脂肪酸。因此, 这 2 种绿藻可望为多不饱和脂肪酸的开发利用提供藻种资源。

关键词: 南极冰藻; 绿藻; 脂肪酸; 环境因子

中图分类号: Q179 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2005)01-0004-08

极地环境中, 脂肪酸的堆积在生物的生存策略中发挥了极其重要的作用。生物的脂肪酸含量受生物学和非生物学因素的影响变化很大, 如低光照、低温度和营养盐限制等^[1]。目前脂肪酸的一些研究主要集中在碳同化的生化途径和脂肪酸的生物合成等方面^[2,3], 环境条件对南极冰藻脂肪酸积累的影响报道很少。

目前, 虽然没有充分的证据表明某些特定脂肪酸的含量和组成是南极冰藻对极地环境的适应, 但通过分析南极冰藻的脂肪酸组成, 尤其是环境条件变化对绿藻脂肪含量和组成的影响, 不仅可以更好地了解脂肪酸组成在南极冰藻环境适应中的作用, 而且可以获得较高含量的、具有生理活性的多不饱和脂肪酸。本研究主要是报告环境变化同 2 种绿藻脂肪含量和脂肪酸组成的关系, 以探讨南极冰藻中单细胞绿藻的脂肪酸组成特征及其同环境的适应性, 同时也为开发利用这 2 种绿藻的不饱和脂肪酸提供基础。

1 材料与方法

1.1 藻种和培养

2 种绿藻 *Pyramidomonas* sp. 和 *Chlorophyceae* L-4 为本实验室分离保存。培养采用 f/2 培养基, 温度 0~6℃, 光强 1300~1900 lx, 光照周期 (H:D) 为 12/12, 不充气, 每日摇动 3 次。接种量为 20%。

1.2 测定方法

1.2.1 粗脂含量测定

分光光度法测定: (1) 粗脂提取: 收集一定量的

收稿日期: 2003-09-21; 修回日期: 2004-01-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40206022, 40406003)
作者简介: 缪锦来(1968-), 男, 江西全南人, 博士, 研究员, 主要从事海洋极端环境生物活性物质的研究, E-mail: miaojinlai@163.com

藻液, 4 000 r/min 离心 5 min, 去上清液, 1.6 mL 的蒸馏水重新悬浮, 加入 6 mL 甲醇-氯仿混合液(2:1, 体积分数)振荡提取 2 h。(2)含量测定:取 0.5 mL 粗脂氯仿提取液至长试管中, 加浓硫酸 0.5 mL, 100℃加热 10 min, 冷却至室温后加入香草醛试剂, 反应 1~2 h, 528 nm 比色。亚油酸作标准曲线:

$$y = 0.0215W - 0.0443 \quad r^2 = 0.9881$$

式中: y 为 528 nm 处的吸光度, W 为脂肪酸质量(单位为 μg)

1.2.2 脂肪酸分析

(1) 样品处理: 将按上述方法制得的藻泥, 加入 80 μL 内标和 1 mL 的 KOH-CH₃OH 溶液, 充氮气保护, 于 75℃水浴皂化甲酯化 10 min, 冷却后加入 2 mL 的 1 mol/L 的 HCl-CH₃OH 溶液(使 pH \leq 2), 振荡 1 min; 75℃水浴酸化 10 min; 冷却后加 0.5 mL 石油醚, 振荡, 分离提取脂肪酸, 加入少许蒸馏水分层, 振荡后离心, 取上层石油醚相进行色谱分析。(2) 气相色谱条件: 采用 GC112 型色谱仪。色谱柱为 HP-WAX 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm 。进样温度为 250℃, 柱温为 195℃。检测温度为 260℃。载气为高纯氮, 流速 3 mL/min, 进样量 1~1.5 μL 。

1.3 环境对 2 种绿藻总脂含量和脂肪酸组成的影响

(1) 温度分别为 -4~-2、2、6、10℃;(2) 设定光强梯度为 39、195、455、1 300、3 900 lx;(3) 通过添加蒸馏水和粗盐调节天然海水的盐度, 用盐度计检测, 得到盐度分别为 11、22、33、66、100、150 的海水, 配成 f/2 培养基。(4) 以 f/2 培养基为基础, 只改变氮源的种类, 不改变氮源的浓度。分别选择 NaNO₃(1.5 g)、NH₄Cl (0.944 g)、尿素(1.06 g)配成 20 mL 储备液, 设无氮源培养基为对照。

