



自然科学基金项目进展专栏

评述

海洋微生物碳泵储碳机制及气候效应

焦念志^{①*}, 张传伦^②, 李超^③, 王晓雪^④, 党宏月^①, 曾庆璐^①, 张锐^①, 张瑶^①,
汤凯^①, 张子莲^①, 徐大鹏^①

① 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门 361005;

② 同济大学海洋地质国家重点实验室, 上海 200092;

③ 中国地质大学(武汉)生物地质与环境地质国家重点实验室, 武汉 430074;

④ 中国科学院南海海洋研究所海洋生物资源可持续利用重点实验室, 广州 510301

* E-mail: jjiao@xmu.edu.cn

收稿日期: 2012-06-11; 接受日期: 2012-11-20

国家自然科学基金(批准号: 91028001)、国家重大科学计划(编号: 2013CB955700)、国家自然科学基金(批准号: 91028005, 91028011, 41172030, 41076091)和国家海洋公益性行业科研专项(批准号: 201105021)资助

摘要 海洋中存在一个巨大的惰性溶解有机碳(RDOC)库, 可与大气 CO_2 碳量相媲美. 两个碳库之间的交换势必影响气候变化. RDOC 可在海洋中保存数千年, 构成了海洋储碳的重要机制. 探寻 RDOC 碳库形成机制是认识海洋如何储碳的关键. 新近提出的“海洋微生物碳泵(Microbial Carbon Pump, MCP)”理论指出, 海洋微生物是 RDOC 碳库的主要贡献者. 本文从 MCP 的主动机制和被动机制及其环境调控出发, 论述了海洋 RDOC 的组成与生物来源, RDOC 组分的微生物代谢途径, 病毒的裂解过程以及浮游动物活动对 RDOC 生产的贡献, 不同类群微生物有机碳代谢特征及其生物标记物与碳氢同位素表征, 以及 MCP 的能量代谢特征与储碳效率, 并结合 MCP 储碳的地史证据展望了 MCP 在增加海洋储碳能力方面的应用前景.

关键词微型生物碳泵
惰性溶解有机碳
储碳机制
微生物
气候变化

海洋碳循环是涉及全球变化的一个博大命题, 其研究的关键在于碳循环的过程与机制. 海洋碳循环的过程与机制不仅在于其物理和化学的层面, 还在于生物的层面^[1~6]. CO_2 由自养过程固定下来成为有机碳, 有机碳又被异养过程呼吸返还为 CO_2 , 完成一个循环. 在这个循环之中, 各种生物参与其中, 通过不同的途径、不同的机制、在不同程度上影响着这个循环的产出和效应^[7~9]. 其中一方面的产出和效应就是有一部分碳逃逸这个循环而被储藏在海洋中(即储碳), 从而调节气候变化. 人们所熟知的“生物

泵”(Biological Pump, BP)就是一个至关重要的储碳机制^[10,11], 由于海洋储碳对于应对全球变暖具有重要意义, 生物泵储碳过程研究已成为近 30 年来海洋碳循环研究的焦点之一^[12,13](http://www.msrb.sunysb.edu/octet/biological_pump.html). 然而, 几十年的研究积累使人们认识到, 生物泵导致的颗粒有机碳(Particulate Organic Carbon, POC)向深海的输出是十分有限的, 到达海底埋葬的有机碳量大约只有海洋初级生产力的 0.1%, 绝大部分 POC 在沉降途中被降解呼吸转化成 CO_2 ^[13~16]. 其实, 海洋中的有机碳除了

中文引用格式: 焦念志, 张传伦, 李超, 等. 海洋微生物碳泵储碳机制及气候效应. 中国科学: 地球科学, 2013, 43: 1-18

英文引用格式: Jiao N Z, Zhang C L, Li C, et al. Controlling mechanisms and climate effects of microbial carbon pump in the ocean (in Chinese). Scientia Sinica Terrae, 2013, 43: 1-18

颗粒态之外,更主要的是以溶解有机碳(Dissolved Organic Carbon, DOC)形式存在的,从过滤分离角度看,DOC 占总有机碳的 95%^[17].而这其中约有 95% 的 DOC 是生物难以利用的惰性 DOC(Recalcitrant Dissolved Organic Carbon, RDOC)^[15,18-20].RDOC 碳库巨大(约 650 Gt),可与大气 CO₂ 总碳量相媲美^[21-23].¹⁴C 测定表明海洋中的 RDOC 年龄可达 4000~6000 年^[15,24,25],构成了海洋的长期储碳.地史数据表明这个海洋 RDOC 库在距今 5.42~8.5 亿年前的新元古代中晚期曾一度是目前海洋 DOC 库的 100~1000 倍以上,且其碳循环的周期远大于 10⁴ 年^[26,27].如此一来,“RDOC 碳库是怎么形成的?”就成为人们关注的核心科学问题.新近提出的海洋“微生物碳泵(Microbial Carbon Pump, MCP)”储碳机制^[16]对此问题给出了一个解答——微生物生态过程是 RDOC 的主要来源.本文就 MCP 储碳理论从分子生物学、环境生态学和生物地球化学的角度予以剖析和阐释,并结合地球历史数据分析,探讨了 MCP 储碳的应用前景.

1 微生物碳泵理论——新认识的海洋储碳机制

MCP 理论^[16,28,29]指出,海洋中的微生物是 RDOC 的主要贡献者.微生物个体虽小,但数量极大,是海洋生态系统生物量和能流的主要承担者^[3,30].微生物是海洋中与 DOC 联系最密切的生物组分.尽管过去已知自养微生物可以产生 DOC,异养微生物可以吸收利用 DOC,但是,以往忽视了一个十分重要的过程,这就是异养微生物不仅利用 DOC,而且产生 DOC,并且其中一部分就是 RDOC^[16,31,32],正是这部分 RDOC 逃逸了生物的和操控,进入水体长期积累,构成了海洋水体储碳.MCP 指的就是这种把活性 DOC 转化为惰性的 RDOC 的微生物生态过程^[16],MCP 储碳是海洋生态系统中一系列微生物活动的总体效应^[33].与经典“生物泵”相比,MCP 是不依赖于沉降过程的储碳机制(图 1).MCP 不仅储碳,而且释放氮、磷,保障了海洋生产力的可持续性;与另外一种机制——由 CO₂ 分压差驱动的“溶解度泵”——相比,MCP 具有不可比拟的优势:其产物惰性溶解有机碳不存在化学平衡移动,不会导致海洋酸化,因此有着良好的研发前景.

2 MCP 的主动机制

2.1 海洋 RDOC 的组成与生物来源

在传统模式下,异养微生物是有机碳的分解者.但实际上,它们既是有机碳的分解者也是有机碳的生产者.经过 30 余年的研究,海洋微生物对于 RDOC 贡献的认识已经逐步建立起来.早期的研究证实海水中的异养微生物利用浮游植物产生易降解溶解有机碳(Labile Dissolved Organic Carbon, LDOC)的同时也产生 RDOC 组分^[34,35].多糖已被证明是海水 DOC 的主要成分^[36].研究表明,表层海水中>1000 Da 的组分中,中性糖、醋酸盐和脂质三种成分的分布呈现很好的相关性,揭示了这些组分可能来源于同一大分子——酰化低聚糖^[37].微生物分泌的其他胞外多聚物(Extracellular Polymeric Substances, EPS)也可能是 RDOC 的重要来源,比如糖蛋白、脂蛋白、胞外 DNA.此外,有些单糖,也可以构成 RDOC,例如 L 型葡萄糖.大西洋中部海湾的海水 DOC 中的碳水化合物水解后的单糖成分在时间和空间尺度的差异性并不大,揭示了这些 DOC 来源有共同之处^[38].常识中氨基酸是非常容易吸收利用的碳源和氮源,事实上只有 L 型氨基酸可以被广泛利用,而多数 D 型氨基酸很难作为单一碳源或氮源被细菌利用.研究表明,以葡萄糖为碳源培养环境微生物数月,难于被分解的葡糖胺以及 D 型氨基酸被积累^[39],表明海洋细菌细胞壁组分可能是海洋 RDOC 的重要来源.来源于细胞壁的 D 型氨基酸(图 2)普遍存在于各类水体^[39],并且已被作为生标用于指示海洋环境中细菌起源的 DOC 组分^[40].在嗜热的古菌中也发现 D 型氨基酸的存在^[41].氨基酸的手性转化是由消旋酶催化的过程,但在不同生物体内的催化活性不同,不同细菌分泌的 D 型氨基酸类型也存在差异^[42].催化 D 型氨基酸合成的消旋酶基因普遍存在于海洋微生物及环境宏基因中.研究不同类型的 D 型氨基酸的惰性特征以及在细胞壁和胞外分泌物中分布情况将有助于认识胞外惰性物质产生的生理机制和对海洋有机碳库的影响.

培养实验表明,海洋环境中微生物群落能将培养海水中添加的葡萄糖或谷氨酸快速转变为难以再利用的 RDOC^[31].对单一菌株 *Pseudomonas chlororaphis* 的室内培养实验也证实了上述发现:约有 3%~5% 的葡萄糖被转化为细菌难以再利用的惰性成分并在整个实验周期中得以封存^[32].这些经典的实

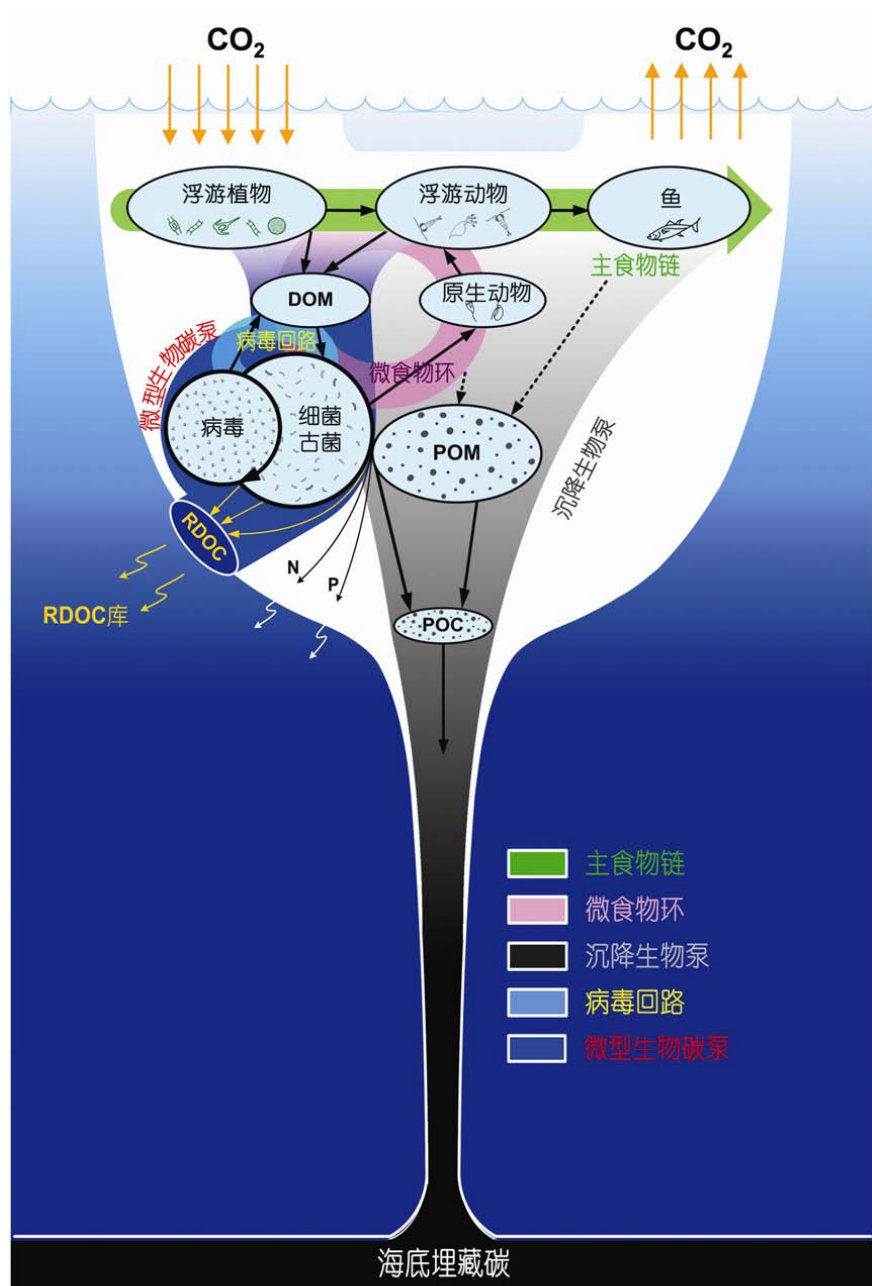


图 1 海洋碳循环有关的主要生物过程

微型生物碳泵(MCP), 蓝色区域; 生物泵, 灰色区域; 微食物环(Microbial Loop), 粉红色区域; 病毒回路(Viral Shunt), 蓝绿色区域; 主食物链 (Grazing Food Chain), 绿色区域

