



西北印度洋卡尔斯伯格脊卧蚕热液羽流影响区古菌群落动态变化特征

巫苑桢^{1,2}, 韩喜球^{1,2,3*}, 谢倩^{1,2}, 魏铭聪^{2,3}, 余娟^{2,3}

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

巫苑桢, 韩喜球, 谢倩, 魏铭聪, 余娟. 西北印度洋卡尔斯伯格脊卧蚕热液羽流影响区古菌群落动态变化特征[J]. 微生物学报, 2024, 64(6): 1848-1863.

WU Yuanzhen, HAN Xiqiu, XIE Qian, WEI Mingcong, YU Juan. Spatio-temporal variations of archaeal communities in the Wocan hydrothermal plume-influenced zone, Carlsberg Ridge, northwest Indian Ocean[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(6): 1848-1863.

摘要:【目的】热液羽流在浮力上升和非浮力侧向迁移过程中与背景海水不断进行物质和能量的交换。因海底热液活动和洋流的流速流向均存在动态变化性, 热液羽流的高度、物理化学参数和微生物群落也随时空发生演化。然而, 由于缺乏热液羽流的长期监测和时序取样, 微生物群落(尤其是古菌)的多样性及其时空演化尚不清楚。【方法】2018年7月–2019年6月, 在卧蚕1号热液喷口东南300 m处放置了一套带有2个沉积物捕获器(分别距海底300 m和40 m)和一个浊度仪(距海底150 m)的锚系潜标, 对热液羽流和热液羽流下方颗粒物沉降区的近底水样进行了为期18个月的观测和时序采样。本研究采用16S rRNA基因高通量测序技术研究了水样中古菌群落的多样性, 以了解羽流层和近底沉降层古菌群落结构的特征与时空演化。【结果】热原体纲(*Thermoplasmata*)、甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*)和甲烷杆菌纲(*Methanobacteria*)等热液来源古菌, 当浊度异常值较高时, 它们的丰度也增加。从空间上看, 热液羽流区和近底沉降区古菌群落结构在门和纲水平上具有相似性, 但在目水平上表现出差异性, 而且各主要类群的相对丰度也存在差异, 其中热原体纲在羽流层中的丰度普遍高于近底沉降层, 而氨氧化古菌和甲烷八叠球菌纲在沉降层的丰度较高。【结论】卧蚕热液区东南300 m热液羽流层和近底沉降层均受到了热液

资助项目: 国家自然科学基金(92351304, 91951201); 国家重点研发计划(2021YFF0501304)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (92351304, 91951201) and the National Key Research and Development Program of China (2021YFF0501304).

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

Received: 2024-01-27; Accepted: 2024-03-18; Published online: 2024-03-26

的影响,羽流层受热液影响的程度相对更显著,而近底沉降层除了受到一定程度的热液影响外,还可能受到了再悬浮沉积物的影响。热液贡献大小的动态变化和底层沉积物再悬浮可能是造成热液区近端水体古菌群落时空异质性的主要因素。本研究深化了对热液影响区古生菌群落结构及其月际尺度时空分布特征的认识。

关键词: 卧蚕 1 号热液区; 热液羽流; 古菌; 时空演化; 印度洋

Spatio-temporal variations of archaeal communities in the Wocan hydrothermal plume-influenced zone, Carlsberg Ridge, northwest Indian Ocean

WU Yuanzhen^{1,2}, HAN Xiqiu^{1,2,3*}, XIE Qian^{1,2}, WEI Mingcong^{2,3}, YU Juan^{2,3}

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

Abstract: [Objective] Hydrothermal plumes exchange matter and energy with background seawater during the processes of buoyant rising and non-buoyant lateral migration. Due to the dynamic variability of both hydrothermal activity and ocean currents, the pattern, physico-chemical parameters, and microbial communities of hydrothermal plumes experience spatio-temporal variations. However, due to the lack of long-term monitoring and time-series sampling of hydrothermal plumes, the diversity and spatio-temporal variations of microbial communities, especially archaea, remain unclear. [Methods] From July 2018 to June 2019, a mooring system with two sediment traps (one for collection of hydrothermal plume samples 300 m above seafloor and the other for collection of near-bottom water 40 m above seafloor) and a turbidity sensor (150 m above seafloor) was deployed at 300 m southeast of the active Wocan-1 hydrothermal field for 18 months. We employed 16S rRNA gene high-throughput sequencing to study the diversity and spatio-temporal variations of archaeal communities in the samples on the monthly scale. [Results] The abundance of hydrothermal plume-associated archaea including *Thermoplasmata*, *Methanosarcinia*, and *Methanobacteria* increased when turbidity anomalies were higher. Spatially, the archaeal community structures in the hydrothermal plume and near-bottom water were similar at the phylum and class levels but showed differences at the order level. The relative abundance of *Thermoplasmata* was generally higher in the plume, whereas ammonia-oxidizing archaea and *Methanosarcinia* were more abundant in the near-bottom water. [Conclusion] Both the hydrothermal plume and the near-bottom water from 300 m southeast of the Wocan-1 hydrothermal field were affected by hydrothermal fluids, with the plume layer being more significantly affected. The near-bottom layer was affected by re-suspended sediments in addition to hydrothermal fluids. Dynamic

changes of hydrothermal contributions and re-suspension of sediments were probably the main factors responsible for the spatial and temporal heterogeneity of archaeal communities. This study gives insights into the structure and spatio-temporal evolution of the archaeal community in the hydrothermal-influenced zone on a monthly scale.

Keywords: Wocan-1 hydrothermal field; hydrothermal plume; archaea; spatio-temporal evolution; Indian Ocean

热液羽流由海底热液喷口喷出的高温流体和周围的冷海水混合形成。在热浮力的作用下，热液羽流可以上升至数百米高度，并在中性浮力的作用下横向扩散数千公里^[1-2]。随着热液羽流的扩散，羽流中形成的颗粒物会沉降下来，在靠近喷口区域形成热液沉积物。热液羽流的物理化学特征与背景海水不同，如浊度升高、含有还原性化学物质(如 NH_4^+ 、 Mn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 CH_4 、 H_2S 、 H_2)等，可为微生物的生长和繁殖提供电子供体和能量^[3-4]。过去近 20 年的研究表明，热液羽流中孕育着各种微生物群落^[5]，在这些微生物群落中，发现了多种特征古生菌，如泉古菌门(*Crenarchaeota*)、奇古菌门(*Thaumarchaeota*)中的氨氧化古菌 *Candidatus Nitrosopumilis maritimus* 和广古菌门(*Euryarchaeota*)中的 Marine_Group_II (MGII)，它们存在于全球不同地区的热液羽流中^[6-15]。除了对热液羽流微生物群落结构取得认识外，前还揭示了东太平洋胡安德富卡洋脊 Endeavour 段(Juan de Fuca Endeavour)、大西洋中脊彩虹(Rainbow)热液区和瓜伊马斯盆地(Guaymas Basin)等热液区热液羽流中微生物群落结构的时空变化^[9,11,16-21]。然而，这些研究主要集中在热液喷口附近的浮力羽流区域，对距离喷口一定距离的中性浮力羽流区及其下方的颗粒沉降区的研究较少。然而，大多数研究使用的样品为温盐深剖面仪 (conductivity temperature depth, CTD)收集得到的，长时间序列样品十分稀缺。因此，目前人们对热液羽流影响区微生物群落的时空变化并

不清楚。

卧蚕 1 号热液区(6°22'N, 60°31'E, 水深 3 000 m)位于西北印度洋卡尔斯伯格脊的新火山脊上，属于典型的镁铁岩型高温热液系统，由中国大洋 28 航次于 2013 年首次发现^[6,22]。该热液喷口流体的最高温度为 358 °C，背景海水温度不到 2 °C，热液喷出后在浮力上升的同时迅速被海水冷却，2017 年“蛟龙”号载人深潜测量到的中性浮力羽流深度位于水深 2 550–2 850 m，厚度为 100–300 m^[21]。热液沉积岩芯的地球化学分析和年代测定表明，卧蚕热液区在过去的 1 069 年中持续活跃，但活动强度有所变化，热液源的铁通量为 9 483–10 834 mg/(cm²·kyr)^[6]。

