

深海热液区微生物矿化过程的功能群和分子机制

曾湘^{1,2} 邵宗泽^{1,2*}

(1. 国家海洋局第三海洋研究所 福建 厦门 361005)

(2. 国家海洋局海洋生物遗传资源重点实验室 福建 厦门 361005)

摘要: 深海热液区富含铁、锌、铜等含金属矿物(硫化物、氧化物、碳酸盐等)和无机小分子气体(H_2S 、 H_2 、 CO_2 、 CH_4 等), 具有独特的生态系统。微生物是深海热液生态系统的主要生产者和重要组成, 并以控制矿化和诱导矿化两种途径参与了深海热液区的生物地球化学循环。在深海热液区存在着不同类型的微生物参与了生物矿化过程, 如硫氧化菌、金属氧化菌、硫还原菌和金属还原菌等。本文详述了这些微生物参与的生物矿化现象、菌群多样性和矿化过程的分子机制, 并对研究微生物矿化的研究工作进行了展望。

关键词: 深海热液区, 微生物矿化, 功能群, 分子机制, 生物地球化学循环

Microbial functional groups and molecular mechanisms for biomineralization in hydrothermal vents

ZENG Xiang^{1,2} SHAO Zong-Ze^{1,2*}

(1. The Third Institute of Oceanography, SOA, Xiamen, Fujian 361005, China)

(2. Key Laboratory of Marine Biogenetic Resources, SOA, Xiamen, Fujian 361005, China)

Abstract: Deep-sea hydrothermal fields are rich in iron, zinc, copper and other metal-bearing minerals (sulfides, oxides, carbonates, etc) and inorganic gases (H_2S , H_2 , CO_2 , CH_4), which are unique ecosystems. Microbes, the base of the food chain, can control or induce the mineralization and thus influence biogeochemical cycling in deep-sea hydrothermal fields. Different types of microbial functional groups are involved in biomineralization processes, such as sulfur-oxidizing microbe, metal-oxidizing microbe, sulfur-reducing microbe, and metal-reducing microbe. Their phylogenetic diversity, molecular mechanisms for biomineralization and the prospect of microbial biomineralization were mentioned in the paper.

Keywords: Deep sea hydrothermal vents, Microbial biomineralization, Functional group, Molecular mechanism, Biogeochemistry cycle

Foundation item: National Basic Research Program of China (973 Program) (No. 2012CB417304); China Ocean Mineral Resources R&D Association program (No. DY125-15-R-01, DY125-22-QY-32)

***Corresponding author:** Tel: 86-592-2195321; E-mail: shaozz@163.com

Received: June 03, 2016; **Accepted:** September 06, 2016; **Published online** (www.cnki.net): October 11, 2016

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(973 计划) (No. 2012CB417304); 中国大洋矿产资源研究开发协会项目(No. DY125-15-R-01, DY125-22-QY-32)

***通讯作者:** Tel: 86-592-2195321; E-mail: shaozz@163.com

收稿日期: 2016-06-03; **接受日期:** 2016-09-06; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-10-11

生物矿化(Biomineralization)是指由生命系统参与合成的矿物。根据生物对矿化过程调控的程度,生物矿化分为生物控制矿化(Biologically controlled mineralization, BCM)和生物诱导矿化(Biologically induced mineralization, BIM)^[1]。生物控制矿化是指在生物体内有机大分子和细胞的共同调控下,生物有机体通过各种物理化学作用使生物体摄入的金属离子和阴离子反应,从而得到具有特殊组装形式和高级结构的生物矿物的过程,特别是矿物沉积阶段受到精确的基因调控,如形成胞内囊泡的过程分为两个阶段:成核(Nucleation)和矿物生长(Mineral growth)^[2]。生物诱导矿化则是生物体通过代谢活动或细胞表面电势改变局部微环境的物理化学因素,创造出有利于矿物沉淀的条件而引起的矿化,它没有严格的生物调控,所形成的矿物缺乏独特的形貌特征,产物往往不具有生物学功能,产物是生物过程的副产物。比如,微生物诱导成矿在厌氧环境和有氧-无氧界面特别重要;在厌氧环境下,许多微生物以各种金属[如 Fe(III)]和硫酸盐(SO₄²⁻)作为电子受体,并产生 Fe(II)和 H₂S,继而影响后续的矿物产生。在有氧-无氧界面,还原态金属和硫化物的氧化则是生物过程和化学过程共同参与。另外,细菌胞外产物(如多聚糖、纳米线、电子传递体等)或休眠孢子常作为电子导体传递电子或吸附金属离子,间接影响矿物形成^[3]。生物成因的矿物大多在纳米到微米尺度,并具有特定的形态和成分,与成岩矿物可以明显区分。

深海热液区自 1977 年在太平洋戈拉帕格斯岛附近洋底发现以来,目前已在各大洋发现上百处热液活动区。海底热液由海水在浅层地壳(以 600 m 深为主)渗透加热循环对流而喷出海底,高温热液与低温海水(1–2 °C)混合后,在喷口附近沉淀硫化物或硫酸盐(通称为黑烟囱);“黑烟囱”喷口通常与海底 1 km–3 km 以下的岩浆房(Magma chamber)直接相通,因此温度较高(>250 °C);黑烟囱喷出的热液含大量金属元素(硅、铁、锰、锌、铜、铅等)的含硫化合物;另一种类型俗称“白烟囱”,如位于北大西

洋中脊的 Lost City 热液区,其不与岩浆房直接相通,缺少 CO₂, 高 pH, 含有较高含量的氢气和甲烷,热液中主要含钡、钙、硅等元素^[4]。深海热液区高温高压、金属离子浓度高、生境独特,是探究生物成矿的重要窗口和探索微生物参与生物矿化作用的天然实验室,并且可能揭示深部生物圈的生态方式。本文从不同代谢类型的微生物功能群分析,评述在深海热液区或其它类似环境已发现的成矿相关微生物功能群及其成矿分子机制,讨论其参与诱导和控制的成矿过程。

1 氧化微生物功能群及其氧化的分子机制

1.1 金属氧化微生物

深海热液区是海洋可溶解金属的主要来源,如铁、锰、铬等^[5]。微生物参与了溶解和沉淀金属氧化物的反应^[6–7]。自然界中已发现金属氧化菌参与了成矿过程。铁氧化菌 *Gallionella ferrugine* 属于 β -变形菌纲,在海洋、淡水等天然水环境中分布广泛,其胞外多糖可吸附铁元素,并在细胞壁表面形成针铁矿^[8]。来源于矿山废水的铁氧化细菌 *Ferrobacillus ferrooxidans* 与 *Acidithiobacillus ferrooxidans* 可以通过氧化低价态的铁元素和硫元素获得能量,如利用黄铁矿(Pyrite)^[9],并且能形成生物膜^[10]。*A. ferrooxidans* 等功能微生物极可能着生于黄铁矿表面,进而有助于其它微生物的生存。科学家在西南印度洋热液区的黄铁矿表面就曾发现有富含铁、硫的微生物菌席(Microbial mat)^[11]。Kato 等研究了马里亚纳海沟的热液区附近,认为铁氧化菌广泛分布于热液羽流和铁席中,并占很大比重(>50%克隆子)^[12]。Scott 等首次通过对大西洋中脊热液区 3 个不同位点的氧化铁席取样分析证实一类铁氧化菌群(ζ -变形菌纲, Zetaproteobacteria)为主要类群^[13]。 ζ -变形菌纲的代表菌株 *Mariprofundus ferrooxydans* 为中性专性铁氧化细菌(图 1B),具有杆状结构(Stalk),用于形成铁氧化物和有机质的混合物;它在太平洋海山富铁区首次被发现,并可形成与铁氧化物交联菌席(图 1A)^[14],随后在多个海洋环境如

