

评述与展望

Review and Progress

海洋酸化影响硅藻固碳相关基因表达的研究进展

邓祥元^{1,2,*} 成婕¹ 高坤¹ 王长海²

1 江苏科技大学生物技术学院, 镇江, 212018; 2 南京农业大学江苏省海洋生物学重点实验室, 南京, 210095

* 通讯作者, dengxy2009@126.com

摘要 由于人类活动导致的大气 CO₂ 浓度升高, 将导致海水 pH 值下降, 从而引起海洋酸化, 改变海水碳酸盐系统, 影响海洋生物的生长、发育、代谢、凋亡及钙化过程等。研究海洋酸化对藻类固碳途径(生物碳泵)的影响对了解和预测未来海洋碳泵的发展趋势具有重要意义。硅藻作为海洋初级生产力的主要生产者, 研究海洋酸化影响其固碳过程的意义更大。尽管目前已对海洋酸化影响硅藻的生理生化过程有了较为深入的研究, 但从基因表达水平上研究海洋酸化对硅藻固碳过程的影响还较少, 本文对此领域做一概述。

关键词 海洋酸化, 硅藻固碳, 基因表达, 三角褐指藻

Effects of Ocean Acidification on Gene Expression Related to Carbon Fixation Pathway of Diatoms: A Review

Deng Xiangyuan^{1,2,*} Cheng Jie¹ Gao Kun¹ Wang Changhai²

1 College of Biotechnology, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang, 212018; 2 Key Laboratory of Marine Biology, Jiangsu Province, Nanjing Agricultural University, Nanjing, 210095

* Corresponding author, dengxy2009@126.com

DOI: 10.13417/j.gab.034.001092

Abstract Atmospheric CO₂ concentrations have been risen because of human activities. Elevated atmospheric CO₂ dissolves into seawater driving a chemical equilibrium such that pH of the oceans becomes more acidic (ocean acidification, OA). And ocean acidification has remarkable effects on the growth, metabolism, photosynthesis, calcification, reproduction and development of marine organisms. Research on the effects of ocean acidification on carbon fixation pathway of algae has important significance to understand and predict development of marine carbon pump. As a marine primary producer, diatoms have gradually become major actors in the oceanic cycles of elements, thus studies on effects of ocean acidification on carbon fixation pathway of diatoms have great significance. Though effects of ocean acidification on the physiology/biochemistry of diatoms have been comparatively deep researched, the effects of ocean acidification on carbon fixation pathway of diatoms are still poorly understood at gene expression level, which will be reviewed in this study.

Keywords Ocean acidification, Carbon fixation of diatoms, Gene expression, *Phaeodactylum tricornutum*

海洋作为大气 CO₂ 的汇聚, 所吸收的 CO₂ 占人类活动排放量的 30% 以上(Beardall et al., 2009), 这对缓解全球变暖具有重要作用。然而, 由于大量化石燃料的使用和森林的过度采伐, 大气中 CO₂ 浓度已由工业革命初的 280 ppmv 上升至 390 ppmv (Doney et al., 2009)。大量 CO₂ 排放所带来的危害已被人们所认识(Hoegh-Guldberg and Bruno, 2010), 许多国家

已经开始规划在一定时间内减少排碳量(Gough et al., 2010)。但是, 在能源使用结构不变的情况下, 到 2100 年 CO₂ 浓度将达到 800~1 000 ppmv (Friedlingstein et al., 2006)。大气 CO₂ 浓度的持续升高, 将导致海洋吸收 CO₂ 的量不断增加, 使海水 pH 值下降, 这种由大气 CO₂ 浓度升高导致的海水酸度增加的过程被称为海洋酸化(ocean acidification)。此外, 大气 CO₂ 浓度的

升高还将导致全球变暖、海洋酸化、生物多样性变化(Hendriks et al., 2010)、水循环异常、海平面升高、上部混合层浅化等一系列重大的环境、生态和气候问题(高坤山, 2011), 严重制约着人类的可持续发展。

