Гринберг, Т.А. Взаимоотношения микроорганиз-мов в экзополисахаридобразующей смешанной культуре / Т. А. Гринберг, Т. П. Пирог, В. Н. Буклова, Ю. Р. Малашенко // Микробиология. – 1990. – 59, № 5. – С. 797–805.

УДК 579.8.017.7 : 577.114.5.083

© 1990 г.

Гринберг Т. А., Пирог Т. П., Буклова В. Н., Малашенко Ю. Р.

ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОБРАЗУЮЩЕЙ СМЕШАННОЙ КУЛЬТУРЕ

Изучена экзополисахаридобразующая микробная ассоциация, из которой выделено три монокультуры, идентифицированные как *Acinetobacter* sp., *Micrococcus* sp., *Candida tropicalis*. Содержание монокультур в ассоциации составляет 70—80, 15—20, 5—10% соответственно. Синтез экзополисахарида в ассоциации осуществляется *Acinetobacter* sp. Экзополисахарид (ЭПС), синтезируемый ассоциацией, ни одной из изучаемых культур не используется в качестве источника углерода и энергии.

Взаимоотношения между монокультурами, входящими в экспериментально составленную ассоциацию, осуществляются через субстратную зависимость роста одного вида от роста другого, а также через метаболиты, являющиеся необходимыми и стимулирующими факторами роста и образования ЭПС *Acinetobacter* sp.

Селекционированная микробная ассоциация сохраняла способность роста и синтеза ЭПС в условиях полунепрерывного культивирования при многократных пересевах, а также после длительного хранения в смешанной культуре при 4°, что свидетельствует о ее стабильности и объясняется трофическими взаимоотношениями между монокультурами в ассоциации.

В литературе имеются сведения о перспективности использования смешанных культур микроорганизмов для получения ЭПС [1, 13, 15]. Смешанные культуры микроорганизмов могут быть успешно применены в биотехнологических процессах с целью повышения их устойчивости и продуктивности [3, 4]. Различия в показателях продуктивности биосинтеза для моно- и смешанных культур могут быть следствием регуляции (посредством стимулирования и угнетения), осуществляемой путем выделения продуктов метаболизма в среду.

Изучение видового состава таких смешанных культур и трофических взаимоотношений между монокультурами позволит регулировать процесс целенаправленного получения продукта, в частности ЭПС, а также составлять новые перспективные смешанные культуры. Кроме того, выделение устойчивых смешанных культур из естественных эконишей может служить доказательством существования аналогичных микробных сообществ в определенных эконишах.

Изучению указанных вопросов посвящена данная работа.

Материалы и методы исследования

В работе использовали смешанную культуру микроорганизмов, полученную из активного ила станции биологической очистки сточных вод нефтеперерабатывающего завода [1].

Культивирование осуществляли в колбах емкостью 750 мл и 3,0 л на качалке (n=220 об/мин) в течение 5 сут при 30°, pH 7,0 на среде Кодама [7]. Источником углерода служили: этанол — 1 об.%, ацетат натрия — 1%, глюкоза — 4% при определении способности микроорганизмов образовывать ЭПС; 0,1%-ный ЭПС, полученный после культивирования смешанной культуры на этаноле, выделенный, очищенный и высушенный, как описано ранее [2]. Полунепрерывный метод культивирования проводили в колбах с рабочим объемом 750 мл, выращиваемую культуру поддерживали в стационарной фазе роста, 200 мл культуральной жидкости стерильно отбирали 1 раз в сутки и соответствующее количество среды вносили в колбу. Длительность процесса — от 5 до 10 сут.

Чистые культуры выделяли общепринятыми методами [8]. Идентифицировали культуры на основании изучения их морфолого-биохимических свойств согласно «Определителю бактерий» [11] и дрожжей [14]. Соотношение видов микроорганизмов определяли на основании морфологических отличий непосредственно при микроскопировании. Одновременно с целью контроля проводили высев в чашки Петри, где просчитывали соотношение колоний.

При составлении экспериментальных ассоциаций пользовались показаниями ФЭКа с пересчетом биомассы по калибровочному графику, построенному для каждого вида культур. Соотношение монокультур в экспериментально составленных ассоциациях соответствовало их содержанию в исходной смешанной культуре.

