С. Вовканич, Л. Семів

ЛЮДСЬКИЙ ТА ІНТЕЛЕКТУАЛЬНИЙ КАПІТАЛИ В ЕКОНОМІЦІ ЗНАНЬ

Резюме

У статті визначено особливості інтелектуально-інноваційного розвитку з позицій ресурсного, синергетичного, інтегрального та діяльнісного підходів, показано відмінність понять людського та інтелектуального капіталу, де останній розглянуто в контексті багатьох інших важливих складників людського фактора (духовності, інформаційної мобільності, ціннісних мотивацій, інноваційної культури, національної консолідації, євроінтеграційних орієнтацій, творчої комфортності середовища тощо), що впливають на формування економіки знань України.

S. Vovkanich, L. Semiv

HUMAN AND INTELLECTUAL CAPITAL IN THE KNOWLEDGE ECONOMY

Summary

The features of intellectually-innovative development are determined from positions resource, synergetic, integral and action approaches, the difference of human and intellectual capital concepts is shown where the last is examined in the context of many other important constituents of human factor (spirituality, informative mobility, valued motivations, innovative culture, national consolidation, eurointegration orientations, creative comfort of environment, etc.), which influence formation of knowledge economy of Ukraine.

В. КОРДЮМ, О. МОШИНЕЦЬ, М. ЦАПЕНКО, Н. АДАМЧУК-ЧАЛА, Д. ІРОДОВ, В. АНДРІЄНКО

АРХІТЕКТУРА МІКРОЦЕНОЗІВ — СВІТ НЕВІДОМОГО

На сьогодні в біології склалася незвичайна ситуація. Дуже швидкий розвиток можливостей вивчення фундаментальних основ організації і функціонування живої матерії дав змогу розпочати взаємоузгоджені дослідження в напрямі повного пізнання функціонування живої матерії, що вимагало максимальної уніфікації об'єктів дослідження. Відповідно основні зусилля були сконцентровані в украй вузькій галузі, центром якої (і тепер уже головним об'єктом через очевидні причини) стала людина – головний пріоритет у шкалі цінностей. Виникла багатопланова, але яскраво виражена асиметрія за градієнтом вивченості/невивченості. Як подолати таку асиметрію, розширити обрії наших знань про біосферу й удосконалити методи дослідження мікроценозів?

© *КОРДЮМ Віталій Арнольдович. Член-кореспондент НАН України. Академік МАНУ. Завідувач відділу регуляторних механізмів клітини Інституту молекулярної біології та генетики НАН України.*

ЦАПЕНКО Марина Вікторівна. Провідний інженер відділу регуляторних механізмів клітини цього інституту.

ІРОДОВ Дмитро Михайлович. Молодший науковий співробітник цього інституту.

АНДРІЄНКО Володимир Іванович. Науковий співробітник цього інституту.

МОШИНЕЦЬ Олена Володимирівна. Провідний інженер відділу регуляторних механізмів клітини цього інституту, аспірантка Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України.

АДАМЧУК-ЧАЛА Надія Іванівна. Науковий співробітник Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (Київ). 2008.

Майже всі глибокі дослідження (у галузі будови геному, тонких механізмів регуляції, молекулярної структури, протеому, сигнальних шляхів, феногенетики і т. д.) зводяться до одиничних «модельних об'єктів» — кишкова паличка, сахароміцети, дрозофіла, миша, арабідобсис, рис тощо, — можливо, в межах декількох десятків видів (усе залежить від того, «як вважати», наскільки глибоко вивчено об'єкт і як часто його використовують, щоб визнати «модельним»). Решту представників живого світу описано переважно тільки морфологічно, і як об'єкти детального вивчення їх не використовують унаслідок того, що вони «незручні в роботі» або «непотрібні для практики». Звичайно, це не примха дослідників. На те є об'єктивні причини. Поглиблені дослідження дуже витратні, вимагають спеціальних умов, тривалі в часі, їх виконують професійно підготовані у вузьких галузях науки фахівці і т. д. Отримані результати треба укладати в якусь загальну схему, пов'язувати з іншими результатами, процесами, структурами, подіями. Окремо «висмикнутий» результат на невивченому об'єкті неможливо застосувати. Це все — пояснення «чому». Проте незаперечним фактом є просто-таки фантастична асиметрія. Якщо враховувати все живе, тобто і евкаріоти, і прокаріоти, то з тих декількох десятків мільйонів видів (за різними оцінками), що існували на планеті (Kaplan 1985), детально вивчено лише кілька десятків, тобто одну мільйонну частку. Незважаючи на таку асиметрію, далі відбувається уніфікація наступного рівня. На підставі отриманих на модельних об'єктах даних створюють стандартизовані уніфіковані методи вивчення, які потім використовують як основу для решти всього світу. Неусвідомлено ми зводимо її, решту всього світу (через стандартизовані для модельних об'єктів методи, технології, схеми досліджень), до того, що властиве саме модельним об'єктам. Те, що за такої уніфікації техніки, методів, реагентів, програм оброблення та інтерпретації результатів досліджень виявляється для них неадекватним, відносимо до «нетипових випадків», «винятків», «матеріалу, що не піддається аналізові», «ситуацій, що вимагають надзвичайно високих зусиль», «нестабільності об'єкта», «поганої відтворюваності» тощо. Тобто весь той важкоідентифікований (або зовсім не вивчений) світ, який виходить за межі аналогії з «модельними об'єктами», методами, розробленими для їх вивчення, фактично залишається пізнаним тільки «візуально». І все наше уявлення про «єдність» живого світу ґрунтується на екстраполяції одиниць вивченого на всю біосферу, а все, що в ці межі не входить, не є для нас «біосферою». Тобто для «візуалізованих» об'єктів біосферою є тільки «аналогічне» (аналогії з моделями).

Ще яскравіше асиметрія вивченості / невивченості виражена за шкалою розмірів організмів. На цій шкалі є три різкі перепади.

Ділянка до першого перепаду охоплює представників живого світу від максимальних їхніх розмірів (десятки метрів) до величин, вимірюваних міліметрами. Такий розмір, через його співмірність з людиною, вона (людина) добре помічає, може відстежити в різних подіях і процесах. Історично (через ті ж особливості розмірів) люди постійно сприймали мешканців цієї ділянки як «своє оточення». Вони з ним боролися, використовували його, спостерігали за ним, окремих представників вивчали і т. д.

