

# 南海珠江口盆地西部海域海马冷泉区表层沉积物的生物标志物特征

吴宗洋<sup>1,3</sup>, 梁前勇<sup>2\*</sup>, 蒋文敏<sup>1,3</sup>, 赵 静<sup>2</sup>, 李 芸<sup>1</sup>, 熊永强<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 广州地球化学研究所, 广东 广州 510640; 2. 中国地质调查局 广州海洋地质调查局, 广东 广州 510760; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

**摘 要:** 2015 年 3 月, 我国用自主研发的“海马”号 4500 m 级非载人遥控潜水器, 首次发现了海底巨型活动性“冷泉”——“海马冷泉”。为揭示冷泉区地表沉积物中地质微生物的发育和演化特征, 本研究选择海马冷泉区 3 个站位表层沉积物样品(活动冷泉区 ROV1、ROV2 和背景区 QDN22), 对其中的地质微生物标志物进行对比研究, 探讨海底表层沉积物甲烷缺氧氧化作用(AOM)的发育状况。研究表明, 冷泉区表层沉积物中存在强烈地与甲烷相关的微生物活动, 主要表现在: (1) 相对增高的总有机碳(TOC)含量和明显偏负的 $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$ 值; (2) 发育大量与 AOM 有关的生物标志物, 如带 1~3 个环戊烷结构的类异戊二烯类甘油二烷基甘油四醚脂(*iso*-GDGTs)、一些特殊的类异戊二烯烷烃(如 2, 6, 11, 15-四甲基十六烷(Crocetane)、2, 6, 10, 15, 19-五甲基二十烷(PMI)和 2, 6, 10, 15, 19, 23-六甲基二十四烷(Squalane))以及  $\text{C}_{15:0}$  和  $\text{C}_{17:0}$  异构/反异构脂肪酸等, 表明海底存在一定的甲烷渗漏; (3) 冷泉区 ROV2 站位的生物标志物含量和碳同位素组成表明, 此站位表层沉积物 AOM 作用更强, 指示其下部可能存在更大甲烷通量。

**关键词:** 海马冷泉; 甲烷缺氧氧化作用; GDGTs; 类异戊二烯烷烃; 脂肪酸

中图分类号: P593 文献标识码: A 文章编号: 0379-1726(2019)01-0088-12

DOI: 10.19700/j.0379-1726.2019.01.008

## Biomarkers characteristics in surface sediments in the Haima cold seep on the northwestern area of Pearl River Mouth Basin, South China Sea

WU Zong-yang<sup>1,3</sup>, LIANG Qian-yong<sup>2\*</sup>, JIANG Wen-min<sup>1,3</sup>, ZHAO Jing<sup>2</sup>, LI Yun<sup>1</sup> and XIONG Yong-qiang<sup>1</sup>

1. Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China;

2. Guangzhou Marine Geological Survey, China Geological Survey, Guangzhou 510760, China;

3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** During March 2015, China Geological Survey discovered a giant “cold seep” in the seabed, the “Haima Cold Spring,” via the “Haima” 4500 m remote operated vehicle (ROV) for the first time. To show the characteristics of the development and evolution of the geo-microorganisms in the surface sediments of the cold seep area, three surface sediment samples (ROV1 and ROV2 in the active area and QDN22 in the background) from the Haima cold seep were selected to compare the microbial biomarker compounds in the surface sediments to investigate the effects of the anoxic oxidation of methane (AOM) developmental status. The results show that there is strong methane-related microbial activity in the surface sediments of the cold seep areas, mainly reflected in the following aspects: (1) relatively high total organic carbon content and significantly depleted  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  value; (2) a large number of recovered biomarkers related to AOM, such as *iso*-GDGTs with 1 to 3 cyclopentane structures, some special isoprene alkanes (Such as 2, 6, 11, 15-tetramethylhexadecane (Crocetane), 2, 6, 10, 15, 19-pentamethyldicosane (PMI) and 2, 6, 10, 15, 19, 23-hexamethylditetradecane (Squalane)), and  $\text{C}_{15:0}/\text{C}_{17:0}$  iso/

收稿日期(Received): 2018-01-04; 改回日期(Revised): 2018-03-19; 接受日期(Accepted): 2018-03-29

基金项目: 国家自然科学基金(41806074, 41730528, 41602149, 41576053); 中国地质调查项目(DD20160217)

作者简介: 吴宗洋(1992-), 男, 硕士研究生, 有机地球化学专业。E-mail: 634326963@qq.com

\* 通讯作者(Corresponding author): LIANG Qian-yong, E-mail: tomlqy@163.com; Tel: +86-20-89851793

trans-iso fatty acids, indicating some methane leakage in the seabed; and (3) biomarker compound content and carbon isotopic composition of the ROV2 station in the cold spring area showing that the AOM in the surface sediments of this station has a stronger effect, indicating that there may be a higher methane flux in the deeper part of the station.

**Key words:** Haima cold seeps; anoxic oxidation of methane; GDGTs; isoprenoid; fatty acids

## 0 引 言

甲烷缺氧氧化作用 (Anaerobic oxidation of methane, AOM) 是冷泉区最重要的生物地球化学过程, 它通过甲烷厌氧氧化古菌 (Anaerobic-methane-oxidizing archaea, ANME) 和硫酸盐还原细菌 (Sulfate-reducing bacteria, SRB) 的耦合作用, 消耗了超过 90% 从海底溢出的  $\text{CH}_4$ <sup>[1-2]</sup>。AOM 过程发育于缺氧环境, 通过厌氧氧化古菌将  $\text{CH}_4$  氧化为  $\text{HCO}_3^-$ , 通过硫酸盐还原细菌将  $\text{SO}_4^{2-}$  还原为  $\text{HS}^-$ , 用化学方程式可表述为:  $\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HS}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$ <sup>[3]</sup>。微生物是冷泉生态系统的基础。由于冷泉区生物群落特殊, 在 AOM 过程中, 甲烷厌氧氧化古菌和硫酸盐还原菌均会产生一系列具有特殊生源信息, 且稳定的生物标志物。它们的含量、种类和分布不仅能指示微生物的活动程度和种类, 还能用于微生物系统和古环境条件的重建<sup>[4-5]</sup>。因此, 冷泉区微生物标志物的研究已经成为了解冷泉区生物地球化学过程的重要工具和可靠手段。

生物标志物在冷泉区的研究中取得了广泛的应用, 在墨西哥湾、阿留申群岛、蒙特利尔峡谷、地中海泥火山区和黑海的研究中均取得了成果。前人对荧光原位杂交法 (Fluorescent *in situ* hybridization, FISH) 和二级离子质谱分析 (Secondary ion mass spectrometry, SIMS) 的研究表明, AOM 作用中起主导作用的 AOM 菌落主要分为三个类群: ANME (Anaerobic methanotrophs)-1、ANME-2、ANME-3; 起主导作用的 SRB 菌落主要包括 DSS (*Desulfosarcina/Desulfococcus*) 和 DBB (*Desulfobulbus*) 两个类群<sup>[6]</sup>。最初认为 ANME-2 常与 DSS 群落形成集合体出现, ANME-3 常与 DBB 群落相关, 而 ANME-1 则与 DSS 群落结合较为松散, 常呈单体状态<sup>[6-10]</sup>。

不同的生物群落所产生的生物标志物存在较大差异。如 ANME-1 类群的主要生物标志物为 iso-GDGTs (isoprenoid glycerol dibiphytanyl glycerol tetraethers)、PMI 及其不饱和同系物 PMI $\Delta$ <sup>[8-9]</sup> 和极微量的 2, 6, 11, 15-四甲基十六烷 (crocetane); 和

ANME-1 群落相关的 DSS 群落则主要产生异构脂链脂肪酸, 其中以 *aiC*<sub>15:0</sub> 的反异构脂肪酸最具代表性, 一般情况下 *aiC*<sub>15:0</sub>/*iC*<sub>15:0</sub> > 3±0.9 时, 被认为是来源于与 ANME-1 结合的 DSS 指示特征<sup>[11-12]</sup>; ANME-2 类群的主要生物标志物为羟基古醇、iso-GDGTs、crocetane 和 PMI 等。虽然和 ANME-2 群落密切共生的硫酸盐还原菌群落也是 DSS 群落, 但与 ANME-2 共生的 DSS 群落的主要生物标志物为有脂类连接的甘油二酯<sup>[8-9]</sup>。有关 ANME-3 群落的报道相对较少, 在黑海、Eel River 盆地和蒙特利尔峡谷等地有检出。ANME-3 类群与革兰氏甲烷球菌有密切联系, 主要产生的生物标志物为含有 4~5 个双键的不饱和 PMI<sub>s</sub><sup>[12-14]</sup>。

在富  $\text{CH}_4$  的冷泉环境中, 以上生物标志物具有异常负的  $\delta^{13}\text{C}$  值<sup>[15-17]</sup>。Hoehler *et al.*<sup>[3]</sup> 最早提出 AOM 过程是  $\text{CH}_4$  产生过程的逆反应, 源于  $\text{CH}_4$  的碳在生化反应过程中被氧化, 由甲烷氧化古菌向硫酸盐还原菌传递, 最后富集在古菌和细菌的膜脂中。由于海底冷泉系统中渗漏的  $\text{CH}_4$  相对地表碳源明显贫  $^{13}\text{C}$ <sup>[18-19]</sup>, 加上 AOM 过程中微生物作用导致的碳同位素分馏使得微生物膜脂和产生的生物标志物更贫  $^{13}\text{C}$ 。因此, 沉积物和微生物标志物的低  $\delta^{13}\text{C}$  值可以作为海底存在  $\text{CH}_4$  渗漏和 AOM 过程的一个指标<sup>[20-22]</sup>。

