

УДК 579.695

РАСПРОСТРАНЕНИЕ МЕТАЛЛРЕЗИСТЕНТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ОСТРОВАХ ВНУТРЕННЕГО ШЕЛЬФА АНТАРКТИЧЕСКОГО ПОЛУОСТРОВА

Таширев А.Б., Рокитко П.В., Матвеева Н.А., Таширева А.А., Романовская В.А.

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Д 03680,
Киев ГСП, ул. Заболотного, 154. E-mail: tach@i.com.ua*

Реферат. Микроорганизмы, суперрезистентные к токсичным металлам, были выявлены в географической зоне внутреннего островного шельфа Антарктического полуострова (30°460 км) на островах Darboux, Lippmann, Berthelot, Cruls, Barchans, Jalour, Uruguay, Scua, Three pigs, Winter, Grotto, Galindez, Pitermann, Booth, мысах Perez, Rasmussen, Tuxen (побережье Антарктического полуострова), а также на удалённом от них острове King-George. Наибольшее количество металлрезистентных микроорганизмов выявлено на среде с 1000 мг/л Cr(VI) – до $5,0 \times 10^5$ клеток/г почвы и на среде с 250 мг/л Ni²⁺ – $3,0-5,0 \times 10^5$ клеток/г почвы. Определены критические концентрации токсичных металлов для антарктических микроорганизмов: Hg²⁺ – 100 мг/л, Cu²⁺ и Ni²⁺ – 500 мг/л, Co²⁺ – 1000 мг/л. Для хрома этот показатель выше 2000 мг/л. Для анализа результатов частоты встречаемости металлрезистентных микроорганизмов использовали предложенный нами коэффициент репрезентативности (встречаемости) K_p , который позволяет комплексно охарактеризовать геообъекты, т.к. связывает два показателя: общее количество микроорганизмов и количество металлрезистентных микроорганизмов. Коэффициент K_p для никельрезистентных и медьрезистентных микроорганизмов практически одинаков на исследованных геообъектах. Высокие показатели K_p обнаружены на мысе Rasmussen и на о. Winter, а самые низкие – на о. Lippmann. Т.о., нами впервые показано, что устойчивость микроорганизмов к сверхвысоким концентрациям токсичных металлов является широко распространенным явлением в почвах внутреннего островного шельфа Западной Антарктики. Это заключение основано на: а) суперрезистентности и полирезистентности антарктических микроорганизмов к токсичным металлам (Hg²⁺, Cu²⁺, Cr(VI), Ni²⁺, Co²⁺); б) высокой частоте встречаемости и значительном количестве металлрезистентных микроорганизмов в антарктической почве; в) распространении устойчивых к токсичным металлам микроорганизмов во всех исследованных почвах в зоне внутреннего островного шельфа Антарктического полуострова протяженностью 30°460 км.

Ключевые слова: Антарктика, микроорганизмы, токсичные металлы, устойчивость, полирезистентность.

Реферат. Мікроорганізми, суперрезистентні до токсичних металів, були виявлені в географічній зоні внутрішнього острівного шельфу Антарктичного півострова (30°460 км) на островах Darboux, Lippmann, Berthelot, Cruls, Barchans, Jalour, Uruguay, Scua, Three pigs, Winter, Grotto, Galindez, Pitermann, Booth, мысах Perez, Rasmussen, Tuxen (узбережжя Антарктичного півострова), а також на віддаленому від них о. King-George. Найбільшу кількість металлрезистентних мікроорганізмів виявлено на середовищі з 1000 мг/л Cr(VI) – до $5,0 \times 10^5$ клітин/г ґрунту і на середовищі з 250 мг никелю/л – $3,0-5,0 \times 10^5$ клітин/г ґрунту. Визначено критичні концентрації токсичних металів для антарктичних мікроорганізмів: 100 мг/л Hg²⁺, 500 мг/л Cu²⁺ і Ni²⁺, 1000 мг/л Co²⁺. Для хрому цей показник вище 2000 мг/л. Для аналізу результатів використовували коефіцієнт репрезентативності K_p , який дозволяє комплексно характеризувати геооб'єкти. Високі показники K_p виявлено на мисі Rasmussen і на о. Winter, а найнижчі – на о. Lippmann. Таким чином, нами вперше показано, що стійкість мікроорганізмів до надвисоких концентрацій токсичних металів є широко поширеним явищем у ґрунтах Антарктики. Цей висновок основано на: а) суперрезистентності і полірезистентності антарктичних мікроорганізмів до токсичних металів (Hg²⁺, Cu²⁺, Cr(VI), Ni²⁺, Co²⁺); б) значній кількості металлрезистентних мікроорганізмів в антарктичному ґрунті; в) розповсюдженням стійких до токсичних металів мікроорганізмів у всіх досліджених ґрунтах в зоні внутрішнього острівного шельфу Антарктичного півострова протяжністю 30°460 км.

