

康卫华, 程从雨, 李为, 等. 微生物在岩溶碳循环中的作用研究回顾与展望[J]. 中国岩溶, 2022, 41(3): 453-464.

DOI: 10.11932/karst20220312

微生物在岩溶碳循环中的作用研究回顾与展望

康卫华¹, 程从雨¹, 李为^{1,2}, 余龙江^{1,2}

(1. 华中科技大学生命科学与技术学院生物技术系资源生物学与生物技术研究所, 湖北 武汉 430074;

2. 分子生物物理教育部重点实验室, 湖北 武汉 430074)

摘要: 全球气候变化问题使岩溶系统碳循环的研究倍受关注, 有关微生物及其碳酸酐酶在岩溶系统碳循环中的作用的认知也在不断深入。文章回顾了微生物及其碳酸酐酶在碳酸盐岩风化以及碳酸盐岩沉积过程中的作用过程及作用机制, 指出未来的研究需结合不同岩溶生态环境, 量化微生物及其碳酸酐酶对岩溶生态系统碳增汇的影响, 为深入研究微生物及其碳酸酐酶对岩溶碳汇的贡献、增加岩溶生态系统碳汇的能力、助力实现碳中和提供参考。

关键词: 微生物; 碳酸酐酶; 岩溶碳循环; 碳酸盐岩风化; 碳酸盐岩沉积

中图分类号: P642.25; Q518 **文献标识码:** A

文章编号: 1001-4810 (2022) 03-0453-12 **开放科学(资源服务)标识码(OSID):**



0 引言

二氧化碳(CO₂)等温室气体排放引起的全球气候变化正威胁着生态系统的平衡和人类生存^[1]。碳酸盐岩是已知的地球上最大的碳库, 全球岩溶分布面积为 $2.2 \times 10^7 \text{ km}^2$ ^[2]。由于具有富碳、富钙、偏碱的特性, 岩溶生态系统是一个水—二氧化碳—碳酸盐岩—生物相互作用的特殊生态系统, 因此, 岩溶碳循环活跃, 对全球碳循环具有重要作用和影响^[3]。为了实现碳中和目标, 我国明确提出要持续巩固提升岩溶碳汇能力, 助力实现碳中和。

碳酸盐岩是可溶性岩, 易通过岩溶作用回收大气中的CO₂^[4], 使大气圈的CO₂被不断沉降, 以无机碳的形式进入到土壤圈和水圈中, 并通过迁移、转化等一系列动态过程, 积极参与全球碳循环, 产生碳汇效应。近期研究表明, 全球碳酸盐岩风化碳汇通量为

3.6~4.4 亿 $\text{t} \cdot \text{a}^{-1}$ ^[5], 中国碳酸盐岩风化产生的碳汇通量约为0.3~0.72 亿 $\text{t} \cdot \text{a}^{-1}$ ^[6]。另一方面, 不少学者认为, 地质历史时期在生物的催化和调控作用下, 碳酸盐岩的沉积也可吸收大气CO₂从而产生巨大的汇效应^[7,8]。因此, 加强对碳酸盐岩风化和沉积过程的研究将有助于研究岩溶碳循环和增加岩溶碳汇量。

碳酸盐岩表面分布着各种微小生物, 其适应力强, 能够通过自身的新陈代谢和群落内的交互网络影响周围环境^[9]。研究表明, 碳酸盐岩风化形成的溶解性无机碳(DIC)可以被水生光合生物或微生物固定下来^[10-12], 间接地调控气候变化^[13]。丁丽君等^[14]通过实验证明, 微生物对碳酸钙(CaCO₃)的溶解作用相较物理和化学作用更大。在岩溶环境中, 微生物不仅能加速岩溶作用, 促进碳酸盐岩风化和CO₂沉降^[15-17], 也能利用大气中的CO₂诱导碳酸盐的形成^[18]。此外, 微藻在岩溶碳循环中表现为净碳汇效应^[19]。

基金项目: 国家自然科学基金碳中和专项(42141008)子课题; 国家自然科学基金面上项目(41977260)

第一作者简介: 康卫华(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 地质微生物学。

通信作者: 李为(1969—), 女, 博士, 副教授, 主要从事资源环境微生物研究, E-mail: hulwei_009@163.com; 余龙江(1966—), 男, 博士, 教授, 主要从事资源生物学与生物技术研究, E-mail: yulongjiang@hust.edu.cn。

收稿日期: 2022-03-10

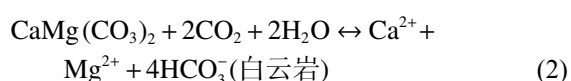
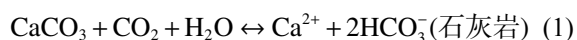
总之, 微生物(微生物及微藻)广泛参与碳酸盐岩的风化和沉积过程, 在岩溶碳循环中起重要作用。

碳酸酐酶(Carbonic anhydrase, CA)是一种含锌的金属酶, 能高效催化 CO_2 的水合反应($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$)^[20]。研究发现, CA 及产 CA 微生物广泛分布于岩溶区的土壤和水体中^[21-25], 而且 CA 在岩溶环境中具有较好的相对稳定性^[26]。岩溶环境中一些金属离子如锌、镁、钴等或阴离子如 SO_4^{2-} , H_2PO_4^- , NO_3^- 等能促进微生物胞外 CA 酶活性的表达^[27-29]。CA 及产 CA 的微生物能显著促进碳酸盐岩的溶蚀^[15-17, 30-32], 并且在一定条件下也能显著促进碳酸盐岩的沉积^[33-40]。目前, CA 在碳捕集与封存技术(CCS)中的应用已成为研究热点之一^[41], 同时, 越来越多的研究者开始关注如何利用 CA 或产 CA 微生物来增加岩溶地区的碳储量从而增加岩溶碳汇。

尽管微生物及其碳酸酐酶在岩溶碳循环中发挥重要作用这一观点已被人们普遍接受, 但之前人们主要关注于岩溶区促进碳酸盐岩风化和沉积的微生物类型, 及其对碳酸盐岩的溶解速率和沉积形成的晶体形态等方面的影响, 而对于微生物对岩溶碳循环的实际贡献及其作用机理尚没有完整且明确的认识。本文主要对微生物及其碳酸酐酶在碳酸盐岩风化和沉积过程中的作用及其机制方面的研究成果进行回顾, 同时指出在微生物及其 CA 对岩溶生态系统碳循环作用的研究中所面临的挑战, 旨在为深入研究微生物及其碳酸酐酶对岩溶碳汇的贡献, 增加岩溶生态系统的碳汇能力, 助力实现碳中和提供参考。

1 微生物在碳酸盐岩风化碳汇中的作用及其机制

碳酸盐岩与 CO_2 和水接触发生溶蚀即碳酸盐岩风化, 该过程可表示为^[7]:



由式(1)与式(2)可知, 1 mol 石灰岩或 0.5 mol 白云岩被溶蚀, 就会从环境中吸收 1 mol CO_2 转化为 HCO_3^- , 形成岩溶碳汇。传统观点认为, 硅酸盐岩风化能实现对大气 CO_2 的捕获和稳定储存^[42], 由碳酸盐岩风化捕获的 CO_2 会由于脱气重新释放到大气中,

其碳汇效应的稳定性受到质疑^[43]。近年来, 随着岩石风化碳汇研究的逐渐深入, 有学者指出, 由于碳酸盐岩风化导致的大气 CO_2 汇因未考虑生物作用可能被大大低估了^[44]。刘再华等^[13, 45-46]发现水生光合生物可以将 DIC 吸收并转化为内源性有机碳, 形成更为稳定的碳汇。在此基础上, 提出了水—岩—气—生相互作用的碳酸盐岩风化碳汇模型, 大气 CO_2 通过岩溶作用最终会进入水圈, 然后作为碳源被水生光合生物等利用, 发生“无机碳→有机碳→惰性有机碳”的迁移转化过程, 进而形成长期稳定的碳汇^[10]。可见, 微生物在碳酸盐岩风化碳汇形成过程中的作用不容忽视。

目前, 有关微生物及其 CA 对碳酸盐岩风化碳汇作用的研究主要是基于室内模拟实验, 而且主要着眼于微生物及其 CA 对碳酸盐岩风化或溶蚀的促进作用从而增加岩溶碳汇。