Друга ділянка шкали — від першого до другого перепаду — охоплює все живе, розміри якого обчислюємо в межах від декількох міліметрів до 0,1 мм. Цю «дрібницю» очі ще розрізняють, але вже без деталей. У звичайному житті на неї рідко звертають увагу (тільки коли вже дуже докучає), а її вивчення вимагає спеціальної апаратури.

Проте цей «топорозмір» живого певною мірою описано морфологічно (а в ряді випадків і цитологічно, біохімічно).

З 0,1 мм починається третя ділянка шкали — мікросвіт живого. Його нижньою межею (до третього перепаду) вважають 0,2 мкм (Громов 1985). В об'ємі нижче за ≈ 0,0042 мкм^3 уже просторово не вміщається мінімально необхідний набір обов'язкових елементів клітини (геном, хоча б 2—3 рибосоми, які обслуговують геном і апарат, що синтезує білок, білки, з яких складається весь енергетичний цикл макромолекул, мембрана). Розрахунковий розмір атома водню (при всій умовності поняття «розмір» для тих об'єктів, що належать до квантової механіки) визначають величиною діаметра ≈ 0,529 ангстрема. В об'ємі 0,0042 мкм^3, за геометричним розрахунками (без урахування взаємодій і квантових процесів), «поміститься» менше ніж десять мільярдів атомів водню. Навіть найпростіше, найпримітивніше, зредуковане «живе» (як автономна одиниця життя) складається з численних і різноманітних біологічних макромолекул, молекул «звичайного» розміру і дрібних, які просторово організовані й зорієнтовані і взаємодіють між собою.

Нижче за 0,2 мкм (третій перепад) шкала фактично зникає. Є тільки «загальне уявлення» про те, що там вже нічого живого немає, тому що бути не може. Там є тільки віруси. Але вони не належать до живого, це якась транспортна форма інформації, яка реалізується тільки в клітині, мінімально самодостатньої одиниці всього живого. Таким чином, на «шкалі розмірів» нижче за 0,2 мкм життя зникає як таке.

Якщо ж розмежувати вивченість / невивченість за іншим критерієм, то в найзагальнішому вигляді за величиною об'єктів і ступенем вивченості життя на Землі можна уявити у вигляді двох дуже великих і нерівних груп — макросвіт понад 0,1 мм і мікросвіт нижче ніж 0,1 мм (але тільки до 0,2 мкм).

За ступенем організації весь макросвіт — це евкаріоти. Щодо мікросвіту, то він представлений як нижчими евкаріотами, так і здебільшого прокаріотами. Евкаріоти мікросвіту, завдяки своїм відносно великим (для мікросвіту) розмірам, добре помітним різноманітним формам і достатньо складною організацією (у вигляді присутніх у їхніх клітинах різних надмолекулярних структур), принаймні зовні описані й систематизовані (за морфологічним і, рідше, цитологічним показниками). Це все те живе, яке візуалізоване і в сукупності становить «біосферу за аналогією». Що ж до мікросвіту прокаріотів, то його майже не вивчено навіть на рівні візуалізації. Це зумовлено кількома причинами. Історично склалося так, що для виявлення, ідентифікації і вивчення мікроорганізми з природних субстратів висівали на різні поживні середовища. Культивовані мікроорганізми і ставали предметом дослідження. Некультивованих мікроорганізмів ніби й не існувало — їх не було виявлено. Звичайно, проби розглядали в мікроскоп, цей етап досліджень мікроорганізмів розпочав ще Левінгук 300 років тому. Для патогенних бактерій складали навіть атласи, тобто описували, «як вони виглядають» безпосередньо в крові, на зрізах тканин тощо. У виняткових випадках аналогічно описували й природні субстрати (наприклад залізобактерії та сіркобактерії), але це були тільки допоміжні процедури для подальшого їх виділення (введення в культуру). Слід зазначити, що цей «віртуальний» мікросвіт ще не можна було вмістити в таке чітке поняття, як «загальна кількість», тобто все, що є в субстраті. Таку нечіткість зумовлювала неможливість ані повністю вилучити те, що є в природних субстратах, ані визначити, що ж власне вилучили (з того, що вдалося вилучити) — щось «живе» чи якийсь «детрит». Живе або неживе оцінюють у «загальній кількості» тільки на вигляд та за допомогою наших

уявлень, яким такий «зовнішній вигляд» відповідає. У міру вдосконалення методів спостереження, особливо з упровадженням у лабораторну практику електронної мікроскопії, вдалося порахувати (приблизно) всі виявлені мікроорганізми й оцінити ті з них, що здатні рости на поживних середовищах у лабораторії. Виявилося, що рости може дуже мало мікроорганізмів — 0,1—0,01%. Інші 99,9—99,99% від усіх тих мікроорганізмів, що живуть у природних субстратах і яких оцінюють як «загальну кількість», науці невідомі. І це лише ті, які вдалося вилучити, а тих, що міцно вросли в субстрат (їх не можна було відділити як єдине ціле або ж вони перетворювалися на «детрит») і взагалі не враховували. Вони залишалися невидимими навіть для «загальної кількості». У міру розвитку молекулярних методів дослідження така ситуація невизначеності привела до радикальної зміни основ систематики прокаріотів. Їх почали ідентифікувати або за гомологією ДНК, або, згідно з даними ланцюгової полімеразної реакції, з якимись праймерами. Оскільки ж у лабораторіях майже нічого з наявного в природних мікроценозах не росте, то на підставі того, що доступне, розраховували праймери. Аналіз здійснювали в тотальних екстрактах ДНК із природних субстратів у лабораторії, але тільки на підставі того, що можна було вивчити, секвінувати, знайти консервативні ділянки в 0,1—0,01% форм. Про невідоме здогадувалися лише на основі відомого. Оскільки в наші уявлення закладено тільки відоме, то праймери для оцінювання того, що існує в субстратах по тотальній екстрагованій ДНК, складали на підставі знову ж таки тільки того, що росло, тобто відомого. Однак такий метод екстраполювали на всю сукупність ценозу, з якого сумарно, безпосередньо із субстрату, виділяли загальну ДНК, ампліфікували та на основі ампліфікатів робили висновки про склад ценозу. По суті, живе для дослідників зникло, залишилися тільки вирівняні послідовності, сигнали ампліфікації (на форезі або безпосередньо в ампліфікаті), математичні розрахунки, шкали і дендрограми результатів таких аналізів. Отже, якщо з класичними методами ідентифікації мікросвіту на основі вивчення того, що росте на поживних середовищах, ми ходили діляночкою площею 0,1—0,01% від загального поля, то з новими методами ми ходимо по невизначеному простору, що не зрозуміло, як перетинається з реальним полем життя, тобто вивчаємо «щось у чомусь». І знову ж таки тільки відоме (хоча й за допомогою сучасних методів) лише те, що за праймерами, зондами і т. д. відповідає відомому. Решта залишається невидимим, невідомим, недоступним.

