

廈大的氮循環實驗室

高樹基

廈門大學近海海洋環境國家重點實驗室

摘要

氮循環過程複雜，相關研究一直是全球海洋科學研究的難點之一。KK 師從 I. R. Kaplan，在博士期間就以氮同位素為手段探索海洋氮循環過程。回台後，因為種種因素，氮同位素實驗室一直無法完善。在恩師 KK 的支持和鼓勵下，我於 2011 年投身廈門大學，開始搭建氮同位素實驗室平臺，2015 年的廈大氮循環實驗室已經有了雛形，建立了不同形態氮素的天然同位素分析方法，自主創立同步測定氧化亞氮 (N_2O) 和氮氣 (N_2) 的氮同位素比值技術，大幅提升對氮過程研究的能力。結合穩定同位素人工標記技術，氮循環實驗室取得部分創新性成果如下：1) 實現南海大氣硝氮沉降的來源示蹤；2) 首次發現真光層存在微生物活動產生並且積累的溫室氣體 N_2O ；3) 沉積物同位素配對法的改良與新的沉積物氮過程探索；4) 高濁度河口的氮氧化過程與顆粒氧化態鐵的角色；5) 近岸富營養水體的氮動力過程-質量平衡與同位素示蹤法；6) 從沉積物氮同位素解讀阿拉伯海的氮循環歷史

致 KK

我深信緣分。考研後本來決定到中山大學，我和您的緣，卻只因為參加了海洋所的新生烤肉會，白書禎老師的一句話“啊！你就是高樹基，KK 指定說你是他的學生，要我們不准動你”。就這麼一句話，我幸運的做了您的學生。我一直都不是個聽話的學生，給您找了不少麻煩。您包容我，給我極大的自由度，您的言教很少，但是身教讓我如沐春風。去年，當我看見您寄來嘉宇結婚的照片，我落淚了，想到這個孩子當時被成大退學，您長途開車下臺南幫忙搬家的情景。您包容我，就像包容您的孩子。知道您在 1981 回國後一直想把氮同位素（尤其是硝氮）實驗室建立起來，因為種種困難，一直不成功，期間我沒幫上忙。在我成為您的學生 15 年後（也是您收我為徒的不惑之年），我深刻體認到傳承的重要性。數年後，廈門大學提供了我絕佳的機會，有充足的生源與經費可以達成我人生另一階段的目標。您說“一切都是浮雲，大愛無疆，你在哪裡可以過得快樂、做得更好，就選擇那裡”。這句話不就是您職業生涯軌跡的倒影嗎？！沒想到的是，與世無爭、忠厚勤奮的您，這麼年輕就被主給徵召了。2015 年的廈大實驗室已經有了雛形，打造世界先進的氮同位素實驗室是我的夢想，也是您曾經的夢。人生雖如浮雲，但我將用我的餘生，學您一樣，做一朵烙印在學生心裡，永遠的浮雲。

前言

氮是組成生物有機體的主要元素，在海洋環境中，氮是生態系統新陳代謝的

重要物質基礎，在海洋生物地球化學過程中扮演著極為重要的角色。氮循環過程中會釋放出溫室效應約為 CO_2 300 倍的溫室氣體 N_2O ，定量計算出所釋放的 N_2O 對評估大氣溫室效應具有重要意義。硝酸鹽是海洋中最主要的生物可利用氮和溶解無機氮的主要存在形態，通常是開闊大洋初級生產力的主要限制因子；深層海洋輸入真光層的硝酸鹽含量決定了海洋的新生產力水準（即淨初級生產力；“穩態”條件下也等同於真光層的輸出生產力），從而在很大程度上調控著海洋生物泵的固碳效率，並由此形成了碳、氮等生源要素的耦合過程。

含氮化合物形態多樣，含量和分佈特點各不相同，因此氮循環過程比較複雜（圖 1）。從定量的角度來說，浮游植物吸收 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 支持光合作用合成有機物在整個氮循環過程中占主要地位 (Capone et al., 2008)。浮游植物對 NH_4^+ 營養鹽的吸收具有較強偏好性，整個動力學過程耗能低，因此，幾乎所有的浮游植物都會利用 NH_4^+ 鹽。生物吸收 NO_3^- 過程是將正五價的氮轉化為負三價，該還原過程需要消耗大量能量 (Zehr and Ward, 2002)。通常，能利用 NO_3^- 的浮游植物就同時具備利用 NO_2^- 的能力 (Capone et al., 2008)。硝化作用指在有氧的條件下，硝化細菌或者氨氧化古菌將 NH_3 轉化 NO_2^- ，再進一步轉化為 NO_3^- 的過程。該過程沒有改變整個氮庫存的總含量，卻對 NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 的形態分佈具有重要影響，進而影響與之相關的過程。固氮藻類或者固氮菌在固氮酶的作用下將溶解態 N_2 轉化為有機氮或 NH_4^+ 進而為其他生物提供所需的含氮營養鹽。生物固氮作用是海洋中生物可利用性氮最重要的來源，尤其在寡營養鹽海域。(Deutsch et al., 2007)。氮儲庫流失的主要途徑為缺氧區的反硝化作用、厭氧氨氧化作用等過程。反硝化過程是指通過異養細菌的呼吸作用消耗有機物， NO_3^- (O_2 耗盡之後) 則作為電子受體被進一步還原成 N_2O 或 N_2 (Lam and Kuypers 2011)。厭氧氨氧化是指厭氧氨氧化細菌在固定二氧化碳過程中以 NO_2^- 作為電子受體，將 NO_2^- 和 NH_4^+ 還原成 N_2 (Güven et al., 2005)。近年來，有許多新的脫氮過程被發現，如氧氣限制下的自營性硝化反硝化 (OLAND)、化學反硝化 (chemo-denitrification)、耦合硝化反硝化 (coupled nitrification denitrification) 等 (Brandes et al., 2007)。