2 结果

2.1 不同温度对 2 种绿藻总脂含量和脂肪酸组成的影响

测定表明, 温度对 2 种绿藻总脂含量的影响不同(图 1)。-4~10℃范围内, *Pyramidomonas* sp. 总脂含量在 8.3%~8.9% 之间, 影响不大, 但对 *Chlorophyceae* L-4 影响显著。随温度下降, 总脂含量由 10℃时的 8.6% 上升到 2℃时的 10.33%; 但随着温度降至 -2℃, 总脂含量则下降至最低 7.60%。因此, *Chlorophyceae* L-4 在 2℃更容易积累脂肪。

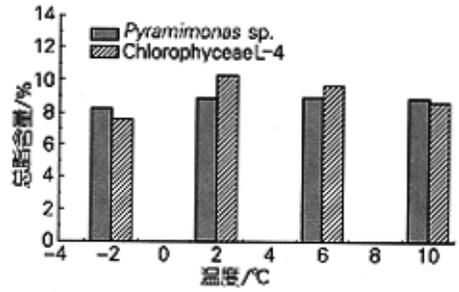


图 1 温度对 2 种绿藻总脂含量的影响

Fig. 1 Effect of temperature on lipid contents of *Pyramidomonas* sp. and *Chlorophyceae* L-4

温度对 *Pyramidomonas* sp. 的脂肪酸组成的影响见表 1。由表可以看出, 2~10℃范围内, 饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸含量均呈上升趋势, 单不饱和脂肪酸的含量逐渐下降, 但三者的变化幅度均不大。在最低温度(-4~-2℃)时, 饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸的含量均是最低值(分别为 21.04% 和 23.71%), 而多不饱和脂肪酸的含量达最高值 53.66%。低温(-4~-2℃)和高温(10℃)下多不饱和脂肪酸的含量均高

表 1 温度对 *Pyramidomonas* sp. 脂肪酸组成的影响(相对含量, %)

Tab.1 Effect of temperature on fatty acid composition and contents(%) of *Pyramidomonas* sp.

脂肪酸	温度(°C)			
	-4~-2	2	6	10
C12:0	0.68	0.56	-	-
C14:1	1.71	2.65	1.54	1.47
C16:0	20.36	20.88	23.96	22.78
C16:1	3.55	2.96	2.06	2.12
C16:2	2.97	0.62	1.08	0.94
C16:3	0.71	0.62	1.45	1.65
C16:4	16.64	14.84	11.53	11.58
C18:1	9.77	11.00	11.15	10.19
C18:2	2.09	2.95	4.19	4.47
C18:3	12.54	14.43	17.96	22.26
C20:1	8.68	16.63	10.78	9.31
C20:2	8.52	2.06	2.01	1.39
C20:4	0.42	0.52	1.82	1.40
C20:5	3.54	2.00	0.70	0.99
C22:5	1.27	1.86	3.59	3.59
C22:6	4.96	4.40	4.80	4.90
其它	1.59	0.02	1.39	0.96
∑SFA	21.04	21.44	23.96	22.78
∑MUFA	23.71	33.24	25.53	23.09
∑PUFA	53.66	45.30	49.12	53.17

于 2℃和 6℃, 并且 4 种温度下多不饱和脂肪酸的含量远远高于另 2 种脂肪酸的含量。C16:4 和 C18:3 是 2 种含量最高的多不饱和脂肪酸, 随着温度的升高, C16:4 的含量下降而 C18:3 上升, 低温有利于短链不饱和脂肪酸的增加。

温度对 Chlorophyceae L-4 脂肪酸组成也有一定影响(表 2)。2~10℃范围内, 饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸基本呈下降趋势, 多不饱和脂肪酸呈上升趋势, 但三者的变化幅度均不大。低温(-4~-2℃)时, 饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸的含量很低, 分别只有 13.73% 和 11.92%, 而多不饱和脂肪酸的含量达 74.06%。在低温(-4~-2℃)和高温(10℃)下, 多不饱和脂肪酸的含量均高于其他两种温度, 并且 4 种温度下, 其含量在 70.52%~74.06%之内, 远远高于另 2 种脂肪酸的含量。C16:3, C16:4 和 C18:3 是 Chlorophyceae L-4 的主要的多不饱和脂肪酸。在 -4~-2℃时, C16:3 大部分去饱和使 C16:4 的含量上升至 37.96%, 远远高于其它温度的 C16:4 的含量。

表 2 温度对 ChlorophyceaeL-4 脂肪酸组成的影响(相对含量, %)

Tab.2 Effect of temperature on fatty acid composition and contents(%) of ChlorophyceaeL-4