І тут ми натрапляємо на новий критерій асиметрії вивченості / невивченості. Він проходить лінією розділу евкаріотів / прокаріотів. Уніфікація, про яку ми згадували вище, ґрунтується на певній загальній основі — диференційованому у вигляді особливої структури (ядра) геномі. Усі об'єкти живого світу, які мають розмір вище за 0,1 мм, — евкаріоти. До них належать всі об'єкти мікросвіту, які мають диференційоване ядро. Це їхня фундаментальна єдність.

Сказане дає підстави екстраполювати на весь світ евкаріотів результати, отримані на моделях евкаріотів, та уніфікувати для нього методи досліджень. Досвід всієї біологічної науки виправдовує такий крок, хоча й відмінностей, часто досить значних, теж вистачає.

Ми також помічаємо (хоч і побічно) і прокаріоти, яких вивчаємо за допомогою згаданих методів. Усе інше, тобто те, чого не можна визначити стандартизованими методами, залишається в мікросвіті невідомим.

Проте якщо стосовно ідентифікації мікросвіту є хоч якісь уявлення, хоч «щось у чомусь», то щодо природної організації

реальних мікроценозів, тобто екології, якій присвячені мільйони публікацій, не можна говорити навіть про якусь асиметрію вивченості / невивченості, оскільки тут цілковитий вакуум. Будь-який ценоз існує у своїй просторово-часової архітектурі, у тому взаєморозташуванні, взаємоконтактах, взаємовпливі, взаємодинаміці, які роблять життя реальністю. Поза такою просторовою архітектурою все живе перетворюється на якусь абстракцію. Дослідити ж реальний мікроценоз у його реальному житті, у його рідному субстраті, у просторовій архітектурі, у якій він реально існує, вчені поки що не можуть. Реальні субстрати (наприклад, ґрунт) непрозорі, складаються з різної міцності і розмірів агрегатів, елементи яких відрізняються за щільністю, твердістю, пористістю, звивистістю, викривленням поверхонь тощо. Архітектура ценозу поєднана з усім цим. У природних субстратах її не побачиш ані неозброєним оком, ані в мікроскоп, ані на топографові. Її можна тільки зруйнувати «вщент», а потім вилучати (те, що можливо), відокремлюючи від решти, що у своїй складній сукупності (і за хімічним складом, і за швидкістю седиментації, і за щільностю та ін.) перекриває аналогічні показники всіх живих компонентів мікроценозу. Отже, архітектуру ценозу можна вивчати лише в такому «розібраному вигляді». Це начебто якийсь природний ареал (наприклад, ділянка тайги, джунглів або сельви) після максимально можливого землетрусу, що з площі, на якій він існував, змило в гігантський котлован, у якому жахливі машини перемішали все, що там виявилося. Це відбулося ніби після нового землетрусу, який ще раз усе (але тепер уже у водно-рослинно-тваринно-ґрунтовій суміші) перемішав, а потім «разфракціонував». На основі тих фрагментів, які утворилися й потрапили у фракції, і можна уявляти собі реальність, обговорювати життя тайги, джунглів, сельви.

Застосувавши такі руйнівні методи, ми отримаємо цікаві результати прямих спостережень, наприклад, виявимо за допомогою електронної мікроскопії «рідкісні форми» мікроорганізмів (Нікітін та ін. 1960). Потрапити «на стіл дослідника» після радикального руйнування структури ценозу разом із структурою субстрату, у якому він існував, подальшого змивання і фракціонування могли тільки досить стійкі до механічних дій об'єкти й лише у вигляді окремих, зовсім не пов'язаних між собою утворень. Усе, що було об'єднане хоч у щось, могло сприйматися не інакше, як випадкова агрегація після всіх руйнівно-перемішувальних процедур, які, після вилучення із субстрату «об'єктів вивчення», передбачали дезагрегацію, без якої з частинок, гранул, порожнин і т. д. нічого дістати неможливо. Воно живе із субстратом, утворюючи єдину просторову архітектуру. Те, що лишилося після всіх руйнівних процедур і фракціонувань, агрегувало і нашарувалося, вважати за природні утворення вже не можна. Тому на фотографіях представлено окремі клітини. Їхня загальна морфологія і поверхневі утворення дивовижні (рис. 1). Морфологія і поверхня звичайних прокаріотів, що виросли в лабораторії і на поживних середовищах, обмежена переважно джгутиками і пилями. Функції і тих, й інших цілком зрозумілі. Решта поверхні призначена для обміну речовин: у клітину з навколишнього середовища потрапляє те, що необхідне клітині, а з клітини в навколишнє середовище — те, що клітині непотрібне (те, що необхідне для сигнальних зв'язків з іншими клітинами на відстані). У «рідкісних» формах є явно виражені утворення для контактів, які можна було б навіть уявити. Однак руйнівні методи дослідження мікроценозів не залишають можливостей для реконструкції архітектури ценозів. Будь-які «уявлення» будуть лише абстрактними. Їх (ценозів) навіть не намагаються описати.

