

南海北部天然气水合物潜在区973-3岩心古菌多样性

杨玉峰^{1,2}, 雷怀彦^{1,2}, 史春潇²

(1. 厦门大学 近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361102; 2. 厦门大学 海洋与地球学院, 福建 厦门 361102)

摘要:海底微生物产甲烷和甲烷厌氧氧化作用对全球甲烷循环有着重要影响。在全球升温的背景下,海底天然气水合物作为地球上的一个巨大甲烷库,具有重要的环境效应。利用基于16S rDNA的分子生物学技术,对南海北部台西南盆地天然气水合物潜在区沉积物中古菌多样性进行了分析,探讨了成岩环境因素对古菌种群分布的影响。结果显示:在973-3岩心20~450 cm深度段,*Methanosaeta*为优势菌群,所占比例为32.9%;*Methanosarcinales*在542~870 cm深度段所占比例最高,达到28.3%;*Methanomicrobiales*在1 075~1 162 cm深度段所占比例高达20.7%。973-3岩心古菌种群分布与甲烷产生、氧化密切相关,预示其下部赋存天然气水合物。973-3岩心成岩环境参数垂向变异与天然气水合物成藏有着明显响应关系:pH值随岩心深度增加而变大, E_h (氧化还原电位)值、盐度和沉积物粒径的变化趋势则相反。973-3岩心与日本海、南海神狐海域等天然气水合物赋存区、非赋存区古菌群落结构明显不同,这是由于pH值、 E_h 值和沉积物粒径等成岩环境参数对973-3岩心古菌种群分布有着显著影响,故必须深入研究微生物代谢甲烷活动的生态位,以提高古菌群落结构对天然气水合物的指示性。

关键词:古菌多样性;成岩环境;天然气水合物;台西南盆地;南海北部

中图分类号:TE132.2

文献标识码:A

Archaeal diversity analyses of core 973-3 from potential gas hydrate area in northern South China Sea

Yang Yufeng^{1,2}, Lei Huaiyan^{1,2}, Shi Chunxiao²

(1. State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361102, China;

2. College of Ocean and Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen, Fujian 361102, China)

Abstract: Methanogenesis and anaerobic oxidation of methane driven by microbial activities are important for the global methane cycle. Marine gas hydrate is a huge methane reservoir on Earth, however, it remains unclear whether archaeal community structure in marine sediments can indicate marine gas hydrate. In this study, distinct archaeal communities thriving in marine sediments of core 973-3 in southwestern Taiwan Basin of the northern South China Sea were characterized by 16S rDNA gene analysis. Moreover, we discussed the effect of diagenetic environment factors on archaeal community distributions. Results show that *Methanosaeta* is the most abundant in 20~450 cm depths, with 32.9% proportion. *Methanosarcinales* dominates in 542~870 cm depths with 28.3% proportion, while *Methanomicrobiales* is predominant in 1 075~1 162 cm depths with 20.7% proportion. The archaeal community structure in core 973-3 is closely related to the methanogenesis and methane oxidation, indicating the presence of gas hydrate. The variations of diagenetic environment parameters are responding to the gas hydrate formation. The pH values increase with depth, contrary to E_h , salinity and grain sizes. It is obviously different of archaeal communities in core 973-3, compared to that in gas hydrate-containing and -free sediments from Japan Sea and the Shenhu area of South China Sea, owing to the significant effects of pH, E_h and grain sizes on the distributions of archaeal community in core 973-3. Hence, it is essential to focus on the main niche for the methanogens and methanotrophs, to improve archaeal communities indicating marine gas hydrate.

Key words: archaeal diversity, diagenetic environment, gas hydrate, southwestern Taiwan Basin, northern South China Sea

海底沉积微生物生产、消耗甲烷对全球碳循环有着重要影响^[1]。海底天然气水合物蕴含大量甲烷[约

$(500 \sim 2\,500) \times 10^9$ t 甲烷碳]^[2],具有重要的经济、能源和环境效应,深入分析微生物群落结构对揭示天然

收稿日期:2015-06-29;修订日期:2016-04-21。

第一作者简介:杨玉峰(1982—),男,博士研究生,海洋资源与环境地质。E-mail: xumuyfeng@hotmail.com。

通讯作者简介:雷怀彦(1960—),男,教授,海洋地质与油气地球化学。E-mail: lhy@xmu.edu.cn。

基金项目:国家自然科学基金项目(41276046)。

气水合物的成藏机制具有重要意义。如 Kaneko 等^[3]在 Cascadia 天然气水合物赋存区沉积物中,发现大量泉古菌门(*Crenarchaeota*)和高活性异养型群落及其他古菌活动的生物标志物,而古菌种群的代谢活动对产甲烷作用和氮循环有着重要影响。Lee 等^[4]指出, Marine Benthic Group (MBG) - B (又称 DSAG) 和 JS1 在韩国 Ulleung 盆地占据主导地位。Shin 等^[5]则在 Ulleung 盆地高甲烷含量区发现厌氧甲烷氧化古菌 (ANME - 2c) 居多,而在硫酸盐 - 甲烷转换带 (SMTZ),硝酸盐还原菌居优势地位。这说明 ANME 和硝酸盐还原菌联合驱动甲烷厌氧氧化反应 (AOM) 过程。诸多学者的研究有助于我们深入了解微生物对天然气水合物成藏的贡献,但不同海域、生境的微生物群落结构存在较大差异,有关微生物驱动产甲烷和 AOM 反应的生态位^[6-7]和内部机理有待进一步研究^[8]。

