



## 西北印度洋卡尔斯伯格脊卧蚕热液羽流影响区细菌群落结构特征及其演化

谢倩<sup>1,2</sup>, 韩喜球<sup>1,2,3\*</sup>, 魏铭聪<sup>2,3</sup>, 邱中炎<sup>2</sup>, 董传奇<sup>2,4</sup>, 吴月红<sup>1,5</sup>, 吴雪婷<sup>2,3</sup>, 余娟<sup>2,3</sup>

1 上海交通大学海洋学院, 上海 200240

2 自然资源部第二海洋研究所, 自然资源部海底科学重点实验室, 浙江 杭州 310012

3 浙江大学海洋学院, 浙江 舟山 316021

4 中国海洋大学海洋地球科学学院, 山东 青岛 266100

5 自然资源部第二海洋研究所 自然资源部海洋生态系统动力学重点实验室, 浙江 杭州 310012

谢倩, 韩喜球, 魏铭聪, 邱中炎, 董传奇, 吴月红, 吴雪婷, 余娟. 西北印度洋卡尔斯伯格脊卧蚕热液羽流影响区细菌群落结构特征及其演化. 微生物学报, 2022, 62(6): 1974–1985.

Xie Qian, Han Xiqiu, Wei Mingcong, Qiu Zhongyan, Dong Chuanqi, Wu Yuehong, Wu Xueting, Yu Juan. Characteristics and evolution of bacterial communities in the Wocan hydrothermal plume-influenced zone, Carlsberg Ridge, northwestern Indian Ocean. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 1974–1985.

**摘 要:**【目的】热液羽流影响区包括热液羽流流经区域和羽流中性浮力层下方受热液颗粒物影响的区域。随着热液羽流的演化, 热液羽流影响区内微生物群落的结构组成也会发生相应的变化, 但是, 由于观测和取样困难等原因, 迄今热液羽流影响区不同空间位置微生物的群落结构特征及其在月际尺度上的演化尚不清楚。【方法】中国大洋 49 航次在卧蚕 1 号热液喷口东南侧 300 m 处投放了沉积物捕获器锚系, 在不同离底高度开展了为期 18 个月的观测和时序采水。本文采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对水样中的微生物类群进行测序分析, 结合现场实时探测的浊度异常资料, 研究卧蚕热液区附近中性浮力羽流和热液颗粒沉降区细菌群落结构的特征和演化及其影响因素。【结果】结果表明, 样品中细菌群落以  $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)、弯曲菌纲(*Campylobacteri*)、 $\alpha$ -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)、拟杆菌纲(*Bacteroidia*)、梭菌纲(*Clostridia*)和脱硫叶菌纲(*Desulfobulbia*)为主。在时间上, 优势类群的相对丰度随浊度起伏发生变化, 当浊度

**基金项目:** 国家自然科学基金(91951201, 41976075); 国家重点研发计划(2021YFF0501304)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (91951201, 41976075) and by the National Key Research and Development Program of China (2021YFF0501304)

\*Corresponding author. E-mail: xqhan@sio.org.cn

Received: 7 March 2022; Revised: 10 May 2022; Published online: 17 May 2022

异常值升高时, 弯曲菌纲相对丰度增加,  $\alpha$ -变形菌纲相对丰度减少; 在空间上, 热液颗粒沉降区样品(离底 40 m)中弯曲菌纲的平均相对丰度更高, 中性浮力羽流(离底 300 m)  $\gamma$ -变形菌纲的平均相对丰度更高。【结论】研究区受到了热液羽流的动态影响, 当热液活动增强时, 弯曲菌纲相对丰度显著增加,  $\alpha$ -变形菌纲相对丰度减少; 下方羽流颗粒沉降区比上方中性浮力羽流区含有更丰富的弯曲菌纲, 而  $\gamma$ -变形菌纲则在中性浮力羽流更加富集。热液输入物质和硫化物颗粒的含量差异可能是造成热液羽流影响区内微生物时空异质性的主要因素。

**关键词:** 卧蚕热液区; 热液羽流影响区; 细菌多样性; 时空演化; 高通量测序

## Characteristics and evolution of bacterial communities in the Wocan hydrothermal plume-influenced zone, Carlsberg Ridge, northwestern Indian Ocean

XIE Qian<sup>1,2</sup>, HAN Xiqu<sup>1,2,3\*</sup>, WEI Mingcong<sup>2,3</sup>, QIU Zhongyan<sup>2</sup>, DONG Chuanqi<sup>2,4</sup>,  
WU Yuehong<sup>1,5</sup>, WU Xueting<sup>2,3</sup>, YU Juan<sup>2,3</sup>

1 School of Oceanography, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200240, China

2 Key Laboratory of Submarine Geosciences & Second Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Hangzhou 310012, Zhejiang, China

3 Ocean College, Zhejiang University, Zhoushan 316021, Zhejiang, China

4 College of Marine Geosciences, Ocean University of China, Qingdao 266100, Shandong, China

5 Key Laboratory of Marine Ecosystem Dynamics & Second Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Hangzhou 310012, Zhejiang, China

**Abstract: [Objective]** The zone influenced by the hydrothermal plume includes the waters within and underneath the hydrothermal plume. The structure of microbial communities in that zone varies with the evolution of the hydrothermal plume. However, due to the difficulty in observing and sampling, the diversity of microbes and how they evolve with time and in space are unclear. **[Methods]** During China DY49-5 cruise, a sediment trap mooring system was deployed approximately 300 m southeast of the Wocan-1 hydrothermal vent field. Eighteen months later, a total of 42 hydrothermal plume samples were retrieved from the areas 40 m and 300 m above the seafloor, respectively. In this paper, we used Illumina MiSeq combined with *in-situ* turbidity anomaly data to characterize the diversity and temporal evolution of bacterial communities within and beneath the neutrally buoyant plume, hoping to clarify the factors causing the spatial and temporal heterogeneity. **[Results]** The samples were dominated by *Gammaproteobacteria*, *Campylobacteria*, *Alphaproteobacteria*, *Bacteroidia*, *Clostridia*, and *Desulfobulbia*. The relative abundance of *Campylobacteria* increased when hydrothermal venting was more active as suggested by the anomaly high turbidity, while the relative abundance of *Gammaproteobacteria* and *Alphaproteobacteria* decreased. Spatially, *Gammaproteobacteria* and *Campylobacteria* were more abundant within and beneath the hydrothermal plume, respectively. **[Conclusion]** The water column studied had been affected by the dynamics of hydrothermal plume from Wocan-1 hydrothermal field. When the hydrothermal influence was stronger, the relative

abundance of *Campylobacter* was higher. The samples collected beneath the neutrally buoyant plume contained more *Campylobacter* species than those collected within the plume. It is suggested that the hydrothermal input and abundance of sulfide particles are likely the main factors causing the spatial and temporal heterogeneity of bacterial communities in the hydrothermal plume-influenced zone.

