

海洋酸化对异养细菌生态效应的研究进展

Research progress of ocean acidification and effect on heterotrophic bacteria

王健鑫, 刘雪珠, 陶 诗

(浙江海洋学院 海洋生物资源与分子工程实验室, 浙江 舟山 316004)

中图分类号: Q938.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2013)11-0103-06

全球环境变化已经成为影响人类可持续性发展的关键因素, 而大气 CO_2 浓度升高是导致环境变化(全球变暖、海平面升高、上部混合层浅化等)的主要元凶, 2010 年全球 CO_2 排放量首次突破 100 亿 t($10.0 \text{ Pg} \pm 0.9 \text{ Pg}$), 大气 CO_2 浓度达到 $(389.63 \pm 0.13) \times 10^{-6}$, 并继续以年平均约 3% 的速率递增^[1], 全球大气环境恶化的趋势更加严峻。海洋作为地球上最大的碳汇之一, 自工业革命以来, 吸收了人类 CO_2 排放量的 30%~40%^[2,3], 有效的缓解了全球变暖的趋势, 但也使表层海水的碱性下降, 引起海洋酸化。研究显示, 工业时代之前的 2500 万年, 海水 pH 变化未超过 0.1 个单位, 而目前海水 pH 的年均变化速率要比工业时代前快数百倍^[4], 预计本世纪末表层海水平均 pH 将要降低 0.3 个单位, 到 2300 年海水 pH 下降最大值将达到 0.77 个单位^[5], 而在沿岸生态系统的部分区域, pH 的实际降低速率要比预测速率更快^[6]。海洋酸化不可避免的会导致海水碳酸盐系统发生变化, 进而改变海水化学平衡, 并协同温度与海流的作用影响整个海洋生态系统。

微生物是海洋生态系统的关键, 它不仅是海洋初级生产力的主要贡献者, 同时介导了海洋中所有基本的生物地球化学循环。浮游异养细菌作为海洋微生物的一个极其重要的组成部分, 其生产力相当于整个海洋初级生产力的 10%~80%^[7], 并承担着海洋中 75%~95% 有机物质的分解任务^[8], 同时异养细菌在“微生物食物环”中发挥着至关重要的作用^[9]。本文从异养细菌的胞外酶活性、群落结构及其功能等方面, 将海洋酸化对异养细菌影响的相关研究成果进行概述。

1 海洋酸化对异养细菌多样性和群落结构的影响

海洋微生物的多样性巨大而复杂, 每升表层海

水中存在成千上万种细菌, 虽然高 CO_2 /低 pH 的环境未必会导致微生物种类的消失, 但 pH 变化可能会改变微生物多样性和群落结构。Merón 等^[10]关于海洋酸化对珊瑚(*Acropora eurystroma*)共生微生物群落的影响研究表明, 虽然 pH 的改变没有影响优势种群(γ -变形菌和蓝细菌)的统治地位, 但与正常海水环境 (pH=8.2) 相比, 酸化条件下 (pH=7.3) 的共生微生物群落多样性要更高, 部分序列出现频率发生显著变化 (α -变形菌显著增加, δ -变形菌和 *Bacteroidetes* 显著降低), 同时致病菌 (*Vibrionaceae* 和 *Alteromonadaceae*) 数量和种类明显增加; 另外珊瑚周围海水的细菌多样性也发生变化, 低 pH 条件下海水中 α -变形菌和疣微菌 *Verrucomicrobiae* 的含量明显降低 (分别为 9% 和 6%), γ -变形菌和蓝细菌的比例显著上升 (9% 和 8%); Witt 等^[11]模拟酸化条件对海水中生物膜的细菌群落进行研究, 发现高浓度的 $p\text{CO}_2$ 会导致黄杆菌 (拟杆菌) 的丰度增加, α -proteobacteria 的丰度降低, 生物膜的细菌群落对高 $p\text{CO}_2$ /低 pH 条件能快速调整和适应; Lidbury 等在意大利 Vulcano 岛附近海床的 CO_2 渗漏区, 研究了海洋酸化对生物膜微生物群落水平的影响, 结果表明, 不同 $p\text{CO}_2$ 浓度的海水中, 生物膜的细菌群落结构有着显著差异, 随着 $p\text{CO}_2$ 浓度升高, 细菌群落的香农多样性指数和辛普森多样性指数显著增加^[12]; Ray 等^[13]在 Fram 海湾设置生态围格进行酸化研究, 结果显示, 海水中细菌的优势

