



评述

探索深部生物圈

方家松^{①*}, 张利^②^① 同济大学海洋与地球科学学院, 同济大学海洋地质国家重点实验室, 上海 200092;^② 地质过程与矿产资源国家重点实验室, 中国地质大学地球科学学院, 武汉 430074

* E-mail: jsfang@tongji.edu.cn

收稿日期: 2010-06-12; 接受日期: 2011-03-21

摘要 过去 20 年间, 科学钻探对大洋和大陆沉积物和岩石的研究揭示了地下深部生理和种群都非常复杂的微生物生命的存在. 这些微生物存在于海底 1 km 以下和大陆 3 km 以下深度, 它们大多在地表生物圈中没有可人工培养或已知的亲缘种. 深部生物圈可能代表了全球生物圈中最大的部分, 其可能的生物量达 50%. 本文综述了深部生物圈研究的现有认识和最新研究成果, 并对今后的研究方向提出了建议.

关键词深部生物圈
Thomas Gold
微生物
生物量
DNA
核糖体
ODP
CARD-FISH
暗能量
脂类
蛇纹石化**1 Thomas Gold 和深部热生物圈**

单一生物圈概念认为, 地球上只有一个生物圈, 它位于地球表面附近, 由太阳辐射提供能量. 然而约 20 年前 Gold^[1]发表了里程碑性的文章, 革命性地提出地壳中还存在一个“深部热生物圈”^[1], 它位于地壳深部约 6~10 km, 以地质能源为能量来源^[2]; 他认为“地球上存在两个, 而不是一个大规模的生物圈: 第一个是我们所熟知的由光合作用维持的地表生存域; 另一个是地球深部生物圈, 由来自地球深层的化学能来维持. 目前尚没有证据表明这两个生存域存在演化上的先后关系或两者间有功能联系, 或许它们本质上就是各自独立的. 比如, 假定靠光合作用维持的地表生命不存在了, 地下深部生命依然可以继续存在; 假如由于某种原因深部生命消失了, 我们同样

毫无理由怀疑其会对地表生命造成影响, 至少短期内这种相互影响是不可能的”. “‘深部热生物圈’独立存在于与地表生物圈相对的热深部. 从长期来看, 深部生物圈和地表生物圈偶尔可以发生有益的遗传物质交换”. 深部热生物圈的数量和质量或可与地表生命“媲美”^[1].

正如我们目前所了解的, 地球“深部生物圈”包括各种不同的地下栖息地, 如大陆区的蓄水层和沉积岩以及海底的沉积物和火成岩. 后者是本文所要重点关注的. “深部生物圈”所处生态环境可以是热的(例如在洋壳中), 也可以是冷的(如在靠近海床的海洋沉积物中). 研究表明, 地球总生物量的 1/2~2/3 都存在于深部生物圈^[3].

海底深部生物圈主要包括栖息在海底沉积物和洋壳中的生物群系(图 1). 海底沉积物是地球上最为

广博的微生物栖息地之一, 它覆盖着地球表面的 2/3, 微生物(细菌和古菌)细胞及其活动遍布其中(图 1). 由于海底生物圈面积大且和水循环联系密切, 因此, 它具有极大影响全球生物化学过程(包括碳、能量、气候和营养循环)的巨大潜能. 存在一个埋藏在地球深部的庞大生物圈有非常重要的意义, 它能改变我们在探究生命科学和地球科学时的思维方式^[4,5].

最近几年, 科学界对“深部生物圈”研究的兴趣越来越浓. 逐年增加的综述文章数量^[6-17]、美国自然科学基金(NSF)长期支持的标志性项目 Ridge 2000——从地幔到微生物、专为调查深部生物圈设计的大型研究项目的完成(见下文)和美国 NSF 赞助的研究中心的成立等事实都是证明. NSF 赞助的研究中心包括设立于伍兹霍尔海洋研究所内的暗能量生物圈研究所(DEBI)和设立于南加利福尼亚大学的暗能量生物圈调查中心(C-DEBI). 美国 NSF 还建立了研究协作网(RCN), 以支持、协调和集中这一飞速发展领域内的科学家去研究地壳岩石和沉积物中的深部生命. 美国 NSF 新近资助的数百万美元的项目(如下文(1)和(2))、戈登和贝蒂摩尔基金(下文(3))以及德国研究基金(下文(4))都强调了探究深部生物圈和暗能量环境的极端重要性: (1) “研发并测试 North Pond 原位培养和深部微生物观测物质和方法”; (2) “合作项目: North Pond 微生物学、生物地球化学和地震剖面的位点调查及初始特征”; (3) “North Pond 深部生物圈: 大西洋洋中脊微生物观测站”; (4) “大西洋中脊沉积物和洋壳基底位点调查: 以大西洋洋脊 23°N 7 Ma 西侧地带的 North Pond 地区为例”.

2 过去 20 年深部生物圈研究现状

2.1 海底地下海洋——一个巨大的微生物孵化器

洋中脊不同的扩张速率导致了不同的洋壳结构



图 1 海底以下 0.1~3000 m 的微生物细胞分布情况^[3]

(图 2). 形成于快速扩张洋脊中心的洋壳具有层状结构: 大洋沉积物(层 1)、枕状玄武岩(层 2a 和 2b)、成层的脉状杂岩(层 2c)和辉长岩(层 3). 形成于慢速或超慢度扩张洋脊边缘的洋壳是不均一的, 没有层状结构出现; 这种不均一洋壳包含有橄榄岩蛇纹石化后的残余^[18], 它可能为洋壳微生物提供重要的能源.

洋壳上层(层 1 和 2)是地球上容量最大的连续含水层系统, 组成了所谓的“地下海洋”(图 3). 大面积的火山地壳暴露于海水底部, 并且成为大洋与岩石圈进行流体、热量、溶解质和生物体交换的通道^[4,20-23]. 海水流经沉积物和玄武岩, 通过断层、裂隙以及洋壳和地幔底层的其他可渗透性通道积极参与循环; 如此, 热量重新分布、岩石发生改变、形成次生矿藏, 并影响海洋和洋壳的化学成分^[21,24,25]. 海水进出洋壳的水量可以与全世界所有河流流入大洋的水量相匹敌^[25]. 这种大规模的动态通道系统使得全部的海水每 20 万年就能在海底完成一次循环^[24].

