



冲绳海槽南部热液区附近柱状沉积物中微生物的垂直分布多样性及其对环境因子的响应

邓兴渝, 曹文瑞, 姜明玉, 曾志刚, 常凤鸣, 宋召军

Microbial vertical diversity in core sediments and its response to environmental factors near the hydrothermal field of the southern Okinawa Trough

DENG Xingyu, CAO Wenrui, JIANG Mingyu, ZENG Zhigang, CHANG Fengming, and SONG Zhaojun

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.16562/j.cnki.0256-1492.2023061901>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

冲绳海槽海底热液区附近浮岩气孔充填沉积物中热液活动的地球化学记录

Geochemical records of hydrothermal activities in the sediment fillings within pumice's vesicles in the vicinity of a seafloor hydrothermal field in the Okinawa Trough

海洋地质与第四纪地质. 2018, 38(5): 102

冲绳海槽表层沉积物元素地球化学及其对物源和热液活动的指示

Elemental geochemistry of surface sediments in Okinawa Trough and its implications for provenance and hydrothermal activity

海洋地质与第四纪地质. 2018, 38(2): 25

冲绳海槽南部海底热液活动区地形地貌特征及成因分析

Topographic features of the hydrothermal field and their genetic mechanisms in southern Okinawa Trough

海洋地质与第四纪地质. 2019, 39(4): 12

冲绳海槽海底冷泉-热液系统相互作用

Interaction between seafloor cold seeps and adjacent hydrothermal activities in the Okinawa Trough

海洋地质与第四纪地质. 2019, 39(5): 23

冲绳海槽中南部不同环境表层沉积物物质来源

Provenance analysis for surface sediments in different depositional environments of the middle-south Okinawa Trough

海洋地质与第四纪地质. 2021, 41(1): 115

菲律宾海及其邻近海域表层沉积物中放射虫的分布对不同区域环境的响应

Radiolarian distribution in surface sediments of the Philippine Sea and adjacent areas and its response to environment

海洋地质与第四纪地质. 2021, 41(1): 87



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

邓兴渝, 曹文瑞, 姜明玉, 等. 冲绳海槽南部热液区附近柱状沉积物中微生物的垂直分布多样性及其对环境因子的响应 [J]. 海洋地质与第四纪地质, 2023, 43(5): 198-213.

DENG Xingyu, CAO Wenrui, JIANG Mingyu, et al. Microbial vertical diversity in core sediments and its response to environmental factors near the hydrothermal field of the southern Okinawa Trough[J]. Marine Geology & Quaternary Geology, 2023, 43(5): 198-213.

冲绳海槽南部热液区附近柱状沉积物中微生物的垂直分布多样性及其对环境因子的响应

邓兴渝^{1,2}, 曹文瑞², 姜明玉², 曾志刚², 常凤鸣², 宋召军¹

1. 山东科技大学地球科学与工程学院, 青岛 266590

2. 中国科学院海洋研究所海洋地质与环境重点实验室, 青岛 266071

摘要:近年来, 海底热液环境中的微生物及其环境适应机制已经成为海洋科学研究的热点。目前, 相关的研究主要集中在表层沉积物及微生物的水平分布多样性方面, 而对柱状沉积物中微生物垂直分布多样性研究却很少。本文基于西太平洋冲绳海槽南部热液区附近 S2 站位的柱状沉积物样品, 通过对其不同层位的样品进行分离培养和 16S rRNA 基因高通量测序, 揭示了样品中可培养微生物和总体微生物的垂直群落分布特征, 同时结合对样品主量元素、微量元素、碳氮含量等指标的评估和冗余分析等统计学方法, 讨论了微生物群落结构及其对环境因子的响应。研究发现该位点的柱状沉积物有机质含量较为贫乏, 存在两个富含 Cu-Zn-Pb 的层; 各个层位的沉积物中微生物类群均以变形菌为主要类群, 同时表层沉积物表现出更高的微生物多样性。此外研究还表明柱状沉积物中有机碳含量与其微生物的群落组成有着更为密切的关系。总之, 本研究的结果和获得的菌种资源为进一步深入研究海底热液环境中微生物参与元素地球化学循环的过程提供了一定的基础。

关键词:海底热液; 微生物群落结构; 柱状沉积物; 环境因子; 冲绳海槽

中图分类号: P736

文献标识码: A

DOI: [10.16562/j.cnki.0256-1492.2023061901](https://doi.org/10.16562/j.cnki.0256-1492.2023061901)

Microbial vertical diversity in core sediments and its response to environmental factors near the hydrothermal field of the southern Okinawa Trough

DENG Xingyu^{1,2}, CAO Wenrui², JIANG Mingyu², ZENG Zhigang², CHANG Fengming², SONG Zhaojun¹

1. College of Earth Science and Engineering, Shandong University of Science and Technology, Qingdao 266590, China

2. Key Laboratory of Marine Geology and Environment, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: In recent years, microbe and its adaptation mechanism in submarine hydrothermal environment have become the focus of marine science research. At present, relevant researches focus on the horizontal distribution diversity of surface sediments and microorganisms, and only few researches on the vertical distribution diversity of microorganisms in columnar sediments. Based on the columnar sediment samples from the S2 station in the southern hydrothermal area of the Okinawa Trough in the western Pacific Ocean, we revealed the vertical community distribution characteristics of culturable microorganisms and the overall microorganisms in the samples through isolation, culture, and high-throughput sequencing of 16S rRNA gene from the samples at different levels. At the same time, the microbial community structure and its response to environmental factors were discussed by using statistical methods such as the evaluation of major elements, trace elements, carbon and nitrogen contents, and redundancy analysis. Results show that the organic matter content of the core sediment at this site is relatively poor, and Cu-Zn-Pb is rich in two layers; the microbial community of each layer is composed of mainly Proteobacteria, while the surface sediments exhibit higher microbial diversity. Meanwhile, it indicated a closer relationship between the organic carbon content of core sediments and the composition of their microbial communities. This study obtained bacterial strain resources and provided a basis for further research into

资助项目:山东省自然科学基金面上项目“冲绳海槽唐印热液区周边沉积物中硫氧化菌多样性及其硫代谢途径的比较研究”(ZR2020MD088); 国家自然科学基金面上项目“西太平洋铁锰结核的生物成矿特征及其成矿元素的微生物迁移过程研究”(41976202); 中国科学院海洋地质与环境重点实验室开放基金课题(MGE2022KG4, MGE2022KG6); 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目“典型弧后盆地热液活动及其成矿机理”(2013CB429700); 泰山学者工程“海底热液系统、岩浆活动、沉积记录与结核结壳研究”(ts201511061)

作者简介: 邓兴渝(1998—), 女, 硕士研究生, 主要从事地质微生物方向研究, E-mail: dengxingyu@qdio.ac.cn

通讯作者: 曹文瑞(1985—), 男, 副研究员, 研究方向为地质微生物, E-mail: wrcao@qdio.ac.cn

收稿日期:2023-06-19; **改回日期:**2023-07-30. 文凤英编辑

microbial participation in the geochemical cycle of elements in submarine hydrothermal environment.

Key words: seafloor hydrothermal field; microbial community; core sediment; environmental factors; Okinawa Trough

深海沉积环境不仅具有低温、高压等特点,而且还含有复杂和独特的化学成分,不同深海生境(如热液喷口、冷泉、多金属结核区和海山区等)的微生物群落存在显著差异^[1],它们不仅参与元素循环,同时其参与的氧化还原过程也非常复杂^[2]。而深海热液区则代表了地球上最具物理和化学多样性的生境^[3-4],其化学梯度和热梯度为微生物群落提供了广泛的生态位^[5-6]。

为了研究与深海热液环境相关的微生物多样性,研究人员利用纯培养和免培养的方法,发现了包括深海热液喷口在内的极端环境中的微生物群落^[7]。尽管纯培养的方法对于利用模式微生物来解释验证热液发生过程非常关键,而且对于发现新物种、新的天然活性产物等以及其他有工业应用潜力的天然产品也有重要意义^[8-9],但是由于热液环境的微生物分离培养较为困难,所以这方面的研究目前还较少。Wang 等^[10]从西北印度洋卡尔斯伯格洋中脊热液区成功分离与纯化到了代表性的菌种,首次证实了该类群微生物具有硫还原功能,并在氢气的氧化过程中获得能量,揭示了其单质硫还原的关键基因和代谢途径。杜瑞等^[11]曾对冲绳海槽热液区的硫氧化细菌进行了分离培养,并对其代谢类型和活性进行了初步探究,为深海热液系统的硫循环机制奠定了基础。与纯培养的技术相比,免培养的方法具有检测整个微生物系统多样性的优势,包括尚未培养的微生物的多样性^[12-14]。迄今为止,利用免培养方法对冲绳海槽热液区微生物群落的研究相继报道^[15-21],但是这些研究对象大多是热液区的表层沉积物。

冲绳海槽是西北太平洋的新近纪弧后裂谷盆地,存在着许多活动热液区,在气候生态、海洋矿产资源^[22-23]和营养循环中发挥着重要作用^[24]。冲绳海槽南部,平均水深在 2 000 m 以上^[25-26],除具有一般深海环境的高压、低温和黑暗等特点外,该区域还含有丰富的金属资源,其包含锰、铁、镍、钴和铜等几十种元素^[27]。本研究样品位于第四与那国(Yonaguni Knoll IV)热液区以及唐印(Tangyin)热液区附近。其中第四与那国热液区位于长约 1 000 m、宽约 500 m 的狭长的深谷区,活动的热液区呈南-北向排列^[28-29]。唐印热液区(25°04'N、122°34'E)则是 2014 年 HOBAB3 航次利用“科学号”科学考察船新发现的,它位于雨花山海丘北坡,水深 1 206 m,

在本区发现了旺盛的海底热液活动和密集的化能自养生物群落^[28,30]。目前,关于冲绳海槽南部 HOBAB4-S2 沉积物柱状样的研究,主要是对其进行了年代学分析、粒度分析、矿物学分析(硫化物矿物和黏土矿物)、沉积物地球化学以及单矿物的元素和硫同位素组成等方面的研究^[28]。然而应用微生物学和分子生物学等技术手段对该样品的微生物群落组成进行深入调查,并结合环境因子进行分析的研究尚未开展。

因此,本研究以冲绳海槽南部热液区附近 HOBAB4-S2 沉积物柱中不同层位的沉积物样品为研究对象,基于纯培养方法和 16S rRNA 基因的 V3-V4 区域 Illumina 平台的高通量测序技术,对该沉积物柱的微生物垂直分布多样性开展调查,并结合样品的地球化学特征分析微生物群落组成对关键环境因子的响应。

1 材料与方法

1.1 样本来源

本研究样品是 2016 年 5 月由中国科学院海洋研究所“科学”号考察船在 HOBAB4 航次期间通过重力沉积物柱取样器从冲绳海槽南部的 S2 站采集的,该 HOBAB4-S2 沉积物岩芯全长 4.77 m,其位于唐印热液区和第四与那国热液区之间的裂谷盆地(24°52'49.91"N、122°37'19.70"E),水深为 1 505 m^[28]。

