人类活动对深地微生物的影响

蒋永光, 石良*

中国地质大学(武汉)环境学院生物科学与技术系, 中国地质大学(武汉)生物地质与环境地质国家重点实验室, 武汉 430074

* 联系人, E-mail: liang.shi@cug.edu.cn

2018-07-15 收稿, 2018-09-14 修回, 2018-09-16 接受, 2018-10-17 网络版发表

国家自然科学基金(41630318, 41772363)和湖北省“百人计划”资助

摘要 在深地环境中生活着数量庞大且种类众多的微生物, 主要是细菌和古菌, 并包括真菌和病毒. 水-岩相互作用产生的氢气和甲烷是这些微生物主要的能量来源. 人类活动改变了深地环境及其微生物群落组成和功能. 页岩气是存在于深地页岩中的天然气, 开采页岩气所使用的水力压裂技术会对深地微生物产生显著影响, 在水力压裂开发的不同阶段, 微生物群落结构存在显著差异, 产甲烷菌能够提高页岩气产量, 而产酸细菌则会造成储层酸化和设备锈蚀, 降低页岩气的采收率. 核废料是指含有高于安全剂量放射性同位素或被其污染的物质, 核废料的安全处置是决定核工业能否可持续发展的关键因素. 地质处置是目前公认的、唯一可行的长期安全处置半衰期长、高放射性核废料的方式, 但是, 硫酸盐还原菌的活性会导致储存室的锈蚀, 微生物产生的气体也会影响地下空间的气压, 这些微生物作用都可能对处置安全产生负面影响. CO_2 深地封存可以控制其向大气排放, 缓解全球暖化, 但深地封存的超临界态 CO_2 能够引起地下水酸化, 加速岩石和矿物的溶解, 从而改变深地的化学环境和微生物群落, 并对 CO_2 的长期有效封存产生影响. 目前有关人类活动对深地微生物的科学研究均侧重于其短期影响, 今后的研究应重点关注其长期影响.

关键词 人类活动, 深地微生物, 地下环境, 页岩气开采, 核废料地质处置, 二氧化碳深地封存

1 深地生物圈和深地微生物

1.1 深地生物圈

深地生物圈这一科学概念是美国天体物理学家 Thomas Gold^[1,2]于1992年提出的. 他认为微生物可能生活在地下数千米, 直至高温成为抑制微生物生长的因素. 深地微生物氧化还原反应的能量来源于水-岩相互作用产生的化学能, 如氢气和甲烷, 而不是光合作用. 他也推测深地微生物的数量应与地表生物的数量相当, 并且类似的深地微生物也可能广泛存在于宇宙中的其他星球上^[1,2]. 深地微生物主要是细菌和古菌, 此外, 真菌也可在深地与细菌互养共生^[3]. 除细菌、古菌和真菌外, 线虫、扁形动物、环

节动物、轮虫、节肢动物和原生动物, 以及病毒也曾在深地中被发现^[4,5].

1.2 深地微生物氧化还原反应的能量来源

虽然早在20世纪20~30年代就有关于深地微生物的报道^[6,7], 但是, 由于当时还不能有效控制采样过程中的地表微生物污染, 人们对这些结果的可靠性持有怀疑态度, 因此这些报道并未引起科学界的重视^[8,9]. 1996年, 时任美国能源部西北太平洋国家实验室的地质学家 Stevens 和 McKinley^[10]在美国华盛顿州玄武岩地下水中发现了能够利用氢气作为能量来源的自养微生物群落. 玄武岩地下水含有 $60 \mu\text{mol/L}$ 的氢气, 室内实验证明, 粉碎后的玄武岩和厌氧水反应

引用格式: 蒋永光, 石良. 人类活动对深地微生物的影响. 科学通报, 2018, 63: 3920–3931

Jiang Y G, Shi L. The impacts of human activity on the microorganisms in deep subsurface (in Chinese). Chin Sci Bull, 2018, 63: 3920–3931, doi: 10.1360/N972018-00505

可产生氢气并能够支持微生物生长. 他们将观察到的这一微生物系统称为“地下岩石自养微生物生态系统”. 这是首次报道在深地生活着不直接依靠光合作用, 但能利用化学能的无机自养微生物, 也第一次证实了Thomas Gold提出的“深地氢气能为微生物生长提供能量来源”的假说. 在地下, 花岗岩辐射分解裂隙水^[11-14]、玄武岩和橄榄岩中含铁矿物催化的水还原反应^[15]以及硅酸盐矿介导的水分解^[16]这3种水-岩相互作用的地质过程可产生足够的氢气, 为地下微生物的生长和代谢提供电子和能量.

在深地, 甲烷也可作为微生物生长的电子和能量来源. 甲烷既可经水-岩相互作用产生, 也可由深地微生物催化合成^[17]. 例如蛇纹石化是一个水和还原的超基性岩石(如富含镁和铁的橄榄岩)之间的化学反应, 反应过程产生的强碱性液体中含有氢气和甲烷. 在高温、高压的深海热液环境下, 蛇纹石化可产生一定数量的氢气和甲烷^[15]. 产甲烷古菌以氢气作为电子和能量来源, 以二氧化碳、醋酸盐、甲醇、甲胺和甲基硫化物为底物合成甲烷, 是深地甲烷的主要生物来源^[17]. 除了氢气和甲烷外, 还原硫和二价铁也可以为深地微生物提供电子和能量^[18,19]. 由于深地通常是厌氧环境, 深地微生物厌氧呼吸的末端电子受体包括硫酸盐^[20]、硝酸盐^[21]、亚硝酸盐^[22]和金属氧化物^[23](图1).

1.3 深地微生物的其他特征

除厌氧外, 深地还往往是高温、高压、高盐和寡营养的极端环境. 在这种极端环境下, 微生物生长和代谢缓慢, 代谢率通常要比地表微生物慢至少100倍^[24]. 细胞分裂一次一般需要数年甚至上千年^[24-26].

另外, Whitman等人^[27]在1998年预测海洋和大陆地下微生物细胞数量分别为 3.5×10^{30} 和 $0.25 \times 10^{30} \sim 2.5 \times 10^{30}$ 个. 但是, Kallmeyer等人^[28]在2012年的计算结果显示海洋地下微生物细胞数量仅为 2.9×10^{29} 个, 预计的总碳量为 4.1×10^{15} g, 约占全球生物量的0.6%. 不过McMahon和Parnell^[29]在2014年推测大陆地下微生物细胞数量为 $0.5 \times 10^{30} \sim 5 \times 10^{30}$ 个, 总碳量为 $0.14 \times 10^{17} \sim 1.35 \times 10^{17}$ g, 占全球生物量的2%~19%, 这与Whitman等人^[27]预测的结果相符合. 但是, 最近的分析结果预测大陆地下微生物的数量为 $2 \times 10^{29} \sim 6 \times 10^{29}$ 个, 比McMahon和Parnell^[29], Whitman等人^[27]预测的结果少一个数量级^[30]. 目前预测的微生物种

图1 (网络版彩色)深地微生物氧化还原反应的能量来源主要是水-岩相互作用产生的 H_2 和 CH_4 . 深地微生物也可利用 H_2 合成 CH_4 . 此外, 还原硫和二价铁也可作为深地微生物生长和代谢的能量和电子来源. 深地微生物可通过氧化 H_2 、 CH_4 、硫化物和二价铁来还原 CO_2 、硫酸盐、硝酸盐、亚硝酸盐和三价铁

Figure 1 (Color online) Most of the redox energy of deep subsurface microorganisms were resulted from H_2 and CH_4 produced by water-rock interaction. The microorganisms could synthesize CH_4 using H_2 . In other side, reduced sulfur and ferrous iron could also be the energy and electron sources of microorganisms. The CO_2 , sulfate, nitrate, nitrite and ferric iron could be reduced by deep subsurface microorganisms through oxidizing H_2 , CH_4 , sulfide and ferrous iron

类可能有一万亿种, 但仅发现大约56万种. 因此, 绝大多数的微生物种类, 包括深地微生物种类, 还有待发现^[31,32].