收稿日期: 2012-09-03; 修回日期: 2013-01-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31270160); 浙江省自然科学基金项目(LY12C03003); 浙江省科技厅公益性技术应用研究项目(2011C31017); 舟山市科技局海洋类项目(10248)

作者简介: 王健鑫(1974-), 男, 浙江建德人, 高级实验师, 主要从事海洋微生物分子生态学研究, 电话: 13575617505, E-mail: zswjx2575@163.com

种群是 γ -变形菌和黄杆菌, 并且随着 $p\text{CO}_2$ 浓度升高, 部分海洋生态围格中细菌群落的丰度和多样性降低; Beman 等^[14]对开放大洋和沿岸海水的硝化作用进行研究, 发现, 高 CO_2 /低 pH 的环境将导致起硝化作用的变形菌和古菌(AOB)的丰度减少, 进而影响海洋中氮的循环。Gilbert 等^[15]利用宏基因组和环境转录组学新技术来研究海洋微生物群落在赤潮发生和消亡时的微生物多样性和结构变化, 发现在高 $p\text{CO}_2$ 浓度时, 赤潮区域海水中拟杆菌、 α -变形菌、 β -变形菌、 γ -变形菌的 mRNA 序列快速增加。

作为地球上最大的碳库, 深海环境的异养细菌如何响应海洋酸化也是一个重点研究方向。Yamada 等^[16]采集黑潮暖流深海水样(2000 m)开展海洋酸化研究, 发现低pH条件对深海原核生物群落结构无明显影响, 但对细菌活性有抑制作用; Inagaki等^[17]对日本南冲绳海沟深海热液口区域沉积物下层一个富含液态 CO_2 的区域进行研究, 发现沉积物的关键微生物种群包括: ① 厌氧甲烷营养古菌(ANME-2C)和 δ -变形菌门的Ecl-2种群; ② γ -变形菌和 ε -变形菌中的硫代谢化能异养菌, 说明 $p\text{CO}_2$ 浓度高的深海沉积物中, 同化 CO_2 和(或) CH_4 的异养细菌是优势种群; 另外研究发现沉积物细菌的数量和丰度($10^9/\text{mL}$)要远高于液态 CO_2 湖水/气界面中的细菌群落($10^7/\text{mL}$), 预示着高 $p\text{CO}_2$ /低pH的环境对细菌群落有显著影响。由于研究区域环境不同, 酸化对异养细菌多样性及群落结构的影响也各有区别。

2 海洋酸化对异养细菌胞外酶活性的影响

由于有机质的分解和再利用都必须依赖于异养细菌对复杂或高分子底物进行水解, 而胞外酶是水解作用的主要执行者, 因此, 胞外酶活性可以作为异养细菌应对环境变化的指示因子, 并对评估海洋有机质循环和碳平衡有着重要意义。海水 pH 降低将改变异养细菌胞外酶的氨基酸电离常数和酶活性位点的三级结构, 直接导致异养细菌胞外酶的活性发生变化^[18], 因此, 近年来关于海洋酸化对异养细菌胞外酶活性的影响也成为研究热点。部分研究表明异养细菌胞外葡萄糖苷酶在酸化条件下, 活性明显提升^[19], 对多糖等聚合物的水解作用增强会产生更多单糖, 不仅促进细菌生长, 同时葡萄糖的增加将对细菌吸收无机盐的过程产生竞争, 间接影响海洋初级生产

