

DOI: 10.3969/j.issn.2095-9869.20241101002

http://www.yykxjz.cn/

龚辰, 邵礼仪, 陈文坚, 何漪咏, 李嘉洁, 赵雨琦, 黎嘉宁, 周磊. 基于宏基因组的北部湾海洋微生物固碳潜能评估及影响因素分析. 渔业科学进展, 2025, 46(6): 102–114

GONG C, SHAO L Y, CHEN W J, HE Y Y, LI J J, ZHAO Y Q, LI J N, ZHOU L. Evaluation of carbon fixation potential and analysis of influencing factors of marine microorganisms in the Beibu Gulf based on metagenomics. Progress in Fishery Sciences, 2025, 46(6): 102–114

基于宏基因组的北部湾海洋微生物 固碳潜能评估及影响因素分析*

龚 辰¹ 邵礼仪¹ 陈文坚^{1,2} 何漪咏¹ 李嘉洁¹
赵雨琦¹ 黎嘉宁¹ 周 磊^{1①}

(1. 华南农业大学海洋学院 广东 广州 510880;

2. 广西壮族自治区水产科学研究院 广西水产遗传育种与健康养殖重点实验室 广西 南宁 530021)

摘要 海洋微生物个体虽小, 但却是海洋生态系统中元素循环和能量流动的主要驱动者和承担者, 是巨大的有机碳库。为了解北部湾海洋微生物的固碳潜能, 本研究基于对北部湾水体及其理化指标开展的 40 个站点 2 个航次的监测结果, 通过宏基因组测序, 用海洋微生物的固碳途径丰度表征并评估其固碳潜能。结果显示, 北部湾海域固碳关键基因丰度呈现明显的时空差异: 丰水期时, 3-羟基丙酸双循环途径(3HB)活跃于海湾和沿海地区; 枯水期时, 卡尔文循环(CBB)途径活跃于岛屿地区, 3HB 途径则主要活跃于海湾地区; 伍德-隆达尔代谢途径(WL)的关键基因仅在枯水期岛屿区域中被检测到。PCoA 排序图显示, 碳汇关键基因在丰水期($r=0.111$, $P=0.035$)和枯水期($r=0.416$, $P=0.001$)均存在显著的区域差异; 此外, 在丰水期 CBB 在所有固碳途径中占主导地位(70%), 而在枯水期 CBB 和 3HB 途径相对丰度相当, 且均占重要比重(49%和 50%); 总体而言, 北部湾海域海洋微生物在丰水期的固碳潜能[最大值为 55.39 TPM (transcript per million), 平均值为 23.68 TPM]高于枯水期(最大值为 29.52 TPM, 平均值为 19.07 TPM)。Mantel's Test 结果显示, 盐度、活性磷酸盐、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮、总氮和总有机碳与固碳途径丰度之间呈极显著相关($P<0.01$)。本研究揭示了北部湾海洋微生物在不同水文期固碳基因及途径丰度的时空差异, 表明海洋微生物的固碳潜能受环境理化因子影响显著, 为深入理解区域海洋碳循环机制及制定碳汇调控策略提供了科学依据。

关键词 海洋微生物; 宏基因组; 固碳途径; 固碳潜能

中图分类号 F326.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2025)06-0102-13

海洋微生物虽然个体小至肉眼无法看见, 却是巨大的有机碳库, 是海洋生态系统中元素循环和能量流动的主要驱动者和承担者(马继波, 2006)。全球大气的近 90%的 CO_2 会进入海洋中参与碳循环(赵永松等,

2022), 海洋微生物则介导了碳元素生物地球化学循环中的碳固定、甲烷代谢和碳降解三个基础过程。其中, 碳固定过程指微生物吸收 CO_2 并将其转化为有机碳的过程(焦念志, 2012), 反映了固碳速率的大小

* 广西农业农村厅广西渔业油补项目(GXZC2022-G3-001062-ZHQB)、广西农业科技自筹经费项目(Z202280)、广东省基础与应用基础研究基金(2023A1515011586)和广州市科技计划(2023A04J0120)共同资助。龚 辰, Email: gongchenemail@scau.edu.cn

① 通信作者: 周 磊, 副教授, Email: zhoulei@scau.edu.cn

收稿日期: 2024-11-01, 收修稿日期: 2024-12-28

(Huang *et al.*, 2022)。目前, 已被发现的微生物固碳途径主要有 6 条, 分别为卡尔文循环(Calvin-Benson-Bassham cycle, CBB)、还原乙酰辅酶 A 途径(Wood-Ljungdahl pathway, WL)、还原型三羧酸循环(Reductive Tricarboxylic Acid cycle, rTCA)、3-羟基丙酸双循环(3-Hydroxypropionate bicycle, 3HB)、3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环(3-Hydroxypropionate/4-Hydroxybutyrate cycle, 3HB/4HB)和二羧酸/4-羟基丁酸循环(Dicarboxylate/4-Hydroxybutyrate cycle, DC/4HB) (Hu *et al.*, 2019; Liu *et al.*, 2019b; 袁红朝等, 2011)。在 6 条固碳途径中, 卡尔文循环是光合自养生物中最主要的碳固定途径(Asplund-Samuelsson *et al.*, 2021)。卡尔文循环通过光合作用将 CO_2 转化为有机碳, 在这个过程中, *prkB* 基因编码的磷酸核酮糖激酶(Phosphoribulokinase, PRK)扮演关键角色。作为限速酶, PRK 的活性直接影响循环效率, 对提高碳同化速率具有重要意义(李春荣等, 2024; 唐阳等, 2018)。其他的固碳途径则根据需氧程度、能量需求、辅酶使用等限制情况在不同微生物中分布相异(刘洋炎等, 2017)。3-羟基丁酸循环存在于特定的细菌和古菌中, 通过 3-羟基丁酰辅酶 A 脱氢酶等关键酶, 将 CO_2 转化为 3-羟基丁酸和乙酰辅酶 A 等中间产物。3HB 循环适应于低氧和极端环境, 在厌氧条件下具有较高的碳固定效率, 是一些极端环境中重要的碳固定途径(Liu *et al.*, 2019a; Loder *et al.*, 2016)。WL 循环则是厌氧微生物中的主要碳固定途径, 以乙酰辅酶 A 为核心产物, 主要依赖于乙酰辅酶 A 合酶(ACS)等关键酶基因。这一循环在低氧、厌氧环境中具有显著优势, 能量消耗低, 碳固定效率高, 是厌氧环境中最重要的碳固定途径之一, 在沼泽、沉积物等缺氧生态系统中发挥关键作用(Liu *et al.*, 2024b; Chi *et al.*, 2023)。

宏基因组学等相关技术的出现, 加速了对海洋等复杂环境中微生物的研究进展, 宏基因组技术无需分离或培养微生物, 基于从环境样本中直接分离的基因组 DNA, 便得以了解更全面准确的微生物群落在环境中的功能信息(寻卓然等, 2025; Quince *et al.*, 2017; Simon *et al.*, 2011; Hugenholtz *et al.*, 2008)。尽管宏基因组学等技术的应用极大推进了对复杂环境中微生物群落功能的研究, 使人们能够直接分析环境样本中的基因信息, 但当前大多数研究集中于离岸地区, 关于近岸海湾区域的碳汇潜能和影响机制尚不明确。例如王文静(2024)研究发现, 在渤海表层沉积物中 5 个碳固定关键功能基因平均丰度的趋势为 *cbbL*、*cbbM*、*hcd*、*aclB*、*accA* 依次递减。季风云等(2016)对南海

表层海水参与卡尔文循环的固碳基因多样性进行了研究, 发现在珠江口到南海北部海域表层海水中, 含 *cbbL* 基因的固碳细菌是该海域表层海水中参与卡尔文循环途径的主要菌群。Jiang 等(2022)对南海的冷泉和海槽沉积物进行宏基因组测序, 发现深海中存在 6 条固碳途径, 且 WL、rTCA 和 DC/4HB 途径由于对能量和 O_2 需求小而在深海中发挥重要作用。Yue 等(2023)对印度洋深海热液口沉积物宏基因组测序, 发现 rTCA、WL 和 CBB 是其主要的固碳途径。Campbell 等(2004)对从亚特兰蒂斯海隆到东太平洋海隆以及瓜伊马斯盆地深海热液口采集的样品中 *porA*、*aclB*、*nifJ* 等功能基因进行文库构建, 发现通过 rTCA 固定 CO_2 的主要微生物是 ϵ -变形菌(Epsilon-Proteobacteria)。但是, 近岸地区和远海地区的环境具有一定差异, 其微生物群落结构也会有所不同(Lema *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2019)。目前对北部湾海域微生物群落已有相关研究(何伟东, 2021), 关于地球化学循环也取得一定进展, 例如, 聂世清(2021)对北部湾红树林进行研究, 阐明了红树林生态系统降解氮污染的机制以及互花草入侵对红树林生态系统硝酸盐还原的影响。此外, 基于宏基因组, 氮循环(郭靖, 2020)、硫循环(莫淑名, 2022)等地球化学循环也开展了更为深入的研究, 但目前该海域基于宏基因组对海洋微生物碳汇潜能和影响机制仍不明确, 需要更系统的研究。

