

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 579.841:577.11.114:57.04

ЗАЩИТНЫЕ ФУНКЦИИ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ, СИНТЕЗИРУЕМЫХ БАКТЕРИЯМИ *ACINETOBACTER* SP.

© 1997 г. Т. П. Пирог, Т. А. Гринберг, Ю. Р. Малашенко

Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев Поступила в редакцию 22.03.96 г.

Изучали устойчивость клеток *Acinetobacter* sp. в стадии экспоненциального роста и в стационарной фазе к различным неблагоприятным факторам среды в присутствии собственных экзополисахаридов (ЭПС). Показано, что ЭПС, синтезируемые *Acinetobacter* sp. в оптимальных для роста условиях культивирования, защищают клетки продуцента от действия высоких и низких значений pH, повышенной температуры, биоцидов, детергентов, высушивания и замораживания. Установлена более высокая устойчивость клеток в экспоненциальной стадии роста к некоторым из исследованных факторов. Обсуждается взаимосвязь физиологического состояния *Acinetobacter* sp. и защитных функций его ЭПС.

Ключевые слова: экзополисахариды, защитные функции, физиологическое состояние, вязкость, жизнеспособность клеток, неблагоприятные факторы.

Ранее [1] нами была выдвинута гипотеза, согласно которой микроорганизмы в зависимости от конкретных природных условий существования синтезируют экзополисахариды (ЭПС) различного состава и с различными физико-химическими свойствами, т.е. состав и физико-химические свойства синтезируемых ЭПС меняются соответственно изменениям условий окружающей среды, что дает возможность ЭПС постоянно выполнять свои биологические функции и, таким образом, позволяет микробным популяциям обеспечить возможность своего существования. Экспериментальная проверка этой гипотезы должна дать ответ на вопрос, как под влиянием внешних факторов меняются состав и физико-химические свойства синтезируемых ЭПС, определяющие их биологические функции, и как при изменении физико-химических свойств среды меняется степень выполнения биологических функций ЭПС.

Ранее было показано, что при культивировании *Acinetobacter* sp. в оптимальных и неоптимальных условиях (при изменении pH, температуры, концентрации растворенного кислорода, концентрации одновалентных катионов в ростовой среде) синтезируются ЭПС, растворы которых характеризуются различной вязкостью в присутствии катионов, при переводе в H⁺-форму, в системе Cu²⁺-глицин [1]. Полученные результаты позволили предположить, что степень проявления биологических функций такими ЭПС может быть различной.

Данная работа посвящена изучению некоторых защитных функций ЭПС, образуемых бактериями *Acinetobacter* sp. при выращивании их в оптимальных условиях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве модельной системы для определения защитных функций ЭПС использовали культуру, содержащую синтезированный ЭПС и клетки *Acinetobacter* sp., находящиеся в экспоненциальной или стационарной фазе роста.

Acinetobacter sp. выращивали на минеральной среде Кодама [2], содержащей 1% (по объему) этанола в качестве источника углерода. В среду дополнительно вносили 0.5% (по объему) дрожжевого автолизата и 0.0003% пантотената кальция. Бактерии культивировали в колбах на качалке (220 об/мин) в оптимальных для роста условиях: температура 28-30°C, pH 6.8-7.0 в течение 1-4 сут. В качестве посевного материала использовали двухсуточную культуру, выращенную на суслораговой среде.

Биомассу определяли по оптической плотности клеточной суспензии с последующим пересчетом на абсолютно сухую массу (АСМ) клеток по калибровочному графику. Количество ЭПС определяли по реакции с фенолом и серной кислотой [3]. Вязкость культуральной жидкости измеряли с помощью стеклянного капиллярного вискозиметра типа "Оствальд" при температуре 20°C.

