



## Research Article

### Survey of oil and gas geomicrobial anomalies in mud volcano Seyvan, around Marand city - East Azerbaijan

Maryam Teymouri<sup>1</sup>, Ali Kadkhodaie<sup>1\*</sup> , Nasir Amel<sup>1</sup>, Rahim Kadkhodaie<sup>1</sup>, Gholamreza Zarrini<sup>2</sup>, Soghra Hatamzadeh<sup>1</sup>

1-Department of Earth Science, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Iran

2-Department of Animal Biology, Faculty of Natural Science, University of Tabriz, Iran

Received: 01 Aug 2024 Accepted: 25 Apr 2025

## Extended Abstract

### Introduction

Mud Volcano are one of strangest and most fascinating geomorphologic phenomena. They have important for a wide Spectrum of disciplines, including the oil industry (Stewart and Davies, 2009). Since the mud volcanoes originate from deeper depths of the earth, they act as regional indications for hydrocarbon exploration (Shnyukow and Yanko-Hombach, 2020). One of the recent methods of hydrocarbon exploration is geomicrobial exploration that is based on surface excavation technique to identify leaking gases relevant to hydrocarbon microseepage. According, they shows detection of seepage trend and their migration from subsurface oil reservoirs to surface environments. A direct and positive relationship has been observed between microbial populations and hydrocarbon concentrations in the soil of production various reservoirs in around the world. (Wanger et al, 2002).

### Materials and Methods

The sampling site is located in the village of Seyvan, which is part of the central district of Marand County in the northwestern region of East Azerbaijan Province. The collected samples include water and soil samples. The samples were gathered from the site of a currently inactive mud volcano, as well as from the hill surrounding the mud volcano, based on its color and geomorphology, and from locations where water and gas were periodically and intermittently released. Each soil sample, weighing approximately 1 kilogram, was collected from a depth of 0.5 meters in plastic bags that had been sterilized in an autoclave beforehand, while the water samples were collected in glass containers. One of the acceptable and common methods for survey of microbial population of oil-eating bacteria to study of oil and gas geomicrobial anomaly in the Seyvan mud volcano is counting method on culture plates that is performed in the form of Plate Count. The Geomicrbi survey method includes collecting soil samples from the study area, packing, maintenance and storing samples in pre-sterilized sample bags in conditions without microbe and cold to sample preparation for culture, Analysis and separation and counting of hydrocarbon user bacteria such as methane, ethane, propane and butane oxidizers. The results of bacteria count results for each sample were calculated based on the number of bacteria colonies per gram soil or 1 ml liquid.

### Results and Discussion

After the incubation period for assessing the total number of colonies formed by the target bacteria, each of the colonies formed at different dilutions of a sample was examined visually and under a stereomicroscope on culture medium plates. A light stereomicroscope is used to confirm the target microorganism and verify the characteristics of the colonies.

**Citation:** Teymouri, M. et al, 2025. Survey of oil and gas geomicrobial anomalies in mud volcano Seyvan, *Res. Earth. Sci.* 16(3), (133-148) DOI: 10.48308/esrj.2022.102417

\* Corresponding author E-mail address: kadkhodaie\_ali@tabrizu.ac.ir



Consequently, the target bacteria were distinguished from other potential bacteria, and the number of desired colonies on the culture medium was counted, with calculations made per gram of the soil sample examined. The assessments included distinguishing the target bacteria from other potential bacteria, counting the desired colonies, and calculating this per gram of the soil sample examined. To calculate the number of methanotrophic, ethanotrophic, and propanotrophic bacteria in each soil sample, the number of target bacteria counted on each culture medium plate is multiplied by the inverse of the dilution factor applied to each plate. Additionally, since 0.1 mL of each suspension was used for culturing, the resulting number is multiplied by 10. The microbial population is expressed as "Colony Forming Units (CFU) per milliliter of microbial suspension" (Liu et al, 2016).

Inverse of dilution factor \* 10 \* number of colonies = cfu/mg (number of microbes in 1 milliliter of suspension)

Finally, to calculate the number of microorganisms per gram of soil, the CFU/mL calculated for each microbial suspension is multiplied by 5, as 20 grams of the initial soil were suspended in 50 mL of serum. The final number represents the target microorganisms per gram of soil.

Number of bacteria in 1 milligram \* 10/50 (Table 1) 10/50 \* number of bacteria in 1 milligram = number per gram of soil.


### Conclusion

In order to determine population of methanotrophic, ethanotrophic and propanotrophic bacteria in the Seyvan mud volcanoes (Figure 1), a total of seven soil and mud samples together with two water samples were collected from 8 points of the study area. Due to the sampling points of Seyvan mud volcanoes in three points of the study area, methane and ethane oxidizing bacteria are present at the same time, those points include the main crater of mud volcanoes and in points from the hill which contain of mud volcanoes that from they were coming out water and gas periodic and intermittently. The only place where only ethanotrophic bacteria were present, was point sv2. while to confirm the presence of propanotroph bacteria, supplementary experiments are needed (Figure 2). Considering presence of methane and ethane user bacteria, two results can be taken, in the first place, methane can be of the type of biogenetic methane and the presence of ethane in the area can be due to the fusion of two methane affected by pressure. On the other hand, can be argued due to the limited number of methanotrophic and ethanotrophic bacterias that the presence of hydrocarbons is possible but it does not have economic value.

**Keywords:** Ethanotroph, Propanotroph, Geomicrobial, Mud volcano, Methanotroph.



## بررسی آنومالی ژئومیکروبی نفت و گاز در گل فشان سیوان، اطراف شهرستان مرنند - آذربایجان شرقی، ایران

مریم تیموری<sup>۱</sup>، علی کدخدائی<sup>۱\*</sup> , نصیر عامل<sup>۱</sup>، رحیم کدخدائی<sup>۱</sup>، غلامرضا زرینی<sup>۲</sup>، صغری حاتم زاده<sup>۱</sup>

۱- گروه علوم زمین، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

۲- گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

(پژوهشی) دریافت مقاله: ۱۴۰۳/۰۵/۱۱ پذیرش نهایی مقاله: ۱۴۰۴/۰۲/۰۵

### چکیده گسترده

#### مقدمه

گل فشان‌ها یکی از عجیب‌ترین و جذاب‌ترین پدیده‌های زمین‌ریختی هستند، آنها برای طیف وسیعی از رشته‌ها، از جمله صنعت نفت اهمیت دارند (Stewart and Davies 2009). از آنجا که گل فشان‌ها از اعماق زمین سرچشمه می‌گیرند به‌عنوان نشانه‌های منطقه‌ای برای اکتشاف هیدروکربن عمل می‌کنند، (Shnyukow and Yanko-Hombach, 2020). یکی از روش‌های اخیر اکتشاف هیدروکربن، اکتشاف ژئومیکروبی است که مبتنی بر تکنیک کاوش سطحی برای شناسایی گازهای نشت‌کننده مربوط به ریزش هیدروکربنی است. بنابراین آشکارسازی روند تراوش و مهاجرت آن‌ها از مخازن نفتی زیرسطحی به محیط‌های سطحی را نشان می‌دهد یک رابطه مستقیم و مثبت بین جمعیت میکروبی و غلظت هیدروکربن در خاک در مخازن مختلف تولید در سراسر جهان مشاهده شده است (Wanger et al, 2002).

#### مواد و روش‌ها

محل نمونه‌برداری در در روستای سیوان از توابع بخش مرکزی شهرستان مرنند در شمال غربی استان آذربایجان شرقی واقع شده است. نمونه‌های جمع‌آوری شده شامل نمونه آب و خاک است. نمونه‌ها از محل دهانه‌ی گل فشان که در حال حاضر غیرفعال است و هم‌چنین از تپه‌ی دربرگیرنده گل فشان با توجه به رنگ و ژئومورفولوژی آن و از مکان‌هایی که به صورت دوره‌ای و متناوب آب و گاز خارج می‌شد جمع‌آوری گردید. نمونه‌های خاک هرکدام در حدود ۱ کیلوگرم از عمق ۰/۵ متری در کیسه‌های پلاستیکی که از قبل در اتوکلاو استریل شده بودن جمع‌آوری گردید و نمونه‌های آب نیز در ظرف شیشه‌ای برداشت شد. یکی از روش‌های قابل قبول و متداول برای بررسی جمعیت میکروبی باکتری‌های نفت خوار برای بررسی آنومالی ژئومیکروبی نفت و گاز در گل فشان سیوان، روش شمارش در پلیت‌های کشت است که به صورت Plate Count انجام می‌شود. روش بررسی ژئومیکروبی شامل جمع‌آوری نمونه‌های خاک از منطقه مورد بررسی، بسته‌بندی، نگهداری و ذخیره‌سازی نمونه‌ها در کیسه‌های نمونه از پیش استریل شده در شرایط عاری از میکروب و سرد تا آماده‌سازی نمونه برای کشت، تجزیه و تحلیل و جداسازی و شمارش باکتری‌های استفاده‌کننده هیدروکربن مانند متان، اتان، پروپان و اکسیدکننده‌های بوتان است (Rasheed, 2015). نتایج شمارش باکتری‌ها برای هر کدام از نمونه‌ها به صورت تعداد کلنی‌های باکتری در هر گرم خاک یا ۱ میلی‌لیتر مایع محاسبه گردید.