1.2 元素地球化学特征

分层处理后的沉积物样品被冷冻干燥,选取所需层位的沉积物样品,每个层位取 > 10.0 g 沉积物样品于 60℃ 烘箱中烘干,将烘干样品用玛瑙研钵研磨并过筛(100 目)。利用 S8 Tiger X 射线荧光光谱仪(X-ray Fluorescence, XRF)(Bruker, 德国)测定每个样品中的主、微量元素组成情况,检出限为 0.8~220 μg/g;利用 PE 2400 II CHNS/O 分析仪(Perkin-Elmer, 美国)测定每个样品的总有机碳(TOC)、总碳(TC)和总氮(TN)含量,TOC、TC 和 TN 的检测下限分别为 0.07%、0.07% 和 0.02%。上述分析测试均在中国科学院海洋研究所分析测试中心完成,分析结果用于了解沉积物样品的地球化学特征和初级生产力。

1.3 主要试剂和培养基

在无菌条件下,将 1 g 沉积物样品加至 9 mL 无菌海水中,充分震荡,静置 10 min 后取上清液 1 mL 继续用无菌海水进行梯度稀释,最终获得 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 共计 5 个浓度梯度的稀释液。每个梯度分别取 100 μ L 涂布在分离培养基平板上,随后置于 25 $^{\circ}$ C 培养 5—7 天。本研究所用的分离培养基有 2216E^[31]、SPG 和 ASC 培养基^[11, 32]。

在 25 $^{\circ}$ C 培养箱中培养后,观察平板中菌落形态,对菌落大小、颜色、边缘、透明度等特征进行描述和记录。根据形态特征,挑取平板中不同形态的单菌落,在对应的培养基平板上进行划线纯化。将纯化后的菌株接种对应的液体培养基培养,离心后将菌体细胞重悬于 20% 的甘油中,并转入冻存管,放在 -80 $^{\circ}$ C 下保藏。

1.4 菌株 DNA 提取、16S rRNA 基因扩增和分类鉴定及系统发育分析

采用煮沸法提取菌株的基因组 DNA,选择 27F/1492R 通用引物(27F: 5'-AGAGTTTGATCMTGG-CTCAG-3'; 1492R: 5'-TACGGYTACCTTGTTACGAC-3')对菌株的 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增^[33, 34]。PCR 扩增使用以下程序:在 94 $^{\circ}$ C 下初始预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 45 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 60 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 继续延伸 10 min, 于 4 $^{\circ}$ C 保存^[35]。PCR 产物在 1% 琼脂糖凝胶上通过电泳进行检测,将合格的 PCR 产物送至北京六合华大基因科技有限公司

进行测序。

将所得的 16S rRNA 基因序列在 NCBI 数据库中进行 BLAST 比对(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>),同时在 EzTaxon-e 服务器(<http://www.ezbiocloud.net>)中计算所得序列与亲缘模式菌株的 16S rRNA 基因序列的相似性。使用 CLUSTAL X 对所有获得的 16S rRNA 基因序列和所对应的亲缘模式菌株的 16S rRNA 基因序列进行多重比对。随后使用 MEGA(version 11)^[36]进行系统发育分析,并构建基于最大似然法(Maximum likelihood approach)^[37]的系统发育树。构建过程使用 complete deletion 选项进行分析,并根据双参数模型(Kimura's two-parameter model)^[38]计算距离,进行 1000 次重复验证。

1.5 环境样品 DNA 提取扩增、高通量测序和数据分析

对于选取的每个沉积物样品,分别采集三份重复样,利用试剂盒 Fast DNA Soil-Direct Kit(MP BIO, 美国)提取沉积物样品的总 DNA。DNA 浓度和完整性分别通过 NanoDrop 2000 分光光度计(Therm, USA)和琼脂糖凝胶电泳进行评估。以提取的样品 DNA 为模板,用引物 343F(5'-TACGGRAGGCAGCAG-3')和 798R(5'-AGGGTATCTAATCCT-3'),对 16S rRNA 基因的 V3-V4 区进行扩增^[39]。PCR 产物使用电泳检测,检测后使用磁珠纯化,纯化后作为二轮 PCR 模板,进行二轮 PCR 扩增,并再次使用电泳检测,检测后使用磁珠纯化,纯化后对 PCR 产物进行 Qubit

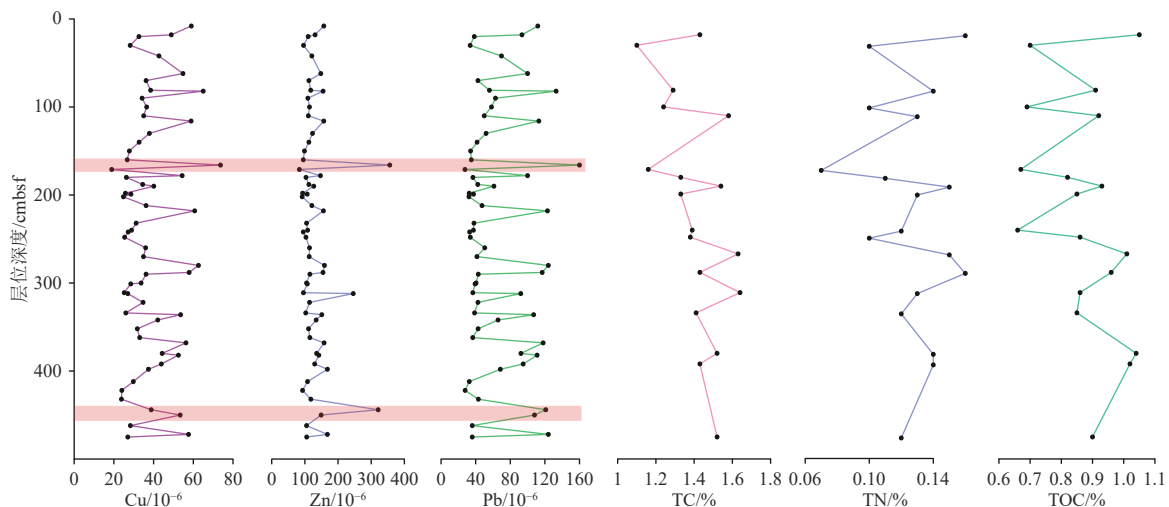


图 1 不同层位沉积物中 Cu、Zn、Pb、TC、TN 和 TOC 含量变化

部分数据来自 Yang et al^[40]。

Fig.1 Variations in Cu, Zn, Pb, TC, TN, and TOC concentrations in different layers

Parts of data are from Yang et al^[40].

定量。根据 PCR 产物浓度进行等量混样, 并上机测序。

获得的高通量原始序列数据用 cutadapt 软件剪切掉引物序列, 并使用 DADA2 将上一步合格的双端原始数据(raw data)使用 Qiime2 默认参数进行质量过滤、降噪、拼接及去嵌合体等质控分析之后, 对序列进行去重; 得到代表序列及 ASV(Amplicon Sequence Variant, 扩增子序列变异)丰度表格。使用 QIIME 2 软件包挑选出各个 ASV 的代表序列后, 并将所有代表序列与 Silva(version138)数据库(<https://ftp.arb-silva.de>)进行比对注释。物种比对注释使用 q2-feature-classifier 软件默认参数进行分析。菌群丰富度指数(Chao)、多样性指数(Shannon 和 Simpson)以及发育树谱系多样性指数(PD whole tree)等 α 多样性指数使用 QIIME 计算。由于每个样品的 3 个重复呈现的微生物群落组成是相近的, 在进一步分析中使用了 3 个重复的平均值。利用主坐标分析(Principal coordinates analysis, PCoA)评估不同样品之间的相似性及差异性, 同时利用冗余分析(Redundancy analysis, RDA)讨论环境因子、样品、微生物类群三者之间的关系。上述 16S rRNA 基因扩增子测序和数据分析在青岛欧易生物科技有限公司和欧易生物云平台(<https://cloud.oebiotech.com/>)完成。

1.6 登录序列号

本研究可培养菌株 16S rRNA 基因序列已提交 GenBank, 登录号见表 1。本研究 16S rRNA V3-V4 区高通量测序序列已提交 GenBank, 登录号为: SRR24489263-SRR24489263319。

2 结果

2.1 主量元素和微量元素组成分析

冲绳海槽南部沉积岩芯 HOBAB4-S2 的主量元素分析结果表明, 其 SiO_2 的含量较高, 其次是 Al_2O_3 含量, MgO 、 Na_2O 含量则较低。结合前人测得的部分数据^[40], 其中 SiO_2 含量的变化范围为 55.35%~69.31%, 平均值 59.56%($n=61$); Al_2O_3 含量的变化范围为 10.01%~16.86%, 平均值 15.54%($n=61$); MgO 含量的变化范围为 1.91%~2.71%, 平均值 2.42%($n=61$); Na_2O 含量的变化范围为 1.78%~2.46%, 平均值 2.09%($n=61$)。Cu 含量为 18.9×10^{-6} ~ 65.0×10^{-6} , 平均值 38.35×10^{-6} ($n=61$), Zn 和 Pb 含量分别为 83.4×10^{-6} ~ 356×10^{-6} 和 27.6×10^{-6} ~ 160×10^{-6} , 平

均值分别为 129.82×10^{-6} ($n=61$) 和 64.49×10^{-6} ($n=61$)。在沉积岩芯 HOBAB4-S2 孔中发现了两个富含 Cu-Zn-Pb 的层(图 1), 分别在 166 cmbsf 和 444 cmbsf 处。我们研究的冲绳海槽南部沉积岩芯 HOBAB4-S2 微量元素含量普遍较高, 其 Ba、Zr、Ti 的含量平均值分别为 507.74×10^{-6} 、 193.32×10^{-6} 、 4693.74×10^{-6} ($n=19$)。此外, 该沉积物柱的总碳、总氮和总有机碳含量测试结果表明, 其总碳、总氮和总有机碳平均含量分别为 1.42%、0.13%、0.88%, 且总碳在 30 cmbsf 处的沉积物中含量最低, 而总氮在 171 cmbsf 处的沉积物中含量则最低, 分别为 1.10% 和 0.07%(表 1)。

2.2 可培养细菌的分离鉴定及其多样性

共从冲绳海槽沉积物中分离获得 64 株菌种, 随后通过近全长 16S rRNA 基因序列分析鉴定。结果表明, 这些菌株属于 4 个门、5 个纲、7 个目、14 个科、25 个属; 有 38 株、1 株、21 株、4 株分别属于 Proteobacteria(变形菌门)、Bacteroidota(拟杆菌门)、Bacillota(芽孢杆菌门)、Actinomycetota(放线菌门)。其中, Proteobacteria 是最大的一个类群, 包含两类, 即 19 株 Alphaproteobacteria(α -变形菌纲)和 19 株 Gammaproteobacteria(γ -变形菌纲)。在目水平上, 21 株 Bacillales(芽孢杆菌目)是优势类群, 其次是 19 株 Oceanospirillales(海洋螺菌目)、12 株 Rhizobiales(根瘤菌目)、4 株 Sphingomonadales(鞘脂单胞菌目)和 4 株 Pseudonocardiales(假诺卡式菌目)。对于其他 3 个目, 每个目的分离菌株都少于 4 株。在科水平上, 最丰富的科是 15 株 Alcanivoracaceae(食碱菌科)、13 株 Bacillaceae(芽孢杆菌科)和 7 株 Phyllobacteriaceae(叶杆菌科)。其他 9 个科中的每科都少于 7 株。从属上看, 其中占据优势地位的是 Alcanivorax 的菌株, 占比达到了分离菌株总数的 1/4, 其次为 Paenisporosarcina, 占比约 11%。从不同沉积物层位分离得到菌株的详细信息见表 2。

