

## 南极冰藻 *Chlorophyceae* L4 抗氧化酶活性对温度升高的响应

郝林华 孙丕喜 王能飞 沈继红

(国家海洋局第一海洋研究所, 青岛 266061)

**摘要** 为了阐明南极冰藻 *Chlorophyceae* L4 抗氧化酶活性对温度升高的响应以及了解冰藻细胞内抗氧化酶系统对活性氧自由基的清除作用, 对不同温度下(包括最适温度 6 °C、高于最适温度 10 °C 和 15 °C) *Chlorophyceae* L4 细胞中自由基的产生速率、丙二醛含量的变化和相应的抗氧化酶系统活性的变化进行了测定。结果表明, 在环境温度高于最适生长温度的初期(24~72 h), *Chlorophyceae* L4 中自由基产生速率、丙二醛含量迅速提高, 但随后(96~144 h)很快降低, 恢复到细胞能容忍的水平。各种抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 活性在初期显著降低, 但随后响应温度的变化很快升高, 明显比对照组的高, 而且温度越高酶活性增幅越高。

**关键词** 南极冰藻 活性氧自由基 抗氧化酶 高温响应

**中图分类号** Q949.2 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)03-0097-06

## Response of antioxidant enzymes activity in antarctic ice microalgae *Chlorophyceae* L4 to temperature increment

HAO Lin-hua SUN Pi-xi WANG Neng-fei SHEN Ji-hong

(First Institute of Oceanography, SOA, Qingdao 266061)

**ABSTRACT** In order to understand antioxidant enzymes activities in response to temperature increment and the active oxygen free radical clearing function of antioxidant enzymes in antarctic ice microalgae *Chlorophyceae* L4, the free radical generation rate, the malonaldehyde (MDA) content changes and the corresponding antioxidant enzymes activities changes in *Chlorophyceae* L4 at different temperatures were determined. The results showed that the free radical generation rate and MDA content in *Chlorophyceae* L4 increased rapidly in early time (24 to 72 hours) of temperature increment, then decreased rapidly, and could return to tolerable level at the end of time. Under the stress of high temperature, the superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities in *Chlorophyceae* L4 slowed down sharply in early time, then increased obviously, which were much higher than those in the control, and their activities became higher at higher temperatures. In a word, the antioxidant enzymes system plays an important role in the adaptation of antarctic ice microalgae to high temperature environment.

**KEY WORDS** Antarctic ice microalgae Active oxygen free radical  
Antioxidant enzymes High temperature response

南极具有独特的地理位置和气候特征,开展极地生物研究对于揭示极端环境下的生命活动特征具有重大意义。目前,温室效应和全球气候变化已经影响到南极地区,气温升高对极地生物链尤其是生长在极地的浮游生物初级生产力、生物链的基础部分产生明显影响。而极地生物链中的南极海冰区藻类,是首先受到影响的群体(何剑锋等 2003)。

南极冰藻是地球上能够在海冰中旺盛生长的罕见的生物群落,是南极生物链极好的生态指示种,在维持南大洋食物链中起着至关重要的作用(Legendre 1992)。严酷的极地环境造就了生存于海冰中的南极冰藻某些特殊的生物学特征,具有一系列适应该生境所需的复杂的生理和新陈代谢特征,形成了独特的适应机制,因而能够在海冰中生长和繁殖,在极地生态系统中起着关键作用。

温度是限制南极冰藻生长的一个重要因子,南极冰藻在高于生长适宜温度下生长受到抑制,抵抗高温胁迫的机制和能力制约着冰藻类群的生存,而南极冰藻的生存又威胁到极地生态的生物多样性和极地生物链的完整性。因此,温度适应是决定冰藻种类生存和群落结构的重要因素之一,冰藻对于温度的适应性可能包括体内各种代谢相关酶系统活性的改变以及生物膜结构的修饰等。以前诸多研究报道关于南极冰藻冷适应的作用机制(丁 燊等 2006; 缪锦来等 2002; 陈 青等 2006; Zheng *et al.* 2006),但有关其热适应机制的研究较少,尤其是对于高温下南极冰藻活性氧自由基与抗氧化酶系统之间的关系研究目前尚未见报道。因此,研究温度升高后冰藻活性氧的产生及抗氧化酶活性的变化具有重要的理论意义和应用价值。本研究对不同温度下 *Chlorophyceae* L4 细胞中的活性氧及抗氧化酶予以系统的测定,以期从氧化胁迫和抗氧化系统防御的角度,探讨南极冰藻适应高温环境的生理生化机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 藻种和培养方法

