

深海冷泉古菌厌氧甲烷氧化研究进展

洪义国, 吴佳鹏

广州大学大湾区环境研究院, 珠三角水质安全与保护教育部重点实验室, 广东 广州 510007

摘要: 在富含甲烷水合物的海相冷泉沉积物中, 古菌厌氧甲烷氧化作用(anaerobic oxidation of methane, AOM)越来越受到人们的重视。目前普遍认为, AOM 是由嗜甲烷古菌和硫酸盐还原菌共同调节的生物地球化学过程。16S rRNA 基因分析表明, 包括 AEME-1、AEME-2 和 AEME-3 在内的多种甲烷古菌参与了 AOM 的过程, 它们广泛分布于全球大洋海底缺氧带。AOM 过程与全球环境变化密切相关, 从深海底部冷泉区向上渗漏的甲烷气体, 绝大部分在穿透缺氧带沉积层过程中被甲烷氧化古菌所消耗, 有效减少了具有强烈温室效应的甲烷气体向大气的释放。对 AOM 生物地球化学过程的研究, 在认识冷泉系统碳酸盐的形成机理、控制强温室气体甲烷从海底的渗漏和开发可燃冰新能源等方面具有重要意义。

关键词: 厌氧甲烷氧化; 古菌; 海底冷泉; 甲烷渗漏

中图分类号: P744.4 文献标识码: A 文章编号: 1009-5470(2021)03-0076-07

Progress of anaerobic oxidation of methane by archaea in the cold seep of deep Sea

HONG Yiguo, WU Jiapeng

Key Laboratory for Water Quality and Conservation of the Pearl River Delta, Ministry of Education, Institute of Environmental Research at Greater Bay Area, Guangzhou University, Guangzhou 510007, China

Abstract: Anaerobic oxidation of methane (AOM) by archaea in marine sediments is gradually recognized by scientists and is regarded as an important biogeochemical process performed by both methanotrophic archaea and sulfate-reducing bacteria. Our analysis of 16S rRNA showed that multiple kinds of Methanoarchaea including AEME-1, AEME-2 and AEME-3 were the players in the AOM process, and these Methanoarchaea were distributed widely in the oxygen minimum zone of the open ocean. Furthermore, AOM process is related to the global environmental change closely. Most methane leaked from cold seeps of deep sea was consummated by Methanoarchaea in the course of penetrating the deposition layer of anoxic zone; so emission of strong greenhouse methane was reduced greatly. The studies of AOM biogeochemical process should be significant for understanding the formation mechanism of cold seep carbonate, controlling the leaking methane from seafloor, exploitation of combustible ice, and so on.

Key words: anaerobic oxidation of methane (AOM); archaea; cold seeps; methane leaking

随着世界石油、天然气资源的日渐耗尽, 各国科学家正在努力寻找新的替代能源。目前的研究已经发现, 海底深部富含甲烷天然气水合物, 其

含量大约是目前地球化石能源的两倍(Etiopie et al, 2014; Suess, 2014; Joye, 2020)。天然气水合物被称为是 21 世纪最具有商业开发前景的战略资源, 或

收稿日期: 2021-01-08; 修订日期: 2021-01-19。林强编辑

基金项目: 广东省自然科学基金重点项目(2019B1515120066); 国家自然科学基金(31870100)

作者简介: 洪义国, 教授, 主要从事流域近海微生物生态学研究。email: yghong@gzhu.edu.cn

通信作者: 洪义国。email: yghong@gzhu.edu.cn

Received date: 2021-01-08; **Revised date:** 2021-01-19. Editor: LIN Qiang

Foundation item: Natural Science Foundation of Guangdong Province (2019B1515120066); National Natural Science Foundation of China (31870100)

Corresponding author: HONG Yiguo. email: yghong@gzhu.edu.cn

将改变全球能源结构, 正受到各国科学家和各国政府的重视。此外, 甲烷又是具有强烈温室效应的气体, 其温室效应大约是 CO_2 的 25 倍。在全球变暖和能源短缺的背景下, 富含水合物的海相沉积物中古菌的厌氧甲烷氧化(anaerobic oxidation of methane, AOM)作用日益受到科学家关注(Chen et al, 2019)。近年来, AOM 过程的研究取得了很多进展, 本文将从 AOM 过程的研究历史、甲烷氧化古菌(methane-oxidizing archaea, MOA)的系统进化、AOM 的代谢过程机制、AOM 在深海冷泉碳酸盐形成以及控制海底甲烷渗漏的生物地球化学功能方面进行评述。

