

# 深海热液活动区的微生物作用\*

## MICROBIAL PROCESSES AT DEEP SEA HYDROTHERMAL VENTS

肖 天      陈 勇

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

\* 深海(约 2 600 m 深)热液活动区的微生物作用是非常重要的,在此区域发现许多动物食物链的基础是由微生物作用提供,如氧化硫细菌。它的化学作用是以氧化无机化合物为能源,被认为是深海热液活动区——非学合区的初级生产力。同时深海热液活动区的微生物作用可能揭示生命起源的奥秘。因此自 20 世纪 70 年代在深海发现热液活动后不久,Alongi, D. M. 1990 年, Jannasch, H. W. 等 1985 年就注意到了在此区域的微生物,并通过各种方法观察研究。其中包括:(1)用落射式荧光显微镜和核苷酸测定法证实热液活动区有相当数量的细菌存在。(2)在热液活动区的沉积物上发现多层细菌菌苔,如含锰铁矿的沉积物常被菌苔包围。还有些象亮发菌属和发硫菌属菌丝状的聚集物,及已退色的蓝细菌细胞个体。(3)通过用人工玻片沉积法还发现有贝日阿托氏菌属菌丝和聚集现象。(4)厌氧的嗜热甲烷细菌也在热液活动区分离获得。(5)在热液活动区生存的一些动物体内如两瓣类生物的腮腺中发现有大量的细菌存在。经测试这些细菌的硫代射酶和卡尔文循环酶活性较高。(6)在有些无消化道的蠕虫营养组织中发现有提供 ATP 和 CO<sub>2</sub> 还原活动的原核细胞被认为是细菌共生生物。

通过以上的研究观察, Jannasch, H. W. 等 1984 年认为,深海热液活动区内微生物的化学作用形成生产力在以下三个方面最活跃:(1)在高温度的热液喷口处。(2)在热液喷口处周围的细菌菌苔中。(3)在与无脊椎动物共生体中,其中最佳化学作用形成生产力的方式是在共生体中。它们的结合可以最有效地将细菌化学合成的有机碳转化到动物体上。研究发现,深海热液喷口周围的细菌密度高,是因为热液活动区的物理化学因子为许多细菌提供了合适的繁殖条件。另外在深海热液活动区没有光照,食物链中原由光合作用提供的初级生产力被化学作用提供的初级生产力代替。这些初级生产力就是细菌化学作用产生的有机碳。换句话说,通常被植物利用的太阳能,在这里被地

质能代替了,这些地质能是细菌氧化热液中还原态的化学物质释放出来的。这种能量将为 CO<sub>2</sub> 转化成有机碳的化学合成所利用。这个过程效率很高,热液活动区内巨大的生产力和极大的生物量就是有利的证明。这也是热液活动区生命存在最重要的微生物转化作用。

以下的实验研究更具体地说明深海热液活动区的微生物作用过程和意义。

### 1 深海调查和现场取样显微镜观察

美国的 ALVIN 号深潜调查船,就是最早投入到深海热液活动区调查研究的考察船,随后比较有影响的是日本的“深潜 2000”号和最近投入使用的日本的“深潜 6500”号。Frederick, S. M. 等 1992 年认为“深潜 6500”号调查船将把深海热液活动区的微生物研究带入一个更新、更有意义的领域。但最早在该区域进行调查研究的 ALVIN 号却使科学家们对深海热液活动区的微生物直接观察、直接取样成为现实,是深海热液活动区微生物研究的开端。

早期观察认为,从热液喷口喷射出带白色的水中极有可能存在着化学作用, H<sub>2</sub>S 的化学氧化和生物氧化可能在这些水中发生。因为在各种自然环境中靠近 H<sub>2</sub>S/O<sub>2</sub> 界面处,白色沉淀和彩虹颗粒悬浮液通常是硫元素形成的标志,并认为此处的硫化物通常是硫酸盐还原细菌厌氧生活作用的结果。

