



莫克兰冷泉区沉积物原核微生物群落组成及其环境响应

李其然^{1,2}, 宿蕾^{1,2}, 杨天邦^{3,4}, 张振^{3,4}, 于淼^{3,4}, 邓希光^{3,4}, 马忠霖^{1,2}, 姚会强^{3,4*},
李江涛^{1,2}

- 1 海洋地质国家重点实验室(同济大学), 上海 201306
- 2 同济大学海洋与地球科学学院, 上海 200092
- 3 广州海洋地质调查局, 自然资源部海底矿产资源重点实验室, 广东 广州 510075
- 4 南方海洋科学与工程广东省实验室(广州), 广东 广州 511458

李其然, 宿蕾, 杨天邦, 张振, 于淼, 邓希光, 马忠霖, 姚会强, 李江涛. 莫克兰冷泉区沉积物原核微生物群落组成及其环境响应. 微生物学报, 2022, 62(6): 2021–2037.

Li Qiran, Su Lei, Yang Tianbang, Zhang Zhen, Yu Miao, Deng Xiguang, Ma Zhonglin, Yao Huiqiang, Li Jiangtao. Prokaryotic community composition in Makran cold seep sediments and the response to environment. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2021–2037.

摘要:【目的】冷泉系统广泛存在于大陆边缘地区, 其典型特征是在海底渗漏出大量富含以甲烷为主的碳氢化合物和硫化氢等成分的低温流体。冷泉也因其独特的地球化学条件孕育着独特的原核微生物群落结构, 然而, 原核微生物组成与冷泉环境之间的响应关系却并不清楚。【方法】本文以莫克兰大陆边缘活跃冷泉区沉积物柱状样为研究对象, 沿深度剖面分析了沉积物中的 CH_4 以及孔隙水 SO_4^{2-} 、 H_2S 浓度等关键地球化学参数, 并基于 16S rRNA 基因高通量测序对冷泉沉积物原核微生物的群落结构及其空间变化进行了系统分析。【结果】根据其硫酸盐-甲烷浓度剖面特征, 从上向下, 将沉积物垂向剖面划分为硫酸盐还原区(SZ)、硫酸盐-甲烷转换区(SMTZ)和产甲烷区(MZ)。通过原核微生物 α 多样性与基因定量研究发现, 随着深度增加微生物多样性与丰度呈逐渐降低的趋势。16S rRNA 基因高通量测序结果表明, SZ 中以硫氧化细菌 γ -变形菌纲、 α -变形菌纲和埃普西隆杆菌门为主, 且以硫酸盐为电子受体的与有机质降解相关的原核微生物 JS1、绿弯菌门、洛基古菌纲、深古菌纲及底栖古菌纲的相对含量也较高; SMTZ 存在较高含量的 ANME-1a、ANME-1b 与 SEEP-SRB1, 它们耦合介导着硫酸盐还原和甲烷厌氧

基金项目: 中国地质调查局项目(DD20191009)

Supported by the Project of China Geological Survey (DD20191009)

*Corresponding author. E-mail: hqyao@163.com

Received: 22 March 2022; Revised: 25 April 2022; Published online: 6 May 2022

氧化(SR-AOM)过程。此外,深古菌纲及绿弯菌门的普遍存在说明,除甲烷外,沉积物中还可能存在其他烃类化合物。【结论】通过对莫克兰大陆边缘冷泉渗漏区沉积物中原核微生物群落结构的研究,发现细菌和古菌群落组成与冷泉系统独特的地球化学环境具有密切的联系。

关键词: 莫克兰冷泉区; 冷泉沉积物; 硫酸盐-甲烷转换区; 甲烷厌氧氧化古菌; 硫酸盐还原菌; 有机质降解

Prokaryotic community composition in Makran cold seep sediments and the response to environment

LI Qiran^{1,2}, SU Lei^{1,2}, YANG Tianbang^{3,4}, ZHANG Zhen^{3,4}, YU Miao^{3,4}, DENG Xiguang^{3,4}, MA Zhonglin^{1,2}, YAO Huiqiang^{3,4*}, LI Jiangtao^{1,2}

1 State Key Laboratory of Marine Geology (Tongji University), Shanghai 201306, China

2 School of Ocean and Earth Science, Tongji University, Shanghai 200092, China

3 Key Laboratory of Seabed Mineral Resources, Ministry of Natural Resources, Guangzhou Marine Geological Survey, Guangzhou 510075, Guangdong, China

4 Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Guangzhou), Guangzhou 511458, Guangdong, China

Abstract: [Objective] Cold seeps are mainly found along continental margins, which are characterized by the seepage of cold fluids rich in hydrocarbons dominated by methane and hydrogen sulfide. With unique geochemical environment, cold seep boasts unique prokaryotic community structure. However, the relationship between prokaryotic composition and cold seep environment is not clear. [Methods] In this paper, the key geochemical parameters, such as CH₄ in sediments and SO₄²⁻ and H₂S concentration in pore water, were measured along the depth profile based on the sediment samples from the active cold seep area of Makran continental margin. Through high-throughput sequencing of 16S rRNA gene, the community structure and spatial variation of prokaryotic microorganisms in cold seep sediments were systematically analyzed. [Results] Based on the methane- sulfate concentration, the sediments in the active seepage area of the Makran continental margin were divided into sulfate- reduction zone (SZ), sulfate- methane transition zone (SMTZ), and methanogenesis zone (MZ). It was found that the diversity and abundance of prokaryotic microorganisms decreased with the increase of depth through α diversity analysis and genetic quantification. According to the result of 16S rRNA gene sequencing, *Gammaproteobacteria*, *Alphaproteobacteria*, and *Epsilonbacteraeota* were the dominant prokaryotes in SZ, and the relative abundance of JS1, *Chroloflexi*, *Lokiarchaeia*, *Bathyarchaeia*, and *Thermopfundales* which were related to organic matter degradation and used sulfate as electron donor was also high. ANME-1a, ANME-1b, and SEEP-SRB1 accounted for a large proportion in SMTZ, indicating that they might jointly mediate the anaerobic oxidation of methane coupled to sulphate reduction (SR-AOM). In addition, the prevalence of *Bathyarchaeia* and *Chroloflexi* indicated the potential of other hydrocarbons besides methane in the sediments. [Conclusion] Through the exploration of the prokaryotic communities in Makran cold seep, it is found that the bacterial and

archaeal community compositions are closely related to the unique geochemical environment of the cold seep.

Keywords: Makran cold seep; cold seep sediments; sulfate-methane transition zone; anaerobic methane-oxidizing archaea; sulfate-reducing bacteria; organic matter degradation

冷泉作为一种常见的海底地质现象,通常是甲烷、硫化氢和其他富含碳氢化合物的流体发生渗漏的区域^[1],广泛发育于活动和被动大陆边缘^[2]。沉积物中埋藏的有机质逐渐降解,形成以碳氢化合物(甲烷为主)和硫化氢为主的低温流体^[3],并通过冷泉口释放,进而在渗漏区形成包括大型动物群和微生物在内的独特的冷泉生态系统。研究表明,与其他海底生态系统相比,冷泉系统存在丰富的生物群落,如贻贝、蛤和管状蠕虫等大型动物群落以及与碳氢化合物、硫化氢和有机质代谢密切相关的微生物群^[4-5]。原核微生物在冷泉系统地球化学过程中具有重要的作用。与硫酸盐还原(sulfate reduction, SR)相偶联的甲烷厌氧氧化作用(anaerobic oxidation of methane, AOM)是甲烷渗漏型冷泉中最普遍、也是最重要的生物地球化学过程之一。这一过程是甲烷厌氧氧化古菌(anaerobic methanotrophic archaea, ANME)和硫酸盐还原细菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)共同耦合作用的结果^[6]。此外,异化硫酸盐还原作用和产甲烷作用也是冷泉生态系统中微生物介导的重要的生物地球化学过程,前者是SRB将硫酸盐、亚硫酸盐、硫代硫酸盐或单质硫还原成硫化物,从中获取能量用于维持自身生长的过程^[7];后者是产甲烷菌以H₂和CO₂、甲酸盐、甲基化的一碳化合物或者乙酸作为能量和碳源,产生以甲烷为主的终产物来维持生长的微生物活动过程^[8-9]。

莫克兰俯冲带是阿拉伯板块以4 cm/year的速度俯冲到欧亚板块下方形成的,其特点是存在厚度较大(>7 000 m)的沉积物以及独特的

增生楔构造^[10]。地震反射数据和测深数据显示,莫克兰俯冲带广泛发育一系列的正断层和逆冲断层^[11-12]。复杂的地质构造和丰富的有机质为冷泉的发育创造了良好的条件,同时,这些断层为冷泉流体运移提供了通道^[13]。Sain等^[12]通过该地区似海底反射(bottom simulating reflectors, BSR)的全波形反演,发现BSR之上天然气水合物浓度较低,甲烷分布稀薄,且多数以游离气的形式存在;而BSR下方的游离气区,可以观察到流体稳定缓慢上升。Von Rad等^[11]通过对海底冷泉渗漏区附近CTD水体甲烷的研究发现,该处活跃的流体主要通过甲烷气泡羽状流逃逸,同时在该处也观察到与冷泉系统相关的生物群。此外,莫克兰地区沉积物中多处存在随深度增加硫酸盐强烈亏损的情况,并且在水合物和甲烷羽流存在的甲烷高通量区域广泛分布着碳酸盐岩^[14]。冷泉作为深海极端环境下化能合成生态系统的典型代表,与天然气水合物资源、甲烷等温室气体以及极端环境下生物的演化等重大科学问题密切相关,其中原核微生物介导的生物地球化学过程在全球元素循环中具有至关重要的作用。目前对莫克兰地区冷泉区的研究主要集中在地震资料收集以及水体地球化学参数相关的研究,对该冷泉区沉积物原核微生物的群落组成及丰度变化还未见报道。本研究以阿拉伯海莫克兰大陆边缘俯冲带冷泉区的沉积物为研究对象,通过16S rRNA基因的高通量测序和实时荧光定量多聚核苷酸链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)对细菌和古菌群落组成与丰

