

## ZAGADNIENIE EFEKTYWNOŚCI SYMBIOZY ROŚLIN MOTYLKOWYCH Z BAKTERIAMI. TWORZENIE BAKTEROIDÓW I FORM INWOLUCYJNYCH PRZEZ *RHIZOBIUM MELILOTI* I *RH. TRIFOLII*

J. GOŁĘBIEWSKA

Przyjmuje się na ogół, że dla ilości związanego azotu przez rośliny motylkowe decydujące są właściwości szczepu bakteryjnego współżyjącego z daną rośliną.

Wiadomo jest również, że warunki środowiska, w jakich żyje roślina odgrywają niemałą rolę dla przebiegu symbiozy i procesu wiązania azotu.

Mało jednak dotychczas zwracano uwagi na podatność samej rośliny na symbiozę, jako równorzędnego partnera w tym systemie symbiotycznym.

Nie wszystkie rośliny motylkowe są zdolne do symbiozy. Allen i Baldwin\* podają, że u poszczególnych podrodzin w obrębie rodziny *Leguminosa* zaobserwowano następującą podatność na symbiozę:

Podrodzina	Liczba gatunków zbadanych	
	zdolnych do symbiozy	niezdolnych do symbiozy
<i>Papilionaceae</i>	912	57
<i>Mimozoidae</i>	118	12
<i>Caesalpinioideae</i>	33	64
Razem	1063	153

Z punktu widzenia rolniczego interesuje nas zdolność symbiozy i wiązania azotu przez rośliny uprawne. Łubin, koniczyna, lucerna i groch należą do tej grupy roślin, które na ogół z łatwością współżyją z bakteriami. Obserwacje wykazały jednak, że często w populacjach roślinnych zdarzają się takie osobniki, które nie brodawkują.

\* O. Allen i J. Baldwin: Rhizobia — Legume Relationships. Soil Science, 1954, 78, 6.

Jednym z warunków prawidłowego przebiegu symbiozy jest zdolność przekształcania się bakterii wnikających do rośliny w formy bakteroidalne. Jakie czynniki decydują o przemianach bakterii w bakteroidy nie jest jeszcze dostatecznie wyjaśnione. Nie wiadomo, czy są to przemiany uwarunkowane właściwościami samych tylko bakterii i ich wrażliwością na fizyko-chemiczne zmiany środowiska, czy też wiążą się one z procesami życiowymi rośliny.

Aby móc odpowiedzieć na te pytania, próbowaliśmy wyjaśnić, czy bakterie mogą przekształcać się w bakteroidy poza rośliną.

W literaturze spotyka się wzmianki o możliwości występowania bakteroidów nie tylko wewnątrz narośli korzeniowych, ale również *in vitro* na podłożach syntetycznych. Nasze jednak spostrzeżenia wskazywałyby na to, że *in vitro* powstają formy inwolucyjne na skutek degeneracji komórek, a nie właściwe bakteroidy.

W niniejszej pracy staraliśmy się to wyjaśnić z pomocą serii doświadczeń prowadzonych z *Rh. meliloti* i *Rh. trifolii*.

Obserwacje nad budową bakteroidów z brodawek korzeniowych prowadzono na lucernie uprawianej na mikropoletkach na 8 różnych glebach oraz na lucernie i na koniczynie szczepionych *Rhizobium* o różnej aktywności i rosnących w wazonach na piasku z pożywką bezazotową.

