



Олександр Таширєв
канд. біол. наук,
доктор техн. наук,
завідувач відділу біології
екстремофільних
мікроорганізмів
Інституту мікробіології
і вірусології
НАН України,
м. Київ

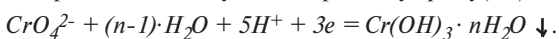
АНТАРКТИДА – МЕТОДОЛОГІЧНІ ОСНОВИ БІОРОЗВІДКИ

У період з 2001 по 2011 роки ученими Інституту мікробіології і вірусології НАН України були розроблені методологічні основи науково обґрунтованої антарктичної біорозвідки, тобто цілеспрямованого пошуку екстремофільних мікроорганізмів, перспективних для біотехнологічної промисловості. Але передумови антарктичної біорозвідки почали формуватися ще у далекі вісімдесяти роки, і спочатку аж ніяк не були пов'язані з власне біорозвідкою. От як це відбувалося.

Одного чудового сонячного дня у липні 1986 року ми з **Едуардом Вульфівичем Галінкером** сиділи на лавці на проспекті Вернадського та міркували на тему, якими взагалі є межі існування життя. Якраз у той період лавиною посипались сенсаційні повідомлення про мікроорганізми, що живуть в умовах, які вважались несумісними з життям. Були відкриті "чорні курчі", глибоководні вулкани, де температура води сягала 120-130°C, а тиск становив 1,5-2,0 атмосфери. І там чудово існують хемолітоавтотрофні мікроорганізми, які використовують сірководень як джерело енергії [1]. **Неллі Миколаївна Жданова** та **Тетяна Іванівна Тугай** (Інститут мікробіології і вірусології НАН України) відкрили явище позитивного радіотаксису у мікроскопічних грибів, тобто їхній спрямований ріст у бік точкового високоактивного джерела гамма-радіації [2]. Крім того, ці дослідники показали, що мікроміцети можуть використовувати як джерело вуглецю та енергії навіть радіоактивний графіт! [3]

Якраз у той час ми з Едуардом Вульфівичем довели, що звичайна кишкова паличка *Escherichia coli* чудово росте у глибоко анаеробних умовах за межами термодинамічної стійкості води, а саме: при величині окисно-відновного потенціалу $E_h = -680$ мВ (при $pH = 7,0$) [4]. Такий потенціал аж на 266 мВ менший за потенціал нижньої межі термодинамічної стійкості води ($E_h = -414$ мВ при $pH = 7,0$). З погляду електрохімії та біохімії це було аналогічно до того, що мікроорганізми можуть рости у полум'ї пальника.

Потім мова зайшла про мікроорганізми та токсичні метали. Загальновідомо, що метали є дуже токсичними для мікроорганізмів при малих концентраціях — 1,0-10 мг іону металу/л. Наприклад, ртуть чинить бактерицидну дію вже при концентрації 0,1-1,0 мг/л Hg^{2+} . Тривалий час вважали, що мікроорганізми взагалі не здатні рости за присутності такого металу-окисника, як хромат-аніон (CrO_4^{2-}). Тому, коли у 1976 р. **В.І. Романенко** та **В.Н. Кореньков** виділили культуру мікроорганізмів, яка росте за концентрації хромату, що дорівнює 30 мг/л, — то це було сенсацією. І навіть послужило підставою для того, щоб відбити це у видовій назві бактерії — *Bacterium dechromaticans* [5]. Культура не тільки росла у присутності хромату, але й відновлювала його до нерозчинної сполуки — гідроксиду хрому(III):



Висока токсичність хроматів зумовлена дуже високим редокс-потенціалом цієї реакції, $E_o' = +555$ мВ.

Отже, на тоді було відомо, що, по-перше, метали є дуже токсичними за малих концентрацій. По-друге, мікроорганізми здатні до відновлення деяких металів, і по-третє, токсичність металів зростає пропорційно до їх концентрації у поживному середовищі (або довкіллі), і для більшості металів токсичність визначається високим редокс-потенціалом.

Закономірно виникла низка запитань:

1. Як теоретично розрахувати максимально припустимі для мікроорганізмів концентрації металів? Культура *Pseudomonas dechromaticans* здатна рости у присутності 30 мг/л CrO_4^{2-} . А при 300 мг/л? При 500? Де та "концентраційна межа", при якій ріст мікроорганізмів неможливий?

2. Чи призводить збільшення концентрації металів-окисників (Hg^{2+} , CrO_4^{2-}) до зростання редокс-потенціалу, який безпосередньо негативно впливає на окисно-відновні ферменти, структурні компоненти клітин та призводить до їх незворотного окислення?

3. Чому одні метали відновлюються мікроорганізмами, а інші — ні? Наприклад, деякі мікроорганізми відновлюють двохвалентний катіон Hg^{2+} до металічної Hg^0 , але жоден мікроорганізм не здатний відновити двовалентні катіони Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} та ін.

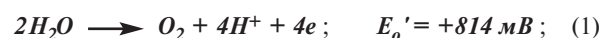
4. За яких причин обмежується здатність мікроорганізмів до відновлення металів, від максимального ступеня окислення до металічного стану? Наприклад, сполуки хрому можуть існувати у водних розчинах у таких редокс-формах, як хром(VI) у вигляді CrO_4^{2-} , хром(III) у вигляді Cr^{3+} та $Cr(OH)_3$, хром(II) у вигляді Cr^{2+} та металічний Cr^0 . Проте численні публікації описують відновлення мікроорганізмами хрому(VI) тільки до хрому(III). У чому тут справа? Подальше відновлення хрому(III) неможливе за якихось ще невідомих причин, або ж це явище просто ще не відкрито? І чи має сенс взагалі шукати мікроорганізми, які відновлюють, наприклад, $Cr(OH)_3$ до металічного хрому? Якщо навіть і шукати, то які умови необхідні мікроорганізмам для здійснення цієї реакції?

Зрозуміло, що мікробіологія неспроможна була відповісти на ці питання. Але ж існує така загадкова (для більшості мікробіологів) наука, як термодинаміка! Тому я, мікробіолог, буквально третирував електрохіміка Едуарда Вульфівича питаннями, як термодинаміка та електрохімія можуть відповісти на цілу лавину згаданих дуже складних питань. Після деяких сумнівів та коливань він все ж таки погодився на співпрацю.

Тоді ми ще не здогадувались, що у далекому 1986 фактично була закладена концепція термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами [6,7]. А значно пізніше ми застосували цю концепцію для формування методологічних основ антарктичної біорозвідки, тобто пошук екстремофільних мікроорганізмів, що існують в антарктичних екосистемах, з погляду їх комерційної цінності як генетичних та біохімічних ресурсів.

Поступово, крок за кроком, ми з Едуардом Вульфівичем дійшли до таких головних положень концепції (рис. 1).

1. Мікробний метаболізм можливий тільки у зоні термодинамічної стійкості води. Зона термодинамічної стійкості води перебуває у діапазоні редокс-потенціалів від +814 до -414 мВ. Значення редокс-потенціалів реакцій (за **Пурбе**) наведені у вигляді E_o' , тобто стандартні редокс-потенціали при одномолярній концентрації окисленої та відновленої форм сполуки та $pH = 7,0$ [8]. Верхня та нижня межі стійкості води визначаються реакціями:



2. Виходячи з фізико-хімічних властивостей металів та біохімічних властивостей мікроорганізмів, останні у той чи інший спосіб мають взаємодіяти з усіма металами періодичної системи елементів. Кожний токсичний метал є окисно-відновним або стереохімічним аналогом макроелементів (K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , NO_3^- , SO_4^{2-} , HPO_4^{2-} та ін.). Тому окисно-відновні або акцепторні та транспортні системи мікроорганізмів взаємодіють з металами за численними механізмами, та зокрема відновлюють і поглинають метали.

3. Будь-який метал (окислена форма) може відновлюватися мікроорганізмами тільки якщо стандартний редокс-потенціал (далі — "потенціал") реакції відновлення металу

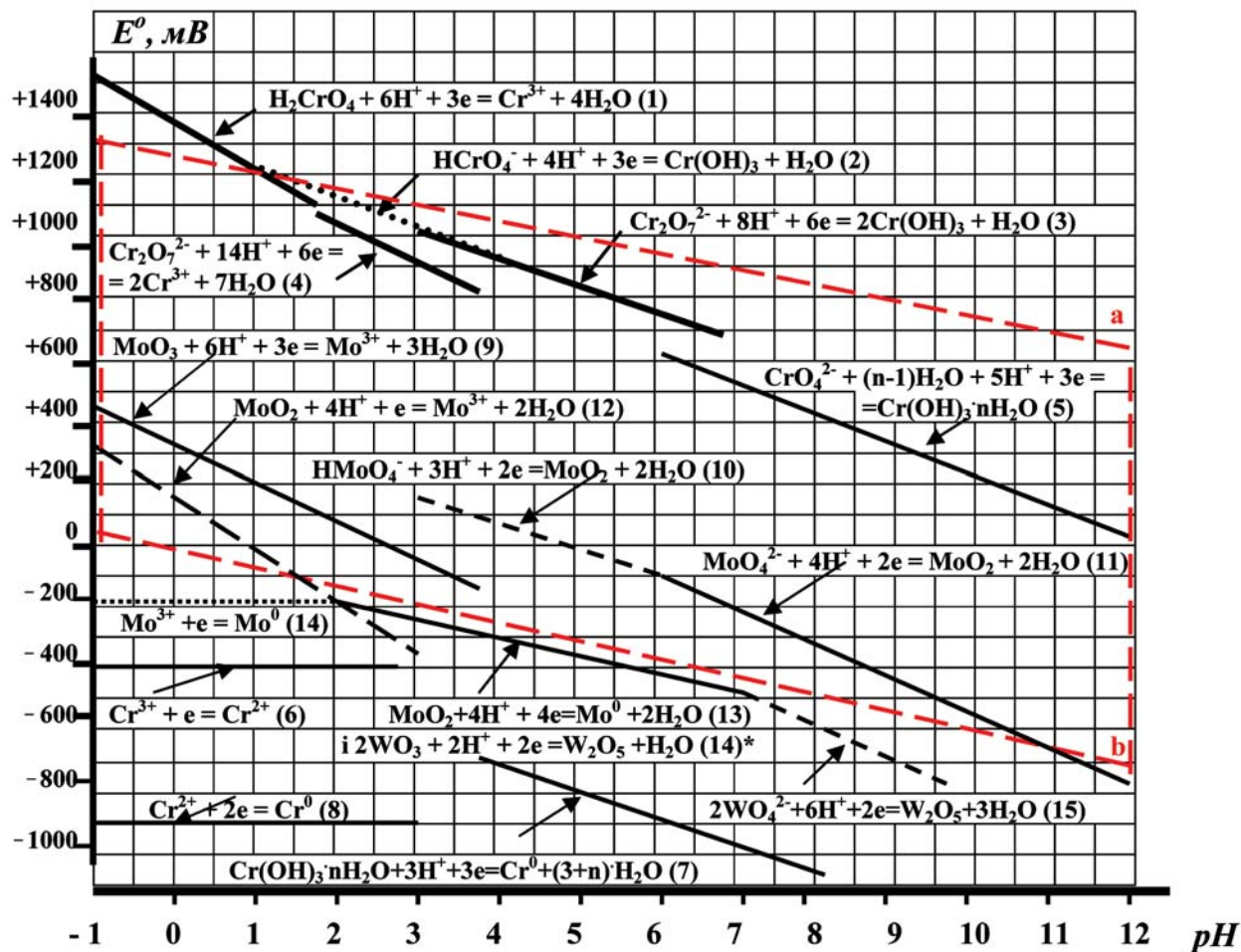


Рис. 1. Редокс-стани металів VI групи елементів.