1.1 与碳酸盐岩风化碳汇相关的微生物及其作用

碳酸盐岩表面营养贫乏、环境恶劣, 但已有研究表明, 其上有较为丰富的微生物群落, 如 Tang 等^[47]从白云岩和石灰岩中分离纯化得到分别属于变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)的 65 株细菌以及属于子囊菌门(Ascomycota)的 17 株真菌, 这些微生物能够在碳酸盐岩这种特殊生境中生存。已有大量实验结果证明, 微生物能广泛参与碳酸盐岩的风化过程, 如丁丽君和连宾^[14]通过摇瓶实验发现, 从贵州金阳的碳酸盐岩样本中筛选分离得到的细菌、真菌和放线菌对碳酸盐岩的风化具有促进作用; 本课题组通过土柱实验发现, 从岩溶区土壤中筛选出的两株产 CA 的芽孢杆菌(*Bacillus* sp.) GLRT102Ca 和 JFSRT303 能够促进土壤-石灰岩系统中 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的迁移^[15]; Wu 等^[48]对从幕阜山废弃碳酸盐岩矿山筛选出的一株可以分泌乙酸的菌株 *Bacillus megatherium* NL-7 进行碳酸盐岩孵育实验, 结果表明, NL-7 可促进碳酸盐岩的风化; Wu 等^[49]从白云岩周围土壤中筛选出一株苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*) NL-11, 发现其能够显著增加 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的释放, 从而促进碳酸盐岩溶解; Pastore 等^[50]发现以假单胞菌目(Pseudomonadales)和肠杆菌目(Enterobacteriales)为主的磷溶解菌的丰度与白云岩、石灰岩等钙质岩石的风化速率呈正相关。风化

速率的提升意味着有更多的 CO_2 以无机碳(溶解性 CO_2 或 HCO_3^-)形式进入土壤和地下水中,并通过微藻和其它自养微型生物的作用转化为有机碳组分。谢腾祥等^[51]发现微藻可以通过利用 CaCO_3 溶蚀所形成的 DIC 这种间接方式来利用 CaCO_3 碳源,且在隔离空气 CO_2 的环境下,微藻对 CaCO_3 碳源的利用份额明显大于开放环境。本课题组通过野外中宇宙微藻培养实验,发现微藻每年转化无机碳为相对稳定有机碳的量平均为 $4207.5 \text{ t C} \cdot \text{a}^{-1}$,其中约 28.7% 的 HCO_3^- 来自岩溶地下河的补给(岩溶地下河中碳酸盐岩溶蚀会产生 HCO_3^-)^[52]。

微生物 CA 在碳酸盐岩风化过程中亦起重要作用。本课题组通过摇瓶实验证明了 GLRT102Ca 产生的胞外 CA 能够显著促进石灰石中 Ca^{2+} 的释放,驱动石灰岩的溶解^[30];同时,对从岩溶区土壤分离的真菌(*Penicillium* sp.)进行了研究,结果表明,真菌可以通过分泌 CA、酸性分泌物和菌丝体的包裹作用促进石灰岩溶解^[16];并通过添加莱茵衣藻(*Chlamydomonas reinhardtii*)的土柱模拟实验发现,莱茵衣藻及其 CA 能够较好地驱动石灰岩土壤中的钙元素迁移,促进石灰岩的溶解^[53]。而且,本课题组^[54]通过摇瓶实验比较研究了不同种类微生物及其 CA 对 CO_2 - H_2O -碳酸盐系统中碳酸盐岩的溶蚀作用效果,发现 3 种产 CA 的典型微生物对石灰岩和白云岩都有明显的溶蚀作用,其中真菌的溶蚀效果最为显著,且微生物 CA 对石灰岩具有明显的酶促溶蚀效果;利用纯化的细菌 CA,通过流动溶蚀实验证明了细菌 CA 可以促进碳酸盐岩溶蚀,增加 CO_2 - H_2O -碳酸盐系统中以 DIC 形式捕获的 CO_2 ,估算结果表明,细菌 CA 对石灰岩系统捕获 CO_2 的贡献率至少为 18.9%,对白云岩系统至少为 22.1%^[32];在丫吉岩溶试验场野外进一步开展了施加产 CA 微生物的原位微宇宙土柱实验,发现岩溶作用强度最高的垭口土壤中产 CA 细菌的丰度占比最大,证明产 CA 细菌丰度对岩溶作用强度具有显著的促进作用^[17];综合野外原位土柱实验和室内土柱模拟实验结果,对西南岩溶区由于土壤微生物及其 CA 的作用每年增加的土壤碳储量进行了估算,结果表明,其增加的碳储量与 2015 年中国火电厂的碳排放量(数据来源于中国统计年鉴)相当,岩溶区土壤微生物及其 CA 具有不容忽视的碳增汇潜力^[55]。另一方面,王倩等^[56]发现,硅藻分泌的 CA 能加速催化来自大气中 CO_2 的水合反应,吸收大气

中的 CO_2 ,从而抑制 CO_2 浓度的升高,使岩溶水的 pH 值降低,进而溶蚀碳酸盐岩,活化岩石圈,硅藻通过 CA 的参与不但满足其生理需要,而且还通过碳酸盐岩的溶解促进元素的生物地球化学循环,对于全球碳循环具有重要意义。此外,Xie 等^[31]发现微藻的胞外 CA 能促进石灰岩的溶解;Li 等^[57]通过研究岩溶土壤微生物、CA 和石灰岩溶蚀速率之间的关系推断出土壤微生物分泌的 CA 对促进 HCO_3^- 的产生具有重要作用,进而影响碳酸盐岩溶蚀速率;肖雷雷^[58]通过胶质芽孢杆菌和构巢曲霉 CA 基因的异源表达及矿物溶解试验证明了微生物 CA 可以直接参与矿物岩石的风化;李永双等^[59]在云南省建水县岩溶区的根际土壤中筛选了一株能够高产 CA 的沙雷氏菌属(*Serratia Bizio*)细菌,通过盆栽模拟实验证明,该菌株能够显著提高碳酸盐岩的溶蚀速率。

微型生物对碳酸盐岩风化作用的效果受到诸多因素的影响。Xie 等^[60]通过模拟实验发现, pH 值从 7 升到 9 时,会使微藻介导的方解石溶解速率降低;本课题组^[17]通过野外土柱实验研究土壤微生物及 CA 对岩溶作用强度的影响及其主要影响因素,发现岩溶区不同地貌部位表层土壤的岩溶作用强度表现为垭口>坡地>洼地,岩溶作用强度与土壤 pH 及交换性钙呈显著负相关,与总有机碳(TOC)含量呈显著正相关。

总之,微型生物在碳酸盐岩风化中发挥着重要作用,微型生物能够加快碳酸盐岩的风化,影响岩溶作用的速率。但是,由于环境条件会影响微生物的生长代谢,微生物在碳酸盐岩风化中的作用存在异质性,需要进一步弄清在典型岩溶系统碳酸盐岩风化中发挥作用的微生物类群,挖掘对碳酸盐岩风化具有较强作用的菌种资源。

1.2 微型生物在碳酸盐岩风化碳汇中的作用机制

微型生物在碳酸盐岩风化中发挥的作用机制主要表现在以下三个方面:

(1) 微生物的化学降解作用。微生物代谢分泌的有机酸或有机配体(基)促进碳酸盐岩的风化^[19], Pastore 等^[50]发现,在白云岩表面土壤中存在的链霉菌可以通过产生以葡萄糖酸为主的有机酸提高白云岩的岩溶速率;王建萍等^[61]发现,硅酸盐细菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌分泌的胞外有机酸均能促进方解石的溶蚀和 Ca^{2+} 的释放,且不同有机酸对方解

石的溶蚀效果不同;连宾等^[62]指出,藻类通过分泌酸性代谢产物可以促进碳酸盐岩的溶蚀。

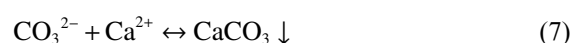
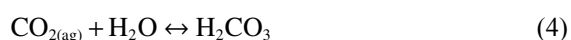
(2)微型生物的机械物理作用。微生物生长所产生的机械物理作用力能够破碎矿物颗粒,减小矿物颗粒的粒度,使其产生更易被侵蚀的表面^[19]。例如,Li 等^[16,63]在施用微生物的碳酸盐岩溶蚀实验中发现石灰石表面被真菌菌丝体包裹着,且真菌(*Trichothecium* spp.)的菌丝体能侵蚀到石灰岩的深处,使石灰石的表面发生变化,表明菌丝体的包裹作用是影响石灰岩溶解的重要因素之一。连宾等^[62]也指出,在碳酸盐岩上生长的苔藓和地衣会因失水干燥而卷起,使其附着的石灰岩产生大量的碳酸盐岩小颗粒,大大加速了碳酸盐岩的风化和破坏。