**Keywords:** Wocan hydrothermal field; hydrothermal plume-influenced zone; bacterial diversity; spatio-temporal evolution; high-throughput sequencing

海底热液喷口释放的高温流体与周围冷水相遇后迅速混合形成热液羽流,在热浮力作用下,热液羽流可上升数百米直到与周围环境达到浮力平衡,然后发生横向扩散<sup>[1-2]</sup>。在羽流扩散过程中由于环境物理化学条件的变化,不断有热液颗粒物形成、演化和沉降,向海底输入热液沉积物<sup>[3-4]</sup>。中性浮力羽流层及其下方受热液颗粒物影响的区域统称为热液羽流影响区。

与周围海水相比,热液羽流中富含  $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{CH}_4$ 、 $\text{H}_2\text{S}$ 、 $\text{H}_2$  等还原性化学物质,能为微生物的生长和繁殖提供电子供体与能量<sup>[5-6]</sup>。1986年,Winn等<sup>[7]</sup>首次报道东太平洋胡安德富卡洋脊 Endeavour 段热液羽流中生活有大量的微生物。之后,在全球不同区域的热液羽流中发现了  $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)、弯曲菌纲(*Campylobacter*)、 $\alpha$ -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)和  $\delta$ -变形菌纲(*Deltaproteobacteria*)以及古菌奇古菌门(*Thaumarchaeota*)和广古菌门(*Euryarchaeota*)等类群<sup>[8-13]</sup>。已有研究表明热液羽流中微生物群落的组成在时间和空间上存在变化性<sup>[14-23]</sup>。Sylvan等<sup>[16]</sup>发现当热液活动加强时,羽流中细菌群落以弯曲菌纲为主,反之,则以  $\gamma$ -和  $\alpha$ -变形菌纲为主。热液羽流上升阶段中常见有产水菌科(*Aquificaceae*)、嗜氢热菌科(*Hydrogenothermaceae*)等嗜热菌和化能自养的硫单胞菌属(*Sulfurovum*)、硫卵菌属(*Sulfurimonas*)和卡氏杆菌属(*Caminibacter*)等弯曲菌纲类群<sup>[19-20]</sup>,

而中性浮力羽流中一般由 *Sulfurimonas* 和 SUP05 类群占据主导地位<sup>[17]</sup>。虽然,前人对热液羽流的微生物多样性及其生态特征开展了一定程度的研究,但由于深海羽流的观测和取样的难度和高成本,对羽流开展长周期的立体观测十分稀少,关于活动热液区附近不同空间结构微生物多样性认知有限,特别是由于海底热液活动通常具有“幕式”特点,零星的瞬时采样分析结果不能全面、忠实地反映热液区及其周边微生物的组成、丰度和特征。

卧蚕 1 号热液区( $6^{\circ}22'\text{N}$ ,  $60^{\circ}31'\text{E}$ , 水深 3 000 m)位于西北印度洋卡尔斯伯格脊一新火山脊上,属典型的镁铁岩型高温热液系统<sup>[24]</sup>,由中国大洋 28 航次于 2013 年发现<sup>[4]</sup>。经 2017 年蛟龙号载人深潜调查测量,热液喷口流体实测最高温度为  $359^{\circ}\text{C}$ ,中性浮力羽流层深度位于 2 550–2 850 m,厚度约 300 m (韩喜球等,未发表)。经对热液沉积物岩心的地球化学分析和定年,该热液区在过去 1 069 年以来持续活动,但活动强度存在变化,热液来源的铁通量为  $9\,483\text{--}10\,834\text{ mg}/(\text{cm}^2\cdot\text{ka})$ <sup>[4]</sup>。2018 年 7 月,中国大洋 49 航次在该热液区东南侧约 300 m ( $60^{\circ}31'48.468''\text{E}$ ,  $6^{\circ}21'32.364''\text{N}$ )投放了一组沉积物捕获器锚系潜标(图 1, 2),分别在距离海底 300 m 和 40 m 处(即中性浮力羽流扩散区和热液颗粒物沉降区)按每 15 d 的时间序列间隔采集水样及其颗粒物样品,18 个月后收回。本文通过抽提水样中的 DNA,采用高通量测序技

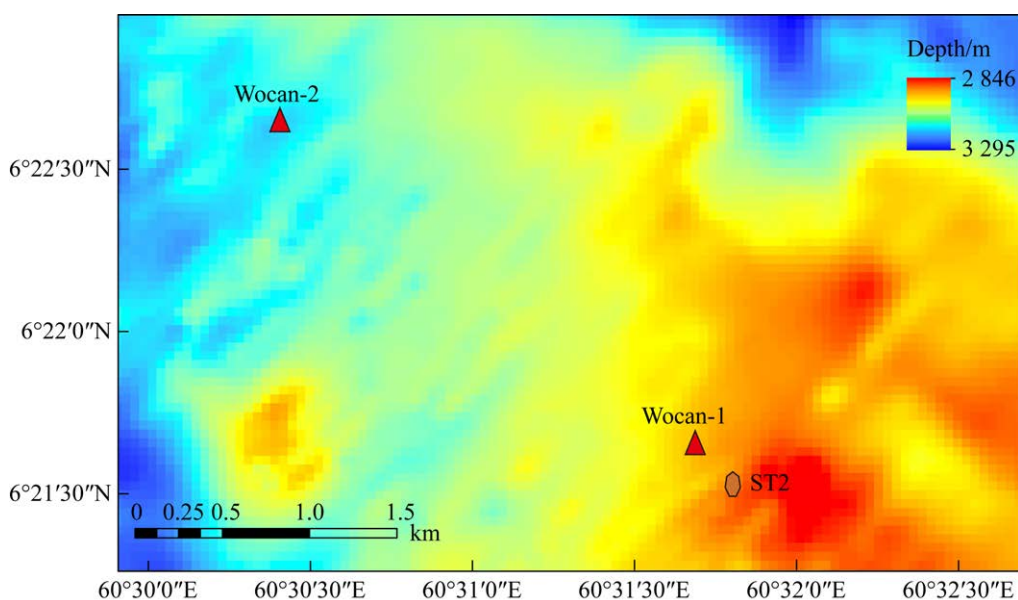


图 1 卧蚕热液区地形图与沉积物捕获器锚系潜标(ST2)观测位置

Figure 1 Bathymetric map of the Wocan hydrothermal field and the location of station ST2 where sediment trap mooring system deployed.

