

# 不同沉积环境中几种厌氧细菌的组成与分布

张 辉 连莉文

(农业部成都沼气科学研究所, 成都 610041)

张 洪 年

(地质矿产部石油地质研究所, 北京 100083)

在严格的厌氧条件下, 用 MPN 计数的方法测定了几种不同沉积环境的地质样品中的硫酸盐还原细菌、发酵性细菌、产甲烷细菌的数量; 观察了不同沉积类型的样品中产甲烷细菌的种类和代谢类型; 比较了岩芯等典型样品的产甲烷能力。结果表明, 陆相沉积物中的硫酸盐还原细菌的分布, 受沉积深度的限制, 其数量与沉积深度之间有较好的负相关性。在同一沉积环境的相同层位中, 发酵性细菌以及厌氧纤维素分解细菌的数量随有机质或纤维素的含量而变化。在各种沉积环境中, 产甲烷细菌的数量都明显少于其他非产甲烷细菌。用 MPN 计数的方法通常检测不到岩芯样品中的产甲烷细菌。现代海相表层沉积物的样品产甲烷细菌主要是甲烷杆菌属 (*Methanobacterium*), 其营养类型为  $H_2/CO_2$ 。现代陆相沉积物和成岩早期的样品, 产甲烷细菌的类群比较复杂, 营养类型为  $H_2/CO_2$  和乙酸。成岩中晚期的样品中, 产甲烷细菌以甲烷球菌属 (*Methanococcus*) 为主, 营养类型为  $H_2/CO_2$ 。

关键词 生油气

根据 D. Rice 的统计, 作为能源的生物气 (Biogas) 已达到世界天然气探明储量的 20% 以上<sup>[1]</sup>。生物气的产生需要经过发酵性细菌 (Fermentative bacteria)、专性产氢产乙酸细菌 (The obligate  $H_2$ -producing, acetogenic bacteria)、产甲烷细菌 (The methanogenic bacteria) 等营养类群的相互作用, 才能有效地将有机物转化成甲烷。因此, 有必要在研究沉积学和地球化学的同时, 研究沉积学、地球化学与微生物学的关系, 研究沉积过程中不同生理类群的微生物的功能及相互关系。70—80 年代初期, 国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<sup>[2—3]</sup>。Rosanova 和 Belyaev 等人应用放射性同位素示踪和富集培养的方法, 证实了聚集在油层和岩层水中的天然气与微生物的产甲烷作用有关<sup>[4—6]</sup>。国内近年来也有一些学者对生物气的生成与特征进行了报道<sup>[7—9]</sup>。至今, 国内外系统研究生物成气过程中微生物学的报道还不多, 对生物气形成机理的认识也十分有限。因此, 作者希望能在厌氧微生物的领域中, 对生物成气的本质做一些有益的探讨。

## 材料和方法

### (一) 样品来源与种类

35 个样品均由地质矿产部石油地质研究所和长庆石油勘探局开发勘探研究院提供。

本文于 1990 年 12 月 20 日收到。

样品采集后装入密封罐，送到实验室的备用样品储存于冰库(4℃)。样品包括现代海相和陆相的沉积物，成岩早、中、晚期的岩芯。样品的最大埋藏深度为2703m，最小埋藏深度为0.5m。样品的有机质含量最高为70%，最低的为0.1%。样品的最高含湿量为77%，最低含湿量为2%。样品最高的 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 含量为20%。

## (二) 厌氧技术

培养基的配制、分装，细菌的接种、稀释和富集培养，全部采用 Hungate 严格厌氧操作技术<sup>[10]</sup>。

## (三) 细菌计数培养基

1. 硫酸盐还原菌培养基(g/L): 乳酸钠(70%)5ml;  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  0.5;  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.0;  $\text{CaCl}_2$  0.1;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  0.5;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  2.0;  $\text{FeSO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  0.5; 酵母膏 1.0; 刀天青(0.1%)1ml, pH 7.0。

