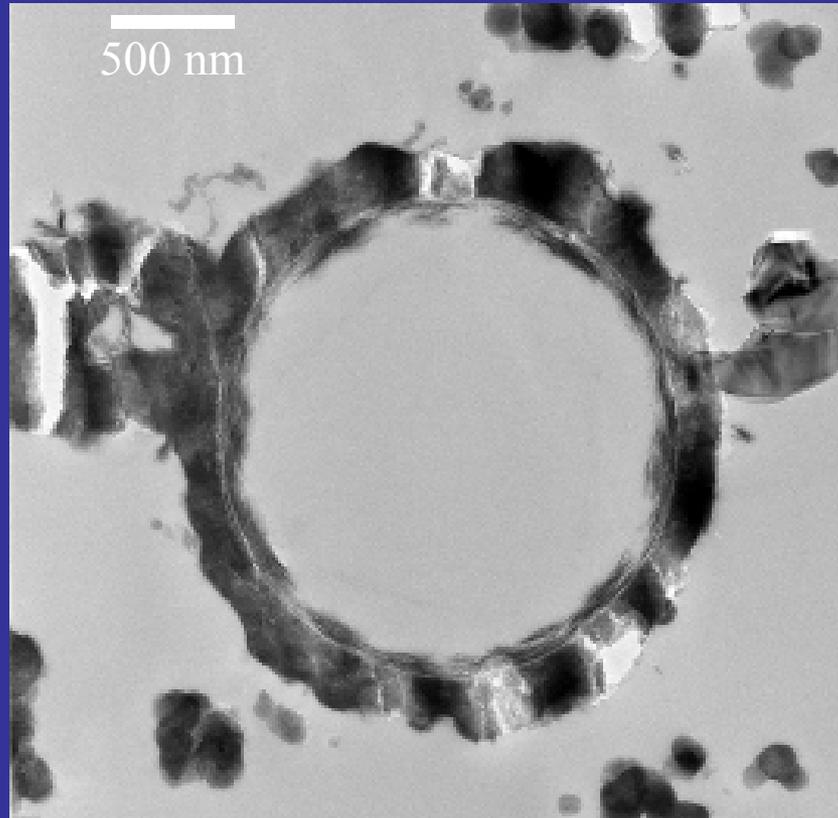


Processus de fossilisation



Karim Benzerara

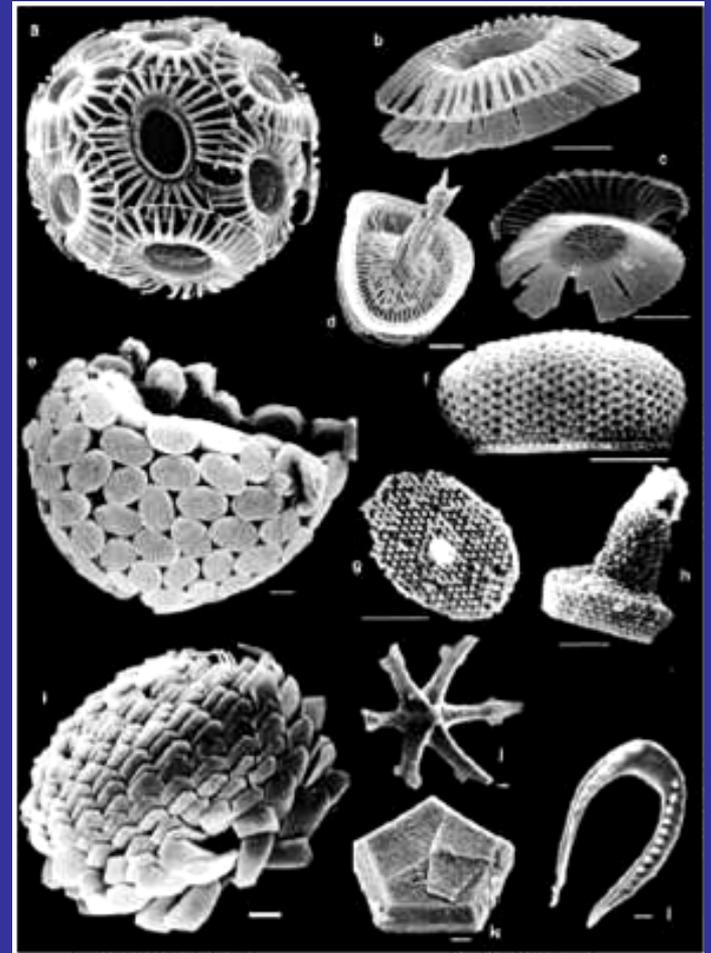
Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés
CNRS, UPMC & IPGP
140 Rue de Lourmel
75015 Paris

Karim.benzerara@impmc.jussieu.fr

Les eucaryotes (Métazoaires ou bien unicellulaires) laissent de nombreuses traces dans l'enregistrement géologique par l'intermédiaire de leurs « squelettes »

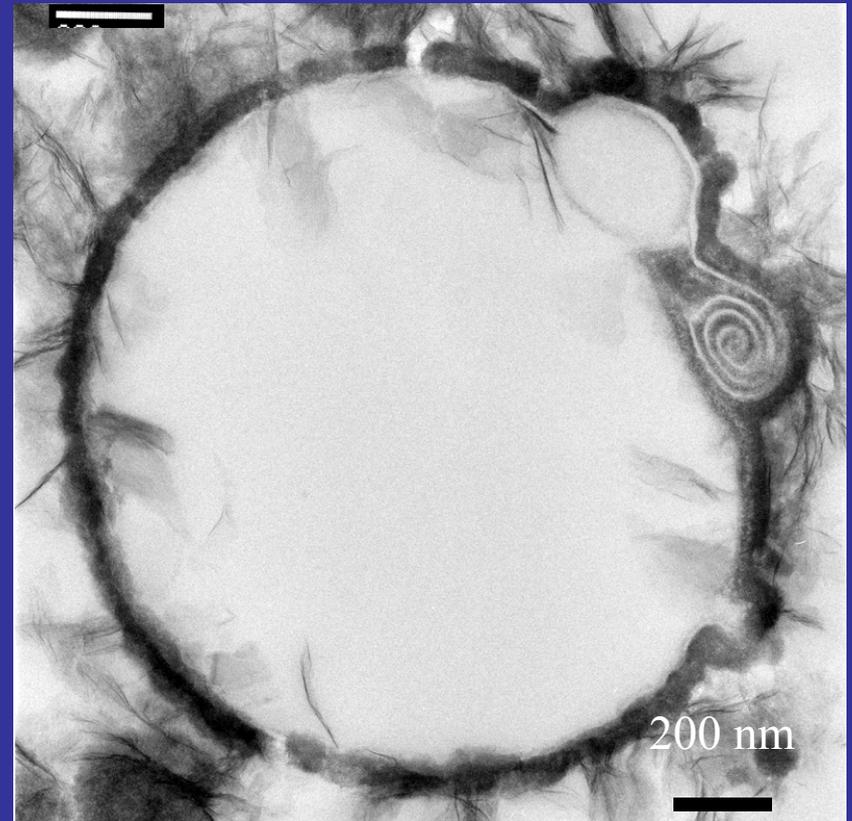
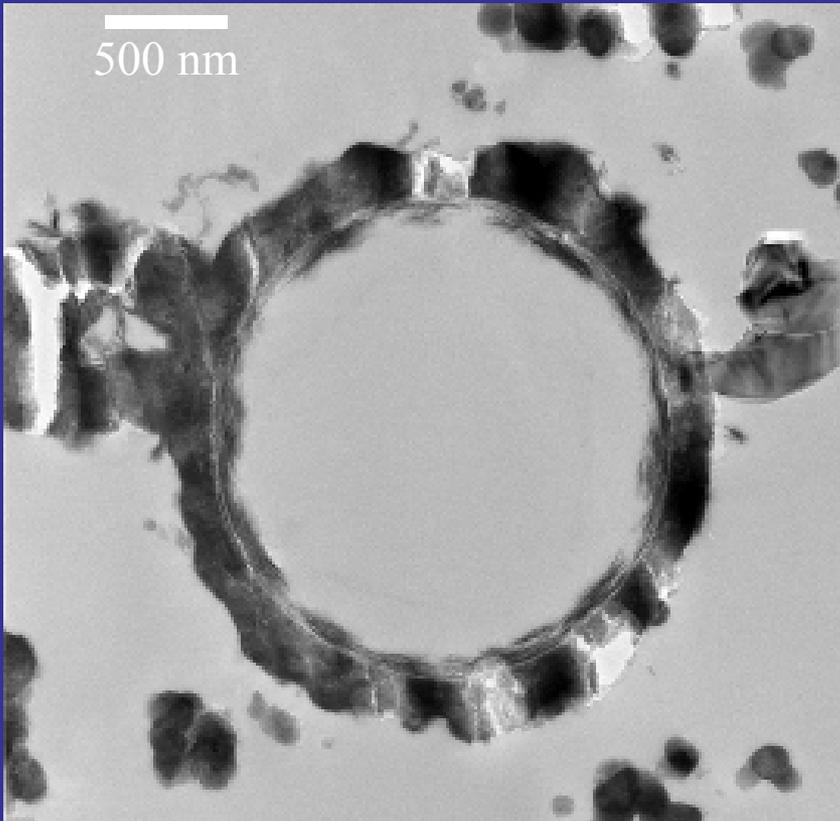


T. Rex, NYC



Coccolithophoridés

Les Bactéries, Archaea et même virus peuvent aussi laisser des traces dans l'enregistrement fossilière

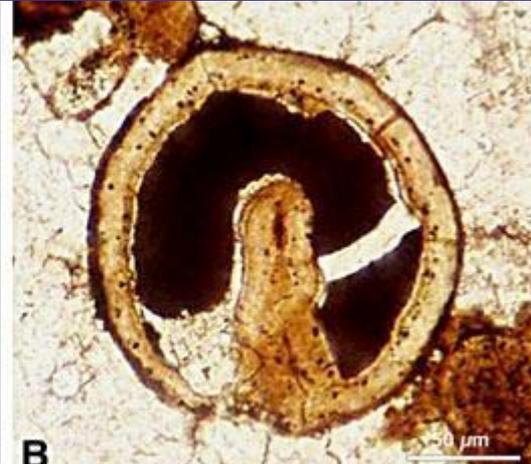
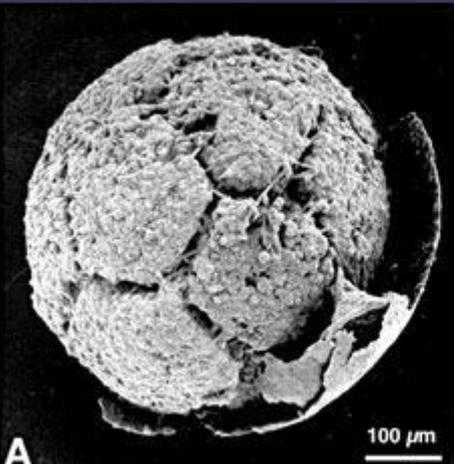


Les Bactéries sont de plus souvent suggérées comme des acteurs majeurs dans la fossilisation des tissus mous des Métazoaires



Xiao et al., (2000)

Raff EC et al (2006) Experimental taphonomy shows the feasibility of fossil embryos. PNAS, 103: 5846-5851



Premiers métazoaires fossiles: embryons dans phosphorites de Chine, Doushantuo 598 ± 2 Ma

Plusieurs problèmes:

- ★ Difficiles à reconnaître et souvent contestés
- ★ Variations au cours du temps de leur présence: signification?

→ Connaitre les mécanismes de la fossilisation permettrait de répondre à ces questions

Taphonomie= étude des mécanismes de fossilisation

Différents types de fossiles de microorganismes (cf. E. Javaux):

1. Galeries creusées par les microorganismes: ex. tubes d'altération dans les basaltes

2. Traces chimiques laissées par les microorganismes (e.g., isotopes du C d'Isua)

Cf. Thomazo et al. (2009) Biological activity and the Earth's surface evolution: Insights from carbon, sulfur, nitrogen and iron stable isotopes in the rock record. C. R. Palevol 8: 665-678.

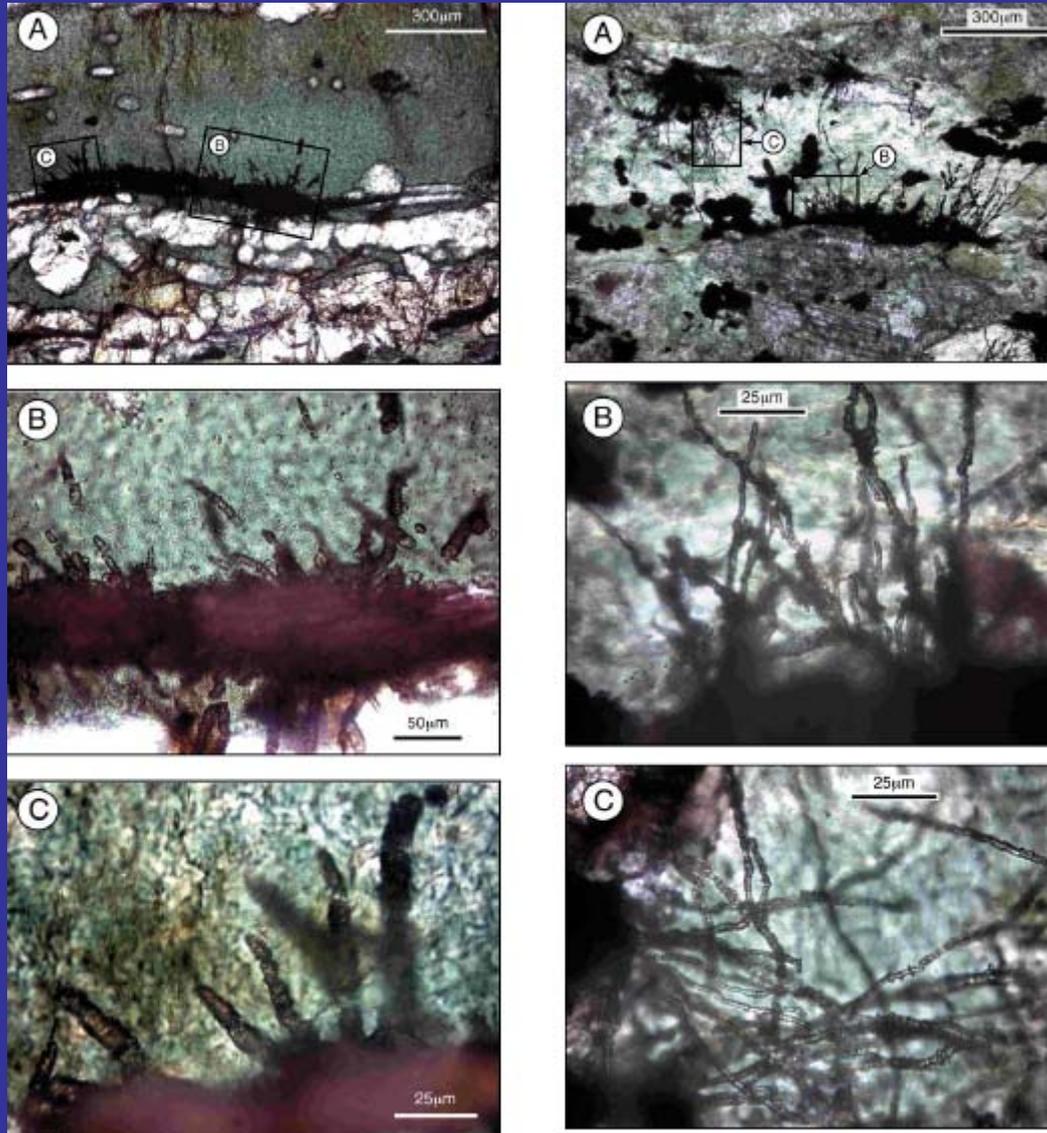
→ Ces traces sont laissées sous la forme d'anomalies isotopiques dans la matière organique fossilisée (cf. 5) ou dans les minéraux formés par les organismes (cf. 3 et 4)

3. Minéraux produits par les microorganismes: ex. des magnétites

4. Roches produites par les microorganismes: ex. des stromatolites

5. Microfossiles : fossiles des microorganismes eux-mêmes

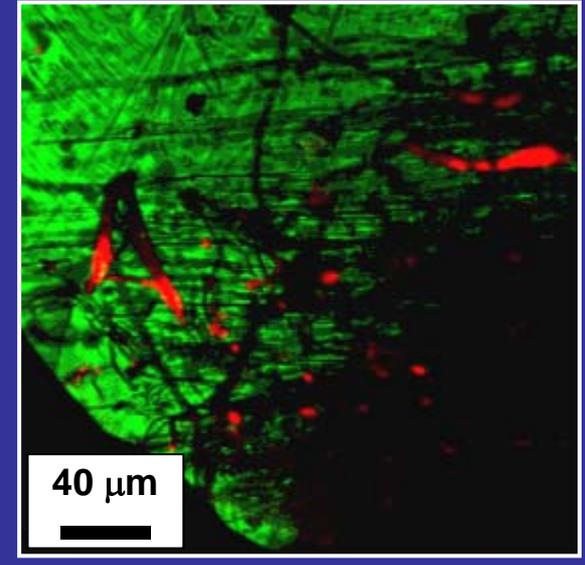
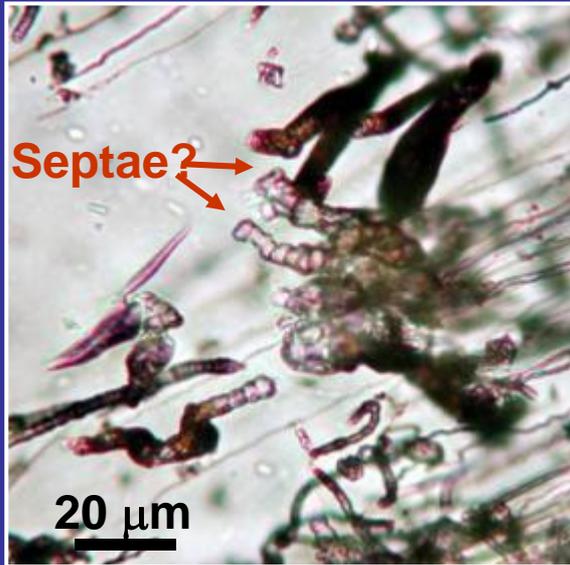
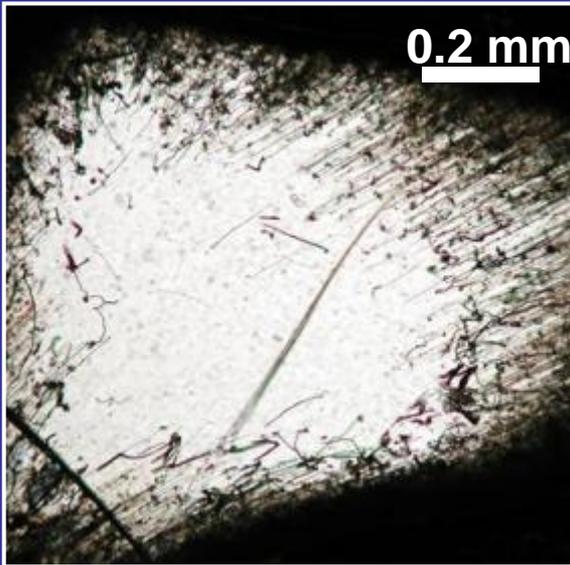
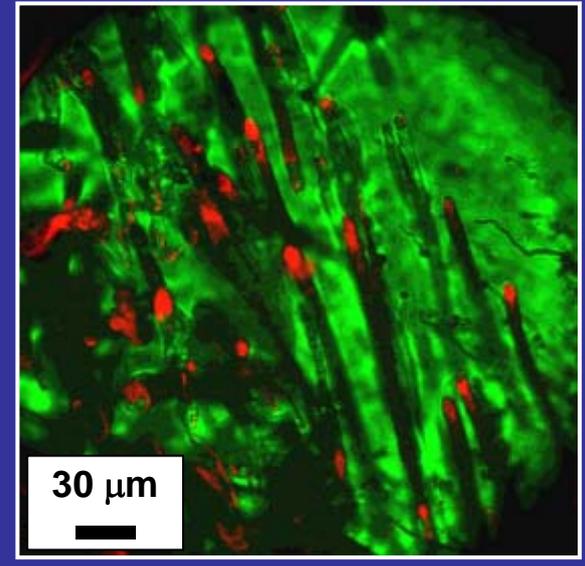
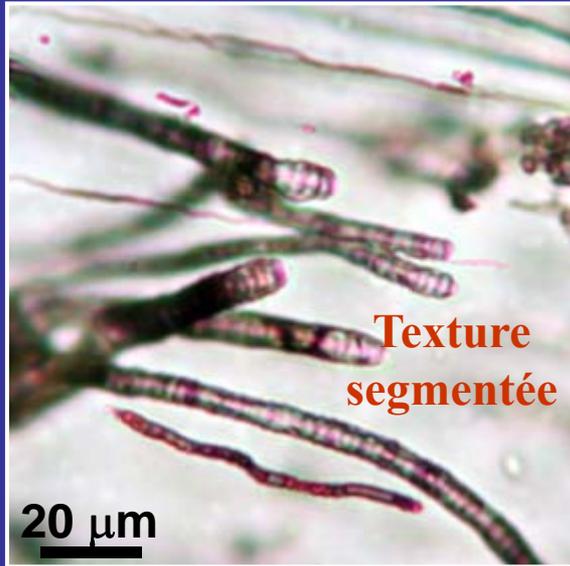
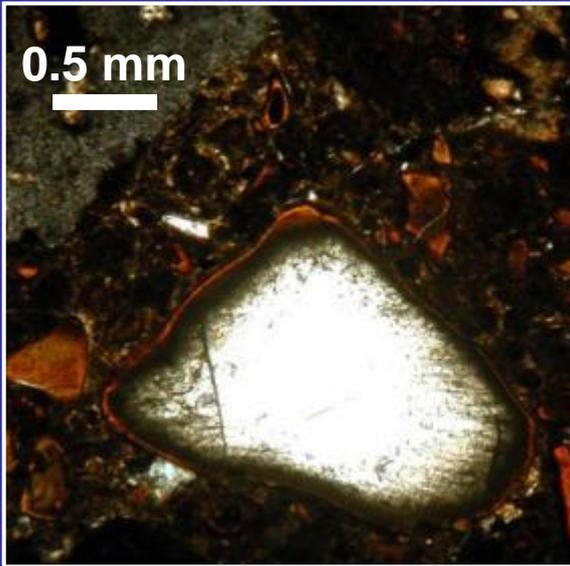
Structures tubulaires observées dans des basaltes en coussin de Barberton (Af. Sud, 3.5 Ga)



