

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

УДК 579.841:577.11.114:57.04

РОЛЬ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ *ACINETOBACTER SP.* В ЗАЩИТЕ КЛЕТОК ПРОДУЦЕНТА ОТ ДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ ТОКСИЧНЫХ МЕТАЛЛОВ

©1997 г. Т. П. Пирог

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

Установлена способность экзополисахаридов (ЭПС) *Acinetobacter sp.* защищать клетки продуцента от действия тяжелых токсичных металлов (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+}). Клетки из экспоненциальной фазы роста в присутствии ЭПС более устойчивы к металлам, чем клетки из стационарной фазы роста. Не выявлена защитная функция ЭПС по отношению с Cd^{2+} и Cr^{6+} . Вероятно, у *Acinetobacter sp.* наряду с синтезом ЭПС существуют также иные механизмы устойчивости к металлам.

Ключевые слова: экзополисахариды, тяжелые металлы, устойчивость, защитные функции, физиологическое состояние.

В работе Пирог с соавт. [1] показано, что экзополисахариды (ЭПС), синтезируемые *Acinetobacter sp.* в оптимальных для роста условиях культивирования, защищают клетки продуцента от действия высоких и низких значений pH, повышенной температуры, высушивания, замораживания, биоцидов, детергентов. Ранее было установлено, что ЭПС, образуемые *Acinetobacter sp.*, осаждаются токсичными металлами (Cr^{3+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Al^{3+} , Fe^{3+}) [2, 3]. Очевидно, свойство ЭПС связывать ионы металлов в результате их осаждения является определяющим фактором в защите клеток от действия токсичных металлов.

Проверка этого предположения определила цель настоящего исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве модельной системы для определения роли ЭПС в защите клеток *Acinetobacter sp.* от действия токсичных металлов использовали культуру, содержащую синтезированный ЭПС и клетки, находящиеся в экспоненциальной или стационарной фазе роста.

Acinetobacter sp. выращивали на минеральной среде Кодама [4], 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° С, pH 6.8-7.0 в течение 1-4 сут. В качестве посевного материала использовали двухсуточную культуру, выращенную на сусло-агаровой среде.

Исследовали устойчивость клеток *Acinetobacter sp.* к каждому из металлов: Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} , Cr^{6+} , которые вносили в среду в виде 0.1 М растворов солей $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ (хромовые квасцы), K_2CrO_4 . Исследуемые концентрации металлов (мМ): Cu^{2+} – 0.5-3.0; Pb^{2+} – 0.5-5.0; Cd^{2+} – 0.5-10.0; Cr^{3+} – 0.5-7.0; Cr^{6+} – 0.5-10.0.

Металлы вносили в среду в лаг-фазе, экспоненциальной и стационарной фазах роста бактерий. В начале процесса культивирования металлы добавляли в ростовую среду в концентрации 0.5–1.0 мМ. В ряде экспериментов одновременно с металлами вносили 0.25% очищенного ЭПС *Acinetobacter sp.* В экспоненциальной фазе роста все исследуемые металлы вносили в более высоких концентрациях (2.0–10.0 мМ); в стационарной фазе в культуру вносили только Cu^{2+} (0.75–3.0 мМ) и Cr^{6+} (5 мМ).

Культивирование бактерий в присутствии металлов осуществляли в течение 2–72 ч после их внесения. Через 2 ч (в некоторых случаях также через 24 и 48 ч) проводили количественный учет жизнеспособных клеток по методу Коха на глюкозокартофельном агаре (ГКА). Использование ГКА обусловлено тем, что количество колоний *Acinetobacter sp.*, вырастающих на этой среде, на порядок выше, чем на сусло-агаре. Через 72 ч пересевали бактерии на среду без металлов для выявления возможности восстановления жизнеспособности клеток после длительного контакта с металлами.

