



## 不同煤阶生物成因煤层气微生物群落的功能及多样性研究进展

聂志强<sup>\*1</sup> 杨秀清<sup>\*1</sup> 韩作颖<sup>2,3</sup>

1 山西大学生物技术研究所 化学生物学与分子工程教育部重点实验室 山西 太原 030006

2 煤与煤层气共采国家重点实验室 山西 晋城 048000

3 易安蓝焰煤与煤层气共采技术有限责任公司 山西 晋城 048000

**摘要:** 生物成因煤层气是煤层气形成的主要途径之一, 在各种煤阶的煤层气田中均发现有生物成因煤层气。高通量测序技术、宏基因组学等高新技术的应用逐步揭示了生物成因煤层气微生物群落的组成及多样性, 为揭示煤层气资源的微生物生成机理提供了理论依据。本文综述了近年来国内外针对不同煤阶条件下微生物群落结构及多样性方面的研究进展, 总结了煤层气生物成因过程中主要微生物的功能及产气途径, 并探讨了生物成因煤层气领域的研究前景。

**关键词:** 生物成因煤层气, 煤阶, 微生物功能, 微生物多样性

## Function and diversity of microbial community in biogenic coal-bed methane with different coal ranks: a review

NIE Zhi-Qiang<sup>\*1</sup> YANG Xiu-Qing<sup>\*1</sup> HAN Zuo-Ying<sup>2,3</sup>

1 Key Laboratory of Chemical Biology and Molecular Engineering, Ministry of Education, Institute of Biotechnology, Shanxi University, Taiyuan, Shanxi 030006, China

2 State Key Laboratory of Coal and Coal-bed Methane Simultaneous Extraction, Jincheng, Shanxi 048000, China

3 Yi'an Lanyan Coal and Coal-bed Methane Simultaneous Extraction Technology Co. Ltd., Jincheng, Shanxi 048000, China

**Abstract:** Biogenic coal-bed methane (CBM), a kind of unconventional gas resources, has been observed in different coal-rank basins. The composition and the diversity of microbial community involved in biogenic CBM have been investigated by metagenomics and high-throughput sequencing. It is fundamental for unravelling the mechanism of biogenic CBM. This review focuses on recent advances in

**Foundation items:** Natural Science and CBM Joint Foundation of Shanxi (2015012002); Key Scientific and Technological Project of Shanxi (MQ2014-03); Scientific and Technological Innovation Program of Higher Education Institutions in Shanxi (2017105); Scientific Research Foundation for Talent Construction of Shanxi University (rsc4280)

**\*Corresponding authors:** Tel: 86-351-7010215

E-mail: NIE Zhi-Qiang: nzqjason@sxu.edu.cn; YANG Xiu-Qing: xiuqyang@sxu.edu.cn

**Received:** 28-04-2018; **Accepted:** 11-06-2018; **Published online:** 25-06-2018

**基金项目:** 山西省自然科学基金与煤层气联合基金会项目(2015012002); 山西省重点科技攻关项目(MQ2014-03); 山西省高等学校科技创新项目(2017105); 山西大学引进人才建设项目(rsc4280)

**\*通信作者:** Tel: 0351-7010215

E-mail: 聂志强: nzqjason@sxu.edu.cn; 杨秀清: xiuqyang@sxu.edu.cn

**收稿日期:** 2018-04-28; **接受日期:** 2018-06-11; **网络首发日期:** 2018-06-25

microbial diversity, metabolic pathway, and the function of microbial community in biogenic CBM production. The associations between coal ranks and microbial diversity are further discussed and analyzed.

**Keywords:** Biogenic coal-bed methane, Coal rank, Microbial function, Microbial diversity

传统的石油、煤炭等化石能源的快速消耗,导致人们对非常规能源(如煤层气、页岩气等)需求的不断增长,促进了非常规天然气产业的快速发展。煤层气是指赋存于煤层中、吸附在煤基质颗粒表面、游离于煤孔隙中或溶解于煤层水中的烃类气体,是成煤过程中生成的非常规天然气,主要成分是甲烷<sup>[1-2]</sup>。煤层气是极为清洁的能源,其热值与天然气相同,1 m<sup>3</sup>纯煤层气的热值相当于1.13 kg汽油、1.21 kg标准煤,燃烧后几乎不产生任何废气,可以与天然气混输混用,是优质的工业、化工、发电和居民生活燃料。据国际能源机构(IEA)估计,全世界煤层气资源量达263.8×10<sup>12</sup> m<sup>3</sup>,我国的煤层气资源十分丰富,约30×10<sup>12</sup>–36.81×10<sup>12</sup> m<sup>3</sup>,居世界第三,开发潜力巨大<sup>[3]</sup>。

煤层气主要通过热成因和生物成因两种途径生成。其中,生物成因气又可按煤化作用阶段分为原生生物成因气和次生生物成因气<sup>[4]</sup>。据估计全球天然气中约有20%是生物成因气,其具有可再生、绿色环保等特点。稳定同位素标记法是区分生物成因和热成因煤层气的主要方法,生物成因气的同位素比值范围较广,如 $\delta^{13}\text{C}$  (从-110‰到-50‰)和 $\delta\text{D}$  (从-400‰到-150‰)<sup>[5]</sup>。生物成因煤层气主要是由多种微生物参与的“煤-甲烷”转化过程。本文总结了不同煤阶条件下生物成因煤层气微生物群落的结构组成与差异,并探讨了生物煤层气领域的发展趋势。

## 1 煤层气生物成气过程中关键微生物的功能与作用

煤是杂环大分子化合物,主要为芳香族及木质素衍生的包含氮、硫、氧的复杂碳水化合物。不同成煤环境是生物成因煤层气形成途径差异的主要原因。地质微生物作用影响着沉积煤层中有机质的