1 古菌厌氧甲烷氧化研究的历史追溯

长期以来, 甲烷氧化被认为是在有氧条件下由嗜甲烷细菌(主要为 α -*Proteobacteria* 和 γ -*Proteobacteria*)介导完成的, 细菌从这一代谢过程中获得能量(Hanson et al, 1996)。然而, 在厌氧条件下能够氧化甲烷的微生物却一直没有被发现, 因此在 20 世纪的大部分时间里, 很多微生物学家坚持认为甲烷在厌氧条件下是惰性的。直到 20 世纪 70 年代, 一些开创性的研究使得这一研究领域有了新突破。在 1976 年, Reeburgh (1976)发现, 在卡里亚克海槽的厌氧环境中, 甲烷代谢与硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)密切相关; 在同一年, Barnes 等(1976)的研究发现, 在海洋沉积物中, 甲烷浓度从沉积物到水体方向逐渐降低, 而硫酸盐浓度从海体到沉积物方向也逐渐降低, 这表明硫酸盐可能是 AOM 过程的电子受体。在 20 世纪 80 年代, 一系列研究表明这种甲烷和硫酸盐在海洋沉积物中的分布具有普遍类似的特征, 形成了这样的假说: AOM 是被甲烷氧化古菌和硫酸盐还原菌共同作用的结果(Zehnder et al, 1980), 但是对于其作用机制还不明确。到了 20 世纪初, 由于 Delong 研究小组的出色工作, 使得这一领域的研究有了重大突破。他们通过稳定同位素分析、基因文库构建以及荧光探针杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH), 为这个假说的成立提供了有力的证据, 明确了 AOM 是由微生物作用的生物地球化学过程(Boetius et al, 2000)。Orphan 等使用 FISH 与二级离子质谱技术(fluorescence in situ hybridization-secondary ion mass spectroscopy, FISH-SIMS)以及 FISH 偶联免疫磁细胞捕获技术, 使得海洋冷泉古菌厌氧甲烷氧化

的研究获得了重要突破, 成为与能源和环境问题密切相关的研究热点(Orphan et al, 2001a, b, 2002; Pernthaler et al, 2008)。

2 厌氧甲烷氧化古菌的系统进化

到目前为止, 还没有获得厌氧甲烷氧化菌的纯培养菌株, 所以对于海底冷泉厌氧甲烷氧化的研究都是基于分子生态学的方法进行的。综合目前的 16S rRNA 基因和 *mcr-A* 功能基因研究结果, 参与 AOM 过程的微生物包括以硫酸盐为电子受体的甲烷氧化古菌、以亚硝酸盐为电子受体的甲烷氧化古菌, 以及以金属离子为电子受体的甲烷氧化古菌。

以硫酸盐为电子受体的甲烷氧化古菌包括三个类群: ANME-1、ANME-2 和 ANME-3。其中 ANME-1 是最早鉴定的厌氧甲烷氧化古菌。研究者对加利福尼亚北海岸 Eel 河盆地的研究发现, 冷泉区沉积物中存在古菌特异性的古脂(Archaeol), 而且其 $\delta^{13}\text{C}$ 值强烈亏蚀, 用 16S rRNA 基因分析鉴定为 ANME-1。ANME-1 类群在系统进化上分为 ANME-1a 和 ANME-1b 两个亚群, 与甲烷微菌属(*Methanomicrobiales*)和甲烷八叠球菌属(*Methanosarcinales*)关系较近, 但在进化树上却有独立的分支(Boetius et al, 2000)。随后的研究进一步发现, ANME-2 和 ANME-3 两个甲烷古菌类群也参与了 AOM 的代谢过程, 而且 ANME-2 又分为 ANME-2a、ANME-2b 和 ANME-2c 三个亚群, 在进化上与甲烷八叠球菌属较近; ANME-3 与甲烷球菌属(*Methanococoides*)较近(Orphan et al, 2001a, 2002; Pernthaler et al, 2008)。这三个甲烷氧化古菌类群的 16S rRNA 基因序列差异较大, 其同源性在 80%左右, 表明具有逆向甲烷生成的甲烷古菌向着多个方向进化。最近的研究进展也表明多种古菌参与了厌氧甲烷氧化的过程, 例如嗜热古菌 *Candidatus Ethanoperedens* (Hahn et al, 2020)和 Asgard 古菌(Seitz et al, 2019)。甲基辅酶 M 还原酶(Methyl coenzyme M reductase, MCR)是甲烷生成过程中的末端酶, 催化辅酶 B(H-S-CoB)和甲基辅酶 M(CoM-S- CH_3)还原, 产生甲烷和 CoM-S-S-CoB。2002 年, Luton 等比较了甲烷古菌的 *mcrA* 基因和 16S rDNA 基因的系统进化关系, 发现甲烷古菌 *mcrA* 基因与 16S rDNA 基因在系统进化上的关系非常吻合, 发展了 *mcrA* 基因作为检测甲烷古菌多样性和分布的功能基因标记(Luton et al, 2002)。2003 年以后的大量研究表明, *mcrA* 基因包含 a、b、c、d、

e 五个亚群。由于 *mcrA* 基因与 MOA 密切相关, 因此成为研究厌氧甲烷氧化古菌的一个有力分子工具。通过综合的系统进化对比分析, 发现 c、d 的 *mcrA* 亚群与 ANME II 古菌相对应, a、b 的 *mcrA* 亚群与 ANME I 古菌相对应, e 的 *mcrA* 亚群可能与 ANME III 或其它甲烷古菌相对应(Hallam et al, 2003; Dhillon et al, 2005; Chistoserdova et al, 2005; Nunoura et al, 2006)。