Ключові слова: Антарктика, мікроорганізми, токсичні метали, стійкість, полірезистентність.

1. Введение

Явление устойчивости антарктических микроорганизмов к токсичным металлам – один из наименее изученных аспектов антарктической микробиологии. Лишь в отдельных публикациях приведены данные относительно устойчивости к металлам бактерий, выделенных из воды и льда (De Souza et al., 2006). Ранее в антарктических образцах, отобранных на биогеографическом полигоне о. Галинdez, нами были обнаружены микроорганизмы, устойчивые к широкому спектру токсичных металлов (Таширев А.Б. и др., 2007). Вместе с тем представляет интерес изучение распространения устойчивых к токсичным металлам микроорганизмов в других географических зонах Антарктики. В связи с этим целью работы было изучение распространения металлрезистентных микроорганизмов на островах внутреннего шельфа и на побережье Антарктического полуострова (размером 30×60 км).

2. Методы и материалы

Объектами исследований были аэробные гетеротрофные микроорганизмы, которые выделялись из нативных и замороженных (-20°C) образцов почв, отобранных во время 13-й антарктической экспедиции на географических объектах (далее в тексте используется термин «геообъекты») внутреннего островного шельфа Антарктического полуострова.

Приготовление растворов токсичных металлов. Токсичные металлы вносили в виде растворов солей $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, K_2CrO_4 , $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ и $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Необходимые концентрации токсичных металлов в питательной среде получали разбавлением исходных растворов: 20 г/л для Cu^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cr(VI) и 4 г/л для Hg^{2+} (в пересчете на катион металла). Нитрат ртути получали растворением 1 г металлической ртути в 5,0 мл концентрированной HNO_3 . Раствор упаривали на водяной бане, а затем $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ растворяли в дистиллированной воде и доводили объем до 1 л. Растворы ионов металлов стерилизовали в течение 20 мин на кипящей водяной бане, затем охлаждали до 30°C и вносили в стерильных условиях в питательную среду до необходимой конечной концентрации.

Выявление металлрезистентных микроорганизмов в образцах проводили на жидкой питательной среде стандартными методами. 0,1 г образца помещали в пробирку, которая содержала 10 мл среды NB («Nutrient Broth, HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, США») с токсичными металлами и культивировали в стационарных условиях при температуре +20°C. Использовали такие концентрации токсичных металлов в пересчете на катион (мг/л): Hg^{2+} – 100 и 200; Cu^{2+} – 500 и 1000; Ni^{2+} – 1000 и 2000; Co^{2+} – 1000 и 2000, Cr(VI) – 2000 и 5000. Наличие роста микроорганизмов определяли через 3–14 суток по оптической плотности культуральной жидкости. Контролем токсичности сред с металлами служило отсутствие роста *E.coli* УКМ В-906, чувствительного к металлам.

Количество металлрезистентных и общее количество хемоорганотрофных микроорганизмов в исследуемых образцах определяли методом высеива последовательных разведений на агаризованные среды. К растертым в фарфоровой ступке образцам (1 г) добавляли физраствор (10 мл) и перемешивали (1 час). Затем десятикратные разведения высевали на агаризованную среду NA (Nutrient Agar, фирма HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, США), которая содержала токсичные металлы (мг/л): Hg^{2+} – 50 и 100, Cu^{2+} – 250 и 500, Ni^{2+} – 250 и 500, Co^{2+} – 500 и 1000, Cr(VI) – 1000 и 2000. Для определения общего количества микроорганизмов эти же разведения высевали на агаризованную среду без металлов. Культивирование проводили при +20°C. Подсчет колоний проводили в течение 7–10 суток. Морфотипы колоний подсчитывали в чашках, где их общее количество не превышало 50-ти. Основными критериями для определения морфотипов колоний служили такие их свойства: форма, размер, консистенция, пигментация, синтез водорастворимого пигмента, наличие внеклеточной слизи, наличие воздушного и субстратного мицелия. Отдельные колонии отбирали и пересевали на ту же среду для хранения их в лабораторных условиях.