脂肪酸	温度(℃)			
	-4~-2	2	6	10
C12:0	0.94	0.58	0.52	0.50
C14:0	-	0.38	0.30	0.23
C14:1	1.15	1.57	1.38	1.30
C16:0	12.79	14.83	14.65	13.64
C16:1	3.15	1.60	1.56	1.41
C16:2	7.37	1.25	1.08	0.94
C16:3	0.61	22.45	15.80	12.80
C16:4	37.96	20.09	24.96	30.31
C18:1	7.21	9.19	8.47	8.50
C18:2	7.35	9.37	8.10	7.47
C18:3	19.74	16.80	19.22	19.40
C20:1	0.41	0.65	0.10	0.22
C20:4	1.03	0.22	1.49	1.36
C20:5	-	0.34	0.49	0.53
其它	0.29	0.68	1.88	1.39
∑SFA	13.73	15.79	15.47	14.37
∑MUFA	11.92	13.01	11.51	11.43
∑PUFA	74.06	70.52	71.14	72.81

2.2 不同光强对 2 种绿藻总脂含量和脂肪酸组成的影响

不同光强对 2 种绿藻总脂含量的影响见图 2。由图可以看出, 光强从 39 lx 提高到 3 900 lx, *Pyramidomonas* sp. 的总脂含量由 14.17% 下降到 5.94%, Chlorophyceae L-4 由 14.17% 下降到 3.40%, 并且在最低光强(39 lx)下, 总脂含量达最高值。

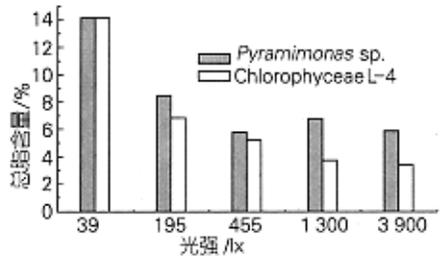


图 2 光强对 2 种绿藻总脂含量的影响

Fig.2 Effect of irradiance on lipid contents of *Pyramidomonas* sp. and ChlorophyceaeL-4

光强对 *Pyramidomonas* sp. 脂肪酸组成的影响见表 3。*Pyramidomonas* sp. 中饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸在 3 900 lx 时分别达最大值 25.04% 和 29.36%; 多不饱和脂肪酸则在 455 lx 时达到最大值 55.70%。4 种光强下, 多不饱和脂肪酸的含量为 43.04%~55.70%, 远远高于另 2 种脂肪酸。光强从最适生长的 3 900 lx 降至 195 lx, 多不饱和脂肪酸 C20:4 由 3.01% 上升到 17%。光强为 3 900 lx 时, C16:4 获最大值 16.2%, 光强为 455 lx 时 C18:3 含量最高, C22:6 为 1 300 lx 含量最高。

光强对 Chlorophyceae L-4 的脂肪酸组成的影响见表 4。与 *Pyramidomonas* sp. 不同, 4 种光强下, 3 种脂肪酸含量变化均不大, 其中多不饱和脂肪酸含量在 67.32%~75.92% 之间, 远远高于另外 2 种。降低光强, Chlorophyceae L-4 的饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸含量上升, 多不饱和脂肪酸含量下降, 光强为 3 900 lx 时, 多不饱和脂肪酸为最大值(75.92%), 光强的降低导致脂肪酸饱和度的增加。195 lx 为 Chlorophyceae L-4 生长的最低光强, C16:3 的去饱和使 C16:4 含量上升至 32.35%, C16:3 的含量仅为 4.4%; 而其它光强下 C16:4 的含量为 25.23%~25.72%, C16:3 的含量为 17.83%~21.69%, C18:3 的最大值(25.77%)是在光强为 195 lx 下获得的。

表 3 光强对 *Pyramidomonas* sp. 脂肪酸组成的影响(相对含量, %))

Tab. 3 Effect of light on fatty acid composition and contents (%) of *Pyramidomonas* sp.

脂肪酸	光强(lx)			
	195	455	1 300	3 900
C12 :0	2.16	1.21	0.91	1.12
C14 :0	-	0.42	-	0.28
C14 :1	1.42	2.45	1.08	2.89
C16 :0	18.29	18.73	23.43	23.64
C16 :1	5.34	1.37	1.74	0.97
C16 :2	2.17	2.17	1.19	1.75
C16 :3	1.30	0.61	0.99	0.92
C16 :4	13.20	15.56	12.01	16.20
C18 :1	9.32	11.40	8.87	7.63
C18 :2	4.37	2.83	4.84	0.47
C18 :3	13.29	18.00	16.80	10.47
C20 :1	8.48	8.12	10.95	17.87
C20 :2	-	-	1.49	3.15
C20 :4	17.00	10.00	3.35	3.01
C22 :5	-	1.35	3.16	1.54
C22 :6	2.75	5.18	7.84	5.53
其它	0.91	0.60	1.35	2.56
∑SFA	20.45	20.36	24.34	25.04
∑MUFA	24.56	23.34	22.64	29.36
∑PUFA	54.08	55.70	51.67	43.04