*Furnes H et al. (2004) Early life recorded in
archean pillow lavas. Science 304: 578-581*

Interprétation: galeries creusées par des microorganismes (=endolithes)
puis fossilisées par remplissage minéral secondaire

Analogues actuels

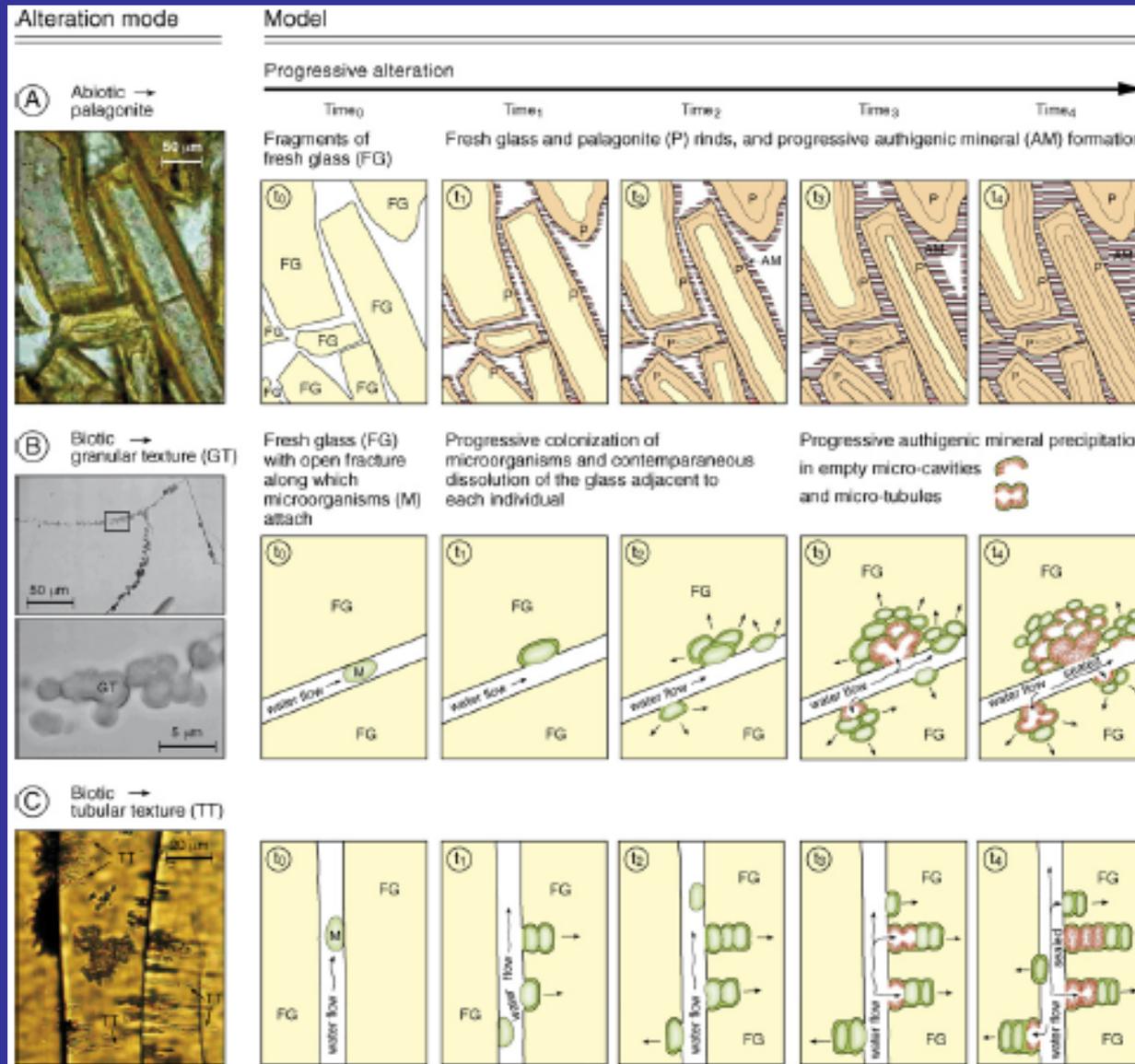


Coloration au bromure d'Ethidium

Des microorganismes (?) sont parfois observés dans les tubes: cela implique t-il qu'ils les produisent...

Mécanisme de formation proposé

N.B: ne repose pas sur des expériences, juste une intuition!

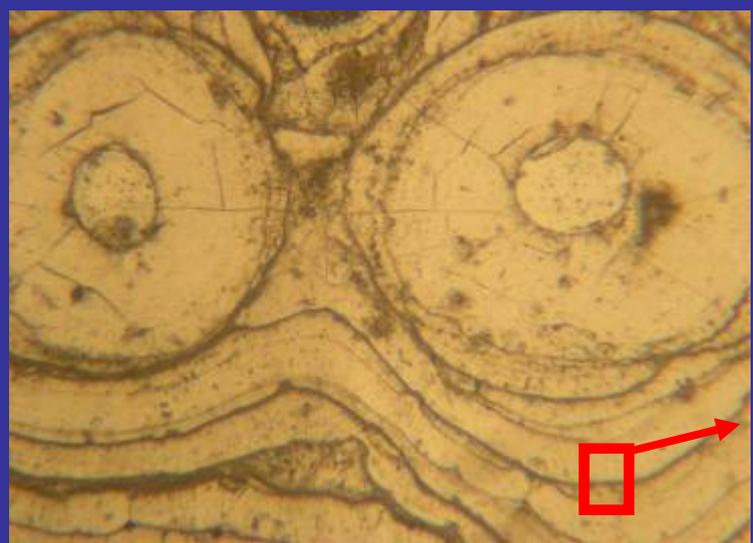


Fumes H et al (2007) Comparing petrographic signatures of bioalteration in recent to Mesoarchean pillow lavas: Tracing subsurface life in oceanic igneous rocks. Precambrian Research 158: 156-176

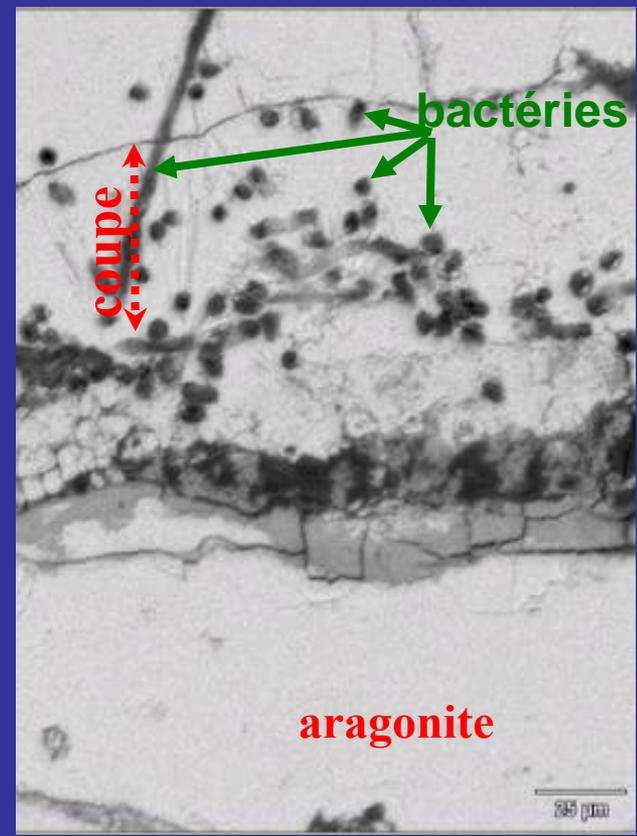
Problème pour l'interprétation endolithique des galeries dans les basaltes :

- Aucun des arguments avancés n'est univoque
- Pas de preuve directe de la présence de matière organique dans les galeries
- Pas de démonstration expérimentale

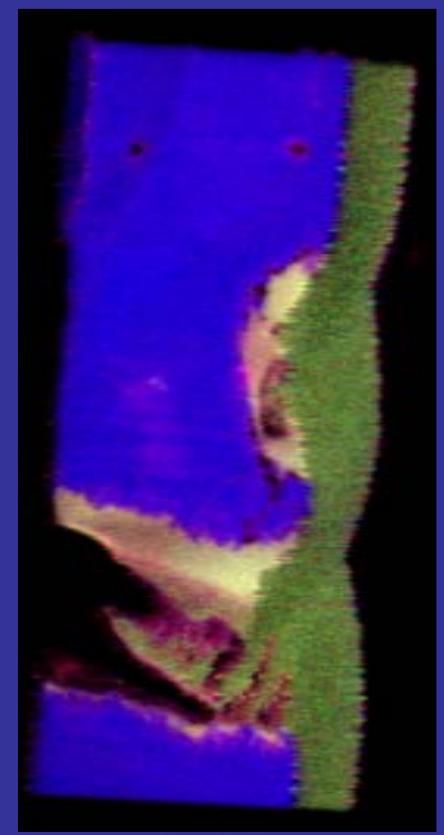
Microorganismes endolithiques existent pourtant clairement dans les carbonates



Optical Microscopy



MEB



CaCO₃
Carbone organique

Questions restant grandes ouvertes

- ★ Quels microorganismes? (Dans les carbonates, semblent être *Cyanobactéries*)
- ★ Selon quel mécanisme? (acidification? Mécanisme spécifique?)
- ★ Comment survivent ils?
- ★ Dans quelles roches?
- ★ Est-ce que les galeries restent apparentes longtemps?
- ★ Quand au cours des temps géologiques?

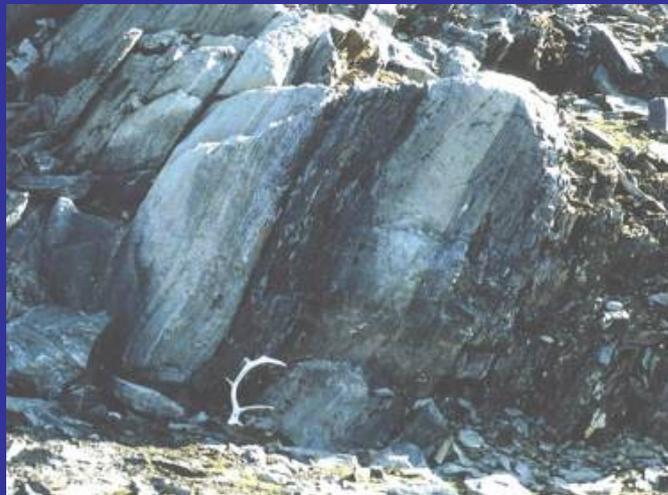
Les plus vieilles roches sédimentaires terrestres à ce jour



Basaltes



Banded Iron Formations



Turbidites



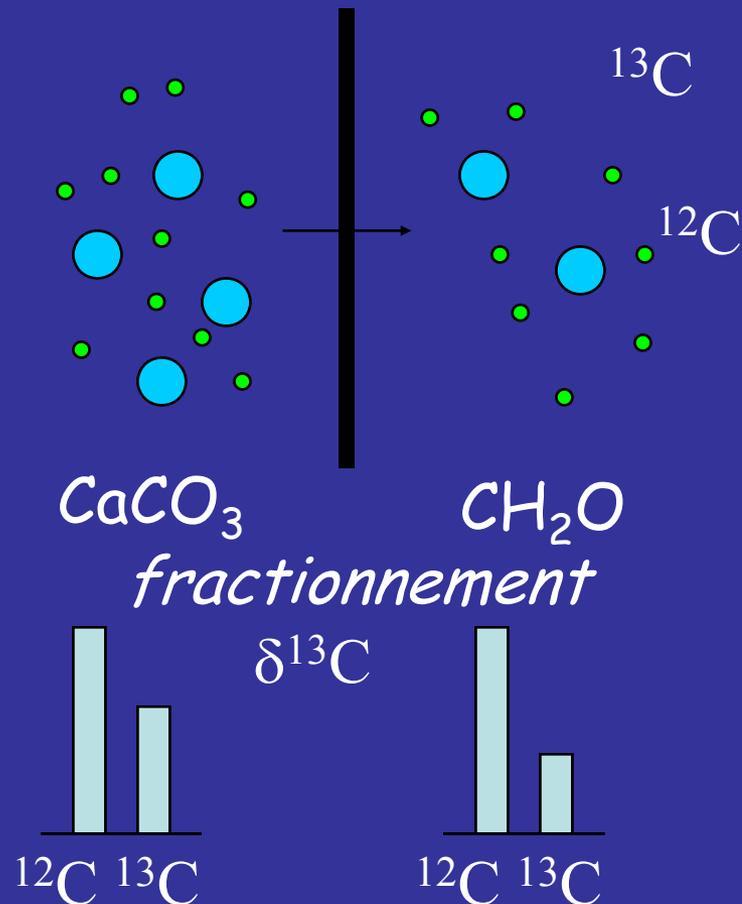
Carbonates métamorphiques

Amphibolite facies
Metamorphism:

T= 550°C, P= 5 kBar

Traces isotopiques de la vie

- ^{12}C (99%) (6 p+, 6n°), ^{13}C (7n°), ^{14}C (8n°)



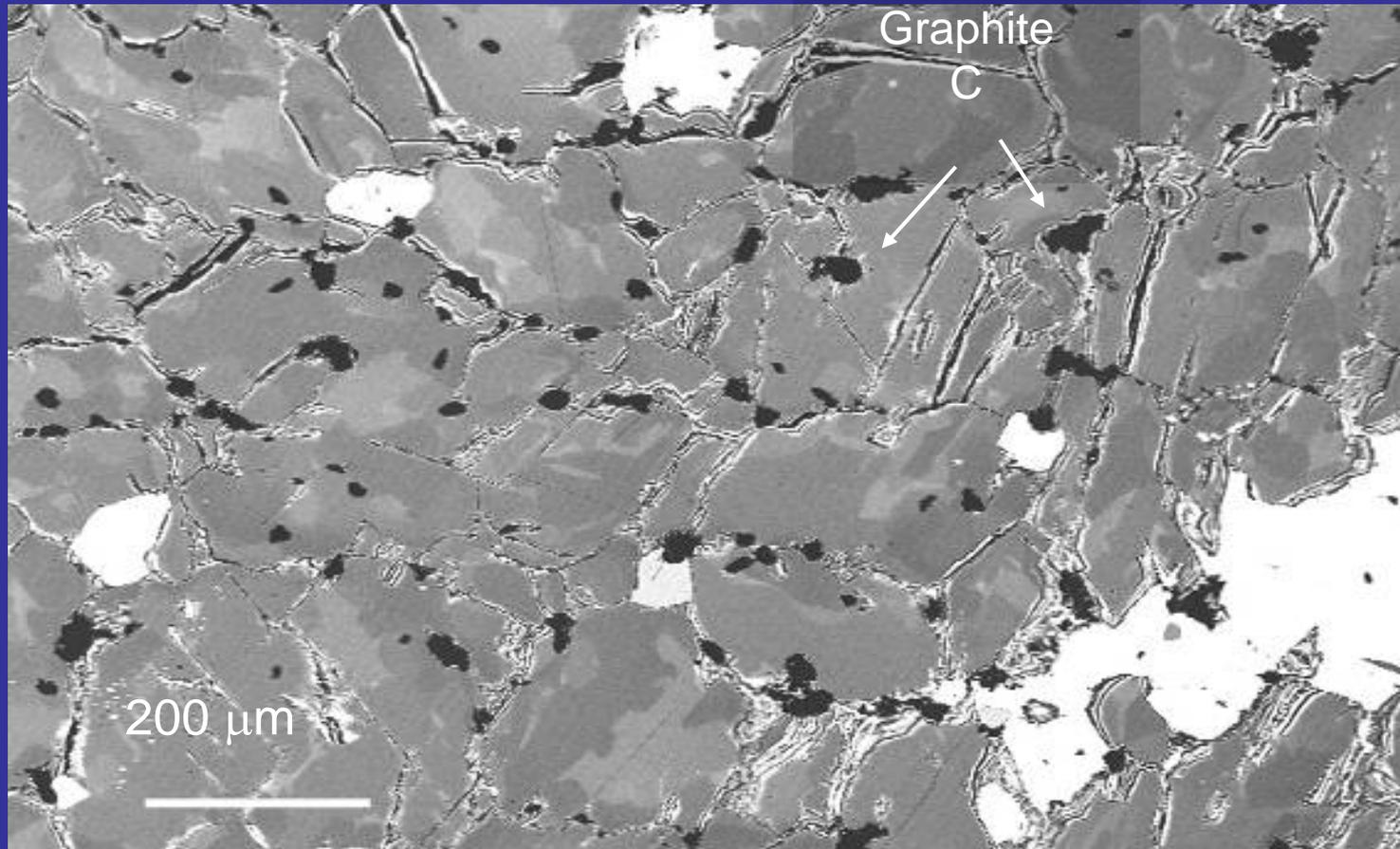
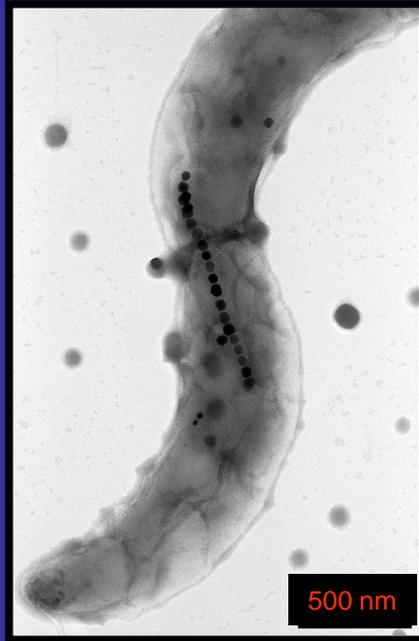


Image en microscopie électronique à balayage d'inclusions de Carbone dans les roches d'Isua

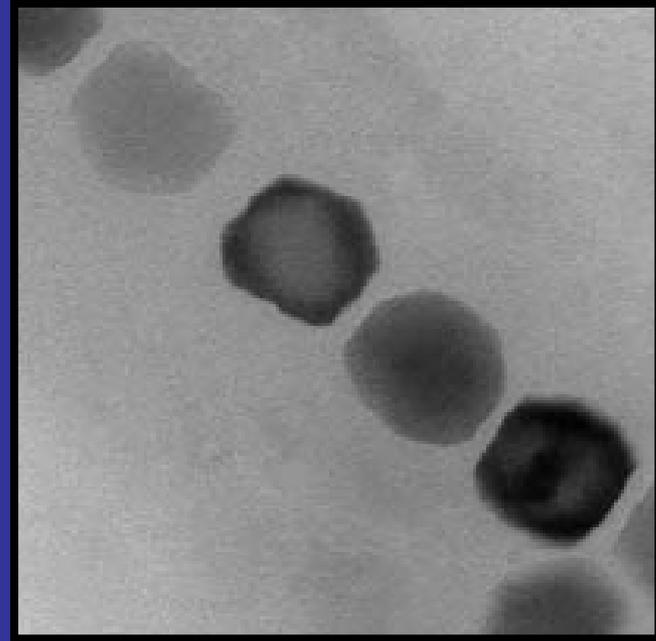


FeCO_3 : siderite (gris), C : graphite, Fe_3O_4 : magnétite

Minéraux produits par les microorganismes: ex. bactéries magnétotactiques



Menguy et Isambert



Magnétite: Fe_3O_4 (Fe^{2+} et Fe^{3+})

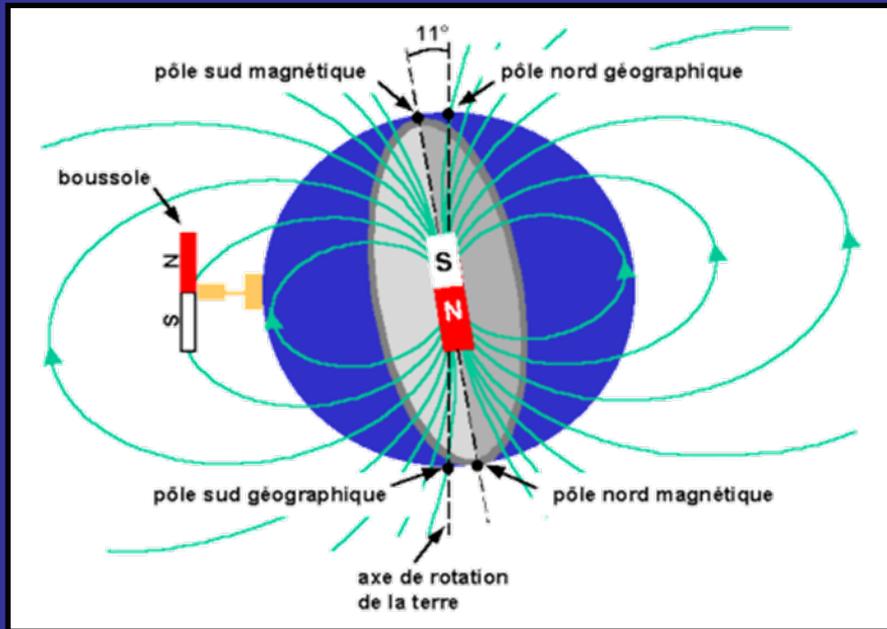
Chaque magnétite dans une vésicule délimitée par une membrane = magnétosome

