

水环境中化能自养微生物种群及固碳功能研究

赵媛^{1,2}, 王倩^{1,2}, 袁权^{1,*}

(1.中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550081; 2.中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 化能自养微生物可通过还原性物质的氧化获取化学能以固定无机碳。在缺乏光照的海洋深处、水体沉积物等植物无法生存的环境中固碳, 对吸收大气、海洋、湿地中的 CO₂ 具有重要作用。本文基于化能自养微生物的研究现状, 概述了其固碳途径及参与化能自养固碳的主要微生物类群, 着重阐述了化能自养微生物在不同水环境中的固碳功能。同时, 本文对水环境中化能自养微生物研究的趋势进行了展望, 固碳量的精确计算与化能自养固定的有机碳的存在形式与去向应得到更多研究与探讨, 以期增进对碳循环的相关认识。

关键词: 碳循环; 化能自养微生物; 碳暗固定; 硫氧化; 硝化作用

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 1672-9250(2020)01-0153-08 doi: 10.14050/j.cnki.1672-9250.2020.48.010

大气 CO₂ 浓度升高导致的全球变暖是人类当前面临的严峻挑战, 除采取措施控制排放源外, 加强生态系统 CO₂ 固定同样是应对这一环境问题的重要手段。在海洋与陆地生态系统中, 科学家对生物稳碳和固碳作用的关注主要集中于光能自养型生物, 它们以大气或水中的 CO₂ 作为碳源, 在光照条件下将其转化为有机碳供给食物网或稳定储存。然而, 受到关注较少的化能自养微生物具有独特的代谢策略, 可在深海、湖泊深层等黑暗条件下及酸度、温度较高的环境中生存, 利用 H₂、CO、NH₃、NO₂⁻、H₂S、S⁰、S₂O₃²⁻、Fe²⁺ 等还原性物质作为电子供体将 CO₂ 转化为有机化合物^[1], 同样具有不可低估的固碳潜力。因而从探究全球碳汇与物质循环的角度出发, 探究化能自养微生物的固碳潜力具有现实意义。

1 化能自养微生物固碳途径

自养微生物通过多种途径进行无机碳的固定, 目前已发现六条自养固碳途径: 卡尔文-本森循环、还原性三羧酸循环、还原性乙酰辅酶 A 途径、3-羟基丙酸途径、3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环和二羧酸/4-羟基丁酸循环^[2-6]。几种固碳途径在能量需

求、电子供体、辅酶及对 O₂ 的敏感程度都有所区别, 影响着微生物的系统发育, 也使得不同栖息地中分布着固碳途径不同的化能自养微生物。下面对已经有较多研究的化能自养微生物的固碳途径进行相应介绍。

1.1 卡尔文-本森循环

卡尔文-本森循环 (Calvin-Benson-Bassham Cycle, CBB) 又称还原型戊糖磷酸循环 (Reductive Pentose Phosphate Cycle), 是自养生物固定 CO₂ 的主要途径。化能自养微生物中的 CBB 循环多见于生活在营养丰富条件下的 α 变形菌、β 变形菌和 γ 变形菌^[3,7]。1,5-二磷酸核酮糖羧化酶 (RubisCO) 是卡尔文-本森循环的特征酶, 按照结构、催化性能和对 O₂ 敏感性可将其分为 I~IV 四个类型^[4]。cbbL、cbbM 基因分别编码 RubisCO I 型和 II 型的大亚基, 可代表绝大部分通过 CBB 循环固碳的生物, 被广泛用于分析环境中包括化能自养细菌在内的自养微生物多样性^[7-12]。

1.2 还原性三羧酸循环

Evans 于 1966 年首次在绿色硫细菌中发现还原性三羧酸循环 (reductive tricarboxylic acid, rTCA, 或称还原性柠檬酸循环), 该循环过程的关键酶为

收稿日期: 2019-04-22; 改回日期: 2019-10-08

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFA0601000); 国家自然科学基金项目(41573083); 贵州省科学技术基金项目(黔科合 J 字[2015]2143 号)。

第一作者简介: 赵媛(1991-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为环境生物地球化学。E-mail: zhaoyuan@mail.gyig.ac.cn.

* 通讯作者: 袁权(1982-), 男, 博士, 研究员, 研究方向为微生物生态学。E-mail: yuanquan@mail.gyig.ac.cn.

© 2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

铁氧化还原蛋白酶、富马酸还原酶及 ATP 柠檬酸裂解酶^[13]。*OorA* 基因编码铁氧化还原蛋白酶, *aclA*、*aclB* 基因共同编码 ATP 柠檬酸裂解酶, 可作为 rTCA 循环的指示基因^[13-14]。研究发现, ϵ 变形菌和产水菌门一般通过 rTCA 循环固定 CO₂, 譬如已知的绝大多数深海 ϵ 变形菌^[3, 10, 15]。与 δ 变形菌、 α 变形菌门的趋磁细菌分类学相关的若干细菌也利用该途径固碳^[3, 10]。由于循环中所涉及到的酶对氧气敏感, 该途径只能分布在厌氧或微需氧条件下生存的细菌中^[4]。目前仍未在古菌域中发现关于它的确切证据。