北部湾地处华南、西南和东盟经济圈结合处, 具有较高的区域优势和战略地位(陈洁等, 2019), 但其海洋碳汇仍缺乏全面系统的研究, 微生物群落在不同环境条件下的固碳潜能及其时空动态尚待深入研究。因此, 本研究基于野外调查数据, 采用宏基因组测序技术, 评估北部湾海域海洋微生物的固碳潜能及其影响因素。通过分析 40 个站点的水体理化指标和微生物固碳途径的丰度, 研究丰水期和枯水期不同区域的固碳途径的时空分布及其与环境因子的关系。研究结果可为进一步理解北部湾海洋微生物固碳潜能及其影响因素提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 采样站位与时间

在北部湾海域共布设 40 个调查站位, 于 2022 年 10 月(丰水期)、2023 年 1 月(枯水期)开展 2 期水体功能基因宏基因组监测及水体理化指标测定, 并根据采样点的地理特征将采样点分为海湾、沿海和岛屿 3 组。图 1 为采样站位具体地理位置及分组。

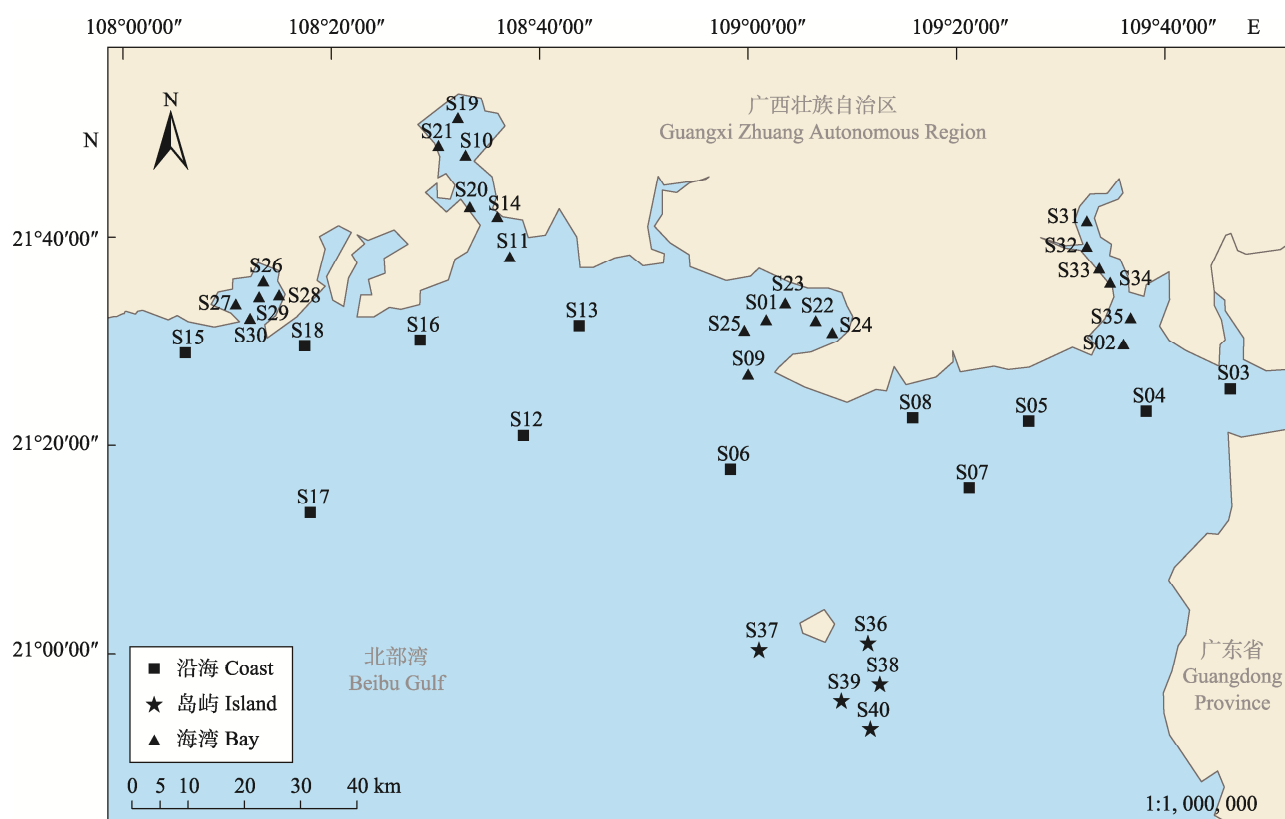


图1 北部湾海域海洋微生物采样站点[底图审图号为GS(2024)0650号]

Fig.1 Sampling sites for marine microorganisms in Beibu Gulf

1.2 样品采集与环境因子测定

按照《海洋监测规范》(GB17378.4-2007)第4部分的要求,使用有机玻璃采水器采集水深0.5 m处的水样,每个采样点采3个平行样,运到实验室后用孔径为0.45 μm 的硝酸纤维素滤膜进行过滤,将滤膜置于 -80°C 下保存,直至提取DNA。

采样的同时利用手持式GPS (Explorist-200)现场记录采样点经纬度,通过便携式多参数水质分析仪 (YSI6600-02, 美国)现场测定水温(WT, $^{\circ}\text{C}$)、溶解氧(DO, mg/L)、盐度(SAL, ‰)、酸碱度(pH)等环境理化因子,使用塞氏圆盘(SD-20)测定水体透明度(SD, m)。此外,取一定量水样经过规范处理后对各营养盐指标进行测定:活性磷酸盐(DIP, mg/L)浓度通过磷钼蓝分光光度法进行精确测定;总有机碳(TOC, mg/L)的测量采用总有机碳仪器法。总磷(TP, mg/L)和总氮(TN, mg/L)的测量采用过硫酸钾氧化法;氨氮($\text{NH}_4\text{-N}$, mg/L)、亚硝酸盐氮($\text{NO}_2\text{-N}$, mg/L)和硝酸盐氮($\text{NO}_3\text{-N}$, mg/L)的测定分别采用次溴酸盐氧化法、萘乙二胺分光光度法和镉柱还原法。

1.3 DNA提取、宏基因组测序

根据制造商的说明,使用Fast土壤DNA提取试

剂盒(MP Biomedicals, 美国)提取总微生物DNA。通过琼脂糖凝胶电泳(1%)检测DNA降解程度和潜在污染,采用Qubit[®] dsDNA Assay Kit in Qubit[®] 2.0 Fluorometer (Life Technologies, 美国)对DNA浓度进行测定,OD值在1.8~2.0之间,用于构建文库。作为测序制剂的输入材料,每个样品的DNA总量为1 μg 。使用NEBNext[®] Ultra[™] DNA文库制备试剂盒(NEB, 美国)生成测序文库,并添加索引代码以将序列归属于每个样品。简单地说,就是通过超声将DNA样本破碎到350 bp的大小,然后将DNA片段末端抛光,添加A尾,并与全长接头连接,用于Illumina测序和进一步的PCR扩增。最后,用AMPure XP系统纯化PCR产物,并用Agilent 2100生物分析仪分析文库的大小分布。在cBot聚类生成系统上对索引编码的样本进行聚类。聚类生成后,文库在Illumina Novaseq 6000平台上测序,生成成对末端reads。

1.4 基因和功能注释

对于宏基因组数据,利用DiTing软件分析并鉴定各基因所对应的生物地球化学途径(Xue *et al.*, 2021)。具体为:使用MEGAHIT的默认参数将来自每个样本的clean reads组装成contigs (Li *et al.*, 2015)。

使用带有“-p meta”选项的 prodigal v2.6.3 从 contigs 中预测潜在的功能基因(Hyatt *et al.*, 2010)。然后使用 KofamKOALA 进行基因功能注释。在每个样本中, 使用 BWA-MEM, 将 clean reads 映射回预测基因, 以获得每个基因的丰度。为了量化不同样本中基因的相对丰度, 使用每百万序列丰度(transcript per million, TPM)作为相对丰度测量单位(Bushnell, 2014)。最后, DiTing 基于 KEGG 数据库鉴定各基因所对应的生物地球化学途径, 提取参与碳循环中固碳途径的关键功能基因和代谢途径丰度进行可视化分析。

