



深地生物圈的最新研究进展以及发展趋势

董海良

中国地质大学(北京), 生物地质与环境地质国家重点实验室, 北京 100083

E-mail: dongh@cugb.edu.cn

2018-07-30 收稿, 2018-10-09 修回, 2018-10-10 接受, 2018-11-16 网络版发表

国家自然科学基金(41572328, 41630103)资助

摘要 深地(地下深部)微生物是指陆地以及海底表面以下、不以光合作用为主要能量来源、生活在黑暗世界的微生物。深地微生物生活在岩石与沉积物空隙或者流体中, 从岩石摄取营养, 从水-岩反应中获取能量。深地微生物的总量可与地表生物量相媲美, 但是其分布不均匀, 代谢速率极低, 地质条件是影响其分布和代谢的主要因素。总体来讲, 随着深度的增加, 由地表带入的有机质含量与能量都降低, 因此微生物的丰度、多样性与活性也随之降低。在深地环境, 深地微生物的代谢主要由水-岩反应产生的底物与能量维持。深地的极端环境造就了特殊的深地微生物(厌氧、化能自养、嗜热、嗜压、耐寡营养、耐辐射、耐干旱等), 但是这些生物的生存边界目前还没有统一论。尽管深地微生物个体小、生长慢, 但是数量庞大, 物种多样且功能丰富, 在一系列地质过程中起着至关重要的作用, 也与人类活动息息相关。因为获取深地样品难度大、费用高, 因此深地微生物的研究尚不够深入, 许多问题有待解决, 包括深地微生物的起源、生存、与代谢功能, 生物地理分布, 由深地微生物参与调控的元素地球化学循环, 以及深地微生物资源的开发利用。

关键词 深地微生物, 极端环境, 生存边界, 能量, 生物量, 多样性

深地生物圈是指陆地以及海底表面以下、不以光合作用为能量来源的黑暗生物圈, 主要由微生物构成。这些微生物主要生活在岩石与沉积物的空隙和流体当中, 从岩石中摄取无机营养成分、从水-岩反应中获取能量进行生长。地下微生物的总量可与地表生物量相媲美, 但是其分布不均匀, 主要受地质条件控制, 也与岩石和流体的物理化学性质相关。地下的极端环境造就了地下微生物独一无二的生理生态特征, 譬如厌氧(或者兼性厌氧)、自养、嗜热、嗜压、耐寡营养、耐辐射、耐干旱等。尽管深地微生物个体细小、生长速率缓慢(细胞分裂一次需要一个世纪或更长时间), 但是它们的物种多样、功能丰富, 在矿物岩石风化、元素循环、油气与金属矿产资源的形成和迁移、有机污染物的降解等方面起着至关重要的作用, 有些深地微生物本身能产特殊的抗生素、耐热

的生物酶等物质, 在生物工程上具有广阔的应用前景。因为深地样品获取困难、费用高、学科高度交叉等特点, 深地微生物的研究起步较晚, 发展历史短, 速度慢, 人才队伍少。但近20年以来, 这一学科得到了一定程度的发展, 本文就深地微生物的主要研究进展、研究目标、重大科学问题、主要研究内容、深地微生物的研究方法等几个方面进行综述, 希望能引起国内外科学家对这一新兴学科的重视。

1 深地微生物的主要研究进展

1.1 国际上主要深地钻探项目与深地实验室建设的概况

深地生物圈的研究既有理论意义, 又有实际应用价值。理论意义包括人们对生命的起源及其他星

引用格式: 董海良. 深地生物圈的最新研究进展以及发展趋势. 科学通报, 2018, 63: 3885–3901

Dong H L. Recent developments and future directions of deep biosphere research (in Chinese). Chin Sci Bull, 2018, 63: 3885–3901, doi: 10.1360/N972018-00766

球(如火星等)是否有生命等科学问题的好奇心. 因为在地球形成早期的极端环境条件下(如强紫外线辐射), 地球表面几乎不可能存在任何形式的生命, 但是深地环境条件相对温和, 生物有可能在深地环境生存繁衍. 因此, 对现代深地生物的探索有助于揭示早期地球生命的起源和进化. 同样, 现在火星表面也不适合生命的存在, 但在火星深部有可能因为有液态水而孕育生命. 因此, 对现代地球深地生命的探索有助于揭示火星深部生命的运动规律. 从地下深部分离到的微生物通常具有一些独特的习性, 可以广泛地应用于环境修复、提高石油采收率等, 在生物技术和生物能源方面有着广泛的实际应用.

深地生物圈是一个复杂的生态系统, 需要地质、地球物理、地球化学、矿物学、水文学、有机化学、生物化学与分子微生物学等综合研究手段, 才能对其丰度、分布、多样性、生态功能等进行综合研究. 由于地下深部处于厌氧、高温、高压、缺水、寡营养、低孔隙度、高盐度、高或低pH等极端条件^[1], 人类只有通过钻探或开发地下空腔(深地实验室)才能接触到这些极端环境. 这类超深钻孔或者深地实验室在

世界上为数不多、深度不同. 早期的陆地钻探计划往往由单个国家的科研部门或者石油公司来实施(图1), 譬如美国南卡罗来纳州的Savannah River Plant (1986), 新墨西哥州西北部的白垩纪Cerro Negro盆地(地下约200~300 m深, 页岩与砂岩)^[2], 弗吉尼亚州的白垩/三叠纪时期的Taylorsville盆地(地下约3 km深, 沉积物)^[3]和科罗拉多州的白垩纪Piceance盆地(页岩与砂岩)^[4,5], 在这些盆地都做了一些深地微生物工作. 最近的古生代伊利诺伊油气盆地(砂岩与页岩)钻探也对深地微生物做了一些有意义的工作, 分离得到了铁还原、发酵菌等^[6,7]. 近十几年以来, 国际大陆钻探计划(ICDP)资助了一些综合性钻探计划, 对深地微生物作为其中的一部分展开了一些研究, 譬如中国大陆科学深钻项目(CCSZ)(地下约5200 m深, 高压、超高压变质岩)^[8-10], 美国东部的The Chesapeake Bay impact project(陨石撞击坑)^[11]. 近期正在打钻的还有印度的The Koyana Dam项目(白垩纪-古近纪玄武岩-花岗岩, 人工诱发的地震与深地微生物的关系), 南非的DSeis 项目(主要用来研究由地震活动带来的氢气与微生物之间的关系)和Bushveld项目^[12], 阿曼的

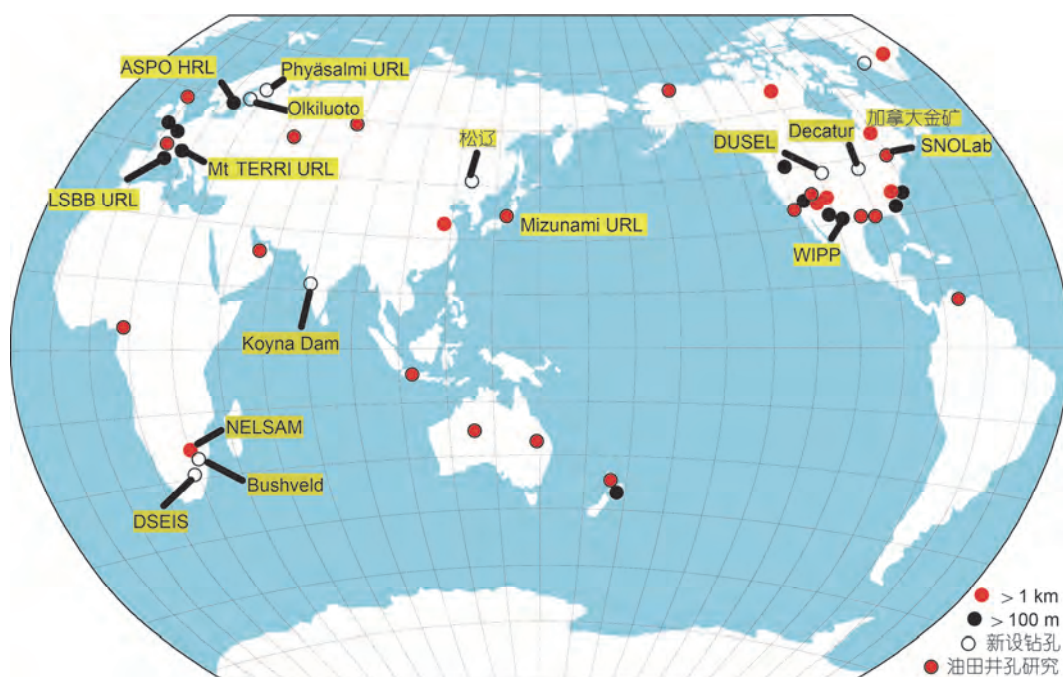


图1 (网络版彩色)陆地上深地微生物研究的主要井孔分布. 大部分井位只有几百米深, 主要是现有的或正在打的石油钻井, 也有一些是ICDP资助的深钻项目. Tullis Onstott 教授提供一部分钻孔位置

Figure 1 (Color online) A global distribution of major continental boreholes that have been used for deep biosphere research. Most boreholes are only a few hundred meters deep, and they are mainly used for oil exploration and production. A few recent ones funded by ICDP are also included. Courtesy of Tullis Onstott for help on some borehole locations

Oman Drilling项目(蛇纹石化与深地微生物的关系)等等。最近由于深地页岩气的开发,人们也开始关注地层水中的微生物群落、功能以及地表微生物带入地下高温、高压、高盐等极端环境以后的适应过程与机理^[13]。

用来做微生物研究的深海钻探主要集中在太平洋、大西洋、白令海等,研究对象主要是深海沉积物,由国际大洋发现计划(International Ocean Discovery Program, IODP)承担钻探任务。历史上第一次大规模致力于探究深海沉积物生物圈的为大洋钻探计划(Ocean Drilling Program, ODP, 是IODP的前身)201航次^[14]。现在微生物学家们参加IODP航次已经成为常态,从2010年到目前为止,已经完成了6个聚焦于深部生物圈的航次,包括以获取太平洋冲绳海槽沉积物为目的的331航次^[15],南太平洋环流区极贫养(寡营养)沉积物的329航次^[16],大西洋洋中脊侧翼洋壳的336航次^[17],日本下北半岛附近海域深部煤层的337航次^[18],大西洋洋中脊西侧翼亚特兰蒂斯蛇纹岩化的357航次^[19],日本南海海槽深部生物圈温度极限的370航次^[20],这几个航次给我们带来有关深部生物圈全新的甚至是颠覆性的认识。真正打到洋壳岩石(辉绿岩)的是2010年实施的IODP 304, 305航次,打钻位置在北大西洋的Atlantis Massif^[21],随后的301与327航次对胡安-德富卡岭侧翼的洋壳玄武岩也实施了钻探取样^[22],并且在钻孔内部安装了原位流体检测与取样的CORK系统,与岩石的微生物群落做了对比^[23]。

