

Отзыв

**официального оппонента на диссертацию на соискание ученой степени кандидата биологических наук Поповой Любови Ильиничны на тему:
«Микробное разложение целлюлозосодержащих субстратов
с образованием биотоплива» по специальностям 03.02.03 – «Микробиология»
и 03.01.06 – «Биотехнология» (в том числе бионанотехнологии)**

Актуальность

Работа Поповой Любови Ильиничны посвящена изучению процессов получения биогаза и биобутанола при использовании вторичного целлюлозосодержащего сырья. Биотехнологии получения биогаза и биобутанола из возобновляемого растительного сырья хорошо известны, но актуальным является поиск возможностей повышения их экономической эффективности, расширения субстратной базы на основе понимания функционирования микробных консорциумов, формирующихся в нестерильных биотехнологических процессах, в частности, в метантенках, их зависимости от состава углеродного субстрата; оценка перспективности использования бинарных технологий ферментации для повышения доступности целлюлозосодержащего сырья.

Научная и практическая значимость работы

Диссертационная работа Поповой Л.И. помогает лучше понять функционирование целлюлозолитических анаэробных микробных сообществ, структуру этих консорциумов в зависимости от используемых субстратов, таких как органические отходы (на примере пивной дробины), бумага различного типа и фитомасса растений (на примере топинамбура). Научная ценность работы заключается также в анализе и оценке филогенетического биоразнообразия, количественного распределения и роли отдельных групп микроорганизмов – бактерий и метаногенных архей в термофильном сообществе, разлагающем целлюлозосодержащие субстраты. Значительный научный интерес представляют результаты выделения и идентификации изолятов анаэробных целлюлозолитиков, в частности, изучение целлюлазной активности микромицетов родов *Trichoderma* и *Aspergillus*, которые рассматриваются как потенциальные биодеструкторы лигноцеллюлозных субстратов для их последующего сбраживания микробными сообществами в биогаз.

Для повышения эффективности процесса биоконверсии деструкции целлюлозных субстратов с целью получения АБЭ-продуктов представляют интерес полученные автором результаты исследований модельных бинарных культур и микробных сообществ.

Практическую ценность может представлять моделирование биотехнологического процесса безотходной утилизации анаэробными микробными сообществами различных целлюлозосодержащих субстратов, а также результаты проведенной селекции микробных анаэробных сообществ на целлюлозосодержащих субстратах для повышения их функциональной активности и стабильности.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 162 страницах, содержит 41 рисунок и 23 таблицы. Список использованной литературы обширный и включает 349 источников, из которых 306 на иностранном языке.

Анализ содержания работы

Работа состоит из 6-ти разделов, включающих введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждения, заключение, выводы. В обзоре литературы автор достаточно полно изложил современные сведения о составе лигноцеллюлозного сырья и его биоразложении с помощью микроорганизмов и образуемых ими ферментов в аэробных и анаэробных условиях; о различных технологиях получения биогаза и биобутанола; бутанола; использованию микроорганизмов для утилизации лигноцеллюлозных материалов; трофических взаимодействиях внутри метаногенного микробного консорциума при получении биогаза. В целом, в обзоре автор продемонстрировал достаточную компетентность в вопросах, связанных с темой диссертации, особенно, в вопросах микробиологии, включая современные методические подходы к изучению микробных сообществ; сведения о микробных целлюлитических ферментах; описание ацетоно-бутилового брожения и его использование в биотехнологии

Вместе с тем, некоторые литературные сведения, приводимые в обзоре, связанные с известными биотехнологиями получения биотоплива и сделанные из этих сведений выводы, вызывают вопросы. Это естественно, т.к. в литературе часто приводятся различные оценки перспективности различных биотехнологий, и автору с позиций микробиолога иногда трудно оценить их объективность.

Вызывает вопрос приводимый в обзоре % электроэнергии, генерированной с использованием возобновляемых источников энергии (около 50%) (стр. 25)

Недостаточно объективным представляется утверждение, что в промышленности для получения целлюлитических ферментов в основном используются мицелиальные грибы (стр. 24), поскольку развитие генетической инженерии позволило активно использовать

микробное биоразнообразие для создания промышленных продуцентов этих ферментов на дрожжевых экспрессионных системах

Неочевидным является утверждение, что использование пищевой растительной продукции, по определению, хуже чем использование непищевой (стр 26,..) –для выбора сырья важна урожайность, оборот культур для предотвращения истощения почвы, экономическая, экологическая и социальная рациональность.

Неочевидным является также приводящееся в обзоре утверждение о перспективности использования в качестве субстратов в биотехнологии таких труднодоступных источников сахаров, как солома злаков, пожнивные остатки, шелуха семян (стр.47,49)

Неоправданно оптимистичными кажутся перспективы использования в биотехнологии лигниносодержащего сырья на основе генетически модифицированных штаммов (стр. 33)

Вызывают вопросы приводимые на стр. 42 сведения о результатах селекции продуцентов бутанола, позволившие увеличить синтез бутанола в 6 раз, ацетона в 2 раза, и в 6 раз –этанола.

Слишком оптимистичной кажется цитируемая оценка перспективной себестоимости биоэтанола из целлюлозосодержащего сырья при различных технологиях - за галлон (около 3,7 л) 0,04USD или 0,19 USD (стр. 52).

Было бы полезным в обзоре привести сведения об альтернативных путях утилизации рассматриваемых органических отходов (в частности, пивной дробины и макулатуры) и попытаться обосновать, для каких отходов биотехнологическая утилизация может быть наиболее экономически и экологически перспективной, и какие нерешенные проблемы мешают этому .