2 页岩气开采对深地微生物的影响

2.1 页岩气的开采过程

页岩气是指主体位于黑色页岩中的天然气聚集^[33]. 页岩气资源储量丰富, 约占全球天然气资源的三分之一^[34]. 目前的勘探数据表明, 中国、俄罗斯、北美、巴西、阿根廷、澳大利亚以及非洲和欧洲几个国家均拥有极为丰富的页岩气资源^[35]. 中国是继美国、加拿大之后, 世界上第3个成功实现页岩气生产的国家^[36]. 我国页岩气资源潜力大, 分布面积广、发育层系多, 页岩气地质资源潜力约为134.42万

亿立方米(不含青藏区),可开采资源潜力约为25.08万亿立方米(不含青藏区)^[37,38].

由于取样困难,目前人们对页岩微生物的认识还十分有限.黑色页岩中富含有机质,可为微生物生长提供碳及电子来源.微生物生活在相互连通的页岩孔隙和裂缝中.孔隙大小和孔隙连通性是制约页岩微生物生存的最重要因素.目前在页岩中发现的微生物包括:降解有机质的发酵或互养共生细菌、产甲烷古菌、硫酸盐还原细菌、多聚乙酰细菌和三价铁还原微生物^[35].

水力压裂技术是商业开发页岩气最常用的技术.采用水力压裂法,借助高压注入大量液体到页岩层中,使页岩破碎形成人工裂缝,增加并扩大天然气渗流通道,使天然气以最佳流速进入井筒并被采出^[39~43].因此,水力压裂技术是能大幅度提高油气产量的一种储层改造技术^[43,44](图2).另外,压裂造成的页岩裂缝极大地增加了微生物生长的空间^[35,38].除此之外,注入的钻井液和压裂液也为页岩里注入了地表微生物和化学物质^[35].水力压裂后,泵压降低,地层中的水通过井管返流到地面,这种水被称为“回流水”.通过研究回流水中的微生物组成可以间接地探究页岩气开采过程中页岩内微生物群落结构和功能的变化.不过,由于回流水中的微生物可能来源于压裂液、用于水处理的基础设施和设备、钻井液和页岩,所以,对页岩气开采过程中的微生物群落的研究一般分为3个阶段:注入液阶段、初始返排液阶段和后期产出液阶段^[35,38,45].

2.2 回流水中的微生物

Cluff等人^[45]对美国马塞勒斯页岩井的研究表明,注入液中的微生物群落最初以假单胞菌(*Pseudomonas*)、Cobetia、弓形杆菌(*Arcobacter*)、假交替单胞菌(*Pseudoalteromonas*)和海杆菌(*Marinobacterium*)为主,其中Cobetia、假单胞菌和其他未分类细菌的平均相对丰度分别为45%,17%和15%.初始返排(压裂后1~14 d)液中的微生物群落与注入液相比明显不同,并在压裂后的2周内产生动态的分类群变化.在这期间,微生物群落以*Halolactibacillus*、弓形杆菌、弧菌、热球菌(*Thermococcus*)和海杆菌为主,它们的平均相对丰度分别为33%,17%,9.4%,8.6%和7.3%^[45].在2~4周之后,一旦返排量开始减弱,则页岩井开始投入生产,并且随着时间的推移,液体与地层盐水达到

图2 (网络版彩色)水力压裂技术示意图.目前研究较多的美国马塞勒斯页岩层在地下约2000 m,该地区页岩井的产气寿命至少30 a.插图显示水压力在黑页岩中造成的裂隙^[38]

Figure 2 (Color online) Schematic illustration of hydraulic fracturing technique. Marcellus Shale is about 2000 m deep underground and the gas production life of shale wells in this district is at least 30 a. The insert represents hydraulic fractures in black shale^[38]

平衡.在马塞勒斯页岩井中,液体的盐度稳定在约90 g L⁻¹^[45,46].在后期产出液中,微生物群落以盐厌氧菌(*Halanaerobium*)、盐单胞菌科(*Halomonadaceae*)中的盐单胞菌和该科的其他种类为主,它们的平均相对丰度分别为86%,2.4%和5.3%.在水力压裂过程1个多月以后至第11个月,产出液中仍以盐厌氧菌和盐单胞菌为主,盐厌氧菌和海杆菌始终存在于3个采样阶段.相反,在水力压裂后2个月以上才能在产出液中检测到细菌*Selenihalanaerobacter*以及古菌甲烷嗜盐菌(*Methanohalophilus*)和甲烷叶菌(*Methanolobus*)^[45].水力压裂49 d后,微生物的多样性和丰富度最低^[45],但厚壁菌门(*Firmicute*)的盐厌氧菌增多^[45~49].所有数据都表明,无论注入液、钻井条件、页岩成分和钻井地理位置的差异如何,页岩环境选择压力大,会降低微生物的多样性^[35].

Daly等人^[50]通过宏基因组测序系统分析美国马塞勒斯页岩井回流水发现,与注入液中的微生物相比,初始返排液和后期产出液中微生物的多样性降低,但后期产出液中微生物的数量显著增高.后期产出液中盐的浓度可高达170 g L⁻¹,因此,与Cluff等

人^[45]的研究结果类似,产出液中的微生物主要以盐厌氧菌、盐单胞菌、海杆菌、甲烷嗜盐菌、甲烷叶菌和压裂杆菌(*Candidatus frackibacter*)这6个耐盐、耐高温类型的微生物为主。在这6类微生物中,有6个盐厌氧菌属、2个盐单胞菌科、4个海杆菌属、1个甲烷嗜盐菌属、1个甲烷叶菌属和1个压裂杆菌属,其中压裂杆菌属是一个新的细菌属。除了盐单胞菌科一个属外,其他微生物均是地表微生物,它们随注入液进入页岩,并能在65℃高温、34.5 MPa高压和高盐条件下繁衍。因此,页岩气的开采在深地人为地产生了一个微生物栖息环境,低丰度的地表微生物随注入液进入页岩,并在页岩极端环境下大量、持久生长^[50]。