与深地钻探工程不同,深地实验室可以为研究深地生物圈提供更直接有效的手段。尽管在世界范围内已建立了许多地下实验室,用于研究粒子物理学和天体物理学,但是利用这些设施研究深地生物还是一个相对较新的思路。瑞典哥德堡大学地下深部生物圈实验室(the Deep Biosphere Laboratory)是世界上研究地质微生物学最早、也是最好的实验室之一,从1987年就开始运行。该实验室建在Äspö火成岩中,深度约为450 m,各种钻孔累计达1700 m^[24],研究范围主要集中在深地微生物的生物量、分布、多样性、活性以及微生物和金属元素(尤其是放射性核素)之间的相互作用,该实验室也包括微生物处理核废料和微生物降解烃类污染物等应用研究。到目前为止,地下深部实验室在全球都开始启动,包括加拿大(Whiteshell)、芬兰(ONKALO)、瑞士(the Grimsel

test site)、日本的Mizunami(正在筹建过程中)^[25]、中国的锦屏地下实验室(CJPL)。

南非地下金矿是另一个深地微生物研究的实例,利用现有的矿山坑道作为天然实验室,在过去的8年中已进行了大量的深地微生物学研究。矿井坑道纵向延伸5 km。尽管地质条件相当极端(高温、高压、高盐度、强辐射、贫营养、缺少能源和水分),但是研究人员还是做了大量的工作,从中分离出了一些新的极端微生物^[26-29]。

1.2 主要研究进展

最近十几年以来,有许多深地微生物的综述性文献^[23,24,30-42]、专辑和有关书籍^[43,44]专门报道和介绍深地微生物的研究成果^[45-47],还有专门的国际会议。总的来说,地质微生物学家在深地微生物的生物量、多样性与地质条件之间的关系、物质与能量代谢方面有了一系列重大发现。目前有关深地微生物的研究程度可以从一张图来总结(图2)。在浅层,微生物的主要碳源与能量来源是由光能驱动产生的有机质,但是随着深度的增加,有机质含量与生物可利用性降低,异养微生物的丰度与活性(图3)也随之降低。在深部环境,岩石孔隙度减小,有机质含量进一步降低,微生物总量和多样性也随之降低,但是来自于水-岩反应产生的H₂含量增加,可以为微生物的活动提供能量。下面就几个方面对主要进展做个总结。

1.2.1 深地微生物生物量与地质条件的关系

虽然目前还不能准确测定深地微生物的数量,但是根据已有实验结果可推测其总量。早在1998年,Whitman等人^[48]估计海洋和陆地深地微生物细胞数量分别为 3.5×10^{30} 和 $0.25 \times 10^{30} \sim 2.5 \times 10^{30}$ 个。但是Kallmeyer等人^[34]在2012年计算结果显示,海洋深地微生物细胞数量仅为 2.9×10^{29} ,总碳量为 4.1×10^{15} g,约占全球生物量的0.6%。不过McMahon和Parnell^[36]在2014年推测陆地深地微生物细胞数量应该在 $0.5 \times 10^{30} \sim 5 \times 10^{30}$,总碳量为 $0.14 \times 10^{17} \sim 1.35 \times 10^{17}$ g,占全球生物量的2%~19%,这与Whitman等人^[48]估计的结果基本符合。

最近,Magnabosco等人^[49]收集了3800个深地生物量的数据,其中三分之一的数据来自于地下水,三分之二来自于岩石。通过对生物量与深度、温度关系的拟合并且假定生物圈的下限是122℃,最终得出大陆深地的总生物量为 $2 \times 10^{29} \sim 6 \times 10^{29}$ 个细胞,如果采

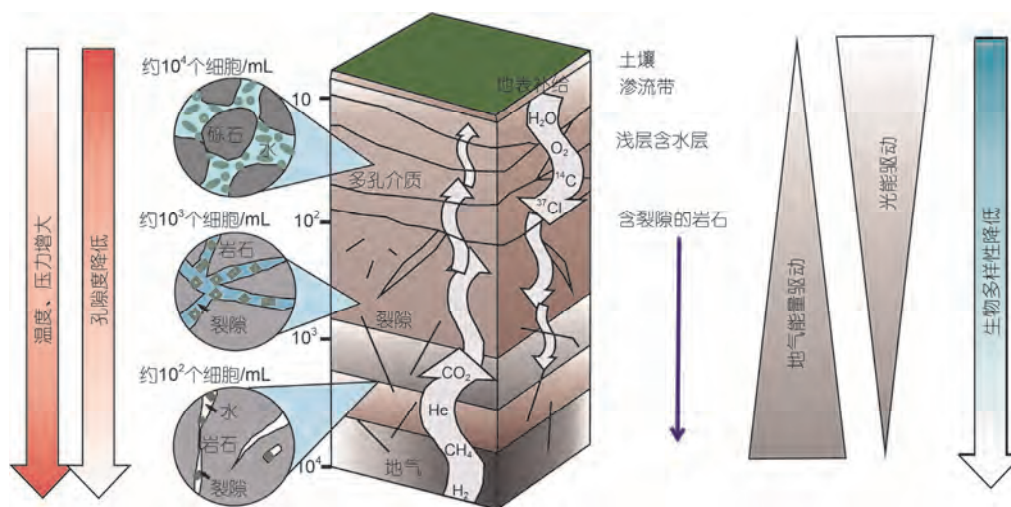


图 2 (网络版彩色)环境条件与深地微生物随深度变化的示意图。随着深度的加大, 温度与压力升高, 岩石孔隙度降低, 地表带入的有机质减少, 生活在岩石孔隙水的生物量、活性、功能多样性也随之降低, 但是由地质过程产生的气体(甲烷、氢气、二氧化碳、氦气等)升高, 可以孕育一些深地特有的微生物^[47]

Figure 2 (Color online) A schematic overview of microbial distribution along depth in relation to geochemical gradients. With increased depth, microbial biomass in porewater decreases, likely due to increased temperature, pressure, and decreased porosity and nutrients. Surface and shallow subsurface processes are driven by photosynthesis, and surface-derived H_2O , O_2 , ^{14}C , and ^{37}Cl diffuse downward. Deep subsurface processes are driven by “geogas” (H_2 , CH_4 , CO_2 , and He)^[47]

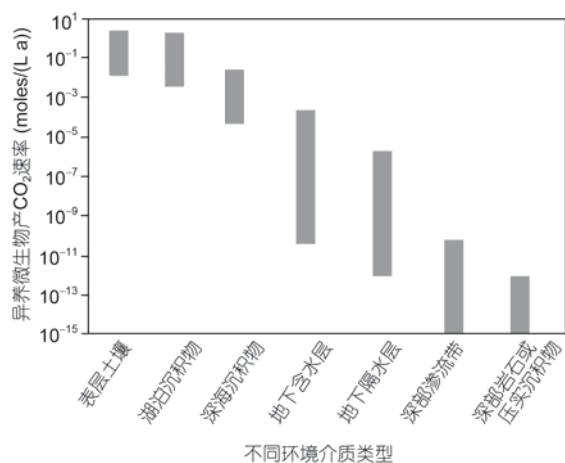


图 3 异养微生物在不同环境介质中的产 CO_2 的速率(每年每升孔隙水产 CO_2 的摩尔数), 异养微生物产 CO_2 速率可以用来指示其活性^[47]

Figure 3 *In-situ* CO_2 respiration rates (in unit of moles per liter of water per year) from various environments. These rates are only meaningful for heterotrophic microorganisms. Subsurface rates were based on groundwater geochemical analyses and modeling^[47]

用同样的拟合公式, 对洋壳深度 0.5~6.5 km 进行积分, 得出海洋深地生物量为 5×10^{29} 个细胞, 因此全球的深地生物量总和大概为 $7 \times 10^{29} \sim 11 \times 10^{29}$ 个细胞^[49]. 这个估计值不包括土壤和海水中的生物量。

陆地沉积物与岩石当中的生物量随着深度增加而降低^[49], 与海洋沉积物的生物量递减趋势基本一

致^[34], 但是与岩石类型或者孔隙水的含量没有关系. 岩石或者沉积物中的生物量与总有机碳的负相关只体现在表层 1~2 m 处, 随着温度和盐度的升高, 生物量快速降低(图 4), 表明温度、盐度是深地微生物的主要限制因素, 与前人结果相符^[38,50]. 在 300 m 以上, 每立方厘米地下水中的生物量要低于每克岩石中的生物量, 但是在 300 m 以下, 两者的生物量相当. 与岩石中的生物量不同, 地下水当中的生物量只与深度、温度相关, 与 pH、盐度或者可溶性有机碳的含量无关. 在 Magnabosco 等人^[49]统计的 3800 个数据点之中, 只有 57 个点有细菌和古菌丰度的数据. 从这些数据总体来看, 深地环境以细菌为主(>50%).

1.2.2 深地微生物的多样性与地质条件之间的关系

总体来讲, 随着深度的增加, 微生物的多样性降低^[51,52], 这主要是因为随着深度的增加, 环境条件变得非常恶劣(碱性或者酸性 pH、高温、高压、低孔隙度、寡营养等), 生物可利用的底物减少, 岩石连通性差使得外部的微生物难以进入. 在南非 2.8 km 的金矿环境, 微生物的多样性非常低, 一个生态系统由一种菌组成^[53,54]. 同样的, 在美国的爱达荷州的 Lidy 热泉, 95% 以上的群落由自养型的产甲烷菌组成^[55].

古菌在深地环境普遍出现, 以产甲烷菌-甲烷微菌纲(Methanomicrobia)和奇古菌门(Thaumarchaeota)

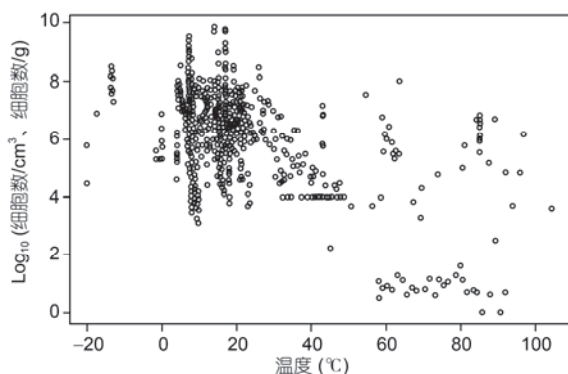


图4 每克岩石或者每立方厘米地下水中的生物量与温度的关系^[49], 生物量用对数表示

Figure 4 A negative correlation between microbial biomass and temperature. Biomass is in the unit of cells/cm³ (pore water) or cells/g (rock)^[49]

较常见,但是近几年也有其他古菌的报道.在深海环境的甲烷厌氧氧化古菌(anaerobic methane-oxidizing archaea, ANME)与硫酸盐还原细菌共生现象比较普遍,但是陆地环境也发现有ANME分布.深地细菌以变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)为主.在较浅的低温、微氧环境,细菌往往以变形菌门为主,但是在高温、厌氧的古老沉积物活岩石当中,厚壁菌门会成为主要类群^[53,56,57].变形菌门的 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、 β -变形菌纲(Betaproteobacteria)和 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)在深地环境都比较常见,厚壁菌门以产孢子的硫酸盐还原菌为主,这可能与地下的极端环境有关.有研究认为厚壁菌门虽然产孢子,但是在地下环境还是以正常的营养细胞为主^[53,58],但是也有研究者通过对比DNA与RNA以后发现,厚壁菌门的DNA远比RNA含量高,显示厚壁菌门细胞可能以孢子形式存在^[47].