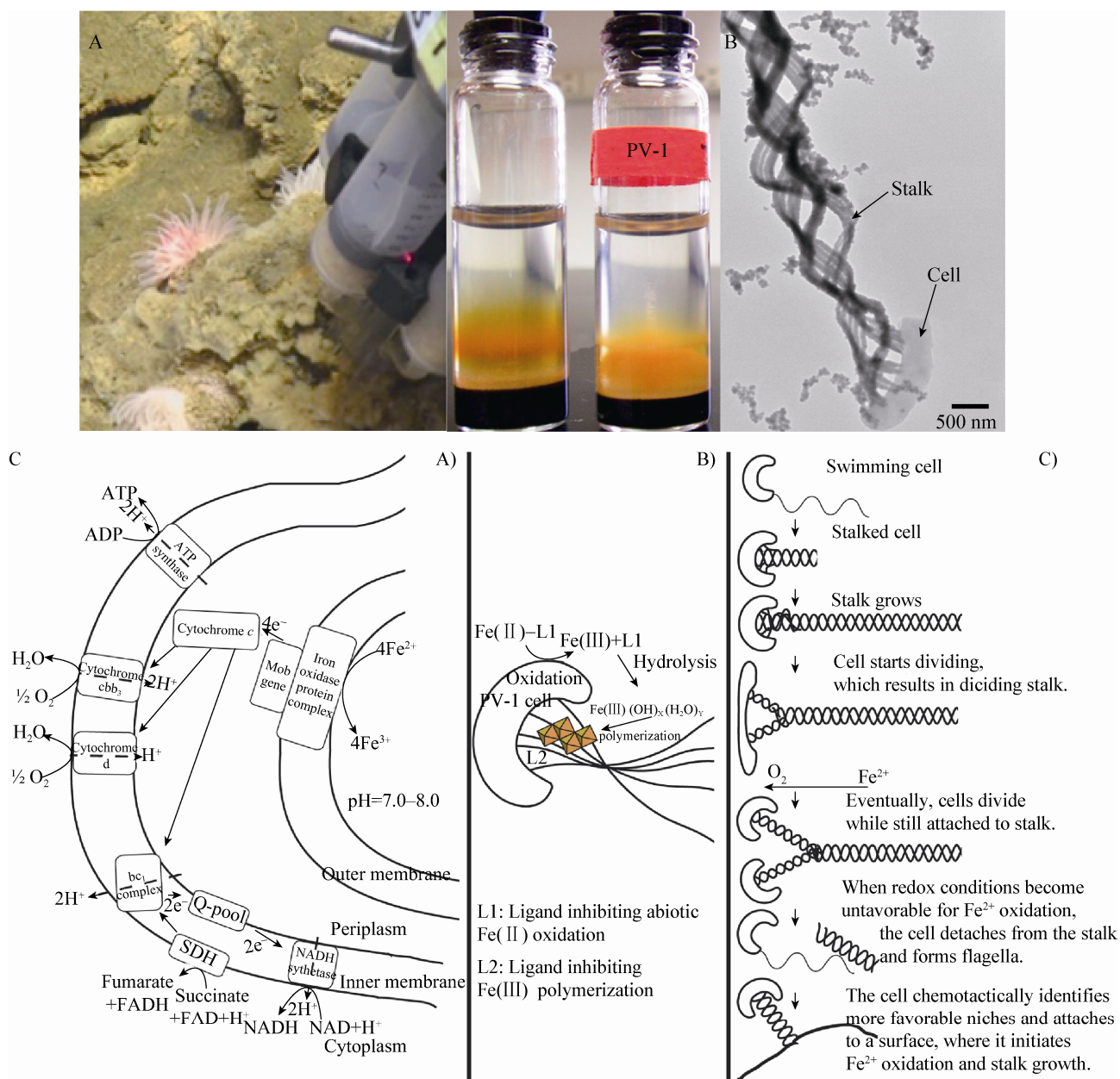


图1 铁氧化菌代表菌株及分子机制

Figure 1 Iron oxidizing microbe and molecular mechanism

注：A：深海热液区存在的氧化铁席(引自 <http://www.whoi.edu/>)；B：铁氧化菌 *Mariprofundus ferrooxydans* PV-1 的细胞形态^[16]；C：微生物的一类铁氧化分子机制^[16]。

Note: A: Microbial iron mat in hydrothermal field (<http://www.whoi.edu/>); B: Morphological figure of *Mariprofundus ferrooxydans* PV-1^[16]; C: Molecular mechanisms on iron-oxidizing process by iron oxidizing microbe^[16]。

Juan de Fuca 热液区、Lō'ihi 海山、汤加(Tonga)海山、南马里亚纳(Southern Mariana)海沟中被证实存在,但需要存活在铁浓度较高区域^[15]。通过基因组和蛋白质组分析,证实了菌株 *M. ferrooxydans* 主要是由外膜上的铁氧化酶氧化低价铁获得电子,并传递给邻近

的钼蛋白,钼蛋白具有氧化还原功能的 Fe-S 结构域,并位于膜周质,钼蛋白进一步将电子传递给位于内膜的一系列电子传递蛋白,主要是细胞色素蛋白,最终产生 ATP 和 NADH 能量贮存物质^[16-17](图 1C)。

在热液区大型底栖生物内还存在大量的共生

微生物。在热液区盲虾 *Rimicaris exoculata* 的鳃部, 发现有纳米级的水铁矿混合少量无机物 SiO_2 、 $(\text{Ca/Mg})\text{SO}_4$ 和 $(\text{Ca/Mg})_3(\text{PO}_4)_2$ 的铁氧化物; 通过显微观察发现了羟基氧化铁复合物和附生细菌交联(图 2A)^[18-19]。随后通过宏基因组序列分析证实这些微生物为属于 ζ -变形菌纲的铁氧化细菌和属于 ε -和 γ -变形菌纲的硫氧化细菌^[20]。张晓波等对来自于南大西洋中脊(SMAR)的盲虾 *Rimicaris* sp. 虾鳃中的附生好氧菌及厌氧菌进行了富集培养, 共分离得到 14 株低温好氧菌和 2 个稳定的厌氧富集菌群。通过对好氧菌的 16S rRNA 基因序列系统发育分析, 发现 14 株低温分离菌株分别属于 *Idiomarina*、*Marinobacter*、*Nesterenkonia*、*Erythrobacter*、*Halomonas*、*Alteromonas*、*Psychrobacter*、*Mesonina* 8 个属, 其中 9 株属于变形菌门(Proteobacteria) (2 株属于 α -变形菌纲, 7 株属于 γ -变形菌纲, 占总菌株数的 50%)。对 2 个厌氧富集菌群的 16S rRNA 基因文库的 39 个阳性克隆子进行分析, 有两类主要类群, 分别为 γ -变形菌纲的产碱杆菌属(*Alcaligenes*) 和 β -变形菌纲的嗜麦芽寡营养单胞菌属

(*Stenotrophomonas*)^[21]。

热液羽流和沉积物中通常含有较高浓度的含锰矿物。锰氧化细菌多次在热液区沉积物和羽流中分离获得。瓜伊马斯盆地(Guaymas Basin)热液区分离获得具有锰氧化能力的 *Bacillus* 属菌株, 在其芽孢中可以扩增出多铜氧化酶(Multicopper oxidase, MnxG)基因簇, 推测其在沉积物中以芽孢形式存在。当热液喷出后, 其在羽流中加速繁殖, 并形成锰氧化物^[22]。Sujith 等在印度洋热液区发现玄武岩上覆盖有锰氧化壳, 并证实该矿物的形成是通过锰氧化细菌的作用形成的, 加入有机质(如葡萄糖)后, 将促使锰氧化过程转化为锰还原过程, 并通过 16S rRNA 基因克隆建库分析后发现, 主要的锰氧化菌为 *Bacillus*、*Exiguobacterium*、*Staphylococcus*、*Brevibacterium* 和 *Alcanivorax* 属^[23]。

1.2 硫氧化微生物

在深海热液区, 微生物常常通过化能自养过程利用还原态硫化物获得能量, 主要是 H_2S 。在片状岩脉-辉长岩交界处(Sheeted dike-gabbro interface)附近高温区(约 400 °C), H_2S 和硫化物可通过水-岩

