

深海微生物生态分布的若干特点

Ecological distribution characteristics of microbes in deep-sea

席峰^{1,3}, 郑天凌^{1,2}, 张瑶^{1,2}, 焦念志²

(1. 厦门大学生命科学学院 应用与环境微生物研究所, 福建 厦门 361005; 2. 国家教育部海洋环境科学重点实验室, 福建 厦门 361005; 3. 集美大学水产生物技术研究所, 福建 厦门 361021)

中图分类号: Q938 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2004)02-0064-05

深海, 系指海洋中 1 000 m 以下的水域。海洋中 75% 以上的海域是深海, 深度多在 1 000~7 000 m 之间, 平均为 3 800 m 左右。深海是一个特殊的黑暗世界, 它一般营养较为贫乏, 有着极高的静水压力和很低的温度 (1~3 °C), 少数热泉喷涌处则极热 (达 200~400 °C), 此外还有高盐和富含酸、碱及高浓度重金属离子及其他不利环境因子区域的存在, 长期以来被视为生命的禁区。

然而, 近年来在深海不同的区域^[1]以不同的方式陆续发现了丰富多样的微生物^[2~5]: (1) 在深海热液喷口处取水样, 用 0.2 μm 的核孔滤膜过滤后进行扫描电镜观察, 发现有许多微生物细胞。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 $10^7 \sim 10^8$ 细胞/mL。用 ATP 测定法同样也发现, 深海热液喷口水中的 ATP 量是表层海水中的 3~4 倍。证明深海热液区是细菌的生长繁殖地。(2) Ravenschlag 等从永冻的海底沉积物中分离到 353 株微生物, 通过 16S rRNA 斑点杂交发现它们大部分是与硫循环有关的细菌(主要是 *Desulfotalea* sp.)。(3) 从深海钻探岩芯中也发现有大量活的微生物存在, 这些微生物可能在海底以下甲烷水合物的形成和锰结核的形成中起重要作用。我国学者边立曾、张富生、胡文宣等对深海锰结核进行了较为系统的研究, 认为微生物为锰结核的建造者, 因为锰结核中的螺旋状超微生物具有生长和繁殖的特性, 它建造了一种微生物岩——叠层石, 是区别于已知细菌、放线菌、病毒各个属的新的深海微生物类群, 其大小接近于病毒和支原体, 其形态和结构接近于放线菌, 其生理特征接近于铁锰细菌。

由于深海特殊的生态环境, 使得微生物的生物量代表了绝大部分深海生物量, 其重要性随深度而增

强。因而, 深海微生物的研究无疑具有极其重要的生态意义。

1 深海微生物的分布格局

虽然现已在深海的深度发现了丰富的微生物多样性, 但受各种因素的影响, 微生物在深海的各个深度的分布是不均一的。据估计, 从表层水到深海沉积物中大约 75%^[6] 的细菌生物量存在于深海沉积物顶层 10 cm 的沉积物中, 且其约占全球微生物的 13%。因此, 深海水柱中的微生物量相对较小, 它主要由包含于来自真光层的颗粒有机物质 (POM) 并随之下降的微生物及自由生活或吸附于 POM 上的土著微生物组成。因此, 深海沉积物微生物是我们研究的重点。而沉积物的不同层面由于各种理化因子和生物因子的作用差异导致微生物的分布也不一致。一般来说, 在沉积物-水界面 (SWI, 水柱和沉积物顶层 1 cm 之间的生物反应界面, 它含有来自真光层的 POM 和来自沉积物本身再悬浮的有机碎屑) 的微生物丰度最高, 其上面的底栖边界层 (BBL, 靠近海底的几十米厚的水柱层, 其温度和盐度稳定, 有时包含有再悬浮的有机碎屑) 微生物丰度相对较低, BBL 上面的深海水

收稿日期: 2002-05-08, 修回日期: 2002-08-30

基金项目: 国家 973 项目 (G2000078504) 及国家教育部骨干教师资助项目资助。

作者简介: 席峰 (1972-), 男, 江西高安人, 环境微生物学博士研究生, 研究方向为环境微生物学, 电话: 0592-2184866, E-mail: xifeng@jmu.edu.cn; 郑天凌, 通讯作者, 电话: 0592-2183217, E-mail: microzh@jingxian.xmu.edu.cn



