

ОТЗЫВ ОФИЦИАЛЬНОГО ОППОНЕНТА
на диссертационную работу Еськовой Алены Игоревны
на тему: «Сульфатредуцирующие и нефтеокисляющие бактерии донных
отложений северной части Японского моря», представленную на
соискание ученой степени кандидата биологических наук
по специальности: 03.02.03. Микробиология

Актуальность темы диссертации

Северная часть Японского моря представляет интерес для исследователей как из-за своего геологического строения, так и как район обнаружения газогидратов, представляющих собой сравнительно новый тип углеводородной залежи, в котором, по оценкам специалистов, сосредоточены большие объемы природного газа. Как любое подводное газо- и нефтепроявление, газогидраты оказывают ключевую роль на формирование донного микробиома, концентрируя в непосредственной близости микроорганизмы, способные к деструкции нефти. Следовательно, исследование таксономической и функциональной структуры культивируемых бактериальных сообществ газогидратного и негазогидратного районов для поиска биоиндикаторов залежей газовых гидратов и лучшего понимания аэробных и анаэробных процессов деструкции углеводородов нефти, происходящих в морских донных отложениях, является актуальным.

Содержание диссертации, ее завершенность.

Представленная диссертационная работа является законченным исследованием, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, глав собственных исследований и обсуждения результатов, выводов и списка использованных литературных источников. Диссертация изложена на 138 страницах, содержит 6 таблиц и иллюстрирована 24 рисунками. Список литературы включает 127 наименований, из них 95 на иностранных языках.

Цель исследования заключалась в изучении разнообразия культивируемых нефтеокисляющих и сульфатредуцирующих микроорганизмов и их физиологических свойств в верхней части восстановленного слоя донных отложений северной части Японского моря газогидратного и негазогидратного районов.

Для достижения цели были сформулированы 5 задач, которые логично вытекают из поставленной цели работы.

Во введении автор аргументировано отмечает актуальность выбранной темы исследования, четко сформулированы цель и задачи, определена научная новизна, теоретическая и практическая значимость, представлены защищаемые положения.

Обзор литературы показывает, что данные, посвященные изучению микробных сообществ морского дна, и, особенно, сульфатредуцирующих микроорганизмов, имеют незавершенный характер и требуют подробного изучения.

В главе «Материалы и методы» автор представляет методические приемы исследований. Достоверность научных положений подтверждается достаточным объемом выполненных исследований и их статистической обработкой. Автором использованы как классические микробиологические и биохимические, так и современные молекулярно-биологические, химические и статистические методы исследований, а также филогенетический анализ.

Глава 3 посвящена распределению функциональных биоиндикаторных генов аэробной и анаэробной биодеградации углеводородов нефти в донных отложениях северной части Японского моря, таксономическому разнообразию, биохимическим и физиологическим свойствам углеводородокисляющих бактерий, а также обнаружению функциональных генов аэробной и анаэробной деградации углеводородов в данных штаммах. Автором показано, что в газогидратном районе гены анаэробной деградации углеводородов (*masD* и *bssA*) встречались чаще, тогда как гены аэробной деградации (*alkBB*) были характерны для обоих районов исследования.

Еськовой А.И. выделено 55 штаммов, из которых 37 - в газогидратном районе (9 родов), и 18 штаммов (8 родов) в негазогидратном районе. В каждом районе были выделены уникальные виды микроорганизмов – в газогидратном: *Rhodococcus*, *Nesterenkonia*, *Promicromonospora*, *Nocardoides*, *Peribacillus*. В негазогидратном – *Brevibacillus*, *Micrococcus*, *Curtobacterium*, *Robertmurraya*. Исследованы их физиологические и биохимические особенности, а также плазмидный спектр. Выявлены гены аэробной и анаэробной деградации углеводородов и их приуроченность к тому или иному району.

Вторая часть третьей главы посвящена углеводородокисляющей активности выделенных бактерий. Показано, что в негазогидратном районе как процент убыли углеводородов, так и степень их деструкции были выше, чем в газогидратном районе. Впервые оценена способность штаммов, отнесенных к родам *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Micrococcus*, *Robertmurraya*, *Peribacillus*, *Promicromonospora*, к деструкции углеводородов нефти в анаэробных условиях. Установлено, что в аэробных и анаэробных условиях деградация линейных углеводородов нефти происходит по-разному.

В четвертой главе представлены результаты по выделению углеводородокисляющих сульфатредуцирующих бактерий из донных отложений северной части Японского моря. Описан новый штамм *Desulfosporosinus* sp. SRJS8 с нефтеокисляющей активностью. Даны его морфологические, биохимические и геносистематические характеристики.

В разделе «Заключение» автор обобщает и анализирует полученные результаты, сопоставляя их с данными литературы последних лет.

Выводы, сделанные автором, полностью соответствуют поставленной цели, задачам и содержанию работы.

Степень обоснованности и достоверности научных положений, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертации.

Научные положения работы, сформулированные в диссертации, базируются на использовании современных методов и достаточного объема исследований, статистически обработанных данных, которые позволяют научно обосновать заключение и выводы, которые соответствуют поставленной цели и отражают решение поставленных задач.