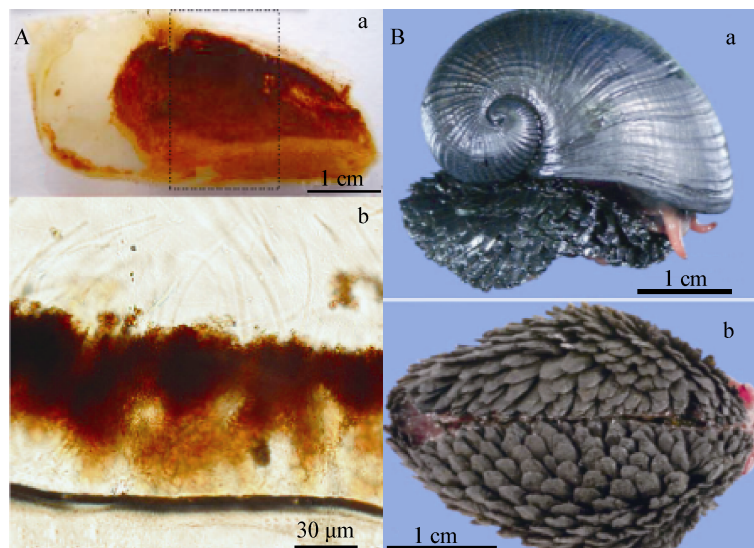


图 2 共生微生物参与了生物成矿过程

Figure 2 Symbiotic microbes involved in biomineralization

注: A: 热液盲虾 *Rimicaris exoculata* 鳃内部的水铁矿与细菌交联^[18]; B: 热液区螺腹足部鳞片上的硫铁矿与细菌交联^[39]。

Note: A: Inner side of the branchiostegite of *Rimicaris exoculata* exhibiting a dense and uniform coating of mineral deposits and bacteria^[18]; B: Two views of the “scaly-foot gastropod” that has iron sulfide sclerites on its foot^[39].

反应大量形成^[24], 其是深海热液区化能自养代谢过程最主要的能量来源^[25]。另外, 其它形态的硫化物, 如多硫化物(Polysulfide)、单质硫(Elemental sulfur)和硫代硫酸盐(Thiosulfate)都可在深海热液区产生, 并可作为微生物代谢的电子供体和电子受体。硫化物的氧化过程结合氧气或其它电子受体

(如硝酸盐)的还原过程支撑了硫氧化微生物的生存, 硫氧化菌可存在于氧化态的海水和还原态的热液羽流中, 也可作为热液区无脊椎动物的共生/附生微生物^[26]。除了有氧氧化, 硫氧化过程也常与硝酸盐还原过程耦合^[27]。热液喷发形成的“Snowblower”, 主要是由硫、铁的氧化物和硫氧化细菌组成(图 3A)。

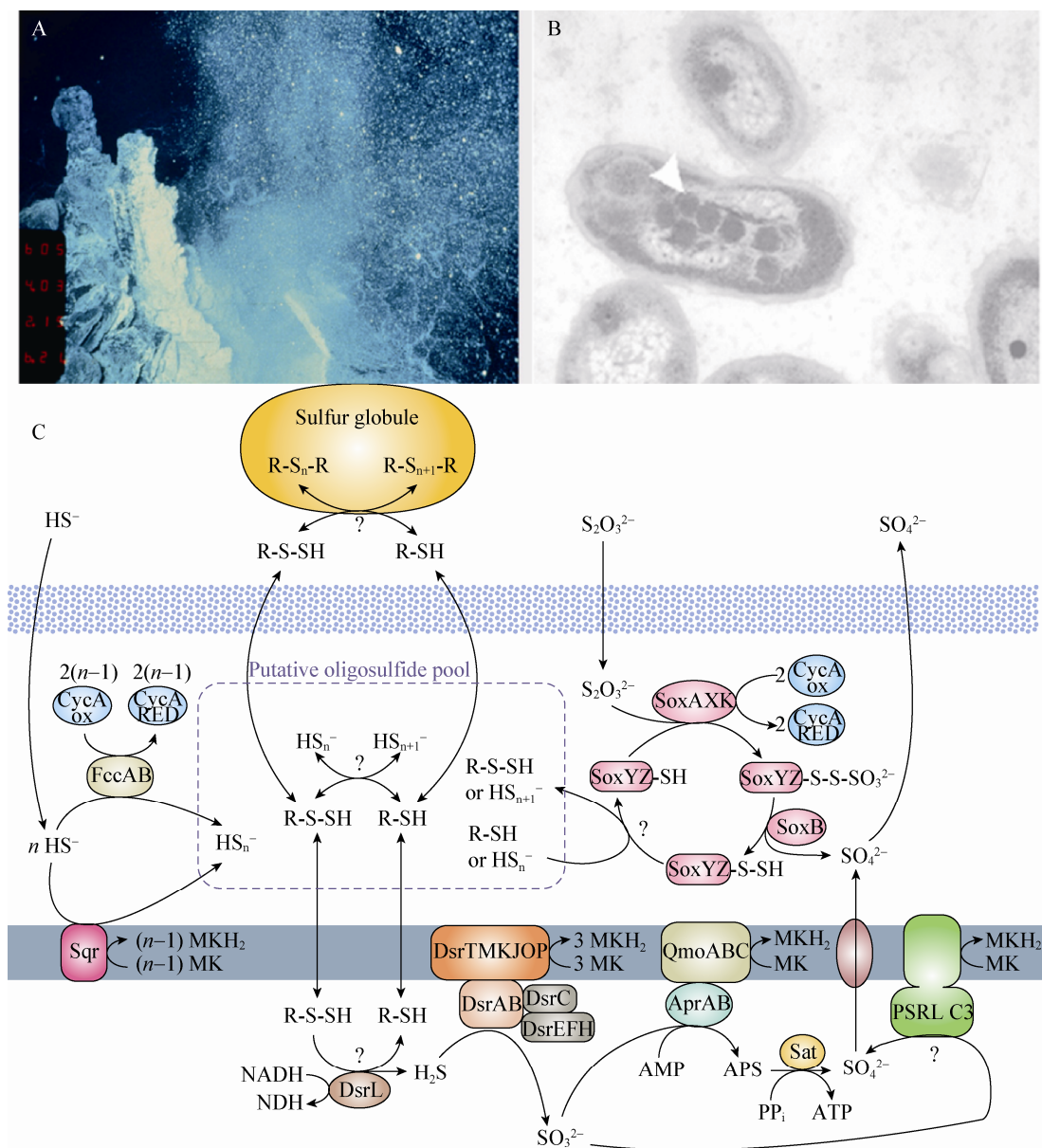


图 3 硫氧化菌代表菌株及分子机制

Figure 3 Sulfur oxidizing microbe and molecular mechanism

注: A: “Snow blower”, 主要由铁、硫化物和产硫硫氧化菌组成(引自 <http://www.whoi.edu/>); B: *Thiomicrospira crunogena* 可在胞内形成含硫囊泡(来源于 M. Bright and K. Scott); C: 微生物的一类硫氧化分子机制^[34]。

Note: A: “Snow blower”, composed of iron/sulfur mineral and sulfur-oxidizing bacteria; B: Morphological figure of *Thiomicrospira crunogena* and Sulfur globules; C: Molecular mechanisms on sulfur-oxidizing process by sulfur oxidizing microbe^[34]。