以国家海洋局海洋生物活性物质重点实验室于 2001 年 10 月~2002 年 4 月在中国第 18 次南极科学考察时采集的海冰样品中分离所得的 1 株南极绿藻 *Chlorophyceae* L4(实验室保存)为试验材料。将冰藻在封口膜封口的 1 L 三角瓶中培养,采用 Provasoli 培养基(Provasoli 1968),放在可控温光照的培养箱中,培养温度为 6 °C,1 000~1 500 $\times$ ,光照周期为 12 h 光/12 h 暗。不充气,每日摇动数次。每隔 14 d,将藻体转移到新的培养基中来维持细胞的对数生长,以 20 % 的比例进行接种。当冰藻的生长达到对数生长期时,设置 6、10 和 15 °C 3 个温度试验组,将冰藻分别放在 3 个不同温度下的可控温光照培养箱中,除温度外其他条件相同,按上述方法继续培养,每个温度下设 3 个平行组。分别于 24、48、72、96、120 和 144 h 后取样,在 4 °C、6 000 r/min 下离心 20 min 收集鲜藻体,再用 4 °C 下的蒸馏水漂洗 3~4 次,以除去藻体表面盐分,最后 6 000 r/min 离心 10 min,得不同温度条件下培养的藻体,待用。

### 1.2 测定方法

#### 1.2.1 活性氧自由基产生速率的测定

取 1.0 g 鲜藻体,放入预冷的研钵中,加入适量石英砂和 PVP,再加入 5.0 ml 的 65 mmol/L pH 7.8 PBS 缓冲液于冰浴中研磨匀浆,将匀浆液于 4 °C、10 000 g 离心 20 min,取上清液参照王爱国等(1990)的方法测定活性氧自由基的产生速率。

#### 1.2.2 丙二醛 MDA 含量的测定

采用硫代巴比妥酸(TBA)分析法,参照 Buege 等(1978)方法(略有改进)。取 0.5 g 鲜藻体,放入预冷的研钵中,加入适量石英砂和 PVP,再加入 5.0 ml 的 50 mmol/L pH 7.0 PBS 缓冲液于冰浴上研磨匀浆,将匀浆液于 4 °C、10 000 g 离心 20 min,收集上清液。取样品提取液 1 ml,加入 3 ml 0.5 % 的 TBA(溶解于 5 % TCA),

混合均匀,在沸水浴中煮沸 30 min,立即冷却,10 000 r/min 下离心 10 min,取上清液分别在 450、532 和 600 nm 下测定 OD 值,计算 MDA 含量。

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/g}) = [6.45 \times (\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56 \times \text{OD}_{450}] \times V_t / FW$$

式中, $V_t$  为组织样品提取液总体积(ml), $FW$  为样品鲜重(g)。

### 1.2.3 SOD 活性的测定

取 1.0 g 鲜藻体,放入预冷的研钵中,加入适量石英砂和 PVP,再加入 5.0 ml 的 50 mmol/L pH 7.8 PBS 缓冲液于冰浴上研磨匀浆,将匀浆液于 4 ℃、10 000 g 离心 20 min,收集上清液,记录体积,上清液即为酶液。

SOD 活性测定采用氮蓝四唑比色法(Beauchamp *et al.* 1971)。体系产生的超氧阴离子自由基还原 NBT 形成蓝色络合物,SOD 作为超氧阴离子自由基的抑制剂清除抑制此反应。以每克样品鲜重每小时光化还原到对照 50 % 时的 OD 值变化为 1 个酶活单位 U。