力水平。然而也有酸性海水中异养细菌胞外酶活降低的报道, 如 Grossart 等^[20]利用中型生态围隔实验研究发现, 具水解作用的胞外酶(亮氨酸氨基肽酶 LAPase、 α 和 β -葡萄糖苷酶)在海水 CO_2 浓度升高的情况下, 其酶活受到抑制; Wurst 等通过生态围格实验发现, 当海水 pH 从 8.1 降至 7.6 时, LAPase 的平均酶活降低 40%, 最高达到 60%~70%^[21]; Yamada 和 Suzumura 报道了海水 pH 从 8.2 降到 7.8 时, LAPase 酶活显著降低, 脂肪酶(L-ase)的活性也随之降低^[22]; Lunau^[23]在波罗的海进行中型生态围格实验, 结果表明异养细菌的水解酶反应效率在酸化条件下会受到抑制。另外也有酶活不受酸化条件影响的报道, 如 Tanaka 等^[24]研究发现磷酸酶活性不受海洋酸化的影响, Yamada 和 Suzumura 的研究表明在海水 pH 变化过程中, 磷酸酶和 β -葡萄糖苷酶活性基本稳定不变^[22], Wurst 的研究表明, pH 变化对 α -葡萄糖苷酶和碱性磷酸酶的活性影响不大^[21]。

3 海洋酸化对异养细菌功能的影响

异养细菌在海洋生态系统的生物地球化学循环和能量流动中具有重要意义: 一方面可以分解有机质, 释放营养盐, 另一方面吸收溶解有机质(DOM), 转化为颗粒有机物向上传递, 形成二次生产, 因此异养细菌在海洋生态系统的碳循环中有着重要作用, 另外异养细菌通过氨化作用、硝化作用、反硝化作用和固氮作用等途径来影响海洋氮循环, 并在其他生源要素如磷、硫循环中起到重要作用^[25]。

海洋酸化对碳循环的影响最直接表现在海洋生产力的变化, 研究表明海洋酸化可能会改变自养型浮游植物的生产力, 并导致 C:N:P 的组成结构发生变化, 影响到生物碳泵的效率 and 微生物食物环中的有机质再循环进程^[26]。Teira 等^[27]在模拟酸化环境条件下, 对表层海水中典型的两株纯培养菌株: 玫瑰杆菌 *Roseobacter*(MED 165) 和噬纤维菌 *Cytophaga*(MED 217)进行了生物量和代谢等方面的影响研究, 结果表明, 高浓度的 $p\text{CO}_2$ 会导致上述菌株的固碳速率显著增加, 并使噬纤维菌 *Cytophaga*(MED 217)的呼吸速率明显下降, 预示着酸化条件对于海洋细菌在碳循环中的作用会产生影响; 而 Karl 等^[28]研究发现酸化条件下, 异养细菌对一种以多糖为主要成分的溶解性有机碳(DOC)的水解可以抑制颗粒有机碳(POC)在海洋中的垂直传递, 导致对初级生产力产生负反馈效应。异养细菌也可以通过胞外聚合

颗粒物(TEP)来对环境条件改变作出快速反应,并间接影响海洋微食物环的循环和碳的垂直流通(生物碳泵)^[29]。另外 Shi 等^[30]研究发现,酸化条件下浮游植物吸收铁离子(光合作用和浮游植物生长的关键营养素)的能力下降,预示着海洋酸化会对浮游植物产生显著的影响,间接影响到全球的海洋生产力和渔业经济,而海洋中的一种异养细菌-海杆菌属(*Marinobacter*)与浮游植物在铁离子的利用方面有着紧密的互利共生关系^[31],因此,海洋酸化也可以通过细菌与浮游植物关于铁的吸收来间接影响生产力水平。然而也有部分研究显示酸化对海洋碳流通的影响不明晰,如 Kluijver 等^[32]利用同位素标记的方法研究了酸化对浮游植物和细菌之间碳流通的影响,结果表明,在生态围格发生藻华的后期(即 $p\text{CO}_2$ 浓度升高阶段),细菌的生物量有着显著增加,但酸化条件对于浮游植物和细菌之间无机碳的流通没有显著影响。