以金属离子(Fe^{3+} 、 Mn^{4+})作为电子受体的甲烷氧化古菌目前还不是很明确, 初步认为 ANME-2 及其 ANME-2a、ANME-2c、ANME-2d 均可参与此类反应(Ettwig et al, 2016)。随着研究的继续深入, 应用 16S rRNA 基因结合 *mcrA* 功能基因标记, 可能会陆续鉴定出更多类群的厌氧甲烷氧化古菌。

3 AOM 是由厌氧甲烷氧化古菌和硫酸盐还原菌互养完成的“逆甲烷生成”过程

根据地球化学和群体细胞外学特征, 科学家建立了“逆甲烷产生”过程的假说, 认为相关的产甲烷古菌在特殊环境条件下进化出反向甲烷产生的能力, 甲烷氧化过程为菌体细胞的生长和繁殖提供必要的碳源和能源。

Delong 的研究小组利用环境基因组的方法对这一假说的验证提供了证据(Hallam et al, 2004)。他们利用密度梯度离心的方法, 从加利福尼亚海岸 Eel 河盆地的冷泉样品中富集菌体细胞, 然后建立了全基因组鸟枪 DNA 文库(whole-genome shotgun, WGS)和 fosmid DNA 文库。对这两种文库分析后发现, 在样品微生物群体中, ANME-1、ANME-2 和 SRB 菌体细胞占绝对优势。而且除 *mer* 基因(Methenyltetrahydromethanopterin reductase)外, 在文库中包含相对丰富的 *mcr*、*mtr*、*mtd*、*mch*、*ftr* 和 *fmd* 编码与甲烷产生相关酶的所有基因。另外在文库中发现了有编码 F_{420} 依赖的呼吸链相关蛋白基因的存在。这些分析结果为“逆甲烷产生”过程的假说的成立提供了有力证据, 这种在热力学上很难进行的反应可能通过偶联 F_{420} 依赖的呼吸链电子传递产生能量而得以克服。基因组学的研究角度为这种特殊海洋环境中的 AOM 生物地球化学过程提供了更深入的理解(Chistoserdova et al, 2005; Evans et al, 2015)。

生物化学的研究也为这一假说提供了进一步的证据。2003 年, Krüger 等报道了一个镍蛋白参与了 AOM 的过程, 他们分析了一个黑海西北陆架的冷泉样品, 发现样品中有约 70% 的 ANME-1 菌群, 25%

的 SRB, 其余 5% 为其他微生物。在 12°C 条件下进行培养, 该菌群依赖硫酸盐的甲烷氧化率为 $0.1 \text{ nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg protein}^{-1}$ 。色谱分析显示, 在样品菌体抽提物中包含分子量为 905kDa 和 951kDa 的两种镍复合物, 组成比为 1:4。较轻的镍复合物经鉴定与 F_{430} 相同, 但较重的镍复合物是以前没有发现的(Krüger et al, 2003)。而且在北太平洋 Hydrate Ridge 和波罗的海的 Eckernfiöde Bay 的冷泉样品中也同样发现了 951kDa 的镍复合物, 然而在一个产甲烷的污泥中却只有 905kDa 的镍复合物。经过硫酸铵沉淀和离子交换色谱, 一种包含 951kDa 镍复合物的蛋白被分离纯化(Ni-I 蛋白), 这一蛋白占到样品中抽提蛋白的 7%。进一步分析发现, 与 MCR 蛋白(Ni-II 蛋白)一样, 这一蛋白由三个亚基组成, 其氨基酸序列与从该样品中鉴定的一个 34.8kb 的 DNA 片断上的三个 ORF 的编码高度一致, 而且与产甲烷古菌的 MCR 酶高度同源。其中 β 和 γ 亚基非常保守, 其活性位点与 MCR 基本一致。但 α 却有显著差异, 在 MCR α 亚基上的一个活性中心位点($\text{VX}_2\text{CCX}_4\text{CX}_5\text{C}$)与 Ni-I 蛋白 α 亚基相应的序列又很大不同。Ni-I 蛋白 α 亚基与其它 MCR 的 α 亚基的系统进化分析发现, 这一蛋白在进化上与 MCR α 有了明显较大的距离。这也表明, 在 ANME 古菌进化过程中, Ni-I 蛋白的 α 亚基也随之产生了平行进化(parallel evolution)。综合以上分析得出结论, ANME 古菌的 Ni-I 蛋白参与了 AOM 的代谢过程, 从分子水平为 AOM 的反甲烷产生的假说提供了有力的证据。

