最古老的沟鞭藻：来自山西永济中元古代晚期的化石和分子生物学证据

孟凡巍① 周传明① 尹磊明① 陈致林② 袁训来①*

(①中国科学院南京地质古生物研究所，南京 210008；②胜利油田地质科学研究院，东营 257000. * 联系人: xlyuan@nigpas.ac.cn)

摘要 在山西永济地区中元古代晚期地层北大尖组产出丰富的、保存良好的有机壁化石，其中有大量带刺疑源类，在形态上和超微结构上有与沟鞭藻相似的特征(如双层壁结构和板片构造)，它们可能是最早的沟鞭藻化石. 为了进一步探讨这些有机壁化石的生物亲缘关系，对这些有机壁化石进行了热模拟实验并分析了其热解产物，在热模拟产物中检测到沟鞭藻的生物标志化合物——甲藻甾烷，因此证实了形态学上的推断. 这一研究将沟鞭藻分子化石的记录提前了 1~4 亿年，可能的实体化石记录提前了 7~9 亿年，同时与分子钟的推测基本吻合.

关键词 中元古代 北大尖组 带刺疑源类 沟鞭藻 甲藻甾烷

沟鞭藻是一种原始的真核生物，在演化中被认为是真核生物与原核生物的过渡阶段，被称为“中核生物”[1]，因此被认为有相当古老的起源[2,3]. 对现生沟鞭藻RNA分子序列和线粒体嵴的研究也表明，沟鞭藻的起源要早于寒武纪地层中出现的有孔虫和放射虫[4]，许多线索都表明沟鞭藻起源于新元古代[5]. 但是在化石记录中较早的可靠的沟鞭藻胞囊(*Rhaetogonyaulax rhaetica*)发现于英国Somerset县北部Watchet地区的诺立克/瑞提阶(上三叠统)的黑色页岩，并检测出丰富的 4-甲基甾烷(包括甲藻甾烷)[6]. 时代更老的“沟鞭藻”化石并未得到普遍认可[7,8]，在志留纪地层有经过严重热降解的有疑问的 22 种微体化石被认为是早期的沟鞭藻胞囊[3,9]，在新元古代地层中也报道了一类具有开口的胞囊化石也认为是早期的沟鞭藻胞囊[10]. 因此，人们推测在古生代和前寒武纪地层中繁盛的疑源类化石中含有沟鞭藻的祖先，虽然疑源类并没有沟鞭藻的胞囊典型的板片和古口，但是某些现生的沟鞭藻胞囊也没有明显的板片和古口[11]，不少现生沟鞭藻的裸甲属产生的胞囊如果保存为化石就会被认为是疑源类[11].

现生沟鞭藻 50%的目不能形成胞囊，人们由此推测沟鞭藻的祖先可能缺少胞囊，而鲜有化石保存[12]. 从前寒武纪到二叠纪的古生代地层中都可以检测到三芳甲藻甾烷[13]，它是沟鞭藻的生物标志化合物甲藻甾烷的芳构化产物，其前躯物甲藻甾醇在现生沟鞭藻中的含量丰富，而在其他生物中几乎不存在[14,15]，因此甲藻甾烷是一种专一性相当强的生物标志化合物[6]. 对显生宙的三芳甲藻甾烷的检出频率曲线与古生代的疑源类和中生代的沟鞭藻的种的分异曲线相一致，暗示了疑源类中有许多类型可能是没有典型鉴定特征的原始的沟鞭藻[13]. 同时也解释了疑源类化石在古生代之后的衰落与沟鞭藻在中生代兴起的吻合现象[16]. 但是前寒武纪三芳甲藻甾烷的检出频率曲线与前寒武纪地层中疑源类的种的分异曲线并不一致，可能恰恰反映了在前寒武纪大部分原始的沟鞭藻不能形成化石胞囊，只能以分子化石保存[13]. 对早寒武世地层中保存良好的带刺疑源类的热模拟产物进行生物标志化合物分析，从中检测到甲藻甾烷[17]，证实了带刺疑源类与沟鞭藻的亲缘关系.