由於氮循環過程的複雜性，目前很多過程及作用機制仍有待深入解析。氮在海洋中的停留時間約 3000 年 (Gruber, 2004)，遠低於磷 (10000-13000 年)，其在海洋中的遷移轉化過程相當活躍。諸多物理、化學和生物過程均會對不同形態氮的相互轉化產生影響，從而造成不同區域的氮循環過程存在較大的時空變異性，也同時加大了海洋氮循環研究的難度和不確定性。以固氮作用和反硝化作用為例，兩者分別是海洋氮輸入和去除的主要途徑，而不同研究對海洋固氮和反硝化通量的估算差異高達數倍 (e.g., Capone, 2001; Codispoti et al., 2001; Gruber, 2005)，極大限制了海洋氮儲量及其對海洋初級生產力和大氣 CO_2 濃度回饋作用的準確評估。再如，硝化作用對海洋中不同形態氮的分佈具有重要的控制作用，而目前單是海洋硝化作用速率的研究就存在較大問題，培養方法不同，計算方式不同，結果相距甚遠。此外，對於硝化過程的研究多集中在上層水體，深層海洋以及控制海洋硝化作用速率時空變化的主要機制仍是未知 [Ward, 2008]。另外，缺氧環境下的硝化作用往往伴隨著反硝化作用的發生 (e.g., Jenkins and Kemp, 1984; Naqvi et al., 1998)，而兩者間的相互關係和相對重要性則有待評估。

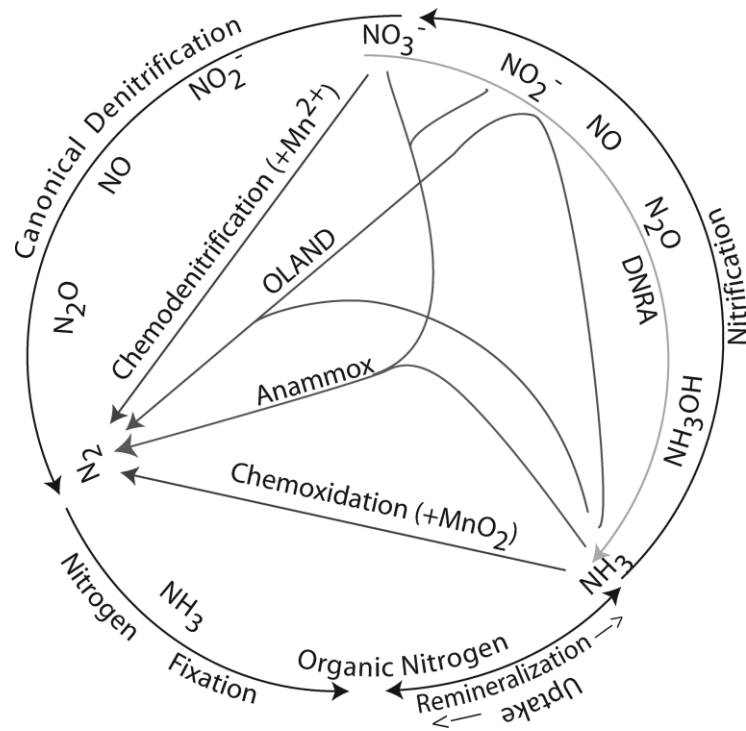


圖 1. 氮循環過程

平臺搭建

歷時三年多的探索，我們發展了全套不同形態氮素的穩定同位素分析方法（表 1）。在硝酸鹽和亞硝酸鹽氮氧同位素的測試方面，我們成功發展並熟練掌握了細菌還原法和化學還原法兩種國際最為領先測試方法，我們還參加了“國際硝酸鹽同位素比對”，我們所運用的細菌還原法測試結果的精確度和準確度都得到了國際同行的認可，表明本實驗室在細菌還原法測試硝酸鹽同位素技術達到了國際領先實驗室的水準。在此基礎之上，我們進一步發展和結合運用多種前沿技術進一步提高對於現有氮同位素的分析水準，主要包括：1) 運用濕式消解法和細菌還原法聯用測試溶解性有機氮（DON）、顆粒有機氮（PON）、常量氨氮等其他形態氮素的氮同位素測試，使用該方法可以大大降低目前用元素分析儀-IRMS 測量氮同位素的檢測限（降低兩個數量級），極大的推進了同位素技術在低濃度樣品尤其是在寡營養海域的應用範疇；2) 通過高效液相色譜分離純化系統得以分離和純化不同類別的氨基酸，進而通過濕式消解法和細菌法聯用測定不同單體氨基酸的同位素資訊，從而為深入研究 DON 在海洋氮循環過程中的角色及其潛在生物地球化學過程提供有力的證據；3) 結合流式細胞儀分選技術和人工標記同位素培養，可獲取不同浮游植物類群（微型真核浮游植物、聚球藻和原綠球藻）對於不同營養鹽的吸收速率，從而深入瞭解生物泵過程這一重大科學問題；4) 利用我們自行設置和改裝的一套前端分離純化系統，使得我們可以在一個樣品中同時純化 N_2 和 N_2O 兩種氮移除過程中的重要產物，從而大幅提高了對

於沉積物和缺氧水體的反硝化、厭氧氨氧化等識別能力和偵測能力。實驗室目前掌握了測試除痕量氮氣之外其餘所有氮素的同位素；同時，通過靈活運用天然豐度和人工標記穩定同位素示蹤手段，使得實驗室可以精確探討氮循環過程中所有關鍵過程及其影響因素，從而對海洋氮庫的變化趨勢和生態響應做出預測。

表 1. 實驗室已經成熟的方法列表

研究參數	研究方法	對象過程	優缺點
硝酸鹽氮、氧同位素	細菌法+IRMS	天然硝酸鹽氮、氧同位素示蹤 硝化速率	準確度、精確度高，氮、氧同位素偏差分別 0.2‰、0.4‰
	化學法+IRMS		
	氨基磺酸去除+細菌法+ IRMS	亞硝化速率	研究該過程唯一方法，技術難度大
有機物碳氮同位素	濕式消解法+細菌法+ IRMS	固氮、不同形態氮吸收速率	準確度高，需要樣品量少，步驟繁瑣，技術難度大
	EA-IRMS	固氮、不同形態氮吸收速率	操作簡單，所需樣品量大
同時測定 N ₂ 、N ₂ O 的氮氧同位素	人工標記培養+ IRMS	厭氧氨氧化、反硝化	操作難度大，計算複雜