将所有菌株及其已知亲缘模式菌株一起构建基于 16S rRNA 基因序列的系统发育树(图 2)。结果表明, 作为占据优势数量的 Proteobacteria 中的 Alcanivorax xenomutans, 从表层到深层的沉积物中均有分离出, 而其他分离到的属于 Proteobacteria 的物种, 如 Citromicrobium bathyomarinum, Martelella mediterranea, Nitratireductor aquibiodomus, Pelagerythrobacter marinus, Qipengyuania vulgaris 则大多来自于更深层的环境中。分离得到隶属于 Bacillota 的菌株则明显分为两大类群, 其中属于

表 1 本研究使用样品的地球化学组成
Table 1 Geochemical compositions of the samples used in this study

样品深度/ cmbsf	18	30	81	100	110	171	181	190	199	240	248	267	288	301	311	334	380	392	475
Na ₂ O/%	2.03	1.98	1.81	1.9	1.86	1.98	1.8	1.84	1.84	1.79	1.79	1.78	1.95	1.89	1.96	1.83	1.89	2.02	1.88
MgO/%	2.64	2.3	2.49	2.5	2.59	2.03	2.43	2.65	2.58	2.4	2.38	2.41	2.71	2.58	2.48	2.39	2.54	2.57	2.49
Al ₂ O ₃ /%	16.32	15.39	16.33	15.77	15.23	14.25	16.11	16.65	16.31	16.37	16.2	16.41	16.13	15.92	15.31	15.98	15.96	15.9	16.37
SiO ₂ /%	58.88	60.43	59.27	59.7	59.17	62.59	59.43	58.05	57.99	59.26	59.53	59.27	59.12	58.48	58.99	59.51	59.62	58.96	58.55
Fe ₂ O ₃ /%	6.43	5.85	6.43	6.03	5.98	5.09	6.21	6.41	6.43	6.31	6.18	6.23	6.32	6.23	5.8	6.14	6.26	6.24	6.26
K ₂ O/%	3.26	2.97	3.27	3.11	3.09	2.76	3.26	3.46	3.35	3.29	3.23	3.26	3.28	3.23	3.04	3.21	3.24	3.17	3.28
CaO/%	2.21	2.67	2.4	2.66	3.52	2.92	2.6	2.66	2.92	2.55	2.6	2.49	2.41	3.13	3.46	2.68	2.52	2.62	2.75
P/10 ⁻⁶	706.1	714.3	684.3	674	632.5	623.6	631.4	607.2	635.4	642	649.2	689.1	646.6	602.5	653.1	620.1	623	899	618.5
S/10 ⁻⁶	761.1	859.7	649.3	841	804.9	956.8	567.1	580.2	657.2	517.6	559	569.4	620.3	650.5	782.9	556.5	734.1	660.4	661.3
Cl/10 ⁻⁶	6037.2	6000	3860.6	4979.2	4420.3	5220.8	4230.2	5057	5537.6	3815.5	4061.6	4257.9	5084	5536.1	6376.4	4519.6	4159.3	6186.9	5395
Ti/10 ⁻⁶	4742.1	4697.5	4834.1	4714.8	4530.7	4377.6	4777.1	4603	4734.4	4868.5	4826	4845.9	4641.3	4639.4	4567	4743.7	4663.3	4562.8	4811.9
V/10 ⁻⁶	131.8	110	128.4	124.9	122.7	100.9	122.7	129.6	128.4	118.9	119.6	117.4	139.2	127.3	117	119.8	131.9	129.2	125
Cr/10 ⁻⁶	99.5	84.6	94.9	88.2	88.8	76.1	90.1	100.1	95.2	91.6	90.8	90	97.6	92.6	85.8	88.6	94.6	89.8	93.4
Mn/10 ⁻⁶	478.4	505.3	527.1	463	496.2	404.1	507	475	493.8	513.2	510.5	542.4	489.8	503.1	492.1	509.3	458.6	623.8	529.6
Co/10 ⁻⁶	16.5	16.6	18.6	16	21.8	13.9	16.6	16.7	16.1	15.6	15.6	17.7	17.7	17.5	16	17	16.7	16	16.8
Ni/10 ⁻⁶	40.3	35.8	40.8	37.2	36.9	30.8	37.5	39.9	38.5	38.5	37.3	37.5	39.4	39.5	35.9	36.9	38.8	37.3	39
Cu/10 ⁻⁶	48.9	28.2	38.5	36.5	35	18.9	26.3	40.1	28.6	28.9	25.4	26.5	57.9	28.5	25.2	26	44.3	43.9	27
Zn/10 ⁻⁶	130.8	95.9	117.6	113.9	110.4	83.4	103.3	126.8	107.2	108.3	103.2	105.5	154.7	107.4	95.7	102.5	135.4	129.5	105.4
Ga/10 ⁻⁶	21.2	19.7	22.5	20.2	20.9	18.3	21	22.9	21.6	22.8	20.9	21.6	21.3	21.7	19	21.5	22.2	20.7	21.7
As/10 ⁻⁶	17	15.5	19.4	12.3	10.5	8.3	12.2	14.8	12.5	12.6	12.2	13.2	17.3	11.6	9.2	11.5	14	14.7	11.7
Rb/10 ⁻⁶	150.6	135.9	153.3	141.8	140.8	122.5	152.7	163.4	158	157.3	151.8	152.6	150.5	151.1	137.3	150.6	149.7	144.6	154
Sr/10 ⁻⁶	144	149	149	149	170	149	149	155	159	151	152	147	151	162	167	152	151	155	155
Zr/10 ⁻⁶	194	208	190	203	189	236	196	170	177	192	198	196	184	179	200	194	189	191	187
Nb/10 ⁻⁶	18.3	21.6	18	17.3	17.7	17	18.8	17.7	20.4	18.5	19	18.7	17.8	19	18.9	18.5	21.1	17.8	18.2
U/10 ⁻⁶	3.7	3.8	3.5	3.5	3.9	2.9	3.8	3.9	4.2	4.1	3.8	3.8	3.8	3.8	3.4	3.8	3.9	3.6	3.6
Mo/10 ⁻⁶	1.2	1.5	1.3	1.1	1.3	1	1.4	1.5	1.6	1.3	1.3	1.3	1.4	1.4	1.3	1.3	1.7	1.2	1.3
Sn/10 ⁻⁶	10.1	9.7	8.3	7.3	10.6	8	12.2	14.6	13.6	9.5	11.1	14.2	10.9	14.4	15.2	10.8	18.7	13.6	10.9
Sb/10 ⁻⁶	15.2	9.6	9.3	7.1	10	11.2	13.4	18.3	13.8	7.7	12.3	15.7	11.8	20.6	17.2	13	24.5	15	14.9
Ba/10 ⁻⁶	524	474	521	493	507	430	517	549	515	509	500	497	562	504	487	503	537	518	500
Hf/10 ⁻⁶	5.5	5.9	5.4	6	5.5	6.7	5.5	5.1	5.1	5.7	5.9	5.5	5.3	5.4	5.8	5.5	5.2	5.6	5.3
W/10 ⁻⁶	2.9	7.3	5.1	12.1	9.1	12.9	4.4	2.4	6.3	4.3	4.2	6.9	11.6	3.2	7.6	4.3	4.4	6.6	4.6
Pb/10 ⁻⁶	93.5	33.6	55.9	58.3	49.9	27.6	36.8	61.1	37.5	37.4	33.8	34.5	116.9	39.3	36.7	38.7	92.3	94.9	36
Bi/10 ⁻⁶	0.5	0.2	1	1.3	1.4	2.4	1.2	1.6	0.3	1.3	1.5	0	0	0	0.7	1	0.6	1.3	0
Th/10 ⁻⁶	15.2	15	13.8	13.9	12.8	10.6	16.1	14	16.1	14.7	14.6	15.5	14.7	16.4	13.1	14.8	15.1	14.7	14.5
Ce/10 ⁻⁶	76.5	54.2	62.8	73.7	71.8	74.8	65.5	68.4	78.7	72.8	66.4	69.4	66.8	68.4	72.9	65.1	68	65.7	84.4
Nd/10 ⁻⁶	27.8	38.4	34	29.1	32.8	29.3	35.1	31	26.9	26.8	33.6	30.8	35.7	31.3	31.8	28	27.5	25.2	29.5

续表 1

样品深度/cmbsf	18	30	81	100	110	171	181	190	199	240	248	267	288	301	311	334	380	392	475
Y/10 ⁻⁶	26.8	27.4	26.8	27	25.5	26.1	26.8	24.4	26	26.2	27.7	27.2	25.8	25.8	26.1	26.7	25.4	25.6	27
La/10 ⁻⁶	44.7	36.3	44.3	35.3	36.4	40.3	41.2	36.4	44.6	44.8	39.8	42	37.7	38.1	33.8	40.8	38.2	44.6	43.8
Sc/10 ⁻⁶	13.9	15	16.6	14.7	15.5	10.6	16	15.6	16.1	13.6	12.9	17.5	13.4	14.3	12.8	15.9	15.1	15.4	14.3
TN/%	0.16	0.1	0.14	0.1	0.13	0.07	0.11	0.15	0.13	0.12	0.1	0.15	0.16	0.12	0.13	0.12	0.14	0.14	0.12
TC/%	1.43	1.1	1.29	1.24	1.58	1.16	1.33	1.54	1.33	1.39	1.38	1.63	1.43	1.62	1.64	1.41	1.52	1.43	1.52
TOC/%	1.05	0.7	0.91	0.69	0.92	0.67	0.82	0.93	0.85	0.66	0.86	1.01	0.96	0.98	0.86	0.85	1.04	1.02	0.9

表 2 基于 16S rRNA 基因序列的菌株分类鉴定信息
Table 2 Isolation and identification of strains based on 16S rRNA gene sequence analysis

