

активности в питании. Они теряли способность к передвижению и прикреплению к листьям, экскременты у таких насекомых приобретали жидкую консистенцию, имели темный цвет, не отделялись от хвостового конца. Реакция на раздражение была резкая, носила судорожный характер. Погибало до 80 % гусениц III возраста. Оставшиеся особи гибли в последующем на стадии куколки. Общая гибель насекомых при использовании изучаемых штаммов клебсиелл составляла 100 %.

Таким образом, наряду со способностью бактерий рода *Klebsiella* вызывать заболевания растений у отдельных представителей этого рода было выявлено энтомопатогенное действие в отношении вредителя овощных культур — *Mamestra brassicae*.

GENUS *KLEBSIELLA* BACTERIUM POLYBIOTROPHY

A. I. Turyanitsa, N. V. Bolko

Summary

Under experimental conditions a great number of genus *Klebsiella* bacterium strains exhibited phytopathogenic characteristics, causing necrotic affection of the leaf laminae in a series of plants (20—60 %) and inducing the reaction of supersensitivity on tobacco leaves (up to 89 %).

The L-asparaginase activity was found in 80 % of the studied cultures of *Klebsiella* strains. No correlation was observed between the phytopathogenic characteristics and the enzyme production level.

Phytopathogenic strains of *K. rhinoscleromatis* contained cryptic plasmids in an autonomous state. The same cultures revealed an entomopathogenic effect in respect of *Mamestra brassicae*.

1. Гвоздяк Р. И. Полибиотрофия бактерий // Микробиол. журн.— 1981.— 43, № 2.— С. 256—262.
2. Коробко А. П. Фитопатогенные свойства бактерий, выделенных из желудочно-кишечного тракта человека // Тез. докл. VI съезда Укр. микробиол. о-ва (Донецк, июнь 1984 г.).— Киев: Наук. думка, 1984.— Ч. 1.— С. 194—195.
3. Озолин Р. К., Гривень П. П., Аузан С. И., Квитко М. И. Отбор микроорганизмов, обладающих аспарагиназной активностью // Изв. АН ЛатвССР.— 1970.— № 11.— С. 48—53.
4. Озолин Р. К., Гвоздяк Р. И., Гарькавая Л. Ф. Фитопатогены рода *Erwinia* — продуценты аспарагиназы // Биосинтетические и физиологические свойства микроорганизмов.— Рига: Зинатне, 1975.— С. 5—10.
5. Ходос С. Ф., Чайковская В. Л. Фитопатогенные свойства бактерий, выделенных от урологических больных // Тез. докл. VI съезда Укр. микробиол. о-ва (Донецк, июнь 1984 г.).— Киев: Наук. думка, 1984.— С. 209.
6. Van Graevinitz, Strouse A. Isolation of *Erwinia* spp. from human sources // J. Microbiol. and Serol.— 1966.— 32, N 4.— P. 429—430.
7. Zedan H. H., Foda M. S., Hasem S. A. Distribution and biosynthesis requirement for L-asparaginase activities in bacteria and yeasts // Egypt. J. Microbiol.— 1981.— 16, N 1/2.— P. 107—119.

Получено 30.05.86

УДК 579.845.222.3:577.114

НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА ПОЛИСАХАРИДА, СИНТЕЗИРУЕМОГО КУЛЬТУРОЙ *ACINETOBACTER* SP.

Т. А. Гринберг, В. В. Дерябин, Н. В. Краснопецева,
Т. П. Пирог, Е. В. Бедрина, В. В. Степанюк, Ю. Р. Малашенко

Ин-т микробиологии и вирусологии АН УССР, Киев;
ВНИИ Синтезбелок, Москва

Выделен штамм бактерий, синтезирующий высоковязкий экзополисахарид. На основании морфологических и физиолого-биохимических свойств он идентифицирован как *Acinetobacter* species.