近期研究成果

1 南海大氣硝氮沉降的來源示蹤

工業革命以來，人為排放活性氮通量的日益增加，從而引發海洋生態系統潛在的劇變，這一現象可能在邊緣海尤為顯著。南海是世界第二大邊緣海，同時也是世界上人口密度最大的區域之一，瞭解南海大氣氮沉降的通量及其來源至關重要。經由在南海東沙島冷、暖兩季的四次觀測結果（圖2）證實大氣氮沉降是南海開闊海域最重要的外源氮輸入方式，其通量約為 50 mmol N m⁻² year⁻¹，能夠支持約 15% 的新生產力和緩解~50% 的 CO₂ 釋放量。根據分析其中硝酸鹽的穩定氮、氧同位素組成的變化推斷不同季節季風體系下其來源存在明顯的轉變：表現為在冬季東北季風盛行時，大氣沉降中活性氮組分主要體現為源于亞洲大陸的人為活動來源，其中煤燃燒產物占主導；而夏季時，可能以源自東南亞的生物焚燒產物

和由熱帶氣旋引發(閃電合成)的產物為主。此外，南海大氣氮沉降輸入的氮同位素信號與生物固氮提供的氮同位素端元相似，難以從同位素的手段加以區分。兩者的共同作用對南海次表層水體硝酸鹽氮同位素組成的降低產生重要影響。

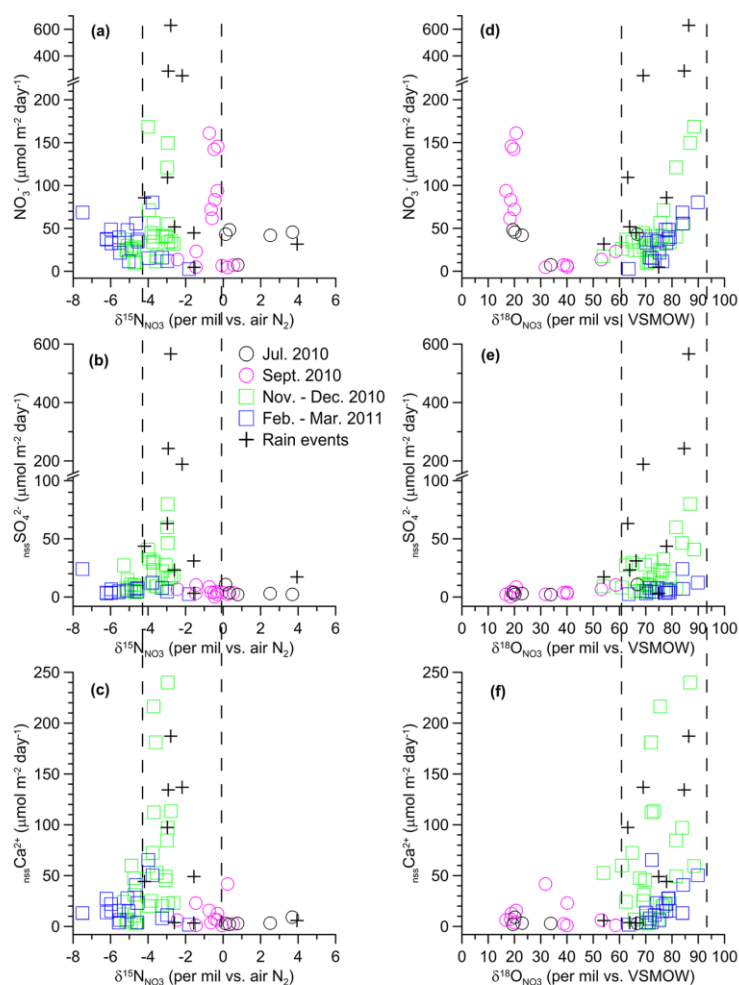


圖 2 南海大氣硝酸鹽沉降相關參數分佈

2 上層海洋溫室氣體氧化亞氮原位產生及其潛在機制研究

氧化亞氮 (N_2O) 是一種具有強烈溫室效應 (單分子增溫潛能是 CO_2 的約 300 倍) 和臭氧消耗能力的痕量氣體，具有顯著的氣候效應。全球海洋是大氣 N_2O 的釋放源，然而由於對於海洋 N_2O 產生機制的不清和釋放通量時空觀測不足，導致其釋放通量評估還存在極大的不確定性。通過高垂直和水準解析度採樣，利用穩定同位素標記示蹤技術、光腔衰蕩 (CRDS) 技術，並結合分子生物學方法，我們在南中國海和西北太平洋系統開展了海氣介面 N_2O 釋放通量調查與水柱 N_2O 產生機制研究，在寡營養鹽海域光區底部首度觀測到了由生物過程誘導的 N_2O 原位產生過程 (圖 3)。並且，上層海洋雖然存在高豐度的氮氧化微生物和活躍的氮氧化行為，但可能並不是 N_2O 產生的主要途徑。這一發現對於進一步深理解海洋 N_2O 產生機制以及模型估算全球海洋 N_2O 釋放通量具有重要的促進作用。

