



## 生物竞争排斥对油藏微生物群落结构变化影响

王大威<sup>1,2\*</sup>, 张世仑<sup>1,2</sup>, 靖波<sup>1,2</sup>, 张健<sup>1,2</sup>, 杜君<sup>1,3</sup>

1 海洋石油高效开发国家重点实验室, 北京 100028

2 中海油研究总院有限责任公司, 北京 100028

3 中海石油(中国)有限公司天津分公司, 天津 300452

王大威, 张世仑, 靖波, 张健, 杜君. 生物竞争排斥对油藏微生物群落结构变化影响. 微生物学报, 2022, 62(6): 2299–2310.

Wang Dawei, Zhang Shilun, Jing Bo, Zhang Jian, Du Jun. Influence of competitive exclusion on the change of reservoir microbial community structure. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2299–2310.

**摘要:**【目的】海上 S 油田采用生物竞争排斥技术治理油藏硫化氢产出取得一定成效, 本研究通过揭示该技术对油藏环境中微生物群落结构的影响, 尝试研究硫化氢治理过程中产生效果差异的因素。【方法】采用高通量测序分析等方法对加入硝酸盐、亚硝酸盐等药剂后, 治理效果低效井、高效井及未治理井中不同微生物群落结构变化进行分析。【结果】与低效井和未治理井相比, 高效井中的反硝化菌和石油降解菌种类和丰度明显增加, 其中石油降解菌增加 24.14%, 反硝化细菌增加 5.23%;  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  等离子存在对不同井间治理效果差异和微生物群落变化具有一定影响。【结论】海上油田硫化氢治理中, 生物竞争排斥技术不仅可以明显降低硫化氢产出, 同时对油藏微生物群落环境也影响显著, 微生物群落结构分析可作为硫化氢治理效果评价的重要指标, 为海上油田硫化氢治理工作提供技术支持。

**关键词:** 生物竞争排斥技术; 微生物群落结构; 硫化氢治理; 高通量测序

**基金项目:** 国家科技重大专项(2016ZX05025003)

Supported by the National Science and Technology Major Project of China (2016ZX05025003)

\*Corresponding author. E-mail: wangdw3@cnooc.com.cn

Received: 21 March 2022; Revised: 17 May 2022; Published online: 6 June 2022

# Influence of competitive exclusion on the change of reservoir microbial community structure

WANG Dawei<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Shilun<sup>1,2</sup>, JING Bo<sup>1,2</sup>, ZHANG Jian<sup>1,2</sup>, DU Jun<sup>1,3</sup>

1 State Key Laboratory of Offshore Oil Exploitation, Beijing 100028, China

2 China National Offshore Oil Corporation (CNOOC) Research Institute, Beijing 100028, China

3 Tianjin Branch of China National Offshore Oil Corporation (CNOOC), Tianjin 300452, China

**Abstract:** [Objective] The competitive exclusion principle has been adopted to treat the production of hydrogen sulfide in offshore S oilfield, and some achievements have been made. The study aimed to reveal the influence of competitive exclusion on reservoir microbial community structure and to investigate the factors producing differences in hydrogen sulfide treatment. [Methods] High-throughput sequencing was used to analyze the changes of different microbial community structures in low-effective wells, high-effective wells and untreated wells after the addition of nitrate and nitrite. [Results] Compared with the conditions in low-effective wells and untreated wells, the species and abundance of denitrifying bacteria and oil-degrading bacteria in high-effective wells increased by 5.23% and 24.14%, respectively. Moreover, metal ions such as Fe<sup>2+</sup> and Zn<sup>2+</sup> were found to influence the treatment effects among different wells and the changes of microbial communities. [Conclusion] In offshore oilfields, competitive exclusion could significantly reduce the production of hydrogen sulfide, and impact the microbial community environment of the reservoir. Analysis of the microbial community structure could be used as an important indicator for evaluating the effect of hydrogen sulfide treatment, which provided technical support for treating hydrogen sulfide in offshore oilfields.

**Keywords:** competitive exclusion principle; microbial community structure; hydrogen sulfide treatment; high-throughput sequencing

因水资源有限, 部分海上油田采用回注污水和掺注海水方式进行注水开发, 海上 S 油田 A 平台投产时间长, 注水作业时间长, 注水方式复杂, 注水来源有水源井水、中心处理平台 (central equipment platform, CEP) 处理污水、海水等, 造成硫化氢浓度采出浓度高、管柱腐蚀、硫化亚铁垢沉积等问题, 严重影响现场生产。一般认为油气藏中的 H<sub>2</sub>S 主要来源为: 硫化物的细菌还原 (bacterial sulfate reduction, BSR)、有机硫化物的热裂解 (thermal decomposition of sulfate, TDS) 和硫酸盐热化学还原 (thermochemical sulfate reduction, TSR)<sup>[1]</sup>。据研究发现, 中低温 (45–80 °C) 注水油田硫化氢主

要来自于硫化物的细菌还原, 其油藏内一般都含有大量的硫化氢产生菌 (hydrogen sulfide production microbe, SPM), SPM 的存在不仅会对系统造成污染, 也会随注水一起进入到地层, 引起 SPM 在地层的滋生繁殖, 生成硫化氢。汪卫东对胜利油田油藏微生物群落进行分子生物学分析, 在 3 个油藏检测到 3 个属的常温硫酸盐还原菌 (*Desulfitobacterium*、*Desulfosporosinus* 和 *Desulfotomaculum*) 及 2 个属的高温硫酸盐还原菌 (*Thermodesulfobacterium* 和 *Thermodesulfovibrio*)<sup>[2]</sup>。杨帆等对江苏油田陈 2 区块硫酸盐还原菌多样性分析发现, 油藏内存在 *Desulfitobacterium*、*Desulfovibrio vulgaris*、*Archaeoglobus fulgidus*

