

<https://doi.org/10.3799/dqkx.2021.202>



# 南海北部海马冷泉区表层沉积物的 AOM 生物标志化合物特征及意义

吴一帆<sup>1,3</sup>, 管红香<sup>2\*</sup>, 许兰芳<sup>1,3</sup>, 茅晟懿<sup>1</sup>, 刘磊<sup>2</sup>, 苏正<sup>1</sup>, 刘丽华<sup>1</sup>

1. 中国科学院广州能源研究所, 广东广州 510640

2. 中国海洋大学, 海底科学与探测技术教育部重点实验室, 海洋地球科学学院, 山东青岛 266100

3. 中国科学院大学, 北京 100049

**摘要:** 选取采自南海天然气水合物赋存区海马冷泉, 管状蠕虫区 (ROV06 站位) 和贻贝区 (HM101 站位) 的 2 个表层沉积物柱状样品, 提取其中的生物标志化合物, 对其种类和稳定碳同位素进行了测定, 用以探讨海底表层沉积物中的有机质来源、微生物种群分布及其对冷泉渗漏活动的响应特征. 两个站位的沉积物中均发现了大量与甲烷厌氧氧化古菌 (ANME) 有关的生物标志物, 如 2, 6, 11, 15-四甲基十六烷 (crocetane)、2, 6, 10, 15, 19-五甲基二十烷 (PMI) 等类异戊二烯烃, 古醇 (archaeol)、sn2-羟基古醇 (sn2-OH-Ar) 等, 以及来源于硫酸盐还原菌 (SRB) 的异构/反异构脂肪酸 iso-C<sub>15</sub> 和 ai-C<sub>15</sub> 等. 这些生物标志物均具有极低的碳同位素特征 (古菌生标  $\delta^{13}\text{C}$  值低至  $-126\%$ , 硫酸盐还原菌生标  $\delta^{13}\text{C}$  值低至  $-89\%$ ), 表明沉积物中发生了甲烷厌氧氧化作用 (AOM). ROV06 和 HM101 站位沉积物中均检测到了 crocetane, 大多数 sn2-羟基古醇/古醇大于 1, 同时 ai-C<sub>15</sub>/iso-C<sub>15</sub> 脂肪酸比值小于 2, 这说明两个站位沉积物中的甲烷厌氧氧化古菌主要以 ANME-2/DSS 为主, 指示甲烷渗漏强度较强. ROV06 站位的表层沉积物含有 crocetane, 但 sn2-羟基古醇/古醇小于 1, 且 ai-C<sub>15</sub>/iso-C<sub>15</sub> 脂肪酸比值大于 2.1, 指示了 ANME-1/DSS 和 ANME-2/DSS 混合存在的种群特征, 说明 ROV06 站位顶部甲烷渗漏强度有减小的趋势. 根据古菌种群 ANME-2 化合物对甲烷的碳同位素分馏 ( $\Delta$ :  $-50\%$ ) 及古菌生物标志物 (PMI、古醇、sn2-羟基古醇) 的平均  $\delta^{13}\text{C}$  值, 计算得到甲烷  $\delta^{13}\text{C}$  值 ( $-58\% \sim -53\%$ ), 显示甲烷为热成因和生物成因混合气. 虽然 ROV06 和 HM101 站位的甲烷具有相近的  $\delta^{13}\text{C}$  值, 但 ROV06 站位的 SRB 生物标志物比 HM101 站位要更加亏损  $^{13}\text{C}$  ( $\Delta\delta^{13}\text{C}$ :  $18\%$ ), 这可能与管状蠕虫的共生菌 (硫氧化菌) 吸收硫化物并释放出硫酸盐有关, 因为其不断释放出的硫酸盐很可能极大地增强了甲烷厌氧氧化作用, 使沉积物中含有更多  $^{13}\text{C}$  亏损的无机碳.

**关键词:** 冷泉; 管状蠕虫; 贻贝; 甲烷厌氧氧化古菌; 硫酸盐还原菌; 生物标志化合物; 海洋地质.

中图分类号: P67

文章编号: 1000-2383(2022)08-3005-11

收稿日期: 2021-11-03

## Characteristics and Significance of Biomarkers Related to AOM in Surface Sediments of the Haima Cold Seep in the Northern South China Sea

Wu Yifan<sup>1,3</sup>, Guan Hongxiang<sup>2\*</sup>, Xu Lanfang<sup>1,3</sup>, Mao Shengyi<sup>1</sup>, Liu Lei<sup>2</sup>, Su Zheng<sup>1</sup>, Liu Lihua<sup>1</sup>

1. Guangzhou Institute of Energy Resources, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

2. Frontiers Science Center for Deep Ocean Multispheres and Earth System, Key Lab of Submarine Geosciences and Prospecting

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目 (No. 91958105); 国家重点研发项目 (No. 2018YFC031005) 和广东省基础与应用基础研究重大项目 (No. 2019B030302004).

**作者简介:** 吴一帆 (1996-), 男, 硕士研究生, 主要研究冷泉生物地球化学. ORCID: 0000-0002-2189-829X. E-mail: wuyif@ms.giec.ac.cn

\* **通讯作者:** 管红香, E-mail: guanhongxiang@ouc.edu.cn

**引用格式:** 吴一帆, 管红香, 许兰芳, 茅晟懿, 刘磊, 苏正, 刘丽华, 2022. 南海北部海马冷泉区表层沉积物的 AOM 生物标志化合物特征及意义. 地球科学, 47(8): 3005-3015.

**Citation:** Wu Yifan, Guan Hongxiang, Xu Lanfang, Mao Shengyi, Liu Lei, Su Zheng, Liu Lihua, 2022. Characteristics and Significance of Biomarkers Related to AOM in Surface Sediments of the Haima Cold Seep in the Northern South China Sea. *Earth Science*, 47(8): 3005-3015.

*Techniques, MOE and College of Marine Geosciences, Ocean University of China, Qingdao 266100, China*  
 3. *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*

**Abstract:** In this study, two sediment core samples were collected from the tubeworms area (site ROV06) and mussel area (site HM101) of the Haima cold seep, northern South China Sea. We extracted the lipid biomarkers, analyzed the contents and stable carbon isotopic values to study the source of the organic matter in seabed surface sediments, the distribution of microbial communities and their response to the seep leakage intensity. A large amount of crocetane, PMI, archaeol and *sn2*-hydroxyarchaeol (*sn2*-OH-Ar) related to anaerobic methanotrophic archaea (ANME) and *iso*-C<sub>15</sub> and *ai*-C<sub>15</sub> fatty acids produced by sulfate-reducing bacteria (SRB) were detected. The extremely negative  $\delta^{13}\text{C}$  values of these lipid biomarkers (as low as  $-126\text{‰}$  for archaea biomarkers and  $-89\text{‰}$  for sulfate-reducing bacteria biomarkers) indicated that anaerobic oxidation methane (AOM) occurred in the sediments. Crocetane was detected in the sediments of both ROV06 and HM101 sites, and most of the ratio of *sn2*-OH-Ar/archaeol was higher than 1, while the ratio of *ai*-C<sub>15</sub>/*iso*-C<sub>15</sub> fatty acid was lower than 2, indicating dominated community of ANME-2/DSS consortium in both site and a strong methane leakage intensity. The surface sediment of ROV06 site contained crocetane, whereas the low ratio of *sn2*-OH-Ar/archaeol (less than 1) and high ratio of *ai*-C<sub>15</sub>/*iso*-C<sub>15</sub> fatty acid ( $>2.1$ ) indicated a mixed communities of ANME-1/DSS and ANME-2/DSS and the methane leakage intensity from bottom to surface of ROV06 station with a decreasing trend. The  $\delta^{13}\text{C}$  values of methane ( $-58\text{‰}\sim-53\text{‰}$ ) were calculated based on the carbon isotopic fraction ( $\Delta: -50\text{‰}$ ) of ANME-2 and the mean  $\delta^{13}\text{C}$  values of the archaea biomarkers (PMI, archaeol, *sn2*-OH-Ar), indicating a mixture of thermogenic and biogenic source of methane. Methane at ROV06 and HM101 sites showed similar  $\delta^{13}\text{C}$  values, whereas the  $\delta^{13}\text{C}$  values of the biomarkers derived from SRB at ROV06 was lower than that at HM101 ( $\Delta\delta^{13}\text{C}: 18\text{‰}$ ), which may be related to the absorption of sulfide and the release of sulfates by sulfur-oxidizing bacteria, a symbiotic bacterium of the tubeworms. The continuous release of sulfates was likely to greatly enhance AOM progress, resulting in more  $^{13}\text{C}$ -depleted inorganic carbon in the sediment.

