微生物学报
Acta Microbiologica Sinica
2024, 64(12): 4537–4560
http://journals.im.ac.cn/actamicrocn
DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20240508

深海冷泉微生物遗传资源研究进展

廖静[1]，姜秋云[1]，韩迎春[1]，肖曦[2]，董西洋[1,3*]

1 自然资源部第三海洋研究所，海洋生物遗传资源重点实验室，福建 厦门 361005
2 中国地质调查广州海洋地质调查局，广东 广州 511458
3 中国地质调查局青岛海洋地质研究所，自然资源部天然气水合物重点实验室，山东 青岛 266237

廖静，姜秋云，韩迎春，肖曦，董西洋. 深海冷泉微生物遗传资源研究进展[J]. 微生物学报, 2024, 64(12): 4537-4560.
LIAO Jing, JIANG Qiuyun, HAN Yingchun, XIAO Xi, DONG Xiyang. Research progress of microbial genetic resources in deep-sea cold seeps[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(12): 4537-4560.

摘　要：深海冷泉由甲烷等烃类化合物渗漏形成，其独特的生态环境孕育了新颖且系统发育多样的原核生物、真核生物和病毒。冷泉微生物通过化能合成作用获得能量和物质，驱动碳、硫、氮等元素的生物地球化学循环，维持着冷泉生态系统的稳定。冷泉生境蕴含丰富的微生物遗传资源，特别是极端环境下产生的酶和次级代谢产物，具有脱卤、固氮和抗菌等作用，在农业、药物开发和环境保护等领域展现出潜在的应用前景。此外，冷泉微生物与天然气水合物开采的环境影响评估紧密相关，并在全球气候变化中扮演重要角色。为了有效开发深海冷泉微生物的遗传资源，未来研究应通过原位采样、测序和培养技术，结合环境参数监测，深入探讨冷泉微生物的生态角色与进化机制，挖掘冷泉微生物的基因资源，研究水合物开采中的微生物响应，从而为全面开发深海冷泉微生物遗传资源及水合物资源提供科学依据。

关键词：深海冷泉；微生物遗传资源；生物地球化学循环；天然气水合物；气候变化

资助项目：国家自然科学基金(92351304, 42376115)；福建省自然科学基金(2023J06042)；自然资源部天然气水合物重点实验室开放基金(KLFH-2023-03)；广州海洋地质调查局局长科研基金(2023GMGSJZJJ00017)
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (92351304, 42376115), the Natural Science Foundation of Fujian Province (2023J06042), the Open Fund of Key Laboratory of Gas Hydrate, Ministry of Natural Resources (KLFH-2023-03), and the Director General's Scientific Research Fund of Guangzhou Marine Geological Survey (2023GMGSJZJJ00017).
*Corresponding author. E-mail: dongxiyang@tio.org.cn
Received: 2024-08-17; Accepted: 2024-11-19

Research progress of microbial genetic resources in deep-sea cold seeps

LIAO Jing[1], JIANG Qiuyun[1], HAN Yingchun[1], XIAO Xi[2], DONG Xiyang[1,3*]

1 Key Laboratory of Marine Biogenetic Resources, Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, Fujian, China
2 Guangzhou Marine Geological Survey, China Geological Survey, Guangzhou 511458, Guangdong, China
3 Key Laboratory of Gas Hydrate, Ministry of Natural Resources, Qingdao Institute of Marine Geology, China Geological Survey, Qingdao 266237, Shandong, China

Abstract: Deep-sea cold seeps are formed by the leakage of hydrocarbons such as methane, creating unique eco-environments that foster novel and phylogenetically diverse prokaryotes, eukaryotes, and viruses. Cold seep microorganisms obtain energy and substances through chemosynthesis, driving the biogeochemical cycles of elements such as carbon, sulfur, and nitrogen, thereby maintaining the stability of the cold seep ecosystem. Cold seep habitats contain rich microbial genetic resources, especially enzymes and secondary metabolites produced under extreme conditions, which exhibit dehalogenating, nitrogen-fixing, and antimicrobial activities, with potential applications in agriculture, drug development, and environmental protection. Additionally, cold seep microorganisms are closely related to the environmental impact assessment of natural gas hydrate extraction and play a significant role in global climate change. To effectively develop the microbial genetic resources in deep-sea cold seeps, researchers should combine *in situ* sampling, sequencing, and culture methods with environmental parameter monitoring to explore the ecological roles and evolutionary mechanisms of these microorganisms, delve into their genetic resources, and investigate microbial responses during hydrate extraction. Such efforts will provide a scientific basis for comprehensively developing microbial genetic resources and hydrate resources in deep-sea cold seeps.

Keywords: deep-sea cold seeps; microbial genetic resources; biogeochemical cycles; natural gas hydrates; climate change

深海冷泉是一种分布在深海海底的特殊地质结构，常见于大陆架边缘地区。其形成原因是海床下储藏的大量流体，包括碳氢化合物(主要是甲烷)、硫化氢、水、卤水、细粒沉积物等，在重力和地质构造运动的作用下发生渗漏，从而向上扩散至海水界面[1]。海底冷泉活动最早于 1983 年在墨西哥湾被发现[2]。此后，在全球范围的海洋环境中均发现了大量的深海冷泉活动，如地中海、大西洋西北部、北冰洋巴伦支海、太平洋东岸、南大洋等[3-6]。我国南海北部大陆架边缘也发现了多个冷泉活动位点，如海马冷泉、蛟龙冷泉(又称 F 站位)等[7-8]。

冷泉除了具备无光、高压、低温等典型的深海环境特征外，还富含高浓度的甲烷、硫化氢等气体，这些渗漏的气体为冷泉环境中的微生物活动提供了支持，对生物数量、物种组成以及互营关系具有重要的影响[9]。冷泉微生物通过化能合成作用获得所需的能量和物质，以此

为基础构建深海化能生态系统，微生物作为初级生产者维系着冷泉中独特的底栖生物群落，包括贻贝、管状蠕虫、海星、伴溢蛤等[10-12]。因此，冷泉生态系统的生物量和丰度远超以生物碎屑为能量来源的普通深海环境，被誉为“深海绿洲”，是海洋生态学研究的热点[13]。冷泉微生物在全球碳、氮、硫等元素地球化学循环中扮演着重要角色，特别是由厌氧甲烷氧化古菌(anaerobic methanotrophic archaea, ANME)和硫酸盐还原细菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)组成的共生体，它们负责执行甲烷厌氧氧化(anaerobic oxidation of methane, AOM)和硫酸盐还原(sulfate reduction, SR)过程，在这些循环中起着决定性作用[14-16]。

深海冷泉微生物为了适应深海的极端环境，演化出了独特的适应机制，从而影响初级代谢产物和次级代谢产物的生成，由此演变出独特的生理特征和代谢过程[17]。相较于陆地及表层海水中的微生物，深海冷泉微生物因其独特的适应机制，更易于合成结构新颖、功能独特的酶类及次级代谢产物，这些资源在医药研发、环境保护等领域展现出巨大的应用价值与潜力[18-19]。深海冷泉微生物作为海洋遗传资源(marine genetic resources, MGRs)中的一部分，是国家重要战略资源，对于推动海洋强国建设至关重要，日渐成为国际竞争与合作的热点。此外，冷泉是天然气水合物存在的重要标志，微生物在水合物的形成和分解过程中发挥重要作用，与水合物资源开采活动的环境影响评价相关，并影响着全球气候变化[20-21]。

因此，对深海冷泉微生物的深入研究不仅在生态学上具有重要意义，更在实际应用领域展现出一定前景。本文聚焦于近 5 年相关成果，综述了全球冷泉微生物多样性以及这些微生物驱动的生物地球化学循环过程，并深入探讨了深海冷泉微生物蕴含的丰富遗传资源及微生物与天然气水合物的关系，以期为深海冷泉资源的可持续开发与利用提供理论基础与参考依据。

1 冷泉微生物的多样性

近年来，不依赖培养的 16S rRNA 基因扩增子和宏基因测序研究表明，冷泉沉积物中存在大量种类繁多且新颖的原核微生物，其多样性比普通的深海沉积物环境更高[16]。除此之外，冷泉沉积物中还存在不同种类的真核微生物(微型原生生物、真菌等)和大量病毒，共同影响冷泉生态系统的能量流动和物质循环[22-26]。

1.1 原核生物

冷泉原核生物分布广泛，目前已获得纯培养的冷泉微生物主要包括一些典型的 SRB [如 *Pseudodesulfovibrio cashew* 和海洋大洋脱硫弧菌(*Oceanidesulfovibrio marinus*) CS1]和产甲烷古菌(如 *Methanococcoides seepicolus*、拟杆菌 *Comscasis* sp.和 *Oceanirhabdus seepicola*、绿弯菌 *Phototrophicus methaneseepsis* ZRK33、芽孢杆菌 *Bacillus cereus* 等)[27-31]。然而绝大部分冷泉原核生物难以获得纯培养，因此通常通过非培养方法进行探究，例如基于环境中获得的 DNA 序列进行测序分析。目前全球最大的冷泉微生物宏基因组数据集包含 3 164 个种水平的宏基因组组装基因组(metagenome-assembled genome, MAG)，涵盖了97个细菌门和16个古菌门，细菌主要包括绿屈挠菌门(*Chloroflexota*, 14%)、变形菌门(*Proteobacteria*, 13%)、脱硫杆状菌纲(*Desulfobacteria*, 12%)和浮霉状菌门(*Planctomycetota*, 7%)；古菌主要包括 *Halobacteriota* (23%)、*Thermoplasmatota* (19%)、*Thermoproteota* (17%)和 *Asgardarchaeota* (17%)(图 1)；约 94%已检测物种在现有基因组分类数据库(Genome Taxonomy Database, GTDB R207)中无记录，表明冷泉沉积物中蕴含大量新颖细菌和古菌[33]。

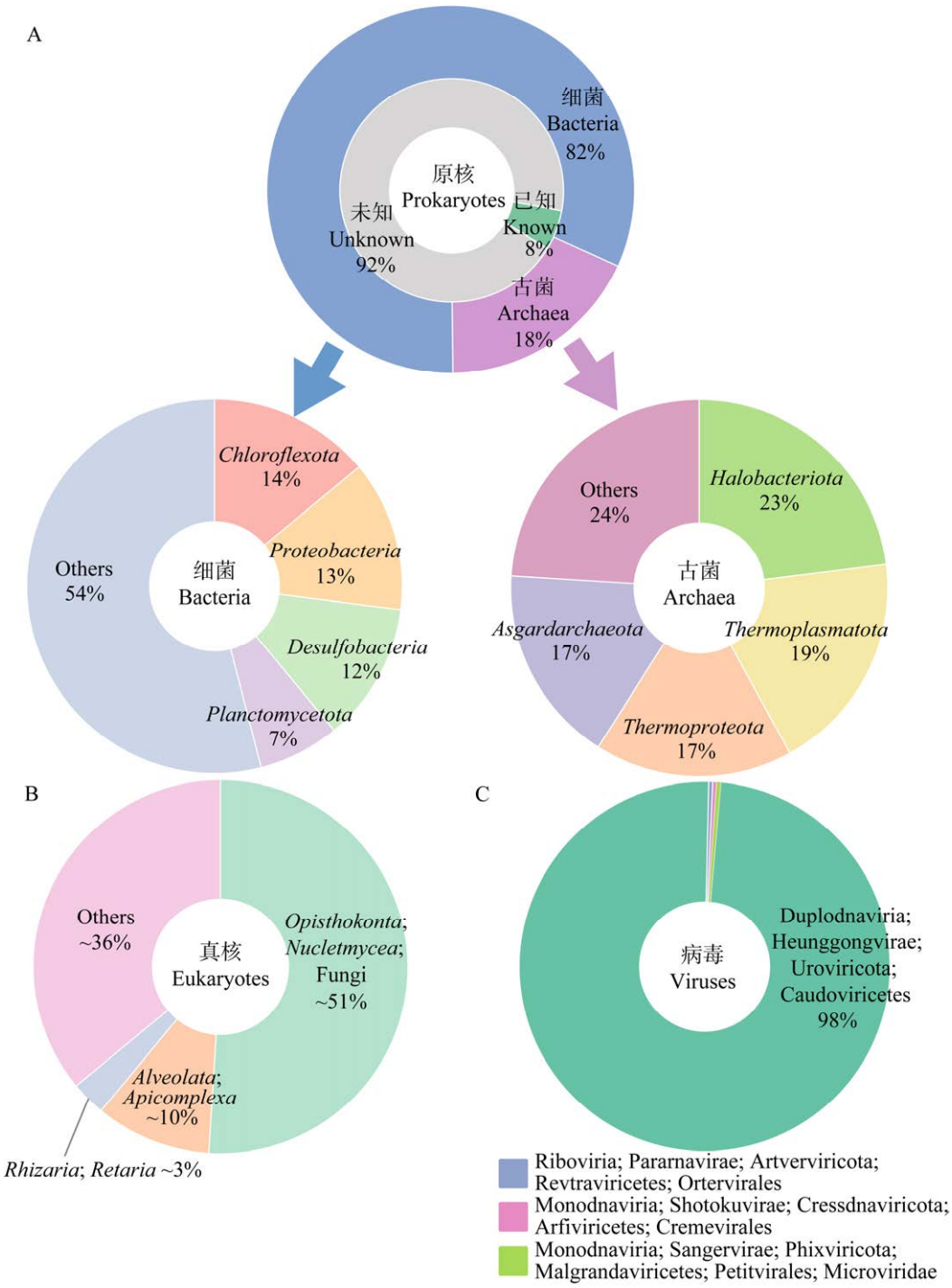

图 1　深海冷泉微生物的组成[32-34]

Figure 1　Compositions of microorganisms in deep sea cold seeps[32-34].

