

一种海洋席藻淡化过程中脂肪酸组成的应急变化

徐继林 严小军 周成旭 马 斌 王晓申

(宁波大学海洋生物工程重点实验室, 宁波 315211)

摘要: 采用三种淡化方式, 对一种海洋席藻(*Phormidium* sp.) 淡化培养中脂肪酸组成的应急变化进行了研究。结果表明: 游离脂肪酸和结合脂肪酸在整个培养过程中有着完全不同的变化特征。对淡化过程的应急反应, 结合脂肪酸首先表现出含量降低而游离脂肪酸含量增加; 当藻体开始适应后结合脂肪酸的含量变化开始趋于稳定而游离脂肪酸含量呈现恢复性的降低; 当藻体生长状况开始下降时, 游离脂肪酸含量立即开始增加。其中游离脂肪酸 C18: 2 (n-6) 有着与其他脂肪酸不一样的变化特征, 在整个培养过程中都有着持续的增加直至开始死亡, 此现象在不更换培养液的方式中尤其明显, 认为它是该种席藻生长的自我抑制剂之一。采取换水培养和缓慢淡化的方式, 可以部分消减海生席藻淡化过程中脂肪酸等生理生化因子的剧烈变化。

关键词: 海洋席藻; 淡化; 脂肪酸; 应急变化

中图分类号: Q949.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2004)04-0374-06

席藻作为蓝藻门中的一个重要属, 除了对许多种类生化药理学方面的研究证明其含有一定的生物活性物质外^[1], 另外一个很重要的意义就是许多种类已经应用到治理水体富营养化、净化工业和生活废水方面^[2-3]。一种海洋席藻(*Phormidium* sp.), 生长过程中可以通过藻丝体相互连接与缠绕, 在水体中形成几毫米到几厘米的藻团, 其生态特性与 Talbot 等^[4] 研究的一种席藻(*Phormidium bohneri*) 极为相似。实验室研究发现, 此藻有着明显的去除水体营养盐、降低水体浊度的净水功能(待发表), 加上聚生的生物特征, 可以方便地防止其漂浮、扩散, 易于收集, 所以如果能通过淡化使之驯化成为淡水藻, 那么在处理水体富营养、净化水质方面将有着比较广阔的应用前景。

但是, 培养过程中发现这种藻在无菌淡水培养液中生长缓慢, 培养到一定时间会突然死亡, 怀疑在淡水培养过程中, 此席藻会产生一种自我抑制性物质。有研究表明, 淡水驯化会改变藻体中脂肪酸的组成和含量^[5]; 不同的培养条件可以改变某些席藻的脂肪酸组成^[6]; 对淡水席藻的培养研究已经证明会产生自我抑制性的脂肪酸^[7-8], 而海水席藻在淡

水培养中是否会产生这类自我抑制性物质还未见报道。许多研究表明^[9-10], 对于生长过程中恶劣环境的响应, 自由脂肪酸往往表现出与结合脂肪酸完全不同的变化, 于是对此席藻在淡化过程中的自由脂肪酸和结合脂肪酸组成的应急变化分别进行了研究。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 QP2010 气相色谱-质谱分析仪, 带 AOC-20 自动进样器(日本 SHIMADZU 公司), 30m × 0.25mm × 0.25μm SPB-50 色谱柱(美国 SUPELCO 公司); 冷冻干燥机(美国 LABCONCO 公司); YSI 6600 多参数水质分析仪(美国 YSI 公司); Micro 1000 营养盐自动分析仪(意大利 SYSTECA 公司); 另外, 国产旋转蒸发仪、旋涡混合仪、高速离心机、水浴锅、电子天平等。C19: 0 脂肪酸标准溶液和 14% BF₃-CH₃OH 溶液(美国 ALLTECH 公司), 色谱纯正己烷(美国 TEDIA 公司), 2CX-II 柱层析硅胶(青岛海洋化工厂分厂), 甲醇、氯仿、二氯甲烷、乙醚、无水硫酸钠、氢氧化钾均为国产分析纯。