2018 年 7 月，在中国大洋 49 航次调查期间，在活跃的卧蚕 1 号热液喷口东南方向 300 m 处(60°31'48.468"E, 6°21'32.364"N, 水深 2 840 m)布放了一套带有 2 个沉积物捕集器和一个浊度传感器的锚系潜标，进行了为期 11 个月的样品采集工作，每隔 15 d 采集一次热液羽流样品(离底 300 m)和羽流下方受沉降颗粒影响的水体样品(离底 40 m) (图 1A、1B)。本课题组前期对热液羽流样品及下方受沉降颗粒影响的水样中的细菌群落结构及其时空变化进行了研究^[19]，然而，对古菌群落的分布及其时空变化尚不清楚。本研究利用高通量测序技术分析水样中古菌的多样性，旨在比较分析中性浮力羽流区与近底热液颗粒沉降区之间古细菌群落结构及其丰度的差异，为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。

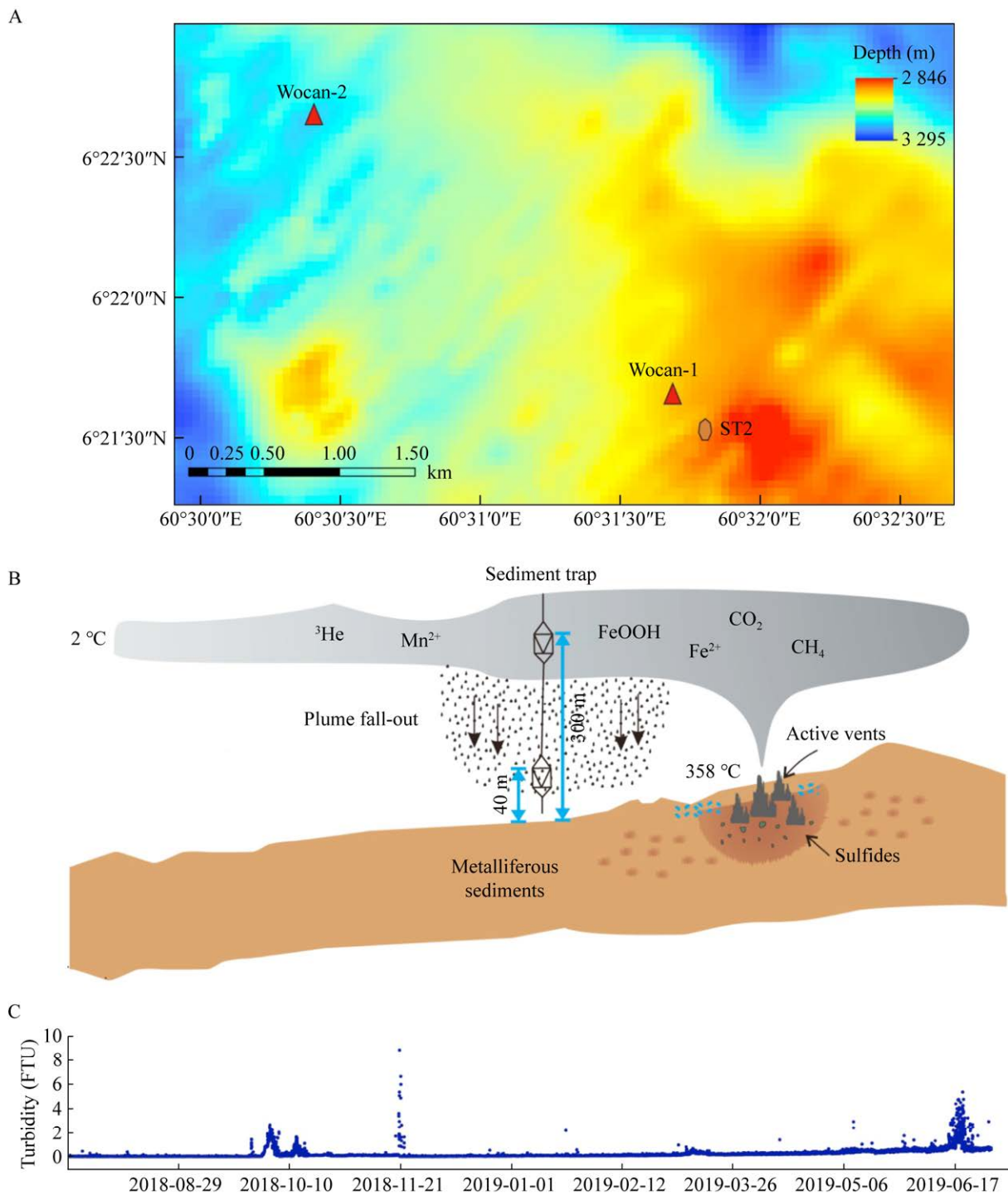


图 1 采样点位置和浊度值^[21] A: 卧蚕 1 号热液区地形图和沉积物捕集锚(ST2)的观测位置. B: 热液羽流示意图和样品采集位置. C: 采样点浊度值的时间变化

Figure 1 Location of sampling sites and turbidity values^[21]. A: Topographic map of the Wocan-1 hydrothermal area and observation location of sediment trap anchor (ST2). B: Schematic diagram of hydrothermal plume and sample collection location. C: Temporal variation of turbidity values at sampling sites.

1 材料与方 法

1.1 样品采集

2018 年, 中国大洋 49 航次在卧蚕 1 号热液区 ST2 站点(60°31'48.468"E, 6°21'32.364"N)处布放了一套带有 2 个沉积物捕集器和一个浊度传感器的锚系潜标(McLANE 公司)(以下简称捕获器)^[6]。2 个捕获器分别距底 300 m 和 40 m, 浊度计(Seapoint 公司)和海流计(Aanderaa 公司)放置在离底 150 m 的高度。每个捕获器各携带 21 个 500 mL 取样管, 用于采集热液羽流的水样。每管样品对准采样口收集样品的间隔时间为 15 d, 采样时间为 2018 年 7 月 13 日至 2019 年 5 月 24 日, 总时长为 11 个月, 浊度仪则每 0.5 h 记录 1 次水体浊度。2019 年 12 月, 该套装置由中国大洋 57 航次回收, 在海底的时长为 18 个月^[20]。ST2 采样点的采样时间为 2018 年 7 月 29 日–2019 年 5 月 25 日, 期间羽流浊度变化情况如图 1C 所示。

在布放之前, 每个取样管均装有超纯水配置的浓度为 4% 的福尔马林溶液, 以保存生物样

本。沉积物捕集器的锚定位置是通过声学三角测量确定的, 位置误差为±20 m。回收的样品迅速储存于–20 °C 冰箱中。本研究选择了浊度异常期间采集的水样和其他具有代表性的样本(共 13 个样本)进行生物多样性分析, 其中 ST2T 代表上层(离底 300 m)样本, ST2B 代表下层(离底 40 m)样本。详细的样本信息见表 1。

1.2 样品 DNA 提取和高通量测序

本研究采用 CTAB 法^[7]提取水样 DNA。水样经 0.22 μm 滤膜过滤后收集于离心管中, 加入 13.5 mL DNA 提取缓冲液, 经过 3 次反复冻融进行有效提取。加入蛋白酶和溶菌酶以促进细胞裂解, 将混合物放在摇床中孵育; 加入 20% SDS 于 65 °C 水浴锅中水浴 2 h。加入等体积苯酚:氯仿:异戊醇(25:24:1, 体积比), 8 000 r/min 离心 30 min, 弃去上清液, 用预冷的 70% 乙醇清洗沉淀并在–20 °C 温育过夜。8 000 r/min 离心 20 min 弃去乙醇, 将沉淀溶解在 50 μL 无菌去离子水中, –80 °C 保存。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。

表 1 样品信息

Table 1 Sample information

Station	Sample	Time	Height above seafloor (m)	Turbidity
ST2T	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	+
ST2B	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 of very strong, strong, minor, and no anomaly, respectively.

