

На правах рукописи

Еськова Алёна Игоревна

**СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИЕ И НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ БАКТЕРИИ
ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ ЯПОНСКОГО МОРЯ**

03.02.03 Микробиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Владивосток - 2021

Работа выполнена на базе лаборатории комплексных исследований окружающей среды и минеральных ресурсов Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева» Дальневосточного отделения Российской академии наук (ТОИ ДВО РАН), Владивосток.

Научный руководитель: кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник лаборатории комплексных исследований
окружающей среды и минеральных ресурсов ФГБУН «Тихоокеанский океанологический
институт им. В.И. Ильичева» ДВО РАН
Пономарева Анна Леонидовна

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории экологической
биотехнологии ФГБУН Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН
Беловежец Людмила Александровна,

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории механобиологии
живых систем ФГБУН Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН
Криворучко Анастасия Владимировна

Ведущая организация:

ФГБУН Хабаровский Федеральный исследовательский центр Дальневосточного
отделения Российской академии наук (ХФИЦ ДВО РАН) Институт водных и
экологических проблем Дальневосточного отделения Российской академии наук (ИВЭП
ДВО РАН) (680000, г. Хабаровск, ул. Дикопольцева, 56)

Защита диссертации состоится ____ 2022 г. в ____ часов на заседании диссертационного
совета Д 999.219.02 на базе Пермского федерального исследовательского центра
Уральского отделения Российской академии наук и Пермского государственного
медицинского университета имени академика Е.А. Вагнера по адресу: 614081, г. Пермь,
ул. Голева, д. 13. Факс: +7 (342) 280 92 11. E-mail: info@iegm.ru.

Автореферат диссертации размещен на официальном сайте Высшей аттестационной
комиссии Министерства науки и высшего образования РФ (<http://vak.minobrnauki.gov.ru>) и
на сайте ПФИЦ УрО РАН (<http://permsc.ru>).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке «ИЭГМ УрО РАН» и на сайте ПФИЦ
УрО РАН (<http://permsc.ru>).

Автореферат разослан “ ____ ” _____ 2022 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Максимова Юлия Геннадьевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Естественные нефте- и газопроявления в морях – это сложное геологическое явление, которое оказывает ведущее средообразующее действие на формирование микробиомов морских донных отложений. В первую очередь, на бактерии, способные к окислению метана и других углеводородов, и сопряженные с ними в биогеохимических циклах сульфатредукторы (Беляев и др., 1981; Леин, Иванов, 2009). В морях под действием низких температур и высокого давления метан может образовывать газогидраты. Газогидраты – альтернативный тип углеводородной залежи, в котором, по оценкам специалистов, сосредоточены большие объемы природного газа (Обжиров и др., 2015). Существуют единичные сообщения о филумах некультивируемых микроорганизмов, обнаруживаемых только в районах открытия газогидратов (Lanoil et al., 2001; Case et al., 2015).

Углеводороды интенсивнее поддаются деструкции микроорганизмами в присутствии кислорода (Nazina et al., 2020); однако в местах нефте- и газопоявлений доминирует анаэробная деструкция углеводородов (Adams et al., 2013; Singh et al., 2017). По сообщению ряда авторов, основную роль в анаэробной деструкции органического вещества играют сульфатредуцирующие бактерии (Kniemeyer et al., 2007; Spiegelman et al., 2015).

Северная часть Японского моря представляет особый интерес для исследования из-за своего геологического строения и как район обнаружения газогидратов в пределах юго-западного склона о. Сахалин (Шакиров и др., 2019). В районах северного замыкания глубоководной центральной котловины Японского моря газогидраты еще не установлены, но отмечаются аномально высокие концентрации метана в газосодержащих слоях и сейсмические признаки газогидратоносных отложений (Шакиров и др., 2019). Разные условия в районах обнаружения и отсутствия газогидратов влияют на формирование микробиомов морских донных отложений. Исследование различий в таксономической и функциональной структуре культивируемых бактериальных сообществ газогидратного и негазогидратного районов перспективно для поиска биоиндикаторов залежей газовых гидратов и лучшего понимания аэробных и анаэробных процессов деструкции углеводородов нефти, происходящих в морских донных отложениях.

Цель работы - исследование разнообразия и физиологических свойств культивируемых нефтеокисляющих и сульфатредуцирующих бактерий в верхней части восстановленного слоя донных отложений северной части Японского моря газогидратного и негазогидратного районов.

Основные задачи исследования:

1. Оценить встречаемость генов-биоиндикаторов деструкции углеводов с помощью вложенной ПЦР с праймерами, специфичными на функциональные гены, отвечающие за аэробное и анаэробное окисление углеводов, в газогидратном районе и в районе, где газогидраты обнаружены не были.

2. Выделить чистые культуры нефтеокисляющих бактерий; провести сравнительный анализ видового, физиологического и плазмидного разнообразия культивируемых нефтеокисляющих бактерий, выделенных из верхней части донных отложений северной части Японского моря, в зависимости от присутствия газогидратов.

3. Изучить наличие функциональных генов аэробной и анаэробной деструкции углеводов в выделенных штаммах культивируемых нефтеокисляющих бактерий.

4. Выявить способность выделенных штаммов утилизировать углеводороды в аэробных и анаэробных условиях.

5. Оценить встречаемость генов *dsrB*- ключевого фермента метаболизма всех сульфатредуцирующих микроорганизмов в донных отложениях исследуемых районов. Получить накопительные культуры сульфатредуцирующих микроорганизмов, способных к деструкции углеводов. Выделить и детально охарактеризовать чистую культуру сульфатредуцирующих бактерий, способную к одновременному окислению углеводов, и восстановлению сульфатов.

Научная новизна. Впервые проведено сравнительное исследование таксономического и функционального разнообразия культивируемых нефтеокисляющих бактерий в донных отложениях газогидратного и негазогидратного районов. Выявлена приуроченность представителей родов *Nocardioides* и *Rhodococcus* к районам обнаружения газогидратов. Создана рабочая коллекция бактериальных штаммов-биодеструкторов нефти, выделенных из аномальных газовых полей в донных отложениях северной части Японского моря. Впервые для выделенных бактерий родов *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Micrococcus*, *Robertmurraya*, *Peribacillus*, *Promicromonospora* показана способность окислять углеводороды нефти как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Из донных отложений северной части Японского моря выделена чистая культура сульфатредуцирующих бактерий, на основании данных полифазной таксономии предварительно отнесенная к новому виду рода *Desulfosporosinus*. Впервые у представителя рода *Desulfosporosinus* отмечена способность к деградации углеводов.

Теоретическое и практическое значение работы. Выделенные культуры *Robertmurraya (Bacillus) kyonggiensis* и *Psychrobacter piscatorii* использованы в биоремедиационных мероприятиях по утилизации нефтесодержащих отходов ООО Гидротехнологии Сибири. Обнаружено, что представители семейств Nocardiaceae и Nocardioideae выступают в роли биоиндикаторов газогидратных месторождений. Выделенные и описанные в работе штаммы микроорганизмов переданы на хранение в российскую (VKM) и зарубежную (NCBI) коллекции микроорганизмов и доступны для научной общественности как объекты для дальнейших исследований. Полученные результаты являются важным вкладом в развитие программы "Дальневосточный морской карбоновый полигон", а также в соответствии с Приказом Минобрнауки России от 5 февраля 2021 г. № 74 «О полигонах для разработки и испытаний технологий контроля углеродного баланса».

