

海洋暗光层颗粒附着微生物的群落演替和生态功能

荆红梅^{1,2,3}, 刘皓¹, 张玥¹, 刘红斌⁴

(1.中国科学院深海科学与工程研究所,海南 三亚 572000;2.南方海洋科学与工程广东省实验室(珠海),
广东 珠海 519082;3.中国科学院三亚海洋科学综合实验室,海南 三亚 572000;
4.香港科技大学 海洋科学系,香港 999077)

摘要:暗光层是各类元素到达更深水域或海底的必经通道,是海洋对颗粒有机物(particulate organic matter, POM)进行显著降解和生物利用的水层.微生物参与了暗光层中有机物的迁移转化过程,但对其群落演替和代谢活性知之甚少.研究总结了暗光层的环境特征及相关微生物类群的结构和功能,并结合不同海域暗光层上下界面垂直水层中的颗粒附着微生物的群落演替、碳源利用及潜在的生态功能,来解析微生物在暗光层中的空间动态变化,并反映该生态位中微生物对碳源的选择偏好.在未来全球变暖与海洋生物泵作用相对增强的背景下,今后的研究更需聚焦暗光层中的微生物类群,并统一 POM 粒级划分标准,来阐明暗光层中微型碳泵和深海碳沉降的调控及贡献.

关键词:暗光层;颗粒有机物;群落演替;碳源利用;生态功能

中图分类号:Q938.8

文献标志码:A

文章编号:1000-2367(2024)05-0126-08

1 海洋暗光层的定义及特征

暗光层(twilight zone)是位于真光层(0~200 m)和无光层(~1 000 m)之间的过渡地带,又称为弱光层(disphotic zone)^[1],但是这种深度对于不同的研究也不是绝对的,有研究指出可以根据光照强度来定义暗光层,覆盖范围从 10^{-9} 到 $10^{-1} \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[2].暗光层虽然具有微弱的太阳辐射,但无法满足光合作用,表现出静水压增加、光线减弱、无机营养浓度高和食物供应不稳定等主要特征.暗光层受水团边界、海流、切变带、内部潮汐、漩涡等影响,因而具有不连续性的物理化学特性.真光层浮游植物在进行光合作用时伴随着大量有机颗粒物的产生,通过暗光层向深海沉降^[3].暗光层是各类元素到达更深水域或海底的必经通道,也是海洋中对颗粒有机物进行显著降解和生物利用的水层.约70%的有机碳都在暗光层被分解^[4],维持着高度多样性和活跃的细菌、古菌、病毒、原生物和浮游动物等.暗光层所具有的这些物理和生物地球化学特征构建了特殊的生态位,是研究微生物多样性及其驱动有机物转化的热点.

2 暗光层中颗粒有机物的动力学过程

海洋中的颗粒有机物主要包括悬浮的沉积物颗粒、浮游植物及碎屑、浮游动物和鱼的粪球、聚集体、海洋雪、凝胶、透明外聚合颗粒物和胶体微粒等不同粒径组分,其来源主要可分为陆源、海源以及海底沉积物的再

收稿日期:2023-04-01;修回日期:2023-07-12.

基金项目:国家自然科学基金(41776147);三亚市院地科技合作项目(2014YD05);国家重点研发计划(2022YFC2805505);
海南省自然科学基金(424MS115).

作者简介(通信作者):荆红梅(1977-),女,河南新乡人,中国科学院深海科学与工程研究所研究员,研究方向为海洋微生物分子生态学,E-mail:hmjing@idsse.ac.cn.

引用本文:荆红梅,刘皓,张玥,等.海洋暗光层颗粒附着微生物的群落演替和生态功能[J].河南师范大学学报(自然科学版),2024,52(5):126-133.(Jing Hongmei,Liu Hao,Zhang Yue,et al.Community succession and ecological functions of particle attached microbes in the twilight zone[J].Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition),2024,52(5):126-133.DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2023.04.01.0001.)

悬浮。海水中的颗粒有机碳(particulate organic carbon, POC)不仅在一定程度上控制着溶解有机碳(dissolved organic carbon, DOC)的转化,还是生物摄食与代谢中的主体,对海洋生态系统食物链结构影响巨大。由真光层输出的大部分生源颗粒物于暗光层内再矿化,导致其所携带的环境信息可能消失。同时,暗光层内的悬浮颗粒物通过生物和物理过程聚集成粒径较大的沉降颗粒,携带着暗光层的环境信息,一同沉入深海^[5]。