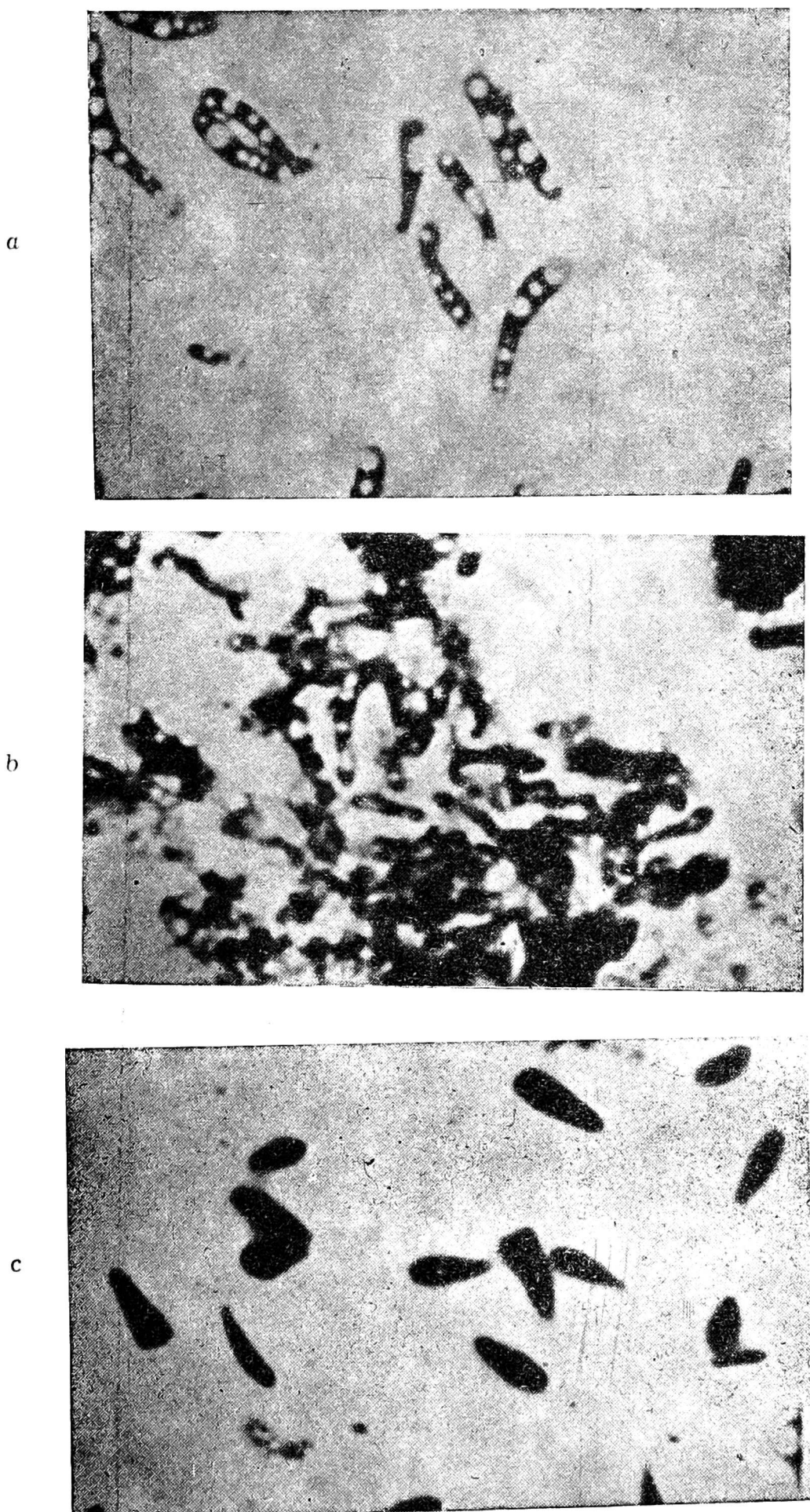
Formy inwolucyjne uzyskiwano w hodowlach płynnych *Rh. meliloti* i *Rh. trifolii* na pożywkach syntetycznych z dodatkiem jednej z następujących substancji: 0,1% kofeiny, 0,1% lub 0,5% kwasu nukleinowego, 0,01 lub 0,1% guaniny, 0,01 lub 0,1% pirydyny oraz 0,01% sparteiny.

Do mikroskopowania przygotowywano preparaty barwione fuksyną karbolową z tkanki bakteroidalnej brodawek korzeniowych lub z odwirowanych hodowli płynnych *Rhizobium*.

