

油气微生物勘探技术 理论与实践

◎ 汤玉平 许科伟 任 春 赵克斌 杨 帆 著



科学出版社

油气微生物勘探技术理论与实践

汤玉平 许科伟 任 春 赵克斌 杨 帆 著

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

在现代油气藏评价中,油气微生物勘探技术主要研究近地表土壤层中微生物异常与地下深部油气藏之间的关系,能为初期勘探提供廉价有效的方法,指示和预测有利勘探区块,以降低勘探风险。而在成熟开发区,这项技术能将地震勘探查明的地质构造划分成各种含烃级别,并指示油、气、水的分布位置,从而为开发油气藏服务。本书从其技术原理与当前发展现状展开,概括了当前的检测技术,探讨了其勘探作用机理,并对具体的油气田进行了初步的应用。

本书可供从事地质学与生物学交叉学科的教学、科研和生产人员以及高等院校本科生和研究生参考。

图书在版编目(CIP)数据

油气微生物勘探技术理论与实践/汤玉平等著. —北京:科学出版社,2017
ISBN 978-7-03-055544-1

I. ①油… II. ①汤… III. ①微生物学-应用-油气勘探-研究
IV. ①P618.130.8

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 286439 号

责任编辑:王腾飞 李亚佩/责任校对:彭珍珍

责任印制:张克忠/封面设计:许 瑞

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

中国科学院印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2017 年 12 月第 一 版 开本:720×1000 1/16

2017 年 12 月第一次印刷 印张:20 1/4

字数:410 000

定价:198.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前 言

油气微生物勘探是地表油气藏评价的一个分支，主要研究近地表土壤层中微生物异常与地下深部油气藏之间的关系。在现代油气藏评价中，油气微生物勘探技术能为初期勘探提供廉价有效的方法，指示和预测有利勘探区块，以降低勘探风险。而在成熟开发区，这项技术能将地震勘探查明的地质构造划分成各种含烃级别，并指示油、气、水的分布位置，从而为油气藏开发服务。现代生物技术飞速发展，极大地推动了微生物勘探技术的发展；传统勘探风险增大、成本剧增，也为廉价有效的微生物勘探技术推广应用提供了良好机遇。目前，油气微生物勘探理论探索及检测技术研发已成为国际上的前沿性课题。

本书是一部介绍油气微生物勘探技术的专著，比较系统和集中地反映了作者及其研究团队近年来在油气微生物勘探技术的新理论、新方法及其地质应用的研究成果。重点探讨了油气微生物勘探作用机理，介绍了新发展的微生物培养检测技术和分子生物学检测技术，以及这些新技术在典型含油气区块应用探索的实例。同时结合我国油气勘探的现实需求和国内外油气勘查地球化学勘探的发展趋势，就微生物勘探前沿技术及发展进行了简要阐述。

本书共分四章。第一章由汤玉平、赵克斌、许科伟等执笔，介绍了油气微生物勘探技术的发展历史、理论基础、应用领域与最新发展趋势。第二章由许科伟、高俊阳等执笔，介绍了油气指示微生物培养检测技术和基于轻烃降解基因定量的分子生物学检测技术，以及结合分子指纹、稳定同位素探针和高通量测序等建立的油气指示微生物群落解析技术。第三章由许科伟、顾磊等执笔，依托人工模拟条件下油气微生物种群和数量变化机理研究，以及地表环境、烃类与油气指示微生物数量和类群分布相关性研究，探讨了油气微生物勘探的作用机理。第四章由杨帆、汤玉平、任春等执笔，介绍了典型含油气区块开展的油气微生物勘探应用实践。全书由许科伟统稿。

在本书完成之际，作者诚恳地感谢在研究、编写和出版过程中给予大力支持的中国石油化工股份有限公司科技部、中国石化石油勘探开发研究院和中国石化石油勘探开发研究院无锡石油地质研究所。对参与国家自然科学基金“典型油气藏上方气态烃氧化微生物类群分布异常的深度解析”（批准号：41202241）、中国石油化工股份有限公司科技部项目“油气微生物勘探技术及应用研究”（合同号：P11058）和“典型油气微生物异常特征与预测技术研究”（合同号：P14042）的全

体人员和中国石化石油勘探开发研究院无锡石油地质研究所地球化学勘探项目部的全体人员表示深深的感谢。作者还要诚挚地感谢江南大学刘和教授、符波副教授、杨旭、邵明瑞、梅泽等，以及中国科学院南京土壤研究所贾仲君研究员、王保战副研究员、任改弟博士、蔡元峰博士等在合作研究中提供的重要实验数据和资料。