通过 rRNA 基因的多样性分析,发现在全球深海热液环境中, ϵ -变形菌纲和 γ -变形菌纲是主要的硫氧化菌类群^[28]。Anantharaman 等通过宏基因组和宏转录组分析,发现 γ -变形菌纲 SUP05 类群的细菌广泛分布,可氧化 H_2 和硫为主要能量来源^[29]。但是目前,热液区硫氧化微生物的相关研究主要基于分子生态学分析,对可培养菌及其分子机制研究较少。属于 γ -变形菌纲的化能自养硫氧化菌 *Thiomicrospira crunogena* 分离自东太平洋热液区,并在太平洋和大西洋热液区均有分布,能氧化硫化物、亚硫酸盐、单质硫,并可在体内形成含硫囊泡(图 3B)^[30-31]。基因组研究表明,该菌胞内含大量调控蛋白,用于控制膜转运蛋白,转运营养盐及碳氮化合物,其硫氧化过程完全依赖 SOX 系统^[32]。徐鋋绣等对南大西洋热液区的硫氧化菌群进行了富集和生理功能分析,所获得的菌株主要为 α -变形菌纲(28 株,58.3%)、放线菌门(11 株,22.9%)和 γ -变形菌纲(9 株,18.8%)^[33]。

目前,对可进行光合作用的绿硫杆菌和紫硫杆菌的硫氧化过程研究较深入。在 pH 中性条件下,这些细菌的硫氧化途径有两类:1) 反向硫酸盐还原途径(Reverse sulfate reduction),包括异化亚硫酸盐还原酶(Dissimilatory sulfite reductase, Dsr)、腺苷磷酸硫酸还原酶(Adenylphosphosulfate reductase, Apr)、硫酸盐腺苷酰转移酶(Sulfate adenylyltransferase, Sat)^[36];2) Sox 复合酶体系(Sox multienzyme system),该体系主要氧化无机硫复合物,SoxYZ、SoxXA、SoxB 和 SoxCD 是硫离子和亚硫酸盐离子到硫酸盐离子完整途径所必需的。缺少 SoxCD, SoxYZXAB 体系只能从亚硫酸起始氧化反应,而不能氧化硫化物和单质硫。此外,还有一些有争议的具有硫氧化功能的酶:硫醌氧化还原酶(Sulfide:quinone oxidoreductase, Sqr)、硫胺素(Flavocytochrome c, Fcc)和亚硫酸盐氧化酶(Sulfiteoxidase, SO)(图 3C)^[28]。通过基因组分析发现绿硫杆菌 *Chloroherpeton thalassium* 在将硫化物氧化为亚硫酸的过程中利用了反向异化硫酸盐还原 DSR 系统(Dissimilatory sulfite reduction),而亚硫酸盐的最终氧化则利用 SOX 系统^[34]。通过基因组、

转录组、蛋白质组分析,紫硫杆菌 *Allochromatium vinosum* 在胞内氧化 S^{2-} 形成含硫囊泡(Sulfur globules)的过程利用 SOX 系统,而含硫囊泡的氧化则利用 DSR 系统^[35]。通过宏转录组分析发现,在热液羽流(Vent plume)中 SUP05 硫氧化菌类群的功能蛋白 SOX 的表达上调 10–20 倍^[36]。Cao 等通过宏基因组学的方法研究了西南印度洋热液区烟囱样品,找到完整的 SOX 系统和硫酸盐还原系统,发现硫循环及参与硫循环的微生物是驱动低温热液系统的主要代谢过程,并认为硫氧化过程与反硝化途径的基因有关,硫还原过程与氢利用途径有关^[37]。科学家推测,热液区主要硫氧化菌群 ϵ -变形菌纲和 γ -变形菌纲细菌可以利用硫复合物作为电子供体和电子受体,利用两种不同的途径进行硫氧化^[27]。

另外,在热液区大生物体内或体表,发现硫化物矿物的沉积与硫氧化微生物有重要的联系。在印度洋中脊 Kairei 热液区发现一种独特的腹足类深海螺,发现其足部鳞状骨片上包裹着铁硫化物,矿物颗粒由 Fe_3S_4 和 FeS_2 组成^[38]。Goffredi 等通过构建 16S rRNA 基因文库的方法,分析了鳞片表面的主要微生物类群为 ϵ -变形菌纲(67%,主要为不可培养菌株,与热液盲虾和热液蠕虫共生菌相似度高), δ -变形菌纲(15%,如 *Desulfobulbus*、*Desulfocapsa* 等属)和 γ -变形菌纲(8%),推测硫氧化菌和硫酸盐还原菌可能参与了鳞片中硫铁矿的生成;同时推测螺分泌了粘液(有机物)吸引了这些微生物的附着(图 2B)^[39]。Zbinden 等对东太平洋中脊热液喷口 Pompeii 管状蠕虫的矿化开展了研究,发现管状蠕虫的管壁中含有丰富的铁硫化物和锌硫化物,并且管内壁和外壁的矿物存在着明显的差异:管外壁形成的 ZnS 矿物一般都会有不确定的铁成分和晶体类型,而管内壁的成矿则显得“规则”很多,具有特异的矿物成分和结晶度,最终形成一种板状结构。这种差异性表明,生物在硫化物成矿的过程中可能扮演着重要角色^[40]。多样性研究表明,热液管状蠕虫共生微生物主要为 γ -变形菌纲细菌,具有硫氧化和硫还原功能^[41]。

2 还原微生物功能群及其还原的分子机制

2.1 金属还原微生物

深海热液区富含铁、锰、锌、铜、铅等金属。金属可以作为微生物厌氧呼吸的能量来源,微生物也以吸收金属的方式获得必需元素。Li 等利用宏基因组和转录组的方法,发现热液羽流中铁吸收利用相关的基因都表达上调,包括嗜铁素吸收蛋白(Siderophore-uptake protein)、血红素吸收蛋白(Heme-uptake protein)、 $\text{Fe}^{2+/3+}$ 吸收蛋白,认为金属转运入胞内是一种重要的 Fe-C 贮存方式,并有助于热液来源的 Fe 在海洋的扩散^[42]。

目前,对热液区的金属还原微生物研究主要集中在铁、锰等主要的金属,其它金属研究较少。Vetriani 等从东太平洋热液区分离到 10 株汞还原菌。热液喷口分离到 4 株嗜热菌,均为 *Alcanivorax* 属;热液羽流中分离到 6 株中温菌,包括 *Pseudoalteromonas* 属、*Halomonas* 属、*Pseudomonas* 属、*Marinobacter* 属和未分类纲的菌株。这些菌株可以耐受 10 μmol 的二价 Hg 离子,并且可以将 Hg(II)还原生成 Hg(0),胞内可检测到汞还原酶(Mercuric reductase)^[43]。

已分离的来源于深海热液区的铁还原菌包括:属于热袍菌目(Thermotogales)的 *Thermotoga maritima* 和 *Marinitoga camini*,铁还原菌目(Deferribacteres)的 *Deferribacter abyssi* 和 *Deferribacter autotrophicus*,属于 δ -变形菌纲的 *Geothermobacter ehrlichii*,广古菌门的 *Thermococcus* sp. SN531、*Pyrococcus furiosus*、*Archaeoglobus fulgidus*、*Methanopyrus kandleri*、*Geoglobus ahangari*、*Geoglobus acetivorans*、*Pyrobaculum islandicum*和 *Aciduliprofundum boonei*^[6]。这些铁还原菌都属于嗜热厌氧菌,但种类各不相同,如具有发酵作用的微生物、硫酸盐还原菌及部分产甲烷古菌^[44]。微生物铁还原过程产生磁铁矿是微生物成矿的典型范例。在热液区附近的微生物菌席中,Roh 等分离了中温铁还原菌 *Shewanella* sp. PV-4,其利用 Fe(III)、Co(III)、Cr(VI)、Mn(IV)、