不同的甲烷氧化微生物群落产生的生物标志物不同, 其所反映的环境背景也不尽相同, 特定的微生物群落对应特定的  $\text{CH}_4$  溢出环境。Nauhaus *et al.*<sup>[23]</sup> 通过实验室控制条件下的古菌试管培养对 ANME-1 和 ANME-2 类群进行对比分析, 研究认为, 甲烷氧化古菌群落的发育和  $\text{CH}_4$  原位分压、原位温度和 pH 值有关。ANME-1 群落主要对应中等  $\text{CH}_4$  通量、中等环境温度 (16~24 °C) 和较宽泛 pH 值 (6.8~8.1) 的环境背景; 而 ANME-2 则主要反映了高  $\text{CH}_4$  通量、低温和中性 pH 值 (7~7.5) 的发育环境<sup>[23]</sup>。

我国自 1998 年就开始了南海天然气水合物的调查, 当年报道南海北部存在天然气水合物的证据——似海底反射层 (BSR)<sup>[24-25]</sup>。之后几年中, 我国在南海北部陆坡进行了数次天然气水合物钻探, 均取得了天然气水合物样品, 证明南海北部陆坡具有丰富的

天然气水合物成藏<sup>[26-28]</sup>。珠江口盆地位于南海北部陆坡西北侧,天然气资源量丰富,是南海天然气水合物勘查的重点区域<sup>[28-30]</sup>。最近,我国在天然气水合物勘查方面取得重大突破,首次在南海北部陆坡西部海域发现规模空前的活动性冷泉——“海马冷泉”<sup>[31]</sup>。目前为止,国内学者多在储量远景、分子生物学和地球化学等方面对珠江口盆地天然气水合物进行讨论<sup>[32-34]</sup>,而研究区内沉积物的生物标志物研究还未有详尽的报道。本文拟通过对海马冷泉区3个站位表层沉积物样品进行研究,利用AOM过程中产生的生物标志物探究不同天然气水合物背景下沉积物AOM过程的发育情况,探讨表层沉积物AOM过程的类型,以及通过生物标志物探索海底CH<sub>4</sub>溢出的证据。

## 1 实验样品与分析方法

### 1.1 样品

样品采自珠江口盆地的海马冷泉区,具体取样位置如图1。3组样品均为柱状沉积物样品,水深1370~1400 m。其中ROV1、ROV2均取自水合物发

现区,QDN22样品取自背景区。此次工作主要选取0~40 cm的沉积物样品开展相关分析测试。

### 1.2 分析方法

#### 1.2.1 样品前处理

样品在海上取上甲板后,迅速进行切割分样,然后将样品冷藏保存。样品运回陆地实验室后,在-40℃条件下冷冻干燥,之后用玛瑙研钵磨至200目备用(筛网孔径74 μm)。

(1) 总有机碳和稳定碳同位素分析前处理。称取磨碎的样品500 mg放入坩埚中,用10%(体积比)的稀盐酸浸泡24 h以上,使样品中的碳酸盐充分溶解,用去离子水冲洗多次以去除碳酸盐;清洗后的样品放入烘箱中于50℃烘干。分别称取适量去除了碳酸盐的样品包入锡舟,用于总有机碳和稳定碳同位素分析。

(2) 生物标志物的定量分析前处理。另外称取一定量的冻干样品进行索氏抽提,抽提溶剂为二氯甲烷(CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>)和甲醇(CH<sub>3</sub>OH)的混合溶液(体积比93:7);在50℃的水浴环境下抽提72 h,并在烧瓶中加入铜片除去沉积物中的硫。抽提得到的可溶有机质通过旋蒸浓缩后转移到4 mL细胞瓶中,并用

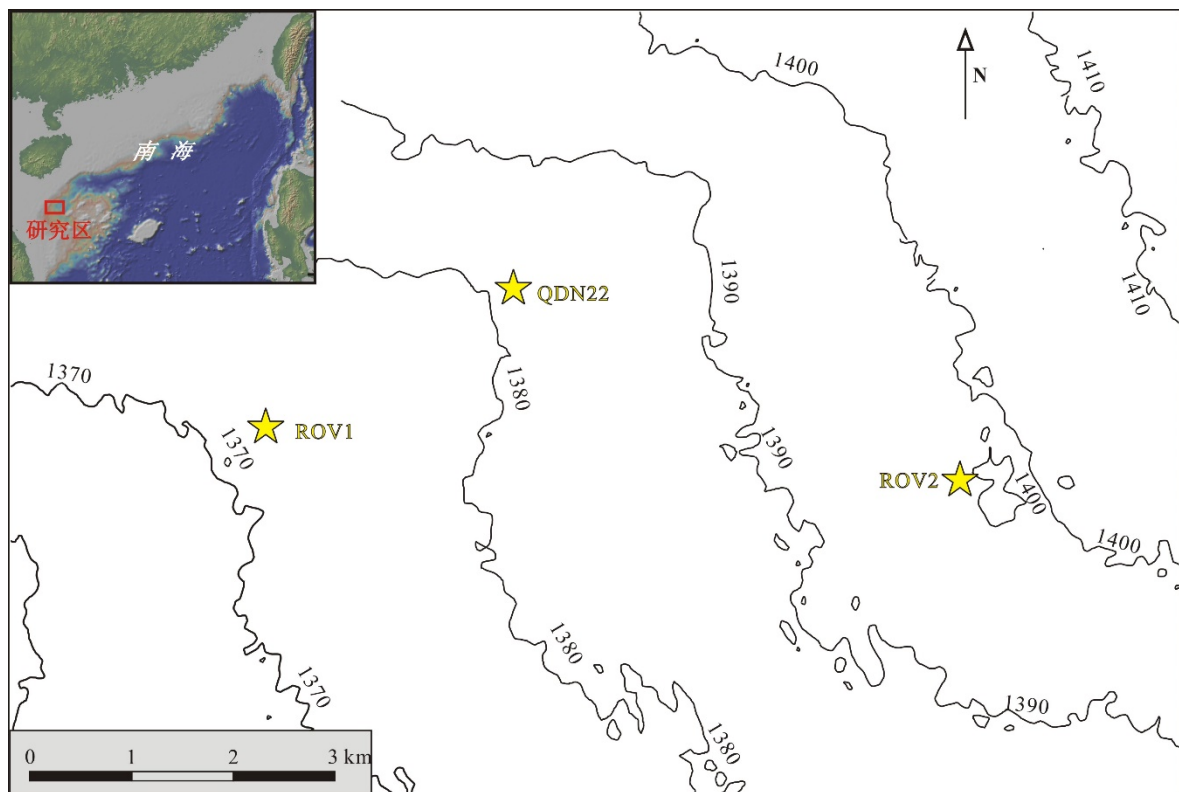


图1 研究区海马冷泉区位与采样点分布图(据 Liang *et al.*<sup>[31]</sup>修改)

Fig.1 Haima cold seep location and sampling point distribution (According to Liang *et al.*<sup>[31]</sup> revised)

图中数字表示水深,单位(m)

氮气吹干, 定容后平均分为 2 份, 其中第一份过滤膜后直接用于液相色谱-质谱(LC-MS)分析; 第二份经层析柱进行族组分分离, 用正己烷洗脱得到烷烃馏分, 用正己烷和乙酸乙酯(体积比为 4:1)混合溶液洗脱得到脂肪醇馏分, 用甲醇洗脱得到脂肪酸馏分。将各馏分旋蒸浓缩转移到细胞瓶再用氮气吹干, 对脂肪醇和脂肪酸组分用 BSTFA 进行硅烷化, 之后在 3 个组分中分别加入事先配制的具有一定浓度的氘代二十烷作内标, 进行气相色谱-质谱(GC-MS)分析, 并对烷烃组分进行单体烃同位素(GC-IRMS)分析, 用于相应生物标志化合物的定量和同位素分析。

### 1.2.2 仪器参数

(1) 总有机碳分析。总有机碳分析在 Vario El III 元素分析仪上进行。数据结果表示为 TOC(% , 质量分数)。每个样品均平行测定 2 次, 最终结果取其平均值。对某一样品平行测样(2 次), 其标准偏差  $\sigma$  为  $\pm 0.03\%$ (以 C 计, 质量分数)。

(2) 稳定碳同位素分析。使用美国 THERMO 公司生产的 Delta plus XL 同位素质谱仪测定样品的  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  值, 每个样品选取 2 个重复样, 每个重复样要求含碳量在 300~400  $\mu\text{g}$  之间, 测定结果采用 VPDB 标准, 仪器分析误差为  $\pm 0.5\%$ 。

(3) GC-MS 分析。对烷烃、脂肪醇和脂肪酸组分进行 GC-MS 分析, 所用的气相色谱-质谱联用仪型号为 Agilent 7890-5975C。色谱柱为 DB5(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ), 载气为 He。进样量为 3  $\mu\text{L}$ , 进样口和检测器温度分别为 280  $^{\circ}\text{C}$  和 300  $^{\circ}\text{C}$ 。温控程序为初始温度 60  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 2 min, 再以 3  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  上升至 300  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 20 min。