### W y n i k i b a d a ń

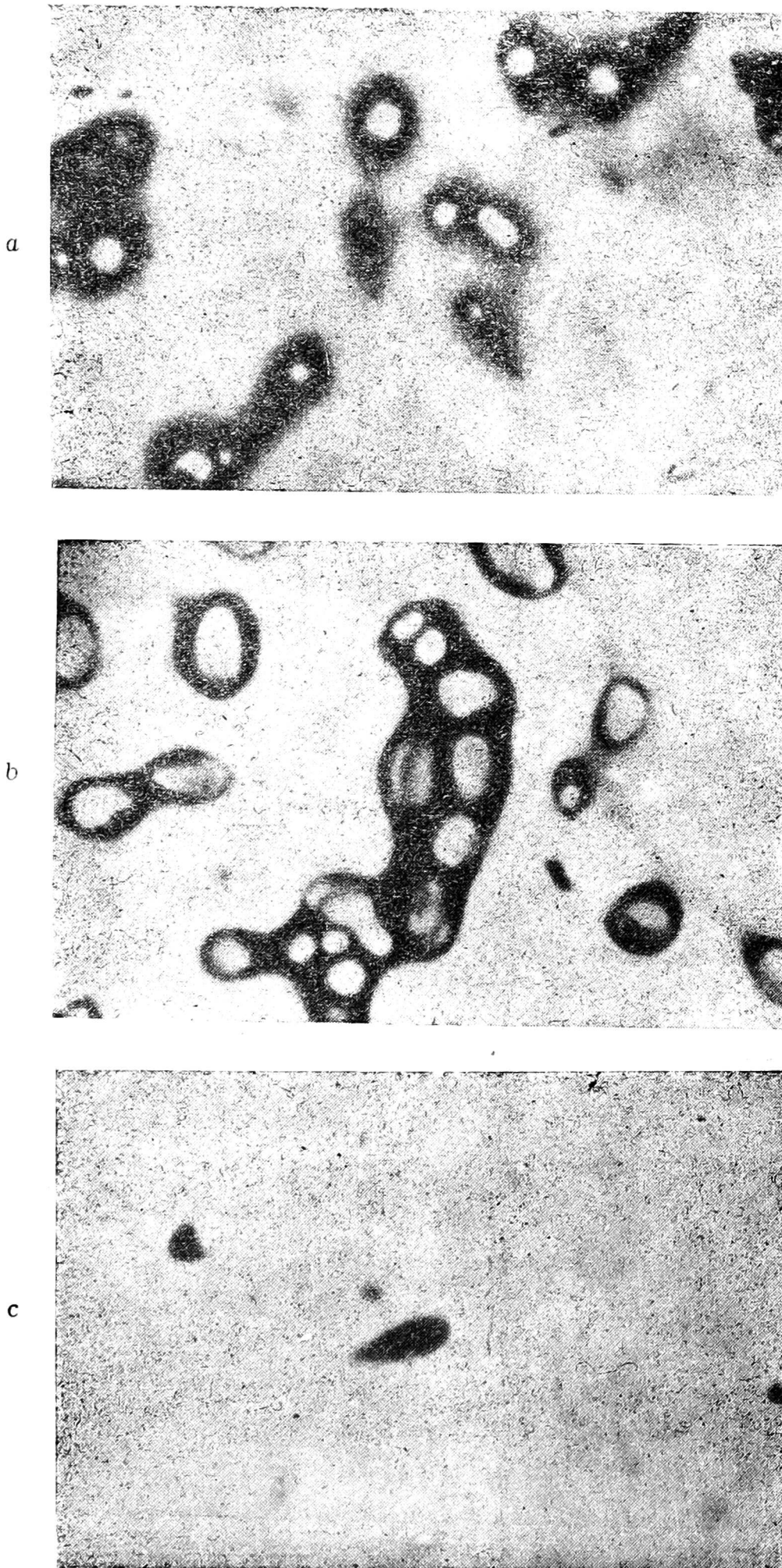
W zależności od rodzaju gleby brodawki korzeniowe lucerny miały różny pokrój. Nie miało to jednak wyraźnego wpływu na wygląd zawartych w nich bakteroidów. Najczęściej spotykaną postacią bakteroidów *Rh. meliloti* była gruba wydłużona pałeczka, lekko zgięta. Znaczne różnice zanotowano natomiast w budowie wewnętrznej tych bakteroidów objawiające się stopniem zgranulowania plazmy komórkowej i stopniem jej lizy (fot. 1).

