

# Bioróżnorodność i aktywność metaboliczna mikroorganizmów w glebie silnie zdegradowanej i długotrwanie zanieczyszczonej ropą naftową

Anna Gałązka, Karolina Gawryjolek, Anna Marzec – Grządziel, Agata Janczarek, Jarosław Ciepiał

Department of Agricultural Microbiology, Institute of Soil Science and Plant Cultivation (IUNG-PIB), Czarotoryskich St. 8, 24-100 Puławy; e-mail: agalazka@iung.pulawy.pl

## WSTĘP

Ropa naftowa i jej pochodne należą do jednych z najniebezpieczniejszych źródeł zanieczyszczeń ekosystemów. Produkty ropopochodne poprzez skażenie środowiska naturalnego stanowią czynnik zagrożenia dla zdrowia publicznego. Głównym warunkiem skutecznej bioremediacji skażonych gleb jest obecność mikroorganizmów zdolnych nie tylko do katabolicznej degradacji zanieczyszczeń, ale także posiadających szereg innych właściwości potwierdzających ich potencjał biotechnologiczny i adaptacyjny. Zdolność naturalnego środowiska skażonego szkodliwymi substancjami do samoistnego oczyszczenia wciąż stanowi zagadkę dla świata nauki. W trakcie długoletniego skażenia i postępującej samoczynnie naturalnej bioremediacji gleba zostaje bogato zasiedlona przez spontaniczną roślinność ruderalną. Ryzosfera i endoryzosfera tych roślin stanowi unikatowe siedlisko różnorodnych bakterii i grzybów posiadających wysoki potencjał biotechnologiczny. Zarówno mikroorganizmy, jak i rośliny adaptujące się do wzrostu w warunkach skażenia mogą wytworzyć szereg mechanizmów obronnych. Roślinność reliktoowa charakteryzuje się także dużą różnorodnością genetyczną, fizjologiczną i metaboliczną. Rośliny przystosowane do wzrostu w zanieczyszczonym miejscu mogą posiadać (lub wytworzyć) unikalne cechy.

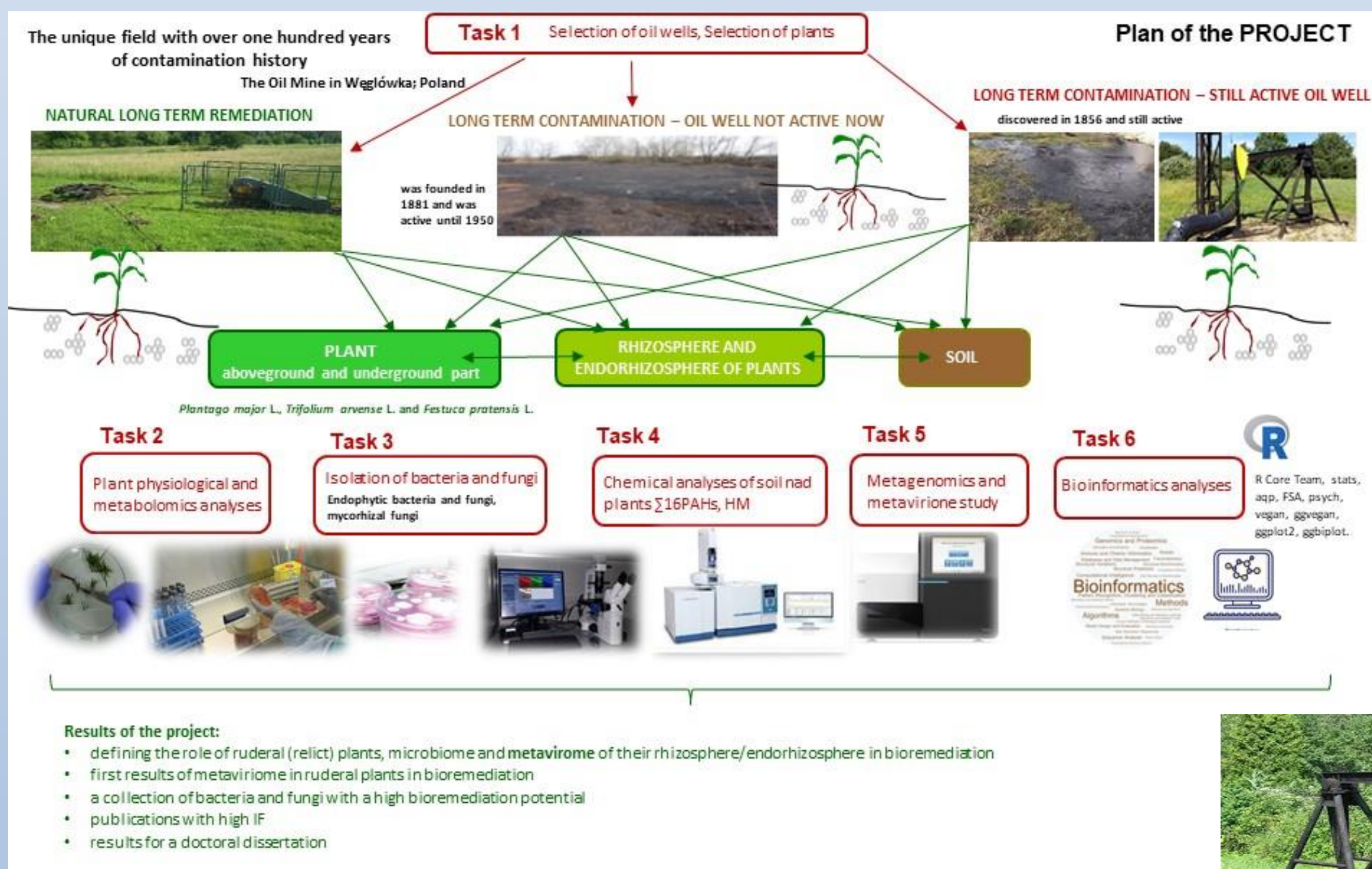
Głównym celem projektu jest wyjaśnienie roli roślinności ruderalnej, jej ryzosfery, endoryzosfery, autochtonicznych mikroorganizmów i bakteriofagów w procesach naturalnej, spontanicznej bioremediacji gleb długoletnio zanieczyszczonych. Cele szczegółowe projektu obejmują: wyjaśnienie, w jaki sposób rośliny reliktoowe uruchamiają i rozwijają swoje mechanizmy adaptacyjne i obronne; zdefiniowanie roli i wyjaśnienie mechanizmów adaptacyjnych mikroorganizmów i bakteriofagów w procesach długotrwałej naturalnej bioremediacji.