Поскольку Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} (в отличие от Cu^{2+} и Cr^{6+}) взаимодействуют с компонентами среды Кодама (MgSO_4 , KH_2PO_4 , Na_2HPO_4) с образованием нерастворимых сульфатов и фосфатов, роль

Таблица 1. Влияние экзополисахаридов на рост *Acinetobacter* sp. в присутствии Cu^{2+}

Концентрация Cu^{2+} , мМ	Внесение Cu^{2+}			
	Начало процесса культивирования		Экспоненциальная фаза роста	
	I	II	I	II
0.5	-	-	-	+
1.0	-	-	-	+
1.5	-	-	-	+
0.5 + 0.25% ЭПС	-	+	н. о.	н. о.

Обозначения: I - рост в присутствии Cu^{2+} ; II - рост при пересеве на среду без Cu^{2+} ; наличие роста; - отсутствие роста; н. о. - не определяли.

ЭПС в защите клеток *Acinetobacter* sp. от этих металлов исследовали следующим образом. Культуру в стадии экспоненциального роста стерильно центрифугировали в условиях, позволяющих осадить клетки и ЭПС (8000g, 15 мин). Осадок трижды отмывали от остатков среды Кодама физиологическим раствором, центрифугируя (8000g, 15 мин), затем суспендировали его в физиологическом растворе, в который вносили (мг/л): KCl – 50; NH_4NO_3 – 100; KH_2PO_4 – 15, а также 0.5% этанола и 0.2% дрожжевого автолизата (среда А). В данную систему (клетки + ЭПС + среда А) вносили металлы и культивировали бактерии в их присутствии 2 ч, после чего проводили количественный учет жизнеспособных клеток. Применение среды А позволило исследовать влияние металлов на клетки *Acinetobacter* sp., находящиеся в ростовых условиях, и исключить образование нерастворимых солей металлов, т.е. исключить факторы, которые наряду с ЭПС могли оказать влияние на устойчивость клеток к металлам. В данных опытах *Acinetobacter* sp. выращивали до середины экспоненциальной фазы роста на среде Кодама. Это обусловлено тем, что в настоящей работе исследовали защитные функции ЭПС *Acinetobacter* sp., синтезируемых бактериями в оптимальных для роста условиях культивирования. Среда А не является оптимальной для роста *Acinetobacter* sp.

Влияние Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cr^{3+} на рост *Acinetobacter* sp. при внесении этих металлов в начале процесса культивирования исследовали при выращивании бактерий на минеральной среде А.

Для получения клеток *Acinetobacter* sp., свободных от ЭПС, проводили ультразвуковую обработку культуры в экспоненциальной фазе роста, как описано ранее [1]. Клетки, свободные от ЭПС, суспендировали в среде А или физиологическом растворе, добавляли металлы, инкубировали 2 ч, после чего осуществляли количественный учет жизнеспособных клеток путем высева на ГКА.

Опыты по устойчивости клеток *Acinetobacter* sp. к металлам проводили в трех повторностях.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При культивировании бактерий в оптимальных для роста условиях содержание ЭПС в культуральной жидкости в середине экспоненциальной фазы роста составляет 0.5-0.7; в конце экспоненциальной фазы – 1.3–1.5; в стационарной – 1.7–2.0 г/л [1]. Вязкость культуральной жидкости в экспоненциальной фазе роста составляет не более 40–50 сСт, в стационарной фазе может достигать 400–600 сСт. Таким образом, исследовали устойчивость клеток *Acinetobacter* sp. к металлам по мере увеличения количества синтезированных ЭПС и вязкости культуральной жидкости.

При внесении всех исследуемых металлов, за исключением Cd^{2+} , в ростовую среду в начале процесса культивирования *Acinetobacter* sp. не наблюдали роста культуры (табл. 1 и 2). Пересев бактерий через 72 ч выращивания в присутствии Cu^{2+} , Cr^{3+} , Cr^{6+} , Pb^{2+} на среду без металлов не сопровождался восстановлением их роста. При внесении в начале процесса культивирования одновременно с металлами 0.25% ЭПС *Acinetobacter* sp. также не отмечали роста бактерий. Однако пересев клеток через 72 ч их инкубации в присутствии металлов и ЭПС на среду без металлов приводит к восстановлению роста культуры (табл. 1 и 2).