**Key words:** cold seep; tubeworm; mussels; anaerobic methane-oxidizing archaea; sulfate reducing bacteria; lipid biomarker; marine geology.

## 0 引言

冷泉是指广泛分布于主被动大陆边缘,来自沉积界面之下,以水、碳氢化合物、硫化氢、细粒沉积物为主要成分,温度与海水相近的流体活动(陈多福等,2002)。在硫酸盐—甲烷转换界面(sulfate-Methane transition zone, SMTZ),甲烷的消耗主要与甲烷厌氧氧化古菌(anaerobic methanotrophic archaea, ANME)和硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)的协同作用有关,即甲烷厌氧氧化作用(anaerobic oxidation methane, AOM; Hinrichs *et al.*, 1999; Boetius *et al.*, 2000; Knittel and Boetius, 2009)。ANME 氧化甲烷形成  $\text{HCO}_3^-$  的同时,SRB 将沉积孔隙水中的  $\text{SO}_4^{2-}$  还原,该过程伴随着碱度的增加而有利于碳酸盐岩的形成: $\text{CH}_4 + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{HS}^- + \text{HCO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$  (Orphan *et al.*, 2001)。

参与到 AOM 中的微生物种群主要是甲烷厌氧氧化古菌 ANME-1、-2 和 -3, 和硫酸盐还原菌 *Desulfosarcina/Desulfococcus* (DSS) 和 *Desulfobulbus* (DBB; Knittel *et al.*, 2003)。甲烷厌氧氧化古菌群落的发育主要与甲烷原位分压、温度、厌氧度等环境因素有关,ANME-1/DSS 集合体能够适应中低甲

烷通量的冷泉环境,而 ANME-2/DSS 则对中高甲烷渗漏强度及水温较冷的环境适应性更强 (Stadnitskaia *et al.*, 2008)。

AOM 会为冷泉底栖化学自养生物群落提供能量,其中常见的生物类型包括双壳类、管状蠕虫类及菌席等,导致形成独特的冷泉生态系统(王家生等,2007)。甲烷厌氧氧化古菌和硫酸盐还原菌在介导 AOM 的过程中产生一系列具有独特结构的生物标志化合物。这些生物标志化合物作为微生物细胞膜结构的一部分保留了其母源信息,并完好地保存在沉积物和碳酸盐岩中 (Thiel *et al.*, 1999)。生物标志化合物的种类、含量及同位素特征不仅能指示微生物的种群特征,还能够通过微生物对冷泉活动的适应性重建冷泉流体的渗漏和古环境特征(丁玲和赵美训,2010)。因此,生物标志物及其单体碳同位素已经成为研究冷泉生物地球化学过程的重要工具和可靠手段。

我国冷泉的报道最早见于陈多福等人(陈多福等,2002)。大规模冷泉调查则始于2004年,广州海洋地质调查局在南海北部东沙海域发现了大面积自生碳酸盐岩—九龙甲烷礁,2007年台湾学者在台湾西南海域首次发现了活动的海底冷泉。2015年3

月,与天然气水合物赋存相关的大型活动冷泉在南海北部陆坡西北部被发现,并被命名为“海马冷泉”,开启了我国活动冷泉探测与研究的新时代(Liang *et al.*, 2017). 到目前为止,国内外学者通过有机地球化学的方法,已经围绕我国海底冷泉活动历时、流体来源和强度、烃源及气源等一系列地质地球化学问题进行了深入的讨论(Ge *et al.*, 2015; Guan *et al.*, 2018; 甘军等, 2019),但尚未见针对不同大型底栖冷泉生物聚居地的对比研究. 本文拟通过对海马冷泉 ROV06 管状蠕虫区和 HM101 贻贝区两个站位柱状沉积物样品中的脂类生物标志化合物及其  $\delta^{13}\text{C}$  同位素组成进行研究,分析沉积物中有机质的来源,识别 AOM 反应过程中的微生物群落特征,揭示分别由管状蠕虫和贻贝主导的冷泉区的冷泉环境和生物地球化学过程的异同.

## 1 样品采集与实验方法

本次研究的样品采自南海琼东南海域的海马冷泉区,由广州海洋地质调查局海洋地质六号调查船于 2019 年海马冷泉调查航次中采集,具体取样位置见图 1. 两组样品均为表层柱状沉积物样品,水深 1 370~1 500 m, ROV06 柱长 30 cm, HM101 柱长 20 cm. 样品采集后在船上进行切割分样并冷藏保存.

样品运回陆地实验室后冷冻干燥,磨至 200 目,

用二氯甲烷/甲醇(9:1, V/V)混合溶液索氏抽提 72 h. 之后向抽提液接收瓶中加入 C20D42、十九甲基二十烷酸和正构十三醇作为内标. 抽提完成后,将接收瓶中抽提物旋转蒸发浓缩,并转移到 4 mL 细胞瓶中氮气吹干得可溶有机质. 向有机质加入 KOH/CH<sub>3</sub>OH(1 mol/L)溶液在 70 °C 下涡旋回流 2 h,正己烷萃取得中性组分;并在剩余溶液中加入稀 HCl 将 pH 值调为 1,再用正己烷萃取其中的酸性组分.

萃取后的中性组分进行硅胶氧化铝柱层析,依次用 3 倍体积的正己烷、正己烷/二氯甲烷(6:4, V/V)和甲醇洗脱,分别得到烃类、芳烃类和醇类组分. 恒重后醇类组分进行衍生化处理,醇类组分中加入 BSTFA 和吡啶后,放入 70 °C 烘箱加热 1 h 以上. 恒重后酸类组分进行衍生化处理,酸类组分中加入 BF<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH 1~2 mL 后,放入 60 °C 烘箱加热 2 h 以上,衍生化后的酸类衍生物,用正己烷进行萃取. 最后将所得烃类、醇类和酸类衍生物组分进行色谱质谱(GC-MS)和色谱一同位素质谱(GC-IRMS)分析测定.

通过 GC-MS,对烷烃、脂肪醇和脂肪酸的组分进行分析. 气相色谱质谱联用仪型号为 TRACE 1300ISQ,色谱柱型号为 DB-5 毛细管色谱柱(60 m×0.320 mm, i.d. ×0.25 μm 涂层). 进样量为 1 μL. 升温程序为初始温度 60 °C(2 min),从 60 °C 至 150 °C 以 10 °C/min 的速率升温;从 150 °C 至 320 °C 以

