

Інтегральні механізми взаємодії мікробних угруповань природних екосистем з токсичними металами у світлі вчення В.І. Вернадського

Вчення В.І. Вернадського про біосферу є узагальненням властивостей живої матерії, яке може бути ефективно використане для розробки теоретичних моделей взаємодії будь-яких багатокomпонентних біологічних систем з хімічними елементами та складними органічними сполуками. Проте нині вчення В.І. Вернадського здебільшого застосовується для "загального розвитку" школярів та студентів і рідко теоретичного підґрунтя для вирішення кричущих проблем сучасності, таких як глобальні кліматичні зміни, антропогенне та техногенне забруднення довкілля та ін.

Ще наприкінці ХХ сторіччя *Айзек Азімов*, відомий фантаст та лауреат Нобелівської премії з біохімії, зазначив, що "частіше за все гіпотези і теорії класиків минулого не є запіснями кладовищем оман і помилок, але — величчям та трагічним паноптикумом нереалізованих геніальних ідей, які не отримали свого подальшого розвитку".

Метою цієї статті є доведення можливості використання вчення Вернадського про біосферу для розв'язання широкого спектру сучасних теоретичних та практичних проблем. На нашу думку, вчення може бути застосоване для розробки теоретичних моделей глобальних циклів елементів та хімічних сполук у будь-яких екосистемах, прогнозування кліматичних та геохімічних змін у біосфері та навіть для створення нових біоремедіаційних стратегічних методологій, що дозволять людству уникнути "екологічного Армагедону". Зрозуміло, що обговорювати глобальні питання щодо біосфери

можливо лише на конкретних моделях. Тому ми спробували з використанням фундаментальних положень вчення Вернадського розглянути теоретичні та прикладні аспекти стійкості та адаптації мікробних угруповань до екстремальних факторів на прикладі токсичних металів, що є ксенобіотиками¹.

Обґрунтуємо, чому саме цю проблему ми виділили як одну з найбільш актуальних. У наш час довкілля зазнає системного потужного впливу комплексу чужорідних екстремальних чинників, таких як γ -радіація та радіонукліди, синтетичні органічні сполуки (наприклад, нітрохлорароматичні) та токсичні метали (Hg^{2+} , Cu^{2+} , CrO_4^{2-} та ін.). Протягом тисячоліть природні екосистеми не зазнавали впливу цих чинників. Проте у другій половині ХХ сторіччя внаслідок так званої "технічної революції" довкілля зазнало потужної дії досі невідомих чинників. У 1970-х роках з'явився каскад публікацій щодо незворотних та катастрофічних наслідків забруднення довкілля. Очевидно, що в організмі не було захисних механізмів для знешкодження згубної дії високих доз γ -радіації та великих концентрацій розчинних сполук ртуті та ін. Тому вони мали б загинути. І спочатку саме так все і відбувалося. Але чомусь і окремі види мікроорганізмів, тварин та рослин, і екосистеми у цілому не загинули, а якимось чином пристосувалися до катастрофічних змін. Яскравий приклад тому — Чорнобильська зона відчуження. Ядерна катастрофа та повсюдне радіоактивне забруднення екосистем призвели до незворотних, на перший погляд, наслідків. Це, насамперед, всевітньо відомий радіоактивний "рудий ліс". Проте через 20 років світ облетіла сенсація, що Чорнобильська зона — єдиний регіон в Україні, де повністю відновився баланс усіх екосистем. Зрозуміло, це зовсім не означає, що тепер відкриті ворота для отруєння довкілля ксенобіотиками, у тому числі — радіонуклідами. Але з огляду на цей та інші подібні факти виникає питання фундаментального значення. Яким чином екосистеми на всіх рівнях організації (від мікроорганізмів і до вищих рослин і тварин) пристосувались до згубної дії комплексу ксенобіотиків? Чи з'явилися у них якісь принципово нові системи та механізми адаптації, чи вони використовують вже давно існуючі та як саме?



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

¹ — тобто чужорідними для екосистем та всіх живих організмів факторів, таких як α , β та γ -радіація, радіонукліди, токсичні метали (окислені сполуки ртуті, міді, кадмію та ін.), синтетичні органічні сполуки (наприклад, фенол, нітрохлорбензол, ДДТ та ін.)

Далі ми покажемо, що відповіді на ці питання закладені у вченні В.І. Вернадського про біосферу. Необхідно пояснити, чому як об'єкти дослідження обрані саме метали та мікроорганізми (мікробні угруповання).

Метали. У переважній більшості екосистем концентрація металів (з атомною вагою більше 40, тобто від Sc і далі) перебуває у діапазоні від сотих до декількох міліграмів у кубічному дециметрі (грунтів, розчинів та ін.). Виняток становлять тільки залізо та марганець, концентрація яких коливається від 100 - 200 мг/дм³ до декількох грамів.

У доквіллі природна концентрація таких металів, як Hg²⁺, Cu²⁺, Cd²⁺ та CrO₄²⁻ не більше, ніж 0,01...1,0 мг/л. Проте при забрудненні доквілля їх вміст становить 100...500 мг/дм³ (або мг/л). Очевидно, що збільшення концентрації цих металів на 3-5 порядків дає підстави кваліфікувати їх як ксенобіотики.

До металів належить більше 50 хімічних елементів з різноманітними відмітними хімічними та біологічними властивостями. Проте, на нашу думку, серед них можна виділити типові метали за механізмами ушкоджуючої дії на живі організми. Їх можна розділити на три групи:

1. *Метали-окисники* (CrO₄²⁻, VO₃⁻, MoO₄²⁻ та ін.);

2. *Метали-замісники* (Co²⁺, Ni²⁺, Cd²⁺ та ін.);

3. *Метали комбінованої дії*, що поєднують властивості як металів-окисників, так і замісників (Hg²⁺, Cu²⁺ та ін.).

Метали-окисники за високих концентрацій незворотно окислюють структурні компоненти клітин та ферменти, блокують циклічний перенос електронів у окисно-відновних ланцюгах. *Метали-замісники* заміщують катіони кальцію, магнію та ін. у структурних складових та ферментах клітин, що призводить до багаторівневого ушкодження систем їх життєзабезпечення. Нарешті, *метали комбінованої дії* поєднують негативні властивості металів-окисників та замісників.

Отже, токсичні метали є напрочуд вдалим об'єктом для вивчення фундаментальних аспектів адаптації біосфери до чужорідних екстремальних факторів, що досі були відсутні у доквіллі, з огляду на багатогранність механізмів ушкоджуючої дії металів та їх дуже низький кларковий вміст у природних екосистемах.