В экспоненциальной и стационарной фазах роста продуцента отбирали пробы культуры (рис. 1) и исследовали устойчивость клеток *Acinetobacter* sp. к повышенным температурам (50-70°C), высоким и низким значениям pH (10.0 и 3.0 соответственно), замораживанию (морозильная камера, температура

-50°C), высушиванию (при комнатной температуре в течение 1-2 мес.), действию

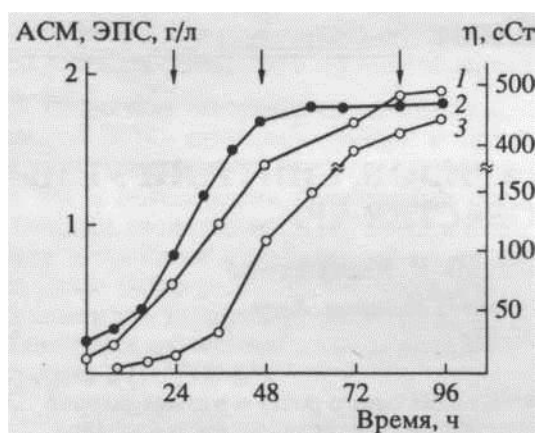


Рис. 1. Накопление биомассы (2), экзополисахаридов (1), изменение вязкости культуральной жидкости (3) при периодическом культивировании *Acinetobacter* sp. ↓ - момент отбора проб культуры.

биоцидов (формальдегид, 20–60 мкг/мл), детергентов (додецилсульфат натрия, 200–500 мкг/мл). В одном из вариантов осуществляли внесение формальдегида (10 и 20 мкг/мл) и додецилсульфата натрия (100 и 200 мкг/мл) в ростовую среду в начале процесса культивирования бактерий.

Количественный учет жизнеспособных клеток проводили по методу Коха на глюкозокартофельном агаре (ГКА). Использование ГКА для этой цели обусловлено тем, что количество колоний *Acinetobacter* sp., вырастающих на этой среде, на порядок выше, чем на сусле-агаре.

Формальдегид и додецилсульфат натрия вносили в культуру в виде 1- и 10%-ного растворов соответственно. Выращивали *Acinetobacter* sp. в присутствии формальдегида и додецилсульфата натрия в течение 2 и 72 ч. Через 2 ч определяли количество жизнеспособных клеток. Через 72 ч пересеивали бактерии на среду без формальдегида и додецилсульфата натрия для выявления возможности восстановления жизнеспособности клеток.

При исследовании роли ЭПС в защите клеток от действия высоких температур культуру нагревали на водяной бане до 50,60 и 70°C, выдерживали 15 мин и далее определяли количество жизнеспособных клеток.

Для выявления защитных функций ЭПС при действии высоких и низких значений pH подщелачивали культуру до pH 10.0 6%-ным раствором NaOH или подкисляли до pH 3.0 при помощи 6%-ного раствора HCl; культивировали бактерии в течение 2 ч, после чего определяли количество жизнеспособных клеток.

Для определения роли ЭПС в защите клеток от высушивания культуру (5 мл) помещали в стерильные чашки Петри, выдерживали при комнатной температуре до полного высыхания (1–2 мес.) и затем определяли количество живых клеток, пред

варительно суспендировав сухой остаток в 5 мл физиологического раствора.

При изучении способности ЭПС защищать клетки от действия низких температур культуру замораживали в морозильной камере при –50°C, выдерживали при этой температуре 4 сут, после оттаивания и определения количества жизнеспособных клеток проводили повторное замораживание и выдерживали культуру при –50°C еще 4 сут, после чего определяли количество выживших клеток.

Для получения клеток, свободных от ЭПС, проводили ультразвуковую (УЗ) обработку культуры. Применение такого приема обусловлено тем, что ЭПС *Acinetobacter* sp. практически неотделим от клеток мягкими методами [4]. Культуру (экспоненциальная фаза роста) обрабатывали УЗ (22 кГц) в течение 120–180 с (в зависимости от ее вязкости), затем центрифугировали (5000g, 10 мин), клетки суспендировали в физиологическом растворе и снова центрифугировали. Отмывание клеток от фрагментов ЭПС проводили трижды. Затем клеточную суспензию повторно обрабатывали УЗ в течение 40 с и трижды отмывали клетки от ЭПС с помощью физиологического раствора. Такая УЗ-обработка культуры позволяет сохранить все клетки жизнеспособными и приводит только к расщеплению высокомолекулярных ЭПС на низкомолекулярные фрагменты. При этом существенно снижается вязкость культуры, что дает возможность отделить клетки от фрагментов ЭПС при центрифугировании.