1 化石产地及其形态特征

在山西永济地区中、上元古界不整合于太古代悫水群片麻岩之上，其上为罗圈组冰碛岩不整合覆盖，该套地层自下而上分为汝阳群、洛峪群和震旦系[18]. 在中元古代汝阳群的北大尖组地层中发现了丰富的保存良好疑源类化石，化石颜色呈淡黄~浅褐色而且透明，属种单调，其中*Dictyosphaera*和*Shuiyousphaeridium*占其化石总数的 90%以上[19](图 1).

北大尖组位于中元古界汝阳群上部，其产出的疑源类组合与澳大利亚卢坡群(Roper Group)的化石进行对比[19,20]，推测北大尖组的地质时代可能在 12~15 亿年之间，碳同位素化学地层对比研究也表明其时代为中元古代晚期[21].

疑源类 *Dictyosphaera* 和 *Shuiyousphaeridium* 的超微切片观察，显示了它们有双层壁特征，与现生沟鞭藻胞囊壁的特征相类似(图 2)[22]，即在外面板片结构内侧有一层有机内膜层．对 *Dictyosphaera* 的单个疑源类化石的有机碳同位素分析也表明，它是一种浮游真核藻类[23].

另外，疑源类 *Dictyosphaera* 和 *Shuiyousphaeridium* 的外壁是由许多多边形的细小的板片组成的，与沟鞭藻胞囊的壁的板片有类似之处，但是比沟鞭藻胞囊的壁的板片要小的多，数量要多(图 3).

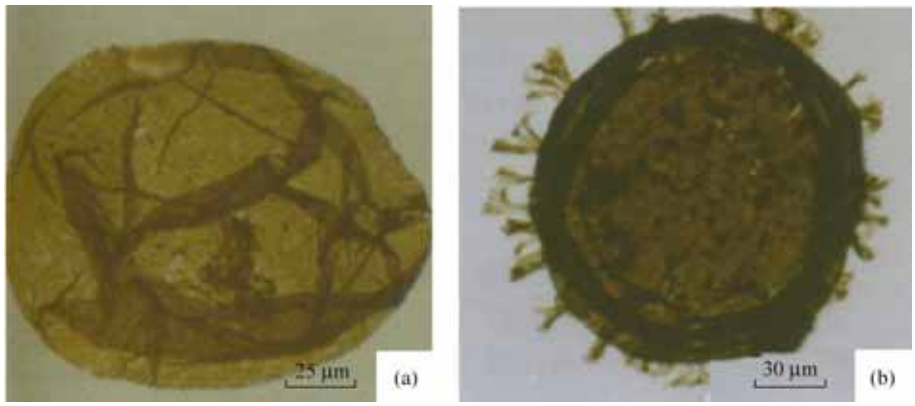


图 1

(a) 北大尖组保存良好的呈淡黄色的疑源类 *Dictyosphaera*; (b) 北大尖组保存良好的呈浅褐色的疑源类 *Shuiyousphaeridium*

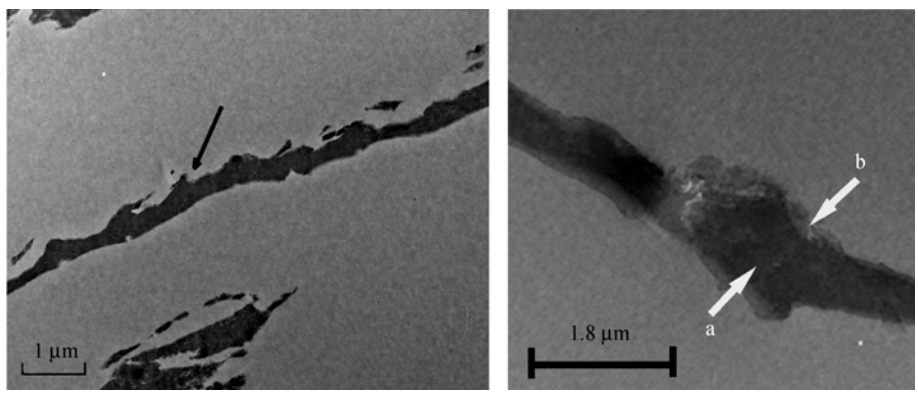


图 2 超微切片显示的 *Shuiyousphaeridium* 的双层壁结构(图中箭头所示)