冷泉独特的生态环境孕育了具有特殊功能的微生物类群，其中 ANME 和 SRB 尤其丰富，在瓜伊马斯(Guaymas)盆地、冲绳海槽、北极 Storfjordrenna 区域以及我国南海的蛟龙冷泉和海马冷泉等冷泉环境中均具有较高的丰度[35-41]。微生物的多样性调查表明，ANME 古菌至少包括 3 个不同的系统发育分支(ANME-1、ANME-2 和 ANME-3)，它们都属于 *Halobacteriota* 门，在冷

泉沉积物中均有发现[42-43]。其中，ANME-1 类群属于 *Methanophagales* 目；ANME-2 由 4 个分支组成，分别为 ANME-2a (*Methanocomedenaceae*)、ANME-2b (*Methanomarinus*) 、ANME-2c (*Methanogasteraceae*) 和 ANME-2d (*Methanoperedenaceae*) ，与 ANME-3 (*Methanovorans*)同属于 *Methanosarcinales* 目[44-45]。ANME 可以进行甲烷氧化，但通常缺乏硫酸盐还原功能，将 AOM 过程中释放的电子传递给不同的 SRB 类群(HotSeep-1、Seep-SRB2、Seep-SRB1a 和 Seep-SRB1g)形成共生关系[46-48]。好氧甲烷氧化细菌(aerobic methane-oxidizing bacteria, MOB)主要来自 α-变形菌门或 γ-变形菌门，是冷泉中的另一重要微生物类群，在冷泉的上层含氧量相对较低的沉积层中，甲烷主要由甲基球菌目(*Methylococcales*，属于 α-变形菌)的 MOB 消耗[13,49]。

冷泉原核生物的分布情况受沉积物深度和冷泉渗漏强度等因素的影响。在加拿大东部 Scotian 盆地冷泉沉积物中，微生物群落组成和多样性呈明显的垂直分布模式，ANME 和 SRB 主要位于硫酸盐-甲烷转换带(sulfate-methane transition zone, SMTZ) 的沉积物中，且 ANME-1 占主导地位[3]。在南海北部 2 个活跃的慢速喷发冷泉(海马和 F 站位)沉积物中，优势 ANME 类群受到甲烷浓度的调控：ANME-1 主要分布在高甲烷浓度层，相对丰度占 ANME 总丰度的 60%以上；ANME-2 和 ANME-3 则是低甲烷浓度层的优势类群，占 ANME 总丰度的 90%以上[50]。MOB 的分布主要受氧气浓度控制，因其需要氧气作为电子受体，通常位于氧化的沉积物表层或水体中[49]。高压培养实验发现，当冷泉区甲烷渗漏强度从非喷发状态转变为快速喷发状态时，沉积物中微生物的优势类群将从 ANME 和 SRB 转变为 MOB 和产甲烷古菌[51]；此外，对于北凯斯卡迪亚边缘(Cascadia Margin)不同水深冷泉微生物的研究结果表明，水深是影响微生物群落组成和分布的一个决定性因素；温度、氧气浓度、生境类型、有机物浓度,以及铁和甲烷浓度等环境变量，同样显著地影响了冷泉微生物群落的分布模式[13,52]。这些结果突显了冷泉环境中多种环境因素在塑造微生物生态方面的复杂作用。

上述研究主要关注微生物的宏观多样性(macrodiversity)，即环境微生物群落的结构组成及其生态功能。遗传进化特征则通过微观多样性(microdiversity)来分析，即种群内部的遗传变异。与一般环境中多种因素共同调控微生物多样性和适应性不同，冷泉等极端生境中，许多影响微生物代谢重组过程的生态因素作用显著减弱或缺失，因此冷泉是研究生态和进化关系的理想平台[53-54]。冷泉沉积物中的微生物群体，如 MOB、ANME 和 SRB，其微观多样性在基因组层面显示出独特的进化轨迹；这些微生物通常表现出低同源重组率，并受到较强的纯化选择，表明它们可能已经在相对稳定的环境中实现了高度的适应性，并通过清除有害的非同义突变来维持这种状态；此外，这些微生物中甲烷氧化相关的功能基因(甲烷单加氧酶基因 *pmoA* 和甲基辅酶 M 还原酶的 α 亚基基因 *mcrA*)以及硫酸盐还原基因(二硫还原酶基因 *dsrA*)的微观多样性显示出深度依赖性，并同样受到强烈的纯化选择[17]。

1.2 真核微生物

真核微生物是一类具有细胞核的微小生物，主要包括微型原生生物、微小的真菌和微藻等[26]。作为初级消费者和分解者，真核微生物在生态系统中发挥着重要的作用，能够分解沉积物中的有机物质，进而影响原核生物的群落组成、物种丰度和甲烷利用效率等，调控整个生态系统的结构和功能[55]。

通过分析 18S rRNA 基因和内源转录间隔区(internally transcribed spacer, ITS)序列，可以研究冷泉环境中真核微生物的多样性。研究指出在南海北部海马冷泉区，属于尾鞭生物(*Opisthokonta*)的真菌是冷泉沉积物真核微生物中最主要的类群(不同样品中占比44%−61%)；SAR 类群占据一定优势，主要包括不等鞭毛类(*Stramenopiles*)、囊泡虫类(*Alveolates*)和有孔虫类(*Rhizaria*)，其中属于 *Alveolata* 的 *Apicomplexa* 是相对占比较大且分布广泛的物种(4%−13%)，而属于 *Rhizaria* 的 *Retaria* 占比相对较少但分布广泛(1%−6%) (图 1)[34]。在日本相模湾冷泉区，早期分化的深分支真菌(deep-branching fungi)类群、子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)具有优势地位；深分支真菌位于真菌发育树的较深位置，意味着它们在真菌进化过程中早期分化，通常是一些古老的、与现代真菌相对较远的类群[56]。冷泉中的真核微生物类群与其他深海极端环境(如缺氧区、深层水域和热液喷口)中发现的基因型密切相关，可能具有潜在的共生或寄生策略[57-58]。真核微生物群落具有明显的垂直分布模式，近一半在沉积物样品中检测到的分类操作单元(operational taxonomic unit, OTU)也在上覆水中发现，表明海水与深海沉积物栖息地之间存在频繁的物种交换[59]。

真核微生物常与其他生物形成共生关系。例如，纤毛虫与 SRB 在冷泉等缺氧海底环境中广泛共生，这种共生关系可能促进了适应低氧的兼性厌氧真核微生物向专性厌氧生活方式的进化[22]，并可能影响冷泉生态系统中甲烷的利用过程[24]。此外，共生体之间的共同进化也可能对微生物群落的多样性和物种组成产生影响[26]。真核微生物还有可能与海底的动物共生或寄生于其体内。例如，在西太平洋的冷泉沉积物中，发现了寄生于一种蠕虫 *Pherusa plumose* 肠道中的原生生物 *Trollidium akkeshiense*[60]。

1.3 病毒

病毒是海洋中丰度最高的生命形式，有研究推测海洋中的病毒总数高达海洋生物总量的90%[61]。从全球范围来看，海洋沉积物中病毒广泛存在，总数估计为 5×10^{30} 个病毒颗粒[62]。在波罗的海盆地、北海近海、秘鲁大陆边缘和赤道太平洋等地的沉积物中都发现了大量病毒[62-65]。在冷泉环境中，病毒的丰度和生产力也非常高。Kellogg 通过荧光显微镜研究墨西哥湾的沉积物，发现冷泉沉积物中的病毒颗粒数量以及病毒与原核生物的比例明显高于周围沉积物[23]。冷泉中发现的病毒包含双链 DNA 病毒、核质大 DNA 病毒(nucleocytoplasmic large DNA viruses, NCLDVs)、单链 DNA 病毒和 RNA 病毒[32,66]。在南海的海马活跃和消亡冷泉中，通过对 16 个宏基因组样品的分析，主要识别出了来自有尾病毒 Caudoviricetes 纲的病毒分类操作单元(viral operational taxonomic unit, vOTU) (图 1)[32]。Li 等分析了全球 7 个不同冷泉的宏基因组数据，发现高达 96%的病毒物种是未知的，其中 14.2%的病毒预测到了潜在的原核微生物宿主，涵盖 9 个古菌和 23 个细菌门，大多数病毒感染的宿主是尚未被分离培养的细菌和古菌类群[22]。

冷泉病毒的分布显示出高度特异性，类似于原核生物的分布规律。不同流体流态(矿物型地质历史长而稳定，流体排放缓慢，累积形成典型的气体水合物和油气渗漏环境；泥质型形成时间相对更短，流体排放速率高，包括泥火山、沥青火山等环境)的冷泉之间的病毒群落存在显著差异，表明流体通量是导致冷泉沉积物中病毒多样性差异的重要原因之一[22]。病毒裂解是冷泉沉积物中微生物死亡率和生物量

更新的主要推动力，意味着这些病毒可以通过诱导宿主死亡来影响微生物对烃的降解过程[22]。此外，冷泉病毒编码的辅助代谢基因(auxiliary metabolic genes, AMGs)，包括与碳、硫和氮代谢相关的基因，可能在感染期间增强宿主对碳水化合物、硫酸盐和氨基酸的代谢，从而影响和改变由冷泉微生物介导的生物地球化学过程。

在微观多样性层面，Peng 等发现冷泉沉积物中病毒核苷酸多样性很低，反映出冷泉沉积物中病毒遗传的高度稳定性；遗传分化指数 F_{ST} (fixation index)分析发现，冷泉中的病毒种群在基因上相对保守且同质化，与其微生物宿主相比呈现出不同的演化模式，这种差异可能反映出病毒和宿主微生物在环境选择压力下经历了不同的进化路径；此外，冷泉病毒的核苷酸多样性随冷泉发育阶段的不同而变化，冷泉病毒的进化模式受到微生物宿主、沉积物深度和冷泉地质等多种因素的影响[32]。在基因水平上，大多数冷泉病毒基因受到强烈的纯化选择，维持了基因的保守性；与病毒 DNA 复制、重组、修复和成熟相关的基因中也发现了呈正选择的基因，这些基因可能因积累了较多的非同义突变，导致了不同的表型变异[32]。这些正选择的基因可能为冷泉环境中病毒的适应性进化提供了动力。

2 冷泉微生物介导的生物地球化学循环

2.1 碳循环

冷泉流体中富含大量碳氢化合物，主要包括短链烷烃(甲烷、乙烷、丙烷和丁烷)及分子量较大的烷烃和芳香烃化合物[67-68]。在深海冷泉生态系统中，微生物通过驱动甲烷代谢(产生及氧化)、碳固定(将二氧化碳转化为有机质的过程)和降解(有机物质的分解过程)等过程，共同构成了深海冷泉生态系统的碳循环。

厌氧甲烷氧化是深海冷泉中关键生物地球化学过程，能够消耗沉积物中生成的大约 90%的甲烷，这一过程对于调节全球甲烷含量以及减缓甲烷引起的温室效应具有至关重要的作用[69]。AOM 由 ANME 介导，常与 SRB 驱动的硫酸盐还原过程耦合，称为硫酸还原型甲烷厌氧氧化(sulphate-dependent anaerobic methane oxidation, SAMO) (图 2)；在这一过程中，ANME 通过甲基辅酶 M 还原酶催化甲烷的初步氧化，将甲烷转化为甲基辅酶 M，随后甲基通过电子传递链被进一步氧化；氧化产生的电子被传递给 SRB，后者将硫酸盐还原为硫化物[70-71]。AOM 不仅限于硫酸盐作为电子受体，还可以与其他电子受体耦合，反硝化型甲烷厌氧氧化(denitrifying anaerobic methane oxidation, DAMO)利用硝酸盐、亚硝酸盐作为电子受体，由 ANME 与反硝化细菌协同完成[70-71]。此外，金属依赖型甲烷厌氧氧化(metal-dependent anaerobic oxidation of methane, Metal-AOM)则通过还原金属离子(如 Fe^{3+}或 Mn^{4+})完成甲烷氧化[72-73]。此外，高压模拟实验证明，AOM 过程中，甲烷氧化产物不仅限于二氧化碳，还可能生成有机碳(如乙酸)，这些有机碳可作为进一步的能量和碳源，供冷泉生态系统中异养微生物群落利用，促进更复杂的生态过程[74]。

在冷泉沉积物的甲烷代谢中，好氧甲烷氧化过程同样具有重要意义。主要涉及 *Methylococcales* 和 *Methylophaga* 等微生物类群[75]。日本海东北部 Sakata Knoll 水合物区具有较低的甲烷排放速率，适合作为模型进行研究，采用原位 ^{13}C 稳定同位素示踪试验对厌氧和好氧甲烷氧化菌在甲烷消耗中的相对贡献进行了量化研究，结果表明，MOB 虽然在氧气缺乏的 0−0.5 cm 海底以下区域仅消耗极少量