Примітки: а (верхня) та b (нижня) — межі термодинамічної стійкості води;

а — описується рівняннями: $\text{O}_2 + 4\text{H}^+ = 2\text{H}_2\text{O}$ та $E_h = 1,228 - 0,0591 \cdot \text{pH} - 0,0295 \cdot \lg \text{PH}_2$

б — описується рівняннями: $2\text{H}^+ + 2\text{e} = \text{H}_2$ та $E_h = 0,000 - 0,0591 \cdot \text{pH} - 0,0591 \cdot \lg \text{PH}_2$

* — рівняння реакцій $\text{MoO}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e} = \text{Mo}^0 + 2\text{H}_2\text{O}$ та $2\text{WO}_3 + 2\text{H}^+ + 2\text{e} = \text{W}_2\text{O}_5 + \text{H}_2\text{O}$ практично збігаються

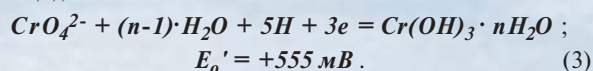
перебуває у межах термодинамічної стійкості води: $+814 \text{ мВ} > E_o'_{\text{мет.}} > -414 \text{ мВ}$.

4. Відновлення металів відбувається за умови, якщо різниця потенціалів між донорною системою (метаболічно-активні мікроорганізми) та акцепторною (окислені форми металів) становить не менше, ніж 100 мВ: $\Delta E_o' > 100 \text{ мВ}$.

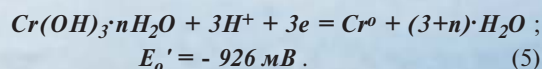
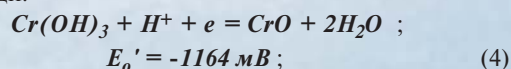
5. З попередніх трьох положень випливає досить несподіваний, на перший погляд, висновок щодо неспецифічності процесів мікробного відновлення металів: будь який метал може бути відновлений мікроорганізмами, якщо його потенціал перебуває у межах термодинамічної стійкості води, а різниця потенціалів між метаболічно-активними мікроорганізмами та металом становить 100 мВ. На рис. 1 всередині червоного ромбу показані рівняння реакції відновлення металів, які можуть здійснюватись мікроорганізмами.

Як положення нашої концепції можна застосувати для прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами? Проілюструємо це на прикладі хрому. Хром існує у водних розчинах (при $\text{pH} = 7,0$) у чотирьох редокс-станах Cr(VI) , Cr(III) , Cr(II) та Cr(0) у вигляді відповідних сполук CrO_4^{2-} , $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, CrO (або гідроксиду $\text{Cr}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) та металічного хрому. Чи можуть мікроорганізми відновлювати

хром у максимальному ступені окислення CrO_4^{2-} не тільки до $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, а і далі, — до CrO або $\text{Cr}(\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ та навіть до металічного хрому? Розрахунки за рівняннями Пурбе дають однозначну відповідь — мікроорганізми можуть відновлювати хром(VI) тільки до хрому(III), тому що потенціал цієї реакції перебуває у межах термодинамічної стійкості води, $+814 \text{ мВ} > E_o'_{\text{Cr(VI)}} > -414 \text{ мВ}$ (рівняння реакції (3)):



А подальше відновлення хрому мікроорганізмами принципово неможливо, тому що потенціали наведених нижче реакцій перебувають за межами термодинамічної стійкості води:



Такі розрахунки виконані для всіх металів періодичної системи елементів. Приклади графічного вираження прогнозу взаємодії мікроорганізмів з металами VI групи елементів наведені на рис. 1 (див. с.34).

Верхня та нижня межі стійкості води позначені відповідно пунктирними лініями *a* і *b* червоного кольору. Всі реакції, які містяться всередині червоного ромбу, можуть здійснюватися мікроорганізмами. Очевидно, що інші реакції відновлення металів, що перебувають поза межами стійкості води, не можуть здійснюватися мікроорганізмами.

Далі поступово, крок за кроком, концепцію було підтверджено експериментально на 16 музейних культурах, синтрофних асоціаціях та змішаних мікробних угрупованнях (що складаються з декількох асоціацій) та широкому спектрі металів і радіонуклідів. Вперше було показано, що неспецифічне відновлення металів мікроорганізмами є розповсюдженим явищем, яке зумовлене термодинамічними властивостями бінарної редокс-системи: донорної (метаболічно активні мікроорганізми) й акцепторної (окислена форма металу). Різниця редокс-потенціалів ($\Delta E_0'$) цих систем у ≈ 100 мВ робить відновлення металів термодинамічно неминучим. Розроблено теоретично та підтверджено експериментально узагальнену модель інтегральних механізмів акумуляції металів мікробними синтрофними асоціаціями та змішаними мікробними угрупованнями. Встановлена можливість регуляції мікробного метаболізму, що дозволяє реалізувати будь-який з теоретично обґрунтованих оптимальних технологічних процесів очищення стічних вод від широкого спектру металів та радіонуклідів.

Начебто все було гаразд. Але дуже дошкуляло нез'ясоване, загадкове питання: де та критична концентрація металів, при якій ріст мікроорганізмів теоретично неможливий? Найбільш токсичні метали є окисниками, і саме за рахунок високого потенціалу вони чинять бактерицидну дію на мікроорганізми. Наприклад, найбільш токсичними металами-окисниками є Hg^{2+} , CrO_4^{2-} та Cu^{2+} , які мають потенціали відповідно +854, +555 та +440 мВ:

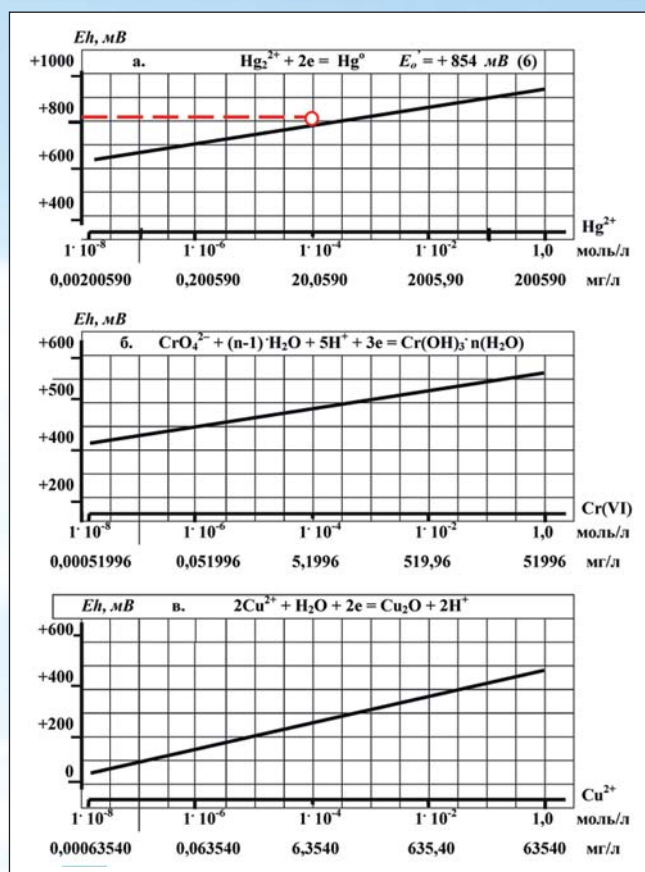


Рис. 2. Залежність величини окисно-відновного потенціалу від концентрації металів-окисників (а — Hg^{2+} , б — CrO_4^{2-} , в — Cu^{2+})

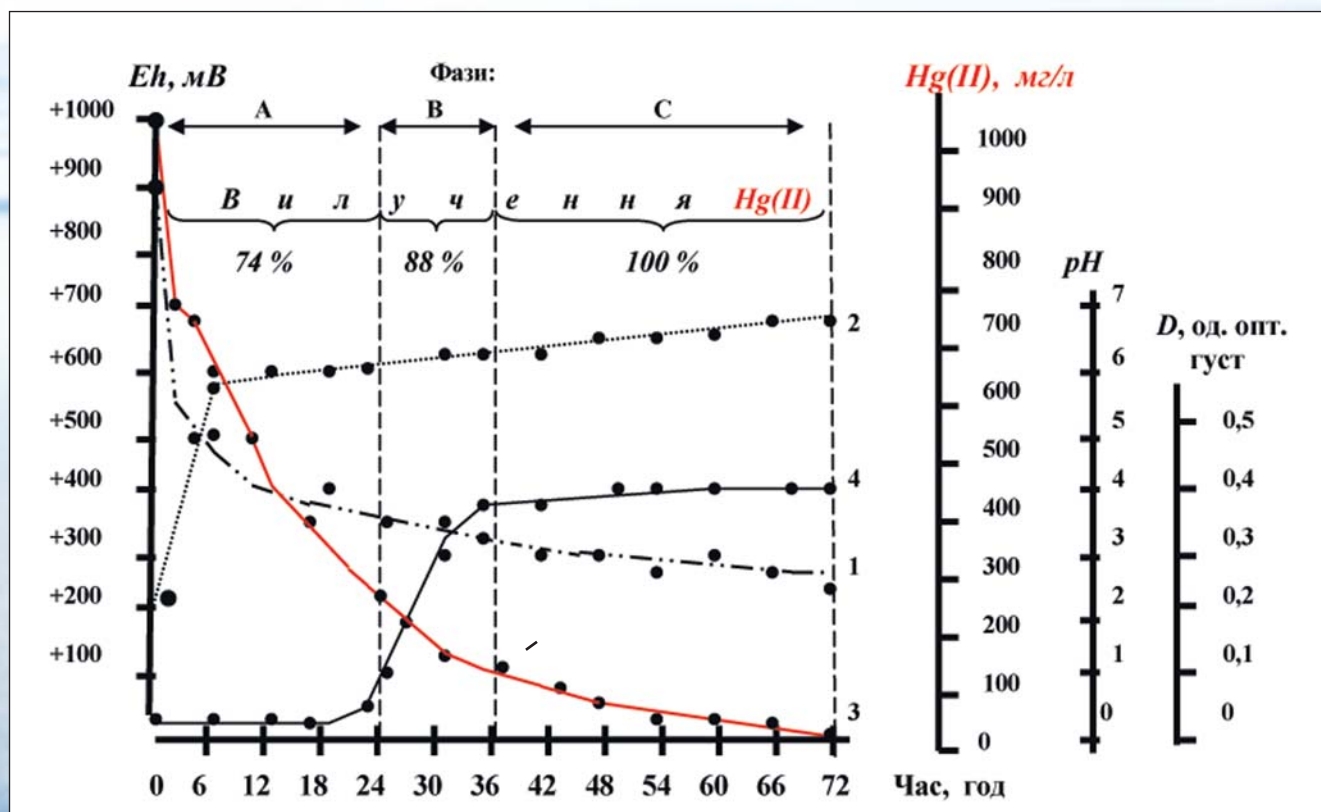
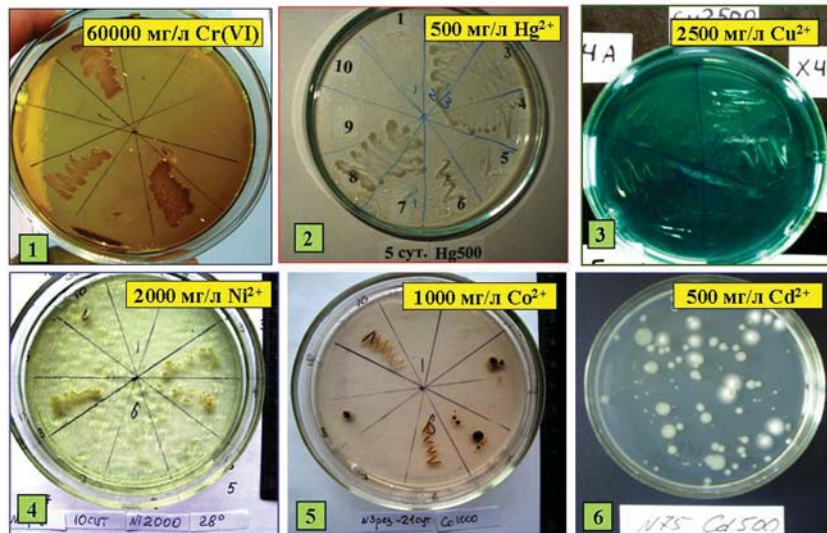