U(VI) 等高价金属作为电子受体,以乳酸(Lactate)、甲酸(Formate)、丙酮酸(Pyruvate)等有机质或氢气作为电子供体,并能形成磁铁矿^[45]。菌株 *Geogemma barossii* 为分离自东北太平洋热液区的超嗜热古菌,可在 121 $^{\circ}\text{C}$ 存活,利用氢气为电子供体,Fe(III)为电子受体,在还原铁的过程中产生磁铁矿作为副产物(图 4A)^[46]。趋磁细菌是微生物控制矿化的典型,其细胞内可形成有序排列的磁小体颗粒,矿物相组成多为磁铁矿(Fe_3O_4),少数为胶黄铁矿(Fe_3S_4),目前已分离的趋磁细菌大多数来源于海水或淡水沉积物,无分离自热液区的趋磁菌的报道,但是趋磁菌的体内成矿过程极有可能也存在于热液区。Arakaki 等(2003)发现 *Magnetospirillum* sp. 磁小体的生物膜包含大量的酸性蛋白 Mms6,可吸引铁离子引发晶体成核,并调节晶面结晶取向,控制结晶度(图 4B)^[47]。敲除 Mms6 基因后会导致磁小体粒径变小,矿物晶面改变^[48]。结合基因组分析和实验数据,认为磁小体形成的分子过程为:细胞内膜凹陷形成磁小体前体,囊泡形成后,沿着细胞骨架嵌入;同时,二价铁离子通过穿膜铁转运蛋白进入囊泡;囊泡内部铁被氧化-还原过程被严格控制,最终,被聚集的铁在囊泡中结晶^[49]。

目前已知的微生物铁还原分子机制,需要以胞外的电子传递为基础,再传递至细胞膜上电子传递链,其中中温铁还原菌地杆菌属(*Geobacter*)和希瓦氏属(*Shewanella*)研究得最深入(图 4D)。地杆菌属(*Geobacter*)菌株主要来源于河海的沉积物和废水中,其具有特殊的电子传递能力,可将电子传送到胞外,并通过细丝导体(如微生物纳米电线)进行长距离的电子传输,通过细胞膜上的内膜蛋白 OmcB、外膜蛋白 OmcS、菌毛等传递电子^[50]。希瓦氏属(*Shewanella*)菌株分布非常广泛,包括热液区、海洋沉积物、稻田等环境,其可以还原多种金属,主要通过膜蛋白 OmcB 和膜上的铁还原蛋白传递电子。在它们的电子传递呼吸链上,均存在依赖于 NADH 的脱氢酶、含醌复合体(蒽醌和甲基蒽醌)和细胞色素蛋白^[51]。推测嗜热异化型铁还原菌则具有不同的铁还原机制,但目前对其

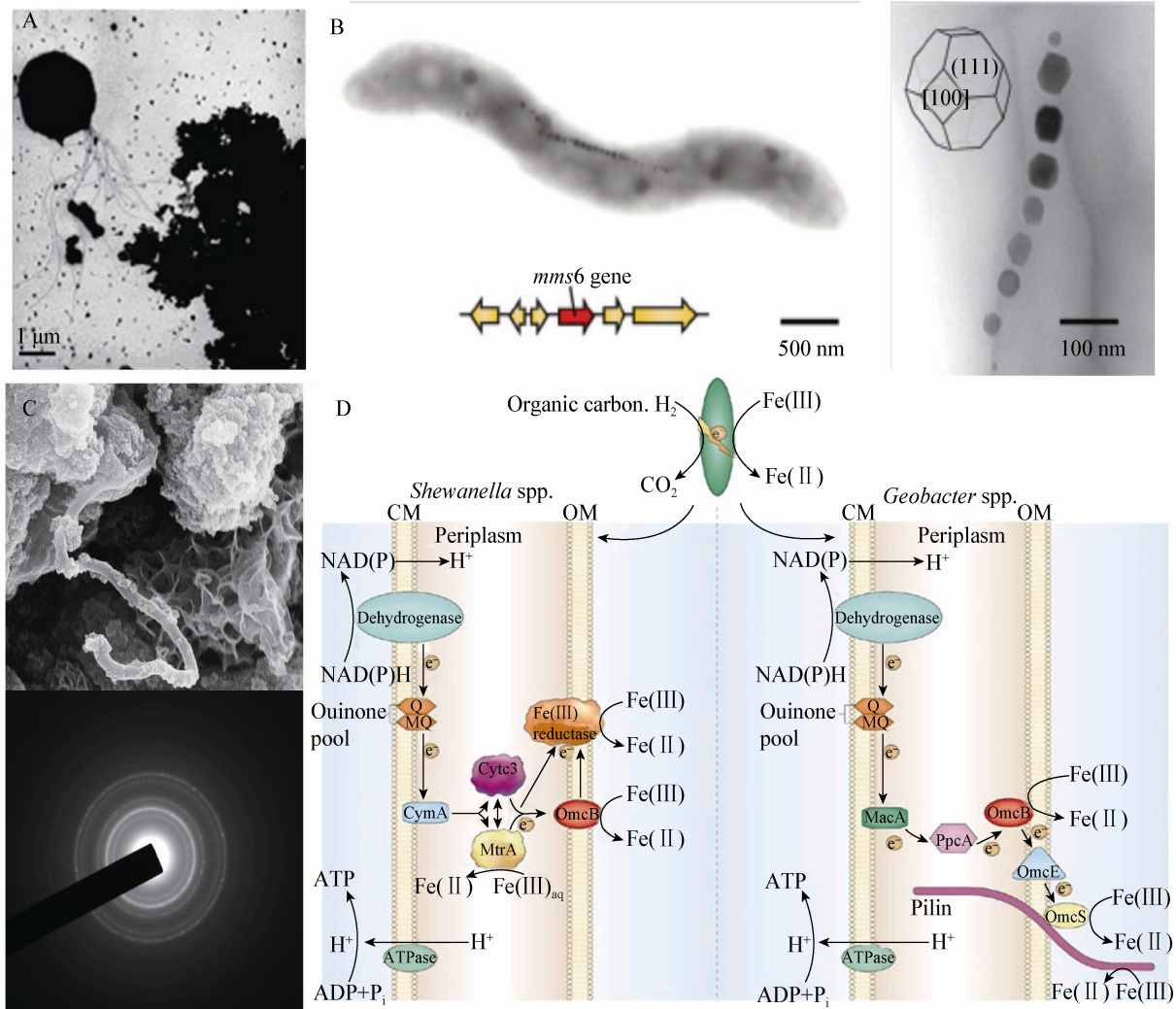


图 4 铁还原菌代表菌株和分子机制

Figure 4 Iron reducing microbe and molecular mechanism

注: A: 超嗜热菌 *Geogemma barossii* strain 121 细胞形态及周围形成的磁铁矿颗粒^[44]; B: 趋磁菌 *Magnetospirillum* sp. 细胞形态、内部的磁小体和主要参与蛋白 Mms6^[47]; C: 发酵型异化铁还原菌 *Anoxybacter fermentans* DY22613 的细胞形态和形成强晶型磁铁矿(衍射图); D: 呼吸型异化铁还原菌 *Geobacter* 和 *Shewanella* 的铁还原分子机制^[51]。

Note: A: Morphological figure of *Geogemma barossii* strain 121 and bioformed magnetite^[44]; B: Morphological figure of *Magnetospirillum* sp. and magnetosome^[47]; C: Morphological figure of *Anoxybacter fermentans* and bioformed magnetite; D: Molecular mechanisms on iron-reducing process by *Geobacter* and *Shewanella*^[51].