(4) LC-MS 分析。通过 LC-MS 对 GDGTs 进行分析。仪器型号为 Agilent Technologies 6410 TripleQuad 液相质谱仪, 设备连接自动进样器。色谱柱采用 Prevail Cyano 柱(2.1 mm $\times$ 150 mm $\times$ 3  $\mu\text{m}$ , 流速 0.2 mL/min; Alltech Deerfield, IL, USA), 温度保持在 30  $^{\circ}\text{C}$ 。流动相采用梯度洗脱, 初始流动相: 99% 的正己烷和 1% 的异丙醇, 之后在 45 min 内异丙醇的浓度增加至 1.8% 之后平衡至初始流动相比比例, 流速 0.2 mL/min, 进样量为 10  $\mu\text{L}$ 。

(5) GC-IRMS 分析。通过 GC-IRMS 对烷烃组分进行单体烃同位素分析。仪器型号为英国 GV 公司的 IsoPrime 色谱-同位素质谱仪, 色谱柱型号为 Agilent DB-5MS 毛细柱(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ), 载气为 He, 进样口温度为 290  $^{\circ}\text{C}$ 。升温程序为初始温度 50  $^{\circ}\text{C}$ ,

以 15  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 190  $^{\circ}\text{C}$ , 再以 2  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 245  $^{\circ}\text{C}$ , 之后以 15  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至 290  $^{\circ}\text{C}$ 。每个样品平行进样 2 次, 同位素以  $\delta$  表示, 误差小于 0.5%, VPDB 标准。

## 2 结果及讨论

由于研究区 3 个钻孔所处位置较近, 我们假定它们具有相同的物源和大的沉积环境。本研究拟通过 3 个样品柱之间的对比, 揭示冷泉区 AOM 过程对海底沉积物中生物标志物组成和变化的影响。由于脂肪醇含量较低, 未检出有意义的生物标志物, 故本文未对这个组分进行讨论。

### 2.1 总有机质的特征

沉积物总有机碳含量的测试结果显示(图 2a), 背景区 QDN22 站位和冷泉区 ROV1 站位样品沉积比较稳定, 波动较小, 总有机碳含量分别在 0.53%~0.69% 和 0.6%~0.8% 之间波动, 冷泉区 ROV2 站位则总有机碳波动较大, 在 0.57%~0.97% 之间波动, ROV2 站位样品平均有机碳含量较 QDN22 站位和 ROV1 站位高, 表明 ROV2 站位所在区位有机质输入较多。

沉积物有机碳同位素的分析结果表明(图 2b), 背景区 QDN22 站位的  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  值约为  $-21\%$ , 冷泉区 ROV1 站位的  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  值变化范围为  $-23\%$ ~ $-25\%$ , 冷泉区 ROV2 站位  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  值变化范围为  $-25\%$ ~ $-30\%$ 。背景区 QDN22 沉积物柱有机碳表现出相对富

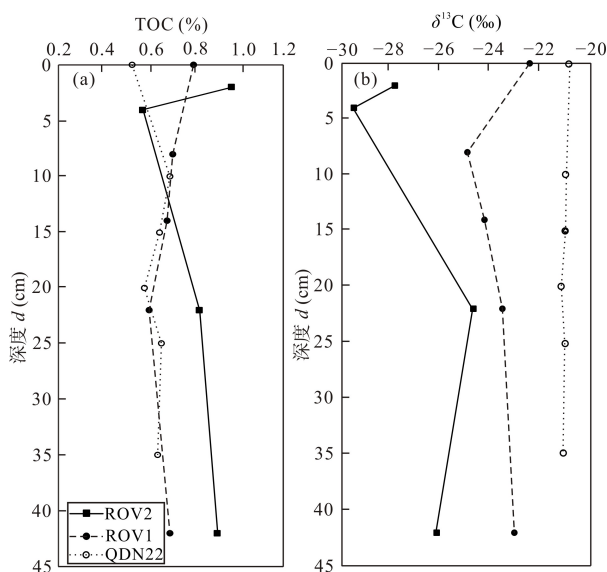


图 2 总有机碳含量(a)和有机碳同位素组成(b)对比图  
Fig.2 Comparison charts for TOC content (a) and isotope composition of organic carbon (b)

集的  $^{13}\text{C}$ , 而冷泉区 ROV2 和 ROV1 沉积站位的  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  则相对贫  $^{13}\text{C}$ , 推测可能受到相对贫  $^{13}\text{C}$  有机质输入的影响。

在图 2b 中, 纵向对比时背景区 QDN22 站位的沉积物  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  值较为平稳, 推测其物源和沉积环境较为稳定, 冷泉区 ROV2 站位和 ROV1 站位的  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  波动较大, 表明沉积物有机碳的物源发生过变化。横向对比 3 个沉积柱, 分布在冷泉区 ROV2 和 ROV1 沉积柱的  $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$  值相比背景区 QDN22 站位明显更低, 由于 AOM 是冷泉  $\text{CH}_4$  的碳进入有机质的主要渠道, 反映活动冷泉区 ROV2 和 ROV1 站位的表层可能发育 AOM 过程, 由于 ROV2 站位相对背景区被改造的幅度更大, 所以 ROV2 站位沉积物的 AOM 过程相对 ROV1 站位更为强烈。

## 2.2 生物标志物的鉴定和分布特征

此次研究中检测出的与 AOM 过程有关的生物标志物主要有 GDGTs、类异戊二烯烷烃和脂肪酸等, 各化合物的生物来源和鉴定特征和深度-丰度变化特征总结如下。

### 2.2.1 GDGTs

具类异戊二烯结构的醚类生物标志物主要包含古醇类和甘油二烷基甘油四醚。在此次实验中, 只有个别样品存在极微量的 sn-2-O-Phytanyl-glycerolether 和 sn-3-Phytanyl-glycerolether, 不具有定量意义, 而 GDGTs 被普遍检出, 在 LC-MS 图谱中出峰高, 具有较好的对比意义。

GDGTs 类化合物是微生物细胞膜的主要成分, 主要包含类异戊二烯类 GDGTs (*iso*-GDGTs) (图 3) 和支链类 GDGTs (brGDGTs)<sup>[35-36]</sup>。其中, *iso*-GDGTs 主要来自海洋古菌, 而 brGDGTs 主要来自土壤细菌<sup>[37]</sup>。

此次研究通过 LC-MS 同时检出了 *iso*-GDGTs 和 brGDGTs, 其中占据主导地位的是 *iso*-GDGTs (图 4), 在总 GDGTs 中占 81%~96%。在 *iso*-GDGTs 组成方面, 图 4 中 3 个样品的总离子流图在各自样品柱中均有较好的代表性, 其中, 冷泉区 ROV2 站位中占主导地位的是 GDGT-2, 冷泉区 ROV1 站位中占主导地位的是 GDGT-2 和 Crenarchaeol (泉古菌醇), 而背景区 QDN22 站位 GDGT-0~GDGT-3 的含量较低, Crenarchaeol 占据了明显的主导地位。

在生物来源方面, GDGT-0 的生物源比较丰富, 包括广古菌(euryarchaea)中产甲烷古菌和嗜甲烷古菌, 以及在各类环境中广泛存在的奇古菌<sup>[38]</sup>。GDGT-1~GDGT-3 可能来源于嗜甲烷古菌和奇古菌, 嗜甲烷古菌所产生的 GDGT-1~GDGT-3 的含量普遍高于 Crenarchaeol, 而奇古菌所产生的 GDGT-1~3 的含量普遍低于 Crenarchaeol<sup>[39]</sup>。Crenarchaeol 的主要来源为奇古菌, 产甲烷古菌和嗜甲烷古菌与 Crenarchaeol 没有直接联系<sup>[38]</sup>。研究表明, 海洋奇古菌是一种氨氧化古菌(ammonium-oxidizing archaea), 它的生长主要与  $\text{NH}_4^+$  含量相关<sup>[40-41]</sup>。对比 3 个站位样品的 GDGT-0~GDGT-3 和 Crenarchaeol 的比值(图 5), 可以发现冷泉区 ROV2 站位样品的 GDGT 主要由 GDGT-0~GDGT-3 组成, 嗜甲烷古菌贡献较大; 冷泉区 ROV1 站位 GDGT-0~GDGT-3 的比例较 ROV2 站降低, 亦可推断嗜甲烷古菌有着相当的贡献, 而背景区 QDN22 站位 GDGTs 中的 Crenarchaeol 占据绝对优势, GDGT-0~GDGT-3 含量很低, 表明嗜甲烷古菌贡献较少。

检测结果中, 冷泉区 ROV2 和 ROV1 站位沉积物所含的 *iso*-GDGT-0~GDGT-3 浓度很高, 是主要的 GDGTs 化合物, 而 GDGT-cren 含量较低, 其中 ROV2 站位最为显著, GDGT-0~GDGT-3 占比最高达 84%,