菌株号	亲缘菌株	16S rRNA 基因相似性/%	层位深度/cmbsf	16S rRNA 基因序列登录号
18A01	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	99.22	18	OQ186762
18E01	<i>Bacillus tequilensis</i> KCTC 13 622 ^T	99.79	18	OQ186763
18E02	<i>Pelagibacterium halotolerans</i> B2 ^T	99.78	18	OQ186764
18E03	<i>Bacillus altitudinis</i> 41KF2b ^T	99.93	18	OQ186765
18E04	<i>Pseudonocardia carboxydivorans</i> Y8 ^T	99.93	18	OQ186766
18E05	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	100	18	OQ186767
18M01	<i>Alcanivorax venustensis</i> ISO4 ^T	100	18	OQ186768
18S01	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	100	18	OQ186769
81A02	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	99.93	81	OQ186770
81E01	<i>Rosellomorea aquimaris</i> TF-12 ^T	99.21	81	OQ186771
81E02	<i>Sutcliffiella halmapala</i> DSM 8 723 ^T	99.14	81	OQ186772
81E03	<i>Rosellomorea aquimaris</i> TF-12 ^T	99.29	81	OQ186773
81E05	<i>Fictibacillus arsenicus</i> Con a/3 ^T	99.71	81	OQ186774
81E06	<i>Bacillus safensis</i> subsp. <i>safensis</i> FO-36b ^T	99.86	81	OQ186775
81E07-1	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	99.93	81	OQ186777
81E07-2	<i>Staphylococcus pseudoxylosus</i> S04009 ^T	99.86	81	OQ186778
81E08	<i>Mesobacillus thioparans</i> BMP-1 ^T	99.71	81	OQ186779
81E09	<i>Mesorhizobium sediminum</i> YIM M12096 ^T	99.77	81	OQ186780
110E01	<i>Halomonas titanicae</i> BH1 ^T	99.44	110	OQ186781
110E02	<i>Metabacillus idriensis</i> SMC 4 352-2 ^T	99.93	110	OQ186782
110E03	<i>Pseudonocardia carboxydivorans</i> Y8 ^T	100	110	OQ186783
110E04	<i>Mesorhizobium sediminum</i> YIM M12096 ^T	99.77	110	OQ186784
110E05	<i>Pelagibacterium halotolerans</i> B2 ^T	99.78	110	OQ186785
110E06	<i>Sutcliffiella horikoshii</i> DSM 8 719 ^T	99.29	110	OQ186786
110E07	<i>Virgibacillus halodenitrificans</i> DSM 10 037 ^T	99.93	110	OQ186787
181E01	<i>Halomonas titanicae</i> BH1 ^T	100	181	OQ186788
181E02	<i>Rosellomorea aquimaris</i> TF-12 ^T	99.36	181	OQ186789
181E03	<i>Pseudonocardia carboxydivorans</i> Y8 ^T	99.79	181	OQ186790

续表 2

菌株号	亲缘菌株	16S rRNA 基因相似性/%	层位深度/cmbsf	16S rRNA基因序列登录号
181E04	<i>Nitratireductor aquibiodomus</i> JCM 21 793 ^T	99.08	181	OQ186791
181M01	<i>Halomonas titanicae</i> BH1 ^T	100	181	OQ186792
181S01	<i>Martelella mediterranea</i> DSM 17 316 ^T	99.63	181	OQ186793
199A01	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	100	199	OQ186794
199E01	<i>Nitratireductor aquibiodomus</i> JCM 21 793 ^T	99.17	199	OQ186795
199E02	<i>Mesorhizobium sediminum</i> YIM M12096 ^T	99.77	199	OQ186796
199E03	<i>Pseudonocardia carboxydivorans</i> Y8 ^T	99.78	199	OQ186797
199M01	<i>Halomonas titanicae</i> BH1 ^T	100	199	OQ186798
248E02	<i>Paenisporosarcina quisquiliarum</i> SK 55 ^T	99.38	248	OQ186799
248E04	<i>Nitratireductor aquibiodomus</i> JCM 21 793 ^T	99.03	248	OQ186800
248E05	<i>Citromicrobium bathyomarinum</i> JF-1 ^T	99.7	248	OQ186801
301A01	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	99.93	301	OQ186802
301E02	<i>Paenisporosarcina macmurdoensis</i> CMS 21w ^T	99.31	301	OQ186803
301E04	<i>Paenisporosarcina macmurdoensis</i> CMS 21w ^T	99.72	301	OQ186804
301E05	<i>Pelagerythrobacter marinus</i> H32 ^T	99.93	301	OQ186805
301E06	<i>Nitratireductor aquibiodomus</i> JCM 21 793 ^T	98.94	301	OQ186806
334E03	<i>Paenisporosarcina macmurdoensis</i> CMS 21w ^T	99.15	334	OQ186807
334E04	<i>Paenisporosarcina macmurdoensis</i> CMS 21w ^T	99.14	334	OQ186808
334E05	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	100	334	OQ186809
334M01	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	99.93	334	OQ186810
334S02	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	100	334	OQ186811
334S03	<i>Muricauda ruestringensis</i> DSM 13 258 ^T	98.48	334	OQ186812
334S04	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	100	334	OQ186813
392A01	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	99.93	392	OQ186814
392E01	<i>Paenisporosarcina quisquiliarum</i> SK 55 ^T	99.71	392	OQ186815
392E02	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	100	392	OQ186816
392E03	<i>Pelagerythrobacter marinus</i> H32 ^T	100	392	OQ186817
392E04	<i>Pelagibacterium nitratireducens</i> JLT2005 ^T	99.77	392	OQ186818
392E05	<i>Paracoccus marcusii</i> DSM 11 574 ^T	99.77	392	OQ186819
392E06	<i>Paenisporosarcina quisquiliarum</i> SK 55 ^T	99.79	392	OQ186820
475E01	<i>Alkalihalobacillus hwajinpoensis</i> SW-72 ^T	99.65	475	OQ186821
475E02	<i>Thalassospira xiamenensis</i> M-5 ^T	99.65	475	OQ186822
475E03	<i>Qipengyuania vulgaris</i> 022 2-10 ^T	99.85	475	OQ186823
475E04	<i>Pelagibacterium nitratireducens</i> JLT2005 ^T	99.7	475	OQ186824
475S01	<i>Alcanivorax xenomutans</i> JC109 ^T	99.93	475	OQ186825
475M01	<i>Thalassospira xiamenensis</i> M-5 ^T	99.85	475	OQ186826

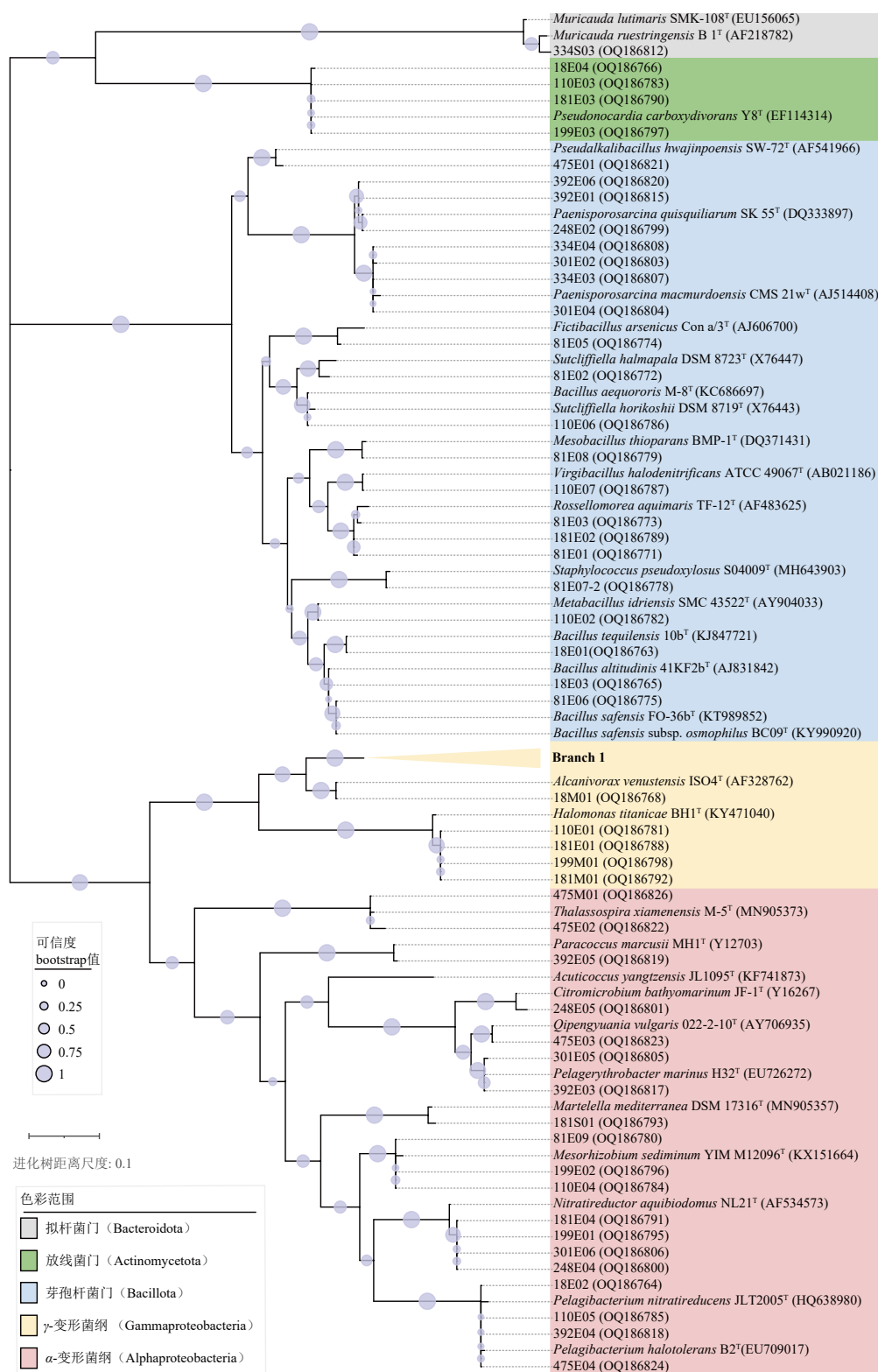


图 2 基于 16S rRNA 基因序列构建的可培养细菌的系统发育树

分支 1 中包含的菌株有 18A01、18E05、18S01、81A02、81E07-1、199A01、301A01、334E05、334M01、334S02、334S04、392A01、392E02、475E05 和 *Alcanivorax xenomutans* JC109^T (HE601937)。

Fig.2 Phylogenetic tree of cultivable bacteria isolated from hydrothermal field sediment core in the southern Okinawa Trough based on the 16S rRNA gene sequences using the maximum-likelihood algorithm

GenBank accession numbers are shown in parentheses. Bar, 0.1 substitutions per nucleotide position. Branch 1 represented 18A01, 18E05, 18S01, 81A02, 81E07-1, 199A01, 301A01, 334E05, 334M01, 334S02, 334S04, 392A01, 392E02, 475E05, and *Alcanivorax xenomutans* JC109^T (HE601937).

