

**С.В. Кузьмішина, С.О. Гнатуш, В.І. Баранов**

Львівський національний університет імені Івана Франка,  
вул. Грушевського, 4, Львів, 79005, Україна,  
тел.: +38 (0322) 39 43 57, e-mail: kuzmishyna\_S\_@ukr.net

## **МІКРОБІОТА ПОРОДНОГО ВІДВАЛУ ЦЕНТРАЛЬНОЇ ЗБАГАЧУВАЛЬНОЇ ФАБРИКИ ЧЕРВОНОГРАДСЬКОГО ГІРНИЧОПРОМИСЛОВОГО РАЙОНУ ЗА ВНЕСЕННЯ ЗОЛИ**

**Мета.** Встановити вплив внесення золи із Добротвірської ТЕС до породи відвалу на чисельність окремих груп мікроорганізмів. **Методи.** Мікроскопічні гриби виявляли на сусло-агарі; целюлозоруйнівальні аеробні бактерії – на середовищі Гетченсона; олігонітрофільні бактерії – на середовищі Ешбі; сульфатвідновлювальні та сірководновлювальні бактерії – на середовищах Кравцова-Сорокіна із сульфатами та сіркою відповідно; безбарвні сіркоокиснювальні бактерії: нейтрофільні – на середовищі Бейеринка, ацидофільні – на середовищі Сільвермана-Людвигена 9К. рН проб порід відвалу визначали з використанням рН-150М [1]. **Результати.** Визначено чисельність окремих груп мікроорганізмів породного відвалу Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ) Червоноградського гірничопромислового району та показано залежність їх кількості від внесення золи із Добротвірської ТЕС. **Висновки.** Внесення золи із Добротвірської ТЕС до породи відвалу ЦЗФ (250 г/м<sup>2</sup>) сприятливо впливає на чисельність мікроскопічних грибів, олігонітрофільних бактерій та безбарвних сіркоокиснювальних нейтрофільних бактерій, однак спричиняє зниження чисельності сірко- і сульфатвідновлювальних бактерій, целюлозоруйнівальних аеробних бактерій, а також безбарвних сіркоокиснювальних ацидофільних бактерій.

*Ключові слова:* мікробіота породних відвалів, мікроскопічні гриби, бактерії, сірководновлювальні бактерії, сульфатвідновлювальні бактерії.

Червоноградський гірничопромисловий район Львівсько-Волинського кам'яновугільного басейну несе велике екологічно небезпечне навантаження, оскільки 211 га відведено під відвали порід. Породний відвал Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ) має площу 76 га і висоту 68 м [3]. Субстрати відвалу характеризуються незадовільними гідрологічними та агрохімічними показниками, низьким вмістом органічних речовин (1–2%) [4]. Вміст йонів важких металів у багато разів перевищує ГДК, водні стоки з відвалу мають високу кислотність (рН 2,7–3,5) за рахунок утворення сульфатної кислоти при окисненні піриту (1–4%) [2].

Кількісний та якісний склад мікроорганізмів вугільних відвалів змінюється залежно від хімічного складу, фізичних властивостей, реакції середовища



(рН), вмісту в ньому повітря, вологи та поживних речовин [11]. Кислотність ґрунтів визначає життєдіяльність мікроорганізмів, впливаючи на доступність поживних речовин [6]. Надмірна кислотність ґрунтів пригнічує діяльність мікроорганізмів, що беруть участь у розкладанні органічних решток [11]. Поліпшення властивостей ґрунтів і зниження ґрунтової кислотності досягаються їх вапнуванням. Як вапняний матеріал доцільно використовувати золу, що знижує кислотність та збагачує субстрат органічними речовинами та мікроелементами, які впливають на нейтралізацію рН і життєдіяльність мікроорганізмів [6, 8]. Однак у районах із вологим кліматом ґрунти поступово повторно закислюються.

Відомо про зниження гідролітичної кислотності ґрунту за внесення висококальцієвмісної золи та попелу, отриманих при спалюванні бурого вугілля [5], про збільшення кількості амілолітичних та целюлозолітичних мікроорганізмів [9]. Відзначається зростання біорізноманітності деструкторів клітковини за внесення високих доз золи. Автори припускають, що показник мінералізації органічної речовини ґрунту досягає максимального значення у варіанті внесення у ґрунт 1000 кг золи на гектар [9]. Встановлено позитивний вплив вугільної золи на чисельність метанотрофних бактерій, мікроскопічних грибів і актиноміцетів та підвищення активності інвертази і фосфатаз за внесення золи у ґрунт у низьких дозах, а також як додаткових складових органічних компостів [12-15].