柱微生物丰度更低,而在 SWI 下面的沉积物则由于溶氧状况的不同,微生物种群的分布与丰度也不一致,一般来说微生物在有氧呼吸区较无氧呼吸区的丰度更高。由于地壳运动和深海底流、生物扰动等因素的综合影响,在不同经、纬度的深海沉积物其微生物的分布也是不均一的。研究^[7]表明,深海沉积物中的微生物是呈不连续、非均质的斑块状分布的。现代海洋学和微生物学的研究^[8]表明,在深海火山活动和板块消减带所形成的地质背景下分别有海底热泉和冷泉的存在。因其与海水的相互作用,为化能自养的初级生产者提供大量必需的还原物或氧化物,如 H_2S , H_2 及其他营养物质,因此其生物量要高出周围 1 万倍,而绝大部分深海则处于一种低温、贫营养的环境,生物量相对较低。

生物在进化过程中形成各种相互关系也影响到微生物的分布,如某些深海细菌可与底栖动物形成共生关系,微生物可以底栖动物前肠消化后剩余的残渣为营养,并且可以依靠底栖动物的移行而较稳定而持续地获得营养,从而维持一个相对较高的生物量。当然,由于深海总体是贫营养的,因而深海微生物之间的竞争甚至拮抗关系也应是强烈的(因而它也可能是一些重要的次级代谢产物的良好来源)。此外,微生物的捕食压力也是控制微生物生物量的一个非常重要的因素。因此,深海微生物的分布也是各种生物因子综合作用的结果。

尽管在深海中极少数的极酸、极碱、高盐环境中微生物的种群和丰度均会发生一定的变化,但总体上说,深海环境是一个低温、高压、贫营养的环境,该环境中的微生物应是深海最具代表性的微生物,对它的研究,不仅具有重要的生物学价值,更具重大的生态意义。当然,少数更为极端的环境中微生物的研究,特别是热液区微生物的研究,也具有重要生态意义。由此可见,对深海微生物生态学的研究应从深海微生物的生境调查开始,获取深海微生物的营养状况和物理、化学因子分布状况的较为完备的资料;在此基础上进行深海不同代表区及不同的垂直剖面的微生物的种群及分布调查和系统发育学分析、微生物生产力的测定以及不同海域微生物生物量的整合、评估;同时进行深海微生物的分离、纯化与培养和生理、生化特性研究,阐明其生物地球化学功能;由种群向群落、生态系统时空整合,评价整个海区的深海微生物的生物地球化学影响,在此基础上进行模拟重建与改造以应用于生物修复。

2 营养因子对深海微生物生态分布的影响

2.1 深海微生物的营养来源

深海微生物的发现及其生理机制的研究表明微生物已通过各种方式适应了深海的的不同环境。各种生态因子虽然可以影响到微生物种群的分布,但真正影响微生物生物量的因素主要是营养。如果以深海沉积物视为一个开放系统,那么深海微生物的营养来自于三个营养源,即沉积物本身、上层水体和和底部岩石圈。

2.1.1 沉积物本身提供的营养

深海地质的研究^[9]发现,深海中存在着各种各样的矿藏,其中多金属结核是目前所知海底最大的金属矿产资源,是主要由铁锰物质组成的多金属团块。它广泛分布于水深 4 000 ~ 6 000 m 的海底,含有 70 多种元素;海底热液矿床是近年来颇为引人注目的海底矿产资源,其中列入目前研究重点的是热液硫化物矿床,其成分除硫之外,主要还有 Cu、Fe、Zn 等重金属元素,此外铁锰氧化物、石膏、黏土矿物等的储量也非常大,除上述几种外,目前发现的还有磷酸盐、碳酸盐以及海水中大量的溶解矿物等。深海化石的研究发现,深海中存在的丰富的有孔虫、翼足类、放射虫及藻类等动植物碎屑、壳体给沉积物提供了各种元素,成为沉积物中主要的有机物来源。此外,近年来还发现沉积物的矿物基质能够吸附一部分来自上层水体的有机物,从而成为深海微生物的重要有机营养源。近 30 年来,海洋学研究^[10]发现了深水底流,包括等深流、内波和内潮汐,它与底栖生物的扰动等因素的作用可影响到沉积物中元素及化合物的时空分布,从而影响到微生物的分布。