度空间变化进行了系统的研究,结合沉积物中甲烷浓度、孔隙水中硫酸根离子、硫化氢浓度等地球化学参数,探寻原核微生物群落组成对地球化学环境的响应,有助于进一步加深对冷泉系统原核微生物及生物地球化学循环的认识。

1 材料与方法

1.1 沉积物采集与处理

此次研究的冷泉沉积物样品是在 2018 年 12 月至 2019 年 2 月期间对印度洋阿拉伯海的莫克兰大陆边缘冷泉区进行科学考察期间采集。采用重力柱取样的方式在活跃冷泉渗漏区采集了长度为 4.4 m 的柱状沉积物样品,采样站位为 G35,坐标为 24°25.7'N, 63°38.3'E,采样站位的水深为 1 818 m。重力柱沉积物样品采集到甲板之后,立即用塑料注射器对沉积物进行取样,间隔为 60 cm,采集 3 mL 的沉积物并转移至预先装有 3 mL 浓度为 1 mol/L NaOH 溶液的厌氧瓶中,胶垫压盖密封后充分摇匀并 4 °C 低温保存,以用于测定沉积物中的甲烷浓度。同时,用 Rhizon 土壤水分采样器进行孔隙水的采集,采样间隔为 60 cm,用于硫酸根离子测定。为防止孔隙水中的 H₂S 氧化转化为 SO₄²⁻,在孔隙水中加入浓硝酸(每 1 mL 样品中加入 10 μL 浓硝酸)进行酸化^[15]并保存于 2 mL 离心管中。对于测定硫化氢浓度的样品,分别取 5 g 沉积物湿样放于 100 mL 烧杯中,加入 20 mL 抗氧化络合剂溶液[在 40 g NaOH 和 40 g EDTA-2Na·2H₂O 中加去离子水至 200 mL 制备成抗氧化络合剂贮备溶液,取 100 mL 溶液中加入 5 g 抗坏血酸(C₆H₈O₆),加去离子水至 500 mL 制成抗氧化络合剂使用溶液(现用现配)],搅拌均匀并提取上清液,并加入抗氧化络合剂至 500 mL 制成待测样品溶液。剩余的沉积物样品按照 25 cm 的采样间隔进行分样,每一个样品

的取样长度为 5 cm,放入冰箱保存,直至下一步 DNA 提取实验的进行。

1.2 孔隙水硫酸根离子、硫化氢浓度及沉积物中甲烷浓度的测量

沉积物孔隙水 SO₄²⁻离子浓度使用离子色谱(ICS-1500, DIONEX)测量。离子色谱使用 AS9-HC 分析柱与 AG9-HC 保护柱,淋洗液为 20 mmol/L 的 Na₂CO₃,流速为 1 mL/min,进样量为 100 μL。沿垂向剖面,共采集 7 个样品进行测量,每个样品做 5 次平行测试,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD) (n=5)的范围为±1%。SO₄²⁻离子标准溶液的配制:精密量取硫酸钠(1 g/L)标准溶液适量,加去离子水定量稀释配制成分别含硫酸根离子浓度为 0.5、1.0、1.5、3.0、4.0、6.0 mg/L 的系列标准溶液;每次测试以去离子水为空白溶液。分别取以上标准溶液 5 mL,手动进样注入离子色谱仪,记录色谱图,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线。测试误差<±2%。测试工作在同济大学海洋地质国家重点实验室完成。

采用气相色谱法测量沉积物中甲烷气体浓度^[16]。将用胶垫压盖密封保存的沉积物样品置于 40 °C 烘箱中平衡 60 min,使游离态存在的气体尽可能逸出至顶空。冷却至室温后,在常压下用气密性气体进样针抽取 100 μL 气体注入安捷伦 7890A 型气相色谱仪,测试烃类气体的类型及浓度。气象色谱仪使用氢火焰离子化检测器(FID),色谱柱为 Agilent HP-PLOT/Q 型毛细管柱(30 m×0.530 mm×40.0 μm),以高纯氮气作为载气。采用已知浓度的标准混合气体进行校准,甲烷浓度的测试精度<±2%。该部分实验在船上现场完成。

硫化氢测量采用银硫离子电极交换法^[17]。使用抗氧化络合剂溶液作为溶剂配制硫离子标准液,稀释成 0.2、2、4、20、40 μmol/L 的梯

度标准溶液进行标定, 并绘制标准曲线。打开离子计电源并预热 30 min, 用短路插头插入电极插口, 浓度直读数值显示在 0.0 mV 左右时符合测量要求。将银硫电极与参比电极一起浸入含有 25 mL 待测溶液的 50 mL 烧杯中, 将测定项选择 mV 档, 按下读数开关, 待读数稳定后(变化幅度小于 1 mV)记录测量结果, 并代入标准曲线中得出硫离子浓度, 计算得出硫化氢浓度。

1.3 DNA 提取、16S rRNA 基因扩增和 Illumina 高通量测序

使用 Fast DNA Spin Kit for Soil 试剂盒(MP)进行沉积物中 DNA 提取。首先将沉积物样品在冻干机(LABCONCO) -40 °C 条件下冻干, 每个样品取约 0.75 g 用于 DNA 提取, 具体操作步骤参照试剂盒说明书。提取的 DNA 用于后续细菌和古菌 16S rRNA 基因的扩增与文库构建。细菌的基因扩增和文库构建使用引物对 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和 907R (5'-CCGTCATTCMTTTRAGTTT-3')^[18]; 古菌的基因扩增和文库构建使用引物对 Arch519F (5'-CAGCGCCGCGGTAA-3')和 Arch915R (5'-GTGCTCCCGCCCAATTCCT-3')^[19]。PCR 扩增体系包括: DNA 模板 1 μL, 2×Premix Taq (含 buffer) 25 μL, Primer-F/R 各 1 μL, Nuclease-free water 补平至 50 μL 总反应体系。反应设置 3 个平行样, 使用 BioRad S1000 PCR 仪进行扩增。扩增程序为: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 52 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物使用 Qiagen Gel Extraction Kit 试剂盒纯化, 并按照 NEBNext® Ultra™ II DNA Library Prep Kit for Illumina® 的标准流程进行文库构建。16S rRNA 基因序列在广东美格基因科技有限公司使用 Illumina Hiseq 2500 进行 PE250 测序。

1.4 实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)

通过实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)

测定沉积物中细菌和古菌 16S rRNA 基因丰度, 其中细菌 16S rRNA 基因测序引物为 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')/907R (5'-CCGTCATTCMTTTRAGTTT-3')^[18], 古菌 16S rRNA 基因测序引物为 Arch524F (5'-TGYCAGCGCCCGCGGTAA-3')/Arch958R (5'-YCCGGGCGTTGAVTCCAATT-3')^[20]。16S rRNA 基因标准品采用 TA 克隆方法得到。将 16S rRNA 基因 PCR 产物克隆到 pUC18 质粒载体(TaKaRa), 然后转化至 *E. coli* DH5α 感受态细胞构建重组质粒。提取质粒并纯化后以重组质粒作为模板, 依次按 10 倍浓度梯度稀释得到系列 DNA 的标准品, RT-qPCR 得到的标准曲线的 R^2 在 0.98–0.99 之间。RT-qPCR 使用 PikoReal 荧光定量 PCR 仪 (Thermo Fisher Scientific) 进行。RT-qPCR 反应体系包含 1 μL DNA 模板, 0.2 μL Rox Reference Dye (TaKaRa), 正向与反向引物各 0.2 μL, SYBR Green 荧光染料 5 μL, 并用灭菌去离子水补平至总体积 10 μL。RT-qPCR 的反应程序为: 95 °C 30 s; 95 °C 5 s, 55 °C 30 s, 72 °C 60 s, 40 个循环; 72 °C 1 min。

每个样品都同时设置 3 个平行样, 反应扩增效率为 95%–105%。按照公式(1)计算出溶液中 16S rRNA 基因平均拷贝数^[21]。

$$\text{DNA (copy)} = \frac{6.02 \times 10^{23} \text{ copies/mol} \times \text{DNA amount (g)}}{\text{DNA length (bp)} \times 660 \text{ (g/mol)}} \quad (1)$$

根据 rrNDB 数据库揭示的细菌和古菌 16S rRNA 基因平均拷贝数估算细菌和古菌细胞丰度: 假定每个细菌细胞平均含有 5.2 个 16S rRNA 基因, 而每个古菌细胞平均含有 1.7 个 16S rRNA 基因^[22]。

1.5 高通量测序数据处理与物种注释

经测序得到的原始数据, 通过 MAGICHAND 线上平台 (<http://could.magichand.com>) 进行数据处理。首先利用 fastp (V0.14.1) 进行数据质控^[23], 之后, 用 usearch (V10.0.240) 进行拼接和去冗