Мікроорганізми. Зіставлення характеристик та властивостей "живої речовини планети"² та мікробних угруповань (сукупності фізіологічних та еколого-трофічних груп мікроорганізмів) свідчить про наявність багатьох спільних рис. За В.І. Вернадським "...жива речовина — це сукупність живих організмів, що тісно пов'язана з навколишнім середовищем — біосферою. Жива речовина реалізує біогеохімічні функції, які охоплюють всі без винятку хімічні елементи. Ці біогеохімічні функції охоплюються безліччю неподільних та величезним числом видів живої речовини" [1]. До складу мікробних угруповань у вигляді концентрованої біомаси входять численні види мікроорганізмів, що належать до різноманітних фізіологічних, еколого-трофічних та таксономічних груп. Вони реалізують всі відомі метаболічні (біохімічні) шляхи і, відповідно, — усі можливі механізми взаємодії організмів з типовими металами. Таким чином, "жива речовина" та мікробні угруповання подібні за такими ознаками, як "величезна кількість видів та висока концентрація (тобто кількість та вага) живих об'єктів".

За В.І. Вернадським, головна функція живої речовини у планетарному масштабі полягає у втягуванні всіх без винятку хімічних елементів у циклічні біогеохімічні процеси та у багатократному їх прискоренні порівняно з суто гео-

хімічними. Отже, можна припустити, що те саме стосується металів, навіть чужорідних для біосфери. Найважливішим результатом взаємодії "живої речовини планети"³ (зокрема мікроорганізмів) з металами є їх перерозподіл у біосфері. Перерозподіл є результатом двох взаємно поєднаних процесів — іммобілізації та мобілізації металів (тобто утворення нерухомих та рухомих сполук відповідно). Іммобілізація металів відбувається внаслідок реалізації "біогеохімічних функцій живої речовини".

Біогеохімічні функції живої речовини В.І. Вернадський розподілив на 5 груп: газові, концентраційні, окисно-відновні, біохімічні та біогеохімічні функції людини. Розглянемо функції стосовно до мікробних угруповань. Мікробні угруповання реалізують 4 функції із п'яти наведених (зрозуміло, крім, біогеохімічної функції людини). Так, із семи газових функцій, що наведені В.І. Вернадським, як мінімум три пов'язані з вилученням металів із водних розчинів асоціацією. Перша — вуглекислотна — це утворення нерозчинних карбонатів металів (CdCO₃, PbCO₃, ZnCO₃ та ін.) внаслідок їх взаємодії з біогенним CO₂. Друга — переокислювальна — це осадження біогенними перекисами (мікробними екзометаболітами) катіонів Fe³⁺, Mn²⁺, U⁴⁺ та ін. Третя — сірководнева, — сірководень, що утворюється внаслідок дисиміляторної сульфатредукції та розкладу білкових сірковмісних сполук, осаджує у виді сульфідів десятки металів (HgS, CdS, PbS, ZnS та ін.).

Концентраційні функції живої речовини, за визначенням В.І. Вернадського [1], "...це процеси живого організму, що зводяться до вибіркового накопичення організмом із навколишнього середовища певних хімічних елементів". Ці функції розділені на 2 різновиди:

"*Концентраційні функції першого різновиду — це захоплення живою речовиною тих хімічних елементів, які трапляються в тілі всіх без винятку живих організмів. Концентраційні функції другого різновиду — це захоплення живою речовиною певних елементів, які можуть не траплятися в інших організмах*".

Одновременна реалізація концентраційних функцій першого та другого різновидів при дуже широкому різноманітті видів організмів приводить до того, що "жива речовина" майже цілком вилучає із навколишнього середовища елемент або елементи. В.І. Вернадський описує це на прикладі радію так. "*Багаторічні дослідження над п'ятьма видами ряски в ставках старого Петергофу, Києва та Москви показали, що кожний вид ряски має власний склад, різко відмінний стосовно радію для кожного виду. При цьому, при цвітінні в ставках ряска викачує зі ставків майже весь радій. Те саме явище показане для всіх організмів, що досі досліджувались*".

Такі самі закономірності притаманні і мікроорганізмам. Наприклад, у найпростішій гіпотетичній модельній системі присутні два види мікроорганізмів — дріжджі та псевдомонади і два метали: Co²⁺ та VO₃⁻. Дріжджі добре акумулюють катіон Co²⁺ (фізико-хімічна сорбція товстою клітинною стінкою) та погано — аніон VO₃⁻ (слабка редокс-активність). Псевдомонади, навпаки, швидко відновлюють, а потім осаджують ванадій, проте погано сорбують Co²⁺ тонкою клітинною стінкою. Очевидно, що бінарна асоціація буде ефективно акумулювати обидва метали. Таких прикладів можна навести десятки. Таким чином, навіть на прикладі бінарних систем очевидно, що збільшення кількості видів мікроорганізмів призводить до інтегрування концентраційних функцій другого різновиду. Чим більша кількість видів мікроорганізмів, різноманітних за своїми структурними та

² — за визначенням В.І. Вернадського [1]

³ — цитування В.І. Вернадського

метаболическими властивостями буде взаємодіяти з металами, тим у більшому ступені будуть наближатися до "живої речовини планети" — концентратора хімічних елементів [1]. Інтегрування концентраційних функцій окремих мікроорганізмів у мікробних угрупованнях дозволяє припустити, що у цілому мікробні угруповання повинні вилучати із водних розчинів скільки завгодно широкий спектр металів. Мабуть, немає такого металу, який би у більшому чи меншому ступені не концентрувався компонентами мікробної асоціації.

Решта функцій (2 групи функцій) — окисно-відновні та біохімічні, безперечно, широко виявляються у мікробних угрупованнях, і взявши до уваги багатогранність мікробного метаболізму, можна стверджувати, що мікробні угруповання практично ідентичні "живій речовині планети" щодо здатності акумулювати метали.

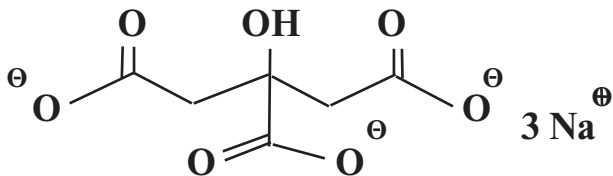
Розглянемо протилежний процес — мобілізацію металів мікроорганізмами (тобто утворення рухомих, розчинних сполук). Яким чином мікроорганізми можуть мобілізувати метали-ксенобіотики, що практично відсутні у доквіллі (нерозчинні сполуки Cu(II) Hg(II), Cr(VI) та ін.)? Незалежно від їх концентрації у доквіллі, всі нерозчинні сполуки металів при закисленні середовища (у ґрунтах, водах) утворюють розчинні, рухомі сполуки, наприклад:



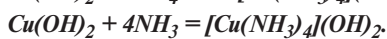
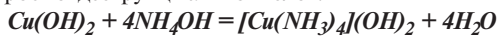
А синтез органічних кислот мікроорганізмами (кінцеві метаболіти) є розповсюдженим явищем як серед аеробних, так і анаеробних мікроорганізмів. Крім того, такі кислоти є ефективними хелаторами, що утворюють у широкому діапазоні рН комплексні розчинні сполуки з металами, наприклад:



органічна кислота або її сіль, наприклад, лимонна кислота $\text{H}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ та цитрат натрію $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ із такою структурною формулою



Нарешті, розчинні сполуки металів утворюються при взаємодії зі сполуками амонію, який є кінцевим метаболітом мікробної деструкції амінокислот:



Існує ще декілька механізмів мобілізації металів мікроорганізмами (утворення комплексних сполук з амінокислотами, відновлення нерозчинних сполук до розчинних та ін.), проте їх обговорення виходить за межі цієї статті.