Частоту встречаемости металпрезистентных микроорганизмов определяли с помощью предложенного нами коэффициента репрезентативности K_p . Этот показатель вычисляли как соотношение количества металпрезистентных микроорганизмов в 1 г образца и общего количества микроорганизмов, выделенных на среде без металлов:

$$K_p = (N_{\text{мет}} : N_{\text{кон}}) \cdot 100 \%,$$

где K_p – коэффициент репрезентативности; $N_{\text{мет}}$ – количество клеток на среде с металлом; $N_{\text{кон}}$ – количество клеток на среде без металлов.

Полирезистентность микроорганизмов к металлам определяли путем высеяния репрезентативных штаммов на агаризованные среды, каждая из которых содержала по одному токсичному металлу (мг/л): Hg^{2+} – 50; Cu^{2+} – 250; Ni^{2+} – 250; Co^{2+} – 500; Cr(VI) – 1000.

3. Результаты и их обсуждение

Распространение металпрезистентных микроорганизмов на островах внутреннего шельфа Антарктического полуострова. Исследованная зона протяженностью 60 км (с севера на юг) и 30 км (с запада на восток) включает острова в проливе Penola и мысы на Антарктическом полуострове. Изучено 18 биогеографических объектов: острова Darboux, Galindez, Skua, Barchans, Uruguay, Jalour, Petermann, Berthelot, Cruls, Booth, Grotto, Three pigs, Winter, Lippmann, мысы Rasmussen, Tuxen и Perez. Образцы также отбирались на о. King-George, который значительно удален от основной исследованной зоны.

Для выявления металпрезистентных микроорганизмов проведен скрининг почвенных образцов на жидкой питательной среде. Установлено, что в исследуемой зоне Антарктики широко распространены микроорганизмы, суперустойчивые к 500 мг/л Cu^{2+} и 2000 мг/л Cr(VI) (рис. 1). Обращает на себя внимание то, что резистентные микроорганизмы были обнаружены в 50–70% образцов даже при наличии в среде 5000 мг/л хрома, и/или 1000 мг/л меди, и/или 1000 мг/л кобальта. Такие данные свидетельствуют о чрезвычайно высоком уровне устойчивости

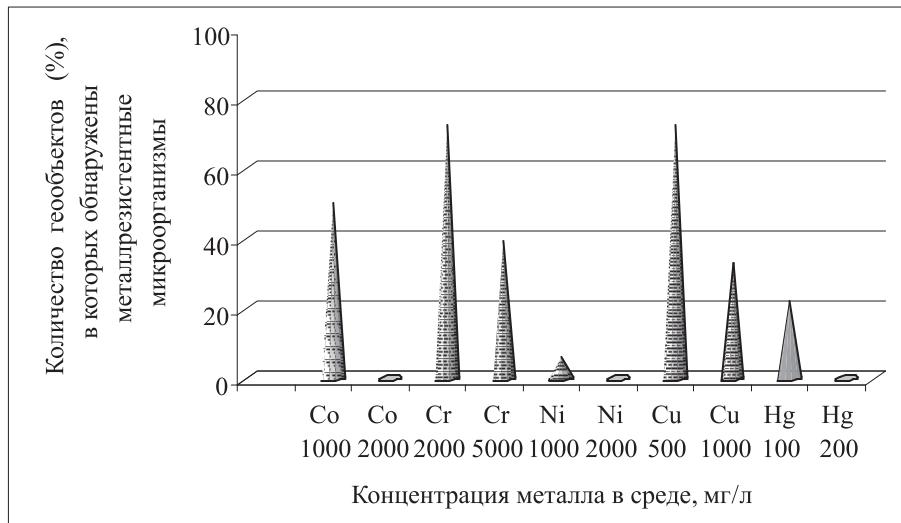


Рис. 1. Количество геообъектов (%) внутреннего островного шельфа Антарктического полуострова, в которых выявлены микроорганизмы, устойчивые к указанным концентрациям токсичных металлов.