表 4 光强对 *Chlorophyceae* L-4 脂肪酸组成的影响(相对含量, %))

Tab. 4 Effect of light on fatty acid composition and contents (%) of *Chlorophyceae*L-4

脂肪酸	光强(lx)			
	195	455	1 300	3 900
C12 :0	0.59	0.75	0.79	1.12
C14 :0	0.75	0.70	0.25	0.56
C14 :1	3.15	2.87	1.85	1.42
C16 :0	14.69	14.15	12.37	11.94
C16 :1	2.55	2.19	2.06	1.47
C16 :2	0.44	0.91	1.14	1.27
C16 :3	4.40	17.83	19.52	21.69
C16 :4	32.35	25.28	25.72	25.23
C18 :1	5.45	7.31	7.53	7.57
C18 :2	3.85	8.34	9.45	9.27
C18 :3	25.77	12.50	17.11	14.11
C20 :1	2.31	0.82	0.71	-
C20 :4	3.05	2.46	1.43	4.35
其它	0.65	3.89	0	0
∑SFA	16.03	15.60	13.41	13.62
∑MUFA	13.46	13.19	12.22	10.46
∑PUFA	69.86	67.32	74.37	75.92

2.3 不同盐度对 2 种绿藻总脂含量和脂肪酸组成的影响

盐度对 *Pyramidomonas* sp. 和 *Chlorophyceae* L-4 的脂肪含量有一定影响(图 3)。随着盐度的提高, *Pyramidomonas* sp. 的总脂含量由 10.17% 上升到 25.92%。*Chlorophyceae* L-4 在盐度为 22~33 时的总脂含量最低, 仅为 6% 左右。随盐度降低, 总脂含量反而上升至 7.3%, 盐度增加至 150 时, 总脂含量提高约一倍。

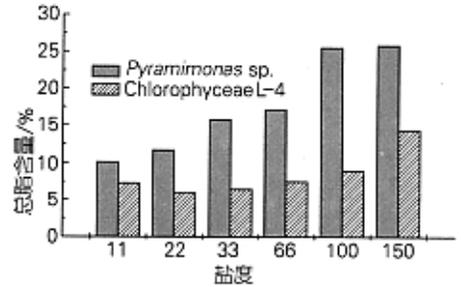


图 3 盐度对 2 种绿藻总脂含量的影响

Fig. 3 Effect of salinity on lipid contents of *Pyramidomonas* sp. and *Chlorophyceae* L-4

盐度对 *Pyramidomonas* sp. 脂肪酸组成的影响见表 5。*Pyramidomonas* sp. 的饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸的最高含量分别是在盐度为 66, 100 和 22 下获得的。5 种盐度下, 3 种脂肪酸含量的变化幅度不大, 多不饱和脂肪酸的含量 (41.99%~52.70%) 高于另外 2 种。随着盐度的下降, C18: 3 和 C20: 4 的含量上升, 盐度为 11 时分别达到最大值 24.26% 和 4.59%; 此时 C16: 4 的含量也达最大值 12.29%。

随盐度的增加, *Chlorophyceae* L-4 饱和脂肪酸和单不饱和脂肪酸的含量均增加, 150 时达到最大值; 多不饱和脂肪酸的含量降低, 盐度为 22 时为最大值 (78.22%)。6 种盐度下, 多不饱和脂肪酸的含量为 63.84%~78.22%, 远远高于另外 2 种脂肪酸。其中 66 和 100 盐度下 C16: 4 和 C18: 3 含量分别达最大值 (表 6)。

2.4 不同氮源对 2 种绿藻总脂含量和脂肪酸组成的影响

不同氮源对总脂含量的影响显著(图 4)。以 NH_4Cl 为氮源时, *Pyramidomonas* sp. 和 *Chlorophyceae* L-4 的总脂含量最低, 其次为 NaNO_3 和尿素。无氮培养条件下总脂含量显著提高, 分别是以 NH_4Cl 为氮源的

表 5 盐度对 *Pyramidomonas* sp. 脂肪酸组成的影响(相对含量,%)

Tab.5 Effect of salinity on fatty acid composition and contents(%) of *Pyramidomonas* sp.