2.3 回流水中的病毒

为了在高盐条件下生存,微生物都需要合成或摄取渗透保护剂,宏基因组分析结果也显示这些能在页岩高盐环境下繁衍的微生物均有摄取或合成渗透保护剂甘氨酸三甲胺内盐的能力。另外,化学分析显示,在注入液中检测不到渗透保护剂甘氨酸三甲胺内盐,但可在初始返排液和后期产出液中检测到。宏基因组分析也在回流水中发现了331个属于病毒的DNA叠连群,其中包括21个环状病毒基因组,并且86%的病毒DNA叠连群属于含有双链DNA的尾病毒目^[50]。微生物的CRISPR (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)及相关蛋白(CRISPR-associated proteins)构成的CRISPR-Cas系统是微生物应对病毒侵染的后天免疫系统^[51]。通常情况下,81%可培养古菌的基因组、40%可培养细菌的基因组以及10%的宏基因组测序得到的古菌和细菌基因组中可检测到CRISPR-Cas系统^[52,53],而对页岩回流水进行宏基因组测序得到100%的古菌和84%的细菌基因组中都可以检测到CRISPR-Cas系统,并且,后期产出液中的所有微生物基因组中都有CRISPR-Cas系统,这表明微生物对病毒的后天免疫性是微生物能够适应页岩极端环境的重要原因。此外,宏基因组测序结果也表明病毒侵染以及相对应的微生物获得后天免疫的功能在大陆深地是一个极其活跃的生物过程,正是病毒侵染导致了微生物细胞破裂,使细胞内的甘氨酸三甲胺内盐释放到返排液和产出液中^[50]。因此,病毒对深地微生物的生长、代谢和演化过程具有重要的调节作用。

2.4 回流水中微生物的功能

注入液的化学物质包括甲胺、乙二醇、甲醇、胆碱、二甲胺和蔗糖。宏基因组测序分析推测页岩中海杆菌的主要功能是降解烷类、苯、甲苯、乙苯、二甲苯和邻苯二酚,并可通过氧化葡萄糖、果糖、蔗糖、乳酸盐和乙酸盐还原硝酸盐和氧气。而盐单胞菌则能降解烷类、安息香酸盐和邻苯二酚,并通过氧化纤维素、葡萄糖和乙酸盐还原硝酸盐和氧气。盐单胞菌和盐厌氧菌可将硫代硫酸盐分别转化为亚硫酸盐和硫化物,进而引起金属锈蚀和储层酸化,降低页岩气开采效益^[50]。盐厌氧菌也可将甘氨酸三甲胺内盐、乙二醇、氨基酸、蛋白胍、果糖、葡萄糖、甘露糖和麦芽糖等底物发酵成乙醇、氢气和乙酸盐。压裂杆菌除了能利用氢气将CO₂固定成乙酸盐外,也可将甘氨酸三甲胺内盐发酵成乙酸盐。产甲烷古菌甲烷嗜盐菌和甲烷叶菌能利用其他微生物产生的乙酸盐和注入液中的甲醇、二甲胺和甲胺合成甲烷,达到促进页岩气产出的目的。此外,微生物也可在页岩裂隙内形成生物膜,堵塞裂隙,对页岩气的产出造成负面影响。

在马塞勒斯页岩区有超过15000个页岩井,这些页岩井的产气寿命最短也有30年。Lipus等人^[54]分析了从18个页岩井收集的42份产出液样品发现,每毫升产出液含有 $1.5 \times 10^5 \sim 2.1 \times 10^8$ 个微生物16S rRNA基因拷贝。相关性分析表明产出液微生物的丰度与页岩井的年龄成正相关,即页岩井开采时间越长,产出液微生物的丰度越高,而微生物丰度与产出液的含盐量和杀菌剂浓度则无相关性。进一步分析表明产出液微生物主要属于厚壁菌门的盐厌氧菌目和梭菌目(Clostridiales)。其中盐厌氧菌在所有产出液中均能检测到,并且是40个样品中丰度最高的微生物。梭菌也能够所有产出液中检测到,其丰度仅次于盐厌氧菌。宏基因组测序表明盐厌氧菌拥有将丙酮酸盐转化为乳酸盐的乳酸脱氢酶基因*ldh*、将丙酮酸盐转化为醋酸盐的磷酸转乙酰酶基因*ptaA*、将单糖发酵为乙醇的醇脱氢酶基因*adh*、以及将丙酮酸盐转化为氢气和CO₂的丙酮酸甲酸裂解酶基因*pfl*,这些基因证明盐厌氧菌具有发酵产酸的潜力。测序结果还显示盐厌氧菌基因组拥有还原硫代硫酸盐的基因,具有硫代硫酸盐还原和产生硫化物的能力;拥有与生物膜形成有关的基因,如调控孢子形成的双组分反应调控基因(two-component response regulator) *spo0A*及参与胞外多糖产生的基因*glt2*和*adrA*,以及鞭毛蛋白基

因*fliC*, *flhA*, *motA*和*motB*. 鞭毛蛋白基因在细胞附着和生物膜形成的初期阶段起着重要作用, 因此, 推测盐厌氧菌可以形成生物膜^[54]. 与上述测序分析相一致, 蛋白质组学分析也证实马塞勒斯页岩井产出液中的盐厌氧菌在产出液条件下能够表达硫代硫酸盐还原基因. 实验室培养的盐厌氧菌分离株也能够将硫代硫酸盐还原成硫化物, 同时生成醋酸盐^[55]. 分离的盐厌氧菌菌株还可以降解瓜尔胶, 瓜尔胶是一种经常添加在压裂液里的多糖聚合物. 所以, 深地微生物可以分解注入液中的有机质, 一方面通过发酵产酸或还原硫酸盐产生硫化物的形式引起储层酸化和金属管道锈蚀, 其形成的生物膜也会堵塞页岩中的裂隙, 从而影响页岩气的产出, 降低开采效益^[50,54-56]; 另一方面, 产甲烷菌能够合成甲烷, 提高页岩气开采的效益.

目前的研究结果表明, 不同杀菌剂对盐厌氧菌的作用结果不同. 如向页岩井中加入二溴氨基乙酰胺(2,2-dibromo-3-nitrilopropionamide), 会提升盐厌氧菌的相对丰度, 加入棉隆(tetrahydro-3,5-dimethyl-2H-1,3,5-thiadiazine-2-thione)则对其相对丰度没有影响^[54], 而加入苯扎溴铵(benzyl dodecyl dimethyl ammonium chloride)则能抑制盐厌氧菌的生长^[56]. 在低盐的条件下(0.5 mol/L NaCl), 加入硝酸盐对盐厌氧菌生长没有影响, 但在高盐的条件下(2.5 mol/L NaCl), 加入硝酸盐对盐厌氧菌的生长有强烈的抑制作用^[57]. 因此, QAC和硝酸盐可减少盐厌氧菌对页岩气开采的负面影响.

在产出液中, 最常见的古菌是产甲烷菌. 与其他产甲烷生态系统一致, 产甲烷菌的相对丰度通常小于整个微生物群落的2%^[54]. 但是, 这些产甲烷古菌, 如甲烷嗜盐菌和甲烷叶菌, 均能利用注入液中的添加剂, 如甲醇、二甲胺和甲胺合成甲烷, 或者利用其他微生物(如盐厌氧菌)产生的醋酸盐合成甲烷, 促进页岩气的生产^[50].

3 核废料的地质处置对深地微生物的影响

3.1 核废料的来源

放射性废物, 简称核废料, 是指含有高于安全剂量放射性同位素或被其污染的物质. 核废料主要来自于核电站的运营和核武器制造两个过程, 具体包括铀矿山、铀水冶厂、核电厂、核武器制造厂、核舰

艇和使用放射性物质的科研、教育、医疗、工业、农业等部门研究. 例如, 在第二次世界大战和随后的冷战期间, 美国联邦政府发展了一个庞大的核武器制造工业, 几十年来, 累积了约3.4亿升的高放射性核废料, 目前这些核废料大部分都临时储存在各种储罐中^[58]. 此外, 据估计一个年发电量为6 GW的核电站运行40年产生的核废料总量约为 19.4×10^4 立方米(不包括铀尾矿、燃料元件加工废物等), 在1980~2000年间, 全世界核电厂核废料累积量(不包括铀尾矿)超过 4×10^8 立方米^[59].

