

УДК 579.22/23

ПОПУЛЯЦИОННАЯ ЦИТОЛОГИЯ: РОЛЬ В ИЗУЧЕНИИ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПРОКАРИОТ

О.И. Баулина

(кафедра физиологии микроорганизмов; e-mail: baulina@inbox.ru)

В процессе эволюции прокариот, в противоположность формированию тканевой структуры многоклеточных эукариотных организмов, закрепился способ существования отдельных клеток или примитивных многоклеточных образований в виде популяций — колоний, биопленок, микроколоний, суспензий. У разных видов клетки могут представлять собой одиночные особи или входить в состав различного рода комплексов, например клеточных агрегатов, многоклеточных нитей, трихомов. Топография взаиморасположения и структурной взаимосвязи клеток в популяции, обособление групп клеток и существование у ряда видов многоклеточных особей определяет видоспецифичность структуры популяции. Вместе с тем огромный экспериментальный материал разных лет свидетельствует о том, что в любых популяциях прокариот клеткам, представляющим собой одиночные особи или входящим в состав многоклеточных индивидуумов, свойственны черты, определяющие жизнедеятельность популяции как целостной системы надклеточного уровня. Основными из них являются специализация, т.е. разделение функций, и кооперация, т.е. сотрудничество или координируемое (регулируемое) взаимодействие. Сочетание этих двух комбинаторных свойств сопряжено с процессом развития популяций микроорганизмов в постоянно изменяющейся среде обитания. В данном случае просматривается аналогия структурно-функциональной организации микробной популяции и многоклеточного эукариотного организма. Наиболее демонстративными в этом плане являются миксобактерии (Kaplan, Plamann, 1996). Их жизненный цикл, включающий координированное движение роя и образование плодового тела, представляет собой последовательные стадии реализации процессов, которые можно обозначить как специализацию и кооперацию клеток, инициально вызванных дефицитом питательных субстратов. Начиная с середины 80-х гг. XX в. и особенно в последние годы вопросы, связанные со сравнительным анализом организации и функционирования популяций микроорганизмов и многоклеточных эукариотных организмов, стали предметом обсуждения для многих микробиологов (Shapiro, 1988; Высоцкий и др., 1991; Олескин и др., 2000; Эль-Регистан, 2005; и др.). Начиная с 1987 г. эти аспекты популяционного подхода в физиологии микроорганизмов являются пред-

метом преподавания студентам биологического факультета МГУ в спецкурсах, разработанных под руководством проф. М.В. Гусева, много лет бывшего деканом факультета, автором этой статьи и впоследствии О.А. Гореловой и А.В. Олескиным.

В предлагаемой вниманию читателей работе основное внимание уделено структурным основам организации развивающихся бактериальных популяций как целостных систем, взаимодействующих со средой обитания.

История становления популяционного подхода в цитологии микроорганизмов. Начальный исторический этап исследования специализации бактериальных клеток связан с обнаружением их морфологического разнообразия в чистой культуре. Подробный анализ научных направлений микробиологии конца XIX в., которые формировали исследователи “мономорфисты” и “плеоморфисты”, представлен в фундаментальных монографиях известного цитолога микроорганизмов М.А. Пешкова (1955, 1966). В них, как и в последующих изданиях (Прозоровский и др., 1981; Высоцкий и др., 1991), где представлен подробный анализ истории развития учения о клеточном гетероморфизме бактерий, особо подчеркивается, что в нашей стране начало этим исследованиям положил выдающийся микробиолог Н.Ф. Гамалея. В 1894 г. он впервые описал разнообразные по морфологии клетки холерного вибриона, возникающие в культуре под влиянием солей лития, и ввел понятие “гетероморфизм”. Это произошло в период интенсивного развития в нашей стране и за рубежом исследований по влиянию на бактерии разнообразных физико-химических факторов, в том числе солей, прибавляемых к питательным средам. В 1910 г. В.И. Кедровский, указывал на то, что “так называемая чистая культура является сложным организмом, не все клетки которого идентичны” (цит. по: Равич-Биргер, 1936). В 1925 г. А. Энрици, изучая “цитоморфозы” — различные морфологические типы бактерий, обнаруживающиеся в культурах на разных стадиях развития культуры, — отметил приспособительное значение их возникновения при ухудшении среды культивирования (Henrici, 1925). П.П. Дьяконов в 1930 г. писал, что без ясного представления о внутренней структуре колоний нельзя судить о морфологических особенностях отдельных особей, а невнимание к “сообществу” — фактору ведущему и реша-

