

**ОТЗЫВ официального оппонента
на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических
наук Журавлевой Елены Александровны на тему «Исследование
прямого межвидового переноса электронов между синтрофными
бактериями и метаногенными археями»
по специальностям 1.5.11 «Микробиология» и
1.5.6. «Биотехнология»**

Актуальность темы исследования. Анаэробная конверсия биомассы – биотехнологический процесс, широко используемый для переработки различных органических отходов с одновременным сокращением объемов отходов и производством биометана в качестве возобновляемого источника энергии. Другие преимущества, связанные с данным процессом, включают сокращение выбросов парниковых газов, получение дополнительного дохода для фермеров и снижение рисков загрязнения почвы и воды. Однако, несмотря на обоснованность данного процесса, поддерживать стабильность анаэробных реакторов сложно из-за возможного изменения рН, накопления соединений, подавляющих рост микроорганизмов, и ряда других важных факторов. Поскольку для удовлетворения потребностей растущего населения мира требуется все больше и больше продуктов животного происхождения, воздействие отходов животноводства на окружающую среду и необходимость утилизации навоза становятся все более важными. Анаэробная конверсия биомассы – полезный и эффективный метод преобразования этих отходов в биометан и дигестат. Дигестат в дальнейшем можно использовать в качестве удобрения. Анаэробная конверсия осадка сточных вод также является актуальным направлением в этой области исследования.

Сбалансированное взаимодействие различных анаэробных микроорганизмов в процессе переработки субстрата необходимо для непрерывной трансформации образующихся промежуточных продуктов и, следовательно, для эффективного производства метана. Новые знания о бактериях и метаногенных археях анаэробных реакторов представляют практический интерес для последующего мониторинга процесса анаэробной

конверсии, снижения рисков нарушения технологического процесса и повышения эффективности биогазовых реакторов. Для увеличения производства метана необходимо изучение состава микробного сообщества, взаимодействий внутри него и связи с условиями эксплуатации реакторов. Синтрофные отношения между бактериями и метаногенными археями важны для производства биогаза. Межвидовой перенос электронов через водород или формиат является важным механизмом переноса электронов между синтрофными бактериями, окисляющими летучие жирные кислоты, и метаногенами, продуцирующими метан. Прямой межвидовой перенос электронов отмечен как прорыв в понимании функции метаногенных сообществ и считается альтернативным путем, протекающим через проводящие пили или цитохромы *c*-типа, а также различные проводящие материалы. Скорость такого трансфера от бактерий к метаногенам выше. В связи с этим, диссертационное исследование Журавлёвой Е.А., исследование прямого межвидового переноса электронов между синтрофными бактериями и метаногенными археями, является актуальным.

Степень достоверности результатов исследований, положений и заключения. Диссертационная работа Журавлёвой Е.А. является законченным самостоятельным исследованием, посвященным получению новых знаний в области прямого межвидового переноса электронов между синтрофными бактериями и метаногенными археями. Степень достоверности полученных диссертантом научных результатов подтверждена данными множества экспериментов, методически оправданной постановкой экспериментов, воспроизводимостью экспериментов. Для реализации поставленных задач автор применяет классические и современные методы исследования и анализа данных, а также современное научное оборудование. Все полученные диссертантом Журавлёвой Е.А. результаты позволили достичь поставленных цели и задач и полностью соответствуют научным положениям, выносимым на защиту. Основные положения диссертационной работы и результаты опубликованы в печати и были представлены на

международных и российских конференциях и форумах. По материалам диссертации опубликованы 4 научные статьи в журналах, индексируемых в библиографических базах Scopus и Web of Science. Таким образом, достоверность полученных научных результатов работы, степень обоснованности положений и заключения, сформулированных в диссертации, не вызывают сомнения.

Общая характеристика, структура и оформление диссертации.

Диссертационная работа Журавлёвой Е.А. «Исследование прямого межвидового переноса электронов между синтрофными бактериями и метаногенными археями» оформлена в соответствии с общепринятыми требованиями. Работа изложена на 156 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения результатов исследований, заключения, выводов, списка сокращений, списка литературы, включающего 277 библиографические ссылки. Материал представлен 18 таблицами и 29 рисунками, демонстрирующими научные результаты работы.

«Введение» соответствует общепринятому оформлению диссертационных работ. В разделе «Введение» диссертант обосновывает актуальность изучаемой темы, формулирует цель и задачи работы, характеризует научную новизну, практическую и теоретическую значимость результатов исследования, определяет научные положения, выносимые на защиту, трактует апробации результатов. В разделе «Обзор литературы», изложенном в двух главах, автор дает адекватный анализ современного состояния проблемы в области анаэробной конверсии биомассы, конструкции биогазовых реакторов и исследования прямого межвидового переноса электронов между синтрофными бактериями и метаногенными археями. Раздел «Материалы и методы исследования» содержит подробное описание экспериментального исследования, включая микробиологические, молекулярно-биологические и физико-химические методы исследования. Для обработки результатов исследований автором применены общеизвестные

математические методы статистики. Материалы и методы соответствуют современному уровню исследований, поставленной цели и задачам диссертационной работы. В разделе «Результаты и обсуждение», включающем 3 главы, описаны результаты исследования, раскрывающие суть выполненного диссертационного исследования. Результаты иллюстрированы убедительными данными в таблицах и рисунках. Полученные результаты диссертационного исследования подвергнуты тщательному обсуждению с аргументированной интерпретацией данных современной литературы по рассматриваемой проблеме. Диссертация завершается заключением с конкретными выводами, соответствующими цели и задачам исследования. В целом, рецензируемая диссертация представляет собой завершенную научно-исследовательскую работу и не вызывает принципиальных замечаний.

