

ЦЕЛЮЛАЗНА АКТИВНІСТЬ ПОРОДНИХ ВІДВАЛІВ ВУГІЛЬНИХ ШАХТ ЧЕРВОНОГРАДСЬКОГО ГІРНИЧОПРОМИСЛОВОГО РАЙОНУ

С. Дяків^{1*}, С. Гнатуш¹, Н. Менів²

¹Львівський національний університет імені Івана Франка
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна
e-mail: kuzmishyna_s_@ukr.net

²ВНКЗ ЛОР «Львівський інститут медсестринства та
лабораторної медицини імені Андрея Крупинського»
вул. Петра Дорошенка, 70, Львів 79000, Україна

Целюлазна активність і чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового району змінюється сезонно та залежить від субстрату і кліматичних умов. На початку вегетаційного періоду чисельність цих мікроорганізмів є низькою і підвищується з його завершенням. Целюлазна активність є вищою в 1,3–10,63 разу у пробах, відібраних під мохами, порівняно із контролем, а активність у перегорілій породі вища, ніж у неперегорілій. Найвища активність породи характерна для відвалу шахти «Надія» із найвищою температурою субстратів, у той час як найнижча виявлена у породах відвалу ЦЗФ із майже відсутнім рослинним покривом і високою кислотністю субстрату. Встановили, що целюлазна активність проб, відібраних на початку вегетаційного періоду, є нижча, ніж активність проб, відібраних по його завершенні. У результаті кореляційного аналізу залежності целюлазної активності від температури субстрату при закладанні досліду та знятті результатів встановили позитивний кореляційний зв'язок високої тісноти ($r=0,76^{***}$) між активністю й температурою субстрату на час закінчення експерименту.

Ключові слова: целюлозоруйнівні мікроорганізми, целюлазна активність, породні відвали вугільних шахт.

Целюлазна активність є показником загальної мікробіологічної активності ґрунту [7, 13, 20]. Серед целюлозоруйнівних мікроорганізмів є представники родів *Pseudomonas*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Cellvibrio*, *Vibrio*, *Polyangium*, *Sporangium*, а також бактерії родини *Actinomycetaceae* та мікроміцети [8, 22, 26]. Целюлозоруйнівні мікроорганізми, розкладаючи целюлозу, виділяють у середовище деякі ферменти, що сприяє утворенню гумусових речовин із продуктів розщеплення клітковини [9, 18, 24]. Целюлозоруйнівні мікроорганізми гідролізують глюконові зв'язки целюлози з утворенням глюкози завдяки наявності поліферментного комплексу: ендоглюконази (КФ 3.2.1.4), целобіогідролази (КФ 3.2.1.91), β -глюкозидази (целобіази) (КФ 3.2.1.21), екзоглюкозидази (КФ 3.2.1.74) [2, 7]. Тому їхня роль у формуванні ґрунтів, особливо техногенно трансформованих територій, є дуже важливою. За інтенсивністю розщеплення целюлози можна аналізувати процеси формування ґрунту на породах відвалів.

Складована порода відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового р-ну займає значні площі (211 га) та містить важкі метали, які надходять у ґрунтові води. Потрапляючи у водоносні горизонти, важкі метали становлять велику небезпеку як для екосистеми, так і для місцевого населення. Перевищення ГДК важких металів у ґрунті

негативно впливає на чисельність і метаболізм деструкторів целюлози [6, 12]. Низька біологічна активність субстрату може бути спричинена і недостатньою кількістю рослинного опаду, який використовують живі організми за умов підвищеної кислотності середовища, що характерно для регіону [5, 27]. Порівняльний аналіз флори породних відвалів провів О.Т. Кузярін [16, 17]. Л. Карпінець і співавтори описали бріофлору породних відвалів Червоноградського гірничопромислового комплексу [15]. Мінеральний склад порід, вміст мікро- та ультрамікроелементів, у т. ч. вміст важких металів у чорній і червоній породах відвалів визначав В. І. Баранов зі співавторами [4].

При самозаростанні території одними із перших її заселяють мохоподібні, продукти метаболізму та відмерлі рештки яких і формують первинний субстрат для живлення ґрунтової мікробіоти [19]. Незважаючи на збіднену рослинність відвалів Червоноградського гірничопромислового р-ну, мохи поширені на всіх досліджених відвалах, як на чорній (неперегорілій), так і на червоній (перегорілій) породах [15, 16]. Підтверджено, що накопичені моховою дерниною мінеральні елементи створюють своєрідне депо речовин у доступних для рослин формах. Тому мохи із відвалів вугільних шахт Червоноградського гірничопромислового р-ну сприяють поліпшенню ґрунтових умов едафотопу, стабілізують водний мікрорежим верхнього шару субстрату й оптимізують значення рН до слабкислої реакції [15]. Відповідно до попередньо отриманих нами даних, кількість мікроорганізмів у пробах, узятих під мохами, є вищою за їхню чисельність в оголеному субстраті [27, 28]. Тому актуальними є дослідження сезонної динаміки чисельності й целюлазної активності мікробіоти зони навколо ризоїдів мохів як важливого етапу для розроблення рекомендацій щодо рекультивації породних відвалів вугільних шахт.