استناد: تیموری، م. و همکاران، ۱۴۰۴. بررسی آنومالی ژئومیکروبی نفت و گاز در گل فشان سیوان، پژوهشهای دانش زمین: ۱۶(۳)،

DOI: 10.48308/esrj.2022.102417, (۱۳۳-۱۴۸)

E-mail: [kadkhodaie\\_ali@tabrizu.ac.ir](mailto:kadkhodaie_ali@tabrizu.ac.ir)

\* نویسنده مسئول:



## نتایج و بحث

بعد از اتمام زمان گرماگذاری برای بررسی تعداد کلنی‌های تشکیل شده توسط باکتری‌های هدف، هر یک از کلنی‌های تشکیل شده در رقت‌های مختلف یک نمونه در پلیت‌های حاوی محیط کشت، به صورت چشمی و استرئومیکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. استرئومیکروسکوپ نوری جهت تأیید میکروب هدف و تأیید ویژگی‌های کلنی، مورد استفاده قرار می‌گیرد. از این رو باکتری‌های هدف از دیگر باکتری‌های احتمالی تمیز داده شده و تعداد کلنی‌های موردنظر روی محیط کشت شمارش شد و محاسبات آن در گرم نمونه خاک مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌ها شامل تمیز باکتری‌های هدف از دیگر باکتری‌های احتمالی، شمارش تعداد کلنی‌های مد نظر و محاسبه آن در هر گرم نمونه خاک مورد بررسی است. برای محاسبه تعداد باکتری‌های متانوتروف، اتانوتروف و پروپانوتروف در هر کدام از نمونه خاک، تعداد باکتری‌های هدف شمارش شده در هر پلیت حاوی محیط کشت ضرب در عکس ضریب رقت انجام گرفته در هر پلیت می‌شود و همچنین به دلیل اینکه از هر سوسپانسیون تهیه شده به حجم ۰/۱ برای کشت استفاده شد بنابراین عدد بدست آمده در ۱۰ ضرب می‌شود. تعداد جمعیت میکروبی بر صورت "واحد سازند کلنی CFU یا Colony Forming Unit در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی بدست می‌آید (Liu et al, 2016).

عکس ضریب رقت \* ۱۰ \* تعداد کلنی = cfu/mg (تعداد میکروب در ۱ میلی لیتر سوسپانسیون)  
در نهایت، برای محاسبه تعداد میکروارگانیسم‌ها در هر گرم خاک عدد CFU/ml محاسبه شده برای هر سوسپانسیون میکروبی به عدد ۵ ضرب شود چرا که ۲۰ گرم خاک اولیه در ۵۰ میلی‌گرم سرم، سوسپانسیون شده بود. عدد نهایی معرف تعداد میکروارگانیسم هدف در هر گرم خاک است. تعداد باکتری در ۱ میلی‌گرم \* ۵۰/۱۰ (جدول ۱).  
۵۰/۱۰ \* تعداد باکتری در ۱ میلی‌گرم = تعداد در هر گرم خاک

## نتیجه‌گیری

به منظور تعیین جمعیت باکتری‌های متانوتروف، اتانوتروف و پروپانوتروف در گل‌فشان سیوان (شکل ۱)، در کل هفت نمونه خاک و گل همراه با دو نمونه مایع از هشت نقطه منطقه مورد مطالعه جمع‌آوری گردید. با توجه به نقاط نمونه‌برداری از گل فشان سیوان در سه نقطه از منطقه مورد مطالعه، باکتری‌های اکسیدکننده متان و اتان در نقاط مشترکی همزمان حضور دارند، آن نقاط شامل دهانه اصلی گل‌فشان و در نقاطی از تپه‌ی دربرگیرنده گل‌فشان که از آن‌ها آب و گاز به صورت دوره‌ای و متناوب خارج می‌شد. تنها مکانی که فقط باکتری متانوتروف در آنجا حضور داشت نقطه SV2 بود در حالی که برای تأیید وجود باکتری پروپانوتروف به آزمایش‌های تکمیلی نیاز است (شکل ۲). با توجه به حضور باکتری‌های استفاده‌کننده از متان و اتان دو نتیجه می‌توان گرفت، در وهله اول متان می‌تواند از نوع متان بیوژنیک باشد و حضور اتان در منطقه به دلیل هم‌جوشی دو متان تحت تاثیر فشار باشد. از طرف دیگر با توجه به تعداد محدود باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف می‌توان استدلال کرد که احتمال حضور هیدروکربن هست ولی ارزش اقتصادی ندارد.

**واژگان کلیدی:** اتانوتروف، پروپانوتروف، ژئومیکروبی، گل‌فشان، متانوتروف.

## مقدمه

ژاپن، مکزیک، ونزوئلا و ایران گسترش یافته‌اند و نمونه‌های فعال آن در آذربایجان دیده می‌شود (Nezhadafzali et al, 2017) (شکل ۱). گل‌فشان‌ها فرایندهای تکتونیکی منطقه را بازتاب می‌کنند و در انواع محیط‌های زمین‌شناسی به ویژه در حاشیه فعال و غیرفعال، حوضه‌های رسوبی عمیق مربوط به مرزهای صفحات فعال، و همچنین مناطق دلتا، یا مناطقی که شامل دی‌پایریسم نمکی هستند تشکیل می‌

گل‌فشان‌ها یکی از عجیب‌ترین و جذاب‌ترین پدیده‌های زمین‌ریختی هستند. دی‌پایرهای گلی و گل‌فشان‌ها به طور گسترده در جهان با بیش از ۹۰۰ گل‌فشان شناخته شده تنها در زمین پخش شده‌اند (He et al, 2016). گل‌فشان‌ها در نوار آلپ-همالیای، اقیانوس آرام و آسیای مرکزی در کشورهای پاکستان، ترکمنستان، گرجستان، ایتالیا، رومانی،

نفت و به عنوان سنگ منشا هیدروکربن محسوب می‌شوند (Etiopie, 2015; Sciarra et al, 2019).

شوند به علاوه آنها به عنوان بخشی از سیستم‌های نفتی برای تشکیل ساختارهای لازم برای انباشت و به تله افتادن



شکل ۱: توزیع گل‌فشان‌ها در جهان (Baloglanov et al, 2018)

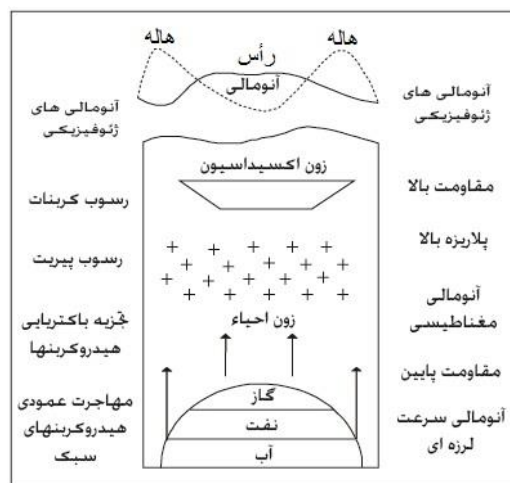
Fig. 1: Distribution of mud volcanoes in the world (Baloglanov et al, 2018)