Закономірності мобілізації металів мають не тільки теоретичне, але й важливе, практичне значення. Незнання або ігнорування таких закономірностей призводить до дуже сумних наслідків. Наприклад, під час Чорнобильської аварії відбувся потужний викид радіонуклідів у доквіллі у вигляді так званих "гарячих часток". Очевидно, що у буремному 1986 році було вкрай необхідно скласти прогноз міграції гарячих часток у доквіллі.

Нагадаємо, що гарячі частки — це мікроскопічні нерозчинні окислені сполуки радіоактивних металів (цезію, стронцію, урану, америцію, плутонію та ін.). Так, показник ДР (добуток розчинності) для $\text{U}(\text{OH})_3$ дорівнює $1 \cdot 10^{-19}$, для $\text{U}(\text{OH})_4$ — $1 \cdot 10^{-45}$, а для $\text{UO}_2(\text{OH})_2$ — $1 \cdot 10^{-22}$ [2]. Приблизно такі самі величини ДР мають і оксиди урану. З огляду на такі властивості гарячих часток дехто вирішив, що необхідною та достатньою запобіжною мірою буде їх "консервування" у ґрунтах (нашарування захисних покриттів). Проте так не сталося. Сухого та бездошового літа 1986 року радіоактивні частки дійсно містились у ґрунтах у нерухомому стані. Проте восени, під час дощів, у ґрунтах утворилися анаеробні умови. Закономірно, що це призвело до закислення ґрунтів та потужного викиду мікроорганізмами екзометаболітів — органічних кислот, які є ефективними хелаторами радіонуклідів. Саме тому почалася "неочікувана" міграція радіонуклідів у ґрунтові води, та далі — у Прип'ять та Дніпро.

Нагадаємо, що до ХХ сторіччя біосфера не зазнавала впливу токсичних металів. А за відсутності їх у доквіллі не сформувались біологічні механізми їх знешкодження, або у ширшому розумінні — взаємодії з ними. Відомі приклади тому — накопичення ДДТ, нітрохлорбензолу та інших синтетичних органічних сполук у доквіллі. То як мікроорганізми пристосувались до широкого спектру чужорідних токсичних та радіоактивних металів?

Зрозуміло, що протягом ХХ сторіччя мікробіологами накопичена величезна експериментальна база даних щодо взаємодії мікроорганізмів з металами. Але ці дані стосувалися переважно окремих металів та мікроорганізмів, окремих механізмів (відновлення металів, сорбція та ін.). Загально-біологічні механізми та теоретично обґрунтовані закономірності взаємодії мікроорганізмів з усіма металами та радіонуклідами періодичної системи елементів були відсутні.

Але яким чином можна теоретично обґрунтувати взаємодію мікроорганізмів з будь-яким металом, передбачити всі припустимі механізми та шляхи мікробної трансформації металів? Якими фундаментальними закономірностями визначається взаємодія мікроорганізмів з чужорідними для біосфери металами? Чи можна теоретично передбачити біогеохімічні шляхи трансформації токсичних металів та радіонуклідів звичайними ґрунтовими та водними мікроорганізмами у доквіллі, або ж теоретично розрахувати найефективнішу біотехнологію очищення промислових стічних вод від широкого спектру металів та радіонуклідів?

Протягом двадцяти років (1986—2006 рр.) ми розробляли концепцію термодинамічного прогнозування взаємодії мікроорганізмів з металами та радіонуклідами, теоретичним підґрунтям якої слугувало вчення В.І. Вернадського про біосферу. Ми базувалися на тому, що "жива речовина планети" та мікробні угруповання здатні до реалізації всіх хімічних та біологічних механізмів взаємодії живих організмів з хімічними елементами.

Ми припустили, що мікроорганізми використовують вже існуючі механізми взаємодії мікроорганізмів з металами та радіонуклідами [3]. Головними положеннями концепції були такі.

1. Кожний токсичний, "чужорідний" метал (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} , VO_3^- , CrO_4^{2-} , WO_4^{2-} та ін.) є стереохімічним аналогом⁴ відповідних "макроелементів" (K^+ , Na^+ , Mg^{2+} , Fe^{2+} , NO_3^- , SO_4^{2-} , HPO_4^{2-}) [4].

⁴ — стереохімічна аналогія — це рівність або близькість іонних радіусів окислених сполук елементів (катіонів, аніонів та комплексних сполук).

⁵ — тобто мають рівні або близькі стандартні редокс-потенціали відновлення (E_0 , мВ).

2. Метали є редокс-аналогами⁵ (окисно-відновними аналогами) типових для мікроорганізмів термінальних акцепторів електронів (O_2 , NO_3^- , $Fe(III)$, $Mn(VI)$, SO_4^{2-} , H^+ , CO_2) [5].

3. Внаслідок стереохімічної аналогії, та (або) редокс-аналогії акцепторні, транспортні та ферментні системи енергетичного та конструктивного метаболізму "помиляються" та втягують токсичні метали до розгалужених шляхів трансформації у мікробних угрупованнях [6].

4. Відповідно до положень 1, 2 та 3, мікробні угруповання здатні до неспецифічної взаємодії з токсичними металами та радіонуклідами. Тобто до взаємодії з токсичними металами та радіонуклідами здатні неадаптовані до них мікроорганізми [7, 8].

5. Мікробні угруповання здатні реалізовувати всі теоретично припустимі види взаємодії з металами періодичної системи елементів, такі як мобілізація та іммобілізація, окислення та відновлення, транспорт в клітини та ін. [9].

6. Концепція термодинамічного прогнозування дозволяє теоретично обґрунтувати шляхи трансформації та моделі перерозподілу металів у довкіллі, а також створити максимально ефективні мікробні технології очищення ґрунтів та стічних вод від широкого спектру металів та радіонуклідів у будь-якому концентраційному діапазоні [10,11,12,13].

Доведемо ці положення на простих прикладах.

Згідно з гіпотезою про стереохімічну аналогію ми виділили три групи макроелементів за розмірами іонних радіусів [4]. Перша група — це Mg^{2+} , Fe^{2+} та Fe^{3+} , друга — Na^+ та Ca^{2+} та третя — K^+ та NH_4^+ . Очевидно, що переважна більшість металів є аналогами макроелементів. Тому акцепторні та транспортні системи мікроорганізмів, що призначені для накопичення життєво необхідних макроелементів, внаслідок близькості іонних радіусів здатні до "неспецифічного" транспорту у клітини чужорідних для них металів. Подібна стереохімічна аналогія властива також і для аніонів та комплексних сполук металів і макроелементів..