2.1.2 上层水体提供的营养^[6]

由于海水上层水体中各种矿物元素的含量是相对恒定的,因而人们关注的主要是对深海微生物丰度和活性影响最大的颗粒有机物质(POM)。POM 主要来自于真光层浮游生物碎屑的团聚物或粪便颗粒,其中包含了不同种类、不同大小的活的或死亡的浮游植物和浮游动物,通过浮游动植物分泌的粘多糖粘在一起,当中可能还有丰富而又活跃的微生物种群及其捕食者鞭毛虫。POM 除了一小部分停留在真光层外,大部分都通过不同生物的呼吸作用而消耗了,仅有很少一部分初级生产力沉降于海底。POM 表现出强烈的季节变化和昼夜差异,深海微生物也相应地通过呼吸作用强度、酶的产生量、DNA 和蛋白质的合成速率的调整来迅速响应这种变化,因此它可影响到深海微生

物的生长繁殖。因此,测定颗粒有机物质的通量对研究微生物生态学具有积极的意义。现已可以通过沉积捕获器来对其进行测定。

对深海海水柱层的微生物来说,POM 是其主要的营养来源,这无论是对处于团聚物中来自于真光层的微生物还是吸附于团聚物表面的深海土著微生物或靠偶然截取 POM 溶出的有机物质而自由生活的深海微生物而言都是如此。但是,由于沉降过程中温度和压力的急剧变化,各种来源微生物的反应不一,来自真光层较高水温层的微生物其 DNA 和蛋白质的合成过程将受到显著影响,特别是在温跃层。一般来说,在水深为 1 000、2 000 和 4 000 m 的深海,温度分别为 5、3 和 2 °C。在这样一个温度下,真光层微生物的活性很低甚至处于休眠状态,这将有助于减少其对团聚物的降解与呼吸,使更多的 POM 沉向海底。

一旦 POM 沉降到底部,它便在 SWI 形成一个季节性的疏松层,沉积物中的微生物将对其迅速作出反应,产生胞外酶将其降解成更小可供其代谢的部分。利用植物碎屑在深海原有的温度、压力下的水-沉积物界面(SWI)进行的加富试验证明,深海微生物能在数小时至数天内积极响应并大量降解该类有机物。

2.1.3 底部岩石圈提供的营养

对海底热液区的研究^[2, 21]发现,热液中含有大量的硫化氢,这种硫化氢非常集中的现象,目前仅在海洋中发现。海底热液还长期排放出其他化学元素和溶解气体,包括 Si、Fe、P、CO₂ 等,它影响到全球性的大洋水体及其沉积物中元素的平衡,也影响到这些元素在海洋中的生物地球化学过程,从而也影响到微生物的分布。热液区是天然的自我更新的化学和矿物工厂,火山口附近的生物是以火山喷出的化学物质作为生物链的基础。在海底,微生物的能量来源不是由阳光,而是硫化氢,这些硫化氢是从新的火山口释放出来的。这些细菌环绕着火山口,可在海底形成“雪暴”。

2.2 深海微生物的营养状况

营养物质和能量是生物新陈代谢的基础,而能量蕴涵在能量物质中,因而对物质,特别是能量物质的研究是深海微生物生态学研究的基础。

微生物的营养要素包括无机营养物质和有机营养物质。虽然,从深海沉积物的组成来看,生命所需各种元素都具备,但其比例却与生物组成大相径庭,生命的进化正是建立在选择性吸收各种营养元素的基础上。从无机物中各种元素的含量来看,矿物元素不至于缺乏(有的甚至过剩而产生毒害作用),但是,氮源相对缺乏,碳源和磷源虽有一定的储备,但碳酸盐

