

Биологические функции экзополисахаридов *Acinetobacter sp.*

Т. П. Пирог

Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 154

Экзополисахарид (ЭПС), синтезируемый *Acinetobacter sp.*, выполняет защитные функции не только по отношению к клеткам продуцента, но также защищает от неблагоприятных факторов внешней среды (действия токсичных металлов Cu^{2+} и Cr^{6+} , формальдегида) микроорганизмы, находящиеся с *Acinetobacter sp.* в трофических взаимоотношениях. Ограниченный круг микроорганизмов (микромикеты, анаэробные сульфатредуцирующие и хромвосстанавливающие бактерии и некоторые аэробные гетеротрофы) использует ЭПС *Acinetobacter sp.* в качестве источника углеродного питания. ЭПС, синтезируемый *Acinetobacter sp.*, может служить также источником неорганических катионов для микроорганизмов в условиях пониженной концентрации минеральных веществ.

Введение. Как известно, микробные экзополисахариды (ЭПС) выполняют следующие биологические функции [1]: защитные; служат посредником во взаимодействии микроорганизмов с другими микроорганизмами, макроорганизмами, объектами неживой природы; участвуют в удовлетворении трофических потребностей микроорганизмов.

В предыдущих работах [2, 3] были исследованы защитные функции ЭПС *Acinetobacter sp.* Так, было показано, что ЭПС, синтезируемые *Acinetobacter sp.* в оптимальных для роста бактерий условиях, защищают клетки продуцента от действия тяжелых металлов, биоцидов, детергентов, высоких и низких значений pH и ряда других неблагоприятных факторов.

Данная работа посвящена дальнейшему изучению биологических функций ЭПС *Acinetobacter sp.*

Acinetobacter sp. является природным ауксотрофом — нуждается в пантотеновой кислоте и неидентифицированном ростовом факторе, содержащемся в дрожжевом автолизате [4]. Эти бактерии легко образуют устойчивые ассоциации с микроорганизмами, продукты метаболизма которых могут являться для *Acinetobacter sp.* источниками необходимых факторов роста [5, 6]. Очевидно, ЭПС *Acinetobacter sp.* может выполнять защитные функ-

ции не только по отношению к продуценту, но и к другим микроорганизмам, находящимся в трофических взаимоотношениях с *Acinetobacter sp.*

Роль ЭПС *Acinetobacter sp.* в удовлетворении трофических потребностей продуцента и других микроорганизмов может заключаться в использовании ЭПС как источника углеродного питания. Кроме того, в составе ЭПС *Acinetobacter sp.* обнаружено 20—30 % минеральных компонентов, наличие которых обусловлено взаимодействием растворов ЭПС с одно- и двухвалентными катионами, содержащимися в среде культивирования продуцента [4]. Очевидно, ЭПС *Acinetobacter sp.* может являться также источником минеральных компонентов для микроорганизмов в условиях пониженной их концентрации.

Проверка этих предположений и определила задачу настоящего исследования.

Материалы и методы. При изучении способности ЭПС *Acinetobacter sp.* выполнять защитные функции по отношению к микроорганизмам, находящимся в трофических взаимоотношениях с *Acinetobacter sp.*, в качестве объектов исследования использовали бактериальные культуры *Acinetobacter calcoaceticus* и *Micrococcus sp.*, а также дрожжевую культуру *Candida tropicalis*, являющиеся компонентами микробных ассоциаций — продуцентов ЭПС на этаноле [5, 6]. Ранее было установлено,

что обе бактериальные и дрожжевая культуры не синтезируют ЭПС, они являются продуцентами ротовых факторов, необходимых для роста и синтеза ЭПС *Acinetobacter sp.* [5, 6].

На первом этапе исследовали устойчивость чистых культур *A. calcoaceticus*, *Micrococcus sp.* и *S. tropicalis* к некоторым неблагоприятным факторам (токсичным металлам Cu^{2+} и Cr^{6+} , а также к формальдегиду (ФА)). Для этого микроорганизмы выращивали на жидкой среде Кодама [7] в колбах на качалках (30 °С, рН 6,8—7,0, 220 об/мин). В качестве источника углерода при выращивании *A. calcoaceticus* и *S. tropicalis* использовали этанол в концентрации 1 об. %, при культивировании *Micrococcus sp.* — глюкозу (1 %). Посевным материалом служили двухсуточные бактериальные культуры с мясо-пептонного агара (МПА) и односуточная дрожжевая культура, выращенная на сусло-агаре (СА). В экспоненциальной фазе роста в культуры вносили Cu^{2+} (1,5—3,0 мМ), Cr^{6+} (5,0—7,0 мМ) и ФА (40—80 мкг/мл). Металлы добавляли в среду в виде 0,1 М растворов солей $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ и K_2CrO_4 , ФА — в виде 1 %-го раствора. Микроорганизмы в присутствии металлов и ФА культивировали в течение 2 ч после их внесения, затем подсчитывали жизнеспособные клетки по методу Коха на МПА (для бактерий) и СА (для дрожжей).