Термодинамічне прогнозування на основі редокс-аналогії термінальних акцепторів електронів (O_2 , SO_4^{2-} , H^+ та ін.) та токсичних металів дозволяє визначити, чи можливе мікробне відновлення будь-якого металу [5]. Ми розрахували зони стійкості сполук у координатах "рН-Eh" відповідно до *Пурбе* [14]. Енергетичний метаболізм мікроорганізмів, тобто отримання ними енергії у спряжених реакціях окислення субстратів та відновлення термінальних акцепторів електронів, можливий лише у зоні термодинамічної стійкості води. Ця зона міститься в межах стандартного потенціалу E_o' від - 414 до +814 мВ. Очевидно, що мікроорганізми здатні відновлювати лише ті метали, редокс-потенціали яких містяться в зоні метаболічної активності мікроорганізмів. Крім того, можливо також визначити умови, необхідні для мікробної іммобілізації (осадження) або мобілізації (утворення розчинних сполук) хрому.

Широкий спектр чужорідних для біосфери та мікробних угруповань металів втягується до біогеохімічних циклів з "термодинамічною немінучістю". Так, можливість та ефективність відновлення металів істотно залежить від виходу вільної енергії (ΔG_o) у зчеплених реакціях окислення мікроорганізмами донорів електронів (субстратів) та відновлення акцепторів (металів):

$$\Delta G_o = -n F \Delta E_o = -n \cdot 23,067 \cdot \Delta E_o \text{ (ккал/моль)},$$

де n — кількість електронів, що беруть участь у окисно-відновній реакції, F — константа Фарадея, а ΔE_o — різниця потенціалів між акцептором та донором електронів.

У біології використовують величину E_o приведену до рН = 7,0 при одномолярній концентрації окисленої та відновленої форми речовини. Стандартний потенціал за таких умов позначається як E_o' . Для $\Delta G_o'$ розраховують різницю між стандартними потенціалами акцептора електронів ($E_o'_{Ac}$) та стандартним потенціалом донора електронів ($E_o'_{De}$):

$$\Delta E_o' = E_o'_{Ac} - E_o'_{De}.$$

Відповідно і $\Delta G_o'$ розраховують при рН = 7,0 і позначають як $\Delta G_o'$.

Порівняємо вихід вільної енергії у двох біохімічних реакціях — при аеробному окисненні H_2 та окисненні того ж водню за участю хроматів.

Мікроорганізми окислюють водень за рівнянням $2H_2 + O_2 = 2H_2O$. Стандартний потенціал реакції $2H_2 = 2H^+ + 2e$ становить $\Delta E_o' = -414$ мВ (-0,414 В), а для $O_2 + 4H^+ = 2H_2O$ величина $E_o' = +814$ мВ (+0,814 В). Різниця потенціалів між акцептором електронів (O_2) та донором (H_2) дорівнює $\Delta E_o' = 0,814 + 0,414 = 1,228$ В. Відповідно $\Delta G_o'$ для цієї окисно-відновної реакції дорівнює

$$\Delta G_o' = -2 \cdot 23,07 \cdot 1,228 = -56,66 \text{ ккал/моль}.$$

Для реакції $CrO_4^{2-} + (n-1)H_2O + 5H^+ + 3e = Cr(OH)_3.nH_2O$ потенціал $E_o' = +555$ мВ (0,555 В). За участі H_2 у донора електронів при відновленні хромату вихід енергії становить

$$\Delta G_o' = -n \cdot F \cdot \Delta E_o' = -3 \cdot 23,067 \cdot (0,555 + 0,414) = -3 \cdot 23,067 \cdot 0,969 = -67,06 \text{ ккал/моль}.$$

Отже, при мікробному відновленні хроматів вихід вільної енергії навіть на 7,4 ккал/моль більший, ніж при аеробному диханні. Такі високопотенціальні метали, відновлення яких відбувається з виходом енергії, відносяться до всіх семи груп елементів періодичної системи: Ag^+ (+799 мВ), Hg_2^{2+} ($E_o' = +789$ мВ), $Pt(OH)_2$ (+566 мВ), RuO_4^- (+600 мВ), Tc^{2+} (+400 мВ), Tl^+ (+336 мВ), Re^{3+} (+300 мВ), Cu^{2+} (+153 мВ), UO_2^{2+} (+52 мВ), BiO^+ (+44 мВ) та ін. Очевидно, що такі потенціали зумовлюють неспецифічне відновлення металів навіть неадаптованими до них мікроорганізмами (ґрунтовими, водними, та ін.).

Швидкість біогеохімічних процесів та ефективність біогеохімічних функцій визначена В.І. Вернадським як біогеохімічна енергія росту та розмноження живої речовини. За В.І. Вернадським, "Біогеохімічна енергія складається із двох виражених компонентів. З одного боку — росту, який може бути виражений у середній масі дорослого організму. З іншого боку — кількості "нероздільних", тобто особин, які складаються розмноженням протягом кожного покоління". В.І. Вернадський кількісно відбив цю енергію у вигляді "єдиної формули, загальної для всіх живих істот":

$$2^n \Delta + (\alpha + 1)^n = Nn,$$

де n — кількість діб, 2 — початкова кількість осіб (організмів), Nn — кількість "нероздільних", тобто організмів, що утворилося через n діб; α — добовий приріст "нероздільного" (організмів) при розмноженні; Δ — коефіцієнт, що характеризує темп розмноження (кількість поколінь на добу).

У максимальному ступені біогеохімічна енергія живого проявляється у мікроорганізмів. Так, тільки за показником добового приросту кількості організмів при розмноженні *Escherichia coli* має $\alpha = 2,78 \cdot 10^{18}$, інфузорії та діатомеї — 0,19-2,32, а вищі рослини (*Solanum nigrum*) 0,029. Це свідчить, що біогенну міграцію хімічних елементів у цілому, (а в окремому випадку — концентрування металів) з максимальною швидкістю здійснюють мікроорганізми ("біогенна міграція атомів першого роду").

Таким чином, "жива речовина планети" та мікробні угруповання подібні за такими ознаками:

1. Надзвичайно широке видове різноманіття живих організмів, тобто їх складова — багатокомпонентність, а також різноманітність метаболічних процесів.

2. Висока концентрація біомаси (кількість мікроорганізмів та їх маса).

3. Швидке протікання процесів розмноження та приросту біомаси, а звідси — дуже швидка біогенна міграція атомів першого різновиду.

4. Інтегрування біогеохімічних функцій і, як наслідок, концентрування будь-яких хімічних елементів.

5. Максимальна біогеохімічна енергія росту і розмноження та пов'язана з цим висока швидкість накопичення хімічних елементів (у тому числі металів та радіонуклідів).

Для прогнозування біогеохімічних циклів металів та шляхів їх міграції у довкіллі, а також для створення біотехнологій очищення промислових стічних вод велике значення має узагальнення механізмів акумуляції металів мікробними екосистемами. Тому на основі викладених теоретичних положень ми розробили модель взаємодії мікробних екосистем із широким спектром металів. Головні положення цієї моделі такі:

1. Метаболічно активні мікроорганізми екосистем акумулюють будь-які метали.

