

产甲烷菌的生态多样性及工业应用*

傅霖 辛明秀**

(北京师范大学生命科学学院 北京 100875)

摘要 产甲烷菌是一类重要的极端环境微生物,在地球生物化学碳素循环过程中起着关键作用.目前,根据产甲烷菌的系统发育和生理生化特性可将已培养的产甲烷菌分为5大目.产甲烷菌广泛分布在海底及淡水沉积物、水稻田、动物胃肠道、地热及地矿等环境中,生态研究表明,产甲烷菌在不同的生态环境里具有不同的群落分布特点,并且受不同环境因子的影响而显示出不同的生理代谢功能.本文综述了国内外近年来产甲烷菌的分类及生态多样性研究进展,同时简述了产甲烷菌在厌氧生物处理和煤层气资源开发中的广阔应用前景.表1 参38

关键词 产甲烷菌;分类;生态多样性;厌氧生物处理;生物气化

CLC Q939.908

Ecological Diversity and Industrial Application of Methanogens*

FU Lin & XIN Mingxiu**

(College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Abstract Methanogens are important extremophiles, which play a key role in the global carbon cycle. Recently, the cultured methanogens are grouped into five orders based on their phylogeny and phenotypic properties. In addition, there are many different habitats in nature for methanogens, such as marine and freshwater sediments, rice-field soils, animal gastrointestinal tracts, mineral and geothermal environment. The ecology of methanogens indicates that the different ecological methanogenic communities have different distribution characteristics, and the metabolic functions of methanogens are affected by different environmental factors. In this paper, the current knowledge methanogens, such as their definition in taxonomy and ecological diversity is reviewed, and some suggestions related to further studies on the application of methanogens in anaerobic biotreatment and biomethanization are provided. Tab 1, Ref 38

Keywords methanogen; classification; ecological diversity; anaerobic biotreatment; biogasification

CLC Q939.908

产甲烷菌是一类严格厌氧的原核微生物,是有机物甲烷化作用中食物链的最后一组成员,其独特的厌氧代谢机制使其在自然界物质循环中起着重要作用.一方面,产甲烷菌是产生温室气体的主要因素,全球甲烷的排放量每年大约是500 t,其中74%是由产甲烷菌代谢产生的^[1];另一方面,产甲烷菌在有机质的厌氧生物处理工业应用中发挥着关键的作用,如沼气发酵、煤层气开发等.因此,对产甲烷菌的研究具有重要的理论和实践意义.随着厌氧培养技术和微生物分子生态技术的发展,更多的实验室能对产甲烷菌进行多角度的研究.这些研究揭示出产甲烷菌分类地位的多样性,展示出不同生境下产甲烷菌的生态及生理特性的差异性,同时也为产甲烷菌的实际工业应用指明了方向.

1 产甲烷菌的分类

1776年, Alessandro Volta首次发现了湖底的沉积物能产生甲烷,之后历经一个多世纪的研究,利用有机物产甲烷的厌氧微生物才大致被分为两类:一类是产氢、产乙酸菌,另一类就是产甲烷菌. W.E. Balch等在1979年报道了3个目、4个科、7个属和13个种的产甲烷微生物,他们的分类是建立在形

态学、生理学等传统分类特征以及16S rRNA寡核苷酸序列等分子特征基础上的^[2].

随着厌氧培养技术和菌种鉴定技术的不断成熟,产甲烷菌的系统分类也在不断完善.《伯杰系统细菌学手册》第9版将近年来的研究成果进行了总结和肯定,并建立了以系统发育为主的产甲烷菌最新分类系统.产甲烷菌可分为5个大目,分别是:甲烷杆菌目(Methanobacteriales)、甲烷球菌目(Methanococcales)、甲烷微菌目(Methanomicrobiales)、甲烷八叠球菌目(Methanosarcinales)和甲烷火菌目(Methanopyrales)^[3],上述5个目的产甲烷菌可继续分为10个科与31个属,它们的系统分类及主要代谢生理特性见表1.

目前研究产甲烷菌各级分类单元最有效的手段是多相分类(Polyphasic taxonomy)^[4],该方法能较为客观、全面地反映产甲烷菌各个分类单元在自然系统进化中的地位,涉及的数据包括表型类、基因型类和系统发育标记类.其中表型信息主要是指形态和生理生化性状的分析;基因信息包括分子杂交(DNA-DNA分子杂交、DNA-rRNA分子杂交等)和分子标记(RFLP、SSCP等);系统发育信息则主要是指16S rDNA的序列分析.利用全面系统的分类鉴定技术可以发现自然界中更多的产甲烷菌类群,从而丰富产甲烷菌的分类地位.