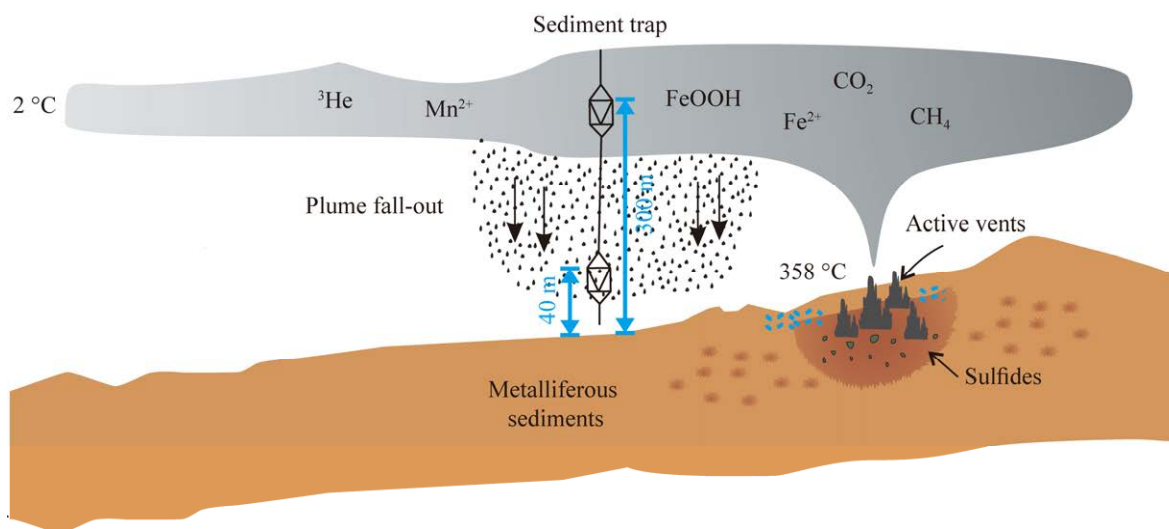


图 2 热液羽流和样品采集位置示意图

Figure 2 Schematic diagram of hydrothermal plume and the sampling site.

术, 分析微生物多样性, 旨在对比分析中性浮力羽流扩散区和热液颗粒沉降区细菌群落结构的差异及其影响因素, 为精细刻画深海热液羽流影响区微生物与环境之间的相互作用提供重要信息。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

所布放锚系潜标由重块、声学释放器和 2 个沉积物捕获器(McLANE PARFLUX Mark

78H-21)组成,其中2个沉积物捕获器分别距底300 m和40 m,在离底150 m高度放置了一个自容式的浊度仪(Seapoint)和海流计。每个沉积物捕获器各携带21个500 mL取样管,其漏斗状锥形沉积物捕获器顶部的截面积为0.5 m<sup>2</sup>(顶部直径80 cm;底部直径2.5 cm),在马达驱动下每管样品对准采样口收集样品的时间为15 d,采样时间为2018年7月至2019年5月,总时长为11个月,浊度仪则每0.5 h测量1次水体浊度。该套装置于2019年6月由中国大洋57航次回收,在海底的时长为18个月。

在潜标投放前,沉积物捕获器的各取样管均装用纯净水配制的浓度为4%的福尔马林溶液。潜标布放成功后通过声学三角测量法确定锚系位置,位置误差为±20 m。潜标回收后,样品迅速储存在-20 °C冰箱中。本文重点选择浊度异常时段采集的水样和其他代表性样品进行生物多样性分析,具体样品信息见表1。

表1 样品信息

Table 1 Samples information

Sample ID	Sampling time	Height (m above the seafloor)	Turbidity anomaly
ST2_T_2	2018.08.13–2018.08.27	300	+
ST2_T_5	2018.09.27–2018.10.11	300	+++
ST2_T_8	2018.11.11–2018.11.25	300	–
ST2_T_10	2018.12.11–2018.12.25	300	–
ST2_T_12	2019.01.10–2019.01.24	300	+
ST2_T_16	2019.03.11–2019.03.25	300	++
ST2_T_21	2019.05.25–2019.06.09	300	+
ST2_B_2	2018.08.13–2018.08.27	40	+
ST2_B_5	2018.09.27–2018.10.11	40	+++
ST2_B_7	2018.10.27–2018.11.10	40	–
ST2_B_9	2018.11.26–2018.12.10	40	–
ST2_B_16	2019.03.11–2019.03.25	40	++
ST2_B_20	2019.05.10–2019.05.24	40	–

+++ , ++ , + , – : represent for the intensities of hydrothermal anomalies from very strong, strong to minor and no anomaly, respectively.

## 1.2 样品 DNA 提取

本文采用CTAB法提取水样DNA<sup>[8]</sup>。样品利用0.22 μm滤膜过滤,收集滤膜于离心管中。加入适量DNA抽提缓冲液,反复冻融3次,添加适量蛋白酶和溶菌酶后在摇床中孵育;加入20% SDS于65 °C水浴锅中水浴2 h,然后加入等体积酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)混匀后离心,收集上层水相;加入0.6倍体积的异丙醇,混匀后室温孵育1 h;离心后弃上清,加入预冷的70%乙醇,混匀后-20 °C过夜;离心,吸出乙醇,加入50 μL无菌水溶解并保存于-80 °C。提取的DNA送至上海美吉生物医药科技有限公司进行微生物高通量测序。

## 1.3 16S rRNA 基因高通量测序

细菌以16S rRNA基因的V3–V4区为目标序列,所用引物为338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。PCR反应条件:95 °C 3 min;95 °C 30 s,53 °C 30 s,72 °C 30 s,37个循环;72 °C 10 min。PCR扩增结束后,通过2%琼脂糖凝胶电泳验证扩增产物。扩增产物经质检合格后进行细菌16S rRNA基因测序,利用Illumina MiSeq平台进行高通量测序。样品16S rRNA基因序列已上传至NCBI,登录号为SPRJNA809103。

## 1.4 数据处理和分析

样品经Illumina MiSeq双端测序之后,首先对原始测序数据进行优化与质控。使用Fastp软件对原始测序序列进行质控,利用Flash软件进行拼接。过滤reads尾部质量值20以下的碱基,设置50 bp的窗口,如果窗口内的平均质量值低于20,从窗口开始截去后端碱基,过滤质控后50 bp以下的reads,去除含N碱基的reads;将2条reads进行序列比对,按照PE reads之间的overlap关系将成对的reads拼接为一条;

