



高、低核酸含量原核生物应对资源可利用性降低和原生动物选择性摄食的适应性策略

胡晨^{1,2,3}, 余柳倩⁴, 陈晓炜^{2,3}, 刘纪化⁵, 张瑶^{2,3}, John BATT^{3,6}, 肖喜林^{1,2,3}, 石蔷^{3,6}, 张锐^{2,7}, 骆庭伟^{2,3,8}, 焦念志^{2,3*}, 徐大鹏^{2,3*}

1. 厦门大学环境与生态学院, 厦门 361102;
2. 近海海洋环境科学国家重点实验室, 厦门大学海洋与地球学院, 福建省海洋碳汇重点实验室, 厦门 361102;
3. Joint Lab for Ocean Research and Education (LORE) of Dalhousie University, Canada, and Shandong University and Xiamen University, Xiamen 361102, China;
4. 香港科技大学(广州)地球与海洋大气科学学域, 广州 510000;
5. 山东大学海洋研究院, 青岛 266237;
6. Department of Oceanography, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia B3H 4R2, Canada;
7. 深圳大学高等研究院, 深圳 518060;
8. 厦门大学碳中和创新研究中心, 厦门 361102

* 通讯作者, E-mail: jiao@xmu.edu.cn(焦念志), dapengxu@xmu.edu.cn(徐大鹏)

收稿日期: 2023-09-21; 收修改稿日期: 2024-04-09; 接受日期: 2024-04-17; 网络版发表日期: 2024-04-26

国家自然科学基金项目(42188102、41861144018)、福建省自然科学基金项目(2023J05017)、福建省海洋经济发展专项基金项目(FJHJF-L-2022-11)、中国博士后科学基金项目(2021M691863)、广东省普通高校创新团队(自然科学)项目(2023KCXTD028)和厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室优秀博士生奖学金项目资助

摘要 原核生物在全球海洋生物地球化学循环中发挥重要作用, 然而对它们不同生态亚群(即: 高核酸(HNA)和低核酸(LNA)含量亚群)的丰度和代谢活性, 以及它们的调控因素如何随着海洋环境条件的变化而变化, 仍知之甚少. 我们在117,000升的大体积培养体系中进行了73天的培养实验, 深入研究HNA和LNA亚群对资源可利用性降低和原生动物选择性摄食随时间变化的动态响应. 研究结果显示, 当培养环境资源充足时, HNA亚群的代谢活性高于LNA亚群, 但随着资源日益稀缺, HNA亚群代谢下降速度比LNA亚群快, 从而使LNA亚群对原核生物活性的贡献稳步增加. 与此同时, 随着培养体系资源可利用性逐步降低, 原生动物的摄食偏好从HNA亚群转向LNA亚群, 使得LNA亚群对培养体系的碳流贡献增加. 这些结果突显了LNA亚群在资源有限环境中的韧性, 阐明了原生动物选择性摄食在资源条件变化时平衡不同亚群中的关键作用, 并展示了在不同环境背景下原生动物和原核生物之间复杂的相互适应性.

关键词 微生物环, 大体积培养实验, 原核生物, 自上而下和自下而上调控作用, 碳流

中文引用格式: 胡晨, 余柳倩, 陈晓炜, 刘纪化, 张瑶, Batt J, 肖喜林, 石蔷, 张锐, 骆庭伟, 焦念志, 徐大鹏. 2024. 高、低核酸含量原核生物应对资源可利用性降低和原生动物选择性摄食的适应性策略. 中国科学: 地球科学, 54(6): 1901–1913, doi: [10.1360/N072023-0231](https://doi.org/10.1360/N072023-0231)

英文引用格式: Hu C, Yu L, Chen X, Liu J, Zhang Y, Batt J, Xiao X, Shi Q, Zhang R, Luo T, Jiao N, Xu D. 2024. Adaptive strategies of high and low nucleic acid prokaryotes in response to declining resource availability and selective grazing by protozoa. Science China Earth Sciences, 67(6): 1872–1884, <https://doi.org/10.1007/s11430-023-1326-2>

1 引言

原核生物是最丰富的生物质资源库(Suttle, 2007), 是水生生态系统微生物循环的组成部分(Azam等, 1983), 也在全球海洋生物地球化学循环中发挥重要作用. 基于此, 即使原核生物丰度和代谢活性的微小变化也会深刻影响海洋生态系统的结构和功能(Edwards和Richardson, 2004; Morán等, 2010). 因此, 进一步了解原核生物的丰度、代谢活性、及其调控因素如何响应海洋环境的变化对于准确预测未来海洋生态系统的变化至关重要.

原核生物的丰度和代谢活性同时受到自下而上(如: 资源可利用性)(Kirchman, 2008)和自上而下(如摄食或裂解导致的死亡率)的调控因素控制(Sanders等, 1992; Thingstad和Lignell, 1997). 在自上而下的调控因素中, 原生动物(特别是鞭毛虫和纤毛虫)是最重要的摄食者(Sieburth等, 1978; Worden等, 2015), 它们的摄食显著影响原核生物的丰度、群落组成、代谢活性以及能量和营养物质沿着微生物环向上层营养级的转移, 是海洋食物网中的重要环节(Azam等, 1983). 原生动物在河口(Painchaud等, 1996)和近海地区(Unrein等, 2007; Pearce等, 2010)的摄食可导致原核生物高达100%的死亡率.

选择性摄食(即原生动物选择性地摄食粒径适中的类群, 而不是过大或过小的类群)已被认为是原生动物促进原核群落演替的重要机制(Pernthaler, 2005). 除了基于粒径的摄食偏好之外, 选择性摄食还可以根据食物的代谢活动来触发(Sintes和del Giorgio, 2014). 例如, 流式细胞仪测定到的两个具有不同核酸含量的原核生物亚群, 即高核酸含量(high nucleic acid, HNA)亚群和低核酸含量(low nucleic acid, LNA)亚群, 在生理、生态和代谢方面具有明显不同的特征(Li, 1995; Gasol和Morán, 1999; Bouvier和del Giorgio, 2007; Hu等, 2020). 已有研究表明, 原生动物倾向于摄食代谢更活跃的HNA亚群(Gonzalez等, 1990; del Giorgio等, 1996; Sintes和del Giorgio, 2014; Hu等, 2020), 这使得粒径较小且代谢活性较低的LNA亚群能够在强摄食压力下持续存在并占主导地位(Segovia等, 2018). 然而, 原生动物的选择性摄食程度可能受到包括资源可利用性在内的多因素影响. 例如, Baltar等(2016)发现模拟藻华培养环境中的原生动物摄食压力

随着营养水平的增加而加剧, 并显著影响细菌丰度. Hu等(2020)发现在富营养的珠江口河口区, 原生动物对HNA亚群表现出明显的偏好, 然而, 随着环境营养盐浓度沿河口到开放大洋距离的增加而降低, 这种摄食偏好逐渐减弱.

总的来说, 以往研究表明在不同的资源可利用性水平下, 原生动物的选择性摄食与原核生物的代谢活性之间存在复杂的相互作用. 然而, 有些研究是在小体积培养体系中进行的, 这容易产生“瓶子效应”, 即封闭培养系统的体积局限性会显著影响微生物的生长, 进而无法准确模拟自然环境的动态变化. 此外, 有些已有的研究是野外调查, 这只能捕获某个特定时间的情况, 并依赖相关性推断来推导营养物质资源、原核生物和原生动物之间的因果关系.

为了克服这些局限, 本研究在大体积(117,000L)培养体系中进行了为期73天的培养实验, 有效避免了瓶子效应, 并允许对各种指标进行时间序列的采样和分析. 在整个培养过程中, 分析了一系列指标的时间序列动态变化, 包括环境营养物质情况、原核生物丰度和活性、原生动物摄食介导的HNA亚群和LNA亚群死亡率、原核生物生长过程中的潜在碳产量以及原生动物摄食过程中介导的碳量消耗. 综合分析上述指标能够确认原生动物是否对不同的原核类群(尤其是HNA和LNA亚群)施加选择性摄食压力, 以及选择性摄食的效果如何随着生物可利用营养物质水平的变化而变化. 随后, 构建了培养体系内的碳流变化图, 以此量化不同原核生物类群对微食物环内碳流的贡献. 研究结果阐明了原生动物选择性摄食随着不断变化的资源条件在平衡HNA和LNA亚群方面的作用, 这对于微食物环的稳定性和高效性至关重要. 此外, 研究也验证了原生动物和原核生物在不同环境背景下复杂的相互适应性.