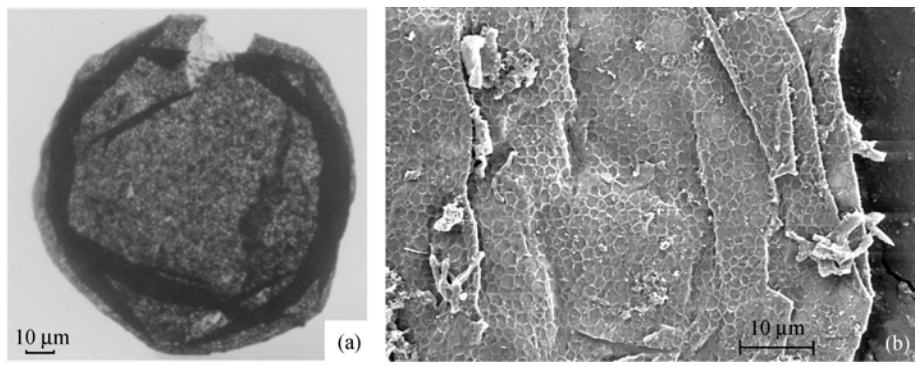


图 3

(a) 北大尖组疑源类 *Dictyosphaera* 光学显微镜下显示的细小板片组成的外壁; (b) 北大尖组 *Shuiyousphaeridium* 水幽沟藻在电子扫描显微镜下显示的细小板片结构

一般来说，沟鞭藻的板片起源有两种假说：一种假说认为沟鞭藻胞囊的板片是逐渐增多的[24]；另一种假说认为沟鞭藻胞囊的板片是逐渐减少的，板片越多的类型越原始[25]．因此，*Dictyosphaera* 和 *Shuiyousphaeridium* 具有细小的板片可能暗示它们与沟鞭藻有某种亲缘关系，这种多板片的早期疑源类也许代表了早期演化中的原始的多板片类型，它与上述第二种假说相吻合[25]．当然，这只是一种推测，现在最大的问题就是：山西永济中元古代北大尖组的疑源类是否就是原始的沟鞭藻？对它们进行生物标志化合物分析，有助于我们更好的确定它们生物学上的属性．

2 生物标志化合物分析

为了进一步探寻这些疑源类的亲缘关系，本文对含化石的中元古代北大尖组地层进行了全岩抽提物及干酪根热模拟物的生物标志化合物分析．全岩样品处理参考史继扬等人[26]的方法，将岩石样品剥去外层后，用蒸馏水洗净，无水乙醇浸泡 24 小时后投入$CHCl_3$浸泡 24 小时后干燥，以消除岩石样品表面及连通孔隙中的可能污染，然后彻底粉碎抽提．在北大尖组的全岩抽提物中，进行色谱-质谱(GC-MS-MS)分析，检测设备为HP 6890 GC/5973N MSD，检测分析在胜利油田有机地球化学实验室完成．我们检测到了沟鞭藻的生物标志化合物——三芳甲藻甾烷(图 4)，并且分析结果中缺乏高等植物的生物标志化合物，反映了分析结果的原生性[27]．全岩抽提物中检测到的三芳甲藻甾烷应该部分来自未保存为化石的疑源类，还有部分可能直接来源于干酪根(表 1)．

为了证实干酪根中具有机壁化石的亲缘关系，对干酪根进行热模拟，对其产物进行分析[17,28]．首先将岩石剥去外层后，用蒸馏水洗净，无水乙醇浸泡 24 小时后投入$CHCl_3$浸泡 24 小时后干燥，以消除岩石表面的可能污染，然后彻底粉碎，过筛至 80 目，用$CHCl_3$抽提 72 小时后以消除岩石连通孔隙中可能的游离烃，然后将抽提后的样品用 15%浓度的盐酸浸泡 72 小时后用蒸馏水冲至中性，再用 50%的HF浸泡 72 小时，以彻底分离附着在干酪根表面与矿物颗粒上的游离烃；最后用蒸馏水冲至中性后室温烘干．