Матеріали та методи

Відбирали проби основного відвалу Центральної збагачувальної фабрики (ЦЗФ), відвалів шахт «Візейська» і «Надія». Забір чорної та червоної порід проводили із вершин, терас і підніжжя відвалів на поверхні ($h=2$ см) та глибині ($h=30$ см). Були відібрані проби з 20 ділянок, які відрізнялися температурою, рН і вологістю. Аналізували відібрані під мохами (ПМ) *Ceratodon* sp., *Polytrichum* sp., *Brachitecium* sp. дослідні зразки і порівнювали їх із контролем – ділянками оголеного субстрату (ОС). Для культивування целюлозоруйнівних мікроорганізмів використовували середовище Гетченсона із фільтрувальним папером. Мікроорганізми вирощували у термостаті за температури $+28$ °С [10, 22]. Підрахунок проводили на десятій-чотирнадцятий дні культивування. Крім підрахунку загальної чисельності, визначали кількість грудочок, які обростали мікроорганізмами. Чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів встановлювали відповідно до обростання грудочок субстрату, приймаючи загальну їх кількість за 100 %, і вираховували у відсотках кількість оброслих грудочок характерно забарвленими колоніями. Вологість субстрату визначали за загальноприйнятою методикою [22], $pH_{\text{вод}}$ проб порід відвалів вимірювали, використовуючи електронний рН-150М [3]. Целюлазну активність зразків визначали аплікаційним методом Є.М. Мішустіна і А.М. Петрової (за інтенсивністю розщеплення ляного полотна) [22] та колориметричним методом В.М. Багнюка і Л.М. Щегинської (за кількістю утвореної глюкози при розщепленні карбоксиметилцелюлози (КМЦ)) [1, 2]. Метод базується на розщепленні вуглеводів до моносахаридів у кислому середовищі (у присутності антронового реактиву) із подальшою їх деградацією та утворенням гідроксиметилфурфуролу, який утворює із антроном комплексну сполуку синьо-зеленого кольору (інтенсивність забарвлення прямо пропорційна вмістові цукрів) [7, 21]. Визначення целюлазної активності проводили за кількістю утвореної глюкози у процесі гідролізу натрієвої солі карбоксиметилцелюлози (Na-КМЦ). Перевагою використання Na-КМЦ як субстрату є можливість до-

слідити загальну активність поліферментного комплексу целюлаз, які у своїй сукупності підсилюють дію одна одної [25]. Целюлазну активність зразків визначали у мг утвореної глюкози на 10 г породи відповідно до побудованої калібрувальної кривої з концентраціями глюкози від 10 до 200 мкг.

Температуру породи визначали на поверхні ($h=2$ см) та глибині ($h=30$ см) закладання обшитого полотном скла перед експозицією, час якої становив 48 діб, та після неї. Статистичну обробку всіх результатів досліджень проводили з використанням програми «Microsoft Excel 2007». Для оцінки достовірності різниці між статистичними характеристиками альтернативних сукупностей даних визначали коефіцієнт Стьюдента, достовірною вважалася різниця за рівня значимості $p \geq 0,95$ [11].

Результати і їхнє обговорення

Характер розкладання целюлози ґрунтовими мікроорганізмами обумовлюють погодні умови (температурний режим, вологість), характер рослинного покриву, хімічні та фізичні властивості субстрату, вміст у ньому органічних речовин тощо. Під час оцінювання інтенсивності деструктивних процесів важливо враховувати рівень забруднення субстрату, звертаючи особливу увагу на вміст важких металів. Крім того, доступність для мікроорганізмів органічних залишків і неорганічних речовин залежить від кислотності середовища. Визначення вмісту мінеральних елементів і органічного карбону з різних ділянок відвалів шахт «Надія» та «Візейська» і ЦЗФ провели Л. Карпінець зі співавторами [14].

Відкриті свіжонасипні породи практично позбавлені мікроорганізмів, однак упродовж першого року відбувається інтенсивна інокуляція відвалів аборигенною мікробіотою. Навесні та восени процес заселення едафотопів є найінтенсивнішим [23]. Тому нами була досліджена зміна чисельності целюлозоруйнівних мікроорганізмів у трьох породних відвалах вугільних шахт у грудні, квітні, липні й листопаді упродовж 2014–2015 років.