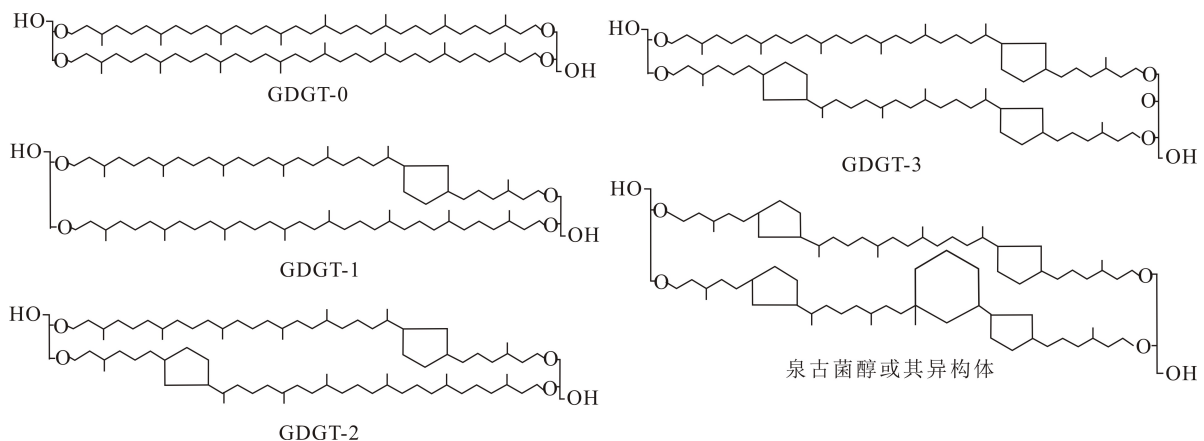


图 3 *iso*-GDGT 分子结构图

Fig.3 *Iso*-GDGT molecular structure diagram

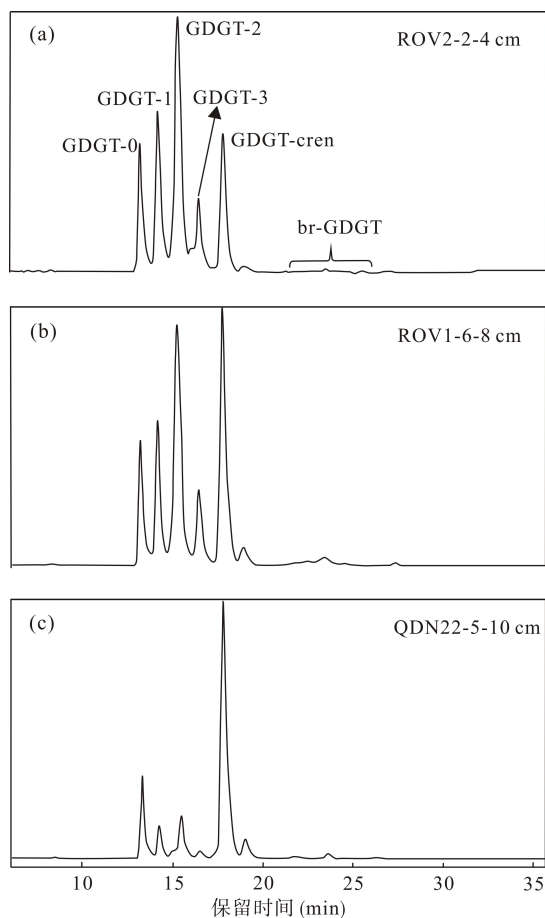


图 4 GDGTs 的 LC-MS 总离子流图 (ROV2-2-4 cm 代表 ROV2 站位 2~4 cm 的沉积物样, 其他类推)

Fig.4 LC-MS TIC Graph for GDGTs

与台西南海域、地中海和东沙群岛北部冷泉区的研究一致<sup>[42-44]</sup>, 这种模式在前人的研究中被认为来自甲烷厌氧氧化古菌<sup>[15,44-46]</sup>。早期研究认为, GDGTs 类化合物的出现与甲烷氧化古菌中 ANME-1 群落密切相关<sup>[8-9]</sup>, 后来在 ANME-2 群落的研究中也有大量发现<sup>[9]</sup>。而背景区 QDN22 站位所含 *iso*-GDGTs 以 Crenarchaeol 为主, 表明此样品站的沉积物可能没有甲烷氧化古菌类群的发育, 缺少 AOM 过程的发生。

### 2.2.2 类异戊二烯烷烃

本次检出的与 AOM 过程相关的类异戊二烯烷烃类化合物主要有 Crocetane、PMI 和角鲨烷(Squalane), 它们的鉴定特征和分布规律总结如下:

**Crocetane:** 此化合物是 PMI 的同系物, 含有 20 个碳, 和 PMI 常相伴出现。由于它和植烷(Phytane)共溢出, 在海洋沉积物中的识别与应用较为困难<sup>[47]</sup>, 两者在质谱上的区别为 Crocetane 的  $m/z$  169 碎片大于  $m/z$  183 碎片; 植烷则反之<sup>[48]</sup>, 它们的质谱图见图 6a。

**PMI:** 是含有 25 个碳的无环类异戊二烯烷烃, 分子量为 352, 特征离子为  $m/z$  239, 质谱图见图 6b。

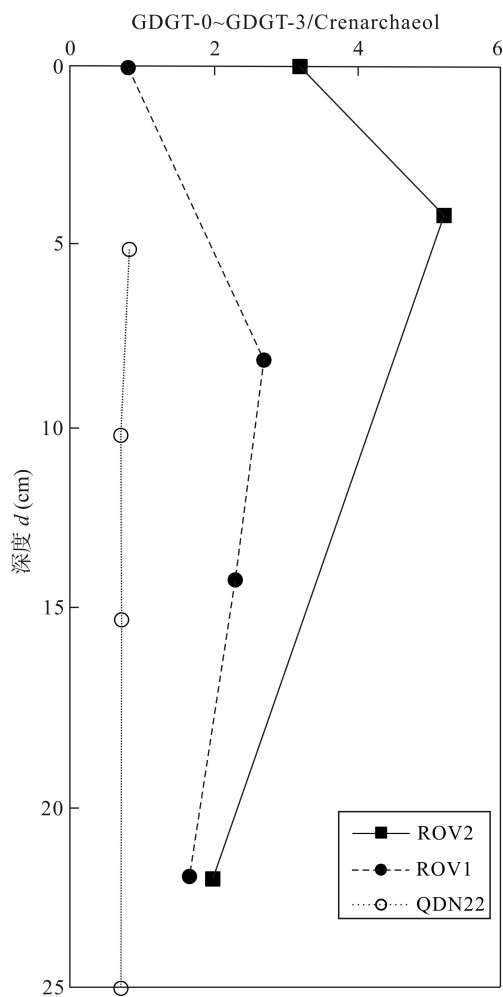


图 5 GDGT-0~GDGT-3/Crenarchaeol 随深度分布图  
Fig.5 Depth-depend distribution of GDGT-0~GDGT-3 and Crenarchaeol ratio

前人在细菌培养的实验中发现, 产甲烷古菌可以生成 PMI, 之后陆续有产甲烷古菌产生不饱和 PMI $\Delta$  的报道, 使得 PMI 和 PMI $\Delta$  成为了产甲烷作用的生物标志物<sup>[45]</sup>。

**角鲨烷:** 此化合物是一种含有 30 个碳的类异戊二烯烷烃, 分子量为 422, 特征碎片离子为  $m/z$  183, 来源于细菌与古菌<sup>[21]</sup>, 质谱图见图 6c。

此次研究中虽然 3 种类异戊二烯烷烃在 3 组样品中均有检出, 但是它们在 3 组样品中的含量特征有较大区别(图 7)。  $m/z$  57 质量色谱图显示, 冷泉区 ROV2 站位的沉积物中与 AOM 相关的类异戊二烯类生物标志物的相对含量较高, ROV1 站位次之, 而背景区 QDN22 站位的含量非常低, Squalane 有时达不到最低检出限。此现象反映了冷泉区 ROV2 和 ROV1 站位的沉积物中都曾有 AOM 过程的发生, 背景区 QDN22 站位则几乎没有与 AOM 过程相关群落的发育。

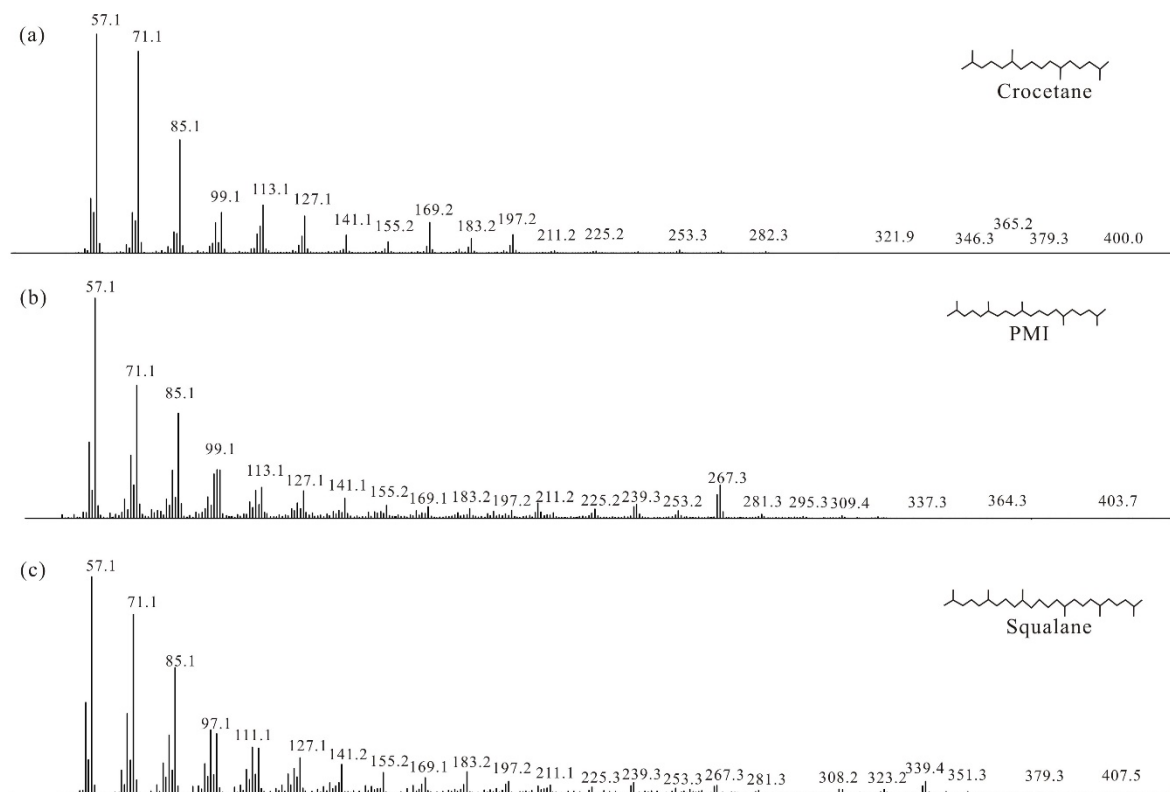


图6 类异戊二烯烷烃类生物标志物质谱棒状图

Fig.6 Isoprenoid alkane biomarker mass spectrometry bar chart

本文对 PMI 的单体烃同位素进行了研究, 数据表明 PMI 极度贫  $^{13}\text{C}$ , 明显低于有机碳同位素的比值, 说明 PMI 来源于 AOM 作用过程中的甲烷厌氧氧化古菌(见表 1)。“海马”冷泉 PMI 的  $\delta^{13}\text{C}$  值与地中海东部海域、台西南海域和东沙群岛北部海域冷泉研究区相近, 极低的 PMI 碳同位素比值是 AOM 过程发育的重要证据。

