https://doi.org/10.3799/dqkx.2017.579



不同状态嗜盐古菌细胞及羧基微球诱导白云石沉淀

药彦辰^{1,2},邱 轩^{1,2},王红梅^{1,2*},段 勇^{1,2}

1.中国地质大学生物地质与环境地质国家重点实验室,湖北武汉 430074
2.中国地质大学环境学院,湖北武汉 430074

摘要:白云石是沉积岩中广泛存在的碳酸盐矿物,其成因机制一直备受关注.野外调研发现现生白云石多分布于高盐环境,模 拟实验也表明嗜盐微生物能诱导形成白云石,但微生物诱导白云石沉淀的机理仍不明确.分别用嗜盐古菌 Natrinema sp. J7-1 对数后期的活细胞、失去代谢活性的 J7-1 完整细胞(经线粒体氧化磷酸化解偶联剂处理)、表面蛋白质变性的 J7-1 细胞(经多 聚甲醛和戊二醛处理)和表面富含羧基的微球,在盐度为 280%的沉淀体系中诱导白云石沉淀.分别利用 X 射线衍射(XRD)分 析矿物的物相,扫描电子显微镜(SEM)分析矿物、微生物以及羧基微球的形貌,傅立叶红外光谱(FT-IR)分析细胞变性前后表 面的官能团.结果表明,失去代谢活性的 J7-1 细胞与正常的对数后期细胞均能够诱导原白云石形成;经过多聚甲醛/戊二醛固 定后,细胞表面羧基含量降低,不能诱导白云石沉淀;羧基微球能够诱导形成原白云石.以上研究证实细胞表面的羧基可能是 微生物促进白云石沉淀的一种关键因素,而细胞的生长代谢在本研究的条件下不是控制白云石沉淀的主要因素. 关键词:白云石;嗜盐古菌;羧基;微生物;矿物学.

中图分类号: P571 **文章编号:** 1000-2383(2018)02-0449-10

Dolomite Formation Mediated by Halophilic Archaeal Cells under Different Conditions and Carboxylated Microspheres

收稿日期:2017-10-02

Yao Yanchen^{1,2}, Qiu Xuan^{1,2}, Wang Hongmei^{1,2*}, Duan Yong^{1,2}

1. State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China 2. School of Environmental Sciences, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China

Abstract; Dolomite is a widespread carbonate mineral in sedimentary rocks, and its formation mechanism have always attracted much attention. Most modern dolomite occurred in hypersaline environments and several microbial isolates from these environments have been reported to be able to induce dolomite formation as well. However the detailed mechanism of microbial induced dolomite remains largely unclear to date. In this study, a halophilic archaea, *Natrinema* sp. J7-1, was used to investigate what exactly played an important role in the microbial dolomite formation. Normal cells of *Natrinema* sp. J7-1 in post-log phase, in-active cells treated with carbonyl cyanide 3-cholorophenylhydrazine (CCCP, amitochondrial inhibitor), denatured cells treated by paraformaldehyde and glutaraldehyde, as well as carboxylated microspheres were used to induce dolomite formation. The mineral phases were identified by X-ray Diffraction(XRD), the morphologies of minerals, cells and microspheres were observed by Scanning Electron Microscope(SEM) and the functional groups on the surface of normal cells and denatured cells were analyzed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy(FT-IR). Results showed that normal cells, inactive cells and carboxylated microspheres induced proto-dolomite formation successfully at the salinity of 280‰. In contrast, denatured cells were not capable of inducing the formation of dolomite, and the percentage of carboxyl groups on their surface decreased compared with normal cells. It can be concluded that carboxyl is one critical factor for microbially mediated dolomite formation, but respiration

基金项目:国家自然科学基金项目(Nos.41502317,41130207);中国地质大学(武汉)生物地质与环境地质国家重点实验室开放基金(No.GBL21503). 作者简介:药彦辰(1993-),硕士研究生,主要研究微生物与矿物相互作用.ORCID:0000-0002-7605-3614.E-mail:yyc_cug@163.com * 通讯作者:王红梅,ORCID:0000-0001-7621-7810.E-mial:hmwang@cug.edu.cn

may count for little under our conditions.

Key words: dolomite; halophilic archaea; carboxyl; microorganism; mineralogy.

0 引言

白云石[CaMg(CO₃)₂]是碳酸盐岩重要的成岩 矿物.与方解石类似,白云石也属于三方晶系矿物, 但在其晶体 c 轴方向上钙离子层和镁离子层交替排 列,形成互层结构,即有序白云石(Gregg et al., 2015; Hendry et al., 2014). 白云石在前寒武纪沉积 岩中有较高丰度且分布广泛;在显生宙沉积岩中的 丰度呈现波动式下降趋势;虽然现代大洋对白云石 过饱和,但鲜有白云石沉积出现(王勇,2006;张学丰 等,2006;李波等,2010).自法国博物学家 Deodal de Dolomieu 在 1791 年首次描述白云石矿物以来,科 学家们从未停止对白云石的探究,到目前为止,通过 模拟实验在常温常压条件下合成的均为原白云石, 即无序白云石.白云石成因问题至今仍然困扰着地 质学家,成为一个未解之谜,即"白云石之谜"(Vasconcelos et al., 1995; Land, 1998; Warren, 2000; 梅 冥相,2012;Huang et al.,2014).

近二十年来,具备沉淀白云石能力的微生物纯 菌株被陆续报道,包括硫酸盐还原菌(Vasconcelos and McKenzie,1997;Bontognali et al.,2013)、嗜盐 菌(Sánchez-Román et al., 2009; Deng et al., 2010; Kenward et al., 2013) 和产甲烷菌(Roberts et al., 2004; Kenward et al., 2009). 野外调查也发现 Coorong 潟湖(Wright,1999)、萨布哈海滨(Bontognali et al., 2010)、冷泉(卞友艳和陈多福, 2014)、盐湖 (夏文杰和李秀华,1986;于炳松等,2007)等环境中 的现生白云石均受微生物作用影响,由此发展出白 云石沉积的"微生物模式",并逐渐被广泛认可 (McKenzie and Vasconcelos, 2009;李红和柳益群, 2013). 微生物一方面可以通过代谢作用改变水体的 理化条件,如呼吸作用影响水体 pH 值和碱度等,进 而影响矿物的饱和度,营造有利于白云石沉淀的环 境(Sánchez-Román et al., 2009; Diaz-Pulido et al., 2014);另一方面,微生物细胞壁及胞外聚合物 (EPS)等均带负电,能够吸附金属阳离子,进而为白 云石提供初始成核位点,促进其矿化过程(王红梅 等,2013).微生物的媒介作用使白云石克服低温动 力学障碍,从而在近地表温压条件下得以沉淀(Xie et al., 2016).