余。利用 usearch-sintax 将每个操作分类单元 (operational taxonomic units, OTU) 的代表序列与 SILVA 数据库 (SILVA 132 版本)^[24] 进行比对获得物种注释信息, 从而获得所有序列的物种信息。去除注释为叶绿体或线粒体的 OTUs 以及只有一条代表序列的 OTUs, 得到各样品最终用于分析的有效序列数及 OTU 分类学综合信息表, 并统计样本中所含 reads 数及 OTU 数。基于上述 OTU 丰度表, 使用 usearch-alpha_div (V10) 进行多样性指数 (Chao1、Shannon 和 Simpson) 计算。为了分析微生物群落组成, 细菌分别在门 (变形菌纲在纲的水平) 和纲 (变形菌目在目的水平) 的分类学水平筛选出相对丰度大于 3% 的 OTUs, 古菌在纲 (ANME-1a、ANME-1b 在属的水平) 的分类学水平筛选出相对丰度大于 1% 的 OTUs, 并通过 Originlab (Version 9.8.5.212) 绘制出细菌和古菌的群落结构组成图。此外, 为了更好地了解硫氧化细菌群落组成, 将 α -变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*)、 γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*) 和埃普西隆杆菌门 (*Epsilonbacteraeota*) 相对丰度 > 1% 的属进行了展示。

1.6 统计分析

为了揭示样品之间微生物组成的相异性, 使用 R 包 Vegan (V2.5-7) 对不同样品中细菌和古菌的微生物群落结构进行了非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 统计分析^[25]。同时使用 Analysis of Similarities (ANOSIM) 和 Analysis of Molecular Variance (AMOVA) 方法对 NMDS 分组结果进行了显著性检验^[26-27]。

2 结果与分析

2.1 甲烷、硫酸根离子和硫化氢浓度的变化

G35 站位沉积物中甲烷浓度整体介于 0.20×10^{-2} –0.67 mmol/L 之间 (图 1)。由于在样品

采集至甲板过程中温度和压力的变化, 对温度和压力敏感的甲烷等成分会从沉积物中逸出并分解成其他物质^[28], 所以本文测定的甲烷浓度要低于实际的甲烷浓度^[29]。甲烷浓度随深度自下而上呈现先增大后减小的变化趋势。其中, 甲烷浓度在 0–270 cm 区域内呈现随深度增加而增大的趋势, 在 50 cm 处测得甲烷浓度的最低值为 0.20×10^{-2} mmol/L, 在 270 cm 左右达到最高值为 0.67 mmol/L, 而在 270–440 cm 范围内则随深度增加逐渐减小。

硫化氢浓度随深度增加呈现先增大, 后减小, 之后再增大的变化趋势 (图 1)。其中, 硫化氢浓度在 0–180 cm 和 390–440 cm 区域内均呈现随深度增加而增大的趋势, 在 180–390 cm 范围内硫化氢浓度随深度增加呈现先增大 (180–230 cm) 后减小 (230–360 cm), 再增大 (360–390 cm) 的波动现象。在 230 cm 处达到最高值为 34.24 mmol/L, 在 50 cm 处测得其剖面最低值为 0.16 mmol/L。

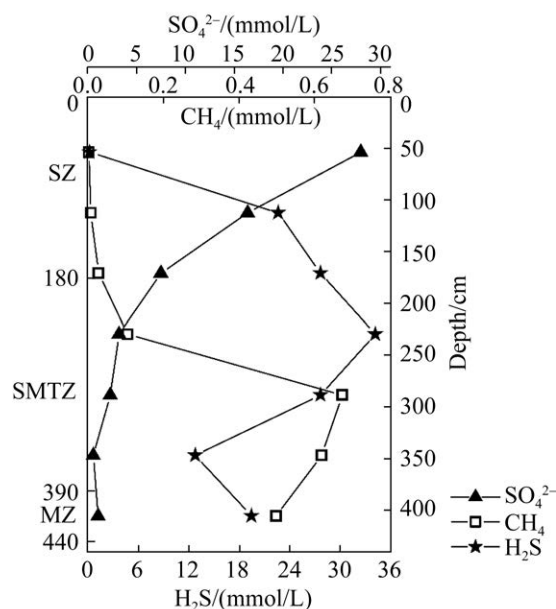


图 1 G35 站位甲烷、硫酸根离子和硫化氢浓度垂向剖面变化图

Figure 1 Vertical profile changes of methane, sulfate and sulfide concentrations at station G35.

硫酸根离子浓度随深度增加整体呈下降趋势(图 1), 在近表层沉积物 50 cm 处测得最高值为 28.13 mmol/L, 在 360 cm 处的沉积物中降至最低值为 0.62 mmol/L; 其中, 硫酸根离子在 0–360 cm 中随深度增加而减少, 且在上层沉积物(0–180 cm)硫酸盐消耗速率明显高于深层沉积物(180–360 cm)。底层沉积物(360–440 cm)中硫酸盐浓度整体较低, 但随深度增加浓度出现小幅度上升的现象。

根据硫酸盐-甲烷浓度的变化(图 1)将沉积物的地球化学环境自上而下划分为硫酸盐还原区(SZ; 0–180 cm)、硫酸盐-甲烷转换区(SMTZ; 180–390 cm)和产甲烷区(MZ; 390–440 cm)。

2.2 沉积物中细菌和古菌的细胞丰度

基于 16S rRNA 基因 RT-qPCR 的定量结果, 本文估算了莫克兰冷泉沉积物中细菌和古菌的细胞丰度(表 1)。结果表明, 细菌细胞丰度范围为 $2.63\text{--}2.40\times 10^{10}$ cells/g, 古菌细胞丰度范围为 $0.20\times 10^7\text{--}1.00\times 10^8$ cells/g。相同深度下, 细菌细胞丰度普遍比古菌细胞高 3 个数量级。

整体而言, 古菌细胞丰度在 SMTZ 最高, 其次是 SZ, 而 MZ 中丰度最低。古菌细胞丰度在 SZ 近表层沉积物 15–45 cm 内较高, 最大值出现在 45 cm 处, 为 0.76×10^8 cells/g; 最小丰度为 0.90×10^7 cells/g, 在 95 cm 处。在 225–285 cm 的深度范围内(SMTZ)古菌细胞丰度较高, 其中

表 1 G35 站位细菌、古菌丰度表

Table 1 Bacterial and archaeal abundances at station G35

| Depth/cm | Copies of bacterial 16S rRNA genes/ ($\times 10^8$ copies/g) | Copies of archaeal 16S rRNA genes/ ($\times 10^8$ copies/g) | Bacterial cells abundance/ ($\times 10^8$ cells/g) | Archaeal cells abundance/ ($\times 10^8$ cells/g) | Geochemical gradient zoning |
|----------|---|--|---|--|--------------------------------|
| 15 | 338.84 | 0.41 | 64.57 | 0.24 | SZ |
| 35 | 309.03 | 0.60 | 58.88 | 0.35 | SZ |
| 45 | 1 230.27 | 1.29 | 239.88 | 0.76 | SZ |
| 75 | 208.93 | 0.25 | 40.74 | 0.15 | SZ |
| 95 | 141.25 | 0.15 | 27.54 | 0.09 | SZ |
| 105 | 97.72 | 0.25 | 18.62 | 0.14 | SZ |
| 135 | 234.42 | 0.19 | 44.67 | 0.11 | SZ |
| 155 | 95.50 | 0.07 | 18.62 | 0.04 | SZ |
| 165 | 199.53 | 0.46 | 38.02 | 0.27 | SZ |
| 195 | 190.55 | 0.47 | 36.31 | 0.28 | SMTZ |
| 215 | 97.72 | 0.35 | 18.62 | 0.21 | SMTZ |
| 225 | 512.86 | 1.23 | 97.72 | 0.72 | SMTZ |
| 255 | 776.25 | 1.62 | 147.91 | 0.95 | SMTZ |
| 275 | 602.56 | 1.32 | 117.49 | 0.78 | SMTZ |
| 285 | 346.74 | 1.70 | 67.61 | 1.00 | SMTZ |
| 315 | 95.50 | 0.36 | 18.20 | 0.21 | SMTZ |
| 335 | 147.91 | 0.41 | 28.84 | 0.24 | SMTZ |
| 345 | 87.10 | 0.23 | 16.98 | 0.14 | SMTZ |
| 375 | 34.67 | 0.09 | 6.61 | 0.05 | SMTZ |
| 395 | 28.18 | 0.06 | 5.50 | 0.03 | MZ |
| 405 | 131.83 | 0.21 | 25.12 | 0.13 | MZ |
| 435 | 13.49 | 0.03 | 2.63 | 0.02 | MZ |

285 cm 处是整个沉积物剖面中古菌细胞丰度最高的位置, 达到 1.00×10^8 cells/g, 而在 375 cm 处丰度最低, 为 0.50×10^7 cells/g; MZ 古菌的细胞丰度最高值为 0.13×10^8 cells/g (405 cm), 最小值为 0.20×10^8 cells/g (435 cm)。

