

不同氮浓度条件下红色赤潮藻脂肪酸含量及组成特征*

刘云^{1,2,3} 陈田田^{1,2,3} 宋书群^{1,2,3} 李才文^{1,2,3,4}

(1. 中国科学院海洋研究所 海洋生态与环境科学重点实验室 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室 海洋生态与环境科学功能实验室 青岛 266237; 3. 中国科学院海洋大科学研究中心 青岛 266071; 4. 中国科学院大学 北京 100049)

摘要 在不同氮浓度条件下对红色赤潮藻(*Akashiwo sanguinea*)进行了一次性培养,研究了其生长过程中脂肪酸含量及组成变化。结果表明:红色赤潮藻脂肪酸含量及组成受初始氮浓度及生长阶段的影响。低氮处理组(0—25 $\mu\text{mol/L}$)脂肪酸含量[(150.02 \pm 54.84)—(166.83 \pm 46.46)mg/g dw]显著高于其他处理组($P < 0.05$), 883 $\mu\text{mol/L}$ 组最低,约为(86.70 \pm 5.66)mg/g dw;各培养组脂肪酸含量随着培养时间的延长而增加,稳定期时脂肪酸含量最高,指数生长前期含量最低。红色赤潮藻含 28 种脂肪酸,以 C16:0、C18:1、C20:5 ω 3 (EPA)和 C22:6 ω 3 (DHA)为主,且 DHA 相对含量较高,最高可占总脂肪酸含量的 30.46%。随着初始氮浓度的增加,红色赤潮藻饱和脂肪酸(SFA)和单不饱和脂肪酸(MUFA)在总脂肪酸中所占比例下降,而多不饱和脂肪酸(PUFA)所占比例升高。在红色赤潮藻生长过程中, MUFA 相对含量在稳定期时较高,而 PUFA 相对含量在指数生长前期较高。研究结果可为进一步揭示红色赤潮藻赤潮应对环境胁迫的生理响应机制提供依据。

关键词 脂肪酸; 红色赤潮藻; 氮浓度; 生长阶段

中图分类号 X55 doi: 10.11693/hyhz20181200284

微藻是海洋初级生产力的主要贡献者,是海洋中有机物的主要提供者,可以作为浮游动物、甲壳类和鱼类幼体的饵料,因此在海水养殖业中占有重要地位。海洋微藻具有合成脂肪酸的能力,其脂肪酸尤其是多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)的组成和含量通常被用作衡量其营养价值的重要指标,如 C20:5 ω 3 (EPA)和 C22:6 ω 3 (DHA)被认为是许多水产养殖生物幼体存活和发育的必需脂肪酸(Levine *et al.*, 1984; Enright *et al.*, 1986),而一些饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)和单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)则与生物体内的能量代谢、维持细胞结构、激素调节等生理过程相关(Spector, 1999)。

海洋微藻的脂肪酸组成因藻种不同而异,同一分类单元的微藻脂肪酸往往具有不同于其他分类单元的组成特征,因此,特征性脂肪酸的变化可指示水体中浮游植物的群落结构变化(Reuss *et al.*, 2002)。此外,微藻生长的环境条件(包括温度、营养盐、光照、pH 等)及生长阶段也会对其脂肪酸组成产生影响(Tzovenis *et al.*, 1997; Zhu *et al.*, 1997; Dempster *et al.*, 1998; Mansour *et al.*, 2003)。氮元素是浮游植物生长发育所必需的营养元素,参与了蛋白质、核酸等许多生物大分子的合成。已有研究表明,培养液中氮浓度能明显影响微藻中 PUFAs 的含量(曹春晖等, 2006)。

红色赤潮藻(*Akashiwo sanguinea*)是一种常见的裸甲藻类,在全球沿岸水体中广泛分布,并在我国烟

* 国家自然科学基金项目, 41506141 号; 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋生态与环境科学功能实验室青年人才培养项目, LMEES-YTSP-2018-01-06 号; 国家基金委—山东省联合基金项目, U1606404 号。刘云, 副研究员, E-mail: liuyun4709@163.com

通信作者: 李才文, 博士生导师, 研究员, E-mail: cwli@qdio.ac.cn

收稿日期: 2018-12-04, 收修改稿日期: 2018-12-10

台、温州、厦门等多地引发赤潮(吴玉霖等, 2001; 王金辉等, 2005; 喻龙等, 2009; 陈国斌, 2012)。前期研究表明红色赤潮藻在不同的氮源类型及氮浓度条件下呈现不同的生长特征(Liu *et al.*, 2015); 并且在氮限制条件下及生长后期, 藻细胞的总脂含量明显增加(课题组未发表数据), 脂质的积累可能为其休眠阶段提供能量(Binder *et al.*, 1990), 但其脂肪酸组成特征尚有待深入研究。因此, 本文初步研究了不同初始氮浓度条件下、不同生长阶段红色赤潮藻脂肪酸含量及组成变化, 以进一步解析红色赤潮藻等赤潮甲藻响应环境演变的生理机制。

