

# Życie towarzyszące naturalnym, powierzchniowym wyciekom węglowodorów

## Life at natural hydrocarbon seeps

Joanna Brzeszcz, Piotr Kapusta

*Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy*

**STRESZCZENIE:** Swobodne migracje węglowodorów związane są z ciągłym rozpraszaniem tych związków ze stref ich nagromadzeń i zachodzą w warunkach silnej erozji skał uszczelniających oraz wysokiej porowatości skał zbiornikowych. Opisywane zjawiska występują zarówno w środowisku morskim, jak i lądowym, przyjmując różne formy. Morskie wypływy, zwane zimnymi wysiękami (ang. *cold seeps*), występują m.in. w postaci powierzchniowych wycieków gazu i/lub ropy, jezior solankowych, wulkanów asfaltowych oraz błotnych. Z kolei na lądzie migracje ujawniają się jako jeziora ropy, smoliste, naskalne naloty bitumiczne, przesiąknięta ropą gleba, wycieki gazowe oraz wulkany błotne. Uważa się, że prawie każdy basen naftowy zawiera obecnie tysiące aktywnych wycieków ropy. Blisko 50% ropy przedostającej się do mórz i oceanów ma pochodzenie nieantropogeniczne. Pomimo toksyczności niektórych węglowodorów chronicznie skażone miejsca zasiedlane są przez różnorodne grupy organizmów, począwszy od prostych jednokomórkowych bakterii po złożone organizmy wyższe. Bakterie stanowią kluczowy element umożliwiający funkcjonowanie takich ekosystemów. W tym aspekcie olbrzymie znaczenie mają zdolności metaboliczne niektórych bakterii ukierunkowane na węglowodory, gdyż umożliwiają one całkowitą mineralizację tych substancji lub przekształcenie ich w produkty charakteryzujące się mniejszą toksycznością. W środowisku morskim procesy te w większości zachodzą w warunkach beztlenowych, zaś w środowisku lądowym większą wagę należy przypisać procesom tlenowym. Wydaje się, że zależności symbiotyczne z takimi mikroorganizmami dla organizmów wyższych są niezwykle cenne, ponieważ umożliwiają im zajmowanie tych ekstremalnych środowisk. W przypadku morskich wycieków należy również zwrócić uwagę na bakterie chemosyntetyzujące, które wykorzystując metan oraz siarkowodor, wytwarzają substancje odżywcze (węglowodany) na potrzeby organizmu gospodarza, np. małży z rodzin *Lucinidae*, *Mytilidae*, *Solemyidae*, *Thyasiridae*, *Vesicomidae*. W niniejszym artykule starano się przedstawić złożoność i niezwykłość różnorodnych form życia, które występują w środowisku długotrwale skażonym substancjami ropopochodnymi.

**Słowa kluczowe:** naturalne wycieki węglowodorów; ropa naftowa; środowisko gruntowo-wodne; środowisko morskie; mikroorganizmy.

**ABSTRACT:** Natural hydrocarbon migration means permanent hydrocarbon dispersion from their accumulation zones. These compounds escape along permeable migration pathways, or across them through fractures and faults in the cap rock, or directly from an outcrop of oil-bearing rock. Hydrocarbon seepages occur both in marine and terrestrial environments, but in various forms. Marine seepages, termed as cold seeps, may appear as gas bubbles, oil plums, brine pools and basins, as well as asphalt or mud volcanoes. In turn, terrestrial seeps may manifest as lakes of crude oil, tarry, rocky bituminous deposits, oil soaked soil, gas seeps and mud volcanoes. It is believed that almost every oil basin has thousand active oil seeps. Almost 50% of crude oil entering seas and oceans has non-anthropogenic origins. In spite of some hydrocarbon toxicity, permanently oil-exposed sites are habitats of diverse groups of organisms; from unicellular bacteria to more complex, higher organisms. Bacteria are the key players for the proper functioning of ecosystems connected with hydrocarbon seeps. In this context, bacterial metabolic capabilities towards some hydrocarbons are of great importance since microorganisms may totally mineralize or transform these substances to less toxic products. In the marine seeps these processes occur under anaerobic conditions, while aerobic hydrocarbon conversion is more important in terrestrial environments. The symbiosis with such microbes seems to be valuable for higher organisms, as it allows them to occupy such extreme environments. In case of marine seeps, attention should be also paid to chemosynthetic bacteria that use methane or hydrogen sulfide to produce nutrients (carbohydrates) for host organism i.e. bivalve families such as *Lucinidae*, *Mytilidae*, *Solemyidae*, *Thyasiridae*, *Vesicomidae*. In this article, we tried to present the complexity, biodiversity and uniqueness of various life forms which exist in the chronically hydrocarbon-contaminated environment.

**Key words:** natural hydrocarbon seeps; crude oil; soil environment; marine environment; microorganisms.

Autor do korespondencji: J. Brzeszcz, e-mail: [joanna.brzeszcz@inig.pl](mailto:joanna.brzeszcz@inig.pl)

Artykuł nadesłano do Redakcji: 08.02.2021 r. Zatwierdzono do druku: 27.09.2021 r.

## Wstęp

W latach 60. XIX wieku obserwacja powierzchniowych wycieków węglowodorów występujących w Pensylwanii i Azerbejdżanie stała się podstawą do podjęcia prac eksploatacyjnych przez pionierów przemysłu naftowego. Jednakże ludzie byli świadomi istnienia tego zjawiska znacznie wcześniej, na co wskazują odkrycia archeologiczne z okresu paleolitu (Etiopie, 2015). Początkowo ropę wydobywano zazwyczaj tam, gdzie występowały jej wycieki na powierzchnię, gdyż stanowią one świadectwo ropo- i gazonośności basenów naftowych (Matyasik et al., 2015). Tym samym dowodzą one występowania procesów generowania węglowodorów oraz wskazują miejsca ich nagromadzenia w strukturach wgłębnych, choć niekoniecznie są indykatorami złóż, których eksploatacja jest ekonomicznie opłacalna. Co więcej, opisywane migracje świadczą o permanentnym procesie degradacji substancji ropopochodnych. Obecnie uważa się, że prawie każdy basen naftowy zawiera tysiące aktywnych wycieków (Etiopie, 2015).

Powstałe na drodze przemian mikrobiologicznych lub termochemicznych węglowodory są mniej gęste niż woda lub solanka obecna w otaczających warstwach. Pod wpływem ciśnienia dochodzi do swobodnego przenikania węglowodorów, które względnie powoli przesączają się na powierzchnię. Jak podają Kuśmierek i Machowski (2008), źródła tego zjawiska należy wiązać z:

- a) „migracją pierwotną i ekspulsją wygenerowanych węglowodorów z dojrzałych termicznie skał macierzystych, wypiętrzonych z pierwotnie głęboko pograżonych stref ich generowania wskutek ruchów fałdująco-nasuwczych;
- b) migracją wtórną, ujawniającą się na erodowanych wychodniach skał zbiornikowych lub wzdłuż uskoków i nasunięć je dyslokujących;
- c) remigracją opartą na rozproszeniu węglowodorów ze stref ich akumulacji w pułapkach złożowych wskutek erozyjnego rozcięcia warstw tworzących nadkład uszczelniający horyzonty produktywne”.

Intensywność naturalnych wpływów może być zróżnicowana (Etiopie, 2015) – od obserwowanych makroskopowo makrowystąpień/makrowycieków (ang. *macroseeps*) po mikroemanacje/mikrowycieki (ang. *microseeps*), których detekcja wymaga użycia odpowiednio czułych metod chemicznych. Makrowystąpienia są najczęściej związane z basenami naftowymi wyróżniającymi się skomplikowaną tektoniką formacji ropo- i gazonośnych lub rozległą erozją skał uszczelniających (Matyasik et al., 2015). Wycieki te są najbardziej rozpowszechnione w kulminacjach struktur fałdowych i strefach dyslokowanych uskokami lub nasunięciami. Uważa się, że ponad 75% basenów naftowych przejawia się jako megawystąpienie (Clarke i Cleverly, 1991). Z kolei mikroemanacje lekkich

węglowodorów mają znacznie szerszy zasięg, gdyż występowanie drobnych szczelin lub spękań nadkładu skalnego ułatwia ucieczkę tych substancji. Na ogół strefy mikroprzenikania pojawiają się wertykalnie lub prawie wertykalnie w stosunku do skały zbiornikowej.

Opisywane zjawisko może mieć charakter permanentny lub krótkotrwały. Na przestrzeni lat aktywność takich wpływów może ulegać zmianom – całkowicie zaniknąć lub zostać mocno ograniczona. Przykładowo, dowody geologiczne wskazują na bardziej liczne niż obecnie swobodne wypływy w pasie Alpy–Himalaje oraz na obszarze Oceanu Spokojnego (Etiopie, 2015). Skład chemiczny wydobywającej się na powierzchnię mieszaniny cechuje wysoki stopień zróżnicowania. Zarówno lekkie (metan), jak i ciężkie (surowa ropa naftowa) węglowodory swobodnie migrują, a wraz z nimi wydobywać się mogą związki mineralne, siarkowodor oraz solanka.

Naturalne wypływy węglowodorów występują na lądzie, na dnach mórz, oceanów oraz jezior (np. jezioro Bajkał (Pavlova et al., 2020)) (rys. 1) i przyjmują one różnorodne formy (tab. 1). W przeciwieństwie do lądowych emisji gazu – wycieki ropy dużo łatwiej rozpoznać i zlokalizować ze względu na charakterystyczny zapach i barwę wydobywającej się cieczy oraz możliwość tworzenia się emulsji na powierzchni wody (Matyasik et al., 2015). Często lekkie węglowodory, wypływając na powierzchnię, odparowują, a pozostałe frakcje ulegają różnym procesom (fotodegradacja, biodegradacja), które powodują zmianę pierwotnego składu wypływającego płynu naftowego. W przypadku wygasłych kilkaset lat temu wpływów ropy przemiany te zachodzą w relatywnie długiej skali czasowej. W wyniku tych modyfikacji jedynie ciężkie, trudno biodegradowalne frakcje asfaltenowe obecne są na powierzchni lądu lub dnie morskim, w postaci jezior czy wulkanów asfaltowych (tab. 1).

Naturalne wycieki węglowodorów występujące w środowisku morskim określa się mianem zimnych wysięków (ang. *cold seeps*). Temperatura emitowanego gazu lub ropy naftowej jest porównywalna z temperaturą wody otaczającej miejsce wypływu. Migracje te mogą występować zarówno wzdłuż aktywnych, jak i pasywnych krawędzi (Suess, 2014; Etiopie, 2015). W tym pierwszym przypadku wiążą się one z procesami akreacji i tworzenia się np. wulkanów błotnych (Joye, 2020). Z kolei wzdłuż krawędzi pasywnych wyróżnia się układy o zróżnicowanym przepływie węglowodorów – począwszy od błotnych wulkanów, charakteryzujących się wysokim strumieniem przepływu, przez jeziora i baseny solankowe, wycieki ropy i gazu, hydraty metanu po układy wykazujące relatywnie niski wpływ oraz obecność autogenicznych węglanów (Joye, 2020).

Jak wspomniano, naturalną drogą migracji węglowodorów są również erupcje wulkanów błotnych, które występują na

**Tabela 1.** Przejawy naturalnych makrowystąpień węglowodorów, które obserwuje się zarówno w środowisku lądowym, jak i morskim (opracowano na podstawie: Etiope, 2015; Matyasik et al., 2015; Farahan Ul Haque et al., 2019; Joye, 2020)

**Table 1.** Natural hydrocarbon macroseeps observed in both terrestrial and marine environment.

The list was evaluated based on: Etiope, 2015; Matyasik et al., 2015; Farahan Ul Haque et al., 2019; Joye, 2020.

