

# 低温胁迫对螺旋藻脱氢酶活性的影响\*

栗淑媛<sup>1</sup> 王俊琴<sup>1</sup> 马华山<sup>1</sup> 乔辰<sup>2</sup>

(内蒙古师范大学生命科学与技术学院 呼和浩特 010022)<sup>1</sup>

(内蒙古农业大学农学院 呼和浩特 010019)<sup>2</sup>

**摘要:** 低温胁迫试验结果表明, 处理的温度越低、天数越长, 鄂尔多斯高原碱湖的钝顶螺旋藻  $S_1$ 、引进的钝顶螺旋藻  $S_2$  和极大螺旋藻  $S_3$  细胞内脱氢酶活性越低。在每一种处理下, 脱氢酶活性高低的排列顺序均为  $S_1 > S_2 > S_3$ 。脱氢酶活性的  $Q_{10}$  值变化范围排列为  $S_1 < S_2 < S_3$ 。 $S_1$  的生理活动临界低温为  $5^{\circ}\text{C}$ ,  $S_2$  和  $S_3$  的为  $15^{\circ}\text{C}$ 。 $S_1$  对低温有较强的适应性, 为耐寒植物;  $S_2$  和  $S_3$  为冷敏感植物。

**关键词:** 螺旋藻, 低温胁迫, 脱氢酶, 温度系数 ( $Q_{10}$ )

**中图分类号:** Q945.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2005) 04-0047-04

## The Effect of Low Temperature Stress on Activity of Dehydrogenase in *Spirulina* (*Arthrospira*) \*

LI Shu-Yuan<sup>1</sup> WANG Jun-Qin<sup>1</sup> MA Hua-Shan<sup>1</sup> QIAO Chen<sup>2</sup>

(College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Huhehaote 010022)<sup>1</sup>

(Department of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Huhehaote 010019)<sup>2</sup>

**Abstract:** The results of cold stress experiment showed that lower temperature and longer days, lower activities of dehydrogenase in *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* ( $S_1$ ) from alkaline lake in Erdos Plateau and the imported *S. (A.) platensis* ( $S_2$ ) as well as *S. (A.) maxima* ( $S_3$ ). Under the same condition, the order of activities of dehydrogenase is  $S_1 > S_2 > S_3$ . The order of change range of the  $Q_{10}$  value of activity of dehydrogenase is  $S_1 < S_2 < S_3$ . The critical low temperature for the physiological activity of  $S_1$  is  $5^{\circ}\text{C}$ , which for  $S_2$  and  $S_3$  is  $15^{\circ}\text{C}$ . It is showed that  $S_1$  has better adaptability for low temperature and is cold resistance plant;  $S_2$  and  $S_3$  are cold sensitive ones.

**Key words:** *Spirulina* (*Arthrospira*), Low temperature stress, Dehydrogenase, Temperature coefficient ( $Q_{10}$ )

目前, 国内外螺旋藻的研究对象和产业化藻种主要是来自非洲 Chad 湖的钝顶螺旋藻和墨西哥 Sosa Texcoco 湖的极大螺旋藻。它们的原产地在北纬十几度, 属于热带、亚热带地区, 均属于喜高温 ( $28^{\circ}\text{C} \sim 35^{\circ}\text{C}$ ) 的物种<sup>[1]</sup>。温度是植物生长的必要条件, 也是其自然地理分布的主要限制因素。为了扩大我国螺旋藻养殖的地理范围, 使其生产地由南向北适当发展, 急需得到耐低温藻种。1996 年我们在鄂尔多斯高原巴彦淖尔湖及其邻近的碱湖 ( $39^{\circ}01' \text{N} \sim 39^{\circ}23' \text{N}$ ;  $109^{\circ}04' \text{E} \sim 109^{\circ}32' \text{E}$ ) 发现了能形成大面积水华的钝顶螺旋藻<sup>[2]</sup>。经研究, 该藻生长的温度范围约为  $6^{\circ}\text{C} \sim 40^{\circ}\text{C}$ , 最适温度约为  $24^{\circ}\text{C}$ ; 在  $-18^{\circ}\text{C}$  中冰冻 24 h 后仍然可以复生, 属于低温、广温型的物种<sup>[3]</sup>。与呼吸代谢有关的脱氢酶活性是植物抗寒性研究的一个重要生理指标。为此, 对低温胁迫下鄂尔多斯高原碱湖的钝顶螺旋藻脱氢酶活性进行了测定, 并与引进种进行了比较。探索