Рис. 3. Метаболічна активність МБК* при вилученні Hg^{2+} з розчину
* — МБК — "мікробний біокатализатор"
1 — E_h , мВ, 2 — pH , 3 — концентрація ртуті у розчині, мг/л; 4 — D , од. оптичної густини (приріст біомаси).
А, В, С — зони метаболічної активності мікроорганізмів МБК

Рис. 4. Стійкість антарктичних мікроорганізмів до надвисоких концентрацій найбільш токсичних металів: Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cr(VI) , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+}



N 1-5 — Типові штами 3201-3210; N 6 — Cd — стійкі штами, висів з ґрунту

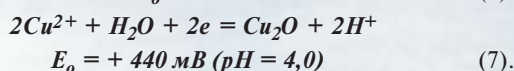
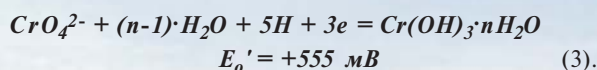
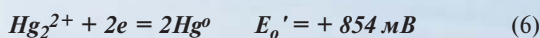
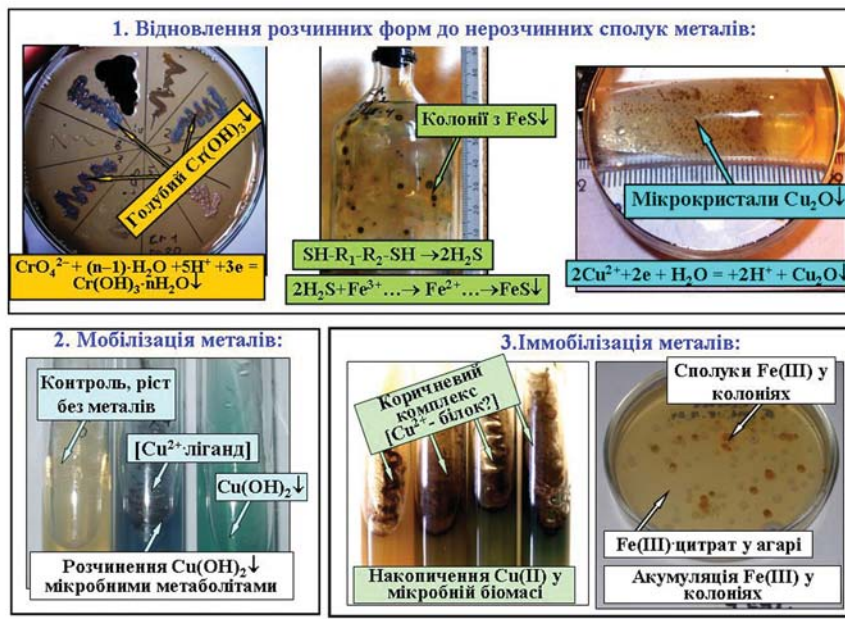
відповідні значення стандартних потенціалів E_0 містяться всередині зони термодинамічної стійкості води навіть при концентраціях металів порядку 1 моль/л. Так, при підвищенні концентрації Cr(VI) на 8 порядків, від $1 \cdot 10^{-8}$ до 1,0 моль/л, потенціал збільшується всього лише на 137 мВ (з +418 до +555 мВ) та залишається у межах стійкості води. Подібне показано на рис. 2в і для відновлення Cu(II) до Cu(I) . Для реакції $\text{Hg}_2^{2+} + 2e = 2\text{Hg}^0$ значення E_h для ряду концентрацій Hg(II) , рівних $1 \cdot 10^{-1}$ моль/л (20 000 мг/л), $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л (10 000 мг/л) та $1 \cdot 10^{-2}$ моль/л (20 000 мг/л) становлять +824, +815 та +794 мВ відповідно (рис. 2а). Звідси випливає, що теоретично мікроорганізми можуть існувати при концентрації Hg(II) близько $5 \cdot 10^{-2}$ моль/л, або 10 000 мг/л.

Отже, виходило так, що для Cr(VI) та Cu(II) взагалі немає концентраційних обмежень, а щодо ртуті, найбільш токсичного з металів, максимально припустимою для мікроорганізмів є її неймовірна концентрація — 10000 мг/л! Звідси випливає "крамольний" висновок. Якщо мікроорганізми у принципі здатні рости у присутності метала-окисника, то концентраційних обмежень не існує взагалі, і мікроорганізми здатні до росту за будь-яких високих концентрацій токсичних металів-окисників.

Зрозуміло, що наведений "термодинамічний дозвіл" ще не означав, що всі, будь-які мікроорганізми здатні до росту у присутності металів у надвисоких концентраціях та взаємодії з металами. Тому ми негайно почали шукати експериментальне підтвердження такої теоретично обґрунтованої металрезистентності. І тут на нас чекала нищівна поразка. Наведені термодинамічні розрахунки були виконані у 1986 році. Протягом наступних чотирьох років, незважаючи на широкомасштабний скринінг різноманітних природних та техногенних мікробних ценозів, нам не вдалося виділити мікроорганізми не те що стійких до металів у концентраціях, які становлять грами у літрі, а навіть і 100-200 мг/л. Склалася парадоксальна ситуація: теорія каже однозначно "так", а практика — "ні". На тому ми "поставили хрест" і облишили пошуки.

Досить прикре відчуття поразки зберігалось 12 років, аж до 1998 року, коли нам запропонували дослідити можливість мікробного очищення стічних вод Волгоградського заводу "Каустик" (Росія), які містили ртуть(II) у концентрації 30-40 мг/л. Для цього ми застосували розроблений нами гранулований препарат "мікробний біокаталізатор" (МБК) [10]. Особливістю МБК є те, що гранули препарату стійкі у воді, складаються з декількох мікробних асоціацій та містять концентровані живі мікроорганізми ($10^7 - 10^8$ клітин/г препарату) і необхідні для них джерела живлення. Тому ми очікували, що МБК буде ефективно очищувати стічну воду від відносно малих концентрацій ртуті, а мікробне біорізнома-

Рис. 5. Три види взаємодії антарктичних мікроорганізмів з металами



З точки зору здорового глузду та численних експериментальних даних було очевидним, що підвищення концентрації металів має супроводжуватися збільшенням величини потенціалу та відповідно — катастрофічним для мікроорганізмів посиленням токсичної дії металів-окисників. Але з наших теоретичних розрахунків однозначно випливало [9], що багатократне, на декілька порядків, підвищення концентрації металів супроводжується незначним збільшенням потенціалу, який залишається у межах термодинамічної стійкості води (рис. 2а, б, в). Для реакцій відновлення Cr(VI) до Cr(III) та Cu(II) до Cu(I) (рис. 2б, в)

а

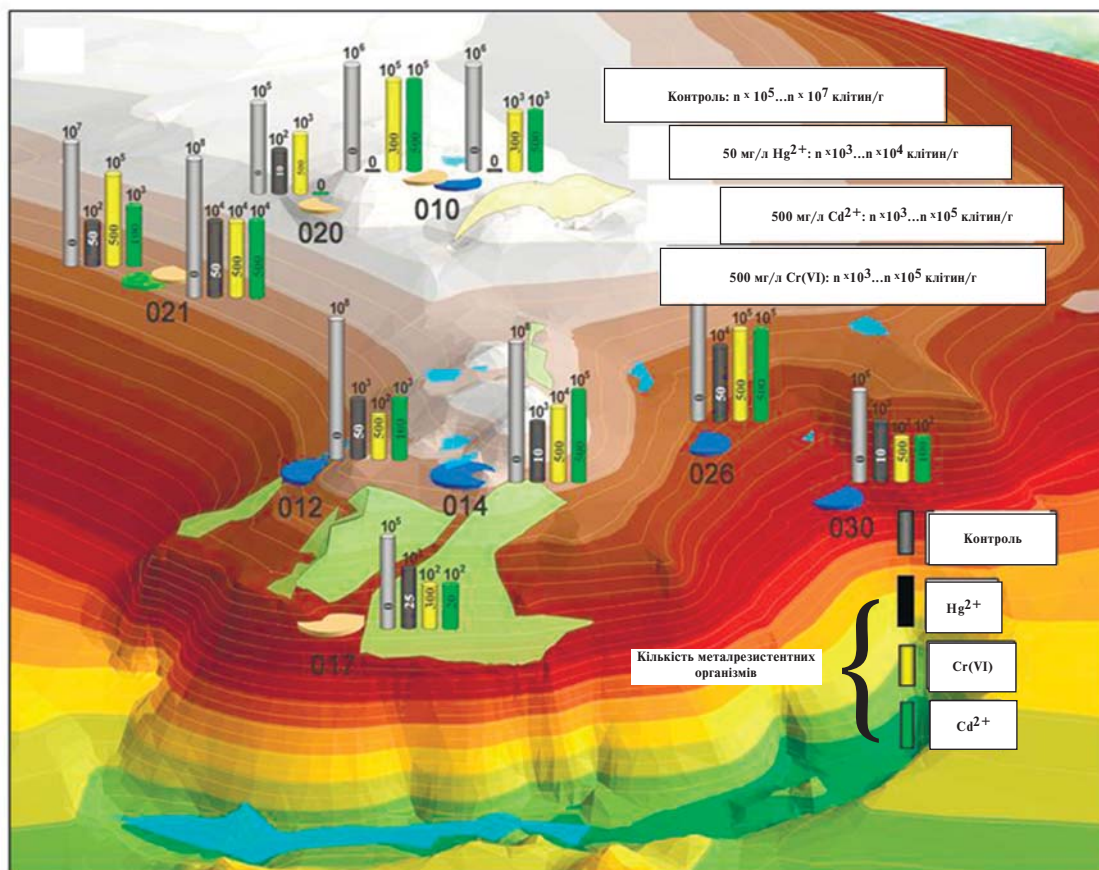


Рис. 6. Кількісна характеристика металрезистентних мікроорганізмів у Західній Антарктиді; а — біогеографічному полігоні (о. Галіндес)

ніття внаслідок наявності декількох мікробних асоціацій забезпечить одночасне функціонування декількох незалежних механізмів вилучення ртуті [11]. Але спочатку ми вирішили визначити, який кількісний вклад становить суто фізико-хімічне вилучення ртуті мікробними клітинами. Для цього гранули МБК внесли до розчину, який містив ртуть у концентрації завідомо несумісній з життям, а саме: 1000 мг/л Hg^{2+} .

У такій системі ртуть стійка у формі катіону Hg^{2+} тільки у сильно-кислих умовах ($\text{pH} = 2,0$) при дуже високому значенні потенціалу ($E_h = +920$ мВ). Не було меж подиву, коли через 1 добу у цьому "анти-життєвому" розчині почався ріст мікроорганізмів, зміни pH та E_h і пов'язане з цими процесами вилучення ртуті. Протягом трьох діб концентрація ртуті зменшилась з 1000 мг/л до аналітичного нуля (тобто менше, ніж 0,1 мг/л Hg^{2+}), біомаса мікроорганізмів зросла до 0,4 одиниць оптичної густини, а фізико-хімічні показники прийшли до "фізіологічної норми", $\text{pH} = 7,0$ та $E_h = +280$ мВ (рис. 3).