3 个样品站表层样品的类异戊二烯烷烃在深度-丰度的变化中也表现出了极大的差异(图 8)。其中, 冷泉区 ROV2 站 Crocetane 含量为 12.53~71.36  $\mu\text{g/g}$  (换算成每克 TOC 中的含量, 余同), PMI 含量为 5.21~45.99  $\mu\text{g/g}$ , Squalane 含量为 0.56~4.21  $\mu\text{g/g}$ ; ROV1 站 Crocetane 含量为 7.99~13.97  $\mu\text{g/g}$ , PMI 含量为 5.93~17.89  $\mu\text{g/g}$ , Squalane 含量为 0.61~1.47  $\mu\text{g/g}$ ; 背景区 QDN22 站 Phytane 含量为 2.71~9.63  $\mu\text{g/g}$ , PMI 含量为 0.89~4.20  $\mu\text{g/g}$ , Squalane 含量为 0.73~1.72  $\mu\text{g/g}$ 。总体上 Crocetane 和 PMI 较高含量, Squalane 含量较低。其中 Crocetane 具备较为明确的指向性, 研究指出 Crocetane 主要由 ANME-2 群落产生, 而 ANME-1 只产生极微量的 Crocetane<sup>[9]</sup>。

纵向比较(图 8), 活动冷泉区 3 组样品的 Crocetane, PMI 和 Squalane 指标波动趋势较为一致, 表明 3 类

化合物在研究区内受相同因素控制, 指示其物源较为一致, 可能都与甲烷氧化古菌有关。横向对比发现(图 8), 冷泉区 3 组生物标志物的含量均高于背景区, 其中冷泉区站点所含的 PMI 和 Crocetane 最高含量约为背景区站位的 70 倍, Squalane 最高含量约为背景区的 6 倍, 巨大差异表明冷泉区 ROV2 和 ROV1 站点  $\text{CH}_4$  相关古菌较发育。

### 2.2.3 异构/反异构脂肪酸

脂肪酸几乎在所有的  $\text{CH}_4$  渗漏和天然气活动冷泉产出区的海底沉积物中均有报道, 其物源主要为海藻和海洋细菌。此次研究检测到了  $\text{C}_{14}$ ~ $\text{C}_{22}$  饱和和脂肪酸, 不饱和脂肪酸和异构/反异构脂肪酸。管红香等<sup>[11]</sup>在墨西哥湾冷泉的研究中发现, 冷泉碳酸盐样品中支链奇碳数脂肪酸(iso/anteiso- $\text{C}_{13:0}$ , - $\text{C}_{15:0}$  和 - $\text{C}_{17:0}$ )的  $\delta^{13}\text{C}$  值极低, 低于冷泉碳酸盐的  $\delta^{13}\text{C}$  值, 也低于冷泉渗漏烃和冷泉渗漏  $\text{CH}_4$  的  $\delta^{13}\text{C}$  值。研究认为此类化合物来源于 AOM 过程中的硫酸盐还原菌。

本次研究在所有样品中均检测到了一定浓度的  $\text{C}_{15:0}$ 、 $\text{C}_{17:0}$  异构(*i*-)和反异构(*ai*-)脂肪酸(图 9), 含量很低, 且 ROV1 站 0~2 cm 和 12~14 cm 样品缺失 *iC*<sub>15</sub>, ROV2 站 0~2 cm 缺失 *aiC*<sub>15</sub>, 因此分别对  $\text{C}_{15:0}$  和  $\text{C}_{17:0}$  异构/反异构脂肪酸浓度作加和统计

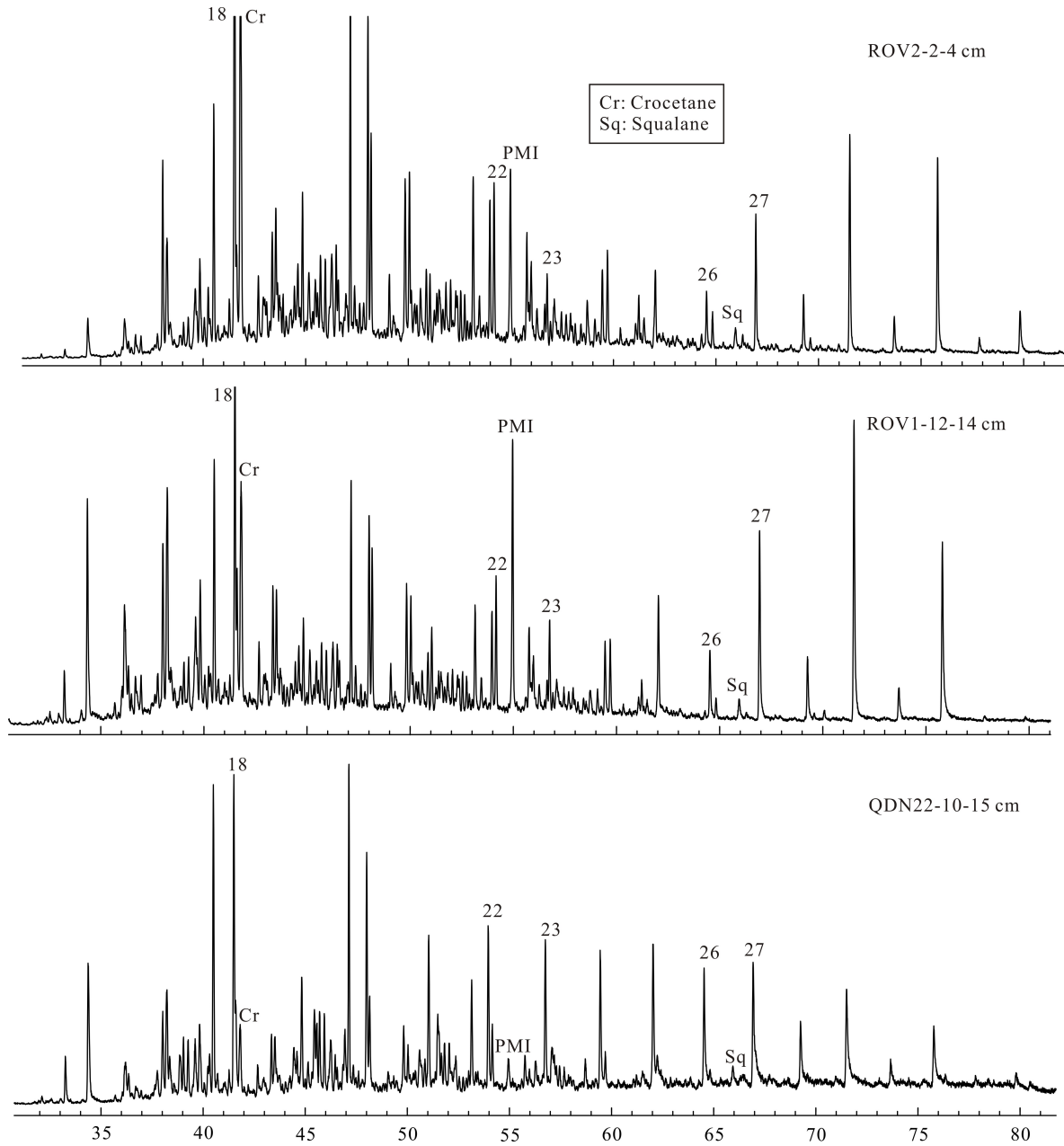


图 7 沉积物样品烷烃组分的  $m/z$  57 质量色谱图

Fig.7  $m/z$  57 mass chromatogram of alkane fraction in sediment samples

表 1 “海马”冷泉和其他研究区 PMI 碳同位素比值

Table.1 PMI carbon isotope ratio of Haima and other cold seeps

“海马冷泉”样品	$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$	其他研究区样品	$\delta^{13}\text{C}(\text{‰})$
ROV <sub>1</sub> 6~8	-94.4‰	地中海 <sup>[44]</sup>	-108‰~-115‰
ROV <sub>2</sub> 2~4	-99.5‰	台西南海域 <sup>[47]</sup>	-100‰~-128‰
ROV <sub>2</sub> 20~22	-107.5‰	东沙北部 <sup>[46]</sup>	-62.9‰~-119‰