生烃性能和成熟度。生物成因气一般要求适宜的产气母质类型、较低的温度、强还原性环境、pH值中性的水体以及有机质较快的沉积速率等<sup>[6]</sup>。生物产甲烷过程需要多种微生物共同作用,包括3个代谢类群:水解发酵细菌、产氢/产乙酸细菌和产甲烷古菌。在产气初始阶段,煤首先被厌氧发酵细菌降解为小分子物质,如低聚体、单体、长链脂肪酸、烷烃、小分子芳烃、有机酸或醇;其次,产氢和产乙酸细菌把长链脂肪酸进一步分解为乙酸、氢气、二氧化碳、甲酸等小分子化合物;最后,由产甲烷古菌经过甲烷生成作用将细菌降解得到小分子化合物转化为甲烷<sup>[4]</sup>。

### 1.1 古菌

生物成因煤层气中功能微生物可以分为古菌和细菌,古菌(Archaea)是生成甲烷过程中主要的功能微生物,以产甲烷菌为主,包括甲烷八叠球菌目(*Methanosarcinales*)、甲烷微菌目(*Methanomicrobiales*)和甲烷杆菌目(*Methanobacteriales*)等<sup>[7]</sup>。产甲烷古菌可以在酶的催化作用下将H<sub>2</sub>和CO<sub>2</sub>、乙酸或其他甲基化合物(如甲醇、甲胺等)转化为甲烷。根据甲烷生成途径,产甲烷古菌可分为3个类群:(1)乙酸营养型,可转化乙酸产生甲烷和CO<sub>2</sub>; (2)氢营养型(二氧化碳还原型),可将CO<sub>2</sub>转化为甲烷; (3)甲基营养型,可转化甲基类化合物如甲醇、甲基胺、二甲基硫醚等生成甲烷<sup>[8]</sup>。

甲烷微菌目中的所有菌产甲烷类型均为H<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>型。甲烷八叠球菌目的产甲烷古菌具有代谢多样性,可以将H<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>、乙酸和甲基类化合物作为产甲烷作用的底物<sup>[7]</sup>。甲烷杆菌目(*Methanobacteriales*)和甲烷微菌目(*Methanomicrobiales*)的产甲烷菌拥有不止一条产甲烷的代谢途径。有报道发现,*Methermicoccus*属的产甲烷菌可以将煤衍生的甲氧基化合物直接转化成甲烷。当没有

细菌存在时, *Methermicoccus shengliensis* AmaM 可以利用 30 多种甲氧基芳香化合物作为底物。当分别利用褐煤、亚烟煤、烟煤培养时, 产甲烷的速率为 10.8、8.0 和 9.4  $\mu\text{mol/g}$  煤。在世界各国大部分的煤层气田中均发现了甲烷八叠球菌属 (*Methanosarcina*), 表明在煤层气田的产甲烷作用过程偶尔也会有氧气存在, 因为甲烷八叠球菌属能够在氧气环境中短时间地存活。例如, Wawrik 等<sup>[9]</sup>通过 16S rRNA 基因序列分析微生物群落发现, 在美国新墨西哥州圣胡安盆地的煤层气田中, 主要以两类产甲烷菌为主: 甲烷丝菌属 (*Methanosaeta*) 和甲烷八叠球菌属 (*Methanosarcina*)。此外, 在美国粉河盆地、切诺基盆地的煤层气井和德国废弃煤矿的微生物群落结构研究中发现, 主要的产甲烷菌属于甲烷八叠球菌目<sup>[10-11]</sup>。杨秀清等<sup>[12]</sup>采用宏基因组学的高通量测序技术对我国山西晋城沁水盆地煤层气田的产甲烷菌群结构进行了分析, 发现高阶煤生物成因煤成气水样中以甲烷杆菌属 (*Methanobacterium*)、甲烷微菌属 (*Methanomicrobium*)、甲烷叶菌属 (*Methanolobus*) 和甲烷螺菌属 (*Methanospirillum*) 为主, 其中优势菌均为甲烷杆菌属。

## 1.2 细菌

### 1.2.1 变形菌门

变形菌门是种类较为丰富的一类细菌。一般生物成因煤层气中的变形菌主要以互养型的  $\beta$ -、 $\gamma$ -和  $\delta$ -变形菌为主<sup>[7]</sup>。 $\beta$ -变形菌包括好氧或兼性厌氧细菌, 这类细菌的降解能力多变, 包含无机化能营养型的种类和光合营养种类。 $\gamma$ -变形菌是一类非常大的异质类群, 一些具有脱氮和甲苯降解能力的细菌均属于  $\gamma$ -变形菌, 它们能够降解烃类化合物并以硝酸盐作为电子受体。尽管大部分  $\gamma$ -变形菌是化能异养菌, 这类菌也包括一些化能营养型菌, 它们通过氧化氢、硫或铁获得能源。 $\delta$ -变形菌包括严格厌氧的细菌, 如脱硫弧菌属 (*Desulfovibrio*)、脱硫杆菌属 (*Desulfobacter*)、脱硫球菌属 (*Desulfococcus*)、

脱硫线菌属 (*Desulfonema*) 等。硫酸盐还原细菌还能够降解萘或其他芳香烃类化合物。地杆菌属 (*Geobacter*) 的细菌可以降解芳香环烃和长链脂肪酸, 主要通过还原三价铁离子作为终端电子受体。*Geobacter metallireducens* 在基因上与互营养菌属 (*Syntrophus*) 相似, 这类细菌能够降解的有机物较为广泛并能生成甲烷。