2. 发酵性细菌培养基(g/L): 葡萄糖 10; 蛋白胨 5.0;  $\text{NaCl}$  3.1; 牛肉膏 3.0; L-盐酸半胱氨酸 0.5; 刀天青(0.1%)1.5ml, pH 7.0。

3. 厌氧纤维素分解菌培养基(g/L):  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  3.0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  1.0;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.58;  $\text{Ca}_2\text{Cl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  0.2;  $\text{NaCl}$  0.1; L-盐酸半胱氨酸 0.3; 刀天青(0.1%)1ml, pH 7.0—7.2。

4. 甲烷细菌培养基(g/L):  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1.0;  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.1;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  0.4;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2; 胰化酪蛋白 0.1; 酵母膏 1.0; 乙酸钠 2.0; 甲酸钠 2.0; L-盐酸半胱氨酸 0.5;  $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  0.2;  $\text{NaHCO}_3$  2.0; 刀天青(0.1%)1ml; 微量元素溶液 10ml; 复合维生素溶液 10ml, pH 7.0。

计数培养基均以4.5ml装入厌氧培养管，121℃灭菌30分钟。分装厌氧纤维素分解菌培养基的培养管，加入用新华一号滤纸剪成的滤纸条。甲烷细菌接种后，加入 $\text{H}_2/\text{CO}_2$ 和 $\text{CH}_3\text{OH}$ 。

## (四) MPN 计数

取未知细菌浓度的样品0.5g(固体或半固体)或0.5ml(液体)，岩芯样品需取其内部，依次作10倍稀释，各稀释度重复5支培养。细菌数量以每克样品的总固体量(TS)计算。

## (五) 甲烷细菌的富集培养

富集培养所用的培养基除了加入 $\text{KCl}$ (0.2g/L)和 $\text{NaCl}$ (2.0g/L)以外，其余成分和甲烷细菌计数培养基相同。用60ml血清瓶装入20ml培养基，接种量为10%，接种后加入 $\text{CH}_3\text{OH}$ (20%)0.1ml,  $\text{H}_2$  60ml,  $\text{CO}_2$  20ml, 37℃、150 r/min 振荡培养。每个样品重复3瓶。考虑到不同沉积环境的地层温度，23°、24°、25号样品同时在55℃静止培养。

## (六) 分析测定

硫酸盐还原细菌37℃培养30天后，观察试管中有无出现黑色沉淀。发酵性细菌37℃培养一周后，用SC-3A型气相色谱仪测定试管中的 $\text{H}_2\text{o}$ 。厌氧纤维素分解菌37℃培养30—45天后，观察试管中的滤纸条是否产生灰色半透明或黄色斑点，甚至被分解。甲烷细菌37℃培养30—50天后，用103型气相色谱仪测定试管中有无 $\text{CH}_4$ 生成。

表 1 各类群微生物的数量和产甲烷菌富集培养、形态、代谢基质

Table 1 The quantity of the groups of microorganisms and the culture, form and metabolic substrate of methanogenic bacteria