使用引物 524F10extF (5'-TGYCAGCCGCC GCGGTAA-3')和 Arch958RmodR (5'-YCCGGC GTTGAVTCCAATT-3')引扩增古菌 16S rRNA 基因的 V4-V6 区^[23-24]。PCR 反应体系: 5×TransStart *FastPfu* 缓冲液 4 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL, 上、下游引物(5 μmol/L)各 0.8 μL, TransStart *FastPfu* DNA 聚合酶(2.5 U/μL) 0.4 μL, 模板 DNA 10 ng, ddH₂O 补足至 20 μL。每个样本 3 个重复。PCR 反应程序: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 53 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共 37 个循环; 72 °C 10 min。PCR 反应结束及扩增产物检测纯化合格后对其进行测序, 本研究所用的文库构建及测序平台为 Illumina MiSeq 平台。高通量测序文库的构建以及基于 Illumina MiSeq 平台的测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.3 数据处理及分析

使用 Fastp 软件^[25]进行原始数据质量控制, 使用 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, 则从窗口开始修剪后端碱基。过滤质控后 50 bp 以下的 reads 或包含 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。

微生物多样性及其群落结构在美吉生物云平台(<http://cloud.majorbio.com/>)上进行分析。使用 Uparse 软件将相似度为 97% 的有效序列进行操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类。参考 Silva 和 Greengene 数据库, 采用 RDP classifier 贝叶斯算法对每个 OTU 的代表性序列进行物种分类。用 Mothur^[26]计算样本中古菌群落的 α 多样性指数(Shannon 指数、

Simpson 指数、ACE 指数、Chao1 指数和 Coverage 值)。使用 Wilcoxon 秩和检验($P < 0.05$)评估物种组成的组间差异。所有检验的显著性临界值均为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 古菌群落多样性

2.1.1 α 多样性

在 13 个样本中, 共获得了 523 345 条有效的古菌序列。对优化序列进行拆分及去除冗余等操作后, 按照 97% 的相似性进行 OTU 聚类, 得到了 271 个古菌的 OTU。对样本进行了 α 多样性分析, 获得了不同样本中古菌的 Shannon 指数、Simpson 指数、ACE 指数、Chao1 指数及 Coverage 值(表 2)。

Coverage 值是群落覆盖率的指标。表 2 显示, 13 个样本的覆盖率均超过 99.9%, 表明测序深度已覆盖到样品中的所有物种。从稀释曲线趋势(图 2)来看, 测序结果能够很好地反映样品中微生物的真实情况。Shannon 指数和 Simpson 指数表示物种多样性, Shannon 指数越高表示多样性越高, Simpson 指数越高表示多样性越低。ACE 指数和 Chao1 指数表示物种丰富度, 数值越高表示物种越丰富。上层样本 T_5、T_8 和 T_10 的香农(Shannon)指数和 ACE 指数高于下层样本 B_5、B_7 和 B_9。然而 T_2、T_16、T_21 样本的 Shannon 指数和 ACE 指数低于 B2、B16、B20 样本。Simpson 指数则呈相反趋势。这些指数在空间和时间尺度上的变化表明, 随着时间的推移, 古菌的多样性和丰富度也在发生变化, 其中 T5 样本的多样性和丰富度最高。

2.1.2 β 多样性

在基于 Bray-Curtis 距离算法的非度量多维尺度(non-metric multidimensional scaling, NMDS)

表 2 α 多样性指数

Table 2 Alpha diversity index

Height (m)	Sample	Shannon index	Simpson index	ACE index	Chao1 index	Coverage
300	ST2_T_2	2.13	0.15	28.41	30.00	1.00
	ST2_T_5	2.93	0.09	107.10	104.00	1.00
	ST2_T_8	2.89	0.09	98.38	96.50	1.00
	ST2_T_10	2.67	0.12	69.37	67.14	1.00
	ST2_T_12	1.31	0.37	21.13	20.50	1.00
	ST2_T_16	1.95	0.17	12.11	11.00	1.00
	ST2_T_21	2.07	0.18	32.84	30.75	1.00
40	ST2_B_2	2.23	0.14	75.83	48.25	1.00
	ST2_B_5	2.47	0.15	65.81	64.60	1.00
	ST2_B_7	1.88	0.21	21.56	20.50	1.00
	ST2_B_9	2.08	0.15	47.89	31.75	1.00
	ST2_B_16	2.67	0.10	56.64	54.25	1.00
	ST2_B_20	2.81	0.10	59.26	59.00	1.00

分析图(图 3)中,所有样品被聚类为 2 组(ST2T 和 ST2B)。这 2 组样本有重叠,表明上下 2 层之间古菌群落组成具有一定的相似性。由于来自同一层的样本倾向于聚为一组,表明层内的样品物种组成趋于一致。然而, B_2、T_16 和 T_21 样本位于圆圈之外,与其他样本的距离较大,表明这 3 个样品的物种组成存在显著差异。因此,从上层样本的聚类圈大于下层样本

的聚类圈可以看出,上层样本之间的物种组成差异大于下层样本。同一层内不同时间采集的样本之间的距离则代表了时间上古菌群落组成的差异。例如, B_16 和 B_20 倾向于与 T_5 和 T_8 聚类,而与 B_5、B_7 和 B_9 相距较远。

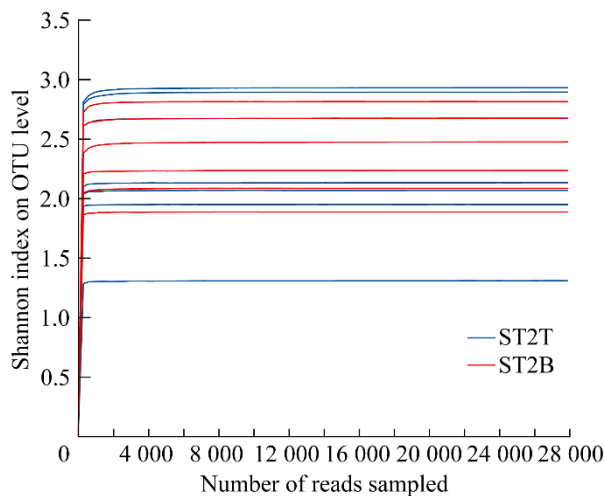


图 2 Shannon 指数稀释曲线

Figure 2 Shannon dilution curve.