Pokrój brodawek korzeniowych lucerny po zaszczepieniu jej różnymi szczepami *Rh. meliloti* był także różny. W brodawkach tych występowały jednak zawsze bakteroidy w postaci charakterystycznie wydłużonych komórek.

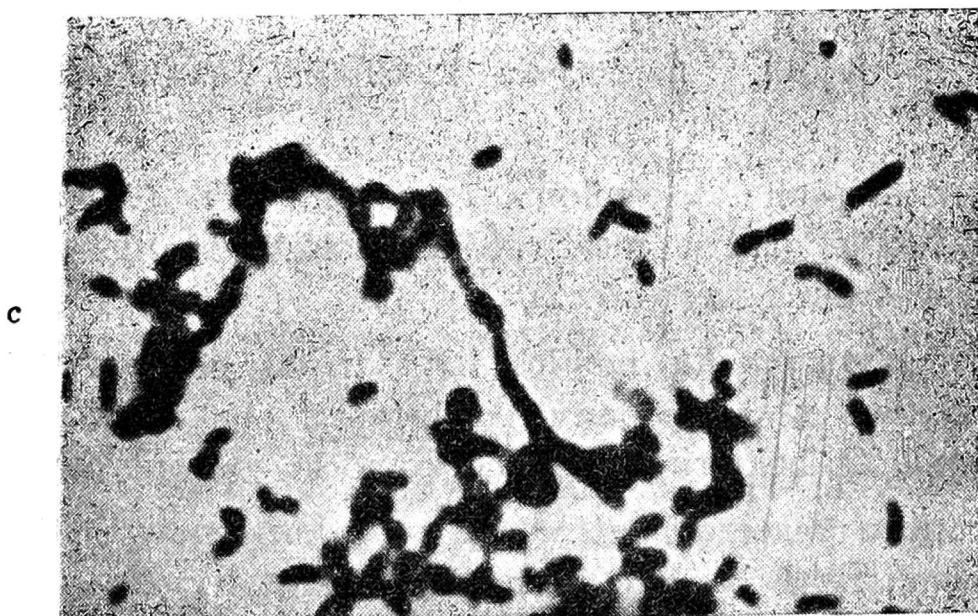


Fot. 1. Bakteroidy *Rh. meliloti* z lucerny uprawianej na różnych glebach: a — na lessie, b — na szcerku, c — na czarnoziemie