全球海洋通量联合研究计划(joint global ocean flux study, JGOFS)实施 15 年以来表明暗光层是大洋 POC 输出通量衰减最为显著的区域^[6]。然而,暗光层颗粒动力学是目前海洋碳循环研究中最薄弱的环节之一。多数针对暗光层 POC 输出通量和有机颗粒再矿化的研究是间接基于真光层和深海 POC 输出通量的比较。通常在高纬度海域暗光层 POC 的再矿化速率较快;在较低纬度的热带海区真光层的 POC 输出通量较低,暗光层有机颗粒的再矿化速率较为缓慢^[7]。在中国南海东北部,缓慢下沉的颗粒($\sim(15 \pm 9)$ m/d)对 POC 输出通量具有较大贡献,而在暗光层约 70% 由真光层输入的 POC 被再矿化^[8]。有机物粒径大小会影响其沉降率和周转率,是影响暗光层 POC 衰减过程的重要因子之一。传统物理海洋研究集中在较大的粒径上,通常更大的粒径下沉得更快^[9];但真光层向下沉降的主要 POC 通量与较小粒径有关^[10],缓慢的下降速度增加了小粒径在暗光层中的停留时间,增加了再矿化时间。有研究表明粒径 $<50 \mu\text{m}$ 的 POC 是寡营养西北太平洋输出到暗光层 POC 的重要贡献者,贡献率平均为 $(52 \pm 6)\%$ ^[11]。因此,只有研究清楚暗光层微生物介导的有机颗粒的聚集、解聚集、再矿化过程,才可能更准确地解读出更多深海颗粒动力学和生物生态学的信息。

3 暗光层微生物生态分布和代谢特征

暗光层浮游微生物的群落结构有别于真光层和深层海水^[12-13],其生物多样性和细胞丰度明显高于海洋深层水^[14]。这种垂直分层的差异可能是由于不同水层中可利用物质和能量的梯度分布所导致的。在北大西洋,*Chloroflexi* 的 SAR202 已被证明在表层叶绿素最大值以下水层非常丰富,在 500 m 至更深水层的暗光层区域其平均丰度比可达 10%^[15]。在地中海西部海域的暗光层中颗粒附着微生物多样性远低于自由生活微生物群落,并以 *Alteromonas macleodii* 为优势类群^[16],颗粒附着的氢氧化细菌存在不同的系统发育类型,主要隶属于 *Nitrosomonas eutropha* 类群^[17]。在太平洋暗光层中,Crenarchaeota Group I 最高可占微型浮游生物的 40%^[18]。南海暗光层中以 Proteobacteria 为优势门类;且 800 m 的群落结构与 0 和 200 m 有显著差异; γ -Proteobacteria 在 0 和 200 m 处占主导地位,但在 800 m 处以 α -Proteobacteria 占优^[19]。对于不同的颗粒, γ -Proteobacteria 的相对丰度在 200 m 处增加,随着 POC 粒径减小,在暗光层的上下界面都观察到 γ -Proteobacteria 比例的降低和 α -Proteobacteria 比例的增加;同时 Rhodobacterales 的比例也有所下降,在暗光层下界面的较大颗粒(50~200 μm)上,Sphingomonadales 和 Rhodobacterales 占主导地位^[19]。南海暗光层下界面的微生物多样性与上层水体中有显著差异,而从真光层到暗光层上界面没有发生显著的群落演替,这可能与两个水层的连续性有关。有研究证明在中国南海,表层与深海中的微生物群落组成之间存在潜在的垂直连接,可能是由微生物附着在下沉颗粒上所导致的^[20]。 α -/ γ -Proteobacteria 相对丰度在深度的差异分布可能归因于温度效应,因前者具有更高的最适生长温度(25~35 $^{\circ}\text{C}$)^[21],更接近于海面温度。SAR11 生态型 II 是暗光层 SAR11 进化枝的主要来源^[13,22]。同时,暗光层微生物存在着独特的微生物群落和生活方式,展现出较大的基因组和较高细胞特异性呼吸活动等特征^[23-24]。海洋异养细菌在暗光层的代谢活性以及基因多样性等方面均超过了其他微型生物^[25],其代谢功能主要与高静水压力或降解有机物密切相关,包括细胞壁/膜/包膜生物发生、细胞骨架、防御机理、信号转导机理、复制、重组和修复以及无机离子转运和代谢等。不同微生物类群发挥各自代谢特点,推动了海洋暗光层食物环中能流和物流循环。

4 暗光层微生物驱动的海洋碳循环

海洋碳循环主要受溶解泵和生物泵两种机制调控。微型生物碳泵(microbial carbon pump, MCP)理论阐述了微型生物可不依赖于颗粒碳降解而驱动从活性有机碳到惰性 DOC 的转化并进行储碳的过程^[4]。海洋生物泵包括浮游植物将真光层中的溶解无机碳通过光合作用转化为 POC 和将 POC 向深部海洋垂直输送两个过程,至少在深海中百年尺度以上才能视为碳封存的有效途径^[26-27]。POC 输出的生物来源与海洋表层群落