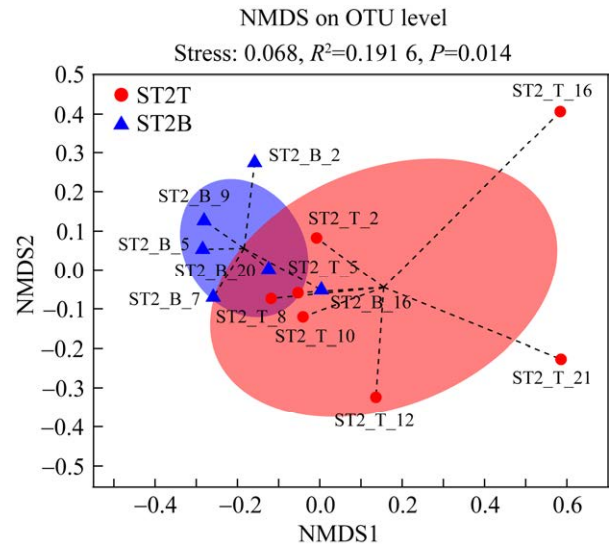


图 3 基于 Bray-Curtis 距离算法的古菌群落差异非度量多维尺度分析

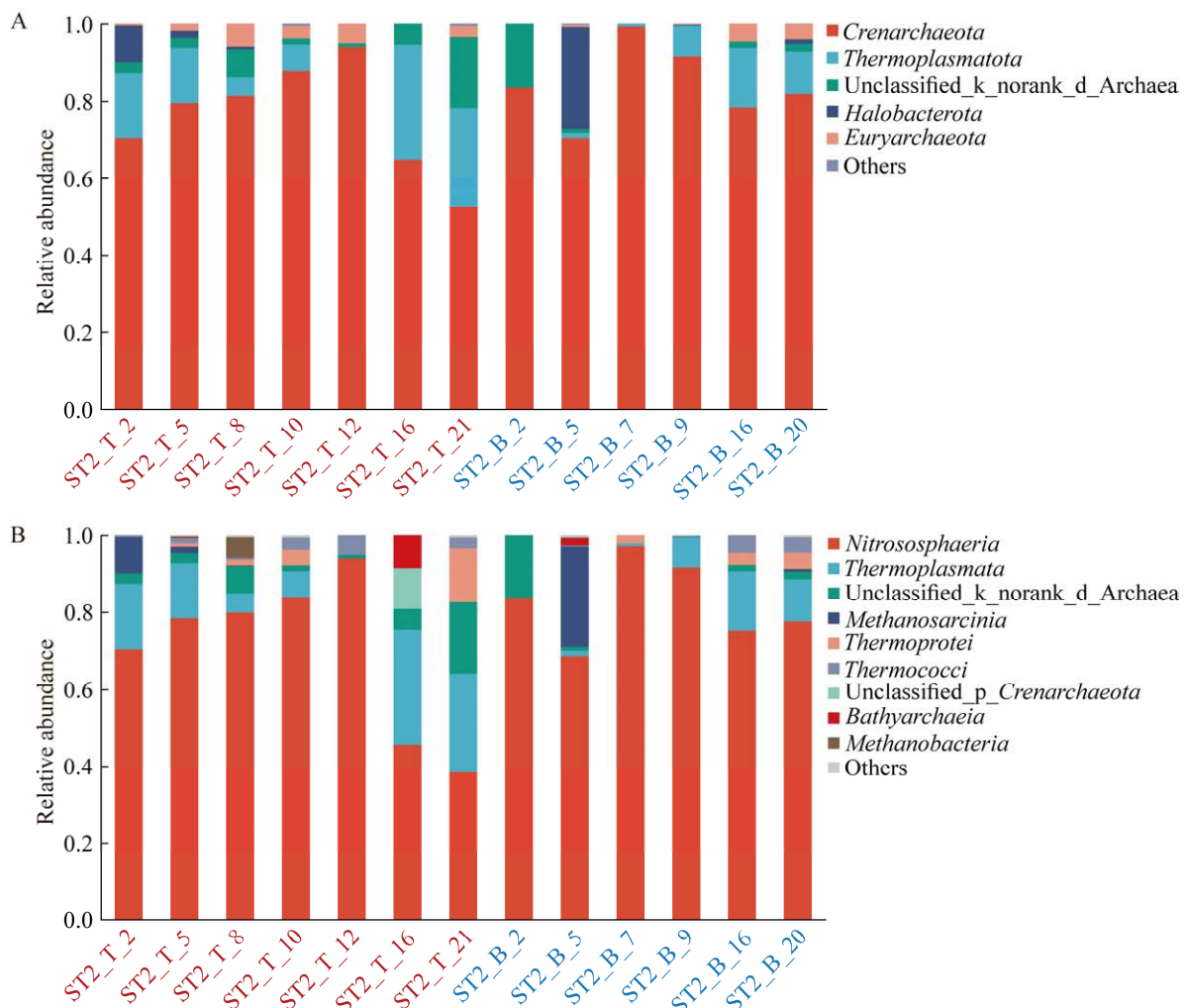
Figure 3 Nonmetric multidimensional scale analysis of archaea community differences based on Bray-Curtis distance.

2.2 古菌群落组成

ST2 站位中, 对 13 个样品总计 271 个 OTU 进行了物种分类统计, 共获得了 9 门 17 纲 27 目 37 科 46 属 74 种的古菌物种信息。结果表明, 2 层中高丰度的门类相同, 但相对丰度不同(图 4A)。所有样本中相对丰度最高的 2 个门类分别是泉古菌门(*Crenarchaeota*, 52.49%–99.26%) 和热原体门(*Thermoplasmata*, 0.00%–29.76%)。在纲水平(图 4B), 古菌群落中的主要类群包括亚硝化短小杆菌纲 (*Nitrososphaeria*, 38.41%–97.15%)、热原体纲(*Thermoplasmata*, 0.00%–29.76%)、甲烷八叠球菌纲 (*Methanosarcinia*, 0.00%–26.01%)、热变形菌

纲(*Thermoprotei*, 0.00%–14.07%)、热球菌纲 (*Thermococci*, 0.00%–5.07%) 和甲烷杆菌纲 (*Methanobacteria*, 0.00%–5.39%)。在目水平上(图 4C), 古菌群落主要以 *Nitrosopumilales* (11.22%–97.15%)和 *Marine_Group_II* (0.00%–29.76%) 为主。在属水平上(图 4D), 古菌群落主要是 *Candidatus Nitrosopumilus* (0.00%–87.91%)和拟甲烷球菌属(*Methanococcoides*, 0.00%–25.33%)。

分析结果表明, 泉古菌门(*Crenarchaeota*) 是样本中相对丰度最高的优势菌门, 在所有样本中均有出现, 相对丰度高达 99.26%。在泉古菌门(*Crenarchaeota*)中, 亚硝化短小杆菌纲 (*Nitrososphaeria*)是数量最多的类群, 相对丰度