2 产甲烷菌的生态多样性

产甲烷菌属于原核生物中的古菌域,具有其它细菌如好

收稿日期: 2008-12-08 接受日期: 2009-02-18

*国家“973”项目子课题(2002CB211701)资助 Supported by the National Basic R & D Program of China (No. 2002CB211701)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: xinmingxiu@mail.bnu.edu.cn)

表1 产甲烷菌系统分类的主要类群及其生理特性^[3]
Table 1 Properties of major taxa of methanogens ^[3]

分类单元(目) Taxon (Order)	典型属 Typical genus	主要代谢底物 Major metabolic substrate	典型栖息地 Typical habitat
甲烷杆菌目 Methanobacteriales	<i>Methanobacterium</i> , <i>Methanobrevibacter</i> , <i>Methanosphaera</i> , <i>Methanothermobacter</i> , <i>Methanothermus</i>	氢气和二氧化碳, 甲酸盐, 甲醇 H ₂ and CO ₂ , formate, methanol	厌氧消化反应器, 瘤胃, 水稻土壤, 腐败木 质, 厌氧活性污泥等 Anaerobic digesters, rumen, paddy soil, decaying woody tissues, anaerobic activated sludge, etc.
甲烷球菌目 Methanococcales	<i>Methanococcus</i> , <i>Methanothermococcus</i> , <i>Methanocaldococcus</i> , <i>Methanotorris</i>	氢气和二氧化碳, 甲酸盐 H ₂ and CO ₂ , formate	海底沉积物、温泉等 Marine sediments, hot springs, etc.
甲烷微菌目 Methanomicrobiales	<i>Methanomicrobium</i> , <i>Methanoculleus</i> , <i>Methanofollis</i> , <i>Methanogenium</i> , <i>Methanolacinia</i> , <i>Methanoplanus</i> , <i>Methanospirillum</i> , <i>Methanocorpusculum</i> , <i>Methanocalculus</i>	氢气和二氧化碳, 2-丙醇, 2-丁醇, 乙酸盐, 2-丁酮 H ₂ and CO ₂ , 2- propanol, 2-butanol, acetate, 2-butanone	厌氧消化反应器、土壤、海底沉积物、温 泉、腐败木质、厌氧活性污泥等 Anaerobic digesters, soil, marine sediments, hot springs, decaying woody tissues, anaerobic activated sludge, etc.
甲烷八叠球菌目 Methanosarcinales	<i>Methanosarcina</i> , <i>Methanococcoides</i> , <i>Methanohalobium</i> , <i>Methanohalophilus</i> , <i>Methanolobus</i> , <i>Methanomethylovorans</i> , <i>Methanimicrococcus</i> , <i>Methanosalsum</i> , <i>Methanosaeta</i>	氢气和二氧化碳, 甲酸盐, 乙酸盐, 甲胺 H ₂ and CO ₂ , formate, acetate, MeNH ₂	高盐海底沉积物、厌氧消化反应器、动物胃 肠道等 Hypersaline marine sediments, anaerobic digesters, animal gastrointestinal tracts, etc.
甲烷火菌目 Methanopyrales	<i>Methanopyrus</i>	氢气和二氧化碳 H ₂ and CO ₂	海底沉积物 Marine sediments

氧菌、厌氧菌和兼性厌氧菌所不同的代谢特征。产甲烷菌的甲烷生物合成途径主要是以乙酸、H₂/CO₂、甲基化合物为原料^[5]。产甲烷菌在自然界中分布极为广泛, 在与氧气隔绝的环境几乎都有甲烷细菌生长, 如海底沉积物、河湖淤泥、水稻田以及动物的消化道等。在不同的生态环境下, 产甲烷菌的群落组成有较大的差异性, 并且其代谢方式也随着不同的微环境而体现出多样性。

2.1 海底沉积物

由于存在缺氧、高盐等极端条件, 所以在海底环境中大量产甲烷菌的富集。在已知的产甲烷菌中, 大约有1/3的类群来源于海洋这个特殊的生态区域。一般在海洋沉积物中, 利用H₂/CO₂的产甲烷菌的主要类群是甲烷球菌目(Methanococcales)和甲烷微菌目(Methanomicrobiales), 它们利用氢气或甲酸进行产能代谢。在海底沉积物的不同深度里都能发现这两类氢营养产甲烷菌, 此类产甲烷菌能从产氢微生物那里获得必需的能量。

