

海洋异养浮游细菌参数的测定和估算

Measuring and estimating parameters of the heterotrophic bacterio-plankton in marine ecosystem

李洪波^{1, 2}, 肖 天¹, 赵三军¹, 岳海东¹

(1. 中国科学院 海洋研究所生态与环境重点实验室, 山东 青岛 266071 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039)

中图分类号: Q938 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2005)02-0058-06

海洋中的异养细菌利用溶解有机物 (Dissolved Organic Matter, DOM) 转换为自身颗粒物 (Particular Organic Matter, POM), 然后被原生动物 (主要是鞭毛虫和纤毛虫) 捕食后再传递到后生动物构成微食物环 (microbial loop)^[1]。近 20 多年的研究证实异养浮游细菌作为二级生产者对海洋生态系统的稳定和发展起到重要的作用。过去十几年国内研究海洋异养细菌的参数一直是细菌生物量 (bacterial biomass, B_b)、细菌生产力 (bacterial production, P_b); 而随着对细菌在海洋碳循环贡献的研究深入, 如细菌呼吸力 (bacterial respiration, R_b)^[2]、细菌增长效率 (bacterial growth efficiency, E_b), 细菌比生长率 (μ , specific growth rate) 等参数也重新被认识。例如细菌增长效率 (E_b) 参数^[3], 过去一直认为细菌生长效率为 50%, 现在认为这个值偏高, 可能只有 15% ~ 25%^[4, 5], 有必要对该参数重新评估。下面重点介绍以上几个参数的概念和测定及估算方法。

1 细菌生物量 (Bacterial Biomass, B_b)

细菌生物量是海洋微生物生态学研究中最基础的参数, 它代表某一特定时间、某一空间范围内存在的异养细菌的量, 用单位体积水体中的有机碳量来表示^[4]。细菌生物量的估计方式有表面荧光显微镜直接计数 (细菌丰度, bacterial abundance, A_b) 与体积 (biovolume, V_b) 测定相结合方法和对大分子成分如 DNA 和蛋白质的量化方法。

(1) 细菌丰度 (bacterial abundance, A_b) 的测定按照 Hobbie^[5] 的表面荧光显微镜-吖啶橙 (AO) 直接计数方法。

$$A_b = N \cdot S / [S_f \cdot (1 - 0.02) V]$$

其中, A_b : 细菌丰度, cells/mL; N : 各视野平均菌数, cell; S : 滤膜实际过滤面积, mm²; S_f : 显微镜视野面积, mm²; V : 过滤样品量 (0.02 为固定剂戊二醛占总体积的比例, mL)^[6]。该方法的优点: 操作简单, 快速。缺点: 由于不同时空下细菌大小并不相同, 细胞碳含量也不一样, 计算生物量时误差较大。

用细菌丰度 (A_b) 估计细菌生物量时, Lee^[8] 发现碳转化因子 (bacterial carbon conversion factor, $F_{b, c, c}$) 对于小的海洋细菌来说含炭量大约为 20 fg/cell (其中 fg = 10⁻¹⁵ g), Kroer^[9] 发现河口细菌碳转化能力为 117 fg/cell。同时在不同海区还有其他值, 如 7~31^[10], 26^[11], 35^[12], 82^[7] fg/cell 等也被应用。Lee^[8] 还提出一个稳定的生物量模型, 发现细菌细胞平均体积为 0.036 ~ 0.073 μm^3 , 细胞含炭量是 20 fg $\pm$ 0.8 fg; 同时 Simon^[13] 在测量蛋白质和大分子总量的基础上, 得出体积在 0.036 ~ 0.07 μm^3 范围的细菌所含炭量为 13 ~ 19 fg。在国内海洋微生物生态研究中, 常使用 20 fg / cell 来把异养细菌丰度转化为以炭为单位的生

收稿日期: 2004-06-23; 修回日期: 2004-10-12

基金项目: 国家重点基础研究专项经费资助项目 (G19990437), 国家自然科学基金资助项目 (40376048)

作者简介: 李洪波 (1976-), 男, 河南人, 博士研究生, 主要从事海洋微生物生态学研究, 电话: 0532-2898584, E-mail: lihongbo@ms.qdio.ac.cn; 肖天, 通讯作者, 电话: 0532-2898586, E-mail: txiao@ms.adio.ac.cn