(0.9%)的甲烷通量，但其代谢活动在沉积物深度达到 6 cm 以下时仍能持续，并在此深度的甲烷通量贡献率提高至 10.3%；与此同时，在海底以下 0−10 cm 和 10−22 cm 区域，ANME-1 和 ANME-2 分别对甲烷通量贡献了 33.2%和 1.4%的厌氧氧化[76]。因此，在冷泉沉积物的氧化还原过渡区域中，好氧和厌氧甲烷氧化共同作用，决定了甲烷的整体通量[76]。

此外，冷泉原核微生物也具备产甲烷能力。冷泉中存在依赖于氢气和甲基类化合物的产甲烷过程。氢营养型甲基依赖产甲烷菌(如 *Methanomassiliicoccales* 和 *Methanofastidiales*)能够利用有机大分子降解产生的甲基类化合物(甲醇、甲基胺、甲基硫化物等)和氢气(H_2)来产生甲烷，并利用乙酸等底物合成生物质(图 2)。在冷泉环境中，这种氢气依赖型的甲烷生成途径是主要的甲烷生成机制之一[77]。从冷泉沉积物中分离出的 *Methanofollis* 属嗜氢产甲烷菌，能够利用甲酸或 H_2 和 CO_2 生成甲烷[78]。培养实验结果还显示，冷泉古菌和细菌能够合作将甘氨酸甜菜碱(glycine betaine, GBT)转换成甲烷[79]。在模拟甲烷喷发实验中，当甲烷快速喷发时，产甲烷古菌 *Methanolobus* 取代 ANME-2a 成为优势古菌群落[51]。

除甲烷代谢外，冷泉中还存在其他碳氢化合物的降解过程。冷泉沉积物中的微生物能够降解由热成因生成的碳氢化合物，包含非甲烷短链烷烃(如丙烷和丁烷)、芳香烃以及脂肪烃等(图 2)。富集培养研究表明，细菌和古菌能够在厌氧条件下氧化这些碳氢化合物，包括乙烷(例如 *Candidatus* Argoarchaeum 和 *Candidatus* Ethanoperedens)、正丁烷和丙烷(例如 *Candidatus* Syntrophoarchaeum 和 *Desulfobacteraceae* Bus5)、十二烷(例如 *Desulfosarcina*/*Desulfococcus* 类群)以及萘(例如 *NaphS2*)等[80-83]。值得注意的是，冷泉古菌在乙烷和丁烷等碳氢化合物的厌氧氧化过程中并不总是与硫酸盐还原耦合[3,84-85]。在冷泉沉积物的深层，特别是硫酸盐-甲烷反应界面(sulfate-methane interface, SMI)以下，大分子有机物(包括碳水化合物、脂质、蛋白质和核酸，以及其他复杂物质如腐殖酸和富里酸等)的发酵作用是微生物的主要能量获取途径。这些发酵过程会产生氢气和乙酸等挥发性脂肪酸，作为发酵代谢的副产物[86]。

化能自养微生物的碳固定对全球碳循环和海洋内部的生态关系有着重要影响。目前已知的自养碳固定途径包括 6 种：卡尔文循环、还原乙酰辅酶 A (reductive acetyl CoA, rAcCoA)途径、还原三羧酸(tricarboxylic acid, rTCA)循环、3-羟基丙酸(3-hydroxypropionic acid, 3HP)双循环、3-羟丙酸/4-羟基丁酸(3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate, 3HP/4HB)循环和二羧酸/4-羟基丁酸循环(dicarboxylic acid/4-hydroxybutyrate, DC/4HB)[87]。在冷泉环境中，所有 6 种自养碳固定途径均有发现，其中 rTCA 循环最常见。随着沉积物深度的增加，rAcCoA、rTCA 和 DC/4-HB 循环相关基因的丰度显著增加；这些途径所需的能量显著较少，可能在深海冷泉等极端环境中的碳固定发挥重要作用[88-89]。

2.2 硫循环

在深海冷泉沉积物中，由于氧气、硝酸根、铁锰氧化物等电子受体含量较低，而硫酸根浓度相对较高，是微生物主要的电子受体[90-91]。冷泉沉积物中的硫循环主要由厌氧微生物通过硫酸盐还原过程驱动，其中产生的硫化氢及其他硫化物则为硫氧化微生物提供电子，进而被氧化，构成硫循环过程[92]。硫循环效率不仅影响富含硫酸盐的表层沉积物中的生物地球化学循环，还影响深层沉积物中微生物的群落组成与稳定性。

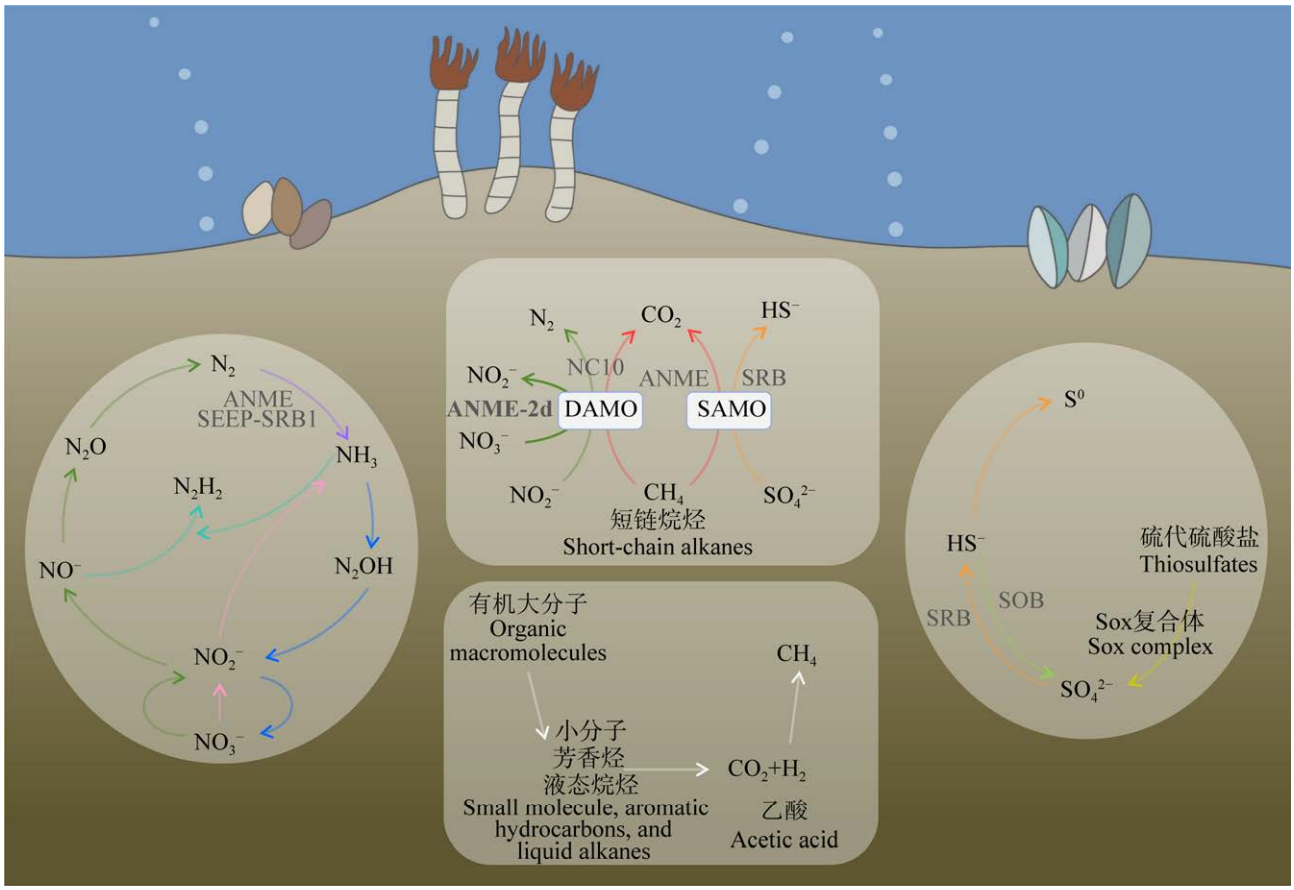

图 2　深海冷泉微生物参与的碳、氮、硫循环过程

Figure 2　Carbon, nitrogen, and sulfur cycling processes mediated by microorganisms in deep-sea cold seeps.

硫酸盐还原作用是冷泉生态系统中微生物介导的重要生物地球化学过程，这一过程主要由 SRB 执行[47]。SRB 将硫酸盐、亚硫酸盐、硫代硫酸盐或单质硫还原成硫化物，从中获取能量用于自身生长代谢；腺苷酰硫酸还原酶基因(adenylylsulfate reductase, *apr*)和异化亚硫酸盐还原酶基因(dissimilatory sulfite reductase gene, *dsr*)是该过程的关键基因，常被用作标志基因，在分子水平上鉴定硫酸盐还原微生物的多样性[47-48]。SRB 几乎存在于海底所有区域，主要分布在表层沉积物中，随着海洋沉积物的深度增加，其相对丰度及数量相应减少[93]。在中国南海 F 点和 Haiyang4 区域冷泉 SMTZ 下方的层中，属于δ-变形菌门的 SRB 进行硫酸盐还原和固氮作用，通过 rAcCoA 途径固定 CO_2，以共生或发酵的方式生存[94]。

硫氧化过程包括硫代硫酸盐、硫化物和单质硫的氧化，参与的硫氧化菌(sulfur-oxidizing bacteria, SOB)主要有绿硫细菌(green sulfur bacteria, GSB)、紫硫细菌(purple sulfur bacteria, PSB)、紫色非硫细菌(Purple nonsulfur bacteria, PNSB)和无色硫细菌(colorless sulfur bacteria, CSB)[95]。这些微生物通过多种途径氧化硫酸盐，包括硫氧化多酶复合物(Sox)途径、连四硫酸盐(S_4I)途径和分支途径(或称为异化亚硫酸盐还原酶途径、Sox/Dsr 途径)[95]。研究表

明，冷泉沉积物中存在显著的硫代硫酸盐氧化活性，富集培养和原位培养实验中，该过程由细菌 *Erythrobacter flavus* 21-3 通过硫代硫酸盐脱氢酶(TsdA)和硫代硫酸盐水解酶(SoxB)催化完成[96]。此外，冷泉中还存在经四硫酸根生成零价硫的硫代硫酸盐氧化，该过程广泛发生于赤杆菌、变形菌门和拟杆菌门微生物中，且蓝光条件下培养促进了零价硫的产生[97-98]。在南海 F 点冷泉 SMTZ 上方，SOB 主要由弯曲杆菌、γ-变形菌和 α-变形菌组成，这些细菌依赖氮氧化物和氧气，在表层沉积物层中氧化硫化物和硫代硫酸盐[94]。

2.3 氮循环

氮是所有生命必需的大量生源元素，对核酸、蛋白质、维生素等生命分子的合成至关重要。碳的生物降解同样离不开氮源的参与。冷泉作为典型的富烃环境，其碳氮比例严重失衡，氮代谢显得尤为重要[9]。氮在自然界中主要以单质分子氮气(N_2)的形式存在，然而，除极少数微生物外，大多数生物无法直接利用 N_2；固氮微生物通过将 N_2转化为生物可利用的氮，成为冷泉生态系统氮源的重要来源[9]。氮固定、反硝化作用、厌氧氨氧化作用等过程共同构成冷泉沉积物中微生物介导的氮循环。

生物固氮是生物体获取可利用氮的重要来源，是指将大气中的 N_2 还原为氨的过程[99-100]。地球化学证据和同位素示踪实验表明，生物固氮现象广泛存在于不同地区、不同类型的深海冷泉沉积物中[101-102]。ANME-2 及其伴生 SEEP-SRB1 是冷泉固氮微生物主要类群，*Altarchaeia*、*Omnitrophota*、FCPU42、*Caldatribacteriota* 和 UBA6262 这 5 个门的微生物也显示出固氮潜力；这些微生物基因组展示了与固氮密切相关的多种代谢功能，包括产甲烷、甲烷厌氧氧化、硫酸盐还原、非甲烷烷烃厌氧氧化和复杂有机物的降解等，这些过程都可为固氮提供必需的 ATP[103]。

脱氮相关微生物将固定的氮转化为 N_2，维持氮循环平衡。冷泉区由于甲烷氧化导致的局部缺氧，促进了厌氧微生物过程，如厌氧氨氧化和反硝化等脱氮作用[104]。研究发现，墨西哥湾深海冷泉沉积物的反硝化速率与沿海海洋和富营养化淡水环境相当[104]。产氧反硝化是 NO 在 NO 歧化酶(NOD)的催化下直接转化为 N_2 和 O_2，可由亚硝酸盐依赖型厌氧甲烷氧化细菌(属于 *Methylomirabilota* 门，也称为 NC10)介导，与厌氧甲烷氧化过程的耦合，称为亚硝酸盐依赖的厌氧甲烷氧化作用[73]。在海马冷泉、F 点冷泉及西沙海槽水合物区存在参与 N-DAMO 过程的 *Candidatus* Methylomirabilis oxyfera[73,105]。模拟培养实验和同位素示踪研究显示，N-DAMO 在冷泉区的速率高于海槽区，可能是冷泉中重要的 AOM 过程[106]。厌氧氨氧化则通过利用不同价态的氮化合物生成氮气，提供了一种能量高效且不依赖分子氧的氮去除途径[107]。基于 16S rRNA、肼脱氢酶(hydrazine dehydrogenase, HZO)和 *hzsB* 基因的扩增子研究表明，鄂霍次克海和中国南海北部的深海冷泉沉积物中存在着丰富多样的厌氧氨氧化细菌[108-109]。

