



中国东海二甲基巯基丙酸内盐(DMSP)合成与降解菌的水平和垂直分布

孙浩^{1,2}, 谭斯尹¹, 梁金昌¹, 杨桂朋³, 辛宇³, 张晓华^{1,2,4*}

¹ 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003

² 青岛海洋科学与技术试点国家实验室, 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东 青岛 266071

³ 中国海洋大学海洋化学理论与工程技术教育部重点实验室, 山东 青岛 266100

⁴ 中国海洋大学深海圈层与地球系统前沿科学中心, 山东 青岛 266100

摘要:【目的】二甲基巯基丙酸内盐(dimethylsulfoniopropionate, DMSP)及其裂解产物二甲基硫(dimethyl sulfide, DMS)在海洋硫循环中发挥重要作用。目前关于 DMSP 降解细菌的分布已有部分报道, 但其合成细菌的研究才刚刚起步。本文拟研究中国东海水体 DMSP 合成与降解菌及基因的水平 and 垂直分布(1000 m 水深)差异, 分析其对环境梯度变化的响应。【方法】利用流式细胞仪计数海水样品中微小型浮游生物的数量, 通过荧光定量 PCR 和高通量测序手段定量测定 DMSP 合成基因(*dsyB* 和 *mntN*)及物种、DMSP 降解基因(*dddP* 和 *dmdA*)及物种的丰度, 分析其在东海海域水平及垂直方向上的分布差异。【结果】在垂直方向上, 聚球藻、原绿球藻、微小型真核生物和异养细菌丰度随着水深的增加而先增后减, 最大值位于 30–50 m 附近。表层(4 m 左右)水体的 DMSP 合成及降解基因丰度最高, DMSP 合成菌(如 *Alteromonas*、*Phaeobacter* 和 *Pelagibaca* 等)丰度也最高; 随着水深增加, 表层以下水体中 DMSP 合成及降解基因和物种丰度先增加后降低, 峰值均出现在 100–150 m; 100 m 以下, DMSP 降解基因丰度迅速下降, 而合成基因丰度下降程度较低, 而且接近底层(>500 m)时出现随水深逐渐增加的趋势。水平方向二者变化规律不明显。浅层水体(≤100 m)和深层水体(>100 m)细菌群落结构存在显著差异, 前者拥有较高比例的黄杆菌纲、放线菌纲和蓝细菌纲细菌, 后者 α 变形菌纲细菌丰度较高。【结论】100 m 及以浅和 100 m 以深的浮游细菌群落结构存在显著差异。表层水体中 DMSP 合成和降解细菌的丰度最高, 100–150 m 水体次之, 但 100–1022 m 介导的 DMSP 合成和降解细菌丰度的变化趋势有较大差别。

关键词: 二甲基巯基丙酸内盐, 合成和降解基因, 群落结构, 水平和垂直分布, 中国东海

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFA0601303); 国家自然科学基金(91751202)

*通信作者。Tel: +86-532-82032767; E-mail: xhzhang@ouc.edu.cn

收稿日期: 2020-03-15; 修回日期: 2020-04-14; 网络出版日期: 2020-05-08

二甲基硫基丙酸内盐(dimethylsulfoniopropionate, DMSP), 是一种含硫的两性电解质, 在海洋中广泛存在, 年产量可达 2.0 Pg^[1]。DMSP 可作为渗透压保护剂、抗氧化剂、冷冻保护剂、化学引诱剂等维持生物体细胞的基本生命活动^[2]。DMSP 含有碳和硫元素, 可以作为营养物质, 为生物生存提供必要的碳源以及硫源^[2-4]。DMSP 的裂解产物二甲基硫(dimethyl sulfide, DMS)是海气交换中硫元素的最主要存在形式^[5], 是一种负温室气体。DMS 具有抗氧化的作用^[6], 还可作为化学引诱剂指示食物源^[7], 其氧化产物可以作为云凝结核促进云的形成, 增加对太阳光的反射率, 从而减轻温室效应^[8-9]。

DMSP 主要由一些海滨高等植物、大型藻类、浮游植物以及珊瑚合成^[2], 最近 Curson 和 Williams 等发现原核细菌也可以合成 DMSP, 并鉴定出了合成基因 *dsyB* 和 *mntN*^[10-11]。但目前仅有 Williams 等对河口、深海以及盐碱地细菌的 DMSP 合成基因 *dsyB* 和 *mntN* 的分布作了初步研究, 发现沉积物中的 DMSP 合成能力高于上覆水^[11]。自然界的一些生物在合成 DMSP 的同时, 能够通过自身的降解作用将 DMSP 裂解为 DMS 和丙烯酸或 3-羟基丙酸, 如赫氏颗石藻(*Emiliania huxleyi*)和部分异养细菌^[10,12], 但是在大多数情况下, 生物合成的 DMSP 会被释放到海水环境中, 以溶解态(DMSPd)的形式存在, 被其他异养微生物(绝大部分是细菌)所吸收利用。DMSP 的分解代谢共有三条途径: 脱甲基途径、裂解途径和最新发现的氧化途径。DMSP 的脱甲基途径由 DmdA/B/C/D 一系列的酶介导将 DMSP 降解生成甲硫醇(methanethiol, MeSH)、辅酶 A、二氧化碳以及乙醛^[13-14], 大约占 DMSP 降解代谢总量的 70%, 到目前为止脱甲

基途径只在细菌中有发现。根据序列相似性, *dmdA* 基因可分为 5 个簇(clade)14 个亚类群(subclade), 而 C/2 和 D/1 是海洋中丰度最高的两个亚类群^[15-16]。*dmdA* 的同源基因广泛分布在海洋细菌基因组当中, 如玫瑰杆菌类群、SAR11 类群以及 γ -变形纲细菌^[17], 甚至在一些珊瑚环境周围的噬菌体当中也发现了 *dmdA* 基因的存在^[18]。DMSP 分解代谢的另一种主要途径是裂解途径, 在真核生物中仅发现一种介导此途径的酶 Almal^[12], 原核生物中主要由 Ddd 家族的酶类介导, 包括 DddL、DddP、DddQ、DddW、DddY、DddK 和 DddD^[2,4,19], 在海洋宏基因组分析研究中, *dddP* 和 *dddQ* 作为丰度最高的 2 个基因, 常用来定量 DMSP 的裂解途径^[15]。最近 Thume 等发现了 DMSP 降解生成二甲基亚砷丙酸盐(dimethylsulfoxonium propionate, DMSOP)的氧化途径, DMSP 的氧化途径在真核生物以及原核生物中均存在, 但所占比例较低^[20], 对 DMSP 氧化途径的研究刚刚起步, 催化 DMSP 氧化的关键酶还有待进一步的鉴定。目前有关海洋中 DMSP 降解细菌及基因的分布已有部分报道^[16,21], 但关于 DMSP 合成细菌及基因的分布才刚刚起步。Williams 等对盐碱地、河口、表层海水以及沉积物中的 DMSP 合成基因进行了分析, 但还没有研究关注细菌 DMSP 合成基因在边缘海的分布模式, 特别是受水深增加的影响。

中国东海地处亚热带地区, 温度年际变化相对较小。有多条淡水河流注入, 如黄河、长江、钱塘江等, 加上近岸发达的工业农业等形成了典型的富营养海域, 有利于浮游生物的生长繁殖, 在中国边缘海中拥有最高的生产力^[22]。受沿岸流、台湾暖流以及黑潮的影响, 从海岸到东海近海海

域形成了明显的水文梯度环境, 即表层海水的温度、盐度等逐渐升高, 而硝酸盐、磷酸盐以及叶绿素 *a* 等的浓度逐渐降低^[23]。复杂的洋流以及地表径流输入使得东海拥有季节、区域变化的连续性和异质性, 造成了海洋内部细菌群落结构的季节、区域变化^[24]。独特复杂的生态环境使得东海海域成为研究微生物群落生态响应的理想海域。在垂直方向上, 光照强度随水深增加而减弱, 导致聚球藻、原绿球藻等微小型浮游植物丰度整体降低, 但其在 50 m 左右水深处(叶绿素最大层)大量聚集^[25]。此外, Cai 等也发现在南海海域硝酸盐浓度从 150 m 水深开始迅速增加^[25]。环境条件随水深的梯度变化必将对细菌群落组成及其代谢产物 DMS/DMSP 等带来影响。

为了分析东海海域 DMSP 合成及降解菌以及功能基因的水平及垂直方向上的分布差异, 我们通过荧光定量 PCR(qPCR)的手段定量测定 DMSP 合成基因 *dsyB* 和 *mntN*, DMSP 降解基因 *dmdA*(C/2 和 D/1)以及 *dddP* 的丰度, 通过高通量测序的方法测量细菌的群落组成及 DMSP 合成降解物种的丰度, 并将环境因子(DMSP、DMS、叶绿素 *a* 等)、