Bacillaceae 的菌株除了 181E02、475E01 之外,均来自于较上层的沉积物 (≤ 110 cmbsf); 而 Planococcaceae(葡萄球菌科)的菌株则全部来自于深层的沉积物 (≥ 248 cmbsf)。此外,我们还在 334 cmbsf 层位处分离到唯一一株属于 Bacteroidota 的菌株 334S03,它与亲缘模式菌株 *Muricauda ruestringensis* DSM 13258^T 的 16S rRNA 基因序列相似性为 98.48%,为潜在的新物种。

2.3 基于 16S rRNA 基因高通量测序分析的微生物多样性

所有样品的测序深度指数(Good's Coverage)覆盖范围在 0.9991 至 0.9999 之间,表明测得的序列代表了研究样品中的绝大多数微生物类群。所有样品的菌群丰富度指数(Chao)、多样性指数(Shannon 和 Simpson)以及发育树谱系多样性指数(PD whole tree)见图 3。可见,18 cmbsf 的样品表现出最大 Chao 值,为 461.62,而 475 cmbsf 的样品,其 Chao 值在所有样品中最低,为 165.09。样品的 Shannon 和 Simpson

指数范围分别为 2.13~5.46 和 0.50~0.91,它们的最大值出现在 100 cmbsf 的样品中,最小值出现在 380 cmbsf 的样品中。结合 PD whole tree 指数分析,不难发现浅层的样品体现出更大的微生物多样性,且随着样品深度的增加,沉积物样品中微生物的多样性呈现出减少的趋势。

物种聚类分析结果显示(图 4),在门水平上,所有样品中 Proteobacteria 均占据了主要的微生物类群,其占比 69.0%~95.4%。Proteobacteria 的最大丰度出现在 380 cmbsf 的层位,而最小丰度出现在 100 cmbsf 的层位样品中。样品中检测到的其他主要门类还有 Bacteroidota 和 Bacillota,但它们的相对丰度在所有样品中均小于 12%。Bacteroidota 的相对丰度呈现出随着沉积物深度增加而不断减小的趋势,尤其在 240~248 cmbsf 的层位处表现为断崖式的下降,由 240 cmbsf 处的 7.3% 下降到 248 cmbsf 处的 2.4%。在纲水平上,Proteobacteria 主要分为两个主要类群,其分别为 Alphaproteobacteria 和 Gammaproteobacteria,且它们在不同层位的样品中分布不尽相

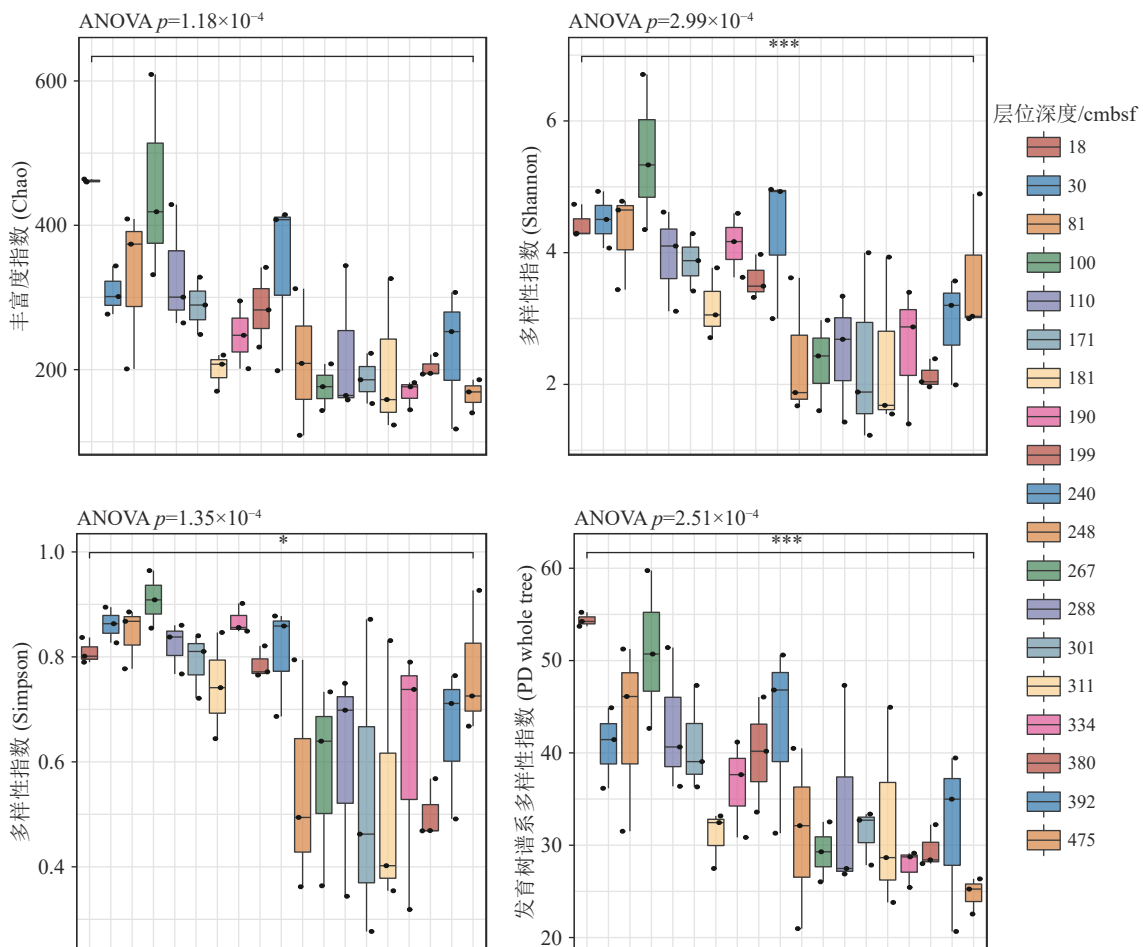


图 3 样品的 α -多样性指数表征

Fig.3 Characteristics of α -diversity index of the samples

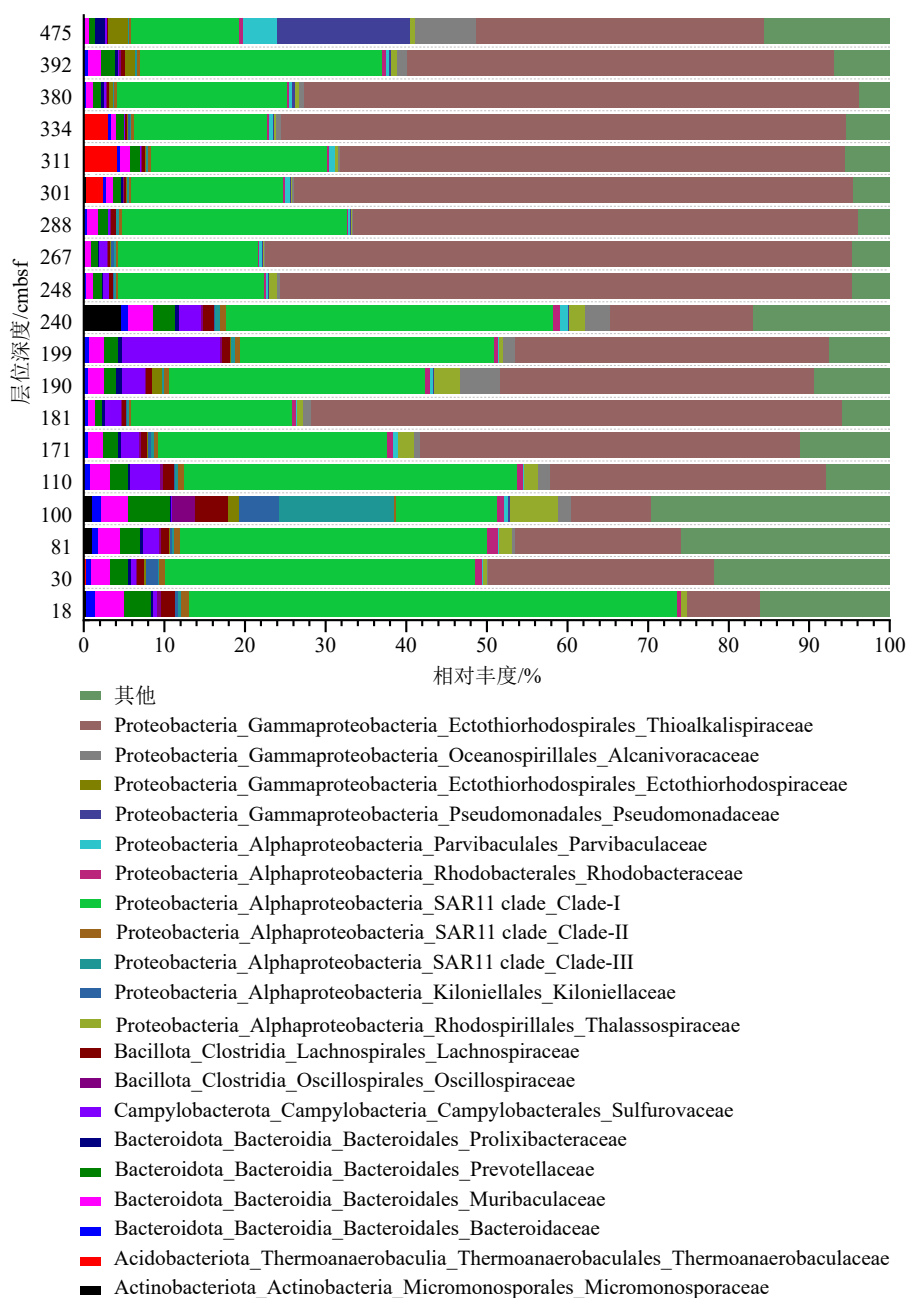


图 4 基于科水平的物种聚类显示的样品中不同细菌所占的比例

Fig.4 Relative abundance of bacteria in the samples on family level

同; 在浅层次(18~110 cmbsf)的沉积物中 Alphaproteobacteria 比 Gammaproteobacteria 更多, 而随着沉积物深度的增加, Gammaproteobacteria 相对丰度有明显的增加(从 18 cmbsf 处的 9.0% 增加到 >248 cmbsf 处的 55.7%~73.3%), 同时 Alphaproteobacteria 明显减少(从 18 cmbsf 处的 63.5% 减少到 >248 cmbsf 处的 18.3%~32.2%), 这个现象在 240~248 cmbsf 界面也表现得尤为突出, 分析数值显示 240 cmbsf 处 Alphaproteobacteria 和 Gammaproteobacteria 相对丰度分别为 21.0% 和 45.9%, 而 248 cmbsf 处的 Alphaproteobacteria 和 Gammaproteobacteria 相对丰

度分别为 71.4% 和 20.3%。在目水平上, 属于 Alphaproteobacteria 的未培养类群的 SAR11 分支和属于 Gammaproteobacteria 的 Ectothiorhodospirales (外硫红螺旋菌目) 分别占据了主导地位, 在不同层位的沉积物样品中, 它们的丰度变化主导了更高级分类单元上物种相对丰度的变化。在科水平上, 可以看出高丰度水平的 Alphaproteobacteria 和 Gammaproteobacteria 实际上是由高比例的 SAR11-Clade I 和 Thioalkalispiraceae (硫碱螺旋菌科) 引起的。此外, 科水平的细菌组成随着沉积物深度的不同体现出更高的多样性, 比如属于 Campylobacterota

(弯曲菌门)的 Sulfurvaceae 相对丰度在浅层(18~110 cmbsf)的沉积物中随着深度而增加,而在 248 cmbsf 的层位及更深处又急剧减少;在 100 cmbsf 层位处的样品中, SAR11-Clade III 占据了整体群落比例的 14.2%,而其他层位中 SAR11-Clade III 的比例均小于 1%;在 475 cmbsf 层位的样品中,除了 Thioalkalispiraceae 以外, Pseudomonadaceae(假单胞菌科)和 Alcanivoraceae 同样成为构成 Gammaproteobacteria 的主要分类单元,它们的相对丰度值分别达到了 16.6% 和 7.6%,而在其他所有样品中二者的占比均低于 5%。