我国西北陆上冻土带和南海北部被动陆缘区是天然气水合物聚集的有利地区^[9-10]。Wang 等^[10]根据南海的拟海底反射层 (BSR)^[11]分布情况,结合水合物稳定带的厚度和饱和度,估计南海天然气水合物储量为 $(3.2 \sim 4.0) \times 10^{12} \text{ m}^3$,而台西南海域^[12]的水合物储量高达 $2.7 \times 10^{12} \text{ m}^3$,占整个南海储量的 68% ~ 84%。沉积物碳酸盐岩碳同位素 ($\delta^{13}\text{C}$) 及不同形貌黄铁矿和孔隙水地化特征分析^[13-15]显示,台西南盆地为南海天然气水合物赋存的最有利区域。近年来,焦露等^[16]和史春潇等^[17]对南海北部天然气水合物潜在区不同海域的微生物多样性进行了调查,发现特定古菌 (如 C3

和 MBG - B) 和甲烷氧化菌的丰度变化与甲烷浓度密切相关。目前,对南海北部台西南盆地沉积物古菌多样性的研究较少,因此,本文利用基于 16S rDNA 的分子生物学技术,分析了南海北部台西南盆地天然气水合物潜在区 973 - 3 岩心的古菌群落结构,探讨了成岩环境因素对古菌多样性的影响,以揭示古菌群落结构对天然气水合物成藏的响应机理。

1 材料与方法

1.1 973 - 3 岩心古菌多样性测定

973 - 3 岩心位于台西南盆地九龙甲烷礁附近 ($22^{\circ}0.8421' \text{N}, 118^{\circ}47.4159' \text{E}$) (图 1),水深 1 026 m,岩心长 12.28 m。样品采集后按照最大取样密度进行切割,置于无菌离心管中,储存于 -20°C 。检测 20, 243, 455, 542, 630, 870, 1 075, 1 162 cm 8 个深度的古菌多样性,然后按照碳元素的地化特征,分为 3 个不同层位 (20 ~ 450, 542 ~ 870, 1 075 ~ 1 162 cm) 进行古菌群落结构的探讨,结果见图 2。

973 - 3 岩心古菌多样性的分析步骤如下:

- 1) 称取 973 - 3 岩心沉积物样品 1g, 利用 Power Soil DNA Isolation Kit 试剂盒进行 DNA 提取;
- 2) 以上一步骤的 DNA 样品为模板, 利用引物 355F/1068R 进行 PCR 扩增;
- 3) 送至上海生物工程有限公司进行测序。详见文献^[18]。

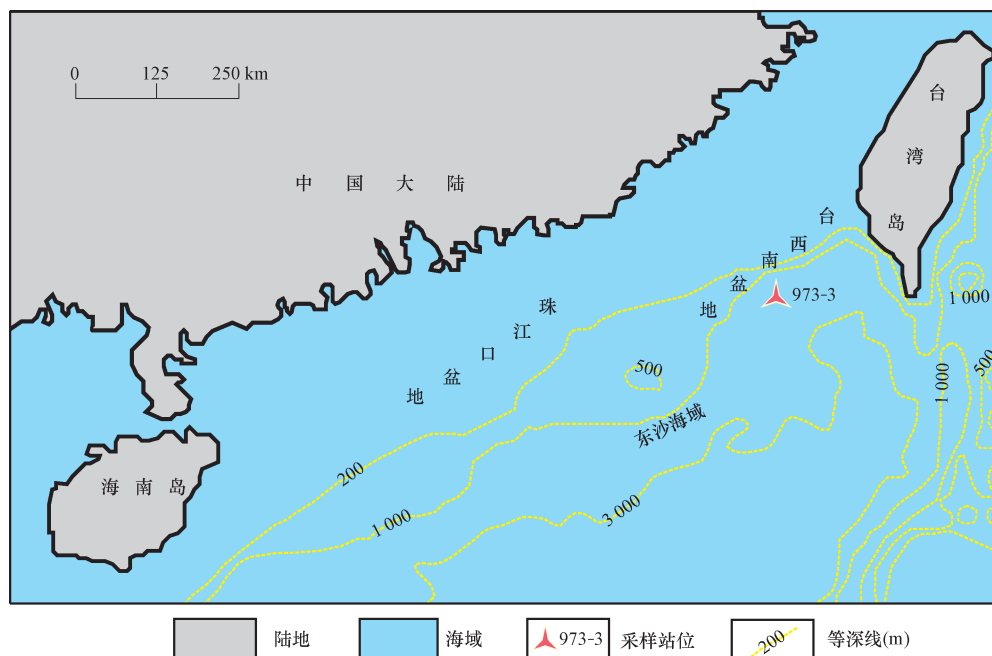


图 1 台西南海域 973 - 3 岩心取样位置示意图

Fig. 1 Location of core 973-3 in southwestern Taiwan Basin

1.2 成岩环境参数测定

1) pH 值和 E_h (氧化还原电位) 值: 沉积物冷冻干燥, 研磨后过 20 目筛。称取 4 g 沉积物, 按照质量比 1:5 加入去 CO_2 水, 震荡静置^[19]。利用 WTW 多参数水质仪(德国)测定 pH 值和 E_h 值(mV)。

