

# 热胁迫驱动鹿角杯形珊瑚中与特异虫黄藻系群相关的细菌群落演替

张涵<sup>1,2#</sup>, 王晨颖<sup>3#</sup>, 李琰<sup>2</sup>, 林柳青<sup>2</sup>, 李康凯<sup>2</sup>, 郑新庆<sup>2,4,5\*</sup>, 石拓<sup>1\*</sup>

- 1 山东大学 海洋研究院, 山东省智慧海洋工程地质环境与装备重点实验室, 山东 青岛
- 2 自然资源部第三海洋研究所, 海洋生态保护与修复重点实验室, 福建 厦门
- 3 海南大学 海洋科学学院, 南海海洋资源利用国家重点实验室, 海南 海口
- 4 自然资源部海峡西岸海岛海岸带生态系统野外科学观测研究站, 福建 厦门
- 5 福建省海洋生态保护与修复重点实验室, 福建 厦门

张涵, 王晨颖, 李琰, 林柳青, 李康凯, 郑新庆, 石拓. 热胁迫驱动鹿角杯形珊瑚中与特异虫黄藻系群相关的细菌群落演替[J]. 微生物学报, 2026, 66(1): 409-427.

ZHANG Han, WANG Chenying, LI Yan, LIN Liuqing, LI Kangkai, ZHENG Xinqing, SHI Tuo. Heat stress drives shift in bacterial communities associated with distinct *Symbiodiniaceae* clades in the coral *Pocillopora damicornis*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(1): 409-427.

**摘要:**【目的】探究细菌与虫黄藻之间的互作关系, 以及该关系在珊瑚高温胁迫适应中的作用。【方法】以共生不同系群虫黄藻的鹿角杯形珊瑚(*Pocillopora damicornis*)为研究对象, 通过室内模拟高温胁迫实验, 结合核糖体 16S rRNA 基因扩增子测序解析珊瑚内共生细菌群落在高温胁迫下的动态演替情况。【结果】共生 C 系群(*Cladocopium* spp.)与 D 系群(*Durusdinium* spp.)虫黄藻的鹿角杯形珊瑚(分别简称 PdC 与 PdD 全共生体)的细菌多样性均呈现胁迫初期短暂升高、胁迫后期显著下降的趋势。与 PdD 相比, 胁迫后期 PdC 的细菌群落组成变化更大, 网络结构的稳定性与复杂性随胁迫时间延长逐渐减弱。二者在纲水平上也表现出不同的细菌丰度变化, 胁迫后期  $\alpha$ -变形菌纲的相对丰度在两组中均增加, 而蓝细菌纲的相对丰度则表现为在 PdC 中上升、在 PdD 中下降的趋势。在高温胁迫后期, PdC 中的 C 系虫黄藻对热敏感, 潜在的条件致病菌丰度明显增加; 而 PdD 中的 D 系虫黄藻具有热耐受性, 基于物种组成与丰度预测, 某些共生细菌可能在光合作用、群体感应、钙化作用以及 ABC 转运等过程中发挥作用。【结论】本研究揭示了不同类型

资助项目: 国家重点研发计划(2022YFC3102003, 2020YFA0607602); 国家自然科学基金(42376110, 41876119); 福建省杰出青年科学基金(2023J06043); 自然资源部第三海洋研究所科研基金(2020017, 2019017)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2022YFC3102003, 2020YFA0607602), the National Natural Science Foundation of China (42376110, 41876119), the Fujian Provincial Natural Science Fund for Distinguished Young Scholars (2023J06043), and the Scientific Research Foundation of the Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources of China (2020017, 2019017).

#These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding authors. E-mail: ZHENG Xinqing, zhengxinqing@tio.org.cn; SHI Tuo, tuoshi@sdu.edu.cn

Received: 2025-07-31; Accepted: 2025-10-10; Published online: 2025-10-28

虫黄藻与细菌互作对鹿角杯形珊瑚响应高温胁迫的差异调控作用。PdC 珊瑚共生体出现白化现象，或许与 C 系群虫黄藻对热敏感以及潜在条件致病菌的入侵程度有关；而 PdD 珊瑚共生体具有高温耐受性，可能源于耐热的 D 系群虫黄藻及某些益生菌所提供的辅助代谢功能(如光合、钙化、群体感应等)。这种藻菌互作模式为理解珊瑚热白化的微生物学机制提供了重要依据，对全球气候变化背景下的珊瑚礁修复具有重要的参考意义。

关键词：鹿角杯形珊瑚；16S rRNA 基因；高通量测序；高温胁迫；功能预测

## Heat stress drives shift in bacterial communities associated with distinct *Symbiodiniaceae* clades in the coral *Pocillopora damicornis*

ZHANG Han<sup>1,2#</sup>, WANG Chenying<sup>3#</sup>, LI Yan<sup>2</sup>, LIN Liuqing<sup>2</sup>, LI Kangkai<sup>2</sup>, ZHENG Xinqing<sup>2,4,5\*</sup>, SHI Tuo<sup>1\*</sup>

1 Shandong Key Laboratory of Intelligent Marine Engineering Geology, Environment and Equipment, Institute of Marine Science and Technology, Shandong University, Qingdao, Shandong, China

2 Key Laboratory of Marine Ecological Conservation and Restoration, Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen, Fujian, China

3 State Key Laboratory of Marine Resources Utilization in South China Sea, School of Marine Science, Hainan University, Haikou, Hainan, China

4 Observation and Research Station of Island and Coastal Ecosystem in the Western Taiwan Straits, MNR, Xiamen, Fujian, China

5 Fujian Provincial Key Laboratory of Marine Ecological Conservation and Restoration, Xiamen, Fujian, China

**Abstract: [Objective]** To investigate the interactions between coral-associated *Symbiodiniaceae* and bacteria in mediating heat stress adaptation of corals. **[Methods]** Using *Pocillopora damicornis* harbouring distinct *Symbiodiniaceae* clades, we performed a laboratory-controlled heat stress simulation experiment to examine the dynamics of symbiotic bacterial community shifts via 16S rRNA gene amplicon sequencing. **[Results]** Bacterial alpha diversity exhibited a transient increase during the initial stress, followed by a significant decrease under prolonged stress, in *P. damicornis* harbouring clade C (*Cladocopium* spp.) or clade D (*Durusdinium* spp.) algal symbionts (i.e., PdC versus PdD holobionts). Compared with PdD, PdC demonstrated enhanced bacterial community shifts, alongside progressively diminished network stability and complexity with prolonged heat stress. Analysis of bacterial abundance at the class level revealed divergent trajectories of the two holobionts, with the abundance of *Alphaproteobacteria* increasing in both PdC and PdD, whereas that of *Cyanobacteriota* increasing in PdC but decreasing in PdD over the course of the experiment. During the later stage of heat stress, *Cladocopium* spp. in PdC showed increased sensitivity, coinciding with the enrichment of potentially opportunistic pathogens, whereas *Durusdinium* spp. in PdD were thermotolerant, coinciding with elevated abundance of bacteria possibly involved in photosynthesis, quorum sensing, calcification, and ABC transport.

**[Conclusion]** These findings suggest that different clades of *Symbiodiniaceae* might interact with bacteria to differentially regulate the *P. damicornis* response to heat stress. Thermal sensitive *Cladocopium* spp., combined with the proliferation of potential opportunistic pathogens, may exacerbate the risk of thermal bleaching in PdC, whereas resilience could be strengthened in PdD via thermotolerant *Durusdinium* spp. coordinating with beneficial bacteria with supportive metabolic potential (e.g., photosynthesis, calcification, and quorum sensing). This algal-bacterial interaction mode provides critical insights into the microbially-mediated thermal bleaching mechanisms and an important reference for the practice of reef restoration in the context of global climate change.

**Keywords:** *Pocillopora damicornis*; 16S rRNA gene; high-throughput sequencing; heat stress; functional prediction

珊瑚礁是生产力最高、生物多样性最丰富的生态系统之一<sup>[1-2]</sup>。珊瑚礁的三维骨架主要由造礁石珊瑚(scleractinian corals)构成,造礁石珊瑚主要由珊瑚宿主及其相关的微生物组成,这些微生物包括虫黄藻(*Symbiodiniaceae*)、细菌、古菌、真菌、病毒等<sup>[3-4]</sup>。其中,虫黄藻是珊瑚共生体中研究最为广泛的微生物类群。共生虫黄藻通过光合作用产生产物,并将其转移给宿主,以满足珊瑚宿主的能量需求;而珊瑚宿主则为虫黄藻提供无机营养物质(CO<sub>2</sub>、NH<sub>3</sub>和PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>)供其利用,在这种互利关系下珊瑚共生体保持着旺盛的生命力<sup>[5]</sup>。然而,近年来全球范围内的珊瑚礁均遭遇了前所未有的、频繁发生的大规模珊瑚白化事件。根据联合国政府间气候变化专门委员会第六次评估报告(Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC, 2021)预测,21世纪中叶,现有的珊瑚避难所(热带珊瑚向温带海域迁移形成的区域)将消失;到21世纪末大部分热带珊瑚礁群落可能不复存在<sup>[6]</sup>。

与其他共生关系类似,珊瑚-虫黄藻之间的共生关系对环境变化十分敏感。目前普遍认为温度变化是造成珊瑚大规模白化事件的主要原因。自1994年采用DNA分子标记进行鉴定以来,虫黄藻被确立为科级分类单元(*Symbiodiniaceae*),包含7个系群(clade),每个系群对应1个属,即 clade A-*Symbiodinium*、

clade B-*Breviolum*、clade C-*Cladocopium*、clade D-*Durusdinium*、clade E-*Effrenium*、clade F-*Fugacium*、clade G-*Gerakladium*、clade H-*Hallaxium*,其他系群或物种暂未命名<sup>[5,7]</sup>。不同类型虫黄藻会影响珊瑚宿主的环境适应性,例如 *Cladocopium* 属虫黄藻大多为热敏感型,而 *Durusdinium* 属虫黄藻(如 D1a 基因型)则具有较强的耐热性<sup>[8-10]</sup>。共生不同类型虫黄藻的同种珊瑚可能呈现出显著的生理差异。Little 等<sup>[11]</sup>通过鹿角珊瑚(*Acropora* spp.)幼体的虫黄藻定殖实验发现,定殖 *Cladocopium* 属 C1 型虫黄藻的幼体生长速率是定殖 *Durusdinium* 属 D1 型幼体生长速率的 2-3 倍。*Cladocopium* 属主导的珊瑚生长优势可能源于其较高的固碳效率与光合产物传输能力<sup>[12]</sup>。然而目前研究结果显示,共生 *Durusdinium* 属的珊瑚数量正呈上升趋势,尤其在受全球变暖、珊瑚白化以及人类活动影响较大的珊瑚礁区<sup>[8,13-15]</sup>。此外,研究表明珊瑚宿主具有从外界水环境中获取新的共生虫黄藻(“switching”)或调整共生虫黄藻群落组成(“shuffling”)的能力,这也是珊瑚适应性白化假说(adaptive bleaching hypothesis, ABH)的主要内容<sup>[16-20]</sup>。因此,珊瑚共生虫黄藻群落结构的动态变化是珊瑚应对环境扰动的一种重要自我保护机制<sup>[21-24]</sup>。

珊瑚共生体内除共生藻(*Symbiodiniaceae*)