表 1 山西省永济地区北大尖组全岩抽提物标志物各参数比例

参数名称(甾烷)	北大尖组全岩标志物比例
$C_{27}/(C_{27}+C_{28}+C_{29})\alpha\alpha\alpha20R$	0.3719
$C_{28}/(C_{27}+C_{28}+C_{29})\alpha\alpha\alpha20R$	0.2807
$C_{29}/(C_{27}+C_{28}+C_{29})\alpha\alpha\alpha20R$	0.3474

将分离出的烘干的干酪根放入直径 0.5 cm的新钢管内，钢管为未没有使用过的新钢管，使用前开口加热至400℃持续72小时，以彻底消除可能的有机污染．钢管冷却后再放入$CHCl_3$中浸泡 72 小时来彻底清洁钢管．将干酪根放入钢管内密封，用真空阀抽成真空，大气压在 0.01 Pa，然后持续加热在 350℃下热模拟持续 72 小时，最后冷却至室温，将热模拟产物倒出，放入$CHCl_3$中浸泡 144 小时后，将浸泡出的产物蒸发浓缩，将浓缩产物进行双质谱(MRM)-GC-MS分析，检测设备为Agilent 6890 GC/QUATTRO II MS-MSD，检测分析在胜利油田有机地球化学实验室完成．在检测分析前进行平行空白实验[26]，在产物中检测到甲藻甾烷[17](图 5)．