На втором этапе исследовали устойчивость *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* к Cu^{2+} , Cr^{6+} и ФА в присутствии ЭПС *Acinetobacter sp.* Для этого совместно культивировали *Acinetobacter sp.* и *A. calcoaceticus*, а также *Acinetobacter sp.* и *Micrococcus sp.* на жидкой минеральной среде Кодама по методу [5, 6]. Выживание клеток *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* в присутствии ЭПС *Acinetobacter sp.* под воздействием исследуемых неблагоприятных факторов определяли, как описано выше.

Роль ЭПС *Acinetobacter sp.* в защите клеток *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* от действия Cr^{6+} выясняли также следующим образом. Культуры на стадии экспоненциального роста стерильно центрифугировали (5000 g, 10 мин), клетки суспендировали в среде Кодама, а также в среде Кодама, содержащей 0,25 % очищенного ЭПС *Acinetobacter sp.* К обоим вариантам добавляли Cr^{6+} , культивировали в течение 2 ч, после чего подсчитывали жизнеспособные клетки.

При изучении способности микроорганизмов различных таксономических и физиологических групп ассимилировать ЭПС *Acinetobacter sp.* в качестве единственного источника углерода и энергии использовали чистые культуры аэробных и анаэробных бактерий, дрожжей, микромицетов, полученных из музея чистых культур отделов физиоло-

гии промышленных микроорганизмов, биологии газоокисляющих микроорганизмов, физиологии и систематики микромицетов Института микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины. Микроорганизмы культивировали на жидких селективных средах [8] в оптимальных для их роста условиях. В качестве источника углерода в опытном варианте использовали ЭПС *Acinetobacter sp.* в концентрации 0,1 %. Культивирование *Acinetobacter sp.* для получения ЭПС, выделение и очистку последних проводили, как описано в работе [9].

При изучении ЭПС *Acinetobacter sp.* как источника минеральных компонентов для микроорганизмов объектом исследования были бактерии *Acinetobacter sp.* и *A. calcoaceticus*.

Основными минеральными компонентами, содержащимися в ЭПС *Acinetobacter sp.*, являются K^+ и Na^+ [4]. В связи с этим на первом этапе исследований определяли их концентрацию, необходимую для роста *Acinetobacter sp.* и *A. calcoaceticus*. Для этого бактерии культивировали на среде А, содержащей 10—90 мг/л катионов калия и натрия.

Среда Кодама оказалась непригодной для этой цели ввиду высокого содержания фосфатов калия и натрия (до 10 г/л), которое необходимо для создания и поддержания достаточно емкого буфера с рН 7,0 [10].

Среду А готовили следующим образом. Источником фосфатов служила ортофосфорная кислота, которую нейтрализовали аммиаком. Количество аммиака было эквивалентно концентрации азота в среде Кодама. K^+ и Na^+ вносили в среду в виде 1 %-х растворов KCl и NaCl . Исследовали следующие суммарные концентрации K^+ и Na^+ (при молярном соотношении катионов 1:1) (мг/л): 10, 20, 30, 40, 60 и 90. В качестве источника углерода использовали этанол в концентрации 0,5 об. %. При культивировании *Acinetobacter sp.* в среду дополнительно вносили пантотеновую кислоту (0,0003 %) и дрожжевой автолизат (0,05 об. %). Для приготовления среды А использовали бидистиллированную воду.

При подготовке посевного материала клетки бактерий на стадии экспоненциального роста, полученные после выращивания на среде Кодама, стерильно центрифугировали (5000 g, 10 мин), суспендировали в среде А и повторно центрифугировали. Эту операцию повторяли дважды. Суспензию клеток в среде А (10^7 — 10^8 клеток/мл) использовали как посевной материал, количество которого составляло 0,5 %.

На втором этапе исследований необходимые

для роста бактерий количества одновалентных катионов вносили в среду А в виде ЭПС *Acinetobacter sp.*

Для определения содержания минеральных компонентов в ЭПС *Acinetobacter sp.* навеску ЭПС (около 100 мг), взятую на аналитических весах, растворяли в дистиллированной воде, добавляли к раствору 1 г катионита КУ-2-8 (Н⁺). Раствор ЭПС обрабатывали катионитом до достижения постоянного значения рН. Катионит отделяли центрифугированием (8000 g, 15 мин), из супернатанта осаждали Н⁺-ЭПС, добавляя два объема изопропанола. Осадок Н⁺-ЭПС промывали в чистом изопропаноле, высушивали при комнатной температуре до постоянной массы, затем взвешивали на аналитических весах. Содержание минеральных компонентов в составе ЭПС определяли как разность навесок исходного ЭПС и Н⁺-ЭПС, отнесенную к навеске исходного ЭПС, и выражали в процентах.

