

热泉微生物的矿化作用和机制：来自华南富硅热泉光合自养微生物席中的证据

彭晓彤 周怀阳 吴自军 蒋磊 唐松 姚会强 陈光谦

(中国科学院广州地球化学研究所 极端环境地质地球化学重点实验室, 广州 510640. E-mail: xtpeng@gig.ac.cn)

摘要 热泉微生物是地球极端生命体的重要表现形式, 它们不但对于研究地球生命起源和生命演化意义重大, 而且在地球成矿过程中发挥了重要作用. 以采自中国广东省境内两处热泉光合自养微生物席为研究对象, 运用地质学和现代生物学的微观研究方法, 对其中的微生物矿化作用和机制进行了研究. 结果表明, 热泉微生物席对 Si, Al, Fe 和 Ca 等多种元素具有重要的富集能力, 在 SiO_2 , CaCO_3 和黏土等热泉矿物形成过程中所起的作用不容忽视. 胞外聚合物(EPS)在热泉微生物矿化过程中扮演了重要的角色, 矿化过程主要限制在蓝细菌细胞壁外或鞘层外的 EPS 层中发生. 细菌壁外发育的鞘层同样对于蓝细菌的生物矿化意义重大. 由于鞘层的存在, 一些蓝细菌在表面矿化发生的同时, 还能进行正常的新陈代谢活动. 根据两处微生物席的多种矿化特征, 提出将热泉微生物席的矿化过程划分为早期表面矿化、中期降解矿化和晚期矿物脱落等 3 个阶段. 上述认识, 对于理解发生在现代和古代热泉环境中的矿化过程、沉积过程以及微化石保存过程均具有重要的意义.

关键词 热泉 微生物席 蓝细菌 EPS 鞘 生物矿化

在热泉、盐湖及其他极端环境中, 蓝细菌是主要或唯一的光合自养微生物^[1,2]. 它们是地球上最早能放出氧气的光养生物, 并担负着地球大气从无氧到有氧的转换作用. 在现代热泉环境中, 蓝细菌常因矿化过程的发生而包裹在各种矿物中, 它们与 SiO_2 , CaCO_3 以及 Fe 和 Al 硅酸盐矿物的沉淀有着十分紧密的联系, 其矿化是一种能影响热泉微化石形成、热泉沉积和化学元素迁移的重要地质过程^[3-5]. 热泉微生物席是热泉蓝细菌的聚集地和蓝细菌发生矿化的主要场所. 在这里, 热泉成矿过程与生命过程之间存在着某些直接的联系, 多种热泉矿物的形成与热泉微生物席密切相关^[5,6]. 一方面, 蓝细菌新陈代谢活动能在微生物席中创造出局部的过饱和微环境, 为水体中成矿元素在席中沉淀提供了必要的条件; 另一方面, 微生物席中蓝细菌表面和丰富的有机质为热泉矿物的形成提供了合适的成核点和矿化点^[7-10]. 例如, 在一些热泉环境中, CaCO_3 的形成与微生物席中蓝细菌的新陈代谢活动紧密联系, 蓝细菌光合碱化作用能升高细胞周围微环境的 pH 值, 驱动碳酸盐成矿过程的发生^[5]. 因此, 研究现代热泉微生物席中所

蕴含的成矿信息, 对于更好地理解热泉沉积地球化学过程, 认识热泉矿物的形成机制和了解热泉蓝细菌在矿化过程中所起的作用极为重要, 同时也可作为研究地球早期生命存在证据之一的太古代叠层石的形成提供有益的借鉴^[11-13].

中国西南和华南地区的热泉资源丰富, 但未见报道有关热泉光合自养微生物席生物矿化方面的研究工作. 本文运用多种现代生物学的微观研究方法(荧光立体显微镜和透射电子显微镜), 结合地质学研究方法, 以中国华南两处富硅热泉中的光合自养微生物席和蓝细菌为研究对象, 初步探讨了两处热泉蓝细菌的生物矿化机制和热泉微生物席的矿化模式.

1 材料与方法

1.1 样品采集

热泉光合自养微生物席样品分别采自于广东省惠东县平海镇和恩平市良西镇, 地理坐标分别为 $22^{\circ}39'28.2''\text{N}$, $114^{\circ}47'59.4''\text{E}$ 和 $22^{\circ}07'17.5''\text{N}$, $112^{\circ}10'12.7''\text{E}$ (图 1). 热泉光合自养微生物席采集上岸后, 在微生物席的上、中、下不同部位取样若干. 同

2006-05-09 收稿, 2006-08-28 接受

国家重点基础研究发展计划(批准号: G200007850)、国家自然科学基金(批准号: 40532011, 40403004)、国家自然科学基金重点基金(批准号: 40473032)、中国科学院知识创新工程重要方向项目(批准号: KZCX3-SW-223)和广东省博士启动基金(批准号: 04300763)资助

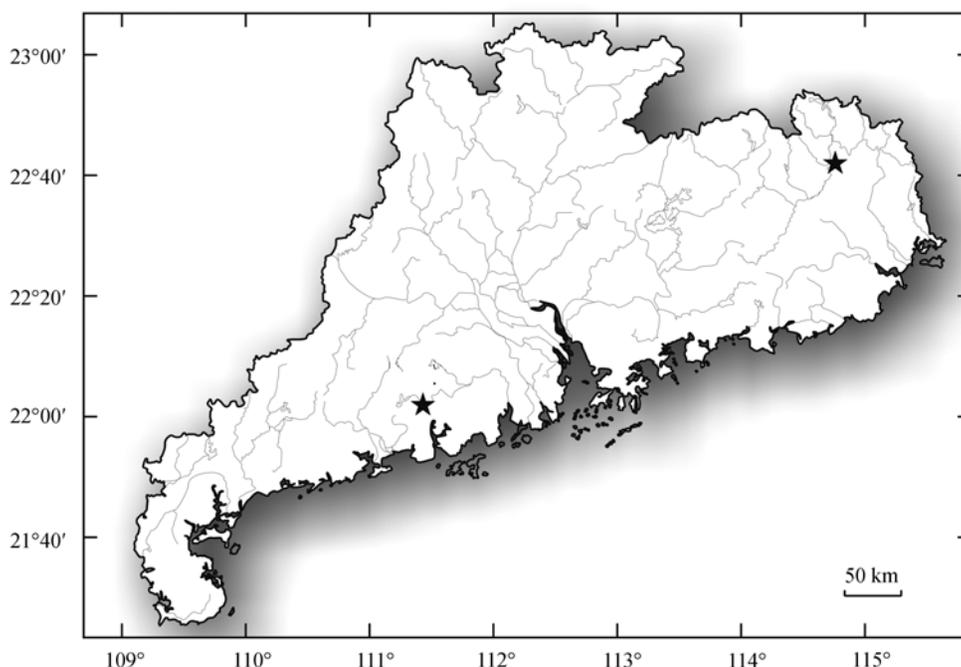


图1 光合自养微生物席的采样位置

一样品分为三份,第一份样品立即放入 2%戊二醛溶液中,4 ℃ 保存,用于进行透射显微分析;第二份样品用 8%甲醛固定,4 ℃ 保存,用于环境扫描电子显微镜和荧光显微分析;第三份样品低温冷冻保存,用于矿物学和地球化学分析。在热泉喷口正上方采集水样,水样采集上来后,装入聚四氟乙烯瓶中,酸化后(pH = 2)冷藏保存,用于水溶液化学分析。

1.2 分析方法

水溶液化学和矿物学: 热泉水体采用 PE 公司 Plasma 2000 电感耦合等离子体原子发射光谱仪(ICP-AES)对热泉水中 Ca, Fe, K, Na, Mg, Mn, Al, P, Sr, Ti, V, Zn 等元素进行测定,用仪器同步扣背景值法消除元素之间的相互干扰。水体中 SiO_4^{2-} -Si 的分析采用硅钼蓝法,用国产 7230G 型可见分光光度计于波长 620 nm 处测定吸光值。应用日本理学 D/MAX-1200X-射线衍射仪,对微生物席矿化部分进行矿物组合的定性与半定量分析。

