

УДК 576.8.095.323.4

СУЛЬФАТВІДНОВЛЮВАЛЬНІ ТА СІРКООКИСНЮЮЧІ БАКТЕРІЇ РІЗНИХ БІОТОПІВ ЯВОРІВСЬКОГО СІРКОВОГО РОДОВИЩА

Я. Колісник, С. Гудзь, О. Подопригора, І. Клим

*Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна*

Досліджено хімічні показники ґрунтів різних біотопів Яворівського сіркового родовища та чисельність в них сульфатвідновлювальних і сіркоокиснюючих бактерій. Кількість сульфатредукувальних мікроорганізмів є найбільшою у ґрунті з хвостосховища флотації сірчаної руди, а сіркоокиснюючих – у ґрунтах із території підземного виплавлення сірки. Вивчення вертикального розподілу досліджуваних мікроорганізмів кругообігу сірки виявило відмінності в їх чисельності та складі. Зі збільшенням глибини до 30 см у ґрунтах кількість сульфатвідновлювальних бактерій зростає, а сіркоокиснюючих зменшується.

Ключові слова: сульфатвідновлювальні бактерії, сіркоокиснюючі бактерії, сірка, ґрунти сіркового родовища.

В останні десятиліття внаслідок антропогенного впливу відбувається глибоке порушення природної рівноваги сполук сірки, виникають несприятливі екологічні ситуації. Такі зміни спостерігаються на території Яворівського сіркового родовища. Негативними результатами видобутку сірки в цьому районі є утворення техногенного ландшафту, зміни гідрогеологічних умов, а також суттєве порушення балансу різних сполук сірки [5, 16].

Тому пріоритетного значення набуває створення відповідної системи моніторингу для формування надійної інформаційної основи екологічних прогнозів і розробки заходів запобігання деградаційним процесам. Оскільки мікроорганізмам належить важлива роль у процесах перетворення сполук сірки, необхідними є дослідження різних груп бактерій, які беруть участь у кругообігу цього біогенного елемента. Відомо, що близько п'ятдесяти відсотків сірки потрапляє в атмосферу за рахунок її біологічних перетворень у ґрунті й воді. При цьому різні види і групи мікроорганізмів виконують реакції окислення чи відновлення сірки [12, 14]. Вивчення поширення, кількісного і якісного складу цих мікроорганізмів може дати важливу інформацію про фактичний стан біогеоценозів на досліджуваній території, оцінити і прогнозувати їх зміни під впливом антропогенного навантаження.

Для відбору зразків ґрунту на території Яворівського сіркового родовища було визначено кілька ділянок: зовнішній відвал №2 (околиці с.Вільшаниця), хвостосховище флотації сірчаної руди (околиці с.Чолгині), територія підземного виплавлення сірчаної руди. Контролем служив дерново-слабопідзолистий супіщаний ґрунт дубово-соснового лісу (зональний). Забір проб ґрунту, підготовку зразків для дослідження, приготування ґрунтової суспензії, висів на відповідні середовища та підрахунок кількості мікроорганізмів проводили за загальноприйнятими методиками [7, 8, 17]. Нагромаджувальну культуру тіонових бактерій одержували на середовищі Бейеринка, для одержання чистої культури використовували тіосульфатний агар Бейеринка. Для культивування сульфатредукувальних бактерій використовували середовище Кравцова–Сорокіна [13]. Проведено перевірку чистоти культур і мікроскопічні дослідження клітин виділених бактерій. Визначення рН ґрунтового розчину, вмісту органічного вуглецю, загального азоту і сірки у пробах ґрунту проводили згідно з [4, 9–11].

Життєдіяльність мікроорганізмів у ґрунті зумовлена комплексом фізичних, хімічних, біологічних факторів, які формують певні едафічні умови. Мікроорганізми чутливо реагують на зміни абіотичних факторів, основними з яких є температура, вологість, рН ґрунтового розчину, склад ґрунтового повітря, вміст хімічних елементів тощо [12].