和磷酸盐因受海洋 pH 偏碱性的影响,一般溶解度低,可利用性差。因而,构成生物的大量元素必须由有机营养物质来供给。

微生物所需的有机营养物质主要包括蛋白质、核酸、碳水化合物、脂类,虽然均可作为相应的结构物质和能量来源,但正常情况下前两者一般作为结构物质而体现生命存在并行使各种功能,而后两者则多用于供应能量以维持生命活动的正常进行,而且,前两者在后两者供应不足的情况下可代替后两者的功能,但后两者则不能全部替代前两者的功能。这是因为后两者不含氮(磷)。因而,通常以 C:N^[11]来评判营养源营养价值的高低。由此,评价深海营养状况时其碳源和氮源的含量和比例是研究的指标之一。

由于来自真光层的团聚物在沉降过程中发生的进行性降解,一般较易利用的有机物被水柱层的生物消耗殆尽,因而海底有机营养物质的营养价值相对较低,其 C:N 较微生物需求要高。因此,深海微生物应是具备降解难降解有机物的能力的微生物(从另一个角度来说,从深海微生物中提取难降解有机物降解酶的研究应该是极具前景的领域),对相应难降解有机物降解酶动力学研究以及微生物营养动力学研究也应是我们要关注的目标。

对深海沉积物中微生物胞外酶的研究表明,其产量受基质中营养的调控,一些酶被诱导,而另一些酶被抑制,但总体来说,POM 能比溶解有机物质诱导更多的胞外酶产生。这些酶和其他活性指标在 SWI 中最高。一般情况下,糖苷酶活性与植物碎屑量成正相关^[12],而肽酶活性的升高则预示着营养源中蛋白质的缺乏。而添加无机氮能够显著地促进沉积物中微生物的生长,这说明深海沉积物是一个氮限制的营养环境。在营养不受限制的情况下,深海微生物在压力力和温度下的生长速率与在浅水中微生物的生长速率相似,这也说明营养状况是控制深海微生物生长的重要因素。

BBL 中自由生活的细菌与 SWI 中的细菌的比较表明,BBL 中的细菌丰度较 SWI 中的低几个数量级(前者大约为 $0.3 \times 10^5 \sim 1.6 \times 10^5$ mL⁻¹海水,后者约为 $1 \times 10^9 \sim 5 \times 10^9$ mL⁻¹沉积物)。胸苷组入实验也反映了这种差异。并且,SWI 中的细菌更大,分化频率也比 BBL 中的细菌更高。这反映了深海各层面中营养状况差异以及细菌对寡营养和富营养的适应策略。

由于众多生物因素的综合作用,深海微生物的数量在营养条件相对稳定的情况下可呈现一个相对稳定的状态,但是各种理化因子及营养要素的满足状况可显著地影响物质转化和能量效率。因此,评价微生

物的作用应与其他生物因子的作用结合进行,仅凭借微生物的生物量的变化不足以判定其对生物地球化学循环的影响。

3 深海理化因子对深海微生物生态分布的影响

3.1 温度

对深海微生物来说,其物质和能量来源是由死亡的海洋生物残骸提供的。海洋生物死亡后会沉向海底,在海底形成富含有机物的沉积物,这些有机物会分解形成乙酸盐,而乙酸盐能为微生物提供碳等必需元素,以供细胞维持生存与繁殖。然而,一些深海考察表明,普通海洋沉积物中的乙酸盐并没有丰富到让微生物大量生存的程度。这曾困惑了许多科学家。英国布里斯托尔大学和挪威卑尔根大学的科学家组成的国际研究小组在多次模拟实验中发现,当温度升高时,海洋沉积物中的有机物质就会加速形成乙酸盐,这可以解释为什么海洋热泉附近会有大量微生物繁衍。基于这一推断,该研究小组又对深海底部靠近热泉的海洋沉积物进行分析,结果发现其乙酸盐含量远高于其他成分,并且温度越高,这种物质含量也相应增加。但是,这种乙酸盐的形成是由于温度的升高导致微生物对深海沉积物中有机物降解率的提高还是由于深部高温导致了这些有机物的裂解目前尚不清楚。

温度变化不仅影响深海微生物的代谢速率,而且还影响到其他重要的环境因子,如深海底流、水柱分层、营养循环和初级生产等,这些因子强烈地影响着微生物种群和群落的动力学乃至群落的结构和功能。如厄尔尼诺与拉尼娜现象即可能通过影响表层海水中浮游生物的生长而影响输入深海的新生产力,进而影响到深海微生物以及深海其他生物的生产力。