Клетки, свободные от ЭПС, суспендировали в среде Кодама и исследовали устойчивость полученной клеточной суспензии к формальдегиду, додецилсульфату натрия, высоким и низким значениям pH, высоким температурам, замораживанию, высушиванию в условиях, аналогичных описанным выше.

Опыты по устойчивости клеток *Acinetobacter* sp. к исследуемым неблагоприятным факторам проводили в трех повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Синтез ЭПС в оптимальных для роста условиях культивирования *Acinetobacter* sp. начинается с первых часов развития продуцента и продолжается на всех стадиях; количество синтезированных ЭПС максимально в стационарной фазе роста. Вязкость культуральной жидкости достигает максимальных значений также в стационарной фазе роста бактерий (рис. 1).

Внесение формальдегида (10 мкг/мл) и додецилсульфата натрия (100 мкг/мл) в ростовую среду в начале процесса культивирования *Acinetobacter* sp. не приводило к гибели клеток при выращивании бактерий в течение 3 сут. При повышении концентрации этих соединений до 20 и

200 мкг/мл соответственно наблюдали полную гибель клеток через 2 ч. В связи с этим исследовали защитную роль ЭПС по отношению к клеткам *Acinetobacter* sp., находящимся в присутствии таких и более высоких концентраций формальдегида (до 60 мкг/мл) и додецилсульфата натрия (до 500 мкг/мл). Эксперименты показали, что добавление формальдегида (20 мкг/мл) и додецилсульфата натрия (200 мкг/мл) к культуре в экспоненциальной фазе роста не влияло на жизнеспособность клеток (рис. 2, рис. 3). Повышение концентрации формальдегида до 40 мкг/мл приводило к гибели 10–20% клеток, при 60 мкг/мл наблюдали снижение количества жизнеспособных клеток на 20% в экспоненциальной фазе роста и на 30–40% в стационарной фазе (рис. 2). Тем не менее при пересеве на среду без формальдегида клеток *Acinetobacter* sp., выращиваемых в присутствии этого соединения (20–60 мкг/мл) в течение 72 ч (после внесения его как в экспоненциальной, так и в стационарной фазах роста), наблюдали нормальный рост и развитие клеток. Увеличение концентрации додецилсульфата натрия до 500 мкг/мл в экспоненциальной фазе роста сопровождалось гибелью 10% клеток, в стационарной фазе – 30% (рис. 3). Добавление формальдегида (60 мкг/мл) и додецилсульфата натрия (500 мкг/мл) к клеткам из экспоненциальной фазы роста, свободным от ЭПС, приводило к снижению количества жизнеспособных клеток на 80 и 95% соответственно (рис. 2, рис. 3).

При изменении pH культуры в экспоненциальной фазе роста до 3.0 и 10.0 выживало 10 и 20% клеток соответственно (рис. 4). В аналогичных условиях наблюдали полную гибель клеток *Acinetobacter* sp., свободных от ЭПС. Клетки из стационарной фазы роста оказались более устойчивыми к действию высоких и низких значений pH: в начале стационарной фазы роста количество жизнеспособных клеток снижалось лишь на 10%, в более поздней стационарной фазе в аналогичных условиях все клетки оставались живы. Очевидно, это связано с увеличением в стационарной фазе количества синтезируемых ЭПС и вязкости культуральной жидкости, в том числе и за счет способности растворов ЭПС *Acinetobacter* sp. увеличивать вязкость в области низких и высоких значений pH [5]. Так, ранее было показано, что при переводе 0.03% (по углеводам) растворов ЭПС в H⁺-форму (при обработке катионитом КУ-2-8) вязкость их растворов увеличивается в 10–15 раз [6, 7]. Защита клеток в условиях высоких значений pH (до 10) осуществляется в результате структурирования (т.е. повышения вязкости) растворов синтезируемых ЭПС в присутствии катионов K⁺, Na⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ и др. [5].