1.3 还原性乙酰辅酶 A 途径

还原性乙酰辅酶 A 途径(又称厌氧乙酰辅酶 A 途径、Wood 途径)可能是最古老的自养固碳途径, 也是唯一的非循环途径, 可以利用两分子 CO₂ 合成乙酰辅酶 A, 更为经济快捷^[3, 6, 16]。该过程中的关键酶(一氧化碳脱氢酶和乙酰辅酶 A 合成酶)对氧气非常敏感, 因而只能在严格厌氧条件下进行^[3, 6]。

1.4 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环

3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环(3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate cycle, HP/HB)于 2007 年被发现^[17]。乙酰辅酶 A 羧化酶是 HP/HB 途径的关键酶之一, *accA* 基因编码这一酶的 α 亚基, 可作为分子标记结合微生物标志性基因共同鉴别化能自养微生物^[18-19]。有研究显示, 利用 HP/HB 途径固定 CO₂ 的奇古菌门(Thaumarchaeota) 是水生系统氮循环的主要参与者^[10, 20-21]。目前对 HP/HB 途径的研究大多集中在海洋, 仅有少数研究涉及淡水湖泊^[20, 22]。

2 主要参与的微生物类群

2.1 硫氧化细菌/古菌

硫氧化菌(sulfur-oxidizing prokaryotes, SOP)具有系统发育和生理多样性, 常见于海洋沉积物、含硫矿泉、热液系统^[7, 23-25], 通过氧化 H₂S、S⁰、S₂O₃²⁻ 或 SCN⁻ 获得电子进行光能自养和化能自养代谢。硫的化能自养过程一般对环境有酸化作用, 因而很多硫细菌进化出了耐酸性甚至嗜酸性, 譬如 *acidithiobacillus thiooxidans* 的最适 pH 在 2~3 之间^[1]。硫氧化菌具有分类多样性, 经常与非 SOP 菌种紧密相连, 仅依靠基于 16S rRNA 基因的分析不足以鉴别 SOP^[26-27]。异化亚硫酸盐还原酶、腺苷酰硫酸还原酶与硫的氧化还原过程有关, 研究中常将它们的

编码基因 *dsrAB*、*aprA* 与固碳途径功能基因结合, 共同确定参与自养固碳的 SOP^[26, 28]。在以 *Paracoccus pantotrophus* 为代表的部分 SOP 中存在的 Sox 系统可直接氧化硫化物、硫代硫酸盐生成硫酸盐, 无需亚硫酸盐作为中间产物, 其编码基因 *sox* 也可作为标志基因分析 SOP 群落^[1, 26, 29-30]。硫氧化菌代谢途径的差异也可能对它们的固碳功能产生影响, 例如具有反向异化亚硫酸还原酶 SOB 的 ATP 产量高于 Sox 途径, 从而有更高的固碳效率^[31]。

2.2 硝化微生物

硝化微生物广泛分布于土壤、淡水和海洋中^[32-36]。硝化过程的特征性酶为氨单加氧酶(ammonia monooxygenase), 其编码基因序列 *amoA* 常被用于鉴别不同硝化微生物。在硝化过程中, 较为人们所熟知的是“分步硝化作用”: 氨氧化微生物(AOM)将氨氧化为亚硝酸盐, 亚硝酸盐氧化细菌(NO₂)再将亚硝酸盐氧化为硝酸盐。AOM 与 NO₂ 通过卡尔文-本森循环、羟基丙酸相关途径固碳^[1]。上个世纪末发现的厌氧氨氧化菌(Anammox)挑战了传统理论, 解释了分步硝化理论中动力学推测的矛盾之处。它们可以在厌氧条件下利用 NH₄⁺、NO₂⁻ 生成 N₂, 通过还原乙酰辅酶 A 途径固碳^[1, 37-39]。

2.3 氢氧化菌

H₂ 是微生物代谢活动中常见产物, 目前已经鉴别的氢氧化菌属于假单胞菌属(*Pseudomonas*)、副球菌属(*Paracoccus*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、分支杆菌属(*Mycobacterium*)、产碱菌属(*Alcaligenes*)、诺卡氏菌属(*Nocardia*)、醋酸杆菌属(*Acetobacter*)及棒杆菌属(*Corynebacterium*)等^[40]。一部分化能自养微生物可以利用 H₂ 作为电子供体, O₂ 作为电子受体, 被视为传统的好氧氢氧化菌^[1]。它们在一般情况下通过卡尔文循环进行化能自养, 如果环境中存在易利用的有机化合物, 卡尔文循环和氢化酶的合成就会被抑制, 因而好氧氢氧化菌是兼性化能营养菌^[1]。与好氧栖息地相比, 可以提供更多且持久 H₂ 供应的好氧-缺氧界面更利于菌生长, 例如表层沉积物的氧化还原界面^[1, 30]。除好氧氢氧化菌外, 部分氢氧化细菌、古菌可在厌氧条件下利用 SO₄²⁻、NO₃⁻、Fe³⁺、CO₂ 作为电子受体, 如厌氧的产乙酸菌、部分产甲烷菌也可利用 H₂ 作为电子供体, 通过还原性乙酰辅酶 A 途径进行化能自养^[1, 41-42]。最近的研究发现硫氧化和氢氧化功能基因共存于未培养的 γ 变形菌的基因组中并同时表达, 从而揭示了