Синтезированный культурой экзополисахарид представляет собой ацилированный кислый гетерополисахарид с мол. м. $8,0 \cdot 10^5$ — $2,0 \cdot 10^6$. Экзопполисахарид состоит из

остатков нейтральных сахаров — глюкозы, галактозы, маннозы, рамнозы (10:4:8:2) и кислого компонента — пировиноградной кислоты. В составе экзополисахарида обнаружены жирные кислоты — лауриновая, пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая и олеиновая в соотношении 10:29:12:7:20. Растворы экзополисахарида *Acinetobacter* sp. обладают высокой вязкостью, которая повышается в присутствии одно- и двухвалентных катионов.

В 60-е годы успехи биотехнологии стимулировали создание много-тоннажных производств бактериального экзополисахарида (ЭПС) ксантана, который нашел широкое применение в усовершенствовании технологических процессов различных отраслей промышленности. В настоящее время в ряде лабораторий мира осуществляются широкий поиск штаммов-продуцентов и разработка технологии получения новых полисахаридов, превосходящих ксантан по реологическим показателям. Определенный интерес представляют бактерии, утилизирующие неуглеводные источники углерода, в частности низшие спирты. Ряд экзополисахаридов, синтезируемых такими бактериями, дают высокую вязкость растворов и проявляют способность к гелеобразованию [12]. К их числу относится эмулсан (штамм-продуцент — этанолутилизирующие бактерии *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 [15]), который рассматривается как один из наиболее эффективных эмульгаторов.

В ходе изучения штаммов — продуцентов экзополисахаридов, использующих в процессе выращивания неуглеводное сырье, нами был выделен мукоидный штамм бактерий, который образует высоковязкую суспензию. Целью настоящей работы было идентифицировать выделенный штамм, получить экзогенный биополимер, синтезируемый культурой; и исследовать реологические свойства его водных растворов.

Материал и методы. Из активного ила станции биологической очистки сточных вод нефтеперерабатывающего завода методом накопительной культуры с последующим пересевом на агаризованные среды выделили мукоидный штамм бактерий. Для его выделения и культивирования использовали среду следующего состава (в граммах на 1 л водопроводной воды): $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O} — 20$; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O} — 7,24$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 — 3,54$; $\text{NH}_4\text{Cl} — 0,6$; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} — 0,01$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} — 0,4$. В качестве факторов роста применяли дрожжевой автолизат в количестве 0,2%. Чистоту изолированной культуры проверяли путем посева на агаризованные среды — МПА и сусловый агар, а также контролировали микроскопически. Морфологию выделенных бактерий изучали с помощью светового микроскопа МБИ-6 и электронно-микроскопически (методом негативного контраста, применяя 2%-й раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты pH 6,9). Готовили также ультратонкие срезы клеток, фиксированных 2,5%-м раствором глутаральдегида в 0,1 М какодильном буфере pH 7,4 и 1%-м раствором OsO_4 в веронал-ацетатном буфере pH 6,4.

При исследовании способности выделенного штамма использовать органические соединения в качестве источника углерода последние вносили в минеральную среду в концентрации 0,5%. Потребность в азотных источниках питания выявляли при культивировании бактерий на минеральной среде с солями аммония, нитратами, нитритами, аминокислотами, мочевиной или пептоном.

Влияние температуры на рост выделенной культуры изучали путем культивирования ее на МПА в градиентных термостатах.

Окрашивание бактерий на наличие капсул и другие микробиологические тесты, приведенные в работе, проводили согласно общепринятым методам [2].

Идентифицировали культуру согласно 9-му изданию Берги [5].

Выращивание изучаемого штамма с целью накопления ЭПС осуществляли периодическим способом на стендовых ферментерах АК-10 с рабочим объемом 6 л. В качестве источника углерода использовали ацетат натрия в концентрации 2%. Время выращивания — 52–64 ч, температура — 30°C, pH среды — 7,0, число оборотов мешалки в 1 мин — 700, расход воздуха — 3,2 л/мин.

