ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱՅԻ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ
ДОКЛАДЫ АКАДЕМИИ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР
LVIII 1974 3

МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 576.851

Э. К. Африкян

О природе морфологической инверсии Bac. mycoides по данным сканирующей электронной микроскопии

(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР С. А. Мирзояном 13/XI 1973)

Спорообразующие бактерии Bac. mycoides Flügge широко распространены в природе и служили объектом многочисленных исследований по эколого-географической изменчивости микроорганизмов ([1–3]). Культуры данного вида характеризуются образованием на твердых питательных средах своеобразных колоний с закручивающимися лево- и правозавитыми тяжами. Обычно в природе обнаруживаются левозавитые формы, однако в определенных экологических условиях выявляется распространение инверсивных, правозавитых форм ([3–5]).

Причина морфологической инверсии, равно как и вращения бактериальных тяжей Bac. mycoides, остается невыясненной. Ряд авторов использовал это явление для исследований в области асимметрии протоплазмы ([6–7]). Среди особенностей этих форм, определяющих их морфо-физиологическую специфичность, вызвало интерес установление Льюисом ([8]) сахаролитической, инвертазной активности, свойственной левозавитым и отсутствовавшей у правозавитых форм Bac. mycoides. Однако эти данные не были подтверждены исследованиями других авторов на большом числе культур данного вида ([3–9]).

В настоящем сообщении излагаются результаты изучения лево- и правозавитых форм Bac. mycoides в сканирующем микроскопе с использованием оригинальной методики.

Объектами исследований служили 2 культуры левозавитых и 2 культуры правозавитых форм Bac. mycoides, выделенных из почв одной и той же местности. Культуры бактерий были очищены многократными высевами, а ориентация бактериальных тяжей установлена изучением развития колоний на МПА с содержанием 3% агара.

Подготовка исследуемого материала осуществлялась следующим образом. На поверхность агаризованной среды (МПА с 0,2% глюкозы) в чашке Петри располагалась полоска стерильной однослойной целлюлозной пленки, используемой в лабораторной практике для работ по

диализу. Пленка предварительно стерилизовалась и хранилась в чашках Петри между двумя слоями увлажненной фильтровальной бумаги. После слабого подсушивания чашек с питательной средой и разложенных на ней пленок на поверхность последних вносилась по типу гигантских колоний культура бактерий, и чашки инкубировались при 30° в термостате. По ходу инкубации рост культуры на пленке изучался в световом микроскопе при увеличении 600×.

Для исследований в сканирующем микроскопе выросшие на пленке колонии бактерий фиксировались в парах формальдегида в течение 24 часов путем размещения открытых чашек Петри в герметической камере, на дно которой вносился раствор формалина. Затем пленка осторожно снималась с поверхности агара и располагалась на объектодержателе сканирующего микроскопа, лишние части пленки обрезались. Напыление бактериальной колонии производилось смесью золото—паладий (60 : 40) на толщину 15 *нм* при вращении 15 об./мин. в вакуумиспарительном аппарате Denton DV-502. Препарат исследовался в сканирующем электронном микроскопе Stereoscan (Mark 2A, Cambridge Scientific Instruments Co) при угле потока электронов к поверхности обследуемого образца 45°, напряжении 20*кв* и конечной апертуре 200*мк*.

Достоинство описанного метода заключается в том, что он позволяет исследовать бактерии без нарушения естественного расположения их клеток в колонии и ее структуре. Все другие методы, использованные многими авторами для изучения микроорганизмов в сканирующем электронном микроскопе, не обеспечивают этого ([10-12]). В процессе подготовки исследуемого материала, при фиксации или напылении клеток нарушается структура колонии и расположение клеток в ней.

На рис. 1 показаны фотографии колоний различных форм Bac. mycoides на разных стадиях их развития при исследовании в сканирующем микроскопе. Снимки сделаны при разных увеличениях, чтобы по-возможности более ясно представить изучаемые морфологические структуры.