Основные положения, выносимые на защиту

1. Видовое разнообразие, физиологические свойства и способность к биодegradации углеводов культивируемых нефтеокисляющих бактерий, выделенных из донных отложений северной части Японского моря в районе обнаружения газогидратов, существенно отличаются от таковых у бактерий, обитающих в районе, где газогидраты не были обнаружены.
2. Выделенные из донных отложений представители родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Robertmurraya*, *Peribacillus*, *Promicromonospora* обладают способностью окислять нефть в аэробных и анаэробных условиях.
3. Из донных отложений северной части Японского моря в районе залежей газогидратов выделена чистая культура сульфатредуцирующих бактерий, на основании данных полифазной таксономии предварительно отнесенная к новому виду рода *Desulfosporosinus*, способная к окислению углеводов в анаэробных условиях.

Апробация работы и публикации. Материалы работы представлены на российских и международных конференциях: «Всероссийская научная конференция с международным участием «Фундаментальные и прикладные аспекты биоинформатики, биотехнологии и недропользования» (Пермь, ПГНИУ, 2021); «IX конференция молодых ученых «Океанологические исследования-2021» (Владивосток, ТОИ ДВО РАН, 2021), международная молодежная конференция Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting: Sedimentary Earth Systems: Stratigraphy, Geochronology, Petroleum Resources – 2019 (Казань, КФУ, 2019).

По материалам диссертации опубликовано 18 научных работ: 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 отражены в 4 тезисах докладов.

Личный вклад автора. Разработка методов и экспериментальные исследования, представленные в диссертации, проводились как лично автором, так и при непосредственном участии автора. Автор принимал активное участие в постановке научных задач, морских экспедициях, обработке экспериментальной информации, обсуждениях и опубликовании результатов.

Объем и структура научно-квалификационной работы. Диссертация изложена на 138 страницах, содержит 6 таблиц и иллюстрирована 24 рисунками. Список литературы включает 127 наименований, из них 95 на иностранных языках. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы с результатами собственных исследований, заключения, выводов, списка литературы и приложений.

Связь работы с научными программами. Работа выполнена в рамках темы Госзадания: «Исследование состояния и изменений природной среды на основе комплексного анализа и моделирования гидрометеорологических, геохимических, геологических процессов и ресурсов Мирового океана», № гос. рег. АААА-А19-119122090009-2; при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-34-50075 «Сульфатредуцирующие и нефтеокисляющие бактерии донных отложений Японского моря и Татарского пролива» (рук. д.б.н. Щербакова В.А.), в рамках программы академической мобильности «Всероссийский конкурс молодежных проектов стратегии социально-экономического развития «России – 2035»; в Подкомиссии МОК по западной части Тихого океана Юнеско (WG007 IOCWESTAC), а также в рамках проекта, входящего в Десятилетие ООН науки об океане «Geosystems and mineral resources in the transition «Continent-Ocean» Zones and open ocean, (GEOMIR, Id 164), (рук. д.г.-м.н. Шакиров Р.Б.). Исследование выполнено в новой лаборатории «Комплексных исследований окружающей среды и минеральных ресурсов», созданной в рамках нацпроекта «Наука и Университеты».

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность и признательность за постоянную помощь, внимание и поддержку при выполнении работы научному руководителю – к.б.н., с.н.с. лаборатории комплексных исследований окружающей среды и минеральных ресурсов Пономаревой А.Л., д.г.-м.н., профессору Обжирову А.И., д.г.-м.н., доценту Шакирову Р.Б., к.х.н. Полонику Н.С., к.г.-м.н. Сырбу Н.С., м.н.с. Легкодимову А.А.,

м.н.с. Калгину В.Ю. Автор искренне благодарит всех коллег лаборатории газогеохимии и лаборатории комплексных исследований окружающей среды и минеральных ресурсов ТОИ ДВО РАН за активное участие в различных этапах работы. Автор признательна научному составу экспедиций ТОИ ДВО РАН за совместную работу и возможность получения необходимого материала. Особую признательность автор выражает д.б.н. Щербаковой В.А., к.б.н. Рыжмановой Я.В., Трубицину В.Э. и всем сотрудникам лаборатории анаэробных микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрыбина Российской академии наук (ИБФМ РАН) за помощь в получении анаэробных сульфатредуцирующих бактерий, интересные идеи и ценные советы. Отдельную благодарность автор выражает д.м.н., профессору Мартыновой А.В., к.б.н. Богатыренко Е.А., к.б.н. Сидоренко М.Л., Ким А.В. за помощь при написании диссертации и конструктивную критику. Автор благодарен к.м.н. Кузнецовой Н.А. за помощь в определении спектра плазмид бактерий.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Район и объекты исследования

Район исследований расположен в северной части Японского моря и включает в себя два полигона. Первый характеризуется наличием газогидратов в пределах юго-западного склона о. Сахалин и второй расположен ближе к Центральной котловине Японского моря (район северного замыкания Центральной котловины). В этой части отмечены аномально высокие концентрации метана в газосодержащих слоях шельфовых районов (рис. 1). Северная часть Японского моря, включающая южную часть Татарского пролива, находится в районе трансформного сочленения на стыке тектонических литосферных плит – Амурской и Охотской. По границам плит проходят региональные зоны глубинных разломов, образуются впадины с накоплением мощной толщи осадков, в которых образовались нефтегазовые залежи (Обжиров и др., 2019).

В работе использовали верхнюю часть

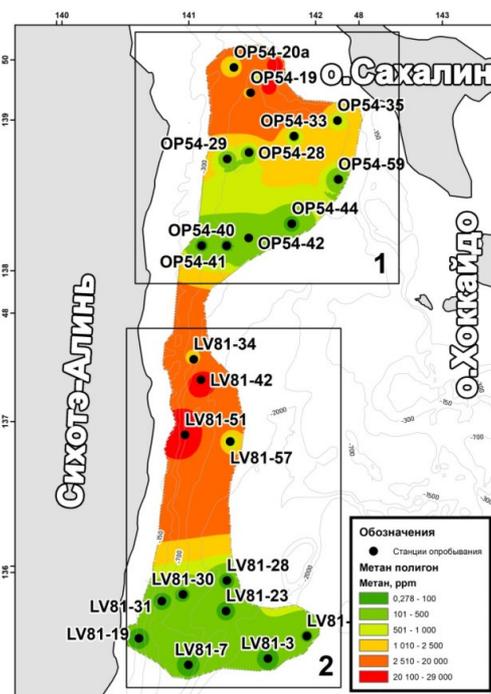


Рисунок 1. Карта расположения станций и распределения содержания метана в донных отложениях северной части Японского моря. Условное разделение районов исследования: 1- газогидратный район; 2 - не газогидратный район.

восстановленного слоя донных отложений северной части Японского моря, отобранную на глубине 5-30 см от поверхности дна с 23 станций в ходе двух рейсов: «Академик Опарин», 2017 (OP54); НИС «Академик М.А. Лаврентьев», 2018 (LV81).

Объектами исследования служили накопительные и чистые культуры аэробных и анаэробных нефтеокисляющих и сульфатредуцирующих бактерий, выделенных из образцов донных отложений исследуемых районов.