细菌细胞丰度在垂向剖面上整体呈现逐渐减少的趋势。SZ 中, 细菌的最高丰度为 2.40×10^{10} cells/g, 出现在 45 cm 处, 其他深度处细菌的丰度没有呈现明显的变化; 与古菌的丰度相似, SMTZ 中细菌的丰度较高的深度也是出现在 225–285 cm 处, 其中丰度最大值出现于 255 cm 处, 最小值则出现在 375 cm 处, 分别为 1.50×10^{10} cells/g 和 6.61×10^8 cells/g。MZ 中细菌细胞丰度的变化趋势与古菌细胞丰度的变化趋势一致, 在 405 cm 处丰度最高, 435 cm 处最低, 其中最高丰度为 2.51×10^9 cells/g, 最低丰度为 2.63×10^8 cells/g。

2.3 沉积物中微生物群落 α 多样性与 β 多样性

沉积物中细菌和古菌的 α 多样性指数表明, 总体上 α 多样性指数自上而下均随深度增加而逐渐减少, 且同一深度的沉积物中, 细菌的生物多样性明显高于古菌。细菌 Chao1 的变化范围为 1 265.43–3 332.77, Shannon 指数的变化范围为 0.80–2.48, Simpson 指数的变化范围为 0.01–0.52。相比之下, 古菌 Chao1 的变化范围为 362.55–828.37, Shannon 指数的变化范围为 0.95–1.66, Simpson 指数的变化范围则为 0.07–0.41 (图 2)。细菌的 α 多样性在硫酸盐-甲烷转换区 350 cm 左右有明显升高的趋势, 一直延伸至产甲烷区的 390 cm 处, 之后重新开始下降。古菌的 α 多样性在硫酸盐还原区最高, 随深度增加持续减小, 在 105–175 cm 小幅上升后

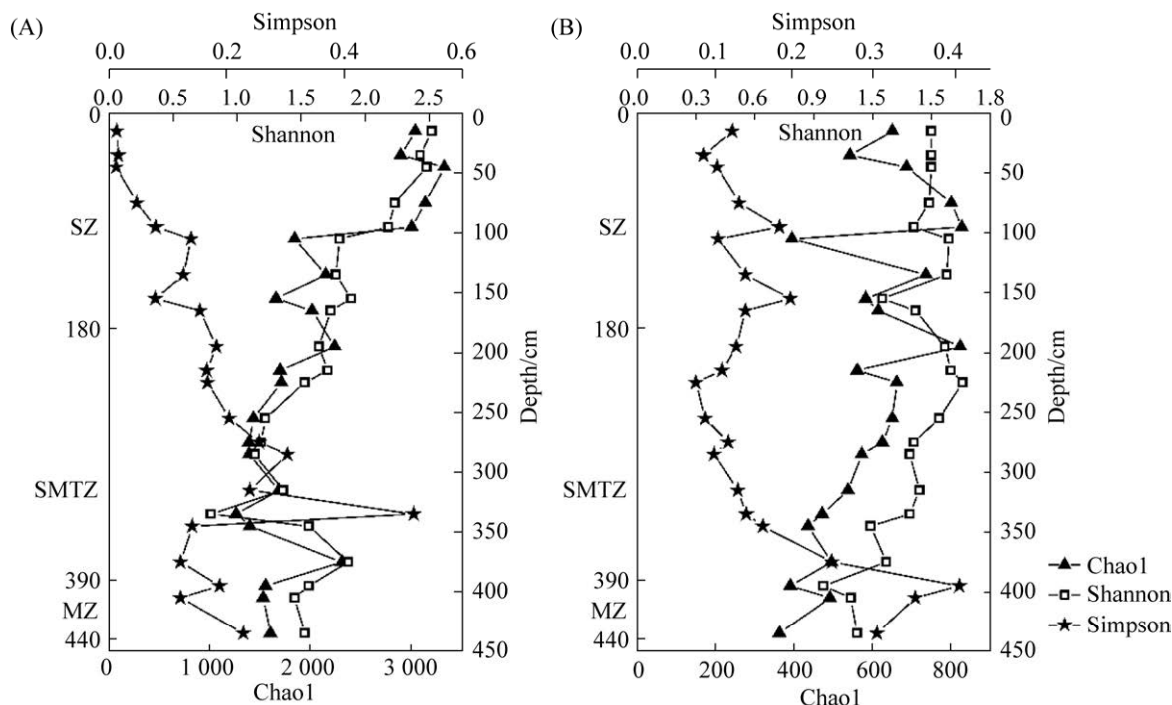


图 2 G35 站位细菌(A)和古菌(B) Chao1、Shannon、Simpson 指数图

Figure 2 Alpha diversity indices (Chao1, Shannon and Simpson) of bacterial (A) and archaeal (B) at station G35.

重新开始下降;在硫酸盐-甲烷转换区先升高(195–225 cm)后下降(255–375 cm);在产甲烷区中随深度增加持续减小,在 395 cm 处出现异常高值。总体上,细菌 α 多样性的变化趋势与古菌 α 多样性的变化趋势具有一致性。

非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)的聚类分析结果表明, SZ、

SMTZ 和 MZ 的细菌和古菌形成 3 个不同的分组($R>0.25$, $P<0.05$; 图 3 和表 2), 且不同的分组之间都具有明显差异。SZ 无论是细菌还是古菌的群落组成与 SMTZ 都有非常显著的差异($P<0.005$), SZ 与 MZ 的微生物群落组成以及 SMTZ 与 MZ 的微生物群落组成均具有明显的群落组成差异($P<0.05$)。

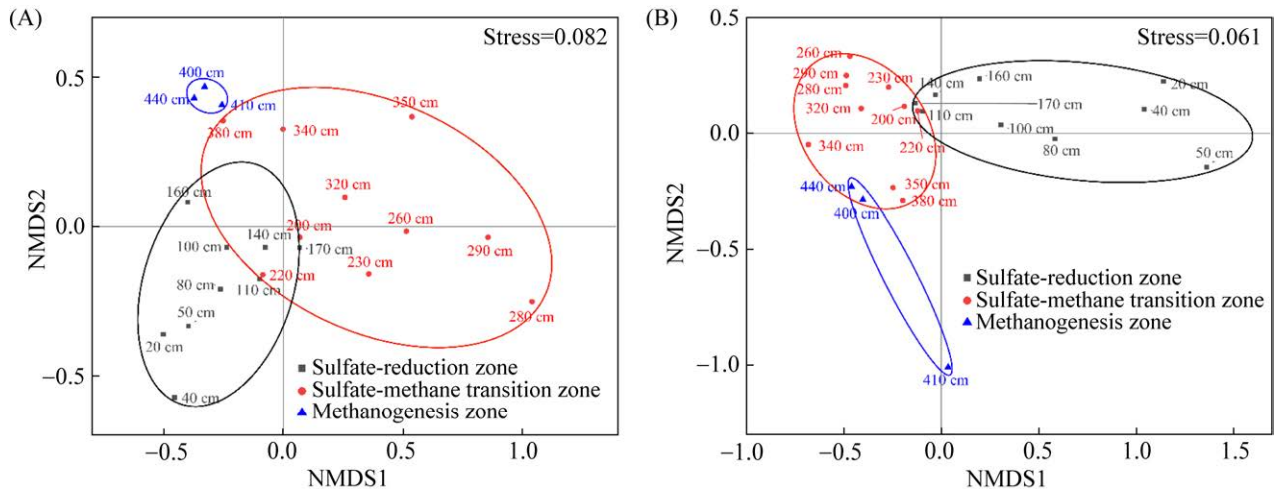


图 3 G35 站细菌(A)和古菌(B)非度量多维尺度分析(NMDS)图

Figure 3 Bacterial (A) and archaeal (B) non-metric multidimensional scaling analysis (NMDS) results at station G35. The distance algorithm is Bray-Curtis, stress value (stress coefficient) is used to test the merits of NMDS analysis results. When stress <0.2 often can be represented by the two-dimensional point graph of NMDS ($R>0.25$, $P<0.05$), which has certain explanatory significance. When stress <0.1 , can be considered a good sort; When stress <0.05 is a good representative^[30].

表 2 G35 站 NMDS 分析中不同组的 ANOSIM 和 AMOVA 显著性检验

Table 2 ANOSIM and AMOVA significance test of the different groups in NMDS analysis at station G35

| Groups | | ANOSIM | | AMOVA |
|----------|--------------|--------|------|-------|
| | | P | R | P |
| Bacteria | Group 1 vs 2 | 0.001 | 0.38 | 0 |
| | Group 1 vs 3 | 0.017 | 0.43 | 0.009 |
| | Group 2 vs 3 | 0.010 | 0.23 | 0.030 |
| | All groups | 0.002 | 0.35 | 0 |
| Archaea | Group 1 vs 2 | 0.002 | 0.37 | 0 |
| | Group 1 vs 3 | 0.019 | 0.47 | 0.015 |
| | Group 2 vs 3 | 0.041 | 0.44 | 0.024 |
| | All groups | 0.001 | 0.39 | 0.002 |

Group 1: SZ; Group 2: SMTZ; Group 3: MZ.