物量。

(2) 细菌体积 (biovolume, V_b) 的计算公式为:
 $V_b = (\pi/4)W^2(L - W/3)$ [61], 适用于球菌和杆菌, L 、 W 分别为细菌的长度和宽度。对于球菌 L 等于 W 。细菌大小测定可采用显微镜图像分析系统 (image analysis system) 获取 [71]。该方法的优点是区别不同时空下细菌的大小, 能较准确计算出细胞含碳量和细菌生物量。缺点是操作繁琐, 每个海区需要测定大量细菌的体积, 工作量大。

由细胞体积转化为细菌碳生物量的因子 ($F_{b,c}$), 报道的有常用的 $121 \text{ fg}/\mu\text{m}^3$ 到 5 倍于该值, 如 121 [14], 220 [15], 350 [8], 400 [16], 560 [17], 720 [18] $\text{fg}/\mu\text{m}^3$ 等。计算细菌生物量的公式 $B_b = A_b \times V_b \times F_{b,c}$ 。由于采样时间、区域、细菌生长条件和细菌种类组成差异的变化, 得到的转换系数差别较大, 用哪一个系数取决于对细菌的处理方式和对细胞体积大小的估计 [18]。考虑到这些现有的数据, 若细菌含碳量/细菌细胞干质量等于 50%, 那么转换系数的极值范围为 $50 \sim 500 \text{ fg}/\mu\text{m}^3$ 。

Norland [19, 20] 发现细菌细胞干重 (W_d) 与体积之间存在一个异速生长的关系 $W_d = 120 \cdot V_b^{0.76}$, 即细菌越小, 干重对体积的比率越大, 该式适用于吖啶橙 (AO) 染色的细胞; 而 Loferer - Krössbacher [21] 用式子 $W_d = 435 \cdot V_b^{0.86}$ 说明了细胞干重与体积的这种关系, 但该式适用于 DAPI 染色的细菌。假定干重的 50% 是碳, 那么由上面两式计算出的细胞干重可以推算出细菌含碳量 (生物量)。对于 $0.001 \sim 0.01 \mu\text{m}^3$ 的细菌, 细菌碳浓度对体积的比值为 $466 \text{ fg}/\mu\text{m}^3$; $0.01 \sim 0.1 \mu\text{m}^3$ 的细菌为 $397 \text{ fg}/\mu\text{m}^3$; $0.1 \sim 1 \mu\text{m}^3$ 的细菌为 $288 \text{ fg}/\mu\text{m}^3$ [21, 22]。

细菌丰度通过细菌细胞的平均体积, 换算为生物量的公式还有:

$$B_b = 8.99 \cdot 10^{-8} \cdot V_{b,m}^{0.59} \cdot A_b$$

其中 $V_{b,m}$: 细菌细胞平均体积 ($\mu\text{m}^3/\text{cell}$); A_b : 细菌丰度 (cell/L); B_b : 细菌生物量 ($\mu\text{g}/\text{L}$) [6]。

另用公式 $y = 88.6V_{b,m}^{0.59}$ ($r^2 = 0.67$, $P < 0.01$) 表示个体细菌蛋白质含量与体积之间的相关性。 y : 单个细胞的蛋白质含量。所含碳量与蛋白质含量之比按 0.86 算, 把细菌蛋白质含量转化为碳生物量 [13]。

在实际应用中, 通过测量细菌的丰度、体积来计算细菌生物量的两种方法都经常被使用, 不过国内使用最多的还是由细菌丰度来计算生物量的方法。

2 细菌生产力 (Bacterial Production, P_b)

在海洋系统中, 异养细菌生产力代表了较大部分的能量流和物质流, 是海洋二次生产力的重要贡献者。Fuhrman [23] 在 1980 年用 [甲基 - ^3H] 胸腺嘧啶核苷示踪法估计了海洋浮游细菌的生产力, 发现实验水域中的细菌碳生产力平均为 $8.4 \sim 54 \mu\text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$, 相当于初级生产力的 20%; 对于整个浮游生态系统来说, Cole 等 [24] 研究认为, 细菌生产力范围在 $0.4 \sim 150 \mu\text{g}/\text{L} \cdot \text{d}$ 之间, 也占初级生产力的 20% ~ 30%; 而 Azam [25] 对近岸水域的研究结果发现细菌生产力为 $2 \sim 250 \mu\text{g}/(\text{L} \cdot \text{d})$, 占初级生产力的 5% ~ 30%。最近有研究发现海洋细菌生产力可相当于 10% ~ 80% 的初级生产力 [27], 这已经引起世界各国科研工作者的重视。