Зная содержание минеральных компонентов в составе ЭПС, рассчитывали количество ЭПС, которое необходимо внести в среду А для достижения требуемых концентраций одновалентных катионов. В одном из вариантов в среду вносили аналогичное количество Н⁺-ЭПС *Acinetobacter sp.* В качестве посевного материала использовали клеточную суспензию (10⁷—10⁸ клеток/мл), полученную после выращивания *Acinetobacter sp.* и *A. calcoaceticus* на среде А, не содержащей одновалентных катионов. Количество посевного материала составляло 0,5 %.

О накоплении биомассы в процессе роста бактерий на среде А с различным содержанием одновалентных катионов судили по величине показателя оптической плотности клеточной суспензии А₅₄₀.

Все опыты проводили в трех повторностях.

Результаты и обсуждение. В предыдущих исследованиях по изучению защитных функций ЭПС *Acinetobacter sp.* в качестве модельной системы была использована культура, содержащая клетки и синтезируемый в данной фазе роста и в данных конкретных условиях ЭПС [2]. Применение такой системы позволило исследовать защитные функции ЭПС для популяции, находящейся в ростовых условиях. Это, в свою очередь, дало возможность выявить интересные закономерности различной устойчивости к некоторым металлам (в частности к Cr⁶⁺) клеток *Acinetobacter sp.* в ростовых и неростовых условиях [3]. В неростовых условиях клетки были более устойчивы к металлам. Это объясняется, очевидно, тем, что в подобных условиях металлы «метаболически» недоступны для клеток бактерий.

В связи с этим в настоящей работе устойчивость *A. calcoaceticus*, *Micrococcus sp.* и *S. tropicalis*

к неблагоприятным факторам исследовали для клеток, находящихся в ростовых условиях. При выборе концентраций Cr⁶⁺, Cu²⁺ и ФА, вносимых в среду культивирования обеих бактериальных и дрожжевой культур, мы исходили из данных предыдущих экспериментов по устойчивости к этим соединениям клеток *Acinetobacter sp.* и использовали такие концентрации металлов и ФА, к которым клетки *Acinetobacter sp.* были устойчивыми в присутствии собственных ЭПС [2, 3].

Эксперименты показали, что при инкубации в течение 2 ч клеток *S. tropicalis* в присутствии 7,0 мМ Cr⁶⁺, 3,0 мМ Cu²⁺ и 80 мкг/мл ФА все клетки оставались жизнеспособными. Из двух бактериальных культур клетки *A. calcoaceticus* оказались более устойчивыми к исследуемым неблагоприятным факторам, чем клетки *Micrococcus sp.* (рис. 1, а, рис. 2, а). Тем не менее, в присутствии 7,0 мМ Cr⁶⁺ и 3,0 мМ Cu²⁺ количество жизнеспособных клеток *A. calcoaceticus* составляло 35—40 %. Следует отметить высокую устойчивость этой бактериальной культуры к ФА. Добавление 150 мкг/мл этого соединения к клеткам *A. calco-*

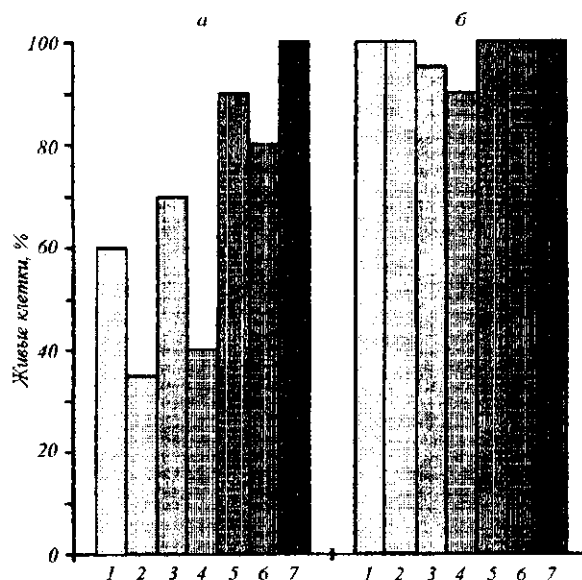


Рис. 1. Выживание клеток *Acinetobacter calcoaceticus* из экспоненциальной фазы роста в присутствии Cr⁶⁺ (1, 2), Cu²⁺ (3, 4), формальдегида (5, 6) при культивировании бактерий в виде монокультуры (а) и ассоциации с *Acinetobacter sp.* (б). Концентрации: Cr⁶⁺ (мМ): 1 — 5,0; 2 — 7,0; Cu²⁺ (мМ): 3 — 1,5; 4 — 3,0; ФА (мкг/мл): 5 — 100; 6 — 150. Время инкубации с металлами и формальдегидом составляло 2 ч. 7 — контроль, без воздействия неблагоприятных факторов