2) 盐度: 参照张劼等^[14]的低温高速离心法获得沉积物中孔隙水, 然后利用 Master Refractometer 测量盐度。

3) 沉积物粒径: 利用马尔文 Mastersizer Hydro 2000M/MU(英国)测量沉积物颗粒粒径(μm)。

1.3 数据分析

利用 IBM SPSS Statistics 22 软件进行 Pearson 相关分析, 利用 SigmaPlot 12.5 制图。

2 结果与分析

2.1 古菌群落结构特征

在 973-3 岩心中检测到的古菌类群, 包括: *Methanosaeta*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales* 和 Uncultured archaeon(图 2)。其中, *Methanosaeta* 为优势类群, 从岩心表层到深部, 其所占比例分别为 32.9%, 27.6% 和 16.9%, 呈现逐渐减小的趋势。*Methanomicrobiales* 作为次优势古菌类群, 在 542~870 cm 深度段所占比例最高, 达到 24.0%, 在 20~450 cm 深度段所占比例最小, 为 19.2%, 在 1 075~1 162 cm 深度段所占比例为 20.7%。*Methanosarcinales* 的垂向变化趋势与 *Methanomicrobiales* 类似, 从沉积物岩心表层到深部, 其所占比例分别为 13.3%, 28.3% 和 8.2%。从沉积物岩心不同层位的古菌群落结构(图 2)可以看出, 在 20~450 cm 深度段, *Methanosaeta* 所占比例最高(32.9%),

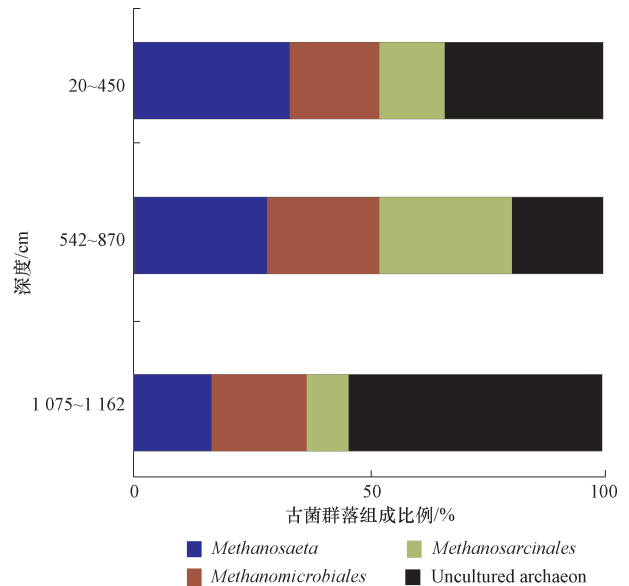


图 2 南海北部 973-3 岩心古菌群落结构

Fig. 2 Archaeal community structure in core 973-3

在 542~870 cm 深度段, 则为 *Methanosarcinales* (28.3%), 在 1 075~1 162 cm 深度段, 是 *Methanomicrobiales* (20.7%)。

2.2 成岩环境参数垂向变化特征

973-3 岩心成岩环境参数的垂向变化特征如图 3 所示。pH 值范围是 8.4~9.2, 平均值为 8.9, 整体呈弱碱性。从表层到深部, pH 值逐渐增大, 与古菌 *Methanosaeta* 的垂向变化趋势相反。 E_h 值范围是 -126.0~-80.8 mV, 平均值是 -110.1 mV, 整体呈还原性, 其垂向变化趋势与 pH 值相反, 即随着深度增加, E_h 值变小。盐度的范围是 19.0‰~55.1‰, 平均值为 32.0‰, 其垂向变化趋势与 E_h 值类似。973-3 岩心沉积物粒径范围为 6.5~12.7 μm , 平均值为 8.7 μm , 整体属于细粉砂。粒径随深度增加而减小, 显示沉积物颗粒越来越细。

