

УДК 579.266/68(477)

## МІКРОФЛОРА ВОДИ ОЗЕРА “ЯВОРІВСЬКЕ”

О.М. Мороз, Я.І. Колісник, О.І. Подопрігора, І.Р. Клим, С.П. Гудзь, Б.М. Борсукевич, С.О. Гнатуш

**Мікрофлора води озера “Яворівське”.** – О.М. Мороз, Я.І. Колісник, О.І. Подопрігора, І.Р. Клим, С.П. Гудзь, Б.М. Борсукевич, С.О. Гнатуш. – Хімічний аналіз проб води, відібраних з різних глибин (0–72 м) озера влітку 2007 року, показав, що рН, загальна твердість води, вміст іонів  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  на всіх глибинах не перевищують норми. Температура була від 19,5 до 4,0° С. Концентрації  $\text{SO}_4^{2-}$  (0,856 - 1,725 г/л) на всіх глибинах та  $\text{H}_2\text{S}$  (3,293 - 4,722 мг/л) на глибині від 30 до 72 м значно перевищували ГДК. У поверхневому шарі води виявлено найбільшій кількості сапрофітів -  $2,25 \cdot 10^8$ , мікроскопічних грибів -  $2,31 \cdot 10^7$ , целюлозоруйнуючих бактерій -  $9,21 \cdot 10^4$ , нітрифікаторів -  $4,02 \cdot 10^6$ , олігонітрофілів -  $5,80 \cdot 10^6$ , ціанобактерій -  $7,02 \cdot 10^4$  кл/мл. Кількість сульфатвідновлювальних бактерій та фототрофних пурпурових і зелених сіркобактерій із збільшенням глибини озера зростала і на глибині 72 м становила  $1,93 \cdot 10^6$  і  $7,24 \cdot 10^3$  кл/мл, відповідно. Найбільшу кількість нейтрофільних і ацидофільних представників безбарвних сіркоокиснюючих бактерій виявлено у поверхневому шарі водойми:  $5,11 \cdot 10^5$  і  $8,01 \cdot 10^4$  кл/мл, відповідно. Кількість сульфатвідновлювальних і безбарвних сіркоокиснюючих бактерій у воді озера впродовж 2005 – 2007 років зростала. Найбільш активно процеси відновлення та окиснення сполук сірки за участю сульфатвідновлювальних і сіркоокиснюючих бактерій відбуваються у весняно-літній період.

**Ключові слова:** фізіологічні групи мікроорганізмів, сульфати, сірководень

**Адреса:** Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Грушевського, 4, м. Львів 79005, Україна, e-mail: [microbio@franko.lviv.ua](mailto:microbio@franko.lviv.ua)

**Microflora of lake “Javorivske” water.** – О.М. Мороз, Я.І. Колісник, О.І. Подопрігора, І.Р. Клим, С.П. Гудзь, Б.М. Борсукевич, С.О. Гнатуш. – Chemical analysis of water probes from different depths (0-72 m) of lake in the summer of 2007 shown, that pH, total hardness of water, ions  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  quantity from all depth don't exceed the norm. Temperature was from 19,5 to 4,0° C. Concentrations of ions  $\text{SO}_4^{2-}$  (0,856 - 1,725 g/l) on all depths and hydrogen sulfide (3,293 - 4,722 mg/l) on depths from 30 to 72 m considerably exceeded admitted limit. On surface layer of water it was discovered the most quantities of saprophytes -  $2,25 \cdot 10^8$ , microscopical fungi -  $2,31 \cdot 10^7$ , cellulose degrading bacteria -  $9,21 \cdot 10^4$ , nitrifiers -  $4,02 \cdot 10^6$ , oligonitrophyles -  $5,80 \cdot 10^6$ , cyanobacteria -  $7,02 \cdot 10^4$  cells/ml. With increasing of lake depth the quantity of sulfate reducing bacteria and phototrophic purple and green sulfur bacteria increased and on depth 72 m was  $1,93 \cdot 10^6$  and  $7,24 \cdot 10^3$  cells/ml, accordingly. Most quantity of neutrophyl and acidophyl representatives of colourless sulfur oxidizing bacteria was discovered in surface layer of water:  $5,11 \cdot 10^5$  і  $8,01 \cdot 10^4$  cells/ml, accordingly. During 2005-2007 years the quantity of sulfate reducing and colourless sulfur oxidizing bacteria in lake water increased. Most actively the sulfur compounds reducing and oxidizing processes with participation of sulfate reducing and colourless sulfur oxidizing bacteria take place in the spring and summer periods.

**Key words:** physiological groups of microorganisms, sulfates, hydrogen sulfide

**Address:** Ivan Franko National University of L'viv, Hrushevsky Str., 4, Lviv 79005, Ukraine, e-mail: [microbio@franko.lviv.ua](mailto:microbio@franko.lviv.ua)

У зв'язку з світовою сірковою кризою Яворівське державне гірничо-хімічне підприємство з видобутку сірки у червні 1998 року повністю припинило промислову діяльність. З цього часу значна територія сіркового родовища, а власне центральний зумпф і прилеглі рукави сірквидобувного кар'єру, затоплюється водою. У 2005 році глибина водної товщі становила близько 50 м, у 2006 році – 60 м, а у 2007 році – сягнула позначки 90 м. У поверхневому шарі води ще донедавна (до 2005 року) виявлявся сірководень, наявність якого у цій зоні неприпустима через високу його токсичність.

