

# 南海莺琼盆地沉积环境中几种厌氧细菌的组成与分布

邓 宇 张 辉 钱贻伯 赵一章 朱 辉

(农业部成都沼气研究所 成都 610041)

**摘 要** 在严格的厌氧条件下,用 MPN 计数的方法测定了莺琼盆地东方 1-1-1 井垂直剖面不同沉积层的地质样品中的硫酸盐还原菌、发酵细菌的数量,并检测了产甲烷细菌,对各种菌的形态进行了观察,比较了菌数量与一些指标的关系,并对产甲烷细菌的代谢类型和产甲烷能力进行了观察。研究表明:硫酸盐还原菌在各样品中均存在,与沉积深度无相关性,而与样品中  $\text{SO}_4^{2-}$  的含量有一定相关性;而发酵细菌的分布也与沉积深度无相关性,而与样品中的有机质有一定的负相关性。全部样品中均检测出两种形态产甲烷细菌,即甲烷球菌 (*Methanococcus*) 和甲烷杆菌 (*Methanobacterium*),其营养类型为  $\text{H}_2/\text{CO}_2$ 。

**关键词** 厌氧细菌,海相沉积环境,生物气

**分类号** Q938.1

生物气在天然气工业中占有重要的地位,根据 Rice D 的统计,作为能源的生物气 (Biogas) 已占世界探明天然气储量的 20% 以上<sup>[1]</sup>。在对生物气的生成、聚集和潜力的研究过程中,人们逐渐认识到生物气实际上是厌氧微生物在一定温度、还原条件下分解代谢沉积岩中有机物质而形成的产物。因此,要全面系统地认识生物气形成机理,对资源的潜力进行评价,就有必要在研究沉积学和地球化学的同时,深入地进行地质沉积物中的微生物研究工作,既可说明沉积层中具有这些微生物类群生存的条件,又可推论这些微生物菌群所起的地质作用,再结合生物气的发酵实验等研究成果,就可能对生物气资源进行科学预测。

70~80 年代国内外相继发表了一些论文,从微生物学基础和地质地球化学的特征方面,论述了生物气的生成机理和聚集条件,如《青海湖综合考察报告》<sup>[2]</sup> Belyaev S S 等<sup>[3~5]</sup>及本实验室开展的工作<sup>[6]</sup>都推动了这方面研究的发展。但关于一个典型海相沉积环境深至 2000 多米一个纵深垂直剖面系列样品的系统微生物工作还未见报道。本文报道对莺琼盆地 800~2300m 一个垂直剖面不同沉积层的微生物的研究结果。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品

S1~S8 是打井过程中一次性无菌采集,并无菌保存,在几天内由南海西部石油公司勘探开发科学研究院送至本实验室。

### 1.2 厌氧技术

培养基制备细菌接种、稀释及富集培养全部采用 Hungate 严格厌氧操作技术<sup>[7]</sup>。

### 1.3 细菌计数培养基 见文献 [6]。

收稿日期: 1996-01-17

- 1.4 MPN 计数 见文献 [6].
- 1.5 产甲烷细菌的富集培养 见文献 [6].
- 1.6 细菌产物的分析测定 见文献 [6].
- 1.7 甲烷菌的形态描述和代谢基质的判断 见文献 [8,9].
- 1.8 样品中有机质、纤维素的测定方法 见文献 [10].
- 1.9  $\text{SO}_4^{2-}$  测定 见文献 [11].

2 结果和讨论

2.1 硫酸盐还原细菌(SRB)的分布及特征

我们曾对不同沉积环境中硫酸盐还原菌的时空分布进行过研究,并在一些浅层(0.5~30m)的现代沉积物中检测到了硫酸盐还原菌<sup>[6]</sup>。国内外还没有关于从表层到1 000m以上深层某个完整剖面的时空分布报道。系统研究 SRB 在垂直剖面中的分布状况,对于人们深入认识 SRB 在地质沉积环境中的作用,是十分有益的。

表1 莺琼盆地样品厌氧细菌计数和富集结果

Table 1 The Quantities and enrichments of anaerobic bacteria of samples from Yingqiong Basin

