



ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ
ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ»
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

119071, Москва, Ленинский пр-т, д. 33, стр. 2
Тел. +7 (495) 954-52-83, факс (495) 954-27-32
www.fbras.ru, info@fbras.ru

30 СЕН 2024

№ 85-01-19/682

На №

от

УТВЕРЖДАЮ:

Директор
ФИЦ Биотехнологии РАН
доктор биологических наук

А.Н. Федоров

2024 г.



Заключение

Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» на диссертационную работу Ершова А.П. «Разнообразие микробных сообществ нефтяных пластов и способы подавления сульфидогенов»

Диссертационная работа «Разнообразие микробных сообществ нефтяных пластов и способы подавления сульфидогенов» была выполнена в лаборатории нефтяной микробиологии Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Ершов Алексей Павлович, 1996 года рождения, в 2019 году окончил с отличием Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова по специальности «Биология». С 2019 г. по 2023 г. Ершов Алексей Павлович обучался в очной аспирантуре Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук». С 2019 г. по настоящее время Ершов А.П. работает в Институте микробиологии им. С.Н. Виноградского в должности научного сотрудника.

Справка о сдаче кандидатских экзаменов выдана 30 сентября 2024 г. в Федеральном государственном учреждении «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Тема диссертационной работы утверждена на заседании Ученого

совета Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (протокол № 2 от 11.04.2024).

Научный руководитель: Назина Тамара Николаевна, доктор биологических наук, зав. лабораторией нефтяной микробиологии Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

Подготовленная диссертационная работа Ершова А.П. была представлена 27 сентября 2024 г. на заседании совместного семинара лаборатории нефтяной микробиологии, лаборатории микробиологии и биогеохимии водоемов и лаборатории разнообразия и экологии экстремофильных микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук».

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Актуальность темы работы

Метаболическая активность анаэробных микробных сообществ нефтяных пластов значительно возрастает при использовании технологии заводнения, применение которой приводит к повышению давления и концентрации растворенного кислорода в нефтяном пласте. При наличии сульфатов в пластовой воде главным терминальным процессом биодegradации нефти является сульфидогенез. В результате этого процесса снижается качество добываемой нефти и увеличиваются риски коррозии нефтепромыслового оборудования. Активность сульфидогенов необходимо учитывать при выборе пластов для применения микробиологических методов увеличения нефтеотдачи, основанных на внесении окислителей и биогенных элементов, стимулирующих рост пластовых микроорганизмов, которые образуют нефтевытесняющие метаболиты – алифатические спирты, карбоновые кислоты, биосурфактанты, экзополисахариды. При использовании заводнения активируются все функциональные группы микробиоты пласта, включая сульфидогенных бактерий. Широко применяемым способом подавления роста сульфатовосстанавливающих бактерий является нагнетание в пласт биоцидов и/или нитратов.

Остается актуальным поиск способов активации продуцентов нефтевытесняющих метаболитов при одновременном подавлении роста сульфидогенных бактерий. Нефтяные месторождения России и Казахстана эксплуатируются с применением технологии заводнения в течение длительного времени, а запасы нефти в них во многом залегают в пластах с

высокой соленостью пластовой воды. Стоит острая необходимость в разработке микробиологических методов увеличения нефтеизвлечения для пластов с высокоминерализованной пластовой водой. Выбор таких методов возможен только после тщательного анализа физико-химических условий пласта и структуры его микробного сообщества, что и обуславливает актуальность диссертационного исследования.

Конкретное участие автора в получении научных результатов

Соискатель лично анализировал литературные источники по теме работы, планировал и проводил эксперименты, обрабатывал и обобщал результаты исследований, а также писал научные работы, подавал тезисы на научные конференции и представлял на них свою работу.

Степень обоснованности научных положений, рекомендаций и выводов, полученных соискателем

В диссертационной работе был использован комплекс современных микробиологических, молекулярно-биологических, статистических и аналитических методов, которые были выбраны адекватно поставленным в работе задачам. Достоверность результатов подтверждена их публикацией в рецензируемых научных журналах.