脂肪酸	盐度				
	11	22	33	66	100
C12:0	0.86	0.28	0.54	0.15	-
C14:1	1.13	0.59	0.79	1.28	0.46
C16:0	21.50	25.59	25.10	32.98	31.70
C16:1	2.63	2.78	3.55	2.27	0.34
C16:2	0.34	0.64	1.42	2.22	0.68
C16:3	1.55	1.20	2.09	1.51	1.15
C16:4	12.29	10.64	10.40	11.26	10.57
C18:1	5.45	11.03	11.57	8.57	12.56
C18:2	5.79	11.91	10.24	4.01	5.91
C18:3	24.26	22.83	21.69	19.86	18.91
C20:1	11.74	5.60	7.08	11.98	12.74
C20:2	0.58	-	0.34	0.85	2.61
C20:4	4.59	3.68	2.32	1.04	1.22
C22:5	0.28	0.65	-	-	-
C22:6	1.62	1.15	1.22	1.15	1.15
其它	5.39	1.43	1.65	0.78	0
∑SFA	22.36	25.87	25.64	33.13	31.70
∑MUFA	20.95	20.00	22.99	24.10	26.10
∑PUFA	51.30	52.70	49.72	41.99	42.20

表 6 盐度对 *Chlorophyceae* L-4 脂肪酸组成的影响(相对含量,%)

Tab.6 Effect of salinity on fatty acid composition and contents(%) of *Chlorophyceae* L-4

脂肪酸	盐度					
	11	22	33	66	100	150
C12:0	0.42	0.56	0.85	1.32	0.63	0.38
C14:0	0.23	0.30	0.27	0.46	0.32	0.22
C14:1	0.55	0.38	0.45	0.38	0.56	0.51
C16:0	11.33	10.92	11.28	11.73	13.48	19.32
C16:1	1.08	1.16	1.18	1.19	1.00	-
C16:2	0.44	0.41	0.38	0.52	0.42	-
C16:3	22.42	23.45	22.52	25.01	19.85	12.22
C16:4	24.00	24.21	24.96	21.90	24.96	21.57
C18:1	7.84	7.98	8.42	8.27	8.54	15.71
C18:2	10.67	11.66	10.74	8.99	9.97	9.60
C18:3	18.52	17.33	17.99	13.57	19.29	18.07
C20:1	0.44	0.33	0.17	-	0.37	-
C20:4	1.96	1.16	0.77	1.97	0.60	2.38
∑SFA	11.98	11.78	12.40	13.51	14.43	19.92
∑MUFA	9.91	9.85	10.22	9.84	10.47	16.22
∑PUFA	78.01	78.22	77.36	71.96	75.09	63.84

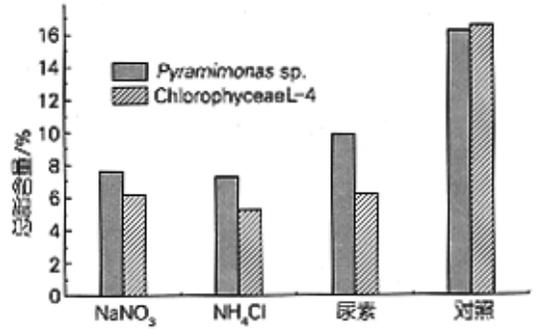


图 4 氮源对 2 种绿藻藻总脂含量的影响

Fig.4 Effect of nitrogen on lipid contents of *Pyramidomonas* sp. and *Chlorophyceae* L-4

2.2 和 3.2 倍。

由表 7 可得,4 种不同处理对 *Pyramidomonas* sp. 脂肪酸的组成影响不同。以尿素为氮源时,饱和脂肪酸含量最高(29.68%);以 NH_4Cl 为氮源时,单不饱和脂肪酸的含量最高,为 34.36%;无氮对照的多不饱和脂肪酸含量最高,为 53.55%;以硝氮为氮源时,C16:4 的含量为最大值(17.76%)C18:3 和 C20:4 的最大值分别以铵氮为氮源和无氮的条件下获得的。

3 种氮源和无氮对照对 *Chlorophyceae* L-4 饱和

表 7 氮源对 *Pyramidomonas* sp. 脂肪酸组成的影响(相对含量,%)

Tab.7 Effect of nitrogen on fatty acid composition and contents(%) of *Pyramidomonas* sp.