Высушивание в течение 1 мес. культуры в экспоненциальной фазе роста приводило к гибели

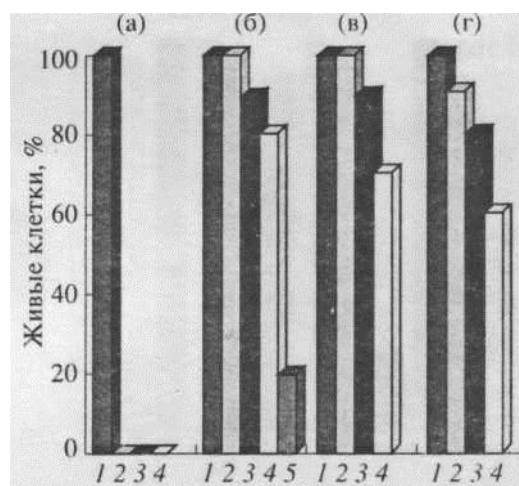


Рис. 2. Выживаемость клеток *Acinetobacter* sp. при внесении формальдегида в начале процесса культивирования (а), середине экспоненциальной (б), начальной (в) и поздней (г) стационарной фазах роста. Концентрации формальдегида (мкг/мл): 1 - без формальдегида; 2 - 20; 3 - 40; 4,5 - 60. 5 - клетки, свободные от ЭПС.

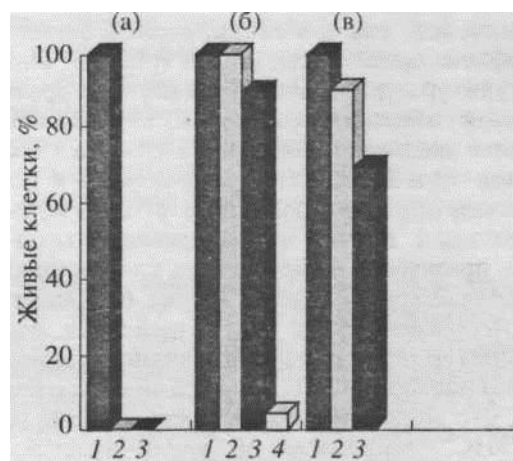


Рис. 3. Выживаемость клеток *Acinetobacter* sp. при внесении додецилсульфата натрия в начале процесса культивирования (а), экспоненциальной (б) и стационарной (в) фазах роста. Концентрации додецилсульфата натрия (мкг/мл): 1 - без додецилсульфата натрия; 2 - 200; 3,4 - 500. 4 - клетки, свободные от ЭПС.

20% клеток, в то время как все клетки в стационарной фазе роста оставались жизнеспособными (рис. 5). Через 2 мес. высушивания количество живых клеток в экспоненциальной фазе роста снижалось на 40%, в стационарной - лишь на 10%. В то же время высушивание в течение 1 и 2 мес. клеток в экспоненциальной фазе роста, свободных от ЭПС, приводило к гибели соответственно 60 и 80% клеток (рис. 5). Вероятно, устойчивость к высушиванию культуры в стационарной фазе роста обусловлена более высоким содержанием в такой культуре ЭПС и ее высокой вязкостью.

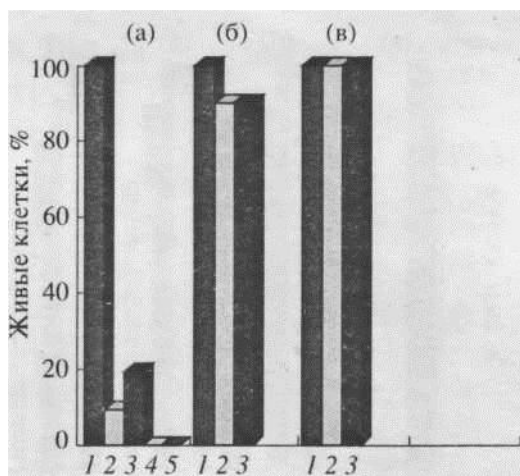


Рис. 4. Влияние различных значений pH на выживаемость клеток *Acinetobacter* sp. из середины экспоненциальной (а), начальной (б) и поздней (в) стационарной фаз роста. Значения pH: У - 7.0 (контроль); 2,4 - 3.0; 3,5 - 10.0. 4,5 - клетки, свободные от ЭПС.