(3)微型生物的酶促岩溶作用。微生物会分泌酶(如 CA)来加速碳酸盐岩的风化^[19]。已有研究证明,微生物产生的 CA 有助于碳酸盐岩中钙离子的溶出,从而加速岩溶过程^[30,32]。Xiao 等^[64]通过研究粘性芽孢杆菌(*Bacillus mucilaginosus*)中 CA 基因的表达调控以及观察导入了 CA 基因的基因工程菌在方解石溶解实验中的表现,发现微生物 CA 对矿物风化具有促进作用,为微生物 CA 促进碳酸盐岩的溶蚀提供了直接证据。此外,有学者对微生物及其 CA 促进碳酸盐岩风化作用增加岩溶土壤碳汇的机制进行研究,认为 CA 催化 CO₂ 的水合反应,加速碳酸盐岩的风化或溶蚀,从而提供 DIC,微生物可能会利用 DIC 生成土壤有机碳,从而增加岩溶土壤碳汇^[55]。

上述三种作用机制是相互联系的,如微生物的机械作用将碳酸盐岩破碎成粒度更小的颗粒,使其分泌的有机酸或胞外酶的活性作用面增大,微生物通过这三种作用机制的有机结合,广泛参与碳酸盐岩的风化过程,促进碳酸盐岩的溶蚀,吸收大气 CO₂, 增加岩溶碳汇。

2 微型生物在碳酸盐岩沉积碳汇中的作用及其机制

碳酸盐沉积在全球地质碳循环中起着决定性的作用^[65],其中最主要的是 CaCO₃ 沉积。通常形成的 CaCO₃ 晶体有三种,即方解石、球霏石和文石, CaCO₃ 沉积主要包括以下过程^[66]:



其中反应(4)的速率最慢,是整个过程的限速步骤。

碳酸盐岩的形成是无机和有机相结合过程,其中,微生物起到了极为重要的作用。微生物沉积碳酸盐是一种普遍的现象,在固存大气 CO₂ 和缓解温室效应^[67]等方面发挥着重要作用。

目前,有关微型生物及其 CA 对碳酸盐岩沉积碳汇的作用的研究报道主要是基于室内模拟实验研究,且主要着眼于微型生物及其 CA 捕获大气 CO₂, 诱导 CaCO₃ 的形成,促进碳酸盐岩的沉积,增加岩溶碳汇的相关研究。

2.1 微型生物在碳酸盐岩沉积碳汇中的作用

早在 1973 年,Boquet 等^[68]就通过实验首次发现土壤细菌能够诱导 CaCO₃ 的形成,并指出在适宜的条件下,大多数微生物都具有诱导形成碳酸盐矿物的能力。自此,微生物沉积碳酸盐的能力不断被证实,Banks 等^[69]从珊瑚中分离出 51 种可培养的细菌,多为变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria),并分析了这些细菌沉淀 CaCO₃ 的能力,结果表明,这些细菌大多能沉淀 CaCO₃ 矿物形成方解石和球霏石;Couradeau 等^[70]发现,从墨西哥一处湖泊中得到的一株蓝细菌(*Candidatus Gloeomargarita lithophora* gen. et sp. nov.)可在碱性条件下于细胞内生成无定形 CaCO₃;Han 等^[71]发现,从白云岩中分离的蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)可以利用大气中的 CO₂ 诱导 CaCO₃ 的产生;Liu 等^[72]从毛乌素沙漠中分离出六株细菌,分别属于节杆菌属(*Arthrobacter* sp.)、红球菌属(*Rhodococcus* sp.)、Planococcus sp.、链霉菌属(*Streptomyces* sp.)和微杆菌属(*Microbacterium* sp.),发现它们均能诱导方解石和球霏石的形成,并通过稳定碳同位素示踪技术证明沉积物中的碳来源于大气 CO₂,表明大气 CO₂ 可以通过微生物沉积碳酸盐被捕获。

钙化也称石灰化,是碳酸盐沉积物的一种,岩溶区微藻的生物钙化现象尤为显著。Liu 等^[73]利用单生卵囊藻(*Oocystis solitaria* Witr)进行的模拟实验表明,岩溶区水生微藻能利用 HCO₃⁻进行光合作用吸收 CO₂,同时, Ca²⁺与 CO₃²⁻结合在微藻表面形成 CaCO₃。汪智军等^[74]总结了与钙化沉积相关的生物

群落,包括原核生物(古菌、光合细菌、蓝细菌等)、真核藻类(绿藻和硅藻等)以及真菌和地衣(子囊菌等)等,这些生物都广泛参与了钙化沉积。

微型生物产生的 CA 也能够促进 CaCO_3 的沉积。本课题组比较了是否存在细菌的体系以及 CA 酶活性是否被抑制的体系中细菌 CA 对方解石的沉积效果,认为细菌 CA 作为催化剂参与了方解石的沉积^[34];进一步从细菌培养液中得到纯化的 CA,研究比较了细菌 CA 与牛 CA、牛血清蛋白、谷氨酸等生物因素对 CaCO_3 沉积速率的影响,结果表明,细菌 CA 与牛 CA 都能促进 CaCO_3 的沉积^[33]。刘璐等^[75]通过室内培养实验发现,节杆菌属(*Arthrobacter*)MF-2 菌株产生的胞外 CA 可以加速大气中 CO_2 的水合反应,显著促进 CaCO_3 沉淀,形成的碳酸盐矿物以方解石为主,含少量球霏石;Cizer 等^[76]研究表明,CA 能显著增强 CaCO_3 的矿化速率,有利于形成稳定的方解石晶体,并显著影响方解石晶体的形态;Lü等^[40]在重庆雪峪洞分离到一株产 CA 的细菌(*Lysinibacillus* sp.),并通过添加 CA 抑制剂的室内模拟实验证明 CA 能显著促进碳酸盐矿物包括方解石、球霏石和两种矿物混合物的形成。此外,有一些研究者对利用基因工程技术获得的 CA 进行了研究,如 Kanth 等^[77]将杜氏藻(*Dunaliella*)中的 αCA 基因克隆出来在大肠杆菌中进行表达,结果发现表达出来的 CA 在含 Ca^{2+} 的溶液中能吸收利用 CO_2 制备方解石;Xiao 等^[39]通过构建产 CA 的工程菌探究异源表达的 CA 对碳酸盐形成的影响,结果表明 CA 可以通过捕获 CO_2 形成 CaCO_3 晶体。这些研究有助于开发高效的基于 CA 的 CO_2 转化/捕获系统。

微型生物诱导碳酸盐岩的形成是一个多因素参与的复杂过程,与微生物种类及其分泌的物质(酶、多肽和蛋白质等)、环境条件(pH、温度、离子浓度等)等多方面因素有关。Dhami 等^[78]用从石灰性土壤中分离出的 5 种不同形态的芽孢杆菌诱导 CaCO_3 的形成,结果发现,不同形态的芽孢杆菌诱导形成的 CaCO_3 晶型不同,但多为方解石和球霏石,表明 CaCO_3 的形态与微生物的种类有关。除了不同的微生物对 CaCO_3 的沉积有影响外,不同的环境因素也对碳酸盐岩的形成产生影响。Liu 等^[79]的研究表明, Ca^{2+} 矿化速率随 Ca^{2+} 浓度的增加而降低,但矿化量随着 Ca^{2+} 浓度的增加而增加,且随着 CaCl_2 投加量的增加,枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)诱导的 CaCO_3 逐渐从

无定型 CaCO_3 转变为球霏石。周雪莹等^[80]的研究表明,有无氮源会影响形成方解石晶体的形态和数量,在 CaCO_3 结晶体系中加入无氮培养的菌体会生成体积大、数量小、表面光滑的 CaCO_3 晶体,加入有氮条件下培养的菌体会形成表面粗糙、数量大、体积小的 CaCO_3 晶体。Muynck 等^[81]的研究表明,在 10 °C、20 °C、28 °C 和 37 °C 四种实验温度下,球形芽孢杆菌(*B. sphaericus*)都能快速生长并显著增加碳酸盐的沉积量,而巴氏芽孢杆菌(*S. pasteurii*)在 10 °C 和 20 °C 时只能产生少量碳酸盐,同时,温度还会影响碳酸盐晶体的形态。蒋建建等^[82]在对洞穴细菌形成的 CaCO_3 晶体研究中发现,微生物诱导形成 CaCO_3 晶体的形态与培养基 pH 有关,同时发现,在微生物作用下形成的 CaCO_3 晶体存在柱状体、不规则六方体、半球状等在化学作用下少见的晶体形态。