3.2 溶氧

由于海洋水体的巨大,尽管经过海洋生物的有氧呼吸作用后, O_2 仍可波及海底,甚至穿透至海底沉积物中。因而,由于沉积物中溶氧状况的不同,可分别为好氧微生物、微好氧微生物、兼性厌氧微生物和厌氧微生物提供相应的生境。RUTGER等^[13]对南大洋深海沉积物的微生物呼吸和氧扩散的研究表明,深海沉积物上层1 cm是有氧呼吸最为活跃的区域,在5 cm处也可检测到,有些地方氧气甚至可穿透至沉积物内10 cm的区域。在这些区域以下则是一些厌氧菌,如产甲烷菌和一些进行甲烷厌氧氧化的古菌^[14,15]。以往有些研究^[16]试图采用深海底栖耗氧量作为指标来评估深海的“初级”生产力。但是,如果输入的有机物超出

了微生物进行有氧氧化所需,那么厌氧微生物能继续对这些多余的有机物进行降解,这将导致对深海生物生产力的低估。

3.3 pH

深海的pH环境也影响着微生物的代谢,以铁细菌为例,如果在中性pH的环境下,亚铁盐将自发地氧化成高铁盐,铁细菌将无能量来源。因此,铁细菌必须生活在酸性环境中,尽管亚铁盐的氧化提供的能量不足以满足其代谢所需,但它能以天然存在的质子梯度作为质子动力,故此pH能影响其代谢活性。当然,对大多数微生物而言,pH主要是通过影响其结构的稳定而影响其功能的。

3.4 压力

深海压力也是影响微生物代谢的一个重要因素。Yanagibayashi等^[17]对日本海沟沉积物中微生物的研究表明,在不减压(65MPa)的培养条件下,*Moritella*菌属占优势,而在常压条件下培养则是*Pseudomonas*菌属占优势。这说明压力可影响到微生物的结构、功能与代谢。

4 深海微生物生理生态多样性及其研究策略

4.1 深海微生物生理生态多样性

由于深海沉积物中营养源的多样性和深海物理、化学因子的复杂性,深海中应存在多种多样的代谢类型。从碳源角度来看,应该存在利用有机物质作为碳源的异养微生物和以无机物 CO_2 作为碳源的自养微生物,其分布可能随着有机物质的含量的变化而变化;从能量角度看,深海微生物的电子供体既可能是有机物质,又可能是某些还原性无机物(如 H_2S , H_2 乃至 Fe^{2+} , Mn^{2+} 等)作为能源,其电子受体既可能是氧气,也可能是其他电子受体(如 NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2 , Fe^{3+} 等)。由此,深海中必然存在着丰富的代谢多样性,除有机化养微生物,如硫酸盐还原菌、产甲烷菌等外,还存在硫细菌、氢细菌、铁细菌和锰细菌等无机化养微生物。对深海微生物生理多样性的研究将围绕其电子供体与受体、自养与异养、呼吸链以及代谢的关键酶以及极端酶等内容而展开。

深海微生物生理的研究无疑是全面评价其生物地球化学功能的基础,它可为揭示深海微生物对生物地球化学循环的影响潜力,从而为追溯地球历史提供依据,也为深海生物圈对整个生物圈现代生态格局的影响评价以及未来人类活动影响下深海微生物对环境变化的响应评价奠定基础。然而,目前各方面的资料还相当贫乏,深海微生物生态学研究的推进强烈地依赖

于研究方法的改进以及相关技术支撑体系的建立。

4.2 深海微生物生理生态多样性研究策略

由于深海环境的特殊性,加之目前对其知之甚少,因而采用传统的平板分离法进行分离纯化一般难以成功。因此,发展新的分离技术与策略在所必行。最近,一种新的分离策略见诸报道^[18]:首先,通过 16S rRNA 序列分析和特异性探针进行整细胞原位杂交从而筛选所需菌株,然后采用一种膜电位敏感性染色剂 DiBAC₃ (3 X bis-(1,3-dibutylbarbituric acid)trimethine oxonol)进行染色以鉴别该微生物的死活,最后通过一种光钳(optical tweezers trap)技术直接分离所需的单菌株。