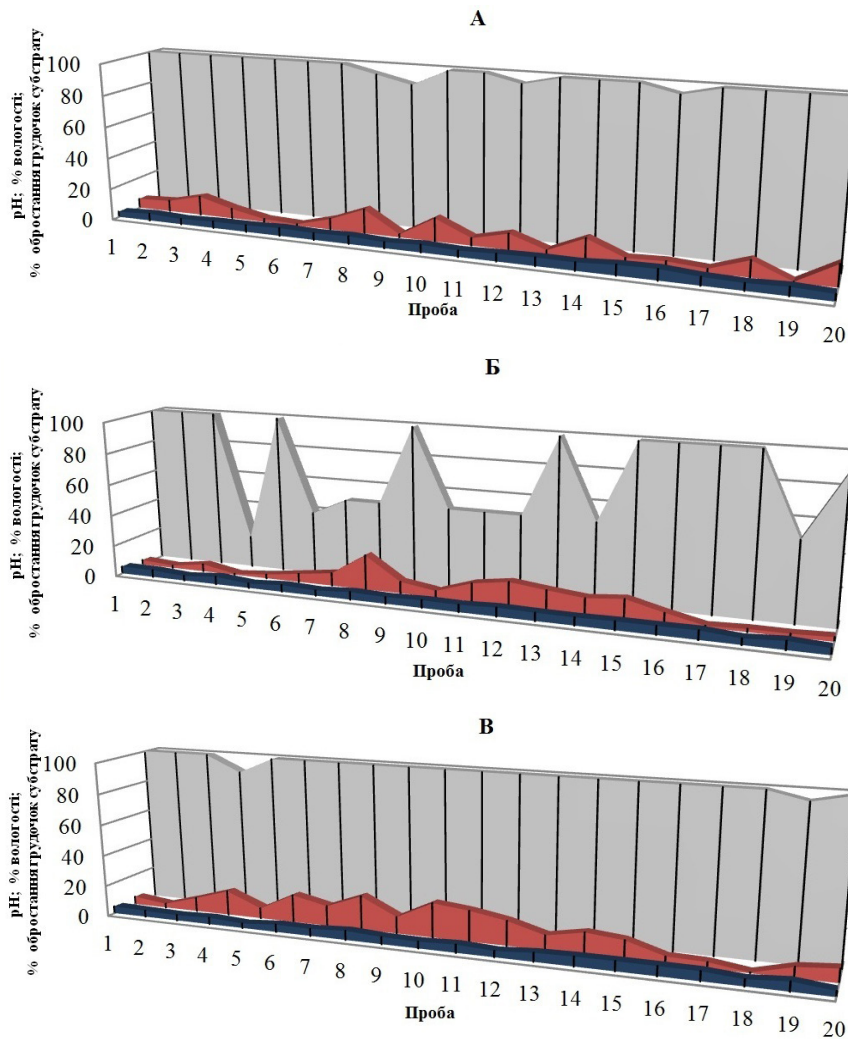
Мохоподібні одними із перших заселяють техногенно змінені території і виділяють метаболіти, які сприяють розвитку інших організмів [19]. Для оцінювання впливу рослинного покриву на інтенсивність ферментативних процесів на кожному із відвалів нами були обрані дослідні ділянки під мохами та контрольні ділянки оголеного субстрату.

Відмічено зниження вологості породи у пробах з відвалу шахти «Надія» упродовж року (рис. 1). На противагу кислотності й вологості субстратів, які сезонно особливо не змінювалися на інших двох відвалах, чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів на усіх досліджених відвалах була варіабельною.

Оскільки досліджені відвали трохи відрізняються за фізико-хімічними властивостями складованих порід і мають різний ступінь рекультивациї, нами було проаналізовано чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів неперегорілої чорної та перегорілої червоної порід, а також їх кількість у ОС і ПМ (рис. 1).

Чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів у пробах чорної породи у грудні була високою. У пробах породи із відвалу шахти «Візейська» відмітили незначне зниження на 5–10 % оброслих грудочок субстрату (ПМ і ОС тераси та ОС підніжжя). У всіх пробах чорної породи, відібраних із відвалів ЦЗФ і шахти «Надія», відмічено 100 % оброслих грудочок субстрату. У квітні спостерігали тенденцію до зниження чисельності деструкторів целюлози у більшості проб відвалів шахт «Візейська» і «Надія». Зокрема, на відвалі шахти «Візейська» чисельність більшості проб чорної породи знизилась удвічі, окрім проби ОС тераси. У пробах з відвалу шахти «Надія» чисельність була високою, проте знизилась удвічі в ОС вершини і ПМ підніжжя та на 10 % – в ОС підніжжя. У всіх пробах чорної по-

роди ЦЗФ чисельність целюлозолітичних мікроорганізмів у квітні була високою. У липні чисельність усіх проб чорної породи була 100 % оброслих грудочок субстрату, окрім незначного зниження на 5 % ПМ підніжжя відвалу шахти «Надія». У листопаді відмітили незначне зниження чисельності у пробах чорної породи з підніжжя відвалу шахти «Візейська» – на 5–10 % оброслих грудочок субстрату. У пробах з відвалу шахти «Надія» (ПМ вершини, ОС тераси й ОС підніжжя) спостерігали зниження на 5 % оброслих грудочок субстрату. Чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів відвалу ЦЗФ у всіх пробах чорної породи була високою.



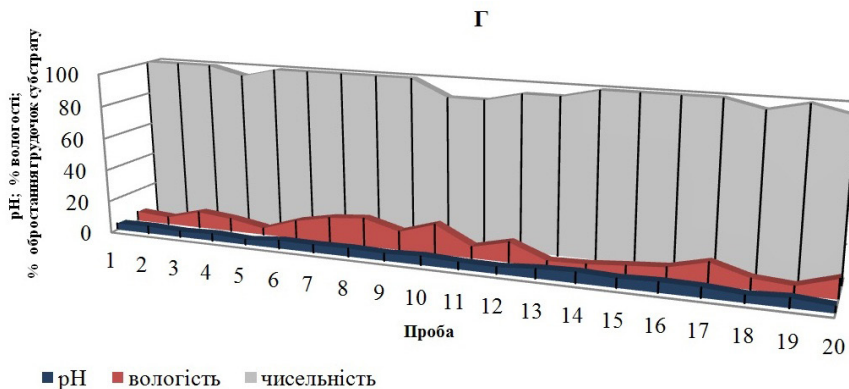


Рис. 1. Сезонна динаміка (А – грудень, Б – квітень, В – липень, Г – листопад) кислотності й вологості субстрату і чисельності целюлозоруйнівних мікроорганізмів породних відвалів вугільних шахт.