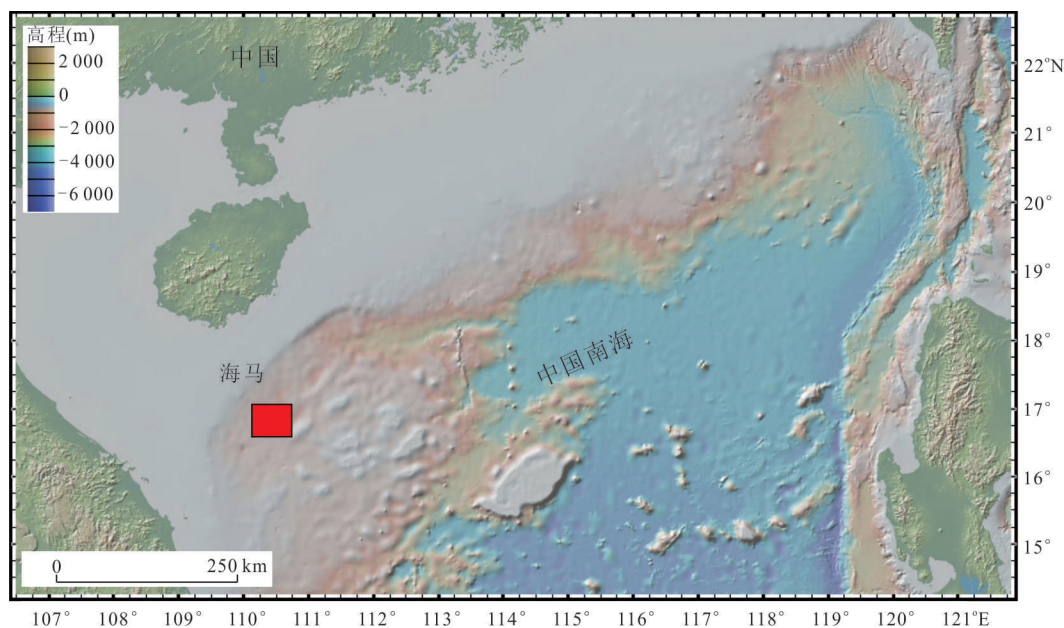


图1 沉积物取样位置图

Fig.1 The location of the sampling sites in this study



4 °C/min 的速率升温, 烃类保留 30 min, 醇类保留 45 min. 采用无分流模式进样, 载气为高纯氦气, 流速 1.2 mL/min.

通过 GC-IRMS, 对烷烃、脂肪醇、脂肪酸的单体碳同位素进行分析. 仪器型号为 IsoPrime 色谱-同位素质谱仪. GC-IRMS 分析要求其升温条件与 GC-MS 相同. 每个样品至少测试 2 次, 同位素测定误差大部分小于 0.5‰. 碳同位素以  $\delta$  表示, V-PDB 标准. 同时对酸和醇类衍生物在分析过程中增加的碳进行碳同位素校正.

## 2 数据分析

### 2.1 烷烃类

本文讨论的烷烃类化合物有类异戊二烯烃和正构烷烃. 类异戊二烯烃主要有 2, 6, 11, 15 四甲基十六烷 (crocetane)、植烷 (phytane)、2, 6, 10, 15, 19 五甲基二十烷 (PMI), 而正构烷烃主要有  $n$ -C<sub>16</sub>~ $n$ -C<sub>33</sub> (图 2). 各层段含量与稳定碳同位素值见附表 1. ROV06 站点和 HM101 两个站点的沉积物均检测到了大量亏损 <sup>13</sup>C 的 crocetane 和 PMI. 其中 crocetane 和植烷共溢出 (于晓果等, 2008).

ROV06 站点的 crocetane/Phytane 含量在 215~1 645 ng/g 之间, PMI 含量在 30~259 ng/g 之间, 分别占烷烃组分的 10%~34% 和 1%~5%, crocetane/phytane 和 PMI 的  $\delta^{13}\text{C}$  值在 -102‰~-72‰ 和 -96‰~-79‰ 之间. HM101 站点沉积物则含有更高含量的 crocetane/phytane 和 PMI, 含量分别在 1 657~3 231 ng/g (纳克/克) 和 506~733 ng/g 之间, 分别占烷烃组分的 8%~12% 和 2%~3%, crocetane/phytane 峰因共溢出导致  $\delta^{13}\text{C}$  值相偏高 (-59‰~-41‰), PMI 的  $\delta^{13}\text{C}$  值则在 -109‰~-91‰ 之间.

此外, 两个站点也检测到了一系列正构烷烃 ( $n$ -C<sub>16</sub>~ $n$ -C<sub>33</sub>). ROV06 站点的正构烷烃含量在 981~4915 ng/g 之间,  $\delta^{13}\text{C}$  值在 -34‰~-25‰ 之间, CPI 在 2.5~4.5 之间, 表层显示出长链和短链的双峰优势, 主碳峰为  $n$ -C<sub>18</sub>、 $n$ -C<sub>29</sub>、 $n$ -C<sub>31</sub>, 而向深层逐渐显示长链优势分布, 主碳峰为  $n$ -C<sub>29</sub> 和  $n$ -C<sub>31</sub>. HM101 站点的正构烷烃含量更高, 在 12 057~18 624 ng/g 之间,  $\delta^{13}\text{C}$  值在 -33‰~-21‰ 之间, CPI 值在 2.3~3.0 之间, 样品整体以长链烷烃占主导, 具有一定的奇偶优势, 主碳峰为  $n$ -C<sub>29</sub> 和  $n$ -C<sub>31</sub>. 正构烷烃具体含量及  $\delta^{13}\text{C}$  值见附表 3, 附表 4.

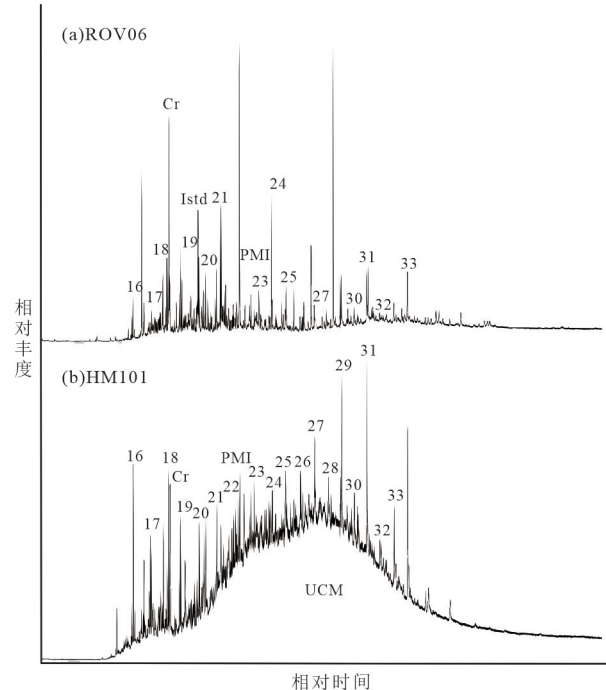


图 2 ROV06 站点(a)和 HM101 站点(b)烷烃类组分的气相色谱图

Fig.2 Gas chromatograms (FID) of hydrocarbon fraction from samples ROV06(a) and HM101(b)

Cr. 2, 6, 11, 15 四甲基十六烷; 罗马数字. 正构烷烃碳数

### 2.2 醇类

检测出的醇类化合物包括 C<sub>14</sub>~C<sub>30</sub> 的正构烷醇, 甾醇, 植醇 (phytaneol) 以及古醇 (Archaeol) 和  $sn2$ -羟基古醇 ( $sn2$ -OH-Archaeol) 等类异戊二烯二烷基甘油二醚化合物 (图 3). 部分化合物的各层段含量与稳定碳同位素值见附表 1.

植醇、古醇和  $sn2$ -羟基古醇在 ROV06 站点沉积物中的含量分别在 18~43 ng/g、11~336 ng/g、6~667 ng/g 之间, 而 HM101 站点沉积物则含有相对含量较高的植醇、古醇以及  $sn2$ -羟基古醇, 其含量分别在 10~201 ng/g、17~935 ng/g、10~2 018 ng/g 之间. 植醇, 类异戊二烯二烷基甘油二醚古醇和  $sn2$ -羟基古醇在 ROV06 和 HM101 站点沉积物中表现出类似的碳同位素亏损特征,  $\delta^{13}\text{C}$  值分别为 -121‰~-83‰ 和 -26‰~-82‰.