的细胞类型相关,而与其细胞大小无关,所有的初级生产者类型的细胞都可以与其生产速率成比例的向下输出 POC^[28].不同海域海水的营养状况不同,真光层中生活的浮游动植物种类不同,所形成的不同粒径颗粒物的营养成分及结构不同,因而所附着的微生物丰度、种类及群落结构也有所差异.不同来源的 POC 组成结构不同,在暗光层中的矿化、降解、沉降的速率和过程也就不同.POC 可支持自养和异养微生物群落,为微生物提供生活空间和有机质来源,也是营养物质快速循环的活性中心.在向下沉降的过程中,颗粒附着微生物在时刻进行着降解、厌氧氧化等矿化过程.垂直 POC 通量在海洋暗光层区域迅速衰减,大部分沉降的 POC 在暗光层中消失^[29],这是由于生物(定植生物的代谢)和非生物(矿物溶解)过程导致的.细菌和浮游动物在暗光层获得碳的机制可能会影响着 POC 沉降转为 CO₂ 的再矿化作用,决定了海洋的储碳效率^[30-31];同时,POC 通量的减少影响着暗光层的空间异质性,进而影响细菌群落.暗光层浮游动物包括持续存在以及昼夜(或季节性)垂直迁徙的捕食型浮游生物,它们可将巨大的沉降海洋雪碎裂成较小的缓慢下沉或悬浮的团聚体^[32].通过沉积物捕集器测定亚热带太平洋夏威夷海洋时间序列站和热带日本时间序列站 K2 暗光层下沉 POC 损失量后发现,在海域暗光层中细菌对碳的需求量是浮游动物需求量的 3 倍^[25].有研究发现,尽管大多数有机碳以大型浮游动物可接触到的快速沉降大颗粒的形式存在,但在海洋暗光层的再矿化过程中,原核生物占了 70% 至 92%.这是因为浮游动物破坏和摄取的快速下沉颗粒物中,约有 50% 可能会被释放为悬浮和缓慢下沉的物质,刺激深海微生物碳循环^[33].异养原核生物在营养贫乏的环境中会附着在营养物质的表面生物膜中生长,当水体中的营养物质变得丰富,则恢复到自由生长的最优增长模式^[34].POC 中的各种需氧及厌氧微生物形成互利的氧化还原微环境,以利于自己的生存代谢并参与生物地球化学循环,共同推动海洋暗光层食物环中有机物的循环.还有研究表明微生物颗粒的降解与沉降速率相关,沉降颗粒(1~8 m/d)的降解率相对于悬浮颗粒增加了 10 倍.潜在的机制是寡聚物通过酶抑制颗粒降解,寡聚物的积累在低沉降速率下建立了对酶活性的竞争.以上表面微生物生理学、流体动力学和生物化学竞争在微观尺度上的复杂相互作用^[35].同时,暗光层的暗碳固定对于全球海洋的碳汇也起着重要作用,根据阿拉伯海实验结果的外推,全球海洋暗光层中暗碳固定量占全球海洋初级生产力的 15%^[36].

5 暗光层颗粒附着微生物的碳源利用潜能

真光层产生的大多数(约 70%~90%)POC 在暗光层被微生物降解和再矿化^[37],导致只有 0.1%~0.3%的 POC 最终被埋在海底沉积物中^[38].颗粒有机物中的营养水平较周围水体中明显偏高,是主要的地球化学碳元素循环发生的场所^[39].与自由生活的微生物相比,附着颗粒的微生物通常多样性更高^[40],具有更高的 POC 利用水解活性^[41],对环境变量的反应更少^[40,42].同时粒径是影响颗粒附着微生物组成和活性的一个重要参数^[43].因此,对附着在不同大小颗粒物上的微生物进行对比研究,将有助于理解它们在暗光层不同深度的种群变化和在 POC 转化中的潜在功能.颗粒附着微生物往往具有更高的胞外酶活性和代谢活性^[44-45],其丰度主要受悬浮颗粒的数量和质量的影响^[46].附着于颗粒有机物上的微生物会分泌胞外酶^[47],将颗粒有机碳分解为溶解有机碳,因此其水解 POC 的速度远远超过利用释放 DOC 的速度,从而在颗粒有机碳后面形成了营养丰富的 DOC 羽流,进一步被周围环境中的自由生活细菌所利用,支持其生长繁殖和呼吸消耗^[48-49].据报道,POC 的碳源因不同的粒径和水深而异^[32],依赖于 BiologEcoPlate™ 生态板进行模拟培养实验将有助于快速了解从真光层到暗光层的垂直水柱中不同粒径颗粒有机物附着微生物的碳源底物利用潜力.南海暗光层中微生物碳源底物利用随着培养时间的增加,碳水化合物和羧酸的利用主要发生在表层和暗光层上界面;氨基酸类、碳水化合物、羧酸的利用率趋势相似;胺类与聚合物的利用率相似,在上界面远高于下界面.在生态板培养过程中优先利用且容易降解的有机物,也是通常认为的水柱中最主要的生物可利用碳源^[50-51].在培养过程中,平均颜色变化率(average well color development, AWCD)值基本都是先进入指数增长期,然后进入稳定期.该值反映了暗光层上下两个界面的微生物碳代谢活性有显著不同($p < 0.05$),可能是由两层之间明显不同的群落组成引起的,也可能与这两边界层有机碎屑的差异有关^[19].暗光层中的大多数下沉有机物是以海洋雪、粪便颗粒和其他碎屑颗粒的形式存在的,并且之前可能已经被浮游动物多次摄入而改变组成和结构,微生物选择性地吸收了最容易利用且富有营养的有机物^[52],导致了暗光层下界面的碎