深地环境的真核生物往往比较少,目前发现的真核生物有原生动、真菌、线虫等^[59].尽管在深地环境宿主稀少,但是病毒还是比较常见.瑞典的深地实验室岩石裂隙水当中检测到每毫升水有 $10^5 \sim 10^7$ 类似病毒的颗粒,这要比原核生物高1个数量级^[60],Eyda等人^[61]分离得到了其中的一些病毒.另外,深地微生物的基因组当中也有检测到病毒的序列,表明深地环境确实有病毒的存在,并且有可能调控深地微生物的数量与水平基因转移^[62].

1.2.3 深地微生物的能量来源

在沉积岩为主的深地环境,碳源与能量来源主要有2种,由地表带入的光合作用产生的有机碳和地

球深部由无机反应产生的有机碳.在其他岩石或者地下流体环境,有机质非常稀少,深地微生物的主要能量来自于地质成因的氢气与甲烷^[25].氢气作为一个能被微生物利用的主要还原剂,为微生物生长和代谢提供能量和电子.地下水-岩相互作用产生氢气的过程主要有3种^[31]:(1)花岗岩辐射分解裂隙中的水^[63-66];(2)玄武岩和橄榄岩中含铁矿物催化的水还原^[67];(3)硅酸盐矿物“物理机械-化学自由基”机制介导的水裂解^[68].这些地质过程可产生足够的氢气,为地下微生物的生长和代谢提供能量和电子.

早在1992年,Gold^[69]就提出了“深地氢气能为微生物生长提供能量来源”的假说,但是直接验证这一假说的是美国能源部西北太平洋国家实验室的Stevens和McKinley^[70],他们首次在美国华盛顿州玄武岩地下水中发现能够利用氢气作为能量来源的自养微生物群落.他们发现这些玄武岩地下水含有 $60 \mu\text{mol/L}$ 的氢气,稳定性同位素数据证实微生物群落以自养微生物为主,室内实验证明,玄武岩和水在厌氧条件下反应可产生氢气. Stevens和McKinley^[70]将这一观察到的微生物系统称为“地下化能无机自养微生物生态系统”.与上述广泛存在的地质产生氢气过程相呼应的是微生物所表现出来的氢气代谢能力.地质成因的氢气与普遍存在的无机碳(CO_2 , CO)为自养型产甲烷菌、产乙酸菌、硫酸盐还原菌、铁还原菌、硝酸盐还原菌和甲烷厌氧氧化菌提供能量和碳源,构成深地生物圈的生态系统^[24,47,71].

除了氢气以外,甲烷气体也是一种重要的能量来源,在深地环境,甲烷厌氧氧化古菌往往与其他细菌形成共生,可能也代表深地微生物一种重要能量代谢模式^[72].如甲烷厌氧氧化(AOM)过程就是由两种深地微生物MOA(甲烷厌氧氧化古菌)和SRB(硫酸盐还原菌)共同完成的,在无氧的条件下通过共营养代谢的方式将海底75%的甲烷转化为大量碳酸盐沉积.这一发现回答了人们对海底大量甲烷去向不明的疑问,也解释了大量自生碳酸盐岩的成因^[73].最近有人发现,甲烷的厌氧氧化还可以和铁的还原过程相耦合^[74].

近来有人根据南非深部地下金矿坑的深地生物圈研究,提出了另一种观点,认为深地生物圈的主要代谢过程是硫驱动的反硝化作用.硫驱动的自养反硝化菌作为主体代谢过程(占1/3)驱动了N, S, C循环,而氢驱动的自养过程只占1%^[72].这种代谢过程与以

前的报道一致^[8,75]. 最近也有人发现^[76,77], 在CO₂较高的地区(譬如碳酸盐地区), 铁的氧化细菌丰度很高, 这一类自养微生物有可能通过铁的氧化来进行CO₂的固定.

可能氢驱动过程、S-N耦合过程、共营养代谢过程等互相交织, 构成了地下生物圈的主要代谢过程. 亦可能在不同地下环境中, 不同的过程占主导地位. 最近的研究显示^[78], 深地微生物的种类与功能和地下能量的多少直接有关, 在浅部的地下环境, 细菌(特别是*Sulfurimonas*)占主导, 这些细菌可能从硫与氢气的氧化和反硝化耦合过程中获取能量, 但是在中部环境, 以铁氧化细菌(*Gallionellaceae*)为主, 在更深的地下水, 微生物群落以全新的古菌为主, 其能量代谢尚不清楚. 由上可见, 深地生物圈代谢过程的能量问题是一个重要的科学前沿, 其具体的机制与地质环境之间的关系还有待于进一步研究.

1.2.4 深地微生物的极端环境适应性

深地微生物采用一系列代谢过程来适应地下的极端环境. 由于地下环境往往是高温, 因此嗜热微生物是最常见的一种深地微生物^[79]. 地下岩石孔隙水长期与岩石接触溶解了许多的离子, 造成盐度升高, 微生物经过长期的适应与进化, 也能演变成嗜盐的微生物^[80], 甚至在蒸发岩当中还能发现微生物^[81]. 单细胞杜氏藻(*Dunaliella*)是高盐环境常见的初级生产者, 为了能应对高盐环境, 细胞内部能合成大量的甘油. 有人猜测, 这些甘油一旦释放, 可支持大量异养细菌和古菌的生存^[82]. 另外, 地下高盐环境也能降低DNA的分解速率, 因而降低能量的需求, 因此地下高盐环境有利于深地微生物的生存. 另外, 深地环境的微生物细胞往往呈球形、体积小, 推测可能是微生物适应极端环境的结果. 由岩石矿物溶解造成盐度升高的同时, 碱度也有可能升高, 因此嗜碱的微生物在深地环境也比较常见^[27,83].

微生物对地下极端环境的适应还体现在细胞膜上, 因为建立跨膜离子的浓度梯度需要消耗能量, 因此, 一旦离子的浓度梯度建立起来以后, 微生物会极力调整细胞膜的成分用来降低离子的丢失或者降低离子的跨膜扩散速度. 相对H⁺离子而言, Na⁺离子的跨膜扩散速度会比较低, 因此细胞在产生跨膜电位的时候, 会优先采用Na⁺离子, 而不用常见的H⁺离子^[84]. 因为古菌的细胞膜具有较低的渗透性, 在防止离子丢失方面具有明显的优势, 因此在低能的极

端环境古菌比较常见^[84,85].

另外, 微生物对深地极端环境的适应还体现在代谢调控机制方面. 因为复杂的代谢调控途径会消耗较高的能量, 因此深地微生物为了生存, 需要尽量降低能耗, 因而会采用简单的代谢调控策略, 但是简单的调控策略与缓慢的生长速率也会降低基因突变速率, 从而降低进化速率^[85].

病毒在深地微生物环境适应性方面可能也会起到一定作用, 因为深地环境宿主稀少, 裂解性噬菌体会比较少, 但是溶原性的病毒可能会常见, 并且会对宿主的代谢基因起到抑制作用, 因而有利于宿主在低能环境下生存. 在这种条件下, 病毒与宿主是一种互利关系^[62].

1.2.5 特有的深地微生物

深地微生物研究的一个关键问题是: 极端的深地环境是否孕育了特有的微生物? 从目前的研究结果来看, 只有一个硫酸盐还原菌(*Ca. D. audaxviator*)可能是深地环境特有的, 这个菌在南非地下金矿发现^[12,53], 占整个生态系统群落的99%以上, 其基因组显示其具有嗜热、运动性、产孢子、硫酸盐还原、碳氮固定等特征, 因此这一个菌本身是一个完整的生态系统, 不需要依靠外界的帮助. 但是其他研究发现这个生态系统可能还有其他细菌和病毒存在^[54,86]. 除了南非以外, 这一个属的其他种在美国内华达州的Death Valley^[87]和欧洲的芬兰等地也均有发现^[88,89], 尽管同一个种在3个大陆都有发现, 但是其生理生态是否相同还不得而知, 因为到目前为止还没有人把这个菌培养成功. 除了*Ca. D. audaxviator*以外, 南非铂矿还发现杆状、横断面呈现五角星或者六角星形状的原核生物. 其他的细菌或者古菌, 譬如深古菌门(*Bathyarchaeota*), 曙古菌门(*Aigarchaeota*), *Hadesarchaea*等, 这些微生物往往在地下或者地表环境都能出现^[31], 因此无法判断是否来自于深地环境, 地表与深地来源的菌在生理生态上是否有区别还不得而知. 推测深地极端环境选择的可能是特有的功能, 而不是特有的物种.

2 深地微生物研究的科学目标与关键问题

地球上的生物圈包括地球深部大量未知的生命形式, 对深部生物圈的深入研究将提高我们对地球生命过程的认知, 同时有助于我们理解深地生命对地表生物地球化学循环和气候变化的影响.