硫氧化菌和氢氧化菌可能存在的紧密关联^[30]。

3 不同水环境中的化能自养微生物及其固碳功能

3.1 海洋生态系统

3.1.1 海洋水体

前人的研究表明,化能自养固碳在海洋碳、氮、硫循环中起到了重要作用^[25, 43-45],其中海洋水体中化能自养固碳量占海洋总化能自养固碳量的 52%^[46]。在海洋透光层中,溶解性无机碳(DIC)可被光能自养型生物同化利用,为海洋食物网供能。这是海洋中受到关注最多的生物地球化学过程之一。尽管如此,Zhou 等^[47]人在对中国南海近海和海岸带海水中碳的暗固定(dark carbon fixation, DCF)研究中,测定了其垂直分布与对生物来源碳通量的贡献,发现表层 DCF 为 $0.058 \mu\text{gC}/(\text{L}\cdot\text{h})$,约占总初级生产量的 10%。据对海洋透光层的预估结果,化能自养总固碳量为 $0.29 \text{ PgC}/\text{a}$ ^[46],由此证明在与光能自养型生物对海洋透光层 DIC 的竞争中,化能自养微生物仍能获取一定的碳源并进行有效化能自养固碳活动。

在深层海洋中,沉降的颗粒态有机碳(POC)是食物网的主要有机碳来源,然而仅有 1%~40%的上层初级生产可传输到 200 m 以下的黑暗海洋^[48]。随着深度的增加,有机碳外源输入将进一步降低,直至趋近于零。在全球范围内,深海水体中 POC 沉积量和原核生物有机碳需求的差异始终存在,因此应有其他碳源维持微生物代谢^[49-50]。Baltar 等^[44]发现,黑暗的中层海洋中非沉降 POC 可供给异养生物代谢的 12%~72%,而化能自养微生物固定的 DIC 正是非沉降 POC 的重要来源。在深海中,硝化菌、硫氧化菌和铁氧化菌可利用沉积过程输入和矿化过程产生的还原态物质进行固碳,固碳速率为 $1\sim 2.5 \text{ mmolC}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$,化能自养固碳速率为 $0.11 \text{ PgC}/\text{a}$ ^[46-47]。近年来科研人员对深海中化能自养微生物进行了广泛研究,进一步揭示了其群落与功能特征^[36, 51]。由于海洋贫氧层会随着全球气候变暖而扩大,它在降低大气 CO_2 浓度方面将有望发挥重大作用。

3.1.2 海洋沉积物

海洋沉积物是地球上最大的碳库之一,有机碳矿化与无机碳固定同时在这里发生。海洋沉积物中的化能自养微生物固碳速率为 $0.37 \text{ PgC}/\text{a}$,相当

于海洋总化能自养固碳的 48%^[46]。深层海洋沉积物面积广阔,但物质循环相对较慢,因此其化能自养固碳速率($0.004 \text{ PgC}/\text{a}$)仅占海洋沉积物总化能自养固碳总速率的 1%^[46]。相反,尽管近海生态系统占全球海洋面积的 7%~8%,但大量有机质和营养盐通过河流排入并汇集于此,有机碳埋藏量为海洋碳埋藏量的 90%,陆架边缘海域在全球碳循环中的作用不容忽视^[52]。早前观点认为海岸带沉积物中不稳定的有机碳大部分来自于光能营养型生物,化能自养过程鲜为人知。前人的研究表明,典型海岸带沉积物中的化能自养产量高于以往预期,主要由厌氧过程中产生的还原态物质再氧化维持。此外,占据沉积物化能自养过程支配地位的是硫氧化、硝化过程也有一定作用^[53-56]。多个研究表明,海岸带沉积物中主要化能自养细菌涉及硫氧化菌的 γ 、 ϵ 、 δ 变形菌^[7]。Vasquez-Cardenas 等^[7]对多处大陆架沉积物(水深 50~200 m)、近岸沉积物(水深 0~50 m)中的化能自养微生物固碳过程进行了研究,发现 DCF 为 $3\sim 36 \text{ mmol}/(\text{m}^2\cdot\text{d})$,远高于海洋水体,且最高 DCF 出现于近岸沉积物中。另据 Mid-delburg 的计算结果,近海生态系统化能自养固碳量更是达到了沉积物化能自养固碳总量的 99%^[46]。

回顾前文所述可知,尽管海洋沉积物,尤其是海岸带沉积物体积远小于海洋水体,却具有高出水体数倍的化能自养固碳潜力。这主要是由化能自养微生物的代谢特征和沉积物-水界面氧化还原条件造成的。多数还原性物质需在厌氧条件下产生,随后积累并扩散到好氧层,在好氧条件下被瞬时氧化(如硫化物、 Fe^{2+})。化能自养微生物一般以 O_2 为电子受体,还原性物质为电子供体,对氧气条件有较高要求,因此在化变层(氧气浓度急剧减小至零的位置)处可发挥最大固碳潜力。在海岸带沉积物-水界面附近,氧气可在沉积物表层数毫米耗尽,形成了陡峭的氧化还原梯度,加之充足的外源营养元素输入,可供硫、氮的氧化还原过程持续发生,化能合成效率可达上层水体的 2~3 个数量级^[57],因而化能自养微生物在此处最为活跃。

