

УТВЕРЖДАЮ:

И.о. директора ФГБУН

Тихоокеанский океанологический
институт им. В.И. Ильчева



к.г.н. В.Б. Лобанов

2021г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Федерального государственного бюджетного учреждения науки Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильчева Дальневосточного отделения Российской академии наук

Диссертация Еськовой Алёны Игоревны на тему «Сульфатредуцирующие и нефтеокисляющие бактерии донных отложений северной части Японского моря» выполнена на базе лаборатории 7/10 комплексных исследований окружающей среды и минеральных ресурсов ТОИ ДВО РАН.

Научный руководитель: Пономарева Анна Леонидовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории 7/10 комплексных исследований окружающей среды и минеральных ресурсов ТОИ ДВО РАН.

В 2015 г. Еськова Алёна Игоревна окончила ФГАОУВО «Дальневосточный федеральный университет» по специальности «Микробиология».

В период подготовки диссертации соискатель являлась очным аспирантом ФГАОУВО «Дальневосточный федеральный университет» и сотрудником ТОИ ДВО РАН.

Диплом об окончании аспирантуры выдан 27.07.2021 г. ФГАОУВО «Дальневосточный федеральный университет».

По итогам рассмотрения было принято следующее заключение:

1. Актуальность темы. Диссертационная работа Еськовой Алёны Игоревны на тему «Сульфатредуцирующие и нефтеокисляющие бактерии донных отложений северной части Японского моря» посвящена актуальной

проблеме выявления разнообразия культивируемых нефтеокисляющих и сульфатредуцирующих микроорганизмов в верхней части восстановленного слоя донных отложений северной части Японского моря в районах присутствия и отсутствия газогидратов. Обнаружение различий в культивируемом углеводородокисляющем микробиоме газогидратного и негазогидратного районов имеет большие перспективы в их использовании в качестве биоиндикаторов и для понимания микробных процессов, происходящих в донных отложениях. При изучении функциональных генов в донных отложениях, автором было получено, что в газогидратном районе северной части Японского моря преобладали гены анаэробной деструкции. В негазогидратном районе преобладали гены аэробной деструкции углеводородов. Автору удалось получить коллекцию микроорганизмов, родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Robertmurraya*, *Peribacillus*, *Promicromonospora* способных к биодеградации углеводородов в аэробных и анаэробных условиях. Автором показаны отличия аэробной и анаэробной деструкции микроорганизмами, выделенными из газогидратного и негазогидратного районов.

Принято считать, что основную роль в анаэробной деструкции органического вещества играют сульфатредуцирующие бактерии. Автором выделен новый вид сульфатредуцирующих бактерий *Desulfosporosinus* sp.nov.SRJS8 в районе обнаружения газогидратных залежей. Впервые для бактерии рода *Desulfosporosinus* показана способность к биодеградации нефти. Установлено, что штамм обладал большей способностью к биодеградации нефти, чем референс-штамм *D. lacus*.

В целом, диссертация представляет собой законченный этап работы, который может стать основой для будущих исследований по теме.

Работа выполнена на базе ТОИ ДВО РАН в соответствии с планом НИР и соответствует направлению исследований по теме: «Исследование состояния и изменений природной среды на основе комплексного анализа и моделирования гидрометеорологических, биогеохимических, геологических процессов и ресурсов Дальнего Востока», (0211-2021-0012), науч. рук. Сырбу Н.С. Регистрационный номер: АААА-А19-119122090009-2. Исследования поддержаны грантом РФФИ № 19-34-50075 «Сульфатредуцирующие и нефтеокисляющие бактерии донных отложений Японского моря и Татарского пролива» (руководитель д.б.н., заведующая лабораторией анаэробных микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрябина Российской академии наук (ИБФМ РАН) Щербакова В.А.).

2. Личное участие соискателя в получении результатов, изложенных в диссертации. Разработка методов и экспериментальные исследования, представленные в диссертации, проводились как лично автором, так и при

непосредственном участии автора. Автор принимал активное участие в обработке экспериментальной информации, обсуждениях и опубликовании результатов. Требования п. 14 Постановления Правительства РФ от 24.09.2013 № 842 (ред. от 01.10.2018) «О порядке присуждения ученых степеней» выполнены, соискатель лично участвовала в подготовке результатов к публикации и их представлении на научных конференциях.

3. Степень достоверности результатов проведенных исследований.