屑中难降解多糖的相对比例增加^[23,53]。在暗光层的上界面聚合物和碳水化合物被优先使用,其次是氨基酸,可能与该界面的优势类群 *Alteromonadales* 和 *Pseudomonadales* 有关。这两类群可以将高浓度的聚合物和碳水化合物作为碳源^[51,54];其中 *Alteromonadales* 可以分泌一系列胞外酶来降解和利用海洋中的各种有机物质,在海洋下沉颗粒有机物的矿化和生物地球化学转化中发挥着关键作用。在暗光层的下界面,聚合物和氨基酸被优先使用,可能是由于该界面中 *Rhodobacterales* 的占比较高。该类群可降解各类聚合物,如胞外聚合物颗粒^[55]和几丁质^[56]。氨基酸主要来源于海洋生物降解、蛋白质水解、细胞外排泄和食物链各级代谢产物,是海洋有机氮和有机碳的重要组成部分。它们通常被微生物优选为可用碳源,并以高亲和力运输到细胞中^[57]。以上表明了真光层和暗光层上下界面不同粒径附着微生物群落的碳源选择、碳源利用效率和代谢活性均具有明显差异。

6 暗光层颗粒附着微生物的生态功能

近年来,微生物参与的暗光层颗粒动力过程已引起研究者的高度重视。异养微生物在暗光层和深海将沉降有机碳转化为 CO_2 的速率对于调控海洋碳储存起着重要的作用。海洋颗粒附着微生物在海洋营养盐再生、生源要素(碳、氮、磷、硫、铁等)循环、食物网物质、能量和遗传信息流动等方面中发挥着重要作用。它们通过呼吸作用影响 POM 的降解,从而影响海洋 POM 的再矿化深度、海洋生物泵储碳作用、海洋对大气 CO_2 浓度及全球气候变化的调节作用;另一方面,附着微生物在降解 POM 的同时,加速营养盐再生,促进海洋真光层的光合固碳作用和弱光、无光层进行的微生物化能自养固碳作用,从而将生物泵及微型生物碳泵过程耦合起来,对全球气候变化和海洋环境变化发挥着重要作用^[58]。

南海暗光层中颗粒附着微生物的潜在生态功能包括碳水化合物代谢、氨基酸代谢、脂肪代谢、糖合成代谢、外源生物降解和代谢,并在表层和暗光层上下界面之间的代谢类别差异显著($p < 0.05$)。氨基酸代谢是最丰富的功能类别,其次是碳水化合物代谢。暗光层上界面的大颗粒($50 \sim 200 \mu\text{m}$)中各种代谢类别相对丰度最低,可能是因为较大的颗粒能迅速从透光带下沉到暗光层^[59],导致了微生物的代谢活性降低。参与肽聚糖和脂多糖生物合成途径在暗光层上下两个边界处的相对丰度较高;这些聚合反应过程已在先前的研究中得到证实^[60]。此外,尽管南海暗光层上下界面之间的原核群落结构存在显著差异($p < 0.05$),但大多数代谢途径及相对丰度相似;这表明暗光层区域的微生物生态功能和主要代谢过程相对稳定^[61]。另外,暗光层的再矿化主要是由异养微生物主导的^[62],其速率决定了生物泵的储碳效率^[63]。在暗光层中,原核微生物对 POC 的衰减约占总量的 $50\% \sim 93\%$ ^[33],经过暗光层的异养生物再矿化作用最终达到深海的碳通量仅有 $2 \sim 4 \text{ pg} \cdot \text{a}^{-1}$ ^[64],因此研究暗光层颗粒附着微生物的生态功能至为重要,尤其在理解暗光层生物泵和微型生物碳泵过程对评估海洋储碳能力和调节全球气候变化的生态问题上。

7 存在问题和发展趋势

7.1 聚焦于暗光层及微生物

暗光层是连接真光层和海底沉积物的重要水层,是 POM 和溶解有机物(dissolved organic matter, DOM)在海水中的垂直强烈分解和循环发生的区域^[32]。目前对颗粒物从真光层向深海的沉积过程和沉积速率等方面研究较多,但是对于微生物驱动的暗光层颗粒物迁移转化的代谢生态功能方面还不甚了解。人们一直认为是海洋浮游动物利用了沉降的碳,但细菌在暗光层对有机碳的需求更高^[32]。暗光层附着在颗粒物上的微生物可通过产生外水解酶分解大颗粒 POC,或自身利用或转变成较小粒度($0.3 \sim 0.6 \mu\text{m}$)的非沉降性颗粒物^[65]来影响海洋 POC 再矿化深度和海洋生物泵储碳作用。根据地球系统模型评估,如果没有强力的减排措施,预计到 2100 年暗光层的生态就会受到广泛的破坏,影响将持续数千年^[66]。此外,微生物群落结构在暗光层与真光层和深海层之间具有显著差异^[12]。暗光层的多种微生物群落可对下沉和悬浮的有机物质进行重新包装和再处理,同时也是释放粪便球和溶解有机物的主要贡献者。然而,微生物对碳沉降通量的潜在贡献经常由于自身个体较小、沉降速度较低而往往被忽视。事实上,微生物在海洋碳的生物转移中发挥着至关重要的作用^[67]。目前,大多数研究集中于整个水柱微生物的多样性和群落结构方面,忽略了暗光层中微

生物类群组成和功能的研究,因此微生物在暗光层沉降颗粒消耗的相对贡献尚不清楚,这些贡献是否随深度和生境而变化,或者微生物在暗光层中消耗分解碳的根本机制如何影响沉降 POC 的再矿化均需进一步的研究.在未来全球变暖以及海洋生物泵作用相对增强的背景下,深入探究暗光层微生物群落的演替格局和生态贡献,将有助于了解微生物驱动的海洋有机物质的转化过程.

