

Антс-Пээн СИЛЬВЕРЕ, Эльве ТИКК

## МЕМБРАННЫЕ МИКРОТЕЛЬЦА И ДЕГЕНЕРАЦИЯ МИКРОБНОЙ КЛЕТКИ

Микроорганизмы изучаются, как правило, в специфических лабораторных условиях, обеспечивающих достаточную однородность популяции и процессов их жизнедеятельности. На этом основываются в подавляющем большинстве и наши знания о цитологии микробной клетки. Такой подход вполне правомерен при изучении микроорганизмов на молекулярно-биологическом уровне, т. е. при выяснении композиций и структуры мембран, клеточной стенки, рибосом и прочего, а при изучении общего строения микробной клетки различия между естественными условиями обитания популяции конкретного вида микроорганизма и условиями лабораторной культуры могут иметь существенное значение. Они, очевидно, тем более ощутимы, чем специфичнее естественные условия обитания популяции изучаемого микроорганизма. Особенно это касается эндобионтных микробных популяций, связанных с высшими организмами, — в наших исследованиях с тканями растений (Сильвере, Тикк, 1979а) и насекомых — подчас некультивируемых в лабораторных условиях и доступных изучению практически лишь цитологическими методами. Обнаружение различных мембранных структур при электронно-микроскопическом (цитологическом) изучении взаимосвязей про- и эукариотных клеток вызвало ряд вопросов о природе и возникновении их в таких популяциях. Поскольку подобные структуры выявлены и в стареющих культурах микроорганизмов, нами проведено изучение естественной дегенерации микробных клеток и морфологических трансформаций, связанных с этим процессом.

### Материал и методика

Объектом исследования выбрана бактерия *Erwinia herbicola* L., обладающая способностью формировать консорции (или зооглеи, симпласты и пр.), т. е. скопления микробных клеток под оболочкой-капсулой, происходящей от слизистой капсулы, «клетки-основателя» консорция, — специфические гомологичные ассоциации, существующие в популяции параллельно с бескапсульными клетками микроорганизма. В то же время рассматриваемую бактерию часто считают эпифитом — настолько регулярна и тесна ее связь с растениями, вплоть до того, что она может проникнуть в ткани корней растений (Сильвере, Тикк, 1979б). Таким образом, *E. herbicola* в качестве модели позволяет изучить интересующие нас вопросы в достаточно широком диапазоне условий существования микроорганизма.

Использованные в исследовании культуры микроорганизма получены в основном в виде 11 изолятов у различных сортов и партий семян рапса в 1975—1978 гг. Пять изолятов (Е-1, Е-4, Е-5, Н-2, Н-3) получены у семян озимого рапса сорта 'Регина', три изолята (А-1, А-2, А-6) — у проростковых корней того же сорта. Изолят В-1 изолирован из воды, в которой в стерильных условиях проращивали семена сорта

'Регина', В-2 — из воды, в которой проращивали семена сорта 'Оро'. С семян ярового рапса получен изолят Е-3. Общая методика изолирования описана ранее (Сильвере, Тикк, 1979б). Изучаемые микроорганизмы выращивали на мясо-пептонном бульоне и соответствующем агаре, а также на среде Мурасиге и Скугу, предназначенной для культуры тканей растений.

Изоляты для электронно-микроскопического анализа брали из культур различного возраста — от 6 ч до 15 сут. Материал брали с твердых агаровых сред в виде кусочков колоний, предварительно покрытых для фиксации расплавленным 1%-ным агаром, после затвердения которого колонию разрезали на кубики объемом около 1 мм<sup>3</sup>. Из жидкой питательной среды микроорганизмы осаждали центрифугированием, на осадок капали расплавленный агар и после его затвердения полученный «блок» разрезали на подходящие для фиксации кусочки. Агаровые кубики с микроорганизмами фиксировали 6%-ным раствором глютарового альдегида в фосфатном буфере в течение 2 ч при комнатной температуре и рН 7,0—7,2, промывали чистым буфером в течение 12—20 ч, фиксировали 2 ч в 1%-ном растворе четырехокси осмия на фосфатном буфере, обезживали в градиенте этанола, завершающемся 100%-ным этанолом и 100%-ным ацетоном. «Блоки» пропитывали заливочным материалом «Эпон 812» при температурах 35 и 60° С, при последней температуре проходила обычно и полимеризация «Эпона». «Блоки» заливали в оригинальные плоские формы, что облегчало ориентировку в залитом в «блок» материале и выбор места для его заточки.

Срезы, как полутолстые (0,5 мкм), так и ультратонкие, изготавливали на ультрамикротоме «Тесла БС 490А». Полутолстые срезы окрашивали на покровных стеклах методом тройной окраски (Сильвере и др., 1978), ультратонкие срезы контрастировали в течение 15 мин подогретым раствором уранилацетата и в течение 30 мин ацетатом свинца по Рейнольдсу. Препараты просматривали под электронным микроскопом «Тесла БС-613».

### Результаты исследования

Выявлено, что молодые популяции по составу и состоянию клеток весьма гомогенны. Они содержат практически однородные типичные грам-отрицательные короткие палочковидные клетки с гомогенной мелкозернистой цитоплазмой и тонкофибрилярным слабо обособленным нуклеоидом. Среди таких клеток встречаются отдельные более крупные клетки с более или менее развитой экстраполисахаридной слизистой капсулой и их скопления в виде окруженных общей капсулой цепочек или «штабелей» клеток — исходных форм развития консорциев (рис. 1).

При продолжении культивирования в популяции микроорганизмов начинается морфологическая дифференциация-дегенерация отдельных клеток, в результате чего в популяции увеличивается разнообразие форм и состояний микроорганизмов и появляются мембранные микротельца (рис. 2). Клетки бактерий в первую очередь теряют ригидность клеточной стенки — появляются заметно увеличенные клетки неправильной формы с относительно неплотной цитоплазмой и конденсированным нуклеоидом в виде более или менее плотных тяжей, расходящихся в концах на тонкие фибриллы. Часть этих клеток подвергается, очевидно, автолизу, в результате которого возникают пустые клетки, содержащие остатки цитоплазмы лишь на поверхности плазматической мембраны, а также клетки с разрывами стенки и плазматической мембраны. В ходе старения популяции число дегенеративно-измененных и автолизир-

рованных клеток возрастает и вместе с этим повышается встречаемость мембранных микротелец. Для описания выявленного многообразия последних в проанализированном материале мы выделили три основные группы микротелец по их локализации и связи с микробными клетками:

- 1) микротельца, образующиеся при разрывах плазматической мембраны, клеточной стенки или их обеих (рис. 3—5);
- 2) микротельца, образующиеся при инвагинациях клеточной стенки и плазматической мембраны (рис. 9—13, 15);
- 3) внутриклеточные микротельца, выявляющиеся в виде окруженных мембраной участков цитоплазмы или иного рода включений (рис. 16—18).

**Микротельца первой группы** — это в большинстве закрытые мембранные профили, которые по величине можно подразделить на две подгруппы: диаметром от 25 до 60 *нм* и от 100 до 160 *нм*. Микротельца промежуточных размеров (60—100 *нм*) в нашем материале встречаются крайне редко. По внутреннему строению микротельца этой группы обнаруживают заметное разнообразие — в первую очередь по строению окружающей микротельце оболочки, которая может состоять из одной, двух или трех мембран, в том числе и клеточной стенки бактерии. Расстояние между отдельными мембранами, как и содержимое микротелец, бывает разным. Наряду с микротельцами с «пустыми» пузырьками встречаются тельца со сплошным электронноплотным содержимым и тельца, в которых внутренняя мембрана окружает более электронноплотное вещество, чем то, что расположено между мембранами. Судя по механизму формирования микротелец этой группы из оболочек разрушающихся микробных клеток (рис. 3, 4) содержимое их представляет собой прилегающие к плазматической мембране остатки протопласта бактерии; многослойность оболочек микротелец обусловлена или многократным закручиванием клеточных оболочек на формирующемся микротельце, или повторным окружением сформировавшегося микротельца плазматической мембраной или клеточной стенкой микробной клетки (рис. 4). Подобные мембранные микротельца могут формироваться и из клеточной стенки интактных бактерий (рис. 5) в виде автономизирующихся «протуберанцев—почек» клеточной стенки или фрагментов отслаивающейся от клетки стенки (рис. 6). Образование таких фрагментов в автолизирующихся клетках со слизистой капсулой отличается тем, что все микротельца вначале окружены капсулой (рис. 7).

В консорциях исследуемого микроорганизма подобные процессы приводят к образованию микротелец, которые в силу ограниченного внутреннего пространства консорция расположены в виде относительно гомогенных скоплений (рис. 8). Микротельца в таких скоплениях отличаются мелкими размерами, окружены одной мембраной и часто имеют электронноплотное содержимое.

У микротелец первой группы не обнаружено автономной репродукции или взаимосвязи, в то же время в силу своего строения они достаточно устойчивы к распаду.

**Микротельца второй группы** представляют собой относительно однотипные, в большинстве слегка овальные или сферические гранулы, встречающиеся в своеобразных «карманах» — структурно отделенных пристеночных отсеках микробных клеток (рис. 9). По размерам эти микротельца весьма одинаковы, в основном диаметром 35—55 *нм*. Их строение также одинаковое — гомогенное относительно электронноплотное содержимое окружено одной элементарной мембраной толщиной около 5 *нм*. Центральная часть телец иногда менее плотная. Наи-

более примечательно то, что для этой группы микротелец помимо их однородности характерна связь с «карманами» микробных клеток, которые представляют собой, по имеющимся данным, особые инвагинации клеточной стенки (рис. 10), проникающие под поверхность клетки настолько глубоко, что на многих срезах они видны в виде закрытых мембранных профилей, обычно прилегающих к клеточной стенке (рис. 9, 11), и отделенных как от внешней среды, так и от цитоплазмы микробной клетки двойной мембранной оболочкой с электронноплотным межмембранным слоем.