Метою нашого дослідження було встановити вплив внесення золи із Добровірської ТЕС до породи відвалу ЦЗФ на чисельність окремих груп мікроорганізмів.

### Матеріали і методи

Проби породи із ділянок, локалізованих під насадженнями *Pinus sylvestris* L. і *Betula pendula* L. (2–5 дерев) на схилах відвалу ЦЗФ аналізували у квітні 2014 року. У дослідні ділянки 2 і 4 вносили золу «під корінь» у вересні 2013 року, змішуючи її із субстратом (250 г/м<sup>2</sup>), навколо стовбура під 5-річними саджанцями дерев. Контролем були ділянки 1 (під *P. sylvestris*) і 3 (під *B. pendula*), у які золу не вносили. Отримані проби поміщали у стерильні пакети. На поживні середовища висівали розведені розчини проб, узятих із відвалів. Інкубували у термостаті за температури +28 °С [10]. Мікроскопічні гриби виявляли на сусло-агарі; целюлозоруйнівальні аеробні бактерії – на середовищі Гетченсона; олігонітрофільні бактерії – на середовищі Ешбі; сульфатвідновлювальні та сірководновлювальні бактерії – на середовищах Кравцова-Сорокіна із сульфатами та сіркою відповідно; безбарвні сірководновлювальні бактерії: нейтрофільні – на середовищі Бейєринка, ацидофільні – на середовищі Сільвермана-Люднгрена 9К [7, 10]. Підрахунок кількості колонієутворювальних одиниць (КУО/г ґрунту) проводили, враховуючи розведення та вологість ґрунтових проб, яку визначали за загальноприйнятою методикою [10]. рН проб порід відвалу визначали використовуючи електронний рН-150М [1].

Дослідження кислотності субстрату проводили у п'ятикратній, а посів на середовища – у трикратній повторностях. Для кожної проби визначали основні



статистичні показники (середнє арифметичне –  $M$ , стандартне відхилення від середнього арифметичного –  $m$ ,  $M \pm m$ , рівні достовірності ознак –  $\sigma$ ). Отримані результати опрацьовували статистично, використовуючи програму “Microsoft Excel 2007”.

### Результати та їх обговорення

Беручи до уваги, що рН субстратів впливає на електричний заряд мікробних клітин, стан їх мембран, окисно-відновні реакції, а з іншого боку рН залежить від складу мікроелементів у субстраті, визначали актуальну та потенційну кислотність, яка за характером витіснення йонів включає обмінну і гідролітичну, як в контрольному варіанті, так і при внесенні золи із Добротвірської ТЕС. Актуальна кислотність ( $pH_{\text{вод}}$ ) – це рН ґрунтового розчину. Потенційна кислотність – це кислотність твердої фази ґрунту за впливу  $H^+$  і  $Al^{3+}$ . Обмінна кислотність ( $pH_{\text{сол}}$ ) виявляється при взаємодії твердої фази ґрунту з нейтральними солями (KCl). Гідролітична кислотність (Нг) визначається при обробці ґрунту  $CH_3COONa$  і показує максимально можливу кількість  $H^+$  і  $Al^{3+}$ , що знаходяться в обмінному стані у ґрунті. Отже, за дії KCl та  $CH_3COONa$  відбувається поступове витіснення із ґрунтового вбирного комплексу у ґрунтовий розчин обмінних йонів алюмінію та гідрогену, що надає розчину кислу реакцію. Тому у природних ґрунтах потенційна кислотність вища, ніж актуальна [1].

Субстрати під *P. sylvestris* (без внесення золи) мали більш кислу реакцію, порівняно із дослідними варіантами (із внесенням золи). Зміну кислотності за внесення золи спостерігали і у субстратах під *B. pendula* (табл. 1).