等多种与硫化氢产生相关的微生物<sup>[3]</sup>。

A 平台作为中低温油藏(65 °C), 对水源井水、CEP 来水多次检测后, 发现其中均含有一定量的硫酸盐还原菌( $10^5$ – $10^6$  个/mL)。对平台单井及生产过程中硫化氢含量的检测得出, 47 口生产井中, 硫化氢含量超过 20 g/m<sup>3</sup> 的有 30 口, 受污染的比例约为 64%。针对这一问题, 平台采用生物竞争排斥技术(biocompetitive exclusion, BCX)进行硫化氢产出治理, 该技术原理是向油藏内注入硝酸盐/亚硝酸盐等成分, 取代硫酸盐成为电子受体, 促使油藏中的硝酸盐还原菌迅速生长扩散, 并与硫酸盐还原菌竞争生存空间和基质, 因此可阻止硫酸盐还原菌获得所需要的营养物, 从而控制硫酸盐还原菌的代谢活性, 降低硫化氢的产生<sup>[4]</sup>。

经生物竞争排斥技术治理后, A 平台各采出井硫化氢浓度明显下降, 从治理前最高 1 000 g/m<sup>3</sup> 降低到大部分单井低于 20 g/m<sup>3</sup>, 同时硫酸盐还原菌浓度降至  $10^2$  个/mL, 硝酸盐还原菌浓度超过  $10^6$  个/mL, 说明生物竞争抑制取得明显效果。但治理效果也存在差异, 个别井硫化氢含量高于 20 g/m<sup>3</sup>, 目前尚不能确定造成不同井间硫化氢治

理效果差异的原因, 从而影响注入药剂体系及工艺的调整, 阻碍该技术效果提升和推广应用。本研究采用分子生物学技术, 针对治理中出现的低效治理井(硫化氢产出浓度>20 g/m<sup>3</sup>)、高效治理井(硫化氢产出浓度<20 g/m<sup>3</sup>)及未治理井(未加药井)中不同细菌群落分布变化进行分析, 尝试研究治理过程中因微生物原因造成的产生效果差异, 将微生物群落结构变化作为一种评价手段, 为今后现场药剂效果评价及注入工艺调整提供必要的技术支持。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 水样

未治理井组(K01)、低效治理井组(A03/A20)、高效治理井组(A25/A26)地层水取自海上 S 油田 A 平台, 水质见表 1。

#### 1.1.2 试剂和设备

Axygen 细菌基因组小提试剂盒(Axygen 公司), Postgate 培养基(华威锐科), 酵母提取物(天津利发隆化工技术公司), 亚硝酸钠、巯基乙酸钠、六水氯化镁、硫酸钠、氯化钙(天津市江天化工技术股份有限公司), 氯化铵(天津市

表 1 采出液离子色谱分析结果

Table 1 Ion chromatographic analysis results of produced liquid

Ion	K01/(μg/mL)	A03/A20/(μg/mL)	A25/A26/(μg/mL)	Ion	K01/(μg/mL)	A03/A20/(μg/mL)	A25/A26/(μg/mL)
As <sup>3+</sup>	0.077	0.072	0.053	Ni <sup>2+</sup>	0.009	0.010	0.006
Li <sup>+</sup>	1.55	1.43	1.70	V <sup>3+</sup>	0.015	0.018	0.016
Fe <sup>2+</sup>	0.027	0.025	0.041	K <sup>+</sup>	55.5	74.4	49.2
B <sup>3+</sup>	6.47	5.57	6.10	Na <sup>+</sup>	2 320	2 390	2 380
Mn <sup>2+</sup>	0.004	0.020	0.012	Ca <sup>2+</sup>	52.4	87.2	98.0
Al <sup>3+</sup>	0.009	0.012	0.009	Mg <sup>2+</sup>	28.3	40.0	39.2
Sn <sup>2+</sup>	0.076	0.069	0.048	Cl <sup>-</sup>	3 560	3 720	3 970
Zn <sup>2+</sup>	0.005	0.017	0.005	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	70.14	96.6	101.6
NO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	0.33	0.54	0.48	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.05	0.12	0.08

河东区广达服务部), 正己烷、角鲨烷(天津市康科德科技有限公司), 硫化钠(天津市杰尔正化工贸易有限公司), 硝酸钠(天津市化学试剂供销公司)。

台式离心机(Eppendorf 公司), 荧光定量 PCR 仪(iQTM5, Bio-Rad 公司), 台式高速冷冻离心机(SIGMA 公司), Agilent 8860 气相色谱仪(安捷伦科技(中国)有限公司)、电子分析天平(北京赛多利斯仪器系统公司), SpectroDirect 分光光度计(罗威邦公司), 生物样品均质仪 Bioprep-24(杭州奥盛仪器有限公司)。

## 1.2 现场采样

取 25 L 干净塑料桶用医用酒精洗 2–3 遍, 备用; 根据井口压力选择性接上高(低)压取样器, 打开取样阀, 让采出液流出 5–10 min 并冲洗塑料桶 2–3 遍; 将采出液灌满塑料桶, 拧紧盖子密闭常温保存; 样品采集后尽快运送至实验室进行样品预处理。

## 1.3 基因组 DNA 提取

将离心后得到的沉淀进行 DNA 提取, 提取方法参见 Axygen 细菌基因组小提试剂盒说明书; 提取后得到的洗脱液使用 Biodrop 超微量蛋白核酸分析仪进行 DNA 浓度检测, 对质检合格的 DNA 样品进行高通量测序。

## 1.4 高通量测序分析

使用通用引物 515F (5'-GTGYCAGCMGC CGCGTAA-3')和 926R (5'-CCGYCAATTYMT TTRAGTTT-3')对 3 组(未治理井、低效治理井、高效治理井)样品 DNA 进行细菌 16S rRNA 基因 PCR 扩增<sup>[5]</sup>, PCR 反应体系(2×Taq PCR Master Mix 10 μL, ddH<sub>2</sub>O 12 μL, 正、反向引物各 1 μL, DNA 1 μL), PCR 反应程序(94 °C 4 min; 94 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 5 min)。使用 Illumina HiSeq 测序平台进行测序。

测序得到的 PE reads 首先根据 overlap 关系进行拼接。通过 Quantitative Insights Into Microbial Ecology (<http://qiime.org/1.4.0/index.html>)软件对低质量的数据进行过滤。根据 barcode 序列将序列按照样品来源进行分拣, 对每个样品的序列数目进行统计。对序列进行归类操作(cluster), 将序列按照彼此的相似性分归为许多小组, 1 个小组即 1 个 OTU。根据指定的相似度(97%), 对所有序列进行 OTU 划分并进行生物信息统计分析。将每一条优质序列都与 SILVA 数据库(<https://arb-silva.de/>)进行比对, 找出其最相近且可信度达 80%以上的种属信息。之后, 将每一个 OTU 中的所有序列进行类比, 找出同一 OTU 中的不同序列的最近祖先的种属信息。