2 材料和方法

2.1 培养体系设置和环境参数测量

Aquatron大水柱培养体系位于加拿大达尔豪斯大学的一个大体积室内培养体系, 在本研究中被用作培养实验体系. 该大水柱高10.6m, 直径3.7m, 可容纳约117,000升天然海水(网络版附图S1, <http://earthcn.sci-china.com>). 海水从哈利法克斯近海(44°37'1.77"N,

63°33'23.86"W)收集后迅速通过300 μm 的筛网过滤,注入大水柱内,然后在黑暗条件、室内温度、无外部营养物质输入的条件下培养73天(2017年9~12月).在整个培养实验期间,从大水柱的表层1m处和底层9m处分别收集了样品用于进一步分析.在培养期的前16天内每2~4天采样一次,此后几乎每周采样一次.采集到的生物样品通过孔径20 μm 的筛绢进行预过滤,以去除较大的颗粒和浮游生物.

在整个培养期间,使用多探头水质参数仪(YSI EXO, YSI Incorporated, 美国)每两天记录一次大水柱内整个水柱的温度、盐度和溶解氧(DO)浓度的垂直分布变化.根据Shi和Wallace(2018)的方法,使用Skalar SAN⁺⁺自动分析仪测量表层和底层的无机营养盐浓度,包括氨盐(NH_4^+)、亚硝酸盐(NO_2^-)、硝酸盐(NO_3^-)、硅酸盐(SiO_4^{4-})和磷酸盐(PO_4^{3-}).每个样品重复三次.

2.2 微生物丰度

为了测量原核生物的丰度,2mL样品先在室温下用终浓度0.5%的戊二醛固定15分钟,然后在液氮中速冻后储存在-80°C.自养超微型浮游生物(包括聚球藻和含色素的超微型真核生物)按照Marie等(1999)的方法直接使用流式细胞技术(BD Accuri C6, 美国)进行计数,无需染色.原核生物(包括细菌和古细菌)的丰度使用SYBR Green I(Molecular Probe, 美国)染色后,以直径为1 μm 的荧光小球作为内标,通过针对超微型浮游生物的流式细胞技术测量荧光信号来确定.

按照Gasol等(1999)的描述,根据侧向散射光与绿色荧光的细胞图谱上各自的信号特征区分HNA和LNA亚群.流式细胞技术获得的数据使用FlowJo vX.0.7软件(Tree Star, 美国)进行分析.

2.3 微型鞭毛虫的丰度和生物量

为了量化异养微型鞭毛虫(heterotrophic nanoflagellates, HNF)的丰度,我们将50mL样品用终浓度1%的戊二醛固定后放置在孔径为0.45 μm 的聚碳酸酯黑色滤膜上,用终浓度10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ 的DAPI(4,6-二脒基-2-苯基咪唑)按照已建立的方法进行染色(Kemp等, 1993; Yang等, 2020).最后,使用落射荧光显微镜Olympus BX51(Olympus America Inc., 美国)在1000倍视野下沿多条横断面对HNF进行计数.每张滤膜至少选取25个

视野,从中计数50~100个HNF细胞,以确保统计的严谨性.HNF的生物体积是根据Pasulka等(2015)所描述的细胞几何形状计算的,生物碳量是根据Menden-Deuer和Lessard(2000)的方法计算.

2.4 稀释实验法估算生长率和死亡率

利用梯度稀释技术估算原核生物的生长率和原生动动物摄食介导的原核生物死亡率(Landry和Hassett, 1982; Jochem等, 2004).海水先通过20 μm 孔径的筛绢过滤,随后使用孔径为0.2 μm 的聚偏二氟乙烯滤芯(Labscale, Millipore, 美国)的切向流过滤系统进行过滤,生成无原生动动物摄食者的稀释母液(附图S2).实验中使用的聚碳酸酯瓶先用10% HCl进行酸洗,再用Milli-Q水彻底冲洗.将稀释母液按适当稀释比例添加到250mL聚碳酸酯瓶中,配制由20%、40%、60%和100%海水组成的 t_0 梯度稀释液.对每个 t_0 培养瓶都先用稀释液全面彻底的冲洗两次,再通过虹吸轻轻地将稀释液装入培养瓶中,尽量减少对原生动动物摄食者和原核生物的伤害.之后将所有聚碳酸酯瓶(每个实验总共12瓶)在室温下黑暗培养24小时.在培养开始和结束时分别收集一式三份2mL样品,用于测量原核生物的丰度.

根据培养实验开始(t_0)和结束(t)时的原核生物丰度(分别为 N_0 和 N_t),按照Landry和Hassett(1982)以及Jochem等(2004)提出的假设为指数生长来计算每个样品的原核生物净生长率(k, d^{-1}):

$$k = \frac{\ln \frac{N_t}{N_0}}{t - t_0}. \quad (1)$$

净生长率与稀释比例的回归曲线斜率被定义为原生动动物摄食介导的原核生物死亡率(PMM),而原核生物生长率(PGG)则根据回归曲线的y截距值确定.本研究分别计算HNA和LNA亚群的PGG和PMM.

2.5 生物碳量的生产和损失

为了计算原核生物每日的生物碳量产生和原生动动物摄食介导的生物碳量损失,我们假设原核生物丰度的动态变化可以通过以下由Landry等(1995)和Biggs等(2021)提出的微分方程模型来描述:

$$\frac{dN}{dt} = (\text{PGG} - \text{PMM})N, \quad (2)$$

式中, N 代表 t 时间时的原核生物丰度.

假设PGG和PMM在足够短的时间间隔内保持恒定, 微分方程可以求解如下:

$$N(t) = N_0 e^{(PGG-PMM)t}. \quad (3)$$

假设PGG和PMM在一天内保持不变, 一天时间跨度内产生的原核细胞总数(PA_t)可以通过对该段时间内的生产率进行积分来估算:

$$PA_t \equiv \int_0^t PGG \times N(t) dt. \quad (4)$$

将方程(3)代入方程(4), 并进行后续积分得到

$$PA_t = \frac{PGG}{PGG-PMM} (N_0 e^{(PGG-PMM)t} - N_0). \quad (5)$$

同样, t 天内因原生动动物摄食而损失的原核细胞总数(PL_t)可计算如下:

$$PL_t = \frac{PMM}{PGG-PMM} (N_0 e^{(PGG-PMM)t} - N_0). \quad (6)$$

我们通过选择一天的时间间隔($t=1$)来计算每日产生和损失的细胞总数(PA 和 PL), 与稀释测定中使用的24小时培养时长一致.

此外, 为了将细胞数转换为原核生物量并获得原核总细菌生物碳产量(PBP)和原生动动物摄食介导的生物碳量损失(PMC), 根据Fukuda等(1998)的方法将产生和损失的细胞总数(PA 和 PL)乘以单个原核生物细胞生物碳含量经验均值($12.4 \text{ fg C cell}^{-1}$)来计算PBP和PMC.

在这项研究中, 通过计算PBP、PMC以及培养实验期间原核生物碳量变化(ΔBB)之间的差值来获得由于其他途径引起的碳流变化.

2.6 统计分析

我们在做统计分析之前, 先用 Shapiro-Wilk W 检验评估数据正态性, 并根据需要进行对数转换. 利用最小二乘回归分析来检查净增长率和梯度稀释比例之间的关系. 使用 t -检验确定样本之间的差异是否显著. 使用Pearson相关性分析检查原核参数与非生物和生物变量之间的关系($\alpha=0.05$ 作为差异是否显著的分界线), 这里的原核参数包括HNA和LNA亚群的丰度、HNA和LNA亚群的生长率(分别标记为PGG-H和PGG-L)、LNA亚群丰度与总原核生物丰度的比率(LNA%), 以及LNA亚群生长率与HNA亚群生长率的比率[PGG-L/PGG-H]. 采用线性回归模型来表征以下特征: (1) 不

同时期HNA、LNA、HNF的丰度和LNA%分别与培养时间的关系; (2) PGG-H、PGG-L、PMM-H、PMM-L、PGG-L/PGG-H、PMM-L/PMM-H与培养时间的关系. 上述统计分析均使用GraphPad Prism 7(GraphPad, 美国)软件完成. 利用R 统计软件(R Development Core Team, 2012)进行冗余分析(RDA), 评估由于原生动动物和环境因素的动态变化导致的原核生物丰度和生长率的变化. 响应变量为HNA和LNA亚群的丰度、PGG-H、PGG-L和PGG-L/PGG-H, 解释变量为HNF丰度、PMM-H、PMM-L、PMM-L/PMM-H、氮营养盐浓度(即亚硝酸盐、硝酸盐和铵)和溶解氧(DO). 通过9999次排列的Monte Carlo 排列测试确定了前两个主要组分的显著性. 以上所有测试中, $P < 0.05$ 均代表差异显著.

