

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»;
1.5.6. «Биотехнология»

Принципы устойчивого развития подразумевают использование «зеленых технологий» для обеззараживания различных отходов и стоков, среди которых лидирующее положение занимают биотехнологии. Процесс получения биогаза в анаэробных условиях известен человечеству уже очень давно. Однако на протяжении долгих лет условия для анаэробного сбраживания органических отходов подбирались эмпирически. Лишь в конце прошлого века стали разрабатываться научные основы функционирования микробных сообществ анаэробных биогазовых реакторов. Эти исследования позволяют решить принципиальные проблемы запуска и поддержания стабильности процесса с использованием различных приемов и субстратов. Анаэробные бактерии, способные синтрофно разлагать промежуточные метаболиты, являются ключевым компонентом метаногенных сообществ, продуцирующих биогаз. С момента открытия прямого межвидового переноса электронов (Direct Interspecies Electron Transfer - DIET) в 2010 году растет понимание того, что микроорганизмы, способные устанавливать биологические электрические контакты с партнерами, обладают уникальными преимуществами в условиях окружающей среды. Этот процесс важен для и биореакторов, в которых происходит анаэробное сбраживание органических веществ с образованием биогаза. Анализ многочисленных исследований показал, что электропроводящие материалы стимулируют анаэробное сбраживание в меньшей степени, чем можно было бы

ожидать по результатам исследований с определенными культурами. Это открытие подчеркивает необходимость дальнейшего изучения условий, которые могут ограничивать этот процесс. Результаты, полученные на сегодняшний день, позволяют предположить, что модернизация анаэробных реакторов с включением кондуктивного материала может ускорить анаэробное сбраживание и сделать системы более устойчивыми к сбоям из-за высоких скоростей загрузки органических веществ или токсичных компонентов. Сведения об активации разных типов DIET, эффективности разных видов электропроводящих материалов, приводящих к доминированию определенных микробных групп для термофильного режима анаэробного сбраживания к моменту начала выполнения исследований Е.А. Журавлевой были чрезвычайно ограничены, поэтому актуальность выбранной темы не вызывает сомнений.

Диссертационная работа состоит из разделов: Введение, Обзор литературы (2 главы), Материалы и методы (1 глава), Результаты и обсуждение (3 главы), Заключение и Выводы. Работа изложена на 156 страницах, содержит 29 рисунков, 18 таблиц. Список литературы включает 277 источников, из них 2 на русском и 275 на иностранных языках.

В разделе «Введение» автор убедительно обосновывает актуальность изучения влияния кондуктивных материалов на анаэробное сбраживание с целью создания стабильного процесса получения биогаза из различных отходов, излагает цель и задачи исследования, характеризует представленную работу с точки зрения научной новизны и теоретической значимости, сообщает о месте проведения исследований и отражает свой личный вклад.

Целью работы Е.А. Журавлевой стало изучение влияния электропроводящих и инертных материалов на стимуляцию прямого межвидового переноса электронов и определение доминирующих микробных групп при анаэробном сбраживании различных органических отходов в термофильных условиях.

Достижение цели осуществлялась путем решения конкретных задач, которые полностью соответствовали теме диссертационной работы.

Главы 1-2 представляют собой обзор литературы, в котором автор описывает современные сведения об анаэробном разложении органических веществ метаногенным микробным сообществом и подробно рассматривает известные механизмы (DIET). Автором проанализированы данные о конструктивных особенностях биореакторов для анаэробного разложения органического вещества и способы оптимизации процесса образования биогаза из органических отходов. Обзор написан хорошим литературным языком, основывается на современных публикациях и дает ясное представление о предмете исследований. Мне кажется, следовало бы включить и достижения российских исследований при освещении современного состояния вопроса. В списке литературы есть только две публикации на русском языке, но даже они не процитированы в тексте диссертации.

В главе 4 (Материалы и методы исследования) подробно описывается весь арсенал современных аналитических, микробиологических и молекулярных методов, который применяла Е.А. Журавлева для выполнения такой большой работы. Методические подходы, примененные автором, полностью отвечают поставленным задачам, а их чрезвычайно широкий спектр делает результаты надежными и воспроизводимыми.

Результаты проведенных исследований изложены в трех главах (Главы 4 – 6). Автором диссертации выполнен внушительный объем работы, что вызывает уважение. Е.А. Журавлева исследовала влияние карбонового войлока и сетки из нержавеющей стали и метаногенного инокулята на характеристики анаэробного сбраживания низкоконцентрированных и высококонцентрированных субстратов, влияние электропроводящей карбоновой ткани и инертной ткани из стекловолокна на характеристики анаэробного сбраживания при высокой нагрузке по органическому веществу, изучила влияние электропроводящего материала на

примере гранулированного активированного угля и магнетита на скорость разложения летучих жирных кислот и образование метана при твердофазном анаэробном сбраживании. Положения, выносимые на защиту, полностью обосновываются полученными в представленном исследовании результатами. Автором убедительно показано, что электропроводящий материал, природа инокулята и субстрата существенно влияют на характеристики процесса анаэробного сбраживания органических отходов с образованием биогаза в термофильных условиях. При этом происходит сукцессия микробного сообщества в сторону увеличения микроорганизмов, способных к разным типам DIET. Полученные результаты убедительно показывают, что внесение электропроводящих материалов делает возможным твердофазное анаэробное сбраживание органической фракции твердых коммунальных отходов в термофильном режиме.