## 2 结果与分析

### 2.1 细菌的物种组成分析

实验测序结果比对到属, 可看出假单胞菌属(*Pseudomonas*)在 3 个样本中均占比靠前, 在低效治理井(Low)与未治理井(Non)样本中占绝大部分(图 1)。高效治理井(High)样本物种丰富度更高, *Pseudomonas* 占比仅为 23.74%, 其次为 *Marinobacter* (17.41%)与 *Halomonas* (6.73%); 低效治理井(Low)样本中 *Pseudomonas* 占比达 80.86%, 其次为 *Thauera* (11.24%)和 *Halomonas* (3.71%); 未治理井(Non)样本中 *Pseudomonas* 占比达 67.92%, 其次为 *Delftia* (24.62%)和 *Thauera* (2.99%)。

具体表现在门的水平上, 变形菌门在 3 个油藏样品中均占绝对优势, 在属水平上, 油藏样本中均含假单胞菌属(*Pseudomonas*)、陶厄氏菌属(*Thauera*)和不动杆菌属(*Acinetobacter*)。在高效治理井(High)中, 由于硝酸盐的加入, 有效的激活了油藏中的多种微生物类群, 增加了油

藏中微生物细菌群落的多样性。其中海杆菌属 (*Marinobacter*) 属于专性解烃菌 (obligate hydrocarbonoclastic bacteria, OHCB), 这种菌本身在海洋环境中丰度很低或者很难检测到, 但在海上溢油发生后其可迅速增长, 并以石油组分为唯一碳源和能源生长<sup>[6-7]</sup>, 具有较强的石油烃降解能力<sup>[8]</sup>; 嗜盐菌属 (*Halomonas*) 是一种极端环境微生物, 特别在盐度较高的油藏中, 可取代耐盐性较差的细菌来发挥原油降解作用, 同时也可处理废水中的氨氮<sup>[9-11]</sup>; 陶厄氏菌 (*Thauera*) 是一种常见的反硝化细菌, 可利用硝酸盐作为电子受体, 以乙酸盐和硫化物作为电子供体进行生长代谢, 已有的研究显示 *Thauera* 属的物种是污水处理系统中最活跃的一类反硝化细菌, 并能够降解酚类化合物<sup>[12-14]</sup>; 肠杆菌属 (*Enterobacter*) 可以产生生物表面活性剂并对石油烃产生乳化作用, 从而提高石油烃的生物降解性, 同时有报道称 *Enterobacter* 菌株可使聚合物表面结构发生变化, 降解侧链, 使聚丙烯酰胺溶液黏度下降<sup>[15-16]</sup>; 短波单胞菌属 (*Brevundimonas*) 具有降解有毒有害污染物的作用, 如 *Brevundimonas*

*diminuta* MG 可产生对硫磷水解酶, 也是对硫磷降解菌中研究最多的菌株<sup>[17]</sup>。

对比 3 个样本(图 2), 可看出高效治理井(High)样本相较于其他 2 个样本具有一些独特物种, 如热单胞菌属 (*Thermomonas*)、黄单胞菌属 (*Xanthomonadaceae*)、玫瑰变色菌属 (*Roseovarius*) 等, 这些细菌的存在也说明抑制剂的加入有效地激活了某些有助于抑制硫酸盐还原菌及 H<sub>2</sub>S 产生的菌属。Mergaert 等在厌氧反硝化反应器内分离出热单胞杆菌 (*Thermomonas*), 发现其在 50 °C 下都有较好的反硝化特性<sup>[18]</sup>; Cho 等发现黄单胞菌属 (*Xanthomonadaceae*) 在好氧的条件下可将 H<sub>2</sub>S 氧化为硫酸, 降低环境中 H<sub>2</sub>S 浓度<sup>[19]</sup>; 卜魁勇等在废水处理站中发现 *Roseovarius*, 推测其与多环芳烃降解有关且属于反硝化细菌, 可能参与生物氧化池的除油以及反硝化过程<sup>[20]</sup>。未治理井(Non)样本中, *Delftia* 和 *Chryseobacterium* 丰度较高, *unclassified\_f\_Burkholderiaceae* 丰度较低; 低效治理井(Low)样本中, *Thermodesulfurhabdus* 和 *Thauera* 丰度较高, 代尔夫特菌属 (*Delftia*)、*Pannonibacter* 和 *Chryseobacterium* 丰度较低。