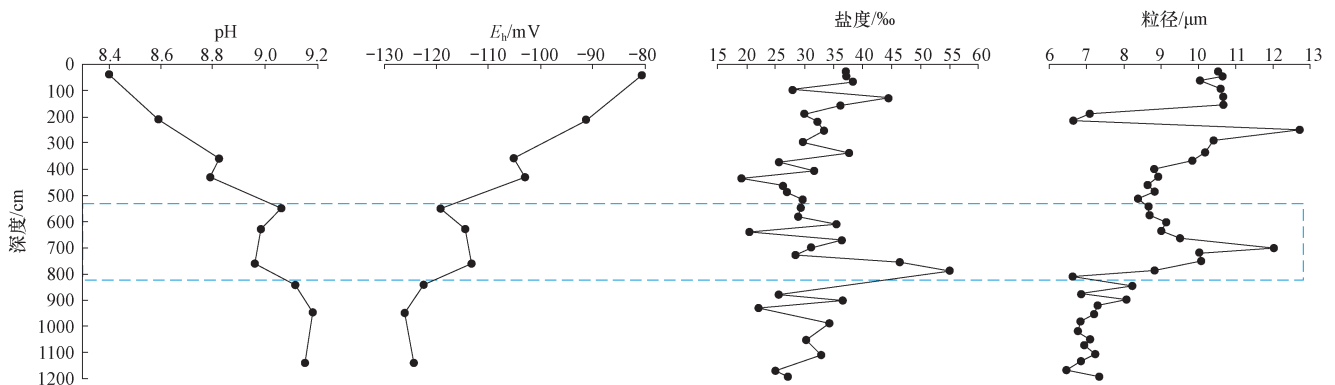


图 3 南海北部 973-3 岩心成岩环境参数垂向变化

Fig. 3 Vertical variations of diagenetic environment parameters in core 973-3

表 1 南海北部 973-3 岩心古菌类群与成岩环境参数相关分析

Table 1 Correlation analyses between archaeal communities and diagenetic environmental parameters in core 973-3

	pH		E_h/mV		盐度/%		粒径/ μm	
	Pearson 相关系数 (r 值)	p 值	Pearson 相关系数 (r 值)	p 值	Pearson 相关系数 (r 值)	p 值	Pearson 相关系数 (r 值)	p 值
<i>Methanosaeta</i>	-0.78	<0.01	0.77	<0.01	0.14	0.22	0.69	<0.01
<i>Methanomicrobials</i>	0.60	<0.05	-0.60	<0.05	0.04	0.41	-0.05	0.38
<i>Methanosarcinales</i>	0.23	0.26	-0.24	0.24	0.11	0.27	0.34	<0.05

2.3 古菌种群分布与成岩环境参数关系

表 1 展示了成岩环境 4 个参数 (pH 值、 E_h 值、盐度和沉积物粒径) 与 3 种古菌类群的皮尔逊 (Pearson) 相关分析。*Methanosaeta* 与 pH 值显著负相关 (Pearson 相关系数 $r = -0.78, p < 0.01$), 与 E_h 值和沉积物粒径皆为显著正相关 (r 分别为 0.77 和 0.69, $p < 0.01$)。 *Methanomicrobials* 与 pH 值显著正相关 ($r = 0.60, p < 0.05$), 与 E_h 值显著负相关 ($r = -0.60, p < 0.05$)。 *Methanosarcinales* 只与沉积物粒径显著正相关 ($r = 0.34, p < 0.05$)。盐度与 3 种古菌的统计分析皆未达到显著相关水平 ($p > 0.05$)。

3 讨论

3.1 973-3 岩心古菌种群对天然气水合物的指示性

973-3 岩心中, *Methanosaeta* 作为优势类群, 代表乙酸型甲烷生产菌^[20-22]。它与 Soyang 湖沉积物中的古菌类群和沼泽中的产甲烷菌有较高的同源性^[23-24], 主要利用乙酸的脱羧反应产生 CO_2 和 CH_4 , $\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CO}_2 + \text{CH}_4$ 。而乙酸则来自有机质的发酵分解^[25], 这与岩心中总有机碳含量 (TOC) 的垂向变化一致^[26]。 *Methanomicrobiales* 作为次优势古菌类群, 能够利用 CO_2 产生 CH_4 , $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$, 代表 CO_2 型产甲烷菌^[20], 这与其他学者在不同缺氧环境中的研究结果一致^[27-29]。 *Methanosarcinales* 是第一个在

海洋沉积物中分离出来的产甲烷菌, 能够代谢多种基质 (如乙酸、乙醇、甲胺、甲硫醚和一氧化碳等) 作为生长源^[20,30-31]。基因分析结果显示, *Methanosarcinales* 是与 ANME 生理功能最为相近的古菌类群之一, 其部分菌种消耗甲烷^[32-33]。 *Methanosarcinales*/ANME 在 542~870 cm 深度段所占比例最高, 这和一些湖泊、石油储层和海洋沉积物中的研究结果类似^[20,34-35], 其与硫酸盐还原菌 (SRB) 联合驱动了 AOM 反应。故, 973-3 岩心古菌种群的分布与甲烷产生、氧化密切相关。同时, 973-3 岩心中有孔虫同位素负偏 (最小) 达 -2.03‰、黄铁矿含量高达 17%^[26], 而且岩心附近的硫酸盐-甲烷转换界面 (SMI) 深度小于 900 cm^[14], 意味着沉积物下部有大通量的生物甲烷上涌。因此, 973-3 岩心的古菌种群分布与矿物学、地球化学和同位素化学的研究结果一致, 预示岩心下部可能赋存天然气水合物。