由于作者水平有限，内容难免有疏漏之处，恳请读者指正！

作 者

2017年8月

目 录

前言

第一章 油气微生物勘探技术原理与发展现状	1
第一节 概述	1
第二节 油气微生物勘探的发展历史	1
第三节 油气微生物勘探的理论基础	3
一、油气微生物勘探的原理	3
二、油气微生物勘探的物理-化学基础	4
三、油气微生物勘探的微生物学基础	8
四、油气微生物勘探的理论模型	11
第四节 油气微生物勘探的技术优势与应用领域	13
一、未采区含油气性预测	13
二、微生物油藏表征	27
三、成功探例的启示	31
第五节 油气微生物勘探的发展趋势	33
一、国内外微生物勘探应用研究趋势	33
二、油气微生物检测技术发展趋势	39
参考文献	45
第二章 油气勘探微生物检测技术研究	48
第一节 培养定量检测技术	48
一、油气勘探微生物种属及其传统检测流程	48
二、油气微生物培养检测方法	51
第二节 活性检测技术	67
一、烃氧化活性测定的影响因素	67
二、烃类检测方法的建立	72
三、活性检测方法的建立与优化	74
四、烃氧化活性检测方法的初步应用研究	83
五、油气基因 mRNA 反转录活性检测方法探索	85
第三节 免培养定量检测技术	90
一、高效油气微生物 DNA 提取技术	90

二、油气基因定量检测技术·····	100
三、油气基因定量影响因素评估·····	108
四、油气微生物荧光原位杂交技术·····	117
第四节 微生物群落解析技术·····	126
一、DNA 群落指纹技术·····	131
二、稳定性同位素探针示踪技术·····	134
三、高通量测序技术(以 454 焦磷酸测序为例)·····	137
参考文献·····	138
第三章 油气微生物勘探作用机理研究·····	144
第一节 实验室模拟条件下油气微生物变化机理·····	144
一、烃类长期驯化微生物的人工模拟实验装置构建·····	145
二、烃类诱导下微生物数量和群落结构变化特征·····	149
三、原油顶空驯化条件下油气指示微生物数量与群落演替规律·····	165
四、微生物对烃类及同位素组成的反馈作用·····	170
第二节 典型油气藏上方油气指示微生物异常特征·····	175
一、典型油气藏上方油气指示微生物多样性与群落结构特征·····	176
二、典型油气指示微生物数据库构建与分析·····	200
第三节 地表环境与油气指示微生物数量和类群分布相关性·····	218
参考文献·····	237
第四章 油气微生物勘探技术初步应用·····	240
第一节 典型气田微生物异常特征与应用·····	240
一、普光气田·····	240
二、涩北气田·····	251
三、雅克拉气田·····	254
第二节 典型油田微生物异常特征与应用·····	256
一、长岭地区·····	256
二、胜利油田陈家庄区块·····	270
三、准噶尔盆地春光区块·····	291
四、塔里木盆地玉北 1 构造带·····	297
五、顺北地区·····	305
参考文献·····	314

第一章 油气微生物勘探技术原理与发展现状

第一节 概 述

油气微生物勘探 (microbial prospecting for oil and gas, MPOG) 是地表油气藏评价的一个分支, 主要研究近地表土壤层中微生物异常与地下深部油气藏之间的关系。在现代油气藏评价中, 油气微生物勘探技术能为初期勘探提供廉价有效的方法, 指示和预测有利勘探区块, 以降低勘探风险。而在成熟开发区, 这项技术能将地震勘探查明的地质构造划分成各种含烃级别, 并指示油、气、水的分布位置, 从而为油气藏开发服务。

石油的生成、演化、运移、成藏, 乃至采油、储运、加工、使用, 一直伴随着生物地球化学作用, 油气藏的分布与其相关的微生物生态紧密关联。20 世纪后期, 现代生物技术飞速发展, 越来越广泛地渗透到科学和经济的各个领域, 也极大地推动着微生物勘探技术的发展。资源匮乏、能源紧缺, 传统勘探风险增大、成本剧增, 为廉价有效的微生物勘探技术的推广应用提供了良好机遇。

油气微生物勘探技术作为一种新的油气藏评价技术, 是由地质微生物学家和地球化学家发展起来的。经过 80 年的曲折发展, 油气微生物勘探技术终于以其直接、有效、多解性小及经济等优势日益受到全球油气专家的高度重视^[1]。

经过 60 多年的勘探, 我国大多数含油气盆地的勘探程度已相当高, 找到了大批易于发现的油气田。但是, 随着勘探的深入发展, 剩余油气资源分布分散, 油气藏规模小, 而且非构造油气藏居多, 常规勘探难度增大, 勘探成本增高。因此, 应用油气微生物勘探技术对预测非常规油气藏和深部油气藏, 确定地质构造的含烃级别和油气分布, 以及指明油气藏位置均具有重要意义, 能够提高我国油气勘探和开发的效益^[1]。