1 材料与方法

1.1 藻种来源

本实验所用红色赤潮藻于 2016 年 11 月采集于青岛胶州湾海域(36°5'N, 120°19'E), 经毛细管分离、纯化后于实验室中保种并长期培养, 培养温度为(20±1)°C, 光暗比为 12h:12h, 光照强度为 5000lx。

1.2 微藻培养

培养所用海水取自青岛太平洋湾海域(盐度 30±0.1), 经砂滤处理后, 再用 ϕ 0.45 μ m 孔径混合纤维膜过滤, 121°C 高温灭菌 30min 后, 冷却备用。实验组培养液体积为 600mL, 置于 1L 锥形瓶中, 接种生长良好的指数期藻种, 初始藻密度约为 800cells/mL。实验共设 6 个氮浓度(NaNO₃)组, 初始氮浓度分别为 0、25、50、100、200、883 μ mol/L, 其余营养盐浓度按照 f/2 (不含 Si)配方添加。每个实验组设 3 个重复, 置于培养箱中进行一次性培养, 温度、光照条件同 1.1。培养过程中, 隔天取 1mL 样品, 经 Lugol's 碘液固定后, 在显微镜下计数(Olympus, IX71); 同时, 每个培养组随机选取 20 个细胞, 测量细胞的长度和宽度(CellSens Standard 1.7)。

1.3 脂肪酸样品提取与分析

在微藻生长的第 2、4、8、12 天, 分别量取 50 mL 藻液, 3000g 离心 10 分钟收集藻细胞, 样品冷冻干燥 48 小时后称重。向样品中加入 C19:0 脂肪酸甲酯作为内标, 0.01% BHT 甲醇溶液作为抗氧化剂。样品处理过程参照 Folch 等(1957)和 Parrish (1999)的方法。脂肪酸的组成和含量用 Agilent 7890A 型气相色谱仪分析。

1.4 数据统计

脂肪酸含量的计算先采用内标标准曲线法计算绝对含量, 然后再换算成百分含量。不同氮浓度处

理组及不同生长阶段间差异采用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行统计, 统计软件为 SPSS 20.0。

2 结果与分析

2.1 红色赤潮藻生长特征

不同氮浓度下红色赤潮藻的生长曲线如图 1 所示。在培养的前 8 天, 所有氮处理组的细胞密度逐渐增加, 不同处理组之间的细胞密度无显著差异($P>0.05$), 第 8 天时细胞密度约为(4237.5±365)—(5030±315.3)cells/mL; 随后, 两个低氮处理组(0 和 25 μ mol/L)细胞密度不再增加, 藻生长进入稳定期。从第 10 天开始, 不同培养组之间出现差异, 细胞密度随着初始氮浓度的增加而增大(883 μ mol/L 组除外); 50 和 100 μ mol/L 两个处理组在第 12 天进入稳定期。此外, 藻细胞体积在不同处理组间出现差异, 主要表现为随着培养液中氮的消耗而变小。红色赤潮藻正常细胞大约长(72±6) μ m, 宽(55±2) μ m; 而变小的藻细胞长度仅为(37±1) μ m, 宽(29±1) μ m。第 8 天时, 两个低氮处理组(0 和 25 μ mol/L)处于藻生长的指数生长期晚期到稳定期, 培养液中的藻细胞主要以小细胞为主。除 883 μ mol/L 处理组外, 其余几个氮处理组(50—200 μ mol/L)也出现了藻细胞变小的现象。

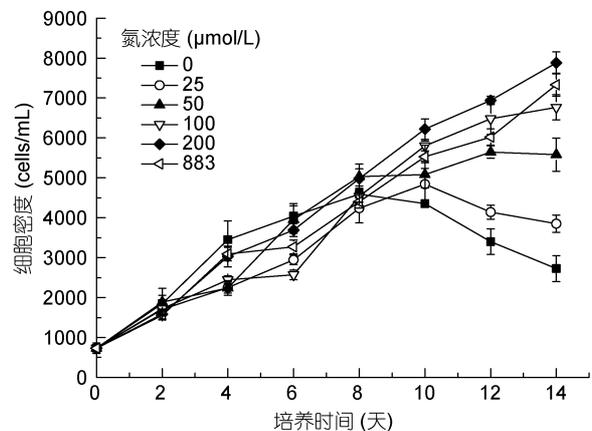


图 1 红色赤潮藻在不同氮浓度条件下的生长状况
Fig.1 Growth of *A. sanguinea* in different nitrogen concentrations

2.2 红色赤潮藻生长过程中脂肪酸含量变化

红色赤潮藻脂肪酸含量随着培养液中初始氮含量及培养时间的改变而发生显著变化(图 2)。0 μ mol/L 处理组脂肪酸含量最高, 均值约为(166.83±46.46)mg/g dw; 883 μ mol/L 处理组最低, 均值约为(86.70±