### 2.3 酸类

本次研究的样品中检测出的酸类有 C<sub>14</sub>~C<sub>30</sub> 的饱和脂肪酸, 不饱和脂肪酸和异构/反异构脂肪酸 (图 4). 来源于硫酸盐还原菌的酸类化合物主要为异构脂肪酸  $iso$ -C<sub>15</sub>、反异构脂肪酸  $ai$ -C<sub>15</sub> 和 C<sub>16:1 $\omega$ 5</sub> 等. 其含量与稳定碳同位素见附表 2. ROV06 站点中的

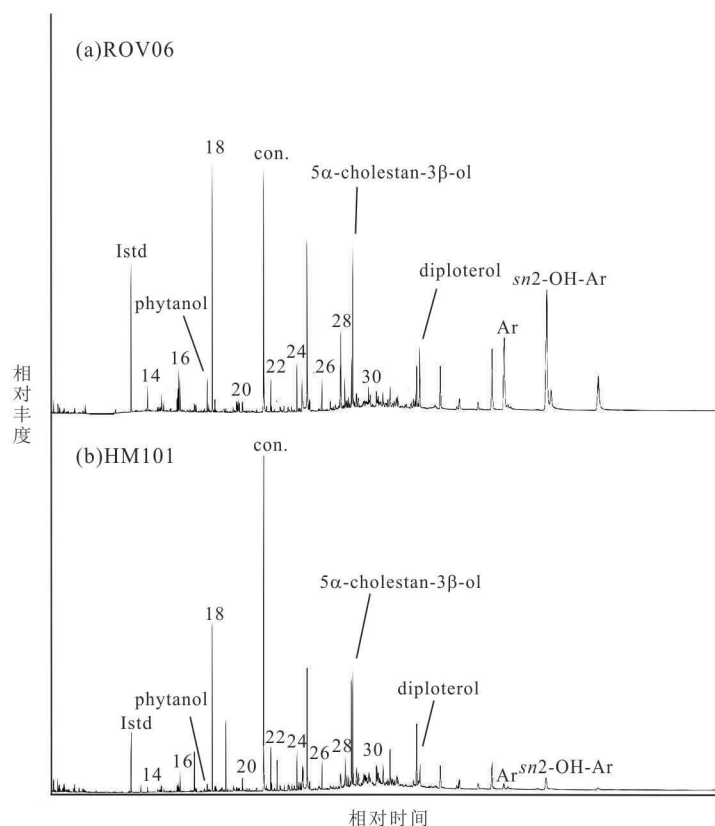


图3 ROV06 站位(a)和HM101 站位(b)醇类组分的气相色谱图

Fig.3 Gas chromatograms (FID) of alcohol fraction from samples ROV06(a) and HM101(b)

Istd. 正构十三醇(标样); phytanol. 植醇; con. 污染峰; 5 $\alpha$ -cholestan-3 $\beta$ -ol. 5 $\alpha$ -胆甾-3 $\beta$ -醇; diploterol. 里白醇; Ar. 古醇; sn2-OH-Ar. sn2-羟基古醇; 罗马数字. 正构醇碳数

*iso*-C<sub>15</sub>、*ai*-C<sub>15</sub> 和 C<sub>16:1 $\omega$ 5</sub> 的含量分别在 31~262 ng/g、80~591 ng/g、32~538 ng/g 之间,  $\delta^{13}\text{C}$  值分别在 -73‰~-51‰、-80‰~-67‰、-89‰~-67‰ 之间. HM101 站点 *iso*-C<sub>15</sub>、*ai*-C<sub>15</sub>、C<sub>16:1 $\omega$ 5</sub> 的含量则在 127~273 ng/g、181~295 ng/g、203~417 ng/g 之间,  $\delta^{13}\text{C}$  值分别为 -53‰~-42‰、-50‰~-43‰、-72‰~-60‰.

虽然 ROV06 和 HM101 两个站位来源于硫酸盐还原菌的脂肪酸化合物 (*i*-/*ai*-C<sub>15:0</sub> 和 C<sub>16:1 $\omega$ 5</sub>) 含量较接近, 但 ROV06 的脂肪酸化合物比 HM101 的更亏损  $^{13}\text{C}$ ,  $\Delta\delta^{13}\text{C}$  在 11.6‰~26.6‰ 之间.

### 3 讨论

#### 3.1 有机质来源

正构烷烃广泛存在于陆地和海洋沉积物中(赵美训等, 2011). 通常来说, 短链正构烷烃主要来源于海洋浮游藻类、光合细菌或蓝细菌(Blumer *et al.*, 1971), 来自海洋浮游藻类的正构烷烃以 *n*-C<sub>15</sub>、*n*-C<sub>17</sub> 和 *n*-C<sub>19</sub> 为主, 具有奇碳数优势, 产自细菌或是石

油污染的正构烷烃不具有明显的奇偶碳数优势(Han *et al.*, 1969); 而来源于陆地高等植物正构烷烃以长链为主, 并具有奇数碳优势特征, 其中, 木本植物的输入以主碳峰 *n*-C<sub>29</sub> 为特征, 而草本植物的输入以主碳峰 *n*-C<sub>31</sub> 为特征(Goi *et al.*, 1997; 崔子恒等, 2021).

因为生物体利用的碳源以及合成自身有机碳的途径不同, 源于陆源生物和海源生物的正构烷烃稳定碳同位素组成同样会显示一定差异(马倩倩等, 2015). 一般来说, 源于海源生物的  $\delta^{13}\text{C}$  值为 -21‰~-19‰, 源于陆源 C3 植物的  $\delta^{13}\text{C}$  值范围为 -28‰~-25‰, 淡水浮游植物相对陆地 C3 植物而言具有更加偏负的正构烷烃碳同位素值 ( $\delta^{13}\text{C}$  为 -40‰~-30‰)(Gretchen *et al.*, 2000).

ROV06 站位的正构烷烃在表层显示出长链和短链的双峰优势, 主碳峰为 *n*-C<sub>18</sub>、*n*-C<sub>29</sub>、*n*-C<sub>31</sub>, 但随着沉积深度增加, 长链烷烃含量逐渐增加, 主碳峰变为为 *n*-C<sub>29</sub> 和 *n*-C<sub>31</sub> (图 5), 站位 CPI 值在 2.5 至 4.5 之间, 且  $\delta^{13}\text{C}$  值在 -34‰~-25‰ 之间. 上述证据

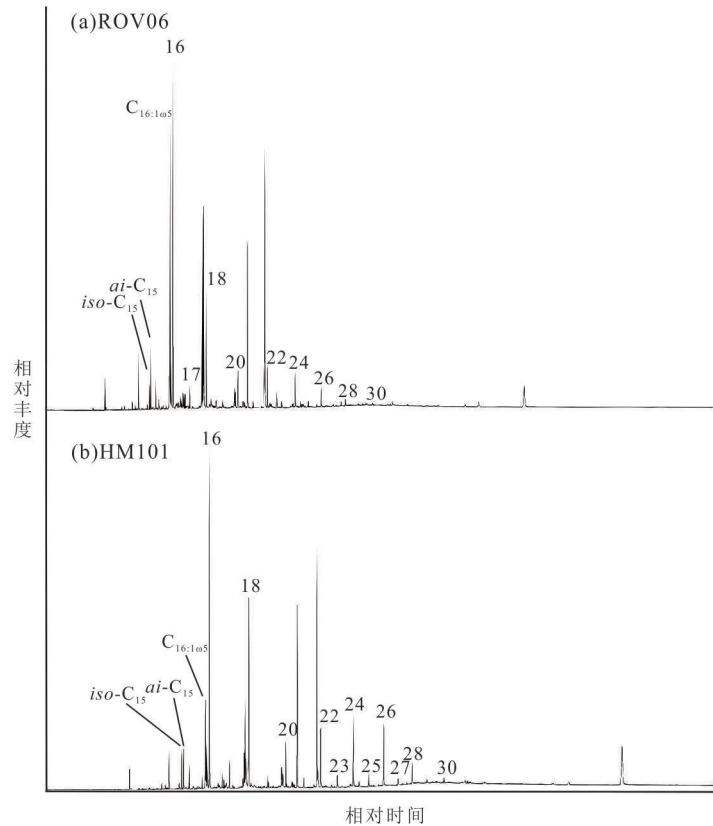


图4 ROV06 站位(a)和HM101 站位(b)酸类组分的气相色谱图

Fig.4 Gas chromatograms (FID) of carboxylic acid fraction from samples ROV06(a) and HM101(b)

表明 ROV06 站位属于海陆源混合输入,且陆源相对更占优势一些,该优势在沉积柱深层更加明显. HM101 站位的正构烷烃以长链烷烃占主导,具有一定的奇偶优势,主碳峰为  $n\text{-C}_{29}$  和  $n\text{-C}_{31}$  (图5), CPI 值在 2.3 至 3.0 之间,且  $\delta^{13}\text{C}$  值在  $-33\text{‰}$ ~ $-21\text{‰}$  之间. 这表明 HM101 站位整体也是属于海陆源混合输入,且陆源输入更占优势. HM101 站位在烷烃类气相色谱图上表现出明显的 UCM (unresolved complex mixture) 现象 (图2), 显示有深部烃类渗漏和强烈的生物降解现象 (Meyers *et al.*, 2003), 表明有机质来源中可能也有深部渗漏烃类的贡献.