外,还有许多在碳、氮、硫、磷循环以及维生素、辅酶代谢中发挥核心作用的细菌群落<sup>[25-27]</sup>。其中假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)、放线菌门(*Actinomycetota*)和蓝细菌门(*Cyanobacteriota*)是主要的功能载体<sup>[28-30]</sup>。Kimes等<sup>[31]</sup>通过功能基因芯片证实,细菌参与珊瑚共生体的碳固定、碳代谢等碳循环过程。Wegley等<sup>[32]</sup>通过宏基因组学研究发现珊瑚共生细菌具有代谢糖类、蛋白质以及转运蛋白的相关基因。Rosado等<sup>[33]</sup>从鹿角杯形珊瑚及周围海水中分离出具有益生菌活性的菌株,这些菌株可以有效减少珊瑚白化,并缓解病原菌造成的生理压力。Motone等<sup>[34]</sup>从丛生盔形珊瑚分离出的鼠尾杆菌能够产生玉米黄素,提高珊瑚对高温、高光等不利环境的抵抗能力。当外界环境发生变化时条件致病菌会转变为病原菌,导致珊瑚疾病的发生<sup>[35-36]</sup>。此外,一些细菌能够通过群体感应分子(如二甲基硫丙酸<sup>[37]</sup>、N-酰基高丝氨酸内酯<sup>[38]</sup>、吡啶<sup>[26]</sup>等)广泛参与物质循环和代谢,成为珊瑚共生体稳态维持和高效运转的内在驱动力。整体来看,细菌凭借其高丰度、强多样性及环境敏感性能够通过重塑群落结构、招募新菌群等途径协助珊瑚全功能体适应环境<sup>[39-43]</sup>。

造礁珊瑚的生存高度依赖于其自身复杂的共生网络,其中虫黄藻(*Symbiodiniaceae*)系群的分化与更替也会对共生菌群结构及功能产生影响<sup>[14,26-27,29]</sup>。研究发现不同共生藻系群因其生理特性和环境适应性的差异可显著重塑宿主珊瑚的共生菌群<sup>[31,44]</sup>。Ritchie等<sup>[44]</sup>的研究显示,共生不同属虫黄藻的珊瑚黏液层含碳有机物组成会影响珊瑚共生细菌群落结构。Yang等<sup>[45]</sup>的研究显示,海南东南沿岸杯形珊瑚共生虫黄藻系群随纬度增加表现出由 *Cladocopium* 属向 *Durusdinium* 属过渡的特征,与 *Cladocopium* 属共生的杯形珊瑚始终与内生单胞菌稳定共生,而与 *Durusdinium* 属共生的杯形珊瑚细菌群落组成则表现出高随机性与空间异质性。然而,尽

管近年来大量文献报道了珊瑚共生全功能体的耐热机制,但多聚焦于珊瑚宿主和虫黄藻系群,有关共生细菌及其与珊瑚宿主、虫黄藻之间的相关性仍有待进一步研究<sup>[11,16,32-33]</sup>。

鹿角杯形珊瑚(*Pocillopora damicornis*)是一种广泛分布于印度洋、太平洋区系的造礁石珊瑚,是世界上丰度最高、分布最广泛的造礁石珊瑚之一<sup>[46]</sup>。这一特征得益于其能够与多种虫黄藻形成共生关系(包括但不限于 *Cladocopium* 和 *Durusdinium* 属虫黄藻),因此它是研究造礁石珊瑚环境适应性及其共生体动力学的典型模式生物<sup>[47-48]</sup>。因此,本研究以共生 *Cladocopium* 属和 *Durusdinium* 属虫黄藻的鹿角杯形珊瑚为对象,通过实验室高温胁迫模拟实验,结合 16S rRNA 基因高通量测序技术,系统分析其共生细菌群落在高温胁迫下的结构与功能动态特征差异,旨在阐明不同类型虫黄藻主导的同种珊瑚中的共生细菌群落组成是否存在差异,以及这些差异如何介导珊瑚宿主对高温胁迫的响应。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集与暂养

2017年12月于海南岛南部鹿回头(LHT; 18°12'7"N, 109°28'5"E)和后海(HH; 18°16'40"N, 109°44'3"E)近岸海域2-3 m水深处采集直径约20 cm的野生鹿角杯形珊瑚(*P. damicornis*)母体若干。2个采样地点的温度及营养盐参数(包括磷酸盐、亚硝酸盐、硝酸盐、硅酸盐和氨盐)基本一致,且鹿角杯形珊瑚共生虫黄藻均以 *Cladocopium* 属或 *Durusdinium* 属为主<sup>[49]</sup>。采样过程严格遵循中华人民共和国水生野生动物驯养繁殖许可证要求(证号:2014003),采样点间距均大于5 m,以确保样品独立性和共生藻基因型多样性。采集的珊瑚母体转运至自然资源部第三海洋研究所珊瑚保育馆,在柏林系统(1000 L人工海水)中暂养6个月。水质维持依赖活石过滤与蛋白质分离器。光照由3组80 W

T5HO 灯管(ATI 公司)提供, 光强设定为  $150 \mu\text{mol}/(\text{photons} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 光周期为 12 h:12 h。水温由加热棒(EHEIM 公司)与冷水机(广东海利集团有限公司)维持恒定( $26 \pm 0.5$ ) °C, 盐度维持在 33‰。

## 1.2 珊瑚种类与虫黄藻系群鉴定

从珊瑚母体取约 2 cm 断枝, 用于宿主及共生藻基因型鉴定。将取下的珊瑚断枝放置于 2 mL 无菌离心管中, 液氮冷冻 10 min 后加入 800  $\mu\text{L}$  DNA 裂解液, 用涡旋振荡仪(IKA 公司)充分振荡混匀后, 加入蛋白酶 K (ThermoFisher Scientific 公司, 终浓度为 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 用封口膜封住管口后在 56 °C 金属浴中温育 3 h。后续使用十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)法提取珊瑚共生功能体基因组 DNA<sup>[50]</sup>。经 Zymo DNA Clean & Concentrator™ 纯化试剂盒(Zymo Research 公司)纯化后, 使用 NanoDrop 2000 分光光度计(ThermoFisher Scientific 公司)测定 DNA 浓度及纯度( $A_{260}/A_{280}=1.8-2.0$ ), 合格样本分装保存于 -80 °C 备用。分别使用珊瑚宿主特异性 ITS 引物 1s (5'-GTACCCTTTGTACACACCG CCCGTCGCT-3') 和 2ss (5'-CTTTGGGCTGCAG TCCCAAGCAACCCGACTC-3')<sup>[51]</sup>、*Cladocopium* 属 28S rRNA 引物 CF (5'-AAATCGCTGAAAGG GA-3') 和 CR (5'-CTATTCACGCTTAAGCACA CA-3')、*Durusdinium* 属特异引物 DF (5'-GCC GTGTACGGTGCTCGCTCTCAA-3') 和 DR (5'-GCCACTCGCAAATGGACAGC-3')<sup>[52]</sup>进行 PCR 扩增。PCR 反应体系(25  $\mu\text{L}$ ): *Ex Taq*™ DNA 聚合酶(5 U/ $\mu\text{L}$ ) (TaKaRa 公司) 0.125  $\mu\text{L}$ , 10×*Ex Taq* Buffer 2.5  $\mu\text{L}$ , 0.2 mmol/L dNTPs 2  $\mu\text{L}$ , 正、反向引物(10  $\mu\text{mol}/\text{L}$ )各 0.5  $\mu\text{L}$ , 100 ng DNA 模板, ddH<sub>2</sub>O 补至总体积 25  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 53 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 30 个循环; 72 °C 终延伸 10 min。扩增产物经 MiniBEST Agarose Gel DNA Extraction Kit (TaKaRa 公司)凝胶回收后, 连接

至 pMD™19-T 克隆载体(TaKaRa 公司)进行 Sanger 测序。宿主序列通过 BLAST 比对 NCBI 核酸数据库(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)并辅以形态学特征鉴定为鹿角杯形珊瑚(*P. damicornis*)<sup>[53-54]</sup>。共生藻 ITS2 序列与已发表虫黄藻 ITS2 数据库<sup>[55]</sup>比对, 最终鉴定为 *Cladocopium* 属 C42-C1-C1b-C1c 基因型及 *Durusdinium* 属 D1-D4-D6 基因型。

## 1.3 高温胁迫实验

将 3 株 PdC 和 3 株 PdD 母体分割为大小相近的断枝, 使用  $\alpha$ -氰基丙烯酸酯黏合剂(Toagosei 公司)将断枝基座固定于 316 不锈钢针后安装于亚克力底座。恢复完全后, 挑选浮力质量(浮重)相近的珊瑚断枝开始升温试验, 以 1 °C/h 的速率从 26 °C 升至 32 °C 后开始实验, 实验共设置 3 个平行缸, 每缸放置 PdC 与 PdD 断枝各 8 株(图 1)。实验缸体的光照由 T5HO 灯管(ATI 公司)提供, 光照强度设定为  $150 \mu\text{mol}/(\text{photons} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s})$ , 光周期为 12 h:12 h。水温通过加热棒(EHEIM 公司)和冷水机(广东海利集团有限公司)维持恒定, 并利用 HOBO 温度记录仪(Onset 公司)进行实时监测(每 5 min 记录 1 次)。实验期间, 盐度( $33 \pm 1$ )‰、pH ( $8.1 \pm 0.1$ ) 均保持稳定。每日记录珊瑚表观健康状况(色卡对比白化/存活), 并使用水下叶绿素荧光仪(Walz 公司)测定虫黄藻暗适应后最大光量子产量( $F_v/F_m$ )及光适应下实际光量子产量( $\Delta F/F_m$ )<sup>[56]</sup>。每周以浮力称重法测定不同温度组别中 PdC 和 PdD 珊瑚断枝的生长速率<sup>[57]</sup>。于升温开始前 0 h (T0)以及温度胁迫开始后第 6 h (T1)、第 7 天 (T2)及第 14 天(T3)收集珊瑚样品。部分样品经液氮速冻后储存于 -80 °C 超低温冰箱用于扩增子测序; 其余珊瑚样品则用于计算虫黄藻密度和测量珊瑚表面积。虫黄藻密度使用梯度离心法结合 Sedgwick-Rafter 计数板在光学显微镜下计算, 珊瑚表面积采用铝箔法间接估算, 最终将虫黄藻密度和钙化速率经珊瑚表面积归一化<sup>[58-59]</sup>。

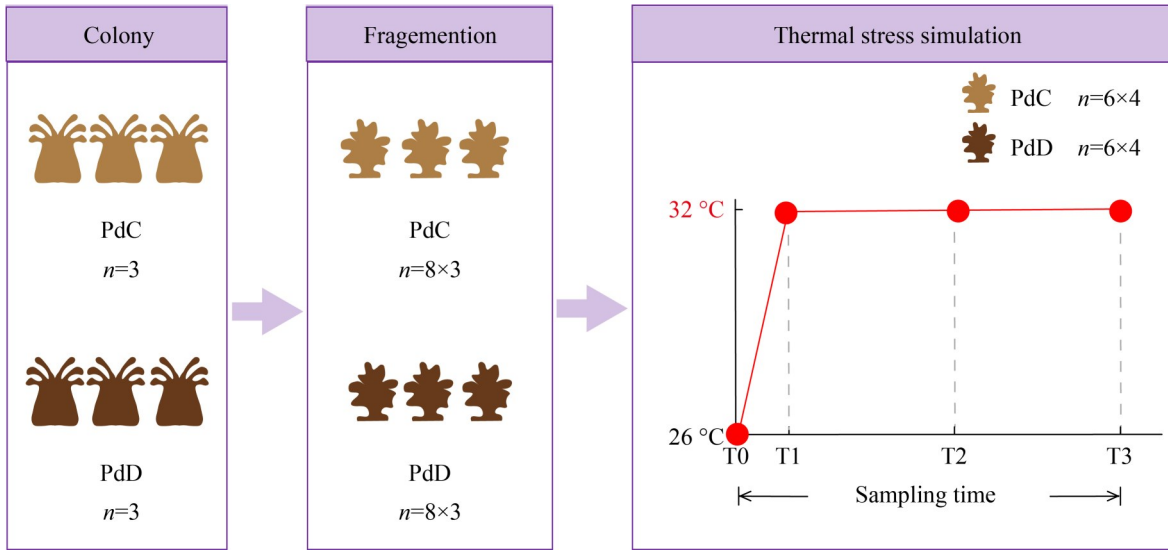


图1 高温胁迫实验示意图。PdC和PdD分别指共生C属和D属虫黄藻的鹿角杯形珊瑚(*Pocillopora damicornis*)。每种共生型(PdC与PdD)各采集3个母本( $n=3$ )，每个母本制备8个珊瑚断枝( $n=48$ )。图中采样时间点分别对应升温开始前0 h (26 °C, T0)，以及温度胁迫开始后6 h (T1)、7 d (T2)、14 d (T3) (32 °C)。

Figure 1 Schematic diagram of the heat stress experiment. PdC and PdD refer to *Pocillopora damicornis* associated with *Cladocopium* (clade C) and *Durusdinium* (clade D), respectively. For each symbiont type (PdC and PdD), three maternal colonies ( $n=3$ ) were collected, and 48 fragments ( $n=48$ ) were generated per colony. The sampling time points correspond to 0 h before heating (26 °C, T0), and 6 h (T1), 7 d (T2), and 14 d (T3) after the heat stress (32 °C).