Проанализировав состав инвагинированных мембран и связь их с оболочками микробной клетки, можно сделать вывод, что полость «кармана» выстлана клеточной стенкой (рис. 9, 10), т. е. она представляет собой внеклеточное пространство. При этом стенка инвагинированного «кармана», обращенная к клеточной стенке, оказывается состоящей из двух слоев клеточной стенки, обращенных друг к другу «внутренними» поверхностями, между которыми, как правило, отсутствует плазматическая мембрана, но сохраняется электронноплотный межмембранный слой мурейна-пептидогликана. Вытесненная плазматическая мембрана покрывает внешнюю стенку «кармана» со стороны протопласта микробной клетки, и там оболочка «кармана» оказывается также двухслойной, хотя состав ее иной, чем на внешней стороне (рис. 9). Однослойная мембрана покрывает инвагинацию со стороны клетки в случае отслоения в результате плазмолиза или автолизисного разрушения плазматической мембраны микробной клетки, что часто наблюдается в дегенерированных клетках, в которых хорошо сохраняются «карманы» с микротельцами (рис. 11). Следовательно, в подавляющем большинстве такие «карманы» можно рассматривать как инвагинации клеточной стенки в периплазматическую полость микробной клетки.

Что касается появления микротелец второй группы в «карманах», то здесь, по-видимому, также основную роль играет клеточная стенка, из фрагментов складки-выпячивания которой в результате образования перетяжек отделяются микротельца (рис. 12). Такой механизм образования микротелец определяет их строение и состав, представляющий собой окруженные клеточной стенкой участки периплазматического пространства микробной клетки, и следовательно, гомогенное электронноплотное содержимое микротелец может состоять из мурейна-пептидогликана.

В большинстве случаев микротельца второй группы и формирующие их инвагинации клеточной стенки обнаруживаются в полярных частях клетки или в районе перетяжки деления ее (рис. 10) — в основном в дегенерированных «пустых» клетках. Последнее обстоятельство связано, очевидно, с тем, что в таких клетках «карманы» с микротельцами очень заметны. При просмотре срезов удалось выявить их, как и начальные стадии образования инвагинаций, в клетках с нормальной цитоплазмой, причем на начальных этапах микротельца в них отсутствуют и инвагинация внедряется в интактную цитоплазму микробной клетки без всякой аномалии последней (рис. 13). В то же время у нормальных клеток обнаружилось и формирование микротелец в периплазматическом пространстве из клеточной стенки без видимой инвагинации последней в виде электронноплотной гранулы (мурейна?) (рис. 14). Может быть такой путь лежит в основе образования микротелец, обнаруживаемых в дегенерированных клетках вне «карманов» (рис. 9). В клетках с нормальной цитоплазмой инвагинации клеточной стенки значительно плотнее заполнены микротельцами, чем в дегенерированных клетках (рис. 14), что, очевидно, обусловлено увеличением объема «кармана» в ходе дегенерации.

В силу того, что микротельца рассматриваемой группы образуются

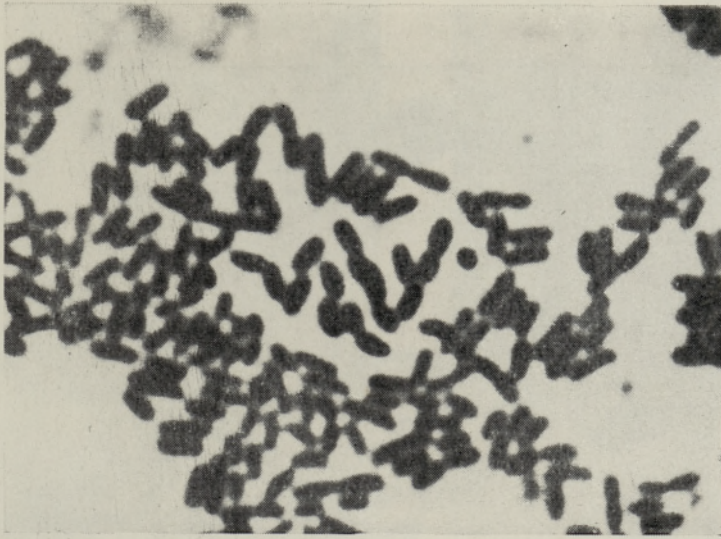


Рис. 1. Клетки со слизистой капсулой в культуре *Erwinia herbicola*. Фазовоконтрастная микроскопия. Увелич. 2300  $\times$ .

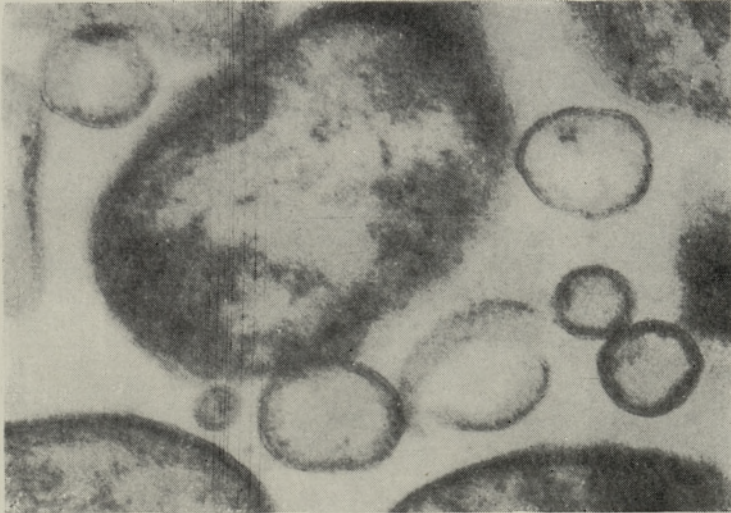


Рис. 2. Типичные мембранные микротельца первой группы в стареющей культуре. Электронная микроскопия. Увелич. 110 000  $\times$ .

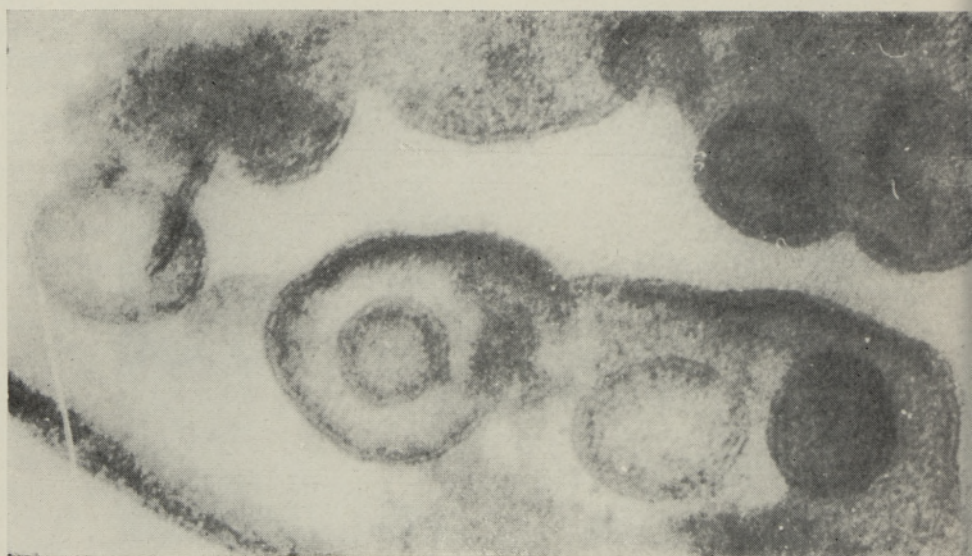
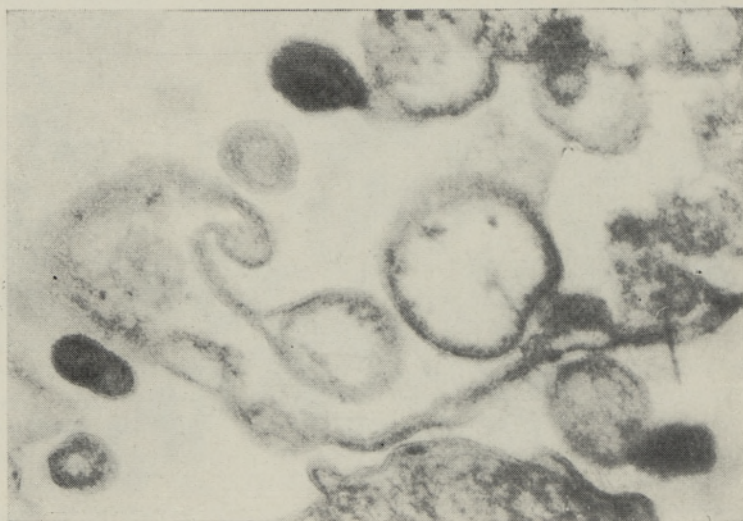


Рис. 3 и 4. Разрушение клеточных оболочек микроорганизма и образование микро-  
телец первой группы с различным содержанием. Увелич. 79 000; 220 000X.

