

ВІДГУК

офіційного опонента на дисертаційну роботу Тропівської Ганни Германівни «Роль фосфатмобілізувальних бактерій в екосистемах північно-західної частини Чорного моря та прилеглих лиманів», представлену на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.17 – гідробіологія

Актуальність дисертаційної роботи обумовлена зростаючою антропогенною евтрофікацією морських екосистем, що пов'язана з їх збагаченням сполуками азоту та фосфору. Ця проблема стоїть особливо гостро для північно-західної частини Чорного моря і прилеглих лиманів, оскільки негативні наслідки евтрофікації проявляються тут у вигляді великих площ з «цвітінням» води, гіпоксією та заморами гідробіонтів.

Опублікування результатів дисертації. За темою дисертації опубліковано 7 статей, з них 6 статей, опублікованих у виданнях, рекомендованих ДАК України, з яких одна включена до міжнародних науковометричних баз даних, та 7 тез доповідей в матеріалах міжнародних та вітчизняних конференцій та з'їздів.

Апробація результатів дисертації. Основні матеріали дисертаційної роботи були представлені на III Міжнародній конференції молодих науковців (Харків, 2008), V Міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів (Львів, 2009), VI Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених „PontusEuxinus – 2009” (Севастополь, 2009), Міжнародній науково-практичній конференції «Екологічні проблеми Чорного моря» (Одеса, 2011); VIII Міжнародній науково-практичній конференції молодих учених „PontusEuxinus – 2013” (Севастополь, 2013); XIII з'їзді Товариства мікробіологів України (Ялта, 2013); VII з'їзді Гідроекологічного товариства України «Гідроекосистеми: Фундаментальні та прикладні проблеми сьогодення» (Київ, 2015 р.).

Метою дисертаційної роботи було визначити особливості кількісного розподілу фосфатмобілізувальних та гетеротрофних бактерій в екосистемах північно-західної частини Чорного моря і прилеглих лиманів та їх роль у колообігу фосфору.

Наукова новизна отриманих результатів. На основі проведених досліджень вперше визначені особливості просторового розподілу і кількісних змін чисельності фосфатрозчинюючих бактерій (ФР), фосфатмінералізуючих (ФМ) і гетеротрофних бактерій в екосистемах ПЗЧМ та лиманів Північно-Західного Причорномор'я. Вперше статистично оцінений вплив гідрологічно-гідрохімічних факторів водного середовища на чисельність і розподілення ФР, ФМ та гетеротрофних бактерій для всіх досліджуваних екосистем. З морських зразків ви-

ділені високоактивні культури фосфатмобілізувальних бактерій, що віднесені до родів *Enterobacter* та *Bacillus*. Для двох найбільш активних штамів цих родів експериментально оцінена активність мобілізації фосфору з важкорозчинних сполук.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дисертаційної роботи можуть бути використані для екологічної характеристики ПЗЧМ та прилеглих лиманів, розкривають можливість для мікробіологічних моніторингових досліджень в морських екосистемах різного трофічного статусу. Отримані дані дозволяють оцінити інтенсивність мінералізації розчинених і завислих у воді та донних відкладеннях органічних речовин, виявити роль бактерій у кругообігу фосфору в морських екосистемах, можуть бути корисні для подальшого дослідження проблем «фосфорного» забруднення водойм.

Обсяг і структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 165 сторінка та включає 51 рисунок, 25 таблиць. Список літератури містить 230 джерел, у тому числі – 112 іноземних.

У розділі 1. "Роль фосфатмобілізувальних мікроорганізмів у трансформації фосфору у водних екосистемах" проаналізовано роль бактерій у трансформації фосфору у водних екосистемах, наведені дані про вміст і форми фосформісних сполук у водних екосистемах, описана мікробна трансформація сполук фосфору у воді та донних відкладеннях та на межі розділу фаз дно – вода, а саме трансформація органічного фосфору в неорганічний, мікробне розчинення мінералів фосфату, а також мікробне акумулювання та вивільнення фосфору. Наведено приклади мікроорганізмів, які зачуті у дані процеси. Окремо наведено відомості про історію вивчення фосфатмобілізувальних бактерій у морських екосистемах, їх поширення та розподіл у воді та донних відкладеннях. Обґрунтована необхідність виконання досліджень по темі дисертаційної роботи.

Виникає запитання чому цей розділ не названо "Огляд літератури" як зазвичай прийнято?

У розділі 2. «Матеріали і методи» висвітлено відомості про об'єкти дослідження. Матеріалом дослідження стали проби води та донних відкладень з солонуватоводних, а саме з Одеської затоки, узмор'я Дунаю, та прилеглих лиманів – Тилігульського, Малого Аджалицького (Григорівського), Великого Аджалицького (Дофінівського) та Хаджибейського.

