

油藏微生物及其压力适应机制

王璐^{1,2} 聂勇^{3*} 宋新民¹ 吴朝东⁴ 魏小芳¹ 吴晓磊³

(1. 中国石油勘探开发研究院 提高石油采收率国家重点实验室 北京 100083)

(2. 北京大学地球与空间科学学院 北京 100871)

(3. 北京大学工学院 北京 100871)

(4. 北京大学石油与天然气中心 北京 100871)

摘要: 目前我国油田开发主要处于高含水后期, 微生物驱提高石油采收率技术(MEOR)以低成本、环境友好等优势独特的优势引起了石油工业界的重视。实际上, 经过半个多世纪的发展, MEOR 已经成为提高采收率的重要前沿技术。高压是油藏的主要环境特征, 在影响油藏微生物生存与活性等方面具有重要作用。本文从油藏及其微生物的主要特征、微生物对高压环境的适应机制以及高压下微生物降解烃的代谢特征等方面进行了综述。介绍了对油藏微生物资源、群落结构、微生物在油水相中分布的认识, 微生物乳化原油机制, 以及微生物在油藏厌氧环境中协同代谢、受温度和压力影响的特点, 并列出了 MEOR 的矿场应用。在高压适应机制上, 微生物主要通过改变和调整细胞膜结构、增加胞内脂质组分和表达胞内特殊酶等作用来实现对压力的适应; 在高压下烃降解微生物代谢速率低于常压, 而且耐压菌和嗜压菌具有不同的烃降解效率。

关键词: MEOR, 油藏微生物, 压力适应机制

Microbial community in petroleum reservoir and its pressure adaptation mechanisms

WANG Lu^{1,2} NIE Yong^{3*} SONG Xin-Min¹ WU Chao-Dong⁴ WEI Xiao-Fang¹
WU Xiao-Lei³

(1. State Key Laboratory of Enhanced Oil Recovery, Research Institute of Petroleum Exploration & Development, Beijing 100083, China)

(2. School of Earth and Space Sciences, Peking University, Beijing 100871, China)

(3. College of Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

(4. Institute of Oil & Gas, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract: Nowadays, most of Chinese oil reservoirs are at the high-moisture later stage. In this case,

Foundation item: Petro China Technology R&D Project (No. 2014A-1006)

***Corresponding author:** Tel/Fax: 86-10-62759047; E-mail: nieyong@gmail.com

Received: February 24, 2016; **Accepted:** May 03, 2016; **Published online** (www.cnki.net): June 08, 2016

基金项目: 中国石油天然气股份有限公司科学研究与技术开发项目(No. 2014A-1006)

***通讯作者:** Tel/Fax: 86-10-62759047; E-mail: nieyong@gmail.com

收稿日期: 2016-02-24; **接受日期:** 2016-05-03; **优先数字出版日期**(www.cnki.net): 2016-06-08

microbial enhanced oil recovery (MEOR) technology attracts more and more attention in oil industry by its special advantages such as low cost and environmental friendliness. Until now, MEOR has been developed as one of the most affective techniques for petroleum exploitation. High pressure is an important abiotic feature of oil reservoirs which makes an influence on survival and activity of microorganisms in oil reservoirs. In this paper, we reviewed the main features of oil reservoir and its microbial community, the pressure adaptation mechanisms of microorganisms, and the metabolic characteristics of hydrocarbon-degrading microorganisms under high pressure. In details, we introduced the microorganisms resources in oil reservoirs, microbial community structure both in oil and water phases, how microorganisms emulsified petroleum, microbial cooperation patterns in anaerobic environment, microbial community structure was affected by temperature and pressure, as well as a successive of MEOR examples. Further on, detailed discussions were given about the pressure adaptation mechanisms of microorganisms in oil reservoirs, in which cells may modify cell membrane structure, storage lipid composition, and special intracellular enzymes expression to adapt well in the high-pressure environment. Finally, special attention was paid to hydrocarbon-degrading microorganisms grown at high pressure. Our review provides that the metabolic rates of microorganisms were lower at high pressure than that at atmospheric pressure, and piezotolerant and piezophilic microorganisms have significantly different hydrocarbon-degrading rates.

Keywords: MEOR, Microbial community in petroleum reservoir, Pressure adaptation mechanisms

20 世纪 40 年代微生物驱提高石油采收率技术 (Microbial enhanced oil recovery, MEOR) 在美国阿肯色州首次获得成功^[1]。半个多世纪以来, MEOR 经历了曲折前进、不断跨越的科技提采之路。随着微生物细胞分离、培养、筛选和基因测序等技术发展与研究的不断深入, 油藏中“内源”微生物的存在与活性已经成为共识^[2]。通过细胞水平和群落水平的研究, 人们逐渐了解油藏微生物单个细胞与群落结构, 并认识到油藏“内源”微生物对于 MEOR 技术应用的重要性。油藏环境因子, 如温度、矿化度、酸碱度, 以及注水开发对油藏微生物群落结构和功能影响的重要性已被广泛认识。在实验室条件下, 模拟油藏条件研究微生物群落在地层下的生命活动已成为油藏微生物研究的重要手段。其中随着高压实验设备和技术的发展, 压力对微生物群落的重要性也逐渐得到研究。研究表明, 压力对油藏烃降解过程具有重要的影响, 而且烃降解微生物可以通过改变细胞膜结构、胞内脂类组分、产生特殊酶、降低生长代谢效率等方式来适应高压环境。本文从油藏微生物特征及其与环境的关系出发, 以烃降解微生物为基础, 从高压的影响作用和机理着眼, 对油藏微

生物的压力适应性进行总结。

1 油藏及其微生物主要特征

油藏是指原油在单一圈闭中具有同一压力系统的基本聚集。在油藏非均质的多孔介质中充满着油、气和水, 而不同沉积条件的油藏中油、气和水组成与性质差异很大。早在 20 世纪二三十年代, 美国和原苏联科学家研究表明, 油藏中存在和维持着一个以烃降解为能量来源的深部微生物群落^[3]。Aitken 等通过对全球 77 个生物降解油藏的样品进行分析, 找到了厌氧生物降解烃的代谢标志物, 直接证明了油藏中存在着烃降解的微生物^[4]。实际上, 存活于这些含油、气和水的岩石中的油藏微生物, 构成了深部生物圈的一部分。由于油藏处于地下深部, 通常具有高压、高温、高盐(高矿化度)、极端缺氧等环境特征。例如, 油藏孔隙水中 pH 值通常在 3.0–7.0 之间^[5], 温度一般为 40–180 °C, 压力在几兆帕到数十兆帕之间, 而矿化度则可达 20% 以上^[6]。如同其他深部生物圈的微生物, 油藏微生物为了适应油藏极端环境, 在长期进化和自然选择中也形成了特殊的群落结构、分布特征、生长代谢方式和环境适应机制^[7]。