根据序列首尾两端的 barcode 和引物序列区分样品得到有效序列, 并校正序列方向, 最终得到各样本的有效序列。

利用美吉生物云平台进行微生物多样性分析。使用 Uparse 软件, 按 97%相似性对有效序列进行 OTU 聚类。采用 RDP classifier 贝叶斯算法对各个 OTU 代表序列进行物种分类, 比对数据库为 Silva 数据库。使用 Mothur 计算样本中细菌群落  $\alpha$  多样性指数, 包括 Shannon 指数、Chao 指数和 Coverage 值。利用 R 语言 vegan 软件包进行细菌群落的非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS)。利用 R 语言 stats 软件包进行物种组间差异分

析, 检验方法为 Wilcox 秩和检验, 检验的显著性阈值为  $P<0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 羽流浊度

采样点在 2018.07.19–2019.06.30 期间的羽流浊度变化如图 3 所示。结果表明在大多数时间内浊度值接近 0, 但在以下几个时间段羽流浊度值明显升高: (1) 2018.09.25–2018.10.16, 浊度最大值为 2.70 FTU; (2) 2018.11.20–2018.11.22, 浊度最大值为 8.80 FTU; (3) 2019.03.09–2019.03.15, 浊度最大值为 0.87 FTU; (4) 2019.06.15–2019.06.24, 浊度最大值为 4.8 FTU。

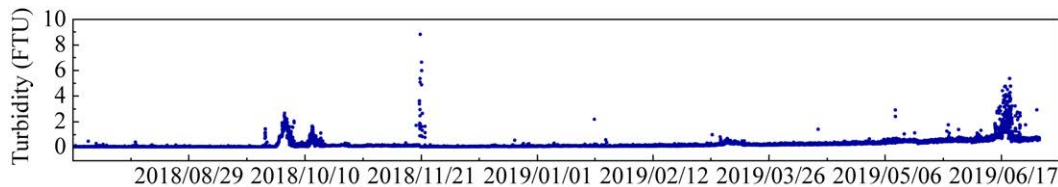


图 3 采样点浊度值随时间的变化

Figure 3 The variation of turbidity with the time at the sampling site.

### 2.2 细菌群落 $\alpha$ 多样性

13 个样品共获得 704 885 reads 细菌有效序列, 序列经拆分、去冗余后, 在 97%的相似度下进行 OTU 聚类, 共获得 1 838 个细菌 OTUs。基于 OTU 的  $\alpha$  多样性分析, 获得了不同样品细菌群落的 Shannon 指数、Chao 指数和 Coverage 值(表 2)。结果显示, 所有样品的 Coverage 值都很高, 表明测序结果能够充分反映样品中细菌群落。对相同时间内收集的不同高度样品的细菌 Shannon 指数和 Chao 指数进行分析, 发现下层样品(ST2T-H40)的细菌 Shannon 指数和 Chao 指数高于上层样品(ST2T-H300)。在同一层位, 随着时间变化, 样品中细菌的 Shannon 指数和 Chao 指数变化明显, 表明细菌类群多样性和丰富度存在随时间演化的现象。

表 2 细菌  $\alpha$  多样性指数

Table 2 Bacterial alpha diversity index

Height/m	Sample ID	Shannon	Chao	Coverage
300	ST2_T_2	3.527	429.529	0.999
	ST2_T_5	2.195	700.123	0.997
	ST2_T_8	3.961	1 056.279	0.997
	ST2_T_10	3.319	812.114	0.997
	ST2_T_12	3.095	266.333	1.000
	ST2_T_16	2.945	267.143	1.000
	ST2_T_21	2.408	166.429	0.999
40	ST2_B_2	3.604	453.400	0.998
	ST2_B_5	3.731	736.900	0.998
	ST2_B_7	2.842	634.509	0.997
	ST2_B_9	2.794	503.706	0.999
	ST2_B_16	3.357	750.481	0.998
	ST2_B_20	1.677	457.318	0.998



## 2.3 细菌群落 $\beta$ 多样性

通过对样品进行 NMDS 分析(图 4)可知, 上下两层水样的细菌群落组成存在部分重叠, 组成较为相似。在图 4 中同一层位不同时间收集的样品之间也具有一定的间距, 表明不同时间收集的样品中细菌群落组成也存在差异。

## 2.4 细菌群落组成

对 13 个样品的 OTUs 代表序列进行比对鉴定得到 47 门、119 纲、272 目、436 科、699 属的细菌物种信息。在纲水平上, 样品中细菌群落主要属于以下类群:  $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*) (2.70%–78.25%)、弯曲菌纲(*Campylobacteria*) (1.82%–73.76%)、拟杆菌纲(*Bacteroidia*) (0.72%–35.16%)、梭菌纲(*Clostridia*) (0.56%–29.93%)、 $\alpha$ -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*) (0.43%–14.16%)和脱硫叶菌纲(*Desulfobulbia*) (1.88%–12.54%) (图 5A)。在属水平上, 硫单胞菌属(*Sulfurimonas*) (0.81%–61.60%)、弧菌属(*Vibrio*) (0.00%–67.86%)、假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*) (0.00%–59.66%)、MMG-3 (Marine-Methylotrophic-

Group 3) (0.00%–39.99%)、脱硫叶菌属(*Desulfocapsa*) (1.61%–11.29%)、纺锤状菌属(*Fusibacter*) (0.40%–24.34%)和硫卵菌属(*Sulfurovum*) (0.00%–19.76%)是样品中的主要类群(图 5B)。

对不同层位的样品中进行物种差异分析, 结果如图 6 所示, 结果表明上层样品的  $\gamma$ -变形菌纲和  $\alpha$ -变形菌纲的平均相对丰度高于下层样品, 而弯曲菌纲、拟杆菌纲、梭菌纲和脱硫叶菌纲的平均相对丰度则相反, 且弯曲菌纲的相对丰度在不同层位具有显著性差异( $P < 0.05$ )。对同一层位不同采样时间的样品进行分析(图 7), 发现上层样品中  $\gamma$ -变形菌纲在样品(ST2\_T\_2、5、8、10、12)相对丰度高(32.95%–65.25%), 在样品(ST2\_T\_16、21)相对丰度( $< 10\%$ )显著下降; 下层样品中,  $\gamma$ -变形菌纲相对丰度在样品(ST2\_B\_2、7、9、20)中相对丰度高(34.31%–78.26%), 而在样品(ST2\_B\_5、16)中显著下降。上下层样品中弯曲菌纲相对丰度一直处于较高水平, 并在样品 ST2\_B\_5 (42.94%)、ST2\_T\_16 (73.76%)和 ST2\_B\_16 (64.37%)中明显升高。梭菌纲相对丰度在样品 ST2\_B\_5 和 ST2\_B\_16 中较高, ST2\_T\_16 最低( $< 1\%$ )。拟杆菌纲相对丰度除了 ST2\_T\_21 达到 35.16%外, 其余均较低( $< 10\%$ )。 $\alpha$ -变形菌纲在样品(ST2\_B\_7、ST2\_B\_9、ST2\_T\_10)中相对丰度较高。