用上述方法得到的菌株可进行序列分析和系统发育学研究。随着完整基因序列的不断获取,设计保守的重要代谢途径的寡核苷酸探针(如与产甲烷和硫代谢有关的探针)成为可能,这将有助于对未知微生物进行分类和推测其生理生化功能,但是,已有报道表明系统发育地位非常相近的微生物其代谢类型可能大相径庭,因此通过这种方式不可能获取微生物的所有信息,若要对其进行生理性能的研究仍必须进行纯培养,而这是目前最为薄弱的环节,因而选择性培养基的研究和培养条件的摸索将是进行深海微生物生态学基础研究的重要部分。

若将深海微生物生理研究成果与不同时空尺度的生态因子作用下的微生物分布格局不断进行整合,将有助于从不同角度真正理解深海微生物对整个地球历史、现状和人类未来命运的影响。

参考文献:

- [1] 胡文宣,周怀阳,顾连兴,等. 深海(铁)锰结核微生物成因新证据[J]. 中国科学(D辑),1999,29(4): 362-367.
- [2] 肖天,陈. 深海热液活动区的微生物作用[J]. 海洋科学,1998,6:11-15.
- [3] 李日辉,何贵卿. 深海热液喷口生物群落的研究进展[J]. 海洋地质与第四纪地质,1999,19(4):103-108
- [4] 李越中,陈琦. 海洋微生物资源多样性[J]. 生物工程进展,1998,18(4):33-40.
- [5] 张富生,边立曾,林承毅,等. 深海锰结核中螺旋状超微生物化石的发现及其意义[J]. 高校地质学报,1995,1(1):109-116.
- [6] Carol T. Bacteria in the cold deep-sea benthic boundary layer and sediment-water interface of the NE Atlantic[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000,33:89-99.

- [7] Danovaro R, Dell'anno A, Pusceddu A, et al. Nucleic acid concentrations (DNA, RNA) in the continental and deep-sea sediments of the eastern Mediterranean: relationships with seasonally varying organic inputs and bacterial dynamics[J]. *Deep-Sea Research I*, 1999,46: 1077-1094.
- [8] 阴家润,王薇薇. 深海洋底热泉生态系和冷泉生物研究综述[J]. 地质科技情报,1995,14(3):31-36.
- [9] 方银霞,包更生,金翔龙. 21世纪深海资源开发利用的展望[J]. 海洋通报,2000,19(5):73-78.
- [10] 王泽中. 海洋学研究的新知——深海底流沉积[J]. 大自然探索,1997,16(6):86-89.
- [11] Roberto D, Antonio D, Mauro F, et al. Deep-sea ecosystem response to climate changes: the eastern Mediterranean case study[J]. *TRENDS in Ecology Evolution*, 2001, 16:505-510.
- [12] 王斐,郑天凌,洪华生. 细菌胞外酶的生态作用[J]. 海洋科学,1999,3:33-36.
- [13] Rutger D W, Jean C R, Thierry B, et al. Microbial respiration and diffusive oxygen uptake of deep-sea sediments in the Southern Ocean (ANTARES-I Cruise) [J]. *Deep-sea Research II*, 1997,44, 1053-1065.
- [14] Marcus E, Erwin S, Jens G, et al. Archaea mediating anaerobic methane oxidation in deep-sea sediments at cold seeps of the eastern Aleutian subduction zone[J]. *Organic Geochemistry*, 2000,31: 1175-1187.
- [15] Volker T, Jom P, Hans H, et al. Molecular signals for anaerobic methane oxidation in Black Sea seep carbonates and a microbial mat[J]. *Marine chemistry*, 2000, 73: 97-112.
- [16] John P. A relationship between deep-sea benthic oxygen demand and oceanic primary productivity[J]. *Oceanologica Acta*, 2000, 23:65-82.
- [17] Miki Y, Yuichi N, Lina L, et al. Changes in the microbial community in Japan Trench sediment from a depth of 6296 m during cultivation without decompression[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 1999,170: 271-279.
- [18] Huber R, Huber H, Setter K O. Towards the ecology of hyperthermophiles: biotopes, new isolation strategies and novel metabolic properties[J]. *FEMS Microbiology Review*, 2000,24:615-625.

(本文编辑:刘珊珊)