Strapoc D等对Illinois海峡里产甲烷菌类群的分析显示出*Methanocorpusculum*是其中的优势类群, 同时研究还发现该海域里还存在有大量未培养产甲烷菌类群, 其分类地位并未明确指出。研究者通过进一步建立产甲烷微生物群落对大分子的海底沉积物煤进行生物降解的模型, 得出氢营养产甲烷菌的甲烷合成代谢是该海峡里大分子有机质的生物降解产甲烷的主要生化过程^[6]。另一些研究发现, 甲基营养产甲烷菌也是海底沉积物中甲烷产生的主要贡献者, 其主要类群有*Methanococcoides*和*Methanosarcina*, 它们所利用的甲基化合物一般来自于海底沉积物中的海洋细菌、藻类和浮游植物的代谢产物^[7]。

硫酸盐在海水中的浓度大约为20~30 mmol/L, 这种浓度对产甲烷微生物来说是一种较适宜的底物浓度。但是海洋底部还存在大量的硫酸盐还原菌, 它们和产甲烷菌相互竞争核心代谢底物, 如氢气和醋酸盐等。在美国南卡罗纳州的Cape

海底沉积物中, 氢气主要是被硫酸盐还原菌所利用, 氢气的浓度分压大约维持在0.1~0.3 Pa, 而这样的浓度已经低于海底沉积物中氢营养产甲烷菌的最低可用浓度^[8]。因此, 在硫酸盐还原菌落聚集的沉积物上层, 产甲烷菌的种类和菌落数量是相对有限的。在一些富含有机物的沉积物中, 由于随着深度的增加硫酸盐浓度降低, 因此在沉积物底部硫酸盐还原菌生长受限, 从而使得产甲烷菌成为优势菌。Kendall等研究发现二甲硫醚和三甲胺分别来源于二甲基亚砷丙酸盐和甜菜碱, 这些化合物并不能直接有效地被硫酸盐还原菌所利用, 相反却是这类菌的“非竞争性”代谢底物^[9]。正是由于此类硫酸盐还原菌的“非竞争性”底物的存在, 使得专性的甲基营养产甲烷菌才得以出现在不同深度的沉积物中。

2.2 淡水沉积物

相对于海洋的高渗环境, 淡水里的各类盐离子浓度明显要低很多, 其硫酸盐的浓度只有100~200 μmol/L。因此在淡水沉积物中, 硫酸盐还原菌将不会和产甲烷菌竞争代谢底物, 这样产甲烷菌就能大量生长繁殖。由于在淡水环境中乙酸盐的含量是相对较高的, 因而其中的乙酸盐营养产甲烷菌占了产甲烷菌菌种的70%, 而氢营养产甲烷菌只占不到30%^[10]。一般在淡水沉积物中, 产甲烷菌的主要类群是乙酸营养的甲烷丝状菌科(Methanosaetaceae), 同时还有一些氢营养的甲烷微菌科(Methanomicrobiaceae)和甲烷杆菌科(Methanobacteriaceae)的存在^[11]。

在淡水沉积物中, 不同代谢类型产甲烷菌的生态分布具有一些独特规律: 第一, 氢营养产甲烷菌在低pH淡水环境中不易生长繁殖。例如, 研究发现, 在德国东北部的Grosse Fuchskuhle湖底环境的pH小于5, 在沉积物中并没有发现氢营养产甲烷菌的存在, 而只有乙酸营养产甲烷菌的分布^[12]。因为这样偏酸的pH环境适宜耗氢产乙酸菌(Homoacetogens)的生长, 从而使得大部分CO₂转化为乙酸而非甲烷。第二, 随着淡水环境里温度的降低, 氢营养产甲烷菌和乙酸营养产甲烷菌

的生长繁殖均受到抑制^[13],这主要是由两方面的因素造成:首先,耗氢产乙酸菌的最适生长温度较低;其次,绝大多数产氢细菌在低温环境里生长受限,从而使得氢营养产甲烷菌的关键代谢底物—— H_2 供应不足.第三,在一些研究中还发现,氢营养产甲烷菌的丰度和活性会随着淡水沉积物的不同深度而发生改变.例如在德国的Dagow湖底沉积物中,由氢营养产甲烷菌产生的甲烷量在沉积物的表面是22%,而在18 cm深处则是38%^[14].第四,淡水环境中产甲烷菌类群的分布也随着季节的变化而变化. Julie Earl等用PCR-TGGE技术对已经富营养化的Priest湖泊底部的沉积物和水样进行不同季节产甲烷菌群落变化的研究,结果显示,在冬季沉积物中产甲烷菌的类型要比夏季的多,其优势菌是甲烷微菌目(Methanomicrobiales)^[15].