样 品 Samples	埋 深 Depth (m)	硫酸盐还原菌 SRB / g	发酵性细菌 Fermentative bacteria / g
S1	800	$0.4 \times 10^4$	$2.25 \times 10^3$
S2	1 000	$0.3 \times 10^4$	$4.57 \times 10^3$
S3	1 200	$1.5 \times 10^2$	$2.25 \times 10^3$
S4	1 400	$0.4 \times 10$	$0.35 \times 10^5$
S5	1 600	$0.3 \times 10^2$	$4.75 \times 10^4$
S6	1 800	$0.4 \times 10^2$	$2.25 \times 10^4$
S7	2 100	$0.4 \times 10$	$3.00 \times 10^2$
S8	2 300	$0.4 \times 10$	$2.25 \times 10^2$

从表 1 的 MPN 计数结果可以看出,在 8 个样品中均含有一定数量的硫酸盐还原菌,其数量分布在  $0.4 \times 10 \sim 0.3 \times 10^4$  个 / g 之间,但是其分布与样品的埋藏深度没有明显相关性(图 1)。这与人们的随埋藏深度加深,硫酸盐还原菌逐渐减少、消失的推测有出入。

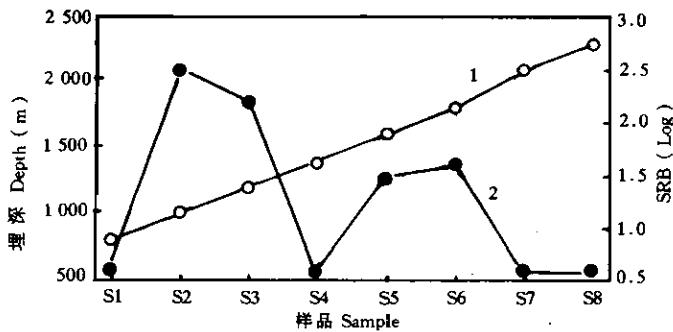


图 1 硫酸盐还原菌的分布与埋藏深度的关系

Fig. 1 The relation between SRB and depth

1. 埋深 Depth; 2. SRB (Log).

为了找出硫酸盐还原菌分布的规律,检测了样品中的  $\text{SO}_4^{2-}$  含量,从图 2 可以看出,硫酸盐还原细菌的分布与样品中的  $\text{SO}_4^{2-}$  含量有一定的相关性。

还有一个有趣的现象,即在莺琼盆地样品中,硫酸盐还原菌始终都和产甲烷细菌共存,这和我们所做的陆相沉积环境垂直剖面硫酸盐还原菌分布和

产甲烷菌分布有明显的分界的结果是不同的。这说明沉积环境的不同,微生物群类的分布和演变过程有很大区别。在一些情况下硫酸盐还原菌和产甲烷菌能够共处,并不对甲烷菌的产甲烷作用产生明显的不利影响。Hilton M G等<sup>[12]</sup>认为,产甲烷和硫酸盐还原均在咸水沉积物和处理富硫酸盐废水厌氧消化器中进行,所以预计一定量的硫酸盐还原菌和产甲烷菌共存。吴维民等的实验结果也表明,有时硫酸盐还原菌存在并不对甲烷菌的作用有太大的影响,在颗粒污泥微生物共生体中,产甲烷菌和硫酸盐还原菌并不竞争共同的底物,互养丙酸和乙醇的转化主要由硫酸盐还原菌进行,而产甲烷菌主要利用 H<sub>2</sub>、甲酸和乙酸<sup>[13]</sup>。

还观察了 S1 和 S8 中的硫酸盐还原菌(图 3),其形态基本一致,似乎埋藏深度加大并没有对该环境中的硫酸盐还原细菌形态造成明显影响。

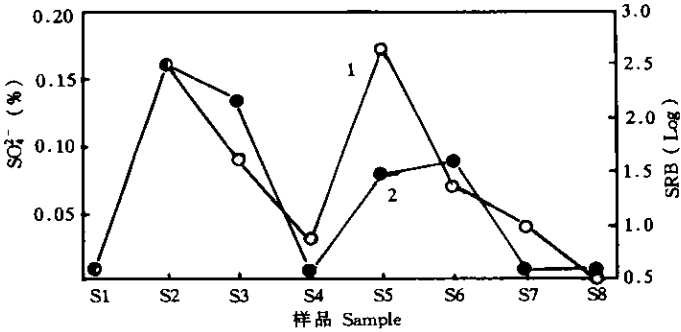


图 2 硫酸盐还原菌的分布与  $\text{SO}_4^{2-}$  含量的关系  
Fig. 2 The relation between SRB and  $\text{SO}_4^{2-}$  concentration