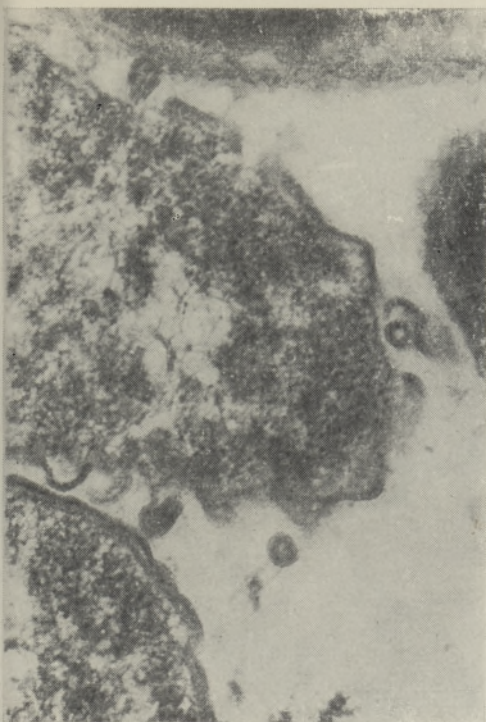


Рис. 5. Формирование мелких микротелц первой группы в результате разрыва и отторжения клеточной стенки. Увелич. 79 000X.

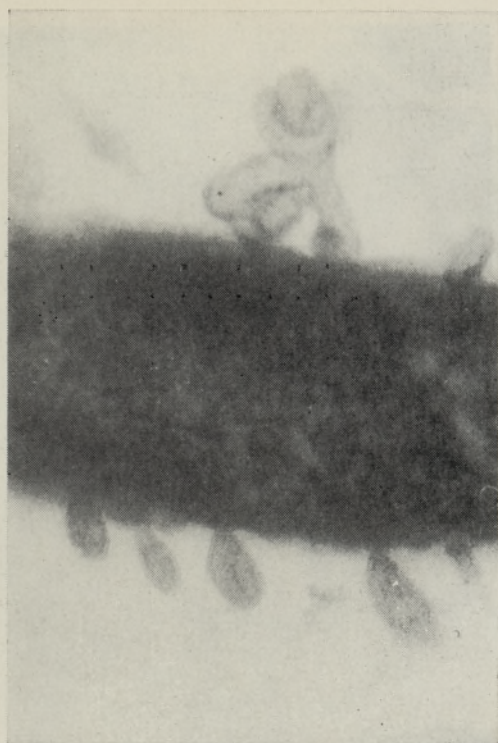


Рис. 6. Образование микротелц первой группы в виде выпячивания на поверхности микробной клетки. Увелич. 110 000X.

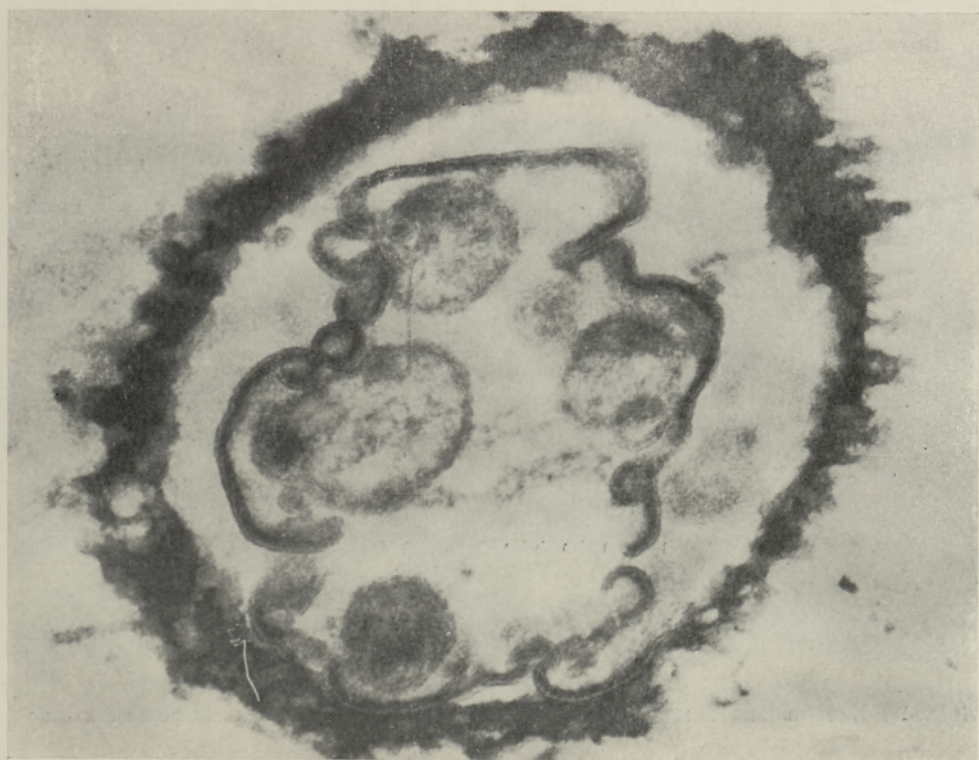


Рис. 7. Разрыв оболочек микробной клетки под слизистой капсулой и образование мембранных и цитоплазматических микротелц. Увелич. 187 000X.



Рис. 8. Микротельца первой группы в консорции микробных клеток. Увелич. 53 000X.



Рис. 9. Микротельца второй группы в периплазматической инвагинации дегенерировавшей микробной клетки и в пустой клетке. Выявлен состав оболочек инвагинации. Увелич. 168 000X.



Рис. 10. Инвагинация и микротельца второй группы в делящейся микробной клетке. Увелич. 179 000X.



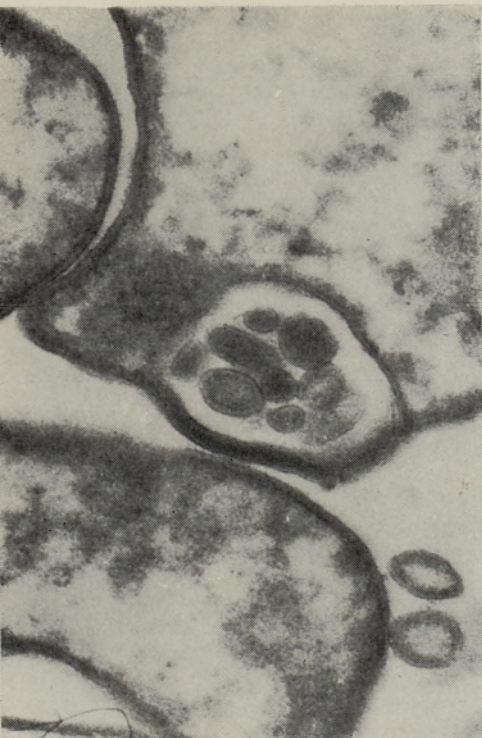


Рис. 11. Микротельца второй группы в инвагинации с однослойной внутренней стенкой. Увелич. 125 000 $\times$ .



Рис. 12. Формирование микротелец второй группы из складки клеточной стенки. Увелич. 168 000 $\times$ .

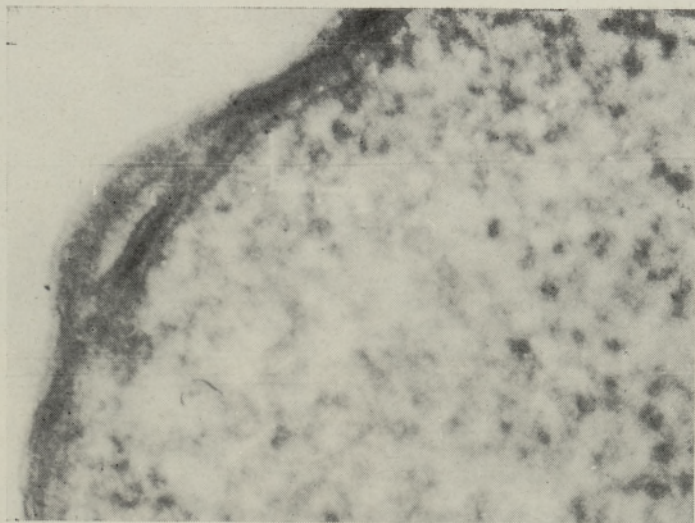


Рис. 13. Начальный момент инвагинации клеточной стенки у интактной микробной клетки. Увелич. 350 000 $\times$ .

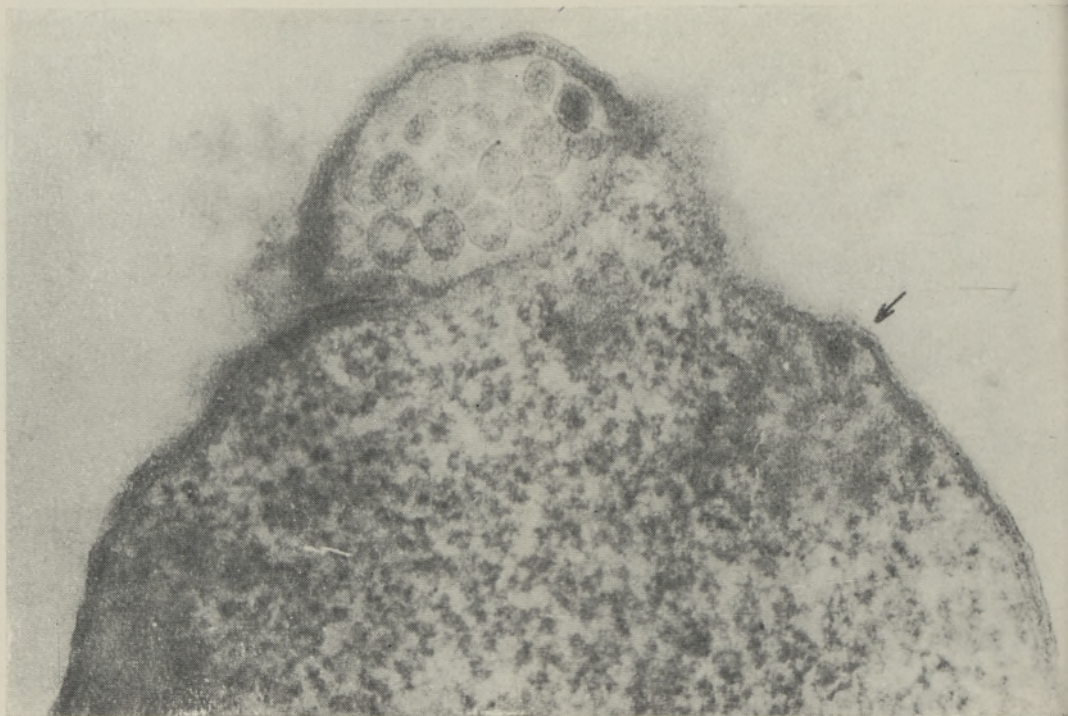


Рис. 14. Плотная упаковка микротелец второй группы в инвагинации интактной микробной клетки. Стрелкой указано микротельце без инвагинации. Увелич. 190 000 $\times$ .