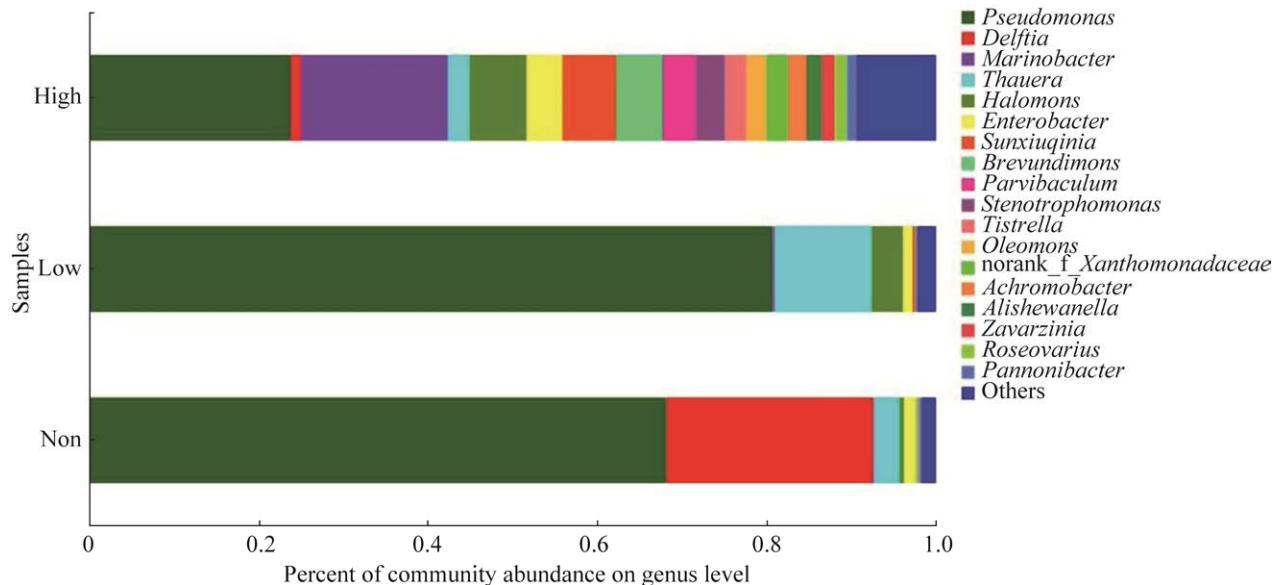


图 1 采出液细菌物种组成柱状图

Figure 1 Bar graph of bacterial species composition in produced fluid.

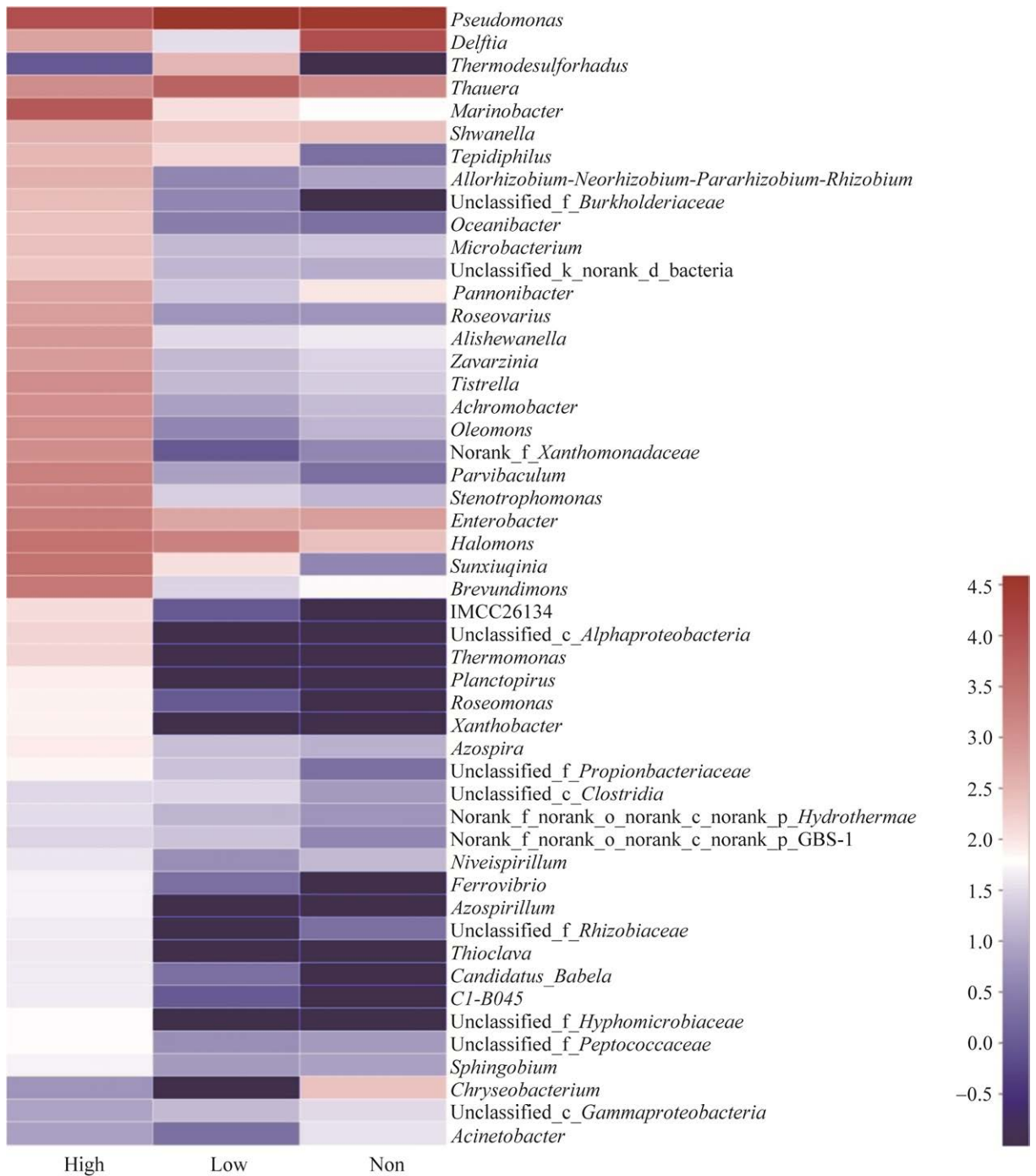


图 2 采出液物种群落热图

Figure 2 The heat drop diagram of the extracted fluid population. Heatmap is a color gradient to represent the data size in a two-dimensional matrix or table, and presents the species composition and abundance information of the community. Usually, the species or samples are clustered according to the similarity of abundance, and the results are presented on the community heatmap, so that the species with high abundance and low abundance can be clustered in blocks, and the similarity and difference of community composition of different samples at various taxonomic levels can be reflected by color change.