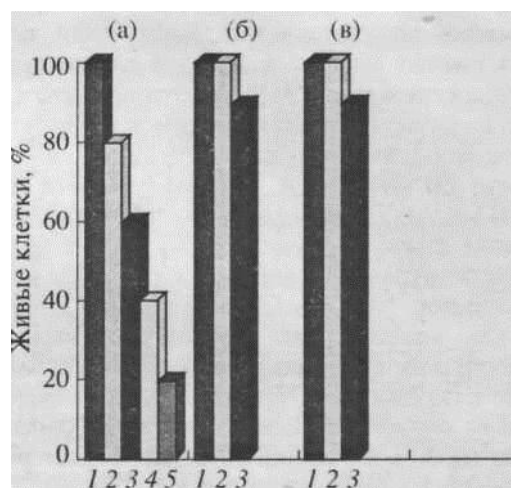


Рис. 5. Выживаемость при высушивании клеток *Acinetobacter* sp. из середины экспоненциальной (а), начальной (б) и поздней (в) стационарной фаз роста. Время высушивания: 1 - до высушивания; 2, 4 - 1 мес; 3, 5 - 2 мес. 4, 5 - клетки, свободные от ЭПС.

При повышении температуры культуры, содержащей ЭПС, до 50°C все клетки как в экспоненциальной, так и в стационарной фазах роста оставались жизнеспособными (рис. 6). Нагревание культуры до 70°C в обоих случаях приводило к полной гибели клеток. При 60°C выживало 50% клеток в экспоненциальной фазе роста и соответственно 40 и 25% клеток в начальной и поздней стационарной фазе. Удаление ЭПС из культуры, содержащей клетки в экспоненциальной фазе роста, приводило к гибели всех клеток при повышении температуры до 60°C (рис. 6). Защита клеток *Acinetobacter* sp. от воздействия высоких температур обусловлена, очевидно, высокой вязкостью растворов ЭПС. Так, ранее было установлено, что динамическая вязкость 1 %-ных растворов ЭПС *Acinetobacter* sp. увеличивается более чем в 2 раза после нагревания раствора до 60–80°C в течение 10 мин [5].

Клетки в экспоненциальной фазе роста оказались более устойчивыми к замораживанию по сравнению с клетками в стационарной фазе роста, а также клетками, свободными от ЭПС (рис. 7).

Acinetobacter sp. изолирован из сточных вод нефтеперерабатывающего завода. Мы предполагаем, что синтез ЭПС для этих бактерий является жизненно необходимой функцией. Так, нам не удалось выявить условия роста *Acinetobacter* sp., в которых не образуется ЭПС. Независимо от условий культивирования бактерий выход ЭПС остается неизменным и составляет 1 г ЭПС/г биомассы [1]. При росте на всех исследованных субстратах (углеводах, С₄-дикарбоновых кислотах, С₂-соединениях) *Acinetobacter* sp. синтезирует невысокие количества (1–4 г/л) высоковязких ЭПС. Однако при невысокой концентрации ЭПС вяз-

кость культуральной жидкости сравнима с таковой *Xanthomonas campestris* при содержании ксантана 20 г/л [5]. Растворы ЭПС *Acinetobacter* sp., синтезируемых в исследуемых нами оптимальных условиях, обладают рядом уникальных свойств: способностью к эмульгированию, повышению вязкости в присутствии одно- и двухвалентных катионов, при понижении pH, способностью осаждаться тяжелыми токсичными металлами и др. [5].

