

УТВЕРЖДАЮ

И.о. проректора по научной и инновационной
деятельности Национального исследовательского
Томского государственного университета,
канд.геол.-минерал. наук



Краснова Татьяна Семеновна

«13» марта 2023 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

федерального государственного автономного образовательного учреждения

высшего образования

«Национальный исследовательский Томский государственный университет»

Диссертация «Выделение новых сульфидогенов из подземных водоносных горизонтов» по специальности 1.5.11. Микробиология выполнена на кафедре физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет».

Соискатель Лукина Анастасия Петровна, 1993 года рождения, в 2015 г. окончила бакалавриат по направлению подготовки 020400 «Биология»; в 2017 г. окончила магистратуру с отличием по направлению 06.04.01 «Биология» федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет».

С 01 сентября 2017 года по 31 августа 2021 года очно обучалась по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки в аспирантуре федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», по окончании была присвоена квалификация «Исследователь. Преподаватель исследователь».

Основное место работы – федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», научно-исследовательская лаборатория биохимии и молекулярной биологии, младший научный сотрудник; по совместительству – ассистент кафедры физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики.

Сведения о сдаче кандидатских экзаменов по истории и философии науки и иностранному языку приведены в приложении к диплому об окончании аспирантуры федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» по направлению подготовки 06.06.01 Биологические науки.

Справка о сдаче кандидатского экзамена по специальности «Микробиология» выдана в 2022 году федеральным государственным учреждением «Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук» (ФИЦ Биотехнологии РАН).

По итогам обсуждения принято следующее заключение:

Оценка выполненной соискателем работы

Диссертация А.П. Лукиной является научно-квалификационной работой, в которой содержится решение научной задачи, связанной с выделением и изучением новых термофильных сульфидогенов из подземных водоносных горизонтов, имеющей значение для развития микробиологии.

Актуальность темы и направленность исследования

Глубинные экосистемы суши (нефтяные и газовые месторождения, глубинные водоносные горизонты) представляют собой экстремальные экосистемы, которые характеризуются огромным давлением, высокими температурами, повышенной минерализацией. Микроорганизмы глубинных местообитаний обладают уникальными биохимическими свойствами и метаболическими путями; производят ферменты, которые можно использовать в биоремедиации, для повышения нефтеотдачи и развития других биотехнологий. Интерес к микроорганизмам глубинных экосистем объясняется и тем, что многие прокариоты, обитающие в глубинных экосистемах, являются представителями эволюционно древних ветвей). В связи с этим, исследование А.П. Лукиной, посвященное поиску и выделению микроорганизмов из глубинных подземных горизонтов, является актуальным.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с направлением научных исследований кафедры физиологии растений и биотехнологии Национального исследовательского Томского государственного университета.

Результаты исследования получены в том числе в рамках следующих научных проектов:

- проект № 14-14-00427 «Биогенные сульфиды металлов: геномика и механизмы образования», выполненный при поддержке Российского научного фонда (2014–2016 гг., руководитель – О.В. Карначук, в числе исполнителей – А.П. Лукина);

- проект № 18-14-00130 «Выделение, культивирование и характеристика новых ранее некультивированных экстремофильных микроорганизмов из экосистем Сибири», выполненный при поддержке Российского научного фонда (2018–2020 гг., руководитель – О.В. Карначук, в числе исполнителей – А.П. Лукина)

- проект 18-34-00322 мол_а «Выделение и изучение новых Firmicutes из микробных матов, ассоциированных с местами разгрузки термальных вод из глубинных водоносных горизонтов», выполняемый при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (2018–2020 гг., руководитель – А.П. Лукина)

- проект № 18-04-00181 «Геохимическая активность сульфатредуцирующих прокариот в глубинных подземных водоносных горизонтах», выполняемый при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (2018–2020 гг., руководитель – Ю.А. Франк, в числе исполнителей – А.П. Лукина);

Утверждение темы диссертации, назначение научного руководителя

Тема утверждена постановлением ученого совета Института биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства 17 октября 2017 года, протокол № 9;

изменена решением ученого совета Института биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства от 16 июня 2022 года, протокол № 5.

Научный руководитель – Карначук Ольга Викторовна, доктор биологических наук, профессор, основное место работы: федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», кафедра физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики, заведующая кафедрой; назначена приказом от 09.03.23 №217/ОД.