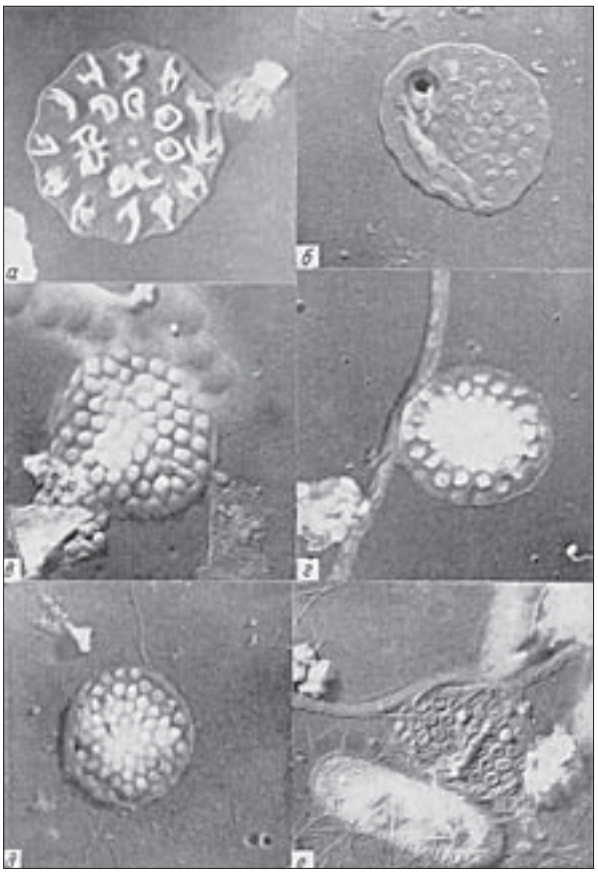

Рис.1. «Рідкісні фоми», які виявили під час електронної мікроскопії матеріалу, отриманого з природних субстратів шляхом руйнування мікроценозу змивом і фракціонуванням. Фотографії скановано з монографії Нікітіна зі співавторами.

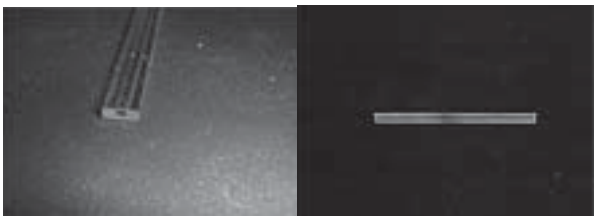

Рис. 2. Плоско-паралельний капіляр Перфільєва (Perfil'ev B.V. & Gabe D. R., 1969) — загальний вигляд та з торця.

Для того щоб зрозуміти, побачити, створити можливості для вивчення життя мікроценозів у природних субстратах (і тих 99,99 % від «загальної кількості» клітин), потрібна адекватна неруйнівна технологія доступу до них.

У зв'язку з очевидною необхідністю таких методичних рішень протягом останніх ≈ 100 років учені шукали шляхи, способи і засоби подолання недоліків, властивих руйнівним методам вивчення ценозів. До таких засобів, зокрема, належать стекла обростання, запропоновані С.Н. Виноградським (Виноградский 1952), плоско-паралельні капіляри Б.В. Перфільєва (Perfil'ev & Gabe 1969) (рис. 2) тощо. Принципово вирішуючи ряд питань, ці методи, проте, не набули поширення, оскільки їх неможливо було поєднати з високоінформативними технологіями досліджень (електронна мікроскопія, молекулярна діагностика, ультрацитохімія і т. д.), що виникли в другій половині минулого століття. Крім того, процесуально з нееластичним, крихким, ламким матеріалом (скло) було незручно працювати. Жорсткість скла не дозволяла розмістити його в природному субстраті так, щоб воно стало його органічним елементом. Будь-яка жорстка конструкція спотворювала архітектуру субстрату, мікроструми рідини, мікроциркуляція газу в ньому змінювалися, пересування мікроорганізмів порушувалося і т. д. Відповідно змінювався і мікроценоз, і його архітектура. Чудові ідеї не знайшли широкого застосування внаслідок обмеженості технологічного рівня їх втілення.

Ми спробували, виходячи із сучасних можливостей, створити необхідну технологію. Для забезпечення дієвості відповідної технології потрібно поєднувати і вирощування рослин, і формування ценозу, і доступ до нього. Розпочали з переліку тих властивостей, які повинна мати така технологія (аналог «технічного завдання під час проектування»):

1) основою технології має бути особливий субстрат для вирощування рослин, у якому існуватиме відповідний ризосферний мікроценоз, тобто такий субстрат, який був би одночасно і субстратом, і носієм ценозу;

2) субстрат не повинен мати щілин, порожнин, а його поверхня має бути доступна для вивчення;

3) субстрат, як матеріальна основа і для вирощування рослин, і для формування мікроценозів, повинен забезпечувати в усіх діапазонах простору можливість проведення дослідження за допомогою всіх інформативних методів, що існують для вивчення мікроорганізмів.

Ми створили такий субстрат відповідно до зазначених властивостей, якими він повинен володіти.

Найбільш широкими можливостями для будь-яких маніпуляцій володіють пластмаси. Їх ми й вибрали як основний матеріал для субстрату. Сформувати субстрат так, щоб він увесь був доступний для аналізу і гарантував збереження архітектури мікроценозів у всьому її діапазоні, можна лише у вигляді орієнтованих у просторі елементів. Для водного живлення рослин вони (елементи) повинні мати ще й необхідну капілярність. При цьому обов'язкова біологічна нейтральність субстрату і його стійкість до впливу деградації, спричиненого дією як рослин, так і мікроорганізмів.

Конструктивно цю проблему було розв'язано за допомогою орієнтованого пучка волокон поліетилену (в одному з варіантів), який вплавлювали з торця в поліетиленову пластинку (рис. 3). У пучку створювалася своєрідна «колективна» капілярність, що забезпечувала як водний, так і газовий режими, якими можна було управляти. Гладка поверхня волокон і їхня суцільна (без пор, щілин) структура забезпечували повну доступність до всіх ділянок субстрату (рис. 4). Ні мікрофлора, ні коріння, яким обростали волокна, на такій поверхні не можуть вийти з-під безпосереднього контролю. Пластик (у нашому експерименті поліетилен, хоча може бути й будь-який інший) дозволяв поєднувати всі методи дослідження, оскільки його, на відміну від скла, вермикуліту, силікатів, ґрунту і т. д., можна було порізати на мікротомі й дослідити за допомогою електронного мікроскопа, розділити на фрагменти будь-яких розмірів для спеціальних аналізів тощо. Нарешті, безперервність ниток пучка на всю висоту субстрату забезпечувала можливість вивчення архітектури мікроценозів у поперечному і поздовжньому напрямах. Подальшу роботу проводили з метою вивчення особливостей і можливостей створеного субстрату.

Рис. 3. Субстрат «повного дозволення» у вигляді вертикально розташованого пучка пластмасових волокон, вплавлених із торця в пластинку.

