

## ОТЗЫВ

Официального оппонента о диссертационной работе Митруковой Галины Геннадьевны « Компонентный состав и антибактериальная активность эфирных масел Рдеста туполистного (*POTAMOGETON OBTUSIFOLIUS* Mert. et Koch) и роголистника темно-зеленого (*CERATOPHYLLUM DEMERSUM* L.)», представленной на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

### Актуальность работы.

Диссертационная работа посвящена проблемам микробно-растительных взаимоотношений в гидробиоценозах; выделению различных химических соединений высшими водными растениями и аллелопатическими взаимодействиями их с водорослями и бактериями в природе и эксперименте. В последние десятилетия заметно возрос интерес к проблеме поддержания и восстановления микроэкологического статуса человека, природных экологических ниш, в том числе гидробиоценозов. Автор ссылается на высказывания корифеев науки о нераздельной взаимосвязи живых организмов как друг с другом, так и с абиотическим окружением и являются основой поддержания жизни на планете. А химические летучие соединения, в том числе низкомолекулярные органические эфирные масла, синтезируемые водными растениями, играют, несомненно, основополагающую роль в регуляции разнообразных процессов взаимоотношения между особями гидробиоты. Такие процессы происходят в результате синтеза и выделения высшими водными растениями химических соединений, влияющих на развитие водорослей и водных бактерий в гидробиоценозах, характеризующихся аллелопатическими. Аллелопатические взаимоотношения в существовании и функционировании водных экосистем осуществляются в основном в результате метаболизма растительных организмов, поэтому изучение метаболитов макрофитов и их влияния на бактериально-водорослевые сообщества, несомненно, представляет наибольший интерес. Автор актуализируется основной механизм возникновения регуляции самоочищения гидроценозов установлением химической природы метаболитов растений и их трансформации в водной среде, где имеет значение не только процесс самоочищения водоемов от патогенной микрофлоры, но и применения природных антимикробных, фунгицидных и альгицидных препаратов с использованием водных макрофитов.

Актуальность работы Галины Геннадьевны повышается в связи с тем, что в научной литературе недостаточно публикаций, связанных с темой взаимоотношений водных растений и микробиоты и их механизмов. Необходимость изучения процессов биосинтеза летучих низкомолекулярных органических соединений (ЛНОС) водных макрофитов, качественный состав и количественное содержание ЛНОС обусловлена влиянием на них факторов

среды и ингибирующего влияния водных и прибрежно-водных макрофитов на микроорганизмы.

Диссертационная работа Митруковой Галины Геннадьевны повышает значимость проблемы применением современных высокоинформативных методов хромато-масс-спектрометрических комплексов, так как аллелохимические агенты, выделяемые в составе эфирного масла, необходимо определять до химической формулы, тем самым повышая значимость и актуальность роли летучих низкомолекулярных соединений фитопланктона, особенно водных макрофитов, в гидробиоценозах. В отечественной и мировой литературе сведения об исследованиях ингибирующего влияния вторичных метаболитов водных растений на микроорганизмы существуют, однако данных о составе и сезонных изменениях эфирного масла рдеста туполистного (*Potamogeton obtusifolius* Mert. et Koch) и роголистника тёмно-зелёного (*Ceratophyllum demersum* L.) крайне мало.

Поэтому актуальность диссертационной работы Митруковой Галины Геннадьевны не вызывает сомнений.

#### Научная новизна исследования

Несомненна научная новизна работы, связанная с оригинальностью исследований компонентного состава и сезонных изменений летучих низкомолекулярных соединений эфирных масел побегов рдеста туполистного (*P. obtusifolius*) и роголистника тёмно-зелёного (*C. demersum*) в российских популяциях. Впервые были обнаружены среди многочисленного состава соединений наиболее востребованные современной биотехнологией компоненты эфирных масел, в том числе манол и биформен. Оригинальным является и обнаружение механизма активности метаболитов водных макрофитов, их качественного состава и количественного содержания, которая подвержена сезонным и онтогенетическим изменениям и зависит от условий среды обитания. Впервые определена антибактериальная активность ЛНОС рдеста туполистного и роголистника тёмно-зелёного.