2.3 稻田土壤

稻田土壤是生物合成甲烷的另一个主要场所.在稻田中, O_2 、 NO_3^- 、 Fe^{3+} 和 SO_4^{2-} 被迅速消耗掉,并产生大量的 CO_2 ,为产甲烷菌的生长和繁殖创造了有利条件.甲烷的生成是其微环境主要的生化过程,光合作用固定的碳素大约有3%~6%被转化为甲烷^[16].由于稻田的氧气分压较大,并且相对干燥,所以稻田的产甲烷菌相对其它生境的产甲烷菌有较强的氧气耐受性和抗旱能力.稻田中的产甲烷菌类群主要有Methanomicrobiaceae、Methanobacteriaceae和Methanosarcinaceae,它们利用的底物一般是 H_2/CO_2 和乙酸.

研究发现稻田里产甲烷菌的生长和代谢具有一定的特殊规律性.第一,产甲烷菌的群落组成能保持相对恒定.当然也有一些例外,如氢营养产甲烷菌在发生洪水后就会占主要优势^[17].第二,稻田里的产甲烷菌的群落结构和散土里的产甲烷菌群落结构是不一样的.不可培养的水稻丛产甲烷菌群(Rice Cluster I)作为主要的稻田产甲烷菌类群,其甲烷产生主要原料主要是 H_2/CO_2 .而在其他的散土中,乙酸营养产甲烷菌是主要的类群,甲烷主要来源于乙酸^[18].造成这种差别可能是由于稻田里氧气的浓度要比散土中高,而在稻田里的氢营养产甲烷菌具有更强的氧气耐受性.第三,氢营养产甲烷菌的种群数量随着温度的升高而增大^[19].第四,生境中相对高的磷酸盐浓度对乙酸营养产甲烷菌有抑制效应.这些特有的规律有助于人们清楚地了解稻田里甲烷的产生机制,从而采取相关的措施防止水稻田里碳素的流失.

2.4 动物消化道

在动物的消化道中,由于营养物质较丰富并且具备厌氧环境,故存在类群较丰富的产甲烷菌.如在人类的肠道中,产甲烷菌的类群主要是氢营养产甲烷菌,它们利用的底物主要是 H_2/CO_2 .从人类的粪便中分离到两种产甲烷菌*Methanobrevibacter smithii*和*Methanosphaera stadtmanae*.其中*M. smithii*是人类肠道中的优势菌种,其总数在肠道厌氧菌总数中占了大约10%.而*M. stadtmanae*的菌群则相对较少,它们既能以 H_2/CO_2 为代谢底物,同时也能利用乙酸和甲醇作为碳源^[20].以上两种产甲烷菌都在其代谢的过程里都能编码一种膜黏附蛋白,这种蛋白使其能适应肠道这种较特殊的生态环境.

食草动物利用其瘤胃中的各种微生物来分解纤维素

和木质素等难分解的有机质,产生氢气、短链脂肪酸、甲烷等小分子产物.研究发现不同的反刍动物每天的甲烷产量是不同的,如成年母牛每天能产生大约200 L甲烷,而成年绵羊每日的甲烷气产生量大约是50 L.在反刍动物的瘤胃中,氢营养产甲烷菌是产甲烷菌群的优势菌,其数量的变化主要受到动物饮食结构的影响.虽然有些文献报道称*Methanobrevibacter*一般是瘤胃中的优势菌,但是一些研究者也发现其他种属的产甲烷菌在瘤胃中也会占有一定的比例.裴彩霞等对晋南牛瘤胃古菌的多样性进行16S rRNA序列分析发现,在瘤胃中存在25类属于广域古菌的未知序列,显示出瘤胃中存在大量的未知产甲烷菌^[21]. Paul NE等用PCR-TTGE技术对瘤胃中产甲烷菌进行了研究,结果显示有36个菌株分属于*M. ruminantium*、*M. smithii*等已知产甲烷菌种,其它的30个菌株则未判定分类地位^[22]. Tajima K等利用古菌引物Ar1000f/Ar1500进行克隆测序后发现,绵羊瘤胃中有*Methanobrevibacter*和*Methanomicrobium*两个属的产甲烷菌^[23],进一步证实了反刍动物瘤胃中的产甲烷菌具有类群多样性.