#### 1.4 样品处理与目的基因扩增

将珊瑚样品从-80 °C超低温冰箱中取出，使用经 0.22 μm 滤膜过滤后的人工海水缓慢冲洗珊瑚表面以去除珊瑚表面黏附的碎屑，加入 800 μL DNA 裂解液，后续按照 1.2 节的方法对珊瑚样品进行 DNA 提取与纯化。随后使用带 barcode 的特异性引物 341F (5'-ACTCCTACGGGAGGC AGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWT CTAAT-3') 对珊瑚样品的 DNA 进行 PCR 扩增<sup>[60]</sup>。PCR 反应体系(25 μL): *Ex Taq*<sup>TM</sup> DNA 聚合酶(5 U/μL) (TaKaRa 公司) 0.125 μL, 10×*Ex Taq* Buffer 2.5 μL, dNTPs (0.2 mmol/L) 2 μL, 正、反向引物(10 μmol/L)各 0.5 μL, 100 ng DNA 模板, ddH<sub>2</sub>O 补足总体积 25 μL。PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 53 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 30 个循环; 72 °C 终延伸 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝

胶电泳检测，依据条带亮度调整体系，使各样品浓度一致且符合高通量测序要求。高通量测序委托北京诺禾致源科技股份有限公司，在 Illumina HiSeq 2500 平台上采用双末端测序 (paired-end, PE250) 策略进行。首先，使用 AMPure XP 磁珠对 PCR 产物进行纯化，以去除引物二聚体等杂质。随后通过连接反应将测序通用接头引入纯化后的 DNA 片段末端，并以此作为模板，使用带有 i5/i7 双索引(barcode)的特异性引物进行 8–12 轮 PCR 扩增，完成最终的文库构建。最终，文库经 Qubit 定量和 Bioanalyzer 验证片段大小后，统一稀释至 4 nmol/L 浓度并等量混合，最终在 Illumina 平台完成测序。

#### 1.5 生物信息学分析

原始测序数据按样本 barcode 和引物序列进行拆分，使用 FLASH 对每条序列进行拼接。拼接后，利用 QIIME (v1.9.1) 进行质控，剔除低质

量和过短序列, 再通过 UCHIME 去除嵌合体, 获得高质量有效数据<sup>[61]</sup>。使用 DADA2 方法生成代表性扩增子序列(amplicon sequence variants, ASV)<sup>[62]</sup>, 以 Silva 138 为参考数据库<sup>[63]</sup>对代表性序列进行物种注释, 获取分类信息, 用于后续群落结构分析。在属水平分类中, 若某序列无法鉴定到属则保留其可确定的最高分类等级(科或目), 并标注为相应“unclassified”科或目名。细菌 16S rRNA 基因原始测序数据已提交至 NCBI GenBank, 登录号为 PRJNA1262919。

## 1.6 统计学分析

本研究采用 QIIME 2 计算细菌群落的 Shannon 和 Chao1 指数, 并使用 Kruskal-Wallis 检验或 Wilcoxon 秩和检验分析组间  $\alpha$  多样性差异, 辅以 Tukey HSD 事后检验及箱线图可视化, 在纲水平统计细菌群落结构并以堆叠柱状图展示<sup>[61]</sup>。基于 Bray-Curtis 距离的差异显著性检验 (analysis of similarities, ANOSIM) 计算不同处理组之间的群落相似性, 然后基于主成分分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 排序将 ANOSIM 结果可视化。利用 edgeR 识别不同时间点高温组与对照组的差异 ASV, 阈值设置为 FDR=0.3 与  $P<0.05$ , 结果以火山图展示<sup>[64]</sup>, 进一步通过 Kruskal-Wallis 检验和线性判别分析, 显著性阈值设置为 LDA 值 $>2.0$  与  $P<0.05$ , 结果使用 LEfSe 进化分支图进行可视化<sup>[65]</sup>。采用 Pearson 系数和 Bray-Curtis 距离构建细菌相互作用网络, 使用 Benjamini-Hochberg 校正验证互作显著性, 显著性阈值设置为  $|r|>0.6$  且  $P<0.05$ , 并通过 Cytoscape 3.7.2 对细菌交互关系网络进行绘制<sup>[66]</sup>。使用 PICRUSt2 功能预测和 KEGG 功能注释对细菌预测功能进行注释, 使用 DESeq2 对高温胁迫下各时间点(T1-T3 vs. T0)细菌差异化的富集通路进行分析, 显著差异标准为校正后  $P$ -value (BH 法) $<0.05$ , 差异通路通过气泡图可视化<sup>[67]</sup>。所有分析在 R 语言(v3.6.1)环境中完成, 可视化使用 ggplot2<sup>[68]</sup>等软件包。

## 2 结果与分析

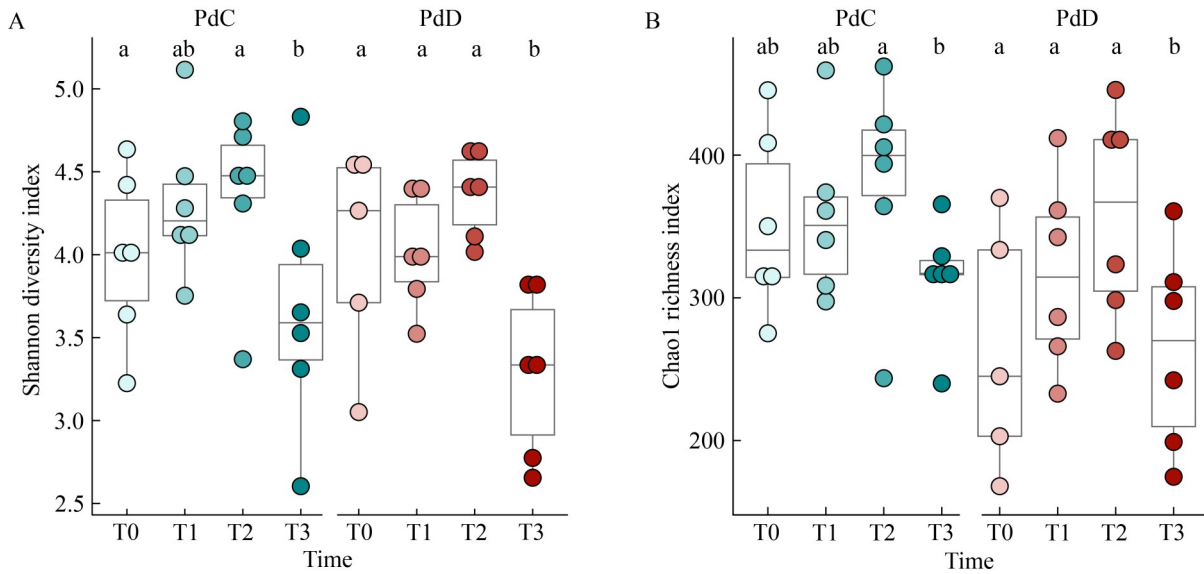
在为期 14 d 的高温胁迫实验中分别在升温开始前(T0)、胁迫初期(T1)、胁迫中期(T2)和胁迫结束(T3) 4 个时间点进行采样, 每个时间点分别采集 PdC 与 PdD 各 6 个样品, 共计 48 个珊瑚样品用于后续测序分析。

### 2.1 珊瑚生理参数变化

室内模拟高温胁迫实验显示, 共生不同属虫黄藻的鹿角杯形珊瑚表现出对高温胁迫不同的生理响应。随着高温胁迫时间延长, PdC 明显白化, 到 T2 时刻 PdC 共生体系中近 99% 的虫黄藻丧失。与此同时, PdC 的光量子产量 ( $F_v/F_m$  和  $\Delta F/F_m$ )、钙化速率与 T0 时刻相比均显著降低 ( $P<0.05$ )。相反, PdD 在高温胁迫期间仅表现出轻微的触手收缩, 未发生白化现象, 与 T0 时刻相比其共生虫黄藻密度、光量子产量 ( $F_v/F_m$  和  $\Delta F/F_m$ )、钙化速率无显著下降(详细数据参见本课题组 Wang 等<sup>[49]</sup>)。

### 2.2 $\alpha$ 多样性指数变化

基于 16S rRNA 基因高通量测序共获得 518 568 条原始序列(平均每样品 10 804 条), 经质控过滤及去除嵌合体后, 共保留有效序列 446 563 条(平均每个样品 9 303 条, 平均长度 410 bp), 最终聚类为 3 596 个 ASVs。稀释曲线与物种累积箱形图均表明测序深度与样本量足以反映珊瑚共生细菌的多样性。将所有样本按最小序列数(7 170 条)进行重抽样标准化, 并计算  $\alpha$  多样性指数。结果表明, PdC 与 PdD 两组在 ASV 水平上的 Shannon 多样性指数和 Chao1 丰富度指数变化趋势基本一致(图 2)。在 T1 时刻, 两组的 Shannon 与 Chao1 指数均较 T0 时刻略有上升, 并于 T2 时刻达到最高值。然而, 随着胁迫持续至 T3 时刻, 两组指数的数值均出现显著下降 ( $P<0.05$ )。尽管在 T0、T1 和 T2 时刻 PdC 与 PdD 组间均无显著差异, 但 PdC 与 PdD 在 T3 时刻的多样性指数值均显著低于 T0-T2 时刻 ( $P<0.05$ )。



**图2 PdC和PdD共生细菌群落的 $\alpha$ 多样性变化。** A: Shannon多样性指数; B: Chao1丰富度指数。图中采样时间点分别对应升温开始前0 h (26 °C, T0), 以及温度胁迫开始后6 h (T1)、7 d (T2)、14 d (T3) (32 °C); PdC、PdD分别表示共生C系群和D系群虫黄藻的鹿角杯形珊瑚; 柱形图上方小写字母表示显著性检验结果, 字母相同表示无显著差异, 字母不同表示有显著差异(Tukey多重比较检验,  $P<0.05$ )。

Figure 2 Variation of bacterial community alpha diversity indexes under PdC and PdD. A: Shannon diversity index; B: Chao1 richness index. The sampling time points correspond to 0 h before heating (26 °C, T0), and 6 h (T1), 7 d (T2), and 14 d (T3) after the heat stress (32 °C). PdC and PdD denote *Pocillopora damicornis* associated with *Cladocopium* (clade C) and *Durusdinium* (clade D), respectively. Lowercase letters above bars indicate significant differences based on Tukey's multiple comparison test. Bars sharing the same letter are not significantly different, while those marked with different letters show statistically significant differences.