验证了微型生物的某些代谢产物可以逃逸生物的再利用过程而进入水体中得以保存积累. RDOC 的生物小分子如何通过物理屏蔽或化学修饰保护对于其免于被利用具有重要意义^[43], 研究发现 LDOC 到

RDOC 的微生物转化过程伴随着 DOC 分子量的相对升高^[32], 其中之一变化可以由 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$ 基团的增加进行解释, 同时还发现 LDOC 到 RDOC 的微生物转化过程伴随着 D 型氨基酸的产生^[32].

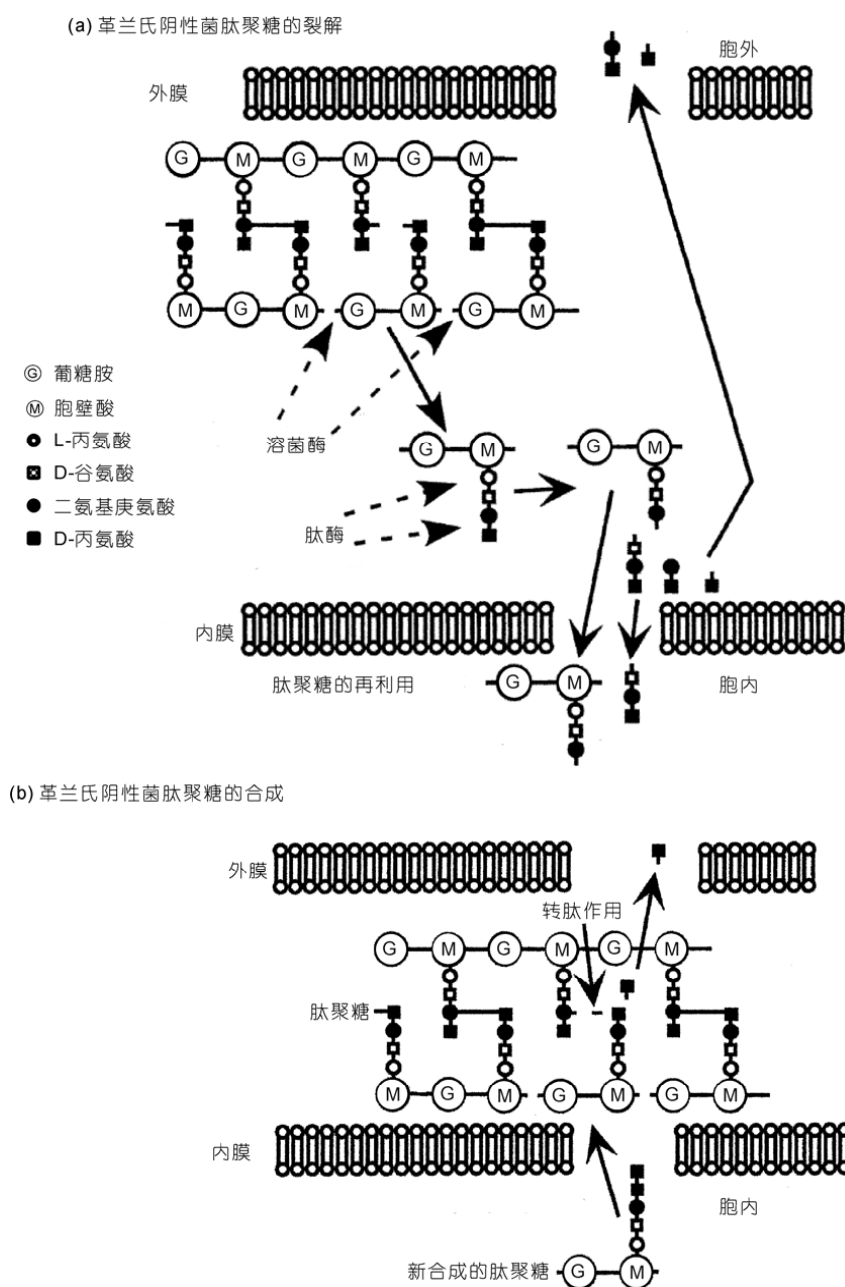


图2 水体中D型氨基酸的来源^[39]

细菌生长分裂过程中, 肽聚糖的再利用(a)或从头合成(b)过程中都伴随着D型氨基酸的释放

2.2 微型生物胞外分泌物的环境效应

微型生物的胞外分泌物如D型氨基酸、多糖和信号小分子多具有一定的生物惰性, 可在水体中积累形成海水中的RDOC组分^[44]。前期的实验表明, 不同于L型氨基酸, 多数D型氨基酸不能被作为唯一的碳源被利用^[45], 而深海的研究也表明深海细

菌大量分泌的胞外多糖不能作为深海细菌的碳源和能源^[46]。愈来愈多的研究则证实细菌分泌的D型氨基酸和胞外多糖在生长代谢、聚集等生命过程中扮演着非常重要的生态学作用。

海洋细菌分泌的胞外多糖有利于自身黏附在动植物、岩石等生物或非生物介质的表面以形成微型生

物的聚合体(microbial aggregates). 在这些聚合体形成的过程中, 细菌的生长代谢途径被重新调节, 细胞产生大量的以胞外多糖为主的胞外多聚物, 从而形成少量细菌被大量胞外基质所包被的多层次结构^[47]. 我们的研究发现, 在氧化胁迫时, 细菌通过调节普遍应激反应因子, 选择性抑制基因的转录, 抑制细菌的鞭毛活动性而促进胞外多糖的分泌, 使细菌由“浮游”状态进入聚合的“生物膜”的状态^[48,49]. 微型生物的聚合体在海洋环境中可导致“海雪(marine snow)”现象^[50]. 海雪颗粒趋于下沉, 是有机物质从透光层到深海底表面的重要运输途径, 展示了不可见的 DOC 聚合形成可见的 POC 的过程. 研究发现, 近几十年海洋温度的不断上升导致了地中海区域内“海雪”现象的频繁发生^[51]. 从海雪中分离的玫瑰杆菌 *Roseobacter* 可通过密度感应的信号传导系统调节微型生物的聚合体的形成^[52], 同时胞外多糖分布和结构特点也影响聚合体的形成(图 3).

此外与胞外多聚物导致的聚合效应相对的是, 微型生物的聚合体在环境影响下能够发生解体. 这种解体是细菌群体的“程序性细胞死亡”(Program cell death)的结果, 它不但使处于聚合状态的细菌重回浮游状态, 并伴随着大量死亡细胞成分和胞外多聚物向水体中释放. 最近研究发现某些 D 型氨基酸能够在特定的环境下引起生物膜的解体^[53]. 由此可见, D 型氨基酸不仅仅作为细胞壁的组分调节细胞壁的功能, 并能作为信号分子调节聚合效应, 进而影响微型生物的储碳效应.

微型生物聚合体的形成和解体与环境因子和营养因子密切相关, 但在海洋环境中的调节过程以及对应的胞外多糖和 D 型氨基酸等胞外分泌物的调节过程有待深入研究. 目前信号传导系统对环境温度、pH 值、营养盐变化的分子响应机制并不清楚, 开展相关研究有助于揭示气候变化对“海雪”等微型生物聚合体形成的影响. 研究“海雪”等 POC 形成的条件, 以及其他海洋环境中由微型生物介导的聚合现象和沉降过程将加深我们对海洋碳循环尤其是碳输出的认识.

2.3 微型生物 RDOC 代谢的分子生物学检测

当代海洋微型生物生态学已经进入一个繁荣的“组学(-omics)时代”. 从 2003 年 Craig Venter 马尾藻海区宏基因组检测^[55], 到 2009 年拥有 60 多个站点宏

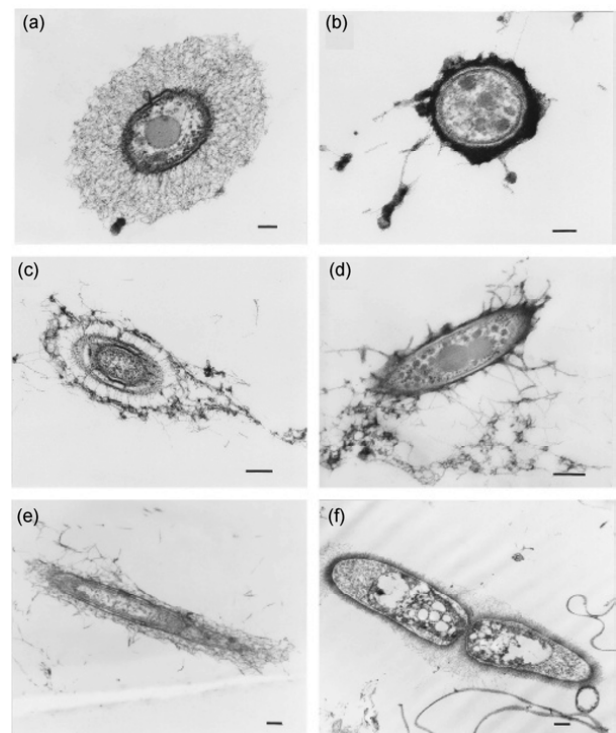


图 3 海洋细菌的胞外多糖分泌特性^[54]

(a) 中形成比细胞尺寸还要大的松散的包被, 而(f)中仅在细胞四周形成一层致密的薄膜. (d)和(f)在海雪颗粒中存在. 比例尺: (a), (b) 100 nm, (c)~(f) 200 nm