2.5 地热及其它地矿环境

在地热及地矿生态环境中均存在着大量能适应极端高温、高压的产甲烷菌类群.以往的研究发现大部分嗜热产甲烷菌是从温泉中分离到的. Stetter等从冰岛温泉中分离出来的甲烷栖热菌(*Methanothermus* sp.)可在温度高达97 °C的条件下生成甲烷^[24]. Deuser等对非洲基伍湖底层中甲烷的碳同位素组成进行研究后指出,这里产生的甲烷至少有80%是来自于氢营养产甲烷菌的 CO_2 还原作用^[25].多项研究显示,温泉水中地热来源的 H_2 和 CO_2 可作为产甲烷菌进行甲烷生成的底物.

除陆地温泉中存在有嗜热产甲烷菌外,在深海底热泉环境近年来也发现多种微喷口环境的产甲烷菌类群,它们不但能耐高温,而且能耐高压.例如,一种超高温甲烷菌(*Methanopyrus* sp.)是从加利福尼亚湾Guaymas盆地热液喷口环境的沉积物中分离出来的,其生存环境的水深约2 000 m(相当于20.265 MPa),水温高达110 °C^[26]. 甲烷嗜热菌(*Methanopyrus kandleri*)也是在海底火山口分离到的,它是以氢为电子供体进行化能自养生活的嗜高温菌,其生长温度可达110 °C^[27].

而在地矿环境中,由于存在有大量的有机质,其微生物资源也很丰富并极具特点.甲烷菌在地壳层的分布比较广泛,在地壳不同深度、不同微环境中,其种属及形成甲烷气的途径各异.周翥虹等报道,在柴达木盆地第四系1 701 m的岩心中仍有产甲烷菌存在,并存在产甲烷的活性^[28].张辉等指出近年来从油藏环境中分离得到的产甲烷菌主要有3类,包括氧化 H_2 还原 CO_2 产生甲烷的氢营养产甲烷菌、利用甲基化合物(依赖或不依赖 H_2 作为外源电子供体)产生甲烷的甲基营养型产甲烷菌和利用乙酸产甲烷的乙酸营养型产甲烷菌^[29].

3 产甲烷菌的工业应用

3.1 产甲烷菌在厌氧生物处理中的应用

产甲烷菌具有独特的代谢机制,能使农业有机废物、污水等环境中其它微生物降解有机物降解后产生的乙酸、甲酸、 H_2 和 CO_2 等转换为甲烷,既可生产清洁能源,又可实现污

水中污染物减量化;同时,其代谢产物对病原菌和虫卵具有抑制和杀伤作用,可实现农业生产、生活污水无害化。因此,产甲烷菌及其厌氧生物处理工艺技术在工农业有机废水和城镇生活污水处理方面具有广阔的应用前景。厌氧生物处理生成甲烷一般需要3类微生物的共同作用,而最后一步由产甲烷菌微生物完成的甲烷生成则是限速步骤。高活性的产甲烷菌是高效率的厌氧消化反应的保证,同时也可以避免积累氢气和短链脂肪酸。当然,这一限速步骤也容易受到菌体活性、pH和化学抑制剂等多种因素的影响。

在厌氧消化反应器中目前研究较多的是 *Methanosaeta* 和 *Methanosarcina* 这两种乙酸营养产甲烷菌。*Methanosaeta* 具有较低的生长速率和较高的乙酸转化率;而 *Methanosarcina* 具有相对高的生长速率和低的乙酸转化率。这两种类群数量不仅受控于作为底物的乙酸的浓度,也受控于其他营养物的浓度^[30]。在工业应用中, *Methanosaeta* 在高进液量、快流动性的反应器(如UASB)中使用广泛,可能与它们具有较高的吸附能力和颗粒化能力有关。而 *Methanosarcina* 对于液体流动则很敏感,所以主要用于固定和搅动的罐反应器。温度和pH是影响厌氧反应器效率的两个重要参数。对于温度而言,一般的中温条件有助于厌氧反应的进行并同时减少滞留时间。在高温厌氧消化器中常见的氢营养产甲烷菌主要是甲烷微菌目(*Methanomicrobiales*)和甲烷杆菌目(*Methanobacteriales*),它们的厌氧消化能力一般是随着温度的升高而增强,但过高的温度会使其受到抑制^[31]。因此为保证厌氧消化的顺利进行,一般需要选择合适的温度。对于pH来说,大多数产甲烷菌的最适生长pH是中性略偏碱性,但一般增大进料速率会导致脂肪酸浓度的增大,从而导致pH降低,因此耐酸的产甲烷菌可以提高厌氧反应器的稳定性。Savant等从酸性厌氧消化反应器中分离到一株产甲烷菌(*Methanobrevibacter acididurans*),其最适pH略偏酸性^[32],向厌氧消化反应器加入该产甲烷菌可以有效增加甲烷的产生量,减少脂肪酸的积累。