机制还没有研究^[52]。分离自热液区的 *Deferribacter desulfuricans* SMM1 基因组研究表明, 其铁还原过程主要依赖细胞色素, 其电子传递链主要依赖 Rnf 蛋白^[53]。Zeng 等通过在南大西洋热液区和西南印度洋热液区分离获得了新的异化型嗜热铁还原菌, 属于细菌新种属, 如 *Anoxybacter fermentans* DY22613 和 *Caloranaerobacter ferrireducens* DY22619 等^[54-55]。菌株 *C. ferrireducens* DY22619 可以将 3 种不可

溶的铁氧化物均还原生成有晶型的磁铁矿, 最高铁还原速率可达到 $2.82 \mu\text{mol/h}$ ^[56]。通过透射电镜、选区电子衍射和能谱分析方法测试证明, 细菌 *A. fermentans* DY22613 可在体外将羟基氧化铁矿物还原生成磁铁矿(图 4C)或利用可溶柠檬酸铁还原生成硫化铁复合物; 通过基因组学、转录组学和生化实验分析, 发现其具有硫酸盐还原酶并具有活性, 而电子传递系统不同于地杆菌属(*Geobacter*)和

希瓦氏属(*Shewanella*),即细胞膜上缺少细胞色素蛋白,而存在较多钼铁蛋白和 Rnf 系统(未发表)。

2.2 硫/硫酸盐还原微生物

硫/硫酸盐还原菌(Sulfur/sulfate reducing microbe, 简称为 SRM)只能利用有限的碳源,包括乙酸、乙醇、二氧化碳、丙酸盐等^[57-58]。大多数硫酸盐还原菌和异化铁还原菌都可以兼性还原单质硫。在深海热液区,硫/硫酸盐还原菌广泛存在,在烟囱口、羽流、沉积物、热液生物的共附生微生物以菌席形式存在^[57]。Labrenz 等在 Desulfobacteriaceae 科的一株硫酸盐还原菌表面获得了纳米级闪锌矿微粒,丝状硫酸盐还原细菌膜外存在闪锌矿微粒和纳米级微球粒,证明硫酸盐还原菌可以诱导产生硫化物矿物(图 5A)^[59]。已分离可培养的硫/硫酸盐

还原菌主要包括以下几类:1) ϵ -变形菌纲,包括 *Nautilia* spp.、*Nautilia abyssi*、*Nitratiruptor tergarcus*、*Caminibacter* spp.等,多为中温菌和嗜热菌,常可以利用 S^0 或 NO_3^- 作为电子受体;2) 产水菌门 Aquificales,包括 *Desulfurobacterium* spp.和 *Thermovibrio* spp.等,为嗜热菌,常可以利用 S^0 或 NO_3^- 作为电子受体;3) 脱铁杆菌目 Deferribacterales,包括 *Deferribacter autotrophicus* 和 *Deferribacter abyssi*,均为嗜热菌,可利用三价铁, S^0 或 NO_3^- 作为电子受体;4) 热脱硫杆菌科 Thermodesulfobacteriaceae,包括 *Thermodesulfobacterium* spp.,为嗜热菌,以硫酸盐和 S^0 为电子受体;5) 嗜热或超嗜热古菌,包括 *Ignicoccus pacificus*、*Pyrobolus fumarii*、*Archaeoglobus veneficus*、*Archaeoglobus sulfaticallidus*^[62]及热球菌

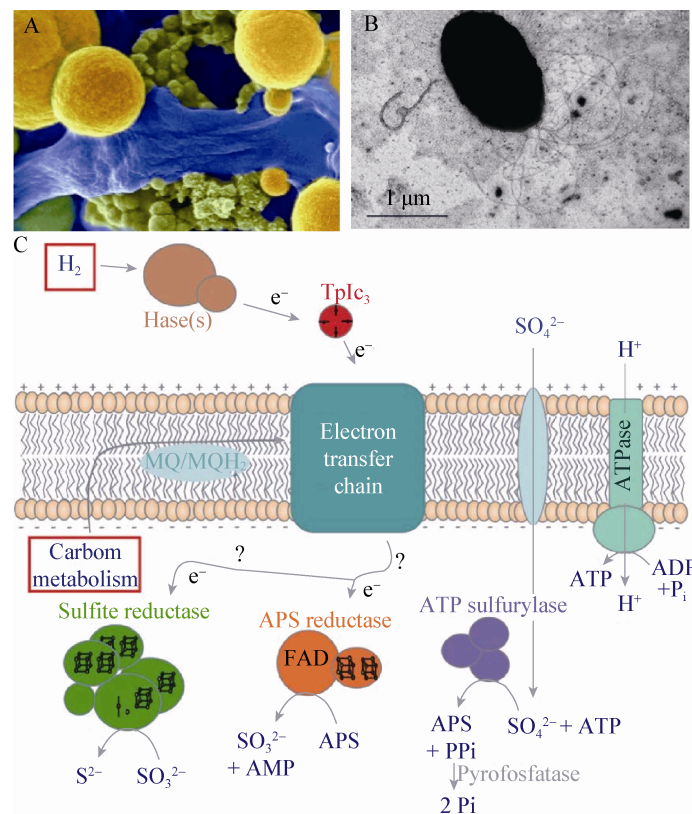


图 5 硫还原菌代表菌株和分子机制

Figure 5 Sulfur reducing microbe and molecular mechanism

注: A: Desulfobacteriaceae 科的硫酸盐还原菌细胞形态(蓝色)及硫化锌矿物(绿色)^[59]; B: 硫还原古菌 *Pyrococcus yayanosii* CH1 的细胞形态^[61]; C: 微生物的一类硫酸盐还原分子机制^[58]。

Note: A: Morphological figure of Desulfobacteriaceae strain and ZnS aggregates^[59]; B: Morphological figure of *Pyrococcus yayanosii* CH1^[61]; C: Molecular mechanisms on sulfate-reducing process by sulfur reducing microbe^[58]。

目(Thermococcales)的 *Thermococcus*、*Pyrococcus* (图 5B)和 *Palaeococcus* 属^[63-64]。Reysenbach 等成功在热液区分离获得属于 DHVE2 类群的嗜热嗜酸古菌,被证明有硫还原和铁还原的生理功能^[65]。Frank 等分析了 Juan de Fuca 洋中脊上 3 个不同位置热液区的硫酸盐还原速率,并结合分析微生物多样性和功能基因丰度,发现硫酸盐还原速率在 90 °C 达到最高, *Thermodesulfobrio*-like 类群在温度较高的区域可能发挥作用^[64]。

还原单质硫的过程较简单, *Desulfuromonas* 属菌株常含有大量的细胞色素同系物,被认为介导电子传递到胞外的 $S^{0[65]}$ 。硫酸盐还原的过程则较复杂,主要包括:1) 硫酸盐的运输,运输进入胞内或膜上;2) 硫酸盐的激活,硫酸盐的氧化还原电位较低 (-0.516 V),在其被还原之前,需在硫酸腺苷转移酶的作用下,以消耗 ATP 为代价激活硫酸盐生成腺嘌呤磷酸硫酸盐(APS),焦磷酸酶可促进该过程,但在好氧环境下易失活;3) APS 的还原,在 APS 还原酶(Adenosine-phosphosulfate reductase)的作用下,APS 继续生成亚硫酸盐和磷酸腺苷;4) 亚硫酸盐的还原,在亚硫酸盐还原酶(Sulfite reductase)的作用下,逐步生成 H_2S (图 5C)^[58]。因此,APS 还原酶和亚硫酸盐还原酶的丰度常用于判断是否存在硫酸盐还原过程、验证硫酸盐还原速率,它们也是在硫酸盐还原过程起关键作用的酶。

越来越多的研究证实,硫酸盐还原菌能置换出各种金属(Loids)。包括准金属(Se 和 Te)、过渡金属(金、钴、铬、铁、汞、钼、锰、镍、铅、钽、铂、铈、铈、铈、V 和 Zn)和铜系元素(PU 和 U)。该转换过程有以下几种方式:1) 利用特定的金属酶;2) 共代谢,即使用非底物特异性的酶;3) 生物甲基化(Biomethylation);4) 无机沉淀;5) 在生长培养基内的氧化还原反应;6) 氧化或阴极去极化^[66]。