Внесение Cu^{2+} в экспоненциальной фазе роста *Acinetobacter* sp. сопровождалось остановкой роста бактерий (табл. 1). При пересеве такой культуры через 72 ч на среду без металла рост и разви-

Таблица 2. Влияние металлов на рост *Acinetobacter* sp. при внесении их в ростовую среду в начале процесса культивирования

Рост	Cr^{6+} , мМ		Cr^{3+} , мМ		Pb^{2+} , мМ		Cd^{2+} , мМ	
	0.5	0.5 + ЭПС	0.5	0.5 + ЭПС	0.5	0.5 + ЭПС	0.5	1.0
В присутствии металлов	-	-	-	-	-	-	+	+
При пересеве на среду без металлов	-	+	-	+	-	+	+	+

Примечание. наличие роста; отсутствие роста; концентрация ЭПС в среде составляла 0.25%.

тие клеток *Acinetobacter sp.* возобновлялись. В этом случае отмечали только увеличение длительности лаг-фазы на 36–40 ч.

Количество жизнеспособных клеток после внесения Cu^{2+} (0.75 и 1.5 мМ) в культуру на экспоненциальной стадии роста не снижалось через 2 ч инкубации (рис. 1а). Повышение концентрации Cu^{2+} до 3.0 мМ сопровождалось гибелью 20% клеток. Клетки в стационарной фазе роста оказались менее устойчивыми к Cu^{2+} по сравнению с клетками в экспоненциальной фазе роста. Так, добавление Cu^{2+} (0.75; 1.5; 3.0 мМ) к таким клеткам приводило к снижению количества жизнеспособных клеток через 2 ч на 10–20, 20–30 и 50–65% соответственно (рис. 1б, 1в).

После 48 ч инкубации с 1.5 мМ Cu^{2+} культуры в экспоненциальной фазе роста отмечали гибель 30% клеток; инкубация в аналогичных условиях клеток из начальной стационарной фазы роста сопровождалась гибелью 60% клеток.

Добавление 1.5 мМ Cu^{2+} к клеткам, свободным от ЭПС, приводило к снижению количества жизнеспособных клеток на 60% через 2 ч (рис. 1а).

На рис. 2 представлены данные по выживаемости клеток *Acinetobacter sp.* из экспоненциальной фазы роста в присутствии различных концентраций Cr^{3+} и Pb^{2+} . При добавлении 3.0 и 5.0 мМ Cr^{3+} , а также 2.0–5.0 мМ Pb^{2+} и инкубации в присутствии металлов в течение 2 ч практически все клетки оставались жизнеспособными. Повышение концентрации Cr^{3+} до 7.0 мМ приводило к гибели 20% клеток. После удаления ЭПС из культуры количество жизнеспособных клеток в присутствии Cr^{3+} снижалось на 80–95%, в присутствии Pb^{2+} – на 55–60% (рис. 2).

При внесении Cr^{6+} (5.0 мМ) в культуру в экспоненциальной фазе роста не наблюдали гибели клеток (рис. 3а). Повышение концентрации Cr^{6+} до 7 и 10 мМ приводило к снижению количества жизнеспособных клеток на 20 и 35% соответственно. После инкубирования в присутствии Cr^{6+} отмытых от ЭПС клеток их жизнеспособность не изменялась. Клетки из стационарной фазы роста оказались менее устойчивыми к Cr^{6+} по сравнению с клетками из экспоненциальной фазы (рис. 3б).

Инкубация в течение 2 ч клеток *Acinetobacter sp.* из экспоненциальной фазы роста в присутствии 5.0 мМ Cd^{2+} не сопровождалась снижением количества жизнеспособных клеток (рис. 3в). При повышении концентрации Cd^{2+} до 7.0 и 10.0 мМ наблюдали гибель 10 и 15% клеток соответственно. Аналогичные изменения количества жизнеспособных клеток в присутствии Cd^{2+} отмечали также после инкубирования их без ЭПС (рис. 3в).