### 1.2.2 厚壁菌门

厚壁菌门也是生物成因煤层气中主要的细菌之一, 这类细菌的细胞壁中肽聚糖含量占 50%–80%。其中, 梭菌梭状芽孢杆菌 (*Clostridia*) 是一类重要的细菌, 属于梭菌科 (*Clostridiaceae*)。例如从煤炭中发现了具有重金属还原以及氮固定功能的梭菌 (*Clostridium* BC1) 和产乙酸菌 (*Clostridium scatologenes*)<sup>[13]</sup>。一般而言, 梭菌科是一类产芽孢的厌氧细菌, 具有广泛的催化和代谢特征。梭菌梭状芽孢杆菌 (*Clostridia*) 具有降解淀粉、几丁质、木聚糖和纤维素的能力。同样, 耐热厌氧细菌 (*Thermoanaerobacterales*) 主要以嗜热的厌氧发酵细菌为主, 可以利用多种多样的碳源为底物, 并可能在煤层气形成过程中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。厚壁菌在煤的活化作用中也有重要作用, 例如 *Spormusa* 能使芳香化合物发生脱甲基作用, *Acidoaminococcus* sp. 能够将简单氨基酸作为唯一能量来源<sup>[7]</sup>。

### 1.2.3 拟杆菌门

拟杆菌门的细菌能够降解大分子物质如蛋白质、几丁质、果胶、琼脂、淀粉或纤维素等。例如, 噬细胞菌属 (*Cytophaga*) 是一类嗜常温的厌氧细菌, 能够发酵多糖生成乙酸、丙酸、琥珀酸、 $\text{H}_2$  和  $\text{CO}_2$ 。*Petrimonas* 属是一类嗜常温厌氧型发酵细菌, 可以将糖类和挥发性脂肪酸转化为乙酸、 $\text{H}_2$  和  $\text{CO}_2$ 。*Prolixibacter* 属可产生丙酸、琥珀酸和乙酸<sup>[7]</sup>。不过拟杆菌在煤层气生物成因过程中的主要功能仍然需要详细研究。

### 1.2.4 放线菌门

放线菌门的细菌是一类典型的好氧菌, 具有

降解烃类化合物的能力,但是它们在煤层气生物成因过程中厌氧降解有机质的作用仍然未知。放线菌主要存在于土壤和沉积岩地质环境中,其在有机质的生物降解方面具有重要功能。在放线菌中,放线菌目(*Actinomycetales*)和红色杆菌目(*Rubrobacterales*)的放线菌具有较强的烃类化合物降解能力。例如,戈登氏菌(*Gordonia*)、分枝杆菌(*Mycobacterium*)以及红球菌(*Rhodococcus*)能够从二苯并噻吩中移除硫,生成对苯基苯酚。基于宏基因组学的研究,在煤层气田共生水中发现大量与碳水化合物有氧代谢相关的酶基因,这表明煤炭中复杂有机质的连续降解与微生物的代谢有关联<sup>[7]</sup>。Barnhart 等<sup>[14]</sup>对美国粉河盆地煤层气井原位微生物结构进行了分析,表明在煤层中近砂岩的地方 *Aeribacillus* 是原位细菌群落中的优势种,放线菌是煤核心中的优势菌。通过鉴定煤降解过程和水文地球化学条件中的微生物有助于了解它们的习性特征,对于理解和改进原位生物成因煤层气生产具有重要意义。

## 2 不同煤阶生物成因煤层气的微生物群落结构差异

### 2.1 煤阶环境因素与煤层气微生物多样性的关系

煤层气企业在过去 20 多年里经历了快速生长期,主要得益于水平钻孔和水力压裂等开采技术的发展,使大规模开采煤层气的成本更为低廉。而大量的废弃煤层气井、煤炭资源等均是生物成因煤层气潜在可利用的资源。因此,明确不同煤阶环境中关键的微生物种类与功能,是进行微生物转化与增产煤层气研究的关键。

不同煤层的环境特征如煤阶类型、煤炭的理化性质等是影响生物成因煤层气环境微生物多样性的主要因素。煤阶代表了煤化作用中能达到的成熟度的级别,煤阶是由于深埋与温度的增加而改变的。当泥岩沉积被掩埋,随着温度和压力的增加转变成煤,其物理和化学性质发生相应的变化。煤阶

是描述煤的成熟度,可分为褐煤、亚烟煤、烟煤、无烟煤。其中,无烟煤煤层是较成熟的煤层,渗透率较低,是最好的煤层气储层。为明确煤阶与微生物群落组成及功能之间的关系,国内外研究人员开展了系列工作。Robbins 等<sup>[15]</sup>发现煤阶与微生物多样性呈显著的负相关关系,即随着煤阶成熟度的升高微生物的多样性显著下降。这种关系也与我国科研人员的结果一致。Guo 等<sup>[16]</sup>用不同煤阶的煤样进行产气模拟实验,发现生物产气量随着煤变质程度的增加而逐渐下降。邵培等<sup>[17]</sup>研究了中低煤阶煤的生物气产生特征,发现煤阶越低,生气累积量和生气速率越大。有研究发现次烟煤和高挥发烟煤比泥煤和无烟煤拥有更高的生物甲烷产量<sup>[18]</sup>。从这些研究可发现,煤的生物转化率和煤层甲烷产量随着煤阶升高而降低。

生物甲烷与煤阶之间的负相关性并不能解释生物甲烷产生的详细原因,因为煤炭的其他理化性质如孔隙结构、煤粒度、显微组分等均会影响生物甲烷的生成。煤炭的化学性质随着煤阶的增加发生改变,伴随着产生非生物甲烷和烃类气体,这会导致生物可降解成分的减少。针对煤粒度对微生物甲烷生成的影响,王爱宽等<sup>[19]</sup>以昭通盆地软褐煤为基质粉碎后进行生物成气模拟实验,结果表明褐煤粒度减小时产气量明显增大,但当褐煤粒度大于 100 目时,不会明显改变褐煤产气量。宋金星等<sup>[20]</sup>探讨了煤自身显微组分对生物甲烷生成的控制效应,发现镜质组富集煤样生物产气总量、甲烷生成量、甲烷浓度和反应液 pH 值变化幅度最高,而惰质组富集煤样最少,原煤则居中,同煤阶镜质组以及富氢、高 H/C 原子比煤种具有较高的生物甲烷产气潜力。