异养细菌生产力的测定方法有下面几种: (1) [甲基 - ^3H] 胸腺嘧啶示踪法; (2) [^3H] 亮氨酸示踪法; (3) 细胞分裂频率法 (frequency of dividing cells, FDC) [27]; (4) 分级或稀释培养中细胞数量的增加法 [32]; (5) 测定放射性标记的氨基酸或葡萄糖 (^{14}C -glucose) [28]。方法 (1) 采用的换算系数为 1.18×10^{18} , 2.0×10^{18} , $4.0 \times 10^{18} \text{ cells/mol}$ 来估计细菌细胞生产, 然后用 20 fg/cell 转化为碳生产力 [6, 29, 30]; 用方法 (2) 估计细菌生物量生产的换算系数是 1.55×10^9 , 3.1×10^9 , $0.77 \times 10^9 \mu\text{g}/\text{mol}$ [6, 13, 31]。另外用 [^3H] 亮氨酸吸收法可计算出细菌蛋白质生产力 (bacterial protein production $P_{b,p}$), 然后乘以 0.86 转换为细菌碳生产力 [13]。赵三军 [27] 等已对上述方法的优缺点都已经进行过综述, 这里我们不再赘述。以上方法中比较常用的是前两种, 操作和运算都比较成熟、简便。

Cole [24] 对文献中细菌生产力 (P_b) 和初级生产力 (P_p) 的数据统计回归并得到方程 $\lg P_b = 0.8 \lg P_p - 0.46$ 转化为线性关系为: $P_b = F [0.347 P_p^{0.8}]$, F 代表相关系数, 约为 1.56, 该关系式解释了 57% 的细菌生产力的变量。另外细菌本身的丰度 (A_b) 也会影响细菌生产力, 同时 Cole 将初级生产力和细菌丰度作为变量来预测细菌生产力, 回归成方程: $\lg P_b = -4.62 + 0.465 \lg P_p + 0.748 \lg A_b$, 此式解释了高达 73% 的细菌生产力的变量。该方程比上面的仅用一个变量回归得到的模型更适合应用于海洋异养细菌生产力的估算。

3 细菌呼吸力 (Bacterial Respiration, R_b)

在水生系统中,呼吸是与初级生产相互对应的过程,代表了大部分有机物的沉降。细菌呼吸对碳的重新矿化和向上层海洋的生物碳输出起了限制作用^[35, 36]。异养细菌在浮游群落呼吸(community respiration, R_c)中占比较大的成分(50%~90%)^[2, 33, 34]。甚至在一些低生产力海域,细菌呼吸力(R_b)能超过初级生产力(P_p)^[35]。由于测定方法的困难,过去在研究细菌生态时,很少考虑细菌呼吸作用,在全球碳循环研究日渐成为海洋研究的热点后,有必要把细菌呼吸列入研究计划当中^[37]。

细菌呼吸力的测定方法:(1)以氧浓度变化为基础的溶解氧滴定法。 $R_b = (O_0 - O_1)/t$, 其中 O_0, O_1 分别为样品培养前后溶解氧浓度。呼吸熵(respiratory quotients, Q_r)的引入把测定细菌呼吸率的氧单位转变为以碳为单位, $Q_r = \text{生产的 } CO_2 / \text{利用的 } O_2$, 通常 Q_r 大小取决于所利用的底质组成,一般为 0.7~1.1。细菌呼吸力可由培养时间对氧浓度的线性回归方程的斜率得出,假定 $Q_r = 1$ ^[38]。目前对 Q_r 值的估计为 <0.5 和 0.4~5 (平均值为 0.6), 因此利用测定氧气减少的方法计算出的细菌呼吸转化为以碳为单位后,其值偏差较大^[31, 33, 39]。(2)以二氧化碳浓度变化为基础的库仑呼吸测量法(coulometric respiration measurement)。此方法由于其不需要运用到呼吸熵,所以要比以测氧气浓度变化为基础的方法优越,且能与初级生产所固定的无机碳作对比。另在水体中由于 CO_2 与 HCO_3^- , CO_3^{2-} 相平衡,为了测量通过呼吸产生的 CO_2 , 故应测量总溶解无机碳(TCO₂), $TCO_2 = [CO_2] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}]$ 。海水中的 TCO₂ 利用库仑滴定法来测量^[40]。