3 展望

微生物作为地球生物圈的一个重要组成部分和很多重要地质过程的行使者,可通过氧化还原反应(Redox reaction)介导地球上的主要元素循环;微

生物利用环境中的元素生存,并改变元素的存在形式^[67]。深海热液区支撑了独特的生物群落,通过化能自养微生物,热液中的化学能转化成为有机碳;反之生物也改变了元素的化学状况。目前的研究已向我们揭示了微生物在生物地球化学循环中的重要作用,亟待我们用更多的方法和技术去揭示微生物成矿过程和现象。电子显微技术(如扫描电镜和投射电镜)有助于观察生物体与矿物的接触与关系;冷冻蚀刻技术利于观察到微生物表面分泌胞外多糖用于连接细胞与矿物;光谱技术的应用可以观察生物酶参与矿化过程;纳米二次离子质谱技术(Nanosims)、离子微电极和荧光成像技术可作为分析微生物胞内及其与矿物界面相互作用的有力工具。除此之外,分子生物学技术和生物信息学技术,如宏基因组学技术、核糖体 RNA 基因测序、基因组分析等方法有助于更详尽准确地了解微生物群体多样性、推测功能基因和分子机制。基于微生物类群的核苷酸探针和基于多糖、蛋白的探针都可用于微生物与矿物表面的结合。微芯片(Microchips)或其他高通量的研究方式用于研究不同微环境下(pH、氧化还原电位、温度、细胞量等),微生物与矿物交互界面上的基因表达和介导化合物的变化。研制深海原位培养装置和富集实验有助于获取特定微生物群落,并可以观察微生物参与的矿物形成与演变过程。

参 考 文 献

- [1] Lowenstam HA. Minerals formed by organisms[J]. Science, 1981, 211(4487): 1126-1131
- [2] Bazylinski DA, Frankel RB. Biologically controlled mineralization in prokaryotes[J]. Reviews in Mineralogy and Geochemistry, 2003, 54(1): 217-247
- [3] Frankel RB, Bazylinski DA. Biologically induced mineralization by bacteria[J]. Reviews in Mineralogy and Geochemistry, 2003, 54(1): 95-114
- [4] Herzig PM, Hannington MD. Input from the deep: hot vents and cold seeps[A]//Schulz HD, Zabel M. Marine Geochemistry[M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2006: 457-479
- [5] Edmond JM, Von Damm KL, McDuff RE, et al. Chemistry of hot springs on the East Pacific Rise and their effluent dispersal[J]. Nature, 1982, 297(5863): 187-191
- [6] Weber KA, Achenbach LA, Coates JD. Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction[J]. Nature Reviews Microbiology, 2006, 4(10): 752-764
- [7] Ehrlich HL. Microbes and metals[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 1997, 48(6): 687-692

- [8] Hallberg R, Ferris FG. Biomineralization by *Gallionella*[J]. Geomicrobiology Journal, 2004, 21(5): 325-330
- [9] Silverman MP. Mechanism of bacterial pyrite oxidation[J]. Journal of Bacteriology, 1967, 94(4): 1046-1051
- [10] Schieber J, Glamoclija M. Microbial mats built by iron bacteria: a modern example from southern Indiana[A]//Schieber J, Bose PK, Eriksson PG, et al. Atlas of Microbial Mat Features Preserved Within the Clastic Rock Record[M]. Amsterdam: Elsevier, 2007: 233-244
- [11] Lin J, Zhang CL. The first collaborative China-international cruises to investigate Mid-Ocean Ridge hydrothermal vents[N]. Inter Ridge News, 2006, 15: 1-3
- [12] Kato S, Nakamura K, Toki T, et al. Iron-based microbial ecosystem on and below the seafloor: a case study of hydrothermal fields of the Southern Mariana Trough[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 89
- [13] Scott JJ, Breier JA, Luther GW III, et al. Microbial iron mats at the Mid-Atlantic ridge and evidence that Zetaproteobacteria may be restricted to iron-oxidizing marine systems[J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0119284
- [14] Emerson D, Rentz JA, Lilburn TG, et al. A novel lineage of Proteobacteria involved in formation of marine Fe-oxidizing microbial mat communities[J]. PLoS One, 2007, 2(8): e667
- [15] Mcallister SM, Davis RE, Mcbeth JM, et al. Biodiversity and emerging biogeography of the neutrophilic iron-oxidizing *Zetaproteobacteria*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(15): 5445-5457
- [16] Singer E, Emerson D, Webb EA, et al. *Mariprofundus ferrooxydans* PV-1 the first genome of a marine Fe(II) oxidizing *Zetaproteobacterium*[J]. PLoS One, 2011, 6(9): e25386
- [17] Barco RA, Emerson D, Sylvan JB, et al. The proteomic profile of an obligate iron-oxidizing chemolithoautotroph reveals new insight into microbial iron oxidation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015. DOI: 10.1128/AEM.01374-15
- [18] Corbari L, Cambon-Bonavita MA, Long GJ, et al. Iron oxide deposits associated with the ectosymbiotic bacteria in the hydrothermal vent shrimp *Rimicaris exoculata*[J]. Biogeosciences, 2008, 5(5): 1295-1310
- [19] Zbinden M, Le Bris N, Gaill F, et al. Distribution of bacteria and associated minerals in the gill chamber of the vent shrimp *Rimicaris exoculata* and related biogeochemical processes[J]. Marine Ecology Progress Series, 2004, 284: 237-251
- [20] Jan C, Petersen JM, Werner J, et al. The gill chamber epibiosis of deep-sea shrimp *Rimicaris exoculata*: an in-depth metagenomic investigation and discovery of *Zetaproteobacteria*[J]. Environmental Microbiology, 2014, 16(9): 2723-2738
- [21] Zhang XB, Zeng X, Dong CM, et al. Analysis on the diversity of culturable epibiotic microbes on the gills of hydrothermal shrimp *Rimicaris* sp. from the South Mid-Atlantic Ridge[J]. Journal of Applied Oceanography, 2013, 32(1): 73-78 (in Chinese)
张晓波, 曾湘, 董纯明, 等. 南大西洋热液区盲虾鳃可培养附生菌多样性分析[J]. 应用海洋学报, 2013, 32(1): 73-78
- [22] Dick GJ, Lee YE, Tebo BM. Manganese(II)-oxidizing *Bacillus* spores in Guaymas Basin hydrothermal sediments and plumes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(5): 3184-3190
- [23] Sujith PP, Mourya BS, Krishnamurthi S, et al. Mobilization of manganese by basalt associated Mn(II)-oxidizing bacteria from the Indian Ridge System[J]. Chemosphere, 2014, 95: 486-495
- [24] Jannasch HW, Mottl MJ. Geomicrobiology of deep-sea hydrothermal vents[J]. Science, 1985, 229(4715): 717-725
- [25] McCollom TM, Shock EL. Geochemical constraints on chemolithoautotrophic metabolism by microorganisms in seafloor hydrothermal systems[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1997, 61(20): 4375-4391
- [26] Sievert SM, Hügler M, Taylor CD, et al. Sulfur oxidation at deep-sea hydrothermal vents[A]//Dahl C, Friedrich CG. Microbial Sulfur Metabolism[M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2008: 238-258
- [27] Amend JP, Shock EL. Energetics of overall metabolic reactions of thermophilic and hyperthermophilic Archaea and Bacteria[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2001, 25(2): 175-243
- [28] Yamamoto M, Takai K. Sulfur metabolisms in Epsilon- and Gamma-Proteobacteria in deep-sea hydrothermal fields[J]. Frontiers in Microbiology, 2011, 2: 192, DOI: 10.3389/fmicb.2011.00192
- [29] Anantharaman K, Duhaime MB, Breier JA, et al. Sulfur oxidation genes in diverse deep-sea viruses[J]. Science, 2014, 344(6185): 757-760
- [30] Jannasch HW, Wirsén CO, Nelson DC, et al. *Thiomicrospira crunogena* sp. nov., a colorless, sulfur-oxidizing bacterium from a deep-sea hydrothermal vent[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1985, 35(4): 422-424
- [31] Wirsén CO, Brinkhoff T, Kuever J, et al. Comparison of a new *Thiomicrospira* strain from the Mid-Atlantic ridge with known hydrothermal vent isolates[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(10): 4057-4059
- [32] Scott KM, Sievert SM, Abril FN, et al. The genome of deep-sea vent chemolithoautotroph *Thiomicrospira crunogena* XCL-2[J]. PLoS Biology, 2006, 4(12): e383
- [33] Xu HX, Jiang LJ, Li SN, et al. Diversity of culturable sulfur-oxidizing bacteria in deep-sea hydrothermal vent environments of the South Atlantic[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2016, 56(1): 88-100 (in Chinese)
徐钰绣, 姜丽晶, 李少能, 等. 南大西洋深海热液区可培养硫氧化微生物多样性及其硫氧化特性[J]. 微生物学报, 2016, 56(1): 88-100
- [34] Gregersen LH, Bryant DA, Frigaard NU. Mechanisms and evolution of oxidative sulfur metabolism in green sulfur bacteria[J]. Frontiers in Microbiology, 2011, 2: 116
- [35] Maki JS. Bacterial intracellular sulfur globules: structure and function[J]. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 2013, 23(4/5): 270-280
- [36] Lesniewski RA, Jain S, Anantharaman K, et al. The metatranscriptome of a deep-sea hydrothermal plume is dominated by water column methanotrophs and lithotrophs[J]. The ISME Journal, 2012, 6: 2257-2268
- [37] Cao HL, Wang Y, Lee OO, et al. Microbial sulfur cycle in two hydrothermal chimneys on the Southwest Indian Ridge[J]. mBio, 2014, 5(1): e00980-13
- [38] van Dover CL, Humphris SE, Fornari D, et al. Biogeography and ecological setting of Indian ocean hydrothermal vents[J]. Science, 2001, 294(5543): 818-823
- [39] Goffredi SK, Waren A, Orphan VJ, et al. Novel forms of structural integration between microbes and a hydrothermal vent gastropod from the Indian ocean[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(5): 3082-3090
- [40] Zbinden M, Martinez I, Guyot F, et al. Zinc-iron sulphide mineralization in tubes of hydrothermal vent worms[J]. European Journal of Mineralogy, 2001, 13(4): 653-658
- [41] Stewart FJ, Cavanaugh CM. Symbiosis of thioautotrophic bacteria with *Riftia pachyptila*[A]//Overmann J. Molecular Basis of Symbiosis: Progress in Molecular and Subcellular Biology[M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2006, 41: 197-225
- [42] Li M, Toner BM, Baker BJ, et al. Microbial iron uptake as a mechanism for dispersing iron from deep-sea hydrothermal vents[J]. Nature Communications, 2014, 5: 3192
- [43] Vetriani C, Chew YS, Miller SM, et al. Mercury adaptation among bacteria from a deep-sea hydrothermal vent[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(1): 220-226
- [44] Xie SC, Yang H, Luo GM, et al. Geomicrobial functional groups: a window on the interaction between life and environments[J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57(1): 2-19
谢树成, 杨欢, 罗根明, 等. 地质微生物功能群: 生命与环境相互作用的重要突破口[J]. 科学通报, 2012, 57(1): 2-19