2.4 微生物群落组成

莫克兰冷泉区沉积物中细菌以暗黑菌门(*Atribacteria*)和绿弯菌门(*Chloroflexi*)为主, 分别占细菌总百分含量的 39.03%和 16.40%。其中, JS1 纲(隶属于 *Atribacteria* 门)在细菌群落组成中占绝对优势, 特别是在 SMTZ 和 MZ, 它们的含量可达 79.36%。如图 4A 所示, *Chloroflexi* 在沉积物柱中普遍存在, 含量为 2.53%–33.02%。厌氧绳菌纲(*Anaerolineae*)主要在 SZ 占据优势地位, 而脱卤球菌纲(*Dehalococcoidia*)在整个沉积剖面中更具有广适性(图 4B)。 δ -变形菌纲(*Deltaproteobacteria*)

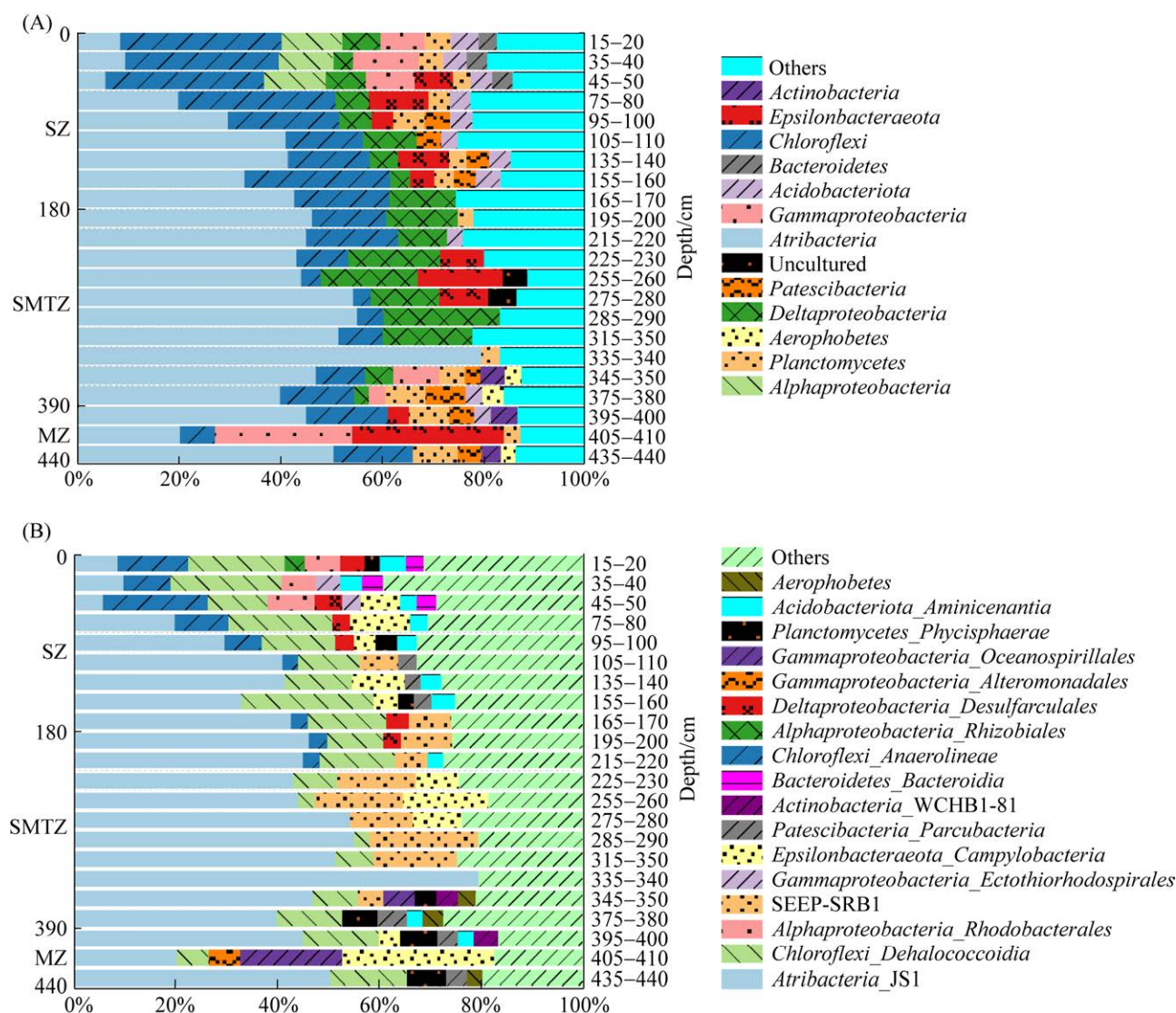


图 4 G35 站位细菌群落组成图

Figure 4 Composition of bacterial communities at station G35. The communities of bacteria in phylum (except *Proteobacteria*, A) and class (except SEEP-SRB1 in genus-level and *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* and *Deltaproteobacteria* at order-level, B) level, respectively. Uncultured in A refers to uncultured_Bacteria. Display the composition of all communities with relative abundance >3%.

在 SZ 和 SMTZ 占优势地位，其含量最高达 12.50% (图 4A)，SEEP-SRB1 是 *Deltaproteobacteria* 在 SMTZ 中的主要属 (图 4B)。硫氧化相关的微生物类群主要包括 *Alphaproteobacteria* (0.34%–12.69%)、*Gammaproteobacteria* (0.38%–27.09%) 和 *Epsilonbacteraeota* (0.18%–29.63%)，前两者主要在 SZ 具有相对较高的相对含量，而

Epsilonbacteraeota 在 SZ 和 SMTZ 均具有较高的相对丰度。值得注意的是，在 MZ 的 405–410 cm 处，*Gammaproteobacteria* 和 *Epsilonbacteraeota* 的相对含量明显高于其邻近深度 (图 4A)。

亚硫酸杆菌属 (*Sulfitobacter*) 和阿菲波菌属 (*Afipia*) 是 *Alphaproteobacteria* 的主要属，含量分别占细菌总百分含量的 0–1.88% 和 0–2.05%，其

中 *Sulfitobacter* 主要分布于 50 cm 以上的近表层沉积物中, 而 *Afipia* 则存在于 SZ 和 MZ 中。 *Gammaproteobacteria* 包含属水平的类群主要为盐单胞杆菌属 (*Halomonas*)、海杆菌属 (*Marinobacter*)、硫微螺菌属 (*Thiomicrospira*)、内共生菌属 (*Endosymbionts*) 和 *Thiohalophilus*, 分别占细菌总百分含量的 0–19.98%、0–5.87%、0–1.20%、0–1.18% 和 0.04%–4.04%。其中 *Thiomicrospira*、*Endosymbionts* 和 *Thiohalophilus* 仅在浅于 50 cm 的沉积物中被检测到, 而 *Halomonas*、*Marinobacter* 主要存在于 345–350 cm 和 405–410 cm 深度中, 它们在 345–350 cm 的含量分别可达到 6.19%、1.88%, 而在 MZ (405–410 cm) 的相对含量则分别为 19.98% 和 5.87%。 *Epsilonbacteraeota* 主要包含硫卵菌属

(*Sulfurovum*) (0.07%–7.61%) 和硫磺菌属 (*Sulfurimonas*) (0.28%–22.69%), 其中 *Sulfurovum* 主要存在于 SZ 上部和 SMTZ 下部, 而 *Sulfurimonas* 在 SZ、SMTZ 和 MZ 中均有存在。 *Sulfurimonas* 在 215–280 cm 范围内含量明显高于临近沉积物, 尤其是在 230 cm 左右, 这正好也与硫化氢浓度的最大值出现的深度一致 (图 5)。

沉积物中古菌优势类群为 *Lokiarchaeia*、*Bathyarchaeia* 和 乌斯古菌门 (*Woesearchaeia*) (门水平), 分别占古菌总量的 36.96%、22.99% 和 17.03%。除 *Lokiarchaeia* (11.79%–65.27%)、*Bathyarchaeia* (3.20%–60.71%)、*Woesearchaeia* (2.08%–55.25%) 之外, *Thermoprofundales* (1.93%–21.93%) 在 SZ 和 SMTZ 中也是普遍存在且相对含量较高的类群 (图 6)。其中, *Bathyarchaeia* 在

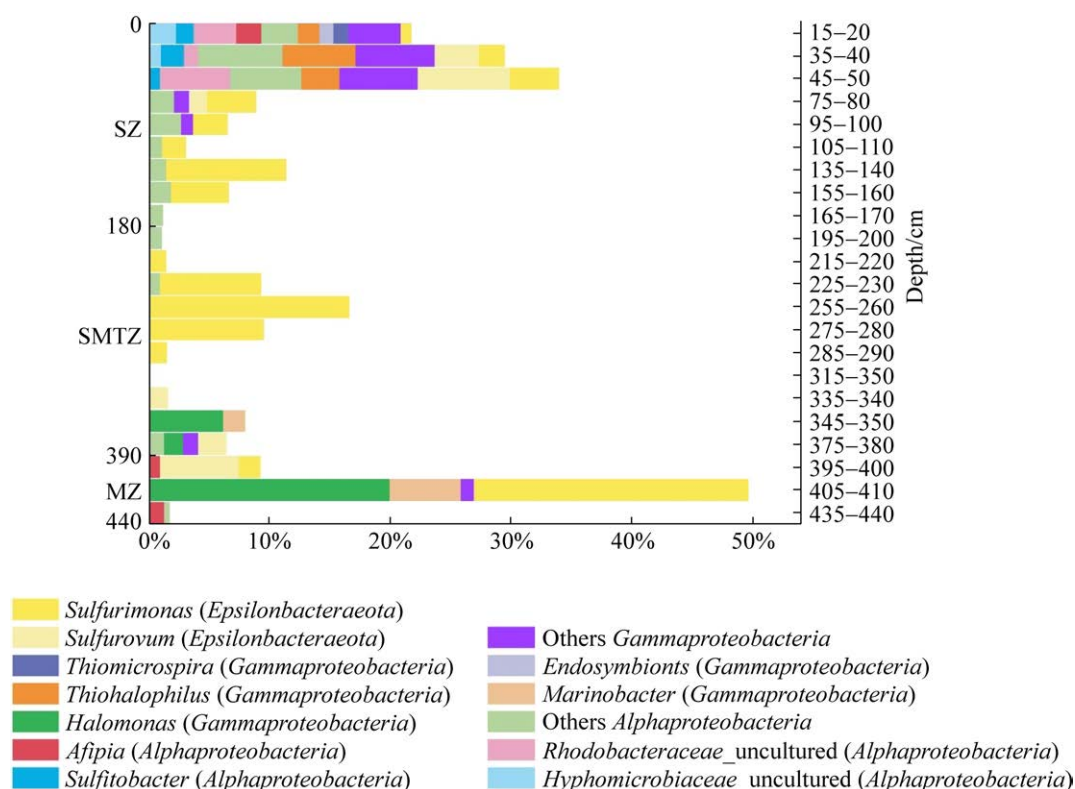


图 5 G35 站位 *Alphaproteobacteria*、*Gammaproteobacteria*、*Epsilonbacteraeota* 群落组成图

Figure 5 Compositions of *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* and *Epsilonbacteraeota* at station G35. Display *Alphaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria* and *Epsilonbacteraeota* at genus level (>1%).