2.1 科学目标

深部生物圈的总体研究目标包括: (1) 探索深地生物圈的生物量、多样性、代谢特性、进化历史和环境适应特征; (2) 阐明地球深部和表层生物圈之间的关系; (3) 研究生物可利用的碳库与通量; (4) 对比不同深度的生物和非生物过程; (5) 带动教育、公共服务并训练新一代的青年科学家。具体目标包括: (1) 探索深地生物圈的多样性及其分子组成, 其内容包括大陆和海洋深部的生境对比, 深地生命圈的生物地理分布特征, 深部生物圈的进化过程和速率, 地球演化历史和深部生物圈进化之间的关系, 地球以外的星球存在生命的可能性; (2) 确定深地生物圈的边界条件(温度、压力、营养、空间隔离、能量来源等), 其内容包括深地极端条件下生命的生存方式, 深地微生物迁移和群落演替的速率, 深地生物圈特殊的生理学和生物化学过程, 包括新的碳氮合成途径、能量代谢和细胞结构; (3) 深入了解深地生物圈和岩石圈的关系, 其内容包括微生物在矿物岩石风化中的作用, 深地生物圈的能量来源, 包括岩石矿物、放射性、机械应变能等等, 与深地微生物活动相关的碳水化合物合成途径和转化规律; (4) 探讨深部生物圈与气候变化的关系, 其内容包括探讨深部生物圈与全球碳循环的关系, 整合化能合成的有机化合物与全球碳循环模型; (5) 区别碳循环的生物和非生物过程, 其内容包括不同地质历史时期的生物和非生物碳循环和地下生命起源的条件; (6) 培养未来青年科学家从事深部生物圈的研究; (7) 向公众和各类学生传播地球深部生物圈科学的意义。

2.2 关键科学问题

2.2.1 基本的生物学问题——深地微生物的起源、生存与代谢

为了解深地微生物在地下黑暗世界的起源、生存、繁殖和进化, 我们将会面对一系列基本的生物学问题。譬如: 深地微生物来自何处? 是否起源地下? 如果来自地表的话, 它们如何到达地下深处? 这些微生物如何适应深地极端环境? 适应的速率有多快? 深地极端环境是否造就了特有的微生物? 现有的微生物细胞结构模型在地下深部是否依然有效? 深地微生物生长的速率有多快? 如何检测其生长速率? 由于深地微生物的代谢极其缓慢(深部岩石中微生物的 CO_2 的年产率为 $10^{-12} \text{ mol}/(\text{L a})$, 低于土壤、湖泊沉

积物10个数量级(图3), 检测单个细胞代谢速率^[90]可能比较困难, 微生物群落甚至更大空间尺度的代谢速率是否更有意义? 在地下几米至几十米空间尺度可用地球物理的方法来检测生物的生长与代谢^[91], 当然还得结合数学模型来推测微生物活动对地质过程的作用。如果在人类时间尺度无法直接测定代谢速率的话, 是否可以通过自然过程积累的生物标志化合物来反推深地微生物的代谢速率? 有些保存在岩石流体包裹体的生物已经生活了万年至亿年的时间^[92], 是否可以通过这些活化石来推测深地微生物的代谢速率?

自然生境常见的生物膜在地下生命活动中扮演什么样的角色? 地下深部环境介质(岩石矿物构成)和微生物种群存在高度异质性, 因此研究的时候应注意研究对象的空间尺度和微生物的赋存状态(浮游的或是附着在矿物表面), 在缺少连通的地下世界(由岩石造成的孤立生态系统), 微生物个体之间独立意识是否更强^[53]? 地表微生物群体行为的调控机制是否还适用于深地环境? 个体之间是否存在新的能量传递方式(例如电子在细胞间穿梭或者矿物在细胞之间起到电子传递作用)^[93-95]? 微生物个体之间的共营养是否是深地生物应对极端环境的一种生存方式^[72]? 由细胞正常凋亡和病毒侵染介导的细胞衰亡和基因漂移在深地微生物群体进化中的重要性如何^[62,96]?

要回答这些问题, 我们需要整合分子微生物学、基因组学、蛋白组学等手段并结合分离和培养实验得到的微生物生理学和生物化学知识。地球化学和地球物理参数等环境条件的野外观测将为地下微生物的生态学解释提供基础背景材料。我们的研究必须在一定时间与空间尺度来评价微生物在极端环境条件下所进行的长周期新陈代谢活动。最终是否成功关键取决于采集新鲜的原始样品、最新技术的运用、并且在地下原位进行分子和微生物学实时动态观测与检测。

2.2.2 深地生物圈的生存边界

深地微生物的生存边界目前还没有统一的结论, 但是绝大多数科学家一致认为, 温度可能是决定微生物底界的一个最重要因素。虽然已培养微生物的最高生长温度在常压下为 121°C ^[97], 在有一定压力条件下为 122°C ^[98], 但是油藏环境往往是 85°C 以上就没有微生物了。在 90°C 以下, 醋酸的合成往往是由微生物完成, 但是在高于 90°C , 醋酸往往由热裂解产生,

因此深地微生物的最高承受温度可能是由生物维持代谢所需要的能量与化学反应能提供的能量相对大小所决定的^[38]。随着温度的升高,氨基酸消旋作用(racemization)的速率越快,微生物需要不断地合成新的蛋白才能维持生命,所需要的能量也就越高,因此需要那些高能的化学反应才能维持这样的生态系统。也就是说,在寡营养的环境,化学反应所产生的能量比较低,因此只有低温微生物才能生存,但是在富营养环境(譬如流体运移比较快的地下通道),孕育高温微生物的概率就会比较高。目前嗜热细菌和古菌(90℃)都来自高能量的热泉环境,这些环境富含H₂, H₂S及氧气^[47],这些物质通过化学反应能够产生足够的能量来为嗜热微生物提供足够的能量。从上面分析可以看出,深地微生物生存的最高温度可能不是恒定的,而是随着其他条件的变化而变化,譬如压力、盐度、放射性、含水量会影响化学反应的速度与产生的自由能,因此也会影响深地微生物的最高生长温度。譬如,目前已知的最高生长温度的嗜热产甲烷菌*Methanopyrus kandleri*在0.4 MPa(4个大气压)下生长温度为116℃,但是在20 MPa下生长温度可以达到122℃^[98]。

与温度比起来,深地微生物的压力承受范围要更大一些。在深海环境,由于几千米的水体,深海沉积物与海洋地壳的微生物承受的压力很高,譬如在最深的海沟,静水压力可以达到100 MPa,但是在大陆深部,压力相对较低,比如在3 km深的南非金矿,压力只有30 MPa左右。压力对微生物的影响主要集中在深海环境^[99-104];高压对陆地微生物影响的研究目前基本上是空白^[47]。

2.2.3 深地微生物的生物地理分布

综上所述,许多深地环境虽然相隔几千公里,但是深地微生物有许多共性,譬如细菌大多以变形菌门(Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes)为主,这种共性在海洋环境或者地表环境可以理解,因为微生物可以随着海水或者空气扩散,但是在深地环境由于岩石的不连通性,微生物扩散应该还是比较困难的,也许地下类似的极端环境造就了类似的微生物,也许不同深地环境的微生物开始都来自于同一个地表环境,但是它们进化速度极慢,因此也保留了原先的物种?或者地下极端环境病毒非常活跃,从而使得深地微生物有足够的机会发生水平基因转移?但是如果我们要研究深地微生物的地理分布,仅仅限于

物种水平上的比较是远远不够的,深地微生物很有可能在物种上类似,但是在功能上差别巨大,因此需要从功能上对深地微生物进行精细的对比研究。

2.2.4 深地环境的生物地球化学问题

地表生物地球化学循环的驱动力来自于太阳能,然而,在漆黑的地下深部并没有太阳能,必然有其他类型的能量代谢与生物活动来驱动这些元素循环,譬如由放射性元素(K, U, Th)产生的辐射将水分解而产生的H₂, O₂和H₂O₂,以及这些氧化剂对含S, Fe, Mg甚至含As矿物的氧化反应等等。深地微生物可以通过其复杂的生物途径从这些反应中获取能量。同时调节元素的氧化还原循环。

深地微生物活动能连接地球深层和浅层的碳和其他元素循环。深地环境的碳可能源于地表光合作用产生的有机质、含有机物的陨石或者宇宙外来物质,也有可能源于地壳和地幔。在海洋环境中,地球表层来源的有机物经过沉积埋藏,其分子和同位素组成会经历较大的变化,只有0.1%~0.5%有机物被埋藏到地下。期间有机物的转化过程大多数由微生物参与。最后埋藏的有机物比较难以降解,很难被深地微生物群落所利用。最新研究揭示,某些深海微生物可以利用很难降解的木质素^[105],但是其利用的效率与程度需要进一步研究。随着埋藏时间的加长,经过多次热转化之后,有些可以分解成生物可利用物质。除了从地球表层系统进入地下生物圈的碳之外,碳也可以从地壳与地幔进入地下生物圈。从深部来源的碳具有不同的成分与同位素组成,根据氧化还原条件的不同,可能以CO₂和CH₄形式进入深地生物圈。由无机化学反应合成的长链有机物也可能给地下生物圈提供有机碳。这些深部来源碳的成分和通量可能会影响微生物的生理多样性和群落结构。

研究深地生物圈的一个主要目标就是要研究微生物的种类与群落结构、生理生态特征、功能多样性对不同碳组分与通量的响应。有关地下异养生物如何利用非生物合成的有机碳进行新陈代谢是当前深地微生物学的一个重要研究方向,这一点在沉积盆地尤其重要,因为在富含有机质的沉积盆地(例如中国黑龙江的松辽盆地),地下深处许多有机碳是非生物成因的,这些有机物可能会造就一批与地表微生物完全不同的微生物群落与代谢途径。除碳之外,地下的生物圈同时还需要其他元素(如 H, N, P, S, O)和过渡金属元素。因此,将来深地微生物的研究工作主

要集中于: (1) 可支撑深地生命的元素种类和化学组成; (2) 这些元素的生物可利用性; (3) 调控这些元素丰度的生物地球化学过程。

2.2.5 深地生物圈的能量来源

深地微生物可以利用氧化还原反应所释放的能量进行新陈代谢活动。一系列地质过程包括淬火、流体活动、构造活动等会产生另外一些化学反应而为微生物提供各种能量(如氢气、甲烷等)。水热过程是将化学物质从一个平衡体系过渡到非化学平衡体系的有效途径, 能形成矿藏, 也为地下生态系统提供能量与物质来源。海洋与陆地深部有机物会经历一系列的转化反应, 释放生物可利用的有机物, 为深部生物圈提供碳源和能量。在热液系统里的水岩相互作用(譬如蛇纹石化)可合成有机物(譬如甲烷)并迁移至地下生境, 为地下生态系统提供能量与碳源。另外, 地下深部的岩石经历放射性衰变而产生氧化态或者还原态的物质, 进一步进行氧化还原反应, 释放能量, 也为地下生态系统提供能量来源。

为了进一步理解这些机制的重要性, 深地微生物研究必须分析地球深部化学背景并了解微生物新陈代谢的途径, 确定微生物生长及个体间相互作用所需要的最小能量。通过这些相互作用来确定水圈、岩石圈及大气圈之间相互依存关系。为了了解地球深部微生物群落与碳等相关元素之间的关系, 目前我们面临很多尚未解决的问题。其中一个突出的问题是地下微生物群落规模与其赖以生存的碳与能量之间的不匹配性。也就是说, 在深地环境虽然能源极其匮乏, 但是仍然有微生物活动。此外, 很有必要开发新的实验方法来精确测定化学元素的生物利用规律及对有毒元素的去除机制。通过比较化学物质与生物体内的同位素组成, 可以用来鉴定生物元素来龙去脉(也就是常说的同位素示踪)。

