

О. В. Сашук, Т. В. Гудзенко, В. О. ІваницяОдеський національний університет імені І. І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,
тел.: +38(067)525 46 25, e-mail: sashchuk@gmail.com**МІКРООРГАНІЗМИ МОРСЬКИХ ХОЛОДНИХ
ПРОСОЧУВАНЬ ВУГЛЕВОДНІВ**

Морські вуглеводневі просочування (сипи) завдяки своїм унікальним геофізичним та геохімічним характеристикам формують унікальні умови для розвитку специфічних мікробних спільнот, різноманітна та взаємопов'язана метаболічна діяльність яких лежить в основі глобальних екологічних процесів. В короткому огляді розглянуті геофізичні та хімічні передумови формування сипів та вуглеводневих флюїдів – джерел енергії та субстратів для метаболічних процесів, що опосередковані мікроорганізмами, які існують в даних екологічних нішах. Наведено інформацію про різноманітність мікроорганізмів в холодних вуглеводневих просочуваннях, їх метаболічний потенціал в умовах динамічного розвитку середовища.

Ключові слова: мікробне біорізноманіття, метаногенез, метанотрофи, вуглеводневі просочування, окиснення вуглеводнів, сульфатредукція.

**Геофізичні та хімічні передумови формування
вуглеводневих флюїдів**

Вуглеводні в корисних копалинах існують у різних формах і їх складність варіює від найпростішої – метану до численних різноманітних складових нафти. Осадження багатих органікою матеріалів вздовж континентальних околиць створюють умови для подальшого утворення вуглеводнів за рахунок біологічних і термогенних процесів, які тривають протягом мільйонів років. У мілководних безкисневих відкладах метан утворюється лише шляхом метаногенезу опосередкованого мікроорганізмами. Зі збільшенням глибини в товщі осадів за рахунок геотермічного градієнту (температура підвищується на 20–50 °С з кожним кілометром, а на глибині 2500–5000 м температура становить більше 150 °С) створюються оптимальні умови для утворення термогенних вуглеводнів: C5-алканів і більш важких сполук – n-алканів, циклоалканів, ароматичних сполук та, з рештою, нафти [1, 36].

У відкладах вуглеводні накопичуються в пористих утвореннях породи - колекторах, а градієнт концентрації в середині колектора призводить до висхідного потоку вуглеводнів зі швидкістю, яка визначається пористістю колектора [1]. Вуглеводні рухаються через мережу розломів, які з'єднують глибокі резервуари під морським дном і під час цієї подорожі відбувається їх окиснення та мінералізація. Просочування вуглеводнів на морському дні

© О. В. Сашук, Т. В. Гудзенко, В. О. Іваниця, 2024



зумовлено надлишковим тиском, який існує в резервуарах, і повторно вводить нафту та газ у вуглецевий колообіг. Викиди вуглеводнів з глибоких резервуарів можуть мати імпульсний або постійний характер і тривати протягом короткого або тривалого періоду часу [36].

В осадових басейнах на міграцію вуглеводнів через систему розломів та пор впливає розподіл соляних структур [41]. Сіль є пластичною і її рух створює і постійно змінює структуру і рельєф вуглеводневого басейну вздовж морського дна та мережі розломів, які слугують магістралями, що направляють висхідний потік вуглеводнів. В процесі міграції вуглеводневих флюїдів з глибоких джерел через розломи та сольові структури хімічний склад флюїдів змінюється, таким чином створюючи чіткі геохімічні ознаки – підписи [12, 41]. За рахунок геохімічних та мікробних змін нафти та газу під час міграції через шари відкладів утворюються кінцеві продукти (CO_2 , CH_4) та органічні проміжні продукти. Взаємодія з соляними структурами ще більше змінює рідину, утворюючи розсоли, наповнені нафтою та газом. Взаємодія із розсолом та осадом збагачує вуглеводневі флюїди амонієм, фосфатом, силікатами та розчиненими органічними речовинами (РОР) [11,38]. На морському дні дані флюїди слугують джерелом енергії для мікроорганізмів, що вільно існують і хемосинтетично-симбіотичних асоціацій тварин [36]. Таким чином, уздовж усього континентального шельфу світового океану вуглеводні, що просочуються через донні породи, мають вирішальний вплив на біологічну різноманітність, хімічну складову та геологію даних середовищ існування [35].

Поверхневі прояви просочувань вуглеводнів – вуглеводневі сипи представляють собою ділянки морського дна, де витікають (просочуються) геодлюїди з глибоких джерел: нафта та/або газ переміщуються та скидаються природним шляхом у водяний потік. Донні відкладення в місцях просочення вуглеводнів часто насичені нафтою та газом. У холодних сипах флюїди, що просочуються, є прохолодними – температура навколишнього середовища рідко перевищує $10\text{ }^\circ\text{C}$, не киплять і мають рН близьке до нейтрального, в той час як рН гідротермальних рідин (температура $> 350\text{ }^\circ\text{C}$) є кислим (рН < 4). Хімічний склад викидних флюїдів також відрізняється: гідротермальні джерела викидають рідини, збагачені геогенним метаном, сірководнем, воднем і відновленими металами, тоді як холодні сипи викидають рідини, збагачені біогенними та термогенними газами, нафтою та розсолом (висококонцентровані розчини солей металів) різного складу. І, нарешті, швидкість викиду рідини у холодних сипах, як правило, нижча, ніж швидкість викиду рідини у гідротермальних отворах [61]. Як вуглеводневі сипи, так і гідротермальні джерела створюють унікальні геобіологічні ознаки місцевого середовища [35].

Вуглеводневі флюїди в комплексі з місцевим мікробіомом представляють собою потужні біореактори, які підтримують та реалізують безліч біогеохімічних процесів та реакцій, зокрема анаеробне окиснення метану (АОМ), сульфатредукція, метаногенез [6], і, таким чином, є ідеальним середовищем для вивчення мікробних взаємодій та симбіозу [20].

Холодним сипам, як і іншим водним середовищам існування, характерна окисно-відновна зональність – вертикальна стратифікація біогеохімічних



процесів трансформації органічної речовини у відкладах, що зумовлено відмінностями у кінетиці та термодинамічному виході енергії реакцій залежно від надходження донорів і акцепторів електронів і режиму фізичного змішування. Разом ці чинники диктують послідовне споживання доступних акцепторів електронів і постійне накопичення продуктів реакції в глибинному горизонті та на глибинних профілях [63].

Біогеохімічна окисно-відновна зональність при просочуванні вуглеводнів залежить від природи та концентрації відновлених субстратів у рідині (наприклад, нафти та газу, РОР, амонію, сульфідів), а також від величини та мінливості швидкості викиду [67]. За рахунок аеробного дихання генерується найбільше енергії, проте кількість кисню в таких умовах незначна і він швидко витрачається. Нітратредукція відбувається за рахунок відновлення нітрату до нітриту, а потім до оксиду азота або молекулярного азоту. Далі за енергоефективністю йде відновлення оксидів металів (заліза або марганцю). Відновлення сульфатів тісно пов'язано із окисненням сірки в біотичних і абіотичних процесах сульфатредукції. Синтез метану у холодних сипах відбувається за рахунок різноманітних механізмів, проте ймовірно найважливішим серед них є метилотрофний метаногенез [37]. Послідовність даних процесів пов'язана один з одним і може відбуватися одночасно. Метаболізм вуглеводнів, що залягають глибоко, або інших багатих на енергію субстратів у мілководних відкладеннях і поблизу межі осад-вода створює складне геохімічне середовище, яке керує метаболізмом мікроорганізмів [35]. Так, високі швидкості процесу сульфатредукції (СР) генерують сульфід, в наслідок чого стимулюється його окиснення мікроорганізмами, що вільно існують та симбіотичними мікроорганізмами [17]. Таким чином, біогеохімічні процеси у сипах дуже тісно зв'язані між собою, а системи просочування вуглеводневих флюїдів забезпечують одні з найвищих показників швидкості метаболізму, задокументованих у природному середовищі [10], хоча вони є досить варіабельними і залежать від багатьох геофізичних факторів середовища [35, 61].

Джерела енергії та субстратів для метаболічних процесів, опосередкованих мікроорганізмами

Високі запаси енергії та субстратів у вигляді вуглеводнів роблять сипи ідеальними середовищами існування для різноманітних мікроорганізмів і, відповідно, зручними моделями для вивчення закономірностей і регуляції мікробної динаміки, процесів і біогеохімічних циклів, а також є місцем відкриття нових таксонів мікроорганізмів і нових метаболічних шляхів.