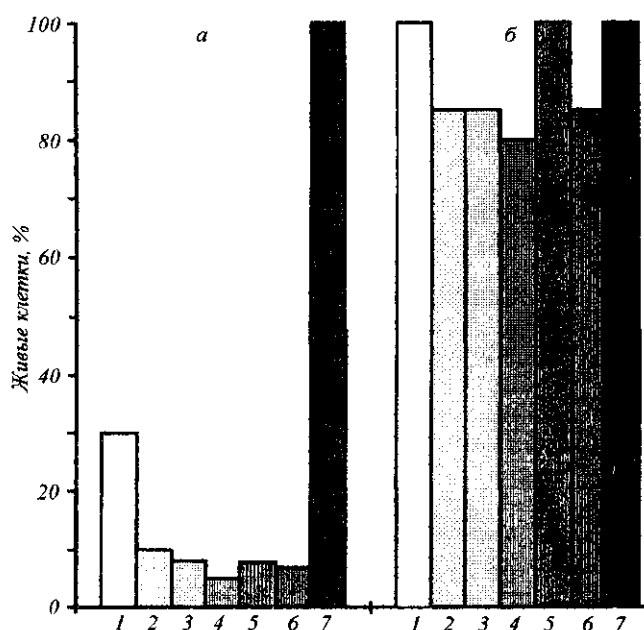


Рис. 2. Выживание клеток *Micrococcus sp.* из экспоненциальной фазы роста в присутствии Cr^{6+} (1, 2), Cu^{2+} (3, 4), формальдегида (5, 6) при культивировании бактерий в виде монокультуры (а) и ассоциации с *Acinetobacter sp.* (б). Концентрации: Cr^{6+} (мМ): 1 — 5,0; 2 — 7,0; Cu^{2+} (мМ): 3 — 0,75; 4 — 1,5; ФА (мкг/мл): 5 — 40; 6 — 60. Время инкубации с металлами и формальдегидом составляло 2 ч. 7 — контроль, без воздействия неблагоприятных факторов

aceticus сопровождалось гибелью лишь 20 % клеток (рис. 1, а). Выживание клеток *Micrococcus sp.* в исследуемых условиях составляло, в основном, не более 10 % (рис. 2, а). Лишь в присутствии 5,0 мМ Cr^{6+} количество жизнеспособных клеток было выше — 30 %.

В дальнейших экспериментах исследовали устойчивость двух бактериальных культур к металлам и ФА при совместном их культивировании с *Acinetobacter sp.* Очевидно, в таких условиях ЭПС, синтезируемый *Acinetobacter sp.*, будет выполнять защитные функции по отношению к *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* Дрожжевая культура была исключена из опытов ввиду ее высокой устойчивости к исследуемым неблагоприятным факторам.

Выживание клеток *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* при совместном культивировании с *Acinetobacter sp.* значительно повышалось (рис. 1, б, рис. 2, б). Полученные результаты позволили сделать вывод о том, что ЭПС *Acinetobacter sp.* защищает от неблагоприятных факторов не только клетки продуцента, но и микроорганизмы, находящиеся

в трофических взаимоотношениях с *Acinetobacter sp.*

Ранее было показано, что устойчивость *Acinetobacter sp.* к Cr^{6+} не обусловлена наличием ЭПС [3]. Скорее всего, у этих бактерий существуют иные механизмы устойчивости к хроматам. Это позволяет предположить, что повышение устойчивости к Cr^{6+} клеток *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* при их совместном культивировании с *Acinetobacter sp.* может быть обусловлено не защитной функцией ЭПС, синтезируемых *Acinetobacter sp.*, а детоксикацией этого соединения в результате функционирования других механизмов у бактерий *Acinetobacter sp.*

На рис. 3 представлены данные по выживанию клеток *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* в присутствии 5,0 мМ Cr^{6+} при культивировании их в виде монокультур на среде, содержащей ЭПС *Acinetobacter sp.* В таких условиях количество жизнеспособных

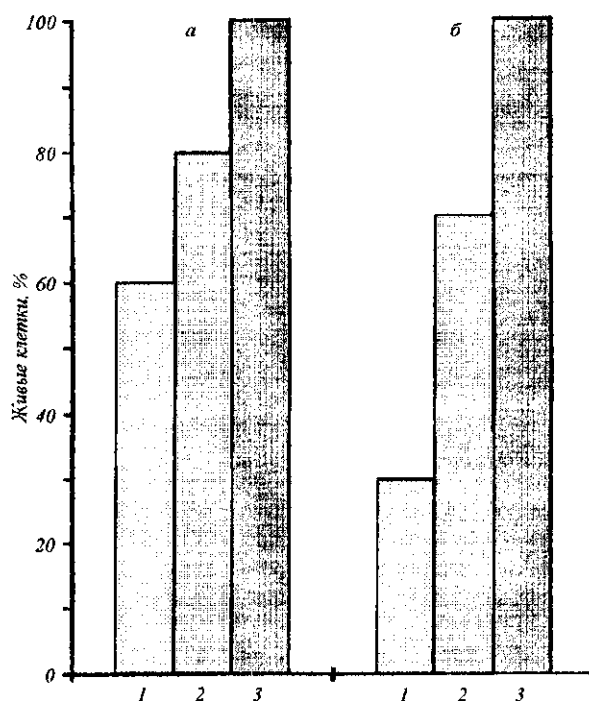


Рис. 3. Выживание клеток *Acinetobacter calcoaceticus* (а) и *Micrococcus sp.* (б) в присутствии 5,0 мМ Cr^{6+} при культивировании бактерий в виде монокультур (1, 2) и ассоциации с *Acinetobacter sp.* (3). 2 — среда содержит 0,25 % ЭПС *Acinetobacter sp.* Время инкубации 2 ч