基因丰度和 DMSP 合成降解物种相结合, 分析三者之间的联系, 研究细菌介导的 DMSP 合成降解过程对水平和垂直环境梯度变化的响应。

1 材料和方法

1.1 样品采集

样品采自于 2017 年 4 月的春季黄东海生源活性气体航次, 4 个站位, 共获得 13 个样品, 分别为 P2、P4、P6 的表层(4 m 左右)海水样品和 P7 站位的全水深海水样品, 如图 1。海水样品利用玫瑰花式多瓶采水器采集, 取 1 L 海水分别用 3 μm 和 0.22 μm 的聚碳酸酯膜(Millipore 公司, 美国比勒利卡)过滤, 过滤得到滤膜用液氮速冻 30 s, 后放入 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷藏, 回实验室后转移到 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱备用。用终浓度 2% 的多聚甲醛固定 4 mL 原位海水样品用于流式细胞仪计数。

1.2 环境参数的测定

样品的水文环境因素(温度、盐度、深度)由采水器上的 CTD(Sea-Bird SBE 9)现场测量获得, 叶绿素 *a* 浓度的测量参见 Zhang 等的方法^[26], 由

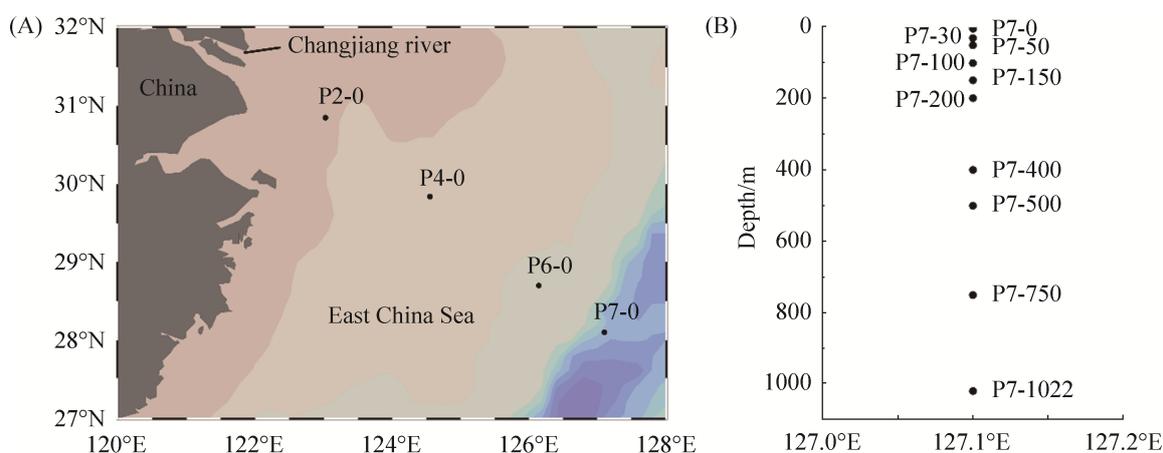


图 1 样品采集信息

Figure 1. Sampling information. A: sampling sites. B: sampling depth of P7.

厦门大学陈长平课题组完成(未发表数据)。溶解氧的测量参照 Winkler 等的方法^[27], 营养盐的测量参见 Liu 等^[28]。

1.3 流式细胞仪计数真核生物和原核细菌

利用流式细胞仪(BD FACSJazz, 美国)计数聚球藻(SYN)、原绿球藻(PRO)、微微型真核生物(PEUK)和异养细菌(HB)的丰度, 方法参考赵丽等^[29]。

1.4 环境总 DNA 提取

将 3 μm 和 0.22 μm 的滤膜各取 1/4 剪碎到同一个螺纹管中, 利用酚氯仿抽提环境样品中的总 DNA, 具体步骤参见 2013 年尹琦文章^[30], 有些步骤作了改进: DNA 滤膜和 STE (100 mmol/L NaCl, 10 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA, pH 8.0) 的混合物预先用 FastPrep-24 破碎仪(MP Biomedicals, 美国加利福尼亚州)以 6.0 m/s 转速破碎 60 s 两次。环境总 DNA 提取完成后用 50 μL 的 TE 缓冲液 (100 mmol/L Tris-HCl, 10 mmol/L EDTA, pH 8.0) 溶解, 储存于 -80°C 冰箱备用。

1.5 荧光定量 PCR

利用 qPCR 技术定量海水样品中的 DMSP 合成基因 *dsyB*、*mntN* 和降解基因 *dmdA*(C/2 和 D/1)、*dddP* 的丰度。qPCR 体系如下(20 μL): 无菌三蒸水 6.8 μL , 上下游引物各 0.4 μL (10 $\mu\text{mol/L}$), ROX (TaKaRa, 日本东京) 0.4 μL , TB Green II (TaKaRa, 日本东京) 10 μL , 10 倍稀释的样品 DNA 2 μL 。qPCR 反应程序如下: 95°C 预变性 3 min, 然后 95°C 变性 20 s (16S rRNA 变性 30 s)、退火温度复性 30 s、 72°C 延伸 30 s 执行 30 个循环, 最后为熔解曲线, 95°C 预变性 1 min, 而后以每分钟升高 5°C 的速率从退火温度升至 95°C 。各引物序列和退火温度见表 1。

标准曲线的制备参照 Liang 等的方法^[34]。qPCR 基因扩增效率为 95%–105% (*dsyB* 和 *mntN* 基因扩增效率为 93%–98%)。每个样品 3 个技术平行, 使用 StepOne™ 实时 PCR 仪器定量基因丰度, 利用 StepOne (v2.2) 软件分析实验结果。

表 1. qPCR 和高通量测序的引物及退火温度

Table 1. Primers and amplification conditions for qPCR detection and high-through sequencing of bacteria

Target gene	Primers	Sequences (5'→3')	Amplicon length/bp	Annealing temperature/ $^\circ\text{C}$	Usage	References
16S rRNA	338F	ACTCCTACGGGAGGCAGCAG	180	53	qPCR	[30]
	518R	ATTACCGCGGCTGCTGG				
<i>dsyB</i>	dsyBF	CATGGGSTCSAAGGCSCTKTT	246	61		[11]
	dsyBR	GCAGRTARTCGCCGAAATCGTA				
<i>mntN</i>	mntNF	CCGAGGTGGTTCATGAAYTTYGG	301	54		[11]
	mntNR	GGATCACGCACACYTCRTGRTA				
<i>dddP</i>	874F	AAYGAAATWGTTCCTTTGA	97	41		[31]
	971R	GCATDGCRTAAATCATATC				
<i>dmdA</i> (C/2)	291F	AGATGAAAATGCTGGAATGATAAATG	191	50		[32]
	482R	AAATCTTCAGACTTTGGACCTTG				
<i>dmdA</i> (D/1)	268F	AGATGTTATTATGTCCAATAATTGATG	89	49		[32]
	356R	ATCCACCATCTATCTTCAGCTA				
16S rRNA	515modF	GTGYCAGCMGCCGCGGTAA	291	50	Amplicon sequencing	[33]
	806modR	GGACTACNVGGGTWTCTAAT				

1.6 16S rRNA 基因高通量测序

将 DNA 样品送至上海美吉生物公司进行扩增和高通量测序, 具体过程如下。以 515modF 和 806modR 作为引物扩增细菌的 16S rRNA 基因^[33]。PCR 扩增体系(20 μ L)包括: 1 \times Fast Pfu 缓冲液, 0.25 mmol/L 的 dNTPs, 0.2 μ mol/L 的上下游引物, 1U 的 Fast Pfu 聚合酶, 10 ng 模板 DNA 以及 0.2 μ L 的 BSA (牛血清蛋白)。PCR 的循环条件为: 95 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 35 个循环。使用 AxyPrep DNA 胶提取试剂盒(Axygen Biosciences, 美国加利福尼亚州)纯化 PCR 扩增产物, 使用 QuantiFluor™-ST(Promega, 美国)定量 DNA。利用 Illumina MiSeq 平台(Illumina, 美国圣地亚哥)进行高通量测序。测得的原始序列上传至 NCBI 的 Sequence Read Archive (SRA)数据库, 收录号为: SRP238449。

1.7 DMS 和 DMSP 的浓度测定

DMS 和 DMSP 的测量由中国海洋大学化学化工学院杨桂朋课题组完成(未发表数据)^[35]。利用低温吹扫捕集前处理装置捕集海水样品中的 DMS, 并结合气相色谱测量 DMS 的浓度。DMSP 包括总 DMSP(DMSPt)、颗粒态的 DMSP(DMSPp)和溶解态的 DMSP(DMSPd)。DMSPt 是未经处理的原位海水中的 DMSP, DMSPp 是指位于 0.45 μ m 滤膜上的颗粒态的 DMSP, DMSPd 是指经过 0.45 μ m 滤膜后的滤出液中的 DMSP。为了避免因过滤压力等原因造成的微生物细胞破裂对 DMSP 浓度的影响, 采用重力过滤的方法获得 DMSPp 和 DMSPd^[36]。2 mL 各形态的 DMSP 加 600 μ L 10 mol/L 的 NaOH 碱解 0.5 h 后, 利用低温吹扫捕集前处理捕集 DMSP 碱解释放的 DMS 并利用气相色谱测量得其浓度, 进而得到 DMSP 的浓度。