1.1 油藏微生物资源的认识

油藏微生物资源的获取是 MEOR 技术应用的重要基础之一。早在 1926 年, Beckman 就提出了油藏中能分离培养出微生物的观点^[8]。油藏中的碳源主要是长链烷烃、芳香烃、胶质及沥青质等, 这些物质结构相对稳定、黏度大、难降解, 不易被微生物分解利用, 营养相对缺乏。油藏环境的独特性决定了油藏微生物分离培养的难度和特殊性。采用的分离培养方法有稀释培养法、半透膜分离培养法、变温培养法等。在培养基选取上也采取了多种形式, 如利用原油采出液、采出液-无机盐、采出液-营养物(如 LB、微量元素等)作培养基等。在近十年中, 国内外研究者不断优化培养和分离环境微生物的方法和措施, 从不同的油藏中已分离鉴定出各种生理功能不同的微生物新种属。经我们根据已发表文献统计, 已发表新属约 11 个, 新种约 36 个, 其中专性厌氧菌占 75%以上, 并且多数为嗜热菌, 还有少数新种具有嗜盐或耐盐的特性, 这些新种属的生理特征与其分离的油藏环境特性密切相关。由此可见, 利用纯培养技术研究油藏微生物能够获得新的、未被培养的油藏微生物, 极大地丰富了油藏微生物资源。如吴晓磊实验组在多年的摸索和积累下, 从胜利油田、大庆油田和新疆油田分离培养出了油藏微生物一万株以上。对这些菌株进行分类地位确定的过程中, 发现了 2 个新属和 9 个新种, 如 *Marinobacter gudaonensis*、*Halomonas gudaonensis*、*Halomonas shengliensis*、*Halomonas daqinensis*、*Filomicrobium insigne*、*Amycolicococcus subflavus*、*Polymorphum gilvum*、*Rubrimonas shengliensis* 等^[9-15]。

尽管纯培养技术提供了油藏微生物丰富的资源, 但 99%的环境微生物因未知原因在实验室培养条件下仍无法生长。为进一步了解油藏微生物, 从分子生物学的角度研究其微生物群落结构将更为全面。

1.2 油藏微生物群落结构

在油藏形成过程中, 逐步适应油藏极端环境的微生物存活下来, 并形成特殊的“内源”微生物群落^[16]。注水开发后, 来自地表或者地下含水层中的微生物会随着注水被带入油藏, 造成对油藏“内源”微生物群落的影响。但是, 大量的研究表明, 注入水与采出液的微生物群落存在着明显的区别^[17]。例如, 尽管 Algerian 油田中水淹采油井和非水淹采油井样品之间微生物群落结构没有明显区别, 但采油井和注水井中的微生物群落结构却明显不同^[18]。除了微生物的物种组成存在明显差别外, 注水井中细菌的相对丰度为 70%–92%, 采油井中细菌的相对丰度则不高于 48%; 相对应的是, 古菌在采油井中的相对丰度为 52%–66%, 高于注水井中的 8%–30%。由于只有在油藏存活的微生物才可能从采油井中被检测, 所有这些工作都表明: 尽管经历了长年的注水, 油藏中依然保持着与外界环境不同的微生物群落。尽管有研究认为只有像硫酸盐还原菌这样嗜热、严格厌氧的微生物才可能是真正的“内源”微生物^[19], 但对于低温油藏, 嗜常温微生物也应该可以被大量地检测到。另一方面, 由于地下水的迁移带入作用, 浅层油藏中可能存在低浓度的溶解氧^[4], 因而导致兼性厌氧微生物在油藏中的存在和被检出。油藏微生物群落组成的特征还表现在细菌群落多样性较古菌群落高。例如 Kobayashi 等研究 Niibori 油田中微生物在石油、不溶性颗粒和地层水中的分布时发现, 细菌有 49 种不同形态, 而古菌只有 16 种不同形态, 且主要属于产甲烷菌类^[20]。Tang 等对中国华北油田微生物群落研究发现, 蒙古林区块的细菌较多, 而古菌种类较少且主要是产甲烷菌^[7]。Silva 等对 Brazilian 油田生物降解和非生物降解石油样品分析表明, 两种样品的细菌多样性很高, 分别分布在 8 个和 5 个门, 而古菌只存在于生物降解的样品中, 都属于 *Methanomicrobiaceae* 科^[21]。Gao 等研究长期水驱后新疆陆梁油田中微生物群落, 发现其中细菌有 155 个属, 而古菌只有 7 个属^[22]。大体来说, 细菌群落中优势微生物主要

属于 Proteobacteria 门^[17]，而古菌则主要是产甲烷菌。由此可见，油藏微生物具有特殊的群落结构，而微生物在油藏环境中也具有其特殊的分布特点。

1.3 油藏微生物的油水相分布

传统观点认为，微生物因其亲水性而存在于水相。但由于在油藏等石油环境中，石油烃为唯一或者主要的可利用碳源，微生物倾向于在油水界面生长^[23]，以便获取碳源和能源。微生物在油水界面的聚集，可使其既能吸收和利用来自于油相的烃作为碳源和电子供体，又可以利用来自水相的水溶性营养物作为代谢必需的电子受体，从而使油水界面成为微生物进行生理代谢的最佳场所^[24]。而微生物产生的表面活性物质对原油的微观乳化，则有利于油水界面的形成，强化微生物在油膜上聚集，从而促进微生物对原油中碳源的接触、摄取和利用^[25]。实际生产中，通过对石油降解产物和生物标志化合物(25-降霍烷)的含量分析也发现，取自油藏油砂柱中的微生物在油水界面上的石油降解率最高^[26]。但是，近年来越来越多的研究都发现了油相中微生物的存在^[27-28]。Meckenstock 等发现在油滴里包含的直径为 1 μm –3 μm 的水滴中具有微生物的代谢活性，并通过核磁共振仪和傅里叶变换离子回旋共振质谱仪检测到在单个的液滴中具有复杂的产甲烷微生物群落。它们可以将石油降解，产生一系列代谢产物。除油水界面外，液滴的大量表面区域都显示了石油降解的潜能^[29]。Cai 等发现 *Pseudomonas* 属菌株在油相中占主导地位，它们具有多种功能基因，且与水相中的 *Pseudomonas* 明显不同。同时发现大多数功能基因在油相中较水相更为丰富，该结论也与微生物在油相中生存的特点相一致。更重要的是，这些微生物比水相微生物具有更强的降解石油组分的潜能，被认为是一种新型的“种子库”^[30]。在油相富集的微生物的存在无疑改变了人们对油藏微生物的认识，但是这些“微生物种子”适应油相环境的机制、其生命活动规律以及对微生物采油技术的发展，还有待深入的研究。