为了更好地阐明不同微生物类群在不同生境之间的分布规律及差异性,以 16S rRNA 基因序列

测序获得的相对丰度值,通过 Bary Curtis 矩阵法得到了 PCoA 图(图 5);以科水平 ANOVA 差异统计获得的差异物种的相对丰度值绘制了聚类热图(Cluster heatmap)(图 6)。结果表明,浅层(18~81 cmbsf)沉积物和深层沉积物(380~475 cmbsf)的样品有着显著的分布差异,而它们自身的微生物组成则是比较接近的。171~311 cmbsf 层位的样品和上述两者都有较明显的差异,通过聚类分析也能与浅层和深层的样品区别开来,自身形成一个较大的分支。在科水平上,深层沉积物尤其是 475 cmbsf 层位的样品与其他样品相比体现出了巨大的物种差异性。这些都说明,尽管来自于同一个位点,微生物群落在垂直水平上的分布是有明显差异的,同时也反映了冲绳海槽热液区中的沉积物是一个相对复杂的生态系统。

2.4 微生物群落、环境因子和样品间的关系

选取 TC、TN、TOC、Cu、Zn、Pb 这 6 个典型的环境因子,选取以科水平相对丰度前 10 的微生物,通过 RDA 分析展示了冲绳海槽南部热液区附近柱状沉积物中微生物群落分布、不同层位样品以及环境因子三者之间的关系。根据图 7 发现,在环境因子之间,柱状沉积物中的 Cu、Zn、Pb、TN 与 TOC 呈现出正相关。而 TOC 对研究样品中微生物群落组成的影响最强,同时其他几个环境因子对微生物的群落分布也具有显著影响且影响力相当。具体来说,未培养的微生物类群 SAR11-Clade I 与 TOC 含量, Thioalkalispiraceae 与 TC 含量之间表现出明显的正相关; Sulfurovaceae 与 TOC 等环境因子之间也表现出较强的正相关关系;但是在较浅层样

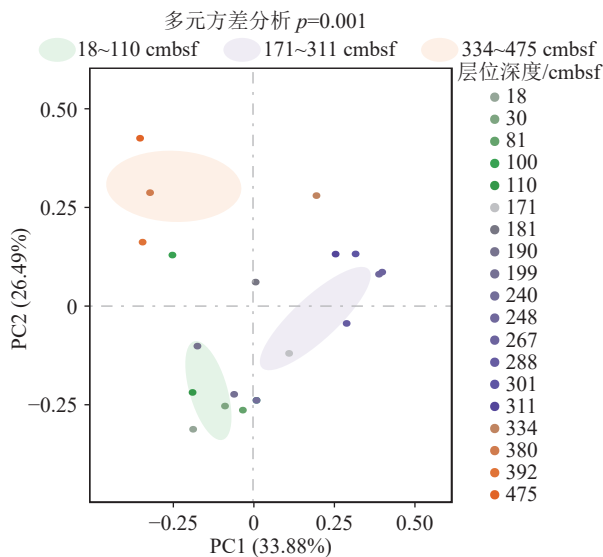


图 5 基于物种相对丰度的不同层位样品间的主坐标分析

Fig.5 Principal coordinate analysis (PCoA) on each sample based on the microbial relative abundance

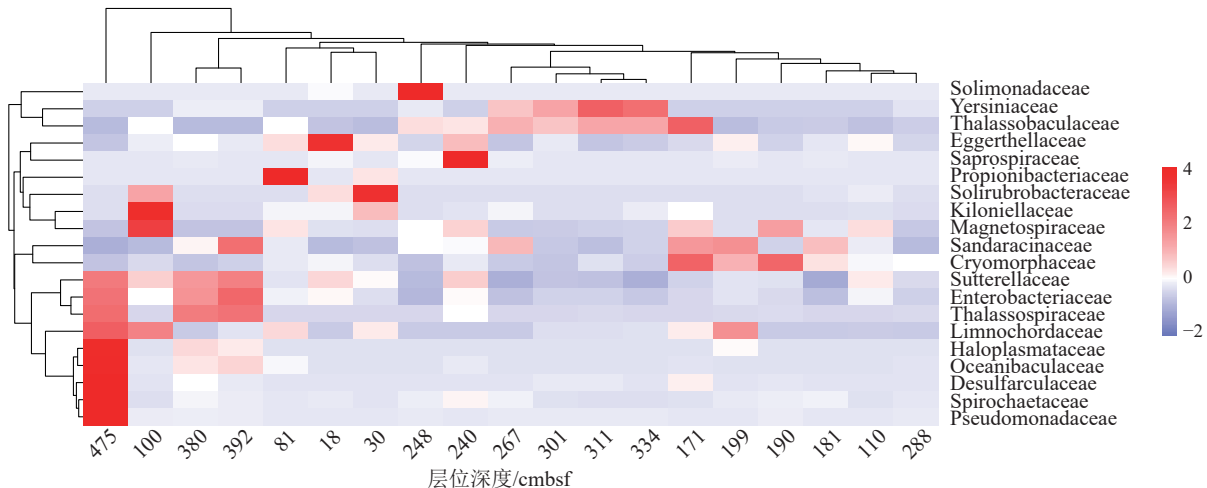


图 6 基于科水平差异物种相对丰度的样本聚类热图

Fig.6 Cluster heatmap based on relative abundance of differential species at family level

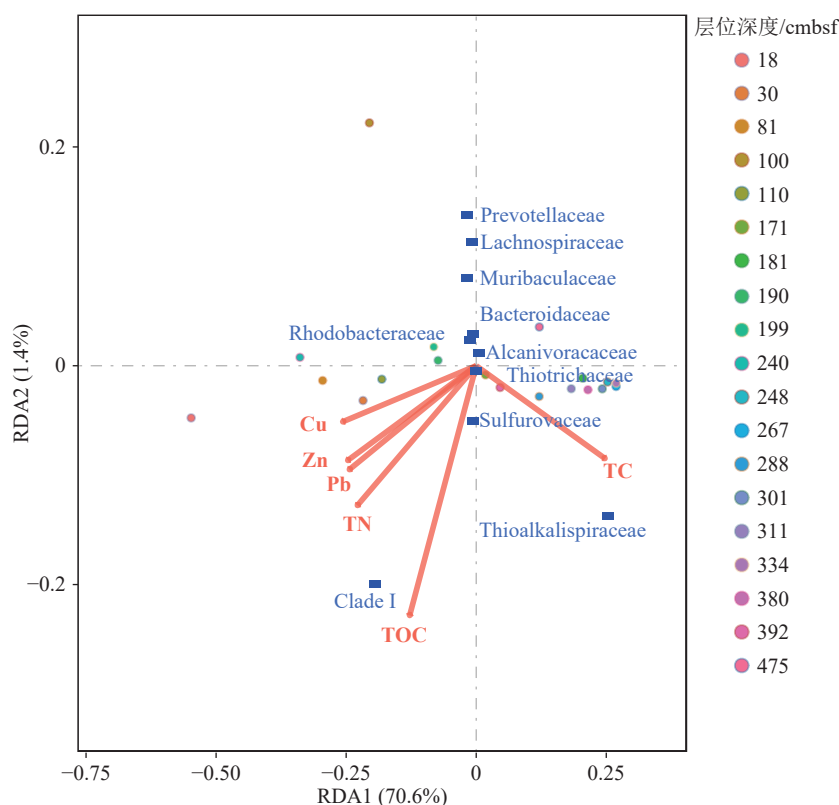


图 7 样品、微生物种群及环境因子 RDA 图

Fig.7 Redundancy analysis on the relationships between environmental factors and relative abundance at family level

品中相对丰度较高的 Prevotellaceae(普雷沃氏菌科)、Muribaculaceae、Lachnospiraceae(毛螺旋菌科)等几个类群的丰富度与参与分析的环境因子之间表现出显著的负相关。从各层位样品在图中的分布还可以看出,浅层沉积物样品和深层沉积物样品分别分布在相对独立的区域,意味着深度接近的沉积物表征出相似的环境因子参数,其对微生物群落分布的影响程度也比较近似。

3 讨论

3.1 沉积物柱的元素地球化学特征

在本研究中结合前人的研究数据,166 cmbsf 和 444 cmbsf 层位的沉积物样品中 Cu、Zn、Pb 元素富集,其含量明显高于正常沉积物中的含量。具体来说,在沉积物 166 cmbsf 处, Cu、Zn 和 Pb 的含量分别为 73.7×10^{-6} 、 356.0×10^{-6} 、 160.0×10^{-6} ; 在 444 cmbsf 处含量略有下降,分别为 38.8×10^{-6} 、 321.0×10^{-6} 、 121.0×10^{-6} , 均明显高于冲绳海槽中部非热液区沉积物中的元素值 (Cu 为 23×10^{-6} , Zn 为 91×10^{-6} , Pb 为 18×10^{-6})^[41] 和冲绳海槽北端沉积物中的元素值^[42], 指示其沉积物中除了有海槽正常沉积物之外,可能还有

其他来源含金属物质组分的加入,且杨娅敏等^[28]对该柱状沉积物样品的研究也表明, HOBAB4-S2 柱状沉积物中存在热液活动事件的记录。

Wang 等^[18]研究冲绳海槽北部柱状沉积物样品的 TC 含量,其均显著高于南部表层沉积物样品的 TC 含量,而其 TN 和 TOC 含量则在所有沉积物样品中无显著差异,且与我们测得的数据结果一致。有研究报道,在富含有机质的地区如秘鲁海盆和秘鲁海沟处,其沉积物的总有机碳 (TOC) 含量为 2%~8%,而冲绳海槽的沉积物,其总有机碳的含量为 0.66%~1.05%,比富含有机质的沉积物中有机碳的含量低很多^[43],表明研究区属于贫有机质的区域。同时根据前人的研究可以发现,环境中细菌的群落组成结构在不同 TOC 含量的环境中表现出很大差异^[18,44],而本研究中,从图 7 可以看出冲绳海槽南部热液区附近柱状沉积物中细菌群落结构的最重要变量是 TOC,跟之前的研究结果表现一致。同时,本研究的微生物群落结构分析和 RDA 分析中可以看出由 SAR11-Clade I 主导的 Alphaproteobacteria 类群和由 Thioalkalispiraceae 主导的 Gammaproteobacteria 整体上来看与 TOC 和 TC 含量都有一定的正相关关系。但是由于 TOC 对 Alphaproteobacteria 的影响程度大于 Gammaproteobacteria,而 TC 对 Gammaproteo-

bacteria的影响程度大于 Alphaproteobacteria,造成了从浅层到深层 Gammaproteobacteria增多而 Alphaproteobacteria减少的趋势,这与 Teske^[45]之前对海洋沉积物中微生物的调查研究结果相近。因此,柱状沉积物中的 TOC 和 TC 含量会对该区域微生物的多样性和群落结构特征产生重要的影响。尽管其中原因和涉及的微生物代谢机制可能很复杂且需要进一步的深入研究,但我们很容易得出这样的推测:TC 和 TOC 作为微生物重要的营养物质和能量来源,微生物的代谢过程会因其所处环境中的含量不同而产生一定的偏好性,从而引起主导微生物类群的差异。