成岩 阶段	沉积 类型	样号	样品名称	层位	水深 (m)	埋 (m)	硫酸盐 还原菌 (个/g·TS)(个/g·TS)	发酵性 细菌 (个/g·TS)(个/g·TS)	纤维素分 解细菌 (个/g·TS)(个/g·TS)	产甲烷 细菌 (个/g·TS)(个/g·TS)	产甲烷细菌的种类			甲烷菌代谢基质
											厌 氧 球 菌	杆 菌	短杆菌 球菌	
未 成 岩	现代海 洋沉 积物	1	海底淤泥	Q4	72	0—0.5	1.0×10 <sup>3</sup>	0.1×10 <sup>3</sup>	0.2×10 <sup>3</sup>	+ +				+
		2	海底淤泥	Q4	72	0—0.5	0.4×10 <sup>4</sup>	0.1×10 <sup>3</sup>						+
		17	灰色泥质粉砂	Q4	87	2.2—2.8	2.2×10 <sup>3</sup>							+
		19	深灰色粉砂质泥	Q4	86	2.6—3.0	2.6×10 <sup>3</sup>	0.6×10 <sup>3</sup>						+
		18	深灰色粉砂质泥	Q4	80	3.2—3.9	0.9×10 <sup>4</sup>							+
		20	深灰色含粉砂泥	Q4	87	8.0—9.0	4.4×10 <sup>3</sup>	3.4×10	2.5×10	+ +				+
		34	黄色深海底质软泥	Q4	4909	表层			0.5×10 <sup>2</sup>	+ +				+
		35	褐色深海软泥	Q4	4945	表层			0.7×10 <sup>2</sup>	+ +				+
现 代 陆 相 带	现代 陆 相 带	22	水塘淤泥	Q4		0.1—1.0	3.0×10 <sup>3</sup>	2.2×10 <sup>3</sup>	1.3×10 <sup>4</sup>	+ +				+
		26	黑色泥炭	Q4		1.15	ND*	2.4×10 <sup>4</sup>	2.4×10 <sup>3</sup>	2.5×10 <sup>3</sup>	+ +			+
		27	黑色泥炭	Q4		1.45	ND	1.4×10 <sup>3</sup>	0.7×10 <sup>3</sup>					+
		28	黑色泥炭	Q4		1.65	ND	3.2×10 <sup>3</sup>	1.0×10 <sup>3</sup>					+
		29	黑色泥炭	Q4		1.95	ND	4.6×10 <sup>3</sup>	1.4×10 <sup>2</sup>					+
		11	灰黑色软泥	Q4		2.0		1.0×10 <sup>3</sup>	0.2×10 <sup>3</sup>		+ +			+
现 代 海 洋	现代 海 洋	16	草 碳	Q4		2.0	2.1×10 <sup>3</sup>	0.7×10 <sup>4</sup>	1.7×10 <sup>4</sup>	+ +				+

层位	积物	成盐早期		成盐中期		成盐晚期	
		15 9 10	浅灰色泥质粉沙 灰黑色软泥 褐灰色含螺壳软泥	15 9 10	2.5 5—7 5—7	15 9 10	1.0×10 <sup>4</sup> 0.8×10 <sup>4</sup> 1.3×10 <sup>4</sup>
3	含碳泥	Q3	32—33	1.0×10 <sup>4</sup>	0.4×10 <sup>4</sup>	+	+
12	含泥炭泥岩	Q3	32—34	0.2×10 <sup>4</sup>	1.5×10 <sup>3</sup>	+	+
14	泥 碳	Q3	48—52	2.5×10 <sup>3</sup>	0.5×10	+	+
4	灰色含粉砂泥	Q1	246.45	3.4×10 <sup>3</sup>	+	+	+
5	灰色含粉砂泥	Q1	321.56	1.4×10 <sup>4</sup>	0.4×10 <sup>4</sup>	+	+
13	灰黑色泥岩	N	380—384	1.8×10 <sup>4</sup>	0.3×10 <sup>4</sup>	+	+
6	灰色泥岩	N	357.50	0.7×10 <sup>3</sup>	0.8×10 <sup>3</sup>	+	+
7	灰色泥岩	N	432.95	1.5×10 <sup>4</sup>	+	+	+
8	灰色泥岩	N	454.30	1.7×10 <sup>4</sup>	+	+	+
21	灰绿色泥岩	264.3—264.5		7.4×10 <sup>3</sup>	0.4×10 <sup>4</sup>	+	+
30	浅灰色泥岩	Q1 + 2	520	ND	5.7×10 <sup>3</sup>	0.4×10 <sup>4</sup>	+
31	灰色含粉泥岩	Q1 + 2	1056	ND	7.5×10 <sup>3</sup>	1.4×10 <sup>4</sup>	0.7×10 <sup>4</sup>
32	浅灰色泥岩	Q1 + 2	1200	ND	3.5×10 <sup>3</sup>	+	+
33	灰色泥岩	Q1 + 2	1412	ND	0.7×10 <sup>3</sup>	0.4×10 <sup>4</sup>	-
23	灰色泥岩	Ed	2286	1.3×10 <sup>4</sup>	1.7×10 <sup>4</sup>	-	-
24	深灰色泥岩	Esh3	2399.40	7.4×10 <sup>3</sup>	7.7×10 <sup>3</sup>	-	-
25	深灰色泥岩	Esh3	2702.31	7.7×10 <sup>3</sup>	0.5×10 <sup>4</sup>	-	-