Породний відвал ЦЗФ: 1 – тераса, чорна порода, ПМ *Ceratodon* sp.; 2 – тераса, чорна порода, ОС; 3 – основний відвал, чорна порода, ОС; 4 – основний відвал, червона порода, ОС; 5 – свіжонасипана порода (2013), ОС.

Породний відвал шахти «Візейська»: 6 – вершина, червона порода, ПМ *Polytrichum* sp.; 7 – вершина, червона порода, ОС; 8 – тераса, чорна порода, ПМ *Brachitecium* sp.; 9 – тераса, чорна порода, ОС; 10 – підніжжя, чорна порода, ПМ *Ceratodon* sp.; 11 – підніжжя, чорна порода, ПМ *Polytrichum* sp.; 12 – підніжжя, чорна порода, ОС.

Породний відвал шахти «Надія»: 13 – вершина, чорна порода, ПМ *Polytrichum* sp.; 14 – вершина, чорна порода, ОС; 15 – вершина, червона порода, ПМ *Ceratodon* sp.; 16 – вершина, червона порода, ОС; 17 – тераса, чорна порода, ПМ, *Ceratodon* sp.; 18 – тераса, чорна порода, ОС; 19 – підніжжя, чорна порода, ПМ *Ceratodon* sp.; 20 – підніжжя, чорна порода, ОС

Визначили чисельність деструкторів целюлози у пробах червоної породи. У грудні кількість цих мікроорганізмів у всіх пробах була 100 % оброслих грудочок субстрату, окрім ОС вершини відвалу шахти «Надія» із незначним зниженням на 5 %. У квітні у пробі з відвалу ЦЗФ чисельність знизилась у 5 разів, а ПМ і ОС вершини відвалу шахти «Візейська» – у 2,5 і 2 рази. У пробах з відвалу шахти «Надія» кількість целюлозолітичних мікроорганізмів була високою (100 % оброслих грудочок субстрату). У липні чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів була високою у всіх пробах червоної породи, окрім проби з відвалу ЦЗФ (зниження на 10 % оброслих грудочок субстрату). У листопаді відмітили зниження кількості деструкторів целюлози на 5 % у пробі з відвалу ЦЗФ.

Отже, проаналізувавши зміну чисельності целюлозоруйнівних бактерій, встановили, що кількість цих мікроорганізмів з липня по квітень в обох породах є відносно сталою із незначними коливаннями у 5–10 %, окрім чорної породи ЦЗФ, у якій взагалі не спостерігали змін кількості. Однак, незалежно від породи, у квітні відбувається помітне зниження чисельності майже у 2 рази на відвалі шахти «Візейська» і у кількох пробах чорної породи відвалу шахти «Надія».

Суттєвих відмінностей у чисельності целюлозоруйнівних мікроорганізмів у пробах ОС та ПМ у липні, листопаді та грудні не виявлено. Однак у квітні, коли найбільш чітко простежується загальне зниження чисельності деструкторів целюлози, у пробах чорної породи з тераси відвалу шахти «Візейська» чисельність мікроорганізмів ПМ у 2 рази нижча, ніж ОС, а у пробах червоної породи вершини – на 10 % нижча. У пробах відвалу шахти

«Надія» відмітили таке: ПМ чорної породи вершини кількість мікроорганізмів у 2 рази вища, ніж ОС, а на підніжжі – навпаки, у 1,8 разу нижча. Можливо, така закономірність обумовлена здатністю мохів акумулювати йони важких металів, яка залежить як від інтенсивності обмінних процесів у тканинах, так і від температури субстрату й режиму зволоження.

При встановленні залежності чисельності деструкторів целюлози від місця відбору проби (вершина, тераса чи підніжжя) чітких закономірностей не виявлено.

Для визначення впливу фактора часу (відбір проб проводили у грудні, квітні, липні та листопаді) на досліджувані показники (вологість і кислотність субстрату й чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів) провели однофакторний дисперсійний аналіз (рис. 2) [11]. Відповідно до отриманих даних виявили, що пора року не впливала на кислотність субстрату, однак суттєво і достовірно впливала на вологість субстрату і кількість целюлозолітичних мікроорганізмів.

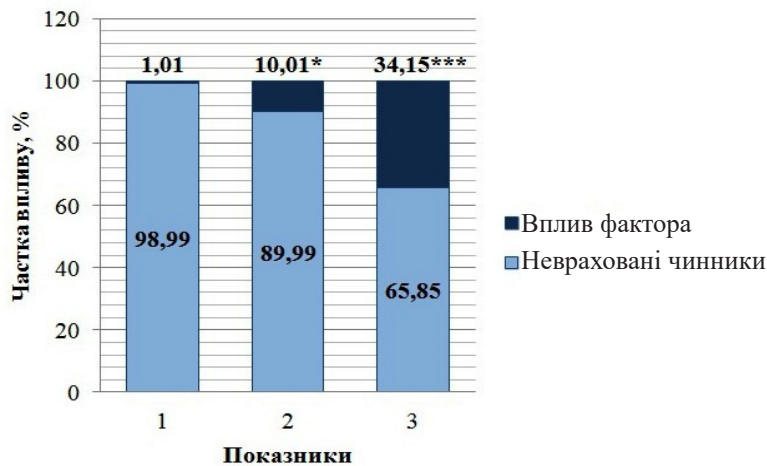


Рис. 2. Дисперсійний аналіз впливу фактора часу на: 1 – кислотність субстрату, 2 – вологість субстрату, 3 – чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів (* – $p \geq 0,95$; *** – $p \geq 0,999$; $n=20$)