Полученную суспензию разбавляли водой в 4 раза, добавляли при перемешивании NaCl до концентрации его в растворе 0,005–0,01 М, клетки отделяли последовательно центрифугированием при 9,5 тыс. об. в течение 50 мин и фильтрацией при 90°C через целит-545 [14]. Супернатант диализировали против дистиллированной воды в течение 5 сут, концентрировали в вакууме при 50°C до первоначального объема, полисахарид осаждали 4 объемами 95%-го этилового спирта. Пересаживание ЭПС проводили в присутствии цетилтриметиламмония бромистого [3]. Выпавший осадок промывали ацетоном и сушили в вакууме. Содержание ЭПС в культуральной жидкости определяли весовым методом, суммарное содержание сахаров в препарате — спектрофотометрически по реакции с фенолом и серной кислотой [7].

Гель-фильтрацию выполняли на колонке 70×1,9 см с сепарозой 4В. Элюцию проводили деионизированной водой и 0,3 М NaCl. Колонку калибровали по стандартным декстранам: Т 40 (мол. м. 40 тыс.), Т 110 (мол. м. 110 тыс.), Т 150 (мол. м. 150 тыс.), Т 250 (мол. м. 253 тыс.) и Т 500 (мол. м. 520 тыс.), голубой декстран (мол. м. 2 млн.).

ИК-спектры получали на приборе UR-10 (ГДР) в таблетках КВг.

Спектры ^{13}C -ЯМР получали на спектрометре «Bruker Physik M-250Б» (ФРГ). Химические сдвиги в миллионных долях (м. д.) измеряли относительно диметилсульфоксида в качестве внутреннего стандарта и пересчитывали относительно тетраметилсилана по уравнению $\delta_{\text{ТМС}} = \delta_{\text{ДМСО}} + 39,45$ м.д. Образцы снимали в виде 1%-го раствора в D_2O в ампулах с внешним диаметром 10 мм при 90 °С.

Щелочную обработку проводили с использованием 0,1 М NaOH [14]. Для качественного анализа моносахаридного состава осуществляли полный кислотный гидролиз препарата после его обработки щелочью. Гидролиз проводили 2 N H_2SO_4 (6 ч, 100 °С). Моносахариды анализировали в виде ацетатов полиолов методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) на приборе «Varian 3700» (колонок 2 м \times 1/8 с 15% OV-275, 220 °С, газ-носитель — гелий). Подсчеты площадей пиков и времени удерживания выполнены с помощью интегратора «Varian CDS-111».

Жирные кислоты определяли методом ГЖХ в виде метиловых эфиров на хроматографе «Pye Unicam Series 105», колонка 2 м \times 3,5 мм, хромосорб W-AW, жидкая фаза — диэтиленгликольсукцинат СК-Т4, 190 °С, газ-носитель — гелий.

Анализ на уроновые кислоты проводили по методу Дише [6].

Наличие пировиноградной кислоты устанавливали методом качественной реакции [4] и методом ^{13}C -ЯМР-спектроскопии. Отщепление пируватных групп проводили обработкой препарата раствором щавелевой кислоты при pH 3,0 [9].

Относительную вязкость растворов измеряли на капиллярном вискозиметре Оствальда. Время истечения растворов определяли с точностью $\pm 0,2$ с. Температуру измерения поддерживали на термостатируемой водяной бане с точностью ± 1 °С.

Динамическую вязкость определяли на ротационном вискозиметре «Reomat-108», диаметр внутреннего цилиндра — 25 мм, длина — 36 мм, диаметр внешнего цилиндра — 33 мм.