3.2 产甲烷菌在煤层气开发中的应用

生物成因煤层气是在较低的温度条件下,有机质通过各种不同类群细菌的参与或作用,在煤层中生成的以甲烷为主的气体。产甲烷菌对煤层气的形成起着重要的作用,目前已发现产甲烷菌有低温型、中温型和嗜热型。生物成因煤层的形成方式主要有两种:一种是由CO₂还原而成;另一种由甲基类发酵而成,这两种作用一般都是在近地表环境的浅层煤层中进行的。地表深处煤层中生成大量生物成因气的有利条件是:大量有机质的快速沉积、充裕的孔隙空间、低温,以及高pH值的缺氧环境。

近年的煤层气勘探开发研究中,主要从热成气角度考虑煤层甲烷的形成,而煤被产甲烷菌等厌氧菌降解生成次生物气一直是人们所关心的问题。Smith JW等测定了澳大利亚悉尼盆地二叠系烟煤中煤层气的组成和同位素组成,提出了这两个盆地煤层气的生成机理主要是生物成因^[33]。Ahmed M等从有机地球化学角度研究了上述两盆地二叠系煤岩中有机物质的生物降解作用,进一步论证了产甲烷菌在煤层甲烷形成过程的重要作用^[34]。Kotarba MJ用地球化学方法研究了波兰Silesian和Lublin盆地晚石炭世含煤地层煤层气的组分和同

位素组成^[35],经综合测试分析得出这两个含煤地层煤层气主要为产甲烷菌经CO₂还原途径生成的次生物成因气。美国地质研究中心的Elizabeth JP等对煤层甲烷产生的过程中产甲烷菌群的生理活性和煤降解的过程作了相关分析,研究得出在产甲烷菌混合菌群的作用下煤样会发生降解产气。研究还建立了与之相适应的生物检测法,对煤的微生物降解产甲烷进行了定量的研究^[36]。

近年来使用产甲烷菌群开发煤层气资源,主要使用两种方式:一种方式是直接从环境中筛选驯化高效的厌氧菌群,将其接入难以开采的煤层中,在天然地质条件下利用微生物厌氧发酵开发次生煤层甲烷。如Volkwein JC等发明了一系列厌氧菌制剂(包含有产甲烷菌),能直接应用于难于开采的煤矿中,在天然的条件下降解其中的煤等高分子有机物产生清洁的甲烷生物气^[37]。这一技术被称为地质生物反应器(Geobioreactor),其主要工作原理就是在天然的地质条件下通过接入相关的微生物制剂,利用原始环境的条件作为反应器来进行生物气开发或者矿区环境修复等。另一种方式是通过设计合适的厌氧生物反应器,在实验室的条件下利用产甲烷菌等厌氧菌降解煤产生清洁能源。如Kohr WJ等^[38]设计出包含矿物的破碎、预处理和生物催化等多个流程点的生物催化反应体系,利用产甲烷菌群作为主要的生物催化剂进行煤的生物转化,研究取得了明显的效果,并获得了相关专利。产甲烷菌群在煤的生物转化中起着重要的作用,然而要使其能投入工业应用还需要解决转化效率低、反应时间长、培养成本高等限制性问题的。

4 结语

产甲烷菌在自然界中的种类和生态类群是相当丰富的,随着厌氧培养技术和分子生物学技术的不断发展,人们对产甲烷菌这一独特类群的研究将更加细致和全面。产甲烷菌由于具有独特的代谢机制,所以必将在环境和能源工业领域发挥重要的作用。今后对产甲烷菌的研究可以主要集中在以下3个方面:首先可以通过改进极端环境微生物分类鉴定技术,发现更多产甲烷菌的类群;其次,对产甲烷菌特征基因及其与代谢的关系进行更加细致的研究;最后,对产甲烷菌群与其它微生物的协同消化有机物的代谢进行研究,为环境的生物治理和生物能源的开发提供理论依据。