юшему — способно в корне дезориентировать разработку морфологии бактерий (Дьяконов, 1930). В это же время ряд зарубежных ученых высказывали аналогичное мнение, отмечая, как, например, исследователь Дибль, что в лабораторных культурах “присутствуют особи, отличающиеся друг от друга до предела возможного при данных условиях развития” (цит. по: Равич-Биргер, 1936). В цитируемой работе указывается, что среди них “наряду со спонтанно возникающими мутантами имеются модификанты, адаптированные к данным условиям”. Особый интерес у цитологов микроорганизмов вызывает то, что отечественные микробиологи модифицировали и применили гистологические методы для изучения бактериальных колоний, которые рассматривались ими как организованные системы, подчиняющиеся определенным законам развития, и выявили не только морфологическую, но и тинкториальную неоднородность составляющих их клеток (Пешков, 1936; Эпштейн и др., 1936).

Таким образом, уже на этапе ранних классических исследований начала выкристаллизовываться идея об адаптационном значении клеточного гетероморфизма бактерий. Большой вклад в развитие учения о гетероморфизме как нормальном проявлении приспособительных свойств развивающихся бактериальных популяций внесли М.А. Пешков и его ученики. Одно из основных положений, выдвинутых этим ученым, — его трактовка феномена L-трансформации бактерий, имеющей адаптационное значение, как проявления гетероморфного роста популяций (Пешков, 1955).

В этот же период (1952 г.) акад. Н.Д. Иерусалимский в своих фундаментальных исследованиях по физиологии микроорганизмов, ставших классикой для многих микробиологов современности, создал “теорию бактериальной культуры”, развивая представления о фенотипической гетерогенности клеток и онтогенезе культур микроорганизмов. На примере бактерии рода *Clostridium* он показал появление на разных стадиях развития культуры наряду с вегетативными клетками разнообразных клеточных типов: дифференцирующихся спор, отмирающих клеток, фильтрующихся (“невидимых в микроскоп”) клеточных форм. Для различных типов развития, реализующихся бактериями в разных условиях, Н.Д. Иерусалимский предложил термин “приспособительная модификация” (цит. по: Головлёв, 1999). В контексте нашей статьи важно подчеркнуть, что, по мнению Е.Л. Головлёва, теоретическое исследование Н.Д. Иерусалимского “отражало предвидение фенотипических вариаций, все новые варианты которых открываются в последние годы”. Изучение цианобактерий, которое проводилось нами под руководством М.В. Гусева, признанного ведущим специалистом по физиологии этих прокариот, способствует интенсивному развитию такого представления.

В 1962 г. В.Д. Фёдоров впервые для цианобактерий показал, что свойством растущих культур этих микроорганизмов является закономерное образование нежизнеспособных клеток в процессе пролиферативного клеточного деления (Фёдоров, 1962). М.В. Гусев многократно подчеркивал значение этой работы как пионерской и основополагающей для изучения деградации клеток и культур микроорганизмов, имея в виду, что закономерности этих процессов должны носить всеобщий характер. Действительно, и для других бактерий впоследствии были получены данные, в том числе электронно-микроскопические, свидетельствующие об определенной закономерности феномена неэквивалентности двух потомков одной поделившейся бактериальной клетки (Смирнов, 1985; Высоцкий и др., 1991). Эти исследования существенно дополнили представления микробиологов о том, что образование неидентичных по многим признакам дочерних клеток является следствием стохастических процессов и способствует возрастанию фенотипической гетерогенности культур (Головлёв, 1999).

К настоящему времени как в природных популяциях, так и в лабораторных культурах патогенных, симбиотических, сапрофитных бактерий описано около 20 типов клеток со специализированной функцией (таблица). В ряде случаев это дифференцированные клетки, для которых описаны молекулярно-генетические механизмы клеточной дифференциации, в других случаях специализация очевидна как феномен, функция некоторых клеточных типов еще до конца не определена.

Развивая идею классических исследователей об адаптационном значении гетероморфизма и цитируя фундаментальные труды (Иванов, Угодчиков, 1984; Печуркин и др., 1990), следует подчеркнуть, что биологическое значение фенотипической клеточной гетерогенности заключается в повышении устойчивости, гибкости и приспособленности бактериальной популяции при изменении условий. Динамическая гетерогенность популяций, по мнению Е.Л. Головлёва, обеспечивается “метастабильностью фенотипа”, которая генерировалась бактериями (не только патогенными, но и сапрофитными) в ходе эволюции как способ адаптации и стабилизации вида в нестабильной среде, и проявляется на популяционном уровне в таких процессах, как, например, фазовые и антигенные вариации (Головлёв, 1998).