Результаты и их обсуждение. Из высоковязкой накопительной культуры, полученной путем нескольких последовательных ферментаций на минеральной среде с 2 % ацетата натрия, методом высева на агаризованные среды выделен мукоидный штамм бактерий. На агаризованной суслевой среде он образовывал выпуклые блестящие слизистые колонии кремоватого цвета. Размер трехсуточных колоний — 4—5 мм. На агаризованной минеральной среде с ацетатом, этанолом или сахарозой колонии блестящие, прозрачные, мукоидные, размером 1—2 мм; на мясо-пептонном агаре — гладкие, белые, выпуклые, мукоидные, размером 3 мм.

При культивировании на жидких средах клеточная популяция образует вязкую гомогенную суспензию.

Свето-оптические наблюдения показали, что клетки изучаемого штамма представляют собой в логарифмической фазе роста культуры толстые короткие палочки, в стационарной — кокковидные, расположенные в парах и реже — в коротких цепочках. Размеры клеток — 0,95—1,50 \times 1,2—2,0 мкм. Спор не образуют. Размножение клеток осуществляется путем бинарного деления. Клетки заключены в капсулу, грамтрицательные, неподвижные. Электронно-микроскопические исследования подтвердили отсутствие органов движения и позволили выявить тяжи экзополисахарида вокруг клеток (рис. 1, а, б). Клеточная стенка в срезах имеет грамтрицательный тип строения (рис. 1, в).

Бактерия — строго аэробная, каталазоположительная, оксидазотрицательная; хорошо растет на сложных органических средах, при культивировании на минеральной среде требует дополнительных факторов роста — витаминов или дрожжевого автолизата. В качестве источников углерода и энергии использует сахарозу, арабинозу, целлюлозу, ксилозу, мальтозу, этанол, ацетат, пируват, малат и α -кетоглутарат. При росте на глюкозе закисляет среду. Растет на безазотистой среде Эшби; в качестве источника азотного питания использует соли аммония, нитрат, нитрит, мочевины, пептон. Нитраты не восстанавливает; сероводород, индол и ацетон не образует. Растет в диапазоне температур 10—35 °С (оптимум — 30 °С).

По совокупности морфологических и физиологических свойств выделенная бактерия отнесена к роду *Acinetobacter* [5]. Согласно 9-му изданию определителя Берги, в настоящее время все штаммы бактерий рода *Acinetobacter* считаются представителями одного вида *Acinetobacter calcoaceticus*. В связи с тем, что по ряду признаков изучаемый нами

штамм отличается от *A. calcoaceticus*, он идентифицирован как *Acinetobacter* sp.

Биополимер синтезируется культурой *Acinetobacter* sp. в количестве 1,7—2,4 г/л. По данным реакции с фенолом и серной кислотой, в его состав входит 56—60 % углеводов. Таким образом, основным компонентом биополимера *Acinetobacter* sp. является полисахарид. В исследуемом препарате белок не обнаружен, что подтверждается как