### 1.2.4 CAT 活性的测定

取 1.0 g 鲜藻体,放入预冷的研钵中,加入适量石英砂和 PVP,再加入 5.0 ml 的 62.5 mmol/L pH 7.8 PBS 缓冲液于冰浴上研磨匀浆,将匀浆液于 4 ℃、10 000 g 离心 20 min,收集上清液,记录体积,上清液即为酶液。

CAT 的测定采用紫外分光光度法(Upadhyaya *et al.* 1985)略有改进。3 ml 反应体系中依次加入 0.1 ml 样品提取液,1.9 ml 0.05 mol/L pH 7.0 PBS 缓冲液,然后立即加入 1.0 ml 10 mmol/L  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,开始计时,于 240 nm 下测定 OD 值,每隔 20 s 读数 1 次,共测 4 次,测定反应 1 min 时的 OD 值,以 PBS 缓冲液加  $\text{H}_2\text{O}_2$  为对照。以每克样品鲜重每分钟 OD 值变化 0.01 为 1 个酶活单位 U。

### 1.2.5 POD 活性的测定

取 1.0 g 鲜藻体,于预冷的研钵中,加入适量石英砂和 PVP,再加入 5.0 ml 的 50 mmol/L pH 7.8 PBS 缓冲液于冰浴上研磨匀浆,将匀浆液于 4 ℃、10 000 g 离心 20 min,收集上清液,记录体积,上清液即为酶液。

POD 活性测定采用愈创木酚比色法(Chance *et al.* 1955)略有改进。取 1.0 ml 样品提取液,加入 3.0 ml 反应液(取 0.1 mol/L pH 5.8 的 PBS 缓冲液 50.0 ml,加入愈创木酚 28  $\mu\text{l}$ ,搅拌溶解,待溶液冷却后加入 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  19  $\mu\text{l}$ ,混匀后保存于冰箱中备用),立即开始计时,在 470 nm 下测定 OD 值,每隔 1 min 记录 1 次,共测 3 min,以不加酶的反应液为对照。以每克样品鲜重每分钟 OD 值变化 0.01 为 1 个酶活单位 U。

## 1.3 数据统计和分析方法

测定结果均用平均值±标准偏差(Mean±Sd)表示,用 Excel 2003 进行统计学分析,不同参数之间利用 SPSS 12.0 进行相关性分析,以  $P \leq 0.05$  为显著水平差异。

## 2 结果

### 2.1 不同温度条件对南极冰藻 *Chlorophyceae* L4 生长的影响

在冰藻的生长过程中,影响冰藻生长的主要因素包括光、温度、营养盐和盐度等。温度是除光照之外影响冰藻生长的最主要因素。已有研究表明,冰藻 *Chlorophyceae* L4 的最适生长温度是 6 ℃(缪锦来等 2004)。本试验中,6 ℃时冰藻生长迅速,在短时间内能够快速生长,获得的藻密度大,藻细胞浓度大。将冰藻转移到较高温度 10 和 15 ℃下继续培养,冰藻能够耐受这样的温度,但高温对冰藻生长不利,生长速率明显降低,镜检观察表明,藻细胞不生长,甚至部分藻细胞发生变形,体积增大。当温度高于 15 ℃,对冰藻来说是致命的,藻密度一直下降,表明细胞开始死亡,最终藻体沉淀在瓶底。因此,本研究的环境温度最高为 15 ℃。

### 2.2 不同温度条件下 *Chlorophyceae* L4 活性氧自由基的测定结果

不同温度条件下 *Chlorophyceae* L4 活性氧自由基产生速率的测定结果见图 1。从图 1 可以看出,在 6 ℃培养时,*Chlorophyceae* L4 的活性氧自由基产生速率几乎没有变化,维持在 15~16 nmol/g·min。在 10 ℃培