نقطه‌ای در سیال‌ها و یا رسوبات مشخص می‌شوند. غیرفعال (extinct): یا خاموش که هیچ اثری از فوران سیال و یا خرده سنگی از آن ثبت نشده است (Mazzini et al, 2009). هزاران فرایند گل‌فشانی در سطح جهان رخ می‌دهد، و آنها برای طیف وسیعی از تخصص‌ها از جمله صنعت نفت اهمیت دارند (Stewart and Davies, 2009). گل‌فشان‌ها نه تنها به‌عنوان نشانه‌های منطقه‌ای برای اکتشاف هیدروکربن عمل می‌کنند بلکه گاهی اوقات می‌توان از آنها برای مکان‌یابی دقیق تله‌های نفتی استفاده کرد، زیرا شاخص‌های خوبی برای مناطق نفت‌خیز و گازدار هستند (Shnyukov and Yanko-Hombach, 2020). گل‌فشان‌ها از اعماق زمین سرچشمه می‌گیرند و لایه‌های گلی ضخیم با تراکم کم، پایه و اساس تشکیل دیابیرهای گلی و گل‌فشان‌ها را باعث می‌شوند و هم‌چنین به عنوان سنگ منشا هیدروکربن عمل می‌کنند (He et al, 2016). ساختارهای نفوذپذیر عمودی (به عنوان مثال، گسل‌ها یا شکستگی‌ها) باعث می‌شوند گل و لای‌ها از منابع عمیق زمین‌شناسی به سطح زمین انتقال یابند. یکی از روش‌های اکتشاف هیدروکربن‌ها در صنعت نفت و گاز، آشکارسازی روند تراوش و مهاجرت آن‌ها از مخازن نفتی زیرسطحی به محیط‌های سطحی می‌باشد. به خوبی ثابت شده است که روش‌های ژئوشیمیایی و کاوش

تشکیل گل‌فشان‌ها اغلب با فشرده‌سازی تکتونیکی، آب زدایی کانی‌های رسی و ته‌نشینی سریع رسوبات همراه با زمین‌لغزش ارتباط دارد (Liu et al, 2009; Huguen et al, 2004). سازوکار تشکیل گل‌فشان‌ها بدین صورت است که نشست سریع رسوبات متخلخل که در ابتدا غنی از آب و ماده آلی بودن و پس از آن، بلوغ حرارتی هیدروکربن در طول دیازنز، مخلوط سیال-گاز یا گازهای بیوژنیک تولید می‌کنند که باعث می‌شوند رسوبات تحت فشار به سمت بالا مهاجرت کنند (Baldermann et al, 2020). ساختارهای نفوذپذیری عمودی (به عنوان مثال، گسل‌ها یا شکستگی‌ها) باعث می‌شوند گل و لای‌ها از منابع عمیق زمین‌شناسی به سطح زمین انتقال یابند (Liu et al, 2009). گل‌فشان‌ها علیرغم داشتن محیط رسوبی و موقعیت تکتونیکی یکسان به روش‌های مختلف فوران می‌کنند و رفتار متفاوتی می‌توانند داشته باشند (Wan et al, 2017). در کل گل‌فشان‌ها را می‌توان از نظر فعالیت و رفتار به سه صورت رده‌بندی کرد: انفجاری (eruptive): شدت این نوع فعالیت به میزان فشار وارده به مخزن گل‌فشان آماده‌ی فعالیت بستگی دارد و فعالیت به صورت دوره‌ای است. خوابیده (dormant): در این گونه گل‌فشان‌ها، در فاصله میان فوران‌ها گاز خارج نمی‌شود، یا به صورت حباب‌های کوچک و یا به صورت

میکروبی و غلظت هیدروکربن در خاک مخازن مختلف در سرتاسر جهان مشاهده شده است (Wanger et al, 2002; Rasheed et al, 2015). روش کاوش میکروبی نفت و گاز، فعالیت باکتری‌های اکسیدکننده متان را به عنوان شناساگر گاز و باکتری‌هایی که فقط اتان و هیدروکربن‌هایی با زنجیره طولانی را اکسید می‌کنند به عنوان شناساگر نفت، مجزا می‌کند. از این رو باکتری‌های اکسیدکننده متان (متانوتروف‌ها) به طور معمول در میدان‌های گازی غالب هستند زیرا متانوتروف‌ها توانایی منحصر به فردی در استفاده از متان به عنوان تنها منبع کربن و انرژی دارند. هم‌چنین جمعیت‌های بیش از حد بزرگ پروپانوتروف‌ها می‌توانند به عنوان شاخص‌های دقیق نفت خام در زیر سطح عمل کنند. نتایج نشان می‌دهد که پروپانوتروف‌ها باکتری‌های شاخص قابل اعتمادتری نسبت به متانوتروف‌ها هستند، که با نتایج به دست آمده از روش‌های مبتنی بر کشت همخوانی دارد (Brisbane and Ladd, 1965). این تکنیک هم در مناطق خشکی و هم در مناطق فراساحلی با موفقیت اعمال شده است (Lakshmi et al, 2012; Rasheed et al, 2015). این روش می‌تواند با روش‌های زمین‌شناسی، ژئوشیمیایی، ژئوفیزیکی برای ارزیابی چشم‌انداز هیدروکربنی یک منطقه و اولویت‌بندی مکان‌های حفاری و در نتیجه کاهش خطرات حفاری و دستیابی به موفقیت بالاتر در اکتشاف نفت ادغام شود (Rasheed et al, 2013a; Rasheed et al, 2015).

میکروبی می‌توانند شواهد مستقیمی برای وجود تجمعات نفتی ارائه دهند و نسبتاً ارزان و سریع هستند. بررسی میکروبیولوژیکی یک ابزار اکتشافی با ارزش و مقرون به صرفه و یک تکنیک کاوش سطحی است که در بین محققین حوزه استخراج هیدروکربن معروف است و برای اکتشاف ذخایر نفت و گاز کاربرد دارد. میزان موفقیت اکتشاف نفت با استفاده از روش اکتشاف میکروبی نفت و گاز (MPOG) ۹۰ درصد گزارش شده است (Rasheed et al, 2015). باکتری‌ها در همه‌ی محیط‌ها یافت می‌شوند اما در جایی که منبع غذایی در دسترس باشد متمرکز می‌شوند. بنابراین اکتشاف میکروبی هیدروکربن‌ها بر اساس شناسایی آنومالی جمعیت باکتری‌های اکسیدکننده هیدروکربن در خاک‌های سطحی است که نشان‌دهنده وجود تجمع نفت و گاز در زیرسطح زمین می‌باشد (Rasheed et al, 2015). اساس روش کاوش میکروبی بر این فرض استوار است که هیدروکربن‌های سبک مانند متان، اتان، پروپان و بوتان از ذخایر هیدروکربنی موجود در زیرسطح زمین از طریق درز و شکاف‌های موجود به سمت بالا انتشار یافته و توسط میگرورگان‌های اکسیدکننده هیدروکربن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. این امر باعث ایجاد آنومالی باکتری-های مصرف‌کننده هیدروکربن از جمله باکتری‌های متانوتروف، اتانوتروف، پروپانوتروف و بوتانوتروف در خاک‌ها یا رسوبات بالای ذخایر هیدروکربنی می‌شود که به ارزیابی پیش‌بینی‌هایی برای استخراج هیدروکربن کمک می‌کند (شکل ۲). یک رابطه مستقیم و مثبت بین جمعیت



شکل ۲: مدل ریزش هیدروکربنی و اثرات ناشی از هیدروکربن بر خاک‌ها و رسوبات (Rasheed et al, 2015).

Fig. 2: Hydrocarbon microleakage model and hydrocarbon-induced impacts on soils and sediments (Rasheed et al, 2015)