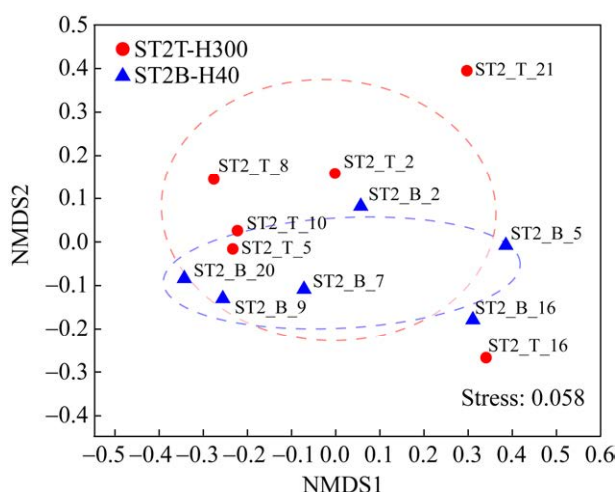


图 4 基于 Bray-Curtis 距离算法的细菌群落差异非度量多维标度(NMDS)分析

Figure 4 NMDS analysis of bacterial community based on Bray-Curtis distance.

## 3 讨论

### 3.1 热液羽流影响区细菌群落随时间的变化

本文所研究的样品中优势细菌类群相对丰度在时间上呈现动态变化现象。弯曲菌纲是典型的深海热液喷口微生物种群, 常作为指示热液输入的细菌菌群<sup>[9,25]</sup>。样品中普遍存在弯曲菌纲, 且几乎所有样品中其相对丰度均超过 10%, 最高值出现在 2019 年 3 月 11 日至 25 日时段采集的 16 号样品, 其上层丰度为 73.76% (ST2\_T\_16),

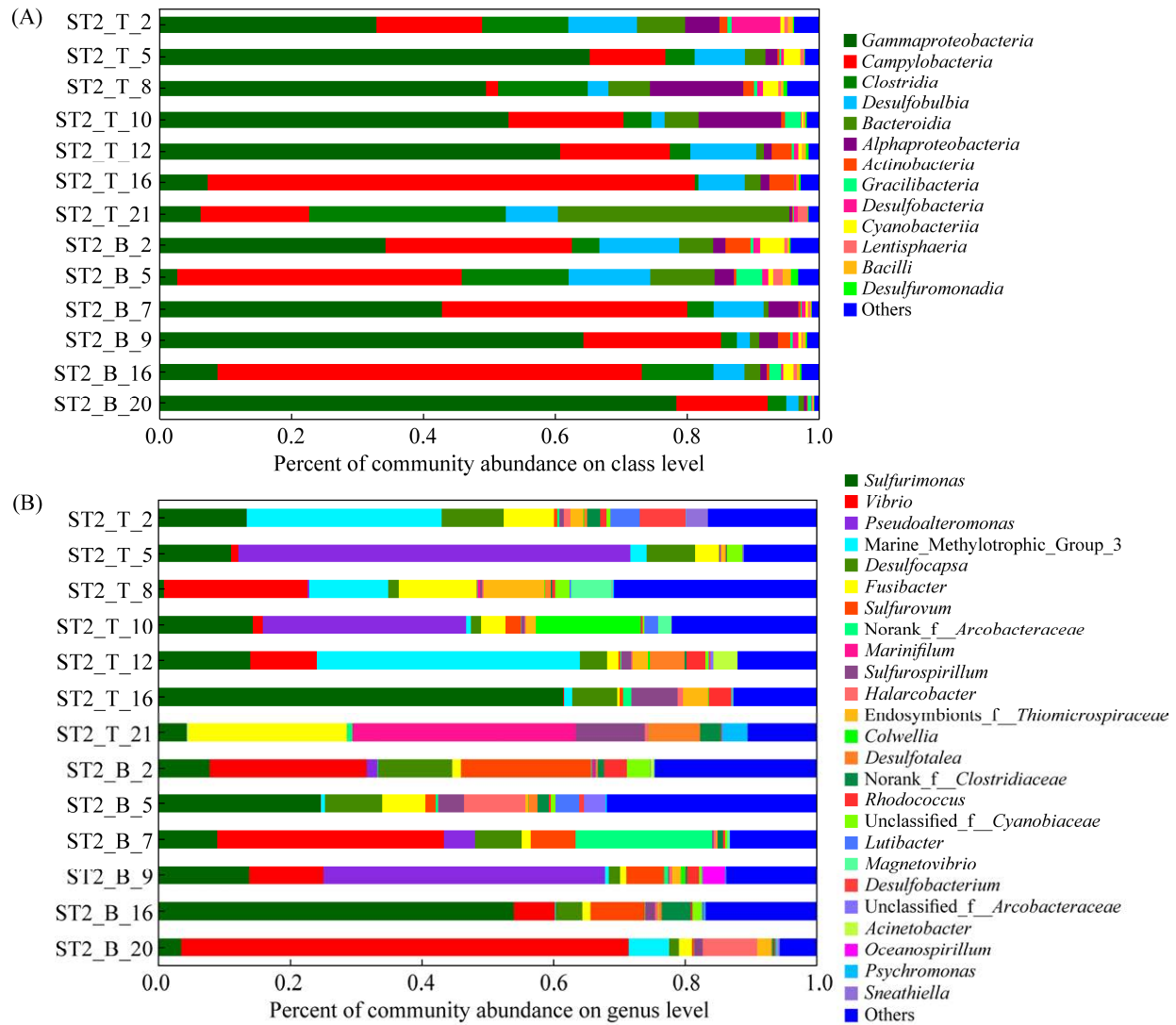


图 5 样品细菌群落组成

Figure 5 Composition of bacterial communities. A: the relative abundance of bacterial species at class level; B: the relative abundance of bacterial species at genus level.