一般认为甲烷厌氧氧化是由甲烷氧化古菌和硫酸盐还原细菌共同完成的一个两步反应过程, 其反应方程可以表示为: $\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow 5\text{CO}_2 + \text{HS}^- + \text{H}_2\text{O}$, 这种微生物细胞之间的相互作用, 称之为互养作用(syntrophy)。通过互养, 几个代谢过程被同时驱动, 因此有人认为互养作用在生物细菌的进化中具有中心作用(Martin et al, 1998)。2015 年, 美国 Orphans 实验室报道了有关 AOM 过程中甲烷氧化古菌和硫酸盐还原细菌互养过程机制的研究, 从多方面提供了重要证据(Green-Saxena et al, 2014), 而且在冷泉微生物群体中还发现了真菌的存在(Sapir et al, 2014)。在从美国俄勒冈州海岸卡斯卡底古陆海底甲烷冷泉区的样品具有高的依赖甲烷的硫酸盐还原率。16S rRNA 分析表明, 样品中主要为甲烷古菌和硫酸盐还原菌。通过 16S rRNA 特异性的寡核苷酸荧光探针定点杂交分析, 发现菌群中有明显的结构分布: 大约 100 个古菌细胞聚居在菌团的中央, 周

围被 SRB 细菌包围, 形成近似球形结构(Boetius et al, 2000)。Orphan 等使用 FISH、FISH-SIMS 以及 FISH-IMCC 的方法检测到其中的古细菌群体 $\delta^{13}\text{C}$ 值高度亏损(-96‰)表明古细菌群体是甲烷营养型的, 从而说明甲烷氧化是由菌群中的古菌负责完成的; 而且发现嗜甲烷菌与硫酸盐还原菌在代谢上相互依赖(Dekas et al, 2016)。

在 MOA 与 SRB 的互养过程中, 甲烷氧化与硫酸盐还原是两个相对独立的过程, 那么把这两个过程联系在一起形成共养作用(syntrophy)机制是什么呢? 有人推测, MOA 氧化甲烷产生一种未知的中间电子载体, 然后 SRB 以硫酸盐为氧化剂还原这种电子载体, 这种中间电子载体可能为 H_2 、甲酸盐、乙酸盐或者其他化合物(图 1)。对这一问题目前还没有统一的结论, 需要更多生物化学以及热力学的理论探索。除了硫酸根作为电子受体外, 在理论上硝酸根、三价铁、锰等也都可以作为末端电子受体氧化甲烷。在 2006 年, Marc Strous 团队报道一个微生物菌群能够厌氧甲烷氧化偶联反硝化。这一微生物菌群是从厌氧环境中分离到的, 包含两种菌: 一种为到目前为止还没有纯培养的细菌, 另外一种为海洋甲烷古菌。海洋甲烷古菌进行 AOM 代谢, 而细菌进行反硝化反应, 这个偶联反应可以表示为: $5\text{CH}_4 + 8\text{NO}_3 + \text{H}^+ \rightarrow 5\text{CO}_2 + 4\text{N}_2 + 14\text{H}_2\text{O}$ (每升甲烷氧化释放的自由能 $\Delta G^0 = -765\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\text{CH}_4$), 这个反

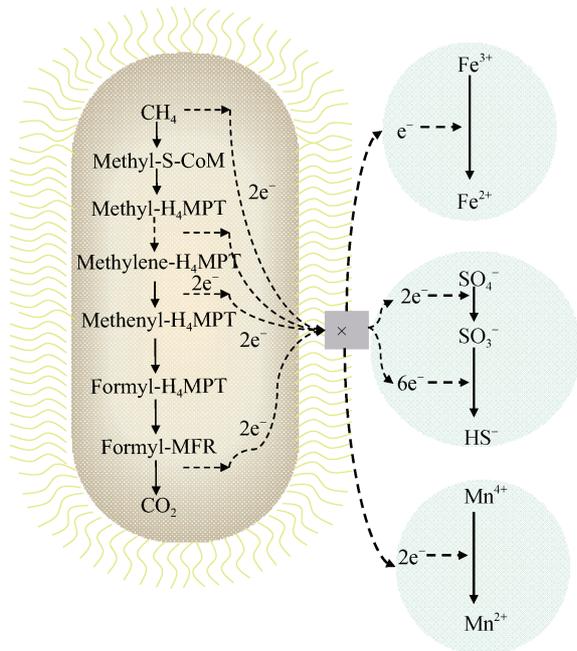


图 1 厌氧甲烷氧化过程

Fig. 1 Schematic diagram of reverse methanogenesis, X-electron transporter

应直接把碳和氮的物质循环紧密联系起来, 推测在整个自然界的生物地球化学物质循环中发挥重要作用(Raghoebarsing et al, 2006)。最新的单细胞实验证明了 MOA 与 SRB 的互养过程中发生了直接的电子转运(McGlynn et al, 2015), 而且发现铁氧化能显著促进 MOA 与 SRB 的互养代谢活性(Sivan et al, 2014; Glass et al, 2014)。

对于金属离子驱动的 AOM 的反应机理目前还不是很明确, 根据研究推测可能的机制有三种: 第一种认为微生物还原金属离子直接耦合甲烷厌氧氧化, 与硫酸盐还原耦合甲烷厌氧氧化机制相类似(Norði et al, 2013); 第二种是在硫化物存在条件下, 形成零价硫, 零价硫通过歧化反应生成硫酸盐和负二价硫, 其中硫酸盐可以驱动甲烷氧化的发生(Sivan et al, 2011; Riedinger et al, 2014); 第三种是反应体系中的 H_2 被 Fe^{3+} 还原菌利用至低浓度后, 通过反向产甲烷作用氧化甲烷(Sivan et al, 2011)。