1 海洋酸化对海水碳酸盐系统的影响

在海水碳酸盐系统中, 总溶解无机碳(dissolved inorganic carbon, DIC)主要以 CO_2 、 HCO_3^- 及 CO_3^{2-} 三种形式存在(H_2CO_3 的量可忽略), 三者间可相互转化且处于动态平衡中。在当前的 pH 条件下, 海水中 HCO_3^- 占 DIC 的 90% 以上, CO_3^{2-} 约占 10%, CO_2 则占 1% 以下, 随着高浓度 CO_2 溶入海洋将导致 CO_2 和 HCO_3^- 浓度逐渐升高, 而海水 pH 值和 CO_3^{2-} 浓度将降低(高坤山, 1999; Dickson, 2010)。据估计, 到本世纪末(2100 年)海水 pH 值将下降 0.4~0.5 个单位, H^+ 浓度相应地上升 100%~150% (Caldeira and Wickett, 2003), 海洋酸化将会更加严重; 同时 CO_3^{2-} 浓度将下降 45%, 引起 CaCO_3 饱和浓度的降低, 这将对海洋中碳酸钙循环产生重大影响(Gangsto et al., 2008)。

2 海洋酸化对藻类固碳的影响

藻类可通过光合作用固定 CO_2 , 其自身又可在重力作用下沉降到海洋底层, 起到去除大气中 CO_2 的作用(即所谓的生物碳泵), 从而调节海洋与大气间的 CO_2 通量, 如硅藻(diatoms)每年可固定 10 亿吨 CO_2 (Roberts et al., 2007), 在海洋碳循环中扮演了非常重要的角色。因此, 研究海洋酸化对藻类固碳途径(生物碳泵)的影响对了解和预测未来海洋碳泵的发展趋势具有重要意义。已有研究表明, 未来海洋酸化将对藻类的无机碳浓缩机制和光合作用等固碳途径产生深远影响(Wu et al., 2008)。

虽然有关海洋酸化对海洋生物及海洋生态系统影响的研究工作才刚刚起步, 但从已发表的有关海洋酸化对海洋生物影响的研究论文中, 发现海洋酸化对海洋生物的影响非常显著, 尤其是对海洋生物的生长(Venn et al., 2013)、发育、代谢(Todgham et al., 2009; Stumpp et al., 2012; Hernroth et al., 2012)、凋亡及钙化过程等。对藻类而言, 海洋酸化可显著促进藻类的生长代谢过程, 仅对具有钙化能力的藻类, 如颗石藻, 的生长代谢具有一定的抑制作用。如 Langer 等(2009)在四种 CO_2 浓度下(200~1 200 ppmv)同时培养四株颗石藻(*Emiliania huxleyi*), 发现它们的生长、钙化作用和光合作用对 CO_2 浓度变化的响应并不一

致, 说明藻类对海洋酸化响应不一, 很可能是由基因的差异表达引起的。但目前大多数研究都集中在海洋酸化对藻类生理生化的影响上, 而受 CO_2 浓度调节的相关基因的表达情况尚缺乏相关研究信息, 如在海洋酸化条件下, 哪些基因发生了差异表达? 这些差异表达的基因会引起怎样的生理响应? 海洋酸化又如何影响这些基因的表达? 等等问题还不甚明确, 这必将是未来的一个新的研究领域和方向。

海洋酸化下, 较高 CO_2 浓度可能会导致浮游植物固碳量的升高, 而 pH 值下降又可能会影响细胞平衡 pH 值变化所需要的能量, 因此浮游植物的固碳途径也会受到海洋酸化的影响, 但我们对该过程如何响应海洋酸化还知之甚少。而海洋初级生产力的 98% 以上都是由浮游植物(浮游真核藻类与浮游原核蓝藻)和定生藻类贡献的(高坤山, 2011), 因此, 藻类固碳途径的变化关系到海洋生态系统初级生产力及未来海洋对 CO_2 的吸收能力。根据数学模型预测, 如果没有藻类固碳途径的存在, 工业革命初的大气 CO_2 浓度将达到 460 ppmv 而非 280 ppmv (Sarmiento and Toggw-eiler, 1984)。