在地下海洋广阔深度、温度和压力条件下存在着一个大规模的微生物群系^[16,23], 它们参与洋壳风化、矿物质转变、海水与洋壳间元素交换和洋壳中元素的沉淀等过程^[21,26,27]. 微生物促进的玄武岩风化导致形成种种含碳、磷和核酸的风化结构, 如坑、管道、隧道和空穴^[21](图 4), 这种结构在太平洋、大西洋和

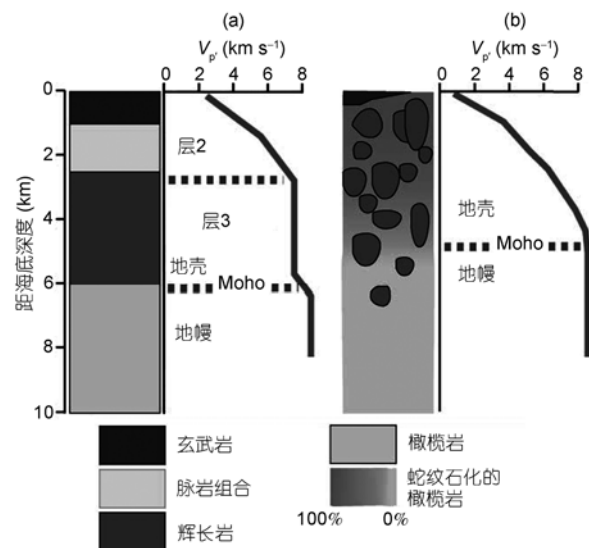


图 2 层状及不均一洋壳结构略图

(a) 层状洋壳; (b) 不均一洋壳. 层状洋壳仅包含岩浆岩(玄武岩和辉长岩), 而不均一洋壳包含了残余岩石(蛇纹岩化橄榄岩), 据文献^[18]

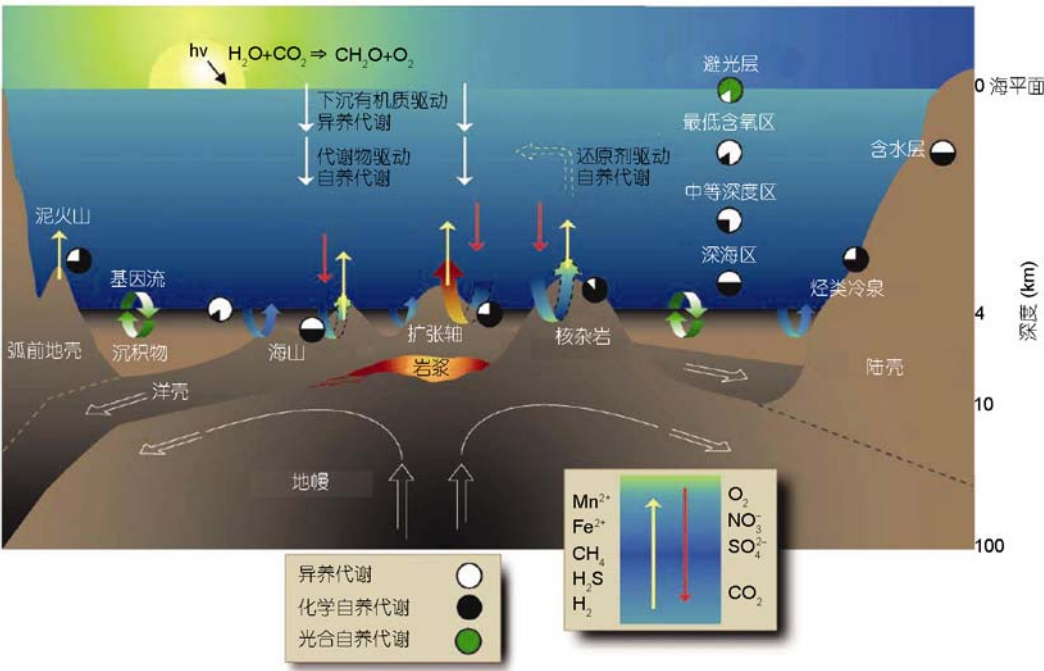


图3 海底含水层及洋壳与海水、原核生物生产力的驱动力相互作用模式图^[19]

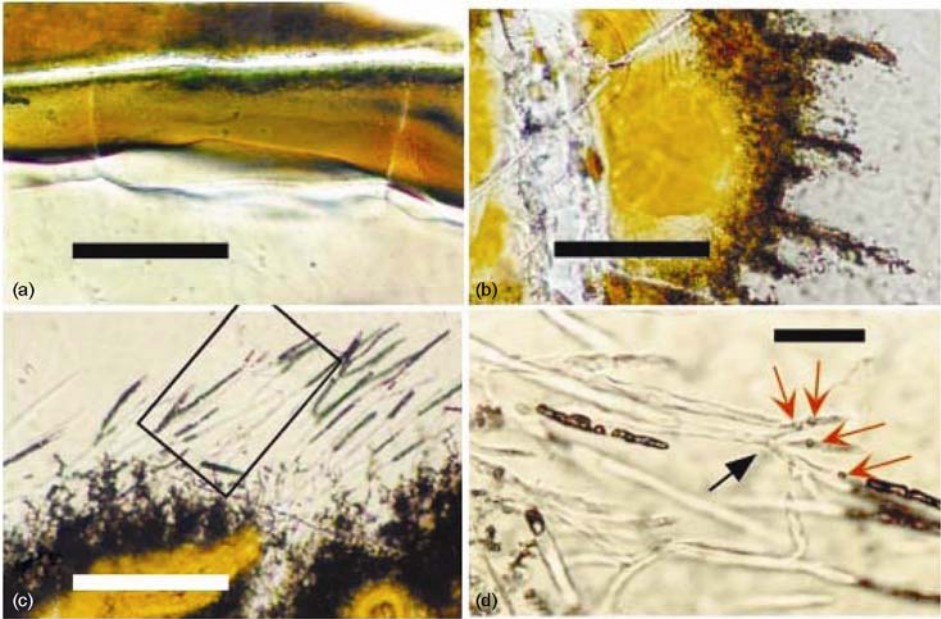


图4 具蚀变玻璃边的大洋枕状玄武岩微观照片

据文献[21]. (a)~(c)的标尺代表 50 μm , (d)的标尺代表 10 μm . (a) 靠近顶面处显示由红褐色粘土包围的 10 mm 宽的裂痕(白色); (b) 红褐色粘土包围的一条穿过玻璃体(左)的裂痕. 通道(宽 10 mm, 长 20~60 mm)从粘土延伸到玻璃体, 以 1 mm 直径的通道终止; (c) 底面显示橙褐色粘土替代了玻璃体, 玻璃体目前已穿过顶部. 玻璃体与粘土的边界发暗且不规则. 方框所示的位置见图(d); (d) 是图(c)方框部分的放大图. 黑色箭头指示分支通道, 红色箭头指示其中的细胞尺度的物体