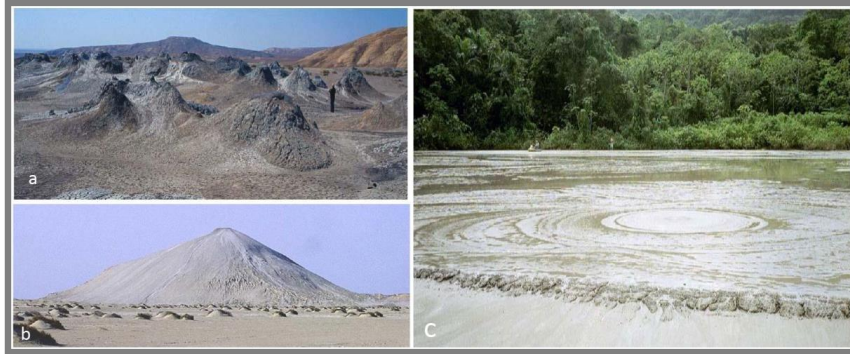
### منطقه‌ی مورد مطالعه

بر اساس تقسیم‌بندی ارائه شده توسط (Alavi, 1991) محدوده ۱/۲۵۰۰۰ صوفیان بخشی از زمین‌درز برخوردی کمان-کمان تیتیس نو (Neo - Tethyan arc - arc) را دربرگرفته است. زمین‌درز برخوردی یاد شده در ائوسن میانی به دنبال فرورانش بخش باقیمانده از سنگ‌کره اقیانوسی تیتیس نو به زیر بخش شمال غربی ایران طی کرتاسه پسین تا ائوسن میانی، ایجاد کمان ماگمایی مرتبط با این فرورانش (کمان ماگمایی البرز AMA) و برخورد بین کمان بوجود آمده و کمان ماگمایی تبریز ساوه (بخش شمال باختری کمان ارومیه - دختر) شکل گرفته است (Alavi, 1991, 2007). در زمان نفوذ و کوآترنری ادامه حرکات همگرایی پس از برخورد (Post - collisional indertation tectonics) پس از سازماندهی جدید در حرکات صفحه عربی و حرکت رو به شمال، این زمین‌درز را از یک سطح ضعف قبلی مهم موجود در فلات آذربایجان به یک سامانه گسل فعال امتدادلغز با سازوکار عمدتاً راست بر تبدیل کرده است (Faridi, 2007). سامانه راستالغز یادشده که امروزه به نام گسل تبریز شناخته می‌شود، در بردارنده سیمای توپوگرافیک مثبت از جمله رشته کوه‌های میشو، مورو و بزقوش می‌باشد که به‌عنوان مناطق دگرریختی راستالغز همگرا (convergent transpressive or strike-slip zone) بخش مهمی از حرکات افقی راست بر مربوط به مولفه امتدادلغز همگرایی مورب (oblique convergence) بین صفحه عرب و شمال غرب ایران را متحمل می‌شود (Vmant et al, 2006). کوه‌های میشو به صورت یک هورست با پهنای تقریبی ۱۳ کیلومتر و درازای ۳۱ کیلومتر میان دو شاخه گسله‌ای جای گرفته است یکی از کناره دامنه شمالی و دیگری از کناره دامنه جنوبی این کوه‌ها می‌گذرد، روند کلی این گسله‌ها خاوری - باختری است (نقشه زمین‌شناسی مرنده). منطقه از نظر تکتونیک فعال بوده و همچنین جنس بخش عمده‌ی گستره نقشه از نهشته‌های مارنی میوسن تشکیل شده است. گل‌فشان سیوان با مختصات جغرافیایی "۵۶'۴۵" ۵۲ طول

شرقی و "۳۸'۱۹'۲۵" عرض شمالی در روستای سیوان از توابع بخش مرکزی شهرستان مرنده در شمال غربی استان آذربایجان شرقی در زون البرز و در دامنه جنوب شرقی کوه های میشو و بر روی نقشه ۱/۲۵۰۰۰ صوفیان و ۱/۱۰۰۰۰۰ مرنده واقع شده است. فاصله روستای سیوان از شهر تبریز ۵۲ کیلومتر است. از نظر زمین‌شناسی گل‌فشان سیوان را تپه‌ی خشن و ناهموار واحد مارنی رنگارنگ گچ و نمک‌دار با میان لایه‌های ماسه سنگ خاکستری احاطه کرده است. در نقشه ۱/۱۰۰۰۰۰ مرنده واحد مارنی فوق بر روی رسوب‌های میوسن زیرین (M<sup>c</sup>)، شامل رسوب‌های کنگلومرایی - مارنی قرمز رنگ قرار دارد.

### زمین‌ریخت‌شناسی

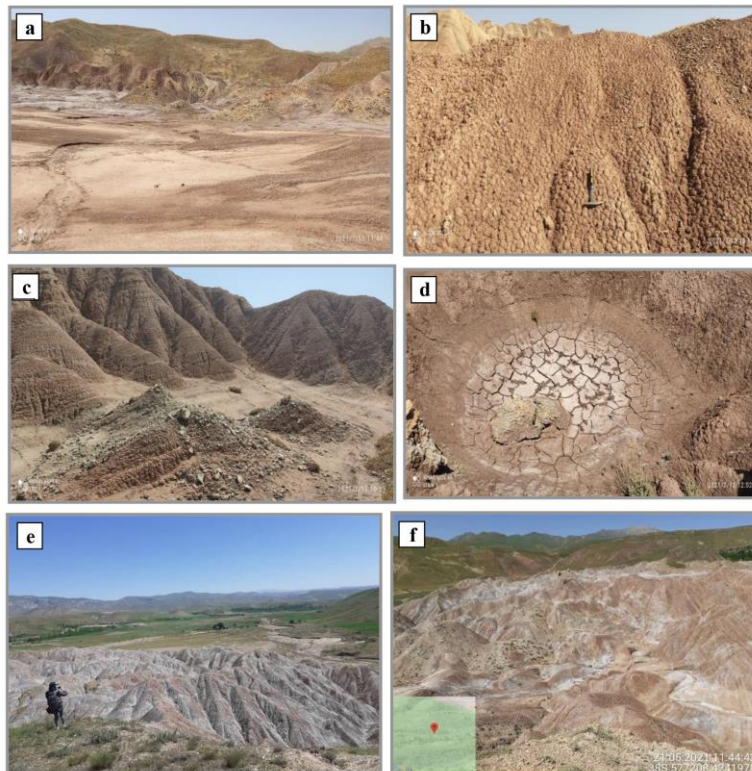
سازوکار تشکیل و سیر تکاملی زمین‌ساخت گل‌فشان‌ها، ارتباط نزدیکی با موقعیت جغرافیایی، مشخصات سیال و سایر موارد دارد (Wan et al, 2017). ریخت‌شناسی گل‌فشان تابع وزن مخصوص مواد یا گل خروجی و ترتیب فوران و یا جهش آن است (Ngareh, 2005). ریخت‌شناسی و شکل واحدی برای همه گل‌فشان‌ها نمی‌توان در نظر گرفت بعضی از گل‌فشان‌ها شکل منظمی از مخروط‌ها را نشان می‌دهد که طول آن‌ها تا یک کیلومتر و ارتفاعشان تا صد متر می‌رسد. آن‌ها با انباشته‌شدن تدریجی (پیایی، پیشرونده، دگرشکلی) جریانات گل و لای در سطح زمین تشکیل می‌شوند و شکل و منظر کلی آن‌ها به طور کامل شبیه به آتشفشان‌های چینه‌ای ماگمایی است. گل‌فشان‌های دیگر مربوط به گنبد‌های صاف یا سپر‌های گلی هستند که در نتیجه فوران گسترده گل و لای ایجاد می‌شوند که می‌توانند گسترش یافته و در فاصله زیادی از دریچه جریان داشته باشند. برخی از اشکال گل‌فشان‌ها با پهنه‌های مخروطی شیب‌دار با ارتفاع کمتر از ۱۰ متر به طور کلی گریفون و جایی که آب غالب است و استخر یا دریاچه‌های گل تشکیل می‌دهند و از آن‌ها گل و گاز به طور مداوم خارج می‌شوند سالس نامیده می‌شوند (Deville, 2009) (شکل ۳).



شکل ۳: اشکال مختلف گل فشان: a: میدانی از مخروط‌های کوچک فوران (گریفون)، b: گل فشان مخروطی شکل، c: دریاچه گل (سالس) (Deville, 2009).

Fig. 3: Different shapes of mud volcanoes: a: field of small eruption cones (griffins), b: cone-shaped mud volcano, c: mud lake (sals) (Deville, 2009).

گل فشان سیوان بر روی یک تپه از جنس مارن با لایه‌هایی که تحت‌تاثیر چین خوردگی قرار گرفته، واقع شده است و ژئومورفولوژی ناهموار و خشنی دارد. آثاری از گل فشان، بصورت تپه مانده‌های کوچک مخروطی شکل در بلندای تپه مارنی در منطقه باقی مانده است و در بلندای دیگری از تپه‌ی مارنی یک حوضچه گل مشاهده گردید که در بازدید نهایی آثاری از فوران در آن مشهود بود. بلندترین منطقه گل فشان ارتفاع ۱۶۵۵ متر بالاتر از سطح دریا را به خود اختصاص داده است. در کل با توجه به اینکه گل فشان سیوان غیرفعال است بیشتر عوارض آن در منطقه تحت‌تاثیر فرسایش قرار گرفته است. بر اثر فرسایش، ژئوformهایی به شکل ریل و گالی جلوه‌ای خاص و ویژه به گل فشان بخشیده است (شکل ۴).



شکل ۴: اشکال گل فشان سیوان: a: سطح فرسایش‌یافته گل فشان، b: اشکال فرسایشی، c: تپه مانده‌های کوچک مخروطی شکل، d: حوضچه گل، e و f: نمای کلی از ژئومورفولوژی گل فشان سیوان.

Fig. 4: Features of the Sivan mudflow: a: The eroded surface of the mudflow, b: Erosion features, c: Small cone-shaped mounds, d: Mud pools, e and f: General view of the geomorphology of the Sivan mudflow.