1.5 数据处理及分析

使用 ArcGIS v10.8 绘制研究区采样站位图及固碳途径分布图。使用 R v4.3.1 统计并绘制固碳基因相对丰度及分组间差异显著性图, 采用非参数 Kruskal-Wallis 检验分析组间差异。使用 R v4.3.1 中的 vegan 包进行 β 多样性分析, 基于距离矩阵的主坐标分析(principal coordinate analysis, PCoA)比较不同分组下固碳基因的 β 多样性, 采用相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)检验组间差异; 采用 R v4.3.1 对微生物固碳途径数据矩阵使用 Bray-Curtis 相异度(Bray-Curtis dissimilarity)计算微生物固碳途径间的差异, 而对环境变量数据矩阵采用欧氏距离(Euclidean distances)计算差异性, 最后使用 linkET 包的 mantel_test 函数进行相似性分析。

2 结果

2.1 北部湾海洋微生物固碳基因的时空分布特征与 β 多样性

本研究共获得 809 394 551 0 条高质量的测序 reads, 其中包括丰水期的 337 717 573 8 条 reads 和枯水期的 471 676 977 2 条 reads, 注释到的微生物固碳途径有 CBB、3HB 和 WL 三条。在丰水期(图 2a), CBB 关键基因 *prKB* 和 3HB 关键基因 *meh*、*mct*、*mcl*、*K14469* 被检测到。其中, *meh* 和 *mct* 的平均相对丰度在不同区域的分组内均存在显著差异, 且二者相对丰度均呈现海湾、沿海、岛屿依次递减的趋势, 而 *K14469* 基因仅在海湾中被检测到。在枯水期(图 2b), CBB 途径关键基因 *prKB*、3HB 途径关键基因 *meh*、*mct*、*mcr*、*mcl* 以及 WL 途径的关键基因 *cooS* 和 *acsE* 被检测到。其中, *prKB*、*meh*、*mct* 和 *mcl* 四个基因在不同分组内的平均相对丰度具有显著差异, 3HB 关键基因 *mcr* 仅在海湾区域中被检测出来, WL 途径关键基因 *cooS* 和 *acsE* 仅在岛屿区域中被检测出来。其中, CBB 关键基因 *prKB* 的平均相对丰度呈从岛屿、海湾、沿海依次递减的趋势。3HB 关键基因 *mcl* 的平均相对丰度呈海湾、沿海、岛屿依次递减的趋势, *mct* 呈海湾、岛屿、沿海依次递减的趋势。值得注意的是, 两个时期的海湾地区 3HB 途径关键基因平均相对丰度均高于其他地区。

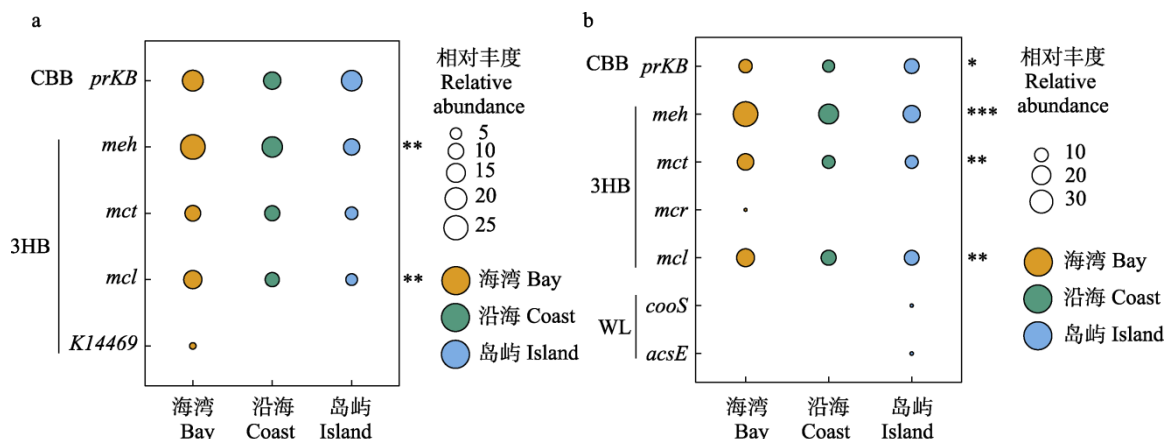


图 2 丰水期(a)与枯水期(b)固碳基因相对丰度及分组间差异显著性水平

Fig.2 Relative abundance of carbon fixation genes during the wet season (a) and dry season (b) and significance levels of differences between groups

CBB: 卡尔文循环; 3HB: 3-羟基丙酸双循环; WL: 还原乙酰辅酶 A 途径。*: $P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$.

CBB: Calvin-Benson-Bassham cycle; 3HB: 3-Hydroxypropionate bicycle; WL: Wood-Ljungdahl pathway.

*: $P \leq 0.05$; **: $P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$.

PCoA 排序图结果显示, 不同时期的不同区域的碳汇关键基因相对丰度存在一定的区域差异。在丰水期

(图 3a), 主坐标分析的第一轴能解释 68.23%的变化, 第二轴能解释 21.23%的变化, 相似性分析结果表明,

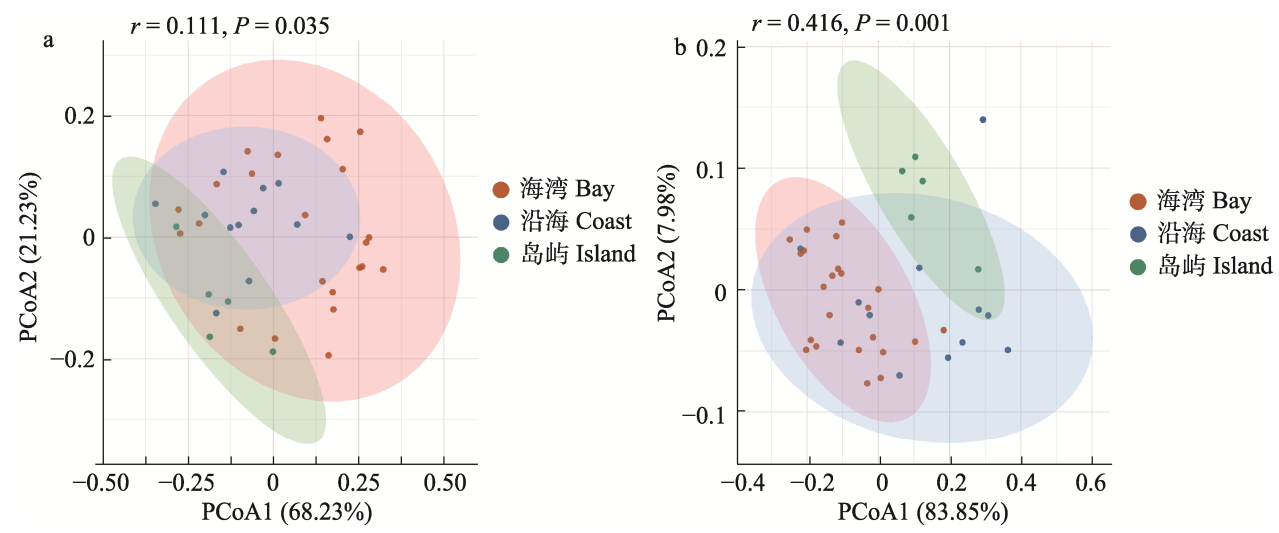


图 3 丰水期(a)和枯水期(b)固碳基因 PCoA 排序图

Fig.3 PCoA ordination plot of carbon fixation genes during the wet season (a) and dry season (b)

不同区域的固碳基因组成($r=0.111$, $P=0.03$)具有显著差异。其中, 丰水期海湾和岛屿之间的差异显著, 其余分组间的差异不显著。在枯水期(图 3b), 主坐标分析的第一轴能解释 83.85%的变化, 第二轴能解释 7.98%的变化, 相似性分析结果表明, 不同区域的固碳基因组成($r=0.416$, $P=0.001$)具有显著差异。此外, 基因组成成对不相似性 ANOSIM 检验表明(表 1), 不同于丰水期, 枯水期海湾和岛屿、海湾和沿海基因相对丰度差异均显著。值得注意的是, 无论是丰水期还是枯水期, 海湾和岛屿的基因相对丰度均具有显著差异。

表 1 丰水期和枯水期固碳基因组成
成对不相似性 ANOSIM 检验

Tab.1 ANOSIM test of pairwise dissimilarity in carbon fixation gene composition between wet and dry seasons

时期 Season	组别 Group	r 值 r value	P 值 P value
丰水期 Wet season	海湾 vs 岛屿 Bay vs Island	0.269	0.004
	海湾 vs 沿海 Bay vs Coast	0.059	0.137
	岛屿 vs 沿海 Island vs Coast	0.195	0.089
枯水期 Dry season	海湾 vs 岛屿 Bay vs Island	0.662	0.001
	海湾 vs 沿海 Bay vs Coast	0.365	0.001
	岛屿 vs 沿海 Island vs Coast	-0.032	0.527