综上,全球海洋化能自养总速率为 $0.77 \text{ PgC}/\text{a}$ ^[46],尽管该数值远小于海洋光能自养固碳量($54 \text{ PgC}/\text{a}$)却与河流有机碳输入($0.4\sim 0.5 \text{ PgC}/\text{a}$)和海洋沉积物中有机碳埋藏量($0.2\sim 0.79 \text{ PgC}/\text{a}$)接近,证明长期被忽略的化能自养过程是碳循环的关键驱动者之一,应被纳入碳汇计算中。

3.2 淡水生态系统

3.2.1 湖泊与水库

淡水湖泊和水库面积仅占地球表面积的0.4%,但据估计有 5.1×10^{10} kg的有机碳以多种形式滞留在其中^[58],形成了碳汇。自上世纪90年代起,研究人员陆续开展了一些淡水湖泊中化能自养固碳过程的测算,比如在Cadagno(瑞士)、Lake Ciso(西班牙)、Lake Mekkojarvi(芬兰)、Lake Kinneret(以色列)湖泊水体中DCF的贡献可能占到整个湖泊CO₂固定量的0.3%~50%,水体化能自养固碳速率为0.8~80 mmol/(m³·d)^[59-61]。而在硫化物丰富的湖泊中,贡献率都在10%以上^[57]。伴随着温度变化,湖泊会发生季节性热分层现象,形成不同的氧气浓度梯度和元素氧化还原状态。Alfreider等人^[10]以季节性分层湖泊为研究对象探究化能自养微生物的固碳途径的分布情况,结果显示,固碳途径分布的关键影响因素为氧气条件:含有不同类型RubisCO酶,因而可适应不同氧气条件的CBB循环途径分布广泛且与多种微生物类群相关;利用rTCA、HP/HB循环固碳的微生物则仅分布于无光、缺氧或微好氧条件下深层湖泊。

与海岸带沉积物-水界面类似,湖泊沉积物表面有大量的有机质和营养元素沉降,加之陡峭的化学梯度,共同赋予了化能自养微生物较高的固碳潜力,DCF为0.01~4 mmol/(m²·d)^[57]。与湖泊沉积物中化能自养相关的过程包括氨氧化和硫氧化。沉积物化能自养过程在北方和热带环境的湖泊沉积物中广泛存在^[57],可能受到水温、有机质性质和人为活动影响。遗憾的是,目前尚缺乏对湖泊生态系统化能自养固碳量的总体估算,若要获得其在更大尺度碳循环中的相对重要性仍需进一步的研究工作。

3.2.2 地下水

时间、空间上营养物质的不均匀分布和普遍的能量限制导致地下水食物网较为脆弱^[62]。与深海环境类似,过去观点认为地下水生态系统没有由光照驱动的初级生产,受限于外来有机质输入。近几年研究显示,化能自养微生物是蓄水层中的重要初级生产者,承担了重要生态功能。由于特殊的含水结构,岩溶水是全球最大的地下水体,作为饮用水源供给全球约20%~25%的人口^[63],其中富含的DIC可直接作为碳源被化能自养微生物利用,NH₄⁺、Fe²⁺、H₂及还原态硫化物的氧化过程为化能自养微生物提供了化学能。地下水生态系统中消费者利

用的有机质中有25%~69%由化能自养过程产生,甚至对于某些类群的消费者,其利用的化能自养过程产生有机质的比例可达到88%^[62]。化能自养生成的有机质和外源有机质共同维持着地下水生态系统的正常运转,因而化能自养过程在维持该系统物种多样性、食物网营养复杂性和群落稳定性方面具有不可或缺的作用^[64]。此外,以黄铁矿等固体矿物形式存在的电子供体的氧化可以产生活性极强的溶解离子,影响其他矿物质和溶解离子,引起岩石和地下水的地球化学变化^[8]。总体而言,现有的研究多关注于表层水体的自养过程,对地下水的认识处于发展阶段,仍有较为广阔的研究空间。

4 研究展望

迄今为止,有关化能自养过程的固碳途径、参与化能自养的微生物等机理研究已经获得了较完整的认识,对自然环境中化能自养微生物种群与功能的研究也正不断取得新进展,水环境中的化能自养过程对区域乃至全球碳循环的重要性得到了印证。但就目前而言,现有研究仍在以下两个主要方面需要更多研究和探讨。