- [45] Roh Y, Gao HC, Vali H, et al. Metal reduction and iron biomineralization by a psychrotolerant Fe(III)-reducing bacterium, *Shewanella* sp. strain PV-4[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(5): 3236-3244
- [46] Kashefi K, Lovley DR. Extending the upper temperature limit for life[J]. Science, 2003, 301(5635): 934
- [47] Arakaki A, Webb J, Matsunaga T. A novel protein tightly bound to bacterial magnetic particles in *Magnetospirillum magneticum* strain AMB-1[J]. Journal of Biological Chemistry, 2003, 278(10): 8745-8750
- [48] Tanaka M, Mazuyama E, Arakaki A, et al. MMS6 protein regulates crystal morphology during nano-sized magnetite biomineralization *in vivo*[J]. Journal of Biological Chemistry, 2011, 286(8): 6386-6392
- [49] Arakaki A, Yamagishi A, Fukuyo A, et al. Co-ordinated functions of Mms proteins define the surface structure of cubo-octahedral magnetite crystals in magnetotactic bacteria[J]. Molecular Microbiology, 2014, 93(3): 554-567
- [50] Lovley DR, Ueki T, Zhang T, et al. *Geobacter*: the microbe electric's physiology, ecology, and practical applications[J]. Advances in Microbial Physiology, 2011, 59: 1-100
- [51] Bird LJ, Bonnefoy V, Newman DK. Bioenergetic challenges of microbial iron metabolisms[J]. Trends in Microbiology, 2011, 19(7): 330-340
- [52] Ver Eecke HC. Growth kinetics and constraints related to metabolic diversity and abundances of hyperthermophiles in deep-sea hydrothermal vents[D]. Amherst: Doctoral Dissertation of University of Massachusetts - Amherst, 2011
- [53] Takaki Y, Shimamura S, Nakagawa S, et al. Bacterial lifestyle in a deep-sea hydrothermal vent chimney revealed by the genome sequence of the thermophilic bacterium *Deferribacter desulfuricans* SSM1[J]. DNA Research, 2010, 17(3): 123-137
- [54] Zeng X, Zhang Z, Li X, et al. *Caloranaerobacter ferrireducens* sp. nov., an anaerobic, thermophilic, iron(III)-reducing bacterium isolated from deep-sea hydrothermal sulfide deposits[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(6): 1714-1718
- [55] Zeng X, Zhang Z, Li X, et al. *Anoxybacter fermentans* gen. nov., sp. nov., a piezophilic, thermophilic, anaerobic, fermentative bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(2): 710-715
- [56] Li X, Zeng X, Zhang Z, et al. Characteristics of different iron oxides reduction by a thermophilic dissimilatory iron reducing bacterium *Caloranaerobacter ferrireducens* DY22619^T from deep sea[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2016, 38(8): 83-92 (in Chinese)
- 李曦, 曾湘, 张昭, 等. 深海嗜热异化铁还原菌 *Caloranaerobacter ferrireducens* DY22619^T 对不同铁氧化物的铁还原特性[J]. 海洋学报, 2016, 38(8): 83-92
- [57] Alain K, Callac N, Guégan M, et al. *Nautilia abyssi* sp. nov., a thermophilic, chemolithoautotrophic, sulfur-reducing bacterium isolated from an East Pacific Rise hydrothermal vent[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59(Pt 6): 1310-1315
- [58] Madigan MT, Martinko JM, Dunlap PV, et al. Brock Biology of Microorganisms[M]. 12th Edition. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2009, ISBN: 0-132-55077-3
- [59] Labrenz M, Druschel GK, Thomsen-Ebert T, et al. Formation of sphalerite (ZnS) deposits in natural biofilms of sulfate-reducing bacteria[J]. Science, 2000, 290(5497): 1744-1747
- [60] Sievert SM, Vetriani C. Chemoautotrophy at deep-sea vents: past, present, and future[J]. Oceanography, 2012, 25(1): 218-233
- [61] Zeng X, Birrien JL, Fouquet Y, et al. *Pyrococcus* CH1, an obligate piezophilic hyperthermophile: extending the upper pressure-temperature limits for life[J]. The ISME Journal, 2009, 3: 873-876
- [62] Zeng X, Zhang XB, Jiang LJ, et al. *Palaeococcus pacificus* sp. nov., an archaeon from deep-sea hydrothermal sediment[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2013, 63(6): 2155-2159
- [63] Reysenbach AL, Liu YT, Banta AB, et al. A ubiquitous thermoacidophilic archaeon from deep-sea hydrothermal vents[J]. Nature, 2006, 442(7101): 444-447
- [64] Frank KL, Rogers DR, Olins HC, et al. Characterizing the distribution and rates of microbial sulfate reduction at Middle Valley hydrothermal vents[J]. The ISME Journal, 2013, 7(7): 1391-1401
- [65] Pfennig N, Biebl H. *Desulfuromonas acetoxidans* gen. nov. and sp. nov., a new anaerobic, sulfur-reducing, acetate-oxidizing bacterium[J]. Archives of Microbiology, 1976, 110(1): 3-12
- [66] Barton LL, Tomei-Torres FA, Xu HF, et al. Metabolism of metals and metalloids by the sulfate-reducing bacteria[A]//Saffarini D. Bacteria-Metal Interactions[M]. Switzerland: Springer International Publishing, 2015: 57-83
- [67] Falkowski PG, Fenchel T, Delong EF. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles[J]. Science, 2008, 320(5879): 1034-1039