5.66)mg/g dw。2 个低氮处理组(0 和 25 $\mu\text{mol/L}$)的脂肪酸含量显著高于其他处理组($P<0.01$), 其余氮处理组(50—883 $\mu\text{mol/L}$)之间差异不显著($P>0.05$)。随着培养时间的延长, 红色赤潮藻脂肪酸含量逐渐增高。以 0 $\mu\text{mol/L}$ 处理组为例, 第 2 天时藻体脂肪酸含量约为(122.79 \pm 17.59)mg/g dw, 到第 12 天时显著增高至(237.05 \pm 9.91)mg/g dw。

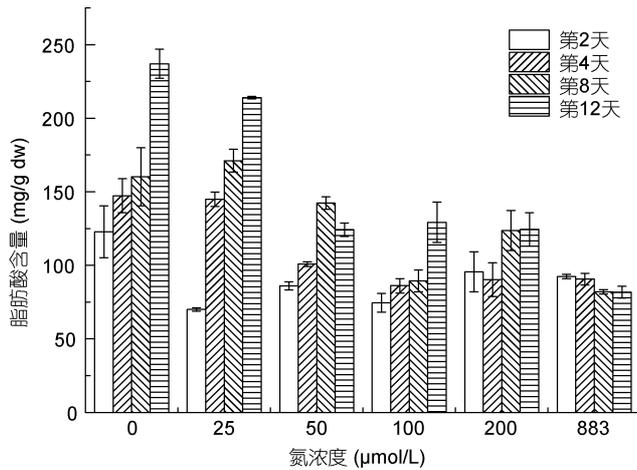


图 2 不同氮浓度条件下红色赤潮藻生长过程中脂肪酸含量变化

Fig.2 Variations of total fatty acids contents in *A. sanguinea* cultured in different nitrogen concentrations

2.3 红色赤潮藻生长过程中脂肪酸组成变化

在红色赤潮藻中共检测到 28 种脂肪酸, 包括 12 种 SFA、7 种 MUFA 和 9 种 PUFA (表 1)。SFA 含量约占总脂肪酸含量的 50%—60%, 以 C14:0、C16:0 和 C18:0 为主。不同氮处理组之间 SFA 相对含量有显著差异($P<0.05$), 低氮处理组(0 和 25 $\mu\text{mol/L}$)SFA 相对含量显著高于高氮处理组(100—883 $\mu\text{mol/L}$), 但不同生长阶段间 SFA 相对含量差异不显著($P>0.05$)。MUFA 含量约占总脂肪酸含量的 11.57%—25.51%, 主要以 C18:1 为主。MUFA 相对含量在不同氮处理组及不同生长阶段间均呈显著性差异($P<0.05$): 随着初始氮浓度的增加, 红色赤潮藻 MUFA 相对含量显著降低, 883 $\mu\text{mol/L}$ 处理组具有最低的 MUFA 相对含量(约为 11.57%—12.57%); 同时, 随着培养时间的延长, MUFA 相对含量显著增高。以 50 $\mu\text{mol/L}$ 处理组为例, 第 2 天时藻体内 MUFA 含量约占总脂肪酸含量的 14%, 第 12 天时, 相对含量增至 20.48%。PUFA 含量约占总脂肪酸含量的 14.41%—42.59%, 以 C20:5 ω 3 和 C22:6 ω 3 为主。不同氮处理组及不同生长阶段的

PUFA 相对含量亦呈显著性差异($P<0.05$): 低氮处理组(0—25 $\mu\text{mol/L}$) PUFA 相对含量显著低于其他氮处理组, 883 $\mu\text{mol/L}$ 组 PUFA 含量最高, 最高可达 42.59% (8 天); 除 883 $\mu\text{mol/L}$ 组外, 其余组的 PUFA 相对含量随着培养时间的延长显著下降, 以 50 $\mu\text{mol/L}$ 处理组为例, 第 2 天时, 红色赤潮藻 PUFA 含量约占总脂肪酸含量的 31.7%, 到第 12 天时降至 23.11%。

2.4 主要脂肪酸种类在不同初始氮浓度和不同生长时期的变化特征

通过比较第 4 天时不同氮处理组红色赤潮藻的主要脂肪酸相对含量(图 3), 结果表明: 6 种主要的脂肪酸(C14:0、C16:0、C18:0、C18:1、C20:5 ω 3 和 C22:6 ω 3)约占总脂肪酸含量的 90%以上; 其中, C16:0 相对含量最高, 约为 30.89%—40.38%; 其次为 C22:6 ω 3, 相对含量约为 14.38%—28.72%。并且, 脂肪酸含量随着培养液中初始氮浓度的变化而变化。C14:0、C16:0、C18:1 三种脂肪酸含量随着初始氮浓度的升高而降低, 如 C18:1 在 0 $\mu\text{mol/L}$ 处理组的含量约为 17.9%, 在 883 $\mu\text{mol/L}$ 处理组仅为 5.04%, 约为 0 $\mu\text{mol/L}$ 处理组的 1/3。C20:5 ω 3 和 C22:6 ω 3 两种多不饱和脂肪酸随着初始氮浓度的升高而增高, C20:5 ω 3 升高了约 3 倍(0 $\mu\text{mol/L}$: 3.67%, 883 $\mu\text{mol/L}$: 10.51%), C22:6 ω 3 升高了约 2 倍(0 $\mu\text{mol/L}$: 15.27%; 883 $\mu\text{mol/L}$: 28.72%)。

