

广西湖润锰矿床的共生生金菌的分离与鉴定

郝瑞霞 彭省临

(北京大学地质系 北京 100871)

摘要 从锰矿床中分离出一种氧化锰的细菌——共生生金菌,该菌嗜温、好氧,是一种化能有机营养型细菌,其适宜于 pH6~8 的环境中生长,生长具有周期性,与锰作用也表现出阶段性,是氧化锰的主要生物因素。

关键词 锰矿床, 共生生金菌, 氧化锰细菌

分类号 Q93-3 **文献识别码** A **文章编号** 0253-2654(1999)-04-0253-04

1998-05-03收稿,1998-11-26修回

ISOLATION AND DETERMINATION OF *METALLOGENIUM SYMBIOTICUM* IN HURUN MANGANESE DEPOSIT OF GUANGXI

Hao Ruixia Peng Shenglin

(Department of Geology, Central South University of Technology, Beijing 100871)

Abstract *Metallogenium symbioticum*, a manganese-oxidizing bacterium, was isolated from manganese deposit. It is a budding-breeding, thermophilic and aerobic oxidizing bacterium, and also is a chemoheterotrophic bacterium. It is fit to grow in the pH6~8 environment. Its growth shows periodic, and the interaction with manganese also shows periodic. It is the main biofactor for oxidizing manganese.

Key words Manganese deposit, *Metallogenium symbioticum*, Manganeseoxidizing bacterium

广西湖润锰矿床由海相沉积的原生碳酸锰矿石和表生富集的氧化锰矿石组成。成矿区域温暖湿润的气候条件有利于生物尤其是微生物的繁殖和发育。矿床中可见大量的浮游和底栖生物^[1],同时发育有生物屑灰岩、生物屑硅质岩、藻类粉晶灰岩、叠层石、核形石、藻鲕、藻团块等微生物岩。针对这些特征,进行了生物成矿作用研究。主要从矿床中分离出了三种细菌,其中一种就是共生金菌(*Metallogenium symbioticum*),据文献检索得知,该细菌在我国锰矿床首次发现。

1 材料与方法

1.1 菌种来源

菌种采自于广西湖润锰矿床的层间水和岩心。

1.2 培养基

PYCM 培养基: 蛋白质 0.8g, 酵母浸膏 0.2g, $MnSO_4 \cdot H_2O$ 0.2g, K_2HPO_4 0.1g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2g, $NaNO_3$ 0.2g, $CaCl_2$ 0.1g, $(NH_4)_2CO_3$ 0.1g, 定容至 1L 蒸馏水中, pH = 6.8~7.2; 固体培养基加琼脂 15g, 湿热灭菌后使用。

GAM 培养基: 20g 阿拉伯树胶, 1g $MnCO_3$, 定容至 1L 蒸馏水中, pH = 6.5; 固体培养基加 20g 琼脂, $1 \times 10^5 Pa$, 灭菌 30min。

1.3 培养条件

平板培养: 25℃, 15d。

斜面培养: 25℃, 10d, 然后移植 4℃ 保存。

摇瓶培养: 置旋转式摇床, 33℃, 100~120r/min, 6d。

1.4 分离纯化

取适量菌样, 加无菌水充分振荡, 将所得悬浊液梯度稀释并涂布至 PYCM 平板上, 25℃ 培养 15d, 取可能具有活性的菌落在 GAM 培养基的平板上划线直至菌落和个体形态单一。

1.5 鉴定方法

主要参考《一般细菌常用鉴定方法》和《Bergey's 细菌鉴定手册》以及近年来有关的文献报道^[2,3]。

1.6 形态特征

将分离的菌株接种于平皿中, 室温下培养 3d。在摇瓶培养期间, 每天都取菌液制片观察, 采用石碳酸龙胆紫染色, 观察菌体的生长情况。

1.7 细菌和锰的作用

将菌株接种于液体培养基, 加入 10% 的碳酸锰矿石, 进行驯化, 使该菌适应于生长环境。将驯化后的菌液、培养基和碳酸锰矿石以一定的比例混合, 放置在恒温振荡箱内, 温度保持在 35℃, 培养 21d。每隔一定的时间取菌液制片观察加入碳酸锰矿石后的细菌生长情况, 并测定溶液的 pH 和 Eh 以及被氧化锰的摩尔数。

2 结果与讨论

2.1 共生金菌的特性

共生金菌是一种嗜温、好氧的氧化菌,也是一种化能有机营养型细菌,其适宜于 pH6~8 的环境中生长。该菌在固体培养基中发育良好,个体小,白色光滑,菌落数量可达 10^7 个/mL。实验观察表明,共生金菌的生长变化具有周期性,从生长初始阶段的球菌,到分枝和菌落的形成,再到放射状菌落的长大,以及最后达到生长的顶峰期,细菌的形态、大小和数量都有所改变,并在各阶段表现出了不同的生长特性。