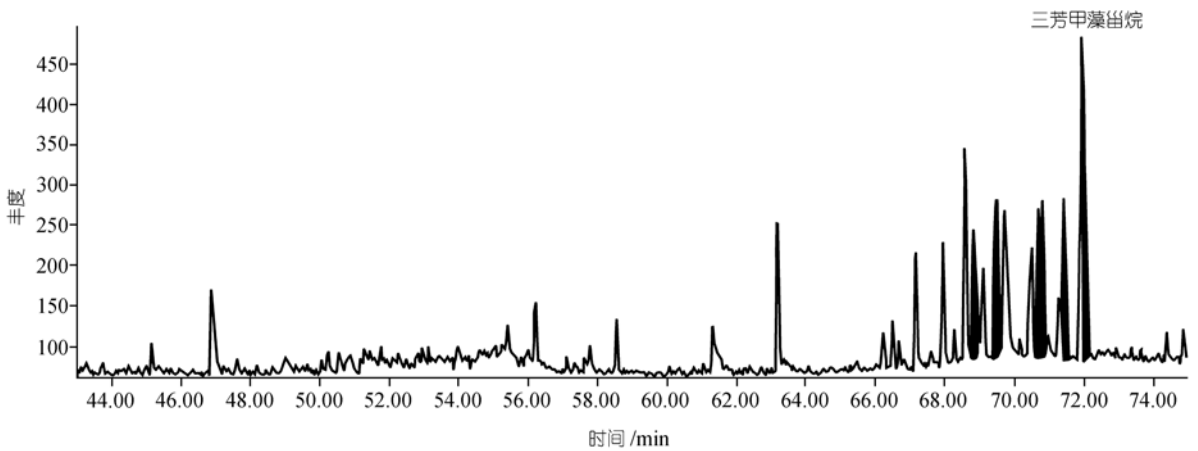


图 4 山西永济地区北大尖组检测出的三芳甲藻甾烷的(m/z→245)质量色谱图

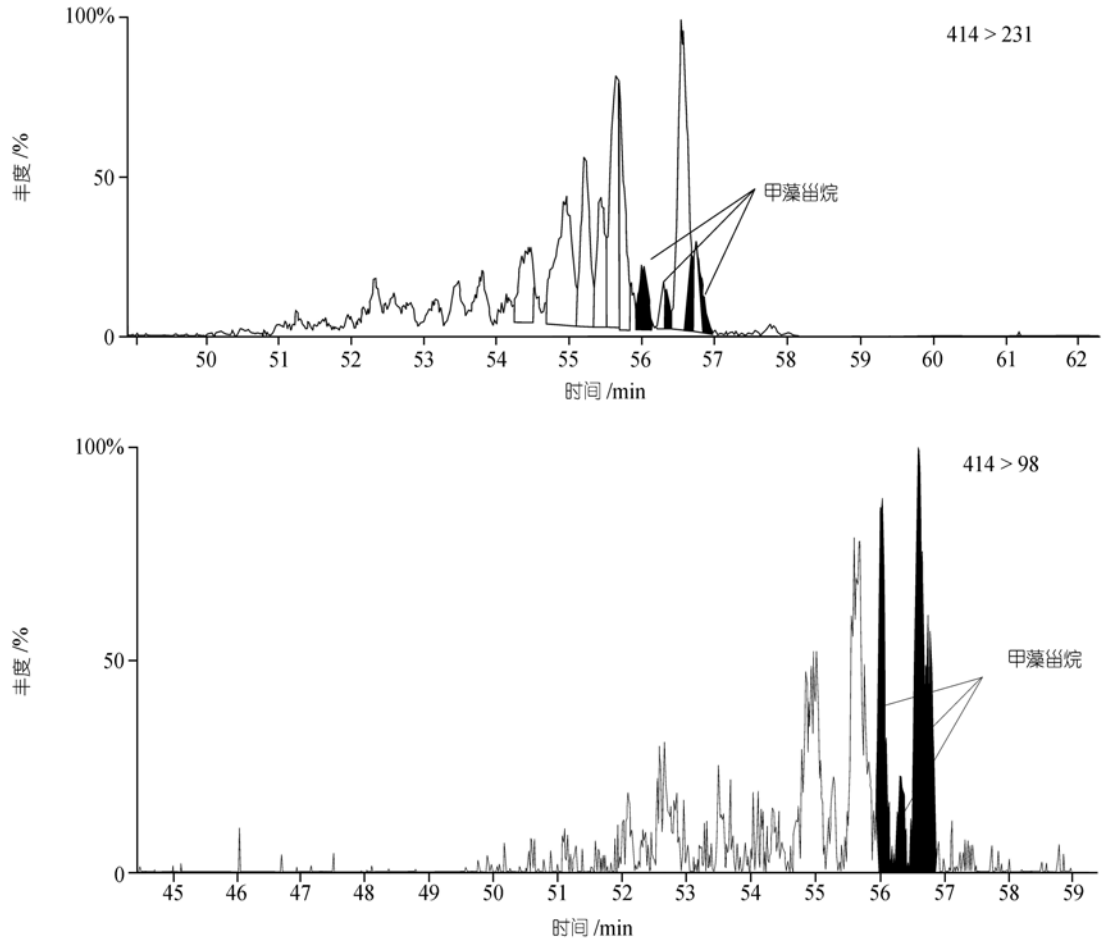


图 5 山西永济地区北大尖组干酪根热模拟的甲藻甾烷的双质谱图

热模拟产物的C_{27}-C_{28}-C_{29} 正常甾烷的含量分布与全岩抽提物的C_{27}-C_{28}-C_{29} 正常甾烷的含量分布并不吻合(表 1 和表 2, 图 6), 如果两者分布吻合则可能是受到流体烃的沾染, 而两者分布不吻合则可能反映了热模拟结果反映了干酪根的性质而并非是受到全岩内流体烃的沾染[17]. 因此此次热模拟结果较好的反映了干酪根的原始的生物化学性质. 热模拟产物的C_{27} 甾烷的含量相对C_{29} 甾烷明显要高(表 2), 并且热模拟产物的C_{27} 甾烷的相对含量要高于围岩的抽提烃中的C_{27} 甾烷的相对含量, 也反映了热模拟产物

表 2 山西省永济地区北大尖组干酪根热模拟产物抽提物标志物各参数比例

参数名称(甾烷)	北大尖组干酪根热模拟抽提物标志物比例
$C_{27}/(C_{27}+C_{28}+C_{29})\alpha\alpha\alpha 20R$	0.4467
$C_{28}/(C_{27}+C_{28}+C_{29})\alpha\alpha\alpha 20R$	0.2846
$C_{29}/(C_{27}+C_{28}+C_{29})\alpha\alpha\alpha 20R$	0.2687