另一方面,学者们也对 CA 作用下 CaCO_3 沉积的影响因素进行了研究。本课题组研究了在 pH 分别为 6.0、6.5、7.0 和 8.0 时 CA 对 CaCO_3 沉积的促进效果,结果表明,在试验 pH 范围内,较高的 pH 值有利于 CA 催化 CaCO_3 沉积^[36];同时,研究发现,当 Ca^{2+} 浓度增加时, CaCO_3 沉淀速率随之增加,但当 Ca^{2+} 浓度过高时,则会抑制 CA 催化 CaCO_3 沉淀,且在细菌 CA 存在的情况下, Ca^{2+} 浓度较低时有利于球霏石的形成, Ca^{2+} 浓度较高时有利于方解石的形成^[35];而且还发现,在 5~55 °C 的温度范围内,30 °C 时细菌 CA 催化沉积 CaCO_3 的速率最快,而 5 °C 时的沉积速率最慢。同时,温度还会影响细菌 CA 催化形成的 CaCO_3 晶体的大小和形貌^[38];进一步研究不同 CA 浓度对 CaCO_3 晶体形态的影响,结果表明,CA 浓度较低时主要形成球霏石,而 CA 浓度较高时以形成方解石为主^[37]。袁亮^[83]通过实验发现,温度为 25 °C 时,CA 的活性最高,有利于 CaCO_3 的沉淀。

总之,从不同生境筛选出的微型生物及其 CA 都能促进碳酸盐岩的沉积,不同的环境条件会影响微型生物沉积碳酸盐岩的晶体形态及数量等,需要进一步研究参与碳酸盐岩形成过程的微型生物群落及其影响因素,为深入研究并揭示微型生物在碳酸盐岩沉积中的互作机制奠定基础,促进微型生物诱导碳酸盐岩沉积的应用研究。

2.2 微型生物在碳酸盐岩沉积碳汇中的作用机制

国内外学者对微生物诱导 CaCO_3 沉积的机制进

行了研究,认为理论上能够提高矿物饱和指数、为碳酸盐沉淀提供成核位点的微生物都能促进碳酸盐沉淀的形成^[84,85]。目前,尽管对微型生物促进碳酸盐类矿物沉积的作用机理还没有达成共识,但学界认为可能存在以下几个机制:

(1)微生物或微生物席对沉积物颗粒的捕捉和粘附。荣辉^[86]等认为,细菌细胞壁表面带有大量负电荷,能够将溶液中的 Ca^{2+} 等阳离子吸附在细菌细胞表面,为矿化产物的沉积提供了成核位点。同时, Ca^{2+} 等阳离子与局部环境中的 CO_3^{2-} 发生反应生成沉淀; Ginsburg 提出叠层石可以在蓝细菌等微生物群体的作用下形成,其机理即微生物席对外来沉积物的粘附、捕捉以及碳酸盐的沉淀^[87]。

(2)微生物进行代谢活动改变周围环境 pH 值和 CO_3^{2-} 浓度诱导碳酸盐的沉积,这些代谢活动主要包括光合作用、氨化作用、反硝化作用等。例如,藻类等通过光合作用吸收 HCO_3^- 的同时释放出 CO_3^{2-} ($2\text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CO}_2 + \text{CO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O}$),其在碱性环境中与 Ca^{2+} 结合生成 CaCO_3 沉淀^[88]。

(3)微生物的代谢分泌物参与 CaCO_3 沉淀。Liu 等^[79]研究表明,细菌代谢分泌的蛋白质可能倾向于抑制方解石的形成,而多糖可能倾向于促进球霏石的形成,这表明细菌代谢分泌物会影响 CaCO_3 晶体的类型。胞外聚合物(EPS)是代谢分泌物中的重要成分之一。EPS 具有大量带负电的官能团,能够有效螯合 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等离子,促进碳酸盐矿物的沉淀^[89]; EPS 提供晶核位点促进碳酸盐矿物的沉淀,且与晶体的成核、取向、大小和晶型有关; EPS 主要成分如蛋白质、多糖等可以促进碳酸盐矿物的沉淀。Zhuang 等^[90]的研究表明,蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereus*) MRR2 的胞外聚合物中含有丰富的谷氨酸,游离的谷氨酸上有大量带负电荷的羧基,有助于吸附 Ca^{2+} 形成方解石晶体。

(4)生物酶能够加速 HCO_3^- 和 CO_3^{2-} 的形成,从而促进碳酸盐岩的沉积。本课题组认为,在 CaCO_3 沉积过程中,微生物产生的 CA 可以催化 CO_2 水合作用,促进 CO_3^{2-} 的形成,增加 CO_3^{2-} 和 Ca^{2+} 结合的机会,从而增加 CaCO_3 的沉积速率。同时,还认为 CA 酶蛋白在溶液中呈电负性,可通过静电作用吸附 Ca^{2+} ,导致溶液中局部 Ca^{2+} 浓度增加; CA 酶蛋白可以作为成核中心,促进 CaCO_3 结晶,提高 CaCO_3 的沉积速率^[37]。卢园园等^[91]研究表明,尖孢镰刀菌(*Fusarium*

oxysporum) 的一个菌株 FZU-07 通过产生脲酶,使尿素分解产生碳酸,并与 Ca^{2+} 结合生成球霏石晶型的 CaCO_3 ; Yang 等^[92]研究表明,溶菌酶对文石的形成具有调控作用。

碳酸盐岩的沉积是一个十分复杂的过程,微型生物在该过程中起着重要作用。虽然目前对微型生物沉积碳酸盐岩的机制有了一定的研究,但是认识还不够深入,而且大多数情况下微型生物沉积碳酸盐是多种机制共同作用的结果。总之,微型生物在岩溶生态系统中相互作用、相互联系,共同促进碳酸盐岩的沉积,进而增加了岩溶碳汇。

3 结语与展望

碳酸盐岩是岩溶碳循环发生的物质基础,其能对气候变化和人类活动迅速做出反应。因此,探明微型生物及其碳酸酐酶在碳酸盐岩风化和沉积中的作用及其机制,有助于人们对基于微型生物及其碳酸酐酶作用的岩溶碳汇的开发利用。但目前尚有一些关键科学问题亟待解决,例如:微型生物对碳酸盐岩风化和沉积的实际贡献究竟有多少?如何有效调控微型生物溶蚀和沉积碳酸盐岩的速率?微型生物在碳酸盐岩风化和沉积中的互作机制是怎样的?总之,岩溶作用及碳循环与微型生物有着密切关系,未来研究需结合不同岩溶生态环境开展量化研究,阐明自然条件下不同微型生物及其代谢产物包括碳酸酐酶对岩溶生态系统碳汇的影响,为增加岩溶生态系统的碳汇能力,助力实现碳中和提供理论和实践指导。

参考文献

- [1] IPCC. "Summary for policymakers, AR6 climate change 2021: The physical science basis".
- [2] 袁道先. 现代岩溶学和全球变化研究[J]. 地学前缘, 1997(Z1): 21-29.
YUAN Daoxian. Modern karstology and global change study[J]. Earth Science Frontiers, 1997(Z1): 21-29.
- [3] 李强. 流域尺度岩溶碳循环过程: “岩溶作用与碳中和”专栏特邀主编寄语[J]. 地球学报, 2022: 1-4.
LI Qiang. Karst carbon cycle process at watershed scale: guest editor's preface to "Karst process and carbon neutralization" [J]. Acta Geoscientica Sinica, 2022: 1-4.
- [4] 袁道先. 碳循环与全球岩溶[J]. 第四纪研究, 1993(1): 1-6.
YUAN Daoxian. Carbon cycle and global karst[J]. Quaternary