脂肪酸	氮源			
	NaNO_3	NH_4Cl	尿素	对照
C12:0	0.42	0.57	0.68	0.22
C14:1	1.66	1.12	0.72	-
C16:0	20.53	20.98	29.00	19.70
C16:1	7.67	9.03	1.10	11.32
C16:2	0.76	0.83	0.69	0.51
C16:3	1.83	2.74	1.00	2.12
C16:4	17.76	14.35	10.67	10.13
C18:1	7.70	8.32	9.63	12.34
C18:2	2.43	4.16	4.57	7.13
C18:3	14.52	18.50	13.09	8.39
C20:1	15.40	15.89	7.57	3.36
C20:4	8.30	2.43	21.28	24.29
其它	1.02	1.08	0	0
∑SFA	20.95	21.55	29.68	19.92
∑MUFA	32.43	34.36	19.02	27.02
∑PUFA	45.60	43.01	51.30	53.06

脂肪酸和多不饱和脂肪酸含量影响不显著(表 8)。其中,多不饱和脂肪酸 C16:3、C16:4 和 C18:3 的含量均较高。以 NaNO_3 为氮源, C16:4 和 C20:4 的含量最高,分别为 37.28% 和 5%; C18:3 含量最高(17.24%)是采用 NH_4Cl 为氮源获得的;无氮培养时 C16:3 的含量最高,为 28.37%。

表 8 氮源对 Chlorophyceae L-4 脂肪酸组成的影响(相对含量,%)

Tab. 8 Effect of nitrogen on fatty acid composition and contents(%) of Chlorophyceae L-4

脂肪酸	氮源			
	NaNO_3	NH_4Cl	尿素	对照
C12:0	0.56	0.21	-	-
C14:0	0.31	0.53	0.89	1.44
C14:1	0.45	0.29	0.18	
C16:0	12.20	14.03	9.91	9.64
C16:1	1.96	0.32	1.02	0.64
C16:2	0.81	0.48	-	-
C16:3	14.24	17.48	20.70	28.37
C16:4	37.28	32.16	23.50	21.59
C18:1	4.84	5.79	9.57	8.72
C18:2	2.90	7.67	12.54	12.71
C18:3	14.60	17.24	15.28	14.66
C20:1	0.23	0.28	0.07	-
C20:4	5.00	3.52	0.96	2.22
其它	4.62	0	5.38	0.01
ΣSFA	13.07	14.77	10.80	11.08
ΣMUFA	7.48	6.68	10.84	9.36
ΣPUFA	74.83	78.55	72.98	79.55

3 讨论与结语

3.1 温度与 2 种绿藻脂肪积累和脂肪酸组成的关系

作者从不同的环境条件(温度、光强、盐度和氮源等)分析 2 种绿藻总脂含量和脂肪酸组成的变化,进一步探讨环境因素对其脂肪含量和脂肪酸的组成的影响。

本研究结果表明,温度与 *Pyramidomonas* sp. 总脂含量不存在相关性,而对 Chlorophyceae L-4 影响较大。2℃时 Chlorophyceae L-4 的脂肪含量最高,能够在快速生长的同时快速合成;在较低的温度条件下(如 -2℃),Chlorophyceae L-4 可通过降低胞内脂肪的储存水平来维持正常的生长。由温度对 2 种绿藻总脂含量的影响可以看出,温度对不同微藻的脂肪含量影响不同。常温微藻中也有类似的研究结果^[4]。

Palmisano 等^[5]对 3 种海冰硅藻的研究表明,随着温度和光强下降脂肪含量升高。但是,并不是所有的极地浮游植物都存在这种现象^[6]。因此,低温的条件下可能发生胞内脂肪的堆积,不同南极冰藻的脂肪积累有不同的最适温度。

温度也同时影响 2 种绿藻脂肪酸的组成。2℃时,2 种绿藻的单不饱和脂肪酸达最大值,分别为 33.24% 和 13.10%;多不饱和脂肪酸含量均为最小值 45.30% 和 70.54%。不管温度上升还是下降,多不饱和脂肪酸的含量均增加,-4~-2℃下达最大值 53.94% 和 74.06%,并且 2℃也为南极冰藻生长的最适温度,此时脂肪酸的不饱和度最低,降低和提高温度都有利于多不饱和脂肪酸的积累。-4~-2℃时,*Pyramidomonas* sp. 和 Chlorophyceae L-4 的 C16:3、C16:4、C18:2 和 C18:3 的比例降至最小值,尤其是 Chlorophyceae L-4 的 C16:3 大部分去饱和,使 C16:4 的含量上升,表明在低温(-4~-2℃)下,不饱和脂肪酸去饱和程度增加。这说明,2 种绿藻的多不饱和脂肪酸含量同温度变化不存在线性关系。

温度对 *Pyramidomonas* sp. 中 C22:6 含量影响很小。C22:6 是冷水域中无脊椎动物许多膜磷脂的重要组成部分。Wiencke 等人^[7]认为,南极冰藻 *N. glaciei* 中的 C22:6 的水平虽然很低,但在对南极不良环境的适应中占有重要地位。