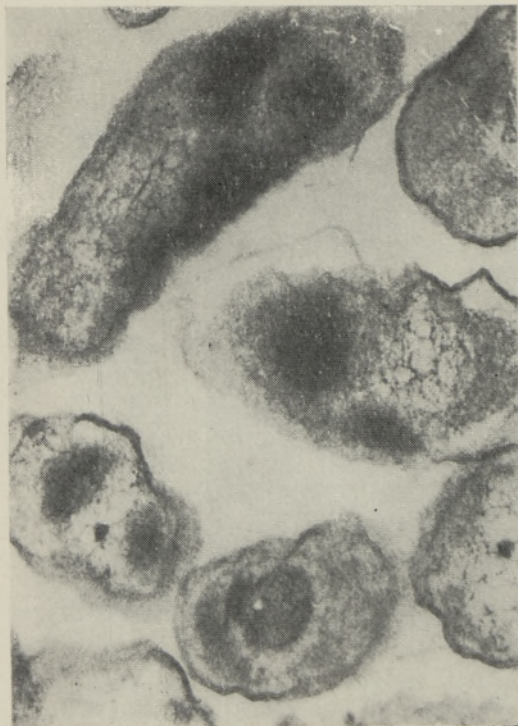


Рис. 15. Микротельца третьей группы в виде окруженных мембраной участков цитоплазмы микробной клетки. Увелич. 58 000 $\times$ .

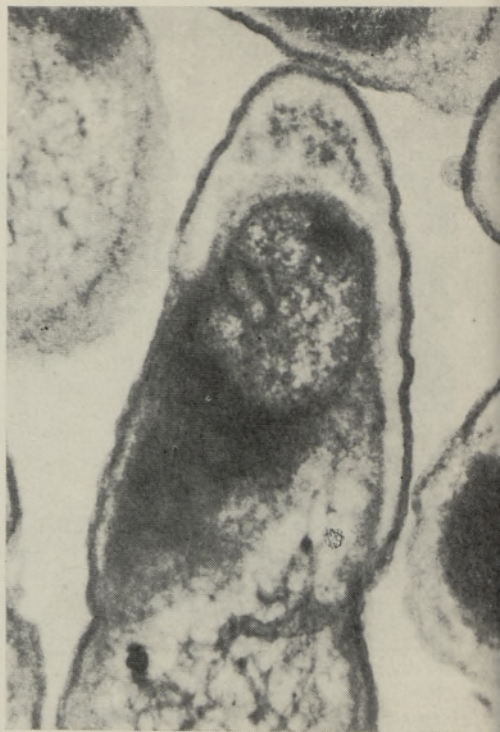


Рис. 16. Микротельца третьей группы в терминальной части протопласта микробной клетки, в условиях апикального плазмолиза. Увелич. 100 000 $\times$ .

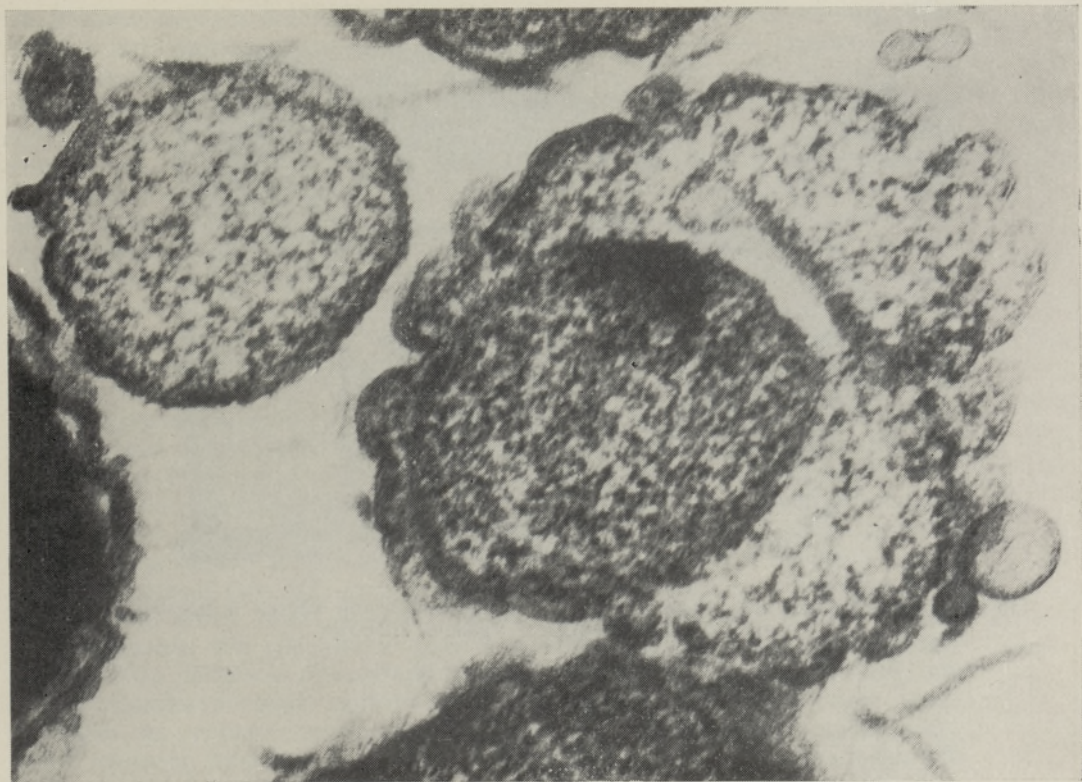


Рис. 17. Микротельца третьей группы в распадающейся микробной клетке и в виде автономного гимнопласта (сферопласта). Увелич. 155 000 $\times$ .

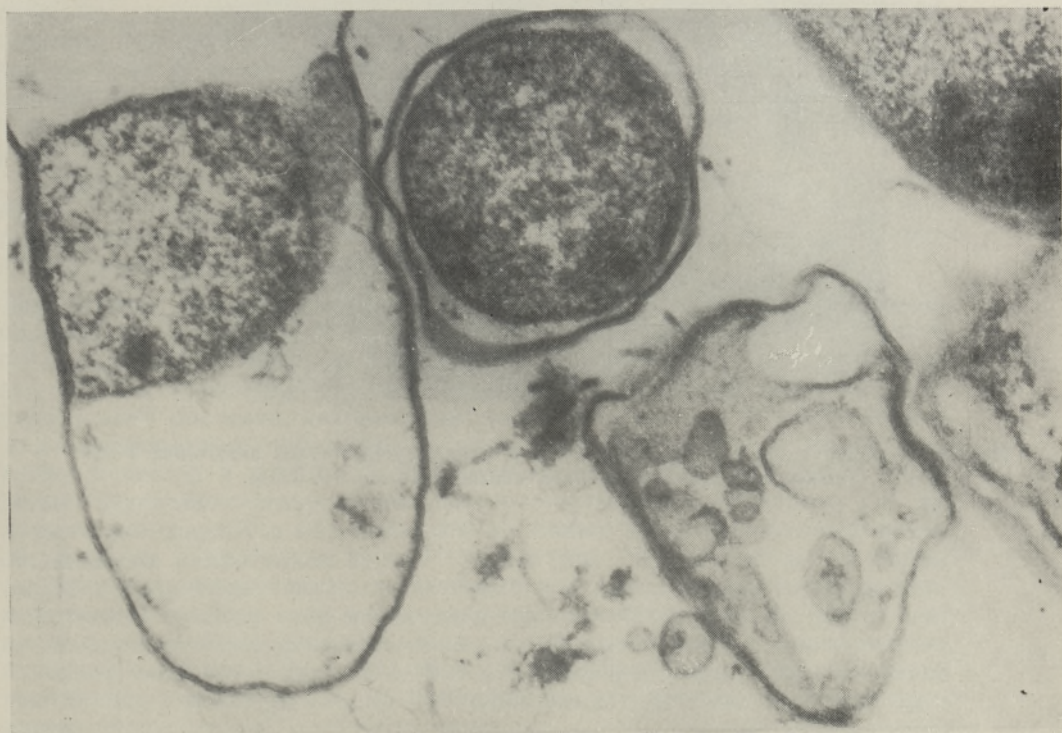


Рис. 18. Разрушение и плазмолиз микробных клеток в стареющей культуре на среде Мурасиге—Скугу. Увелич. 110 000 $\times$ .