антарктических микроорганизмов к хрому, «высокопотенциальному», а потому и очень токсичному металлу-окислителю ($E_{\circ}'=+555$ мВ для реакции восстановления CrO_4^{2-} до $\text{Cr}(\text{OH})_3$), а также к меди, металлу, который совмещает в себе свойства как металла-заместителя, так и металла окислителя ($E_{\circ}'=+440$ мВ для реакции восстановления Cu^{2+} до Cu_2O), что обсуждалось ранее в работе (Таширев А.Б и др., 2008). Наиболее токсичными для почвенных микроорганизмов оказались такие металлы, как Hg^{2+} и Ni^{2+} .

В целом микроорганизмы, суперрезистентные к токсичным металлам, были выявлены на всех исследованных геообъектах Антарктики. Поэтому далее мы определяли количественную характеристику металлрезистентных микроорганизмов в некоторых регионах Антарктики.

Количественный учет металлрезистентных микроорганизмов был проведен в почве четырех геообъектов (острова Darboux, Lippmann, Winter и мыс Rasmussen) методом рассева образцов на агаризованную среду с различными металлами. Наиболее высокое количество металлрезистентных микроорганизмов выявлено на среде с 1000 мг хрома/л – до $5,0 \times 10^5$ клеток/г почвы, и на среде с 250 мг никеля/л – $3,0-5,0 \times 10^5$ клеток/г почвы (табл. 1). При более высоких концентрациях этих металлов в среде количество клеток меньше, хотя на отдельных геообъектах (например, о. Winter) количество устойчивых к хрому микроорганизмов практически не снижалось. Т.о., антарктические почвенные микроорганизмы проявляли значительную резистентность к высоким концентрациям Cr(VI).

Вместе с тем количество микроорганизмов при 50 мг ртути/л среды было в пределах $1,0-3,0 \times 10^2$, а уже при концентрации 100 мг/л ртутьрезистентные микроорганизмы были обнаружены только на о. Lippmann (табл. 1). Для наглядности на рисунке 2 приведено количество металлустойчивых микроорганизмов, которые выявлены в почве о. Darboux.

Таблица 1

**Количество металлрезистентных микроорганизмов,
выявленных в почвенных образцах**

Металл (мг/л среды)	Количество металлрезистентных микроорганизмов в 1 г почвы			
	о. Darboux	мыс Rasmussen	о. Winter	о. Lippmann
Co (500)	$1,3 \times 10^4$	$4,1 \times 10^4$	$2,1 \times 10^2$	$6,0 \times 10^2$
Co (1000)	$2,0 \times 10^3$	$5,0 \times 10^2$	но	но
Ni (250)	$3,5 \times 10^5$	$3,5 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$5,0 \times 10^5$
Ni (500)	но	но	$6,0 \times 10^2$	$5,0 \times 10^3$
Cr (1000)	$3,0 \times 10^4$	$6,0 \times 10^4$	$5,6 \times 10^5$	$4,2 \times 10^4$
Cr (2000)	$2,1 \times 10^3$	$6,0 \times 10^4$	$2,8 \times 10^5$	но
Cu (250)	$2,7 \times 10^4$	$1,6 \times 10^4$	$1,5 \times 10^4$	но
Cu (500)	$9,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10^2$	$9,0 \times 10^2$	но
Hg (50)	$1,0 \times 10^4$	$2,0 \times 10^4$	$2,5 \times 10^3$	$9,0 \times 10^2$
Hg (100)	но	но	но	$2,0 \times 10^2$
Без металлов	$1,0 \times 10^7$	$8,0 \times 10^6$	$9,0 \times 10^6$	$2,0 \times 10^7$

Примечание: «но» – не обнаружены

В этих экспериментах определены критические концентрации токсичных металлов для антарктических микроорганизмов (в агаризованной среде): ртуть – 100 мг/л, медь – 500 мг/л и кобальт – 1000 мг/л (табл. 1). Для хрома и никеля этот показатель не определён, поскольку при использованных концентрациях этих металлов (рис. 2) выросло значительное количество микроорганизмов (от 10^3 до 10^5 клеток/г почвы). Установленные критические концентрации токсичных металлов для антарктических микроорганизмов выше на 1-2 порядка, чем для микрофлоры других регионов, что позволяет считать изолированные микроорганизмы перспективными для использования в биотехнологии очистки от металлов промышленных сточных вод.