### 2.2 不同煤阶煤层气环境微生物群落组成与多样性

最近,利用微生物降解煤生成甲烷成为研究热点,是因为能够提高煤层气的产量,并降低煤矿环境危险。然而,关于煤阶与生物甲烷产生潜能之间

的联系仍然是目前学术界争论的话题, 有人认为低煤阶比高煤阶产生的生物煤层气量更多, 也有人认为烟煤比褐煤和亚烟煤能产生更多的生物甲烷<sup>[15]</sup>。除了煤阶之外, 其他影响次生生物成因气的潜在因素仍然未知。

为了研究不同煤阶生物成因煤层气生物强化过程中微生物群落的结构差异, 我们整理了近年来研究不同煤阶生物强化煤层气环境微生物群落结构的文献<sup>[16,21-31]</sup>, 样品包括褐煤、亚烟煤、烟煤和无烟煤, 以微生物丰度(百分比)数据进行层次聚类分析, 结果见图 1 和图 2。这些文献均基于宏基因组高通量测序技术研究细菌和古菌群落结构。

从图 1 和图 2 可以明显看出, 低阶煤与高阶煤细菌和古菌群落组成和丰度差异较大。整体而言, 细菌群落多样性远高于古菌群落。相同地区由于采集样品地理位置及时间不同, 微生物群落结构差异也较大。例如, 图 1 分析了古菌群落的差异, 沁水盆地(a 和 g)<sup>[21,27]</sup>样品采集的地理位置和时间不同, a 中甲烷细菌属(*Methanobacterium*)为优势古菌, 而 g 中优势古菌变为甲烷砾菌属(*Methanocalculus*)。

### 2.2.1 褐煤

低阶煤如褐煤等煤化程度低, 容易被微生物转化利用, 目前已有较多工作关注低阶煤生物成因煤层气中产气微生物群落多样性的研究。Wang 等<sup>[31]</sup>

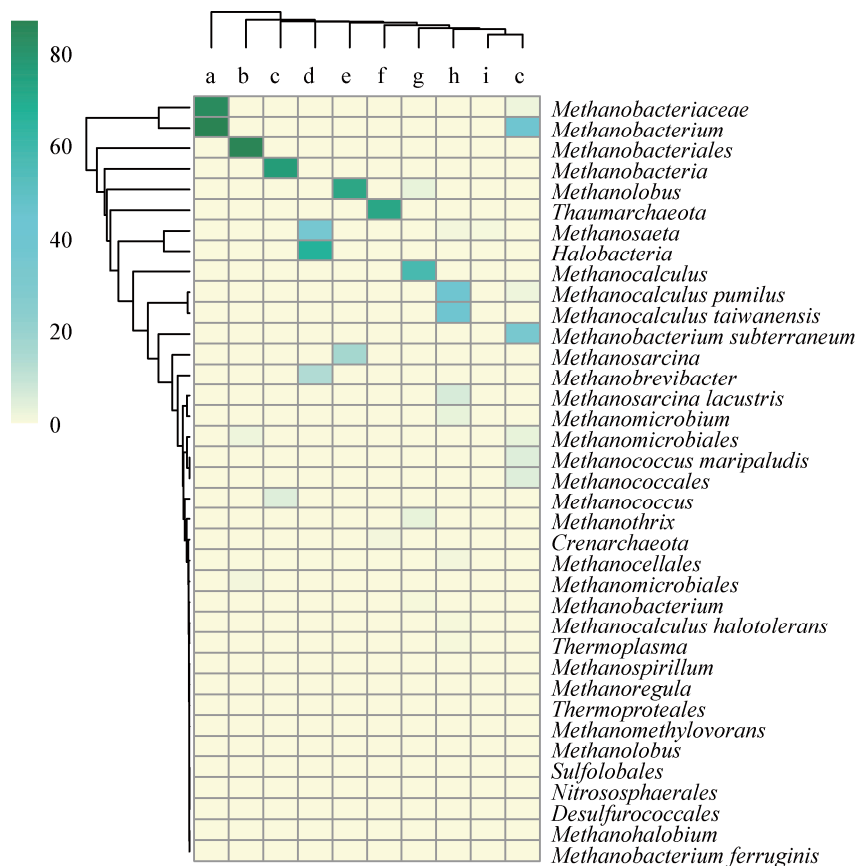


图 1 不同煤阶生物成因煤层气古菌群落结构的层次聚类分析

**Figure 1** Hierarchical cluster analysis of the composition of archaeal community in biogenic CBM with different coal ranks

注: a: 沁水盆地, 中国, 无烟煤<sup>[21]</sup>; b: 圣胡安盆地, 美国, 烟煤<sup>[22]</sup>; c: 伊利诺斯盆地, 美国, 烟煤<sup>[23-24]</sup>; d: 荆门当阳盆地, 中国<sup>[25]</sup>; e: 鄂尔多斯盆地, 中国<sup>[16]</sup>; f: 昆士兰, 澳大利亚<sup>[26]</sup>; g: 沁水盆地, 中国, 无烟煤<sup>[27]</sup>; h: 粉河盆地, 美国, 亚烟煤<sup>[28-30]</sup>; i: 义马煤矿, 中国, 褐煤<sup>[31]</sup>。

Note: a: Qinshui basin, China, anthracite<sup>[21]</sup>; b: San Juan basin, USA, bituminous coal<sup>[22]</sup>; c: Illinois basin, USA, bituminous coal<sup>[23-24]</sup>; d: Jingmen-Dangyang basin, China<sup>[25]</sup>; e: Ordos basin, China<sup>[16]</sup>; f: Queensland, China<sup>[26]</sup>; g: Qinshui basin, China, anthracite<sup>[27]</sup>; h: Powder River basin, USA, subbituminous coal<sup>[28-30]</sup>; i: Yima coal mine, China, lignite<sup>[31]</sup>。