Воду у поверхневому і придонному шарах відбирали батометром типу Ніскін, донні відкладення – дночерпачем Петерсена. Для аналізу донних

відкладень відбирали верхній шар осаду. Всього зібрано і оброблено 725 проб досліджуваного матеріалу, з них – 500 проб води, 225 проб донних відкладень.

Чисельність бактерій визначали шляхом висіву на морський агар Горбенка, на середовище Муромцева з фосфатом кальцію, на середовище Менкіної з гліцерофосфатом. Досліджені фізіологічно-біохімічні властивості ізольованих штамів і проведена їх ідентифікація за результатами визначених тестів.

Для кількісного визначення фосфатмобілізуальної активності бактерій їх культивували в періодичних умовах на качалках у колбах Ерленмейера в рідкому середовищі Муромцева з додаванням $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Чисельність життєздатних клітин визначали методом серійних десятикратних розведень шляхом висіву на агаризоване середовище. Концентрацію ортофосфату в середовищі визначали за методом Фіске – Суббароу з використанням молібдату амонію та аскорбінової кислоти.

Статистична обробка матеріалу проводилася загальноприйнятими методами в пакетах програм Microsoft Office Excel і STATISTICA 6. Достовірність відмінностей оцінювали за допомогою критерія Стьюдента для незалежних змінних (t-test). Для оцінки статистичних відмінностей у розподілі чисельності бактерій за факторами проводили дисперсійний аналіз (ANOVA).

У Розділі 3. "Фосфатмобілізуальні бактерії як компонент гетеротрофного бактеріоценозу у воді та донних відкладеннях одеського регіону ПЗЧМ" викладені результати дослідження гідрологічно-гідрохімічних параметрів Одеського регіону ПЗЧМ та поширення фосфатмобілізуальних та гетеротрофних бактерій у воді та донних відкладеннях.

Встановлено, що фосфатмобілізуальні бактерії є постійним компонентом мікробіоценозів води та донних відкладень, а аналіз їх чисельності виявив їх значну варіабельність. У Одеському регіоні чисельність бактерій зменшувалася від поверхневого горизонту води до придонного, що пов'язано з природною міграцією алохтонної та автохтонної органічної речовини у морському середовищі. У водній товщі Одеського регіону середня чисельність ФМ бактерій була більшою, ніж ФР бактерій, що можливо пов'язано з великою кількістю ОР як у поверхневому горизонті водної товщі, так і в придонному. Проте у донних відкладеннях їх частка була майже однаковою.

Чисельність бактерій характеризувалася сезонною неоднорідністю. Максимальна їх кількість визначалася влітку, коли в екосистемі накопичувалася найбільша кількість органічної речовини автохтонного чи алохтонного походження. Найбільша чисельність бактерій у воді та донних відкладеннях визначалася у прибережних зонах та місцях найбільшого антропогенного наван-

таження.

Показано, що на зміну чисельності бактерій у водній товщі і донних відкладеннях достовірно впливали місця відбору та температура. Ступінь впливу фактору «місцезнаходження станцій» був більшим, ніж ступінь впливу температури.

Поверхневий і придонний шари води у прибережній та мористій частинах акваторії Одеського регіону статистично відрізняються за чисельністю гетеротрофних, фосфатмобілізуvalьних бактерій та вмістом сполук фосфору. Для донних відкладень така тенденція відмічена лише за чисельністю бактерій.

Найбільша чисельність гетеротрофних, фосфатмобілізуvalьних бактерій у воді та донних відкладеннях приурочені до прибережних станцій та зон з найбільшим антропогенным навантаженням – у прибережній зоні Одеської затоки та в акваторії порту.

Встановлено, що такі макроекологічні фактори як температура та солоність у межах їх коливань в досліджуваній акваторії моря не лімітують чисельність гетеротрофних та фосфатмобілізуvalьних бактерій. Коефіцієнти кореляції між чисельністю бактерій і температурою, чисельністю бактерій і солоністю близькі до нуля або не достовірні та вказують на відсутність лінійного зв'язку.

Відмічені достовірні кореляційні зв'язки між чисельністю бактерій (гетеротрофних, ФР та ФМ) та вмістом Р_{МН}, Р_{ОРГ} у воді та донних відкладеннях.

У Розділі 4. "Фосфатмобілізуvalьні бактерії у воді та донних відкладеннях узмор'я Дунаю" проаналізовано дані про поширення гетеротрофних та фосфатмобілізуvalьних бактерій на узмор'ї Дунаю і вплив гідрологого-гідрохімічних факторів середовища на їх розподіл.