1.8 数据分析

环境因子和基因丰度之间的相关性检验使用 Spearman 相关性检验; 组间环境因子、基因丰度和物种丰度差异检验使用曼惠特尼检验(Mann-Whitney test)。所有的检验都在 SPSS v19.0 (SPSS 公司, 美国芝加哥)软件上完成, 显著水平为 $P < 0.05$ 。利用 Mothur 计算细菌群落的 α 多样性(Chao 1 和 Shannon 指数)来衡量群落的物种丰富度和多样性。细菌群落结构的非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)和基于距离的冗余分析(distance-based redundancy analysis, db-RDA)均利用 Canoco 5 软件完成。

2 结果和分析

2.1 环境因子及真核生物和原核细菌丰度

本研究共从 4 个站位采集获得 13 个海水样品。样品的物理化学环境参数及真核、原核生物丰度见图 2。在水平方向上, 随着离岸距离的增加(P2 至 P7), 温度和 pH 逐渐升高, 溶解氧(DO)、亚硝酸盐(NO_2^-)和磷酸盐(PO_4^{3-})浓度逐渐降低, 叶绿素 *a* (Chl *a*)、DMS 和 DMSP 浓度先升后降, 在 P4 站位附近达到峰值(DMS 和 DMSPt 分别为 5.84 nmol/L 和 50.15 nmol/L), 而在远海区域(P7)站位表层 DMS 特别是 DMSPt 的浓度比其他站位低 3.5–7.2 倍, 低浓度的 DMSPp 可能是导致这个现象的主要因素(约低 10 倍)。在垂直方向上, 随着水深的增加, pH、叶绿素 *a*、溶解氧和 DMS (4.95 nmol/L 降低到 0.72 nmol/L)的浓度逐渐降低, 表层以下的大部分样品 DMSP 的浓度都低于表层(P7-400 样品例外), 但硅酸盐(SiO_3^{2-})、磷酸盐、硝酸盐(NO_3^-)等营养盐浓度逐渐升高, 而亚硝酸盐、铵盐(NH_4^+)主要集中在 50 m 左右水深。

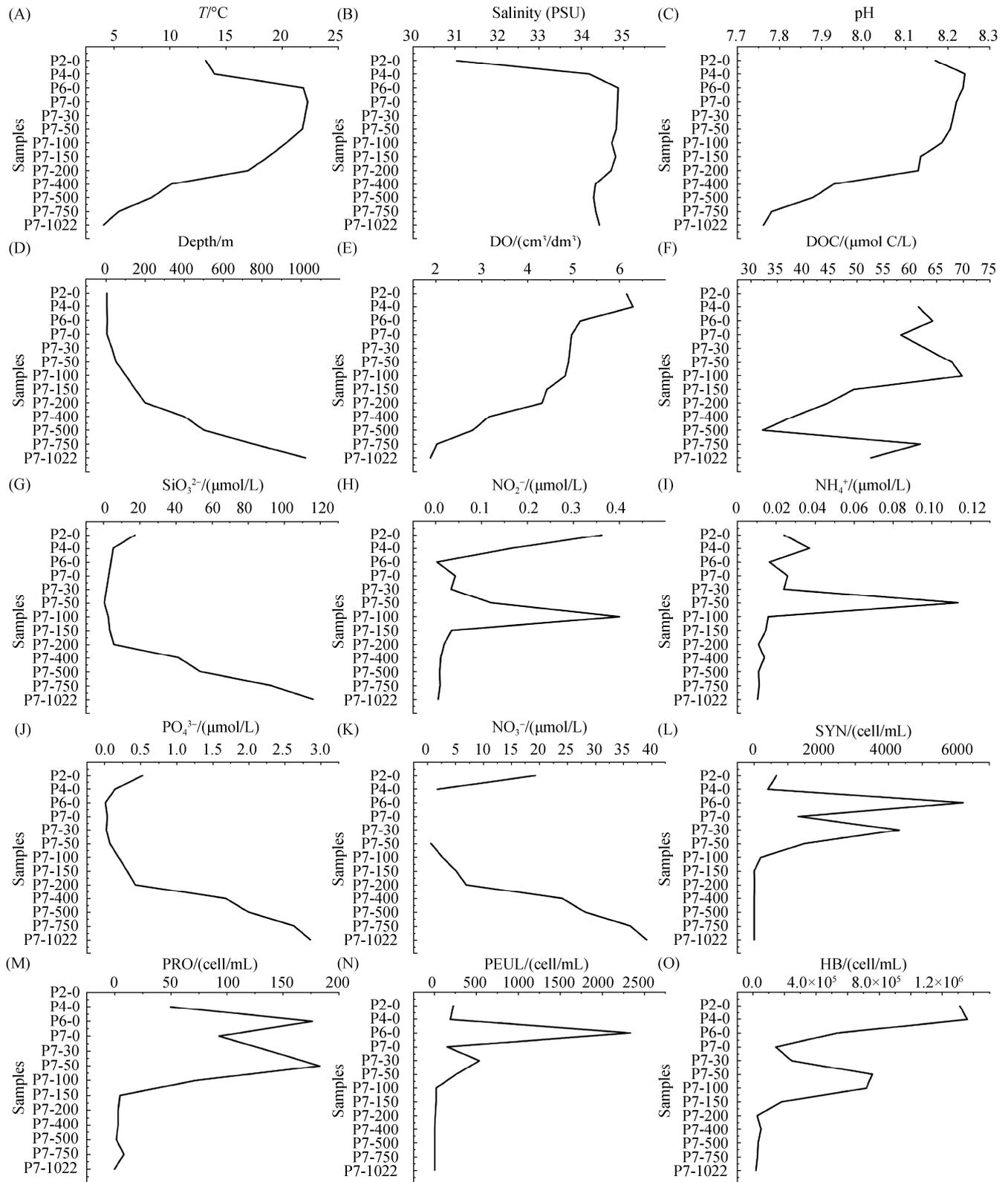


图 2. 采样站点各种环境因素的水平垂直变化情况

Figure 2. The horizontal and vertical distribution of environmental parameters of sampling sites. SYN: synechococcus; PRO: prochlorococcus; PEUK: picoeukaryotes; HB: heterotrophic bacteria.

微小型浮游生物(聚球藻、原绿球藻、微小型真核生物和异养细菌)的丰度也具有明显的空间分布规律(图 2-L、2-M、2-N 和 2-O)。在水平方向上,随着离岸距离的增加,聚球藻、原绿球藻、微小型真核生物的丰度呈现先增后降的趋势,峰值出现在 P6 站位附近,但异养细菌的丰度逐渐降低(1.31×10^6 cell/mL 降低到 1.40×10^5 cell/mL)。在垂直方向上,四者的丰度均先增加后减少,在 30–100 m 微小型真核(5.33×10^2 cell/mL)和异养细菌(7.53×10^5 cell/mL)的丰度达到峰值。

此外,100 m 及以浅和 100 m 以深水体之间的温度、pH、叶绿素 *a*、溶解氧、亚硝酸盐、铵盐、磷酸盐、硝酸盐、DMS 和微小型浮游生物丰度也存在显著差异(Mann-Whitney test, $P < 0.05$)。

2.2 细菌群落结构

对东海所获得样品的 16S rRNA 进行高通量测序,共获得 653540 条序列,平均长度 273 bp,在 97%相似度水平上聚类,经抽平后共获得 1627 个 OTU,如表 2。高通量测序结果的覆盖度

(coverage)均在 99.56%以上,可以很好地代表此区域细菌的群落结构。在垂直方向上,OTU 的多样性先升后降,在水深 100 m 的样品多样性最高,在 1022 m 水深处 OTU 多样性骤升,可能此区域接近海底,与海底沉积物中的有机物混合,导致细菌群落多样性增加,也可能是受底部洋流的影响。

从纲水平上看,中国春季东海样品中的 α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*, 50.95%)占主要地位,其次是 γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*, 13.47%)、黄杆菌纲(*Flavobacteriia*, 9.57%)和放线菌纲(*Actinobacteria*, 9.08%)(图 3)。从细菌群落组成上可以看出,细菌群落组成在水平方向上差异不明显,但垂直方向上水深 100 m 及以上和 100 m 之下的水体之间群落组成有着非常大的差异,因此我们将样品分为浅层水体样品(shallow water, ≤ 100 m)和深层水体样品(deep water, >100 m)。同深层水体相比,浅层水体拥有较多的黄杆菌纲、放线菌纲和蓝细菌纲(*Cyanobacteria*)的细菌($P < 0.05$),较少的 α 变形菌纲的细菌($P < 0.05$),而深层水体中没有蓝细菌。

表 2. 高通量测序结果及细菌群落的 α 多样性

Table 2. The results of high-throughput sequencing and α diversity of bacterial communities

Samples	Original reads	OTUs	Shannon	Chao 1	Coverage/%
P2-0	69166	586	4.47	696.71	99.63
P4-0	38456	475	4.18	523.36	99.76
P6-0	40759	575	4.40	649.20	99.68
P7-0	43328	663	4.39	761.25	99.61
P7-30	71772	528	3.86	632.12	99.61
P7-50	57529	601	4.13	653.91	99.71
P7-100	58060	712	4.37	824.82	99.56
P7-150	37115	611	4.11	706.86	99.64
P7-200	36642	605	3.90	661.04	99.72
P7-400	49466	520	3.95	567.40	99.76
P7-500	34808	503	4.18	519.24	99.91
P7-750	47362	459	4.35	482.40	99.92
P7-1022	69077	707	4.25	807.24	99.54