Naturalne wypływy węglowodorów	
Lądowe	Morskie (zimne wysięki)
Jeziorka wypełnione ropą	Wypełnione solanką jeziora i baseny zawierające wysokie stężenia CH <sub>4</sub> i H <sub>2</sub> S
Jeziorka asfaltowe	Wklęsłe, podobne do kraterów zagłębienia (ang. <i>pockmarks</i> )
Plamy ropy pokrywające powierzchnię spękań skał	Hydraty metanu
Smoliste, ciemnobrunatne lub żółte nagromadzenia bituminów w szczelinach i porach skał lub na ich powierzchni	Kominy metanowe
Emisje gazu ziemnego objawiające się jako: (a) bąbelki gazu pojawiające się na powierzchni wód gruntowych lub płytkich zbiorników wodnych; (b) „suchy gaz” (ang. <i>dry gas</i> ), który migruje przez skałę lub grunt bez kontaktu z wodami gruntowymi	Wulkany błotne
Wulkany błotne	Wulkany asfaltowe

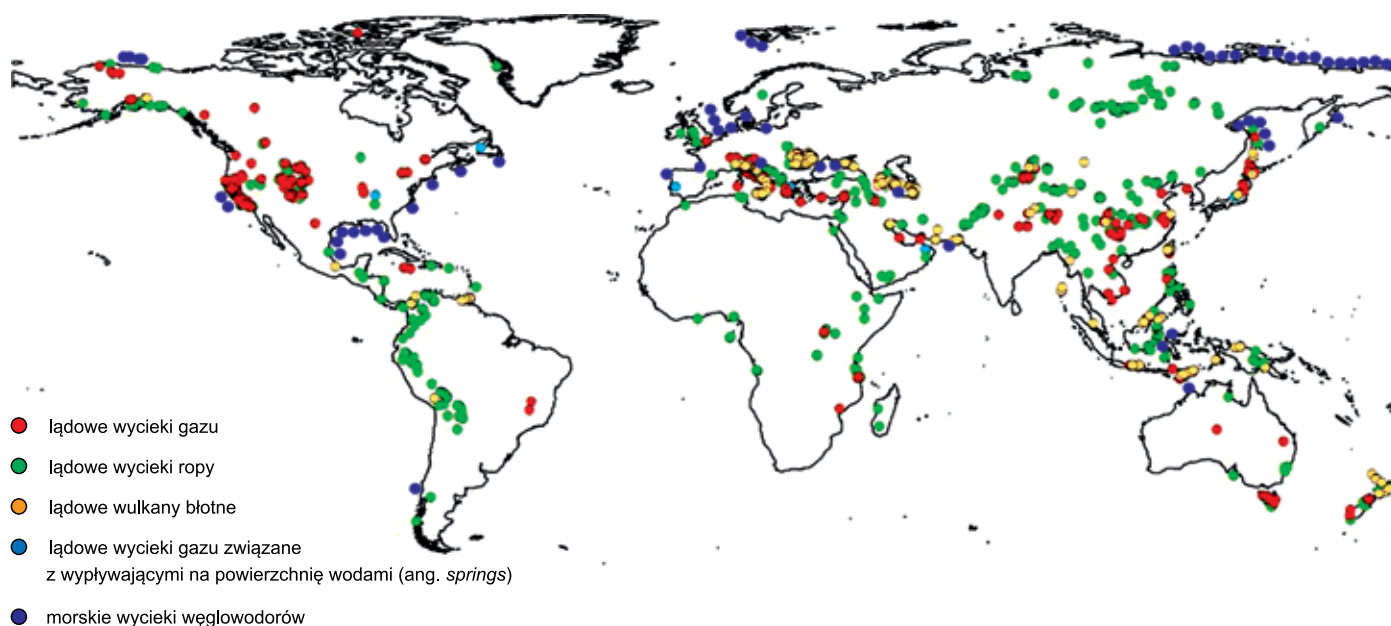
lądzie (Baciu et al., 2007; Manga i Bonini, 2012; Babadi et al., 2019) oraz na dnach mórz i oceanów (Holland et al., 2003; Krastel et al., 2003; Sautkin et al., 2003; Shakirov et al., 2004; Medialdea et al., 2009). Większość tych wulkanów zlokalizowana jest na obszarach gazo- i roponośnych (przykładowo: Azerbejdżan) (Kholodov, 2002; Etiope, 2015). W trakcie erupcji z wulkanu wyrzucana jest mieszanina gazu, ropy, wody, solanki oraz substancji stałych (piasek, fragmenty skał) (Etiope, 2015; Joye, 2020). Bardziej zagadkowe są natomiast wulkany asfaltowe, które zostały odkryte na początku XXI wieku (MacDonald et al., 2004). Uformowały się one dziesiątki tysięcy lat temu, gdy z dna morskiego wypływała ciężka, zdegradowana ropa naftowa. Wówczas stanowiły one bogate źródło metanu, dziś ta rola wulkanów asfaltowych jest raczej marginalna (Joye, 2020).

### Naturalne wycieki ropy naftowej w liczbach

Opisywane zjawisko towarzyszy większości zarówno lądowych, jak i morskich złóż. Uważa się, że 47% całkowitej ilości ropy obecnej w morzach i oceanach ma pochodzenie naturalne. Źródłem pozostałych 53% jest natomiast szeroko pojęta aktywność człowieka związana z przemysłem naftowym (tj. eksploatacja, transport, magazynowanie, obróbka) (Kvenvolden i Cooper, 2003). Wymienione 47% odpowiada średnio 600 000 t ropy rocznie dostającej się do środowiska morskiego. Należy jednak uwzględnić niepewność tych szacunków na poziomie 0,2–2 mln t (Kvenvolden i Cooper, 2003). Nie wszystkie baseny są jednakowo aktywne pod względem ilości swobodnie migrującej ropy. Obecnie najbardziej czynnymi obszarami są te związane z kontynentem północnoamerykańskim (rys. 1). Szacuje się, że wkład tych

wycieków w całkowitą ilość ropy rocznie przedostającą się do środowiska morskiego na całym świecie wynosi ponad 25%, tj. 160 000 t (Coleman et al., 2003). U wybrzeży południowej Kalifornii każdego roku niewymuszone wypływy dostarczają średnio 17 000 t (szacowany zakres od 2100 t do 35 000 t) węglowodorów. Wartość ta jest znacznie wyższa w przypadku wód północno-wschodniej części Zatoki Meksykańskiej i wynosi 70 000 t (przedział od 40 000 t do 140 000 t). Z kolei zjawisko to odpowiada za 17% i 10% całkowitego skażenia wód odpowiednio Morza Kaspijskiego i Zatoki Perskiej (za Massoud et al., 1996; Zatyagalova et al., 2007). W przypadku tego pierwszego akwenu wspomniane 17% równoważne jest 20 000 t ropy (Zatyagalova et al., 2007). Ocenia się, że rocznie 400–3000 t ropy trafia do wód południowo-wschodniej części Morza Czarnego w sposób całkowicie naturalny (Evtushenko i Ivanov, 2013). Poza wymienionymi obszarami występowanie wypływów zostało udokumentowane również u wybrzeży Alaski i Borneo, w Zatoce Świętego Wawrzyńca oraz na dnach mórz: Baffina, Ochockiego, Południowochińskiego (część północno-zachodnia), Adriatyckiego (Fontespina) oraz Północnego (lokalizacje Gullfaks, Scanner, Tommeliten) (rys. 1).

Clarke i Cleverly (1991) podają, że na początku lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku całkowita liczba lądowych wycieków węglowodorów przekraczała 10 000. Niestety, brak jest aktualnych danych. Łączna ilość tych związków swobodnie docierających na powierzchnię lądu jest trudna do oszacowania, mimo iż niektóre źródła estymują tę wartość na poziomie 80% całkowitej ilości ropy naftowej rocznie dostającej się do środowiska (za Remelli et al., 2020). Obecnie największe i najbardziej aktywne obszary znajdują się w Azerbejdżanie (nieдалеко Dashgil), Kalifornii (McKittrick, La Brea Tar Pits



**Rys. 1.** Występowanie naturalnych wycieków ropy (na podstawie: Etiope et al., 2019; modyfikacje obejmują: podpisy w języku polskim oraz dodatkowo zaznaczono morskie wypływy węglowodorów; na licencji Creative Commons Attribution 4.0 Licence (CC-BY))

**Fig. 1.** Distribution of natural oil seep areas (according to Etiope et al., 2019; modifications include: labels in Polish and marked marine hydrocarbon seeps; Creative Commons Attribution 4.0 Licence (CC-BY)).

i Sargent Oil Fields), Iraku (Pulkhana), Kuwejcie (Burgan), Nowej Zelandii (Kōtuku) i na Alasce (Samovar Hills) (rys. 1; Etiope, 2015; Etiope et al., 2019).

### Powierzchniowe wycieki ropy naftowej występujące na obszarze polskich Karpat

Obszarem charakteryzującym się występowaniem naturalnych powierzchniowych wycieków ropy są również Karpaty zewnętrzne. Na podstawie przeprowadzonych badań terenowych Kuśmierk i Machowski (2008) odnotowali, że we wschodniej części Karpat polskich wspomniane wypływy najczęściej znajdują się „w porowatych piaskowcach, silnie spękanych piaskowcach drobnoziarnistych, mułowcach i łupkach. Natomiast znacznie rzadziej występują one w aluwkach, zboczach dolin i jezorach osuwisk”. Cytowani autorzy sugerują, że swobodne migracje węglowodorów towarzyszą wychodniom serii fliszowych jednostek dukielskiej, śląskiej, podśląskiej, skolskiej i magurskiej oraz wskazują, że najczęściej wypływy są zlokalizowane na czole płaszczowiny magurskiej oraz w skłonach depresji strukturalnych płaszczowiny śląskiej i skolskiej. Kuśmierk i Machowski (2008) twierdzą, że opisywane zjawisko jest „wyraźnie częstsze w strefach największego zaangażowania tektonicznego i/lub wyklinowania się serii zbiornikowych, towarzyszących elewacjom strukturalnym antyklin m.in. Gorlic, Iwonicza-Zdroju, Bóbrki–Rogów, Suchych Rzek, Zagórza, Strachociny–Sanoka, Łodyny–Kopalni i Wary–Chwaniowa, w obrębie których erozja obniżyła wychodnie starszych

ogniwi litostratygraficznych. Najwięcej wycieków znajduje się w skrzydłach wymienionych fałdów, nieco mniej w strefach przegubów antyklinalnych, zaś najmniej w obszarach linii intersekcyjnych nasunięć i uskoków”. Szacują oni także, że na obszarze Karpat blisko 446 mln t mieszaniny ropy i gazu swobodnie przedostaje się do środowiska. W głównej mierze (206 mln t) wypływająca ropa pochodzi z oligoceńskich skał zbiornikowych, których erodowane wychodnie przeważają w obszarze wschodniej części Karpat polskich (za Kuśmierk i Machowski, 2008).

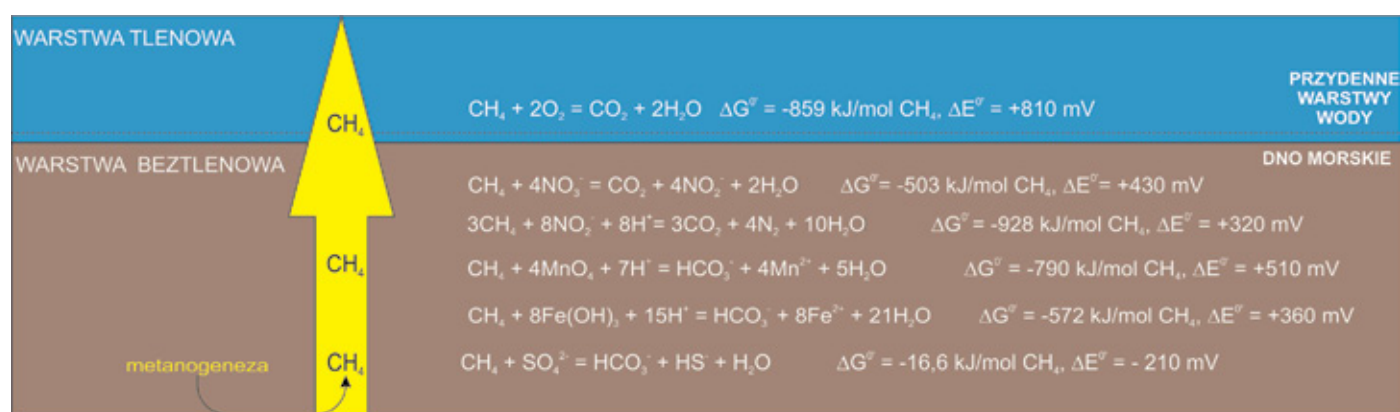
### Procesy biodegradacji węglowodorów

Zdolności metabolizowania węglowodorów są domeną wielu mikroorganizmów (bakterii, grzybów, glonów) (Head et al., 2006). Bakterie jako pierwsze odpowiadają na pojawienie się tego typu zanieczyszczenia i pełnią kluczową rolę w transformacji tych związków, w szczególności w środowisku morskim (Head et al., 2006; Kennicutt II, 2017). Poziom rozkładu tych substancji zależy od wielu czynników środowiskowych, takich jak: (a) dostępność ostatecznych akceptorów elektronów, (b) biodostępność składników mineralnych (w szczególności związków azotu), (c) zawartość ropy oraz jej skład jakościowy i ilościowy, (d) biodostępność poszczególnych grup węglowodorów, (e) temperatura, (f) zasolenie, (g) odczyn oraz (h) obecność autochtonicznych mikroorganizmów, których profil kataboliczny obejmuje węglowodory (Kennicutt II, 2017). Metabolizm tych związków zachodzi zarówno w warunkach

tlenowych, jak i beztlenowych. Jako że węglowodory są bardziej zredukowane niż produkty ich rozkładu, degradacja tych substancji odbywa w obecności akceptorów elektronów o potencjale redoks wyższym niż substrat organiczny (węglowodór). Wartość tego potencjału decyduje o kolejności wykorzystywania przez bakterie ostatecznych akceptorów elektronów (patrz wartości  $\Delta E^0$  na rysunku 2). W warunkach tlenowych funkcję tę pełni  $O_2$  (rys. 2), a gdy go brak (warunki beztlenowe), rolę tę pełnią azotany, jony żelaza(III) i manganu(IV) oraz siarczany wykorzystywane przez odpowiednio bakterie denitryfikacyjne, żelazowe, redukujące jony manganu(IV) oraz siarczanowe