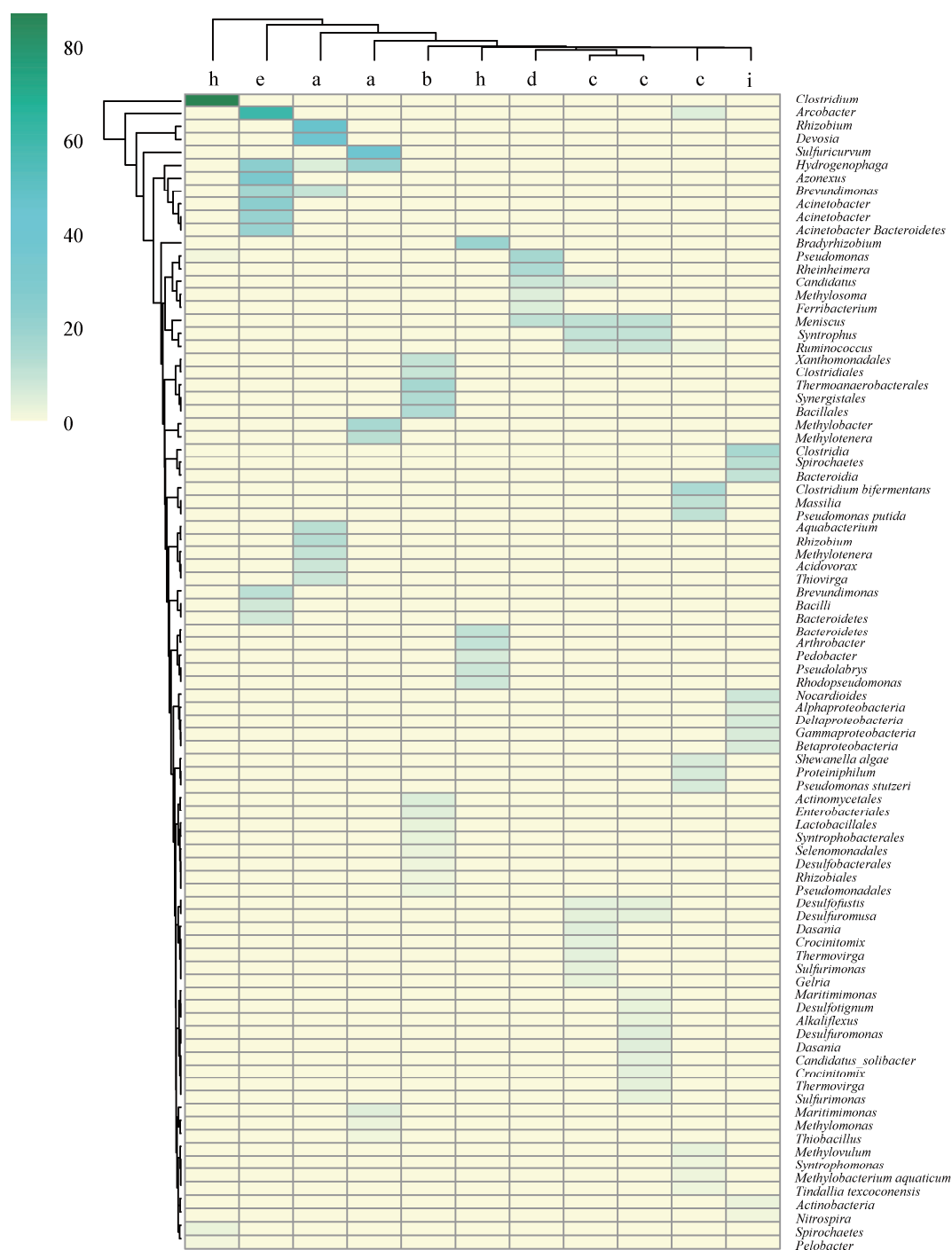


图2 不同煤阶生物成因煤层气细菌群落结构的层次聚类分析

**Figure 2 Hierarchical cluster analysis of the composition of bacterial community in biogenic CBM with different coal ranks**

注: a: 沁水盆地, 中国, 无烟煤<sup>[21]</sup>; b: 圣胡安盆地, 美国, 烟煤<sup>[22]</sup>; c: 伊利诺斯盆地, 美国, 烟煤<sup>[23-24]</sup>; d: 荆门当阳盆地, 中国<sup>[25]</sup>; e: 鄂尔多斯盆地, 中国<sup>[16]</sup>; f: 昆士兰, 澳大利亚<sup>[26]</sup>; g: 沁水盆地, 中国, 无烟煤<sup>[27]</sup>; h: 粉河盆地, 美国, 亚烟煤<sup>[28-30]</sup>; i: 义马煤矿, 中国, 褐煤<sup>[31]</sup>.

Note: a: Qinshui basin, China, anthracite<sup>[21]</sup>; b: San Juan basin, USA, bituminous coal<sup>[22]</sup>; c: Illinois basin, USA, bituminous coal<sup>[23-24]</sup>; d: Jingmen-Dangyang basin, China<sup>[25]</sup>; e: Ordos basin, China<sup>[16]</sup>; f: Queensland, China<sup>[26]</sup>; g: Qinshui basin, China, anthracite<sup>[27]</sup>; h: Powder River basin, USA, subbituminous coal<sup>[28-30]</sup>; i: Yima coal mine, China, lignite<sup>[31]</sup>.