1.2 样品 实验席藻由宁波大学裴鲁青教授于

收稿日期: 2003-09-29; 修订日期: 2003-11-10

基金项目: 国家新药基金(2003AA2Z3511); 浙江省青年人才基金(RC02059); 宁波市重点博士基金(02J2010F-16)资助

作者简介: 徐继林(1965-), 男, 江苏省泰州市人, 助研。从事微型藻类的生物化学研究

通讯作者: 严小军(1967-), 男, 教授, 博士生导师。Tel: 0574-87600458, E-mail: xiaojunyan@hotmail.com

1985 年 7 月分离自浙江省舟山市普陀区平阳浦海区(水温 25℃, 盐度 27‰), 20 ± 1℃保存于宁波大学浙江省海洋生物重点实验室微藻种质库。

1.3 席藻的淡化培养 培养用水由盐度为 25.80‰的天然海水和盐度为 0.45‰天然池塘水配制而成, 培养液采用浙水院 3 号配方, 在室温 20—25℃、光照强度 110—180 μE/m²/s 下培养。淡化前席藻提前在海水中扩大培养 30d, 通过 0.45 μm 滤膜抽滤后称重, 按三种方式进行淡化培养: (1) 分别向 16 只内装 500mL 淡水培养液的三角烧瓶中各加湿重 1g 左右(称重精确到 0.01g, 下同)的席藻, 每隔 3d 换 2/3 体积的淡水培养液; (2) 初始培养液为 16‰盐度的海水, 第 2d 加淡水使盐度为 8‰, 第 3d 换入纯淡水, 其他条件同(1); (3) 3d 后不再换水, 其他条件同(2)。

培养过程中所用培养液、工具均经高温消毒处理。每次换水后检测培养液中营养盐, 及时补充到初始水平。培养开始后第 1、4、7、10、13、16、19d 每种培养方式各随机取 2 瓶藻通过 0.45 μm 滤膜抽滤后称重, 冷冻干燥后进行脂肪酸分析, 结果取平均值。

盐度用 YSI6600 多参数水质分析仪分析, 营养盐用 Micro1000 营养盐自动分析仪分析。

1.4 游离脂肪酸和结合脂肪酸分离 席藻总脂用 BlighDyer 法^[11]提取。参考 Hiroaki Saito 等的方法^[12], 总脂通过 10cm 层析硅胶柱, 分别用 20mL 35:1(V/V)的二氯甲烷:乙醚溶液、20mL 9:1(V/V)二氯甲烷:乙醚溶液和 20mL 甲醇自然流速洗脱。把第一次和第三次洗脱液合并蒸干, 得结合脂肪酸; 第二次洗脱液单独蒸干得游离脂肪酸。

1.5 结合脂皂化及脂肪酸甲酯化 在结合脂中加入 2mL 6% 的氢氧化钾-甲醇水(4:1V/V)溶液, 充氮气 1min, 60℃温度下水浴 2h, 取出冷却, 移到离心管中, 加饱和 NaCl 溶液 1mL, 混匀, 用 1:1(V/V)盐酸调 pH<1, 1:4 氯仿:正己烷(V/V)6mL 分三次提取, 提取液合并后真空干燥得脂肪酸。向脂肪酸样品中加 15 μg C19:0 标准脂肪酸作为内标, 加 0.5mL 14% BF₃ 甲醇液, 充氮气, 60℃水浴 1h, 冷却, 加 1mL 蒸馏水, 用 6mL 正己烷分三次提取合并, 加入 1g 无水 Na₂SO₄, 静置 2h, 取出上层液蒸干, 1mL 色谱纯正己烷定容, 上机分析。

1.6 GC/MS 分析 进样口温度 250℃, 载气纯度为 99.999% 的高纯氮, 柱流速 0.8mL/min, 柱前压 73.0kPa, 柱起始温度 150℃, 保持 3.5min, 以 20℃/min 升至 200℃, 再以 5℃/min 升至 280℃, 保持 37min。分流进样 1 μL, 分流比 50:1。离子源选用 EI 源, 电子能量为

70eV, 离子源温度 200℃, 接口温度 250℃, 选取 SCAN 模式, 质量扫描范围为 40—600, 溶剂延迟 3.5min。用 CI 电离源分析时, 反应气为甲烷。