7.2 粒级的标准化

颗粒物的粒度已被证明是影响微生物分布、群落组成和活性的重要参数^[43].相对于自由生活的微生物,颗粒附着微生物通常较大、局部密度较高,并表现出较高的底物获取、酶活性、蛋白质生成和呼吸速率^[44].目前普遍认为颗粒附着微生物对沉降过程中有机碳降解作用显著^[32],但其具体贡献仍知之甚少.在生态学上,通常采用 0.22 μm 、0.8 μm 、1.6 μm 和 3 μm 来表示自由生活和不同粒度颗粒附着微生物,以此探求颗粒附着和浮游微生物群落的共性和差异性^[40].而海洋物理学中不同粒度 POC 的常用划分标准无法针对相对应颗粒附着微生物进行耦合研究.因此,针对现有标准的不同颗粒附着微生物在暗光层沉降颗粒的消耗作用以及相对重要性尚不清楚,其群落结构和潜在功能在空间上是否具有差异也不得而知,尤其在暗光层消耗分解碳的作用与差异等方面均需进一步研究.

目前,POM 与 DOM 在国际上通常使用孔径大小为 0.7 μm 的 GF/F 玻璃纤维膜或 0.2 μm 大小的滤膜来划分.事实上,粒径更小的 0.2 μm 更接近 DOM 的化学理论定义^[68].但由于化学上首要解决定量问题,目前是通过灼烧法对 POM 中的元素含量进行测定,对应可选材质合适的膜只有 0.7 μm 的 GF/F 玻璃纤维膜,忽略了 0.2~0.7 μm 之间不到 1% 的细菌来源含碳量^[69].而在 DOM 定量上,如样品滤水量过少,因过滤操作而产生的背景污染(滤膜污染)可能都超过了大洋样品中少量真实存在的颗粒态有机物含量,导致滤膜污染产生的差异大于样品本身的差异.目前,0.7 μm 是在海洋化学上可接受的划分界限,而从生物学上,传统认为大部分细菌能够被 0.2 μm 孔径的膜截留,是较为合理的操作粒径^[70].因此,从不同研究目的出发,滤膜孔径大小和类型的选择是灵活多变的,为实验的可行性提供基本保障.

众所周知,颗粒尺寸会影响颗粒的沉积,较大的颗粒通常富含有机碳,它们以海雪的形式迅速下沉^[32].采用 ²²⁸Th/²²⁸Ra 不平衡方法^[59]研究了南海北部真光层和暗光层 POC 的输出通量,结果表明,较大的颗粒对深海的碳通量和固存贡献更大,而较小的颗粒在暗光层被再矿化^[37].因此,整合传统物理海洋和生物学研究使其粒子分级统一化,对于研究暗光层颗粒附着微生物对元素生物地球化学循环,尤其是碳循环过程是非常重要的.

7.3 技术发展及应用

随着分子生物学技术的发展,宏基因组学、宏转录组学和蛋白组学等应用于解析暗光层的不同来源颗粒的蛋白表征及其功能^[53,57].同时也可以利用稳定同位素标记碳源(如葡萄糖)作为底物来培养暗光层中的微生物,通过提取和分离带有 ¹³C 标记的总 DNA,结合高通量测序技术等可以分析活跃利用该种底物的微生物群落的组成. BiologEcoPlate™ 生态板模拟培养实验也用以初步调查微生物群落的碳源利用方式和代谢活性.目前各种方法之间存在差异,因此有必要在同一海区进行多种方法的比较,并结合沉积物捕获器,卫星遥感, ²³⁴Th/²³⁸U 和 ²¹⁰Po/²¹⁰Pb 等方法来定量暗光层有机物的矿化速率和深海沉降的碳通量,厘清微生物在暗光层有机物的迁移转化中的作用及贡献.

参 考 文 献

- [1] GALI M, RUPRICH-ROBERT Y. The twilight zone of the Earth's carbon cycle[J]. Project Repository Journal, 2021, 11: 60-63.
- [2] KAARTVEDT S, LANGBEHN T J, AKSNES D L. Enlightening the ocean's twilight zone[J]. ICES Journal of Marine Science, 2019, 76(4): 803-812.
- [3] AZAM F, MALFATTI F. Microbial structuring of marine ecosystems[J]. Nature Reviews Microbiology, 2007, 5(10): 782-791.
- [4] JIAO N Z, HERNDL G J, HANSELL D A, et al. Microbial production of recalcitrant dissolved organic matter: long-term carbon storage in the global ocean[J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(8): 593-599.
- [5] KRIEST I, EVANS G T. Representing phytoplankton aggregates in biogeochemical models[J]. Deep-Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 1999, 46(11): 1841-1859.
- [6] BUESSELER K O, ANDREWS J A, HARTMAN M C, et al. Regional estimates of the export flux of particulate organic carbon derived