在很多研究中,细菌呼吸力通常并不直接测量,而是由细菌生产力(P_b)和假定的细菌增长效率值(E_b)来计算出来

$$R_b = (P_b / E_b) - P_b$$

由于对细菌增长效率(E_b)值的报道有很大变化(0.01~0.7)^[36], 所以用上述方程估计的细菌呼吸力有较大不确定性,误差较大,不建议采用。另外由温度和细菌丰度来估算细菌呼吸的多变量回归方程为: $\lg R_b = -3.67 + 0.75 \lg A_b + 0.059 T$, ($r^2 = 0.82$, $P < 0.001$)^[35], 该式说明细菌呼吸力不仅受细菌丰度大小的控制,温度大小也会对细菌的呼吸产生影响。上述两个方程式均是

间接估算细菌呼吸力的大小,在直接测量呼吸值困难的情况下可以使用。但作者认为若要定量确定细菌在海洋碳循环的贡献时,简单估算是不可行的,重点发展以二氧化碳浓度变化为基础的库仑呼吸测量法势在必行。

在研究影响细菌呼吸的生态因素过程中,Smith 和 Kemp^[34]认为控制呼吸的因素可能与调节生产力的因素很不相同,通过不同的途径影响碳在海洋生态系统中的流通。理解什么因素影响呼吸的量级和变化对于充分理解浮游生物区在全球碳循环中的角色是重要的。这方面需要进一步的工作来探讨。

4 细菌增长效率 (Bacterial Growth Efficiency, E_b)

E_b 是在水生系统中有机碳(DOC)通过细菌二次生长转化的一个指标,代表细菌把溶解有机碳(DOC)转化为自身颗粒有机物(POC)的效率,定义为 $E_b = P_b / (P_b + R_b)$ 。是一个描述水体细菌功能和生态角色的重要参数^[40, 41]。

在海洋生态系统中,建立在¹⁴C标记的有机物的吸收和转化效率的基础上,不考虑细菌呼吸而测定的细菌生长效率为 40%~69%^[35, 42]。Fuhrman^[29]等认为异养细菌消耗固定总碳 10%~50%,并认为碳的转化效率为 50%,即 E_b 为 50%。如果那样的话,异养细菌的生产就要消耗相当于初级生产力 20%~60%的有机碳。Williams^[43]在 1981 年根据细菌生物量和生产力也得到了同样的结果;他还认为初级生产力的生产过程,将使 60%的初级生产产物变成可溶性有机碳(DOC),而这部分有机碳最终将被细菌吸收利用。

海洋细菌的生长效率考虑到呼吸消耗时大约只有 15%~25%,而现在比较通用的 E_b 使用 20%^[35], 这比以前的 50%低。即同一海域同样的细菌生产就需要更多的可溶性有机物,而初级生产力产生的可溶性有机碳往往满足不了细菌生产力的需要。因此,大量的外源有机物将是支持细菌生产力高生产的重要资源^[35, 44]。

细菌生长效率也显示了重要的空间变化,在大多数高生产区域较高(44%±4%),在低生产区域较低(6%±1%)。在世界大多数营养缺乏的海域, $E_b \leq 0.15$ ^[45]。

在海洋碳循环中,细菌碳需求(Bacterial Carbon Demand, D_b)和浮游植物固定的碳(P_p , 总初级生产力)之间的平衡是一个重要因素。 $D_b: P_p$ 在较高生产区域达到 88%±21%,在较低生产区域达到 211%±43%

%。细菌碳需求往往大于初级生产力的产物(POC + DOC),因此细菌生长需要大量外源性溶解有机碳。 $P_{b, g}$ 代表细菌的总生产, $P_{b, net}$ 代表细菌的净生产, $B_{b, net}$ 代表细菌的净生物量:

$$D_b = P_{b, g} = P_{b, net} + R_b = P_{b, net} / E_b = \mu \cdot B_{b, net} / E_b$$

E_b 还可通过细菌生物量的变化与 CO_2 的变化(ΔMCO_2)用公式 $E_b = \Delta B_b / (\Delta B_b + \Delta MCO_2)$ 来计算。在引入溶解有机碳损耗(Dissolved organic carbon depletion, D_d)的参数后,由于 $D_d = DOC_b$,计算 E_b 的公式呈多样化, $E_b = P_b / (P_b + R_b) = P_b / D_b = P_b / C_b = P_b / D_d = 1 - (R_b / D_d)^{[40, 45, 46, 47]}$ 。 C_b 代表细菌生长所需溶解有机碳。