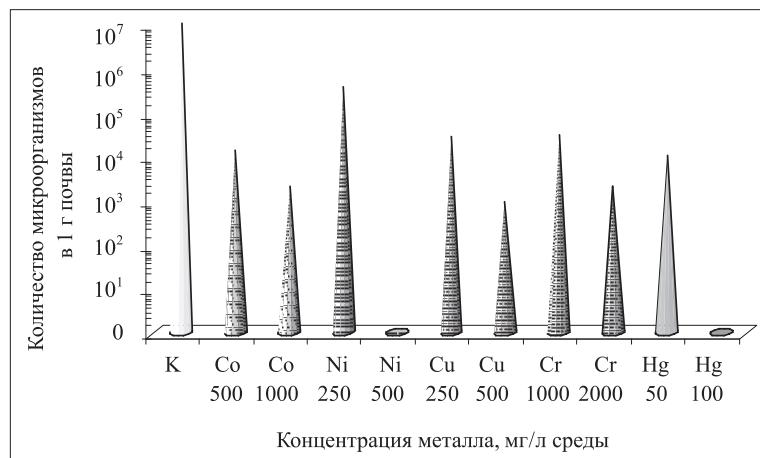


Рис. 2. Количество микроорганизмов, устойчивых к Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Cr(VI) , Hg^{2+} в 1 г почвы острова Darboux (К – количество микроорганизмов на среде без металлов).

Определение частоты встречаемости (коэффициента репрезентативности) металлрезистентных микроорганизмов. Общее количество гетеротрофных микроорганизмов (на среде без металлов) было в пределах $0,8\text{--}2,0 \times 10^7$ клеток/г почвы (табл. 1). Используя этот показатель и количество металлрезистентных антарктических микроорганизмов (табл. 1, мы вычисляли коэффициент репрезентативности (встречаемости) металлрезистентных микроорганизмов – K_p (табл. 2).

Таблица 2

Коэффициент репрезентативности металлрезистентных микроорганизмов на четырех исследованных геообъектах Антарктики

Металл (мг/л среды)	K_p металлрезистентных микроорганизмов, %			
	о. Darboux	мыс Rasmussen	о. Winter	о. Lippmann
Co (500)	0,13	0,51	0,002	0,003
Co (1000)	0,02	0,006	-	-
Ni (250)	3,50	4,37	2,78	2,50
Ni (500)	-	-	0,007	0,025
Cr (1000)	0,30	0,75	6,22	0,21
Cr (2000)	0,021	0,75	3,11	-
Cu (250)	0,270	0,200	0,17	-
Cu (500)	0,009	0,01	0,01	-
Hg (50)	0,10	0,25	0,028	0,005
Hg (100)	-	-	-	0,001

Примечание: «-» – не рассчитывали, т.к. на этих геообъектах не были обнаружены микроорганизмы, резистентные к указанным металлам

Показатель K_p позволяет комплексно охарактеризовать явление металлрезистентности микроорганизмов. Показано, что K_p никельрезистентных микроорганизмов практически одинаков на исследованных геообъектах. Аналогичные показатели получены и для медьрезистентных микроорганизмов, но с более низким значением (табл. 2). Эта закономерность отчетливо видна на рисунке 3. Если сравнивать между собой геообъекты, то самые высокие показатели K_p обнаружены на мысе Rasmussen и на о. Winter, а самые низкие – на о. Lippmann (рис. 3).