Загальна територія, яку займає кар'єр – 1080 га. У районі на схід від кар'єру, а також уздовж річок Шкло, Терешка, відведених із території розробки родовища, відбувається активізація карстових процесів, оскільки затоплений кар'єр здрунував підземні води всього Яворівського району. Хоча відкачування води з кар'єру у водосховища Гноєнець, Шкло, Руське, річки Гноєнець, Терешка давно припинене, це призвело до забруднення їх водної маси, мулових осадів та навколишніх ґрунтів токсичними сполуками. За оцінками Львівського управління екології та природних ресурсів, в зоні діяльності підприємства екологічна ситуація набула критичного характеру внаслідок забруд-

нення агресивними сполуками сірки ґрунтів, повітря, водойм та через цілеспрямовану і пришвидшену діяльність відповідних організацій з ліквідації кар'єру [2].

У воді озера "Яворівське", що утворилося на місці кар'єру, безперервно відбуваються складні взаємоперетворення органічних і мінеральних речовин, причому мікроорганізми забезпечують циклічність і збалансованість кругообігу основних хімічних елементів, енергетичний взаємозв'язок процесів, які відбуваються у різних екологічних зонах. Різні фізіологічні групи мікроорганізмів займають окремі екологічні ніші, зумовлені фізіолого-біохімічними особливостями і типом взаємовідносин. Шари водної товщі відрізняються за фізико-хімічними властивостями, містять неоднакову кількість поживних речовин і є складною динамічною системою [1].

Основними властивостями водойми як середовища існування і розвитку мікроорганізмів є температурний і газовий (насиченість  $\text{CO}_2$  та  $\text{O}_2$ ) режими, опромінення, кислотність, якісний і кількісний склад мінеральних сполук, надходження і доступність біогенних елементів, глибина, швидкість течії, флора і фауна. На поверхні води на мікроорганізми згубно діють промені сонця, а на глибині – низька температура, нестача кисню. У водоймах поширені представники майже всіх систематичних і фізіологічних груп мікроорганізмів, які зустрічаються в повітрі, ґрунті, на рослинах і тваринах. Мікрофлора, яка надходить зовні (*алотонна*), є неспецифічною і небагаточисельною, порівняно із загальною чисельністю *автохтонної* мікрофлори, яка пристосувалася до екологічних умов даної водойми. Лише за тривалого надходження у водойму специфічних забруднень, коли починають змінюватися екологічні умови середовища, відбувається зміна видового складу автохтонної мікрофлори [3].

В процесі видобутку корисних копалин відкритим способом компоненти природного еволюційно сформованого біогеоценозу руйнуються. Утворюються техногенні ландшафти, рекультивация яких призводить до формування якісно нових біогеоценозів, мікробіоценозів. Їх компоненти вступають у тісну взаємодію між собою і з гірською породою, винесеною на поверхню з недоступної раніше глибини. Формуються нові гідрогеологічні і гідрологічні умови, нові угруповання мікроорганізмів, яким не має аналога у природі [1, 14].

У штучній водоймі, якою є озеро "Яворівське", найбільший інтерес представляє дослідження розповсюдження фотолітотрофних мікроорганізмів (ціанобактерій, пурпурових і зелених сіркобактерій) та хемолітотрофних мікроорганізмів (нітрифікуючих, безбарвних сіркоокиснюючих та сульфатвідновлювальних бактерій), у зв'язку з її забрудненням в першу чергу неорганічними речовинами, особливо сполуками сірки. Мікробіологі-

чний контроль за розвитком основних фізіологічних груп мікроорганізмів у озері "Яворівське" здійснюється з 2001 року з урахуванням змін хімічного складу води і глибини затоплення. Основна увага приділяється дослідженню розповсюдження бактерій циклу сірки, оскільки метаболічні процеси, здійснювані ними, є суттєвим фактором оцінки екологічного стану водойми [1, 6].

Метою цієї роботи було дослідити хімічний склад води озера "Яворівське" на різних глибинах влітку 2007 року та вивчити основні фізіологічні групи мікроорганізмів, які беруть участь у кругообігу вуглецю, азоту та сірки, що допоможе науково обґрунтувати комплекс заходів для покращення екологічної ситуації у даному регіоні.

## Матеріал і методи

Відбір проб води з різних глибин кар'єру (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 72 м) проводили за допомогою батометра. Контрольною була проба води, відібрана з поверхні водойми джерельного типу заповідника "Розточчя", не забрудненої сполуками сірки.

Концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$  та  $\text{Mg}^{2+}$  визначали титриметрично з трилоном Б,  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$  аналізували за методом полум'яно-емісійної спектроскопії ( $\lambda_{\text{K}} = 768$  нм,  $\lambda_{\text{Na}} = 589$  нм; СФ Flahho-4 Carl Zeiss, Jena),  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  - фотоколориметрично (КФК-3), сірководень – титруванням йодометрично, рН води – потенціометрично [9, 10, 11]. Відбір проб води і її хімічний аналіз проводили спільно з працівниками відділення гірничо-хімічної сировини Інституту „Гірхімпром” Академії гірничих наук України під керівництвом члена-кореспондента АГН України Гайдина А.М.

Сапрофіти, у тому числі амоніфікатори, виявляти на м'ясо-пептонному агарі (МПА); мікроскопічні гриби – на сусло-агарі (СА); целюлозоруйнуючі аеробні бактерії – на середовищі Гетченсона; нітрифікатори – на середовищі Виноградського; олігонітрофіли – на середовищі Ешбі; ціанобактерії – на суміші Кнопа; сульфатвідновлювальні бактерії – на середовищі Кравцова-Сорокіна; безбарвні сіркоокиснюючі бактерії: нейтрофіли – на середовищі Бейеринка, ацидофіли – на середовищі Сільвермана-Люднгрена 9К; фотосинтезувальні пурпурові і зелені сіркобактерії – на середовищі Ван Ніля [5, 8].

Підрахунок кількості клітин мікроорганізмів у 1 мл води на твердих середовищах здійснювали безпосередньо на чашках, враховуючи розведення, у рідких середовищах – методом граничних розведень, враховуючи розведення, за таблицею Мак-Креді [13].