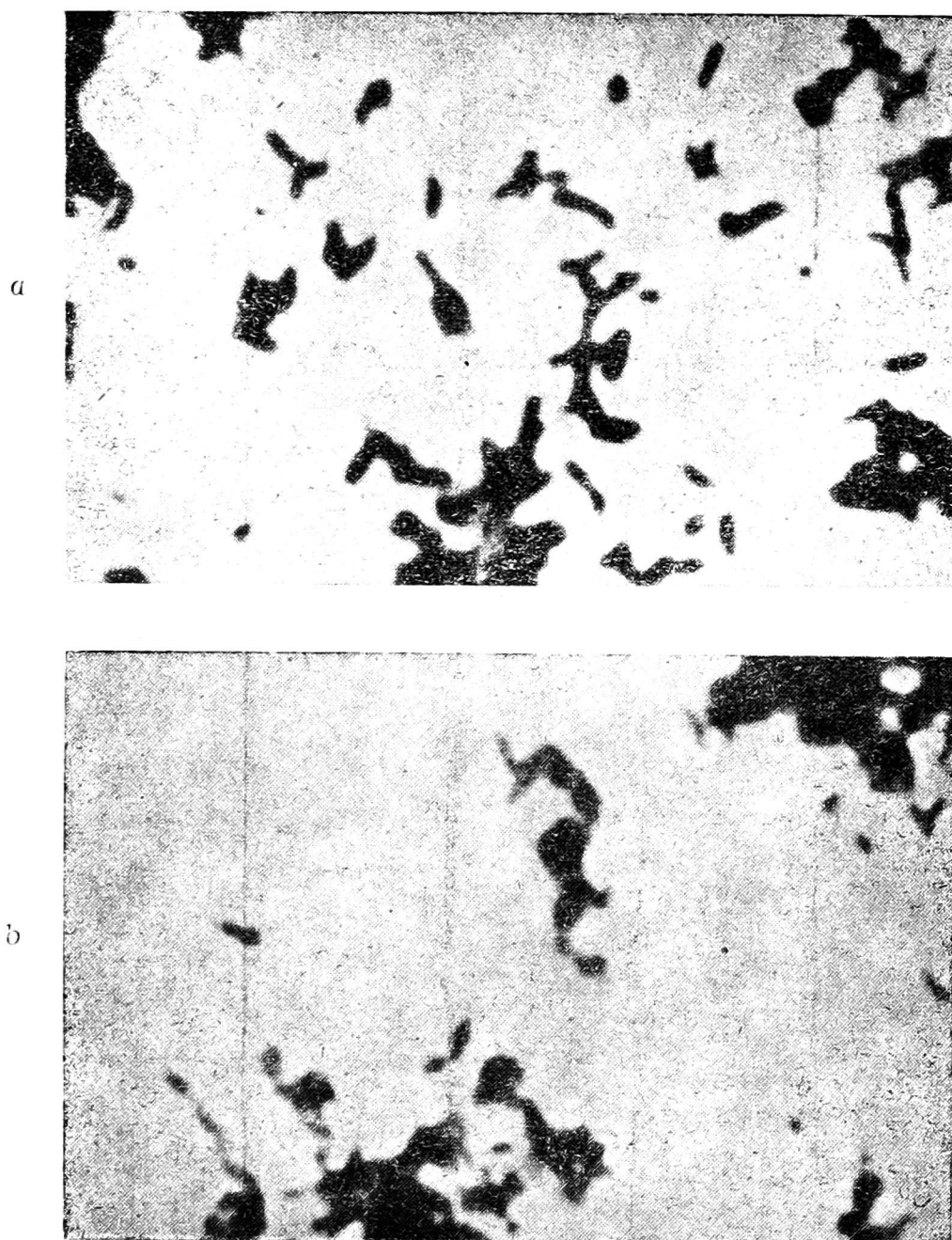
(Wszystkie fotografie wykonał M. Spuz w pracowni fotograficznej IUNG w Puławach)



Fot. 2. Bakteroidy *Rh. trifolii* z koniczyny szczepionej:  
a — aktywnym szczepem kon. X, b — aktywnym szczepem  
kon. B, c — nieaktywnym szczepem nr 325



Fot. 3. Tworzenie się form inwolucyjnych w hodowlach:  
a — *Rh. trifolii* na pożywce z kofeina, b — *Rh. meliloti* na pożywce z kofeina, c — *Rh. meliloti* na pożywce ze sparteina