荧光显微观察: 针对蓝细菌自身产生荧光的特性,将少许 8%甲醛固定后的样品在 Leica MZ FLIII 荧光立体显微镜下对蓝细菌形貌、微生物席矿化部分和未矿化部分进行观察。由于一旦蓝细菌因死亡而发生细胞溶解,其中能产生特征荧光的水溶性色素(如藻青蛋白等)就会快速丧失,因此,可通过观察微

生物席中此类色素的存在与否来判别蓝细菌的活性以及细胞壁的完整性,并可用于区分热泉微生物席中的矿化层和未矿化层^[1,14]。

扫描电子显微镜观察和微区化学: 应用可检测活体、潮湿样品的荷兰 FEI Quant 400 型环境扫描电子显微镜,采用低真空模式,直接对不经表面处理(不喷镀)的微生物席样品进行观察,以避免前处理过程对微生物席样品的破坏和可能对能谱分析产生的影响。扫描电子显微镜的工作条件:加速电压 20 kV,最大发射电流 300 μA 。应用 EDAX 公司 Genesis 型能谱仪对微生物席微区化学成分进行分析。能谱分析探头分辨率优于 129 eV,峰背比优于 20000 : 1,检测元素范围 Be4-U92,最大计数率 500000 cps。

透射电子显微镜观察和微区化学: 将不同部位的热泉微生物席样品分切成 0.15 cm × 0.45 cm 的若干长条形小块,2%戊二醛 4 ℃ 固定 2 h, PBS 溶液洗 3 次,每次 10 min。4 ℃ 下浸泡于 1%锇酸溶液中 2 h,用 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%和 100%的系列乙醇梯度脱水各 10 min。经环氧丙烷过渡到环氧树脂渗透包埋,超薄切片,醋酸铀-柠檬酸铅双染。用荷兰 FEI Tecnai 12 型透射电子显微镜对超薄切片样品中蓝细菌内部结构与矿物沉淀之间的关系观察,加速电压 100 kV。采用英国牛津 INCA

Energy TEM X 射线能谱仪, 以无标样定量方式, 分析微区化学成分.

2 结果

2.1 热泉流体化学和微生物席矿物组成

现场 pH 和温度测定显示, 惠东热泉属弱酸性 (pH=5.90) 热泉, 热泉口最高水温为 59°, 喷口附近水体温度 49°. 恩平热泉呈弱碱性 (pH = 8.67), 最高水温为 69°, 喷口附近水体温度 54°. 惠东热泉流体中 Ca, Na, Mg 和 K 等元素含量高于恩平热泉, 而 Fe 含量低于恩平热泉 (表 1). 两处热泉流体化学性质相似之处在于两者硅含量均很高, 在水体中呈过饱和状态. 对热泉微生物席的 XRD 分析表明 (图 2), 惠东微生物席所含的主要矿物为石英和方解石, 并检测到少量蒙脱石、伊利石、文石和长石. 在恩平微生物席中, 石英为主要矿物, 含少量的水合铁矿、蒙脱石、伊利石、方解石和长石.

表 1 惠东和恩平热泉流体化学参数对比^{a)}

	惠东热泉	恩平热泉
T (°C)	59	69
pH	5.90	8.67
Si-SiO ₃ ²⁻	2342	2190
Ca	264.700	4.050
Fe	0.003	0.017
K	20.670	2.534
Na	755.300	85.560
Al	0.045	0.029
Mg	4.362	0.090
P	0.059	0.052
Zn	0.008	0.001
Sr	0.328	0.306
Ti	0.006	0.006
V	0.009	0.010

a) 化学元素单位为 mg/L

2.2 光合自养微生物席组成和结构特征

惠东热泉微生物席和恩平热泉微生物席在光合微生物的组成上明显不同. 惠东热泉微生物席厚约 0.3 cm. 上部为橄榄绿色, 较薄, 在荧光显微镜下发出强烈的红色荧光, 主要由细丝状蓝细菌组成 (图 3(a)). 这种蓝细菌单个细胞长约 70~130 μm, 直径 0.5~1.7 μm. 由于细胞内叶绿素 a 和藻蓝蛋白的存在, 菌体在荧光显微镜下发出红色自体荧光 (图 3(c)). 在透射电镜下观察, 可发现细胞壁外常发育有鞘和纤

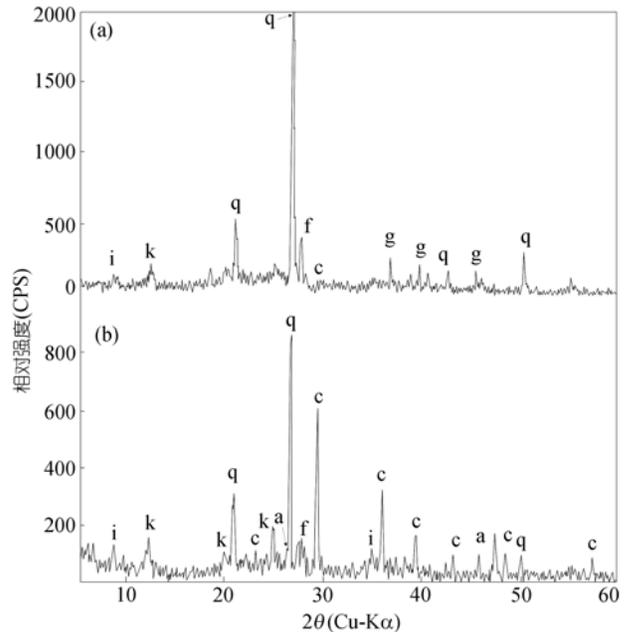


图 2 恩平(a)和惠东(b)两处微生物席的 XRD 图谱
q: 石英; c: 方解石; f: 长石; a: 文石; k: 高岭石; i: 伊利石;
g: 水合铁矿

维状的胞外聚合物 (EPS). 细胞体内存在有与类囊体功能 (用于进行光合作用) 相似的内细胞质膜 (ICM), 它们在细胞内作典型的同心排列或假同心排列. 惠东热泉微生物席下层肉眼观察为富含有机质的黄棕色矿化层, 相对上层较厚, 在荧光显微镜下发出黄绿色荧光 (图 3(b)). 该层中存在一些产生黄色和绿色荧光的短杆状和圆形蓝细菌, 散布于正在降解的有机质和不发荧光的无机矿物沉淀物中 (图 3(d)). 微生物席底部附着无机矿物沉淀物.

恩平微生物席厚约 0.7 cm, 表面呈红褐色, 局部为橄榄绿. 上部存在多层相同类型的微生物薄层, 在荧光显微镜下发出红色荧光 (图 3(e)). 每层薄层主要由短杆状蓝细菌薄层和丝状光合自养细菌层组成, 前者覆盖于后者之上. 短杆状蓝细菌单个细胞直径约 1 μm, 长 3.5~5 μm, 菌体在荧光显微镜下发出红色的自体荧光 (图 3(g)). 位于下层的丝状光合自养微生物 (非蓝细菌) 薄层自身不发荧光, 在荧光显微镜下无法观察. 生物显微镜下观察发现, 这种微生物长约 60~120 μm, 直径 1~2 μm, 形成的微生物薄层厚度大于位于其上部的短杆状蓝细菌薄层 (图 4). 恩平微生物席下部为灰白色的矿化层, 同样由多层薄层构成, 底部肉眼可见硅质矿物颗粒的存在. 在荧光显微镜下, 该层发出强烈的绿色荧光, 其间散布着许多不发

