

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 аутохотрофом — 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 ростовых 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 г, 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 г, 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 изопропанол, 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-*

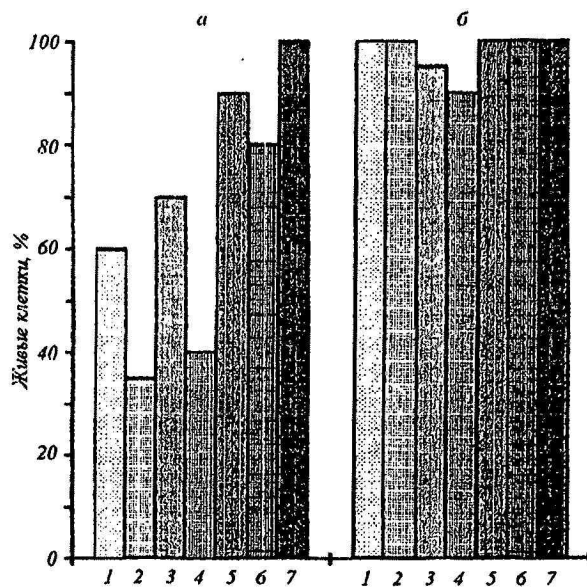


Рис. 1. Выживание клеток *Acinetobacter calcoaceticus* из экспоненциальной фазы роста в присутствии Cr⁶⁺ (1, 2), Cu²⁺ (3, 4), формальдегида (5, 6) при культивировании бактерий в виде монокультуры (а) и ассоциации с *Acinetobacter sp.* (б). Концентрации: Cr⁶⁺ (мМ): 1 — 5,0; 2 — 7,0; Cu²⁺ (мМ): 3 — 1,5; 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

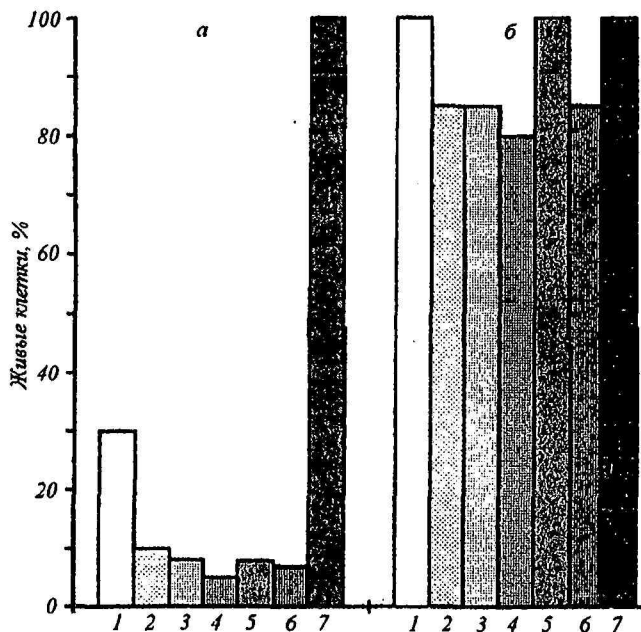


Рис. 2. Выживание клеток *Micrococcus sp.* из экспоненциальной фазы роста в присутствии Cr⁶⁺ (1, 2), Cu²⁺ (3, 4), формальдегида (5, 6) при культивировании бактерий в виде монокультуры (а) и ассоциации с *Acinetobacter sp.* (б). Концентрации: Cr⁶⁺ (мМ): 1 — 5,0; 2 — 7,0; Cu²⁺ (мМ): 3 — 0,75; 4 — 1,5; 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 Cr⁶⁺ 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 Cr⁶⁺ не обусловлена наличием ЭПС [3]. Скорее всего, у этих бактерий существуют иные механизмы устойчивости к хроматам. Это позволяет предположить, что повышение устойчивости к Cr⁶⁺ 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 Cr⁶⁺ при культивировании их в виде монокультур на среде, содержащей ЭПС *Acinetobacter sp.* В таких условиях количество жизнеспособных

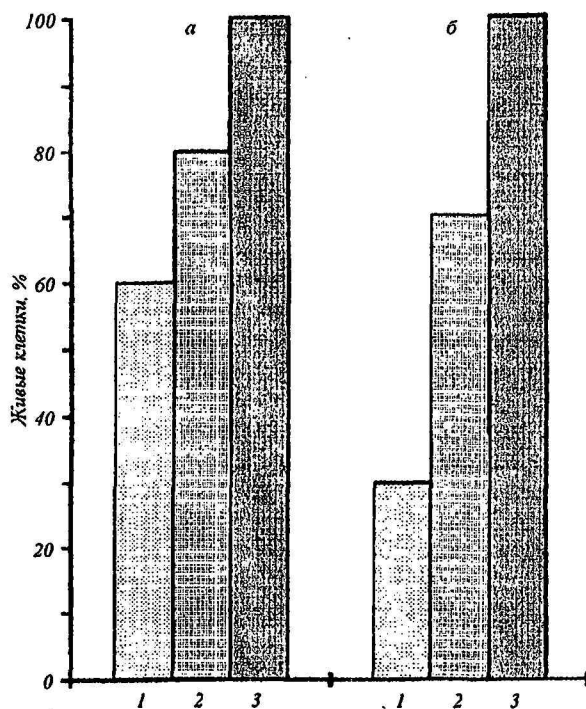


Рис. 3. Выживание клеток *Acinetobacter calcoaceticus* (а) и *Micrococcus sp.* (б) в присутствии 5,0 мМ Cr⁶⁺ при культивировании бактерий в виде монокультур (1, 2) и ассоциации с *Acinetobacter sp.* (3). 2 — среда содержит 0,25 % ЭПС *Acinetobacter sp.* Время инкубации 2 ч