2.2 北部湾海洋微生物固碳途径的时空分布特征

海洋微生物固碳途径在丰水期与枯水期的时间

变化特征见图 4。在丰水期和枯水期条件下, 对不同固碳途径的相对丰度及其在海洋微生物群落中的分布情况进行分析, 结果表明二氧化碳固定主要通过 CBB 途径和 3HB 途径进行, 且不同途径在枯水期和丰水期中表现出不同的活跃度。丰水期的碳固定主要依赖于 CBB 途径, 其占比达到 63.85%, 而在枯水期, 这一途径的占比则下降至 36.15%。枯水期 3HB 途径的占比相对高于丰水期, 其枯水期的占比为 57.69%, 丰水期为 42.31%。WL 途径仅在枯水期检出。

进一步分析海洋微生物固碳途径在丰水期与枯水期的空间变化特征(见图 5), 丰水期微生物总固碳途径相对丰度高于枯水期, 前者范围为 7.93~55.39 TPM, 平均相对丰度为 23.68 TPM; 后者范围为 7.94~29.52 TPM, 平均值为 19.07 TPM, 前者最大相对丰度是后者的 1.75 倍。在丰水期(图 5a), 共检出 CBB 和 3HB 两条固碳途径, 其中 CBB 途径相对丰度范围为 4.96~48.43 TPM, 平均丰度为 16.58 TPM (占总固碳途径的 70%), 比 3HB 途径(相对丰度 2.97~14.51 TPM, 平均丰度 7.10 TPM)高得多, CBB 途径最大相对丰度是 3HB 的近 2 倍。在枯水期(图 5b), 共检出 CBB、3HB 和 WL 三条固碳途径, 其中 CBB 途径和 3HB 途径丰度相当, 前者丰度为 4.34~15.6 TPM, 平均丰度为 9.38 TPM; 后者丰度为 3.57~17.22 TPM, 平均丰度为 9.68 TPM; WL 途径只在 S37 和 S39 站点检出。

2.3 北部湾海洋微生物固碳途径与环境因子的相关性

将 CBB 途径、3HB 途径和总固碳途径的相对丰度与环境因子进行 Mantel test 相关性分析(图 6 和表 2), 发现不同的固碳途径与各环境因子之间的相关性程度各异。在 CBB 途径上, $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、SAL、TN、

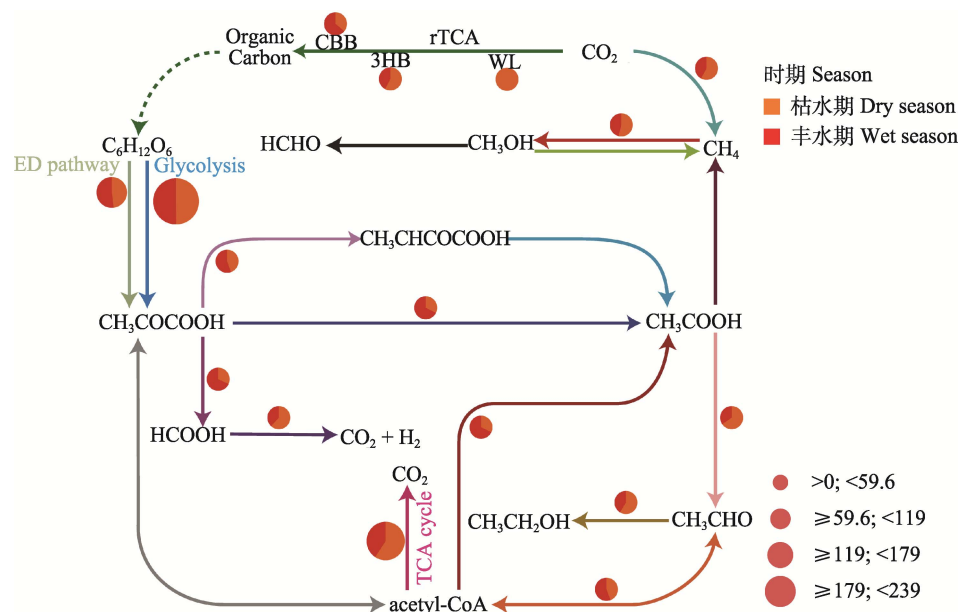


图 4 碳循环途径的相对丰度

Fig.4 Relative abundances of the pathways involved in the carbon cycle

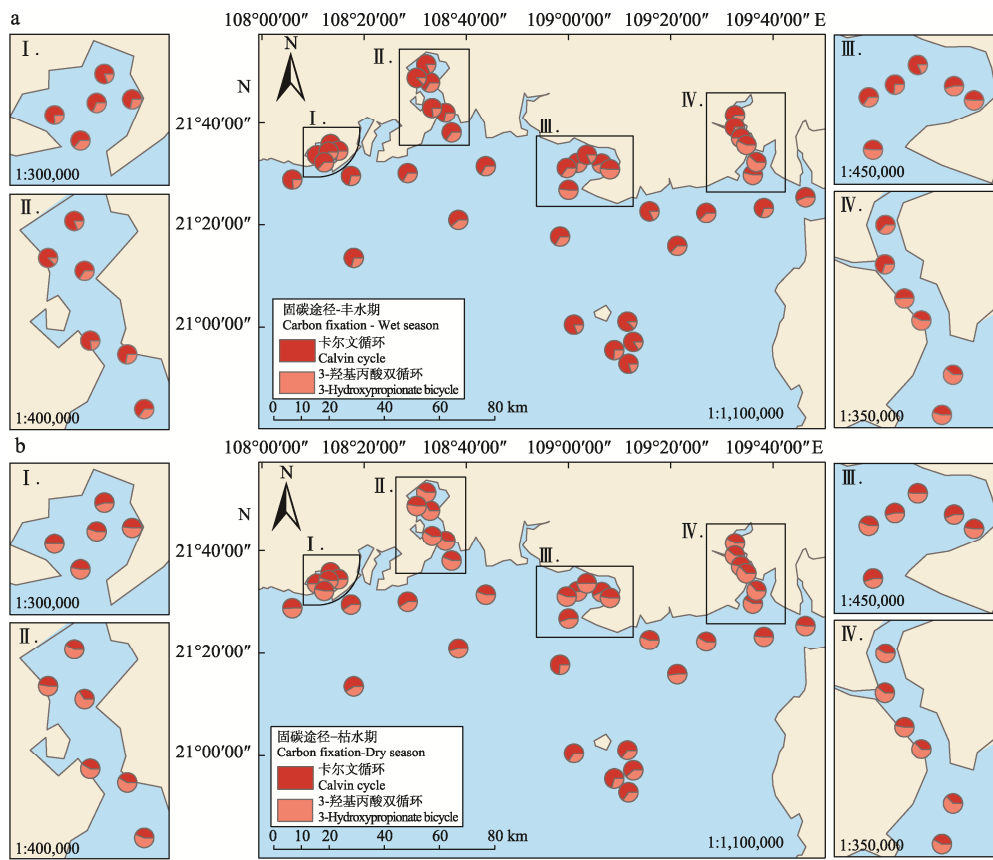


图 5 北部湾海域丰水期(a)和枯水期(b)海洋微生物固碳途径的空间分布

Fig.5 Spatial distribution of carbon fixation pathways in marine microorganisms during the wet season (a) and dry season (b) in Beibu Gulf

I：珍珠湾；II：钦州湾；III：廉州湾；IV：铁山港。WL 途径占比较小，未在图中显示。

WL 途径仅在 S37 和 S39 站点的枯水期检测出，占比分别为 0.44% 和 0.31%。

I：Zhenzhu Bay；II：Qinzhou Bay；III：Lianzhou Bay；IV：Tieshan Port. The proportion of the Wood-Ljungdahl pathway is minimal and not shown on the map. The Wood-Ljungdahl pathway was only detected during the dry season at the S37 and S39 stations, with proportions of 0.44% and 0.31%, respectively.

