

6 株破囊壶菌的分离鉴定及脂肪酸组成研究

牟 桐¹, 严小军¹, 彭家礼², 王婷婷¹, 何 山^{1*}

(1. 宁波大学 海洋生物工程重点实验室, 浙江 宁波 315211; 2. 台湾海洋大学 海洋生物研究所, 台湾 基隆 20224)

摘要: 采用松花粉诱导法从海藻、腐木等海洋漂浮物上分离得到 6 株破囊壶菌, 其中菌株 PC003、PC021、PC022 为 *Schizochytrium* 属, 菌株 PC004、PC014、PC060 为 *Thraustochytrium* 属。经分析, 分属 2 个属的菌株的脂肪酸差异较大, *Schizochytrium* 属的 3 个菌株含有占总脂肪酸 22% 以上的二十二碳六烯酸(DHA), 8.3% 以上的二十碳五烯酸(EPA), 9.4% 以上的二十碳四烯酸(ARA)和 19% 以上的 C16:0(软脂酸); *Thraustochytrium* 属的 3 个菌株含有占总脂肪酸 33% 以上 DHA, 7.8% 以上的 EPA, 和 24.7% 的 C16:0。其中, *Thraustochytrium* 属菌株 PC004 的脂肪酸中 DHA 含量高达 56.32%, 可培养成为 DHA 高产菌株。结合 6 株菌之间的亲缘关系推测, 亲缘关系相近, 所产脂肪酸种类及含量相似, 因而从 *Thraustochytrium* 属中更容易筛选到 DHA 高产菌株。

关键词: 海藻; 破囊壶菌; 裂殖壶菌; 脂肪酸

中图分类号: Q547

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2016) 03-0045-06

多不饱和脂肪酸(Polyunsaturated Fatty Acids, PUFAs)是指含有 2 个或 2 个以上双键且碳链长度为 18 个及 18 个以上碳原子的直链脂肪酸, 对人体的正常生长发育具有重要作用^[1-4]。但是人体自身不能合成一些长链的 ω 多不饱和脂肪酸, 只能从日常膳食中摄取。目前, 鱼油是 PUFAs 的主要来源, 但天然鱼油有鱼腥味, 脂肪酸组成复杂, 并且受到捕捞时间及地域限制^[5-7]。然而采用微生物发酵生产 PUFAs 的方法具有易培养、发酵周期短、PUFAs 产量高、脂肪酸组成简单以及没有鱼腥味等特点^[3], 逐渐引起人们的关注。

破囊壶菌(*Thraustochytrids*)是一种海洋异养单细胞原生生物, 属于 *Straminiopila* 界、*Heterokonta* 门、*Labyrinthulea* 纲、*Thraustochytriales* 目^[8], 广泛分布于海洋^[9]、河口^[10]、红树林^[11-12]等环境。它能够生产一种或多种多不饱和脂肪酸, 例如 DHA、EPA、ARA、DPA 和 DTA^[5,13-15]等, 并且具有较高的产量^[16-19], 是代替鱼油的理想选择。

研究证明, 破囊壶菌具有一种外质网的结构,

能够附着在落叶、藻类等有机质上, 并能分泌胞外酶来帮助分解这些有机质^[20-21]。此外, 破囊壶菌还能产生游动孢子^[22-23], 便于游动到营养丰富的环境中^[12,24]。并且, 研究多采用花粉诱导法^[25]分离破囊壶菌。

目前, 对红树林落叶、底泥等环境中的破囊壶菌研究较多, 但对海洋漂浮物上的研究较少, 本研究采集海藻和海洋漂浮的腐木材料, 用花粉诱导法对破囊壶菌进行分离筛选, 并对其脂肪酸组成和含量进行了对比分析。

1 材料和方法

1.1 样品采集

在台湾基隆潮境公园(N25.1422, E121.8029)采集海藻和海洋腐木, 采集 3 次, 时间分别为 2013 年 9 月、10 月、11 月。采集到的样品放入样品袋, 置于冰盒中。样品在采集后 12 h 内进行处理。

1.2 分离筛选

将样品切成适当大小, 用无菌海水清洗 2 次,

收稿日期: 2015-03-07.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(41306134)。