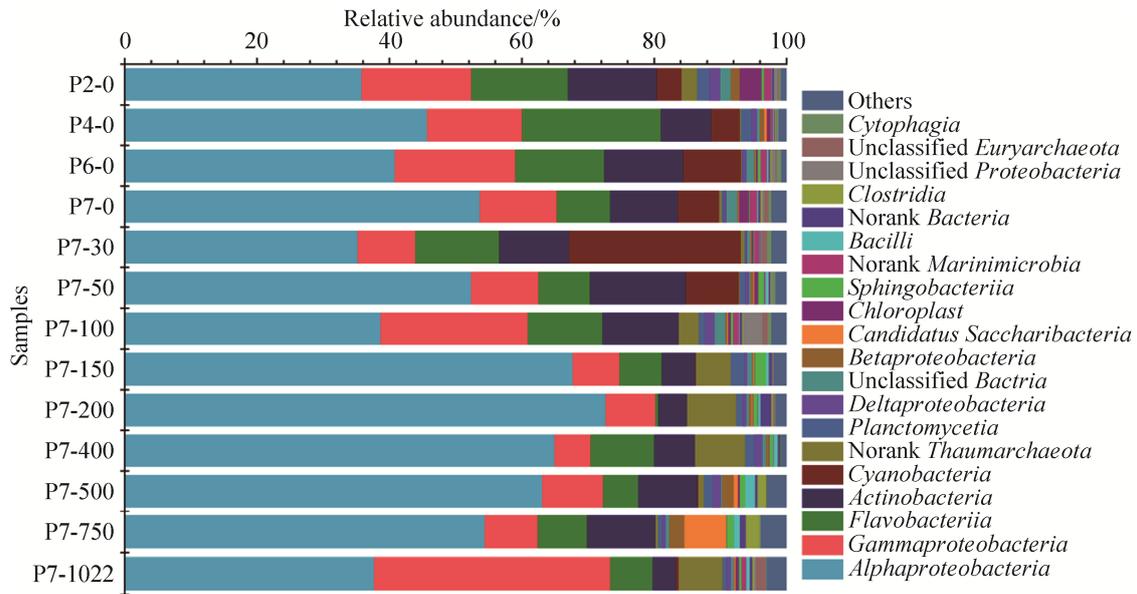


图 3. 纲水平上细菌群落的物种组成

Figure 3. The relative abundance of bacterial community composition on class level.

细菌群落的 NMDS 分析结果表明, 样品按水深沿第一轴从左到右分布, 浅层样品分布在第二、三象限, 而深层样品分布在第一、四象限, 此结果和细菌群落组成结果相一致, 如图 4-A 所示。

我们利用 db-RDA 分析来研究垂直方向上环境因子对细菌群落结构的影响(图 4-B)。与 NMDS 结果相符, 浅层水体和深层水体的细菌群落也存在明显的

差异, 浅层水体样本分布在第二象限, 而深层水体样本分布在第一、三、四象限。温度、叶绿素 *a*、溶解氧、溶解有机碳浓度、DMS 以及 DMSPt 与浅层水体样本呈正相关关系, 影响浅层水体细菌的群落组成; 而在深层水体, 温度、叶绿素 *a*、溶解氧等的影响减弱, 硅酸盐、磷酸盐、硝酸盐等浓度逐渐增加, 成为影响此区域细菌群落组成的主要因素。

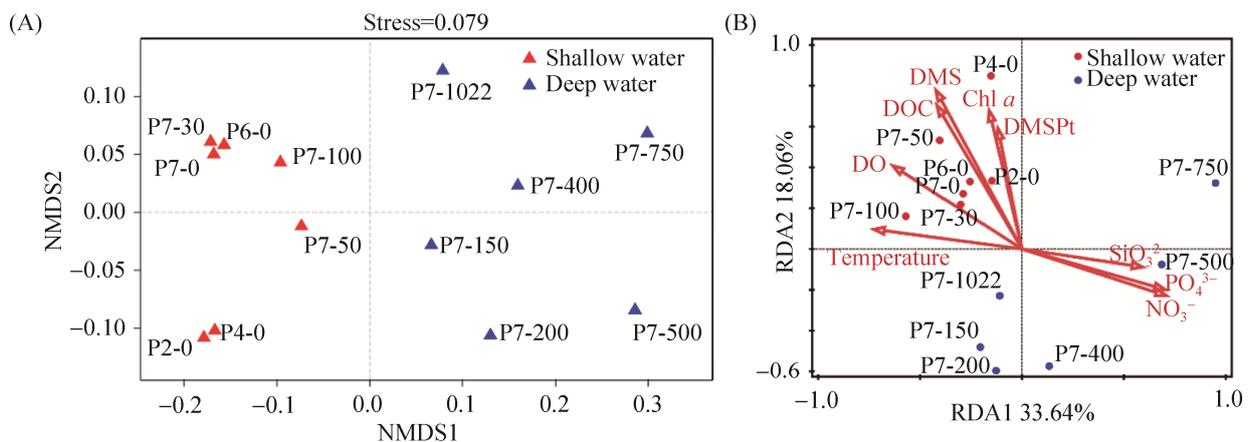


图 4. 细菌群落结构的 NMDS 和 db-RDA 分析

Figure 4. The NMDS and db-RDA analyses of bacterial community structure. A: NMDS analysis. The stress value was 0.079; B: db-RDA analysis. Red indicates shallow water sample while blue represents deep water sample.

2.3 DMSP 合成及降解基因的丰度

本研究利用 qPCR 技术定量测定细菌 16S rRNA 基因、DMSP 合成及降解基因的丰度(图 5)。16S rRNA 基因拷贝数(细菌丰度)和流式细胞仪计数的结果基本一致, 水平方向上随着离岸距离的增加而略有降低(图 5-A); 在垂直方向上, 16S rRNA 基因拷贝数均在表层丰度最高(1.91×10^5 copies/mL), 随深度增加呈现出先增后降的趋势, 在 50 m 水深左右达到最大值(1.90×10^5 copies/mL)。在 1022 m 的底层水体中, 由于接近底层沉积物或者受海底洋流的影响 16S rRNA 基因的拷贝数也有一定程度的升高。

在水平方向上, DMSP 的合成基因 *dsyB* 和 *mntN* 的丰度分布规律同 16S rRNA 规律基本一

致, 随着离岸距离的增加而略有降低(图 5-B 和 5-C); 在垂直方向上, 表层水中 *dsyB* 和 *mntN* 的丰度最高(6.86×10^2 copies/mL 和 1.10×10^1 copies/mL), 表层以下水体二者丰度随深度的增加先增加后降低, 峰值出现在 100 m、150 m 水深处(分别为 2.39×10^2 copies/mL 和 7.17×10^0 copies/mL, 图 5-B 和 5-C)。有趣的是, 在 P4 站位的表层水体中, *dsyB* 的丰度较低; 在 P7 站位的 500–1022 m 深的水体中 *dsyB* 和 *mntN* 基因丰度略有升高。*mntN* 的丰度远远低于 *dsyB* 的丰度(低 9–90 倍), 说明 *dsyB* 介导的转氨途径可能是此区域细菌合成 DMSP 的主要途径。DMSP 合成基因 *dsyB* 和 *mntN* 丰度与经度、纬度、深度、pH、溶解氧、DMS 和 DMSPp 有显著的相关关系(Spearman, $P < 0.05$, 表 3)。