2. Для акумуляції металів необхідний енергетичний субстрат (донор вуглецю та енергії).

3. Мікробна акумуляція металів відбувається у всіх фазах метаболічної активності.

4. Накопичення металів у кожній фазі метаболічної активності відбувається за рахунок одночасної реалізації багатьох незалежних механізмів внаслідок видового та метаболічного різноманіття мікроорганізмів, що входять до складу екосистем.

Пояснимо останнє дуже важливе положення на прикладі Hg^{2+} . Метаболічно активне угруповання буде концентрувати цей метал завдяки різноманітності як мікроорганізмів, так і механізмів їх взаємодії з металами. Так, дріжджі та грампозитивні бактерії сорбують Hg^{2+} товстими клітинними стінками за рахунок заміщення іонів Ca^{2+} та Mg^{2+} , а грамотрикативні (напр., *Pseudomonas*, *Escherichia*) — відновлюють Hg^{2+} до металічної Hg^0 . Сульфатвідновлювальні (*Desulfovibrio* та ін.), та продуценти H_2S (із білків) осаджують Hg^{2+} у вигляді нерозчинного HgS ; слизоутворювальні мікроорганізми зв'язують Hg^{2+} полісахаридними капсулами, та ін.

Розглянемо графічну модель акумуляції металів окремою асоціацією мікроорганізмів, що входить до складу мікробного угруповання, наприклад, ґрунтового (рис. 1). На моделі виділено три фази: А — адаптивна фаза, В — фаза активного метаболізму, С — фаза уповільненого метаболізму. Ці фази за своїм біологічним значенням схожі до фаз росту монокультур: лаг-фази, фази логарифмічного росту та стаціонарної фази відповідно. Охарактеризуємо згадані фази. **Фаза А.** Після внесення інокуляту в середовище, що містить метали, відбувається адаптація мікроорганізмів до середовища та одночасно реалізуються переважно фізико-хімічні механізми акумуляції металів: сорбція клітинними стінками, полісахаридними капсулами, мембранними білками, пасивна дифузія металів у клітини, осадження металів екзометаболітами, що внесені до середовища з інокулятом. Внаслідок зазначених процесів у фазі А різко зменшується концентрація металів у розчині — від K_1 до K_2 . Відповідно зменшується токсичність розчину та створюються умови для росту та розвитку мікробної асоціації. **Фаза В.** У цій фазі метали вилучаються з розчину за рахунок одночасного

протікання декількох механізмів, пов'язаних з ростом та метаболічною активністю мікроорганізмів. До цих механізмів належать:

1. **Відновлення металів.** Відновлюються ті метали, E_0' яких лежать в межах термодинамічної стійкості води: $Cr(VI)$, $Mo(VI)$, $V(V)$, $Cu(II)$ та ін. Відновлення може відбуватися за рахунок ферментативної активності, або метали відновлюються мікробними екзометаболітами. Наприклад, $Fe(III)$ може відновлюватися не тільки за рахунок його використання як термінального акцептору електронів, так і внаслідок його відновлення білковими сполуками (екзометаболітами) з утворенням нерозчинних форм.

2. **Осадження екзометаболітами.** Речовини, що виділяються мікроорганізмами (екзометаболіти), утворюють з металами нерозчинні сполуки: карбонати ($CdCO_3$, $PbCO_3$ та ін.), сульфідні (CuS , FeS , HgS та ін.), комплекси "метал — білок" і т.п.

3. **Вторинна сорбція** здійснюється мікробними клітинами внаслідок росту біомаси.

4. **Активний транспорт металів у клітину** здійснюється внаслідок стереохімічної аналогії металів та макроелементами.

Реалізація чотирьох зазначених груп механізмів приводить до зниження концентрації металів у фазі В від K_2 до K_3 .

Фаза С. В цій фазі відбувається переважно накопичення екзометаболітів, які осаджують метали, відновлюють їх, метали також сорбуються клітинами та ін. Концентрація металів знижується від K_3 до залишкової — K_4 . Не можна виключати можливість подальшого вилучення металів у наступній фазі, яка аналогічна до фази відмирання монокультур, але порівняно із зазначеними вище процесами ефект акумуляції буде незначним.

Відповідно до теоретичної моделі, мікробні асоціації повинні виявляти метаболічну активність у присутності металів, взаємодіяти із усіма без винятку металами та акумулювати їх в усіх трьох фазах метаболічної активності.

Проте метали з більшою ефективністю вилучаються будь-яким мікробним угрупованням, до складу якого входять декілька асоціацій мікроорганізмів. Як приклад — ґрунтовим угрупованням, до складу якого входять декілька асоціацій мікроорганізмів. Загальним для подібних мікробних угруповань є розширення спектру доступних джерел вуглецю й енергії, а також збільшення кількісного і якісного складу мікроорганізмів, що здатні до акумуляції широкого спектру металів за всіма теоретично допустимими механізмами. На рисунку 1 крива 1 характеризує динаміку акумуляції металів окремою мікробною асоціацією, а крива 2 — мікробним угрупованням.

Таким чином, ефективність вилучення металів мікробними угрупованнями, за визначенням повинна бути значно більшою порівняно з будь-якою окремою асоціацією.

Концепція неспецифічної взаємодії з металами неадаптованими до них мікроорганізмами за всіма теоретично припустимими механізмами та інтегрування біогеохімічних функцій привели нас до неочікуваного висновку. **Будь-яке мікробне угруповання має містити мікроорганізми, що стійкі до чужорідних для біосфери типових токсичних металів (окисників, замісників та металів комбінованої дії).**

Для з'ясування цього положення ми дослідили мікробні екосистеми таких екологічно чистих (або мало забруднених) регіонів, як узбережжя Антарктичного півострова, Ізраїльська пустеля Негев (ґрунт), заповідник Асканія-Нова (степовий чорнозем), Київська область (лісовий і луговий ґрунти) а також Західне Поділля України (глини карстових печер).

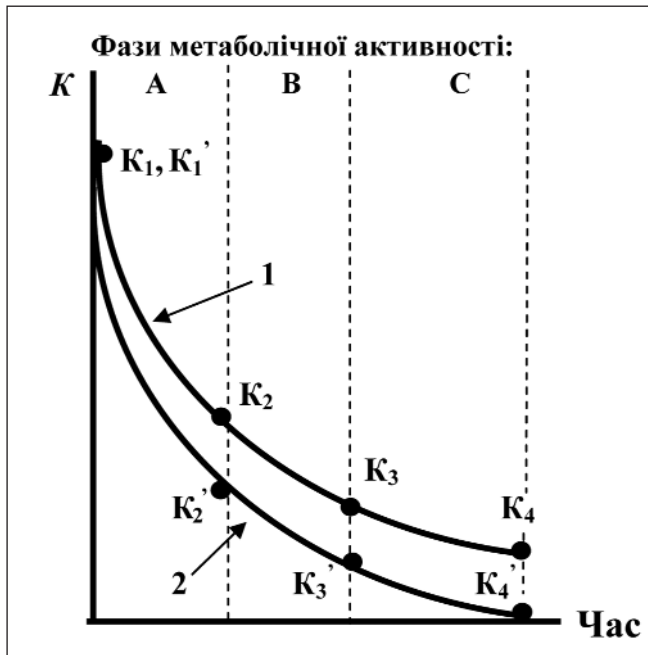


Рис. 1. Теоретична модель акумуляції металів окремою мікробною асоціацією та мікробним угрупованням.
Примітки: К — концентрація металів. А, В, С — фази метаболічної активності мікроорганізмів. Акумуляція металів: 1 — окремою асоціацією, 2 — мікробним угрупованням, що складається з декількох асоціацій