核废料来源广泛, 形态、组成和特性各异. 目前, 人们普遍按照核废料的物理状态、放射性水平、来源及所含放射性核素的半衰期等将核废料分成若干类, 如按物理状态不同, 可分为固体核废料、液体核废料和气体核废料; 按放射性水平不同, 可划分为高放、中放和低放核废料三大类; 按半衰期不同, 分为长、中和短寿命核废料^[59,60]. 由于核废料具有放射性和毒性, 且半衰期长, 必须采取可靠的手段将其与人类环境有效隔离. 核废料的安全处置已成为决定核工业和核能的和平利用能否持续发展的关键因素.

3.2 核废料的处置方法

对低、中放核废料的处置研究始于20世纪40年代, 至今已形成一套相对完善的处置方案. 目前采用的方法主要有: 陆地浅埋法、废矿井处置法、以及海底处置法和海岛处置法等. 高放核废料含有较多半衰期长的放射性元素, 对处置方法和处置地点的要求相对较高, 目前进入实施阶段的只有地质处置法^[61]. 地质处置是目前公认的、唯一可行的长期安全处置半衰期长、高放射性核废料的方法(图3). 正是这个原因, 多国政府在可用来储存核废料的地质构造中建立了地下研究实验室, 用来评估核废料地质处置的可靠性和安全性, 这包括加拿大Whiteshell、瑞典Stripa和Aspö、瑞士Mont Terri以及日本幌延地下研究实验室^[58-69].

设计储存室需要详细了解在深地可能发生的过程, 包括物理过程、化学过程和微生物过程, 例如, 金属的缺氧锈蚀释放氢气, 从而增加封闭储存室中的压力, 危及储存室结构的完整性. 如前所述, 氢气可做深地微生物的电子和能量来源, 对微生物的生长代谢十分重要^[68,70,71]. 研究表明, 用来修建核废料储存室的地质构造中生活着大量微生物^[72,73]. 因

图3 (网络版彩色)核废料的地质处置. 储存层深度约 300~1000 m. 储存时间可大于 100 万年

Figure 3 (Color online) Geological storage of nuclear waste. The storage layer is about 300–1000 m deep. Storage time >1 Ma

此,与之相关的研究重点是微生物对核废料储存室的长期安全性产生的影响,多国科研机构已经开展了相关研究,研究内容涵盖了诸如介质中存在的微生物对放射性极端条件的耐受性、对核燃料储存室中预期的热量和干燥环境的适应性、对核废料容器的锈蚀和对周围岩石中放射性核素迁移的影响,以及微生物生成的气体与储存室压力的关系和微生物效应的数学建模等^[74,75].

3.3 处置层中的微生物

瑞士Mont Terri地下研究实验室建立在地下300 m深的硬质黏土岩中.该硬质黏土岩的平均孔隙直径为10~20 nm,含有菱铁矿和黄铁矿,其孔隙水中含有10~25 mmol/L的硫酸盐.对该硬质黏土岩孔隙水的微生物进行宏基因组测序分析结果表明,存在一个以氢气氧化-硫酸盐还原为主的微生物群落,群落中的硫酸盐还原菌(*Desulfobulbaceae* c16a)和红螺菌(*Rhodospirillaceae* c57)能利用氢气作为电子和能量来源固定CO₂.因此,这两类微生物能减少氢气在储存室中的累积,避免氢气超压,有利于核废料长期安全存储.另外,生丝单胞菌(*Hyphomonas* c22)将自养微生物合成的有机大分子发酵成乙酸盐,消化球菌(*Peptococcaceae* c4a, c8a, c23)和另一类硫酸盐还原

菌(*Desulfatitalea* c12)则将乙酸盐氧化为CO₂^[76],这些CO₂可以被自养细菌再度利用.如前文所述,硫酸盐还原微生物产生的硫化物会引起金属锈蚀,削弱核废料长期存储的安全性.

与瑞士Mont Terri地下研究实验室不同,日本幌延地下研究实验室建立在地下500 m的沉积岩中.沉积岩主要是软硅藻泥岩,包括蛋白石-A及少量的石英、长石、黏土矿物、黄铁矿、方解石和菱铁矿.其地下水水温为14~18℃,含有盐和氢气,pH接近中性.对沉积岩孔隙水的微生物进行宏基因组测序分析的结果表明,在沉积岩中也存在一个复杂的微生物群落.软硅藻泥岩中的有机碳为微生物呼吸和发酵提供碳、电子和能量.水中的氢气可作为三价铁和硫酸盐还原微生物的电子和能量来源,硫酸盐来自于石膏和黄铁矿.虽然在原始状态下地下水中的硫酸盐含量很低,但是,在建造地质储存室的过程中,会带入大量氧气,加速硫酸盐的释放.储存室建好后,氧气会被逐渐消耗掉,硫酸盐还原微生物就会利用建造过程中释放的硫酸盐作为厌氧呼吸的末端电子受体,产生的硫化物同样会对储存室的金属结构造成锈蚀.自养微生物可以利用氢气将CO₂固定为有机碳,产甲烷古菌则利用氢气合成甲烷,而甲烷厌氧氧化古菌可以通过还原三价铁氧化甲烷.这三种类型的微生物都可以减少氢气和甲烷在储存库中的累积,均有利于核废料的长期存储^[67].此外,三价铁还原微生物可直接或通过二价铁间接地将水溶性的核污染物U(VI)和Tc(VII)还原成不溶于水的U(IV)和Tc(IV),有效地阻滞核污染物在地下水中的迁移和转化,也有利于核废料的长期存储^[67,77,78].因此,在核废料的深地质处置中,微生物代谢作用会通过调节氧气、氢气、甲烷和CO₂气体的含量,从而影响处置库的气压,产生的硫化物也会对储存室的金属结构造成腐蚀.

4 CO₂深地封存对深地微生物的影响

4.1 CO₂深地封存

目前,全球消耗的能源中85%是化石燃料,消耗化石燃料的副产物之一是CO₂.从工业时代开始,人类活动排放的CO₂导致大气中CO₂浓度逐年升高,仅2011年就有310亿吨CO₂排放到大气中.从现在到2035年之间,预计大气中的CO₂浓度会逐年增加.因此,减

少CO₂的排放已经成为多国政府关注的焦点,而CO₂深地封存是解决其排放的综合性手段之一. 深地封存技术包括3个步骤: (1) CO₂的捕集, (2) 压缩捕集的CO₂, (3) 深地封存超临界态(supercritical)的CO₂(scCO₂), 封存时间可达数千年(图4)^[79]. 另外, CO₂深地封存可与石油、煤层天然气甚至页岩气开采技术相结合, 不但减少CO₂的排放, 也能提高油气采收率^[79,80]. CO₂封存场地的地质要求包括: (1) 储集层要有较大的孔隙, 保证足够的封存量, (2) 储集层上方的盖层(如冠岩)要有良好的密封性, 避免CO₂向上迁移, 保证封存的稳定性^[81~83]. 因此, CO₂深地封存的安全性和可靠性取决于CO₂在储集层中的物理稳定性.