2.4 磷循环

冷泉环境中，作为碳源和能源的烃类化合物只含碳、氢 2 种元素；甲烷流体渗漏带来的氮通常不超过总质量占比的 0.1%，几乎不引入任何磷[9,101]，这导致该环境的氮磷营养盐相对匮乏。与氮不同，海洋环境中的磷不能直接从大气中被固定，并且活跃的固氮作用会促使生态系统由氮限制发展为磷限制[110-111]。在较长的地质时间尺度上，磷则是海洋生态系统的终极限制性营养元素[112]。

冷泉微生物通过多种代谢机制来适应磷的限制，包括有机磷矿化、无机磷溶解、磷的吸收与转运，以及磷饥饿反应调控过程。在深海冷泉沉积物中，来自上层水体沉降的颗粒有机物是沉积物中生物活性磷的重要来源，包括磷酸单酯、磷酸二酯、膦酸酯、ATP、蛋白质和DNA 等[113]。这些有机磷包括颗粒有机磷(particulate organic phosphorus, POP)与溶解态有机磷(dissolved organic phosphorus, DOP)，必须先通过水解作用转化为溶解无机磷(dissolved inorganic phosphorus, DIP)才能被生物利用。微生物通过编码多种碱性水解酶和C-P裂解酶，将细胞外的有机磷分解为DIP，再通过磷酸盐转运蛋白将其运入细胞内，为细胞生长提供所需的磷[114]。此外，微生物还可以通过其代谢活动释放沉积物中吸附在颗粒物上的磷以及自生矿物磷，使这些磷重新进入海洋磷循环[115]。

AOM 是冷泉环境中磷循环的关键驱动因素。该过程与硫化氢的生成有关，导致铁氧化物的还原性溶解，从而释放铁结合磷到孔隙水中[116-118]。另一项研究表明，在南海和东海冷泉的深海碳酸盐沉积物中，钙结合磷占主导地位，在 AOM 过程中与碳酸钙共同沉淀[119]。Nijman 等通过甲烷厌氧氧化富集培养物进行扫描电镜和拉曼分析，发现 ANME 的伴生 SRB 在 AOM 过程会积累大量的磷酸盐，以应对可能的磷限制[120]。在南海台西南盆地，冷泉的SMTZ 是重要的磷汇区，受 SAMO 和Metal-AOM 过程影响铁结合磷和有机磷浓度，在磷灰石和胆铁矿的形成中起重要作用[121]。磷酸盐对于甲烷的好氧氧化过程具有调节作用，高浓度的磷酸盐能够促进这一过程，并对微生物群落结构产生影响[120]。

2.5 卤素循环

卤素包括氟(F)、氯(Cl)、溴(Br)、碘(I)等元素，它们与有机物结合可形成有机卤化物(halogenated organic compounds, HOCs)。HOCs在冷泉环境中广泛存在，如墨西哥湾东部冷泉和南海海马冷泉[3,122-123]。HOCs 是厌氧环境中理想的电子受体，相比于硫酸盐和硝酸盐，HOCs 呼吸可以释放更多能量，冷泉等深海环境中存在一些脱卤还原微生物可以利用 HOCs兼性或专性生长[124-127]。研究表明，深海冷泉沉积物中存在多样化的古菌和细菌群落，可以编码多种脱卤酶，包括经典呼吸酶、跨膜呼吸酶、胞质酶及新型支系还原脱卤酶(RdhA)。这些脱卤过程在冷泉中十分活跃，与碳、氢、氮、硫及微量元素的循环密切相关，表明还原脱卤过程可能是冷泉中一个重要且不可忽视的代谢过程[128]。

2.6 (类)金属循环

在冷泉沉积物中，除了与硫酸盐、硝酸盐/亚硝酸盐还原耦合，在硫酸盐完全耗尽或浓度极低的产甲烷带中，AOM 也可与金属氧化物(包括高价铁/锰氧化物)耦合[129]。ANME 可以独自或者与金属还原微生物(metal-reducing microorganisms, MRM)或 ETH-SRB1 协同作用，介导甲烷厌氧氧化和金属还原的耦合作用[71]。甲烷厌氧氧化过程中，产甲烷古菌可以通过直接接触金属氧化物或通过电子传递体(电子穿梭体)转移电子，还可以将甲烷氧化的中间产物传递给 MRM[130]。数值模拟显示，海马冷泉沉积物中铁驱动的 AOM (Fe-AOM)和锰驱动的 AOM (Mn-AOM)甲烷消耗通量均为 0.3 μmol/(cm²·a)，金属驱动的 AOM 过程至少贡献了冷泉沉积物中甲烷总消耗量的 3%，可能是现代海洋中一个重要但尚未被充分认识的甲烷汇[71]。

砷(As)是一种有毒的微量类金属元素，对氧化还原反应高度敏感，主要以无机砷酸盐和亚砷酸盐形式存在于海洋中[131]。地球化学研

究显示，深海冷泉区域富含砷元素[132-133]。为应对砷的毒性，微生物演化出了一系列酶系统，通过外排(如外排蛋白 ArsB 和 Acr3)和甲基化(如甲基转移酶 ArsM)等方式有效降低砷的毒性和迁移性，减轻了厌氧烃降解微生物的生存压力[134-135]。阿斯加德古菌以及大量尚未被培养的细菌，均展现出了对砷的耐受能力，砷循环基因的丰富程度及其功能微生物群落结构，受沉积物深度和冷泉类型的共同影响[136]。此外，微生物通过三价砷氧化和五价砷还原产生能量，这一过程与生物固碳、烃降解和固氮作用紧密相连，共同影响着碳氮元素的生物地球化学循环[136]。

汞(Hg)是环境中主要以无机形式存在的有毒重金属。在水生生态系统中，无机汞很容易转化为甲基汞(MeHg)。MeHg 是一种生物累积的神经毒素，对人类和生态系统健康构成严重威胁。冷泉是深海中重要的 Hg 汇和 MeHg 来源。研究表明，上层海洋光能食物网传输下来的甲基汞对深海冷泉生物群汞的贡献非常低，冷泉生物主要从周围海水和沉积物吸收并富集汞[137]。在活跃的冷泉沉积物中，汞存在质量分馏、迁移和转化现象。对南海海马冷泉的研究表明，活跃冷泉区的沉积物中汞和甲基汞含量显著升高，且检测到丰富的与汞甲基化(*hgcAB*)、去甲基化(*merB*)和还原(*merA*)相关的基因，这表明冷泉微生物在汞循环中起着重要作用[138-139]。

微量金属元素在微生物驱动的生物地球化学过程中起着关键作用。锰(Mn)氧化物和铁(Fe)氧化物已被确定为 AOM 的电子受体，其他微量金属，如镍(Ni)、钴(Co)、钼(Mo)和钨(W)也作为酶的辅因子参与甲烷氧化过程，它们是金属酶的活性中心，协助驱动宏量元素的循环。由于这些微量元素的可利用性低、摄取难度大，往往成为生物活动和生态过程的限速或决定性因素[140-142]。例如甲烷厌氧氧化和产甲烷过程的关键酶甲基辅酶 M 还原酶(methyl-coenzyme M reductase, MCR)含有一个镍辅因子，镍处于活性位点，参与甲烷分子中 C−H 键的活化，并通过电子传递等机制支持反应进行，因此镍在推动冷泉元素循环方面也发挥着重要作用[142-143]。钼-铁(MoFe)固氮酶是生物固氮催化效率最高一种固氮酶，冷泉微生物固氮速率会受到微量元素钼的生物可用性的限制；钼也是硝酸盐还原酶与亚硝酸盐氧化酶的活性中心，其缺乏导致硝酸盐积累，影响脱氮过程[144]。稀土元素(rare earth elements, REEs)则是催化甲醇氧化为甲醛的必需金属酶，研究发现，几内亚湾的一个甲烷喷口显著富集了稀土元素镧(La)和铈(Ce)，导致稀土元素的分布模式明显偏离环境海水的特征，这一富集现象与微生物好氧甲烷氧化过程密切相关[145]。

3 冷泉微生物资源的发掘与利用

冷泉微生物蕴含的丰富酶资源在医疗、农业和环保等多个领域具有广泛的应用潜力。例如，冷泉病毒具有多种环境适应策略，包括抗防御系统、逆转录酶、辅助代谢基因和可变遗传编码现象等；其中，抗防御系统(如 anti-CRISPR 蛋白、甲基转移酶和抗毒素蛋白等)在冷泉病毒中普遍存在，可为开发新型抗病毒药物提供新见解[32,146]。包括 ANME 在内的多种冷泉微生物含有多样的固氮酶，不仅包括经典的 NifH、NifD、NifK 固氮酶，还可能蕴藏着众多新型固氮酶；这些酶在促进农作物土壤中微生物的固氮作用方面具有巨大潜力，有望减少化肥使用、推动农业可持续发展[103]。卤代有机污染物具有持久性强、难生物降解的特点，威胁着生态安全与人类健康；而冷泉环境中发现的新型脱卤微生物及其独特的 RdhA

还原脱卤酶，可为这类顽固污染物的有效降解提供解决方案[128]。冷泉微生物还富含石油烃降解酶(AlkB、CYP153、AlmA 等)和参与重金属循环相关酶(HgcA、ArsM 等)，它们在应对石油泄漏和重金属污染等环境问题中同样有一定的应用潜力[103,138,147-148]。

冷泉微生物菌株资源在维持冷泉生态平衡中发挥着关键作用，帮助揭示冷泉生态系统独特的生物地球化学过程和生态环境，同时也为水合物的探索与开发供新的思路和方法。冷泉菌株具有独特能量利用和代谢方式，或为生物工业制造提供新角度。分离自深海冷泉的绿屈挠菌门细菌 *Poriferisphaera heterotrophicis* ZRK32 通过促进三羧酸循环和磷酸戊糖途径产生能量[149]，*Phototrophicus methaneseepsis* ZRK33 通过同化硫酸盐还原过程获取能量[29]，细菌 *Maribellus comscasis* WC007 具有纤维素降解能力[150]，细菌 *Erythrobacter flavus* 21-3 可介导硫代硫酸盐氧化途径驱动的零价硫形成过程[96]，细菌 *Oceanirhabdus seepicola* 和产甲烷古菌 *Methanococcoides seepicolus* 能将 GBT 转化为甲烷[79]，*Methanofollis fontis* 可以利用甲酸或氢气和二氧化碳生成甲烷[78]。

此外，冷泉菌株还具有去除金属离子和降解石油烃能力，可有效帮助环境污染治理。冷泉芽孢杆菌 *Bacillus* sp. 98 及 *Pseudoalteromonas* sp. MT33b 能有效应对重金属镉引起的胁迫[151-152]，硫酸盐还原细菌 *Pseudodesulfovibrio cashew* SRB007 通过形成不溶性金属硫化物去除重金属离子[27]，*Alcanivorax venustensis* R-72943 具有高压耐受性可专性降解石油烃[153]。

冷泉微生物在天然产物合成方面具有巨大的潜力。冷泉微生物组含有种类繁多的次级代谢产物生物合成基因簇(biosynthetic gene clusters, BGCs)[154]。代谢组学分析在冷泉沉积物中检测到约 10 000 种次级代谢产物，其中许多尚未被分类，具有高度新颖性，可作为临床上对于新抗生素需求的解决方案。冷泉真菌的次级代谢产物具有出新率高、生物活性强的显著优势。中国科学院海洋研究所王斌贵研究团队从来自深海冷泉沉积物的曲霉菌(*Aspergillus*)和假霉样真菌属(*Pseudallescheria*)中提取出新型的生物碱、萜类化合物、酚衍生物等，这些产物活性包括广谱抑制植物病原菌、抗水生生物病原菌、促血管生成活性等[155-158]。从冷泉贻贝分离的共生真菌小黄镰孢的芳香族聚酮类化合物显示出抗菌和自由基清除活性[159]，南海冷泉区深海蹼虾体内真菌 *Curvularia verruculosa* CS-129 的环霉素二聚体及衍生物对人致病菌大肠杆菌和 3 种肿瘤细胞系表现出细胞毒性[160]。除真菌外，原核生物的一些次级代谢产物也具有重要生物活性，如链霉菌 *Streptomyces olivaceus* OUCLQ19-3 产生的吲哚类次级代谢产物具有抑菌作用[161]，盐单胞菌 *Halomonas* sp. 2E1 产生的胞外多糖 EPS2E1 可增强免疫活性[162]，弧菌 *Vibrio alginolyticus* 364 产生的胞外多糖 EPS364 展现出显著的抗肿瘤活性[163]，芽孢杆菌 *Bacillus* sp. CS30 产物具有强烈的抗真菌活性，能诱导活性氧的生成[164]，蜡样芽孢杆菌 H2 的细胞毒素 K 可诱导焦亡性细胞死亡[165]。这些冷泉活性物质对于药物开发和医药领域具有潜在的应用前景，可能成为新型药物的候选化合物。