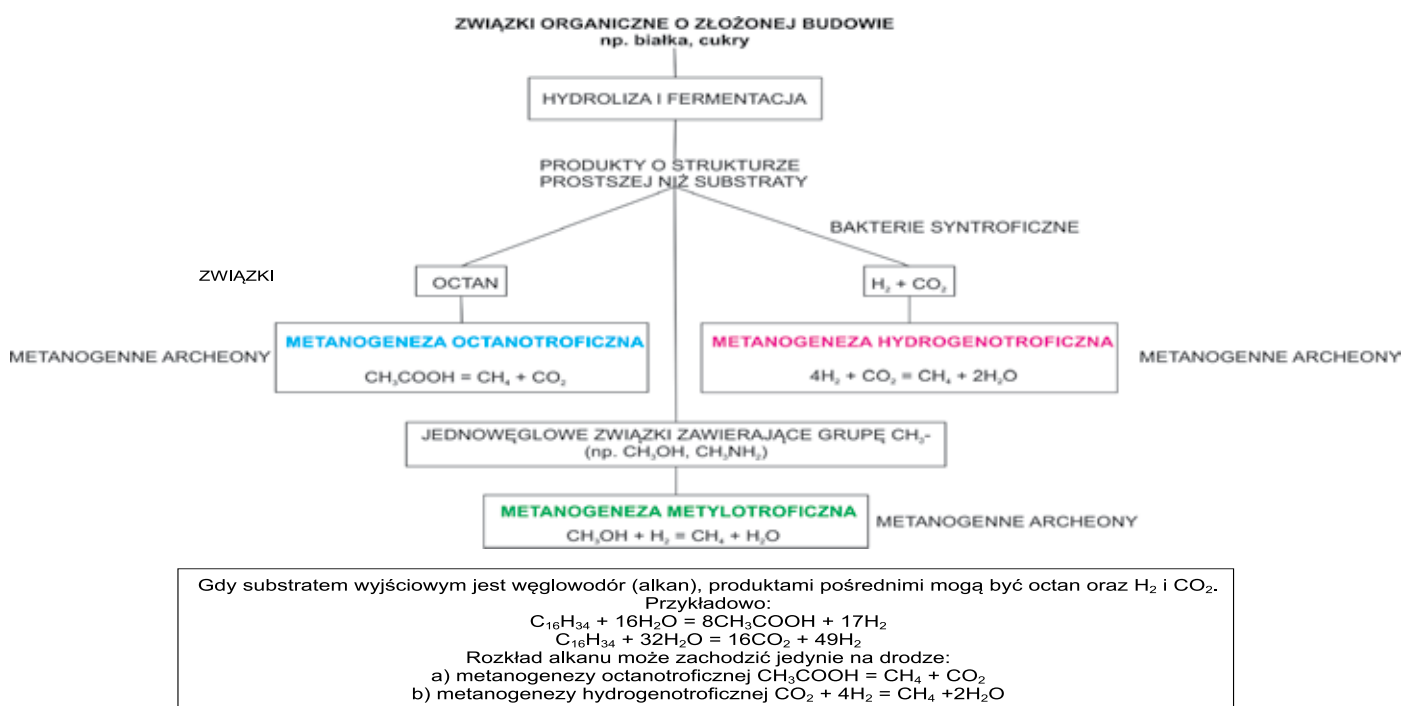
(rys. 2) (Froelich et al., 1979). Dodatkowo transformacje węglowodorów mogą zachodzić w warunkach umożliwiających metanogenezę, w której uczestniczą syntropijne konsorcja metanogenne (rys. 3). W tym przypadku związki organiczne (węglowodory) przekształcane są przez bakterie fermentacyjne do prostszych produktów pośrednich (m.in.  $H_2$ ,  $CH_3COOH$ ). Te z kolei ulegają przemianom z wytworzeniem metanu ( $CH_4$ ) przez metanogenne archeony (rys. 3).

Najwięcej energii dostarcza utlenianie węglowodorów sprzężone z redukcją tlenu, następnie kolejno procesy połączone z redukcją azotanów, jonów żelaza(III), jonów manganu(IV)



**Rys. 2.** Schemat przedstawiający mikrobiologiczne procesy rozkładu metanu wraz z równaniami reakcji rozkładu tego węglowodoru sprzężonymi z redukcją końcowych akceptorów elektronów. Podano również wartości potencjału redoks ( $\Delta E^0$ ) oraz swobodnej energii Gibbsa ( $\Delta G^0$ ) prezentowanych przemian. Rysunek powstał na podstawie: Wallenius et al., 2021 – w oparciu o licencję Creative Commons Attribution License 4.0 (CC-BY)

**Fig. 2.** Schematic presentation of microbiological methane degradation and reaction equations of methane oxidation coupled with reduction of different electron acceptors. The redox potential ( $\Delta E^0$ ) value and Gibbs free energy ( $\Delta G^0$ ) value of presented processes were shown. The scheme was prepared according to Wallenius et al. (2021), based on Creative Commons Attribution License 4.0 (CC-BY)



**Rys. 3.** Schemat przedstawiający proces metanogenezy wraz z uwzględnieniem rozkładu heksadekanu w warunkach metanogenicznych

**Fig. 3.** Schematic presentation of the process of methanogenesis including hexadecane decomposition under methanogenic conditions

oraz siarczanów (patrz wartości  $\Delta G^0$  na rysunku 2). Najmniej energii generowanej jest w procesach tworzenia się metanu.

W środowisku lądowym wpływająca ropa może ograniczać dyfuzję tlenu atmosferycznego, powodując tworzenie się lokalnie warunków beztlenowych w warstwach przypowierzchniowych gleby (np. centrum wycieku), choć w większości warstwy te zasiedlane są głównie przez mikroorganizmy tlenowe. Z kolei w środowisku morskim wspomniany akceptor najczęściej jest dostępny jedynie w górnej, kilkumilimetrowej warstwie osadu dennego oraz w przydennych warstwach wody (rys. 2). Obecność w tych miejscach „mat” składających się z bakterii utleniających siarkę, które wykorzystują tlen, powoduje, że warunki anaerobowe mogą również panować w otoczeniu takiego wycieku (Ruff, 2020). Stosunkowo wysokie stężenia siarczanów w wodzie morskiej sprawiają, że ich dostępność jest duża (Joye, 2020). Tym samym biodegradacja węglowodorów zachodząca w omawianych miejscach jest głównie sprzężona z redukcją siarczanów. Produkt tej redukcji, siarkowodor, wykorzystywany jest jako źródło energii przez mikroorganizmy zdolne do jego utleniania (patrz rysunek 4) (za Kennicutt II, 2017). Zatem krążenie siarki stanowi ważny element funkcjonowania ekosystemów morskich związanych ze swobodnymi wpływami ropy. Azotany, jony manganu(IV) oraz żelaza(III) mogą być również obecne w osadzie dennym (rys. 2). Związki te pełnią jednakże marginalną rolę jako ostateczne akceptory elektronów w omawianym środowisku, na co wskazują nieliczne dowody świadczące o procesach denitryfikacji czy redukcji metali (za Joye, 2020).

### **Środowisko gruntowo-wodne a występowanie naturalnych wycieków ropy naftowej**

Występowanie powierzchniowych wycieków ropy w środowisku gruntowo-wodnym powoduje zmianę chemizmu gleby poprzez wzrost zawartości węglowodorów, pojawienie się w obszarze otaczającym wpływ anomalnych stężeń metali śladowych i powstanie środowiska silnie redukcyjnego (Schumacher, 1996). To z kolei przyczynia się do zmian w składzie mineralogicznym gleby. Tworzą się minerały ilaste, minerały bogate w jony żelaza(II) (np. piryt czy magnetyt) oraz węglany, przy jednoczesnym usuwaniu związków zawierających jony żelaza(III) (np. hematyt, getyt) (Schumacher, 1996). Dodatkowo tekstura gleby ulega modyfikacjom. Orłowska i Mierzwa (2013) zauważyły zmniejszenie frakcji ilastej w glebie towarzyszącej wypływowi. W omawianym środowisku węglowodory występują w postaci: (a) rozpuszczonej w wodzie porowej, (b) par, (c) zaadsorbowanej na cząstkach gleby oraz (d) niemieszającej się z wodą fazy pływającej na powierzchni roztworu glebowego. Adsorpcja słabo rozpuszczalnych

węglowodorów alifatycznych i aromatycznych na powierzchni cząstek gleby powoduje zatykanie przestrzeni porowej gleby, ograniczając jej przepuszczalność. Pływająca na powierzchni roztworu glebowego substancja organiczna przemieszcza się horyzontalnie wzdłuż gradientu stężeń, wypierając powietrze z przestrzeni porowej cząstek gleby (Lehorne, 2019). Ponadto obniżeniu ulega pojemność sorpcyjna kompleksu glebowego i jego zdolności przyswajania związków potasu, magnezu i fosforu oraz wymiany ważnych makroelementów. Tym samym transport wody, substancji odżywczych i tlenu w takiej glebie jest zaburzony. Prowadzi to do limitowanego dostępu tych związków dla organizmów prokariotycznych i eukariotycznych. Gleby zanieczyszczone substancjami ropopochodnymi cechują się nadmierną zawartością związków węgla, co zaburza stosunek C:N:P konieczny do prawidłowego rozwoju różnych form życia. Zakłócenie równowagi biologicznej gleby powoduje jej zubożenie w tlen oraz w przyswajalne przez rośliny związki azotu i fosforu przy wyraźnym nadmiarze węgla organicznego. W konsekwencji właściwości fizyczne, chemiczne i biologiczne skażonej gleby ulegają drastycznym zmianom, a jej zdolności produkcyjne – pogorszeniu. Ponadto surowa ropa naftowa oraz niektóre jej składniki cechują się toksycznością względem organizmów (Hentati et al., 2013).

Gleby są zasiedlane przez niezwykle złożone i różnorodne populacje mikroorganizmów, których skład może różnić się między sobą. Wynika to między innymi z odmiennych czynników biotycznych i abiotycznych działających lokalnie. Uważa się, że nagle pojawienie się węglowodorów powoduje zmniejszenie bioróżnorodności mikrobioty glebowej. Z kolei ich długotrwała (liczona w setkach lat) obecność powinna stanowić presję selekcyjną, która przyczynia się do rozwoju unikatowego habitatu zasiedlanego przez mikroorganizmy zdolne do wzrostu i rozwoju w takich warunkach. Pośrednim dowodem są wyniki badań zaprezentowane przez Orłowską i Mierzwę (2013). Autorki wykazały wysoką aktywność biologiczną gleby w najbliższym otoczeniu miejsca wycieku, mogącą sugerować generowanie energii dla procesów życiowych organizmów występujących w takich środowiskach oraz zachodzenie procesów metabolizowania węglowodorów.

### **Organizmy występujące w glebach towarzyszących naturalnym powierzchniowym wyciekom ropy naftowej**

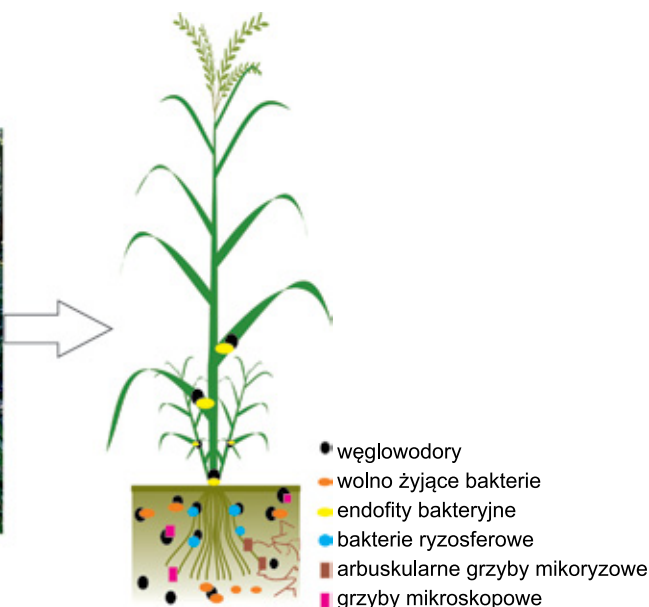
Biorąc pod uwagę omówione powyżej różnorodne zmiany wywołane obecnością węglowodorów oraz skalę czasową naturalnych migracji tych związków, organizmy zasiedlające gleby skażone ropą powinny wykształcić strategie umożliwiające kolonizację takich siedlisk (np. symbioza pomiędzy

rośliną a bakterią wykorzystującą substancje ropopochodne). Uzasadnione wydaje się, że wszelkie procesy bazujące na biodegradacji i fitoremediacji (ściślej: fitodegradacji) powinny odgrywać istotną rolę w tych miejscach (rys. 4). Tym samym mikroorganizmy metabolizujące węglowodory powinny stanowić istotny element funkcjonowania ekosystemu związanego z naturalnym wyciekami ropy (rys. 4).

występujące w najbliższym otoczeniu wycieków (Lumactud et al., 2016).