В главе 2 «Материалы и методы». автором приведен широкий спектр классических и современных «высокотехнологичных» микробиологических методов, умело используемых в работе, что свидетельствует о хорошей экспериментальной подготовке.

В главе 3 «Результаты и обсуждение» описан очень большой объем грамотно проведенных на высоком методическом уровне экспериментальных работ по изучению возможностей использования целлюлозосодержащего сырья для получения биогаза и биобутанола.

Значительный научный интерес представляют результаты изучения микробных сообществ, формирующихся в метантенках при получении биогаза. Представлены пионерские данные о составе термофильных целлюлозолитических метаногенных сообществ, изученных с использованием «классических» микробиологических и

современных молекулярно-биологических методов. Интересен вывод о том, что ключевая роль в биоконверсии принадлежит целлюлозолитическим бактериям, синтрофным ацетат-окисляющим бактериям и гидрогенотрофным метаногенам. Значительный научный интерес представляют результаты изучения структуры микробных сообществ при помощи сканирующей электронной микроскопии, позволившие определить особенности адгезии, локализации и распределения микроорганизмов на используемых субстратах, а использование DGGE-анализа и высокопроизводительного секвенирования (HTS) позволило идентифицировать входящие в сообщество бактерии и археи и проанализировать динамику изменения состава сообществ в зависимости от используемых субстратов.

В экспериментах с бинарно-последовательными ко-культурами в выбранных условиях опыта для пары *Clostridium thermocellum* и *C. acetobutylicum* показана возможность увеличения выхода АБЭ-продуктов по сравнению с ранее описанными технологиями на целлюлозных субстратах. Предложены новые экспериментальные подходы для изучения и оптимизации ферментаций бутанола на целлюлозных субстратах при одновременном использовании нескольких микробных культур.

В заключении приведено обобщение и краткий анализ полученных результатов, проведена оценка потенциальных возможностей использования целлюлозосодержащих субстратов для биотехнологического получения биогаза и биобутанола.

Степень обоснованности научных положений и выводов диссертации, их достоверность

Работа выполнена в соответствии с поставленными целью и задачами. Выносимые на защиту положения и научные выводы достоверны и обоснованы, их подкрепляют полученные с помощью современных методических подходов и экспериментов результаты. Проведен статистический анализ полученных данных, а также их критическое сравнение с имеющимися литературными данными.

Замечания по диссертационной работе:

Основные вопросы связаны с недостаточным вниманием к экономической оценке перспективности использования различного углеродсодержащего сырья (в частности пивной дробины (ПД) и макулатуры) в биотехнологии для получения биогаза и биобутанола при интерпретации полученных результатов.

При оценке перспективности использования углеродных субстратов для биотехнологического получения биогаза важно учитывать, что существует экономически

обусловленный максимальный порог стоимости сырья для получения биогаза и биобутанола, определяемый рыночной стоимостью продуктов и конверсией сырья в целевой продукт.

Неясно, почему автор считает основной проблемой, мешающей промышленному производству бутанола - использование пищевого сырья. Пищевое сырье широко используется для производства этанола, а конверсия сахаров в эти целевые спирты сравнимы при более высокой рыночной стоимости бутанола.

Есть неточности в используемой терминологии – почему-то мутант клостридий с инактивированным геном транскрипционного репрессора назван трансгеном. Трансгенами принято называть организмы с клонированными гетерологичными генами. Встречается незначительное количество опечаток.

Следует отметить, что в работе не ставилась задача разработка рентабельных технологий получения биогаза и биобутанола из целлюлозосодержащего сырья, а только изучение функционирования микробных консорциумов в этих технологиях и оценка различных подходов для повышения эффективности технологий при использовании целлюлозосодержащего сырья, с чем диссертант, безусловно, успешно справился.

Сделанные замечания не принципиальны и не снижают общей высокой оценки обсуждаемой работы.

По теме диссертационной работы Поповой Л.И. опубликовано 3 статьи в рецензируемых журналах из списков WoS, SCOPUS, RSCI. Кроме того, имеются 3 публикации в сборниках материалов конференций и тезисов докладов.

Содержание автореферата диссертации соответствует содержанию рукописи диссертации.

Диссертация отвечает требованиям, установленным Московским государственным университетом имени М.В. Ломоносова к работам подобного рода. Содержание диссертации соответствует паспортам специальностей 03.02.03 - «Микробиология» и 03.01.06 – «Биотехнология» (в том числе бионанотехнологии), 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 приложениям № 5, 6 «Положения о диссертационном совете Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова».

Таким образом, соискатель Попова Любовь Ильинична заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальностям 03.02.03 – «Микробиология» и 03.01.06 – «Биотехнология» (в том числе бионанотехнологии).

Официальный оппонент:

доктор биологических наук
профессор, директор БРЦ ВКПМ

Синеокий Сергей Павлович

09.12.2019

Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» - Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов (НИЦ «Курчатовский институт»-ГосНИИГенетика)

Подпись **С.П. Синеокого** удостоверяю:

Заведующий отделом кадров

НИЦ «Курчатовский институт» - ГосНИИГенетика



Виденеева Р.В.

Контактные данные:

рабочий тел.: 8(495)314-26-95

рабочий e-mail: sineoky@genetika.ru

адрес места работы: 117545, г. Москва, 1-й Дорожный проезд, д.1

специальность, по которой оппонентом защищена диссертация: 03.02.07 – «Генетика»