На рис. 4 представлены данные по выживаемости в присутствии Cr^{6+} , Pb^{2+} и Cd^{2+} клеток *Acinetobacter sp.* из экспоненциальной фазы, свободных от ЭПС и находящихся в ростовых (среда А)

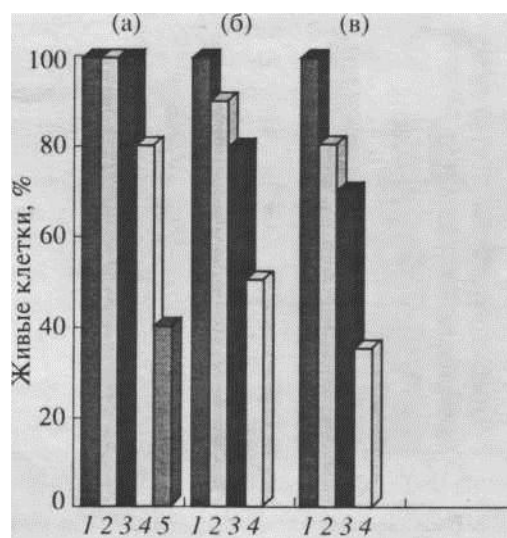


Рис. 1. Выживаемость клеток *Acinetobacter sp.* из середины экспоненциальной (а), начальной (б) и поздней (в) стационарной фазы роста в присутствии Cu^{2+} . Концентрации Cu^{2+} (мМ): 1 - без Cu^{2+} ; 2 - 0.75; 3,5 - 1.5; 4 - 3.0. 1-4 - клетки в присутствии ЭПС; 5 - клетки, свободные от ЭПС. Время инкубации в присутствии Cu^{2+} составляло 2 ч, клетки после отделения ЭПС суспендировали в среде А.

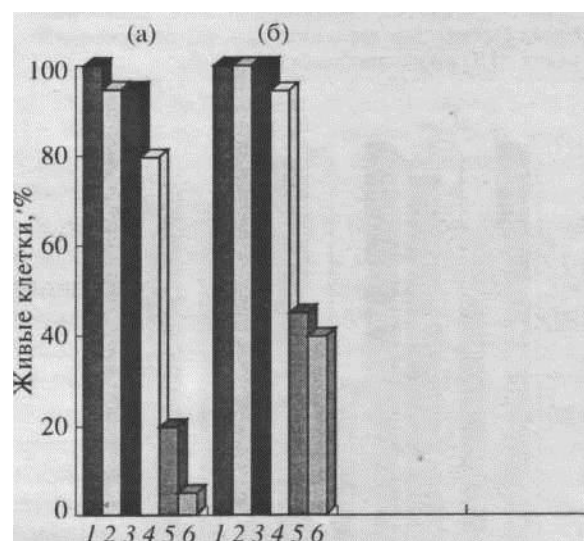


Рис. 2. Выживаемость клеток *Acinetobacter sp.* из экспоненциальной фазы роста в присутствии Cr^{3+} (а) и Pb^{2+} (б). Концентрации Cr^{3+} (мМ): 1 - без Cr^{3+} ; 2 - 3.0; 3,5 - 5.0; 4,6 - 7.0. 1-4 - клетки в присутствии ЭПС; 5, 6 - клетки, свободные от ЭПС. Концентрации Pb^{2+} (мМ): 1 - без Pb^{2+} ; 2 - 2.0; 3, 5 - 3.0; 4, 6 - 5.0. 1-4 - клетки в присутствии ЭПС; 5, 6 - клетки, свободные от ЭПС. Время инкубации с металлами составляло 2 ч, клетки после отделения ЭПС суспендировали в среде А.