- from thorium-234 during the JGOFS EqPac program[J].Deep Sea Research,1995,42(2/3):777-791.
- [7] FRANCOIS R,HONJO S,KRISHFIELD R,et al.Factors controlling the flux of organic carbon to the bathypelagic zone of the ocean[J].Global Biogeochemical Cycles,2002,16(4):1087.
- [8] YANG W,ZHAO X,ZHENG M.Slow-sinking particulate organic carbon and its attenuation in the mesopelagic water of the South China Sea[J].Frontier in Marine Science,2022,9:1018825.
- [9] IVERSEN M H,PLOUG H.Temperature effects on carbon-specific respiration rate and sinking velocity of diatom aggregates-potential implications for deep ocean export processes[J].Biogeosciences,2013,10(6):4073-4085.
- [10] RICHARDSON T L,JACKSON G A.Small phytoplankton and carbon export from the surface ocean[J].Science,2007,315(5813):838-840.
- [11] HUNG C C,GONG G C.POC/²³⁴Th ratios in particles collected in sediment traps in the northern South China Sea[J].Estuarine Coastal and Shelf Science,2010,88(3):303-310.
- [12] DELONG E F,PRESTON C M,MINCER T,et al.Community genomics among stratified microbial assemblages in the ocean's interior[J].Science,2006,311(5760):496-503.
- [13] CARLSON C A,MORRIS R,PARSONS R,et al.Seasonal dynamics of SAR11 populations in the euphotic and mesopelagic zones of the northwestern Sargasso Sea[J].The ISME Journal,2009,3(3):283-295.
- [14] LI J,WEI B,WANG J,et al.Variation in abundance and community structure of particle-attached and free-living bacteria in the South China Sea[J].Deep Sea Research,2015,122:64-73.
- [15] MORRIS R M,RAPPÉ M S,URBACH E,et al.Prevalence of the Chloroflexi-related SAR202 bacterioplankton cluster throughout the mesopelagic zone and deep ocean[J].Applied and Environmental Microbiology,2004,70(5):2836-2842.
- [16] ACINAS S G,ANTÓN J,RODRÍGUEZ-VALERA F.Diversity of free-living and attached bacteria in offshore Western Mediterranean waters as depicted by analysis of genes encoding 16S rRNA[J].Applied and Environmental Microbiology,1999,65(2):514-522.
- [17] PHILLIPS C J,SMITH Z,EMBLEY T M,et al.Phylogenetic differences between particle-associated and planktonic ammonia-oxidizing bacteria of the beta subdivision of the class Proteobacteria in the Northwestern Mediterranean Sea[J].Applied and Environmental Microbiology,1999,65(2):779-786.
- [18] KARNER M B,DELONG E F,KARL D M.Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean[J].Nature,2001,409(6819):507-510.
- [19] LIU H,WANG F Z,LIU H B,et al.Metabolic activity and community structure of prokaryotes associated with particles in the twilight zone of the South China Sea[J].Frontiers in Microbiology,2022,13:1056860.
- [20] LI J,GU L,BAI S,et al.Characterization of particle-associated and free-living bacterial and archaeal communities along the water columns of the south china sea[J].Biogeosciences,2021,18(1):113-133.
- [21] KAFTAN D,MEDOVA H,SELYANIN V,et al.Extended temperature optimum of photosynthetic reaction centers in *Rhodobacterales* [J].Photosynthetica,2019,57:361-366.
- [22] MORRIS R M,CHO J C,RAPPE M S,et al.Bacterioplankton responses to deep seasonal mixing in the Sargasso Sea[J].Limnology and Oceanography,2005,50:382-391.
- [23] LAURO F M,BARTLETT D H.Prokaryotic lifestyles in deep sea habitats[J].Extremophiles,2008,12(1):15-25.
- [24] GASOL J M,DEL GIORGIO P A.Using flow cytometry for counting natural planktonic bacteria and understanding the structure of planktonic bacterial communities[J].Scientia Marina,2000,64(2):197-224.
- [25] STEINBERG D K,VAN MOOY B A S,BUESSELER K O,et al.Bacterial vs.zooplankton control of sinking particle flux in the ocean's twilight zone[J].Limnology and Oceanography,2008,53(4):1327-1338.
- [26] CLAUSTRE H,JOHNSON K S,TAKESHITA Y.Observing the global ocean with biogeochemical-argo[J].Annual Review of Marine Science,2020,12:23-48.
- [27] ALCOLOMBRI U,PEAUDECERF F J,FERNANDEZ V I,et al.Sinking enhances the degradation of organic particles by marine bacteria [J].Nature Geoscience,2021,14:775-780.
- [28] CLOSE H G,SHAH S R,INGALLS A E,et al.Export of submicron particulate organic matter to mesopelagic depth in an oligotrophic gyre[J].Proceedings of the National Academy of Sciences,2013,110(31):12565-12570.
- [29] MARTIN J H,KNAUER G A,KARL D M,et al.VERTEX:carbon cycling in the northeast Pacific[J].Deep Sea Research,1987,34(2):267-285.
- [30] BUESSELER K O,BOYD P W,BLACK E E,et al.Metrics that matter for assessing the ocean biological carbon pump[J].Proceedings of the National Academy of Sciences,2020,117(18):9679-9687.
- [31] BOSCOLO-GALAZZO F,CRICHTON K A,RIDGWELL A,et al.Temperature controls carbon cycling and biological evolution in the ocean twilight zone[J].Science,2021,371(6534):1148-1152.
- [32] GOLDTHWAIT S,YEN J,ALLDREDGE B A.Quantification of marine snow fragmentation by swimming euphausiids[J].Limnology and