硅藻(diatoms)作为海洋初级生产力中居主导地位的一类浮游植物, 约占海洋总初级生产力的 50% (Armbrust, 2009), 其主要生活在真光层, 即海表以下不到 200 m 的范围内, 在海洋碳循环和生物地球化学循环过程中起关键作用(Thornton, 2002; Zhai et al., 2009)。据预测, 在 2100 年以前, 海洋酸化主要发生在海表以下数百米的深度范围内(Langer et al., 2009), 因此生活在真光层区域的硅藻将首当其冲地受到海洋酸化的影响, 那么海洋酸化究竟在多大程度上影响硅藻的固碳过程? 硅藻固碳过程又如何响应这种愈演愈烈的环境压力? 这也必将是未来研究工作的热点。

3 海洋酸化对三角褐指藻固碳相关基因表达的影响

作为硅藻生物学的模式种, 三角褐指藻(*Phaeodactylum tricorutum*)具有生长世代短、易遗传转化等优点, 且其全基因组测序工作已于 2008 年全部完成(<http://genome.jgi-psf.org/Phatr2/Phatr2.home.html>) (Bowler et al., 2008) 而且网上还有 10 万多条 EST 序列(<http://www.diatomics.biologie.ens.fr/EST3/>), 这为研究 *P. tricorutum* 响应海洋酸化的分子调控机制及其在进化、生态、生理等方面的地位和作用提供了有利的工具。

Kroth 等(2008)运用比较基因组学的方法分析了参与 *P. tricornutum* 碳酸盐代谢途径的相关基因后,发现 *P. tricornutum* 既具有 C_3 途径,又具有类似于陆生植物的 C_4 途径。在 C_4 途径中, CO_2 进入细胞后在碳酸酐酶(carbonic anhydrase, CA)的作用下首先转变成 HCO_3^- , HCO_3^- 在内质网或周质空间中被磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 1 (phosphoenolpyruvate carboxylase 1, PEPC1)催化连接到磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP)上,形成四碳的草酰乙酸(oxaloacetic acid, OAA)。OAA 被转运到线粒体中,被磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase, PEPCK)降解成 CO_2 和丙酮酸, CO_2 和丙酮酸穿越6层膜进入叶绿体后, CO_2 进入 Calvin 循环,丙酮酸则在丙酮酸磷酸二激酶(pyruvate phosphate dikinase, PPK)的作用下,重新形成 PEP。PEP 再从叶绿体进入到内质网或周质空间中,重新参与 CO_2 的固定。因此,在响应海洋酸化的过程中,*P. tricornutum* 如何调控与 C_4 途径相关的基因?以及 C_4 途径的生态学意义都值得我们探讨。

在 *P. tricornutum* 固碳途径中,固定 CO_2 的关键酶为核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(rubisco),但其对 CO_2 的亲合力较低,导致固碳反应无法全速进行。为此,藻类在长期的适应进化过程中发展形成了 CO_2 浓缩机制(CO_2 concentrating mechanisms, CCM),它能将外界的 CO_2 浓缩进入细胞到达 Rubisco 的羧化位点,为其提供充足的 CO_2 ,从而加速羧化作用的进程,提高固碳速率。通过比较分析 *P. tricornutum* 的基因组序列,发现有 3 个蛋白与 HCO_3^- 转运有关:45656 与 CO_2 诱导 Na^+ 依赖型 HCO_3^- 转运子同源,32359 为 Na^+ 依赖型的 HCO_3^- 阴离子交换体,54405 则与 Cl^-/HCO_3^- 交换体同源,并预测在 *P. tricornutum* 中有 7 种 CA,其中 51305 和 45443 为 β 型 CA,而 35370、44526、55029、54251 及 42574 属 α 型 CA。最近有研究表明 β 型 CA 编码基因的表达水平易受 CO_2 浓度等环境因子的调节(Harada et al., 2005)。虽然有的学者认为大气 CO_2 浓度的升高不会提高藻类的固碳速率,对初级生产力的影响也是有限的(Giordano et al., 2005)。但 CCM 是一种耗能的碳获取途径,适应酸化后的 *P. tricornutum* 对 CO_2 的亲合力明显下降, HCO_3^- 和 CO_2 的主动运输能力降低,说明其 CCM 被明显下调(Wu et al., 2010);且 Harada 等(2006)的研究结果表明 CO_2 在调节 *P. tricornutum* 的 CCM 过程中起关键作用,而 cAMP 是其 CCM 对 CO_2 响应的一个调节中介。