Magnétites alignées en une ou plusieurs chaînes

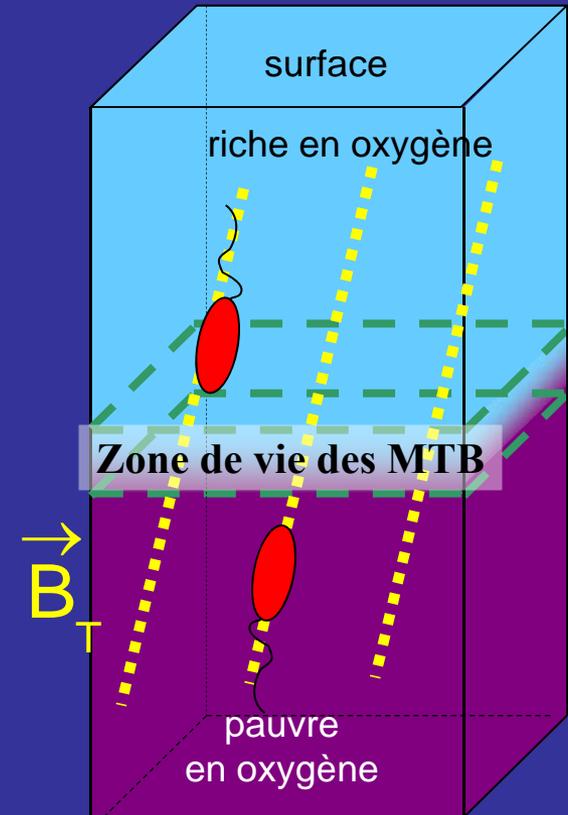
Quelques souches peuvent être cultivées au laboratoire

AVANTAGE ECOLOGIQUE DU MAGNETOTACTISME

- Sous nos latitudes, le champ magnétique terrestre a une composante verticale



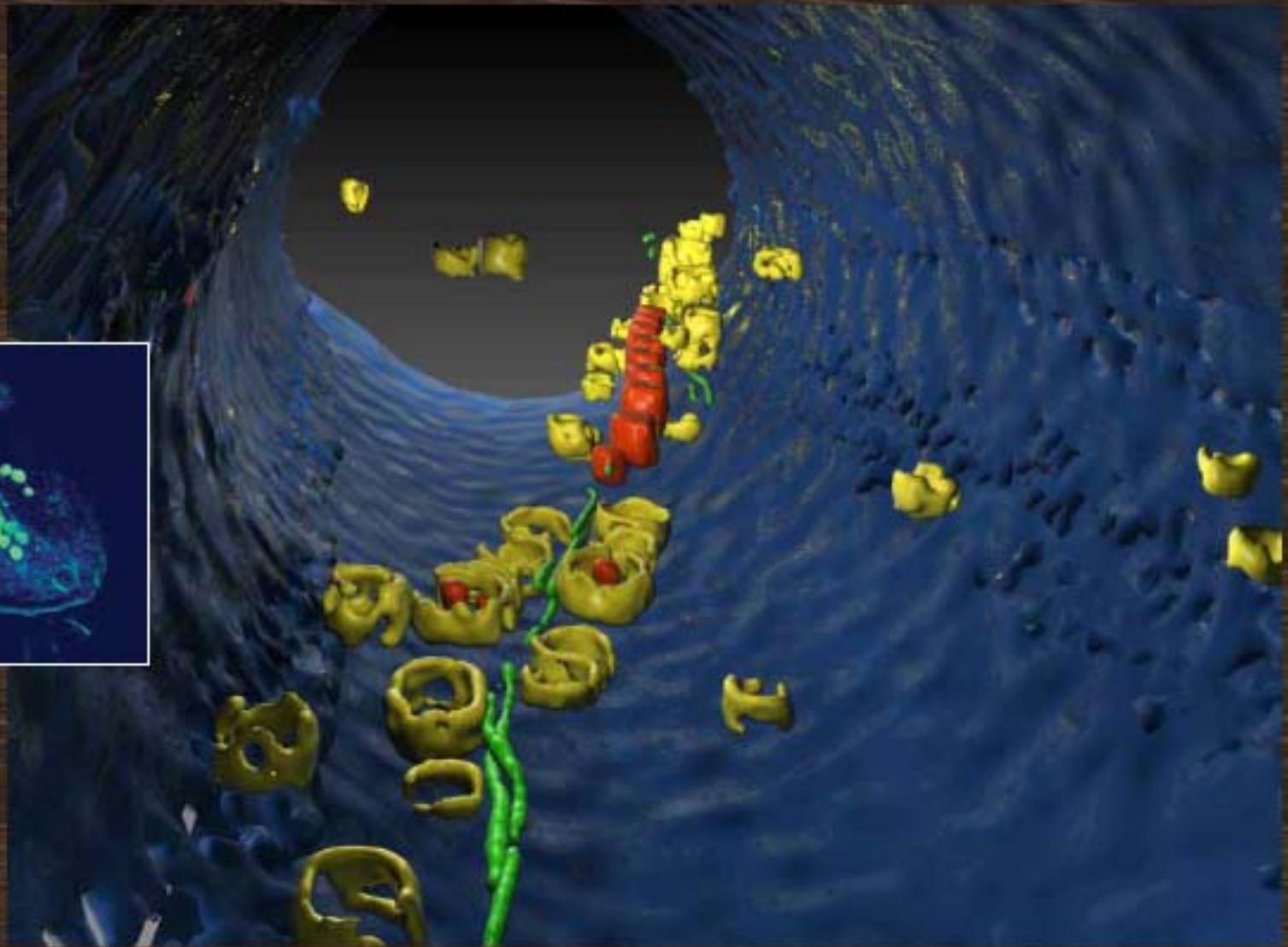
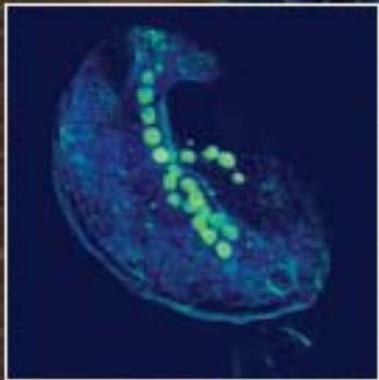
- Les bactéries magnétotactiques (MTB) vivent dans des milieux pauvres en oxygène ($[O_2] < 7 \mu M$)



Magnétotactisme + aérotactisme facilitent la recherche des meilleures conditions d'existence (1D vs. 3D)

N.B. : D'autres microorganismes non magnétotactiques vivent aussi dans cette zone

magnetoreception - Bacteria



Les magnétites biogéniques ont des caractéristiques chimiques, morphologiques et structurales particulières

Difficile à faire abiotiquement (cf. synthèses industrielles)

1/ Distribution en taille restreinte (30-120 nm), largeur/longueur défini : Magnétites monodomaines

2/ Composition chimique pure (pas d'impuretés: Ti, Cr etc...)

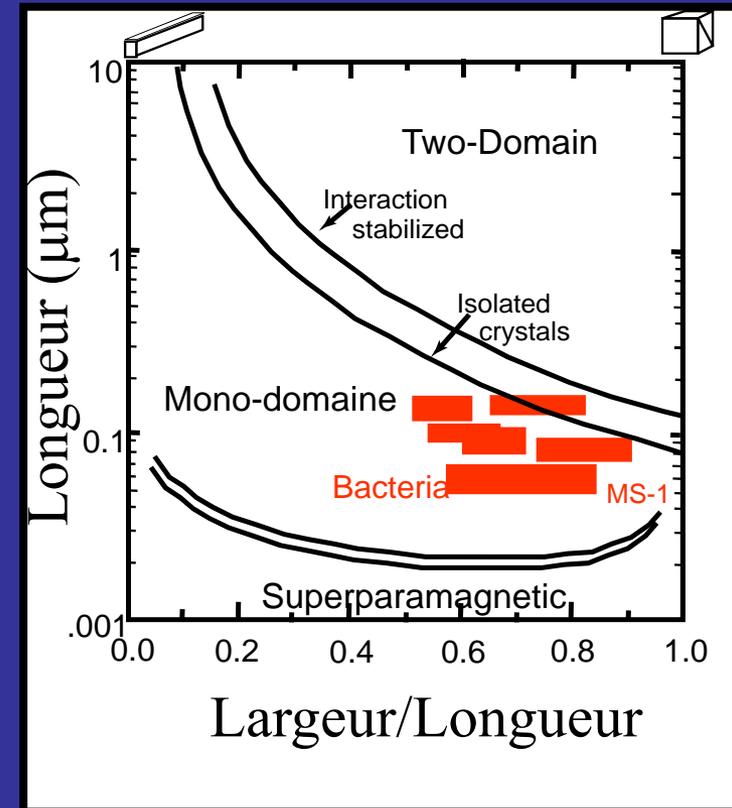
3/ Pas ou peu de défauts cristallins

4/ Organisation en chaînes linéaires (in vivo)

5/ Anisotropie de forme : allongée selon une direction $\langle 111 \rangle$

(= maximisation du moment magnétique)

6/ Alignement des magnétites selon une direction $\langle 111 \rangle$



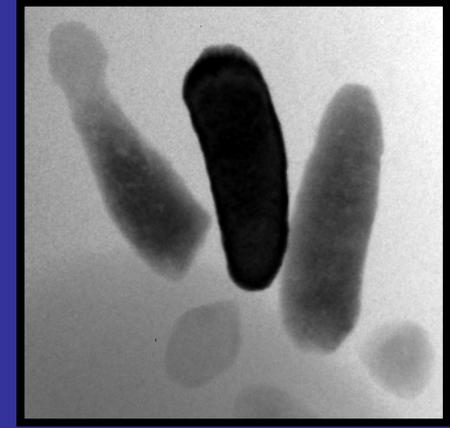
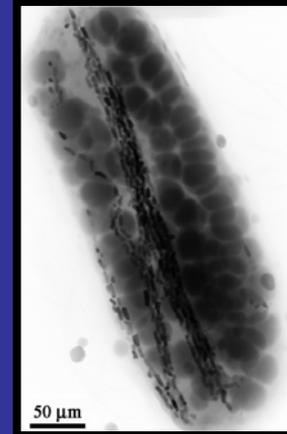
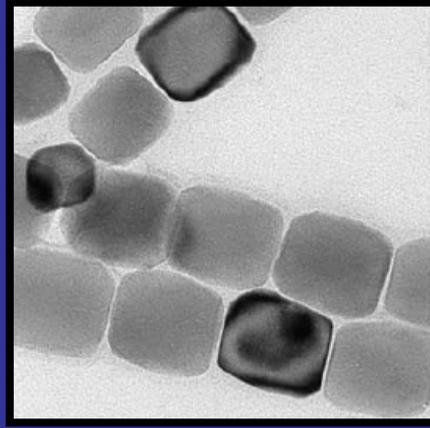
→ Biominéralisation contrôlée



DIVERSITE DES MAGNETITES BIOGENIQUES

Description précédente faite sur la souche cultivée MV-1, mais diversité des espèces magnétotactiques dans le milieu naturel...

Diversité morphologique des cristaux



Les magnétites de certaines bactéries présentent d'autres directions d'élongation que $\langle 111 \rangle$

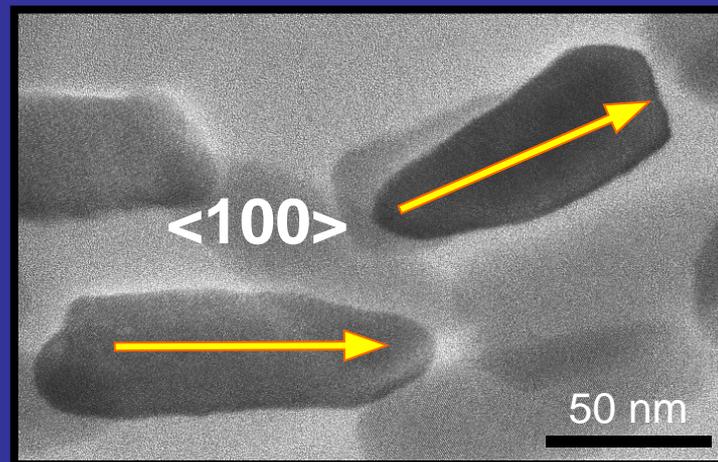
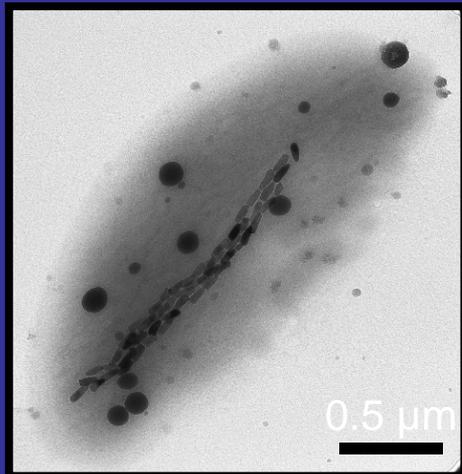
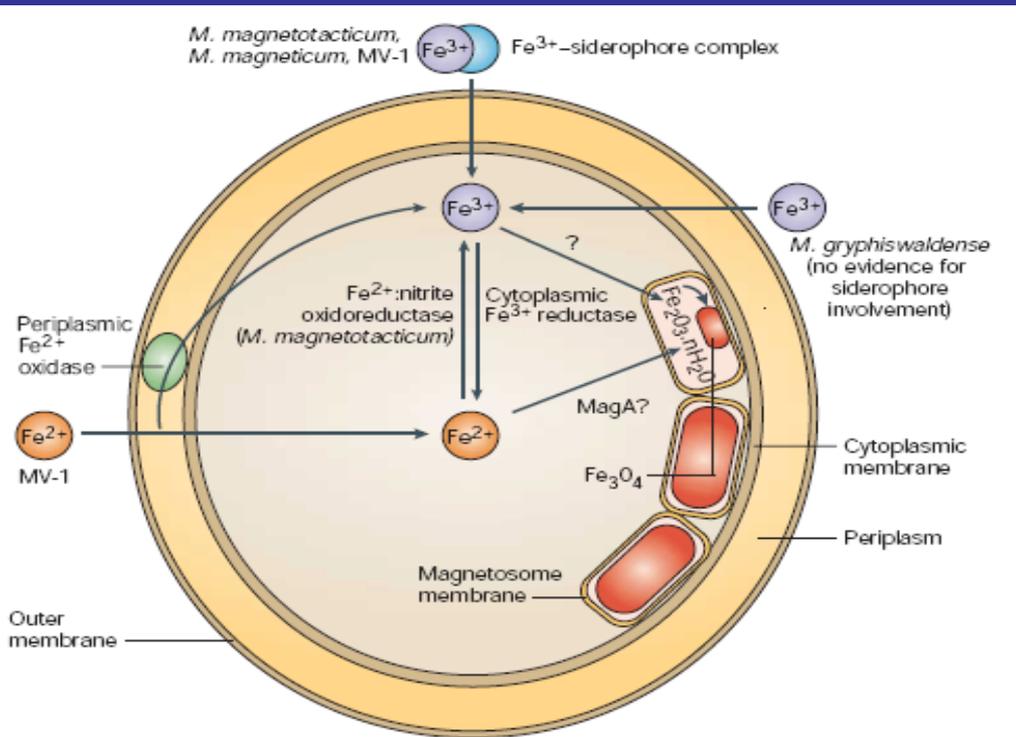


Image idyllique de la maximisation du moment magnétique dipolaire
marche parfois moins bien

Pour faire des magnétites intracellulaires, les bactéries magnétotactiques doivent :

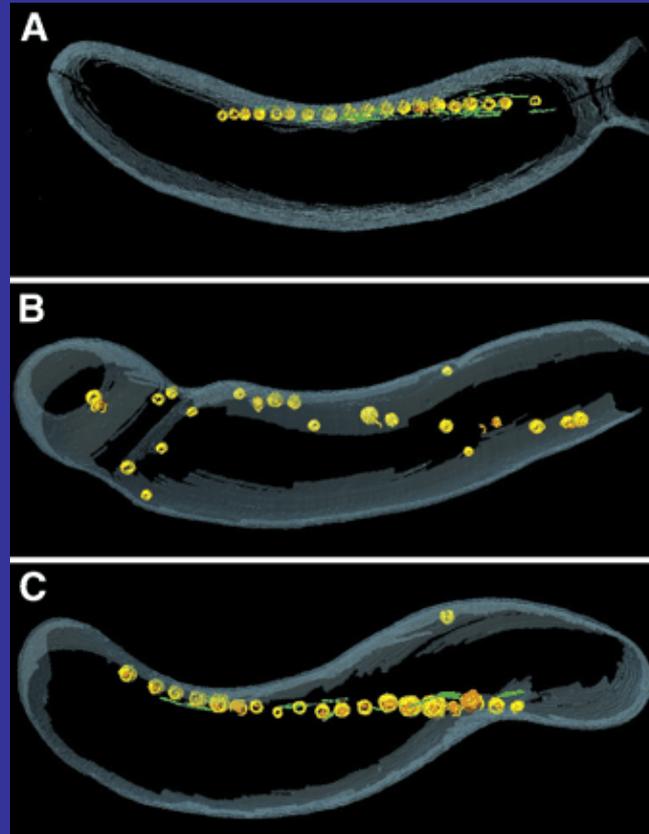
- Synthétiser la membrane des magnétosomes et l'invaginer à partir de la membrane plasmique
- Assembler une chaîne de magnétosomes
- Faire rentrer du fer dans la cellule, l'oxyder, le transporter dans le magnétosome, le réduire partiellement, contrôler la nucléation et la croissance des magnétites
- réguler chacune de ces étapes etc...



Bazylinski and Frankel (2004) Magnetosome formation in Prokaryotes *Nature reviews Microbiology* 2: 217-230.

De nombreux gènes sont impliqués: cas de biominéralisation contrôlée

→ Par exemple, MamK dans la synthèse des filaments du cytosquelette (actin-like): indispensable à la formation de chaînes de magnétosomes



Souche sauvage

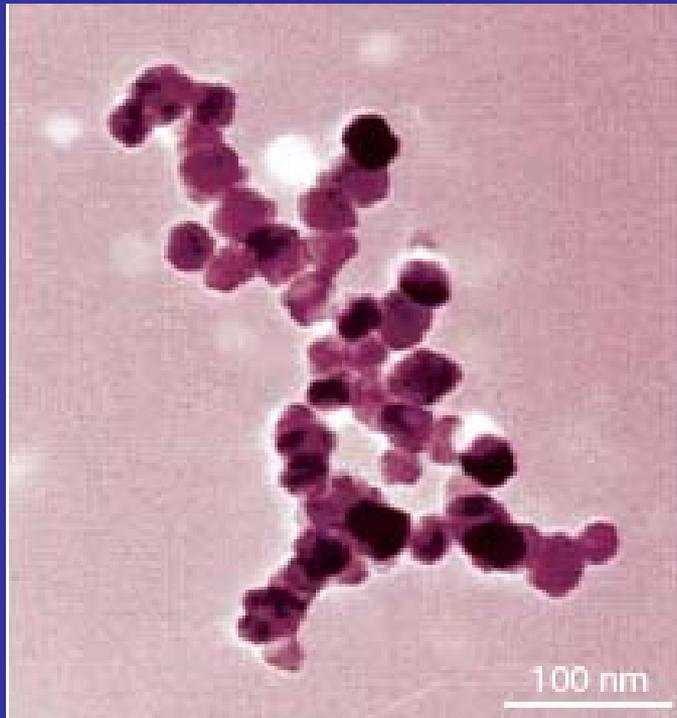
Mutant mamK

Mutant mamK transformé avec un plasmide exprimant mamK

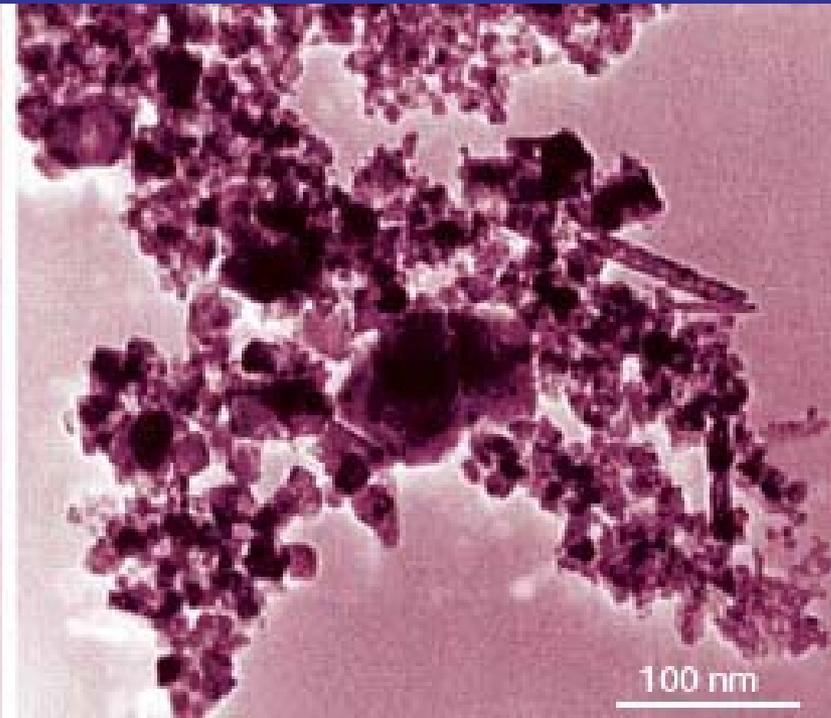
Reconstructions 3D des cellules AMB-1. Gris: membrane plasmique, jaune: membrane des magnétosomes, orange: magnétites