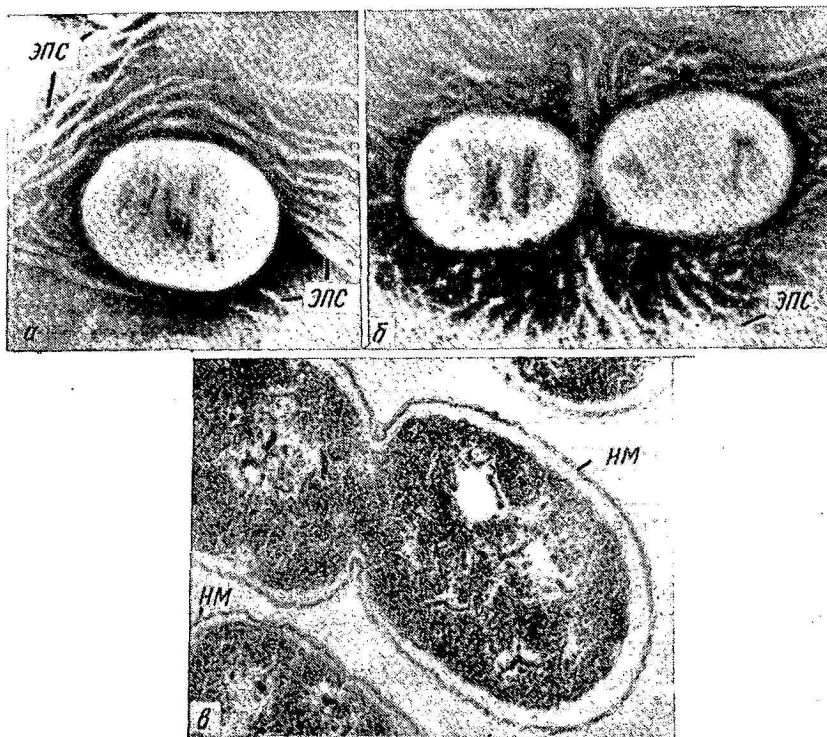


Рис. 1. Негативно контрастированные клетки (а, б) и ультратонкий срез (в) *Acinetobacter* sp. Культура выращена на агаризованной суслевой среде в течение 18 ч. Увел.: а, б — 19000, в — 25000. ЭПС — экзополисахарид; НМ — наружная мембрана.

отрицательной реакцией Лоури, так и данными ^{13}C -ЯМР-спектроскопии (не обнаружены сигналы с химическим сдвигом 55÷57 м. д., характерные для C—N-связи [11]). При гель-фильтрации биополимер обнаруживает гетерогенность по молекулярной массе. Основное количество препарата имеет мол. м. 8×10^5 — 2×10^6 (по данным элюции деионизированной водой). При элюции препарата 0,3 М NaCl значения величин молекулярной массы оказываются несколько выше (рис. 2). Очевидно, растворы биополимера *Acinetobacter* sp. структурируются в присутствии NaCl. Аналогичный эффект был описан ранее для бактериального экзополисахарида геллана [13].

По данным газожидкостной хроматографии, в состав ЭПС входят остатки глюкозы, галактозы, маннозы и рамнозы в соотношении 10 : 4 : 8 : 2. Исследуемый ЭПС переходит в осадок при обработке препарата 5%-м раствором цетавлона, что свидетельствует о наличии в ЭПС кислотных групп. Уроновые кислоты обнаружить не удалось, установлено наличие пировиноградной кислоты, идентифицированной качественной реакцией [4] и методом ^{13}C -ЯМР-спектроскопии.

Щелочной обработкой препарата удалось выделить смесь жирных кислот, основными компонентами которой являются лауриновая, пальмитиновая, пальмитолеиновая, стеариновая и олеиновая кислоты (в соотношении 10 : 29 : 12 : 7 : 20). Поскольку состав и соотношение жир-

ных кислот, выделенных из препарата как до обработки целитом, та и после нее, практически одинаковы, они, очевидно, имеют экзогенную природу. В ИК-спектре препарата присутствует характеристическая полоса поглощения при 1725 см^{-1} , соответствующая сложноефирным связям [1]. После обработки препарата $0,1 \text{ M NaOH}$, приводящей к отщеплению жирных кислот, в ИК-спектре модифицированного препарата полоса при 1725 см^{-1} полностью исчезла. Можно предположить,

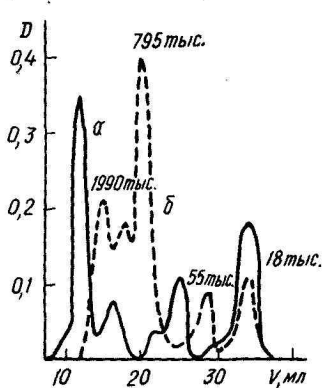


Рис. 2. Кривая элюирования экзополисахарида *Acinetobacter* sp. а — элюент — $0,3 \text{ M NaCl}$; б — элюент — деионизированная вода.