第一作者: 牟桐(1990—), 男, 山东寿光人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 海洋生物学。E-mail: mutong900330@163.com

*通信作者: 何山(1982—), 男, 广东韶关人, 副教授, 主要研究方向: 海洋微生物药物与生物技术。E-mail: heshan@nbu.edu.cn

放入无菌培养皿中,加入含有抗生素(500 mg·L⁻¹青霉素 G, 500 mg·L⁻¹链霉素)的无菌海水 20 mL 以及少量无菌松花粉. 密封后放入 25 °C 培养箱中培养 2~3 d, 期间每天在显微镜下观察游动孢子情况. 当视野中观察到有大量游动孢子时, 从培养皿中取 20 μL 带有花粉的海水, 涂布于含抗生素的 GYPS 固体培养基(4 g·L⁻¹葡萄糖, 4 g·L⁻¹酵母粉, 4 g·L⁻¹蛋白胨, 14 g·L⁻¹琼脂, 500 mg·L⁻¹青霉素 G, 500 mg·L⁻¹链霉素和 30 g·L⁻¹海盐), 25 °C 培养 4~5 d, 期间, 每天在显微镜下观察破囊壶菌是否长出, 待菌落长出后, 尽早挑取, 划线于新的 GYPS 固体培养基中.

1.3 基因测序

采用 CTAB 法提取 DNA, 并用 PCR 技术, 以 ITS4(TCCTCCGCTTATTGATATGC)和 ITS5(GGAA GTAAAAGTCGTAACAAGG)为引物, 扩增 ITS 序列片段.

PCR 反应液组成(25 μL): 12.5 μL 的 PCR 预混液(Promega PCR Master Mix), 0.1 μmol·L⁻¹引物 ITS4, 0.1 μmol·L⁻¹引物 ITS5, 1 μL 模板 DNA 和 9.5 μL 无菌双蒸水. PCR 反应按下列条件进行: 94 °C 变性 2 min 后, 进行 PCR 循环, 反应参数为 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 35 次循环后, 在 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存.

PCR 产物通过琼脂糖凝胶电泳分析, 经 Easy Pure PCR/Gel Extraction Kit (Cat. no. PG300, Bio-man)纯化后, 用 RBC TA Cloning Vector Kit (Cat. no. RC001, RBC Bioscience)克隆, 并导入大肠杆菌菌株 DH5α, 经蓝白斑筛选, 用无菌牙签挑取阳性克隆至含有 1 mL LB 培养基的 2 mL 离心管中, 37 °C 下培养 1 d, 用相同的 PCR 方法, 检测目的基因是否插入载体. 检测后将阳性克隆送 Tri-I Biotech 公司(台湾)测序.

1.4 分子系统发育分析

将测得的基因序列通过 NCBI 的 BLAST 进行同源性分析, 并搜索同源性较高的序列及其他已知破囊壶菌的序列, 将相关序列用 MEGA(Version 6.06)做分析, 用邻接法构建系统发育树, 重复 1000 次计算 bootstrap 值^[26].

1.5 脂肪酸提取及甲酯化

所得菌株用 50 mL GYPS 液体培养基(4 g·L⁻¹葡

萄糖, 4 g·L⁻¹酵母粉, 4 g·L⁻¹蛋白胨和 30 盐度人工海水), 25 °C, 120 r·min⁻¹ 摇瓶培养 5 d, 每个菌株 3 重复. 1 500 r·min⁻¹ 离心得菌体后, 冷冻干燥至恒重.