DIP、WT、TOC 和 pH 八个环境因子与之极显著相关($P<0.01$), TP 和 $\text{NH}_4\text{-N}$ 则与之显著相关($P<0.05$)。至于 3HB 途径, WT 和 DO 两个环境因子与之极显著相关($P<0.01$), SD 则与之显著相关($P<0.05$)。总体而言,

总固碳途径相对丰度的分布显著受到 8 个环境因子的影响, 其中 SAL、DIP、 $\text{NO}_2\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、TN 和 TOC 是与总固碳途径相对丰度的分布极显著相关的影响因素($P<0.01$), TP 和 pH 则与之显著相关($P<0.05$)。

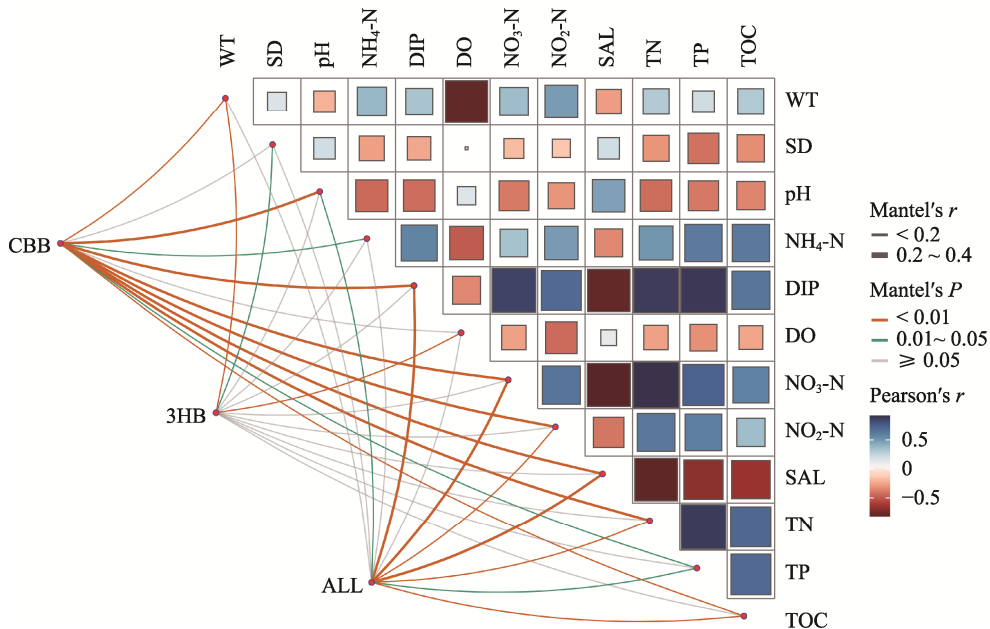


图 6 北部湾海域微生物固碳途径与环境因子之间的相关性分析
Fig.6 Correlation analysis between carbon fixation pathways of microorganisms and environmental factors throughout all seasons in Beibu Gulf

CBB 表示卡尔文循环, 3HB 表示 3-羟基丙酸双循环, ALL 表示 CBB 和 3HB 整体循环途径。
CBB refers to the Calvin-Benson-Bassham cycle, 3HB refers to the 3-Hydroxybutyrate bicycle,
ALL refers to the overall pathway, including both the CBB and 3HB cycles.

表 2 北部湾海域微生物 CBB、3HB 和 ALL 途径与环境因子相关性

Tab.2 Correlation between the CBB, 3HB and ALL pathways of microorganisms and environmental factors in Beibu Gulf

途径	环境因子	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	途径	环境因子	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
Pathway	Environment factors	<i>r</i> value	<i>P</i> value	Pathway	Environment factors	<i>r</i> value	<i>P</i> value
CBB	$\text{NO}_3\text{-N}$	0.362	<0.01	3HB	$\text{NH}_4\text{-N}$	0.017	≥ 0.05
	$\text{NO}_2\text{-N}$	0.326	<0.01		TN	0.012	≥ 0.05
	SAL	0.316	<0.01		SAL	0.007	≥ 0.05
	TN	0.299	<0.01		$\text{NO}_3\text{-N}$	-0.010	≥ 0.05
	DIP	0.297	<0.01		DIP	-0.012	≥ 0.05
	WT	0.142	<0.01	ALL	pH	-0.045	≥ 0.05
	TOC	0.163	<0.01		SAL	0.264	<0.01
	pH	0.263	<0.01		DIP	0.254	<0.01
	TP	0.144	<0.05		$\text{NO}_2\text{-N}$	0.245	<0.01
	$\text{NH}_4\text{-N}$	0.151	<0.05		$\text{NO}_3\text{-N}$	0.263	<0.01
3HB	DO	0.018	≥ 0.05		TN	0.239	<0.01
	SD	0.028	≥ 0.05		TOC	0.143	<0.01
	WT	0.109	<0.01		TP	0.144	<0.05
	DO	0.096	<0.01		pH	0.214	<0.05
	SD	0.104	<0.05		$\text{NH}_4\text{-N}$	0.138	≥ 0.05
	$\text{NO}_2\text{-N}$	0.047	≥ 0.05		SD	0.088	≥ 0.05
	TOC	0.028	≥ 0.05		WT	0.015	≥ 0.05
	TP	0.027	≥ 0.05		DO	0.003	≥ 0.05

3 讨论

3.1 北部湾海洋微生物固碳途径的时空差异

在全球气候变化和人类活动的影响下,海洋生态系统的碳循环正面临前所未有的挑战。微生物在有机物分解和碳转化中发挥着重要作用,其固碳途径的变化不仅影响着海洋碳汇的功能,也对整体生态系统的健康和稳定产生深远影响。了解微生物固碳途径的时空变化对于评估海洋碳汇的功能及其环境响应机制至关重要。已有研究表明,不同固碳途径在不同环境中的分布可能导致固碳相关基因丰度差异(Lynn *et al.*, 2017)。在本研究中,丰水期的3HB途径的关键基因 *meh* 和 *mct* 在海湾的平均相对丰度最高,这样的情况同样出现在枯水期3HB途径的关键基因 *meh*、*mct* 和 *mcl* 中。对于CBB和WL而言,CBB的关键基因在不同地理环境下的平均相对丰度仅在枯水期有显著差异,WL则仅在枯水期的部分岛屿中有检出。PCoA排序图的结果也表明,不同时期的总体固碳基因丰度在不同地理区域间具有显著差异,且对于不同的地理分组内,丰水期海湾和岛屿的基因丰度差异显著,枯水期则在海湾与岛屿、海湾与沿海之间具有显著差异。

不同区域和不同时期的环境特征差异可能是造成北部湾海洋微生物CBB、3HB和WL固碳途径基因相对丰度差异的原因。有研究表明,不同途径在氧气需求、能量来源与需求方面有不同的生态适应性,例如CBB依赖于光能需要较高的能量输入,3HB能量需求中等,能够在高温、高盐和低氧等条件下有效固碳,而WL途径能量需求相对较低,通常适合能量有限的环境(Bar-Even *et al.*, 2012; Barton *et al.*, 2020; Fast *et al.*, 2012; Könneke *et al.*, 2014; Yue *et al.*, 2023)。在分析固碳途径在丰水期和枯水期的空间差异发现,丰水期微生物总固碳途径的相对丰度高于枯水期,而枯水期的CBB和3HB途径丰度较为均衡。丰水期和枯水期的固碳途径占比存在显著差异。本研究结果表明,丰水期的碳固定主要依赖于CBB途径,占比达63.85%,而在枯水期,这一途径的占比则下降至36.15%。相反,枯水期3HB途径的活跃度相对增加,占比达57.69%,并且WL途径仅在枯水期被检测到。这种差异可能表明CBB途径更适合丰水期的相对高光照、高温环境,而3HB和WL途径则在枯水期的相对低温、低氧和营养盐条件下更加活跃,这与CBB途径光依赖性、能量需求较高的特性相符。有研究报道,CBB途径广泛存在于光合自养微生物中,适应充足的光照和高能量需求的环境,而3HB途

径则在极端条件下具有较好的适应性(Tang *et al.*, 2011)。这一观点与本研究结果一致,同时解释了在枯水期北部湾微生物群落可能倾向于选择3HB途径,以应对低能量输入的环境条件。

3.2 北部湾海洋微生物固碳潜能的影响因素

有研究指出,温度越高、太阳辐射越强,微生物的固碳作用越强(Stibal *et al.*, 2008),可见水温在一定程度上影响了北部湾海洋微生物的固碳能力。在检出的3条固碳途径中,CBB和3HB途径具有一定优势,这可能与二者的能量消耗以及对氧气的敏感度有关(刘振, 2019)。同时,总体上,CBB途径的相对丰度最高,说明CBB途径在北部湾海洋微生物所有固碳途径中占主导地位,这与CBB途径属于光能自养固碳途径、需要较强光照与较高氧浓度的特征有关(Yu King Hing *et al.*, 2021)。此外,北部湾海洋微生物3HB固碳途径相对丰度较高,且枯水期的相对丰度高于丰水期,这可能与两期水体碳酸氢盐的浓度差异有关(Wang *et al.*, 2022)。仅于枯水期在S37和S39站点检出WL途径,可能是这2个站点盐度较高的结果,研究表明高盐度会导致CO₂和O₂的溶解度和扩散系数有所降低(Oren, 2011; Abed *et al.*, 2007),从而对自养能量的代谢造成特别大的压力(Sudhir *et al.*, 2004),因此,在这种高盐度条件下,专性厌氧菌利用的更节能的WL途径的固碳能力可能更有优势。值得注意的是,与CBB和3HB途径相比,WL途径能更有效地固定CO₂且利用ATP生产有机物(Figueroa *et al.*, 2018),即WL途径固碳效率更高。结合图6的Mantel test结果,北部湾不同海湾固碳途径丰度的时空差异主要是由N、P等营养盐、盐度和溶解有机碳引起的。综上所述,本研究强调了水温、光照强度及水体营养物质等因素在固碳途径选择中的重要性。未来的研究可进一步探讨这些因素如何在动态环境中相互作用,影响海洋微生物的固碳能力,以更好地理解其在全球碳循环中的角色。