Poniżej starano się podsumować dotychczasowe obserwacje dotyczące życia w miejscach swobodnych wycieków ropy, uwzględniając: (a) bakterie potencjalnie zaangażowane w przemiany węglowodorów, (b) bakterie endofityczne, (c) grzyby, w tym arbuskularne grzyby mikoryzowe, oraz (d) faunę.

(A)



(B)

Potencjalne procesy mikrobiologiczne zachodzące w środowisku glebowym związanym z naturalnymi wyciekami ropy:

- **tlenowe utlenianie metanu** (obecność tlenowych metylotrófów, np. *Methylococcus*);
- **tlenowy i beztlenowy rozkład węglowodorów innych niż metan** (obecność bakterii wykazujących zdolności rozkładu węglowodorów);
- **rozkład materii organicznej** (obecność bakterii heterotroficznych niewykazujących potencjału degradacyjnego węglowodorów, a wykorzystujących pośrednio metabolity transformacji tych związków);
- **bakterie chemolitoautotroficzne** (np. *Acidithiobacillus*, *Sulfurimonas*)

**Rys. 4.** (A) Schemat przedstawiający interakcje pomiędzy mikroorganizmami a roślinami występującymi w glebach poddanych chronicznej ekspozycji na ropę. Istotną rolę w funkcjonowaniu takiego ekosystemu odgrywają mikroorganizmy wykazujące zdolności metaboliczne ukierunkowane na węglowodory. Są to mikroorganizmy wolno żyjące oraz symbionty roślin. Fotografia po lewej stronie przedstawia przykładowy naturalny wyciek ropy naftowej (autorka fotografii: J. Brzeszcz). (B) Procesy mikrobiologiczne, które potencjalnie zachodzą w glebach długotrwale skażonych węglowodorami

**Fig. 4.** (A) The schematic overview of microbe-plant interactions in terrestrial hydrocarbon seeps. Methane- and hydrocarbon-degraders (free-living microbes and plant symbionts) play the key role in functioning of this ecosystem. The photography on the left presents an example natural hydrocarbon seeps (author of the photo: J. Brzeszcz). (B) Potential microbiological processes occurring in chronically hydrocarbon-polluted soil

Jednakże drobnoustroje oraz organizmy wyższe bytujące w takim środowisku są stosunkowo słabo poznane. Nieliczne doniesienia literaturowe dotyczą zaledwie kilku, nierzadko odmiennych elementów biocenozy. Zespoły bakteryjne i grzybowe bytujące w tych miejscach były przedmiotem prac prowadzonych przez: Hamamurę et al. (2005), Röllinga et al. (2006), Bhagobaty'ego (2020), Rizzo et al. (2020) oraz Shlimona et al. (2020). Z kolei inni badacze skupili się na badaniu arbuskularnych grzybów mikoryzowych (Ryszka et al., 2019) czy endofitów bakteryjnych, kolonizujących rośliny bujnie

### **Bakterie potencjalnie zaangażowane w przemiany węglowodorów**

Jednymi z pierwszych, którzy podjęli tematykę zbiorowości mikroorganizmów towarzyszących naturalnym wyciekom ropy, byli Hamamura et al. (2005) oraz Rölling et al. (2006). Naukowcy ci badali drobnoustroje bytujące w glebach kwaśnych związanych z wyciekami, które występują odpowiednio na terenie Parku Narodowego Yellowstone oraz u wybrzeży hrabstwa Dorset w Wielkiej Brytanii. Elementem, który dodatkowo różnicował oba środowiska, był stopień biodegradacji

wyływającej ropy (niski/wysoki w przypadku brytyjskiego/amerykańskiego płynu).

Wyniki obu wymienionych grup badawczych wykazały dominację heterotroficznych populacji bakterii kwasolubnych z wyraźnym udziałem organizmów należących do rodzajów *Acidisphaera*, *Acidithiobacillus* i *Acidiphilium*. Rölling et al. (2006) sugerują, że acidofilne, heterotroficzne organizmy należące do klasy *Alfaproteobacteria* są powszechnym komponentem mikrobiomów istniejących w wyciekach węglowodorów w środowisku gruntowo-wodnym o niskim pH. Przypuszczalnie heterotroficzne bakterie *Acidiphilium* uczestniczą w degradacji substancji ropopochodnych, wykorzystując jony żelaza(III) jako akceptory elektronów. Częściowe usunięcie związków organicznych stwarza warunki dla rozwoju chemoautolitotroficznych drobnoustrojów z rodzaju *Acidithiobacillus*. Te z kolei są w stanie utleniać jony żelaza(II), dostarczając jonów żelaza(III) bakteriom *Acidiphilium*. W wyniku tych procesów lokalne środowisko ulega zakwaszeniu. Wysoka zawartość węglowodorów oraz żelaza w glebach z parku Yellowstone i wybrzeża Dorset wraz z dowodami obecności wspomnianych grup mikroorganizmów sugerują, że metabolizm węglowodorów może być związany z obiegiem żelaza (rys. 4B) (Hamamura et al., 2005; Rölling et al., 2006).

W przywołanych badaniach cytowani autorzy wykorzystali metody genetyczne, zaś odmienną strategię metodyczną (metody oparte na hodowli mikroorganizmów oraz badania wód produkcyjnych) zastosował Bhagobaty (2020), charakteryzując zespoły bakteryjne związane z wyciekami na polu naftowym Digboi (Indie). Naukowiec udowodnił obecność tlenowych bakterii należących do taksonów *Burkholderia*, *Chromobacterium* i *Pantoea*, fakultatywnie beztlenowych drobnoustrojów *Providencia* oraz *Clostridium*. Pomimo że badacz nie przedstawił dowodów wskazujących na wykorzystanie poszczególnych węglowodorów przez otrzymane szczepy, nie można wykluczyć ich udziału w biodegradacji ropy – w szczególności ze względu na fakt, że przedstawiciele niektórych rodzajów (*Burkholderia*, *Pantoea*) wykazują wspomniane preferencje kataboliczne (Kim et al., 2003; Vasileva-Tonkova i Gesheva, 2007). Z kolei Rizzo et al. (2020) wyizolowali z gleb i wód gruntowych poddanych stałej ekspozycji na ropę (miejsce Tramutola, dolina rzeki Agri, południowe Włochy) bakterie należące do taksonów *Achromobacter* i *Pseudomonas*, które rosły w obecności *n*-alkanu, izoalkanu oraz naftalenu i fenantrenu. Obserwacje te świadczą o tym, że tlenowe mikroorganizmy rozkładające węglowodory są elementem omawianych mikrobiomów i być może uczestniczą w procesach biodegradacji *in situ*. Nie należy wykluczać udziału bakterii beztlenowych w tych przemianach, gdyż wyniki badań genetycznych wykazały liczny udział anaerobowego taksonu *Hydrogenophaga* obok silnie reprezentowanych

tlenowych bakterii *Cavicella*, *Flavobacterium*, *Rhodospirillum rubrum* oraz *Gordonia* w społeczności mikroorganizmów zasiedlających wspomniane gleby (Rizzo et al., 2020). Warto zaznaczyć, że przedstawiciele *Hydrogenophaga* mogą brać udział w beztlenowych procesach konwersji węglowodorów (Yan et al., 2017). Doniesienie Rizzo et al. (2020) stanowi kolejny dowód na to, że środowisko gruntowo-wodne długotrwale skażone ropą umożliwia rozwój mikroorganizmów chemolitoautotroficznych (rys. 4B). Włoscy badacze udokumentowali bowiem obecność bakterii *Sulfuritalea*, *Sulfurimonas* i *Sulfurovum* na podstawie badań genetycznych bazujących na sekwencjonowaniu puli genów kodujących 16S rRNA.

Nowe spojrzenie dotyczące pochodzenia mikroorganizmów kolonizujących omawiane habitaty przyniosły obserwacje poczynione przez Shlimona et al. (2020). Przedmiotem ich badań były różnorodne próbki (próbki surowej ropy naftowej zarówno z eksploatacyjnych, jak i nieeksploatacyjnych odwiertów, próbki ropy i gleby pobrane z powierzchniowych wycieków ropnych i asfaltowych). Bez względu na zróżnicowane położenie geograficzne – przypowierzchniowe (górne) części systemów naftowych, wykazujące niższe temperatury, były zasiedlane przez beztlenowe, termofilne bakterie z rodziny *Thermodesulfobacteriaceae* oraz klasy *Deferribacteres*. Z kolei drobnoustroje należące do taksonów *Deltaproteobacteria*, *Bacteroidetes* i *Clostridia* obecne były w niezdegradowanej, bogatej w siarczany i azotany ropie. Brak śladów obecności wymienionych grup bakterii w innych typach próbek sugeruje, że prawdopodobnie rozwijają się one w podpowierzchniowych, płytszych strefach zbiornikowych, a swobodnie migrująca ropa wynosi te organizmy ku powierzchni. Na podstawie tych obserwacji przywołani badacze sugerują, że niektórych członków mikrobiomu obecnego w miejscach naturalnych lądowych wpływów cechuje raczej specjalizacja niż oportunizm.

Nierzadko swobodnym wyciekom ropy może towarzyszyć migracja metanu. Zanim związek ten dotrze do atmosfery, może ulec rozkładowi przez bakterie metanotroficzne (rys. 4B). Większość tlenowych metanotrofów należy do typów *Proteobacteria* (klasy *Alfa*- i *Gammaproteobacteria*) oraz *Verrucomicrobia*. Stosunkowo niedawno uważano, że metabolizm tych mikroorganizmów opiera się wyłącznie na metanie (obligatoryjne metanotrofy). Poznanie zdolności katabolicznych bakterii *Methylocella* zmieniło ten pogląd, gdyż drobnoustroje te są w stanie metabolizować związki wyższe niż struktury jednowęglowe, np. propan (Crombie i Murrel, 2014).

Obecność populacji bakterii metanotroficznych w społecznościach mikroorganizmów zasiedlających opisywane habitaty pośrednio wskazuje na migrację metanu. Przykładowo, Rölling et al. (2006) wykryli ślady bakterii *Methylobacterium*, zaś Hamamura et al. (2005) wykazali obecność organizmów z rodzajów *Methylocella* i *Methylocapsa*. Z kolei drobnoustroje



*Methylococcus* występowały zarówno w glebach, jak i wodach gruntowych związanych z wyciekami zlokalizowanymi w południowej części Włoch (Rizzo et al., 2020). Obserwacje Hamamury et al. (2005) są niezwykle ciekawe w kontekście ostatnich doniesień przedstawionych przez Farahana Ul Haque et al. (2019). Za pomocą metod opartych zarówno na hodowli mikroorganizmów, jak i od nich niezależnych ci ostatni badacze wykazali, że *Methylocella* są licznym i aktywnym elementem mikrobiomów zasiedlających odległe geograficznie powierzchniowe naturalne wycieki metanu.

### Bakterie endofityczne

Bakterie endofityczne stale bytują w tkankach roślin, nie powodując żadnych zmian i objawów chorobowych u swojego gospodarza. Niejednokrotnie ich obecność umożliwia roślinie (a) adaptację do zróżnicowanych warunków środowiskowych, jak np. zanieczyszczenia gleby węglowodorami, oraz (b) stymuluje wzrost i rozwój organizmu wyższego (endofity promujące wzrost roślin, ang. *plant-growth promoting endophyte*, PGPE). Najchętniej organizmy te zasiedlają korzenie, rzadziej łodygi, liście, kwiaty czy owoce, a źródłem ich pochodzenia jest gleba pozakorzeniowa, ryzosfera i/lub ryzoplana (Pawlik et al., 2015).