海洋酸化并不仅仅影响碳循环系统,还与其他元素循环和能量代谢有着潜在的协同和反馈效应。近年来关于海洋酸化是否影响细菌在氮循环中的功能也成为研究热点,由于氨氧化细菌(AOB)有 CO_2 浓缩机制(CCMs),可以降低对 $p\text{CO}_2$ 浓度变化的敏感性,氨氧化古菌(AOA)则有着独特的 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸固碳途径,缺乏 RuBisCO 酶,因此普遍认为海洋酸化可能不会对海洋氨氧化过程带来明显效应。然而近来的研究结果却显示,氮循环的三个重要过程都会受酸化的影响^[14]。Ward 对广泛分布的海洋氨氧化细菌 *Nitrosococcus oceanus* 进行研究发现在 pH 为 8.0 时氧化速率最大,而当 pH 降低 0.4~0.5 个单位,氧化速率下降 20%~36%^[33]。Rudd 等^[34]对淡水湖泊近 10 年的长期酸化实验显示水体硝化作用在酸化条件下受到抑制。Huesemann 等研究发现海洋酸化能抑制微生物的固氮作用,显著降低硝化速率,与正常海水(pH 8.0)的环境相比,酸化条件(pH 分别为 7.0 和 6.5)的硝化速率分别降低 50%和 90%,当 pH 浓度变化超过 0.5 个单位时,海水的氨氧化速率随之降低^[35]; Hutchings 等^[36]报道了在高 CO_2 浓度的海区中海洋固氮作用增强,但硝化作用速率和硝化细菌、古菌的丰度减少,由此导致硝酸盐的流通受到影响,并对反硝化作用产生负反馈效应; Beman 等^[37]对大西洋和太平洋的多个观测点的研究发现,当 pH 降低 0.05~0.14 个单位时,所有研究站点的微生物硝化作用速率随之减小(范围在 8%~38%),并影响 N_2O 的产生,在百慕大和夏威夷海域,酸化条件下海水氨氧化速率

分别降低 38%和 36%,并预测海洋酸化将会从根本上改变海洋的氮循环。另有研究表明^[38],海洋异养细菌多样性的改变可能并不能明显影响其进行物质和能量代谢的功能,但可以影响真核生物多样性的丧失,并因此导致海洋生物地球化学进程的变化。

4 异养细菌对海洋酸化的适应进化相关研究

由于目前对于海洋微生物多样性(无论是基因型或表型水平)的认识还很有限,因此对于异养细菌在海洋 $p\text{CO}_2$ 浓度快速增加的环境中是否能适应进化这一问题,目前还没有较好的结论。鉴于微生物遗传适应性以及水平基因转移(HGT)的普遍存在,大多数微生物似乎能通过其他物种获得基因而得到进化,然而由于目前海洋的 pH 变化率要比地质记录以来的任何时期都要快的多,因此短期 pH 变化幅度巨大也可能会导致海洋异养细菌无法适应和调整。另外海洋中的 HGT 在较短时间尺度(几十年至几百年)上是至关重要的,但其过程很少有人了解,虽然目前全基因组研究已经可以帮助人们定位 HGT 位点,然而对于在短期内环境选择压力是否足以将新基因固定在整个群落中这个问题还无法得知^[38]。关于异养细菌的基因在海洋酸化环境中是否进化和如何适应,还没有很好的方案来进行相关研究,而长期传代实验的开展对于理解单一微生物如何应对高 $p\text{CO}_2$ /低 pH 条件是非常必要的, Hughes 等^[40]设计了 4 组大肠杆菌(*E. coli*)菌株来研究其对不同环境条件的适应机制:第一组置于恒定酸性环境(pH 5.3),第二组置于恒定碱性环境(pH 7.8),第三组置于 pH 随机变动的环境,第四组置于每日 pH 在酸、碱之间循环变换的环境,传代 1000 代后再将各组菌株置于酸性或碱性环境,结果发现整个周期都暴露于酸性或者碱性环境的细菌组发生特化,当转移到它们偏爱的环境中时呈现出明显的适切性(fitness),而进化于 pH 不断变化环境中的细菌具有多面适切性形式,没有一组在任何环境中有明显的适应性丢失现象^[39]。Coffins 和 Bell 设置了高 $p\text{CO}_2$ (1050 μatm)的条件,对 *Chlamydomonas* 传代 1000 次,也没有发现其调节和进化的证据。