地质历史时期的白云岩沉积多发生于蒸发岩环

境(Adams and Rhodes, 1960; 李红等, 2013), 而现 生白云石沉积也主要分布在超咸水或咸水环境(由 雪莲等,2011;李红和柳益群,2013),或者盐度波动 环境(Wright, 1999; Rivers et al., 2012); 另外, 室内 模拟微生物诱导形成白云石也主要实现于高盐条件 (Vasconcelos et al., 1995; Warthmann et al., 2005; Kenward et al., 2009; Sánchez-Román et al., 2009; Bontognali et al., 2010; Deng et al., 2010).上述研 究表明微生物促进白云石沉积与水体盐度有关.该 理论也可用于解释青海湖的盐壳白云岩(夏文杰和 李秀华,1986)、石盐底劈构造中的白云石(Al-Aasm and Abdallah,2006)以及各类蒸发岩环境中的白云 石沉积.而微生物在高盐条件下合成的富羧基有机 质可能是其促进白云石沉淀的关键所在.有研究表 明羧基官能团可能对促进白云石沉淀具有重要作用 (Zhang et al., 2012a; Roberts et al., 2013).

嗜盐微生物是高盐环境中的优势种群,它们通 过合成大量的酸性氨基酸以适应环境,主要表现在 以下3个方面:(1)绝大多数嗜盐古菌细胞表面均被 糖蛋白颗粒组成的壳体覆盖(Sleytr et al., 2014), 这类糖蛋白富含酸性氨基酸,包括天门冬氨酸和谷 氨酸,使得细胞表面带负电荷,束缚带正电荷的钠离 子等进入细胞,维持细胞的结构完整(王伟伟等, 2015);(2)部分革兰氏阴性嗜盐菌在胞内合成并累 积谷氨酸提高胞内渗透压(Saum et al., 2006);(3) 嗜盐菌特有的嗜盐酶中酸性氨基酸的百分含量远高 于非嗜盐类型的同源酶,使得该酶蛋白在高盐环境 中更具柔韧性(Graziano and Merlino, 2014).酸性氨 基酸分子(谷氨酸/谷氨酰胺、天冬氨酸/天冬酰胺) 各具有2个羧基,脱水缩合形成蛋白质后仍然会有 自由羧基存在.另外,有报道表明微生物在高盐环境 下会大量合成脂肪酸,也富含羧基官能团(Qiu et al., 2012).

此前,我们利用三株嗜盐古菌在不同的盐度条件下成功诱导形成白云石,发现盐度和嗜盐古菌的 细胞浓度等对微生物诱导白云石具有重要影响,推 测与实验体系之中的羧基浓度有关(段勇等,2017), 但嗜盐微生物促进白云石沉淀的主要因素如羧基在 白云石形成中的作用尚未得到验证.本文选取嗜盐 古菌 Natrinema sp. J7-1 为对象,重点考察嗜盐微 生物的生理代谢活动(呼吸作用)是否是促进白云石 沉淀的必要条件,嗜盐微生物为适应高盐环境而产 生的富羧基有机质是否具备沉淀白云石的能力,仅 含有羧基官能团的有机分子在高盐条件下是否能够 促进白云石的形成,从而为解开"白云石之谜"提供 实验依据.

1 材料与方法

1.1 细胞培养

本文选用一株极端嗜盐古菌 Natrinema sp. J7-1 作为典型菌株,该菌株由武汉大学陈向东教授 提供.改变 MGM 培养基(Zhang et al., 2012b)中 NaCl的用量,配制盐度为 280% 的液体培养基,每 升培养基的成分为:NaCl 256.58 g,MgCl₂ · 6H₂O 18.00 g,MgSO₄ · 7H₂O 21.00 g,KCl 4.20 g,蛋白 胨 5.00 g,酵母提取物 3.00 g,CaCl₂ · 2H₂O 0.74 g. 用 1.00 mol/L 的 NaOH 溶液将其 pH 调至 7.50,采 用 121 ℃高温灭菌 20 min.向上述每升培养基中添 加琼脂粉 15.00 g,即为琼脂培养基,灭菌后制备琼 脂平板备用.

按照 1%的接种量接种 Natrinema sp. J7-1 于 液体培养基,置于恒温摇床中,150 rpm,45 ℃培养 40 h 至对数后期.用新鲜培养基进行梯度稀释,取稀 释 10⁵、10⁶、10⁷的菌液各 50 μ L 分别涂布 3 块平板, 用封口膜封好,45 ℃倒置培养,每隔 24 h 观察平板 并计数.

1.2 沉淀实验

1.2.1 正常细胞 称取 NaCl 148.12 g、MgCl₂ • 6H₂O 11.95 g、CaCl₂ • 2H₂O 0.87 g, 用超纯水定容 至 500 mL 配制成 Mg/Ca 为 10.0 的细胞洗液.取培 养至对数后期的 Natrinema sp. J7-1 细胞,5 000× g 离心 10 min 收集菌体.用洗液洗涤菌泥,5000×g 离心 10 min 除去上清.重复洗涤 3 次后,再用洗液 将细胞重悬至 OD₆₀₀ = 2.5. 取重悬细胞液 18 mL 置 于 50 mL 离心管中,加入 0.20 mol/L 的 Na₂CO₃ 溶 液 2 mL. 空白对照组则取 18 mL 洗液, 加入 0.20 mol/L的 Na₂CO₃ 溶液 2 mL.再置于45 ℃摇床 中、以 150 rpm 震荡 72 h.1 000×g,2 min;3 000× g,2 min;7 000×g,5 min 程序离心收集矿物.加入 20.00 mL超纯水洗涤细胞,1000×g,2 min;3000× g,2 min;7 000×g,5 min.重复洗涤一次.将最后收 集的沉淀置于-80℃冰箱预冻后冷冻干燥.