4.1 化能自养的精确估算

为了完善全球碳循环模型并寻找遗失的碳汇,水环境中化能自养固碳的定量计算必不可少。目前对该领域的研究相对较少且具有一定局限性。前文提到的海洋化能自养过程固碳量便代表了一种定量研究方法,所依据理论为化能自养为二次生产过程,即对有机质矿化产生的化学能再利用而合成有机质,通过对前序矿化过程的资料收集后即可对化能自养进行粗略估算^[46]。该方法的局限性为:(1)精确性直接受到原始矿化数据的影响;(2)并未将其他来源的还原性物质(如深海热泉等其他特殊环境具有丰富的还原态硫化物、Fe²⁺,并非通过矿化过程产生)纳入总体估算。因此,基于估算的化能自养过程研究仍有待完善。与估算相对,同位素标记培养实验可对化能自养固碳量进行直接测定,目前在水环境与陆地生态系统均得到了较广泛的应用^[24,47,56-57,65]。该方法原理为在黑暗条件下,仅有化能自养微生物可利用投加的无机碳源(^{13/14}CO₂、NaH^{13/14}CO₃)合成有机质,通过培养前后有机质中^{13/14}C的改变量等参数计算即可得到化能自养固碳量。前文所述的化能自养固碳速率均基于此方法得出。遗憾的是,尽管科研人员已确知自养合成

的有机碳除存在于沉积物中,也会以溶解性有机碳(DOC)形式存在于孔隙水中^[66],目前对水体沉积物的研究并未将 DOC 纳入计算,即低估了化能自养固碳速率。

由于受到氧气条件与营养成分输入等因素的影响,不同生境中的化能自养固碳潜力相差较大,如本文 3.1.2 部分就对海洋水体与沉积物中化能自养过程差异的进行了比较说明。因此除了改进计算方法的局限性外,对典型环境中化能自养过程的定量计算也应得到关注。以水库为例,据国际大坝委员会统计,目前全球大型大坝已超过 59 071 座,总储量约为 16 201 km³,并处于稳定增长状态^[67]。筑坝拦截会发生一系列水动力、水化学以及生态系统结构与功能的变化,改变了河流碳源汇,导致陆地 OC 向海洋的输送减少 26%^[68-69]。尽管修建水库对全球碳循环产生了巨大影响,目前尚无研究关注其化能自养过程与固碳量。

4.2 化能自养固定有机碳的存在形式及去向

在水环境中,化能自养微生物同化碳作为“新碳”会以不同的形式转化:一部分通过呼吸作用以 CO₂ 和 CH₄ 的形式返回大气,剩下的成为微生物量碳中的一部分或以有机质形式储藏于微生物碳库

中,以各种形式存在于沉积物中的各种物理化学组分。“新碳”究竟更易被利用还是作为难降解成分稳定存在这一问题一直存在争议。在陆地环境中,已有研究显示,土壤有机质中脂质、碳水化合物、蛋白质的合成过程都与化能自养过程直接相关^[70]。另有研究表明,微生物光合固碳在土壤中矿化速率比外源碳低,更利于积累^[71-72]。然而,目前水环境中化能自养微生物合成的有机碳的去向问题尚未得到应有的关注。

5 结论

综上所述,科研人员目前已对化能自养微生物固碳机理有了较完整的认识,研究区域较多集中于海洋环境,经历了由深海热泉等极端环境向海洋水体与近海生态系统转移的过程,对淡水环境中的化能自养过程也有了一定认识。现有研究均肯定了化能自养微生物的固碳潜力。水环境中化能自养微生物固碳的精确计算和化能自养固定的有机碳的存在形式与去向将是未来的研究趋势。以上两个方向的进展将增进我们对全球碳循环、碳排放机理的认识。

参 考 文 献

- [1] Madigan M T, Martinko J M, Stahl D A, et al. Brock Biology of Microorganisms [M]. US: Pearson Education. Inc, 2015.
- [2] Berg I A, Kockelkorn D, Ramos-Vera W H, et al. Autotrophic carbon fixation in archaea [J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(6): 1-14.
- [3] Hugler M, Sievert S M. Beyond the Calvin Cycle: Autotrophic carbon fixation in the ocean [J]. Annual Review of Marine Science, 2011, 3: 261-289.
- [4] Berg I A. Ecological aspects of the distribution of different autotrophic CO₂ fixation pathways [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(6): 1925-1936.
- [5] Jae-Hun J, Sebastian G, Hennig S E, et al. The extended reductive acetyl-CoA pathway: ATPases in metal cluster maturation and reductive activation [J]. Biological Chemistry, 2014, 395(5): 545-558.
- [6] Thauer R K. A fifth pathway of carbon fixation [J]. Science, 2007, 318(5857): 1732-1733.
- [7] Vasquez-Cardenas D. Bacterial chemoautotrophy in coastal sediments [D]. Amsterdam; University of Amsterdam, 2016.
- [8] Herrmann M, Ruzsnyák A, Akob D M, et al. Large fractions of CO₂-fixing microorganisms in pristine limestone aquifers appear to be involved in the oxidation of reduced sulfur and nitrogen compounds [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2015, 81(7): 2384-2394.
- [9] Selesi D, Pattis I, Schmid M, et al. Quantification of bacterial RubisCO genes in soils by *cbbl* targeted real-time PCR [J]. J Microbiol Methods, 2007, 69(3): 497-503.
- [10] Alfreider A, Baumer A, Bogensperger T, et al. CO₂ assimilation strategies in stratified lakes: Diversity and distribution patterns of chemolithoautotrophs [J]. Environmental Microbiology, 2017, 19(7): 2754-2768.
- [11] Long X E, Yao H Y, Wang J, et al. Community structure and soil pH determine chemoautotrophic carbon dioxide fixation in drained paddy soils [J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49: 7152-7160.
- [12] Wrighton K C, Castle C J, Varaljay V A, et al. RubisCO of a nucleoside pathway known from Archaea is found in diverse uncultivated phyla in bacteria [J]. ISME Journal, 2016, 10(11): 2702-2714.
- [13] Michael-Harald H, Molyneux S J, et al. Autotrophic CO₂ fixation via the reductive tricarboxylic acid cycle in different lineages within the phylum Aquificae: Evidence for two ways of citrate cleavage [J]. Environmental Microbiology, 2010, 9(1): 81-92.