通过研究发现还原态的硫化物与自由氧接触就为众多的氧化硫细菌提供了能源和必要的电子传递。利用由这种间接生物氧化释放出的能量可还原 CO<sub>2</sub> 为有机碳。此过程就是化学合成。并认为在深海海底还原硫化物的氧化以细菌氧化为主,而自发的化学氧化大大低于细菌的氧化作用。

\* 本研究课题得到海底热液活动青年实验室资助;中国科学院海洋研究所调查研究报告 2926 号。  
收稿日期:1998-01-05

在深海热液喷口处取水样用  $0.2\ \mu\text{m}$  Nucleopore filter 过滤, 用扫描电镜观察, 发现有许多微生物细胞, 就其数量之多可以证明微生物在此区域繁殖生长。用落射式荧光显微镜对此区域的水样进行细菌计数, 发现水中的细菌数量可达  $10^5\sim 10^9$  细胞/ml。而且水的  $\text{H}_2\text{S}$  浓度也达  $10\sim 160\ \text{mmol/L}$ 。用 ATP 测定法同样测得此结果。同时还发现深海热液喷口海水的 ATP 量是表层海水中 ATP 量的 3~4 倍。这些足以证明深海热液活动区是一些细菌的生长繁殖地。

利用深潜调查船科学家们发现在热液喷口周围的温水区浑浊的水中有大量的贻贝生长。并发现它们更多是靠滤食生存, 而浊水中的细菌就是它们最好的食物。另外还发现两种无脊椎动物蛤和蠕虫是依靠与化学合成细菌的共生关系生存的。因此认为, 生长在热液活动区海底表层的细菌只是化学作用全部生产力的一部分。而且这些生产力大部分被海水稀释, 虽然它们还可被一些滤食性的生物捕获, 且为热液活动区的生物多样性作些贡献, 但最重要的是细菌悬浮液为其他生物提供了食物, 是此区域食物链的基础, 且颗粒较大的细菌团是一些有较粗过滤器生物的易得食物。因此在热液活动区经常观察到一些特别的鱼类在此处游来游去。

在一些较温暖的热液活动区, 发现一些物体表面被白色膜覆盖, 取样在显微镜下观察看到大多是类似发硫菌属的菌丝体, 其细胞内含有硫颗粒。这些菌丝体越是在热液较活跃的区域越显优势。但在人造材料表面(如玻片, 在热液活动区放置 10 个月)会发现被一些白色粘稠物覆盖, 镜检发现是类似贝日阿托氏菌属的菌丝体占优。其中有些菌丝体直径可达  $160\ \mu\text{m}$ 。在这些覆盖物中还有一些短杆和球状细胞, 以及相当数量的类似蓝细菌的多细胞生物体。但没有发现原生动物或线虫。通过透射式电子显微镜观察所有细胞都是原核细胞。

通过形态观察和分离纯化, 发现这些微生物覆盖物中还有生丝单胞菌属或生丝微菌属细菌, 这是一种可利用氨基酸作为唯一碳源和能源, 也可以仅用二甲亚砷和二甲基硫作为唯一碳源和能源的特别细菌。对这些微生物覆盖物进一步地用透射电子显微镜研究观察发现, 个别细胞中有多层膜结构(甲烷氧化细菌的结构特点)和细胞有氢氧化铁沉淀的铁细菌塞里伯氏菌属, 以后的研究证明这两种细菌在热液活动区生长繁殖。但覆盖物中一定数量的类似蓝细菌结构的生物仍是一个谜。

## 2 现场(深潜调查船上)试验

对于研究深海热液活动区的微生物, 现场试验是很重要的。因为这些微生物生长在深海热液活动区的高压、高温条件下, 有其特殊的生长条件, 一旦脱离这样的环境就会死亡或停止生长繁殖。因此设计了一些试验方法: (1)用  $^{14}\text{C}$  和  $^{15}\text{N}$  同位素法, 现场做细菌的生长试验。(2)把所取样品立刻放入压力罐内或不减压放入压力罐内做最适压力试验和现场的加富培养。(3)做最适温度试验, 得到某一地区温度下的化学作用主要是嗜冷菌, 还是嗜温或嗜热菌的作用。(4)做物体表面附着试验, 物体可是玻片, 贝壳, 塑料和金属等, 在深海热液活动区放置数月, 然后检查各种物体表面附着细菌的数量和种类等。科学家用此方法已经获得许多很有意义的结果。