Проверка первичной документации комиссией, созданной по приказу и.о. директора ТОИ ДВО РАН В.Б. Лобанова № 96-н от 9.11.2021г. показала, что документация полностью соответствует материалам исследований, представлена в полном объеме и признана достоверным материалом, который соответствует выполненной работе. Результаты получены на сертифицированном оборудовании, обработаны с помощью лицензионных программ и современных методов статистического анализа, используемые в исследовании методики корректны. С материалами проведенных исследований и достоверностью полученных результатов, подтвержденных статистической обработкой, были ознакомлены рецензенты работы. Выводы докторской работы обоснованы и согласуются с полученными результатами.

4. Научная новизна и практическая значимость докторской работы.

Впервые проведено сравнение культивируемой нефтеокисляющей микробиоты в донных отложениях в зависимости от присутствия газогидратов. Выявлена приуроченность представителей семейства Nocardiaceae филума Actinobacteria к районам обнаружения газогидратов. Создана коллекция штаммов, способных к биодеградации нефти, выделенных из аномальных газовых полей в донных отложениях северной части Японского моря. Впервые для 38 выделенных бактерий родов *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Robertmurraya*, *Peribacillus*, *Promicromonospora* показана способность окислять углеводороды нефти как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Из донных отложений северной части Японского моря выделен новый вид сульфатредуцирующих бактерий рода *Desulfosporosinus*. Впервые у представителя рода *Desulfosporosinus* отмечена способность к деградации углеводородов.

Выделенные виды микроорганизмов могут быть использованы в биоремедиационных мероприятиях. Нефтеокисляющие бактерии представителей семейства Nocardiaceae могут выступать в роли биоиндикаторов газогидратных месторождений. Выделенные и описанные в работе новые штаммы микроорганизмов помещены в российскую (ВКМ) и зарубежную (NCBI) коллекции микроорганизмов и доступны для научной общественности как объекты для дальнейших исследований.

5. Ценность научных работ соискателя.

Работы автора расширяют сведения о биоразнообразии микроорганизмов, способных к деструкции углеводородов нефти в морских донных отложениях, и их взаимосвязи с сопутствующей микробиотой, которая включает в себя сульфатредуцирующих прокариот. Особое внимание уделяется биоразнообразию нефтеокисляющих бактерий, в районах нефтяных месторождений. В них же широко распространены сульфатредуцирующие микроорганизмы. Некоторые из них способны не только к восстановлению сульфата, но и к окислению углеводородов. Такие микроорганизмы в основном относят к классу Deltaproteobacteria. Кратко рассмотрены возможные механизмы анаэробного окисления углеводородов и существование аэробных и анаэробных микроорганизмов в едином сообществе.

6. Специальность, которой соответствует диссертация.

Диссертационная работа соответствует п. 7 «Экология микробных сообществ, сапрофитных, патогенных, условно-патогенных микроорганизмов в окружающей среде. Абиотические и биотические факторы» и п. 9 «Участие микроорганизмов в круговороте веществ» паспорта специальности 03.02.03. «Микробиология», отрасль науки – биологические науки.

7. Полнота изложения материалов диссертации

По материалам диссертации опубликовано 17 печатных работ, в том числе 6 статей в журналах, входящих в международные системы научного цитирования Web of Science, а также 6 статей в журналах, рекомендуемых ВАК РФ; 1 глава в монографии, зарегистрирован 1 РИД; отдельные фрагменты работы доложены и обсуждены на 4 конференциях, с международным участием.

Статьи в журналах, индексируемых Web of Science:

1. Hoang, N.V. Characteristics of sediment heavy metal levels in Lead-Zinc Ore Cho Don District Area, Bac Kan Province, Vietnam / N.V. Hoang, R. B. Shakirov, T. H. Thu, N. S. Syrbu, **A. I. Eskova** // Lithology and mineral resources.- 2021. - V.56, Is.3. - P. 278-292
2. Luong, L. Distribution of Gases in Bottom Sediments of the Southwestern Sub-Basin South China Sea (Bien Dong) / L. Luong, A. I. Obzhirov, N. Hoang, R. B. Shakirov, L. Anh, N. S. Syrbu, D.M. Tuan, N. Van Tao, T.T. Huong, D. Cuong, A. O. Kholmogorov, P. Van Binh, O.V. Mishukova, **A.I. Eskova** // Russian journal of Pacific geology. - 2021.- V.15.Is.2.- P. 144-154