以义马煤矿的褐煤为底物(图 1i), 通过富集培养来自污水处理厂活性污泥中的好氧细菌群落以及小型沼气反应器中的厌氧菌群, 对煤进行模拟降解产气实验。其中, 发现 10 种丰度较高的优势细菌为: 梭状芽孢杆菌纲(*Clostridia*, 15.35%)、螺旋体纲(*Spirochaetes*, 11.92%)、*Bacteroidia* (9.98%)、 $\alpha$ -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*, 7.86%)、 $\delta$ -变形菌纲(*Deltaproteobacteria*, 6.44%)、 $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*, 5.85%)、 $\beta$ -变形菌纲(*Betaproteobacteria*, 5.73%)、芽孢杆菌(*Bacilli*, 4.79%)、放线菌纲(*Actinobacteria*, 2.57%)、硝化螺菌纲(*Nitrospira*, 1.47%), 在科水平上微生物群落组成与本源微生物群落结构相似。

### 2.2.2 亚烟煤与烟煤

国外研究人员围绕几大高产生物成因煤层气的地区开展了系统微生物群落结构解析和生物增产成气实验。Raudsepp 等<sup>[32]</sup>研究了澳大利亚鲍温盆地烟煤与产甲烷菌之间的交互作用关系, 在产气初期培养基中添加烟煤并不影响乙酸营养型古菌(*Methanosarcina barkeri*)的产甲烷量, 但会轻微影响氢营养型古菌(*Methanococcus maripaludis*)的甲烷产量。以烟煤替代培养基后, 发现两种古菌均受到抑制, 可能是烟煤中的沥青和烃类化合物等成分溶解到培养液中的原因, 据此推测可能是因为地下水稀释了这些抑制成分, 并促进生物成因煤层气的生成。Iverach 等<sup>[26]</sup>对澳大利亚昆士兰东南部地下水中的甲烷成因分析发现, 地下水中没有产甲烷古菌, 可能是位于地下水层下方的煤层中甲烷上溢形成的。以圣胡安盆地长焰煤和煤层气井采出水样为菌源进行产气实验, 高通量测序发现采出水样中优势细菌为: *Thermoanaerobacterales* (16.1%)、*Synergistales* (13.9%)、*Bacillales* (13.8%)、*Xanthomonadales* (9.5%)、*Clostridiales* (8.8%)、*Actinomycetales* (5.5%)、*Enterobacteriales* (4.4%)、*Lactobacillales* (3.3%)、*Syntrophobacterales* (2.9%)、*Selenomonadales* (2.3%)、*Desulfobacterales* (1.9%)、*Rhizobiales* (1.8%)、*Pseudomonadales* (1.8%), 产甲

烷古菌以 *Methanobacteriales* (96.1%)为主<sup>[22]</sup>。Huang 等<sup>[29]</sup>从美国粉河盆地采集了亚烟煤煤样和煤层气井采出水样作为菌源, 通过实验室研究本源微生物降解不同的糖类底物如五碳糖、六碳糖等, 从水样中发现丰度较高的优势细菌包括慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*, 19.53%)、红假单胞菌属(*Rhodopseudomonas*, 8.24%)、节杆菌属(*Arthrobacter*, 10.81%)、地杆菌属(*Pedobacter*, 9.88%)、类诺卡氏菌属(*Nocardioideis*, 8.06%)、*Pseudolabrys* (6.09%), 而产甲烷古菌的丰度仅占 0.01%, 包括甲烷八叠球菌属(*Methanosarcina*)和氢营养型的 *Methanoregula*, 指出古菌多样性较低的原因可能是煤层环境中缺少适合微生物栖息的生态位。有学者从印度西部巴纳斯坎塔煤矿 4 号煤层气井中采集并富集了耐热产甲烷菌群, 以烟煤为底物, 最大甲烷产量达 22.9 mmol/g 煤, 表明原位耐热菌群可以将高阶烟煤转化为煤层气<sup>[33]</sup>。

我国科研人员也对鄂尔多斯盆地生物成因煤层气的微生物群落多样性做了详细研究, 发现煤层环境中不同位置微生物群落中优势菌的分布及丰度存在较大差异。Guo 等<sup>[16]</sup>采用 454 焦磷酸测序技术比较了鄂尔多斯盆地柳林地区的烟煤煤样、岩石样和采出水样中微生物群落组成, 发现烟煤煤样和岩石样中细菌群落结构最为相似, 甲烷叶菌(*Methanolobus*)为优势古菌, 它在水样、煤样和岩石样中丰度达 81.18%、99.84%和 99.98%。推测该地区生物成因煤层气以甲基营养型产甲烷途径为主。细菌以变形菌门为主, 但是丰度差异较大, 如水样中优势菌为弓形杆菌属(*Arcobacter*, 60.4%)和 *Azonexus* (32.61%), 但是它们在岩石样中丰度分别降至 0.01%和 0.02%; 煤样中优势细菌为短波单胞菌属(*Brevundimonas*, 17.17%)、噬氢菌属(*Hydrogenophaga*, 23.47%)和不动杆菌属(*Acinetobacter*, 19.87%), 在岩石样中仅发现短波单胞菌属(*Brevundimonas*, 11.55%)和不动杆菌属(*Acinetobacter*, 23.07%)。对鄂尔多斯盆地煤层气样中微生物群落组成分析发现, 细菌以变形杆菌为