По Н.Д. Иерусалимскому, микробная культура развивается как единая система клеток и условий среды. Он писал, что “культура не является простой суммой клеток и обладает рядом свойств и особенностей, которые у отдельно взятых клеток отсутствуют” (цит. по: Головлёв, 1999). В связи с последующим развитием представления о кооперации, в частности структурном взаимодействии клеток в микробной популяции, необходимо привести еще один факт, ставший сейчас уже историей. В 1984 г.

**Основные типы прокариотных клеток,
различающихся по специализации структуры и функции**

Типы клеток	Функция
Вегетативные клетки	Размножение, жизнедеятельность вида в целом
Беоциты цианобактерий	Размножение
Клетки, формирующие гормогонии цианобактерий	Подвижность, распространение популяций
Клетки-швермеры	
Гетероцисты цианобактерий	Фиксация атмосферного азота
Бактероиды клубеньковых бактерий	
(Авто)лизирующиеся клетки*, в том числе: <i>погибающие в результате апоптоза клетки миксобактерий</i> <i>некридии цианобактерий</i>	Повышение количества питательных веществ в среде; участие в цикле развития популяций, в частности: <i>участие в формировании плодового тела</i> <i>разделение трихома</i>
Покоящиеся формы разных видов: эндоспоры, экзоспоры, цисты, миксоспоры, акинеты, цистоподобные покоящиеся клетки	Переживание неблагоприятных условий, последующее размножение
L-формы	Персистенция в тканях эукариот и при изменении условий местообитания в почве, воде и т.п.
Нанобактерии	Связана с переживанием неблагоприятных условий

*В противоположность этому обнаружены клетки с существенными деструктивными изменениями, но не лизирующиеся в течение всего длительного периода наблюдения: микромумии (Эль-Регистан, 2005) и цианобактерии после фотоокислительного стресса (Баулина, 2005). Функция этих клеточных форм неясна.

в Пушкино, на базе ИБФМ им. Г.К. Скрыбина РАН состоялось Всесоюзное совещание по цитологии микроорганизмов. Значение его, на наш взгляд, определяется началом глобального переосмысления большого экспериментального материала о разнообразии структурной организации клеток в популяциях прокариот в связи с выявленными закономерностями развития и адаптации популяций как целостных саморегулирующихся систем.

Так, в докладе В.В. Высоцкого, Н.А. Бакулиной, И.Ш. Вайсмана, О.Г. Ефимовой и Г.А. Котляровой на основании данных электронной микроскопии были впервые суммированы и обсуждены как свойства популяций, имеющие приспособительное значение, особенности организации колоний ряда патогенных бактерий (Высоцкий и др., 1984). К ним авторы отнесли: морфологическую вариабельность клеток, включая L-трансформацию; наличие: чехла колонии; межклеточных связей (структурных); межклеточного матрикса как компонента микробной колонии, играющего важную роль в обеспечении ее

жизнедеятельности. В отношении объекта наших исследований — цианобактерий, колонии которых организованы сходным образом, в эти же годы было высказано, что у них, как и у актиномицетов, ветвление нитей при длительном сохранении межклеточных связей приводит к образованию крупных колоний, где наблюдается дифференцировка клеток и нитей и которые, “по существу, являются гигантскими организмами” (Громов, 1986). Примерно в это же время, в 1988 г. был опубликован обзор Джеймса Шапиро, где автор высказал концептуальное положение о том, что бактериальным колониям свойственна не только дифференциация составляющих ее клеток на различные клеточные типы, но и высокая упорядоченность организации колоний, регулируемая, по-видимому, тонкими временными и пространственными контрольными системами (Shapiro, 1988). В этот же период представление о развивающихся популяциях прокариот как динамичной совокупности взаимодействующих клеток и их гетерогенности независимо формировалось под руководством М.В. Гусева на биологическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова в качестве одного из подходов к изучению физиологии микроорганизмов.