Отримані результати опрацьовували статистично [7].

## Результати досліджень та їх обговорення

Оскільки вода є середовищем існування численних мікроорганізмів, а їх кількість і склад є суттєвим індикатором екологічного стану водойми, то було важливо провести хімічний аналіз проб води озера “Яворівське”, відібраних влітку 2007 року з різних глибин (табл. 1), оскільки в цей

період року кількість мікроорганізмів у водоймі є найвищою [1, 6]. Від фізико-хімічних властивостей води (температури, вмісту кисню, твердості, рН) може залежати токсичність багатьох неорганічних речовин, що згубно діє на мікроорганізми [4].

Таблиця 1. Хімічний аналіз води озера “Яворівське” (літній період 2007 року)

Глибина, м	рН	Т, °С	Загальна твердість води	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	H <sub>2</sub> S
			мг-екв/л	г/л							
0	7,9±0,3	19,5±1,2	1,310±0,043	0,041±0,005	0,0020±0,0001	0,315±0,009	0,031±0,001	0,154±0,006	0,018±0,001	0,856±0,005	0
5	8,1±0,4	13,0±1,6	1,371±0,064	0,041±0,003	0,0020±0,0004	0,315±0,005	0,038±0,002	0,161±0,007	0,018±0,002	0,896±0,006	0
10	7,9±0,4	11,5±0,8	1,546±0,036	0,041±0,009	0,0021±0,0003	0,332±0,004	0,028±0,004	0,161±0,005	0,018±0,001	0,964±0,030	0
20	7,6±0,4	10,0±0,3	1,602±0,025	0,043±0,001	0,0022±0,0001	0,303±0,001	0,049±0,001	0,166±0,002	0,019±0,003	1,020±0,019*	0
30	7,1±0,2	7,0±1,1	1,896±0,016	0,043±0,002	0,0023±0,0002	0,401±0,001	0,042±0,003	0,207±0,002	0,020±0,002	1,181±0,030*	3,293±0,015*
40	6,9±0,3	4,5±0,3	1,951±0,018	0,043±0,008	0,0024±0,0001	0,372±0,002	0,045±0,002	0,195±0,001	0,020±0,004	1,274±0,015*	3,316±0,025*
50	6,1±0,5	4,0±0,9	2,252±0,022	0,043±0,006	0,0024±0,0001	0,441±0,006	0,042±0,001	0,232±0,005	0,020±0,004	1,475±0,039*	3,328±0,034*
60	6,3±0,4	4,0±0,7	2,647±0,034	0,048±0,003	0,0024±0,0003	0,617±0,001	0,042±0,001	0,329±0,003	0,023±0,005	1,586±0,022*	3,781±0,016*
72	6,2±0,4	4,0±0,1	2,900±0,025	0,048±0,001	0,0024±0,0001	0,685±0,006	0,042±0,001	0,375±0,004	0,023±0,001	1,725±0,014*	4,722±0,024*
ГДК [4]	6,7-8,6		<7	0,050	0,0040	1,000	0,125	0,240	0,350	0,500	<0,3

Примітка: \* - p ≤ 0,05

Кислотність води на всіх глибинах виявилась слаболужною (рН від 6,1 до 8,1), що є в межах норми. Температура коливалась від 19,5±1,2° С у верхніх шарах до 4,0±0,1° С у нижніх, тобто спостерігався досить значний перепад температур. Загальна твердість води, яка характеризується сумарним числом мг-еквівалентів іонів Ca<sup>2+</sup> та Mg<sup>2+</sup> в 1 л води, виявилась невисокою: від 1,310±0,043

на поверхні до 2,900±0,025 мг-екв/л на дні, порівняно з гранично допустимою концентрацією (ГДК) <7, а, отже, досліджувана вода за цим показником є придатною як середовище існування мікроорганізмів та інших організмів. Концентрації іонів Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> та Mg<sup>2+</sup> виявилися на всіх глибинах незначними і не перевищували ГДК. Вміст іонів HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> та Cl<sup>-</sup> теж виявився у межах норми,

хоча кількість гідрокарбонатів на глибинах нижче 50 м була рівною або незначно вищою від ГДК. На відміну від інших сполук, ситуація з кількістю сульфатів і сірководню у воді кар'єру виявилася критичною. На всіх глибинах концентрація іону  $SO_4^{2-}$  виявилася вищою, а нижче 20 м – значно вищою, ніж ГДК, і становила від  $0,856 \pm 0,005$  до  $1,725 \pm 0,014$  г/л при ГДК 0,5 г/л. Сірководню до глибини 30 м не виявлено, але вже на глибинах понад 30 м його концентрація більш, ніж у 10 разів перевищувала ГДК, яка становить 0,3 мг/л. Слід відзначити, що з 2001 року по 2007 рік концентрація сульфатів у воді кар'єру (придонних шарах) зросла від 0,784 до 1,725 г/л, хоча вміст сірководню у поверхневих водах, на відміну від 2001-2005 років, суттєво знизився. У придонних шарах його кількість зменшилася від 12,10 до 4,72 мг/л, тобто втричі.