印度洋的洋壳玄武岩样品中均能观察到. 因而, 全球玄武质含水层成为深部生物圈中巨大的生命孵化器. 栖于海底的微生物群落产生的微观尺度的反应会对生物地球化学循环产生行星尺度大的影响. 然而, 鉴于大洋中脊岩浆库的深度较浅(在快速扩张的东太平洋海隆为 1.6~2.4 km; 慢速扩张的大西洋中脊为 3.0~3.4 km), 深部生物圈可能存仅于年代较老且较冷的洋脊两翼、透水的火山玄武岩上部几百米处以及洋脊之上的金属硫化物矿床中^[28].

2.2 从检测微生物细胞生命状态到定量 rRNA

地球深部生物圈研究是一个新兴的、充满活力的、发展迅速的科学领域. 过去 20 年来激动人心的发现正彻底变革着我们对地球深部微生物的认识.

在 4 个太平洋站位海床 500 m 以下的沉积物中, Parkes 等^[29]首次在显微镜下观察到了“正在分裂和已经分裂”的细菌细胞. 从海床 80 m 以下沉积物中分离并经提纯培养的硫酸盐还原细菌显示了嗜压性, 16S rDNA 基因测序表明其类似于 *Desulfovibrio salexigens*. 自此, 特别是过去的 5 年间, 科学家获得了很多令人激动的发现^[19,30~36]. 2002 年, Parkes 和他的同事^[37]在太平洋 Woodlark Basin 海床 842 m 深度、环境温度为 55℃、距今 350 万年的沉积物中发现了最深的沉积原核生物. 显微镜和 MPN 计数都表明, 细菌细胞数量在靠近沉积物表层处(海床 20 m 以上)是最高的($2.8 \times 10^8 \sim 1.4 \times 10^9 \text{ cm}^{-3}$), 该数量随深度增加而迅速减少至 $3.5 \times 10^5 \sim 3.0 \times 10^7 \text{ cm}^{-3}$. 地球化学组分和分布以及微生物活性放射性示踪剂($^{14}\text{CH}_4$)测试表明, 甲烷生成量随深度增加而增加, 在海床 802 m 以下时, 甲烷浓度达 $20000 \mu\text{L L}^{-1}$ ^[37].

D'Hondt 等^[31]通过大洋钻探 201 航次(ODP Leg 201)样品, 调查了赤道太平洋和秘鲁大陆边缘沉积物中的微生物活性和可培养细菌. 此次所采沉积物柱中的活性细菌分属 6 个不同类群(α -, γ -, δ -Proteobacteria, firmicutes, Actinobacteria 和 Bacteroides), 其他研究者的早期研究也得到了与此类似的细菌细胞数量分布特征^[29,37]. D'Hondt 等^[31]还观察到了镜像的氧化还原反应分带, 即产生较高自由能的氧化还原反应(如硫酸盐还原)分布于产生低能量的氧化还原反应(如生成甲烷)之下. 这种反向的氧化还原反应分布模式表明, 好氧的氧化还原反应物种(如 NO_3^- 和 O_2)是从底层玄武岩迁移到上层沉积柱中的^[31], 沉积物

中的微生物和玄武岩中的微生物可能存在相互作用.

探索深部生物圈时要解决的一个主要问题是辨别细胞的生存状态, 即判定所检测到的细胞是活性的、休眠状态的还是死亡的. 通常用于检测深部微生物的技术有: (1) 用非特异性的荧光染料标记 DNA(RNA)进行显微镜细胞计数(如吖啶橙直接计数, AODC); (2) DNA 序列分析; (3) 分离与培养; (4) 通过放射性示踪剂(如 $^{14}\text{CH}_4$)推断微生物活性; (5) 完整磷脂分析; (6) 通过孔隙水地球化学推断微生物过程. 除了完整磷脂分析技术, 以上其他技术的缺陷是都会检测到休眠状态或死亡的细胞, 从而导致所检测到的细胞总数中的一部分细胞是非活性的^[32]. 从这点上讲, 磷脂技术对于深部生物圈中活体微生物的检测具有特殊的意义.

核糖体是所有细胞的蛋白质合成工厂, 而压力(stress)影响细胞的完整性, 使得受压(stressed)细胞快速失去核糖体而致蛋白质合成终止^[38]. RNA 相对更不稳定且容易分解, 但受压细胞依然可以保持完整的细胞膜和 DNA. 因此, 只有含有大量核糖体的细胞才能被认定是有生命的和代谢旺盛的^[32]. 基于上述理论, Schippers 等^[32]利用酶联放大的荧光原位杂交技术(CARD-FISH)标记目标 rRNA, 显示了完整的细胞膜和核糖体的存在, 首次令人信服地证明了在距今 1600 万年、400 m 海床以下的古老沉积物中有活细菌存在(图 5). 有两个重要的发现值得一提^[32]: 一个是用 CARD-FISH 所检测到的细菌细胞数量随深度变化的特征与其他不以核糖体为基础的技术所获得的结果不同(见上文); 另一个是细菌是主要的深部微生物类群, 古菌细胞总数要比细菌细胞总数低很多(CARD-FISH 方法没有检测到). 另外, 还需引起注意的是, 深部生物圈中存活细胞与死亡细胞以及非活性微生物细胞与活性微生物细胞的正确区分依然是今后研究中要解决的主要问题. 最近的两个研究实例可以很好地证明这一点^[32,33]: 这两项研究均以取自 ODP Leg 201 的深部沉积物为研究对象, 但由于所采用的分析技术不同, 却得到了截然不同的深部沉积物中微生物随深度变化的数据.