3.3 北部湾海洋微生物固碳潜能评估

相关研究表明,微生物的固碳功能基因丰度和固碳途径不同,其固碳潜能也会有所差异(尤云楠等, 2023; 程澳琪等, 2021)。微生物固碳途径越丰富、丰度越高,其吸收的CO₂和生成有机物的潜力就越高,固碳潜能也就越强。通过宏基因组测序的相对丰度分析,本研究评估了北部湾海洋微生物的固碳潜力。总体而言,北部湾海洋微生物在丰水期的固碳潜力远高于枯水期。其中,丰水期总固碳途径的相对丰度(最大

值 55.39 TPM, 平均值 23.68 TPM)显著高于枯水期(最大值 29.52 TPM, 平均值 19.07 TPM), 且丰水期的 CBB 途径丰度是 3HB 途径的 2 倍, 这表明在丰水期的高光照和适宜温度条件下, CBB 途径可能是主导性的碳固定途径。枯水期时, CBB 和 3HB 途径的相对丰度相当, 这可能是微生物群落为适应低光和低温条件而选择较低能量需求途径的表现。此结果与其他研究关于不同季节固碳潜能的变化结论一致。有研究指出, 温暖季节和光照增强时, 海洋微生物的固碳效率普遍提高, 而在寒冷季节中, 微生物可能会选择非光依赖的途径进行碳固定(Liu *et al.*, 2024a; Tang *et al.*, 2011)。以往的研究对微生物的固碳能力重视不足, 现如今科学家们开始关注微生物碳汇情况, 但都只聚焦在微型生物碳泵和 RDOC 碳库以及碳代谢途径方面(Li *et al.*, 2024; Huang *et al.*, 2022; 程澳琪等, 2021; 焦念志, 2012), 对固碳基因和固碳途径丰度与微生物碳汇的直接关系和深层关联研究不足, 也无法对微生物的固碳水平进行精准核算。本研究通过宏基因组测序, 发现微生物固碳途径丰度可在一定程度上表征和分析其固碳潜能, 但不能反映微生物发挥固碳功能的真实情况。后续可进一步采用宏转录组学等方法对功能基因的表达进行分析, 并通过同位素标记对碳固定速率进行测定, 以阐明固碳功能基因与微生物碳汇的耦合机制, 探究海洋微生物碳汇能力的核算方法, 完善对海洋碳汇潜力的全面评估。此外, 近年来海洋碳汇研究更多地聚焦于渔业碳汇, 如人工鱼礁附着生物固碳(李娇等, 2016)、养殖海带碳足迹(孙威等, 2022)、蛤仔贝碳汇功能(姜妮妮等, 2022)以及贝藻类养殖碳汇(任恺佳等, 2024)。“以养为主”的中国渔业有显著的碳汇功能(唐启升, 2023)。微生物作为碳循环的核心, 各类养殖环境中微生物固碳关注也同样较少, 但其固碳功能可能在养殖生态系统中具有重要作用。后续研究可以通过宏基因组学解析各类养殖环境中的微生物固碳基因及其功能, 探索不同养殖环境下微生物固碳潜力, 促进固碳系统生态和经济效益的双赢。

本研究揭示了北部湾海域微生物固碳基因丰度的显著时空差异及其固碳潜能受时空变化和环境因子影响的机制, 不仅为深入理解区域海洋碳循环机制提供了理论支持, 也为促进海洋生态系统健康提供了科学指导。研究表明, 丰水期和枯水期的固碳途径在主导地位和活跃区域上存在显著差异, 且环境理化因子如硝酸盐和盐度对固碳基因丰度有重要影响。基于这些发现, 可因时因地优化资源配置, 增强微生物固碳能力, 并针对不同区域和时期实施差异化的生态保

护措施, 例如在丰水期加强沿海与海湾区域的污染控制, 在枯水期重点恢复和保护岛屿区的关键生境与高效碳汇区域。此外, 通过科学规划和现代技术手段的监测, 结合海洋保护区的设立、水体理化指标的精细化调控, 可以有效保护北部湾海域的碳汇环境, 为区域内实现“双碳”目标提供有力支持。

4 结 论

本研究基于北部湾的野外调查数据, 通过宏基因组测序技术评估了海洋微生物的固碳潜力, 揭示了北部湾海洋微生物固碳潜力的时空变化及其与环境因子的关联, 强调了区域性和季节性因素在微生物固碳过程中的重要性。结果表明, 北部湾海域海洋微生物在丰水期(最大值为 55.39 TPM, 平均值为 23.68 TPM)的固碳潜能高于枯水期(最大值为 29.52 TPM, 平均值为 19.07 TPM), 且固碳基因的相对丰度存在时空差异。在环境因子方面, N、P 等营养盐、盐度和总有机碳等与固碳途径丰度显著相关, 是影响固碳途径丰度的主要驱动因素。这一发现为进一步理解北部湾生态系统的碳循环及其在全球气候变化背景下的响应提供了重要的科学依据, 为今后的海洋生态保护和管理工作提供了参考。

参 考 文 献

- ABED R M M, KOHLS K, DE BEER D. Effect of salinity changes on the bacterial diversity, photosynthesis and oxygen consumption of cyanobacterial mats from an intertidal flat of the Arabian Gulf. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(6): 1384–1392
- ASPLUND-SAMUELSSON J, HUDSON E P. Wide range of metabolic adaptations to the acquisition of the Calvin cycle revealed by comparison of microbial genomes. *PLoS Computational Biology*, 2021, 17(2): e1008742
- BAR-EVEN A, FLAMHOLZ A, NOOR E, *et al.* Thermodynamic constraints shape the structure of carbon fixation pathways. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 2012, 1817(9): 1646–1659
- BARTON S, JENKINS J, BUCKLING A, *et al.* Evolutionary temperature compensation of carbon fixation in marine phytoplankton. *Ecology Letters*, 2020, 23(4): 722–733
- BUSHNELL B. BBMap: A fast, accurate, splice-aware aligner. Berkeley, CA (United States): Lawrence Berkeley National Laboratory, 2014
- CAMPBELL B J, CARY S C. Abundance of reverse tricarboxylic acid cycle genes in free-living microorganisms at deep-sea hydrothermal vents. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(10): 6282–6289