称取 30 mg 干燥菌体至试管, 加 5 mL 体积比 1:1 的 CHCl₃/CH₃OH(含 BHT), 剧烈震荡 1 min, 超声 10 min. 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 取上清液至新试管中. 重复 2 次, 合并上清液. 取上清液至样品瓶中旋转蒸干, 加 2 mL 体积比 4:1 的 KOH/CH₃OH (KOH 质量分数 5%~6%), 加入 C19:0 内标 15 μg. 60 °C 水浴 2 h 后移至试管中, 加入 1 mL 饱和 NaCl 溶液, 再加入约 15 滴盐酸溶液(浓盐酸:H₂O, 体积比 1:1), 调节 pH<1. 加入 2 mL 体积比 1:4 的氯仿/正己烷洗涤样品瓶, 并将其取至试管内, 震荡 1 min 后, 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 吸取上层至另一试管中. 重复 2 次, 上层合并在同个试管中. 试管中加入 2 mL 超纯水, 震荡 1 min, 4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min. 将上清液转移至样品瓶中, 旋转蒸干至恒重. 加入 500 μL 的 BF₃-CH₃OH 溶液, 60 °C 水浴 1 h, 取出冷却 30 min, 将溶液移至试管中, 并加入 1 mL 饱和 NaCl 溶液. 用 2 mL 体积比 1:4 氯仿/正己烷清洗样品瓶, 将液体移至试管中, 漩涡震荡 1 min, 4 000 r·min⁻¹ 离心 6 min, 重复 1 次, 再用 3 mL 正己烷清洗样品瓶, 将溶液移至试管中, 漩涡震荡 1 min, 4 000 r·min⁻¹ 离心 6 min, 重复 1 次. 合并上清液, 加入 3 g 无水硫酸钠, 静置 3~4 h. 移取上层至样品瓶中, 蒸干. 吹氮气 10 min 后, -20 °C 保存待测.

1.6 GC-MS 分析

使用 QP2010 气相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司), SPB-50 毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm Supelo, USA), 进样口温度 250 °C, 氦气(载气)流速 0.81 mL·min⁻¹, 柱前压力 73.0 kPa, 柱温保持在 150 °C 3.5 min, 然后以 20 °C·min⁻¹ 速率升温至 200 °C, 保持 5 min, 然后以 5 °C·min⁻¹ 的速率升温至 280 °C, 保持 37 min. 样品用正己烷溶解, 进样体积 1 μL, 分流比 50:1. 质谱使用 EI 源, 能量设置为 70 eV, 离子源温度和接口温度分别设置为 200 °C 和 250 °C, 检测范围为 m/z 40~600.

2 结果与分析

2.1 分离及菌种鉴定结果

利用花粉诱导法^[25], 对样品上的微生物进行

分离, 得到 6 株破囊壶菌, 分别命名为 PC003、PC004、PC014、PC021、PC022、PC060。将此 6 株菌的 ITS 序列经 NCBI 的 BLAST 检索分析, 发现菌株 PC003、PC021、PC022 与裂殖壶菌属(*Schizochytrium*) 同源性较高, 与 *Schizochytrium aggregatum* 的序列相似度分别为 95%、98%、98%。菌株 PC004、PC014、PC060 与破囊壶菌属(*Thraustochytrium*) 同源性较高, 与 *Thrausto-*

chytrium aureum 的序列相似度分别为 93%、94%、94%。

2.2 系统学分析

Japonochytrium、*Labyrinthuloides*、*Schizochytrium* 和 *Thraustochytrium* 是破囊壶菌重要的 4 个属, 搜索 4 个属中 10 个破囊壶菌序列, 与筛选所得 6 株破囊壶菌序列进行系统分析。如图 1 所示, 系统树将 4 个属分为 4 个分支。从系统树上可以看出,