3.3 AOM 过程中的热力学问题

在 ANME 和 SRB 互养的过程中, 其 ΔG 值随着甲烷浓度的变化呈现很大的差异。当甲烷压力在 0.1MPa 时, 释放的自由能为 ΔG 值为 $-30\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$; 而当甲烷的浓度为 8MPa 时, ΔG 值达 $-40\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Boetius et al, 2000)。根据吉布斯(Gibbs)自由能计算, 由 ADP 和 PO_4^{3-} 合成 ATP 需要的能量为 $50\sim 70\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, 生命最小的吉布斯自由能为 $20\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (Schink, 1997)。这样, 发生在浅水中的 AOM 反应过程就很难达到生命所需要的最小量值。但是在深海高压条件下, AOM 过程的 ΔG 值会升高, 而且如果甲烷氧化的产物迅速得到转移和消耗, 就会使得反应顺利进行。尽管这样, 偶联 SO_2-4 还原的 AOM 过程产生的能量仍然很低, 而且又要被 ANME 和 SRB 共享, 所以生长都会非常缓慢, 是已知的维持生命活动的最小代谢方式。总之, 对于 ANME 与 SRB 互养的 AOM 过程机制仍然不清楚, 有待进一步研究。

4 AOM 在海底冷泉碳酸盐的形成过程中发挥重要作用

在富含天然气水合物的冷泉区域, 微生物的生物地球化学代谢过程相当活跃。在许多天然气渗漏发育区域, AOM 作用引起环境碱度增加, 进而沉淀出冷泉碳酸盐岩, 在海底表层沉积物中形成块状碳酸盐岩结壳(Michaelis et al, 2002; Marlow et al, 2014;

Meister et al, 2018)。因此,海底冷泉碳酸盐岩是天然气渗漏经微生物作用的结果,是海底天然气渗漏作用的标志。

一般而言,间隙水甲烷和硫酸盐浓度、 CO_2 及甲烷碳同位素、甲烷厌氧氧化速率和硫酸盐还原速率等参数在沉积剖面上的变化可以指示海洋沉积物中存在 AOM 反应带,该反应带亦称作为硫酸盐-甲烷过渡带(sulfate-methane transition, SMT)。SMT 通常有以下特征:(1)甲烷浓度剖面在硫酸盐还原带的上部都非常低,直到在界面附近由于 AOM 作用使硫酸盐被消耗殆尽后才快速变高;(2)由于 AOM 作用,短时间内甲烷被快速消耗,使甲烷浓度在剖面上呈现下凹状;(3)SMT 界面附近,由于 AOM 过程不断消耗 $^{12}\text{CH}_4$,致使 $^{13}\text{CH}_4$ 不断被富集,使得 CH_4 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值不断升高,从约 -90‰ 升高到 -20‰ ,所以 MOA 菌体细胞的 $\delta^{13}\text{C}$ 值一般较低,而 SRB 的 $\delta^{13}\text{C}$ 值较高,这些已经被大量实验所证实(Nauhaus et al, 2007; Wegener et al, 2008)。2013 年,在东沙西南深水海域发现 3 处冷泉碳酸盐岩区,并采集到了大块体冷泉碳酸盐岩,发现了活体双壳类冷泉生物及冷水珊瑚,初步证实在该海域存在现代冷泉生态系统。中国科学院深海科学研究与工程研究所的彭晓彤研究员团队应用纳米离子探针(Nano-SIMS)以及同步辐射 X 射线近边吸收谱等技术手段,对冲绳海槽海底冷泉区富铁碳酸盐烟囱体开展了系统研究,在微米尺度上获取了富铁碳酸盐烟囱体中的硫同位素信息并判定了硫的来源,同时结合铁同位素和碳同位素的数据,从冷泉沉积环境中识别了由铁氧化驱动的厌氧甲烷氧化过程(Fe-driven AOM)过程形成的碳酸盐烟囱体,分析了 Fe-driven AOM 过程对碳酸盐烟囱体形成的影响,提出了海底冷泉区富铁碳酸盐烟囱体的形成模式,揭示了 Fe-driven AOM 过程对于海洋冷泉环境中甲烷氧化的重要性,表明在高铁输入的海域,Fe-driven AOM 是阻碍沉积物中甲烷向上层水体扩散的另一道重要屏障(Peng et al, 2017)。此外,最新的研究表明锰还原与甲烷的氧化也密切相关(Leu et al, 2020)。

基于以上的结论,在深海地区寻找甲烷冷泉的探索中,碳酸盐是其存在的重要标志性物质。而由于 AOM 过程与碳酸岩的形成密切相关,因此 ANME 的存在也是甲烷冷泉存在的重要间接证据之一。ANME 的特异性古脂、16S rDNA 以及 *mcr-A* 功能基因标记都可以作为分子工具辅助寻找深海天然气水合物。