Методы исследования

Выделение суммарной ДНК из образцов донных отложений и хромосомной ДНК чистых культур проводили модифицированным методом Мармура (Marmur, 1961). При определении наличия функциональных генов в донных отложениях применяли вложенную ПЦР для уменьшения числа побочных продуктов реакции (Dtprime-5, ДНК-Технология). На первом этапе использовали высококонсервативный участок 16S рРНК бактерий и архей V3-V4 (5' – CCTACGGGNGGCWGCAG - 3', 3' – GACTACHVGGGTATCTAATCC - 5') (Система праймеров Zymo Research). В качестве второй пары использовали праймеры для биоиндикации аэробной деструкции линейных углеводов *alkBB* (5' – GGTACGGSCAYTTCTACRTCGA - 3'; 3' – CGGRTTCGCGTGRTGRT - 5') (Tourouva et al., 2018); анаэробной деструкции линейных углеводов *masD* (5' – GGHMCVTDBGTVTGGAC - 3'; 3' – RTCRTCRTTDCSSCAATTNGG - 5') (Gittel et al., 2015), анаэробной деструкции ароматических углеводов *bssA* (5' – ACGACGGYGGCATTCTC - 3', 3' – GCATGATSGGYACCGACA - 5') (Winderl et al., 2007); и сульфатредуцирующих бактерий *dsrB* (5' – CAACATCGTTCATACCCAGGG - 3', 3' – GTGTAGCAGTTACCGCA - 5') (Корнеева, 2015; Priha et al., 2013).

Секвенирование ДНК нефтеокисляющих штаммов проводилось в компании ООО «Синтол», г. Москва по методу Сэнгера с использованием набора BigDye v3.1. на генетическом анализаторе ABI 3130xl (ThermoFisher Scientific). При секвенировании использовали универсальные бактериальные праймеры 11F (5' – AGTTTGATCATGGCTCAG - 3') – 1100R (5'- GGGTTGCGCTCGTTG - 3') (Seki et al., 2015). Полученные нуклеотидные последовательности генов 16S рРНК (длина прочтения 800 нуклеотидов) выравнивали в программах Bioedit Version 7.0.4. и ClustalW (Thompson et al., 1994); наличие химер проверяли в программе Pintal (Ashelford et al., 2005). Выровненные последовательности сравнивали с хранящимися в мировой базе данных NCBI данными с использованием программы BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Последовательности идентифицировали до вида

или рода на уровне сходства больше 98%. Секвенирование полного генома сульфатредуцирующей бактерии проводили в Межинститутском Центре коллективного пользования «Геном» ИМБ РАН на Illumina NovaSeq. Для анализа генома использовали технологию: Синтез библиотек 2*100 kit KAPA Biosystems в соответствии с рекомендациями производителя. Выделение ДНК осуществлялось колоночным методом с осаждением на силикагель, используя Fast spin DNA kit производства MP.

Для создания накопительных культур нефтеокисляющих микроорганизмов использовали морскую аммонийную среду 1313 (Marine ammonium mineral salts), морскую минеральную среду (Marine salt medium), среду Ворошиловой-Диановой в модификации с содержанием соли 35%. Во все среды в качестве источника углерода добавляли 2% стерильной нефти марки ESPO.

Для создания накопительных культур сульфатредуцирующих микроорганизмов использовали среды DSMZ: 63 (*Desulfovibrio* (Postgate) medium) и 195c (*Desulfobacter* medium), при анаэробном культивировании в пробирках Хангейта 1-1,5 месяца. Для получения чистой культуры сульфатредуцирующих бактерий производили рассев на плотные модифицированные среды 63 и 195c. Чашки инкубировали в анаэро-статах, продутых азотом для удаления кислорода из газовой фазы.

Культуральные и физиолого-биохимические свойства выделенных изолятов изучали по общепринятым методикам (Лабинская, 2005; Нетрусов, 2005).

Определение спектра плазмид проводили по методу Kado и Liu (1981).

Углеводородоокисляющую активность определяли с помощью спектрофлуориметра «Флюорат-02-Панорама». Уточнение процессов утилизации углеводородов нефти проводили на хромато-масс-спектрометре Shimadzu GCMS 2010 Ultra на базе ТОИ ДВО РАН. Обработка и запись параметров велась в режиме реального времени с использованием программного обеспечения Weather Link. Степень преобладания молекул с нечетным числом атомов углерода можно оценить с помощью индекса CPI – коэффициента нечетности, который представляет собой весовое отношение нечетных гомологов к четным. Коэффициент нечетности CPI рассчитывали по формуле (Zhanga et al., 1998).

Образование сероводорода, образованного сульфатредуцирующими бактериями определяли по методу Cline (1961).

Определение сульфатов-ионов в пробах донных отложений проводили комплексонометрическим методом (Аринушкина, 1970).

Анализ жирнокислотного состава клеток проводили на газовом хромато-масс-спектрометре 7890B+5977B (AgilentTechnologies, USA) в автоматическом режиме на базе ИБФМ РАН, г. Пущино.

Визуализацию морфологии чистых культур проводили с помощью светового микроскопа AxioStar PLUS (Carl Zeiss, Германия) с фазовым контрастом; а также в высоком разрешении с использованием сканирующих электронных микроскопов Evo 40 и SIGMA 300VP (CarlZeissAG, Германия) на базе отделения электронной микроскопии «Национальный научный центр морской биологии им. А.В. Жирмунского» ДВО РАН.

Филогенетический анализ полученных нуклеотидных последовательностей и построение дендрограмм проводили с использованием пакетов программ MEGAХ (Tamura et al., 2013) и с использованием пакета программ «Robust Phylogenetic analysis», представленного на сайте <http://www.phylogeny.fr/>.

Разнообразие выделенных штаммов определяли посредством расчета индексов: Шеннона по численности (H) и доминирования Симпсона (C) (Одум, 1986). Для оценки сходства и отличия таксономического состава по видам в исследуемых районах был рассчитан коэффициент Жаккара. Для отражения сходств и различий между газогидратным и негазогидратным районами строили диаграмму Венна.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета Microsoft Excel 2010 и ArcGIS 10.4 с использованием Geostatistical Analyst modul, с использованием языка программирования R в IDE RStudio 3.3.1 (<https://cran.r-project.org/bin/windows/base/old/3.1.1/>). Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение функциональных биоиндикаторных генов аэробной и анаэробной биodeградации углеводов нефти в донных отложениях северной части Японского моря. В результате исследований образцов суммарной ДНК из донных отложений было выявлено, что гены аэробной деструкции линейных углеводов (*alkBB*) встречаются в пробах донных отложений обоих районов исследования (9 станций). Гены анаэробной деструкции, кодирующие α -субъединицу бензилсукцинатсинтетазы (*bssA*), как и гены *masD*, характерны для обоих районов исследования, но в газогидратном районе их встречаемость выше.

Таксономическое разнообразие нефтеокисляющих бактерий, выделенных из донных отложений северной части Японского моря. Из 23 проб восстановленного слоя

донных отложений северной части Японского моря, было создано 69 накопительных культур. Путем выделения чистых культур была создана рабочая коллекция из 55 штаммов, обладающих способностью к окислению углеводов.

По результатам секвенирования гена 16S рРНК (рис.2) выделенные бактериальные культуры принадлежали к филумам: Proteobacteria (Gammaproteobacteria), Firmicutes, Actinobacteria. Все исследуемые штаммы на основании данных полифазной таксономии были идентифицированы до рода или вида.