Научная новизна работы

Состав микробных сообществ нефтяных пластов России и Казахстана с пластовой водой высокой минерализации и различающимися экологическими характеристиками сравнивали с использованием высокопроизводительного секвенирования генов 16S рРНК и генов диссимиляционной сульфитредуктазы DsrAB для оценки потенциальной активности микроорганизмов и их участия в биогеохимических циклах одноуглеродных соединений, серы и азота. Впервые в работе сравнивали устойчивость свободноплавающих форм микроорганизмов нефтяных пластов и биопленок к воздействию разных биоцидов – глутаральдегида, коммерческого биоцида на основе четвертичных солей аммония и раствора нитратов. Выделено в чистую культуру 16 штаммов углеводородокисляющих бактерий из нефтяных пластов, часть из которых были галотолерантными и/или денитрифицирующими, а также описаны их фенотипические характеристики. Проведено полногеномное секвенирование штамма *Ensifer oleiphilus* HO-A22^T и галотолерантных штаммов *Halomonas titanicae* TAT1 и *Marinobacter lutaoensis* KAZ22. Подтверждены результаты культуральных экспериментов с этими штаммами, а в их геномах выявлены детерминанты окисления алканов и метаболизма осмопротекторов, которые создают биотехнологический потенциал применения этих штаммов. Новый вид бактерий *Ensifer oleiphilus* sp. nov., потребляющий углеводороды нефти и синтезирующий

нефтевытесняющие метаболиты, описан в соответствии с принципами полифазной таксономии и валидирован в IJSEM.

Практическая значимость работы

Оценка воздействия биоцидов на рост свободноплавающих клеток и биопленок сульфидогенных бактерий продемонстрировала необходимость скорректировать применяемые концентрации коммерческих биоцидов на нефтяных месторождениях, так как образующие биопленки бактерии проявляли к ним большую резистентность. Штаммы бактерий *M. luteoensis* KAZ22, *R. erythropolis* HO-KS22 и *G. amicalis* HO-A13, которые были способны активно расти на сырой нефти и выделять биосурфактанты, были выделены в чистые культуры и фенотипически охарактеризованы. Штамм HO-KS22, отнесенный к роду *Rhodococcus*, защищен патентом РФ как перспективный продуцент поверхностно-активных веществ, который может быть применен в биотехнологиях биоремедиации местообитаний, подвергнутых загрязнению нефтью, и для увеличения нефтеизвлечения наряду с очисткой применяемого оборудования от нефтяных загрязнений.

Специальность, которой соответствует диссертация

Диссертационная работа Ершова А.П. соответствует п. 1 «Систематика и филогения микроорганизмов», п. 5 «Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов», п. 8 «Микробная экология и биогеохимия», п. 9 «Биосферная микробиология, в том числе почвенная микробиология, микробиология водных экосистем, подземной биосферы, горных пород, атмосферы» и п. 11 «Геномный и метагеномный анализ микроорганизмов и их сообществ» паспорта специальности 1.5.11 «Микробиология», отрасль науки – Биологические науки.

Полнота изложения материалов диссертации в работах, опубликованных соискателем научной степени

Соискатель имеет 17 печатных работ по теме диссертации, из которых 8 экспериментальных статей в изданиях, входящих в международные системы научного цитирования Scopus и Web of Science, а также 1 патент, что соответствует требованиям п. 13 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Постановлением Правительства РФ № 842 от 24.09.2013 (с изменениями и дополнениями в редакции № 1539 от 11.09.2021), предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук.

Результаты исследований были доложены соискателем в виде устных и стендовых докладов на всероссийских и международных конференциях.

Наиболее значимые работы, опубликованные по теме:

1. Назина Т.Н., Соколова Д.Ш., Бабич Т.Л., Семёнова Е.М., **Ершов А.П.**, Биджиева С.Х., Борзенков И.А., Полтараус А.Б., Хисаметдинов М.Р., Турова Т.П. Микроорганизмы низкотемпературных месторождений тяжелой нефти (Россия) и возможность их применения для вытеснения нефти // *Микробиология*. – 2017. – Т. 86 (6). – С. 748–761. doi: 10.7868/S002636561706012X.

2. Nazina T., Sokolova D., Grouzdev D., Semenova E., Babich T., Bidzhieva S., Serdukov D., Volkov D., Bugaev K., **Ershov A.**, Khisametdinov M., Borzenkov I. The potential application of microorganisms for sustainable petroleum recovery from heavy oil reservoirs // *Sustainability*. – 2020. – Vol. 12 (1). – 15. doi: 10.3390/su12010015.

3. Семенова Е.М., **Ершов А.П.**, Соколова Д.Ш., Турова Т.П., Назина Т.Н. Разнообразие и биотехнологический потенциал нитратредуцирующих бактерий из месторождений тяжелой нефти (Россия) // *Микробиология*. – 2020. – Т. 89 (6). – С. 675–687. doi: 10.31857/S0026365620060166.