На основании изучения физиологических особенностей роста бактерий *Acinetobacter* sp. и физико-химических свойств синтезируемых ими ЭПС мы предположили, что основной биологической функцией ЭПС *Acinetobacter* sp. является защитная функция этих полимеров.

Полученные прямые экспериментальные данные подтвердили наши предположения о защитных функциях ЭПС *Acinetobacter* sp. Так, установлена способность ЭПС защищать клетки продуцента от действия высоких и низких значений pH, повышенной температуры, биоцидов, детергентов, высушивания, замораживания.

По нашему мнению, исследование биологических функций ЭПС должно проводиться на модельных системах, максимально приближенных к естественным условиям обитания микроорганизмов. В частности, защитные функции ЭПС необходимо определять для популяций, находящихся в различных ростовых (оптимальных, неоптимальных, экстремальных) условиях. В своих экспериментах мы использовали в качестве такой модельной системы культуру, содержащую клетки и синтезируемый в данной фазе роста и в данных конкретных условиях ЭПС. Обычно биологические функции ЭПС (в частности, защитные) изучают в системе «отмытые от ЭПС клетки – раствор

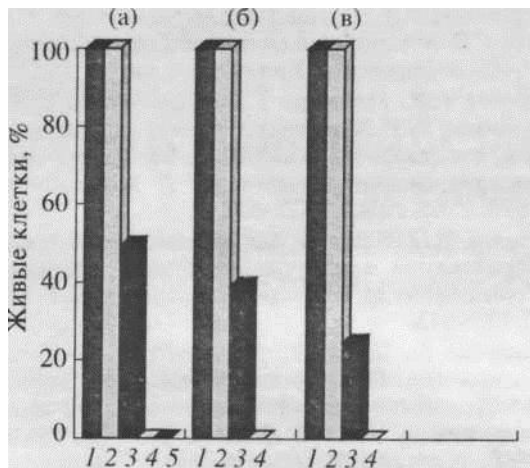


Рис. 6. Влияние температуры на выживаемость клеток *Acinetobacter* sp. из середины экспоненциальной (а), начальной (б) и поздней (в) стационарной фаз роста. Температура (°С): 1 - до нагревания; 2 - 50; 3,5 - 60; 4 - 70. 5 - клетки, свободные от ЭПС.

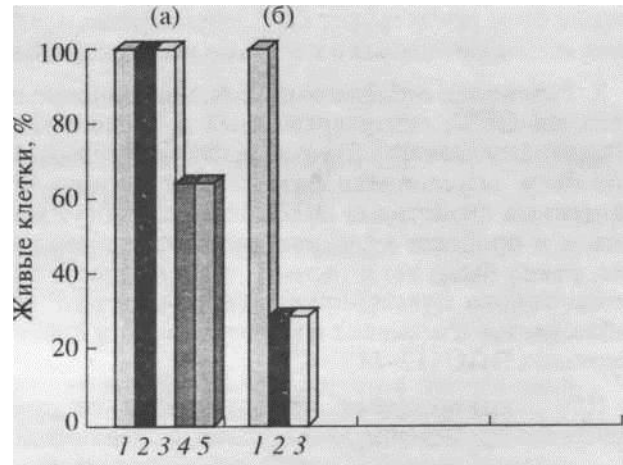


Рис. 7. Влияние замораживания на выживаемость клеток *Acinetobacter* sp. из экспоненциальной (а) и стационарной (б) фаз роста. 1 - до замораживания; 2,4 - однократное замораживание; 3,5 - двукратное замораживание. 4,5 - клетки, свободные от ЭПС

очищенного ЭПС», которую подвергают воздействию различных неблагоприятных факторов. При этом клетки и ЭПС могут быть получены в различных условиях культивирования. Кроме того, применение предложенной нами модельной системы представлялось нам важным в связи с тем, что свойства растворов очищенных ЭПС и свойства растворов ЭПС в виде культуральной жидкости могут в значительной степени различаться. Так, например, вязкость культуральной жидкости *Acinetobacter* sp., содержащей 2 г/л ЭПС, может достигать 400–600 сСт, в то время как вязкость раствора аналогичной концентрации выделенного из этой культуральной жидкости и очищенного ЭПС в 10–20 раз ниже. Это явление обусловлено тем, что в процессе синтеза ЭПС формируется определенная структура растворов культуральной жидкости (в частности, за счет структурирования растворов ЭПС катионами, содержащимися в ростовой среде [5]), которая при выделении и очистке ЭПС разрушается, причем разрушение имеет в большинстве случаев необратимый характер. Вполне естественно, что степень проявления защитных функций у экзополисахаридов в культуральной жидкости и очищенных ЭПС может оказаться различной.