#### Теоретическая и практическая значимость.

Полученные в диссертации Митруковой Г.Г. результаты обладают несомненной теоретической и практической значимостью. В теоретическом отношении данные, полученные диссертантом, вносят вклад в расширение теоретических представлений о межвидовых, аллелопатических взаимоотношениях в гидробиоценозах, связанных с выделением ЛНОС макрофитами и влиянием условий произрастания на качественный состав и их количественное содержание. Важным теоретическим достижением работы является также установление химической природы вторичных метаболитов водных растений, трансформации их в водной среде, что необходимо для познания процессов самоочищения водоемов от патогенной микрофлоры.

Работа имеет и довольно обоснованные практические достижения в отношении создания нативных растительных антимикробных, фунгицидных

и альгицидных препаратов на основе выделения востребованных косметической промышленностью эфирных масел. Известно, что водные макрофиты - возобновляемые биоресурсы, поэтому могут применяться в качестве источников ценных низкомолекулярных органических соединений для экологии водоемов и биотехнологии..

#### Достоверность и обоснованность результатов

Полученные в работе многочисленные данные о химическом составе, экологической значимости низкомолекулярных органических соединений эфирных масел высших водных растений, их противомикробной активности проведены в повторностях и корректно обработаны с применением методов статистики. Результаты антибактериальной активности эфирных масел обрабатывали методами математической статистики с использованием программы STATISTICA 10. Выводы исследований обоснованы и базируются на достоверных результатах.

#### Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа Г.Г. Митруковой изложена на 168 страницах рукописного текста и построена по традиционному плану. Диссертация состоит из введения, главы 1 (обзор литературы), главы 2 (материалы и методы исследования), глав 3, 4, 5, 6 (результаты собственных исследований), выводов, списка литературы. Работа содержит 11 таблиц и 24 рисунка. Список литературы включает 249 литературных источников, из них 143 на английском языке.

Во введении автор убедительно обосновывает актуальность выбранной темы, излагает цели и 8 поставленных задач исследований, показывает научную новизну исследований, теоретическую и практическую значимость полученных результатов, основные положения диссертации, выносимые на защиту, публикации по теме диссертации (6 публикаций, их них 4 статьи в рецензируемых изданиях).

Глава 1. Характеристика низкомолекулярных органических соединений в составе эфирных масел высших растений и их роль в водных экосистемах. Обзор литературы, который достаточно полно раскрывает современное состояние проблемы исследования. В литературном обзоре полно и своевременно излагаются понятия взаимоотношений растительных и микробных сообществ в водных биоценозах. Раскрываются аллелопатические взаимодействия внутри гидробиоценов и раскрывается избирательность подавления выделяемых высшими водными растениями полифенолов, дитерпенов, продуцируемых жирных кислот и других метаболитов на развитие водорослей, фототрофных бактерий и остальных микроорганизмов, участвующих в создании биоценологических сообществ. Отмечено, что мало публикаций уделяется формированию и выделению низкомолекулярных органических соединений высших водных растений и их участию во взаимоотношениях водных сообществ. В литобзоре уделено внимание качественному составу и количественному содержанию и локализации эфирных масел высших растений, их спектральному анализу,

особенно часто выделяемых и участвующих в бактериально-растительных взаимодействиях. Довольно подробно описаны литературные данные об антибактериальной активности эфирных масел.

Глава 2. Материалы и методы исследований.

В данной главе подробно и основательно излагаются методы и объекты исследований. В материалах и методах дается общая характеристика объектов исследования, описываются способы выделения эфирных масел, описываются используемые методы исследования химического состава эфирных масел и методы исследования антибактериальной активности эфирных масел.

Глава 3. Компонентный состав эфирного масла рдеста туполистного.

(изложение результатов собственных исследований).