Объем современных знаний о структурных и молекулярно-генетических основах межклеточных взаимодействий микроорганизмов огромен. Теперь эти вопросы обсуждаются на специализированных конференциях как у нас в стране (Капрельянц, Антонюк, 2006), так и за рубежом (Dittmann et al., 2002). В целом ряде случаев доказано, что специализация и кооперация являются результатом внутрипопуляционных регуляторных процессов в ответ на внешнее воздействие. Например, сенсорно-сигнальная стратегия межклеточных взаимодействий выявлена при различных типах морфогенеза спор у миксобактерий, бацилл и стрептомицетов, а также при дифференцировке, координируемой клеточным циклом, у простековых бактерий. В настоящее время роль глобального фактора регуляции экспрессии генов у микроорганизмов отводится системам типа “quorum-sensing” (Хмель, 2006).

Важным признаком кооперации наряду с дистанционными сенсорно-сигнальными коммуникациями являются взаимодействия, включая объединение клеток, на уровне поверхностных структур и межклеточного матрикса, что было показано с помощью методов электронной микроскопии. В межклеточных взаимодействиях прокариот (как внутрипопуляционных, так и межвидовых) в том числе с эукариотами, участвуют следующие структуры: наружная мембрана клеточной стенки; транспортные везикулы, сформированные наружной мембраной; пептидогликан; метанохондроитин архей; структуры, подобные микроплазматесмам; S-слои; слои, подобные гликокаликсу; капсулы; чехлы; межклеточный матрикс; целлюлозные фибриллы; жгутики; фимб-

рии (пили); стебельки, а также разнообразные поверхностные выступы, фибриллы и межклеточные мостики, тонкое строение и химическая природа которых еще до конца не исследованы.

Популяционная цитология — направление физиологии микроорганизмов. Мы считаем, что в целом структурно-функциональные свойства и соотношение различных клеточных типов, формирующихся в процессе развития популяций адекватно условиям местообитания, а также структурные основы межклеточных взаимодействий представляют собой предмет исследования популяционной цитологии прокариот (Баулина, 2005, 2006). Это направление является неотъемлемой частью физиологии микроорганизмов. В такого рода работе, безусловно, используется как традиционная, так и современная цитологическая методология с привлечением методов и данных физиологии, биохимии, молекулярной биологии и генетики. Сегодня необходимо учитывать весь комплекс наших современных знаний об эволюционно сложившихся особенностях жизнедеятельности прокариот, способствующих возникновению и увеличению разнообразия морфофизиологических клеточных форм в рамках вида. Имеется в виду, что результаты цитологических исследований важно интерпретировать с учетом присущей прокариотным клеткам фенотипической пластичности, которая, по определению Брауна, Вильямса и Костертонна, представляет собой совокупность гибких систем быстрого адаптивного реагирования, важное место среди которых занимает регулируемая экспрессия генов (Brown, Williams, 1985; Costerton, 1988). В конце 80-х гг. XX в. фенотипическая пластичность изучалась в основном с привлечением экспериментальных данных об изменениях как макромолекулярной, так и ультраструктурной организации клеточной оболочки и других поверхностных структур патогенных бактерий, способствующих их выживаемости в процессе инфицирования животных и растений. В последние годы чрезвычайно широко, как известно, исследуются молекулярно-генетические механизмы ответа бактерий на воздействие самых разнообразных физических и химических факторов. Важно отметить, что при этом было также установлено, что для бактерий характерна обратимая рекомбиногенная изменчивость генома, возникающая, как правило, спонтанно и не синхронно в разных клетках популяции с высокой частотой, и также имеющая адаптационное значение наряду с регуляцией на эпигенетическом уровне (Прозоров, 2001). Следствием такой изменчивости является возникновение клеток с различными фенотипическими признаками, набор которых в основном аналогичен выявленному ранее при изучении фенотипической пластичности поверхностных структур патогенных бактерий (например, антигенные вариации, продукция экстрацеллюлярных полисахаридов, пилей и др.).

Исходя из этого можно сделать вывод, что в современной интерпретации фенотипическая пластичность бактерий отражает работу различных регуляторных процессов как на уровне адаптивных внутригеномных перестроек, так и на эпигенетическом уровне. Сочетание этих процессов было обнаружено, например, при изучении регуляции экспрессии поверхностных белковых S-слоев бактериальных клеток (Fernández, Berenguer, 2000).