и неростовых (физиологический раствор) условиях. В неростовых условиях устойчивость бактерий к Cr^{6+} и Pb^{2+} оказалась выше, чем устойчивость к таким же концентрациям металлов в рос-

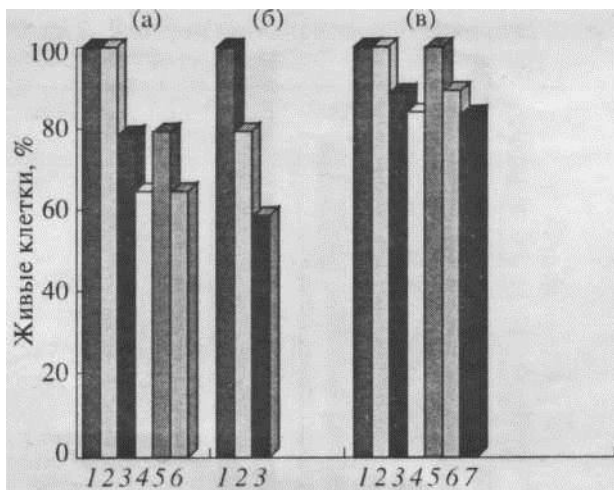


Рис. 3. Выживаемость клеток *Acinetobacter* sp. из экспоненциальной (а, в) и стационарной (б) фаз роста в присутствии Cr^{6+} (а, б) и Cd^{2+} (в), а: концентрации Cr^{6+} (мМ): 1 - без Cr^{6+} ; 2 - 5.0; 3,5 - 7.0; 4,6 - 10.0. 1-4 - клетки в присутствии ЭПС; 5,6 - клетки, свободные от ЭПС; б: концентрация Cr^{6+} во всех вариантах составляла 5.0 мМ. 1 - без Cr^{6+} ; 2,3 - клетки из начальной и поздней стационарной фаз роста соответственно; в: концентрации Cd^{2+} (мМ): 1 - без Cd^{2+} ; 2, 5 - 5.0; 3,6 - 7.0; 4,7-10.0. 1-4 - клетки в присутствии ЭПС; 5-7 - клетки, свободные от ЭПС. Время инкубации с металлами составляло 2 ч, клетки после отделения ЭПС суспендировали в среде А.

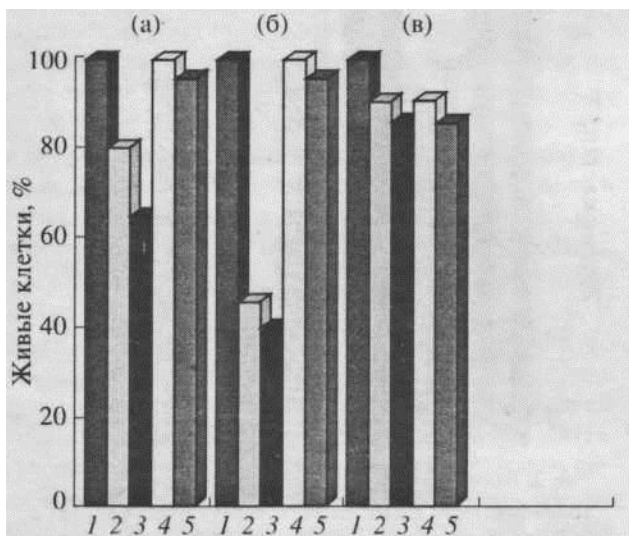


Рис. 4. Выживаемость клеток *Acinetobacter* sp., свободных от ЭПС, в присутствии Cr^{6+} (а), Pb^{2+} (б) и Cd^{2+} (в). 1 - без металлов; 2,3 - клетки в среде А; 4, 5 - клетки в физиологическом растворе. Концентрации Cr^{6+} и Cd^{2+} (мМ): 2,4 - 7.0; 3,5 - 10.0. Концентрации Pb^{2+} (мМ): 2,4 - 3.0; 3,5 - 5.0.

товых условиях. Кроме того, в неростовых условиях клетки, свободные от ЭПС, были более устойчивы к Cr^{6+} , чем клетки до отделения ЭПС, находящиеся в ростовых условиях (рис. 3а и

рис. 4а). Выживаемость клеток, свободных от ЭПС, при добавлении Pb^{2+} в неростовых условиях не отличалась от выживаемости в ростовых условиях клеток в присутствии ЭПС (рис. 2б и рис. 4б). Устойчивость к Cd^{2+} была одинаковой для клеток до и после отделения ЭПС, находящихся как в ростовых, так и в неростовых условиях (рис. 3в и рис. 4в).