1.4 油藏微生物具有产生乳化性化合物的特点

油藏微生物具有产生乳化性物质如生物表面活性剂、生物溶剂和生物酸等特点，是 MEOR 技术重要的驱油机理之一。例如，产生生物表面活性剂(如糖脂、磷脂和脂肽)的石油微生物有 *Acinetobacter calcoaceticus*、*Arthrobacter paraffineus*、*Bacillus* sp.、*Clostridium* sp.、*Dietzia* sp.、*Enterobacter cloacae* 和 *Pseudomonas* sp.等，它们通过乳化作用可以降低界面张力和原油黏度；产生生物溶剂的石油微生物有 *Clostridium acetobutylicum*、*Clostridium pasteurianum* 和 *Zymomonas mobilis* 等，它们通过乳化原油以实现降黏的目的；而产生生物酸的石油微生物有 *Clostridium* sp.和 *Enterobacter aerogenes* 等，它们通过乳化原油和降低油藏渗透率等作用对 MEOR 作出贡献^[31]。据报道，石油污染样品中分离获得的菌株 *Bacillus amyloliquefaciens* TSBSO 3.8，具有高效的原油乳化能力(乳化效能达 63%)，并在胰酪胨大豆肉汤培养基的培养下表现出降低表面张力(28.5 mN/m)和界面张力(11.4 mN/m)的能力^[32]。进一步研究表明，油藏微生物 *Dietzia* sp. strain DQ12-45-1b 进行烷烃的乳化时，生物表面活性剂的产生和细胞表面疏水性改变的机理，与烷烃(作为唯一碳源)的长度也具有一定关系^[33]。而在实验室模拟油藏条件时，重组菌株 *Pseudomonas stutzeri* Rh1 在产生鼠李糖脂(表面活性剂)的同时还能移除 H_2S ，对防止油藏酸化和促进 MEOR 都有积极的作用^[34]。从胜利油田分离到的一株铜绿假单胞菌代谢产生的鼠李糖脂对原油具有较强的乳化、增溶、脱附和降黏作用，降黏率达 64.02%^[35]。大庆油田分离到的一株枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis* ZW-3，代谢产生的脂肽表面活性剂具有较强的降低油水界面张力能力，通过岩心驱替物模实验的结果表明，该菌株可提高石油采收率 9.2%^[36]。Sarafzadeh 等研究一种能分泌表面活性物质的菌株 *Enterobacter cloacae* 进行两组原油驱替实验，一组将菌株和营养液注入岩心进行驱替，另一组将菌

株代谢产生的表面活性剂注入岩心进行驱替, 结果表明石油采收率分别提高了 10.3%和 18.0%^[37]。由此可见, 微生物在油藏生命活动中, 生物表面活性物质的合成是重要的代谢过程, 并且对于 MEOR 具有积极作用。

1.5 油藏微生物在厌氧环境中具有协同代谢特点

在油藏厌氧生态系统中由于营养缺乏, 微生物种群之间通常以协同代谢的形式、互利共生的关系进行底物的代谢^[38]。协同代谢, 是指不同微生物之间热力学上相互依存, 物质能量上互利共生的代谢过程^[39]。当上游微生物的代谢产物被下游微生物消耗而保持相对较低浓度时, 上游微生物的代谢过程才能进行^[40]。

在油藏环境的厌氧代谢中, 尤其是以甲烷产生来驱动末端电子流动的反应, 常常是由产甲烷菌和互营菌紧密结合的菌团完成^[38]。正构烷烃、烯烃和芳香烃降解产生甲烷的现象已经被证实^[38]。同位素标记 DNA^[41]和荧光显微成像技术的应用揭示了互营菌的相互关系^[42]。近年发现具有烷烃降解能力的硫酸盐还原菌(Sulfate-reducing bacteria, SRB) *Desulfatibacillum alkenivorans* AK-01, 在缺少硫酸根电子受体的情况下, 与利用氢气/甲酸的产甲烷菌共培养时降解正己烷。进一步研究发现在 AK-01 菌的基因组中找到了在其他互营菌中存在的和电子传递相关的主要基因, 这些基因通常存在于与 SRB 协同的乳酸代谢过程中。3 种甲酸脱氢酶也都存在于 AK-01 菌的基因组中, 揭示了菌体之间甲酸转移是互营代谢的重要途径^[43]。

1.6 油藏微生物群落受油藏温度和压力影响

在厌氧的油藏环境中, 微生物群落同样受到温度和压力的影响。一般认为油藏深度每增加 100 m 温度升高 3–5 °C^[44], 随着油藏深度增加而导致的温度增加, 可能会影响油藏微生物群落的组成, 从而导致高温油藏与中低温油藏微生物群落结构存在明显的差异。研究表明, 高温油藏微生物多属于 Gammaproteobacteria 和 Epsilonproteobacteria 纲, 其次为 Firmicutes 和 Thermotogae 门的细菌^[45]。

而低温的新疆油田(22.6 °C)和加拿大附近 Enermark 油田的低温油藏中微生物主要为 Alphaproteobacteria 纲, 其次为 Gammaproteobacteria 纲和 Lentisphaeria 纲的细菌^[46]。同样地, 同一口油井不同深度的微生物群落也明显不同。Yamane 等的研究表明: #AR39 油井井底(74 °C, 2.92 MPa)的优势细菌群落属于 *Thermotoga* 属, 而井口细菌中优势群落属于 Epsilonproteobacteria 纲; 井底古菌主要为超嗜热微生物, 井口古菌中超嗜热微生物和产甲烷菌几乎各占一半。另一口 #SR123 油井井底(98 °C, 11.3 MPa)和井口中古菌和细菌群落也有明显区别。此外, 井底微生物群落比井口微生物有较高的 G+C 含量, 进一步反映了井底、井口微生物群落的差异^[47]。

大量研究表明压力也对微生物具有重要影响。王登庆等对胜利油田的内源微生物进行 10 MPa 高压和常压的静态激活实验表明, 不同压力下微生物的生长代谢活性和代谢方式有较大的差异, 而且群落结构不同^[48]。与常压相比, 高压下油藏微生物种类较少, 丰度较低。但由于高保真取样的困难, 对油藏嗜压微生物的研究相对较少, 尤其是从油藏中分离培养出嗜压微生物菌株的报道更少, 仅有的报道包括从油井深部约 40.5 MPa 处分离到了耐压硫酸盐还原菌等^[49]。最近报道, 中国松辽盆地吉林油田乾安地区的同一采油井石油采出液样品经高压运输与常压运输 48 h 后, 微生物群落存在明显不同, 其中高压和常压运输后检测到的优势群落分别为 Firmicutes 门和 Proteobacteria 门。实验室高温高压(模拟油层温压 60 °C, 12 MPa)进行厌氧培养后, 在添加不同电子受体的体系中, 微生物群落具有明显差异, 如高压运输样品中添加延胡索酸组的优势细菌为 Thermotogae 门和 Chlorobi 门的微生物, 添加硝酸盐组的优势微生物分布在 Proteobacteria 门和 Deinococci 纲。嗜热微生物如 *Thermovirga*、*Thermosiphon*、*Thermotoga*、*Thermodesulfobacterium* 和 *Thermus* 属, 主要分布在高温高压培养的采出