2.2.6 深地生物圈的营养循环

生物活动需要30种左右的元素。生物体对碳、氮、磷的需求以及生物与环境之间的作用构成了我们熟知的营养循环。然而, 对这些元素循环在地球深部的作用却很少报道, 以致我们至今仍不清楚哪一些元素限制了深部微生物的生存。在很多深部环境, 除氮气以外, 溶解态的磷和氮含量都低于检测限。而在另一些深部环境, 氮元素至少以3种形式保持在较高的浓度。这些工作说明在某些深部环境中, 除了常规元素外, 可能存在其他微量因素限制着生命过程。代

谢产物的积累有可能对养分循环产生抑制作用。微生物是否从各种岩石矿物风化过程中获取种类繁多的微量元素(包括合成生物酶所需要的过渡金属元素), 这些元素的循环途径又是怎样, 目前根本不清楚。有些元素的循环可能完全在地下深部进行, 而另一些元素可能与地表有交换, 对这些元素循环的深入研究将有助于我们理解地表与深部环境元素之间的耦合关系。

3 深地生物圈的研究方法

深地微生物的特殊生活方式(譬如依赖于岩石生活的微生物群落及其独特的微生物-矿物相互作用)需要我们用新的思维与技术来培养微生物以及提取微量以至于痕量的DNA来鉴定物种与功能。同位素示踪与成像技术, 包括纳米二次离子质谱仪(nano-SIMS)^[106]和荧光原位杂交技术(BONCAT-FISH)^[107,108]为我们研究微生物的功能与代谢提供了最新的技术支撑。高精度质谱仪, 包括测定微生物脂类单体同位素的质谱仪也将成为定量研究深部生物量的一项重要技术。所有这些实验数据最后需要通过模型整合, 预测极端环境的生物地球化学过程^[109,110]。最近发展起来的一类模型是将微生物群落按照功能进行分类, 考虑某一类特定功能微生物的基因丰度与表达程度, 并且将这些微生物参数整合到数学模型, 从而描述由微生物介导的地球化学过程^[111]。

3.1 地下岩石裂隙、空隙的三维分布

要观察微生物在地下环境的运移与岩石介质发生的一系列生物地球化学反应, 首先需要对地下流体通道的三维空间分布有一个清晰的认识。流体通道的三维空间分布可以通过在井下安装一个压电源来实现, 这种源可以产生高频(1000~10000 Hz)、高空间分辨率的地震波(P波), 也可以安装轨道震波器产生低频、高振幅的地震P与S波。这些地震波的传播速率与幅度经过信息处理以后可以提供深地环境的通道分布以及井与井之间的联通情况^[112]。这种压电波谱上具有1~2 m空间分辨率, 对液体、固体界面特别灵敏, 纵向的分辨率往往要比横向的分辨率高^[113]。

3.2 深地微生物采样方法的建立

尽管地下深部微生物总量巨大, 但是单位体积或单位重量的生物量还是比地表的生物量低得多,

因此研究深地生物圈的关键是要避免地表生物的污染. 同时为了保证测定原位微生物的活性, 必须尽量保持深地环境的原位条件(如温度、压力、寡营养、氧化还原条件等). 这就要求采用特殊的取样方法, 采用无菌、封闭、低压的泥浆循环系统进行岩心采样, 无菌的泥浆可以通过添加化学性质惰性、但是具有杀菌效果的化学试剂来实现. 封闭的泥浆循环体系可以保持深地样品的原始氧化还原状态, 使用无氧的泥浆可以避免因氧气带入井孔而改变地下流体的成分与性质. 泥浆的压力低于地层的压力可以保证泥浆不会入侵岩石与流体样品. 同时在循环泥浆中加入荧光小球或Br离子用来示踪样品的污染状况^[46], 如果在所采样品中发现这些示踪剂, 证明所采样品已经受到泥浆污染. 目前也有人提出在原位直接将岩心、地层水或者沉积物冰冻以后再运往地表, 这样有可能大大降低污染的可能性^[114]. 在野外建立一个小型分子微生物实验室(DNA扩增仪、测序仪等), 实时检测泥浆中的微生物丰度或种类, 如果突然检测到微生物的丰度、多样性或群落组成有变化, 那么可能有地下流体混入到泥浆或地表生物带入泥浆. 微生物的丰度也可以用流式细胞检测仪进行细胞计数.

3.3 深地环境地质、地球化学特征

通过现场与室内分析测定岩石的孔隙度、渗透率、电导率、化学成分、矿物成分、元素价态、有机

质含量与成分等, 鉴定生物可利用的电子供体与受体. 测定各个井位的流体成分, 包括与生物活动有关的元素(碳、氮、硫、金属元素等)以及稳定同位素成分特征, 对有机物检测其组分与各组分碳氮同位素特征. 通过气象色谱-质谱测定气体的成分与同位素组成, 重点关注碳(甲烷、二氧化碳、碳氢化合物、烃类等)、氢、氮等同位素成分.

通过这一系列的测试分析, 可以列出不同深地环境有可能发生的各种地球化学反应, 运用热力学方法计算反应自由能, 初步判断由生物参与的各种生物地球化学反应. 通过对深地流体成分的测定, 可以在三维空间计算各种组分的通量, 这些通量可以与生物量、多样性、功能基因进行相关分析, 从而估算深地微生物对各种化学反应的调控作用.

3.4 深地生物圈丰度与种群、基因、功能多样性研究

微生物丰度用细胞计数法或荧光定量PCR的方法进行定量. 最新发展起来的荧光成像方法(图5)可以对地下岩石当中的微生物直接观察, 不需要采用任何标记^[115,116]. 其基本原理是用深紫外线照射原位微生物, 由细胞体内的物质发出荧光从而被激光检测到. 这种方法可以直接用在不透明的岩石表面, 扫描微米到几十厘米的空间范围, 检测单细胞或者群落, 因为扫描时间只有几百微秒, 因此不会对样品造成损伤.

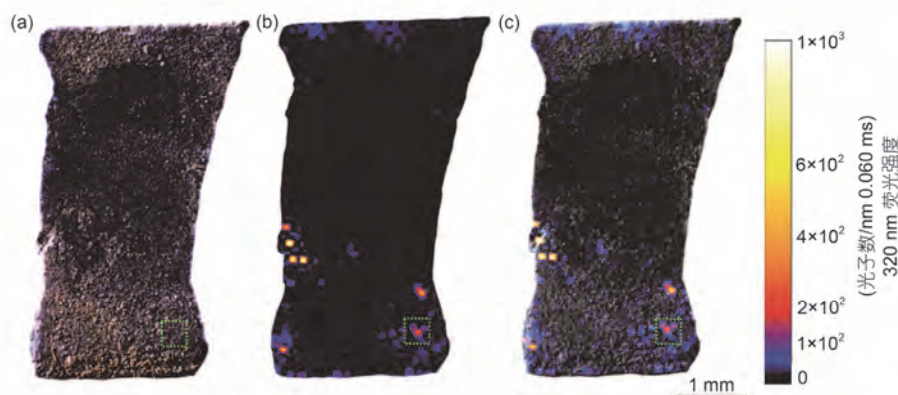


图5 采用深紫外方法在玄武岩表面检测细胞的分布. (a) 在Lo'ihi 海山(980 m水深)培养的玄武岩表面, 浅色的是原位培养以后形成的铁氧化物; (b) 采用深紫外方法探测到的微生物细胞; (c) 为(a)和(b)图像的叠加, 显示微生物附着在铁氧化物矿物的表面. 亮度比例尺是每 0.06 ms、每纳米用 320 nm 荧光所检测到的光子数^[116]

Figure 5 *In-situ* imaging of microbial cells on the surface of incubated basalt surface. (a) A visual image of incubated basalt surface showing basalt minerals and Fe oxides (light color). Fe oxides formed as a result of *in-situ* incubation at 980 m below seafloor. (b) Raster-scanned deep UV fluorescence image showing microbial distribution on basalt surface; (c) an overlay of (a) and (b) showing microbial distribution around Fe oxides^[116]

微生物多样性是研究地下生物圈的第一步,可以揭示生物与地质环境的协同演化.生物多样性用分子微生物学方法,直接从地质样品提取DNA片段,用PCR扩增,再进行16S rRNA基因分析多样性,目前高通量测序方法成本低、效率高,是研究大量样品的理想方法.研究深地环境活微生物的多样性,可以直接从样品中提取RNA,再反转录成cDNA,再进行进化分析.

微生物多样性还可以通过脂类(PLFA和GDGT)分析来协助获得.细菌和古菌是深地微生物的重要组成部分,而这两类菌的细胞膜具有特征脂类化合物:细菌往往具有由不分枝脂肪酸与L-型磷酸甘油以酯键相连接而成的磷酸磷脂脂肪酸(即PLFA);而古菌往往具有由分枝碳氢链与D-型磷酸甘油,以醚键相连接而成的四醚键类脂(即GDGT).不同功能和种属的微生物往往具有不同的特征脂类图谱,所以研究样品中的脂类图谱可以快速判别样品之间的微生物种群差异.而16S rRNA基因是细菌和古菌共有的管家基因,可以高分辨率识别样品中的微生物种群组成.

微生物的基因多样性可以通过单细胞组学、宏基因组学、宏转录组学、功能基因芯片等最新技术、方法来研究.利用单细胞基因组学可以快速地复杂环境中获取单个细胞的基因组,研究其代谢潜能,这项技术对挖掘地下功能微生物并研究其生态功能具有得天独厚的优势.该项技术的难点在于单细胞分离及微量基因组扩增的难度.环境微生物宏基因组学与转录组学分析可以从深地样品中直接获得基因组中所包含的微生物遗传组成及其群落功能等信息,识别未知功能基因,以便充分认识和开发利用地下微生物资源.

功能基因芯片GeoChip 5.0涵盖了各种功能微生物的16.7万个基因探针,这些功能微生物与环境中的碳、氮、硫、磷、金属等元素的生物地球化学循环过程有关.因此,GeoChip技术能够快速检测各类环境中微生物介导的地球化学过程及功能基因的表达程度,可以将微生物功能基因、生态功能(例如固碳和氨氧化速率等)及地球化学过程有机结合起来.在检测环境样品中的已知功能基因多样性方面,GeoChip技术已经显示了非凡的实力^[117].

3.5 深地微生物的功能研究

地下深部微生物活性与功能的测试主要集中在有机质降解、CO₂产生、CO₂的化学(暗)固定、氮气

的固定、甲烷的产生与厌氧氧化、硝化与反硝化、氢气的氧化、金属氧化与还原等等过程,主要采用化学与同位素标定的方法(stable isotope probing, SIP)将微生物功能与种属联系起来,原位活跃微生物的新陈代谢会吸收重同位素(¹³C, ¹⁵N等)标定的底物,合成较重的DNA、RNA、蛋白与脂类物质^[118],因此通过微生物的种属鉴定,再结合同位素的示踪,可以推测微生物的代谢速率,判断各种微生物在这些过程中所起到的作用.目前常用的同位素示踪技术包括SIP-DNA, SIP-RNA和SIP-lipid,这些技术通过标定碳源或者氮源来确定在一个复杂的群落结构中,某些特定功能微生物的代谢活性与途径^[119].当同位素标定技术与原位成像技术相结合,则可以在原位条件下,确定某一类微生物的特定功能及其与环境的相互作用,其中最著名的技术是纳米-二次离子质谱仪成像技术(nano-SIMS)^[106].如果把这项技术与微生物荧光杂交技术结合起来,那么可以在原位条件下,确定在一个微生物群落里面,哪一类微生物吸收了同位素标定的底物以及吸收的速度有多快,这对鉴定深地环境微生物的活性与功能至关重要.