Test de la fonction d'une protéine (Mms6) dans la formation des magnétites

Avec Mms6



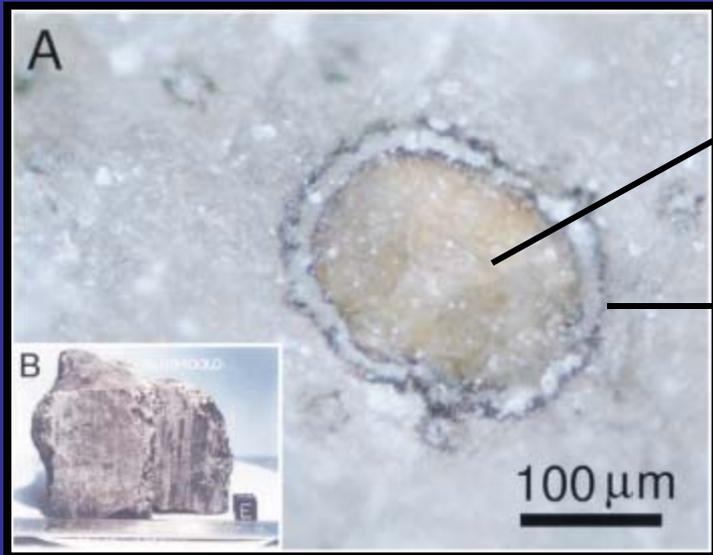
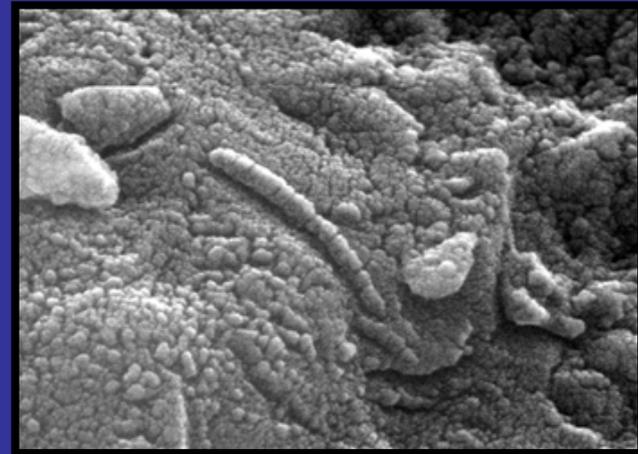
Sans Mms6



Matsunaga T, Okamura Y (2003) Genes and proteins involved in bacterial magnetic particle formation. Trends in Microbiology 11: 536-541

MAGNETITES ET TRACES DE VIE SUR MARS

ALH 84001, Météorite martienne ramassée en Antarctique



Globule de (Fe,Mg)-carbonate
+ quelques magnétites

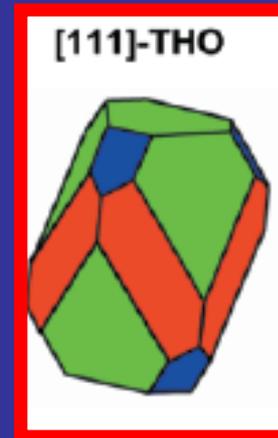
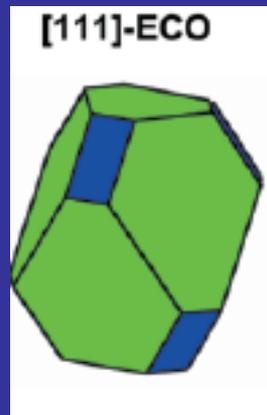
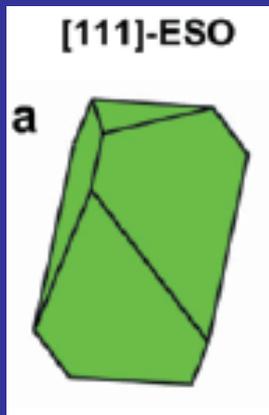
Magnétites dans matrice
de Fe,Mg-carbonates

MacKay et al. (1996)

D'après *MacKay et al. (1996)* et *Thomas-Keprta et al. (2002)*, magnétites d'ALH84001 partagent des caractéristiques uniques avec celles de la souche bactérienne magnétotactique MV-1

MORPHOLOGIE PARTICULIERES DES MAGNETITES DE MV-1

5/ Anisotropie de forme : Hexa-octaèdre tronqué (THO)



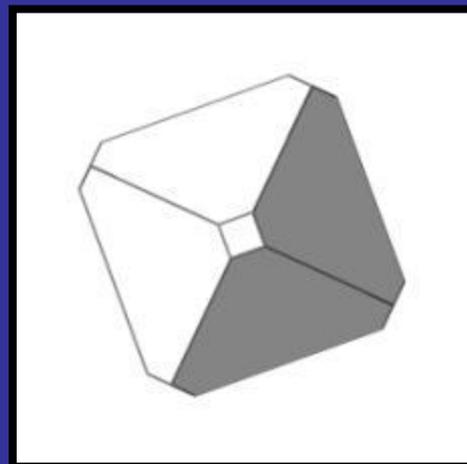
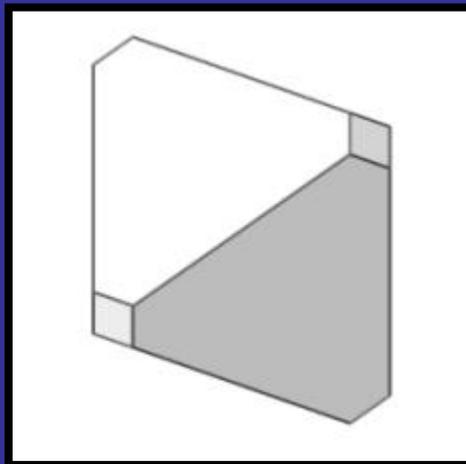
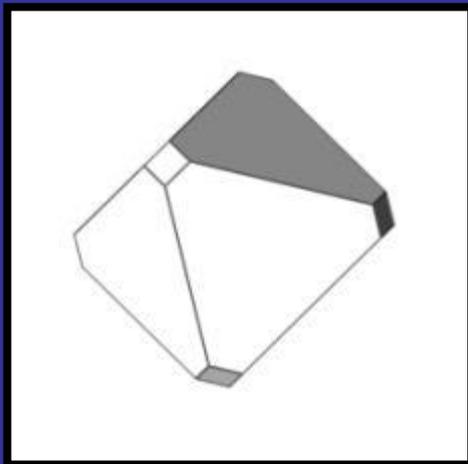
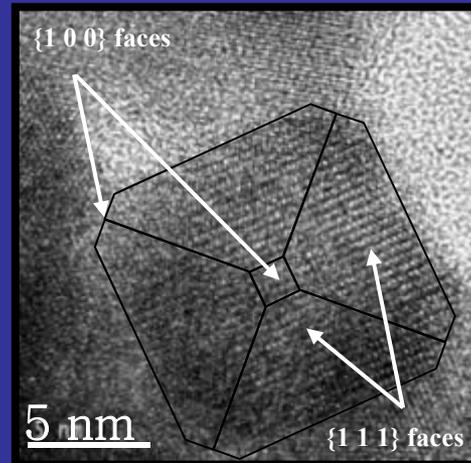
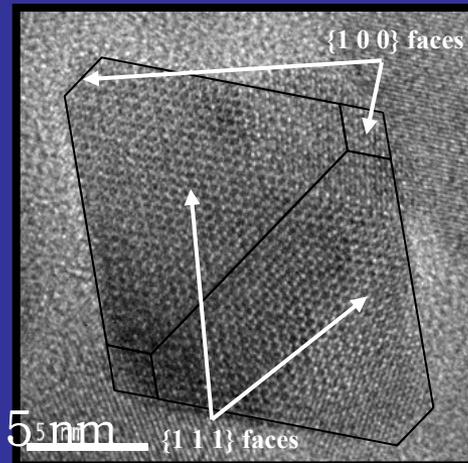
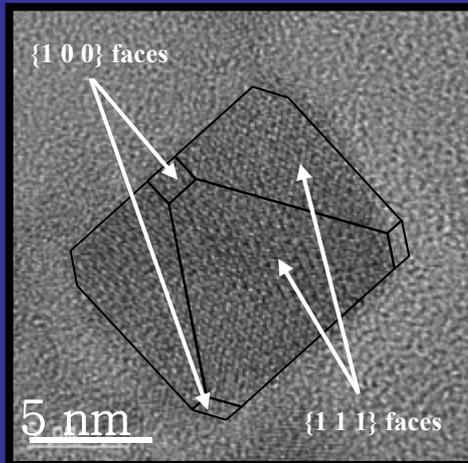
- 8 faces octaédrales $\{111\}$
- 6 faces hexagonales $\{110\}$
- 6 faces cubiques $\{100\}$

Octaèdre allongé Cuboctaèdre allongé Hexa-octaèdre tronqué

Hexa-octaèdres tronqués (face $\{110\}$) = « signature » biogénique

COMMENT INDEXER LES FACES DANS LA PRATIQUE?

A partir de projections 2D données par la Microscopie Électronique en Transmission haute résolution

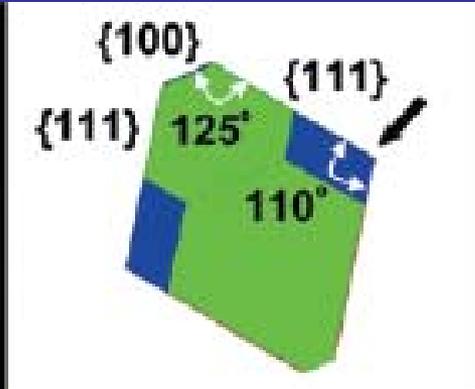
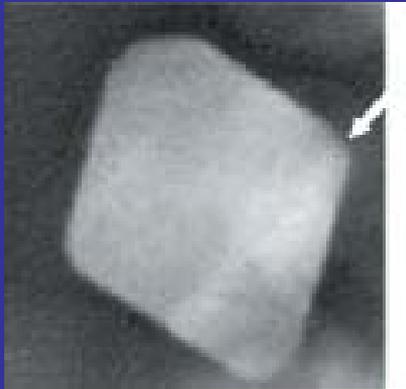


ALH 84001 : HEXA-OCTAEDRES TRONQUES ?

Image MET
Haute résolution

Interprétation biotique
(Thomas-Keprta et al.)

Interprétation abiotique
(Golden et al., 2004)



- faces octaédrales {111}
- faces hexagonales {110}
- faces cubiques {100}

Hexa-Octaèdre Tronqué

Cubo-Octaèdre allongé

D'après Golden et al. (2004), les faces {110} sont des arêtes,
d'après Thomas-Keprta et al. (2002) ce sont des petites faces

Forme géométrique 2D observée



Forme géométrique 3D réelle

Non unicité de la solution

Il existe des problèmes méthodologiques

ALH 84001 : MODELE ABIOTIQUE DE GOLDEN ET AL. (2004)

Synthèse de magnétites inorganiques

Chauffage à 470° C (par exemple après un choc comme ALH en a subi) de sidérite (FeCO_3):



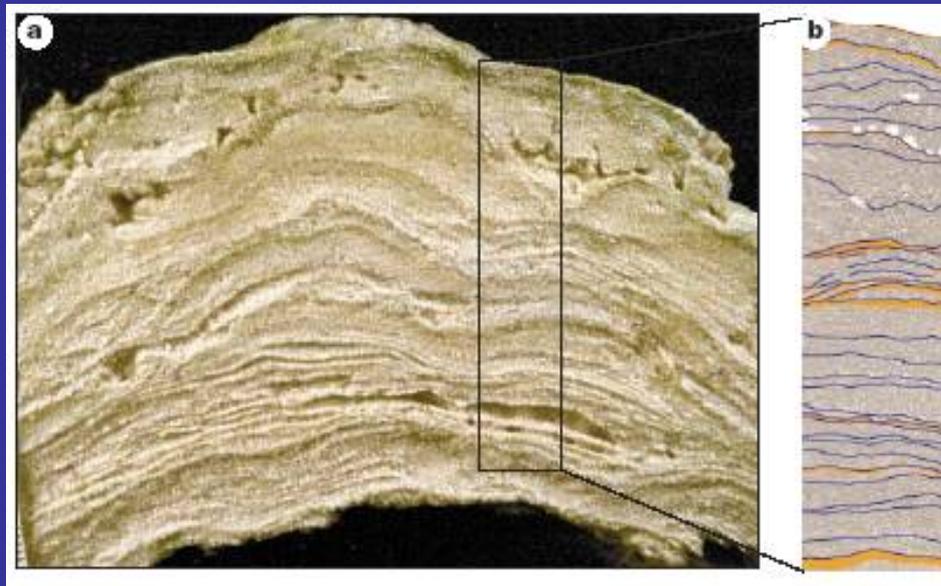
Production de **magnétites**

- 
- Monodomaines
 - Fe_3O_4 pur
 - pas de défauts cristallins
 - élongation selon [111]
- + alignement cristallographique avec carbonate hôte

Problème de l'approche naturaliste :
besoin de connaître tous les mécanismes abiotiques possibles

Roches produites par les microorganismes: ex. des stromatolites

Stromatolite : roche sédimentaire, généralement carbonatée (parfois silicifiée) laminée à l'échelle microscopique. Les stromatolites peuvent présenter différentes morphologies



Reid et al. 2000

Modern stromatolite from Bahamas

Les stromatolites modernes sont associés à des microorganismes qui, pense t'on, les forment

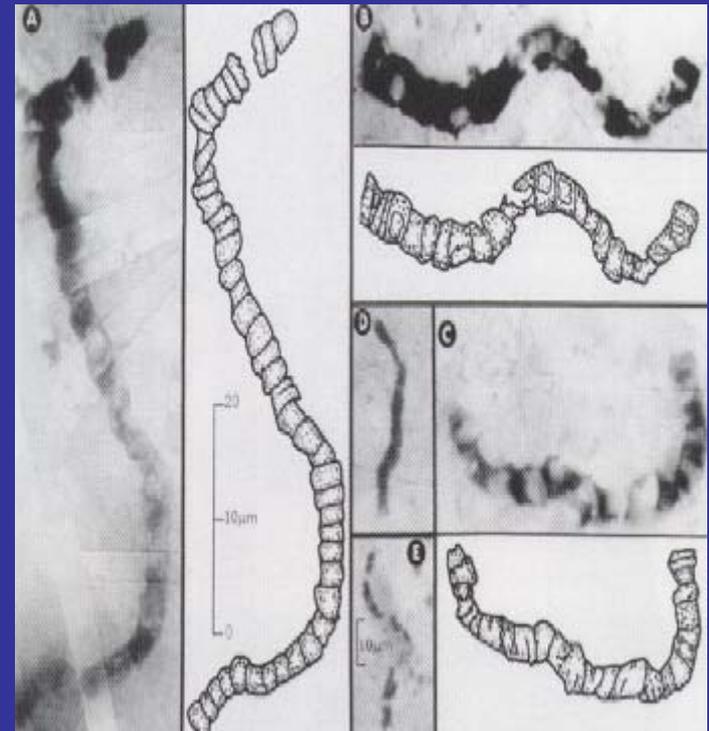
Stromatolites sont considérés comme parmi les plus anciennes traces de vie sur Terre

Diagnostic:

- Lamination
- Morphologie macroscopique (Allwood et al., 2006)
- Présence de microfossiles (Schopf & Packer, 1987)



3.45 Ga Stromatolite, Pilbara, NW Australia



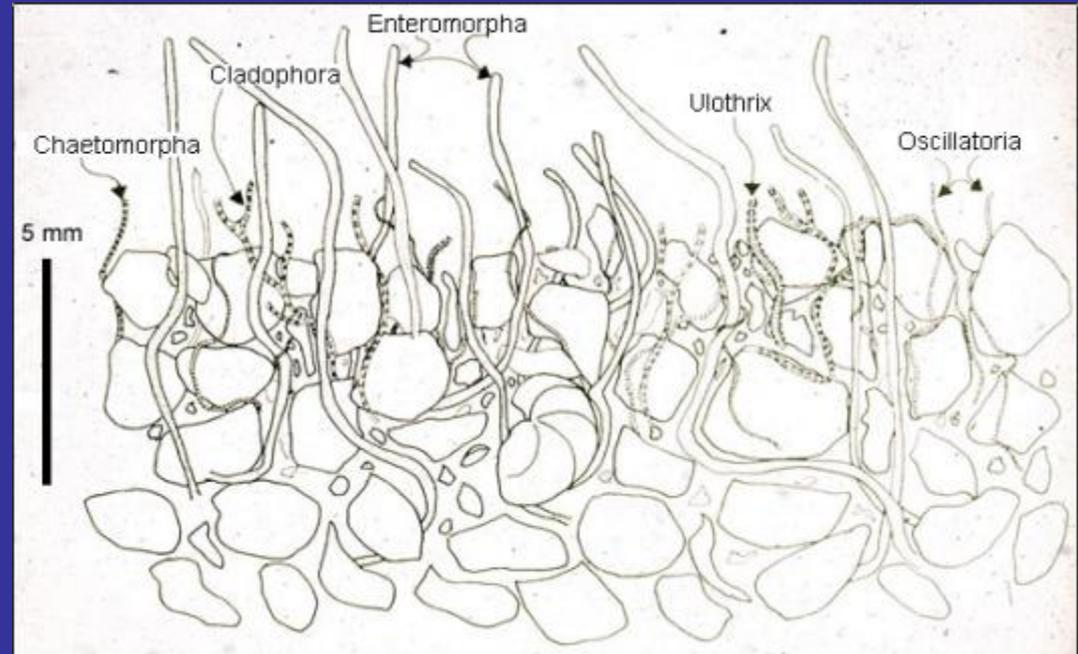
3.5 Ga Apex Chert Pilbara, NW Australia

Les stromatolites anciens sont ils biogéniques et quels métabolismes microbiens les ont formés?

Comment les stromatolites modernes se forment-ils?

Classiquement :

- ★ Précipitation induite par les cyanobactéries le jour
- ★ Capture de particules détritiques par polymères extracellulaires la nuit



Qq implications (actualisme forcené) : → Stromatolites = cyanobactéries,
⇒ oxygène
→ Lamination = périodicité jour/nuit

D'autres métabolismes microbiens peuvent favoriser la précipitation de carbonates

Photosynthèse anoxygénique



Bosak T et al. (2007) A likely role for anoxygenic photosynthetic microbes in the formation of ancient stromatolites. Geobiology 5: 119-126

Sulfato-réduction



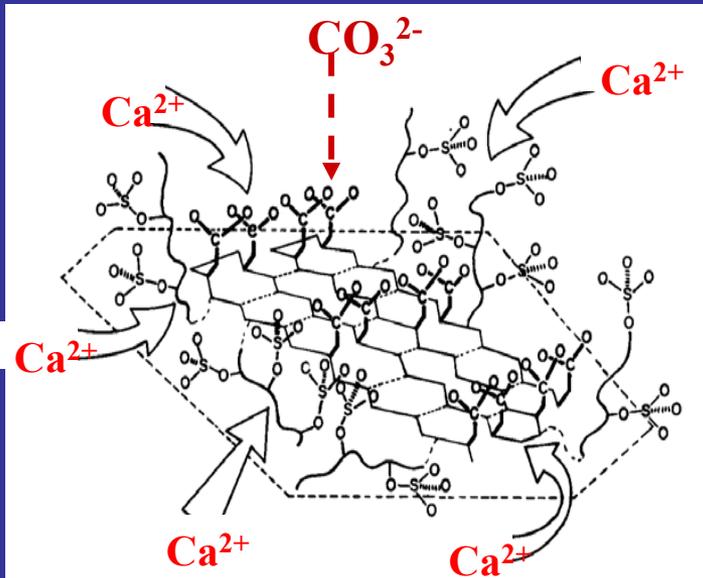
Dupraz C et al. (2009) Processes of carbonate precipitation in modern microbial mats. Earth-Science 96: 141-162

Mais aussi uréolyse, ferri-réduction, réduction des nitrates et dégradation des acides aminés (formation de NH_3 =base), méthanogénèse etc...

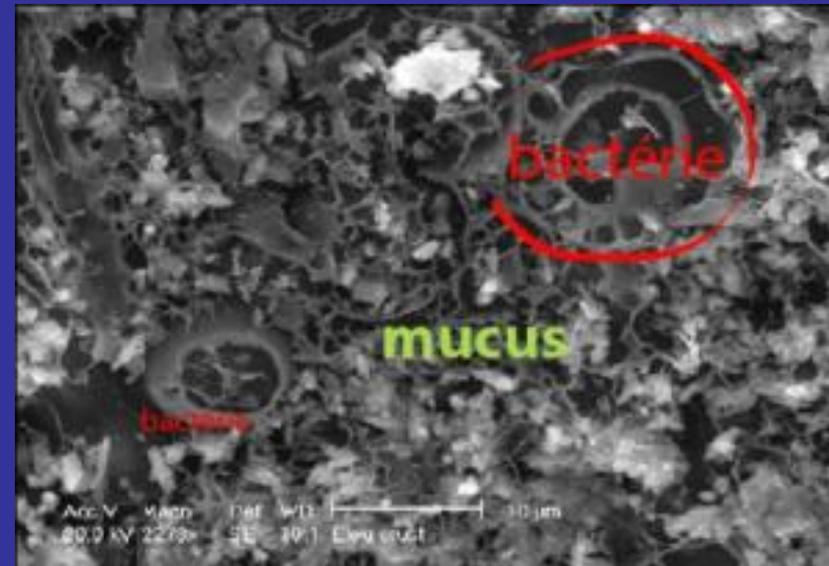
→ Les stromatolites modernes montrent une très grande diversité microbienne dans laquelle de nombreux groupes peuvent induire la précipitation de carbonates

Rôle des polymères microbiens dans la précipitation des carbonates?