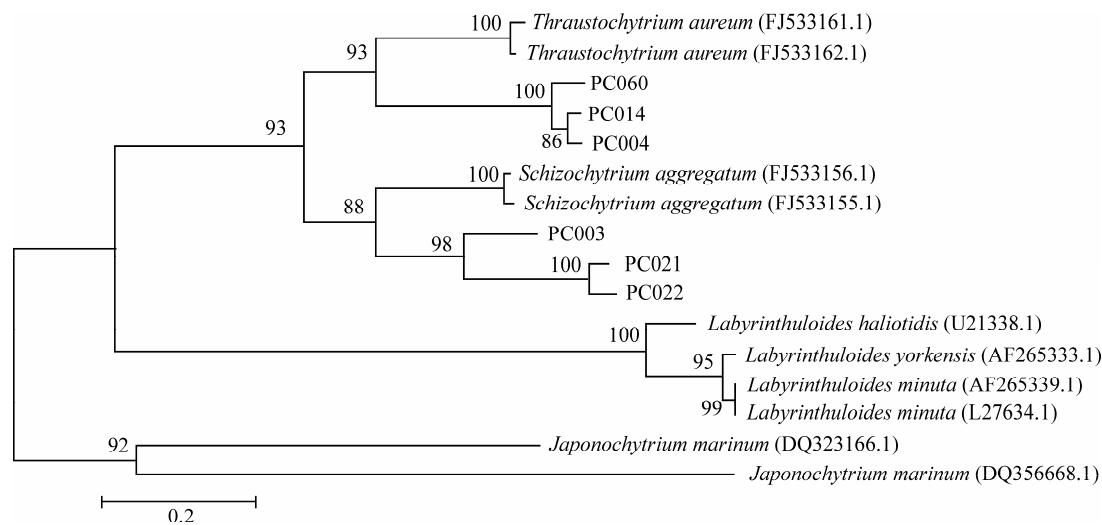


图 1 6 株菌依据 ITS 基因序列建立的系统发育树

表 1 6 株破囊壶菌脂肪酸组成及含量 mg·L⁻¹

脂肪酸种类	<i>Thraustochytrium</i>			<i>Schizochytrium</i>		
	PC004	PC014	PC060	PC003	PC021	PC022
C14:0	0.164±0.007	0.208±0.003	0.186±0.007	0.166±0.007	0.271±0.020	0.206±0.017
C15:0	0.167±0.011	0.656±0.123	0.113±0.008	1.212±0.043	1.792±0.155	1.333±0.117
C16:0	1.712±0.067	2.348±0.044	2.243±0.095	1.989±0.040	3.489±0.185	2.524±0.292
C17:0	-	0.127±0.003	-	0.836±0.034	0.914±0.115	0.733±0.044
C18:0	0.090±0.001	0.135±0.001	0.165±0.007	0.480±0.008	0.343±0.011	0.305±0.012
C18:1ω-9	0.060±0.007	0.159±0.010	0.094±0.007	0.356±0.013	0.943±0.010	0.670±0.053
C18:1ω-7	0.033±0.003	0.069±0.011	0.045±0.001	-	-	-
C18:2ω-6	-	0.084±0.001	0.040±0.001	0.450±0.004	0.848±0.046	0.601±0.024
C18:3ω-6	-	-	-	0.051±0.003	-	0.081±0.004
C19:1ω-9	-	-	-	0.090±0.006	0.158±0.002	0.113±0.007
C20:4ω-6	0.045±0.004	0.051±0.002	-	0.961±0.053	2.163±0.155	1.713±0.240
C20:4ω-3	-	-	-	0.369±0.005	0.545±0.094	0.378±0.039
C20:5ω-3	0.756±0.038	0.613±0.029	0.442±0.030	0.903±0.035	1.569±0.158	1.109±0.175
C22:6ω-3	3.901±0.209	3.380±0.098	1.676±0.064	2.288±0.168	5.328±0.360	3.458±0.552
合计	6.928±0.347	7.830±0.325	5.003±0.220	10.152±0.419	18.363±1.311	13.225±1.575

注: 表中“-”表示未检出或脂肪酸的含量为微量, 下同。

菌株 PC004、PC014、PC060 和菌株 PC003、PC021、PC022 间亲缘关系较远, 分为 2 支, 支持率为 93%。菌株 PC004、PC014、PC060 与 *Thraustochytrium aureum* 聚为 1 支, 支持率为 93%; 菌株 PC003、PC021、PC022 与 *Schizochytrium aggregatum* 聚为 1 支, 支持率为 88%。

其中, PC004 与 PC014 亲缘关系更近, 聚为 1 支, 支持率为 86%, 它们与 PC006 关系稍远, 分为 2 支, 支持率为 100%; PC021 与 PC022 亲缘关系稍近, 聚为 1 支, 支持率为 100%, 它们与 PC003 关系稍远, 分为 2 支, 支持率为 98%。

2.3 破囊壶菌生物量

经液体摇瓶发酵后收集菌体, 冷冻干燥后得到干燥菌粉, 6 株破囊壶菌的生物量如图 2 所示。由图 2 可知, 破囊壶菌属的 3 株菌 PC004、PC014 和 PC060 生物量相似, 约为 $0.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 而裂殖壶菌属的 3 株菌 PC003、PC021、PC022 生物量相似, 均为 $1.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上。从生物量上来看, 裂殖壶菌属 3 株菌明显高于破囊壶菌属 3 株菌。