Це була несподівана та неочікувана перемога, — термодинамічний прогноз щодо ртуті підтвердився. Авжеж, ріст мікроорганізмів та взаємодія з катіоном ртуті Hg^{2+} при його концентрації 1000 мг/л — це у 10 разів менше за максимально допустиму для мікроорганізмів, теоретично розраховану концентрацію 10 000 мг/л ртуті(II). Проте необхідно взяти до уваги, що для переважної більшості мікроорганізмів бактерицидна концентрація ртуті становить 0,1 - 1,0 мг/л Hg^{2+} [12], а здатність до росту у присутності 5 мг/л Hg^{2+} вважається проявом високого рівня ртуть-резистентності [13]. Тобто нами вперше була показана здатність мікроорганізмів рости та взаємодіяти з ртуттю при концентрації, що на 3-4 порядки перевищує бактерицидні. А висів мікроорганізмів з рідкого середовища із ртуттю на агаризоване

підтвердив наявність щонайменше 8 - 10 морфотипів колоній ртуть-резистентних мікроорганізмів.

Таким чином, "психологічний" бар'єр було подолано. Якщо мікроорганізми здатні рости при надбактерицидних концентраціях найтоксичнішого металу — ртуті, то можна сподіватися на подальше виділення мікроорганізмів, що стійкі до інших металів за їх концентрацій на рівні грамів у літрі у відповідності до концепції термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами.

Проте до антарктичної біорозвідки було ще далеко. Поточні проблеми змусили нас розробляти нові природоохоронні біотехнології очищення промислових стічних вод від металів, знешкодження рідких радіоактивних відходів та ін. Концепція термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами була застосована для очищення гальванічної стічної води на Київському заводі комунального машинобудування від хроматів з отриманням корисних продуктів (екологічно чиста вода технічний абразив — кристалічний оксид Cr_2O_3) [14]. Разом з **В.М. Шевелем** було доведено ефективність застосування препарату МБК для очищення рідких радіоактивних відходів (РРВ), спецканалізації лабораторій класу "А" та трапних вод ядерного реактора Інституту ядерних досліджень НАН України. Препарат забезпечував зменшення активності РРВ по 12 радіонуклідам у середньому на 3-4 порядки, а по ^{83}Rb та ^{90}Sr — навіть на 6 порядків [15]. Дослідно-промислові випробування МБК на Спецкомбінаті "Радон" (на той час директор — **Б.Г. Колтунів**) підтвердили ефективність концепції та технології знешкодження РРВ на її основі: був отриманий ефект очищення РРВ від ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{60}Co та інших радіонуклідів до показників, встановлених "НРБ 86/89". Нарешті показано, що мікроорганізми МБК здатні

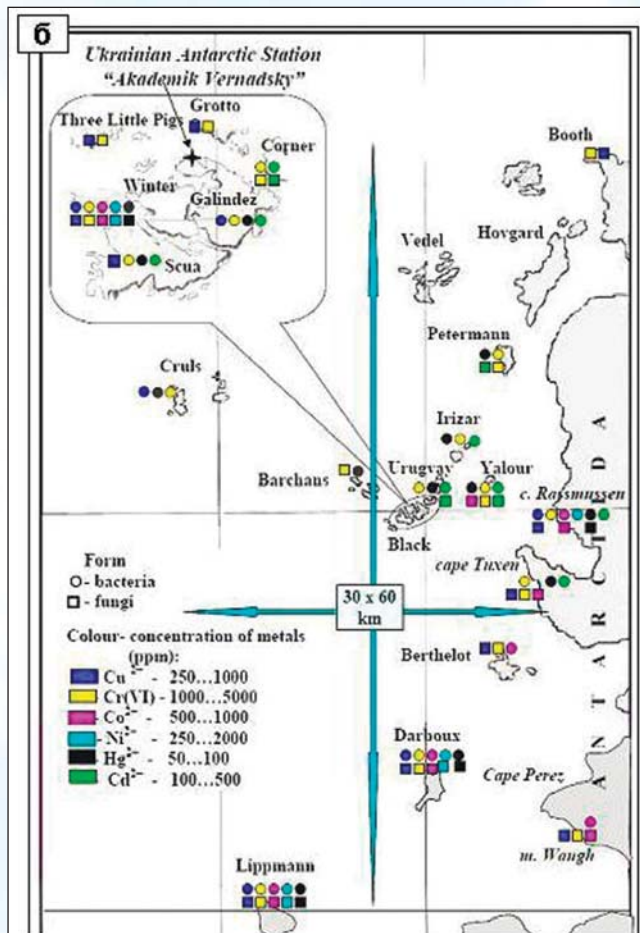


Рис. 6. Кількісна характеристика металрезистентних мікроорганізмів у Західній Антарктиці:
б – на островах та узбережжі Антарктичного півострова

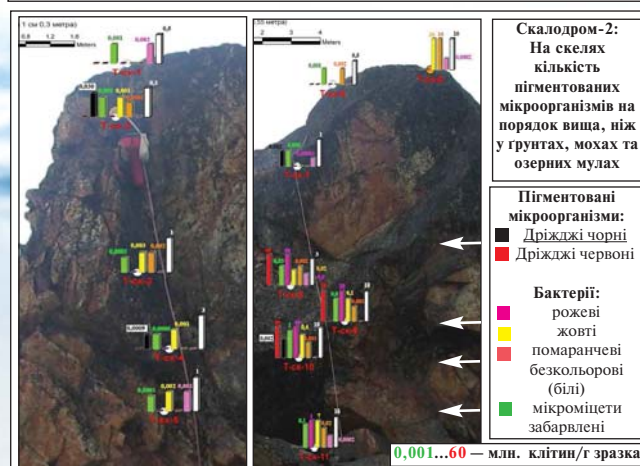


Рис.7. Розподіл на скелях УФ-резистентних мікроорганізмів-продуцентів БАР

вилучати з модельних РРВ ^{238}U , ^{239}Pu , ^{241}Am з ефективністю 99,85% [16].

Але, як то кажуть, невідомі шляхи Господні. Несподівано доля розвернула нас у бік антарктичної мікробіології. У 2001 році наш Інститут розпочав комплексні дослідження структури та функцій антарктичних мікробних ценозів у Західній Антарктиці поблизу української антарктичної станції "Академік Вернадський". На початку досліджень навіть і думки не було про пошук металрезистентних мікроорганізмів у Антарктиці. Всі знають про те, що Антарктика є найбільшою екологічно чистою зоною Землі, отже і нема чого очікувати там існування металрезистент-

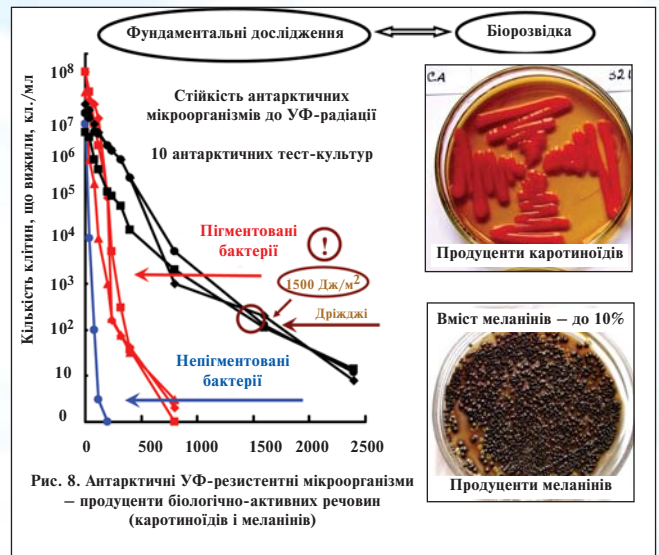


Рис. 8. Антарктичні УФ-резистентні мікроорганізми – продуценти біологічно-активних речовин (каротиноїдів і меланінів)

них мікроорганізмів. Та і, чесно кажучи, "металрезистентність" вже досить набридла за останні 15 років. Хотілося чогось зовсім нового. Такими здавались мікробні ценози загадкової Антарктики. На той час було загальновідомо, що екстремофільні антарктичні мікроорганізми представлені переважно психрофілами та галофілами, тобто такими, що ростуть при низьких температурах та високій солоності. І у більшості дослідження були спрямовані на вивчення фізіології цих мікроорганізмів та механізмів їх стійкості до екстремальних факторів [17]. А дані щодо "класичних" екофізіологічних груп мікроорганізмів циклів вуглецю, азоту та сірки практично були дуже обмеженими. Тому ми і зосередили зусилля на вивченні цих груп мікроорганізмів та отримали деякі принципово нові дані, раніше невідомі для антарктичних екосистем. Зокрема, було показано, що в антарктичних ценозах, крім психрофілних, широко розповсюджені також мезофільні і навіть термотолерантні мікроорганізми [18].

І все ж таки уникнути дослідження явища металрезистентності в антарктичних мікроорганізмів не судилося. У 2003 році на великому практикумі з мікробіології моя дочка Ганна Таширева, на той час студентка III курсу біологічного факультету, збунтувалася проти досить нудної процедури – кількісного обліку мікроорганізмів за фізіологічними групами у ґрунті звичайних кімнатних квітів у горщиках. Мовляв, хочу чогось романтичнішого! Я запропонував їй простенький дослід, оснований на таких міркуваннях. Якщо Антарктика є найбільшою екологічно чистою зоною на Земній кулі, то антарктичні мікроорганізми мають бути дуже чутливими до токсичних сполук, у тому числі й до металів. І тому треба очікувати, що такі метали, як Cu^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} та CrO_4^{2-} будуть незворотно пригнічувати ріст антарктичних мікроорганізмів уже при концентраціях 0,1-1,0 мг/л. Звідси – висновок, що антарктичне довкілля треба берегти від забруднення токсичними сполуками, зокрема – металами. Проте не тут то було! Через деякий час Ганнуса гордо повідомила, що у неї антарктичні мікроорганізми ростуть і при концентрації 5,0 мг/л цих металів. Я не на жарт розлютився, мовляв, у двадцять років людина повинна вміти правильно перерахувати концентрацію власне іону металу у солі, і т. ін. Я був цілком певний, що вона пропустила грубої помилки у розрахунках. Ображена дитина через два тижні надала однозначні докази, що для антарктичних мікроорганізмів максимально допустимі концентрації металів становлять навіть 10 мг/л Cu^{2+} , 30 мг/л Cd^{2+} і Hg^{2+} та 45 мг/л CrO_4^{2-} [19]. Звідки вони там, у Антарктиці взялися, ті металрезистентні мікроорганізми? І де та "кон-

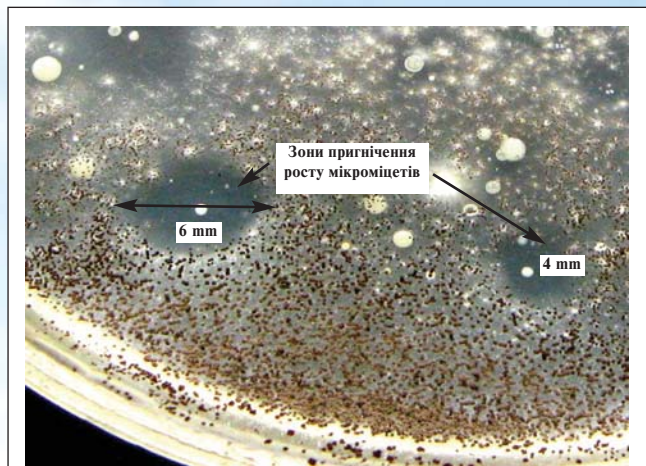


Рис. 9. Явище антибіозу у асоціаціях антарктичних мікроорганізмів: бактерії виділяють антибіотики, що пригнічують ріст мікроміцетів (мікроскопічних грибів) на поверхні агаризованого середовища (стерильні зони діаметром 4 – 6 мм)

центраційна межа" стійкості до металів антарктичних мікроорганізмів, тобто якими є для них максимально допустимі концентрації (МДК) металів? Необхідно було подальше системне вивчення явища металрезистентності антарктичних мікроорганізмів.