Как видно из фотоснимков, бактериальные тяжи Bac. mycoides состоят из цепочек клеток, прилегающих друг к другу (*A*, *C*). Наиболее характерным является то, что составляющие подобный тяж цепочки бактериальных клеток имеют неодинаковую длину. Это обусловлено тем, что каждый тяж начинает развиваться вначале с одной цепочки бактерий, за которой следует вторая, третья и т. д. В результате наружная цепочка клеток—наиболее длинная—продолжает развиваться, тогда как прилегающие к ней другие, которые плотно окружаются остальными цепочками бактерий, растут медленнее или прекращают развитие. Вследствие этого явления, бактериальный тяж закручивается в зависимости от того—в какой стороне имеется замедленное развитие расположенных рядом цепочек бактерий.

На рис. 1,*В* ясно видны концевые клетки двух цепочек бактерий прекративших свое размножение. На рис. 1,*Д* видны отделившиеся

клетки, что было достигнуто путем направления сильного потока электронов на определенное место, вызвавшего вздутие пленки и обрыв клеток бактерий.

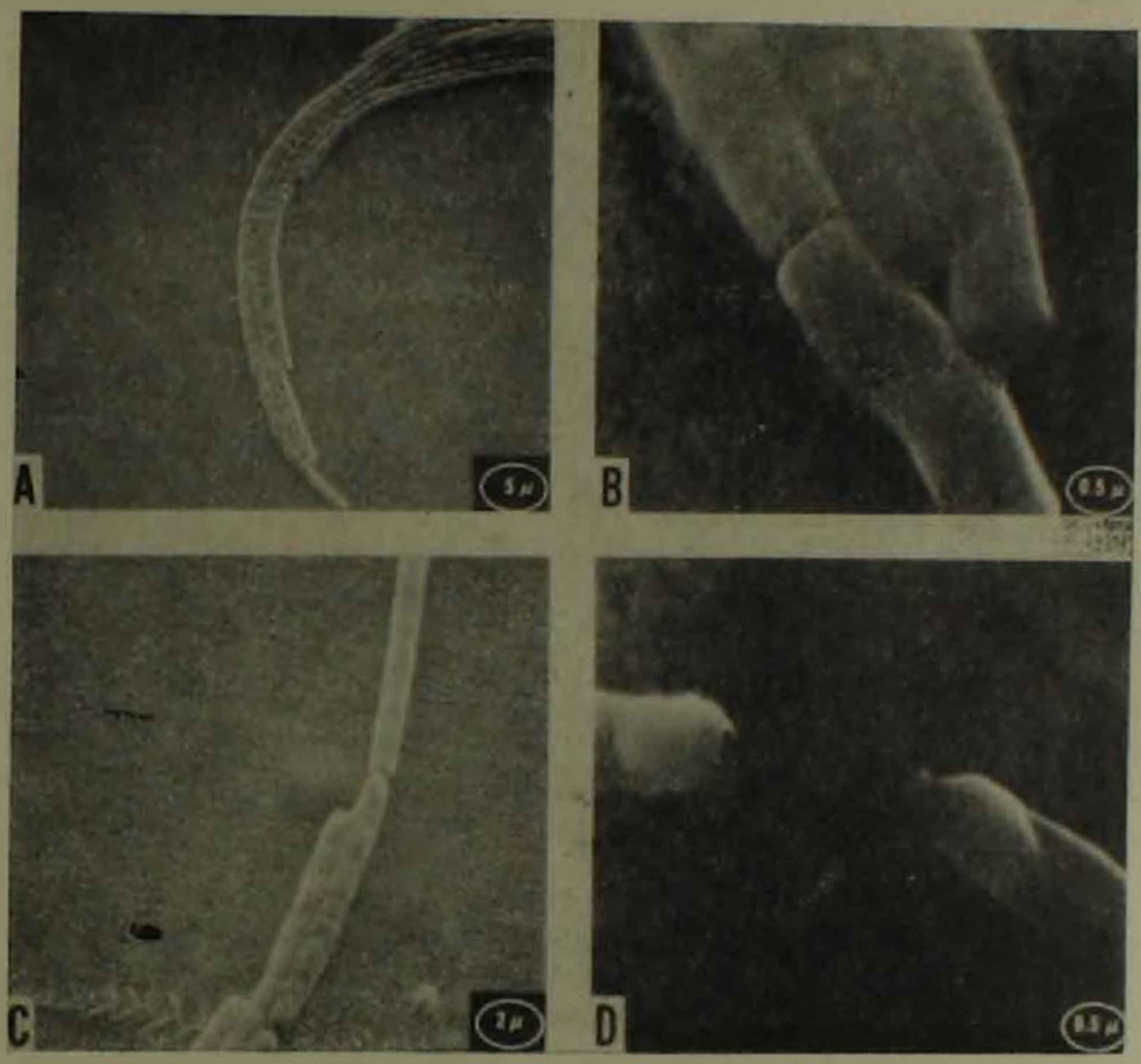

Рис. 1. Бактериальные тяжи и клетки Bac. mycoides в сканирующем электронном микроскопе. Объяснения в тексте

По изложенным данным, можно заключить, что причиной вращения бактериальных тяжей в колониях Bac. mycoides является неравномерное деление клеток вдоль отдельных цепочек бактерий. Каждый бактериальный тяж состоит из плотно расположенных друг к другу цепочек клеток и, если замедление роста и размножения имеет место в расположенной слева цепочке клеток, тяж начинает загибаться и вращаться влево и, наоборот,—когда это имеет место в цепочке клеток справа, бактериальный тяж принимает правозавитую форму.