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 нейтрализм [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
<i>Бактерии</i>		
Сульфатредуцирующие		
неидентифицированные штаммы	2	+
Хромовосстанавливающие		
<i>Pseudomonas fluorescense</i>	3	+
Денитрифицирующие		
неидентифицированные штаммы	3	+
Тионовые		
<i>Thiobacillus thioparus</i>	2	-
Целлюлозоразрушающие неидентифицированные штаммы		
анаэробные	2	-
аэробные	2	-
Углерододассимилирующие		
<i>Rhodococcus luteus</i>	2	-
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	3	-
<i>Rhodococcus rubra</i>	1	-
Другие гетеротрофные		
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	1	-
<i>Acinetobacter sp.</i>	1	-
<i>Bacillus subtilis</i>	1	-
<i>Bacillus mucilaginosus</i>	2	-
<i>Pseudomonas fluorescense</i>	1	+
<i>Micrococcus sp.</i>	1	-
неидентифицированные штаммы	3	-
<i>Дрожжи</i>		
<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>Rhodospiridium diobovatum</i>	1	-
<i>Микромицеты</i>		
<i>Stemphylium sp.</i>	1	+
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	+
<i>Aureobasidium sp.</i>	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

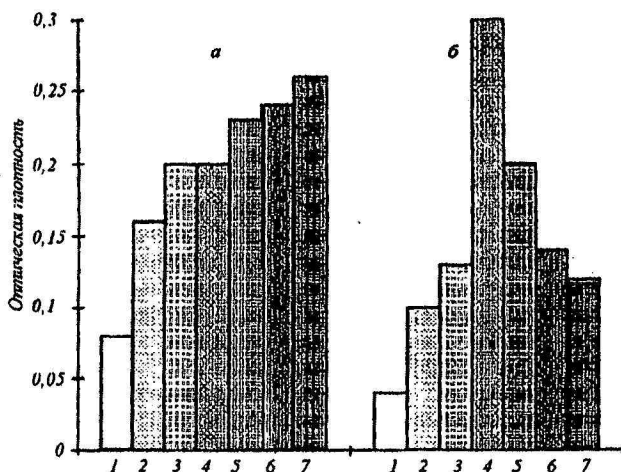


Рис. 4. Накопление биомассы при культивировании *Acinetobacter sp.* (а) и *Acinetobacter calcoaceticus* (б) на среде с различным содержанием катионов калия и натрия. Концентрация катионов калия и натрия в среде (мг/л): 1 — без катионов (контроль); 2 — 10; 3 — 20; 4 — 30; 5 — 40; 6 — 60; 7 — 90

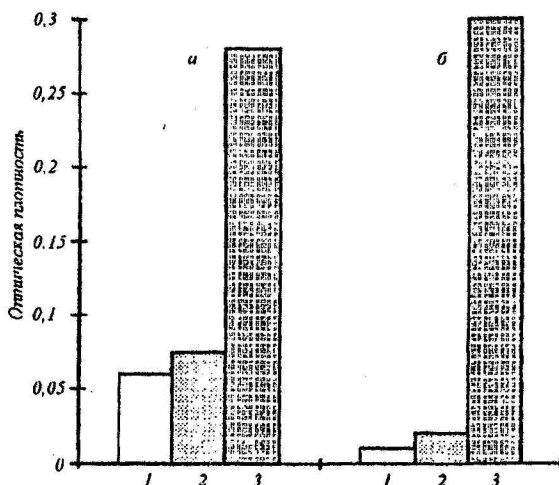


Рис. 5. Накопление биомассы при культивировании *Acinetobacter sp.* (а) и *Acinetobacter calcoaceticus* (б) на среде, содержащей ЭПС *Acinetobacter sp.* в качестве источника катионов калия и натрия (3). 1 — без катионов (контроль); 2 — среда содержит H^+ -ЭПС *Acinetobacter sp.*

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. Эланской, Т. М. Ключниковой, Е. Н. Громозовой за предоставление чистых культур микроорганизмов.

Т. П. Пирог

Біологічні функції екзополісахаридів *Acinetobacter* sp.

Резюме

Екзополісахарид (ЕПС), який синтезується *Acinetobacter* sp., виконує захисні функції не лише відносно клітин продуценту, але й захищає від негативних впливів зовнішнього середовища (дії токсичних металів Cu^{2+} і Cd^{2+} , формальдегіду) мікроорганізми, що знаходяться з *Acinetobacter* sp. у трофічних взаємодіях. Обмежені коло мікроорганізмів (мікроміцети, анаеробні сульфатредуючі і хромовідновлюючі бактерії та деякі аеробні гетеротрофи) використовувє 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.

Т. Р. 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 ЛИТЕРАТУРЫ

- Семенова Е. В., Грецушкина 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., Накахага Т., Омори Т. и др. Образование вискозных полисахаридов водородными и метаниспользующими микроорганизмами // Рост микроорганизмов на C_1 -соединениях: Тез. докл. симп. (12—16 сентября 1977 г., Пушкино).—Пушино: 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.
- Мавзытова И. П., Гарейшина А. Э., Матышевская М. С. Биодеструкция экзополисахаридов микроорганизмами заквашиваемой и плавовой вод // Микробиол. журн.—1987.—49, № 6.—С. 31—35.
- Мальцева Н. Н. Экзополісахариды 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 dextrii* // 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