

МИКРОБИОЛОГИЯ

А. П. Петросян и Е. Н. Аввакумова

О цитологических и цитохимических изменениях
 клубеньковых бактерий в клубеньках

(Представлено академиком АН Армянской ССР В. О. Гулканяном 27/II 1964)

Симбиотическая азотфиксация в клубеньках бобового растения органически связана с состоянием клубеньковых бактерий в клубеньке, с обменом веществ, который в них происходит, а также с биохимическими процессами в бобовом растении-хозяине.

По цитологии и цитохимии клубеньковых бактерий в литературе данных мало. Так, имеются работы (1-5), посвященные ядерному веществу у клубеньковых бактерий, сообщается о некоторых различиях в строении и биохимии бактериоидных и палочковидных клеток (6-8), а также о строении бактериоидных клеток в активных и неактивных клубеньках (9). Некоторыми авторами (5, 10, 11) были сделаны попытки связать строение клубеньковых бактерий в клубеньке с их способностью к азотфиксации. Кроме того, замечено (12, 13), что наиболее интенсивная азотфиксация в фазы бутонизации и цветения связана с наличием наибольшего количества бактериоидов в эти периоды.

Изучение строения и обмена веществ клубеньковых бактерий в клубеньках бобовых растений, особенно в различные фазы развития растения, может дать возможность установить связь между состоянием клубеньковых бактерий в клубеньке и интенсивностью азотфиксации и попытаться выяснить некоторые вопросы, связанные с природой симбиотической азотфиксации.

В настоящем сообщении излагаются результаты цитологического и цитохимического анализа клубеньковых бактерий в клубеньках в связи с фазами развития растения-хозяина.

Исследовались клубеньковые бактерии в клубеньках люцерны и фасоли, выращенных в вегетационных сосудах и в полевых условиях. Анализы проводились 1 раз в течение 10 дней в период всего вегетационного сезона. Делались отпечатки срезов клубеньков (с верхней, средней и нижней частей клубенька) и производились соответствующие анализы и окраски. Окраска ядерных элементов по Романовскому—Гимза и по Фельгену, волютин—по Мейеру, липопротендов—по Имшенецкому, оболочки—по Гутштейну (14), реакция Шифф-йодная кислота

(ШИК) на наличие полисахаридов, метакроматическое окрашивание толуидиновым синим или тионином мукополисахаридов, йодная реакция на гликоген, окраска липидов суданом черным (15).

В результате проведенных в 1961—1962 гг. исследований были выяснены некоторые изменения в цитологии и цитохимии клубеньковых бактерий в клубеньках люцерны и фасоли.

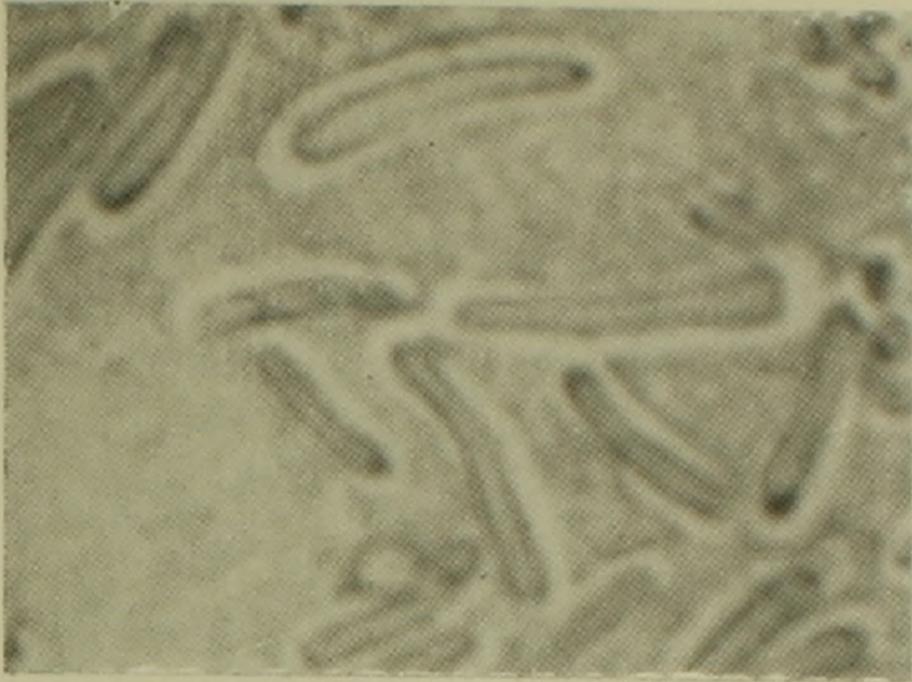
В клубеньке люцерны клубеньковые бактерии неоднородны. В верхней части клубенька в основном мелкие палочковидные («нормальные») клетки, в середине клубенька — крупные бактероидные клетки и редко мелкие палочковидные; в основании клубенька также бактероидные клетки, но более старые раздутые и разрушающиеся к концу вегетации.