- [14] Alfreider A , Vogt C. Genetic evidence for bacterial chemolithoautotrophy based on the reductive tricarboxylic acid cycle in groundwater systems [J]. *Microbes & Environments* , 2012 , 27(2) : 209–214.
- [15] Corre E , Reysenbach A L , Prieur D. Epsilon-proteobacterial diversity from a deep-sea hydrothermal vent on the Mid-Atlantic Ridge [J]. *Fems Microbiology Letters* , 2001 , 205(2001) : 329–335.
- [16] Arturo B , Mario R , García Ferris C , et al. A phylogenetic approach to the early evolution of autotrophy: The case of the reverse TCA and the reductive acetyl-CoA pathways [J]. *International Microbiology* , 2014 , 17(2014) : 91–97.
- [17] Berg I A , Kockelkorn D , Buckel W , et al. A 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate autotrophic carbon dioxide assimilation pathway in archaea [J]. *Science* , 2007 , 318: 1782–1786.
- [18] Yakimov M M , Cono V L , Denaro R. A first insight into the occurrence and expression of functional *amoA* and *accA* genes of autotrophic and ammonia-oxidizing bathypelagic Crenarchaeota of Tyrrhenian Sea [J]. *Deep Sea Research Part II Topical Studies in Oceanography* , 2009 , 56(2009) : 748–754.
- [19] Bergauer K , Sintés E , Bleijswijk J v , et al. Abundance and distribution of archaeal acetyl-CoA/propionyl-CoA carboxylase genes indicative for putatively chemoautotrophic Archaea in the tropical Atlantic's interior [J]. *Fems Microbiology Ecology* , 2013 , 84(2013) : 461–473.
- [20] Cono V L , Spada G L , Arcadi E , et al. Partaking of Archaea to biogeochemical cycling in oxygen-efficient zones of meromictic saline Lake Faro (Messina , Italy) [J]. *Environmental Microbiology* , 2013 , 15(6) : 1717–1733.
- [21] Bouskill N J , Eveillard D , Chien D , et al. Environmental factors determining ammonia-oxidizing organism distribution and diversity in marine environments [J]. *Environmental Microbiology* , 2012 , 14(3) : 714–729.
- [22] Jean-Christophe A , Borrego C M , Baneras L , et al. Fingerprinting the genetic diversity of the biotin carboxylase gene (*accC*) in aquatic ecosystems as a potential marker for studies of carbon dioxide assimilation in the dark [J]. *Environmental Microbiology* , 2010 , 10(10) : 2527–2536.
- [23] Vasquez-Cardenas D , VAN DE Vossenbergh J , Polerecky L , et al. Microbial carbon metabolism associated with electrogenic sulphur oxidation in coastal sediments [J]. *Isme Journal* , 2015 , 9(9) : 1966–1978.
- [24] Gomez-Saez G V , Ristova P P , Sievert S M , et al. Relative importance of chemoautotrophy for primary production in a light exposed marine shallow hydrothermal system [J]. *Frontiers in Microbiology* , 2017 , 8: 702.
- [25] DeLorenzo S , Bräuer S L , Edgmont C A , et al. Ubiquitous dissolved inorganic carbon assimilation by marine bacteria in the Pacific Northwest coastal ocean as determined by stable isotope probing [J]. *Plos One* , 2012 , 7(10) : e46695.
- [26] Lenk S. Diversity and abundance of sulfur-oxidizing bacteria in Wadden Sea sediments revealed by *dsrAB* phylogeny and *dsrAB-targeted* real-time PCR [D]. Bremen; the MPI for Marine Microbiology , 2006.
- [27] Wasmund K , Mußmann M , Loy A. The life sulfuric: Microbial ecology of sulfur cycling in marine sediments [J]. *Environmental Microbiology Reports* , 2017 , 9(4) : 323–344.
- [28] Müller A L , Kjeldsen K U , Rattei T , et al. Phylogenetic and environmental diversity of *dsrAB-type* dissimilatory (bi) sulfite reductases [J]. *Isme Journal* , 2014 , 9(5) : 1152–1165.
- [29] Zheng Y , Bu N S , Long X E , et al. Sulfate reducer and sulfur oxidizer respond differentially to the invasion of *Spartina alterniflora* in estuarine salt marsh of China [J]. *Ecological Engineering* , 2017 , 99: 182–190.
- [30] Dykema S , Bischof K , Fuchs B M , et al. Ubiquitous Gammaproteobacteria dominate dark carbon fixation in coastal sediments [J]. *Isme Journal* , 2016 , 10(8) : 1939–1953.
- [31] Klatt J M , Polerecky L. Assessment of the stoichiometry and efficiency of CO₂ fixation coupled to reduced sulfur oxidation [J]. *Frontiers in Microbiology* , 2015 , 6: 484.
- [32] Zhang L M , Duff A M , Smith C J. Community and functional shifts in ammonia oxidizers across terrestrial and marine (soil/sediment) boundaries in two coastal bay ecosystems [J]. *Environmental Microbiology* , 2018 , 20(8) : 2834–2853.
- [33] Pachiadaki M G , Sintés E , Bergauer K , et al. Major role of nitrite-oxidizing bacteria in dark ocean carbon fixation [J]. *Science* , 2017 , 358(6366) : 1046–1051.
- [34] Saarenheimo J , Aalto S L , Rissanen A J , et al. Microbial community response on wastewater discharge in boreal lake sediments [J]. *Frontiers in Microbiology* , 2017 , 8: 750.
- [35] Li Y Y , Chapman S J , Nicol G W , et al. Nitrification and nitrifiers in acidic soils [J]. *Soil Biology & Biochemistry* , 2018 , 116: 290–301.
- [36] 王燕, 吴佳鹏, 洪义国. 深海微生物硝化作用驱动的化能自养固碳过程与机制研究进展 [J]. *自然杂志* , 2016 , 38(2) : 109–115.
- [37] Jetten M S , Strous M , Pas-Schoonen K T , et al. The anaerobic oxidation of ammonium [J]. *Fems Microbiology Reviews* , 1998 , 22(5) : 421–458.
- [38] Jetten M S M , Niftrik L V , Strous M , et al. Biochemistry and molecular biology of anammox bacteria [J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* , 2009 , 44(2–3) : 65–84.
- [39] Strous M , Fuerst J A , Kramer E H M , et al. Missing lithotroph identified as new planctomycete [J]. *Nature* , 1999 , 400(6743) : 446–449.
- [40] 蒙渊, 王卫卫, 陈兴都, 等. 氢氧化细菌分离、筛选及促生机制研究进展 [J]. *微生物学通报* , 2010 , 37(10) : 1525–1532.
- [41] Conrad R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments [J]. *Fems*