Оцінка біохімічної активності ґрунтового мікробоценозу можлива завдяки застосуванню як класичних мікробіологічних методів, так і методів ензимології [7, 21]. Методи визначення целюлазної активності ґрунту базуються на різних принципах: визначення зміни якості внесеної целюлози, визначення залишкової кількості нерозщепленої целюлози (метод аплікацій), визначення кількості вуглекислого газу або кисню, утворених під час розщеплення целюлози, визначення кількості редукованих цукрів унаслідок розщеплення целюлози у ґрунті [1].

Дослідження целюлозолітичної активності ґрунтової мікробіоти зони навколо ризоїдів мохоподібних (дослід) і з оголеного субстрату (контроль) проводили впродовж 48 діб за аплікаційним методом розщеплення лляного полотна. Визначали температуру субстрату з поверхні та глибини закладання полотна на початку експозиції та після неї (див. таблицю).

Найвищу целюлазну активність спостерігали у породах, відібраних з відвалу шахти «Надія». Зокрема, у дослідних пробах чорної породи з вершини відвалу активність була вищою у 1,68 разу, порівняно із контролем. Ту ж саму закономірність спостерігали для проб з тераси та підніжжя відвалу, де показники дослідних варіантів у 1,53 та 2,17 разу

перевищили показники контролю. Однак активність дослідного варіанта червоної породи з вершини відвалу була в 1,30 разу нижчою, порівняно з контролем, що, ймовірно, обумовлено вищою на 11 °С температурою оголеного субстрату після експозиції лляного полотна. Встановили, що активність червоної породи є вищою у 1,60 разу, ніж активність чорної.

Целюлазна активність ґрунту (°С; % розкладу полотна; M±m; n=3)

№	Місце відбору проб	Температура субстрату, °С				Активність, % розкладу полотна
		До експозиції		Після експозиції		
		h=2 см	h=30 см	h=2 см	h=30 см	
<i>Породний відвал ЦЗФ</i>						
1	Тераса, чорна порода, ПМ <i>Ceratodon</i> sp.	27,0±0,71	24,8±0,52	9,4±0,023	7,6±0,34	3,87±0,24
2	Тераса, чорна порода, ОС	27,3±0,63	24,9±0,39	9,1±0,18	7,7±0,24	1,24±0,15
3	Основний відвал, чорна порода, ОС	25,4±0,94	23,4±0,46	7,4±0,09	7,6±0,21	0,08±0,02
4	Основний відвал, червона порода, ОС	22,5±0,74	21,2±0,30	5,7±0,04	5,9±0,07	2,03±0,15
5	Свіжонасипана порода*, ОС	27,5±0,59	24,8±0,41	5,5±0,08	4,9±0,05	3,26±0,14
<i>Відвал шахти «Візейська»</i>						
6	Вершина, червона порода, ПМ <i>Polytrichum</i> sp.	25,9±0,44	22,2±0,48	6,3±0,07	4,8±0,03	11,37±0,44
7	Вершина, червона порода, ОС	26,6±0,58	22,6±0,11	5,6±0,05	7,1±0,67	1,07±0,15
8	Тераса, чорна порода, ПМ <i>Brachitecium</i> sp.	22,1±0,40	20,1±0,66	5,1±0,03	5,9±0,31	8,74±0,34
9	Тераса, чорна порода, ОС	22,4±0,28	20,2±0,22	5,4±0,04	6,2±0,33	1,18±0,14
10	Підніжжя, чорна порода, ПМ <i>Ceratodon</i> sp.	26,8±0,61	24,9±0,49	11,8±0,08	9,0±0,36	8,45±0,57
11	Підніжжя, чорна порода, ПМ <i>Polytrichum</i> sp.	27,0±0,59	25,3±0,22	11,4±0,21	9,1±0,40	10,98±0,18
12	Підніжжя, чорна порода, ОС	26,7±0,47	25,2±0,36	11,1±0,31	8,5±0,28	2,06±0,15
<i>Відвал шахти «Надія»</i>						
13	Вершина, чорна порода, ПМ <i>Polytrichum</i> sp.	29,3±0,78	26,5±0,49	11,8±0,13	11,1±0,21	19,29±0,18
14	Вершина, чорна порода, ОС	29,0±0,39	26,2±0,43	10,1±0,64	9,7±0,18	11,49±0,42
15	Вершина, червона порода, ПМ <i>Ceratodon</i> sp.	28,9±0,64	26,1±0,38	11,6±1,04	10,9±0,46	30,77±0,41
16	Вершина, червона порода, ОС	28,7±0,91	26,4±0,70	16,8±0,25	21,9±0,34	40,29±2,00
17	Тераса, чорна порода, ПМ, <i>Ceratodon</i> sp.	31,4±0,55	38,0±1,12	14,1±0,12	22,0±0,33	30,98±0,75
18	Тераса, чорна порода, ОС	31,3±0,54	38,3±0,22	15,8±0,9	27,0±0,37	20,29±0,79
19	Підніжжя, чорна порода, ПМ <i>Ceratodon</i> sp.	37,5±0,48	38,0±1,08	15,5±0,52	12,0±0,12	18,53±1,64
20	Підніжжя, чорна порода, ОС	37,8±0,26	38,2±0,77	15,6±0,48	11,6±0,09	8,55±0,58

Примітки: * Породна насипана у 2013 р. ПМ – під мохом; ОС – оголений субстрат.