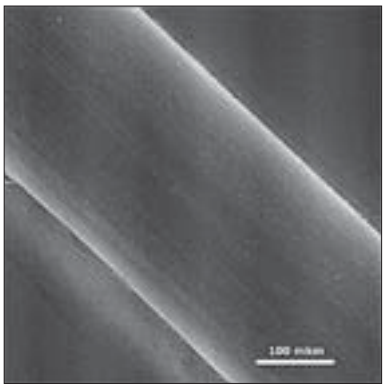

Рис. 4. Одиночне волокно. Воно може застосовуватися ізольовано та як елемент субстрату «повного дозволення». Гладка поверхня виключає можливість появи зон, що не доступні для безпосереднього дослідження (сканувальна електронна мікроскопія).

Рис. 5. Приклад можливого розміщення елементів «квазісубстрату» в природному субстраті. Навкруги (на разній відстані) рослини розташовані волокна. Будь-яке з них можна легко вийняти з ґрунту в будь-який час і дослідити на всю глибину субстрату.

Рослиною-моделлю обрали арабідопсис, який культивували в умовах лабораторної оранжереї.

Природні субстрати (ґрунти) мають свою рівноважно-стійку мікрофлору (ценози, що сформувалися) (Buckley 2003; Gregory 2006). Штучні субстрати мають випадковий (і досить бідний) склад мікроорганізмів. Отже, якщо взяти чистий пучок волокон, то сукцесія починається з деякої «нульової» позначки. Перші спроби вирощування таких рослин, як арабідопсис, зазвичай невдалі. Він починає нормально рости тільки через декілька генерацій. Проте можна використовувати, адаптовувати, відтворювати (з природної заготовки) в пропонованому субстраті будь-які прообрази вже готових ценозів. Для цього волокна поміщають у природний (або штучний) субстрат зі сформованою мікрофлорою, що, як початкову, хочуть відтворити. Після того як мікрофлора обростає субстрат, починають вирощувати рослини в уже сформованій системі. Сукцесії при цьому не уникнути, оскільки основа субстрату інша, однак вона (сукцесія) почнеться з уже наявної базової мікрофлори.

Рис. 6. «Відкриті мікроценози». У них клітини розташовані компактно, але відкрито для зовнішнього простору.

Повна доступність субстрату й усіх компонентів ценозу (від «бовтанки» до незайманої архітектури) дозволяє вивчати і контролювати всю глибину субстрату (від поверхні, що контактує з атмосферою, «до дна»), теоретично можливу шкалу збільшень, використовуючи електронну оптику в усьому діапазоні молекулярних мікроаналізів. Субстрати такого типу можуть стати перспективною основою для штучних систем, оскільки забезпечать ґрунтовне вивчення і контроль усіма наявними методами. Окрім цілком штучного субстрату, зазначена технологія дозволяє вивчати структуру ценозів у природних умовах. З волокон можна виготовити пучок будь-якого розміру і довжини, зокрема й для однієї рослини (рис. 5). Насіння рослини з попереднім або одночасним розміщенням пучка в природному субстраті забезпечує повне проникнення між волокнами всіх компонентів такого субстрату (від розчинів і колоїдів до мікрофлори). Рослина ростиме майже в природних умовах, досліджувати її можна на всій глибині субстрату в умовах повного доступу, який забезпечують елементи штучного субстрату. Це зумовлено тим, що, використовуючи відповідний матеріал у вигляді окремого елемента (окремого волокна, смужки, перфораційного листа і т. д.), він (елемент) стосовно природного субстрату стає його аналогом — «квазісубстратом».

Завдяки тому що просторово «квазісубстрат» може проникати в природний субстрат, він перетворюється на його складник.

Фрагмент мікроценозу, що утворюється на ньому, в масштабах мікроценозу буде повнорозмірним. Після вилучення «квазісубстрату» і вивчення того, що на ньому утворилося, увесь мікроценоз (у його непорушеній архітектурі) стає повністю доступним на всю бажану глибину (товщину) субстрату з градієнтом умов, що в ньому існують. Так з'являється можливість вивчати відповідний природному (фактично його фрагмент будь-якого розміру) ценоз в адекватній архітектурі. Він стає доступний і на всю ширину субстрату. Розміщення «квазісубстрату» в реальному природному субстраті може бути як безперервним (суцільна плівка всередині, що облягає неоднорідності реального субстрату і т. д.), так і квазібезперервним — у вигляді пучка ниток, смужок, перфораційної плівки, розташованих локально-купчасто, вилаштуваних лінією, суцільною (після вирівнювання поза субстратом) квазіплощиною. Усе це забезпечує повну доступність для будь-якого дослідження субстрату будь-яких розмірів, площі й об'єму.

Перший аналіз мікроценозів на основі їхньої візуалізації за розробленою (і такою, що підлягає зберіганню) технологією дозволив установити низку певних особливостей. Їх можна згрупувати в два великі кластери. Один із них позначимо як «особливі стани і взаємини».

Просторово-локальні мікрозони складаються з «відкритих» і «закритих» систем, що взаємодіють між собою. «Відкриті» мікрозони представлені мікроспільнотами клітин, які не ізольовані від навколишнього простору слизовим бар'єром (рис. 6). При цьому в таких системах можливі капсули, але вони оточують окремі клітини, а не весь мікроценоз. Завдяки відкритості системи доступ інших членів ценозу в такі зони не має механічних перешкод. Відповідно виникають украй гетерогенні контакти, які особливо помітні на гіфах грибів (рис. 7). І це не артефактні «налипання»,

Рис. 7. Концентрування на гіфі різних мінеральних (за формою) утворень та окремих клітин бактерій (сканувальна електронна мікроскопія).

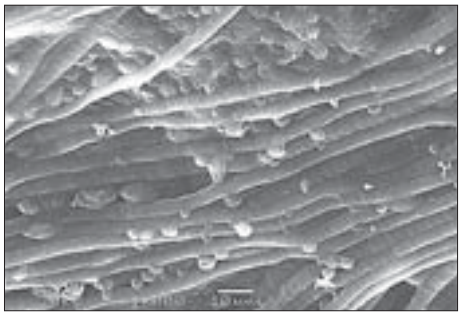

Рис. 8. Компактне розташування гіфів грибів з утвореннями – випинаннями, анастомозами тощо (скануювальна електронна мікроскопія).