第二节 油气微生物勘探的发展历史

油气微生物勘探技术源于苏联。早在 1937 年, 苏联地质微生物学家 Mogilevskii 发现烃氧化菌繁殖引起的近地表土壤中烃气发生季节性的变化, 进而提出了石油和天然气的微生物勘探方法, 并在实践中运用甲烷氧化菌作为地下气藏的指示微生物^[1, 2]。1937~1939 年, B. C. 布特凯维奇、E. B. 季阿洛娃、C. И. 库兹涅佐

夫、E. H. 布克娃、T. П. 斯拉夫尼娜等微生物学家进行了大量的研究工作, 研究结果证实了这种方法原理的正确性, 同时拟定了具体的操作方法。随后, 该方法在苏联得到了广泛的应用, 实际效果相当好。据统计, 1943~1953 年油气微生物勘探技术的成功达到了 65%^[1, 3]。

20 世纪 50 年代末, 美国菲利普斯石油公司 Hitzman 等提出微生物石油勘探技术 (microbial oil survey technique, MOST)^[4, 5]。1985 年成立地质微生物技术公司, 主要对地表微生物和轻烃指标进行研究与应用。该公司至今已在众多国家和地区进行过微生物勘探, 仅 2000~2002 年, 地质微生物技术公司就在阿根廷、澳大利亚、玻利维亚、加拿大、哥伦比亚、意大利、马达加斯加、阿曼、秘鲁、巴布亚新几内亚、西班牙、斯洛伐克、西伯利亚、委内瑞拉、也门、沙特和美国等国家和地区进行过油气地球化学勘探。勘探中涉及的地质环境有亚洲和中东地区的沙漠、南美的丛林地带、气候温和的美国草原及严寒的北极滨海平原等^[6-11]。

几乎在美国学者提出微生物石油勘探技术的同时, 德国研究者提出油气微生物勘探, 20 世纪 90 年代初该技术的应用开始从西北欧陆地拓展到北海^[12]。在 6000km² 勘探区域, 先后发现和证实了 17 个油田, 这些油藏最深的可达 3500m, 其成功率达 90%。到 90 年代末, 油气微生物勘探技术的物理化学和微生物学的理论基础、方法技术和应用进入成熟阶段, 形成了现代油气微生物勘探技术。该技术主要涉及的内容有: ①烃氧化菌纵向和横向分布; ②不同生态条件对微生物活性的影响; ③兼性烃氧化菌与专性烃氧化菌的分离方法; ④含烃区域背景值的界定。

我国自 1955 年, 由中国科学院菌种保藏委员会 (现中国科学院微生物研究所) 与原石油工业部合作进行了微生物方法勘探石油的研究^[1]。20 世纪 60 年代, 中国石油化工股份有限公司合肥石油化探研究所的前身原地矿部石油地质 101 队也与中国科学院微生物研究所协作, 在已知油田和未知区开展了微生物研究工作。在 20 世纪 90 年代中期以后, 微生物油气勘探技术重新引起了我国油气勘探者的重视。

2001 年长江大学在中国石油天然气股份有限公司的资助下, 在华北油田开始了地表微生物油气勘探技术的研究。以“华北油田油气微生物勘探先导试验研究”项目为契机, 与德国微生物油气勘探机构合作, 引进油气微生物勘探技术, 以国外研究机构—高校—油田三结合的方式, 在不同地区展开了大量的地表微生物油气勘探应用研究^[13]。主要采用甲烷氧化菌与短链烃氧化菌的测量单元指标, 不再使用单一的浓度指标。通过四级划分方式将测量单元划分为“异常 A”、“异常 B”、不确定区与背景值区, 从而确定出最有利的微生物异常区。2000~2002 年, 采用这种方法, 先后在二连盆地马尼特拗陷^[13], 渤海湾盆地华北油田洪特试验区、塔南试验区、廊东试验区和西柳试验区, 以及江汉盆地松滋区块等地进行了微生物

试验研究；后来，又在鄂尔多斯盆地西峰油田（2004 年）和长庆桥地区（2004 年）、河套盆地呼和拗陷（2005 年）、松辽盆地大庆卫星油田（2006 年）及渤海湾盆地港西构造西端（2007 年）等众多地区进行了油气微生物勘探技术研究^[14, 15]，获得了一大批实测资料，积累了丰富的工作经验。

在地表微生物油气勘探研究中，值得一提的还有盎亿泰地质微生物技术（北京）有限公司。它是一家以新兴交叉边缘学科——以地质微生物学为基础的全方位服务于石油工业的勘探、开发和环保的高新技术企业，主要通过与美国地质微生物技术公司合作，引进美国地质微生物技术公司的微生物石油勘探技术，进行微生物油气勘探研究，近几年已在海域、山地、盐碱、戈壁进行实验性研究，取得了一定的成果。