1.7 脂肪酸的定性与定量 在上述分析条件下, 选择所加内标 C19:0 脂肪酸作为标准, 其他组分都有各自相对 C19:0 脂肪酸的相对保留时间, 此相对保留时间即为定性依据之一。从 GC-CIMS-TIC 图中各组分的质谱, 可以初步确定出各组分的分子量; 再根据 GC-EIMS-TIC 中各组分的离子碎片质量谱图, 通过 NIST 库并参考脂肪酸标准谱图可以定性出所有的脂肪酸。根据加入的 15 μg C19:0 标准脂肪酸, 用内标法^[13]求得各脂肪酸的含量。

2 结果

2.1 淡化过程中席藻的生长

在整个培养过程中, 换水的两组生长状态相似, 都是到第 18—19d 左右藻体开始出现结合松散、藻体发白现象。而没换水的一组在第 14—15d 就有这种现象出现。采用生长系数 N_i 来反映席藻培养过程中的生长状况(图 1)。其中, $N_i = (W_i - W_0) / W_0$, W_0 指所测定样品瓶中席藻的初始重量(g), W_i 指所测定样品瓶中席藻经过 i 天培养后的重量。可见, 前两种培养方式下席藻的生长状况基本一致, 都是在第 1d 内没有生长, 后持续生长到第 13d 后生长速度基本停止并在第 16d 后出现负增长; 而后一种培养方式与其他类似, 只是停止生长的时间提前到第 10d 并在第 13d 后出现负增长。

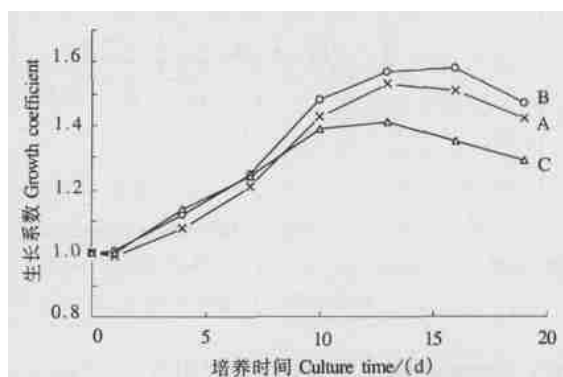


图 1 培养过程中席藻的生长

Fig 1 Growth of the *Phormidium* sp. in different culture modes

A 培养方式 1 Culture mode 1; B 培养方式 2 Culture mode 2;

C 培养方式 3 Culture mode 3

2.2 结合脂肪酸和游离脂肪酸的鉴定

从未淡化培养的席藻样品的 GC-MS 图谱中可以分别鉴定出 5 种主要游离脂肪酸和 11 种结合脂

肪酸,并用内标法计算出每克干重席藻中各脂肪酸的含量(表1)。游离脂肪酸中只有16、18碳二种饱和脂肪酸和一种14碳、两种18碳不饱和脂肪酸;而结合脂肪酸中含有14—18碳的所有饱和脂肪酸和

14、16、17、18、20、22碳的不饱和脂肪酸。该席藻中不含有EPA、AA、DHA等高级不饱和脂肪酸,而这些脂肪酸对人体和养殖动植物有较高的营养价值^[14],可见该微藻的饵料营养价值较低。

表1 席藻中脂肪酸的组成(mg/g干重)
Tab.1 Fatty acid composition of the *Phormidium* sp. (mg/g dw)

名称 Name	C14:0	C14:1 (n-3)	C15:0	C16:0	C16:1 (n-7)	C17:0	C17:1 (n-6)	C18:0	C18:1 (n-9)	C18:2 (n-6)	C20:1 (n-9)	C22:1 (n-9)	总和
结合脂肪酸 CFA	0.27	—	0.27	7.60	3.93	0.08	0.23	1.59	7.13	5.42	0.21	0.79	27.52
游离脂肪酸 FFA	—	0.10	—	0.25	—	—	—	0.15	0.18	0.14	—	—	0.82