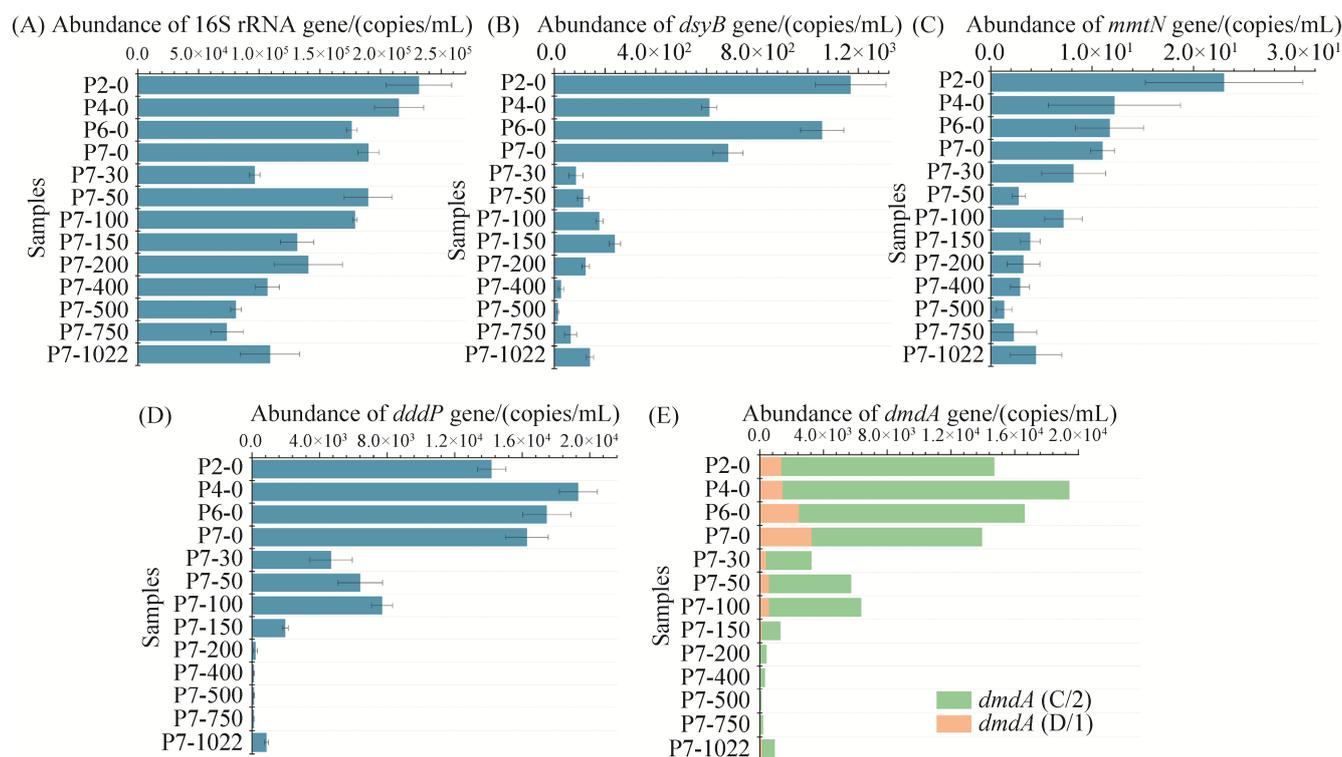


图 5. DMSP 合成及降解基因丰度

Figure 5. The abundance of DMSP producing and catabolising genes. A: The absolute abundance of 16S rRNA gene; B: the abundance of *dsyB*; C: the abundance of *mntN*; D: the abundance of *dddP*; E: the abundance of *dmdA*, the sum of C/2 and D/1 subclade.

表 3. 环境因子和 DMSP 合成及降解基因的相关性

Table 3. The correlations between environmental parameters and DMSP producing and catabolising genes

Environmental parameters	<i>dsyB</i>	<i>mmtN</i>	<i>dddP</i>	<i>dmdA</i>
Longitude	-0.684^b	-0.739^b	-0.662^a	-0.717^b
Latitude	0.684 ^b	0.739 ^b	0.662 ^a	0.717 ^b
Depth	-0.783^b	-0.762^b	-0.862^b	-0.881^b
Temperature	–	–	0.644 ^a	0.601 ^a
pH	0.666 ^a	0.634 ^a	0.888 ^b	0.872 ^b
Chl <i>a</i>	0.611 ^a	0.795 ^b	0.864 ^b	0.863 ^b
DO	0.769 ^b	0.762 ^b	0.890 ^b	0.909 ^b
NH ₄ ⁺	–	–	0.826 ^b	0.810 ^b
PO ₄ ³⁻	–	–	-0.726^b	-0.698^b
NO ₃ ⁻	–	–	-0.675^a	-0.685^a
DMS	0.797 ^b	0.755 ^b	0.949 ^b	0.951 ^b
DMSPt	–	0.615 ^a	0.644 ^a	0.685 ^a
DMSPp	0.694 ^a	0.767 ^b	0.649 ^a	0.753 ^b
DMSPd	–	–	0.592 ^a	–

Regular: positive. Bold: negative. –: no correlation. a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$.

在水平方向上, DMSP 降解基因丰度变化不大, 随着离岸距离的增加总体呈现先升后降的规律, 峰值出现在 P4 站位, *dddP* 和 *dmdA* 的丰度分别为 1.93×10^4 和 1.94×10^4 copies/mL (图 5-D 和 5-E)。在垂直方向上, *dddP* 和 *dmdA* 的丰度分布规律均为表层最高 (分别为 1.63×10^4 和 1.40×10^4 copies/mL), 随着水深的增加先升后降, 峰值出现在 100 m 水深处, *dddP* 和 *dmdA* 的丰度分别为 7.71×10^3 和 6.37×10^3 copies/mL, 100 m 以下水体中二者丰度迅速降低至 10^2 copies/mL, 说明浅层水体比深层水体中 DMSP 的降解潜力更大 (图 5-D 和 5-E)。DMSP 降解基因 *dddP* 和 *dmdA* 与经度、纬度、深度、温度、pH、叶绿素 *a*、溶解氧、铵盐、磷酸盐、硝酸盐、DMS、DMSPt、DMSPp 和 DMSPd 均有显著的相关关系 (Spearman, $P < 0.05$, 表 3)。

2.4 潜在的 DMSP 合成与降解微生物群落构成

根据细菌群落组成, 寻找已报到的具有 DMSP 合成和降解能力的物种 (相对丰度)^[11,16], 并

结合 16S rRNA 所代表的细菌绝对丰度, 计算出具有潜在 DMSP 合成降解能力物种的绝对丰度, 结果如图 6 所示。从高通量数据中发现了一些藻类中的质体 (叶绿体、线粒体等细胞器, 图 6-A), 其中丰度最高的为硅藻类群 (*Bacillariophyta*), 主要分布在 100 m 以浅的浅层水体中; 而一种未分类的叶绿体 (unclassified Chloroplast)、绿藻门 (*Chlorophyta*)、隐鞭藻科 (*Cryptomonadaceae*) 主要分布在表层中, 链形植物 (*Streptophyta*) 主要分布在深层水体 (>100 m) 中, 其中部分硅藻以及绿藻门藻类具有 DMSP 合成能力^[37]。

水平方向上, 近岸样品中具有 DMSP 合成能力的细菌丰度较高。在垂直方向上, 表层 DMSP 合成菌丰度最高, 表层以下的样品中随着深度的增加, DMSP 合成菌丰度呈现先上升后下降的分布规律, 在 100 m 左右达到最大值, 这与 *dsyB* 和 *mmtN* 基因的丰度分布规律相一致。同样的, 底层 (1022 m) 样品中 DMSP 合成物种丰度也有所升高。在含有 *dsyB* 的物种中 *Phaeobacter* 和 *Pelagibaca*

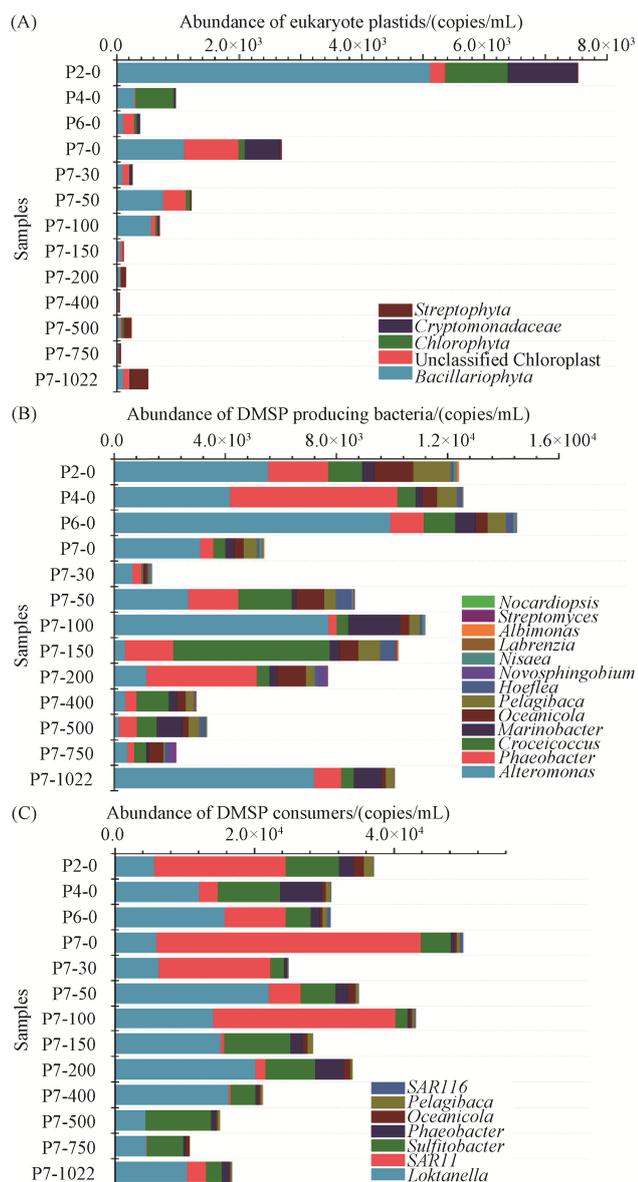


图 6. DMSP 合成和降解物种丰度

Figure 6. The abundance of DMSP producing organisms. A: the abundance of eukaryote plastids; B: the abundance of DMSP producers; C: the abundance of DMSP consumers.