Завдяки наявній широкій різноманітності мікроорганізмів сипи сприяють глобальним процесам елементарного колообігу, зокрема вуглецю, і регулюють обмін між стародавнім вуглицем із глибоких вуглеводневих резервуарів, і активним сучасним. В реакціях окиснення метану, нафти та інших алканів вуглець виступає основним донором електронів. Акцептором найчастіше в холодних сипах слугують сульфати завдяки їх високій концентрації в морській воді (до 28мМ) [9, 10, 32, 60]. Не зважаючи на те, що вуглеводні є енергетично багатими субстратами, їх елементарний склад достатньо бідний, і це, в свою чергу накладає ряд обмежень на реалізацію метаболічних сцена-



рив. Азот і фосфор являються чинниками, які підвищують рівень метаболічної активності. Біологічна фіксація азоту присутня в холодних просочуваннях [15, 16, 47], є важливою і не рідко зустрічається. До фізіологічних груп мікроорганізмів, що опосередковують фіксацію N_2 у витоках, включають потенційно метаногенні археї, метанотрофні археї та сульфатвідновлювальні бактерії [3, 15]. Фосфор потрапляє на морське дно до відкладень шляхом осідання з поверхні у вигляді органічного/неорганічного фосфору або через скидання розсолів із глибинних колекторів. Відомо, що викид розсолів є важливим джерелом N і P у глибоке море, хоча регіональна та глобальна величина цього надходження не обмежена. У таких районах, як Перська затока, де просочування вуглеводневих флюїдів у вигляді розсолу є поширеним явищем, надходження фосфору можуть бути значними. Такий фосфор може бути фіксований і концентрований мікроорганізмами у вигляді поліфосфатів, які окиснюють сірку, наприклад, гігантські сіркоокиснювальні бактерії *Beggiatoa* і *Thiomargarita*, що безсумнівно відіграє важливу роль у колообігу фосфору [33].

Процеси, опосередковані діяльністю мікроорганізмів

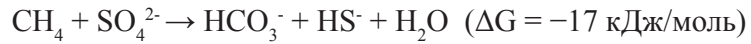
В холодних сипах внаслідок швидкого споживання кисню більша частина осаду є аноксичною, де переважають анаеробні метаболізми: окиснення вуглеводнів (метану, алканів), яке часто поєднується із сульфатредукцією [27, 34]. Кисень швидко споживається мікроорганізмами, які живуть у верхніх шарах (кілька мм) осаду або функціонують у симбіозі з тваринами на межі осад-вода [6]. Швидке споживання кисню відбувається також внаслідок діяльності мікроорганізмів, що існують вільно та симбіотичних тіотрофних і метанотрофних мікроорганізмів [6, 20].

Метан, що просочується з вуглеводневими флюїдами може мати біогенне та термогенне походження. Біогенний метан утворюється трьома способами: гідрогенотрофним (відновлення бікарбонату до метану з використанням водню як відновника), ацетокластичним (ацетатне бродиння дає CH_4 і CO_2) і метилотрофним (метанол, метантіол, диметилсульфід або інші прості субстрати) метаногенезом [42, 45]. Термогенні та біогенні джерела метану можна розрізнити за допомогою вимірювання стабільного ізотопного складу вуглецю ($\delta^{13}C$) і дейтерію (δD). Метан має дуже низький показник $\delta^{13}C$: біогенний метан порядку -60 ‰, термогенний – близько -40 ‰. [53]. Не зважаючи на те, що метаногенез в холодних просочуваннях відбувається за допомогою всіх відомих механізмів, метилотрофні процеси є найбільш значущими [14, 64, 70]. Це може бути пов'язано з тим, що більш низька температура обмежує перебіг гідрогенотрофного та ацетокластичного метаногенезу, в той час як метилотрофний метаногенез низька температура майже не впливає [14].

Анаеробне окиснення метану (АОМ) – центральний процес у вуглецевому циклі за анаеробних умов, який зменшує кількість метану, що вивільняється з ґрунтів та відкладень у водойми і, як наслідок, в атмосферу [10, 40]. Метан є кліматично активним парниковим газом, а морські відкладення містять величезні запаси метану у вигляді розчиненого газу та газового гідрату. Лабораторні експерименти з багатими на метан осадами виявили синтрофний зв'язок між мікроорганізмами, відповідальними за сульфатредукцію (SR) та



АОМ. При окисненні метану сульфати слугують акцепторами електронів, що й призводить до відновлення сульфатів до сульфідів [36]:



За умов високих концентрацій метану у флюїдах АОМ може досягати надзвичайно високих рівнів, що ймовірно пов'язано з використанням акцепторів електронів, відмінних від сульфатів і, таким чином, АОМ одночасно може проходити декількома шляхами [10, 11]. Швидка рециркуляція сірки важлива для підтримки високих показників СР, пов'язаної з АОМ, які спостерігаються за вуглеводневих просочувань [10, 44]. Важливими для підтримки високої швидкості АОМ є також процеси відновлення азоту та металів (залізо, марганець) [11]. Дослідниками було виявлено, що в холодних морських відкладах сульфатредуктори можуть бути залучені в незначній мірі в процесах мінералізації органічної речовини, тоді як мікроорганізми – відновники металів переважають. Тут канонічні сульфатредуктори надають перевагу автотрофному способу існування, використовуючи водень як донор електронів, в той час як металоредукувальні бактерії беруть участь в гетеротрофному циклі органічної речовини [68]. Таким чином, можливість використання різних акцепторів і донорів електронів залежно від їх наявності АОМ стають ефективним і дієвим механізмом утилізації метану при вуглеводневих просочуваннях за різних екологічних умов [11, 52].

Мікробне біорізноманіття холодних сипів

Просочування вуглеводнів в холодних сипах стимулює формування різноманітних мікробних спільнот, які є посередниками в метаногенезі, окисненні вуглеводнів, сульфатредукції і безлічі інших взаємопов'язаних процесів. За допомогою метагеномних досліджень було виявлено відмінності у складі мікробіому та їх розподілі в місцях вуглеводневих просочувань та у фонових зонах [54, 56, 57, 59]. Крім того спостерігають відмінності у метаболічному складі та метаболічному потенціалі в холодних та гідротермальних просочуваннях.

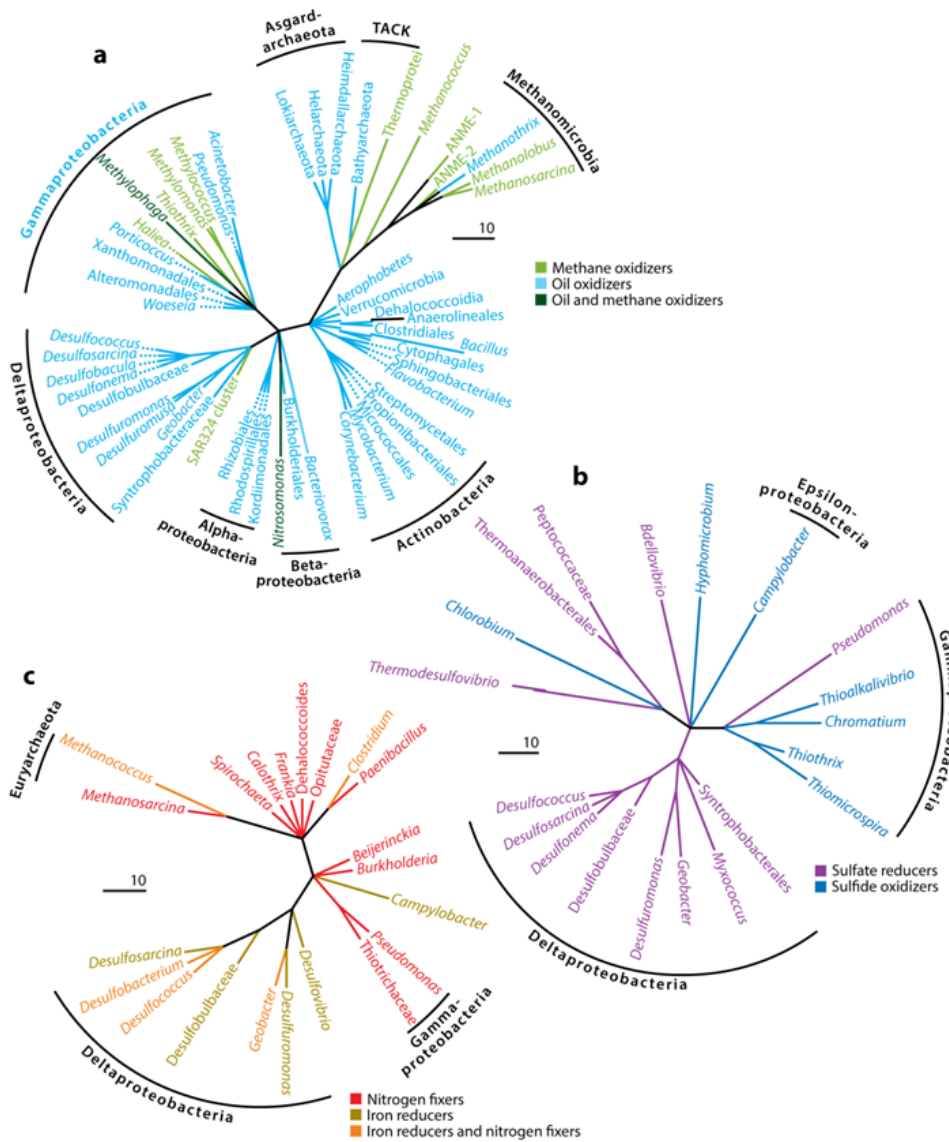
Для басейну Гуаймос Каліфорнійської затоки (Мексика) були проведені метагеномні дослідження і реконструйовані геноми мікробних спільнот з гідротермальних вуглеводневих просочувань і найближчих до них холодних сипів [7]. На відміну від результатів, отриманих із холодних вуглеводневих сипів, мікробні спільноти гідротермальних більш різноманітні за складом і археї тут переважають над бактеріями [30].