3.6 深地微生物的分离培养

根据实时地球化学监测及微生物种群构成及功能基因多样性分析结果,设计选择性培养基,有针对性地对参与碳氮硫元素循环(如碳固定、氮固定、硝化与反硝化、纤维素降解、硫酸盐的还原与硫化物的氧化等)的功能微生物,进行原位富集、现场及室内分离培养和生态功能鉴定,并对部分微生物菌种功能酶开发及对潜在的工业应用前景进行评价.

因为地下深部流体往往含有丰富的营养成分,是微生物活动的“热点区”,因此深地原位实验主要集中在含有流体的地下孔道,基本思路是将地下流体直接用来培养,或者对地下微生物进行一定程度的扰动以观察微生物的响应.借鉴瑞典的Äspö Hard Rock Laboratory的成功经验^[120],通过实例来说明一下(图6).在现有的井孔里,可以考虑从井壁打斜井,争取穿过含有流体的裂隙,斜井与裂隙的交叉部位用橡皮塞将含有流体的裂隙隔离,这样用抽水泵可以将地下原位的流体直接抽入培养容器进行原位培养或进行分子微生物分析,也可以在一口井位加各种营养成分,再让这些营养回流到岩石裂隙,与地下岩石流体反应以后,从另外一口井抽上来,在这一过

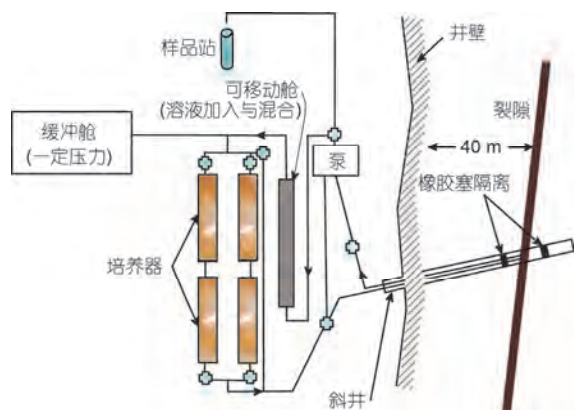


图6 (网络版彩色)地下深部原位微生物培养与操作系统示意图
Figure 6 (Color online) A schematic diagram of *in-situ* microbial incubation experiment

程中, 观察微生物对这些营养组分的改造(譬如有机组分的降解等)或者响应(譬如醋酸)^[121]. 另外, 也可以在一口井位加入示踪微生物, 在旁边井位抽上来, 这样观察微生物在地下的迁移距离.

4 结语

深地生物圈生物量巨大, 种类繁多, 代谢途径多

样, 对地球系统过程起着重要的调控作用, 同时它们也是潜在的资源, 有望在医学、环保、能源资源等许多领域发挥重要作用. 因此, 深地生物圈研究是国家深地科技战略的重要组成部分, 也是生命科学和地球科学的重要交叉学科. 深地微生物研究经过20年左右的发展, 取得了一批可喜的成果, 但是尚有许多关键问题没有解决, 特别是在生物量、多样性及年产率(活性)、主要代谢机制、生物地球化学循环过程、采样装备与原位观察模拟、样品的采集与保存、数据共享等方面还面临许多挑战, 对深地生命的起源、生存方式、繁殖和进化以及能量代谢、物质循环等根本问题还知之甚微. 因此, 我国亟需在深地生物圈领域提前做出战略规划和部署, 亟需建设一支稳定的深地生物圈研究队伍、平台和技术, 与国际一流团队进行实质性的合作, 尽快提高我国深地生物圈的研究地位. 我国近几年无论在国家投资还是人才队伍建设方面都展示了良好的前景, 希望通过这次“中国地下深部生物圈”战略研究项目的顺利实施, 来培养一批专业队伍, 积极推动国内深地微生物的研究向纵深发展.

致谢 中国地质大学(北京)生物地质与环境地质国家重点实验室-地质微生物实验室的李高远博士对参考文献、图件格式进行了统一的校对, 特此感谢. 感谢审稿人的修改意见; 感谢参加《深部地下生物圈战略报告》编写工作的同行鼓励与启发.

参考文献

- 1 Rothschild L J, Mancinelli R L. Life in extreme environments. *Nature*, 2001, 409: 1092–1101
- 2 Fredrickson J K, Mckinley J P, Bjornstad B N, et al. Pore-size constraints on the activity and survival of subsurface bacteria in a late Cretaceous shale-sandstone sequence, northwestern New Mexico. *Geomicrobiol J*, 1997, 14: 183–202
- 3 Onstott T C, Phelps T J, Colwell F S, et al. Observations pertaining to the origin and ecology of microorganisms recovered from the deep subsurface of Taylorsville Basin, Virginia. *Geomicrobiol J*, 1998, 15: 353–385
- 4 Colwell F S, Onstott T C, Delwiche M E, et al. Microorganisms from deep, high temperature sandstones: Constraints on microbial colonization. *Fems Microbiol Rev*, 1997, 20: 425–435
- 5 Liu S V, Zhou J Z, Zhang C L, et al. Thermophilic Fe(III)-reducing bacteria from the deep subsurface: The evolutionary implications. *Science*, 1997, 277: 1106–1109
- 6 Dong Y R, Sanford R A, Boyanov M I, et al. *Orenia metallireducens* sp. Nov. strain Z6, a Novel metal-reducing member of the phylum Firmicutes from the deep subsurface. *Appl Environ Microb*, 2016, 82: 6440–6453
- 7 Dong Y R, Sanford R A, Locke R A, et al. Fe-oxide grain coatings support bacterial Fe-reducing metabolisms in 1.7–2.0 km-deep subsurface quartz arenite sandstone reservoirs of the Illinois Basin (USA). *Front Microbiol*, 2014, 5: 1–16
- 8 Zhang G, Dong H, Xu Z, et al. Microbial diversity in ultra-high-pressure rocks and fluids from the Chinese Continental Scientific Drilling Project in China. *Appl Environ Microb*, 2005, 71: 3213–3227
- 9 Zhang G X, Dong H L, Jiang H C, et al. Biomineralization associated with microbial reduction of Fe^{3+} and oxidation of Fe^{2+} in solid minerals. *Am Mineral*, 2009, 94: 1049–1058

- 10 Zhang G X, Dong H L, Jiang H C, et al. Unique microbial community in drilling fluids from Chinese Continental Scientific drilling. *Geomicrobiol J*, 2006, 23: 499–514
- 11 Breuker A, Kowekker G, Blazejak A, et al. The deep biosphere in terrestrial sediments in the Chesapeake Bay area, Virginia, USA. *Front Microbiol*, 2011, 2: 1–13
- 12 Magnabosco C, Tekere M, Lau M C Y, et al. Comparisons of the composition and biogeographic distribution of the bacterial communities occupying South African thermal springs with those inhabiting deep subsurface fracture water. *Front Microbiol*, 2014, 5: 1–17
- 13 Cluff M A, Hartsock A, Macrae J D, et al. Temporal changes in microbial ecology and geochemistry in produced water from hydraulically fractured Marcellus shale gas wells. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 6508–6517
- 14 D'hondt S, Jorgensen B B, Miller D J, et al. Distributions of microbial activities in deep seafloor sediments. *Science*, 2004, 306: 2216–2221
- 15 Takai K, Mottl M J, Nielsen S H H, et al. IODP Expedition 331: Strong and expansive seafloor hydrothermal activities in the Okinawa Trough. *Sci Drill*, 2012, 13: 19–27
- 16 D'hondt S, Inagaki F, Zarikian C A, et al. IODP Expedition 329: Life and habitability beneath the seafloor of the South Pacific Gyre. *Sci Drill*, 2013, 15: 4–10
- 17 Edwards K, Bach W, Klaus A, et al. IODP Expedition 336: Initiation of long-term coupled microbiological, geochemical, and hydrological experimentation within the seafloor at North Pond, western flank of the Mid-Atlantic Ridge. *Sci Drill*, 2014, 17: 13–18
- 18 Inagaki F, Hinrichs K U, Kubo Y, et al. IODP Expedition 337: Deep coalbed biosphere off Shimokita: Microbial processes and hydrocarbon system associated with deeply buried coalbed in the ocean. *Sci Drill*, 2016, 21: 17–28
- 19 Fröh-Green G L, Orcutt B N, Green S, et al. Expedition 357 preliminary report: Atlantis Massif serpentinization and life. *Int Ocean Discov Progr*, 2016, 375: 1–44
- 20 Heuer V B, Inagaki F, Morono Y, et al. Expedition 370 preliminary report: Temperature limit of the deep biosphere off Muroto. *Int Ocean Discov Progr*, 2017, 370: 1–29
- 21 Mason O U, Nakagawa T, Rosner M, et al. First investigation of the microbiology of the deepest layer of ocean crust. *PLoS One*, 2010, 5: 1–11
- 22 Lever M A, Rouxel O, Alt J C, et al. Evidence for microbial carbon and sulfur cycling in deeply buried ridge flank basalt. *Science*, 2013, 339: 1305–1308
- 23 Biddle J F, Jungbluth S P, Lever M A, et al. Life in the oceanic crust. In: Kallmeyer J, Wagner D, eds. *Life in Extreme Environments: Microbial Life in the Deep Biosphere*. Berlin: De Gruyter, 2014. 29–62
- 24 Pedersen K. Exploration of deep intraterrestrial microbial life: Current perspectives. *Fems Microbiol Lett*, 2000, 185: 9–16
- 25 Pedersen K, Bengtsson A F, Edlund J S, et al. Sulphate-controlled diversity of subterranean microbial communities over depth in deep groundwater with opposing gradients of sulphate and methane. *Geomicrobiol J*, 2014, 31: 617–631
- 26 Defflaun M F, Fredrickson J K, Dong H, et al. Isolation and characterization of a *Geobacillus thermoleovorans* strain from an ultra-deep South African gold mine. *Syst Appl Microbiol*, 2007, 30: 152–164
- 27 Takai K, Moser D P, Onstott T C, et al. *Alkaliphilus transvaalensis* gen. nov., sp. nov., an extremely alkaliphilic bacterium isolated from a deep South African gold mine. *Int J Syst Evol Micr*, 2001, 51: 1245–1256
- 28 Kieft T L, McCuddy S M, Onstott T C, et al. Geochemically generated, energy-rich substrates and indigenous microorganisms in deep, ancient groundwater. *Geomicrobiol J*, 2005, 22: 325–335
- 29 Trimarco E, Balkwill D, Davidson M, et al. *In situ* enrichment of a diverse community of bacteria from a 4–5 km deep fault zone in South Africa. *Geomicrobiol J*, 2006, 23: 463–473
- 30 Amend J P, Teske A. Expanding frontiers in deep subsurface microbiology. In: Noffke N, ed. *Geobiology: Objectives, Concepts, Perspectives*. Amsterdam: Elsevier, 2005. 131–155
- 31 Colman D R, Poudel S, Stamps B W, et al. The deep, hot biosphere: Twenty-five years of retrospection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 6895–6903
- 32 Fredrickson J K, Balkwill D L. Geomicrobial processes and biodiversity in the deep terrestrial subsurface. *Geomicrobiol J*, 2006, 23: 345–356
- 33 Fredrickson J K, Onstott T C. Microbes deep inside the earth. *Sci Am Mag*, 1996, 275: 68–73
- 34 Kallmeyer J, Pockalny R, Adhikari R R, et al. Global distribution of microbial abundance and biomass in seafloor sediment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 16213–16216
- 35 Kieft T L, Phelps T J. *Life in the Slow Lane: Activities of Microorganisms in the Subsurface*. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 1997. 137–164
- 36 McMahon S, Parnell J. Weighing the deep continental biosphere. *Fems Microbiol Ecol*, 2014, 87: 113–120