主, 其中 *Herbaspirillum* 丰度 76%, 优势古菌为 GOM-Arc-I (99.3%)<sup>[34]</sup>。

### 2.2.3 无烟煤

在高阶煤中也发现有生物成因气存在, 其产气优势微生物与中低阶煤存在明显差异。以沁水盆地寺河地区无烟煤为研究对象, 杨秀清等<sup>[12,27]</sup>采用 Illumina 高通量测序方法对我国山西晋城沁水盆地煤层气田的产甲烷菌群结构进行了分析, 研究了煤层气采出水样及模拟发酵成气过程中细菌和古菌群落结构组成及变化。结果发现, 出水样中以氢营养型古菌——甲烷砾菌属(*Methanocalculus*)为主, 但是在以无烟煤为底物, 进行 160 L 规模发酵产煤层气的过程中, 发现古菌以乙酸营养型的甲烷八叠球菌(*Methanosarcinales*)为主。这就表明, 异位发酵模拟产气与原位煤层气的环境不同, 导致功能微生物发生变化。通过比较分析发现煤层气的微生物生成途径主要为氢营养型产甲烷途径, 表明沁水盆地不同煤层气田产甲烷菌群种差异比较大, 但生物成因气生成途径与地理位置和煤藏条件没有相关性。这一结果与 Guo 等<sup>[21]</sup>的研究结果相同, 他们对沁水盆地寺河矿区生物成因煤层气采出水样中的微生物群落结构进行了分析, 表明氢营养型产甲烷菌(*Methanobacterium*)是优势菌, 指出产甲烷途径主要是氢营养型, 并且发现真菌在煤层气生成与煤降解过程中具有重要功能, 真菌群落中以子囊菌门(*Ascomycota*)和担子菌门(*Basidiomycota*)为优势菌。

## 3 展望

近年来实验室规模和煤层气田原位微生物调控产气研究逐步揭示了微生物群落的演化规律和微生物的功能机制, 但是, 生物成因煤层气领域仍有大量关键的问题亟待解决, 如不同煤阶煤样中有机质生物降解的结构与途径, 生物甲烷形成过程中的微生物群落演化规律, 煤层气共生废水的处理, 煤层气增产工程设备等。在商业开采过程中, 生物成因煤层气的抽采速度远高于微生物再生速率, 这是煤层气产量下降的主要原因。开展微生物强化煤

层气策略研究, 为提升“煤-甲烷”的转化率和煤层气产量创造了理想的机会, 也为延长煤层气井的使用周期提供了机会。目前, 高新技术如同位素标记、宏基因组学、蛋白质组学等技术的快速发展及应用有助于揭示煤层有机物的生物降解途径和产甲烷过程中微生物群落之间的交互作用。借助煤地质微生物成气理论与技术, 深入研究利用煤地质微生物提高煤层气的采收率, 从而提高煤层气储量及煤储层产气能力, 实现不同煤阶煤层气生物转化技术的突破, 增加我国煤层气单井产量和抽采总量, 具有重要的理论和实际意义。

## REFERENCES

- [1] Ge JL, Xu HY, Zhang LL. Research status quo of biogenic coal-bed methane[J]. Journal of Microbiology, 2016, 36(4): 90-95 (in Chinese)  
葛晶丽, 徐宏英, 张灵利. 生物成因煤层气的研究现状[J]. 微生物学杂志, 2016, 36(4): 90-95
- [2] Guo HG, Yu ZS, Wei M, et al. Research progress on molecular microbial ecology associated with the formation of biogenic coal bed methane[J]. Journal of University of Chinese Academy of Sciences, 2015, 32(1): 1-8 (in Chinese)  
郭红光, 余志晟, 魏敏, 等. 生物成因煤层气形成的微生物分子生态学研究进展[J]. 中国科学院大学学报, 2015, 32(1): 1-8
- [3] Yuan WF, Cheng C, Zhao FH, et al. Progresses in research on Chinese CBM accumulation mechanism[J]. Coal Geology of China, 2013, 25(6): 24-29 (in Chinese)  
袁文峰, 程晨, 赵峰华, 等. 中国煤层气成藏机理研究进展[J]. 中国煤炭地质, 2013, 25(6): 24-29
- [4] Wang AK, Qin Y. Research status and progress of experimental study on biogenic coalbed methane[J]. Coal Geology & Exploration, 2010, 38(5): 23-27 (in Chinese)  
王爱宽, 秦勇. 生物成因煤层气实验研究现状与进展[J]. 煤田地质与勘探, 2010, 38(5): 23-27
- [5] Xu ZJ, Liu QF, Zheng QM, et al. Origins and carbon isotopic composition of coalbed methane and carbon dioxide from Taiyuan formation, Northern Qinshui basin, China[J]. Journal of China Coal Society, 2016, 41(6): 1467-1475 (in Chinese)  
徐占杰, 刘钦甫, 郑启明, 等. 沁水盆地北部太原组煤层气碳同位素特征及成因探讨[J]. 煤炭学报, 2016, 41(6): 1467-1475
- [6] Ju YW, Li QG, Yan ZF, et al. Origin types of CBM and their geochemical research progress[J]. Journal of China Coal Society, 2014, 39(5): 806-815 (in Chinese)  
据宜文, 李清光, 颜志丰, 等. 煤层气成因类型及其地球化学研究进展[J]. 煤炭学报, 2014, 39(5): 806-815
- [7] Colosimo F, Thomas R, Lloyd JR, et al. Biogenic methane in shale gas and coal bed methane: A review of current knowledge