References

- 1 Lowe DC. Global change: A green source of surprise. *Nature*, 2006, **439** (7073): 148~149
- 2 Balch WE, Fox GE, Magrum LJ, Woese CR, Wolfe RS. Methanogens: Reevaluation of a unique biological group. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1979, **43** (2): 260~296
- 3 Liu YC, William BW. Metabolic, phylogenetic, and ecological diversity of the methanogenic Archaea. *Ann NY Acad Sci*, 2008, **1125**: 171~189
- 4 Wong JT, Chen JH, Mat WK, Ng SK, Xue H. Polyphasic evidence delineating the root of life and roots of biological domains. *Gene*, 2007, **403** (1): 39~52
- 5 Shan LW (单丽伟), Feng GY (冯贵颖), Fan SH (范三红). Progress in genome and methanogenesis of methanogens. *J Microbiol* (微生物学杂志), 2003, **23** (6): 42~46

- 6 Strapoc D, Picardal FW, Turich C, Schaperdorth I, Macalady JL, Lipp JS, Lin YS, Ertefai TF, Schubotz F, Hinrichs KU, Mastalerz M, Schimmelmann A. Methane-producing microbial community in a coal bed of the Illinois Basin. *Appl Environ Microbiol*, 2008, **74** (8): 2424~2432
- 7 Lyimo TJ, Pol A, Camp HJM, Harhangi HR, Vogels GD. *Methanosarcina semesiae* sp. nov., a dimethylsulfide-utilizing methanogen from mangrove sediment. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2000, **50** (1): 171~178
- 8 Hoehler TM, Alperin MJ, Albert DB, Martens CS. Apparent minimum free energy requirements for methanogenic Archaea and sulfate-reducing bacteria in an anoxic marine sediment. *Microbiol Ecol*, 2001, **38** (1): 33~41
- 9 Kendall MM, Wardlaw GD, Tang CF, Bonin AS, Liu YT, Valentine DL. Diversity of Archaea in marine sediments from Skan Bay, Alaska, including cultivated methanogens, and description of *Methanogenium boonei* sp. nov. *Appl Environ Microbiol*, 2007, **73** (2): 407~414
- 10 Conrad R. Contribution of hydrogen to methane production and control of hydrogen concentrations in methanogenic soils and sediments. *FEMS Microbiol Ecol*, 1999, **28** (3): 193~202
- 11 Briéa C, Moreiraa D, Purificación. Archaeal and bacterial community composition of sediment and plankton from a suboxic freshwater pond. *Res Microbiol*, 2007, **158** (3): 213~227
- 12 Casper P, Chim CO, Furtado AL, Adam DD. Methane in an acidic bog lake: The influence of peat in the catchment on the biogeochemistry of methane. *Aquat Sci - Res Across Boundaries*, 2003, **65** (1): 36~46
- 13 Glissman K, Chin KJ, Casper P, Conrad R. Methanogenic pathway and archaeal community structure in the sediment of eutrophic Lake Dagow: Effect of temperature. *Microbiol Ecol*, 2004, **48** (3): 389~399
- 14 Chan OC, Claus P, Casper P, Ulrich A, Lueders T, Conrad R. Vertical distribution of structure and function of the methanogenic archaeal community in Lake Dagow sediment. *Environ Microbiol*, 2005, **7** (8): 1139~1149
- 15 Earl J, Pickup R, Ritchie D, Edwards C. Development of temporal temperature gradient electrophoresis for characterizing methanogen diversity. *Microbiol Ecol*, 2005, **50** (3): 327~336
- 16 Yue J (岳进), Huang GH (黄国宏), Liang W (梁巍), Jiao ZH (焦志华), Liang ZB (梁战备), Wang CR (王琛瑞), Shi Y (史奕). Relationship between CH₄ and N₂O emissions and related microorganism populations in paddy soil under different water management regimes. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 2003, **14** (12): 2273~2277
- 17 Lueders T, Friedrich M. Archaeal population dynamics during sequential reduction processes in rice field soil. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66** (7): 2732~2742
- 18 Lu YH, Lueders T, Friedrich MW, Conrad R. Detecting active methanogenic populations on rice roots using stable isotope probing. *Environ Microbiol*, 2005, **7** (3): 326~336