5 未来需要重点研究的相关领域

由于海洋酸化的研究历史较短,早期的研究主要集中在海洋酸化对海洋生物(尤其是钙化生物,如珊瑚、球石藻等)的影响^[41,42],而很少注意到微生物

的生态效应,关于异养细菌响应海洋酸化的研究目前相关报道较少^[43,44],研究不够系统,方法比较传统,在某种程度制约了人们对海洋酸化和异养细菌的科学认识。未来关于海洋酸化对异养细菌的生态效应研究,重点需要关注以下研究领域:

(1) 典型生态系统的比较研究。关于海洋酸化生态效应,重点要研究河口和近岸生态系统、大洋生态系统、高呼吸作用(高浓度 $p\text{CO}_2$)的海区、热带海域和南北极海域这些典型生态系统的海洋酸化趋势及其对异养细菌的生态效应,并进行数据共享和比较研究,由此得出关于海洋酸化与异养细菌的科学和全面的结论,这个领域需要各国政府和全球相关研究机构的共同协作。沿岸与河口生态系统由于碳酸盐化学特征的空间和时间尺度变化幅度较大,适合开展海洋酸化的相关研究^[45],最近 Cai 等^[46]的研究发现我国东海沿岸海域由于富营养化的作用,促进了次表层海水的酸化效应,加速了沿岸海水 pH 的降低,因此对于我国研究人员,更需要重点研究海洋酸化对沿岸和河口生态系统的影响。

(2) 异养细菌响应 pH 变化的生理学基础研究。关于在环境 pH 值发生变化时,典型异养细菌菌株如何做出动态响应的研究,目前的相关报道无法得出共识,因此要重点研究高 $p\text{CO}_2$ /低 pH 的海洋环境是否影响到异养细菌的化学平衡、细胞表面动力学和膜转运等过程,并因此导致细菌的生理学响应,以及细菌如何调控胞内 pH,以适应外部环境的改变等。

(3) 异养细菌对高 $p\text{CO}_2$ /低 pH 环境的适应进化研究。需要重点研究在高 $p\text{CO}_2$ /低 pH 的海洋环境条件下,异养细菌维持胞内 pH 动态平衡过程中的遗传适应机制;需要确定异养细菌在海洋酸化环境中是通过水平基因转移来获得新基因,还是通过正向突变选择;同时需要确定异养细菌对高 $p\text{CO}_2$ /低 pH 环境适应进化的时间尺度。

6 海洋酸化研究的新技术和方法

针对上述三个重点研究领域,可以采取一些新的技术和方法来开展更系统和全面的分析和研究。

(1) 关于生态系统大尺度的研究,除了加强国际间的数据共享和合作,必须增加在典型生态系统中投放大、中型生态围隔的数量,并进行长期、实时的监测,最为理想的是开发设计出能够模拟海水表面大气 CO_2 富集、释放并准确控制浓度的装置,实现完全自然环境下的海水 pH 变化,由此来研究酸化对