## 2.2 未治理井与高效治理井的物种差异检验

采用费舍尔精确检验(Fisher exact test), 对高效治理井(High)和未治理井(Non) 2个样本间的物种的丰度差异进行比较, 获得物种在2个对比样本中的差异显著性(图3)。

在高效治理井(High)和未治理井(Non)这2个样本中丰度较高且具有统计学意义上的差异物种中, *Pseudomonas*、*Delftia* 和 *Marinobacter* 差异明显。说明在未加入抑制剂的情况下, 环境中细菌的种类和丰度都比较单一, *Pseudomonas*、*Delftia* 在其中占统治地位, 占细菌总量的 92.5%, 其它细菌的种类和丰度都比

较低, 而在高效治理的情况下, *Pseudomonas* 依旧是优势菌群, 但占比仅为 23.7%, *Delftia* 下降为 2.4%, 与石油烃降解相关的 *Marinobacter* (17.41%)、*Halomonas* (6.73%)和与反硝化作用相关的 *Thauera* 丰度提升明显, 说明抑制剂的加入补充了 *Marinobacter*、*Halomonas*、*Thauera* 等细菌所需的营养成分, 提高这些细菌在油藏内分布水平。

## 2.3 典型关联分析(canonical correlation analysis, CCA)

从图4可以看出,  $Fe^{3+}$ 与高效治理井相关性高,  $Zn^{2+}$ 与低效治理井相关性高。微生物体内约 25%的蛋白质为金属蛋白, 在微生物生命周

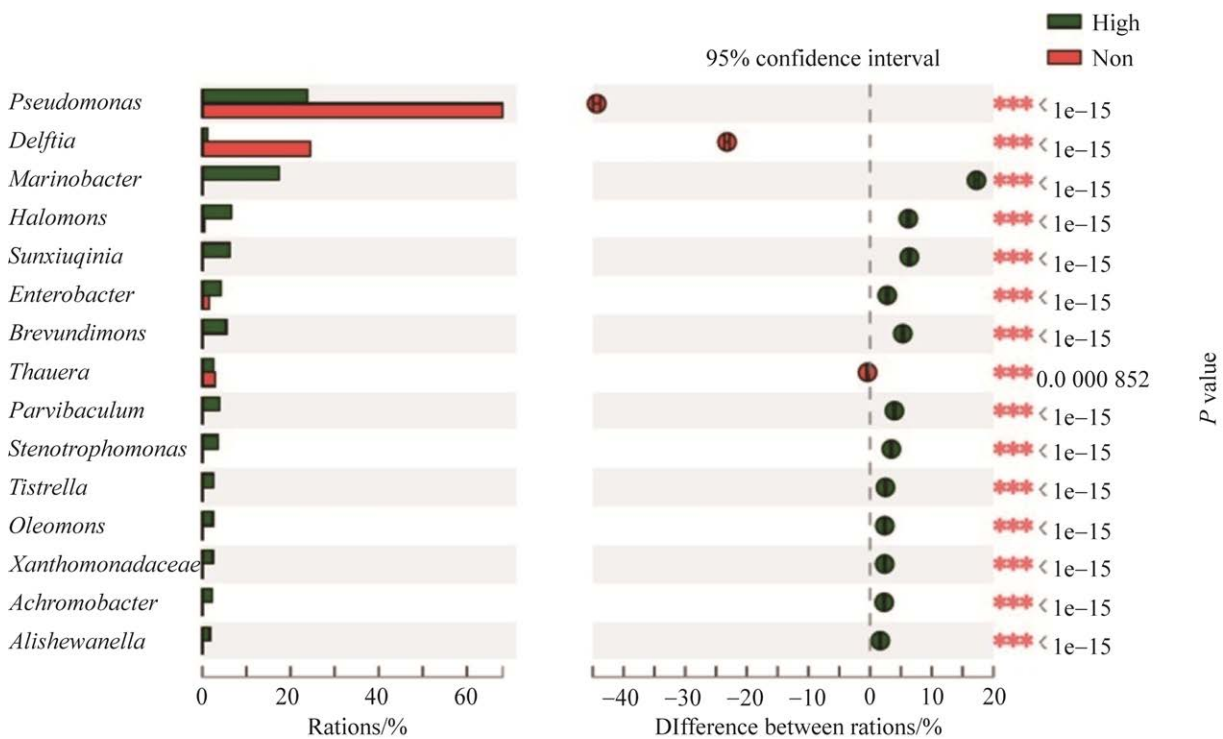


图3 未治理井与治理高效井物种差异分析

Figure 3 Species difference analysis between untreated wells and high-efficiency wells. The Y-axis indicates the species name at a certain classification level, and each column corresponding to a species indicates the relative abundance of the species in each sample, and different colors indicate different samples; The middle area is within the set confidence interval, the numerical value corresponding to the dot indicates the difference of relative abundance of species in two samples, the dot color shows the sample color with larger species abundance, and the I-shaped interval on the dot is the upper and lower limits of the difference; The value on the right is  $P$ , \*:  $0.01 < P \leq 0.05$ , \*\*:  $0.001 < P \leq 0.01$ , \*\*\*:  $P \leq 0.001$ .

期中发挥重要作用<sup>[21]</sup>。金属蛋白通常利用过渡金属离子  $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Ni}^{2+}$  等作为辅助因子，这些金属离子调节蛋白质的功能以及维持蛋白质的特定结构和稳定性<sup>[22]</sup>，金属离子的缺乏会抑制细菌生长，但过量也会抑制细菌生长。细菌自身具有严格的调控机制以保证其体内金属离子处于稳态<sup>[23]</sup>。铁是绝大多数细菌生长所必需的微量元素，因为它是一些重要蛋白的辅因子，这些蛋白从呼吸作用到核酸的复制

都有着广泛的功能<sup>[24]</sup>。吴春晗等报道不同浓度的锌离子会对好氧反硝化细菌的硝酸盐氮去除效率有不同程度的抑制作用，这种抑制作用有多强尚待研究，但这种作用可能与低效治理井中反硝化效果较差有关<sup>[25]</sup>。丰度前 10 的物种中，*Delftia* 与未治理井相关性高，*Thauera* 与低效治理井相关性高，*Pseudomonas* 位于未治理井和低效治理井之间，其余物种均与高效治理井相关性高。