Аналіз мікрофлори води досліджуваного озера (табл. 2) показав, що найбільш багаточисельною фізіологічною групою у поверхневому шарі води є сапрофіти, у тому числі амоніфікатори, де їх кількість становить  $(2,25 \pm 0,01) \cdot 10^8$  кл/мл. Якщо порівняти кількість сапрофітів у поверхневому шарі води озера “Яворівське” і водойми джерельного типу заповідника “Розточчя”, то видно, що їхня

кількість у озері майже у п'ять разів вища, що свідчить про забруднення водного середовища озера органічними рештками: продуктами життєдіяльності інших організмів, рослинними чи тваринними тканинами, що розкладаються. Сапрофіти – представники родів *Proteus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Clostridium* та ін. – забезпечують мінералізацію органічних форм азоту у мінеральні форми: амонійні солі, солі азотистої та азотної кислот, аміак, молекулярний азот. На глибині 10 м кількість сапрофітів зменшується майже у 5 разів, а на глибинах, нижче 30 м – у 20 і більше разів. Мікроскопічних грибів (до яких відносять представників родів *Alternaria*, *Fusarium*, *Chaetomium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Botrytis*, *Trichothecium*, *Candida*, *Hansenula*, *Rhodotorula* та ін.) у поверхневих шарах води було виявлено  $(2,31 \pm 0,02) \cdot 10^7$  кл/мл, а на глибині 72 м – всього  $(2,00 \pm 0,01) \cdot 10^3$  кл/мл. Целюлозоруйнуючі бактерії виявлялися лише до глибини 20 м, їх кількість у верхньому шарі води становила  $(9,21 \pm 0,04) \cdot 10^4$  кл/мл. Кількість бактерій обох цих фізіологічних груп значно перевищувала кількість бактерій у контрольній пробі води, що є індикатором значного забруднення вод озера органічними речовинами.

Таблиця 2. Мікрофлора води озера “Яворівське”, відібраної влітку 2007 року з різних глибин

Фізіологічні групи мікроорганізмів	Кількість мікроорганізмів, кл/мл води								K**
	Глибина відбору проб води, м								
	0	10	20	30	40	50	60	72	
Сапрофіти	$(2,25 \pm 0,01) \cdot 10^8$ *	$(4,75 \pm 0,02) \cdot 10^7$	$(2,42 \pm 0,05) \cdot 10^7$	$(1,02 \pm 0,03) \cdot 10^7$	$(9,10 \pm 0,01) \cdot 10^6$	$(8,31 \pm 0,02) \cdot 10^6$	$(7,01 \pm 0,03) \cdot 10^6$	$(3,00 \pm 0,01) \cdot 10^4$	$(4,81 \pm 0,02) \cdot 10^7$
Мікроскопічні гриби	$(2,31 \pm 0,02) \cdot 10^7$ *	$(1,42 \pm 0,01) \cdot 10^7$	$(8,04 \pm 0,03) \cdot 10^6$	$(3,03 \pm 0,01) \cdot 10^6$	$(6,03 \pm 0,02) \cdot 10^5$	$(2,11 \pm 0,01) \cdot 10^4$	$(9,05 \pm 0,03) \cdot 10^3$	$(2,00 \pm 0,01) \cdot 10^3$	$(3,30 \pm 0,03) \cdot 10^6$
Целюлозоруйнуючі бактерії	$(9,21 \pm 0,04) \cdot 10^4$ *	$(2,11 \pm 0,02) \cdot 10^4$	$(5,02 \pm 0,01) \cdot 10^3$	0	0	0	0	0	$(1,02 \pm 0,08) \cdot 10^3$
Нітрифікатори	$(4,02 \pm 0,01) \cdot 10^6$ *	$(1,20 \pm 0,02) \cdot 10^6$	$(8,03 \pm 0,02) \cdot 10^5$	$(3,12 \pm 0,01) \cdot 10^5$	$(2,24 \pm 0,02) \cdot 10^4$	$(2,15 \pm 0,01) \cdot 10^4$	$(2,31 \pm 0,04) \cdot 10^4$	$(5,28 \pm 0,06) \cdot 10^3$	$(2,01 \pm 0,02) \cdot 10^6$
Олігонітрофіли	$(5,80 \pm 0,01) \cdot 10^6$ *	$(2,75 \pm 0,02) \cdot 10^6$	$(1,97 \pm 0,01) \cdot 10^6$	$(8,40 \pm 0,03) \cdot 10^5$	$(5,11 \pm 0,02) \cdot 10^4$	$(3,52 \pm 0,01) \cdot 10^4$	$(2,70 \pm 0,04) \cdot 10^4$	$(1,01 \pm 0,02) \cdot 10^3$	$(1,62 \pm 0,03) \cdot 10^7$
Ціанобактерії	$(7,02 \pm 0,02) \cdot 10^4$ *	$(2,12 \pm 0,01) \cdot 10^3$	0	0	0	0	0	0	$(1,10 \pm 0,01) \cdot 10^8$

Примітки: \* -  $p \leq 0,05$

\*\* - Контроль: проба води, відібрана з поверхні водойми джерельного типу заповідника “Розточчя”

Про активні процеси метаболізму сполук азоту свідчить наявність більшої кількості, порівняно з контролем, у поверхневому шарі води нітрифікаторів  $((4,02 \pm 0,01) \cdot 10^6$  кл/мл), а також великої кількості (хоча і нижчої, ніж у контрольній пробі) олігонітрофілів:  $((5,80 \pm 0,01) \cdot 10^6$  кл/мл) та ціанобактерій  $((7,02 \pm 0,02) \cdot 10^4$  кл/мл), деякі представники останніх, окрім окисного фотосинтезу здатні до фіксації молекулярного азоту (*Synechococcus*, *Anabaena*, *Nostoc*, *Nodularia* та ін.). Нітрифікуючі хемолітоавтотрофні бактерії у водному середовищі можуть окиснювати аміак, гідроксиламін, нітрит та інші неорганічні сполуки азоту, причому нітробактерії (*Nitrosococcus*, *Nitroso-*

*lobus*, *Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosovibrio* і ін.) окиснюють амоній до нітриту, нітробактерії (*Nitrobacter*, *Nitrococcus*, *Nitrospira* і ін.) – нітрит до нітрату. Якщо нітрифікатори та олігонітрофіли, хоча і у незначній кількості, виявлялися на всіх глибинах, ціанобактерії були виявлені лише до глибини 10 м, що пов'язано з їх потребами у кисні, вищій температурі та освітленні.