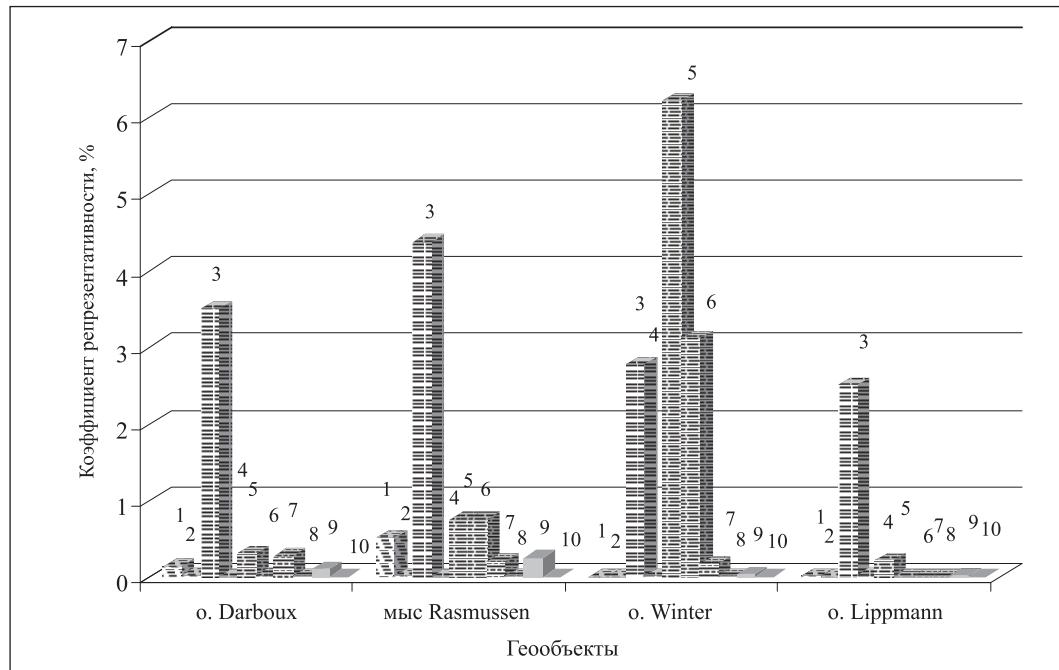


Рис. 3. Коэффициенты репрезентативности (K_p) антарктических металлрезистентных микроорганизмов. Цифры над столбиками означают металл и его концентрацию (мг/л) в среде: 1 – Co (500), 2 – Co (1000), 3 – Ni (250), 4 – Ni (500), 5 – Cr (1000), 6 – Cr (2000), 7 – Cu (250), 8 – Cu (500), 9 – Hg (50), 10 – Hg (100).

В целом коэффициент K_p дает представление об относительной частоте встречаемости металлрезистентных микроорганизмов и позволяет комплексно охарактеризовать геообъекты, т.к. является производным двух характеристик: общего количества микроорганизмов в образце и количества среди них металлрезистентных микроорганизмов.

Таким образом, полученные результаты микробиологического анализа почвенных образцов показали, что в исследованной биогеографической зоне на всех 18 геообъектах островного шельфа обнаружены микроорганизмы, устойчивые к высоким концентрациям токсичных металлов (Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Cr(VI)). На карте-схеме (рис. 4) приведена исследованная нами географическая зона внутреннего островного шельфа Антарктического полуострова (30°Ч60°К), где обозначены изученные геообъекты. Как следует из данной схемы, на всех исследованных геообъектах Антарктики (15 островов и 3 мыса Антарктического полуострова) были выявлены металлрезистентные микроорганизмы.