1. Surfaces microbiennes peuvent favoriser la nucléation des minéraux en réduisant la tension de surface



Modèle d'une surface de cellule ou d'un polymère extracellulaire

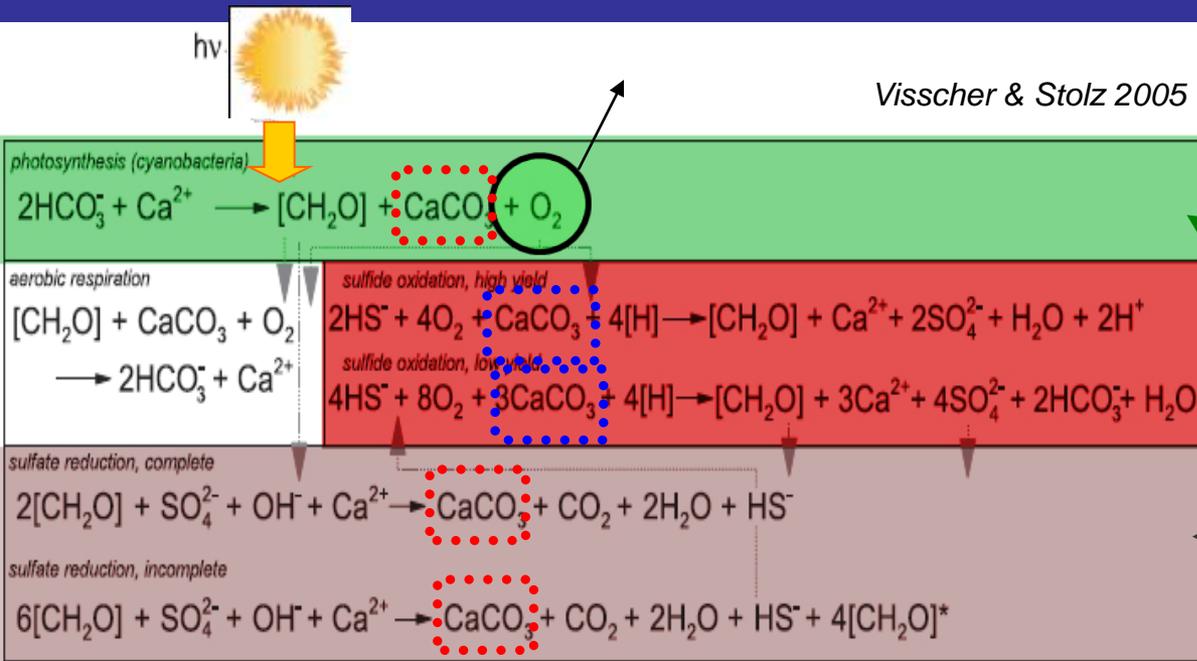


Observation de polymères abondamment associés aux minéraux et de cellules va dans ce sens (e.g., Benzerara et al. 2006 Nanoscale detection of organic signatures in carbonate microbialites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 9440-9445)

2. A l'inverse, polysaccharides sont parfois considérés comme inhibiteur de la précipitation. Par conséquent, microorganismes hétérotrophes pourraient être importants dans la formation de carbonate

Origine des laminations?

1. Alternance jour/nuit? Ou bien variations temporelles de l'activité microbienne?

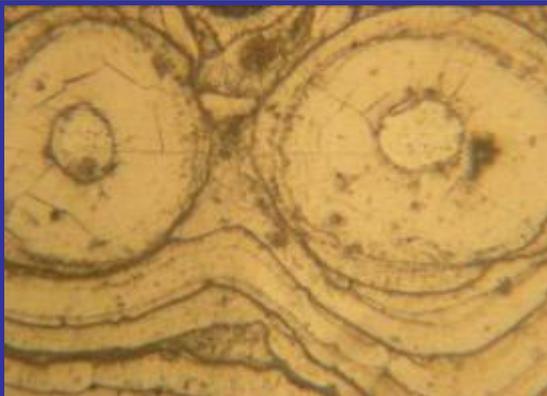


Vasconcelos et al. 06

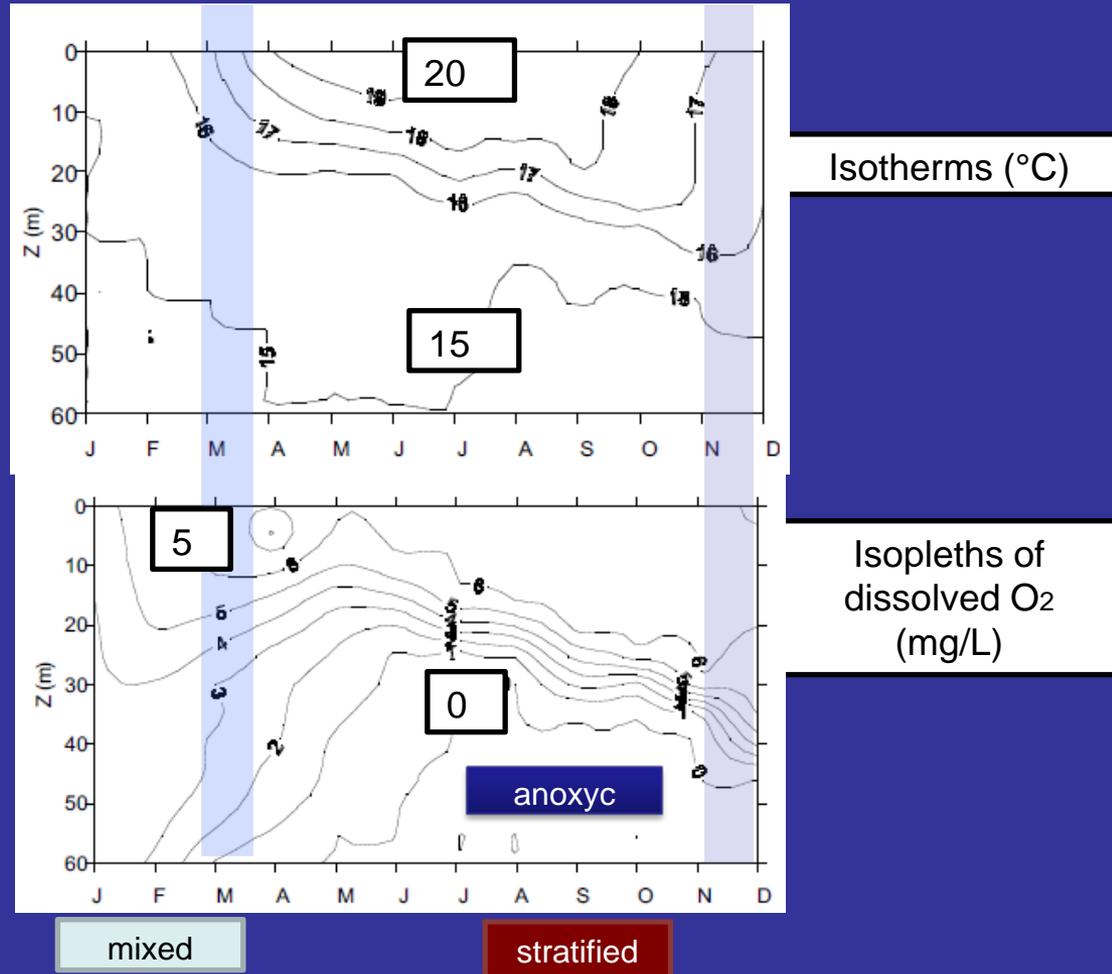
2. Variations de la chimie du milieu (pouvant d'ailleurs induire des variations de l'activité microbienne...)?

Exemple de variations chimiques du milieu: stromatolites lacustres

Alchichica (Mexico)



Variations saisonnières par mélange des eaux

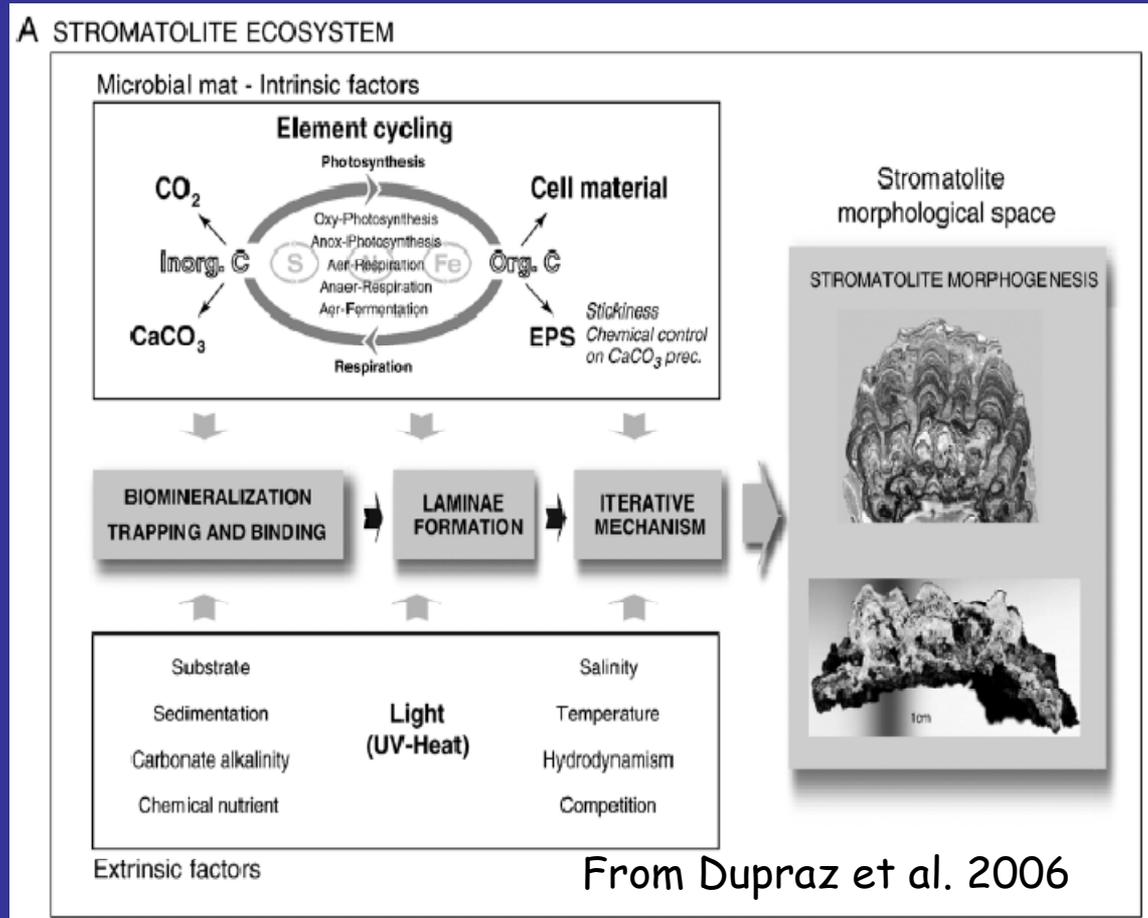


From *Alcocer & al. Geofisica Internacional* 2003

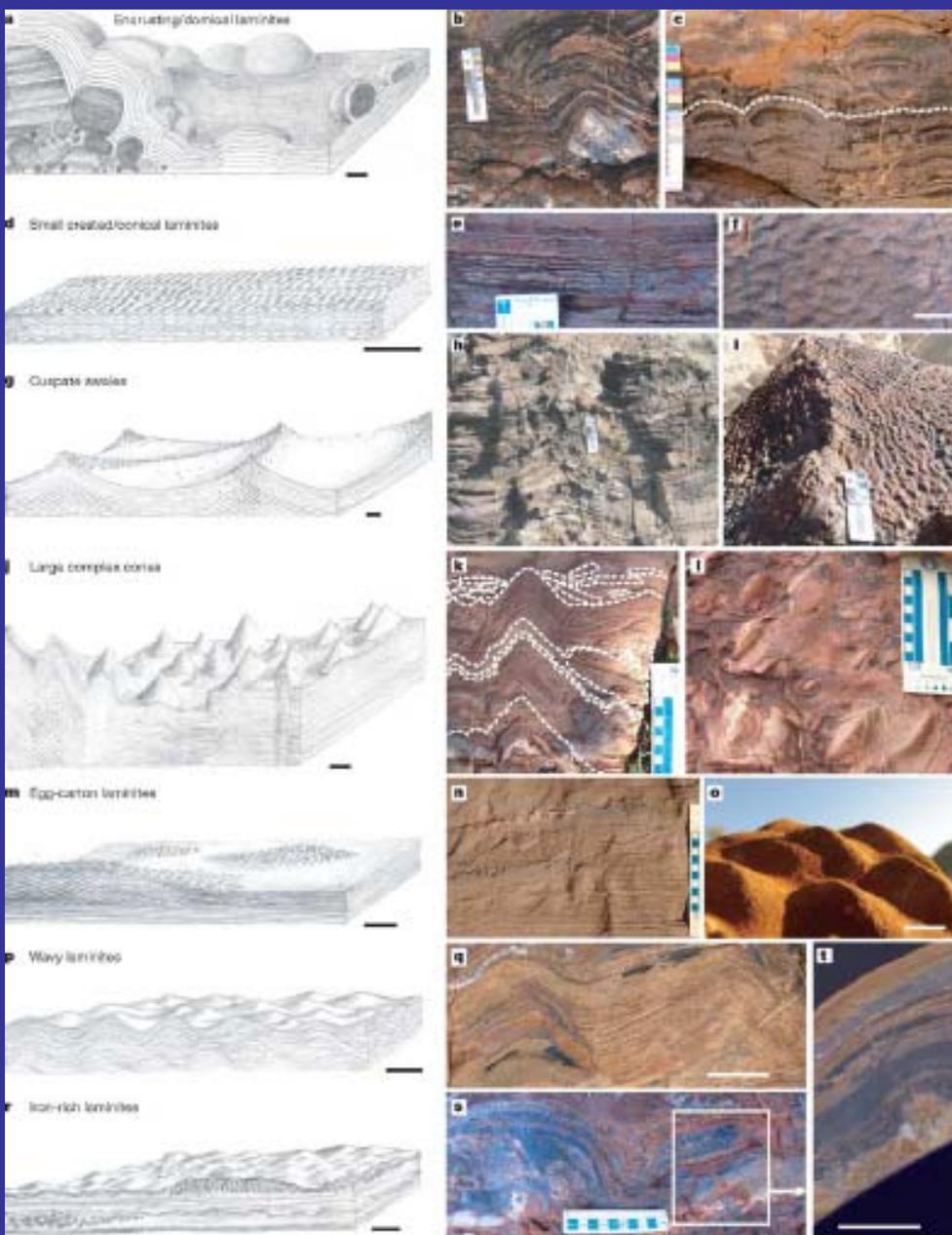
Morphologie macroscopique des stromatolites

Modèle de morphogenèse: processus itératif utilisant aggrégation limitée par la diffusion et des automates cellulaires

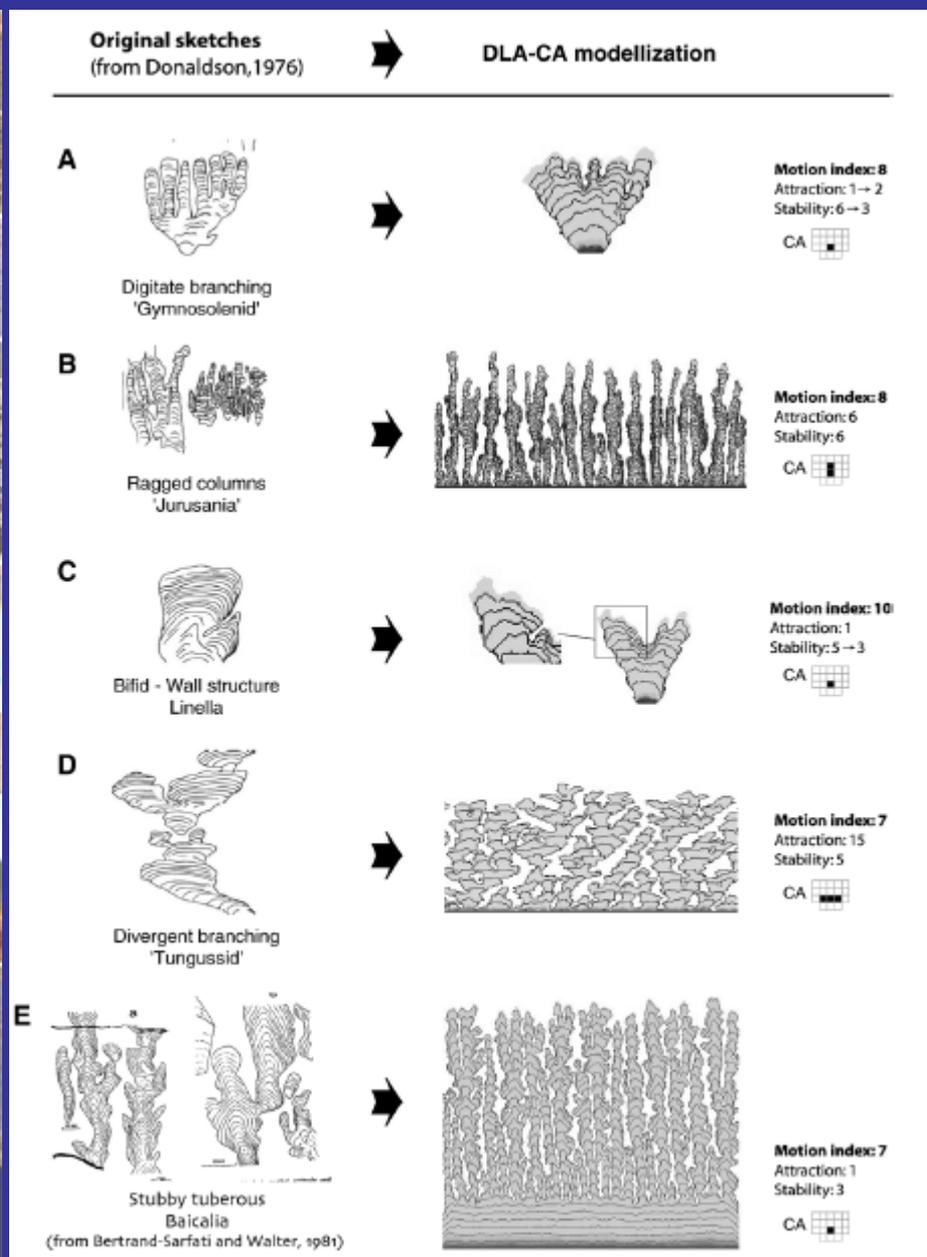
N.B: pas réductionniste/pas bâti pas à pas..



⇒ Rôle précis du vivant reste à préciser



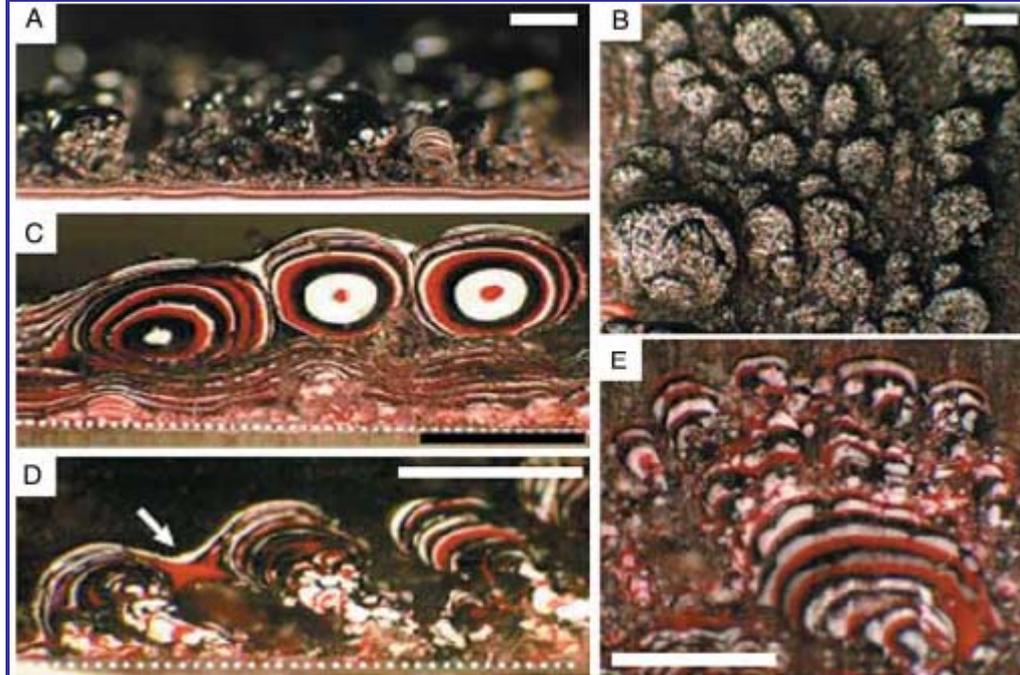
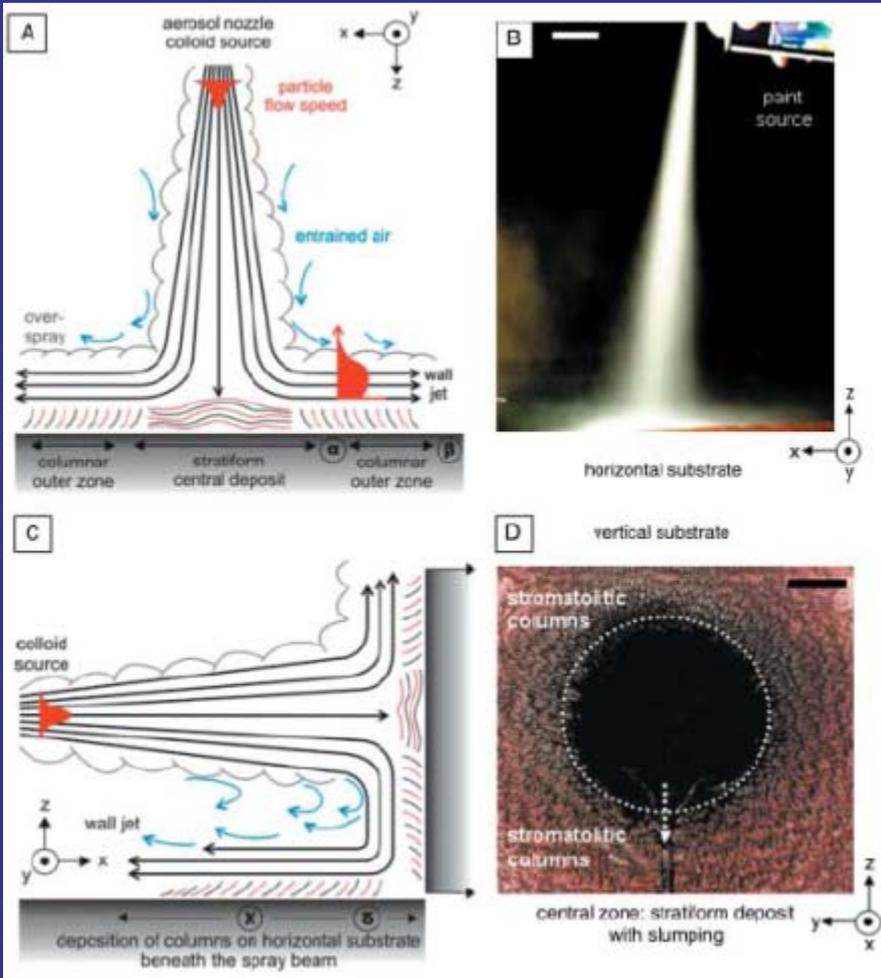
Allwood et al (2006) Stromatolite reef from the Early Archean era of Australia Nature 441: 714-718