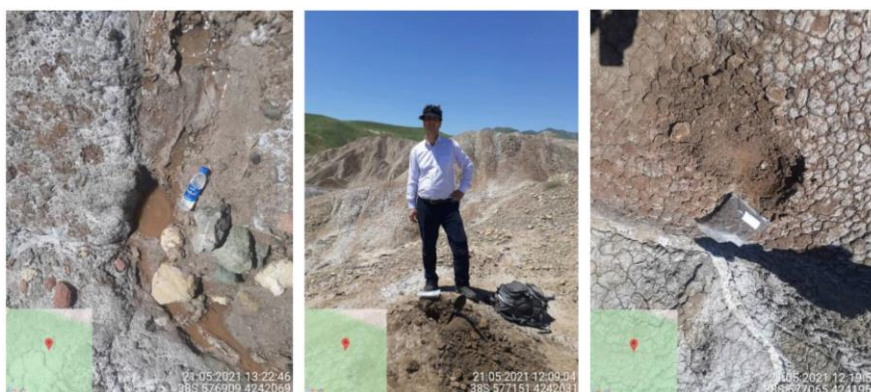


## مواد و روش‌ها

یکی از روش‌های قابل قبول و متداول برای بررسی جمعیت میکروبی باکتری‌های نفت‌خوار، روش شمارش در پلیت‌های کشت است که به صورت Plate count انجام می‌شود. برای بررسی آنومالی ژئومیکروبی نفت و گاز در گل‌فشان سیوان از روش فوق استفاده شد. روش بررسی ژئومیکروبی شامل جمع‌آوری نمونه‌های خاک از منطقه مورد بررسی، بسته‌بندی، نگهداری و ذخیره سازی نمونه‌ها در کیسه‌های نمونه از پیش استریل شده در شرایط عاری از میکروب و

سرد تا آماده‌سازی و تجزیه و تحلیل و جداسازی و شمارش باکتری‌های استفاده‌کننده هیدروکربن مانند متان، اتان، پروپان و اکسید کننده‌های بوتان است (Rasheed et al, 2015).

نمونه‌برداری مهم است زیرا اعتبار نتایج آزمون تا حد زیادی به روش نمونه‌برداری بستگی دارد. این نوع بررسی برای ارزیابی اولیه پتانسیل منابع هیدروکربنی منطقه مورد مطالعه مورد استفاده قرار می‌گیرد. بررسی‌ها بطور عمده برای ریزنشست هیدروکربنی انجام گرفت.



شکل ۵: محل نمونه‌برداری از خاک و آب خروجی  
Fig. 5: Soil and effluent sampling location

## نمونه برداری

محل نمونه‌برداری در در روستای سیوان از توابع بخش مرکزی شهرستان مرند در شمال غربی استان آذربایجان شرقی واقع شده است (شکل ۵). نمونه‌های جمع‌آوری شده شامل نمونه آب و خاک است. نمونه‌ها از محل دهانه‌ی گل‌فشان که در حال حاضر غیرفعال است و هم‌چنین از تپه‌ی دربرگیرنده گل‌فشان با توجه به رنگ و ژئومورفولوژی آن و

از مکان‌هایی که به صورت دوره‌ای و متناوب آب و گاز خارج می‌شد جمع‌آوری گردید (شکل ۶). نمونه‌های خاک هرکدام در حدود ۱ کیلوگرم از عمق ۰/۵ متری در کیسه‌های پلاستیکی که از قبل در اتوکلاو استریل شده بودن جمع‌آوری گردید و نمونه‌های آب نیز در ظرف شیشه‌ای برداشت شد. نقاط نمونه‌برداری شده از گل‌فشان سیوان در شکل ۶ نشان داده شده است.



شکل ۶: موقعیت نقاط نمونه‌برداری بر روی نقشه گوگل‌ارث  
Fig. 6: Sampling points location on the GoogleEarth map

### آماده‌سازی نمونه‌ها برای کشت میکروبی (تهیه سوسپانسیون)

نمونه‌های خاک برای کشت میکروبی نیازمند آماده‌سازی اولیه بودند. برای آماده‌سازی نمونه‌های خاک به منظور کشت میکروبی ابتدا باید سرم فیزیولوژی برای تهیه سوسپانسیون از نمونه‌های خاک آماده شود. برای تهیه سرم از نمک NaCl ۰/۹ درصد در یک لیتر آب مقطر استفاده شد، بدین ترتیب ۵۰ میلی لیتر از محلول تهیه شده در ارلن‌های ۱۰۰ میلی لیتری توزیع و استریل شد. برای تهیه سوسپانسیون بعد از یکنواخت و هم‌دست کردن نمونه‌ها در شرایط کاملا استریل، از هر کدام از نمونه‌ها ۱۰ گرم برداشت و در ۵۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل در ارلن‌ها به منظور تهیه سوسپانسیون میکروبی استفاده شد. ارلن‌ها در دستگاه شیکر به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۵۰rpm برای جدایش ذرات خاک قرار داده شد سپس به مدت ۱۰ دقیقه ارلن حاوی سوسپانسیون ثابت نگه داشته شد تا ذرات درشت‌تر بر اثر ته نشینی از مایع رویی حاوی میکروارگانیسم‌ها جدا شود.

### رقیق‌سازی سوسپانسیون میکروبی

اگر از سوسپانسیون تهیه شده مستقیماً کشت صورت پذیرد تعداد کلنی‌ها بیش از حد خواهد بود بنابراین کلنی‌ها غیرقابل شمارش خواهد بود، جهت حل مشکل موجود رقیق‌سازی سوسپانسیون انجام خواهد شد. بدین صورت که برای از روش serial dilution استفاده شد. بدین صورت که برای هر کدام از نمونه‌ها ۳ عدد لوله حاوی ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل تهیه شد. از هر کدام از سوسپانسیون‌های تهیه شده از نمونه‌های خاک، حجم ۱ میلی لیتر به لوله‌ی اول انتقال یافت و در داخل دستگاه ورتکس جهت

هم زدن قرار داده شد. سپس از لوله‌ی اول حجم ۱ میلی لیتر به لوله‌ی دوم منتقل و این عمل تا لوله‌ی سوم تکرار شد. بدین ترتیب غلظت میکروبی در هر مرحله ۱۰ برابر کاهش پیدا کرد و رقت‌های ۰/۱، ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ بدست آمد. بر روی نمونه‌های آب، همانند سوسپانسیون‌های میکروبی رقیق‌سازی صورت گرفت. از هر کدام از سوسپانسیون میکروبی تهیه شده، تعداد ۴ عدد با رقت‌های  $10^{-1}$ ،  $10^{-2}$ ،  $10^{-3}$  تهیه شد و به حجم ۰/۱ میلی لیتر برای کشت در محیط کشت آماده و به محیط کشت انتقال داده شد.

### محیط کشت

برای کشت باکتری‌ها نیازمند محیط کشت خاص آن باکتری هستیم. رایج‌ترین محیط کشت برای کشت و تکثیر باکتری‌های متانوتروف، اتانوتروف و پروپانوتروف محیط کشت Nitrate Mineral Salt (NMS) است. این محیط یک محیط سینتتیک جامد محتوای آگار و انواعی از نمک‌های معدنی می‌باشد که هر کدام دارای مقدار معینی هستند. به منظور تهیه محیط کشت با توجه به تعداد نمونه‌ها، به مقدار معینی آگار و نمک‌های معدنی نیازمندیم (جدول ۱). بدین منظور از هر کدام از نمک‌ها مقدار معینی وزن و در آب حل کرده به حجم می‌رسانیم. نمک‌ها و آگار تهیه شده در اتوکلاو استریل می‌شوند. در مرحله بعد تمام مواد معدنی استریل شده به هم‌دیگر اضافه شده، به حجم نهایی می‌رسد. محیط کشت آماده است. برای کشت باکتری در محیط کشت، محیط کشت در پلیت‌ها توزیع می‌شود. برای هر سوسپانسیون میکروبی ۸ پلیت حاوی محیط کشت تهیه شد.

جدول ۱: ترکیبات تشکیل دهنده محیط NMS

Table 1: Composition of NMS medium

Ingredient	Amount (per liter)
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1.0 g
$KNO_3$	1.0 g
$CaCl_2 \cdot H_2O$	0.2 g
3.8% (w/v) Solution Fe – EDTA	0.1 ml
0.1% (w/v) NaMo. $4H_2O$	0.5 ml
Trace element solution (recipe blowe)	1.0 ml
Bacto – agar (if making plates)	15 g

### کشت سطحی

یکی از روش‌های پژوهش برای پی جویی آنومالی ژئومیکروبی نفت و گاز، روش کشت سطحی surface plating است. در این روش باکتری‌ها در محیط کشت آزمایشگاهی خاص خود با روش‌های کنترل شده تکثیر و رشد داده می‌شود. در این مرحله، از سوسپانسیون‌های میکروبی و نمونه‌های آب رقیق شده توسط سرم فیزیولوژی به حجم ۰/۱ برداشت و به محیط کشت توزیع شده در پلیت انتقال داده شد. با استفاده از میله استریل شده مخصوص به صورت سطحی در محیط کشت پخش شد. برای اینکه سوسپانسیون میکروبی و نمونه‌های آب، جذب سطح کشت شود پلیت‌ها به مدت ۱ ساعت در محیط آزمایشگاهی نگه‌داری شد. سپس برای قرار گرفتن در محیط حاوی جوگازی مناسب برای رشد میکروارگانیسم‌های مدنظر به دسیکاتورها منتقل شدند.