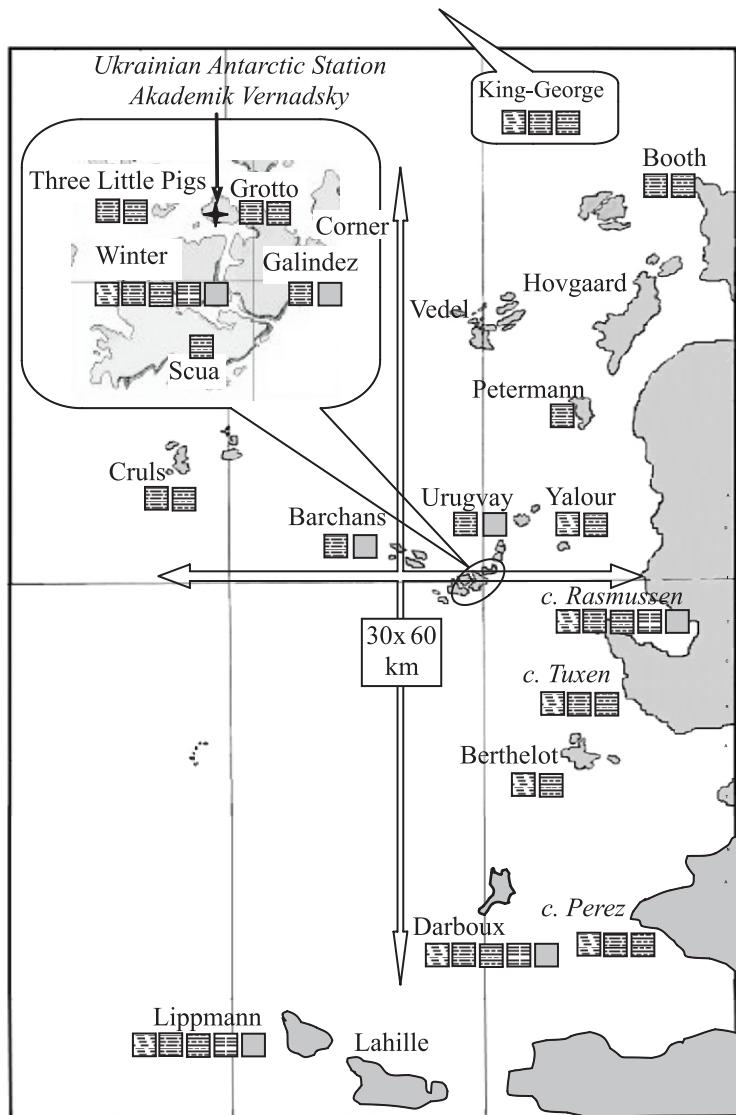


Рисунок 4. Карта - схема исследованной зоны внутреннего шельфа Антарктического полуострова. Заштрихованные квадраты под географическим названием означают, что в почве на данном объекте выявлены резистентные к указанному металлу микроорганизмы:

- - кобальт;
- - хром;
- - медь;
- - никель;
- - ртуть.

Полирезистентность антарктических микроорганизмов. В результате проведенного микробиологического анализа почвенных образцов, отобранных на 18 геообъектах внутреннего шельфа Антарктического полуострова, нами создана коллекция металлрезистентных микроорганизмов (50 штаммов). У 21 штамма, произвольно выбранного из этой коллекции, была исследована способность расти в присутствии разных токсичных металлов (табл. 3). Полирезистентность микроорганизмов определяли путем высея штаммов на агаризованные среды, каждая из которых содержала по одному токсичному металлу в такой концентрации (мг/л): Hg^{2+} – 50; Cu^{2+} – 250; Ni^{2+} – 250, Co^{2+} – 500 и $Cr(VI)$ – 1000. Показано, что 5 штаммов проявляют устойчивость ко всем пяти металлам, к четырем металлам проявляют устойчивость 10 штаммов и к трем металлам – 5 штаммов (один штамм не проявил полирезистентности, то есть был устойчив только к одному металлу) (рис. 5).

Обращает на себя внимание то, что все исследуемые микроорганизмы, выделенные на среде со ртутью, оказались устойчивыми также и к меди. С другой стороны – все медьрезистентные микроорганизмы были устойчивы ко ртути. Эти данные позволяют предположить, что, возможно, выделенные штаммы имеют схожие механизмы устойчивости к Cu^{2+} и Hg^{2+} .