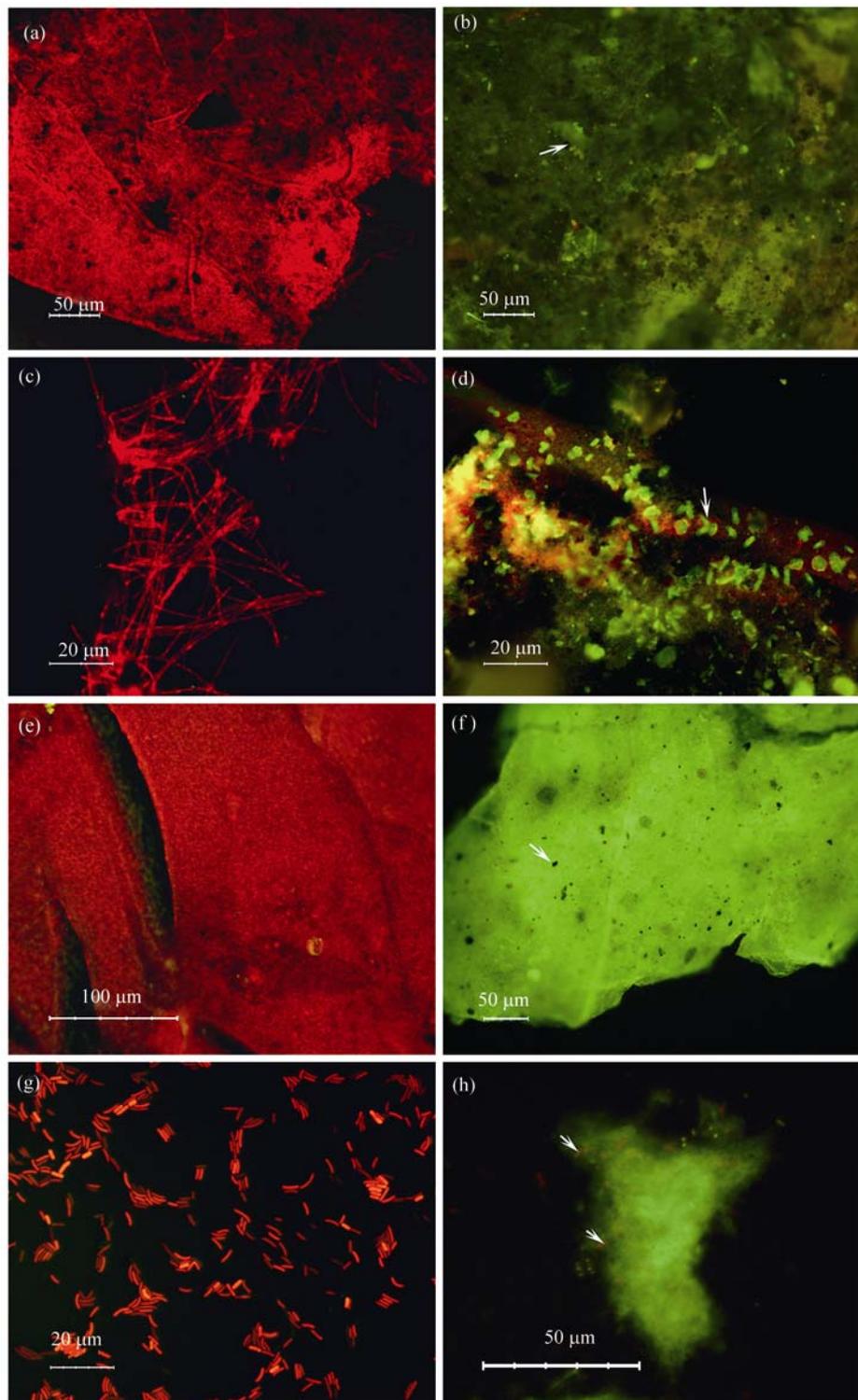


图3 热泉微生物席的荧光显微图

(a) 惠东微生物席上部, 由于叶绿素 a 和藻蓝蛋白的存在, 表面发出红色荧光; (b) 惠东微生物席矿化层, 发出黄绿色荧光, 箭头所指为矿物沉淀物; (c) 惠东微生物席上部发红色自体荧光的丝状蓝细菌; (d) 惠东微生物席矿化层上部发黄色和绿色荧光的蓝细菌; (e) 发红色荧光的恩平微生物席上部; (f) 发绿色荧光的恩平微生物席矿化层; (g) 恩平微生物席上部发红色自体荧光的短杆状蓝细菌; (h) 发红色自体荧光的活蓝细菌包裹在恩平微生物席矿化层中

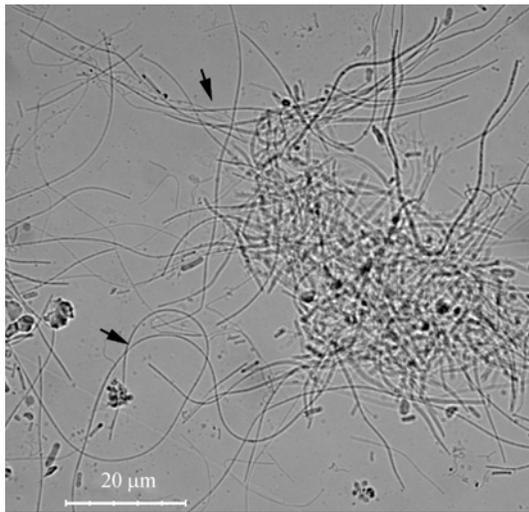


图 4 恩平微生物席上部的丝状光养微生物

荧光的矿物沉淀物, 偶尔可见活体短杆状蓝细菌发出的红色荧光(图 3(f)). 微生物席以下为无机矿物沉淀物, 微生物席与矿物之间已经相互剥离. 矿物颗粒多具热泉矿物沉积所特有的微叠层结构.

2.3 热泉微生物席中的矿化记录

由于活蓝细菌体内具有能产生某些特征荧光的水溶性色素, 荧光显微观察为判断蓝细菌微生物席的矿化层与生物层提供了极为有用的信息^[11,14]. 在两处热泉微生物席的上部, 主要为活体蓝细菌聚集层, 蓝细菌细胞内所具有的叶绿素和藻蓝蛋白发出的强烈红色自体荧光, 使此部分呈现出特征红色. 少量的无机沉淀物(主要含硅、铁等)也存在于微生物席的表面, 但因不发荧光而呈黑色(图 3(a), (c)). 高倍显微镜下观察, 清楚可见微生物席主要由形态完好的蓝细菌组成, 一些蓝细菌具有定向排列的特点. 在这一层中, 发生在蓝细菌矿化过程尚未开始或正在进行, 矿化作用主要发生在蓝细菌的表面, 菌体总体的矿化程度较低. 而微生物席的下部为矿化层, 主要为正在降解的有机质、部分矿化的微生物构成和矿物沉淀物, 活体蓝细菌的数量较少. 此层中蓝细菌所具有的大部分特征性水溶性色素已丧失, 但因其中富有机质而发绿色荧光. 在扫描电子显微镜下观察可以发现, 多数情况下矿化层中的蓝细菌埋嵌于大量的有机质(包括 EPS)和结晶程度差的矿物之间(图 5(a), (b)). 对矿化层中有机质的能谱分析表明, 除 C 以外, 其中富含 Si, Al, Fe 和 Ca 等多种重要的热泉成矿元素(图 5(c), (d)).

扫描电子显微镜的 EDS 微区化学分析表明, 大多数蓝细菌表面发生了一定程度的矿化, 但不同蓝细菌个体之间的矿化程度有一定的差异, 一些蓝细菌个体表面对成矿元素的累积和矿化程度明显高于其他一些个体(表 2). Si, Al, Fe, Ca, K 和 Mg 等多种元素是两处热泉蓝细菌表面的成矿元素, 但不同光合自养微生物席对不同成矿元素的积聚存在一定的差异. 在惠东蓝细菌表面, Si, Ca, Al 和 Fe 是主要的成矿富集元素, 并有微量的 Mg 和 K 等元素吸附其上. 恩平蓝细菌表面则更易积聚 Si 和 Al 等成矿元素以及微量的 Mg, K, Fe 和 Ca 等元素. 这种差异性的存在显然在一定程度上与热泉流体的化学性质有关. 同时, 在微生物席中存在有某些蓝细菌对特定成矿元素选择性富集的现象. 例如, 恩平的某些蓝细菌对热泉流体中 Al 的吸附异常明显, 有的蓝细菌表面甚至仅有 Al, C, O 等 3 种元素被检出.