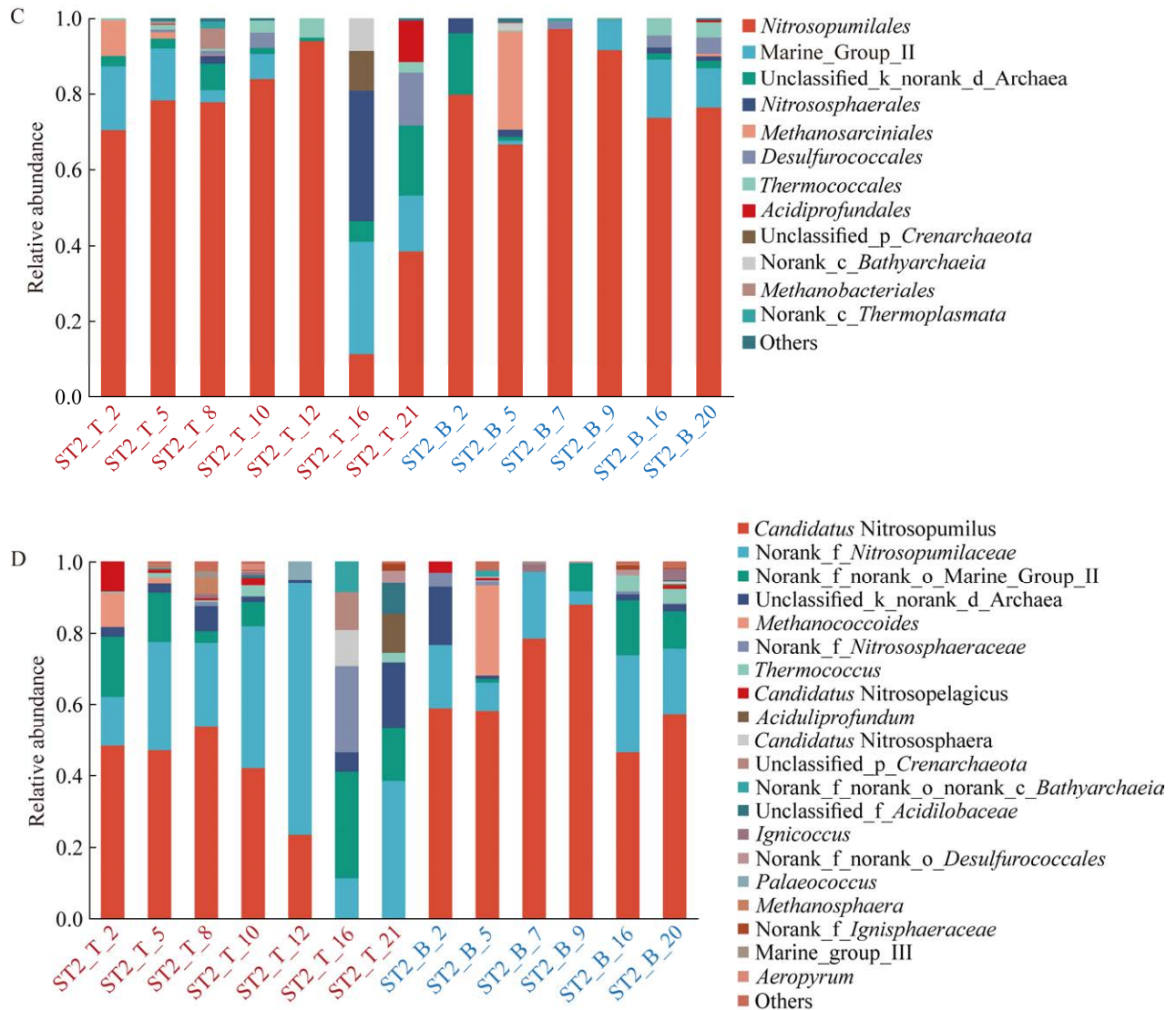


图 4 样品中古菌群落的组成 A: 门水平古菌相对丰度. B: 纲水平古菌相对丰度. C: 目水平古菌相对丰度. D: 属水平古菌相对丰度. 其中横坐标红色为上层样品, 蓝色为下层样品

Figure 4 Composition of archaea community in the samples. A: Relative abundance of ST2 phylum level archaea. B: Relative abundance of ST2 class level archaea. C: Relative abundance of ST2 order level archaea. D: Relative abundance of ST2 genus level archaea. The red of the horizontal coordinate is the upper sample, and the blue is the lower sample.

高达 97.15%。亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)是泉古菌门(*Crenarchaeota*)中氨氧化古菌的代表类群。在上层, 亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)的相对丰度略低于下层, 而热原体纲(*Thermoplasmata*)的相对丰度则与之相

反。具体表现为在 T₁₆ 和 T₂₁ 中的亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)相对丰度较小, 而热原体纲(*Thermoplasmata*)相对丰度较大。仅在 T₁₂ 中, 亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)占 93.99%, 而热原体纲(*Thermoplasmata*)的相对

丰度小于 0.01%。在一些样本(T_2、T_5、B_5)中发现了甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*), 此菌纲相对丰度较低。此外, 在该研究区域还发现了热变形菌纲(*Thermoprotei*)和热球菌纲(*Thermococci*), 它们是温泉和深海热液区特有的嗜热微生物。在属水平上, T_16 和 T_21 样本中属于亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)水平的 *Candidatus Nitrosopumilus* 的相对丰度小于 0.01, 其在下层的相对丰度高于上层。还有许多属水平的古菌尚未被分类。

3 讨论

3.1 热液羽流影响区古菌群落随时间的变化

为了能清晰地分辨不同菌纲随时间的变化, 分别绘制了部分丰度较高且具有代表性的菌纲上层和下层的气泡图(图 5)。对 ST2 站位同一层位不同采样时间的样本进行分析, 发现了几个值得注意的趋势。热原体纲(*Thermoplasmata*)属于样本中观察到的第二大古菌门, 即热原体门(*Thermoplasmatota*)。热原体纲(*Thermoplasmata*)的最适生长温度高于 60 °C^[27]。海流计上的温度传感器显示, 在该站位捕获的羽状流温度范围为 1.8–2.1 °C^[28], 属于低温的环境, 推测此站位的热原体纲可能为热液羽流从喷口附近携带而来。由于热原体门(*Thermoplasmatota*)中的大多数类群都是未经培养的古菌, 因此对热原体纲(*Thermoplasmata*)的研究十分有限。不过, 热原体纲有可能参与单芳香族化合物的厌氧氧化过程, 直接或间接参与甲烷代谢循环^[29–31]。在这一类群中, 常见的古菌目包括 Marine_Group_II (MGII)和 *Methanomassiliicoccales*, 两者都与产甲烷有关。MGII 是有机营养微生物, 能够直接发酵和利用热液环境中常见的复杂有机分子。发酵后, 这些有机底物可产生 H₂ 和 CO₂^[32–33]。已有研究发现在高温热液喷口区域

存在一定丰度的热原体纲(*Thermoplasmata*)^[34], 结合图 5A 所示, 热原体纲(*Thermoplasmata*)的相对丰度有明显的时间变化, 特别是在浊度异常期间, 上层样本相对丰度有所增加, 因此, 可将其作为热液指示菌纲。由于该站位上层和下层都有热原体纲(*Thermoplasmata*)出现, 因此认为上下层均受到热液羽流的影响。随着时间的推移, 亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)的相对丰度始终保持在较高水平, 与其他类群相比, 变化相对较小。亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)来源于背景海水, 在热液系统中也较为常见, 如已有研究表明在 Guaymas 热液系统中存在亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)^[35–36]。

为了清晰判断其他丰度较低的类群随时间的变化情况, 对其随时间变化绘制了气泡图(图 5C、5D)。热变形菌纲(*Thermoprotei*)、热球菌纲(*Thermococci*)、甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*)和甲烷杆菌纲(*Methanobacteria*)都是能在高温环境下生存的嗜热菌^[27,37–39]。其中甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*)和甲烷杆菌纲(*Methanobacteria*)是严格厌氧的产甲烷菌, 其底物谱有限, 主要利用 C1 和 C2 化合物进行代谢^[40–41], 甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*)水平下丰度较高的 2 个古菌属为拟甲烷球菌属(*Methanococcoides*)和嗜热球菌属(*Thermococcus*), 拟甲烷球菌属(*Methanococcoides*)主要存在于热液喷口及沉积物中, 嗜热球菌属(*Thermococcus*)的最适生长温度为 88 °C^[42–43]。甲烷杆菌纲的主要属为甲烷球形菌属(*Methanosphaera*)和甲烷杆菌属(*Methanobacterium*)。其中甲烷球形菌属(*Methanosphaera*)的最适生长温度为 37 °C, 在低于 25 °C和高于 45 °C的环境中几乎不能存活^[44]。甲烷杆菌属(*Methanobacterium*)的最适生长温度为 37–45 °C^[45]。卧蚕热液区是一个典型的镁铁