- 37 Onstott T C, Colwell F S, Kieft T L, et al. New horizons for deep subsurface microbiology. *Microbe*, 2009, 4: 499–505
- 38 Onstott T C, Magnabosco C, Aubrey A D, et al. Does aspartic acid racemization constrain the depth limit of the subsurface biosphere? *Geobiology*, 2014, 12: 1–19
- 39 Parkes R J, Cragg B, Roussel E, et al. A review of prokaryotic populations and processes in sub-seafloor sediments, including biosphere: Geosphere interactions. *Mar Geol*, 2014, 352: 409–425
- 40 Parkes R J, Wellsbury P. Deep biospheres. In: Bull A T, ed. *Microbial Diversity and Bioprospecting*. Washington: ASM Press, 2004. 120–129
- 41 Pedersen K. Microbial life in deep granitic rock. *Fems Microbiol Rev*, 1997, 20: 399–414
- 42 Pedersen K. Microbial life in terrestrial hard rock environments. In: Kallmeyer J, Wagner D, eds. *Microbial Life of the Deep Biosphere*. Berlin: Walter De Gruyter Inc., 2014. 63–81
- 43 Larowe D, Amend J. Energetic constraints on life in marine deep sediments. In: Kallmeyer J, Wagner D, eds. *Life in Extreme Environments: Microbial Life in the Deep Biosphere*. Berlin: De Gruyter, 2014. 279–302
- 44 Onstott T C. *Deep Life: the Hunt for the Hidden Biology of Earth, Mars, and Beyond*. Princeton: Princeton University Press, 2016. 1–474
- 45 Colwell F S, D'hondt S. Nature and extent of the deep biosphere. *Rev Mineral Geochem*, 2013, 75: 547–574
- 46 Kieft T L. Sampling and subsurface. In: Mcgenity T J, Timmis K N, Nogales B, eds. *Hydrocarbon and Lipid Microbiology Protocols*, Springer Protocols Handbooks. Heidelberg: Springer-Verlag, 2014. 45–64
- 47 Kieft T L. Microbiology of the deep continental biosphere. In: Hurst C, ed. *Their World: A Diversity of Microbial Environments Advances in Environmental Microbiology*. Cham: Springer, 2016. 225–249
- 48 Whitman W B, Coleman D C, Wiebe W J. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 6578–6583
- 49 Magnabosco C, Lin L H, Dong H, et al. The biomass and biodiversity of the continental subsurface. *Nat Geosci*, 2018, doi: 10.1038/s41561-41018-40221-41566
- 50 Head I M, Gray N D, Larter S R. Life in the slow lane; biogeochemistry of biodegraded petroleum containing reservoirs and implications for energy recovery and carbon management. *Front Microbiol*, 2014, 5: 1–13
- 51 Gihring T M, Moser D P, Lin L H, et al. The distribution of microbial taxa in the subsurface water of the Kalahari Shield, South Africa. *Geomicrobiol J*, 2006, 23: 415–430
- 52 Lin X J, Kennedy D, Fredrickson J, et al. Vertical stratification of subsurface microbial community composition across geological formations at the Hanford Site. *Environ Microbiol*, 2012, 14: 414–425
- 53 Chivian D, Brodie E L, Alm E J, et al. Environmental genomics reveals a single-species ecosystem deep within earth. *Science*, 2008, 322: 275–278
- 54 Lin L H, Wang P L, Rumble D, et al. Long-term sustainability of a high-energy, low-diversity crustal biome. *Science*, 2006, 314: 479–482
- 55 Chapelle F H, O'Neill K, Bradley P M, et al. A hydrogen-based subsurface microbial community dominated by methanogens. *Nature*, 2002, 415: 312–315
- 56 Lerm S, Westphal A, Miethling-Graff R, et al. Thermal effects on microbial composition and microbiologically induced corrosion and mineral precipitation affecting operation of a geothermal plant in a deep saline aquifer. *Extremophiles*, 2013, 17: 311–327
- 57 Magnabosco C, Ryan K, Lau M C Y, et al. A metagenomic window into carbon metabolism at 3 km depth in Precambrian continental crust. *ISEM J*, 2016, 10: 730–741
- 58 Lau M C Y, Magnabosco C, Brown C T, et al. Continental subsurface waters support unique but diverse C-acquisition strategies. *Proceedings of the AGU Fall Meeting 2013*. San Francisco: AGU, 2013. B13C–0504
- 59 Borgonie G, Garcia-Moyano A, Litthauer D, et al. Nematoda from the terrestrial deep subsurface of South Africa. *Nature*, 2011, 474: 79–82
- 60 Kyle J E, Eydal H S C, Ferris F G, et al. Viruses in granitic groundwater from 69 to 450 m depth of the Aspo hard rock laboratory, Sweden. *ISEM J*, 2008, 2: 571–574
- 61 Eydal H S C, Jagevall S, Hermansson M, et al. Bacteriophage lytic to *Desulfovibrio aespoeensis* isolated from deep groundwater. *ISEM J*, 2009, 3: 1139–1147
- 62 Anderson R E, Brazelton W J, Baross J A. The deep virosphere: Assessing the viral impact on microbial community dynamics in the deep subsurface. *Rev Mineral Geochem*, 2013, 75: 649–675
- 63 Freund F, Dickinson J T, Cash M. Hydrogen in rocks: An energy source for deep microbial communities. *Astrobiology*, 2002, 2: 83–92
- 64 Blair C C, D'hondt S, Spivack A J, et al. Radiolytic hydrogen and microbial respiration in subsurface sediments. *Astrobiology*, 2007, 7: 951–970
- 65 Lollar B S, Voglesonger K, Lin L H, et al. Hydrogeologic controls on episodic H₂ release from Precambrian fractured rocks—Energy for deep subsurface life on Earth and Mars. *Astrobiology*, 2007, 7: 971–986
- 66 Lollar B S, Onstott T C, Lacrampe-Couloume G, et al. The contribution of the Precambrian continental lithosphere to global H₂ production. *Nature*, 2014, 516: 379

- 67 Sleep N H, Meibom A, Fridriksson T, et al. H₂-rich fluids from serpentinization: Geochemical and biotic implications. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 12818–12823
- 68 Telling J, Boyd E S, Bone N, et al. Rock comminution as a source of hydrogen for subglacial ecosystems. *Nat Geosci*, 2015, 8: 851–855
- 69 Gold T. The deep, hot biosphere. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 6045–6049
- 70 Stevens T O, McKinley J P. Lithoautotrophic microbial ecosystems in deep basalt aquifers. *Science*, 1996, 270: 450–455
- 71 Pedersen K. The deep biosphere. *GFF*, 2010, 132: 93–94
- 72 Lau M C Y, Kieft T L, Kuloyo O, et al. An oligotrophic deep-subsurface community dependent on syntrophy is dominated by sulfur-driven autotrophic denitrifiers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E7927–E7936
- 73 Boetius A, Ravensschlag K, Schubert C J, et al. A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane. *Nature*, 2000, 407: 623–626
- 74 Yan Z, Joshi P, Gorski C A, et al. A biochemical framework for anaerobic oxidation of methane driven by Fe(III)-dependent respiration. *Nat Commun*, 2018, 9: 1–9
- 75 Orsi W D, Edgcomb V P, Christman G D, et al. Gene expression in the deep biosphere. *Nature*, 2013, 499: 205–208
- 76 Emerson J B, Thomas B C, Alvarez W, et al. Metagenomic analysis of a high carbon dioxide subsurface microbial community populated by chemolithoautotrophs and bacteria and archaea from candidate phyla. *Environ Microbiol*, 2016, 18: 1686–1703
- 77 Probst A J, Castelle C J, Singh A, et al. Genomic resolution of a cold subsurface aquifer community provides metabolic insights for novel microbes adapted to high CO₂ concentrations. *Environ Microbiol*, 2017, 19: 459–474
- 78 Probst A J, Ladd B, Jarett J K, et al. Differential depth distribution of microbial function and putative symbionts through sediment-hosted aquifers in the deep terrestrial subsurface. *Nat Microbiol*, 2018, 3: 328–336
- 79 Slobodkin A I, Slobodkina G B. Thermophilic prokaryotes from deep subterranean habitats. *Microbiology*, 2014, 83: 169–183
- 80 Wilkins M J, Fredrickson J K. Terrestrial subsurface ecosystem. In: Erlich H L, Newman D K, Kappler A, eds. *Erlich's Geomicrobiology*. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2015. 69–96
- 81 Schubert B A, Lowenstein T K, Timofeeff M N, et al. How do prokaryotes survive in fluid inclusions in halite for 30 ka? *Geology*, 2009, 37: 1059–1062
- 82 Lowenstein T K, Schubert B A, Timofeeff M N. Microbial communities in fluid inclusions and long-term survival in halite. *GSA Today*, 2011, 21: 4–9
- 83 Dong H, Zhang G, Huang L, et al. The deep subsurface microbiology research in China: Results from Chinese Continental Scientific Drilling Project. In: *Proceedings of the AGU Fall Meeting 2009*. San Francisco: AGU, 2009. B21D-07
- 84 Vandevosserberg J L C M, Ubbinkok T, Elferink M G L, et al. Ion permeability of the cytoplasmic membrane limits the maximum growth temperature of bacteria and archaea. *Mol Microbiol*, 1995, 18: 925–932
- 85 Hoehler T M, Jorgensen B B. Microbial life under extreme energy limitation. *Nat Rev Microbiol*, 2013, 11: 83–94
- 86 Labonte J M, Field E K, Lau M, et al. Single cell genomics indicates horizontal gene transfer and viral infections in a deep subsurface Firmicutes population. *Front Microbiol*, 2015, 6: 1–11
- 87 Moser D P. Deep microbial ecosystems in the U.S. Great Basin: A second home for *Desulforudis audaxviator*? In: *Proceedings of the AGU Fall Meeting 2012*. San Francisco: AGU, 2012. B41F-08
- 88 Itavaara M, Nyssonen M, Kapanen A, et al. Characterization of bacterial diversity to a depth of 1500 m in the Outokumpu deep borehole, Fennoscandian Shield. *Fems Microbiol Ecol*, 2011, 77: 295–309
- 89 Tiago I, Verissimo A. Microbial and functional diversity of a subterrestrial high pH groundwater associated to serpentinization. *Environ Microbiol*, 2013, 15: 1687–1706
- 90 Morono Y, Ito M, Inagaki F. Detecting slow metabolism in the seafloor: Analysis of single cells using NanoSIMS. In: Kallmeyer J, Wagner D, eds. *Microbial Life of the Deep Biosphere*. Berlin: De Gruyter, 2014. 101–109
- 91 Atekwana E A, Slater L D. Biogeophysics: A new frontier in earth science research. *Rev Geophys*, 2009, 47: 1–30
- 92 Vreeland R H, Rosenzweig W D, Powers D W. Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal. *Nature*, 2000, 407: 897–900
- 93 Liu F, Rotaru A E, Shrestha P M, et al. Magnetite compensates for the lack of a pilin-associated c-type cytochrome in extracellular electron exchange. *Environ Microbiol*, 2015, 17: 648–655
- 94 Shi L, Dong H L, Reguera G, et al. Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14: 651–662
- 95 Vigg C C, Rossetti S, Fazi S, et al. Magnetite particles triggering a faster and more robust syntrophic pathway of methanogenic propionate degradation. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 7536–7543
- 96 Engelhardt T, Kallmeyer J, Cypionka H, et al. High virus-to-cell ratios indicate ongoing production of viruses in deep subsurface