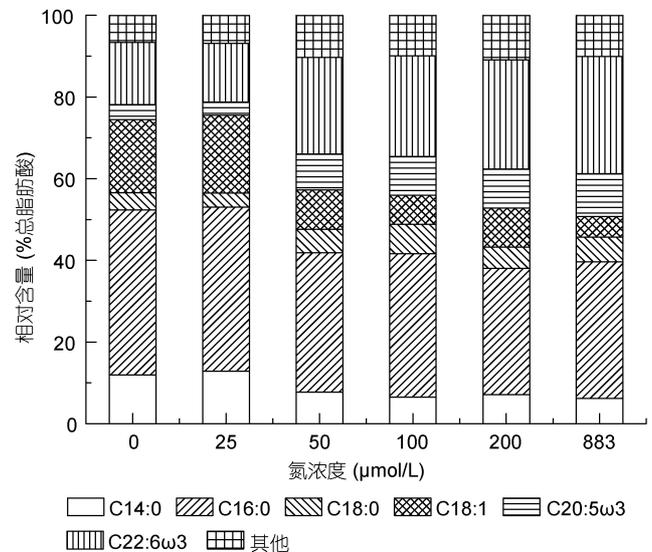


图 3 不同氮浓度下红色赤潮藻脂肪酸组成变化(第 4 天)

Fig.3 Variations of fatty acids compositions in *A. sanguinea* cultured in different nitrogen concentrations (4d)

表 1 不同初始氮浓度条件下红色赤潮藻生长过程中脂肪酸组成(%总脂肪酸)
Tab.1 Compositions of fatty acids in *A. sanguinea* cultured in different nitrogen concentrations (% total fatty acids)