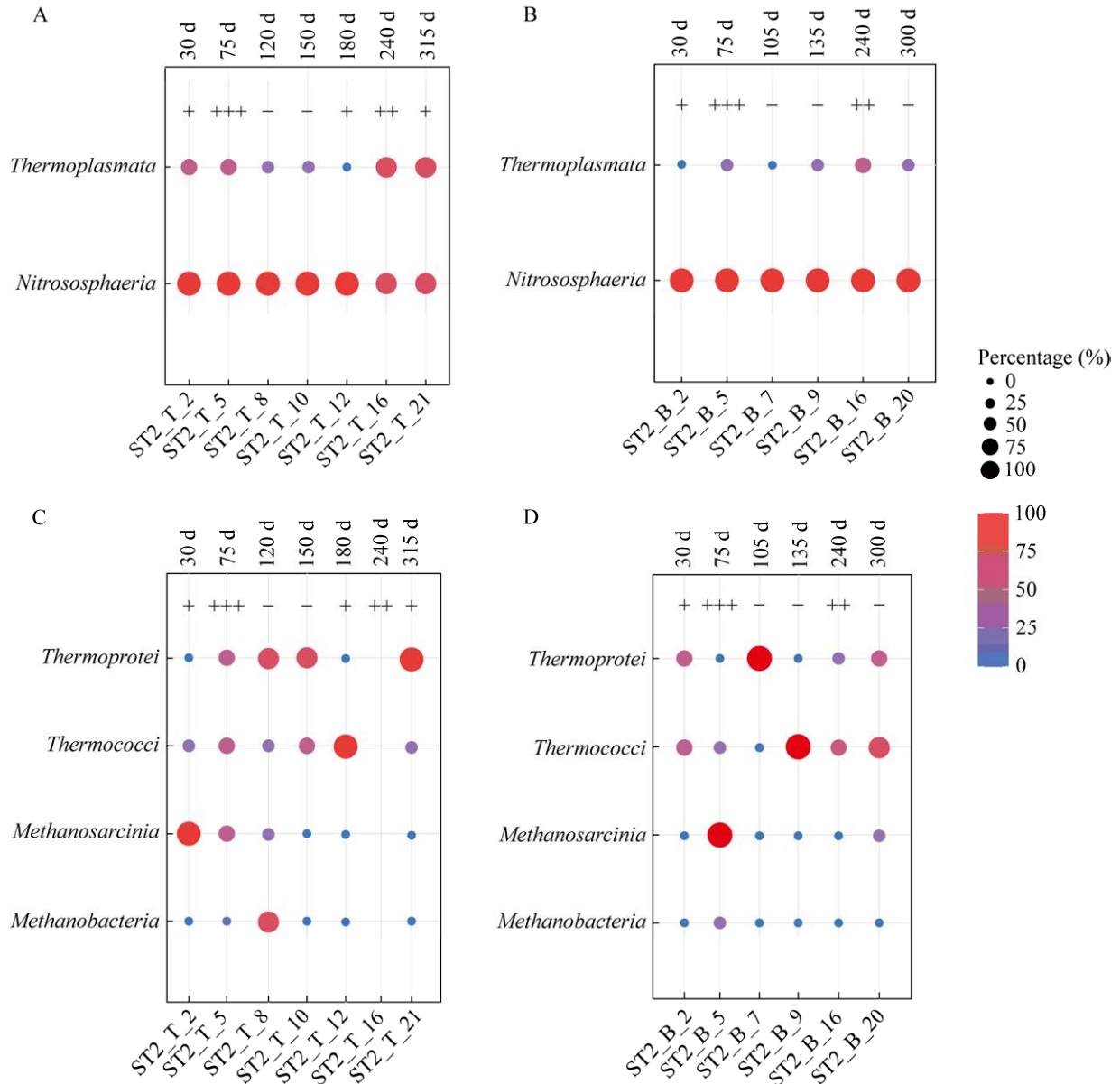


图 5 不同高度样品部分古菌类群相对丰度随时间变化

A、C: ST2T. B、D: ST2B. +++、++、+、- 代表热液异常的强度，分别为非常强、强、弱和无异常

Figure 5 Temporal changes in the relative abundance of selected class level archaeal in samples from different depths over time. A, C: ST2T. B, D: ST2B. +++, ++, +, and - represent the intensity of hydrothermal anomalies, indicating very strong, strong, slight, and no anomalies, respectively.

岩型高温热液系统^[6]，热液流体中含 H₂、H₂S、CH₄、CO₂，其中 CO₂ 的浓度高于 CH₄^[46]。这一地球化学特征表明，该热液区能为依赖二氧化碳途径的产甲烷古菌提供一个有利的生态位。

结合图 5C、5D 所示，在上层和下层样本中，甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*)和甲烷杆菌纲(*Methanobacteria*)在浊度异常期间有明显的相对丰度增加，认为这两类菌纲均与热液输入有关。

3.2 热液羽流影响区古菌群落在垂向空间上的变化

我们对上层和下层样本中古菌物种丰度的差异进行了分析, 如图 6A 所示, 热原体纲(*Thermoplasmata*)、热变形菌纲(*Thermoprotei*)和深古菌纲(*Bathyarchaeia*)在上层样本中的丰度高于下层样本。然而下层样本中的亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)和甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*)的相对丰度更高。因上层样本取自中性羽流层, 受到热液输入更大的影响, 而下层近底水体除了受热液沉降颗粒物影响外, 还可能受沉积物再悬浮的影响, 认为甲

烷八叠球菌纲拟甲烷球菌属(*Methanococoides*)除了来自羽流层沉降外, 还有部分可能来自沉积物, 从而影响了甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*)的整体相对丰度。热原体纲(*Thermoplasmata*)和热变形菌纲(*Thermoprotei*)的最适生长温度均高于 60 °C, 这两类古菌则由热液羽流带至该区域^[27,47]。另外, 热原体纲(*Thermoplasmata*)和深古菌纲(*Bathyarchaeia*)经常共存, 它们在有机碳矿化过程中可能具有共同或互补的生态作用^[48-51]。在属水平上(图 6B), 下层样本中的化能自养古菌 *Candidatus Nitrosopumilus* 的相对丰度明显更高($P<0.05$), 而且该化能自养微