Фенотипическая пластичность проявляется на разных уровнях клеточной организации: метаболическом (включая химическую модификацию или альтернативный синтез макромолекул), ультраструктурном и морфологическом. Это отражает специфику действующих на каждом уровне комплексов адаптационных процессов. В соответствии с этим нами выделено понятие “ультраструктурная пластичность” бактерий, которую следует рассматривать в качестве составляющей фенотипической пластичности наряду с пластичностью метаболизма.

Ультраструктурная пластичность — это обратимая перестройка ультраструктурной организации бактерий в ответ на изменение внешних условий. Она проявляется в изменении размеров, конфигурации и других параметров архитектоники, а также в наличии, отсутствии или разнообразии структурных элементов системы субклеточного, клеточного и в целом популяционного уровня в пределах сохранения структурно-функциональной целостности системы. Именно введение этого понятия позволяет рассматривать ультраструктурные критерии как индикатор причин и возможных механизмов морфологических и функциональных перестроек клеток и популяций, адекватных изменившимся условиям обитания.

К этим выводам нас привели многолетние исследования цианобактерий в сравнении с другими микроорганизмами, проводимые по тематике научной школы М.В. Гусева. Цианобактерии изучали в различных условиях роста и экспериментального воздействия: при культивировании в оптимальных условиях, в темноте и на ярком свете; в условиях индукции лизоцимом L-трансформации; в составе природных симбиозов с растениями; в модельных ассоциациях с растительными клетками в суспензионных культурах, с каллусными тканями, растениями-регенерантами и укорененными черенками (Баулина, 2005). На схеме (см. рисунок) приведены основные формы и взаимосвязанные уровни проявления ультраструктурной пластичности цианобактерий, выявленные в этих работах.

В рамках данной статьи эффективность использования ультраструктурных критериев для индикации адаптационных процессов можно наглядно продемонстрировать на примере цианобактерий в составе природных симбиозов и модельных ассоциаций с растительными партнерами. Формирование синцианозов в природе (воспроизведение в поколе-



Основные формы проявления ультраструктурной пластичности цианобактерий

ниях растения-хозяина), а также при моделировании в лабораторных условиях, как правило, происходит *de novo*, и это позволяет рассматривать структурно-функциональные перестройки микросимбионта как адаптационные в ответ на изменение условий местообитания. В то же время растительные ткани не являются лишь комплексом физико-химических факторов спонтанного воздействия. В процессе симбиогенеза происходит согласованное изменение свойств обоих партнеров (коадаптация), когда в результате коммуникации между ними растение принимает на себя ряд функций регуляторного характера, в том числе в отношении структурной модификации цианобионта (Горелова, 2006).

Известно, что цианобактериям свойственна дифференциация разных типов специализированных клеток, например гетероцист, осуществляющих фиксацию атмосферного азота, покоящихся акинет, клеток, формирующих подвижные трихомы — гормогонии. Соотношение этих клеточных типов, включая вегетативные клетки, а также структурно-функциональные свойства последних, изменяются в процессе симбиогенеза, где основной функцией цианобионта является обеспечение обоих партнеров связанным азотом. Наши исследования цианобактерий в природных симбиозах и модельных ассоциациях существенно расширили представление о перестройке клеток и популяций цианобактерий в этих системах. Здесь мы коротко остановимся на феноменах редукции клеточной стенки, образования везикул цитоплазматической мембраной, формирования слизистых поверхностных структур и меж-

клеточного матрикса, изменения структуры популяции (рисунок).

Эти свойства исследовали на модельных ассоциациях, различающихся по устойчивости, прежде всего по способности к длительному пассивированию. Была выявлена корреляция характера и разнообразия форм проявления ультраструктурной пластичности с устойчивостью, что указывает на адаптационное значение тех или иных структурных перестроек цианобактерий. В устойчивых системах, например таких, как каллус табака с *Anabaena variabilis* CALU 458, ультраструктурная пластичность проявляется в том, что часть клеток в ассоциированных популяциях цианобактерий преобразуется в формы с дефектной или редуцированной клеточной стенкой (ФРКС). К последним мы относим протопласты и сферопласты. В данной системе при полной редукции пептидогликанового слоя и наружной мембраны образуются протопласты. Обнаружение ФРКС в ассоциированных популяциях *A. variabilis* CALU 458, а также *Chlorogloeopsis fritschii* ATCC 27193, *Nostoc muscorum* CALU 304 и ВКМ 16 в ряде других устойчивых модельных систем и, кроме того, *Nostoc* spp. в природных синцианозах позволило нам впервые выдвинуть идею о существовании адаптационного процесса L-трансформации цианобионта в симбиозах с растениями (Gusev et al., 2002). Формирование в популяции L-форм, по-видимому, способствует персистенции микроорганизма в этих системах.