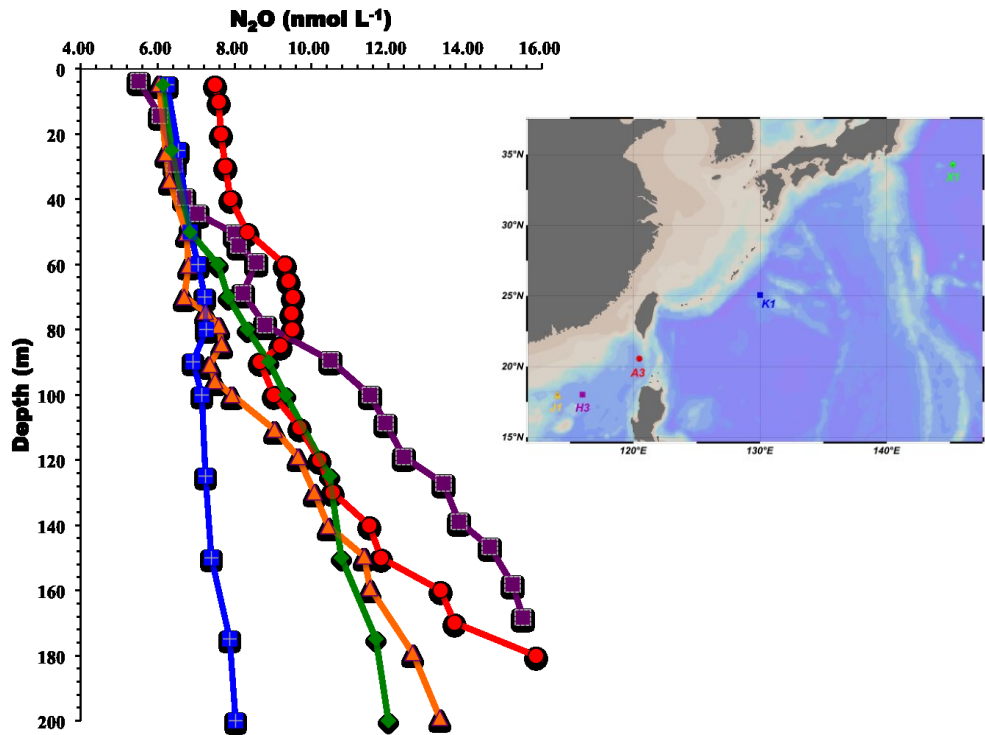


圖 3 南海與西北太平洋水柱 N₂O 垂直分佈

3 沉積物同位素配對法的改良與新的沉積物氮過程探索

人為活動的加劇，氮肥的使用使環境中活性氮的源增多，而有 23% 的氮肥最終會通過河流、地下水等進入近岸海洋 [Schlesinger, 2009]，導致水體富營養化、赤潮、常年或季節性的缺氧等惡性事件的發生，破壞近岸海洋水體品質及生態環境 [Diaz et al., 2008]。活性氮在海洋中的匯主要通過硝化、反硝化以及厭氧氨氧化等過程將生物可利用的硝酸鹽還原成 N₂ 或 N₂O 氣體使其脫離氮循環系統 [Marchant et al., 2014]，從而減輕水體的富營養化。異化硝酸鹽還原成氨是另一硝酸鹽還原過程，該過程將硝酸鹽轉化成生物可利用的氨，一定程度上可以進一步加強水體的富營養化 [Giblin et al., 2013]。海洋沉積物是一個重要的脫氮場所，大陸架沉積物中反硝化的發生構成了全球總的反硝化反應的 44% [Seitzinger et al., 2006]，此外沉積物反硝化過程脫氮占海洋中總氮匯的 50-75% [Gruber, 2008]。因此，在全球變化的大背景下，準確預測未來氮循環趨勢、探討沉積物脫氮過程及 N₂O 排放通量，海洋沉積物氮循環過程的研究在全球氮循環系統中具有非常重要的意義。

沉積物氮循環的研究方法多種多樣，主要有抑制劑法 [Sørensen, 1978]、N₂: Ar 比值定量法 [Cornwell et al., 1999]、化學計量關係法 [Andrew et al., 2014]、¹⁵N 示蹤劑法 [Nicholls, 2009] 等。其中添加 ¹⁵NO₃⁻ 和 ¹⁵NH₄⁺ 測定 ²⁹N₂、³⁰N₂、⁴⁵N₂O 和 ⁴⁶N₂O 產率的技術即同位素配對技術 (IPT, Isotope pairing technique)，該技術應用最為廣泛，常被用來研究沉積物的氮移除過程。最早的 IPT 由 Nielsen 提出 [Nielsen, 1992]，隨後，考慮到厭氧氨氧化的存在，Risgaard-Petersen 等 (2003) 和 Trimmer 等 (2006) 在此基礎上改進了 IPT (圖 4 中黃色與藍色部分)，能夠量化

評估厭氧氮氧化，但並沒有考慮 N_2O 的影響；同一時期，Master 等(2005)在理論上發展改進了 IPT，可以測量 N_2 和 N_2O （圖 4 中黃色和粉色部分），但沒有考慮厭氧氮氧化的存在。此後，針對以上 IPT 的缺陷，Hsu 等(2013)在同位素比值質譜儀測定中設計了預濃集系統，實現了同步測量 N_2 和 N_2O ，並改進了 IPT 公式，同時考慮了 N_2O 和厭氧氮氧化過程的影響，能夠得到沉積物各氮移除過程的速率（圖 1），為進一步研究沉積物氮循環過程以及沉積物水界面的氮動力學提供了技術基礎。 ^{15}N 同位素示蹤技術可以用來探索沉積物氮循環過程，如協同反硝化、異化的硝酸鹽還原成氨以及耦合硝化反硝化等過程，儘管本實驗室最新版本的 IPT 並沒有考慮這些過程的發生，但在目前的條件下，是研究沉積物脫氮過程最優的方法。