Использование нашей модельной системы позволило исследовать защитные функции ЭПС, синтезируемых клетками, находящимися в различных фазах роста. Мы предполагали, что по мере увеличения количества синтезированных ЭПС и вязкости культуральной жидкости устойчивость клеток будет повышаться, т.е. клетки из стационарной фазы роста окажутся более устойчивыми к воздействию неблагоприятных факторов. Однако полученные экспериментальные данные показали, что клетки в экспоненциальной фа-

зе роста более устойчивы к формальдегиду, додецилсульфату натрия, повышенной температуре и замораживанию, чем клетки, находящиеся в стационарной фазе. В то же время устойчивость к высушиванию, а также к высоким и низким значениям рН оказалась более высокой для клеток в стационарной фазе роста. Для объяснения этого явления мы можем предложить несколько гипотез.

1. Степень выполнения защитных функций ЭПС зависит от физиологического состояния продуцента. В таком случае наряду со способностью синтезированных ЭПС защищать клетки от неблагоприятных факторов существуют иные, не связанные с наличием ЭПС, механизмы устойчивости клеток к этим факторам. Очевидно, следует учитывать тот факт, что в культуральной жидкости, кроме ЭПС, могут содержаться и другие полимеры (например, ферменты), определяющие устойчивость клеток *Acinetobacter* sp. к некоторым неблагоприятным факторам.

2. Защитные функции могут быть обусловлены как свободными ЭПС, находящимися в культуральной жидкости, так и полисахаридами, ассоциированными с клетками. Из литературы известно, что соотношение свободного и ассоциированного с клетками эмульсана зависит от фазы роста продуцента [8–11]. Так, в экспоненциальной фазе эмульсан связан с клетками; количество ассоциированного с клетками эмульсана быстро снижается в стационарной фазе роста. Это сопровождается увеличением его количества в культуральной жидкости. Вполне вероятно, что наблюдаемая в наших экспериментах более высокая устойчивость к некоторым неблагоприятным факторам клеток *Acinetobacter* sp. в экспоненци-

альной фазе роста может быть обусловлена наличием ассоциированных с клетками полисахаридов.

1. Различная степень выполняемых защитных функций ЭПС, синтезированных в экспоненциальной и стационарной фазах роста бактерий, может быть обусловлена различными физико-химическими свойствами ЭПС, которые могут меняться в процессе культивирования продуцента. Так, ранее было установлено, что в процессе периодического культивирования *Acinetobacter* sp. наблюдается изменение состава и свойств синтезируемых ЭПС [12–14].

Для подтверждения предложенных гипотез требуется проведение дальнейших исследований.