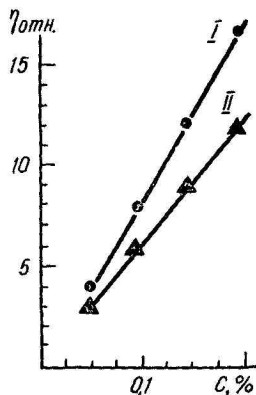


Рис. 3. Влияние концентрации нативного (I) и модифицированного (II) ЭПС на вязкость водных растворов при 20°C .

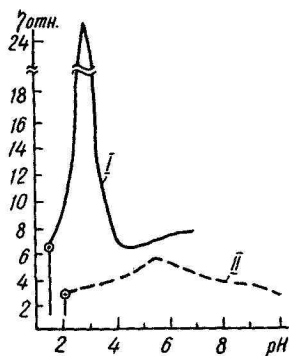


Рис. 4. Влияние pH среды на вязкость $0,1\%$ -ных растворов нативного (I) и модифицированного (II) ЭПС. \odot — точки фазовых переходов растворов — осадок.

что в полисахариде *Acinetobacter* sp. остатки моносахаридов, подобно экзополисахариду эмульсану из *Acinetobacter calcoaceticus* [15], этерифицированы жирными кислотами.

В ^{13}C -ЯМР-спектре модифицированного щелочью препарата содержится сигнал с химическим сдвигом $25,25 \text{ м. д.}$, характерный для CH_3 -пирувата [10]. После обработки препарата щавелевой кислотой при pH $3,0$ сигнал с $25,25 \text{ м. д.}$ в спектре полностью исчез, что является дополнительным подтверждением присутствия в биополимере пируватных групп. Сигнал с химическим сдвигом $17,20 \text{ м. д.}$ можно отнести к CH_3 -остатку рамнозы [8], наличие которой подтверждается и данными хроматографического анализа. Из данных интегральных интенсивностей спектра следует, что количество CH_3 -групп пирувата и рамнозы примерно одинаково.

Вязкость ($\eta_{\text{отн.}}$) раствора полисахарида *Acinetobacter* sp. возрастает практически линейно при концентрации полисахарида $0,05\text{--}0,20\%$ (рис. 3). Поэтому влияние pH среды и ионного состава на вязкость растворов определяли для $0,1\%$ -го раствора полисахарида. Мы обнаружили, что при понижении pH раствора препарата с $7,0$ до $2,6$ наблюдается повышение вязкости раствора $\eta_{\text{отн.}}$ от $7,7$ до $21,4$ (рис. 4). При дальнейшем подкислении раствора до pH $1,3$ препарат выпадает в осадок. Осадок медленно переходит в раствор при продолжительном нагревании. Так, в $2 \text{ N H}_2\text{SO}_4$ при 100°C через 6 ч в осадке остается 88% исходного вещества, в аналогичных условиях в 2 N HCl — 81% , в 4 N HCl — 68% .

Вязкость препарата после щелочной обработки изменяется незначительно при pH $2\text{--}10$ (см. рис. 4), однако при pH $1,8$ модифицированный полисахарид также выпадает в осадок. Тем не менее модифицированный препарат менее устойчив к кислотной обработке, поэтому определение углеводного состава полисахарида было проведено для модифицированного препарата.

На структурирование раствора препарата *Acinetobacter* sp. влияет большинство катионов. Так, в присутствии Na^+ , K^+ и NH_4^+ при концентрации их в растворе $0,005 \text{ M}$ вязкость $0,1\%$ -х растворов полисахара-

рида несколько ниже вязкости раствора в дистиллированной воде. При дальнейшем увеличении концентрации солей вязкость раствора возрастает, причем повышение вязкости наблюдается при определенной концентрации в растворе каждого из перечисленных катионов (табл. 1). Это свойство отличает полученный нами препарат от геллана, вязкость растворов которого возрастает практически линейно с увеличением концентрации в них солей KCl и NaCl до 0,6 % [8].