собных клеток повышалось на 20 % для *A. calcoaceticus* и на 40 % — для *Micrococcus sp.* по сравнению с выращиванием бактерий на среде без ЭПС. Однако при совместном культивировании *A. calcoaceticus* + *Acinetobacter sp.* и *Micrococcus sp.* + *Acinetobacter sp.* выживание бактерий повышалось еще на 20—30 % и составляло 100 %. Таким образом, устойчивость *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* к хроматам при совместном их культивировании с *Acinetobacter sp.* обусловлено как синтезом ЭПС *Acinetobacter sp.*, так и наличием других механизмов устойчивости к Cr^{6+} у *Acinetobacter sp.*

В работе [11] отмечается, что устойчивость цианобактерий *Anacystis nidulans* к ванадию повышается при совместном их культивировании с *Pseudomonas fluorescens*. Повышение устойчивости цианобактерий обусловлено активным поглощением ванадия клетками *Ps. fluorescens*.

Из литературы известно, что совместное культивирование определенных микроорганизмов, принадлежащих к различным родам и семействам, может вызвать образование ЭПС [4]. В связи с этим можно предположить, что *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.*, не синтезирующие ЭПС при выращивании в виде монокультур [5, 6], могут образовывать полисахариды при совместном культивировании с *Acinetobacter sp.* В таком случае защита от неблагоприятных факторов клеток *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* может быть обусловлена их собственными ЭПС, а не ЭПС *Acinetobacter sp.* Однако полученные ранее результаты показали, что при культивировании микробных ассоциаций продуцентом ЭПС является только *Acinetobacter sp.* [5, 6]. Так, ЭПС, синтезируемые монокультурой *Acinetobacter sp.* и исследуемыми микробными ассоциациями, аналогичны по химическому составу и физико-химическим свойствам. Количество ЭПС, образуемых микробными ассоциациями и монокультурой *Acinetobacter sp.* при наличии в среде необходимых ростовых факторов, одинаковое и составляет 2,5—3,0 г/л. Следует отметить также, что обычно образование ЭПС при совместном выращивании различных микроорганизмов происходит в том случае, когда совместное культивирование является неблагоприятным для них. В нашем случае антагонизма между *Acinetobacter sp.* и *A. calcoaceticus*, а также между *Acinetobacter sp.* и *Micrococcus sp.* не выявлено; тип взаимоотношений между монокультурами определен соответственно как комменсализм и нейтраллизм [5, 6]. Таким образом, можно заключить, что защита клеток *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* от неблагоприятных факторов при совместном их выращивании с

Acinetobacter sp. обусловлена защитной функцией ЭПС *Acinetobacter sp.*

Интересными представляются данные о том, что в исследуемых условиях ЭПС *Acinetobacter sp.* инактивирует Cr^{6+} в отношении *A. calcoaceticus* и *Micrococcus sp.* и не защищает клетки продуцента от действия этого металла [3]. Полученные результаты подтверждают имеющиеся литературные данные о том, что у микроорганизмов существует целая сеть адаптивных механизмов, позволяющих выдерживать стрессовые воздействия и выживать в неблагоприятных условиях существования [12, 13]. Причем действие какого-то определенного стрессового фактора не связано с функционированием лишь одного строго соответствующего адаптационного механизма. Очевидно, синтез ЭПС *Acinetobacter sp.* является одним из защитных механизмов в общей системе устойчивости к неблагоприятным факторам, реализация которого происходит в определенных условиях существования бактерий.

Известно, что синтезируемые некоторыми видами микроорганизмов ЭПС могут быть использованы как самими продуцентами, так и сопутствующей микрофлорой в качестве источника углеродного питания [1, 14—16]. В связи с этим исследовали возможность ассимиляции ЭПС *Acinetobacter sp.* в качестве источника углерода и энергии как самим продуцентом, так и микроорганизмами различных физиологических и таксономических групп, в том числе и микроорганизмами, находящимися в трофических взаимоотношениях с *Acinetobacter sp.* (*A. calcoaceticus*, *Micrococcus sp.*, *C. tropicalis*). Установлено, что *Acinetobacter sp.*, *A. calcoaceticus*, *Micrococcus sp.*, *C. tropicalis* не используют исследуемый ЭПС в качестве источника углеродного питания (таблица). Только ограниченный круг микроорганизмов из проверенных различных таксономических и физиологических групп может использовать ЭПС *Acinetobacter sp.* Это, в первую очередь, микромицеты, анаэробные сульфатредуцирующие и хромвосстанавливающие бактерии и некоторые аэробные гетеротрофы (см. таблицу).