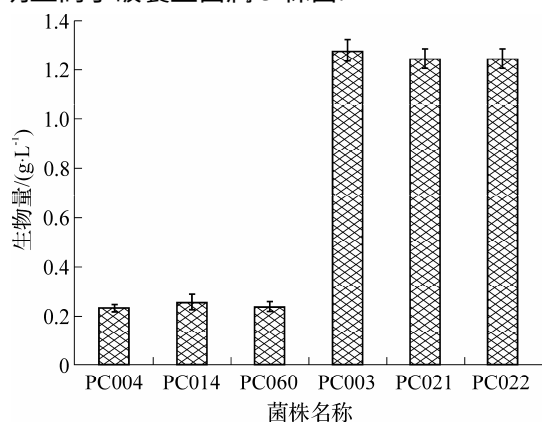


图 2 6 株破囊壶菌生物量

2.4 脂肪酸组成

菌粉经处理后, 通过 GC-MS 分析 6 株破囊壶菌脂肪酸组成及含量。由表 1 可知, PC004、PC014 和 PC060 同属于破囊壶菌属, 它们的脂肪酸组成非常相似, 主要为 C14:0、C15:0、C16:0、DHA 和 EPA 等; 3 株菌的总脂肪酸含量分别为 6.928 、 7.830 和 $5.003 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。而 PC003、PC021 和 PC022 是 3 株同属于裂殖壶菌属, 与破囊壶菌属相比, 脂肪酸组成相对丰富, 主要为 C14-C18 饱和脂肪酸、C18:1、C18:2、ARA、DHA 和 EPA 等, 总脂肪酸含量分别为 10.152 、 18.363 和 $13.225 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

6 株菌株中每种脂肪酸的百分含量见表 2。结果显示, PC060 最主要的脂肪酸为软脂酸(16:0), 约占总脂肪酸的 44.8%。其他 5 株菌含量最高的脂肪酸均为 DHA, 其中 PC004 菌中 DHA 含量达到了 56.32%, 但生长较慢, 生物量仅为 $0.229 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 使得 DHA 产量不高。

表 2 6 株破囊壶菌脂肪酸百分含量 %

脂肪酸种类	Thraustochytrium			Schizochytrium		
	PC004	PC014	PC060	PC003	PC021	PC022
C14:0	2.36	2.66	3.72	1.64	1.48	1.56
C15:0	2.41	8.35	2.26	11.95	9.73	10.12
C16:0	24.70	30.00	44.82	19.59	19.01	19.09
C17:0	-	1.63	-	8.24	4.97	5.59
C18:0	1.31	1.72	3.29	4.73	1.87	2.35
C18:1 ω -9	0.86	2.04	1.87	3.51	5.16	5.10
C18:1 ω -7	0.48	0.88	0.90	-	-	-
C18:2 ω -6	-	1.08	0.81	4.43	4.65	4.60
C18:3 ω -6	-	-	-	0.50	-	0.62
C19:1 ω -9	-	-	-	0.89	0.87	0.88
C20:4 ω -6	0.64	0.65	-	9.47	11.79	12.91
C20:4 ω -3	-	-	-	3.64	2.94	2.87
C20:5 ω -3	10.91	7.83	8.83	8.89	8.52	8.34
C22:6 ω -3	56.32	43.18	33.50	22.52	29.00	25.97

3 结论

本研究通过松花粉诱导法, 从台湾基隆潮境公园地区的海藻及海洋腐木上分离得到破囊壶菌, 证明该地区的海洋漂浮物上可以分离到丰富的破囊壶菌。

对 2 个菌属的脂肪酸进行对比分析发现: 首先, 裂殖壶菌属 3 株菌的生物量明显高于破囊壶菌属 3 株菌, 但都没有达到高产标准; 其次, 在脂肪酸组成及含量上差异也非常明显, 破囊壶菌属 3 株菌, 含有高比例的 DHA 和 C16:0, 含有少量甚至不含 ARA, 裂殖壶菌属 3 株菌则含有较高的 ARA, 虽然也含有 DHA, 但所占比例明显低于破囊壶菌属 3 株菌; 最后, 在 2 个菌属中都存在着特殊的脂肪酸, C18:1(ω -7)的脂肪酸仅存在于破囊壶菌属, 在裂殖壶菌属中不含有或含量稀少, 而 C18:3(ω -6)、C19:1(ω -9)和 C20:4(ω -3) 的脂肪酸仅存在于裂殖壶菌属, 在破囊壶菌属中不含有或含量稀少。