Автореферат полностью отражает содержание диссертации, в нем изложены актуальность темы, цель, задачи, научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, методология и методы исследования, основные положения, выносимые на защиту, результаты работы, выводы. Автореферат оформлен в соответствии с существующими требованиями.

Научная значимость, теоретическая и практическая ценность исследования. Диссертационная работа посвящена получению новых научных данных в области прямого межвидового переноса электронов между синтрофными бактериями и метаногенами. Так, диссертантом предложены некоторые группы электрогенных микроорганизмов, вовлеченных в процесс прямого межвидового переноса электронов. Продемонстрирована активация разных типов прямого межвидового переноса электронов при добавлении нержавеющей стали и полиэфирного войлока в анаэробные реакторы в присутствии различных инокулятов и субстратов. Экспериментально определена оптимальная концентрация железосодержащего минерала магнетита и гранулированного активированного угля для эффективности термофильной анаэробной конверсии твердых коммунальных отходов. Проведенное исследование позволяет изучить взаимодействия

микроорганизмов в анаэробном микробном сообществе. Это в итоге может послужить основой для мониторинга сложного анаэробного процесса и, соответственно, будет способствовать генерации большего количества метана из потенциально доступной остаточной биомассы сельского хозяйства и осадка сточных вод на практике. Полученные данные могут быть также использованы и в учебном процессе в общих и специальных курсах по микробиологии, микробной экологии, биотехнологии, биохимии. В связи с вышеизложенным, полученные Журавлёвой Е.А. результаты имеют значимое научное и прикладное значение.

Пожелания, замечания и вопросы. Описанные методы в разделе “Материалы и методы исследования” не всегда применялись при проведении экспериментов. Например, отсутствуют данные по накоплению NH_4^+ и NH_3 при проведении экспериментов. На многих рисунках отсутствуют стандартные отклонения. Отдельные опечатки не снижают качество и достоинство работы. Отмечаю высокое качество проведенного диссертантом исследования, вместе с тем, при обсуждении диссертации возникли вопросы.

- Сбор биогаза осуществлялся в мешок, поэтому не совсем ясно, как была измерена суточная выработка метана в экспериментах 1 и 3. Первый и второй этапы эксперимента 1 проведены не до конца. Насколько финальный выход газа в данных экспериментах статистически значим?
- Данные по накоплению метана желательно представлять в мл/ГОВ для сопоставления результатов данного исследования с другими работами (эксперименты 1 и 2). Для сравнения с другими работами значения объема газа также необходимо приводить к стандартным условиям. Был ли проведен вычет газа, продуцируемого самим инокулятом, от общего объема газа? Был ли проанализирован сероводород в биогазе?
- Отсутствуют данные по степени аккумуляции ионов аммония и свободного аммиака. Могла ли аккумуляция токсичного аммиака повлиять на анаэробный процесс, учитывая тип инокулята и субстрата (при 55°C и pH выше 8.0 доля свободного аммиака будет значительной)?

- Учитывая, что объем флаконов маленький (эксперименты 1 и 3), а отбор точек частый, какой объем отбирался на анализы и сколько мл оставалось к концу эксперимента, как это повлияло на суммарный выход газа? Почему не проводилось перемешивание флаконов экспериментов 1 и 3?
- Вымывание микроорганизмов зачастую происходит в анаэробных реакторах, и постулируется, что минимальное HRT в диапазоне 10–25 суток является необходимым условием, чтобы предотвратить вымывание медленно растущих метаногенов. Насколько оправданно значение HRT 5–7 суток в данной работе (эксперимент 2)?
- Эксперимент 2 проводился без повторов? Как считали суточный объем биогаза в данном эксперименте? Какой ожидается эффект применения тестируемых материалов в полномасштабном процессе?
- На какие сутки экспериментов 1 и 3 была проанализирована структура микробного сообщества? Были ли проведены повторы? Были ли изучены сообщества в середине эксперимента, когда газообразование было интенсивным?
- Секвенирование – гены 16S рРНК архей и бактерий необходимо секвенировать отдельно для получения более точной картины. Результаты, полученные на основе анализа гена 16S рРНК архей, могли бы быть дополнены результатами на основе гена *mcrA* (более достоверный и информативный метод анализа). Более того, данные об относительной численности, полученные с помощью анализа гена 16S рРНК, являются искаженными из-за разного количества копий оперонов рРНК в различных метаногенных таксонах, тогда как *mcrA* является однокопийным геном у большинства метаногенов (в редких случаях дополнительный ген *mrt*, кодирующий изофермент, встречается у представителей *Methanobacteriales* и *Methanococcales*).

Вместе с тем, указанные замечания не умаляют значимости диссертационного исследования. Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени

М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует специальностям 1.5.11 – Микробиология; 1.5.6 – Биотехнология (по биологическим наукам), а также критериям, определенным пп. 2.1-2.5 Положения о присуждении ученых степеней в Московском государственном университете имени М.В. Ломоносова, а также оформлена согласно требованиям Положения о совете по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Таким образом, соискатель Журавлева Елена Александровна заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 1.5.11 – Микробиология; 1.5.6 – Биотехнология (по биологическим наукам).

Официальный оппонент:

Доктор биологических наук, доцент,
ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,
Институт фундаментальной медицины и биологии,
кафедра микробиологии, профессор

Зиганшин Айрат Мансурович

12.04.2024 г.

Контактные данные:

тел.: 7(843) 233-78-81, e-mail: ayrat.ziganshin@kpfu.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом
защищена диссертация:

03.02.03 – Микробиология

Адрес места работы:

420008, Казань, ул. Кремлевская, д. 18, Учебное здание №02

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»,

Институт фундаментальной медицины и биологии

Тел.: 7(843) 233-78-81; e-mail: ayrat.ziganshin@kpfu.ru