1.2.2 失活细胞 将 100 mg 线粒体氧化磷酸化解 偶联剂(carbonyl cyanide 3-cholorophenylhydra-

zone, CCCP) 粉末溶于 4.89 mL 二甲基亚砜 (DSMO)中,配制成 100 mmol/L 的 CCCP 试剂,置 于4℃冰箱中冷藏保存.取培养至对数后期的 Natrinema sp. J7-1 细胞,用 ATP 荧光测试仪测定 培养液中菌体的 ATP 活性.5 000×g,离心 10 min 收集菌体,用1.2.1节中细胞洗液将其重悬至 OD600 = 2.5.取 20 mL 细胞重悬液,加入100 mmol/L 的 CCCP 试剂 20 μL,摇匀,室温下静置作用 4 h 后, 测定菌体的 ATP 活性.从中取 18 mL 菌体悬液,加 人 2 mL 0.20 mol/L 的 Na₂CO₃ 溶液.空白对照组则 取 20 ml 洗液,加入 100 mmol/L 的 CCCP 试剂 20 μL,摇匀,室温下静置作用 4 h 后,从中取 18 mL 溶液,加入2mL 0.20 mol/L的 Na₂CO₃ 溶液.再置 于 45 ℃ 摇床中、以 150 rpm 震荡 72 h.按 1.2.1 节中 的方法程序离心,收集并洗涤矿物,然后冷冻干燥 备用.

1.2.3 变性细胞 分别称取 NaCl 26.15 g、 MgCl₂ • 6H₂O 3.85 g、CaCl₂ • 2H₂O 0.07 g,溶于 100 mL 1.5% 多聚甲醛和 2.5% 戊二醛混合液中, 配 制成盐度为280%的细胞固定液,置于4℃冰箱中 冷藏备用.取培养至对数后期的 Natrinema sp. J7-1 细胞,5000×g,离心10min收集菌体,用细胞固定 液重悬固定 4 h. 再 5 000×g, 离心 10 min, 倒去上 清,加入1.2.1节中细胞洗液,重复离心洗涤3次.用 细胞洗液将其重悬至 OD600 = 2.5, 取 18 mL 固定后 的细胞悬液,加入 0.20 mol/L的 Na_2CO_3 溶液 2 mL.空白对照组则取 18 mL 洗液,加入 0.20 mol/ L 的 Na₂CO₃ 溶液 2 mL. 置于 45 ℃ 摇床中、以 150 rpm震荡沉淀 72 h.按 1.2.1 节中的方法增速离 心收集并洗涤矿物后,冷冻干燥样品备用.

1.2.4 羧基微球 利用直径为 0.82 µm 的 PC03N/ 9759 型号羧基微球 (购置于 Bangs Laboratories, Inc)模拟细胞诱导白云石沉淀.称取 NaCl 26.66 g、 MgCl₂ • 6H₂O 2.15 g、CaCl₂ • 2H₂O 0.16 g,溶解于 80 mL 超纯水中,加入 PC03N/9759 羧基微球 30 µL,用1 mol/L 的 NaOH 调节 pH 至 6.0,再加 入超纯水至 90 mL,加入 0.20 mol/L 的 Na₂CO₃ 溶 液 10 mL,配置成盐度为 280%、Mg/Ca 为 10.0、羧 基微球浓度为 108 个/mL 的沉淀体系 100 mL.空白 对照组则称取 NaCl 26.66 g、MgCl₂ • 6H₂O 2.15 g、 CaCl₂ • 2H₂O 0.16 g,溶解于 80 mL 超纯水中,用 1 mol/L的 NaOH 调节 pH 至 6.0,再加入超纯水至 90 mL,加入 0.20 mol/L 的 Na₂CO₃ 溶液 10 mL.置 于温度为 45 ℃、转速为 150 rpm 的条件下震荡沉淀 72 h 后,按 1.2.1 节中的方法增速离心收集并洗涤 矿物后,冷冻干燥样品备用.

1.3 分析方法

1.3.1 SEM 形态表征 为了观察细胞形态,需要将 细胞进行预先固定.具体步骤如下:取 10 µL 0.1 g/ mL的聚-L-赖氨酸(poly-L-lysine)滴于载物片上并 涂匀,静置 15 min,滴上 5 µL 细胞样品并静置 15 min.用提前配制好的 1.5% 多聚甲醛和 2.5% 戊 二醛的细胞固定液固定 60 min,然后依次用浓度为 25%、50%、75%、90%乙醇梯度脱水处理,每次 30 min,再用 100% 无水乙醇处理 3次,每次60 min, 随后利用超临界点干燥仪(K850,QUORUM,英 国)干燥样品.用碳导电双面胶将载物片粘在电镜载 物台上,镀铂.对于沉淀的矿物粉末样品,直接取少 量粘到碳导电双面胶上,镀铂.利用 Hitachi SU8010 场发射扫描电子显微镜(SEM)观察细胞和矿物形 貌,利用能量衍射谱(EDS)分析元素组成.电镜观察 和能谱分析过程中电压均为 15 kV,激发电子束为 $30 \sim 40 \ \mu A.$

1.3.2 XRD 物相分析 将沉淀矿物样品研磨成粉 并压片,利用 X 射线衍射仪(AXS D8-Focus, Bruker, 德国)进行物相测定.采用 Cu 靶 Kα 射线, Ni 滤波 λ= 1.540 598 Å,电压 40 kV,电流 40 mA,选用 LynxEye 192 位阵列探测器,扫描角度 2*θ* 范围为5°~70°,扫描 速度为 12°/min.所得数据通过Jade 6.5进行矿物相的 鉴定分析;通过 *d*₁₀₄ 值计算白云石中 Mg 含量(Goldsmith *et al.*,1961;Zhang *et al.*,2010).

1.3.3 FT-IR 利用傅立叶变换红外光谱仪(6700, Nicolet,美国)分析 Natrinema sp. J7-1 细胞变性前 后表面的官能团.按 2.2.3 节中方法收集对数后期固 定前后的细胞,置于烘箱中 60 ℃温度下干燥 24 h (Liu et al., 2015).取 2 mg 干燥的细胞样品和 200 mg干燥的 KBr 粉末,混合均匀并研成粉末,装 入模具,用约 105 Pa 压力在油压机上压制成片,测 定其红外透射率.扫描波数范围为4 000~500 cm⁻¹. 使用 Omnic 8.2 软件分析其官能团组成.

2 实验结果

2.1 细胞浓度

根据 Natrinema sp. J7-1 菌液稀释涂布平板结 果计算可得,对数生长后期的细胞浓度为 4.8×10^8 个/mL .离心收集菌体重悬时,每 300 mL 菌液最终 可得到 40 mL 浓度为 OD₆₀₀ = 2.5 的重悬液,因此, 根据体积对应关系,沉淀体系中的细胞浓度约为 3.6×10^9 个/mL.