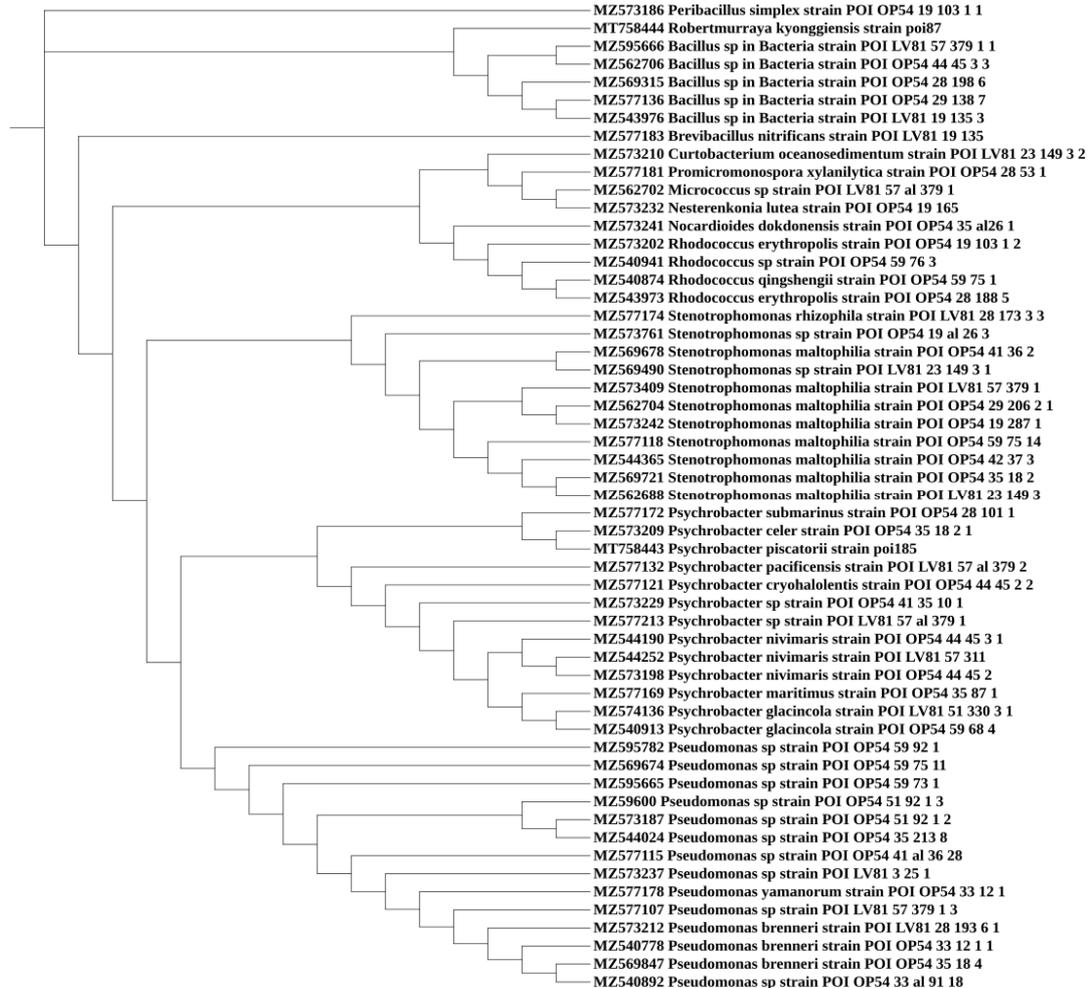


Рисунок 2. Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа последовательностей фрагментов гена 16S рРНК бактерий, выделенных из донных отложений северной части Японского моря. Длина масштабной линейки: 1 замена на 100 нуклеотидов.

В районе газогидратной залежи было выделено 37 штаммов, отнесенных к 9 родам, а в районе отсутствия газогидратов почти в 2 раза меньше (18, отнесенных к 8 родам).

Индексы разнообразия Шеннона и Симпсона показали, что исследуемые районы отличаются незначительным микробным разнообразием (Таблица 1). В районе

обнаружения газогидратов преобладают представители рода *Pseudomonas*, а во втором – *Psychrobacter*.

Таблица 1. Значения основных индексов разнообразия в исследуемых районах северной части Японского моря

Район / индекс	Газогидратный район	Негазогидратный район
Индекс разнообразия Шеннона	1,848	1,875
Индекс разнообразия Симпсона	0,191	0,179

При сравнении количества видов газогидратного и негазогидратного районов коэффициент сходства Жаккара достаточно низкий (0,17), что говорит о большой разнице в таксономическом составе на уровне видов. Также в районе обнаружения газогидратов культивируемые нефтеокисляющие бактерии отличались большей долей характерных только для этого полигона родов и видов, чем в районе с высокими концентрациями метана.

Наибольшее число общих видов для двух исследованных районов относится к филуму Gammaproteobacteria. Представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter* встречались в обоих районах исследования.

Представители семейств Nocardiaceae (4 штамма *Rhodococcus* sp.) и Nocardioideaceae (1 штамм *Nocardioides* sp.) встречались только в газогидратном районе.

Физиолого-биохимические свойства нефтеокисляющих штаммов, выделенных из донных отложений северной части Японского моря. При исследовании физиолого-биохимических свойств было установлено, что выделенные из района, где газогидраты не обнаружены бактериальные культуры, потребляют меньшее разнообразие субстратных источников, чем микроорганизмы, выделенные из района, где отмечено присутствие газогидратов.

При оценке корреляции физиолого-биохимических свойств исследованных бактерий с содержанием метана в образцах донных отложений было показано (рис. 3), что способность к усвоению сахаров не коррелировала с максимальными значениями метана; также наличие фермента эстеразы слабо или совсем не коррелировало с содержанием метана.

Но отмечается корреляция между способностью к деструкции карбоновых кислот и их производных и отсутствием газогидратов (рис. 3 А, Б). Наибольшее число штаммов, использующих в качестве субстрата лактат и не способных к утилизации пальмиата, сукцината, оксалата и цитрата, выделены из негазогидратного района.

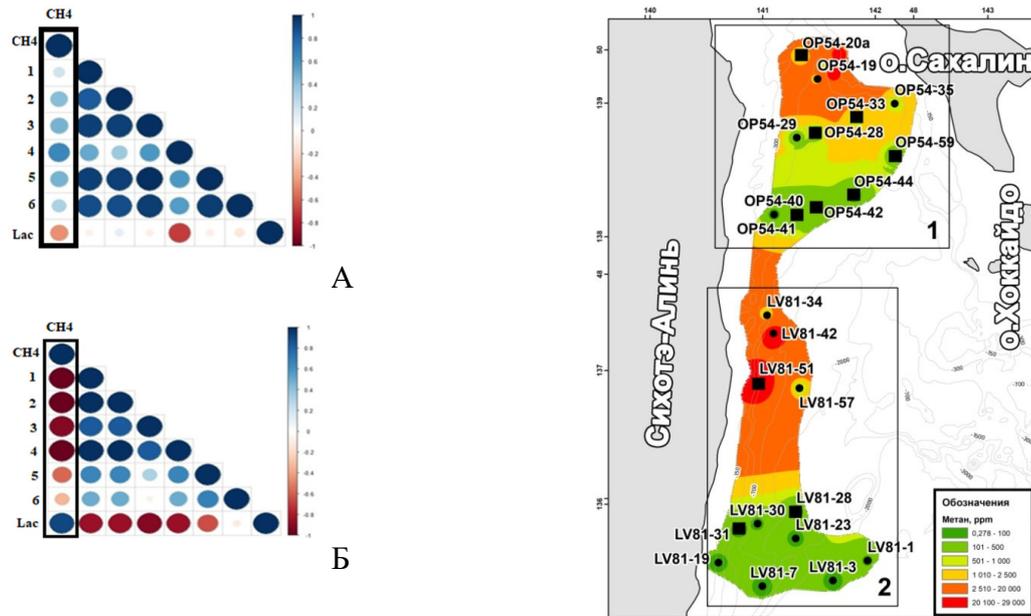


Рисунок 3, А, Б. Графики корплот корреляции способности к утилизации карбоновых кислот с содержанием метана в донных отложениях. Обозначения: 1 – пальмитиновая кислота, 2 – щавелевая кислота, 3 – янтарная кислота, 4 – лимонная кислота, 5 – малоновая кислота, 6 – салициловая кислота, 7 – молочная кислота. Карта с обозначением станций, на которых выделены нефтеокисляющие штаммы, способные к утилизации лактата. А (1)– газогидратный район; Б (2) – негазогидратный район