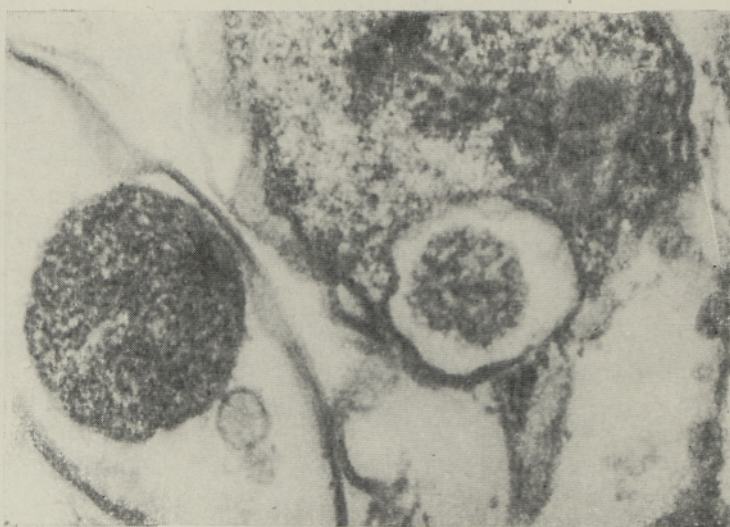


Рис. 19. «Автофагическая» вакуоль в протопласте микробной клетки и плазмолизное микротельце-гимнопласт. Увелич. 110 000 $\times$ .

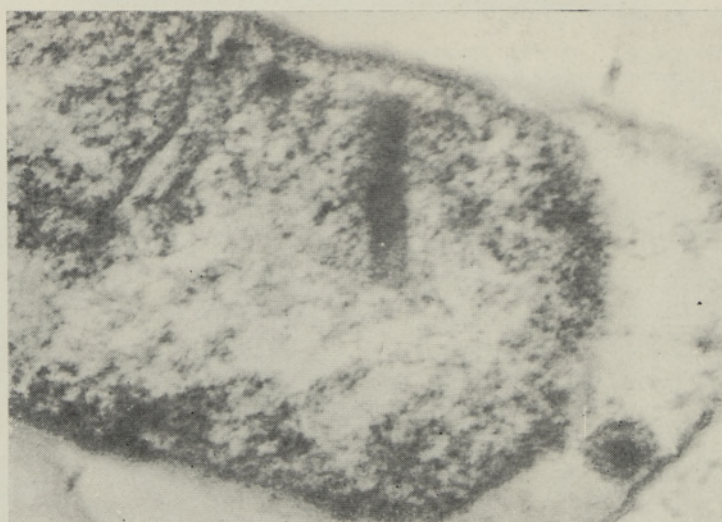


Рис. 20. Дополнительные мембранные септы и паракристаллическое включение в плазмоллизированной микробной клетке. Увелич. 168 000 $\times$ .

из функционально малоактивных компонентов клеточной стенки при полном разрушении микробных клеток, они длительное время могут сохраняться в популяции микроорганизмов.

**Третья группа** микротельцев наиболее разнообразна и сложна как по составу, так и, по-видимому, по формированию и функциональным возможностям. К этой группе мы причислили все мембранные образования, связанные с протопластом микробной клетки (рис. 15—17). Однако микротельца этой группы могут оказаться расположенными и в периплазматическом пространстве вследствие отторжения их от протопласта и превращения в автономные цитоплазматические тельца, напоминающие известные миниклетки микроорганизмов (Dennis, Rogerson, 1975). В изолятах исследуемого нами микроорганизма выявлены микротельца двух типов (или двух стадий развития). Первые расположены обычно субтерминально в протопласте микробной клетки (рис. 16). По своему строению и составу содержимого такие микротельца относительно мало отличаются от окружающей цитоплазмы микробной клетки, несмотря на то, что могут наблюдаться различия в плотности и в гомогенности содержимого (рис. 15), как и в наличии дополнительных мембранных образований в них. Размеры микротельцев этой группы весьма различные и превышают размеры микротельцев первых двух групп, достигая 0,3—0,5 мкм в диаметре. В отношении формирования микротельцев этого типа в протопласте микроорганизма можно лишь предположить, что мы имеем дело с особой формой дифференцировки мембранной системы микробной клетки, образующей, по-видимому, на основе плазматической мембраны в цитоплазме сегрегированное микротельце на уровне гимнопласта. Судя по имеющемуся материалу, такой процесс дифференцировки мембранной системы в определенной мере связан с дегенеративными изменениями клетки и лишь при разрушении последней подобные микротельца оказываются автономными миниклетками (рис. 17).

С точки зрения мембранного механизма формирования цитоплазматических микротельцев этой группы различия в плотности и внутреннем строении (грануляции) между ними и исходными протопластами микробных клеток свидетельствуют, очевидно, о неравновесном состоянии цитоплазмы по обе стороны сегрегирующей мембраны, а следовательно, в какой-то мере и об автономной регуляции проницаемости этой мембраны.

Микротельца последних двух групп в отличие от первой не обнаружены в консорциях исследованного микроорганизма, хотя при разрушении плазматической мембраны клеток в капсулах из остатков протопласта возникают подобные микротельца (рис. 7).

**Зависимость формирования микротельцев от среды культивирования** определяли в опытах по выращиванию популяции изучаемого микроорганизма как на обычном мясо-пептонном бульоне с соответствующим агаром, так и на среде Мурасиге и Скугу, предназначенной для культуры тканей растений, содержащей, помимо богатого комплекса микро- и макроэлементов, некоторые органические соединения, включая ростовые вещества и витамины. Для развивающейся на этой среде популяции изучаемого микроорганизма в стареющих культурах (74 ч) характерно, наряду с образованием типичных дегенерированных форм, образующих микротельца первой группы (рис. 18), своеобразной вакуолизации микробных клеток, значительного плазмоллиза, связанного с формированием особого типа микротельцев-гимнопластов (рис. 19, 20), и развитие в цитоплазме дополнительных мембранных септ и паракристаллических включений (рис. 21). Все эти трансформации особенно четко проявились у изолята Е-4, но наблюдались и у других изученных изолятов.

Вакуолизация микробных клеток в рассматриваемых условиях отличается тем, что в полости окруженных мембраной вакуолей часто обнаруживается более или менее сходное с цитоплазмой бактерий вещество, как бы растворяющееся по краям (рис. 19). На основе собранного материала можно предположить, что рассматриваемые вакуоли первоначально представляют собой сегрегированные мембраной участки протопласта, в которых происходит лизис содержимого, аналогичные автофагическим вакуолям эукариотных клеток. При этом цитоплазма микробной клетки вне вакуоли не претерпевает никаких заметных изменений.

Обнаруженные дополнительные мембраны в цитоплазме микробных клеток образуют, как правило, одну или несколько поперечных неполных септ-перегородок (рис. 20), представляющих собой инвагинацию плазматической мембраны микроорганизма. Эти дополнительные септы не участвуют в делении микробной клетки, которое у исследуемого организма происходит путем образования перетяжки, т. е. одновременной инвагинации клеточной стенки и плазматической мембраны. К тому же в одной клетке образуется по несколько дополнительных септ и, как правило, несимметрично, чего не наблюдается при нормальном делении микроорганизма.

Паракристаллические включения в цитоплазме чаще всего имеют форму слегка изогнутых тяжей, отличающихся от цитоплазмы гомогенным мелкоструктурированным строением (рис. 20); периодичность составляющей их структуры (или частиц) по немногим позволяющим измерение препаратам составляет приблизительно 2,7 нм. По составу эти включения могут, вероятно, представлять собой отложения какого-либо вещества, синтезируемого или накапливаемого в данных условиях микробными клетками.

Плазмолиз микробных клеток в культуре, выращиваемой на среде, предназначенной для тканевой культуры, в стареющей популяции достигает максимального сокращения протопласта и приводит, как правило, к фрагментации последнего и образованию из фрагментов гимнопластоподобных микротелец различной величины и содержания (рис. 18, 19). Такие гимнопласты, судя по их формированию, могут содержать большую или меньшую часть нуклеоида бактериальной клетки и имеют определенное сходство с вышеописанными микротельцами третьей группы, хотя образуются совершенно иным путем.

**Зависимость формирования микротелец от свойств изолятов.** Нами установлено, что в отношении микротелец первой группы заметных различий между изученными изолятами нет. В этом смысле универсальными, хотя значительно реже встречающимися, являются цитоплазматические микротельца третьей группы (не учитывая их различных модификаций), материал по которым явно недостаточен для выявления различий в их распределении между исследованными изолятами.

Иначе обстоит дело, по-видимому, с микротельцами второй группы (мурейновыми гранулами), которые обнаружены только у изолята Е-1 и представляют собой, вероятно, результат нарушения (мутацию?) регуляции синтеза субстратов клеточной стенки у бактерий этого изолята. Механизм формирования микротелец одинаковой величины из складок клеточной стенки менее понятен.

Еще более неопределенным является положение изменений, обнаруженных в популяциях микроорганизма на среде для культуры тканей. С учетом обилия и разнообразия проявления различных трансформаций протопласта микробной клетки у изолята Е-4 можно предположить, что эти изменения в какой-то мере обусловлены морфофункциональными особенностями данного изолята. Микротельца-гимно-

пласты же могут, очевидно, формироваться при достаточно глубоком плазмолизе любых микробных клеток.