- 19 Fey A, Chin KJ, Conrad R. Thermophilic methanogens in rice field soil. *Environ Microbiol*, 2001, **3** (5): 295~303
- 20 Eckburg PB, Bik EM, Bernstein CN, Purdom E, Dethlefsen L, Sargent M, Gill SR, Nelson KE, Relman DA. Diversity of the human intestinal microbial flora. *Science*, 2005, **308** (5728): 1635~1638
- 21 Pei CX (裴彩霞), Mao SY (毛胜勇), Zhu WY (朱伟云). Molecular diversity of rumen Archaea from Jinnan cattle. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2008, **48** (1): 8~14
- 22 Nicholson M, Evans P, Joblin K. Analysis of methanogen diversity in the rumen using temporal temperature gradient gel electrophoresis: identification of uncultured methanogens. *Microbiol Ecol*, 2007, **54** (1): 141~150
- 23 Tajima K, Nagamine T, Matsui H, Nakamura M, Aminov RI. Phylogenetic analysis of archaeal 16S rRNA libraries from the rumen suggests the existence of a novel group of archaea not associated with known methanogens. *Microbiol Lett*, 2001, **200** (1): 67~72
- 24 Wagner ID, Wiegel J. Diversity of Thermophilic Anaerobes. *Ann NY Acad Sci*, 2008, **1125**: 1~43
- 25 Deuser WG, Degens ET, Harvey GR, Rubin M. Methane in Lake Kivu: New data bearing on its origin. *Science*, 1973, **181** (4094): 51~54
- 26 Rivera MC, Lake JA. The phylogeny of *Methanopyrus kandleri*. *Int J Syst Bacteriol*, 1996, **46** (1): 348~351
- 27 Kurr M, Huber R, König H, Jannasch HW, Fricke H, Trincone A, Kristjansson JK, Stetter KO. *Methanopyrus kandleri*, gen. and sp. nov. represents a novel group of hyperthermophilic methanogens, growing at 110 °C. *Arch Microbiol*, 1991, **156** (4): 239~247
- 28 Zhou ZH (周翥虹), Zhou RN (周瑞年). Geochemical properties of source material sand biogas prospects of the quaternary gas in east of Qaidam basin. *Petroleum Exploration & Dev* (石油勘探与开发), 1994, **21** (2): 30~36
- 29 Cheng L (承磊), Qiu TL (仇天雷), Deng Y (邓宇), Zhang H (张辉). Recent advances in anaerobic microbiology of petroleum reservoirs. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2006, **12** (5): 740~744
- 30 Aiyuk S, Forrez I, Lieven DK, van HA, Verstraete W. Anaerobic and complementary treatment of domestic sewage in regions with hot climates - A review. *Bioresour Technol*, 2006, **97** (17): 2225~2241
- 31 Bhunia P, Ghangrekar MM. Influence of biogas-induced mixing on granulation in UASB reactors. *Biochem Engin J*, 2008, **41** (2): 136~141
- 32 Savant DV, Shouche YS, Prakash S, Ranade DR. *Methanobrevibacter acididurans* sp. nov., a novel methanogen from a sour anaerobic digester. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2002, **52** (4): 1081~1087
- 33 Faiz M, Hendry P. Significance of microbial activity in Australian coal bed methane reservoirs - A review. *Bull Can Petroleum Geol*, 2006, **54** (3): 261~272
- 34 Ahmed M, Smith JW. Biogenic methane generation in the degradation of eastern Australian Permian coals. *Org Geochem*, 2001, **32** (6): 809~816
- 35 Kotarba MJ. Composition and origin of coalbed gases in the Upper Silesian and Lublin basins, Poland. *Org Geochem*, 2001, **32** (1): 163~180
- 36 Jones EJP, Voytek MA, Warwick PD, Corum MD, Cohn A, Bunnell JE, Clark AC, Orem WH. Bioassay for estimating the biogenic methane-generating potential of coal samples. *Intern J Coal Geol*, 2008, **76** (2): 138~150
- 37 Volkwein JC. Method for in situ biological conversion of coal to methane. US Patent, 5424196, 1995-06-13
- 38 Kohr WJ. Method and bioreactor for producing sunfuel from carbonaceous materia. US Patent, 20060223154A1, 2006-10-05