Для того, щоб визначити згадані МДК, ми виділили із репрезентативних антарктичних екосистем (грунти, мохи, лишайники, озерні мули та ін.) типові штами найбільш розповсюджених хемоорганотрофних мікроорганізмів. Відомо, що більшість мікроорганізмів адаптуються до металів при поступовому підвищенні їх концентрації у поживному середовищі. А нам було необхідно встановити "природну", "початкову" стійкість цих штамів до металів. Тому ми вели поточне культивування типових штамів на середовищах без металів, а вже звідти мікроорганізми висівали на поживні середовища з металами у певному концентраційному градієнті. На початку досліджень для тест-металів обрали Cu^{2+} та CrO_4^{2-} з огляду на те, що вони дуже токсичні для мікроорганізмів, мають властивості сильних окисників, стійкі (не осаджуються) у поживних середовищах та кількісно визначаються простими фотоколориметричними методами.

За 3 роки досліджень (з 2003 по 2006) були отримані просто-таки приголомшливі результати щодо металрезистентності антарктичних мікроорганізмів. Як показали **Н.А. Матвєєва** та **Г.О. Таширєва** на прикладі 10 типових штамів, вони нахабно і зухвало росли і при 100, і при 200 і при 300 мг/л Cu^{2+} та CrO_4^{2-} і навіть не збирались зупинитися. Врешті-решт з'ясувалося, що для типових штамів МДК міді містяться у межах 1000-2500 мг/л Cu^{2+} . А для CrO_4^{2-} , сильного метала-окисника з дуже високим потенціалом ($E_0' = + 555$ мВ), взагалі не вдалося встановити МДК, тому що три типові штами росли при концентрації насичення хромату у середовищі, а вона становить 60000 мг/л у перерахунку на катіон хрому. Отже, у повній відповідності до термодинамічного прогнозу, мікроорганізми здатні рости у будь-якому концентраційному діапазоні хроматів, від $1 \cdot 10^{-8}$ до 1,0 моль/л хрому(VI), тому що стандартний потенціал реакції відновлення хрому(VI) до хрому(III) перебуває у межах термодинамічної стійкості води (рис. 2,б). І, як з'ясувалося, врешті-решт, антарктичні мікроорганізми можуть рости навіть і при 60000 мг/л хрому(VI), що на 8004 мг/л вище за його одномолярну концентрацію (51996 мг/л).

А як ставляться антарктичні мікроорганізми до найбільш токсичного металу — ртуті? І тут не обійшлося без

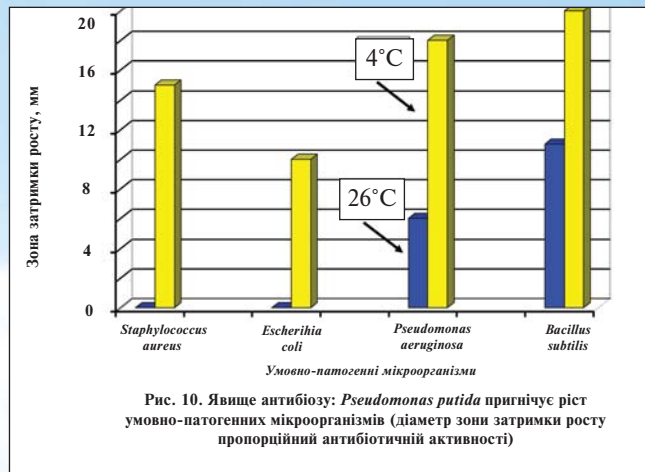


Рис. 10. Явище антибіозу: *Pseudomonas putida* пригнічує ріст умовно-патогенних мікроорганізмів (діаметр зони затримки росту пропорційний антибіотичній активності)

сюрпризів. Чотири з десяти типових штамів чудово виростили вже на п'яту добу культивування при концентрації 500 мг/л Hg^{2+} . Нагадаємо, що для переважної більшості мікроорганізмів бактерицидними є концентрації 0,1-1,0 мг/л Hg^{2+} . Отже, деякі антарктичні мікроорганізми стійкі до 500...5000-кратних "бактерицидних" доз ртуті.

Якщо підсумувати результати двадцятирічних досліджень, з 1986 по 2006 роки, отримаємо наступне. У відповідності до концепції термодинамічного прогнозу, мікроорганізми здатні до росту у присутності найбільш токсичних металів-окисників за концентрацій, які на декілька порядків перевищують бактерицидні. Таким чином, лише через 20 років після розробки концепції термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами, та ще й на прикладі мікроорганізмів, виділених з найбільшого екологічно чистого регіону Земної кулі — Антарктики, було експериментально підтверджено цю концепцію.

Проте, як колись висловився **Луї де Бройль**, "*кожен успіх нашого знання породжує більше проблем, ніж вирішує їх*". Стосовно антарктичних металрезистентних мікроорганізмів далі закономірно виникла ціла низка питань.

1. Чи будуть стійкими антарктичні мікроорганізми також і до дуже токсичних типових металів-замісників: Co^{2+} , Ni^{2+} та Cd^{2+} ? Такі метали, як Hg^{2+} та Cu^{2+} , відносяться до так званих металів "комбінованої дії", тобто вони одночасно ушкоджують мікроорганізми і як окисники, і як замісники [20]. Тому ми припустили, що мікроорганізми, які стійкі до металів комбінованої дії, будуть також стійкими і до типових металів-замісників.

2. Чи можуть антарктичні мікроорганізми не тільки рости у присутності високих концентрацій металів, але й взаємодіяти з ними?

3. Яка природа стійкості антарктичних мікроорганізмів до токсичних металів? На яких захисних механізмах базується металрезистентність?

4. Які кількісні показники можна використовувати для характеристики ступеня розповсюдженості металрезистентних мікроорганізмів, а також для їх ефективного пошуку та гарантованого виділення "in vitro" (тобто у лабораторну культуру)?

5. Наскільки поширене в антарктичних екосистемах у Західній Антарктиці, на різноманітних географічних об'єктах явище мікробної металрезистентності?

6. Звідки у найбільшому екологічно чистому регіоні Земної кулі з'явилися мікроорганізми, які за рівнем металрезистентності не мають аналогів навіть серед зон техногенних катастроф?

Однією з головних характеристик мікробних ценозів є кількісні показники так званого **гомеостазу**, тобто здатності ценозів зберігати стабільність функціонування до екстре-

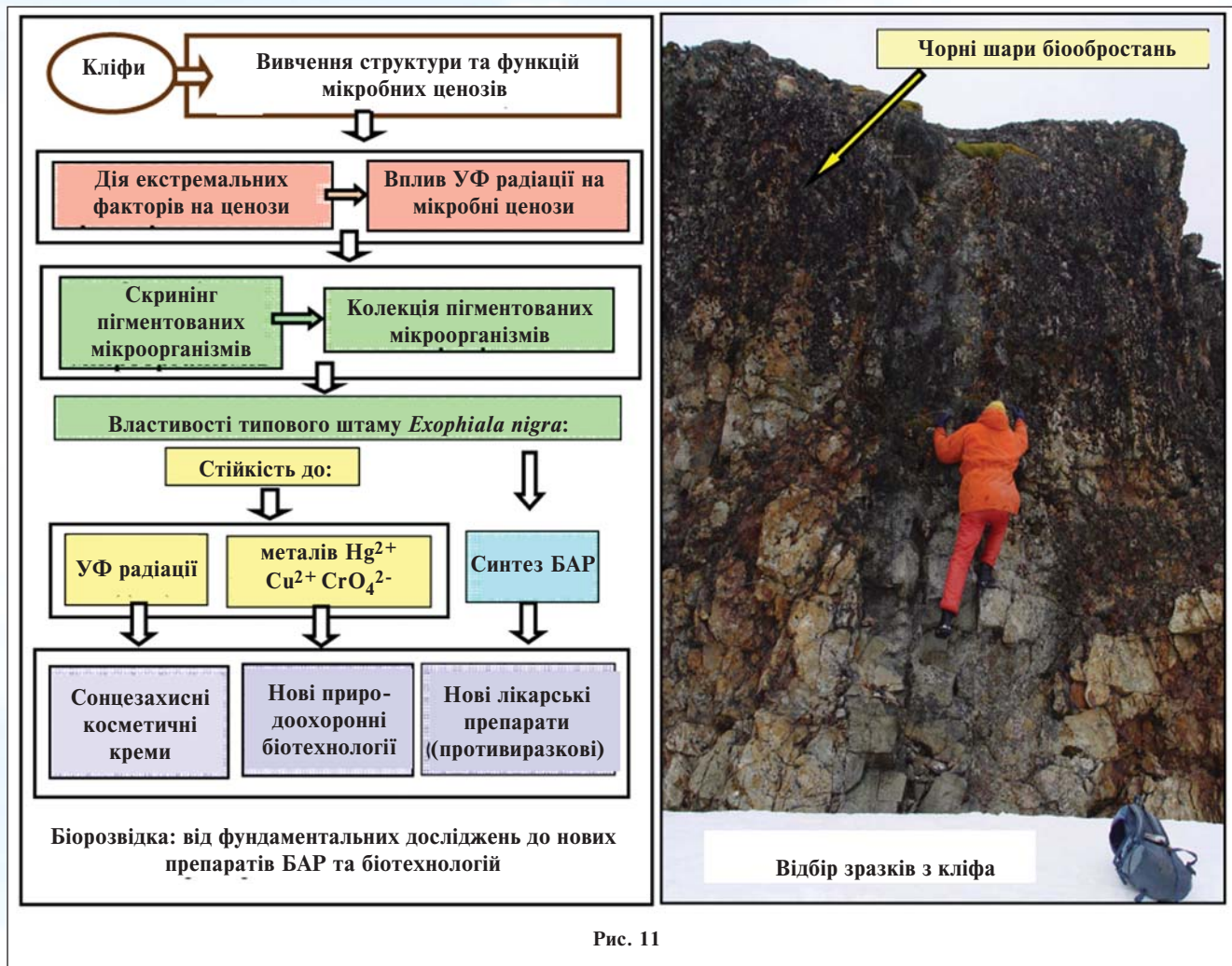


Рис. 11

мальних факторів, зокрема — токсичних металів.

Перші ж досліди показали, що і типові штами, і мікроорганізми, ізольовані при кількісному обліку за фізіологічними групами, стійкі не тільки до металів-окисників, але й також і до металів-замісників (Н.А. Матвєєва та Г.О. Таширєва). Тобто взагалі було експериментально доведено явище високого рівня полірезистентності антарктичних мікроорганізмів до найбільш токсичних металів-окисників, металів-замісників та металів комбінованої дії. Нами встановлені такі МДК (максимально-допустимі концентрації) металів для типових антарктичних мікроорганізмів (у мг/л): 500 Hg^{2+} та Cd^{2+} , 1000 Co^{2+} , 2000 Ni^{2+} , 2500 Cu^{2+} , та навіть 60 000 Cr(VI) у формі CrO_4^{2-} [21]. Такий рівень множинної стійкості мікроорганізмів до надвисоких концентрацій токсичних металів описаний вперше. Якщо вдатися до аналогій, то це можна порівняти з якоюсь людиною-екстремалом, яка вільно почуває себе в киплячій сірчаній кислоті... Багато хто з біологів не може повірити в існування таких металрезистентних мікроорганізмів, настільки це не відповідає класичним уявленням щодо токсичності металів. Тому ми надаємо фотографії колоній мікроорганізмів, які ростуть за надвисоких концентрацій згаданих металів (Рис. 4).