Дослідження основних метаболічних генів показало наявність генів загального колообігу вуглецю в усіх досліджуваних місцях. Проте гени ферментів, залучених в кисневому диханні характерніші холодним просочуванням, а у фонових зонах та гідротермальних сипах вони виявляються у значно менших кількостях. Гени ферментів, залучені в процесах ферментації були знайдені як в зонах вуглеводневих просочувань, так і у фонових. Гени ферментів денітрифікації найчастіше зустрічаються в холодних просочуваннях та негли-



боких ділянок, а ген *msrA* був повністю відсутній у ділянках, де вуглеводневі просочування не фіксувалися [17].

Філогенетичний розподіл основних груп мікроорганізмів, що є мешканцями вуглеводневих просочувань, залежно від їх функціонального навантаження, представлено на рис. 1 [36]. Проте дані представлені на рисунку не є повними, постійно доповнюються та уточнюються.



Joye SB. 2020. Annu. Rev. Earth Planet. Sci. 48:205–31

Рис. 1. Філогенетичне різноманіття мікроорганізмів, представлених в холодних вуглеводневих сипах [36]

Fig. 1. Phylogenetic diversity of microorganisms of cold hydrocarbon seeps [36]



Анаеробні окиснювачі вуглеводнів нафти, метану (ANME) та організми, які можуть бути посередниками окиснення як нафти, так і метану, представлено на рис. 1а. Здатність метаболізувати метан, нафту та алкани виявлена у величезній кількості мікроорганізмів у всіх відомих філумах, які широко представлені в морських середовищах, включаючи системи холодних просочувань, гідротермальних джерел та багатих на органіку та метан відкладах [5, 8]. Основними чинниками, що контролюють розповсюдження ANME являється наявність метану та сульфату, або інших кінцевих акцепторів електронів, які можуть підтримувати АОМ. Як і для будь-яких мікроорганізмів важливими також є інші чинники навколишнього середовища, такі як температура, солоність, рівень рН.

На основі філогенетичного аналізу генів 16S рРНК ANME були згруповані в три окремих класи ANME-1, ANME-2 та ANME-3 [39, 49]. Усі метанотрофи філогенетично пов'язані з різними групами метаногенних архей [40]. ANME-2 та ANME-3 об'єднані в порядок *Methanosarcinales*, а ANME-1 належить до нового порядку, який має віддалені зв'язки з порядками *Methanosarcinales* і *Methanomicrobiales* [40]. Серед усіх трьох класів ANME-2 і ANME-3 найчастіше знаходять в холодних сипах, тоді як представники ANME-1 мешкають в середовищах із широким діапазоном температур та солоності [5]. Завдяки великій кількості морських проб, зібраних з усього світу, та за допомогою молекулярно-генетичного аналізу отримано величезну кількість послідовностей генів 16S рРНК та *mcrA* архей (метил-коМ-редуктази – ключовий фермент метаногенезу, також може каталізувати АОМ через зворотній метаногенез) [58], що дозволило розділити метанотрофи на підгрупи: ANME-1 – на ANME-1a і ANME-1b, ANME-2 – на чотири підгрупи ANME-2a, ANME-2b, ANME-2c і ANME-2d, а для ANME-3 підгрупи досі не визначені [5].

Із розвитком метагеномних досліджень список учасників, що беруть участь у різних метаболічних процесах, які відбуваються в місцях вуглеводневих просочувань, постійно розширюється, та стає зрозумілою їх роль і місце у даних процесах [13, 18, 26, 29]. Метагенез та АОМ через метил-коМ-редуктазу (як ключового ферменту) були запропоновані як основні шляхи метаболізму в архей. Метаболізм алканів на основі даного ферментативного апарату у різних груп архей (*Archaeoglobi*, *Hadesarchaeota*, архей суперфілума TACK, включаючи *Nezhaarchaeota*, *Korarchaeota* та *Verstraetearchaeota*) міг еволюціонувати під дією навколишніх факторів [66]. У представників *Hadesarchaeota* та *Archaeoglobi* метил-коМ-редуктаза сильно відрізняється від редуктаз інших архей, що дозволяє їм існувати на неметанових алканах. У архей *Archaeoglobi* і *Korarchaeota* виявлена здатність як до метаногенезу, так і до сульфатредукції, що дозволяє зробити припущення, що вони володіють потенціалом до поєднання обох шляхів метаболізму в окремих організмах [66]. Окрім добре відомих метанотрофів, окиснювачів нафти (ANME) та сульфатредукторів (зазвичай *Deltaproteobacteria*), здатність до окиснення вуглеводнів нафти знайдена також у представників філумів *Actinobacteria* та *Gammaproteobacteria*. До інших поширених архейних ліній – окиснювачів вуглеводнів відносять



морську бентосну групу В та *Bathyarchaeota*, а також протеобактерії (*Delta*-, *Epsilon*- і *Gamma*proteobacteria), *Bacteroidetes* та *Chloroflexi* [19].

Метанотрофи зазвичай є облигатними організмами, тобто здатні споживати лише метан, а не інші алкани з більш довгим ланцюгом. Здатність до окиснення вуглеводнів нафти та метану несподівано була виявлена у метаногених архей *Bathyarchaeota* [24]. Бактерії, що метаболізують інші газоподібні алкани – компоненти природного газу, наприклад, пропан, також відомі і охарактеризовані, проте вони не окиснюють метан. Але нещодавно був виявлений факультативний метанотроф *Methylocella silvestri*, який окрім метану здатний споживати інші компоненти природного газу – етан і пропан [25]. Отже, цілком вірогідно, що анаеробні окиснювачі метану та алканів є набагато більш поширеними, ніж вважалося раніше.

Донні структури Чорного моря є особливим середовищем для метанотрофів ANME-1 і ANME-2, які існують тут у вигляді товстих мікробних матів товщиною 2–10 см, скріплених карбонатними відкладами (димоходами) на глибині 35–2000 м [50, 62]. В Чорному морі була виявлена величезна карбонатна труба висотою 4 м та шириною до 1 м, яка містила мікробний мат рожевого кольору з переважанням ANME-1 у мікробному складі та найвищими на той момент показниками АОМ в природних системах [46].

Хемоавтотрофні та гетеротрофні процеси тут тісно взаємопов'язані: відбувається окиснення та трансформація вуглеводнів, що поєднує вуглеводневий метаболізм з іншими процесами, які здійснюють мікроорганізми – сульфатредукцією, фіксацією азоту тощо (рис. 1 b, c), і, таким чином, відбувається підживлення високопродуктивних та різноманітних екосистем.

Археї групи ANME-1 беруть участь у криптичному колообігу метану, який існує за рахунок постійної сульфатредукції, що відбувається в межах переходу сульфат-метан осадового горизонту. Для реалізації цього процесу залучені археї, які володіють ферментативним апаратом як для синтезу, так і для споживання метану [4]. Крім того, в холодних вуглеводневих просочуваннях Мексиканської затоки були виявлені та ідентифіковані нові сульфатредуктори, які здатні деградувати, лише пропан і бутан. Вони адаптовані до низької температури та демонструють найбільші швидкості відновлення сульфату при 16–20 °С. Аналіз бібліотек генів 16S рРНК показав переважання унікального філотипу, пов'язаного з кластером *Desulfosarcina-Desulfococcus* у межах *Deltaproteobacteria* [31, 60]. Сульфатвідновлювальні і сульфідокиснювальні бактерії представлені в основному бактеріями класів *Epsilonproteobacteria*, *Gamma*proteobacteria та *Deltaproteobacteria*, але представники *Clostridiales* також здатні до сульфатвідновлення [65]. Сульфатредукція притаманна найбільше дельтапротеобактеріям, тоді як в процесах окиснення сірки залучені в основному гамапротеобактерії та епсилонпротеобактерії [57]. Найпоширеніші сульфідні окиснювачі належать до представників родів *Beggiatoales*, *Thioploca* та *Thiothrix* родини *Thiotrichaceae*. Дослідження спільнот сульфатредукторів в деяких морських газових та нафтових витоках виявило широку розповсюдженість та різноманіття ацетат-окиснювальних бактерій родів *Desulfosarcina* і *Desulfococcus*, які також впливають на колообіг вуглецю [51].



Крім того, здатність фіксувати азот і відновлювати оксиди заліза дуже поширена у холодних сипах, що підкреслює їх потенційну важливість в умовах існування вуглеводневих просочувань [69]. За оцінками в процесі АОМ, що супроводжується сульфатредукцією, окиснюється до 90 % усього метану, що утворюється в морських відкладах і головними чинниками цього виступають метанотрофні археї (ANME) та сульфатредукувальні бактерії. Припускають, що нижче зони сульфат-метанового переходу за умов високої концентрації розчиненого заліза, низької концентрації сульфатів і високої концентрації метану, а також у присутності оксидів заліза, частина цього метану окиснюється в АОМ, де основним акцептором електронів виступає Fe(III) [2, 43]. Такі середовища широко розповсюджені в мілководних відкладах від прибережних шельфів до глибоководних морських ділянок континентальних окраїн (Балтійське, Чорне море) [21, 22].