Dupraz C et al (2006) Translation of energy into morphology: Simulation of stromatolite morphospace using a stochastic model Sed. Geol. 185: 185-203

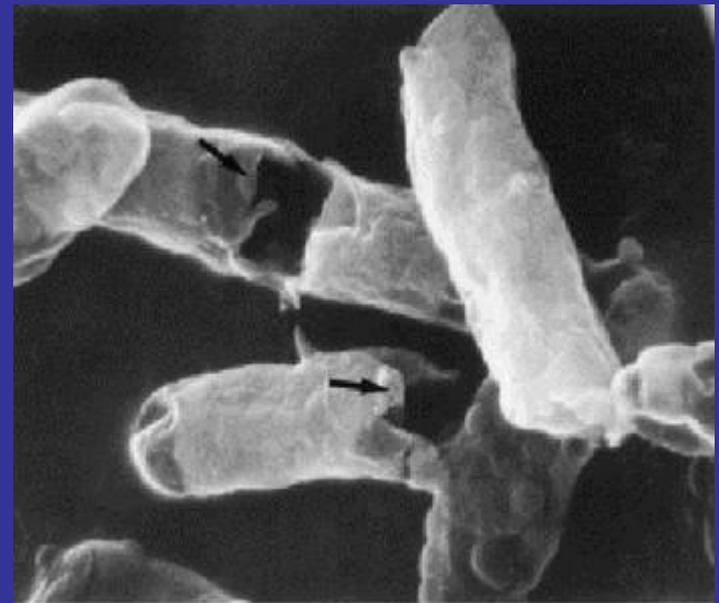
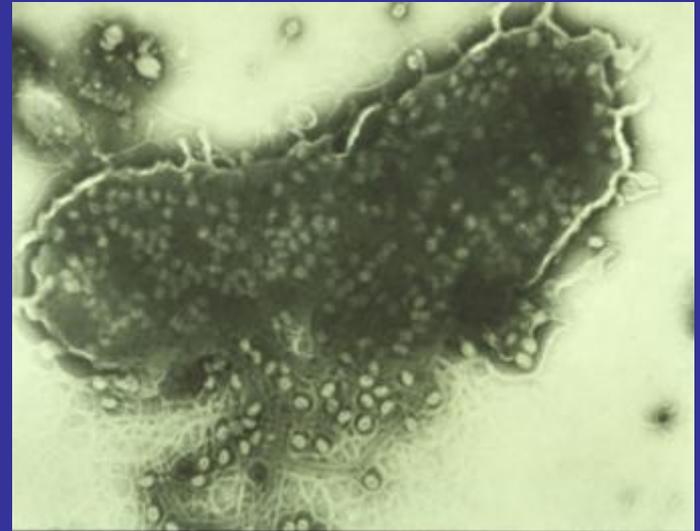
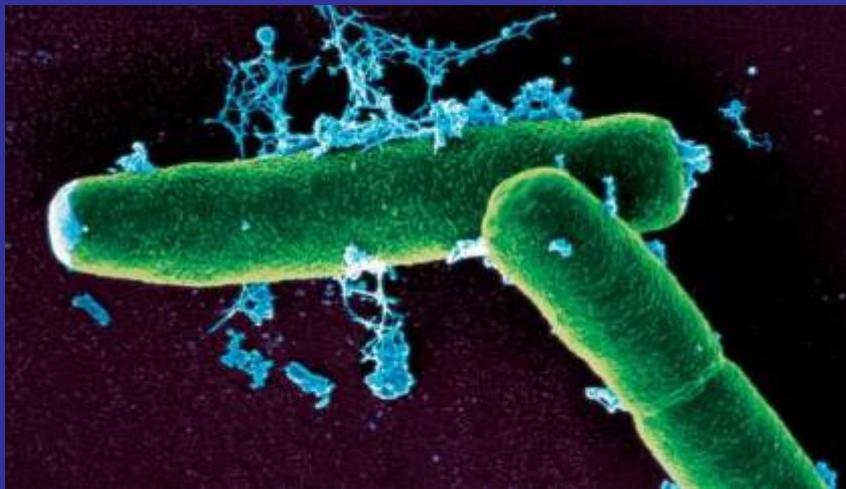
Mais existent aussi des modèles abiotiques...

e.g., Mcloughlin N et al (2008) Growth of synthetic stromatolites and wrinkle structures in the absence of microbes - implications for the early fossil record. *Geobiology* 6: 95-105



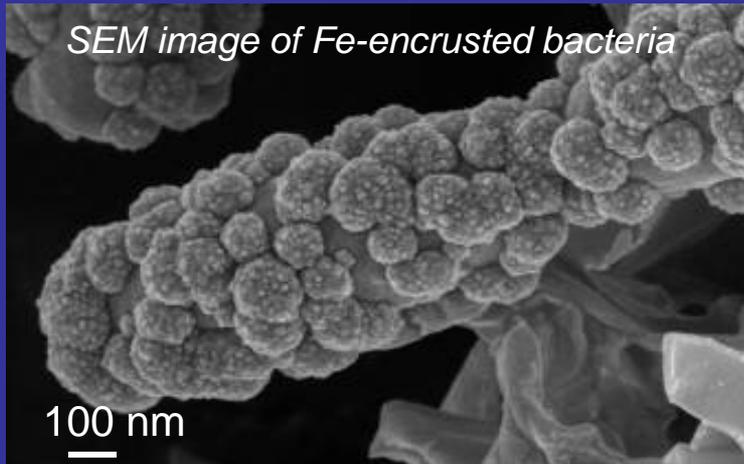
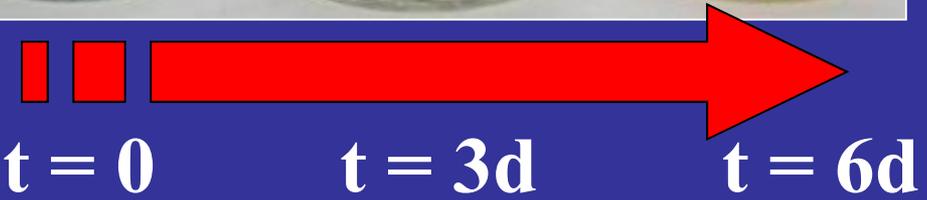
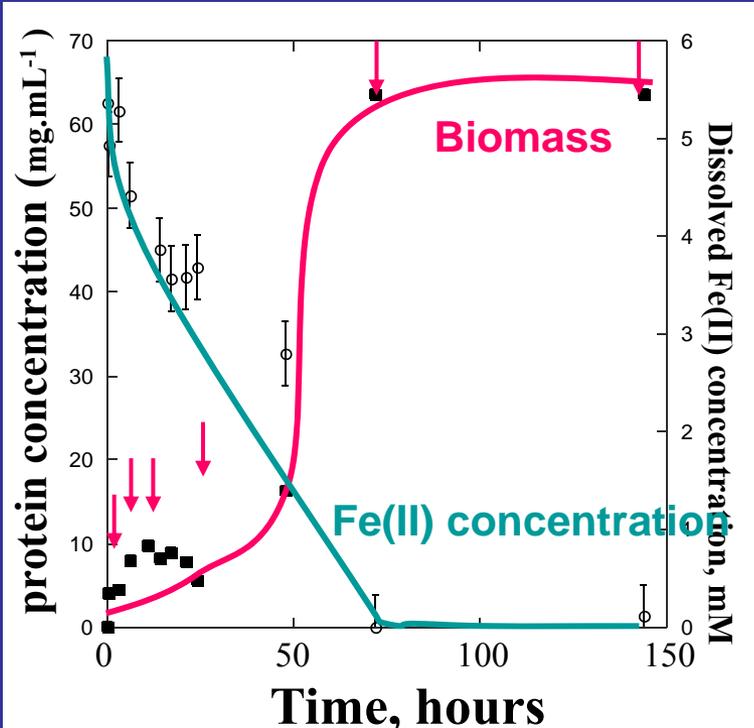
A l'Archéen, pas ou peu de microfossiles dans les stromatolites...

La formation de microfossiles: comment se fossilise un microorganisme après sa mort?

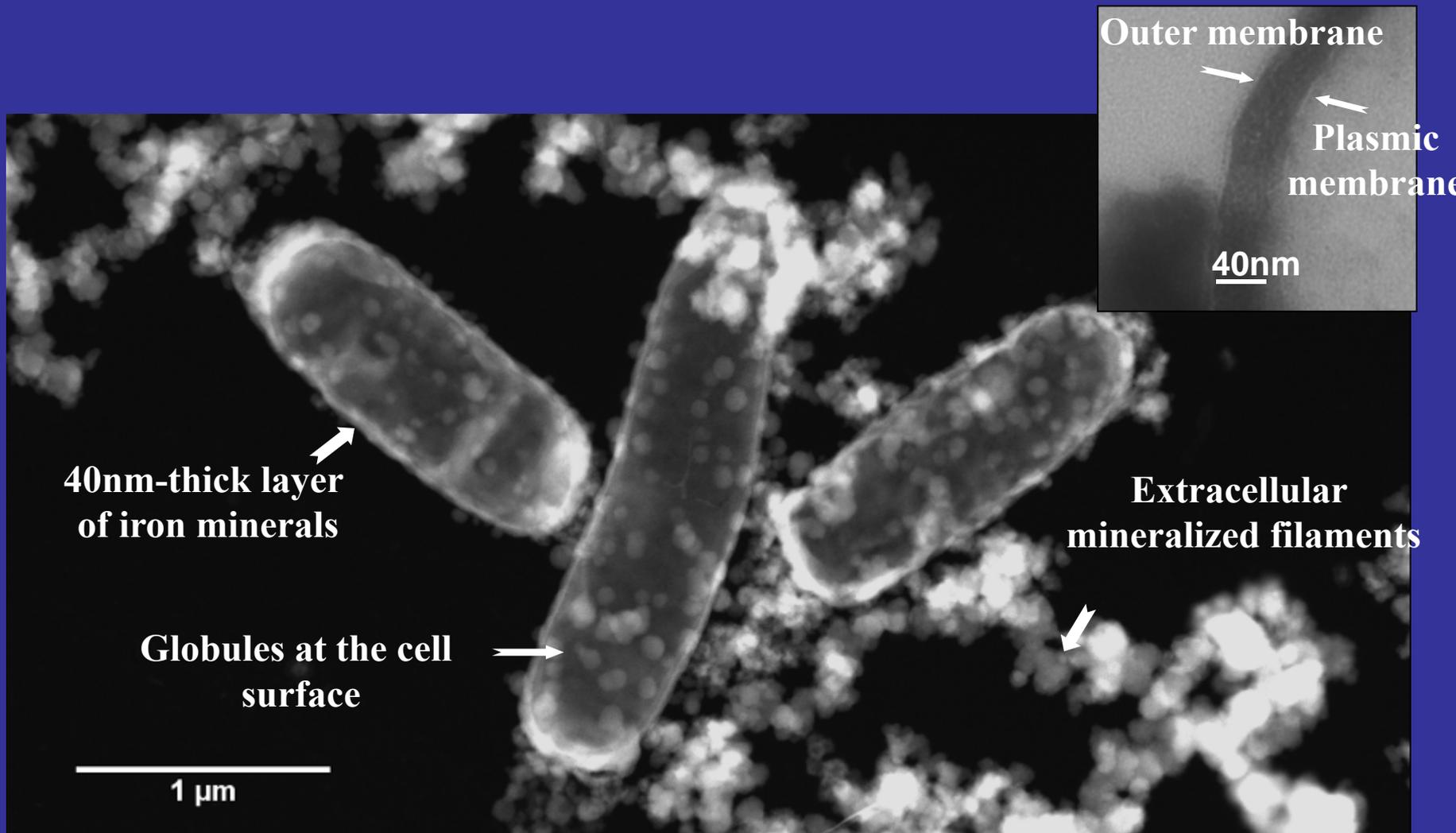


Lyse: dégradation des structures cellulaires et des molécules organiques. Prend quelques heures/jours, même en conditions anoxiques

Biominéralisation permet la fossilisation des cellules

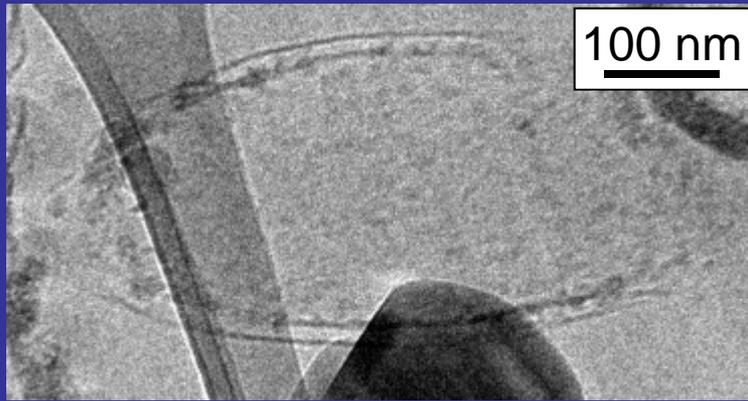


Extracellular and periplasmic Fe-precipitates

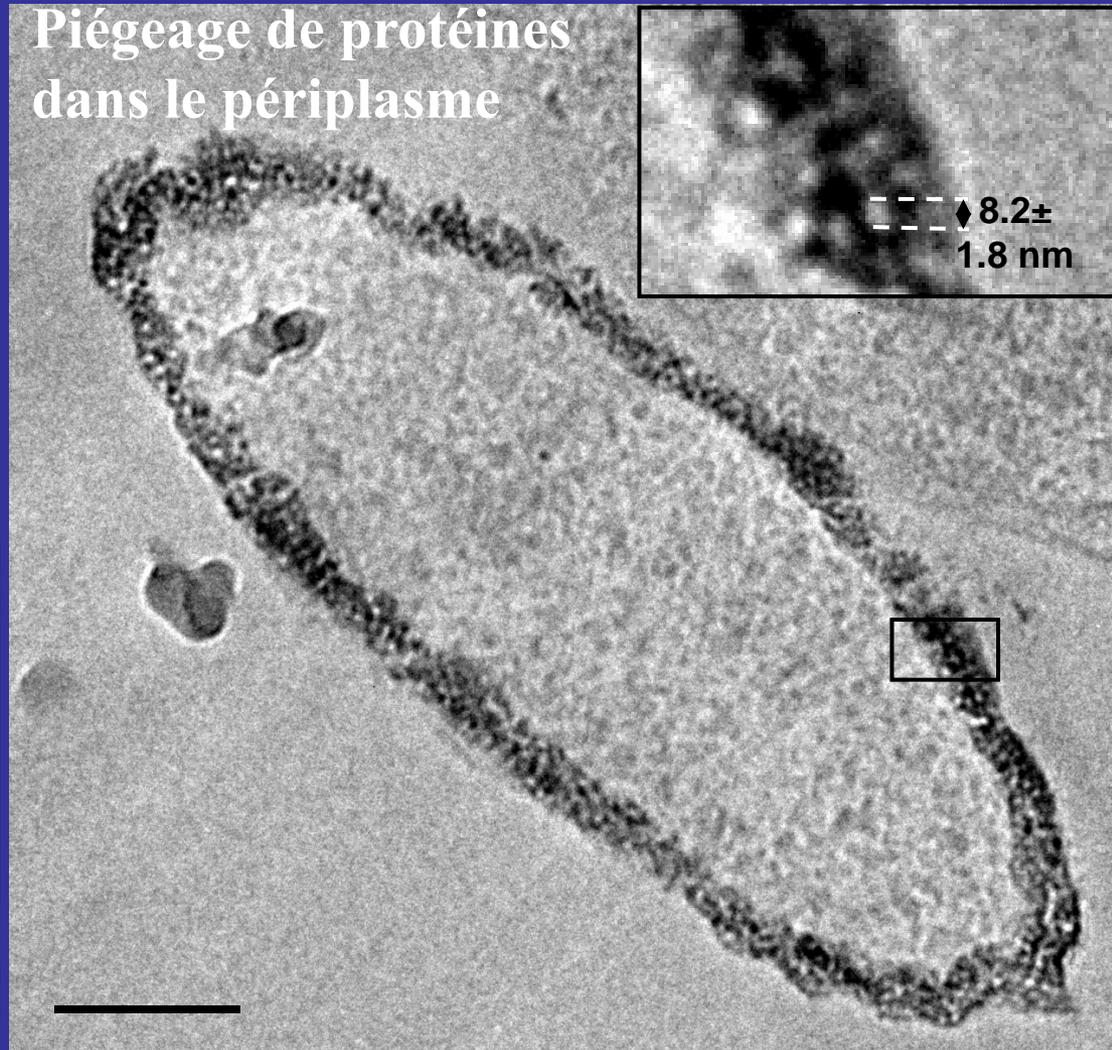
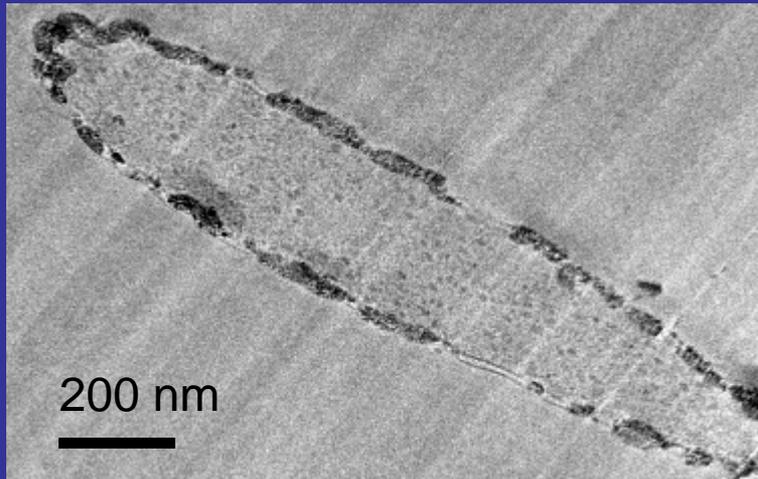