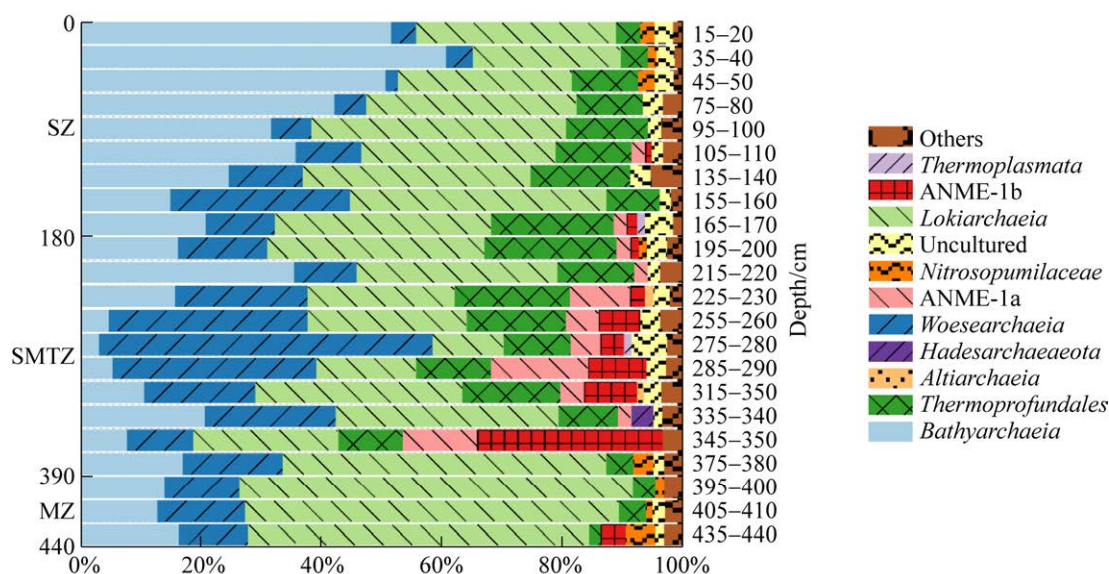


图 6 G35 站位古菌群落结构组成图

Figure 6 Composition of archaeal communities at station G35. This is a chart of the community composition of archaea in class-level (except ANME-1a and ANME-1b), showing the composition of all communities with a relative content >1%.

SZ 明显占绝对优势，而 *Woesearchaeia* 和 *Thermopfundales* 在 SMTZ 相对含量明显更高。ANME-1a (0.02%–16.95%) 和 ANME-1b (0.03%–30.83%) 在 SMTZ 相对含量明显升高，且 ANME-1b 在 SMTZ 下层沉积物中显示出随深度增加而增高的趋势。此外，*Altiarchaeia* (0–1.39%)、*Hadesarchaeaeota* (0.07%–3.72%)、亚硝化侏儒菌目(*Nitrosopumilaceae*) (0.28%–4.90%) 在沉积物剖面中也普遍存在，但整体的相对含量较少。

3 讨论

原核微生物群落组成的 β 多样性分析表明微生物在垂向剖面上根据不同的地球化学梯度分区而具有明显的差异($P < 0.05$)。由 *Gammaproteobacteria*、*Epsilonbacteraeota* 及 *Alphaproteobacteria* 的部分类群介导的还原态

硫的氧化过程是硫酸盐还原区的主要生物地球化学过程之一^[31–32]。研究表明，*Sulfitobacter* (*Alphaproteobacteria*) 类群在有氧环境中具有亚硫酸盐氧化的功能^[33–34]，这可能是其仅在 50 cm 以浅的近表层沉积物中相对含量较高的原因。*Sulfurovum* (*Epsilonbacteraeota*) 类群具有可利用硝酸盐、分子氢等作为电子受体的代谢潜能^[35]，及其适应环境的能力强、基因组呈现高度广泛的变异特征^[36–37]可能促使其不仅能够在近表层沉积物中生活，并且能够在 SMTZ 的下部缺氧沉积物中也存在。*Lokiarchaeia*、*Bathyarchaeia*、*Thermopfundales* 及 *Chloroflexi* 等微生物直接或间接参与的有机物降解等地球化学过程^[38–39]，也是 SZ 中主要的生物地球化学过程。相关研究表明，*Thermopfundales*、*Bathyarchaeia* 能够降解碎屑蛋白质、乙酸盐、芳香化合物或其他有机基质^[20]。*Chloroflexi* 通常存在于富含有机物

的环境中^[40], 其中 *Anaerolineae* 具有一定的碳水化合物降解潜力, 而 *Dehalococcoidia* 可能参与了芳香烃的还原降解^[21]。SZ 是孔隙水中硫酸盐消耗的主要区域, 研究表明在浅层沉积物中硫酸盐的还原主要通过降解有机质的途径 ($2\text{CH}_2\text{O} + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 2\text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{S}$)^[41]。

细菌和古菌丰度在 SMTZ 明显增加, 但细菌和古菌的 α 多样性却又明显降低, 这说明了甲烷浓度的增加和硫酸盐浓度的降低可能是原核微生物多样性降低的一个重要潜在因素。莫克兰冷泉沉积物中 SEEP-SRB1 与 ANME-1a、ANME-1b 在 SMTZ 相对含量明显升高进一步验证了 SRBs 与 ANMEs 耦联的甲烷厌氧氧化 (AOM) 是该区重要的生物地球化学作用过程。地球化学分析的结果显示, 在整个沉积剖面中硫化氢浓度整体偏高, 尤其是在深度约为 210–250 cm (属于 SMTZ) 的范围内, 其浓度甚至高于 28 mmol/L (图 1)。值得注意的是, 在此区间内硫氧化细菌 (SOB) *Sulfurimonas* 的相对含量也明显升高。*Sulfurimonas* 等 SOB 能够氧化多种还原性无机硫 (S^{2-} 、 S^0 以及 SO_3^{2-}), 例如能够耦合硝酸盐或亚硝酸盐的还原从而将无机硫化物氧化为零价硫或硫酸盐^[42], 从而可向 SMTZ 及下面的地层提供硫酸盐^[43–45]。与之对应的是, 硫酸盐还原菌 SEEP-SRB1 的含量在这个范围内的升高 (图 4), 为硫化氢浓度的升高提供了可能性。JS1 (*Atribacteria*)、*Woesearchaeia* 和 *Lokiarchaeia* 也是 SMTZ 中的优势物种。之前研究表明, JS1 异养代谢途径产生的乙酸盐、 CO_2 、乙醇等物质可以为产甲烷菌提供反应原料, 因此 JS1 在冷泉活跃区的大量存在可能与生物产甲烷过程存在联系^[46]。需要注意的是, 尽管我们根据沉积物的地球化学参数在沉积柱的深部划分出了产甲烷带, 但在我们的沉积物中并未检测到已知的产甲烷菌的存在。研究发

现, *Woesearchaeia* 具有发酵的生活方式, 能够将有机底物 (如淀粉) 转化为乙酸或氢气^[47], 这可能有利于乙酸营养型或氢营养型产甲烷菌^[48]的生长。需要进一步指出的是, 在 270–440 cm 深度的沉积物中, 从底层上升的甲烷非但未被消耗, 反而浓度有所上升。结合 SMTZ 和 MZ 中大量存在的 *Woesearchaeia*、JS1 以及升高的甲烷浓度, 表明了该处可能存在产甲烷过程, 但在该处未检测到已知的产甲烷菌^[49–50], 推测可能存在其他具有产甲烷功能的原核微生物种群。此外, 莫克兰俯冲带广泛发育的正断层和逆冲断层等地质结构为其他区域甲烷至此提供了上升通道^[13], 这也极有可能是该处甲烷浓度升高的原因。