Rośliny występujące w środowisku chronicznie skażonym są poddane stałej ekspozycji na węglowodory. Związki te nie stanowią substratu pokarmowego dla samożywnych roślin, które węgiel asymilują na drodze fotosyntezy. Jednakże wraz z wodą i substancjami mineralnymi pobierają one również i te związki, transportując je do różnych organów. Ochrona roślinnych systemów enzymatycznych wymaga deaktywacji węglowodorów do form cechujących się mniejszą toksycznością, które następnie odkładane są w wakuoli lub ścianie komórkowej. Biotransformacja we wnętrzu organizmu eukariotycznego prowadzona jest przez bakterie endofityczne cechujące się potencjałem katabolicznym ukierunkowanym na węglowodory (Lumactud et al., 2016), ale na ogół nie dochodzi do pełnej mineralizacji tych związków (Pawlik et al., 2015). Symbioza z mikroorganizmem zdolnym do rozkładu węglowodorów jest niezwykle korzystna dla rośliny, gdyż: (a) powoduje zwiększenie tolerancji gospodarza na stres wywołany obecnością zanieczyszczenia (Pawlik et al., 2015), (b) zapewnia roślinie protekcję przed negatywnym wpływem wspomnianych substancji (Pawlik et al., 2015; Lumactud et al., 2016), (c) stymuluje jej wzrost i rozwój (Lumactud et al., 2016), (d) umożliwia zasiedlanie zanieczyszczonych terenów (Pawlik et al., 2015) oraz (e) wspomaga jej odporność, m.in. poprzez syntezę substancji hamujących rozwój grzybowych patogenów roślin (za Lumactud et al., 2016). Bakteryjna aktywność do biotransformacji związków organicznych realizowana jest poprzez produkcję szerokiego zestawu enzymów, które zmniejszają fitotoksyczność zanieczyszczenia oraz ewapotranspirację jego

lotnych składników. Ponadto drobnoustroje, stymulując wzrost roślin, zwiększają ich aktywność fitodegradacyjną (Pawlik et al., 2015). Przykłady interakcji pomiędzy endofitem a rośliną wyższą występującą na obszarach permanentnie skażonych węglowodorami zostały przedstawione w tabeli 2. Wysoka zawartość ropy naftowej w glebie niewątpliwie stanowi silną presję selekcyjną, jednakże głównym czynnikiem doboru i kształtowania zespołów mikroorganizmów endofitycznych jest gatunek rośliny gospodarza, choć z pewnym zastrzeżeniem (Lumactud et al., 2016). Niektóre elementy tych zbiorowisk są wspólne, m.in. w obrębie tej samej rodziny organizmu eukariotycznego (patrz tabela 2).

**Tabela 2.** Przykłady symbiozy pomiędzy rośliną wyższą a bakterijskim endofitem (na podstawie Lumactud et al., 2016)

**Table 2.** The examples of symbiosis between plant and bacterial endophyte (based on Lumactud et al., 2016)

Roślina	Dominujące bakterie endofityczne wykazujące potencjał metabolizowania węglowodorów
Krwawnik pospolity ( <i>Achillea millefolium</i> )	<i>Microbacterium foliorum</i> <i>Plantibacter flavus</i> <i>Stenotrophomonas rhizophila</i>
Nawłoc kanadyjska ( <i>Solidago canadensis</i> )	<i>Arthrobacter pascens</i> <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> <i>Microbacterium foliorum</i> <i>Plantibacter flavus</i> <i>Pseudomonas poae</i>
Koniczyna złocistożółta ( <i>Trifolium aureum</i> )	<i>Clavibacter michiganensis</i> <i>Microbacterium foliorum</i> <i>Microbacterium oxydans</i> <i>Plantibacter flavus</i> <i>Rhizobium</i> sp.
Kupkówka pospolita ( <i>Dactylis glomerata</i> )	<i>Pseudomonas poae</i> <i>Rhizobium</i> sp. <i>Xanthomonas gardeni</i>

### Grzyby, w tym arbuskularne grzyby mikoryzowe (ang. *arbuscular mycorrhizal fungi*, AMF)

Gleby trwale zanieczyszczone węglowodorami stanowią również siedlisko dla grzybów mikroskopowych – zarówno dla tych degradujących węglowodory, jak też dla drobnoustrojów wspomagających te procesy. Jednakże brak jest dotychczas dowodów literaturowych dotyczących różnorodności taksonomicznej i funkcjonalnej tej grupy organizmów w omawianych habitatach.

Nierzadko stanowiska powierzchniowych wycieków ropy naftowej cechuje występowanie bujnej vegetacji (Ryszka et al., 2019). Ryszka et al. (2019) badali miejsca, które znajdują się w polskiej części Karpat. Poziom zanieczyszczenia gleb wahał się w przedziałach 5844–102 501 mg/kg suchej masy gleby dla oleju mineralnego oraz 71–221 mg/kg suchej masy gleby

dla wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Na tych stanowiskach występowały rośliny takie jak: krwawnik pospolity (*Achillea millefolium*), dąbrowka rozłogowa (*Ajuga reptans*), dzięgiel leśny (*Angelica sylvestris*), tomka wonna (*Anthoxanthum odoratum*), kupkówka pospolita (*Dactylis glomerata*), bodziszek cuchnący (*Geranium robertianum*), wiechlinia (*Poa* sp.), mięta (*Mentha* sp.), jaskry (*Ranunculus* sp.) oraz koniczyny (*Trifolium* sp.). Bez względu na zawartość węglowodorów w glebie – większość wymienionych roślin była skolonizowana przez arbuskularne grzyby mikoryzowe (AMF). Są one szeroko rozpowszechnionym elementem mikrobiomu glebowego, gdyż mogą stanowić do 50% całkowitej biomasy. Tworzą one zależności oparte na mutualizmie z korzeniami większości roślin naczyniowych (80–90%; Rajtor i Piotrowska-Seget, 2016). Choć mikroorganizmy te nie rozkładają węglowodorów, to mogą pośrednio uczestniczyć w tych procesach poprzez pozytywny wpływ na wzrost i rozwój roślin zdolnych do fitodegradacji substancji ropopochodnych. Grzyby te tworzą rozległą sieć mycelium (mykosfera), umożliwiającą kontakt pomiędzy glebą, mikroorganizmami ryzosferowymi oraz korzeniami roślin. Twór ten, sięgający poza ryzosferę, umożliwia pobór i dystrybucję do rośliny substancji odżywczych i wody spoza stref ograniczonego występowania tych związków (stref skażonych). Grzyby mogą wchodzić w symbiozę z kilkoma roślinami jednocześnie, a tym samym bezpośrednio wpływać na selekcję roślin występujących w miejscach bardziej skażonych, pośrednio prowadząc do bardziej efektywnego usuwania węglowodorów ze środowiska. AMF wchodzi również w symbiozę z bakteriami ryzosferowymi promującymi wzrost roślin (Xun et al., 2015; Mishra et al., 2016), w szczególności z bakteriami wspomagającymi rozwój mikoryzy arbuskularnej (ang. *mycorrhiza-helper bacteria*, MHB). Te ostatnie ułatwiają kolonizację mikoryzową, kiełkowanie spor i wzrost strzępek zewnątrzkorzeniowych (szczegółowo w pracy Lies et al. (2018)). Symbioza pomiędzy AMF a rośliną zapewnia: (a) lepsze odżywianie, ochronę i wspomaganie wzrostu gospodarza (Rouphael et al., 2015), (b) zwiększenie potencjału degradacyjnego bakterii ryzosferowych oraz (c) stymulację adsorpcji i akumulacji zanieczyszczeń przez korzenie (Gao et al., 2010, 2011). Te mechanizmy z kolei umożliwiają bardziej efektywną fitodegradację gleb skażonych węglowodorami (Rajtor i Piotrowska-Seget, 2016).

Wyniki prezentowane przez Ryszkę et al. (2019) wskazują na intensywną kolonizację mikoryzową korzeni jaskry rozłogowej (*Ranunculus repens*), który występował w większości badanych miejsc. Poziom kolonizacji oraz liczby arbuskul w korzeniach tej rośliny różniły się w zależności od zawartości węglowodorów w glebie według zależności: im wyższy poziom zanieczyszczenia, tym niższy stopień kolonizacji/liczba arbuskul. Cytowani autorzy wykazali, że obok silnie

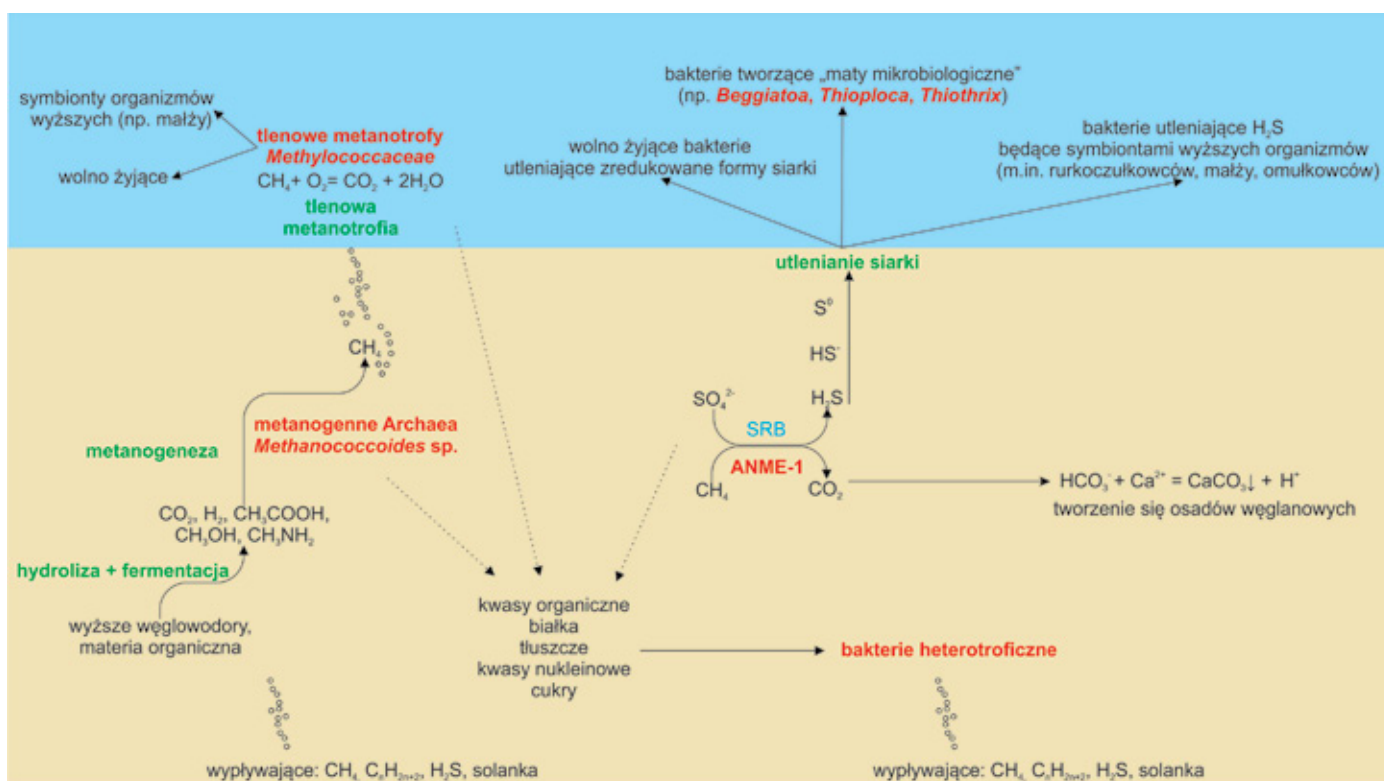
reprezentowanych, acz niedających się zidentyfikować grzybów – w najbardziej skażonych stanowiskach były obecne mikroorganizmy z rodzajów *Claroideoglossum*, *Rhizophagus* i *Diversispora*. Natomiast w glebach cechujących się niższymi zawartościami węglowodorów najczęściej występowały AMF należące do taksonów *Rhizophagus*, *Acaulospora*, *Archaeospora* oraz *Diversispora*.

### Fauna

Obok mikroorganizmów dużą rolę w prawidłowym funkcjonowaniu ekosystemów glebowych odgrywa fauna glebowa. Bierze ona udział m.in. w rozkładzie materii organicznej, regulacji liczebności zespołów mikroorganizmów, obiegu substancji oraz humifikacji. Pojawienie się ropy naftowej, która sama w sobie cechuje się toksycznością oraz której składniki również są toksyczne, może niekorzystnie wpływać na życie różnych grup organizmów. Jednakże Remelli et al. (2020) wykazali, że nicienie, roztocza i skoczogonki występują w długotrwale skażonych glebach. Ponadto wysokie zawartości węglowodorów nie wpływały negatywnie na larwy muchówek. Co ciekawe, niektóre organizmy wykorzystują ropę w swoim cyklu życiowym. Przykładowo, stadium przepoczwarczenia się przedstawiciela muchówek (*Diptera*) muchy *Helaeomyia petrolei* zachodzi wyłącznie w ropie. Pierwszy opisany przedstawiciel tego gatunku pochodził z naturalnego wycieku La Brea Tar Pits niedaleko Los Angeles (USA).