- science, 1993(1): 1-6.
- [5] CAO Jianhua, HU Bill, GROVES Chris, HUANG Fen, YANG Hui, ZHANG Chunlai. Karst dynamic system and the carbon cycle[J]. Zeitschrift für geomorphologie, Supplementary issues, 2016, 60(2): 35-55.
- [6] 曹建华. 岩溶与地球碳循环[J]. 地球, 2021(4): 40-44.
CAO Jianhua. Karst and earth's carbon cycle[J]. Earth, 2021(4): 40-44.
- [7] 刘再华. 大气CO₂两个重要的汇[J]. 科学通报, 2000(21): 2348-2351.
LIU Zaihua. Two important sinks of atmospheric CO₂[J]. Chinese Science Bulletin, 2000(21): 2348-2351.
- [8] 曹建华, 袁道先, 潘根兴, 林玉石. 岩溶动力系统中的生物作用机理初探[J]. 地学前缘, 2001(1): 203-209.
CAO Jianhua, YUAN Daoxian, PAN Genxing, LIN Yushi. Preliminary study on biological action in karst dynamic system[J]. Earth Science Frontiers, 2001(1): 203-209.
- [9] 许玫英, 孙国萍, 郭俊. 微生物生态系统代谢网络研究进展[J]. 微生物学报, 2010, 50(4): 438-443.
XU Meiyang, SUN Guoping, GUO Jun. Advances in microbial eco-systems metabolic network study-A review[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2010, 50(4): 438-443.
- [10] LIU Zaihua, DREYBRODT Wolfgang. Significance of the carbon sink produced by H₂O-carbonate-CO₂-aquatic phototroph Interaction on Land[J]. Science Bulletin, 2015, 60(2): 182-191.
- [11] 孙海龙, 刘再华, 杨睿, 陈波, 杨明星, 曾庆睿. 珠江流域水化学组成的时空变化特征及对岩石风化碳汇估算的意义[J]. 地球与环境, 2017, 45(1): 57-65.
SUN Hailong, LIU Zaihua, YANG Rui, CHEN Bo, YANG Mingxing, ZENG Qingrui. Spatial and seasonal variations of hydrochemistry of the Peral river and implications for estimating the rock weathering-related carbon sink[J]. Earth and Environment, 2017, 45(1): 57-65.
- [12] YANG R, CHEN B, LIU H, LIU Z, YAN H. Carbon sequestration and decreased CO₂ emission caused by terrestrial Aquatic photosynthesis: insights from diel hydrochemical variations in an epikarst spring and two spring-fed ponds in different seasons[J]. Applied Geochemistry, 2015, 63: 248-260.
- [13] 刘再华. 岩石风化碳汇研究的最新进展和展望[J]. 科学通报, 2012, 57(Z1): 95-102.
LIU Zaihua. New progress and prospects in the study of rock-weathering-related carbon sinks[J]. Chinese Science Bulletin, 2012, 57(Z1): 95-102.
- [14] 丁丽君, 连宾. 碳酸钙微生物风化试验研究[J]. 中国岩溶, 2008, 27(3): 197-200.
DING Lijun, LIAN Bin. Experimentation of microbial weathering to CaCO₃[J]. Carsologica Sinica, 2008, 27(3): 197-200.
- [15] LI Wei, YU Longjiang, HE Qiufang, WU Yun, YUAN Daoxian, CAO Jianhua. Effects of microbes and their carbonic anhydrase on Ca²⁺ and Mg²⁺ migration in column-built leached soil-limestone karst systems[J]. Applied Soil Ecology, 2005, 29(3): 274-281.
- [16] LI Wei, ZHOU Pengpeng, JIA Liping, YU Longjiang, LI Xueli, ZHU Min. Limestone dissolution induced by fungal mycelia, Acidic materials, and carbonic anhydrase from fungi[J]. Mycopathologia, 2009, 167(1): 37-46.
- [17] WANG Chenwei, LI Wei, SHEN Taiming, CHENG Wenli, YAN Zhuang, YU Longjiang. Influence of soil bacteria and carbonic anhydrase on karstification intensity and regulatory factors in a typical karst area[J]. Geoderma, 2018, 313: 17-24.
- [18] 连宾, 袁道先, 刘再华. 岩溶生态系统中微生物对岩溶作用影响的认识[J]. 科学通报, 2011, 56(26): 2158-2161.
LIAN Bin, YUAN Daoxian, LIU Zaihua. Effect of microbes on karstification in karst ecosystems[J]. Chinese Science Bulletin, 2011, 56(26): 2158-2161.
- [19] 严壮, 汪夏雨, 李为, 余龙江. 岩溶区水生生态系统微生物的生物碳泵效应[J]. 微生物学报, 2019, 59(6): 1012-1025.
YAN Zhuang, WANG Xiayu, LI Wei, YU Longjiang. Biological carbon pump effect of microalgae in aquatic ecosystems of karst areas[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2019, 59(6): 1012-1025.
- [20] SMITH K S, FERRY J G. Prokaryotic carbonic anhydrases[J]. Fems Microbiology Reviews, 2000, 24(4): 335-366.
- [21] LI Wei, YU Longjiang, YUAN Daoxian, WU Yun, ZENG Xian-dong. A study of the activity and ecological significance of carbonic anhydrase from soil and its microbes from different karst ecosystems of southwest China[J]. Plant and Soil, 2005, 272(1-2): 133-141.
- [22] PAN Weizhi, NZUNG'A Sila Onesmus, LI Wei, HUANG Qibo, SHEN Taiming, WANG Chenwei, QIN Xiaoqun, YU Longjiang. The ecological importance and influence of land use on carbonic anhydrase activity of waters in the upstream section of the Wujiang river basin[J]. Journal of Resources and Ecology, 2015, 6(4): 230-236.
- [23] NZUNG'A Sila Onesmus, PAN Weizhi, SHEN Taiming, LI Wei, QIN Xiaoqun, WANG Chenwei, ZHANG Liankai, YU Longjiang. Comparative study of carbonic anhydrase activity in waters among different geological eco-environments of Yangtze river basin and its ecological significance[J]. Journal of Environmental Sciences, 2018, 66: 173-181.
- [24] 申泰铭, 李为, 张强, 张阳, 张红辉, 余龙江. 流域不同地质生态环境中水体碳酸酐酶活性特征: 以桂江流域为例[J]. 中国岩溶, 2012, 31(4): 409-414.
SHEN Taiming, LI Wei, ZHANG Qiang, ZHANG Yang, ZHANG Honghui, YU Longjiang. Carbonic anhydrase activity of the water-body in different eco-environments of River basins: A case study in the Guijiang river basin[J]. Carsologica Sinica, 2012, 31(4): 409-414.
- [25] 潘伟志, NZUNG'A Sila Onesmus, 申泰铭, 李为, 王晨玮, 余龙江. 长江流域不同地质生态环境土壤碳酸酐酶活性、有机碳含量及其相关性[J]. 中国岩溶, 2016, 35(2): 173-178.
PAN Weizhi, NZUNG'A Sila Onesmus, SHEN Taiming, LI Wei,