JS1、*Lokiarchaeia* 在 MZ 的相对含量占据绝对优势, 其次是 *Woesearchaeia* 和 *Dehalococcoidia*。*Lokiarchaeia* 在不同深度的沉积物中均广泛存在, 这可能与它可以利用多种不同类型的有机质, 具有很强的环境适应性有关^[39]。同时值得注意的是, 在 405–410 cm 处, *Gammaproteobacteria* (主要为 *Halomonas* 和 *Marinobacter*) 和 *Epsilonbacteriia* (主要为 *Sulfurimonas*) 成为优势细菌群落。由于 MZ 属于严格的厌氧环境, 因而 *Sulfurimonas*、*Halomonas* 和 *Marinobacter* 类群利用非氧气的其他电子受体 (如硝酸盐) 来进行硫单质、硫代硫酸盐或者氢的氧化^[51–53] 进行自养代谢的潜能是其在 MZ 大量存在的原因。其中, *Sulfurimonas* 可以利用多种电子供体、电子受体和有机碳源, 可能是其在多个层位占有优势的原因^[51]。*Halomonas* 和 *Marinobacter* 还可能参与石油等烃类的降解^[52,54]。此外, *Dehalococcoidia* 被证实能够参与芳香烃的降解^[21], 这进一步指示在莫克兰冷泉区可能有除甲烷之外其他烃类的存在。

最后, 需要说明的是, 在对冷泉系统的研

究过程中,包括沉积物、孔隙流体以及生命材料在内的不同的研究载体具有不同的“时效性”。例如,沉积物中的孔隙水和栖息的微生物及其生命活动通常可以对甲烷渗漏强度等环境变化做出快速响应,因而反映的是从数小时到数月的环境改变。相比之下,固体沉积物和自生碳酸盐提供信息的时间尺度要长的多,代表着从数年到数万年尺度上的环境变化^[55-56]。由于取样间隔以及测试方法等多方面因素的限制,我们得到的结果是在一定时间内均一化后的总体记录^[56]。总体来看,我们本次中孔隙水和微生物所反馈的信息基本上是一致和匹配的,可以说明在二者所记录的时间尺度范围内,研究区的冷泉活动是比较稳定的。

4 结论

莫克兰大陆边缘冷泉区沉积物剖面中地球化学梯度变化显著,明显分为SZ、SMTZ以及MZ 3个分区,并且冷泉活动状况相对稳定。微生物群落组成在垂向上沿地球化学梯度变化也呈现出明显的差异($P<0.05$),尤其是SZ与SMTZ的原核微生物群落组成具有非常显著的差异($P<0.005$)。SZ沉积物中以还原态硫氧化、有机物降解和硫酸盐还原为主要的生物地球化学过程,SMTZ是甲烷的主要消耗场所,广泛存在由ANME-1a、ANME-1b和SEEP-SRB1类群介导的SR-AOM过程。在严格厌氧的MZ中*Epsilonbacteraeota*和*Gammaproteobacteria*的相对百分含量出现异常高值,且硫化氢的浓度呈升高趋势,说明部分*Epsilonbacteraeota*和*Gammaproteobacteria*类群可能利用氧气之外的电子受体进行硫的氧化。*JS1*、*Bathyarchaeia*、*Lokiarchaeia*及*Woesearchaeia*等类群在沉积物剖面中普遍存在,进一步为其与高甲烷环境具有关联性提供了证据。莫克兰冷泉区沉积物中

细菌与古菌群落结构组成的差异性及其与该区地球化学环境之间存在密切的关联,体现了莫克兰冷泉原核微生物的群落组成特点及其对环境的响应。

参考文献

- [1] Jørgensen BB, Boetius A. Feast and famine-microbial life in the deep-sea bed. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(10): 770–781.
- [2] Emil RS, Biddle JF, Teske AP, Katrin K, Antje B, Alban R. Global dispersion and local diversification of the methane seep microbiome. *PNAS*, 2015, 112(13): 4015–20.
- [3] Boetius A, Wenzhöfer F. Seafloor oxygen consumption fuelled by methane from cold seeps. *Nature Geoscience*, 2013, 6(9): 725–734.
- [4] Sellanes J, Neira C, Quiroga E, Teixido N. Diversity patterns along and across the Chilean margin: a continental slope encompassing oxygen gradients and methane seep benthic habitats. *Marine Ecology*, 2010, 31(1): 111–124.
- [5] Bernardino AF, Levin LA, Thurber AR, Smith CR, Mónica M. Comparative composition, diversity and trophic ecology of sediment macrofauna at vents, seeps and organic falls. *PLoS One*, 2012, 7(4): e33515.
- [6] Suess E. Marine cold seeps and their manifestations: geological control, biogeochemical criteria and environmental conditions. *International Journal of Earth Sciences*, 2014, 103(7): 1889–1916.
- [7] 张玉, 贺惠, 米铁柱, 甄毓, 付璐璐, 陈烨. 东海海域表层沉积物中硫酸盐还原菌分布特征研究. *中国环境科学*, 2016, 36(12): 3750–3758.
Zhang Y, He H, Mi TZ, Zhen Y, Fu LL, Chen Y. Distribution of sulfate-reducing bacteria in surface sediments from East China Sea. *China Environmental Science*, 2016, 36(12): 3750–3758. (in Chinese)
- [8] Whiticar MJ. Carbon and hydrogen isotope systematics of bacterial formation and oxidation of methane. *Chemical Geology*, 1998, 161(1/2/3): 291–314.
- [9] Cho H, Hyun JH, You OR, Kim M, Kim SH, Choi DL, Green SJ, Kostka JE. Microbial community structure associated with biogeochemical processes in the sulfate-methane transition zone (SMTZ) of gas-hydrate-bearing sediment of the ulleung basin, East Sea. *Geomicrobiology Journal*, 2017, 34(3): 207–219.

- [10] Kopp C, Fruehn J, Flueh ER, Reichert C, Kukowski N, Bialas J, Klaeschen D. Structure of the Makran subduction zone from wide-angle and reflection seismic data. *Tectonophysics*, 2000, 329(1): 171–191.
- [11] Von Rad U, Rösch H, Berner U, Geyh M, Marchig V, Schulz H. Authigenic carbonates derived from oxidized methane vented from the Makran accretionary prism off Pakistan. *Marine Geology*, 1996, 136(1): 55–77.
- [12] Sain K, Minshull TA, Singh SC, Hobbs RW. Evidence for a thick free gas layer beneath the bottom simulating reflector in the Makran accretionary prism. *Marine Geology*, 2000, 164(1): 3–12.
- [13] Zhen Z, Gaowen H, Huiqiang Y, Xiguang D, Miao Y, Wei H, Wei D, Syed W, Naimatullah S, Noor A. Diapir structure and its constraint on gas hydrate accumulation in the Makran accretionary prism, offshore Pakistan. *China Geology*, 2020(4): 611–622.
- [14] Lloyd KG, Lars S, Petersen DG, Kjeldsen KU, Lever MA, Steen AD, Ramunas S, Michael R, Sara K, Sabine L, Andreas S, Barker JB. Predominant archaea in marine sediments degrade detrital proteins. *Nature*, 2013, 496(7444): 215–8.
- [15] Feng JX, Li N, Luo M, Liang JQ, Yang SX, Wang HB, Chen DF. A quantitative assessment of methane-derived carbon cycling at the cold seeps in the northwestern South China Sea. *Minerals*, 2020, 10(3): 256.
- [16] Wei J, Wu T, Zhu L, Fang Y, Liang J, Lu H, Cai W, Xie Z, Lai P, Cao J, Yang T. Mixed gas sources induced co-existence of sI and sII gas hydrates in the Qiongdongnan Basin, South China Sea. *Marine and Petroleum Geology*, 2021, 128, 105024.
- [17] 叶瑛, 黄霞, 韩沉花, 赵伟, 潘依雯. 海底热液扩散流溶解硫化物的原位观测: 电极的制备与性能标定. *传感技术学报*, 2008, 21(1): 5–8.
Ye Y, Huang X, Han CH, Zhao W, Pan YW. *In-situ* measurement of the dissolved S₂ in seafloor diffuse flow system: sensor preparation and calibration. *Chinese Journal of Sensors and Actuators*, 2008, 21(1): 5–8. (in Chinese)
- [18] Huang RL, Crowther TW, Sui YY, Sun B, Liang YT. High stability and metabolic capacity of bacterial community promote the rapid reduction of easily decomposing carbon in soil. *Communications Biology*, 2021, 4(1): 1376.
- [19] Wei SP, Cui HP, Zhang YC, Su X, Dong HL, Chen F, Zhu YH. Comparative evaluation of three archaeal primer pairs for exploring archaeal communities in deep-sea sediments and permafrost soils. *Extremophiles*, 2019, 23(6): 747–757.
- [20] Cui HP, Su X, Chen F, Holland M, Yang SX, Liang JQ, Su PB, Dong HL, Hou WG. Microbial diversity of two cold seep systems in gas hydrate-bearing sediments in the South China Sea. *Marine Environmental Research*, 2019, 144: 230–239.
- [21] Lee CW, Bong CW. Bacterial abundance and production, and their relation to primary production in tropical coastal waters of Peninsular Malaysia. *Marine and Freshwater Research*, 2008, 59(1): 10–21.
- [22] Stoddard SF, Smith BJ, Hein R, Roller BRK, Schmidt TM. rrnDB: improved tools for interpreting rRNA gene abundance in bacteria and archaea and a new foundation for future development. *Nucleic Acids Research*, 2014, 43(D1): D593–D598.
- [23] Chen SF, Zhou YQ, Chen YR, Gu J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *bioRxiv*, 2018, DOI: 10.1101/274100.
- [24] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 2012, 41(D1): D590–D596.
- [25] Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Wagner HH. Vegan community ecology package version 2.5-7 November 2020. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- [26] Anderson MJ, Walsh DCI. PERMANOVA, ANOSIM, and the Mantel test in the face of heterogeneous dispersions: what null hypothesis are you testing? *Ecological Monographs*, 2013, 83(4): 557–574.
- [27] Bruno C, Videla ME, Balzarini M. Test of interaction in the analysis of molecular variance. *Journal of Basic and Applied Genetics*, 2019, 30(1): 17–23.
- [28] Lilley MD, Butterfield DA, Lupton JE, Olson EJ. Magmatic events can produce rapid changes in hydrothermal vent chemistry. *Nature*, 2003, 422(6934): 878–81.
- [29] Paull CK, Ussler IIIW. History and significance of gas sampling during DSDP and ODP drilling associated with gas hydrates. *Washington DC American Geophysical Union Geophysical Monograph Series*, 2001, 124: 53–65.
- [30] 张衡, 叶锦玉, 梁晓莉, 朱小静, 靳少非, 陈渊戈, 张佳蕊, 戴阳. 长江口东滩湿地芦苇生境大型底栖无脊椎动物群落结构的月动态. *应用生态学报*, 2017, 28(4): 1360–1369.