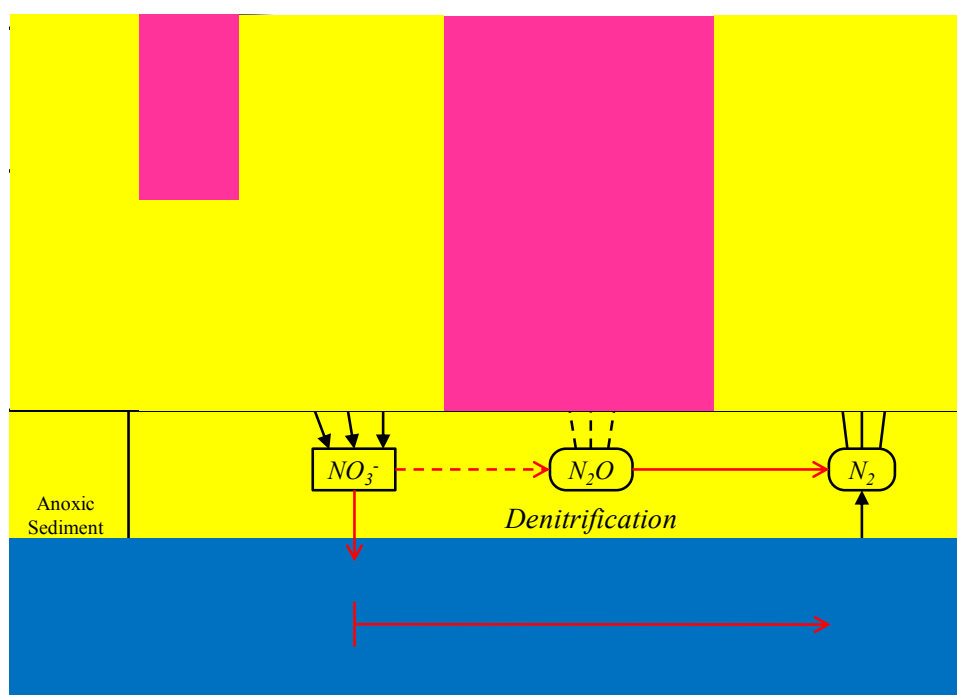


圖 4. 不同氮轉化路徑及不同版本的 IPT 示意圖，詳見[Hsu et al., 2013]

4 高濁度河口的氮氧化過程-顆粒氧化態鐵的角色

長江口受人為活動影響劇烈，具有高濁度，高營養鹽的特點。我們首次報導了高濁度河口顆粒結合態硝化作用的潛在的重要性，在 inner plume 和河口區都發現硝化速率和懸浮顆粒濃度存在正相關的關係。除了氧氣外，部分站位中顆粒氧化態鐵、錳在硝化過程中也扮演著電子受體的角色，該現象的發現是有氧水體硝化過程研究的重大突破。

通過硝化速率計算硝化過程的需氧量（NOD），結果發現硝化需氧量占總呼吸耗氧量（CR）的 0.4-318%，其中 inner plume 區 13 個水層超過理論值 23.2%，更有 5 個水層超過 100%（圖 5b），雖然 NOD/CR 與 DO 並未呈現好的相關性，但 NOD/CR 的高值都出現在 $DO < 200 \mu\text{mol/L}$ 的區域（圖 5a）。這意味著在高濁度河口氧氣並非氮氧化過程唯一的電子受體。更令人興奮的是，同時發現 inter

plume 的活性 Fe、Mn 與 NOD/CR 呈現良好的線性關係（圖 5c、5d）。因此有理由相信，顆粒氧化態鐵、錳在高濁度河口的氮氧化過程中也扮演著電子受體的角色。

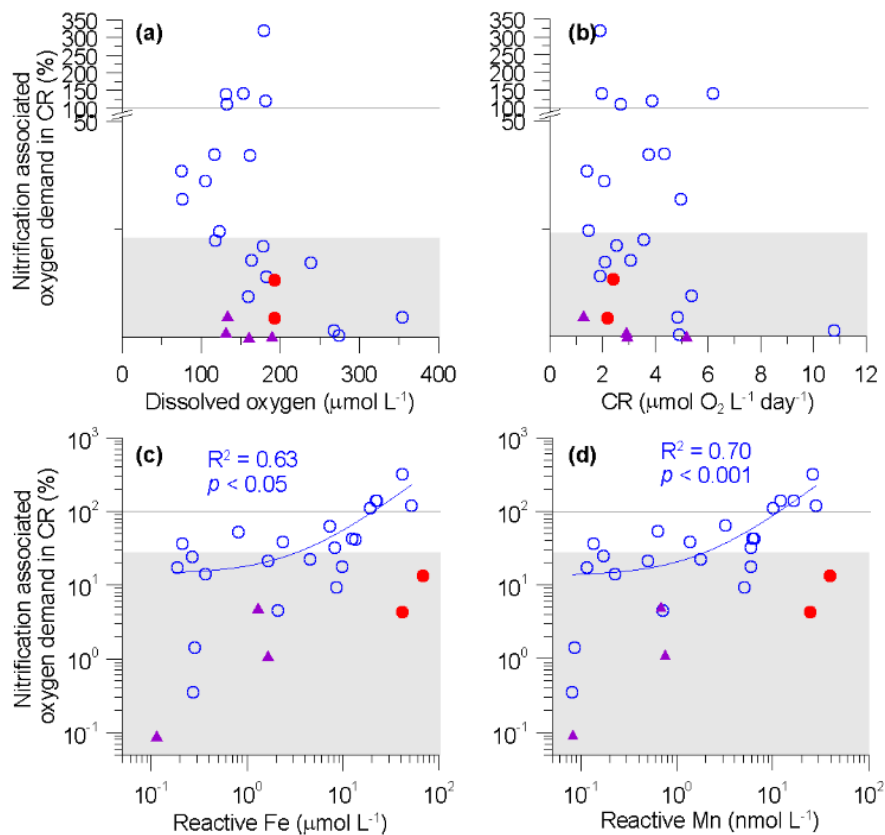


圖 5 長江口硝化速率與耗氧之間的關係圖 (a) 溶解氧 (b) 群落呼吸率 (c) 活性鐵含量 (d) 活性錳含量 (●) 長江河口 (○) inner plume (▲) outer plume

5 近岸富營養水體的氮動力過程-質量平衡與同位素示蹤法

城鎮化進程的加速以及人口迅速增長使得中國成為活性氮排放量最大的國家。大量人為產生的活性氮的排放，導致氮濃度以及組分發生顯著變化，影響原有的氮動力學過程，引發一系列生態危機。這些人為源的無機氮 (DIN)，如銨氮 (NH_4^+)、亞硝酸鹽 (NO_2^-)、硝酸鹽 (NO_3^-)，以及有機氮 (DON、PON) 在光合基礎生產者和微生物作用下快速轉換，影響不同形態氮儲庫，甚至整個氮循環過程 (如浮游植物吸收速率、氮與亞硝酸鹽氧化速率以及浮游植物吸收硝酸鹽釋放亞硝酸鹽)。由於過程複雜，幾乎無法同時測定各個過程的轉化速率。對這些過程的變化及機制的認知極度缺乏，使得我們研究對人為活動干擾近岸氮儲庫過程受到極大限制。