4.2 深地scCO₂中的微生物

scCO₂有杀菌作用, 常用作消毒剂^[84], 因此, 微生物能否在scCO₂中长期生存是研究其对CO₂深地封存的影响必须回答的一个问题. 在深地中, 有自然聚集的scCO₂^[85], 例如在美国科罗拉多州McElmo Dome地下1800~2600 m处, 有100 m厚、富含白云石的莱德维尔构造(Leadville formation). 在40~72 Ma之前scCO₂就开始聚集在这一地质构造中. 目前, 这一地质构造中的温度为59.8~78.1℃, 压力为125个标准大气压, pH是5~6, 构造平均孔隙度为11%, 含有98.2%的CO₂, 1.6%的N₂和0.2%的甲烷. 莱德维尔构

图4 (网络版彩色) CO₂的深地封存. 储集层深度约1000 m. 封存时间可达上千年

Figure 4 (Color online) Geological sequestration of CO₂. The storage layer is about 1000 m deep. Storage time >1000 a

造上面的冠岩是400 m厚的Paradox Salt Formation. McElmo Dome已用来商业开采CO₂, 因此有许多深井, 这些深井分布在两个不同的矿区: Hovenweep和Yellow Jacket^[86,87]. 为了测试微生物能否在深地scCO₂中长期生存, Freedman等人^[88]对两个不同矿区深井中的微生物群落和功能做了比对, 并以存放钻井液的池塘水作为对照.

结果证明, 深井样品中含有微生物, 密度为 $3.2 \times 10^3 \sim 1.4 \times 10^5$ 个微生物/mL, 但只检测到细菌, 没检测到古菌. 大部分检测到的细菌也能在其他深地环境(如油田中)检测到^[89]. 此外, 样品的理化指标不同, 其微生物群落结构也不同. 进一步分析表明深井微生物群落与对照显著不同, 深井中检测到的微生物主要来源于深地. 以上结果首次证实了微生物能在深地scCO₂中长期生存^[88].

宏基因组测序分析表明位于Hovenweep矿区的3号井中主要有5种微生物: 硫磺单胞菌(*Sulfurospirillum* MD31和MD32)、脱硫弧菌(*Desulfovibrio* MD33)、乙酸杆菌(*Acetobacterium* MD34)、颤杆菌(*Oscillatoria* MD35)和脱硫化孢弯菌(*Desulfosporosinus* sp.). 这些微生物具有以下生理特性: (1) 均可利用CO₂和有机碳作为碳源, CO₂可直接通过微生物固碳途径固定, 也可先转化为碳酸氢根, 然后再固定合成为有机物; (2) 都含有固氮酶, 可以利用氮气作为氮源; (3) 除了有机碳外, 也可以利用氢气、还原硫、二价铁和三价砷作为电子来源; (4) 在厌氧条件下, 可以利用氧化硫、氧化氮、三价铁和五价砷作为厌氧呼吸的末端电子受体; (5) 除了呼吸外, 也可以将有机碳发酵为乙酸盐、甲酸盐、乙醇、乳酸盐和氢气. 因此, 这五种类型的微生物均为兼养细菌, 既可自养也可异养生长. 在位于Yellow Jacket矿区的10号井中, 主要以根瘤菌(*Rhizobium* MD101)和硫磺单胞菌(*Sulfurospirillum* MD102)为主. 这两种微生物与3号井中的微生物具有相似的碳、氮、电子和能量来源, 也均为兼养细菌^[88].

4.3 注入scCO₂后对深地微生物的影响

实验测试和模型预测的结果均显示往深地注入scCO₂对深地环境和微生物都有极大的影响^[19,90~92]. 位于冰岛的scCO₂深地封存点CarbFix1的储集层是由橄榄石-拉长石组成的、岩粒大小不一的玄武岩, 深度为400~900 m, 温度为20~50℃, 储集层上方的冠岩是约200 m厚的玄武质凝灰岩和角砾岩及低结晶玄

武岩. 实验中, 先将150 t纯CO₂与从对照井NH-01地下350 m处吸取的地下水混合, 混合后水的pH 3.9~4.0, 溶解CO₂浓度为820 ± 41 mmol/L, 再将混合水注入储集层, 4个月后, 观察井NH-04中水的pH降低, 但电导率升高, 这是岩石溶解导致Fe²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺和Zn²⁺等阳离子浓度上升的结果^[19].

宏基因组测序结果显示, 与对照井相比, 注入CO₂后, 观察井中微生物群落结构发生了显著变化. 对照井中微生物主要是绿菌门(*Chlorobi*)、硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)、*Parcubacteria*(OD1)和β变形菌门(*Betaproteobacteria*). 注入CO₂两个月后, 观察井中88%的微生物为β变形菌门, 其中近一半是披毛菌科(*Gallionellaceae*). 注入CO₂四个月, 20%以上的微生物为厚壁菌门, β变形菌门主要是硫杆菌(*Thiobacillus*)^[19]. 分析显示, 注入的CO₂会溶解玄武岩, 导致地下水中的阳离子, 特别是Fe²⁺, 以及多环芳香族碳氢化合物浓度上升. 此时细菌群落的多样性降低, 主要是以自养二价铁氧化披毛菌和多环芳香族碳氢化合物降解菌为主的β变形菌. 二价铁氧化产生的固态氢氧化铁会吸附在玄武岩表面, 形成钝化层, 严重制约水-岩相互作用. 铁氧化耗尽所有氧气后, 能够降解多环芳香族碳氢化合物, 并自生长的硫杆菌和厚壁菌将在细菌群落中占据优势. 厚壁菌能够促进CO₂矿化, 形成固态的碳酸盐矿物, 大幅度降低CO₂在深地的迁移, 因而有助于提升CO₂深地封存的安全性.

5 展望

自从Thomas Gold在26年前首次提出深地生物

圈这一科学概念以来, 人类对深地生物圈, 特别是深地微生物的认识有了极大的提高^[93]. 前人的研究结果不仅证实了深地生物圈的存在, 还表明微生物在深地的各种地球化学反应中起着不可替代的作用. 更重要的是, 人类对深地资源的开发利用, 改变了深地微生物的生存环境, 以及深地微生物群落的结构和功能, 而深地微生物对新环境的响应, 则对人类开发利用深地资源有着正负两方面的影响. 需要特别强调的是其他人类活动, 如油气开采, 也影响着深地微生物^[94].

虽然人类对深地微生物和人类活动对深地微生物的影响有了全新的认识, 但是还存在严重不足. 例如, 美国马塞勒斯页岩井的产气寿命最短也有30年, 但目前研究页岩气开发对深地微生物的影响的时间还不到3年^[54]. 更重要的是, scCO₂要在深地封存上千年^[79], 而核废料的地质处置的时间则更长, 可达上百万年之久^[67]. 因此, 今后的研究重点应侧重于人类活动对深地微生物的长期影响.

21世纪也是人类全面开发利用深地资源和空间的世纪, 目前预测到21世纪末将有1/3的人工作生活在地下空间. 向深地进军, 综合开发地下生态城市新型空间资源是解决当今城市人口、资源、环境三大危机, 维持城市可持续发展和支撑国家核心战略的重要举措^[95-97]. 因此, 开展深地生物圈的研究, 特别是人类活动对深地微生物长期影响研究不仅对页岩气开采、核废料地质处置和scCO₂深地封存至关重要, 同样也对综合开发地下生态城市空间、油田和其他深地资源至关重要.