(图 10), 用以对比 3 组样品柱的硫酸盐还原菌发育状况。此次检测中, 冷泉区 ROV2 站位  $i/a$ iC<sub>15:0</sub> 脂肪酸含量为 0.43~0.62  $\mu\text{g/g}$ ,  $i/a$ iC<sub>17:0</sub> 脂肪酸含量为 0.24~0.63  $\mu\text{g/g}$ ; ROV1 站位  $i/a$ iC<sub>15:0</sub> 脂肪酸含量为 0.35~0.50  $\mu\text{g/g}$ ,  $i/a$ iC<sub>17:0</sub> 脂肪酸含量为 0.19~0.55  $\mu\text{g/g}$ ;

背景区 QDN22 站位  $i/a$ iC<sub>15:0</sub> 脂肪酸含量为 0.16~0.71  $\mu\text{g/g}$ ,  $i/a$ iC<sub>17:0</sub> 脂肪酸含量为 0.15~0.38  $\mu\text{g/g}$ 。总体上 3 个站位表层沉积物样品的支链脂肪酸丰度比较接近, 活动冷泉区样品与背景区样品在这一指标上没有表现出明显差异, 且此指标丰度值低, 表明硫酸



盐还原菌的 DSS 群落发育情况相对较差。

此研究发现了指示甲烷缺氧氧化古菌群落的 GDGTs、PMI、Crocetane 和微量指示硫酸盐还原群落的异构与反异构脂肪酸，并通过同位素分析发现 PMI 具极低的  $\delta^{13}C$ 。Crocetane 的含量较高，指示可

能有 ANME-2 来源的有机质输入。生物标志物的横向对比发现，冷泉区 ROV2 站位的生物标志物丰度明显高于 ROV1 站位和背景区 QDN22 站位，表明 ROV2 站位下部有更高  $CH_4$  通量，为珠江口盆地的活动冷泉开发提供参考。

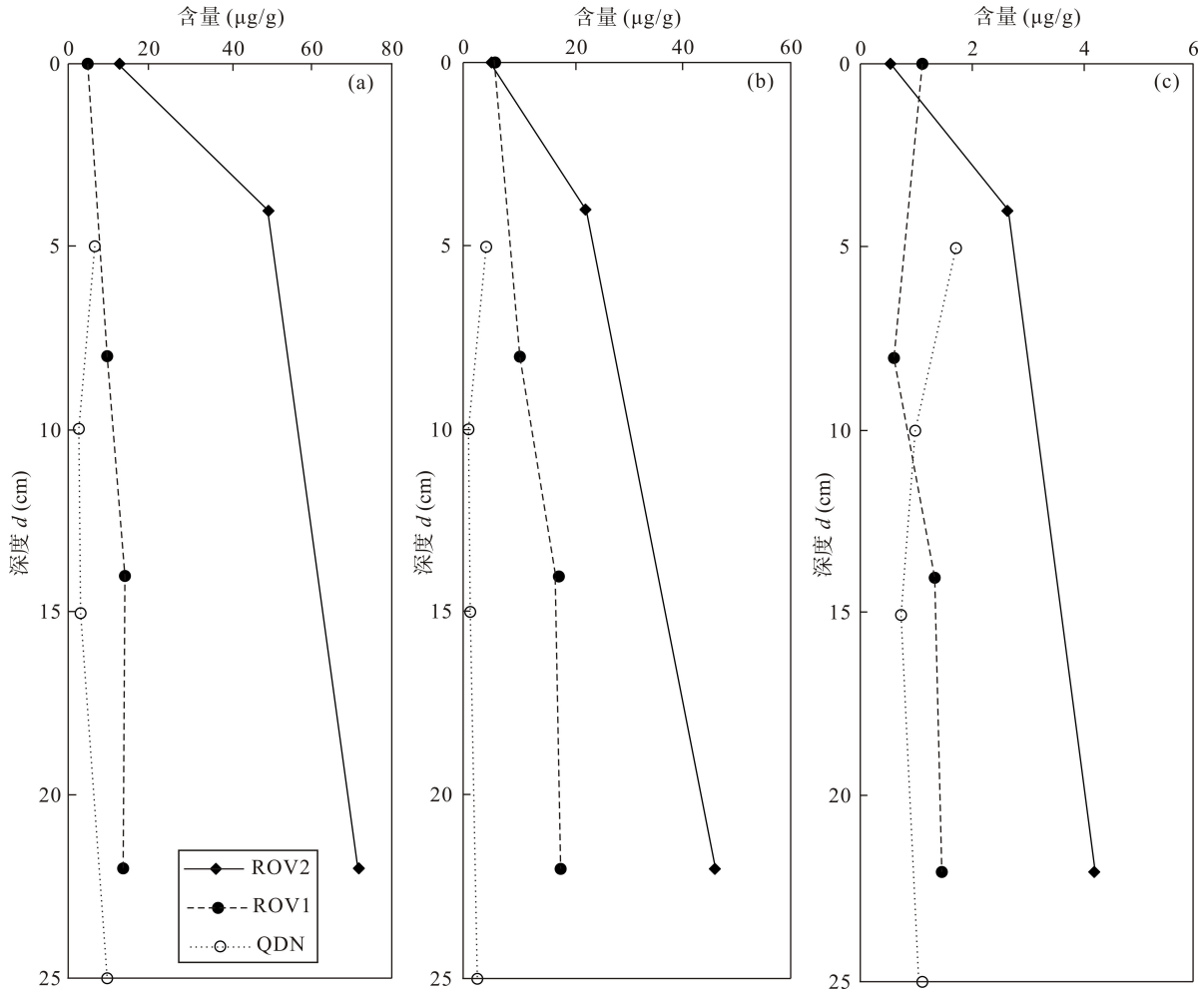


图 8 3 组样品 Crocetane(a)、PMI(b)、Squalane(c)含量随深度分布图

Fig.8 Depth-depend distribution of Crocetane, PMI, and Squalane concentration

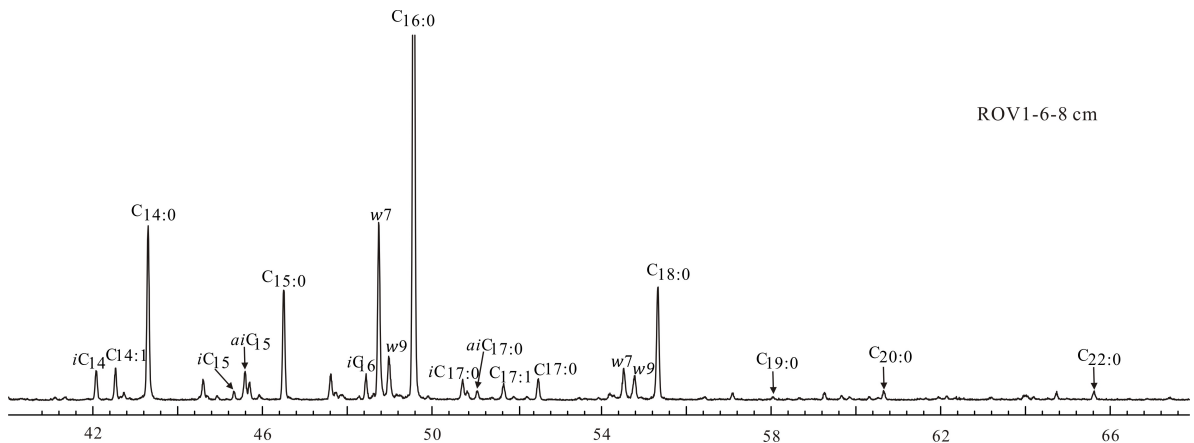
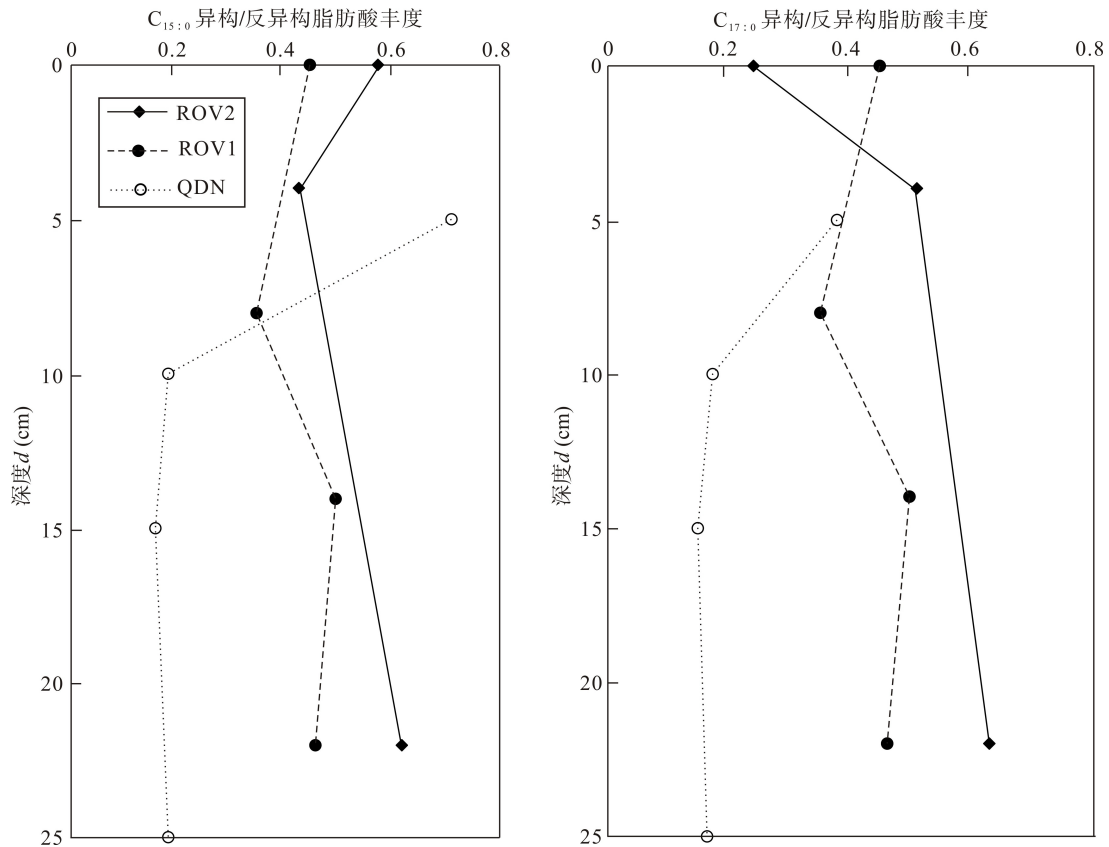