Загальною характеристикою екосистем цих регіонів є малий вміст токсичних металів, від 0,1 до 3,0 мг/дм³, тобто на рівні локальних кларків (табл. 1). За іншими показниками (характеристиками) екосистеми істотно відрізняються. Так, антарктичні мікробні угруповання на кліфах (вертикальних скелях) містяться у вкрай екстремальних умовах. Це — інтенсивна УФ-радіація, перепад температур від -20 до +15 °С, добові цикли "заморожування — відтавання" та "висушування — зволоження", дуже нерівномірний розподіл органічних речовин (джерел живлення для мікроорганізмів) та ін. Мікроорганізми пустелі Негев також зазнають впливу УФ-радіації, висушування та ін., але при високих температурах (+35...+40 °С). Навпаки, мікробні екосистеми печер перебувають у протилежних умовах, за відсутності екстремальних факторів. Печерні мікроорганізми не зазнають дії не тільки УФ-радіації, але й видимого світла (вічна темрява). Концентрація органічних та мінеральних

речовин у печерних глинах постійна, а температура та вологість не змінюються впродовж століть. Печери можна вважати своєрідними "біостатами", тобто незмінними, статичними екосистемами. Умови, в яких перебувають екосистеми України, можна вважати помірно-екстремальним, або слабо-екстремальними. За "ступенем екстремальності" вони займають середнє положення між антарктичними та печерними екосистемами.

Нами показано, що у всіх цих екологічно чистих екосистемах, які вкрай відрізняються за ступенем екстремальності й умовами існування організмів та містять токсичні метали у слідових концентраціях, розповсюджені металрезистентні мікроорганізми. Стійкість мікробних екосистем до токсичних металів можна визначити за допомогою узагальненого кількісного показника — концентраційного коефіцієнта стійкості — K_c (табл. 1). Він виражається як співвідношення $C_{МДК}$, максимально-допустимої концентрації металу, при якій ростуть мікроорганізми екосистеми до C_m — максимальної концентрації металу у зразках (глинах, ґрунтах та ін.). Для всіх досліджених мікробних угруповань величина K_c є дуже великою, в межах $n \cdot 10^3 \dots n \cdot 10^4$. Наведені дані свідчать, що мікроорганізми з екологічно чистих зон здатні до росту при концентраціях металів, що на 3 та навіть 4 порядки вище їх вмісту у природних екосистемах. Необхідно підкреслити, що саме з чистих зон виділені мікроорганізми, стійкі до токсичних металів у таких концентраціях, що вважаються бактерицидними.

Таким чином, мікроорганізми, стійкі до чужорідних металів-ксенобіотиків розповсюджені у різноманітних географічних та кліматичних регіонах, що істотно відрізняються за ступенем екстремальності,

Мікроорганізми, що існують у екологічно чистих регіонах, не тільки стійкі до токсичних металів у високих концентраціях, але й взаємодіють з ними. Нами встановлено, що ці мікроорганізми здійснюють типові для металрезистентних мікроорганізмів види взаємодії, такі як відновлення, мобілізації та іммобілізації металів та ін. [15,16]. Отже, мікроорганізми природних екосистем можуть втягувати токсичні метали у біогеохімічні цикли елементів у довкіллі.

Проте закономірно виникає питання методологічного рівня, — наскільки розповсюджені металрезистентні мікроорганізми в екологічно чистих екосистемах? Чи не є кількість клітин металрезистентних мікроорганізмів нехтовно малою відносно загальної кількості мікроорганізмів у екосистемі?

Таблиця 1									
Екосистема									
Метал	Антарктичний ґрунт			Ґрунт пустелі Негев			Глина печери Мушкарова яма		
	Концентрація металу, мг/дм ³		K_c	Концентрація металу, мг/дм ³		K_c	Концентрація металу, мг/дм ³		K_c
	C_m , зразок	$C_{МДК}$		C_m , зразок	$C_{МДК}$		C_m , зразок	$C_{МДК}$	
Hg ²⁺	0,2	500	$2,5 \cdot 10^3$				—	—	—
Cu ²⁺	3,0	2500	$8,3 \cdot 10^3$	0,3	700	$2,3 \cdot 10^4$	0,25	1000	$4,0 \cdot 10^3$
Cd ²⁺	0,4	500	$1,3 \cdot 10^3$	—	—	—	< 0,5	—	—
Co ²⁺	0,1	1000	$1,0 \cdot 10^4$	0,1	300	$3,0 \cdot 10^3$	0,09	200	$2,2 \cdot 10^3$
Ni ²⁺	0,1	2000	$2,0 \cdot 10^4$	0,2	800	$4,0 \cdot 10^4$	0,1	400	$4,0 \cdot 10^4$
Cr(VI)	2,3	6000	$2,6 \cdot 10^4$	0,9	1000	$1,1 \cdot 10^4$	0,31	1000	$3,2 \cdot 10^3$

Примітки: C_m — максимальна концентрація металу у зразках. $C_{МДК}$ — максимально-допустима концентрація металу, при якій ростуть мікроорганізми. K_c — концентраційний коефіцієнт стійкості, $K_c = C_{МДК} : C_m$