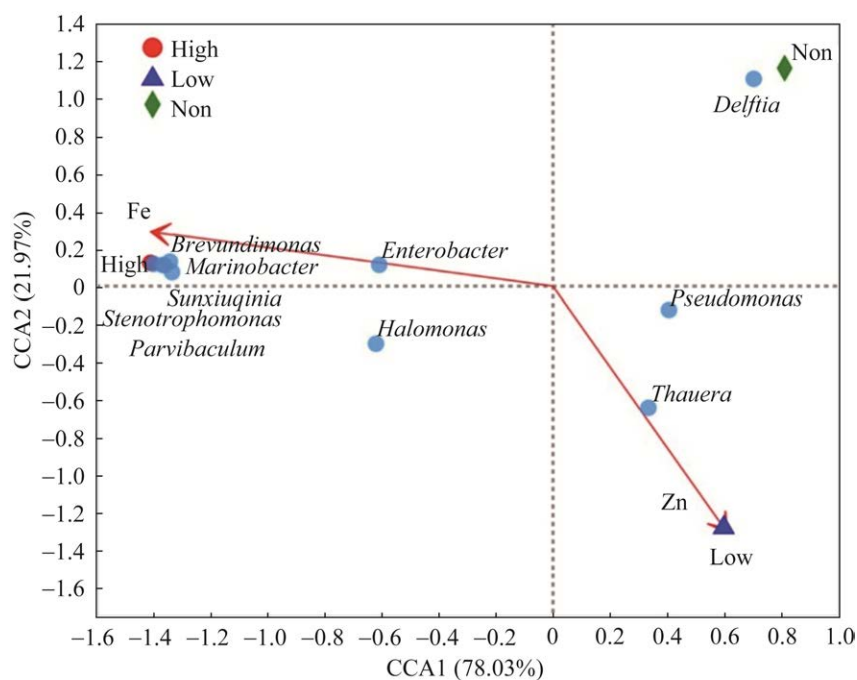


图 4 采出液 CCA 分析

Figure 4 CCA analysis of produced fluid. CCA can reflect samples and environmental factors on the same two-dimensional ranking chart, and the relationship between sample distribution and environmental factors can be seen intuitively from the chart, including the relationship among environmental factors, samples and flora or the relationship between any two. Points of different colors or shapes in the diagram represent sample groups in different environments or conditions. The red arrow represents quantitative environmental factors, and the length of the arrow of environmental factors can represent the degree of influence (interpretation) of environmental factors on species data. The angle between arrows of environmental factors represents positive and negative correlation (acute angle: positive correlation; obtuse angle: negative correlation; right angle: no correlation). From the sample point to the arrow of quantitative environmental factors, the distance between the projection point and the origin represents the relative influence of environmental factors on the distribution of sample communities.



### 3 讨论

油藏是较为复杂的地下环境, 其内部因氧气和营养物质的不足, 微生物群落无论种类和丰度都相对较低, 而且不同区块油藏的本源微生物群落组成也不尽相同, 即使是同一油藏不同区块地层的微生物组成也可能是不同的<sup>[26]</sup>。一般情况下, 由于未开发的油藏具有低的氧化还原电势并处于缺氧状态, 因此只有严格厌氧微生物才可能成为真正的油藏本源微生物<sup>[27]</sup>。

我国绝大部分油田目前都经过多年的水驱开发, 因注水会携带氧气及营养物质进入油藏地层, 从而改变油藏环境, 并且随着注入水的注入, 外源微生物被带入地层, 某些外源微生物有着很强的生存能力逐渐在地层环境中栖息下来, 注入水导致栖居在原油储层中的微生物群落也发生改变, 但研究也发现同一区块的注水井和油井微生物构成间也存在着较大差异, Zhang 等通过总结国内 4 个不同温度地层的注水井微生物菌群与油井微生物菌群的差异来揭示注入水对地层微生物的影响, 结论表明注入水对地层微生物菌群有一定影响, 但该影响随着地层温度的增加而减少, 注水井中微生物对油藏中微生物菌群的影响除了和该地层温度相关外, 还应考虑地层结构与油层层位等地质因素<sup>[28]</sup>。

本研究中, 目标区块实施硫化氢治理措施, 即加入硫酸盐还原菌抑制剂后, 药剂对硝酸盐还原菌的激活及对硫酸盐还原菌的抑制, 打破了油藏原有的微生物生态平衡。油藏中的微生物种群为了适应新的营养环境, 通过竞争、抑制或共生等方式进行微生物群落结构再调整, 逐渐确立新的生态体系, 保证整个生态系统的动稳态平衡。

可以看到在 3 个样本中, 假单胞菌

(*Pseudomonas*)和肠杆菌(*Enterobacter*)都是大量存在的, 在以往报道中, 这 2 类菌也是在开发注水油田中主要被检测到的细菌类型, 但在未开发油藏中, 假单胞菌(*Pseudomonas*)和肠杆菌(*Enterobacter*)是较少被发现或者含量很低, 说明这 2 类菌是因注水等开发方式被引入地层后适应油藏环境而生存下来, 属于外源性菌属<sup>[29]</sup>。假单胞菌(*Pseudomonas*)是一种报道较多的可用作微生物采油的功能菌, 其主要采油功能是降解原油和产生生物表面活性剂<sup>[30]</sup>, 通常细菌降解原油, 首先要将原油乳化为小液滴后通过胞内胞外酶将其降解, 所以原油降解和生物表面活性剂的产生是紧密相关的, 一般石油降解菌都能代谢生物表面活性剂。

同时可以看到高效治理井与低效治理井及未治理井相比呈现 2 个较为明显的区别, 首先石油烃降解菌的种类和含量明显增加, *Marinobacter* (海杆菌属)、*Halomonas* (嗜盐菌属)、*Enterobacter* (肠杆菌属)等都是能以石油烃作为碳源和能源生长的微生物<sup>[31-32]</sup>, 它们的增加说明硝酸盐的加入定向激活了具有此类功能的微生物种群; 其次由于硝酸盐的加入, 反硝化细菌的含量明显增加, 如 *Thauera* (陶厄氏菌)、*Thermomonas* (热单胞菌属)、*Roseovarius* (玫瑰变色菌属)等, 这一类的反硝化细菌, 均可以利用硝酸盐作为电子受体, 乙酸盐和硫化物作为电子供体进行生长代谢, 说明硝酸盐有效激活了油藏内的硝酸盐还原菌, 起到了抑制硫酸还原菌, 降低硫化氢产生的作用。这种因人为调控而引起微生物群落结构的变化, 可作为油田硫化氢治理效果的评价依据。

