

# 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°C)胁迫下，两种虫黄藻(*Cladocopium goreau* (C. *goreau*)和*Durusdinum 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 (Fv/Fm) 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*；*Durusdinum 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<sup>[1, 2]</sup>。不同虫黄藻种类在高温下表现出不同的耐热性，*Durusdinum trenchii* (D. *trenchii*) 较 *Cladocopium goreau* (C. *goreau*) 具有更强的耐热性<sup>[3, 4]</sup>。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<sup>[5, 6]</sup>。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°C、150 r/min)。虫黄藻 C. *goreau* 和 D. *trenchii* 按覃良云等人<sup>[7]</sup>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°C) 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°C、32°C 两组，空白对照为单独培养虫黄藻 (25°C、32°C)，25°C 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  $\mu$  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 (Fv/Fm) 的测定

吸取 2 mL 藻液离心 (12000 r/min, 5 min, 4°C) 后去除上清液并在沉淀物中加入纯甲醇，于 4°C 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°C)，离心后取其上清液用酶标仪 (VARIOSCAN 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<sup>[8]</sup> 和 Ritchie<sup>[9]</sup> 等人的方程。对光化学系统 II (PS II) 最大光量子产率 (Fv/Fm)，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, 结果以平均值土标准误 (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

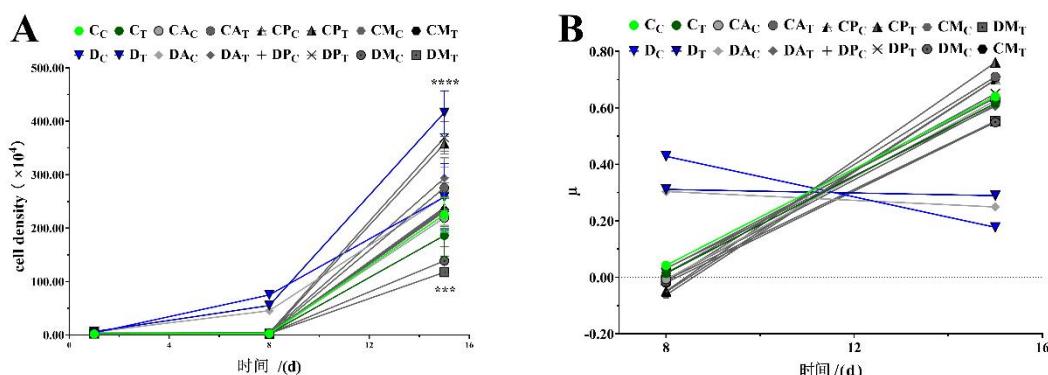


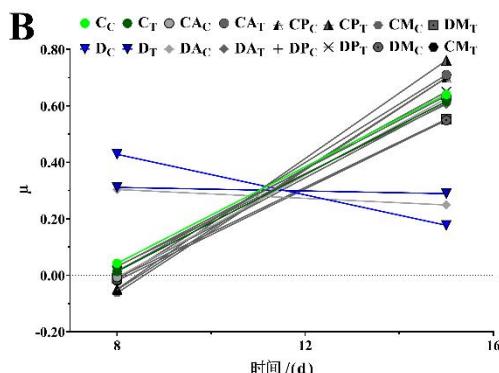
图 1 两种虫黄藻及其与珊瑚细菌共培养体系的生长密度 (A) 及比生长率 (B)。

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

注: CC=C. goreaui 空白 25℃对照组; CT= C. goreaui 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. goreaui 与 Acinetobacter 共培养 25℃对照组; CAT= C. goreaui 与 Acinetobacter 共培养 32℃实验组; CPC= C. goreaui 与 Pseudoalteromonas shioyasakiensis 共培养 25℃对照组; CPT= C. goreaui 与 Pseudoalteromonas shioyasakiensis 共培养 32℃实验组; CMC= C. goreaui 与 Mesoflavibacter 共培养 25℃对照组; CMT= C. goreaui 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 ( $F_v/F_m$ )

