

高温胁迫下虫黄藻与珊瑚共生菌的热适应研究

张丽

广西大学 资源环境与材料学院, 广西南宁, 530004;

摘要: 本研究探讨了高温(32℃)胁迫下, 两种虫黄藻(*Cladocopium goreau* (C. goreau) 和 *Durusdinium trenchii* (D. trenchii)) 及其共培养体系的生长、色素浓度和光化学效率的变化。结果表明, C. goreau 在共培养体系中表现出显著的热适应优势, CPT 组的细胞密度和比生长率显著高于对照组 ($P < 0.05$), 且色素浓度恢复较好。相反, D. trenchii 的共培养组在高温下细胞密度下降, 光合色素显著衰退。光化学效率 (F_v/F_m) 显示, C. goreau 在高温初期受抑制, 而 D. trenchii 在高温后期光化学效率有所恢复。研究表明, 珊瑚共生菌对虫黄藻的热适应具有菌株和宿主依赖性, 为优化珊瑚共生功能、提升珊瑚礁耐热性提供了理论依据。

关键词: 高温胁迫; *Cladocopium goreau*; *Durusdinium trenchii*; 共培养体系; 光化学效率; 色素浓度

DOI: 10.69979/3041-0673.25.06.084

引言

珊瑚礁生态系统依赖于珊瑚与虫黄藻的共生关系, 高温胁迫会导致虫黄藻光合作用受损、活性氧积累增加, 从而影响其生长密度、比生长率及光合色素含量^[1, 2]。不同虫黄藻种类在高温下表现出不同的耐热性, *Durusdinium trenchii* (D. trenchii) 较 *Cladocopium goreau* (C. goreau) 具有更强的耐热性^[3, 4]。珊瑚细菌能通过调节宿主的生理状态, 改善虫黄藻的光合作用效率^[5, 6]。本研究通过共培养珊瑚细菌与虫黄藻, 探讨其在高温胁迫下的生物学响应, 为珊瑚保护提供新视角。

1 材料与方法

1.1 实验材料

虫黄藻 C. goreau 和 D. trenchii 由本课题组分离自涠洲岛海域的霜鹿角珊瑚 (*Acropora pruinosa*)、西沙群岛海域的丛生盔形珊瑚 (*Galaxea fascicularis*)、不动杆菌 (*Acinetobacter*)、盐崎假交替单胞菌 (*Pseudoalteromonas shioyasakiensis*) 和黄杆菌 (*Mesoflavibacter*) 由本课题组分离自涠洲岛的霜鹿角珊瑚和丛生盔形珊瑚。

1.2 实验方法

(1) 培养方法

将甘油保存的 3 株菌接种至 10 mL 2216E 培养基, 培养 12 h 制备种子液, 再转接至 150 mL 2216E 培养基, 培养 24 h 备用 (25℃、150 r/min)。虫黄藻 C. goreau 和 D. trenchii 按覃良云等人^[7]方案培养, 在 L1 培

养基中传代 6 个月以上。实验前将藻培养至对数前期, 离心去上清, 转移至 300 mL L1 培养基中, 起始浓度 $2.5-3.0 \times 10^4$ cell/mL, 培养 1 天后进行温度胁迫实验。3 株菌离心 (12000 r/min, 5 min, 25℃) 去上清, 无菌海水清洗后按 1:5 比例与虫黄藻共培养。设置 25℃、32℃ 两组, 空白对照为单独培养虫黄藻 (25℃、32℃), 25℃ 为对照组, 每组 3 个重复。

(2) 生长速率测定

每个样品取 2 mL 使用浮游植物流式细胞仪 (CytoSense, 荷兰 CytoBuoy 流式细胞仪公司) 对藻液进行测定。比生长速率 $\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1}$, 其中 μ 为生长速率, N 2 及 N_1 分别是 t_2 和 t_1 时刻的细胞密度。

(3) 光合色素含量和 PS II 的最大量子产率 (F_v/F_m) 的测定

吸取 2 mL 藻液离心 (12000 r/min, 5 min, 4℃) 后去除上清液并在沉淀物中加入纯甲醇, 于 4℃ 避光条件下萃取 24 h。萃取完成后将溶液再次离心 (12000 r/min, 5 min, 4℃), 离心后取其上清液用酶标仪 (VARIOSKAN LUX, Thermo) 读取测定吸光值。叶绿素 a (Chlorophyll a, Chl a)、叶绿素 c (Chlorophyll c, Chl c) 和类胡萝卜素的测定基于 Strychar^[8]和 Ritchie^[9]等人的方程。对光化学系统 II (PS II) 最大量子产率 (F_v/F_m), 将藻液避光黑暗处理 30 min 后, 使用 monitoring PAM 仪 (WALZ, Germany) 对虫黄藻细胞进行检测。