Найнижчою була целюлазна активність порід з відвалу ЦЗФ. На цій ділянці ПМ тераси активність є у 3,12 разу вищою, ніж з ОС, а активність перегорілої червоної породи у 25,38 разу вищою, ніж активність чорної породи.

Целюлазна активність порід відвалу шахти «Візейська» коливається у широких межах: від (1,07±0,15) % до (11,37±0,44) %. Активність дослідних проб з вершини, тераси та підніжжя відвалу є вищою за активність проб контрольних зразків у 10,63, 7,41 та 4,10 (ПМ роду *Ceratodon*) і 5,33 (ПМ роду *Polytrichum*) разу відповідно.

У результаті проведеного нами кореляційного аналізу залежності целюлазної активності від температури субстрату при закладанні дослідів та знятті результатів встановили високої тісноти ($r=0,76^{***}$) позитивний кореляційний зв'язок між активністю й температурою субстрату на час закінчення експерименту [11].

Целюлазну активність колориметричним методом визначали на початку вегетаційного періоду (у квітні) та по його завершенні (у грудні). Встановили, що целюлазна активність проб, відібраних у грудні, є вищою, ніж у квітні (рис. 3). Відповідно до літературних даних, крива активності целюлаз корелює зі збільшенням чисельності целюлозоруйнівних мікроорганізмів упродовж року [26]. На породних відвалах це зумовлено, у першу чергу,

режимом зволоження субстрату, що є лімітуючим фактором, оскільки на відкритій місцевості зі самонагріванням породи кількість тепла є достатньою. Крім того, по закінченні вегетаційного періоду на породи накопичується рослинний опад, що впливає на збільшення чисельності целюлозоруйнівних мікроорганізмів, а отже, і їхню ензиматичну активність.

Целюлазна активність проб породи, відібраних у грудні, коливається у межах від $(27,14 \pm 6,09)$ до $(758,57 \pm 30,34)$ мкг глюкози / 10 г породи і є у 1,04 (ОС чорної породи підніжжя відвалу шахти «Візейська») – 4,46 (ОС чорної породи ЦЗФ) разу вища, ніж активність проб, відібраних у квітні. Тільки у ОС чорної породи підніжжя відвалу шахти «Надія» целюлазна активність квітневої проби в 1,40 разу більша, ніж активність проби, взятої у грудні.

Найвища целюлазна активність досліджена у породах відвалу шахти «Надія»: у квітні – $(412,86 \pm 16,51)$ мкг глюкози / 10 г породи, у грудні – $(758,57 \pm 30,34)$ мкг глюкози / 10 г породи. Найнижчу активність встановили у породах відвалу ЦЗФ: у квітні – $(6,09 \pm 0,24)$ мкг глюкози / 10 г породи, у грудні – $(27,14 \pm 6,09)$ мкг глюкози / 10 г породи.

У пробах порід із усіх досліджених відвалів активність перегорілої породи є вищою, ніж активність неперегорілої незалежно від сезону, із найбільшою різницею у породах відвалу ЦЗФ – у 28,38 та 8,96 разу вище у квітні та грудні відповідно. Однак високу активність виявлено у свіжонасипаній породи відвалу ЦЗФ у грудні – $(280,14 \pm 11,21)$ мкг глюкози / 10 г породи.

Целюлазна активність проб, узятих ПМ є вищою, ніж із проб ОС, із великою різницею у пробах чорної породи терас ЦЗФ і відвалу шахти «Візейська» та з підніжжя відвалу шахти «Надія». Відвали шахти «Надія» рекультивують з дотриманням правил. На відвали ЦЗФ найінтенсивніше скидають породи.