2.3 三种淡化方式培养过程中脂肪酸组成的变化

2.3.1 结合脂肪酸组成的变化(图2) 三种方式下总结合脂肪酸的量随着培养时间的延长先有不同程度的降低,而到后期又有一定的增加。不同的是前两种培养方式下,到13d后才有一定增加,而且增加幅度较小,而不换水的培养方式下10d后就开始明显增加。

式培养下相似,除C18:0和C22:1(n-9)在整个培养周期里变化不太明显外,其他脂肪酸都是培养初期跟总结合脂变化类似,有着降低趋势,10—13d后变化不再明显。而如果整个培养过程中都不换水(培养方式3),主要脂肪酸除C18:0和C22:1(n-9)整个培养周期里变化一样不是很明显外,其他脂肪酸在培养初期都有迅速的降低,7—10d后有不同程度的增加。

席藻中主要结合脂肪酸的变化规律在前两种方

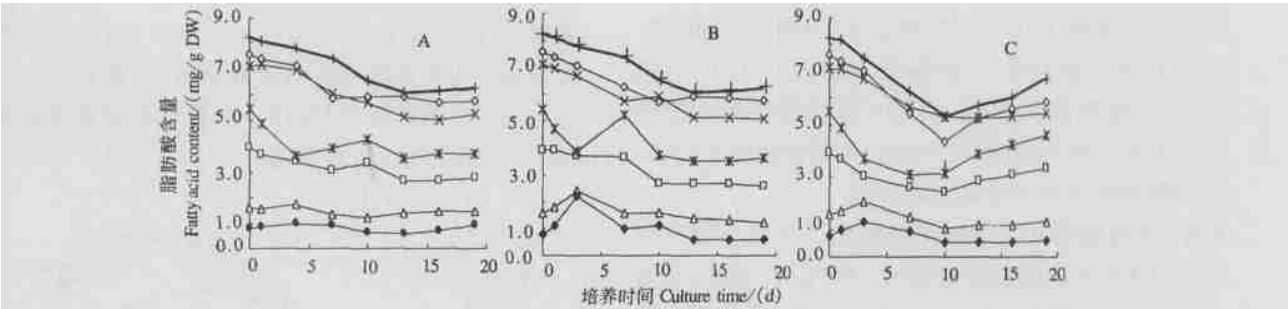


图2 不同培养模式下席藻结合脂肪酸的变化
Fig.2 The changes of bound fatty acids of the *Phormidium* sp. in different culture modes
—○— C16:1 —□— C16:1(n-7) —△— C18:0 —×— C18:1(n-9) —*— C18:2(n-6) —●— C22:1(n-9) —+— TFA * 0.3
A 培养方式1 Culture mode 1; B 培养方式2 Culture mode 2; C 培养方式3 Culture mode 3.

2.3.2 游离脂肪酸组成的变化(图3) 三种方式下总游离脂肪酸的量随着培养时间的变化呈现出一种波浪式的变化。开始都呈现出不同程度的增加,4d后就开始降低,而后游离脂肪酸再次增加,13d后又开始降低。而在整个培养过程中,总游离脂肪酸以及大多游离脂肪酸在第一种培养方式下增加的幅度

要比其他两种培养方式下增加的幅度大得多。
各游离脂肪酸的变化规律大多也是呈现先升后降再升再降的规律。其中,C18:1(n-9)、C18:2(n-6)在换水培养的两种方式下比不换水培养方式的变化更为剧烈。

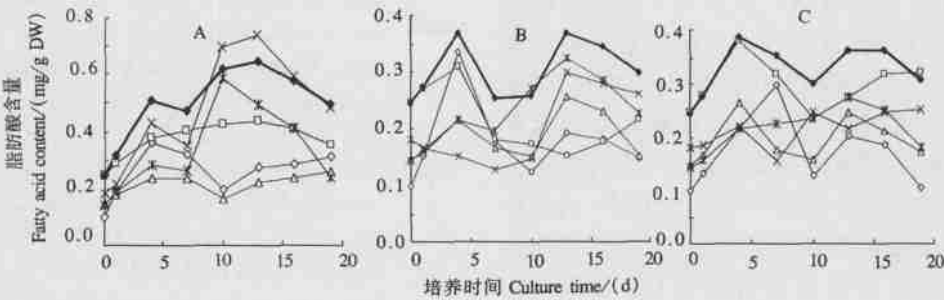


图3 不同培养模式下席藻游离脂肪酸的变化
Fig.3 The changes of free fatty acids of the *Phormidium* sp. in different culture modes