Приведенные данные по различной устойчивости к Cr^{6+} и Pb^{2+} клеток *Acinetobacter* sp., свободных от ЭПС и находящихся в ростовых и неростовых условиях, позволяют предположить, что в неростовых условиях эти металлы “метаболически” недоступны для клеток, чем и объясняется высокая устойчивость к ним бактерий. Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследование биологических функций ЭПС (в частности, защитных функций) должно проводиться на растущих популяциях.

В работе Таширева [5] отмечается, что биологический эффект взаимодействия микроорганизмов с металлами определяется концентрацией металла, степенью его токсичности, а также метаболическим потенциалом микроорганизмов. При этом по отношению к любому элементу могут быть определены три значения его концентрации, при которых: металл необходим для поддержания нормального метаболизма клетки; металл находится в избытке и ингибирует метаболизм, в этом случае включаются защитные механизмы, компенсирующие отрицательное действие металла; металл в летальной дозе необратимо подавляет развитие популяции.

Результаты наших исследований показали, что устойчивость к одной и той же концентрации металла отличается у клеток, находящихся в различном физиологическом состоянии. Так, в начале процесса культивирования рост *Acinetobacter* sp. подавляется и наблюдается гибель всех клеток при внесении в ростовую среду 0.5 мМ исследованных металлов (за исключением Cd^{2+}). Клетки, находящиеся в экспоненциальной фазе роста, сохраняют жизнеспособность при концентрациях металлов на порядок выше (3-10 мМ). В стационарной фазе роста устойчивость бактерий к аналогичным концентрациям металлов несколько снижается. Ранее [1] нами также было показано, что клетки *Acinetobacter* sp. в экспоненциальной фазе роста более устойчивы к действию формальдегида, додецилсульфата натрия, нагреванию, замораживанию. В работе Пирог с соавт. [1] предложено несколько гипотез, позволяющих объяснить это явление.

Приведенные в настоящей статье экспериментальные данные позволяют предположить, что у *Acinetobacter* sp. существует несколько механизмов устойчивости бактерий к металлам, причем на разных фазах роста культуры могут функцио-

нирывать различные их типы. Из литературы известно, что в лаг-фазе может происходить поглощение металлов за счет физико-химической сорбции их клеточной стенкой, а также осаждение металлов экзометаболитами (в том числе и ЭПС), внесенными в среду с посевным материалом [5]. В экспоненциальной и стационарной фазах роста *Acinetobacter* sp. защита клеток от действия тяжелых токсичных металлов обусловлена осаждением их синтезируемыми ЭПС (образование нерастворимых соединений “металл-ЭПС” [2, 3]). Мы предполагаем, что более высокая устойчивость к металлам клеток *Acinetobacter* sp. в экспоненциальной фазе роста может быть обусловлена наличием ассоциированных с клетками полисахаридов, которые препятствуют проникновению металлов в клетки. В стационарной фазе роста ассоциированные с клетками полисахариды высвобождаются в среду. Очевидно, следует учитывать и тот факт, что в культуральной жидкости, кроме ЭПС, могут содержаться и другие полимеры (например, ферменты), которые также могут определять устойчивость клеток *Acinetobacter* sp. к некоторым металлам.

Из литературы известно, что защита от токсичных концентраций металлов у микроорганизмов проявляется в образовании различных веществ, связывающих металлы в форме малотоксичных соединений.

Устойчивость к Al^{3+} у *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 обусловлена образованием в процессе роста бактерий гелеобразного Al^{3+} -содержащего осадка, который состоит в основном из липидов и не содержит в своем составе белка и углеводов [6].

В присутствии тяжелых металлов многие микроорганизмы синтезируют металлосвязывающие белки [7-10]. Способностью связывать ионы металлов обладают капсульные и внеклеточные полисахариды [11-17].

Во многих случаях устойчивость к металлам у микроорганизмов детерминруется плазмидами [18]. Известны следующие механизмы резистентности к металлам, детерминируемые плазмидами: энергозависимая система вывода катионов и анионов из клетки (АТФаза), репарация повреждения ДНК, вызванная металлами (в частности, Cu^{2+}), аккумуляция металлов в периплазме и наружной мембране, восстановление металлов и др. [18].