参考文献

- Gold T. The deep, hot biosphere. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992, 89: 6045-6049
- Gold T. *The Deep, Hot Biosphere*. New York: Springer, 1992
- Drake H, Ivarsson M, Bengtson S, et al. Anaerobic consortia of fungi and sulfate reducing bacteria in deep granite fractures. *Nat Commun*, 2017, 8: 55
- Borgonie G, Garcia-Moyano A, Lithauer D, et al. Nematoda from the terrestrial deep subsurface of South Africa. *Nature*, 2011, 474: 79-82
- Borgonie G, Linage-Alvarez B, Ojo A O, et al. Eukaryotic opportunists dominate the deep-subsurface biosphere in South Africa. *Nat Commun*, 2015, 6: 8952
- Zobell C E, Anderson D Q. Vertical distribution of bacteria in marine sediments. *Bull Am Assoc Petrol Geol*, 1936, 20: 258-269
- Bastin E S, Greer F E, Merritt C A, et al. The presence of sulphate reducing bacteria in oil field waters. *Science*, 1926, 63: 21-24
- Fredrickson J K, Fletcher M. *Subsurface Microbiology and Biogeochemistry*. New York: Wiley-Liss, 2001
- Fredrickson J K, Onstott T C. Microbes deep inside the earth. *Sci Am*, 1996, 275: 68-73
- Stevens T O, McKinley J P. Lithoautotrophic microbial ecosystems in deep basalt aquifers. *Science*, 1996, 270: 450-455

- 11 Freund F, Dickinson J T, Cash M. Hydrogen in rocks: An energy source for deep microbial communities. *Astrobiology*, 2002, 2: 83–92
- 12 Blair C C, D'Hondt S, Spivack A J, et al. Radiolytic hydrogen and microbial respiration in subsurface sediments. *Astrobiology*, 2007, 7: 951–970
- 13 Sherwood Lollar B, Voglesonger K, Lin L H, et al. Hydrogeologic controls on episodic H₂ release from precambrian fractured rocks—Energy for deep subsurface life on earth and mars. *Astrobiology*, 2007, 7: 971–986
- 14 Lollar B S, Onstott T C, Lacrampe-Couloume G, et al. The contribution of the Precambrian continental lithosphere to global H₂ production. *Nature*, 2014, 516: 379–382
- 15 Sleep N H, Meibom A, Fridriksson T, et al. H₂-rich fluids from serpentinization: Geochemical and biotic implications. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 12818–12823
- 16 Telling J, Boyd E S, Bone N, et al. Rock communication as a source of hydrogen for subglacial ecosystems. *Nat Commun*, 2015, 8: 851–855
- 17 Kietavainen R, Purkamo L. The origin, source, and cycling of methane in deep crystalline rock biosphere. *Front Microbiol*, 2015, 6: 725
- 18 Lau M C, Kieft T L, Kuloyo O, et al. An oligotrophic deep-subsurface community dependent on syntrophy is dominated by sulfur-driven autotrophic denitrifiers. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: E7927–E7936
- 19 Trias R, Menez B, le Campion P, et al. High reactivity of deep biota under anthropogenic CO₂ injection into basalt. *Nat Commun*, 2017, 8: 1063
- 20 Chivian D, Brodie E L, Alm E J, et al. Environmental genomics reveals a single-species ecosystem deep within Earth. *Science*, 2008, 322: 275–278
- 21 Haroon M F, Hu S, Shi Y, et al. Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage. *Nature*, 2013, 500: 567–570
- 22 Ettwig K F, Butler M K, Le Paslier D, et al. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature*, 2010, 464: 543–548
- 23 Ettwig K F, Zhu B, Speth D, et al. Archaea catalyze iron-dependent anaerobic oxidation of methane. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 12792–12796
- 24 Jorgensen B B. Deep subseafloor microbial cells on physiological standby. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 18193–18194
- 25 Morono Y, Terada T, Nishizawa M, et al. Carbon and nitrogen assimilation in deep subseafloor microbial cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 18295–18300
- 26 Braun S, Mhatre S S, Jaussi M, et al. Microbial turnover times in the deep seabed studied by amino acid racemization modelling. *Sci Rep*, 2017, 7: 5680
- 27 Whitman W B, Coleman D C, Wiebe W J. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 6578–6583
- 28 Kallmeyer J, Pockalny R, Adhikari R R, et al. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109: 16213–16216
- 29 McMahon S, Parnell J. Weighing the deep continental biosphere. *FEMS Microbiol Ecol*, 2014, 87: 113–120
- 30 Magnabosco C, Lin L H, Dong H, et al. The biomass and biodiversity of the continental subsurface. *Nat Geosci*, 2018, doi: 10.1038/s41561-018-0221-6
- 31 Locey K J, Lennon J T. Scaling laws predict global microbial diversity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 5970–5975
- 32 Lennon J T, Locey K J. The underestimation of global microbial diversity. *MBio*, 2016, 7: e01298-16
- 33 Zhang J C, Jin Z J, Yuan M S. Reservoiring mechanism of shale gas and its distribution (in Chinese). *Nat Gas Ind*, 2004, 24: 15–18 [张金川, 金之钧, 袁明生. 页岩气成藏机理和分布. *天然气工业*, 2004, 24: 15–18]
- 34 Oil T R S. *Shale Gas Resources: An Assessment of 137 Shale Formations in 41 Countries Outside the United States*. Washington: Independent Statistics & Analysis and US Department of Energy, 2013
- 35 Mouser P J, Borton M, Darrah T H, et al. Hydraulic fracturing offers view of microbial life in the deep terrestrial subsurface. *FEMS Microbiol Ecol*, 2016, 92: fiw166
- 36 Zou C N, Dong D Z, Wang Y M, et al. Shale gas in China: Characteristics, challenges and prospects (II) (in Chinese). *Pet Explor Dev*, 2016, 2: 166–178 [邹才能, 董大忠, 王玉满, 等. 中国页岩气特征, 挑战及前景(二). *石油勘探与开发*, 2016, 2: 166–178]
- 37 Zou C N, Dong D Z, Wang Y M, et al. Shale gas in China: Characteristics, challenges and prospects (I) (in Chinese). *Pet Explor Dev*, 2015, 6: 689–701 [邹才能, 董大忠, 王玉满, 等. 中国页岩气特征, 挑战及前景(一). *石油勘探与开发*, 2015, 6: 689–701]
- 38 Song D D, Jiang Y G, Shi L. Shale gas extraction and deep subsurface microorganisms interactions (in Chinese). *Acta Microbiol Sin*, 2018, 58: 699–705 [宋丹丹, 蒋永光, 石良. 页岩气开采与深地微生物的相互影响. *微生物学报*, 2018, 58: 699–705]
- 39 Kargbo D M, Wilhelm R G, Campbell D J. Natural gas plays in the Marcellus Shale: Challenges and potential opportunities. *Environ Sci Technol*, 2010, 44: 5679–5684