Изучение плазмидного профиля исследованных штаммов показало, что большинство (49 %) нефтеокисляющих штаммов содержали одну легкую (~ 18 МДа) плазмиду. В то же время, на трех станциях: OP54-29 GC, OP54-41 GC, OP54-59 GC, расположенных в районе газогидратных залежей, обнаружены нефтеокисляющие бактерии, имеющие в клетках по две плазмиды (19 и 30 МДа; 20 и 30 МДа). Плазмиды молекулярными массами 20 и 30 МДа встречались в штаммах родов *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, *Psychrobacter*.

Обнаружение функциональных генов аэробной и анаэробной деградации углеводов в нефтеокисляющих штаммах, выделенных из донных отложений северной части Японского моря. В 18 из 55 исследованных штаммов были зафиксированы функциональные гены *alkBB* и/или *bssA*, отвечающие за аэробную и анаэробную биodeградацию углеводов, соответственно. Наибольшее количество штаммов с *alkBB* встречали в газогидратном районе. У двух штаммов – *Psychrobacter piscatorii* POI185 и *Stenotrophomonas* sp. POI LV81-23/149-3(1) в этом же районе было обнаружено два гена одновременно – *alkBB* и *bssA*. Ген *bssA* кодирует фермент бензилсукцинатсинтетазу А, который участвует в процессе анаэробного окисления ароматических углеводов.

Углеводородокисляющая активность бактерий, выделенных из верхней части донных отложений северной части Японского моря. Оценку способности к биодegradации углеводов у исследуемых штаммов проводили с помощью флуориметрического анализа. Отбирали штаммы, у которых способность к биодegradации углеводов за 7 суток $\geq 60\%$. Из 55 штаммов были отобраны 8: 4 из газогидратного района (*Nesterenkonia lutea* POI OP54-19/165, *Pseudomonas* sp. POI OP54-59/92-1-2, *Nocardioides dokdonensis* POI OP54-35/al26-1, *Promicromonospora xylanilytica* POI OP54-28/53-1) и 4 из района с аномальным содержанием метана (*Micrococcus* sp. POI LV81-57/al 379-1, *Stenotrophomonas rhizophila* POI LV81-28/173-3(3), *Robertmurraya (Bacillus) kyonggiensis* POI87, *Psychrobacter piscatorii* POI185). К уникальным для района выделения были отнесены *N. lutea* POI OP54-19/165, *N. dokdonensis* POI OP54-35/al26-1 (таблица 2).

Таблица 2. Показатели биодеструкции углеводов исследуемыми штаммами в аэробных условиях

Штамм	Степень деструкции насыщенных УВ	Убыль углеводов в % от исходного количества*	СРІ	$\frac{(C_{12} + \dots + C_{17})}{(C_{18} + \dots + C_{21})}$
Сырая нефть (исходные показатели)	0.90		1.23	9.24
Газогидратный район				
<i>Nesterenkonia lutea</i> POI OP54-19/165	3.14	59.88	1.27	3.63
<i>Pseudomonas</i> sp. POI OP54-59/92-1-2	3.06	60.10	1.22	2.61
<i>Nocardioides dokdonensis</i> POI OP54-35/al26-1	6.21	72.69	1.13	2.50
<i>Promicromonospora xylanilytica</i> POI OP54-28/53-1	5.58	71.83	1.22	2.71
Негазогидратный район				
<i>Micrococcus</i> sp. POI LV81-57/al 379-1	6.27	79.57	1.23	3.76
<i>Stenotrophomonas rhizophila</i> POI LV81-28/173-3(3)	5.83	73.85	1.20	3.71
<i>Robertmurraya (Bacillus) kyonggiensis</i> POI87	9.04	84.66	1.16	9.14
<i>Psychrobacter piscatorii</i> POI185	14.47	89.83	0.99	7.98

* Данные, полученные с помощью флуориметрического анализа

Наибольшая степень (89,82%) биодegradации углеводов нефти отмечалась для *P. piscatorii* POI185 (выделен в негазогидратном районе). А наименьший показатель

(59,8%) был характерен для *N. lutea* POI OP54-19/165, изолированного в районе обнаружения газогидратов.

Степень деструкции насыщенных углеводородов штаммами, рассчитанная по отношению суммы фитана и пристана к соответствующим алканам, а также суммарная убыль нефтепродуктов (таблица 2), были ниже для штаммов из газогидратного района по сравнению с культурами из аномальных газовых полей континентального склона. Для последних также отмечалось более существенное (от 1,23 до показателей близких к 1) снижение показателя СРІ (степени преобладания углеводородов с нечетным числом атомов С).

При анализе убыли индивидуальных углеводородов нефти все штаммы, выделенные в газогидратном районе, практически не были способны к биодegradации углеводородов с длиной цепи C_{20} и C_{21} . Убыль таких углеводородов в культуральной среде составляла от 28,37 до 1,32%. В негазогидратном районе этот же показатель варьировался от 55,72 до 90,46%.

Способность выделенных культур к биодegradации нефти в аэробных и анаэробных условиях. Выделенные штаммы культивировали в анаэробных условиях на среде Ворошиловой-Диановой (соленость 35%), с содержанием 2% нефти в качестве единственного источника углерода. Из всех выделенных штаммов способностью к дegradации углеводородов в аэробных и анаэробных условиях обладали 38 штаммов родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Robertmurraya*, *Peribacillus*, *Promicromonospora*. В аэробных и анаэробных условиях дegradация линейных углеводородов нефти происходила по-разному (рис. 4).

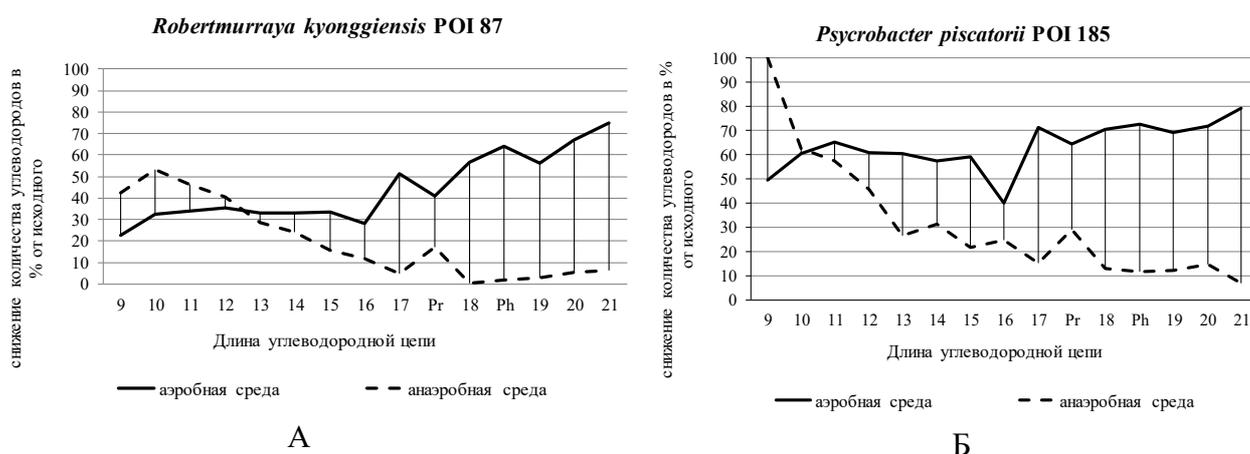


Рисунок 4. Степень биодegradации углеводородов нефти клетками *R. kyonggiensis* POI87 (А) и *P. piscatorii* POI185 (Б) в аэробных и анаэробных условиях