Yanagawa 等^[36]对日本海沉积物微生物多样性的调查结果显示, 天然气水合物的赋存与否是决定古菌群落结构的关键因素, Jiao 等^[37]在南海神狐海域的研究结果也证实了此结论 (图 4)。通过比较发现, 在 973-3 岩心、日本海^[36]和南海神狐海域^[37]沉积物中检测到的古菌, 泉古菌包括 C3, MGI, DSAG 和 MCG 等, 广古菌 (*Euryarchaeota*) 包括 *Methanosaeta*, *Methanomicrobiales*, *Methanosarcinales*, DHVE-6, MBG-D, SAGMEG 和 Halobacteria 等。很明显, 973-3 岩心与日本海、南海神狐海域天然气水合物赋存区、非赋存区古菌类群不同。

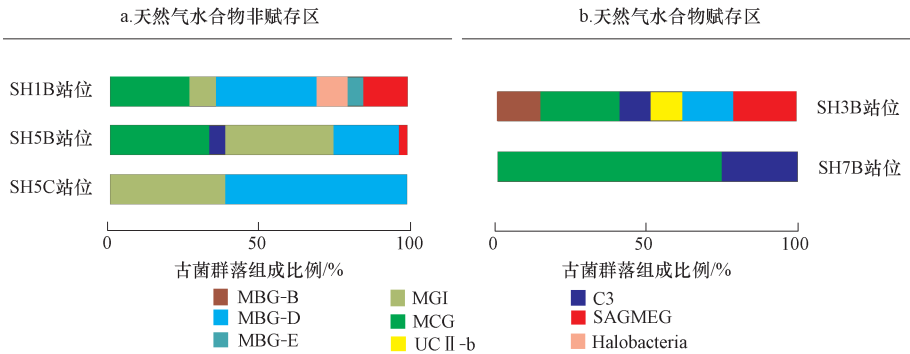


图 4 南海神狐海域表层沉积物古菌群落结构 (据文献[37]修改)

Fig. 4 Archaeal community structure in surface sediments from the Shenhu area^[37] in South China Sea

利用微生物群落结构指示天然气水合物,973-3 岩心古菌类群与日本海^[36]、南海神狐海域^[37]等沉积物存在明显差异。一种可能是,分子生物学研究手段并未统一,如适合的扩增引物^[20]和 DNA 提取方法^[38]。另一种可能是,对于微生物活动的生态位有待进一步研究,如,微生物代谢甲烷的温度、压力、盐度、pH 值等环境因素^[6-7],以及不同形态、含量的碳元素所提供的微生物代谢基质^[39]。

3.2 成岩环境因素对 973-3 岩心古菌群落结构的影响

973-3 岩心位于南海北部天然气水合物潜在区,存在多种生物地球化学反应,对深海环境产生重要影响。如 SO_4^{2-} 驱动的 AOM 反应, $\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{HS}^- + \text{H}_2\text{O}$, 导致 pH 值升高,形成自生碳酸盐矿物^[13],孔隙水中 SO_4^{2-} 急剧减少^[14],转化为过饱和的 HS^- ,促使大量不同形貌黄铁矿^[26]形成(对应于图 3 蓝色虚框所示范围,510~820 cm 深度段)。最近,在 973-3 站位附近发现了单质硫与黄铁矿氧化物、粘土矿物共存,并且主要集中在 SMTZ 内及其附近深度范围内,而其形成过程则与天然气水合物成藏的演化有关^[40]。同时,在早期成岩过程中,沉积物经过脱水和压实作用,含水率降低,盐度增加。而有机质的好氧分解、酶水解和发酵作用等过程^[25],则使得沉积物岩心 E_h 值降低,从有氧状态逐渐过渡到缺氧、厌氧状态。这有利于有机质的保藏,从而为原位产甲烷作用提供充足的碳源^[41]。沉积物粒径的变化,则是由于 973-3 岩心在九龙甲烷礁附近,海底冷泉活动相对发育^[13],烃类渗漏微生物作用形成的自生碳酸盐丰富,从而改变了沉积物的结构。因此,成岩环境参数的垂向变异与天然气水合物的成藏过程密切相关。

统计分析结果显示, pH 值与 *Methanosaeta* 和 *Methanomicrobiales* 显著相关($p < 0.05$),分别为负相关和正相关(表 1),说明 pH 值能够影响古菌种群的分布,而不同古菌种群的耐受性有所差异。这与前人的研究结果相同,如 Nauhaus 等^[7]利用室内实验发现,海洋沉积物中不同 ANME 种群耐受所适应的 pH 值在 7~8 范围内,Brazelton 等^[42]在 Lost City 则发现 pH 值范围是 9~11。 E_h 值与 *Methanosaeta* 显著正相关($p < 0.01$),而与 *Methanomicrobiales* 则是显著负相关($p < 0.05$),这是由于 E_h 值的变化会影响到酶活性,进而导致沉积物岩心不同层位产甲烷菌和甲烷氧化菌分布的差异性^[43-44]。有学者指出,盐度提高有利于 CO_2/H_2 型产甲烷作用^[20]和甲烷氧化^[45-46],而 973-3 岩心中盐度变化并未影响 3 种古菌种群的分布(表 1)。这与 Jiao 等^[37]在南海神狐海域的研究结果相同,意味着甲