Палочковидные и бактероидные клетки в клубеньках по строению сходные: они имеют оболочку и капсулу (фиг. 1), нуклеонды (фиг. 2), волютиновые зерна (фиг. 3), липопротеиновые тельца. Количество же тех или иных включений неодинаковое у палочковидных «нормальных» и бактероидных клеток.

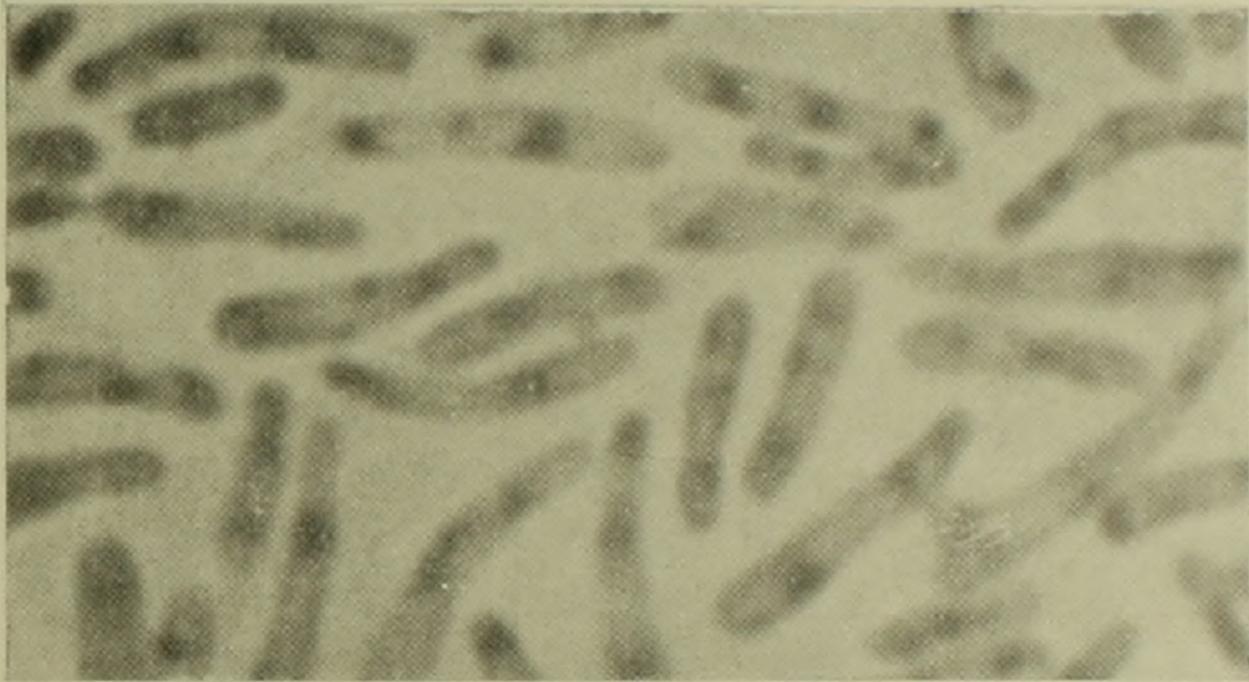
На фиг. 1—3 приведены микрофотографии клубеньковых бактерий люцерны (ув. 4000х), на которых видны некоторые цитологические особенности.

По мере развития растения-хозяина происходят изменения и внутри бактериальных клеток клубенька. Нуклеонды в клетках бактерий наблюдались во все фазы развития растения, но после цветения, к концу вегетации, в некоторых клетках отсутствовали и в старых бактероидных клетках плохо окрашивались. Количество гранул волютина возрастает до фазы цветения, затем постепенно уменьшается. Меняется также и соотношение рибонуклеиновой кислоты (РНК) и полифосфатов волютина, о чем говорит метакроматическое окрашивание гранул. Наибольшая метакромазия наблюдалась в период цветения, что обозначает большее содержание полифосфатов и меньшее РНК в волютиновых зернах в это время. Количество же липопротеиновых телец наибольшее в ранние фазы развития растения и постепенно снижается к концу вегетации.