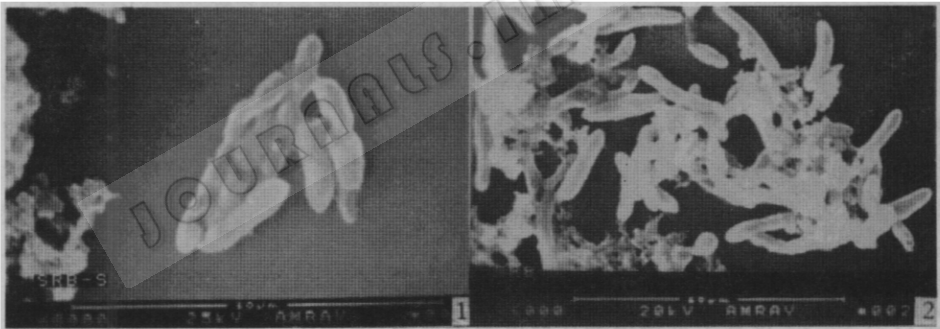


图3 S1和S8富集样中的硫酸盐还原菌形态  
Fig. 3 Morphology of SRB S1 and S8 enrichments  
1. S1; 2. S8.

2.2 发酵细菌的分布及与有机质的关系

发酵细菌是产甲烷过程中一类很重要的生理菌群。通过代谢活动将复杂有机物分解,为以后发酵各阶段的菌群提供可利用基质,并通过和其他菌群之间的相互作用,最终将复杂有机物彻底转化成 CH<sub>4</sub>和 CO<sub>2</sub>。

在莺琼盆地的 8 个样品中,均检测出含有一定数量的发酵细菌,其变化幅度从  $2.5 \times 10^2 \sim 4.75 \times 10^4$ (表 1),数量分布与埋藏深度没有明显的相关性,即不随埋藏深度加深而数量减少,如 S5(1 600m)含菌数为  $4.75 \times 10^4$ ,为最高;S8(2 300m)为最低,仅  $2.5 \times 10^2$ ,而 S1 埋藏深度最浅,其含菌数又处于较低水平( $2.25 \times 10^3$ )。图 4 为莺琼盆地发酵性细菌和样品中有

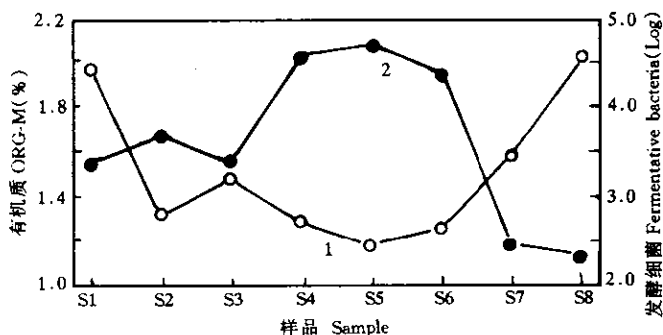


图4 发酵细菌和样品有机质含量的关系

Fig. 4 The relation between fermentative bacteria and organic mater of samples

1. 有机质ORG-M; 2. 发酵细菌Fermentative bacteria.

机质含量的关系。我们可以发现有机质在地质各沉积层中分布的不均匀性,而发酵性细菌的分布与有机质含量之间有一定的负相关性,即有机质含量高的样品其发酵性细菌数量反而相对较少,这与一些报道有所不同。“青海湖考察报告”曾报道了青6、青7孔的有机碳随深度而下降,而分解原始有机质的腐生菌与该孔沉积剖面的有机碳的变化相一致<sup>[2]</sup>。张辉等也指出滇科一孔的6个样品有机质含量随埋藏深度而变化并有较好相关性,计数结果也表明,沉积环境中的有机质含量与发酵细菌数量存在一定的相关性<sup>[6]</sup>。究其原因,一则是所取样品的深度有别于上述研究,其深度为800~2300m,“青海湖考察报告”中所反应的是较为表层的情况;二则是所取样品为同一口井(东方1-1-1井)的不同沉积层的系列样品,这样更能反应某一沉积环境沉积过程中微生物组成、分布的时空特征,而文献[6]反应的是不同沉积环境同一层位的情况,并且也认为有机质的含量与埋藏深度以及发酵细菌之间的可比性,只存在于同一沉积环境的相同层位中。此结果说明在各种不同的沉积环境中,由于沉积过程各种因素及环境条件的影响和变化,有机质的分布与发酵细菌组成与分布也有较大的变化。因此,有必要更广泛地进行各种沉积环境中微生物区系组成与分布的研究,进一步了解微生物在各种沉积环境的作用与功能及其演变规律。