\* 国家自然科学基金项目 (No. 30460104)

内蒙古自然科学基金项目 (No. 200308020310)

收稿日期: 2004-10-08, 修回日期: 2005-02-28

其在代谢功能方面的抗寒机理，为该藻的基础研究积累资料，为低温藻种的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料见表 1。

表 1 实验材料

样品	物种	产地 (来源)
S <sub>1</sub>	钝顶螺旋藻	鄂尔多斯高原巴彦淖尔碱湖
	<i>Spirulina (Arthrospira) platensis</i>	(内蒙古农业大学)
S <sub>2</sub>	钝顶螺旋藻	非洲 Chad 湖
	<i>S. (A.) platensis</i>	(南京大学生物科学与技术系)
S <sub>3</sub>	极大螺旋藻	墨西哥 Sosa Texcoco 湖
	<i>S. (A.) maxima</i>	(中国农业科学院)

注：下文对应样品以此表为准

1.2 方法

1.2.1 藻的培养：用 Zarrouk 培养液<sup>[4]</sup>在室温自然光照下间歇通空气培养。

1.2.2 脱氢酶活性的测定：采用氯化三苯基四氮唑 (TTC) 法<sup>[5]</sup>测定脱氢酶活性，略有改动。准确称取鲜藻 0.5 g，置于 25 mL 的 Zarrouk 培养液中，在光照时间 10 h / d、光照度 1,000 Lx 下，分别于 25℃、15℃、5℃、0℃、-5℃、-10℃处理 1 d、3 d、5 d、7 d。取不同处理的样品液，经 360 目筛绢过滤得藻丝体，以 1g 鲜藻 1 h 还原 TTC 毫克数表示脱氢酶活性 (mg/gFW · h)。每个处理重复 3 次。

2 结果与讨论

2.1 脱氢酶活性

处理的温度越低，螺旋藻细胞脱氢酶活性越低；处理时间越长，脱氢酶活性也越低。脱氢酶活性的高低受处理低温和天数组组合的叠加影响。即处理温度越低，时间越长，脱氢酶活性越低。在 -10℃下处理 5 d 和 7 d 以及 -5℃下处理 7 d，螺旋藻脱氢酶活性均丧失 (图 1)。