基因组数据全球海洋调查(Global Ocean Survey), 海洋宏基因组研究大大拓宽了人们对海洋微型生物物种多样性和功能基因多样性的认识^[56]. 基因芯片技术基于已有的 DNA 序列设计芯片探针, 能从样品中筛选出已知物种或功能的基因组信息, 从而进行比较、归类和多元统计等生态分析. 碳循环有关的基因功能类型可依据其对 DOC 利用及其调控作用划分为“碳转运”、“碳链转化”、“储碳或固碳”等类型, 这些关键基因是联系个体微观代谢与微型生物碳泵宏观效应的桥梁, 可以探究微型生物 DOC 利用、代谢以及转运转化 RDOC 的分子机制. 例如, 通过对 ABC 转运体在两种细菌群落 SAR11 及 *Roseobacter* 的基因组分布调查发现: *Roseobacter* 喜好碳水化合物类型的 DOC, 而 SAR11 更喜欢含氮源类物质的 DOC^[44]. 然而并不是微型生物所有的基因都会得到表达, 作为基因表达的最终产物——蛋白质才是微型生物代谢过程的执行者, 也是微观过程重要的生物指示分子, 而且海洋中的异养细菌群落蛋白表达会受环境

因素调控, 通过海洋宏蛋白质组学技术可以对其代谢微观过程加以反映. 通过宏基因组调查发现, 环境因子对微生物的关键代谢调控有密切联系^[56,57]. 例如, 自养微生物的呼吸链关键酶 NADH 脱氢酶丰度与温度呈正相关, 而异养微生物 NADH 脱氢酶丰度与温度呈负相关; 微生物在应对营养匮乏状况, 更趋向于转运利用氨基酸, 并减少自身的氨基酸合成; 在环境梯度上(盐度、温度、垂直深度), 细菌的脂类、糖多脂、胞外多糖代谢等存在明显的变动^[57]. 以上表明微生物可以通过调节一些“灵活”(flexibility)代谢途径, 用以适应环境, 另一方面包括 RDOC 在内的代谢物产生势必受到环境因子的影响. 因此, 通过综合运用海洋宏基因组、宏蛋白质组学及基因芯片技术对自然环境中微生物群落结构及其功能信息在基因、蛋白质水平上加以综合分析, 可提供不同环境条件下微生物群落结构和 DOC 代谢利用信息、并反映 RDOC 主动产生代谢过程.

3 MCP 的被动机制

3.1 病毒作用及其对 RDOC 的贡献

海洋浮游病毒是海洋生态系统中丰度最高的生命粒子, 其丰度可达 10^{10} L^{-1} , 是原核生物(细菌和古菌)丰度的 5~25 倍, 海洋病毒总数达 4×10^{30} 之多, 其生物量也仅次于原核生物^[58,59]. 海洋浮游病毒主要包括藻类病毒和细菌/古菌病毒, 而细菌/古菌病毒在数量上占绝对优势^[60,61]. 病毒通过感染和裂解细菌/古菌细胞从而影响物质和能量在海洋微生物食物网中的去处和通量^[5,62]. 病毒的裂解使得原核生物生物量转化为 DOC 进入水中, 脱离了主食物链, 形成“病毒回路”^[63,64](图 1). “病毒回路”改变了海洋碳流的方向和途径, 减少了向上层营养级的碳的输送. 海洋光合作用所固定的碳的 6%~26% 经过“病毒回路”回

流到 DOC 碳库^[5,62,65]. 病毒裂解释放出组分复杂的细胞物质, 如单体、寡聚体和多聚体、胶体物质和细胞碎片等^[66,67](图 4). 有相当一部分具有生物利用惰性特征, 成为潜在的 RDOC^[68,69]. 考虑到海洋中时刻发生、无处不在的病毒裂解, 即使仅仅有少量的细胞裂解产物为 RDOC, 病毒在海洋 RDOC 库积累过程中的贡献也是可观的. 更重要的是, 病毒裂解直接影响着 MCP 的主角——细菌/古菌的群落动态. 已有的研究表明, 病毒通过感染和裂解细菌/古菌细胞来影响细菌/古菌生态类群的丰度、生产力、群落结构和多样性^[70~72]. 同时, 被感染宿主细胞的裂解产物作为营养物质, 为生态系统中未被感染的细菌/古菌所利用, 进而影响这一部分微生物类群的生态特性及生态功能^[73~75]. 这两种作用的耦合决定着特定生态系统的 MCP 过程中病毒的角色和地位.

另一方面, 病毒对海洋生态系统的物质和能量循环的影响不仅仅是通过裂解宿主细胞, 而且它们很有可能通过自身携带的基因, 直接参与到宿主的碳代谢过程中. 单细胞蓝细菌原绿球藻(*Prochlorococcus*)是全球数量最多的光合作用生物, 光合能流大约占到全球总量的四分之一^[77], 在海洋食物链中发挥着至关重要的作用. 它的病毒(噬菌体)在全球海洋中广泛分布, 也是海洋中数量最多的病毒^[78]. 已完成测序的 16 个 T4 类原绿球藻噬菌体的基因组中有大量与宿主的各种代谢途径有关的基因^[79]. 这些“补充代谢基因”^[80]中最让人意想不到的是光合作用系统基因^[81,82], 因为一般认为病毒是不会进行光合作用的. 与光合作用电子传递^[83,84]、色素合成^[85]、戊糖磷酸途径、核酸合成、磷代谢有关的基因也在原绿球藻噬菌体的基因组中被发现了^[79,86]. 光合作用系统基因在噬菌体基因组中被发现后, 有人提出这些噬菌体的基因可能通过参与光合作用而起到固碳和合成有机物的作用^[82]. 但是我们^[87]发现噬菌体虽然有光合作

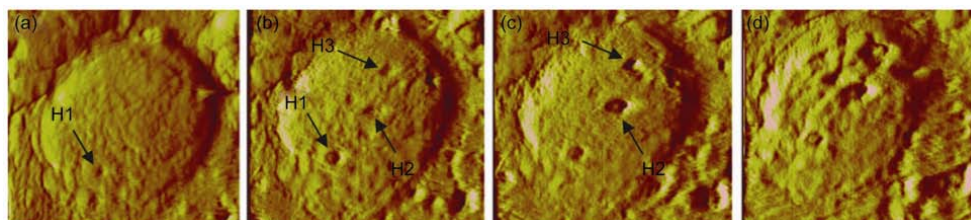


图 4 海洋不产氧光合异养菌(AAPB) *R. denitrificans* 被 RDLJL Φ1 病毒裂解的动态过程^[76]

(a) 病毒加入宿主菌培养液后 100 min 开始裂解; (a)~(c) 开始裂解后每间隔 4 min 进行原子力显微镜成像; (d) 在(c)状态持续 20 min 后的形态

用的光反应途径(参与吸收光能)的基因,但是却没有暗反应卡尔文循环(参与固定二氧化碳合成有机物)的基因,并且噬菌体有卡尔文循环的抑制因子 CP12,于是在实验数据的基础上提出了这些病毒所携带的光合作用基因虽然可能参与吸收太阳光能,但是并没有参与固定二氧化碳,而是在裂解原绿球藻的过程中参与了糖代谢^[87],很可能把宿主体内的葡萄糖转化为噬菌体核酸的骨架戊糖.这些与碳代谢有关的“补充代谢基因”在异养微生物的噬菌体中从来没有被发现过^[80],所以自养微生物的噬菌体可能除了裂解宿主释放有机碳外,还通过参与宿主的碳代谢途径来增强噬菌体对宿主的感染能力.这个病毒参与的碳代谢途径也有可能把原绿球藻胞内的活性 DOC 转化为惰性的 RDOC,并且最终影响海洋碳循环.

3.2 浮游动物活动对 RDOC 的贡献

众所周知浮游植物可通过自身代谢提供相当大一部分的 DOC^[7,88].处于指数生长期的藻类细胞 DOC 释放量相当于其每日总固碳量的 10%^[89],尽管当细胞受到环境压力时 DOC 的释放量会大大增加^[90,91],这一数字仍小于水生生态系统中细菌生长所需的 DOC 量(约等于光合作用总固碳量的 20%~40%)^[92,93].因此,目前普遍认为,摄食活动所释放的 DOC 能够在一定程度上维持细菌的生长^[94,95].与摄食活动相关的 DOC 释放过程包括撒漏摄食(sloppy feeding,摄食过程中饵料生物被摄食生物咬碎释放 DOC)、分泌、排泄及粪便的溶解等.其中,研究较多的是浮游甲壳类动物摄食藻类的撒漏摄食,藻类细胞在被甲壳类咬碎的同时,胞内 DOC 将被释放到水中^[96~98].当藻类个体较大,甲壳类难于将之整个吞咽时,破碎作用所产生的 DOC 所占比重尤为明显,例如汤氏纺锤水蚤(*Acartia tonsa*)摄食布氏双尾藻(*Ditylum brightwellii*)过程中,释放的 DOC 可达所摄食碳量的 54%~69%^[97].除撒漏摄食外,浮游甲壳类也可以通过直接的分泌作用释放一定量的 DOC^[99,100],其粪便溶解的 DOC 是水体 DOC 来源的另一途径^[101,102].以往研究表明,原生动物(主要包括纤毛虫和异养鞭毛虫)对浮游植物的摄食占浮游植物消耗的大部分(超过半数)^[103],这一摄食过程也同样伴随 DOC 的释放^[104].考虑到浮游植物在海洋生境中的大

量广泛存在,有理由相信原生动物对浮游植物的摄食作用在 DOC 的产生与循环中起到重要作用^[104].以往研究多集中在摄食作用产生 DOC 的量,对 DOC 分子水平的描述,尤其是其中 RDOC 的成分鲜有涉及.

以往研究表明,水体中部分 DOC 能够被异养细菌吸收利用,并通过微食物环(图 5)向更高营养级传输,这部分碳量大约相当于海洋初级生产力的一半^[105].在水生态系统中,原生动物通常是细菌的主要摄食者^[106].与原生动物摄食相关的 DOC 释放机理主要包括分泌和排泄作用,前者指原生动物将吸收同化后的碳以代谢废物的形式通过细胞膜表面分泌,后者指原生动物将不能吸收同化的碳排出体外(由于研究手段的限制,实际操作中常将二者合并处理).原生动物消化液泡(digestive vacuole)中的消化过程始于低 pH 值(大约为 2)以裂解食物细胞,随后的步骤包括高浓度的消化酶和相对较高的 pH 值(大约为 5)^[107],这些极端化学条件都有可能引起有机物质化学组成的改变,在这一过程中,部分活性 DOC 可能会转变成 RDOC 而得以长期储存^[108].Koike 等^[109]的研究发现海水中胶质颗粒(直径 0.36~1 μm)的丰度随异养鞭毛虫对细菌的摄食活动的提高而增长,其结论是异养鞭毛虫对细菌的摄食能够产生亚微米大小的胶状颗粒.另有研究表明原生动物对细菌的摄食可释放大分子有机化合物^[108],其中包括来自细菌的脂质和来自原生动物用于消化的酶.Kujawinski 等^[110]在原生动物摄食细菌的实验中发现了 80 种新的 DOM 化合物.而 Gruber 等^[32]的研究发现虽然细菌-纤毛虫(猎物-摄食者)的相互作用在决定 POC 的命运中发挥重要作用,它们对水生系统中 DOC 组分的影响(例如 RDOC 的组分及数量)可能没有原本想象那么大.然而这一研究仅局限于特定种类的原生动物及细菌,考虑到原生动物和细菌类群及代谢方式的多样性,这一结论是否能推广到其他类群还有待进一步研究.在水生态系统中,原生动物不仅能摄食异养细菌及微型自养生物,同时也能摄食病毒,当海水中病毒的丰度远高于细菌时,病毒将成为原生动物的重要营养来源^[111].考虑到海洋中无处不在无时不发生的浮游动物的摄食作用,即使仅仅有少量摄食活动产物为 RDOC,其总量在海洋 RDOC 库积累过程中的贡献也是可观的.因此,浮游动物在 DOC 释放、RDOC 碳库形成及 MCP 中扮演重要角色.