- and gaps[J]. International Journal of Coal Geology, 2016, 165: 106-120
- [8] Guo HG, Wang F, Li ZG. Research progress of microbially enhanced coalbed methane[J]. Microbiology China, 2015, 42(3): 584-590 (in Chinese)  
郭红光, 王飞, 李治刚. 微生物增产煤层气技术研究进展[J]. 微生物学通报, 2015, 42(3): 584-590
- [9] Wawrik B, Mendivelso M, Parisi VA, et al. Field and laboratory studies on the bioconversion of coal to methane in the San Juan Basin[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 81(1): 26-42
- [10] Green MS, Flanagan KC, Gilcrease PC. Characterization of a methanogenic consortium enriched from a coalbed methane well in the Powder River Basin, U.S.A.[J]. International Journal of Coal Geology, 2008, 76(1/2): 34-45
- [11] Kirk MF, Wilson BH, Marquart KA, et al. Solute concentrations influence microbial methanogenesis in coal-bearing strata of the Cherokee Basin, USA[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 1287
- [12] Yang XQ, Wu RW, Han ZY, et al. Analysis of methanogenic community and pathway of coalbed methane fields in the Qinshui basin based on *mcrA* gene[J]. Microbiology China, 2017, 44(4): 795-806 (in Chinese)  
杨秀清, 吴瑞薇, 韩作颖, 等. 基于 *mcrA* 基因的沁水盆地煤层气田产甲烷菌群与途径分析[J]. 微生物学通报, 2017, 44(4): 795-806
- [13] Küsel K, Dorsch T, Acker G, et al. *Clostridium scatologenes* strain SL1 isolated as an acetogenic bacterium from acidic sediments[J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2000, 50(2): 537-546
- [14] Barnhart EP, Weeks EP, Jones EJP, et al. Hydrogeochemistry and coal-associated bacterial populations from a methanogenic coal bed[J]. International Journal of Coal Geology, 2016, 162: 14-26
- [15] Robbins SJ, Evans PN, Esterle JS, et al. The effect of coal rank on biogenic methane potential and microbial composition[J]. International Journal of Coal Geology, 2016, 154-155: 205-212
- [16] Guo HG, Liu RY, Yu ZS, et al. Pyrosequencing reveals the dominance of methylotrophic methanogenesis in a coal bed methane reservoir associated with Eastern Ordos Basin in China[J]. International Journal of Coal Geology, 2012, 93: 56-61
- [17] Shao P, Wang AK, Wang WF. Biogas formation features of low and medium rank coal[J]. Coal Science and Technology, 2016, 44(10): 65-69 (in Chinese)  
邵培, 王爱宽, 王文峰. 中低煤阶煤的生物气生成特征[J]. 煤炭科学技术, 2016, 44(10): 65-69
- [18] Bao Y, Huang HP, He DS, et al. Microbial enhancing coal-bed methane generation potential, constraints and mechanism—a mini-review[J]. Journal of Natural Gas Science & Engineering, 2016, 35: 68-78
- [19] Wang AK, Qin Y, Shao P. Effect characteristics of coal particle size on lignite biogas generation[J]. China Coalbed Methane, 2015, 12(3): 3-6 (in Chinese)  
王爱宽, 秦勇, 邵培. 煤粒度对褐煤生物气生成的影响特征[J]. 中国煤层气, 2015, 12(3): 3-6
- [20] Song JX, Guo HY, Chen SL, et al. Control effects of coal maceral composition on the metabolism of biogenic methane[J]. Natural Gas Industry, 2016, 36(5): 25-30 (in Chinese)  
宋金星, 郭红玉, 陈山来, 等. 煤中显微组分对生物甲烷代谢的控制效应[J]. 天然气工业, 2016, 36(5): 25-30
- [21] Guo HG, Zhang JL, Han Q, et al. Important role of fungi in the production of secondary biogenic coalbed methane in China's Southern Qinshui Basin[J]. Energy & Fuels, 2017, 31(7): 7197-7207
- [22] Bi ZT, Zhang J, Park S, et al. A formation water-based nutrient recipe for potentially increasing methane release from coal in situ[J]. Fuel, 2017, 209: 498-508
- [23] Zhang J, Liang YN, Pandey R, et al. Characterizing microbial communities dedicated for conversion of coal to methane *in situ* and *ex situ*[J]. International Journal of Coal Geology, 2015, 146: 145-154
- [24] Zhang J, Liang YN. Evaluating approaches for sustaining methane production from coal through biogasification[J]. Fuel, 2017, 202: 233-240
- [25] Wei M, Yu ZS, Jiang Z, et al. Microbial diversity and biogenic methane potential of a thermogenic-gas coal mine[J]. International Journal of Coal Geology, 2014, 134-135: 96-107
- [26] Iverach CP, Beckmann S, Cendón DI, et al. Biogeochemical constraints on the origin of methane in an alluvial aquifer: evidence for the upward migration of methane from underlying coal measures[J]. Biogeosciences, 2017, 14: 215-228
- [27] Yang XQ, Chen YM, Wu RW, et al. Potential of biogenic methane for pilot-scale fermentation *ex situ* with lump anthracite and the changes of methanogenic consortia[J]. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 2018, 45(4): 229-237
- [28] Davis KJ, Lu SP, Barnhart EP, et al. Type and amount of organic amendments affect enhanced biogenic methane production from coal and microbial community structure[J]. Fuel, 2018, 211: 600-608
- [29] Huang ZX, Sednek C, Urynowicz MA, et al. Low carbon renewable natural gas production from coalbeds and implications for carbon capture and storage[J]. Nature Communications, 2017, 8(1): 568
- [30] Gallagher LK, Glossner AW, Landkamer LL, et al. The effect of coal oxidation on methane production and microbial community structure in Powder River Basin coal[J]. International Journal of Coal Geology, 2013, 115: 71-78
- [31] Wang BY, Tai C, Wu L, et al. Methane production from lignite through the combined effects of exogenous aerobic and anaerobic microflora[J]. International Journal of Coal Geology, 2017, 173: 84-93
- [32] Raudsepp MJ, Gagen EJ, Golding SD, et al. The effect of bituminous coal on methanogenic mixed cultures and pure cultures of *Methanococcus* and *Methanosarcina*[J]. Fuel, 2017, 205: 60-70
- [33] Rath R, Priya A, Vohra M, et al. Development of a microbial process for methane generation from bituminous coal at thermophilic conditions[J]. International Journal of Coal Geology, 2015, 147-148: 25-34
- [34] Guo HG, Yu ZS, Zhang HX. Phylogenetic diversity of microbial communities associated with coalbed methane gas from Eastern Ordos Basin, China[J]. International Journal of Coal Geology, 2015, 150-151: 120-126