Чисельність мікроорганізмів усіх фізіологічних груп (аерофіли та мікроаерофіли) на глибині понад 30 м різко знижується, можливо, не лише у зв'язку з низькою концентрацією кисню, пониженням температури, але і через наявність вели-

ких кількостей токсичних сульфатів та, особливо, сірководню.

Трансформація речовин, які містять сірку, складається з двох принципово відмінних процесів: окиснення відновлених сполук сірки до сірки та сірчаної кислоти і відновлення окиснених сполук сірки до сірководню.

Унікальною метаболічною властивістю сульфатвідновлювальних бактерій (*Desulfotomaculum*, *Desulfovibrio*, *Desulfobacter*, *Desulfobulbus*, *Desulfonema*, *Desulfomonas*, *Desulfosarcina* і ін.) є здатність переносити водень від органічного субстрату на сульфат і відновлювати його до сірководню, що є небезпечним фактором забруднення довкілля. Сульфатредукція – основний механізм утворення відновлених сполук сірки у всіх водоймах. За рахунок органічної сірки в донних відкладах

утворюється не більше 10% цих сполук. Утворення при сульфатредукції сірководень зв'язується в зоні відновлених осадів реакційнодатним залізом – це дуже важливий біогеохімічний процес виведення сірки з її глобального кругообігу. В місцях активної життєдіяльності сульфатвідновлювальних бактерій відбувається енергійне анаеробне споживання органічної речовини та інтенсивне нагромадження біогенної вуглекислоти і її похідних – бікарбонату і карбонату [12]. Як видно з таблиці 3, кількість сульфатвідновлювальних бактерій із збільшенням глибини кар'єру зростає від  $(1,31 \pm 0,02) \cdot 10^3$  кл/мл у поверхневому шарі води до  $(1,93 \pm 0,05) \cdot 10^6$  кл/мл на глибині 72 м, що свідчить про інтенсивні процеси відновлення сульфатів до сірководню в глибинній зоні водойми.

Таблиця 3. Чисельність мікроорганізмів кругообігу сірки у воді озера “Яворівське”, відібраної влітку 2007 року з різних глибин.

Фізіологічні групи мікроорганізмів		Кількість мікроорганізмів, кл/мл води								K**
		Глибина відбору проб води, м								
		0	10	20	30	40	50	60	72	
Сульфат відновлювальні бактерії		$(1,31 \pm 0,02) \cdot 10^3*$	$(4,52 \pm 0,02) \cdot 10^4$	$(8,50 \pm 0,01) \cdot 10^4$	$(1,42 \pm 0,04) \cdot 10^5$	$(7,50 \pm 0,01) \cdot 10^5$	$(1,41 \pm 0,05) \cdot 10^6$	$(1,90 \pm 0,03) \cdot 10^6$	$(1,93 \pm 0,05) \cdot 10^6$	$(1,03 \pm 0,02) \cdot 10^2$
Безбарвні сіркоокиснючі бактерії	Нейтрофіли	$(5,11 \pm 0,02) \cdot 10^3*$	$(4,00 \pm 0,30) \cdot 10^2$	$(0,80 \pm 0,20) \cdot 10^1$	0	0	0	0	0	$(2,41 \pm 0,26) \cdot 10^4$
	Ацидофіли	$(8,01 \pm 0,42) \cdot 10^4*$	$(9,12 \pm 0,21) \cdot 10^1$	0	0	0	0	0	0	$(2,75 \pm 0,15) \cdot 10^4$
Фототрофні пурпурові та зелені сіркобактерії		$(9,12 \pm 0,01) \cdot 10^1$	$(1,31 \pm 0,03) \cdot 10^2$	$(6,01 \pm 0,01) \cdot 10^2$	$(1,32 \pm 0,03) \cdot 10^3$	$(1,30 \pm 0,01) \cdot 10^4$	$(2,03 \pm 0,01) \cdot 10^4$	$(5,11 \pm 0,02) \cdot 10^4$	$(7,24 \pm 0,05) \cdot 10^5$	$(1,04 \pm 0,01) \cdot 10^2$

Примітки: \*-  $p \leq 0,05$

\*\* - Контроль: проба води, відібрана з поверхні водойми джерельного типу заповідника “Розточчя”

Окиснення сполук сірки з різним ступенем відновлення – зворотний до дисиміляційної сульфатредукції процес, який в природних умовах здійснюється безбарвними сіркоокиснючими бактеріями (*Achromatium*, *Beggiatoa*, *Hyphomicrobium*, *Macromonas*, *Sulfolobus*, *Thiobacillus*, *Thiodendron*, *Thiomicrospira*, *Thiothrix*, *Thioploca*). В роботі використано елективні середовища для нейтрофільних представників тіонових бактерій роду *Thiobacillus*, зокрема *T. thioparus*, які відіграють важливу роль в утворенні епігенетичних місцезароджень сірки, і ацидофільних представників, зокрема *T. ferrooxidans*, які здатні окиснювати відновлені сполуки сірки та заліза (II). У поверхневих шарах водойми виявлено найбільшу (порівняно з іншими глибинами) кількість безбарвних сіркоокиснючих бактерій:  $(5,11 \pm 0,02) \cdot 10^5$  кл/мл нейтрофілів і  $(8,01 \pm 0,42) \cdot 10^4$  кл/мл ацидофілів, які на глибинах понад 20 м не виявлялися. Порівняно з контролем цих бактерій було значно більше на поверхні води, можливо, у зв'язку з активними процесами окиснення сполук сірки, які вони здійснюють.