5 AOM 有效控制海底冷泉区强温室气体甲烷向大气的渗漏

在过去的 200 多年中,地球大气中的甲烷含量在逐渐上升,其浓度是 200 年前的两倍,已经占到大气温室气体效应的 20%(Frankenberg et al, 2005)。然而,据 1992 年 IPCC 报告,海洋对大气圈中甲烷的贡献仅为 2%(Houghton et al, 1992),但海洋沉积物实际产生的甲烷量远高于这个比例。Reeburgh(1996)的研究表明,黑海沉积物中由于生物过程产生的甲烷每年约为 2.9×10^{11} mol,而释放进入大气的仅为 4.1×10^9 mol,99%的甲烷在沉积物中被消耗;Blair 等(1995)对亚马逊大陆架沉积物的研究也发现,几乎全部的甲烷在沉积物中被消耗。那么“失踪”的甲烷去哪里了?诸多研究证实 AOM 过程是海洋沉积物中 CH_4 消耗的主要途径(Burns, 1998; Moore et al, 2004; Treude et al, 2005)。AOM 过程有效阻止海洋沉积物产生的甲烷进入沉积物-水体界面。据 Reeburgh 和 Alperin 估算,海洋 AOM 过程年消耗甲烷约为 25~94Tg,占大气圈各类甲烷源年排放总量的 5%~20%,故其在甲烷的全球收支平衡及大气温室效应过程中扮演极为关键的角色(Reeburgh, 2007)。因此 AOM 在全球大洋海底缺氧带(oxygen minimum zone, OMZ)广泛分布,在全球甲烷循环和全球碳循环中发挥重要作用。另外,由于 AOM 过程同时消耗沉积物间隙水中甲烷和硫酸盐,产生无机碳和挥发性硫,继而影响海洋沉积物碳和硫的生物地球化学循环(Hensen et al, 2003)。

6 研究展望

AOM 是涉及能源和环境的重要古细菌代谢过程,对这一现象已经进行了 30 多年的研究,特别是近 10 年的研究,对 AOM 的认识才有所突破。尽管 AOM 的意义重大,但对于其生物学作用机制知道的还很少,仍然存在诸多需要解决和完善的问题,未来的研究可以从以下几方面来进行。

1) AOM 菌的纯培养研究。到目前为止,还没有获得 ANME 的纯培养菌株, Girguis 等(2003)在持续流生物反应器中得到了 ANME 的富集培养,为进一步研究 AOM 过程的生物化学特征提供了基础。只有得到了 ANME 的纯培养菌,才能从细胞学水平深入研究 AOM 的作用机制。

2) AOM 的“逆向甲烷生成”和与 SRB 的互养机制理论的进一步完善。虽然从多方面为 AOM 的作

用机制提供了证据,但要更清楚的弄清这一过程还需要更多细胞水平上的直接证据。

3) AOM 过程的生态作用估价。AOM 在冷泉区碳酸盐生成和控制甲烷渗漏的自然生态过程的作用,是 AOM 过程研究的一个核心问题。尽管对于黑海、波罗的海和墨西哥的加利福尼亚湾等几个海区的 AOM 过程进行了研究,但还需要其他相关海域的研究来提供更多数据。

4) 进一步研究 AOM 菌的生态分布与天然气水合物分布的地化关系,建立有效的检测 ANME 菌的分子生物学方法。

国内有关 AOM 的研究还不多。西沙海槽位于南海北部陆坡区的新生代被动大陆边缘型沉积盆地,新生代最大沉积厚度超过 7000m。综合资料表明,南海陆坡和陆隆区应有丰富的天然气水合物矿藏,估算其总资源量达 643.5~772.2 亿吨油当量,大约相当于我国陆上和近海石油天然气总资源量的 1/2(Chen et al, 2005)。然而,天然气水合物在南海区的确切分布及特征目前仍不清楚。由于 AOM 过程与冷泉碳酸盐的形成密切相关,因此研究 ANME 菌在我国沿海海区的分布可以为寻找天然气水合物储藏区提供科学参考。