Например, в аэробных условиях культуры *Robertmurraya kyonggiensis* POI87, как и *Psychrobacter piscatorii* POI185, в наибольшей степени окисляли длинноцепочечные (C_{17} -

C₂₁) *n*-алканы, а также пристан и фитан. В анаэробных условиях, наоборот, интенсивнее происходило окисление низкомолекулярных (C₉-C₁₃) углеводородов, их утилизация составила более 30%. Увеличение длины цепи приводило к резкому снижению скорости утилизации. В анаэробных условиях *P. piscatorii* в наибольшей степени (практически на 100%) окислял *n*-нонан.

Выделение углеводородокисляющих сульфатредуцирующих бактерий из донных отложений северной части Японского моря. Описание штамма *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 с нефтеокисляющей активностью. Гены – индикаторы сульфатредуцирующих микроорганизмов (*dsrB*) зафиксированы в донных отложениях обоих районов исследования, на станциях, находящихся на континентальном склоне (OP54-20a GC, LV81-30 GC, LV81-31GC).

Для выделения и идентификации углеводородокисляющих сульфатредуцирующих микроорганизмов были созданы накопительные культуры на анаэробно приготовленных средах. В накопительных культурах фиксировали образование сероводорода в качестве индикатора процесса сульфатредукции. По нашим данным у 17% накопительных культур было зарегистрировано интенсивное образование сероводорода. При этом станции, на которых был зафиксирован данный процесс, располагались вдоль континентального склона и характеризовались пониженными концентрациями сульфатов в донных отложениях и присутствием биоиндикаторного гена *dsrB*.

Для получения чистых культур из накопительных культур, положительных на образование сероводорода, производили высев на плотные агаризованные среды того же состава.

Из донных отложений станции OP54-20a GC с глубины 592 метра от поверхности моря выделена чистая культура сульфатредуцирующих бактерий, по совокупности культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков предварительно идентифицированная как *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 (рис. 5).

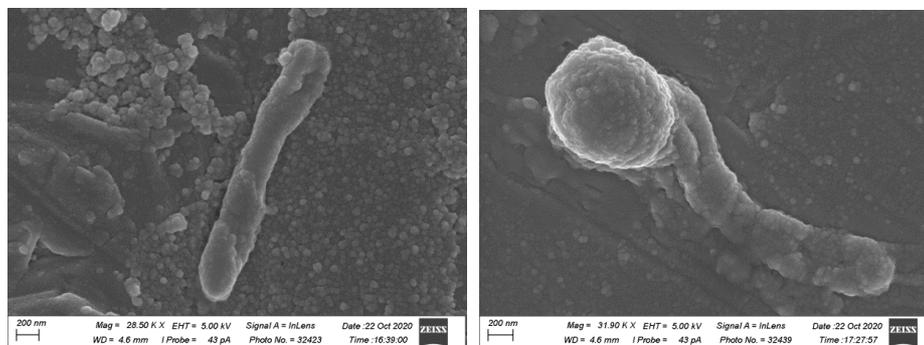


Рисунок 5. Морфология *Desulfosporosinus* sp. SRJS8; Б – образование эндоспоры (Сканирующий электронный микроскоп, увеличение 28,5* и 30,9). Длина масштабной линейки – 200 μ m

На основании филогенетического анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК (1628 п.о.) (рис. 6) ближайшим соседом изолята *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 с 98,5% сходства является *D. lacus* STP 12^T (AJ582757) – бактерия, выделенная из донных отложений оз. Штехлин, Германия (Ramamoorthy et al., 2006).

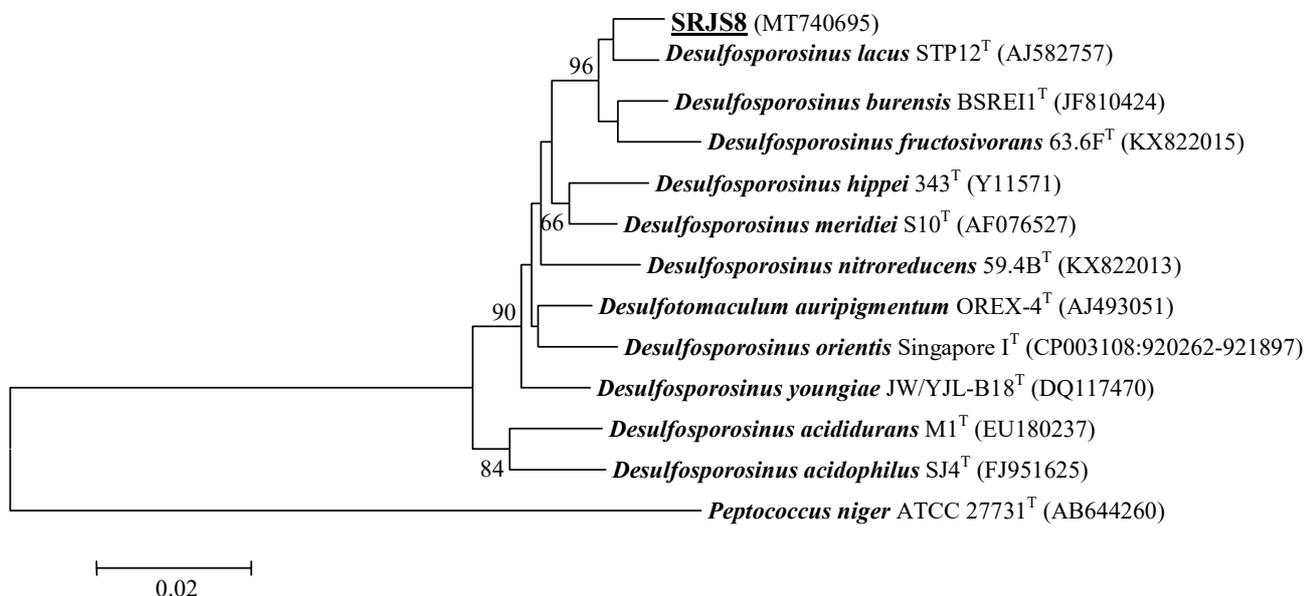


Рисунок 6. Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа нуклеотидных последовательностей гена 16S рРНК, показывающее положение штамма SRJS8 среди ближайших гомологов. Учетный номер базы данных GenBank указан в скобках. Дендрограмма построена с использованием метода «neighbour-joining». Длина масштабной линейки: 2 замены на 1000 нуклеотидов. Данные «bootstrap»-анализа (выраженные в процентах от 1000 реплик) указаны в точках ветвления

Полученная нуклеотидная последовательность гена 16S рРНК штамма SRJS8 была депонирована в GenBank под номером MT740695.2, а также во Всероссийской коллекции микроорганизмов (ВКР) ИБФМ им. Г.К. Скрыбина РАН под номером В-3540.