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на научных конференциях различного уровня. По теме диссертации опубликовано 17 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. Проведенные диссидентом исследования были поддержаны грантом РФФИ, проектом, входящим в Десятилетие Наук об Океане под названием «Geosystems and mineral resources in the transition «Continent-Ocean», в рамках программы академической мобильности «Всероссийский конкурс молодежных проектов стратегии социально-экономического развития «России – 2035».

Новизна исследования, значимость для науки и практики полученных автором результатов.

Теоретическая проработка проблемы, отраженная в литературном обзоре, а также применение комплексных современных аналитических и статистических методов, позволили автору получить результаты, обладающие научной новизной, которая заключается в выявлении приуроченности представителей семейства *Nocardiaceae* филума *Actinobacteria* к районам обнаружения газогидратов. Автором впервые проведено сравнение культивируемой нефтеокисляющей микробиоты в донных отложениях в зависимости от присутствия газогидратов.

Автором впервые показана способность окислять углеводороды нефти как в аэробных, так и в анаэробных условиях для 38 выделенных бактерий родов *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Micrococcus*, *Robertmurraya*,

Peribacillus, *Promicromonospora*. А также создана коллекция штаммов, способных к биодеградации нефти, выделенных из аномальных газовых полей в донных отложениях северной части Японского моря.

Из донных отложений северной части Японского моря выделен новый вид сульфатредуцирующих бактерий рода *Desulfosporosinus*. Впервые установлена его способность к деградации углеводородов.

К важным результатам можно отнести то, что представители семейств *Nocardiaceae* и *Nocardoidaceae* могут выступать в роли биоиндикаторов газогидратных месторождений. Особо хочется отметить использование выделенных культур *Robertmurraya (Bacillus) kyonggiensis* и *Psychrobacter piscatorii* в биоремедиационных мероприятиях по утилизации нефтесодержащих отходов ООО Гидротехнологии Сибири.

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».

Автореферат диссертации составлен в соответствии с требованиями ГОСТ Р7.0.11-2011. Содержание автореферата достаточно полно раскрывает сущность проблемы и отражает основные положения диссертации.

Принципиальных замечаний по диссертационной работе нет. Однако, по прочтении диссертации возникли следующие **вопросы**:

1. Как вам кажется, причины в различном потреблении карбоновых кислот заключаются в адаптации микроорганизмов к субстрату или таксономическом разнообразии.
2. В выводах к главе 3.2.1 говорится о том, что штаммы, выделенные из газогидратного района, обладали меньшей способностью к утилизации углеводных источников, чем штаммы негазогидратного района. А в тексте говорится об использовании карбоновых кислот. Что правильно? Ведь карбоновые кислоты не являются углеводами.

3. Таблица 3 в главе 3.3. и аналогичная ей таблица 2 в автореферате.

Поясните, пожалуйста, в каких единицах оценивалась степень деструкции насыщенных углеводородов и данные последнего столбика. И как из этой таблицы можно сделать вывод, что «Штаммы, выделенные в газогидратном районе, использовали углеводороды от С12 до С17 и практически не были способны к биодеградации углеводородов с длиной цепи С20 - С21.»

4. Не могли бы Вы предположить, что является триггером переключения к окислению углеводородов в аэробных и анаэробных условиях.

5. Чисто технический вопрос – элементный состав нефти и условия ее стерилизации. Насколько происходит термическое разложение нефти при стерилизации?

Замечания: 1. Хотелось бы увидеть более подробный состав газогидратов. Особенno количество кислорода, процент нефти или предельных углеводородов, и сравнение его с составом негазогидратного района.

2. Если Вы говорите, что в нефти наиболее полно используется нонан, то желательно было бы сделать эксперимент по использованию нонана в качестве единственного источника углерода.

3. К числу общих замечаний можно отнести следующее – много никак не обсужденной информации. В частности, не обсуждены вопросы, связанные с наличием плазмид, липидного профиля. С чем может быть связано то или иное количество плазмид, или содержание, например, предельных жирных кислот.

Заключение. Диссертационная работа Еськовой Алены Игоревны на тему: «Сульфатредуцирующие и нефтеокисляющие бактерии донных отложений северной части Японского моря», представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.03. - Микробиология, является законченной научной квалификационной работой,

в которой содержится теоретическое обоснование и решение научной задачи по выявлению разнообразия сульфаредуцирующих и нефтеокисляющих бактерий донных отложений северной части Японского моря, имеющей важное значение для развития микробиологии.

По своей актуальности, новизне, теоретической и практической значимости представленная работа полностью соответствует п.9 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства РФ от 24 сентября 2013г. № 842, предъявляемым ВАК Минобразования и науки РФ к кандидатским диссертациям, а ее автор заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата биологических наук по специальности: 03.02.03. - Микробиология.

Официальный оппонент:

Беловежец Людмила Александровна, доктор биологических наук (03.02.08 - экология), ведущий научный сотрудник лаборатории экологической биотехнологии Федерального государственного бюджетного учреждения науки Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского Сибирского отделения Российской академии наук, ИрИХ СО РАН

664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1,

телефон: (3952) 51-14-31, факс: (3952) 41-93-46

E-mail: irk_inst_chem@irioch.irk.ru

Сайт: <https://irkinstchem.ru/>

Подпись Беловежец Л.А. заверяю

Ученый секретарь ИрИХ СО РАН

к.х.н.:

«17» марта 2022 г.

Т.Н. Комарова