### 4 结论

本研究针对海上 S 油田硫化氢治理中出现的低效井、高效井及未治理井间的效果差异,

采用分子生态学方法对井间细菌群落分布变化进行分析。结果显示, 相比于低效井和未治理井, 高效井中的反硝化菌和石油降解菌种类和丰度增加, 分别增加了 5.23%和 24.14%;  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Zn}^{2+}$  等离子存在对治理效果和微生物群落变化具有一定影响。这说明, 首先生物竞争排斥技术对抑制硫酸盐还原菌, 降低油藏腐蚀危害具有显著效果; 其次人工调控手段与油藏微生物群落能够互相作用, 从而对治理效果产生影响; 同时, 分子生态学技术作为一种油藏微生物检测手段对油田硫化氢生物治理效果评价、治理药剂及工艺方案调整具有指导意义。

## 参考文献

- [1] 马强, 林日亿, 韩超杰, 刘浩. 硫酸盐与正十六烷热化学还原生成  $\text{H}_2\text{S}$  实验研究. *石油与天然气化工*, 2019, 48(4): 79–85.  
Ma Q, Lin YR, Han CJ, Liu H. Experimental study on  $\text{H}_2\text{S}$  formation by thermochemical reduction of sulfate and n-hexadecane. *Chemical Engineering of Oil & Gas*, 2019, 48(4): 79–85. (in Chinese)
- [2] 汪卫东. 油田污水中硫酸盐还原菌的变化规律及其控制技术. *油气地质与采收率*, 2013, 30(6): 61–64.  
Wang WD. Change rule and control method of sulfate-reducing bacteria in oilfield produced water. *Petroleum Geology and Recovery Efficiency*, 2013, 30(6): 61–64. (in Chinese)
- [3] 杨帆, 孟章进, 杨海滨, 吴伟林, 王彪, 林晶晶. 陈 2 区块硫酸盐还原菌多样性分析及优势菌鉴定, 复杂油气藏, 2013, 6(4): 74–76.  
Yang F, Meng JJ, Yang HB, Wu WL, Wang B, Lin JJ. Identification of predominant bacteria and diversity analysis of sulfate-reducing bacteria in Block. *Complex Hydrocarbon Reservoirs*, 2013, 6(4): 74–76. (in Chinese)
- [4] Reinsel MA, Sears JT, Stewart PS, McInerney MJ. Control of microbial souring by nitrate, nitrite or glutaraldehyde injection in a sandstone column. *Journal of Industrial Microbiology*, 1996, 17(2): 128–136.
- [5] 吴悦妮, 冯凯, 厉舒祯, 王朱珺, 张照婧, 邓晔. 16S/18S/ITS 扩增子高通量测序引物的生物信息学评估和改进. *微生物学通报*, 2020, 47(9): 2897–2912.  
Wu YN, Feng K, Li SZ, Wang ZJ, Zhang ZJ, Deng Y. In-silico evaluation and improvement on 16S/18S/ITS primers for amplicon high-throughput sequencing. *Microbiology China*, 2020, 47(9): 2897–2912. (in Chinese)
- [6] Head IM, Jones DM, Röling WFM. Marine microorganisms make a meal of oil. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(3): 173–182.
- [7] Yakimov MM, Timmis KN, Golyshin PN. Obligate oil-degrading marine bacteria. *Current Opinion in Biotechnology*, 2007, 18(3): 257–266.
- [8] 李倩, 崔志松, 赵爱芬, 高伟, 郑立. 一株石油烃降解菌新种 *Marinobacter* sp. PY97S 的鉴定. *微生物学报*, 2011, 51(5): 648–655.  
Li Q, Cui ZS, Zhao AF, Gao W, Zheng L. Identification and characterization of a novel hydrocarbon-degrading *Marinobacter* sp. PY97S. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51(5): 648–655. (in Chinese)
- [9] 陈李玉, 李昕禹, 李思潼, 欧阳二明, 罗志浩. 嗜盐菌对 SBR 处理高盐废水中氨氮及 COD 的影响. *环境科学与技术*, 2019, 42(S1): 28–31.  
Chen LY, Li XY, Li ST, Ouyang EM, Luo ZH. Effect of halophilic bacteria on ammonia nitrogen and COD in SBR treated high salinity wastewater. *Environmental Science & Technology*, 2019, 42(S1): 28–31. (in Chinese)
- [10] 林佳辉, 王丹, 李霜. 一株中度嗜盐菌 *Salinicola* sp. 在高盐环境中的烷烃降解特性. *化工进展*, 2019, 38(4): 1894–1902.  
Lin JH, Wang D, Li S. Alkanes degradation characteristics of a moderately halophilic bacterium *Salinicola* sp. in a high salinity environment. *Chemical Industry and Engineering Progress*, 2019, 38(4): 1894–1902. (in Chinese)
- [11] Gao PK, Tian HM, Wang YS, Li YS, Li Y, Xie JX, Zeng B, Zhou JF, Li GQ, Ma T. Spatial isolation and