1.3 数据分析与统计

使用 GraphPad Prism 9.5.0 对实验数据进行处理并绘制图形, 结果以平均值±标准误 (Mean ± SEM) 呈现, 采用双因素 (2Way ANOVA) 方差法进行显著性分析, 事后检验采用图基法多重比较, 显著性水平设置为 0.05。

2 结果

2.1 生长速率

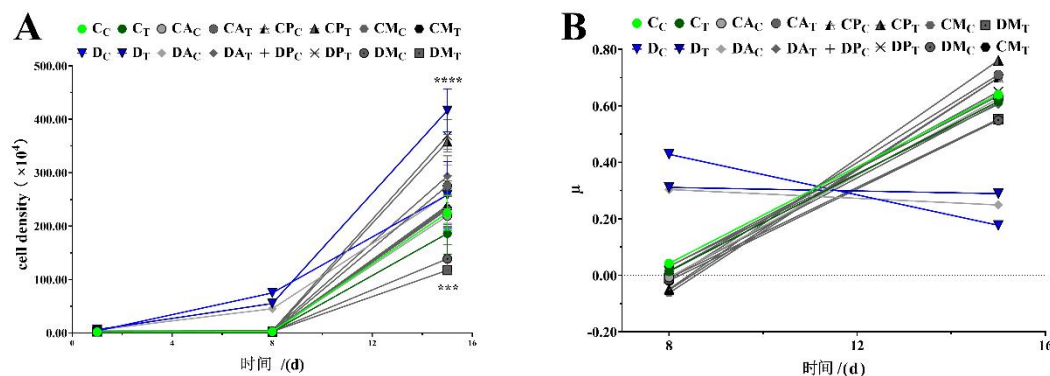


图 1 两种虫黄藻及其与珊瑚细菌共培养体系的生长密度 (A) 及比生长率 (B)。

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$; ****: $P < 0.0001$ 。

注: CC=C. goreauui 空白 25℃对照组; CT= C. goreauui 空白 32℃对照组; DC=D. trenchii 空白 25℃对照组; DT=D. trenchii 空白 32℃对照组; CAC= C. goreauui 与 Acinetobacter 共培养 25℃对照组; CAT= C. goreauui 与 Acinetobacter 共培养 32℃实验组; CPC= C. goreauui 与 Pseudoalteromonas shioyasakiensis 共培养 25℃对照组; CPT= C. goreauui 与 Pseudoalteromonas shioyasakiensis 共培养 32℃实验组; CMC= C. goreauui 与 Mesoflavibacter 共培养 25℃对照组; CMT= C. goreauui 与 Mesoflavibacter 共培养 32℃实验组; DAC= D. trenchii 与 Acinetobacter 共培养 25℃对照组; DAT= D. trenchii 与 Acinetobacter 共培养 32℃实验组; DPC= D. trenchii 与 Pseudoalteromonas shioyasakiensis 共培养 25℃对照组; DPT= D. trenchii 与 Pseudoalteromonas shioyasakiensis 共培养 32℃实验组; DMC= D. trenchii 与 Mesoflavibacter 共培养 25℃对照组; DMT= D. trenchii 与 Mesoflavibacter 共培养 32℃实验组。下同。

2.2 光合色素含量和 PS II 的最大量子产率 (Fv/Fm)

高温 32℃胁迫下, C. goreauui 及其共培养体系细胞密度上升, 第 15 天达 $(2.45 \pm 0.51) \times 10^5$ cells, CPT 组比生长率 (0.76 ± 0.006) 显著高于 CPC 组 (0.68 ± 0.001) 和 CC 组 (0.64 ± 0.01) ($P < 0.05$) (图 1A)。D. trenchii 及其共培养体系细胞密度亦上升, 第 15 天达 $(2.89 \pm 0.58) \times 10^5$ cells, DPT 组和 DPC 组分别比 DC 组下降 54.60% 和 46.29% (图 1A)。比生长率均无显著差异 ($P > 0.05$) (图 1B)。