2006 年至今，中国石化石油勘探开发研究院无锡石油地质研究所地球化学勘探项目部，在中国石油化工股份有限公司科技部的持续支持下，分别在江苏油田、胜利油田、松辽盆地、江汉油田、塔里木盆地、准噶尔盆地、柴达木盆地和川东北地区等多个区域开展了油气微生物勘探工作，取得了良好的应用效果。

目前国内将此项技术应用于勘探的队伍有：中国石化石油勘探开发研究院无锡石油地质研究所、长江大学、盎亿泰地质微生物技术（北京）有限公司、胜利油田、中国地质科学院水文地质环境地质研究所等。

第三节 油气微生物勘探的理论基础

油气微生物勘探技术作为一种勘探方法，就其本质而言并未脱离“根据露头，寻找油源”的基本原则。它是以石油地质学、微生物学、环境生态学、生物地球化学等学科为基础，利用现代分析技术的支持而形成的一种油气勘探技术，可以直接揭示油气分布规律；通过综合研究，可以揭示油气运移、成藏特征，可以预测储层、油水界限、剩余油分布，可以评价资源量，估算可探明储量。

一、油气微生物勘探的原理

油气微生物勘探的原理是：在油气藏压力的驱动下，油气藏的轻烃气体持续地向地表作垂直扩散和运移，土壤中的专性微生物以轻烃气作为唯一能量来源，在油气藏正上方的地表土壤中以非常规发育形成微生物异常。采用油气微生物勘探技术可以检测出这种微生物异常并预测下伏油气藏的存在（图 1-1）。

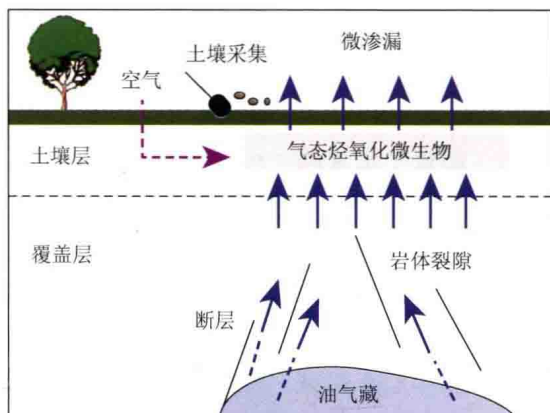


图 1-1 油气微生物勘探示意图

二、油气微生物勘探的物理-化学基础

现在已没人怀疑：形成并圈闭于深部构造的热成因烃会逃逸至地表并呈现油苗。然而，烃类在运移过程中的物理状态还不确定。烃类以溶液或胶束形式的水相，或是分散的油相，还是气相运移是目前正在讨论的问题。

（一）微渗漏证据

轻烃从油藏到地表的垂向或近垂向运移理论是油气微生物勘探的基础，这种运移理论多年来一直备受争议。然而，人们一直没有注意这样一个事实：用传统的地震和高分辨率的地震方法也可以找到轻烃垂直运移的证据。图 1-2 为典型由于轻烃垂向微渗漏形成的气烟囱^[16]。

油气宏渗通常与断层有关，通过在泄漏带上钻井已发现很多油气田。如果油藏不能通过宏渗排油，那么更小的微渗也不会排油。而且，地下许多活泼的油气烃源岩持续缓慢生烃和排烃，并随后向相关油藏再充注过程是十分合理的。因此，一个油藏中的石油量是一个再充注速度和宏渗及微渗引起的损失之间的动态平衡结果。

一般认为，轻烃微渗最有效的通用科学模式是微泡垂直上浮，它比地层水的水平运动要快得多，因此，由地层水运动引起的侧向偏移是非常微小的。

轻烃微渗的近垂向运移的最佳证据是，多年来地球化学家经常在土壤气和土壤中检测到轻烃异常，大多数情况下这些轻烃异常都直接位于石油沉积物上方。1986 年，Price 等研究并提出了证实轻烃微渗垂直运移的很好证据，发现地表轻烃

异常直接位于两个深度约 1700m、地震证实的含油圈闭的上方，而并未位于油田边界之外^[17]。Saunders 等描述了土壤气烃异常和土壤磁化系数异常，这异常离得克萨斯 Leon 郡 Eileen Sullivan 油田的生产井边界侧向偏移小于 305m，而生产层位埋深为 2680m^[18]。