4 天然气水合物开采和微生物的关系

天然气水合物，又称“可燃冰”，是水和甲烷等烃类气体在低温高压条件下结合形成的固态结晶化合物，这是一种高效的新型清洁能源，主要分布于深海陆坡和陆地冻土带。全球

97%的天然气水合物资源赋存在海洋之中，冷泉是其存在的重要标志之一[20]。在厌氧环境下，细菌与古菌协同降解有机物并释放甲烷，这一过程成为天然气水合物形成的重要气源供应[77]。我国南海具有丰富的天然气水合物资源，初步评估显示，南海大陆坡水合物资源高达 600−900 亿 t 石油当量，相当于我国已探明石油和天然气总量的一半[166]。因此，有效开发和利用水合物资源，将有助于减轻传统能源带来的环境污染等负面影响，并在全球能源供给、社会和经济的可持续发展等方面产生深远影响。

然而，海洋天然气水合物的开发和利用面临多重挑战。开采时若不能有效控制渗漏，释放出的甲烷不仅会改变海水的化学特性，引发局部氧气耗竭和海水酸化现象，而且伴随产生的硫化氢将进一步加剧海水酸化问题[167]。此外，未经充分利用而溢出甲烷也会加剧全球温室效应[21]。另一方面，水合物开采引发的甲烷泄漏也会促使微生物群落变化以适应新的生存环境。在甲烷泄漏区，甲烷浓度增加导致沉积物微生物群落多样性下降，这主要是因为 AOM 过程的增强，使得特定的微生物群落(如 ANME 和 SRB)占据优势；微生物群落的响应总体上与甲烷渗漏过程同步，尤其是在甲烷向上迁移至较浅的沉积层时，微生物群落会迅速调整其结构和功能，以适应甲烷浓度的变化[41,168]。因此，为确保开发过程的可持续性与环境友好性，除了克服开采技术难题，评估开采过程对环境和生态的影响同样至关重要，微生物群落及其功能基因可作为评估开采活动对深海生态系统影响程度及潜在恢复能力的重要指标。

5 总结与展望

研究冷泉微生物的多样性和代谢过程，对于发掘冷泉微生物遗传资源至关重要。冷泉中存在丰富的原核、真核微生物和病毒，它们参与着复杂的生物地球化学循环，如碳、氮、硫、磷、(类)金属和卤素转化。冷泉微生物遗传资源在环境保护和资源利用方面具有重要应用前景，它们可以用于农业改善、环境修复、水合物资源开发等方面。因此，深入研究冷泉微生物对于生物资源开发、气候变化应对、可持续采矿和生物多样性保护具有重要意义。围绕冷泉微生物遗传资源，未来有以下方面值得关注。

(1) 原位采集、测序和微生物培养。传统深海微生物采样与测序手段由于耗时过长，导致环境因素变化从而影响微生物的活性状态，致使获取样品无法真实反映其原位的基因表达情况。采用深海微生物原位富集与固定取样设备，即时处理采集样品，能获取更准确的深海冷泉微生物生长与代谢相关数据。通过部署冷泉区原位培养和环境参数测量装置并定期监测调查，对于探究冷泉微生物的物种和代谢功能多样性具有重要意义。

(2) 环境影响微生物适应和进化机制。目前对深海冷泉关键微生物的生态功能和进化特征已有初步研究，发现环境因素对微生物群落存在影响，但具体机制和程度尚未深入研究。应进一步分析微生物如何与环境因素相互作用以适应冷泉生态系统，研究微生物与病毒之间的相互作用、微生物之间的共生关系以及对环境变化的响应机制，有助于更全面地理解冷泉生态系统中微生物的适应进化机制，帮助极端生物遗传资源挖掘。

(3) 冷泉微量元素循环过程及介导微生物的探究。目前对于深海冷泉中微生物介导的碳、氮、硫元素循环过程已有较多研究，微量元素 Fe、Mn、As 等也有一定研究，但对于其他微量

元素循环研究较为欠缺。未来可聚焦微量元素如Mo、Ni、Co 等，结合生态学、同位素示踪等方法，揭示微生物介导的微量元素循环过程对维持深海冷泉生态系统的平衡和功能的重要意义。了解冷泉微生物对微量元素的吸收、转化和释放过程，也有助于优化生物资源的开发利用。

(4) 冷泉基因资源挖掘与数据库建设。深海冷泉微生物具有复杂性、未知性等特点，仍有大量未知微生物类群和功能基因亟待挖掘。通过三代或单细胞测序等全面测序方法和人工智能模型，可以更高效、精确识别未知基因和冷泉特有的合成生物学功能元件。建立全面的深海冷泉生物资源库，涵盖冷泉深海菌种、基因、病毒和化合物，促进深海冷泉基因资源的研究与开发。此外，建设大规模发酵平台和高通量化合物分离设备，将推进深海冷泉微生物资源的产业化应用。

(5) 水合物开采影响与适应性研究。深入研究水合物开采过程中微生物群落的响应机制，包括其群落组成、功能多样性和基因表达模式的变化，对于理解水合物开采的环境影响及预测微生物群落的适应性过程具有重要意义。通过长期监测和实验模拟，可以揭示微生物在面临环境变化时的生存策略和进化机制，为水合物开采的环境风险评估和生态修复提供科学依据。

致谢

感谢浙江大学张冬冬，自然资源部第三海洋研究所章楚雯和刘心悦，中山大学彭用一以及上海交通大学张田雪钰在本文修改过程中提出的宝贵建议。

参考文献

[1] BOETIUS A, WENZHÖFER F. Seafloor oxygen consumption fuelled by methane from cold seeps[J]. Nature Geoscience, 2013, 6: 725-734.

[2] PAULL CK, HECKER B, COMMEAU R, FREEMAN-LYNDE RP, NEUMANN C, CORSO WP, GOLUBIC S, HOOK JE, SIKES E, CURRAY J. Biological communities at the Florida escarpment resemble hydrothermal vent taxa[J]. Science, 1984, 226(4677): 965-967.

[3] DONG XY, RATTRAY JE, CAMPBELL DC, WEBB J, CHAKRABORTY A, ADEBAYO O, MATTHEWS S, LI C, FOWLER M, MORRISON NM, MacDONALD A, GROVES RA, LEWIS IA, WANG SH, MAYUMI D, GREENING C, HUBERT CRJ. Thermogenic hydrocarbon biodegradation by diverse depth-stratified microbial populations at a Scotian Basin cold seep[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 5825.

[4] RUFF SE, FELDEN J, GRUBER-VODICKA HR, MARCON Y, KNITTEL K, RAMETTE A, BOETIUS A. *In situ* development of a methanotrophic microbiome in deep-sea sediments[J]. The ISME Journal, 2019, 13(1): 197-213.

[5] NIEMANN H, LÖSEKANN T, de BEER D, ELVERT M, NADALIG T, KNITTEL K, AMANN R, SAUTER EJ, SCHLÜTER M, KLAGES M, FOUCHER JP, BOETIUS A. Novel microbial communities of the Haakon Mosby mud volcano and their role as a methane sink[J]. Nature, 2006, 443(7113): 854-858.

[6] GRIFFITHS HJ. Antarctic marine biodiversity: what do we know about the distribution of life in the Southern Ocean?[J]. PLoS One, 2010, 5(8): e11683.

[7] LIANG QY, HU Y, FENG D, PECKMANN J, CHEN LY, YANG SX, LIANG JQ, TAO J, CHEN DF. 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 Research Part I: Oceanographic Research Papers, 2017, 124: 31-41.

[8] LIN S, LIM Y, LIU C, YANG TF, CHEN YG, MACHIYAMA H, SOH W, FUJIKURA K. Taiwan Ridge, a cold seep with densely populated chemosynthetic community in the passive margin, southwest of Taiwan[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2007, 71: 582.

[9] JOYE SB. The geology and biogeochemistry of hydrocarbon seeps[J]. Annual Review of Earth and Planetary Sciences, 2020, 48: 205-231.

[10] HE X, XU T, CHEN C, LIU X, LI YX, ZHONG ZY, GU XY, LIN YT, LAN Y, YAN GY, SUN YN, QIU JW,

QIAN PY, SUN J. Same (sea) bed different dreams: biological community structure of the Haima seep reveals distinct biogeographic affinities[J]. The Innovation Geoscience, 2023, 1(2): 100019.

[11] KIEL S, FERNANDO A, MAGTOTO C, KASE T. Mollusks from Miocene hydrocarbon-seep deposits in the Ilocos-Central Luzon Basin, Luzon Island, Philippines[J]. Acta Palaeontologica Polonica, 2022, 67(4): 917-947.

[12] CRAMM MA, de MOURA NEVES B, MANNING CCM, OLDENBURG TBP, ARCHAMBAULT P, CHAKRABORTY A, CYR-PARENT A, EDINGER EN, JAGGI A, MORT A, TORTELL P, HUBERT CRJ. Characterization of marine microbial communities around an Arctic seabed hydrocarbon seep at Scott Inlet, Baffin Bay[J]. Science of the Total Environment, 2021, 762: 143961.

[13] RUFF SE, BIDDLE JF, TESKE AP, KNITTEL K, BOETIUS A, RAMETTE A. Global dispersion and local diversification of the methane seep microbiome[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(13): 4015-4020.

[14] BOETIUS A, RAVENSCHLAG K, SCHUBERT CJ, RICKERT D, WIDDEL F, GIESEKE A, AMANN R, JØRGENSEN BB, WITTE U, PFANNKUCHE O. A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane[J]. Nature, 2000, 407(6804): 623-626.

[15] VIGNERON A, ALSOP EB, CRUAUD P, PHILIBERT G, KING B, BAKSMATY L, LAVALLEE D, LOMANS BP, ELOE-FADROSH E, KYRPIDES NC, HEAD IM, TSESMETZIS N. Contrasting pathways for anaerobic methane oxidation in gulf of Mexico cold seep sediments[J]. mSystems, 2019, 4(1): e00091-18.

[16] GARCIA PS, GRIBALDO S, BORREL G. Diversity and evolution of methane-related pathways in archaea[J]. Annual Review of Microbiology, 2022, 76: 727-755.

[17] DONG XY, PENG YY, WANG MH, WOODS L, WU WX, WANG Y, XIAO X, LI JW, JIA KT, GREENING C, SHAO ZZ, HUBERT CRJ. Evolutionary ecology of microbial populations inhabiting deep sea sediments associated with cold seeps[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 1127.

[18] ZHANG CW, PENG YY, LIU XY, WANG JN, DONG XY. Deep-sea microbial genetic resources: new frontiers for bioprospecting[J]. Trends in Microbiology, 2024, 32(4): 321-324.

[19] ZHIVKOPLIAS E, JOUFFRAY JB, DUNSHIRN P, PRANINDITA A, BLASIAK R. Growing prominence of deep-sea life in marine bioprospecting[J]. Nature Sustainability, 2024, 7(8): 1027-1037.

[20] ARCHER D, BUFFETT B, BROVKIN V. Ocean methane hydrates as a slow tipping point in the global carbon cycle[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(49): 20596-20601.

[21] KETZER M, PRAEG D, RODRIGUES LF, AUGUSTIN A, PIVEL MAG, RAHMATI-ABKENAR M, MILLER DJ, VIANA AR, CUPERTINO JA. Gas hydrate dissociation linked to contemporary ocean warming in the southern hemisphere[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 3788.

[22] LI ZX, PAN D, WEI GS, PI WL, ZHANG CW, WANG JH, PENG YY, ZHANG L, WANG Y, HUBERT CRJ, DONG XY. Deep sea sediments associated with cold seeps are a subsurface reservoir of viral diversity[J]. The ISME Journal, 2021, 15(8): 2366-2378.

[23] KELLOGG CA. Enumeration of viruses and prokaryotes in deep-sea sediments and cold seeps of the Gulf of Mexico[J]. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 2010, 57(21/22/23): 2002-2007.

[24] ZHANG Y, HUANG N, JING HM. Biogeography and population divergence of microeukaryotes associated with fluids and chimneys in the hydrothermal vents of the southwest Indian Ocean[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(5): e0263221.

[25] MUÑOZ-GÓMEZ SA. Energetics and evolution of anaerobic microbial eukaryotes[J]. Nature Microbiology, 2023, 8(2): 197-203.

[26] del CAMPO J, BASS D, KEELING PJ. The eukaryome: diversity and role of microeukaryotic organisms associated with animal hosts[J]. Functional Ecology, 2020, 34(10): 2045-2054.

[27] ZHENG RK, WU SM, SUN CM. *Pseudodesulfovibrio cashew* sp. nov., a novel deep-sea sulfate-reducing bacterium, linking heavy metal resistance and sulfur cycle[J]. Microorganisms, 2021, 9(2): 429.

[28] LIU R, SHAN YQ, XI SC, ZHANG X, SUN CM. A deep-sea sulfate-reducing bacterium generates zero-valent sulfur *via* metabolizing thiosulfate[J]. mLife, 2022, 1(3): 257-271.