В данной главе автором дается полный, довольно подробный и выполненный на высоком техническом уровне многокомпонентный состав летучих низкомолекулярных органических соединений с полным видом хроматограммы эфирного масла Рдеста туполистного (*P. obtusifolius*) и некоторых наиболее важных соединений (рис 8). Автором выделены, расшифрованы и описаны (даны химические формулы, содержание в растительном сырье) 141 компонент состава эфирного масла Рдеста туполистного в различные фазы (начало вегетации, цветение, плодоношение), выделены наиболее содержательные компоненты (табл.1). Таким же образом представлены летучие компоненты эфирного масла *P. obtusifolius* после плодоношения (табл. 2, 3). Проанализированы экологические и временные качества состава и насыщения растений компонентами эфирных масел, сделано заключение об экологической зависимости состава эфирных масел от состояния водоема, выделены наиболее приоритетные компоненты в экологическом и практическом отношении, выделено 74 вещества, постоянно присутствующих во время всего периода мониторинга летучих компонентов эфирных масел рдеста. Некоторые из них проявляют известную противовирусную, антимицробную и фунгицидную активность (гексаналь, гексанол, жасмон, моноол, бензальдегид, ионон и другие). Выделены и охарактеризованы растительные фталаты, фитоэкдистероиды. Особо отмечены достаточно большие количества в рдесте туполистном компоненты эфирных масел моноол и биформен, часто применяющиеся в области парфюмерии и медицины.

Глава 4. Компонентный состав эфирного масла роголистника темно-зеленого.

Автором глубоко изучены проблемы произрастания и экологии роголистника в искусственных водоемах в условиях города в ограниченные фазы вегетации. В работе дан подробный состав летучих соединений в виде хроматограммы эфирного масла *C. demersum* (рис. 17) и спектральный анализ компонентного состава (236 компонентов) эфирного масла роголистника тёмно-зелёного (*Ceratophyllum demersum* L.) в различные фазы вегетации (таб. 5, 6). Проведены сравнительные исследования компонентов с маслами,

выделенными из растений, произрастающих в Китае. Проведен качественный и количественный состав летучих компонентов эфирных масел роголистника, определены суммарные содержания основных компонентов в зависимости от условий произрастания и накопления в этой зависимости биологически активных экстракционных веществ, что так же является оригинальным в данной работе. Выделены приоритентные компоненты (моноол, биформен и другие). Автором отмечено, что количественное содержание маноола в роголистнике, так же как и в рдесте туполистном, увеличивалось в процессе роста и развития растений. В результате анализа динамики компонентов эфирного масла *P. obtusifolius* и *C. demersum*, автор показал, что количественное содержание некоторых соединений изменяется в онтогенезе растений и в изменяющихся экологических условиях вне зависимости от их вида.

Глава 5. Антибактериальная активность эфирных масел рдеста туполистного и роголистника темно-зеленого.

Исследования проводили диско-диффузионным методом с участием тест-микроорганизмов грамотрицательных и грамположительных условно-патогенных форм. Исследование антимикробной активности эфирных масел *C. demersum* и *P. obtusifolius* показало, что если в отношении *Bacillus subtilis* их действие примерно одинаково, то ингибирующее влияние роголистника тёмно-зелёного на *Escherichia coli* значительно выше противомикробного действия рдеста туполистного. Автором обсуждается вопрос о более выраженном влиянии метаболитов макрофитов на автохтонную микрофлору водоемов в сравнении с резистентностью исследованных бактерий, относящихся к микрофлоре водоемов в качестве аллохтонной.

Глава 6. Возможная экологическая роль и перспективы использования ЛНОС рдеста туполистного и роголистника темно-зеленого.

В данной главе автором обсуждается известные и собственные данные о возможности ЛНОС, в том числе эфирных масел, водных макрофитов ингибировать развитие и рост фито- и бактериопланктона и участвовать в формировании аллелопатических и защитных механизмов самоочищения водоемов. Обсуждается участие известных науке и практике таких компонентов эфирных масел, как маноол, фитол, многие эфиры, фталаты, фитоэкдистиролы, жирные кислоты и другие компоненты в экологических процессах водоемов и их биоценозах. Автор рассматривает в качестве практических рекомендаций возможность использования многих вторичных метаболитов рдеста туполистного и роголистника тёмно-зелёного или их синтетических аналогов для получения природных альгицидных, фунгицидных, инсектицидных препаратов и предполагает дальнейшее продолжение начатой работы.