### 2.3 珊瑚共生细菌的群落结构

16S rRNA 基因高通量测序分析所得到的 ASVs 共注释到 30 门 55 纲 157 目 257 科 465 属。在门水平上, 蓝细菌门(*Cyanobacteriota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)和放线菌门(*Actinomycetota*)是 PdC 和 PdD 中的优势菌门, 平均相对丰度之和为(96.59±7.82)%。在纲水平上, PdC 和 PdD 的优势纲均为  $\alpha$ -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)、 $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)、拟杆菌纲(*Bacteroidia*)、蓝细菌纲(*Cyanobacteriia*)和梭菌纲(*Clostridia*), 但在高温胁迫过程中不同纲细菌的相对丰度变化趋势不同。随着高温胁迫时间延长, PdC 中  $\alpha$ -变形菌纲和蓝细菌纲的相对丰

度均逐渐上升, 于 T3 时刻达到最高, 其中  $\alpha$ -变形菌纲的相对丰度为(41.21±1.20)%, 蓝细菌纲的相对丰度为(22.47±4.04)%。PdD 中  $\alpha$ -变形菌纲的相对丰度也呈上升趋势, T3 时刻相对丰度达到(71.52±8.65)%, 而蓝细菌纲则从 T1 时刻起呈波动下降, T3 时刻降至最低(3.07±2.09)% (图 3A)。基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 分析显示, PCoA1 和 PCoA2 2 个主轴的解释度之和为 26.20%, PdC 和 PdD 在 T1、T2 和 T3 时刻的细菌群落结构与 T0 时刻相比均发生显著变化 (ANOSIM,  $P<0.001$ ), 且随胁迫时间延长两者表现出相似的群落组成(图 3B)。

### 2.4 珊瑚共生细菌的群落组成

如图 4 所示, PdC 和 PdD 在 T1、T2、T3

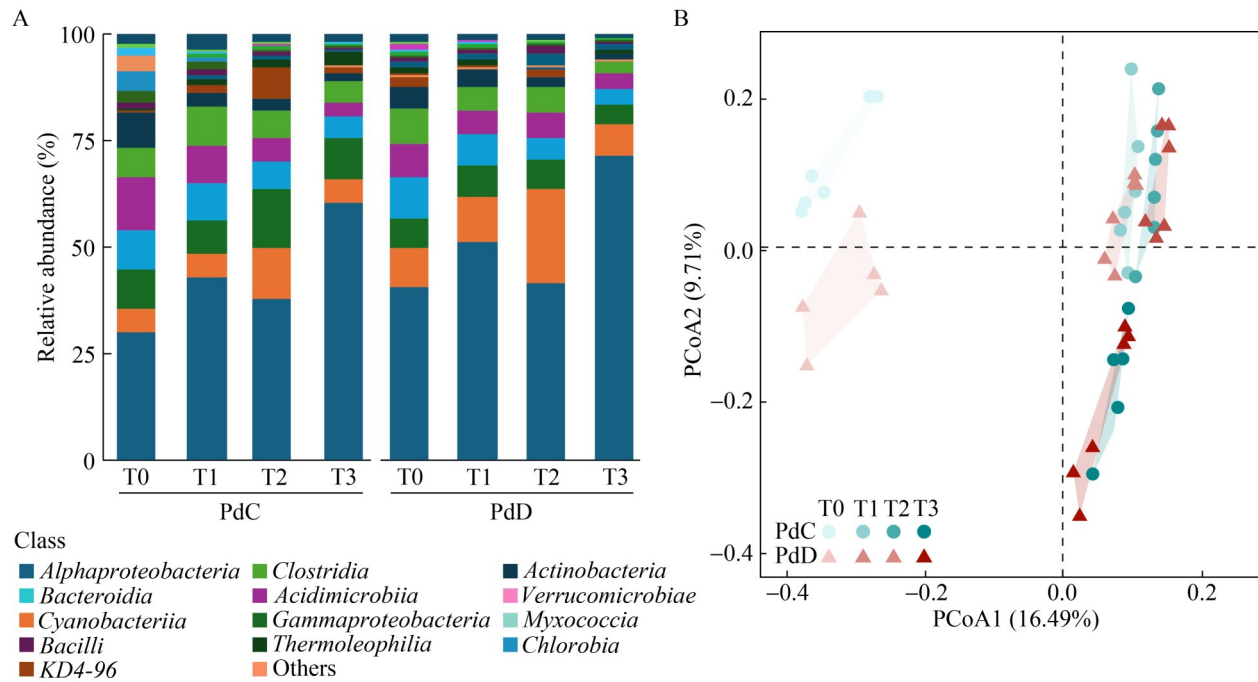
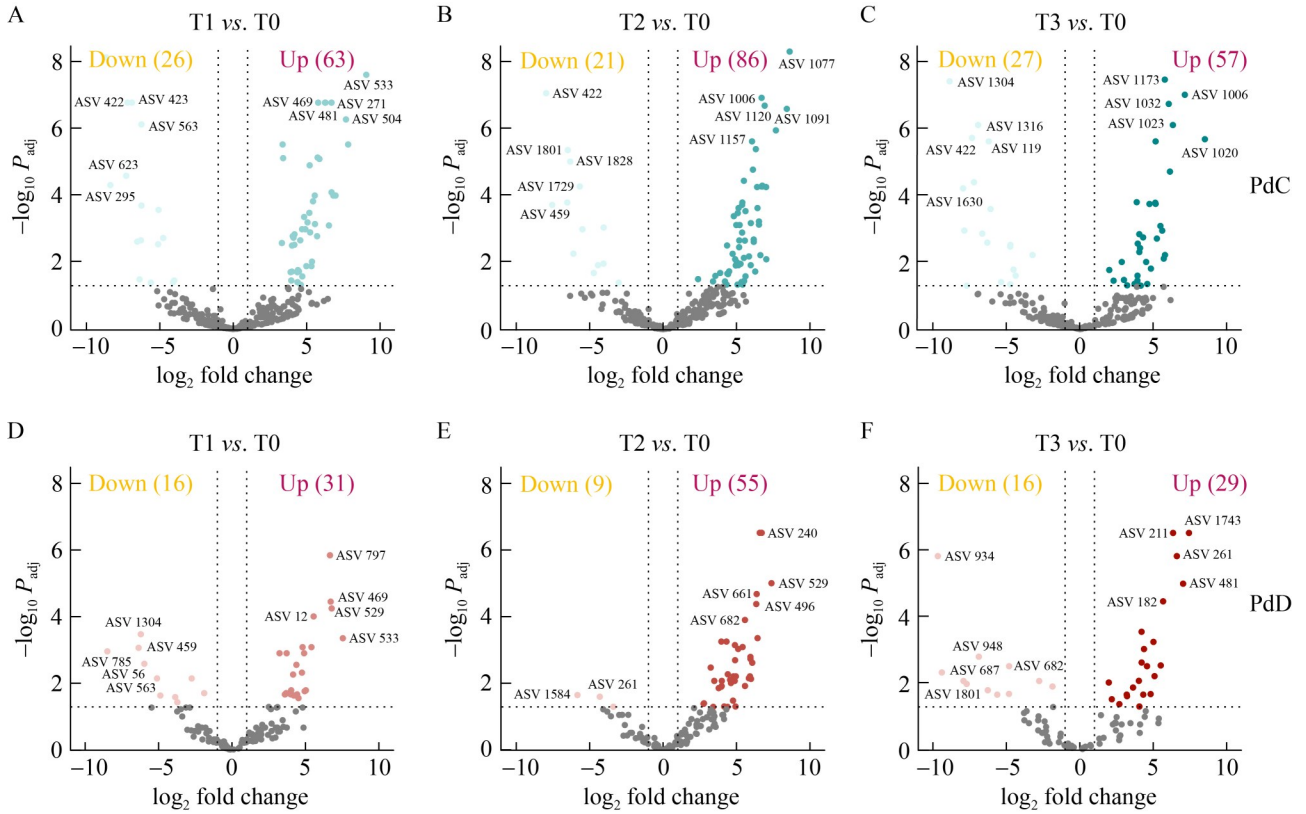


图3 高温胁迫期间PdC与PdD在纲水平上的共生细菌群落组成变化。A: 物种组成丰度; B: 主坐标分析(PCoA)。图中采样时间点分别对应升温开始前0 h (26 °C, T0), 以及温度胁迫开始后6 h (T1)、7 d (T2)、14 d (T3) (32 °C); PdC、PdD分别表示共生C属和D属虫黄藻的鹿角杯形珊瑚。

Figure 3 Changes in symbiotic bacterial community composition at the class level in PdC and PdD under heat stress. A: Relative abundance; B: Principal coordinate analysis (PCoA). The sampling time points correspond to 0 h before heating (26 °C, T0), and 6 h (T1), 7 d (T2), and 14 d (T3) after the heat stress (32 °C). PdC and PdD denote *Pocillopora damicornis* associated with *Cladocopium* (clade C) and *Durusdinium* (clade D), respectively.

时刻与 T0 时刻相比相对丰度发生显著变化的 ASVs。总体而言, 两组中差异 ASVs 数量均先增加后减少, 且 PdC 在各时间点均较 PdD 具有更多数量的差异 ASVs。LEfSe 分析结果显示, PdC 与 PdD 中相对丰度差异显著的细菌类群在 T0 时刻呈现出相似的群落结构, 均以假单胞菌门(*Pseudomonadota*, ASV 56/182/240/496/533/1023/1743)、脱硫杆菌门(*Desulfobacterota*, ASV 563/687/785)、螺旋体门(*Spirochaetota*, ASV 12/661)和疣微菌门(*Verrucomicrobiota*, ASV 934/1616/1630)为主要差异门类。然而, 在目水平上存在差异, PdC 中脱硫弧菌目(*Desulfovibrionales*, ASV 423/1828)和黏球菌目(*Myxococcales*, ASV 1729)的丰度较高, 而 PdD

中则显著富集了脱硫弧菌目(*Desulfovibrionales*, ASV 459/1304)、螺旋体目(*Spirochaetales*, ASV 12/661)、肠球菌目(*Erysipelotrichales*, ASV 797/1522)和葡萄球菌目(*Staphylococcales*, ASV 211/261)(图 5)。随着高温胁迫时间延长, 两组样本的差异类群呈现分化的动态演变。PdC 在 T1 时刻演变为以蓝细菌门(*Cyanobacteriota*, ASV 271/502)、伯克霍尔德菌目(*Burkholderiales*, ASV 504)、拟杆菌门(*Bacteroidota*, ASV 481)和假单胞菌门(*Pseudomonadota*, ASV 533)为主; T2 时刻蓝细菌门(*Cyanobacteriota*, ASV 1006)占据绝对主导地位; 至 T3 时刻显著变化类群则主要为放线菌门(*Actinomycetota*, ASV 1032)、蓝细菌门(*Cyanobacteriota*, ASV 1020)和假单胞菌门



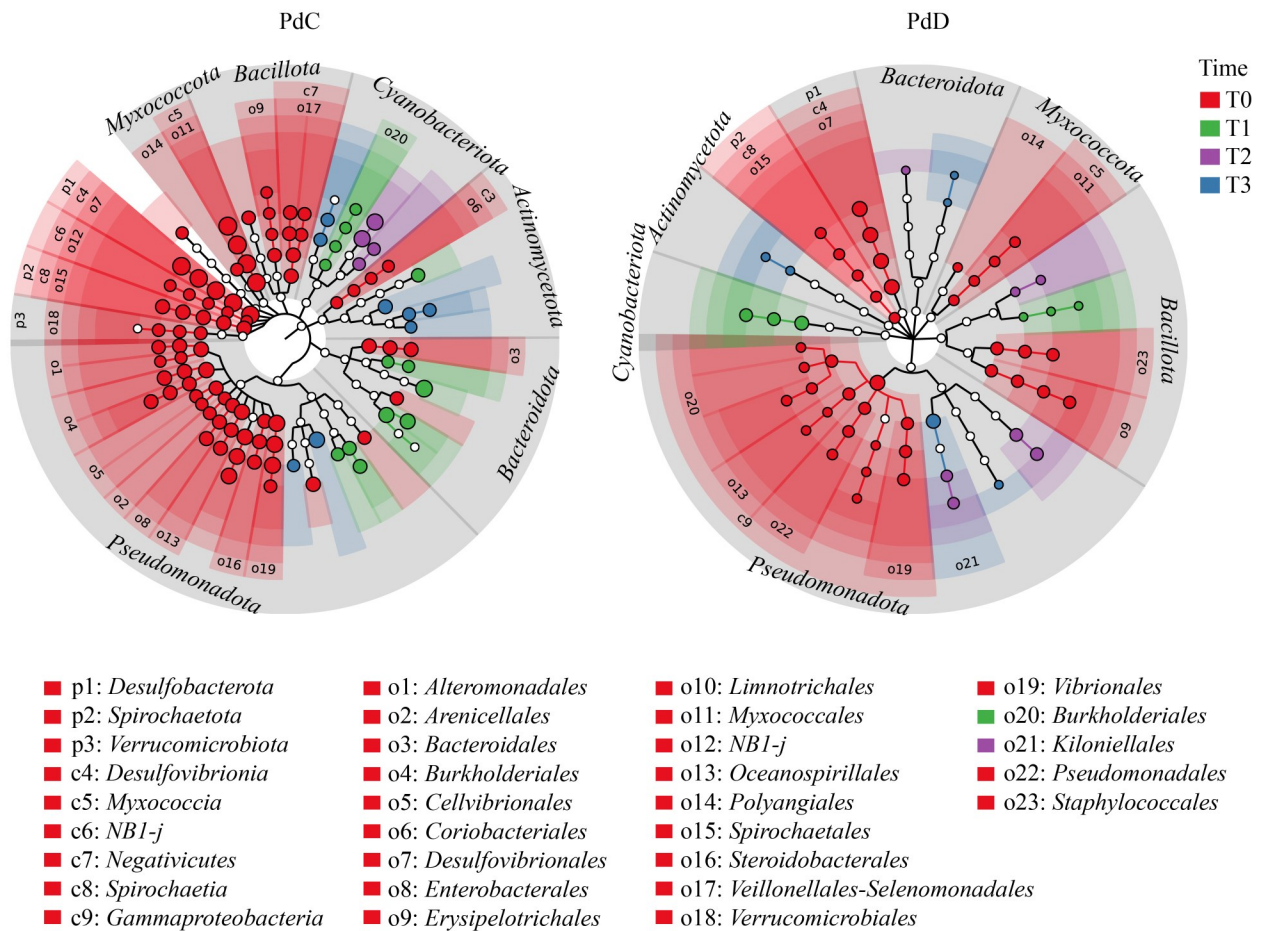
**图4** 不同时间点PdC与PdD中相对T0时丰度发生显著变化的ASV。A–C: PdC在T1、T2、T3时刻相较于T0时刻丰度显著变化的ASVs; D–F: PdD在T1、T2、T3时刻相较于T0时刻丰度显著变化的ASVs。图中采样时间点分别对应升温开始前0 h (26 °C, T0), 以及温度胁迫开始后6 h (T1)、7 d (T2)、14 d (T3) (32 °C)。PdC和PdD分别表示共生C属和D属虫黄藻的鹿角杯形珊瑚。图中标注为相对丰度变化较显著的ASVs。