\* 未测定 Not determined

烷细菌富集培养 15 天后, 每 5 天测定一次甲烷。

### (七) 甲烷细菌的形态描述和代谢基质的判断

将富集培养液或计数培养液制成湿片, 在 Olympus 落射荧光显微镜下观察, 并进行显微摄影。甲烷细菌的形态描述和代谢基质的判定以甲烷细菌的分类标准为依据<sup>[12,13]</sup>。

## 结果 和 讨 论

### (一) 生化甲烷过程中主要厌氧菌的组成、作用及相互关系

在自然沉积环境中, 有几种不同的电子受体可用于有机质的分解, 按照这些电子受体被微生物优先利用的次序排列, 它们依次是  $O_2$ 、 $NO_3^-$ 、 $SO_4^{2-}$ 、 $CO_2$ 。本文在报道实验结果的同时, 结合生物气产生过程中不同生化反应的演替, 讨论几种不同生理类群的微生物的作用、分布和相互关系。

1. 硫酸盐还原菌的数量和时空分布: 对 25 个样品进行了硫酸盐还原菌的测定, 测定结果为 22、16、9、12 号四个样品中含有硫酸盐还原菌, 而其他大多数样品均未测出硫酸盐还原菌的数量(表 1)。在含有硫酸盐还原菌的四个样品中, 以 22 号样含菌最多, 达到  $10^7$  个/g·TS。四个含有硫酸盐还原菌的样品, 有三个属于未成岩的现代陆相沉积物, 一个属于成岩早期的沉积物, 而且沉积深度都未超出 40m。分析四个含菌样品, 可以看到, 样品的埋藏深度与硫酸盐还原菌的数量之间呈较明显的负相关性, 即埋藏深度越大含菌数量越少, 以致超出某一深度后, 样品中测不到硫酸盐还原菌。这一结果说明, 在这些沉积环境中, 硫酸盐还原菌的空间分布是有一定深度范围的。但是, 这并不意味着所有沉积环境中的硫酸盐还原过程都能达到或不超过某一具体的深度范围, 因为不同的沉积类型, 硫酸盐还原过程所持续的时间和延续的深度肯定是不同的。已有许多研究结果表明, 在环境中的硫酸盐被耗尽之前, 甲烷是不会大量产生的<sup>[1]</sup>。但作者在实验中发现, 常规的产甲烷细菌培养基中的硫化物浓度并不低( $1\text{--}2\text{ mmol/L}$ ), 在这样的培养基中加入硫酸盐浓度较高的样品, 如 1、5、14、16、20 号样品(表 2), 都在计数或富集培养过程中检验到了甲烷的产生。这表明产甲烷细菌可以生存在硫酸盐含量较高的沉积环境中, 只是在这样的环境中, 产甲烷细菌的活力可能会受到较大的影响, 以致不能产生大量的甲烷。

2. 不同沉积类型中发酵性细菌的分布和与有机质的关系: 发酵性细菌是生化甲烷过程起始阶段重要的生理菌群, 它们分解复杂有机物, 为发酵不同阶段的菌群提供可利用的基质, 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  $CH_4$  和  $CO_2$ 。