3 结果

3.1 大体积培养体系内的理化参数变化

在整个培养实验过程中, 盐度(附图S3a)和溶氧度(附图S3b)的均匀垂直分布证明了大体积培养环境保持了稳定的水文条件. 此外, 温度和营养盐浓度等其他参数随着培养时间延长在表层和底层也显示出类似变化. 具体来说, 表层和底层温度从第36天的 17.7°C 上升到峰值 20.5°C , 然后在第48天略微下降到 19.5°C ; 随后降至 18.3°C , 并保持不变直至培养实验结束(附图S3c). 表层和底层亚硝酸盐浓度始终保持低值($< 0.8 \mu\text{mol L}^{-1}$) (附图S4a). 在最初的40天内, 铵盐浓度从 $3.31 \sim 3.36 \mu\text{mol L}^{-1}$ 下降到0, 随后在表层和底层分别增加到 $0.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ 和 $0.36 \mu\text{mol L}^{-1}$ (附图S4b). 表层和底层的硝酸盐浓度分别在第40天和第56天达到峰值, 浓度分别为 $10.40 \mu\text{mol L}^{-1}$ 和 $10.56 \mu\text{mol L}^{-1}$ (附图S4c). 在整个培养期间, 培养体系内的硅酸盐和磷酸盐浓度变化很小(附图S4d和S4e). 有关盐度、溶解氧和温度随时间变化的更多详细信息, 可参阅Xiao等(2022), 营养盐的变化可参阅Zhang等(2021).

3.2 微生物丰度

HNA亚群的丰度在培养期间有显著变化(图1a), 从培养初期 $4.37 \times 10^5 \sim 4.51 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ 减少到第16天的 $(2.99 \pm 0.16) \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ (表层)和 $(2.42 \pm 0.19) \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ (底层). 到第20天时, 细胞丰度大约增加一倍, 然

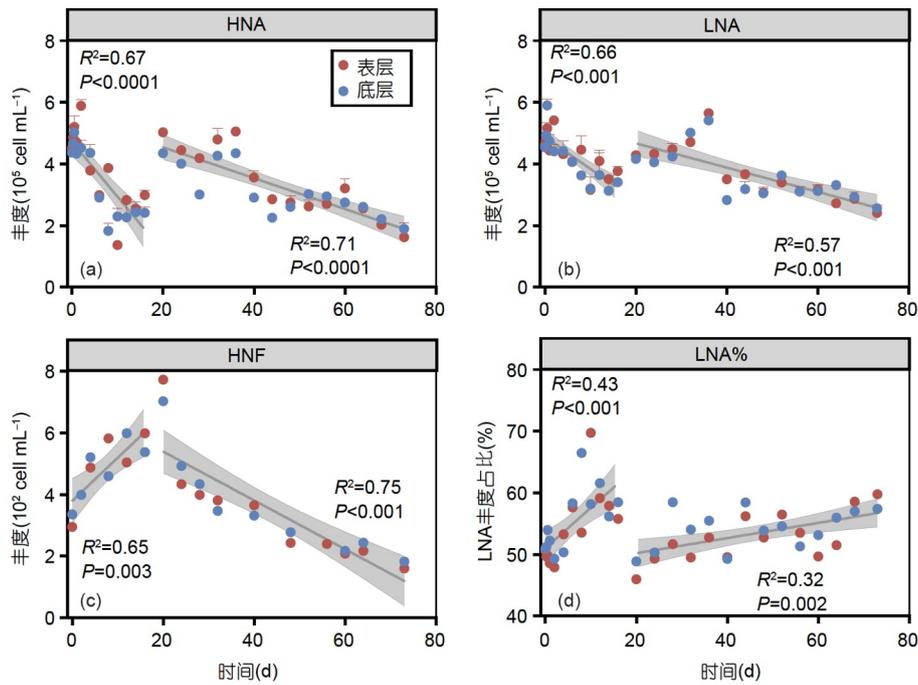


图1 Aquatron 大体积培养体系内表层(红色)和底层(蓝色)微生物丰度及LNA亚群丰度与总原核生物丰度的比值的动态变化 (a) HNA亚群丰度; (b) LNA亚群丰度; (c) 异养微型鞭毛虫(HNF)丰度; (d) LNA亚群丰度与总原核生物丰度比值(LNA%)。标准偏差由误差线表示。在P1(第0~16天)和P2(第16~73天)阶段对每个数据集分别进行回归分析, 回归结果(R^2 和 P)显示在回归曲线旁边, 灰色区域代表置信区间

后逐渐下降, 直到培养实验结束(第73天)。线性回归分析显示, 不同培养时间段(第0~16天和第16~73天)HNA亚群的丰度均显著性下降($P < 0.0001$)(图1a)。

LNA亚群的丰度变化在一定程度上与HNA亚群的丰度变化相似, 但波动更小。LNA亚群的初始丰度在表层和底层分别为 $(4.63 \pm 0.11) \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$ 和 $(4.54 \pm 0.22) \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$, 几乎与HNA亚群的初始丰度相当。在第0~16天期间, LNA亚群的下降幅度小于HNA亚群, 其中LNA亚群在第16天时有 $3.67 \times 10^5 \sim 3.77 \times 10^5 \text{ cells mL}^{-1}$, 高于HNA亚群的细胞丰度(图1b)。第16天之后, LNA亚群的丰度略有增加, 随后在第40天时急剧下降, 并在剩余培养时间内逐渐下降。

相反, HNA亚群的丰度在表层和底层都逐渐增加($P < 0.003$), 从初始值 $295 \sim 336 \text{ cells mL}^{-1}$ 到第16天达到峰值 $538 \sim 599 \text{ cells mL}^{-1}$, 然后显著下降, 到实验结束时只有初始丰度的近一半($160 \sim 182 \text{ cells mL}^{-1}$, 图1c)($P < 0.001$)。

有趣的是, LNA亚群丰度与总原核生物丰度的比值(LNA%)在最初的0~16天显著增加, 从第1天的约50%增加到第16天的55%~58%(图1d), 第20天时该比

值下降至低于50%, 但在整个剩余的培养期内再次略有上升, 在实验结束时接近60%。

鉴于培养的第0~16天和16~73天之间微生物丰度的明显变化, 我们在下文中分两个单独的阶段进行分析。第1阶段(P1)是指从第0天到第16天, 此时营养物质正在被消耗; 而第2阶段(P2)从第16天到第73天, 此时营养物质近乎被消耗完。

3.3 微生物活性

在P1阶段(第0~16天), HNA亚群的生长率(PGG-H)保持稳定, 在 $1.57 \sim 3.20 \text{ d}^{-1}$ 之间波动, 在第4天达到峰值。非显著相关的线性回归结果表明, HNA亚群在这一阶段不受资源限制。然而, 在P2阶段(第16~73天), PGG-H显著下降, 线性回归结果为显著负相关($P = 0.001$)(图2a)。相反, LNA亚群的生长率(PGG-L)在P1期间波动变化, 在P2期间保持稳定。PGG-L在整个培养过程中逐渐下降($P = 0.02$), 但下降幅度低于PGG-H(图2b)。