Аналіз чисельності гетеротрофних та фосфатмобілізуvalьних бактерій показав її значну варіабельність. Чисельність гетеротрофних бактерій у поверхневому шарі воді коливалась від 0,2 до 350 тис. КУО·см⁻³, у придонному – 0,1–175 тис. КУО·см⁻³. Середні значення чисельності бактерій в поверхневому шарі води буливищими, ніж у придонному. Висока чисельність бактерій в поверхневому шарі, в порівнянні з придонним, пояснюється трансформацією на узмор'ї прісних водних мас, збагачених ОР і їх взаємодією з водами морського генезису.

Частка ФР бактерій від числа гетеротрофних бактерій складала 29–78 % в поверхневому шарі і 44–79 % – у придонному, ФМ бактерій – 24–86 та 3–91 %, відповідно. У донних відкладеннях частка ФР бактерій варіювала від 30 до 76 %, ФМ бактерій – 37–83 %.

При вивченні сезонної динаміки бактерій на узмор'ї Дунаю встановлено, що на їх розвиток визначальний вплив здійснюють гідрологічний режим та кліматичні умови.

Аналіз даних чисельності гетеротрофних і фосфатмобілізуvalьних бактерій та сполук фосфору у зонах трансформації показав, що вміст сполук фосфору у поверхневому шарі знижувався від фронтальної зони до заключної, а розподіл чисельності бактерій у різні сезони був нерівномірним.

Відзначена загальна тенденція зниження вмісту P_{Mn} і P_{Org} в кілька разів і кількості бактерій на порядок величин в придонному шарі води, донних відкладеннях і в порових розчинах із зростанням глибин.

Встановлено, що такі абиотичні параметри середовища як солоність і насичення води киснем також корелювали з чисельністю гетеротрофних і фосфатмобілізуvalьних бактерій.

Кореляційний аналіз середніх значень чисельності ФМБ і вмісту сполук фосфору показав наявність зв'язків з високим рівнем значущості. У поверхневому шарі позитивні кореляційні зв'язки відзначали між чисельністю ФМ бактерій і концентрацією P_{Mn} влітку, а для гетеротрофних та ФР бактерій – з вмістом P_{Mn} восени.

Аналіз отриманих даних про вміст сполук фосфору і чисельність бактерій в придонному шарі води, донних відкладеннях і порових розчинах у вересні та листопаді 2014 р. також показав їх значну сезонну і просторову варіабельність. Було встановлено, що чисельності гетеротрофних, ФР і ФМ бактерій в донних відкладеннях, як і вміст сполук фосфору в порових розчинах в кілька разів перевищують значення в придонному шарі води. Відзначена загальна тенденція зниження вмісту P_{Mn} і P_{Org} в кілька разів і кількості бактерій на порядок величин в придонному шарі води, донних відкладеннях і в порових розчинах із зростанням глибин. Це пов'язано зі значним надходженням алохтонної ОР з річковим стоком і його акумуляцією в пригирловій зоні узмор'я з глибиною <10 м.

У Розділі 5. "Фосфатмобілізуvalьні бактерії у воді та донних відкладеннях лиманів північно-західного причорномор'я" наведено дані кількості ФР та ФМ бактерій в досліджуваних лиманах. Найбільша чисельність ФР та ФМ бактерій у воді та у донних відкладеннях спостерігалась у Хаджибейському та Дофінівському лиманах. Найменша кількість ФМБ відмічена у донних відкладеннях Тилігульського та Григорівського лиманів.

Слід зазначити, що під час замору вивільнення фосфору з донних відкладень збільшується до 10 разів, що, ймовірно, обумовлено інтенсифікацією анаеробної деградації фосфоромісної органіки. Це супроводжується вторинним забрудненням. В результаті цих процесів підвищується кількість фосфатмобілізуvalьних бактерій. Цей лиман є найбільш нестабільною екосистемою. Найменша чисельність ФМБ відмічена у Тилігульському лимані, який також вважається самою чистою водоймою ПЗЧМ та найбільш екологічно стабільною екосистемою.

Отримані дані щодо чисельності ФМБ в лиманах ПЗЧМ можуть слугувати одним із індикаторів стану евтрофікації водних екосистем.

При порівнянні чисельності бактерій у лиманах та у морських екосистемах північно-західної частини Чорного моря в літній період встановлено, що найбільша чисельність ФМБ визначалась у евтрофних та гіперевтрофних екосистемах – узмор'ї Дунаю та лиманах Північно-Західного Причорномор'я, де їх кількість досягала сотень тисяч КУО в 1 см³.