异养细菌的生态影响。

(2) 由于许多典型细菌目前还不能纯培养,并且海洋培养基可能并不能代表细菌在自然海洋中的生存环境,因此关于异养细菌响应 pH 变化的生理学基础研究,首要任务还是要进一步改进海洋异养细菌的可培养技术,同时借助于流式细胞仪和微胶囊包埋技术,对分布更广、更能代表研究海域的优势菌株,实施单细胞操作,进行胞内 pH 的 GFP 荧光测定^[47],这对于深入了解细菌适应 pH 变化的生理学响应有着重要的参考价值。

(3) 高通量测序技术和生态分子网络研究方法的结合,为更好的研究微生物群落多样性和系统发育信息提供了强大的技术手段^[48,49],并在全球气候变化对微生物群落结构和功能的研究中得到广泛的应用,取得了许多重要的研究成果,上述技术和方法也应尽快引进到海洋酸化的相关研究中来。另外 Deneff 和 Banfield 关于钩端螺菌属(*Leptospirillum*) 在矿山酸性排水区(AMD)这一特殊环境下的适应进化研究新方法^[50],对于拓展异养细菌对海洋酸化的适应进化研究具有非常好的启示作用。

7 结语

由于研究区域、研究方法的局限以及微生物群落的复杂性,目前关于海洋酸化对异养细菌的影响研究还非常有限和零散,制约了人们全面系统认识海洋酸化的生态效应。随着新的研究技术发展和各国研究机构协作,关于海洋酸化对异养细菌的生态效应研究将会取得更多新的成果,对于指导政府主管部门制定相关政策可以提供更科学的参考。

参考文献:

- [1] Perters G P, Marland G, Corinne L Q, et al. Rapid growth in CO_2 emissions after the 2008–2009 global financial crisis[J]. Nature Climate Change, 2012, 2: 2–4.
- [2] Feely R A, Sabine C L, Leek, et al. Impact of anthropogenic CO_2 on the CaCO_3 system in the oceans [J]. Science, 2004, 305: 362–366.
- [3] Sabine C L, Feely R A, Gruber N, et al. The oceanic sink for anthropogenic CO_2 [J]. Science, 2004, 305: 367–371.
- [4] Pearson P N, Palmer M R. Atmospheric carbon dioxide concentrations over the past 60 million years [J]. Nature, 2000, 406: 695–699.
- [5] Caldeira K, Wickett M E. Oceanography: Anthro-