烷代谢菌在盐度为 19.0%~55.1%的范围内,其微生物活性较强,并未受到盐度变异的影响。沉积物粒径与 *Methanosaeta* 和 *Methanosarcinales* 皆为显著正相关($p < 0.05$),与 E_h 值的情况有所差异。这与 Glud 等^[47]和 Diaz 等^[48]的研究结果一致,说明沉积物粒径通过作用于氧气的扩散,进而影响到微生物的生存空间,导致古菌种群分布的变异性。

海底天然气水合物的成藏过程明显受到 3 个方面的影响:地质构造及微环境、碳元素的地球化学行为与微生物的驱动作用。这 3 个方面既相互独立,又相互影响(存在交互作用)。现在,地质、地化和微生物中任一方面对天然气水合物成藏的响应机理都尚未清晰。近年来,国内外不同海域天然气水合物赋存区、非赋存区的微生物多样性分析^[36-37],都显示出古菌种群分布的区域性、独特性,其受到环境因素和微生物代谢基质的双重影响。因此,在目前古菌种群无法有效进行室内培养的情况下,不仅要进一步推进沉积物古菌多样性的调查,而且需要深入了解微生物活动的环境条件和碳元素的不同形态、含量与古菌种群分布的关系,以提高古菌群落结构对天然气水合物成藏的指示性。

4 结论

1) 973-3 岩心古菌种群分布与甲烷产生、氧化密切相关,预示岩心下部赋存天然气水合物。在 20~450 cm 深度段以 *Methanosaeta* 为主,在 542~870 cm 深度段主要为 *Methanosarcinales*,在 1 075~1 162 cm 深度段则以 *Methanomicrobiales* 居多。

2) 973-3 岩心成岩环境参数的垂向变异与天然气水合物成藏有着明显响应关系。pH 值随岩心深度增加而变大,而 E_h 值、盐度和沉积物粒径的垂向变化趋势则相反。

3) 973-3 岩心与日本海、南海神狐海域等天然气水合物赋存区、非赋存区古菌群落结构明显不同,这种差异是由于 pH 值、 E_h 值和沉积物粒径等成岩环境参数对 973-3 岩心古菌种群分布有着显著影响。

参 考 文 献

- [1] Barnes R O, Goldberg E D. Methane production and consumption in anoxic marine sediments[J]. *Geology*, 1976, 4(5): 297-300.
- [2] Milkov A V. Global estimates of hydrate bound gas in marine sediments: How much is really out there? [J]. *Earth-Science Reviews*, 2004, 66(3): 183-197.
- [3] Kaneko M, Naraoka H, Takano Y, et al. Distribution and isotopic signatures of archaeal lipid biomarkers associated with gas hydrate occurrences on the northern Cascadia Margin[J]. *Chemical Geology*, 2013, 343(3): 76-84.