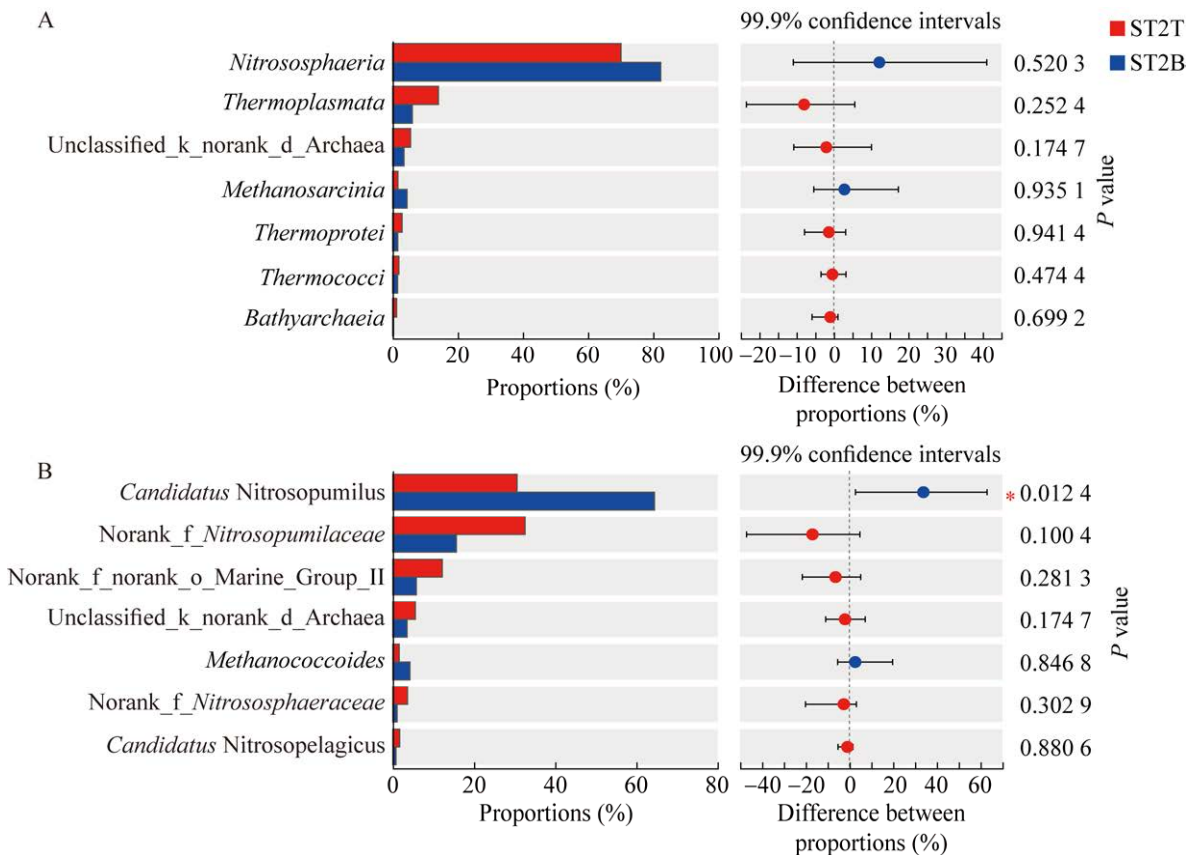


图 6 相同采样时间不同采样高度样品(ST2T 和 ST2B)的古菌主要类群组间差异对比 A: 纲水平. B: 属水平. *: $P<0.05$

Figure 6 Comparative analysis of archaeal main taxonomic groups among samples at different sampling depths but the same sampling time (ST2T and ST2B). A: On the class level. B: On the genus level. *: $P<0.05$.

生物丰度与有机物含量密切相关, 这可以解释为什么在靠近海底的深部位置该古菌丰度会增加^[52-53], 而其他属的丰度并无明显差异。前人研究指出热液羽流中古菌的群落结构在空间上具有同质性, 而在时间上是动态的^[15]。本研究表明, 在近喷口 300 m 范围内, 热液羽流层和近底沉降层古菌群落结构在属水平上表现出一定的差异性。

4 结论

本研究采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对卧蚕 1 号热液区附近羽流影响区的古菌群落空间结构及其月际尺度上的变化进行研究。结果显示, 研究区域内的优势古菌纲为亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)和热原体纲(*Thermoplasmata*)。在时间尺度上, 热原体纲(*Thermoplasmata*)、甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*)和甲烷杆菌纲(*Methanobacteria*)在热液活动增强时, 相对丰度升高, 认为这 3 种菌纲均主要来自热液输入; 氨氧化古菌亚硝化短小杆菌纲(*Nitrososphaeria*)相对丰度持续位于高值, 相对于其余菌纲变化范围小。在空间尺度上, 热原体纲(*Thermoplasmata*)、热变形菌纲(*Thermoprotei*)和深古菌纲(*Bathyarchaeia*)在上层的丰度高于下层样本; 而氨氧化古菌属 *Candidatus Nitrosopumilus* 和甲烷八叠球菌纲(*Methanosarcinia*)在下层的丰度较上层高, 推测两者的丰度还受到了沉积物再悬浮的影响。由以上研究认为, 在西北印度洋卧蚕 1 号近喷口 300 m 范围内, 古菌群落结构在时空上具有异质性。本研究探究了活动热液喷口附近热液羽流影响区的古菌群落时空演化特征, 进一步补充了该区域古菌群落时空分布信息, 为深入研究古菌与环境的互作提供重要信息。

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采集所给予的大力支持与帮助。

参考文献

- [1] 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[J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2010, 57(1): 37-52.
- [2] HUMPHRIS SE, ZIERENBERG RA, MULLINEAUX LS, THOMSON RE. Seafloor hydrothermal systems: physical, chemical, biological, and geological interactions[J]. *Geophysical Monograph Series*, 1995, 91: 158-177.
- [3] GARTMAN A, FINDLAY AJ, LUTHER GW III. Nanoparticulate pyrite and other nanoparticles are a widespread component of hydrothermal vent black smoker emissions[J]. *Chemical Geology*, 2014, 366: 32-41.
- [4] HOLDEN JF, BREIER JA, ROGERS KL, SCHULTE MD, TONER BM. Biogeochemical processes at hydrothermal vents: microbes and minerals, bioenergetics, and carbon fluxes[J]. *Oceanography*, 2012, 25(1): 196-208.
- [5] ORCUTT BN, SYLVAN JB, KNAB NJ, EDWARDS KJ. Microbial ecology of the dark ocean above, at, and below the seafloor[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2011, 75(2): 361-422.
- [6] 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[J]. *Ore Geology Reviews*, 2021, 132: 103999.
- [7] SUNAMURA M, HIGASHI Y, MIYAKO C, ISHIBASHI J, MARUYAMA A. Two bacteria phylotypes are predominant in the Suiyo seamount hydrothermal plume[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(2): 1190-1198.
- [8] NAKAGAWA S, TAKAI K, 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[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(10): 1619-1632.
- [9] DICK GJ, TEBO BM. Microbial diversity and biogeochemistry of the Guaymas Basin deep-sea hydrothermal plume[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(5): 1334-1347.
- [10] 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[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(32): 14020-14025.
- [11] 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[J]. *Geobiology*, 2012, 10(2): 178-192.
- [12] SUNAMURA M, YANAGAWA K. Microbial cell densities, community structures, and growth in the hydrothermal plumes of subduction hydrothermal systems[M]//*Subseafloor Biosphere Linked to Hydrothermal Systems*. Tokyo: Springer, 2015: 31-38.
- [13] ANANTHARAMAN K, BREIER JA, SHEIK CS, DICK GJ. Evidence for hydrogen oxidation and metabolic plasticity in widespread deep-sea sulfur-oxidizing bacteria[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(1): 330-335.
- [14] BAKER BJ, LESNIEWSKI RA, DICK GJ. Genome-enabled transcriptomics reveals archaeal populations that drive nitrification in a deep-sea hydrothermal plume[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(12): 2269-2279.
- [15] KUPPA BASKARAN DK, UMALE S, ZHOU ZC, RAMAN K, ANANTHARAMAN K. Metagenome-based metabolic modelling predicts unique microbial interactions in deep-sea hydrothermal plume microbiomes[J]. *ISME Communications*, 2023, 3(1): 42.
- [16] REED DC, BREIER JA, JIANG H, ANANTHARAMAN K, KLAUSMEIER CA, TONER BM, HANCOCK C, SPEER K, THURNHERR AM, DICK GJ. Predicting the response of the deep-ocean microbiome to geochemical perturbations by hydrothermal vents[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(8): 1857-1869.
- [17] HAALBOOM S, PRICE DM, MIENIS F, van BLEIJSWIJK JDL, de STIGTER HC, WITTE HJ, REICHART GJ, DUINEVELD GCA. Patterns of (trace) metals and microorganisms in the Rainbow hydrothermal vent plume at the Mid-Atlantic Ridge[J]. *Biogeosciences*, 2020, 17(9): 2499-2519.
- [18] ZHANG LK, KANG MY, XU JJ, XU J, SHUAI YJ, ZHOU XJ, YANG ZH, MA KS. Bacterial and archaeal communities in the deep-sea sediments of inactive hydrothermal vents in the Southwest India Ridge[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25982.
- [19] WINN CD, KARL DM, MASSOTH GJ. Microorganisms in deep-sea hydrothermal plumes[J]. *Nature*, 1986, 320: 744-746.
- [20] 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[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(2): 769-784.
- [21] 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[J]. *微生物学报*, 2022, 62(6): 1974-1985.
- XIE Q, HAN XQ, WEI MC, QIU ZY, DONG CQ, WU YH, WU XT, YU J. Characteristics and evolution of bacterial communities in the Wocan hydrothermal plume-influenced zone, Carlsberg Ridge, northwestern Indian Ocean[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 1974-1985 (in Chinese).
- [22] 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[J]. *Ore Geology Reviews*, 2017, 84: 1-19.
- [23] 刘学文. 西北印度洋 Carlsberg 脊热液羽流微生物多样性及其硫氧化特征研究[D]. 厦门: 自然资源部第三海洋研究所硕士学位论文, 2020.
- LIU XW. Microbial diversity and sulfur oxidation characteristics of hydrothermal plume of carlsberg ridge in northwest Indian Ocean[D]. Xiamen: Master's Thesis of Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, 2020 (in Chinese).
- [24] LIU C, LI H, ZHANG YY, SI DD, CHEN QW.