Щодо природи стійкості антарктичних мікроорганізмів до токсичних металів, то було встановлено, що у деяких випадках вона визначається плазмідами (Н.А. Матвєєва). З металрезистентних антарктичних мікроорганізмів були виділені 2 плазмиди та трансформовані (перенесені) у штам звичайної кишкової палички *E. coli XL1 Blue*, дуже чутливого до металів. Після цього паличка чудово росла за "надбakterицидною" концентрацією хрому, — 500 мг/л Cr(VI) .

Проте стійкість антарктичних мікроорганізмів до металів ще не означає, що вони можуть втягувати метали у біогеохімічні цикли в екосистемах Антарктики. Необхідно, щоб мікроорганізми також взаємодіяли з металами. Тому ми дослідили взаємодію мікроорганізмів з металами. Встановлені 3 види взаємодії мікроорганізмів з металами: відновлення розчинних форм до нерозчинних сполук металів, мобілізація та імобілізація металів (Рис. 5). Тому можна припустити, що металрезистентні мікроорганізми відіграють значну роль у біогеохімічних циклах металів у Антарктиці. А залежно від умов культивування за допомогою мікроорганізмів можна переводити метали як у розчинний, так і в нерозчинний стан, що є дуже важливим для практичного їх використання. На той час ми вже отримали систематизовані дані щодо структури та функцій мікробних ценозів за еколого-трофічними та фізіологічними групами циклів вуглецю та азоту, показали закономірності їх розповсюдження в антарктичних ландшафтних екосистемах (грунти, скелі, озерні мули, мохи, лишайники та ін.). Наступним логічним кроком було дослідження закономірностей розповсюдження металрезистентних мікроорганізмів у екосистемах та на географічних об'єктах Західної Антарктики, а також визначення МДК до широкого спектру найбільш токсичних металів окисників, замісників та металів комбінованої дії (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cr(VI) , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+}). Зрозуміло, що для цього насамперед необхідно було позиціонувати об'єкти досліджень за допомогою сучасних GPS-методів. Таку дуже складну та об'ємну роботу виконали геодезисти фірми "ECOMM" (Е.С. Серединін, Д.О. Мизін, Ю.В. Ладанівський та В.О. Куренков). Разом з ними нами створено багатопланову біогеографічну 3D-модель дослідницького

полігону на острові Галіндез поблизу станції "Академік Вернадський", топографічну карту островів архіпелагів та узбережжя Антарктичного півострова. На них позиціоновано точки відбору зразків та надано кількісну характеристику металрезистентних мікроорганізмів (рис. 6 а,б).

Для характеристики стійкості до металів мікроорганізмів антарктичних екосистем ми використали, крім МДК (максимально допустимі концентрації металів) такі кількісні показники, як $K_{УО_{мет}}$ та $K_{розп.}$. Показник $K_{УО_{мет}}$ (колоній утворюючі одиниці) визначає кількість мікроорганізмів у 1 г зразка, стійких до металів за їх певних концентрацій у середовищі культивування. "Коефіцієнт розповсюдження" $K_{розп.}$ визначає відсоткове співвідношення стійких за певних концентрацій металів мікроорганізмів до загальної кількості мікроорганізмів у дослідженому зразку. $K_{розп.} = N_1 \cdot N_2 \cdot 100\%$, де N_1 — кількість мікроорганізмів, стійких до металів у концентрації m мг/л, а N_2 — загальна кількість мікроорганізмів.

Для деяких островів Аргентинського архіпелагу ці обидва показники є дуже високими. Наприклад, на о. Уругвай кількість "надстійких" до металів мікроорганізмів ($K_{УО_{мет}}$) становила десятки та сотні тисяч клітин/г зразка: $\cdot 10^4$ кл при 50 мг/л Hg^{2+} , $\cdot 10^4$ кл. при 500 мг/л $Cr(VI)$ та $\cdot 10^5$ кл. при 500 мг/л Cd^{2+} . Високими були також значення коефіцієнту розповсюдження $K_{розп.}$. Він набував значень (за наведених концентрацій металів) 3,1% для Hg^{2+} , 8,2% для $Cr(VI)$ та навіть 11% для Cd^{2+} . А на мисі Расмуссен (Cape Rasmussen), що на узбережжі Антарктичного півострова, кількість стійких до хрому мікроорганізмів дорівнювала $\cdot 10^5$ кл. навіть при концентрації 1000 мг/л $Cr(VI)$, а $K_{розп.}$ становив 2%.

З наданих даних очевидно, що полірезистентність мікроорганізмів до найбільш токсичних металів у надвисоких концентраціях є розповсюдженим явищем у дослідженій зоні Західної Антарктики. Таке явище множинної стійкості до металів показано вперше.

Отримані результати є основою для "багатовимірної" характеристики явища металрезистентності мікроорганізмів у типових антарктичних екосистемах за кількісними та якісними показниками. До них належать: ступінь полірезистентності (до якої кількості і яких саме металів є стійкість), максимально-допустимі концентрації до кожного з металів (окисників, замісників та металів комбінованої дії), загальна кількість мікроорганізмів стійких до певних концентрацій металів та коефіцієнт їх розповсюдження, види взаємодії мікроорганізмів з металами та кінцевий результат (відновлення, мобілізація та іммобілізація металів). А характеристика мікробних ценозів на позиціонованих об'єктах за показниками $K_{УО_{мет}}$ та $K_{розп.}$ дають можливість передбачуваного, гарантованого виділення найстійкіших до металів мікроорганізмів.

Таким чином, системне вивчення структури і функцій антарктичних мікробних ценозів на 19 географічних об'єктах у поєднанні з кількісними показниками гомеостазу на прикладі токсичних металів слугувало підґрунтям для розробки методологічних основ науково обґрунтованої антарктичної біорозвідки. За загальноприйнятим визначенням біорозвідка — це дослідження мікроорганізмів, рослин та тварин, що трапляються у природних умовах, з точки зору їх комерційної цінності як генетичних та біохімічних ресурсів.

Отримані дані дають можливість гарантованого виділення з позиціонованих екосистем металрезистентних мік-

Brevibacterium antarcticum 3204: очищення металовмісної стічної води від Cu^{2+} в проточній установці (10 секцій)

Джерело вуглецю та енергії – овочеві відходи (підгнила картопля)

Механізм очищення – відновлення Cu^{2+} до нерозчинного Cu_2O :



Зменшення концентрації Cu^{2+} - у 3250 разів



Рис.12. Застосування антарктичних мікроорганізмів у технологіях очищення металовмісних стічних вод



Рис. 13. Ефективність мікробної технології переробки твердих харчових відходів на станції «Академік Вернадський» 1 — відходи (капустяні стрижні) до зброджування; 2 — відходи після 7 діб ферментації

роорганізмів з "заданими" параметрами. А такі мікроорганізми є промислово перспективними. Далі ми доведемо, як ці мікроорганізми можуть бути використані у різноманітних промислових біотехнологіях.

У яких типових антарктичних ценозах (екосистемах) найбільше розповсюджені мікроорганізми, стійкі до комплексу екстремальних факторів, таких як УФ радіація, широкий спектр токсичних металів та антибіотиків? Відповіді на ці запитання фактично є методологічною основою антарктичної біорозвідки.

Десятирічні натурні спостереження антарктичних екосистем привели нас до закономірного висновку, що деякі з них цілий рік перебувають під безперервною дією багатьох потужних екстремальних факторів. Типовими екосистемами у Західній Антарктиці, що постійно перебувають під дією екстремальних факторів, є кліфи, — вертикальні скелі висотою 10-50 метрів, часто з ділянками, що мають негативний кут нахилу.

З огляду на те, що скелі є вертикальними, сніг на них не утримується, і тому розташовані на них мікробні ценози у максимальному ступені зазнають ушкоджувальної дії УФ-радіації. Лишайники та мікроорганізми виділяють органічні кислоти, які мобілізують зі скельної породи токсичні метали. Нарешті, нерівномірний розподіл органічних речовин стимулює жорстку конкуренцію мікроорганізмів за субстрат. Це приводить до антибіозу, який проявляється як у синтезі антибіотиків мікроорганізмами, так і в їхній стійкості до антибіотиків. Тому цілком природним було подальше комплексне дослідження структури та функцій мікробних ценозів кліфів з огляду на їхню можливу полірезистентність до комплексу екстремальних факторів: електромагнітних (УФ-радіація), фізико-хімічних (метали) та біологічних (антибіотики).

На біогеографічному полігоні (о. Галіндез) було закладено локальний полігон "Скалодром-2". Він представляє собою кліф висотою 10-14 м та довжиною близько 20 м, скелі якого густо вкриті ковром мохів, лишайників, водоростей та мікроорганізмів. На кліфі по двох вертикальних профілях були позиціоновані 12 точок для системного вивчення структури та функцій мікробних ценозів. За допомогою GPS-методів створено 3D-модель Скалодрому-2 на яку надалі додавали дані з характеристики мікробних ценозів (рис. 7).

Кількісний облік мікроорганізмів показав, що на 12 точках Скалодрому-2 у високій концентрації присутні піг-