Основними споживачами сірководню в анаеробній зоні водойми є фототрофні пурпурові

(*Amoebobacter*, *Chromatium*, *Lamprobacter*, *Lamprocystis*, *Thiocapsa*, *Thiocystis*, *Thiodictyon*, *Thiospirillum* і ін.) та зелені (*Ancalochloris*, *Chlorobium*, *Chloroherpeton*, *Pelodictyon*, *Prostecochloris*, *Chloroflexus*, *Chloronema*, *Heliothrix*, *Oscillochloris* і ін.) сіркобактерії, які ростуть лише за наявності відновлених сполук сірки і, в першу чергу, сірководню, використовуючи його у процесі аноксигенного фотосинтезу як донор електронів. У поверхневому шарі води кількість фототрофних сіркобактерій виявилася незначною, але із збільшенням глибини їх чисельність зростала і була максимальною в придонному шарі води на глибині 72 м:  $(7,24 \pm 0,05) \cdot 10^5$  кл/мл. Пігментний склад фотосинтезувальних сіркобактерій дозволяє їм використовувати широкий спектральний діапазон сонячного світла і поширюватись у різних екологічних зонах водойм. У сприятливих умовах вони інколи утворюють забарвлені скупчення в товщі води, на підводних предметах та мулі, можуть зустрічатися у вигляді поодиноких клітин або консорцій. Часто фототрофні сіркобактерії вступають у синтрофні відносини з хемотрофними бактеріями, які здійснюють дисиміляційну сульфатредукцію або відновлюють молекулярну сірку [3]. Зна-

чна кількість фототрофних сіркобактерій у глибинній водній товщі озера “Яворівське” свідчить про активні мікробіологічні процеси детоксикації водойми від сірководню у цій зоні.

Оскільки досліджуване озеро є штучною водою техногенного походження і маловивченою біосистемою, то важливо з теоретичної і практичної точок зору визначити сезонну динаміку чисельності мікроорганізмів протягом певного часу. З отриманих результатів в 2005-07 рр. по визначенню чисельності сульфатвідновлювальних бактерій у воді з глибин 30, 50, 60 і 72 м можна зробити важливий висновок про зростання кількості цих бактерій з кожним роком на всіх глибинах (рис.

1), що корелює із постійним зростанням концентрації сульфатів у воді кар’єру. Так, у весняний період 2005 року на глибині 50 м було виявлено  $(1,33 \pm 0,02) \cdot 10^6$  кл/мл сульфатвідновлювальних бактерій, 2006 року –  $(1,51 \pm 0,04) \cdot 10^6$  кл/мл і 2007 року –  $(1,74 \pm 0,06) \cdot 10^6$  кл/мл. Якщо порівняти сезонні зміни чисельності даних бактерій, то чітко видно різке збільшення їх кількості у весняно-літній період, порівняно з осінньо-зимовим, на всіх глибинах. Якщо навесні 2007 року на глибині 72 м сульфатвідновлювальних бактерій було виявлено  $(1,91 \pm 0,01) \cdot 10^6$  кл/мл, влітку –  $(1,93 \pm 0,05) \cdot 10^6$  кл/мл, то восени –  $(1,32 \pm 0,03) \cdot 10^6$  кл/мл і взимку –  $(1,10 \pm 0,05) \cdot 10^6$  кл/мл.