Таблиця 1

**Вплив золи Добротвірської ТЕС на кислотність субстрату під *Pinus sylvestris L.* та *Betula pendula L.* на породному відвалі ЦЗФ**

Table 1

**Impact of coal ash from Dobrotvir TPP on substrate acidity value under *Pinus sylvestris L.* and *Betula pendula L.* on CEP waste heap**

| Варіант                               | Кислотність       |                   |               |
|---------------------------------------|-------------------|-------------------|---------------|
|                                       | $pH_{\text{вод}}$ | $pH_{\text{сол}}$ | Нг            |
| <i>Pinus sylvestris L.</i> (контроль) | 4,4 ± 0,33        | 3,24 ± 0,005      | 6,24 ± 0,06   |
| <i>P. sylvestris</i> (зола)           | 5,13 ± 0,39*      | 3,55 ± 0,09***    | 6,43 ± 0,07** |
| <i>Betula pendula L.</i> (контроль)   | 3,8 ± 0,08        | 2,92 ± 0,02       | 6,2 ± 0,04    |
| <i>B. pendula</i> (зола)              | 4,34 ± 0,39*      | 3,01 ± 0,17       | 6,2 ± 0,06    |
| Зола                                  | 8,43 ± 0,27       | -                 | -             |

Примітки: CEP – Central Enrichment Plant

«-» – не визначали

(\* –  $p \geq 0,95$ ,  $n=5$ ; \*\* –  $p \geq 0,99$ ,  $n=5$ ; \*\*\* –  $p \geq 0,999$ ,  $n=5$  – вірогідність зміни порівняно із контролем)



Зниження рН при визначенні обмінної кислотності очевидно спричиняється тим, що утворюється хлористий алюміній, який є гідролітично кислою сіллю, і з його розпадом утворюється нова кількість йонів гідрогену, які і підкислюють розчин [1]. У досліджених зразках породи гідролітична кислотність виявилася нижчою, ніж обмінна. Очевидно, що антропогенно трансформований субстрат відвалів містить компоненти, які, взаємодіючи із ацетатом натрію, зв'язують йони алюмінію, що зумовлює зниження гідролітичної кислотності.

Проведені мікробіологічні дослідження проб породного відвалу ЦЗФ Червоноградського гірничопромислового району під насадженнями *P. sylvestris* і *B. pendula*. Аналізували проби породи відвалу без внесення золи (контроль; проби 1, 3) і з внесенням золи (проби 2, 4).

Внесення золи до породи відвалу зумовило підвищення чисельності мікроскопічних грибів, у т.ч. дріжджів, (рис. 1, А), порівняно із контрольними пробами, у які золу не вносили. Чисельність цієї групи мікроорганізмів є найвищою у дослідній пробі під *P. sylvestris* і вдвічі знижується у пробі під *B. pendula*. У пробах без внесення золи цей показник зменшується у три рази порівняно із дослідними пробами.

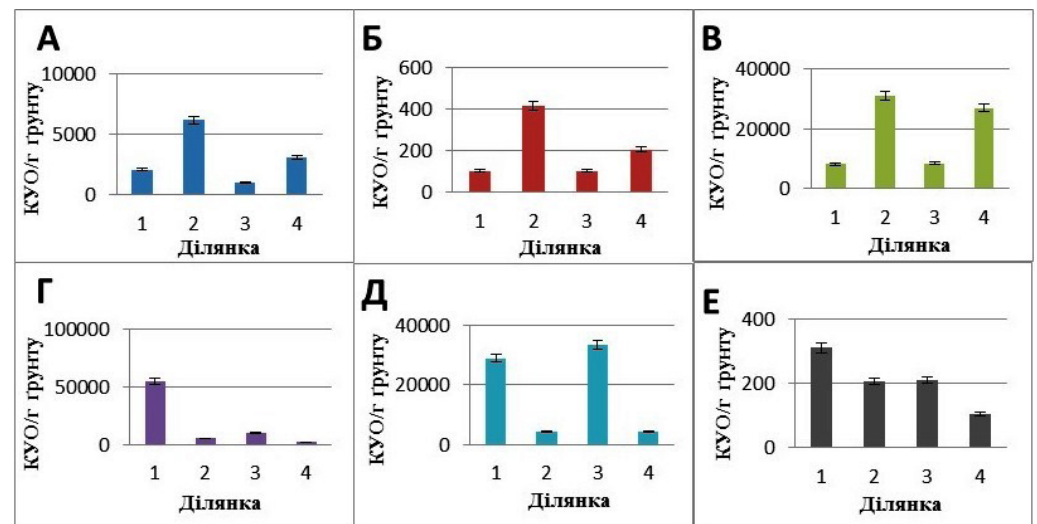


Рис. 1. Вплив золи на чисельність мікроорганізмів відвалу ЦЗФ

1 – *P. sylvestris* (контроль); 2 – *P. sylvestris* (внесення золи); 3 – *B. pendula* (контроль); 4 – *B. pendula* (внесення золи). А – мікроскопічні гриби, в т.ч. дріжджі; Б – безбарвні сіркоокиснювальні бактерії (нейтрофільні); В – олігонітрофільні бактерії; Г – сірковідновлювальні бактерії; Д – сульфатвідновлювальні бактерії; Е – безбарвні сіркоокиснювальні бактерії (ацидофільні)