Ранее было показано, что ЭПС *Acinetobacter sp.* является достаточно биологически стабильным биополимером [17]. Полная деструкция ЭПС наблюдается только под действием комплекса ферментов, синтезируемых накопительными культурами микроорганизмов. Так, при выращивании накопительных культур на среде с ЭПС *Acinetobacter sp.* в течение 4—5 сут вязкость среды снижалась до вязкости воды. Исследование способности роста монокультур на среде с ЭПС *Acinetobacter sp.* показало, что они менее активно используют ЭПС в качестве ростового субстрата по сравнению с

Способность микроорганизмов различных физиологических и таксономических групп ассимилировать экзополисахарид *Acinetobacter* sp. в качестве единственного источника углерода и энергии

Исследуемые микроорганизмы	Количество исследованных штаммов	Рост на ЭПС
Бактерии		
Сульфатредуцирующие		
неидентифицированные штаммы	2	+
Хромвосстанавливающие		
<i>Pseudomonas fluorescense</i>	3	+
Денитрифицирующие		
неидентифицированные штаммы	3	+
Тионовые		
<i>Thiobacillus thioparus</i>	2	-
Целлюлозоразрушающие неидентифицированные штаммы		
анаэробные	2	-
аэробные	2	-
Углеводородассимилирующие		
<i>Rhodococcus luteus</i>	2	-
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	3	-
<i>Rhodococcus rubra</i>	1	-
Другие гетеротрофные		
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	-
<i>Acinetobacter</i> sp.	1	-
<i>Bacillus subtilis</i>	1	-
<i>Bacillus mucilaginosus</i>	2	-
<i>Pseudomonas fluorescense</i>	1	+
<i>Micrococcus</i> sp.	1	-
неидентифицированные штаммы	3	-
Дрожжи		
<i>Candida tropicalis</i>	2	-
<i>Candida utilis</i>	2	-
<i>Cryptococcus laurentii</i>	2	-
<i>Hansenula polymorpha</i>	1	-
<i>Pichia pinus</i>	1	-
<i>Rhodospidium diobovatum</i>	1	-
Микромицеты		
<i>Stemphylium</i> sp.	1	+
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	+
<i>Aureobasidium</i> sp.	1	+
<i>Penicillium frequentans</i>	1	+
<i>Penicillium viridicatum</i>	1	+
<i>Penicillium lanosum</i>	1	+
<i>Fusarium sambucinum</i>	1	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	1	-
<i>Fusarium culmorum</i>	1	+
<i>Aspergillus niger</i>	1	+

ассоциациями, из которых монокультуры были выделены: снижение вязкости среды на 40—60 % достигалось за 6—10 сут культивирования [17]. Можно предположить, что в природных условиях в деструкции ЭПС *Acinetobacter sp.* участвуют представители различных физиологических групп микроорганизмов, в результате чего происходит полное его расщепление до моносахаридов, которые затем могут использоваться этими и другими микроорганизмами в качестве источника углерода.

Из литературы известно, что ЭПС ряда морских псевдомонад, обладая свойством ионообменника, адсорбируют из окружающей среды органические и неорганические ионы, концентрируя их вокруг клетки микроорганизма, что обеспечивает им преимущества в условиях пониженной концентрации питательных веществ [1, 18]. Высказывается предположение, что ЭПС, синтезируемый *Beijerinckia derxii*, участвует в регуляции ионного баланса клетки [19].

Такими свойствами, скорее всего, должен обладать ЭПС *Acinetobacter sp.*, поскольку его растворы обладают способностью существенно (на 400—800 %) повышать вязкость в присутствии одно- и двухвалентных катионов [4]. Кроме того, в составе ЭПС *Acinetobacter sp.* содержится 20—30 % минеральных компонентов. Следует отметить, что высокое содержание минеральных компонентов обычно не характерно для микробных ЭПС. Известны немногие такие ЭПС, например, полисахарид, синтезируемый морской бактерией *Pseudomonas alcaligenes*, содержащий в составе 52,5 % неорганических соединений [20].

Эксперименты показали, что при выращивании *Acinetobacter sp.* на среде А, содержащей 10—90 мг/л катионов калия и натрия, максимальный уровень биомассы для *Acinetobacter sp.* отмечался при концентрации 90 мг/л одновалентных катионов, для *A. calcoaceticus* — при 30 мг/л (рис. 4). Внесение таких количеств K^+ и Na^+ в среду культивирования бактерий в виде ЭПС *Acinetobacter sp.* позволяло достичь такого же уровня биомассы, как и при внесении катионов в виде солей KCl и $NaCl$ (рис. 5). При этом уровень биомассы, полученный при культивировании бактерий на среде с H^+ -ЭПС *Acinetobacter sp.* (т. е. ЭПС, не содержащих одновалентных катионов), был таким же, как и при выращивании их на среде без катионов калия и натрия.