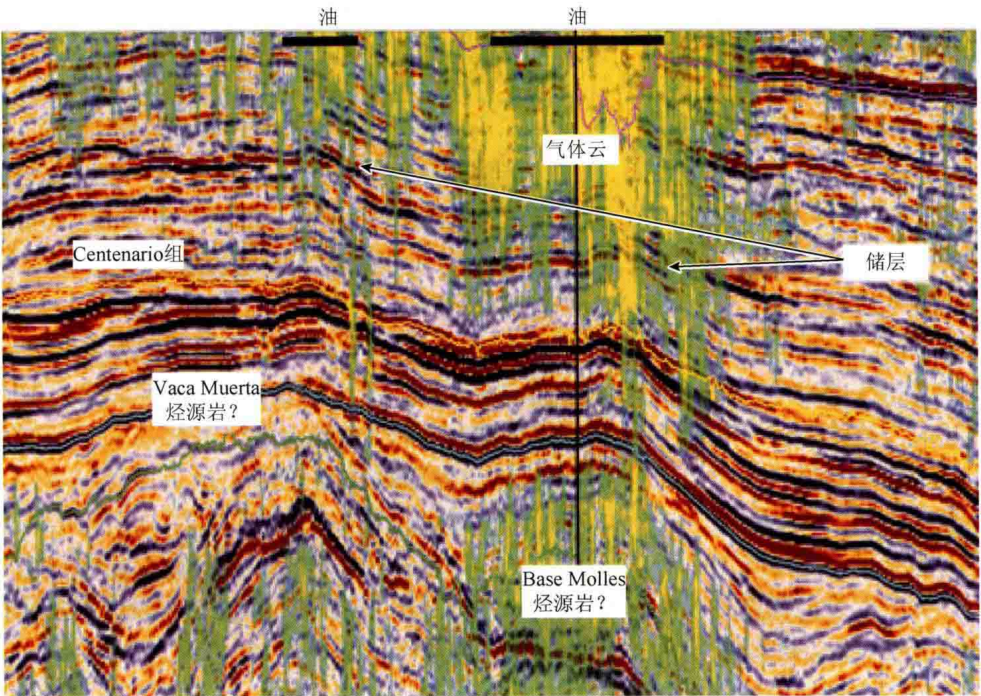


图 1-2 阿根廷内乌肯盆地 Centenario 储层所观察到的气体云^[16]

通过研究，除了少数油田以外，在其他油田都可以至少用一种方法检测出证据确凿的轻烃微渗垂直运移现象。少数几个油田没有检测到的原因是上覆层的裂隙少、渗透率低、油藏压力低、气象与土壤条件及其他未知因素。

Klusman、Schumacher 等总结了轻烃从油藏逸出向上运移过程中，改变上覆沉积物化学组分和物理性质的很多证据^[19, 20]。图 1-3 给出了轻烃微渗的通用模型，以及轻烃微渗引起的对土壤和沉积物的各种地球化学与地球物理作用。这些地球化学和地球物理的变化包括：①沉积物、土壤、地下水，甚至地表空气中的烃浓度异常；②微生物异常；③非烃气体如氦和氢的浓度异常；④矿物成分的改变，如方解石、黄铁矿、铀、元素硫及某些磁性氧化铁和硫化铁等矿物的形成；⑤黏土矿物的改变；⑥放射性异常；⑦地热及水文异常；⑧植物地理学异常；⑨土壤及沉积物声、电、磁性的改变^[1]。

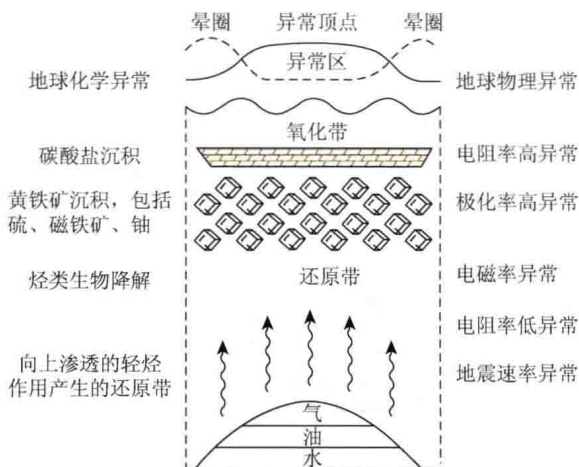


图 1-3 轻烃微渗透模型及轻烃对土壤和沉积物成分的作用^[1]

实际上,在来源于深层油气藏的轻烃垂直微渗进入表层沉积物的过程中,发生了微生物介入的生物地球化学作用,引起了一系列的氧化还原反应,使部分轻烃发生生物降解生成还原性自生矿物;与此同时,表层沉积物的地球物理性质发生相应的变化。因此,在轻烃向上运移过程中地球化学异常和地球物理异常是相伴发生、紧密相关的,正是这两类异常构成了现代油气地表勘探法的基本依据。