Положительным моментом данной работы представляется проведение обсуждений на протяжении исследований сравнительных характеристик экологической, теоретической и практической значимости объектов

изучения, что потребовало от автора глубокого владения материалом и умения экстраполяции полученных данных для решения поставленных задач. В целом, различные главы диссертационного исследования Митруковой Галины Геннадьевны объемны, глубоки, тесно взаимосвязаны и представляют единое целое.

Выводы соответствуют данным статистической обработки, логически вытекают из содержания предыдущих разделов диссертации, полностью отвечают цели и поставленным задачам и раскрывают их выполнение.

Рассматриваемый научный труд также свидетельствует о положительном личном опыте автора в применении и выполнении научных высокотехнологичных методов и приемов, используемых в области фундаментальных и прикладных наук.

Автореферат в полной мере отражает содержание основных положений и глав диссертации, изложен научным языком, достаточно проиллюстрирован. Выводы и основные положения, выносимые на защиту, достаточно хорошо обоснованы.

Результаты работы по теме диссертации достаточно представлены в печати, опубликовано 6 работ, 4 статьи в рецензируемых изданиях ВАК РФ, доложены на многочисленных международных и отечественных конференциях, семинарах, конгрессах.

Несмотря на явные достоинства исследований и положительные стороны работы, возникли незначительные вопросы, носящие дискуссионный характер.

Так на страницах 127-128 в таблицах 9 и 10 даны многофакторные дисперсионные анализы достоверности различий активности компонентов эфирных масел рдеста туполистного и роголистника темно-зеленого. Возможно, целесообразно было бы дать пояснения и обсуждения этих результатов, которые, как представляется, создали бы дополнительную значимость выполненной работе.

На странице 127 фраза «было показано, что различия диаметров зон задержки роста *E.coli* и *B. subtilis* вокруг дисков, пропитанных эфирными маслами рдеста туполистного достоверны (табл. 9), а роголистника темно-зеленого – недостоверны (табл. 10)». Недостоверные результаты желательно было объяснить либо недостоверностью различий, которых нет, или недостоверностью выборки, либо эксперимента, что может свидетельствовать в подтверждение обсуждаемых результатов.

Однако, замеченные пожелания не имеют принципиального характера и не умоляют положительного впечатления от представленной работы, ее целостности и успешного решения поставленных задач.

#### Заключение

Диссертация Митруковой Галины Геннадьевны «Компонентный состав и антибактериальная активность эфирных масел Рдеста туполистного (*POTAMOGETON OBTUSIFOLIUS* Mert. et Koch) и роголистника темно-зеленого (*CERATOPHYLLUM DEMERSUM* L.)», выполненная под

руководством доктора биологических наук, профессора Курашова Евгения Александровича, представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология, является законченным научным исследованием, имеющим самостоятельную научную значимость и практическую ценность. Оформление диссертации и автореферата отличается тщательностью и отвечает требованиям, предъявляемым к работам подобного типа. Выводы диссертации обоснованы и базируются на полученных результатах.

По актуальности, новизне и научно-практической значимости полученных результатов диссертация соответствует требованиям, предъявляемым к диссертациям на соискание ученой степени кандидата наук (п. №9 «Положения о присуждении ученых степеней» ВАК РФ, утвержденном постановлением Правительства РФ №842 от 24.09.2013 г.), а ее автор заслуживает присвоения ему ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.08 – экология.

Официальный оппонент:

Сухенко Людмила Тимофеевна, доктор биологических наук, доцент, профессор кафедры биотехнологии и биоэкологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Астраханский государственный университет»

414057, Астрахань, пр. Воробьева, д. 8, кв. 52

Моб. Тел. 8 961 799 51 70

E-mail: [sukhenko@list.ru](mailto:sukhenko@list.ru)

6 марта 2015 г.



Л.Т.Сухенко