—◇— C14:1(n-3) —□— C16:0 —△— C18:0 —×— C18:1(n-9) —*— C18:2(n-6) —+— TFA = 0.3
A 培养方式 1 Culture mode 1; B 培养方式 2 Culture mode 2; C 培养方式 3 Culture mode 3

3 讨论

脂类物质具有重要的生物学功能, 它不仅参与细胞膜结构, 而且是细胞内贮存能量的物质和一些代谢过程的前体^[14, 15]。对于生长过程中恶劣环境的响应, 植物体的重要变化之一是体内脂肪酸的生物化学特性, 如种类、组成方式和含量发生改变^[9, 10], 而生活在海洋环境中的微藻在进入淡水后, 为了适应水体渗透压急剧下降和营养物质缺失, 作为细胞膜上大量存在的脂肪酸也势必会发生一系列相应的变化。

3.1 结合脂肪酸的应急变化

席藻总结合脂肪酸对淡化过程的应急反应开始表现出含量的降低, 主要是由于淡水环境所拥有的营养物质远远低于海水, 虽然在实验中向培养液中加了部分营养物质, 但还不可能达到跟海水中一致的营养水平, 于是藻细胞在淡水中摄取不到足够的营养物质的情况下, 势必要消耗自身的营养物质以维持生长, 由于作为能量储存的脂肪酸大多以结合脂肪酸的形式存在于生物体中, 所以结合脂肪酸自然会成为首选的消耗品。而当席藻适应了淡化环境后, 这些脂肪酸变化也开始趋于稳定。适应期后总结合脂开始增加的时间与席藻生长停止的时间相对应(图1、图2), 所以, 淡化过程中席藻总结合脂的增加又可以表征席藻生长状况良好程度的下降, 而其中C18:2(n-6)似乎比C16:0、C18:1(n-9)和C16:1(n-7)更为敏感。

3.2 游离脂肪酸的应急变化

植物体内游离脂肪酸占总脂的含量一般比较低, 席藻中也是如此(表1)。当受到恶劣环境影响时, 植物体生长状况良好度的下降往往伴随着游离

脂肪酸的增加^[10]。席藻总游离脂肪酸对淡化过程的应急反应, 也首先表现为含量的增加(图3)。进入生长稳定期后大多游离脂肪酸都有一定的修复作用, 从而在4d后表现出一定程度的下降。由于在10-13d后席藻生长开始放缓(图1), 继而出现藻体死亡现象, 可以预计在更早时间(7-10d)内, 藻体的生长状况已经开始下降, 事实上在7-10d后大多游离脂肪酸已经出现一定程度的上升(图3)。在13d后大多游离脂肪酸表现出下降的趋势, 也许是此时藻体已经开始死亡腐败, 而大多游离脂肪酸更容易从藻体中融出的缘故。

3.3 席藻的自我抑制作用

Murakami 等在对一种淡水席藻(*P. tenue*) 无菌培养时, 发现一定时间后藻体突然死亡的原因是由于培养过程中产生了自我抑制物质, 这种物质是先期融出的自由脂肪酸的混合物, 主要是C18:2和C18:3^[8]。实验中藻体培养到一定程度也会出现生长停止现象, 而且换水培养方式中生长停止的时间比不换水培养方式中要迟(图1), 可以推断, 也许是培养过程中藻体中产生了一种类似于Murakami等的实验中发现的自我抑制物质抑制了藻体的自我繁殖。在本文实验中没有鉴定到C18:3, 但可以注意到, 在不换水培养方式中, 游离脂肪酸C18:2(n-6)有着与其他游离脂肪酸完全不同的变化规律, 它从淡化开始一直到藻体死亡都呈现出逐步增加的趋势(图3-C); 而在换水培养方式下, 其含量也仅仅在3d后出现很小的下降幅度, 随后很快的增加(图3-A、图3-B)。可以认为该席藻在淡化培养中, 游离脂肪酸C18:2(n-6)存在一个不断积累的过程, 席藻培养一段时间后死亡的原因, 也许正是这种游离脂肪酸等抑制性物质积累到一定程度后从藻体中释放出