液中^[50]。高压对于微生物群落的影响机制还在进一步研究中。

目前,对绝大多数耐压和嗜压微生物菌株的分离培养及相关研究都是以深海微生物为研究对象进行的^[51]。这些从深海分离培养的耐压和嗜压微生物的研究成果,也成为研究油藏嗜压和耐压微生物生命活动规律的主要参考和借鉴。例如,纯培养得到的 *Shewanella* 属微生物是深海中广泛分布的嗜压微生物,其中 *Shewanella benthica* 是深海中报道较多的嗜压微生物^[52];而在油藏中该属中的 *Shewanella putrefaciens* 被分离出来,其压力适应性尚未见报道^[53]。从伊特鲁里亚海发现的嗜热嗜压古菌 *Methanococcus thermolithotrophicus* 在北海油田的采出液中也检测到^[54]。*Colwellia piezophila* 是深海中被发现的嗜中温超嗜压细菌,而 *Colwellia* 属的微生物在来自于墨西哥湾深海钻井平台的石油微生物群落中也占优势^[55]。如前所述,随着深度的增加,油藏温度与压力都会增加,温度和压力可能同时对油藏微生物的生命活动产生影响。有研究表明,温度和压力对影响微生物的耐受性和生长代谢方面具有一定的正相关性。在高压条件下,嗜热微生物同样也被发现。Marquis 等研究温度和压力对嗜热脂肪芽孢杆菌的影响时,发现当温度达到或接近最适生长温度时,微生物具有较好的耐高压性^[56]。另外,许多嗜热微生物,常常也是耐压^[57]或嗜压微生物^[58],而以 *Colwellia*、*Pyrococcus*、*Thermococcus* 和 *Methanopyrus* 属为代表的超嗜热嗜压古菌的最适生长压力是 20–40 MPa,温度在 85–105 °C 之间。这些工作都表明了当温度到达一定高度时,耐压和嗜压微生物可表现出更好的压力适应性^[59]。

1.7 油藏内源微生物在 MEOR 中的应用

多年来,MEOR 的矿场试验在许多国家不同油田进行,取得了有效进展,其中不乏成效显著的例子。例如,英国的 North Blowhorn Creek Unit 油田在注水井中加入碳氮源营养物后,进行了 45 个月的内源微生物渗透性调剖矿场试验。结果

表明,在前 42 个月里采油量从 69 000 桶增加到了 400 000–600 000 桶,而油井的经济寿命增加了 5–11 年。经钻井取岩心观察,发现岩心表面附着了大量的微生物细胞^[60]。近年,中国新疆低温油藏进行了微生物强化水驱试验,每天每口井注入 20–30 t 营养物,8 个月后原油产量增加了 2 812 t (相当于每口井每天增加了 0.1–5.0 t)。检测发现,在增产的原油中,石油降解微生物及其产生的生物表面活性剂具有更高比例^[61]。此外,基于微生物降解石蜡并产生表面活性剂的微生物洗井技术也在商业上得到应用。采用该法,不仅能解决石蜡沉降的问题,而且可以通过微生物将重质油降解为轻质油。例如,先导试验中通过流动设备将 10 L 含蜡石油注入管道,通过循环地注入微生物群落和基本营养元素(如氮和磷),培养一段时间后,检测到生物表面活性剂的产生,原油总蜡量降低了 10%^[62]。

2 微生物对高压环境的适应机制

如前所述,高压对微生物的生命活动施加着重要影响,高压通常会抑制压力敏感型和耐压微生物的生理代谢功能^[63]。压力不仅可以改变微生物的细胞体积、形态与组分,还会改变其核酸结构、基因表达及生物学功能^[64]。当压力从常压开始逐渐增加时,微生物生命活动进行的各种生化反应中蛋白质合成的反应最为敏感^[65]。Schwarz 等进一步研究时认为,原核生物对压力最敏感的反应是蛋白质合成中将 aa-tRNA 转移到核糖体的步骤^[66]。除了原核生物,其他生物中一些重要的蛋白-蛋白相互作用对压力的增加也很敏感^[67]。高压还可能改变蛋白质结构及其稳定性^[68]。此外,高压还通过影响膜脂、膜蛋白、膜脂肪酸、氢酶、谷氨酸盐脱氢酶、DNA 聚合酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶等活性,以及产甲烷过程、硫酸盐还原、呼吸系统的基因表达等生理过程,来影响微生物的生命活动过程^[63]。为了适应高压环境,油藏微生物在长期进化过程中形成了独特的代谢途径与调控机制,以及与此相关的基因、酶和生物活性物

质^[69]。大量研究表明,微生物主要通过改变细胞膜结构和利用胞内特殊酶的作用以适应压力的变化。

在高压情况下,压力的增加通常会导致细胞膜中脂肪酰链的压缩而变得紧实,从而严重阻滞细胞膜的流动性,并影响细胞的活性和生存。针对这种情况,耐压和嗜压微生物可通过让细胞膜结构发生一定变化,例如增加细胞膜磷脂中不饱和脂肪酸的含量^[70],以保持膜流动性和整合性、并维持其功能^[71]。Wang 等在研究耐压微生物 *Sporosarcina* sp. DSK25 的压力适应机制时发现,随着压力从 0.1 MPa 升至 10 MPa 时,细胞膜中不饱和脂肪酸占总脂肪酸的比例增加了 50%,而异构和反异构支链的脂肪酸相对稳定;当压力升至 60 MPa 时,反异构支链的脂肪酸增加了 34.4%–49.9%,而支链脂肪酸减少了相同数量的比例。在压力增加的过程中,微生物也增加了多元不饱和脂肪酸,甚至出现了两种新的脂肪酸^[72]。微生物怎样通过增加不饱和脂肪酸以维持高压下的生存,有 3 种不同的观点对此进行了解释。首先,不饱和脂肪酸的增加,可以让细胞膜保持在一定的粘度范围内^[73]。其次,细胞膜脂类物质成分的改变,可使细胞膜保持液晶态^[74]。最后,细胞脂类成分的改变可让细胞膜具有更好的离子渗透性,以获得更多的能量进行质子转运、钠离子转运和 ATP 合成等^[75]。这样,细胞可通过采取不同的能量分布策略、调整脂质的贮存和积累及其与细胞能量状态的关系^[76],以维持细胞在不同环境压力下生长。这种通过调节细胞膜磷脂双分子层渗透性,维持细胞膜的整合性和一定的流动性,以达到能量消耗最少和生长最佳的机制称为“Homeoviscous 适应”。微生物可以通过该机制在广域的环境如深海、油田深部等极端高压环境得以存活。

微生物除了改变细胞膜结构外,也通过酶及其功能的进化来适应高压环境。例如,深海嗜压微生物中的二氢叶酸还原酶也比嗜常压微生物的活性更高;嗜压微生物 *Shewanella benthica*