- [4] Lee J W, Kwon K K, Azizi A, et al. Microbial community structures of methane hydrate-bearing sediments in the Ulleung Basin, East Sea of Korea[J]. *Marine and Petroleum Geology*, 2013, 47 (11): 136 – 146.
- [5] Shin J H, Nam J H, Lee J W, et al. Characteristics of microbial community structures of the methane hydrate sediments in the Ulleung Basin, East Sea of Korea[J]. *Korean Journal of Microbiology*, 2014, 50(3): 191 – 200.
- [6] Krüger M, Treude T, Wolters H, et al. Microbial methane turnover in different marine habitats [J]. *Palaeogeography Palaeoclimatology Palaeoecology*, 2005, 227(1–3): 6 – 17.
- [7] Nauhaus K, Treude T, Boetius A, et al. Environmental regulation of the anaerobic oxidation of methane: A comparison of ANME- I and ANME- II communities [J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7 (1): 98 – 106.
- [8] Alperin M, Hoehler T. The ongoing mystery of sea-floor methane[J]. *Science*, 2010, 329(5989): 288 – 289.
- [9] 邢学文, 刘松, 周红英, 等. 木里冻土带天然气水合物赋存区浅层土壤地球化学特征及指示意义[J]. *石油与天然气地质*, 2014, 35 (1): 159 – 166.
Xing Xuewen, Liu Song, Zhou Hongying, et al. Geochemical behaviors of shallow soil in Muli permafrost and their significance as gas hydrate indicators[J]. *Oil & Gas Geology*, 2014, 35(1): 159 – 166.
- [10] Wang S, Yan W, Song H. Mapping the thickness of the gas hydrate stability zone in the South China Sea[J]. *Terrestrial Atmospheric & Oceanic Sciences*, 2006, 17(4): 815 – 828.
- [11] 杨金秀, Richard Davies, 肖佃师, 等. BSR 及其下伏游离气区的分布特征与控制因素[J]. *石油与天然气地质*, 2016, 37(1): 87 – 92.
Yang Jinxiu, Richard Davies, Xiao Dianshi, et al. Distributions of BSR and underlying free gas zones and related controlling factors [J]. *Oil & Gas Geology*, 2016, 37(1): 87 – 92.
- [12] Lin A T. Structures and sedimentary characteristics of gas hydrate bearing formations[M]//Reports for the investigation and assessment of gas hydrate resources offshore southwestern Taiwan. Second edition. Taipei: Central Geological Survey, 2011: 231.
- [13] 陆红锋, 刘坚, 陈芳, 等. 南海台西南区碳酸盐岩矿物学和稳定同位素组成特征——天然气水合物存在的主要证据之一[J]. *地学前缘*, 2005, 12(3): 268 – 276.
Lu Hongfeng, Liu Jian, Chen Fang, et al. Mineralogy and stable isotopic composition of authigenic carbonates in bottom sediments in the offshore area of southwest Taiwan, South China Sea: Evidence for gas hydrates occurrence [J]. *Earth Science Frontiers*, 2005, 12 (3): 268 – 276.
- [14] 张劫, 雷怀彦, 欧文佳, 等. 南海北部陆坡 973 – 4 柱沉积物中硫酸盐 – 甲烷转换带 (SMTZ) 研究及其对水合物的指示意义[J]. *天然气地球科学*, 2014, 25(11): 1811 – 1820.
Zhang Jie, Lei Huaiyan, Ou Wenjia, et al. Research of the sulfate-methane transition zone (SMTZ) in sediments of 973-4 column in continental slope of northern South China Sea[J]. *Natural Gas Geoscience*, 2014, 25(11): 1811 – 1820.
- [15] 吴丽芳, 雷怀彦, 欧文佳, 等. 南海北部柱状沉积物中黄铁矿的分布特征和形貌研究[J]. *应用海洋学学报*, 2014, 33(1): 21 – 28.
Wu Lifang, Lei Huaiyan, Ou Wenjia, et al. Distribution characteristics and crystal form of pyrite from the sediment cores on northern South China Sea[J]. *Journal of Applied Oceanography*, 2014, 33(1): 21 – 28.
- [16] 焦露, 苏新, 陈芳, 等. 南海北部陆坡神狐海域 HS – PC500 岩心微生物多样性[J]. *微生物学报*, 2011, 51(7): 876 – 890.
Jiao Lu, Su Xin, Chen Fang, et al. Microbial diversity in sediments of core HS-PC 500 from Shenhu area, northern South China Sea[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(7): 876 – 890.
- [17] 史春满, 雷怀彦, 赵晶, 等. 南海北部九龙甲烷礁邻区沉积物层中垂向细菌群落结构特征研究[J]. *沉积学报*, 2014, 32(6): 1072 – 1082.
Shi Chunxiao, Lei Huaiyan, Zhao Jing, et al. Vertical microbial community structure characteristics of sediment in gas hydrate potential area of northern South China Sea Jiulong Methane Reef [J]. *Acta Sedimentologica Sinica*, 2014, 32(6): 1072 – 1082.
- [18] 杨玉峰, 雷怀彦, 史春满. 深水沉积物岩心古菌群落结构对天然气水合物的指示——以南海台西南海域 973 – 4 站位为例[J]. *天然气工业*, 2015, 35(11): 119 – 125.
Yang Yufeng, Lei Huaiyan, Shi Chunxiao. The indicative effect of structures of archaeal communities at deep-water sediment cores on natural gas hydrate: A case study from Station 973-4 in the Southwest Taiwan Basin, South China Sea[J]. *Natural Gas Industry*, 2015, 35 (11): 119 – 125.
- [19] 鲁婷, 陈能汪, 陈朱虹, 等. 九龙江河流 – 库区系统沉积物磷特征及其生态学意义[J]. *环境科学*, 2013, 34(9): 3430 – 3436.
Lu Ting, Chen Nengwang, Chen Zhuhong, et al. Characteristics of sediment phosphorus in the Jiulong River-Reservoir system and its ecological significance [J]. *Environmental Science*, 2013, 34 (9): 3430 – 3436.
- [20] Banning N, Brock F, Fry J C, et al. Investigation of the methanogen population structure and activity in a brackish lake sediment[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(7): 947 – 960.
- [21] Griffin M E, McMahon K D, Mackie R I, et al. Methanogenic population dynamics during start-up of anaerobic digesters treating municipal solid waste and biosolids[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 1998, 57(3): 342 – 355.
- [22] Purdy K J, Nedwell D B, Embley T M. Analysis of the sulfate-reducing bacterial and methanogenic archaeal populations in contrasting Antarctic sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(6): 3181 – 3191.
- [23] Go Y S, Han S K, Lee I G, et al. Diversity of the domain Archaea as determined by 16S rRNA gene analysis in the sediments of Lake Soyang[J]. *Archiv für Hydrobiologie*, 2000, 149(3): 459 – 466.
- [24] Cadillo-Quiroz H, Yavitt J B, Zinder S H, et al. Diversity and community structure of Archaea inhabiting the rhizoplane of two contrasting plants from an acid bog[J]. *Microbial Ecology*, 2010, 59(4): 757 – 767.
- [25] Froelich P N, Klinkhammer G P, Bender M L, et al. Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: Suboxic diagenesis[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 1979, 43 (7): 1075 – 1080.
- [26] 陈芳, 庄畅, 张光学, 等. 南海东沙海域末次冰期异常沉积事件与水合物分解[J]. *地球科学: 中国地质大学学报*, 2014, 39(11): 1617 – 1626.
Chen Fang, Zhuang Chang, Zhang Guangxue, et al. Abnormal sedimentary events and gas hydrate dissociation in Dongsha area of the