### Życie w otoczeniu naturalnych wycieków węglowodorów występujących w środowisku morskim

Chroniczny kontakt ze składnikami ropy spowodował wytworzenie unikatowych zespołów mikroorganizmów, które bytują i funkcjonują w bliskości takich miejsc. Ich wyjątkowość wynika z obecności wysokich zawartości siarkowodoru oraz węglowodorów, w tym metanu. Rozkład węglowodorów, produkcja siarkowodoru i chemosynteza stanowią główne procesy mikrobiologiczne zachodzące w otoczeniu zimnych wsięków (rys. 5). To z kolei umożliwia rozwój niezwykle bogatych ekosystemów, których produktywność biomasy jest znacznie wyższa niż na obszarach sąsiadujących. Dlatego też lokalizacje związane z naturalnymi wypływami węglowodorów określa się jako „gorące miejsca” (ang. *hot spots*) mikrobiologicznej produkcji biomasy (Scoma et al., 2017). Szacuje się, że liczebność mikroorganizmów bytujących w tych „oazach życia” jest porównywalna do liczebności drobnoustrojów glebowych (za Ruff, 2020). Wskazuje to na zachodzenie wydajnych procesów przemian dostępnych źródeł energii oraz wysoką bioróżnorodność mikrobioty. Miejsca samoistnych



**Rys. 5.** Schemat przedstawiający zależności troficzne oraz procesy mikrobiologiczne obserwowane w morskich naturalnych wypływach węglowodorów. Kluczowym elementem łańcucha troficznego są mikroorganizmy rozkładające metan i wyższe węglowodory. Ich zdolności metaboliczne umożliwiają tworzenie się nisz zajmowanych przez inne mikroorganizmy (np. metanogenne *Archaea*, bakterie utleniające zredukowane formy siarki). Biomasa produkowana przez wymienione powyżej grupy mikroorganizmów umożliwia rozwój drobnoustrojów heterotroficznych. Zależności te wspierają bioróżnorodność i złożoność ekosystemów rozwijających się w otoczeniu naturalnych wycieków węglowodorów. Kolorem czerwonym i niebieskim zostały zaznaczone grupy organizmów prokariotycznych uczestniczące w zaznaczonych przemianach (podano przykładowe taksony biorące udział w tych przemianach), zaś kolorem zielonym wyróżniono odpowiednie przemiany

**Fig. 5.** Scheme of trophic interactions and microbiological processes observed in marine hydrocarbon seeps. Methane- and hydrocarbon-degraders are the main agents of food web. Metabolic capabilities of these bacteria let to create various ecological niches occupied by other microbes (i.e. methanogenic *Archaea*, sulfur-oxidizing bacteria). The biomass produced by those microorganisms is used by heterotrophs. Those relations enhance biodiversity and complexity of ecosystems developed in natural hydrocarbon seeps. The microbial groups were marked in red and blue (genera provided serve as examples), while the processes were marked in green

wypływów węglowodorów wykazują wysoki stopień zmienności w rozmieszczeniu procesów i aktywności mikrobiologicznych w danym obszarze. Wiąże się to z wysoką heterogennością przestrzenną zespołów bakteryjnych. Powoduje to jednakże trudności, a nawet brak możliwości ekstrapolacji warunków wyznaczonych lokalnie na całe siedlisko lub ekosystem.

Odmienne warunki towarzyszące różnym formom wycieków (wulkan błotny, wyciek ropy, wyciek metanu) umożliwiają rozwój różnorodnych grup mikroorganizmów, które funkcjonalnie przystosowane są do kolonizowania tak zróżnicowanych habitatów. Przykładowo, procesy metanogenezy zachodzą w sąsiedztwie wulkanów błotnych oraz jezior solankowych, zaś wypływy ropy czy emisje metanu stanowią wsparcie procesów utleniania metanu sprzężonych z redukcją siarczanów (Lazar, 2020).

Te ostatnie miejsca (wysięki gazu czy ropy) są najbardziej aktywne katabolicznie spośród wszystkich siedlisk

rozwijających się w otoczeniu morskich makrowystępów węglowodorów (za Ruff, 2020). Z kolei tempo przemian zachodzących w habitatach związanych z wulkanami błotnymi oraz jeziorami solankowymi jest najniższe ze względu na ograniczoną dostępność siarczanów, wynikającą z wysokiego poziomu wypływu bezsiarczanowego płynu (za Joye, 2020).

Jak zaznaczono powyżej, w omawianych lokalizacjach przeważają procesy beztlenowej degradacji węglowodorów i redukcji siarczanów (rys. 5). Anaerobowe utlenianie metanu w znacznym stopniu dostarcza energii potrzebnej do redukcji siarczanów, jednakże największy energetyczny wkład w ten proces mają przemiany wyższych homologów  $CH_4$  (za Kleindienst i Knittel, 2020). Niekiedy udział ten może wynieść 90% (za Kleindienst i Knittel, 2020). Rozkład węglowodorów wiąże się ze wzrostem stężenia jonów  $HCO_3^-$ , co powoduje wzrost pH i sprzyja wytrącaniu się węglanów i innych minerałów.

W konsekwencji może to prowadzić do zmniejszenia strumienia wypływającego płynu. Zależna od metanu redukcja siarczanów prowadzona jest przy współpracy kilku grup mikroorganizmów. Metanotroficzne archeony (klady ANME-1, -2, -3) tworzą syntropijne konsorcja z bakteriami redukującymi siarczany (ang. *sulfate reducing bacteria*, SRB) należącymi do rodzajów *Desulfosarcina/Desulfococcus* lub *Desulfobulbus* w obrębie klasy *Deltaproteobacteria* (Vigneron et al., 2013). Poza wspomnianą klasą zaledwie kilka dotychczas poznanych SRB należy do typu *Firmicutes*. Wykorzystują one siarczany, generując  $H_2S$ . Zredukowane związki siarki (m.in.  $H_2S$ ) wykorzystywane są przez: (a) tworzące „maty mikrobiologiczne” bakterie utleniające siarkowodór, (b) wolno żyjące bakterie utleniające siarkę oraz (c) bakterie żyjące w symbiozie z organizmami wyższymi występującymi w miejscach wycieków (rys. 5) (za Ruff, 2020). Związki organiczne produkowane przez drobnoustroje biorące udział w przemianach siarki i metanu są wykorzystywane przez organizmy heterotroficzne (Ruff, 2020). Te zależności wzmacniają bioróżnorodność i złożoność tego ekosystemu.

Jedną z cech charakterystycznych głębinowych wypływów jest obecność wspomnianych „mat”, które pokrywają znaczny fragment dna morskiego, jak np. w Chapopote Knoll w południowej części Zatoki Meksykańskiej (za Scoma et al., 2017). Na głębokości 3000 m poniżej poziomu morza znajduje się wulkan asfaltowy, który emituje lepka, bogatą we frakcję asfaltową ropę. Ta płynie po dnie morskim w podobny sposób jak strumień lawy. Wraz z utratą lekkich węglowodorów ropa zastyga i powstaje kruchy osad. Jego powierzchnię kolonizują bakterie, formując różnokolorowe „maty”. Z kolei wyższe organizmy (np. małże) zasiedlają szczeliny powstające na powierzchni zastygłej ropy. Najczęściej „maty” pojawiają się na granicy pomiędzy warstwą osadów, w których panują warunki beztlenowe, a warstwą wody, zawierającą tlen. Bakterie wykorzystują go w procesie utleniania zredukowanych form siarki, powodując tworzenie się warunków beztlenowych w górnych warstwach osadu dennego (Ruff, 2020).

Brak tlenu umożliwia rozkład węglowodorów sprzężony z redukcją siarczanów, prowadząc do wzrostu stężenia siarkowodoru, który metabolizowany jest przez bakterie tworzące „maty”. Mikroorganizmy te należą do rodzajów m.in. *Beggiatoa*, *Thioploca* i *Thiothrix* w obrębie rodziny *Thiotrichaceae* (Zhang et al., 2005).

W związku z wysokimi stężeniami zredukowanych związków chemicznych miejsca takie sprzyjają rozwojowi życia opartego na chemosyntezie (rys. 5). Mikroorganizmy żyją w symbiozie z endemicznymi bezkręgowcami, które są przedstawicielami megafauny najczęściej zasiedlającymi takie środowiska. Zwierzęta oferują bakteriom schronienie, w zamian otrzymując niezbędne składniki odżywcze oraz usuwanie

toksycznych substancji, np. siarkowodoru. W miejscach wycieków węglowodorów najliczniejsze zespoły chemosyntetyczne tworzą małże z rodzin *Vesicomysidae* i *Mytilidae* (omułkowate, z podrodziny *Bathymodiolineae*) oraz rurkoczułkowce z rzędu *Phyllococida* (MacDonald et al., 2004). Małże i rurkoczułkowce goszczą bakterie utleniające siarkowodór (Lösekann et al., 2008), zaś omułkowate wchodzi w symbiozę dodatkowo z bakteriami o trofizmie ukierunkowanym na metan (Duperron et al., 2005). Największy stopień zaawansowania tych zależności występuje u wspomnianych wieloszczetów, które nie są w stanie istnieć bez mikroorganizmów. Część układu pokarmowego tych zwierząt uległa zanikowi, a całość pokarmu pobierają jedynie za pośrednictwem symbiotycznych bakterii chemosyntetyzujących (Lösekann et al., 2008). Większość ciała rurkoczułkowców znajduje się w osadzie dennym. Umożliwia to stały dostęp do związków niezbędnych (siarczków) dla symbiontów również w warunkach zaniku lub czasowego ograniczenia wypływu płynu. Dzięki tej współpracy rurkoczułkowce obficie występują w pobliżu ujść węglowodorów, zasiedlając te miejsca od kilkuset lat (Cordes et al., 2007). Małże wchodzi w relacje symbiotyczne na nieco niższym poziomie zaawansowania.

Poza endosymbiontami utleniającymi metan i zredukowane związki siarki – zależności symbiotyczne tworzą również bakterie rozkładające węglowodory (rys. 5). Ostatnio naukowcy, badając wulkany asfaltowe na dnie Zatoki Meksykańskiej, odkryli dotychczas nieznaną symbiozę pomiędzy bakteriami *Cycloclasticus* a omułkami *Bathymodiolus heckerae* i gąbkami (Rubin-Blum et al., 2017). Do tej pory uważano, że mikroorganizmy te wykorzystują jedynie wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) jako źródło węgla i energii. Natomiast badane drobnoustroje symbiotyczne całkowicie utraciły tę zdolność na rzecz metabolizowania łatwo dostępnych w takim środowisku *n*-alkanów.

Warto również wspomnieć, że niektóre organizmy nie potrzebują bakterii chemosyntetycznych, aby móc żyć w takich ekstremalnych warunkach. Przykładem jest wieloszczet *Hesiocaeca methanicola*, bytujący w siedliskach związanych z hydratami metanu (Joye, 2020). Najprawdopodobniej zwierzę to żywi się wolno żyjącymi bakteriami chemoautotroficznymi. Opisane powyżej zależności, oparte na chemosyntezie, towarzyszą jedynie aktywnym wypływom węglowodorów, gdyż dotychczas nie stwierdzono śladów analogicznych relacji towarzyszących nieczynnym wulkanom asfaltowym (Fujikura et al., 2017).

Wspomniane rurkoczułkowce kreują złożoność siedlisk związanych z wyciekami węglowodorów (Cordes et al., 2009). Skupiska tych bezkręgowców zamieszkiwane są przez społeczności organizmów silnie zróżnicowane w czasie życia gospodarzy. Początkowo są to mało różnorodne zespoły cechujące

się wysoką produkcją biomasy. Następnie pojawiają się liczne nowe gatunki i zaznacza się obecność organizmów endemicznych. W końcowych fazach życia zbiorowiska wieloszczetów kolonizowane są natomiast przez zwierzęta wykazujące zarówno niską produkcję biomasy, jak i bioróżnorodność (za Cordes et al., 2009).

Ta czasowa zmienność społeczności organizmów jest wynikiem zmniejszających się zawartości zredukowanych związków w warstwach dennych (osadzanie się węglanów, blokujących wypływ węglowodorów). Z kolei charakteryzujące się wysoką produkcją biomasy i niską różnorodnością zespoły towarzyszące omułowatym składają się głównie z gatunków endemicznych. Są to m.in.: wieloszczety z rodzin *Hesionidae* i *Polynoidae* (*Harmothoe* sp. i *Branchinotogluma* sp.) (Bergquist et al., 2003), ślimaki z rodzin *Neritoidea* (*Bathynnerita naticoidea*) (Dattagupta et al., 2007) i *Provannidae* (*Provanna sculpta*) (Cordes et al., 2009), krewetki z rodziny *Bresilidae* (*Alvinocaris stactophila*) (Bergquist et al., 2003, Copley i Young, 2006) oraz racznice z rodziny *Galatheidae* (MacPherson i Segonzac, 2005).