Таким образом, в результате проведенной работы установлено, что ЭПС *Acinetobacter sp.* защищает от неблагоприятных факторов внешней среды клетки микроорганизмов, находящихся с *Acinetobacter sp.* в трофических взаимоотношениях. ЭПС

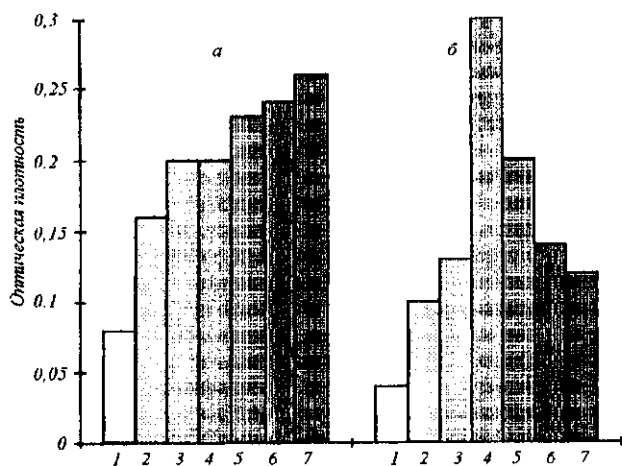


Рис. 4. Накопление биомассы при культивировании *Acinetobacter sp.* (а) и *Acinetobacter calcoaceticus* (б) на среде с различным содержанием катионов калия и натрия. Концентрация катионов калия и натрия в среде (мг/л): 1 — без катионов (контроль); 2 — 10; 3 — 20; 4 — 30; 5 — 40; 6 — 60; 7 — 90

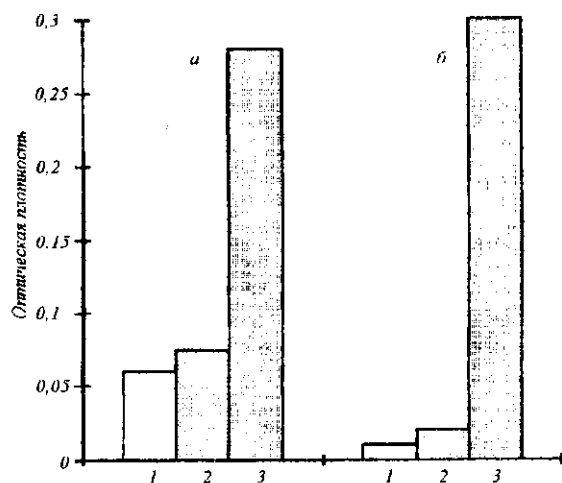


Рис. 5. Накопление биомассы при культивировании *Acinetobacter sp.* (а) и *Acinetobacter calcoaceticus* (б) на среде, содержащей ЭПС *Acinetobacter sp.* в качестве источника катионов калия и натрия (3). 1 — без катионов (контроль); 2 — среда содержит H^+ -ЭПС *Acinetobacter sp.*

Acinetobacter sp. может быть использован в качестве источника углеродного питания некоторыми группами микроорганизмов, а также служить источником минеральных компонентов для микроорганизмов в условиях пониженной их концентрации.

Автор благодарен Н. Н. Ждановой, И. А. Элланской, Т. М. Ключниковой, Е. Н. Громозовой за предоставление чистых культур микроорганизмов.

T. P. Pirog

Біологічні функції екзополісахаридів *Acinetobacter sp.*

Резюме

Екзополісахарид (ЕПС), який синтезується *Acinetobacter sp.*, виконує захисні функції не лише відносно клітин продуцента, але й захищає від негативних впливів зовнішнього середовища (дії токсичних металів Cu^{2+} і Cr^{6+} , формальдегіду) мікроорганізми, що знаходяться з *Acinetobacter sp.* у трофічних взаємовідносинах. Обмежене коло мікроорганізмів (мікроміцети, анаеробні сульфатредуючі і хромвідновлюючі бактерії та деякі аеробні гетеротрофи) використовує ЕПС *Acinetobacter sp.* як джерело вуглецевого живлення. ЕПС, який синтезується *Acinetobacter sp.*, може слугувати також джерелом неорганічних катіонів для мікроорганізмів в умовах зниженої концентрації мінеральних речовин.