- South China Sea during last glacial period[J]. *Earth Science: Journal of China University of Geosciences*, 2014, 39(11): 1617–1626.
- [27] Dojka M A, Hugenholtz P, Haack S K, et al. Microbial diversity in a hydrocarbon-and chlorinated-solvent-contaminated aquifer undergoing intrinsic bioremediation[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(10): 3869–3877.
- [28] Falz K Z, Holliger C, Grosskopf R, et al. Vertical distribution of methanogens in the anoxic sediment of Rotsee (Switzerland) [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(6): 2402–2408.
- [29] Purdy K J, Munson M A, Nedwell D B, et al. Comparison of the molecular diversity of the methanogenic community at the brackish and marine ends of a UK estuary[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, 39(1): 17–21.
- [30] Ni S, Woese C R, Aldrich H C, et al. Transfer of *Methanobrevibacter* to genus *Methanosarcina*, naming it *Methanosarcina* *sibirica*, and emendation of the genus *Methanosarcina* [J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1994, 44(2): 357–359.
- [31] Rother M, Metcalf W W. Anaerobic growth of *Methanosarcina acetivorans* C2A on carbon monoxide: An unusual way of life for a methanogenic archaeon [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2004, 101(48): 16929–16934.
- [32] Hinrichs K U, Hayes J M, Sylva S P, et al. Methane-consuming archaeobacteria in marine sediments [J]. *Nature*, 1999, 398(6730): 802–805.
- [33] Knittel K, Lösekann T, Boetius A, et al. Diversity and distribution of methanotrophic Archaea at cold seeps [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(1): 467–479.
- [34] Fernández N, Díaz E E, Amils R, et al. Analysis of microbial community during biofilm development in an anaerobic wastewater treatment reactor [J]. *Microbial Ecology*, 2008, 56(1): 121–132.
- [35] Teske A, Hinrichs K U, Edgcomb V, et al. Microbial diversity of hydrothermal sediments in the Guaymas Basin: Evidence for anaerobic methanotrophic communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(4): 1994–2007.
- [36] Yanagawa K, Kouduka M, Nakamura Y, et al. Distinct microbial communities thriving in gas hydrate-associated sediments from the eastern Japan Sea [J]. *Journal of Asian Earth Sciences*, 2014, 90(4): 243–249.
- [37] Jiao L, Su X, Wang Y Y, et al. Microbial diversity in the hydrate-containing and -free surface sediments in the Shenhu area, South China Sea [J]. *Geoscience Frontiers*, 2015, 6(4): 627–633.
- [38] Roose-Amsaleg C L, Garnier-Sillam E, Harry M. Extraction and purification of microbial DNA from soil and sediment samples [J]. *Applied Soil Ecology*, 2001, 18(1): 47–60.
- [39] Avery G B, Shannon R D, White J R, et al. Controls on methane production in a tidal freshwater estuary and a peatland: Methane production via acetate fermentation and CO₂ reduction [J]. *Biogeochemistry*, 2003, 62(1): 19–37.
- [40] 林杞, 王家生, 付少英, 等. 南海北部沉积物中单质硫颗粒的发现及意义 [J]. *中国科学: 地球科学*, 2015, 45(11): 1747–1756.
Lin Qi, Wang Jiasheng, Fu Shaoying, et al. Elemental sulfur in northern South China Sea sediments and its significance [J]. *Science China: Earth Sciences*, 2015, 45(11): 1747–1756.
- [41] Johnson J E, Phillips S C, Torres M E, et al. Influence of total organic carbon deposition on the inventory of gas hydrate in the Indian continental margins [J]. *Marine and Petroleum Geology*, 2014, 58: 406–424.
- [42] Brazelton W J, Schrenk M O, Kelley D S, et al. Methane- and sulfur-metabolizing microbial communities dominate the Lost City hydrothermal field ecosystem [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(9): 6257–6270.
- [43] Jarrell K F. Extreme oxygen sensitivity in methanogenic archaeobacteria [J]. *BioScience*, 1985, 35(5): 298–302.
- [44] De Beer D, Sauter E, Niemann H, et al. In situ fluxes and zonation of microbial activity in surface sediments of the Haakon Mosby mud volcano [J]. *Limnology and Oceanography*, 2006, 51(3): 1315–1331.
- [45] Lloyd K G, Lapham L, Teske A. An anaerobic methane-oxidizing community of ANME-1b archaea in hypersaline Gulf of Mexico sediments [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(11): 7218–7230.
- [46] Stadnitskaia A, Bouloubassi I, Elvert M, et al. Extended hydroxyarchaeol, a novel lipid biomarker for anaerobic methanotrophy in cold seepage habitats [J]. *Organic Geochemistry*, 2008, 39(8): 1007–1014.
- [47] Glud R N, Ramsing N B, Gundersen J K, et al. Planar optodes: A new tool for fine scale measurements of two-dimensional O₂ distribution in benthic communities [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1996, 140: 217–226.
- [48] Diaz R J, Trefry J H. Comparison of sediment profile image data with profiles of oxygen and E_h from sediment cores [J]. *Journal of Marine Systems*, 2006, 62(3): 164–172.

(编辑 李 军)