Хоча досі не ідентифіковані мікроорганізми, відповідальні за даний процес, було показано, що за умов пригнічення сульфатредукції окиснення метану відбувається за рахунок відновлення різних оксидів заліза, але не марганцю. При цьому виявляється значне збільшення кількості археї ANME-2a [2].

Метанотрофи, які використовують нітрит (дві специфічні групи археї *Methanoperedens nitroreducens* (підгрупа ANME-2d)) або нітрат (бактерії *Methylomirabilis oxyfera*) як акцептори електронів найчастіше виявляють в анаеробних прісноводних відкладах [23, 28]. Під час АОМ денітрифікатор *M. oxyfera* відновлює нітрит до оксиду азоту з подальшим перетворенням в молекулярний азот (N_2) та кисень (O_2). Останній використовується при окисненні метану до вуглекислого газу [23]. Археї ANME-2d можуть здійснювати денітрифікувальне АОМ без синтрофних партнерів, де нітрит може бути відновлений до азоту (N_2). Амоній, присутній в POP, може бути окиснений до азоту (N_2) морськими бактеріями роду *Scalindua* (Annamox) [48]. При цьому було показано, що в у вуглеводневих сипах кількість денітрифікаторів дуже незначна, а окиснювачі амонію (Annamox) зустрічаються скоріше у фонових ділянках донних відкладень [69].

Отже, не зважаючи на всі проведені дослідження, включаючи метагеномні та метаболомні, все ще дуже обмеженим є розуміння просторового біорізноманіття, функціонування в умовах динамічного розвитку середовища та метаболічного потенціалу мікроорганізмів. Просочування вуглеводнів є постійною ознакою схилових і шельфових середовищ по всій Земній кулі, які надають унікальні геологічні, біогеохімічні та геобіологічні ознаки морському дну [55]. Геологія, що лежить в основі, створює фізико-хімічні умови, структуру і контролює динаміку вуглеводневих флюїдів і, таким чином формує середовище існування для первинних мешканців – мікроорганізмів, які в свою чергу є двигуном колообігу речовин та енергії і фундаментом глобальної екологічної піраміди.

Спеціалізовані мікробні спільноти, що існують у місцях вуглеводневих просочувань добре налаштовані на місцеві фізичні та геохімічні режими. У зв'язку зі швидким споживанням кисню поблизу межі осади–вода мікробни-



ми спільнотами, що вільно існують та симбіотичними, а також диханням тварин, анаеробний метаболізм є переважальним у вуглеводневих просочуваннях, а сульфатредукція та анаеробне окиснення метану є мікробіологічними процесами, які привертають велику увагу дослідників. Наявні дані свідчать також про тісний зв'язок АОМ з іншими біогеохімічними процесами, що відбуваються в місцях вуглеводневих просочувань, такими як відновлення нітратів/нітритів, оксидів металів (Fe(III) та Mn(IV)), які, ймовірно, є не менш важливими, ніж сульфатредукція.

O. V. Sashchuk, T. V. Gudzenko, V. O. Ivanytsia

Odesa I. I. Mechnikov National University,
2 Dvorianska St, Odesa, 65082, Ukraine
tel.: +38(067)525 46 25, e-mail: sashchuk@gmail.com

MICROORGANISMS OF MARINE COLD HYDROCARBON SEEPS

Summary

Marine hydrocarbon seeps, due to their unique geophysical and geochemical characteristics, form unique conditions for the development of specific microbial communities. Diverse and interconnected metabolic activities of them underlie global ecological processes. In this review were considered the geophysical and chemical conditions for the formation of seepages and hydrocarbon fluids - energy sources and substrates for metabolic processes mediated by microorganisms that exist in these ecological niches. It was presented the information about microbial biodiversity in cold hydrocarbon seeps, its metabolic potential in conditions of dynamic environmental development.

Key words: hydrocarbon seeps, anaerobic oxidation of methane (AOM), sulphate reduction, methanogenesis, microbial biodiversity.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. *Abrams M.A., Dahdah N.* Surface sediment hydrocarbons as indicators of subsurface hydrocarbons: field calibration of existing and new surface geochemistry methods in the Marco Polo area, Gulf of Mexico // *AAPG Bull.* – 2011. – V. 95 (11). – P. 1907–1935. DOI:10.1306/03211110130
2. *Aromokeye D.A., Kulkarni A.C., Elvert M., Wegener G., Henkel S., et al.* Rates and Microbial Players of Iron-Driven Anaerobic Oxidation of Methane in Methanic Marine Sediments // *Frontiers in Microbiology.* – 2020. – V. 10. – Art. 3041 DOI: 10.3389/fmicb.2019.03041
3. *Bertics V.J., Loscher C.R., Salonen I., Dale A.W., Schmitz R.A., Treude T.* Occurrence of benthic microbial nitrogen fixation coupled to sulfate reduction in the seasonally hypoxic Eckernförde Bay, Baltic Sea // *Biogeosciences.* – 2013. – V. 10. – P. 1243–58. <https://doi.org/10.5194/bg-10-1243-2013>
4. *Beulig F., Røy H., McGlynn S.E., Jørgensen B.B.* Cryptic CH₄ cycling in the sulfate–methane transition of marine sediments apparently mediated by



- ANME-1 archaea // *The ISME Journal*. – 2019. – V. 13. – P. 250–262. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0273-z>
5. *Bhattarai S., Cassarini C., Lens P.N.L.* 2019. Physiology and Distribution of Archaeal Methanotrophs That Couple Anaerobic Oxidation of Methane with Sulfate Reduction // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* – 2019. – V. 83 (3):10.1128/membr.00074-18. <https://doi.org/10.1128/membr.00074-18>
 6. *Boetius A., Wenzhöfer F.* 2013. Seafloor oxygen consumption fuelled by methane from cold seeps // *Nat. Geosci.* – 2013. – V. 6 (9). – P. 725–734. DOI:10.1038/ngeo1926
 7. *Bojanova D.P., De Anda V.Y., Haghnegahdar M.A., Teske A.P., Ash J.L., Young E.D., Baker B.J., LaRowe D.E., Amend J.P.* Well-hidden methanogenesis in deep, organic-rich sediments of Guaymas Basin // *ISME J.* – 2023. – V. 17 (11). -P. 1828-1838. DOI: 10.1038/s41396-023-01485-y.
 8. *Borrel G., Adam P.S., McKay J.J., Chen L.-X., Sierra-Garcia I.N. et al.* Wide diversity of methane and short-chain alkane metabolisms in uncultured archaea // *Nat. Microbiol.* – 2019. – V. 4 (4). – P. 603–613. DOI: 10.1038/s41564-019-0363-3.
 9. *Bose A., Rogers D.R., Adams M.M., Joye S.B., Girguis P.R.* Geomicrobiological linkages between short-chain alkane consumption and sulfate reduction in seep sediments // *Front. Microbiol.* – 2013. – V. 4. – P. 386. DOI: 10.3389/fmicb.2013.00386
 10. *Bowles M.W., Samarkin V.A., Bowles K.M.L., Joye S.B.* Weak coupling between sulfate reduction and the anaerobic oxidation of methane in methane-rich seafloor sediments in ex situ incubations // *Geochim. Cosmochim. Acta.* – 2010. – V. 75 (2). – P. 500–519. DOI:10.1016/j.gca.2010.09.043
 11. *Bowles M.W., Hunter K.S., Samarkin V., Joye S.B.* Patterns and variability in geochemical signatures and microbial activity within and between diverse cold seep habitats along the lower continental slope, Northern Gulf of Mexico // *Deep Sea Res. II. Topical Studies in Oceanography* – 2016. – V. 129. – P. 31–40. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2016.02.011>
 12. *Brun J.-P., Fort X.* Growth of continental shelves at salt margins // *Front. Earth Sci.* – 2018. – V. 6. – Art. 209. <https://doi.org/10.3389/feart.2018.00209>
 13. *Chen J., Li Y., Zhong C., Xu Z., Lu G., Jing H., Liu H.* Genomic Insights into Niche Partitioning across Sediment Depth among Anaerobic Methane-Oxidizing Archaea in Global Methane Seeps // *mSystems.* – 2023. – V. 8 (2). – e0117922. DOI: 10.1128/msystems.01179-22.
 14. *Chen Y., Wu N., Liu C., Mi T., Li J., He X., Li S., Sun Z., Zhen Y.* Methanogenesis pathways of methanogens and their responses to substrates and temperature in sediments from the South Yellow Sea // *Sci Total Environ.* – 2022. – V. 815. – P. 1526-1545. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.152645.
 15. *Dekas A.E., Poretsky R.S., Orphan V.J.* 2009. Deep-sea archaea fix and share nitrogen in methane-consuming microbial consortia // *Science.* – 2009. – V. 326 (5951). – P. 422–426. DOI: 10.1126/science.1178223
 16. *Dekas A.E., Chadwick G.L., Bowles M.W., Joye S.B., Orphan V.J.* Spatial distribution of nitrogen fixation in methane seep sediment and the role of the