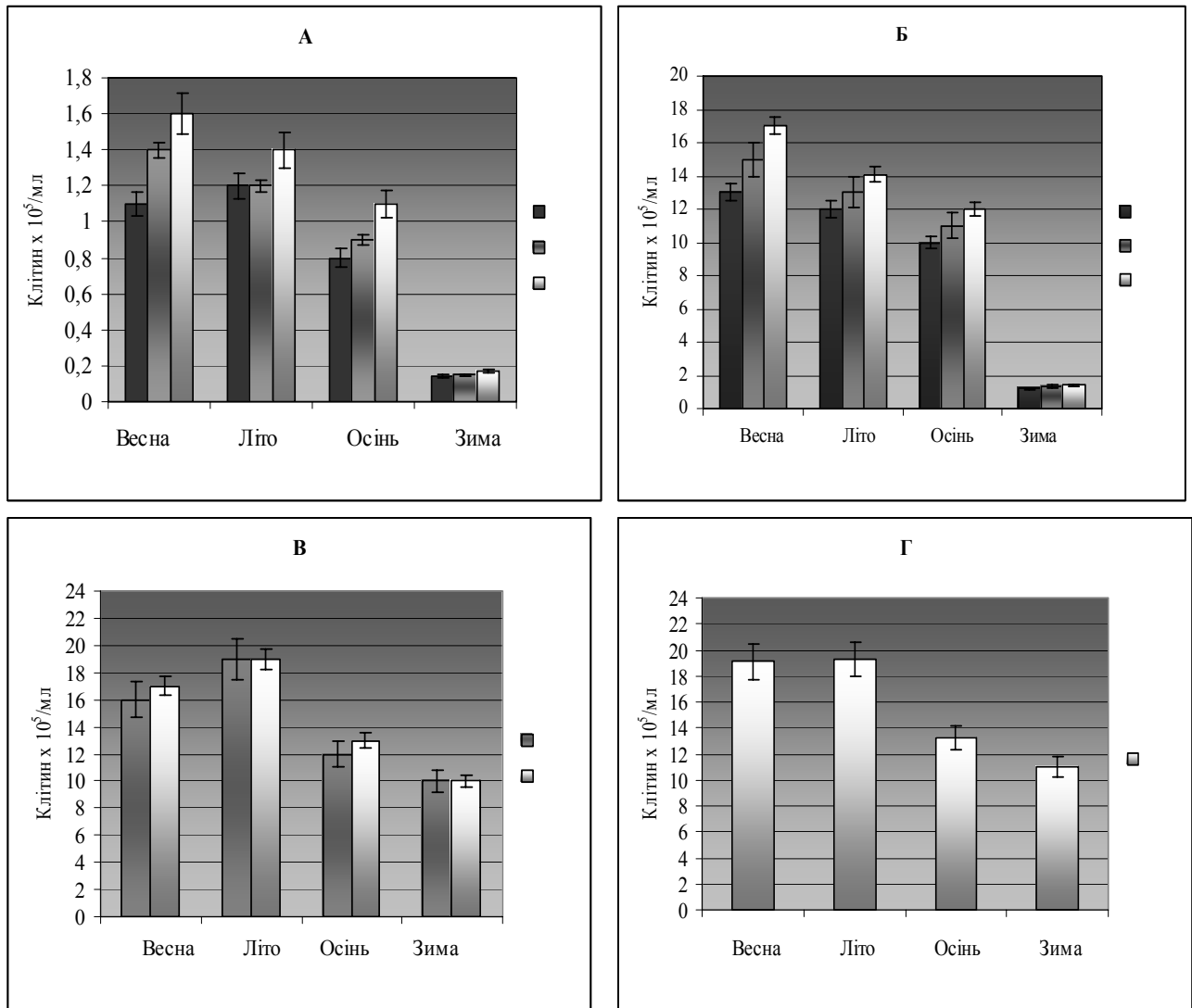


Рис. 1. Сезонні зміни чисельності сульфатвідновлювальних бактерій у воді озера “Яворівське” на глибинах 30 (А), 50 (Б), 60 (В), 72 (Г) м.

Кількість нейтрофільних представників безбарвних сіркоокиснюючих бактерій як на поверхні води, так і на глибинах 10 та 20 м впродовж 2005-2007 років теж зростає (рис. 2). Так, навесні 2005 року у поверхневому шарі води виявлено  $(1,14 \pm 0,04) \cdot 10^5$  кл/мл сіркоокиснюючих бактерій,

2006 року –  $(2,52 \pm 0,02) \cdot 10^5$  кл/мл і 2007 року –  $(4,90 \pm 0,02) \cdot 10^5$  кл/мл. Очевидно, саме завдяки їхній життєдіяльності, а також фототрофних сіркобактерій, відбувається зниження з кожним роком концентрації сірководню, який утворюється в анаеробній зоні водойми за участю сульфатвідно-

вловальних бактерій. Найбільш активно процес окиснення сірководню та інших відновлених сполук сірки відбувається у весняно-літній період, порівняно з осінньо-зимовим, про що свідчить сезонна динаміка чисельності сіркоокиснюючих бактерій на кожній досліджуваній глибині. Так, якщо у весняно-літній період 2007 року у поверхневому шарі води виявлено  $(4,90 \pm 0,02) \cdot 10^5$  –  $(5,11 \pm 0,02) \cdot 10^5$

$^5$  кл/мл сіркоокиснюючих бактерій, то восени –  $(2,53 \pm 0,01) \cdot 10^5$  кл/мл і взимку –  $(1,11 \pm 0,04) \cdot 10^3$  кл/мл.