DB21MT-2 的 3-异丙基苹果酸脱氢酶(IPMDH),比分离自浅层湖水(6.4 m)中的 *Shewanella oneidensis* MR-1 菌具有更高的活性。另外,适应压力的酶通常具有特殊结构,其中嗜压菌 *S. benthica* DB21MT-2 中获得的 SbMT2_IPMDH 酶比常压菌 *S. oneidensis* MR-1 中获得的 SoMR1_IPMDH 酶具有更大体积的中心活性空间。而这个含有活性中心和二聚体结构域的中心区域是微生物适应压力最重要的结构^[77]。这些类似的进化和功能调整使得微生物可以在油藏等高压环境中得以生存,从而形成独特的微生物群落结构。

3 高压下微生物降解烃的代谢特征

由于烷烃等石油成分广泛存在于地球的各种环境,石油降解微生物在地球上普遍存在^[78]。例如,在海洋环境^[79-80]、石油环境^[2,28]中都发现了大量烃降解菌。有报道认为,超过 200 个属 500 多个种的细菌、藻类和真菌具有烃降解的能力^[79]。烃代谢是油藏微生物在地层下的主要代谢活动,朱伟耀等在高温高压条件下的研究发现,油藏内源微生物具有一定活性,能明显降低剩余油的残余油量^[81]。王登庆等对胜利油田的内源微生物进行 10 MPa 高压和常压的静态激活实验也表明,与常压相比,高压下微生物代谢高峰相对延迟^[48]。为了进一步研究高压下的烃代谢机理,Schedler 等选取了两种高压烃降解模式细菌,耐压型烃降解菌 *Rhodococcus qingshengii* TUHH-12 和嗜压型烃降解菌 *Sphingobium yanoikuyae* B1,分别研究它们在高压下降解十六烷和萘(石油常见组分)的代谢过程。*Rhodococcus qingshengii* TUHH-12 在 15 MPa 时以 0.16 h^{-1} 的速率生长,比常压下的生长速率较低(0.36 h^{-1});而 *Sphingobium yanoikuyae* B1 的生长速率受压力影响较大,当压力从常压升至 8.8 MPa 时菌株生长几乎不受影响,当压力大于 8.8 MPa 时生长速率降低,而大于 12 MPa 时完全不生长;但在压力大于 12 MPa 时,*Sphingobium yanoikuyae* B1 还能继续降解萘,降解速率略低于常压下^[82]。

与油藏中类似,在深海与沉积物深处的烃降解同样受到压力的影响^[24]。例如,深海沉积物中也发现了降解烃的微生物,包括属于 *Alteromonas*、*Cycloclasticus*、*Alcanivorax*、*Alteromonas*、*Bacillus*、*Cycloclasticus*、*Flavobacterium*、*Marinobacter*、*Pseudomonas* 和 *Rhodococcus* 属的微生物^[83-84]。Schwarz 等首先从 4 940 m 水深处的大陆架沉积物样品中分离得到深海微生物,将其中 *Pseudomonas*、*Aeromonas* 和 *Vibrio* 等微生物进行混合以分析压力对烃降解的影响。其研究发现,这些混合微生物群落在原位压力(约 50 MPa)下利用烃的效率低于大气压力下(0.1 MPa)^[85]。Grossi 等^[86]对分离自地中海 3 475 m 深处水样(35 MPa)的海洋微生物 *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain #5,以十六烷作为唯一碳源和能源,分别在 0.1 MPa 和 35 MPa 下进行了培养研究。其结果表明:在 0.1 MPa 条件下,菌株 *M. hydrocarbonoclasticus* #5 合成了大量的十六烷衍生的蜡酯(Wax esters, WEs),占细胞中总脂类的约 62%,并在细胞中以单个脂肪体的形式积累;而其他脂类含量较低。在 35 MPa 的培养条件下,尽管 WEs 在脂类中的含量还占主导地位,但在细胞总脂类中所占比例是 0.1 MPa 下培养的一半左右,为 29%。进一步分析表明,高压下减少的 WEs 含量可通过增加细胞内其他磷脂的含量来平衡。由于 *M. hydrocarbonoclasticus* #5 的 WEs 合成酶相对于饱和脂肪酸而言不具有特异性,35 MPa 下 WEs 的含量下降以及其化学成分的改变,既说明了酰基转移酶受到了静液压力的影响,也进一步说明了微生物可以通过改变细胞膜不饱和脂肪酸的种类和数量以适应高压环境^[86]。总之,烃降解微生物在高压下的代谢速率低于常压,耐压菌和嗜压菌在压力增加时具有不同的烃降解效率,耐压机制与细胞膜、脂类组成结构和特殊酶相关。

4 总结与展望

油藏微生物的研究已有半个多世纪,本文从

油藏及其微生物的主要特征、微生物对高压环境的适应机制以及高压下微生物降解烃的代谢特征等方面进行了综述。在油藏及其微生物的主要特征方面,对于油藏微生物资源、油藏微生物群落结构、微生物在油水相中分布、微生物乳化原油机制的认识进行了总结,列举了 MEOR 被成功应用的例子。同时,微生物在油藏厌氧环境中具有协同代谢特点,并受到温度和压力的影响。

目前对于油藏微生物的认识主要在 3 个方面:

(1) 单个菌株的分离培养及其功能的分析、群落结构及其功能的分析,以及石油或烃类在微生物作用下其组分的改变。来自不同油田微生物的相关研究报道已经很多,但仍存在不少问题,如:1) 单个菌株在“小生境”中所处的生态学地位,其物质交换和能量流动的关系还需要热力学上的解释;2) 同一群落在不同的环境条件下(如温度、压力、矿化度等)哪些微生物会成为优势菌株、显示群落的主导功能;3) 群落在发挥功能时每个菌种所扮演怎样的角色,每种微生物在适应环境方面所做的贡献又是怎样的,它们相互之间又是怎样协同发挥作用的;4) 石油成分极其复杂,石油组学也正由于质谱技术的进步而逐步得到发展,但精确解析石油的分子结构仍十分困难,进而在具体揭示微生物降解石油成分的机理时还有很大空间。要解决这些问题,首先基于目前先进的生物信息学、光谱、质谱技术对实验结果进行分析。如(宏)基因组、(宏)转录组、(宏)代谢组及相关大数据分析的配套方法与软件可以进行油藏微生物及其代谢产物的分析;扫描电子显微镜、透射电子显微镜和原子力显微镜可以直接观察细胞的形态结构、油藏微生物之间相互作用;全二维气相色谱、傅里叶变换离子回旋共振质谱在普通色谱和质谱检测技术上有了进一步提高,对于检测石油在生物降解前后组分的改变方面将有较大的推动作用。