- Microbiology Ecology, 1999, 28(3): 193–202.
- [42] 刘洋荧, 王尚, 厉舒祯, 等. 基于功能基因的微生物碳循环分子生态学研究进展 [J]. 微生物学通报, 2017, 44(7): 1676–1689.
- [43] Alonso-Sáez L, Galand P E, Casamayor E O, et al. High bicarbonate assimilation in the dark by Arctic bacteria [J]. *Isme Journal*, 2010, 4(12): 1581–1590.
- [44] Baltar F, Aristegui J, Sintez E, et al. Significance of non-sinking particulate organic carbon and dark CO₂ fixation to heterotrophic carbon demand in the mesopelagic northeast Atlantic [J]. *Geophysical Research Letters*, 2010, 37: L09602.
- [45] Zakem E J, Alhaj A, Church M J, et al. Ecological control of nitrite in the upper ocean [J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 1206.
- [46] Middelburg J J. Chemoautotrophy in the ocean [J]. *Geophysical Research Letters*, 2011, 38: L24604.
- [47] Zhou W H, Liao J Z, Guo Y J, et al. High dark carbon fixation in the tropical South China Sea [J]. *Continental Shelf Research*, 2017, 146: 82–88.
- [48] Johanna Tiroch B. Bacterial chemoautotrophic communities in the deep atlantic ocean [D]. Vienna: University of Vienna, 2014.
- [49] Baltar F, Aristegui J, Gasol J M, et al. Evidence of prokaryotic metabolism on suspended particulate organic matter in the dark waters of the subtropical North Atlantic [J]. *Limnology and Oceanography*, 2009, 54(1): 182–193.
- [50] Reinthaler T, Aken H V, Veth C, et al. Prokaryotic respiration and production in the meso- and bathypelagic realm of the eastern and western North Atlantic Basin [J]. *Limnology & Oceanography*, 2006, 51(3): 1262–1273.
- [51] Swan B K, Martinez-Garcia M, Preston C M. Potential for chemolithoautotrophy among ubiquitous bacteria lineages in the dark ocean [J]. *Science*, 2011, 333: 1296–1300.
- [52] 宋金明. 中国近海生态系统碳循环与生物固碳 [J]. 中国水产科学, 2011, 18(3): 703–711.
- [53] Thomsen U, Kristensen E. Dynamics of ΣCO₂ in a surficial sandy marine sediment: The role of chemoautotrophy [J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 1997, 12: 165–176.
- [54] Enoksson V, Samuelsson M-O. Nitrification and dissimilatory ammonium production and their effects on nitrogen flux over the sediment-water interface in bioturbated coastal sediments [J]. *Marine Ecology Progress*, 1987, 36: 181–189.
- [55] Lenk S, Arnds J, Zerjatke K, et al. Novel groups of gammaproteobacteria catalyze sulfur oxidation and carbon fixation in a coastal, intertidal sediment [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(3): 758–774.
- [56] Boschker H T S, Vasquez-Cardenas D, Bolhuis H, et al. Chemoautotrophic carbon fixation rates and active bacterial communities in intertidal marine sediments [J]. *Plos One*, 2014, 9(7): e101443.
- [57] Santoro A L, Bastviken D, Gudasz C, et al. Dark carbon fixation: An important process in lake sediments [J]. *Plos One*, 2013, 8(6): e65813.
- [58] Downing J P, Meybeck M, Orr J C, et al. Land and water interface zones [J]. *Water Air and Soil Pollution*, 1993, 70: 123–137.
- [59] Kuoppo-Leinikki P, Salonen K. Bacterioplankton in a small polyhumic lake with an anoxic hypolimnion [J]. *Hydrobiologia*, 1992, 229: 159–168.
- [60] Hadas O, Pinkas R, Erez J. High chemoautotrophic primary production in Lake Kinneret, Israel: A neglected link in the carbon cycle of the lake [J]. *Limnology and Oceanography*, 2001, 46(8): 1968–1976.
- [61] Camacho A, Erez J, Chicote A, et al. Microbial microstratification, inorganic carbon photoassimilation and dark carbon fixation at the chemocline of the meromictic Lake Cadagno (Switzerland) and its relevance to the food web [J]. *Aquatic Sciences*, 2001, 63(1): 91–106.
- [62] Hutchins B T, Engel A S, Nowlin W H, et al. Chemolithoautotrophy supports macroinvertebrate food webs and affects diversity and stability in groundwater communities [J]. *Ecology*, 2016, 97(6): 1530–1542.
- [63] 史婷婷. 岩溶流域水循环过程碳汇效应研究 [D]. 武汉: 中国地质大学(武汉), 2012.
- [64] Alfreider A, Schirmer M, Vogt C. Diversity and expression of different forms of RubisCO genes in polluted groundwater under different redox conditions [J]. *Fems Microbiology Ecology*, 2012, 79(3): 649–660.
- [65] Santoro A L, Bastviken D, Tranvik L, et al. Simultaneous measurements of dark carbon fixation and bacterial production in lake sediment [J]. *Limnology & Oceanography Methods*, 2013, 11: 298–303.
- [66] Liu Z, Sun Y F, Zhang Y Q, et al. Metagenomic and ¹³C tracing evidence for autotrophic atmospheric carbon absorption in a semiarid desert [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 125: 156–166.
- [67] International Commission on Large Dams. Dams Figures-General Synthesis [W]. Paris; 2019. https://www.icold-cigb.org/article/GB/world_register/general_synthesis/general-synthesis.
- [68] Syvitski J P M, Vorosmarty C J, Kettner A J, et al. Impact of humans on the flux of terrestrial sediment to the global coastal ocean [J]. *Science*, 2005, 308: 376–380.
- [69] Dean W, Gorham E. Magnitude and significance of carbon burial in lakes, reservoirs, and peatlands [J]. *Geology*, 1998, 26(6): 535–538.
- [70] Kelleher B P, Flanagan P V, Hart K M, et al. Large perturbations in CO₂ flux and subsequent chemosynthesis are induced in agricultural soil by the addition of elemental sulfur [J]. *Scientific Report*, 2017, 7: 4732.
- [71] Zhu Z K, Ge T D, Hu X J, et al. Fate of rice shoot and root residues, rhizodeposits, and microbial-assimilated carbon in paddy soil – part 2: Turnover and microbial utilization [J]. *Plant & Soil*, 2017, 416(1–2): 243–257.