- Oceanography, 2004, 49(4): 940-952.
- [33] GIERING S L C, SANDERS R, LAMPITT R S, et al. Reconciliation of the carbon budget in the ocean's twilight zone[J]. *Nature*, 2014, 507: 480-483.
- [34] COSTERTON J. Overview of microbial biofilms[J]. *Journal of Industrial Microbiology*, 1995, 15(3): 137-140.
- [35] BOYD P W, KENNEDY F. Microbes in a sea of sinking particles[J]. *Nature Microbiology*, 2021, 6(12): 1479-1480.
- [36] SAXENA H, SAHOO D, NAZIRAHMED S, et al. Contribution of carbon fixation toward carbon sink in the ocean twilight zone[J]. *Geophysical Research Letters*, 2022, 49(18): e2022GL099044.
- [37] BUESSELER K O, LAMBORG C H, BOYD P W, et al. Revisiting carbon flux through the ocean's twilight zone[J]. *Science*, 2007, 316(5824): 567-570.
- [38] ARISTEGUI J, GASOL J M, DUARTE C M, et al. Microbial oceanography of the dark ocean's pelagic realm[J]. *Limnology and Oceanography*, 2009, 54(5): 1501-1529.
- [39] PAERL H, PINCKNEY J. A mini-review of microbial consortia: their roles in aquatic production and biogeochemical cycling[J]. *Microbial Ecology*, 1996, 31(3): 225-247.
- [40] ZHANG Y, JING H M, PENG X T. Vertical shifts of particle-attached and free-living prokaryotes in the water column above the cold seeps of the South China Sea[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2020, 156: 111230.
- [41] IVANCIC I, PALIAGA P, PFANNKUCHEN M, et al. Seasonal variations in extracellular enzymatic activity in marine snow-associated microbial communities and their impact on the surrounding water[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, 94(12): 5123706.
- [42] YUNG C M, WARD C S, DAVIS K M, et al. Insensitivity of diverse and temporally variable particle-associated microbial communities to bulk seawater environmental parameters[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(11): 3431-3437.
- [43] ELOE E A, SHULSE C N, FADROSH D W, et al. Compositional differences in particle-associated and free-living microbial assemblages from an extreme deep-ocean environment[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2011, 3(4): 449-458.
- [44] GROSSART H P, TANG K W, KIØRBOE T, et al. Comparison of cell-specific activity between free-living and attached bacteria using isolates and natural assemblages[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2007, 266(2): 194-200.
- [45] LAPOUSSIERE A, MICHEL C, STARR M, et al. Role of free-living and particle-attached bacteria in the recycling and export of organic material in the Hudson Bay system[J]. *Journal of Marine Systems*, 2011, 88(3): 434-445.
- [46] GHIGLIONE J F, CONAN P, PUJO-PAY M. Diversity of total and active free-living vs. particle-attached bacteria in the euphotic zone of the NW Mediterranean Sea[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2009, 299(1): 9-21.
- [47] SMITH D C, SIMON M, ALLDREDGE A L, et al. Intense hydrolytic enzyme activity on marine aggregates and implications for rapid particle dissolution[J]. *Nature*, 1992, 359: 139-142.
- [48] SIMON M, GROSSART H P, SCHWEITZER B, et al. Microbial ecology of organic aggregates in aquatic ecosystems[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, 28(2): 175-211.
- [49] FANG J, ZHANG L, LI J, et al. The POM-DOM piezophilic microorganism continuum (PDPMC)-the role of piezophilic microorganisms in the global ocean carbon cycle[J]. *Science China Earth Sciences*, 2015, 58(1): 106-115.
- [50] LEE C, WAKEHAM S G, HEDGES J I. Composition and flux of particulate amino acids and chloropigments in equatorial Pacific seawater and sediments[J]. *Deep Sea Research*, 2000, 47: 1535-1568.
- [51] HE Z, WANG Q, YANG G P, et al. Spatiotemporal variation characteristics and related affecting factors of dissolved carbohydrates in the East China Sea[J]. *Continental Shelf Research*, 2015, 108(3): 12-24.
- [52] MAYOR D J, COOK K, THOMTON B, et al. Absorption efficiencies and basal turnover of C, N and fatty acids in a marine calanoid copepod[J]. *Functional Ecology*, 2011, 25: 509-518.
- [53] PAKULSKI J, BENNER R. Abundance and distribution of carbohydrates in the ocean[J]. *Limnology and Oceanography*, 1994, 39: 930-940.
- [54] SINHA R K, KRISHNAN K P, THOMAS F A, et al. Polyphasic approach revealed complex bacterial community structure and function in deep sea sediment of ultra-slow spreading southwest Indian Ridge[J]. *Ecological Indicators*, 2019, 96: 40-51.
- [55] TAYLOR J D, CUNLIFFE M. Coastal bacterioplankton community response to diatom-derived polysaccharide microgels[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2017, 9(2): 151-157.
- [56] ENKE T N, LEVENTHAL G E, METZGER M, et al. Microscale ecology regulates particulate organic matter turnover in model marine microbial communities[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 2743.
- [57] GRZYMSKI J J, DUSSAQ A M. The significance of nitrogen cost minimization in proteomes of marine microorganisms[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(1): 71-80.
- [58] DANG H Y, LOVELL C R. Microbial surface colonization and biofilm development in marine environments[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2016, 80(1): 91-138.
- [59] 吕冬伟. 南海北部弱光层颗粒动力学[D]. 厦门: 厦门大学, 2005.
- LYU D W. Particle dynamics of weak light layer in the northern South China Sea[D]. Xiamen: Xiamen University, 2005.