Таблица 1. Относительная вязкость 0,1 %-го раствора нативного (I) и модифицированного (II) экзополисахаридных препаратов при изменении концентрации солей ($t = 20^{\circ}\text{C}$)

Концентрация соли	NaCl	KCl	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	CaCl_2	BaCl_2	ZnSO_4	MgSO_4
Нативный ЭПС I							
0,005	6,69	6,71	6,12	13,91	25,05	23,65	53,30
0,010	—	7,41	6,12	15,08	20,80	21,42	37,06
0,025	—	13,63	8,62	14,97	14,61	14,54	34,44
0,040	—	16,76	9,77	13,60	8,34	9,74	15,52
0,100	6,86	19,75	9,74	12,37	6,40	9,81	13,77
0,150	—	—	20,86	—	—	—	—
0,200	10,03	19,56	54,76	10,23	6,86	9,74	11,69
Модифицированный ЭПС II							
0,005	—	3,36	—	3,69	—	—	—
0,100	2	3,51	—	3,25	—	—	—

Примечание. Вязкость 0,1 %-го раствора нативного ЭПС без добавления солей составляет 7,72, модифицированного — 5,06; «—» — не определяли.

Таблица 2. Динамическая вязкость 1 %-го раствора ЭПС I (в Па) при 20°C

Скорость сдвига, с^{-1}	Вода		0,1 М KCl		1 %-й раствор ксантана «Sigma» в воде
	А	Б	А	Б	
17,1	0,876	1,510	3,400	4,100	1,330
27,2	0,610	1,060	2,460	3,020	0,916
41,7	0,424	0,738	1,750	2,150	0,628
64,0	0,316	0,522	1,220	1,490	0,440
98,3	0,226	0,393	0,855	1,020	0,313
152,0	0,161	0,313	0,582	0,694	0,226
233,0	0,114	0,236	0,396	0,437	0,166
355,0	0,083	0,185	0,264	0,317	0,117

Примечание: А — без нагревания раствора; Б — после нагревания, 80°C , 10 мин.

Катионы двухвалентных металлов — Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} и Ba^{2+} повышают вязкость раствора нативного ЭПС уже в концентрации 0,005 М, но при дальнейшем увеличении их концентрации вязкость раствора снижается (см. табл. 1). Эффект структурирования раствора ЭПС солями заметно падает при 30°C и практически исчезает при 80°C .

Модифицированный ЭПС II, лишенный сложноэфирных связей, не подвергается структурированию в присутствии катионов K^{+} и Ca^{2+} . Оба полисахарида в присутствии катионов Cu^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+} и Cr^{3+} выпадают из водных растворов в осадок.

При определении динамической вязкости 1 %-го раствора ЭПС I было обнаружено, что раствор представляет собой стационарную псевдопластическую жидкость — восстановление вязкости наблюдается через несколько секунд после снятия напряжения сдвига. Структурирование раствора увеличивается при его нагревании до 80°C в течение 10 мин (табл. 2).

Таким образом, растворы ЭПС *Acinetobacter* sp. обладают высокой вязкостью, которая повышается в присутствии одно- и двухвалентных катионов. ЭПС устойчив в условиях кислотного гидролиза; при щелочной обработке полисахарида наблюдается отщепление жирнокислотных групп, которые, очевидно, ответственны за структурирование раствора полисахарида различными солями.

В литературе описан этилированный полисахарид — эмулсан, синтезируемый *A. calcoaceticus* на этаноле [9]. Изученный нами ЭПС, синтезируемый *Acinetobacter* sp., отличается по ряду свойств от эмулсана и представляет собой новый экзополисахарид с такими свойствами, которые могут представлять интерес и найти применение в ряде отраслей народного хозяйства.

CERTAIN PROPERTIES OF POLYSACCHARIDE SYNTHESIZED BY ACINETOBACTER SP.