Механизмы устойчивости микроорганизмов к действию тяжелых металлов можно разделить на конститутивные и индуцибельные. Например, образование металлосвязывающих белков в присутствии металлов является индуцированным механизмом защиты. В то же время синтез ЭПС является конститутивным, однако увеличение образования этих соединений в ответ на наличие в

среде металлов [16] можно рассматривать как индуцированный защитный механизм.

Наши исследования показали, что ЭПС, синтезируемый *Acinetobacter* sp., защищает клетки продуцента от действия Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} . Не установлена защитная роль ЭПС *Acinetobacter* sp. по отношению к Cr^{6+} и Cd^{2+} . Обращает на себя внимание факт устойчивости *Acinetobacter* sp. к высоким концентрациям этих металлов: при инкубации бактерий из экспоненциальной фазы роста в течение 2 ч в присутствии 5.0 мМ обоих металлов не наблюдали гибели клеток. Внесение Cd^{2+} (1.0 мМ) в ростовую среду в начале процесса культивирования не приводило к ингибированию роста бактерий и гибели клеток, как это было установлено для остальных исследуемых нами металлов.

Очевидно, у *Acinetobacter* sp. существуют иные, не связанные с наличием ЭПС механизмы устойчивости к Cd^{2+} и Cr^{6+} .

Так, например, Cd^{2+} и некоторые другие металлы накапливаются на поверхности клеток в виде нерастворимых металлофосфатов ($CdHPO_4$, например), причем в некоторых случаях их образование сопряжено с активностью кислой фосфатазы периплазмы, освобождающей неорганический фосфат [19, 20].

Устойчивость *Staphylococcus aureus* к Cd^{2+} обусловлена функционированием энергозависимой системы выведения этого металла из клетки [21]. Устойчивость к Cd^{2+} может быть обусловлена также образованием металлосвязывающих белков [7, 8].

В работе Анисимовой и Воронина [18] отмечается, что резистентность к хроматам может контролироваться как плазмидными, так и хромосомными генами. Устойчивость к Cr^{6+} у *Pseudomonas aeruginosa* детерминруется плазмидой pUM505, у *P. fluorescens* - pLHВ1. В штамме *Alcaligenes eutrophus* CH37 резистентность к Cr^{6+} определяется плазмидой pMOL28, а к Cd^{2+} - плазмидой pMOL30. У всех указанных выше плазмид устойчивость к хроматам определяется одним сходным механизмом: уменьшением аккумуляции CrO_4^{2-} за счет снижения его ввода [18].

Для выявления возможных механизмов устойчивости к Cr^{6+} и Cd^{2+} у *Acinetobacter* sp. необходимо проведение дальнейших исследований.