PPG-L/PPG-H比值代表LNA和HNA亚群对原核生物群落活性的相对重要性。P1期间PPG-L/PPG-H比

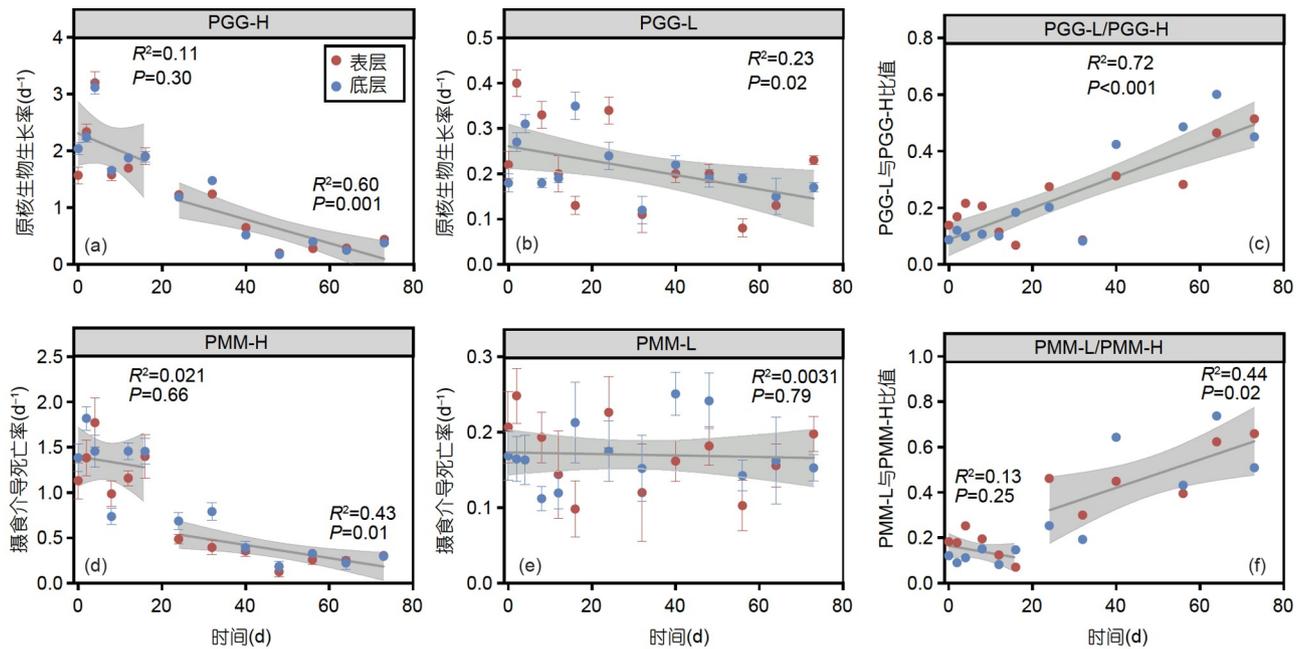


图 2 Aquatron大体积培养体系内表层(红色)和底层(蓝色)微生物活性及LNA亚群与HNA亚群活性比值的动态变化

(a) HNA亚群生长率(PGG-H); (b) LNA亚群生长率(PGG-L); (c) PGG-L与PGG-H比值(PGG-L/PGG-H)的动态变化; (d) 原生动物摄食介导的HNA亚群死亡率(PMM-H); (e) 原生动物摄食介导的LNA亚群死亡率(PMM-L); (f) PMM-L与PMM-H的比值(PMM-L/PMM-H)。标准偏差由误差线表示。在P1(第0~16天)和P2(第16~73天)阶段对每个数据集分别进行回归分析,回归结果(R^2 和 P)显示在回归曲线旁边,灰色区域代表置信区间

值为0.07~0.22,表明HNA亚群是原核生物活性的主要贡献者。然而,该比值在P2期间增加至0.6,表明LNA亚群对总原核生物活性的贡献逐渐增大(图2c)。

原生动物摄食介导的HNA亚群死亡率(PMM-H)与PPG-H的变化相似,表明HNA亚群在P1期间存在稳定的原生动物摄食压力(图2d)。相反,原生动物对LNA亚群(PMM-L)的摄食压力在整个培养过程中保持稳定并在0.10~0.25 d^{-1} 的范围内波动(图2e)。

PMM-L/PMM-H比值反映了原生动物对LNA亚群和HNA亚群选择性摄食的偏好度。P1期间,该比值在第16天的表层低至0.07,表明原生动物对HNA亚群有强烈的偏好。然而,随着培养实验的进行,对LNA亚群的偏好显著增加($P=0.02$),在第64天的底层达到0.73(图2f)。

3.4 原核生物丰度和活性的非生物和生物驱动因素

本研究利用Pearson相关性分析确定原核生物丰度和活性的潜在驱动因素(图3)。在P1阶段,HNA亚群的丰度与硅酸盐浓度($r=0.5, P<0.05$)、亚硝酸盐浓度($r=0.80, P<0.05$)、DO浓度($r=0.57, P<0.05$)、铵盐浓

度($r=0.6, P<0.05$)和磷酸盐浓度($r=0.5, P<0.05$)呈显著正相关关系,但与异养微型鞭毛虫(HNF)丰度呈显著负相关($r=-0.62, P<0.05$)。LNA亚群的丰度与所有非生物和生物因素的相关关系与HNA亚群相似(硅酸盐浓度除外)。与HNA和LNA亚群的丰度相比,LNA%表现出类似但负相关的结果,并且与HNF丰度呈显著正相关($r=0.52, P=0.1$)。原核生物的活性(PGG)与环境因素之间未发现显著相关关系。

P2阶段,HNA亚群和LNA亚群的丰度与亚硝酸盐和铵盐浓度均保持显著正相关,但与硝酸盐浓度呈负相关。HNF丰度与HNA亚群和LNA亚群的丰度呈正相关。LNA%与DO和HNF丰度呈负相关,与磷酸盐呈正相关。PGG-H与生物可利用的亚硝酸盐和铵盐浓度呈正相关,但PGG-L与其他非生物因子之间没有显著关系。PMM-L/PMM-H与原核生物丰度和PGG-H呈负相关,而PGG-L/PGG-H与亚硝酸盐和铵盐浓度呈显著负相关,与硝酸盐呈正相关,这与P1阶段得到的相关性结果有所不同。

本研究利用冗余分析(RDA)进一步研究生物和非生物因素对整个培养过程中HNA和LNA亚群丰度、

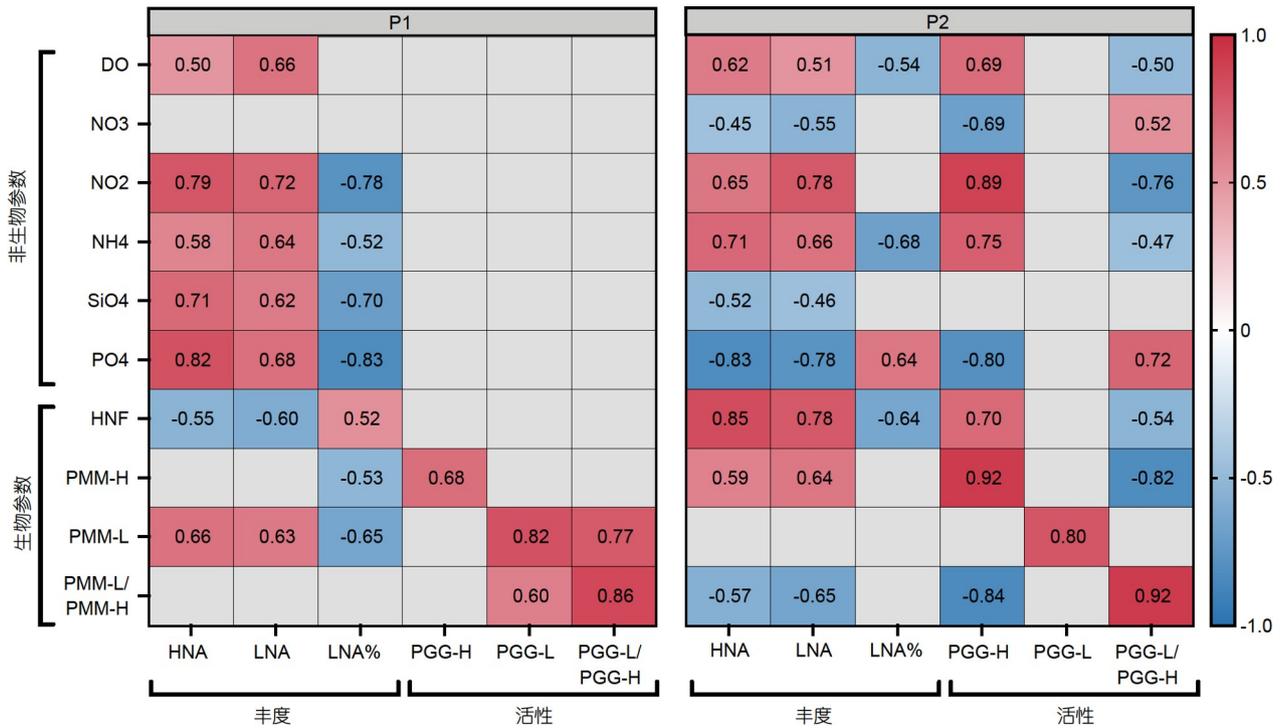


图3 原核生物参数分别与非生物参数和生物参数的Pearson相关系数矩阵热图

左图为P1阶段(第0~16天), 右图为P2阶段(第16~73天). 原核生物参数包括HNA和LNA亚群丰度、LNA%、HNA亚群生长率(PGG-H)、LNA亚群生长率(PGG-L)、PGG-L与PGG-H比值(PGG-L/PGG-H). 非生物参数包括溶解氧(DO)、亚硝酸盐(NO₃)、硝酸盐(NO₂)、铵盐(NH₄)、硅酸盐(SiO₄)和磷酸盐(PO₄). 生物参数包括HNF丰度, 原生动物的摄食介导的HNA亚群死亡率(PMM-H)和LNA亚群死亡率(PMM-L), PMM-L与PMM-H比值(PMM-L/PMM-H). 图中仅显示具有统计显著性的相关系数(P<0.05)