在表层丰度较高(图 6-B), 而 *Alteromonas* 和 *Croceicoccus* 等含有 *mntN* 占优势的物种主要集中在浅层水体以及底层水体(1022 m)中。

DMSP 降解物种与 *dddP* 及 *dmdA* 基因丰度分布规律一致(图 6-C)。DMSP 降解物种丰度在水平

方向上规律不明显。在垂直方向上, P7 站位的表层水体 DMSP 降解物种丰度最高, 表层以下水体样品中其丰度随深度的增加先增后降, 在 100 m 水深处达到最大值。同样的, 底层(1022 m)样品中 DMSP 降解物种丰度也有所升高。SAR11 (含有 *dmdA* 和 *dddK*)类群在浅层水体中的 DMSP 降解中贡献作用最大, 而在深层水体中 *Loktanela* (含有 *dmdA* 和其它 *ddd* 基因)和 *Sulfitobacter* (*dddP* 和 *dmdA*)是最主要的 DMSP 降解的贡献物种。

2.5 DMSP 合成和降解基因的水平垂直分布差异

为了分析水平和垂直方向上 DMSP 合成和降解基因之间的差异, 我们以细菌 16S rRNA 基因拷贝数代表细菌丰度来计算各功能基因的相对丰度, 结果如图 7-A 和 7-B 所示。在水平方向上, *dsyB* 和 *mntN* 基因的丰度在 P4 站位相对丰度最低, 而 *dddP* 和 *dmdA* 基因丰度在 P4 站位较高, 这可能是 P4 站位藻类暴发性繁殖(高叶绿素 *a* 浓度)造成的。在垂直方向上, 表层样品的 DMSP 合成及降解基因丰度最高, 其他水层样品均有所降低。然而, DMSP 合成基因 *dsyB* 和 *mntN* 在深层水体中仍然具有较高的相对丰度, 特别是在 150 m、750 m 以及 1022 m 水深处 *dsyB* 的相对丰度高于浅层水体(30–50 m, 拥有较高的叶绿素 *a* 浓度), 100 m 以下的水体中的 *mntN* 基因相对丰度均高于 50 m 水深处。DMSP 降解基因相对丰度随水深的增加整体呈现降低的趋势, 仅有 100 m 及 1022 m 水深样品的相对丰度略有升高。

我们以 P7 站位表层水体样品中的各功能基因丰度为基准, 利用 P7 站位其他水层 *dsyB*、*mntN*、*dddP* 以及 *dmdA* 基因丰度与表层水体样品中的功能基因的比值来衡量 DMSP 合成和降解基因变化的速度(图 7-C)。我们发现 DMSP 合成基因 *dsyB*

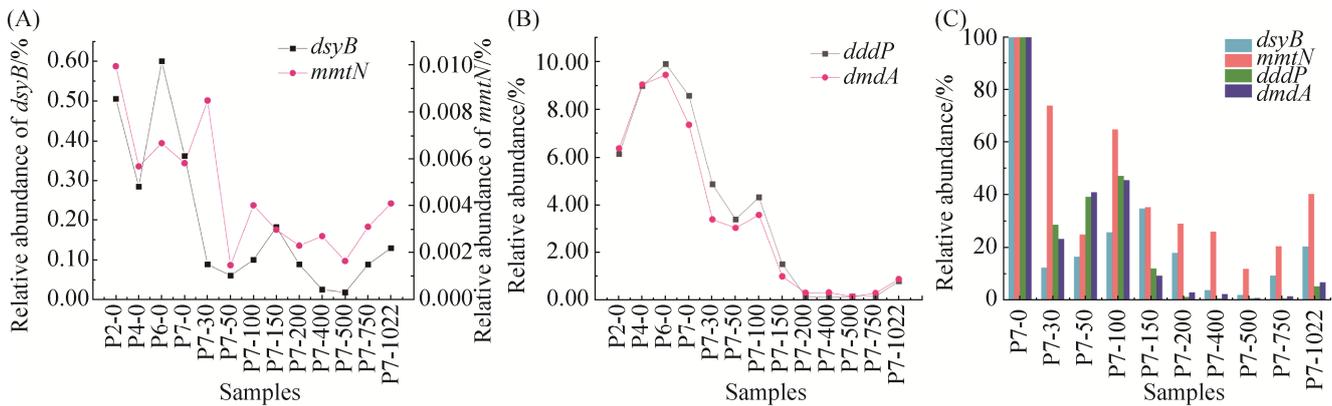


图 7. DMSP 合成和降解基因的相对丰度

Figure 7. The relative abundance of DMSP producing and catabolising genes. A: the relative abundance of *dsyB* and *mntN* genes to 16S rRNA gene; B: the relative abundance of *dddP* and *dmdA* genes to 16S rRNA gene; C: the ratio of the relative abundance of DMSP producing and catabolising genes in each layer with the surface layer.

在浅层水体(100 m 及以浅)比值要低于 *dddP* 和 *dmdA* 基因,而在 100 m 以深的水体中比值高于 *dddP* 和 *dmdA* 基因。*mntN* 基因相对变化幅度较小,但绝对丰度较低。这表明 DMSP 合成基因丰度在浅层迅速降低,深层下降程度较为缓慢,甚至在接近底层(>500 m)时还有所升高;DMSP 降解基因在浅层水体降低速度较缓慢,而在 100 m 以深的深层水体中迅速下降。

3 讨论

本研究利用表型和分子生物学手段对细菌的丰度进行定量,发现在垂直方向上表层的细菌丰度最高,表层以下水体随深度增加而先升后降,峰值出现在水深 50 m 附近。利用 qPCR 手段结合对细菌群落结构的分析,我们发现 100 m 及以浅和 100 m 以深的浮游细菌群落结构存在显著差异;表层水体中细菌的 DMSP 合成降解能力最高,100–150 m 水体次之,但 100–1022 m 之间细菌介导的 DMSP 合成和降解能力的变化趋势有较大差别。

在水平方向上随着离岸距离的增加,细菌丰度略有降低,可能因为细菌受溶解氧、DOC、营养盐浓度等降低的影响(图 2),也可能是多种环境因子共同作用的结果;在垂直方向上,除表层水体外,细菌丰度在 50 m 水深也达到了较高的水平(图 5-A),这可能因为较高浓度的亚硝酸盐、硅酸盐和铵盐为细菌的生长提供必要条件,而且丰富的浮游植物为细菌的生长提供充足的有机物^[38]。此外,细菌群落结构的组成及聚类差异显示了环境垂直梯度变化对细菌群落有重要影响。在 100 m 及以浅的水层有光的存在,温度、pH 等条件适宜,使得营光能自养生活的真核藻类和蓝细菌大量繁殖,其对细菌的群落组成也有重要影响;而 100 m 以深的水体无光、低温,真核藻类和蓝细菌几乎消失,营异养生活的细菌比例随之增加。

DMSP 合成基因及合成菌主要集中在表层,说明表层是细菌合成 DMSP 的最主要场所(图 5-B、5-C 和图 6-B),可能因为表层水体拥有较高的温度、溶解氧、溶解有机碳等(图 2)。在水平方向上,P4 表层海水样品的 DMSP_t、DMSP_p 浓度远比其它站位高,叶绿素 *a* 的浓度也比其它站位

高,但细菌 DMSP 合成基因 *dsyB* 的丰度却远比其他表层样品低;而在叶绿素 *a* 浓度较低的表层样品中的 *dsyB* 丰度高于 P4 站位表层海水样品,这表明细菌和藻类之间的 DMSP 合成可能存在竞争和互补关系。此区域的 *dsyB* 基因丰度(*dsyB* 基因丰度/16S rRNA 基因丰度)介于 0.28%–0.60%之间,这和柳敬丽的研究结果(0.25%–1.69%)相一致^[39]。在垂直方向上,DMSP 合成基因丰度在表层水体最高,绝对丰度在 100 m 及以浅的区域高于 100–1022 m,这和细菌的丰度分布规律相一致。*dsyB* 基因在浅层迅速降低,在 100 m 以深的水层丰度下降程度变缓,而且接近底层(>500 m)时出现随水深逐渐增加的趋势。此外,*dsyB* 和 *mmtN* 基因的相对丰度在深层仍然具有较高的水平,表明细菌合成 DMSP 在深层发挥更重要的作用。浮游植物大多集中在浅水层,深水水体几乎检测不到藻类(叶绿素 *a*)的存在,这也表明在此区域细菌可能是 DMSP 合成的主要贡献者,如 *Phaeobacter* 和 *Oceanicola* 等,这和 Curson 等的推论相一致^[10];*mmtN* 基因与其包含物种丰度的差异可能表明 *Alteromonas* 和 *Croceicoccus* 等属中只有部分种类具有 DMSP 合成的甲基化能力^[11]。相比于甲基化途径,由 *dsyB* 介导的转氨途径是东海区域细菌合成 DMSP 的最主要方式,这和 Williams 等对 Great Yarmouth 近岸海水的研究结果一致^[11]。底层 1022 m 水深的样品中 *dsyB* 和 *mmtN* 基因以及相应包含物种的丰度比其他深层水体有所提高,这可能因为受海洋底层沉积物的影响。

DMSP 的降解基因分布则具有较明显的水平和垂直分布规律(图 5-D 和 5-E)。在水平方向上,DMS 的浓度分布规律和 *dddP* 基因丰度分布规律相一致,随离岸距离的增加而先增后减,最高值