对惠东和恩平热泉微生物席的透射显微观察发现, 许多丝状和短杆状蓝细菌均发展了重要的硅质、钙质和黏土质壳. 有趣的是, 当蓝细菌细胞壁外发育有鞘时, 矿化过程主要限制在鞘的外表面发生(图 6(a)~(c)). 观察表明, 两处热泉蓝细菌存在以下 3 种矿化类型: () 蓝细菌细胞壁外存在鞘, 鞘外有较厚的胞外聚合物层, 纳米级的矿物微粒被吸附在 EPS 层内, 众多矿物微粒聚集形成矿化壳; () 蓝细菌细胞壁外无明显胞外聚合物层, 但有鞘存在, 矿物微粒沉淀在鞘的外表面, 聚集形成矿化壳; () 蓝细菌鞘未发育, 细胞壁外也无 EPS 层存在, 矿物微晶直接沉淀在细胞壁外表面. 在形态结构完整的活体蓝细菌细胞内(如细胞质和细胞壁中)没有发现矿化作用的存在. 一些死蓝细菌个体被发现其内部已被局部矿化, 从其矿化结构分析, 应该是蓝细菌死亡后细胞壁和鞘松散或破裂, 矿物颗粒进入细胞内的结果. 在许多矿化的样品中, 细胞内部已被降解, 或已质壁分离, 但仍然可观察到 EPS 的存在, 表现出了 EPS 较强的抗降解性^[15].

3 讨论

3.1 矿化过程中蓝细菌活性

TEM 观察显示, 完整、健康的细胞矿化仅在胞外鞘层以外或细胞壁以外发生. 这种现象与发生在已死亡蓝细菌细胞壁和细胞质内的矿化形成鲜明的对比, 表明一些蓝细菌在表面发生矿化的同时, 其生

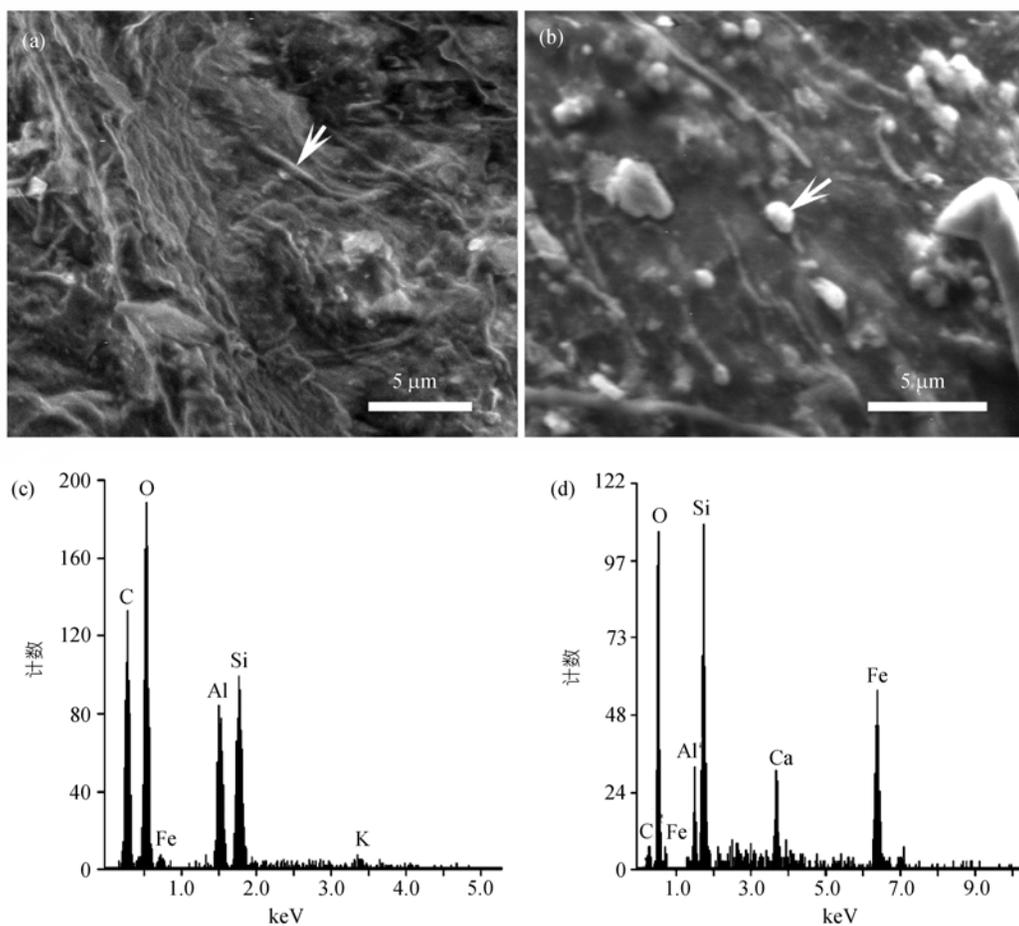


图 5

(a) 恩平微生物席矿化层 SEM 图; (b) 惠东微生物席矿化层 SEM 图, 与(a)图相似, 可观察到光养微生物埋嵌于大量的有机质和结晶程度差的矿物之间; (c) 见(a)图中箭头所指的丝状微生物表面的化学组成, 主要含 C, O, Al, Si 和微量 Fe, K 等元素; (d) 见(b)图中箭头所指的圆形颗粒表面, 主要含 Si, O, Fe, Al, Ca 和微量 C

表 2 惠东和恩平微生物席 EDS 微区化学含量分析^{a)}

	C (wt%)	O (wt%)	Si (wt%)	Al (wt%)	K (wt%)	Fe (wt%)	Ca (wt%)	Mg (wt%)
恩平短杆菌	20.64	49.60	16.55	11.25	0.68	1.28	nd	nd
恩平丝状菌	8.61	51.35	21.28	17.69	nd	nd	nd	1.06
恩平短杆菌	46.79	36.86	13.46	2.88	nd	nd	nd	nd
恩平短杆菌	34.42	48.01	6.35	6.05	nd	nd	0.68	nd
恩平丝状菌	38.68	41.26	nd	6.11	0.76	nd	nd	0.91
恩平丝状菌	34.18	40.57	nd	4.77	nd	nd	nd	nd
恩平短杆菌	47.66	47.34	nd	5.01	nd	nd	nd	nd
惠东短杆菌	2.67	47.84	24.37	11.57	1.98	10.56	1.01	nd
惠东丝状菌	13.27	45.40	18.04	8.55	2.50	6.22	2.97	1.65
惠东短杆菌	9.71	50.28	18.96	3.74	nd	14.08	3.23	nd
惠东丝状菌	22.18	38.20	6.07	4.43	nd	22.05	2.21	nd
惠东丝状菌	5.83	66.17	18.37	1.97	nd	3.61	2.66	1.40
惠东丝状菌	2.27	35.64	25.23	21.91	1.01	14.96	nd	nd
惠东圆球菌	0.87	30.78	18.09	6.06	nd	38.57	5.64	nd
惠东丝状菌	1.22	44.34	29.69	23.57	nd	nd	nd	nd