(2) 厌氧培养技术用于模拟油藏环境,推动了对油藏微生物特殊功能的认识。然而油藏同时也

是高压环境, 高保真取样和模拟油藏压力培养对设备和技术要求较高, 因而难度较大。目前基于实验室培养的油藏微生物绝大多数是在常压下进行的, 不仅忽略了压力对于微生物的影响作用, 同时也忽略了在高压下轻烃会溶解于石油(而常压下轻烃会被释放)的现象, 因而常压下进行微生物降解烃的作用时, 数据是不全面的。针对该问题, 首先在油田井口取样时应采用密闭的高保真取样技术, 取样后样品和容器在低温环境下迅速送到就近实验室进行压力的补充(至油藏的压力); 其次, 高压培养期间要对每一个培养容器的内部压力进行实时监测, 若要进行恒温培养, 需要在培养前温度改变时对压力进行实时调整; 最后, 在取样分析时, 尽可能直接将样品和耐高压的检测容器进行对接, 整个系统在高压的环境中进行检测, 而进行微生物的检测时还要尽可能地减少收集菌体和提 DNA 的时间。

(3) 尽管目前已有研究开始关注油藏微生物的高压适应机制, 但耐压微生物如何在高压的油藏环境中存在仍然是未解的难题, 尤其是对于高压条件下油藏微生物的组成、生理代谢特征等仍不了解。对油藏耐压和嗜压微生物组成、生理代谢特征等方面的研究将大大提高我们对油藏微生物的认识, 并给予我们关于 MEOR 技术应用新的启发。同时对其适应机制的研究也将丰富我们对自然界生物适应性和生命本质的认识。

参 考 文 献

- [1] Yarbrough HF, Coty VF. Microbial enhanced oil recovery from the upper Cretaceous nacatoch formation, Union County, Arkansas[A]//Proceedings of 1982 Int. Conf. on Microbial Enhancement of Oil Recovery[C]. Ed. by Donaldson and Zajic. Bartlesville: Technology Transfer Branch, 1983: 149-153
- [2] Pan XC, Geng S, Lü XL, et al. *Defluviimonas alba* sp. nov., isolated from an oilfield[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(6): 1805-1811
- [3] Hondt SD, Smith DC, Spivack AJ. Exploration of the marine subsurface biosphere[J]. JOIDES Journal, 2002, 28(1): 51-54
- [4] Aitken CM, Jones DM, Larter SR. Anaerobic hydrocarbon biodegradation in deep subsurface oil reservoirs[J]. Nature, 2004, 431(7006): 291-294
- [5] Magot M, Ollivier B, Patel BKC. Microbiology of petroleum reservoirs[J]. Antonie van Leeuwenhoek, 2000, 77(2): 103-116
- [6] Liu JF, Mu BZ. Extreme environment of oil reservoir and associated microorganisms[J]. Journal of Microbiology, 2004, 24(4): 31-34 (in Chinese)
- [7] Tang YQ, Li Y, Zhao JY, et al. Microbial communities in long-term, water-flooded petroleum reservoirs with different in situ temperatures in the Huabei Oilfield, China[J]. PLoS One, 2012, 7(3): e33535
- [8] Beckman JW. Action of bacteria on mineral oil[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 1926, 4: 1-10
- [9] Gu J, Cai H, Yu SL, et al. *Marinobacter gudaonensis* sp. nov., isolated from an oil-polluted saline soil in a Chinese oilfield[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(2): 250-254
- [10] Wang YN, Cai H, Yu SL, et al. *Halomonas gudaonensis* sp. nov., isolated from a saline soil contaminated by crude oil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(5): 911-915
- [11] Wang YN, Cai H, Chi CQ, et al. *Halomonas shengliensis* sp. nov., a moderately halophilic, denitrifying, crude-oil-utilizing bacterium[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2007, 57(6): 1222-1226
- [12] Wu G, Wu XQ, Wang YN, et al. *Halomonas daqingensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from an oilfield soil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2008, 58(12): 2859-2865.
- [13] Wu XL, Yu SL, Gu J, et al. *Filomicrobium insigne* sp. nov., isolated from an oil-polluted saline soil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59(2): 300-305
- [14] Wang YN, Chi CQ, Cai M, et al. *Amycolicococcus subflavus* gen. nov., sp. nov., an actinomycete isolated from a saline soil contaminated by crude oil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, 60(3): 638-643
- [15] Cai M, Wang L, Cai H, et al. *Rubrimonas shengliensis* sp. nov. and *Polymorphum gilvum* gen. nov., sp. nov., novel members of Alphaproteobacteria from crude oil contaminated saline soil[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2011, 34(5): 321-327
- [16] Rothschild LJ, Mancinelli RL. Life in extreme environments[J]. Nature, 2001, 409(6823): 1092-1101
- [17] Ren HY, Zhang XJ, Song ZY, et al. Comparison of microbial community compositions of injection and production well samples in a long-term water-flooded petroleum reservoir[J]. PLoS One, 2011, 6(8): e23258
- [18] Lenchi N, İnceoğlu O, Kebbouche-Gana S, et al. Diversity of microbial communities in production and injection waters of Algerian oilfields revealed by 16S rRNA gene amplicon 454 pyrosequencing[J]. PLoS One, 2013, 8(6): e66588
- [19] Rueter P, Rabus R, Wilkes H, et al. Anaerobic oxidation of hydrocarbons in crude oil by new types of sulphate-reducing bacteria[J]. Nature, 1994, 372(6505): 455-458
- [20] Kobayashi H, Endo K, Sakata S, et al. Phylogenetic diversity of microbial communities associated with the crude-oil, large-insoluble-particle and formation-water components of the reservoir fluid from a non-flooded high-temperature petroleum reservoir[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2012, 113(2): 204-210
- [21] Silva TR, Verde LCL, Santos NEV, et al. Diversity analyses of microbial communities in petroleum samples from Brazilian oil fields[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 81: 57-70
- [22] Gao PK, Tian HM, Li GQ, et al. Microbial diversity and abundance in the Xinjiang Luliang long-term water-flooding reservoir[J]. MicrobiologyOpen, 2015, 4(2): 332-342
- [23] Wang L, Tang YQ, Guo P, et al. Microbial functioning on crude oil in a gas-permeable single microfluidic channel[J]. Journal of Petroleum Science and Technology, 2013, 104: 38-48
- [24] Head IM, Jones DM, Larter SR. Biological activity in the deep subsurface and the origin of heavy oil[J]. Nature, 2003,