**Figure 4** The differentially ASVs in PdC and PdD across time points compared to T0. A – C: ASVs that significantly changed in abundance at T1, T2, and T3 compared to T0 in PdC; D–F ASVs that significantly changed in abundance at T1, T2, and T3 compared to T0 in PdD. The sampling time points correspond to 0 h before heating (26 °C, T0), and 6 h (T1), 7 d (T2), and 14 d (T3) after the heat stress (32 °C). PdC and PdD represent *Pocillopora damicornis* associated with *Cladocopium* (clade C) and *Durusdinium* (clade D), respectively. ASVs marked exhibited significant changes in relative abundance.

(*Pseudomonadota*, ASV 1023)。相比之下, PdD在T1时刻以蓝细菌门(*Cyanobacteriota*, ASV 529)和芽孢杆菌门(*Bacillota*, ASV 469)为主; T2时刻差异类群主要为假单胞菌门(*Pseudomonadota*, ASV 240/496)和芽孢杆菌门(*Bacillota*, ASV 682); 至T3时刻则转变为以拟杆菌门(*Bacteroidota*, ASV 481)和假单胞菌门(*Pseudomonadota*, ASV 182/1743)为主要差异类群(图5)。

## 2.5 珊瑚共生细菌的网络特征

细菌网络分析进一步揭示了PdC与PdD共生细菌在高温胁迫响应中的差异(图6)。在T0时刻, 两组的细菌互作网络复杂度相近, 表现为节点数(node, N)与连接数(edge, L)较为接近。然而, 随着胁迫时间延长, PdC网络的节点数和连接数持续下降, 至T3时刻已降至约T0时

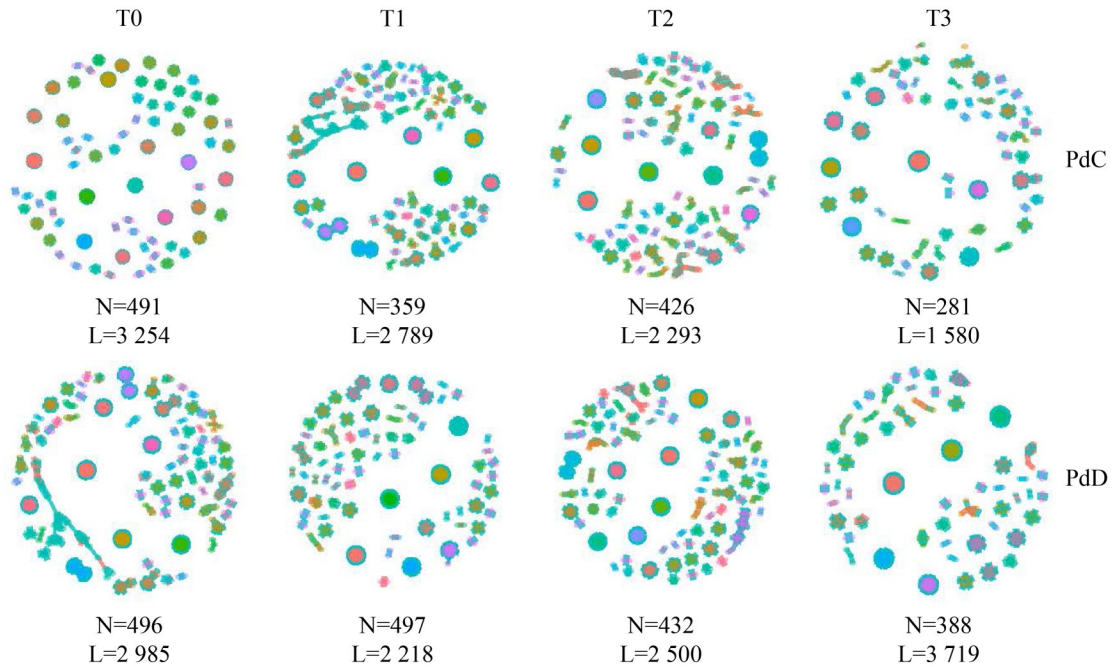


**图5** 基于LEfSe的PdC与PdD细菌群落多级分类差异分析。LEfSe进化分支图中由内至外的同心圆分别代表门(p)、纲(c)、目(o) 3级分类水平。红色、绿色、紫色和蓝色节点分别表示在T0、T1、T2和T3时间点相较于其他时刻相对丰度发生显著变化的细菌类群；白色节点表示在所有时间点均无显著差异的类群。图中采样时间点分别对应升温开始前0 h (26 °C, T0)，以及温度胁迫开始后6 h (T1)、7 d (T2)、14 d (T3) (32 °C)。PdC和PdD分别指共生C系群和D系群虫黄藻的鹿角杯形珊瑚。

Figure 5 LefSe-based taxonomic divergence analysis of bacterial communities between PdC and PdD. In the LefSe cladogram, concentric circles from the centre outward represent the phylum (p), class (c), and order (o) taxonomic levels. Nodes coloured red, green, purple, and blue correspond to bacterial taxa with significantly different relative abundance at T0, T1, T2, and T3, respectively, compared to other time points; White nodes indicate taxa not significantly different at any time. The sampling time points correspond to 0 h before heating (26 °C, T0), and 6 h (T1), 7 d (T2), and 14 d (T3) after the heat stress (32 °C). PdC and PdD denote *Pocillopora damicornis* associated with *Cladocopium* (clade C) and *Durusdinium* (clade D), respectively.

刻的 50%。与之相反，PdD 网络的节点数在 T0 至 T2 期间保持稳定，T3 时刻虽有小幅减少，但其连接数仍高于 T0-T2 阶段，暗示在后期高温胁迫下尽管物种数量有所减少，但群落内互

作关联性显著增强。值得注意的是，T3 时刻 PdD 网络的节点数和连接数均约为 PdC 网络的 2 倍。这些网络特征的变化共同表明，高温胁迫显著削弱了 PdC 细菌群落的网络结构与稳定性，



**图6 PdC与PdD在不同采样时间点的细菌共生网络(ASV水平)。**图中采样时间点分别对应升温开始前0 h (26 °C, T0), 以及温度胁迫开始后6 h (T1)、7 d (T2)、14 d (T3) (32 °C)。PdC和PdD分别表示共生C属和D属黄藻的鹿角杯形珊瑚。N: 节点数量; L: 节点连线条数。

Figure 6 Microbial co-occurrence networks of PdC and PdD at ASV level across sampling time points. The sampling time points correspond to 0 h before heating (26 °C, T0), and 6 h (T1), 7 d (T2), and 14 d (T3) after the heat stress (32 °C). PdC and PdD represent *Pocillopora damicornis* associated with *Cladocopium* (clade C) and *Durusdinium* (clade D), respectively. N: Number of nodes; L: Number of edges.

而 PdD 则展现了更强的细菌互作网络可塑性与高温适应能力。

## 2.6 细菌功能预测

基于 PICRUST2 功能预测进一步凸显了 PdC 与 PdD 细菌的功能适应性差异(图 7)。在 T1 时刻, PdC 菌群主要参与 MAPK 信号通路、EB 病毒相关通路及 C 型凝集素受体信号通路, 而 PdD 菌群则主要参与糖胺聚糖生物合成、光合作用天线蛋白以及逆行内源性大麻素信号通路。至 T2 时刻, PdC 在酪氨酸代谢、HIF-1 信号通路和钙信号通路中表现出功能优势, PdD 则显著激活了次级胆汁酸生物合成、肌醇磷酸代谢、二联苯降解及群体感应相关通路。在 T3 时刻, PdC 菌群仍维持 HIF-1 信号通路的活跃性并参与

单萜类生物合成, 而 PdD 菌群则转向 NF-κB 信号通路、TNF 信号通路、四环素生物合成及 ABC 转运体等应激响应与物质转运功能。这种时空分异的功能模式表明, PdD 通过动态调控多种胁迫响应通路与代谢机制, 展现了更为系统的高温适应策略。

## 3 讨论

室内模拟高温胁迫实验表明, PdC 和 PdD 对高温的生理响应存在显著差异。PdC 在高温胁迫期间虫黄藻密度、光合速率以及碳转运速率均显著下降, 珊瑚白化现象加剧。相反, PdD 在高温胁迫期间仅表现出轻微的触手收缩, 虫黄藻密度、光合速率和碳转运速率保持稳定<sup>[49]</sup>。