Другой формой проявления ультраструктурной пластичности в устойчивых модельных ассоциациях является формирование у цианобактерий сли-

зистых поверхностных структур, например капсул или покровов над группами клеток, а также межклеточного матрикса во внутритканевых зонах локализации цианобактерий (Gusev et al., 2002). Адаптационное значение этих преобразований заключается в том, что они способствуют компартментации микросимбионта в растительных тканях, где условия для роста и развития цианобактерий далеко не оптимальны.

В природных симбиозах, примером которых являются саговниковые растения, цианобактерии рода *Nostoc* локализованы в виде микроколоний в межклетниках кортикальной паренхимы специализированной зоны апогеотропных (кораллоидных) корней. Среди ФРКС в микроколониях нами впервые обнаружены необычные типы вегетативных клеток и гетероцист, ультраструктура которых подробно описана (Баулина, Лобакова, 2003а, б). Эти клеточные формы имеют явно выраженные ультраструктурные признаки массивного накопления в цитоплазме и интенсивного выделения вещества, входящего в состав межклеточного матрикса, и, вероятно, содержащего кислые полисахариды. У ФРКС вегетативных клеток цитоплазма заполнена отложениями вещества, по ультраструктуре аналогичного межклеточному слизистому матриксу. Это вещество выделяется из клеток с помощью поверхностных везикул, образованных цитоплазматической мембраной или при ее локальных разрывах на более поздних стадиях деградиационных процессов, сопряженных с разрушением таких клеток и заполнением цитоплазмы слизеподобным веществом. Специфическое окрашивание рутениевым красным нативных срезов кораллоидных корней свидетельствует о присутствии кислых полисахаридов не только в межклеточном матриксе, но и во внутриклеточном материале.

Аналогичный процесс слизееобразования свойствен и гетероцистам. В тех же микроколониях цианобионта помимо интактных имеется множество гетероцист с редуцированной клеточной стенкой (ГРКС) протопластного типа с признаками гиперпродукции и выделения экстрацеллюлярных полисахаридов. Особенностью таких ГРКС является формирование экзопротопластных футляров, дополнительных к типичным для гетероцист фибриллярному, гомогенному и пластинчатому слоям оболочки. Футляры состоят из вещества, аналогичного по ультраструктуре внутрицитоплазматическому. Вещество, образующее футляры, выделяется из цитоплазмы с помощью везикул, формирующихся цитоплазматической мембраной, а также через ее локальные разрывы. Вещество футляров, по-видимому, не может проникать через оболочку гетероцисты, а выделяется в межклеточный матрикс в области поры.

Имеются основания предполагать, что интенсивное слизееобразование и формирование межклеточного матрикса цианобионтами саговников явля-

ется, в частности, защитным механизмом популяции от бактерицидного действия некоторых фенольных соединений, разнообразный набор которых свойствен тканям симбиотической зоны кораллоидных корней, в том числе изученных нами (Лобакова и др., 2004). Структура симбиотических популяций цианобактерий определяется присутствием различных типов клеток и принципиально сходна с таковой другого рода колониальных бактериальных сообществ, в том числе биопленок, прежде всего по наличию интегрирующего компонента — межклеточного матрикса. Для цианобионтов саговников, по-видимому, не только формирование, но и в конечном итоге гибель специализирующихся на гиперпродукции вещества межклеточного матрикса ФРКС вегетативных клеток и ГРКС (образно говоря, клетки-камикадзе), адекватны необходимости защиты популяции в целом от бактерицидного действия фенольных соединений, продуцируемых растением. Можно думать, что эти клетки погибают в результате апоптоза, подобно некротизмам и лизирующимся клеткам миксобактерий при формировании межклеточного матрикса плодовых тел (см. таблицу).

Сложные перестроечные процессы, ведущие к образованию описанных необычных клеточных форм, и соответствие их возникновению потребности популяции цианобионта в защите от фенольных соединений свидетельствует о действии регуляторных механизмов адаптационного характера при инициации и последующем развитии этих процессов. Для цианобактерий предполагается наличие межклеточных сигнальных коммуникаций, где могут участвовать такие видоспецифические вещества, как, например, токсин микроцистин (Dittmann et al., 2002). Таким образом, есть основания считать, что в симбиотических микроколониях цианобактерий, где присутствуют различные типы клеток, могут функционировать внутривидовые межклеточные сигналы, обуславливающие кооперативное поведение клеток.