2.2 细胞活性

经 CCCP 处理的细胞重悬液的 ATP 值与无菌水



图 1 不同处理下的 Natrinema sp. J7-1 细胞及其诱导形成的矿物 Fig.1 The Natrinema sp. J7-1 cells with different treatments and the precipitates they induced a.对数后期的 Natrinema sp. J7-1 细胞;b.CCCP 处理后的 Natrinema sp. J7-1 细胞;c.经 1.5%多聚甲醛和 2.5%戊二醛固定后的 Natrinema sp. J7-1 细胞;d.图 a 中细胞诱导形成的矿物;e.图 b 中细胞诱导形成的矿物;f.图 c 中细胞在沉淀体系中形成的矿物

表1 不同处理的样品的 ATP 测量值

Table 1 ATP values of samples with different treatments

光 日	ATP 值(RLU's)			
作于印	А	В	С	平均值
无菌水	0	0	0	0
280%洗液	0	0	0	0
细胞培养液	686	604	624	638
细胞重悬液	$13\ 780$	$14 \ 516$	$16\ 067$	$14\ 788$
CCCP 处理的细胞重悬液	0	0	0	0

以及洗液一样,均为0,表明 Natrinema sp. J7-1 细胞的线粒体活性受到彻底抑制(表1).细胞重悬液的ATP 荧光读数的平均值为14788,远远高于细胞培养液的平均值(638),原因在于前者的细胞浓度高.

2.3 细胞与矿物形态

Natrinema sp. J7-1 细胞为杆状,直径为0.4~ 0.7 μm,杆长为 0.8~3.0 μm(图 1a~1c).正常的对 数后期细胞(图 1a)、CCCP 处理后的失活细胞(图 1b)和细胞固定液固定后的变性细胞(图 1c)三者均 结构完整,形态并未发生明显改变.正常细胞和 CCCP 处理后的细胞在沉淀体系中诱导产生的矿物 (图 1d,1e)均为较规则的球形、哑铃形和球形聚集 体,球体直径为 5~10 μm,表面有部分凹陷,能谱元 素分析得出其 Mg/Ca 分别为 1.03(图 1d)和0.92(图 1e).而经细胞固定液固定后的细胞在沉淀体系中诱 导产生的矿物(图 1f)则呈现不规则形状,如萎片状 和针簇状等,能谱元素分析得出其 Mg/Ca 为 0.10 (图 1f).

羧基微球的形态(图 2a)及其诱导形成的矿物 如图 2 所示.浓度为 10⁸ 个/mL 的羧基微球诱导形 成的矿物呈似球状,能谱分析得出其 Mg/Ca 为 0.75 (图 2b).

2.4 矿物组分鉴定

XRD 结果显示培养到对数后期的 Natrinema sp. J7-1 细胞和经 CCCP 处理后的 Natrinema sp. J7-1 细胞均能诱导形成原白云石(图 3a, 3b),其 d₁₀₄值分别为 2.919 3(图 3a)和 2.910 3(图 3b),其 Mg 含量分别为 40%和 42%.而使用多聚甲醛和戊 二醛固定后的 Natrinema sp. J7-1 细胞不能诱导形 成白云石,其主要矿物为文石(图 3c).羧基微球诱导 形成的矿物则主要为文石和原白云石,原白云石 d₁₀₄值为 2.902 1,Mg 含量为 44%(图 3d).空白对照 沉淀体系直接沉淀形成的矿物则都是文石(图 3e).

2.5 细胞表面结构

正常的 Natrinema sp. J7-1 细胞和固定后 Natrinema sp. J7-1 细胞的傅立叶红外光谱及其特 征吸收峰相对应的官能团分别如图 4 和表 2 所示. 在 3 500~3 400 cm⁻¹ 处有强度大且宽的双峰,为酰 胺类化合物的 N-H 伸缩振动;1 638 cm⁻¹ 处的尖峰 为酰胺中的 C = O 伸缩振动,即酰胺 I 峰; 1554 cm⁻¹处的吸收峰为酰胺中的 N-H 变形振 动,即酰胺Ⅱ峰,固定后的细胞较正常细胞酰胺的特 征峰更强.在1400 cm⁻¹左右的特征峰为羧基官能 团中的 C=O 对称伸缩振动,细胞固定后该处特征 峰明显减弱.在1242 cm⁻¹左右的小峰来自于构成 核酸的磷酰基中的 P=O 非对称伸缩振动.在波数 为1200~900 cm⁻¹的范围内,有多糖和脂类中的 C-O-C、C-O-P、P-O-P 振动,1 100 cm⁻¹左 右的特征峰可能来自于磷酰基中的 P=O 非对称伸 缩振动和多糖中的 C-OH 伸缩振动,固定后的细 胞在该处的特征峰急剧减弱并向低频发生偏移.



图 2 羧基微球及其诱导形成的矿物 Fig.2 Morphologies of carboxylated microspheres and the minerals they induced a.0.82 μm 羧基微球;b.浓度为 10⁸ 个/ mL 的羧基微球诱导形成的矿物





Fig.3 Mineral XRD patterns of the precipitates induced by *Natrinema* sp. J7-1 with different treatments and carboxylated microspheres

a.对数生长后期的正常细胞;b.CCCP处理后的失活细胞;c.经 1.5%多聚甲醛和2.5%戊二醛固定后的变性细胞;d.羧基微球;e. 空白对照



- 图 4 正常 Natrinema sp. J7-1 细胞和经固定处理后 Natrinema sp. J7-1 细胞的 FT-IR 图谱
- Fig.4 FT-IR spectra of normal cells and fixed cells of Natrinema sp. J7-1

3 讨论

3.1 嗜盐古菌 J7-1 促进白云石沉淀的主控因素

正常的 Natrinema sp. J7-1 细胞与通过 CCCP 抑制线粒体活性的 Natrinema sp. J7-1 细胞的沉淀

实验结果显示,无论是活细胞还是代谢活动受到抑 制的细胞,均能够诱导白云石沉淀(图 3a,3b),表明 在本研究的实验条件下,嗜盐微生物通过呼吸作用 产生二氧化碳从而影响碳酸根浓度并非是其促进白 云石沉淀的必要条件.利用生物固定液处理使细胞 表面蛋白质变性的 Natrinema sp. J7-1 细胞则不能 诱导白云石形成,其诱导形成的沉淀物与化学空白 对照实验组相同(图 3c,3d),均为文石,表明细胞表 面的原有结构在嗜盐微生物促进白云石沉淀的过程 中起到了关键作用.嗜盐古菌 Natrinema sp. J7-1 在细胞表面具有 S-层(即 surface layer, S-layer),它 是绝大多数古菌以及多种细菌表面都具有的一种被 膜结构(Albers and Meyer, 2011; Mei et al., 2015). 该结构由单层同种蛋白或糖蛋白颗粒构成,自组装 形成细胞表面的保护层(Sumper et al., 1990).FT-IR 的结果显示, Natrinema sp. J7-1 细胞表面主要 存在来自于糖蛋白中的酰胺基、羧基和磷酰基官能 团等.细胞经过多聚甲醛和戊二醛固定处理后,其表 面官能团发生了改变,尤其是羧基官能团和磷酸基 官能团以及多糖的丰度明显减少并发生一定偏移 (图 4),进而影响细胞诱导的白云石形成.