- genic carbon and ocean pH [J]. *Nature*, 2003, 425: 365.
- [6] Wootton J T, Pfister C A, Forester J D. Dynamic patterns and ecological impacts of declining ocean pH in a high-resolution multi-year dataset[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(48): 18848–18853.
- [7] Kirchman D L, Keil R G, Simon M, et al. Biomass and production of heterotrophic bacterioplankton in the oceanic subarctic Pacific [J]. *Deep-Sea: Res I*, 1993, 40(5): 967-988.
- [8] Boyd P W, Sherry, N D, Berges, J A, et al. Transformations of biogenic particulates from the pelagic to the deep ocean realm [J]. *Deep-Sea Res: Pt. II*, 1999, 46, 2761-2792.
- [9] 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.
- [10] Meron D, Atias E, Kruh L I, et al. The impact of reduced pH on the microbial community of the coral *Acropora eurystoma* [J]. *The ISME Journal*, 2011, 5: 51-60.
- [11] Witt V, Wild C, Kenneth R N, et al. Effects of ocean acidification on microbial community composition and oxygen fluxes through biofilms from the Great Barrier Reef [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(11): 2976-2989.
- [12] Lidbury I, Johnson V, Hall-spencer J M ,et al. Community-level response of coastal microbial biofilms to ocean acidification in a natural carbon dioxide vent ecosystem[J]. *Marine Pollution Bulletin* , 2012, 64 : 1063-1066.
- [13] Ray J L, Topper B, An S, et al. Effect of increased $p\text{CO}_2$ on bacterial assemblage shifts in response to glucose addition in Fram Strait seawater mesocosms[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2012: 1-11.
- [14] Beman J M, Chow C E, Popp B N, et al. Alteration of oceanic nitrification under elevated carbon dioxide concentrations, ASLO Aquatic Sciences meeting, 2008, 1: 25-30.
- [15] Gilbert J A, Field D, Huang Y, et al. Detection of large numbers of novel sequences in the metatranscriptomes of complex marine microbial communities [J]. *PLoS One*, 2008, 3: e3042.
- [16] Yamada N, Tsurushima N, Suzumura M. Effects of Seawater Acidification by Ocean CO_2 Sequestration on Bathypelagic Prokaryote Activities [J]. *Journal of Oceanography*, 2010, 66: 571-580.
- [17] Inagaki F, Kuypers M M M, Tsunogai U, et al. Microbial community in a sediment-hosted CO_2 lake of the southern Okinawa Trough hydrothermal system[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* , 2006, 103(38): 14164-14169.
- [18] Méndez-Vilas A. Current research, technology and education topic in applied microbiology and microbial biotechnology(vol 1) [M]. Spain:Formatex Research Center, 2010, 124-135.
- [19] Piontek J, Lunau M, Handel N, et al. Acidification increases microbial polysaccharide degradation in the ocean [J]. *Biogeosciences Discuss*, 2009, 6, 11377-11400.
- [20] Grossart H P M, Allgaier U, Passow, et al. Testing the effect of CO_2 concentration on the dynamics of marine heterotrophic bacterioplankton [J]. *Limnol Oceanogr*, 2006, 51: 1-11.
- [21] Wurst M. The impact of ocean acidification on microbial dynamics and activities-a mesocosm study in the Baltic Sea [D]. Carl-von-Ossietzky University Oldenburg, Germany Oldenburg. 2008: 16-17.
- [22] Yamada N, Suzumura M. Effects of Seawater Acidification on Hydrolytic Enzyme Activities[J]. *Journal of Oceanography*, 2010, 66: 233-241.
- [23] Lunau M, Wurst M, Piontek J, et al. Potential effects of ocean acidification on microbial organic matter degradation during an offshore mesocosm experiment [A]. *Ocean Science Meeting*[C]. Orlando, Florida. 2008.
- [24] Tanaka T, Thingstad T F, Lovdal T, et al. Availability of phosphate for phytoplankton and bacteria and of labile organic carbon for bacteria at different $p\text{CO}_2$ levels in a mesocosm study[J]. *Biogeosciences*, 2008, 5: 669– 678.
- [25] 焦念志. 海洋微生物生态学[M]. 北京:科学出版社, 2006, 163-190.
- [26] Riebesell U, Schulz K G, Bellerby R G J, et al. Enhanced biological carbon consumption in a high CO_2 ocean[J]. *Nature*, 2007, 450: 545-510.
- [27] Teira E, Fernandez A, Álvarez-salgado X A, et al. Response of two marine bacterial isolates to high CO_2