- WANG Chenwei, YU Longjiang. Soil carbonicanhydrase activity, soil organic carbon and their relationships in different geological eco-environments of the Changjiang river basin[J]. *Carso-logica Sinica*, 2016, 35(2): 173-178.
- [26] 余龙江, 吴云, 李为, 曾宪东. 西南岩溶区土壤细菌胞外碳酸酐酶的稳定性研究[J]. *生命科学研究*, 2004(4): 365-370.
- YU Longjiang, WU Yun, LI Wei, ZENG Xiandong. Study on stability of extracellular carbonic anhydrase from soil bacteria in karst areas of Southwest China[J]. *Life Science Research*, 2004(4): 365-370.
- [27] 李为, 余龙江, 余俊峰, 贾丽萍, 吴云. 岩溶环境因子对细菌胞外碳酸酐酶表达及活性的影响[J]. *微生物学通报*, 2005(5): 35-39.
- LI Wei, YU Longjiang, YU Junfeng, JIA Liping, WU Yun. Effects of karst environmental factors on expression and activity of bacterial extracellular carbonic anhydrase[J]. *Microbiology China*, 2005(5): 35-39.
- [28] 黄芬, 黄艳梅, 高喜, 曹建华. 岩溶环境因子对桂林毛村岩溶区土壤微生物胞外碳酸酐酶活性的影响[J]. *南方农业学报*, 2015, 46(10): 1792-1797.
- HUANG Fen, HUANG Yanmei, GAO Xi, CAO Jianhua. Effects of karst environmental factors on activity of soil microorganic extracellular carbonic anhydrase of karst Area in Maocun Village, Guilin[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2015, 46(10): 1792-1797.
- [29] LIU Zaihua. Role of carbonic anhydrase as an activator in carbonate rock dissolution and its implication for atmospheric CO₂ sink[J]. *Acta Geologica Sinica-English Edition*, 2001, 75(3): 275-278.
- [30] LI Wei, YU Longjiang, WU Yun, JIA Liping, YUAN Daoxian. Enhancement of Ca²⁺ release from limestone by microbial extracellular carbonic anhydrase[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(4): 950-953.
- [31] XIE Tengxiang, WU Yanyou. The Role of microalgae and their carbonic anhydrase on the biological dissolution of limestone[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2014, 71(12): 5231-5239.
- [32] SHEN Taiming, LI Wei, PAN Weizhi, LIN Shengyan, ZHU Min, YU Longjiang. Role of bacterial carbonic anhydrase during CO₂ capture in the CO₂-H₂O-carbonate system[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2017, 123: 66-74.
- [33] LI Wei, LIU Liping, CHEN Weishan, YU Longjiang, LI Wenbing, YU Haizhen. Calcium carbonate precipitation and crystal morphology induced by microbial carbonic anhydrase and other biological factors[J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(6): 1017-1021.
- [34] LI Wei, LIU Liping, ZHOU Pengpeng, CAO Long, YU Longjiang, JIANG Shiyun. Calcite precipitation induced by bacteria and bacterially produced carbonic anhydrase[J]. *Current Science*, 2011, 100(4): 502-508.
- [35] LI Wei, CHEN Weishan, ZHOU Pengpeng, ZHU Shilin, YU Longjiang. Influence of initial calcium ion concentration on the precipitation and crystal morphology of calcium carbonate induced by bacterial carbonic anhydrase[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2013, 218: 65-72.
- [36] LI Wei, CHEN Weishan, ZHOU Pengpeng, CAO Long, YU Longjiang. Influence of initial pH on the precipitation and crystal morphology of calcium carbonate induced by microbial carbonic anhydrase[J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2013, 102: 281-287.
- [37] LI Wei, CHEN Weishan, ZHOU Pengpeng, YU Longjiang. Influence of enzyme concentration on bio-sequestration of CO₂ in carbonate form using bacterial carbonic anhydrase[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2013, 232: 149-156.
- [38] 李为, 曹龙, 周蓬蓬, 余龙江. 温度对细菌碳酸酐酶催化碳酸钙沉积的影响[J]. *地球与环境*, 2013, 41(4): 371-377.
- LI Wei, CAO Long, ZHOU Pengpeng, YU Longjiang. Effects of temperature on CaCO₃ precipitation catalyzed by bacterial carbonic anhydrase[J]. *Earth and Environment*, 2013, 41(4): 371-377.
- [39] XIAO Leilei, LIAN Bin. Heterologously expressed carbonic anhydrase from *Bacillus Mucilaginosus* promoting CaCO₃ formation by capturing atmospheric CO₂[J]. *Carbonates and Evaporites*, 2016, 31(1): 39-45.
- [40] LÜ Xianfu, HE Qiufang, WANG Zhijun, CAO Min, ZHAO Jingyao, JIANG Jianjian, ZHAO Ruiyi, ZHANG Hong. Calcium carbonate precipitation mediated by bacterial carbonic anhydrase in a karst cave: Crystal morphology and stable isotopic fractionation[J]. *Chemical Geology*, 2019, 530: 119331.
- [41] 蔡丽希, 楚云猛, 张光亚. 可用于二氧化碳捕获过程的微生物碳酸酐酶的挖掘与改造[J]. *生物工程学报*, 2019, 35(1): 1-12.
- CAI Lixi, CHU Yunmeng, ZHANG Guangya. Mining and engineering of microbial carbonic anhydrases for biomimetic carbon dioxide sequestration[J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2019, 35(1): 1-12.
- [42] BERNER R A, LASAGA A C, GARRELS R M. The carbonate-silicate geochemical cycle and its effect on atmospheric carbon dioxide over the past 100 million years[J]. *American Journal of Science*, 1983, 283(7): 641-683.
- [43] CURL Rane L. Carbon shifted but not sequestered[J]. *Science*, 2012, 335(6069): 655-655.
- [44] LIU Zaihua, DREYBRODT Wolfgang, LIU Huan. Atmospheric CO₂ sink: silicate weathering or carbonate weathering?[J]. *Applied Geochemistry*, 2011, 26: S292-S294.
- [45] LIU Zaihua, DREYBRODT Wolfgang, WANG Haijing. A new direction in effective accounting for the atmospheric CO₂ budget: Considering the combined action of carbonate dissolution, The global water cycle and photosynthetic uptake of DIC by aquatic organisms[J]. *Earth-Science Reviews*, 2010, 99(3-4): 162-172.
- [46] LIU Zaihua, MACPHERSON G L, GROVES Chris, MARTIN Jonathan B, YUAN Daoxian, ZENG Sibao. Large and active CO₂ uptake by coupled carbonate weathering[J]. *Earth-Science Reviews*, 2018, 182: 42-49.

- [47] TANG Yuan, CHENG JianZhong, LIAN Bin. Characterization of endolithic culturable microbial communities in carbonate rocks from a typical karst canyon in Guizhou (China)[J]. *Polish Journal of Microbiology*, 2016, 65(4): 413-423.
- [48] WU Yanwen, ZHANG Jinchi, WANG Lingjian, WANG Yingxiang. A rock-weathering bacterium isolated from rock surface and its role in ecological restoration on exposed carbonate rocks[J]. *Ecological Engineering*, 2017, 101: 162-169.
- [49] WU Yanwen, ZHANG Jinchi, GUO Xiaoping. An indigenous soil bacterium facilitates the mitigation of rocky desertification in carbonate mining areas[J]. *Land Degradation & Development*, 2017, 28(7): 2222-2233.
- [50] PASTORE Giovanni, WEIG Alfons R, VAZQUEZ Eduardo, SPOHN Marie. Weathering of calcareous bedrocks is strongly affected by the activity of soil microorganisms[J]. *Geoderma*, 2022, 405: 115408.
- [51] 谢腾祥, 吴沿友. 碳酸钙中的碳能被微藻利用吗[J]. *地球与环境*, 2014, 42(2): 168-173.
- XIE Tengxiang, WU Yanyou. Can carbon in calcium carbonate be utilized by microalgae[J]. *Earth and Environment*, 2014, 42(2): 168-173.
- [52] YAN Zhuang, SHEN Taiming, LI Wei, CHENG Wenli, WANG Xiayu, ZHU Min, YU Qiwen, XIAO Yutian, YU Longjiang. Contribution of microalgae to carbon sequestration in a natural karst wetland aquatic ecosystem: An in-situ mesocosm study[J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 768: 144387.
- [53] 李为, 曾宪东, 栗茂腾, 周蓬蓬, 余龙江. 微藻及其碳酸酐酶对石灰岩土壤系统中钙元素迁移的驱动作用实验研究[J]. *矿物岩石地球化学通报*, 2011, 30(3): 261-264.
- LI Wei, ZENG Xiandong, LI Maoteng, ZHOU Pengpeng, YU Longjiang. Experimental study on driving effects of microalgae and its carbonic anhydrase on migration of calcium in a simulated soil-limestone karst system[J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2011, 30(3): 261-264.
- [54] 申泰铭, 邢必果, 李为, 余龙江. 不同种类微生物及其碳酸酐酶对CO₂-H₂O-碳酸盐系统中碳酸盐岩的溶蚀作用[J]. *矿物岩石地球化学通报*, 2014, 33(6): 797-800.
- SHEN Taiming, XING Biguo, LI Wei, YU Longjiang. Characteristics of carbonate rock corrosion by different kinds of microbes and their carbonic anhydrase in the CO₂-H₂O-carbonate system[J]. *Bulletin of Mineralogy, Petrology and Geochemistry*, 2014, 33(6): 797-800.
- [55] 申泰铭. 微生物及碳酸酐酶对岩溶土壤生态系统碳储存的贡献及其机制[D]. 武汉: 华中科技大学, 2018.
- SHEN Taiming. Contribution and mechanism of microbes and carbonic anhydrase to carbon storage in karst soil ecosystems[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2018.
- [56] 王倩, 支崇远. 硅藻碳酸酐酶对石灰岩岩溶的作用及其生态意义[J]. *上海地质*, 2007(4): 25-27.
- WANG Qian, ZHI Chongyuan. Function of limestone corrosion by diatom carbonic anhydrase in karst and ecological significance[J]. *Shanghai Geology*, 2007(4): 25-27.
- [57] LI Qiang, HE Yuanyuan, LI Zhongyi. The promoting effect of soil carbonic anhydrase on the limestone dissolution rate in SW China[J]. *Carbonates and Evaporites*, 2017, 32(2): 147-154.
- [58] 肖雷雷. 碳酸酐酶参与矿物—微生物相互作用的分子证据及矿物风化的碳汇效应[D]. 南京: 南京师范大学, 2015.
- XIAO Leilei. Molecular evidence for the involvement of carbonic anhydrase in mineral-microbe interactions and the carbon sink effect of mineral weathering[D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2015.
- [59] 李永双, 范周周, 国辉, 周金星, 彭霞薇. 菌剂添加对不同树种根际土壤微生物及碳酸钙溶蚀的影响[J]. *中国岩溶*, 2020, 39(6): 854-862.
- LI Yongshuang, FAN Zhouzhou, GUO Hui, ZHOU Jinxing, PENG Xiawei. Effects of microorganisms agent addition on soil microbes in different rhizosphere soils and calcium carbonate dissolution[J]. *Carsologica Sinica*, 2020, 39(6): 854-862.
- [60] XIE Tengxiang, WU Yanyou. The biokarst system and its carbon sinks in response to pH changes: A simulation experiment with microalgae[J]. *Geochemistry, Geophysics, Geosystems*, 2017, 18(3): 827-843.
- [61] 王建萍, 李琼芳, 董发勤, 张文静, 郭玉婷, 黄婷, 刘媛媛. 3种常见细菌胞外特征有机酸对方解石的溶蚀研究[J]. *岩石矿物学杂志*, 2015, 34(3): 387-392.
- WANG Jianping, LI Qiongfang, DONG Faqin, ZHANG Wenjing, GUO Yuting, Huang Ting, Liu Yuanyuan. A study of the dissolution of calcite by three common bacterial typical extracellular organic acids[J]. *Acta Petrologica et Mineralogica*, 2015, 34(3): 387-392.
- [62] 连宾, 陈烨, 朱立军, 杨瑞东. 微生物对碳酸盐岩的风化作用[J]. *地学前缘*, 2008, 15(6): 90-99.
- LIAN Bin, CHEN Ye, ZHU Lijun, YANG Ruidong. Progress in the study of the weathering of carbonate rock by microbes[J]. *Earth Science Frontiers*, 2008, 15(6): 90-99.
- [63] 贾丽萍, 李为, 朱敏, 贺秋芳, 刘彦, 余龙江. 典型细菌、真菌、放线菌对石灰岩动态溶蚀效果比较[J]. *应用与环境生物学报*, 2007(1): 126-130.
- JIA Liping, LI Wei, ZHU Min, HE Qiufang, LIU Yan, YU Longjiang. Dynamic corrosion effects of different microbes on limestone[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2007(1): 126-130.
- [64] XIAO Leilei, HAO Jianchao, WANG Weiying, LIAN Bin, SHANG Guangdong, YANG Yunwen, LIU Congqiang, WANG Shijie. The up-regulation of carbonic anhydrase genes of *Bacillus Mucilaginosus* under soluble Ca²⁺ deficiency and the heterologously expressed enzyme promotes calcite dissolution[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2014, 31(7): 632-641.
- [65] 翁金桃. 碳酸盐岩在全球碳循环过程中的作用[J]. *地球科学进展*, 1995(2): 154-158.
- WENG Jintao. The effect of carbonate rocks on global carbon