长江大学地质微生物实验室在我国大港油田发现部分含油气井段钻遇黄铁矿晶体,在鄂尔多斯盆地发现油气藏上覆地层白云化的现象。

土壤烃气与来源于下伏沉积物的热成因气具有相同的 C 同位素比值,而与地表的生物成因气的 C 同位素比值不同。Jones 和 Drozd 于 1983 年论证了地表土壤中微渗烃与下伏沉积物中的热成因烃类具有良好的化学组成相关性。这些证据很好地证明了轻烃垂直运移理论的合理性^[21]。

(二) 微泡上浮运移

地下深处和浅处油气的二次排烃是一个复杂的动态平衡过程。在详细地分析了能量动力、运移烃的物理状态,以及它们在运移过程中的化学变化及浓度变化机理的基础上,建立了一个二次排烃模型。这个模型的基础是假定烃类在运移时呈游离相,同时与非均质岩石相互作用。由微裂隙水驱替微气泡上升的垂直运移机理为微泡上浮运移。

Price 综述了轻烃从油藏到地表的垂直运移的可能机理,他认为最可信的假设是轻烃以极小的(胶束)气泡通过如 MacElvain 所述的相互连接的充满地下水

的微裂隙网络垂直上升^[17]。这种方式解释了为什么在土壤气组成中没有戊烷及更大分子量的烃。因为这类烃在近地表温度和压力下是液态，浮力太小，不能运移到地表^[1]。

胶束大小的轻烃气泡很容易被周边水向上驱替，速率约为 36m/d。气体从一个深 180m 的煤气发生器内泄漏速度可达 12~91m/d^[18,21]。气体从 Patrick Draw 油藏渗透到地表的速率为 0.2~0.8m/d。相比较而言，澳大利亚的 Artesian 盆地地下水的侧向运移速度估计为 0.003~0.012m/d。这些数据可以解释新充注的气藏上方土壤气烃异常快速形成，枯竭后的油藏这类地表烃异常快速消失，以及地层水侧向运动并不影响地表烃异常改变。

此外，Price 还列出了其他几种运移机理：①扩散作用；②喷发作用；③深部盆地水引起的烃的侧向运移；④渗透作用，但是提出者未作解释。

反对扩散作用最重要的论点为：一是扩散作用是球面分散，不能解释很多烃沉积物的尖峰状地表异常边缘；二是速度太慢难以解释由油藏压力变化引起的地表异常的快速形成和消失。

“喷发”指的是石油或天然气沿断层或裂缝的单相流体，作间歇性或连续性的单相流动，形成了宏观的油气泄漏，其地表高浓度烃异常近线形排列。

虽然确实有明显的深部盆地水流沿大断裂带向上充注的证据，但是似乎还没有清楚的证据证明水流垂直穿过轻微或中等复杂构造，特别是穿过含油圈闭；而且，两相液体流原理和达西定律指明了水流不可能垂直穿过含烃沉积物充油孔隙。

在烃气泄漏处以下的海洋声波记录中已经检测出海底沉积物中的声波浊流垂直热柱。有些热柱被解释成沉积物孔隙水中烃气微泡的富集，气体通过未固结沉积物的运动是一个间歇性的过程。微泡可能会被低于最小渗透率的地层暂时圈闭，积聚压力一直到产生裂隙，最小渗透率失效，继续向上释放气体。裂隙也会被地震活动、风暴中的波动或固体潮而裂解。

在固结沉积物中，大多数烃气垂向运移都在裂缝、节点、层理面所形成的网络中进行。在对地下煤气发生器产生的蒸馏气的地表监测中，气体沿着地下陡倾砂岩中的节点和层理面运移到近地表，那些裂缝、节点和层理面等为气体穿过岩体提供了最大渗透率的近地表路径，即微泡垂直运移的优选路径。间歇性渗漏确实会发生，这是因为海底发生的触发事件，如地震活动或固体潮会引起裂缝、节点和层理面的间歇性微张促使烃气的间歇性泄漏。

Brown 则提出了气体的持续气缝流理论，他认为这种方式更快更有利，根据不同的地质情况，提出了另一种运移机理即扩散理论^[22]。由于很高的毛细管压力，在德国北部深层石炭系及二叠系的红色盖层中，气体以扩散运移为主。此外，流量（达西定律计算的流量）起着很小的作用。与断层有关的高渗透率

均可能因原地次生矿化过程和页岩的轻微变形而迅速减小甚至消失。在这些情况下，在盖层之上流量起控制作用。与每一百多万年 1000m 的扩散速度相比，通过微泡上浮的流体模型，在那些地区运移速度为每年 100~1000m，是相当高的。