Важливим показником, який визначає умови життєдіяльності ґрунтової біоти, доступність елементів живлення для рослин, умови міграції сполук у ґрунтовому профілі є реакція ґрунтового розчину. Вона зумовлена спільною дією водорозчинних сполук неорганічного (солі, кислоти, основи) і органічного походження, колоїдів специфічної та неспецифічної природи, органічних кислот (гумінових і фульвокислот, щавлевої, лимонної, оцтової та ін.). Сезонні флуктуації реакції ґрунтового розчину залежать і від продуктів метаболізму ґрунтових мікроорганізмів. Коливання рН, у свою чергу, впливає на життєдіяльність ґрунтового мікробіоценозу, активізуючи одні групи та пригнічуючи інші.

Низький вміст органічної речовини у молодих ґрунтах техногенних екосистем на початкових стадіях ґрунтоутворення зумовлює їх низьку буферну ємність. Тобто можуть мати місце значні коливання рН, які формуватимуть різні умови мінералізації та гуміфікації як рослинних решток, так і мікробної біомаси кількох генерацій мікроорганізмів [1, 2].

Результати наших досліджень показують (табл. 1), що найвищу кислотність мають проби ґрунту з території підземного виплавлення сірки, що може впливати на кількісний і якісний склад мікрофлори. У пробах ґрунту зовнішнього відвалу № 2 та хвостосховища флотації сірчаної руди показники рН є слаболужними. Ґрунт із дубово-соснового лісу належить до слабокислих.

Більшість дослідників, які вивчали процеси формування молодих ґрунтів на територіях, порушених розробкою корисних копалин, вказують на швидкі темпи накопичення органічної речовини у посттехногенних ґрунтах [2, 18].

Зростання вмісту органічного вуглецю у ґрунтах відбувається до того часу, доки його втрати внаслідок процесів мінералізації і вимивання не зрівняються з надходженням органічної речовини до ґрунтового блоку екосистем у вигляді відмерлих органічних решток. Цей процес, за даними низки дослідників, може тривати від 20 до 50 років. Потім він продовжується переважно за рахунок якісних перетворень органічної речовини. Тобто загальна закономірність процесів накопичення органічної речовини є такою: відносно швидке накопичення органічного вуглецю в ініціальний період онтогенезу молодих ґрунтів (піонерна та кореневищна стадії сукцесії) і наступне сповільнення темпів акумуляції гумусу зі зміною співвідношення компонентів органічної речовини протягом дернової стадії [2, 3, 19].

Результати наших досліджень показують (табл. 1), що вміст органічного вуглецю у пробах ґрунту з території підземного виплавлення сірки є у 2,2 разу меншим, ніж у ґрунті дубово-соснового лісу. Проте у ґрунті із зовнішнього відвалу він є в 1,9 разу вищим, ніж у

Таблиця 1

Хімічні властивості ґрунтів Яворівського сіркового родовища

Показники	Ґрунт з дубово-соснового лісу	Ґрунт з території підземного виплавлення сірки	Ґрунт із зовнішнього відвалу № 2	Ґрунт із хвостосховища, глибина 3-10 см	Ґрунт із хвостосховища, глибина 20-30 см
pH	5,03±0,47	3,94±0,34	8,05±0,75	7,54±0,67	7,75±0,71
C _{орг} , %	1,00±0,08	0,45±0,04	1,92±0,16	0,87±0,07	0,30±0,02
N _{заг} , %	0,70±0,05	0,10±0,01	0,17±0,01	0,25±0,02	0,14±0,01
S, %	0,39±0,02	1,62±0,13	0,82±0,06	1,54±0,14	2,10±0,18

зональному ґрунті, що, можливо, пов'язане зі зростанням продуктивності рослинних асоціацій на цьому ґрунті, тобто зі збільшенням кількості надходження рослинного опаду, проте зі зниженими темпами мінералізації органічних речовин. У ґрунті хвостосховища флотації сірчаної руди на глибині 3–10 см вміст органічного вуглецю суттєво не відрізняється від такого в зональному ґрунті, а зі збільшенням глибини зменшується у 2,9 разу.