在供试的 35 个样品中, 都含有一定数量的发酵性细菌, 而且不同的沉积类型和不同的成岩阶段的样品中, 发酵性细菌数量的变化幅度基本都在  $10^2\text{--}10^4$  个/g·TS 的范围内。计数结果表明, 发酵性细菌数量多、分布广, 可以生存在不同的沉积环境。许多地质、地球化学的结果已表明, 沉积环境中的有机质含量, 是随着埋藏深度的加大而逐渐减少的。“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>[14]</sup>。分析数据表明, 取自滇科 1 孔的 6 个样品(3, 4, 5, 6, 7, 8), 有机质含量随埋藏深度而变化, 并有较好的相关性。计数结果还表明, 沉积环境中的有机质含量与发酵细菌数量之间存在一定的相关性, 即有机质的丰度越

表2 试验样品的组分

Table 2 The composition of sample for test

样品编号	粗纤维(%)	有机质(%)	S <sup>-</sup> 、Cl <sup>-</sup> (%)	Na <sup>+</sup> 、K <sup>+</sup> (%)	样 品 号	粗纤维(%)	有机质(%)	S <sup>-</sup> 、Cl <sup>-</sup> (%)	Na <sup>+</sup> 、K <sup>+</sup> (%)
1	1.06	0.60	1.08	2.91	19	4.47	1.19	0.73	9.28
2	0.53	1.40	0.85	3.37	20	0.41	1.46	0.79	6.83
3	3.22	9.09	0.20	3.27	21	1.52	0.32	0.18	4.13
4	3.78	1.92	0.17	6.71	22	1.21	1.78	0.27	3.20
5	1.86	3.68	0.42	1.83	23	1.36	0.89	0.39	4.46
6	2.63	3.32	0.39	5.03	24	2.85	0.60	0.34	4.98
7	3.72	1.92	0.21	4.44	25	2.35	0.37	0.25	5.53
8	1.33	1.27	0.14	5.38	26	28.70	41.76	0.20	0.78
9	2.60	3.60	0.21	3.64	27		71.93	0.12	0.32
10	1.79	5.14	0.34	3.75	28		70.87	0.62	0.80
11	0.99	3.25	0.11	6.44	29	3.00	60.77	0.60	0.60
12	2.30	5.34	0.17	3.63	30		1.26	2.82	16.89
13	2.47	2.15	0.08	4.27	31	8.30	3.09	1.64	12.31
14	12.03	30.00	0.68	2.78	32		4.37	1.79	15.69
15	0.74	2.70			33		4.27	2.08	20.18
16	2.40	38.70	0.52	4.29	34	1.30	0.60		
17	0.52	0.96	0.74	4.92	35	1.05	0.51		
18	0.40	1.11	0.64	3.83					

大,发酵性细菌的数量也就越多。例如,24、25号样品中的有机质含量相对较低,分别为0.60%和0.37%(表2),其发酵性细菌的数量也较其他样品少1—2个数量级(表1)。但是沉积环境中有机质的变化,受到许多复杂因素的影响,即使在同一环境中,有机质也不可能均匀分布的。实验结果表明,有机质的含量与埋深,以及发酵性细菌之间的这种可比性,只存在于同一沉积环境的相同层位中(表3)。

表3 不同沉积环境中同一层位的有机质含量与发酵细菌数量

Table 3 The content of organic matter and the quantity of fermentative bacteria in the same layer of different sedimentary environment

样 号	产 地	层 位	有机质含量(%)	发酵性细菌数量(个/g·TS)
4	滇科1孔	Q1	3.27	3.4×10 <sup>3</sup>
5	滇科1孔	Q1	3.68	1.4×10 <sup>4</sup>
6	滇科1孔	N <sub>2</sub>	3.32	0.7×10 <sup>3</sup>
7	滇科1孔	N <sub>2</sub>	3.44	1.5×10 <sup>4</sup>
9	昆明玉华大夏工地	Q4	3.60	4.6×10 <sup>4</sup>
10	昆明玉华大夏工地	Q4	5.14	1.3×10 <sup>4</sup>
15	昆明海埂	Q4	3.70	1.0×10 <sup>4</sup>
16	昆明海埂	Q4	38.70	0.7×10 <sup>4</sup>
19	雁湖2井	Q4	1.19	2.6×10 <sup>3</sup>
20	雁湖1井	Q4	1.46	4.4×10 <sup>3</sup>