出现在 P4 站位,*dmdA* 基因丰度也有类似的分布规律,这和柳敬丽等的研究结果相一致。她们发现 *dmdA* 基因丰度随着离岸距离的增加先增后降,*dddP* 基因的丰度逐渐降低^[16],而本研究中 P2 站位 *dddP* 基因丰度较低,这可能是因为在本研究中正处于冬春换季以及长江的枯水期,受上游富营养化的河水的影响较小^[40]。P4 表层海水样品叶绿素 *a* 及 DMSPt 浓度较高,因此需要较多的 DMSP 降解菌及基因(*dddP* 和 *dddP* 等)来降解 DMSP。垂直方向上,*dmdA* 和 *dddP* 大部分集中在浅层水体,100 m 水深附近丰度出现峰值,这和 DMSP 降解物种的丰度分布规律是一致的,如 SAR11、*Loktanella* 和 *Sulfitobacter* 等(含有 *dddP* 或 *dmdA*,图 6-C)^[16]。DMSP 降解基因在浅层水体降低速度较缓慢,而在 100 m 以深的深层水体中迅速下降,这和 DMSP 合成基因的变化趋势有所不同。此外,总细菌以及 SAR11 类群的垂直分布规律和 Morris 等的研究结果基本一致,但 Morris 等发现细菌和 SAR11 最大值位于叶绿素 *a* 最大层附近,而本研究中东海表层水体 SAR11 丰度比表层以下的水体高,这可能是海水样品的区域差异造成的^[41]。*dddP* 基因的垂直分布规律和 DMS 浓度相一致,进一步印证了此区域的 DMSP 裂解途径^[42]。有趣的是在所有水体中均存在一定浓度的 DMSPd,且差异不大,因此深层水体中 DMS 浓度较低可能是因为具有 DMSP 裂解能力的细菌丰度较低^[4]。

100 m 通常是海洋透光层和不透光层的界限,此界限上下水体的理化指标、微生物群落结构和互作模式都具有显著差异。100 m 及以浅的水体温度、盐度、pH 等条件适宜(图 2-A、2-B 和 2-C),营光合自养生活的聚球藻、原绿球藻等丰度较高,造成了较高的叶绿素 *a* 浓度。100 m 以深水体缺乏光线而导致聚球藻、原绿球藻等迅速消失(图 2-L

和 2-M), 硝酸盐、磷酸盐等营养盐的浓度迅速升高(图 2-J 和 2-K)。这与 Cai 等的研究结果一致, 他们发现在中国南海 100 m 水深以下的聚球藻、原绿球藻等迅速消失, 硝酸盐浓度迅速增加^[25]。可能由于与藻类的生存竞争压力降低, 细菌 16S rRNA 基因丰度在 100 m 附近出现了一个峰值, 相应地细菌的 DMSP 合成也有所提高。上层水体藻类死亡释放的 DMSP 沉降到 100–150 m 水层后, DMSP 降解菌快速繁殖来降解环境中的 DMSP, 因此 DMSP 降解基因丰度也相应地升高。本研究表明在东海海域 100 m 水层是浮游植物生存与否的分界线, 是细菌 DMSP 合成及降解的重要区域。

总之, 本研究通过流式细胞仪计数、功能基因定量以及细菌群落组成分析了环境对 DMSP 合成降解基因及物种的影响情况, 揭示了离岸距离的增加及海水深度的变化带来的环境梯度变化对 DMSP 合成降解过程的影响, 有助于进一步解析 DMSP 合成降解在生物地球化学循环中的重要作用。

参 考 文 献

- [1] Ksionzek KB, Lechtenfeld OJ, McCallister SL, Schmitt-Kopplin P, Geuer JK, Geibert W, Koch BP. Dissolved organic sulfur in the ocean: Biogeochemistry of a petagram inventory. *Science*, 2016, 354(6311): 456–459.
- [2] Zhang XH, Liu J, Liu JL, Yang GP, Xue CX, Curson ARJ, Todd JD. Biogenic production of DMSP and its degradation to DMS-their roles in the global sulfur cycle. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(10): 1296–1319.
- [3] Kellogg WW, Cadle RD, Allen ER, Lazrus AL, Martell EA. The sulfur cycle. *Science*, 1972, 175(4022): 587–596.
- [4] Curson ARJ, Todd JD, Sullivan MJ, Johnston AWB. Catabolism of dimethylsulphoniopropionate: microorganisms, enzymes and genes. *Nature Reviews Microbiology*, 2011, 9(12): 849–859.
- [5] Lovelock JE, Maggs RJ, Rasmussen RA. Atmospheric dimethyl sulphide and the natural sulphur cycle. *Nature*, 1972, 237(5356): 452–453.
- [6] Sunda W, Kieber DJ, Kiene RP, Huntsman S. An antioxidant function for DMSP and DMS in marine algae. *Nature*, 2002, 418(6895): 317–320.
- [7] Wolfe GV, Steinke M, Kirst GO. Grazing-activated chemical defence in a unicellular marine alga. *Nature*, 1997, 387(6636): 894–897.
- [8] Charlson RJ, Lovelock JE, Andreae MO, Warren SG. Oceanic phytoplankton, atmospheric sulphur, cloud albedo and climate. *Nature*, 1987, 326(6114): 655–661.
- [9] Boucher O, Pham M. History of sulfate aerosol radiative forcings. *Geophysical Research Letters*, 2002, 29(9): 22-1-22-4.
- [10] Curson ARJ, Liu J, Bermejo Martínez A, Green RT, Chan Y, Carrión O, Williams BT, Zhang SH, Yang GP, Bulman Page PC, Zhang XH, Todd JD. Dimethylsulphoniopropionate biosynthesis in marine bacteria and identification of the key gene in this process. *Nature Microbiology*, 2017, 2(5): 17009.
- [11] Williams BT, Cowles K, Bermejo Martínez A, Curson ARJ, Zheng YF, Liu JL, Newton-Payne S, Hind AJ, Li CY, Rivera PPL, Carrión O, Liu J, Spurgin LG, Brearley CA, Mackenzie BW, Pinchbeck BJ, Peng M, Pratscher J, Zhang XH, Zhang YZ, Murrell JC, Todd JD. Bacteria are important dimethylsulphoniopropionate producers in coastal sediments. *Nature Microbiology*, 2019, 4(11): 1815–1825.
- [12] Alcolombri U, Ben-Dor S, Feldmesser E, Levin Y, Tawfik DS, Vardi A. Identification of the algal dimethyl sulfide-releasing enzyme: A missing link in the marine sulfur cycle. *Science*, 2015, 348(6242): 1466–1469.
- [13] Reisch CR, Moran MA, Whitman WB. Bacterial catabolism of dimethylsulphoniopropionate (DMSP). *Frontiers in Microbiology*, 2011, 2: 172.
- [14] Reisch CR, Stoudemayer MJ, Varaljay VA, Amster IJ, Moran MA, Whitman WB. Novel pathway for assimilation of dimethylsulphoniopropionate widespread in marine bacteria. *Nature*, 2011, 473(7346): 208–211.
- [15] Cui YS, Suzuki S, Omori Y, Wong SK, Ijichi M, Kaneko R, Kameyama S, Tanimoto H, Hamasaki K. Abundance and distribution of dimethylsulphoniopropionate degradation genes and the corresponding bacterial community structure at dimethyl sulfide hot spots in the tropical and subtropical Pacific Ocean. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(12): 4184–4194.