a) nd = 未检测出, wt% = 质量分数

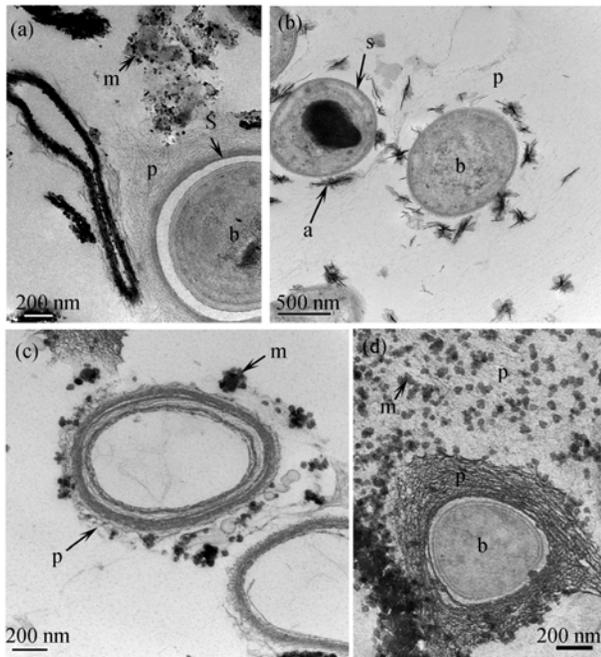


图 6 微生物席的 TEM 图

(a) 惠东热泉的丝状蓝细菌细胞 b 包裹在密集的 EPS p 中, 细胞壁外发育有鞘层 s, 颗粒状硅胶体 m 沉淀在 EPS 旁边; (b) 形似文石的矿物微晶 a 在恩平热泉蓝细菌鞘层 s 外表面沉淀; (c) 惠东微生物矿化层样品, 蓝细菌细胞质已降解, 鞘层 s 和 EPS p 保存完好, 表现出了较强的抗降解性. 含 Si, Al 和 Fe 等元素的颗粒物质富集在细胞外的 EPS 层中; (d) 惠东热泉颗粒状硅胶体 m 在蓝细菌周围 EPS p 层中聚集

理功能可能依旧发挥着作用. 对两处热泉微生物席的荧光显微观察也支持这一结果. 一般而言, 蓝细菌死亡后, 细胞内所具有的特征性水溶性色素就会快速丧失, 但我们在两处热泉微生物席的矿化层中均发现有少量发红色荧光的蓝细菌个体, 表明这些个体在矿化的同时仍然在进行新陈代谢活动(图 3(h)). Phoenix 等^[14]研究表明, 已矿化和未矿化蓝细菌的光合作用率之间并无明显差别, 说明发生在胞外鞘层以外的矿化作用并非对蓝细菌的生命活动是有害的. 如果矿化作用仅限制在鞘以外或细胞壁的外表面上发生, 则正在矿化的蓝细菌既可保持内部结构完整性, 又仍能进行正常的新陈代谢活动.

3.2 生命过程和非生命过程在微生物席中矿化中的作用

微生物活动通过与溶液中离子进行交换或其活动本身产生多种无机或有机物质, 能导致周围 pH 或氧化还原环境的变化, 从而对局部微环境的地球化学组成产生重要的影响. 这种微生物活动创造出的局部过饱和环境, 反过来又能导致矿物的结晶^[16-18].

本次研究在惠东微生物席中检测出大量的 CaCO_3 . 扫描电子显微镜 EDS 分析也显示, Ca 在微生物席中蓝细菌表面产生了一定程度的积累(表 2). 前人研究表明, 当蓝细菌从 HCO_3^- 为主要的无机碳溶液中吸收和固定无机碳时, 能升高溶液的 pH 值, 直接使细胞周围微环境碱化, 进而驱动碳酸盐沉淀作用的发生^[5,19]. 因此, 惠东热泉 CaCO_3 在蓝细菌表面的沉淀也可能与蓝细菌的光合作用存在密切的联系. 一般而言, 适宜的弱碱性环境对 CaCO_3 形成非常重要, 弱酸性的惠东热泉流体并不有利于 CaCO_3 在微生物席中的沉淀, 但在热泉蓝细菌的光合作用下, 细胞壁周围的局部微环境可能被碱化, 从而促进了碳酸盐成矿过程在细胞壁外表面的发生. 另一方面, 除蓝细菌的光合碱化作用以外, 微生物席矿化层中有机碳和氮组分在其他细菌作用下发生的氧化和降解作用, 也可能使微生物席中局部微环境的 pH 值升高, 促进和诱导惠东微生物席中碳酸盐矿物的形成^[17].

在两处热泉微生物席中, 蓝细菌硅化是一个非常普遍且十分重要的矿化现象. 有关细菌的硅化机制, 长期以来存在着不同的观点. 一些学者提出, 细菌硅化主要受生物调控, 水体中的硅主要通过氢键非均匀地沉淀在细胞壁表面, 或通过带负电荷的硅酸根离子非均匀地吸附在细胞壁表面带正电荷的功能基团上^[20,21]. 相反, 另一些研究则表明, 在热泉蓝细菌硅化中起主导作用应为非生命过程, 其基本驱动力可归于热泉硅过饱和水的冷却和蒸发^[22,23]. 在蓝细菌的硅化过程中, 无定形硅主要以胶体或聚合体的形式均匀地沉淀在细菌表面, 是一种无机沉淀过程的表现. 实验研究也证实, 硅对蓝细菌细胞壁表现出低的亲和力, Si 和蓝细菌表面之间的联系并非是 Si 与蓝细菌之间直接相互作用导致的结果^[24,25]. 在恩平和惠东热泉水体中, Si 含量高且处于过饱和状态, 为两处热泉硅的非生物沉淀提供了有利化学条件. 对两处热泉微生物席的 TEM 观察表明, 无定形硅主要以胶体颗粒的形式均匀地吸附在蓝细菌鞘外或细胞壁外的 EPS 层中, 硅胶体与细胞壁之间并无直接的联系(图 7). 同时, 硅胶体在已死亡蓝细菌 EPS 中的吸附量也明显高于活蓝细菌表面上的吸附量. 上述证据表明, 蓝细菌的生命活动并非是造成两处热泉微生物席中硅沉淀的主要原因, 非生命过程应在两处热泉蓝细菌硅化中起主导作用.

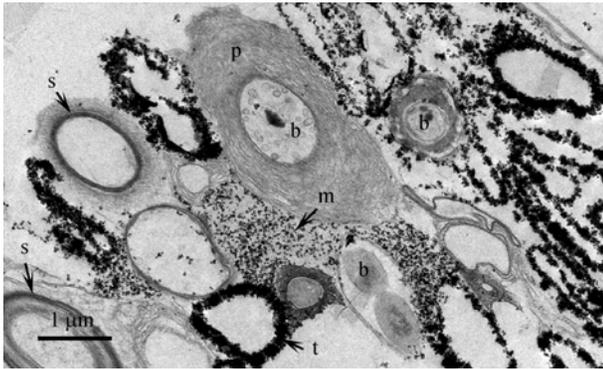


图7 惠东热泉微生物席矿化层上部 TEM 图

颗粒状硅胶体 *m* 吸附在蓝细菌鞘外 *s* 或细胞壁外的 EPS *p* 层中, 形成密集的硅质壳层 *t*, 活蓝细菌细胞内 *b* 没有矿化作用的发生。在一些已死亡的蓝细菌个体中, 硅胶体已进入细胞内部

3.3 细胞壁、胞外聚合物和鞘在矿化中的作用

细胞壁和EPS对热泉矿物的形成具有重要作用, 其上广泛存在的化学功能基团为矿物的形成提供了必要的成核中心^[26,27]。Simkiss和Wilbur等^[28]认为, 除非存在晶体形成和生长所必需的成核中心, 否则即使在近饱和或过饱和的环境中, 矿物沉淀作用通常也不会自发地发生。对两处微生物席的能谱分析表明, Si, Al, Fe, Ca, K和Mg等多种金属和非金属元素均能直接沉淀在多糖富集的EPS上和细胞壁表面。在蓝细菌细胞壁和EPS对上述热泉金属阳离子吸附过程中, 其上暴露的羧基和磷酸基基团可为这些阳离子的化学吸附提供必要的负电荷点^[27-29]。一旦络合作用发生, 则化学键连的金属离子能作为进一步络合和矿化作用发生的成核点^[30,31]。由于在过饱和中性或近中性的热泉环境中, 非金属硅主要以胶体的形式存在, 在静电作用下, EPS也能对硅胶产生重要的吸附效应^[14]。与金属离子键相似, 细胞壁表面和EPS上的胺基团等正电荷组分则为碳酸根等阴离子在pH近中性环境下结合提供了必要条件^[21,32]。