## 3 深海热液活动区微生物的加富培养和分离

特殊的环境孕育着特殊生物, 也包括特殊的微生物。深海热液活动区是一个特殊的环境区, 因此就有特殊的微生物。这些微生物必须用特殊的方法培养, 才能在实验室中培养出来, 供研究用。这些特殊的培养(加富培养)是研究深海热液活动区细菌所必须的。通过加富培养已从此区域获得了厌氧菌、嗜热菌、锰细菌、铁细菌、好氧菌和甲烷菌等等。

得到上述菌后还需分离纯化, 得到纯菌种才能对其某特殊菌进行生理生化特点的研究。常用的分离纯化的方法也是试管稀释法和平板划线法。

通过加富培养和分离纯化, 发现了专性化能自养菌的一个特点, 如 *Thiomicrospira* 是嗜温菌, 它的最佳生长温度为  $25\ ^\circ\text{C}$  和最适压力约是  $10^7\ \text{Pa}$ , 而在约  $5\times 10^7\ \text{Pa}$  下抑制生长。1982 年 H. L. Ehrlich 通过培养锰氧化菌发现, 分纯的菌株只能利用氧化游离的  $\text{Mn}^{2+}$  离子, 而不利用已经结合到某些吸附物上的  $\text{Mn}^{2+}$ 。热液活动区分离的锰氧化菌, 虽然与从锰结核上分离得到的锰氧化菌相似, 但它们的  $\text{Mn}^{2+}$  氧化诱导酶结构不同。另外 Ehrlich 通过研究还认为锰氧化菌对深海热液活动区的初级生产力也有贡献。Jannasch, H. W. 等(1984)发现了能在高温  $100\ ^\circ\text{C}$  产生甲烷和 CO 的细菌, 这种极嗜热甲烷菌已被分纯。

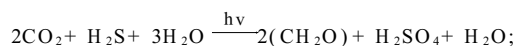
## 4 好氧微生物的化学合成

在深海热液活动区最重要的生物过程就是通过化学作用把  $\text{CO}_2$  转化成有机碳。这个过程是由化能自养细菌完成的。在这个化学合成过程中化学代替光

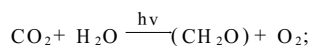
能,以  $\text{CO}_2$  作为唯一碳源,无机化合物为电子供体(如:  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{S}^{2-}$ ,  $\text{S}^0$ ,  $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  或  $\text{Mn}^{2+}$  等)。

生物的自养过程有下列 3 种:

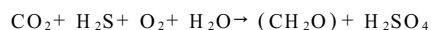
(1) 无氧的光合作用(存在于细菌中):



(2) 有氧的光合作用(绿色植物都具有):



(3) 化学作用(细菌具有):



据 Jannasch, H. W. 等 1984 年研究认为,最后一种生物过程需要游离的氧为电子传递受体。按进化的观点,化学合成生物应是大气层里有氧气出现后,或者绿色植物产生氧气后才出现的一种生命形式。这一观点证实了一个假设,深海热液活动区可能是原始生命发源地,例如甲烷古细菌。

另外一研究发现按每一克分子量计算,从  $\text{H}_2\text{S}$  完全氧化经元素硫到酸盐获得的能量超过还原  $\text{CO}_2$  到碳水化合物需要能量的 40%,这些能量的产生也因电子供体不同而有区别。这是很重要的一点,如氨化作用和各种微环境条件下的细菌的铁沉积作用,锰氧化等。但应该强调的是硫氧化作用是深海热液活动区最基本的化学合成过程。这一结论也仅仅是依据有大量的还原硫存在于深海热液活动区和此区取样加富培养及分离研究的结果。