- sediments. *Isme J*, 2014, 8: 1503–1509
- 97 Kashefi K, Lovley D R. Extending the upper temperature limit for life. *Science*, 2003, 301: 934–934
- 98 Takai K, Nakamura K, Toki T, et al. Cell proliferation at 122°C and isotopically heavy CH₄ production by a hyperthermophilic methanogen under high-pressure cultivation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 10949–10954
- 99 Delong E F, Franks D G, Yayanos A A. Evolutionary relationships of cultivated psychrophilic and barophilic deep-sea bacteria. *Appl Environ Microb*, 1997, 63: 2105–2108
- 100 Lauro F M, Bartlett D H. Prokaryotic lifestyles in deep sea habitats. *Extremophiles*, 2008, 12: 15–25
- 101 Nagata T, Tamburini C, Aristegui J, et al. Emerging concepts on microbial processes in the bathypelagic ocean-ecology, biogeochemistry, and genomics. *Deep-Sea Res Part II*, 2010, 57: 1519–1536
- 102 Yayanos A A. Microbiology to 10500 meters in the deep sea. *Annu Rev Microbiol*, 1995, 49: 777–805
- 103 Yayanos A A. Deep-sea piezophilic bacteria. *Method Microbiol*, 2001, 30: 615–637
- 104 Chinese Academy of Sciences. *Geobiology (in Chinese)*. Beijing: Science Press, 2015. 1–392 [中国科学院. 地球生物学. 北京: 科学出版社, 2015. 1–392]
- 105 Yu T, Wu W, Liang W, et al. Growth of sedimentary bathyarchaeota on lignin as an energy source. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 6022–6027
- 106 Mueller C W, Weber P K, Kilburn M R, et al. Advances in the analysis of biogeochemical interfaces: NanoSIMS to investigate soil microenvironments. *Adv Agron*, 2013, 121: 1–46
- 107 Harris R, Lau M C Y, Van Heerden E, et al. Labeling of prokaryotic mRNA in live cells using fluorescent *in situ* hybridization of transcript-annealing molecular beacons (FISH-TAMB). *bioRxiv*, 2017, 178368: 1–28
- 108 Hatzenpichler R, Scheller S, Tavormina P L, et al. *In situ* visualization of newly synthesized proteins in environmental microbes using amino acid tagging and click chemistry. *Environ Microbiol*, 2014, 16: 2568–2590
- 109 Jin Q S. Energy conservation of anaerobic respiration. *Am J Sci*, 2012, 312: 573–628
- 110 Jin Q S, Roden E E, Giska J R. Geomicrobial kinetics: Extrapolating laboratory studies to natural environments. *Geomicrobiol J*, 2013, 30: 173–185
- 111 Yan S, Liu Y, Liu C, et al. Nitrate bioreduction in redox-variable low permeability sediments. *Sci Total Environ*, 2016, 539: 185–195
- 112 Daley T M, Majer E L, Peterson J E. Crosswell seismic imaging in a contaminated basalt aquifer. *Geophysics*, 2004, 69: 16–24
- 113 Peterson J E, Paulsson B N P, Mcevilly T V. Applications of algebraic reconstruction techniques to crosshole seismic data. *Geophysics*, 1985, 50: 1566–1580
- 114 Wilkins M J, Daly R A, Mouser P J, et al. Trends and future challenges in sampling the deep terrestrial biosphere. *Front Microbiol*, 2014, 5: 1–8
- 115 Salas E C, Bhartia R, Anderson L, et al. *In situ* detection of microbial life in the deep biosphere in igneous ocean crust. *Front Microbiol*, 2015, 6: 1–8
- 116 Bhartia R, Salas E C, Hug W F, et al. Label-free bacterial imaging with deep-UV-laser-induced native fluorescence. *Appl Environ Microbiol*, 2010, 76: 7231–7237
- 117 He Z L, Gentry T J, Schadt C W, et al. GeoChip: A comprehensive microarray for investigating biogeochemical, ecological and environmental processes. *ISEM J*, 2007, 1: 67–77
- 118 Neufeld J D, Wagner M, Murrell J C. Who eats what, where and when? Isotope-labelling experiments are coming of age. *ISEM J*, 2007, 1: 103–110
- 119 Hungate B A, Mau R L, Schwartz E, et al. Quantitative microbial ecology through stable isotope probing. *Appl Environ Microb*, 2015, 81: 7570–7581
- 120 Nielsen M E, Fisk M R, Istok J D, et al. Microbial nitrate respiration of lactate at *in situ* conditions in ground water from a granitic aquifer situated 450 m underground. *Geobiology*, 2006, 4: 43–52
- 121 Purkamo L, Bomberg M, Nyssonen M, et al. Response of deep subsurface microbial community to different carbon sources and electron acceptors during approximately 2 months incubation in microcosms. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1–14

Summary for “深地生物圈的最新研究进展以及发展趋势”

Recent developments and future directions of deep biosphere research

Hailiang Dong

State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Beijing 100083, China
E-mail: dongh@cugb.edu.cn

The deep biosphere consists of microorganisms that thrive in continental and oceanic subsurface, and are independent of photosynthesis. Subsurface microorganisms live in rock fractures and subsurface fluids, and extract nutrients and energy from water-rock reactions. Globally, subsurface microbial biomass is comparable to total surface biomass, but its distribution is extremely heterogeneous, and metabolic rate is very slow, depending on specific geological conditions. Overall, with increased depth, microbial biomass, diversity, and activity decrease, likely because of more extreme environmental conditions in the subsurface (increased temperature and pressure, but decreased nutrients and pore space). Surface and shallow subsurface processes are driven by photosynthesis, and surface-derived H_2O , O_2 , ^{14}C , and ^{37}Cl diffuse downward. Deep subsurface processes are driven by “geogas” (H_2 , CH_4 , CO_2 , and He). Temperature is the most important environmental condition that ultimately limits the depth of the biosphere, but this limit can be influenced by other conditions, such as nutrient levels and pressure.

Limited data have shown that deep subsurface environment is dominated by bacteria (>50%) but archaea, eukaryotes and viruses are all present. Proteobacteria and Firmicutes are two dominant bacterial phyla and their relative proportions change with depth. In shallow and young sediments/rocks with relatively low temperature, Proteobacteria are dominant, but in deeper and older rocks with higher temperatures, Firmicutes become more important. Archaea are also widespread in the subsurface, and often consist of Euryarchaeota (dominantly Methanomicrobia) and Thaumarchaeota. Unlike sediments and sedimentary rocks at shallow depths where surface-derived organic matter is present, microbes in the deep subsurface usually depend on H_2 as a major source of energy. H_2 can be derived from several pathways including radiolysis of water, serpentinization of ultramafic and mafic rocks, and water splitting by highly oxidizing radicals. In addition, methane oxidation, Fe/S oxidation, and sulfur-driven nitrate reduction may provide additional sources of energy for fueling subsurface microbes.

Subsurface microorganisms have adapted to extreme environments, and are usually anaerobic, chemolithotrophic, thermophilic, halophilic piezophilic, oligotrophic, radiation and desiccation resistant, however, the specific survival limits have remained largely elusive. Among these physiological traits, thermophilic and halophilic microbes appear to be predominant in the subsurface. To survive in low-energy environments, subsurface microbes have evolved specialized metabolic pathways and have developed less permeable cell membranes to minimize ion loss. Despite these evolutionary traits, unique subsurface microbes, e.g., those with unique physiologies that are distinctly different from surface microbes, are rare. *Ca. D. audaxviator*, originally found in South Africa deep mines and later discovered in other continents, is the only one that appears to be endemic to subsurface environment. Therefore, subsurface microorganisms may be unique in the functions, but not necessarily in taxonomy.

Due to the difficulty of obtaining subsurface samples and high cost, deep biosphere research is still in early stage. A number of important questions remain elusive such as: (1) The origin, survival, and evolution rates of subsurface microorganisms; (2) geological conditions that ultimately limit microbial survival in the subsurface; (3) biogeographic distribution of subsurface microorganisms; (4) the microbial role in the global cycles of carbon and other elements; (5) alternative energy sources; (6) co-evolution of the geosphere and biosphere. To answer these questions, *in-situ* imaging and isotopic tracers are some of the important tools to analyze low-biomass samples. International collaboration is needed to coordinate sample collection and processing, to jointly analyze samples, and to share the data and samples. Among all these, education is the key to ensure that a stable and highly interdisciplinary team of professionals are motivated to advance the subsurface microbiology investigation to the next level.

deep subsurface microbes, extreme environments, surviving boundary conditions, energy, biomass, diversity

doi: 10.1360/N972018-00766