3.2 沉积物柱中的微生物多样性

在我们利用纯培养手段分离的 64 个菌株中, Proteobacteria 在门分类水平上最丰富。据报道 Proteobacteria 通常作为常见的栖息菌群存在于不同的热液环境中,比如 Perez Rodriguez 等和 Rajasabapathy 等^[46-47] 分别在不同热液区分离鉴定到了大量的 Gammaproteobacteria。同时,有研究表明一些属于 Proteobacteria 的 *Alcanivorax*、*Thalassospira*、*Halomonas*、*Paracoccus* 可能参与到产酸或产碱的硫氧化过程^[11],本研究分离的菌株中也有相当的比例属于这些属,而这些属的菌株在其他热液环境中也曾分离到^[47-48]。另外有研究表明,属于 Gammaproteobacteria 的 *Marinobacter* 和 *Pseudoalteromonas* 的微生物类群在很大程度上参与了金属氧化^[49],冲绳海槽中部热液区的沉积物中也分离到了大量的 *Marinobacter* 和 *Pseudoalteromonas* 属的菌株,但是遗憾的是本研究并没有分离到这两个属的菌株,尽管高通量测序数据表明它们在样品中是存在的。除了 Proteobacteria 之外, Bacillota 是分离得到菌株中第二大门类的类群,这类细菌由于其独特的细胞结构和生理抗逆性可以耐受的温度范围很广,以不同的表型存在于不同的热液环境中^[50]。研究人员曾从卡斯特罗海山热液区分离了 15 种属于 *Bacillus* 的菌株,而铁锰等金属元素对它们的生长有明显的促进作用^[51],同时分离自 Guaymas 盆地的一些属于 *Bacillus* 的菌株参与了铜介导的锰氧化过程^[52]。因此,我们推测本研究样品分离的属于 Bacillota 的菌株也可能参与了周边生态系统中的金属氧化过程。

基于 16S rDNA 高通量测序的微生物组成分析显示,本研究中沉积物样品中的微生物组成在门水平上, Proteobacteria 占据绝对的优势地位。在这个

门中, Gammaproteobacteria、Alphaproteobacteria 是两个主要的类群,这一结果与冲绳海槽中部 Iheya North 和 Iheya Ridge 热液区以及太平洋富含金属的热液喷口附近沉积物中微生物组成的报道类似^[21,53-55]。先前的研究表明 Epsilonproteobacteria(ϵ -变形菌纲)在与热液喷口流体和烟囱结构相关的微生物栖息地中占主导地位,同时也是从活跃的热液喷口中鉴定出的优势细菌,在碳、硫的循环中发挥重要作用^[56-57],而且在冲绳海槽的部分热液喷口处也发现 Epsilonproteobacteria 占据了一定丰度比例^[16,18-20]。然而,在本研究的样品中 Epsilonproteobacteria 的丰度是极低的。另一方面,关于冲绳海槽非热液区沉积物中微生物的群落研究表明, Deltaproteobacteria(δ -变形菌纲)和 Chloroflexi(绿弯菌门)通常为主要类群^[18,58],而 Deltaproteobacteria 和 Chloroflexi 的相对丰度在本研究的样品中也是非常低的($<1\%$)。通过综合比较,我们发现尽管在海洋热液区沉积环境中, Proteobacteria 通常作为主导的微生物类群,但是上述的研究内容支持了这样一种假设,由于海底热液的活跃程度不同以及与热液喷口的距离不同,不同位点的沉积物样品中微生物组成受热液活动的影响程度不同,从而造成了其微生物主要类群的差异。比如 Epsilonproteobacteria 看起来更喜欢活跃的热液喷口流体和烟囱体周围的高温环境; Alphaproteobacteria 和 Gammaproteobacteria 更喜欢不活跃的热液栖息地。进一步推测可以看出, HOBAB4-S2 柱状沉积物样品由于其具有高丰度的 Alphaproteobacteria、Gammaproteobacteria 和低丰度的 Epsilonproteobacteria,与冲绳海槽活跃的热液喷口和非热液区沉积物中微生物群落均有较大差异,表明尽管该位点附近的热液喷口可能是不活跃的,但是其沉积物中微生物群落组成还是受周边热液活动影响的。

3.3 柱状沉积物中微生物多样性的影响因素

由于热带西太平洋地理位置和水文条件的特殊,细菌群落的多样性很容易受到洋流的影响^[59],这是一个非常复杂和动态的过程,主要涉及到沉积物的来源、盐度、有机质的生物利用率、pH 以及其他的地球化学和物理化学因素^[60]。本研究的区域位于冲绳海槽南部热液区附近,其沉积和物质输运除了受热液活动影响,也在一定程度上受洋流^[61]因素的影响。冗余分析结果显示相比于其他测定的环境因子,柱状沉积物中 TOC、Zn 和 Pb 的含量与微生物的群落组成有着更为密切的关系,因此环境

特征对于特定环境下微生物的群落结构具有非常重要的影响。从我们研究的结果中发现,微生物的群落结构随沉积物深度的不同而不同,这可能是地球化学环境的一个反映,也可能决定了微生物的种类、数量和多样性分布。另外,不同的沉积事件、沉积过程也可能形成不同的微生物群落。因此推测微生物的群落结构和组成在一定程度上跟沉积事件的干扰和热液活动事件有关,而这一点在西菲律宾海盆和西太平洋暖池的研究中已经证实^[59,62-63]。

4 结论

(1) 冲绳海槽南部 HOBAB4-S2 柱状沉积物主要由 SiO_2 、 Al_2O_3 、 Fe_2O_3 等组成,这 3 种组分含量为 3.8%~69.3%。该位点的沉积物有机质含量较为贫乏,同时有两个富含 Cu-Zn-Pb 的层。

(2) 利用 HOBAB4-S2 柱状沉积物,通过分离培养得到纯菌株 64 株,Proteobacteria 约占总数的 59%。基于 16S rRNA 基因高通量测序的结果同样表明,在所有沉积物层位中变形菌门为占据绝对优势的类群,这种现象在更深层(>240 cmbsf)的沉积物中表现的更为明显;相对于深层的沉积物,表层沉积物表现出更高的微生物多样性。通过比较可培养和免培养方法获得的不同微生物群落多样性表明,该位点沉积物中存在大量有活力但不可培养的微生物。

(3) 相比于其他测定的环境因子,柱状沉积物的 TOC 含量与其微生物的群落组成有着更为密切的关系。

总的来说,本研究揭示了冲绳海槽南部热液区附近沉积环境中细菌的多样性和垂直分布特征,为微生物的群落结构及其与地质沉积过程的相关性提供了证据。随着现代分离培养技术和组学技术的快速发展,通过个性化分离培养手段培养难培养的微生物并从分子水平上开展研究,同时结合高通量测序的组学分析,将有助于进一步地理解海底热液环境中微生物的代谢机制及其与环境的协同演化过程以及它们在全球物质循环过程中的作用。

参考文献 (References)

[1] 王风平,周悦恒,张新旭,等. 深海微生物多样性[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 446-456. [WANG Fengping, ZHOU Yueheng, ZHANG Xinxu, et al. Biodiversity of deep-sea microorganisms[J]. Biodiversity Science, 2013, 21(4): 446-456.]

[2] 李学恭,徐俊,肖湘. 深海微生物高压适应与生物地球化学循环[J].

微生物学通报, 2013, 40(1): 59-70. [LI Xuegong, XU Jun, XIAO Xi-ang. High pressure adaptation of deep-sea microorganisms and biogeochemical cycles[J]. Microbiology China, 2013, 40(1): 59-70.]

[3] Takai K, Nakagawa S, Nunoura T. Comparative investigation of microbial communities associated with hydrothermal activities in the Okinawa Trough[M]//Ishibashi J I, Okino K, Sunamura M. Subseafloor Biosphere Linked to Hydrothermal Systems. Tokyo: Springer, 2015: 421-435.

[4] Takai K, Nakamura K. Compositional, physiological and metabolic variability in microbial communities associated with geochemically diverse, deep-sea hydrothermal vent fluids[M]//Barton L L, Mandl M, Loy A. Geomicrobiology: Molecular and Environmental Perspective. Dordrecht: Springer, 2010: 251-283.

[5] Nakamura K, Takai K. Theoretical constraints of physical and chemical properties of hydrothermal fluids on variations in chemolithotrophic microbial communities in seafloor hydrothermal systems[J]. *Progress in Earth and Planetary Science*, 2014, 1(1): 5.

[6] Nakagawa S, Takai K. Deep-sea vent chemoautotrophs: diversity, biochemistry and ecological significance[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 65(1): 1-14.

[7] Takai K, Nakamura K. Archaeal diversity and community development in deep-sea hydrothermal vents[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14(3): 282-291.

[8] Guan L, Cho K H, Lee J H. Analysis of the cultivable bacterial community in *jeotgal*, a Korean salted and fermented seafood, and identification of its dominant bacteria[J]. *Food Microbiology*, 2011, 28(1): 101-113.

[9] Thornburg C C, Zabriskie T M, McPhail K L. Deep-sea hydrothermal vents: potential hot spots for natural products discovery?[J]. *Journal of Natural Products*, 2010, 73(3): 489-499.

[10] Wang S S, Jiang L J, Hu Q T, et al. Elemental sulfur reduction by a deep-sea hydrothermal vent *Campylobacterium Sulfurimonas* sp. NW10[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(2): 965-979.

[11] 杜瑞,于敏,程景广,等. 冲绳海槽热液区可培养硫氧化细菌多样性及其硫氧化特性[J]. *微生物学报*, 2019, 59(6): 1036-1049. [DU Rui, YU Min, CHENG Jingguang, et al. Diversity and sulfur oxidation characteristics of cultivable sulfur oxidizing bacteria in hydrothermal fields of Okinawa Trough[J]. *Acta microbiologica Sinica*, 2019, 59(6): 1036-1049.]

[12] Venter J C, Remington K, Heidelberg J F, et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea[J]. *Science*, 2004, 304(5667): 66-74.

[13] 刘明华,王健鑫,俞凯成,等. 东海陆架表层沉积物细菌群落结构及地理分布研究[J]. *海洋与湖泊*, 2015, 46(5): 1119-1131. [LIU Minghua, WANG Jianxin, YU Kaicheng, et al. Community structure and geographical distribution of bacterial on surface layer sediments in the east China Sea[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2015, 46(5): 1119-1131.]