细菌生长效率受多种因子影响,如可供细菌所利用的有机物的供应和质量,可利用的营养盐,尤其各种形式的有机和无机 N 和 P^[48]。Lemée^[51] 的最新研究结果显示 E_b 与硝酸盐(NO_3)、磷酸盐(PO_4)负相关,而与溶解有机碳(DOC)和叶绿素 a(Chl-a)正相关,并且认为 DOM 的质量也是影响因子之一。Toolan^[40] 的研究认为 E_b 大小受所使用细菌碳转化因子($F_{b, c, c}$)影响;较大 $F_{b, c, c}$ 的将导致一个较高的 E_{bo} 。

在研究温度对细菌生长效率的影响时,Rivkin^[36] 认为两者呈显著负相关,且 $E_b = 0.374 - 0.0104T$ ($r^2 = 0.54$, $P < 0.001$),该式表明温度在细菌生长的过程中发挥重要的作用。细菌在一定温度范围内达到最佳生长状态,过高过低的温度都会对细菌生长产生负面影响。

5 细菌比生长率 (μ , Specific Growth Rate)

细菌比生长率指细菌在单位生物量、单位时间内的生产量,定义式为 $\mu = P_b / B_{bo}$ 。比生长率的高低,反应了细菌活性的强弱。另细菌比生长率也叫细菌转化率、周转率(turnover rates)。细菌比生长率可能受溶解有机物(DOM)质量、无机盐、温度、病毒和微量营养元素例如铁的影响^[46]。Shiah^[49, 50] 研究认为细菌比生长率与温度是指数正相关的,细菌比生长率可以用 Q_{10} 来代替。 $Q_{10} = K_H / K_L^{(10 - T)}$, K_H 、 K_L 是在高温(H)和低温(L)下的生长率,细菌的 Q_{10} 为 3.12。

除了以上几个异养细菌比较重要的参数以外,细菌周转时间、世代时间在很多研究中也有涉及。周转

时间(turnover time, T_t)表示把现存细菌生物量转化为生产量所需要的时间,定义为 $T_t = 1/\mu = B_b/P_{bo}$ 。世代时间(Generation time, Doubling time, G),即细菌增加一代所需要的时间,可以用公式表示为 $G = \ln 2/\mu$ ^[6]。

通过对细菌生物量(B_b)、细菌生产力(P_b)、细菌生长效率(E_b)和细菌比生长率(μ)等生态参数的描述,我们将对异养细菌在海洋微生物网、海洋生态中的贡献和细菌在全球碳循环中的作用有更充分的认识。今后我们更要加强以下方面的研究:(1)中国近海细菌生产力时空分布状况研究,(2)中国近海细菌呼吸力、生长效率的测定方法的研究。

参考文献:

- [1] Azam F, Fenchel T, Field J G, *et al.* The ecological role of water column microbes in the sea[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1983, 10: 257 - 263.
- [2] Legendre L, Courties C, Troussellier M. Flow cytometry in oceanography 1989 - 1999: environmental challenges and research trends[J]. **Cytometry**, 2001, 44: 164 - 172.
- [3] Ram A S P, Nair S, Chandramohan D. Bacterial growth efficiency in the tropical estuarine and coastal waters of Goa, southwest coast of India[J]. **Microb Ecol**, 2003, 45: 88 - 96.
- [4] 沈国英, 施并章. 海洋生态学[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 1990. 119 - 193.
- [5] Hobbie J E, Daley R J, Jasper S. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy[J]. **Appl Environ Microbiol**, 1977, 33(5): 1 225 - 1 228.
- [6] 国家技术监督局. 中华人民共和国国家标准 GB12 - 763.5 - 2003. 海洋调查规范 海洋生物调查[M]. 北京: 中国标准出版社, 2003. 5 - 30.
- [7] Bjørnsen P K. Automatic determination of bacterioplankton biomass by image analysis[J]. **Appl Environ Microbiol**, 1986, 51(6): 1 199 - 1 204.
- [8] Lee S, Fuhrman J A. Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton[J]. **Appl Environ Microbiol**, 1987, 53: 1 298 - 1 303.
- [9] Kroer N. Relationships between biovolume and carbon and nitrogen content of bacterioplankton[J]. **FEMS Microbiol Ecol**, 1994, 13: 217 - 224.
- [10] Fagerbakke K M, Heldal M. Content of carbon, nitrogen, oxygen, sulfur and phosphorus in native aquatic and cultured bacteria[J]. **Aquat Microb Ecol**, 1996, 10: 15 -