40nm-thick layer = Periplasmic encrustation

Regarder les échantillons en MET dans la glace d'eau = cryo-MET

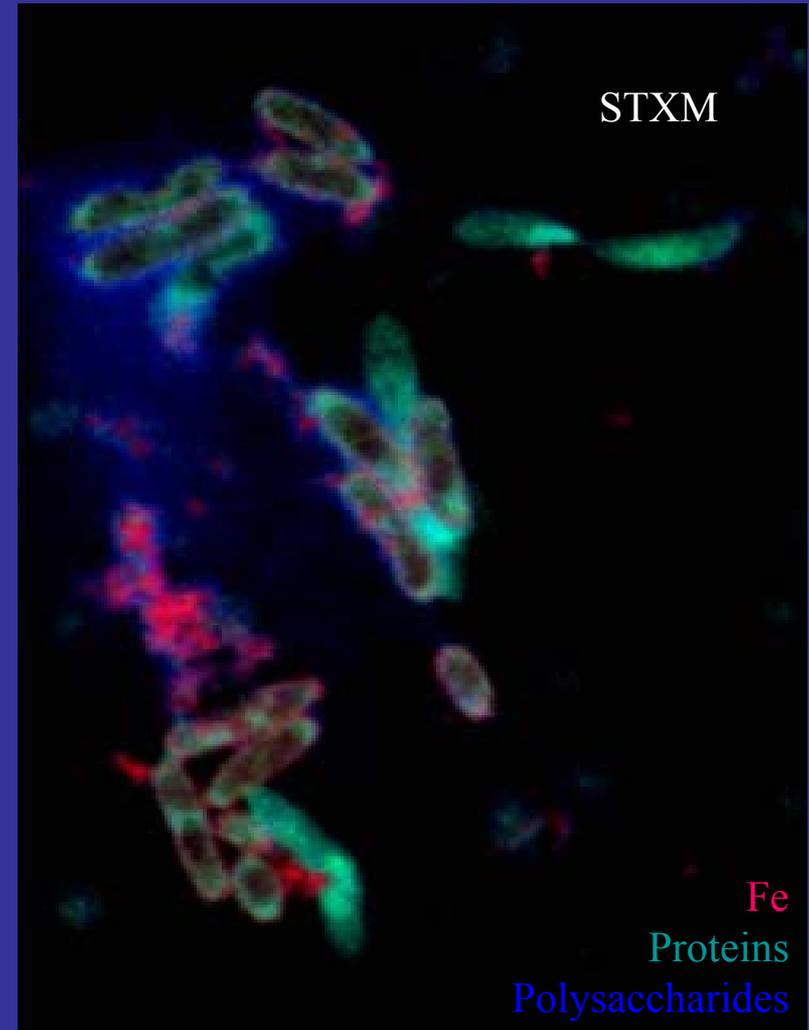
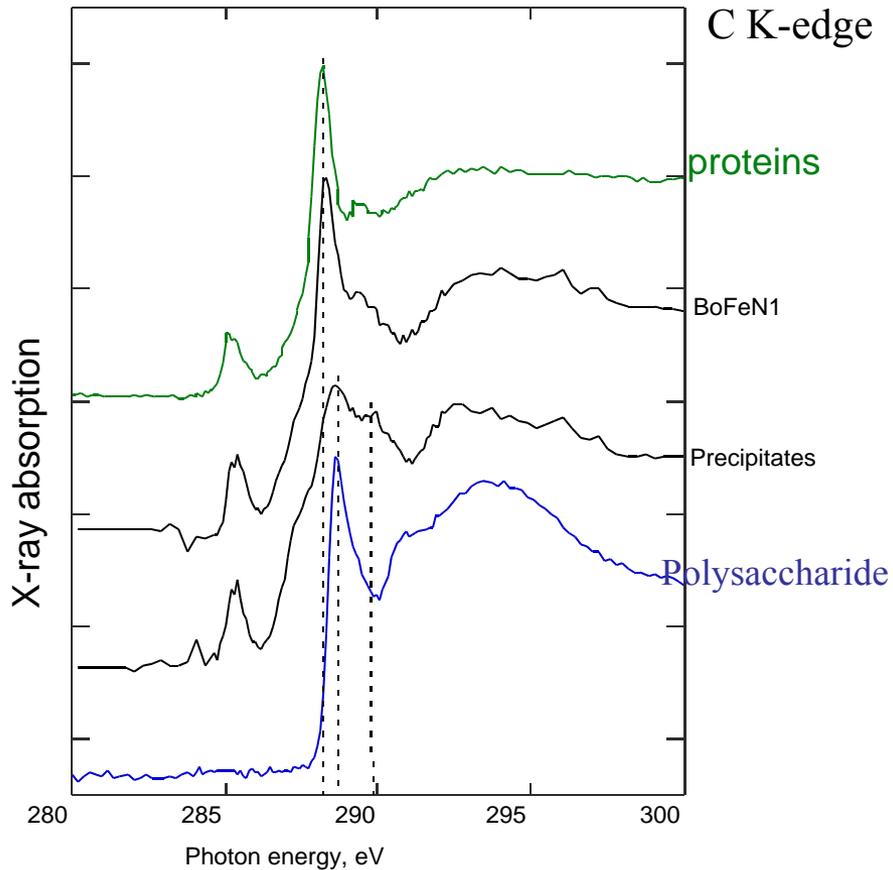


Bactérie à Gram - : 2 membranes



Bactéries ferroxydantes s'encroûtant au cours du temps dans des précipités de fer

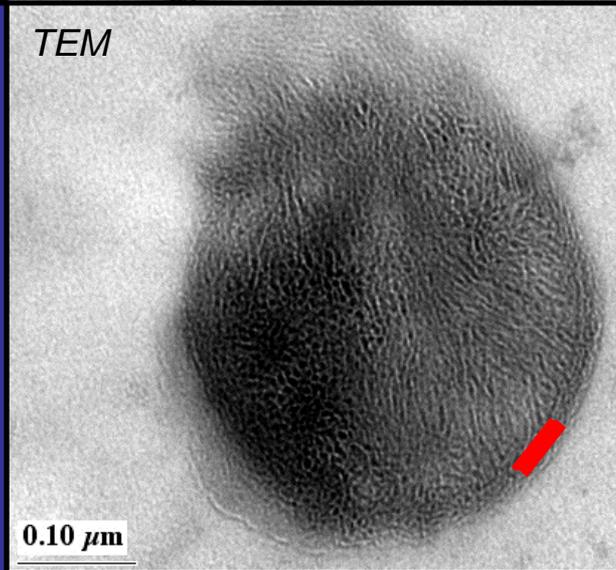
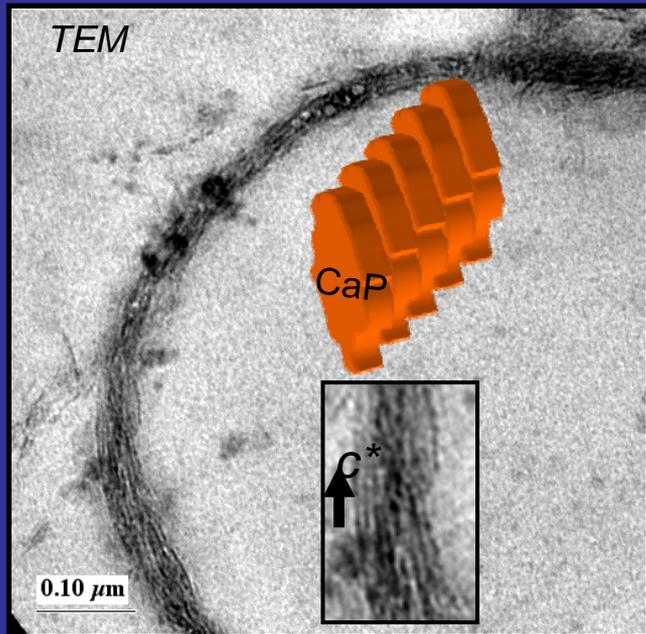
STXM observation of C speciation in Fe-oxidizing bacteria



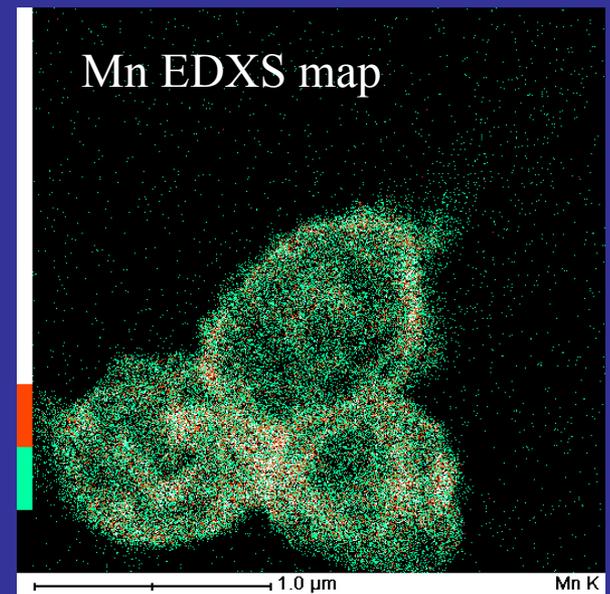
- ★ Fe is associated with organics (extracellular EPS or proteins)
- ★ preservation of organics in biomineralized cells

Other biomineralizing bacterial systems

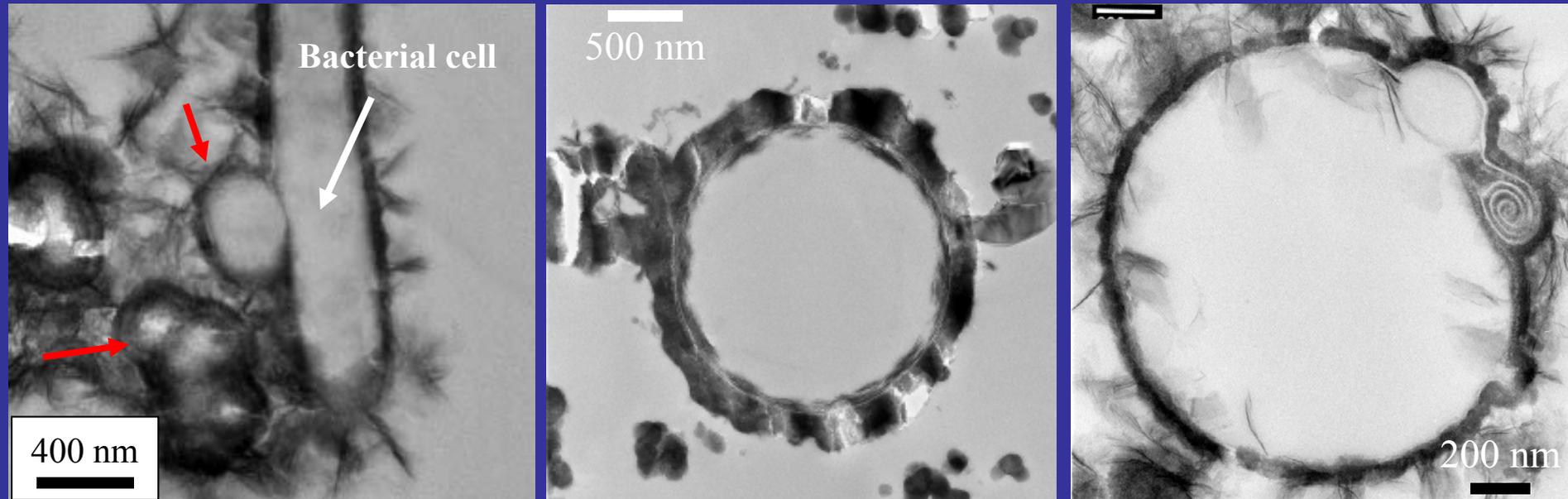
Hydroxyapatite precipitation on bacteria



Mn-oxide precipitation on bacteria



Bacteria cell walls provide nucleation sites for the precipitation of Fe-As minerals



TEM on thin section

1. Diverse patterns of biomineralization
2. Fossilization of microorganisms

Comment favorisent-elles cet encroûtement

★ Change localement les conditions chimiques du milieu par leur métabolisme :

Augmentation du pH (\Rightarrow précipitation de carbonates)

Oxydation du fer qui devient très insoluble (\Rightarrow précipitation d'oxydes de fer)

Oxydation du Manganèse qui devient insoluble (\Rightarrow précipitation d'oxydes de Mn)

Formation de phosphate organique à partir de phosphate inorganique (\Rightarrow précipitation de phosphates de Ca, Fe, U, Cr etc...)

★ Favorise la nucléation des minéraux sur surfaces cellulaires

Pourquoi favorisent elles cet encroûtement?

Tout n'est pas forcément de l'adaptation!

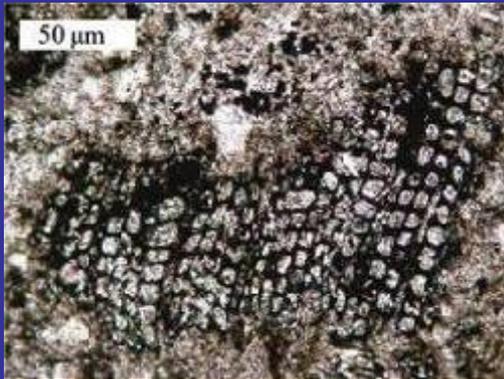
Encroûtement se fait peut être seulement lorsque cellules meurent?

Question plus pertinente est peut être: pourquoi ne défavorisent elles pas l'encroûtement...

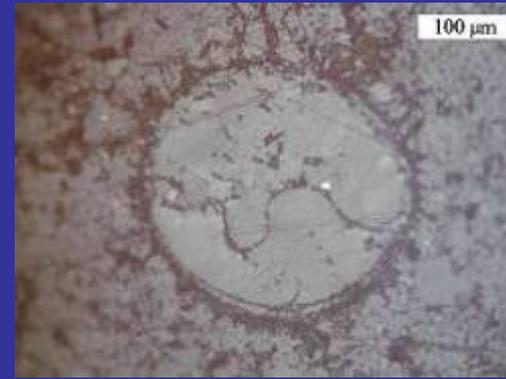
Cependant il reste des obstacles pour une préservation sur des millions/milliards d'années:

-Diagenèse: effet des fluides, changement du rédox, deshydratation, léger chauffage, compaction etc...

-Métamorphisme: élévation de T (plusieurs centaines de °C) et de P (qq kbars)



Vascular tissues



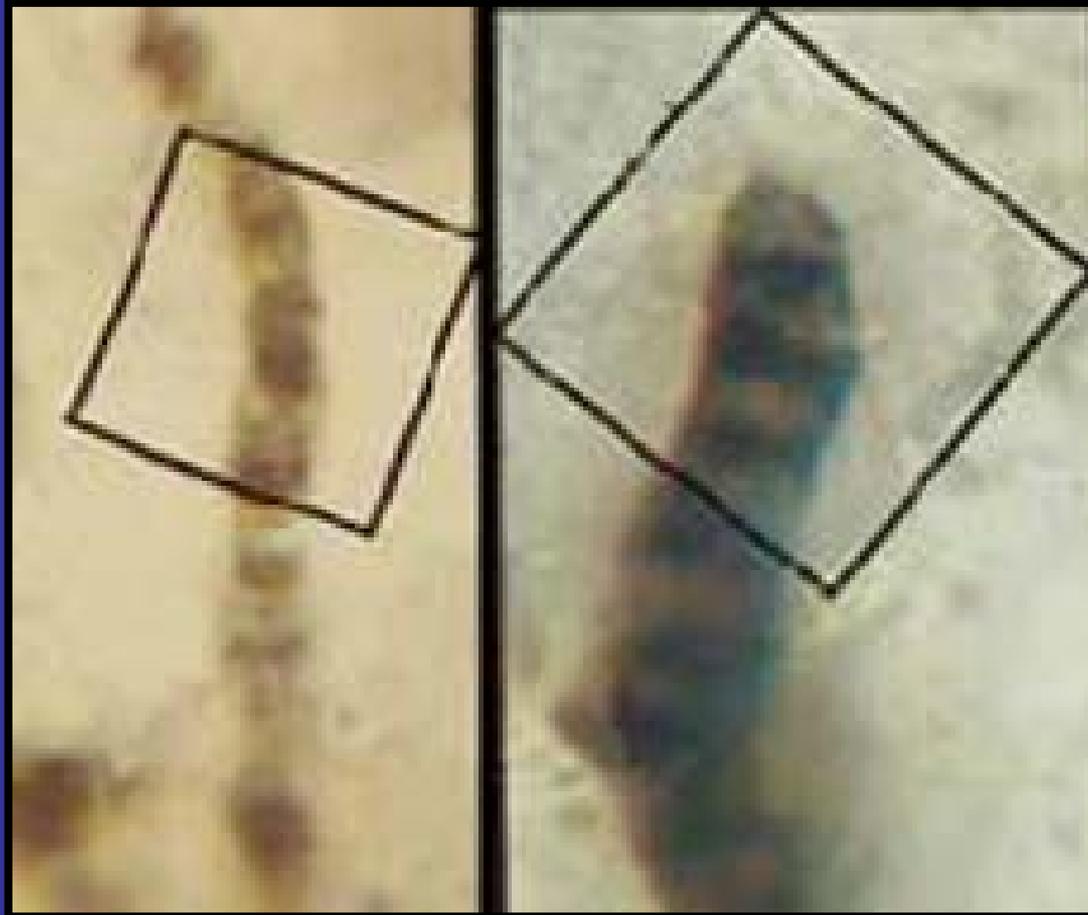
Fossil Lycophyte Spore

Fossiles peuvent néanmoins survivre: ex. spores des roches de la Vanoise (Alpes): T= 360°C, P= 14 kbars
= enfouissement ~ 40 km

Quelles signatures chimiques reste t-il alors?

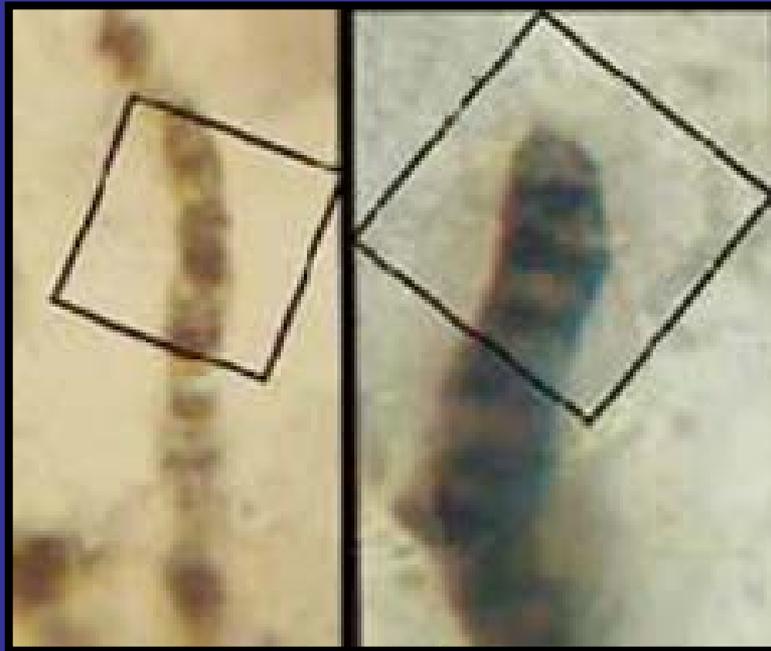
Autre problème: microorganismes peuvent être fossilisés: ne signifie pas que tout ce que l'on voit est un fossile de microorganisme!

Les plus anciennes traces de Vie terrestre (Australie, 3.465 Ga)

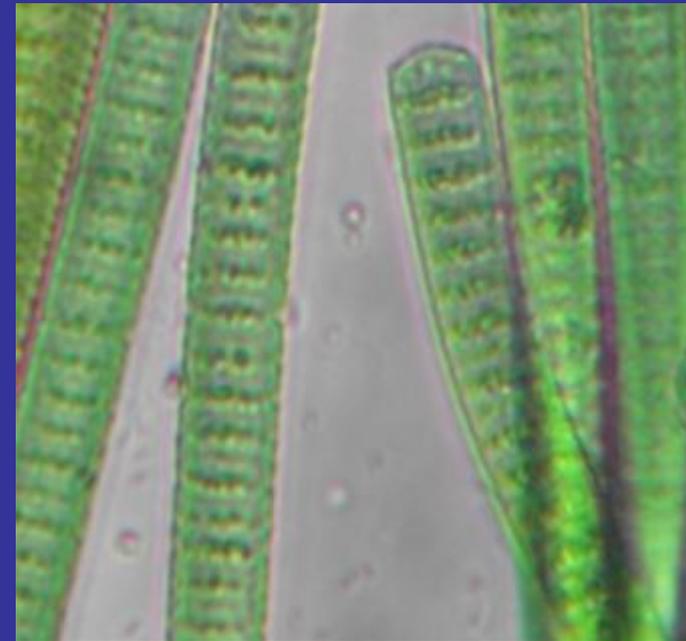


Schopf et Packer, 1987; Schopf et al., 2002

Bases de l'interprétation biologique des filaments à 3.5 Ga



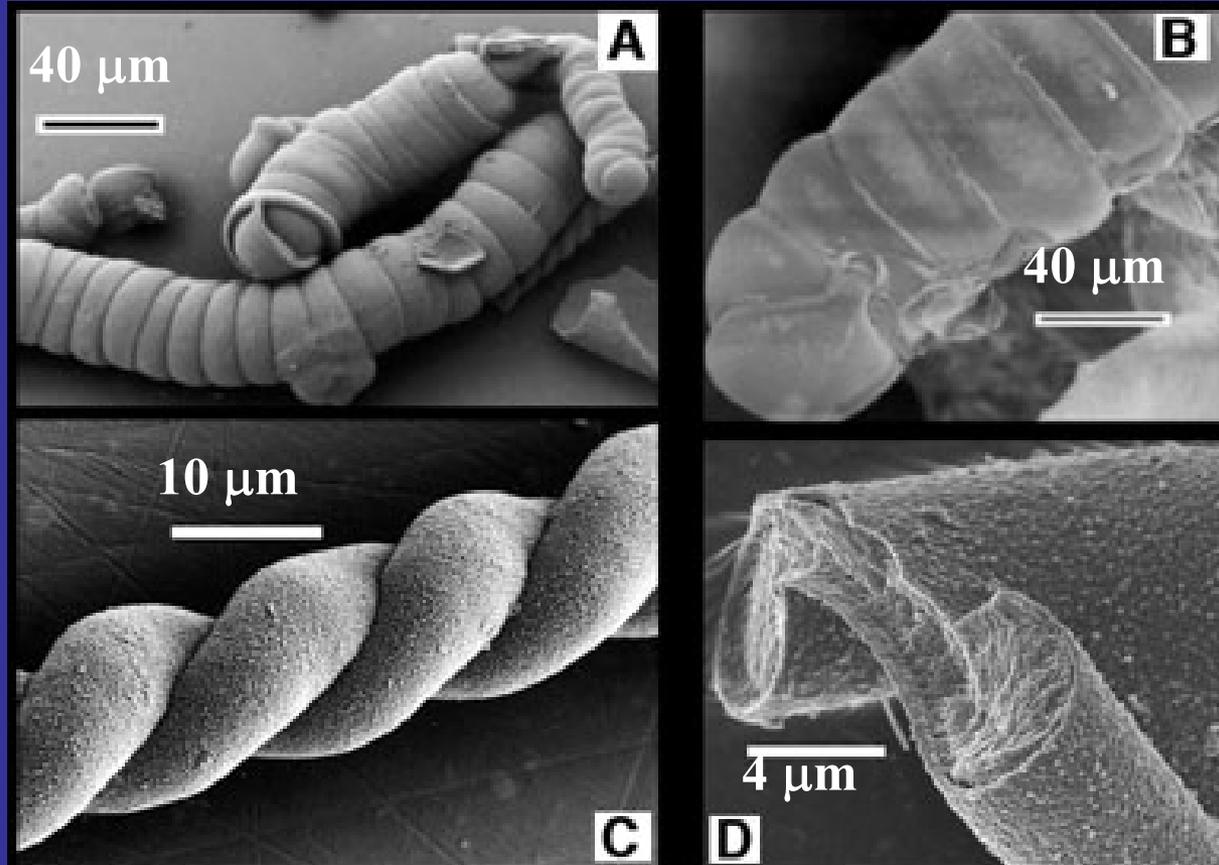
Morphologie



Filaments, Australie, 3.5 Ga

Cyanobactéries actuelles

Problème : Processus abiotiques forment les mêmes objets



Garcia-Ruiz et al.
(2003)

Recette (100% naturelle)

Sels de Barium + silicate de sodium,
T et P ambiantes, pH ~ 8.5 -11.