Личное участие автора в получении результатов, изложенных в диссертации

Автор принимал непосредственное участие на всех этапах работы, включая: отбор проб, выделение и культивирование микроорганизмов из подземных экосистем, планирование и постановку экспериментов, статистическую обработку данных, анализ и оформление результатов, аprobацию основных положений на различных конференциях и написание статей.

Степень достоверности результатов проведенного исследования

Все полученные результаты являются оригинальными, их достоверность основывается на использовании апробированных традиционных и современных подходов и методов исследования, комплексного подхода к решению задач, корректном применении статистических и биоинформационных методов, анализом литературных данных, анализом полученных результатов. Степень достоверности также подтверждается опубликованными по теме работы статьями в ведущих рецензируемых отечественных и зарубежных научных журналах.

Новизна результатов проведенного исследования

1. В результате исследования выделены и охарактеризованы новые штаммы термофильных микроорганизмов из глубинных водоносных горизонтов, вскрываемых нефтепоисковыми скважинами Сибири.

2. Впервые получена чистая культура ранее некультивируемого '*Candidatus Desulforudis audaxviator*'. Оптимизированы условия и разработана среда для его культивирования.

3. С применением геномного и метагеномного подхода из воды подземного водоносного горизонта выделены чистые культуры новых штаммов термофильных спирохет, описанных нами как новый вид '*Longineta margulisiae*' sp. nov., новый род '*Longineta*' gen. nov. и новое семейство '*Longinemataceae*' fam. nov.

4. Впервые показано что, микробные обрастания, образующиеся на устьях глубинных скважин, могут быть эффективно использованы для выделения чистых культур спорообразующих прокариот из подземной биосфера. Из микробных обрастаний, выделен представитель рода *Thermoanaerosceptrum*, филогенетически удаленный от таксономически описанных представителей *Firmicutes*. Впервые показана способность к диссимилиационной сульфатредукции у рода *Thermoanaerosceptrum*.

Теоретическая и практическая значимость диссертации и использование полученных результатов

Разработанные новые подходы к культивированию и выделению в чистую культуру, включая использование микробных обрастаний, развивающихся на устье глубинных скважин, могут быть использованы для выделения бактерий из глубинных подземных водоносных горизонтов. Применены геномный и метагеномный подходы для культивирования и выделения в чистую культуру миорных компонентов микробного сообщества подземных водоносных горизонтов. Показана возможность разработки, оптимизации среды и условий культивирования для термофильных бактерий глубинных водоносных горизонтов на основе геномных данных. Термофильные микроорганизмы глубинных водоносных горизонтов обладают уникальными биохимическими свойствами и метаболическими путями; продуцируют ферменты, которые можно использовать в биотехнологии.

Ценность научных работ соискателя, полнота изложения материалов диссертации в опубликованных работах

По теме диссертации А.П. Лукиной опубликовано 17 работ, в том числе 6 статей в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (из них 3 статьи в зарубежных научных журналах, входящих в Scopus, 3 статьи в российском научном журнале, переводная версия которого входит в Scopus), 11 публикаций в сборниках материалов международных и всероссийских (в том числе с международным участием) научных и научно-практической конференций.

Статьи в журналах Перечня ВАК РФ и международных цитатно-аналитических баз:

1. **Лукина А.П.**, Карначук О.В. Новая среда для культивирования ‘*Desulforudis audaxviator*’ // Микробиология. – 2021. – Т. 90. – № 3. – С. 367-371. – DOI:10.31857/S0026365621030101.

в переводной версии журнала, входящей в Scopus:

Lukina A.P., Karnachuk O.V. A novel medium for cultivation of “*Desulforudis audaxviator*” // Microbiology (Mikrobiologiya). – 2021. – Vol. 90. – № 3. – P. 401–404. – DOI: 10.1134/S0026261721030073.

2. Karnachuk O.V., **Lukina A.P.**, Kadnikov V.V., Sherbakova V.A., Beletsky A.V., Mardanov A.V., Ravin N.V. Targeted isolation based on metagenome-assembled genomes reveals a phylogenetically distinct group of thermophilic spirochetes from deep biosphere // Environmental Microbiology. – 2020. – Vol. 23(7). – P. 3585-3598. – DOI:10.1111/1462-2920.15218.