Все описанные выше изменения микробных клеток, связанные с образованием суббактериальных форм — мембранных микротеллец и минигимнопластов —, характеризуют в сущности индивидуальную клетку и пределы ее трансформации в условиях конкретной популяционной культуры, с возрастом которой они могут быть связаны. В связи с тем, что клетки в культуре развиваются несинхронно, в этом аспекте можно указать лишь возраст самой культуры, в пределах которого выявлены определенные изменения. Микротельца первой группы, связанные с разрушением плазматической мембраны и клеточной стенки дегенерированной микробной клетки, обнаруживаются уже в 1—2-суточной культуре, а преобладающими становятся в 4-суточной культуре. Другие формы микротеллец обнаруживаются, как правило, начиная с 24—36 ч, и их количество в популяции со старением культуры не возрастает. Это указывает, на наш взгляд, на существенное различие в регуляции их формирования: если одни связаны причинно с разрушением мембранных оболочек в процессе дегенерации клетки, то другие формы должны регулироваться более специфическими механизмами, которые не связаны непосредственно с дегенеративными изменениями клетки, но могут обусловить или ускорить дегенеративные процессы в микробной клетке в силу изменений, вызванных в клеточной оболочке (микротельца второй группы) или цитоплазме (микротельца третьей группы, автофагические вакуоли, дополнительные мембраны-септы, плазмолизные гимнопласты и пр.).

### Обсуждение результатов

Полученные результаты в целом не являются исчерпывающей информацией по интересующей нас проблеме, но можно думать, что в отношении изученного нами вида микроорганизма выявленные формы микротеллец и механизмы их формирования в условиях лабораторных культур дают достаточно полное представление о его естественной морфологической трансформации-дегенерации без применения специфического альтертирующего воздействия и могут быть сопоставлены с данными формирования различных суббактериальных структур другими видами микроорганизмов.

Данные относительно таких производных бактериальных клеток за последние 10—15 лет в литературе весьма случайны, специальных исследований нам найти не удалось, большинство описаний наблюдаемых микротеллец сделано в ходе каких-либо других исследований в экспериментальных условиях и при различных воздействиях на исследуемые микроорганизмы. Исключение составляют т. н. миниклетки, формирующиеся у некоторых мутантных штаммов *Escherichia coli* (Dennis, Rogerson, 1975) в виде полярного отпочкования капель цитоплазмы. Такая локализация может свидетельствовать о связи образования миниклеток с автолизными процессами, инициирующими разрушение клеточной стенки именно в полярных концах микробной клетки (Higgins и др., 1970), что может привести, очевидно, к вытеканию протопласта — образованию миниклетки. Эти миниклетки связаны с периплазматическими ферментами (Dvorak и др., 1970) и могут содержать часть нуклеоида микробной клетки (Tudor и др., 1969), хотя раньше было показано, что подобные миниклетки в нормальных условиях, несмотря на их стабильность, не способны к репродукции (Adler и др., 1967). Подобные миниклетки обнаружены также у *Bacillus cereus* при обработке культуры хлорамфениколом (Chung, Lin, 1974) и у фитопатогенной бактерии *Erwinia amylovora* (Huang, Goodman, 1970).

Такие формы микробных клеток не имеют явных аналогов среди описанных нами суббактериальных структур.

Более близкими к описанным нами тельцам первой группы можно считать мембранные микротельца — производные плазматической мембраны — у *Proleus vulgaris* (Burdash и др., 1968; Eda и др., 1978) и у L-форм *P. mirabilis* (Gumbert, Taubeneck, 1976). Последние близки к мембранным структурам микоплазм (Dienes, Bullivant, 1968; Maniloff, 1970), связанным с элементарными тельцами и репродукцией клетки. Подобные структуры наблюдались и у термофильных бактерий (Головачева, Пивоварова, 1977; Логинова, Егорова, 1977). Все эти мембранные образования — внутриклеточные, связаны с плазматической мембраной и могут иметь отношение к мезосомам и их аналогам, образующим в определенных условиях автономные микротельца в популяции бактерий (Lampku, 1976).

Весьма сходными с описанными у *E. herbicola* мембранными микротельцами являются формирующиеся в стареющей культуре психрофильного морского вибриона тельца из клеточной стенки (Costerton, и др., 1967; Felter и др., 1969, 1970; Kennedy и др., 1970).

В отношении микротелец второй группы, представляющих производные клеточной стенки с мурейновым слоем, в описаниях морфологических трансформаций микроорганизмов ничего аналогичного обнаружить не удалось, кроме «бусовидных» мембранных структур в вакуолях на концах гифов гриба (Brenner, Carroll, 1968).

Данных о внутрицитоплазматических тельцах третьей группы также крайне мало. Формирование такой дифференцировки мембранной системы микробной клетки может основываться на инвагинации плазматической мембраны, описанной у микоплазм (Domermuth и др., 1964), риккетсий (Anacker и др., 1967) и в специфических условиях у бактерий (Hoffman и др., 1973). Морфологически достаточно близкими к описанным нами цитоплазматическим микротельцам являются структуры в клетках стареющей культуры возбудителя дифтерии (Kawata, Inoue, 1965), причем для этих клеток характерно и формирование массы мелких мембранных тел в периплазматическом пространстве.

Механизм формирования различных мембранных микротел — производных микробных клеток — связан, как правило, с нарушением нормальной жизнедеятельности клетки, что может найти проявление, с одной стороны, в нарушении синтеза веществ клеточной стенки или плазматической мембраны. Сюда можно отнести большинство приведенных выше данных о микротельцах, происходящих в сущности из различных мембранных инвагинаций. Весьма наглядно это проявляется у указанного морского вибриона, у *Selenomonas ruminantium* (Kamio, Takahashi, 1980) и у *Escherichia coli* (Schnaitman, Greenwalt, 1966; Weigand и др., 1970). С другой стороны, в ходе деления клетки (Bladen, Waters, 1963), при формировании протопластов, сферопластов, L-форм и прочих отмечено образование микротелец и у ряда прокариотов (Ghosh, Murray, 1967; Ghosh и др., 1968; Eda и др., 1976; Жилина, Заварзин, 1979; Громова и др., 1979). В отношении микротелец второй группы, точнее, инвагинации клеточной стенки, связанной с образованием этих микротелец, заслуживают внимания данные о миксобактерии, у которой при индукции образования микроспор происходит аналогичная описанной нами у *E. herbicola* инвагинация клеточной стенки с отторжением плазматической мембраны и образованием «карманов» (Reichenbach и др., 1969). Во многих случаях к формированию различных суббактериальных форм приводит воздействие на микробные клетки антибиотиками (Kaye, Charpan, 1963; Burdett, Murray, 1974), а также различные операции изолирования клеточных компонентов (Fitz-James, 1964a, б; Ryter, Landman, 1964; Morgan и др.,



1967; Thompson и др., 1970) и определенные изменения в среде обитания микроорганизмов (Colwell, Morita, 1964).

Сопоставляя приведенные выше данные о разнородности состояний прокариотов, нетрудно заметить, что несмотря на кажущееся разнообразие клеток, в которых отмечено формирование каких-либо мембранных микротелец, в сущности все эти состояния связаны с дегенеративными изменениями микробной клетки начиная с процессов деления, завершающих фазу роста клетки, и кончая распадом стареющей или альтерированной экзогенным воздействием клетки. Этот вывод о дегенеративной природе формирования микротелец находит подтверждение как в нашей работе, так и в других исследованиях процессов, связанных с дегенерацией и разрушением микробных клеток (Amos и др., 1967; Schnaitman, 1970; Gilpin и др., 1972; Geesey и др., 1977; Jacoli, 1978) на основе автолиза, приводящего к разрушению клеточной стенки (Higgins и др., 1970).

Возможная функциональная роль различных мембранных микротелец остается наиболее неясным вопросом при их исследовании. В этом отношении выдвинуты лишь некоторые предположения. Так, указываются: увеличение поверхности контакта морских микроорганизмов со средой при быстром росте микробных клеток, которое приводит, в конечном счете, к формированию различных мембранных микротел, выделяющихся как во внешнюю среду, так и в цитоплазму (Vacelet, Vacelet, 1976), экстракция избыточных липополисахаридов (Кпох и др., 1966), транспортные функции у тубоциллы (Громова и др., 1979) и экскреция токсинов у фитопатогенной бактерии (Passmoor, Epton, 1980). В некоторых работах обсуждается вопрос о мембранных микротельцах в популяциях микроорганизмов в связи с содержанием в них нуклеоидного комплекса. Если в отношении мелких мембранных микротелец было установлено отсутствие репродукции, несмотря на наличие ДНК (Adler и др., 1967; Tudor и др., 1969), то в то же время была показана их связь с генетической трансформацией, напр. у *Bacillus subtilis* (Wolstenholme и др., 1966), а также более общая связь ДНК с внутриклеточными «дополнительными» мембранами у *E. coli* (Altenburg, Suit, 1970), образующими подчас закрытые мембранные тельца типа мезосом или наподобие ядерной оболочки вокруг зоны нуклеоида (Altenburg и др., 1970).

О мембранных микротельцах как «покоящихся формах микроорганизма» поставлен вопрос в связи с возбудителем дифтерии (Kawata, Ipoce, 1965), хотя авторы и выдвигают альтернативное предположение о рассматриваемых тельцах как остаточных, состоящих из продуктов жизнедеятельности стареющей клетки. По отношению к микротельцам третьей группы, обнаруженным у исследованного нами микроорганизма, последнее предположение несостоятельно в силу идентичного содержимого рассматриваемых микротелец с цитоплазмой микробной клетки.

### Выводы

1. Дегенеративные изменения, имеющие место в микробных клетках как в связи со старением популяции, истощением питательной среды или других субоптимальных условий, так и под воздействием экзогенных альтерировующих факторов (антибиотики, токсиканты и пр.), приводят во многих случаях к формированию различных мембранных микротелец.
2. Формирование мембранных микротелец из плазматической мембраны и клеточной (мембранной) стенки грамотрицательных микробных клеток происходит за счет физико-химических свойств самой мемб-

раны, полярностью которой, очевидно, обусловлено заворачивание ее вовнутрь в местах разрыва, в результате чего свободные (открытые) концы мембраны всегда окружают примембранное внутриклеточное пространство и соответствующие связанные с мембраной субстраты цитоплазмы или периплазматического пространства.