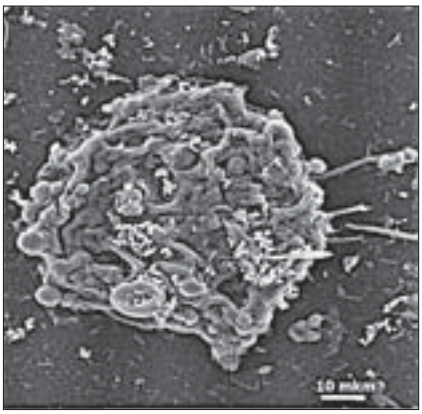

Рис. 9. «Закриті зони». Вони організовані у вигляді загальної слизової капсули, у якій розміщені клітини мікроорганізмів (сканувальна електронна мікроскопія).

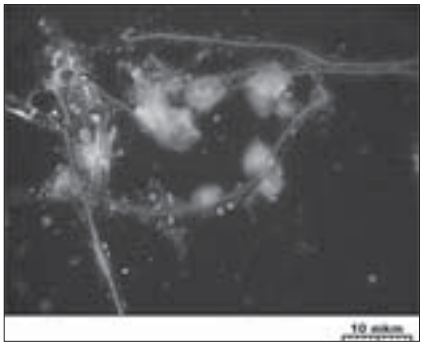

Рис. 10. Взаєморозташування закритих зон у відкритих зонах може бути результатом особливої взаємодії. Звертає на себе увагу відсутність різких контрастних меж між зонами.

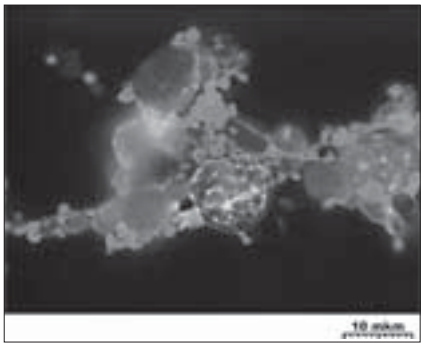

Рис.11. Взаємодія між собою закритих зон. Звертає на себе увагу те, що соми не зливаються, для їхньої взаємодії формуються спеціальні сполучальні структури.

Рис. 12. Закриті гетерогенні зони. Вони складаються із загальної слизової капсули, у якій розташовані клітини різних мікроорганізмів, які взаємодіють (контактно і дистанційно).

оскільки, згідно з методикою дослідження, налипання в процесі приготування препарату були неможливі. Незвично виглядають і самі гіфи. Чи то під впливом негрибних організмів, що взаємодіють із ними, чи то під впливом власних внутрішніх процесів на їхній (гіфів) поверхні утворюється випуклість. Складається враження, що цей процес приводить до анастомозів, брунькування і якихось узагалі ні з чим не ідентифікованих процесів (рис. 8). Для твердження, що вирощування відгалужується від гіфи міцелію, поки даних недостатньо. Для цього необхідно простежити динаміку процесу.

Мікроценоз не обмежується відкритими зонами. Інший його варіант — «закриті зони», які можуть складатися з ідентичних об'єктів і бути ізогенними (за своїм складом) зонами самоізоляції (рис. 9). Звичайно, самоізоляція таких зон досить умовна. Вони навіть просторово взаємодіють як закриті зони з відкритими, розташовуючись у них (рис. 10), або як закриті із закритими, контактуючи (але без злиття) зі слизовими капсулами (рис. 11).

Закриті зони можуть складатися з різних об'єктів, будучи в таких випадках гетерогенним зонами самоізоляції (рис. 12). Усередині такої зони її компоненти поводяться так, ніби зона відкрита, а із зовнішніми зонами взаємодія може здійснюватися і через слизову капсулу, і через відкриті «міжзонні» контакти.

Нарешті, слід звернути увагу й на окремі клітини (рис. 13). Оцінити їхній статус поки що неможливо. Вони можуть вести активний спосіб життя саме як окремі клітини, але й можуть бути лише своєрідною «транспортною» формою існування, мігруючи між різними зонами, а також можуть бути і «посадковим матеріалом», створюючи нові вогнища росту зон.

Другий «кластер особливостей» пов'язаний із виявленням незвичайних і нових

морфологічних утворень, які, за їхнім «зовнішнім виглядом», можна віднести до живих об'єктів.

Дуже незвично виглядають окремі прості організми. Так, на деяких препаратах виявлено «наноінфузорії» (рис. 14). Їхні розміри визначаємо, звісно, не в нано-, а в мікроодиницях. Проте інфузорії завбільшки з мікрон і загальним об'ємом ≈ 500 мкм^3 (це лише п'ять десятимільйонних часток кубічного міліметра!) — дуже цікаві об'єкти.

Коли ж ідеться про нанобактерії, то їх здебільшого описують після ізоляції руйнівними методами. За допомогою технології, яка підлягає зберіганню, їх можна спостерігати в природному просторовому розташуванні. У тих випадках, коли вони представлені мікроколонією (рис. 15), можна стверджувати, що відбулася їх мультиплікація саме як наноформ, а не перехід у наностан бактерій звичайних розмірів.

Цікаві також не такі вже й рідкісні розростання наноміцелію (рис. 16). Будь-які руйнівні методи розірвуть його на найдрібніші фрагменти, які вже неможливо буде ідентифікувати як живе, тому наноміцелію в природних субстратах і не описують. Він (мабуть, завдяки довжині гіфів, що збільшує загальний об'єм вмісту) може бути представлений нитками і менш критичних розмірів ніж 0,2 мкм у діаметрі. Однак найцікавіше те, що такий міцелій відростає від товстішого, і відбувається це, як звичайний екологічний процес. Можна очікувати, що його тонка ультраструктурна організація виявиться досить «нестандартною».

Ці форми, за всієї їхньої незвичності, можна було теоретично передбачити (нанококи описано й раніше).