### تامین جو گازی مورد نیاز برای رشد باکتری‌ها

سوسپانسیون میکروبی کشت شده در محیط کشت NMS، تمام مواد معدنی مورد نیاز برای رشد را دارا می‌باشد و برای استفاده از این منبع غذایی، برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌ها باید منبع کربن لازم به شکل جو گازی مختلف برای هر کدام که دسیکاتورها تامین شود که از طریق تزریق منبع کربن به صورت گاز در اختیار میکروب‌ها قرار می‌گیرد. بنابراین بعد از ۱ ساعت از کشت میکروب‌ها در پلت‌های حاوی محیط کشت، پلیت‌ها به دسیکاتورها منتقل می‌شوند سپس بعد از بستن درب دسیکاتورها و درزگیری مناسب با تخلیه بخشی از هوای جو داخل دسیکاتورها با استفاده از پمپ خلاء مقدار نسبت ۵۰:۵۰ گاز متان/هوا، اتان/هوا و پروپان/هوا به دسیکاتورهای مجزا تزریق و منبع کربن لازم برای رشد جمعیت میکروبی احتمالی متانوتروف‌ها، اتانوتروف‌ها و پروپانوتروف‌ها تامین شد. نمونه‌های داخل یکی از دسیکاتورها با شرایط بدون تزریق هیچ منبع گازی گرماگذاری شد و رشد باکتری‌ها بعد از بستن درب دسیکاتور در هوای آزاد جوی صورت گرفت.

### گرماگذاری و بررسی فرآیند رشد

دسیکاتورها در دمای حدود ۳۰ درجه سانتیگراد ثابت نگه‌داشته شدند. بعد از گذشت ۳-۴ روز از تاریخ کشت دسیکاتورها باز شد و شمارش اولیه جهت شمارش کلنی-

های غیرتخصصی انجام گرفت، بعد از اتمام شمارش، پلیت‌ها بار دیگر به دسیکاتورهای مربوطه منتقل و گازهای مزبور به دسیکاتورهای مختص خود تزریق گردید. در گام بعدی بعد از گذشت حدود ۲ هفته از تاریخ کشت، پلیت‌ها از دسیکاتورها خارج گردید و برای شمارش نهایی، باکتری‌های متانوتروف، شمارش نهایی باکتری‌های متانوتروف، اتانوتروف و پروپانوتروف مورد بررسی قرار گرفتند.

### شمارش میکروبی و آنالیز تعداد باکتری‌های خاک

بعد از اتمام زمان گرماگذاری برای بررسی تعداد کلنی‌های تشکیل شده توسط باکتری‌های هدف، هر یک از کلنی‌های تشکیل شده در رقت‌های مختلف یک نمونه در پلیت‌های حاوی محیط کشت، به صورت چشمی و استرئو میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. استرئو میکروسکوپ نوری جهت تأیید میکروب هدف و تأیید ویژگی‌های کلنی، مورد استفاده قرار می‌گیرد. از این رو باکتری‌های هدف از دیگر باکتری‌های احتمالی تمیز داده شده و تعداد کلنی‌های موردنظر روی محیط کشت شمارش شد و محاسبات آن در گرم نمونه خاک مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌ها شامل تمیز باکتری‌های هدف از دیگر باکتری‌های احتمالی، شمارش تعداد کلنی‌های مدنظر و محاسبه آن در هر گرم نمونه خاک مورد بررسی است. برای محاسبه تعداد باکتری‌های متانوتروف، اتانوتروف و پروپانوتروف در هر کدام از نمونه خاک، تعداد باکتری‌های هدف شمارش شده در هر پلیت حاوی محیط کشت ضرب در عکس ضریب رقت انجام گرفته در هر پلیت می‌شود و همچنین به دلیل اینکه از هر سوسپانسیون تهیه شده به حجم ۰/۱ برای کشت استفاده شد بنابراین عدد بدست آمده در ۱۰ ضرب می‌شود. تعداد جمعیت میکروبی بر صورت "واحد سازند کلنی CFU یا Colony Forming Unit در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون میکروبی بدست می‌آید (Liu et al, 2016).

عکس ضریب رقت \* ۱۰ \* تعداد کلنی = cfu/mg (تعداد میکروب در ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون) در نهایت، برای محاسبه تعداد میکروارگانیسم‌ها در هر گرم خاک عدد CFU/ml محاسبه شده برای هر سوسپانسیون میکروبی به عدد ۵ ضرب شود چرا که ۲۰ گرم خاک اولیه در ۵۰ میلی‌گرم سرم، سوسپانسیون شده بود. عدد نهایی معرف تعداد میکروارگانیسم هدف در هر گرم خاک است. تعداد باکتری در ۱ میلی‌گرم \* ۵۰/۱۰

پربارش بر اثر بارندگی احتمال فعال شدن برخی از دهانه‌های گل فشان وجود دارد ولی در خیلی مواقع از فصل‌های خشک سال و بخصوص در فصل تابستان گل فشان فعالیت بصورت فعال و نیمه فعال از خود نشان نمی‌دهد (شکل ۷)، در بازدید میدانی و مشاهدات صحرایی میان لایه‌هایی از شیل و ژئیس مشاهده شد و هم چنین در اثر بالا آمدن آب از درز و شکاف‌های موجود لایه‌هایی از نمک تشکیل شده است (شکل ۸).

۵۰/۱۰ \* تعداد باکتری در ۱ میلی‌گرم = تعداد در هر گرم خاک

### بحث و نتایج

در بازدید میدانی و مشاهدات صحرایی، گل فشان سیوان در حالت کنونی فعال نیست ولی آب غنی از املاح معدنی و اشباع از نمک به صورت متناوب و دوره‌ای همراه با حباب آب از برخی نقاط گل فشان خارج می‌گردد. در فصل‌های



شکل ۷: آب خارج شده از گل فشان سیوان

Fig. 7: Water coming out of the Sivan mud volcano



شکل ۸: نمک‌های تشکیل شده در گل فشان سیوان

Fig. 8: Salts formed in the Sivan mud volcano

در کل ۷ نمونه خاک و گل و ۲ نمونه مایع جمع‌آوری گردید. نتایج شمارش باکتری‌ها برای هر کدام از نمونه‌ها به صورت تعداد کلنی‌های باکتری در هر گرم خاک یا ۱ میلی لیتر مایع محاسبه گردید. در روش اکتشاف ژئومیکروبی برای یافتن مخازن نفت و گاز با توجه به نقاط نمونه‌برداری از مناطق مختلف گل فشان سیوان در ۳ نقطه از منطقه، هر دو باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف و در یک نقطه فقط باکتری متانوتروف مشاهده شد و در صحت وجود باکتری

باکتری‌ها و دیگر میکروپ‌ها نقش بسزایی در اکسیداسیون هیدروکربن‌های انتقالی ایفا می‌کنند. فعالیت‌های آن‌ها به طور مستقیم یا غیر مستقیم می‌تواند در آشکارسازی‌های سطحی مناطق نفوذ نفت خام نقش ایفا نماید. از جمله باکتری‌هایی که در این اکسیداسیون نقش دارند، باکتری‌های متانوتروف، اتانوتروف و پروپانوتروف هستند. از این رو به منظور تعیین جمعیت باکتری‌های متانوتروف، اتانوتروف و پروپانوتروف گلفشان منطقه سیوان از ۸ نقطه گل فشان

این منطقه به رنگ روشن است و در تماس با آب چسبندگی اندکی پیدا می‌کند. در این منطقه هر دو آنومالی متانوتروف و اتانوتروف قابل مشاهده است. در نمونه خاک این منطقه به احتمال زیاد باکتری پروپان وجود دارد ولی برای تأیید آن نیاز به بررسی‌های تکمیلی و آزمایش PCR است.