[29] ZHENG RK, WANG C, SUN CM. Deep-sea *in situ* and laboratory multi-omics provide insights into the sulfur

assimilation of a deep-sea *Chloroflexota* bacterium[J]. mBio, 2024, 15(4): e0000424.

[30] HAN YC, ZHANG CW, ZHAO ZM, PENG YY, LIAO J, JIANG QY, LIU Q, SHAO ZZ, DONG XY. A comprehensive genomic catalog from global cold seeps[J]. Scientific Data, 2023, 10(1): 596.

[31] ZHOU HH, JIANG LJ, LI KL, CHEN CL, LIN XY, ZHANG CF, XIE QL. Enhanced bioremediation of diesel oil-contaminated seawater by a biochar-immobilized biosurfactant-producing bacteria *Vibrio* sp. LQ2 isolated from cold seep sediment[J]. Science of The Total Environment, 2021, 793: 148529.

[32] PENG YY, LU ZJ, PAN D, SHI LD, ZHAO Z, LIU Q, ZHANG CW, JIA KT, LI JW, HUBERT CRJ, DONG XY. Viruses in deep-sea cold seep sediments harbor diverse survival mechanisms and remain genetically conserved within species[J]. The ISME Journal, 2023, 17(10): 1774-1784.

[33] XU ZM, CHEN JW, LI YD, SHEKARRIZ E, WU WX, CHEN BZ, LIU HB. High microeukaryotic diversity in the cold-seep sediment[J]. Microbial Ecology, 2023, 86(3): 2003-2020.

[34] HUANG QY, LYU L, LI QQ, SU HF, LI J. *Hwangdonia lutea* sp. nov., isolated from the Haima cold seep, South China Sea[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2024, 74(6): 006428.

[35] 王风平, 周悦恒, 张新旭, 肖湘. 深海微生物多样性[J]. 生物多样性, 2013, 21(4): 445-455.
WANG FP, ZHOU YH, ZHANG XX, XIAO X. Biodiversity of deep-sea microorganisms[J]. Biodiversity Science, 2013, 21(4): 445-455 (in Chinese).

[36] 孙瑜, 牛明杨, 刘俏, 庄光超, 王风平. 南海 Taiwan 冷泉区沉积物微生物多样性与分布规律研究[J]. 微生物学报, 2022, 62(6): 2001-2020.
SUN Y, NIU MY, LIU Q, ZHUANG GC, WANG FP. Diversity and distribution of microorganisms in the sediment of Taiwan cold seep in South China Sea[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2022, 62(6): 2001-2020 (in Chinese).

[37] CRUAUD P, VIGNERON A, PIGNET P, CAPRAIS JC, LESONGEUR F, TOFFIN L, GODFROY A, CAMBON-BONAVITA MA. Comparative study of Guaymas Basin microbiomes: cold seeps *vs*. hydrothermal vents sediments[J]. Frontiers in Marine Science, 2017, 4: 417.

[38] CHEN Y, XU CL, WU NY, SUN ZL, LIU CL, ZHEN Y, XIN YZ, ZHANG XL, GENG W, CAO H, ZHAI B, LI J, QIN SS, ZHOU YC. Diversity of anaerobic methane oxidizers in the cold seep sediments of the Okinawa trough[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 819187.

[39] GRÜNDGER F, CARRIER V, SVENNING MM, PANIERI G, VONNAHME TR, KLASEK S, NIEMANN H. Methane-fuelled biofilms predominantly composed of methanotrophic ANME-1 in Arctic gas hydrate-related sediments[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 9725.

[40] WU YZ, QIU JW, QIAN PY, WANG Y. The vertical distribution of prokaryotes in the surface sediment of Jiaolong cold seep at the northern South China Sea[J]. Extremophiles, 2018, 22(3): 499-510.

[41] KLASEK SA, HONG WL, TORRES ME, ROSS S, HOSTETLER K, PORTNOV A, GRÜNDGER F, COLWELL FS. Distinct methane-dependent biogeochemical states in Arctic seafloor gas hydrate mounds[J]. Nature Communications, 2021, 12(1): 6296.

[42] CHADWICK GL, SKENNERTON CT, LASO-PÉREZ R, LEU AO, SPETH DR, YU H, MORGAN-LANG C, HATZENPICHLER R, GOUDEAU D, MALMSTROM R, BRAZELTON WJ, WOYKE T, HALLAM SJ, TYSON GW, WEGENER G, BOETIUS A, ORPHAN VJ. Comparative genomics reveals electron transfer and syntrophic mechanisms differentiating methanotrophic and methanogenic archaea[J]. PLoS Biology, 2022, 20(1): e3001508.

[43] MURALI R, YU H, SPETH D, WU FB, METCALFE K, CRÉMIÈRE A, LASO-PÉREZ R, MALMSTROM R, GOUDEAU D, WOYKE T, HATZENPICHLER R, CHADWICK G, ORPHAN V. Physiological adaptation of sulfate reducing bacteria in syntrophic partnership with anaerobic methanotrophic archaea[J]. bioRxiv, 2022: 2022.11.23.517749.

[44] ADAM PS, BORREL G, BROCHIER-ARMANET C, GRIBALDO S. The growing tree of archaea: new perspectives on their diversity, evolution and ecology[J]. The ISME Journal, 2017, 11(11): 2407-2425.

[45] TIMMERS PHA, WELTE CU, KOEHORST JJ, PLUGGE CM, JETTEN MSM, STAMS AJM. Reverse methanogenesis and respiration in methanotrophic archaea[J]. Archaea, 2017, 2017: 1654237.

[46] LI WL, WU YZ, ZHOU GW, HUANG H, WANG Y. Metabolic diversification of anaerobic methanotrophic

archaea in a deep-sea cold seep[J]. Marine Life Science & Technology, 2020, 2(4): 431-441.

[47] WEGENER G, KRUKENBERG V, RIEDEL D, TEGETMEYER HE, BOETIUS A. Intercellular wiring enables electron transfer between methanotrophic archaea and bacteria[J]. Nature, 2015, 526(7574): 587-590.

[48] MURALI R, YU H, SPETH DR, WU FB, METCALFE KS, CRÉMIÈRE A, LASO-PÈREZ R, MALMSTROM RR, GOUDEAU D, WOYKE T, HATZENPICHLER R, CHADWICK GL, CONNON SA, ORPHAN VJ. Physiological potential and evolutionary trajectories of syntrophic sulfate-reducing bacterial partners of anaerobic methanotrophic archaea[J]. PLoS Biology, 2023, 21(9): e3002292.

[49] HANSON RS, HANSON TE. Methanotrophic bacteria[J]. Microbiological Reviews, 1996, 60(2): 439-471.

[50] NIU MY, DENG LH, SU L, RUFF SE, YANG N, LUO M, QI Q, LI JT, WANG FP. Methane supply drives prokaryotic community assembly and networks at cold seeps of the South China Sea[J]. Molecular Ecology, 2023, 32(3): 660-679.

[51] LV YX, YANG SS, XIAO X, ZHANG Y. Stimulated organic carbon cycling and microbial community shift driven by a simulated cold-seep eruption[J]. mBio, 2022, 13(2): e0008722.

[52] SEABROOK S, TORRES ME, BAUMBERGER T, BUTTERFIELD D, ROE K, CUMMINGS M, CRAWFORD R, THURBER AR. Ubiquitous but unique: water depth and oceanographic attributes shape methane seep communities[J]. Limnology and Oceanography, 2024, 69(5): 1218-1232.

[53] BIDDLE JF, SYLVAN JB, BRAZELTON WJ, TULLY BJ, EDWARDS KJ, MOYER CL, HEIDELBERG JF, NELSON WC. Prospects for the study of evolution in the deep biosphere[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 2: 285.

[54] SHU WS, HUANG LN. Microbial diversity in extreme environments[J]. Nature Reviews Microbiology, 2022, 20(4): 219-235.

[55] PASULKA AL, LEVIN LA, STEELE JA, CASE DH, LANDRY MR, ORPHAN VJ. Microbial eukaryotic distributions and diversity patterns in a deep-sea methane seep ecosystem[J]. Environmental Microbiology, 2016, 18(9): 3022-3043.

[56] NAGAHAMA T, TAKAHASHI E, NAGANO Y, ABDEL-WAHAB MA, MIYAZAKI M. Molecular evidence that deep-branching fungi are major fungal components in deep-sea methane cold-seep sediments[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(8): 2359-2370.

[57] SAFFO MB, McCOY AM, RIEKEN C, SLAMOVITS CH. *Nephromyces*, a beneficial api complexan symbiont in marine animals[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(37): 16190-16195.

[58] ZHANG Y, HUANG N, WANG MX, LIU HB, JING HM. Microbial eukaryotes associated with sediments in deep-sea cold seeps[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 782004.

[59] ZHAO F, FILKER S, XU KD, HUANG PP, ZHENG S. Microeukaryote communities exhibit phyla-specific distance-decay patterns and an intimate link between seawater and sediment habitats in the Western Pacific Ocean[J]. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 2020, 160: 103279.

[60] WAKEMAN KC. Molecular Molecular phylogeny of marine gregarines (*Apicomplexa*) from the Sea of Japan and the Northwest Pacific including the description of three novel species of *Selenidium* and *Trollidium akkeshiense* n. gen. n. sp.[J]. Protist, 2020, 171(1): 125710.

[61] SUTTLE CA. Marine viruses: major players in the global ecosystem[J]. Nature Reviews Microbiology, 2007, 5(10): 801-812.

[62] CAI LL, WEINBAUER MG, XIE L, ZHANG R. The smallest in the deepest: the enigmatic role of viruses in the deep biosphere[J]. National Science Review, 2023, 10(4): nwad009.

[63] BIRD DF, JUNIPER SK, RICCIARDI-RIGAULT M, MARTINEU P, PRAIRIE YT, CALVERT SE. Subsurface viruses and bacteria in Holocene/Late Pleistocene sediments of Saanich Inlet, BC: ODP Holes 1033B and 1034B, Leg 169S[J]. Marine Geology, 2001, 174(1/2/3/4): 227-239.

[64] MIDDELBOE M, GLUD RN, FILIPPINI M. Viral abundance and activity in the deep sub-seafloor biosphere[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2011, 63(1): 1-8.

[65] CAI LL, JØRGENSEN BB, SUTTLE CA, HE MQ, CRAGG BA, JIAO NZ, ZHANG R. Active and diverse viruses persist in the deep sub-seafloor sediments over thousands of years[J]. The ISME Journal, 2019, 13(7): 1857-1864.

[66] ZHANG XY, WAN HT, JIN M, HUANG LQ, ZHANG XB. Environmental viromes reveal global virosphere

of deep-sea sediment RNA viruses[J]. Journal of Advanced Research, 2024, 56: 87-102.

[67] DOMBROWSKI N, SEITZ KW, TESKE AP, BAKER BJ. Genomic insights into potential interdependencies in microbial hydrocarbon and nutrient cycling in hydrothermal sediments[J]. Microbiome, 2017, 5(1): 106.

[68] ORCUTT BN, SYLVAN JB, KNAB NJ, EDWARDS KJ. Microbial ecology of the dark ocean above, at, and below the seafloor[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 2011, 75(2): 361-422.

[69] REGNIER P, DALE AW, ARNDT S, LaROWE DE, MOGOLLÓN J, van CAPPELLEN P. Quantitative analysis of anaerobic oxidation of methane (AOM) in marine sediments: a modeling perspective[J]. Earth-Science Reviews, 2011, 106(1/2): 105-130.

[70] COCHRAN JK, LANDMAN NH, JAKUBOWICZ M, BREZINA J, NAUJOKAITYTE J, RASHKOVA A, GARB MP, LARSON NL. Geochemistry of cold hydrocarbon seeps: an overview[M]//Topics in Geobiology. Cham: Springer International Publishing, 2022: 3-45.

[71] XIAO X, LUO M, ZHANG CW, ZHANG TT, YIN XR, WU XM, ZHAO J, TAO J, CHEN ZH, LIANG QY, DONG XY. Metal-driven anaerobic oxidation of methane as an important methane sink in methanic cold seep sediments[J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(2): e0533722.

[72] CUI MM, MA AZ, QI HY, ZHUANG XL, ZHUANG GQ. Anaerobic oxidation of methane: an “active” microbial process[J]. MicrobiologyOpen, 2015, 4(1): 1-11.

[73] JING HM, WANG RN, JIANG QY, ZHANG Y, PENG XT. Anaerobic methane oxidation coupled to denitrification is an important potential methane sink in deep-sea cold seeps[J]. Science of the Total Environment, 2020, 748: 142459.

[74] YANG SS, LV YX, LIU XP, WANG YZ, FAN QL, YANG ZF, BOON N, WANG FP, XIAO X, ZHANG Y. Genomic and enzymatic evidence of acetogenesis by anaerobic methanotrophic archaea[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 3941.

[75] RUFF SE, ARNDS J, KNITTEL K, AMANN R, WEGENER G, RAMETTE A, BOETIUS A. Microbial communities of deep-sea methane seeps at Hikurangi continental margin (New Zealand)[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e72627.