鞘是细胞壁外发育的一层以胞外多糖为主要成份的结构, 它在保护蓝细菌在溶质富集的热泉环境中存活, 避免蓝细菌过度矿化中起着重要的作用^[14,33]。由于鞘的外部边缘具有明显的负电性特征, 这为一些热泉矿物的沉淀提供了合适的成核点和进一步矿化的场所。本次研究发现, 当蓝细菌细胞壁外有鞘发育时, 矿化作用主要限制在鞘的外表面上发生(图7)。鞘的存在阻止了蓝细菌细胞壁和细胞质被进一步矿化, 这种限制性矿化对两处蓝细菌的生存和

繁殖是十分有利的^[34]。鞘对矿物微粒所具有的过滤效应是鞘之所以能对蓝细菌发挥保护作用的重要原因。透射电子显微镜观察表明, 惠东和恩平热泉颗粒状硅胶体直径至少大于16 nm。而实验证明, 鞘对于直径大于11 nm的颗粒来说是不可穿透的^[14]。由此可见, 两处热泉的颗粒状硅胶体均不能穿透蓝细菌鞘进入细胞内部。

对于活体蓝细菌而言, 细胞内发生的光合碱化作用能进一步促进了鞘外限制性硅化的发生。Thompson等^[35,36]认为, 在邻近鞘的外层微区域, 光合作用产生的OH⁻能导致适中的碱性环境(pH=7~9)。在这种环境下, 硅饱和时以颗粒状胶体形式存在^[37]。但因其颗粒直径过大, 只能在静电作用下吸附在鞘表面。而在鞘基质中, 鞘造成的扩散障碍导致了光合作用产生的OH⁻积累, 引发了局部微环境pH值升高(pH=10)。在这样的pH条件下, 硅呈可溶态, 不易吸附在有机质的表面^[14]。在细胞光合碱化效应和鞘过滤效应的共同作用下, 使硅化过程不能在活蓝细菌的鞘基质以内进行, 而只能限制在它们的外表面上发生。一旦细胞开始溶解, 没有光合作用促进鞘基质内的碱化, 同时鞘基质也开始松散, 硅胶体此时将能够渗透进入细胞壁和细胞质中^[14]。

3.4 微生物席中热泉矿物的形成和结构特征

受矿物性质和成矿条件的影响, 微生物席中存在的多种矿物并非同时形成的, 它们在成矿时间上有着一定的差异^[6,15]。一些热泉矿物的微晶能在热泉微生物席中快速形成; 而有些热泉矿物(例如蒙脱石和伊利石等硅酸盐矿物)的结晶则需经历相对较长的成矿时间, 早期成矿离子在EPS和有机质中的富集并不能立即形成矿物, 而是形成矿物的先驱物。Sánchez-Navas等^[38]发现, 古代叠层石中蒙脱石与Fe-Si-Al无定形相紧密地交叉连生。根据这种联系, 他们认为于微生物席中Fe-Si-Al无定形凝胶状物质是自生蒙脱石形成的先驱物。这种凝胶状物质最初形成于细胞外的粘性基质, 并具有从水体中富集多种成矿离子的能力。Tazaki等^[39]提出, 微生物席中广泛存在的EPS能促进凝胶状矿物先驱物的形成。当凝胶状物质脱水时, 黏土矿物开始结晶, 并逐渐演化形成结晶相。我们认为, 同样的过程也适用于惠东和恩平微生物席中黏土矿物的形成。在两处热泉微生物席上部, Si, Fe和Al等元素被检测出在多糖富集的EPS中存在, 但在EPS中观察到只是细粒、含水和晶序差的

沉淀物。相反,在微生物席下部的有机质富集的矿化层中,却发现了一些凝胶状物质和结晶程度较差的黏土矿物存在(图 8(a), (b)),表明两处热泉黏土等硅酸盐的形成需要一个相对较长的成矿时间。同样地,两处微生物席中硅石从硅胶体(EPS中)到亚稳态蛋白石和稳态石英的转变,也可能经历了相似的成矿历程。

在惠东和恩平热泉微生物席底部观察到的矿物脱落物(如石英和黏土矿物等)多数具特征的微叠层结构(图 9(a), (b))。这些矿物外观上呈球形或不规则形,直径(或长轴)长数十微米至数毫米。在扫描电子显微镜下观察,发现每层叠层厚度通常为几百纳米到几微米,多层薄叠层可组成一层较厚的叠层。不同部位的叠层之间有的具连续性,有的则相互交错。一些叠层的边缘因在矿物表面凸出而呈现出假丝状外貌,仿佛丝状微生物附着在矿物上(图 9(a))。在一些热泉矿物的形成过程中,先驱物中包裹的一些光氧微生物可能尚未降解或未完全降解。矿物形成后这些微生物继续降解,并在脱落后的矿物表面上留下保持光养微生物原来形状的丝状印痕(图 9(d))。

3.5 微生物席的矿化模式

根据惠东和恩平微生物席的结构和矿化特征,可将两处微生物席的矿化过程划分为以下三个阶段:早期表面矿化阶段、中期降解矿化阶段和晚期矿物脱落阶段。在不同的成矿阶段,微生物席的矿化特征有着明显的差异。早期表面矿化阶段主要发生在微生物席的上部。在此阶段中,微生物席主要由活体蓝细菌或其他光养微生物组成。此时微生物席对于可见光是可通过的,微生物席中的蓝细菌通过光合作用进行正常的新陈代谢活动,并依靠鞘避免细胞壁和细胞质被矿化。在这一阶段中,矿化过程以发生在微生物席或活体蓝细菌个体的表面为特征,微生物席中的矿化过程和蓝细菌的生命过程是同时存在的。热泉水体中的成矿离子或因过饱和和微环境的存在而沉淀在微生物表面,或因活体微生物EPS聚集在微生物的表面,或因过饱和水的冷却和蒸发直接沉淀在微生物席表面。表面矿化阶段进行到一定程度,微生物席上部逐渐被新生长的蓝细菌所占据和覆盖,原来上部的微生物席相对下移。在此过程中,原微生物席中一部分蓝细菌可能依靠它们的滑动能力向表层移动以获取光合作用所需的阳光^[4]。原微生物席被新附着的蓝细菌完全覆盖后,中期降解矿化阶段即开始,这时可见光已不能穿过此层。在缺乏可见光的数天或数周内,微生物席中的一些蓝细菌可能通过新陈代谢的替代形式(如微生物席中有机质的发酵作用)来维持生命^[40],但所有的蓝细菌最终将死亡。蓝细菌死亡后,其细胞壁和细胞质也开始矿化。在某些细菌的作用下,此层中的死细胞和有机质在吸附成矿阳离子方面甚至比活细胞更有效^[15,17,21]。伴随着有机质的降解,微生物席中凝胶状矿物先驱物逐渐形成并进一步富集成矿元素。当凝胶状物质脱水时,一些热泉矿物开始结晶^[38]。随着矿化过程的深入,原