Аналіз одержаних результатів свідчить (табл. 1), що у ґрунтах з території підземного виплавлення сірки і зовнішнього відвалу № 2 вміст загального азоту є, відповідно, у 7 і 4 рази менший, ніж у ґрунті з дубово-соснового лісу. У ґрунті хвостосховища флотації сірчаної руди в горизонті 3–10 см вміст азоту є більшим, ніж у ґрунтах із території підземного виплавлення сірки і зовнішнього відвалу №2 у 2,5 і 1,5 разу, відповідно. Зі збільшенням глибини вміст азоту в даному ґрунті зменшується в 1,8 разу.

Результати визначення вмісту сірки в досліджуваних ґрунтах показують (табл. 1), що у всіх ґрунтах Яворівського сіркового родовища він є вищим порівняно зі зональним ґрунтом. Найбільшим є вміст сірки у ґрунтах із території підземного виплавлення сірки та хвостосховища флотації сірчаної руди, причому зі збільшенням глибини вміст сірки зростає в 1,4 разу.

Кількість хімічних елементів у ґрунтах є одним із важливих факторів, який визначає склад і чисельність мікроорганізмів у мікробних угрупованнях, що існують у різних біотопах [12].

Сульфатвідновлювальні бактерії є важливою ланкою природного циклу сірки. Вони здійснюють дисиміляційне відновлення сульфатів і зв'язують потоки вуглецю та сірки в анаеробних біотопах, що містять сульфат. Особливо важливу роль виконують сульфатредуквальні бактерії у зонах розробки сіркових родовищ, де внаслідок окиснення сірки утворюються великі кількості сульфатів [2, 6].

Одержані нами результати (табл. 2) свідчать, що у ґрунтах із дубово-соснового лісу та території підземного виплавлення сірки не виявлено сульфатвідновлювальних мікроорганізмів. Це може бути зумовлене високою кислотністю цих ґрунтів, оскільки діапазон оптимального рН для цих мікроорганізмів коливається в межах 6,6–7,5 [15].

У пробах з однакової глибини в ґрунті із хвостосховища флотації сірчаної руди порівняно з ґрунтом зовнішнього відвалу № 2 виявлено більшу в 2,3 разу кількість сульфатвідновлювальних бактерій. Причому із глибиною кількість цих мікроорганізмів зростає в 1,7 разу, що, очевидно, зумовлене зменшенням вмісту кисню в глибших шарах ґрунту.

Аналіз результатів показує (рис. 1), що найбільший відносний вміст сульфатвідновлювальних мікроорганізмів є у ґрунті хвостосховища флотації сірчаної руди на глибині 20–30 см (11,8%). У ґрунті цієї ділянки на глибині 3–10 см відносна частка цих мікроорганізмів становить 4,3%, а у ґрунті із зовнішнього відвалу № 2 – 1,9%, відповідно.

Таблиця 2

Чисельність сульфатвідновлювальних мікроорганізмів у досліджуваних ґрунтах, $M \pm m$, $n=3$

Мікроорганізми	Кількість мікроорганізмів, КУО · 10 ⁶ /г сухого ґрунту				
	ґрунт із дубово-соснового лісу	ґрунт із території підземного виплавлення сірки	ґрунт із зовнішнього відвалу № 2	ґрунт із хвостосховища	ґрунт із хвостосховища
	глибина 3–10 см				глибина 20–30 см
Сульфатвідновлювальні	¾	¾	0,40±0,05	0,90±0,01	1,50±0,13
Загальна кількість	25,53±2,21	8,72±0,73	21,14±1,98	20,77±1,83	12,75±1,09

Важлива роль у кругообігу сірки належить і мікроорганізмам, які окиснюють сполуки сірки. Більшість реакцій окиснення сполук сірки може відбуватись і без мікроорганізмів у присутності сильних окисників, однак процеси за участю бактерій є значно ефективнішими [6, 12].