Fig. 1. Impact of coal ash on microorganisms number of CEP waste heap

1 – the *P. sylvestris* (control); 2 – *P. sylvestris* (coal ash applying); 3 – *B. pendula* (control); 4 – *B. pendula* (coal ash applying). A – microscopic fungi (including yeasts); B – colorless sulfur oxidizing neutrophilic bacteria; C – oligonitrophilic bacteria; D – sulfur reducing bacteria; E – sulfate reducing bacteria; F – colorless sulfur oxidizing acidophilic bacteria



Кількість безбарвних сіркоокиснювальних нейтрофільних бактерій (рис. 1, Б) також була вищою у пробах із додаванням золи. У контрольних пробах без внесення золи чисельність цієї групи мікроорганізмів є нижчою: у 4 рази – у пробі під *P. sylvestris*, та у 2 рази – під *B. pendula*.

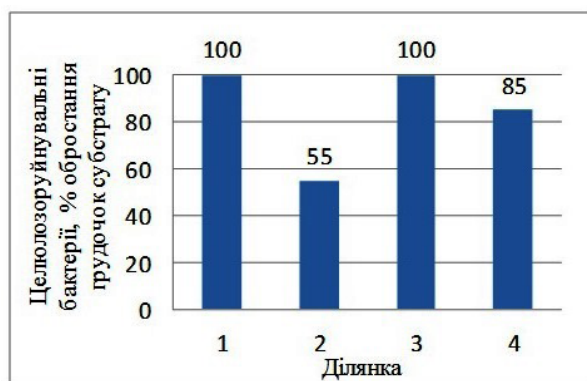
Для олігонітрофільних бактерій (рис. 1, В) відмітили чітко виражене їх домінування у дослідних пробах із внесенням золи. У контрольних пробах чисельність цих бактерій була втричі меншою, порівняно із дослідними пробами, і не перевищувала 9000 КУО/г ґрунту.

Для сірковідновлювальних бактерій (рис. 1, Г) встановили, що внесення золи спричиняє зниження їх чисельності порівняно із контрольними пробами: у 10,6 разів – під *P. sylvestris* та у 10 разів – під *B. pendula*. Окрім того, під *P. sylvestris* спостерігали збільшену у 5 разів чисельність сірковідновлювальних бактерій порівняно із кількістю цих мікроорганізмів під *B. pendula*.

Внесення золи спричинило негативний вплив і на чисельність сульфатвідновлювальних бактерій, знижуючи її приблизно у 6 разів (рис. 1, Д).

У пробах без внесення золи виявили близько 30000 КУО/г ґрунту, у той час як для дослідних проб кількість цих мікроорганізмів не перевищувала 5000 КУО/г ґрунту.

Кількість целюлозоруйнувальних аеробних бактерій аналізували методом обростання грудочок субстрату на середовищі Гетченсона. Загальну кількість грудочок приймали за 100% і вираховували у відсотках кількості грудочок, які обросли колоніями целюлозоруйнувальних бактерій. Встановлено, що внесення золи спричинило зменшення чисельності виявлених деструкторів целюлози: знижуючи даний показник до 85% – під *B. pendula* та 55 % – під *P. sylvestris*, порівняно з контролем (рис. 2).



**Рис. 2. Вплив золи на чисельність целюлозоруйнувальних аеробних бактерій відвалу ЦЗФ**

1 – *P. sylvestris* (контроль); 2 – *P. sylvestris* (внесення золи); 3 – *B. pendula* (контроль); 4 – *B. pendula* (внесення золи)

**Fig. 2. Impact of coal ash on cellulose decomposing aerobic bacteria number of CEP waste heap**

1 – *P. sylvestris* (control); 2 – *P. sylvestris* (coal ash applying); 3 – *B. pendula* (control); 4 – *B. pendula* (coal ash applying)

Таким чином встановлено, що внесення золи із Добротвірської ТЕС до породи відвалу ЦЗФ (250 г/м<sup>2</sup>) сприятливо впливає на чисельність мікроскопічних грибів, олігонітрофільних бактерій та безбарвних сіркоокиснювальних нейтрофільних бактерій, однак спричиняє зниження чисельності сірко- і сульфатвідновлювальних бактерій, целюлозоруйнівальних аеробних бактерій, а також безбарвних сіркоокиснювальних ацидофільних бактерій. Очевидно, що внаслідок зниження кислотності вихідного субстрату після внесення золи відбувається зміна едафічних умов.