养时,活性氧自由基产生速率由最初的  $15.61 \text{ nmol/g} \cdot \text{min}$  在 24 h 时迅速上升到  $32.57 \text{ nmol/g} \cdot \text{min}$ ; 此后逐渐上升,第 72 h 达到最大值  $42.65 \text{ nmol/g} \cdot \text{min}$ , 近似为  $6^\circ\text{C}$  时的 3 倍; 72 h 后有明显的回落, 96 h 下降至  $29.34 \text{ nmol/g} \cdot \text{min}$ , 此后小幅下降, 趋于平稳, 接近  $6^\circ\text{C}$  时水平。当  $15^\circ\text{C}$  培养时, *Chlorophyceae* L4 活性氧自由基产生速率由最初的  $15.61 \text{ nmol/g} \cdot \text{min}$  在 24 h 时快速升高到  $45.86 \text{ nmol/g} \cdot \text{min}$ , 是  $6^\circ\text{C}$  时的 3 倍多; 然后继续上升, 72 h 时达到最大值  $60.46 \text{ nmol/g} \cdot \text{min}$ ; 活性氧自由基产生速率在 72~96 h 有明显的回落, 下降至  $46.64 \text{ nmol/g} \cdot \text{min}$ , 之后小幅下降, 趋于平稳, 但仍显著高于  $6^\circ\text{C}$  时水平, 约为  $6^\circ\text{C}$  时的两倍多 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 不同温度条件下 *Chlorophyceae* L4 丙二醛含量的测定结果

不同温度条件下 *Chlorophyceae* L4 丙二醛含量的测定结果见图 2。可以看出, 在  $6^\circ\text{C}$  培养时, *Chlorophyceae* L4 的丙二醛含量几乎没有变化, 维持在  $16\sim 17 \mu\text{mol/g}$ 。在  $10^\circ\text{C}$  培养时, 24 h 内丙二醛含量大幅提高, 迅速上升到  $35.32 \mu\text{mol/g}$ ; 第 48 h 仍小幅升高, 并达到最大值  $42.36 \mu\text{mol/g}$ ; 48 h 后有明显的回落, 并在 72 h 缓慢下降, 接近  $6^\circ\text{C}$  时的丙二醛水平。当  $15^\circ\text{C}$  培养时, *Chlorophyceae* L4 丙二醛含量由最初的  $16.69 \mu\text{mol/g}$  在 24 h 时快速升高到  $46.54 \mu\text{mol/g}$ , 约为  $6^\circ\text{C}$  时的 3 倍; 然后继续小幅上升, 48 h 时达到最大值  $54.48 \mu\text{mol/g}$ ; 48 h 后有明显的下降, 之后小幅下降, 趋于平稳, 但仍显著高于  $6^\circ\text{C}$  时水平, 接近  $6^\circ\text{C}$  时的两倍 ( $P < 0.05$ )。

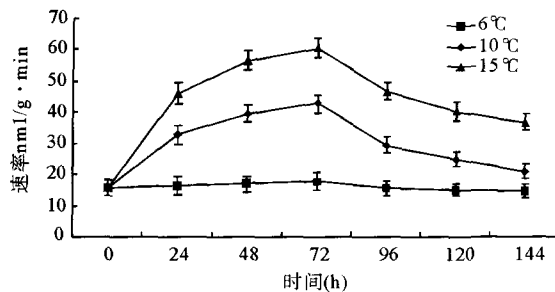


图 1 不同温度条件下 *Chlorophyceae* L4 活性氧自由基的产生速率

Fig. 1 Active oxygen free radical generation rate of *Chlorophyceae* L4 at different temperatures

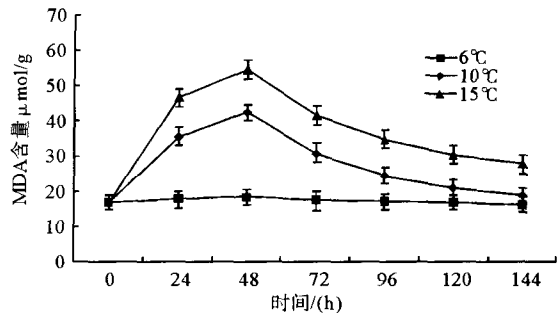


图 2 不同温度条件下 *Chlorophyceae* L4 丙二醛的含量

Fig. 2 MDA contents of *Chlorophyceae* L4 at different temperatures

### 2.4 不同温度条件下 *Chlorophyceae* L4 几种抗氧化酶活性的测定结果

不同温度条件下 *Chlorophyceae* L4 抗氧化酶活性的测定结果见图 3。总体来看,  $6^\circ\text{C}$  下在不同培养时间内各种酶的活性变化基本上都较小, 而其他温度下不同酶的活性随时间变化会发生改变, 且呈现一定的动态规律。