物席的上部。在此阶段中,微生物席主要由活体蓝细菌或其他光养微生物组成。此时微生物席对于可见光是可通过的,微生物席中的蓝细菌通过光合作用进行正常的新陈代谢活动,并依靠鞘避免细胞壁和细胞质被矿化。在这一阶段中,矿化过程以发生在微生物席或活体蓝细菌个体的表面为特征,微生物席中的矿化过程和蓝细菌的生命过程是同时存在的。热泉水体中的成矿离子或因过饱和和微环境的存在而沉淀在微生物表面,或因活体微生物EPS聚集在微生物的表面,或因过饱和水的冷却和蒸发直接沉淀在微生物席表面。表面矿化阶段进行到一定程度,微生物席上部逐渐被新生长的蓝细菌所占据和覆盖,原来上部的微生物席相对下移。在此过程中,原微生物席中一部分蓝细菌可能依靠它们的滑动能力向表层移动以获取光合作用所需的阳光^[4]。原微生物席被新附着的蓝细菌完全覆盖后,中期降解矿化阶段即开始,这时可见光已不能穿过此层。在缺乏可见光的数天或数周内,微生物席中的一些蓝细菌可能通过新陈代谢的替代形式(如微生物席中有机质的发酵作用)来维持生命^[40],但所有的蓝细菌最终将死亡。蓝细菌死亡后,其细胞壁和细胞质也开始矿化。在某些细菌的作用下,此层中的死细胞和有机质在吸附成矿阳离子方面甚至比活细胞更有效^[15,17,21]。伴随着有机质的降解,微生物席中凝胶状矿物先驱物逐渐形成并进一步富集成矿元素。当凝胶状物质脱水时,一些热泉矿物开始结晶^[38]。随着矿化过程的深入,原

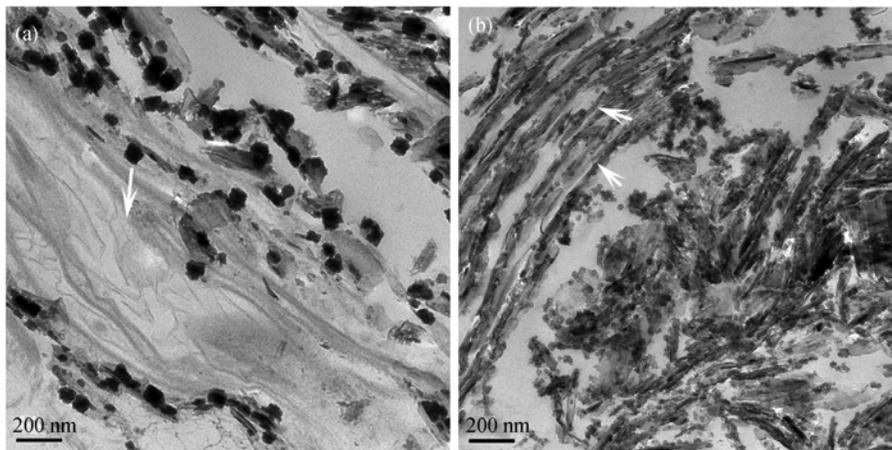


图 8

(a) 恩平微生物席矿化层 TEM 图。凝胶状物质(白色箭头)在矿化层中形成; (b) 惠东微生物席矿化层 TEM 图。有机质已大部分降解和脱水,结晶程度很差的硅酸盐矿物正在形成

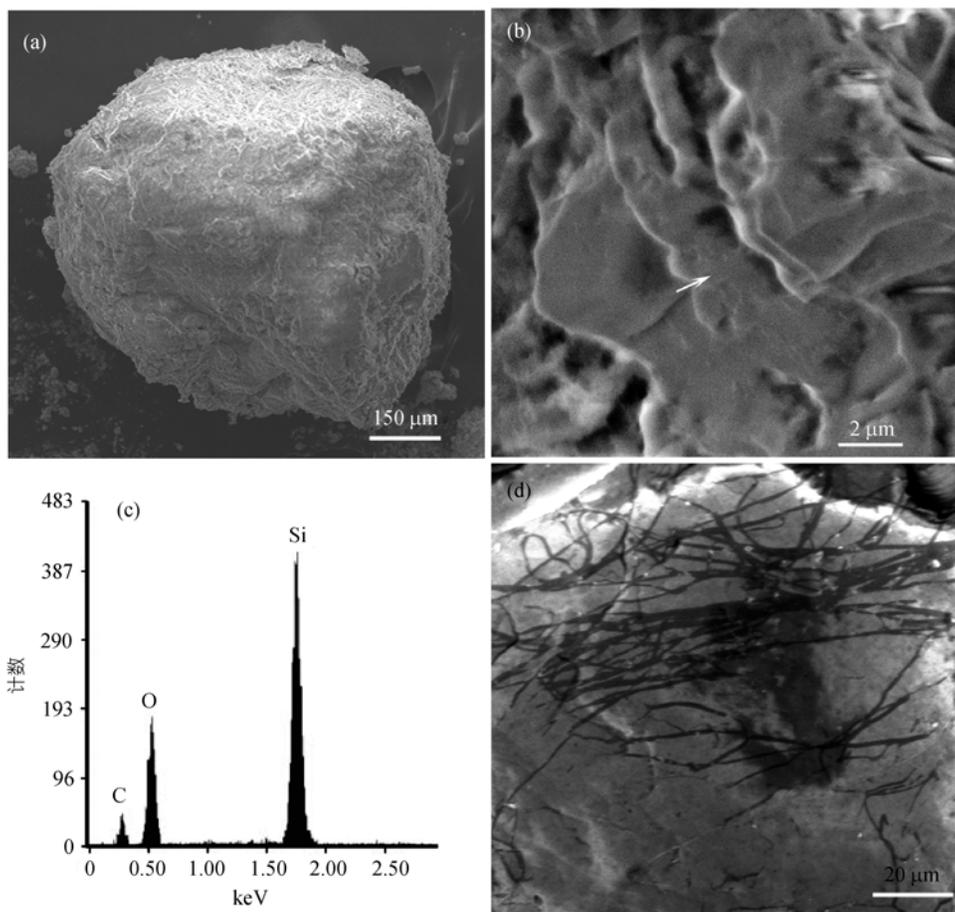


图9

(a) 恩平微生物席的石英矿物脱落物, 一些微叠层的边缘因在矿物表面凸出而呈现出假丝状外貌, 仿佛丝状微生物附着在矿物上; (b) 恩平石英矿物脱落物的微叠层结构; (c) 见(b)图中箭头所指的矿物表面成分分析, 主要为 Si 和 O 组成(原子比约为 1 : 2), 并含微量 C; (d) 恩平石英表面的丝状微生物印痕

微生物席中有机质减少, 无机矿物取代原微生物席中的有机质成为主要成份, 微生物席矿物脱落阶段即开始。此时原微生物席的硬度增加且对上层微生物席的粘附力减小。在重力作用下, 微生物席中形成的矿物开始脱落。在这一阶段中, 矿物生长主要是与热泉过饱和水的冷却和蒸发有关的无机沉淀过程。

4 结论

广东恩平和惠东的两处热泉微生物席对 Si, Al, Fe 和 Ca 等元素具有重要的富集能力, 多种热泉矿物的形成与之密切相关。EPS 在热泉微生物席中广泛存在, 并在微生物席矿化过程中扮演了重要角色, 它们为热泉矿物的形成提供了必要的成核点和矿化点。矿化过程主要在蓝细菌细胞壁外或鞘层外的 EPS 层中发生。细胞壁外发展的鞘层对于蓝细菌在矿化过程中生存意义重大, 它有效地阻止了细胞壁和细胞

质被进一步矿化, 保护了蓝细菌在溶质富集的热泉环境中存活。根据惠东和恩平微生物席的结构和矿化特征, 将热泉微生物席的矿化过程划分为早期表面矿化、中期降解矿化和晚期矿物脱落等 3 个主要阶段。