长江大学地质微生物实验室认为，地层压力是烃气垂向运移的主要因素，深部地层与地表之间存在巨大垂向压差，而地层横向是一个相对平衡的压力场，如因微弱压差而横向偏移，其量也微弱。对于已投入开发的油气田，其地层横向压力平衡被破坏，垂向压差减小，烃气垂向运移就需考虑此因素。目前已经发现多处注水井区油气微生物异常值降低的实例。

三、油气微生物勘探的微生物学基础

细菌对不同营养源异常高的适应性及广泛分布是微生物勘探的基础。与其他类型的细菌一样，烃氧化菌分布于全世界。在北海及巴伦支海的沉积物样品、北欧的土壤样品、(阿曼)沙漠和盐漠地区的样品、澳大利亚干旱草原的样品，以及永冻层土壤样品中，均探测到了这类细菌。只要有生命存在的地方，只要土壤中有痕量烃类存在，就明显有这类专性细菌繁殖。这种专性有可能使细菌根据其自身的生物化学特性而呈现不同的群体分布。与微生物勘探相关的细菌有两类，即甲烷氧化菌和烃氧化菌。

甲烷氧化菌是一个专门利用 C_1 化合物（包括甲烷、甲醇、甲胺等，以甲烷为主）的细菌群体。它们仅能利用 C_1 化合物，而不能利用糖类或其他有机物，具有高度的专一性。进行选择培养可以将甲烷氧化菌从其他细菌中分离出来^[23, 24]。

甲烷氧化菌新陈代谢过程是由 Leadbetter 和 Breznak 提出来的^[25]。甲烷氧化菌甲烷氧化作用首先是通过甲烷加氧酶的作用活化甲烷，在有氧存在的条件下生成甲醇，进一步氧化可生成甲醛。甲醛可直接被同化产生物质或被氧化成 CO_2 并产生能量（图 1-4）^[1]。

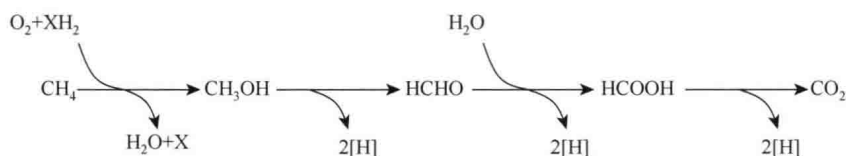


图 1-4 甲烷氧化菌的新陈代谢^[1]

由于这种细菌的高度专属性, 可以将甲烷氧化菌从其他细菌中分离出来并加以分析。这些高度专一细菌的成功鉴别提供了土样中存在甲烷的一定指示作用^[1]。甲烷氧化菌是最早用于油气勘探的细菌, 原因是天然气中 98% 以上是甲烷, 甲烷氧化菌的异常可以指示地下气藏的分布。但后续研究发现, 该类细菌在勘探应用中存在一些问题, 主要是甲烷的来源问题。这是由于近地表介质中存在着大量的有机物, 产甲烷菌可以在局部厌氧条件下把这些有机物还原, 甲烷浓度增加, 从而引发甲烷氧化菌的发育。因此, 只有在产甲烷菌浓度较低时, 才能使用甲烷氧化菌作为油气勘探指标^[26]。所以, 在地表微生物油气勘探中, 甲烷氧化菌必须与产甲烷菌同时使用, 或同时进行同位素分析, 以确定甲烷的来源和类型^[27]。

烃氧化菌是一类利用短链烃 ($C_2 \sim C_4$ ^①) 作为能量来源的微生物群体。这些微生物不能够代谢甲烷, 但短链烃 (乙烷、丙烷、丁烷) 可以被其大量利用。在该过程中, 可利用此类烃的细菌种类和数量随烷烃链长增加而线性增加的特性。烷烃的降解先通过单氧酶对烷烃进行末端氧化, 再通过 β 氧化进一步降解为乙酰辅酶 A, 最终进入乙酰辅酶 A 途径, 它是大量生化反应的前体物质 (图 1-5) ^[1, 28]。与甲烷氧化菌相比, 烃氧化菌受近地表的干扰相对较小, 这是由于乙烷、丙烷和丁烷等难以由地表作用产生, 主要是地下油气藏烃组分的运移产物^[26], 因而特异性较高。但遗憾的是, 虽然长链烷烃的降解途径已比较清楚, 但作为油气藏和某些水合物中重要组成的短链烃 (乙烷、丙烷和丁烷) 的氧化机理还知之甚少^[28]。目前为止, 已分离的轻烃氧化菌还非常有限, 主要为棒状杆菌属 (*Corynebacterium*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、诺卡氏菌属 (*Nocardia*) 和红球菌属 (*Rhodococcus*), 统称 CMNR 族。少数的革兰氏阴性菌也能在气态烷烃中生长, 如丁烷假单胞菌 (*Pseudomonas butanovora*) ^[29]。2010 年, 加利福尼亚大学 Valentine 等^[30]采用稳定性同位素探针技术结合克隆文库, 研究墨西哥湾海底微渗漏时发现, 烃氧化菌群在整个微生物群落中所占的比例很小, 同时检测到了归属于甲基球菌科 (*Methylococcaceae*) 和 γ -变形菌亚门 (γ -*Proteobacteria*) 的乙烷和丙烷氧化新种。