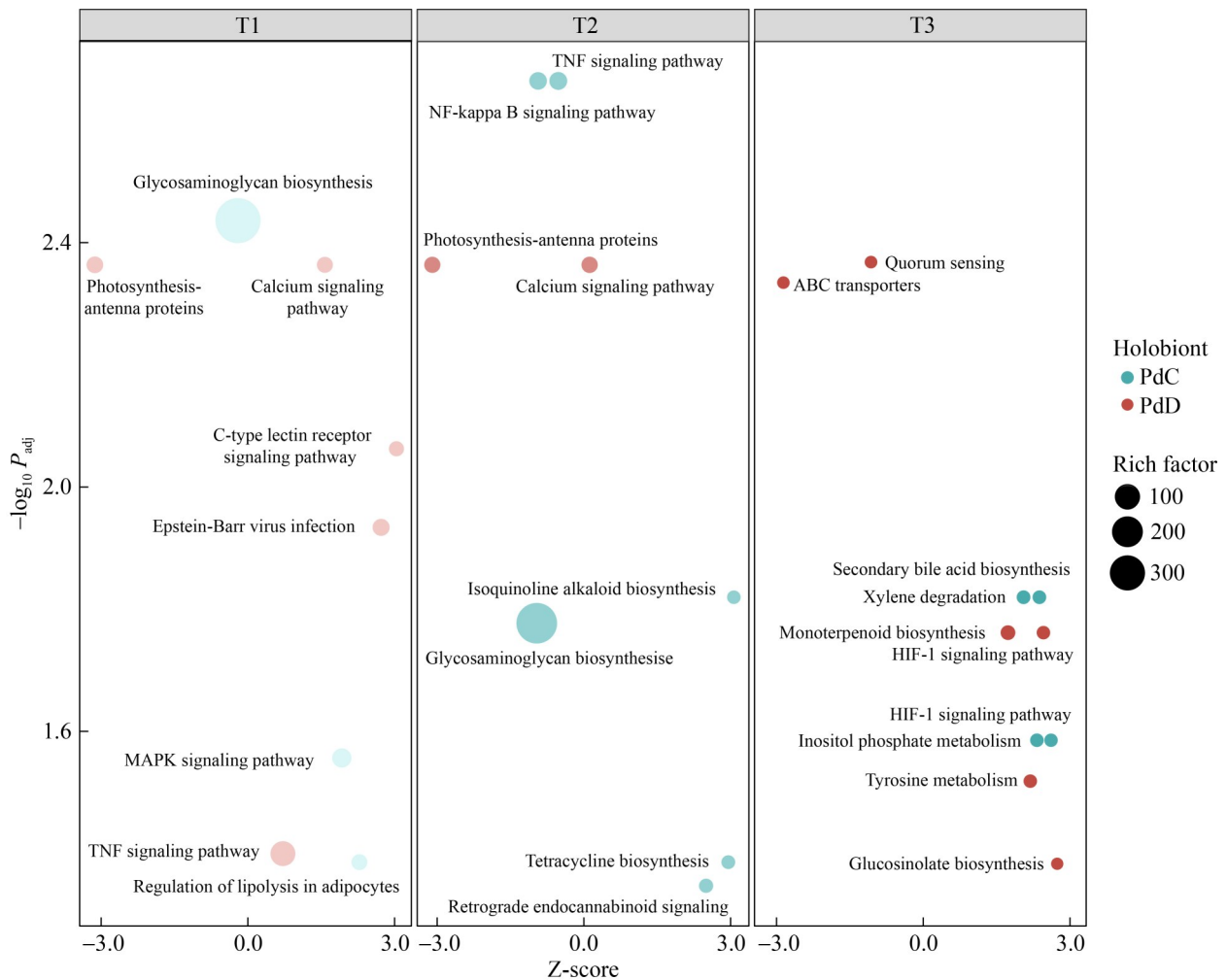


图7 高温胁迫过程中鹿角杯形珊瑚(PdC与PdD)共生细菌群落的功能预测通路分析。图中采样时间点分别对应温度胁迫开始后6 h (T1)、7 d (T2)、14 d (T3) (32 °C)。PdC和PdD分别表示共生C属和D属虫黄藻的鹿角杯形珊瑚。圆圈大小表示相对T0时刻显著富集的功能通路。

Figure 7 Functional prediction analysis of the coral-associated bacterial communities (PdC and PdD) under heat stress. The sampling time points correspond to 6 h (T1), 7 d (T2), and 14 d (T3) after the heat stress (32 °C). PdC and PdD represent *Pocillopora damicornis* associated with *Cladocopium* (clade C) and *Durusdinium* (clade D), respectively. Bubble size indicates significantly enriched functional pathways relative to the T0 time point.

这一结果再次验证了珊瑚热胁迫响应的共生体依赖性特性，即虫黄藻的光生理特性与胁迫防御能力是决定珊瑚共生功能体健康状况的关键因子<sup>[69-71]</sup>。在高温胁迫处理初期，PdC和PdD细菌群落的丰富度和均匀度均保持稳定。然而，在更长时间的高温胁迫作用下，2种共生功能体组合的细菌多样性和均匀度均显著降低，推测

这一现象主要与温度对细菌的筛选以及珊瑚共生体的能量分配有关<sup>[72-73]</sup>。珊瑚通过在幼体阶段通过“水平传播(来源于外界环境)”和“垂直传播(来源于珊瑚母本)”获取共生微生物，成熟阶段通常具有较幼体阶段专一性更强的细菌群落，这会导致珊瑚全功能体难以与外界环境中的细菌群落建立联系<sup>[74-76]</sup>。珊瑚宿主在胁迫初期通

常可以通过调整能量分配(如降低钙化率、消耗储存脂质等)适应高温胁迫,但随着胁迫时间延长,机会型致病菌的丰度增加,最终会影响与其占据相同生态位的细菌种类与丰度,造成珊瑚共生细菌网络结构单一化,最终导致珊瑚共生细菌多样性下降<sup>[77-80]</sup>。野外原位实验或室内使用原位海水进行胁迫实验结果显示,在高温胁迫下珊瑚共生细菌多样性增加<sup>[81-83]</sup>。我们推测这可能与珊瑚物种以及水体中的细菌丰度有关。相较于天然海水,人工配制海水中细菌种类和丰度相对较低,通常难以为珊瑚提供充足的细菌来源,但鉴于珊瑚物种与水体环境中细菌发生交换的能力可能与珊瑚种类以及分布区域有关,目前有关珊瑚与水体发生细菌群落交换这一现象仍无统一定论,未来仍需进一步研究与探索。

由于当前微生物数据库中许多珊瑚特有的共生细菌的基因序列信息还很不完善,许多 ASVs 序列在属种水平上无法准确确定其身份,因此本研究主要在较高的分类水平(门/纲/目)以及 ASV 水平上进行分析<sup>[84-86]</sup>。更高层的分类单元(如纲、目)的成员通常具有相似的功能特点,未被精确注释的 ASVs 序列可用于追踪在环境压力下细菌成员的数量变化趋势<sup>[87-90]</sup>。本研究发现随着胁迫时间延长, PdC 和 PdD 共生细菌群落均经历物种重组且最终在纲水平上表现出“趋同”现象,但两者在最终达到“趋同”这一状态所经历的细菌群落变化以及细菌功能并不相同。本研究发现, PdC 中蓝细菌在 T1-T2 期间呈现波动性响应(先增后降),不稳定状态削弱了系统的抗干扰能力。PdD 对高温的适应能力得益于  $\alpha$ -变形菌纲的相对丰度显著提升,其突出的代谢多样性和兼性厌氧特性使其能够在胁迫条件下快速形成稳定的核心功能菌群<sup>[88]</sup>。同时, PdD 中蓝细菌丰度的持续下降有效抑制了依赖光自养带来的代谢波动,从而降低了光氧化损伤引发的群落结构扰动风险<sup>[89-91]</sup>。上述现象在更广泛的珊瑚全共生体中得到印证。例如,高温导

致滨珊瑚中脱硫弧菌目与厚壁菌丰度显著增加,以及脑珊瑚、鹿角珊瑚中蓝细菌暴发性增殖等现象,均显著削弱了宿主-共生菌功能体的抗氧化与氮循环能力,最终因光氧化应激加剧与能量供应链断裂导致体系崩溃<sup>[92-94]</sup>。此外, PdC 的差异 ASVs 数量始终高于 PdD,且其细菌网络复杂度随着胁迫持续下降,表明种间互作功能模块逐渐瓦解,而 PdD 在 T3 时刻网络连接数增加,展现出核心类群间的协同稳定性。综合分析 PdC 共生细菌的动态变化可知其细菌演替呈现阶段性更替特征,胁迫初期主要依赖蓝细菌的光合自养短暂缓解氧化胁迫,后期则转向放线菌的异养代谢,反映其核心功能类群在策略整合与稳定性维持方面存在不足。以上研究表明,以单一光能菌(如蓝细菌)主导为特征的响应策略,因其在核心功能稳定性和代谢路径切换弹性方面的不足而具有内在脆弱性;相反,基于多菌群功能冗余(如  $\alpha$ -变形菌纲、厚壁菌)并通过异养降解与抗逆分子协同作用构建的多维适应机制,构成了珊瑚应对高温胁迫的普适性生物屏障<sup>[95-96]</sup>。

本研究基于细菌群落分类群组成及丰度时序演替的预测功能分析揭示,高温胁迫下 PdC 与 PdD 的代谢策略与其细菌群落结构动态及核心功能类群协同机制密切相关。在应对高温胁迫时 PdC 主要通过调整菌群结构来适应环境变化。这种重组伴随与病变相关的潜在条件致病菌丰度增加,并有可能激活炎症相关通路,最终引发珊瑚白化。对于 PdD 而言,高温胁迫并未显著影响其共生虫黄藻的光合效率,珊瑚共生体可能主要通过优化与虫黄藻及宿主间进行物质能量交换和信息传递的益生菌群来维持健康状态,这与基于共生菌物种组成推测的钙化过程、群体感应以及 ABC 转运等功能相吻合。这一结果阐明了细菌分类群功能分工在珊瑚共生体胁迫响应中的生态位保守性,为解析珊瑚-细菌共进化中“结构-功能”耦联机制提供了新的组学证据。尽管本研究通过功能预测揭示了细菌群落动态与代谢策略的关联性,但基于 16S

rRNA 基因扩增子测序的推断结果仍需宏基因组/宏转录组学数据验证, 尤其需进一步解析关键代谢通路的基因表达时序特征及其对宿主表型的调控效应。此外, 实验设计中胁迫时长与温度梯度设置的单一性可能限制了对菌群响应阈值及功能恢复潜力的定量评估, 未来需结合多因素交叉胁迫模拟实验, 验证上述功能模块的生态普适性。本研究的发现为珊瑚微生物组工程提供了理论依据, 后期可通过定向调控核心菌群的代谢集约化功能, 或构建具有抗逆增益的合成菌群, 为珊瑚礁生态修复提供更加行之有效的方案。

## 4 结论

本研究表明, 鹿角杯形珊瑚共生体 PdC 和 PdD 展现出不同的高温胁迫响应模式与适应能力, 这一现象主要是珊瑚宿主-微生物-虫黄藻三者之间共同作用的结果。高温胁迫显著降低 PdC 共生体中 C 系群虫黄藻的光合作用效率, 破坏共生关系, 导致珊瑚白化, 但 PdD 中 D 系群虫黄藻受高温胁迫的影响较小, 珊瑚共生体基本保持良好的共生关系。相较于珊瑚宿主与虫黄藻间特异的共生关系, PdC 和 PdD 中共生细菌在高温胁迫下则表现出在纲水平上相似、在 ASV 水平上差异较大的细菌群落变动, 具体表现为 PdC 中的 ASVs 数量变动较大, 且网络结构单一化。这一过程主要伴随细菌群落重组、潜在条件致病菌增多等负反馈现象。与之相反, PdD 则通过维持某些具有抗逆或辅助代谢功能的有益菌群提高热耐受性, 基于功能预测, 这些菌群广泛参与了群体感应、物质代谢、ABC 转运等相关通路, 或可在协同宿主应对高温胁迫中发挥作用。综上所述, 本研究揭示了珊瑚共生体高温适应的层级调控框架, 特定虫黄藻系群奠定了宿主耐受性的生理基础, 而共生细菌群落的动态重组与功能补偿驱动了关键的生态适应策略, 二者的协同作用最终决定了珊瑚宿主在热胁迫下的表型可塑性。

## 致谢

感谢自然资源部第三海洋研究所科研助理方鸿飞、黄文聪协助样品采集与实验操作。

## 作者贡献声明

张涵: 数据收集与监管, 数据分析(生物信息学部分), 完成呈现, 撰写文章初稿; 王晨颖: 验证、数据分析(生理参数部分); 李琰: 方法论, 提供生物样品资源; 林柳青: 执行调研, 完成呈现; 李康凯: 提供资源, 软件程序; 郑新庆: 项目管理, 提供资源, 撰写文章终稿; 石拓: 提出概念, 获取基金, 撰写文章终稿。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- [1] CONNELL JH. Diversity in tropical rain forests and coral reefs: high diversity of trees and corals is maintained only in a nonequilibrium state[J]. *Science*, 1978, 199(4335): 1302-1310.
- [2] BAKER AC, STARGER CJ, McCLANAHAN TR, GLYNN PW. Corals' adaptive response to climate change[J]. *Nature*, 2004, 430(7001): 741.
- [3] ROSENBERG E, KOREN O, RESHEF L, EFRONY R, ZILBER-ROSENBERG I. The role of microorganisms in coral health, disease and evolution[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(5): 355-362.
- [4] SMITH JE, SHAW M, EDWARDS RA, OBURA D, PANTOS O, SALA E, SANDIN SA, SMRIGA S, HATAY M, ROHWER FL. Indirect effects of algae on coral: algae-mediated, microbe-induced coral mortality[J]. *Ecology Letters*, 2006, 9(7): 835-845.
- [5] BAKER AC. Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology, and biogeography of *Symbiodinium*[J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2003, 34: 661-689.
- [6] MASSON-DELMOTTE V, ZHAI P, PIRANI A, CONNORS SL, PÉAN C, BERGER S, CAUD N, CHEN Y, GOLDFARB L, GOMIS MI, HUANG M, LEITZELL K, LONNOY E, MATTHEWS JBR, MAYCOCK TK, WATERFIELD T, YELEKÇI O, YU R, ZHOU B. *Climate Change 2021: the physical science basis: contribution of working group I to the sixth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*[C]//IPCC Sixth Assessment Report. Cambridge: Cambridge University Press, 2021.
- [7] LaJEUNESSE TC, PARKINSON JE, GABRIELSON PW, JEONG HJ, REIMER JD, VOOLSTRA CR,