T. A. Grinberg, V. V. Deryabin, N. V. Krasnopevtseva, T. P. Pirog, E. V. Bedrina, V. V. Stepanyuk, Yu. R. Malashenko

Summary

A bacterial strain synthesizing highly viscous exopolysaccharide was isolated. Its morphological, physical and biochemical properties permit identifying it as *Acinetobacter* species.

The exopolysaccharide synthesized is an acylated acidic heteropolysaccharide with the molecular weight $8.0 \cdot 10^5 = 2.0 \cdot 10^6$. The exopolysaccharide consists of remains of neutral sugars — glucose, galactose, mannose, rhamnose (10:4:8:2), and of an acidic component — pyruvic acid. Fatty acids — laurinic, palmitic, palmitolic, stearic and oleic — in the ratio of 10:29:12:7:20 are found in the exopolysaccharide composition. Solutions of *Acinetobacter* sp. exopolysaccharide are high viscous, the viscosity enhancing in the presence of uni- and bivalent cations.

1. Дерябин В. В., Краснопеvtseva Н. В., Бовина Е. В. и др. Влияние компонентов питательной среды на соотношение и состав экзополисахаридов дрожжеподобного гриба *Cryptococcus laurentii* // Прикл. биохимия и микробиология.— 1985.— 21, № 3.— С. 407—411.
2. Методы общей бактериологии // Под ред. Ф. Герхардта и др.— М.: Мир, 1983.— Т. 1.— 535 с.
3. Методы химии углеводов // Под ред. Н. К. Кочеткова.— М.: Мир, 1967.— 512 с.
4. Филиппович Ю. Б., Егорова Т. А., Себастьянова Г. А. Практикум по общей биохимии.— М.: Просвещение, 1975.— 252 с.
5. *Bergey's manual of systematic bacteriology*.— 9ed.— Baltimore; London; Williams and Wilkins Co., 1984.— Vol. 1.— 945 p.
6. Dische Z. A new specific color reaction of hexuronic acids // *J. Biol. Chem.*— 1947.— N 167.— P. 189—198.
7. Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // *Anal. Chem.*— 1956.— 28, N 3.— P. 350—356.
8. Dutton G. S., Karunarathne D. N. Bacteriophage degradation of *Klebsiella* K 44 polysaccharide: an n.m.r. study and chemical proof of the position of the acetate group // *Carbohydr. Res.*— 1985.— 138.— P. 277—291.
9. Holzwarth J., Ogletree F. Pyruvate-free xanthan // *Ibid.*— 1979.— 76.— P. 277—280.
10. Horton D., Mols O., Walaszek Z., Wernan W. C. Structural and biosynthetic studies on xanthan by ^{13}C -n.m.r. spectroscopy // *Ibid.*— 1985.— 141.— P. 340—346.
11. Kochetkov N. K., Byramova N. E., Tsvetkov Yu. E., Backinovsky L. V. Synthesis of the O-specific polysaccharide of *Shigella flexneri* // *Tetrahedron.*— 1985.— 41, N 16.— P. 3363—3375.
12. Sandford P. A. Extracellular microbial polysaccharides // *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*— 1979.— 36.— P. 265—313.
13. Sandford P. A., Cottrell T. W., Pettitt D. J. Microbial polysaccharides: new products and their commercial applications // *Pure Appl. Chem.*— 1984.— 56, N 7.— P. 879—892.
14. Tako M., Nakamura S. Rheological properties of deacetylated xanthan in aqueous media // *Agr. Biol. Chem.*— 1984.— 48, N 12.— P. 2987—2993.
15. Zosim Z., Gutnik D., Rosenberg E. Properties of hydrocarbon-in-water emulsion stabilized by *Acinetobacter* RAG-1 emulsan // *Biotechnol. and Bioeng.*— 1982.— 24, N 2.— P. 281—292.

Получено 08.04.86