2.2 细菌与锰的相互作用

实验观察表明,共生金菌在加入碳酸锰矿石后,菌体生长较为缓慢,但仍表现出周期性,而且其生长变化规律与单纯共生金菌的生长规律相似。在加入矿石的第 5d,取菌液制片观察,可以看到细菌呈一团团的菌落,上面覆盖有锰的氧化物,这是锰的早期沉积阶段。与此同时,溶液的 pH 和 Eh 降低,被氧化锰的摩尔数也减少(表 1)。这一生长周期为细菌的适应性生长阶段,菌体较小。当进入到第二个生长周期时,细菌已适应了生长环境,其数量在不断地增加,个体也在逐渐地长大,相应地,溶液的 pH 和 Eh 也随之升高,被氧化锰的摩尔数也逐渐增加。当氧化进行到第 15d 时,溶液的 pH 又开始下降,此时,镜下观察发现,细菌呈网状和团状集合体分布,并在一些集合体上覆盖有锰的氧化物,锰的沉积进入中期阶段。从第 15d 开始,溶液的 pH 持续下降,相应地 Eh 也在下降,被氧化锰的摩尔数也有所减少。这一阶段,氧化程度最高,以至于氧化进行到第 19d 时,几乎所有的菌体都被锰的氧化物覆盖,锰的沉积进入晚期阶段,并达到顶峰期。大量锰氧化物的形成,使得细菌的活动性降低,甚至有些菌体伴随着锰氧化物下沉,导致溶液 pH 和 Eh 下降。在细菌与锰的相互作用过程中,溶液的 pH、Eh 以及被氧化锰的摩尔数都表现出周期性变化。细菌氧化锰的速率为 2.3×10^{-11} mol/s,主要受环境因素的影响。

表1 共生金菌氧化锰实验数据

时间 (d)	pH	Eh (mV)	氧化的 Mn (mmol)	锰的沉积阶段
0	7.60	89	0	
1	7.65	95	0.063	
3	7.80	101	0.068	
5	7.58	97	0.058	早期沉积阶段
7	7.75	106	0.071	
9	7.96	109	0.081	
11	8.02	113	0.088	
13	8.08	121	0.092	
15	8.03	122	0.078	中期沉积阶段
17	7.91	119	0.073	
19	7.83	114	0.073	晚期沉积阶段
21	8.04	125	0.083	

共生金菌是一种有机化能营养菌,它对锰的氧化主要借助于过氧化氢酶实现,即过氧化氢酶在反应中通过新陈代谢产生 H_2O_2 ,加速 Mn^{2+} 离子氧化。

细菌参与下的锰的氧化与无菌条件下的锰的氧化相比,有着明显的不同。不加菌的碳酸锰矿石放置 20d 没有任何变化,氧化作用几乎为零;而加菌后的碳酸锰矿石,1d 以后就发生了变化,不管是 pH、Eh,还是被氧化锰的摩尔数都有所改变。在自然条件下,如海洋环境, Mn^{2+} 的化学氧化非常缓慢,氧化半周期为 500 年^[4];与此相比,在细菌的作用下,锰的氧化速率迅速提高,氧化周期只有几天^[5]。可见,细菌在锰的氧化过程中起着重要作用。

2.3 成矿意义

湖相锰矿床大量微生物岩和一些细菌的存在表明,在矿床的形成过程中,微生物起着重要作用。生金菌属 (*Metallogenium*) 的化石已在 4 个古沉积建造中发现,安大略西南部前寒武纪的 Gunflint 建造,澳大利亚前寒武纪的 Duck Creek 和 Paradise Creek 建造以及帝汶白垩纪-早第 3 纪的 Seical 燧石建造^[2]。生金菌属的活体在一些锰矿床中也陆续发现。锰结核是一种微生物岩,它的形成也受微生物作用的影响^[6-8];生金菌属对海洋锰结核起着催化作用^[2,9]。由此可见,细菌在锰矿床的形成过程中的催化作用

已得到了认可和证实。

参 考 文 献

- [1] 茹廷锵, 韦灵教, 树皋. 广西锰矿地质. 北京: 地质出版社, 1992, 27~92.
- [2] Crerar D A, Fischer A G, Plaza C L. *Metallogenium* and biogenic deposition of manganese from Precambrian to Recent time. In: Varentsov I M, Grasselly G. eds. *Geology and geochemistry of manganese*. Stuttgart: Schweizerbart'sche, 1980, 3: 285~303.
- [3] Dubinina G A. The role of microorganisms in the formation of the recent iron-manganese lacustrine ores. In: Varentsov I M, Grasselly G. eds. *Geology and geochemistry of manganese*. Stuttgart: Schweizerbart'sche, 1980, 3: 305~326.
- [4] Morgan J J. Chemical equilibria and kinetic properties of manganese in natural waters. In: Faust S D, Hunter J V. eds. *Principles and applications of water chemistry*. New York: Wiley, 1967, 561~620.
- [5] Sunda W G, Huntsman S A. *Limnol Oceanogr*, 1987, 32(3): 552~564.
- [6] 阎保瑞, 张胜, 胡大春. *地质学报*, 1992, 66(2): 122~133.
- [7] 林承毅, 边立曾, 张富生等. *科学通报*, 1996, 41(9): 821~824.
- [8] 陈建林, 张富生, 边立曾. *科学通报*, 1997, 42(4): 337~343.
- [9] Marshall K C. *Biogeochemistry of manganese minerals*. In: Trudinger P A, Swaine D J. eds. *Biogeochemical cycling of mineral-forming elements*. Amsterdam: Elsevier Scientific Publishing Company, 1979, 253~292.