3. 沉积环境中纤维素的含量对纤维素分解菌的影响;沉积环境中的纤维素的有效降解,需要不同生理类群的微生物共同作用,其中任何菌群的缺失,都会使甲烷发酵这一完

整的生化反应受阻, 改变厌氧降解中的碳素流向, 造成非气态物质(如脂肪酸等)的大量积累。脂肪酸在沉积层大量的累积, 对石油的形成是有意义的, 但对生物气的产生确有一定的影响。

细菌计数结果表明, 纤维素的厌氧降解过程既可以发生在沉积表面, 也可以发生在2000m左右的成岩中晚期阶段(表1)。在测定的25个样品中, 大多数都含有厌氧纤维素分解菌。试验结果表明, 现代海洋沉积物的6个样品的纤维素含量, 明显低于现代陆相沉积物的样品(表2)。同时, 其厌氧纤维素分解菌的数量也相对少于现代陆相沉积物的样品。“青海湖考察报告”曾报告过青6孔1—20m的沉积剖面中, 纤维素随埋藏深度减少, 并与纤维素分解菌随深度消长趋势相一致<sup>[11]</sup>。26、27、28、29四个泥炭样品的分析结果表明, 该沉积环境中的纤维素随埋藏深度而递减, 厌氧纤维素分解菌随纤维素含量呈比较有规律的变化。比较实验结果, 可以看到取自同一环境相同层位中的未成岩的样品, 其纤维素含量随沉积深度而变化, 纤维素分解菌的消长趋势与纤维素含量和埋藏深度基本相一致(表4)。在进入了成岩阶段的13个样品中, 有5个未测出纤维素分解菌, 5个含菌数量很低, 只有6、23、25号3个样品的含菌数量相对多一些。我们的计数结果还表明, 厌氧纤维素分解菌在成岩样品中的分布有较大的差异, 如7、8号样的埋深为450m左右, 层位为N<sub>2</sub>, 却没测到纤维素分解菌, 而23、25号样埋深均超出2000m, 层位为Ed和Esh<sub>3</sub>, 但却都含有一定数量的纤维素分解菌。这说明纤维素分解菌作用深度不同, 可能与不同原始沉积环境的类型有关。

表4 不同沉积环境的相同层位中纤维素含量与纤维素分解菌的数量

Table 4 The content of cellulose and the quantity of anaerobic cellulolytic bacteria in the same layer of different sedimentary environment

样 号	产 地	层 位	纤维素含量 (%)	纤维素分解菌数量 (个/g·TS)	埋 深 (m)
1	22°00'00"N	Q4	1.06	0.1×10 <sup>3</sup>	0.5
2	114°15'01"E	Q4	0.53	0.1×10 <sup>2</sup>	0.5
19	雁湖2井	Q4	0.47	0.6×10 <sup>3</sup>	3.0
20	雁湖1井	Q4	0.41	3.4×10	9.0
15	昆明海埂	Q4	0.74	1.2×10	2.5
16	昆明海埂	Q4	2.40	1.7×10 <sup>3</sup>	2.0

4. 产甲烷细菌在不同沉积环境中的分布及作用: 许多研究者都已对一些淡水和海水沉积物中产甲烷细菌的分布作过研究, 发现淡水沉积物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>。但也有共同的特点, 即除接近海洋沉积物的表层外, 甲烷的浓度随深度而增加, 超过一定深度又逐渐减少。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。关于深层和深海的地质样品中产甲烷细菌分布的报道还不多见, 人们对产甲烷细菌在生物气产生过程中的作用, 也还了解得不多。因此, 有必要研究产甲烷细菌在不同沉积类型、不同成岩阶段的分布规律, 不同沉积环境对甲烷形成的影响。对35个样品进行了产甲烷细菌计数, 其中有8个样品可直接计数检测出一定数量的产甲烷细菌(表1)。通过对产甲烷细菌进行富集培养, 在许多未成岩或成岩早、中期的样品中, 都检测到了甲烷的产生(表1)。从收集到的样品来看, 产甲烷细菌既可以生存在埋