对属内不同菌株的脂肪酸进行分析, 发现亲缘关系较近的破囊壶菌属 PC004 与 PC014, 具有相似的 DHA 和 EPA 产量, 而亲缘关系稍远的 PC060 产量明显较低; 亲缘关系较近的裂殖壶菌属 PC021 和 PC022 具有相似的 DHA 和 ARA 产量, 而亲缘关系稍远 PC003 的产量明显较低。由此推断, 亲缘关系的远近与其脂肪酸组成及产量有一定的联系。定向筛选与已知的高产菌株属于同一种属, 并且亲缘关系相近的菌株能够获得高产菌株的概率相对较高。

本研究中分离得到菌株 PC004 具有较高的 DHA 含量比例, 菌株 PC021 有相对较高的 DHA、EPA、ARA 产量, 如果能通过培养条件优化、诱导、基因工程等方法提高此 2 株菌的生长速率, 从而提高生物量, 那么该 2 株菌也将具有非常高的应用价值。

参考文献:

- [1] INNIS S M. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain[J]. Brain Research, 2008, 1237:35-43.
- [2] RUSSO G L. Dietary n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids: from biochemistry to clinical implications in cardiovascular prevention[J]. Biochemical Pharmacology, 2009, 77(6):937-946.
- [3] PRABU R. Effect of sodium sulphate salinity for production of docosahexaenoic acid (DHA) by *Thraustochytrids aureum* RAK-21[J]. Asian Biomedicine, 2012, 6(5):693-701.
- [4] MIN K H, LEE H H, ANBU P, et al. The effects of culture condition on the growth property and docosahexaenoic acid production from *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304[J]. Korean Journal of Chemical Engineering, 2012, 29(9):1211-1215.
- [5] BARCLAY W R, MEAGER K M, ABRIL J R. Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acids utilizing algae and algae-like microorganisms[J]. Journal of Applied Phycology, 1994, 6(2):123-129.
- [6] PERVEEN Z, ANDO H, UENO A, et al. Isolation and characterization of a novel thraustochytrid-like microorganism that efficiently produces docosahexaenoic acid [J]. Biotechnology Letters, 2006, 28(3):197-202.
- [7] GUPTA A, BARROW C J, PURI M. Omega-3 biotechnology: Thraustochytrids as a novel source of omega-3 oils[J]. Biotechnology Advances, 2012, 30(6):1733-1745.
- [8] RAGHUKUMAR S. Ecology of the marine protists, the Labyrinthulomycetes (Thraustochytrids and Labyrinthulids)[J]. European Journal of Protistology, 2002, 38(2): 127-145.
- [9] BOOTH T. Lignicolous and zoosporic fungi in marine environments of Hudson Bay[J]. Canadian Journal of Botany, 1981, 59(10):1867-1881.
- [10] ULKEN A. The phycomycetes flora of mangrove swamps in the South Pacific[J]. Verroff Inst Meeresforsch Bremerh, 1981, 19:45-59.
- [11] RAGHU K S. *Schizochytrium mangrovei* sp. nov., a thraustochytrid from mangroves in India[J]. Transactions of the British Mycological Society, 1988, 90(4):627-631.
- [12] FAN K W, VRIJMOED L L P, JONES E B G. Physiological studies of subtropical mangrove thraustochytrids[J]. Botanica Marina, 2002, 45(1):50-57.
- [13] WARD O P, SINGH A. Omega-3/6 fatty acids: Alternative sources of production[J]. Process Biochemistry, 2005, 40(12):3627-3652.
- [14] RAGHUKUMAR S. Thraustochytrid marine protists: production of PUFAs and other emerging technologies[J]. Marine Biotechnology, 2008, 10(6):631-640.
- [15] BATBATAN C G, HEPOWIT N L, OCLARIT J M. Developmental historicity and saccharide heterotrophy of *Schizochytrium* sp. OT01: Implication of docosahexaenoic acid production for biotechnological applications [J]. Asia Life Sciences, 2011, 20(2):289-305.
- [16] SINGH A, WARD O P. Production of high yields of docosahexaenoic acid by *Thraustochytrium roseum* ATCC 28210[J]. Journal of Industrial Microbiology, 1996, 16(6): 370-373.
- [17] BAILEY R B, DIMASI D, HANSEN J M, et al. Enhanced production of lipids containing polyunsaturated fatty acids by very high density cultures of eukaryotic microbes in fermentors: US, 06076087.3[P]. 2006-04-10.
- [18] MORITA E, KUMON Y, NAKAHARA T, et al. Docosahexaenoic acid production and lipid-body formation in *Schizochytrium limacinum* SR21[J]. Marine Biotechnology, 2006, 8(3):319-327.
- [19] CHANG K J L, MANSOUR M P, DUNSTAN G A, et al. Odd-chain polyunsaturated fatty acids in thraustochytrids [J]. Phytochemistry, 2011, 72(11):1460-1465.
- [20] BREMER G B. Lower marine fungi (Labyrinthulomycetes) and the decay of mangrove leaf litter[J]. Hydrobiologia, 1995, 295(1/3):89-95.
- [21] RAGHUKUMAR S, SATHE P V, SHARMA S, et al. Thraustochytrid and fungal component of marine detritus.