3. **Лукина А.П.**, Авакян М.Р., Данилова Э.В., Карначук О.В. Использование микробных обрастаний для выделения спорообразующих прокариот из подземной биосферы // Микробиология. – 2020. – Т. 89. – № 6. – С. 748-752. – DOI:10.31857/S0026365620060129.

в переводной версии журнала, входящей в Scopus:

Lukina A.P., Avakyan M.R., Karnachuk O.V., Danilova E.V. Application of microbial mats for the isolation of spore-forming prokaryotes from deep biosphere // Microbiology. – 2020. – Vol. 89. – № 6. – P. 789-792.

4. **Лукина А.П.**, Франк Ю.А., Иvasенко Д.А., Глухова Л.Б., Данилова Э.В., Авакян М.Р., Карначук О.В. Выделение новых термофильных сульфидогенов из микробных обрастаний, ассоциированных с местом излива подземных вод в Тункинской долине // Микробиология. – 2019. – Т. 88. – № 5. – С. 642-645. – DOI:10.1134/S0026365619050100.

в переводной версии журнала, входящей в Scopus:

Lukina A.P., Frank Yu.A., Ivasenko D.A., Glukhova L.B., Danilova E.V., Avakyan M.R., Karnachuk O.V. Isolation of new thermophilic sulfidogens from microbial mat associated with groundwater discharge in the Tunkin valley // Microbiology (Mikrobiologiya). – 2019. – Vol. 88. – № 5. – P. 642-645.

5. Karnachuk O., Frank Y., **Lukina A.**, Kadnikov V., Beletsky A., Mardanov A., Ravin N. Domestication of previously uncultivated *Candidatus Desulforudis audaxviator* from a deep aquifer in Siberia sheds light on its physiology and evolution // ISME Journal. – 2019. – V. 13(8). – P. 1947-1959. – DOI:10.1038/s41396-019-0402-3.

6. Frank Y., Kadnikov V., **Lukina A.**, Banks D., Beletsky A., Mardanov A., Sen'kina E., Avakyan M., Karnachuk O., Ravin N. Characterization and genome analysis of the first facultatively alkaliphilic *Thermodesulfobacter* isolated from the deep terrestrial subsurface / Y. Frank, V. Kadnikov, **A. Lukina**, D. Banks, A. Beletsky, A. Mardanov, E. Sen'kina, M. Avakyan, O. Karnachuk, N. Ravin // Front. Microbiol. – 2016. – V. 7 – 2000 – doi.org/10.3389/fmicb.2016.02000.

Публикации в прочих научных изданиях:

1. Франк Ю.А., **Лукина А.П.**, Абрамова А.В., Глухова Л.Б., Карначук О.В. Выделение новой сульфидогенной бактерии из подземных горизонтов западно-сибирского артезианского бассейна // Материалы 2-го Российского Микробиологического Конгресса: 23-27 сентября 2019 г. – Саранск – С. 168-169.

2. **Лукина А.П.**, Гавенко А.А., Анциферов Д.В., Глухова Л.Б., Франк Ю.А., Карначук О.В. Микробные маты, ассоциированные с выходами глубинных термальных вод, как источник для культивирования новых организмов подземной биосфера // Материалы 2-го Российского Микробиологического Конгресса: 23-27 сентября 2019 г. – Саранск – С. 121-122.

3. Frank Y., **Lukina A.**, Kalanda N., Druganov D., Gavenko A., Karnachuk O. Geochemical activity of sulfate-reducing bacteria from a deep aquifer in west Siberia // Extremophiles, book of abstracts: 16-20 September 2018 – Ischia, Italy – P. 38.

4. Климова К.М., Франк Ю.А., **Лукина А.П.**, Сенькина Е.И., Анциферов Д.В., Карначук О.В.. Использование малорастворимого сульфата стронция сульфатредуцирующим микроорганизмом из подземного биосфера // Сборник тезисов XII Молодежной школы-конференции с международным участием: «Актуальные аспекты современной микробиологии». – 9-10 октября 2017 г. – Москва. – С. 54-56.

5. Франк Ю.А., **Лукина А.П.**, Иккерт О.П., Авакян М.Р., Карначук О.В. Образование сульфидов металлов новым термофильным *Thermodesulfobacter* из подземной биосфера // Сборник тезисов X Молодежной школы-конференции с международным участием: «Актуальные аспекты современной микробиологии». – 27-30 октября 2015 г. – Москва. – С. 157-160.