因此,嗜盐微生物促进白云石沉淀的能力,很可能与嗜盐古菌细胞表面的糖蛋白中所含的多糖以及 羧基和磷酰基等有机官能团有关.研究表明多糖可以 通过氢键强力吸附于碳酸盐矿物表面,有助于减弱镁 离子和水分子之间的亲和力(Zhang et al.,2012a).当 盐度提高时,嗜盐微生物会通过调节自身生理活动产 生更多的羧基官能团等以维持细胞完整结构和正常 活动,进而吸附钙离子、镁离子并为白云石的形成提 供成核位点(Roberts et al.,2013;Bontognali et al., 2013).同时,高盐度也能够降低金属阳离子的水合作 用,释放更多的游离镁离子,有利于白云石的形成 (van Lith et al.,2002;Wang et al.,2016),这也能解释 为什么现生白云石全部出现在高盐环境中.

3.2 羧基官能团促进白云石沉淀的作用

研究表明,几种能够诱导白云石沉淀的微生物 (Methanobacterium formicicum, Halo feraxsul furifontis, Desul fovibrio sp.)细胞表面及其胞外聚 合物(EPS)均有较高的羧基密度,表明羧基可能在 白云石沉淀过程中起着重要作用(Kenward et al., 2013; Roberts et al., 2013; Voegerl, 2014).目前认 为羧基的一个重要功能是促进镁离子进入碳酸盐晶 格(Wang et al., 2009).由于具有相对低的酸度系数 (pKa≈4.7),在中性和碱性环境中羧基一直处于去

表 2 细胞固定前后 FT-IR 特征峰红外波长及其对应的官能团

Table 2 The infrared wave lengths of the typical peaks on the FTIR spectra of normal cells and fixed cells and the corresponding functional groups

吸收带	波数(cm ⁻¹)	官能团
1	$3\ 500 \sim 3\ 400$	酰胺类化合物中的 N-H 伸缩振动(Benning et al., 2004)
2	$\sim 1~638$	酰胺Ⅰ峰的 C=O 伸缩振动(Yee et al.,2004;Tourney et al.,2008)
3	$\sim 1 554$	酰胺Ⅱ峰的 N-H 变形振动(Yee et al.,2004; Tourney et al.,2008)
4	$\sim \! 1 400$	羧基官能团中的 C=O 对称伸缩振动(Yee et al.,2004;Dittrich and Sibler,2005;Heinrich et al.,2007;Leone et al.,2007)
5	~ 1242	磷酰基中的 P=O 非对称伸缩振动(Dittrich and Sibler,2005)
6	1 200~900	多糖和脂类中的 C-O-C,C-O-P,P-O-P 振动(Dittrich and Sibler,2005;Hadjoudja et al.,2010;Liu et al., 2015)
7	$\sim 1\ 100$	磷酰基中的 P=O 非对称伸缩振动和多糖中的 C-OH 伸缩振动(Jiang et al., 2004; Dittrich and Sibler, 2005)

离子化状态,是吸附钙、镁等阳离子的有效位点 (Voegerl,2014).研究表明,当溶液中同时含有钙、 镁离子时,羧基吸附的钙离子多于镁离子,使得溶液 中镁离子的活度增加,进而促进高镁方解石或白云 石的形成(Wang et al.,2009).另有研究表明,羧基 有可能减少 CaCO₃(aq)和MgCO₃(aq)形成过程中 的熵变差值,促使镁离子和钙离子等比例地进入矿 物晶格中,形成镁钙互层的结构(Kenward et al., 2013).然而,这两种迥异的作用机制还需要进一步 明确.笔者研究发现,仅有羧基官能团的微球也能诱 导原白云石形成,表明羧基对白云石沉淀具有重要 影响.

另外,笔者对比羧基微球与 Natrinema sp. J7-1细胞的沉淀结果发现,前者介导形成的矿物不 仅有原白云石,还有文石,而后者仅有原白云石.本 次研究的沉淀体系中盐度高,Mg/Ca 比值高,二者 均有利于文石形成(Ries,2010),但在含有细胞的实 验体系中却未发现文石,这有可能与细胞表面的磷 酰基官能团以及多糖等有关.有研究表明细菌所分 泌的胞外多糖对无序白云石的形成也具有催化作用 (Zhang et al.,2012b),因此在具有羧基、多糖等混 合体系中,原本应该形成的文石转变成了原白云石. 然而,相关的成矿过程和机理仍需要进一步验证.

4 结论

(1)CCCP 抑制线粒体活性的 Natrinema sp. J7-1 失活细胞与 Natrinema sp. J7-1 正常细胞均能诱导白 云石的生成,表明嗜盐微生物的细胞呼吸作用等生理 代谢活动不是其促进白云石沉淀的必要条件.

(2)多聚甲醛/戊二醛固定 Natrinema sp. J7-1 细胞使其表面蛋白变性后,其表面羧基和磷酰基含

量降低,不能诱导白云石沉淀,表明细胞表面糖蛋白 和蛋白质上的有机官能团如羧基和磷酰基等,是嗜 盐微生物促进白云石沉淀的主要原因.

(3)仅有羧基微球的体系仍然能够诱导白云石 沉淀,进一步表明羧基是微生物诱导白云石沉淀的 关键因素之一.

致谢:SEM 分析在中国地质大学(武汉)生物地 质与环境地质国家重点实验室完成,XRD 和 FT-IR 分析在中国地质大学(武汉)材料与化学学院完成, 特此致谢.同时感谢两位匿名审稿人的宝贵意见和 建议!