- CHEN J, WU N, YAO B L, *et al.* Assessing the health of Beibu Gulf rim, coastal South China Sea, with a scale application of the ocean health index. *Marine Environmental Science*, 2019, 38(6): 868–873 [陈洁, 吴霓, 姚宝龙, 等. 应用海洋健康指数对环北部湾中国近岸海洋健康的评价. *海洋环境科学*, 2019, 38(6): 868–873]
- CHENG A Q, KANG W H, LI W, *et al.* Research progress in the process and mechanisms of autotrophic carbon sequestration driven by soil microorganisms in Karst areas. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(6): 1525–1535 [程澳琪, 康卫华, 李为, 等. 岩溶区土壤微生物驱动的自养固碳过程与机制研究进展. *微生物学报*, 2021, 61(6): 1525–1535]
- CHI X Q, ZHAO Z Y, HAN Q X, *et al.* Insights into autotrophic carbon fixation strategies through metagenomics in the sediments of seagrass beds. *Marine Environmental Research*, 2023, 188: 106002
- FAST A G, PAPOUTSAKIS E T. Stoichiometric and energetic analyses of non-photosynthetic CO₂-fixation pathways to support synthetic biology strategies for production of fuels and chemicals. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 2012, 1(4): 380–395
- FIGUEROA I A, BARNUM T P, SOMASEKHAR P Y, *et al.* Metagenomics-guided analysis of microbial chemolithoautotrophic phosphite oxidation yields evidence of a seventh natural CO₂ fixation pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(1): E92–E101
- GUO J. Nitrogen biogeochemical processes and geochemical record of anthropogenic nutrient loading in coastal regions of Beibu Gulf, Guangxi Province. Doctoral Dissertation of Guangxi University, 2020 [郭靖. 广西北部湾近岸海域氮生物地球化学过程及营养盐沉积记录. 广西大学博士研究生学位论文, 2020]
- HE W D. Spatial distribution, community structure and predictive functional analysis of bacterioplankton in seawaters of northern of Beibu Gulf in summer. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2021 [何伟东. 北部湾北部海域夏季浮游细菌空间分布、群落结构及其功能预测. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2021]
- HU G P, LI Y, YE C, *et al.* Engineering microorganisms for enhanced CO₂ sequestration. *Trends in Biotechnology*, 2019, 37(5): 532–547
- HUANG Q, HUANG Y M, WANG B R, *et al.* Metabolic pathways of CO₂ fixing microorganisms determined C-fixation rates in grassland soils along the precipitation gradient. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 172: 108764
- HUGENHOLTZ P, TYSON G W. Metagenomics. *Nature*, 2008, 455(7212): 481–483
- HYATT D, CHEN G L, LOCASCIO P F, *et al.* Prodigal: Prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11: 119
- JI F Y, MING H X, LI H B, *et al.* Diversity of CO₂ fixation gene in the surface waters of northern South China Sea in the Calvin cycle. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, 36(11): 4037–4043 [季风云, 明红霞, 李洪波, 等. 南海表层海水参与卡尔文循环的固碳基因多样性研究. *环境科学学报*, 2016, 36(11): 4037–4043]
- JIANG Q Y, JING H M, JIANG Q L, *et al.* Insights into carbon-fixation pathways through metagenomics in the sediments of deep-sea cold seeps. *Marine Pollution Bulletin*, 2022, 176: 113458
- JIANG W W, FANG J H, LIN F, *et al.* Evaluation of ecological carrying capacity and functions of Manila clam, *Ruditapes philippinarum* in Jiaozhou Bay. *Progress in Fishery Sciences*, 2022, 43(5): 61–71 [姜妮妮, 房景辉, 蔺凡, 等. 胶州湾菲律宾蛤仔生态容量评估及其碳汇功能. *渔业科学进展*, 2022, 43(5): 61–71]
- JIAO N Z. Marine carbon fixation and storage—On the important role of microorganisms in it. *Scientia Sinica (Terrae)*, 2012, 42(10): 1473–1486 [焦念志. 海洋固碳与储碳——并论微型生物在其中的重要作用. *中国科学: 地球科学*, 2012, 42(10): 1473–1486]
- KÖNNEKE M, SCHUBERT D M, BROWN P C, *et al.* Ammonia-oxidizing Archaea use the most energy-efficient aerobic pathway for CO₂ fixation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(22): 8239–8244
- LEMA K A, CONSTANCIAS F, RICE S A, *et al.* High bacterial diversity in nearshore and oceanic biofilms and their influence on larval settlement by *Hydroides elegans* (Polychaeta). *Environmental Microbiology*, 2019, 21(9): 3472–3488
- LI C R, ZHANG X, LIU C M. Carbon core-Calvin cycle and regulation in photosynthesis. *Journal of Life Sciences*, 2024: 1–16 [李春荣, 张馨, 刘翠敏. 光合作用碳反应核心—卡尔文循环及调控. *生命科学*, 2024: 1–16]
- LI D H, LIU C M, LUO R B, *et al.* MEGAHIT: An ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, 2015, 31(10): 1674–1676
- LI J B, XIAO Q, HE Q F, *et al.* Research regarding the autochthonous dissolved organic carbon to recalcitrant dissolved organic carbon transformation mechanism in a typical surface Karst River. *Water*, 2024, 16(18): 2584
- LI J, GONG P H, GUAN C T, *et al.* Carbon sequestration of additives of artificial reefs and its effect on carbon fixation of *Ostrea plicatula* Gmelin. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(6): 100–104 [李娇, 公丕海, 关长涛, 等. 人工鱼礁材料添加物碳封存能力及其对褶牡蛎(*Ostrea plicatula*)固碳量的影响. *渔业科学进展*, 2016, 37(6): 100–104]
- LIU B L, QI L, ZHENG Y L, *et al.* Four years of climate warming reduced dark carbon fixation in coastal wetlands. *The ISME Journal*, 2024a, 18(1): wrae138
- LIU B L, ZHENG Y L, WANG X Y, *et al.* Active dark carbon fixation evidenced by ¹⁴C isotope assimilation and

- metagenomic data across the estuarine-coastal continuum. *Science of the Total Environment*, 2024b, 914: 169833
- LIU B, XIANG S M, ZHAO G, *et al.* Efficient production of 3-hydroxypropionate from fatty acids feedstock in *Escherichia coli*. *Metabolic Engineering*, 2019a, 51: 121–130
- LIU X N, WANG H Q, LI H X, *et al.* Carbon sequestration pathway of inorganic carbon in partial nitrification sludge. *Bioresource Technology*, 2019b, 293: 122101
- LIU Y Y, WANG S, LI S Z, *et al.* Advances in molecular ecology on microbial functional genes of carbon cycle. *Microbiology China*, 2017, 44(7): 1676–1689 [刘洋荧, 王尚, 厉舒祯, 等. 基于功能基因的微生物碳循环分子生态学进展. *微生物学通报*, 2017, 44(7): 1676–1689]
- LIU Z. Microbial pathways of atmospheric carbon dioxide fixation in soils in Mu Us Desert. Doctoral Dissertation of Beijing Forestry University, 2019 [刘振. 毛乌素沙地土壤固定大气二氧化碳的微生物途径. 北京林业大学博士研究生学位论文, 2019]
- LODER A J, HAN Y J, HAWKINS A B, *et al.* Reaction kinetic analysis of the 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate CO₂ fixation cycle in extremely thermoacidophilic Archaea. *Metabolic Engineering*, 2016, 38: 446–463
- LYNN T M, GE T D, YUAN H Z, *et al.* Soil carbon-fixation rates and associated bacterial diversity and abundance in three natural ecosystems. *Microbial Ecology*, 2017, 73(3): 645–657
- MA J B. An ecological study on marine microorganisms in large-scale mariculture-Zhelin Bay, Eastern Guangdong. Master's Thesis of Shantou University, 2006 [马继波. 粤东大规模养殖区柘林湾海洋微生物的生态学研究. 汕头大学硕士研究生学位论文, 2006]
- MO S M. The characteristics of sulfate reduction transformation mediated by microorganisms in a subtropical mangrove wetland of Beibu Gulf. Doctoral Dissertation of Guangxi University, 2022 [莫淑名. 亚热带北部湾海洋红树林湿地微生物介导的硫酸盐还原转化特征研究. 广西大学博士研究生学位论文, 2022]
- NIE S Q. Metagomic analysis of the nitrogen cycle in a subtropical mangrove ecosystem in the Beibu Gulf. Master's Thesis of Guangxi University, 2021 [聂世清. 亚热带北部湾红树林生态系统中氮循环的宏基因组学研究. 广西大学硕士研究生学位论文, 2021]
- OREN A. Thermodynamic limits to microbial life at high salt concentrations. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(8): 1908–1923
- QUINCE C, WALKER A W, SIMPSON J T, *et al.* Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(9): 833–844
- REN K J, MING H X, ZHANG J H, *et al.* Carbon sink capacity assessment of marine shellfish and macroalgae in Dalian in 2022. *Progress in Fishery Sciences*, 2024, 45(6): 38–46 [任恺佳, 明红霞, 张继红, 等. 大连市 2022 年贝藻养殖碳汇能力评估. *渔业科学进展*, 2024, 45(6): 38–46]
- SIMON C, DANIEL R. Metagenomic analyses: Past and future trends. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(4): 1153–1161
- STIBAL M, TRANTER M, TELLING J, *et al.* Speciation, phase association and potential bioavailability of phosphorus on a Svalbard glacier. *Biogeochemistry*, 2008, 90(1): 1–13
- SUDHIR P, MURTHY S D S. Effects of salt stress on basic processes of photosynthesis. *Photosynthetica*, 2004, 42(4): 481–486
- SUN W, ZHANG J H, WU W G, *et al.* Carbon footprint assessment of cultured kelp based on life cycle assessment. *Progress in Fishery Sciences*, 2022, 43(5): 16–23 [孙威, 张继红, 吴文广, 等. 基于生命周期法的养殖海带的碳足迹评估. *渔业科学进展*, 2022, 43(5): 16–23]
- TANG K H, TANG Y J, BLANKENSHIP R E. Carbon metabolic pathways in phototrophic bacteria and their broader evolutionary implications. *Frontiers in Microbiology*, 2011, 2: 165
- TANG Q S. The past and future of sustainable development of Chinese modern fisheries. *Progress in Fishery Sciences*, 2023, 44(6): 1–6 [唐启升. 中国式现代渔业可持续发展的过去和未来. *渔业科学进展*, 2023, 44(6): 1–6]
- TANG Y, LIU Y C, YANG J, *et al.* Gene diversity involved in Calvin pathway of carbon fixation and its response to environmental variables in surface sediments of the northern Qinghai-Tibetan Plateau lakes. *Earth Science*, 2018, 43(S1): 19–30 [唐阳, 刘永超, 杨渐, 等. 青藏高原北部湖泊表层沉积物参与卡尔文循环的固碳基因多样性及其影响因素. *地球科学*, 2018, 43(S1): 19–30]
- WANG Q, ZHANG Q Y, HAN Y C, *et al.* Carbon cycle in the microbial ecosystems of biological soil crusts. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 171: 108729
- WANG W J. Microbial-driven mechanisms of key processes of carbon cycling in surface sediments of Bohai Sea. Master's Thesis of Dalian Ocean University, 2024 [王文静. 渤海表层沉积物中碳循环关键过程微生物驱动机制. 大连海洋大学硕士研究生学位论文, 2024]
- WANG Z, JUAREZ D L, PAN J F, *et al.* Microbial communities across nearshore to offshore coastal transects are primarily shaped by distance and temperature. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(10): 3862–3872
- XUE C X, LIN H Y, ZHU X Y, *et al.* DiTing: A pipeline to infer and compare biogeochemical pathways from metagenomic and metatranscriptomic data. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 698286
- XUN Z R, NI Y, SUN X Y, *et al.* Microbial structure and composition difference in different temperature zones and four oceans. *Journal of Yantai University (Natural Science and Engineering)*, 2025, 38(2): 165–176 [寻卓然, 倪妍, 孙晓玥, 等. 四大洋及不同温度带海洋微生物组成结构和差异分析. *烟台大学学报(自然科学与工程版)*, 2025,