3.2 光强与 2 种绿藻脂肪积累和脂肪酸组成的关系

研究表明,光强显著地影响脂肪在 2 种绿藻细胞内的积累。随着光强由限制生长的 39 lx 逐渐增加到 3900 lx,2 种绿藻的总脂含量显著降低。这是因为在最适生长光强条件下,南极冰藻的比生长速度增加,光合产物用以生长所需,因此脂肪的含量较低。而随着光强的降低,2 种绿藻的生长速度降低,有限的光合作用产物分配给潜在的能量储存形式,如碳水化合物、脂肪等。Smith 等人^[8]观察到以硅藻为优势种的浮游植物样品中碳同化产物的 80% 进入脂肪组份,与本研究结果吻合。

光强对 2 种绿藻的脂肪酸组成的影响不一致。随着光强的降低,*Pyramidomonas* sp. 饱和脂肪酸含量降低,多不饱和脂肪酸含量增加;而 Chlorophyceae L-4 相反。低光强下(195 lx)Chlorophyceae L-4 中的 C16:3 去饱和,使 C16:4 含量大大增加。Otero 等^[4]认为,不同的微藻中存在不同类型的去饱和酶,这些酶的活性受光强的影响不同。例如拟微绿藻的亚麻酸(C18:3)含

量随着光强的升高而降低。*Pyramidomonas* sp. 中的 C20: 4 和 Chlorophyceae L-4 中的 C18: 3 与上述研究结果相似。

3.3 盐度与 2 种绿藻脂肪积累和脂肪酸组成的关系

本研究表明, 盐度对 2 种绿藻脂肪的积累有一定的影响。随着盐度的提高, *Pyramidomonas* sp. 总脂含量上升; 盐度为 33 ~ 150 时, Chlorophyceae L-4 总脂含量也增加, 盐度的提高有利于 2 种绿藻积累脂肪。盐度对 *Pyramidomonas* sp. 和 Chlorophyceae L-4 中脂肪酸组成的影响基本相似: 随着盐度的增加, 2 种绿藻的饱和脂肪酸增加, 多不饱和脂肪酸的含量则降低。对于 *Pyramidomonas* sp. 而言, C18: 3 和 C20: 4 的含量随着盐度的增加而降低, 盐度的增加不利于多不饱和脂肪酸的积累。

3.4 营养盐与 2 种绿藻脂肪积累和脂肪酸组成的关系

本研究表明, 在氮源缺乏的条件下, *Pyramidomonas* sp. 和 Chlorophyceae L-4 细胞内大量积累脂肪, 含量分别是以 NH_4Cl 为氮源的 2.2 和 3.2 倍。氮源的限制可以刺激细胞对脂肪酸的积累。无机营养盐限制的条件下, 南极冰藻可以积累 75% 的脂肪。春季水华末期, 在营养盐缺乏的条件下, 许多海冰底部的硅藻群落大量积累油滴颗粒^[9]。对这 2 种绿藻而言, 硝氮比铵氮有利于脂肪的积累, 有机氮源比无机氮源 (NaNO_3 和 NH_4Cl) 有利于脂肪的积累, 氮源的限制不利于脂肪的积累。

3 种氮源和无氮对照条件下脂肪酸组成的结果表明, 2 种绿藻中 C16: 4, C18: 3 和 C20: 4 的含量较高。其中 C16: 4 的含量最高, 分别为 17.76% 和 37.28%, 均是以硝氮为氮源获得的; 以铵氮为氮源, C18: 3 含量为最高, 分别为 18.50% 和 17.24%。但总的讲, 硝氮和铵氮对饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸含量的影响没有明显差异。在氮源缺乏的条件下, *Pyramidomonas* sp. 的多不饱和脂肪酸含量增加; 而 Chlorophyceae L-4 与之相反; 但 2 种绿藻饱和脂肪酸的含量均增加。因此, 无氮条件有利于 *Pyramidomonas* sp. 不饱和脂肪酸的积累, 以硝氮为氮源, 则有利于 Chlorophyceae L-4 多不饱和脂肪酸的积累。

3.5 脂肪酸的堆积在南极冰藻中的地位 and 作用

作者对 4 种南极冰藻的脂肪酸组成进行了分析, 同常温藻相比较的结果表明, 南极冰藻短链脂肪

酸的组成和含量及多不饱和脂肪酸的含量均增加, 因此, 南极冰藻脂肪酸的组成是与其低温环境下生存相适应的。

对于南极冰藻^[10]的研究表明, 脂肪的含量和组成受南极冰藻生长因素的影响。本研究 2 种绿藻的脂肪合成也受到环境因子的影响, 脂肪的含量和脂肪酸组成的改变反映了南极冰藻生长的改变。比较环境因子对 2 种绿藻生长和脂肪合成的关系, 可以看出, 在适合 2 种绿藻生长的条件下, 脂肪酸的积累降低; 反之, 脂肪的合成增加。环境因子同样影响到脂肪酸组成, 这可能同对脂肪酸的去饱和酶活性的影响有关。2 种绿藻的脂肪含量和脂肪酸组成受环境因素的影响, 在一定程度上反映了其对生存环境的适应性。