在 Calvin 循环中, CO_2 固定是通过 15 步酶促反应进行的,该过程共涉及 13 种酶,分别为核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(rubisco)、磷酸甘油酸激酶(PGK)、磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)、丙糖磷酸异构酶(TPI)、醛缩酶(TRA)、果糖二磷酸酯酶(FBP)、葡萄糖磷酸异构酶(GPI)、葡萄糖磷酸酶(GLP)、转羟乙醛酶(TKL)、景天庚酮糖-1,7-二磷酸化酶(SBP)、磷酸核酮糖差向酶(RPE)、磷酸核酮糖差向酶(RPI)和磷酸核酮糖激酶(PRK)。通过研究发现在 Calvin 循环中某些酶含量的变化严重影响着藻类的固碳速率,且其差异表达还会影响藻细胞的生长发育(Kitade et al., 2008; 李青雁等, 2013)。此外,这些酶还同时参与了糖酵解、糖异生及磷酸戊糖途径的酶促反应,如 PGK 和 GAPDH 参与糖酵解途径,RPE、RPI 和 TKL 参与戊糖磷酸途径,因此这些酶将各种代谢途径耦合在一起,形成了复杂多样、相互影响的代谢网络系统。

此外,在 *P. tricornutum* 基因组中还发现了一些与光呼吸(C_2 循环)相关的酶基因,如磷酸乙醇酸磷酸酯酶(PGLP)、乙醇酸氧化酶(GLO1 和 GLO2)、丝氨酸:乙醛酸氨基转移酶(SPT/AGT)、甘氨酸脱羧酶(GDC)、丝氨酸羟甲基转移酶(SHMT)、羟丙酮酸还原酶(HPR)、甘油酸激酶(GK)等,说明在 *P. tricornutum* 中存在光呼吸代谢过程(C_2 循环),而在 C_2 循环中,ATP 的消耗和碳的损失将影响糖类及生物量的产生。在当今大气 CO_2 条件下, C_3 植物的氧化速率加快,这使得 C_2 循环被普遍认为是光合作用中一个能量损耗的副反应。因此,随着大气 CO_2 浓度的升高,光呼吸的变化趋势及其关键基因的表达情况必将成为新的研究热点。

4 研究展望

作为海洋初级生产力的主要生产者,硅藻在海洋碳循环和生物地球化学循环过程中起关键作用;而大气 CO_2 浓度升高导致的海洋酸化究竟怎样影响硅藻的固碳途径?硅藻又如何响应这种愈演愈烈的环境压力?至今尚无完整、系统的数据资料。而且海洋酸化对硅藻的影响是一个非常复杂、多层次、网络化的过程,相关基因的差异表达,极可能会导致硅藻对海洋酸化产生不同的生理过程,因此从整个网络上研究硅藻对海洋酸化的分子响应机制困难重重。所以,研究海洋酸化对硅藻固碳过程的影响要从基因差异表达与表达特性为突破口,然后利用组学(基因组学,蛋白质组学,转录组学及代谢组学)技术和方

法,系统阐述硅藻固碳途径对海洋酸化的响应机制,这将是未来研究海洋酸化的热点之一。

作者贡献

通讯作者邓祥元分析相关资料,并撰写论文;戚婕和高坤参与资料收集分析与论文撰写;王长海负责修改论文和文章定稿。

致谢

本研究由国家自然科学基金(31200381)、中国博士后科学基金(2013M531370, 2014T70532)和国家海洋局近岸海域生态环境重点实验室资助项目(201209)共同资助。

参考文献

Armbrust E.V., 2009, The life of diatoms in the world's oceans, *Nature*, 459(7244): 185-192

Beardall J., Stojkovic S., and Larsen S., 2009, Living in a high CO₂ world: impacts of global climate change on marine phytoplankton, *Plant Ecology and Diversity*, 2(2): 191-205