При дослідженні чисельності сіркоокиснюючих бактерій виявлено, що найнижчою їхня кількість є у ґрунті з дубово-соснового лісу (табл. 3). У ґрунті з території підземного виплавлення сірки, порівняно із зональним, чисельність цих мікроорганізмів зростає у 6,3 разу, а в ґрунті із зовнішнього відвалу № 2 – 4 рази, відповідно. Висока кількість сіркоокиснюючих бактерій виявлена у ґрунті із хвостосховища флотажі сірчаної руди ($1,5 \pm 0,12 \times 10^6$ КУО/г сухого ґрунту). Слід відзначити, що зі збільшенням глибини чисельність даних мікроорганізмів зменшується у 2 рази.

Результати проведених нами досліджень (рис. 2) свідчать, що кількість сіркоокиснюючих бактерій у зразках контрольного ґрунту становить 1,2% від загальної кількості мікроорганізмів. Найвищий відносний вміст цих мікроорганізмів виявлений у ґрунті з території підземного виплавлення сірки (21,8%). При аналізі чисельності сіркоокисню-

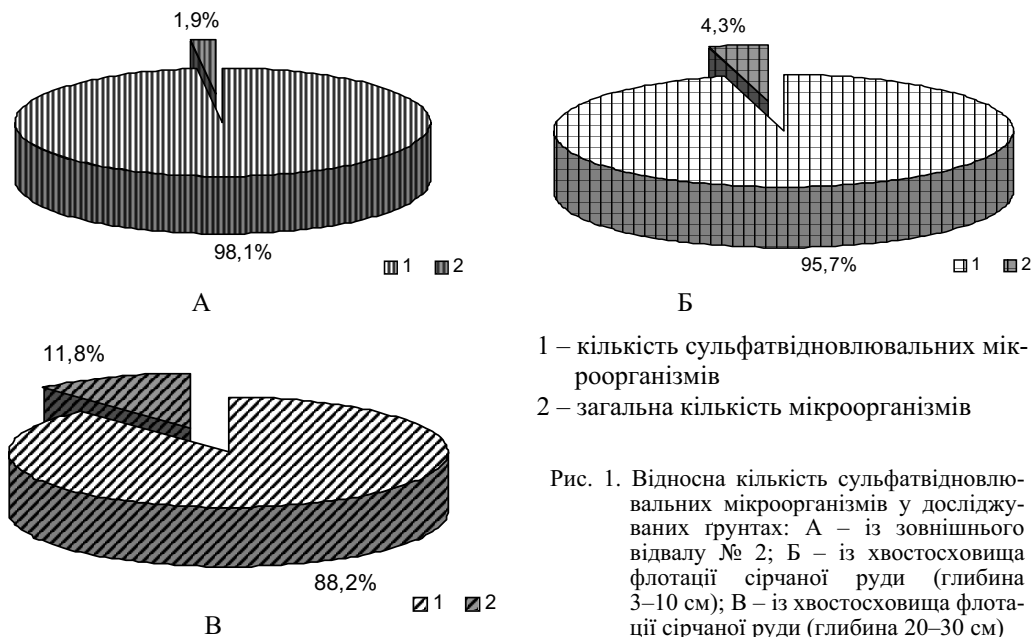
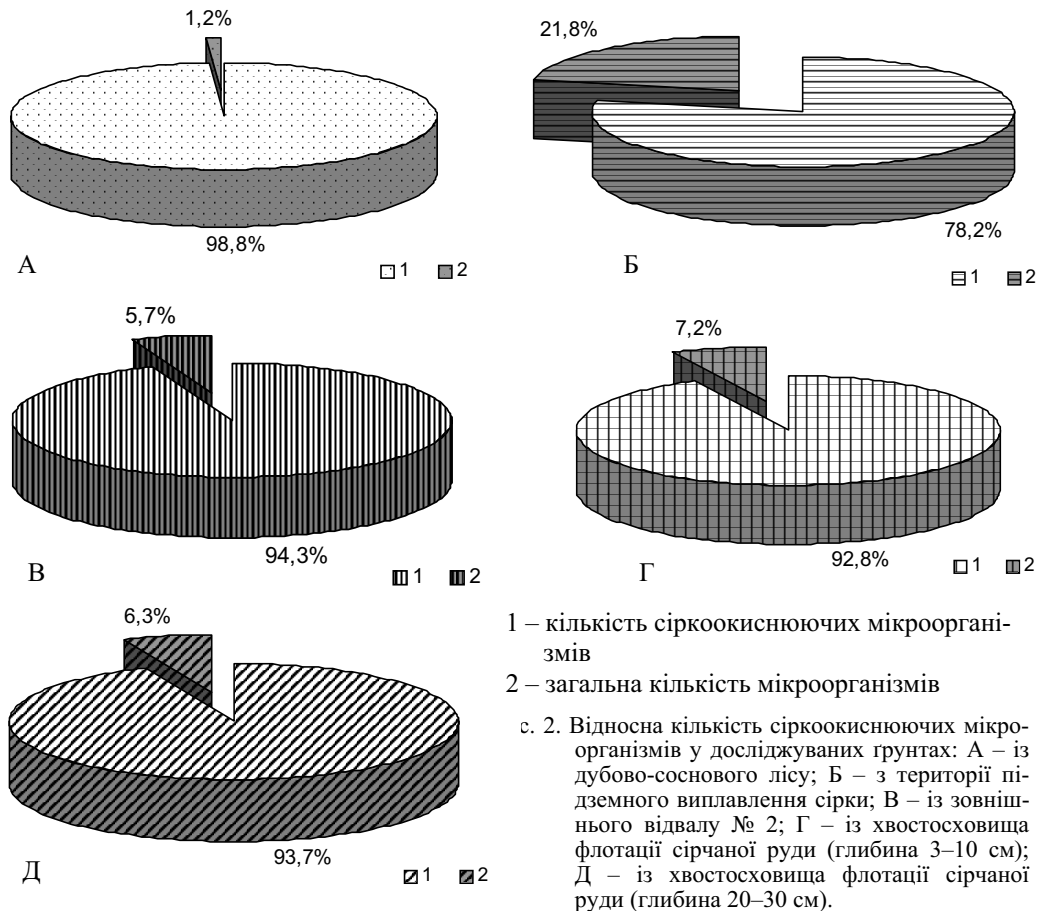