4. Соколова Д.Ш., Семенова Е.М., Груздев Д.С., **Ершов А.П.**, Биджиева С.Х., Иванова А.Е., Бабич Т.Л., Сисенбаева М.Р., Бисенова М.А., Назина Т.Н. Микробное разнообразие и потенциальные продуценты сероводорода в нефтяном месторождении Каражанбас (Казахстан) // *Микробиология*. – 2020. – Т. 89 (4). – С. 462–473. doi: 10.31857/S002636562004014X.

5. Sokolova D.S., Semenova E.M., Grouzdev D.S., Bidzhieva S.K., Babich T.L., Loiko N.G., **Ershov A.P.**, Kadnikov V.V., Beletsky A.V., Mardanov A.V., Zhaparov N.S., Nazina T.N. Sulfidogenic microbial communities of the Uzen high-temperature oil field in Kazakhstan // *Microorganisms*. – 2021. – Vol. 9 (9). – 1818. doi: 10.3390/microorganisms9091818.

6. Турова Т.П., Соколова Д.Ш., Семенова Е.М., **Ершов А.П.**, Груздев Д.С., Назина Т.Н. Геномные и физиологические характеристики галофильных бактерий родов *Halomonas* и *Marinobacter* из нефтяных пластов // *Микробиология*. – 2022. – Т. 91 (3). – С. 285–299. doi: 10.31857/S0026365622300036.

7. **Ershov A.P.**, Babich T.L., Grouzdev D.S., Sokolova D.S., Semenova E.M., Avtukh A.N., Poltaraus A.B., Ianutsevich E.A., Nazina T.N. Genome analysis and potential ecological functions of members of the genus *Ensifer* from subsurface environments and description of *Ensifer oleiphilus* sp. nov. // *Microorganisms*. – 2023. – Vol. 11 (9). – 2314. doi: 10.3390/microorganisms11092314.

8. Kadnikov V.V., Ravin N.V., Sokolova D.S., Semenova E.M., Bidzhieva S.K., Beletsky A.V., **Ershov A.P.**, Babich T.L., Khisametdinov M.R., Mardanov A.V., Nazina T.N. Metagenomic and culture-based analyses of microbial communities from petroleum reservoirs with high-salinity formation water, and their biotechnological potential // *Biology*. – 2023. – Vol. 12 (10). – 1300. doi: 10.3390/biology12101300.

9. Борзенков И.А., Семенова Е.М., Соколова Д.Ш., Бабич Т.Л.,

Ершов А.П., Биджиева С.Х., Назина Т.Н. Штамм *Rhodococcus erythropolis* HO-KS22, обладающий высокой уреазной активностью, способный к генерации в нефтяном пласте нефтевытесняющего агента (биоПАВ). RU № 2717025 C1. Заявка № 2019114124 от 08.05.2019. Опубликовано: 17.03.2020.


Считать диссертационную работу Ершова Алексея Павловича «Разнообразие микробных сообществ нефтяных пластов и способы подавления сульфидогенов» законченным научно-квалификационным исследованием, которое соответствует пп. 9–14 «Положения о присуждении ученых степеней», утвержденного Правительством РФ от 24.09.2013 г. № 842 (с изменениями и дополнениями в редакции № 1539 от 11.09.2021). Работа отвечает требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, и может быть представлена к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11 Микробиология.

Заключение по диссертации Ершова А.П. «Разнообразие микробных сообществ нефтяных пластов и способы подавления сульфидогенов» принято на совместном научном семинаре лаборатории нефтяной микробиологии, лаборатории микробиологии и биогеохимии водоемов и лаборатории разнообразия и экологии экстремофильных микроорганизмов Института микробиологии им. С.Н. Виноградского Федерального государственного учреждения «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» путем открытого голосования. Результаты голосования: «за» – 19 человек, «против» – нет, «воздержалось» – нет. Протокол № 4 от 27 сентября 2024 г.

Председатель семинара

зав. лабораторией микробиологии и биогеохимии водоемов

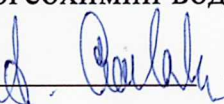
д.б.н.

 / Саввичев А.С. /

Рецензент

зав. лабораторией микробиологии и биогеохимии водоемов


д.б.н.

 / Саввичев А.С. /

Рецензент

зав. лабораторией разнообразия и экологии экстремофильных микроорганизмов

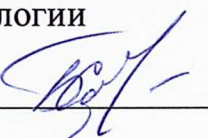
д.б.н.

 / Слободкин А.И. /

Секретарь

н.с. лаборатории нефтяной микробиологии

к.б.н.

 / Биджиева С.Х. /