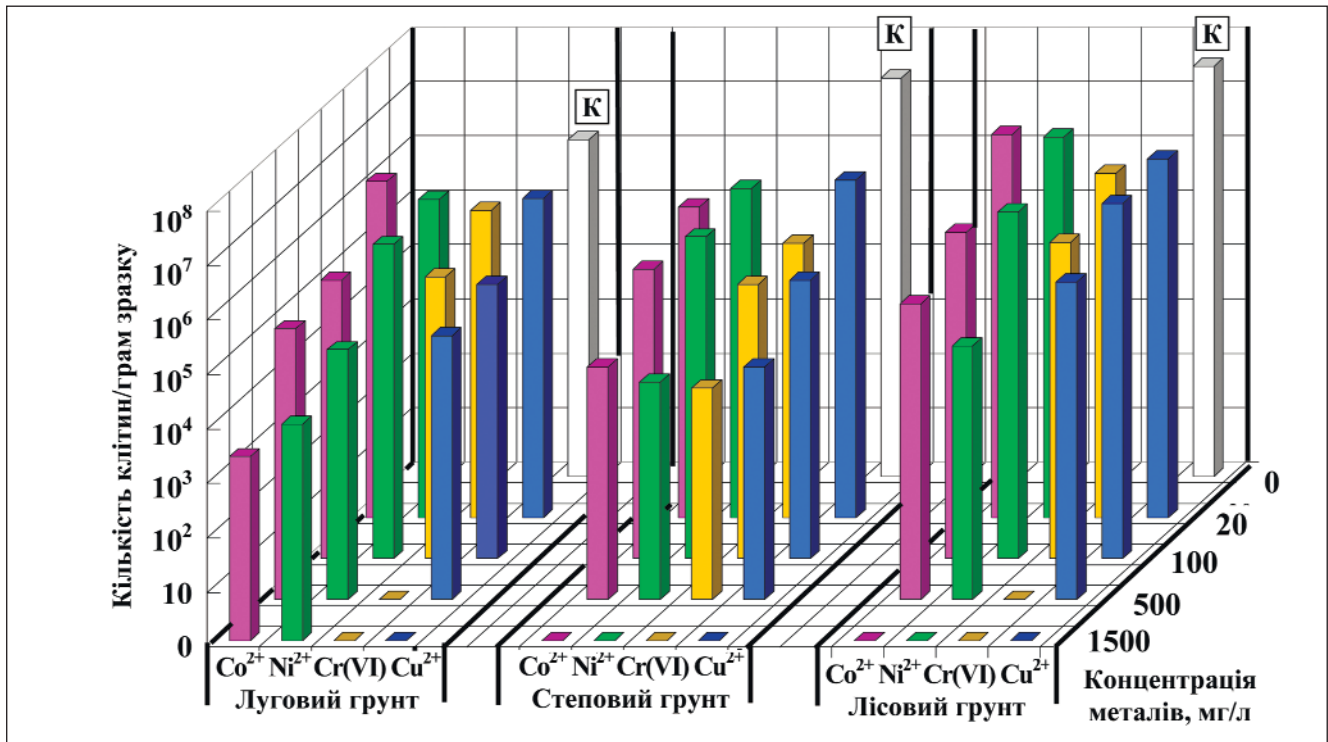


Рис. 2. Стійкість ґрунтових та водних мікробних екосистем до токсичних металів Луговий і лісовий ґрунти, а також мул прісної водойми – Київська область. Степовий ґрунт – особлива екологічно чиста зона заповідника Асканія-Нова. К — кількість клітин у контролі (за відсутності металів)

Наведемо тільки один приклад — щодо стійкості звичайних незабруднених металами українських ґрунтів "середнього" кліматичного поясу (рис. 2). Навіть у особливо екологічно-чистому степовому ґрунті заповідника Асканія-Нова, кількість мікроорганізмів, що ростуть при "бактерицидних" концентраціях токсичних металів (по 500 мг/л Co^{2+} , Ni^{2+} , $Cr(VI)$ та Cu^{2+}) є великою та міститься у межах $n \cdot 10^3 \dots n \cdot 10^4$ клітин/дм³ ґрунту. Зрозуміло, що підвищення концентрації токсичних металів чинить сильну ушкоджувальну дію на мікробні угруповання. Загальна кількість мікроорганізмів у ґрунтових екосистемах (лугова, степова та лісова) за присутності металів у згаданих концентраціях зменшується на 2-4 порядки, з $n \cdot 10^7$ до $n \cdot 10^4 \dots n \cdot 10^5$ кл./дм³. Але загалом "запас стійкості" до металів мікробних угруповань ґрунтів є високим. Так, навіть при надвисокій концентрації Co^{2+} та Ni^{2+} (1500 мг/л), кількість стійких до них мікроорганізмів становила $n \cdot 10^5$ кл./грам.

Аналогічні закономірності отримані і для антарктичних мікробних угруповань [16, 17].



Рис. 3. Гранули препарату "Мікробний біокаталізатор" (МБК)

Отже, загальною властивістю природних екологічно чистих угруповань є наявність великої кількості мікроорганізмів, стійких до високих концентрацій найбільш токсичних металів. Інакше кажучи, "адаптаційний потенціал" мікробних угруповань до токсичних металів є дуже високим.

Отримані закономірності щодо металрезистентності мікробних угруповань використані нами для розробки новітніх мікробних препаратів та біотехнологій очищення металовмісних промислових стічних вод. На основі природних та техногенних мікробних екосистем створено мікробний препарат — гранульований мікробний біокаталізатор (МБК), який представляє собою стійкі у воді гранули (рис. 3). Препарат містить у високій концентрації живі клітини мікроорганізмів та необхідні для них джерела живлення. МБК здатний до ефективного очищення розчинів, що містять 5000 мг/л CO_4^{2-} (рис. 4) та 10000 мг/л $CuSO_4$ (рис. 5). У проточній установці МБК з такою ефективністю відновлює та осаджує сполуки хрому, що гранули препарату вкриваються товстим шаром синього гідроксиду хрому (рис. 6).

Таким чином, на основі вчення В.І. Вернадського про біосферу нами розроблена узагальнена концепція прогнозування взаємодії мікроорганізмів з широким спектром металів.

Термодинамічне прогнозування мікробного відновлення металів дозволяє:

- визначити можливість відновлення мікроорганізми будь-якого металу періодичної системи елементів;
- охарактеризувати форму відновленої сполуки металу що утворилась (розчинна, осад, та ін.);
- встановити оптимальні умови, за якими можливе відновлення металу;
- здійснювати відновлення металів мікроорганізмами, що не адаптовані до металів;
- обрати оптимальну стратегію, тобто направленість мікробного метаболізму з метою найбільш ефективного відновлення будь-якого металу, або групи металів.

Прогнозування мікробної акумуляції металів внаслідок їх стереохімічної аналогії з макроелементами дозволяє дійти до таких положень:

— основою акумуляції металів (Ag^+ , Cu^{2+} , Cd^{2+} , VO_3^- , CrO_4^{2-} та ін.) мікроорганізмами є стереохімічна аналогія металів та макроелементів (K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , NO_3^- , SO_4^{2-} та ін.);

— процес акумуляції металів є неспецифічним (його здійснюють неадаптовані до металів мікроорганізми і тому будь-який іон металу може бути акумульований мікроорганізмами внаслідок його стереохімічної аналогії із макроелементами;

— неспецифічний транспорт та акумуляція металів всередині мікробних клітин — є загальнобіологічна закономірність, яка може бути ефективно використана для вилучення будь-яких металів із водних розчинів.

Концепція інтегральних механізмів акумуляції металів мікробними екосистемами свідчить про те, що:

— метаболічно активні мікроорганізми здатні акумулювати будь-які метали;

— для акумуляції металів необхідний енергетичний субстрат (донор вуглецю та енергії);

— акумуляція металів має місце у всіх фазах метаболічної активності мікроорганізмів;

— накопичення металів у кожній фазі відбувається за рахунок одночасної реалізації декількох незалежних механізмів внаслідок видового та метаболічного різноманіття членів асоціації.