- Evolution of microbial community along with increasing solid concentration during high-solids anaerobic digestion of sewage sludge[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 216: 87-94.
- [25] CHEN SF, ZHOU YQ, CHEN YR, GU J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.
- [26] SCHLOSS PD, WESTCOTT SL, RYABIN T, HALL JR, HARTMANN M, HOLLISTER EB, LESNIEWSKI RA, OAKLEY BB, PARKS DH, ROBINSON CJ, SAHL JW, STRES B, THALLINGER GG, van HORN DJ, WEBER CF. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7537-7541.
- [27] REYSENBACH AL. *Thermoprotei* class. nov.[M]// *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015.
- [28] WANG KH, HAN XQ, WANG YJ, CAI YY, QIU ZY, ZHENG XQ. Numerical simulation-based analysis of seafloor hydrothermal plumes: a case study of the Wocan-1 hydrothermal field, carlsberg ridge, northwest Indian Ocean[J]. *Journal of Marine Science and Engineering*, 2023, 11(5): 1070.
- [29] PAUL K, NONOH JO, MIKULSKI L, BRUNE A. "Methanoplasmatales" *Thermoplasmatales*-related archaea in termite guts and other environments, are the seventh order of methanogens[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(23): 8245-8253.
- [30] 牛明杨. 南海北部陆坡沉积物中深古菌和甲烷代谢古菌的分布、多样性和代谢特征研究[D]. 上海: 上海交通大学博士学位论文, 2017.
- NIU MY. Distribution, diversity and metabolism of bathyarchaeota and methane metabolizing microbes in northern slope of sh China Sea[D]. Shanghai: Doctoral Dissertation of Shanghai Jiao Tong University, 2017 (in Chinese).
- [31] MIROSHNICHENKO ML. Thermophilic microbial communities of deep-sea hydrothermal vents[J]. *Microbiology*, 2004, 73: 1-13.
- [32] LOLLAR BS. Life's chemical kitchen[J]. *Science*, 2004, 304(5673): 972-973.
- [33] 承磊, 郑珍珍, 王聪, 张辉. 产甲烷古菌研究进展[J]. *微生物学通报*, 2016, 43(5): 1143-1164.
- CHENG L, ZHENG ZZ, WANG C, ZHANG H. Recent advances in methanogens[J]. *Microbiology China*, 2016, 43(5): 1143-1164 (in Chinese).
- [34] ZHOU ZC, ST JOHN E, ANANTHARAMAN K, REYSENBACH AL. Global patterns of diversity and metabolism of microbial communities in deep-sea hydrothermal vent deposits[J]. *Microbiome*, 2022, 10(1): 241.
- [35] HUANG J, CHEN P, ZHU YX, WANG J, SONG L, HAN XQ, HUANG Y. Biogeography and potential ecological functions of prokaryotes in the hydrothermal and non-hydrothermal field sediments of the Indian Ocean Ridges[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2023, 9: 1072569.
- [36] GUPTA A, SAHA A, SAR P. *Thermoplasmata* and *Nitrososphaeria* as dominant archaeal members in acid mine drainage sediment of Malanjkhand Copper Project, India[J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 203: 1833-1841.
- [37] ZILLIG W, REYSENBACH AL. *Thermococci* class. nov.[M]// *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015.
- [38] ZINDER SH, SOWERS KR, FERRY JG. NOTES: *Methanosarcina thermophila* sp. nov., a thermophilic, acetotrophic, methane-producing bacterium[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 1985, 35(4): 522-523.
- [39] BOONE DR. *Methanobacteria* class. nov.[M]// *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015.
- [40] 易悦, 周卓, 黄艳, 承磊. 我国产甲烷古菌研究进展与展望[J]. *微生物学报*, 2023, 63(5): 1796-1814.
- YI Y, ZHOU Z, HUANG Y, CHENG L. Methanogen research in China: current status and prospective[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(5): 1796-1814 (in Chinese).
- [41] ORPHAN VJ, HINRICHS KU, USSLER W III, PAULL CK, TAYLOR LT, SYLVA SP, HAYES JM, DELONG EF. Comparative analysis of methane-oxidizing archaea and sulfate-reducing bacteria in anoxic marine sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(4): 1922-1934.
- [42] LIANG L, SUN Y, DONG YJ, AHMAD T, CHEN YF, WANG J, WANG FP. *Methanococcoides orientis* sp. nov., a methylotrophic methanogen isolated from sediment of the East China Sea[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2022, 72(5): 005384.
- [43] ZILLIG W, HOLZ I, JANEKOVIC D, SCHÄFER W,

- REITER WD. The archaeobacterium *Thermococcus celer* represents, a novel genus within the thermophilic branch of the archaeobacteria[J]. Systematic and Applied Microbiology, 1983, 4(1): 88-94.
- [44] SHAO N, AKINYEMI TS, WHITMAN WB. *Methanosphaera*[M]//Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015.
- [45] BOONE DR. *Methanobacterium*[M]//Bergey's Manual of Systematics of Archaea And Bacteria. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2015.
- [46] WU XT, HAN XQ, WANG YJ, GARBE-SCHÖNBERG D, SCHMIDT M, ZHANG ZH, QIU ZY, ZONG T, ZHOU P, YU X, LIU JQ, LUO HM. Geochemistry of vent fluids from the Daxi Vent Field, Carlsberg Ridge, Indian Ocean: constraints on subseafloor processes beneath a non-transform offset[J]. Marine Geology, 2023, 455: 106955.
- [47] ARCE-RODRÍGUEZ A, PUENTE-SÁNCHEZ F, AVENDAÑO R, MARTÍNEZ-CRUZ M, de MOOR JM, PIEPER DH, CHAVARRÍA M. *Thermoplasmatales* and sulfur-oxidizing bacteria dominate the microbial community at the surface water of a CO₂-rich hydrothermal spring located in Tenorio Volcano National Park, Costa Rica[J]. Extremophiles, 2019, 23: 177-187.
- [48] FILLOL M, SÀNCHEZ-MELSIÓ A, GICH F, M BORREGO C. Diversity of Miscellaneous Crenarchaeotic Group archaea in freshwater karstic lakes and their segregation between planktonic and sediment habitats[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2015, 91(4): fiv020.
- [49] MENG J, XU J, QIN D, HE Y, XIAO X, WANG FP. Genetic and functional properties of uncultivated MCG archaea assessed by metagenome and gene expression analyses[J]. The ISME Journal, 2014, 8(3): 650-659.
- [50] LLOYD KG, SCHREIBER L, PETERSEN DG, KJELDSSEN KU, LEVER MA, STEEN AD, STEPANAUSKAS R, RICHTER M, KLEINDIENST S, LENK S, SCHRAMM A, JØRGENSEN BB. Predominant Archaea in marine sediments degrade detrital proteins[J]. Nature, 2013, 496: 215-218.
- [51] KARNER MB, DeLONG EF, KARL DM. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean[J]. Nature, 2001, 409: 507-510.
- [52] NAGATA T, FUKUDA H, FUKUDA R, KOIKE I. Bacterioplankton distribution and production in deep Pacific waters: large-scale geographic variations and possible coupling with sinking particle fluxes[J]. Limnology and Oceanography, 2000, 45(2): 426-435.
- [53] LABRENZ M, SINTES E, TOETZKE F, ZUMSTEG A, HERNDL GJ, SEIDLER M, JÜRGENS K. Relevance of a crenarchaeotal subcluster related to *Candidatus Nitrosopumilus maritimus* to ammonia oxidation in the suboxic zone of the central Baltic Sea[J]. The ISME Journal, 2010, 4(12): 1496-1508.