脂肪酸	不同初始氮浓度下脂肪酸组成																				
	0 μ mol/L			2.5 μ mol/L			50 μ mol/L			100 μ mol/L			200 μ mol/L			883 μ mol/L					
	2天	4天	8天	12天	2天	4天	8天	12天	2天	4天	8天	12天	2天	4天	8天	12天	2天	4天	8天	12天	
C10:0	0.13	0.05	0.06	0.10	0.19	0.06	0.08	0.06	0.07	0.16	0.16	0.15	0.09	0.18	0.07	0.07	0.08	0.16	0.05	0.12	0.13
C11:0	0.19	0.07	0.07	0.09	0.19	0.08	0.07	0.06	0.08	0.21	0.20	0.12	0.12	0.14	0.11	0.15	0.08	0.20	0.09	0.08	0.13
C12:0	0.10	0.08	0.11	0.14	0.07	0.09	0.09	0.12	0.10	0.06	0.04	0.05	0.05	0.09	0.06	0.04	0.04	0.09	0.06	0.07	0.06
C13:0	0.10	0.03	0.03	0.04	0.11	0.04	0.09	0.04	0.04	0.13	0.11	0.09	0.05	0.13	0.11	0.09	0.07	0.15	0.10	0.09	0.11
C14:0	8.55	11.97	12.28	12.54	7.28	12.87	11.99	13.49	6.47	7.72	10.61	10.26	6.41	6.53	7.46	9.32	6.99	7.14	7.32	6.22	6.52
C15:0	0.05	0.04	0.05	0.05	0.06	0.04	0.04	0.05	0.08	0.05	0.03	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.09	0.05	0.05	0.05	0.05
C16:0	35.49	40.45	40.74	39.35	35.93	40.16	39.15	43.13	37.22	34.13	35.69	39.28	32.29	35.16	35.03	39.03	36.36	30.98	32.90	36.69	32.80
C17:0	0.10	0.06	0.05	0.06	0.13	0.04	0.05	0.05	0.13	0.08	0.07	0.07	0.18	0.13	0.09	0.08	0.14	0.08	0.09	0.06	0.10
C18:0	5.95	4.21	3.56	3.68	6.76	3.48	3.84	3.50	8.80	5.80	3.98	5.51	7.30	7.28	6.10	5.95	9.38	5.23	5.23	4.62	5.79
C20:0	0.31	0.23	0.24	0.25	0.36	0.21	0.24	0.24	0.32	0.32	0.29	0.33	0.33	0.33	0.36	0.37	0.33	0.30	0.38	0.35	0.38
C22:0	0.65	0.23	0.24	0.28	0.57	0.21	0.25	0.25	0.47	0.59	0.42	0.42	0.57	0.70	0.67	0.39	0.53	0.56	0.65	0.51	0.68
C24:0	0.19	0.12	0.13	0.18	0.28	0.14	0.16	0.15	0.18	0.28	0.26	0.23	0.25	0.31	0.37	0.23	0.17	0.25	0.36	0.28	0.24
C14:1	0.09	0.05	0.07	0.08	0.10	0.06	0.07	0.06	0.08	0.06	0.05	0.03	0.08	0.07	0.08	0.04	0.11	0.06	0.06	0.04	0.06
C15:1	0.08	0.03	0.03	0.03	0.13	0.03	0.03	0.03	0.12	0.11	0.06	0.05	0.13	0.14	0.12	0.06	0.11	0.10	0.12	0.05	0.13
C16:1	2.51	2.57	3.36	3.44	2.44	3.05	3.03	3.16	1.51	1.58	2.07	1.80	1.46	1.23	1.18	1.52	1.74	1.68	1.34	1.78	1.11
C17:1	0.06	0.01	0.02	0.04	0.08	0.02	0.02	0.03	0.07	0.05	0.03	0.01	0.08	0.06	0.07	0.04	0.07	0.05	0.07	0.02	0.07
C18:1	12.20	17.92	18.37	19.05	10.12	19.03	20.59	19.80	7.84	9.60	16.40	16.43	6.57	7.08	7.19	14.85	8.46	9.57	6.30	15.42	6.15
C20:1 ω 9	3.53	2.03	1.45	1.39	2.21	1.86	1.77	1.41	4.38	5.04	3.19	2.14	5.47	4.65	4.54	2.45	4.00	5.66	5.60	2.96	4.81
C22:1 ω 9	0.36	0.05	0.06	0.10	0.45	0.07	0.12	0.13	0.33	0.17	0.08	0.08	0.24	0.21	0.15	0.08	0.37	0.13	0.13	0.13	0.20
C18:2 ω 6	0.84	0.21	0.16	0.19	0.94	0.24	0.19	0.16	1.04	0.65	0.28	0.16	0.81	0.48	0.47	0.22	1.12	0.76	0.55	0.30	0.77
C18:3 ω 6	0.05	0.02	0.01	0.02	0.10	0.02	0.02	0.02	0.06	0.04	0.02	0.01	0.06	0.03	0.03	0.02	0.10	0.05	0.03	0.02	0.07
C18:3 ω 3	0.90	0.45	0.34	0.30	0.95	0.48	0.40	0.26	0.64	0.50	0.37	0.21	0.82	0.44	0.35	0.22	0.64	0.58	0.37	0.28	0.83
C20:2	0.05	0.06	0.06	0.07	0.05	0.05	0.05	0.07	0.04	0.04	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	-	0.05	0.04	0.05	0.03
C20:3 ω 6	-	0.01	0.01	0.03	-	0.01	0.02	0.02	-	0.02	0.02	0.01	-	0.04	-	0.02	-	-	0.03	0.01	-
C20:3 ω 3	-	0.02	0.02	0.04	0.15	0.02	0.02	-	-	0.04	-	0.03	-	0.21	-	0.05	-	-	0.07	-	0.06
C20:3 ω 3	6.62	3.66	2.87	2.88	8.64	3.25	3.34	2.42	8.17	8.80	5.76	4.76	10.64	9.46	9.05	5.54	7.66	9.54	9.62	5.16	10.54
C22:2	0.25	0.16	0.03	0.17	0.28	0.04	0.12	0.15	0.25	0.25	0.03	0.25	0.26	0.35	0.26	0.12	0.22	0.21	0.21	0.03	0.11
C22:6 ω 3	20.68	15.20	15.60	15.48	21.52	14.36	14.23	11.19	21.16	23.66	19.96	17.56	25.32	24.57	25.90	19.05	21.02	26.63	28.13	21.32	23.33
合计	51.81	57.54	57.55	52.40	51.94	57.41	56.02	61.12	54.30	49.41	51.63	56.41	47.99	51.05	50.60	55.69	54.42	44.92	47.33	52.43	52.72
SFA	18.46	22.62	23.29	20.59	15.08	24.05	25.51	24.47	14.00	16.44	21.80	20.48	13.80	13.23	13.15	18.97	14.45	17.13	13.48	20.27	12.57
MUFA	29.73	19.84	19.16	27.01	32.99	18.53	18.48	14.41	31.70	34.15	26.58	23.11	38.21	35.71	36.25	25.35	31.12	37.95	39.18	27.30	34.71
PUFA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
未检出	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SFA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MUFA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PUFA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注: - 未检出; SFA: 饱和脂肪酸; MUFA: 单不饱和脂肪酸; PUFA: 多不饱和脂肪酸