По данным фенотипического анализа, результатам гомологии гена 16S рРНК и сравнения геномных характеристик: данных ДНК-ДНК гибридизации (dDDH) и средней идентичности нуклеотидов (ANI) выделенный штамм SRJS8 был отнесен к новому виду рода *Desulfosporosinus* (Таблица 3) и назван *Desulfosporosinus* sp. SRJS8.

Таблица 3. Степень сходства генетических характеристик штамма *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 с его близкородственным видом *Desulfosporosinus lacus*

Вид	№ штамма в NCBI	ANI (%)	dDDH (%)
<i>Desulfosporosinus</i> sp. SRJS8	JAJDOO010000000		
<i>Desulfosporosinus lacus</i> STP 12 ^T (DSM 15449 ^T)	NZ_FQXJ01000000	86,7	57,4

Изучение профилей жирных кислот выделенного штамма *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 показало, что доминирующими жирными кислотами являются C_{16:1}, C_{16:0}, iC_{15:0}, C_{14:0}. У референс-штамма преобладающими жирными кислотами в клетках являются: C_{16:1cis9}, C_{16:0}, C_{18:1cis11}, C_{16:1cis7}. Различия в жирнокислотном составе липидов штамма SRJS8 с близкородственным штаммом *Desulfosporosinus lacus* может быть доказательством принадлежности *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 к новому виду.

При оценке способности к деградации углеводов *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 и референс-штамма *D. lacus* STP 12^T (DSM 15449^T) было выявлено, что оба штамма способны к окислению углеводов нефти. При этом отмечено, что SRJS8 обладал более выраженной способностью к биодеградации нефти в анаэробных условиях по сравнению с референтным штаммом *D. lacus*, в большей степени окисляя низкомолекулярные (*n*-нонан), средне – (C₁₆-C₂₁) и менее - длинноцепочечные (C₂₈-C₃₁) *n*-алканы (рис. 7). Менее всего штамм использовал генэйкозан (<20% потребления).

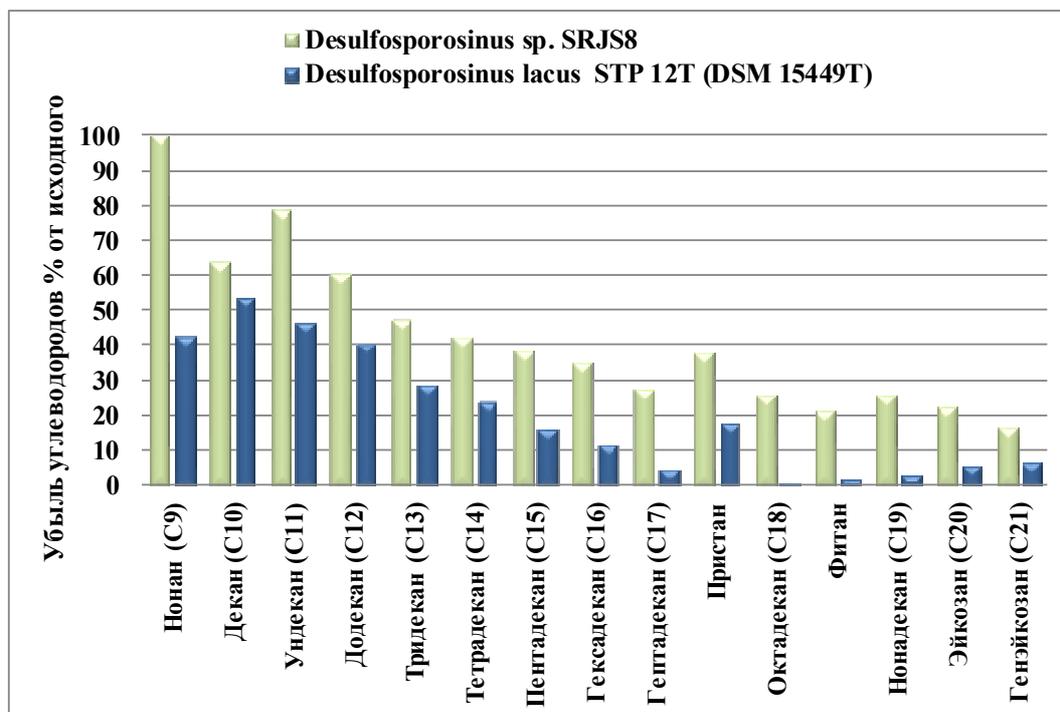


Рисунок 7. Степень биодеградации углеводов нефти исследованными штаммами *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 и *D. lacus* STP 12^T (DSM 15449^T)

По данным литературы, (Rueter et al., 1994; Kniemeyer et al., 2007; Widdel et al., 2010) сульфатредуцирующие бактерии - обитатели естественных нефте- и газопроявлений Мирового океана, способны к окислению углеводов нефти (в том числе алканов и ароматических соединений) в бескислородных условиях. В настоящей работе впервые показана нефтеокисляющая способность представителей рода *Desulfosporosinus*.

Заключение. В работе проведено сравнение биоразнообразия и физиологических свойств культивируемой аэробной, факультативно-анаэробной и анаэробной нефтеокисляющей микробиоты. В результате исследований образцов суммарной ДНК из донных отложений газогидратного и негазогидратного районов было выявлено, что в районе активных газо-флюидных потоков над аномальными газовыми полями гены анаэробной деградации углеводов встречались чаще, чем в районе, где газогидраты обнаружены не были.

Показано, что в исследованных образцах донных отложений обоих районов доминируют представители родов *Pseudomonas*, *Psychrobacter* и *Stenotrophomonas*. В газогидратном районе преобладают представители рода *Pseudomonas* (31%), а в негазогидратном – *Psychrobacter* (28%). Представители родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter* встречались в обоих районах исследования. Выявлена приуроченность представителей семейств Nocardiaceae и Nocardioideaceae к районам обнаружения газогидратов. Выявлена корреляция между способностью к деструкции карбоновых кислот и их производных и отсутствием газогидратов. Показано, что гены аэробной деструкции и/или гены, отвечающие за биodeградацию ароматических углеводов, встречались у штаммов, выделенных в газогидратном районе. Степень деструкции насыщенных углеводов была ниже для штаммов из газогидратного района по сравнению с культурами, выделенными из района, где газогидраты обнаружены не были. Для штаммов, выделенных из негазогидратного района, отмечалось более существенное (от 1,23 до показателей близких к 1) снижение показателя CPI.

Впервые для 38 штаммов бактерий родов *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Micrococcus*, *Robertmurraya*, *Peribacillus*, *Promicromonospora* показана способность окислять углеводороды нефти как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Установлено, что в газогидратном районе 62% уникальных для этого района штаммов обладали способностью к окислению углеводов в аэробных и анаэробных условиях. В негазогидратном районе этой способностью обладало 50% уникальных штаммов. В аэробных и анаэробных условиях деградация линейных углеводов нефти происходила по-разному. В аэробных условиях культуры *Robertmurraya kyonggiensis* POI87 и *Psychrobacter piscatorii* POI185 в наибольшей степени окисляли углеводороды длинноцепочечные (C₁₇ – C₂₁) *n*-алканы, а также фитан и пристан. В анаэробных условиях, наоборот, интенсивнее происходило окисление низкомолекулярных (C₉ – C₁₃) углеводов, их утилизация составила более 30%.