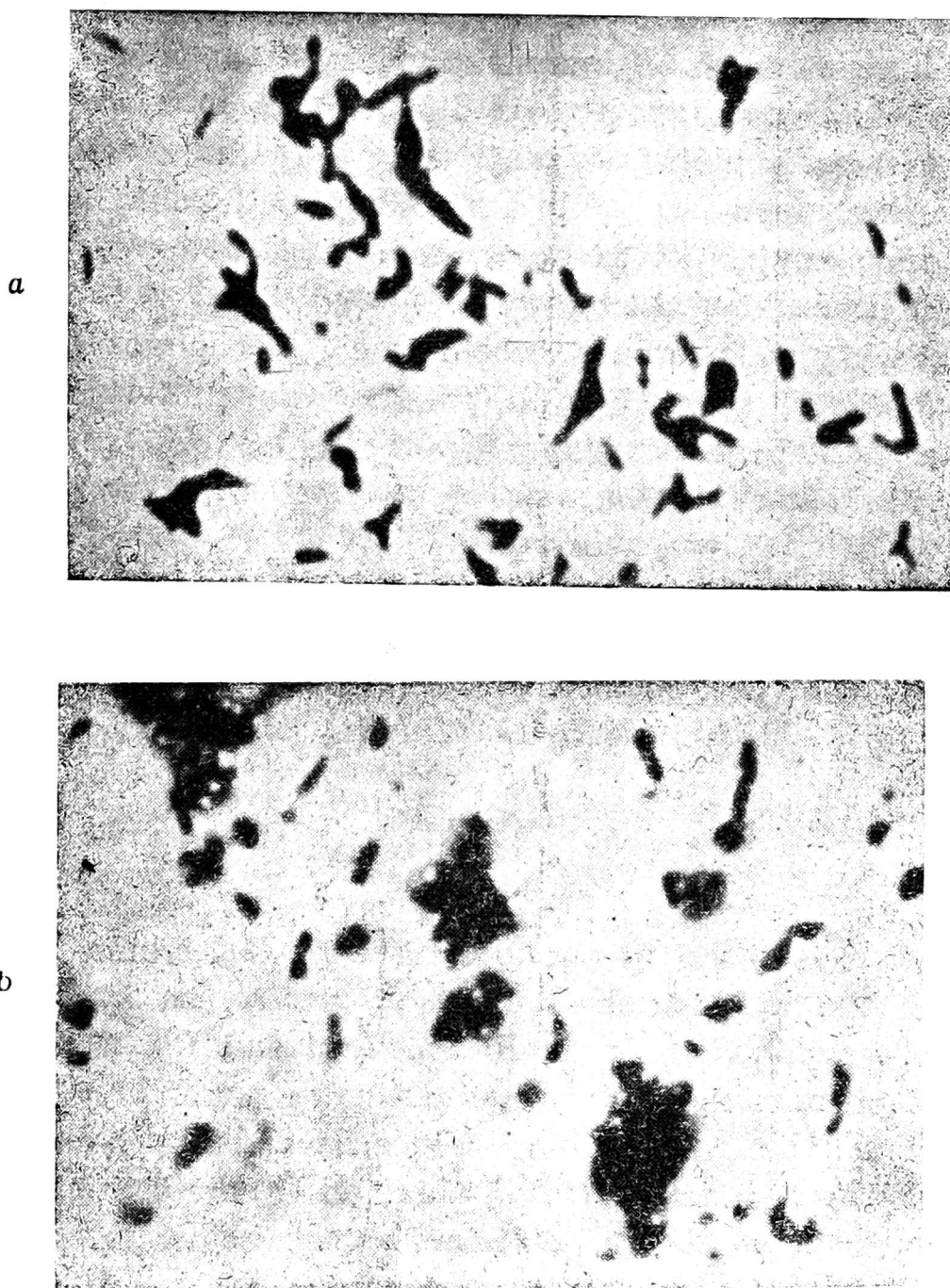


Fot. 4. Formy inwolucyjne dwóch różnych szczepów *Rh. meliloti*: a — luc. B  
b — luc. Ch na pożywce z kwasem nukleinowym

U koniczyny szczepionej ośmioma szczepami *Rh. trifolii* o różnej aktywności podobnie jak u lucerny bakteroidy różniły się znacznie stopniem zaawansowania lizy (fot. 2).

W hodowlach płynnych *Rh. meliloti* i *Rh. trifolii* na pożywkach mineralnych z dodatkiem wyżej podanych substancji obok normalnie rozwijających się komórek bakterii spotykano komórki zdegenerowane.