生长率和对原核生物群落的相对贡献变化的潜在影响(图4). 分析结果表明, 在整个培养过程中PMM-H的变化、原生动物的摄食选择性的变化(以PMM-L/PMM-H进行表征)以及硝酸盐和亚硝酸盐之间的相互转化是影响原核生物丰度、生长率和相对贡献的主要因素. 有趣的是, 这些变化在P1和P2阶段是受不同因素推动的. P1阶段, PMM-H和PMM-L/PMM-H是原核生物丰度和HNA代谢活性变化的主要因素. P2阶段, 硝酸盐与亚硝酸盐的相互转化作用更为显著, 影响了LNA亚群对原核代谢活性相对贡献的变化.

3.5 HNA和LNA亚群的碳流变化

本研究对HNA和LNA亚群的原核总细菌生物碳产量(PBP)和原生动物的摄食介导的生物碳量损失(PMC)进行了估算和比较, 以评估培养实验期间原核生物活动对碳流的影响, 从而确定大体积培养体系中的碳循环是由HNA亚群还是LNA亚群主导, 以及原生动物的维持其生存需要的能量来源(图5).

HNA亚群的PBP(PBP-H)在P1阶段呈动态变化, 在第4天达到峰值(40.47~52.55 μL⁻¹ d⁻¹), 随后迅速下降, 在第16天时为7.54~12.53 μL⁻¹ d⁻¹. 在P2阶段, PBP-H略有增加, 然后迅速下降, 在实验后期保持在1.01~1.82 μg L⁻¹ d⁻¹(图5a). HNA亚群的PMC(PMC-H)在整个培养过程中与PBP-H呈现相似变化(图5b). 总体而言, 平均67%的PBP-H通过原生动物的摄食作用而沿着微食物环转移到上层营养级.

相比之下, LNA亚群的PBP(PBP-L)在培养过程中并未像PBP-H那样发生显著变化(0.76~5.1 μg L⁻¹ d⁻¹)(图5c). 然而, P2阶段的PBP-L与PBP-H的比值逐渐增加. 尽管LNA亚群的PMC(PMC-L)在整个培养过程中保持相对稳定, 但PBP-L经由原生动物的摄食所消耗的比例变化显著. 在P1阶段, 大约69%的PBP-L被原生动物的摄食所消耗, 与被消耗的PBP-H比例相似. 然而, P2阶段高达100%的PBP-L经由原生动物的摄食消耗, 这高于PBP-H被消耗的百分比(图5b和5d).

我们进一步分析了不同阶段培养系统内微食物环

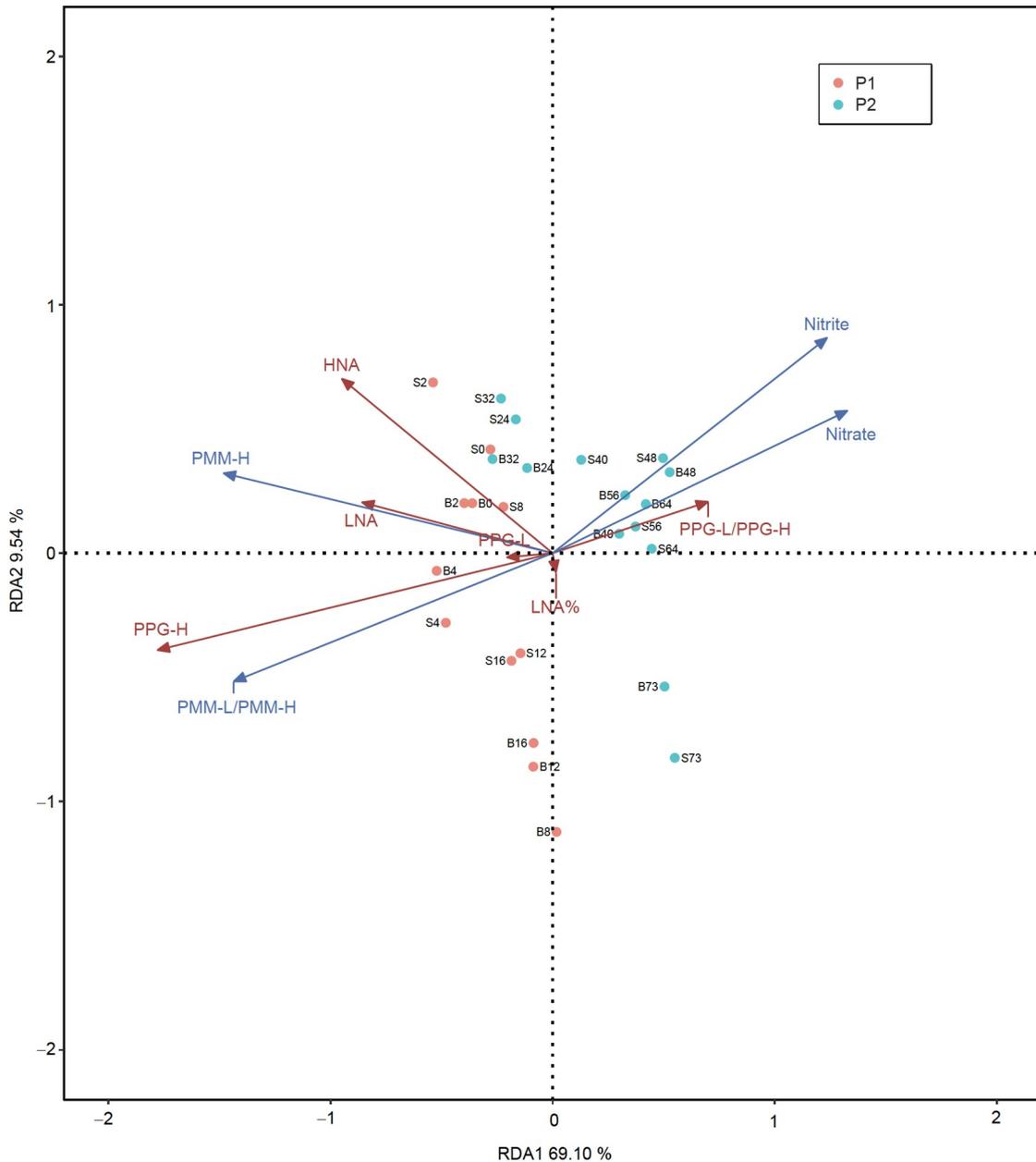


图4 冗余分析(RDA)图

RDA揭示原生动物和环境因素变化对原核生物丰度和代谢活性变化的影响。蓝色箭头表示由于原生动物的动态变化和/或环境因素(解释变量)引起的原核生物丰度;红色箭头表示代谢活性波动变化(响应变量)。数字代表培养期间的采样日期。大写字母代表采样水层(S代表表层, B代表底层)。红色和绿色点分别代表P1阶段(第0~16天)和P2阶段(第16~73天)。RDA中的所有解释变量均有显著差异($P < 0.05$)。RDA共解释了78.64%的总变化

的碳流变化(图6)。培养初期, HNA和LNA亚群的生物量分别为 $8.51 \mu\text{g L}^{-1}$ 和 $6.99 \mu\text{g L}^{-1}$ 。原核生物平均总细菌生物碳产量(PBP-H+PBP-L)达到 $20.95 \mu\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$, 其中HNA亚群贡献91%, LNA仅占9%。此外, 原生动物的代谢需求主要通过摄食HNA亚群($11.25 \mu\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$)来