В 1962 г. начаты также исследования по цитохимии углеводов клубеньковых бактерий в клубеньках. Клубеньковые бактерии в клубеньках дали положительную реакцию ШИК, в розовый цвет окрасились оболочка, иногда капсула и гранулы, что говорит о наличии углеводов соединений в этих частях бактериальной клетки. После экстракции липидов реакция ШИК оказалась слабее, а в некоторых случаях совсем отсутствовала; поэтому можно считать, что положительная реакция ШИК частично проходила за счет липидов. Наличие липидов подтверждается окраской их суданом черным. Метакроматическое окрашивание тионином или толуидиновым синим дает возможность предположить наличие кислых мукополисахаридов, которые были обнаружены только в некоторых клетках клубеньковых бактерий и не во все периоды вегетации растения-хозяина. Метакромазия наблюдалась чаще всего в капсулах клеток верхней части клубенька. После сульфатации также наблюд



Фиг. 1. Оболочка и капсула у нормальных и бактериоидных клеток (окраска по Гутштейну).



Фиг. 2. Нуклеонды (окраска по Романовскому—Гимза).



Фиг. 3. Волютин (окраска по Мейру, после растворения волютина в K_2CO_3).

лось метакроматическое окрашивание капсулы или оболочки у части клеток, что может свидетельствовать о наличии нейтральных мукополисахаридов у клубеньковых бактерий. Гликоген (йодная реакция) также был обнаружен у клубеньковых бактерий, но не во всех клетках.

«Нормальные» палочковидные клетки и бактериоидные несколько различались между собой по интенсивности окраски полисахаридов, по наличию их в тех или иных частях бактериальной клетки, по составу углеводов, но эти различия были тем меньше заметны, чем моложе были бактериоиды.

Так, кислые и нейтральные мукополисахариды чаще встречались в палочковидных клетках, чем в бактериоидных.

Нормальные клетки более интенсивно окрашивались при реакции ШИК. Гликоген накапливался в основном в старых бактериоидах к концу вегетации, хотя и палочковидные, мелкие клетки иногда также содержали гликоген.

Изменения углеводов в клубеньковых бактериях по фазам развития растения-хозяина происходят непрерывно. Наибольшее количество углеводов наблюдалось в фазах бутонизации и цветения. Количество же гранул гликогена возрастало по мере старения растения, но в фазе цветения, когда происходила наиболее интенсивная азотфиксация, гранулы из клеток бактерий исчезли.

Изменения в цитологии и цитохимии у клубеньковых бактерий фасоли в общих чертах сходны с изменениями у люцерны, однако наблюдаются и некоторые различия между ними. Углеводы (реакция ШИК) у клубеньковых бактерий фасоли чаще обнаруживались в оболочке и в капсуле, в то время как у люцерны капсула бактерий окрашивалась редко. Метахромазия у клубеньковых бактерий фасоли также наблюдалась чаще, чем у клубеньковых бактерий люцерны.

Клубеньковые бактерии в клубеньках фасоли содержали также и большее количество липидов, особенно в ранние периоды развития растения.

На основании проведенных на данном этапе исследований можно сделать некоторые предварительные выводы.

1. Бактериоидные формы клубеньковых бактерий люцерны и фасоли содержат такие же внутриклеточные включения, как и палочковидные, «нормальные» клетки, количество которых меняется в связи с фазами развития растения-хозяина.

2. Клубеньковые бактерии в клубеньках люцерны и фасоли из углеводов в своем составе имеют: гликоген и мукополисахариды (кислые и нейтральные).

3. Состав и соотношение углеводов у клубеньковых бактерий меняется от верхушки к основанию клубенька, у «нормальных и бактериоидных» клеток, а также по фазам развития растения.

4. Биохимические изменения, происходящие в бактериоидных клетках, в связи с фазами развития растений, дают возможность предполо-

жить, что молодые бактериоиды должны быть тесно связаны с процессами симбиотической азотфиксации.