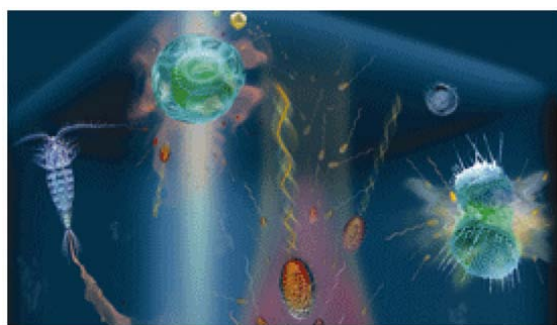


图5 微生物活动与DOC关系示意图

修改自 *Science* 2010 年 2 月 5 日封面. 示浮游动物排泄(图左), 浮游植物分泌(图上)和裂解(图右)产生DOC, 及细菌对DOC的吸收利用(图下)

4 微生物的RDOC代谢与环境调节

4.1 微生物功能类群的有机碳代谢特征差异

微生物的代谢活性将LDOC转化为RDOC, 从而进入长周期海洋碳循环. 值得注意的是, 在自然生态中不同微生物类群对于DOC的利用是有种属特征差异的, 例如, 新近认识的功能类群好氧不产氧光合异养细菌(Aerobic Anoxygenic Phototrophic Bacteria, AAPB)已经被证实能选择利用浮游植物产生的DOC^[112], 并产生AAPB-特定的RDOC于环境中, 因此AAPB往往与浮游植物协同发展^[112,113]; 而在深海广泛分布的古菌类群(包括泉古菌和广古菌)则相对更善于利用深海有机碳库中的DOC^[114,115], 从而产生更加惰性的RDOC于海洋碳库中. 可见, 在整个海洋生态系统的有机碳库形成谱带上, 由不同的微生物类群通过一系列的微生物代谢过程不断地将相对活性DOC转化为RDOC, 从而使海洋碳库中的RDOC无论在量上还是惰性程度上均得到积累. 因此, 研究海洋中各典型功能类群的DOC代谢活性及各类群特定RDOC类型, 将有助于我们深入理解MCP的生态学意义. 近年来越来越多的分子生物学手段运用于环境生态学的研究, 针对环境中微生物有机碳代谢特征差异的研究, 目前最有前景的方法通常是基于基因和基于同位素示踪相结合的产物. 例如高通量基因芯片(GeoChip)技术, GeoChip包括4类碳固定基因, 33类碳降解基因(从活性有机碳到惰性有机碳), 以及4类与甲烷氧化与合成有关的基因, 共11065个探针, 针对的目标物种包含细菌、古菌、真菌等广泛分布在陆地和海洋的微生物物种^[116],

GeoChip的运用能够细致的诠释海洋环境梯度中各类群碳代谢途径的活性差异. 此外, 新近发展起来的荧光原位杂交技术和基于放射性同位素底物示踪的微型放射自显影技术的结合^[114,117], 可以从单细胞水平上观测微生物各典型类群对有机碳底物的代谢活性, 并评估针对各类群相对惰性的DOC底物类型. 而近几年稳定同位素培养技术的运用和发展, 更拓宽了与之相结合的后续研究手段, 如基于PCR的系统发育研究、组学研究、磷脂脂肪酸研究等^[118], 从而能深入了解微生物组成及有机碳代谢活性特征.

4.2 MCP有关的生物标记物及碳氢同位素

微生物的细胞膜脂类(简称“膜脂”)具有连接DNA和环境变化的特殊作用. 一方面, 膜脂的类型不同反应了微生物功能类群的不同; 不同类群所具有的特征性类脂物或者特有类脂物, 可作为生物标记物(简称“生标”)用于反映自然环境生物群落结构(表1). 例如, 细菌的特征是具有酯键结合的膜脂结构^[119], 而古菌是具有类异戊二烯结构特征的醚键膜脂结构(二醚和四醚)^[120]. 另一方面, 膜脂的有些成分对外界环境的变化非常敏感, 这类类脂物或者它们的聚合物可以反映微生物的生理和营养状态, 以及由这些微生物进行的生物地球化学动力学过程^[121,122]. 例如, 贫营养环境往往使细菌产生更多的聚β羟基链烷酸(Polyhydroxyalkanoate, PHA)^[123]. 呼吸醌可以用来指示微生物需氧活动的程度^[124,125], 在高能势终端电子受体(O, N)的环境中细菌合成苯醌的几率增加; 相反, 利用有机底物进行呼吸作用的微生物会形成萘醌. 因为RDOC的产生受制于环境的营养状态并因氧化还原条件的改变而改变, 在实验室条件下可以建立反应环境压力的生标与RDOC之间的量的关系, 并用这些指标来验证自然条件下RDOC产生的量的变化. 尽管脂类生标在自然环境中得到广泛应用, 但是还没有人把它们与RDOC研究相结合, 而后者将是对生标地球化学研究的重要拓展.

脂类化合物的稳定碳氢同位素(¹³C和²H)可用于验证MCP效应、定量生物泵之间的关系、并反映微生物参与碳循环具体的生物地球化学过程. 对于植物或自养微生物而言有机质碳同位素的变化反映了碳的固定途径(比如卡尔文循环固碳产生的有机质比反向三羧酸循环碳同位素要正^[126], 而氢同位素值可

反映不同代谢途径相伴生的能量转化机制, 比如好氧细菌和厌氧细菌在有机质代谢过程中产生明显不同的氢同位素分馏^[127]. 另外在异养生物降解有机质过程中, 参与降解的微生物持续越久(或微型生物碳泵循环次数越多时)其脂类生标的碳同位素值将变的越正^[128]. 这对于了解细菌/古菌所参与的 RDOC 产生过程尤其重要, 因为可以通过鉴定代表特殊菌株的生标化合物的碳同位素正负, 评估它们参与 RDOC 产生的程度, 同时可以利用生标化合物的氢同位素值知道这些菌株的代谢过程时是有氧呼吸还是厌氧呼吸.

另外, 观察 L 型氨基酸和 D 型氨基酸的碳同位素变化将有助于阐释 MCP 的主动机制. 不同氨基酸的碳同位素值有着明显差值, 反映了不同生物菌群碳代谢途径不同^[129,130]. 比如, 异氧细菌所产生的甘氨酸和异亮氨酸在碳同位素上要比自养菌(蓝细菌)重 13‰~20‰^[131], 因此可在不同水深特别是在真光层以下检测这些氨基酸的碳同位素值来评估 MCP 在不同水深的活动强度. 另外, 同一种氨基酸的碳同位素值陆源的要比海洋的轻 5‰~15‰^[129]; 因此通过测定某一海域外海的和陆源的氨基酸碳同位素值作为端源就可以通过建模估算出在河口区或近海环境异养细菌所参与的 MCP 程度.

生标同位素的进一步利用是通过 ^{14}C 来示踪有机碳不同组分在水体中的年龄. 开阔海区中不同碳库的 ^{14}C 值有明显差异, 其中 POC(来自真光层) > DIC > DOC^[25]. 这对检验 MCP 效应和与生物泵之间的关系是一个重要手段; 假如生物沉降在有机碳循环中起作用, 代表光合作用的自养生物生标将和 POC 一样在各个水层表现为较正的 ^{14}C 值, 而 MCP 过程加剧时代表异养过程的生标因参与 DOC 降解将表现为很

负的 ^{14}C 值^[25]. 另一方面, 由于溶解无机碳和溶解有机碳的 ^{14}C 值有着极大的不同, 因此通过测定代表菌株的生标 ^{14}C 可以知道该微生物在水体中是参与的自养过程(代表溶解无机碳 ^{14}C)还是异养过程(代表溶解有机碳的 ^{14}C); 这在真光层以下尤其重要, 因为大部分深海微生物没有被鉴别, 其生理生化特征目前还是未知数, 因此其碳循环过程与机理尚不清楚. Ingalls 等^[9]通过比较古菌的生标和 DOC, DIC 的 ^{14}C 值, 认为深海古菌主要参与了 CO_2 的固定过程. 利用同样手段我们可以验证细菌在深海环境中碳代谢途径和 MCP 效应. 类脂物(及氨基酸)和稳定/放射同位素联合研究的应用可更好的了解群落中不同生物对于碳源和碳流途径的调节作用^[9,132], 同时辅助 MCP 研究的其他基因和生化手段. 另外由于类脂物生标在长时间尺度上的稳定性, 使得它们在 MCP 古今链接的研究中扮演重要角色(表 1).

5 MCP 的能量代谢特征与储碳效率

MCP 在执行 LDOC 向 RDOC 的转化过程中伴随着呼吸代谢等生理生态过程. 例如, 很多参与“碳转运”、“碳链转化”、“固碳、储碳”等功能过程的海洋细菌和古菌功能蛋白和生物酶的合成及其催化活动需要消耗由呼吸作用产生的 ATP. 对于微型生物个体而言, MCP 功能过程存在一个生理效率问题, 即生产 1 个单位的 RDOC 需要消耗多少由呼吸作用产生的 ATP, 换言之, 用碳收支概念来计算, 就是生产 1 个单位的 RDOC 环境中有多少 LDOC 被呼吸作用氧化分解产生 CO_2 . 对于海洋生态系统而言, MCP 运转过程需要的能量大部分也是来自呼吸作用产生的 ATP. 海洋细菌和古菌的种类和功能极其多样, 不同

表 1 海洋碳循环及气候变化相关的生物标志化合物指标

指标	用途	参考文献
BIT, 木质素, 长链烷烃	海洋环境中的陆源物质输入	Hopmans 等 ^[133] ; Eglinton 和 Eglinton ^[134]
生物标志化合物 ^{13}C , ^{14}C 同位素	有机碳的来源	Ingalls 等 ^[9]
PLFA, IPL-古菌	细菌或古菌活体总量	White 等 ^[119] ; Lipp 等 ^[135]
泉古菌醇	氨氧化古菌	Damste 等 ^[136]
古菌醇	产甲烷菌	De Rosa 等 ^[120]
缩醛磷脂	厌氧细菌	Villanueva 等 ^[125]
环丙烷/ $\omega 7\text{c}$ 和顺式/反式	环境压力(次优生长或有毒化合物)	Guckert 等 ^[137]
UQ/MK	氧化还原状态	Villanueva 等 ^[125]
PHA/PLFA	生长因素受限	Villanueva 等 ^[125]
U^{K}_{37} , TEX_{86}	海表温度	Prahl 等 ^[138] ; Schouten 等 ^[139]

种类、不同类群、不同功能群及不同微生物群落的 MCP 效率可能存在很大差异, 并且环境因素进一步影响着 MCP 效率. 例如, 在河口等近岸环境, 由于陆源营养盐和有机碳等的大量输入, 河口局局部区域由于异养呼吸耗氧而可能形成低氧区, 并且海水悬浮颗粒物内部和表面也可形成低氧微环境^[140], 该环境下的异养微生物以厌氧呼吸作用为主(图 6), 很多陆源输入的氮营养盐被反硝化等厌氧异养呼吸作用或厌氧氨氧化作用(ANaerobic AMMonium Oxidation, Anammox)消耗生成 N_2 气^[141,142], 而不能被浮游植物利用进行光合生产和固碳, 减低了生态系统营养盐的利用效率、代谢产能效率及固碳储碳效率^[143]. 如果能降低陆源营养盐和有机物等向海洋的输入, 河口反硝化等厌氧异养呼吸或厌氧氨氧化区域就会缩小或消失, 氮营养盐等将主要被浮游植物利用进行光合生产固碳, 河口净固碳区域也会随之扩大^[143].