- Zhang H, Ye JY, Liang XL, Zhu XJ, Jin SF, Chen YG, Zhang JR, Dai Y. Monthly changes in the benthic macro-invertebrate community structure in the habitats of *Phragmites australis* marsh in the Dongtan wetland of the Yangtze River Estuary, China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(4): 1360–1369. (in Chinese)
- [31] Ken TK, Miyazaki M, Nunoura T, Hirayama H, Oida H, Furushima Y, Yamamoto H. *Sulfurivirga caldicuralii* gen. nov., sp. nov., a novel microaerobic, thermophilic, thiosulfate-oxidizing chemolithoautotroph, isolated from a shallow marine hydrothermal system occurring in a coral reef, Japan. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2006, 56(8): 1921–1929.
- [32] Yamamoto M, Takai K. Sulfur metabolisms in *Epsilon*- and *Gammaproteobacteria* in deep-sea hydrothermal fields. *Frontiers in Microbiology*, 2011, 2: 192.
- [33] Prabakaran SR, Manorama R, Delille D, Shivaji S. Predominance of *Roseobacter*, *Sulfitobacter*, *Glaciecola* and *Psychrobacter* in seawater collected off Ushuaia, Argentina, Sub-Antarctica. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(2): 342–355.
- [34] Fukui YH, Abe M, Kobayashi M, Satomi M. *Sulfitobacter pacificus* sp. nov., isolated from the red alga *Pyropia yezoensis*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2015, 107(5): 1155–1163.
- [35] Sun QL, Zhang J, Wang MX, Cao L, Du ZF, Sun YY, Liu SQ, Li CL, Sun L. High-throughput sequencing reveals a potentially novel *Sulfurovum* species dominating the microbial communities of the seawater-sediment interface of a deep-sea cold seep in South China Sea. *Microorganisms*, 2020, 8(5): 687.
- [36] Moulana A, Anderson RE, Fortunato CS, Huber JA. Selection is a significant driver of gene gain and loss in the pangenome of the bacterial genus *Sulfurovum* in geographically distinct deep-sea hydrothermal vents. *Msystems*, 2020, 5(2): e00673-19.
- [37] Mino S, Kudo H, Arai T. *Sulfurovum aggregans* sp. nov., a hydrogen-oxidizing, thiosulfate-reducing chemolithoautotroph within the *Epsilonproteobacteria* isolated from a deep-sea hydrothermal vent chimney, and an emended description of the genus *Sulfurovum*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(Pt 9): 3195–3201.
- [38] Bayer K, Jahn MT, Slaby BM, Moitinho-Silva L, Hentschel U. Marine sponges as *Chloroflexi* hot-spots: genomic insights and high resolution visualization of an abundant and diverse symbiotic clade. *bioRxiv*, 2018, DOI: 10.1101/328013.
- [39] Yin XR, Cai MW, Liu Y, Zhou GW, Tim R, Aromokeye DA, Kulkarni AC, Rolf N, Henrik C, Zhou ZC, Pan J, Yang YC, Gu JD, Marcus E, Li M, Friedrich MW. Subgroup level differences of physiological activities in marine *Lokiarchaeota*. *The ISME Journal*, 2021, 15(3): 848–861.
- [40] Busch K, Wurz E, Rapp HT, Bayer K, Hentschel U. *Chloroflexi* dominate the deep-sea golf ball sponges *Craniella zetlandica* and *Craniella infrequens* throughout different life stages. *Frontiers in Marine Science*, 2020: 674.
- [41] 吴自军, 任德章, 周怀阳. 海洋沉积物甲烷厌氧氧化作用(AOM)及其对无机硫循环的影响. 地球科学进展, 2013, 28(7): 765–773.
- Wu ZJ, Ren DZ, Zhou HY. Anaerobic oxidation of methane (AOM) and its influence on inorganic sulfur cycle in marine sediments. *Advances in Earth Science*, 2013, 28(7): 765–773. (in Chinese)
- [42] Pokorna D, Zabranska J. Sulfur-oxidizing bacteria in environmental technology. *Biotechnology Advances*, 2015, 33(6): 1246–1259.
- [43] Pellerin A, Antler G, Røy H, Findlay A, Beulig F, Scholze C, Turchyn AV, Jørgensen BB. The sulfur cycle below the sulfate-methane transition of marine sediments. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2018, 239: 74–89.
- [44] Jørgensen BB, Findlay AJ, Pellerin A. The biogeochemical sulfur cycle of marine sediments. *Front Microbiol*. 2019, 10: 849.
- [45] Li WL, Dong X, Lu R, et al. Microbial ecology of sulfur cycling near the sulfate-methane transition of deep-sea cold seep sediments. *Environmental Microbiology*. 2021, 23(11): 6844–6858.
- [46] Carr SA, Orcutt BN, Mandernack KW, Spear JR. Abundant *Atribacteria* in deep marine sediment from the Adélie Basin, Antarctica. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 872.
- [47] Castelle CJ, Wrighton KC, Thomas BC, Hug LA, Brown CT, Wilkins MJ, Frischkorn KR, Tringe SG, Singh A, Markillie LM, Taylor RC, Williams KH, Banfield JF. Genomic expansion of domain archaea highlights roles for organisms from new *Phyla* in anaerobic carbon cycling. *Current Biology*, 2015, 25(6): 690–701.
- [48] Liu X, Meng L, Castelle CJ, Probst AJ, Zhou Z, Pan J,

- Yang L, Banfield JF, Gu JD. Insights into the ecology, evolution, and metabolism of the widespread *Woesearchaeota* lineages. *Microbiome*, 2018, 6(1): 1–16.
- [49] Wang YZ, Gunter W, Williams TA, Xie RZ, Hou JL, Wang FP, Xiao X. A methylotrophic origin of methanogenesis and early divergence of anaerobic multicarbon alkane metabolism. *Science Advances*, 2021, 7(7): eabj1453.
- [50] Wang YZ, Gunter W, Hou JL, Wang FP, Xiao X. Expanding anaerobic alkane metabolism in the domain of archaea. *Nature Microbiology*, 2019, 4(4): 595–602.
- [51] eHan YC, EPerner M. The globally widespread genus *Sulfurimonas*: versatile energy metabolisms and adaptations to redox clines. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 989.
- [52] Wang L, Shao Z. Aerobic denitrification and heterotrophic sulfur oxidation in the genus *Halomonas* revealed by six novel species characterizations and genome-based analysis. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 390.
- [53] 杜瑞, 于敏, 程景广, 张静静, 田晓荣, 张晓华. 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. *微生物学报*, 2019, 59(6): 1036–1049.
- Du R, Yu M, Cheng JG, Zhang JJ, Tian XR, Zhang XH. Diversity and sulfur oxidation characteristics of cultivable sulfur oxidizing bacteria in hydrothermal fields of Okinawa Trough. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(6): 1036–1049. (in Chinese)
- [54] Evans MV, Jenny P, Hanson AJ, Welch SA, Sheets JM, Nicholas N, Daly RA, Cole DR, Darrah TH, Wilkins MJ, Wrighton KC, Mouser PJ. Members of *Marinobacter* and *Arcobacter* influence system biogeochemistry during early production of hydraulically fractured natural gas wells in the Appalachian Basin. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2646.
- [55] Valentine DL, Kastner M, Wardlaw GD, Wang X, Purdy A, Bartlett DH. Biogeochemical investigations of marine methane seeps, Hydrate Ridge, Oregon. *Journal of Geophysical Research*, 2005, 110: G02005.
- [56] Feng D, Qiu JW, Hu Y, Peckmann J, Guan HX, Tong HP, Chen C, Chen JX, Gong SG, Li N, Chen DF. Cold seep systems in the South China Sea: an overview. *Journal of Asian Earth Sciences*, 2018, 168: 3–16.

姚会强, 男, 1982 年 1 月出生, 广州海洋地质调查局正高级工程师, 自然资源部高层次科技创新人才工程第三梯队人才和中国地质调查局杰出地质人才。主要从事深海地质资源环境调查研究工作。在 *Journal of Geophysical Research: Solid Earth*、*Applied Geochemistry* 等期刊发表学术论文 30 余篇。