高温胁迫对两种虫黄藻及其共培养体系影响显著 ($P < 0.05$), 均呈先上升后下降趋势。在 C. goreauui 体系中, 第 1 天所有样品的 Chl a、Chl c 及类胡萝卜素浓度较 CC 组降低, CAT 组降幅最小。第 8 天, 高温组仅 Chl c 浓度下降, 而 25℃培养的 CAC、CPC、CMC 组色素含量增加。第 15 天, 仅 CAC 组色素浓度高于 CC 组 ($P < 0.05$)。在 D. trenchii 体系中, DC、DT、DAC 组三种色素浓度整体下降, 第 15 天下降至最低点。第 1 天, 除 DAC、DT 组外, 其余组 Chl a 及类胡萝卜素浓度均低于 DC 组。第 8 天, 仅 DT 组 Chl a 及类胡萝卜素浓度低于 DC 组, 而所有样品的 Chl c 浓度较高。第 15 天, 高温胁迫下仅 DMT 组色素浓度高于 DC 组 ($P < 0.05$), 其余均下降, 而常温培养体系均高于 DC 组。

Fv/Fm 值随高温胁迫显著变化 ($P < 0.05$) (图 2D)。在 C. goreauui 及其共培养体系中, CAT、CPT、CMT 组第 1 天受抑制, CMT 组降幅达 10.8% ($P < 0.001$)。在 D. trenchii 及其共培养体系中, 第 15 天 DAT、DPT 组 Fv/Fm 值分别上升 5.6% ($P < 0.05$) 和 1.5% ($P < 0.01$), DMT 组降幅达 11.4% ($P < 0.05$)。