В целом, результаты работы по изучению разных видов и штаммов цианобактерий в различных условиях роста и экспериментального воздействия позволяют заключить, что формы проявления ультраструктурной пластичности указывают на возможное действие разнообразных адаптационных механизмов, реализующихся на субклеточном, клеточном и популяционном уровнях (Баулина, 2005). Среди них:

- везикулярный транспорт с участием наружной мембраны;
- **везикулярный транспорт с участием цитоплазматической мембраны;**
- **внутрицитоплазматический синтез и накопление кислых экзополисахаридов;**
- *гиперпродукция экстрацеллюлярных полисахаридов специализированными клеточными формами;*

- изменение дифференциации гетероцист со сменой их функциональной активности;
- L-трансформация;
- формирование межклеточного матрикса.

Следует подчеркнуть, что среди этих механизмов имеются не известные ранее у цианобактерий (выделены курсивом) и у бактерий вообще (выделены жирным шрифтом).

Таким образом, изучение ультраструктурной пластичности бактерий реализует идеологию популя-

ционной цитологии, демонстрируя важную роль этого направления физиологии микроорганизмов в исследовании жизнедеятельности прокариот.

* * *

Работа выполнялась при финансовой поддержке ГНТП России “Новейшие методы биоинженерии”, Российского фонда фундаментальных исследований (проекты № 94–04–12583–а; 97–04–48363; 00–04–48708; 03–04–48456) и Комиссии по грантам Президента РФ (грант НШ–1457.2003.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баулина О.И. 2005. Ультраструктурная пластичность цианобактерий: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М.
- Баулина О.И. 2006. Популяционная цитология: роль в изучении жизнедеятельности прокариот // Мат-лы конф. памяти проф. М.В. Гусева “Физиология микроорганизмов в природных и экспериментальных системах”. М. С. 6.
- Баулина О.И., Лобакова Е.С. 2003а. Необычные клеточные формы с гиперпродукцией экстрацеллюлярных веществ в популяциях цианообитов саговников // Микробиология. **72**. № 6. 792–805.
- Баулина О.И., Лобакова Е.С. 2003б. Гетероцисты с редуцированной клеточной стенкой в популяциях цианообитов саговников // Микробиология. **72**. № 6. 806–815.
- Высоцкий В.В., Бакулина Н.А., Вайсман И.Ш., Ефимова О.Г., Котлярова Г.А. 1984. Структурные основы микробных популяций как полиморфных многоклеточных систем // Тез. докл. Всесоюз. совещ. “Цитология микроорганизмов”. Пушкино. С. 44–46.
- Высоцкий В.В., Заславская П.Л., Машковцева А.В., Баулина О.И. 1991. Полиморфизм как закономерность развития популяций прокариотных организмов // Биол. науки. № 12. 5–18.
- Головлёв Е.Л. 1998. Метастабильность фенотипа у бактерий // Микробиология. **67**. № 2. 149–155.
- Головлёв Е.Л. 1999. Академик Николай Дмитриевич Иерусалимский (1901–1967) // Микробиология. **68**. № 6. 800–808.
- Горелова О.А. 2006. Коммуникация цианобактерий с растительными партнерами при формировании ассоциаций // Микробиология. **75**. № 4. 538–543.
- Громов Б.В. 1986. Природа цианобактериальной клетки // Функциональная структура цианобактерий. Л. С. 3–8.
- Дьяконов П.П. 1930. Топографическое изучение структуры колоний микроорганизмов // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. **7**. № 1. 114–121.
- Иванов В.Н., Угодчиков Г.А. 1984. Клеточный цикл микроорганизмов и гетерогенность их популяций. Киев. 280 с.
- Капрельянц А.С., Антонюк Л.П. 2006. Конференция “Коммуникации у микроорганизмов” // Микробиология. **75**. № 4. 437–439.
- Лобакова Е.С., Дубравина Г.А., Заголкина Н.В. 2004. Особенности образования фенольных соединений в апогеотропных корнях саговниковых растений // Физиол. раст. **51**. № 4. 541–549.
- Олескин А.В., Ботвинко И.В., Цавкелова Е.А. 2000. Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов // Микробиология. **69**. № 3. 309–327.
- Печуркин Н.С., Брильков Ф.В., Марченкова Т.В. 1990. Популяционные аспекты биотехнологии. Новосибирск. 171 с.
- Пешков М.А. 1936. Бактериальная колония как гистологический объект // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. **16**. № 2. 257–260.
- Пешков М.А. 1955. Цитология бактерий. М.; Л. 210 с.
- Пешков М.А. 1966. Сравнительная цитология синезеленых водорослей, бактерий и актиномицетов. М. 246 с.
- Прозоров А.А. 2001. Рекомбиногенные перестройки генома бактерий и адаптация к среде обитания // Микробиология. **70**. № 5. 581–594.
- Прозоровский С.В., Кац Л.Н., Каган Г.Я. 1981. L-формы бактерий (механизм образования, структура, роль в патологии) М. 240 с.
- Равич-Биргер Е.Д. 1936. Изменчивость микробов в свете биологических законов // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. **16**. № 6. 810–816.
- Смирнов С.Г. 1985. Этология бактерий — новое направление в исследовании прокариотов // Физико-химические исследования патогенных энтеробактерий в процессе культивирования. Иваново. С. 4–6.
- Фёдоров В.Д. 1962. О закономерностях отмирания клеток в размножающихся культурах синезеленых водорослей *Anabaena variabilis* и *Amorphanostoc punctiforme* // Докл. АН СССР. **144**. № 6. 1380–1383.
- Хмель И.А. 2006. Quorum-sensing регуляция экспрессии генов: фундаментальные и прикладные аспекты, роль в коммуникации бактерий // Микробиология. **75**. № 4. 457–464.
- Эль-Регистан Г.И. 2005. Микробная популяция как многоклеточный организм // Механизмы выживания бактерий. М. С. 13–142.
- Эпштейн Г.В., Равич-Биргер Е.Д., Свинкина А.К. 1936. К строению бактериальной колонии. Сообщение I. Гистологическое изучение колоний туберкулезной палочки // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. **16**. № 6. 817–821.
- Brown M.R., Williams P. 1985. The influence of environment on envelope properties affecting sur-