类异戊二烯烃 crocetane 来源于甲烷厌氧氧化古菌,通常会和 PMI 共同出现 (Robson *et al.*, 1993). 在气相色谱质谱图中 (图2), crocetane 与植烷呈现共溢出现象,植烷通常来自于渗漏烃类和叶绿素,相比 crocetane 会相对富集  $^{13}\text{C}$  (Guan *et al.*, 2018), 因此导致 crocetane/植烷共溢峰相比起 PMI 等甲烷厌氧氧化古菌生物标志物要具备更高的  $\delta^{13}\text{C}$  值 (附表1). 自然界中嗜盐微生物、嗜热微生物和产甲烷菌均可合成古醇. 冷泉环境中广泛存在的古醇和  $sn2\text{-}/sn3\text{-}$ 羟基古醇主要由产甲烷古菌、甲烷厌氧

氧化古菌所合成,也有报道指出嗜盐古菌也能合成  $sn2\text{-}$ 羟基古醇 (潘安阳等, 2017). 异构/反异构脂肪酸  $i\text{-C}_{15:0}/ai\text{-C}_{15}$  和单不饱和脂肪酸  $\text{C}_{16:1\omega5}$  等则来自于硫酸盐还原菌 SRB. 在对海马冷泉两个站位的表层沉积物中,异构/反异构脂肪酸亏损  $^{13}\text{C}$  的稳定碳同位素特征表明了甲烷厌氧氧化古菌和硫酸盐还原菌在 AOM 及硫酸盐还原反应中的紧密结合关系 (Gontharet *et al.*, 2009).

### 3.2 AOM 微生物种群及气源特征

典型的甲烷厌氧氧化古菌生物标志化合物有  $\text{C}_{20}$  和  $\text{C}_{25}$  不规则尾尾相连的类异戊二烯烃 (crocetane、PMI)、古醇和  $sn2\text{-}$ 羟基古醇 (Guan *et al.*, 2018). 通常, ANME-1 和 ANME-2 都能够合成  $^{13}\text{C}$  亏损的 PMI, 而 crocetane 主要由 ANME-2 合成, 在 ANME-1 主导的冷泉渗漏环境中, crocetane 的含量很低甚至不存在 (Birgel *et al.*, 2011). 古醇和  $sn2\text{-}$ 羟基古醇在 ANME-1 和 ANME-2 的微生物群中都有发现, 其比值可作为鉴别两个种群的依据, 通常在 ANME-1 占主导时,  $sn2\text{-}$ 羟基古醇/古醇的值介于 0~0.8 之间 (平均值  $0.3\pm 0.1$ ), 而 ANME-2 占主导时  $sn2\text{-}$ 羟基古醇/古醇的值介于 1.1~5.5 之间 (平均

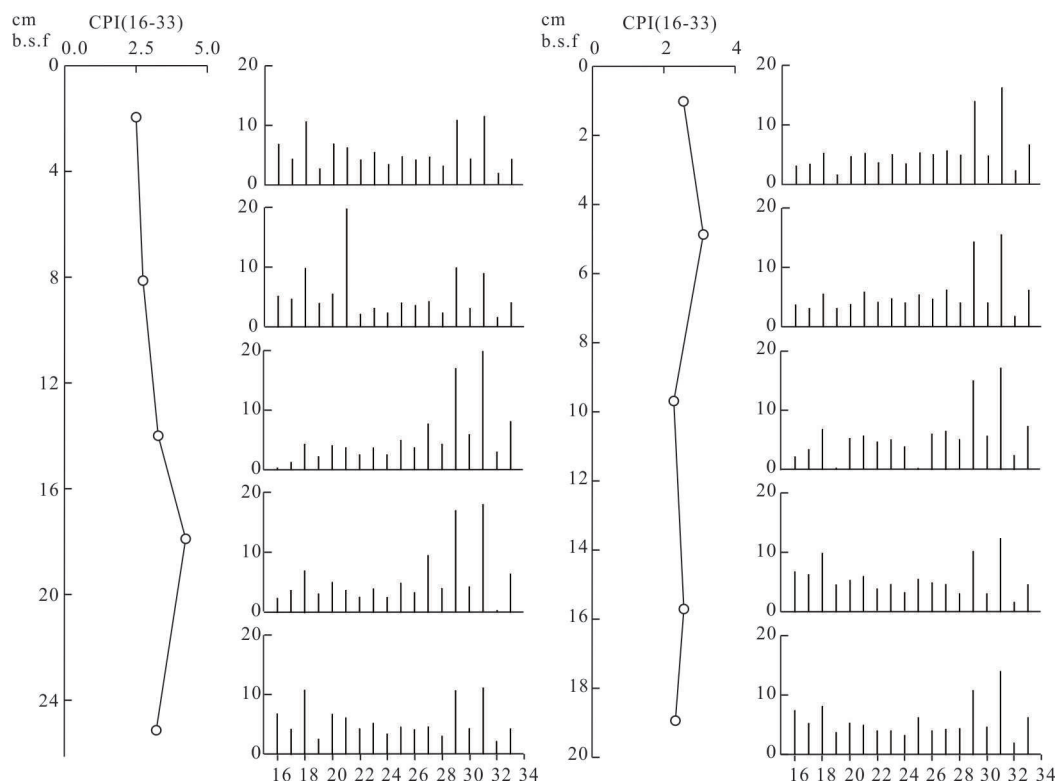


图 5 ROV06 站位(左)和 HM101 站位(右)正构烷烃相对含量 (%) 和 CPI 变化

Fig.5 variation of CPI and relative amount of *n*-alkanes of ROV06(left) and HM101(right)

值  $2.6 \pm 0.4$ ; Elvert *et al.*, 2010; Blumenberg *et al.*, 2004). *ai*-C<sub>15</sub>/*iso*-C<sub>15</sub> 脂肪酸比值这一指标常被用来确定 AOM 反应中与 ANME 耦合的硫酸盐还原菌 SRB 的种类. 已有的研究指出 *ai*-C<sub>15</sub>/*iso*-C<sub>15</sub> 脂肪酸比值在 ANME-1/DSS (平均  $3.0 \pm 0.9$ ) 主导的环境中通常要比 ANME-2/DSS (平均  $1.6 \pm 0.3$ ) 的要高 (Niemann *et al.*, 2008).

ROV06 站位所有样品均检测出了 crocetane 和 PMI, 且 12~14 cm 层段、18~20 cm 层段及 24~26 cm 层段的样品中, *sn*2-羟基古醇/古醇的比值均大于 2 (图 6), 显示了 ANME-2/DSS 种群占主导的特征. 然而, 在 0~2 cm 层段和 6~8 cm 层段 *sn*2-羟基古醇/古醇的比值都是 0.5, 且 *ai*-C<sub>15</sub>/*iso*-C<sub>15</sub> 脂肪酸比值由表层到底层逐渐从大于 2.1 转变成为小于 2 (1.2~1.9; 图 6), 这两个指标变化表明该站位表层沉积物有 ANME-1/DSS 的贡献, 而深层则由 ANME-2/DSS 主导. 同时, C<sub>16:1ω5</sub>/*iso*-C<sub>15</sub> 脂肪酸比值也表现出从表层向深层逐渐增大的趋势, 反映了微生物种群在剖面上存在变化以及 ANME-2/DSS 在地层深处占优. HM101 站位的所有样品也均检测出了 crocetane 和 PMI, 且所有样品的 *sn*2-羟基古醇/古醇的比值均大于 1.1. 同时, HM101 站点沉积

物中的 *ai*-C<sub>15</sub>/*iso*-C<sub>15</sub> 脂肪酸比值始终小于 2 (图 7), 说明是 HM101 站位的 AOM 整体是由 ANME-2/DSS 主导的 (Guan *et al.*, 2019a).