- 38(2): 165–176]
- YOU Y N, ZHU Y F, CHEN F, *et al.* Effects of vegetation types on the potential and pathway of microbial carbon sequestration in reclaimed soil of open-pit mine. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2023, 39(9): 1170–1179 [尤云楠, 朱燕峰, 陈浮, 等. 植被类型对露天矿复垦土壤微生物固碳潜力及路径的影响. *生态与农村环境学报*, 2023, 39(9): 1170–1179]
- YU KING HING N, ARYAL U K, MORGAN J A. Probing light-dependent regulation of the Calvin cycle using a multi-omics approach. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 733122
- YUAN H Z, QIN H L, LIU S L, *et al.* Advances in research of molecular ecology of carbon fixation microorganism. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(14): 2951–2958 [袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 等. 固碳微生物分子生态学研究. *中国农业科学*, 2011, 44(14): 2951–2958]
- YUE X L, XU L, CUI L, *et al.* Metagenome-based analysis of carbon-fixing microorganisms and their carbon-fixing pathways in deep-sea sediments of the southwestern Indian Ocean. *Marine Genomics*, 2023, 70: 101045
- ZHAO Y S, SHAN X J, YANG T, *et al.* Contributions of carbon sources to food webs adjacent to the Miaodao Archipelago and their implications for carbon sink fisheries. *Progress in Fishery Sciences*, 2022, 43(5): 132–141 [赵永松, 单秀娟, 杨涛, 等. 庙岛群岛毗邻海域秋季底栖食物网潜在碳来源贡献及对碳汇渔业的思考. *渔业科学进展*, 2022, 43(5): 132–141]

(编辑 冯小花)

Evaluation of Carbon Fixation Potential and Analysis of Influencing Factors of Marine Microorganisms in the Beibu Gulf Based on Metagenomics

GONG Chen¹, SHAO Liyi¹, CHEN Wenjian^{1,2}, HE Yiyong¹, LI Jiajie¹,
ZHAO Yuqi¹, LI Jianing¹, ZHOU Lei^{1①}

(1. College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510880, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Aquatic Genetic and Breeding and Healthy Aquaculture, Guangxi Academy of Fishery Sciences, Nanning 530021, China)

Abstract Marine microorganisms, though microscopic, represent a vast reservoir of organic carbon and play a central role in element cycling and energy flow within marine ecosystems. As key contributors to the biogeochemical cycling of carbon, these microorganisms mediate essential processes, including carbon fixation, methane metabolism, and carbon degradation. Carbon fixation, where microorganisms convert CO₂ into organic carbon, is vital for understanding marine carbon sequestration potential. Six primary microbial carbon fixation pathways have been identified: Calvin-Benson-Bassham cycle (CBB), reductive acetyl-CoA (Wood-Ljungdahl) pathway (WL), reductive tricarboxylic acid cycle, 3-hydroxypropionate bicycle (3HB), 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate cycle (3HB/4HB), and dicarboxylate/4-hydroxybutyrate cycle (DC/4HB). Among these, the Calvin cycle dominates in phototrophic autotrophs, requiring high oxygen levels and contributing significantly to global CO₂ regulation via photosynthesis. By contrast, the 3-HB and WL pathways thrive in low-oxygen and anaerobic conditions, respectively, showing high carbon fixation efficiency, particularly in extremophilic communities.

With advances in metagenomics, research on marine microorganisms in complex ecosystems such as the Beibu Gulf (Northern Bay of Guangxi) has deepened, offering valuable insights into microbial communities and their roles in carbon cycling. The Beibu Gulf is strategically important ecologically and economically, lying at the intersection of South China, Southwest China, and ASEAN economic zones. However, the carbon sink potential of its marine microbial communities remains largely unexplored, and

① Corresponding author: ZHOU Lei, Email: zhoulei@scau.edu.cn

the factors influencing this potential are not yet fully understood. Thus, this study aims to evaluate the carbon fixation potential of marine microorganisms in the Beibu Gulf and identify the environmental factors shaping microbial community structure. Using field data and metagenomic sequencing, we conducted seasonal sampling at 40 stations in the bay, coastal, and island regions during the wet season (October 2022) and dry season (January 2023). By analyzing water physicochemical parameters and the abundance of microbial carbon fixation pathways, we examined the spatiotemporal distribution of these pathways across regions and seasons and their correlation with environmental variables.

The study reveals significant spatiotemporal variations in the abundance of microbial carbon fixation genes. During the wet season, carbon fixation primarily occurred via the CBB and 3HB pathways, with key genes such as *meh* and *mcl* showing notable regional variability in abundance, and *K14469* was detected exclusively in the bay. During the dry season, *prkB*, *meh*, *mct*, and *mcl* exhibited significant regional variability. Notably, WL pathway genes *cooS* and *acsE*, which are crucial for carbon fixation under anaerobic conditions, were detected exclusively in island areas during the dry season. Principal coordinate analysis results demonstrated distinct regional differences in carbon sink gene composition across seasons, with the most prominent variance occurring between bay and island areas. Similarity analysis indicated significant differences in carbon fixation gene composition between regions during the wet ($r=0.111$, $P=0.035$) and dry seasons ($r=0.416$, $P=0.001$), with bay-island differences particularly pronounced. Seasonal analysis of the microbial carbon fixation pathways showed that the CBB pathway was dominant during the wet season, accounting for approximately 70% of the total carbon fixation pathways detected. By contrast, during the dry season, the relative abundance of the CBB and 3HB pathways was nearly equivalent, representing 49% and 50% of the total pathways, respectively. Furthermore, metagenomic data suggested that the overall carbon fixation potential of marine microorganisms in the Beibu Gulf was significantly higher during the wet season, with total pathway abundance ranging from 7.93 TPM to 55.39 TPM, averaging 23.68 TPM, which is 1.75 times greater than that during the dry season. In addition, spatial distribution analysis indicated that, during the wet season, the CBB pathway had a substantially higher relative abundance (4.96–48.43 TPM, averaging 16.58 TPM) than the 3HB pathway (2.97–14.51 TPM, averaging 7.10 TPM). The abundance of carbon fixation pathways significantly correlated with multiple environmental variables. The CBB pathway was highly correlated with factors such as nitrate ($\text{NO}_3\text{-N}$), nitrite ($\text{NO}_2\text{-N}$), salinity (SAL), total nitrogen (TN), dissolved inorganic phosphate (DIP), water temperature (WT), total organic carbon (TOC), and pH. For the 3HB pathway, WT and dissolved oxygen (DO) were significantly correlated. Overall, the total carbon fixation potential was predominantly influenced by SAL, DIP, $\text{NO}_2\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$, TN, and TOC, indicating these variables as the primary drivers impacting microbial carbon sink potential in the Beibu Gulf.

In summary, this study provides a comprehensive assessment of the carbon fixation potential of marine microorganisms in the Beibu Gulf and identifies key environmental factors influencing carbon sink capacity. The findings underscore the substantial role of environmental conditions in shaping the carbon fixation pathways across different seasons and regions, highlighting the complex and dynamic microbial carbon cycling processes in the Beibu Gulf. This study contributes valuable insights into marine microbial carbon sequestration and offers a scientific basis for future studies on the ecological impact of microbial communities in marine carbon cycling.

Key words Marine microorganisms; Metagenomics; Carbon fixation Pathways; Carbon sequestration potential