T. P. Pirog

Biological functions of *Acinetobacter sp.* exopolysaccharides

Summary

Acinetobacter sp. exopolysaccharide (EPS) shows protective functions as regards producer cells and protects from unfavourable environmental factors microorganisms cells which are in trophic relationship with Acinetobacter sp. Definite microorganisms (micromycetes, anaerobic sulphate- and chromate-reducing bacteria, some of the aerobic heterotrophs) use EPS as a sole carbon source. EPS synthesized by Acinetobacter sp. can be a source of nonorganic cations for microorganisms under the conditions of low concentrations of nutrients.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Семенова Е. В., Гречушкіна Н. Н. Внеклеточные полисахариды микроорганизмов, условия их биосинтеза и физиологическая роль // Экологическая роль микробных метаболитов.—М.: Изд-во МГУ, 1986.—С. 121—130.
- Пирог Т. П., Гринберг Т. А., Малащенко Ю. Р. Защитные функции экзополисахаридов, синтезируемых бактериями *Acinetobacter sp.* // Микробиология.—1997.—66, № 3.—С. 335—340.
- Пирог Т. П. Роль экзополисахаридов *Acinetobacter sp.* в защите клеток продуцента от действия тяжелых токсичных металлов // Там же.—С. 341—346.
- Гринберг Т. А., Пирог Т. П., Малащенко Ю. Р., Пинчук Г. Э. Микробный синтез экзополисахаридов на C_1 — C_2 -соединениях.—Киев: Наук. думка, 1992.—212 с.
- Гринберг Т. А., Пирог Т. П., Буклова В. Н., Малащенко Ю. Р. Взаимоотношения микроорганизмов в экзополисахаридобразующей смешанной культуре // Микробиология.—1990.—59, № 5.—С. 797—805.
- Гринберг Т. А., Пирог Т. П., Супрун В. Н. и др. Экспериментально составленные ассоциации — продуценты экзополисахаридов на этаноле // Микробиол. журн.—1990.—52, № 6.—С. 30—34.
- Кодама Т., Накахара Т., Омори Т. и др. Образование внеклеточных полисахаридов водородными и метаниспользующими микроорганизмами // Рост микроорганизмов на C_1 -соединениях: Тез. докл. симп. (12—16 сентября 1977 г., Пушкино).—Пушкино: НЦБИ АН СССР, 1977.—С. 213—215.
- Большой практикум по микробиологии / Под ред. Г. Л. Селибера.—М.: Высш. шк., 1962.—491 с.
- Пирог Т. П., Гринберг Т. А., Пинчук Г. Э. и др. Разделение экзополисахаридов, синтезируемых *Acinetobacter sp.*, на ацилированный и неацилированный компоненты // Микробиология.—1994.—63, № 5.—С. 840—846.
- Пирог Т. П. Влияние одновалентных катионов на образование ацилированных экзополисахаридов *Acinetobacter sp.* // Там же.—1996.—65, № 5.—С. 639—643.
- Лебедева А. Ф., Саванина Я. В., Савельев И. Б. Смешанно-раздельное культивирование цианобактерии *Anacystis nidulans* и бактерий рода *Pseudomonas* в присутствии ванадия // Автотрофные микроорганизмы: Тез. докл. конф. (23—25 апреля 1996 г., Москва).—М.: Диалог—МГУ, 1996.—С. 43.
- Greenberg J. T., Demple B. A global response induced in *Escherichia coli* by redox-cycling agents overlaps with that induced by peroxide stress // J. Bacteriol.—1989.—171, N 7.—P. 3933—3939.
- Kolter R., Siegele D. A., Tormo A. The stationary phase of the bacterial life cycle // Annu. Rev. Microbiol.—1993.—47.—P. 855—874.
- Мавзютова И. П., Гарейшина А. З., Матыевская М. С. Биодеструкция экзополисахаридов микроорганизмами заквашиваемой и плавовой вод // Микробиол. журн.—1987.—49, № 6.—С. 31—35.
- Мальцева Н. Н. Экзополисахариды олигонитрофильных бактерий как фактор, обуславливающий образование микробных сообществ почвы // Микробные сообщества и их функционирование в почве.—Киев: Наук. думка, 1981.—С. 36—42.
- Freeman C., Lock M. A. The biofilm polysaccharide matrix: a buffer against changing organic substrate supply? // Limnol. and Oceanogr.—1995.—40, N 2.—P. 273—278.
- Пирог Т. П., Гринберг Т. А., Малащенко Ю. Р. Выделение микроорганизмов — продуцентов ферментов, деградирующих экзополисахарид *Acinetobacter sp.* // Прикл. биохимия и микробиология.—1997.—33, № 5.—С. 550—555.
- Wrangstadh M., Conway P. L., Kjelleberg S. The role of an extracellular polysaccharide by the marine *Pseudomonas sp.* 59 in cellular detachment during starvation // Can. J. Microbiol.—1989.—35, N 2.—P. 309—319.
- Barbosa H. R., Alterthum F. The role of extracellular polysaccharide in cell viability and nitrogenase activity of *Beijerinckia derxii* // J. Gen. Microbiol.—1992.—38, N 9.—P. 986—988.
- Titus S., Gaonkar S. N., Srivastava R. B., Karande A. A. Exopolymer production by a fouling marine bacterium *Pseudomonas alcaligenes* // Indian J. Mar. Sci.—1995.—24, N 2.—P. 45—48.

Поступила в редакцию 11.07.97