在 MCP 理论框架下, 呼吸作用不应被单纯看做是海洋碳生物地球化学循环体系的碳损失过程, 因

为呼吸作用同时也是 MCP 的能量代谢过程. 这个认识为我们研究不同微生物、不同生态系统、不同海区储碳效率和碳汇潜力提供了新的视角和思路. 对于海洋储碳增汇而言, 如何提高不同海域的 MCP 生态效率是一个关键科学问题. 通过对 MCP 功能过程和机理的解析, 同时辅以对海洋异养细菌和古菌呼吸作用的研究, 将为研发低生态成本的 MCP 储碳增汇生态对策提供基础, 服务于“生态系统呼吸消耗有机碳成本最小化、RDOC 储碳产出最大化”的生态管理目标. 这一点在大河口区尤为重要. 由于富营养化、以及由此引发的低氧或缺氧环境, 导致生态系统恶性循环, 许多河口生态系统固碳储碳效率很低, 生态成本却很高. 通过对该环境海洋碳-氮循环连接或耦合进行解析, 有望从营养盐利用效率和 MCP 生态效率等方面入手研发低生态成本的储碳增汇对策.

在实验技术上, 海洋微生物及其群落的呼吸作用速率测定一直是海洋生态学及生物地球化学研究的一个难点^[146~148]. 研究发现, 一些海域呼吸作用

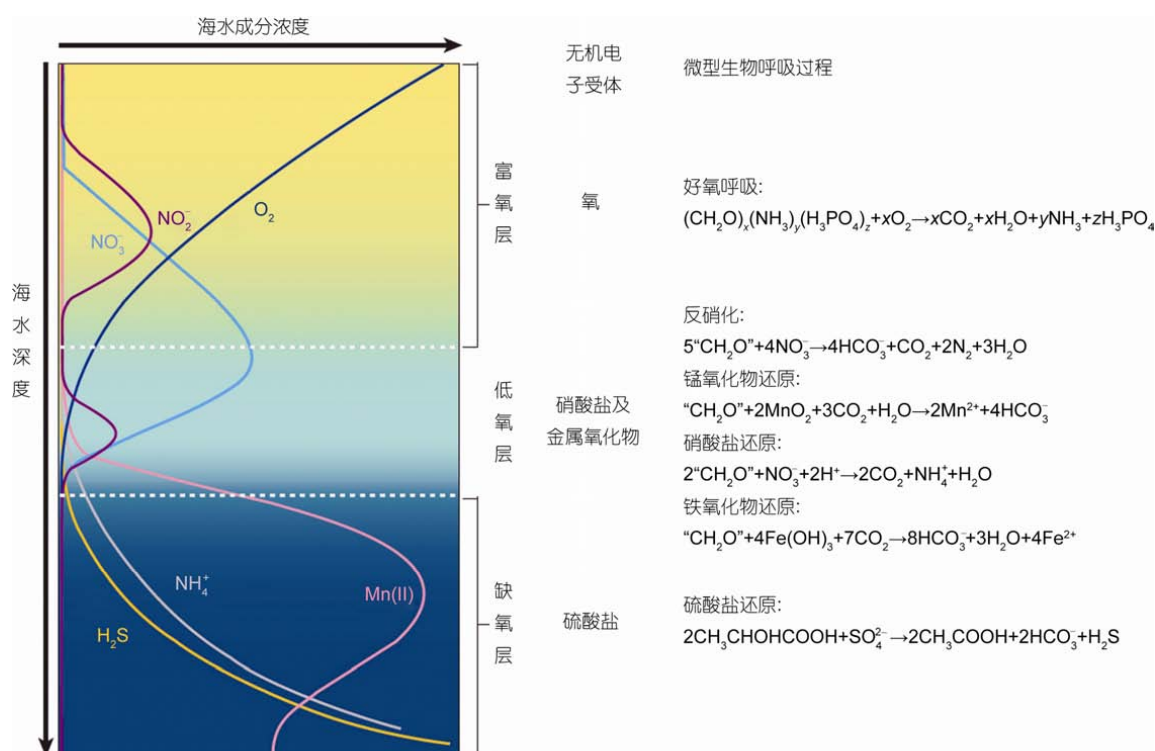


图 6 近岸富营养化海水环境中的主要无机电子受体及相应微生物呼吸过程垂直分布

修改自 Libes^[144]和 Moore 等^[145]. 由于陆源有机物和含氮营养盐等的输入所产生的河口等近岸海洋环境富营养化使得海水中溶氧被大量消耗, 海水有氧层变薄, 而低氧和缺氧层变厚, 微生物厌氧呼吸作用(如反硝化、硝酸盐还原、锰和铁氧化物还原、硫酸盐还原等)相应变强

所消耗的有机碳量甚至超过初级生产力所固定的有机碳量, 而成为净异养水域. 净异养水域在受人类活动影响较显著的河口和沿岸区较为普遍. 但是, 一些寡营养大洋表层水同样存在净异养区, 这与现有的生态系统代谢平衡理论严重相左, 其形成机制目前尚不明确, 以往对海洋有机碳流路径分支及调控机理了解的不足可能是造成这种人为假象的一个因素, 呼吸作用速率不准确的测定被认为是可能产生这种异常的另一原因^[147]. 微生物群落呼吸速率测定方法的改进^[149], 以及 FISH(Fluorescence *in situ* Hybridization), CARD-FISH(Catalyzed Reporter Deposition-FISH)、原位 PCR(*in situ* PCR)等现代分子生物学技术的进步和显微观测技术手段的提高^[140,150,151], 为我们准确测定异养细菌和古菌在好氧和厌氧(如反硝化作用)生理条件下的呼吸速率提供了技术基础. 这些方法的整合有望实现新实验技术手段的创新, 在更精细和更准确的水平上对海洋微生物群落及其关键类群的呼吸作用进行分析; 更重要的是, MCP 理论中的“情景特定 RDOC”(Situation-specific RDOC)观点对上述问题提供了时空大尺度上的合理解释: 群落呼吸消耗的有机碳不一定是同时期自养生物光合作用产生的, 有可能来自“情景 RDOC”在环境条件变化之后的转化; 另一方面, 每一次的有机碳固定-呼吸循环, 都伴随着 RDOC 的产生, 就算这个比例很小, RDOC 也会积少成多. 因而, MCP 内在的能量代谢特征和动态变化规律, 是需要研究的新课题, 可藉此深化对 MCP 功能过程及其储碳增汇效率和开发利用途径的理解和认识.

6 MCP 储碳的地史证据

海洋 RDOC 碳库并非现代海洋才有, 在地质历史时期, 海洋 RDOC 库无论是在大小还是循环时间上都较现代海洋有过之而无不及^[27,152], 其中最引人注目的是距今约 8.5~5.42 亿年前的新元古代成冰纪至埃迪卡拉纪出现的超大型海洋 RDOC 库^[27](图 7). 计算表明: 这一超大型海洋 RDOC 库大小是目前海洋 RDOC 库的百倍、千倍, 且其 RDOC 循环的周期也远远超过万年^[26]. 这一阶段被认为是目前地球历史上已知的海洋 RDOC 库积累最为剧烈的时期^[27]. 既然是有机碳库, 必然与生物活动有关. 但是在新元古代由多细胞动物重要参与的生态系统尚未进化出

来^[128,153], 因此, 类似于今天海洋中浮游动物对有机物质的打包效应(packing effects), 进而基于颗粒有机碳沉降的生物泵储碳基本可以忽略. 而那时的海洋充满了微型生物, 在缺乏捕食者的情况下, 碳流不是向上层营养级传递而是被病毒裂解成为 DOC, 因此, 这一超大型 RDOC 库的形成可以基本归结于 MCP 作用加剧的结果. 由此可见, 弄清这一超大型 RDOC 库形成的生物地球化学机制对于从地球历史演化的角度探讨 MCP 环境生态学调控机制和发展海洋 MCP 增汇的手段具有重要意义.

然而, 目前对于这一超大型 RDOC 库的研究还处于初级阶段, 主要集中在对该 RDOC 库的碳循环动力学表征和鉴定等方面. 在新元古代, 超大型海洋 RDOC 库曾两度显现. 它们在地球化学记录上均表现为沉积碳酸盐中碳同位素出现强烈负漂移(可至 -15‰), 而与之共存的沉积有机质中的碳同位素则保持不变^[154~156](图 7). 这种碳同位素的非耦合现象被认为是这一超大型 RDOC 库氧化释放出的 ^{12}C 被结合进入沉积碳酸盐中因而出现碳同位素负漂移, 但合成的有机质则由于这一大型 RDOC 库的缓冲作用而保持碳同位素组成不变^[154]. 碳同位素动力学计算表明这种碳同位素的非耦合现象不符合其他地质历史时期的稳态碳循环的特征, 支持了这一时期超大型 RDOC 库在深部海洋的出现^[26,157]. 来自全球的地球化学数据表明: 至少这一超大型 RDOC 库在埃迪卡拉纪的积累与消亡具有全球性和等时性, 目前其已在阿曼、我国华南、南澳大利亚以及美国加利福尼亚等全球各地同时代地层中得以鉴定^[27]. 此外, 新元古代这一超大型海洋 RDOC 库的出现还伴随着全球冰期与暖期交替的气候事件^[156]和之后多细胞动物出现等重大生命演化事件^[154,155].

MCP 储碳作用如何在晚新元古代造就了这一地球历史上最大的海洋 RDOC 库? 这一强烈储碳事件与这一时期重大气候和生命演化事件的出现是否有关? 如果有关, 对现代海洋 MCP 储碳增汇及其气候生态效应有何重要启示? 回答这些重大科学问题就必须彻底搞清这一超大型 RDOC 库形成的生物地球化学机制. 尽管科学家们普遍认为该超大型 RDOC 库的出现可能与晚新元古代的大冰期事件和海洋的缺氧有关^[156], 但具体细节和机制并不清楚. Li 等^[158]基于我国华南新元古代陡山沱组(该大型 RDOC 库第二次显现时期)铁-硫-碳地球化学记录的空间波动性发表了新元古代“三明治型”古海洋化学结构模型,