通过对S1-S8样品中发酵细菌的显微观察发现,细菌的主要形态为杆状,菌体大小之间无明显差异,说明在海相沉积环境中,埋藏深度与菌体的大小无明显关系,图5为S1样品中的发酵细菌扫描电镜照片。

### 2.3 产甲烷菌的分布及特征

许多学者对一些淡水和海水沉积中产甲烷细菌的分布进行过研究,发现在淡水沉积中产甲烷细菌的垂直分布随水域或土壤的条件不同而有差异<sup>[14]</sup>。在海水沉积物中,产甲烷细菌的分布比淡水沉积物中要深一些。至于深海,尤其是由浅到深一个系列样品中产甲烷菌的分布还未见报道。由于样品中产甲烷细菌的含量较少,因此MPN计数无法对其准确计数,在此我们是通过产甲烷细菌的富集培养来进行研究的。通过富集发现在莺琼盆地8个样品中都存在一定数量的产甲烷细菌,这说明该沉积环境的生化产甲烷过程,既可发生在表层也可发生在较深层。图6是不同样品培养30天后测得的产甲烷相对活力,可以看出,产甲烷活力最高的为S3、S4、S5。对这三个样品的富集液镜检发现,莺琼盆

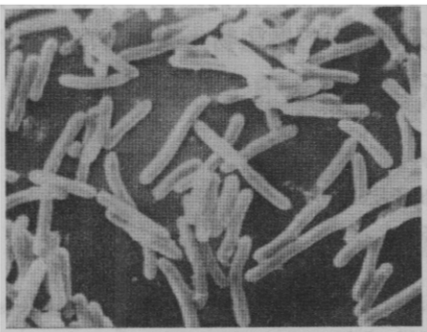


图 5 S3 样品中发酵细菌形态(6 000×)

Fig. 5 Morphology of fermentative bacteria S3 sample

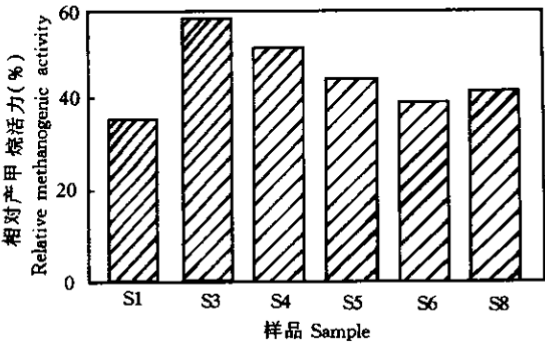


图 6 部分样品富集培养 30 天后测得的相对产甲烷活力

Fig. 6 The relative methanogenic activity of some samples after 30 d enrichment

地由浅到深 8 个样品中几乎都含有两种形态的产甲烷细菌，一种为甲烷球菌 (*Methanococcus*)，另一种甲烷杆菌 (*Methanobacterium*)，其中一些为嗜热产甲烷菌 (图 7)，这说明埋藏深度深的样品，由于其所处的原始地层温度高，所以所含的产甲烷菌对高温有较好的适应性，图 7 为 S 样品中的产甲烷菌形态。

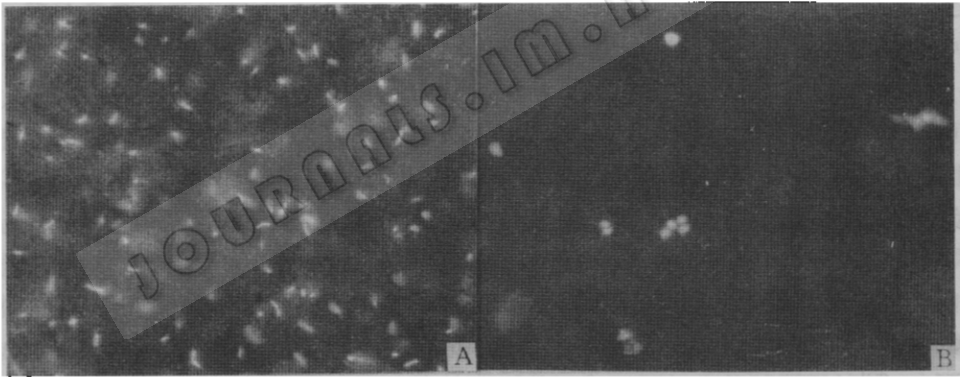


图 7 S 样品中产甲烷菌形态(6 000×)

Fig. 7 Morphology of methanogen of S samples  
A. S2 中的嗜热甲烷杆菌(55℃) The thermophilic methanobacterium of S2;  
B. S3 中的嗜热甲烷球菌(55℃) The thermophilic methanococcus of S3.