- SANTOS SR. Systematic revision of *Symbiodiniaceae* highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts[J]. *Current Biology*, 2018, 28(16): 2570-2580.e6.
- [8] ABBOTT E, DIXON G, MATZ M. Shuffling between *Cladocopium* and *Durusdinium* extensively modifies the physiology of each symbiont without stressing the coral host[J]. *Molecular Ecology*, 2021, 30(24): 6585-6595.
- [9] BELTRÁN VH, PULL-STEPHAN E, HOWELLS E, FLORES-MOYA A, DOBLIN M, NÚÑEZ-LARA E, ESCAMILLA V, LÓPEZ T, van OPPEN MJH. Physiological diversity among sympatric, conspecific endosymbionts of coral (*Cladocopium* C1<sup>aero</sup>) from the Great Barrier Reef[J]. *Coral Reefs*, 2021, 40(4): 985-997.
- [10] THINESH T, MEENATCHI R, JOSE PA, KIRAN GS, SELVIN J. Differential bleaching and recovery pattern of southeast Indian coral reef to 2016 global mass bleaching event: occurrence of stress-tolerant symbiont *Durusdinium* (clade D) in corals of Palk Bay[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 145: 287-294.
- [11] LITTLE AF, van OPPEN MJH, WILLIS BL. Flexibility in algal endosymbiosis shapes growth in reef corals[J]. *Science*, 2004, 304(5676): 1492-1494.
- [12] CANTIN NE, van OPPEN MJH, WILLIS BL, MIEOG JC, NEGRI AP. Juvenile corals can acquire more carbon from high-performance algal symbionts[J]. *Coral Reefs*, 2009, 28(2): 405-414.
- [13] BUZZONI D, CUNNING R, BAKER AC. The role of background algal symbionts as drivers of shuffling to thermotolerant *Symbiodiniaceae* following bleaching in three Caribbean coral species[J]. *Coral Reefs*, 2023, 42(6): 1285-1295.
- [14] CUNNING R, BAKER AC. Thermotolerant coral symbionts modulate heat stress-responsive genes in their hosts[J]. *Molecular Ecology*, 2020, 29(15): 2940-2950.
- [15] GLYNN VM, VOLLMER SV, KLINE DI, BARRETT RDH. Environmental and geographical factors structure cauliflower coral's algal symbioses across the Indo-Pacific[J]. *Journal of Biogeography*, 2023, 50(4): 669-684.
- [16] MUSCATINE L, PORTER JW. Reef corals: mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments[J]. *BioScience*, 1977, 27(7): 454-460.
- [17] van OPPEN MJ, PALSTRA FP, PIQUET AM, MILLER DJ. Patterns of coral-dinoflagellate associations in *Acropora*: significance of local availability and physiology of *Symbiodinium* strains and host-symbiont selectivity[J]. *Proceedings Biological Sciences*, 2001, 268(1478): 1759-1767.
- [18] AVILA-MAGAÑA V, KAMEL B, DeSALVO M, GÓMEZ-CAMPO K, ENRÍQUEZ S, KITANO H, ROHLFS RV, IGLESIAS-PRIETO R, MEDINA M. Elucidating gene expression adaptation of phylogenetically divergent coral holobionts under heat stress[J]. *Nature Communications*, 2021, 12: 5731.
- [19] ZARATE D, GARY J, LI JC. Flexibility in coral-algal symbiosis is positively correlated with the host geographic range[J]. *Ecology Letters*, 2024, 27(2): e14374.
- [20] BERKELMANS R, van OPPEN MJH. 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 Biological Sciences*, 2006, 273(1599): 2305-2312.
- [21] LOGAN CA, DUNNE JP, RYAN JS, BASKETT ML, DONNER SD. Quantifying global potential for coral evolutionary response to climate change[J]. *Nature Climate Change*, 2021, 11(6): 537-542.
- [22] LaJEUNESSE TC, SMITH RT, FINNEY J, OXENFORD H. Outbreak and persistence of opportunistic symbiotic dinoflagellates during the 2005 Caribbean mass coral 'bleaching' event[J]. *Proceedings Biological Sciences*, 2009, 276(1676): 4139-4148.
- [23] WANG QF, ZHENG XQ, ZHOU XJ, ZHANG H, CAI L, LEUNG JYS, HUANG LF. Symbiont genus determines the trophic strategy of corals: implications for intraspecific competition for energy sources in coral reefs[J]. *Ecological Indicators*, 2024, 158: 111477.
- [24] APPRILL AM, BIDIGARE RR, GATES RD. Visibly healthy corals exhibit variable pigment concentrations and symbiont phenotypes[J]. *Coral Reefs*, 2007, 26(2): 387-397.
- [25] CHEN B, YU KF, LIAO ZH, YU XP, QIN ZJ, LIANG JY, WANG GH, WU Q, JIANG LL. Microbiome community and complexity indicate environmental gradient acclimatisation and potential microbial interaction of endemic coral holobionts in the South China Sea[J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 765: 142690.
- [26] 周进, 晋慧, 蔡中华. 微生物在珊瑚礁生态系统中的作用与功能[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(3): 919-930.
- ZHOU J, JIN H, CAI ZH. A review of the role and function of microbes in coral reef ecosystem[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(3): 919-930 (in Chinese).
- [27] 王涛, 程珂珂, 蔡中华, 周进. 珊瑚共生体中“细菌-虫黄藻-宿主”三角关系的通讯交流[J]. *应用生态学报*, 2022, 33(9): 2572-2584.
- WANG T, CHENG KK, CAI ZH, ZHOU J. Research advances in communication interactions among the symbionts of "bacteria-zooxanthellae-coral" [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2022, 33(9): 2572-2584 (in Chinese).
- [28] BEDNARZ VN, GROVER R, MAGUER JF, FINE M, FERRIER-PAGÈS C. The assimilation of diazotroph-derived nitrogen by Scleractinia corals depends on their metabolic status[J]. *mBio*, 2017, 8(1): e02058-16.
- [29] GLASL B, HERNDL GJ, FRADE PR. The microbiome of coral surface mucus has a key role in mediating holobiont health and survival upon disturbance[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(9): 2280-2292.
- [30] JOHNSON WM, KIDO SOULE MC, KUJAWINSKI EB. Evidence for quorum sensing and differential metabolite production by a marine bacterium in response to DMSP[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(9): 2304-2316.
- [31] KIMES NE, GRIM CJ, JOHNSON WR, HASAN NA, TALL BD, KOTHARY MH, KISS H, MUNK AC, TAPIA R, GREEN L, DETTER C, BRUCE DC,

- BRETTIN TS, COLWELL RR, MORRIS PJ. Temperature regulation of virulence factors in the pathogen *Vibrio coralliilyticus*[J]. The ISME Journal, 2012, 6(4): 835-846.
- [32] WEGLEY L, EDWARDS R, RODRIGUEZ-BRITO B, LIU H, ROHWER F. Metagenomic analysis of the microbial community associated with the coral *Porites astreoides*[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(11): 2707-2719.
- [33] ROSADO PM, LEITE DCA, DUARTE GAS, CHALOUB RM, JOSPIN G, da ROCHA UN, SARAIVA JP, DINI-ANDREOTE F, EISEN JA, BOURNE DG, PEIXOTO RS. Marine probiotics: increasing coral resistance to bleaching through microbiome manipulation[J]. The ISME Journal, 2019, 13(4): 921-936.
- [34] MOTONE K, TAKAGI T, ABURAYA S, MIURA N, AOKI W, UEDA M. A zeaxanthin-producing bacterium isolated from the algal phycosphere protects coral endosymbionts from environmental stress[J]. mBio, 2020, 11(1): e01019-19.
- [35] HADAIDI G, RÖTHIG T, YUM LK, ZIEGLER M, ARIF C, RODER C, BURT J, VOOLSTRA CR. Stable mucus-associated bacterial communities in bleached and healthy corals of *Porites lobata* from the Arabian Seas[J]. Scientific Reports, 2017, 7: 45362.
- [36] LEE STM, DAVY SK, TANG SL, KENCH PS. Mucus sugar content shapes the bacterial community structure in thermally stressed *Acropora muricata*[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 371.
- [37] TAIT K, HUTCHISON Z, THOMPSON FL, MUNN CB. Quorum sensing signal production and inhibition by coral-associated vibrios[J]. Environmental Microbiology Reports, 2010, 2(1): 145-150.
- [38] RANSOME E, MUNN CB, HALLIDAY N, CÁMARA M, TAIT K. Diverse profiles of N-acyl-homoserine lactone molecules found in cnidarians[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 87(2): 315-329.
- [39] BRUHN JB, GRAM L, BELAS R. Production of antibacterial compounds and biofilm formation by *Roseobacter* species are influenced by culture conditions[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(2): 442-450.
- [40] REUSCH TBH. Climate change in the oceans: Evolutionary versus phenotypically plastic responses of marine animals and plants[J]. Evolutionary Applications, 2014, 7(1): 104-122.
- [41] WEBSTER NS, REUSCH TBH. Microbial contributions to the persistence of coral reefs[J]. The ISME Journal, 2017, 11(10): 2167-2174.
- [42] CURSON ARJ, TODD JD, SULLIVAN MJ, JOHNSTON AWB. Catabolism of dimethylsulphoniopropionate: microorganisms, enzymes and genes[J]. Nature Reviews Microbiology, 2011, 9(12): 849-859.
- [43] ROSENBERG E, ZILBER-ROSENBERG I. The Hologenome Concept: Human, Animal and Plant Microbiota. 1st ed.[M]//New York: Springer, 2013.
- [44] RITCHIE K. Regulation of microbial populations by coral surface mucus and mucus-associated bacteria[J]. Marine Ecology Progress Series, 2006, 322: 1-14.
- [45] YANG QX, ZHANG H, QIU JW, HUANG DY, ZHOU XJ, ZHENG XQ. Symbiotic *Symbiodiniaceae* mediate coral-associated bacterial communities along a natural thermal gradient[J]. Environmental Microbiome, 2025, 20(1): 72.
- [46] GOROSPE KD, KARL SA. Genetic relatedness does not retain spatial pattern across multiple spatial scales: dispersal and colonization in the coral, *Pocillopora damicornis*[J]. Molecular Ecology, 2013, 22(14): 3721-3736.
- [47] WHITAKER K. Genetic evidence for mixed modes of reproduction in the coral *Pocillopora damicornis* and its effect on population structure[J]. Marine Ecology Progress Series, 2006, 306: 115-124.
- [48] BRENER-RAFFALLI K, CLERISSI C, VIDAL-DUPIOL J, ADJEROUD M, BONHOMME F, PRATLONG M, AURELLE D, MITTA G, TOULZA E. Thermal regime and host clade, rather than geography, drive *Symbiodinium* and bacterial assemblages in the Scleractinia coral *Pocillopora damicornis sensu lato*[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 39.
- [49] WANG CY, ZHENG XQ, KVITT H, SHENG HX, SUN DY, NIU GF, TCHERNOV D, SHI T. Lineage-specific symbionts mediate differential coral responses to thermal stress[J]. Microbiome, 2023, 11(1): 211.
- [50] YUAN J, LI MZ, LIN SJ. An improved DNA extraction method for efficient and quantitative recovery of phytoplankton diversity in natural assemblages[J]. PLoS One, 2015, 10(7): e0133060.
- [51] CHEN CA, WILLIS BL, MILLER DJ. Systematic relationships between tropical corallimorpharians (Cnidaria: Anthozoa: Corallimorpharia): utility of the 5.8S and internal transcribed spacer (ITS) regions of the rRNA transcription unit[J]. Bulletin of Marine Science, 1996, 59: 196-208.
- [52] CORREA AMS, McDONALD MD, BAKER AC. Development of clade-specific *Symbiodinium* primers for quantitative PCR (qPCR) and their application to detecting clade D symbionts in Caribbean corals[J]. Marine Biology, 2009, 156(11): 2403-2411.
- [53] SCHMIDT-ROACH S, MILLER KJ, LUNDGREN P, ANDREAKIS N. With eyes wide open: a revision of species within and closely related to the *Pocillopora damicornis* species complex (Scleractinia; Pocilloporidae) using morphology and genetics[J]. Zoological Journal of the Linnean Society, 2014, 170(1): 1-33.
- [54] 叶承, 黄晖, 张成龙. 鹿角杯形珊瑚骨骼构造和显微结构的研究[J]. 热带海洋学报, 2013, 32(2): 102-111.
- YE C, HUANG H, ZHANG CL. Skeletal architecture and microstructure of calcifying coral *Pocillopora damicornis*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2013, 32(2): 102-111 (in Chinese).
- [55] SHI T, NIU GF, KVITT H, ZHENG XQ, QIN QY, SUN DY, JI ZL, TCHERNOV D. Untangling ITS2 genotypes of algal symbionts in zooxanthellate corals[J]. Molecular Ecology Resources, 2021, 21(1): 137-152.
- [56] SIEBECK U, LOGAN D, MARSHALL N. Coralwatch: a