综上, ROV06 站位整体以 ANME-2/DSS 占主导, 在浅层 (0~2 cm、6~8 cm) 有 ANME-1/DSS 的参与, 而 HM101 站位整体都由 ANME-2/DSS 占主导.

甲烷厌氧氧化古菌在利用甲烷合成细胞膜的过程中, 会产生一定的碳同位素分馏. 一般来说, 由于 ANME-2 的细胞膜对甲烷具有更高的代谢速率, 这会导致其合成的生物标志物化合物对甲烷的碳同位素分馏值高达 50‰, 而 ANME-1 合成的生物标志物对甲烷的碳同位素分馏值约为 30‰ (Niemann *et al.*, 2008). 我们根据两个站位古菌生物标志物 (PMI、*sn*2-羟基古醇、古醇) 的平均 δ<sup>13</sup>C 值, ROV06 站位 0~2 cm 与 6~8 cm 层段微生物种群分布按 ANME-1/DSS:ANME-2/DSS=1:1 (分馏 <sup>13</sup>C 的值为 40‰), ROV06 剩余层段和 HM101 站位沉积物按 ANME-2/DSS (分馏 <sup>13</sup>C 的值为 50‰) 计算, ROV06 站位的甲烷 δ<sup>13</sup>C 值约在 -56‰~-53‰ 之间, 而 HM101 站位的甲烷 δ<sup>13</sup>C 值约为 -58‰. 上述结果表明, 两个站位的甲烷气均属于混合成因气. 这与前



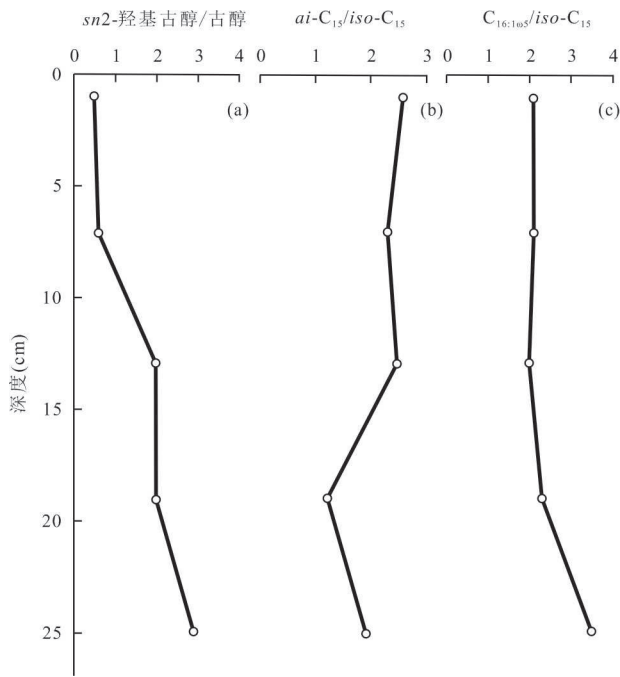


图6 ROV06 站点 *sn2*-羟基古醇/古醇(a)、*ai-C*<sub>15</sub>/*iso-C*<sub>15</sub> 脂肪酸(b)、*C*<sub>16:1ω5</sub>/*iso-C*<sub>15</sub> 脂肪酸(c) 比值变化

Fig.6 Variation of ratios of *sn2*-OH-Ar/Ar (a), *ai-C*<sub>15</sub>/*iso-C*<sub>15</sub> fatty acids(b), *C*<sub>16:1ω5</sub>/*iso-C*<sub>15</sub> fatty acids (c) from site ROV06

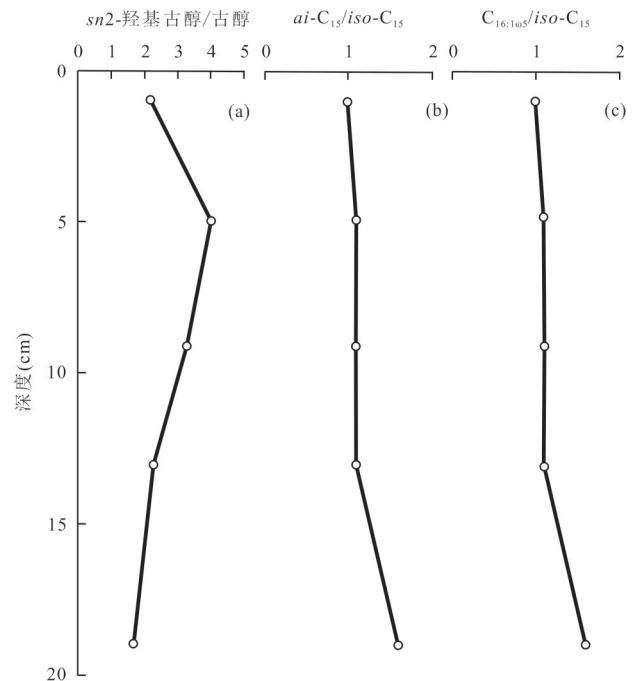


图7 HM101 站点 *sn2*-羟基古醇/古醇(a)、*ai-C*<sub>15</sub>/*iso-C*<sub>15</sub> 脂肪酸(b)、*C*<sub>16:1ω5</sub>/*iso-C*<sub>15</sub> 脂肪酸(c) 比值变化

Fig.7 Variation of ratio of Ar/*sn2*-OH-Ar (a), *ai-C*<sub>15</sub>/*iso-C*<sub>15</sub> fatty acids (b), *C*<sub>16:1ω5</sub>/*iso-C*<sub>15</sub> fatty acids (c) from site HM101

人对海马冷泉水合物样品分解气进行的气体成分测试( $1000 > C1/(C2+C3) > 100$ )及稳定同位素测试结果( $-55\% > \delta^{13}C > -65\%_0$ )相一致(Fanget al., 2019; 张伟等, 2020)。

### 3.3 冷泉生物分布的原因及大型生物对环境同位素模式的影响

正如上述  $\delta^{13}C$  极负的生物标志化合物模式所揭示的, HM101 站点及 ROV06 站点深部的 AOM 作用是由 ANME-2/DSS 的微生物集合体主导, 而在 ROV06 站位的顶部, 则主要由 ANME-1/DSS 和 ANME-2/DSS 共同介导。通常, 微生物种群 ANME/SRB 的分布会受冷泉环境甲烷浓度的影响, ANME-1/DSS 集合体在中低浓度甲烷环境中比较活跃, 而 ANME-2/DSS 则更多地出现在高甲烷分压的渗漏环境中(Nauhaus et al., 2010; Guan et al., 2019b)。

在本次研究中, ROV06 站点深部和 HM101 站点沉积物中的 ANME-2/DSS 的微生物种群特征代表了较强的甲烷渗漏特征, 而 ROV06 站点表层沉积物中 ANME-1/DSS 和 ANME-2/DSS 的共存特征说明甲烷渗漏活动强度在表层有所降低。ROV06 站位的沉积物样品采自海马活动冷泉管状蠕虫区, HM101 站位的样品采自贻贝区, 表明管状蠕虫主要

生存在冷泉流体渗漏强度偏低的环境里, 而贻贝则主要分布在具有高浓度甲烷的环境中, 这与前人研究所得出的结论相一致(陈忠等, 2007)。横向对比两个站点之间的甲烷厌氧氧化古菌和硫酸盐还原菌生物标志物的丰度可以发现, HM101 站点的古菌、细菌生物标志物丰度要明显高于 ROV06, 这可能是由于 HM101 站点沉积物具有更高的古菌、细菌生物量。