通过实验发现两种形态的产甲烷细菌，其营养型为  $H_2/CO_2$ 。在不同的沉积环境中，由于环境条件的选择作用，产甲烷菌组成是不同的，随着沉积过程的进行，各种条件制约使得产甲烷菌结构变得单一，不同沉积环境中产甲烷细菌在代谢途径上的差异，主要取决于沉积环境条件，这在国内外均有报道。本实验室以前的工作也表明，进入一定的成岩阶段，沉积环境中的产甲烷菌基本都是  $H_2/CO_2$  营养型。

本文是对一个典型海相沉积环境埋藏深度较深的系列样品中微生物区系组成与分布的时空特征的描述。可以发现，在不同的沉积环境，甚至就是在同一沉积环境中，不同沉

积层由于各种环境因素的不同及演变过程的差异,导致微生物区系的组成与分布的差别,其所起的地质作用也各有特点,因此有必要对地质沉积物中的微生物生态进行深入研究。

### 参 考 文 献

- [1] Rice D D. *AAPG Bull*, 1981, 65:5~25.
- [2] 中国科学院兰州地质研究所. 青海湖考察报告. 北京: 科学出版社, 1980.
- [3] Belyaev S S. *Appl. Environ. Microbiol*, 1983, 45(2):691~697.
- [4] Belyqev S S. *Geokhimiya*, 1977, 8:1251~1256.
- [5] Belyaev S S. Microbiological Methane Formation in Various Ecosystems. In: *In Role of Microorganisms in Natural Turnover of Gases*. Moscow: Edition Nann, 1979. 205~219.
- [6] 张 辉, 连莉文, 张洪年. 微生物学报, 1992, 32(3):182~190.
- [7] 赵一章, 张 辉. 微生物学报, 1984, 24(3):99~104.
- [8] 刘聿太. 沼气发酵微生物及厌氧技术. 北京: 科学出版社, 1990.
- [9] Boone D R. *Int J syst Bacteriol*, 1988, 38(2):212~219.
- [10] 中国土壤学会农业化学专业委员会. 土壤农业化学常规分析方法. 北京: 科学出版社, 1983.
- [11] 杭州大学化学系分析化学教研室. 分析化学手册第二分册: 化学分析. 北京: 化学工业出版社, 1982.
- [12] Hilton M G. *Biotechnology and Bioengineering*, 1988, 31:885~888.
- [13] Wu W M, Hickey R F, Eeikus J G. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57:3438~3449.
- [14] Mah R A. *Ann Rev Microbiol*, 1977, 31:309~341.

## THE COMPOSITION AND DISTRIBUTION OF SOME KINDS OF ANAEROBIC MICROOGANISMS IN YINQION BASIN

Deng Yu   Zhang Hui   Qian Yibo   Zhao Yizhang   Zhu Hui

(Chengdu Biogas Institute of the Agricultural Ministry, Chengdu 610041)

**Abstract** Under the strictly anaerobic conditions, the population of Sulfate-reducing bacteria, fermentative bacteria and methanogenic bacteria of serial samples got from erect sections of different Sedimentary of Yingqiong basin (a typical marine sedimentary environment) were measured by MPN method. The morphology of different kinds of bacteria and the metabolic types of methanogen and methanogenic activity were observed. The relation between population of bacteria and some indexes were compared. The results show that SRB present in all of the samples. The distribution of SRB and fermentative bacteria have no interrelation with the depth of samples but SRB has interrelation with the  $\text{SO}_4^{2-}$  concentration, and fermentative bacteria has negative interrelation with the contents of organic matter. Two kinds of methanogen present in all of the samples. They belong to *Methanobacterium* and *Methanococcus*, respectively. Their types of nutriment are  $\text{H}_2/\text{CO}_2$ .

**Key words** Anaerobic bacteria, Marine sedimentary environment, Biogas.