图 9 沉积物样品脂肪酸组分的  $m/z$  117 质量色谱图

Fig.9  $m/z$  117 mass chromatogram of fatty acid fraction of the sediment samples

图 10  $C_{15:0}$  和  $C_{17:0}$  异构/反异构脂肪酸丰度随深度分布图Fig.10 Depth-depend distribution of  $C_{15:0}$ ,  $C_{17:0}$  isomeric/trans-isomeric fatty acid abundance

### 3 结 论

(1) 总有机质含量和碳同位素组成特征表明, 南海北部陆坡西部海域的海马冷泉区和背景区具有显著的差异, 活动冷泉区存在明显的海底  $CH_4$  渗漏现象。

(2) 检测得到的主要生物标志物有 GDGTs、Croctane、PMI、Squalane 和异构脂肪酸, 其中 PMI 具有很负的  $\delta^{13}C$  值, 表明 PMI 来源于 AOM 作用过程中的甲烷厌氧氧化古菌, 指示海马冷泉区存在过  $CH_4$  渗漏现象。

(3) 横向对比 3 个站位表层沉积物 AOM 过程的强弱程度表明, 冷泉区 ROV2 站位的  $CH_4$  缺氧氧化过程更为强烈, 指示其下部可能存在更大的  $CH_4$  通量, 为珠江口盆地活动冷泉开发的区域优选提供参考意义。

本研究得到了国家自然科学基金青年基金(41806074、41602149)、国家自然科学基金重点项目(41730528)、面上项目(41576053)和中国地质调查项目(DD20160217)的资助, 在此表示感谢!

### 参考文献(References):

- [1] Boetius A, Ravenschlag K, Schubert C J, Rickert D, Widdel F, Gieseke A, Amann R, Jorgensen B B, Witte U, Pfannkuche O. A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane[J]. Nature, 2000, 407(6804): 623–626.
- [2] Knittel K, Boetius A. Anaerobic oxidation of methane: Progress with an unknown process[J]. Ann Rev Microbiol, 2009, 63(1): 311–334.
- [3] Hoehler T M, Alperin M J, Albert D B, Martens C S. Field and laboratory studies of methane oxidation in an anoxic marine sediment: Evidence for a methanogen-sulfate reducer consortium[J]. Global Biogeochem Cy, 1994, 8(4): 451–463.
- [4] 丁玲, 赵美训. 生物标志物及其碳同位素在冷泉区生物地球化学研究中的应用[J]. 海洋地质与第四纪地质, 2011, 51(7): 133–142.  
Ding Ling, Zhao Mei-xun. Application of biomarkers and carbon isotopes to cold seep biochemical process[J]. Mar Geol Quatern Geol, 2011, 51(7): 133–142 (in Chinese with English abstract).
- [5] Brocks J J, Pearson A. Building the biomarker tree of life[J]. Rev Mineral Geochem, 2010, 30(2): 233–258.
- [6] Knittel K, Losekann T, Boetius A, Kort R, Amann R. Diversity and distribution of methanotrophic Archaea at cold seeps[J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71(1): 467–479.
- [7] Orphan V J, House C H, Hinrichs K U, Mckeegan K D, Delong E F. Multiple archaeal groups mediate methane oxida-

- tion in anoxic cold seep sediments[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(11): 7663–7668.
- [8] Blumenberg M, Seifert R, Reitner J, Pape T, Michaelis W, Affiliations A. Membrane lipid patterns typify distinct anaerobic methanotrophic consortia[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(30): 11111–11116.
- [9] Niemann H, Elvert M. Diagnostic lipid biomarker and stable carbon isotope signatures of microbial communities mediating the anaerobic oxidation of methane with sulphate[J]. *Org Geochem*, 2008, 39(12): 1668–1677.
- [10] Hinrichs K U, Hayes J M, Sylva S P, Brewer P G, Delong E F. Methane-consuming archaeobacteria in marine sediments[J]. *Nature*, 1999, 398(6730): 802–805.
- [11] 管红香, 冯东, 吴能友, Roberts H H, 陈多福. 墨西哥湾北陆坡区冷泉碳酸盐岩脂肪酸及碳同位素特征[J]. *科学通报*, 2010, 55(4/5): 267–273.  
Guan Hongxiang, Feng Dong, Wu Nengyou, Roberts H H, Chen Duofu. Fatty-acids and their  $\delta^{13}\text{C}$  characteristics of seep carbonates from the northern continental slope of Gulf of Mexico[J]. *Chinese Sci Bull*, 2010, 55(4/5): 267–273 (in Chinese).
- [12] Niemann H, Duarte J, Hensen C, Omeregic E, Magalhaes V H, Elvert M, Pinheiro L M, Kopf A, Boetius A. Microbial methane turnover at mud volcanoes of the Gulf of Cadiz[J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 2006, 70(21): 5336–5355.
- [13] Orphan V J, Hinrichs K U, Ussler I W, Paull C K, Taylor L T, Sylva S P, Hayes J M, Delong E F. Comparative analysis of methane-oxidizing Archaea and sulfate-reducing bacteria in anoxic marine sediments[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(4): 1922–1934.
- [14] Girguis P R, Orphan V J, Hallam S J, Delong E F. Growth and methane oxidation rates of anaerobic methane trophic Archaea in a continuous-flow bioreactor[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2003, 69(9): 5472–5482.
- [15] Aloisi G, Bouloubassi I, Heijs S K, Pancost R D, Pierre C, Sinninghe Damsté J S, Gottschal J C, Forney L J, Rouchy J M.  $\text{CH}_4$ -consuming microorganisms and the formation of carbonate crusts at cold seeps[J]. *Earth Planet Sci Lett*, 2002, 203(1): 195–203.
- [16] Peckmann J, Thiel V. Carbon cycling at ancient methane-seeps[J]. *Chem Geol*, 2004, 205(3): 443–467.
- [17] Aloisi G, Pierre C, Rouchy J M, Foucher J P, Woodside J, Party M S. Methane-related authigenic carbonates of eastern Mediterranean Sea mud volcanoes and their possible relation to gas hydrate destabilization[J]. *Earth Planet Sci Lett*, 2000, 184(1): 321–338.
- [18] Zhang C L L, Li Y L, Wall J D, Larsen L, Sassen R, Huang Y S, Wang Y, Peacock A, White D C, Horita J, Cole D R. Lipid and carbon isotopic evidence of methane-oxidizing and sulfate-reducing bacteria in association with gas hydrates from Gulf of Mexico[J]. *Geology*, 2002, 30(3): 239.
- [19] Whiticar M J. Carbon and hydrogen isotope systematics of bacterial formation and oxidation of methane[J]. *Chem Geol*, 1999, 161(1–3): 291–314.
- [20] Thiel V, Peckmann J, Richnow H H, Luth U, Reitner J, Michaelis W. Molecular signals for anaerobic methane oxidation in Black Sea seep carbonates and a microbial mat[J]. *Mar Chem*, 2001, 73(2): 97–112.
- [21] Elvert M, Suess E, Greinert J, Whiticar M J. Archaea mediating anaerobic methane oxidation in deep-sea sediments at cold seeps of the eastern Aleutian subduction zone[J]. *Org Geochem*, 2000, 31(11): 1175–1187.
- [22] Thiel V, Peckmann J, Seifert R, Wehrung P, Reitner J, Michaelis W. Highly isotopically depleted isoprenoids: Molecular markers for ancient methane venting[J]. *Geochim Cosmochim Acta*, 1999, 63(23/24): 3959–3966.
- [23] Nauhaus K, Treude T, Boetius A, Kruger M. Environmental regulation of the anaerobic oxidation of methane: A comparison of ANME-1 and ANME-2 communities[J]. *Environ Microbiol*, 2005, 7(1): 98–106.
- [24] 宋海斌, Matsubayashi O, 杨胜雄, 吴能友, 江为为, 郝天璠. 含天然气水合物沉积物的岩石物性模型与似海底反射层的AVA特征[J]. *地球物理学报*, 2002, 45(4): 546–556.  
Song Hai-bin, Matsubayashi O, Yang Sheng-xiong, Jiang Wei-wei, Hao Tian-yao. Physical property models of gas hydrate-bearing sediments and AVA character of bottom simulating reflector[J]. *Chinese J Geophys*, 2002, 45(4): 546–556 (in Chinese with English abstract).
- [25] 宋海斌, 松林修, 仓本真一. 西南海海槽地震资料处理及其似海底反射层特征[J]. *地球物理学报*, 2001, 44(6): 799–804.  
Song Hai-bin, Matsubayashi O, Kuramoto S I. Processing of seismic data of Western Nankai trough and its character bottom Simulating reflector[J]. *Chinese J Geophys*, 2001, 44(6): 799–804 (in Chinese with English abstract).
- [26] 龚跃华, 吴时国, 张光学, 王宏斌, 梁金强, 郭依群, 沙志彬. 南海东沙海域天然气水合物与地质构造的关系[J]. *海洋地质与第四纪地质*, 2008, 28(1): 99–104.  
Gong Yue-hua, Wu Shi-guo, Zhang Guang-xue, Wang Hong-bin, Liang Jin-qiang, Guo Yi-qun, Sha Zhi-bin. Relating between gas hydrate and geologic structures in Dongsha Islands Sea area of South China Sea[J]. *Mar Geol Quatern Geol*, 2008, 28(1): 99–104 (in Chinese with English abstract).
- [27] 吴能友, 杨胜雄, 王宏斌, 梁金强, 龚跃华, 卢振权, 郭黛黛, 管红香. 南海北部陆坡神狐海域天然气水合物成藏的流体运移体系[J]. *地球物理学报*, 2009, 52(6): 1641–1650.  
Wu Neng-you, Yang Sheng-xiong, Wang Hong-bin, Liang Jin-qiang, Gong Yue-hua, Lu Zhen-quan, Wu Dai-dai, Guan Hong-xiang. Gas-bearing fluid influx sub-system for gas hydrate geological system in Shenhu Area, Northern South China Sea[J]. *Chinese J Geophys*, 2009, 52(6): 1641–1650 (in Chinese with English abstract).
- [28] 焦露, 苏新, 陈芳, 张勇, 蒋宏忱, 罗祎, 董海良. 南海北部陆坡神狐海域 HS-PC500 岩石微生物多样性[J]. *微生物学报*, 2011, 51(7): 876–890.  
Jiao Lu, Su Xin, Chen Fang, Zhang Yong, Jiang Hong-chen, Luo Yi, Dong Hai-liang. Microbial diversity in sediments of core HS-PC 500 from Shenhu Area, Northern South China Sea[J]. *Acta Microbiol Sinica*, 2011, 51(7): 876–890 (in Chinese with English abstract).