Зменшення концентрації вуглецю у **160 разів** — з 8000 до 50 мг/л С

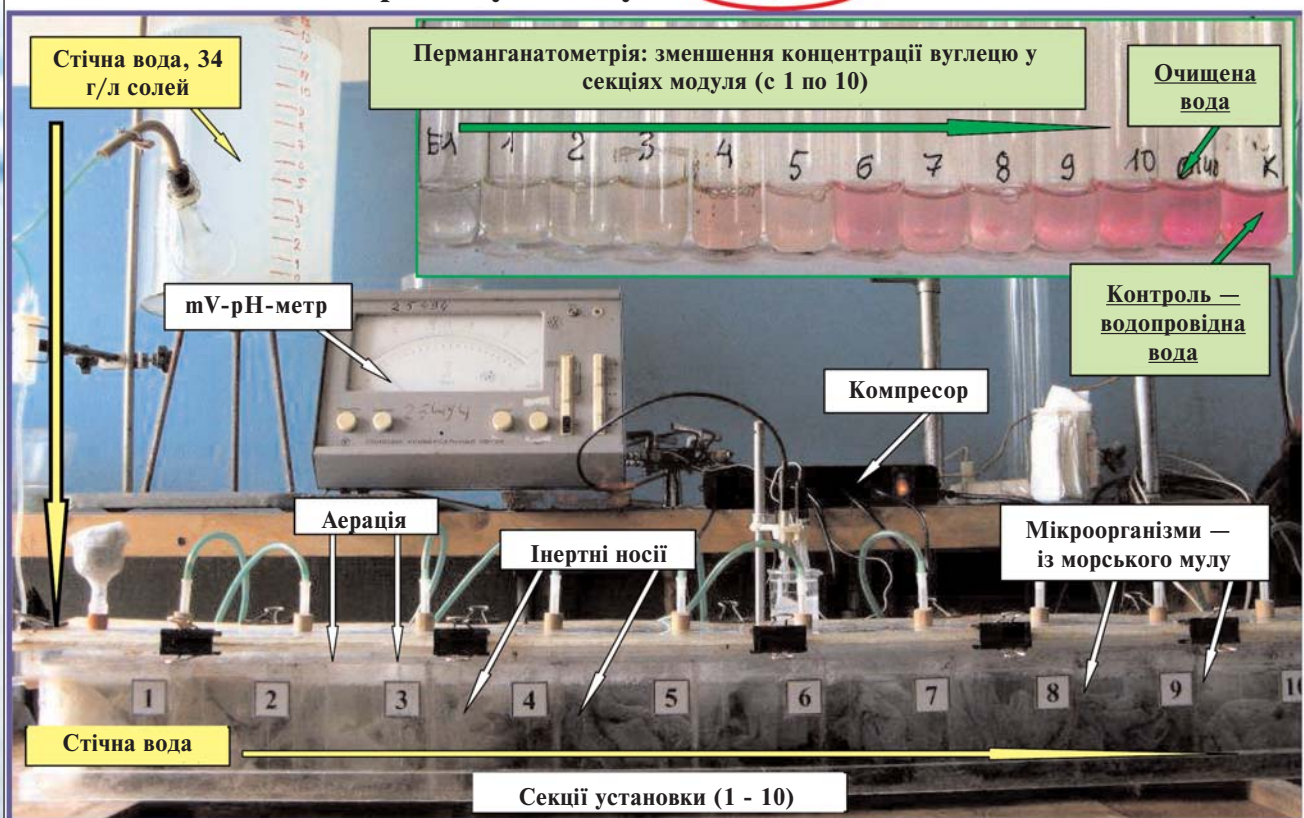
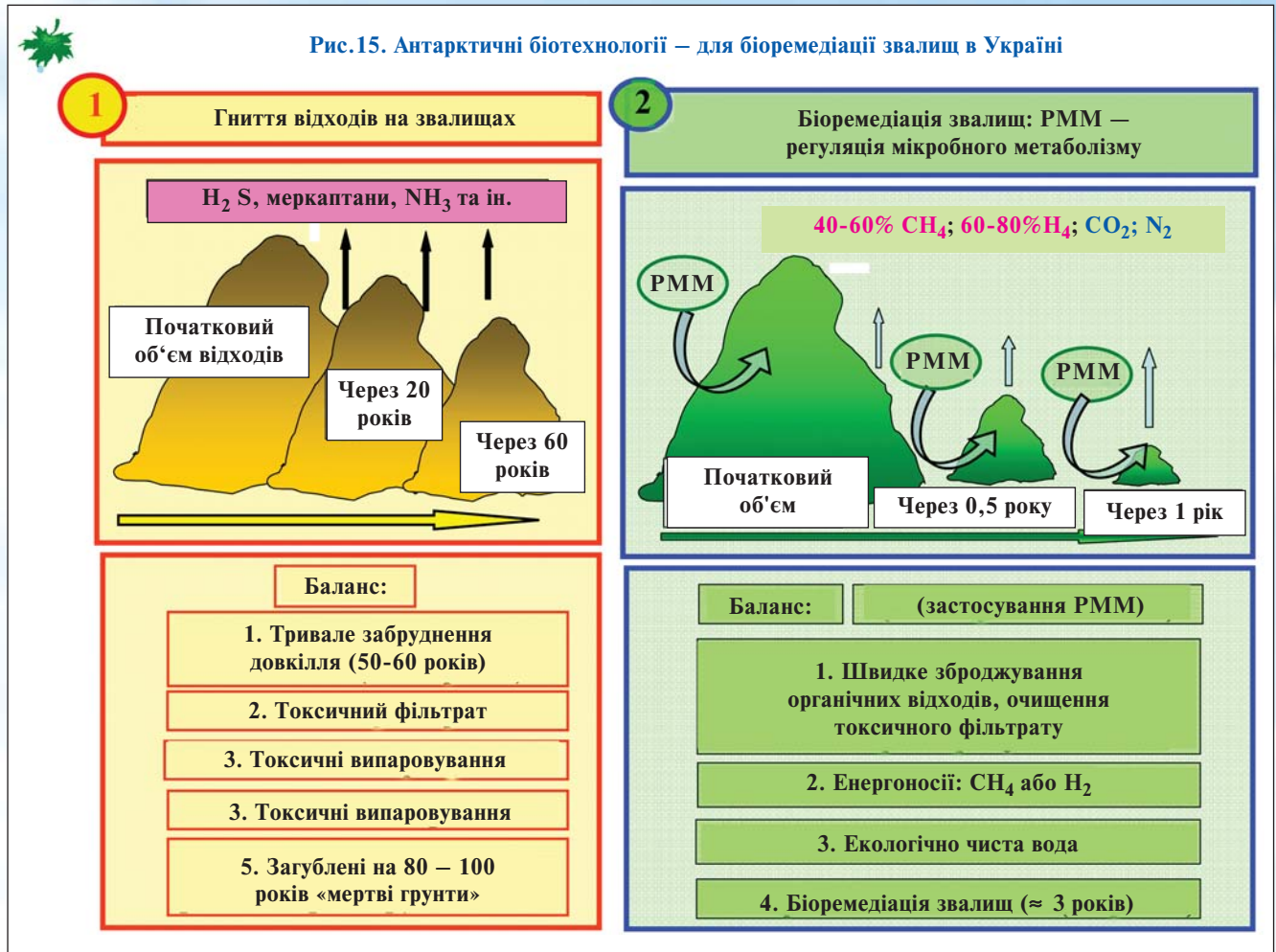


Рис.14. Проточна установка для очищення стічної води на антарктичній станції

Рис.15. Антарктичні біотехнології — для біоремедіації звалищ в Україні



ментовані бактерії, дріжджі та мікроміцети. Їхня кількість коливалась у межах від 10 тис. до 60 млн./г зразка. На скелях кількість пігментованих мікроорганізмів було на 1 порядок вища, ніж у ґрунтах, мулах та мохах. У деяких точках кількість чорних меланінвмісних дріжджів становить $n \cdot 10^4$ – $n \cdot 10^5$, а червоних, що містять каротиноїди, навіть до $n \cdot 10^7$ клітин/г зразка.

Зі зразків Скалодрому-2 та інших "екстремальних" екосистем **П.В. Рокитко** були виділені репрезентативні (типові, найбільш розповсюджені) штами мікроорганізмів, на яких вивчали дію УФ-радіації та токсичних металів, стійкість до антибіотиків та здатність виявляти антибіотичну активність (тобто синтезувати антибіотики).

Як показала **В.О. Романовська**, максимальну стійкість до УФ-радіації виявили чорні та червоні дріжджі. Їхня стійкість до УФ-радіації перебувала у межах 1000–1500 Дж/м² (рис. 8) [22]. Червоні та чорні дріжджі є продуцентами **біологічно активних речовин (БАР)**, каротиноїдів та меланінів відповідно. Деякі штами дріжджів є надпродуцентами меланінів, — вміст меланінів становить до 10% від маси клітин.

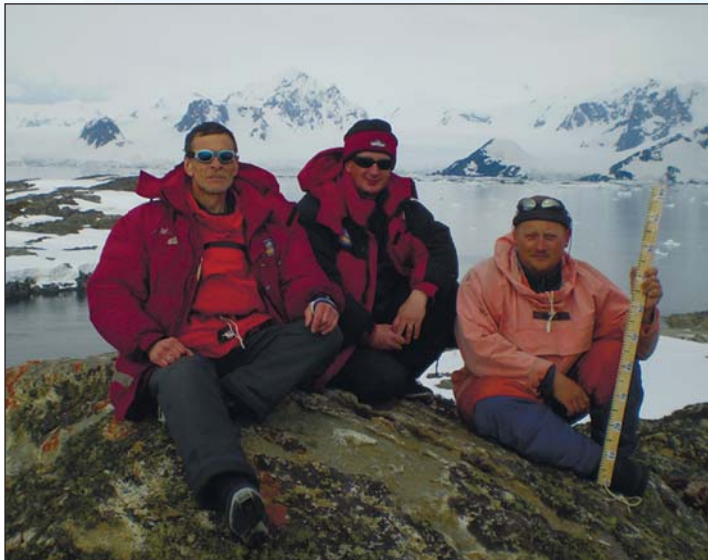
Типові штами Скалодрому-2, що виділялись за відсутності металів у поживних середовищах, виявили високий рівень стійкості до токсичних металів. Для 10 штамів МДК (максимально-допустимі концентрації металів) становили у мг/л: 50 Hg²⁺, 150 Co²⁺, 1000 Ni²⁺, 1250 Cu²⁺ та навіть 20000 Cr(VI). Антибіоз серед антарктичних мікроорганізмів виявився як у стійкості до антибіотиків, так і до здатності синтезувати антибіотики, що пригнічують ріст конкурентних видів мікроорганізмів (рис. 9). Наприклад, типові штами Скалодрому-2 були стійкі до 18 з 20 антибіотиків широкого спектру дії.

Антарктична культура *Pseudomonas putida* синтезує антибіотики, що істотно пригнічують ріст умовно-патогенних мікроорганізмів, причому максимально пригнічення спостерігається при "антарктичній" температурі, тобто при +4°С (рис. 10) [23].

Отримані нами дані зі структури та функцій мікробних ценозів (екосистем) дозволили розробити науково обґрунтовані, ефективні методи отримання промислово перспективних мікроорганізмів (рис. 11). Наприклад, при дослідженні дії УФ-радіації на мікроорганізми кліфів ми провели скринінг пігментованих форм та створили колекцію штамів, стійких до УФ. Один із колекційних штамів *Exophiala nigra* виявився надпродуцентом меланіну. Системне вивчення властивостей *E. nigra* показало, що ця культура дріжджів стійка не тільки до УФ-радіації, а й до широкого спектру антибіотиків і найбільш токсичних металів у високих концентраціях (Hg²⁺, Cu²⁺, CrO₄²⁻). А меланіни, як відомо, є дуже ефективними сорбентами металів. Крім того, дріжджовий меланін має профілактичні антиканцерогенні та противиразкові властивості (**Т.П. Берегова**) [24].

Таким чином, тільки на основі однієї цієї культури можна створити сонцезахисні креми, нові природоохоронні біотехнології очищення металовмісних стічних вод та лікарські препарати.

Наведемо ще декілька прикладів нерозривного зв'язку фундаментальних і прикладних досліджень та можливості ефективного використання науково обґрунтованої біорозвідки для створення нових біотехнологій. Типовий представник антарктичних ценозів *Brevibacterium antarcticum* здатний споживати широкий спектр органічних сполук, є стійким до металів у високих концентраціях (200 мг/л Co²⁺, 800 мг/л Ni²⁺ та 1000 мг/л Cu²⁺). Відповідно до термоди-



Антарктика: Сезонний польовий науковий загін на біогеографічному полігоні у 2011 році. Зліва направо — О. Таширев, С. Недогібенко та Д. Пилипенко

намічного прогнозу, мікроорганізми здатні відновлювати катіон Cu^{2+} до нерозчинного оксиду Cu_2O (рівняння реакції 7). Ці властивості *B. antarcticum* ми використали для створення нової універсальної біотехнології очищення стічної води від міді (рис. 12). У проточній установці мікроорганізми іммобілізовані на шматках гнилої картоплі. В процесі росту мікроорганізми руйнують картоплю та осаджують мідь. В установці концентрація міді зменшується у 3250 разів (з 325 до 0,1 мг/л Cu^{2+}). На виході з установки вода очищується мікроорганізмами не тільки від токсичної міді, але й від розчинених органічних сполук. Така біотехнологія дозволяє одночасно здійснити деструкцію екологічно-небезпечних органічних відходів, очистити стічну воду від токсичної міді, отримати концентрат міді та технічно чисту воду.

Це — виразний приклад нерозривного зв'язку фундаментальних та прикладних досліджень. Фундаментальний аспект — це роль мікробних ценозів у біогеохімічних циклах металів у екосистемах Антарктики, а прикладний — створення нових мікробних технологій очищення металовмісних стічних вод на основі антарктичних мікроорганізмів.