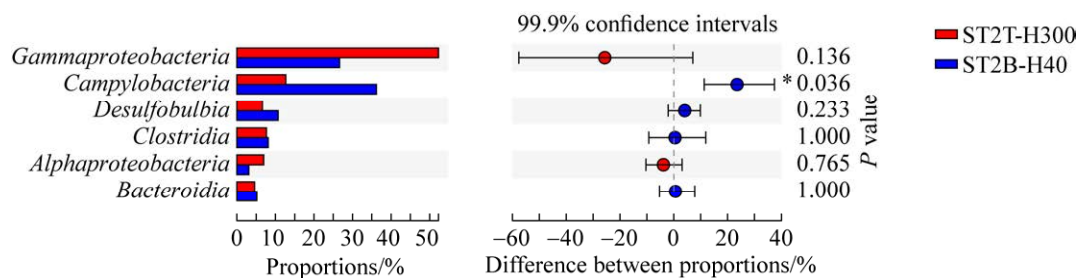


图 6 不同高度样品(ST2T-H300 和 ST2T-H40)的细菌主要类群组间差异对比

Figure 6 Comparison of main bacterial species in the samples collected from different water depths (ST2T-H300 and ST2T-H40).



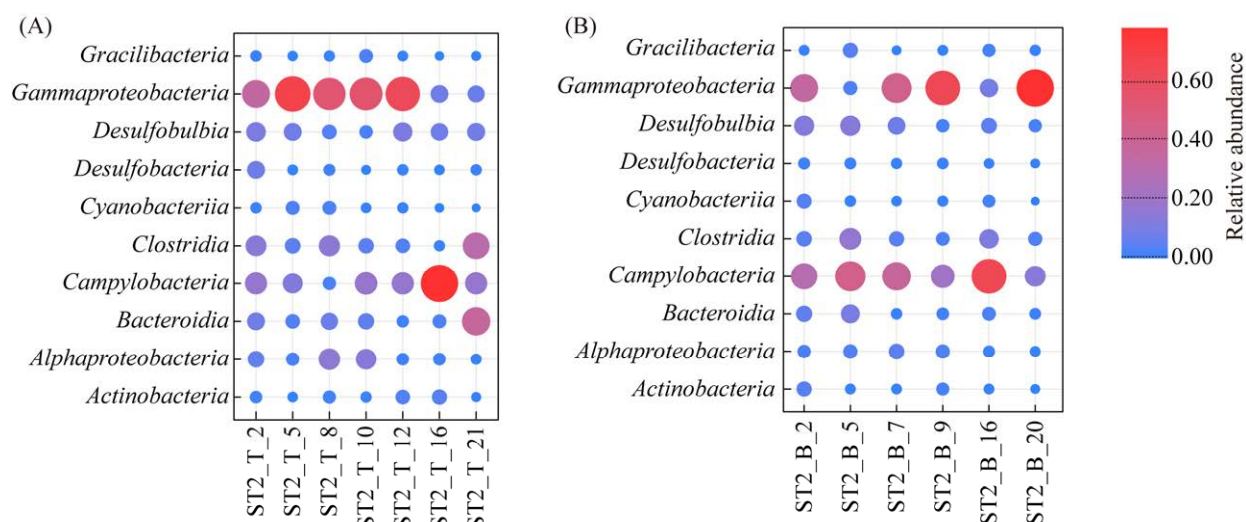


图 7 不同高度样品细菌类群相对丰度随时间变化

Figure 7 The relative abundance of bacterial community in samples at different heights over time. A: ST2T-H300; B: ST2T-H40.

下层丰度为 64.37% (ST2\_B\_16)。样品中的弯曲菌纲主要包括硫单胞菌属和硫卵菌属，两者均是重要的自养硫氧化细菌，受硫化物的浓度和海水混合程度的调控<sup>[26-28]</sup>。在 16 号样品采样期间，浊度异常值升高且持续时间较长，表明热液活动增强时弯曲菌纲相对丰度增加。在 5 号样品采样期间浊度值升高更显著，但 ST2\_T\_5 样品中弯曲菌纲相对丰度(11.5%)升高并不明显，究其原因，可能是因为该时期中性浮力羽流中的硫化物颗粒大量形成发生了沉降，导致该层水体中的硫化氢浓度和硫化物颗粒含量减少。在浊度值无明显变化期间采样的样品(ST2\_B\_7、ST2\_B\_9、ST2\_T\_10)中则  $\alpha$ -变形菌纲相对丰度较高。 $\alpha$ -变形菌纲主要来源于背景海水群落，该类群的增加表明了海水群落的影响增强<sup>[18-19,29-30]</sup>。Sylvan 等<sup>[16]</sup>研究也发现，随着热液物质输入的减少，热液羽流样品中弯曲菌纲减少， $\gamma$ -变形菌纲和  $\alpha$ -变形菌纲增加，微生物群落会随羽流活动的衰减而发生动态转移，逐渐与背景海水中群落接近，与本研究

结果相印证，即卧蚕热液羽流影响区优势菌群在时间上的演化与热液羽流强度的动态变化有关。

### 3.2 热液羽流影响区细菌群落在垂向空间上的演化

本文所研究的样品中优势细菌类群相对丰度在垂向空间上也呈现不同的特征。上下两层样品中弯曲菌纲的丰度存在显著差异( $P<0.05$ )，离底 40 m (ST2B-H40)处弯曲菌纲的平均相对丰度更高，在离底 300 m (ST2T-H300)处则  $\gamma$ -变形菌纲的平均相对丰度更高(图 6)。前人研究认为弯曲菌纲和  $\gamma$ -变形菌纲相对丰度比例受硫化物浓度调控，弯曲菌纲在硫化物浓度高的环境中更活跃<sup>[31-32]</sup>。由于上层捕获器位于离卧蚕活动热液区仅 300 m 之遥的羽流中性浮力层内，下层沉积物捕获器位于羽流中性浮力层以下，接受热液颗粒物沉降。我们认为浮力羽流下面的采集的样品(ST2B-H40)弯曲菌纲丰度较高，是因为羽流颗粒沉降区较丰富的热液硫化物颗粒物有利于弯曲菌纲生长，即弯曲菌纲的丰度主

要受硫化物颗粒物含量调控。通过数值模拟, 热液颗粒物的分布与其密度和粒径大小密切相关, 粒径 0.1–0.5 mm 的黄铁矿颗粒可以被羽流在水平方向输送 13–720 m<sup>[33–34]</sup>。通过表层沉积物的矿物学分析, 的确发现卧蚕热液区周边的沉积物中富含羽流沉降来源的硫化物和铁氢氧化物颗粒<sup>[35–36]</sup>。Xie 等<sup>[37]</sup>从卧蚕热液羽流中分离出一株弯曲菌纲的新种, 发现能够以分子氢、硫化物、元素硫等为能源进行化学自养生长, Huber 等<sup>[38]</sup>对比研究了过滤和未过滤羽流中的细菌群落, 发现含热液颗粒物样品中弯曲菌纲的丰度更高, 均支持了本文的研究结论。