当温度升高至  $10$  和  $15^\circ\text{C}$  时, SOD 的活性在 24 h 内迅速降低, 然后继续小幅降低, 并于第 48 h 分别达到最低值 ( $248.56$  和  $158.59 \text{ U/g} \cdot \text{min}$ ), 此后酶活性急剧升高至 72 h, 96 h 后继续缓慢升高, 至 144 h 趋于平稳, 酶活性分别达到  $1\ 169.66$  和  $1\ 645.78 \text{ U/g} \cdot \text{min}$ , 明显高于  $6^\circ\text{C}$  时的水平 ( $P < 0.05$ ), 约为  $6^\circ\text{C}$  时的两倍左右。

当温度升高至  $10$  和  $15^\circ\text{C}$  时, *Chlorophyceae* L4 POD 的活性变化趋势基本上与 SOD 同步, 一开始迅速下降, 随后缓慢降低, 第 48 h 均达到最低值, 分别为  $108.06$  和  $68.59 \text{ U/g} \cdot \text{min}$ ; 此后酶活性急剧升高, 至 96 h 后开始趋缓, 到 144 h 时 POD 的活性分别上升为  $680.66 \text{ U/g} \cdot \text{min}$  (约为  $6^\circ\text{C}$  时的两倍) 和  $1\ 245.78 \text{ U/g} \cdot \text{min}$  (约为  $6^\circ\text{C}$  时的 4 倍), 差异显著 ( $P < 0.05$ )。

*Chlorophyceae* L4 CAT 活性的变化滞后于 SOD 和 POD。在 24 h 内迅速降低, 然后继续小幅降低在 72 h

时达到最低水平(10 °C 为 109 U/g · min, 15 °C 为 51 U/g · min), 随后在 72~96 h 急剧上升, 120 h 后趋于稳定, 至 144 h CAT 的活性分别为 10 °C 时 301 U/g · min(约为 6 °C 时的两倍)和 15 °C 时 414 U/g · min(接近 6 °C 时的 3 倍), 存在显著性差异( $P < 0.05$ )。

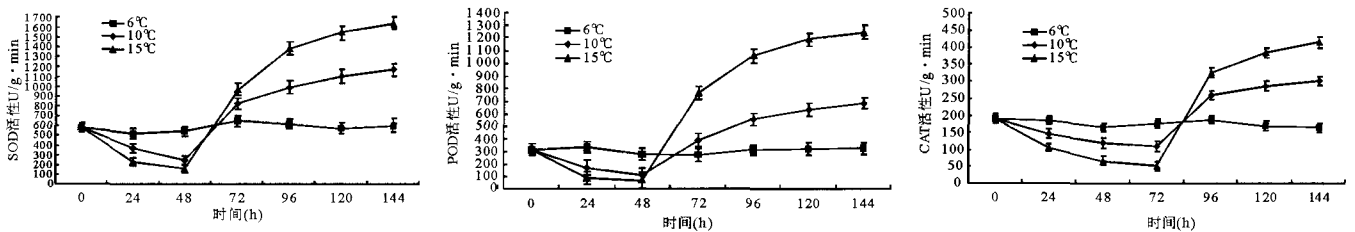


图 3 不同温度条件下 *Chlorophyceae* L4 抗氧化酶的活性变化

Fig. 3 Anti-oxidant enzymes activities of *Chlorophyceae* L4 at different temperatures