- 426(6964): 344-352
- [25] Jing GC, Liu FH, Guo SP, et al. Mechanism of enhanced oil recovery by local microbial enrichment[J]. Acta Petrolei Sinica, 2004, 25(5): 70-75 (in Chinese)
景贵成, 刘福海, 郭尚平, 等. 微生物局部富集提高原油采收率机理[J]. 石油学报, 2004, 25(5): 70-75
- [26] Wang GL, Wang TG, Simoneit BRT, et al. Investigation of hydrocarbon biodegradation from a downhole profile in Bohai Bay Basin: Implications for the origin of 25-norhopanes[J]. Organic Geochemistry, 2013, 55: 72-84
- [27] Yamane K, Maki H, Nakayama T, et al. Diversity and similarity of microbial communities in petroleum crude oils produced in Asia[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2008, 72(11): 2831-2839
- [28] Wang XB, Zhang Q, Liu Y, et al. Microorganisms and their oil-degrading activities in dehydrated crude oil[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2013, 19(3): 515-518 (in Chinese)
王兴彪, 张晴, 刘洋, 等. 脱水原油中的微生物及其原油降解活性[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(3): 515-518
- [29] Meckenstock RU, von Netzer F, Stumpp C, et al. Water droplets in oil are microhabitats for microbial life[J]. Science, 2014, 345(6197): 673-676
- [30] Cai M, Nie Y, Chi CQ, et al. Crude oil as a microbial seed bank with unexpected functional potentials[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 16057
- [31] Al-Sulaimani H, Joshi S, Al-Wahaibi YM, et al. Microbial biotechnology for enhancing oil recovery: current developments and future prospects[J]. Biotechnology, Bioinformatics and Bioengineering, 2011, 1(2): 147-158
- [32] Alvarez VM, Jurelevicius D, Marques JM, et al. *Bacillus amyloliquefaciens* TSBSO 3.8, a biosurfactant-producing strain with biotechnological potential for microbial enhanced oil recovery[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015, 136: 14-21
- [33] Wang XB, Nie Y, Tang YQ, et al. *n*-Alkane chain length alters *Dietzia* sp. strain DQ12-45-1b biosurfactant production and cell surface activity[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2013, 79(1): 400-402
- [34] Zhao F, Zhou JD, Ma F, et al. Simultaneous inhibition of sulfate-reducing bacteria, removal of H₂S and production of rhamnolipid by recombinant *Pseudomonas stutzeri* Rhl: Applications for microbial enhanced oil recovery[J]. Bioresource Technology, 2016, 207: 24-30
- [35] Bao MT, Cui DY, Liang SK, et al. Application of rhamnolipid biosurfactant in heavy oil viscosity reduction[J]. Modern Chemical Industry, 2009, 29(2): 138-140 (in Chinese)
包木太, 崔东阳, 梁生康, 等. 鼠李糖脂生物表面活性剂在稠油降黏中的应用初探[J]. 现代化工, 2009, 29(2): 138-140
- [36] Wang DW, Liu YJ, Yang ZY, et al. Application of surfactin in microbial enhanced oil recovery[J]. Acta Petrolei Sinica, 2008, 29(1): 111-115 (in Chinese)
王大威, 刘永建, 杨振宇, 等. 脂肪生物表面活性剂在微生物采油中的应用[J]. 石油学报, 2008, 29(1): 111-115
- [37] Sarafzadeh P, Hezave AZ, Ravanbakhsh M, et al. *Enterobacter cloacae* as biosurfactant producing bacterium: Differentiating its effects on interfacial tension and wettability alteration Mechanisms for oil recovery during MEOR process[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2013, 105: 223-229
- [38] Mbadinga SM, Wang LY, Zhou L, et al. Microbial communities involved in anaerobic degradation of alkanes[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, 65(1): 1-13
- [39] Gieg LM, Fowler SJ, Berdugo-Clavijo C. Syntrophic biodegradation of hydrocarbon contaminants[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2014, 27: 21-29
- [40] Morris BEL, Henneberger R, Huber H, et al. Microbial syntrophy: interaction for the common good[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37(3): 384-406
- [41] Zhang SY, Wang QF, Xie SG. Stable isotope probing identifies anthracene degraders under methanogenic conditions[J]. Biodegradation, 2012, 23(2): 221-230
- [42] Orphan VJ. Methods for unveiling cryptic microbial partnerships in nature[J]. Current Opinion in Microbiology, 2009, 12(3): 231-237
- [43] Callaghan AV, Morris BEL, Pereira IAC, et al. The genome sequence of *Desulfatibacillum alkenivorans* AK-01: a blueprint for anaerobic alkane oxidation[J]. Environmental Microbiology, 2012, 14(1): 101-113
- [44] Zhang HF, Zhang WX. Petroleum Geology[M]. 2nd Edition. Beijing: Petroleum Industry Press, 1989: 251 (in Chinese)
张厚福, 张万选. 石油地质学[M]. 第2版. 北京: 石油工业出版社, 1989: 251
- [45] Lan GH, Li ZT, Zhang H, et al. Relationship of microbial diversity from recycled injection water and high-temperature petroleum reservoirs analyzed by polymerase chain reaction denaturing gradient gel electrophoresis (PCR-DGGE)[J]. African Journal of Biotechnology, 2011, 10(53): 11004-11010
- [46] Gao PK, Li GQ, Zhao LX, et al. Dynamic processes of indigenous microorganisms from a low-temperature petroleum reservoir during nutrient stimulation[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2014, 117(2): 215-221
- [47] Yamane K, Hattori Y, Ohtagaki H, et al. Microbial diversity with dominance of 16S rRNA gene sequences with high GC contents at 74 and 98 °C subsurface crude oil deposits in Japan[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2011, 76(2): 220-235
- [48] Wang DQ, Guo LY, Liu T, et al. Effects of pressure on growth and metabolism of microorganism for microbial enhanced oil recovery[J]. Journal of China University of Petroleum (Edition of Natural Science), 2009, 33(3): 114-117, 127 (in Chinese)
王登庆, 郭辽原, 刘涛, 等. 压力对采油微生物生长代谢的影响[J]. 中国石油大学学报: 自然科学版, 2009, 33(3): 114-117, 127
- [49] Shen P, Wei YB, Wang JY. Microbiology[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 296-297 (in Chinese)
沈萍, 卫杨保, 王静怡. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 296-297
- [50] Wang L, Nie Y, Song XM, et al. Characteristics of microbial community and their hydrocarbon-degradation ability in high pressure[A]//Abstracts collection of the eighteenth National Symposium on Environmental Microbiology[C]. Zhenjiang, 2015: 268-269 (in Chinese)
王璐, 聂勇, 宋新民, 等. 高压下油藏微生物的群落特征及烃降解功能[A]//第十八次全国环境微生物学术研讨会论文摘要集[C]. 镇江: 中国微生物学会, 2015: 268-269
- [51] Fang JS, Bazylnski DA. Deep-Sea Geomicrobiology[M]. Washington DC: High-Pressure Microbiology ASM Press, 2008: 237-264
- [52] Kato C, Li L, Nogi Y, et al. Extremely barophilic bacteria isolated from the Mariana Trench, Challenger Deep, at a depth of 11, 000 meters[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(4): 1510-1513
- [53] Semple KM, Doran JL, Westlake DWS. DNA relatedness of oil-field isolates of *Shewanella putrefaciens*[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1989, 35(10): 925-931
- [54] Nilsen RK, Torsvik T. *Methanococcus thermolithotrophicus* isolated from North Sea oil field reservoir water[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(2): 728-731
- [55] Mason OU, Han J, Woyke T, et al. Single-cell genomics reveals features of a *Colwellia* species that was dominant during the Deepwater Horizon oil spill[J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 332
- [56] Marquis RE. High-pressure microbial physiology[J]. Advances in Microbial Physiology, 1976, 14: 159-241
- [57] Reysenbach AL, Deming JW. Effects of hydrostatic pressure on growth of hyperthermophilic archaeobacteria from the Juan de