## 5 甲烷细菌和甲烷氧化作用

据 Jannasch, H. W. 等 1984 年研究发现,细菌通过对氢和  $\text{CO}_2$  的作用产生甲烷的过程是厌氧的化学合成。通常该过程的进行伴随着发酵。这一过程也常在有机质丰富的湖底、港湾发生,而海洋中的甲烷主要来自深海热液活动区。研究认为地热活动是甲烷生成的基础,另一方面热液活动区的还原条件也适合甲烷的生物发酵。在实验室中通过对热液活动区水样的加富培养和分离纯化,已得到极嗜热的甲烷细菌,其最适温度为  $86^\circ\text{C}$ ,这更加证明甲烷细菌在深海热液活动区的存在。

## 6 热液活动区的无脊椎生物与化学合成细菌共生关系

1980 年科学家在热液活动区发现了不常见的巨蛤和管状蠕虫,而且是此区域动物生物量的一个主要部分,但对它们的营养来源产生疑问。因为形态学家发现这种蛤没有典型的滤食过程,并可生长在距热液喷口较远的环境中,此处海水中的细菌密度也很低。而解剖蠕虫发现它没有完整的消化系统。那种认为是通过表皮消溶有机物为营养的观点在能量学方面不成立。通过显微镜和酶学方法证明这些动物体内化学合成细菌的代谢活动相当普遍。进一步研究发现占蠕虫体长超过 50% 的体腔被一些营养颗粒占据。通过扫描电镜观察发现这些颗粒被相当密度的球杆体包围,直径大约  $3\sim 5\ \mu\text{m}$ ;再用透射电镜观察,发现是原核细胞,其细胞壁是细菌革兰氏阴性结构。研究还发现这些营养颗粒中包含有与硫化细菌代谢相当的 ATP 和卡尔文循环中的二磷酸羧核酮糖化酶和 5'磷酸核酮糖激酶。这证明化学合成细菌与它们的共生关系。另外研究发现蠕虫血液中含有  $\text{O}_2$  和  $\text{H}_2\text{S}$ ,红血蛋白与  $\text{O}_2$  的动力学反应与温度无关。

另外从营养颗粒上分离细菌发现硫氧化菌和甲烷氧化菌各占一定数量。但营养颗粒是无法纯化培养的共生体,它包含的一系列细菌生存在一个异源环境中。所以现在人们对营养颗粒的作用还不清楚,但一般认为它们或许是一种复杂的共生形式,稳定、普遍的共生体,有时也在浅水生物中发现。通过同位素标记法,也证明细菌化学合成的有机碳确实是这些热液活动区动物的食物。

综上所述,图 1 概括了已经研究发现的微生物的转化作用。而其中的化学合成被认为是深海热液活动区最重要的微生物作用。因为在非光作用区的动物依靠微生物的作用得到食物,虽然化学合成在微生物学和生物化学方面早已被人们认识。但它在生态系统的作用却是最新发现。

图 2 是碳、硫循环和微生物转化作用,它显示了为什么人们把非光合作用产生有机碳的生产力称为二次生产力。这是因为硫酸盐还原菌的碳源是由光合作用提供的。然而,如果  $\text{H}_2\text{S}$  来源是非生物过程,那么这种有机碳的化学合成生产力就成为了初级过程。这个专有名词可能受到挑战,因为在陆地上电子的受体自由的氧,也是光合作用产生的。但术语中的初级生产力和二次生产力通常是依据能源来确定,而不依据