- flexible coral bleaching monitoring tool for you and your group[C]//Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium. Fort Lauderdale, FL, USA, 2008: 7-11.
- [57] SPENCER DAVIES P. Short-term growth measurements of corals using an accurate buoyant weighing technique[J]. *Marine Biology*, 1989, 101(3): 389-395.
- [58] FAGOONEE I, WILSON HB, HASSELL MP, TURNER JR. The dynamics of zooxanthellae populations: a long-term study in the field[J]. *Science*, 1999, 283(5403): 843-845.
- [59] YU XP, YU KF, LIAO ZH, CHEN B, DENG CQ, YU JY, YAO QC, QIN ZJ, LIANG JY. Seasonal fluctuations in symbiotic bacteria and their role in environmental adaptation of the Scleractinia coral *Acropora pruinosa* in high-latitude coral reef area of the South China Sea[J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 792: 148438.
- [60] CAPORASO JG, LAUBER CL, WALTERS WA, BERGLYONS D, LOZUPONE CA, TURNBAUGH PJ, FIERER N, KNIGHT R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(Suppl 1): 4516-4522.
- [61] BOKULICH NA, KAEHLER BD, RIDEOUT JR, DILLON M, BOLYNE E, KNIGHT R, HUTTLEY GA, GREGORY CAPORASO J. Optimizing taxonomic classification of marker-gene amplicon sequences with QIIME 2's q2-feature-classifier plugin[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 90.
- [62] CALLAHAN BJ, McMURDIE PJ, ROSEN MJ, HAN AW, JOHNSON AJA, HOLMES SP. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. *Nature Methods*, 2016, 13(7): 581-583.
- [63] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, GERKEN J, SCHWEER T, YARZA P, PEPLIES J, GLÖCKNER FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41(D1): D590-D596.
- [64] LEGENDRE P, LEGENDRE L. *Numerical Ecology*[M]. 2nd edition. Amsterdam: Elsevier, 1998: 1-853.
- [65] ROBINSON MD, McCARTHY DJ, SMYTH GK. edgeR: a bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(1): 139-140.
- [66] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, BALIGA NS, WANG JT, RAMAGE D, AMIN ND, SCHWIKOWSKI B, IDEKER T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Research*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [67] DOUGLAS GM, MAFFEI VJ, ZANEVELD JR, YURGEL SN, BROWN JR, TAYLOR CM, HUTTENHOWER C, LANGILLE MGI. PICRUST2 for prediction of metagenome functions[J]. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(6): 685-688.
- [68] GINestet C. ggplot2: elegant graphics for data analysis[J]. *Journal of the Royal Statistical Society Series A: Statistics in Society*, 2011, 174(1): 245-246.
- [69] SILVERSTEIN RN, CUNNING R, BAKER AC, Tenacious D: *Symbiodinium* in clade D remain in reef corals at both high and low temperature extremes despite impairment[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2017, 220(Pt 7): 1192-1196.
- [70] ROWAN R. Thermal adaptation in reef coral symbionts[J]. *Nature*, 2004, 430(7001): 742.
- [71] SILVERSTEIN RN, CUNNING R, BAKER AC. Change in algal symbiont communities after bleaching, not prior heat exposure, increases heat tolerance of reef corals[J]. *Global Change Biology*, 2015, 21(1): 236-249.
- [72] LEITE DCA, LEÃO P, GARRIDO AG, LINS U, SANTOS HF, PIRES DO, CASTRO CB, van ELSAS JD, ZILBERBERG C, ROSADO AS, PEIXOTO RS. Broadcast spawning coral *Mussismilia hispida* can vertically transfer its associated bacterial core[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 176.
- [73] ZHOU GW, CAI L, YUAN T, TIAN RM, TONG HY, ZHANG WP, JIANG L, GUO ML, LIU S, QIAN PY, HUANG H. Microbiome dynamics in early life stages of the Scleractinia coral *Acropora gemmifera* in response to elevated  $pCO_2$ [J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(8): 3342-3352.
- [74] EPSTEIN HE, TORDA G, MUNDAY PL, van OPPEN MJH. Parental and early life stage environments drive establishment of bacterial and dinoflagellate communities in a common coral[J]. *The ISME Journal*, 2019, 13(6): 1635-1638.
- [75] KURIHARA H, SUHARA Y, MIMURA I, GOLBUU Y. Potential acclimatization and adaptive responses of adult and trans-generation coral larvae from a naturally acidified habitat[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2020, 7: 581160.
- [76] QIN ZJ, PAN NB, YU KF, CHEN SC, WEI XL, CHEN B, YU XP. Depth distribution and depth adaptation of microbiomes in juvenile and adult scleractinian corals (*Pocillopora verrucosa*) in the central South China Sea[J]. *Coral Reefs*, 2024, 43(3): 587-600.
- [77] HAMBLETON EA, GUSE A, PRINGLE JR. Similar specificities of symbiont uptake by adults and larvae in an *Anemone* model system for coral biology[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2014, 217(Pt 9): 1613-1619.
- [78] HUE T, CHATEAU O, LECELLIER G, KAYAL M, LANOS N, GOSSUIN H, ADJEROUD M, DUMAS P. Temperature affects the reproductive outputs of coral-eating starfish *Acanthaster* spp. after adult exposure to near-future ocean warming and acidification[J]. *Marine Environmental Research*, 2020, 162: 105164.
- [79] ZANEVELD JR, McMINDS R, VEGA THURBER R. Stress and stability: applying the Anna Karenina principle to animal microbiomes[J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2: 17121.
- [80] SANTOS HF, CARMO FL, DUARTE G, DINI-ANDREOTE F, CASTRO CB, ROSADO AS, van ELSAS JD, PEIXOTO RS. Climate change affects key nitrogen-fixing bacterial populations on coral reefs[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(11): 2272-2279.
- [81] BOURNE D, IIDA Y, UTHICKE S, SMITH-KEUNE C. Changes in coral-associated microbial communities during a bleaching event[J]. *The ISME Journal*, 2007, 2(4): 350-363.

- [82] JESSEN C, VILLA LIZCANO JF, BAYER T, RODER C, ARANDA M, WILD C, VOOLSTRA CR. *In-situ* effects of eutrophication and overfishing on physiology and bacterial diversity of the red sea coral *Acropora hemprichii*[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e62091.
- [83] ZIEGLER M, GRUPSTRA CGB, BARRETO MM, EATON M, BaOMAR J, ZUBIER K, AL-SOFYANI A, TURKI AJ, ORMOND R, VOOLSTRA CR. Coral bacterial community structure responds to environmental change in a host-specific manner[J]. Nature Communications, 2019, 10: 3092.
- [84] MATTHEWS JL, RAINA JB, KAHLKE T, SEYMOUR JR, van OPPEN MJH, SUGGETT DJ. *Symbiodiniaceae*-bacteria interactions: rethinking metabolite exchange in reef-building corals as multi-partner metabolic networks[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(5): 1675-1687.
- [85] ZIEGLER M, SENECA FO, YUM LK, PALUMBI SR, VOOLSTRA CR. Bacterial community dynamics are linked to patterns of coral heat tolerance[J]. Nature Communications, 2017, 8: 14213.
- [86] BOLCH CJS, BEJOY TA, GREEN DH. Bacterial associates modify growth dynamics of the dinoflagellate *Gymnodinium catenatum*[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 670.
- [87] KRAMARSKY-WINTER E, AROTSKER L, RASOULOUNIRIANA D, SIBONI N, LOYA Y, KUSHMARO A. The possible role of cyanobacterial filaments in coral black band disease pathology[J]. Microbial Ecology, 2014, 67(1): 177-185.
- [88] AINSWORTH TD, HERON SF, ORTIZ JC, MUMBY PJ, GRECH A, OGAWA D, EAKIN CM, LEGGAT W. Climate change disables coral bleaching protection on the Great Barrier Reef[J]. Science, 2016, 352(6283): 338-342.
- [89] CAMP EF, KAHLKE T, NITSCHKE MR, VARKEY D, FISHER NL, FUJISE L, GOYEN S, HUGHES DJ, LAWSON CA, ROS M, WOODCOCK S, XIAO K, LEGGAT W, SUGGETT DJ. Revealing changes in the microbiome of *Symbiodiniaceae* under thermal stress[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(4): 1294-1309.
- [90] SANDHYA SV, VIJAYAN KK. Symbiotic association among marine microalgae and bacterial flora: a study with special reference to commercially important *Isochrysis galbana* culture[J]. Journal of Applied Phycology, 2019, 31(4): 2259-2266.
- [91] KREDIET CJ, RITCHIE KB, PAUL VJ, TEPLITSKI M. Coral-associated microorganisms and their roles in promoting coral health and thwarting diseases[J]. Proceedings Biological Sciences, 2013, 280(1755): 20122328.
- [92] BEN-HAIM Y, ZICHERMAN-KEREN M, ROSENBERG E. Temperature-regulated bleaching and lysis of the coral *Pocillopora damicornis* by the novel pathogen *Vibrio corallilyticus*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(7): 4236-4242.
- [93] YANG SH, TANDON K, LU CY, WADA N, SHIH CJ, HSIAO SS, JANE WN, LEE TC, YANG CM, LIU CT, DENIS V, WU YT, WANG LT, HUANG LN, LEE DC, WU YW, YAMASHIRO H, TANG SL. Metagenomic, phylogenetic, and functional characterization of predominant endolithic green sulfur bacteria in the coral *Isopora palifera*[J]. Microbiome, 2019, 7(1): 3.
- [94] ZHANG YY, YANG QS, ZHANG Y, AHMAD M, LING J, DONG JD, WANG YS. The diversity and metabolic potential of the microbial functional gene associated with *Porites pukoensis*[J]. Ecotoxicology, 2021, 30(5): 986-995.
- [95] AINSWORTH TD, THURBER RV, GATES RD. The future of coral reefs: a microbial perspective[J]. Trends in Ecology & Evolution, 2010, 25(4): 233-240.
- [96] ANTHONY KRN, FABRICIUS KE. Shifting roles of heterotrophy and autotrophy in coral energetics under varying turbidity[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 252(2): 221-253.