Лыонг, Ле Д. Распределение газов в донных отложениях Юго-Западного Суббассейна Южно-Китайского Моря / Ле Д. Лыонг, А. И. Обжиров, Х. Нгуен, Р. Б. Шакиров, Ле Дык Ань, Н.С. Сырбу, М. Т. Данг, В. Т. Нгуен, Т. Х. Тран, Х. К. До, А.О. Холмогоров, В. Б. Пхан, О.В. Мишукова, **А.И. Еськова** // Тихоокеанская геология. - 2021. -Т. 40, № 2. - С. 67-77

3. Богатыренко, Е.А., Таксономическое разнообразие культивируемых углеводородокисляющих бактерий Японского моря / Е.А. Богатыренко, А.В. Ким, Т.И. Дункай, А.Л. Пономарева, **А.И. Еськова**, М.Л. Сидоренко, А.К. Окулов // Биология моря. - 2021. - №3. - С.209-216.
4. Шакиров, Р.Б. Геолого-геофизические и океанографические исследования в Южно-Китайском море в 88-м рейсе научно-исследовательского судна "Академик М.А. Лаврентьев" / Р.Б. Шакиров, До. Х. Кыонг, А.И. Обжиров, М.Г. Валитов, Н.С. Ли, А.А. Легкодимов, В.Ю. Калгин, А.И. Еськова, З.Н. Прошкина, Ю.А. Телегин, А.В. Стороженко, М.В. Иванов, С.П. Плетнев, В.Т. Съедин, А.В. Буланов, и др. // Океанология. - 2021. - Т. 61, № 1. - С. 165-168.
5. Obzhirov, A.I. Methane flows and gas hydrates in the transition zone between the western slope of the Kuril Basin and offshore from Sakhalin Island / A.I. Obzhirov, Y.A. Telegin, R.B. Shakirov, A.S. Salomatin, A.N. Derkachev, N.S. Syrbu, N.S. Li, A.L. Ponomareva, **A.I. Es'kova** // Russian Journal of Pacific Geology. - 2020. - V. 14. № 6. - P. 591-600.
6. Ponomareva, A. The relationship between the rate of microbial processes and methane content in the bottom sediments of the Sea of Japan / A. Ponomareva, **A. Eskova**, R. Shakirov, A. Obzhirov, A. Legkodimov // Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting. - 2019. - P. 203-207.

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ

7. **Еськова, А.И.** Распределение и характеристика микроорганизмов, участвующих в деструкции углеводородов в донных отложениях (обзор литературы) / А.И. Еськова, А.Л. Пономарева, А.А. Легкодимов, Р.Б. Шакиров, А.И. Обжиров // Вестник Краунц. Науки о земле. - 2021. - № 3. Выпуск 51. - С. 58-65
8. Шакиров, Р.Б. Комплексная Российско-Вьетнамская геолого-геофизическая и океанографическая экспедиция в Южно-Китайское Море (НИС "Академик М.А. Лаврентьев", Рейс 88, 2019 Г.) / Р.Б. Шакиров, Н.С. Ли, А.И. Обжиров, М.Г. Валитов, В.Т. Съедин, Ю.А. Телегин, З.Н. Прошкина, А.К. Окулов, А.В. Стороженко, М.В. Иванов, Д.А. Швалов, А.А. Легкодимов, **А.И. Еськова**, и др. // Вестник ДВО РАН. - 2020. - № 3 (211). - С. 138-152.
9. Легкодимов, А.А. К дискуссии об эмиссии метана с акватории Татарского пролива, Японское море (по результатам 55 рейса НИС «Академик Опарин») / А.А. Легкодимов, О.В. Мишукова, Д.А. Швалов, Д.С. Максеев, М.В. Шакирова, М.С. Бакунина, **А.И. Еськова** // Вестник ДВО РАН. - 2019. - №2. - С. 81-86
10. Бакунина, М.С. Особенности психрофильных и термофильных метанотрофных микроорганизмов / М.С. Бакунина, А.Л. Пономарева, С.С.