В условиях полного отсутствия кислорода деструкция углеводов осуществляется сульфатредуцирующими бактериями. Для выделения и идентификации углеводородокисляющих сульфатредуцирующих микроорганизмов было создано 46

накопительных культур на анаэробно приготовленных средах. Из донных отложений северной части Японского моря в районе обнаружения газогидратов выделена чистая культура сульфатредуцирующих бактерий по совокупности культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков предварительно отнесенная к новому виду рода *Desulfosporosinus*. По данным фенотипического анализа, результатам гомологии гена 16S рРНК и сравнения геномных характеристик: данных ДНК-ДНК гибридизации (dDDH) и средней идентичности нуклеотидов (ANI) выделенный штамм SRJS8 был отнесен к новому виду и назван *Desulfosporosinus* sp. SRJS8.

В нашей работе впервые показана нефтеокисляющая способность представителей рода *Desulfosporosinus*. Показано, что *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 обладал более выраженной способностью к биодegradации нефти в анаэробных условиях по сравнению с референтным штаммом.

ВЫВОДЫ

1. Оценка встречаемости генов-биоиндикаторов деструкции углеводородов с помощью «вложенной» (nested) ПЦР в пробах донных отложений показала, что в газогидратном районе северной части Японского моря преобладали гены анаэробной деструкции: *bssA* и *masD*, а в негазогидратном районе - *alkBB*.
2. Из донных отложений 23 станций северной части Японского моря было выделено 55 штаммов нефтеокисляющих микроорганизмов, которые были отнесены к родам *Pseudomonas*, *Psychrobacter*, *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Nesterenkonia*, *Brevibacillus*, *Promicromonospora*, *Peribacillus*, *Robertmurraya*, *Curtobacterium*, *Nocardioides*. Представители семейств Nocardiaceae и Nocardioideaceae обнаружены только в газогидратном районе.
3. Исследование физиолого-биохимических свойств штаммов нефтеокисляющих бактерий показало, что бактерии, выделенные из района залежей газогидратов, обладали способностью ферментировать большее разнообразие углеводных субстратов, чем культуры, выделенные из негазогидратного района. Отмечена корреляция между способностью к деструкции карбоновых кислот и их производных и отсутствием газогидратов в донных отложениях. Показано, что 5 из 55 исследуемых штаммов имели 2 плазмиды с молекулярными массами 20 и 30 МДа. Данные штаммы были обнаружены на станциях, расположенных в районе залежей газогидратов.
4. Изучение наличия функциональных генов аэробной и анаэробной деструкции штаммов показало, что с наибольшей частотой в изолятах встречались гены аэробной деструкции углеводородов *alkBB* и гены *bssA*, ответственные за анаэробную деструкцию ароматических

углеводородов. Показано, что наибольшее количество штаммов с *alkBB* встречались в газогидратном районе.

5. Степень биодegradации углеводородов у штаммов, выделенных из донных отложений в районе, где газогидраты обнаружены не были, выше, чем у штаммов, выделенных в газогидратном районе. Наибольшие различия наблюдаются при утилизации углеводородов с длиной цепи выше C₁₉.

6. 38 штаммов родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Rhodococcus*, *Micrococcus*, *Robertmurraya*, *Peribacillus*, *Promicromonospora* обладали способностью к деградации углеводородов в аэробных и анаэробных условиях. Все исследуемые штаммы родов *Pseudomonas*, *Bacillus* обладали способностью к деградации углеводородов в аэробных и анаэробных условиях. Частота встречаемости штаммов, способных к окислению углеводородов в аэробных и анаэробных условиях, в обоих районах приблизительно одинакова.

7. Анаэробные накопительные культуры сульфатредуцирующих бактерий, в которых зарегистрировано образование сероводорода, получены из проб донных отложений станций, расположенных вдоль континентального склона, отличающихся пониженными концентрациями сульфатов и присутствием биоиндикаторного гена сульфатредукции *dsrB*.

8. Из донных отложений в районе газогидратных залежей выделена культура сульфатредуцирующих бактерий, способная к анаэробной деградации нефти и предварительно отнесенная на основании полифазной таксономии к новому виду рода *Desulfosporosinus*.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в изданиях, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ

1. 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
2. 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
3. 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. Obzhairov, A. Legkodimov // Kazan Golovkinsky Stratigraphic Meeting. – 2019. – P. 203-207 (Web of Science).
4. Obzhairov, 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. Obzhairov, Y.A. Telegin, R.B. Shakirov, A.S. Salomatin, A.N. Derkachev, N.S. Syrбу, N.S. Li, A.L. Ponomareva, **A.I. Es'kova** // Russian Journal of Pacific Geology. – 2020. – V. 14, № 6. – P. 591-600 (Scopus, Web of Science).

5. 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.
6. 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
7. **Еськова, А.И.** Особенности распределения индикаторных групп микроорганизмов в донных отложениях Южно-Китайского моря / А.И. Еськова, А.Л. Пономарева, А.А. Легкодимов, В.Ю. Калгин, Р.Б. Шакиров, А.И. Обжиров // Известия Иркутского государственного университета. Серия: Науки о Земле. – 2020. – Т. 33. – С. 33-43.
8. Shakirov, R.B. Integrated geological–geophysical and oceanographic research in the South China sea: cruise 88 of the R/V «Akademik M.A. Lavrentyev» / R.B. Shakirov, A.I. Obzhirov, M.G. Valitov, N.S. Lee, A.A. Legkodimov, V.Y. Kalgin, **A.I. Yeskova**, Z.N. Proshkina, Y.A. Telegin, A.V. Storozhenko, M.V. Ivanov, S.P. Pletnev, Sedin V.T. et al. // Oceanology. – 2021. – V. 61. № 1. – P. 147-149 (Scopus, Web of Science).
9. 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. Syrбу, 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, № 2. – P. 144-154 (Scopus, Web of Science).
10. 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. Syrбу, **A. I. Eskova** // Lithology and mineral resources.– 2021. –V. 56, № 3. – P. 278-292 (Scopus, Web of Science).
11. 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 (Scopus, Web of Science).
12. **Еськова, А.И.** Распределение и характеристика микроорганизмов, участвующих в деструкции углеводов 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

Материалы конференций

13. 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
14. 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.

Харитонов, Р.Б. Шакиров, А.И. Обжиров // Физика геосфер. Сборник научных трудов. – Владивосток. – 2019. – С. 326-332.

15. **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.
16. **Еськова, А.И.** Глубоководные углеводородоокисляющие штаммы *Bacillus kyonggiensis* ROI87 и *Psychrobacter* sp. ROI85, 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.

Монографии

17. **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

18. **Eskova A.I.**, Ryzhmanova Y.V., Ponomareva A.L., Trubitsyn V.E., Shcherbakova V.A. GenBank: JAJDOO010000000 *Desulfosporosinus* sp. strain SRJS8 genome shotgun sequencing project, 2021.

Еськова Алёна Игоревна

**СУЛЬФАТРЕДУЦИРУЮЩИЕ И НЕФТЕОКИСЛЯЮЩИЕ БАКТЕРИИ
ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЙ СЕВЕРНОЙ ЧАСТИ ЯПОНСКОГО МОРЯ**

03.02.03 Микробиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Подписано в печать

Формат 60×90/16. Усл. печ. л. 1. Тираж 120 экз. Заказ
Набор компьютерный.

Отпечатано