References

- Adams, J.E., Rhodes, M.L., 1960. Dolomitization by Seepage Refluxion. AAPG Bulletin, 44(12): 1912-1920. https://doi. org/10.1306/0bda6263-16bd-11d7-8645000102c1865d
- Al-Aasm, I.S., Abdallah, H., 2006. The Origin of Dolomite Associated with Salt Diapirs in Central Tunisia: Preliminary Investigations of Field Relationships and Geochemistry. *Jour*nal of Geochemical Exploration, 89(1-3):5-9.https:// doi.org/10.1016/j.gexplo.2005.11.069
- Albers, S.V., Meyer, B.H., 2011. The Archaeal Cell Envelope. Nature Reviews Microbiology, 9 (6): 414 - 426. https://doi.org/10.1038/nrmicro2576
- Benning, L.G., Phoenix, V.R., Yee, N., et al., 2004. The Dynamics of Cyanobacterial Silicification: An Infrared Micro-Spectroscopic Investigation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 68 (4): 743 - 757. https://doi.org/10. 1016/s0016-7037(03)00488-5
- Bian, Y. Y., Chen, D. F., 2014. Research Progress of Dolomite in Seep Carbonates. Bulletin of Mineralogy Petrology and Geochemistry, 33(2):238-246 (in Chinese with English abstract).
- Bontognali, T. R. R., McKenzie, J. A., Warthmann, R. J., et al.,

2013. Microbially Influenced Formation of Mg-Calcite and Ca-Dolomite in the Presence of Exopolymeric Substances Produced by Sulphate-Reducing Bacteria. *Terra Nova*, 26 (1):72-77.https://doi.org/10.1111/ter.12072

- Bontognali, T. R. R., Vasconcelos, C., Warthmann, R. J., et al.,2010.Dolomite Formation within Microbial Mats in the Coastal Sabkha of Abu Dhabi (United Arab Emirates). Sedimentology, 57 (3): 824 - 844. https://doi. org/10.1111/j.1365-3091.2009.01121.x
- Deng, S.C., Dong, H.L., Lü, G., et al., 2010. Microbial Dolomite Precipitation Using Sulfate Reducing and Halophilic Bacteria: Results from Qinghai Lake, Tibetan Plateau, NW China. Chemical Geology, 278(3-4):151-159. https://doi. org/10.1016/j.chemgeo.2010.09.008
- Diaz-Pulido, G., Nash, M.C., Anthony, K.R. N., et al., 2014. Greenhouse Conditions Induce Mineralogical Changes and Dolomite Accumulation in Coralline Algae on Tropical Reefs. *Nature Communications*, 5: 3310. https:// doi.org/10.1038/ncomms4310
- Dittrich, M., Sibler, S., 2005. Cell Surface Groups of Two Picocyanobacteria Strains Studied by Zeta Potential Investigations, Potentiometric Titration, and Infrared Spectroscopy. *Journal of Colloid and Interface Science*, 286(2):487-495.https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.01.029
- Duan, Y., Yao, Y.C., Qiu, X., et al., 2017.Dolomite Formation Facilitated by Three Halophilic Archaea.Earth Science, 42(3):389-396 (in Chinese with English abstract).https://doi.org/10.3799/dqkx.2017.029
- Graziano, G., Merlino, A., 2014. Molecular Bases of Protein Halotolerance. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)— Proteins and Proteomics, 1844(4):850-858.https://doi. org/10.1016/j.bbapap.2014.02.018
- Gregg, J.M., Bish, D.L., Kaczmarek, S.E., et al., 2015. Mineralogy, Nucleation and Growth of Dolomite in the Laboratory and Sedimentary Environment: A Review. Sedimentology, 62 (6): 1749 - 1769. https://doi.org/10. 1111/sed.12202
- Hadjoudja, S., Deluchat, V., Baudu, M., 2010. Cell Surface Characterisation of Microcystis Aeruginosa and Chlorella Vulgaris. Journal of Colloid and Interface Science, 342(2):293-299.https://doi.org/10.1016/j.jcis. 2009.10.078
- Heinrich, H. T. M., Bremer, P.J., Daughney, C.J., et al., 2007. Acid-Base Titrations of Functional Groups on the Surface of the Thermophilic BacteriumAnoxybacillusflavithermus: Comparing a Chemical Equilibrium Model with ATR-IR Spectroscopic Data. Langmuir, 23 (5): 2731-2740.https://doi.org/10.1021/la062401j

- Hendry, J.P., Gregg, J.M., Shelton, K.L., et al., 2014. Origin, Characteristics and Distribution of Fault-Related and Fracture-Related Dolomitization: Insights from Mississippian Carbonates, Isle of Man. Sedimentology, 62(3): 717-752. https://doi.org/10.1111/sed.12160
- Huang, S.J., Huang, K.K., Lv, J., et al., 2014. The Relationship between Dolomite Textures and Their Formation Temperature: ACase Study from the Permian-Triassic of the Sichuan Basin and the Lower Paleozoic of the Tarim Basin. *Petroleum Science*, 11(1): 39-51. https:// doi.org/10.1007/s12182-014-0316-7
- Jiang, W., Saxena, A., Song, B., et al., 2004. Elucidation of Functional Groups on Gram-Positive and Gram-Negative Bacterial Surfaces Using Infrared Spectroscopy.Langmuir, 20(26):11433-11442.https://doi.org/ 10.1021/la049043+
- Kenward, P. A., Fowle, D. A., Goldstein, R. H., et al., 2013. Ordered Low-Temperature Dolomite Mediated by Carboxyl-Group Density of Microbial Cell Walls. AAPG Bulletin, 97 (11): 2113 - 2125. https://doi.org/10. 1306/05171312168
- Kenward, P.A., Goldstein, R.H., González, L.A., et al., 2009. Precipitation of Low-Temperature Dolomite from an Anaerobic Microbial Consortium: The Role of Methanogenic Archaea. *Geobiology*, 7(5):556-565.https://doi. org/10.1111/j.1472-4669.2009.00210.x
- Land, L. S., 1998. Failure to Precipitate Dolomite at 25 °C fromDilute Solution Despite 1000-Fold Oversaturation after 32 Years. *Aquatic Geochemistry*, 4(3-4):361-368.https://doi.org/10.1023/a:1009688315854
- Leone, L., Ferri, D., Manfredi, C., et al., 2007. Modeling the Acid – Base Properties of Bacterial Surfaces: A Combined Spectroscopic and Potentiometric Study of the Gram-Positive Bacterium Bacillus Subtilis. Environmental Science & Technology, 41 (18): 6465 – 6471. https://doi.org/10.1021/es070996e
- Li, B., Yan, J. X., Liu, X. T., et al., 2010. The Organogenic Dolomite Model: Mechanism, Progress and Significance. *Journal of Palaeogeography*, 12(6): 699 - 710 (in Chinese with English abstract).
- Li, H., Liu, Y. Q., 2013. "Dolomite Problem" and Research of Ancient Lacustrine Dolostones. Acta Sedimentologica Sinica, 31(2):302-314 (in Chinese with English abstract).
- Li, H., Liu, Y.Q., Li, W.H., et al., 2013. The Microbial Precipitation of Lacustrine Dolomite from Permian Formation, Urumchi, Xinjiang, China. *Geological Bulletin of China*, 32 (4):661-670 (in Chinese with English abstract).