- ANME archaea // *Environ. Microbiol.* – 2014. – V. 16 (10). – P. 3012–3029. DOI: 10.1111/1462-2920.12247
17. *Dombrowski N., Teske A.P., Baker B.J.* Expansive microbial metabolic versatility and biodiversity in dynamic Guaymas Basin hydrothermal sediments // *Nat. Commun.* – 2018. – V. 9. – Art. 4999. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07418-0>
 18. *Dong X., Greening C., Rattray J.E., Chakraborty A., Chuvochina M. et al.* 2019. Metabolic potential of uncultured bacteria and archaea associated with petroleum seepage in deep-sea sediments // *Nat. Commun.* – 2019. – V. 10 (1). – Art. 1816. DOI: 10.1038/s41467-019-09747-0
 19. *Dowell F., Cardman Z., Dasarathy S., Kellermann M.Y., Lipp J.S., Ruff S.E., Biddle J.F., McKay L.J., MacGregor B.J., Lloyd K.G., Albert D.B., Mendlovitz H., Hinrichs K.U., Teske A.* Microbial Communities in Methane- and Short Chain Alkane-Rich Hydrothermal Sediments of Guaymas Basin // *Front Microbiol.* – 2016. – V. 7. – Art. 17. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00017.
 20. *Dubilier N., Bergin C., Lott C.* Symbiotic diversity in marine animals: the art of harnessing chemosynthesis // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2008. – V. 6 (10). – P. 725–740. DOI: 10.1038/nrmicro1992
 21. *Egger M., Kraal P., Jilbert T., Sulu-Gambari F., Sapart C.J., Röckmann T., Slomp C.P.* Anaerobic oxidation of methane alters sediment records of sulfur, iron and phosphorus in the Black Sea // *Biogeosciences.* – 2016. – V. 13 (18). – P. 5333–5355. DOI:10.5194/bg-13-5333-2016
 22. *Egger M., Hagens M., Sapart C.J., Dijkstra N., Van Helmond N.A.G.M., Moggollón J.M., et al.* Iron oxide reduction in methane-rich deep Baltic Sea sediments // *Geochim. Cosmochim. Acta* – 2017. – V. 207. – P. 256–276. DOI: 10.1016/j.gca.2017.03.019
 23. *Ettwig K.F., Butler M.K., Le Paslier D., Pelletier E., Mangenot S., Kuypers M.M.M., Schreiber F., Dutilh B.E., Zedelius J., de Beer D., Gloerich J., Wessels H.J.C.T., van Alen T., Luesken F., Wu M.L., van de Pas-Schoonen K.T., Op den Camp H.J.M., Janssen-Megens E.M., Francoijs K.-J., Stunnenberg H., Weissenbach J., Jetten M.S.M., Strous M.* Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria // *Nature.* – 2010. – V. 464. – P. 543–548. <https://doi.org/10.1038/nature08883>
 24. *Evans P.N., Parks D.H., Chadwick G.L., Robbins S.J., Orphan V.J. et al.* Methane metabolism in the archaeal phylum *Bathyarchaeota* revealed by genome-centric metagenomics // *Science.* – 2015. – V. 350 (6259). – P. 434–438. DOI: 10.1126/science.aac7745
 25. *Farhan Ul Haque M., Crombie A.T., Ensminger S.A., Baciu C. and Murrell J.C.* Facultative methanotrophs are abundant at terrestrial natural gas seeps // *Microbiome.* – 2018. – V. 6. – Art. 18 <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0500-x>
 26. *Farhan Ul Haque M., Xu H.-J., Murrell J.C., Crombie A.* Facultative methanotrophs – diversity, genetics, molecular ecology and biotechnological potential: a mini-review // *Microbiology.* – 2020. – V. 166. – P. 894–908. DOI 10.1099/mic.0.000977



27. Grünke S., Lichtschlag A., de Beer D., Felden J., Ramette A. et al. Mats of psychrophilic thiotrophic bacteria associated with cold seeps of the Barents Sea // *Biogeosciences*. – 2012. – V. 9 (8). – P. 2947–2960. <https://doi.org/10.5194/bg-9-2947-2012>
28. Haroon M.F., Hu S., Shi Y., Imelfort M., Keller J., Hugenholtz P., Yuan Z., Tyson G.W. 2013. Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage // *Nature*. – 2013. – V. 500 (7464). – P. 567–570. DOI: 10.1038/nature12375
29. Hawley E.R., Piao H., Scott N.M., Malfatti S., Pagani I. et al. Metagenomic analysis of microbial consortium from natural crude oil that seeps into the marine ecosystem offshore Southern California // *Stand. Genom. Sci.* – 2014. – V. 9 (3). – P. 1259–1274. DOI:10.4056/sigs.5029016
30. Hinkle J.E., Mara P., Beaudoin D.J., Edgcomb V.P., Teske A.P. A PCR-Based Survey of Methane-Cycling Archaea in Methane-Soaked Subsurface Sediments of Guaymas Basin, Gulf of California // *Microorganisms*. – 2023. – V. 11(12). – P. 2956. DOI: 10.3390/microorganisms11122956.
31. Jaekel U., Musat N., Adam B., Kuypers M., Grundmann I. O., Musat F. Anaerobic degradation of propane and butane by sulfate-reducing bacteria enriched from marine hydrocarbon cold seeps // *The ISME Journal*. – 2013. – V. 7. – P. 885–895. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.159>
32. Jaekel U., Zedelius J., Wilkes H., Musat F. Anaerobic degradation of cyclohexane by sulfate-reducing bacteria from hydrocarbon-contaminated marine sediments // *Front. Microbiol.* – 2015. – V. 6. – Art. 116. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00116>
33. Jones D.S., Flood B.E., Bailey J.E. Metatranscriptomic insights into polyphosphate metabolism in marine sediments // *ISME J.* – 2015. – V. 10. – P. 1015–1019. DOI: 10.1038/ismej.2015.169
34. Joye S.B., Bowles M.W., Samarkin V.A., Hunter K.S., Niemann H. Biogeochemical signatures and microbial activity of different cold seep habitats along the Gulf of Mexico lower slope // *Deep Sea Res. II*. – 2010. – Vol. 57. – P. 1990–2001. DOI:10.1016/j.dsr2.2010.06.001
35. Joye S.B., Kleindienst S. Hydrocarbon seep ecosystems / *Life in Extreme Environments*. Kallmeyer J. - Berlin: DeGruyter Publ., 2017. – P. 33–52. DOI:10.1515/9783110493672-002
36. Joye S.B. The Geology and Biogeochemistry of Hydrocarbon Seeps // *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*. – 2020. – V. 48. – P. 205–231. <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-063016-020052>
37. Kappler A., Bryce C. Cryptic biogeochemical cycles: unraveling hidden redox reactions // *Environ. Microbiol.* – 2017. – V. 19 (3). – P. 842–846. DOI:10.1111/1462-2920.13687
38. Kennicutt M.C. Oil and gas seeps in the Gulf of Mexico / *Habitats and Biota of the Gulf of Mexico: Before the Deepwater Horizon Oil Spill*. Ward C. – New York: Springer, 2017. – P. 275–358. DOI:10.1007/978-1-4939-3447-8_5



39. Knittel K., Lösekann T., Boetius A., Kort R., Amann R. Diversity and distribution of methanotrophic archaea at cold seeps // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – V. 71 (1). – P. 467–479. doi: 10.1128/AEM.71.1.467-479.2005
40. Knittel K., Boetius A. Anaerobic oxidation of methane: progress with an unknown process // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2009. – V. 63. – P. 311–334. DOI: 10.1146/annurev.micro.61.080706.093130
41. Kramer K.V., Shedd W.W. A 1.4-billion-pixel map of the Gulf of Mexico seafloor // *EOS Trans. AGU.* – 2017. – V. 98 (8). – P. 1010–1029. DOI:10.1029/2017EO073557
42. Kurth J.M., Huub J. M., Op den Camp, Welte C.U. Several ways one goal—methanogenesis from unconventional substrates // *Appl. Microb. Biotech.* – 2020. – V. 104. – P. 6839–6854. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10724-7>
43. Liang L., Wang Y., Sivan O., Wang F. Metal-dependent anaerobic methane oxidation in marine sediment: Insights from marine settings and other systems // *Sci China Life Sci.* – 2019. – V. 62(10). – P. 1287–1295. DOI: 10.1007/s11427-018-9554-5.
44. Litchschlag A., Felden J., Bruchert V., Boetius A., de Beer D. Geochemical processes and chemosynthetic primary production in different thiotrophic mats of the Håkon Mosby Mud Volcano (Barents Sea) // *Limnol. Oceanogr.* – 2010. – V. 55 (2). – P. 931–949. DOI:10.4319/lo.2010.55.2.0931
45. Lyu Z., Shao N., Akinyemi T., Whitman W.B. Methanogenesis // *Curr. Biol.* – 2018. – V. 28 (13). – P. R727-R732. DOI: 10.1016/j.cub.2018.05.021.
46. Marlow J.J., Steele J.A., Ziebis W., Thurber A.R., Levin L.A., Orphan V.J. Carbonate-hosted methanotrophy represents an unrecognized methane sink in the deep sea // *Nat. Commun.* – 2014. – V. 5. – Art. 5094. DOI: 10.1038/ncomms6094
47. Miyazaki J., Higa R., Toki T., Ashi J., Tsunogai U. et al. Molecular characterization of potential nitrogen fixation by anaerobic methane-oxidizing archaea in the methane seep sediments at the number 8 Kumano Knoll in the Kumano Basin, offshore of Japan // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2009. – V. 75 (22). – P. 7153–7162. DOI:10.1128/AEM.01184-09
48. Nie W.B., Ding J., Xie G.J., Tan X., Lu Y., Peng L., Liu B.F., Xing D.F., Yuan Z., Ren N. Simultaneous nitrate and sulfate dependent anaerobic oxidation of methane linking carbon, nitrogen and sulfur cycles // *Water Res.* – 2021. – V. 194. – Art. 116928. DOI: 10.1016/j.watres.2021.116928.
49. Niemann H., Losekann T., de Beer D., Elvert M., Nadalig T., Knittel K., Amann R., Sauter E.J., Schluter M., Klages M., Foucher J.P., Boetius A. Novel microbial communities of the Haakon Mosby mud volcano and their role as a methane sink // *Nature.* – 2006. – V. 443 (7113). – P. 854–858. DOI: 10.1038/nature05227
50. Novikova S.A., Shnyukov Y.F., Sokol E.V., Kozmenko O.A., Semenova D.V., Kutny V.A. A methane-derived carbonate build-up at a cold seep on the Crimean slope, north-western Black Sea // *Mar. Geol.* – 2015. – V. 363 (2). – P. 160–173. DOI: 10.1016/j.margeo.2015.02.008