以 100 $\mu\text{mol/L}$ 处理组为例, 研究了不同生长阶段红色赤潮藻的脂肪酸组成变化(图 4)。结果表明, 随着培养时间的延长, C14:0, C16:0 和 C18:1 三种脂肪酸的相对含量逐渐升高, 其中 C18:1 的变化最为显著, 第 2 天时, 其相对含量约占总脂肪酸含量的 6.63%, 到第 12 天时升高至 14.82%。C20:5 ω 3 和 C22:6 ω 3 两种多不饱和脂肪酸随着培养时间的延长而降低, C20:5 ω 3 相对含量降低了约 50% (第 2 天: 10.62%; 第 12 天: 5.56%), C22:6 ω 3 则下降了约 20% (第 2 天: 25.34%; 第 12 天: 19.13%)。C18:0 相对含量在不同生长阶段变化不显著($P>0.05$)。

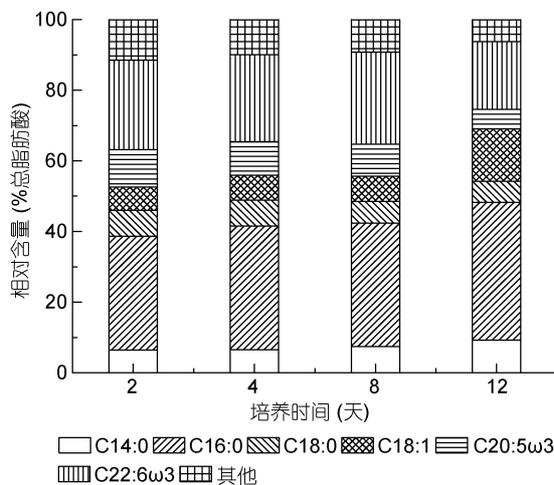


图 4 不同培养期红色赤潮藻脂肪酸组成变化(100 $\mu\text{mol/L}$)
Fig.4 Variations of fatty acids compositions in *A. sanguinea* in different growth stage (100 $\mu\text{mol/L}$)

3 讨论

脂肪酸是浮游植物细胞内脂类的主要组成部分, 能为浮游植物在逆境时提供能量来源, 具有重要的生理功能。然而, 不同的浮游植物类群脂肪酸组成具有较大的差异, 本研究中红色赤潮藻脂肪酸以 C16:0, C18:1, C20:5 ω 3 (EPA)和 C22:6 ω 3 (DHA)等为主, 且 DHA 相对含量较高, 最高可达 30.46% (883 $\mu\text{mol/L}$, 8 天, 表 1), 符合甲藻的脂肪酸组成特征(张玉君等, 2011)。此外, 本研究还发现, 培养液中初始氮含量及生长期对红色赤潮藻脂肪酸含量及组成均有显著性影响。

氮元素是浮游植物生长发育所必需的营养元素, 参与了细胞内蛋白质、核酸等生物大分子的合成, 缺氮条件下细胞内的碳通常储存在低氮或无氮的分子中, 如淀粉、脂质等。本研究中氮限制组(0 和 25 $\mu\text{mol/L}$)脂肪酸含量显著高于其他组, 约为氮充足

组(883 $\mu\text{mol/L}$)的 2 倍, 表明氮限制有利于脂肪酸的累积, 这可能与氮限制条件下脂肪酸合成关键酶表达水平上调有关(赵佩佩等, 2015)。氮含量不仅对微藻脂肪酸含量产生影响, 也会显著影响其脂肪酸组成。本研究发现氮限制导致红色赤潮藻 SFA 和 MUFA 在总脂肪酸中所占比例上升, 而 PUFA 所占比例下降, 相似的研究结果在硅藻(廖启斌等, 2000)、定鞭藻(Li *et al.*, 2005)中均有报道。在真核生物中, 多数 PUFA 是以 SFA 为底物, 通过脂肪酸延长酶和去饱和酶作用合成的, 氮限制可能降低了这些酶的活性, 从而导致 SFA 的积累及 PUFA 含量下降(廖灵旋等, 2014)。

浮游植物脂肪酸含量在不同生长阶段有显著变化。本研究中, 除 883 $\mu\text{mol/L}$ 处理组外, 其余处理组红色赤潮藻脂肪酸含量均随着培养时间的延长呈增加的趋势, 表明微藻体内脂肪酸逐渐积累, 这与 Mansour 等(2003)的研究结论一致。在不同的生长阶段, 微藻体内脂肪酸组成也发生显著变化。魏东等(2000)研究发现, 海洋微藻后棘藻(*Ellipsoidion* sp. 7-14)和眼点拟微球藻(*Nannochloropsis oculata*)在指数生长早期 PUFA 含量最高, 而 C16:0, C16:1 ω 9 和 C18:1 ω 9 等在稳定期较高; 李文权等(2002)也发现三种海洋微藻 PUFA 含量在指数生长期含量高于稳定期; Mansour 等(2003)研究了裸甲藻(*Gymnodinium* sp.)在不同生长阶段脂肪酸组成变化, 发现随着培养时间的延长, C16:0 和 DHA 相对含量逐渐增高, 而 EPA 含量逐渐降低。总体上讲, 从对数期到稳定期有利于 SFA 及 MUFA 的积累, 不利于 PUFA 的积累(张玉君等, 2011), 可能是由于稳定期的细胞处于生长限制条件下, 光合作用同化的碳主要积累在中性脂中, 从而导致饱和脂肪酸的比例较高(Zhu *et al.*, 1997)。本研究也发现, 红色赤潮藻藻体中 C14:0 和 C16:0 和 C18:1 三种脂肪酸的相对含量随着培养时间的延长逐渐升高, 而 EPA 和 DHA 则随着培养时间的延长而降低。