Чисельність цих бактерій у воді зростає у послідовності: Одеський регіон, узмор'я Дунаю, лимани Північно-Західного Причорномор'я. Ця тенденція зберігається і для донних відкладень досліджуваних районів. Слід зазначити, що кількість ФМБ у донних відкладеннях досліджуваних лиманів в 10–100 разів, а у водній товщі у 2–2,5 рази перевищувала таку в морських екосистемах. Чисельність фосфатмобілізуальних бактерій була меншою у таких відкритих гідродинамічних системах як узмор'я Дунаю та Одеський регіон.

Розділ 6. "Виділення і ідентифікація найбільш активних штамів фосфатмобілізуальних бактерій та їх фізіологічна активність"

З води та донних відкладень ПЗЧМ та лиманів Північно-Західного Причорномор'я ізольовано активні штами бактерій, що здатні мобілізувати фосфат-іон з важкорозчинного ортофосфату кальцію, серед яких селекціоновано два найбільш активні штами, ідентифіковані як *Enterobacter* sp. 18та *Bacillus* sp. 5. У розділі розглянуті їх морфолого-культуральні, фізіолого-біохімічні властивості, родова приналежність та динаміка росту у живильному середовищі з важкорозчинним ортофосфатом.

Встановлено, що досліджувані культури суттєво відрізнялися за ростовою активністю та здатністю накопичувати фосфат в середовищі з важкорозчинним фосфатом кальцію.

У Розділі "Обговорення результатів" проведено узагальнення та аналіз отриманих результатів дослідження. Зроблено висновок про високий ступінь поширення в досліджуваних районах Чорного моря фосфатмобілізуальних бактерій. Чисельність цієї групи бактерій характеризується сезонною неоднорідністю з максимумами в кінці літа та в осінньо-зимовий період. На чисельність бактерій визначальний вплив здійснюють гідрологічний режим та кліматичні умови.

Зміст автографату відповідає основним науковим положенням та змісту дисертаційної роботи.

Обґрунтованість і достовірність наукових положень, висновків, сформу-

льованих у дисертації підтверджені великим масивом даних досліджень з використанням сучасних гідробіологічних, мікробіологічних та статистичних методів досліджень та не викликають сумнівів.

Викладені результати досліджень та сформульовані висновки в цілому не викликають принципових заперечень, але разом з тим є деякі зауваження та запитання:

1. Органічних сполук, що містять фосфор є багато. Відповідно існують різні ферменти, що відщеплюють приєднаний до них йон фосфату. Фосфатмінералізуючу активність у роботі визначали з використанням гліцерофосфату. Чи правомірно у цьому випадку говорити про загальну фосфатмінералізуючу активність мікроорганізмів?
2. Чи можуть фосфатрозчинюючі бактерії здійснювати процеси мінералізації і навпаки?
3. Чим обґрутується доцільність проведення досліджень, викладених у Розділі 6 "Виділення і ідентифікація найбільш активних штамів фосфатмобілізувальних бактерій та їх фізіологічна активність"? Більш доцільним було б вивчення таксономічної різноманітності фосфатмобілізувальних бактерій у морському середовищі.
4. Чим пояснюється вибір саме цих двох штамів, які ідентифіковано як *Enterobacter sp.* та *Bacillus sp.* 5, для дослідження накопичення мінерального фосфору з середовища з важкорозчинним фосфатом кальцію? Чи достатньо вивчених у роботі ознак для проведеної ідентифікації цих бактерій?
5. Що мається на увазі під "...природним потенціалом стійкості" у пункті 4 Висновків: "Встановлено, що на чисельність і розподіл бактерій у лиманах впливає їх ізольованість і природний потенціал стійкості." Чим можна обґрунтувати цей висновок?

Наведені зауваження не є такими, що знижують загальну позитивну оцінку дисертації, яка є завершеною самостійною науковою працею. Сукупність отриманих у дисертації результатів являє практичний інтерес. Дисертація Тропівської Ганни Германівни виконана на високому рівні і є логічно завершеним науковим дослідженням, яке відповідає сучасному методичному та теоретичному рівню біологічної науки.

Отже, дисертаційна робота Тропівська Ганна Германівна «Роль фосфатмобілізувальних бактерій в екосистемах північно-західної частини Чорного моря та прилеглих лиманів» представлена на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.17 – гідробіологія за актуа-

льністю, обсягом і змістом проведених досліджень, за науковою новизною та практичним значенням одержаних результатів відповідає вимогам п. 11, 12 Постанови Кабінету Міністрів України «Про затвердження порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника» №567 від 24 липня 2013 р., а її автор заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.17 – гідробіологія.

Проректор Одесського
національного університету,
доктор біологічних наук, професор
кафедри мікробіології вірусології
та біотехнології



В. О. Іваниця