在最新的研究中, Roussel 等^[39]在距今 1.11 亿年、海床 1.6 km 以下的纽芬兰岛近岸沉积物中检测到完整的微生物细胞, 数量约为 $1.5 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$. 他们还在沉积物中发现了嗜热菌和超嗜热菌, 这与采样区的环境是一致的. 这种“尚未发现且数量巨大的”微生

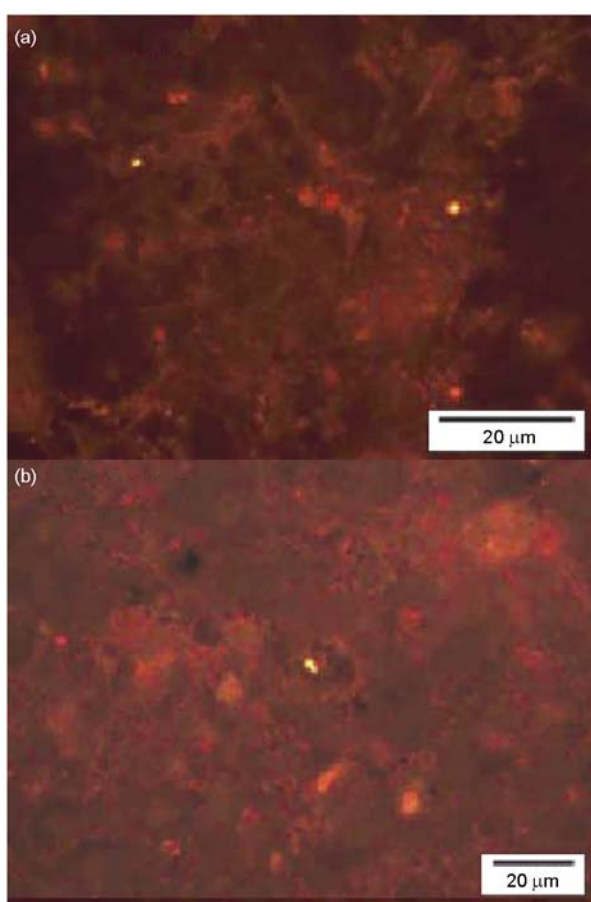


图5 用 CARD-FISH 方法从开阔海(a)和边缘海(b)检测到的细菌^[32]

(a) 海底以下 320 m, ODP leg 201, 站点 1225; (b) 海底以下 32 m, ODP leg 201, 站点 1227

物在地下深处似乎广泛分布,但我们还远未弄清深部生物圈的具体情况,以下许多关键问题尚无法回答:(1)深部生物群是由细菌还是古菌主导?不同的检测技术所得到的细菌和古菌的相对丰度值是矛盾的。例如,CARD-FISH 研究结果显示,细菌在 ODP Leg 201 沉积物中占主导地位^[32]。然而,利用完整磷脂分析技术研究相同的沉积物样品却得到了相反的结果^[33]。(2)深部生物圈是由化能无机自养微生物还是异养微生物主导?答案似乎可由能量源的可得性决定,后者又与洋壳的位置有关^[40]。位于洋中脊轴上的玄武质洋壳含有大量岩浆挥发性气体如 H_2 和 CO_2 ,它主要支持化能无机自养菌的生长^[41]。相反,由于较老且较冷的洋壳中的流体亏损岩浆挥发性气体却富集电子受体,因此洋脊两翼上的洋壳主要支持异养

微生物的生长(如胡安德富卡海脊东翼)。许多微生物具有代谢多样性,它们能够利用不同的电子受体来从洋壳孔隙流体中获得能量^[42]。一个典型的例子就是硫酸盐还原菌既可利用三价铁也可利用硝酸盐作为电子受体^[43]。目前可能还有一些新的氧化还原反应能为未被发现的微生物提供能量。例如,硫酸盐还原反应可以与氨氧化反应耦联,该反应在 $55^\circ C$ 条件下释放的能量为 $433.9 \text{ kcal mol}^{-1}$ ^[44]。(3)深部生物圈的微生物以单个自由细胞形式存在还是以生物膜的形式存在?玄武岩基底环境的高岩石/流体比例决定了生物可能主要以表面附着和生物膜的形式存在而非自由细胞形式^[42]。由于玄武质洋壳中的化学、物理和水文条件具高易变性,及随之引起的温度和氧化还原条件梯度,我们预测,深部生物圈的生物丰度、群落结构和代谢活性都处于极端变化中。(4)最后,深部生物圈中微生物的起源是什么?有一种假设认为海水渗透到洋壳,这可能为海床底部的生物群落提供了接种体。Leg 201 样品中检测到普遍存在的海底古菌群(MBG-B)和海洋类群 I(MG-1)似乎能支持这一假说^[23]。有趣的是后者在海洋中既能靠自养方式又能以异养方式生长。

2.3 光能和暗能量

大多数深部生物圈的关键特征是极端的能量限制。在沉积物界面以下,随着年代久且埋藏深的沉积物中可利用有机碳和营养素的减少,微生物细胞数量总体随深度增加以对数形式减少^[11,14,15,37](图 6)。沉积物深度或沉积年龄每增加 10 倍,细胞总量减少 $1/7$ ^[11];而沉积年龄每增加 10 倍,有机物反应度(或质量)一般会随之减少 $1/10$ ^[45]。因此,从沉积物表层下至洋壳过程中,每个细胞的有机物可利用量降低了 100~1000 倍^[14]。D'Hondt 等^[30]观察到在海底沉积物中埋藏了一千万年的沉积浮游生物残体仍在以极其缓慢的速度被微生物降解。由此看来,深埋沉积物中的微生物仍依靠光能合成的有机碳来维持生存。

地壳中微生物的能量来源可能完全不同,它们可能更依赖于内生来源的暗能量。其中一种能量来源是由洋壳中的无氧海水和超基性火山岩蛇纹岩化产生的氢气^[46,47]。固溶体的终级产物橄榄石、铁橄榄石(Fe_2SiO_4)、镁橄榄石(Mg_2SiO_4)和辉石($MgSiO_3$)蚀变成了蛇纹石化矿物($Mg_3Si_2O_5(OH)_4$)及铁和锰的氢氧化物^[46]。