## METODYKA



Ryc. 1. A). Kopalnia Ropy Naftowej w Węglówce (zdjęcie archiwalne z 1895 r.); B). Nadal aktywny szyb naftowy; C). Nieczynny szyb naftowy (fot. A. Gałązka).

Zarówno gleby jak i rośliny zostaną pobrane spod wyciągów ropy naftowej na terenie historycznej Kopalni Ropy Naftowej w Węglówce. Tereny te zostały silnie zanieczyszczone i zdegradowane (ponad 100 lat zanieczyszczenia). Niemniej jednak od zamknięcia kopalni do chwili obecnej ropa naftowa ciągle wypływa spontanicznie z odwiertów naftowych. Stały przepływ ropy naftowej powoduje trwałe zanieczyszczenie obszaru przy jednocześnie postępującej samoistnej, naturalnej remediacji. Obszar ten jest także bogato porośnięty roślinnością reliktoową.



Próbki gleb zostaną pobrane z wybranych 9 najstarszych odwiertów naftowych.

Do badań zostanie wybranych 5 gatunków roślin ruderalnych. DNA zostanie wyizolowane bezpośrednio z gleby, ryzosfery i endoryzosfery.

Wykonana zostanie izolacja i charakterystyka szczepów bakteryjnych i grzybowych wyizolowanych z ryzosfery i endoryzosfery roślin ruderalnych. Szczepy zostaną ocenione na podstawie testów morfologicznych, biochemicznych i genetycznych. Wykonane zostaną oznaczenia: różnorodności funkcjonalnej z wykorzystaniem systemu Biolog, sekwencjonowania następnej generacji (NGS) regionów zmiennych (16S rRNA dla bakterii i ITS dla grzybów) oraz wirusowe NGS (sekwencjonowanie Shotgun). Ponadto zostaną określone parametry chemiczne próbek roślinnych i glebowych (Corg, Nmin,  $\Sigma$ 16 WWA i pierwiastki śladowe). W materiale roślinnym zostanie oceniona: aktywność biologiczna wybranych metabolitów wtórnych, nagromadzenie pigmentów fotosyntetycznych, funkcjonowanie aparatu fotosyntetycznego, określenie profilu metabolomicznego i zawartość związków fenolowych. Oprócz roślin wybranych z terenów skażonych do badań zostaną użyte rośliny kontrolne (pobrane z obszarów nieskażonych).

Projekt ten będzie jedną z pierwszych prób tak szeroko zakrojonej identyfikacji wpływu długoterminowego zanieczyszczenia gleby na właściwości fizykochemiczne oraz biologiczne, jak również oceny bioróżnorodności gleb i roślin w połączeniu z profilowaniem bakterii, grzybów i bakteriofagów. Nowa wiedza zdobyta w ramach projektu doskonale wypełni lukę w ocenie bioróżnorodności dotyczącej wciąż nieodkrytych cech biologicznych i molekularnych gleb i roślin skażonych ropą naftową. Ponadto projekt ten będzie stanowił pierwsze tak szczegółowe podejście do wyjaśnienia interakcji między mikrobiomem, mykobiomem i metawiriomem ryzosfery i endoryzosfery roślin ruderalnych oraz ich udziału w procesach bioremediacji.