- environmental factors drive distinct bacterial and archaeal communities in different types of petroleum reservoirs in China. *Scientific Reports*, 2016, 6: 20174.
- [12] 谭文勃, 马晓丹, 黄聪, 陈川, 王爱杰. 1 株异养反硝化硫细菌的分离鉴定及代谢特性. *环境科学*, 2017, 38(2): 809–814.
- Tan WB, Ma XD, Huang C, Chen C, Wang AJ. Isolation, identification and metabolic characteristics of a heterotrophic denitrifying sulfur bacterial strain. *Environmental Science*, 2017, 38(2): 809–814. (in Chinese)
- [13] Thomsen TR, Kong YH, Nielsen PH. Ecophysiology of abundant denitrifying bacteria in activated sludge. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 60(3): 370–382.
- [14] 乔能虎, 张静静, 刘德健, 汤孝胜, 郗丽君, 刘建国. 陶厄氏菌 *Thauera* sp. K11 对酚类化合物降解作用及途径研究. *生物技术通报*, 2017, 33(10): 184–190.
- Qiao NH, Zhang JJ, Liu DJ, Tang XS, Xi LJ, Liu JG. Study on the degradation and mechanism of phenolic compounds by the *Thauera* sp. K11. *Biotechnology Bulletin*, 2017, 33(10): 184–190. (in Chinese)
- [15] 徐圆圆, 张坤, 花秀夫, 王君, 刘永民, 刘铮. 阴沟肠杆菌分泌生物表面活性剂的合成研究. *辽宁石油化工大学学报*, 2008, 28(3): 8–11, 15.
- Xu YY, Zhang K, Hua XF, Wang J, Liu YM, Liu Z. Production of biosurfactant by *Enterobacter cloacae* and its effect on an enhanced water-solubility of phenanthrene. *Journal of Liaoning University of Petroleum & Chemical Technology*, 2008, 28(3): 8–11, 15. (in Chinese)
- [16] 张兴福, 向阳, 徐德会, 陈忠喜. 聚丙烯酰胺降解菌株 *Enterobacter cloacae* 的分离鉴定. *哈尔滨商业大学学报: 自然科学版*, 2010, 26(6): 671–674.
- Zhang XF, Xiang Y, Xu DH, Chen ZX. Isolation and identification of hydrolyzed polyacrylamide (HPAM) degrading bacteria strain *Enterobacter cloacae*. *Journal of Harbin University of Commerce: Natural Sciences Edition*, 2010, 26(6): 671–674. (in Chinese)
- [17] Harper LL, McDaniel CS, Miller CE, Wild JR. Dissimilar plasmids isolated from *Pseudomonas diminuta* MG and a *Flavobacterium* sp. (ATCC 27551) contain identical opd genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54(10): 2586–2589.
- [18] Mergaert J, Cnockaert MC, Swings J. *Thermomonas fusca* sp. nov. and *Thermomonas brevis* sp. nov. two mesophilic species isolated from a denitrification reactor with poly(epsilon-caprolactone) plastic granules as fixed bed, and emended description of the genus *Thermomonas*. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2003, 53(6): 1961.
- [19] Cho KS, Hirai M, Shoda M. Degradation of hydrogen sulfide by *Xanthomonas* sp. strain DY44 isolated from peat. *Applied and Environmental Microbiology*, 1992, 58(4): 1183–1189.
- [20] 卜魁勇, 帅异莹, 周少雄, 郭巍, 程萍, 李平原, 章春芳. 微生物膜法处理高含盐废水的细菌群落特征. *工业安全与环保*, 2019, 45(8): 92–95.
- Bu KY, Shuai YY, Zhou SX, Guo W, Cheng P, Li PY, Zhang CF. Characteristics of bacterial community in high-salinity wastewater treatment plant by biological contact oxidation. *Industrial Safety and Environmental Protection*, 2019, 45(8): 92–95. (in Chinese)
- [21] Yang XY, Lu J, Sun XS, He QY. Application of subproteomics in the characterization of gram-positive bacteria. *Journal of Proteomics*, 2012, 75(10): 2803–2810.
- [22] Blencowe DK, Morby AP. Zn(II) metabolism in prokaryotes. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27(2/3): 291–311.
- [23] 易叔红, 孙雪松. 细菌金属蛋白组学的研究进展. *生命的化学*, 2017, 37(1): 43–48.
- Yi SH, Sun XS. The research progress of bacterial metalloproteomics. *Chemistry of Life*, 2017, 37(1): 43–48. (in Chinese)
- [24] Aisen P, Enns C, Wessling-Resnick M. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2001, 33(10): 940–959.
- [25] 吴春晗, 白洁, 赵阳国, 任朝萌, 陈琳, 李岩然. ZnO-NPs 对好氧反硝化细菌 *Zobellella* sp. B307 的致毒机制. *中国环境科学*, 2020, 40(8): 3644–3653.

- Wu CH, Bai J, Zhao YG, Ren ZM, Chen L, Li KR. Toxicity and mechanism of ZnO-NPs on an aerobic denitrifying bacteria strain *Zobellella* sp. B307. *China Environmental Science*, 2020, 40(8): 3644–3653. (in Chinese)
- [26] Zhang F, She YH, Li HM, Zhang XT, Shu FC, Wang ZL, Yu LJ, Hou DJ. Impact of an indigenous microbial enhanced oil recovery field trial on microbial community structure in a high pour-point oil reservoir. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 95(3): 811–821.
- [27] Magot M, Oliver B, Patel BKC. Microbiology of petroleum reservoirs. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2000, 77: 103–116.
- [28] Zhang F, She YH, Chai LJ, Banat IM, Zhang XT, Shu FC, Wang ZL, Yu LJ, Hou DJ. Microbial diversity in long-term water-flooded oil reservoirs with different *in situ* temperatures in China. *Scientific Reports*, 2012, 2: 760.
- [29] 张文达, 柴陆军, 张凡, 董浩, 孙姗姗, 喻高明, 顾永安, 余跃惠. 嗜热稠油油藏本源微生物多样性及提高原油采收率应用潜力. *化学与生物工程*, 2021, 38(7): 28–37.
- Zhang WD, WöstenChai LJ, Zhang F, Dong H, Sun SS, Yu GM, Gu YA, She YH. Indigenous microbial community diversity and application potential of enhancing oil recovery in thermophilic heavy oil reservoir. *Chemistry and Bioengineering*, 2021, 38(7): 28–37. (in Chinese)
- [30] Youssff N, Elshahedi MS, Mcinerney MJ. Microbial process in oil field: culprits, problems, and opportunities. *Advances in Applied Microbiology*, 2009, 66: 141–251.
- [31] 丁明山, 谭晓明, 王冠, 杨怀杰, 李增强, 林军章, 曹功泽. 热水洗辅助微生物修复高含油落地油泥. *环境工程学报*, 2021(6): 2063–2071.
- Ding MS, Tan XM, Wang G, Yang HJ, Li ZQ, Lin JZ, Cao GZ. Remediation of high oil content of oil sludge-contaminated soil by hot water washing and biodegradation. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2021(6): 2063–2071. (in Chinese)
- [32] 何芬, 王立华, 宁大亮, 郭光, 王慧. 嗜盐菌群对菲的降解及萘双加氧酶基因的表达规律. *中国环境科学*, 2012, 32(9): 1662–1669.
- He F, Wang LH, Ning DL, Guo G, Wang H. Phenanthrene biodegradation and dynamic change of expression of naphthalene dioxygenase (ndo) genes in a halophilic bacteria consortium. *China Environmental Science*, 2012, 32(9): 1662–1669. (in Chinese)



**王大威**, 男, 1978年9月出生, 2009年毕业于东北石油大学油气田开发专业, 现任中海油研究总院采油资深工程师, 研究方向: 微生物采油及化学驱等三次采油技术研究。