Таким образом, в результате проведенной работы показано, что ЭПС, синтезируемые *Acinetobacter* sp. в оптимальных для роста условиях культивирования, защищают клетки продуцента от неблагоприятных факторов внешней среды.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пирог Т.П., Гринберг Т.А., Малащенко Ю.Р. Влияние факторов внешней среды на образование и свойства экзополисахаридов *Acinetobacter* sp. // Прикл. биохимия и микробиология. 1997. Т. 33. №6.
2. Кодама Т., Накахага Т., Омори Т., Бинх Н.Т., Хо-шино К., Минода И. Образование внеклеточных полисахаридов водородными и метаниспользующими микроорганизмами // Рост микроорганизмов на C₁-соединениях: Тез. докл. симп. (12-16 сентября 1977 г., Пущино). Пущино: НЦБИ АН СССР, 1977. С. 213-215.
3. Dubois M., Gilles K., Hamilton J., Rebers P., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances // Anal. Chem. 1956. V. 28. № 3. P. 350-356.
4. Пирог Т.П., Гринберг Т.А., Малащенко Ю.Р. Выделение микроорганизмов - продуцентов ферментов, деградирующих экзополисахарид *Acinetobacter* sp. // Прикл. биохимия и микробиология. 1997. Т. 33. № 5.
5. Гринберг Т.А., Пирог Т.П., Малащенко Ю.Р., Пинчук Г.Э. Микробный синтез экзополисахаридов на C₁-C₂-соединениях. Киев: Наук. думка, 1992. 212 с.
6. Пирог Т.П., Гринберг Т.А., Сенченкова С.Н., Малащенко Ю.Р. Химический состав экзополисахаридов, синтезируемых *Acinetobacter* sp. на средах с различным содержанием K⁺ // Микробиология. 1996. Т. 65. № 4. С. 527-532.
7. Пирог Т.П. Влияние одновалентных катионов на образование ацилированных экзополисахаридов *Acinetobacter* sp. // Микробиология. 1996. Т. 65. № 5. С. 639-643.
8. Goldman S., Shabtai Y., Rubinovitz C., Rosenberg E., Gutnick D.L. Emulsan in *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1: distribution of cell-free and cell-associated crossreacting material // Appl. Environ. Microbiol. 1982. V. 44. № 1.P. 165-170.
9. Gutnick D.L., Bayer F.A., Rubinovitz C., Pines O., Shabtai Y., Goldman S. Emulsan production in *Acinetobacter* RAG-1 // Adv. Biotechnol. Proc. 6th Int. Ferment. Symp., London (Canada), 20-25 July 1980. Toronto e. a. 1981. V. 3. P. 455-459.
10. Pines O., Bayer F.A., Gutnick D.L. Localisation of emulsan-like polymers associated with the cell surface of *Acinetobacter calcoaceticus* // J. Bacteriol. 1983. V. 154. № 2. P. 893-905.
11. Pat. 4234689 USA, 10³ C 12 P 19/04. Production of α-emulsans. Gutnick D.L., Rosenberg E., Shabtai Y. Publ. 18.11.80.
12. Пирог Т.П., Краснопецева Н.В., Гринберг Т.А., Власов С.А., Воцелко С.К., Малащенко Ю.Р. Изменение некоторых свойств экзополисахаридов *Acinetobacter* sp. в процессе периодического культивирования // Биотехнология. 1991. V.4. С. 76-70.
13. Гринберг Т.А., Пирог Т.П., Пинчук Г.Э., Буклова В.Н., Малащенко Ю.Р. Изменение состава и свойств экзополисахаридов, синтезируемых *Acinetobacter* sp. в процессе периодического культивирования // Микробиология. 1994. Т. 63. Вып. 6. С. 1015-1019.
14. Пирог Т.П., Гринберг Т.А., Буклова В.Н., Воцелко С.К., Малащенко Ю.Р. Образование экзополисахаридов в процессе периодического культивирования *Acinetobacter* sp. на средах с различным содержанием K⁺ // Микробиология. 1995. Т. 64. № 1. С. 51-54.

Рецензент И.В. Ботвинко

Protective Functions of Exopolysaccharides Produced by an *Acinetobacter* sp. T. P.

Pirog, T. A. Grinberg, and Yu. R. Malashenko

Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev, Ukraine

Abstract—The effect of exopolysaccharides (EPS) on the response of exponential and stationary cells of an *Acinetobacter* sp. to different unfavorable ambient factors was studied. EPS synthesized by *Acinetobacter* sp. under optimum growth conditions were found to protect the bacterium from extreme pH values, elevated temperature, drying, freezing, biocides, and detergents. Exponential cells showed a higher tolerance to some of the effectors studied. The relationship between the physiological state of *Acinetobacter* sp. cells and the protective abilities of EPS is discussed.

Key words: exopolysaccharides, protective ability, physiological state, viscosity, cell viability, unfavorable factors.