来,从而杀死了存活的藻体。所以为了能够在淡水中连续培养该种席藻,就要找出合适的培养条件能够抑制 C18:2(n-6) 等物质在水体中的累积。Yamada 等发现带有席藻共生细菌的培养液中的席藻比无菌培养的席藻存活时间要长的多,认为是这种细菌吸收了对席藻产生抑制作用的物质^[8],所以作者也可以考虑在培养液中加入合适的席藻共生微生物来消耗席藻产生的自我抑制剂如 C18:2(n-6) 等。

3.4 培养方式对脂肪酸应急变化的影响

藻细胞在正常生长时,细胞膜上的结合脂肪酸并不容易流失到培养液中,而自由脂肪酸在藻细胞体内积累到一定程度后可以融入水中^[7,8],所以当该席藻生长过程中的 C18:2(n-6) 等自我抑制性物质积累到一定程度部分融入培养液后,就可以通过更换培养液来将这部分融入水中的自我抑制性物质换出去,从而部分消除对席藻生长的抑制因素。图 1 可见,不换水培养的席藻比换水培养的席藻更早进入生长停止期,说明培养液的更换确实可以延长该席藻的生长周期。

比较图 3-A、图 3-B,盐度在 1d 直接降到 0(A) 与 3d 内逐步降到 0(B),游离脂肪酸变化增加的幅度前者明显大于后者,表现在藻体的生长变化虽然很类似,但在 A 培养方式下藻体的生长量始终都小于 B(图 1)。可见,外界施加于藻体的环境胁迫越大,游离脂肪酸增加的量也越大,对藻体的生长就越不利。本研究是针对席藻进入淡水后脂肪酸的应急变化,所以淡化过程都是在极短的时间里完成。如果采用在更长时间内用更缓慢降低盐度的方式,以减缓环境对席藻的胁迫作用,就可以部分消减海生席藻淡化过程中脂肪酸等生理生化因子的剧烈变化。

可见,采取换水培养和缓慢淡化的方式,并寻求合适席藻的共生微生物来消耗席藻产生的自我抑制剂,有可能大大增加该席藻在淡水中的生长速度和存活周期,从而使该席藻在处理水体富营养化、净化水质等生态环保领域得到广泛的应用。

参考文献:

[1] Mundi S, Kreitlow S, Nowotny A, et al. Biochemical and pharmaco-

logical investigations of selected cyanobacteria [J]. In: J Hyg and Environ Health, 2001, 203: 327—334

[2] Dumas A, Laliberté G, Lessard P, et al. Biotreatment of fish farm effluents using the cyanobacterium *Phormidium bohneri* [J]. Aqua Eng, 1998, 17: 57—68

[3] Blier R, Laliberté G, de la Nôle J. Tertiary treatment of cheese factory anaerobic effluent with *Phormidium bohneri* and *Micractinium pusillum* [J]. Biore Technol, 1995, 52(2): 151—155

[4] Stadler T, Mollion J, Verduz MC, et al. Algal biotechnology [M]. Barking, UK: Elsevier Applied Science, 1988. 403—411

[5] Lu K H, Lin X. The effect of domestication with seawater and fresh water on fatty acid composition of five species of microalgae [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2001, 25(2): 179—184. [陆开宏, 林霞. 海、淡水驯化对 5 种微藻脂肪酸组成的影响 [J]. 水生生物学报, 2001, 25(2): 179—184]

[6] Cañizares Villanueva R O, Domínguez A R, Cruz M S, et al. Chemical composition of cyanobacteria grown in diluted, aerated swine wastewater [J]. Biore Technol, 1995, 51(2—3): 111—116

[7] Yamada N, Murakami N, Kawamura N, et al. Mechanism of an early lysis by fatty acids from axenic *Phormidium tenue* (musty odor producing cyanobacterium) and its growth prolongation by bacteria [J]. Biol Pharm Bull, 1994, 17(9): 1277—1281