Институт микробиологии
Академии наук Армянской ССР

Լ. Մ. ՊԵՏՐՈՍՅԱՆ ԵՎ Ե. Ն. ԱՎՎԱԿՈՒՄՈՎԱ

Պալարաբակտերիաների բջջաբանական և բջջաբիմիական փոփոխությունները պալարիկներում

Մթնոլորտի գազային ազոտի ֆիքսման ինսունսիվությունը պալարաբակտերիաների և թիթեոնածաղկավոր բույսերի համակեցության պայմաններում, սերտ կապված է պալարաբակտերիաների կենսունակությունից, նրանց նյութափոխանակությունից և թիթեոնածաղկավոր բույսերի մեջ տեղի ունեցող բիոբիմիական պրոցեսների հետ:

Պալարաբակտերիաների բջջաբանական և բջջաբիմիական ուսումնասիրություններն առևտարակ թիչ են կատարված, եղածն էլ հիմնականում վերաբերվում է պալարաբակտերիաների մարտր կուլտուրաներին:

Պալարաբակտերիաների կառուցվածքի և նյութափոխանակության ուսումնասիրությունները թիթեոնածաղկավոր բույսերի պալարիկներում, կապված բույսերի զարգացման փուլերի հետ, գուցե նարավորություն տա պարզելու մթնոլորտի ազոտի ֆիքսման էության որոշ հարցերը:

Այդ նպատակով ուսումնասիրվել է առվույտի և լորու պալարաբակտերիաների բջջաբանական և բջջաբիմիական փոփոխությունները վեգետացիայի ընթացքում, 10 օրը մեկ անգամ, պալարիկներից պատրաստված են կտրվածքներ վերին երիտասարդ, միջին ամենաակտիվ և ներքին, ամենատարար ծերացած մասերից:

1961—62 թթ. կատարված նետազոտություններից կարելի է անել հետևյալ նախնական կարակացությունները՝

1. Առվույտի և լորու պալարաբակտերիաների բակտերիոիդ ձևերի սնորմալս, ձողակ բջիջների ներքին կառուցվածքում առանձին տարրերություն չի հայտնաբերվել:

2. Նշված պալարաբակտերիաները պալարիկներում, իրենց կառուցվածքում ունենում են ածխաջրատներից գլիկոգեն և մուկոսալիսախարիդներ (թթու և շեգոք):

3. Պալարաբակտերիաների բակտերիոիդ ձևերի և ձողածն բջիջների շաքարների կազմը հարաբերությունը փոփոխվում է ըստ պալարիկների տարբեր մասերի (ծայրից դեպի հիմքը) և այդ բույսերի զարգացման փուլերի:

4. Բակտերիոիդ բջիջներում տեղի ունեցող բիոբիմիական փոփոխությունները, կապված բույսերի զարգացման փուլերի հետ, թույլ են տալիս ենթադրելու, որ պալարաբակտերիաների երիտասարդ բակտերիոիդ ձևերը սկսած է սերտ կապված լինելին մթնոլորտի ազոտի յուրաքանչյուր մասն պրոցեսի հետ:

ЛИТЕРАТУРА — ԿՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ Миловидов, 1935, Arch. Mikrobiol., 6, 475. ² Байлор, Анплеман, Сёрс, Кларк J. Bact., 50, 249, 1945. ³ Voets, Mededel Landbouwhog en Opzoekingsstas, 14, 26, 1949. ⁴ Бизет, J. gen Microbiol., 7, 233, 1952. ⁵ Г. Я. Чижик, Микробиология т. XXVIII, в. 1, 1959. ⁶ З. М. Яковлева, Изв. АН СССР, серия биологич. № 2, 1959. ⁷ З. М. Яковлева, Изв. АН СССР, серия биологич. № 4, 1959. ⁸ Голэмбевская Вкр. Z. badan. nad. roslinami postewnymi. Warszawa, 1960. ⁹ Берджерсен, J. Gen. Microbiol., 13, № 3, 1955. ¹⁰ М. В. Федоров, С. В. Егорова, Изв. Тимирязевской академии, № 2, 1957. ¹¹ З. Г. Разумовская, Фань-юн-лю, Тр. Ин-та. микробиологии АН СССР, вып. XI, 1961. ¹² М. Н. Корсакова, Г. В. Лопатина, Микробиология, т. 1, вып. 2, 1934. ¹³ А. П. Петросян, Экологические особенности клубеньковых бактерий Сельхозгиз, Ереван, 1959. ¹⁴ М. А. Пешков, Цитология бактерий. М., 1955. ¹⁵ Э. Пешков, Гистохимия, Изд. иностр. лит., 1962.