- 40 Soeder D J. The Marcellus shale: Resources and reservations. *Eos*, 2010, 91: 277–278
- 41 Gordalla B C, Ewers U, Frimmel F H. Hydraulic fracturing: A toxicological threat for groundwater and drinking-water? *Environ Earth Sci*, 2013, 70: 3875–3893
- 42 Vidic R D, Brantley S L, Vandenbossche J M, et al. Impact of shale gas development on regional water quality. *Science*, 2013, 340: 1235009
- 43 Arthur J D, Brian Bohm P, Layne M. Hydraulic fracturing considerations for natural gas wells of the Marcellus Shale. *GCAGS: Transactions*, 2009, 59: 49–59
- 44 Gregory K B, Vidic R D, Dzombak D A. Water management challenges associated with the production of shale gas by hydraulic fracturing. *Elements*, 2011, 7: 181–186
- 45 Cluff M A, Hartsock A, MacRae J D, et al. Temporal changes in microbial ecology and geochemistry in produced water from hydraulically fractured Marcellus Shale gas wells. *Environ Sci Technol*, 2014, 48: 6508–6517
- 46 Murali Mohan A, Hartsock A, Bibby K J, et al. Microbial community changes in hydraulic fracturing fluids and produced water from shale gas extraction. *Environ Sci Technol*, 2013, 47: 13141–13150
- 47 Davis J P, Struchtemeyer C G, Elshahed M S. Bacterial communities associated with production facilities of two newly drilled thermogenic natural gas wells in the Barnett Shale (Texas, USA). *Microb Ecol*, 2012, 64: 942–954
- 48 Struchtemeyer C G, Elshahed M S. Bacterial communities associated with hydraulic fracturing fluids in thermogenic natural gas wells in North Central Texas, USA. *FEMS Microbiol Ecol*, 2012, 81: 13–25
- 49 Murali Mohan A, Hartsock A, Hammack R W, et al. Microbial communities in flowback water impoundments from hydraulic fracturing for recovery of shale gas. *FEMS Microbiol Ecol*, 2013, 86: 567–580
- 50 Daly R, Borton M, Wilkins M, et al. Microbial metabolisms in a 2.5-km-deep ecosystem created by hydraulic fracturing in shales. *Nat Microbiol*, 2016, 1: 16146
- 51 Barrangou R, Fremaux C, Deveau H, et al. CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. *Science*, 2007, 315: 1709–1712
- 52 Makarova K S, Haft D H, Barrangou R, et al. Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9: 467–477
- 53 Burstein D, Sun C L, Brown C T, et al. Major bacterial lineages are essentially devoid of CRISPR-Cas viral defense systems. *Nat Commun*, 2016, 7: 10613
- 54 Lipus D, Vikram A, Ross D, et al. Predominance and metabolic potential of *Halanaerobium* spp. in produced water from hydraulically fractured Marcellus Shale Wells. *Appl Environ Microbiol*, 2017, 83: e02659–16
- 55 Booker A E, Borton M A, Daly R A, et al. Sulfide generation by dominant *Halanaerobium* microorganisms in hydraulically fractured shales. *mSphere*, 2017, 2: e00257–17
- 56 Liang R, Davidova I A, Marks C R, et al. Metabolic capability of a predominant *Halanaerobium* sp. in hydraulically fractured gas wells and its implication in pipeline corrosion. *Front Microbiol*, 2016, 7: 988
- 57 An B A, Shen Y, Voordouw G. Control of sulfide production in high salinity Bakken shale oil reservoirs by halophilic bacteria reducing nitrate to nitrite. *Front Microbiol*, 2017, 8: 1164
- 58 Fredrickson J K, Zachara J M, Balkwill D L, et al. Geomicrobiology of high-level nuclear waste-contaminated vadose sediments at the Hanford site, Washington State. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70: 4230–4241
- 59 Hao Q. Research on nuclear waste treatment and management strategies (in Chinese). Master Dissertation. Baoding: North China Electric Power University, 2013 [郝卿. 核废料处理方法及管理策略研究. 硕士学位论文. 保定: 华北电力大学, 2013]
- 60 Luo S G. A investigation on classification of radioactive wastes (in Chinese). *Atomic Energy Sci Technol*, 1986, 20: 561–569 [罗上庚. 对放射性废物分类的探讨. 原子能科学技术, 1986, 20: 561–569]
- 61 Basham I R. Geology and radwaste. *Mineral Mag*, 1987, 51: 331–332
- 62 Spor H, Trescinski M, Libert M F. Microbial effects on the radionuclide transport in a deep nuclear waste repository. *Mrs Proc*, 1992, 294: 771
- 63 Luo S G. Underground research laboratory—An important facility for geological disposal research of HLW (in Chinese). *Radializ Prot*, 2003, 23: 366–371 [罗上庚. 地下实验室——高放废物地质处置的重要研究设施. 辐射防护, 2003, 23: 366–371]
- 64 Wang F. Swedish nuclear waste management experience and enlightenment (in Chinese). *Ecol Econ*, 2013: 128–131 [王锋. 瑞典核废料管理经验与启示. 生态经济, 2013: 128–131]
- 65 Leupin O X, Bernierlatmani R, Bagnoud A, et al. Fifteen years of microbiological investigation in Opalinus Clay at the Mont Terri rock laboratory (Switzerland). *Swiss J Geosci*, 2017, 110: 343–354
- 66 Stroesgascoyne S, West J M. Microbial studies in the Canadian nuclear fuel waste management program. *FEMS Microbiol Rev*, 1997, 20: 573–590
- 67 Hernsdorf A W, Amano Y, Miyakawa K, et al. Potential for microbial H₂ and metal transformations associated with novel bacteria and archaea in deep terrestrial subsurface sediments. *ISME J*, 2017, 11: 1915–1929
- 68 Stroes-Gascoyne S, Schippers A, Schwyn B, et al. Microbial community analysis of opalinus clay drill core samples from the Mont Terri