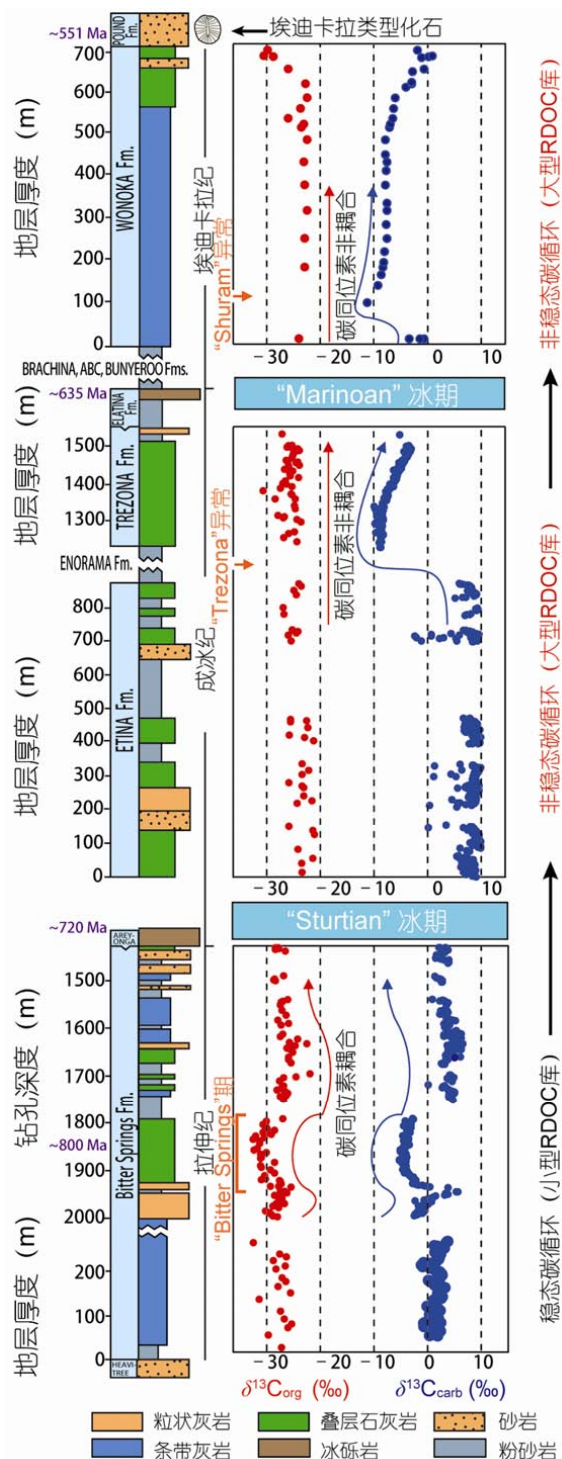


图7 南澳大利亚新元古代地层记录的深海海洋大型有机碳库的出现

修改自文献[156]. $\delta^{13}\text{C}_{\text{org}}$, 沉积有机质的碳同位素组成; $\delta^{13}\text{C}_{\text{carb}}$, 沉积碳酸盐的碳同位素组成

指出在新元古代极低硫酸盐含量的缺氧海洋中, 大冰期所导致的从陆缘向深海远洋发展的氧化-还原梯度可能是这一时期超大型 RDOC 库在深部海洋得以形成的关键因素之一, 为新元古代超大型 RDOC 库的生物地球化学形成机制的研究提供了起点。

7 MCP 研究及应用展望

综上所述, MCP 研究对于认识全球气候变化的海洋调控机制具有重要意义。今后这方面研究的关键在于 MCP 的分子生物学过程与机制、环境生态学过程与机制, 以及生物地球化学过程与环境效应的综合考察。MCP 分子生物学过程与机制方面的研究应包括微生物对碳的细胞膜转运、胞内物质合成、呼吸代谢以及 RDOC 生产等过程的内秉生物学机制。运用基因、基因组学、蛋白质组学、代谢组学等手段研究相关的生命活动, 特别聚焦有机碳的修饰(如, 单糖/多糖的酰化作用)及氨基酸构象转化、葡萄糖的构象变化导致 DOC 活性的变化, 以及在基因转录和蛋白表达水平上研究相关水解酶/修饰酶/转运蛋白的调节等。MCP 环境生态学过程与机制方面的研究应包括 RDOC 释放的主动机制(如, 细胞分泌等)和被动机制(如, 病毒裂解等)及其产物的活性/惰性特征的阐释(包括化学表征和生物测验(Bioassay)), 应特别注重环境中氮、磷、铁等生源要素、温度、盐度、酸度、溶氧等对微生物生长、物质和能量代谢、以及碳输入输出的调控作用。MCP 的生物地球化学过程与环境效应方面的研究应包括现代海洋水柱与海底沉积物中的类脂标志物对 MCP 储碳效应的表征, 古海洋 MCP 储碳机制的解析(例如: 晚新元古代和末次冰期以来 MCP 储碳效应波动的典型案例), 以及建立全球变化背景下古今对比情景模型等。上述研究应该从基因到生态系统多层面上展开、注重对功能基因的分析以及运用比较基因组学手法研究细胞膜转运、细胞内物质合成、代谢产物及其释放的过程与机制; 从室内实验到代表海区现场实验研究 RDOC 生产过程、释放过程、产物成分、生物可利用性; 揭示典型海洋环境梯度上(从河口、近岸到大洋)及特殊生境(如上升流区)MCP 动态变化规律、分析其能量代谢与呼吸成本及 MCP 生态效率。如此, 可望对海区综合储碳潜力给出评估、为海洋增汇提供科学依据和技术储备。

致谢 本文写作过程中骆庭伟协助做图、罗淑娅协助收集材料整理文章图例、国家重大科学计划“海洋微生物碳泵储碳过程与机制研究”项目组部分成员给予协助, 在此一并谢忱.

参考文献

- 1 Azam F, Smith D C, Steward G F, et al. Bacteria-organic matter coupling and its significance for oceanic carbon cycling. *Microb Ecol*, 1993, 28: 167–179
- 2 Copley J. All at sea. *Nature*, 2002, 415: 572–574
- 3 Azam F, Malfatti F. Microbial structuring of marine ecosystems. *Nature Rev Microbiol*, 2007, 5: 782–791
- 4 Riebesell U. Enhanced biological carbon consumption in a high CO₂ ocean. *Nature*, 2007, 450: 545–548
- 5 Suttle C A. Marine viruses—Major players in the global ecosystem. *Nature Rev Microbiol*, 2007, 5: 801–812
- 6 Mou X Z, Sun S L, Edwards R A, et al. Bacterial carbon processing by generalist species in the coastal ocean. *Nature*, 2008, 451: 708–711
- 7 Arrigo K R. Carbon cycle: Marine manipulations. *Nature*, 2007, 450: 491–492
- 8 Bardgett R D, Freeman C, Ostle N J. Microbial contributions to climate change through carbon cycle feedbacks. *ISME J*, 2008, 2: 805–814
- 9 Ingalls A E, Shah S R, Hansman R L, et al. Quantifying archaeal community autotrophy in the mesopelagic ocean using natural radiocarbon. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 6442–6447
- 10 Wassmann P. Retention versus export food chains: Processes controlling sinking loss from marine pelagic systems. *Hydrobiologia*, 1998, 363: 29–57
- 11 Gehlen M. Reconciling surface ocean productivity, export fluxes and sediment composition in a global biogeochemical ocean model. *Biogeosciences*, 2006, 3: 521–537
- 12 Eppley R W, Peterson B J. Particulate organic matter flux and planktonic new production in the deep ocean. *Nature*, 1979, 282: 677–680
- 13 Ducklow H W, Steinberg D K, Buesseler K O. Upper ocean carbon export and the biological pump. *Oceanography*, 2001, 14: 50–58
- 14 Aristegui J, Gasol J M, Duarte C M, et al. Microbial oceanography of the dark ocean's pelagic realm. *Limnol Oceanogr*, 2009, 54: 1501–1529
- 15 Hansell D A, Carlson C A, Repeta D J, et al. Dissolved organic matter in the ocean: A controversy stimulates new insights. *Oceanography*, 2009, 22: 52–61
- 16 Jiao N, Herndl G J, Hansell D A, et al. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: Long-term carbon storage in the global ocean. *Nature Rev Microbiol*, 2010, 8: 593–599
- 17 Reeburgh W S. Figures summarizing the global cycles of biogeochemically important elements. *Bull Ecol Soc Am*, 1997, 78: 260–267
- 18 Kirchman D L, Lancelot C, Fasham M, et al. Dissolved organic matter in biogeochemical models of the ocean. In: Evans G T, Fasham M J, eds. *Towards a Model of Ocean Biogeochemical Processes*. Berlin: Springer, 1993. 209–225
- 19 Carlson C A, Ducklow H W. Dissolved organic carbon in the upper ocean of the central equatorial Pacific Ocean, 1992: Daily and finescale vertical variation. *Deep-Sea Res Part II-Top Stud Oceanogr*, 1995, 42: 639–656
- 20 Eichinger M, Poggiale J C, Van Wambeke F, et al. Modelling DOC assimilation and bacterial growth efficiency in biodegradation experiments: A case study in the Northeast Atlantic Ocean. *Aquat Microb Ecol*, 2006, 43: 139–151
- 21 Hedges J I. Global biogeochemical cycles: Progress and problems. *Mar Chem*, 1992, 39: 67–93
- 22 Falkowski P. The global carbon cycle: A test of our knowledge of earth as a system. *Science*, 2000, 290: 291–296
- 23 Ogawa H, Tanoue E. Dissolved organic matter in oceanic waters. *J Oceanogr*, 2003, 59: 129–147
- 24 Bauer J E, Williams P M, Druffel E R M. ¹⁴C activity of dissolved organic carbon fractions in the north-central Pacific and Sargasso Sea. *Nature*, 1992, 357: 667–670
- 25 McNichol A P, Aluwihare L I. The power of radiocarbon in biogeochemical studies of the marine carbon cycle: Insights from studies of dissolved and particulate organic carbon (DOC and POC). *Chem Rev*, 2007, 107: 443–466
- 26 Rothman D H, Hayes J M, Summons R E. Dynamics of the Neoproterozoic carbon cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 8124–8129
- 27 Grotzinger J P, Fike D A, Fischer W W. Enigmatic origin of the largest-known carbon isotope excursion in Earth's history. *Nature Geosci*, 2011, 4: 285–292
- 28 Jiao N, Zhang C, Chen F, et al. Frontiers and technological advances in microbial processes and carbon cycling in the ocean. In: Mertens L, ed. *Biological Oceanography Research Trends*. New York: NOVA Science Publishers Inc, 2008. 217–267
- 29 焦念志. 海洋微生物生态学. 北京: 科学出版社, 2006
- 30 Karl D M. Hidden in a sea of microbes. *Nature*, 2002, 415: 590–591