除此之外, 两个站点检测到的 *iso-C*<sub>15</sub>、*ai-C*<sub>15</sub>、*C*<sub>16:1ω5</sub> 脂肪酸等 SRB 生物标志物具有显著的  $\delta^{13}C$  差异。如, 管状蠕虫区(ROV06)的 SRB 生物标志物要比贻贝区(HM101)的更加亏损  $^{13}C$ , 两个站点 *iso-C*<sub>15</sub>、*ai-C*<sub>15</sub>、*C*<sub>16:1ω5</sub> 的  $\Delta\delta^{13}C$  值分别为  $15.8\%_0$ 、 $26.6\%_0$ 、 $11.6\%_0$  (平均  $\Delta\delta^{13}C$ :  $18\%_0$ )。曾有学者对墨西哥湾管状蠕虫区和贻贝区冷泉碳酸盐岩进行过生物标志化合物研究, 发现 *iso-ai-C*<sub>15</sub> 和 *iso-ai-C*<sub>17</sub> 脂肪酸在管状蠕虫区碳酸盐岩样品中的  $\delta^{13}C$  值( $-120\%_0 \sim -107\%_0$ )要明显低于贻贝区碳酸盐岩中的  $\delta^{13}C$  值( $-87\%_0 \sim -77\%_0$ ),  $\Delta\delta^{13}C$  甚至达到了  $-32\%_0$  (Guan et al., 2019b)。冷泉环境中, 管状蠕虫与硫氧化菌共生并从周围环境中吸收硫化物, 硫化物经共生菌利用后向沉积物中排放作为产物的氢离子和硫酸根离



子,该过程极大地增强了硫酸盐驱动的AOM作用而导致沉积物中富集 $^{12}\text{C}$ 。本研究中,由于两个站位的甲烷 $\delta^{13}\text{C}$ 值非常接近,且管状蠕虫区沉积物中的硫酸盐还原菌生物标志物表现出了更亏损 $^{13}\text{C}$ 的特征,这进一步印证了管状蠕虫与硫化菌共生释放出的硫酸盐加强了AOM作用,并促进了 $^{13}\text{C}$ 亏损的无机碳在其周围环境中聚集(Dattagupta *et al.*, 2006)。上述讨论揭示了在冷泉渗漏活动影响冷泉生物种群分布的同时,大型后生生物也会对局部的生物地球化学微环境进行改造。

## 4 结论

为研究南海海马冷泉表层沉积物中的有机质来源、AOM作用情况以及其中主导AOM作用的微生物种群,本文对海马冷泉ROV06站位和HM101站位柱状沉积物中的生物标志化合物进行了分析。极负 $\delta^{13}\text{C}$ 值的生物标志化合物(crocoetane、PMI、sn2-羟基古醇、古醇和异构/反异构脂肪酸*iso-/ai-C<sub>15</sub>*等)显示两个站位存在强烈的AOM作用,且生物标志物的碳源是来自于热成因和生物成因混合甲烷气。生物标志化合物组合和分布特征显示,ROV06站位和HM101站位的有机质均来源于陆地和海洋的混合输入, HM101站位的UCM现象显示可能有海底渗漏的深部烃类的参与。HM101区主导AOM作用的微生物种群以ANME-2/DSS为主,而ROV06站位上部层段为ANME-2/DSS与ANME-1/DSS共存,下部层段以ANME-2/DSS为主,反映了HM101站位整体甲烷通量较高的冷泉环境,而ROV06区表层的甲烷通量较低,深层的甲烷渗漏通量相对较高。这为贻贝生存的深海冷泉环境甲烷浓度较高,而管状蠕虫生存在甲烷浓度降低的环境这一生态现象提供了生物标志化合物的证据。对比站点之间SRB生物标志物的 $\delta^{13}\text{C}$ 发现ROV06区存在更强的AOM作用,可能是管状蠕虫与共生的硫营养生物将沉积物SMTZ带中的硫化物转化为硫酸盐进一步推动沉积物中硫酸盐驱动的AOM作用,使沉积物中含有更多亏损 $^{13}\text{C}$ 的无机碳而导致。

附表见本刊官网([www.earth-science.net](http://www.earth-science.net))。

## References

Birgel, D., Feng, D., Harry, H., et al., 2011. Changing Redox Conditions at Cold Seeps as Revealed by Authigenic Carbonates from Alaminos Canyon, Northern Gulf of

Mexico. *Chemical Geology*, 285(1–4):82–96. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2011.03.004>

Blumenberg, M., Seifert, R., Reitner, J., et al., 2004. Membrane Lipid Patterns Typify Distinct Anaerobic Methanotrophic Consortia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(30): 11111–11116. <https://doi.org/10.1073/pnas.0401188101>

Blumer, M., Guillard, R., Chase, T., 1971. Hydrocarbons of Marine Phytoplankton. *Marine Biology*, 8(3): 183–189. <https://doi.org/10.1007/BF00355214>

Boetius, A., Ravensschlag, K., Schubert, C. J., et al., 2000. A Marine Microbial Consortium Apparently Mediating Anaerobic Oxidation of Methane. *Nature*, 407(6804): 623–626. <https://doi.org/10.1038/35036572>

Chen, D.F., Chen, X.P., Chen G.Q., 2002. Geology and Geochemistry of Cold Seepage and Venting-Related Carbonates. *Acta Sedimentologica Sinica*, (1): 34–40(in Chinese with English abstract).

Chen, Z. Yang, H.P., Huang Y.Q., et al., 2007. Characteristics of Cold Seeps and Structures of Chemoautotrophic-Based Communities in Seep Sediments. *Journal of Tropical Oceanography*, (06): 73–82(in Chinese with English abstract).

Cui, Z.H., He, Z.H., Jia, G.D., 2021. Composition Distribution of N-Alkanes in Slope Sediments of the Northeast Sunda Shelf Since the Last Glacial Period and Its Palaeo-Vegetation Significance. *Earth Science*, 46(01): 331–340(in Chinese with English abstract).

Dattagupta, S., Miles, L. L., Barnabei, M. S., et al., 2006. The Hydrocarbon Seep Tubeworm *Lamellibrachia luymesii* Primarily Eliminates Sulfate and Hydrogen Ions across Its Roots to Conserve Energy and Ensure Sulfide Supply. *Journal of Experimental Biology*, 209(19): 3795–3805. <https://doi.org/10.1242/jeb.02413>

Ding, L., Zhao, M. X., 2010. Application Of Biomarkers And Carbon Isotopes to Cold Seep Biogeochemical Processes. *Marine Geology & Quaternary Geology*, 30(2): 133–142(in Chinese with English abstract).

Elvert, M., Hopmans, E., Treude, T., et al., 2010. Spatial Variations of Methanotrophic Consortia at Cold Methane Seeps: Implications from a High-Resolution Molecular and Isotopic Approach. *Geobiology*, 3(3): 195–209. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2005.00051.x>

Fang, Y.X., Wei, J.G., Gu, H.L., et al., 2019. Chemical and Structural Characteristics of Gas Hydrates from the Haima Cold Seeps in the Qiongdongnan Basin of the South China Sea. *Journal of Asian Earth Sciences*, (182): 56–78. <https://doi.org/10.1016/j.jseas.2019.103924>