- cycle[J]. *Advances in Earth Science*, 1995(2): 154-158.
- [66] MIRJAFARI Parissa, ASGHARI Koorosh, MAHINPEY Nader. Investigating the application of enzyme carbonic anhydrase for CO₂ sequestration purposes[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2007, 46(3): 921-926.
- [67] KAUR Gurvinder, DHAMI Navdeep Kaur, GOYAL Shweta, MUKHERJEE Abhijit, REDDY M Sudhakara. Utilization of carbon dioxide as an alternative to urea in biocementation[J]. *Construction and Building Materials*, 2016, 123: 527-533.
- [68] BOQUET E, BORONAT A, RAMOS-CORMENZANA A. Production of calcite (calcium carbonate) crystals by soil bacteria is a general phenomenon[J]. *Nature*, 1973, 246(5434): 527-529.
- [69] BANKS Eric D, TAYLOR Nicholas M, GULLEY Jason, LUBBERS Brad R, GIARRIZZO Juan G, BULLEN Heather A, HOEHLER Tori M, BARTON Hazel A. Bacterial calcium carbonate precipitation in cave environments: A function of calcium homeostasis[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2010, 27(5): 444-454.
- [70] COURADEAU Estelle, BENZERARA Karim, GÉRARD Emmanuelle, MOREIRA David, BERNARD Sylvain, BROWN Gordon E, LÓPEZ-GARCÍA Purificación. An early-branching microbialite cyanobacterium forms intracellular carbonates[J]. *Science*, 2012, 336(6080): 459-462.
- [71] HAN Jinxin, LIAN Bin, LING Hongwen. Induction of calcium carbonate by *Bacillus cereus*[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2013, 30(8): 682-689.
- [72] LIU Zhen, ZHANG Yuqing, FA Keyu, ZHAO Hongfei, QIN Shugao, YAN Ru, WU Bin. Desert soil bacteria deposit atmospheric carbon dioxide in carbonate precipitates[J]. *CATENA*, 2018, 170: 64-72.
- [73] LIU Yan, LIU Zaihua, ZHANG Jinliu, HE Yuanyuan, SUN Hailong. Experimental study on the utilization of DIC by oocysts solitaria witr and its influence on the precipitation of calcium carbonate in karst and non-karst waters[J]. *Carbonates and Evaporites*, 2010, 25(1): 21-26.
- [74] 汪智军, 殷建军, 蒲俊兵, 袁道先. 钙华生物沉积作用研究进展与展望[J]. *地球科学进展*, 2019, 34(6): 606-617.
- WANG Zhijun, YIN Jianjun, PU Junbing, YUAN Daoxian. Biological processes responsible for travertine deposition: A review and future prospect[J]. *Advances in Earth Science*, 2019, 34(6): 606-617.
- [75] 刘璐, 李福春, 李磊, 张宠宏, 吕杰杰. 细菌碳酸酐酶促进形成的碳酸盐矿物[J]. *中国岩溶*, 2017, 36(4): 433-440.
- LIU Lu, LI Fuchun, LI Lei, ZHANG Chonghong, LV Jiejie. Carbonic anhydrase excreted induces the formation of carbonate minerals[J]. *Carsologica Sinica*, 2017, 36(4): 433-440.
- [76] CIZER Özlem, RUIZ-AGUDO Encarnación, RODRIGUEZ-NAVARRO Carlos. Kinetic effect of carbonic anhydrase enzyme on the carbonation reaction of lime mortar[J]. *International Journal of Architectural Heritage*, 2018, 12(5): 779-789.
- [77] KANTH Bashistha Kumar, MIN Kiha, KUMARI Shipra, JEON Hancheol, JIN Eon Seon, LEE Jinwon, PACK Seung Pil. Expression and characterization of codon-optimized carbonic anhydrase from *dunaliella* species for CO₂ sequestration application[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, 167(8): 2341-2356.
- [78] DHAMI Navdeep Kaur. Biomineralization of calcium carbonate polymorphs by the bacterial strains isolated from calcareous sites[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2013, 23(5): 707-714.
- [79] LIU Renlu, HUANG Shanshan, ZHANG Xiaowen, SONG Yongsheng, HE Genhe, WANG Zaifeng, LIAN Bin. Bio-mineralisation, characterization, and stability of calcium carbonate containing organic matter[J]. *RSC Advances*, 2021, 11(24): 14415-14425.
- [80] 周雪莹, 杜叶, 连宾. 不同培养条件对胶质芽孢杆菌诱导碳酸钙晶体形成的影响[J]. *微生物学报*, 2010, 50(7): 955-961.
- ZHOU Xueying, DU Ye, LIAN Bin. Effects of different culture conditions on carbonic anhydrase form *Bacillus Mucilaginosus* inducing calcium carbonate crystal formation[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2010, 50(7): 955-961.
- [81] DE MUYNCK Willem, VERBEKEN Kim, DE BELIE Nele, VERSTRAETE Willy. Influence of temperature on the effectiveness of a biogenic carbonate surface treatment for limestone conservation[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(3): 1335-1347.
- [82] 蒋建建, 刘子琦, 贺秋芳, 段逸凡, 吕现福, 赵瑞一. 岩溶洞穴微生物沉积碳酸钙: 以贵州石将军洞为例[J]. *生态学报*, 2014, 34(8): 2028-2038.
- JIANG Jianjian, LIU Ziqi, HE Qiufang, DUAN Yifan, LV Xianfu, ZHAO Ruiyi. Karst cave bacterial calcium carbonate precipitation: The Shijiangjun cave in Guizhou, China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(8): 2028-2038.
- [83] 袁亮. 微生物碳酸酐酶诱导CaCO₃沉淀的影响因素及生成机理[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(8): 79-86.
- YUAN Liang. Influencing factors and formation mechanism of CaCO₃ precipitation induced by microbial carbonic anhydrase[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2020, 36(8): 79-86.
- [84] 王红梅, 吴晓萍, 邱轩, 刘邓. 微生物成因的碳酸盐矿物研究进展[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(1): 180-189.
- WANG Hongmei, WU Xiaoping, QIU Xuan, LIU Deng. Microbially induced carbonate precipitation: A review[J]. *Microbiology China*, 2013, 40(1): 180-189.
- [85] BOROWITZKA Michael A, LARKUM A W D. Calcification in algae: Mechanisms and the role of metabolism[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 1987, 6(1): 1-45.
- [86] 荣辉, 钱春香, 李龙志. 微生物水泥胶结机理[J]. *硅酸盐学报*, 2013, 41(3): 314-319.
- RONG Hui, QIAN Chunxiang, LI Longzhi. Cementation mechanism of microbe cement[J]. *Journal of The Chinese Ceramic Society*, 2013, 41(3): 314-319.
- [87] GINSBURG RN. Controversies about stromatolites: Vices and