- [29] 李绪宣, 朱光辉. 琼东南盆地断裂系统及其油气输导特征[J]. 中国海上油气, 2005, 17(1): 1–7.  
Li Xu-xuan, Zhu Guang-hui. The fault system and its hydrocarbon carrier significance in Qiongdongnan basin[J]. China Offshore Oil Gas, 2005, 17(1): 1–7. (in Chinese with English abstract).
- [30] 王秀娟, 吴时国, 董冬冬, 龚跃华, 柴超. 琼东南盆地气烟囱构造特点及其与天然气水合物的关系[J]. 洋地质与第四纪地质, 2008, 28(3): 103–108.  
Wang Xiu-juan, Wu Shi-guo, Dong Dong-dong, Gong Yue-hua, Chai Chao. Characteristics of gas chimney and its relationship to gas hydrate in Qiongdongnan Basin[J]. Mar Geol Quatern Geol, 2008, 28(3): 103–108 (in Chinese with English abstract).
- [31] Liang Q Y, Hu Y, Feng D, Peckmann J, Chen L Y, Yang S X, Liang J Q, Tao J, Chen D F. Authigenic carbonates from newly discovered active cold seeps on the northwestern slope of the South China Sea: Constraints on fluid sources, formation environments, and seepage dynamics[J]. Deep-Sea Res Pt I, 2017, 124: 31–41.
- [32] 陈多福, 李绪宣, 夏斌. 南海琼东南盆地天然气水合物稳定域分布特征及资源预测[J]. 地球物理学报, 2004, 47(3): 483–489.  
Chen Duo-fu, Li Xu-xuan, Xia Bin. Distribution of gas hydrate stable zones and resource prediction in the Qiongdongnan Basin of the South China Sea[J]. Chinese J Geophys, 2004, 47(3): 483–489 (in Chinese with English abstract).
- [33] 范习贝, 梁前勇, 牛明杨, 余甜甜, 王寅熠, 王风平. 中国南海北部陆坡沉积物古菌多样性及丰度分析[J]. 微生物学通报, 2017, 44(7): 1589–1601.  
Fan Xi-bei, Liang Qian-yong, Niu Ming-yang, Yu Tian-tian, Wang Yin-zhao, Wang Feng-ping. The diversity and richness of archaea in the northern continental slope of South China Sea[J]. Acta Microbiol Sinica, 2017, 44(7): 1589–1601 (in Chinese with English abstract).
- [34] 邬黛黛, 叶瑛, 吴能友, 蒋宏晨, 季珊珊, 董海良, 刘坚. 琼东南盆地与甲烷渗漏有关的早期成岩作用和孔隙水化学组分异常[J]. 海洋学报, 2009, 31(2): 86–96.  
Wu Dai-dai, Ye Ying, Wu Neng-you, Jiang Hong-chen, Ji Shan-shan, Dong Hai-liang, Liu Jian. Early diagenesis records and chemical composition abnormalities in pore water for methane-seep in sediments from the southern Qiongdongnan Basin[J]. Acta Oceanol Sinica, 2009, 31(2): 86–96 (in Chinese with English abstract).
- [35] Sinninghe Damsté J S, Rijpstra W I C, Hopmans E C, Prahf F G, Wakeham S G, Schouten S. Distribution of membrane lipids of planktonic crenarchaeota in the Arabian Sea[J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(6): 2997–3002.
- [36] Sinninghe Damsté J S, Ossebaar J, Abbas B, Schouten S, Verschuren D. Fluxes and distribution of tetraether lipids in an equatorial African lake: Constraints on the application of the TEX86 palaeo thermometer and BIT index in lacustrine settings[J]. Geochim Cosmochim Acta, 2009, 73(14): 4232–4249.
- [37] Schefuss E, Herfort L. A novel proxy for terrestrial organic matter in sediments based on branched and isoprenoid tetraether lipids[J]. Earth Planet Sci Lett, 2004, 224(1): 107–116.
- [38] Weijers J W H, Schefuss E, Kim J H, Sinninghe Damsté J S, Schouten S. Constraints on the sources of branched tetraether membrane lipids in distal marine sediments[J]. Org Geochem, 2014, 72: 14–22.
- [39] Schouten S, Hopmans E C, Sinninghe Damsté J S. The organic geochemistry of glycerol dialkyl glycerol tetraether lipids: A review[J]. Org Geochem, 2013, 54(1): 19–61.
- [40] Wuchter C, Schouten S, Wakeham S G, Sinninghe Damsté J S. Archaeal tetraether membrane lipid fluxes in the northeastern Pacific and the Arabian Sea: Implications for TEX86 paleothermometry[J]. Paleoclimatology, 2006, 21(4): 1–9.
- [41] Pitcher A. Crenarchaeol tracks winter blooms of ammonia-oxidizing Thaumarchaeota in the coastal North Sea[J]. Limnol Oceanogr, 2011, 56(6): 2308–2318.
- [42] Guan H X, Sun Y G, Zhu X W, Mao S Y, Feng D, Wu N Y, Chen D F. Factors controlling the types of microbial consortia in cold-seep environments: A molecular and isotopic investigation of authigenic carbonates from the South China Sea[J]. Chem Geol, 2013, 354: 55–64.
- [43] Guan H X, Feng D, Wu N Y, Chen D F. Methane seepage intensities traced by biomarker patterns in authigenic carbonates from the South China Sea[J]. Org Geochem, 2016, 91: 109–119.
- [44] Gontharet S, Stadnitskaia A, Pierre C, Sinninghe Damsté J S. Palaeo methane-seepage history traced by biomarker patterns in a carbonate crust, Nile deep-sea fan (Eastern Mediterranean Sea)[J]. Mar Geol, 2009, 261(1–4): 105–113.
- [45] Pancost R D, Hopmans E C, Sinninghe Damsté J S. Archaeal lipids in Mediterranean cold-seeps: Molecular proxies for anaerobic methane oxidation[J]. Geochim Cosmochim Acta, 2001, 65(10): 1611–1627.
- [46] Schouten S, Wakeham S G, Hopmans E C, Sinninghe Damsté J S. Biogeochemical evidence that thermophilic Archaea mediate the anaerobic oxidation of methane[J]. Appl Environ Microbiol, 2003, 69(3): 1680–1686.
- [47] Elvert M, Suess E, Whiticar M J. Anaerobic methane oxidation associated with marine gas hydrates: Superlight C-isotopes from saturated and unsaturated C<sub>20</sub> and C<sub>25</sub> irregular isoprenoids[J]. Naturwissenschaften, 1999, 86(6): 295–300.
- [48] 于晓果, 韩喜球, 李宏亮, 金肖兵, 龚建明, Suess E, 黄永祥, 吴能友, 苏新. 南海东沙东北部甲烷缺氧氧化作用的生物标志化合物及其碳同位素组成[J]. 海洋学报, 2008, 30(3): 77–84.  
Yu Xiao-guo, Han Xi-qiu, Li Hong-liang, Jin Xiao-bin, Gong Jian-ming, Suess E, Huang Yong-yang, Wu Neng-you, Su Xin. Biomarkers and carbon isotope composition of anaerobic oxidation of methane in sediments and carbonates of northeastern part of Dongsha, South China Sea[J]. Acta Oceanol Sinica, 2008, 30(3): 77–84 (in Chinese with English abstract).