- 27.
- [11] Trousselier M, Bouvy M, Courties C, *et al.* Variation of carbon content among bacterial species under starvation condition[J]. **Aquat Microb Ecol**, 1997, 13: 113 – 119.
- [12] Theil – Nielsen J, S?ndergaard M. Bacterial carbon biomass calculated from biovolumes[J]. **Arch Hydrobiol**, 1998, 141: 195 – 207.
- [13] Simon M, Azam F. Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1989, 51: 201 – 213.
- [14] Watson S W, Novitsk T J, Quinby H L, *et al.* Determination of bacterial number and biomass in the marine environment[J]. **Appl Environ Microbiol**, 1977, 33: 940 – 946.
- [15] Bratbak G, Dundas I. Bacterial dry matter content and biomass estimations[J]. **App Environ Microbiol**, 1984, 48: 755 – 757.
- [16] Bj?msen P K, K?parinen J. Determination of bacterio – plankton biomass, net production and growth efficiency in the Southern Ocean[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1991, 71: 185 – 194.
- [17] Bratbak G. Bacterial biovolume and biomass estimation [J]. **App Environ Microbiol**, 1985, 49: 1 488 – 1 493.
- [18] Kroer, N. Relationships between biovolume and carbon and nitrogen content of bacterioplankton[J]. **FEMS Microbiol Ecol**, 1994, 13: 217 – 224.
- [19] Norland S. The relationship between biomass and volume of bacteria[A]. Kemp P F, Sherr B F, Sherr E B, and Cole J J (ed.). *Handbook of methods in aquatic microbial ecology*[C]. London: Lewis Publishers, 1993. 303 – 307.
- [20] Norland S, Heldal M, T?myr O. On the relation between dry matter and volume of bacteria[J]. **Microb Ecol**, 1987, 13: 95 – 101.
- [21] L?ferer – Kr?ssbacher M, Klima J, Psenner R. Determination of bacterial cell dry mass by transmission electron microscopy and densitometric image analysis[J]. **Appl Environ Microbiol**, 1998, 64: 668 – 694.
- [22] Posch T, L?ferer – Kr?ssbacher M, Gao G. Precision of bacterioplankton biomass determination: a comparison of two fluorescent dyes, and of allometric and linear volume – to – carbon conversion factors[J]. **Aquat Microb Ecol**, 2001, 25: 55 – 63.
- [23] Fuhrman J A. Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, and California[J]. **Appl Environ Microbiol**, 1980, 39(6): 1085 – 1095.
- [24] Cole J J, Findlay S, Pace M L. Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross – system overview [J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1988, 43: 1 – 10.
- [25] Azam F, Fenchel J, Field J G, *et al.* The ecological role of water – column microbes in the sea[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1983, 10: 157 – 163.
- [26] 肖天. 海洋浮游细菌的生态学研究[J]. *地球科学进展*, 2001, 16(1): 60 – 64.
- [27] 赵三军, 岳海东, 肖天. 海洋异养细菌生物量与生产力的研究方法[J]. *海洋科学*, 2002, 26(1): 21 – 23.
- [28] Bianchi A, Wambeke F V, Garcin J. Bacterial utilization of glucose in the water column from eutrophic to olig – trophic pelagic areas in the eastern North Atlantic Ocean [J]. **Journal of Marine System**, 1998, 14: 45 – 55.
- [29] Fuhrman J A, Azam F. Thymidine incorporation as a measurement of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results[J]. **Marine Biology**, 1982, 66: 109 – 120.
- [30] Ducklow H W, Hill S M. Tritiated thymidine incorporation and the growth of heterotrophic bacteria in warm core rings [J]. **Limnol Oceanogr**, 1985, 30: 260 – 272.
- [31] Biddanda B, Opsahl S, Benner R. Plankton respiration and carbon flux through bacterioplankton on the Louisiana shelf[J]. **Limnol Oceanogr**, 1994, 39(6): 1 259 – 1 275.
- [32] Moriarty D J W. Techniques for estimating bacterial growth rates and production of biomass in aquatic environments [A]. Grigorova R, Norris J R. In *Methods in Micro – biology* (22): *Techniques in Microbial Ecology* [C]. San Diego: Academic Press, 1990. 211 – 234.
- [33] Smith E M, Kemp W M. Planktonic and bacterial respiration along an estuarine gradient: responses to carbon and nutrient enrichment[J]. **Aquat Microb Ecol**, 2003, 30: 251 – 261.
- [34] Smith E M, Kemp W M. Size structure and the production/respiration balance in a coastal plankton community [J]. **Limnol Oceanogr**, 2001, 46(3): 473 – 485.
- [35] del Giorgio P A, Cole J J, Cimleris A. Respiration rates in bacteria exceed phytoplankton production in unproductive aquatic systems[J]. **Nature**, 1997, 385: 148 – 151.
- [36] Rivkin R B, Legendre L. Biogenic carbon cycling in the