#### آنومالی نمونه SV7

آنومالی فوق در پایین‌ترین قسمت تپه‌ی دربرگیرنده‌ی گل فشان به سمت جاده روستای سیوان واقع شده است. در این منطقه مینی دهانه‌هایی در اندازه چند سانتی‌متر که در اطراف آن حوضچه‌ی کوچکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر تشکیل شده، ایجاد شده است و از مینی دهانه‌ها، آب به صورت دوره‌ای و متناوب همراه با حباب گاز خارج می‌شود. آنومالی باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف در این نقطه از گل فشان مشاهده شد و در مورد تأیید وجود باکتری پروپانوتروف به مانند نمونه‌های دیگر نیاز به بررسی تکمیلی و آزمایش PCR دارد. تعداد باکتری‌های ذکر شده برای هر نمونه با رقت  $10^{-2}$  مضربی از ۱۰۰۰ است که در تمامی نمونه‌ها عدد هزار نوشته نشده است. مثلاً اگر برای نمونه‌ای عدد ۲ ذکر شده باشد نشان دهنده‌ی  $2000 \text{ cfu/g}$  در هر گرم از خاک مورد بررسی است.

پروپانوتروف تناقض وجود داشت ازین رو برای تأیید وجود آن نیاز به بررسی‌های تکمیلی و CPR است (جدول ۲). توضیحات هر یک از آنومالی‌ها بدین شرح است.

#### آنومالی نمونه SV1

این آنومالی در بلندترین نقطه بر روی دریاچه گل فشان واقع شده است. در این نقطه هر دو آنومالی باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف مشاهده شد و برای تأیید یا عدم تأیید وجود باکتری پروپانوتروف نیاز به آزمایش PCR است. خاک این نقطه از گل فشان حالت منفصل داشت و در تماس با آب حالت چسبندگی کمی دارد.

#### آنومالی نمونه SV2

این آنومالی در بلندای تپه دربرگیرنده گل فشان نزدیک به دهانه اصلی گل فشان واقع شده است. در آنومالی مزبور فقط باکتری متانوتروف مشاهده شد خاک این نقطه به رنگ قرمز تیره است. حالت نرم و چسبنده دارد و در تماس با آب چسبندگی اش چندین برابر می‌شود.

#### آنومالی نمونه SV5

این آنومالی در تپه‌ی دربرگیرنده‌ی گل فشان واقع شده است. در این نقطه آب به صورت دوره‌ای و متناوب همراه با حباب گاز خارج می‌شود و از آن نمونه گل و آب تهیه شد. خاک

جدول ۲: نتایج شمارش باکتری‌های اکسیدکننده هیدروکربن (متانوتروف، اتانوتروف، پروپانوتروف) در رقت  $10^{-2}$

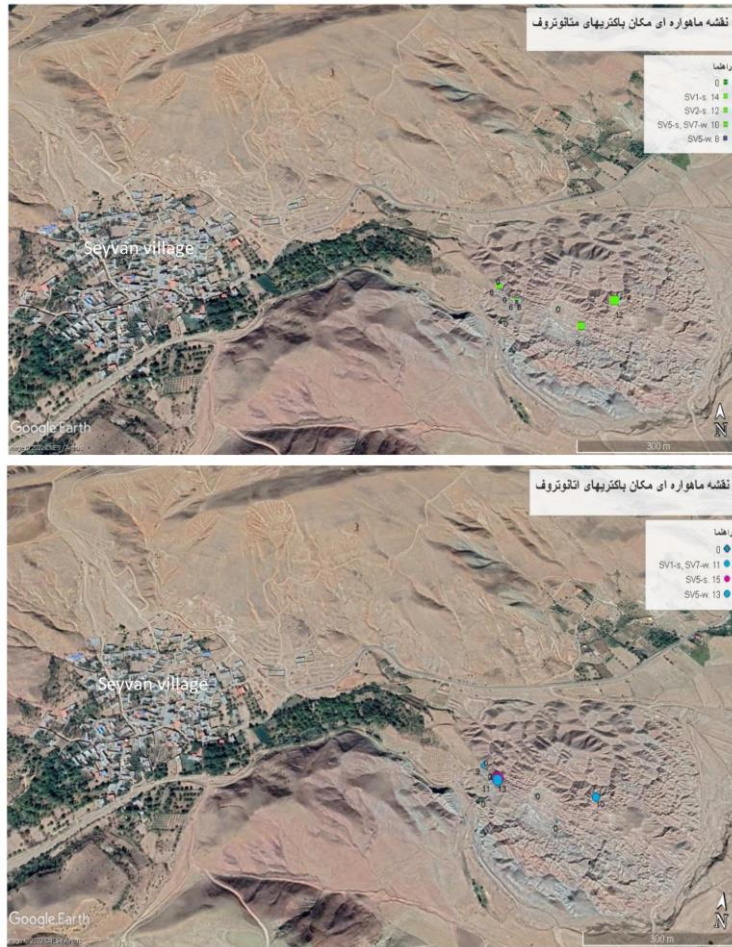
Table 2: Results of counting hydrocarbon-oxidizing bacteria (methanotrophs, attatrophs, propanotrophs) at a dilution of 2-10

No	Name	X	Y	Methanotroph	Ethanotroph	Propanotroph
1	SV1-soil	577151	4242031	14	11	-?
2	SV2-soil	577065	4241966	12	0	0
3	SV5-soil	576942	4242030	10	15	+?
4	SV5-water	576942	4242030	8	13	0
5	SV7-water	576910	4242069	10	11	-?

ی دربرگیرنده گل فشان که از آنها آب و گاز به صورت دوره ای و متناوب خارج می‌شد. تنها مکانی که فقط باکتری متانوتروف در آنجا مشاهده شد نقطه SV2 بود (شکل ۹). در شکل ۱۰ نقشه Bubble بر اساس مختصات جغرافیایی و تعداد و بزرگی هر یک از باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف ترسیم شده است.

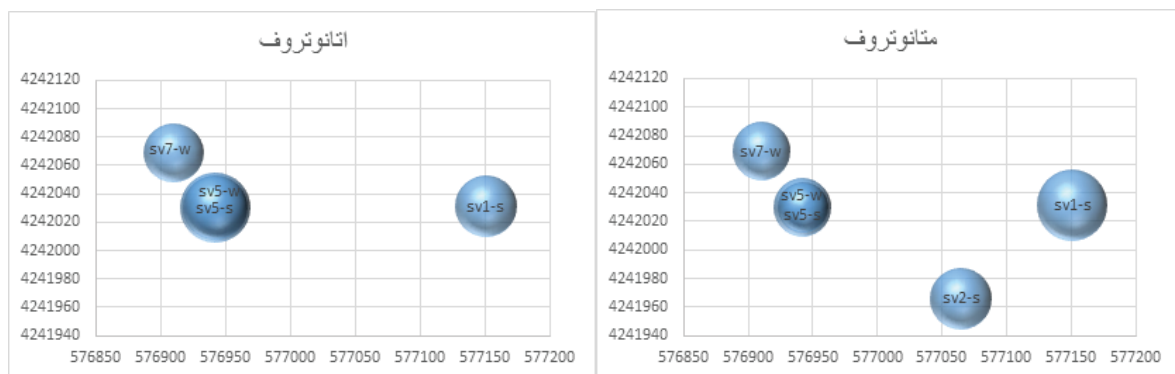
شکل ۹ نقاطی از گل فشان که در آن باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف مشاهده شدند را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشاهده می‌شود باکتری‌های اکسیدکننده متان و اتان در نقاط مشترکی هر دو باهم حضور دارند آن نقاط عبارتند از: دهانه اصلی گل فشان که فرسایش یافته و در بلندترین نقطه گل فشان واقع شده است و هم‌چنین در نقاطی از تپه





شکل ۹: نقشه ماهواره‌ای مکان و نقاط مشاهده باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف در گل‌فشان سیوان

Fig. 9: Satellite map of methanotroph and ethanotroph bacteria at sampling point localities, Seyvan mud volcano



شکل ۱۰: نمودار Bubble باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف، گل‌فشان سیوان

Fig. 10: Bubble diagram of methanotrophic and ethanotrophic bacteria, Sivan mudflow

بهترین نتایج، انتخاب باکتری‌های شاخص مناسب شامل متان، اتان، پروپان و باکتری‌های اکسیدکننده n- آلکان مهم هستند و در مقایسه با متانوتروف‌ها، پروپانوتروف‌ها ممکن است شاخص‌های باکتریایی برتر مخزن نفت باشند (Liu et al, 2016). گرچه رایج‌ترین باکتری‌ها متانوتروف‌ها هستند ولی برای دستیابی به بهترین و مطمئن‌ترین نتایج از

### نتیجه‌گیری

به خوبی ثابت شده است که تلفیق روش‌های ژئوشیمیایی و کاوش میکروبی می‌توانند شواهد مستقیمی برای وجود تجمعات نفتی ارائه دهند و نسبتاً ارزان و سریع هستند از این رو روش ژئومیکروبی به عنوان ابزار اکتشاف هیدروکربن در گل‌فشان سیوان مورد استفاده قرار گرفت. برای ارائه

رشد ناچیز باکتری‌های متانوتروف می‌باشد. از این رو وجود متانوتروف‌ها در منطقه همیشه نباید نشان دهنده نشأت گاز و نفت از مخزن زیرسطحی باشد بلکه می‌تواند به دلیل فعالیت میکروبی‌های بی‌هوازی باشد که تولید متان بیوژنیک می‌کند. در مورد باکتری مصرف‌کننده اتان، با توجه به مقدار جزئی اتانوتروف‌ها در منطقه می‌توان احتمال داد وجود اتان در منطقه به دلیل هم‌جوشی دو متان بر اثر فشار باشد که باعث تشکیل اتان شده است. از طرف دیگر با توجه به تعداد محدود باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف چنین استدلالی نیز می‌توان در نظر گرفت که احتمال حضور هیدروکربن هست ولی ارزش اقتصادی ندارد.