## 4 结论

本文采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术, 分析卧蚕热液羽流影响区不同位置的时间序列样品中细菌群落结构及其演化规律。结果显示, 由于受到较强的热液输入影响, 研究区细菌优势类群为  $\gamma$ -变形菌纲和弯曲菌纲。在时间尺度上, 细菌类群相对丰度随着热液活动的强度起伏发生变化, 当热液活动加强时, 弯曲菌纲相对丰度升高,  $\alpha$ -变形菌纲相对丰度降低。认为细菌群落结构在时间上的演化受到热液羽流输入量波动的影响。在垂向空间上, 发现弯曲菌纲在下方羽流颗粒沉降区的相对丰度高于上方中性浮力羽流层, 而  $\gamma$ -变形菌纲则在中性浮力羽流中更加富集。认为细菌群落结构在垂向空间上的演化与热液硫化物颗粒含量密切相关。本研究首次对活动热液区附近羽流影响区内细菌群落垂向空间分布及其在月际尺度上的变化进行研究, 进一步补充了深海热液羽流影响区细菌群落结构的时空分布和变化特征信息, 为精细刻画深海热液区微生物与环境之间的相互作用及其元素循环过程提供重要信息。

## 致谢

感谢中国大洋 49 航次第五航段(首席科学家: 自然资源部第二海洋研究所王叶剑研究员)和中国大洋 57 航次第二航段(首席科学家: 自然资源部第二海洋研究所韩喜球研究员)所有参航人员对本研究样品所给予的大力支持与帮助。

## 参考文献

- [1] Baker ET, German CR, Elderfield H. Hydrothermal plumes over spreading-center axes: global distributions and geological Inferences//Humphris SE, Zierenberg RA, Mullineaux LS, Thomson RE. Seafloor hydrothermal systems: physical, chemical, biological, and geological Interactions. Washington: American Geophysical Union, 1995.
- [2] Jackson PR, Ledwell JR, Thurnherr AM. Dispersion of a tracer on the East Pacific Rise (9°N to 10°N), including the influence of hydrothermal plumes. *Deep Sea Research Part I Oceanographic Research Papers*, 2010, 57(1): 37–52.
- [3] Baker ET. Hydrothermal plumes//Harff J, Meschede M, Petersen S, Thiede T. Encyclopedia of marine geosciences. Dordrecht: Springer Netherlands, 2014.
- [4] Qiu ZY, Han XQ, Li M, Wang YJ, Chen XG, Fan WJ, Zhou YD, Cui RY, Wang LS. The temporal variability of hydrothermal activity of Wocan hydrothermal field, Carlsberg Ridge, northwest Indian Ocean. *Ore Geology Reviews*, 2021(2): 103999.
- [5] Holden J, Breier J, Rogers K, Schulte M, Toner B. Biogeochemical processes at hydrothermal vents: microbes and minerals, bioenergetics, and carbon fluxes. *Oceanography*, 2012, 25(1): 196–208.
- [6] Gartman A, Findlay AJ, Luther GW. Nanoparticulate pyrite and other nanoparticles are a widespread component of hydrothermal vent black smoker emissions. *Chemical Geology*, 2014, 366: 32–41.
- [7] Winn CD, Karl DM, Massoth GJ. Microorganisms in deep-sea hydrothermal plumes. *Nature*, 1986, 320(6064): 744–746.
- [8] Sunamura M, Higashi Y, Miyako C, Ishibashi JI, Maruyama A. Two bacteria phylotypes are predominant in the Suiyo seamount hydrothermal plume. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(2): 1190–1198.
- [9] Nakagawa S, Ken TK, Inagaki F, Hirayama H, Nunoura T, Horikoshi K, Sako Y. Distribution, phylogenetic diversity and physiological characteristics of

- epsilon-Proteobacteria* in a deep-sea hydrothermal field. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(10): 1619–1632.
- [10] Dick GJ, Tebo BM. Microbial diversity and biogeochemistry of the Guaymas Basin deep-sea hydrothermal plume. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(5): 1334–1347.
- [11] German CR, Bowen A, Coleman ML, Honig DL, Huber JA, Jakuba MV, Kinsey JC, Kurz MD, Leroy S, McDermott JM, De Lépinay BM, Nakamura K, Seewald JS, Smith JL, Sylva SP, Van Dover CL, Whitcomb LL, Yoerger DR. Diverse styles of submarine venting on the ultraslow spreading Mid-Cayman Rise. *PNAS*, 2010, 107(32): 14020–14025.
- [12] Sunamura M, Yanagawa K. Microbial cell densities, community structures, and growth in the hydrothermal plumes of subduction hydrothermal systems//Ishibashi J, Okino K. Subseafloor biosphere linked to hydrothermal systems: taiga concept. Tokyo: Springer Japan, 2015.
- [13] Li JT, Zhou HY, Fang JS, Wu ZJ, Peng XT. Microbial distribution in a hydrothermal plume of the Southwestern Indian Ridge. *Geomicrobiology Journal*, 2016, 33(5): 401–415.
- [14] German CR, Von Damm KL. Hydrothermal processes//Holland HD, Turekian K. Treatise on geochemistry. Amsterdam: Elsevier, 2004.
- [15] Amend JP, McCollom TM, Hentscher M, Bach W. Catabolic and anabolic energy for chemolithoautotrophs in deep-sea hydrothermal systems hosted in different rock types. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2011, 75(19): 5736–5748.
- [16] Sylvan JB, Pyenson BC, Rouxel O, German CR, Edwards KJ. Time-series analysis of two hydrothermal plumes at 9°50'N East Pacific Rise reveals distinct, heterogeneous bacterial populations. *Geobiology*, 2012, 10(2): 178–192.
- [17] Haalboom S, Price DM, Mienis F, Van Bleijswijk JD, De Stigter HC, Witte HJ, Reichart GJ, Duineveld GC. Patterns of (trace) metals and microorganisms in the Rainbow hydrothermal vent plume at the Mid-Atlantic Ridge. *Biogeosciences*, 2020, 17(9): 2499–2519.
- [18] Sheik CS, Anantharaman K, Breier JA, Sylvan JB, Edwards KJ, Dick GJ. Spatially resolved sampling reveals dynamic microbial communities in rising hydrothermal plumes across a back-arc basin. *The ISME Journal*, 2015, 9: 1434–1445.
- [19] Djurhuus A, Mikalsen SO, Giebel HA, Rogers AD. Cutting through the smoke: the diversity of microorganisms in deep-sea hydrothermal plumes. *Royal Society Open Science*, 2017, 4(4): 160829.
- [20] Li JT, Yang J, Sun MX, Su L, Wang H, Gao JQ, Bai SJ. Distribution and succession of microbial communities along the dispersal pathway of hydrothermal plumes on the Southwest Indian Ridge. *Frontiers in Marine Science*, 2020, 7: 581381.
- [21] Mino S, Makita H, Toki T, Miyazaki J, Kato S, Watanabe H, Imachi H, Watsuji TO, Nunoura T, Kojima S, Sawabe T, Ken TK, Nakagawa S. Biogeography of *Persephonella* in deep-sea hydrothermal vents of the western Pacific. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 107.
- [22] Biddanda B, Ogdahl M, Cotner J. Dominance of bacterial metabolism in oligotrophic relative to eutrophic waters. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(3): 730–739.
- [23] Reveillaud J, Reddington E, McDermott J, Algar C, Meyer JL, Sylva S, Seewald J, German CR, Huber JA. Subseafloor microbial communities in hydrogen-rich vent fluids from hydrothermal systems along the Mid-Cayman Rise. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(6): 1970–1987.
- [24] Wang YJ, Han XQ, Petersen S, Frische M, Qiu ZY, Li HM, Li HL, Wu ZC, Cui RY. Mineralogy and trace element geochemistry of sulfide minerals from the Wocan hydrothermal field on the slow-spreading Carlsberg Ridge, Indian Ocean. *Ore Geology Reviews*, 2017, 84: 1–19.
- [25] Campbell BJ, Engel AS, Porter ML, Ken TK. The versatile *Epsilon*-proteobacteria: key players in sulphidic habitats. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(6): 458–468.
- [26] Inagaki F, Takai K, Kobayashi H, Nealson KH, Horikoshi K. *Sulfurimonas autotrophica* gen. nov., sp. nov., a novel sulfur-oxidizing  $\epsilon$ -proteobacterium isolated from hydrothermal sediments in the Mid-Okinawa Trough. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2003, 53(6): 1801–1805.
- [27] Sievert SM, Scott KM, Klotz MG, Chain PSG, Hauser LJ, Hemp J, Hügler M, Land M, Lapidus A, Larimer FW, Lucas S, Malfatti SA, Meyer F, Paulsen IT, Ren QH, Simon J, Class UG. Genome of the epsilonproteobacterial chemolithoautotroph *Sulfurimonas denitrificans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(4): 1145–1156.
- [28] Mino S, Nakagawa S, Makita H, Toki T, Miyazaki J,