- upper ocean: effect of microbial respiration[J]. **Science**, 2001, 291:2 398 – 2 400.
- [37] Jahnke R A, Craven D B. Quantifying the role of heterotrophic bacteria in the carbon cycle: a need for respiration rate measurements[J]. **Limnol Oceanogr**, 1995, **40**(2): 436 – 441.
- [38] del Giorgio P A, Cole J J. Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems[J]. **Annu Rev Ecol Syst**, 1998, 29: 503 – 541.
- [39] Robinson C, Williams P J L. Plankton net community production and dark respiration in the Arabian Sea during September [J]. **Deep – Sea Res II**, 1999, 46: 745 – 765.
- [40] Toolan T. Coulometric carbon – based respiration rates and estimates of bacterioplankton growth efficiencies in Massachusetts Bay[J]. **Limnol Oceanogr**, 2001,46(6): 1 298 – 1 308.
- [41] Eiler A, Langenheder S, Bertilsson S, *et al.* Heterotrophic bacterial growth efficiency and community structure at different natural organic carbon concentrations [J]. **Appl Environ Microbial**, 2003, **69**(7): 3 701 – 3 709.
- [42] Bell U T, Kuparinen J. Assessing Phytoplankton and Bacterioplankton Production During Early Spring in Lake Erken, Sweden[J]. **Appl Environ Microbiol**, 1984, **48**(6): 1 221 – 1 230.
- [43] Williams P J leB. Microbial contribution to overall marine plankton metabolism: direct measurements of respiration [J]. **Oceanol Acta**, 1981, 4: 359 – 364.
- [44] 肖天. 海洋细菌在微食物环中的作用[J]. 海洋科学, 2000, **24**(7): 4 – 6.
- [45] González N, Anadón R, Viesca L. Carbon flux through the microbial community in a temperate sea during summer: role of bacterial metabolism[J]. **Aquat Microb Ecol**, 2003, 33: 117 – 126.
- [46] Sherry N D, Boyd P W, Sugimoto K, *et al.* Seasonal and spatial patterns of heterotrophic bacterial production, respiration, and biomass in the subarctic NE Pacific[J]. **Deep – Sea Research II**, 1999, 46: 2 557 – 2 578.
- [47] Fuhrman J A, Sleeter T D, Carlson C A, *et al.* Dominance of bacterial biomass in the Sargasso sea and its ecological implications[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1989, 57: 207 – 217.
- [48] Caron C A, Ducklow H W. Growth of bacterioplankton and consumption of dissolved organic carbon in the Sargasso Sea[J]. **Aquat Microb Ecol**, 1996, 10: 69 – 85.
- [49] Shiah F K, Ducklow H W. Temperature and substrate regulation of bacterial abundance, production and specific growth rate in Chesapeake Bay, USA[J]. **Mar Ecol Prog Ser**, 1994, 103: 297 – 308.
- [50] Shiah F K, Liu K K, Kao S J, *et al.* The coupling of bacterial production and hydrography in the southern East China Sea: spatial patterns in spring and fall[J]. **Continental Shelf Research**, 2000, 20: 459 – 477.
- [51] Lemée R, Rochelle – Newall E, Wambeke F V, *et al.* Seasonal variation of bacterial production, respiration and growth efficiency in the open NW Mediterranean Sea[J]. **Aquat Microb Ecol**, 2002, 29:227 – 237.

(本文编辑 张培新)