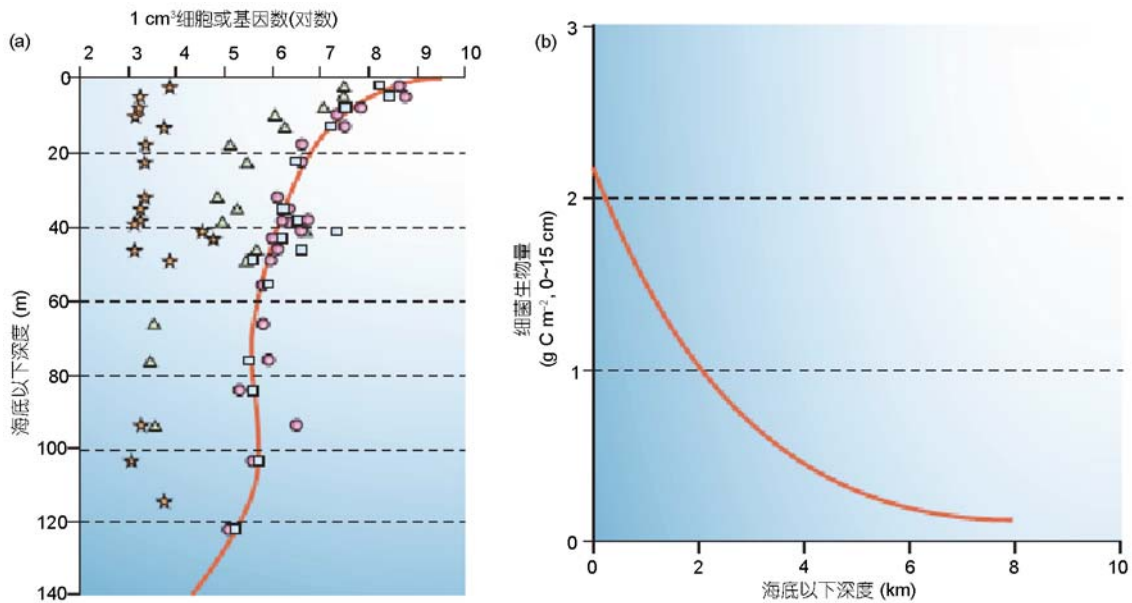
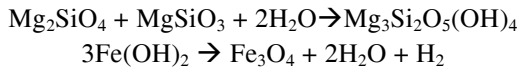
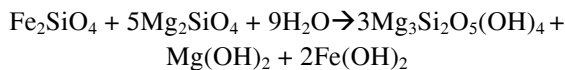


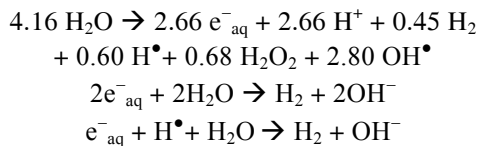
图 6 海底沉积物中的微生物量及其在洋壳中的预期分布

据文献[14]. (a) 秘鲁大陆架之外 140 m 深处深海沉积物芯中微生物细胞总数随深度变化分布图(ODP leg 201, 点位 1227); 淡蓝色方框为吡啶橙直接计数结果为, 总细菌数(粉红色圆圈)和总古菌数(黄色三角形)通过 16S rRNA 基因定量 PCR 测定, 真菌细胞数(星形)由 18S rRNA 基因测得. (b) 表层沉积物(0~15 cm)中微生物生物量与沉积物深度关系图



火山岩蛇纹岩化产生氢气的速率每天大约为 $8.6 \text{ nmol m}^{-3[46]}$. 此外, 由于蛇纹石化矿物体积增大(比母矿物多占至少 33% 空间)^[48], 随反应的进行将产生更多裂隙, 这些裂隙促进了未蚀变母岩的蚀变, 使蛇纹岩化过程能在漫长的地质历史时期持续进行^[47].

另一种假设认为, 放射分解过程为深部微生物提供了源源不断的氧化剂和还原剂^[17]. 普遍存在于洋壳中的放射性同位素 ^{40}K , ^{232}Th 和 ^{238}U 可以使水分子分解并产生氢气、过氧化氢以及其他高活性产物, 这些产物能通过进一步的重组反应继续产生更多的氢气^[49]:



一个沉积物盆地所产放射性分解氢气的速率估计在 $10^{-8} \text{ nM H}_2 \text{ s}^{-1}$ 级别^[49], 该速率相当于在热带太平洋东部观察到的地下沉积物中氢气的消耗速率($3 \times$

$$10^{-8} \sim 60 \times 10^{-8} \text{ nM H}_2 \text{ s}^{-1})^{[30]}.$$

包括产甲烷菌、硫酸盐还原菌、铁还原菌和硝酸盐还原菌在内的多种化能自养微生物可以利用氢气作为电子供体和能量来源^[50]. 在陆地火山岩含水层中也发现了依赖氢的微生物群^[51,52]. 南非 Mponeng 金矿地下 2825 m 深土层中以嗜热硫酸盐还原菌(*Fermitutes*)为主的陆地微生物群系可能就是由水放射分解产生的氢气来支撑的^[53].

还有人认为, 硫的混合反应(disproportionation)或 $\text{Fe}(\text{II})$ 和 S , NH_4^+ , $\text{Mn}(\text{II})$, $\text{U}(\text{IV})$, $\text{As}(\text{III})$ 的厌氧呼吸可能可以支持地下生物圈^[27,54]. 模型模拟显示, 压力增加会降低除了涉及 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原之外的所有氧化还原反应的自由能(ΔG^0), 而在有 $\text{Fe}(\text{III})$ 参与的氧化还原反应中, 自由能(ΔG^0)随压力增加而增加^[55]. 由此看来, 含铁矿物可能在地下深部高压环境微生物的代谢和能量产生过程中发挥着重要作用^[56]. 或者, 还原条件下^[57]简单有机化合物(羧基酸、氨基酸、甲烷和简单碳氢化合物)的非生物合成也可以作为深部生物圈的还原动力之源^[27,58]. 例如, 当 H_2 存在时(比如来自水的放射分解过程)^[59], Fischer-Tropsch 型反应就可能发生.

无论能量的具体来源是什么, 表层生物圈微生物所促成的氧化还原反应可能仍是探寻能量的主要途径. 事实上, 在表层生物圈普遍观察到的标准氧化还原带(连续的氧化还原带)在地下深部沉积物中同样可以观察到; 不同点在于, 在标准氧化还原带之下, 在沉积物与玄武岩基底界面处存在一个镜向反转的氧化还原带, 这里检测到了高浓度的 NO_3^- 和微量的 O_2 ^[31]. 相似观察结果在综合大洋钻探计划(IODP)位于胡安·德富卡海岭东侧的 U1301 采样点也有发现^[40]. 因此, 地壳流体没有完全被还原, 它们可以成为一种能量来源^[60]. 从这些结果还可以得出以下启示: (1) 深海玄武岩含水层在循环和传输高能量电子受体(如 NO_3^- 或甚至是 O_2)以维持深部生物圈生命的过程中发挥着重要作用, 这些来自表壳流体的电子受体扩散到上覆沉积物中刺激了微生物的活性; (2) 深部生物圈中的微生物代谢活性非常低; (3) 深部生物圈中至少有一部分微生物是通过和表层生物圈微生物相同的氧化还原反应产能方式获得动力.