Conclusions

Microorganismes peuvent laisser des traces sous diverses formes dans l'enregistrement géologique

Mécanismes de biominéralisation, contrôlée ou induite, sont un processus majeur

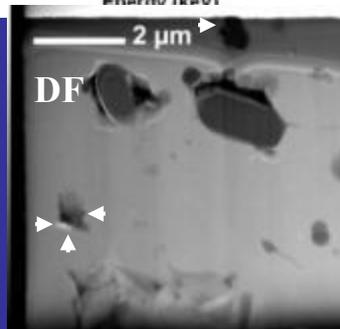
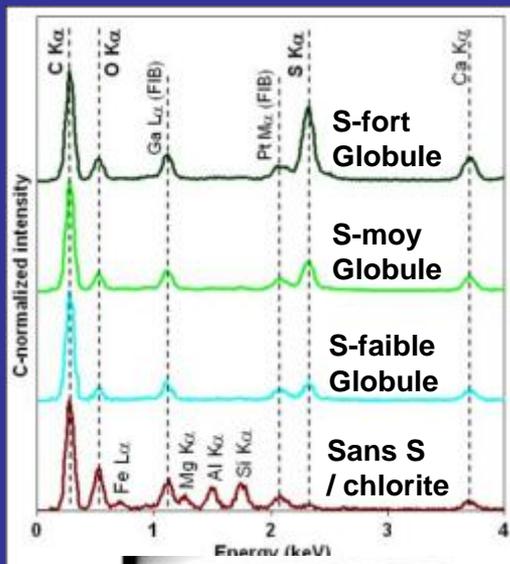
Il reste de nombreuses ombres néanmoins dans notre compréhension de ces mécanismes et comment ils peuvent être reliés à une origine biologique certaine

Des ultrastructures très fines ainsi que des molécules organiques peuvent être préservées (lesquelles)

Il reste néanmoins difficile de les authentifier et la question de la possibilité de les distinguer d'objets abiotiques reste ouverte

Remerciements: P. Lopez-Garcia & D. Moreira (Orsay)
J Miot (ex-thèse IMPMC), K. Lepot (ex-thèse
IPGP), S. Bernard (ex-thèse ENS)
N. Menguy (IMPMC)

Sulfuration des globules



Spectroscopie EDX :
jusqu'à quelques wt% de S
concentrations >> microbes

→ Addition locale de S
inorganique (H_2S / S_x^{2-})
→ produits de la
sulfato-réduction
bactérienne ?

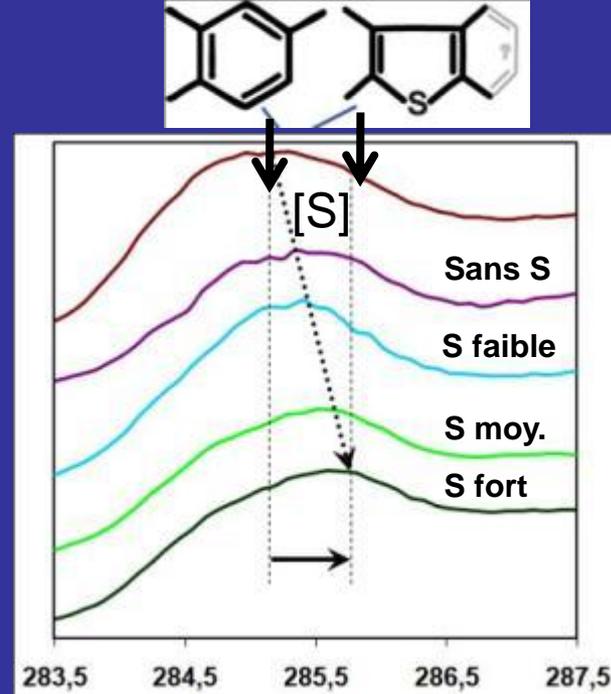
+ association avec $CaCO_3$:
→ Lien SRB / calcification ?

Type B = globules sulfurisés encapsulés dans $CaCO_3$

-Tous les globules riches en S → taille + formes cellulaires → microfossiles ?

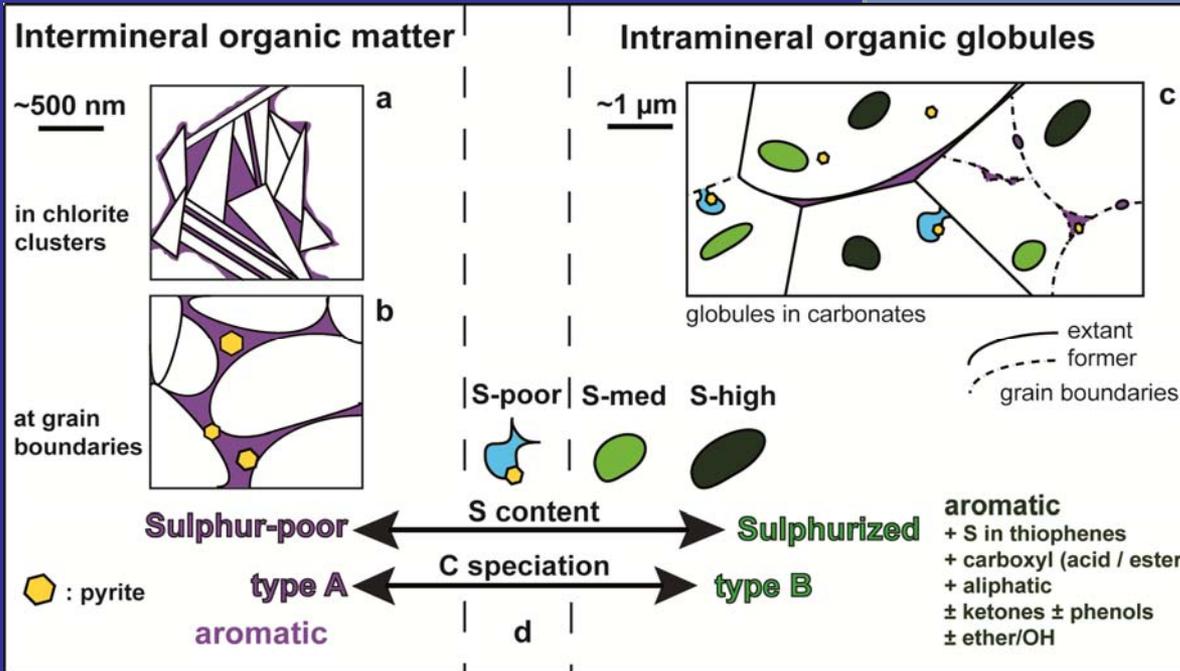
Sulfuration = Polymérisation qui peut :

- 1) intervenir très tôt lors de la diagenèse
- 2) stabiliser la Mat. Orga, permet la préservation des fonctions carboxyles, aliphatiques



C speciation \Leftrightarrow [S]
→ S sous forme de
thiophènes

Systematique Mat. Orga.



Hétérogénéité chimique
Mat. Orga. similaire à celle
observée dans stromatolites
modernes, e.g. Satonda
(Gautier, Benzerara et al.)

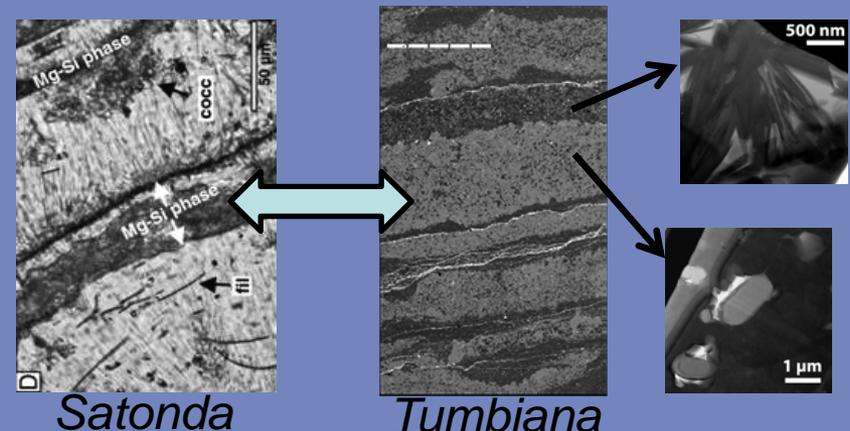
→ Deux précurseurs fossilisés?

2 types de Mat. orga.
similairement distribués selon
la minéralogie :

Type A = lamines argiles/silice
Type B = carbonates

→ Lien avec la formation de
lamines alternées
argileuses / carbonates ?

Sulfurisation, favorisant la
préservation du Type 2,
concurrentée par précipitation
du S en FeS_2 → Variations
locales/temporelles de [Fe]
ont différencié types 1/2S ?



Génomique des magnétotactiques

Comment identifier les gènes impliqués dans le fonctionnement des magnétosomes?

-Génétique (réalisation de mutants)

-Protéomique: Extraction des protéines spécifiquement associées aux magnétosomes (cf travaux sur nacre) puis identification (limites?)

-Comparaison des génomes des différentes bactéries magnétotactiques

Observation → gènes sont regroupés en 1 île génomique d'environ 100 kb (> 40-50^{ne} de gènes)

(instables : Peut être excisée, peut être transféré vers d'autres individus?)

Different organic carbon pools in Tumbiana stromatolites

Lepot et al. (2009) *GCA*, 73, 6579

Carbonate laminae

 Impossible d'afficher l'image. Votre ordinateur manque peut-être de mémoire pour ouvrir l'image ou l'image est endommagée. Redémarrez l'ordinateur, puis ouvrez à nouveau le fichier. Si le x rouge est toujours affiché, vous devrez peut-être supprimer l'image avant de la réinsérer.

Organic carbon= micrometer-sized globules, aromatic-rich, rich in S (~10%?), likely thiophene functions [S-bearing heterocycles]

Chlorite laminae

 Impossible d'afficher l'image. Votre ordinateur manque peut-être de mémoire pour ouvrir l'image ou l'image est endommagée. Redémarrez l'ordinateur, puis ouvrez à nouveau le fichier. Si le x rouge est toujours affiché, vous devrez peut-être supprimer l'image avant de la réinsérer.

Organic carbon= no specific morphology (diffuse), aromatic-rich, S-poor, no thiophene function detected

Interpretation/Discussion

Chlorite laminae

Carbonate laminae

Could be initially different organic carbon polymers preserved in different laminae

And/or

Differential sulphurization of organic carbon depending on Fe-availability \Rightarrow
different chemical conditions when different laminae form

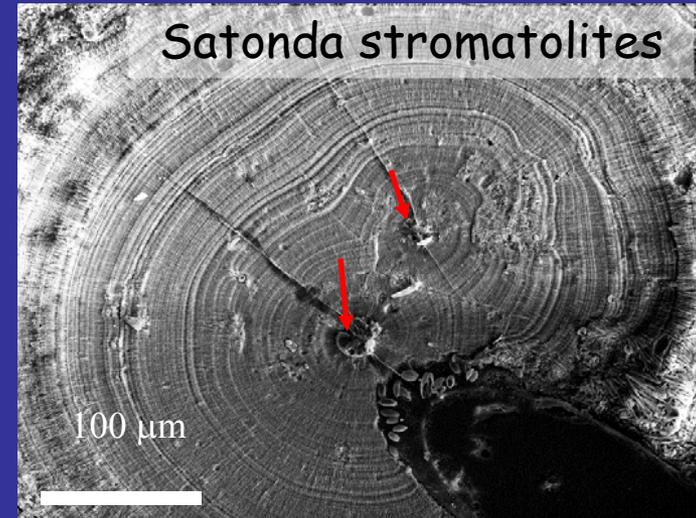
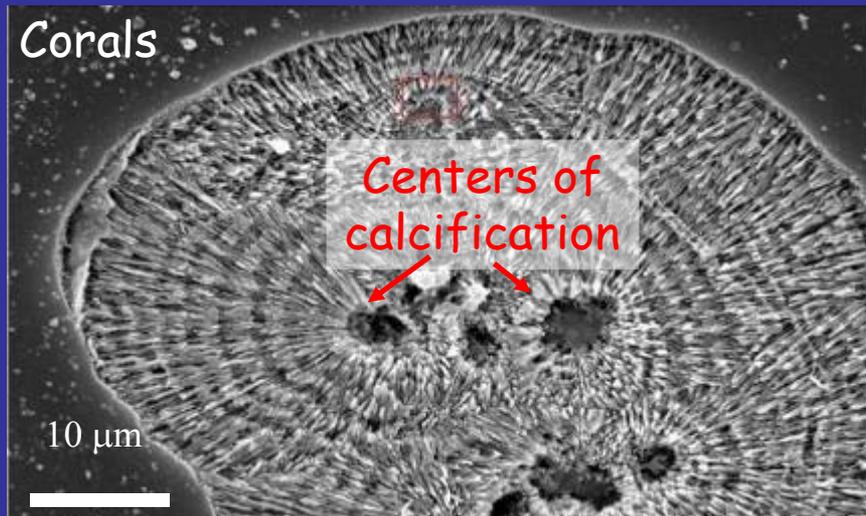
One consequence of sulphurization: maybe better preservation

Is there any role of microbes in these patterns?

If microbes do not have any role in the nucleation and growth of crystals then how do they influence the macroscopic morphology?

Two hints:

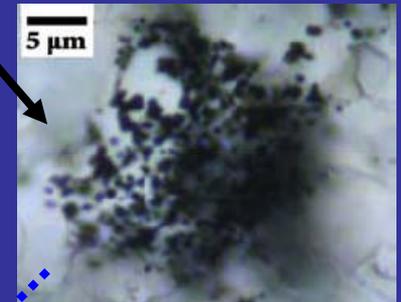
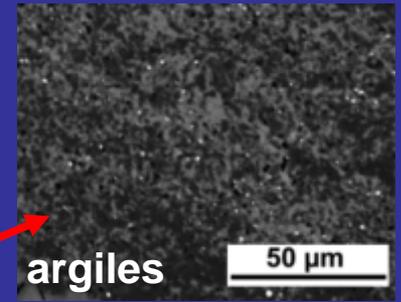
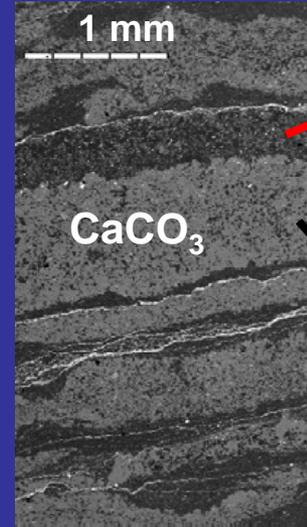
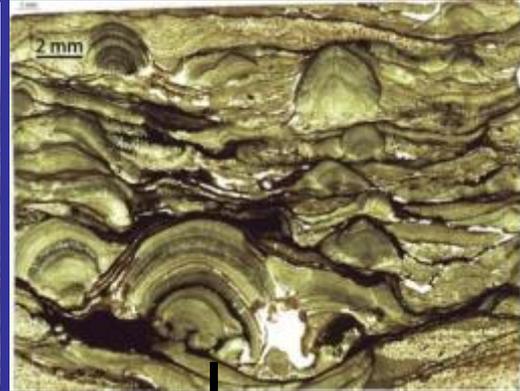
- ★ EPS pervasively associated with aragonite nanocrystals (*e.g. Benzerara et al., PNAS 2006*)
- ★ High textural similarities with corals



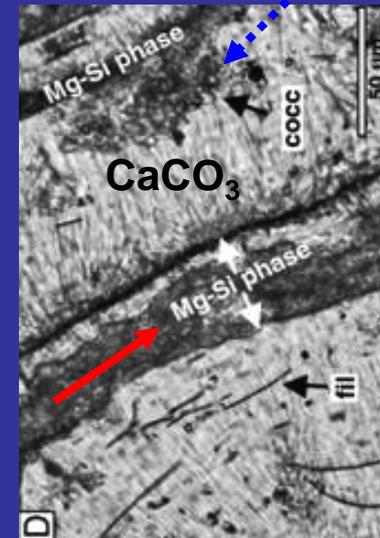
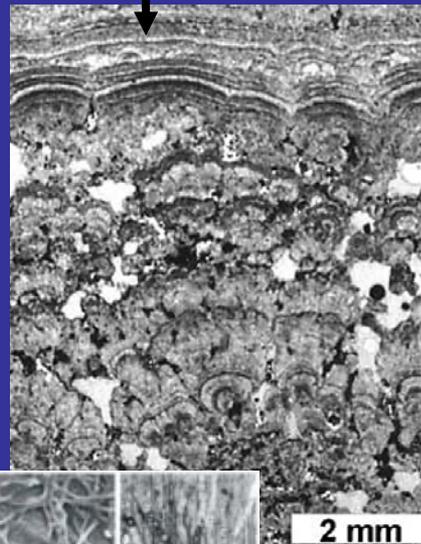
SEM on slightly etched sections in corals and Satonda stromatolites

Similitudes texturales multi-échelles

2,72 Ga



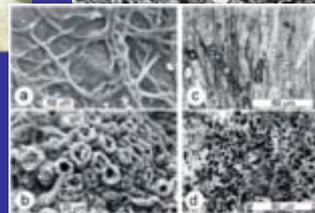
moderne



Grains carbonés

bactéries fossiles

Satonda
Arp et al.
2003



Kazmierczak
et al. 2005

Matière organique liée à ces structures ?

Raman and ion microscopic imagery of graphitic inclusions in apatite from older than 3830 Ma Akilia supracrustal rocks, west Greenland
McKeegan et al. (2007) *Geology*

Three-dimensional molecular-structural images of apatite grains and associated minerals embedded in a banded quartz-pyroxene-magnetite supracrustal rock from Akilia, southern west Greenland, were constructed by using Raman confocal spectroscopy. The rock sample is the same as that from which apatite-hosted isotopically light graphitic inclusions were reported by Mojzsis and colleagues in 1996; the results were challenged in 2005 by Lepland and colleagues who failed to find carbon-bearing inclusions in this and other Akilia samples. **Here we demonstrate that inclusions of graphite wholly contained within apatite occur in this rock. The carbon isotopic composition of one such inclusion, its graphitic composition established by Raman spectroscopy, was measured by secondary ion mass spectrometry to be isotopically light ($\delta^{13}\text{C} = -29\text{‰} \pm 4\text{‰}$), in agreement with earlier analyses. Our results are thus consistent with the hypothesis that graphite-containing apatite grains of the older than 3830 Ma Akilia metasediments may represent chemical fossils of early life.**

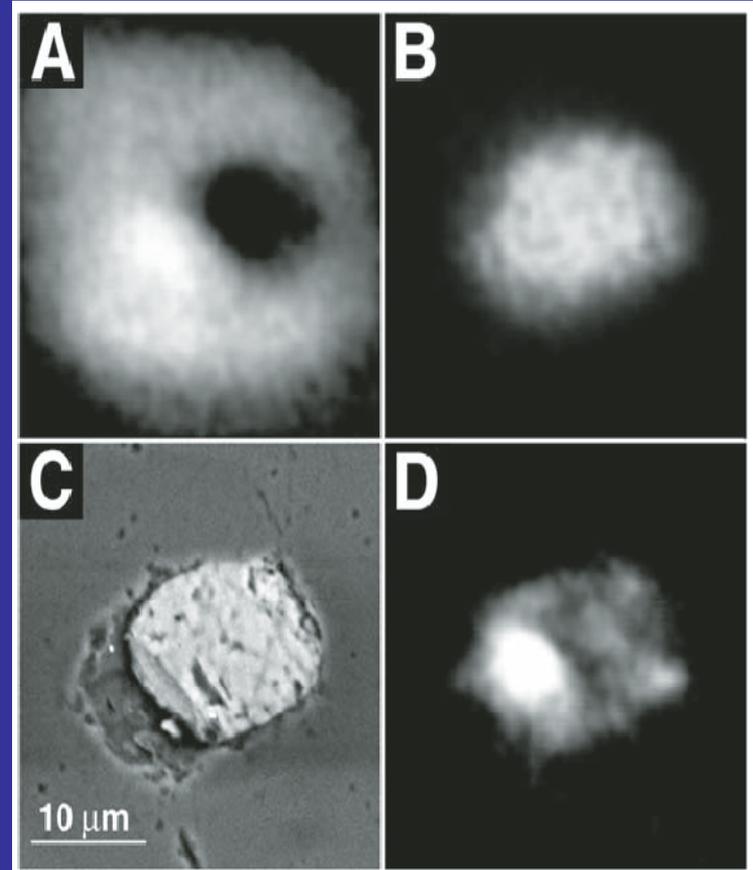


Figure 3. Ion microscope images of apatite grain #1 (A, B, D) and included graphitic particle analyzed for its carbon isotope composition, compared with backscattered electron (BSE) image of same specimen after isotopic analysis (C); scale for all panels shown in C. A: Image in $^{28}\text{Si}^-$ ions. B: Image in $^{31}\text{P}^-$ ions. D: Image in $^{12}\text{C}^-$ ions. Apatite grain and its graphitic inclusion are shown clearly in $^{31}\text{P}^-$ and $^{12}\text{C}^-$ images with surrounding quartz shown in $^{28}\text{Si}^-$ image. Diffuse $^{12}\text{C}^-$ is associated with phosphorus-bearing apatite (B), but not silica-rich quartz (A). Post-secondary ion mass spectrometry (SIMS) BSE image (C) was made on uncoated sample by use of variable-pressure LEO 1430 VP scanning electron microscope. Crater made by Cs^+ sputtering during SIMS analysis contains small blebs of carbon-rich material (identified by energy dispersive X-ray analysis), but most of graphitic inclusion was consumed during isotopic measurements.