总之, 脂肪在南极冰藻群落的生理学方面扮演了重要的角色, 可能许多因素相互作用诱导脂肪的堆积, 从而增加了在长期的不适宜条件下(如结冰状态)的生存机会。因此, 冬季生存下来的南极冰藻, 在春季来临时释放到水体中, 成为春季水华的“种子”。

参考文献:

- [1] Thompson G A. Membrane acclimation by unicellular organisms in response to temperature change [J]. *J Bioenergetics Biomembranes*, 1989, 21: 43 - 46.
- [2] Lizotte M P, Sullivan C W. Biochemical composition and photosynthate distribution in the sea ice microalgae of McMurdo Sound, Antarctica: evidence for nutrient stress during the spring bloom [J]. *Antarctic Sci*, 1992, 4: 23 - 30.
- [3] Tillmann U, Baumann MEM, Aletsee L. Distribution of carbon among photosynthetic end products in the bloomforming Arctic diatom *Thalassiosira antarctica* COMBER [J]. *Polar Biol*, 1989, 10: 231 - 238.
- [4] Renaud S M, Parry D L. Effect of light intensity on the proximate biochemical and fatty acid composition of *Isochrysis* sp. and *Nannochloropsis oculata* for use in tropical aquaculture [J]. *J Appl Phycol*, 1991, 3: 43 - 53.
- [5] Palmisano A C, Sullivan C W. Physiology of sea ice diatoms. 1. Response of three polar diatoms to a simulated summer - winter transition [J]. *J Phycol*, 1982, 18: 489 - 498.
- [6] Li WKW, Platt T. Distribution of carbon among photosynthetic end - products in phytoplankton of the Eastern Canadian Arctic [J]. *J Phycol*, 1982, 18: 466.
- [7] Wiencke C, Barisch I, Bischoff B, et al. Temperature requirements and biogeography of Antarctic, Arctic and amphiequatorial sea weeds [J]. *Bot Mar*, 1994, 37:

- 247 – 259.
- [8] Smith R E H, Morris I. Synthesis of lipid during photosynthesis by phytoplankton of the southern ocean [J]. *Science*, 1980, 207:197 – 198.
- [9] Shifrin N S, Chishdm S W. Phytoplankton lipids : inter-specific differences and effects of nitrate, silicate and light – dark cycles [J]. *J Phycol*, 1981, 17:374 – 379.
- [10] Nichols P D, Palmisano A C, Rayner M S, *et al.* Change in the lipidcomposition of Antarctic sea-ice diatom communities during a spring bloom: an indication of community physiological status [J]. *Antarctic Sci*, 1989, 1: 133 – 140.

The influence of environment factors on lipid content and fatty acid composition in two species of Antarctic green microalga

MIAO Jin-lai¹, WANG Bo², KAN Guang-feng^{1,2}, DING Yu^{1,2}, JIANG Ying-hui¹, HOU Xu-guang³, LI Guang-you¹
 (1. Key Laboratory of Marine Bio-active Substances, SOA, Qingdao, 266061, China; 2. Marine Life College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 3. Life Science College, Shandong University, Jinan 250100, China)

Received: Sep.,21,2003

Key words: Antarctic ice alga ; green alga ; fatty acid ; environmental factor

Abstract : Effect of environment factors (temperature, irradiance, salinity and nutrient) on the lipid content and fatty acid composition of two species of Antarctic green microalga were investigated. The results showed that temperature had little effect on the lipid content of *Pyramidomonas* sp. while it had notable effect on Chlorophyceae L – 4, and the highest content of lipid was 10.33% under the temperature of 2°C. The lowest saturation of fatty acid of two green microalgae was reached at 2°C. With irradiance decreasing from 3 900 lx to 39 lx, the lipid content of two green microalgae increased. Regarding to the fatty acid, fatty acid saturation of *Pyramidomonas* sp. decreased and Chlorophyceae L – 4 increased when irradiance decreased. Salinity promotion and nutrient limitation favors the lipid accumulation. The PUFA content of two green microalga decreased with the salinity decreasing. And PUFA content of two green microalga increased at no nitrogen.

(本文编辑 :张培新)