- [16] Liu JL, Liu J, Zhang SH, Liang JC, Lin HY, Song DL, Yang GP, Todd JD, Zhang XH. Novel insights into bacterial dimethylsulfoniopropionate catabolism in the East China Sea. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 3206.
- [17] Howard EC, Sun SL, Biers EJ, Moran MA. Abundant and diverse bacteria involved in DMSP degradation in marine surface waters. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(9): 2397–2410.
- [18] Raina JB, Dinsdale EA, Willis BL, Bourne DG. Do the organic sulfur compounds DMSP and DMS drive coral microbial associations? *Trends in Microbiology*, 2010, 18(3): 101–108.
- [19] Sun J, Todd JD, Thrash JC, Qian YP, Qian MC, Temperton B, Guo JZ, Fowler EK, Aldrich JT, Nicora CD, Lipton MS, Smith RD, De Leenheer P, Payne SH, Johnston AWB, Davie-Martin CL, Halsey KH, Giovannoni SJ. The abundant marine bacterium *Pelagibacter* simultaneously catabolizes dimethylsulfoniopropionate to the gases dimethyl sulfide and methanethiol. *Nature Microbiology*, 2016, 1(8): 16065.
- [20] Thume K, Gebser B, Chen L, Meyer N, Kieber DJ, Pohnert G. The metabolite dimethylsulfoxonium propionate extends the marine organosulfur cycle. *Nature*, 2018, 563(7731): 412–415.
- [21] Zeng YX, Qiao ZY, Yu Y, Li HR, Luo W. Diversity of bacterial dimethylsulfoniopropionate degradation genes in surface seawater of Arctic Kongsfjorden. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 33031.
- [22] Lee HJ, Chao SY. A climatological description of circulation in and around the East China Sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2003, 50(6/7): 1065–1084.
- [23] Gong GC, Wen YH, Wang BW, Liu GJ. Seasonal variation of chlorophyll a concentration, primary production and environmental conditions in the subtropical East China Sea. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 2003, 50(6/7): 1219–1236.
- [24] Yeh YC, Peres-Neto PR, Huang SW, Lai YC, Tu CY, Shiah FK, Gong GC, Hsieh CH. Determinism of bacterial metacommunity dynamics in the southern East China Sea varies depending on hydrography. *Ecography*, 2015, 38(2): 198–212.
- [25] Cai YM, Ning XR, Liu CG, Hao Q. Distribution pattern of photosynthetic picoplankton and heterotrophic bacteria in the Northern South China Sea. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2007, 49(3): 282–298.
- [26] Zhang Y, Zhao ZH, Dai MH, Jiao NZ, Herndl GJ. Drivers shaping the diversity and biogeography of total and active bacterial communities in the South China Sea. *Molecular Ecology*, 2014, 23(9): 2260–2274.
- [27] Carpenter JH. The accuracy of the Winkler method for dissolved oxygen analysis. *Limnology and Oceanography*, 1965, 10(1): 135–140.
- [28] Liu JW, Fu BB, Yang HM, Zhao MX, He BY, Zhang XH. Phylogenetic shifts of bacterioplankton community composition along the Pearl Estuary: the potential impact of hypoxia and nutrients. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 64.
- [29] Zhao L, Zhao YC, Wang CF, Zhang WC, Sun XX, Li XG, Zhao Y, Xiao T. Comparison in the distribution of microbial food web components in the Y3 and M2 seamounts in the tropical Western Pacific. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2017, 48(6): 1446–1455. (in Chinese)
赵丽, 赵燕楚, 王超锋, 张武昌, 孙晓霞, 李学刚, 赵苑, 肖天. 热带西太平洋 Y3 和 M2 海山微食物网主要类群生态分布与比较. *海洋与湖沼*, 2017, 48(6): 1446–1455.
- [30] Yin Q, Fu BB, Li BY, Shi XC, Inagaki F, Zhang XH. Spatial variations in microbial community composition in surface seawater from the ultra-oligotrophic center to rim of the South Pacific Gyre. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55148.
- [31] Levine NM, Varaljay VA, Toole DA, Dacey JWH, Doney SC, Moran MA. Environmental, biochemical and genetic drivers of DMSP degradation and DMS production in the Sargasso Sea. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(5): 1210–1223.
- [32] Varaljay VA, Howard EC, Sun SL, Moran MA. Deep sequencing of a dimethylsulfoniopropionate-degrading gene (*dmdA*) by using PCR primer pairs designed on the basis of marine metagenomic data. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(2): 609–617.
- [33] Walters W, Hyde ER, Berg-Lyons D, Ackermann G, Humphrey G, Parada A, Gilbert JA, Jansson JK, Caporaso JG, Fuhrman JA, Apprill A, Knight R. Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys. *mSystems*, 2016, 1(1): e00009–15.
- [34] Liang JC, Liu JW, Wang XL, Lin HY, Liu JL, Zhou S, Sun H, Zhang XH. Spatiotemporal dynamics of free-living and particle-associated *Vibrio* communities in the northern Chinese marginal seas. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85(9): e00217–19.
- [35] Yang GP, Zhuang GC, Zhang HH, Dong Y, Yang J.

- Distribution of dimethylsulfide and dimethylsulfoniopropionate in the Yellow Sea and the East China Sea during spring: Spatio-temporal variability and controlling factors. *Marine Chemistry*, 2012, 138–139: 21–31.
- [36] Tan TT, Wu X, Liu CY, Yang GP. Distributions of dimethylsulfide and its related compounds in the Yangtze (Changjiang) River Estuary and its adjacent waters in early summer. *Continental Shelf Research*, 2017, 146: 89–101.
- [37] Keller MD, Bellows WK, Guillard RRL. Dimethyl sulfide production in marine phytoplankton//Saltzman ES, Cooper WJ. Biogenic Sulfur in the Environment. Washington: American Chemical Society, 1989: 167–182.
- [38] Rooney-Varga JN, Giewat MW, Savin MC, Sood S, LeGresley M, Martin JL. Links between phytoplankton and bacterial community dynamics in a coastal marine environment. *Microbial Ecology*, 2005, 49(1): 163–175.
- [39] 柳敬丽. 基于稳定同位素探针等技术对 DMSP 合成和降解细菌及其功能基因多样性的研究. 中国海洋大学博士学位论文, 2019.
- [40] 周晓英. 长江口海域表层水温变化的气候特征. 中国海洋大学硕士学位论文, 2005.
- [41] Morris RM, Rappé MS, Connon SA, Vergin KL, Siebold WA, Carlson CA, Giovannoni SJ. SAR11 clade dominates ocean surface bacterioplankton communities. *Nature*, 2002, 420(6917): 806–810.
- [42] Todd JD, Curson ARJ, Dupont CL, Nicholson P, Johnston AWB. The *dddP* gene, encoding a novel enzyme that converts dimethylsulfoniopropionate into dimethyl sulfide, is widespread in ocean metagenomes and marine bacteria and also occurs in some Ascomycete fungi. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(6): 1376–1385.

Horizontal and vertical distribution of dimethylsulfoniopropionate (DMSP) producing and catabolizing bacteria in the East China Sea

Hao Sun^{1,2}, Siyin Tan¹, Jinchang Liang¹, Gui-Peng Yang³, Yu Xin³, Xiao-Hua Zhang^{1,2,4*}

¹ College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, Shandong Province, China

² Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, Shandong Province, China

³ Key Laboratory of Marine Chemistry Theory and Technology, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266100, Shandong Province, China

⁴ Center for Advanced Science of Deep-Sea Spheres and Earth Systems, Ocean University of China, Qingdao 266100, Shandong Province, China

Abstract: [Objective] Dimethylsulfoniopropionate (DMSP) and its cleavage product dimethyl sulfide (DMS) play important roles in sulfur cycle of the marine environment. At present, some studies focus on the distribution of DMSP catabolizing bacteria, while studies on DMSP producing bacteria are just beginning. The objective of this study was to analyze the horizontal and vertical (1000 m depth) distribution of DMSP producing and catabolizing bacteria as well as genes in the East China Sea, and to study their responses to environmental parameters. **[Methods]** We quantified the abundance of microplankton by using flow cytometry. We measured the abundance of DMSP producing (*dsyB* and

Supported by the National Key Research and Development Program of China (2016YFA0601303) and by the National Natural Science Foundation of China (91751202)

*Corresponding author. Tel: +86-532-82032767; E-mail: xhzhang@ouc.edu.cn

Received: 15 March 2020; Revised: 14 April 2020; Published online: 8 May 2020

mmtN) and catabolising (*dddP* and *dmdA* including C/2 and D/1 subclade) genes and organisms by qPCR and high-throughput amplicon sequencing. **[Results]** The abundances of *Synechococcus*, *Prochlorococcus*, picoeukaryotes and heterotrophic bacteria increased and then decreased in the vertical profile with maximum located at 30–50 m depth. Surface water samples (~4 m) possessed the highest abundance of DMSP producing and catabolizing genes as well as the abundance of DMSP producers (*Alteromonas*, *Phaeobacter* and *Pelagibaca*). With increasing water depth, the abundances of DMSP producing and catabolizing genes and organisms increased and then decreased with peak values at the 100–150 m depth. The abundance of DMSP catabolizing genes decreased rapidly in the water below 100 m depth. However, the abundance of DMSP producing genes decreased slowly in the water below 100 m depth and even increased in the waters from 500 m to 1022 m depth. In contrast, the abundances of DMSP producing and catabolizing genes and organisms did not show apparent horizontal distribution patterns. The bacterial community composition showed significant difference between shallow water (≤ 100 m) and deep water (>100 m), and the relative abundance of the *Flavobacteriia*, *Actinobacteria* and *Cyanobacteria* in the shallow water were higher than that in the deep water, in contrast with an opposite trend for the *Alphaproteobacteria* in the deep water. **[Conclusion]** Bacterial communities differed significantly between waters below and above the 100 m depth. The surface water possessed the highest abundance of DMSP producing and catabolizing bacteria, followed by the 100–150 m water, with DMSP producing and catabolizing bacteria showing significantly different variation trends in the waters of 100–1022 m depth.

Keywords: dimethylmercaptopropionate, producing and catabolizing genes, community structure, horizontal and vertical distribution, East China Sea

(本文责编: 张晓丽)

张晓华, 中国海洋大学教授, 博士生导师, 主要从事微生物海洋学研究(包括海洋微生物的生物地球化学作用、海洋细菌的密度感应及密度感应淬灭、海洋微生物的分离鉴定及资源开发等)。主持国家自然科学基金重点项目、科技部国际合作重点项目等多项项目。以通讯作者在 *Nature Microbiol.*、*ISME Journal*、*Microbiome*、*Environmental Microbiology*、*Applied and Environmental Microbiology* 等权威期刊发表多篇 SCI 论文。主编《海洋微生物学》(2007 年第 1 版, 2016 年第 2 版)。