3. Биологическое «значение» таких мембранных микротелец может быть, очевидно, случайным, точнее, стохастическим, определяемым механизмом формирования микротелец и связью конкретных субстратов клетки с мембраной на участке, образующем микротельца. Исключения могут составлять экскреторные и транспортные везикулы — выпячивания мембраны с определенным содержанием —, если их функциональную роль удастся достаточно четко установить.

4. Цитоплазматические микротельца, связанные с дифференцировкой мембранной системы и протопласта микробной клетки, могут, очевидно, иметь более конкретную функциональную нагрузку как в смысле внутриклеточной иммобилизации различных продуктов жизнедеятельности клетки, так и в смысле формирования минигимнопластов.

На основе сделанных выводов можно выдвинуть предположение, что, несмотря (или в силу) на несомненную связь формирования мембранных микротелец — суббактериальных производных микробных клеток — с дегенеративными изменениями и неблагоприятными условиями существования микроорганизмов, в процессе может выявляться определенная экологическая адаптация микробной клетки к переживанию неблагоприятных условий и повреждающих воздействий. При этом функциональные возможности суббактериальных производных микробных клеток в виде различных микротелец могут в силу их существенных отличий от нитактных микробных клеток проявиться в весьма специфических условиях, не учитываемых в лабораторных бактериологических исследованиях. С экологической точки зрения именно здесь необходимо учитывать упомянутую в начале статьи искусственность условий культивирования и лабораторного изучения микроорганизмов по сравнению с существованием их популяций в естественных условиях. Изменчивость последних является, очевидно, основным фактором естественного отбора, направленного на повышение устойчивости популяции в изменяющихся условиях, одним из механизмов которого может быть и повышение пластичности организма за счет морфофункциональной трансформации микробной клетки.

Выдвигаемое предположение относительно возможной роли суббактериальных дериватов микробных клеток согласуется с данными о биологии и морфологической изменчивости почвенных азотобактерий, существующих наряду с бациллярной формой в виде фильтрующихся микроформ (Lopez, Vela, 1981). Для более глубокого изучения поднятых в настоящей статье вопросов морфофункциональной изменчивости микроорганизмов, по-видимому, необходимо сочетать условия бактериологических опытов с условиями естественной среды микроорганизмов и электронно-микроскопическим исследованием микробной клетки *in situ*.

## ЛИТЕРАТУРА

- Головачева Р. С., Пивоварова Т. А. Поведение сферопластов в культурах *Thermus ruber*. — Микробиол., 1977, 46, 1019—1027.
- Громова Л. А., Переверзев Н. А., Каравайко Г. И. Изучение сферопластов *Thiobacillus ferrooxidans*. — Микробиол., 1979, 48, 689—692.
- Жилина Т. Н., Заварзин Г. А. Сравнительная цитология метаносарцин и описание *Methanosarcina vacuolata* n. sp. — Микробиол., 1979, 48, 279—284.
- Логнинова Л. Г., Егорова Л. А. Новые формы термофильных бактерий. М., 1977.
- Сильвере А.-П., Каареп Ю., Тийвель Т. О методике окраски срезов биоло-

- гических объектов, залитых в эпоксидные смолы, для световой микроскопии. — Изв. АН ЭстССР, Биол., 1978, 27, 150—152.
- Сильвере А.-П., Тикк Э. Формирование микротелец при дегенерации бактериальных клеток. — XI Всесоюз. конф. по эл. микроскопии, II. Биология, 1979а, 75.
- Сильвере А.-П., Тикк Э. Изучение спонтанных разрывов корневой ткани (СРКТ) проростков крестоцветных. IV. Микрофлора семян некоторых крестоцветных рода *Brassica*. — Изв. АН ЭстССР, Биол., 1979б, 28, 47—55.
- Adler, H. I., Fischer, W. D., Cohen, A., Hargigree, A. A. Miniature *Escherichia coli* cells deficient in DNA. — Proc. Nat. Acad. Sci., 1967, 57, 321—326.
- Altenburg, B. C., Suit, J. C. Relation between deoxyribonucleic acid and intracytoplasmic membranes in *Escherichia coli* 0111a<sub>4</sub>. — J. Bacteriol., 1970, 103, 227—237.
- Altenburg, B. C., Suit, J. C., Brinkley, B. R. — Ultrastructure of deoxyribonucleic acid — membrane associations in *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1970, 104, 549—555.
- Amos, H., Kunn, A., Andre-Schwartz, J. Protein synthesis in sonically damaged *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1967, 94, 232—240.
- Anacker, R. L., Pickens, E. G., Lackman, D. B. Details of the ultrastructure of *Rickettsia prowazekii* grown in the chick yolk sac. — J. Bacteriol., 1967, 94, 260—262.
- Bladen, H. A., Waters, J. F. Electron microscopic study of some strains of *Bacteroides*. — J. Bacteriol., 1963, 86, 1339—1344.
- Brenner, D. M., Carroll, G. C. Fine-structural correlates of growth in hyphae of *Ascodesmis sphaerospora*. — J. Bacteriol., 1968, 95, 658—671.
- Burdash, N. M., Ehrlich, M. A., Ehrlich, H. G., Parisi, J. T. Electron microscopy of *Proteus vulgaris* exposed to cephalothin. — J. Bacteriol., 1968, 95, 1956—1960.
- Burdett, I. D. S., Murray, R. G. E. Septum formation in *E. coli* characterization of septal structure and the effects of antibiotics on cell division. — J. Bacteriol., 1974, 119, 303—324.
- Chung, K. L., Lin, L. P. Minicell formation in chloramphenicol-treated *Bacillus subtilis*. — Canad. J. Microbiol., 1974, 20, 1621—1623.
- Colwell, R. R., Morita, R. Y. Reissolation and emendation of description of *Vibrio marinus* (Russell) Ford. — J. Bacteriol., 1964, 88, 831—837.
- Costerton, J. W., Forsberg, C., Matula, T. J., Buckenire, F. L. A., MacLeod, R. A. Nutrition and metabolism of marine bacteria. XVI. Formation of protoplasts, sphaeroplasts and related forms from a gram-negative marine bacterium. — J. Bacteriol., 1967, 94, 1764—1777.
- Dennis, C. A., Rogerson, A. C. Unusual membranous structures in minicells and minicell-producing strains of *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1975, 124, 1610—1612.
- Dienes, L., Bullivant, S. Morphology and reproductive processes of the L-forms of bacteria. II. Comparative study of L-forms and *Mycoplasma* with the electron microscope. — J. Bacteriol., 1968, 95, 672—687.
- Domermuth, C. H., Nielsen, M. H., Freundt, E. A., Birch-Andersen, A. Ultrastructure of *Mycoplasma* species. — J. Bacteriol., 1964, 88, 727—744.
- Dvořák, H. F., Wetzel, B. K., Heppel, L. A. Biochemical and cytochemical evidence for the polar concentration of periplasmic enzymes in a «minicell» strain of *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1970, 104, 543—548.
- Eda, T., Kanda, Y., Kimura, S. Membrane structures in stable L-forms of *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1976, 127, 1564—1567.
- Eda, T., Kanda, Y., Mori, C., Kimura, S. Ultrastructure of an unstable L-form strain P42L of *Proteus mirabilis*. — J. Electron Microscopy, 1978, 27, 119—126.
- Felter, R. A., Colwell, R. R., Chapman, G. B. Morphology and round body formation in *Vibrio marinus*. — J. Bacteriol., 1969, 99, 326—335.
- Felter, R. A., Kennedy, S. F., Colwell, R. R., Chapman, G. B. Intracytoplasmic membrane structures in *Vibrio marinus*. — J. Bacteriol., 1970, 112, 552—560.
- Fitz-James, Ph. Electron microscopy of *Bacillus megaterium* undergoing isolation of its nuclear bodies. — J. Bacteriol., 1964a, 87, 1202—1210.
- Fitz-James, Ph. Fate of the mesosomes of *Bacillus megaterium* during protoplasting. — J. Bacteriol., 1964b, 87, 1483—1491.
- Geesey, G. G., Richardson, W. T., Yeomans, H. G., Irwin, R. T., Costerton, J. W. Microscopic examination of natural sessile bacterial population from an alpine stream. — Canad. J. Microbiol. 1977, 23, 1733—1736.
- Ghosh, B. K., Murray, G. E. Fine structure of *Listeria monocytogenes* in relation to protoplast formation. — J. Bacteriol., 1967, 93, 411—426.
- Ghosh, B. K., Sargent, M. G., Lampen, J. O. Morphological phenomena associated with penicillinase induction and secretion in *Bacillus licheniformis*. — J. Bacteriol., 1968, 96, 1314—1328.
- Gilpin, R. W., Chatterjee, A. N., Young, F. E. Autolysis of microbial cells: salt activation of autolytic enzymes in a mutant of *Staphylococcus aureus*. — J. Bacteriol., 1972, 111, 272—283.