[8] Murakami N, Yamada N, Sakakihara J. An autolytic substance in an axenic cyanobacterium *Phormidium tenue* [J]. Chem Pharm Bull, 1990, 38(3): 812—814

[9] Welti R, Weig L, Maoyin L, et al. Profiling membrane lipids in plant stress responses: role of phospholipase in freezing induced lipid changes in *arabidopsis* [J]. J Biol Chem, 2002, 277(35): 31994—32002

[10] Barclay K D, McKersie B D. Peroxidation reactions in plant membranes: effects of free fatty acids [J]. Lipids, 1994, 29(12): 877—883

[11] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method lipid extraction and purification [J]. Can J Biochem Physiol, 1959, 37: 911—923

[12] Saito H, Kotani Y, Keriko J M, et al. High levels of ω -3 polyunsaturated fatty acids in *Euphausia pacifica* and its role as a source of docosahexaenoic and icosapentaenoic acids for higher trophic levels [J]. Mar Chem, 2002, 78: 9—28

[13] Wang Z F. Qualitative and quantitative analysis of chromatography [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000. 170—172. [汪正范. 色谱定性及定量 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000. 170—172]

[14] Kayama M, Araki S, Sato S. Lipids of Marine Plants [M]. Vol II. Florida: CRC Press, Inc. 1989, 4—21

[15] Ching Piao Liu, Liang Ping Lin. Ultrastructural study and lipid formation of *Isocrysis* sp. CCMP 1324 [J]. Bot Bull Acad Sin, 2001, 42: 207—214

FATTY ACIDS STRESS RESPONSES OF A MARINE CYANOPHYTE *PHORIDIUM* SP.
DURING DESALINATION PROCESS

XU Ji-Lin, YAN Xiao-Jun, ZHOU Cheng-Xu, MA Bin and WANG Xiao-Shen
(Key Laboratory of Marine Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211)

Abstract: A marine filamentous, mat forming cyanobacteria, which was originally isolated from Zhoushan coastal area in 1985, and kept in the Key Laboratory of Marine Biotechnology, Ningbo University, has exhibited potential application in water clearing. In order to culture a marine cyanophyte *Phormidium* sp. in fresh water, three modes of desalination were carried out (mode 1, the alga was directly cultured into fresh water, and followed by change of 2/3 volume of culture medium every 3 days; mode 2, the alga was cultured in 16‰ sea water, and desalinated to be 8‰ in the second day, and total fresh water in the third, and followed by change of 2/3 volume of culture medium every 3 days; mode 3, the desalination process was the same as mode 2, except not followed by the change of culture medium). The growth curve experiment showed that the worst growth condition occurred in mode 3 with negative growth and bleaching phenomena. The changes of fatty acids upon the desalination stress were determined using GC-MS. Total lipids were extracted using Bligh-Dyer method, and free fatty acid and bound fatty acids were separated using silica gel chromatography. After saponification and methylation, the fatty acids were subjected to Shimadzu QP 2010 gas chromatography mass spectrometer using AOC-20 autosampler, with SPB-50 column (30m × 0.25mm × 0.25μm). The fatty acid was qualified by retention time and mass spectrometry, and quantified using relative composition with C19:0 as internal standard. The results indicated that free fatty acids and bound fatty acids change in different patterns. At first 3 days, the bound fatty acids decrease while free fatty acids increase. Then, after the alga begins to accommodate the environmental conditions, the contents of bound fatty acids are stabilized, and the free fatty acids decrease. When the alga enters into senescent stage, the free fatty acids increase rapidly again. Among each individual fatty acid, the change pattern of free fatty acid C18:2 (n-6) is weird, that it increases all the time during the culture period until the death of the alga, especially in the culture mode 3 (no change of culture medium). Therefore, C18:2 (n-6) is considered as the growth auto-inhibition compound. Based on the research data, it is proposed that frequent culture medium change and prolonged desalination process could alleviate the unwanted effects of radical changes of fatty acids content.

Key words: Marine cyanophyte; *Phormidium* sp; Desalination; Fatty acid; Stress