然而, 与甲烷相反, 烃类不代表单一的某种物质, 这意味着烃氧化菌也可以利用多糖类和单糖类 (纤维素、葡萄糖)。即使这类细菌在自然环境中 (土样) 不存在, 在实验室条件下也能靠短链烃生存。当然, 在细菌细胞体中基本的蛋白质和酶的产生需要好几天的适应期 (图 1-6) ^[1]。这些具有非活化状态的烃降解潜能的微生物可描述为兼性菌; 与此相比, 另一类微生物群体已适应其生长的自然环境, 在实验室条件下不需要适应期, 并立即以乙烷、丙烷和丁烷为食料而迅速生长, 这类群体被称为专性菌。图 1-6 显示了两类烃氧化菌在以烃类氧化能力作为

① C_2 为碳数为 2 的烃类, C_4 为碳数为 4 的烃类。下文中 C_i 为碳数为 i 的烃类。

检测指标的生化代谢活性的典型趋势^[1]。

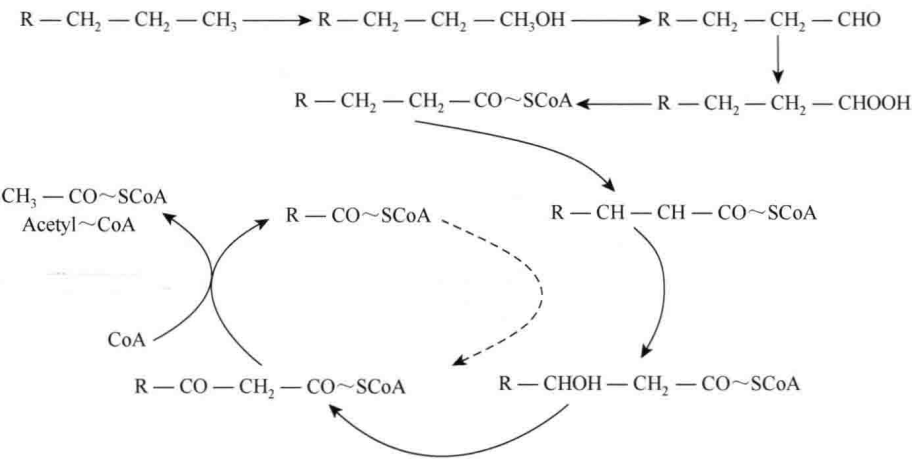


图 1-5 正构烷烃通过 β 氧化降解成乙酰辅酶 A^[1]

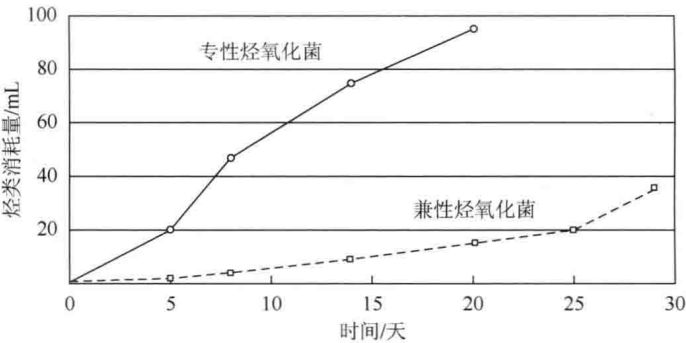


图 1-6 不同类型烃氧化菌的代谢活动^[1]

对不需任何适应期即可将碳数为 2~8 的正构烷烃（气态和挥发性烃）氧化的细菌进行检测，可以表明在研究的土样中存在过短链烃，进而指示地下油的聚集。在那些以这种方式检测到短链烃和甲烷的地区，依据信号的强度，可以推断含大量短链烃的热成因气藏或具有气顶的油藏^[1]。

在土样和沉积物样品中，烃氧化菌的细胞含量和活性相对较低的事实（相对于其他生理机能的细菌群），使运用油气微生物勘探方法探测油气藏成为可能。依据生态条件和计数的步骤（使用荧光原位杂交技术、利用定量 PCR 检测），细胞含量为 $10^3\sim10^6$ 个/g，在极端地区如水稻田和沼泽地，每克土壤甲烷氧化菌达 10^8 个^[1]。