参考文献 References

- BARNES R O, GOLDBERG E D, 1976. Methane production and consumption in anoxic marine sediments[J]. *Geology*, 45: 297–300.
- BLAIR N E, ALLER R C, 1995. Anaerobic methane oxidation on the Amazon shelf[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 59(18): 3707–3715.
- BOETIUS A, RAVENSCHLAG K, SCHUBERT C J, et al, 2000. A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane[J]. *Nature*, 407(6804): 623–626.
- BURNS S J, 1998. Carbon isotopic evidence for coupled sulfate reduction-methane oxidation in Amazon fan sediments[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62(5): 797–804.
- CHEN DUOFU, HUANG YONGYANG, YUAN XUNLAI, et al, 2005. Seep carbonates and preserved methane oxidizing archaea and sulfate reducing bacteria fossils suggest recent gas venting on the seafloor in the Northeastern South China Sea[J]. *Marine and Petroleum Geology*, 22(5): 613–621.
- CHEN SONGCAN, MUSAT N, LECHTENFELD O J, et al, 2019. Anaerobic oxidation of ethane by archaea from a marine hydrocarbon seep[J]. *Nature*, 568(7750): 108–111.
- CHISTOSERDOVA L, VORHOLT J A, LIDSTROM M E, 2005. A genomic view of methane oxidation by aerobic bacteria and anaerobic archaea[J]. *Genome Biology*, 6(2): 208.
- DEKAS A E, CONNOR S A, CHADWICK G L, et al, 2016. Activity and interactions of methane seep microorganisms assessed by parallel transcription and FISH-NanoSIMS analyses[J]. *The ISME Journal*, 10(3): 678–692.
- DHILLON A, LEVER M, LLOYD K G, et al, 2005. Methanogen diversity evidenced by molecular characterization of methyl coenzyme M reductase A (*mcrA*) genes in hydrothermal sediments of the Guaymas Basin[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(8): 4592–4601.
- ETIOPE G, PANIERI G, FATTORINI D, et al, 2014. A thermogenic hydrocarbon seep in shallow Adriatic Sea (Italy): gas origin, sediment contamination and benthic foraminifera[J]. *Marine and Petroleum Geology*, 57: 283–293.
- ETTIG K F, ZHU BAOLI, SPETH D, et al, 2016. Archaea catalyze iron-dependent anaerobic oxidation of methane[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(45): 12792–12796.
- EVANS P N, PARKS D H, CHADWICK G L, et al, 2015. Methane metabolism in the archaeal phylum Bathyarchaeota revealed by genome-centric metagenomics[J]. *Science*, 350(6259): 434–438.
- FRANKENBERG C, MEIRINK J F, VAN WEELE M, et al, 2005. Assessing methane emissions from global space-borne observations[J]. *Science*, 308(5724): 1010–1014.
- GIRGUIS P R, ORPHAN V J, HALLAM S J, et al, 2003. Growth and methane oxidation rates of anaerobic methanotrophic archaea in a continuous-flow bioreactor[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9): 5472–5482.
- GLASS J B, YU HANG, STEELE J A, et al, 2014. Geochemical, metagenomic and metaproteomic insights into trace metal utilization by methane-oxidizing microbial consortia in sulphidic marine sediments[J]. *Environmental Microbiology*, 16(6): 1592–1611.
- GREEN-SAXENA A, DEKAS A E, DALLESKA N F, et al, 2014. Nitrate-based niche differentiation by distinct sulfate-reducing bacteria involved in the anaerobic oxidation of methane[J]. *The ISME Journal*, 8(1): 150–163.
- HAHN C J, LASO-PÉREZ R, VULCANO F, et al, 2020. “*Candidatus* Ethanoperedens,” a thermophilic genus of *Archaea* mediating the anaerobic oxidation of ethane[J]. *mBio*, 11(2): e00600-20.
- HALLAM S J, GIRGUIS P R, PRESTON C M, et al, 2003. Identification of methyl coenzyme M reductase A (*mcrA*) genes associated with methane-oxidizing archaea[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9): 5483–5491.
- HALLAM S J, PUTNAM N, PRESTON C M, et al, 2004. Reverse methanogenesis: testing the hypothesis with environmental genomics[J]. *Science*, 305(5689): 1457–1462.
- HANSON R S, HANSON T E, 1996. Methanotrophic bacteria[J]. *Microbiological Reviews*, 60(2): 439–471.
- HENSEN C, ZABEL M, PFEIFER K, et al, 2003. Control of sulfate pore-water profiles by sedimentary events and the significance of anaerobic oxidation of methane for the burial of sulfur in marine sediments[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(14): 2631–2647.
- HOUGHTON J T, JENKINS G J, EPHRAUMS J J, 1992. *Climate Change: The IPCC Scientific Assessment*[M]. London:

- Cambridge University Press: 18–23.
- JOYE S B, 2020. The geology and biogeochemistry of hydrocarbon seeps[J]. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 48: 205–231.
- KRÜGER M, MEYERDIERKS A, GLÖCKNER F O, et al, 2003. A conspicuous nickel protein in microbial mats that oxidize methane anaerobically[J]. *Nature*, 426(6968): 878–881.
- LEU A O, CAI C, MCILROY S J, et al, 2020. Anaerobic methane oxidation coupled to manganese reduction by members of the *Methanoperedenaceae*[J]. *The ISME Journal*, 14(4): 1030–1041.
- LUTON P E, WAYNE J M, SHARP R J, et al, 2002. The *mcrA* gene as an alternative to 16S rRNA in the phylogenetic analysis of methanogen populations in landfill[J]. *Microbiology*, 148(11): 3521–3530.
- MARLOW J J, STEELE J A, ZIEBIS W, et al, 2014. Carbonate-hosted methanotrophy represents an unrecognized methane sink in the deep sea[J]. *Nature Communications*, 5: 5094.
- MARTIN W, MÜLLER M, 1998. The hydrogen hypothesis for the first eukaryote[J]. *Nature*, 392(6671): 37–41.
- MCGLYNN S E, CHADWICK G L, KEMPES C P, et al, 2015. Single cell activity reveals direct electron transfer in methanotrophic consortia[J]. *Nature*, 526(7574): 531–535.
- MEISTER P, WIEDLING J, LOTT C, et al, 2018. Anaerobic methane oxidation inducing carbonate precipitation at abiogenic methane seeps in the Tuscan archipelago (Italy)[J]. *PLoS One*, 13(12): e0207305.
- MICHAELIS W, SEIFERT R, NAUHAUS K, et al, 2002. Microbial reefs in the Black Sea fueled by anaerobic oxidation of methane[J]. *Science*, 297(5583): 1013–1015.
- MOORE T S, MURRAY R W, KURTZ A C, et al, 2004. Anaerobic methane oxidation and the formation of dolomite[J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 229(1–2): 141–154.
- NAUHAUS K, ALBRECHT M, ELVERT M, et al, 2007. *In vitro* cell growth of marine archaeal-bacterial consortia during anaerobic oxidation of methane with sulfate[J]. *Environmental Microbiology*, 9(1): 187–196.
- NORDI K A, THAMDRUP B, SCHUBERT C J, 2013. Anaerobic oxidation of methane in an iron-rich Danish freshwater lake sediment[J]. *Limnology and Oceanography*, 58(2): 546–554.
- NUNOURA T, OIDA H, TOKI T, et al, 2006. Quantification of *mcrA* by quantitative fluorescent PCR in sediments from methane seep of the Nankai Trough[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 57(1): 149–157.
- ORPHAN V J, HINRICHS K U, USSLER III W, et al, 2001a. Comparative analysis of methane-oxidizing archaea and sulfate-reducing bacteria in anoxic marine sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(4): 1922–1934.
- ORPHAN V J, HOUSE C H, HINRICHS K U, et al, 2001b. Methane-consuming archaea revealed by directly coupled isotopic and phylogenetic analysis[J]. *Science*, 293(5529): 484–487.
- ORPHAN V J, HOUSE C H, HINRICHS K U, et al, 2002. Multiple archaeal groups mediate methane oxidation in anoxic cold seep sediments[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(11): 7663–7668.
- PENG XIAOTONG, GUO ZIXIAO, CHEN SHUN, et al, 2017. Formation of carbonate pipes in the northern Okinawa Trough linked to strong sulfate exhaustion and iron supply[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 205: 1–13.
- PERNTHALER A, DEKAS A E, BROWN C T, et al, 2008. Diverse syntrophic partnerships from deep-sea methane vents revealed by direct cell capture and metagenomics[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(19): 7052–7057.
- RAGHOEBARSING A A, POL A, VAN DE PAS-SCHOONEN K T, et al, 2006. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification[J]. *Nature*, 440(7086): 918–921.
- REEBURGH W S, 1976. Methane consumption in Cariaco Trench waters and sediments[J]. *Earth and Planetary Science Letters*, 28(3): 337–344.
- REEBURGH W S, 1996. “Soft spots” in the global methane budget[M]//LIDSTROM M E, TABITA F R. *Microbial growth on C₁ compounds*. Dordrecht: Springer: 334–342.
- REEBURGH W S, 2007. Oceanic methane biogeochemistry[J]. *Chemical Reviews*, 107(2): 486–513.
- RIEDINGER N, FORMOLO M J, LYONS T W, et al, 2014. An inorganic geochemical argument for coupled anaerobic oxidation of methane and iron reduction in marine sediments[J]. *Geobiology*, 12(2): 172–181.
- SAPIR A, DILLMAN A R, CONNON S A, et al, 2014. Microsporidia-nematode associations in methane seeps reveal basal fungal parasitism in the deep sea[J]. *Frontiers in Microbiology*, 5: 43.
- SCHINK B, 1997. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 61(2): 262–280.
- SEITZ K W, DOMBROWSKI N, EME L, et al, 2019. Asgard archaea capable of anaerobic hydrocarbon cycling[J]. *Nature Communications*, 10(1): 1822.
- SIVAN O, ADLER M, PEARSON A, et al, 2011. Geochemical evidence for iron-mediated anaerobic oxidation of methane[J]. *Limnology and Oceanography*, 56(4): 1536–1544.
- SIVAN O, ANTLER G, TURCHYN A V, et al, 2014. Iron oxides stimulate sulfate-driven anaerobic methane oxidation in seeps[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(40): E4139–E4147.
- SUESS E, 2014. Marine cold seeps and their manifestations: geological control, biogeochemical criteria and environmental conditions[J]. *International Journal of Earth Sciences*, 103(7): 1889–1916.
- TREUDE T, NIGGEMANN J, KALLMEYER J, et al, 2005. Anaerobic oxidation of methane and sulfate reduction along the Chilean continental margin[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 69(11): 2767–2779.
- WEGENER G, NIEMANN H, ELVERT M, et al, 2008. Assimilation of methane and inorganic carbon by microbial communities mediating the anaerobic oxidation of methane[J]. *Environmental Microbiology*, 10(9): 2287–2298.
- ZEHNDER A J, BROCK T D, 1980. Anaerobic methane oxidation: occurrence and ecology[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(1): 194–204.