能量的接受。光合作用的能量来自太阳,而热液活动区的化学作用的能量来自地热。

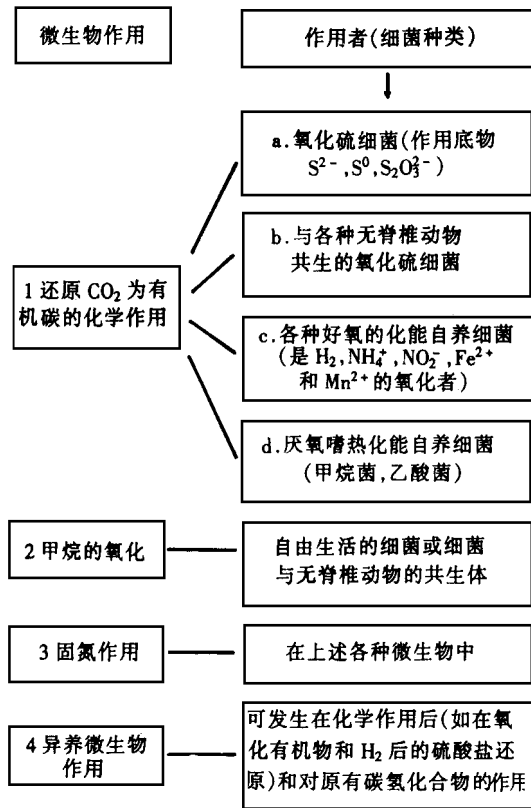


图1 在深海热液活动区的微生物作用(据 Jannasch, H. W. 等 1985 年)

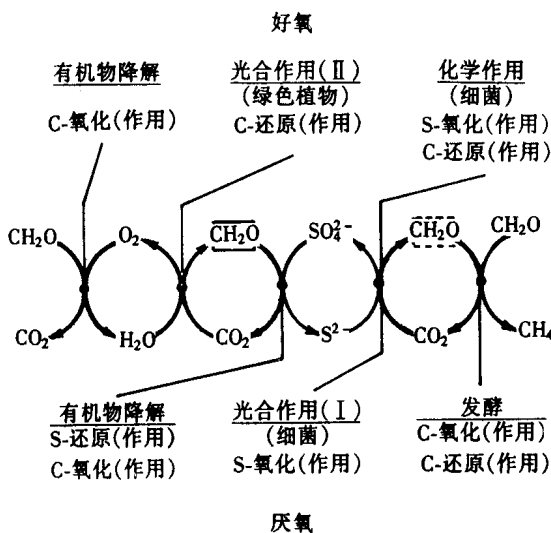


图2 碳、硫循环和微生物转化作用(据 Jannasch, H. W. 等(1985 年))

由于大气层的作用使太阳的光线只有一少部分到达地球表面,而海水的阻挡使深海热液活动区形成非光合作用区,依赖光合作用生长的生物就不能生存。但好氧的化学作用可以进行,只要海水中有足够的游离氧存在。当游离的氧被完全消耗后,厌氧的化学作用就可普遍进行。反过来,深海热液活动区就被认为是生命起源的最合适的地方,有些区域已发现的某些细菌现在按系统发育可归为古细菌。

另外有一种理论认为化学作用支撑着热液活动区的生命活动,并且认识热液活动区的食物供给与热对流形式有关。热液喷口处的热水上升可使底部产生对流,对流可把一些颗粒食物搜集和携带到喷口处,若要使食物供应不在短时间内消耗完,还须直接与表层海水中的光合作用产生联系。一些数据也支持这一观点,如锰溶解的分布数据显示在高温 350℃ 的喷口处,海水流速最快可达 2 m/s,而只能带动不到 10% 底部(在 2 600 m 处)的海水上升,而温差小的(最高为 23 ℃)热液喷口海水流速低(2 cm/s)却能带动几米直径的水团上升。此区域的生物密度和总数量比高温喷口处大。

还有动物主要分布在小的热液喷口附近,一般是在半径几米之内,这也说明它们依赖喷口周围的食物生存。而依靠化学合成细菌共生的动物,它们的分布规律与热液活动区海水中的硫化物浓度相关。这一规律在几个著名的热液活动区已被证实。