- Sievert SM, Polz MF, Inagaki F, Godfroy A, Kato S, Watanabe H, Nunoura T, Nakamura K, Imachi H, Watsuji T, Kojima S, Takai K, Sawabe T. Endemicity of the cosmopolitan mesophilic chemolithoautotroph *Sulfurimonas* at deep-sea hydrothermal vents. *The ISME Journal*, 2017, 11(4): 909–919.
- [29] Fortunato CS, Larson B, Butterfield DA, Huber JA. Spatially distinct, temporally stable microbial populations mediate biogeochemical cycling at and below the seafloor in hydrothermal vent fluids. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(2): 769–784.
- [30] Dick GJ. The microbiomes of deep-sea hydrothermal vents: distributed globally, shaped locally. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(5): 271–283.
- [31] Akerman NH, Butterfield DA, Huber JA. Phylogenetic diversity and functional gene patterns of sulfur-oxidizing subseafloor *epsilonproteobacteria* in diffuse hydrothermal vent fluids. *Frontiers in Microbiology*, 2013, 4: 185.
- [32] Anderson RE, Beltrán MT, Hallam SJ, Baross JA. Microbial community structure across fluid gradients in the Juan de Fuca Ridge hydrothermal system. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 83(2): 324–339.
- [33] 楼映中, 韩喜球, 贺治国, 王叶剑, 邱中炎. 深海热液羽流动力学特性的数值模拟研究: 以卡尔斯伯格脊大嵴热液区为例. *中国科学: 技术科学*, 2020, 50(2): 194–208.
- Lou YZ, Han XQ, He ZG, Wang YJ, Qiu ZY. Numerical modeling of hydrodynamic processes of deep-sea hydrothermal plumes: a case study on Daxi hydrothermal field, Carlsberg Ridge. *Scientia Sinica: Technologica*, 2020, 50(2): 194–208. (in Chinese)
- [34] Lou YZ, He ZG, Han XQ. Transport and deposition patterns of particles laden by rising submarine hydrothermal plumes. *Geophysical Research Letters*, 2020, 47(20): e2020GL089935.
- [35] Popoola S, Han XQ, Wang YJ, Qiu ZY, Ye Y. Geochemical investigations of Fe-Si-Mn oxyhydroxides deposits in Wocan hydrothermal field on the slow-spreading Carlsberg Ridge, Indian Ocean: constraints on their types and origin. *Minerals*, 2018, 9(1): e9010019.
- [36] Popoola S, Han XQ, Wang YJ, Qiu ZY, Ye Y, Cai YY. Mineralogical and geochemical signatures of metalliferous sediments in wocan-1 and wocan-2 hydrothermal sites on the Carlsberg Ridge, Indian Ocean. *Minerals*, 2019, 9(1): e9010026.
- [37] Xie SB, Wang SS, Li DF, Shao ZZ, Lai QL, Wang YJ, Wei MC, Han XQ, Jiang LJ. *Sulfurovum indicum* sp. nov., a novel hydrogen- and sulfur-oxidizing chemolithoautotroph isolated from a deep-sea hydrothermal plume in the northwestern Indian Ocean. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2021, 71(3).
- [38] Huber JA, Butterfield DA, Baross JA. Bacterial diversity in a subseafloor habitat following a deep-sea volcanic eruption. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 43(3): 393–409.

**韩喜球**, 自然资源部第二海洋研究所研究员, 兼浙江大学海洋学院副院长、上海交通大学海洋学院双聘教授, 中国岩石矿物地球化学学会第十届常务理事、沉积学专业委员会委员。主要从事海底成矿系统地生耦合研究, 主持国家重点研发项目、国家自然科学基金重大研究计划重点项目等多项国家级科研项目, 多次担任中国大洋科考航次首席科学家, 发表学术论文 100 余篇, 科研成果获国家科技进步二等奖 1 项、省部级科技奖 8 项, 入选浙江省万人计划杰出人才、首届全国创新争先奖状(2017)、中国青年女科学家奖(2008)等。