為了解決該問題，我們在五緣灣，通過添加單一 ^{15}N 同位素示蹤劑 $^{15}\text{NH}_4^+$ 模擬原位環境條件進行培養，高頻度的採集培養樣品 (3 小時)，建立各個氮儲庫濃度以及同位素的逐時變化曲線 (圖 6)。在質量守恆 (濃度以及 ^{15}N 同位素) 的前提下，運用矩陣的數學方法，演算出各個儲庫相互之間的轉換速率。並應用

STELLA 軟體建立模型，交差驗證矩陣法所得到的結果。本研究首次將矩陣法與同位素示蹤結合，同時計算出 8 種氮過程轉換速率。

研究結果（圖 7）表明浮游植物對 NH_4^+ 有較強的親和性，以 NH_4^+ 吸收速率為主，其次是 NO_3^- 的吸收，亞硝酸鹽被利用的信號極低。浮游植物吸收的營養鹽中分別有 0.2%-30% 和 11%-34% 以氮化和 DON 的形式向外釋放。 NH_4^+ 氧化速率比 NH_4^+ 吸收過程速率小 3 個數量級左右，可見水體 NH_4^+ 的消耗主要路徑是浮游植物的吸收。近岸水體向外擴散混合的過程當中， NH_4^+ 的停留時間是 1.6 天， NO_3^- 停留時間是 7.2 天，而 NO_2^- 的停留時間極長（濃度基本不變）。因此，五緣灣水體進入臺灣海峽的過程中， NH_4^+ 很快就被耗盡，進入臺灣海峽的主要是 NO_3^- 和 NO_2^- 。這與近岸觀測到的低濃度亞硝酸鹽事實不符，猜測在流體擴散稀釋過程當中，各類營養鹽被消耗，引起亞硝酸濃度下降的同時，毒性下降，可能很快成為替代性營養鹽。該研究成果已整理完畢，正進行論文撰寫。