Liu, Y.X, Alessi, D.S., Owttrim, G.W., et al., 2015. Cell Sur-

face Reactivity of Synechococcus Sp.PCC 7002:Implications for Metal Sorption from Seawater. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 169: 30 - 44. https://doi.org/10. 1016/j.gca.2015.07.033

- Mckenzie, J. A., Vasconcelos, C., 2009. Dolomite Mountains and the Origin of the Dolomite Rock of WhichThey Mainly Consist: Historical Developments and New Perspectives. Sedimentology, 56(1):205-219.https://doi. org/10.1111/j.1365-3091.2008.01027.x
- Mei, M.X., 2012. Brief Introduction of "Dolostone Problem" in Sedimentology according to Three Scientific Ideas. *Journal of Palaeogeography*, 14(1): 1-12 (in Chinese with English abstract).
- Mei, Y.J., He, C.C., Huang, Y.C., et al., 2015. Salinity Regulation of the Interaction of Halovirus SNJ1 with Its Host and Alteration of the Halovirus Replication Strategy to Adapt to the Variable Ecosystem. *PLoS ONE*, 10 (4): e0123874. https://doi.org/10.1371/journal.pone. 0123874
- Qiu, X., Wang, H. M., Liu, D., et al., 2012. The Physiological Response of Synechococcus Elongatusto Salinity: A Potential Biomarker for Ancient Salinity in Evaporative Environments. *Geomicrobiology Journal*, 29(5):477-483. https://doi.org/10.1080/01490451.2011.581331
- Ries, J. B., 2010. Review: Geological and Experimental Evidence for Ssecular Variation in Seawater Mg/Ca(Calcite-Aragonite Seas) and Its Effects on Marine Biological Calcification. *Biogeosciences*, 7(9): 2795 – 2849. https://doi.org/10.5194/bg-7-2795-2010
- Rivers, J. M., Kurt Kyser, T., James, N. P., 2012. Salinity Reflux and Dolomitization of Southern Australian Slope Sediments: The Importance of Low Carbonate Saturation Levels. Sedimentology, 59:445-465. https://doi. org/10.1111/j.1365-3091.2011.01260.x
- Roberts, J.A., Bennett, P.C., González, L.A., et al., 2004. Microbial Precipitation of Dolomite in Methanogenic Groundwater. *Geology*, 32 (4): 277 - 280. https://doi. org/10.1130/g20246.2
- Roberts, J.A., Kenward, P.A., Fowle, D.A., et al., 2013. Surface Chemistry Allows for Abiotic Precipitation of Dolomite at Low Temperature. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 110(36):14540-14545.https://doi.org/10.1073/pnas.1305403110
- Sánchez-Román, M., McKenzie, J. A., de Luca Rebello Wagener, A., et al., 2009. Presence of Sulfate Does Not Inhibit Low-Temperature Dolomite Precipitation. Earth and Planetary Science Letters, 285(1-2):131-139.

https://doi.org/10.1016/j.epsl.2009.06.003

- Saum, S. H., Sydow, J. F., Palm, P., et al., 2006. Biochemical and Molecular Characterization of the Biosynthesis of Glutamine and Glutamate, Two Major Compatible Solutes in the Moderately Halophilic Bacterium Halobacillus Halophilus. *Journal of Bacteriology*, 188 (19): 6808-6815.https://doi.org/10.1128/jb.00781-06
- Sleytr, U.B., Schuster, B., Egelseer, E.M., et al., 2014. S-Layers: Principles and Applications. FEMS Microbiology Reviews, 38 (5): 823 - 864. https://doi.org/10.1111/ 1574-6976.12063
- Sumper, M., Berg, E., Mengele, R., et al., 1990.Primary Structure and Glycosylation of the S-Layer Protein of Haloferax Volcanii. Journal of Bacteriology, 172(12):7111-7118.https://doi.org/10.1128/jb.172.12.7111-7118.1990
- Tourney, J., Ngwenya, B.T., Fred Mosselmans, J.W., et al., 2008. The Effect of Extracellular Polymers (EPS) on the Proton Adsorption Characteristics of the Thermophile Bacillus licheniformis S-86.*Chemical Geology*, 247(1-2):1-15.https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2007.09.012
- van Lith, Y., Vasconcelos, C., Warthmann, R., et al., 2002. Bacterial Sulfate Reduction and Salinity: Two Controls on Dolomite Precipitation in Lagoa Vermelha and Brejo do Espinho (Brazil). *Hydrobiologia*, 485: 35 - 49. https://doi.org/10.1023/A:1021323425591
- Vasconcelos, C., McKenzie, J. A., 1997. Microbial Mediation of Modern Dolomite Precipitation and Diagenesis under Anoxic Conditions (Lagoa Vermelha, Rio de Janeiro, Brazil). Journal of Sedimentary Research, 67 (3): 378-390.https://doi.org/1073-130x/97/067-0378
- Vasconcelos, C., McKenzie, J. A., Bernasconi, S., et al., 1995. Microbial Mediation as a Possible Mechanism for Natural Dolomite Formation at Low Temperatures. *Nature*, 377 (6546):220-222.https://doi.org/10.1038/377220a0
- Voegerl, R.S., 2014. Quantifying the Carboxyl Group Density of Microbial Cell Surfaces as a Function of Salinity: Insights Into Microbial Precipitation of Low-Temperature Dolomite (Dissertation). University of Kansas, Lawrence.
- Wang, D.B., Wallace, A.F., De Yoreo, J.J., et al., 2009. Carboxylated Molecules Regulate Magnesium Content of Amorphous Calcium Carbonates during Calcification. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106(51):21511-21516. https://doi.org/10.1073/pnas,0906741106
- Wang, H.M., Wu, X.P., Qiu, X., et al., 2013. Microbially Induced Carbonate Precipitation: A Review. *Microbiology China*, 40 (1):180-189 (in Chinese with English abstract).
- Wang, W. W., Tang, H. Z., Xu, P., 2015. Salt-Tolerance Related

第 43 卷

Genes in Halophilic Bacteria and Archaea. *Microbiology China*, 42(3):550-558(in Chinese with English abstract).