### 3 讨论

#### 3.1 *Chlorophyceae* L4 活性氧自由基和丙二醛含量对温度升高的响应

活性氧自由基与植物的抗逆性有着密切关系。自由基伤害学说认为,在正常情况下,植物细胞中存在着活性氧的产生和消除两个过程(Mccord *et al.* 1969)。逆境胁迫会促进活性氧的产生并损伤膜系统(Chen 1991),也就是说在逆境下细胞膜是主要作用靶。过量的活性氧类则会对植物造成氧化胁迫,使细胞产生细胞水平和分子水平上的不可逆损伤,导致膜流动性的降低和透性的增加、蛋白质功能丧失及 DNA 的损伤与突变,从而造成细胞死亡和异常蛋白质形成,最终对植物体造成伤害。活性氧自由基伤害植物的机理之一在于其参与启动膜脂过氧化或膜脂脱脂作用(吕庆等 1996),从而破坏膜结构。

丙二醛 MDA 是植物细胞在逆境下发生膜脂过氧化作用的产物之一,它不仅会损伤细胞膜,降低细胞膜的流动性,最终导致膜的结构及生理完整性破坏;并且还可抑制许多生物体中蛋白质的合成,抑制光合羧化酶和 3-磷酸甘油醛脱氢酶的活性。因此,通常将它作为膜脂过氧化作用强弱的一个重要标志。

研究表明,在环境温度高于最适生长温度的初期(24~72 h),*Chlorophyceae* L4 的活性氧自由基的产生急剧增加,尤其 24 h 内升幅很大,而且温度越高升幅越大。这说明,在高温胁迫的初期,各种抗氧化酶的活性并没有得到激发,使机体本身的代谢功能的调节突然失去平衡,活性氧自由基产生和消除系统的平衡遭到破坏,过量的活性氧自由基会对 *Chlorophyceae* L4 的膜系统产生伤害,导致丙二醛含量的迅速提高。但随着时间的延长,各种酶的活性受到激发和诱导,酶的合成快速增加,在消除活性氧自由基及修复损伤的膜系统中发挥了作用,因此活性氧自由基产生的速率也逐渐降下来,从而使丙二醛含量恢复到细胞能容忍的水平。从图 1 和图 2 可以看出,*Chlorophyceae* L4 中的活性氧自由基的产生和丙二醛含量在后期大幅回落,温度 10 °C 时,活性氧自由基的产生和丙二醛含量最终降至初始水平,15 °C 时活性氧自由基的产生和丙二醛含量仍然保持在一个较高水平,说明高温胁迫对于 *Chlorophyceae* L4 具有较大的危害,但南极冰藻能通过自身机体的调节,使其免于这种伤害,显示了其对高温的适应性。

#### 3.2 *Chlorophyceae* L4 抗氧化酶活性对温度升高的响应

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)是植物体内 3 种重要的抗氧化酶,能够清除活性氧自由基,从而防止活性氧自由基产生的伤害,为此将这些酶称为抗氧化酶系统或保护酶系统(Fridovich 1975)。已经证明,它们的活性与植物抗污染能力、抗辐射能力、耐低温能力和抗病性等逆境胁迫有关。SOD 是清除超氧阴离子( $O_2^-$ )的特异性专一性酶,在生物体内最先与  $O_2^-$  作用,将其分解为  $H_2O_2$  和  $O_2$ ,是最重要的抗氧化酶之一。POD 和 CAT 又可继续分解  $H_2O_2$ ,从而降低体内  $H_2O_2$  的浓度,起到保护机体免