藏深度为 1412m 的岩芯中, 也可以生存在水深达 4945m 的深海沉积中。我们曾对青海生物气田(31、32、33 号)滇科 1 孔(3、4、5 号)和黄浅 1 井(21 号)岩芯样品的富集结果进行过比较, 发现 31、32、33 号样品的产甲烷活性明显高于其他样品。同时也发现岩芯样品产甲烷活性的差异, 不仅存在于不同的沉积环境中, 而且可以表现在同一环境的不同深度上。这一结果说明, 生物气的产生, 既受到不同地质构造的影响, 也受到同一环境中众多复杂因素的干扰。因此, 在考察和确定地质样品的产甲烷活性时, 应全面考虑复杂因素的综合影响。从计数和富集结果看, 23、24、25 号三个样品已不具有自身产甲烷的能力, 无论是对样品进行中温还是高温的富集培养, 都检测不到甲烷的产生, 这可能是因为样品已属成岩晚期(埋藏深度均超出 2000m)在沉积过程中已结束了生化甲烷阶段(表 1)。35 个样品的计数和富集结果证明, 产甲烷细菌不仅可以分布在常见的淡水和海水沉积物中, 也可以分布在成岩阶段的岩芯和深海沉积的特殊环境中, 这对人们进一步认识生物成气的本质、研究特殊环境中的微生物学都有着一定的意义。

## (二) 不同沉积环境中产甲烷细菌的种类及可能的代谢途径

对能够检测到产甲烷活性的样品, 进行了产甲烷细菌的形态观察, 并对样品中产甲烷细菌的基质代谢进行了分类。从表 1 可以看到, 海洋沉积物的样品中(1、20、34、35), 产甲烷细菌的组成非常单一, 只含有甲烷杆菌属(*Methanobacterium*) (图版 I-1), 产甲烷细菌的营养类型为  $H_2/CO_2$ ; 现代陆相沉积物和成岩早期的样品, 产甲烷细菌的种类比较复杂, 包括了甲烷八叠球菌(*Methanosarcina*) (图版 I-2)、甲烷杆菌、甲烷短杆菌(*Methanobrevibacter*)、甲烷球菌(*Methanococcus*) (图版 I-3) 四个属, 产甲烷细菌的营养类型为乙酸和  $H_2/CO_2$ ; 成岩中期的样品, 产甲烷细菌逐渐单一, 代谢基质以  $H_2/CO_2$  为主。实验结果表明, 在不同的沉积环境中产甲烷细菌的组成是不同的, 特别是在岩芯、深海等特殊环境中产甲烷细菌受到环境条件的限制, 使菌群结构变得比较单一。因此, 不同沉积环境中产甲烷细菌代谢途径上的差异, 也主要取决于沉积环境的条件。从滇科 1 孔的几个样品中可以看到, 产甲烷细菌在不同成岩阶段的组成也有差异。我们的实验结果与一些研究者的报道相符, 即在海洋沉积物中, 甲烷主要来源于  $CO_2$  的还原, 而在一般的陆相沉积物中, 甲烷则主要来自于乙酸的转化<sup>[13,14]</sup>。我们的实验结果表明, 进入一定的成岩阶段后, 环境中的产甲烷细菌似乎主要是  $H_2/CO_2$  的营养型。因此, 环境因素对利用  $H_2$  的产甲烷细菌的影响与选择、 $H_2/CO_2$  营养型的产甲烷细菌的生理特征、 $H_2/CO_2$  在生物成气中的意义的研究, 就更显得十分重要。