Неравномерность развития цепочек бактерий внутри каждого тяжа определяется тем, что они начинают развиваться разновременно: вначале развивается одна цепочка, затем вторая, третья и так далее. Порядок развития цепочек бактерий, равно как и специфическая особенность их развития, выражающаяся в том, что клетки начинают делиться без завершения процесса их разделения друг от друга, состав-

ляют наследственную характеристику лево- и правозавитых форм Bac. mycoides.

Институт микробиологии
Академии наук Армянской ССР

Է. Գ. ԱՅՐԻՅԱՆ

Bac. mycoides բակտերիաների մորֆոլոգիական ինվերսիայի բնույթի ուսումնասիրությունը սկանային էլեկտրոնային միկրոսկոպի օգնությամբ

Աշխատված է սկանային էլեկտրոնային միկրոսկոպի օգնությամբ միկրոօրգանիզմների ուսումնասիրության նոր եղանակ։ Այդ եղանակով Bac. mycoides *բակտերիաների աջապտույտ և ձախապտույտ ֆ կուլտուրաների հետազոտությունները ցույց են տվել, որ գաղութներում բակտերալ թելիկների տարբեր կողմեր պտտվելը պայմանավորված է այդ թելիկները կազմող բջիջների ոչ հավասարաչափ բազմացմամբ։*

ЛИТЕРАТУРА — ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

[1] *Е. Н. Мишустин*, Эколого-географическая изменчивость почвенных бактерий. Изд. АН СССР, 1947. [2] *Е. Н. Мишустин*, Микробиология, в 1, 1950. [3] *Э. К. Африкян*, ДАН Арм. ССР, 20, № 5, 1955. [4] *О. К. Настюкова*, ДАН СССР, 59, № 9, 1947. [5] *Э. К. Африкян*, Аэробные спорообразующие бактерии и их энтомопатогенные свойства. Авт. докт. дисс., М., 1970. [6] *Г. Ф. Гаузе*, Асимметрия протоплазмы, Изд. АН СССР, 1940. [7] *В. В. Алпатов* и *О. К. Настюкова*, ДАН СССР, 54, 541, 1946. [8] I. M. Lewis, J. Bacteriol., 25, 365, 1933. [9] *О. К. Настюкова и В. В. Алпатов*, Микробиология, 17, 42, 1948. [10] *S. T. Williams*, *J. Gen. Microbiol.*, 62, 67, 1970. [11] *G. St. Julian*, *L. A. Bulla*, *C. W. Hesseltine*, Can. J. Microbiol., 17, 373, 1971. [12] *D. B. Drucker*, *D. K. Whittaker*, J. Bacteriol., 108, 515, 1971.