### سیاسگزاری

نویسندگان مقاله از آقای خانم فاطمه اسدپور بخاطر کمک و حمایت‌هایی که در به نتیجه رسیدن این مقاله انجام دادند کمال تشکر و سپاسگزاری را دارند.

باکتری‌های اتانوتروف و پروپانوتروف نیز استفاده شد. نتایج حاصل از آنالیز نمونه‌های برداشت شده از گل‌فشان سیوان و مقایسه میزان باکتری‌های اکسیدکننده هیدروکربن حکایت از آن دارد که آنومالی باکتری‌های متانوتروف و اتانوتروف بر روی نقاط دهانه‌ی اصلی گل‌فشان که در حال حاضر غیرفعال است و نقاطی که از آن‌ها آب و حباب گاز به صورت نقطه‌ای خارج می‌شود تشکیل شده است. در این نقاط به خصوص در نمونه خاک SV5 حضور باکتری پروپانوف شک‌برانگیز است با توجه به اینکه باکتری پروپانوتروف با استفاده از میکروسکوپ چشمی و استرئومیکروسکوپ تشخیص داده نشد، بنابراین برای تأیید یا عدم تأیید حضور باکتری پروپانوتروف نیاز به آزمایش PCR است. با توجه به حضور باکتری‌های استفاده‌کننده از متان و اتان نمی‌توان ادعا کرد که رشد متانوتروف و اتانوتروف‌ها در منطقه در نتیجه مهاجرت گاز از ذخایر نفتی زیرین بوده است، نتیجه فوق از دو لحاظ حائز اهمیت است در وهله اول متان می‌تواند محصول متداول هضم بی‌هوازی مواد آلی در غیاب رسوبات نفتی باشد. دلیل دوم مربوط به

### References

- Alavi, M., 2007. Structure of the Zagros fold-thrust belt in Iran: American Journal of Sciences, v. 307, p. 1064- 1095 (In Persian).
- Baldermann, A., Abbasov, O.R., Bayramova, A., Abdullayev, E. and Dietzel, M., 2020. New insights into fluid-rock interaction mechanisms at mud volcanoes: Implications for fluid origin and mud provenance at Bahar and Zenbil (Azerbaijan): journal of Chemical Geology, v. 537, 119479.
- Baloglanov, E.E., Abbasov, O.R. and Akhundov, R.V., 2018. Mud volcanoes of the world: classifications, activities and environmental hazard (informational-analytical review): European Journal of Natural History, v. 5, p. 12-26.
- Brisbane, P.G. and Ladd, J.N., 1965. The role of microorganisms in petroleum exploration: journal of Annual Reviews in Microbiology, v. 19, p. 351-364.
- Deville, E., 2009. Mud volcano systems. Volcanoes: Formation, eruptions and modelling, p. 95-125.
- Etiopie, G., 2015. Natural Gas Seepage: The Earth's Hydrocarbon Degassing: Springer International Publishing, Switzerland, 199 p.
- Faridi, M., 2007. Report on the 1:25000 map of Tabriz 1 and Gargah, Internal Archives of the Iranian Geological and Mineral Exploration Organization, Tabriz Center (In Persian).
- He, J., Wang, S., Zhang, W., Yan, W. and Lu, Z., 2016. Characteristics of mud diapirs and mud volcanoes and their relationship to oil and gas migration and accumulation in a marginal basin of the northern South China Sea: Journal of Environmental Earth Sciences, v. 75, p. 1-12.
- Huguen, C., Mascle, J., Chaumillon, E., Kopf, A., Woodside, J. and Zitter, T., 2004. Structural setting and tectonic control of mud volcanoes from the Central Mediterranean Ridge (Eastern Mediterranean): journal of Marine Geology, v. 209, p. 245-263.
- Lakshmi, M., Rasheed, M.A., Madhavi, T., Patil, D.J. and Dayal, A.M., 2012. Characterization of light gaseous hydrocarbons using geochemical and microbiological techniques in the near surface soils of Krishna-Godavari Basin, Andhra Pradesh, India. Journal of Environ Biol, v. 33, p. 67-79.
- Liu, Y.C., He, Z., Zhang, S., Yin, M.Y., Ning, Z. and Zhang, C.Y., 2016. Abundance and diversity of methanotrophs and propanotrophs in soils above Yangxin oil reservoir, China: Journal of Geomicrobiology Journal, v. 33, p. 661-670.
- Liu, C.C., Jean, J.S., Nath, B., Lee, M.K., Hor, L.I., Lin, K.H. and Maity, J.P., 2009. Geochemical characteristics of the fluids and muds from two southern Taiwan mud volcanoes: implications for water-sediment interaction and groundwater arsenic enrichment journal of Applied

- Geochemistry, v. 24, p. 1793-1802.
- Mazzini, A., Svensen, H., Planke, S., Guliyev, I., Akhmaniv, G.G., Fallik, T. and Banks, D., 2009. When mud volcanoes sleep: insight from seep geochemistry at the Dash gill mud volcanoes Azerbaijan: *Journal of Marine and Petroleum Geology*, v. 26, p. 1704-1715.
- Rasheed, M.A., Hasan, S.Z., Rao, P.L., Boruah, A., Sudarshan, V., Kumar, B. and Harinarayana, T., 2015. Application of geo-microbial prospecting method for finding oil and gas reservoirs: *Journal of Frontiers of earth science*, v. 9, p. 40-50.
- Rasheed, M.A., Lakshmi, M., Rao, P.L.S., Kalpana, M.S., Dayal, A.M. and Patil, D.J., 2013a. Geochemical evidences of trace metal anomalies for finding hydrocarbon microseepage in the petroliferous regions of Tatipaka and Pasarlapudi areas of Krishna Godavari Basin, India: *Journal of Petroleum Science*, v. 10, p. 19-29.
- Sciarra, A., Cantucci, B., Ricci, T., Tomonaga, Y. and Mazzini, A., 2019. Geochemical characterization of the Nirano mud volcano, Italy: *Applied Geochemistry*, v. 102, p. 77-87.
- Shnyukov, E. and Yanko-Hombach, V., 2020. Mud volcanoes of the Black Sea region and their environmental significance. Springer- Nature, 491 p.
- Negaresh, H., 2005. A Survey of "PIR-GEL" MUD-Volcano located in the east of Bazman volcano and its characteristics. *Geography and development*, v. 2(4), p. 191-208 (In Persian).
- Nezhadafzali, K., Lak, R. and Ghoreishi, M., 2017. Investigation of geomorphological changes and sediment characteristics of Napag mud volcano, Makran, Iran. *Scientific Quarterly Journal of Geosciences*, v. 26(104), p. 261-266. Doi: 10.22071/gsj.2017.50279 (In Persian).
- Stewart, S.A. and Davies, R.J., 2006. Structure and emplacement of mud volcano systems in the South Caspian Basin: *Journal of AAPG bulletin*, v. 90, p. 771-786.
- Vernant, P. and Chery, J., 2006. Low fault friction in Iran implies localized deformation for the Arabia-Eurasia collision zone, *Earth Planet: journal of Earth and Planetary Science Letters*, v. 246, p. 197-206.
- Wagner, M., Wagner, M., Piske, J. and Smit, R., 2002. Case histories of microbial prospection for oil and gas, onshore and offshore in northwest Europe. *Surface exploration case histories: Applications of geochemistry, magnetics, and remote sensing. AAPG Studies in Geology*, v. 48, p. 453-479.
- Wan, Z., Wang, X., Lu, Y., Sun, Y. and Xia, B., 2017. Geochemical characteristics of mud volcano fluids in the southern margin of the Junggar basin, NW China: implications for fluid origin and mud volcano formation mechanisms: *Journal of International Geology Review*, v. 59, p. 1723-1735.