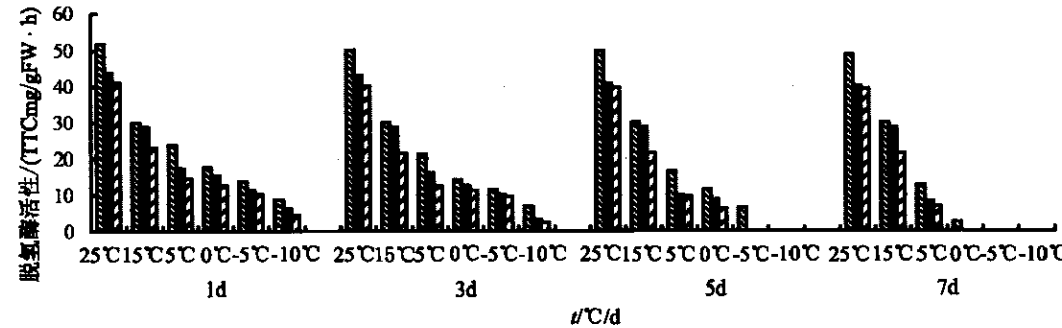


图 1 在不同温度、天数处理下螺旋藻脱氢酶活性的比较

■ S<sub>1</sub>, ■ S<sub>2</sub>, ▨ S<sub>3</sub>

在任何一种处理下，螺旋藻脱氢酶活性高低排列顺序为 S<sub>1</sub> > S<sub>2</sub> > S<sub>3</sub>。在 -5℃ 时处

理 5 d 和 0℃ 时处理 7 d,  $S_2$  和  $S_3$  脱氢酶均无活性, 仅  $S_1$  具有活性, 分别为 6.56 mg/gFW · h 和 2.5 mg/gFW · h, 且为最大活性的 12.6 % 和 4.8 %。说明鄂尔多斯高原碱湖的钝顶螺旋藻  $S_1$  对低温逆境的抗性比引进非洲 Chad 湖的钝顶螺旋藻  $S_2$  和墨西哥 Sosa Texcoco 湖的极大螺旋藻  $S_3$  均强, 且  $S_2$  的又比  $S_3$  的强。

采用方差分析和 Duncan 法的种、温度间多重比较, 在低温胁迫下  $S_1$ 、 $S_2$  和  $S_3$  之间脱氢酶活性均达到极显著差异 ( $P < 0.01$ ); 不同的温度梯度间脱氢酶活性除了 0℃ 与 5℃ 间差异不显著外, 其它温度间均达到极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

脱氢酶活性随处理温度降低而下降, 说明螺旋藻的呼吸代谢随温度降低而减弱。这样一方面可以减少有机物消耗; 另一方面呼吸减弱造成整体代谢强度减弱, 抗逆性增强。

## 2.2 脱氢酶活性的温度系数 ( $Q_{10}$ )

在处理温度较高、天数较短时, 螺旋藻脱氢酶活性的  $Q_{10}$  值为 1.26 ~ 1.86, 均小于 2; 在处理温度较低、天数较长时,  $Q_{10}$  值为 2.02 ~ 4.52, 均大于 2。螺旋藻脱氢酶活性的  $Q_{10}$  值变化范围,  $S_1$  为 1.26 ~ 2.34,  $S_2$  为 1.40 ~ 3.89,  $S_3$  为 1.29 ~ 4.52,  $Q_{10}$  值变化范围排列为  $S_1 < S_2 < S_3$ 。在 0℃ / -10℃ 处理 3 d,  $S_1$ 、 $S_2$  和  $S_3$  的  $Q_{10}$  值分别为 2.09、3.89、4.52,  $S_1$  分别是  $S_2$  的 53.7 %;  $S_3$  的 46.2 %。

前人已证明, 当温度下降时, 抗寒植物的  $Q_{10}$  值变化不大, 而冷敏感植物的  $Q_{10}$  值明显增大<sup>[6]</sup>。据此认为  $S_1$  的  $Q_{10}$  值变化不大, 是抗寒植物;  $S_2$  和  $S_3$  的  $Q_{10}$  值明显增大, 为冷敏感植物, 且  $S_3$  较  $S_2$  更不耐冷。

## 2.3 脱氢酶活性的 Arrhenius 图

从图 2 可以看出, 在处理 1 d、3 d 和 5 d 时,  $S_1$  脱氢酶活性的 Arrhenius 图均为直线; 7 d 时为折线, 折点对应的温度为 5℃。在处理 1 d 和 3 d 时,  $S_2$  和  $S_3$  的均为折线, -5℃ 时为折点, 3 d 的折线程度比 1 d 的更明显, 且  $S_3$  比  $S_2$  折线程度明显; 5 d 时,  $S_2$  的 Arrhenius 图不规则,  $S_3$  的为直线; 在 7 d 时, 2 个样品的图形均为折线, 折点对应的温度为 15℃。

大部分酶促反应在某个温度范围内都符合 Arrhenius 公式, 其图形表现为具有一定斜率的直线。

耐寒植物在比较宽的温度范围内为一直线, 而冷敏感植物当温度降到其生理活动的临界值 (过渡温度) 以下时, 直线的斜率突然增大而成为折线。折线反映酶促反应的活化能 ( $E_a$ ) 发生改变, 代谢转向异常<sup>[6]</sup>。 $S_1$  在比较宽的温度范围内 (25℃ ~ -10℃) 为一直线 (处理 1 d ~ 5 d), 故为耐寒植物;  $S_2$  和  $S_3$  基本为折线 (1 d、3 d 和 7 d), 为冷敏感植物。处理 7 d 时, 3 个样品脱氢酶活性的 Arrhenius 图均为折线,