Bowler C., Allen A.E., Badger J.H., Grimwood J., Jabbari K., Kuo A., Maheswari U., Martens C., Maumus F., Otilar R.P., Rayko E., Salamov A., Vandepoele K., Beszteri B., Gruber A., Heijde M., Katinka M., Mock T., Valentin K., Verret F., Berges J.A., Brownlee C., Cadoret J.P., Chiovitti A., Choi C.J., Coesel S., De Martino A., Detter J.C., Durkin C., Falciatore A., Fournet J., Haruta M., Huysman M.J., Jenkins B.D., Jiroutova K., Jorgensen R.E., Joubert Y., Kaplan A., Kröger N., Kroth P.G., La Roche J., Lindquist E., Lommer M., Martin-Jézéquel V., Lopez P.J., Lucas S., Mangogna M., McGinnis K., Medlin L.K., Montsant A., Oudot-Le Secq M.P., Napoli C., Obornik M., Parker M.S., Petit J.L., Porcel B.M., Poulsen N., Robison M., Rychlewski L., Rynearson T.A., Schmutz J., Shapiro H., Siaut M., Stanley M., Sussman M.R., Taylor A.R., Vardi A., Von Dassow P., Vyverman W., Willis A., Wyrwicz L.S., Rokhsar D.S., Weissenbach J., Armbrust E.V., Green B.R., Van de Peer Y., and Grigoriev I.V., 2008, The *Phaeodactylum* genome reveals the evolutionary history of diatom genomes, *Nature*, 456(7219): 239-244

Caldeira K., and Wickett M.E., 2003, Oceanography: anthropogenic carbon and ocean pH, *Nature*, 425(6956): 365

Dickson A.G., 2010, The carbon dioxide system in seawater: equilibrium chemistry and measurements, In: Riebesell U., Fabry V.J., Hansson L., and Gattuso J.P. (eds.), *Guide to best practices for ocean acidification research and data reporting*, Publications Office of the European Union, Luxembourg,

pp.17-41

Doney S.C., Fabry V.J., Feely R.A., and Kleypas J.A., 2009, Ocean acidification: the other CO₂ problem, *Annual Review of Marine Science*, 1: 169-192

Friedlingstein P., Cox P., Betts R., Bopp L., Von Bloh W., Brovkin V., Cadule P., Doney S., Eby M., Fung I., Bala G., John J., Jones C., Joos F., Kato T., Kawamiya M., Knorr W., Lindsay K., Matthews D.H., Raddatz T., Rayner P., Reick C., Roeckner E., Schnitzler K.G., Schnur R., Strassmann K., Weaver A.J., Yoshikawa C., and Zeng N., 2006, Climate-carbon cycle feedback analysis: results from the C4MIP model intercomparison, *Journal of Climate*, 19: 3337-3353

Gangsto R., Gehlen M., Schneider B., Bopp L., Aumont O., and Joos F., 2008, Modeling the marine aragonite cycle: changes under rising carbon dioxide and its role in shallow water CaCO₃ dissolution, *Biogeosciences*, 5: 1057-1072

Gao K.S., 1999, Research techniques and methods in characterizing photosynthetic carbon fixation by algae, *Haiyang Kexue (Marine Science)*, 6: 37-41 (高坤山, 1999, 藻类光合固碳的研究技术与解析方法, *海洋科学*, 6: 37-41)

Gao K.S., 2011, Positive and negative effects of ocean acidification: physiological responses of algae, *Xiamen Daxue Xuebao (Ziran Kexue Ban) (Journal of Xiamen University (Natural Science))*, 50(2): 411-417 (高坤山, 2011, 海洋酸化正负效应: 藻类的生理学响应, *厦门大学学报(自然科学版)*, 50(2): 411-417)

Giordano M., Beardall J., and Raven J.A., 2005, CO₂ concentrating mechanisms in algae: mechanisms, environmental modulation, and evolution, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56: 99-131

Gough C., Mander S., and Haszeldine S., 2010, A roadmap for carbon capture and storage in the UK, *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 4(1): 1-12

Harada H., Nakajima K., Sakaue K., and Matsuda Y., 2006, CO₂ sensing at ocean surface mediated by cAMP in a marine diatom, *Plant Physiology*, 142(3): 1318-1328

Harada H., Nakatsuma D., Ishida M., and Matsuda Y., 2005, Regulation of the expression of intracellular β-carbonic anhydrase in response to CO₂ and light in the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*, *Plant Physiol.*, 139(2): 1041-1050