- Wang, X.L., Chou, I. M., Hu, W.X., et al., 2016. Kinetic Inhibition of Dolomite Precipitation: Insights from Raman Spectroscopy of Mg²⁺-SO₄²⁻ Ion Pairing in MgSO₄/MgCl₂/NaCl Solutions at Temperatures of 25 to 200 °C. *Chemical Geology*, 435: 10 21. https://doi.org/10. 1016/j.chemgeo.2016.04.020
- Wang, Y., 2006.Dolomite Problem and Precambrian Enigma. Advances in Earth Science, 21(8): 857-862(in Chinese with English abstract).
- Warren, J., 2000. Dolomite: Occurrence, Evolution and Economically Important Associations. Earth-Science Reviews, 52 (1 - 3): 1 - 81. https://doi.org/10.1016/ s0012-8252(00)00022-2
- Warthmann, R., Vasconcelos, C., Sass, H., et al., 2005. Desulfovibrio BrasiliensisSp. Nov., a Moderate Halophilic Sulfate-Reducing Bacterium from Lagoa Vermelha (Brazil) Mediating Dolomite Formation. *Extremophiles*, 9 (3): 255-261.https://doi.org/10.1007/s00792-005-0441-8
- Wright, D. T., 1999. The Role of Sulphate-Reducing Bacteria and Cyanobacteria in Dolomite Formation in Distal Ephemeral Lakes of the Coorong Region, South Australia. *Sedimentary Geology*, 126(1-4): 147-157. https://doi.org/10.1016/s0037-0738(99)00037-8
- Xia, W. J., Li, X. H., 1986. The Discorvery of Primary Dolomitefrom Beach Rockin the Xiaochaidan Salt Lake of QingHai and Its Significance. Acta Sedimentologica Sinica, 4(2):19-25(in Chinese with English abstract).
- Yee, N., Benning, L.G., Phoenix, V.R., et al., 2004. Characterization of Metal-Cyanobacteria Sorption Reactions: A Combined Macroscopic and Infrared Spectroscopic Investigation. *Environmental Science & Technology*, 38 (3):775-782.https://doi.org/10.1021/es0346680
- Xie, S.C., Liu, D., Qiu, X., et al., 2016. Microbial Roles Equivalent to Geological Agents of High Temperature and Pressure in Deep Earth. Science China Earth Science, 59 (11): 2098 - 2104. https://doi.org/10.1007/s11430-015-5442-1
- You, X.L., Sun, S., Zhu, J.Q., et al., 2011. Progress in the Study of Microbial Dolomite Model. *Earth Science Frontiers*, 18 (4):52-64 (in Chinese with English abstract).
- Yu, B.S., Dong, H.L., Jiang, H.C., et al., 2007. Discovery of Spheric Dolomite Aggregations in Sediments from the Bottom of Qinghai Lake and Its Significance for Dolomite Problem. *Geoscience*, 21 (1): 66 - 70 (in Chinese with English abstract).
- Zhang, F.F., Xu, H.F., Konishi, H., et al., 2010. A Relation-

ship between d_{104} Value and Composition in the Calcite-Disordered Dolomite Solid-Solution Series. American Mineralogist, 95 (11 - 12): 1650 - 1656. https://doi. org/10.2138/am.2010.3414

- Zhang, F.F., Xu, H.F., Konishi, H., et al., 2012a. Polysaccharide-Catalyzed Nucleation and Growth of Disordered Dolomite: A Potential Precursor of Sedimentary Dolomite. American Mineralogist, 97(4):556-567. https:// doi.org/10.2138/am.2012.3979
- Zhang, Z. Q., Liu, Y., Wang, S., et al., 2012b. Temperate Membrane-Containing Halophilic Archaeal Virus SNJ1 Has a Circular dsDNA Genome Identical to that of Plasmid pHH205.Virology,434(2):233-241.https:// doi.org/10.1016/j.virol.2012.05.036
- Zhang, X.F., Hu, W. X., Zhang, J. T., 2006. Critical Problems for Dolomite Formation and Dolomitization Models. Geological Science and Technology Information, 25(5): 32-40 (in Chinese with English abstract).

附中文参考文献

- 卞友艳,陈多福,2014.海底冷泉环境中的白云石(岩)研究现 状.矿物岩石地球化学通报,33(2):238-246.
- 段勇,药彦辰,邱轩,等,2017.三株嗜盐古菌诱导形成白云石. 地球科学,42(3):389-396.https://doi.org/10.3799/ dqkx.2017.029
- 李波,颜佳新,刘喜停,等,2010.白云岩有机成因模式:机制, 进展与意义.古地理学报,12(6):699-710.
- 李红,柳益群,2013."白云石(岩)问题"与湖相白云岩研究.沉 积学报,31(2):302-314.
- 李红,柳益群,李文厚,等,2013.新疆乌鲁木齐二叠系湖相微 生物白云岩成因.地质通报,32(4):661-670.
- 梅冥相,2012.从 3 个科学理念简论沉积学中的"白云岩问题".古地理学报,14(1):1-12.
- 王红梅,吴晓萍,邱轩,等,2013.微生物成因的碳酸盐矿物研 究进展.微生物学通报,40(1):180-189.
- 王伟伟,唐鸿志,许平,2015.嗜盐菌耐盐机制相关基因的研 究进展.微生物学通报,42(3):550-558.
- 王勇,2006."白云岩问题"与"前寒武纪之谜"研究进展.地球 科学进展,21(8):857-862.
- 夏文杰,李秀华,1986.青海小柴旦盐湖湖滩岩中原生白云石 的发现及其意义.沉积学报,4(2):19-25.
- 由雪莲,孙枢,朱井泉,等,2011.微生物白云岩模式研究进展. 地学前缘,18(4):52-64.
- 于炳松,董海良,蒋宏忱,等,2007.青海湖底沉积物中球状白 云石集合体的发现及其地质意义.现代地质,21(1): 66-70.
- 张学丰,胡文瑄,张军涛,2006.白云岩成因相关问题及主要 形成模式.地质科技情报,25(5):32-40.