高温 32℃胁迫下, C. goreaui 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, CP T 组比生长率  $(0.76 \pm 0.006)$  显著高于 CPC 组  $(0.68 \pm 0.001)$  和 CC 组  $(0.64 \pm 0.01)$  ( $P < 0.05$ ) (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. goreaui 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。

$F_v/F_m$  值随高温胁迫显著变化 ( $P < 0.05$ ) (图 2D)。在 C. goreaui 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  $F_v/F_m$  值分别上升 5.6% ( $P < 0.05$ ) 和 1.5% ( $P < 0.01$ ), DMT 组降幅达 11.4% ( $P < 0.05$ )。

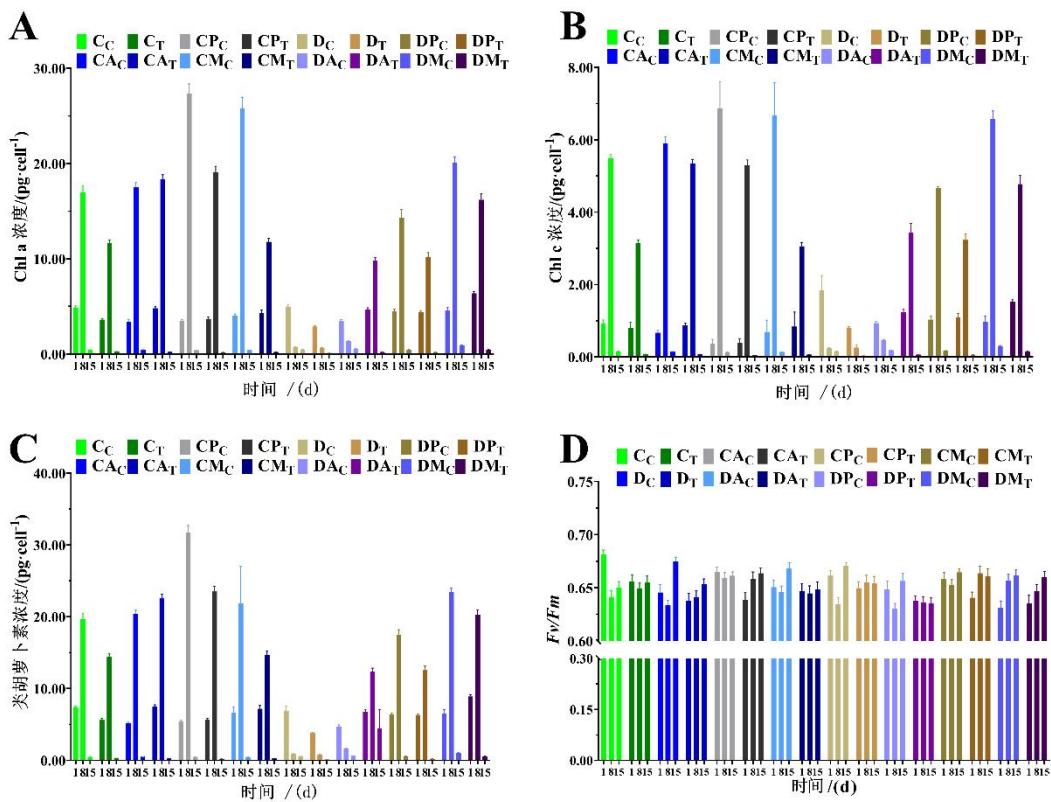


图 2 两种虫黄藻及其与珊瑚细菌共培养体系的光合色素含量和  $F_v/F_m$  值

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°C) 胁迫下两种虫黄藻 (*C. goreauai* 和 *D. trenchii*) 与珊瑚细菌互作的种间特异性机制。*C. goreauai* 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 ( $2.45 \times 10^5$  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<sup>[10, 11]</sup>。而 *D. trenchii* 的共培养组 (DPT/PC) 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<sup>[12]</sup>。光化学效率 (Fv/Fm) 的动态变化进一步凸显差异：*C. goreauai* 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<sup>[13]</sup>。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] GROTTOLI 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。