致谢 感谢美国乔治亚大学李一良博士和两位匿名评审人为本文提供了极有价值的建议。

参 考 文 献

- 1 Pierson K B, Parenteau M N. Phototrophs in high iron microbial mats: microstructure of mats in iron-depositing hot springs. *FEMS Microbiol Ecol*, 2000, 32: 181—196[DOI]
- 2 Sompong U, Hawkins P R, Besley C. The distribution of cyanobacteria across physical and chemical gradients in hot springs in northern Thailand. *FEMS Microbiol Ecol*, 2005, 52: 365—376[DOI]
- 3 Konhauser K O, Ferris F G. Diversity of iron and silica precipita-

- tion by microbial mats in hydrothermal waters, Iceland: implications for Precambrian iron formations. *Geology*, 1996, 24: 323—326[DOI]
- 4 Jones B, Renaut R W, Rosen M R. Biogenicity of silica precipitation around geysers and hot-spring vents, North Island, New Zealand. *J Sediment Res*, 1997, 67: 88—104
- 5 Merz M U E. The biology of carbonate precipitation by cyanobacteria. *Facies*, 1992, 26: 81—102[DOI]
- 6 Hinman N W, Lindstrom R F. Seasonal changes in silica deposition in hot spring systems. *Chem Geol*, 1996, 132: 237—246[DOI]
- 7 Aramaki Y, Yokoyama T, Okaue Y. Chemical adsorption of silicic acid to aluminum combined with cation exchange and chelate resins as model compounds of the surface of microbes. *Chem Geol*, 2004, 212: 339—349[DOI]
- 8 Fein J B. Quantifying the effects of bacteria on adsorption reactions in water-rock systems. *Chem Geol*, 2000, 169: 265—280[DOI]
- 9 Fein J B, Martin A M, Wightman P G. Metal adsorption onto bacterial surfaces: Development of a predictive approach. *Geochim Cosmochim Acta*, 2001, 23: 4267—4273[DOI]
- 10 Inagaki F, Motomura Y, Ogata S. Microbial silica deposition in geothermal hot waters. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2003, 60: 605—611
- 11 Burne R V, Moore L S. Microbialites: organosedimentary deposits of benthic microbial communities. *Palaios*, 1987, 2: 241—254
- 12 Cox G, James J M, Leggett K E A, et al. Cyanobacterially deposited speleothems: subaerial stromatolites. *Geomicrobiol J*, 1989, 7: 245—252
- 13 Allen C C, Albert F G, Chafetz H S. Microscopic Physical Biomarkers in Carbonate Hot Springs: Implications in the Search for Life on Mars. *Icarus*, 2000, 147: 49—67 [DOI]
- 14 Phoenix V R, Adams D G, Konhauser K O. Cyanobacterial viability during hydrothermal biomineralisation. *Chem Geol*, 2000, 169: 329—338[DOI]
- 15 L evell e R J, Fyfe W S, Longstaffe F J. Geomicrobiology of carbonate-silicate microbialites from Hawaiian basaltic sea caves. *Chem Geol*, 2000, 169: 339—355[DOI]
- 16 Fortin D, Beveridge T J. Role of bacterium *Thiobacillus* in the formation of silicates in acid mine tailings. *Chem Geol*, 1997, 141: 235—250[DOI]
- 17 Chafetz H S, Buczinski C. Bacterially induced lithification of microbial mats. *Palaios*, 1992, 7: 277—293
- 18 Arp G, Hofmann J, Reitner J. Microbial fabric formation in spring mounds (“microbialites”) of alkaline salt lakes in the Badain Jaran Sand Sea, PR China. *Palaios*, 1998, 13: 581—592
- 19 Thompson J B, Ferris F G. Cyanobacterial precipitation of gypsum, calcite, and magnesite from natural alkaline lakewater. *Geology*, 1990, 18: 995—998[DOI]
- 20 Westall F, Boni L, Guerzoni E. The experimental silicification of microorganisms. *Palaeontology*, 1995, 38: 495—528
- 21 Urrutia M M, Beveridge T J. Mechanism of silicate binding to the bacterial cell wall in *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol*, 1993, 175: 1936—1945
- 22 Konhauser K O, Fyfe W S, Ferris F G, et al. Metal sorption and mineral precipitation by bacteria in two Amazonian river systems: Rio Solimoes and Rio Negro, Brazil. *Geology*, 1993, 21: 1103—1106[DOI]
- 23 Konhauser K O, Schultze-Lam S, Ferris F G, et al. Mineral precipitation by epilithic biofilms in the Speed River, Ontario, Canada. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60: 549—553
- 24 Fein J B, Scott S, Rivera N. The effect of Fe on Si adsorption by *Bacillus subtilis* cell walls: insights into non-metabolic bacterial precipitation of silicate minerals. *Chem Geol*, 2002, 182: 265—273[DOI]
- 25 Yee N, Phoenix V R, Konhauser K O. The effect of cyanobacteria on silica precipitation at neutral implications for bacterial silicification in geothermal hot. *Chem Geol*, 2003, 199: 83—90[DOI]
- 26 Ferris F G, Fyfe W S, Beveridge T J. Bacteria as nucleation sites for authigenic minerals in a metal-contaminated lake sediment. *Chem Geol*, 1987, 63: 225—232[DOI]
- 27 Beveridge T J. Role of cellular design in bacterial metal accumulation and mineralization. *Ann Rev Microbiol*, 1989, 43: 147—171[DOI]
- 28 Simkiss K, Wilbur K M. Biomineralization: Cell Biology and Mineral Deposition. San Diego: Academic Press, 1989
- 29 Beveridge T J. Ultrastructure, chemistry, and function of the bacterial wall. *Int Rev Cytol*, 1981, 72: 229—317
- 30 Ferris F G, Fyfe W S, Beveridge T J. Metallic ion binding by *Bacillus subtilis*: implications for the fossilization of microorganisms. *Geology*, 1988, 16: 149—152[DOI]
- 31 Fortin D, Ferris F G, Beveridge T J. Surface-mediated mineral development by bacteria. In: Banfield J F and Nealson K H, eds. *Geomicrobiology: Interactions between Microbes and Minerals*. Reviews in Mineralogy, Vol 35. Min Soc Am, Washington DC, 1997. 161—180
- 32 Urrutia M M, Beveridge T J. Formation of fine-grained metal and silicate precipitates on a bacterial surface *Bacillus subtilis*. *Chem Geol*, 1994, 116: 261—280[DOI]
- 33 Schultze-Lam S, Ferris F G, Konhauser K O, et al. In situ silicification of an Icelandic hot spring microbial mat: implications for microfossil formation. *Can J Earth Sci*, 1995, 32: 2021—2026
- 34 Padhi H, Rath B, Adhikary S P. Tolerance of nitrogenfixing cyanobacteria to salt stress. *Biol Plant*, 1998, 40: 261—268[DOI]
- 35 Thompson J B, Ferris F G, Smith D A. Geomicrobiology and sedimentology of the mixolimnion and chemocline in Fayetteville Green Lake, New York. *Palaios*, 1990, 5: 52—75
- 36 Verrecchia E P, Freydet P, Verrecchia K E, et al. Spherulites in Calcrete laminar crusts-biogenic CaCO₃ precipitation as a major contributor to crust formation. *J Sediment Res, Sec A: Sediment Petrol Processes*, 1995, 65: 690—700
- 37 Shimada K, Tarutani T. Gel chromatographic study of the polymerization of silicic acid. *J Chromatogr*, 1979, 168: 401—406
- 38 Sánchez-Navas A, Martín-Algarra A, Nieto F. Bacterially-mediated authigenesis of clays in phosphate stromatolites. *Sedimentology*, 1998, 45: 519—533[DOI]
- 39 Tazaki K. Biomineralization of layer silicates and hydrated Fe Mn oxides in microbial mats: an electron microscopical study. *Clay Clay Min*, 1997, 2: 203—212
- 40 Richardson L L, Castenholz R W. Enhanced survival of the cyanobacterium *Oscillatoria terebriformis* in darkness under anaerobic conditions. *Appl Environ Microbiol*, 1987, 53: 2151—2158