

УТВЕРЖДАЮ

И.о. проректора по научной и инновационной
деятельности Национального исследовательского
Томского государственного университета,
доктор физико-математических наук, профессор



Ворожцов Александр Борисович

«09» декабря 2024 г.

ОТЗЫВ

ведущей организации на диссертацию Ершова Алексея Павловича
«Разнообразии микробных сообществ нефтяных пластов и способы
подавления сульфидогенов», представленной на соискание ученой степени
кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология

Диссертационная работа А. П. Ершова посвящена изучению разнообразия прокариот нефтяных пластов и разработке биотехнологических подходов к ингибированию сульфидогенов в этих биотопах. Микроорганизмы, обитающие в нефтяных пластах и ассоциированных с ними биотопах, относятся к так называемой «подземной биосфере», остающейся малоизученной по сравнению с наземными сообществами в силу трудностей с отбором проб для исследования. В то же время, прикладное значение подобных исследований велико, так как связано с повышением эффективности добычи нефти и газа. С этой точки зрения, диссертационная работа, посвященная изучению биоразнообразия, получению культур подземных бактерий и созданию теоретических основ ингибирования сульфидогенеза и повышения нефтеотдачи имеет большое значение.

Диссертационная работа А. П. Ершова традиционно включает: (1) введение, в котором автор формулирует актуальность работы, цель и задачи исследования, научную новизну и значимость работы, ее практическое значение, положения, выносимые на защиту; (2) обзор литературы; (3) описание материалов и методов исследования. Изложение результатов совмещено с их обсуждением в четырех последующих главах. Необходимо отметить, что нумерация глав в оглавлении диссертации нарушена, а в автореферате вообще отсутствует.

Литературный обзор представляет обширный анализ современной научной литературы в области микроорганизмов нефтяных пластов и их использования в биотехнологиях и соответственно разделен на две главы: «Микробные сообщества, обитающие в нефтяных пластах» и «Применение микробных биотехнологий в нефтедобывающей промышленности». В целом анализ литературы написан четко и логично и свидетельствует о научной

зрелости исследователя. Этот раздел может послужить хорошим пособием для изучающих экологию микроорганизмов и микробную биотехнологию, например студентов биологических специальностей университетов. Принимая во внимание, недавнюю многочисленную переклассификацию таксонов *Bacteria*, очень хорошо, что автор указывает как новые, так и старые таксономические названия. Также на высокий уровень анализа литературных данных указывает компиляция в таблицы известных биотехнология ингибирования сульфидогенов в нефтяных пластах и типы воздействия микроорганизмов при повышении нефтеотдачи. В качестве замечания надо отметить, что автор иногда пропускает необходимое цитирование работ, результаты которых обсуждает. Например, в разделе 1.2.3, страница 24 отсутствует, очевидно, необходимое цитирование после предложения «Для ряда сульфатвосстанавливающих бактерий показан высокий уровень...». Также отсутствуют необходимые ссылки в разделах 1.2, страница 16 «Наиболее детально изучены ...», 1.2.2, страница 23 «...ингибирует альфа-субъединицу диссимиляционной сульфитредуктазы *DsrA*». В заключении по обзору литературы можно было не только коротко сформулировать основные положения литературного обзора, но и подчеркнуть вопросы, остающиеся открытыми.

В Главе 3 экспериментальной части, посвященной материалам и методам исследований, автор описывает объекты исследования, пробы пластовой и нагнетаемой воды нефтяных месторождений Республики Татарстан и Республики Казахстан; условия культивирования микроорганизмов; методы фенотипического анализа; молекулярно-биологические методы определения последовательностей генов 16S рНК, *dsrA* и *dsrB*, профилирование по гену 16S рНК высокопроизводительным секвенированием, полногеномное секвенирование; биоинформатический анализ и аналитические методы. Следовало привести ссылку на метод определения каталазной активности (страница 39).