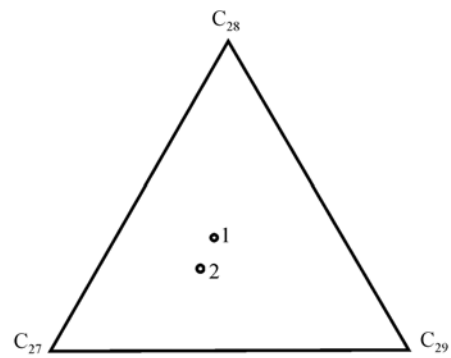


图 6 北大尖组全岩抽提物与干酪根热模拟产物 C_{27}-C_{28}-C_{29} 甾烷分布图

(a) 北大尖组全岩抽提物中 C_{27}-C_{28}-C_{29} 甾烷分布; (b) 北大尖组干酪根模拟物 C_{27}-C_{28}-C_{29} 甾烷分布

的原生性(表 1 和表 2), 符合现生沟鞭藻的甾醇的分布(现生沟鞭藻中甾烷的前驱物甾醇的分布就是C_{27} 甾醇的含量相对C_{29} 甾醇明显要高), 并且也符合前人

对早寒武世地层带刺疑源类的热模拟结果[17]，即不但检测到甲藻甾烷，而且C_{27}甾烷的含量相对C_{29}甾烷明显要高.

这个结果表明，干酪根中的*Dictyosphaera*和*Shuiyousphaeridium*非常有可能是沟鞭藻的祖先. 它们多而细小的板片结构可以与显生宙沟鞭藻的板片相比较，表明了早期沟鞭藻的板片较多，支持了沟鞭藻的板片的演化中减少的假说[25]. 这些发现将沟鞭藻分子化石的记录提前了 1~4 亿年[29]，可能的沟鞭藻实体化石提前了 7~9 亿年[17]，同时也与原先用分子钟等方法估计的沟鞭藻起源于前寒武纪的推测基本符合并有所提前[4,5].

致谢 在论文的实验和写作过程中得到何承全、徐金鲤、黄凤宝和王金龙等同志的热情帮助和指导，在此一并表示感谢. 本工作受国家自然科学基金(批准号: 40472003)，科学技术部重大国际合作项目(2003CB716805)、国家重点基础研究发展规划项目(G2000077701)、中国科学院知识创新基金(KZCX3-SW-141)资助.