51. *Orcutt B.N., Joye S.B., Kleindienst S., Knittel K., Ramette A., Reitz A., Samarkin V., Treude T., Boetius A.* Impact of natural oil and higher hydrocarbons on microbial diversity, distribution, and activity in Gulf of Mexico cold-seep sediments // *Deep Sea Res Part II: Top Stud. Oceanogr.* – 2010. – V. 57(21-23). – P. 2008–2021. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2010.05.014>
52. *Orcutt B.N., Lapham L.L., Delaney J., Sarode N., Marshall K.S. et al.* Microbial response to oil enrichment in Gulf of Mexico sediment measured using a novel long-term benthic lander system // *Elem. Sci. Anthr.* – 2017. – V. 5(3). – P. 18. DOI: 10.1525/elementa.129
53. *Pohlman J.W., Bauer J.E., Waite W.F., Osburn C.L., Chapman N.R.* Methane hydrate-bearing seeps as a source of aged dissolved organic carbon to the oceans // *Nat. Geosci.* – 2011. – V. 4. – P. 37–41. <https://doi.org/10.1038/ngeo1016>
54. *Ristova P.P., Wenzhofer F., Ramette A., Felden J., Boetius A.* Spatial scales of bacterial community diversity at cold seeps (Eastern Mediterranean Sea) // *ISME J.* – 2014. – V. 9. – P. 1306–1318. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.217>
55. *Roberts H.H., Hardage B.A., Shedd W.W., Hunt J.Jr.* Seafloor reflectivity--an important seismic property for interpreting fluid/gas expulsion geology and the presence of gas hydrate // *The Leading Edge.* – 2006. – V. 25(5). – P. 620–628. DOI: 10.1190/1.2202667
56. *Ruff S.E., Biddle J.F., Teske A.P., Knittel K., Boetius A., Ramette A.* Global dispersion and local diversification of the methane seep microbiome // *PNAS.* – 2015. – V. 112(13). – P. 4015–4020. DOI: 10.1073/pnas.1421865112
57. *Ruff S.E., Felden J., Gruber-Vodicka H.R., Marcon Y., Knittel K. et al.* In situ development of a methanotrophic microbiome in deep-sea sediments // *ISME J.* – 2018. – V. 13(1). – P. 197–213. DOI: 10.1038/s41396-018-0263-1
58. *Scheller S., Goenrich M., Boecher R., Thauer R.K., Jaun B.* The key nickel enzyme of methanogenesis catalyses the anaerobic oxidation of methane // *Nature.* – 2010. – V. 465(7298). – P. 606–608. DOI: 10.1038/nature09015
59. *Semler A.C., Fortney J.L., Fulweiler R.W., Dekas A.E.* Cold Seeps on the Passive Northern U.S. Atlantic Margin Host Globally Representative Members of the Seep Microbiome with Locally Dominant Strains of Archaea // *Appl Environ Microbiol.* – 2022. – V. 88(11):e0046822. DOI: 10.1128/aem.00468-22.
60. *Singh R., Guzman M.S., Bose A.* Anaerobic oxidation of ethane, propane, and butane by marine microbes: a mini review // *Front. Microbiol.* – 2017. – V. 8. -Art. 2056. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02056>
61. *Suess E.* Marine cold seeps and their manifestations: geological control, biogeochemical criteria and environmental conditions // *Int. J. Earth Sci.* – 2014. – V. 103(7). – P. 1889–1916. DOI: 10.1007/s00531-014-1010-0
62. *Treude T., Knittel K., Blumenberg M., Seifert R., Boetius A.* Subsurface microbial methanotrophic mats in the Black Sea // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2005. – V. 71(10). – P. 6375–6378. DOI: 10.1128/AEM.71.10.6375-6378.2005



63. Vallino J., Algar C.K. The thermodynamics of marine biogeochemical cycles: Lotka revisited // *Annu. Rev. Mar. Sci.* – 2016. – V. 8. – P. 333–356. DOI: 10.1146/annurev-marine-010814-015843
64. Vigneron A., L'Haridon S., Godfroy A., Roussel E.G., Cragg B.A. et al. Evidence of active methanogen communities in shallow sediments of the Sonora Margin cold seeps // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2015. – V. 81 (10). – P. 3451–3459. DOI: 10.1128/AEM.00147-15
65. Vigneron A., Alsop E.B., Cruaud P., Pilibert G., King B. et al. Comparative metagenomics of hydrocarbon and methane seeps of the Gulf of Mexico // *Sci. Rep.* – 2017. – V. 7 (1). – Art. 16015. DOI: 10.1038/s41598-017-16375-5
66. Wang Y., Wegener G., Hou J., Wang F., Xiao X. Expanding anaerobic alkane metabolism in the domain of Archaea // *Nat. Microbiol.* – 2019. – V. 4. – P. 595–602. DOI: 10.1038/s41564-019-0364-2
67. Xin Y., Wu N., Sun Z., Wang H., Chen Y., Xu C., Geng W., Cao H., Zhang X., Zhai B., Yan D. Methane seepage intensity distinguish microbial communities in sediments at the Mid-Okinawa Trough // *Sci. Total. Environ.* – 2022. – V. 851(2). – Art.158213. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.158213.
68. Yin X., Zhou G., Wang H., Han D., Maeke M., Richter-Heitmann T., Wunder L.C., Aromokeye D.A., Zhu Q.Z., Nimzyk R., Elvert M., Friedrich M.W. Unexpected carbon utilization activity of sulfate-reducing microorganisms in temperate and permanently cold marine sediments. // *ISME J.* – 2024. – V. 18(1):wrad014. DOI: 10.1093/ismejo/wrad014.
69. Zhao R., Summers Z.M., Christman G.D., Yoshimura K.M., Biddle J.F. Metagenomic views of microbial dynamics influenced by hydrocarbon seepage in sediments of the Gulf of Mexico // *Scientific Reports.* – 2020. – V. 10. – Art.5772. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62840-z>
70. Zhuang G.-C., Montgomery A., Sibert R.J., Rogener M.-K., Samarkin V.A., Joye S.B. Effects of pressure, methane concentration, sulfate reduction activity, and temperature on methane production in surface sediments of the Gulf of Mexico // *Limnol. Oceanogr.* – 2018. – V. 63 (5). – P. 2080–2092. DOI: 10.1002/lno.10925

REFERENCES

1. Abrams MA, Dahdah N. Surface sediment hydrocarbons as indicators of subsurface hydrocarbons: field calibration of existing and new surface geochemistry methods in the Marco Polo area, Gulf of Mexico. *AAPG Bulletin.* 2011; 95(11):1907-1935. DOI:10.1306/03211110130
2. Aromokeye DA, Kulkarni AC, Elvert M, Wegener G, Henkel S, Coffinet S, Eickhorst T, Oni OE, Richter-Heitmann T, Schnakenberg A, Taubner H, Wunder L, Yin X, Zhu Q, Hinrichs KU, Kasten S, Friedrich MW. Rates and Microbial Players of Iron-Driven Anaerobic Oxidation of Methane in Methanic Marine Sediments. *Front Microbiol.* 2020;10:3041. DOI: 10.3389/fmicb.2019.03041.
3. Bertics VJ, Loscher CR, Salonen I, Dale AW, Schmitz RA, Treude T. Occurrence of benthic microbial nitrogen fixation coupled to sulfate reduction in the seasonally hypoxic Eckernförde Bay, Baltic Sea. *Biogeosciences.* 2013; 10:1243–58. <https://doi.org/10.5194/bg-10-1243-2013>