Завдяки збереженню архітектури мікроценозів удалося виявити, використавши нову технологію, не просто нові «нано-», а геометрично нові нанооб'єкти. Один із них можна умовно назвати «ріжки равлика» (рис. 17). Його «ніжка» має товщину ≈ 0,2

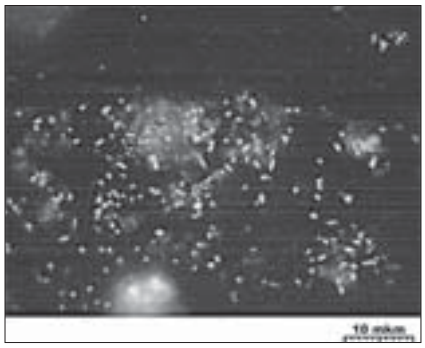

Рис. 13. Окремо розташовані клітини в мікроценозі. Це не колонія (надто велика дистанція між клітинами), але й не випадкове розподілення (занадто великий мікропростір вони займають).

Рис.14. «Наноінфузорія». На нано- вони не схожі. Але вони занадто мілкі для інфузорій (сканувальна електронна мікроскопія).

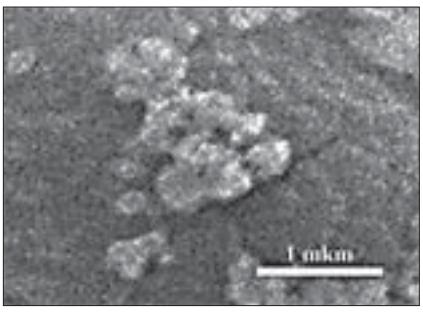

Рис. 15. Мікроколонія нанококів. Або, щоб відійти від вживаного терміна «коки» з його морфологічними та молекулярними параметрами, — нанококоїди, тобто наноклітини округлої форми (сканувальна електронна мікроскопія).

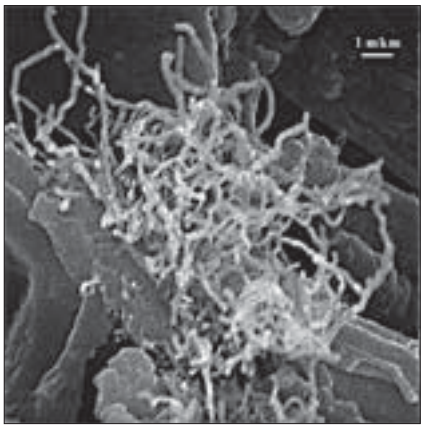

Рис. 16. Міцелій, який для актиноміцетів занадто пухкий, а для грибів – занадто тонкий. Дуже цікаві розгалуження (відгалуження) від більш товстого (але теж нанорозмірів), зовсім тонкого – нижче від критичних 0,2 мкм (хоча, за рахунок довжини, його об'єм буде вищий від критичного) (сканувальна електронна мікроскопія).

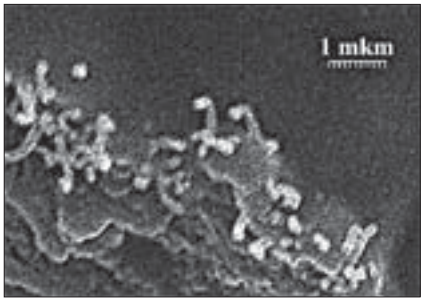

Рис.17. Морфологічно диференційоване наноутворення – «ріжки равлика» (сканувальна електронна мікроскопія).

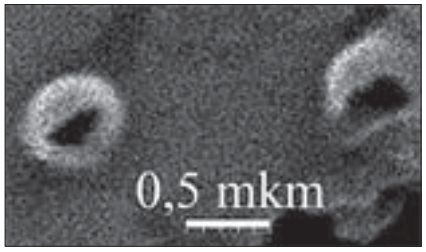

Рис. 18. Незвичайне утворення із загальним (зовнішнім) діаметром ≈ 0,5 мкм, основний об'єм якого становить внутрішня порожнина, переважно відкрита назовні (сканувальна електронна мікроскопія).

мкм, «голівка» — ≈ 0,3 мкм, а загальна довжина наближається до 1 мкм. Наноформи складної геометрії з морфологічною диференціацією є цілком несподіваними. Тонка ультраструктура тут може виявитися такою ж незвичайною і несподіваною.

Інший виявлений нанооб'єкт ще більш незвичний. Це якесь «нанопорожнинне» утворення (рис. 18), структура тонкого (≈ 0,1—0,2 мкм) покриву, усередині якого є об'ємна порожнина, що відкривається назовні. На деяких ділянках препарату утворення має вид тороїда. Важко уявити, що це може бути. За умови застосування будь-якого руйнівного методу такі форми або повністю деградували б, або перетворилися б на щось фрагментарно-аморфне.

Під час характеристики розмірів біологічних об'єктів (особливо дрібних) може виникнути питання про роль усихання внаслідок випаровування води. Справді, у разі значного обводнення усихання може сильно спотворити об'єктивність результатів вимірювань. У разі дослідження нанооб'єктів виникає зовсім інша ситуація. Навіть якщо характеризувати рух чистої води в капілярі 0,2 мкм, то й тоді її поведінка (зокрема здатність до випаровування) радикально відрізнялася б від вільної води. У нанооб'єктах, якщо врахувати їхні розміри і обов'язковий набір складників, простору для вільної води не залишається. І проблема всихання як процес, що змінює лінійні розміри об'єкта, зникає. У складних умовах, вакуумі навіть сильноадсорбована вода може випаруватися. Якщо сукупність макромолекул, ліпідів, мінеральних складників і т. д. зміниться конформаційно у вакуумі, то на загальних розмірах об'єкта це вже не зможе відбитися. Крім того, макро- і мікромолекули, за умови їхнього щільного розташування, навіть просторово між собою взаємодіють переважно не через воду. Отже, вимірювані лінійні розміри нанооб'єктів (величина — деся-

та частина мікрометра) під час оброблення, що необхідне для їхнього спостереження як в оптичний, так і в електронний мікроскопи, не можуть значно змінитися. У спеціальній літературі їх вважають істинними.

Еластичний „квазісубстрат" дозволяє робити ультратонкі зрізи для трансмісивної електронної мікроскопії. На мал. 19 показано одну з таких фотографій, що доводить можливість отримання бажаних об'єктів мікроценозу у вигляді препаратів для трансмісивної електронної мікроскопії. Для аналізу ж конкретного об'єкта необхідні зрізи кожного його шару з подальшою об'ємною реконструкцією.

Використовуючи такі терміни, як «повний доступ», «можливість вичерпного вивчення» і т. д., слід визначитися, що вони означають.