- Gan, J., Zhang, Y.Z., Liang, G., et al., 2019. Deposition Pattern and Differential Thermal Evolution of Source Rocks, Deep Water Area of Qiongdongnan Basin. *Earth Science*, 44(08):2627–2635(in Chinese with English abstract).
- Ge, L., Jiang, S.Y., Blumenberg M, et al., 2015. Lipid Biomarkers and Their Specific Carbon Isotopic Compositions of Cold Seep Carbonates from the South China Sea. *Marine and Petroleum Geology*, 66: 501–510. <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2015.02.005>
- Goi, M. A., Ruttenger, K. C., Eglinton, T. I., 1997. Sources and Contribution of Terrestrial Organic Carbon in the Gulf of Mexico. *Nature*, 389(6648): 275–278. <https://doi.org/10.1038/38477>
- Gontharet, S., Stadnitskaia, A., Bouloubassi, I., et al., 2009. Palaeo Methane-Seepage History Traced by Biomarker Patterns in a Carbonate Crust, Nile Deep-Sea Fan (Eastern Mediterranean Sea). *Marine Geology*, 261(1–4):105–113. <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2008.11.006>
- Guan, H.X., Birgel, D., Peckmann, J., et al., 2018. Lipid Biomarker Patterns of Authigenic Carbonates Reveal Fluid Composition and Seepage Intensity at Haima cold Seeps, South China Sea. *Journal of Asian Earth Sciences*, 168(DEC.): 163–172. <https://doi.org/10.1016/j.jseas.2018.04.035>
- Guan, H.X., Feng, D., Birgel D, et al., 2019a. Lipid Biomarker Patterns Reflect Different Formation Environments of Musseland Tubeworm Dominated Seep Carbonates from the Gulf of Mexico (Atwater Valley and Green Canyon). *Chemical Geology*, 505: 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2018.12.005>
- Guan, H.X., Sun, Z.L., Mao, S.Y., et al., 2019b. Authigenic Carbonate Formation Revealed by Lipid Biomarker Inventory at Hydrocarbon Seeps: A Case Study From the Okinawa Trough. *Marine and Petroleum Geology*, 101:502–511. <https://doi.org/10.1016/j.marpetgeo.2018.12.028>
- Gretchen, D., Onstad, A., et al., 2000. Sources of Particulate Organic Matter in Rivers from the Continental USA: Lignin Phenol and Stable Carbon Isotope Compositions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 64(20): 3539–3546. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(00\)00451-8](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(00)00451-8)
- Han, J., Calvin, M., 1969. Hydrocarbon Distribution of Algae and Bacteria, and Microbiological Activity in Sediments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 64(2): 436–443. <https://doi.org/10.1073/pnas.64.2.436>
- Hinrichs, K. U., Hayes, J. M., Sylva, S. P., et al., 1999. Methane-Consuming Archaeobacteria in Marine Sediments. *Nature*, 398(6730). <https://doi.org/10.1038/19751>
- Liang, Q.Y., Hu, Y., Feng, D., et al., 2017. 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. *Deep Sea Res Pt I: Oceanogr Res Pap*, 124: 31–41. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2017.04.015>
- Ma, Q.Q., Wei, X., Wu, Y., et al., 2015. Composition and Distribution of Organic Matter in the Surface Sediments of the Changjiang River in Post-Three Gorges Dam period. *China Environmental Science*, 35(08): 2485–2493 (in Chinese with English abstract).
- Meyers, P., 2003. Applications of Organic Geochemistry to Paleolimnological Reconstructions: A Summary of Examples from the Laurentian Great Lakes. *Organic Geochemistry*, 34(2): 261–289. [https://doi.org/10.1016/S0146-6380\(02\)00168-7](https://doi.org/10.1016/S0146-6380(02)00168-7)
- Nauhaus, K., Treude, T., Boetius, A., et al., 2010. Environmental Regulation of the Anaerobic Oxidation of Methane: A Comparison of ANME - I and ANME - II Communities. *Environmental Microbiology*, 7(1): 98–106. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2004.00669.x>
- Niemann, H., Elvert, M., 2008. Diagnostic Lipid Biomarker and Stable Carbon Isotope Signatures of Microbial Communities Mediating the Anaerobic Oxidation of Methane with Sulphate. *Organic Geochemistry*, 39(12):1668–1677. <https://doi.org/10.1016/j.orggeochem.2007.11.003>
- Knittel, K., Boetius, A., Lemke, A., et al., 2003. Activity, Distribution, and Diversity of Sulfate Reducers and Other Bacteria in Sediments above Gas Hydrate (Cascadia Margin, Oregon). *Geomicrobiology*, 20(4): 269–294. <https://doi.org/10.1080/014904503003896>
- Knittel, K., Boetius, A., 2009. Anaerobic Oxidation of Methane: Progress with an Unknown Process. *Annual review of microbiology*, 63(1): 311–334. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.61.080706.093130>
- Orphan, V. J., Hinrichs, K. U., Ussler, W., et al., 2001. Comparative Analysis of Methane-Oxidizing Archaea and Sulfate-Reducing Bacteria in Anoxic Marine Sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(4):1922–1934. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.4.1922-1934.2001>
- Pan, A.Y., Shen, B.J., Yao, S.P., et al., 2017. Advances in Biogeochemical Study of Glycerol Diether Membrane Lipids. *Marine Geology Frontiers*, 33(09):1–12(in Chinese with English abstract).
- Wang, J.S., Wang, Y.B., Li, Q., 2007. Potential Relationship between Extremophiles and Hydrocarbon Resources in Marine Extreme Environment, *Earth Science*, 32(6):

- 781—788(in Chinese with English abstract).
- Yu, X.G., Han, X.Q., Li, H.L., et al., 2008. Biomarkers and Carbon Isotope Composition of Anaerobic Oxidation of Methane in Sediments and Carbonates of Northeastern Part of Dongsha, South China Sea, *Acta Oceanologica Sinica*, (03):77—84(in Chinese with English abstract).
- Robson, J., Rowland, S., 1993. Chromatographic and Spectral Characterisation of 2, 6, 11, 15-Tetramethylhexadecane (Croctane) and 2, 6, 9, 13-Tetramethyltetradecane: Reference Acyclic Isoprenoids for Geochemical Studies. *Organic geochemistry*, 20(7): 1093—1098. [https://doi.org/10.1016/0146-6380\(93\)90117-T](https://doi.org/10.1016/0146-6380(93)90117-T)
- Stadnitskaia, A., Nadezhkin, D., Abbas, B., et al., 2008. Carbonate Formation by Anaerobic Oxidation of Methane: Evidence from Lipid Biomarker and Fossil 16S rDNA. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 72(7):1824—1836.<https://doi.org/10.1016/j.gca.2008.01.020>
- Thiel, V., Peckmann, J., Seifert, R., et al., 1999. Highly Isotopically Depleted Isoprenoids: Molecular Markers for Ancient Methane Venting. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63(23—24): 3959—3966. [https://doi.org/10.1016/S0016-7037\(99\)00177-5](https://doi.org/10.1016/S0016-7037(99)00177-5)
- Zhang, W., Liang, J.Q., Lu, J.A., et al., 2020. Characteristics and Controlling Mechanism of Typical Leakage Gas Hydrate Reservoir Forming System in the Qiongdongnan Basin, northern South China Sea, *Natural Gas Industry*, 40(8):90—99(in Chinese with English abstract).
- Zhao, M. X., Zhang, Y. Z., Xing, L., et al., 2011. The Composition and Distribution of N-Alkanes in Surface Sediments from the South Yellow Sea and Their Potential as Organic Matter Source Indicators, *Periodical of Ocean University of China*, 41(4): 90—96(in Chinese with English abstract).
- 陈多福,陈先沛,陈光谦,2002.冷泉流体沉积碳酸盐岩的地质地球化学特征.沉积学报,(1):34—40.
- 陈忠,杨华平,黄奇瑜,等,2007.海底甲烷冷泉特征与冷泉生态系统的群落结构.热带海洋学报,(6):73—82
- 崔子恒,贺娟,贾国东,2021.末次冰期以来巽他陆架东北部陆坡区正构烷烃分布特征及其古植被意义.地球科学,46(1):331—340.
- 丁玲,赵美训,2010.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.海洋地质与第四纪地质,30(2):133—142.
- 甘军,张迎朝,梁刚,等,2019.琼东南盆地深水区烃源岩沉积模式及差异热演化.地球科学,44(8):2627—2635.
- 马倩倩,魏星,吴莹,等,2015.三峡大坝建成后长江河流表层沉积物中有机物组成与分布特征.中国环境科学,35(8):2485—2493.
- 潘安阳,申宝剑,姚素平,等,2017.甘油二醚膜类脂化合物的生物地球化学研究进展.海洋地质前沿,33(9):1—12.
- 王家生,王永标,李清,2007.海洋极端环境微生物活动与油气资源关系.地球科学,(6):781—788.
- 于晓果,韩喜球,李宏亮,等,2008.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.海洋学报(中文版),(3):77—84.
- 张伟,梁金强,陆敬安,等,2020.琼东南盆地典型渗漏型天然气水合物成藏系统的特征与控藏机制.天然气工业,40(8):90—99.
- 赵美训,张玉琢,邢磊,等,2011.南黄海表层沉积物中正构烷烃的组成特征、分布及其对沉积有机质来源的指示意义.中国海洋大学学报(自然科学版),41(4):90—96.