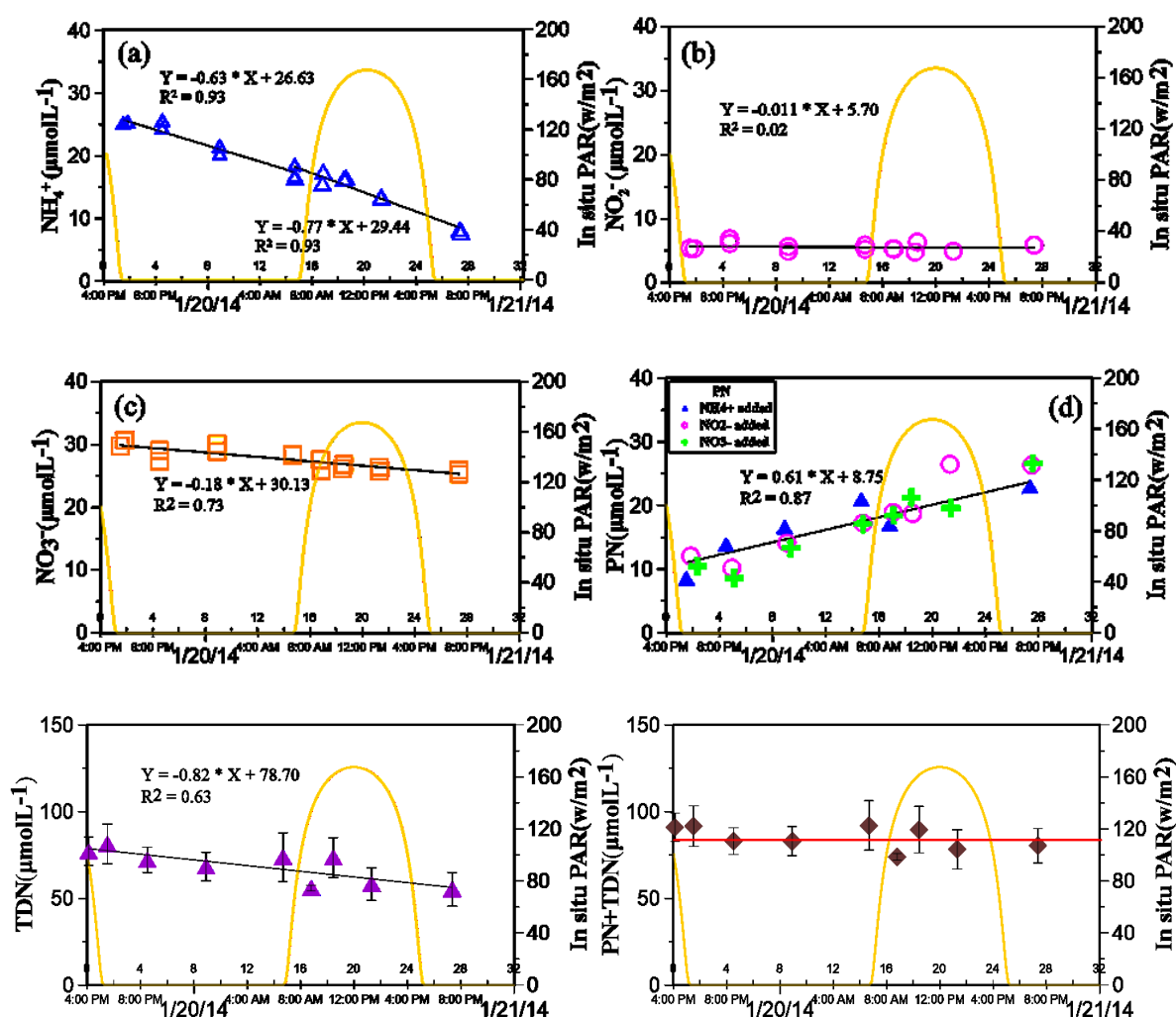


圖 6 營養鹽濃度 (NH_4^+ 、 NO_2^- 、 NO_3^- 、PN、TDN、TDN+PN) 隨時間的變化

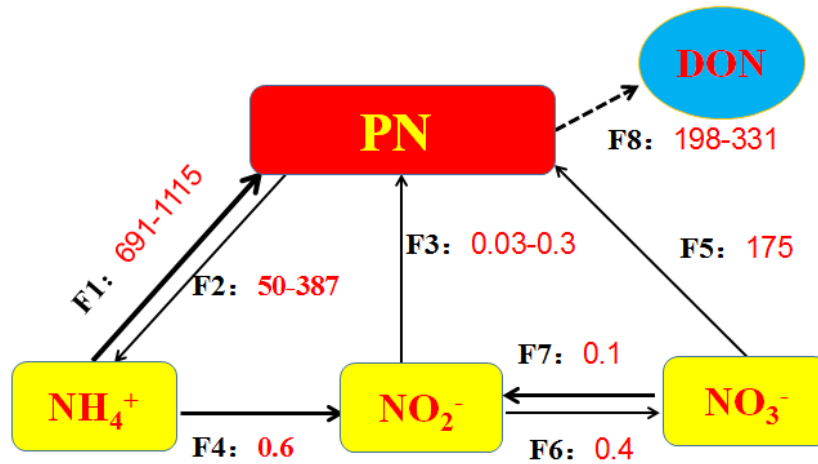


圖 7 矩陣法計算所得不同形態氮庫之間的轉換速率 (nmol/L/d)

6 從沉積物氮同位素解讀阿拉伯海的氮循環歷史

通過搜集、總結和分析了已發表的阿拉伯海水體硝態氮、沉積物捕獲器、表層沉積物及長沉積物岩心的氮同位素資料，我們試圖瞭解阿拉伯海氮循環在冰期-間冰期尺度上的動態變化。以上層水體 150m 的溶氧 (25umol/kg) 為界限，將阿拉伯海劃分為南部和北部。我們發現在地理空間分佈上，沉積物的 ¹⁵N 值隨水深的增加而變重，這種水深效應表現出南北差異；阿拉伯海北部氮同位素水深效應 (0.55‰/km) 低於南部 (0.76‰/km)，這可能與有機質的曝氧時間長短相關。

在時間尺度上，水深效應則表現出冰期-全新世-現代的差異。扣除水深效應後我們發現表層沉積物氮同位素反映的是真光層底部提供的硝氮的信號。此外，修正水深效應後阿拉伯海南、北部沉積物氮同位素在冰期變化趨勢沒有顯著差別，並且接近全球海洋硝氮同位素的均值 (4.5~6‰)，但南、北部差異自冰消期以來總體增大，並有擴大趨勢，表明阿拉伯海冰期氮循環受全球氣候變化驅動，而全新世和現代則可能多受局部過程影響。尤其北部岩心氮同位素值在晚全新世持續增大，與南部和東赤道北太平洋及東赤道南太平洋在晚全新世呈現的下降趨勢相反，似乎暗示北部逐漸增強的反硝化引發了南部海域較強的固氮作用，致使次表層 $\delta^{15}\text{N-NO}_3^-$ 差異逐漸擴大，即固氮與反硝化作用存在的空間耦合關係。造成以上現象的原因可能是水流交換在冷暖期格局不同，同時影響了氧氣供應及不同氮磷比的營養鹽的分佈，從而引發固氮與反硝化作用之間的回饋回應。