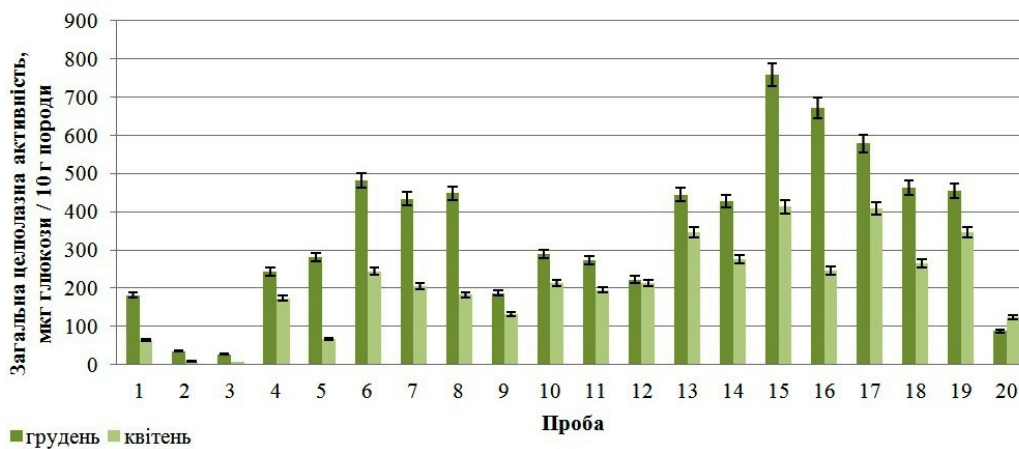


Рис. 3. Целюлазна активність порід. Породний відвал ЦЗФ: 1 – тераса, чорна порода, ПМ *Ceratodon* sp.; 2 – тераса, чорна порода, ОС; 3 – основний відвал, чорна порода, ОС; 4 – основний відвал, червона порода, ОС; 5 – свіжонасипана порода (2013 р.), ОС. Породний відвал шахти «Візейська»: 6 – вершина, червона порода, ПМ *Polytrichum* sp.; 7 – вершина, червона порода, ОС; 8 – тераса, чорна порода, ПМ *Brachitecium* sp.; 9 – тераса, чорна порода, ОС; 10 – підніжжя, чорна порода, ПМ *Ceratodon* sp.; 11 – підніжжя, чорна порода, ПМ *Polytrichum* sp.; 12 – підніжжя, чорна порода, ОС. Породний відвал шахти «Надія»: 13 – вершина, чорна порода, ПМ *Polytrichum* sp.; 14 – вершина, чорна порода, ОС; 15 – вершина, червона порода, ПМ *Ceratodon* sp.; 16 – вершина, червона порода, ОС; 17 – тераса, чорна порода, ПМ, *Ceratodon* sp.; 18 – тераса, чорна порода, ОС; 19 – підніжжя, чорна порода, ПМ *Ceratodon* sp.; 20 – підніжжя, чорна порода, ОС

Таким чином, целюлазна активність і чисельність целюлозоруйнівних мікроорганізмів відвалів вугільних шахт змінюється посезонно і залежить від субстрату та кліматичних умов. На початку вегетаційного періоду чисельність целюлозолітичних мікроорганізмів є низькою, а підвищується з його завершенням (до 90–100 % оброслих грудочок на середовищі Гетченсона). Порівнявши результати досліджень целюлазної активності порід аплікаційним і колориметричним методами, підтвердили пряму залежність активності від кількості целюлозоруйнівних мікроорганізмів і встановили, що целюлазна активність є вищою у пробах, відібраних під мохами, порівняно із контролем, а активність перегорілої породи вища, ніж неперегорілої. Найвища активність (40,29 % розкладеного полотна або 758,57±30,34 мкг глюкози/ 10 г породи) характерна для порід відвалу шахти «Надія» із найвищою температурою субстратів, у той час як найнижча (3,87 % розкладеного полотна або 6,09±0,24 мкг глюкози/ 10 г породи) виявлена у породах відвалу ЦЗФ із майже відсутнім рослинним покривом і високою кислотністю субстрату. Целюлазна активність проб, відібраних на початку вегетаційного періоду, є менша, ніж активність проб, відібраних по його завершенні.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Алимova Ф. К., Тухбатова Р. И., Тазетдинова Д. И. Методы определения гидролаз почв и почвенных микроорганизмов: учеб.-метод. пособие. Казань: Казан. ун-т, 2010. 67 с.
2. Антипчук А. Ф., Піляшенко-Новохатний А. І., Євдокименко Т. М. Практикум з мікробіології: навч. посіб. К.: Університет «Україна», 2011. 155 с.
3. Аринушкина Е. В. Руководство по химическому анализу почв. [2-е изд.]. М.: МГУ, 1970. 488 с.
4. Баранов В. І., Гузь М. М., Гавриляк М. Я. та ін. Вплив регуляторів росту і капсульованих добрив на морфологічні показники саджанців сосни за росту на ґрунтах породного відвалу вугільних шахт // Наук. вісн. Нац. лісотех. ун-ту України. 2010. Вип. 20 (2). С. 8–15.
5. 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.
6. Бобрик Н. Ю., Кривцова М. В., Ніколайчук В. І. Біологічна активність ґрунтів призалізничних екосистем за мікробіологічними показниками // Ґрунтознавство. 2013. Вип. 14. № 1–2. С. 40–48.
7. Варбанець Л. Д., Борзова Н. В. Глікозидази мікроорганізмів і методи їх дослідження. К.: Наук. думка, 2010. 439 с.
8. Вострикова В. М. Аналіз патогенного впливу целюлоз грибів роду *Fusarium* на целюлозовмісні матеріали // Проблеми екологічної біотехнології. 2012. № 2. С. 130–138.
9. Гепенко О. В. Целюлозолітична активність ґрунту в різних короткоротаційних сівозмінах // Вісн. Харк. нац. аграр. ун-ту. Землеробство. 2013. № 1. С. 176–180.
10. Гудзь С. П., Гнатуш С. О., Яворська Г. В. та ін. Практикум з мікробіології: підручник. [для студ. вищ. навч. закл.]. Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2014. 436 с.
11. Гумецький Р. Я., Паляниця Б. М., Чабан М. Є. Математичні методи в біології: теоретичні відомості, програмований практикум, комп'ютерні тести: навч. посіб. Львів: Вид. центр ЛНУ ім. І. Франка, 2004. 112 с.
12. Журавльова І. М., Гринченко Т. О. Вплив триходерміну як біологічного меліоранту на целюлозолітичну активність чорнозему типового за умов забруднення важкими