Istotnym elementem funkcjonowania takich habitatów są również zależności oparte na drapieżnictwie. Kraby, ryby oraz ośmiornice chętnie odwiedzają i żerują w miejscach naturalnych wpływów (MacDonald et al., 2004). Także nicienie oraz ryjkołowy (*Kinorhyncha*) często występują w „matkach” tworzonych przez bakterie *Beggiatoa*. Wykazano, że mikroorganizmy te, kolonizujące otoczenie wycieku Coal Oil Point u wybrzeży Kalifornii, stanowią pokarm dla nicieni (za Leifer, 2019). Aby móc egzystować w takich ekstremalnych środowiskach morskich, zwierzęta te nabyły szereg cech adaptacyjnych, np. kształt ciała (cienkie wydłużone; Zeppilli et al., 2018). Kolejnym świadectwem dotyczącym drapieżnictwa w opisywanych siedliskach jest obecność bakterii *Sulfurovum*, *Arcobacter* i *Sulfurimonas* w żołądkach krabów *Paralomis* sp., występujących w okolicach aktywnego wulkanu błotnego (Niemann et al., 2013). Bakterie te tworzyły „maty” pokrywające powierzchnię osadów wulkanu.

### Podsumowanie

Miejsca naturalnych wycieków węglowodorów stanowią unikatowe siedliska różnorodnych zespołów organizmów prokariotycznych oraz eukariotycznych. Lokalne, silnie redukcyjne środowisko jest jednym z czynników selekcyjnych odpowiednio przystosowane formy życia. Bakterie stanowią kluczowy element funkcjonowania tego typu ekosystemów. Nie tylko biodegradują one węglowodory, ale wchodzą również w reakcje symbiotyczne z organizmami eukariotycznymi, umożliwiając tym ostatnim zajmowanie takich środowisk.

Ponadto stanowią one pokarm dla wyższych organizmów stale zamieszkujących lub czasowo przebywających w miejscach poddanych chronicznej ekspozycji na węglowodory. Poznanie mechanizmów adaptacji, fizjologii i genetyki mikroorganizmów obecnych w miejscach bogatych w związki organiczne oraz wzajemnych relacji pomiędzy tymi mikroorganizmami jest istotne w kontekście ekologii i ochrony tych środowisk, lecz również w wielu biotechnologicznych aspektach.

Artykuł powstał na podstawie prac statutowych zatytułowanych *Bioróżnorodność mikroorganizmów występujących w miejscach naturalnych wycieków ropy naftowej* oraz *Wstępne badania bioróżnorodności populacji grzybów mikroskopowych występujących w glebach chronicznie skażonych węglowodorami naftowymi* – prace INiG – PIB na zlecenie Ministerstwa Nauki i Edukacji; numery zleceń: 0069/SM/2020 oraz 0095/SM/2020, numery archiwalne: DK-4100-0057/2020 oraz DK-4100-0083/2020.

### Literatura

- Babadi M.F., Mehrabi B., Tassi F., Cabassi J., Vaselli O., Shakeri A., Pecchioni E., Venturi S., Zelenski M., Chaplygin I., 2019. Origin of fluids discharged from mud volcanoes in SE Iran. *Marine and Petroleum Geology*, 106: 180–205. DOI: 10.1016/j.marpetgeo.2019.05.005.
- Baciu C., Caracausi A., Etiopie G., Italiano F., 2007. Mud volcanoes and methane seeps in Romania: main feature and gas flux. *Annals of Geophysics*, 50: 501–512. DOI: 10.4401/ag-4435.
- Bergquist D.C., Ward T., Cordes E.E., McNelis T., Howlett S., Kosoff R., Hourdez S., Carney R., Fisher C.R., 2003. Community structure of vestimentiferan-generated habitat island form Gulf of Mexico cold seeps. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 289: 197–222. DOI: 10.1016/S0022-0981(03)00046-7.
- Bhagobaty R.H., 2020. Hydrocarbon-utilizing bacteria of natural crude oil seepages, Digboi oil field, northeastern region of India. *Journal of Sedimentary Environments*, 5: 177–185. DOI: 10.1007/s43217-020-00013-8.
- Clarke R.H., Cleverly R.W., 1991. Petroleum seepage and post-accumulation migration. [W:] Fleet A.J. (ed.) *Petroleum migration. Geological Society Special Publication. England, London*, 59: 265–271. DOI: 10.1144/GSL.SP.1991.059.01.17.
- Coleman J., Baker C., Cooper C.K., Fingas M., Hunt G., Kvenvolden K.A., Michel K., Michel J., McDowell J., Phinney P., Rabalais N., Roesner L., Spies R.B., 2003. Oil in the sea III: Inputs, fates, and effects. *National Research Council. National Academies Press, Washington*: 1–277. DOI: 10.17226/10388.
- Copley J.T.P., Young C.M., 2006. Seasonality and zonation in the reproductive biology and population structure of the shrimp *Alvinocaris stactophila* (Caridea: *Alvinocarididae*) at a Louisiana slope cold seep. *Marine Ecology Progress Series*, 315: 199–209. DOI: 10.3354/meps315199.
- Cordes E.E., Bergquist D.C., Fisher C.R., 2009. Macro-ecology of Gulf of Mexico cold seeps. *Annual Review of Marine Science*, 1: 143–168. DOI: 10.1146/annurev.marine.010908.163912.
- Cordes E.E., Bergquist D.C., Redding M.L., Fisher C.R., 2007. Patterns of growth in cold-seep vestimentiferans including *Seepiophila jonesi*: a second species of long-lived tubeworm. *Marine Ecology*, 28: 160–168. DOI: 10.1111/j.1439-0485.2006.00112.x.
- Crombie A., Murrell J., 2014. Trace-gas metabolic versatility of the facultative methanotroph *Methylocella silvestris*. *Nature*, 510: 148–151. DOI: 10.1038/nature13192.

- Dattagupta S., Martin J., Shu-min L., Carney R.S., Fisher C.R., 2007. Deep-sea hydrocarbon seep gastropod *Bathynnerita naticoidea* responds to cues from the habitat-providing mussel *Bathynnerita childressi*. *Marine Ecology*, 28: 193–198. DOI: 10.1111/j.1439-0485.2006.00130.x.
- Duperron S., Nadalig T., Caprais J.C., Sibuet M., Fiala-Médioni A., Amann R., Dubilier N., 2005. Dual symbiosis in a *Bathymodiolus* sp. mussel form a methane seep on the Gabon Continental Margin (Southeast Atlantic): 16S rRNA phylogeny and distribution of the symbionts in gills. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 1694–1700. DOI: 10.1128/AEM.71.4.1694-1700.2005.
- Etiopie G., 2015. Natural gas seepage. Oil Seeps. [W:] Etiopie G (ed.). The Earth's hydrocarbon degassing. *Springer, Cham, Heidelberg*: 22–23. DOI: 10.1007/978-3-319-14601-0.
- Etiopie G., Ciotoli G., Schwietzke S., Schoell M., 2019. Gridded maps of geological methane emissions and their isotopic signature. *Earth System Science Data*, 11: 1–22. DOI: 10.5194/essd-11-1-2019.
- Evtushenko N.V., Ivanov A.Y., 2013. Oil seeps in the southeastern Black Sea studied using satellite synthetic aperture radar images. *Izvestiya, Atmospheric and Oceanic Physics*, 49: 913–918. DOI: 10.1134/S0001433813090065.
- Farahan Ul Haque M., Crombie A.T., Murrell J.C., 2019. Novel facultative *Methylocella* strains are active methane consumers at terrestrial natural gas seeps. *Microbiome*, 7: 134. DOI: 10.1186/s40168-019-0741-3.
- Froelich P.N., Klinkhammer G.P., Bender M.L., Luedtke N.A., Heath G.R., Cullen D., Dauphin P., Hammond D., Hartman B., Maynard V., 1979. Early oxidation of organic matter in pelagic sediments of the eastern equatorial Atlantic: suboxic diagenesis. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 43: 1075–1090. DOI: 10.1016/0016-7037(79)90095-4.
- Fujikura K., Yamanaka T., Sumida P.Y.G., Bernardino A.F., Pereira O.S., Kanehara T., Nagano Y., Nakayama C.R., Il N.M., Pellizari V.H., Shigeno S., Yoshida T., Zhang J., Kitazato H., 2017. Discovery of asphalt seeps in the deep Southwest Atlantic off Brazil. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 146: 35–44. DOI: 10.1016/j.dsr2.2017.04.002.
- Gao Y., Cheng Z., Ling W., Huang J., 2010. Arbuscular mycorrhizal fungal hyphae contribute to the uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons by plant roots. *Bioresource Technology*, 101: 6895–6901. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.03.122.
- Gao Y., Li Q., Ling W., Zhu X., 2011. Arbuscular mycorrhizal phytoremediation of soils contaminated with phenanthrene and pyrene. *Journal of Hazardous Materials*, 185: 703–709. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2010.09.076.
- Hamamura N., Olson S.H., Ward D.M., Inskeep W.P., 2005. Diversity and functional analysis of bacteria communities associated with natural hydrocarbon seeps in acidic soils at Rainbow Springs, Yellowstone National Park. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 5943–5950. DOI: 10.1128/AEM.71.10.5943-5950.2005.
- Head I., Jones D.M., Røling W.F.M., 2006. Marine microorganisms make a meal of oil. *Nature Reviews Microbiology*, 4: 173–182. DOI: 10.1038/nrmicro1348.
- Hentati O., Lachhab R., Auadi M., Ksibi M., 2013. Toxicity assessment for petroleum-contaminated soil using terrestrial invertebrates and plant bioassays. *Environmental Monitoring and Assessment*, 183: 2989–2998. DOI: 10.1007/s10661-012-2766-y.
- Holland C.W., Etiopie G., Milkov A.V., Michelozzi E., Favali P., 2003. Mud volcanoes discovered offshore Sicily. *Marine Geology*, 199(1–2): 1–6. DOI: 10.1016/S0025-3227(03)00125-7.
- Joye S.B., 2020. Biogeochemistry of hydrocarbon seeps. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 48: 205–231. DOI: 10.1146/annurev-earth-063016-020052.
- Kennicutt II M.C., 2017. Oil and gas seeps in the Gulf of Mexico. [W:] Ward C. (ed.). Habitats and biota of the Gulf of Mexico: before the Deepwater Horizon oil spill. *Springer, New York*: 275–385.
- Kholodov V.N., 2002. Mud volcanoes, their distribution regularities and genesis: Communication 1. Mud volcanic provinces and morphology of mud volcanoes. *Lithology and Mineral Resources*, 37: 197–209. DOI: 10.1023/A:1015425612749.
- Kim T.J., Lee E.Y., Kim Y.J., Cho K.-S., Ryu H.W., 2003. Degradation of polyaromatic hydrocarbons by *Burkholderia cepacia* 2A-12. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 19: 411–417. DOI: 10.1023/A:1023998719787.
- Kleindienst S., Knittel K., 2020. Anaerobic hydrocarbon-degrading sulfate-reducing bacteria at marine gas and oil seeps. [W:] Teske A., Carvalho V. (eds.). Marine hydrocarbon seeps. Microbiology and biogeochemistry of a global marine habitat. *Springer Nature Switzerland*: 21–43. DOI: 10.1007/978-3-030-34827-4\_2.
- Krastel S., Spiess V., Ivanov M., Weinrebe W., Bohrmann G., Shashkin P., Heidersdorf F., 2003. Acoustic investigations of mud volcanoes in the Sorokin Trough, Black Sea. *Geo-Marine Letters*, 23: 230–238. DOI: 10.1007/s00367-003-0143-0.
- Kuśmierk J., Machowski G., 2008. Wycieki ropy naftowej w obszarze wschodniej części Karpat polskich i ich znaczenia prognostyczne. *Prace Instytutu Nafty i Gazu*. 150: 247–250.
- Kvenvolden K.A., Cooper C.K., 2003. Natural seepage of crude oil into the marine environment. *Geo-Marine Letters*, 23: 140–146. DOI: 10.1007/s00367-003-0135-0.
- Lazar C.S., 2020. Archaea in Mediterranean sea cold seep sediments and brine pools. [W:] Teske A., Carvalho V. (eds.). Marine hydrocarbon seeps. Microbiology and biogeochemistry of a global marine habitat. *Springer Nature Switzerland*: 125–141. DOI: 10.1007/978-3-030-34827-4\_6.
- Leharné S., 2019. Transfer phenomena and interactions of non-aqueous phase liquids in soil and groundwater. *ChemTexts*, 5: 5. DOI: 10.1007/s40828-019-0079-2.
- Leifer I., 2019. A synthesis review of emissions and fates for the Coal Oil Point marine hydrocarbon seep field and California marine seepage. *Geofluids*, 4724587. DOI: 10.1155/2019/4724587.
- Lies A., Delteil A., Prin Y., Duponnois R., 2018. Using mycorrhiza helper microorganisms (MHM) to improve the mycorrhizal efficiency on plant growth. [W:] Meena V. (ed.). Role of rhizospheric microbes in soil. *Springer, Singapore*: 277–298. DOI: 10.1007/978-981-10-8402-7\_11.
- Lösekan T., Robador A., Niemann H., Knittel K., Boetius A., Dubilier N., 2008. Endosymbioses between bacteria and deep-sea siboglinid tubeworms from an Arctic cold seep (Haakon Mosby Mud Volcano, Barents Sea). *Environmental Microbiology*, 10: 3237–3254. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2008.01712.x.
- Lumactud R., Shen S.Y., Lau M., Fulthorpe R., 2016. Bacterial endophytes isolated from plants in natural oil seep soils with chronic hydrocarbon contamination. *Frontiers in Microbiology*, 7: 755. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00755.
- MacDonald I.R., Bohrmann G., Escobar E., Abegg F., Blanchon P., Blinova V., Brückmann W., Drews M., Eisenhauer A., Han X., Heeschen K., Meier F., Mortera C., Naehr T., Orcutt B., Bernard B., Brooks J., de Faragó M., 2004. Asphalt volcanism and chemosynthetic life in the Campeche Knolls, Gulf of Mexico. *Science*, 14: 999–1002. DOI: 10.1126/science.1097154.
- MacPherson E., Segonzac M., 2005. Species of the genus *Munidopsis* (*Crustacea, Decapoda, Galatheidae*) from the deep Atlantic