vival of bacteria in infections // *Ann. Rev. Microbiol.* **39**. 527–556.

Costerton J.W. 1988. Structure and plasticity of various organization levels in the bacterial cell // *Can. J. Microbiol.* **34**. 513–521.

Dittmann E., Glauber Y., Hisberguer M., Tandeau de Marsac N., Börner T. 2002. Microcystin — a cyanobacterial toxin with intercellular signalling function? // *Abstr. Euresco conf. "Bacterial neural networks (intracellular signalling)"*. Obernai (France). P. 30.

Fernández L.A., Berenguer J. 2000. Secretion and assembly of regular surface structures in gram-negative bacteria // *FEMS Microbiol. Rev.* **24**. 21–44.

Gusev M.V., Baulina O.I., Gorelova O.A., Lobakova E.S., Korzhenevskaya T.G. 2002. Artificial cyanobacterium-plant symbioses // *Cyanobacteria in symbiosis* / Eds. A.N. Rai et al. Dordrecht. P. 253–312.

Henrici A. 1925. On cytomorphosis in bacteria // *Science*. **61**. N 1591. 644–647.

Kaplan H.B., Plamann L. 1996. A *Myxococcus xanthus* cell density-sensing system required for multicellular development // *FEMS Microbiol. Lett.* **139**. 89–95.

Shapiro J.A. 1988. Bacteria as multicellular organisms // *Sci. Amer.* **258**. N 6. 62–69.

POPULATION CYTOLOGY AND ITS ROLE IN RESEARCH OF LIFE ACTIVITY OF PROCARYOTE

O.I. Baulina

The article presents the historical analysis of the development of population approach in cytology of microorganisms. Special attention is paid to the structural fundamentals of the organization of developing bacterial population as a holistic self-regulated system featuring cell specialization and cooperation. The structural and functional properties, the proportion of different cell types formed during population development under certain environmental conditions as well as the structural fundamentals of cell interaction are proposed as the subject of procaryote population cytology. The interrelationship of the phenotypical and ultrastructural plasticity concepts in bacteria is discussed. The results of the experiments carried out by the author on cyanobacteria in natural and model plant symbioses are employed as an evidence of efficiency of the ultrastructural plasticity-based criteria use as the markers of operation of adaptation mechanisms implemented on subcellular, cellular and population levels.