Hendriks I.E., Duarte C.M., and Álvarez M., 2010, Vulnerability of marine biodiversity to ocean acidification: a meta-analysis, *Estuarine Coastal and Shelf Science*, 86(2): 157-164

Hernroth B., Sköld H.N., Wiklander K., Jutfelt F., and Baden S., 2012, Simulated climate change causes immune suppression and protein damage in the crustacean *Nephrops norvegicus*, *Fish and Shellfish Immunology*, 33(5): 1095-10101

Hoegh-Guldberg O., and Bruno J.F., 2010, The impact of climate change on the world's marine ecosystems, *Science*, 328 (5985): 1523-1528

- Kitade Y., Asamizu E., Fukuda S., Nakajima M., Ootsuka S., Endo H., Tabata S., and Saga N., 2008, Identification of genes preferentially expressed during asexual sporulation in *Porphyra yezoensis* gametophytes (Bangiales, Rhodophyta), *Journal of Phycology*, 44(1): 113-123
- Kroth P.G., Chiovitti A., Gruber A., Martin-Jezequel V., Mock T., Parker M.S., Stanley M.S., Kaplan A., Caron L., Weber T., Maheswari U., Armbrust E.V., and Bowler C., 2008, A model for carbohydrate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricorutum* deduced from comparative whole genome analysis, *PLoS One*, 3(1): e1426
- Langer G., Nehrke G., Probert I., Ly J., and Ziveri P., 2009, Strain-specific responses of *Emiliania huxleyi* to changing seawater carbonate chemistry, *Biogeosciences*, 6: 2637-2646
- Li Q.Y., Pang Y.T., Li X.L., Zhou F.F., Zhang F., Huo Y.P., and Zhao Y.W., 2013, Progress in the molecular mechanism of circadian clock in Cyanobacterium, *Jiyinzuxue Yu Yingyong Shengwuxue (Genomics and Applied Biology)*, 32(5): 677-684 (李青雁, 庞羽彤, 李小龙, 周飞飞, 张芳, 霍宇鹏, 赵宇玮, 2013, 蓝藻生物节律性分子调控机制的研究进展, *基因组学与应用生物学*, 32(5): 677-684)
- Roberts K., Granum E., Leegood R.C., and Raven J.A., 2007, C₃ and C₄ pathways of photosynthetic carbon assimilation in marine diatoms are under genetic, not environmental, control, *Plant Physiology*, 145: 230-235
- Sarmiento J.L., and Toggweiler J.R., 1984, A new model for the role of the oceans in determining atmospheric pCO₂, *Nature*, 308: 621-624
- Stumpp M., Hu M.Y., Melzner F., Gutowska M.A., Dorey N., Himmerkus N., Holtmann W.C., Dupont S.T., Thorndyke M.C. and Bleich M., 2012, Acidified seawater impacts sea urchin larvae pH regulatory systems relevant for calcification, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109(44): 18192-18197
- Thornton D.C.O., 2002, Diatom aggregation in the sea: mechanisms and ecological implications, *European Journal of Phycology*, 37: 149-161
- Todgham A.E., and Hofmann G.E., 2009, Transcriptomic response of sea urchin larvae *Strongylocentrotus purpuratus* to CO₂-driven seawater acidification, *Journal of Experimental Biology*, 212(Pt16): 2579-2594
- Venn A.A., Tambutté E., Holcomb M., Laurent J., Allemand D., and Tambutté S., 2013, Impact of seawater acidification on pH at the tissue-skeleton interface and calcification in reef corals, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110(5): 1634-1639
- Wu H.Y., Zou D.H., and Gao K.S., 2008, Impacts of increased atmospheric CO₂ concentration on photosynthesis and growth of micro- and macro-algae, *Science in China Series C: Life Sciences*, 51(12): 1144-1150
- Wu Y.P., Gao K.S., and Riebesell U., 2010, CO₂-induced seawater acidification affects physiological performance of the marine diatom *Phaeodactylum tricorutum*, *Biogeosciences*, 7: 2915-2923
- Zhai B., Li T.G., Chang F.M., and Cao Q.Y., 2009, Vast laminated diatom mat deposits from the west low-latitude Pacific Ocean in the last glacial period, *Chinese Science Bulletin*, 54(23): 4529-4533