**С.В. Кузьмишина, С.А. Гнатуш, В.І. Баранов**

Львовский национальный университет имени Ивана Франко,  
ул. Грушевского, 4, Львов, 79005, Украина,  
тел.: +38 (0322) 39 43 57, e-mail: kuzmishyna\_S\_@ukr.net,

## **МИКРОБИОТА ПОРОДНОГО ОТВАЛА ЦЕНТРАЛЬНОЙ ОБОГАТИТЕЛЬНОЙ ФАБРИКИ ЧЕРВОНОГРАДСКОГО ГОРНОПРОМЫШЛЕННОГО РАЙОНА ПРИ ВНЕСЕНИИ ЗОЛЫ**

### **Реферат**

**Цель.** Установить влияние внесения золы с Добротворской ТЭС к породе отвала на численность микроорганизмов различных групп. **Методы.** Микроскопические грибы учитывали на сусло-агаре; аэробные целлюлозоразрушающие бактерии – на среде Гетченсона; олигонитрофильные бактерии – на среде Эшби; сульфатвосстанавливающие и серовосстанавливающие бактерии – на средах Кравцова-Сорокина с сульфатами и серой соответственно; бесцветные сероокисляющие бактерии: нейтрофильные – на среде Бейеринка, ацидофильные – на среде Сильвермана-Людгерена 9К. рН проб пород отвала определяли с помощью рН-150М. **Результаты.** Определена численность различных групп микроорганизмов породного отвала Центральной обогатительной фабрики Червоноградского горнопромышленного района и показана зависимость их количества от внесения золы с Добротворской ТЭС. **Выводы.** Внесение золы с Добротворской ТЭС к породе отвала ЦОФ (250 г/м<sup>2</sup>) благоприятно влияет на численность микроскопических грибов, олигонитрофильных бактерий и бесцветных сероокисляющих нейтрофильных бактерий, однако приводит к снижению численности серо- и сульфатвосстанавливающих бактерий, аэробных целлюлозоразрушающих бактерий, а также бесцветных сероокисляющих ацидофильных бактерий.

**Ключевые слова:** микробиота породных отвалов, микроскопические грибы, аэробные целлюлозоразрушающие бактерии, олигонитрофилы, сероокисляющие бактерии, серовосстанавливающие бактерии, сульфатвосстанавливающие бактерии.





**S.V. Kuzmishyna, S.O. Hnatush, V.I. Baranov**

Ivan Franko National University of Lviv,  
4, Hrushevsky Str., Lviv, 79005, Ukraine,  
tel.: +38 (0322) 39 43 57, e-mail: kuzmishyna\_S\_@ukr.net

## **MICROBIOTA OF THE CENTRAL ENRICHMENT PLANT WASTE HEAPS OF CHERVONOGRAD MINING REGION AFTER COAL ASH APPLYING**

### **Summary**

**Aim.** To determine the effect of coal ash from Dobrotvir thermal power plant to waste heaps gangue applying on the number of different groups of microorganisms. **Methods.** Microscopic fungi (including yeasts) were revealed on Mash-agar; cellulose decomposing aerobic bacteria – on Hetchenson medium; oligonitrophilic bacteria – on Ashby medium; sulfate and sulfur reducing bacteria – on Kravtsov-Sorokin media, with  $SO_4^{2-}$  and  $S^0$  respectively; colorless sulfur oxidizing bacteria: neutrophilic – on Beyerinck medium, acidophilic – on Silverman and Lundgren 9K medium. The pH of waste heaps gangue samples were determined by pH meter pH -150M. **Results.** Different groups of microorganisms from Central Enrichment Plant waste heap of Chervonograd mining region are enumerated and the dependence of their number on the coal ash applying is shown. **Conclusions.** Coal ash from Dobrotvir TPP to CEP waste heap gangue applying ( $250 \text{ g/m}^2$ ) makes a positive impact on the number of microscopic fungi, oligonitrophilic bacteria and on colorless sulfur oxidizing neutrophilic bacteria. Meanwhile coal ash applying causes decrease in the number of sulfur and sulphate reducing bacteria, cellulose decomposing aerobic bacteria and colorless sulfur oxidizing acidophilic bacteria.