Дубовчук, А.И. Еськова, Р.Б. Шакиров, А.И. Обжиров // Вестник ДВО РАН. - 2020. - № 5. - С. 43-50

11. Дубовчук, С.С. Биогеохимическая роль анаэробного окисления метана в морских донных отложениях и перспективы исследований бактериального фильтра в Южном океане / С.С. Дубовчук, А.Л. Пономарева, М.С., А.И. Еськова, Р.Б. Шакиров, А.И. Обжиров // Вестник ДВО РАН. - 2020. - № 5. - С. 32-42
12. Голозубова, Ю.С. Нефтеокисляющие свойства бактерий рода *Micrococcus*, выделенных из бухты находка залива Петра великого (Японское море) / Ю.С. Голозубова, Л.С. Бузолева, Е.А. Богатыренко, А.В. Ким, А.И. Еськова // Самарский научный вестник. - 2018. - Т. 7. № 2 (23). - С. 13-16

Материалы конференций

1. Еськова, А.И. Новый вид сульфатредуцирующих бактерий рода *Desulfosporosinus*, выделенный из донных отложений северной части Японского моря / А.И. Еськова, А.Л. Пономарева, Я.В. Рыжманова, В.А. Щербакова / Фундаментальные и прикладные аспекты биоинформатики, биотехнологии и недропользования. Сборник статей всероссийской научной конференции с международным участием. - Пермский государственный национальный исследовательский университет. – Пермь, 2021. – с. 41-42.
2. Еськова А.И. Глубоководные углеводородоокисляющие штаммы *Bacillus kyonggiensis* POI87 и *Psychrobacter sp.* POI185, выделенные из донных отложений северной части Японского моря / А.И. Еськова, А.Л. Пономарева, Н.С. Полоник, Я.В. Рыжманова, Р. Б. Шакиров // Океанологические исследования: материалы конференции, IX Всероссийская конференция молодых ученых. – Владивосток: ТОИ ДВО РАН. - 2021. – С. 137-140.
3. Пономарева, А.Л. Численность бактерий и микробиологическое окисление метана в донных отложениях Японского моря / А.Л. Пономарева, А.И. Еськова, М.С. Бакунина, Д.К. Харитонова, Р.Б. Шакиров, А.И. Обжиров // Физика геосфер. Сборник научных трудов. – Владивосток. - 2019. - С. 326-332.
4. Ponomareva, A. L. The relationship between rate of microbial processes and methane content in the bottom sediments of the Sea of Japan / A. L. Ponomareva, A. I. Eskova, R. B. Shakirov, A. I. Obzhirov, A. A. Legkodimov // Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting. Sedimentary Earth Systems: Stratigraphy, Geochronology, Petroleum Resources. Filodiritto International Proceedings paper. – 2019. - P.203-208

Монографии

1. Еськова А.И., Пономарева А.Л., Балданова К.О., Калгин В.Ю., Легкодимов А.А. Геомикробиологические Исследования // Геолого-геофизические и океанографические исследования западной части Южно-Китайского моря и

прилегающего континента (по результатам 88 рейса НИС «Академик М.А. Лаврентьев» и береговых экспедиций 2010–2020) / Глав. ред. Р.Б. Шакиров; отв. ред. М.Г. Валитов, Н.С. Ли, Нгуен Хоан, Фун Ван Фать. – М.: ГЕОС, 2021. С. 280-288.

РИД

1. **Eskova A.I., Ryzhmanova Y.V., Ponomareva A.L., Trubitsyn V.E., Shcherbakova V.A.** GenBank: JAJD0010000000 *Desulfosporosinus* sp. strain SRJS8 genome shotgun sequencing project, 2021.

Диссертационная работа Еськовой А.И. «Сульфатредуцирующие и нефтеокисляющие бактерии донных отложений северной части Японского моря» рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.03 – Микробиология.

Заключение принято на расширенном заседании Океанологического семинара ТОИ ДВО РАН. Протокол № 10 от 15.10.2021. На заседании присутствовало 37 человек, из них членов семинара - 25. Результаты голосования: «за» - 25 человек, «против» - нет, «воздержались» - нет.

Председатель семинара:
Зав. лаб. 7/6 газогеохимии
ТОИ ДВО РАН,
д.г.-м. н., доцент

Шакиров Р.Б.

Заместитель председателя:
Г.н.с. лаб. 7/6 газогеохимии
ТОИ ДВО РАН,
д.г.-м. н., профессор

Обжиров А.И.

Профессор кафедры биоразнообразия и
морских биоресурсов Института
Мирового Океана, Дальневосточного
Федерального университета,
д.м.н., профессор

Мартынова А.В.

Секретарь семинара:
н.с. лаборатории 7/10 комплексных
исследований окружающей среды и минеральных
ресурсов ТОИ ДВО РАН

Ли Н.С.



Шакирова Р.Б., Обжирова А.И., Ли Н.С.
Мартыновой А.В.