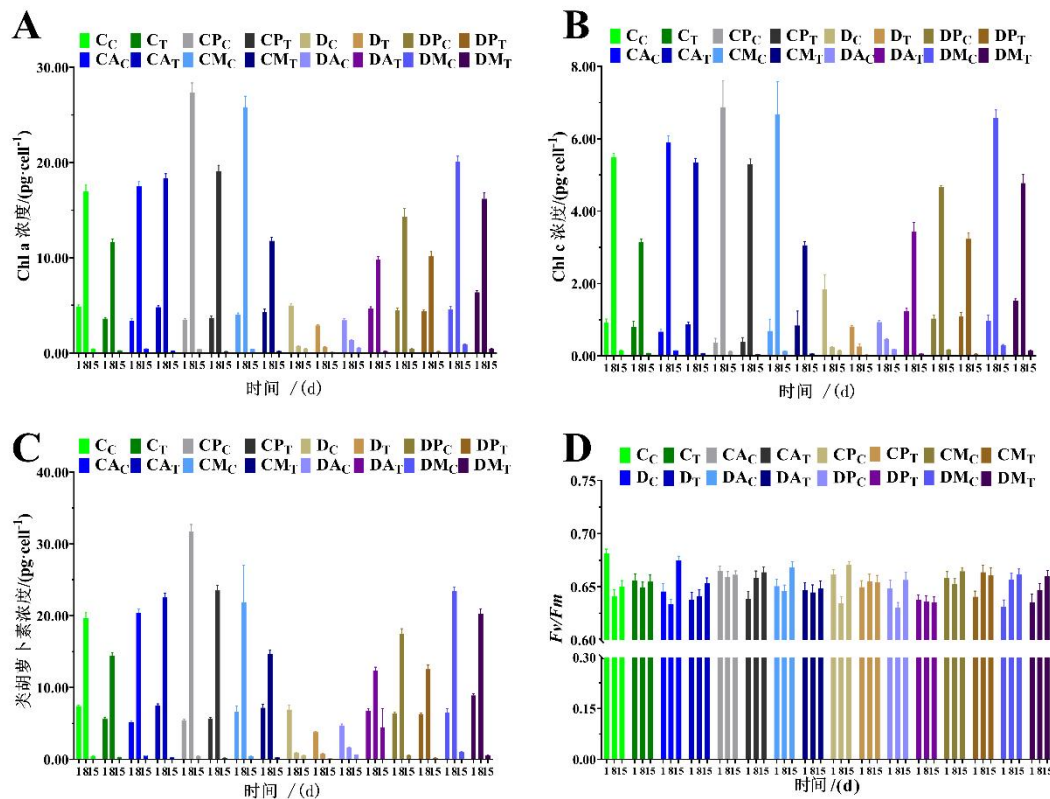


图 2 两种虫黄藻及其与珊瑚细菌共培养体系的光合色素含量和 Fv/Fm 值

A: Chl a 浓度; B: Chl c 浓度; C: 类胡萝卜素浓度; D: Fv/Fm 值。

3 讨论

本研究揭示了高温 (32℃) 胁迫下两种虫黄藻 (*C. goreau* 和 *D. trenchii*) 与珊瑚细菌互作的种间特异性机制。*C. goreau* 在共培养体系中表现出显著的热适应优势, 其 CPT 组比生长率 (0.76 ± 0.006) 和细胞密度 (2.45×10^5 cells) 显著高于对照组 ($P < 0.05$), 且后期光合色素恢复 (如 CAC 组 Chl a 上升), 表明共生菌 (如 *Pseudoalteromonas*) 可能通过代谢互作稳定光系统功能^[10, 11]。而 *D. trenchii* 的共培养组 (DPT/DPC) 细胞密度下降 54.60%/46.29%, 且光合色素整体衰退, 暗示共生菌 (如 *Mesoflavibacter*) 加剧了高温下的代谢紊乱^[12]。光化学效率 (Fv/Fm) 的动态变化进一步凸显差异: *C. goreau* 共培养组早期受抑 (CMT 组降 10.8%), 而 *D. trenchii* 后期 DAT/DPT 组 Fv/Fm 值上升 (5.6%/1.5%), 可能与延迟的光保护机制有关^[13]。综上, 珊瑚共生菌对虫黄藻热适应的调控具有菌株和宿主依赖性, 这为靶向优化珊瑚共生功能、提升珊瑚礁耐热性提供了理论依据。

参考文献

- [1] GLYNN P W. Coral reef bleaching: ecological perspectives [J]. Coral Reefs, 1993, 12(1): 1-17.
- [2] DOUGLAS A. Coral bleaching - how and why? [J]. Marine pollution bulletin, 2003, 46(4): 385-92.
- [3] GROTTOLO A G, TOONEN R J, VAN WOESIK R, et al. Increasing comparability among coral bleaching experiments [J]. Ecological Applications, 2021, 31(4): e02262.
- [4] STAT M, POCHON X, FRANKLIN E C, et al. The distribution of the thermally tolerant symbiont lineage (Symbiodinium clade D) in corals from Hawaii: correlations with host and the history of ocean thermal stress [J]. Ecology and Evolution, 2013, 3(5): 1317-29.
- [5] PEIXOTO R S, ROSADO P M, LEITE D C D A, et al. Beneficial microorganisms for corals (BMC):

- proposed mechanisms for coral health and resilience [J]. *Frontiers in microbiology*, 2017, 8: 341.
- [6]BOURNE D G, GARREN M, WORK T M, et al. Microbial disease and the coral holobiont [J]. *Trends in microbiology*, 2009, 17(12): 554-62.
- [7]覃良云, 许勇前, 陈金妮, et al. 造礁石珊瑚共生虫黄藻离体培养方法的优化 [J]. *微生物学报*, 2023, 63(04): 1658-71.
- [8]STRYCHAR K, SAMMARCO P. Effects of Heat Stress on Phytopigments of Zooxanthellae (*Symbiodinium* spp.) Symbiotic with the Corals *Acropora hyacinthus*, *Porites solida*, and *Favites complanata* [J]. *International Journal of Biology*, 2012, 4.
- [9]RITCHIE R J. Consistent Sets of Spectrophotometric Chlorophyll Equations for Acetone, Methanol and Ethanol Solvents [J]. *Photosynthesis Research*, 2006, 89(1): 27-41.
- [10]BOURNE D G, MORROW K M, WEBSTER N S. Insights into the Coral Microbiome: Underpinning the Health and Resilience of Reef Ecosystems [M]//GOTTESMAN S. *Annual Review of Microbiology*, Vol 70. 2016: 317-+.
- [11]LESSER M P. Oxidative stress in marine environments: biochemistry and physiological ecology [J]. *Annu Rev Physiol*, 2006, 68: 253-78.
- [12]MOISANDER P H, BEINART R A, VOSS M, et al. Diversity and abundance of diazotrophic microorganisms in the South China Sea during intermonsoon [J]. *The ISME Journal*, 2008, 2(9): 954-67.
- [13]BERKELMANS R, VAN OPPEN M J H. The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a ‘nugget of hope’ for coral reefs in an era of climate change [J]. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2006, 273(1599): 2305-12.

作者简介: 张丽 (1998—), 女, 汉, 福建省龙岩市, 硕士研究生, 广西大学, 海洋生物。