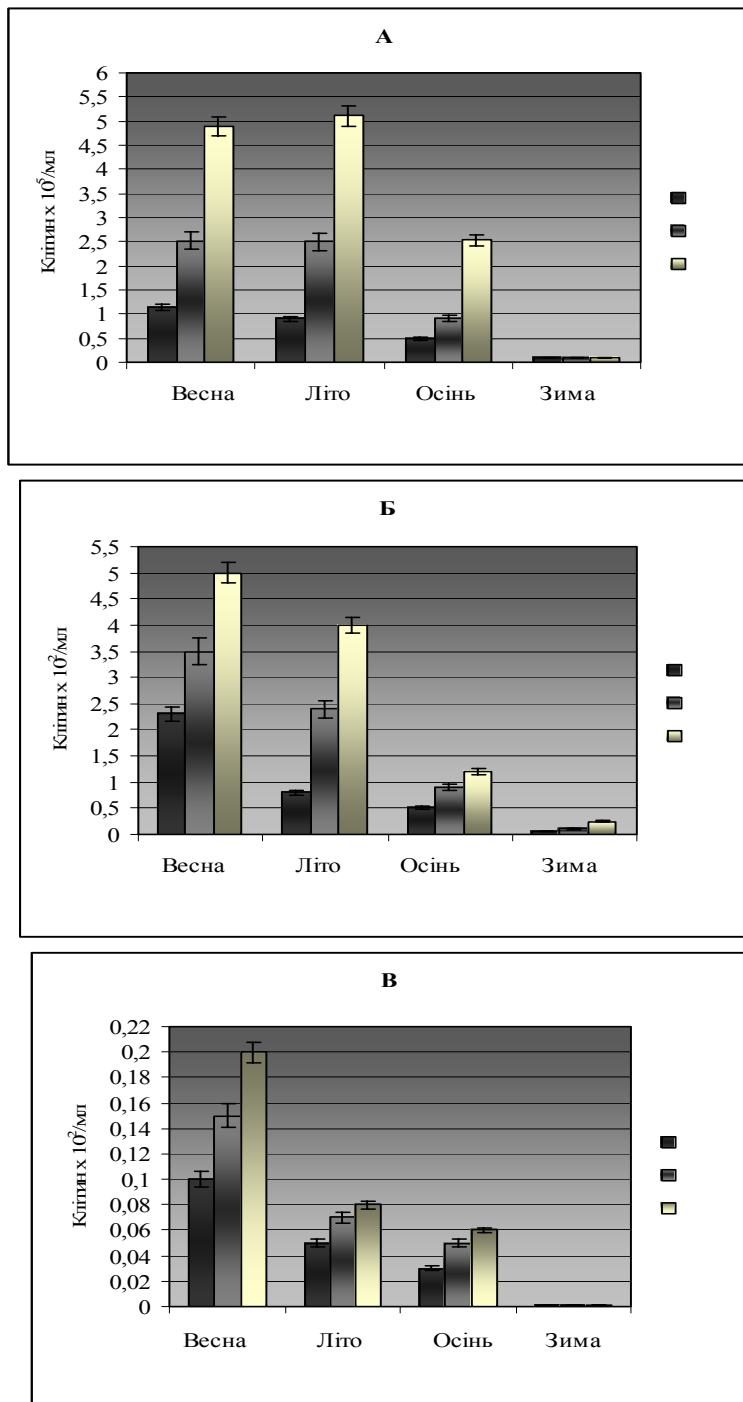


Рис. 2. Сезонні зміни чисельності нейтрофільних представників безбарвних сіркоокиснюючих бактерій у воді озера “Яворівське” на глибинах 0 (А), 10 (Б), 20 (В) м.

Таким чином, трирічні спостереження за штучною водоймою на місці Яворівського кар'єру дозволяють стверджувати, що її придатність як середовища існування для живих організмів повільно підвищується, хоча значно вищими за допустимі норми у ній залишаються концентрації сульфатів та сірководню майже на всіх глибинах. У воді озера відбувається формування специфічного мікробіоценозу, в якому з кожним роком постійно зростає, особливо у весняно-літній період, кількість сульфатвідновлювальних та безбарвних сіркоокиснючих бактерій.

## Висновки

1. Хімічний аналіз проб води, відібраних з різних глибин (0 – 72 м) озера “Яворівське” влітку 2007 року показав, що рН, загальна твердість води та вміст  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{Cl}^-$  на всіх глибинах були у межах допустимих норм. Концентрації  $\text{SO}_4^{2-}$  та  $\text{H}_2\text{S}$  значно перевищували ГДК.

2. Чисельність мікроорганізмів усіх досліджуваних фізіологічних груп була найбільшою у по-

верхньому шарі води кар'єру. Кількість сапрофітів, мікроскопічних грибів, нітрифікаторів та олігонітрофілів на глибинах понад 20-30 м різко знижувалася, а целюлозоруйнуючі бактерії і ціанобактерії не виявлялися.

3. Чисельність сульфатвідновлювальних і фотосинтезувальних пурпурових та зелених бактерій із збільшенням глибини озера зростала і була максимальною на глибині 72 м. Найбільшу кількість нейтрофільних і ацидофільних представників безбарвних сіркоокиснючих бактерій виявлено у поверхневому шарі водойми. Безбарвних сіркоокиснючих бактерій на глибинах понад 20 м не виявлено.

4. Кількість сульфатвідновлювальних і безбарвних сіркоокиснючих бактерій у воді озера впродовж 2005 – 2007 років з кожним роком постійно зростає. Найбільш активно процеси відновлення та окиснення сполук сірки, які забруднюють довкілля, за участю сульфатвідновлювальних і сіркоокиснючих бактерій відбуваються у весняно-літній період.

1. Баран І.М., Подопрігора О.І., Гришук Г.В., Бондар Л.С., Кім Л.Я., Клім І.Р., Гнатуш С.О., Гудзь С.П. Екологічний моніторинг водойм Яворівського сіркового родовища; мікробіологічний контроль // Довідки та здоров'я. – 2003. - №4. – С. 55-58.
2. Гайдін А.М. Сірка: вчора, сьогодні, завтра. - Львів: Камеяр, 2000. – 70 с.
3. Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. Екологія водних мікроорганізмів. - М.: Наука, 1977. - 287 с.
4. Грушко Я.М. Вредные неорганические соединения в промышленных сточных водах. - Ленинград: Химия, 1979. – 161 с.
5. Гудзь С., Гнатуш С., Білінська І. Практикум з мікробіології. Ч. 1. Навчальний посібник. – Львів: Видавничий центр ЛНУ імені Івана Франка, 2003. – 80 с.
6. Гудзь С., Гнатуш С., Перетятко Т., Паляниця Б., Коструба М., Подопрігора О., Клім І. Динаміка змін титру сульфатвідновлювальних бактерій та вмісту сульфатів і сірководню у водах кар'єру Яворівського сіркового родовища в процесі його затоплення // Вісн. Львів. ун-ту. Сер.біол. – 2004. – Вип. 37. – С. 185-189.
7. Деркач М.П., Гумецький Р.Я., Чабан М.С. Курс варіаційної статистики – К.: Вища школа, 1977. – 208 с.
8. Каравайко Г.И., Кузнецов С.И., Голомзик А.И. Роль микроорганизмов в выщелачивании металлов из руд. - М.: Наука, 1972. - 215 с.
9. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия природных и сточных вод. - М.: Химия, 1984. - 312 с.
10. Лурье Ю.Ю., Рыбникова А.И. Химический анализ производственных сточных вод. - М.: Химия, 1974. – 335 с.
11. Марченко З. Фотометрическое определение элементов. – М.: Мир, 1971. – С. 105-106.
12. Теплинская Н.Г. Микробная трансформация биогенных элементов в сапропелевых илах Каламитского залива Черного моря // Микробиол. журн. – 2007. – Т. 69, № 5. – С. 15-20.
13. Теплер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. - М.: Дрофа, 2004. - 256 с.
14. Узбек И.Х. Эколого-биологическая оценка эдафотопов техногенных ландшафтов степной зоны Украины // Рукопись докт. диссерт. – Днепропетровск, 2001. – С. 164-229.

Отримано: 10 травня 2008 р.

Прийнято до друку: 28 травня 2008 р.