## 参 考 文 献

- [1] Rice, D. D. et al.: *AAPG Bull.*, 65: 5—25, 1981.
- [2] Claypool, G. E. et al.: *Natural Gases in Marine Sediments*, Plenum Press, New York, pp. 99—139, 1974.
- [3] Claypool, G. E. et al.: *Ann. Rev. Earth Planet. Sci.*, 11: 299—327, 1983.
- [4] Belyaev, S. S. et al.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 45(2): 691—697, 1983.
- [5] Belyaev, S. S.: *Geochemistry*, 8: 1251—1256, 1977.
- [6] Belyaev, S. S.: *In Role of Microorganisms in Natural Turnover of Gases Edition Nauka, Moscow*, 1979.
- [7] 张义纲等: 石油与天然气地质, 4(2): 16—169, 1983.
- [8] 张子枢: 地质地球化学, 2: 8—14, 1984.

- [9] 包 茲: 天然气地质学,石油出版社,北京,第 14—24 页, 1989。
- [10] 赵一章等: 微生物学报, 24(3): 99—104, 1984。
- [11] 中国科学院兰州地质研究所: 青海湖考察报告,科学出版社,北京, 1979。
- [12] 刘聿太: 沼气发酵微生物及厌氧技术,科学出版社,北京, 1990。
- [13] Boone, D. R. et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 38(2): 212—219, 1988.
- [14] Mah, R. A. et al.: *Ann. Rev. Microbiol.*, 31: 309—341, 1977.
- [15] Zeikus, J. G.: *Bacteriol. Rev.*, 41: 514—541, 1977.
- [16] Balch, W. E. et al.: *Microbiol. Rev.*, 43: 260—296, 1979.

## THE COMPOSITION AND DISTRIBUTION OF SOME KINDS OF ANAEROBIC MICROORGANISMS IN THE DIFFERENT SEDIMENTARY ENVIRONMENTS

Zhang Hui Lian Liwen

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

Zhang Hongnian

(The Petroleum Geological Institute of the Geological and Mineralogical Ministry, Beijing 100083)

Under the strictly anaerobic conditions, the quantities of sulfate-reducing bacteria, fermentative bacteria and methanogenic bacteria of several geological samples got from different sedimentary environments were measured with the method of MPN; the kinds and metabolic type of methanogenic bacteria were observed and the abilities of methane production of core samples were compared. The results show that the distribution of sulfate-reducing bacteria is regulated by the depth of sediment and the negative interrelation between its quantity and the depth of sediment is rather good. In the same layer of the same sedimentary environment, the quantities of fermentative bacteria and anaerobic cellulolytic bacteria vary with the change of content of organic matter or cellulose. In the different sedimentary environments the quantity of methanogenic bacteria is obviously less than that of non-methanogenic bacteria. The methanogenic bacteria in the core samples are not detected usually by method of MPN. In the samples of surface layer of modern oceanic sediment the methanogenic bacteria belong to the population of *Methanobacterium* and the type of nutrient is  $H_2/CO_2$ . In the samples of modern continental sediment and early diagenetic period, the population of methanogenic bacteria are complex, the type of nutrient is  $H_2-CO_2$  and acetate acid. In the samples of middle and late diagenetic period, the *Meishanococcus* are main among the methanogenic bacteria, and the type of nutrient is  $H_2/CO_2$ .

### Key word

Biogenic gas

### 图 版 说 明

Explanation of plate

- 1. 深海沉积物(34 号样)中的甲烷杆菌( $\times 500$ ); 2. 现代陆相沉积物(22 号样)中的甲烷八叠球菌( $\times 500$ );
- 3. 岩芯样品(33 号)中的甲烷球菌( $\times 1100$ )。
- 1. *Methanobacterium* sp. in the deep-sea sediment (the 34 th sample); 2. *Methanosarcina* sp. in the modern continental sediment (the 22 nd sample); 3. *Methanococcus* sp. in the core sampl (the 33 rd sample).