- III: Field studies on decomposition of leaves of the mangrove *Rhizophora apiculata*[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 1995, 9(2):117-125.
- [22] PORTER D. Phylum labyrinthulomycota[J]. *Handbook of Protoctista*, 1990:388-398.
- [23] MOSS S T. Thraustochytrids and other zoosporic marine fungi[M]//PETERSON D J, LARSEN J. *The Biology of Free-Living Heterotrophic Flagellates*, Oxford: Claendon Press, 1991:415-425.
- [24] CARLILE M J. Motility, taxis, and tropism in Phytophthora[J]. *Phytophthora, its Biology, Taxonomy, Ecology and Pathology*, 1983:95-107.
- [25] BURJA A M, RADIANTINGTYAS H, WINDUST A, et al. Isolation and characterization of polyunsaturated fatty acid producing *Thraustochytrium* species: screening of strains and optimization of omega-3 production[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2006, 72(6): 1161-1169.
- [26] 江丽丽, 温小斌, 耿亚洪, 等. 一株产油微藻的筛选及分子鉴定[J]. *水生生物学报*, 2013, 37(4):606-612.

Isolation, Identification and Fatty Acids Composition of Six Thraustochytrids Strains

MU Tong¹, YAN Xiao-jun¹, PENG Jia-li², WANG Ting-ting¹, HE Shan^{1*}

(1.Key Laboratory of Marine Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China;

2.Institute of Marine Biology, National Taiwan Ocean University, Keelung 20224, China)

Abstract: Six strains of thraustochytrids are isolated from organic materials floating on the ocean such as seaweed using pine pollen as bait. Strains PC003, PC021 and PC022 are identified as *Schizochytrium*. Their fatty acids are composed of more than 22% docosahexaenoic acid (DHA), 8.3% eicosapentaenoic acid (EPA), 9.4% arachidonic acid (ARA) and 19% C16:0. Strains PC004, PC014 and PC060 are identified as *Thraustochytrium*. Their fatty acids are made up of more than 33% DHA, 7.8% EPA and 24.7% C16:0. Furthermore, the content of DHA in fatty acids of strain PC004 is about 56.32 %, and it has the potential to be cultivated for potentially high DHA production. The analysis on the relationship between fatty acids compositions of these strains and their genetic has been made. It is speculated that they are closer in affinity, similar in composition and content of fatty acids. In conclusion, it is much easier to obtain high DHA yielding strains from *Thraustochytrium*.

Key words: seaweed; *Thraustochytrium*; *Schizochytrium*; fatty acids

(责任编辑 章踐立)