4. Beulig F, Røy H, McGlynn SE, Jørgensen BB. Cryptic CH₄ cycling in the sulfate–methane transition of marine sediments apparently mediated by ANME-1 archaea. *The ISME Journal*. 2019; 13:250–262. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0273-z>
5. Bhattarai S, Cassarini C, Lens PNL. Physiology and Distribution of Archaeal Methanotrophs That Couple Anaerobic Oxidation of Methane with Sulfate Reduction. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2019; 83:10.1128/membr.00074-18. <https://doi.org/10.1128/membr.00074-18>
6. Boetius A, Wenzhöfer F. Seafloor oxygen consumption fuelled by methane from cold seeps. *Nat Geosci*. 2013; 6(9):725–34. DOI:10.1038/ngeo1926
7. Bojanova DP, De Anda VY, Haghnegahdar MA, Teske AP, Ash JL, Young ED, Baker BJ, LaRowe DE, Amend JP. Well-hidden methanogenesis in deep, organic-rich sediments of Guaymas Basin. *ISME J*. 2023; 17(11):1828-1838. DOI: 10.1038/s41396-023-01485-y.
8. Borrel G, Adam PS, McKay JJ, Chen L-X, Sierra-Garcia IN et al. Wide diversity of methane and short-chain alkane metabolisms in uncultured archaea. *Nat Microbiol*. 2019; 4(4):603–13. DOI:10.1038/s41564-019-0363-3
9. Bose A, Rogers DR, Adams MM, Joye SB, Girguis PR. Geomicrobiological linkages between short-chain alkane consumption and sulfate reduction in seep sediments. *Front Microbiol*. 2013; 4:386. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00386>
10. Bowles MW, Samarkin VA, Bowles KML, Joye SB. Weak coupling between sulfate reduction and the anaerobic oxidation of methane in methane-rich seafloor sediments in ex situ incubations. *Geochim Cosmochim Acta*. 2010; 75(2):500–519. DOI:10.1016/j.gca.2010.09.043
11. Bowles MW, Hunter KS, Samarkin V, Joye SB. Patterns and variability in geochemical signatures and microbial activity within and between diverse cold seep habitats along the lower continental slope, Northern Gulf of Mexico. *Deep Sea Res II*. 2016; 129:31–40. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2016.02.011>
12. Brun J-P, Fort X. Growth of continental shelves at salt margins. *Front. Earth Sci*. 2018; 6:209. <https://doi.org/10.3389/feart.2018.00209>
13. Chen J, Li Y, Zhong C, Xu Z, Lu G, Jing H, Liu H. Genomic Insights into Niche Partitioning across Sediment Depth among Anaerobic Methane-Oxidizing Archaea in Global Methane Seeps. *mSystems*. 2023; 8(2):e0117922. DOI: 10.1128/mSystems.01179-22.
14. Chen Y, Wu N, Liu C, Mi T, Li J, He X, Li S, Sun Z, Zhen Y. Methanogenesis pathways of methanogens and their responses to substrates and temperature in sediments from the South Yellow Sea. *Sci Total Environ*. 2022; 815:152645. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.152645.
15. Dekas AE, Poretsky RS, Orphan VJ. Deep-sea archaea fix and share nitrogen in methane-consuming microbial consortia. *Science*. 2009; 326(5951):422–426. DOI: 10.1126/science.1178223
16. Dekas AE, Chadwick GL, Bowles MW, Joye SB, Orphan VJ. Spatial distribution of nitrogen fixation in methane seep sediment and the role of the ANME archaea. *Environ Microbiol*. 2014; 16(10):3012–29. DOI: 10.1111/1462-2920.12247



17. Dombrowski N, Teske AP, Baker BJ. Expansive microbial metabolic versatility and biodiversity in dynamic Guaymas Basin hydrothermal sediments. *Nat Commun.* 2018; 9(1):4999. DOI: 10.1038/s41467-018-07418-0
18. Dong X, Greening C, Rattray JE, Chakraborty A, Chuvochina M et al. Metabolic potential of uncultured bacteria and archaea associated with petroleum seepage in deep-sea sediments. *Nat Commun.* 2019; 10(1):1816. DOI: 10.1038/s41467-019-09747-0
19. Dowell F et al. Microbial communities in methane- and short chain alkanerich hydrothermal sediments of Guaymas Basin. *Front Microbiol.* 2016; 7:17. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00017
20. Dubilier N, Bergin C, Lott C. Symbiotic diversity in marine animals: the art of harnessing chemosynthesis. *Nat Rev Microbiol.* 2008; 6(10):725–740. DOI: 10.1038/nrmicro1992
21. Egger M, Kraal P, Jilbert T, Sulu-Gambari F, Sapart CJ, Röckmann T, Slomp CP. Anaerobic oxidation of methane alters sediment records of sulfur, iron and phosphorus in the Black Sea. *Biogeosciences.* 2016; 13:5333–5355 DOI:10.5194/bg-13-5333-2016
22. Egger M, Hagens M, Sapart CJ, Dijkstra N, Van Helmond NAGM, Mogollón JM et al. Iron oxide reduction in methane-rich deep Baltic Sea sediments. *Geochim Cosmochim Acta.* – 2017; 207:256–276. DOI: 10.1016/j.gca.2017.03.019
23. Ettwig KF, Butler MK, Le Paslier D, Pelletier E, Mangenot S, Kuypers MMM, Schreiber F, Dutilh BE, Zedelius J, de Beer D, Gloerich J, Wessels HJCT, van Alen T, Luesken F, Wu ML, van de Pas-Schoonen KT, Op den Camp HJM, Janssen-Megens EM, Francoijs K-J, Stunnenberg H, Weissenbach J, Jetten MSM, Strous M. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. *Nature.* 2010; 464(7288):543–548. <https://doi.org/10.1038/nature08883>
24. Evans PN, Parks DH, Chadwick GL, Robbins SJ, Orphan VJ et al. Methane metabolism in the archaeal phylum Bathyarchaeota revealed by genome-centric metagenomics. *Science.* 2015; 350(6259):434–38. DOI: 10.1126/science.aac7745
25. Farhan Ul Haque M, Crombie AT, Ensminger SA, Baciu C, Murrell JC. Facultative methanotrophs are abundant at terrestrial natural gas seeps. *Microbiome.* 2018; 6:118. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0500-x>
26. Farhan Ul Haque M, Xu H-J, Murrell JC, Crombie A. Facultative methanotrophs – diversity, genetics, molecular ecology and biotechnological potential: a mini-review. *Microbiology.* 2020; 166:894–908 DOI 10.1099/mic.0.000977
27. Grünke S, Lichtschlag A, de Beer D, Felden J, Ramette A et al. Mats of psychrophilic thiotrophic bacteria associated with cold seeps of the Barents Sea. *Biogeosciences.* 2012; 9:2947–2960. <https://doi.org/10.5194/bg-9-2947-2012>
28. Haroon MF, Hu S, Shi Y, Imelfort M, Keller J, Hugenholtz P, Yuan Z, Tyson GW. Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage. *Nature.* 2013; 500(7464):567–570. DOI: 10.1038/nature12375
29. Hawley ER, Piao H, Scott NM, Malfatti S, Pagani I et al. Metagenomic analysis of microbial consortium from natural crude oil that seeps into the marine ecosystem offshore Southern California. *Stand Genom Sci.* 2014; 9(3):1259–1274. DOI: 10.4056/sigs.5029016



30. Hinkle JE, Mara P, Beaudoin DJ, Edgcomb VP, Teske AP. A PCR-Based Survey of Methane-Cycling Archaea in Methane-Soaked Subsurface Sediments of Guaymas Basin, Gulf of California. *Microorganisms*. 2023; 11(12):2956. DOI: 10.3390/microorganisms11122956.
31. Jaekel U, Musat N, Adam B, Kuypers M, Grundmann O, Musat F. Anaerobic degradation of propane and butane by sulfate-reducing bacteria enriched from marine hydrocarbon cold seeps. *The ISME Journal*. 2013; 7(5):885–895. DOI: 10.1038/ismej.2012.159
32. Jaekel U, Zedelius J, Wilkes H, Musat F. Anaerobic degradation of cyclohexane by sulfate-reducing bacteria from hydrocarbon-contaminated marine sediments. *Front Microbiol*. 2015; 6:116. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00116
33. Jones DS, Flood BE, Bailey JE. Metatranscriptomic insights into polyphosphate metabolism in marine sediments. *ISME J*. 2015; 10:1015–1019. DOI: 10.1038/ismej.2015.169
34. Joye SB, Bowles MW, Samarkin VA, Hunter KS, Niemann H. Biogeochemical signatures and microbial activity of different cold seep habitats along the Gulf of Mexico lower slope. *Deep Sea Res II*. 2010; 57(21-23):1990–2001. DOI:10.1016/j.dsr2.2010.06.001
35. Joye SB, Kleindienst S. Hydrocarbon seep ecosystems. In: *Life in Extreme Environments* Eds Kallmeyer J. DeGruyter Publ., Berlin, 2017:33–52. DOI:10.1515/9783110493672-002
36. Joye SB. The Geology and Biogeochemistry of Hydrocarbon Seeps. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*. 2020; 48:205-231. <https://doi.org/10.1146/annurev-earth-063016-020052>
37. Kappler A, Bryce C. Cryptic biogeochemical cycles: unraveling hidden redox reactions. *Environ. Microbiol*. 2017; 19(3):842–46. DOI:10.1111/1462-2920.13687
38. Kennicutt MC. Oil and gas seeps in the Gulf of Mexico. In: *Habitats and Biota of the Gulf of Mexico: Before the Deepwater Horizon Oil Spill* Eds C Ward. New York: Springer, 2017:275–358. DOI:10.1007/978-1-4939-3447-8_5
39. Knittel K, Lösekann T, Boetius A, Kort R, Amann R. Diversity and distribution of methanotrophic archaea at cold seeps. *Appl Environ Microbiol*. 2005; 71(1):467–479. DOI: 10.1128/AEM.71.1.467-479.2005
40. Knittel K, Boetius A. Anaerobic oxidation of methane: progress with an unknown process. *Annu Rev Microbiol*. 2009; 63:311–334. DOI: 10.1146/annurev.micro.61.080706.093130
41. Kramer KV, Shedd WW. A 1.4-billion-pixel map of the Gulf of Mexico seafloor. *EOS Trans AGU*. 2017; 98(8):101029. DOI:10.1029/2017EO073557
42. Kurth JM, Huub JM, den Camp O, Welte CU. Several ways one goal—methanogenesis from unconventional substrates. *Appl Microbiol and Biotech*. 2020; 104:6839–6854 <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10724-7>
43. Liang L, Wang Y, Sivan O, Wang F. Metal-dependent anaerobic methane oxidation in marine sediment: Insights from marine settings and other systems. *Sci China Life Sci*. 2019;62(10):1287-1295. DOI: 10.1007/s11427-018-9554-5.
44. Litchschlag A, Felden J, Bruchert V, Boetius A, de Beer D. Geochemical processes and chemosynthetic primary production in different thiotrophic mats of the