- [60] MAYOR D J, SANDERS R, GIERING S L C, et al. Microbial gardening in the ocean's twilight zone: detritivorous metazoans benefit from fragmenting, rather than ingesting, sinking detritus[J]. *BioEssays*, 2014, 36: 1132-1137.
- [61] KONG L F, HE Y B, XIE Z X, et al. Illuminating key microbial players and metabolic processes involved in the remineralization of particulate organic carbon in the ocean's twilight zone by metaproteomics[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(20): e0098621.
- [62] LUTZ M, DUNBAR R, CALDEIRA K. Regional variability in the vertical flux of particulate organic carbon in the ocean interior[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2002, 16(3): 11-18.
- [63] 徐超, 柳欣, 黄毅彬, 等. 弱光层异养过程对海洋储碳的影响: 进展、挑战和展望[J]. *大气科学学报*, 2022, 45(3): 357-363.
- XU C, LIU X, HUANG Y B, et al. Effects of heterotrophic processes in the twilight zone on oceanic carbon sequestration: advances, challenges and perspectives[J]. *Transactions of Atmospheric Sciences*, 2022, 45(3): 357-363.
- [64] FRIEDLINGSTEIN P, OSULLIVAN M, JONES M W, et al. Global carbon budget 2020[J]. *Earth System Science Data*, 2020, 12(4): 3269-3340.
- [65] AZAM F, SMITH D C, CARLUCCI A F. Bacterial transformation and transport of organic matter in the Southern California Bight[J]. *Progress in Oceanography*, 1992, 30(1): 151-166.
- [66] KAWASAKI N, SOHRIN R, OGAWA H, et al. Bacterial carbon content and the living and detrital bacterial contributions to suspended particulate organic carbon in the North Pacific Ocean[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2011, 62: 165-176.
- [67] CRICHTON K A, WILSON J D, RIDGWELL A, et al. What the geological past can tell us about the future of the ocean's twilight zone[J]. *Nature Communications*, 2023, 14(1): 2376.
- [68] 谢彰先. 南海寡营养海区有机物分子生物地球化学研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2018.
- XIE Z X. The molecular biogeochemistry of marine organic matter in the oligotrophic South China Sea[D]. Xiamen: Xiamen University, 2018.
- [69] CARLSON C, GIOVANNONI S, HANSELL D, et al. Effect of nutrient amendments on bacterioplankton production, community structure, and DOC utilization in the northwestern Sargasso Sea[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2002, 30(1): 19-36.
- [70] JIAO N, ROBINSON C, AZAM F, et al. Mechanisms of microbial carbon sequestration in the ocean—future research directions[J]. *Biogeochemistry*, 2014, 11(19): 5285-5306.

Community succession and ecological functions of particle attached microbes in the twilight zone

Jing Hongmei^{1,2,3}, Liu Hao¹, Zhang Yue¹, Liu Hongbing⁴

(1. Institute of Deep-sea Science and Engineering, Chinese Academy of Sciences, Sanya 572000, China; 2. Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhuhai), Zhuhai 519082, China; 3. HKUST-CAS Sanya Joint Laboratory of Marine Science Research, Chinese Academy of Sciences, Sanya 572000, China; 4. The Department of Ocean Science, The Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong 999077, China)

Abstract: The twilight zone is the essential passage for various elements to reach deeper waters or the seabed, and degradation and utilization of the particulate organic matter (POM) were significantly occurred. Microbes are actively involved in the migration and transformation of the POM in the twilight zone. However, little is known about their community succession and metabolic activity associated with different particles in the twilight zone. We summarized the environmental features of the twilight zone and the structure and function of the related microbial groups. Together with and analyzed the spatial dynamic changes of prokaryotes in the twilight zone by combining the community succession, carbon source utilization, and potential ecological functions of particulate attached prokaryotes in the vertical water layer from the upper to the lower boundary of the twilight zone. It also reflected the initial preference of the carbon source by the natural microbes in this niche. In the context of the relatively enhanced pumping effect of marine organisms in the future global warming, future research needs to focus more on the microbial groups in the twilight zone, and unify the POM particle size classification criteria to clarify the spatial succession process of microorganisms in the twilight zone and their regulatory contributions to deep-sea carbon deposition.

Keywords: twilight zone; particulate organic matter; community succession; carbon source utilization; ecological function