Рис. 1. Відносна кількість сульфатвідновлювальних мікроорганізмів у досліджуваних ґрунтах: А – із зовнішнього відвалу № 2; Б – із хвостосховища флотажі сірчаної руди (глибина 3–10 см); В – із хвостосховища флотажі сірчаної руди (глибина 20–30 см)

Таблиця 3

Чисельність сіркоокиснюючих мікроорганізмів у досліджуваних ґрунтах, $M \pm m$, $n=3$

Мікроорганізми	Кількість мікроорганізмів, КУО · 10 ⁶ /г сухого ґрунту				
	Ґрунт із дубо-соснового лісу	Ґрунт із території підземного виплавлення сірки	Ґрунт із зовнішнього відвалу № 2	Ґрунт із хвостосховища	Ґрунт із хвостосховища
	глибина 3–10 см				глибина 20–30 см
Сіркоокиснюючі	0,30±0,02	1,90±0,11	1,20±0,10	1,50±0,12	0,80±0,07
Загальна кількість	25,53±2,21	8,72±0,73	21,14±1,98	20,77±1,83	12,75±1,09



ючих бактерій у ґрунтах різних горизонтів встановлено, що на глибині 20–30 см відносний вміст цих мікроорганізмів становить 6,3%, а на глибині 3–10 см – 7,2%.

Інтенсивність біологічних процесів у антропогенно змінених ґрунтах визначається екологічними умовами (наявність поживних речовин, температура, опади, рН). Проте вирішальне значення у відновленні та формуванні родючості молодих ґрунтів техногенних екосистем належить мікроорганізмам, за участю яких здійснюються дуже важливі біопродукційні та біогеохімічні процеси. Кількісний і якісний склад мікробних угруповань є суттєвим індикатором екологічного стану біогеоценозів.