- 31 Ogawa H, Amagai Y, Koike I, et al. Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. *Science*, 2001, 292: 917–920
- 32 Gruber D F, Simjouw J P, Seitzinger S P, et al. Dynamics and characterization of refractory dissolved organic matter produced by a pure bacterial culture in an experimental predator-prey system. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72: 4184–4191
- 33 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: 1473–1486
- 34 Brophy J E, Carlson D J. Production of biologically refractory dissolved organic carbon by natural seawater microbial populations. *Deep-Sea Res*, 1989, 36: 497–507
- 35 Stoderegger K, Herndl G J. Production and release of bacterial capsular material and its subsequent utilization by marine bacterioplankton. *Limnol Oceanogr*, 1998, 42: 877–884
- 36 Benner R, Pakulski J D, McCarthy M, et al. Bulk chemical characteristics of dissolved organic matter in the ocean. *Science*, 1992, 255: 1561–1564
- 37 Aluwihare L I, Repeta D J, Chen R F. A major biopolymeric component to dissolved organic carbon in surface sea water. *Nature*, 1997, 387: 166–169
- 38 Aluwihare L I, Repeta D J, Chen R F. Chemical composition and cycling of dissolved organic matter in the Mid-Atlantic Bight. *Deep-Sea Res Part II-Top Stud Oceanogr*, 2002, 49: 4421–4437
- 39 Kawasaki N, Benner R. Bacterial release of dissolved organic matter during cell growth and decline: Molecular origin and composition. *Limnol Oceanogr*, 2006, 51: 2170–2180
- 40 Kaiser K, Benner R. Major bacterial contribution to the ocean reservoir of detrital organic carbon and nitrogen. *Limnol Oceanogr*, 2008, 53: 99–112
- 41 Matsumoto M, Homma H, Long Z, et al. Occurrence of free D-amino acids and aspartate racemases in hyperthermophilic Archaea. *J Bacteriol*, 1999, 181: 6560–6563
- 42 Lam H, Oh D C, Cava F, et al. D-Amino acids govern stationary phase cell wall remodeling in Bacteria. *Science*, 2009, 325: 1552–1555
- 43 Amon R M W, Benner R. Rapid cycling of high-molecular-weight dissolved organic matter in the ocean. *Nature*, 1994, 369: 549–552
- 44 Jiao N Z, Zheng Q. The microbial carbon pump: From genes to ecosystems. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77: 7439–7444
- 45 Li C, Yao X, Lu C D. Regulation of the *dauBAR* operon and characterization of D-amino acid dehydrogenase DauA in arginine and lysine catabolism of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Microbiology*, 2010, 156: 60–71
- 46 Qin G, Zhu L, Chen X, et al. Structural characterization and ecological roles of a novel exopolysaccharide from the deep-sea psychrotolerant bacterium *Pseudoalteromonas* sp. SM9913. *Microbiology*, 2007, 153: 1566–1572
- 47 Flemming H C, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*, 2010, 8: 623–633
- 48 Wang X, Kim Y, Hong S H, et al. Antitoxin MqsA helps mediate the bacterial general stress response. *Nat Chem Biol*, 2011, 7: 359–366
- 49 Wang X, Wood T K. Toxin/antitoxin systems influence biofilm and persister cell formation and the general stress response. *Appl Environ Microbiol*, 2011, 77: 5577–5583
- 50 Alldredge A L, Silver M W. Characteristics, dynamics and significance of marine snow. *Prog Oceanogr*, 1988, 20: 41–82
- 51 Danovaro R, Fonda U S, Pusceddu A. Climate change and the potential spreading of marine mucilage and microbial pathogens in the Mediterranean Sea. *PLoS ONE*, 2009, 4: e7006
- 52 Gram L, Grossart H P, Schlingloff A, et al. Possible quorum sensing in marine snow bacteria: Production of acylated homoserine lactones by *Roseobacter* strains isolated from marine snow. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68: 4111–4116
- 53 Kolodkin-Gal I, Romero D, Cao S, et al. D-amino acids trigger biofilm disassembly. *Science*, 2010, 328: 627–629
- 54 Heissenberger A, Leppard G G, Herndl G J. Relationship between the intracellular integrity and the morphology of the capsular envelope in attached and free-living marine bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62: 4521–4528
- 55 Venter J C, Remington K, Heidelberg J F, et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 2004, 304: 66–74
- 56 Rusch D B, Halpern A L, Sutton G, et al. The Sorcerer II Global Ocean Sampling Expedition: Northwest Atlantic through eastern tropical Pacific. *PLoS Biol*, 2007, 5: e77
- 57 Gianoulis T A, Raes J, Patel P V, et al. Quantifying environmental adaptation of metabolic pathways in metagenomics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 1374–1379
- 58 Bergh Ø, Børshiem K Y, Bratbak G, et al. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature*, 1989, 340: 467–468
- 59 Suttle C A. Viruses in the sea. *Nature*, 2005, 437: 356–361
- 60 Wommack K E, Colwell R R. Virioplankton: Viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, 64: 69–114
- 61 Weinbauer M G. Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol Rev*, 2004, 28: 127–181
- 62 Brussaard C P D, Wilhelm S W, Thingstad F, et al. Global-scale processes with a nanoscale drive: The role of marine viruses. *ISME J*,

- 2008, 2: 575–578
- 63 Thingstad T F. Elements of a theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic bacterial viruses in aquatic systems. *Limnol Oceanogr*, 2000, 45: 1320–1328
- 64 S  wstr  m C, Anesio M A, Graneli W, et al. Seasonal viral loop dynamics in two large ultraoligotrophic Antarctic freshwater lakes. *Microb Ecol*, 2007, 53: 1–11
- 65 Wilhelm S W, Suttle C A. Viruses and nutrient cycles in the sea. *Bioscience*, 1999, 49: 781–788
- 66 Gobler C J, Hutchins D A, Fisher N S, et al. Release and bioavailability of C, N, P, Se, and Fe following viral lysis of a marine chrysophyte. *Limnol Oceanogr*, 1997, 42: 1492–1504
- 67 Middelboe M, Riemann L, Steward G F, et al. Virus-induced transfer of organic carbon between marine bacteria in a model community. *Aquat Microb Ecol*, 2003, 33: 1–10
- 68 J  rgensen N O G, Middelboe M. Occurrence and bacterial cycling of D amino acid isomers in an estuarine environment. *Biogeochemistry*, 2006, 81: 77–94
- 69 Jacquet S, Miki T, Noble R, et al. Viruses in aquatic ecosystems: Important advancements of the last 20 years and prospects for the future in the field of microbial oceanography and limnology. *Adv Oceanogr Limnol*, 2010, 1: 71–101
- 70 Weinbauer M G, Rassoulzadegan F. Are viruses driving microbial diversification and diversity? *Environ Microbiol*, 2004, 6: 1–11
- 71 Winter C, Smit A, Herndl G J, et al. Impact of viroplankton on archaeal and bacterial community richness as assessed in seawater batch cultures. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 804–813
- 72 Zhang R, Weinbauer M G, Qian P Y. Viruses and flagellates sustain apparent richness and reduce biomass accumulation of bacterioplankton in coastal marine waters. *Environ Microbiol*, 2007, 9: 3008–3018
- 73 Middelboe M, Jorgensen N, Kroer N. Effects of viruses on nutrient turnover and growth efficiency of noninfected marine bacterioplankton. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62: 1991–1997
- 74 Middelboe M, Lyck P G. Regeneration of dissolved organic matter by viral lysis in marine microbial communities. *Aquat Microb Ecol*, 2002, 27: 187–194
- 75 Middelboe M. Microbial disease in the sea: Effects of viruses on marine carbon and nutrient cycling. In: Ostfeld R S, Keesing F, Eviner V T, eds. *Infectious Disease Ecology: Effects of Ecosystems on Disease and of Disease on Ecosystems*. Princeton: Princeton University Press, 2008. 242–259
- 76 Zhang Y, Zhang F, Yang J, et al. Host responses of a marine bacterium, *Roseobacter denitrificans* OCh114, to phage infection. *Arch Microbiol*, 2012, 194: 323–330
- 77 Partensky F, Hess W R, Vaulot D. *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1999, 63: 106–127
- 78 Williamson S J, Rusch D B, Yooseph S, et al. The Sorcerer II Global Ocean Sampling Expedition: Metagenomic characterization of viruses within aquatic microbial samples. *PLoS ONE*, 2008, 3: e1456
- 79 Sullivan M B, Huang K H, Ignacio-Espinoza J C, et al. Genomic analysis of oceanic cyanobacterial myoviruses compared with T4-like myoviruses from diverse hosts and environments. *Environ Microbiol*, 2010, 12: 3035–3056
- 80 Breitbart M, Thompson L R, Suttle C A, et al. Exploring the vast diversity of marine viruses. *Oceanography*, 2007, 20: 135–139
- 81 Lindell D, Jaffe J D, Johnson Z I, et al. Photosynthesis genes in marine viruses yield proteins during host infection. *Nature*, 2005, 438: 86–89
- 82 Sharon I, Alperovitch A, Rohwer F, et al. Photosystem I gene cassettes are present in marine virus genomes. *Nature*, 2009, 461: 258–262
- 83 Philosof A, Battchikova N, Aro E M, et al. Marine cyanophages: Tinkering with the electron transport chain. *ISME J*, 2011, 5: 1568–1570
- 84 Sharon I, Battchikova N, Aro E M, et al. Comparative metagenomics of microbial traits within oceanic viral communities. *ISME J*, 2011, 5: 1178–1190
- 85 Dammeyer T, Bagby S C, Sullivan M B, et al. Efficient phage-mediated pigment biosynthesis in oceanic cyanobacteria. *Curr Biol*, 2008, 18: 442–448
- 86 Sullivan M B, Coleman M L, Weigele P, et al. Three *Prochlorococcus* cyanophage genomes: Signature features and ecological interpretations. *PLoS Biol*, 2005, 3: e144
- 87 Thompson L R, Zeng Q, Kelly L, et al. Phage auxiliary metabolic genes and the redirection of cyanobacterial host carbon metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: E757–E764
- 88 Biddanda B, Benner R. Carbon, nitrogen, and carbohydrate fluxes during the production of particulate and dissolved organic matter by marine phytoplankton. *Limnol Oceanogr*, 1997, 42: 506–518

- 89 Williams P J L B. Heterotrophic bacteria and the dynamics of dissolved organic material. In: Kirchman D L, ed. Microbial Ecology of the Oceans. New York: Wiley-Liss, 2000. 153–199
- 90 Teira E, Serret P, Fernandez E. Phytoplankton size-structure, particulate and dissolved organic carbon production and oxygen fluxes through microbial communities in the NW Iberian coastal transition zone. Mar Ecol-Progr Ser, 2001, 219: 65–83
- 91 Meon B, Kirchman D L. Dynamics and molecular composition of dissolved organic material during experimental phytoplankton blooms. Mar Chem, 2001, 75: 185–199
- 92 Azam E, Fenchel T, Field J G, et al. The ecological role of water-column microbes in the sea. Mar Ecol Prog Ser, 1983, 10: 257–263
- 93 Obernosterer I, Christaki U, Lefevre D, et al. Rapid bacterial mineralization of organic carbon produced during a phytoplankton bloom induced by natural iron fertilization in the Southern Ocean. Deep-Sea Res Part II-Top Stud Oceanogr, 2008, 55: 777–789
- 94 Banse K. Grazing, temporal changes of phytoplankton concentrations, and the microbial loop in the open sea. In: Falkowski P G, Woodhead A R, eds. Primary Productivity and Biogeochemical Cycles in the Sea. Heidelberg: Springer, 1992. 409–440
- 95 Sherr E B, Sherr B F. Significance of predation by protists in aquatic microbial food webs. Antonie Van Leeuwenhoek Inter J General Molecul Microbiol, 2002, 81: 293–308
- 96 Moller E F. Production of dissolved organic carbon by sloppy feeding in the copepods *Acartia tonsa*, *Centropages typicus*, and *Temora longicornis*. Limnol Oceanogr, 2007, 52: 79–84
- 97 Moller E F, Nielsen T G. Production of bacterial substrate by marine copepods: Effect of phytoplankton biomass and cell size. J Plankton Res, 2001, 23: 527–536
- 98 Roy S, Harris R I, Poulet S A. Inefficient feeding by *Calanus rzelgolandicus* and *Temora longicornis* on *Coscinodiscus wailesii*: Quantitative estimation using chlorophylltype pigments and effects on dissolved free amino acids. Mar Ecol Prog Ser, 1989, 52: 145–153
- 99 Moller E F, Thor P, Nielsen T G. Production of DOC by *Calanus finmarchicus*, C-glacialis and C-hyperboreus through sloppy feeding and leakage from fecal pellets. Mar Ecol-Progr Ser, 2003, 262: 185–191
- 100 Saba G K, Steinberg D K, Bronk D A. The relative importance of sloppy feeding, excretion, and fecal pellet leaching in the release of dissolved carbon and nitrogen by *Acartia tonsa* copepods. J Experiment Mar Biol Ecol, 2011, 404: 47–56
- 101 Besiktepe S, Dam H G. Coupling of ingestion and defecation as a function of diet in the calanoid copepod *Acartia tonsa*. Mar Ecol-Progr Ser, 2002, 229: 151–164
- 102 Thor P, Dam H G, Rogers D R. Fate of organic carbon released from decomposing copepod fecal pellets in relation to bacterial production and ectoenzymatic activity. Aquat Microb Ecol, 2003, 33: 279–288
- 103 Landry M R, Calbet A. Microzooplankton production in the oceans. J Mar Sci, 2004, 61: 501–507
- 104 Strom S L, Benner R, Ziegler S, et al. Planktonic grazers are a potentially important source of marine dissolved organic carbon. Limnol Oceanogr, 1997, 42: 1364–1374
- 105 Azam F. Microbial control of oceanic carbon flux: The plot thickens. Science, 1998, 280: 694–696
- 106 Weisse T. The significance of inter- and intraspecific variation in bacterivorous and herbivorous protists. Antonie Van Leeuwenhoek Inter J General Molecul Microbiol, 2002, 81: 327–341
- 107 Fok A K, Lee Y, Allen R. The correlation of digestive vacuole pH and size with the digestive cycle in *Paramecium caudatum*. J Protozool, 1982, 29: 409–414
- 108 Nagata T, Kirchman D L. Release of macromolecular organic-complexes by heterotrophic marine flagellates. Mar Ecol-Progr Ser, 1992, 83: 233–240
- 109 Koike I, Hara S, Terauchi K, et al. Role of sub-micrometre particles in the ocean. Nature, 1990, 345: 242–244
- 110 Kujawinski E B, Del Vecchio R, Blough N V, et al. Probing molecular-level transformations of dissolved organic matter: Insights on photochemical degradation and protozoan modification of DOM from electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Mar Chem, 2004, 92: 23–37
- 111 González J M, Suttle C A. Grazing by marine nanoflagellates on viruses and virus-sized particles: Ingestion and digestion. Mar Ecol Prog Ser, 1993, 94: 1–10
- 112 Jiao N, Zhang Y, Zeng Y, et al. Distinct distribution pattern of abundance and diversity of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in the global ocean. Environ Microbiol, 2007, 9: 3091–3099
- 113 Zhang Y, Jiao N. Dynamics of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in the East China Sea. FEMS Microbiol Ecol, 2007, 61: 459–469
- 114 Herndl G J, Reinthaler T, Teira E, et al. Contribution of Archaea to total prokaryotic production in the deep Atlantic Ocean. Appl Environ Microbiol, 2005, 72: 2303–2309
- 115 Zhang Y, Sintes E, Chen J, et al. Role of mesoscale cyclonic eddies in the distribution and activity of Archaea and Bacteria in the South