红色赤潮藻属于广温广盐性种类, 在世界范围内的沿岸水体中广泛分布, 并在多地引发赤潮, 该藻赤潮严重影响鱼、虾、贝类的生长, 给当地海产养殖业带来巨大负面影响(陈全震等, 2000), 休眠孢囊可能在红色赤潮藻地理扩散和赤潮频发中发挥重要作用(Tang *et al.*, 2015)。细胞内能量物质的贮存对休眠孢囊的维持、萌发至关重要, 已有研究表明, 甲藻休眠孢囊的贮存物质主要包括淀粉、脂类等(Ellegaard *et al.*, 2018)。本研究发现红色赤潮藻在稳定期脂肪酸的增加, 可为休眠期脂类物质的积累奠定基础, 有利于

该藻度过不良的环境条件。此外,以往甲藻赤潮生态效应研究大多关注赤潮后期造成的低氧、藻毒素等方面(Botes *et al.*, 2003); 本研究显示,随着红色赤潮藻的生长,其脂肪酸组成也发生显著变化,主要体现在 PUFA 含量下降。PUFA 作为海洋动物的必需脂肪酸,对各类海洋动物的生长、生殖和行为具有重要意义(Evjemo *et al.*, 2008)。因此,红色赤潮藻赤潮后期藻细胞脂肪酸组成的变化可能会对其他摄食该藻类的海洋生物生殖产生影响,研究结果将为全面评价红色赤潮藻赤潮的生态效应提供新的研究思路。

4 结论

红色赤潮藻由 28 种脂肪酸组成,以 C16:0、C18:1、EPA 和 DHA 为主,且 DHA 相对含量较高。培养液中氮浓度及生长阶段均对红色赤潮藻脂肪酸含量及组成产生影响。氮限制及稳定期有利于脂肪酸的积累,且 SFA 和 MUFA 含量较高;而高浓度氮处理组和指数生长期脂肪酸含量降低,但 PUFA 含量较高。