[76] MIYAJIMA Y, AOYAGI T, YOSHIOKA H, HORI T, TAKAHASHI HA, TANAKA M, TSUKASAKI A, GOTO S, SUZUMURA M. Impact of concurrent aerobic-anaerobic methanotrophy on methane emission from marine sediments in gas hydrate area[J]. Environmental Science & Technology, 2024, 58(11): 4979-4988.

[77] ZHANG CW, FANG YX, YIN XR, LAI HF, KUANG ZG, ZHANG T, XU XP, WEGENER G, WANG JH, DONG XY. The majority of microorganisms in gas hydrate-bearing subseafloor sediments ferment macromolecules[J]. Microbiome, 2023, 11(1): 37.

[78] CHEN SC, TENG NH, LIN YS, LAI MC, CHEN HH, WANG CC. *Methanofollis fontis* sp. nov., a methanogen isolated from marine sediment near a cold seep at Four-Way Closure Ridge offshore southwestern Taiwan[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2020, 70(10): 5497-5502.

[79] LI LY, ZHANG WT, ZHANG SJ, SONG L, SUN QL, ZHANG H, XIANG H, DONG XZ. Bacteria and Archaea synergistically convert glycine betaine to biogenic methane in the Taiwan cold seep of the South China Sea[J]. mSystems, 2021, 6(5): e0070321.

[80] CHEN SC, MUSAT N, LECHTENFELD OJ, PASCHKE H, SCHMIDT M, SAID N, POPP D, CALABRESE F, STRYHANYUK H, JAEKEL U, ZHU YG, JOYE SB, RICHNOW HH, WIDDEL F, MUSAT F. Anaerobic oxidation of ethane by archaea from a marine hydrocarbon seep[J]. Nature, 2019, 568(7750): 108-111.

[81] KNIEMEYER O, MUSAT F, SIEVERT SM, KNITTEL K, WILKES H, BLUMENBERG M, MICHAELIS W, CLASSEN A, BOLM C, JOYE SB, WIDDEL F. Anaerobic oxidation of short-chain hydrocarbons by marine sulphate-reducing bacteria[J]. Nature, 2007, 449(7164): 898-901.

[82] LASO-PÉREZ R, WEGENER G, KNITTEL K, WIDDEL F, HARDING KJ, KRUKENBERG V, MEIER DV, RICHTER M, TEGETMEYER HE, RIEDEL D, RICHNOW HH, ADRIAN L, REEMTSMA T, LECHTENFELD OJ, MUSAT F. Thermophilic archaea activate butane *via* alkyl-coenzyme M formation[J]. Nature, 2016, 539(7629): 396-401.

[83] KLEINDIENST S, HERBST FA, STAGARS M, von NETZER F, von BERGEN M, SEIFERT J, PEPLIES J, AMANN R, MUSAT F, LUEDERS T, KNITTEL K. Diverse sulfate-reducing bacteria of the *Desulfosarcina*/*Desulfococcus* clade are the key alkane

degraders at marine seeps[J]. The ISME Journal, 2014, 8(10): 2029-2044.

[84] VIGNERON A, ALSOP EB, CRUAUD P, PHILIBERT G, KING B, BAKSMATY L, LAVALLÉE D, LOMANS BP, KYRPIDES NC, HEAD IM, TSESMETZIS N. Comparative metagenomics of hydrocarbon and methane seeps of the Gulf of Mexico[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 16015.

[85] PAVLOVA ON, IZOSIMOVA ON, CHERNITSYNA SM, IVANOV VG, POGODAEVA TV, KHABUEV AV, GORSHKOV AG, ZEMSKAYA TI. Anaerobic oxidation of petroleum hydrocarbons in enrichment cultures from sediments of the Gorevoy Utes natural oil seep under methanogenic and sulfate-reducing conditions[J]. Microbial Ecology, 2022, 83(4): 899-915.

[86] INAGAKI F, HINRICHS KU, KUBO Y, BOWLES MW, HEUER VB, HONG WL, HOSHINO T, IJIRI A, IMACHI H, ITO M, KANEKO M, LEVER MA, LIN YS, METHÉ BA, MORITA S, MORONO Y, TANIKAWA W, BIHAN M, BOWDEN SA, ELVERT M, et al. Exploring deep microbial life in coal-bearing sediment down to ~2.5 km below the ocean floor[J]. Science, 2015, 349(6246): 420-424.

[87] SALEHIZADEH H, YAN N, FARNOOD R. Recent advances in microbial CO_2 fixation and conversion to value-added products[J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 390: 124584.

[88] JIANG QY, JING HM, JIANG QL, ZHANG Y. Insights into carbon-fixation pathways through metagonomics in the sediments of deep-sea cold seeps[J]. Marine Pollution Bulletin, 2022, 176: 113458.

[89] HUANG JM, BAKER BJ, LI JT, WANG Y. New microbial lineages capable of carbon fixation and nutrient cycling in deep-sea sediments of the northern South China Sea[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2019, 85(15): e00523-19.

[90] BOWLES MW, MOGOLLÓN JM, KASTEN S, ZABEL M, HINRICHS KU. Global rates of marine sulfate reduction and implications for sub-sea-floor metabolic activities[J]. Science, 2014, 344(6186): 889-891.

[91] WASMUND K, MUßMANN M, LOY A. The life sulfuric: microbial ecology of sulfur cycling in marine sediments[J]. Environmental Microbiology Reports, 2017, 9(4): 323-344.

[92] JØRGENSEN BB, FINDLAY AJ, PELLERIN A. The biogeochemical sulfur cycle of marine sediments[J]. Frontiers in Microbiology, 2019, 10: 849.

[93] SMITH JM, DAMASHEK J, CHAVEZ FP, FRANCIS CA. Factors influencing nitrification rates and the abundance and transcriptional activity of ammonia-oxidizing microorganisms in the dark northeast Pacific Ocean[J]. Limnology and Oceanography, 2016, 61(2): 596-609.

[94] LI WL, DONG XY, LU R, ZHOU YL, ZHENG PF, FENG D, WANG Y. Microbial ecology of sulfur cycling near the sulfate-methane transition of deep-sea cold seep sediments[J]. Environmental Microbiology, 2021, 23(11): 6844-6858.

[95] 刘阳, 姜丽晶, 邵宗泽. 硫氧化细菌的种类及硫氧化途径的研究进展[J]. 微生物学报, 2018, 58(2): 191-201.
LIU Y, JIANG LJ, SHAO ZZ. Advances in sulfur-oxidizing bacterial taxa and their sulfur oxidation pathways[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2018, 58(2): 191-201 (in Chinese).

[96] CAI RN, HE WY, LIU R, ZHANG J, ZHANG X, SUN CM. Deep-sea *in situ* insights into the formation of zero-valent sulfur driven by a bacterial thiosulfate oxidation pathway[J]. mBio, 2022, 13(4): e0014322.

[97] ZHANG J, LIU R, XI SC, CAI RN, ZHANG X, SUN CM. A novel bacterial thiosulfate oxidation pathway provides a new clue about the formation of zero-valent sulfur in deep sea[J]. The ISME Journal, 2020, 14(9): 2261-2274.

[98] CAI RN, HE WY, ZHANG J, LIU R, YIN ZY, ZHANG X, SUN CM. Blue light promotes zero-valent sulfur production in a deep-sea bacterium[J]. The EMBO Journal, 2023, 42(12): e112514.

[99] ZEHR JP, CAPONE DG. Changing perspectives in marine nitrogen fixation[J]. Science, 2020, 368(6492): eaay9514.

[100] GARCIA AK, KOLACZKOWSKI B, KAÇAR B. Reconstruction of nitrogenase predecessors suggests origin from maturase-like proteins[J]. Genome Biology and Evolution, 2022, 14(3): evac031.

[101] JOYE SB, BOETIUS A, ORCUTT BN, MONTOYA JP, SCHULZ HN, ERICKSON MJ, LUGO SK. The anaerobic oxidation of methane and sulfate reduction in sediments from Gulf of Mexico cold seeps[J]. Chemical Geology, 2004, 205(3/4): 219-238.

[102] METCALFE KS, MURALI R, MULLIN SW, CONNON SA, ORPHAN VJ. Experimentally-validated correlation analysis reveals new anaerobic methane oxidation partnerships with

consortium-level heterogeneity in diazotrophy[J]. The ISME Journal, 2021, 15(2): 377-396.

[103] DONG XY, ZHANG CW, PENG YY, ZHANG HX, SHI LD, WEI GS, HUBERT CRJ, WANG Y, GREENING C. Phylogenetically and catabolically diverse diazotrophs reside in deep-sea cold seep sediments[J]. Nature Communications, 2022, 13(1): 4885.

[104] BOWLES M, JOYE S. High rates of denitrification and nitrate removal in cold seep sediments[J]. The ISME Journal, 2011, 5(3): 565-567.

[105] JIANG QY, JING HM, LIU H, DU MR. Biogeographic distributions of microbial communities associated with anaerobic methane oxidation in the surface sediments of deep-sea cold seeps in the South China Sea[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1060206.

[106] JIANG QY, JING HM, LI XG, WAN Y, CHOU IM, HOU LJ, DONG HP, NIU YH, GAO DZ. Active pathways of anaerobic methane oxidization in deep-sea cold seeps of the South China Sea[J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(6): e0250523.

[107] DEVOL AH. Denitrification, anammox, and N_2 production in marine sediments[J]. Annual Review of Marine Science, 2015, 7: 403-423.

[108] SHAO SD, LUAN XW, DANG HY, ZHOU HX, ZHAO YK, LIU HT, ZHANG YB, DAI LQ, YE Y, KLOTZ MG. Deep-sea methane seep sediments in the Okhotsk Sea sustain diverse and abundant anammox bacteria[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 87(2): 503-516.

[109] WU JP, HONG YG, CHANG XY, JIAO LJ, LI YB, LIU XH, XIE HT, GU JD. Unexpectedly high diversity of anammox bacteria detected in deep-sea surface sediments of the South China Sea[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2019, 95(3): fiz013.

[110] DU EZ, TERRER C, PELLEGRINI AFA, AHLSTRÖM A, van LISSA CJ, ZHAO X, XIA N, WU XH, JACKSON RB. Global patterns of terrestrial nitrogen and phosphorus limitation[J]. Nature Geoscience, 2020, 13: 221-226.

[111] MEEDS JA, MARTY KRANABETTER J, ZIGG I, DUNN D, MIROS F, SHIPLEY P, JONES MD. Phosphorus deficiencies invoke optimal allocation of exoenzymes by ectomycorrhizas[J]. The ISME Journal, 2021, 15(5): 1478-1489.

[112] REINHARD CT, PLANAVSKY NJ, GILL BC, OZAKI K, ROBBINS LJ, LYONS TW, FISCHER WW, WANG CJ, COLE DB, KONHAUSER KO. Evolution of the global phosphorus cycle[J]. Nature, 2017, 541(7637): 386-389.

[113] DEFFOREY D, PAYTAN A. Phosphorus cycling in marine sediments: advances and challenges[J]. Chemical Geology, 2018, 477: 1-11.

[114] LOCKWOOD S, GREENING C, BALTAR F, MORALES SE. Global and seasonal variation of marine phosphonate metabolism[J]. The ISME Journal, 2022, 16(9): 2198-2212.

[115] DUHAMEL S, DIAZ JM, ADAMS JC, DJAOUDI K, STECK V, WAGGONER EM. Phosphorus as an integral component of global marine biogeochemistry[J]. Nature Geoscience, 2021, 14: 359-368.

[116] CHEN QW, HU Y, PECKMANN J, CHEN LY, FENG D, LIANG QY, CHEN DF. The formation of authigenic phosphorus minerals in cold-seep sediments from the South China Sea: implications for carbon cycling below the sulfate-methane transition[J]. Marine and Petroleum Geology, 2023, 155: 106425.

[117] LIU JR, IZON G, WANG JS, ANTLER G, WANG Z, ZHAO J, EGGER M. Vivianite formation in methane-rich deep-sea sediments from the South China Sea[J]. Biogeosciences, 2018, 15(20): 6329-6348.

[118] EGGER M, KRAAL P, JILBERT T, SULU-GAMBARI F, SAPART CJ, RÖCKMANN T, SLOMP CP. Anaerobic oxidation of methane alters sediment records of sulfur, iron and phosphorus in the Black Sea[J]. Biogeosciences, 2016, 13(18): 5333-5355.

[119] ZHOU JL, DU MR, LI JW, XU HC, TA KW, CHEN S, PENG XT. Phosphorus species in deep-sea carbonate deposits: implications for phosphorus cycling in cold seep environments[J]. Minerals, 2020, 10(7): 645.

[120] NIJMAN TPA, AMADO AM, BODELIER PLE, VERAART AJ. Relief of phosphate limitation stimulates methane oxidation[J]. Frontiers in Environmental Science, 2022, 10: 804512.

[121] WU DD, XIE R, LIU J, YANG F, SUN TT, LIU LH, WU NY. Zone of metal-driven anaerobic oxidation of methane is an important sink for phosphorus in the Taixinan Basin, South China Sea[J]. Marine Geology, 2020, 427: 106268.

[122] DONG XY, GREENING C, RATTRAY JE, CHAKRABORTY A, CHUVOCHINA M, MAYUMI D, DOLFING J, LI C, BROOKS JM, BERNARD BB, GROVES RA, LEWIS IA, HUBERT CRJ. Metabolic potential of uncultured bacteria and Archaea associated with petroleum seepage in deep-sea sediments[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 1816.