W porównaniu z bakteroidami z brodawek korzeniowych komórki te miały inne wymiary i bardzo nieregularne kształty (fot. 3). Zmiany w ich budowie nie zależały przy tym od różnic szczepowych a nawet gatunkowych *Rhizobium*. Ilość procentowa takich zniekształconych komórek w hodowlach *Rhizobium* była zazwyczaj bardzo mała w przeci-



Fot. 5. Formy inwolucyjne dwóch różnych szczepów *Rh. trifolii*: a — kon. 3 i b — kon. F. na pożywce z kwasem nukleinowym

wieństwie do masowego występowania bakteroidów w brodawkach korzeniowych.

W hodowlach *in vitro* nie spotykano również form o wewnętrznej budowie komórek podobnej do budowy bakteroidów. Na ogół nie obserwowano w nich charakterystycznej lizy wewnętrznej treści komórek.

Na specjalną uwagę zasługuje zmiana wyglądu komórek *Rh. meliloti* i *Rh. trifolii* w hodowlach z dodatkiem kwasu nukleinowego. W tym wypadku większość bakterii traciła normalny kształt pałeczek, przy czym obok zaglutynowanej masy komórek i ich postaci bardzo zmienionych można było doszukiwać się komórek przypominających swą budową bakteroidy (fot. 4 i 5).

Nasze obserwacje wykazały, że między bakteroidami tworzącymi się w naroślach korzeniowych i formami inwolucyjnymi *Rhizobium* powstającymi w hodowlach *in vitro* istnieją duże różnice w zewnętrznej i wewnętrznej budowie komórki. Wydaje się, że podczas gdy bakteroidy stanowią określoną formę w cyklu rozwojowym *Rhizobium*, podobne do nich formy inwolucyjne powstają w hodowlach *in vitro* sporadycznie pod wpływem czynników chemicznych.

Bardziej precyzyjne badania cytochemiczne i biochemiczne mogą pomóc w poznaniu bodźców powodujących powstawanie bakteroidów i w poznaniu różnic istniejących między typowymi bakteroidami i formami inwolucyjnymi. Pośrednio może się to przyczynić do wyjaśnienia roli bakteroidów w procesie wiązania azotu.

## THE FORMATION OF BACTEROIDS AND INVOLUTION FORMS BY *RHIZOBIUM MELILOTI* AND *RH. TRIFOLII*

J. Gołębiowska

### Summary

Some mention is made in the literature of bacteroids occurring not only inside of the root nodules but also *in vitro*, on synthetic media. A series of observations made on *Rh. meliloti* and *Rh. trifolii* in order to explain the phenomenon, are presented in the paper.

The bacteroids from root nodules of lucerne and clover and involution forms of *Rh. meliloti* and *Rh. trifolii*, obtained from culture on a synthetic medium with the addition of caffeine, nucleic acids, guanine, pyridine or sparteine, were studied under the microscope.

Our observations showed that there are great differences in the external and internal structure of cells between bacteroids formed in root nodules and involutions forms of *Rhizobium* arising *in vitro*, due to chemical factors. This would render evidence for their different function.

## СОЗИДАНИЕ БАКТЕРОИДОВ И ИНВОЛЮЦИОННЫХ ФОРМ ЧЕРЕЗ *RHIZOBIUM MELILOTI* И *RH. TRIFOLII*

Я. Голэмбевска

### Содержание

В научной литературе встречаются заметки о возможности выступления бактерий не только во внутри клубеньков, но также *in vitro*, на синтетической питательной среде.



В настоящей работе мы пытались выяснить это методом серии наблюдений проведенных на *Rh. meliloti* и *Rh. trifolii*.

Наблюдения были проведены на раскрашенных микроскопических препаратах бактериоидов из клубенков люцерны и клевера и на инволюционных формах *Rh. meliloti* и *Rh. trifolii* полученных при выращивании этих бактерий на синтетической питательной среде, к которой добавляли: кофеин, нуклеиновую кислоту, гуанин, пиридин или спартеин.

Как показали наши наблюдения, между бактериоидами, возникающими внутри корневых клубенков и инволюционными формами *Rhizobium*, возникающими при возвращении *in vitro* под влиянием химических факторов существуют большие различия во внешнем и внутреннем строении клетки.

Это свидетельствовало бы тоже об разной роли, которую они исполняют.