前面已经提到深海热液活动区的微生物化学作用经常发生在 3 个地方,微生物菌苔表层和喷口喷射物,喷口内和周围的微生物菌苔中及与喷口处无脊椎动物形成的共生体。喷口处及周围由于温度高利于生物生长,如果把喷口处的浑浊水样接种在 25 ℃,其 CO<sub>2</sub> 的吸收率会比在 3 ℃ 接种的吸收率大 1.5~2 倍。用酶学方法测得喷口周围的微生物菌苔中一些酶的活性强(如 Ribose biphosphate carboxylase 二磷酸核酮糖羧化酶)。再者就是共生联合体,它在热液活动区的数量表明它是最重要的。因为它们的联合作用使蛤和蠕虫的数量占热液活动区动物生物量的 90%。研究认为不断增加对合适能源的有效利用(如 H<sub>2</sub>S 和甲烷以及动物体内的局部化学作用生产力)是与进化紧密相联的。在陆地和浅海水中如果没有阳光为能源提供各种食物链任何生物都不能存活,当最近在深海热液活动区发现化学作用细菌与无脊椎动物的共生体后,相似的共生体也在沿海浅水区发现,只不过其中的化学合成仍是二次生产,因为浅水区的 H<sub>2</sub>S 是由硫酸盐还原菌提供的。但沿岸的热喷泉中发现的共生

体另当别论。虽然微生物与动物的共生现在是一种普遍现象,但深海热液活动区的共生体却潜在着特别重要的意义。

更有意义的推测认为深海热液活动区可能是地球上生命的发源地,因为在此区域得到非生物结构的有机化合物。另一方面,在高温、高压下地热产生的有机化合物有助于兼性的化能自养菌和异养菌进入这一地区。关于热液活动区有机化合物的浓度数据是用一个专用海底取样器取样分析后得到的,但要区别生物溶解的有机化合物中哪一些是由细菌化学合成的有一定的困难,除非用碳同位素标记法来解决。在热液活动区发现还有一些重要的无机物也引起科学家们的关注,如在热液活动区发现了无机物焦磷酸,它是某些硫酸盐还原细菌的能源。而在深海热液活动区发现在高温下生长的硫酸盐还原细菌,同位素示踪法显示硫酸盐的还原作用可在 100 °C 以上进行,最适温度是 103~ 106 °C。这一发现把原先科学家认为深海底质中硫酸盐还原菌的最高适应温度 85~ 95 °C 提高 20 °C。另外得到这种嗜热细菌对于 100 °C 以上的硫元素的生物地质化学过程有着潜在的重要性。

早期就发现有一种独特的微生物“古细菌”在热液活动区存在,这种细菌与甲烷菌、嗜酸菌、嗜热菌和

嗜盐菌在 RNA 结构上不同。但最近从土壤中和浅海热泉中分离得到一热嗜酸菌,它们的生理生化特点与古细菌有相似之处,它们可以生长在 pH 4.5~ 5.5 环境中,温度在 85 ~ 95 °C 的条件下,还可还原硫为 H<sub>2</sub>S。但因它们的碳源是有机物,所以它们的代谢类型是化能异养型。

热液活动区的微生物还有下列特殊性,研究发现从深海热液活动区分离得到的大多数好氧、厌氧、兼性或专性化能自养细菌有相似的代谢形式。这并不奇怪,因为深海条件并不能破坏那些不断来自于海洋表层的微生物。而那些来自深海或浅海水中的微生物对高压有一定的承受力。另一方面化能自养细菌生命力很强,对深海的高压有一定的适应能力。某些异养细菌也有这一特点,所以深海异养细菌在某些小环境中有很高的密度。例如,底栖无脊椎动物消化道内和海底温度只有 2 °C 的海水中也可以分离到异养细菌。另外在深海高压低温的环境中也可分离到具有嗜热特点的细菌。当然高压是深海热液活动区的一个共同特点。但深海热液活动区的微生物的特殊性仍是科学家研究的焦点,也是许多对热液活动区研究的科研计划的重点。