1. *Ананьева Н. Д., Благодатская Е. В., Демкина Т. С.* Оценка устойчивости микробных комплексов почв к природным и антропогенным воздействиям // Почвоведение. 2002. № 5. С. 580–587.
2. *Андреюк Е. И., Валагурова Е. В.* Основы экологии почвенных микроорганизмов. К.: Наук. думка, 1992. 224 с.
3. *Андреюк К. І., Іутинська Г. О., Антипчук А. Ф.* та ін. Функціонування мікробних угруповань ґрунту в умовах антропогенного навантаження. К.: Обереги, 2001. 240 с.
4. *Ариунікіна Е. В.* Руководство по химическому анализу почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1970. 487 с.

5. Баран І. М., Подопрігора О. І., Грищук Г. В. та ін. Екологічний моніторинг водоюм Яворівського сіркового родовища; мікробіологічний контроль // Довкілля та здоров'я. 2003. № 4. С. 56–62.
6. Галушка А. А., Перетятко Т. Б., Гудзь С. П. Бактерії циклу сірки та їхня роль у природі // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2007. Вип. 43. С. 61–77.
7. Добровольская Т. Г., Скворцова И. Н., Лысак Л. Б. Методы выделения и идентификации почвенных бактерий. М.: Изд-во МГУ, 1989. 72 с.
8. ДТСУ ISO 10381-6-2001. Відбір проб. Настанови щодо відбору, оброблення та зберігання ґрунту для дослідження аеробних мікробіологічних процесів у лабораторії.
9. ДТСУ ISO 10390-2001. Визначення рН.
10. ДТСУ ISO 10691-2001. Визначення вмісту органічного та загального вуглецю методом сухого спалювання (елементний аналіз).
11. ДТСУ ISO 11261-2001, ISO 11261:1995. Визначення загального вмісту азоту модифікованим методом К'ельдаля.
12. Іутинська Г. О. Ґрунтова мікробіологія. К.: Арістей, 2006. 284 с.
13. Каравайко Г. И., Кузнецов С. И., Голомзик А. И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. М.: Наука, 1972. 215 с.
14. Кучерявий В. П. Екологія. Львів: Світ, 2000. 500 с.
15. Определитель бактерий Берджи / Под ред. Хоулта Дж., Крига Н., Снита П. и др. М.: Мир, 1997. В 2-х т. Т.1. 432 с.
16. Панас Р. Н. Агроэкологические основы рекультивации земель (на примере месторождений серы Предкарпатского бассейна). Львов: Изд-во при Львов. ун-те, 1989. 160 с.
17. Теплер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. М.: Дрофа, 2004. 256 с.
18. Трофимов С. С., Таранов С. А. Особенности почвообразования в техногенных экосистемах // Почвоведение. 1987. № 11. С. 95–99.
19. Чайка В. Е. Математическая модель техногенной экосистемы железорудных скальных отвалов // Микробиол. журн. 1987. Т. 49. № 2. С. 38–42.

SULPHAT REDUCING AND SULPHUR OXIDIZING BACTERIA FROM DIFFERENT BIOTOPS OF YAVORIV SULPHUR DEPOSIT

Ya. Kolisnyk, S. Gudz, O. Podopryhora, I. Klym

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine*

Chemical indexes of soils from different biotops of Yavoriv sulphur deposit and quantity of sulphate reducing and sulphur oxidizing bacteria were explored. Quantity of sulphat reducing microorganisms is larger in soil from floatation of sulphuric ore depot, and sulphur oxidizing bacteria in larger number are present in soils from territory of underground sulfur smelting. Examination of vertical distribution of sulphur cycle microorganisms brought out distinctions in their quantity and composition. Amount of sulphat reducing microorganisms is increasing and amount of sulphur oxidizing bacteria is decreasing with increasing of soil's depth.

Key words: sulphat reducing bacteria, sulphur oxidizing bacteria, sulphur, soils of sulphur deposit.

Стаття надійшла до редколегії 25.12.07

Прийнята до друку 25.01.08