3 研究中的问题及方法

对深部海底以岩石为寄主的生物圈进行调查, 有希望获得关于地球上古老而独特生命以及其他星球生命存在可能性的全新而非平凡的信息. 尽管近来这一新领域的研究有所进展, 但对深部生物圈中微生物特性的了解还相对有限. 一些基本问题还有待解决:

- (1) 深部生物圈的种群及生理多样性和复杂性;
- (2) 能量的来源及类型;
- (3) 水岩作用及能量利用;
- (4) 代谢活性及途径;
- (5) 深部生物圈的功能及动力学;
- (6) 宜居性的物理、化学及能量限制和暗能量环境的空间规模;
- (7) 深部生物圈的范围;
- (8) 深海微生物与深部生物圈微生物的联系(或分离).

3.1 微生物细胞、种群、群落及深部生物圈

探索深部生物圈首先会提出的问题是: 深部生物圈中的微生物是独特的吗? 如果是, 深部生物圈的独特性在哪里? 用于检测可能独特的深部生物圈

微生物的新的实验测试技术仍在发展中. 接下来的问题将涉及深部生物圈中微生物的多样性、新陈代谢以及生态系统功能: 深部生物圈微生物群落的种群及生理学多样性如何? 它们的代谢类型和代谢速率怎样? 代谢速率可能极低. 研究表明, 深部生物圈中细胞的生理周期较长, 从几年到几百年甚至几千年^[3,5,17,32,33].

ODP 201 航次是 ODP 考察中唯一一次专门针对深部生物圈生命研究的航次. 本航次利用多学科交叉手段获得了大量微生物学及生物地球化学数据(http://www-odp.tamu.edu/publications/201_SR/201sr.htm 及本文引用的一些文献). 本航次综合研究了一个贫有机质的开放海域和一个富有机质的大陆边缘地区, 以作为今后深部生物圈研究的范例. 然而, 科学界依然在思考这些问题: 微生物生理机能/群落结构与物理/化学/水文环境的相关性到底如何? 我们可否通过其中一方面由此及彼来推测另一方面的情况(正如我们在表层生物圈研究中常用的方法)? 尽管已萃取并测序了真核 DNA 的 18S rRNA 基因片断^[32], 但深部生物圈很可能还是由原核微生物主导. 接下来的问题是, 仅含有微生物或许还含有病毒的深部微生物生态系统和具有三个生物域的表层生物圈相比有什么不同?

在深部生物圈给定的区域内可能有两类彼此分开的群落: 固着群落和在地壳中随水流移动的“浮游生物”群落. 固着物种和浮游生物物种的来源是什么? 深海微生物与地壳沉积物微生物及地壳玄武岩微生物的联系(或没有联系)是什么? 是否存在原住性海底物种? 什么样的细胞间相互作用会产生深部微生物群落? 哪种功能群落会直接参与岩石及流体化学和物理性质的改变? 地壳沉积物及地壳玄武岩中群落结构的稳定性如何?

3.2 地下深部环境和生命的极限(或无极限)

温度、压力和能量也许是地下微生物面临的最大挑战. 深部生物圈微生物的极限温度/压力是多少? 温度和压力影响分子稳定性(蛋白质、脂类和 DNA). 地下生命的极限温度有赖于维持生命的能量需求率(随温度增加)与来自生物化学和纯化学反应的能量供给率之间的平衡^[17]. 看来, 压力升高将增加微生物的上限温度^[56]. Takai 等^[36]从印度洋中脊分离出了产甲烷的菌株 *Methanopyrus kandleri* strain 116. M.

kandleri strain 116 的最适宜生长条件是 20~30 MPa 水压力和 105℃ 温度, 40 MPa 时它可以在 122℃ 温度下生长, 这是所有微生物中新的生存温度记录. 其他因素如盐度、氧化还原梯度、热梯度、放射、流体流动和构造活动也有助于维持生命.

当环境接近可居住极限时, 微生物和微生物生态系统将如何反应? 当其环境超过可居住极限时(如温度或压力极限), 微生物个体、微生物群落和生态系统又将如何“衰败”? 怎样的化学成分、能源、物理条件(如水的流动性、温度等)及其组合和稳定性构筑了环境的宜居性? 深部微生物群落的“系统(如温度、压力、能量等)极限”是什么? 深部生物圈的界限是什么? 它们与寻找其他行星生命的相关性(如火星、木卫二)是什么? 我们怎样以及在何种程度上用海底过去的生物群落和微生物过程的生物标志物去为深部生物圈现存的生物群落及过程提供信息(正如我们对表层生物圈研究经常所做的那样)? 这些还只是地质微生物学家、海洋学家和地质学家在探索深部生物圈时所面临的问题中的一部分.

3.3 探索深部生物圈

深部生物圈具有其独特性, 在许多方面不同于其他暗能量环境. 首先, 由于深部生物圈微生物的原位生长速率极低, 它们中的大多数很难人工培养^[14]. 正因如此, 加之在采样、分离以及培养这些有机体方面所遇到的技术或其他方面的困难, 微生物的多样性被严重低估. 对深部生物圈微生物的鉴定大多基于细胞计数、推测微生物活性和 16S rRNA 的方法. 大部分深部生物圈中的微生物在地表生物圈中没有可人工培养的或已知的亲缘种. 因此, 发展新的培养方法及模拟深部生物圈环境条件势在必行.

第二, 因为深部生物圈微生物活性较低, 以代谢活跃微生物群体为目标的检测技术急待发展. 保持生命体基本的系统运转有最低的能量需求(DNA 修复、酶替换、维持细胞膜内外电化学梯度等). 在现有研究方法中, 完整磷脂图谱分析(IPP)^[61,62]和酶联放大的荧光原位杂交技术(CARD-FISH)在检测深部生物圈活细胞上似乎具有最大的潜力. 前者基于这样一个前提, 就是细胞死亡后, 磷脂能在数天内降解, 因此, 完整磷脂的识别是活的微生物细胞存在的信号. 后者利用完整的核糖体来完成细胞计数^[32,63]. 另一个非常重要的问题是, 在微生物样品采集过程中要消除微生物污染, 在一个生物活性低的生物圈中还要监测和鉴定微生物活性.