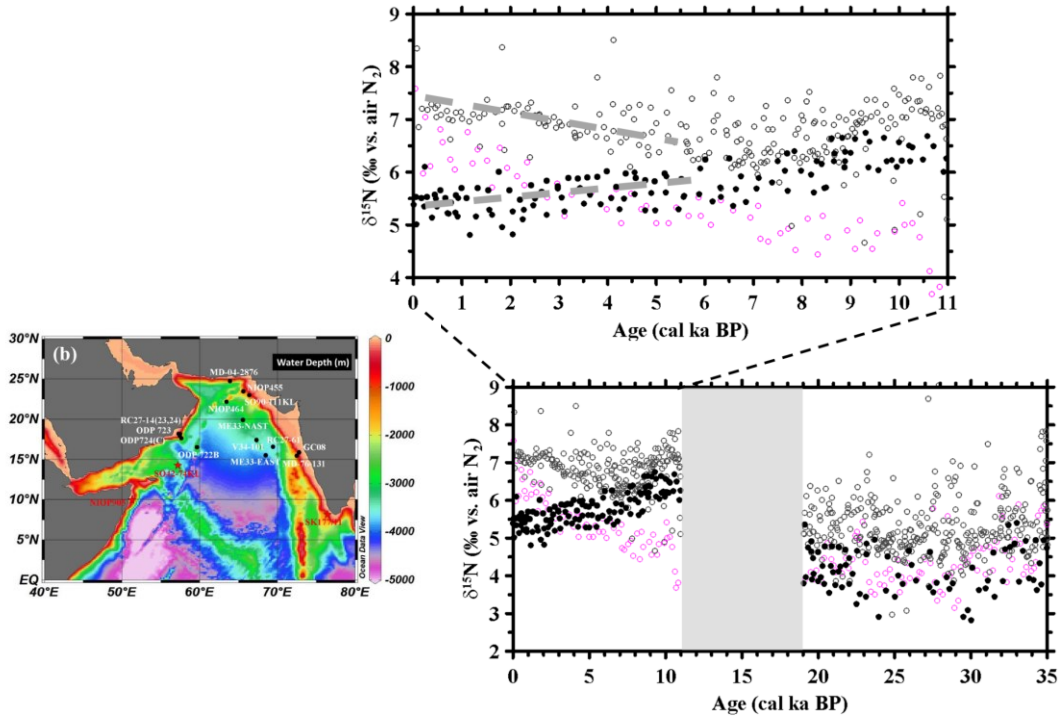


圖 8 經水深效應修正後的阿拉伯海沉積物岩心氮同位素時間變化圖。灰點和黑點分別表示阿拉伯海北部和南部的資料。受海平面上升的疊加效應，沒有合適的公式對間冰期水深

效應進行校正，因此這部分數據不與討論。

參考文獻

- Andrew, B. R., Richard, G. K., Allan, H. D. & Bess, B. W. (2014) Organic matter stoichiometry, flux, and oxygen control nitrogen loss in the ocean. *Science*, 344, 406-408.
- Brandes J A, Devol A H, Deutsch C. (2007) New developments in the marine nitrogen cycle[J]. *Chemical Reviews*, 107(2): 577-589.
- Capone, D. G. (2001) Marine nitrogen fixation: what's the fuss?, *Curr Opin Microbiol*, 4(3), 341-348.
- Capone D G, Bronk D A, Mulholland M R, Carpenter E J. (2008) *Nitrogen in the marine environment*[M]. Academic Press.
- Codispoti, L. A., J. A. Brandes, J. P. Christensen, A. H. Devol, S. W. A. Naqvi, H. W. Paerl, and T. Yoshinari (2001) The oceanic fixed nitrogen and nitrous oxide budgets: Moving targets as we enter the anthropocene?, *Sci Mar*, 65, 85-105.
- Cornwell, J. C., W. M. Kemp & T. M. Kana (1999) Denitrification in coastal ecosystems: environmental controls and aspects of spatial and temporal scale. *Aquatic Ecology*, 33, 41-54.
- Deutsch C, Sarmiento J L, Sigman D M, Gruber N, Dunne J P. (2007) Spatial coupling of nitrogen inputs and losses in the ocean[J]. *Nature*, 445(7124): 163-167.
- Diaz, R. J. & R. Rosenberg (2008) Spreading dead zones and consequences for marine ecosystems. *science*, 321, 926-929.

- Giblin, A. E., C. R. Tobias, B. Song, N. Weston, G. T. Banta & V. H. Rivera-Monroy (2013) The importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium (DNRA) in the nitrogen cycle of coastal ecosystems. *Oceanography*, 26, 124-131.
- Gruber, N. (2004) The dynamics of the marine nitrogen cycle and its influence on the atmospheric CO₂ variations, in *Carbon-Climate Interactions*, edited by M. F. a. T. Oguz, pp. 1-39, Wiley, New York.
- Gruber, N. (2005) A bigger nitrogen fix, *Nature*, 436(7052), 786-787.
- Gruber, N. (2008) The Marine Nitrogen Cycle. In *Nitrogen in the Marine Environment* 1-50. Burlington Elsevier.
- Güven D, Dapena A, Kartal B, Schmid M C, Maas B, Van De Pas-Schoonen K, Sozen S, Mendez R, Den Camp H J O, Jetten M S. (2005) Propionate oxidation by and methanol inhibition of anaerobic ammonium-oxidizing bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(2): 1066-1071.
- Houghton, J. T. (1996) *Climate change 1995: The science of climate change: contribution of working group I to the second assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press.
- Hsu, T. C. & S. J. Kao (2013) Technical Note: Simultaneous measurement of sedimentary N₂ and N₂O production and a modified ¹⁵N isotope pairing technique. *Biogeosciences*, 10, 7847-7862.
- Jenkins, M. C., and W. M. Kemp (1984) The coupling of nitrification and denitrification in two estuarine sediments, *Limnol Oceanogr*, 29(3), 609-619.
- Lam, P. and M. M. Kuypers (2011) Microbial nitrogen cycling processes in oxygen minimum zones, *Annual review of marine science* 3: 317-345.
- Marchant, H. K., G. Lavik, M. Holtappels & M. M. M. Kuypers (2014) The fate of nitrate in intertidal permeable sediments. *PLOS ONE*, 9, 1-12.
- Master, Y., U. Shavit & A. Shavit (2005) Modified isotope pairing technique to study N transformations in polluted aquatic systems: Theory. *Environmental science & technology*, 39, 1749-1756.
- Naqvi, S. W. A., T. Yoshinari, D. A. Jayakumar, M. A. Altabet, P. V. Narvekar, A. H. Devol, J. A. Brandes, and L. A. Codispoti (1998) Budgetary and biogeochemical implications of N₂O isotope signatures in the Arabian Sea, *Nature*, 394(6692), 462-464.
- Nevison, C., J. H. Butler & J. W. Elkins (2003) Global distribution of N₂O and the ΔN₂O-AOU yield in the subsurface ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 17, 30-1-30-18.
- Nicholls, M. T. a. J. C. (2009) Production of nitrogen gas via anammox and denitrification in intact sediment cores along a continental shelf to slope transect in the North Atlantic. *Limnol. Oceanogr.*, 54, 577-589.
- Nielsen, L. P. (1992) Denitrification in sediment determined from nitrogen isotope pairing. *FEMS Microbiology Letters*, 86, 357-362.
- Risgaard-Petersen, N., Nielsen, L. P., Rysgaard, S., Dalsgaard, T., and Meyer, R. L. (2003) Application of the isotope pairing technique in sediments where anammox and denitrification coexist. *Limnol. Oceanogr.: Methods*, 1, 63-73.
- Schlesinger, W. H. (2009) On the fate of anthropogenic nitrogen. *PNAS*, 106, 203-8.
- Seitzinger, S., J. A. Harrison, J. K. Böhlke, A. F. Bouwman, R. Lowrance, B. Peterson, C. Tobias & G. Van Drecht (2006) Denitrification across landscapes and waterscapes: a synthesis.

Ecological Applications, 16, 2064-2090.

Sørensen, J. (1978) Denitrification rates in a marine sediment as measured by the acetylene inhibition technique. *Applied and Environmental Microbiology*, 36, 139-143.

Trimmer, M., Risgaard-Petersen, N., Nicholls, J. C., and Engström, P (2006) Direct measurement of anaerobic ammonium oxidation (anammox) and denitrification in intact sediment cores. *Mar. Ecol.-Prog. Ser.*, 326, 37-47.

Ward, B. (2008), Nitrification in marine systems, in *Nitrogen in the Marine Environment*, edited by D. G.

Zehr J P and Ward B B. (2002) Nitrogen cycling in the ocean: new perspectives on processes and paradigms[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3): 1015-1024.