- Fuca Ridge[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57(4): 1271-1274
- [58] Takai K, Horikoshi K. *Thermosipho japonicus* sp. nov., an extremely thermophilic bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent in Japan[J]. Extremophiles, 2000, 4(1): 9-17
- [59] Li F. The influence and interaction between microorganisms and reservoir environment[J]. Chemical Enterprise Management, 2014(36): 162,164 (in Chinese)
李凡. 微生物与油藏环境之间的相互影响与作用[J]. 化工管理, 2014(36): 162,164
- [60] Brown LR, Vadie AA, Stephens JO. Slowing production decline and extending the economic life of an oil field: new MEOR technology[A]/SPE/DOE Improved Oil Recovery Symposium[C]. Tulsa, Oklahoma: Society of Petroleum Engineers, 2000
- [61] Li GQ, Gao PK, Wu YQ, et al. Microbial abundance and community composition influence production performance in a low-temperature petroleum reservoir[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(9): 5336-5344
- [62] Perfumo A, Rancich I, Banat IM. Possibilities and challenges for biosurfactants use in petroleum industry[A]/Sen R. Biosurfactants[M]. New York: Springer Science+Business Media, LLC, 2010: 135-157
- [63] Abe F, Horikoshi K. The biotechnological potential of piezophiles[J]. Trends in Biotechnology, 2001, 19(3): 102-108
- [64] Wang SL, Wu XZ, Hao LH, et al. Mutation effect of ultra high pressure on microbe[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2005, 45(6): 970-973 (in Chinese)
王岁楼, 吴晓宗, 郝莉花, 等. (超)高压对微生物的影响及其诱变效应探讨[J]. 微生物学报, 2005, 45(6): 970-973
- [65] Pope DH, Berger LR. Algal photosynthesis at increased hydrostatic pressure and constant pO_2 [J]. Archiv für Mikrobiologie, 1973, 89(4): 321-325
- [66] Schwarz JR, Landau JV. Inhibition of cell-free protein synthesis by hydrostatic pressure[J]. Journal of Bacteriology, 1972, 112(3): 1222-1227
- [67] Gross M, Lehle K, Jaenicke R, et al. Pressure-induced dissociation of ribosomes and elongation cycle intermediates[J]. European Journal of Biochemistry, 1993, 218(2): 463-468
- [68] Gross M, Jaenicke R. Proteins under pressure[J]. European Journal of Biochemistry, 1994, 221(2): 617-630
- [69] Li W, Li YQ, Li MG, et al. Progress on bioactive substances produced by extremophiles[J]. World Notes on Antibiotics, 2007, 28(1): 1-5,18 (in Chinese)
黎唯, 李一青, 李铭刚, 等. 极端环境微生物源活性物质的研究进展[J]. 国外医药(抗生素分册), 2007, 28(1): 1-5,18
- [70] Allen EE, Facciotti D, Bartlett DH. Monounsaturated but not polyunsaturated fatty acids are required for growth of the deep-sea bacterium *Photobacterium profundum* SS9 at high pressure and low temperature[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(4): 1710-1720
- [71] Zhang YM, Rock CO. Membrane lipid homeostasis in bacteria[J]. Nature Reviews Microbiology, 2008, 6(3): 222-233
- [72] Wang JN, Li JT, Dasgupta S, et al. Alterations in membrane phospholipid fatty acids of Gram-positive piezotolerant bacterium *Sporosarcina* sp. DSK25 in response to growth pressure[J]. Lipids, 2014, 49(4): 347-356
- [73] Macdonald AG, Cossins AR. The theory of homeoviscous adaptation of membranes applied to deep-sea animals[J]. Symposia of the Society for Experimental Biology, 1985, 39: 301-322
- [74] Russell NJ, Fukunaga N. A comparison of thermal adaptation of membrane lipids in psychrophilic and thermophilic bacteria[J]. FEMS Microbiology Reviews, 1990, 75(2/3): 171-182
- [75] Van De Vossenberg JLCM, Ubbink-Kok T, Elferink MGL, et al. Ion permeability of the cytoplasmic membrane limits the maximum growth temperature of bacteria and archaea[J]. Molecular Microbiology, 1995, 18(5): 925-932
- [76] Alvarez HM. Bacterial triacylglycerols[A]/Welson LT. Triglycerides and Cholesterol Research[M]. New York: Nova Science, 2006, 6: 159-176
- [77] Hamajima Y, Nagae T, Watanabe N, et al. Pressure effects on the chimeric 3-isopropylmalate dehydrogenases of the deep-sea piezophilic *Shewanella benthica* and the atmospheric pressure-adapted *Shewanella oneidensis*[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2014, 78(3): 469-471
- [78] Liang JL, Nie Y, Wang MX, et al. Regulation of alkane degradation pathway by a TetR family repressor via an autoregulation positive feedback mechanism in a Gram-positive *Dietzia* bacterium[J]. Molecular Microbiology, 2016, 99(2): 338-359
- [79] Yakimov MM, Timmis KN, Golysheyn PN. Obligate oil-degrading marine bacteria[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2007, 18(3): 257-266
- [80] Valentine DL, Mezić I, Mačević S, et al. Dynamic autoinoculation and the microbial ecology of a deep water hydrocarbon irruption[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, 109(50): 20286-20291
- [81] Zhu WY, Xia XX, Guo SX, et al. Microscopic oil displacement mechanism of indigenous microorganisms under high-temperature and high-pressure conditions in reservoirs[J]. Acta Petrolei Sinica, 2014, 35(3): 528-535 (in Chinese)
朱维耀, 夏小雪, 郭省学, 等. 高温高压条件下油藏内源微生物微观驱油机理[J]. 石油学报, 2014, 35(3): 528-535
- [82] Schedler M, Hiessl R, Valladares Juárez AG, et al. Effect of high pressure on hydrocarbon-degrading bacteria[J]. AMB Express, 2014, 4: 77
- [83] Wang BJ, Lai QL, Cui ZS, et al. A pyrene-degrading consortium from deep-sea sediment of the West Pacific and its key member *Cycloclasticus* sp. P1[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(8): 1948-1963
- [84] Tapilatu Y, Acquaviva M, Guigue C, et al. Isolation of alkane-degrading bacteria from deep-sea Mediterranean sediments[J]. Letters in Applied Microbiology, 2010, 50(2): 234-236
- [85] Schwarz JR, Walker JD, Colwell RR. Deep-sea bacteria: growth and utilization of hydrocarbons at ambient and *in situ* pressure[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1974, 28(6): 982-986
- [86] Grossi V, Yakimov MM, Al Ali B, et al. Hydrostatic pressure affects membrane and storage lipid compositions of the piezotolerant hydrocarbon-degrading *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain #5[J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(7): 2020-2033