- металами // Зб. наук. праць Харків. нац. пед. ун-ту ім. Г.С. Сковороди. Біологія та валеологія. 2012. Вип. 14. С. 158–161.
13. *Гутинська Г. О.* Ґрунтова мікробіологія: навч. посіб. К.: Арістей, 2006. 284 с.
 14. *Карпінець Л., Лобачевська О., Баранов В.* Вплив бріофітів на вміст макроелементів та органічного вуглецю у техноземах відвалів Червоноградського гірничопромислового комплексу // Вісн. Харків. нац. аграр. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 3 (33). С. 52–59.
 15. *Карпінець Л., Лобачевська О., Баранов В.* Вплив бріофітного покриву на умови едафотопу породних відвалів Червоноградського гірничопромислового комплексу // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 65. С. С. 255–265.
 16. *Кузьярін О. Т.* Бріофлора вугільних відвалів Львівсько-Волинського гірничопромислового регіону // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. 2013. Т. 7. № 1. С. 105–114.
 17. *Кузьярін О. Т.* Порівняльний аналіз флори вугільних відвалів Львівсько-Волинського гірничопромислового регіону // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. 2012. Т. 6. № 2. С. 189–198.
 18. *Курдиш І. К.* Роль мікроорганізмів у відтворенні родючості ґрунтів // Загальна і ґрунтова мікробіологія. 2009. Вип. 9. С. 7–32.
 19. *Назаренко І. І., Польчина С. М., Нікорич В. А.* Ґрунтознавство: підручник. Чернівці: Книги – ХХІ, 2004. 400 с.
 20. *Пряженникова О. Е.* Целлюлозолитическая активность почв в условиях городской среды // Вестн. Кемеров. гос. ун-та. 2011. № 3 (47). С. 10–13.
 21. *Рабинович М. Л., Мельник М. С.* Прогресс в изучении целлюлозолитических ферментов и механизм биодegradации высокоупорядоченных форм целлюлозы // Успехи биол. химии. 2000. Т. 40. С. 205–266.
 22. *Теплер Е. З., Шельникова В. К., Переверзева Г. И.* Практикум по микробиологии. [3-е изд.]. М.: Агропромиздат, 1987. 239 с.
 23. *Узбек И. Х.* Целлюлозоразрушающие микроорганизмы как компонент биологического фактора почвообразования // Екологія та ноосферологія. 2006. Т. 17. № 1–2. С. 11–16.
 24. *Gupta P., Samant K., Sahu A.* Isolation of cellulosedegrading bacteria and determination of their cellulolytic potential // *Int. J. Microbiol.* 2012. Oct. Article ID 578925. 5 p.
 25. *Hankin L., Anagnostakis S. L.* Solid media containing carboxymethylcellulose to detect Cx cellulase activity of micro-organisms // *J. Gen. Microbiol.* 1977. N 98. P. 109–115.
 26. *Hatami S., Alikhani H.A., Besharati H. N.* et al. Investigation on aerobic cellulolytic bacteria in some of north forest and farming soils // *Biotechnol. Bioeng. Symp.* 2008. N 5. P. 193–219.
 27. *Kuzmishyna-Diakiv S., Hnatush S.* Microbiota of the Coal Pits Waste Heaps. – Saarbrücken, Germany: OmniScriptum GmbH & Co. KG, Lambert Academic Publishing, 2015. 56 p.
 28. *Kuzmishyna S., Hnatush S., Moroz O.* et al. Microbiota of Chervonograd Mining Region // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2014. Вип. 67. С. 234–242.

Стаття: надійшла до редакції 20.01.16

доопрацьована 05.05.16

прийнята до друку 29.06.16

**CELLULASE ACTIVITY OF THE COAL PITS WASTE HEAPS
OF CHERVONOGRAD MINING REGION****S. Diakiv¹, S. Hnatush¹, N. Meniv²***¹Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: kuzmishyna_s_@ukr.net**²Higher Educational Municipal Establishment of Lviv Oblast Council (HEME
LOC) “Andrii Krupynskiyi Institute of Nursing and Laboratory Medicine of Lviv”
70, Petro Doroshenko St., Lviv 79000, Ukraine*

Cellulase activity the same as cellulose decomposing microorganisms number of waste heaps of Chervonograd mining region changes seasonally depending on substrate and climatic conditions. At the beginning of vegetation period cellulolytic microorganisms number is low and rises to its end. Cellulase activity is in 1.3–10.63 times higher in samples from the moss, compared to the control. The activity of red overburn gangue is higher than of black still not overburn gangue. The highest activity was observed for gangues from “Nadija” dump according to the highest substrate temperature. The least activity was revealed for CEP gangues with high acidity value and almost lacking of vegetation. We determined the lower cellulase activity of samples that were selected at the beginning of vegetation period, than samples activity at the end of it. The correlation analysis of cellulase activity depending on substrate temperature at the beginning and the end of experiment was conducted. The high tightness ($r = 0.76$ ***) positive correlation between the activity and substrate temperature at the end of the experiment was established.

Keywords: cellulose decomposing microorganisms, cellulase activity, coal pits waste heaps.