Стосовно мікроценозів природних субстратів це означає принципову можливість, згідно з логікою дослідження, його подальших етапів (процедур).

Найперше слід визначити реальну архітектуру мікроценозу й отримати до неї доступ — усієї цілком, окремої ділянки, окремих клітин. Тільки тоді можна оцінити те, що підлягає подальшому вивченню і його методичній конкретизації.

Другий етап, як за логікою дослідження, так і за послідовності етапів, що історично склалася, — вивчення морфології, ультраструктури конкретних компонентів ценозу. Оскільки ценоз є складною, багатокомпонентною системою, то необхідно максимально візуалізувати ці компоненти спочатку на рівні «стримувальних» зв'язків, потім на цитоморфологічному рівні, а також виявити безпосередні прямі, контактно-організовані варіанти гомо- і гетероклітинних компонентів.

Наступний етап — поєднання таксономії «за гомологією» з конкретними, тепер уже візуалізованими, представниками ценозу (наприклад, за допомогою FISH-методу).

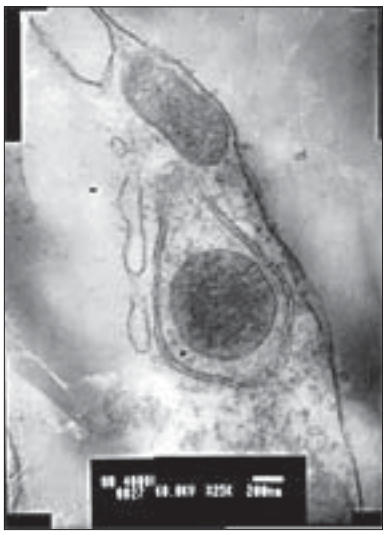

Рис. 19. Частина мікроценозу в трансмісивному електронному мікроскопі. Зріз дрібної евкаріотичної клітини та фрагмент слизової капсули, у якій ця клітина розміщена (трансмісивна електронна мікроскопія).

Оскільки сучасна технологія дозволяє працювати з окремими клітинами (за допомогою мікроманіпуляторів або лазерних пінцетів можна ізолювати й вилучати кожну з них із загальної маси та переносити в потрібне місце; визначати послідовності ділянок геному за допомогою моноклітинних ПЦР-систем, капілярного електрофорезу, подальшого клонування та сиквенування тощо), то будь-яка з них у складі архітектури може бути ізольована й належно вивчена.

Визначення біохімічного складу як клітинних, так і неклітинних компонентів мікроценозу можуть забезпечити вже досить широкі можливості оптичної та електронної цито- й імунохімії.

Нарешті, досліджуючи компоненти мікроценозу безпосередньо в живому (або фіксованому після експерименту) стані під мікроскопом або опосередковано після фіксації, можна визначити трофічні реакції цих компонентів, додаючи ex vivo різні речовини й фіксуючи на них реакцію.

Це можлива й доступна логіка досліджень мікроценозів у їхній природній архітектурі. Поки що створено тільки нову технологію повного доступу до природних мікроценозів і реалізовано перший етап їхнього вивчення — візуалізація, визначення розташування, взаєморозташування, контактів, форм і розмірів компонентів мікроценозів, тобто феноменологічний етап. Але все завжди починається зі створення нових технологій доступу до об'єктів, а потім і феноменології. Саме ці два перші кроки сьогодні й зроблено — двері у світ архітектури і складу природних мікроценозів відчинено.

Виноградский С.Н. Микробиология почвы. — М.: Изд-во АН СССР, 1952. — 792 с.
Громов Б.В. Строение бактерий. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1985. — 190 с.
Никитин Д.И., Васильева Л.В., Лохмачева Р.А. Новые редкие формы почвенных микроорганизмов. — М.: «Наука», 1966. —
Buckley D. H. & Schmidt T. M. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. Environmental // Microbiologyю. — 2003. — № 5(6). — P. 441—452.
Gregory P.J. Roots, rhizosphere and soil: the route to a better understanding of soil science? // European Journal of Soil Science. — 2006. — № 57. — P. 2—12.
Kaplan R.W. On the numbers of external, extinct and possible species of organisms // Biol. Zbl. — 1985. — № 104. — P. 647—653.
Perfil'ev B.V. & Gabe D. R. Translated [from the Russian] by J. M. Shewan. Capillary methods of investigating micro-organisms. — Publisher: Edinburgh, 1969. —

В. Кордюм В, О. Мошинець, М. Цапенко, Н. Адамчук-Чала, Д. Іродов, В. Андріенко

АРХІТЕКТУРА МІКРОЦЕНОЗІВ — СВІТ НЕВІДОМОГО

Резюме

У статті проаналізовано логіку вивчення мікроценозів у їхній природній архітектурі. Описано нові можливості дослідження організмів, які відкриваються завдяки сучасним технологіям у мікробіології.

V. Kordyum, O. Moshynets, M. Tsapenko, N. Adamchuk-Chala, D. Irodov, V. Andriyenko

MICROCENOSIS ARCHITECTURE — THE UNKNOWN WORLD

Summary

The logic of microcenosis study in their natural architecture is analyzed in the article. The new opportunities of microorganism investigation that are possible due to modern technologies in microbiology are described.

Ю. ШЕМШУЧЕНКО, Т. МІЛОВА

СВОБОДА НАУКОВОЇ ТВОРЧОСТІ ЯК КОНСТИТУЦІЙНЕ ПРАВО ЛЮДИНИ І ГРОМАДЯНИНА

У стратегії інноваційного розвитку акцентовано увагу на творчій особистості і державних інвестиціях у людський капітал. Новаторська творча діяльність людини забезпечує прогрес світової економіки, створення та впровадження новітніх технологій і розробок, підвищення життєвого рівня. Курс на інноваційний розвиток проголошено і в нашій державі, однак, за даними Інституту економіки та прогнозування НАН України, рівень фінансування наукових розроблень у нас поступається показникові, який мали розвинені країни ще на початку 90-х років минулого століття. У цьому контексті тема реалізації конституційного права людини і громадянина на свободу наукової творчості дуже актуальна з огляду як на економічні, так і на правові аспекти проблеми.

© *ШЕМШУЧЕНКО Юрій Сергійович. Академік НАН України. Директор Інституту держави і права ім. В.М. Корецького НАН України.*
МІЛОВА Тетяна Миколаївна. Аспірантка цього інституту (Київ). 2008.