- Underground Research Laboratory, Switzerland. *Geomicrobiol J*, 2007, 24: 1–17
- 69 Stroes-Gascoyne S, Sergeant C, Schippers A, et al. Biogeochemical processes in a clay formation in situ experiment: Part D—Microbial analyses—Synthesis of results. *Appl Geochem*, 2011, 26: 980–989
- 70 Libert M, Bildstein O, Esnault L, et al. Molecular hydrogen: An abundant energy source for bacterial activity in nuclear waste repositories. *Phys Chem Earth*, 2011, 36: 1616–1623
- 71 Lopezfernandez M, Cherkouk A, Vilchezvargas R, et al. Bacterial diversity in bentonites, engineered barrier for deep geological disposal of radioactive wastes. *Microb Ecol*, 2015, 70: 922–935
- 72 Sahl J W, Schmidt R, Swanner E D, et al. Subsurface microbial diversity in deep-granitic-fracture water in Colorado. *Appl Environ Microbiol*, 2008, 74: 143–152
- 73 Boivinjahns V, Ruimy R, Bianchi A, et al. Bacterial diversity in a deep-subsurface clay environment. *Appl Environ Microbiol*, 1996, 62: 3405–3412
- 74 StroesGascoyne S, West J M. overview of microbial research related to high-level nuclear waste disposal with emphasis on the Canadian concept for the disposal of nuclear fuel waste. *Can J Microbiol*, 1996, 42: 349–366
- 75 West J M. A review of progress in the geomicrobiology of radioactive waste disposal. *Rad Waste Manag Envir Rest*, 1995, 19: 2263–2283
- 76 Bagnoud A, Chourey K, Hettich R L, et al. Reconstructing a hydrogen-driven microbial metabolic network in Opalinus Clay rock. *Nat Commun*, 2016, 7: 12770
- 77 Shi L, Dong H, Reguera G, et al. Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals. *Nat Rev Microbiol*, 2016, 14: 651–662
- 78 Qiu X, Shi L. Electrical interplay between microorganisms and iron-bearing minerals (in Chinese). *Acta Chim Sin*, 2017, 75: 583–593 [邱轩, 石良. 微生物和含铁矿物之间的电子交换. *化学学报*, 2017, 75: 583–593]
- 79 Dressel B, Deel D, Rodosta T, et al. CCS activities being performed by the U.S. DOE. *Int J Environ Res Public Health*, 2011, 8: 300–320
- 80 Mikkelsen A, Jorgensen M, Krebs F C. The teraton challenge: A review of fixation and transformation of carbon dioxide. *Energy Environ Sci*, 2010, 3: 43–81
- 81 Wilkins M J, Hoyt D W, Marshall M J, et al. CO₂ exposure at pressure impacts metabolism and stress responses in the model sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio vulgaris* strain Hildenborough. *Front Microbiol*, 2014, 5: 507
- 82 Holloway S. Underground sequestration of carbon dioxide—A viable greenhouse gas mitigation option. *Energy*, 2006, 30: 2118–2333
- 83 Wan J, Tokunaga T K, Ashby P D, et al. Supercritical CO₂ uptake by nonswelling phyllosilicates. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115: 873–878
- 84 Amanatidou A, Smid E J, Gorris L G. Effect of elevated oxygen and carbon dioxide on the surface growth of vegetable-associated microorganisms. *J Appl Microbiol*, 1999, 86: 429–438
- 85 Baines S J, Woeden R H. The Long-Term Fate of CO₂ in the Subsurface: Natural Analogues for CO₂ Storage. London, United Kingdom: Geological Society Special Publications, 2004
- 86 Gilfillan S M V, Ballentine C J, Holland G, et al. The noble gas geochemistry of natural CO₂ gas reservoirs from the Colorado Plateau and Rocky Mountain provinces, USA. *Geochim Cosmochim Acta*, 2008, 72: 1174–1198
- 87 Gilfillan S M V, Lollar B S, Holland G, et al. Solubility trapping in formation water as dominant CO₂ sink in natural gas fields. *Nature*, 2009, 458: 614–618
- 88 Freedman A J E, Tan B, Thompson J R. Microbial potential for carbon and nutrient cycling in a geogenic supercritical carbon dioxide reservoir. *Environ Microbiol*, 2017, 19: 2228–2245
- 89 Zhang F, She Y H, Chai L J, et al. Microbial diversity in long-term water-flooded oil reservoirs with different *in situ* temperatures in China. *Sci Rep*, 2012, 2: 760
- 90 Mu A, Boreham C, Leong H X, et al. Changes in the deep subsurface microbial biosphere resulting from a field-scale CO₂ geosequestration experiment. *Front Microbiol*, 2014, 5: 209
- 91 Mu A, Moreau J W. The geomicrobiology of CO₂ geosequestration: A focused review on prokaryotic community responses to field-scale CO₂ injection. *Front Microbiol*, 2015, 6: 263
- 92 Jin Q, Kirk M F. Thermodynamic and kinetic response of microbial reactions to high CO₂. *Front Microbiol*, 2016, 7: 1696
- 93 Colman D R, Poudel S, Stamps B W, et al. The deep, hot biosphere: Twenty-five years of retrospection. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 6895–6903
- 94 Voordouw G. Production-related petroleum microbiology: Progress and prospects. *Curr Opin Biotechnol*, 2011, 22: 401–405
- 95 Wang X, Zhen F, Huang X, et al. Factors influencing the development potential of urban underground space: Structural equation model approach. *Tunn Undergr Space Technol*, 2013, 38: 235–243
- 96 Xie H P, Gao F, Ju Y, et al. Novel idea and disruptive technologies for the exploration and research of deep earth (in Chinese). *Adv Eng Sci*, 2017, 49: 1–8 [谢和平, 高峰, 鞠杨, 等. 深地科学领域的若干颠覆性技术构想和研究方向. *工程科学与技术*, 2017, 49: 1–8]
- 97 Xie H P, Gao M Z, Zhang R, et al. The subversive idea and its key technical prospect on underground ecological city and ecosystem (in Chinese). *Chin J Rock Mech Eng*, 2017, 36: 1301–1313 [谢和平, 高明忠, 张茹, 等. 地下生态城市与深地生态圈战略构想及其关键技术展望. *岩石力学与工程学报*, 2017, 36: 1301–1313]

Summary for “人类活动对深地微生物的影响”

The impacts of human activity on the microorganisms in deep subsurface

Yongguang Jiang & Liang Shi*

Department of Biological Sciences and Technology, School of Environmental Studies and State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Wuhan 430074, China

* Corresponding author, E-mail: liang.shi@cug.edu.cn

In the deep biosphere, there are a large number of microorganisms that are mainly bacteria and archaea. Fungi and viruses are also found in deep subsurface. These microorganisms found in the deep biosphere are functionally and phylogenetically diverse. Different from the microorganisms on the Earth surface where they use sunlight as their primary energy source, the microorganisms in deep subsurface employ the hydrogen gas and methane, which are produced mainly from geochemical interactions between water and rock, as their primary energy and/or electron sources. Human activities impact substantially on the deep subsurface environment as well as the microorganisms living there. This review focuses on the impacts of recovery of shale gas by horizontal drilling and hydraulic fracturing (or fracking), geological storage of nuclear wastes and CO₂ capture and geological storage on the microorganisms in the deep biosphere.

Shale gas is the natural gas locked within the black shale in deep subsurface. Horizontal drilling and fracking are widely used to recover the shale gas. Research results demonstrate that the structures and functions of microbial community differ greatly at different stages of recovery of shale gas by fracking. Results also find that viruses play crucial roles in influencing the structures and functions of microbial community during different stages of recovery of shale gas by fracking. Among the microorganisms identified, the methanogens in the black shale impact positively on the natural gas recovery by producing methane. In contrast to the methanogens, the acid-producing microorganisms impact negatively on the natural gas recovery by causing reservoir souring and corrosion of metal structures. Thus, the microorganisms in the deep subsurface play dual roles in impacting the natural gas recovery.

Nuclear wastes are the materials containing or contaminated with radionuclide. Safe storage of nuclear wastes is the most important factor that determines whether nuclear industry and peaceful use of nuclear energy can be continuously developed. Currently, geological storage in deep subsurface is the only acceptable way for long-term and safe storage of the nuclear wastes whose half-life is long and radioactivity is high. For this reason, underground research laboratories (URL) are constructed to assess potential impacts of the microorganisms in the deep subsurface on the safe storage of nuclear wastes in the geological formation. The results demonstrate that complex of microbial communities reside in the geological formations planned for storage of nuclear wastes. Although structures and functions of these microbial communities vary, the sulfate-reducing bacteria found in these communities may corrode the metal structures, while gas-producing microorganisms may increase the chamber pressure of the storage structure. All of these microbial activities may damage the structure and function of the nuclear waste geological repository. In contrast, the Fe(III)-reducing microorganisms may stabilize nuclear wastes in the repository.

CO₂ capture and storage could slow down the global warming by reducing CO₂ emissions. Research results show that certain group of bacteria live under supercritical CO₂ condition in the deep subsurface. Moreover, geological storage of supercritical CO₂ acidify the water in deep subsurface, which increases dissolution of rocks and minerals. Consequently, it changes the chemical environment and the structures and functions of microbial community in the deep subsurface. In turn, the responses of microbial communities to the addition of supercritical CO₂ may affect the stability of CO₂ storage in the geological settings.

Over the past decades, our understanding of the impacts of human activity on the microorganisms in deep subsurface has been advanced significantly. A common theme emerging from the results of these studies is that the microorganisms influenced by human activity may have either positive or negative effects in recovery of shale gas and geological storage of nuclear waste and CO₂.

human activity, microorganisms in deep subsurface, deep subsurface environment, shale gas recovery, geological storage of nuclear wastes, CO₂ capture and geological storage

doi: 10.1360/N972018-00505