满足, 少量通过摄食LNA亚群($1.25 \mu\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$)来完成。碳流计算后的结余量($8.73 \mu\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$)可能被释放回环境, 促进环境资源循环。P1阶段的能量传递率(即原生动物的摄食消耗量与资源循环量的比值)达到1.43。

进入P2阶段后, HNA和LNA亚群的生物量分别下

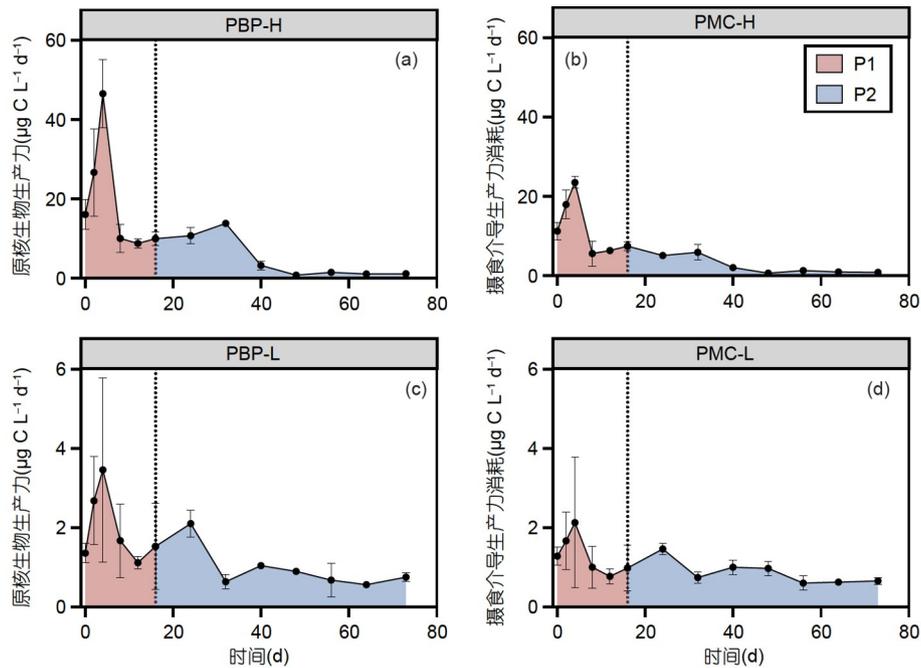


图5 P1和P2阶段HNA和LNA亚群的碳流变化

(a) PBP-H表示HNA亚群的原核总细菌生物碳产量; (b) PMC-H表示原生动物的摄食诱导的HNA亚群生物碳量损失; (c) PBP-L表示LNA亚群的原核总细菌生物碳产量; (d) PMC-L表示原生动物的摄食诱导的LNA亚群生物碳量损失. 误差线表示表底层数据间的标准偏差

降至 $2.60\mu\text{g L}^{-1}$ 和 $3.66\mu\text{g L}^{-1}$. 平均PBP-H下降至 $6.01\mu\text{g L}^{-1}\text{d}^{-1}$, 仅为P1阶段的32%. 相反, 平均PBP-L为 $1.16\mu\text{g L}^{-1}\text{d}^{-1}$, 为P1阶段的59%. 与P1阶段相比, LNA亚群对原核生物总细菌生物碳产量的贡献从9%增加到16%, 表明资源逐渐消耗对PBP-H的影响相比PBP-L更大. 此外, 原生动物的摄食诱导的HNA亚群生物碳产量的平均消耗量下降至 $3.28\mu\text{g L}^{-1}\text{d}^{-1}$, 而原生动物的摄食诱导的LNA亚群生物碳产量的平均消耗量占原生动物的总代谢消耗量的比例从P1阶段的10%上升至P2阶段的24%, 这意味着与P1阶段相比, P2阶段原生动物的摄食诱导的LNA亚群的依赖增强. 在P2阶段, 能量传递率达到1.69(原生动物的摄食消耗量为 $4.31\mu\text{g L}^{-1}\text{d}^{-1}$, 环境资源循环量为 $2.55\mu\text{g L}^{-1}\text{d}^{-1}$, 超过P1期的1.43.

4 讨论

4.1 HNA和LNA亚群的不同适应性响应策略

在没有外部资源补充的情况下, 大体积培养系统中的生物可利用资源随着培养实验的进行和微生物的不断利用而变得越来越稀缺. P1阶段(第0~16天), HNA和LNA亚群丰度的下降表明这两个类群都受到资源

稀缺的限制. 然而, HNA和LNA亚群丰度下降幅度的显著差异表明它们对环境条件变化的响应不同. HNA亚群丰度下降更显著的原因可能是其较高的营养物质需求和代谢速率, 使它们更容易受到资源可利用性变化的影响(Mojica等, 2020). 在P2阶段(第16~73天), HNA和LNA亚群的丰度继续减少(尽管速度较低), 这与资源可利用性限制将抑制原核生物生长的预期一致. 有趣的是, LNA%和PPG-L/PPG-H在P2阶段持续增长, 表明LNA亚群更好地适应了资源稀缺环境. 这个结果与前人的研究一致, 表明相比沿海或陆架富营养环境的原核生物群落, 开放大洋寡营养环境的原核生物群落有较高比例的代谢活性是由LNA亚群贡献的(Servais等, 2003; Longnecker等, 2005, 2006).

HNA和LNA亚群针对资源可利用性表现出的不同适应性响应策略突出了它们在海洋生态系统中的独特地位以及在不同资源条件下对生态系统功能的不同贡献. HNA亚群在资源丰富时具有较高的代谢活性, 可能负责食物网中资源的快速周转和高效的能量转移. 这种趋势可归因于HNA亚群相比LNA亚群复杂性更高的基因组, 从而使得它们具有更好的利用营养物质以及占据更多种生态位的能力(Azam, 1998; Philip-

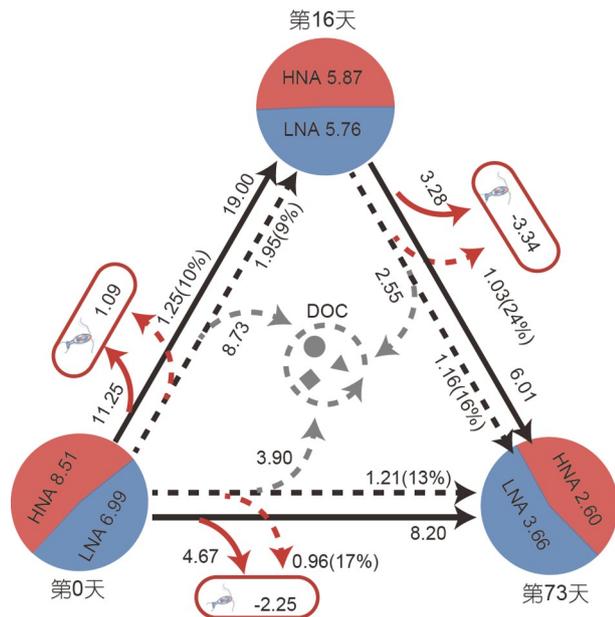


图 6 微食物环内的碳流变化

整个培养实验P1阶段(第0~16天)和P2阶段(第16~73天)的数据分析突出了碳流的变化。三个圆圈代表不同时间点(分别指的是第0天、第16天和第73天)的原核生物碳量,其中HNA和LNA亚群分别用红色和蓝色表示,数字代表生物量($\mu\text{g L}^{-1}$)。从每个圆圈延伸的黑色实线箭头代表HNA亚群的每日平均PBP-H($\mu\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$),黑色虚线箭头代表LNA亚群的每日平均PBP-L。从每个黑色箭头延伸的红色箭头代表原生动物摄食消耗的每日平均PMC($\mu\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$),其中实线代表对HNA亚群的PMC-H,虚线代表对LNA亚群的PMC-L。三个红色圆角矩形代表不同阶段HNF生物量的变化;例如,在左侧圆角矩形里的1.09表示HNF生物量从第0天到第16天增加了 $1.09 \mu\text{g L}^{-1}$ 。灰色虚线表示由于其他途径导致的碳流变化,计算方式为总PBP减去总PMC、原核生物生物量的变化和HNF生物量的变化。括号中的百分比数值表示LNA亚群PBP和PMC分别占总PBP和PMC的比值

pot等, 2010; Schattenhofer等, 2011)。相比之下, LNA亚群对资源稀缺环境的适应能力更强, 它们可能在资源可利用性受限时对于维持生态系统基本功能方面发挥至关重要的作用(Mojica等, 2020)。紧凑的基因组和低复制代谢负担促使LNA亚群能够在营养有限的条件下生存, 即使在资源稀缺的情况下也能确保核心生态系统功能的持续性。