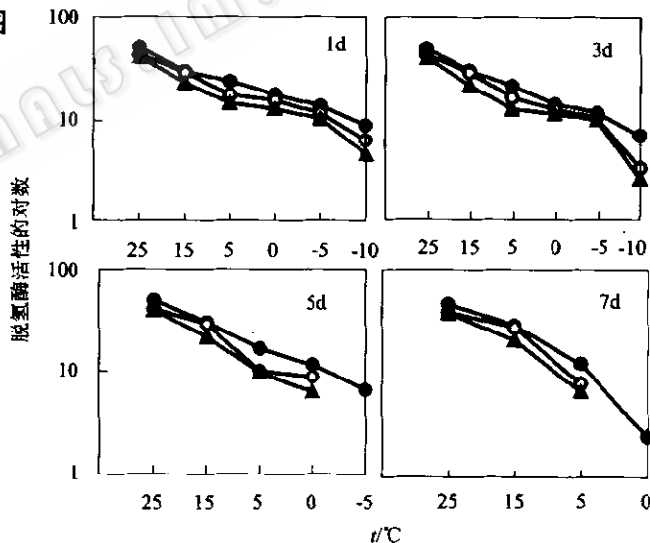


图 2 低温处理下螺旋藻脱氢酶活性 Arrhenius 图

●  $S_1$ , ○  $S_2$ , ▲  $S_3$

但  $S_1$  的折点为  $5^{\circ}\text{C}$ ,  $S_2$  和  $S_3$  的为  $15^{\circ}\text{C}$ , 这说明鄂尔多斯高原碱湖的钝顶螺旋藻生理活动临界低温比引进种的低  $10^{\circ}\text{C}$ 。这 3 个样品的过渡温度与我们对其生长的最低极限温度测定的结果相近<sup>[3]</sup>。

$S_2$  和  $S_3$  脱氢酶活性 Arrhenius 图的折点所对应的温度有 2 个, 处理 1 d 和 3 d 时为  $-5^{\circ}\text{C}$ ; 7 d 时为  $15^{\circ}\text{C}$ , 究竟哪一个是过渡温度? 考虑到  $S_2$  和  $S_3$  起源于热带, 该地区无霜冻的自然现象, 不存在  $-5^{\circ}\text{C}$  条件; 又结合  $S_2$  生长的最低温度略高于  $12^{\circ}\text{C}$  (待发表), 故推断  $S_2$  和  $S_3$  的过渡温度为  $15^{\circ}\text{C}$ , 而不是  $-5^{\circ}\text{C}$ 。所以, 我们认为冷敏感植物过渡温度的确定既要考虑时间临界值问题, 又要结合其生境温度等条件综合加以判断, 这样可能更准确些。

文中用温度系数 ( $Q_{10}$ ) 和 Arrhenius 图的分析判断耐寒植物和冷敏感植物, 所得的结果是一致的, 但后者可提供过渡温度这一指标, 故优于前者。

**致谢** 引进的钝顶螺旋藻和极大螺旋藻分别由曾昭琪教授和陈婉华研究员惠赠, 特此致谢。

### 参 考 文 献

- [1] 陈 峰, 姜 悦. 微藻生物技术. 北京: 中国轻工业出版社, 1999. 106.
- [2] 乔 辰, 李博生, 曾昭琪. 干旱区资源与环境, 2001, 15 (4): 86 ~ 91.
- [3] 高凌岩, 乔 辰. 科学技术与工程, 2003, 3 (5): 421 ~ 423.
- [4] Zarrouk C. PhD Thesis University of Paris France, 1966, 74.
- [5] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 195 ~ 199.
- [6] 何若槿. 植物低温逆境生理. 北京: 中国农业出版社, 1995. 9 ~ 36.