- China Sea. *Aquat Microb Ecol*, 2009, 56: 65–79
- 116 He Z L, Deng Y, Van Nostrand J D, et al. GeoChip 3.0 as a high-throughput tool for analyzing microbial community composition, structure and functional activity. *ISME J*, 2010, 4: 1167–1179
- 117 Cottrell M T, Kirchman D L. Contribution of major bacterial groups to bacterial biomass production (thymidine and leucine incorporation) in the Delaware estuary. *Limnol Oceanogr*, 2003, 48: 168–178
- 118 Radajewski S, Ineson P, Parekh N R, et al. Stable-isotope probing as a tool in microbial ecology. *Nature*, 2000, 403: 646–649
- 119 White D C, Davis W M, Nickels J S, et al. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate. *Oecologia*, 1979, 40: 51–62
- 120 De Rosa M, Gambacorta A, Gliozzi A. Structure, biosynthesis, and physicochemical properties of archaeobacterial lipids. *Microbiol Rev*, 1986, 50: 70–80
- 121 White D C, Flemming C A, Leung K T, et al. In situ microbial ecology for quantitative appraisal, monitoring, and risk assessment of pollution remediation in soils, the subsurface, the rhizosphere and in biofilms. *J Microbiol Meth*, 1998, 32: 93–105
- 122 Suzumura M. Phospholipids in marine environments: A review. *Talanta*, 2005, 66: 422–434
- 123 Findlay R H, White D C. Polymeric beta-hydroxyalkanoates from environmental-samples and bacillus-megaterium. *Appl Environ Microbiol*, 1983, 45: 71–78
- 124 Hedrick D B, White D C. Microbial respiratory quinones in the environment. 1. A sensitive liquid-chromatographic method. *J Microbiol Meth*, 1986, 5: 243–254
- 125 Villanueva L, Navarrete A, Urmeneta J, et al. Monitoring diel variations of physiological status and bacterial diversity in an estuarine microbial mat: An integrated biomarker analysis. *Microb Ecol*, 2007, 54: 523–531
- 126 Zhang C L, Fouke B W, Bonheyo G T, et al. Lipid biomarkers and carbon-isotopes of modern travertine deposits (Yellowstone National Park, USA): Implications for biogeochemical dynamics in hot-spring systems. *Geochim Cosmochim Acta*, 2004, 68: 3157–3169
- 127 Zhang X N, Gillespie A L, Sessions A L. Large D/H variations in bacterial lipids reflect central metabolic pathways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 12580–12586
- 128 Logan G A, Hayes J M, Hieshima G B, et al. Terminal Proterozoic reorganization of biogeochemical cycles. *Nature*, 1995, 376: 53–56
- 129 Keil R G, Fogel M L. Reworking of amino acid in marine sediments: Stable carbon isotopic composition of amino acids in sediments along the Washington coast. *Limnol Oceanogr*, 2001, 46: 14–23
- 130 Scott J H, O'Brien D M, Emerson D, et al. An examination of the carbon isotope effects associated with amino acid biosynthesis. *Astrobiology*, 2006, 6: 867–880
- 131 McCarthy M D, Benner R, Lee C, et al. Amino acid carbon isotopic fractionation patterns in oceanic dissolved organic matter: An unaltered photoautotrophic source for dissolved organic nitrogen in the ocean? *Mar Chem*, 2004, 92: 123–134
- 132 Zhang C L L. Stable carbon isotopes of lipid biomarkers: Analysis of metabolites and metabolic fates of environmental microorganisms. *Curr Opin Biotechnol*, 2002, 13: 25–30
- 133 Hopmans E C, Weijers J W H, Schefuss E, et al. A novel proxy for terrestrial organic matter in sediments based on branched and isoprenoid tetraether lipids. *Earth Planet Sci Lett*, 2004, 224: 107–116
- 134 Eglinton T I, Eglinton G. Molecular proxies for paleoclimatology. *Earth Planet Sci Lett*, 2008, 275: 1–16
- 135 Lipp J S, Morono Y, Inagaki F, et al. Significant contribution of Archaea to extant biomass in marine subsurface sediments. *Nature*, 2008, 454: 991–994
- 136 Damste J S S, Schouten S, Hopmans E C, et al. Crenarchaeol: The characteristic core glycerol dibiphytanyl glycerol tetraether membrane lipid of cosmopolitan pelagic crenarchaeota. *J Lipid Res*, 2002, 43: 1641–1651
- 137 Guckert J B, Antworth C P, Nichols P D, et al. Phospholipid, ester-linked fatty-acid profiles as reproducible assays for changes in prokaryotic community structure of estuarine sediments. *FEMS Microbiol Ecol*, 1985, 31: 147–158
- 138 Prah F G, Muehlhausen L A, Zahnle D L. Further evaluation of long-chain alkenones as indicators of paleoceanographic conditions. *Geochim Cosmochim Acta*, 1988, 52: 2303–2310
- 139 Schouten S, Hopmans E C, Schefuss E, et al. Distributional variations in marine crenarchaeotal membrane lipids: A new tool for reconstructing ancient sea water temperatures? *Earth Planet Sci Lett*, 2002, 204: 265–274
- 140 Dang H Y, Lovell C R. Seasonal dynamics of particle-associated and free-living marine *Proteobacteria* in a salt marsh tidal creek as determined using fluorescence *in situ* hybridization. *Environ Microbiol*, 2002, 4: 287–295
- 141 Pinckney J L, Paerl H W, Tester P, et al. The role of nutrient loading and eutrophication in estuarine ecology. *Environ Health Perspect*, 2001, 109: 699–706

- 142 Dang H Y, Chen R P, Wang L, et al. Environmental factors shape sediment anammox bacterial communities in hypernutrified Jiaozhou Bay, China. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76: 7036–7047
- 143 Jiao N Z, Tang K, Cai H Y, et al. Increasing the microbial carbon sink in the sea by reducing chemical fertilization on the land. *Nature Rev Microbiol*, 2011, 9: 75–76
- 144 Libes S M. *Introduction to Marine Biogeochemistry*. 2nd ed. Amsterdam, Boston: Academic Press, 2009
- 145 Moore T S, Mullaugh K M, Holyoke R R, et al. Marine chemical technology and sensors for marine waters: Potentials and limits. *Ann Rev Mar Sci*, 2009, 1: 91–115
- 146 Robinson C, Williams P. Respiration and its measurement in surface marine waters. In: del Giorgio PA, Williams P, eds. *Respiration in Aquatic Ecosystems*. Oxford: Oxford University Press, 2005. 147–160
- 147 Carlson C A, del Giorgio P A, Herndl G J. Microbes and the dissipation of energy and respiration: From cells to ecosystems. *Oceanography*, 2007, 20: 89–100
- 148 Robinson C, Ramaiah N. Microbial heterotrophic metabolic rates constrain the microbial carbon pump. In: Jiao N Z, Azam F, Sanders S, eds. *Microbial Carbon Pump in the Ocean*. Washington DC: Science/AAAS, 2011. 52–53
- 149 Martínez-García S, Fernández E, Aranguren-Gassis M, et al. In vivo electron transport system activity: A method to estimate respiration in natural marine microbial planktonic communities. *Limnol Oceanogr-Methods*, 2009, 7: 459–469
- 150 Dang H Y, Lovell C R. Numerical dominance and phylotype diversity of marine *Rhodobacter* species during early colonization of submerged surfaces in coastal marine waters as determined by 16S ribosomal DNA sequence analysis and fluorescence *in situ* hybridization. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68: 496–504
- 151 Ryuda N, Hashimoto T, Ueno D, et al. Visualization and direct counting of individual denitrifying bacterial cells in soil by *nirK*-targeted direct *in situ* PCR. *Microbes Environ*, 2011, 26: 74–80
- 152 Bartley J K, Kah L C. Marine carbon reservoir, C-org-C-carb coupling, and the evolution of the Proterozoic carbon cycle. *Geology*, 2004, 32: 129–132
- 153 Ridgwell A. Evolution of the ocean's "biological pump". *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 16485–16486
- 154 Fike D A, Grotzinger J P, Pratt L M, et al. Oxidation of the Ediacaran Ocean. *Nature*, 2006, 444: 744–747
- 155 McFadden K A, Huang J, Chu X, et al. Pulsed oxidation and biological evolution in the Ediacaran Doushantuo Formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 3197–3202
- 156 Swanson-Hysell N L, Rose C V, Calmet C C, et al. Cryogenian glaciation and the onset of carbon-isotope decoupling. *Science*, 2010, 328: 608–611
- 157 Bjerrum C J, Canfield D E. Towards a quantitative understanding of the late Neoproterozoic carbon cycle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 5542–5547
- 158 Li C, Love G D, Lyons T W, et al. A stratified redox model for the Ediacaran Ocean. *Science*, 2010, 328: 80–83