- Håkon Mosby Mud Volcano (Barents Sea). *Limnol Oceanogr.* 2010; 55(2):931–949. DOI:10.4319/lo.2010.55.2.0931
45. Lyu Z, Shao N, Akinyemi T, Whitman WB. Methanogenesis. *Curr Biol.* 2018;28(13):R727-R732. doi: 10.1016/j.cub.2018.05.021.
 46. Marlow JJ, Steele JA, Ziebis W, Thurber AR, Levin LA, Orphan VJ. Carbonate-hosted methanotrophy represents an unrecognized methane sink in the deep sea. *Nat Commun.* 2014; 5:5094. DOI:10.1038/ncomms6094
 47. Miyazaki J, Higa R, Toki T, Ashi J, Tsunogai U et al. Molecular characterization of potential nitrogen fixation by anaerobic methane-oxidizing archaea in the methane seep sediments at the number 8 Kumano Knoll in the Kumano Basin, offshore of Japan. *Appl Environ Microbiol.* 2009; 75(22):7153–62. DOI: 10.1128/AEM.01184-09
 48. Nie WB, Ding J, Xie GJ, Tan X, Lu Y, Peng L, Liu BF, Xing DF, Yuan Z, Ren N. Simultaneous nitrate and sulfate dependent anaerobic oxidation of methane linking carbon, nitrogen and sulfur cycles. *Water Res.* 2021; 194:116928. DOI: 10.1016/j.watres.2021.116928.
 49. Niemann H, Losekann T, de Beer D, Elvert M, Nadalig T, Knittel K, Amann R, Sauter EJ, Schluter M, Klages M, Foucher JP, Boetius A. Novel microbial communities of the Haakon Mosby mud volcano and their role as a methane sink. *Nature.* 2006; 443(7113):854–858. DOI:10.1038/nature05227
 50. Novikova SA, Shnyukov YF, Sokol EV, Kozmenko OA, Semenova DV, Kutny VA. A methane-derived carbonate build-up at a cold seep on the Crimean slope, north-western Black Sea. *Mar Geol.* 2015; 363(2):160–173. DOI:10.1016/j.mar-geo.2015.02.008
 51. Orcutt BN, Joye SB, Kleindienst S, Knittel K, Ramette A, Reitz A, Samarkin V, Treude T, Boetius A. Impact of natural oil and higher hydrocarbons on microbial diversity, distribution, and activity in Gulf of Mexico cold-seep sediments. *Deep Sea Res Part II: Top Stud Oceanogr.* 2010; 57(21-23):2008–2021. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2010.05.014>
 52. Orcutt BN, Lapham LL, Delaney J, Sarode N, Marshall KS et al. Microbial response to oil enrichment in Gulf of Mexico sediment measured using a novel long-term benthic lander system. *Elem Sci Anthr.* 2017; 5(3):18. DOI:10.1525/elementa.129
 53. Pohlman JW, Bauer JE, Waite WF, Osburn CL, Chapman NR. Methane hydrate-bearing seeps as a source of aged dissolved organic carbon to the oceans. *Nat Geosci.* 2011; 4:37–41. <https://doi.org/10.1038/ngeo1016>
 54. Ristova PP, Wenzhofer F, Ramette A, Felden J, Boetius A. Spatial scales of bacterial community diversity at cold seeps (Eastern Mediterranean Sea). *ISME J.* 2014; 9(6):1306–1318. DOI: 10.1038/ismej.2014.217
 55. Roberts HH, Hardage BA, Shedd WW, Hunt J Jr. Seafloor reflectivity – an important seismic property for interpreting fluid/gas expulsion geology and the presence of gas hydrate. *Lead Edge.* 2006; 25(5):620–628. DOI:10.1190/1.2202667
 56. Ruff SE, Biddle JF, Teske AP, Knittel K, Boetius A, Ramette A. Global dispersion and local diversification of the methane seep microbiome. *PNAS.* 2015; 112(13):4015–4020. DOI:10.1073/pnas.1421865112



57. Ruff SE, Felden J, Gruber-Vodicka HR, Marcon Y, Knittel K et al. In situ development of a methanotrophic microbiome in deep-sea sediments. *ISME J.* 2018; 13(1):197–213. DOI:10.1038/s41396-018-0263-1
58. Scheller S, Goenrich M, Boecher R, Thauer RK, Jaun B. The key nickel enzyme of methanogenesis catalyses the anaerobic oxidation of methane. *Nature.* 2010; 465(7298):606–608. DOI: 10.1038/nature09015
59. Semler AC, Fortney JL, Fulweiler RW, Dekas AE. Cold Seeps on the Passive Northern U.S. Atlantic Margin Host Globally Representative Members of the Seep Microbiome with Locally Dominant Strains of Archaea. *Appl Environ Microbiol.* 2022; 88(11):e0046822. doi: 10.1128/aem.00468-22.
60. Singh R, Guzman MS, Bose A. Anaerobic oxidation of ethane, propane, and butane by marine microbes: a mini review. *Front Microbiol.* 2017; 8:2056. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02056>
61. Suess E. Marine cold seeps and their manifestations: geological control, biogeochemical criteria and environmental conditions. *Int J Earth Sci.* 2014; 103:1889–1916. <https://doi.org/10.1007/s00531-014-1010-0>
62. Treude T, Knittel K, Blumenberg M, Seifert R, Boetius A. Subsurface microbial methanotrophic mats in the Black Sea. *Appl Environ Microbiol.* 2005; 71(10):6375–6378. doi: 10.1128/AEM.71.10.6375-6378.2005
63. Vallino J, Algar CK. The thermodynamics of marine biogeochemical cycles: Lotka revisited. *Annu Rev Mar Sci.* 2016; 8:333–356. DOI: 10.1146/annurev-marine-010814-015843
64. Vigneron A, Alsop EB, Cruaud P, Pilibert G, King B et al. Comparative metagenomics of hydrocarbon and methane seeps of the Gulf of Mexico. *Sci Rep.* 2017; 7(1):16015. DOI: 10.1038/s41598-017-16375-5
65. Vigneron A, L'Haridon S, Godfroy A, Roussel EG, Cragg BA et al. Evidence of active methanogen communities in shallow sediments of the Sonora Margin cold seeps. *Appl Environ Microbiol.* 2015; 81(10):3451–59. DOI: 10.1128/AEM.00147-15
66. Wang Y, Wegener G, Hou J, Wang F, Xiao X. Expanding anaerobic alkane metabolism in the domain of Archaea. *Nat Microbiol.* 2019; 4(4):595–602. DOI: 10.1038/s41564-019-0364-2
67. Xin Y, Wu N, Sun Z, Wang H, Chen Y, Xu C, Geng W, Cao H, Zhang X, Zhai B, Yan D. Methane seepage intensity distinguish microbial communities in sediments at the Mid-Okinawa Trough. *Sci Total Environ.* 2022; 851(2):158213. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.158213.
68. Yin X, Zhou G, Wang H, Han D, Maeke M, Richter-Heitmann T, Wunder LC, Aromokeye DA, Zhu QZ, Nimzyk R, Elvert M, Friedrich MW. Unexpected carbon utilization activity of sulfate-reducing microorganisms in temperate and permanently cold marine sediments. *ISME J.* 2024; 18(1):wrad014. DOI: 10.1093/ismejo/wrad014.
69. Zhao R., Summers Z.M., Christman G.D., Yoshimura K.M., Biddle J.F. Metagenomic views of microbial dynamics influenced by hydrocarbon seepage in sediments of the Gulf of Mexico. *Scientific Reports.* 2020; 10:5772 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62840-z>



70. Zhuang G-C, Montgomery A, Sibert RJ, Rogener M-K, Samarkin VA, Joye SB. Effects of pressure, methane concentration, sulfate reduction activity, and temperature on methane production in surface sediments of the Gulf of Mexico. *Limnol Oceanogr.* 2018; 63(5):2080–2092. DOI:10.1002/lno.10925

Стаття надійшла до редакції 21.08.2024 р.