最后, 深部生物圈是最有潜力也是最不容易研究的地下生物群系. 探究深部生物群投资巨大并需要国际合作和技术创新. 发展新的采样和观测设备是探索深部生物圈的关键. 以下所列就是几个新设备的例子: The CORK(Circulation Obviation Retrofit Kit), BOSS(microBiological Osmo Samplers), Bio-Column, OsmoSampler 和 FLOCS(Flow-through Osmo Colonization Systems)系统. 探索这一很大程度上未知的地下生物圈是综合大洋钻探计划(IODP)和国际大陆钻探计划(ICDP)的主攻点之一. ODP 201 航次和 IODP 的北池(North Pond)、胡安德富卡和南太平洋环流考察都包含有深部生物圈研究项目. 瑞典波罗的海岸 Fennoscandian 地盾区含水层可能是最好的大陆研究位点. 有关地质学、水文学、地球化学和微生物学的综合研究已经实施并已发表相关成果^[7].

然而, 在我们对地下生物圈所有栖居地进行采样和研究前, 我们仍不能回答前面所提到的基本问题.

致谢 谨以此文向“南海深部计划”项目的实施献礼. 作者诚挚地感谢同济大学汪品先院士的鼓励. 同济大学张传伦教授和另一位匿名审稿人的审稿意见对本文的进一步完善具有帮助作用. 同济大学海洋与地球科学院的王鹏博士完成了本文中文译稿的初稿. 在此一并感谢.

参考文献

- 1 Gold T. The deep, hot biosphere. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 6045–6049
- 2 Gold T. *The Deep Hot Biosphere*. New York: Copernicus, 1999. 243
- 3 Whitman W B, Coleman D C, Wiebe W J. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 6578–6583
- 4 Edwards K J. Geomicrobiology in oceanography: Microbe-mineral interactions at and below the seafloor. *Trends Microbiol*, 2005, 13: 449–456

- 5 Jørgensen B B, D'Hondt S. A starving majority deep beneath the seafloor. *Science*, 2006, 314: 932–934
- 6 Kieft T L, Phelps T J. Life in the slow lane. In: Amy P S, Haldeman D L, eds. *The Microbiology of the Terrestrial Subsurface*. Boca Raton: CRC Press, 1997. 137–164
- 7 Pedersen K. Microbial life in deep granitic rock. *FEMS Microbiol Rev*, 1997, 20: 399–414
- 8 Pedersen K. Exploration of deep intraterrestrial microbial life: Current perspectives. *FEMS Microbiol Lett*, 2000, 185: 9–16
- 9 Fredrickson J K, Onstott T C. Biogeochemical and geological significance of subsurface microbiology. In: Fredrickson J K, Fletcher M, eds. *Subsurface Microbiology and Biogeochemistry*. New York: Wiley-Liss, 2001. 3–37
- 10 Krumholz L. Microbial communities in the deep subsurface. *Hydrogeol J*, 2000, 8: 4–10
- 11 Parkes R J, Cragg B A, Wellsbury P. Recent studies on bacterial populations and processes in subseafloor sediments: A review. *Hydrogeol J*, 2000, 8: 11–28
- 12 Parkes R J, Wellsbury P. Deep biospheres. In: Bull A T, ed. *Microbial Diversity and Bioprospecting*. Washington DC: ASM Press, 2004. 120–129
- 13 Jørgensen B B, D'Hondt S. A starving majority deep beneath the seafloor. *Science*, 2006, 314: 932–935
- 14 Jørgensen B B, Boetius A. Feast and famine—Microbial life in the deep-sea bed. *Nature Rev Microbiol*, 2007, 5: 770–781
- 15 Parkes R J, Wellsbury P, Mather I D, et al. Temperature activation of organic matter and minerals during burial has the potential to sustain the deep biosphere over geological timescales. *Org Geochem*, 2007, 38: 845–852
- 16 Teske T, Sørensen K B. Uncultured archaea in deep marine subsurface sediments: Have we caught them all? *ISME J*, 2008, 2: 3–18
- 17 Onstott T C. New horizons for deep subsurface microbiology. *Microbe*, 2009, 4: 499–505
- 18 Mével C. Serpentinization of abyssal peridotites at mid-ocean ridges. *C R Geosci*, 2003, 335: 825–852
- 19 Bach W, Edwards K J, Hayes J M, et al. Energy in the Dark: Fuel for life in the deep ocean and beyond. *EOS Trans AGU*, 2006, 87: 73
- 20 Elderfield H, Schultz A. Mid-ocean ridge hydrothermal fluxes and the chemical composition of the ocean. *Annu Rev Earth Planet Sci*, 1996, 24: 191–224
- 21 Fisk M R, Giovannoni S J, Thorseth I H. Alteration of oceanic volcanic glass: Textural evidence of microbial activity. *Science*, 1998, 281: 978–980
- 22 Bach W, Humphris S, Fisher A. Fluid flow and fluid-rock interaction within the oceanic crust: Reconciling geological, geochemical, and geophysical observations. In: Wilcock W S D, DeLong E F, Kelley D S, et al, eds. *The Subseafloor Biosphere at Mid-Ocean Ridges*. Washington DC: American Geophysical Union, 2004. 99–117
- 23 Teske A P. Microbial communities of seep marine subsurface sediments: Molecular and cultivation surveys. *Geomicrobiol J*, 2006, 23: 357–368
- 24 Johnson H P, Piuze M J. Fluxes of fluid and heat from the oceanic crustal reservoir. *Earth Planet Sci Lett*, 2003, 216: 565–574
- 25 Wheat C G, Jannasch H W, Kastner M, et al. Seawater transport and reaction in upper oceanic basaltic basement: Chemical data from continuous monitoring of sealed boreholes in a midocean ridge flank environment. *Earth Planet Sci Lett*, 2003, 216: 549–564
- 26 Bach W, Edwards K J. Iron and sulfide oxidation within the basaltic ocean crust: Implications for chemolithoautotrophic microbial biomass production. *Geochim Cosmochim Acta*, 2003, 67: 3871–3887
- 27 Cowen J P. Fluids from aging ocean crust that support microbial life. *Science*, 2003, 203: 120–123
- 28 Amend J P, Teske A. Expanding frontiers in deep subsurface microbiology. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol*, 2005, 219: 131–155
- 29 Parkes R J, Cragg B A, Bale S J, et al. Deep bacterial biosphere in Pacific Ocean sediments. *Nature*, 1994, 371: 410–413
- 30 D'Hondt S, Rutherford S, Spivack A J. Metabolic activity of subsurface life in deep-sea sediments. *Science*, 2002, 295: 2067–2070
- 31 D'Hondt S, Jørgensen B B, Miller D J, et al. Distributions of microbial activities in deep subseafloor sediments. *Science*, 2004, 306: 2216–2221
- 32 Schippers A, Neretin L N, Kallmeyer J, et al. Prokaryotic cells of the deep sub-seafloor biosphere identified as living bacteria. *Nature*, 2005, 433: 861–864
- 33 Biddle J F, Lipp J S, Lever M A, et al. Heterotrophic archaea dominate sedimentary subsurface ecosystems off Peru. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 3846–3851
- 34 Inagaki F, Nunoura T, Nakagawa S, et al. Biogeographical distribution and diversity of microbes in methane hydrate-bearing deep marine sediments on the Pacific Ocean Margin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103: 2815–2820
- 35 Santelli C M, Orcutt B N, Banning E, et al. Abundance and diversity of microbial life in ocean crust. *Nature*, 2008, 453: 653–656
- 36 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