[14] 王苑如,崔鸿鹏,李继东,等. 西太平洋多金属结核区表层沉积物细菌群落结构及其对沉积扰动的响应[J]. *海洋学研究*, 2021, 39(2): 21-32. [WANG Yuanru, CUI Hongpeng, LI Jidong, et al. The structure of bacterial communities and its response to the sedimentary disturbance of bacterial communities and its response to the sedimentary disturbance

- turbance in the surface sediment of western Pacific polymetallic nodule area[J]. *Journal of Marine Sciences*, 2021, 39(2): 21-32.]
- [15] Inagaki F, Kuypers M M M, Tsunogai U, et al. Microbial community in a sediment-hosted CO₂ lake of the southern Okinawa Trough hydrothermal system[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(38): 14164-14169.
- [16] Yanagawa K, Ijiri A, Breuker A, et al. Defining boundaries for the distribution of microbial communities beneath the sediment-buried, hydrothermally active seafloor[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(2): 529-542.
- [17] Nakagawa S, Takai K, Inagaki F, et al. Variability in microbial community and venting chemistry in a sediment-hosted backarc hydrothermal system: impacts of subseafloor phase-separation[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 54(1): 141-155.
- [18] Wang L, Yu M, Liu Y, et al. Comparative analyses of the bacterial community of hydrothermal deposits and seafloor sediments across Okinawa Trough[J]. *Journal of Marine Systems*, 2018, 180: 162-172.
- [19] Yanagawa K, Breuker A, Schippers A, et al. Microbial community stratification controlled by the subseafloor fluid flow and geothermal gradient at the Iheya North hydrothermal field in the Mid-Okinawa Trough (Integrated Ocean Drilling Program Expedition 331)[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(19): 6126-6135.
- [20] Yanagawa K, Morono Y, de Beer D, et al. Metabolically active microbial communities in marine sediment under high-CO₂ and low-pH extremes[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(3): 555-567.
- [21] Zhang J, Sun Q L, Zeng Z G, et al. Microbial diversity in the deep-sea sediments of Iheya North and Iheya Ridge, Okinawa Trough[J]. *Microbiological Research*, 2015, 177: 43-52.
- [22] Rona P A, Scott S D. A special issue on sea-floor hydrothermal mineralization: new perspectives: preface[J]. *Economic Geology*, 1993, 88(8): 1935-1976.
- [23] 邵珂, 陈建平, 任梦依. 印度洋中脊多金属硫化物矿产资源定量预测与评价 [J]. *海洋地质与第四纪地质*, 2015, 35(5): 125-133. [SHAO Ke, CHEN Jianping, REN Mengyi. Quantitative prediction and evaluation of polymetallic sulfide mineral deposits along the central Indian ocean ridge[J]. *Marine Geology & Quaternary Geology*, 2015, 35(5): 125-133.]
- [24] Walsh J J. Importance of continental margins in the marine biogeochemical cycling of carbon and nitrogen[J]. *Nature*, 1991, 350(6313): 53-55.
- [25] 胡思谊. 冲绳海槽南部 S3 岩心沉积物的矿物学和地球化学研究 [D]. 中国科学院大学 (中国科学院海洋研究所) 博士学位论文, 2020. [HU Siyi. Mineralogical and geochemical study of sediment core S3 from the southern Okinawa Trough[D]. Doctor Dissertation of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2020.]
- [26] 杨宝菊, 吴永华, 刘季花, 等. 冲绳海槽表层沉积物元素地球化学及其对物源和热液活动的指示 [J]. *海洋地质与第四纪地质*, 2018, 38(2): 25-37. [YANG Baoju, WU Yonghua, LIU Jihua, et al. Elemental geochemistry of surface sediments in Okinawa Trough and its implications for provenance and hydrothermal activity[J]. *Marine Geology & Quaternary Geology*, 2018, 38(2): 25-37.]
- [27] 赵维曼, 肖湘. 深海热液区微生物群落与环境适应性机理 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2023, 53(5): 660-671. [ZHAO Weishu, XIAO Xiang. Microbiome and environmental adaption mechanisms in deep-sea hydrothermal vents[J]. *Scientia Sinica: Vitae*, 2023, 53(5): 660-671.]
- [28] 杨娅敏. 冲绳海槽南部浊流沉积层中的硫化物特征研究 [D]. 中国科学院大学 (中国科学院海洋研究所) 博士学位论文, 2021. [YANG Yamin. Study on the characteristics of turbidite sediments hosted-sulfides deposit from the southern Okinawa Trough[D]. Doctor Dissertation of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2021.]
- [29] Zeng Z G, Chen S, Ma Y, et al. Chemical compositions of mussels and clams from the Tangyin and Yonaguni Knoll IV hydrothermal fields in the southwestern Okinawa Trough[J]. *Ore Geology Reviews*, 2017, 87: 172-191.
- [30] 尚鲁宁, 陈磊, 张训华, 等. 冲绳海槽南部海底热液活动区地形地貌特征及成因分析 [J]. *海洋地质与第四纪地质*, 2019, 39(4): 12-22. [SHANG Luning, CHEN Lei, ZHANG Xunhua, et al. Topographic features of the hydrothermal field and their genetic mechanisms in southern Okinawa Trough[J]. *Marine Geology & Quaternary Geology*, 2019, 39(4): 12-22.]
- [31] Atlas R M. *Handbook of Microbiological Media*[M]. Boca Raton: CRC Press, 1993: 527.
- [32] Ruby E G, Wirsén C O, Jannasch H W. Chemolithotrophic sulfur-oxidizing bacteria from the Galapagos rift hydrothermal vents[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1981, 42(2): 317-324.
- [33] Das A, Cao W R, Zhang H J, et al. Carbon fixation in sediments of Sino-Pacific seas-differential contributions of bacterial and archaeal domains[J]. *Journal of Marine Systems*, 2017, 175: 15-23.
- [34] Cao W R, Lu D C, Sun X K, et al. *Seonamhaeicola maritimus* sp. nov., isolated from coastal sediment[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2020, 70(2): 902-908.
- [35] Wang F, Men X, Zhang G, et al. Assessment of 16S rRNA gene primers for studying bacterial community structure and function of aging flue-cured tobaccos[J]. *AMB Express*, 2018, 8(1): 182.
- [36] Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [37] Felsenstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1981, 17(6): 368-376.
- [38] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. *Journal of Molecular Evolution*, 1980, 16(2): 111-120.
- [39] Nossa C W, Oberdorf W E, Yang L Y, et al. Design of 16S rRNA gene primers for 454 pyrosequencing of the human foregut microbiome[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2010, 16(33): 4135-444.
- [40] Yang Y M, Zeng Z G, Yin X B, et al. Mineralogy, geochemistry, and sulfur isotope characteristics of sediment-hosted hydrothermal sulfide minerals from the southern Okinawa Trough[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2021, 40(10): 129-143.
- [41] 赵一阳, 翟世奎, 李永植, 等. 冲绳海槽中部热水活动的新记录 [J]. *科学通报*, 1996, 41(14): 1307-1310. [ZHAO Yiyang, ZHAI Shikui, LI Yongzhi, et al. New records of submarine hydrothermal activity in middle part of the Okinawa Trough[J]. *Chinese Science Bulletin*, 1997,

- 42(7): 574-577.]
- [42] 蒋富清, 李安春, 李铁刚. 冲绳海槽北端表层沉积物过渡元素地球化学特征 [J]. *海洋与湖沼*, 2006, 37(1): 75-83. [JIANG Fuqing, LI An-chun, LI Tiegang. Geochemical characteristics of transition elements in surface sediments northern Okinawa Trough[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2006, 37(1): 75-83.]
- [43] Edlund A, Hårdeman F, Jansson J K, et al. Active bacterial community structure along vertical redox gradients in Baltic Sea sediment[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(8): 2051-2063.
- [44] Chu H Y, Sun H B, Tripathi B M, et al. Bacterial community dissimilarity between the surface and subsurface soils equals horizontal differences over several kilometers in the western Tibetan Plateau[J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(5): 1523-1533.
- [45] Teske A P. Microbial community composition in deep marine subsurface sediments of ODP Leg 201: sequencing surveys and cultivations [M]//Jørgensen B B, D'Hondt S L, Miller D J. Proceedings of the Ocean Drilling Program Scientific Results. 2006.
- [46] Pérez-Rodríguez I, Bohnert K A, Cuebas M, et al. Detection and phylogenetic analysis of the membrane-bound nitrate reductase (Nar) in pure cultures and microbial communities from deep-sea hydrothermal vents[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 86(2): 256-267.
- [47] Rajasabapathy R, Mohandass C, Colaco A, et al. Culturable bacterial phylogeny from a shallow water hydrothermal vent of Espalamaca (Faial, Azores) reveals a variety of novel taxa[J]. *Current Science*, 2014, 106(1): 58-69.
- [48] Martins A, Tenreiro T, Andrade G, et al. Photoprotective bioactivity present in a unique marine bacteria collection from Portuguese deep sea hydrothermal vents[J]. *Marine Drugs*, 2013, 11(5): 1506-1523.
- [49] Kaye J Z, Sylvan J B, Edwards K J, et al. *Halomonas* and *Marinobacter* ecotypes from hydrothermal vent, seafloor and deep-sea environments[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 75(1): 123-133.
- [50] Cao H L, Wang Y, Lee O O, et al. Microbial sulfur cycle in two hydrothermal chimneys on the southwest Indian Ridge[J]. *mBio*, 2014, 5(1): e00980-13.
- [51] Mohandass C, Rajasabapathy R, Ravindran C, et al. Bacterial diversity and their adaptations in the shallow water hydrothermal vent at D. João de Castro Seamount (DJCS), Azores, Portugal[J]. *Cahiers de Biologie Marine*, 2012, 53(1): 65-76.
- [52] Dick G J, Lee Y E, Tebo B M. Manganese(II)-oxidizing *Bacillus* spores in Guaymas basin hydrothermal sediments and plumes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(5): 3184-3190.
- [53] Liao L, Xu X W, Jiang X W, et al. Microbial diversity in deep-sea sediment from the cobalt-rich crust deposit region in the Pacific Ocean[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 78(3): 565-585.
- [54] Xu M X, Wang F P, Meng J, et al. Construction and preliminary analysis of a metagenomic library from a deep-sea sediment of East Pacific Nodule province[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 62(3): 233-241.
- [55] 魏曼曼. 劳盆地深海热液喷口沉积物中微生物群落结构研究 [D]. 中南大学硕士学位论文, 2010. [WEI Manman. Study on microbial community structures in sediments from Lau Basin deep-sea hydrothermal vents[D]. Master Dissertation of Central South University, 2010.]
- [56] Flores G E, Campbell J H, Kirshtein J D, et al. Microbial community structure of hydrothermal deposits from geochemically different vent fields along the Mid-Atlantic Ridge[J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(8): 2158-2171.
- [57] Sylvan J B, Toner B M, Edwards K J. Life and death of deep-sea vents: bacterial diversity and ecosystem succession on inactive hydrothermal sulfides[J]. *mBio*, 2012, 3(1): e00279-11.
- [58] Cao W R, Wang L S, Saren G, et al. Variable microbial communities in the non-hydrothermal sediments of the Mid-Okinawa Trough[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2020, 37(8): 774-782.
- [59] 张伟. 热带西太平洋深海沉积物微生物多样性及群落结构特征研究 [D]. 中国科学院研究生院 (海洋研究所) 硕士学位论文, 2010. [ZHANG Wei. Microbial diversity and community structure in marine sediments from the tropical western Pacific[D]. Master Dissertation of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2010.]
- [60] Lee S Y, Huh C A, Su C C, et al. Sedimentation in the Southern Okinawa Trough: enhanced particle scavenging and teleconnection between the Equatorial Pacific and western Pacific margins[J]. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 2004, 51(11): 1769-1780.
- [61] 邵宗泽. 深海热液区化能自养微生物多样性、代谢特征与环境作用 [J]. *科学通报*, 2018, 63(36): 3902-3910. [SHAO Zongze. Diversity and metabolism of prokaryotic chemoautotrophs and their interactions with deep-sea hydrothermal environments[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2018, 63(36): 3902-3910.]
- [62] Li Y X, Li F C, Zhang X W, et al. Vertical distribution of bacterial and archaeal communities along discrete layers of a deep-sea cold sediment sample at the East Pacific Rise (~13°N)[J]. *Extremophiles*, 2008, 12(4): 573-585.
- [63] Wang P, Xiao X, Wang F P. Phylogenetic analysis of Archaea in the deep-sea sediments of west Pacific Warm Pool[J]. *Extremophiles*, 2005, 9(3): 209-217.