4.2 资源稀缺时原生动物的摄食偏好从HNA亚群转向LNA亚群

原生动物的P1阶段的选择性摄食使得HNA亚群受到的摄食压力大于LNA亚群。也就是说, 原生动物的倾向于优先摄食原核生物类群中更为活跃生长部分的

HNA亚群(del Giorgio等, 1996; Baltar等, 2016), 而活性较低、代谢速率低且粒径较小的LNA亚群则较少被摄食(Segovia等, 2018)。LNA亚群丰度对原核生物总丰度的贡献(LNA%)受到环境中不同程度的摄食压力的影响(Tadonlécé等, 2005)。P1阶段, LNA%的增加可能归因于原动物(HNF)更倾向于摄食HNA亚群(Gonzalez等, 1990; del Giorgio等, 1996; Sintes和del Giorgio, 2014; Hu等, 2020)。

在P1和P2阶段观察到的原动物摄食偏好的变化凸显了微生物种群与其环境之间的复杂关系。随着资源变得稀缺, 原动物会调整它们的摄食偏好, 以最适宜的方式利用资源。PMM-L/PMM-H与原核生物丰度和PPG-H之间的相关关系从P1阶段时的显著正相关变为P2阶段的显著负相关, 表明了原动物选择性摄食压力的减弱和非选择性摄食的增强(图3)。RDA分析结果也支持了“摄食选择性随着资源缺乏而降低”的观点。摄食选择性的变化与原动物对HNA亚群的摄食压力降低相一致, 这意味着选择性摄食在资源有限的条件下被减弱。这种转变可能是由于资源稀缺时食物质量或可利用性的下降造成的。众所周知, 这会影响到原动物对原核生物的摄食行为(Monger和Landry, 1991; Christaki等, 1998; Monger等, 1999)。食物质量或可利用性的下降可能会迫使原动物去适应替代的食物以满足能量需求。从P1阶段到P2阶段, 原动物摄食消耗LNA亚群的PBP-L百分比从69%增加到100%, 这表明随着培养系统中资源的稀缺, 原动物对LNA亚群的依赖性明显增强。原动物通过调整摄食偏好, 有助于维持HNA和LNA亚群之间的平衡, 确保微食物环的持续运行, 这与强调原动物摄食在维持生态系统多样性方面的重要作用的经典生态理论相一致(Paine, 1966)。

值得注意的是, 在从P1到P2过渡的过程中, HNA和LNA亚群的丰度都以不同幅度有所增加, 这归因于HNF丰度的显著下降(约30%), 并伴随着HNF对HNA亚群(以PMM-H表示)的摄食压力下降了近50%, 而对LNA亚群的摄食压力几乎没变。HNF摄食压力和丰度的持续下降促进了资源的再循环(可能通过细胞裂解实现), 从而得以在P2阶段早期(第20~40天)支持原核生物群落以稍低一些的代谢水平和丰度存续。然而, 这种资源循环在P2阶段后期无法持续, 导致HNA和LNA亚群的丰度持续下降。在资源稀缺的情况下, 原

生动物摄食偏好的变化凸显了“认识原生动物与其食物之间复杂的相互作用”对于预测生态系统对环境变化的响应的重要性。这种认识对于准确模拟海洋生态系统内能量流动和营养物质循环, 以及评估生态系统稳定性和功能变化以应对不断变化的环境条件至关重要。

4.3 对海洋生态系统功能的意义

大体积培养实验结果阐明了HNA和LNA亚群在资源可用性降低与原生动物选择性摄食之间复杂的相互作用。全球气候变化背景下的海洋变暖将加剧层化现象, 从而加剧上层海洋的寡营养化, 导致微食物环内的碳流循环减慢。尽管这可能会削弱生物碳泵的功效率并减少向上层营养级的能流和碳流, 但根据微型生物碳泵理论(Jiao等, 2010, 2014, 2018), 这也会促进惰性溶解有机碳的积累, 从而增强海洋碳封存。这一过程可能会诱发针对人为产生的CO₂加速释放导致全球变暖的负反馈。

鉴于上述影响, 进一步研究驱动HNA和LNA亚群与原生动物摄食之间互作机制, 以及这些亚群对不同资源可利用性的反应是很有必要的。后续研究还应考虑这些互作对海洋生态系统中生物地球化学循环和能流循环的潜在后果, 特别是在气候变化和人为干扰的影响下。更深入地了解这些复杂互作和反馈机制将有助于更好地预测和管理环境压力源对海洋生态系统功能的影响。

5 结论

大尺度长期培养实验证明了资源可利用性与原生动物选择性摄食之间复杂的相互作用。这种互作控制着微食物环内的原核生物丰度、代谢活性和碳流变化。研究结果揭示了LNA亚群在资源稀缺条件下的韧性及其对碳流循环的贡献增加, 强调了LNA亚群对微生物生态系统的稳定性和功能的重要性。此外, 研究结果还阐明了原生动物适应性摄食行为在维持HNA和LNA亚群之间的平衡以及确保微食物环的功能持续性方面的重要性。然而, 这些适应性摄食行为的潜在机制、HNA和LNA亚群之间的动态相互作用, 以及它们对生态系统过程和全球碳循环的具体影响还需要进一步的深入研究。

致谢 感谢Doug Wallace、Paul Hill、王建宁、Magda Waclawik、Liz Kerrigan和谢杰镇在实验中提供的帮助。

参考文献

- Azam F. 1998. Microbial control of oceanic carbon flux: The plot thickens. *Science*, 280: 694–696
- Azam F, Fenchel T, Field J G, Gray J S, Meyer-Reil L A, Thingstad F. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar Ecol Prog Ser*, 10: 257–263
- Baltar F, Palovaara J, Unrein F, Catala P, Hornák K, Šimek K, Vaqué D, Massana R, Gasol J M, Pinhassi J. 2016. Marine bacterial community structure resilience to changes in protist predation under phytoplankton bloom conditions. *ISME J*, 10: 568–581
- Biggs T E G, Huisman J, Brussaard C P D. 2021. Viral lysis modifies seasonal phytoplankton dynamics and carbon flow in the Southern Ocean. *ISME J*, 15: 3615–3622
- Bouvier T, del Giorgio P A. 2007. Key role of selective viral-induced mortality in determining marine bacterial community composition. *Environ Microbiol*, 9: 287–297
- Christaki U, Dolan J R, Pelegri S, Rassoulzadegan F. 1998. Consumption of picoplankton-size particles by marine ciliates: Effects of physiological state of the ciliate and particle quality. *Limnol Oceanogr*, 43: 458–464
- Edwards M, Richardson A J. 2004. Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature*, 430: 881–884
- Fukuda R, Ogawa H, Nagata T, Koike I. 1998. Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. *Appl Environ Microbiol*, 64: 3352–3358
- Gasol J M, Morán X. 1999. Effects of filtration on bacterial activity and picoplankton community structure as assessed by flow cytometry. *Aquat Microb Ecol*, 16: 251–264
- Gasol J M, Zweifel U L, Peters F, Fuhrman J A, Hagstrom Å. 1999. Significance of size and nucleic acid content heterogeneity as measured by flow cytometry in natural planktonic bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 65: 4475–4483
- del Giorgio P A, Gasol J M, Vaqué D, Mura P, Agustí S, Duarte C M. 1996. Bacterioplankton community structure: Protists control net production and the proportion of active bacteria in a coastal marine community. *Limnol Oceanogr*, 41: 1169–1179
- Gonzalez J M, Sherr E B, Sherr B F. 1990. Size-selective grazing on bacteria by natural assemblages of estuarine flagellates and ciliates. *Appl Environ Microbiol*, 56: 583–589
- Hu C, Chen X, Yu L, Xu D, Jiao N. 2020. Elevated contribution of low nucleic acid prokaryotes and viral lysis to the prokaryotic community along the nutrient gradient from an estuary to open