[72] 吴小红, 简燕, 陈晓娟, 等. 自养微生物同化 CO₂ 的分子生态研究及同化碳在土壤中的转化 [J]. 生态学报, 2014, 34(3): 701-709.

Research on Population and Carbon Fixation Function of Chemoautotrophic Microbes in Aquatic Environments

ZHAO Yuan^{1,2}, WANG Qian^{1,2}, YUAN Quan¹

(1.State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550081, China; 2.University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Chemoautotrophic microbes can acquire chemical energy by oxidizing reduced substances to fix inorganic carbon. They can assimilate CO₂ in dark environments like deep ocean and aquatic sediment where plants are unable to thrive. Therefore, chemoautotrophic microbes could play an important role in fixing CO₂ from atmosphere, oceans and wetlands. This paper reviews current researches on chemoautotrophic microbes, summarizes the main carbon fixation pathway and chemoautotrophic microbial groups, and emphasizes carbon fixation functions of chemoautotrophic microbes in different aquatic environments. At the same time, this paper looks forward to the research perspective on chemoautotrophic microbes in aquatic environments, that is, to improve the awareness of the carbon cycle, the study and discussion on the accurate calculation of carbon sequestration and the existing forms and transformations of organic carbon derived from chemoautotrophy is much needed.

Key words: carbon cycle; chemoautotrophic microbes; dark carbon fixation; sulfide oxidation; nitrification