Таблица 3

**Полирезистентность к токсичным металлам
изолированных антарктических почвенных микроорганизмов**

№ штамма (концентрация металла, при которой был выделен микроорганизм, мг/л)	Резистентность (R) и чувствительность (S) микроорганизмов при наличии в среде металла (мг/л)				
	Ni^{2+} (250)	Cu^{2+} (250)	Cr(IV) (1000)	Co^{2+} (500)	Hg^{2+} (50)
Резистентность к 5-ти металлам					
461($\text{Ni}^{R\ 500}$); 365($\text{Cu}^{R\ 250}$); 331($\text{Cu}^{R\ 250}$); 3216($\text{Co}^{R\ 500}$); 151($\text{Hg}^{R\ 50}$)	R	R	R	R	R
Резистентность к 4-м металлам					
3215($\text{Ni}^{R\ 500}$)	R	R	R	R	S
121($\text{Cu}^{R\ 250}$); 141($\text{Hg}^{R\ 50}$); 391($\text{Hg}^{R\ 50}$); 381($\text{Hg}^{R\ 50}$); 411($\text{Hg}^{R\ 100}$)	R	R	R	S	R
341($\text{Cu}^{R\ 250}$); 3208($\text{Co}^{R\ 500}$); 3218($\text{Hg}^{R\ 100}$); 3217($\text{Hg}^{R\ 100}$)	R	R	S	R	R
Резистентность к 3-м металлам					
306($\text{Cr}^{R\ 1000}$)	R	S	R	S	R
542($\text{Ni}^{R\ 250}$); 324($\text{Cr}^{R\ 1000}$); 432($\text{Cr}^{R\ 1000}$); 3223($\text{Cr}^{R\ 1000}$)	R	R	R	S	S

Примечание: R – наличие роста, S – отсутствие роста.

Следует отметить, что и для штаммов микроорганизмов, изолированных из образцов полигона о. Галиндэз (сезонные экспедиции 2001–2008 гг.), также присуща полирезистентность к металлам (Таширев А. Б. и др., 2007).

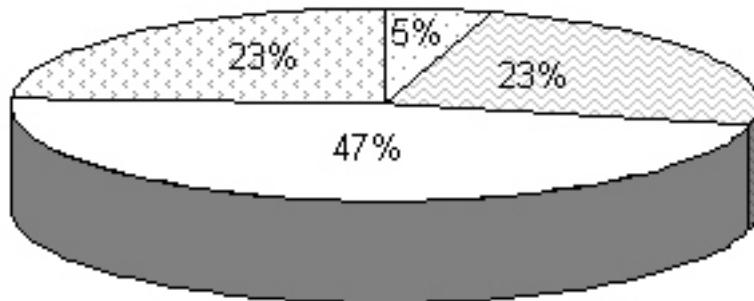


Рисунок 5. Доля штаммов, характеризующихся полирезистентностью к металлам: 47% исследованных микроорганизмов устойчивы к пяти металлам, по 23% – к четырём и трём металлам (см. табл. 3), 5% – к одному.

Таширев А.Б.: РАСПРОСТРАНЕНИЕ МЕТАЛЛРЕЗИСТЕНТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ОСТРОВАХ...

Таким образом, нами впервые показано, что устойчивость микроорганизмов к сверхвысоким концентрациям токсичных металлов является широко распространенным явлением в почвах внутреннего островного шельфа Западной Антарктики. Это заключение основано на: а) суперрезистентности и полирезистентности антарктических микроорганизмов к токсичным металлам (Hg^{2+} , Cu^{2+} , $Cr(VI)$, Ni^{2+} , Co^{2+}); б) высокой частоте встречаемости и значительном количестве металлрезистентных микроорганизмов в антарктической почве; в) распространении устойчивых к токсичным металлам микроорганизмов во всех исследованных почвах в зоне внутреннего островного шельфа Антарктического полуострова протяженностью 30460 км.

Литература

1. Таширев А.Б., Галинкер Э.В., Андреюк Е.И. Термодинамическое прогнозирование редокс-взаимодействия микроорганизмов с металлами-окислителями (Hg^{2+} , CrO_4^{2-} и Cu^{2+}) // Доповіді Національної Академії наук України. – 2008. – № 4. – С. 166–172.
2. Таширев А.Б., Матвеєва Н.А., Романовська В.А. и др. Полирезистентность и сверхустойчивость к тяжёлым металлам антарктических микроорганизмов // Доповіді Національної Академії наук України. – 2007. № 11. – С. 70–75.
3. De Souza M.J., Nair S., Loka Bharathi P.A. et al. Metal and antibiotic-resistance in psychrotrophic bacteria from Antarctic Marine waters // Ecotoxicology. – 2006. – 15, № 4. – P. 379–384.