До складу мікробних угруповань входять декілька асоціацій (фізіологічних груп мікроорганізмів). Перевагою мікробних угруповань порівняно з однією асоціацією, є розширення спектру доступних джерел вуглецю й енергії, можливість їх одночасного використання мікроорганізмами окремих синтрофних асоціацій, що входять до мікробних угруповань. Це приводить до збільшення кількісного і якісного складу мікроорганізмів, що тим чи іншим шляхом взаємодіють з металами, і звідси — до істотного підвищення ефективності вилучення металів з водних розчинів.

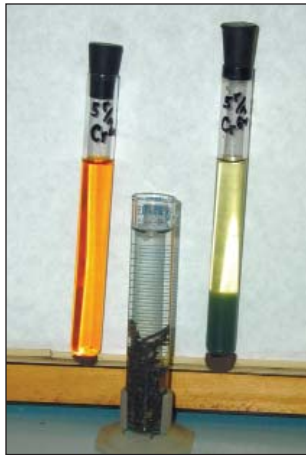
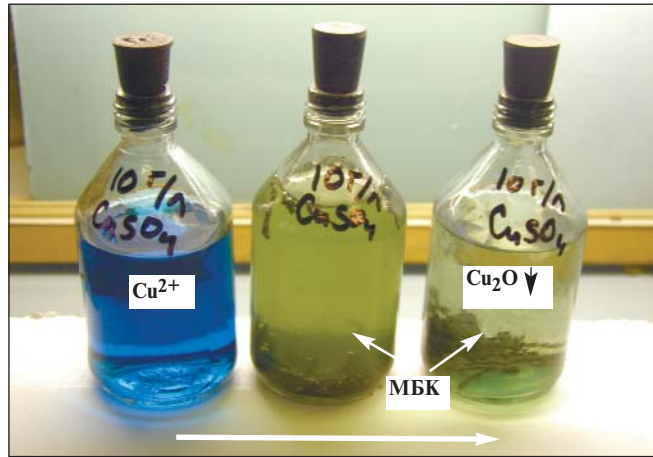


Рис. 4 (ліворуч). Відновлення хроматів ($5000 \text{ мг/л CrO}_4^{2-}$) та осадження гідроксиду хрому $\text{Cr}(\text{OH})_3 \cdot n \text{H}_2\text{O}$ мікробним біокатализатором. Рис. 5 (праворуч). Видалення міді з концентрованого розчину "мікробним біокатализатором": $\text{Cu}^{2+} + e + \text{H}_2\text{O} = \text{Cu}_2\text{O} \downarrow + 2\text{H}^+$



Розроблена нами узагальнена концепція термодинамічного прогнозування взаємодії мікробних угруповань з металами може бути використана при розв'язанні ряду теоретичних та практичних проблем, — зокрема визначити шляхи мікробного відновлення металів, оптимізувати процес мікробного вилучення металів та теоретично обґрунтувати умови створення принципово нових універсальних технологій очистки промислових стоків від металів та радіонуклідів.

І головне — вчення академіка В.І. Вернадського про біосферу залишається сучасним фундаментальним посібником енциклопедичного рівня, актуальним для розробки нових концептуальних положень щодо структури і функцій екосистем біосфери, створення довготривалих прогнозів на основі глобальних біогеохімічних циклів елементів та для розробки нових промислових біотехнологій, у тому числі — природоохоронних.

Висловлення подяки. Автор вельми вдячний колегам і соратникам — членам-кореспондентам НАН України *К.І. Андрулюк* та *Г.О. Гутинській*, професору *В.О. Романовській*, кандидатам біологічних наук *Н.А. Матвеевій*, *Г.О. Таширевій*, *П.В. Рокитко* і аспірантам *О.С. Сусловії* та *Е.П. Прекрасній* за конструктивну співпрацю та допомогу у дослідженні екстремальних мікробних угруповань.

Література

1. Вернадский В.И. Химическое строение биосферы Земли и ее окружения. — М.: Наука, 1987. — 339 с.
2. Лурье Ю.Ю. Справочник по аналитической химии. М., 1979. С. 92-101.
3. Таширев А.Б. Взаимодействие микроорганизмов с металлами // Микробиол. журн. — 1995. — 57, № 2. — С. 95-104.
4. 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.
5. Таширев А.Б. Теоретические аспекты взаимодействия микроорганизмов с металлами. Восстановительная трансформация металлов. // Микробиол. журнал. — 1994. 56, № 6. — С. 76-88.
6. Таширев А.Б., Смирнова Г.Ф. Аккумуляция металлов синтрофными ассоциациями микроорганизмов // Микробиол. журн. — 1999. — 61. — № 6. — С.58-65.
7. Таширев А.Б. Аккумуляция урана, плутония и америция микробным биосорбентом // Микробиол. журн. — 2000. — 62, № 6. — С. 51-56
8. Таширев А.Б. Имобилизация тяжелых металлов анаэробной культурой *Clostridium lituseburense* — Вісник ОНУ — 2001 — 6, вип.4. — С. 301 — 304.
9. Таширев А.Б. Концепция интегральных механизмов аккумуляции металлов синтрофными микробными ассоциациями // Микробиол. журн. — 1999. — 61, № 5. — С. 78 - 84.
10. Таширев А.Б., Смирнова Г.Ф., Самчук А.И. Экспериментальное обоснование теоретической модели аккумуляции металлов микробным сорбен-

том на примере ртути, ванадия и лития. // Микробиол. журн. — 1997. — 59, N 3. — С. 79 — 85.

11. Таширев А.Б., Смирнова Г.Ф., Яновер С.Б., Самчук А.И. Аккумуляция тяжелых металлов микробным сорбентом // Микробиол. журн., 1997. 59, № 3, С. 70-79.

12. Таширев А.Б., Смирнова Г.Ф., Самчук А.И. Аккумуляция ртути(II) и ванадия(V) микробным сорбентом в широком концентрационном диапазоне // Микробиол. журн. — 1998. — 60. — № 1. — С. 64-69.

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

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

15. Таширев А.Б., Романовская В.А., Сиома И.А., Усенко В.П., Таширева А.А., Матвеева Н.А., Рокитко П.В., Копытов Ю.П., Серединин Е.С., Мизин Д.А., Подгорский В.С. Антарктические микроорганизмы, устойчивые к высоким концентрациям Hg^{2+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} и CrO_4^{2-} // Доповіді Національної Академії наук України. — 2008. — № 1. — С. 169-176.

16. Таширев А.Б., Матвеева Н.А., Романовская В.А., Таширева А.А., Рокитко П.В. Полирезистентность и сверхустойчивость к тяжелым металлам антарктических микроорганизмов // Доповіді Національної Академії наук України. — 2007. — № 11. — С. 70-75

17. Tashyrev O., Romanovskaya V., Rokitko P., Matweeva N., Tashyрева, G. Structure and functions of microbial cenosis in model ecosystem of Antarctic oasis (biogeographical polygon of Galindez island) / In: Identification of Model Ecosystems in Extreme Environments. Spain: CAREX Publication. Workshop Proceedings. 2009 — P 31-32