- 37 Wellsbury P, Mather I, Parkes R J. Geomicrobiology of deep, low organic carbon sediments in the Woodlark Basin, Pacific Ocean. *FEMS Microbiol Ecol*, 2002, 42: 59–70
- 38 Davis B D, Luger S M, Tai P C. Role of ribosome degradation in the death of starved *Escherichia coli* cells. *J Bacteriol*, 1986, 166: 439–445
- 39 Roussel E G, Bonavita M A C, Querellou J, et al. Extending the sub-sea-floor biosphere. *Science*, 2008, 320: 1046
- 40 Engelen B, Ziegmüller K, Wolf L, et al. Fluids from the oceanic crust support microbial activities within the deep biosphere. *Geomicrobiol J*, 2008, 25: 56–66
- 41 Holland M E, Baross J A. Limits of life in hydrothermal systems. In: Halbach P E, Tunncliffe V, Hein J R, eds. *Energy and Mass Transfer in Marine Hydrothermal Systems*. Berlin: Dahlem University Press, 2003. 235–248
- 42 Cowan J P. The microbial biosphere of the sediment-buried oceanic basement. *Res Microbiol*, 2004, 155: 497–506
- 43 Cypionka H. Oxygen respiration by *Desulfovibrio* species. *Annu Rev Microbiol*, 2000, 54: 827–848
- 44 Amend J P, Shock E L. Energetics of overall metabolic reactions of thermophilic and hyperthermophilic archaea and bacteria. *FEMS Microbiol Rev*, 2000, 25: 175–243
- 45 Burdige D J. Preservation of organic matter in marine sediments: Controls, mechanisms, and an imbalance in sediment organic carbon budgets. *Chem Rev*, 2007, 107: 467–485
- 46 Schulte M, Blake D, Hoehler T, et al. Serpentinization and its implications for life on the early Earth and Mars. *Astrobiology*, 2006, 2: 364–376
- 47 Cardace D, Hoehler T M. Serpentinizing fluids craft microbial habitat. *Northeast Nat*, 2009, 16: 272–284
- 48 Hostetler P B, Coleman R G, Mumpton F A, et al. Brucite in alpine serpentinites. *Am Mineral*, 1966, 51: 75–98
- 49 Lin L H, Slater G F, Sherwood L B, et al. The yield and isotopic composition of radiolytic H₂, a potential energy source for the deep subsurface biosphere. *Geochim Cosmochim Acta*, 2005, 69: 893–903
- 50 Schwarz E, Friedrich B. The H₂-metabolizing prokaryotes. In: Dworkin M, ed. *The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community*. 3rd ed. New York: Springer-Verlag, 2003. <http://link.springer.com/link/service/books/10125/>
- 51 Stevens T O, McKinley J P. Lithoautotrophic microbial ecosystems in deep basalt aquifers. *Science*, 1995, 270: 450–454
- 52 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
- 53 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
- 54 Amend J P, Rogers K L, Shock E L, et al. Energetics of chemolithoautotrophy in the hydrothermal system of Vulcano Island, southern Italy. *Geobiology*, 2003, 1: 37–58
- 55 Fang J, Bazylnski D A. Deep-sea geomicrobiology and biogeochemistry. In: Michiels C, Bartlett D H, Aertsen A, eds. *High-Pressure Microbiology*. Washington DC: American Society for Microbiology, 2008. 219–264
- 56 Fang J, Zhang L, Bazylnski D A. Deep-sea piezosphere and piezophiles: Geomicrobiology and biogeochemistry. *Trends Microbiol*, 2010, 18: 413–422
- 57 Gold T, Soter S. Abiogenic methane and the origin of petroleum. *Energy Explor Exploit*, 1982, 1: 89–104
- 58 Shock E L. Geochemical constraints on the origin of organic compounds in hydrothermal systems. *Orig Life Evol Biosph*, 1990, 20: 331–367
- 59 McCollom T M, Ritter G, Simoneit B R T. Lipid synthesis under hydrothermal conditions by Fischer-Tropsch-type reactions. *Orig Life Evol Biosph*, 1999, 29: 153–166
- 60 Wheat C G, Elderfield H, Mottl M J, et al. Chemical composition of basement fluids within an oceanic ridge flank: Implications for along-strike and across-strike hydrothermal circulation. *J Geophys Res*, 2000, 105: 13437–13447
- 61 Fang J, Barcelona M J. Structural determination and quantitative analysis of bacterial phospholipids using liquid chromatography/electrospray ionization/mass spectrometry. *J Microbiol Methods*, 1998, 33: 23–35
- 62 Lipp J S, Hinrichs K U. Structural diversity and fate of intact polar lipids in marine sediments. *Geochim Cosmochim Acta*, 2009, 73: 6816–6833
- 63 Pernthaler A, Pernthaler J, Amann R. Fluorescence in situ hybridization and catalyzed reporter deposition for the identification of marine bacteria. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68: 3094–3101