- virtues[J]. Symposium controversies in modern geology, 1991: 25-36.
- [88] KAMENNAYA Nina, AJO-FRANKLIN Caroline, NORTEN Trent, JANSSON Christer. Cyanobacteria as biocatalysts for carbonate mineralization[J]. *Minerals*, 2012, 2(4): 338-364.
- [89] BRAISSANT O, DECHO A W, DUPRAZ C, GLUNK C, PRZEKOP K M, VISSCHER P T. Exopolymeric substances of sulfate-reducing bacteria: Interactions with calcium at alkaline pH and implication for formation of carbonate minerals[J]. *Geobiology*, 2007, 5(4): 401-411.
- [90] ZHUANG Dingxiang, YAN Huaxiao, TUCKER Maurice E, ZHAO Hui, HAN Zuozhen, ZHAO Yanhong, SUN Bin, LI Dan, PAN Juntong, ZHAO Yanyang, MENG Ruirui, SHAN Guanghe, ZHANG Xinkang, TANG Rongzhen. Calcite precipitation induced by *Bacillus Cereus* MRR2 cultured at different Ca^{2+} concentrations: Further insights into biotic and abiotic Calcite[J]. *Chemical Geology*, 2018, 500: 64-87.
- [91] 卢园园, 陈龙照, 余倩怡, 程超, 程扬健. 尖孢镰刀菌(*fusarium oxysporum*)诱导矿化回收稀土离子La(III)[J]. 微生物学报, 2021, 61(6): 1621-1631.
- LU Yuanyuan, CHEN Longzhao, YU Qianyi, CHENG Chao, CHENG Yangjian. *Fusarium oxysporum* induces mineralization recovery rare earth ions lanthanum(III)[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(6): 1621-1631.
- [92] YANG Lin, SHE Lan, ZHOU Jianguo, CAO Ying, MA Xiaoming. Interaction of lysozyme during calcium carbonate precipitation at supramolecular level[J]. *Inorganic Chemistry Communications*, 2006, 9(2): 164-166.

Review and prospect of research on the role of micro-organisms in karst carbon cycle

KANG Weihua¹, CHENG Congyu¹, LI Wei^{1,2}, YU Longjiang^{1,2}

(1. Institute of Resource Biology and Biotechnology, Department of Biotechnology, College of Life Science and Technology, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 430074, China; 2. Key Laboratory of Molecular Biophysics (Huazhong University of Science and Technology), Ministry of Education, Wuhan, Hubei 430074, China)

Abstract The issue of global climate change has drawn much attention to the research on the carbon cycle of karst systems. Carbonate rock is the largest known carbon pool on the earth. It is easy to make CO_2 in the atmosphere sink continuously through karstification, and enter into the pedosphere and hydrosphere in the form of inorganic carbon, and actively participate in the global carbon cycle through a series of dynamic processes such as migration and transformation, resulting in carbon sink effect. On the other hand, under the catalysis and regulation of organisms during the geological history, the deposition of carbonate rocks can also absorb atmospheric CO_2 and produce a huge sink effect. Therefore, strengthening the study of weathering and depositional processes of carbonate rocks will help to study the karst carbon cycle and increase the karst carbon sink.

Various microscopic organisms are distributed on the surface of carbonate rocks, and they have strong adaptability, which can affect the weathering and deposition processes of carbonate rocks through their own metabolism and the interactive network within the community. Carbonic Anhydrase (CA) is a zinc containing metalloenzyme, and it can efficiently catalyze the hydration of CO_2 ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$). CA and CA producing microorganisms are widely distributed in the soil and water in the karst area, and CA has good relative stability in the karst environment. CA and CA producing microorganisms can significantly promote the dissolution of carbonate rocks, and can also significantly promote the deposition of carbonate rocks under certain conditions. At present, more and more researchers begin to pay attention to how to use CA or CA producing micro-organisms to increase the carbon storage in the karst area, so as to increase the karst carbon sink.

At present, some studies have proved that bacteria, fungi, actinomycetes and microalgae isolated from karst areas can participate in the process of karst carbon cycle. A large number of studies have found that micro-organisms such as *bacillus*, phosphorus dissolving bacteria, microalgae and their CA can promote the weathering of carbonate rocks. At the same time, atmospheric CO_2 as a carbon source can be used by aquatic photosynthetic organisms, resulting in the

migration and transformation process of "inorganic carbon $\rightarrow$ organic carbon $\rightarrow$ inert organic carbon", and finally forming a long-term stable carbon sink. Based on the results of the field in-situ soil column experiment and the indoor soil column simulation experiment, we estimated the annual increase in soil carbon storage caused by soil micro-organisms and their CA in the karst area of southwest China. The results showed that it was equivalent to the carbon emissions of China's thermal power plants in 2015 (the data came from the China Statistical Yearbook). It was considered that the soil micro-organisms and their CA in the karst area had the potential of carbon sequestration that could not be ignored. Micro-organisms promote the weathering of carbonate rocks mainly through mechanical and physical action, chemical degradation and enzymatic action such as production and secretion of CA. On the other hand, some micro-organisms such as cyanobacteria, *bacillus*, microalgae and their CA can also use atmospheric CO₂ and Ca²⁺ in the environment to induce calcium carbonate deposition, thereby realizing the capture of atmospheric CO₂. Micro-organisms promote the deposition of carbonate rocks mainly by capturing and adhering, performing metabolic activities to change environmental conditions, and producing biological enzymes such as secretions and CA. In addition, the weathering and deposition of carbonate rocks promoted by micro-organisms is a complex process involving multiple factors, which is related to the types of micro-organisms and the substances they secrete (enzymes, peptides, proteins, etc.), environmental conditions (pH, temperature, ion concentration, etc.), and various mechanisms can also interact. Researchers need to integrate various factors to reveal the mechanisms of micro-organisms promoting the weathering and deposition of carbonate rocks.

At present, studies on the effects of micro-organisms and their CA on weathering and deposition carbon sinks of carbonate rocks are mainly based on laboratory simulation experiments, and mainly focused on the promotion of micro-organisms and their CA on weathering or deposition of carbonate rocks to increase karst carbon sinks. Therefore, this paper reviews the research results on the role and mechanisms of micro-organisms and their CA in weathering and deposition of carbonate rocks, and points out that in the future, it is necessary to quantitatively study the impact of micro-organisms and their CA on enhancement of carbon sinks in karst ecosystems in combination with different karst ecological environments. This review provides a reference for in-depth study of the contribution of micro-organisms and their CA to karst carbon sinks, and to increase the carbon sink capacity of karst ecosystems to help achieve carbon neutrality.

Key words micro-organisms, carbonic anhydrase, karst carbon cycle, weathering of carbonate rocks, deposition of carbonate rocks

(编辑 张玲 杨杨)