Научная новизна представленной работы состоит в том, что автором выявлены основные группы прокариот, участвующих в процессе DIET; изучена морфология и топология электроактивных биоплёнок; впервые продемонстрирована возможность стимуляции DIET в низконагруженной системе анаэробного сбраживания, а также показана принципиальная возможность совместного термофильного сбраживания органической фракции твердых коммунальных отходов с осадком сточных вод в присутствии электропроводящих материалов.

Уникальный опыт и практические навыки, полученные в ходе выполнения настоящей работы, могут быть использованы в планировании и осуществлении будущих микробиологических исследований в области анаэробного сбраживания, а также при конструировании биореакторов для термофильных процессов получения биогаза.

Тем не менее, прочтение работы вызвало некоторые замечания и вопросы:

1. Автору диссертации следует аккуратно относиться к написанию латинских названий: так, не пишут курсивом *sensu stricto* и названия групп некультивируемых бактерий (например, MVA03 и др), для кандидатных родов при первом упоминании пишут *Candidatus* полностью, а далее везде необходимо писать сокращенно *Ca*.

2. Автор работы в тексте часто использует сокращения в рамках одного предложения на русском языке и английском языках, например, гидравлическое время удержания (ГВУ) и нагрузка по органическому веществу (OLR).

3. На стр. 83 автор пишет «Представители группы *Clostridium sensu stricto* 1 являются ацетогенами и также способны проводить внеклеточный перенос электронов и восстанавливать Fe^{3+} ». Это очень обширная группа клостридий и не все из них в качестве продукта образуют ацетат, т.е. не все являются ацетогенами.

4. Почему на рисунках 10 и 11 представлены концентрации индивидуальных летучих жирных кислот в различных концентрациях ммоль/л (рис. 10) и mM (рис 11)? Почему в таблицах 11-13 (кстати, Таблиц 13 две) на первых двух этапах сбраживания количество образующегося метана представлено в мл на г ОВ, а на третьем этапе эксперимента в мл на г ХПК в сут? Как можно сравнивать эти показатели между собой?

5. Что означает «концентрация ХПК» в подписи вертикальной оси на рис.13? Нельзя говорить об «удалении ХПК», можно говорить лишь о снижении уровня ХПК.

6. *Clostridium* cluster III теперь включает два рода *Ruminiclostridium* (8 видов и *Thermoclostridium* (2 вида), *Clostridium* cluster XIVa включает роды *Lacrimispora*, *Enterocloster* и *Clostridium*. Было бы логичным посмотреть представленность родов, объединяющих термофильные виды, а не кластер в целом.

7. При оценке влияния различных кондуктивных материалов на биоразнообразие микробных сообществ автор диссертации часто употребляет слово «численность», хотя представленность того или иного рода ничего не говорит о численности микроорганизмов этого рода в сообществе.

8. В работе получены очень интересные результаты изменения состава микробных сообществ в процессах анаэробного сбраживания. Помещены ли эти данные в какие-либо публичные базы данных? Исходные данные высокопроизводительного секвенирования необходимо было поместить в диссертации в виде приложения.

9. Все, что касается прямого межвидового переноса электронов, в тексте диссертации присутствуют только слова «предположительно» и «вероятно». Что, по мнению соискателя, могло бы служить прямым доказательством того, что DIET в исследуемых сообществах осуществляется?

Однако замечания, безусловно, носят рекомендательный характер и никоим образом не умаляют достоинств работы. Все задачи, поставленные в работе, успешно выполнены. Выводы диссертационной работы вытекают из ее задач, корректны и полностью обоснованы полученным экспериментальным материалом. Автореферат и публикации в полной мере отражают содержание диссертации. Работа была апробирована на престижных российских конференциях в виде устных и постерных докладов, к сожалению, ссылки на тезисы докладов в автореферате отсутствуют.

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,

ФГБУН «ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»,

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,

лаборатория анаэробных микроорганизмов,

заведующая лабораторией, ведущий научный сотрудник

Щербакова Виктория Артуровна

15.04.2024 г.

Контактные данные:

тел.: 8 916 , e-mail: vshakola@pbcras.ru

Специальность, по которой официальным оппонентом

защищена диссертация:

03.02.03 – Микробиология

Адрес места работы:

142290, г. Пушкино Московской обл., проспект Науки, д. 5

ФГБУН «ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований РАН»,

Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН

Тел.: 8 916 ; e-mail: vshakola@pbcras.ru