В диссертационной работе описание полученных результатов совмещено с их обсуждением в контексте имеющихся литературных данных. Глава 4 посвящена описанию результатов изучения биоразнообразия культивируемых и некультивируемых прокариот в нефтяных пластах месторождений России и Казахстана. Хочется отметить продуманное графическое представление полученных результатов по численности культивируемых микроорганизмов и анализу микробных сообществ на уровне классов путем высокопроизводительного секвенирования. Результаты проведенной корреляционного анализа и кластеризации некультивируемых прокариот в зависимости от физико-химических параметров биотопа также представлены четко, лаконично и доступно для широкого круга исследователей. В 5-й главе автор представляет комплексную оценку результатов нагнетания морской воды в месторождении Узень на состав микробного сообщества. Разнообразие сообщества прокариот было оценено путем профилирования по гену 16S рНК, а также амплификацией и высокопроизводительным секвенированием функциональных генов на

сульфатредукцию *dsrA* и *dsrB*. Важным выводом является обнаружение факта стимуляции аборигенного термофильного сообщества нефтяного пласта в результате заводнения. Хотелось подчеркнуть хорошее графическое изображение легко читаемой тепловой карты распределения доминирующих родов прокариот.

Описание результатов по изучению влияния биоцидов и нитрата на образование сульфида микробными сообществами месторождения Узень вынесено в Главу 6. Эта серия экспериментов была проведена по заказу нефтедобывающих компаний и ее результаты были использованы на практике для корректировки технологий внесения биоцидов для предотвращения коррозии оборудования. Рисунок 11 позволил бы получить более целостную сравнительную характеристику читателю, если бы на всех вариантах круговых диаграмм автор сохранил один и тот же цвет для обозначения родов бактерий. Например, *Desulfovibrio* – во всех вариантах синий. Также необходимо отметить практически полное отсутствие сравнения действия биоцидов с известными литературными данными и отсутствие ссылки на странице 65 после предложения: «Эти результаты ярко подтверждают литературные данные ...».

Главы 7 и 8 посвящены исследованию чистых культур аэробных органотрофных бактерий, выделенных автором из нефтяных месторождений. Один из штаммов углеводородокисляющих бактерий описан как новый вид *Ensifer oleiphilus* sp. nov. Заявление о том, что штамм «имел низкий уровень сходства гена 16S рНК с геном филогенетически близкого вида *Ensifer morelensis* (99,0%)» является ошибочным. Порог разграничения видов одного рода составляет 98.5% сходства гена 16S рНК. Поэтому сходство в 99% можно охарактеризовать как высокое. Или надо сделать дать пояснение, что для рода *Ensifer* этот порог не работает, как известно и для некоторых других родов. Этот факт не противоречит описанию штамма как нового вида, так как дальнейшее филогеномное исследование показало, что штамм действительно является новым видом.

В целом диссертация Ершова А.П. представляет актуальное исследованное, оформленное в логичной манере зрелым исследователем, глубоко понимающим изучаемую проблему и изложенную максимально доступным для широкого круга микробиологов языком. Большинство сделанных замечаний имеет технический характер. Если бы не технические неточности, и несколько сжатое обсуждение полученных результатов, диссертация могла бы служить хорошим образцом «как надо писать кандидатскую диссертацию». Выводы диссертации соответствуют поставленным задачам исследования. Автореферат и публикации полностью отражают содержание диссертации.

Заключение

Диссертация Ершова Алексея Павловича «Разнообразие микробных сообществ нефтяных пластов и способы подавления сульфидогенов» является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение важной для микробиологии задачи, а именно, выявление роли микрофлоры нефтяных пластов.

По актуальности, объему выполненных работ, научной новизне, теоретической и практической значимости, уровню обсуждения результатов и полученных выводов работа отвечает требованиям п. 9–11, 13, 14 «Положения о порядке присуждения ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 (в редакции постановления от 25.01.2024), а её автор, Ершов Алексей Павлович, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Диссертационная работа Ершова А.П. «Разнообразие микробных сообществ нефтяных пластов и способы подавления сульфидогенов» заслушана и обсуждена на заседании кафедры физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (протокол № 74 от 06.12.2024).

Заведующий кафедрой физиологии растений,
биотехнологии и биоинформатики
Национального исследовательского
Томского государственного университета,
доктор биологических наук
(03.00.07 – Микробиология),
профессор



Карначук Ольга Викторовна
olga.karnachuk@green.tsu.ru

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования «Национальный
исследовательский Томский государственный университет»,
634050, г. Томск, пр. Ленина, 36;
(3822) 52-98-52; rector@tsu.ru; www.tsu.ru

Подпись Карначук О.В.

уточнение

Начальник ОК
А.А. АРТЮХОВ



09.12.2024