Таким образом, в результате проведенной работы установлена способность ЭПС *Acinetobacter* sp. защищать клетки продуцента от действия тяжелых токсичных металлов (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+}). Не выявлена защитная функция ЭПС по отношению к Cd^{2+} и Cr^{6+} . Обсуждается возможность функционирования у бактерий нескольких механизмов устойчивости к металлам и влияние физиологического состояния продуцента на проявление этой устойчивости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пирог Т.П., Гринберг Т.А., Малащенко Ю.Р. Защитные функции экзополисахаридов, синтезируемых бактериями *Acinetobacter* sp. // Микробиология. 1997. Т. 66. № 3.
2. 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.
3. 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.
4. Кодама Т., Накахара 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., Пушкино). Пушкино: НЦБИ АН СССР, 1977. С. 213-215.
5. Таширеву А.Б. Взаимодействие микроорганизмов с металлами // Микробиол. журн. 1995. Т. 57. № 2. С. 95-104.
6. Appanna V.D., Kepes M., Rochon P. Aluminium tolerance in *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525: involvement of a gelatinous lipid-rich residue // FEMS Microbiol. Lett. 1994. V. 119. № 3. P. 295-301.
7. Mitra R S Protein synthesis in *Escherichia coli* during recovery from exposure to low levels of Cd²⁺ // Appl. and Environ. Microbiol. 1984. V. 47. № 5. P. 1012—1016.
8. McEntec J.D., Woodrow J.R., Quirk A.V. Investigation of cadmium resistance in an *Alcaligenes* sp. // Appl. and Environ. Microbiol. 1986. V. 51. № 3. P. 515-520.
9. Scudiero R., Capasso C., Madonna L. Identification of a metalbinding complex from thermophilic bacteria growth in the presence of heavy metals // Int. Conf. Thermophiles: Sci. and Technol., Reykjavik, 23-26th Aug., 1992. Reykjavik, 1992. P. 38.
10. Gordon A.S., Howell L.D., Harwood V. Responses of diverse heterotrophic bacteria to elevated copper concentrations // Can. J. Microbiol. 1994. V. 40. № 5. P. 408-411.
11. Rudd T., Sterritt R.M., Lester V.N. Mass balance of heavy metal uptake by encapsulated cultures of *Klebsiella aerogenes* // Microbiol. Ecol. 1983. V. 9. №3. P. 261—272.
12. Cassity T.R., Kolodziej B.J. Role of the capsule produced by *Bacillus megaterium* ATCC 19213 in the accumulation of metallic cations // Microbiol. 1984. V. 40. №60. P. 117-125.
13. Metal immobilization by microbial capsular coatings // Bio-recovery. 1988. V. 1. № 1. P. 51-58.
14. Geesey G.G., Jang L., Jolley J.G., Hankins M R., Iwao-ka T., Griffiths P.R. Binding of metal ions by extracellular polymers of biofilm bacteria // Water Sci. and Technol. 1988 (1989). V. 20. № 11-12. P. 161-165.
15. Chao W.L., Chen Cheryl L.F. Role of exopolymer and acid-tolerance in the growth of bacteria in solutions with high copper ion concentration // J. Gen. and Appl. Microbiol. 1991. V. 37. № 4. P. 363-370.
16. Gudin C., Thepenier C. Metaux lourds et radionucleides // Biofutur. 1991. V. 106. P. 74-75.-
17. Данилова И.В., Бошвинко И.В., Егоров Н.С. Реологические свойства и некоторые функции экзополисахаридов *Azotobacter beijerinckii* и *Mycobacterium lacticolium* // Микробиология. 1993. Т. 62. Вып. 4. С. 685-693.
18. Анисимова Л.А., Воронин А.М. Детерминируемая плазмидами грамотрицательных бактерий устойчивость к металлам // Молекуляр. генетика, микробиология и вирусология. 1994. № 3. С. 3-9.
19. Macaskie L.E., Dean A.C.R., Cheetham A.K. Cadmium accumulation by a *Citrobacter* sp.: the chemical nature of the accumulated metal precipitate and its location on the bacterial cells // J. Gen. Microbiol. 1987. V. 133. № 3. P. 539-544.
20. Macaskie L.E., Bonthron K.M., Rouch D.A. Phosphate-mediated heavy metal accumulation by a *Citrobacter* sp. and related enterobacteria // FEMS Microbiol. Lett. 1994. V. 121. № 2. P. 141-146.
21. Tynecka Z., Malm A., Skwarek T. Effect of Cd²⁺ on growth of the cadmium-resistant and sensitive *Staphylococcus aureus* // Acta Microbiol. Pol. 1989. V. 38. № 2. P. 117-125.

Рецензент И.В. Ботвинко

Role of *Acinetobacter* sp. Exopolysaccharides in Protection against Heavy Metal Ions

T. P. Pirog

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

Abstract—Exopolysaccharides (EPS) produced by an *Acinetobacter* sp. were found to be capable of protecting its cells against heavy metal ions (Cu²⁺, Pb²⁺, and Cr³⁺). In the presence of EPS, exponential cells were more metal-resistant than stationary cells. EPS were not protective with respect to Cd²⁺ and Cr⁶⁺. In addition to EPS production, *Acinetobacter* sp. probably has other protective mechanisms.

Key words: exopolysaccharide, heavy metals, resistance, protective functions, physiological state.