- ocean transect. *Front Microbiol*, 11: 612053
- Jiao N, Cai R, Zheng Q, Tang K, Liu J, Jiao F, Wallace D, Chen F, Li C, Amann R, Benner R, Azam F. 2018. Unveiling the enigma of refractory carbon in the ocean. *Nat Sci Rev*, 5: 459–463
- Jiao N, Herndl G J, Hansell D A, Benner R, Kattner G, Wilhelm S W, Kirchman D L, Weinbauer M G, Luo T, Chen F, Azam F. 2010. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: Long-term carbon storage in the global ocean. *Nat Rev Microbiol*, 8: 593–599
- Jiao N, Robinson C, Azam F, Thomas H, Baltar F, Dang H, Hardman-Mountford N J, Johnson M, Kirchman D L, Koch B P, Legendre L, Li C, Liu J, Luo T, Luo Y W, Mitra A, Romanou A, Tang K, Wang X, Zhang C, Zhang R. 2014. Mechanisms of microbial carbon sequestration in the ocean—Future research directions. *Biogeosciences*, 11: 5285–5306
- Jochem F J, Lavrentyev P J, First M R. 2004. Growth and grazing rates of bacteria groups with different apparent DNA content in the Gulf of Mexico. *Mar Biol*, 145: 1213–1225
- Kemp P F, Cole J, Sherr B F, Sherr E B. 1993. Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology. CRC Press. 213–227
- Kirchman D L. 2008. Microbial Ecology of the Oceans. 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc. 335–382
- Landry M R, Hassett R P. 1982. Estimating the grazing impact of marine micro-zooplankton. *Mar Biol*, 67: 283–288
- Landry M R, Kirshtein J, Constantinou J. 1995. A refined dilution technique for measuring the community grazing impact of microzooplankton, with experimental tests in the central equatorial Pacific. *Mar Ecol Prog Ser*, 120: 53–63
- Li W. 1995. Composition of ultraphytoplankton in the central North Atlantic. *Mar Ecol Prog Ser*, 122: 1–8
- Longnecker K, Sherr B F, Sherr E B. 2005. Activity and phylogenetic diversity of bacterial cells with high and low nucleic acid content and electron transport system activity in an upwelling ecosystem. *Appl Environ Microbiol*, 71: 7737–7749
- Longnecker K, Sherr B F, Sherr E B. 2006. Variation in cell-specific rates of leucine and thymidine incorporation by marine bacteria with high and with low nucleic acid content off the Oregon coast. *Aquat Microb Ecol*, 43: 113–125
- Marie D, Brussaard C P D, Thyrhaug R, Bratbak G, Vaulot D. 1999. Enumeration of marine viruses in culture and natural samples by flow cytometry. *Appl Environ Microbiol*, 65: 45–52
- Menden-Deuer S, Lessard E J. 2000. Carbon to volume relationships for dinoflagellates, diatoms, and other protist plankton. *Limnol Oceanogr*, 45: 569–579
- Mojica K D A, Carlson C A, Behrenfeld M J. 2020. Regulation of low and high nucleic acid fluorescent heterotrophic prokaryote sub-populations and links to viral-induced mortality within natural prokaryote-virus communities. *Microb Ecol*, 79: 213–230
- Monger B C, Landry M R. 1991. Prey-size dependency of grazing by free-living marine flagellates. *Mar Ecol Prog Ser*, 74: 239–248
- Monger B C, Landry M R, Brown S L. 1999. Feeding selection of heterotrophic marine nanoflagellates based on the surface hydrophobicity of their picoplankton prey. *Limnol Oceanogr*, 44: 1917–1927
- Morán X A G, Lopez-Urrutia Á, Calvo-Díaz A, Li W K W. 2010. Increasing importance of small phytoplankton in a warmer ocean. *Glob Change Biol*, 16: 1137–1144
- Painchaud J, Lefavre D, Therriault J, Legendre L. 1996. Bacterial dynamics in the upper St. Lawrence estuary. *Limnol Oceanogr*, 41: 1610–1618
- Paine R T. 1966. Food web complexity and species diversity. *Am Naturalist*, 100: 65–75
- Pasulka A L, Samo T J, Landry M R. 2015. Grazer and viral impacts on microbial growth and mortality in the southern California Current Ecosystem. *J Plankton Res*, 37: 320–336
- Pearce I, Davidson A T, Thomson P G, Wright S, van den Eenden R. 2010. Marine microbial ecology off East Antarctica (30–80°E): Rates of bacterial and phytoplankton growth and grazing by heterotrophic protists. *Deep Sea Res Part II-Topic Stud Oceanogr*, 57: 849–862
- Pernthaler J. 2005. Predation on prokaryotes in the water column and its ecological implications. *Nat Rev Microbiol*, 3: 537–546
- Philippot L, Andersson S G E, Battin T J, Prosser J I, Schimel J P, Whitman W B, Hallin S. 2010. The ecological coherence of high bacterial taxonomic ranks. *Nat Rev Microbiol*, 8: 523–529
- Sanders R W, Caron D A, Berninger U G. 1992. Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: An inter-ecosystem comparison. *Mar Ecol Prog Ser*, 86: 1–14
- Schattenhofer M, Wulf J, Kostadinov I, Glöckner F O, Zubkov M V, Fuchs B M. 2011. Phylogenetic characterisation of picoplanktonic populations with high and low nucleic acid content in the North Atlantic Ocean. *Systat Appl Microbiol*, 34: 470–475
- Sebastián M, Auguet J, Restrepo-Ortiz C X, Sala M M, Marrasé C, Gasol J M. 2018. Deep ocean prokaryotic communities are remarkably malleable when facing long-term starvation. *Environ Microbiol*, 20: 713–723
- Segovia B T, Meira B R, Lansac-Toha F M, Amadeo F E, Unrein F, Velho L F M, Sarmento H. 2018. Growth and cytometric diversity of bacterial assemblages under different top-down control regimes by using a size-fractionation approach. *J Plankton Res*, 40: 129–141
- Servais P, Casamayor E O, Courties C, Catala P, Parthuisot N, Lebaron

- P. 2003. Activity and diversity of bacterial cells with high and low nucleic acid content. *Aquat Microb Ecol*, 33: 41–51
- Shi Q, Wallace D. 2018. A 3-year time series of volatile organic iodocarbons in Bedford Basin, Nova Scotia: A northwestern Atlantic fjord. *Ocean Sci*, 14: 1385–1403
- Sieburth J M N, Smetacek V, Lenz J. 1978. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions 1. *Limnol Oceanogr*, 23: 1256–1263
- Sintes E, del Giorgio P A. 2014. Feedbacks between protistan single-cell activity and bacterial physiological structure reinforce the predator/prey link in microbial foodwebs. *Front Microbiol*, 5: 453
- Suttle C A. 2007. Marine viruses—Major players in the global ecosystem. *Nat Rev Microbiol*, 5: 801–812
- Tadonl  k   R D, Planas D, Lucotte M. 2005. Microbial food webs in boreal humic lakes and reservoirs: Ciliates as a major factor related to the dynamics of the most active bacteria. *Microb Ecol*, 49: 325–341
- Thingstad T F, Lignell R. 1997. Theoretical models for the control of bacterial growth rate, abundance, diversity and carbon demand. *Aquat Microb Ecol*, 13: 19–27
- Unrein F, Massana R, Alonso-Sáez L, Gasol J M. 2007. Significant year-round effect of small mixotrophic flagellates on bacterioplankton in an oligotrophic coastal system. *Limnol Oceanogr*, 52: 456–469
- Worden A Z, Follows M J, Giovannoni S J, Wilken S, Zimmerman A E, Keeling P J. 2015. Rethinking the marine carbon cycle: Factoring in the multifarious lifestyles of microbes. *Science*, 347: 1257594
- Xiao X, Powers L C, Liu J, Gonsior M, Zhang R, Zhang L, MacIntyre H L, Chen X, Hu C, Batt J, Shi Q, Xu D, Zhang Y, Jiao N. 2022. Biodegradation of terrigenous organic matter in a stratified large-volume water column: Implications of the removal of terrigenous organic matter in the coastal ocean. *Environ Sci Technol*, 56: 5234–5246
- Yang J, Huang S, Fan W, Warren A, Jiao N, Xu D. 2020. Spatial distribution patterns of planktonic ciliate communities in the East China Sea: Potential indicators of water masses. *Mar Pollution Bull*, 156: 111253
- Zhang L, Chen M, Chen X, Wang J, Zhang Y, Xiao X, Hu C, Liu J, Zhang R, Xu D, Jiao N, Zhang Y. 2021. Nitrifiers drive successions of particulate organic matter and microbial community composition in a starved macrocosm. *Environ Int*, 157: 106776

(责任编辑: 胡建芳)