*Key words:* waste heaps microbiota, microscopic fungi, cellulose decomposing aerobic bacteria, oligonitrophilic bacteria, sulfur oxidizing bacteria, sulfur reducing bacteria, sulfate reducing bacteria.

### **СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ**

1. Ариунушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. 2-е изд. – М.: МГУ, 1970. – 488 с.
2. Баранов В. І., Гузь, М. М., Гавриляк М. С., Ващук С. П. Вивчення вмісту важких металів у деревних рослин на декастованих ґрунтах породного відвалу вугільних шахт // Наук. вісн. НЛТУ України : зб. наук.-техн. пр. – Л., 2010. – 20, № 1. – С. 68–72.
3. Баранов В. І. Екологічний опис породного відвалу вугільних шахт ЦЗФ «ЗАТ Львівсистеменерго» як об'єкта для озеленення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2008. – Вип. 46. – С. 172–178.
4. Баранов В. І., Книш І. Б. Хіміко-мінералогічний склад порід відвалу вугільних шахт ЦЗФ «Львівсистеменерго» та їх вплив на проростання насіння // Промислова ботаніка: стан та перспективи розвитку: матеріали V міжнар. наук. конф. – Донецьк, 2007. – С. 36–37.



5. Гібчинська М. А., Башуцька У. Б., Левандовська Л. В. Вплив золи бурого вугілля на фізичні властивості ґрунту // Науковий вісник НЛТУ України: зб. наук.-техн. пр. – Л., 2009. – 19, № 9. – С. 67–71.
6. Гордеева А. Зола в поміць [Електрон. ресурс] // Советская Белоруссия, 2012. – № 164. – Режим доступу к журналу: <http://www.sb.by/sad-i-ogorod/article/zola-v-pomoshch.html>.
7. Гудзь С.П., Гнатуш С.О., Яворська Г.В., Білінська І.С., Борсукевич Б.М. Практикум з мікробіології: підручник: [для студ. вищ. навч. закл.]. – Л: ЛНУ ім. І. Франка, 2014. – 436 с.
8. Зола вугільна [Електрон. ресурс] // Мала гірнича енциклопедія. В 3 т. / За ред. Білецького В. С. – Донецьк: Донбас, 2004. – 576 с. – Режим доступу: <http://www.experts.in.ua/baza/doc/download/gorZ.pdf>.
9. Коростелёва Л.А., Третьякова О.И., Доценко С.П., Исаева Т.А. Влияние отходов элеваторов и золы от их сжигания на микрофлору ризосферы, ризопланы и филлопланы озимой пшеницы [Электрон. ресурс] // Научный журнал КубГАУ, 2013. – 87, № 3. – Режим доступу к журналу: <http://ej.kubagro.ru/2013/03/pdf/40.pdf>.
10. Теплер Е. З., Шельникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. – 3-е изд. – М.: Агропромиздат, 1987. – 239 с.
11. Ярошко М. Кислотність ґрунтів та її вплив на живлення рослин // Агроном. – 2013. – № 1. – С. 30–33.
12. Emmerling C., Liebner C., Haubold-Rosar M., Katur J. and Schröder D. // Plant and Soil. 220: 129-138, 2000.
13. Nayak AK., Raja R., Rao KS., Shukla AK. An others. Effect of fly ash application on soil microbial response and heavy metal accumulation in soil and rice plant// Ecotoxicol. Environ. Saf. May, 2014. ISSN 0147-6513.
14. Singh JS., Pandey VC. Fly ash application in nutrient poor agriculture soils: impact on methenotrophs population dynamics and paddy yields// Ecotoxicol. Environ. Saf. Mar., 2013; 89:43-51.
15. SurrIDGE AKJ., A. van der Merwe, Kruger R. Preliminary microbial studies on the impact of plants and South African fly ash on amelioration of crude oil polluted acid soils// World of coal Ash (WOCA) Conference. May, 4–7, 2009. – Lexington, KY, USA.

Стаття надійшла до редакції 20.10.2014 р.