参 考 文 献

1 Dodge J D. Chromosome structure in the dinoflagellates and the problem of mesocaryotic cell. Excerpta Medica, International Congress Series, 1965, 91: 339~345
2 Taylor F J R. General group characteristics; special features of interest; short history of dinoflagellate study. In: Taylor F J R, ed. The Biology of Dinoflagellates. Oxford: Blackwell Scientific, 1987. 1~23
3 Evitt W R. Sporopollenin dinoflagellate cysts: Their morphology and interpretation. Austin, Texas, American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation, 1985. 1~333
4 Lipps J H. Introduction to fossil prokaryotes and protests. In: Lipps J H, ed. Fossil Prokaryotes and Protists. Boston: Blackwell, 1993. 1~10
5 Knoll A H. Archean and Proterozoic paleontology. In: Jansonius J, McGregor D C, eds. Palynology: Principles and Applications. American Association of Stratigraphic Palynologists Foundation, Dallas, TX, vol.3, 1996. 1249~1277
6 Peters K E, Moldowan J M. The Biomarker Guide: Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and anicient Sediments. Englewood Cliffs: Printice-Hall, 1993
7 Goodman D K. Dinoflagellate cysts in ancient and modern sediments. In: Taylor F J R, ed. The Biology of Dinoflagellate. Oxford: Blackwell Scientific, 1987. 649~722
8 Helby R, Morgan R, Partridge A D. A palynological zonation of the Australian Mesozoic. In: Jell P A, ed. Studies in Australian Mesozoic Palynology. Sydney: Association of Australiasian Palaeontologists, 1987. 1~94
9 Sarjeant W A S. *Arpylorus antiquus* Calandra, emend., a dinoflagellate cyst from the Upper Silurian. Palynology, 1978, 2: 167~179
10 Butterfield N J, Rainbird R H. Diverse organic-walled fossils. Including "possible dinoflagellates" from the early Neoproterozoic of Arctic Canada. Geology, 1998, 26: 963~966[DOI]
11 Wall D, Dale B. Modern dinoflagellate cysts and evolution of the Peridiniales. Micropaleontology, 1968, 14: 265~304
12 Fensome R A, Taykor F J R, Norris G, et al. A classification of living and fossil dinoflagellates. Micropaleontology Society Special Publication 7, 1993. 1~351
13 Moldowan J M, Dahl J, Jacobson S R, et al. Chemostratigraphic reconstruction of biofacies: Molecular evidence linking cyst-forming dinoflagellates with pre-Triassic ancestors. Geology, 1996, 24(2): 159~162[DOI]
14 侯读杰，王铁冠. 陆相湖盆沉积物和石油中的甲藻甾烷. 科学通报, 1995, 40(4): 333~335
15 Shimuzu Y, Alam M, Kobayashi A. Dinosterol, the major sterol with a unique side chain in the toxic dinoflagellate, *Gonyaulax tamarensis*. Journal of the American Chemical Society, 1976, 98: 1059~1060
16 郝诒纯，茅绍智. 微体古生物学教程. 武汉: 中国地质出版社, 1989
17 Talyzina N M, Moldowan J M, Johannisson A, et al. Affinities of Early Cambrian acritarchs studied by using microscopy, fluorescence flow cytometry and biomarkers. Review of Palaeobotany and Palynology, 2000, 108: 37~53[DOI]
18 关保德，耿午辰，戎治权，等. 河南东秦岭北坡中-上元古界. 郑州: 河南科学技术出版社, 1988
19 尹磊明，袁训来. 论山西中元古代晚期汝阳群微体化石组合. 微体古生物学报, 2003, 20(1): 39~46
20 Javaux E J, Knoll A H, Walter M R. Morphological and ecological complexity in early eukaryotic ecosystems. Nature, 2001, 412: 66~69[DOI]
21 Xiao S H, Knoll A H, Kaufman A J, et al. Neoproterozoic fossils in Mesoproterozoic rocks? Chemostratigraphic resolution of a biostratigraphic conundrum from the North China Platform. Precambrian Research, 1997, 84: 197~220[DOI]
22 Martin F, Kjellström G. Ultrastructural study of some Ordovician acritarchs from Gotland, Sweden. Neues Jahrb. Geol Paläontol Monatsh, 1973(1): 44~54
23 Kaufman A J, Xiao S H. High CO_2 levels in the Proterozoic atmosphere estimated from analyses of individual microfossils. Nature, 2003, 425: 279~282[DOI]
24 Bujak J P, Williams G L. The evolution of dinoflagellates. Can Jour Bot, 1981, 59: 2077~2087
25 Norris G. Phylogeny and a Reviewed suprageneric Classification for Triassic-Quaternary Organic-walled Dinoflagellate Cysts (Pyrrhophyta). Part Ⅰ. Cyst Terminology and Assesment of Previous Classification. N Jb Geol Palaont, Abh, 1978, 155: 300~327
26 史继扬，向明菊，徐世平. 前寒武纪地层中的生物标志物与生命演化. 沉积学报, 2000, 18(4): 634~638
27 Brock J J, Logan G A, Buick R, et al. Archean Molecular Fossils and the Early Rise of Eukaryotes. Science, 1999, 285: 1033~1036[DOI]
28 王睿勇，周文，戴俊彪，等. 盐藻热模拟产物中长链类异戊二烯烃的检出. 科学通报, 1999, 44(11): 1190~1193
29 Summons R E, Thomas J, Maxwell J R, et al. Secular and environmental constraints on the occurrence of dinosterane in sediments. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1992, 56: 2437~2444[DOI]

(2005-02-23 收稿, 2005-05-16 收修改稿)