6. **Лукина А.П.**, Франк Ю.А., Иккерт О.П., Карначук О.В. Образование сульфидов железа новыми термофильными *Thermodesulfobacter* из глубинной биосфера // Сборник тезисов Всероссийской молодежной научной конференции с международным

участием: «Биотехнология, биоинформатика и геномика растений и микроорганизмов». – 26-28 апреля 2016 г. – Томск. – С. 54-58.

7. **Лукина А.П.**, Суворина С.С., Сенькина Е.И., Франк Ю.А., Карначук О.В. Физиологические особенности новой термофильной бактерии *Thermodesulfovibrio* sp. N1 из глубинной биосферы // Сборник тезисов Всероссийской молодежной научной конференции с международным участием: «Биотехнология, биоинформатика и геномика растений и микроорганизмов». – 26-28 апреля 2016 г. – Томск. – С. 64-67.

8. Франк Ю.А., Соломина Е.А., Суворина С.С., **Лукина А.П.**, Карначук О.В. Молекулярная детекция бактериофага в культурах микроорганизмов из глубинной подземной экосистемы в Томской области // Сборник тезисов Всероссийской молодежной научной конференции с международным участием: «Биотехнология, биоинформатика и геномика растений и микроорганизмов». – 26-28 апреля 2016 г. – Томск. – С. 79-81.

9. Франк Ю.А., Климова К.М., **Лукина А.П.**, Каланда Н.С., Карначук О.В. Устойчивость к металлам у представителей *Nitrospirae* из глубинной биосферы // Сборник тезисов X Молодежной школы-конференции с международным участием: «Актуальные аспекты современной микробиологии». – 1-2 ноября 2016 г. – Москва. – С. 74-78.

10. Frank Y., Lukina A., Kadnikov V., Banks D., Bukhtiyarova P., Ravin N., Karnachuk O. Sampling of a deep hydrocarbon exploration well in Western Siberia reveals deeply branched bacterial phylotypes // Extremophiles, book of abstracts, 7-11 сентября 2014 г. – Санкт-Петербург – Р. 103.

11. **Лукина А.П.**, Франк Ю.А., Карначук О.В.. Культивирование сульфидогенных микроорганизмов из воды глубинной скважины 1-Р (Верхнекетский район Томской области) // Сборник тезисов Всероссийской молодежной научной конференции с международным участием: «Современная микробиология и биотехнология глазами молодых исследователей». – 2-4 апреля 2014 г. – Томск. – С. 27-29.

Соответствие содержания диссертации избранной специальности

Содержание диссертации соответствует научной специальности 1.5.11. Микробиология по направлениям исследований «Физиология и метаболизм микроорганизмов, в том числе физиология и физико-химические параметры роста микроорганизмов» (п. 5 паспорта специальности), «Биосферная микробиология, в том числе почвенная микробиология, микробиология водных экосистем, подземной биосферы, горных пород, атмосферы» (п. 9 паспорта специальности), «Геномный и метагеномный анализ микроорганизмов и их сообществ» (п. 11 паспорта специальности) и «Экстремофильные микроорганизмы, в том числе термофильные, галофильные, ацидофильные и алкалофильные микроорганизмы» (п. 17 паспорта специальности).

Диссертация «Выделение новых сульфидогенов из подземных водоносных горизонтов» Лукиной Анастасии Петровны рекомендуется к защите на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 1.5.11. Микробиология.

Заключение принято на расширенном заседании кафедры физиологии растений, биотехнологии и биоинформатики и лаборатории биохимии и молекулярной биологии Института биологии, экологии, почвоведения, сельского и лесного хозяйства федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего

образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет».

Присутствовало на заседании 13 – чел. Результаты голосования: «за» – 13 чел., «против» – нет, «воздержалось» – нет, протокол № 63 от 10 марта 2023 г.



Председатель



Секретарь

Головацкая Ирина Феоктистовна,
доктор биологических наук,
кафедра физиологии растений, биотехнологии
и биоинформатики, профессор

Дорофеев Вячеслав Юрьевич,
кандидат биологических наук,
кафедра физиологии растений, биотехнологии
и биоинформатики, доцент