Існування мікроорганізмів у суворих умовах Антарктики змусило їх виробити здатність пристосовуватись до несприятливих умов, зокрема — здатність швидко споживати широкий спектр органічних сполук (білків, рослинних полімерів, розчинних спиртів та органічних кислот тощо). Ми використали цю їхню властивість для створення "антарк-

тичних" біотехнологій переробки екологічно-небезпечних харчових відходів (рис. 13) та очищення фекально-побутової стічної води (рис. 14) на українській станції "Академік Вернадський". За допомогою регуляторів мікробного метаболізму та мікроорганізмів, ізолюваних з морського мулу, тверді харчові відходи зброджуються протягом 5-7 діб із зменшенням їхньої маси у 50-70 разів, а у стічній воді концентрація забруднювальних розчинних органічних сполук зменшується у 160 разів (з 8000 до 50 мг/л за загальним вуглецем).

Надалі ми вдосконалили ці технології та розробили теоретичні основи універсальних біоремедіаційних біотехнологій. Незважаючи на те, що в Україні існує багато державних програм з утилізації побутових відходів, наша країна буквально задихається від звалищ. Тому для вирішення стратегічних завдань з охорони та біоремедіації довкілля в Україні можливо і необхідно використовувати біотехнології, розроблені нами для Антарктики (рис. 15). Зліва цифрою 1 позначено процес спонтанного гниття органічних відходів на звалищі з усіма негативними наслідками (утворення меркаптанів, токсичного фільтрату, патогенна мікрофлора та ін.). Справа, цифрою 2 позначено принципову схему та переваги нашої біотехнології. За рахунок цілеспрямованої, точної регуляції мікробного метаболізму аборигенної мікрофлори, відходи звалищ швидко та ефективно зброджуються, із твердих відходів отримують промислові об'єми енергоносіїв (метану або водню), а з токсичного фільтрату отримують екологічно чисту воду. Така технологія дозволить здійснити біоремедіацію звалища приблизно протягом трьох років.

Нині на всіх рівнях активно дискутується проблема співвідношення фундаментальних та прикладних досліджень, зокрема й у Антарктиці. На державному рівні приймають рішення, які на довгі роки зумовлюють стратегію наукових досліджень та відповідно і їх фінансування. Яким має бути єдино правильне методологічне рішення? Відповідь на це питання дав ще *Френсіс Бекон* у далекому 1620 році: "*Що у теорії причина — то є засіб для практики. Тільки знання причини явищ дає людині в руки і засіб керувати ними. А знаходити причину явищ нас вчить тільки досвід. Проте досвід може бути подвійний: існують "experimenta fructifera", досліді плодотворні, коли людина у гонитві за найближчою користю часто взагалі не досягає цілі або здійснює небагато що. Існують також і "experimenta lucifera", досліді світозарні, у яких, не керуючись вузькою ціллю, людина прагне тільки до пояснення явищ і в результаті висвітлює найширші ділянки фактів. І тоді людина є "Homo naturae minister et interpres" — тлумач природи і її володар!*".

Саме таким шляхом треба йти і нам.

Література

1. Короновский Н.В. Гидротермальные образования в океанах. — Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова — 1999. — 152 с.
2. Dighton J., Tugay T., Zhdanova N. Fungi and ionizing radiation from radionuclides // FEMS Microbiol. Lett. — 2008. — N 281. — P. 109-120.
3. Zhdanova N., Tugay T., Dighton J. et al. Ionizing radiation attracts soil fungi // Mycol. Res. — 2004. — N 108. — P. 1089-1096.
4. Таширев А.Б., Радченко О.С., Галинкер Э.В. Рост *Escherichia coli* в сильно вос-становленной среде // Химия и технология воды. — 1992. — 14, № 6. — С. 458-464.

5. Романенко В.И., Кореньков В.Н. Чистая культура бактерий, использующих хроматы и бихроматы в качестве акцепторов водорода при развитии в анаэробных условиях // Микробиология. — 1977 — 46, №3. — С. 414-417.

6. Таширев А.Б. Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Восстановительная трансформация металлов. // Микробиол. журнал. — 1994. 56, № 6. — С. 76-88.

7. Таширев А.Б. Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Микробная аккумуляция металлов, обусловленная их стереохимической аналогией с макроэлементами. // Микробиол. журнал. — 1994. — 56, № 6. — С. 89-100.

8. Pourbaix M. Atlas of electrochemical equilibria in aqueous solutions. — Oxford: Pergamon press, 1963. — P. 320.

Висновки

Отже, у 1986 році нами сформульована концепція термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами та надалі на прикладі антарктичних мікроорганізмів повністю підтверджено її правоздатність. Вона дозволяє теоретично передбачити та реалізувати на практиці всі можливі види взаємодії мікроорганізмів з металами у будь-якій їх комбінації та широкому концентраційному діапазоні.

У період з 2001 по 2011 роки на основі системних досліджень структури і функцій мікробних ценозів Західної Антарктики розроблені методологічні підходи ефективної біорозвідки. Встановлені закономірності формування полірезистентності та кількісні параметри стійкості мікробних ценозів до комплексу екстремальних факторів: високим дозам УФ-радіації, найбільш токсичним металам та широкого спектру антибіотиків. З екстремальних екосистем виділені мікроорганізми — продуценти біологічно-активних речовин: каротиноїдів, меланінів та антибіотиків. Антарктичні мікроорганізми є не тільки стійкими до найбільш токсичних металів, але й з високою ефективністю вилучають їх із розчинів та стічних вод.

Антарктичні мікроорганізми можуть бути використані для створення нових косметичних препаратів та ліків з антитанцерогенною та противиразковою дією, а також для промислового синтезу антибіотиків. Пігментовані УФ-резистентні дріжджі є перспективними продуцентами каротиноїдів та меланінів.

На основі високостійких до широкого спектру металів мікроорганізмів можуть бути створені біотехнології, які дозволяють не тільки знешкоджувати промислові поліметалічні стічні води, але й одночасно утилізувати екологічно небезпечні органічні відходи, а також отримувати комерційно цінні продукти — концентрат металів та екологічно чисту воду.

"Антарктичні" мікробні технології зброджування твердих органічних відходів та очищення стічних вод мають бути застосовані в Україні для біоремедіації існуючих та недопущення утворення нових звалищ побутових відходів. Крім природоохоронного ефекту, при біоремедіації звалищ можуть бути отримані енергоносії (водень або метан).

Викладений у статті методологічний підхід до біорозвідки є стратегічно важливим для України. Біорозвідка на науковій основі — це єдино доступний нині для нашої країни спосіб реалізувати свої права на комерційне використання біоресурсів Антарктики. Системний пошук та виділення промислово-перспективних мікроорганізмів не потребує істотних витрат, проте може принести Україні значний зиск за рахунок впровадження нових природоохоронних біотехнологій, технологій синтезу біологічно-активних речовин та створення нових лікарських препаратів. Ці технології є перспективними для продажу на міжнародних ринках.

Методологічні основи "антарктичної біорозвідки" зараз використовуються у Інституті мікробіології і вірусології НАН України також для пошуку промислово-перспективних мікроорганізмів у таких екстремальних екосистемах, як кліфи та лікувальні грязі Мертвого моря, карстові печери, глибинні донні осади Чорного моря тощо.

На нашу думку, існує нагальна потреба виділення біорозвідки в окремий науковий напрям зі сталим фінансуванням.

Висловлення подяки. Автор дуже вдячний ученим сезонних загонів та зимівникам станції "Академік Вернадський" за допомогу у відборі зразків у край екстремальних умовах Антарктики а також співробітникам відділу біології екстремальних мікроорганізмів (Інститут мікробіології і вірусології) за багаторічну напружену роботу з дослідження мікробних ценозів Антарктики.

9. **Таширев А.Б., Галинкер Э.В., Андреюк Е.И.** Термодинамическое прогнозирование редокс-взаимодействия микроорганизмов с металлами-окислителями // *Доповіді НАН України*. — 2008. № 4. — С. 166 -172.

10. **Пат. 10809 UA, МПК5 CO2 F 1/28, 3/34;G21 F9/18.** Спосіб очистки водних розчинів від іонів металів біомасою мікроорганізмів / Таширев О.Б., Шевель В.М. Опубл. 26.02.1999, Бюл. №1.

11. **Таширев А.Б.** Концепция интегральных механизмов аккумуляции металлов синтрофными микробными ассоциациями // *Мікробіол. журн.* — 1999. — 61, № 5. — С. 78 - 84.

12. **Bowman J.P., Sly L.I., Hayward A.C.** Patterns of tolerance to heavy metals among methane-utilizing bacteria // *Lett. Appl. Microbiol.* — 1990. — N 2. P. 85-87.

13. **Петрова М.А., Миндлин С.З., Горленко Ж.М., Каляева Э.С., Соина В.С., Богданова Е.С.** Резистентные к соединениям ртути бактерии из многолетнемерзлых отложений и перспективы их использования в сравнительных исследованиях детерминант ртуть-устойчивости // *Генетика*. — 2002. — т. 38, № 11. — С. 1-6.

14. **Таширев А.Б., Литвинов В.А.** Очищення хроматвмісного стоку мікробним препаратом "змішані мікробні угруповання" на основі овочевих відходів // *Хранение и переработка зерна*. — 2005. — № 7 (73). — С. 62 - 64.

15. **Таширев А. Б., Шевель В.Н.** Аккумуляция радионуклидов микробным сорбентом // *Мікробіол. журн.* — 1998. — 60, № 2. — С. 96 - 104.

16. **Таширев А. Б.** Аккумуляция урана, плутония и америция микробным биосорбентом // *Мікробіол. журн.* — 2000. — 62, № 6. — С. 51-56

17. **Warwic F.Vincent.** Microbial ecosystems of Antarctica / Cambridge University Press. — 1988, 304 p.

18. **Таширев О.Б., Таширева Г.О., Войцицкий В.М.** Характеристика микробных ценозов антарктических грунтоусубстратов // *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка (Біологія)*. — 2004. — № 42-43. — С. 107-108.

19. **Таширев О.Б., Таширева Г.О., Войцицкий В.М.** Вивчення впливу токсичних важких металів на антарктичні мікробні угруповання грунтоусубстратів // *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка (Біологія)*. — 2004. — № 42-43. — С. 17-18.

20. **Таширев А.Б.** Взаимодействие микроорганизмов с металлами // *Мікробіол. журн.* — 1995. — 57, № 2. — С. 95- 104.

21. **Таширев А.Б., Матвеева Н.А., Романовская В.А., Таширева А.А., Рокитко П.В.** Полирезистентность и сверхустойчивость к тяжёлым металлам антарктических микроорганизмов // *Доповіді НАН України*. — 2007. № 11. — С. 170-175.

22. **Романовская В.А., Таширев А.Б., Шилин С.О., Черная Н.А., Рокитко П.В., Левишко А.С.** Устойчивость к УФ радиации антарктических микроорганизмов // *Мікробіол. журнал*. — 2011. — 73, № 3. — С. 3-8.

23. **Коцофляк О.І.,Рева О.М., Таширев О.Б.** Таксономічний склад та антагоністичні властивості флюоресцируючих бактерій роду *Pseudomonas* // *Мікробіол. журнал*. — 2004. — т. 66, № 3. — С. 3-10

24. **Beregova T.V., Ostapchenko L.I., Tsyryuk O.I et al.** Probiotic is preventive agent against structural and functional changes in stomach evoked by long-term reduction of gastric acidsecretion // *Gut*.—2009.— 58, Suppl.II.— P. 124-125.