- Ocean, including cold-seep and hydrothermal vent areas. *Zootaxa*, 1095: 1–60.
- Manga M., Bonini M., 2012. Large historical eruptions at subaerial mud volcanoes, Italy. *Natural Hazards and Earth System Sciences*, 12: 3377–3386. DOI: 10.5194/nhess-12-3377-2012.
- Massoud M.S., Al-Abdali F., Al-Ghadban A.N., Al-Sarawi M., 1996. Bottom sediments of the Arabian Gulf-II. TPH and TOC contents as indicators of oil pollution and implications for the effect and fate of the Kuwait oil slick. *Environmental Pollution*, 93: 271–284. DOI: 10.1016/S0269-7491(96)00042-5.
- Matyasik I., Leśniak G., Such P., 2015. Elementy systemu naftowego Karpat. *Prace Naukowe Instytutu Nafty i Gazu – Państwowego Instytutu Badawczego*, 203: 1–120.
- Medialdea T., Somoza L., Pinheiro L.M., Fernández-Puga M.C., Vázquez J.T., León R., Ivanov M.K., Magalhaes V., Díaz-del-Río V., Vegas R., 2009. Tectonics and mud volcano development in the Gulf of Cádiz. *Marine Geology*, 261: 48–63. DOI: 10.1016/j.margeo.2008.10.007.
- Mishra V., Gupta A., Kaur P., Singh S., Singh N., Gehlot P., Singh J., 2016. Synergistic effects of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria in bioremediation of iron contaminated soils. *International Journal of Phytoremediation*, 18: 697–703. DOI: 10.1080/15226514.2015.1131231.
- Niemann H., Linke P., Knittel K., MacPherson E., Boetius A., Brückmann W., Larvik G., Wallmann K., Schacht U., Omereg E., Hilton D., Brown K., Rheder G., 2013. Methane-carbon flow into the benthic food web at cold seeps – a case study from the Costa Rica subduction zone. *PLoS ONE*, 8: e74894. DOI: 10.1371/journal.pone.0074894.
- Orłowska K., Mierzwa M., 2013. Wpływ naturalnego wycieku ropy na aktywność biologiczną gleby. *Episteme*, 18: 217–223.
- Pavlova O.N., Izosimova O.N., Gorshkov A.G., Novikova A.S., Bukin S.V., Ivanov V.G., Khlystov O.M., Zemskaya T.L., 2020. Current state of deep oil seepage near Cape Gorevoi Utes (Central Baikal). *Russian Geology and Geophysics*, 61: 1007–1014. DOI: 10.15372/RGG2019180.
- Pawlik M., Płociniczak T., Piotrowska-Seget Z., 2015. Bakterie endofityczne i ich znaczenie w mikrobiologii środowiskowej i przemyśle. *Postępy Mikrobiologii*, 54: 115–122.
- Rajtor M., Piotrowska-Seget Z., 2016. Prospects for arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to assist in phytoremediation of soil hydrocarbon contaminants. *Chemosphere*, 162: 105–116. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.07.071.
- Remelli S., Rizzo P., Celico F., Menta C., 2020. Natural surface hydrocarbons and soil faunal biodiversity: a bioremediation perspective. *Water*, 12: 2358. DOI: 10.3390/w12092358.
- Rizzo P., Malerba M., Bucci A., Sanangelantoni A.M., Remelli S., Celico F., 2020. Potential enhancement of the in-situ bioremediation of contaminated sites through the isolation and screening of bacterial strains in natural hydrocarbon springs. *Water*, 12: 2090. DOI: 10.3390/w12082090.
- Rölling W.F.M., Ortega-Lucach S., Larter S.R., Head I.M., 2006. Acidophilic microbial communities associated with a natural, biodegraded hydrocarbon seepage. *Journal of Applied Microbiology*, 101: 290–299. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.02926.x.
- Rouphael Y., Franken P., Schneider C., Schwarz D., Giovannetti M., Agnolucci M., 2015. Arbuscular mycorrhizal fungi act as bio-stimulants in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 196: 91–108. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.002.
- Rubin-Blum M., Antony C.P., Borowski C., Sayavedra L., Pape T., Sahling H., Bohrmann G., Redmond M.C., Valentine D.L., Dubilier N., 2017. Short-chain alkanes fuel mussel and sponge *Cycolasticus* symbionts from deep-sea gas and oil seeps. *Nature Microbiology*, 2: 17093. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2017.93.
- Ruff S.E., 2020. Microbial communities and metabolisms at hydrocarbon seeps. [W:] Teske A., Carvalho V. (eds.). *Marine hydrocarbon seeps. Microbiology and biogeochemistry of a global marine habitat. Springer Nature Switzerland*: 1–20. DOI: 10.1007/978-3-030-34827-4\_1.
- Ryszka P., Zarzyka-Ryszka M., Anielska T., Choczyński M., Turnau K., 2019. Arbuscular mycorrhizal fungi from petroleum-impacted sites in the Polish Carpathians. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 138: 50–56. DOI: 10.1016/j.ibiod.2019.01.001.
- Sautkin A., Talukder A.R., Comas M.C., Soto J.I., Alekseev A., 2003. Mud volcanoes in the Alboran Sea: evidence from micropaleontological and geophysical data. *Marine Geology*, 195: 237–261. DOI: 10.1016/S0025-3227(02)00691-6.
- Schumacher D., 1996. Hydrocarbon-induced alteration of soils and sediments. [W:] Schumacher D., Abrams M.A. (eds.). *Hydrocarbon migration and its near-surface expression. AAPG Memoir*, 66: 71–89.
- Scoma A., Yakimov M.M., Daffonchio D., Boon N., 2017. Self-healing capacity of deep-sea ecosystems affected by petroleum hydrocarbons. *EMBO Reports*, 18: 969–972. DOI: 10.15252/embr.201744090.
- Shakirov R., Obzhairov A., Suess E., Salyuk A., Biebow N., 2004. Mud volcanoes and gas vents in the Okhotsk Sea area. *Geo-Marine Letters*, 24: 140–149. DOI: 10.1007/s00367-004-0177-y.
- Shlimon A.G., Mansurbeg H., Othman R.S., Gittel A., Aitken C.M., Head I.M., Finster K.W., Kjeldsen K.U., 2020. Microbial community composition in crude oils and asphalts from the Kurdistan Region of Iraq. *Geomicrobiology Journal*, 37: 635–652. DOI: 10.1080/01490451.2020.1753131.
- Suess E., 2014. Marine cold seeps and their manifestations: geological control, biogeochemical criteria and environmental conditions. *International Journal of Earth Sciences*, 103: 1889–1916. DOI: 10.1007/s00531-014-1010-0.
- Vasileva-Tonkova E., Gesheva V., 2007. Biosurfactant production by Antarctic facultative anaerobe *Pantoea* sp. during growth on hydrocarbons. *Current Microbiology*, 54: 136–141. DOI: 10.1007/s00284-006-0345-6.
- Vigneron A., Cruaud P., Pignet P., Caprais J.C., Gayet N., Cambon-Bonavita M.A., Godfroy A., Toffin L., 2013. Bacterial communities and syntrophic associations involved in anaerobic oxidation of methane process of the Sonora Margin cold seeps, Guaymas Basin. *Environmental Microbiology*, 16: 2777–2790. DOI: 10.1111/1462-2920.12324.
- Wallenius A.J., Dalcin M.P., Slomp C.P., Jetten M.S.M., 2021. Anthropogenic and environmental constraints on the microbial methane cycle in coastal sediments. *Frontiers in Microbiology*, 12: 631621. DOI: 10.3389/fmicb.2021.631621.
- Xun F., Xie B., Liu S., Guo C., 2015. Effect of plant growth-promoting bacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on oats in saline-alkali soil contaminated by petroleum to enhance phytoremediation. *Environmental Science and Pollution Research*, 22: 598–608. DOI: 10.1007/s11356-014-3396-4.
- Yan Z., Zhang Y., Wu H., Yang M., Zhang H., Hao Z., Jiang H., 2017. Isolation and characterization of bacterial strain *Hydrogenophaga* sp. PYR1 for anaerobic pyrene and benzo[a]pyrene biodegradation. *RSC Advances*, 7: 46690–46698. DOI: 10.1039/C7RA09274A.
- Zatyagalova V.V., Ivanov A.Y., Golubov B.N., 2007. Application of Envisat SAR imagery for mapping and estimation of natural

oil seeps in the south Caspian Sea. *Proceedings of the Envisat Symposium-2007 (ESA SP-636), Montreux, Switzerland.*

Zeppilli D., Leduc D., Fontanier C., Fontaneto D., Fuchs S., Gooday A.J., Goineau A., Ingels J., Ivanenko V.N., Kristensen R.M., Neves R.C., Sanchez N., Sandulli R., Sarrazin J., Sørensen M.V., Tasiemski A., Vanreusel A., Autret M., Bourdonnay L., Claireaux M., Coquillé V., De Wever L., Rachel D., Marchant J., Toomey L., Fernandes D., 2018. Characteristics of meiofauna in extreme marine ecosystems: a review. *Marine Biodiversity*, 48: 35–71. DOI: 10.1007/s12526-017-0815-z.

Zhang C.L., Huang Z., Cantu J., Pancost R.D., Brigmon R.L., Lyons T.W., Sassen R., 2005. Lipid biomarkers and carbon isotope signatures of a microbial (*Beggiatoa*) mats associated with gas hydrates in the Gulf of Mexico. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 2106–2112. DOI: 10.1128/AEM.71.4.2106-2112.2005.



Dr Joanna BRZESZCZ

Adiunkt w Zakładzie Mikrobiologii  
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Lubicz 25A  
31-503 Kraków  
E-mail: [joanna.brzeszcz@inig.pl](mailto:joanna.brzeszcz@inig.pl)



Dr Piotr KAPUSTA

Adiunkt; kierownik Zakładu Mikrobiologii  
Instytut Nafty i Gazu – Państwowy Instytut Badawczy  
ul. Lubicz 25A  
31-503 Kraków  
E-mail: [piotr.kapusta@inig.pl](mailto:piotr.kapusta@inig.pl)

## OFERTA BADAWCZA ZAKŁADU MIKROBIOLOGII

- badania procesów mikrobiologicznych w środowisku złożowym podziemnych magazynów gazu ziemnego (PMG);
- działania prewencyjne – zastosowanie biocydów, środków typu neutralizatory H<sub>2</sub>S oraz inhibitorów bakterii redukujących siarczan (SRB), generowanie biogenego H<sub>2</sub>S;
- bioremediacja gruntów skażonych związkami ropopochodnymi;
- biodegradacja związków polimerowych wchodzących w skład płynów wiertniczych;
- mikrobiologiczne technologie stymulacji eksploatacji złóż węglowodorów;
- mikrobiologiczne metody poszukiwawcze: metodą powierzchniową oraz mikrobiologicznego profilowania odwiertów;
- badania testowe preparatów antibakteryjnych (biocydów);
- badania bakteriologiczne wody pitnej;
- analizy mikrobiologiczne wód termalnych.



Kierownik: dr Piotr Kapusta    Adres: ul. Lubicz 25 A, 31-503 Kraków  
Telefon: 12 617 76 90    Faks: 12 430 38 85    E-mail: [piotr.kapusta@inig.pl](mailto:piotr.kapusta@inig.pl)

 INSTYTUT NAFTY I GAZU  
– Państwowy Instytut Badawczy