- concentration[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2012, 453: 27-36.
- [28] Karl D M, Laws E A, Morris P, et al. Global carbon cycle (communication arising): Metabolic balance of the open sea[J]. *Nature*, 2003, 426: 32-35.
- [29] Tolker-nielsen T, Molin S. Spatial organization of microbial biofilm communities [J]. *Microb Ecol*, 2000, 40: 75-84.
- [30] Shi D L, Xu Y, Hopkinson B M, et al. Effect of Ocean Acidification on Iron Availability to Marine Phytoplankton[J]. *Science*, 2010, 327: 676-679.
- [31] Amina S A, Green D H, Hart M C, et al. Photolysis of iron-siderophore chelates promotes bacterial-algal mutualism[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(40): 17071-17076.
- [32] Kluijver A, Soetaert K, Schulz K G, et al. Phytoplankton-bacteria coupling under elevated CO₂ levels: a stable isotope labelling study[J]. *Biogeosciences*, 2010, 7: 3783-3797.
- [33] Ward B B. Kinetic studies on ammonia and methane oxidation by *Nitrosococcus oceanus*[J]. *Arch Microbiol*, 1987, 147: 126-133.
- [34] Rudd J W M, Kelly C A, Schindler D W, et al. Disruption of the nitrogen cycle in acidified lakes[J]. *Science*, 1988, 240: 1515-1517.
- [35] Huesemann M H, Skillman A D, Creelius E A. The inhibition of marine nitrification by ocean disposal of carbon dioxide[J]. *Mar Pollut Bull*, 2002, 44: 142-148.
- [36] Hutchings D A, Mulholland M R, Fu F. Nutrient cycles and marine microbes in a CO₂-enriched ocean [J]. *Oceanography*, 2009, 22: 128-145.
- [37] Beman J M, Chow C E, King A L, et al. Global declines in oceanic nitrification rates as a consequence of ocean acidification[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(1): 208-213.
- [38] Joint I, Karl D M, Doney S C, et al. Consequences of high CO₂ and ocean acidification for microbes in the global ocean [EB/OL]. 2009, <http://cmore.soest.hawaii.edu/oceanacidification/>.
- [39] Hughes B S, Cullum A J, Bennett A F. An Experimental Evolutionary Study on Adaptation to Temporally Fluctuating pH in *Escherichia coli*[J]. *Physiological and Biochemical Zoology*, 2007, 80(4): 406-421.
- [40] Coffin R B, Montgomery M T, Boyd T J, et al. Influence of ocean CO₂ sequestration on bacterial production[J]. *Energy*, 2004, 29: 1511-1520.
- [41] Fabry J J, Seibel B A, Feely R A, et al. Impacts of ocean acidification on marine fauna and ecosystem processes [J]. *Journal of Marine Science*, 2008, 65: 414-432.
- [42] 高坤山. 海洋酸化正负效应-藻类的生理学响应[J]. *厦门大学学报: 自然科学版*, 2011, 50(2): 411-417.
- [43] Liu J W, Weinbauer M G, Maier C, et al. Effect of ocean acidification on microbial diversity and on microbe-driven biogeochemistry and ecosystem functioning [J]. *Aquat Microb Ecol*, 2010, 1-14.
- [44] Joint I, Doney S C, Karl D M. Will ocean acidification affect marine microbes [J]. *The ISME Journal*, 2011, 5: 1-7.
- [45] Salisbury J, Green M, Hunt C, et al. Coastal acidification by rivers: a threat to shellfish [J]. *Eos Trans AGU*, 2008, 89: 513-528.
- [46] Cai W J, Hu X P, Huang W J, et al. Acidification of subsurface coastal waters enhanced by eutrophication[J]. *Nature geoscience*, 2011, 4: 766-770.
- [47] Wilk J C, Slonczewski J L. pH of the cytoplasm and periplasm of *Escherichia coli*: rapid measurement by GFP fluorimetry[J]. *J Bacteriol*, 2007, 189: 5601-5607.
- [48] Andersson A F, Riemann L, Bertilsson S. Pyrosequencing reveals contrasting seasonal dynamics of taxa within Baltic Sea bacterioplankton communities[J]. *The ISME Journal*, 2010, 4: 171-181.
- [49] Zhou J Z, Deng Y, Luo F, et al. Phylogenetic molecular ecological network of soil microbial communities in response to elevated CO₂[J]. *mBio*, 2011, 2(4): 122-129.
- [50] Denff V J, Banfield J F. In situ evolutionary rate measurements show ecological success of recently emerged bacterial hybrids [J]. *Science*, 2012, 336: 462-466.

(本文编辑: 康亦兼)