[123] LYU LN, FANG KJ, ZHU ZC, LI J, CHEN Y, WANG L, MAI ZM, LI QQ, ZHANG S. Bioaccumulation of emerging persistent organic pollutants in the deep-sea cold seep ecosystems: evidence from chlorinated paraffin[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 445: 130472.

[124] LIU RL, WEI X, SONG WZ, WANG L, CAO JW, WU JX, THOMAS T, JIN T, WANG ZX, WEI WX, WEI YL, ZHAI HF, YAO C, SHEN ZY, DU JT, FANG JS. Novel *Chloroflexi* genomes from the deepest ocean reveal metabolic strategies for the adaptation to deep-sea habitats[J]. Microbiome, 2022, 10(1): 75.

[125] FINCKER M, HUBER JA, ORPHAN VJ, RAPPÉ MS, TESKE A, SPORMANN AM. Metabolic strategies of marine subseafloor *Chloroflexi* inferred from genome reconstructions[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(8): 3188-3204.

[126] VUILLEMIN A, KERRIGAN Z, D'HONDT S, ORSI WD. Exploring the abundance, metabolic potential and gene expression of subseafloor Chloroflexi in million-year-old oxic and anoxic abyssal clay[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2020, 96(12): fiaa223.

[127] LIU YH, WANG L, LIU RL, FANG JS. Biogeochemical cycling of halogenated organic compounds in the ocean: current progress and future directions[J]. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 2024, 205: 104237.

[128] HAN YC, PENG YY, PENG JX, CAO L, XU YR, YANG Y, WU MH, ZHOU H, ZHANG C, ZHANG DD, WANG MX, GREENING C, DONG XY. Phylogenetically and structurally diverse reductive dehalogenases link biogeochemical cycles in deep-sea cold seeps[J]. bioRxiv, 2024: 2024.01. 23.576788.

[129] HE ZF, ZHANG QY, FENG YD, LUO HW, PAN XL, GADD GM. Microbiological and environmental significance of metal-dependent anaerobic oxidation of methane[J]. Science of the Total Environment, 2018, 610: 759-768.

[130] 何丹, 张尔翼, 余林鹏, 周顺桂. 微生物甲烷厌氧氧化耦合金属还原研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2020, 26(4): 844-856.
HE D, ZHANG EY, YU LP, ZHOU SG. Advances in the anaerobic microbial oxidation of methane that is coupled with metal reduction[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2020, 26(4): 844-856 (in Chinese).

[131] MASUDA H, YOSHINISHI H, FUCHIDA S, TOKI T, EVEN E. Vertical profiles of arsenic and arsenic species transformations in deep-sea sediment, Nankai Trough, offshore Japan[J]. Progress in Earth and Planetary Science, 2019, 6(1): 28.

[132] TRIBOVILLARD N. Arsenic in marine sediments: how robust a redox proxy?[J]. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology, 2020, 550: 109745.

[133] CARVALHO L, MONTEIRO R, FIGUEIRA P, MIEIRO C, ALMEIDA J, PEREIRA E, MAGALHÃES V, PINHEIRO L, VALE C. Vertical distribution of major, minor and trace elements in sediments from mud volcanoes of the Gulf of Cadiz: evidence of Cd, As and Ba fronts in upper layers[J]. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 2018, 131: 133-143.

[134] QIN J, ROSEN BP, ZHANG Y, WANG GJ, FRANKE S, RENSING C. Arsenic detoxification and evolution of trimethylarsine gas by a microbial arsenite S-adenosylmethionine methyltransferase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103(7): 2075-2080.

[135] MUKHOPADHYAY R, ROSEN BP. Arsenate reductases in prokaryotes and eukaryotes[J]. Environmental Health Perspectives, 2002, 110(5): 745-748.

[136] ZHANG CW, LIU XY, SHI LD, LI JW, XIAO X, SHAO ZZ, DONG XY. Unexpected genetic and microbial diversity for arsenic cycling in deep sea cold seep sediments[J]. NPJ Biofilms and Microbiomes, 2023, 9(1): 13.

[137] YUAN JJ, LIU Y, CHEN S, PENG XT, LI YF, LI SJ, ZHANG R, ZHENG W, CHEN JB, SUN RY, HEIMBÜRGER-BOAVIDA LE. Mercury isotopes in deep-sea epibenthic biota suggest limited Hg transfer from photosynthetic to chemosynthetic food webs[J]. Environmental Science & Technology, 2023, 57(16): 6550-6562.

[138] LI JW, DONG XY, TANG YJ, ZHANG CW, YANG YL, ZHANG W, LIU SS, YUAN W, FENG XB, HEIMBÜRGER-BOAVIDA LE, WANG FY, SHANG LH, PENG XT. Deep sea cold seeps are a sink for mercury and source for methylmercury[J]. Communications Earth & Environment, 2024, 5: 324.

[139] LIN H, ASCHER DB, MYUNG Y, LAMBORG CH, HALLAM SJ, GIONFRIDDO CM, HOLT KE, MOREAU JW. Mercury methylation by metabolically versatile and cosmopolitan marine bacteria[J]. The ISME Journal, 2021, 15(6): 1810-1825.

[140] GIOVANNELLI D. Trace metal availability and the evolution of biogeochemistry[J]. Nature Reviews Earth & Environment, 2023, 4: 597-598.

[141] GLASS JB, YU H, STEELE JA, DAWSON KS, SUN SL, CHOUREY K, PAN CL, HETTICH RL, ORPHAN VJ. Geochemical, metagenomic and metaproteomic insights into trace metal utilization by methane-oxidizing microbial consortia in sulphidic marine sediments[J]. Environmental Microbiology, 2014, 16(6): 1592-1611.

[142] SCHELLER S, GOENRICH M, BOECHER R, THAUER RK, JAUN B. The key nickel enzyme of methanogenesis catalyses the anaerobic oxidation of methane[J]. Nature, 2010, 465(7298): 606-608.

[143] THAUER RK, KASTER AK, GOENRICH M, SCHICK M, HIROMOTO T, SHIMA S. Hydrogenases from methanogenic Archaea, nickel, a novel cofactor, and H_2 storage[J]. Annual Review of Biochemistry, 2010, 79: 507-536.

[144] DYNARSKI KA, HOULTON BZ. Nutrient limitation of terrestrial free-living nitrogen fixation[J]. The New Phytologist, 2018, 217(3): 1050-1061.

[145] BAYON G, LEMAITRE N, BARRAT JA, WANG XD, FENG D, DUPERRON S. Microbial utilization of rare earth elements at cold seeps related to aerobic methane oxidation[J]. Chemical Geology, 2020, 555: 119832.

[146] HAN YC, LIAO J, LI CP, XING FM, PENG JX, LIU XY, XIE WT, WU FB, JIAN HH, CHENG R, DONG XY. Diverse defense systems synergistically drive the microbe-virus arms race in deep sea cold seeps[J]. bioRxiv, 2024: 2024.09.26.614923.

[147] JAEKEL U, MUSAT N, ADAM B, KUYPERS M, GRUNDMANN O, MUSAT F. Anaerobic degradation of propane and butane by sulfate-reducing bacteria enriched from marine hydrocarbon cold seeps[J]. The ISME Journal, 2013, 7(5): 885-895.

[148] HOWE KL, ZAUGG J, MASON OU. Novel, active, and uncultured hydrocarbon-degrading microbes in the ocean[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2024, 90(9): e0122424.

[149] ZHENG RK, WANG C, LIU R, CAI RN, SUN CM. Physiological and metabolic insights into the first cultured anaerobic representative of deep-sea *Planctomycetes* bacteria[J]. eLife, 2024, 12: RP89874.

[150] ZHENG RK, CAI RN, LIU R, LIU G, SUN CM. *Maribellus comscasis* sp. nov., a novel deep-sea Bacteroidetes bacterium, possessing a prominent capability of degrading cellulose[J]. Environmental Microbiology, 2021, 23(8): 4561-4575.

[151] WU ZD, ZHENG RK, LIU G, LIU R, WU SM, SUN CM. Calcium protects bacteria against cadmium stress *via* reducing nitric oxide production and increasing iron acquisition[J]. Environmental Microbiology, 2021, 23(7): 3541-3553.

[152] MA N, SUN CM. Cadmium sulfide nanoparticle biomineralization and biofilm formation mediate cadmium resistance of the deep-sea bacterium *Pseudoalteromonas* sp. MT33b[J]. Environmental Microbiology Reports, 2021, 13(3): 325-336.

[153] van LANDUYT J, CIMMINO L, DUMOLIN C, CHATZIGIANNIDOU I, TAVEIRNE F, MATTELIN V, ZHANG Y, VANDAMME P, SCOMA A, WILLIAMSON A, BOON N. Microbial enrichment, functional characterization and isolation from a cold seep yield piezotolerant obligate hydrocarbon degraders[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2020, 96(9): fiaa097.

[154] DONG XY, ZHANG T, WU WC, PENG YY, LIU XY, HAN YC, CHEN XW, GAO ZZ, XIA JM, SHAO ZZ, GREENING C. A vast repertoire of secondary metabolites potentially influences community dynamics and biogeochemical processes in cold seeps[J]. Science Advances, 2024, 10(17): eadl2281.

[155] YAN LH, LI PH, LI XM, YANG SQ, LIU KC, WANG BG, LI X. Chevalinulins A and B, proangiogenic alkaloids with a spiro[bicyclo[2.2.2]octane-diketopiperazine] skeleton from deep-sea cold-seep-derived fungus *Aspergillus chevalieri* CS-122[J]. Organic Letters, 2022, 24(14): 2684-2688.

[156] CHI LP, LI XM, WAN YP, LI X, WANG BG. Ophiobolin sesterterpenoids and farnesylated phthalide derivatives from the deep sea cold-seep-derived fungus *Aspergillus insuetus* SD-512[J]. Journal of Natural Products, 2020, 83(12): 3652-3660.

[157] YING Z, LI XM, YANG SQ, LI HL, LI X, WANG BG, MENG LH. Pseudallenes A and B, new sulfur-containing ovalicin sesquiterpenoid derivatives with antimicrobial activity from the deep-sea cold seep sediment-derived fungus *Pseudallescheria boydii* CS-793[J]. Beilstein Journal of Organic Chemistry, 2024, 20: 470-478.

[158] CHI LP, LI XM, WAN YP, LI YH, LI X, WANG BG. Two new phenol derivatives from the cold seep-derived fungus *Aspergillus insuetus* SD-512[J]. Chemistry & Biodiversity, 2021, 18(10): e2100512.

[159] SONG Q, YANG SQ, LI XM, HU XY, LI X, WANG BG. Aromatic polyketides from the deep-sea cold-seep mussel associated endozoic fungus *Talaromyces minioluteus* CS-138[J]. Marine Drugs, 2022, 20(8): 529.

[160] HU XY, WANG CY, LI XM, YANG SQ, LI X, WANG BG, SI SY, MENG LH. Cytochalasin derivatives from the endozoic *Curvularia verruculosa* CS-129, a fungus isolated from the deep-sea squat lobster *Shinkaia crosnieri* living in the cold seep environment[J]. Journal of Natural Products, 2021, 84(12): 3122-3130.

[161] JIN EJ, LI HY, LIU ZZ, XIAO F, LI WL. Antibiotic dixiamycins from a cold-seep-derived *Streptomyces olivaceus*[J]. Journal of Natural Products, 2021, 84(9): 2606-2611.

[162] WANG QC, WEI MS, ZHANG JJ, YUE Y, WU N, GENG LH, SUN CM, ZHANG QB, WANG J. Structural characteristics and immune-enhancing activity of an extracellular polysaccharide produced by marine *Halomonas* sp. 2E1[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 183: 1660-1668.

[163] WANG Y, LIU G, LIU R, WEI MS, ZHANG JX, SUN CM. EPS364, a novel deep-sea bacterial exopolysaccharide, inhibits liver cancer cell growth and adhesion[J]. Marine Drugs, 2021, 19(3): 171.

[164] WU SM, LIU G, ZHOU SN, SHA ZX, SUN CM. Characterization of antifungal lipopeptide biosurfactants produced by marine bacterium *Bacillus* sp. CS30[J]. Marine Drugs, 2019, 17(4): 199.

[165] ZHAO Y, SUN L. *Bacillus cereus* cytotoxin K triggers gasdermin D-dependent pyroptosis[J]. Cell Death Discovery, 2022, 8(1): 305.

[166] ZHANG XW, HU T, PANG XQ, HU Y, WANG T, WANG EZ, XU Z, LIU XH, WU ZY. Evaluation of natural gas hydrate resources in the South China Sea by combining volumetric and trend-analysis methods[J]. Petroleum Science, 2022, 19(1): 37-47.

[167] KIM B, ZHANG YG. Methane hydrate dissociation across the Oligocene-Miocene boundary[J]. Nature Geoscience, 2022, 15: 203-209.

[168] van GRINSVEN S, SINNINGHE DAMSTÉ JS, ABDALA ASBUN A, ENGELMANN JC, HARRISON J, VILLANUEVA L. Methane oxidation in anoxic lake water stimulated by nitrate and sulfate addition[J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(2): 766-782.