受活性氧物质伤害的作用。

研究表明,6℃是南极冰藻 *Chlorophyceae* L4 生长的最适温度,在不同培养时间内各种酶活性变化基本上都较小,而其他温度下不同酶活性随时间变化会发生改变,且呈现一定的动态规律。在环境温度 10℃时,各种酶活性在 24 h 内迅速降低,然后小幅降低至最低值,此后酶的活性急剧升高,逐渐缓慢上升,恢复正常水平。当环境温度升高到 15℃,远高于 *Chlorophyceae* L4 的最适生长温度时,各种酶的活性也是 24 h 内显著降低,然后小幅降低,作用一段时间(不同酶作用时间长短不同)后,酶的活性又大幅提高,不同酶类活性增幅大小不同,逐渐缓慢,趋于稳定,最高比 6℃时酶活性上升 4 倍。可见,南极冰藻 *Chlorophyceae* L4 在环境温度高于最适生长温度时各种与代谢相关的抗氧化酶系统的活性大幅度提高,显示出较高的抗高温胁迫能力。可以这样解释,南极冰藻在长期的进化过程中已形成稳定的遗传性状,低温成为它最适的生活条件,当它被置于较高温度时,对冰藻而言是一种高温胁迫,高温胁迫同样会产生活性氧自由基,各种抗氧化酶活性升高又是对高温的适应,从而及时清除体内过剩的自由基,保护细胞膜系统免受伤害。因此,我们说南极冰藻适应环境能力强的主要原因之一就是细胞内的多种酶体系对温度变化的敏感性和积极响应。

## 参 考 文 献

- 丁 楠, 缪锦来, 王全富, 阚光锋, 郑 洲, 李光友. 2006. 温度对南极衣藻 ICE-L(*Chlamydomonas* sp. ICE-L) 谷胱甘肽含量及其相关酶活性的影响. 海洋与湖沼, 37(2):154~161
- 王爱国, 罗广华. 1990. 植物中羟胺与超氧阴离子反应的定量关系. 植物生理学通报, 6:55~57
- 吕 庆, 郑荣梁. 1996. 干旱和活性氧诱导的小麦膜脂过氧化及其去酯化作用. 中国科学(C辑), 26:26~30
- 陈 青, 缪锦来, 郑 洲, 阚光锋, 姜英辉, 丁 楠. 2006. 低温胁迫下南极冰藻 *Chlorophyceae* L4 细胞质膜透性及重要无机离子变化的研究. 海洋科学进展, 24(1):59~65
- 何剑锋, 王桂忠, 李少菁, 蔡明红. 2003. 南极海冰区冰藻类群及兴衰过程. 极地研究, 15(2):102~114
- 缪锦来, 石红旗, 姜英辉, 张波涛, 侯旭光. 2002. 南极冰藻生化组成及其与低温适应性关系的研究. 海洋科学进展, 20(4):43~50
- 缪锦来, 阚光锋, 张波涛, 姜英辉, 侯旭光, 李光友. 2004. 南极冰藻 *Pyramidomonas* sp. 和 *Chlorophyceae* L4 的优化培养. 中国水产科学, 11(3):245~252
- Beauchamp, C., and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase; improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Anal. Biochem. 44: 276~287
- Buege, J. A., and Aust, S. D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol. 52:302~310
- Chance, B., and Maehly, A. C. 1955. Assay of catalase and peroxide. Methods Enzymol. 2:764~775
- Chen, S. Y. 1991. Injury of membrane lipid peroxidation to plant cell. Bulletin of Plant Physiology, 27(2):84~90
- Fridovich, I. 1975. The biology of oxygen radical. Science, 201:875~880
- Legendre, P. R. 1992. Ecology of sea ice biota 2, Global significance, Polar. Biol. 12:429~444
- Mccord, J. M., and Fridovich, J. 1969. Superoxide dismutase; An enzymic function for erythrocyte protein (Hemocuprein). J. Biolchem. 224:6 049~6 055
- Provasoli, L. 1968. Media and prospects of the cultivation of marine algae. Culture a collection of algae. US-Japan Conf Hokone, Jpn. Soc. Plant Physiol. 63~75
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T. D., Sankhla, N., and Smith, B. N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. Plant Physiology and Biochemistry, 121:453~461
- Zheng, Z., Miao, J. L., Chen, H., Zhang, B. T., and Li, G. Y. 2006. Study on changes of plasmalemma permeability and some primary inorganic ions of Antarctic ice microalgae (*Chlamydomonas* sp. ICE-L) in the low-temperature stress. Chinese Journal of Polar Science, 17(1):20~29