- Gumbert, J., Taubeneck, U. Characterization of a stable sphaeroplast type L-form of *Proteus mirabilis* D52 as cell envelope mutant. — Zeitschrift Allg. Mikrobiol., 1976, **16**, 9—26.
- Higgins, M. L., Pooley, H. M., Shoceman, O. D. Site of initiation of cellular autolysis in *Streptococcus faecalis* as seen by electron microscopy. — J. Bacteriol., 1970, **103**, 504—512.
- Hoffman, H.-P., Geftic, S. G., Gelzer, J., Heymann, H., Adair, F. W. Ultrastructural alterations associated with the growth of resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the presence of benzalkonium chloride. — J. Bacteriol., 1973, **113**, 409—416.
- Huang, P.-Y., Goodman, R. N. Morphology and ultrastructure of normal rod-shaped and filamentous forms of *Erwinia amylovora*. — J. Bacteriol., 1970, **102**, 862—866.
- Jacoli, G. G. Early phases of degeneration of mycoplasma-like bodies in plant tissue cultures infected with aster yellows: morphological analogies with *Mycoplasma hominis*. — Canad. J. Microbiol., 1978, **24**, 1053—1057.
- Kamio, Y., Takahashi, H. Outer membrane proteins and cell surface structure of *Selenomonas ruminantium*. — J. Bacteriol., 1980, **141**, 899—907.
- Kawata, T., Inoue, T. Electron microscopic observations of remarkable body in aged *Corynebacterium diphtheriae*. — J. Bacteriol., 1965, **89**, 1613—1614.
- Kaye, J. J., Chapman, B. B. Cytological aspects of antimicrobial antibiotics. III. Cytologically distinguishable stages in antibiotic action of colistin sulfate on *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1963, **86**, 536—543.
- Kennedy, S. F., Colwell, R. R., Chapman, G. B. Ultrastructure of a marine psychrophilic *Vibrio*. — Canad. J. Microbiol., 1970, **16**, 1027—1031.
- Knόx, F. K. W., Vesk, M., Work, E. Relation between excreted lipopolysaccharide complexes and surface structures of a lysine-limited culture of *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1966, **92**, 1206—1217.
- Lampky, J. R. Ultrastructure of *Polyangium cellulorum*. — J. Bacteriol., 1976, **126**, 1278—1284.
- Lopez, J. G., Vela, G. R. True morphology of the *Azotobacteraceae* — filterable bacteria. — Nature, 1981, **289**, 588—590.
- Maniloff, J. Ultrastructure of *Mycoplasma laidlawii* during culture development. — J. Bacteriol., 1970, **102**, 561—572.
- Morgan, C., Rosenkranz, H. S., Carr, H. S., Rose, H. M. Electron microscopy of chloramphenicol-treated *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1967, **93**, 1987—2002.
- Passmoor, M., Epton, H. A. S. The relationship between toxin release and formation of vesicles and blebs by *Pseudomonas phaseolocola*. — Phytopath. Z., 1980, **98**, 289—295.
- Reichenbach, H., Voelz, H., Dworkin, M. Structural changes in *Stigmatella aurantiaca* during myxospore induction. — J. Bacteriol., 1969, **97**, 905—911.
- Ryter, A., Landman, O. E. Electron microscope study of the relationship between mesosome loss and the stable L-state (or protoplast state) in *Bacillus subtilis*. — J. Bacteriol., 1964, **88**, 457—467.
- Schnaitman, G., Greenwalt, J. W. Intracytoplasmic membranes in *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1966, **92**, 780—783.
- Schnaitman, C. A. Protein composition of the cell wall and cytoplasmic membrane of *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1970, **104**, 890—901.
- Thompson, J., Costerton, J. W., MacLeod, R. A. K<sup>+</sup>-dependent deplasmolysis of a marine pseudomonad plasmolysed in a hypotonic solution. — J. Bacteriol., 1970, **102**, 843—854.
- Tudor, J., Hashimoto, T., Conti, S. F. Presence of nuclear bodies in some minicells of *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1969, **98**, 298—299.
- Vacelet, E., Vacelet, J. Ultrastructure de bactéries marines à croissance rapide. — J. Microscopie Biol. Cell, 1976, **26**, 47—52.
- Weigand, R. A., Shively, J. M., Greenwalt, J. W. Formation and ultrastructure of extra membranes in *Escherichia coli*. — J. Bacteriol., 1970, **102**, 240—249.
- Wolstenholme, D. R., Vermeulen, C. A., Venema, G. Evidence for the involvement of membraneous bodies in the processes leading to genetic transformation in *Bacillus subtilis*. — J. Bacteriol., 1966, **92**, 1111—1121.

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию  
12/II 1982

## MEMBRAANSED MIKROKEHAD JA MIKROOBIRAKU DEGENERATSIOON

Artikkel käsitleb mikroorganismide looduslikes populatsioonides (nii ebasoodsates tingimustes elavates kui ka taime- ja putukakudedega seotud endobiontide populatsioonides) ilmnevate mitmesuguste autonoomsete membraanstruktuuride — mikrokehade — võimalikke tekkeviise ja -tingimusi. Uuriti epifüütse bakteri *Erwinia herbicola* 11 isolaadi loomunku (aitereerivate tegurite mõjuta) vananemisega kaasnevat degeneratsiooni ja sellega seotud mikroobiraku morfoloogiist transformatsiooni.

Sedastati kolme tüüpi membraanseid mikrokehi, mille teke on seoses rakukestade lagunemisega ja plasmamembraani anomaalse diferentseerumisega protoplastis. Esimest tüüpi mikrokehad (joon. 2—8) moodustuvad rakukesta või plasmamembraani või ka mõlema katkemisel ilmselt membraanide polaarsusest tingitud «sisserullumise» tagajärjel; nad on ümbritsetud ühe- või mitmekihilise membraaniga. Teist tüüpi kehad (joon. 9—14) tekivad rakuseina sissesopistumisel periplasmaatilisse ruumi; nad eralduvad rakuseina voldist ning sisaldavad ilmselt mureiini (peptidoglükaani). Seda tüüpi on leitud ainult ühel bakteriisolaadil. Kolmas tüüp (joon. 15—17) areneb bakteri protoplasti sees membraaniga eraldatud tsüstoplasmaatilise kehakesena, mis raku lagunemisel vabanedes moodustab autonoomse mikrohuunoplasti (-sfäroplasti). Andmed membraanisele mikrokehade autonoomse arengu kohta puuduvad, tekkeviiside põhjal võib oletada stohhastilist seost bakteri nukleoidi või plasmiididega. Kui uuritud mikroorganismid arenesid eriti toidaineterikkal söötmel, kujunesid vananevates rakkudes peale esimest tüüpi mikrokehade teised morfoloogilised anomaaliad (joon. 18—20): autofaagia tunnustega vakuolisatsioon ning ulatuslik plasmolüüs, milles bakteri protoplastist kujunevad kolmandat tüüpi mikrokehade analoogid.

Uurimise tulemusi on võrreldud andmetega teiste mikroorganismide arengus sedastatud mikrokehade kohta. On järeldatud, et mitmesugustel põhjustel kujunev degeneratsioon viib sageli membraansete mikrokehade tekkele mikroobirakus; mikrokehade teke raku membraanstruktuuridest toimub viimaste füüsikalistest ja keemilistest omadustest tingituna. Mikrokehade bioloogiline «tähendus» on juhuslik, välja arvatud mõningad ilmselt sekretoorse või ekskretoorse talitlusega membraansed mikrokehad, mis eralduvad bakteriraku pinnale. Üldiselt võib oletada, et mikroorganismide degeneratsiooniga kaasneval membraansete mikrokehade tekkel on ökoloogilis-adaptiivne (kohastumuslik) tähendus. Selle täpsemaks määramiseks tuleks laboratoorse uurimise tingimusi rohkem lähendada mikropopulatsioonide looduslikele elutingimustele.

## MEMBRANEOUS MICROBODIES AND DEGENERATION OF THE MICROBIAL CELL

The existence of different types of membraneous microbodies was established by electron microscopical investigations of natural populations of microorganisms, especially in unfavourable environmental conditions as well as in the populations of endobionts in tissues of plants and insects. The origin and formation of these microbodies could not be explained by the results of ordinary microbiological investigations due to the differences between the conditions of laboratory cultures and those in the natural environment of microbial populations. The degeneration and morphological transformation of microbial cells during the ageing of 11 isolates of the epiphytic bacteria *Erwinia herbicola* were cytologically studied for ascertaining the possible ways and conditions of formation of the membraneous microbodies as derivatives of microbial cell.

The formation of three groups of membraneous microbodies was revealed to be an issue of the destruction of the bordering structures, or an anomalous differentiation of the membrane system of the microbial cell. The first group of microbodies (Figs 2—8) appears to be formed as a result of the rupturing of the cell wall or the plasma membrane by the «in-rolling» of the membrane, resulting from their chemical polarity. The second group (Figs 9—14) was established only in one isolate; it represents the microbodies separated at the folding of the cell wall in their invagination into the periplasmic space of the microbial cell. The third group (Figs 15—17) acquired the form of cytoplasmic microbodies separated by the membrane in microbial protoplast. In case of disintegration of such a cell, the microbodies become autonomous, representing microsphaeroplasts or minicells.

There are no data on the autonomous development of the membraneous microbodies although from the ways of their formation it may be possible to assume a probable connection of some microbodies with bacterial nucleoids or plasmids. In addition to the first group of microbodies, different morphological changes in some microbial cells, such as the autophagous-like vacuoles and the formation of minicells belonging to the

third group in the process of deep plasmolysis (Figs 18—20), were revealed by studying the ageing of *Erwinia herbicola* on a nutrient-rich medium.

Some conclusions were reached while analyzing the obtained results in comparison with the data on microbodies obtained at the investigation of other microorganisms. The degeneration of the microbial cell for different reasons leads to the formation of membraneous microbodies. The formation of these microbodies has originated from the physicochemical properties of the cell membranes, while the biological «significance» of the mentioned microbodies is accidental, with the exception of some excreting and storage microbodies.

Generally we assume the ecological-adaptational role of some membraneous microbodies connected with the degeneration of the microbial cells, although for a more detailed study of this problem a suitable linkage of the conditions of laboratory investigations with the natural conditions of the development of the microbial populations is needed.