参 考 文 献

- 王金辉,秦玉涛,李志恩等,2005. 南麂列岛自然保护区海域红色裸甲藻赤潮及其成因分析. 海洋科学, 29(2): 32—36
- 李文权,廖启斌,李 芊等,2002. 三种海洋微藻生长期脂肪酸组成研究. 海洋环境科学, 21(2): 10—13
- 吴玉霖,周成旭,张永山等,2001. 烟台四十里湾海域红色裸甲藻赤潮发展过程及其成因. 海洋与湖沼, 32(2): 159—167
- 张玉君,潘进芬,蒲新明,2011. 海洋浮游植物的脂肪酸: 组成、功能及其生态学意义. 海洋通报, 30(1): 113—120
- 陈全震,何德华,2000. 甲藻赤潮对养鲍业的危害及其防治探讨. 水产学报, 24(2): 151—155
- 陈国斌,2012. 厦门海域一次冬季血红哈卡藻赤潮的初步分析. 福建水产, 34(5): 392—397
- 赵佩佩,顾文辉,伍松翠等,2015. 氮限制有利于三角褐指藻脂质积累. 科学通报, 60(23): 2196—2208
- 曹春晖,孙世春,麦康森等,2006. 氮浓度对四株海洋绿藻总脂含量和脂肪酸组成的影响. 海洋湖沼通报, (3): 79—84
- 喻 龙,郝彦菊,2009. 烟台四十里湾一次血红哈卡藻赤潮过程的分析. 海洋科学进展, 27(4): 516—522
- 廖启斌,李文权,陈清花等,2000. 营养盐对三角褐指藻脂肪酸含量与百分组成的影响. 海洋环境科学, 19(2): 6—9
- 廖灵旋,于 昊,黄建忠,2014. 多不饱和脂肪酸合成途径研究进展. 微生物学杂志, 34(3): 80—85
- 魏 东,张学成,邹立红等,2000. 细胞生长时期对两种海洋微藻总脂含量和脂肪酸组成的影响. 青岛海洋大学学报, 30(3): 503—509
- Binder B J, Anderson D M, 1990. Biochemical composition and metabolic activity of *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae) resting cysts. Journal of Phycology, 26(2): 289—298
- Botes L, Smit A J, Cook P A, 2003. The potential threat of algal blooms to the abalone (*Haliotis midae*) mariculture industry situated around the South African coast. Harmful Algae, 2(4): 247—259
- Dempster T A, Sommerfeld M R, 1998. Effects of environmental conditions on growth and lipid accumulation in *Nitzschia communis* (Bacillariophyceae). Journal of Phycology, 34(4): 712—721
- Ellegaard M, Ribeiro S, 2018. The long-term persistence of phytoplankton resting stages in aquatic 'seed banks'. Biological Reviews, 93(1): 166—183
- Enright C T, Newkirk G F, Craigie J S *et al.*, 1986. Evaluation of phytoplankton as diets for juvenile *Ostrea edulis* L. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 96(1): 1—13
- Evjemo J O, Tokle N, Vadstein O *et al.*, 2008. Effect of essential dietary fatty acids on egg production and hatching success of the marine copepod *Temora longicornis*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 365(1): 31—37
- Folch J, Lees M, Sloane Stanley G H, 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. Journal of Biological Chemistry, 226(1): 497—509
- Levine D M, Sulkin S D, 1984. Nutritional significance of long-chain polyunsaturated fatty acids to the zoeal development of the brachyuran crab, *Eurypanopeus depressus* (Smith). Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 81(3): 211—223
- Li M, Gong R M, Rao X J *et al.*, 2005. Effects of nitrate concentration on growth and fatty acid composition of the marine microalga *Pavlova viridis* (Prymnesiophyceae). Annals of Microbiology, 55(1): 51—55
- Liu Y, Chen T T, Song S Q *et al.*, 2015. Effects of nitrogenous nutrition on growth and nitrogen assimilation enzymes of dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*. Harmful Algae, 50: 99—106
- Mansour M P, Volkman J K, Blackburn S I, 2003. The effect of growth phase on the lipid class, fatty acid and sterol composition in the marine dinoflagellate, *Gymnodinium* sp. in batch culture. Phytochemistry, 63(2): 145—153
- Parrish C C, 1999. Determination of total lipid, lipid classes, and fatty acids in aquatic samples. In: Arts M T, Wainman B Ceds. Lipids in Freshwater Ecosystems. New York: Springer, 4—20
- Reuss N, Poulsen L, 2002. Evaluation of fatty acids as biomarkers for a natural plankton community. A field study of a spring bloom and a post-bloom period off West Greenland. Marine Biology, 141(3): 423—434
- Spector A A, 1999. Essentiality of fatty acids. Lipids, 34(S1): S1—S3
- Tang Y Z, Gobler C J, 2015. Sexual resting cyst production by the dinoflagellate *Akashiwo sanguinea*: a potential mechanism contributing to the ubiquitous distribution of a harmful alga. Journal of Phycology, 51(2): 298—309
- Tzovenis I, De Pauw N, Sorgeloos P, 1997. Effect of different light regimes on the docosahexaenoic acid (DHA) content of *Isochrysis* aff. *galbana* (clone T-ISO). Aquaculture International, 5(6): 489—507

Zhu C J, Lee Y K, Chao T M, 1997. Effects of temperature and growth phase on lipid and biochemical composition of

Isochrysis galbana TK1. Journal of Applied Phycology, 9(5): 451—457

CONTENT AND COMPOSITION OF FATTY ACID IN PLANKTONIC DINOFLAGELLATE *AKASHIWO SANGUINEA* CULTURED IN DIFFERENT NITRATE CONCENTRATIONS

LIU Yun^{1, 2, 3}, CHEN Tian-Tian^{1, 2, 3}, SONG Shu-Qun^{1, 2, 3}, LI Cai-Wen^{1, 2, 3, 4}

(1. CAS Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Science, Qingdao 266071, China; 2. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266237, China; 3. Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 4. University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

Abstract Batch cultures of the planktonic dinoflagellate *Akashiwo sanguinea* were conducted in different nitrate concentrations. Variations of the fatty acid content and its composition at different growth stages of *A. sanguinea* were analyzed. The results indicate that the fatty acid content and composition varied with both N concentration and growth stage. In particular, the fatty acid contents in lower nitrogen concentrations [0—25 μ mol/L, (150.02 \pm 54.84)—(166.83 \pm 46.46)mg/g dw] were significantly higher than those in other N treatments ($P<0.05$). The lowest value (86.70 \pm 5.66)mg/g dw was found in the 883 μ mol/L treatment. The fatty acid content in each treatment increased with the growth of *A. sanguinea*, reaching the highest in the stationary growth phase and lowest in the early exponential growth phase. Twenty-eight 28 fatty acids were detected in *A. sanguinea*, including mainly C16:0, C18:1, C20:5 ω 3 (EPA), and C22:6 ω 3 (DHA). The DHA content was relatively higher, with the maximum of 30.46% of total fatty acids. With the increases of initial N addition, the proportions of saturated fatty acid (SFA) and monounsaturated fatty acid (MUFA) declined whereas the polyunsaturated fatty acid (PUFA) increased. In addition, the proportion of MUFA was higher in the stationary phase, while PUFA was higher in the early exponential growth phase. The results help further understanding of the physiological strategy of *A. sanguinea* adoption to an environmental stress.

Key words fatty acid; *Akashiwo sanguinea*; nitrogen concentration; growth stage