Для определения трофических взаимоотношений между монокультурами исследовали влияние односуточных фильтратов, полученных после раздельного выращивания микроорганизмов, входящих в состав смешанной культуры, на рост друг друга. Фильтраты вносили в среду культивирования в количестве 50%. В фильтратах изучаемых культур определяли наличие ацетата по реакции с хлорным железом [10], свободных моносахаров — методами бумажной и газожидкостной хроматографии [5], витаминов — микробиологическими методами [9], аминокислот — на аминокислотном анализаторе KLA-5 («Hitachi», Япония). Исследовали способность монокультур использовать выявленные метаболиты в качестве источников углерода и факторов роста. Для этого готовили концентрированный раствор моносахаров (глюкоза, маннноза, галактоза, арабиноза, рамноза в соотношении 1,00 : 0,24 : 0,24 : 3,30 : 0,013) и вносили в среду культивирования из расчета 1% по углеводам и в качестве источника углеродного питания. Аминокислоты (пролин, глицин, аланин, валин, серин, лейцин, изолейцин, глутамин, фенилаланин, тирозин, аргинин, гистидин, лизин) вносили в количестве 200 мкг/мл в качестве источника углерода и 10 мкг/мл в качестве ростовых факторов. Витамины вносили в количестве (мкг/мл): тиамин — 0,5; пантотеновую кислоту — 0,01; биотин — 0,1; отдельно пантотеновую кислоту вносили в количестве 0,5 мкг/мл.

Концентрацию биомассы в культуральной жидкости определяли весовым методом, содержание внеклеточных углеводов — по реакции с фенолом и серной кислотой [12], вязкость культуральной жидкости — с помощью вискозиметра ВПЖ. Удельную скорость роста культур рассчитывали по формуле

$$\mu = \frac{2{,}3 \lg (x_2 - x_1)}{t_2 - t_1}.$$

При изучении влияния pH на рост и образование ЭПС продуцентом использовали 10%-ные растворы NaOH и HCl для достижения необходимых значений pH.

Выделение ЭПС, определение состава моносахаров, молекулярной массы проводили, как описано ранее [2].

Результаты и обсуждение

Исследуемая смешанная культура микроорганизмов характеризуется способностью синтезировать высоковязкий ЭПС, который представляет собой кислый гетерополисахарид с молекулярной массой $3 \cdot 10^5$—$5 \cdot 10^5$ и состоит из арабинозы, ксилозы, маннозы, галактозы и глюкозы в соотношении 0,66 : 1,22 : 0,20 : 3,78 : 1,00. В ряде последовательных пересевов на этанолсодержащей среде смешанная культура сохраняет способность синтеза ЭПС, стабилизируется по этому признаку и продуцирует до 3,0 г/л ЭПС, при этом вязкость культуральной жидкости составляет 1200—1300 сП.

Из смешанной культуры выделены три монокультуры: две бактериальные, идентифицированные как *Acinetobacter* sp. и *Micrococcus* sp., и одна дрожжевая — *Candida tropicalis*. В стационарной фазе роста сме-

Таблица 1

Образование биомассы и экзополисахаридов монокультурами и смешанной культурой на среде с различными источниками углерода

Источник углерода	*Acinetobacter* sp.		*C. tropicalis*		*Micrococcus* sp.		Смешанная культура	
	Концентрация, г/л							
	биомассы	ЭПС	биомассы	ЭПС	биомассы	ЭПС	биомассы	ЭПС
Этанол	0,25	0,20	3,00	—	0,01	—	3,20	3,00
Этанол *	2,00	3,00	3,10	—	0,01	—	3,40	3,20
Ацетат	0,05	0,06	3,30	—	0,01	—	Н.о.	Н. о.
Ацетат*	0,80	0,90	3,60	—	0,02	—	Н.о.	Н. о.
Глюкоза *	2,50	6,80	3,80	—	3,00	—	7,20	10,50
ЭПС	0,01	1,10	0,01	0,98	0,01	0,95	0,02	1,10
ЭПС *	0,02	1,10	0,09	0,97	0,11	0,94	0,13	1,20

Примечание. Концентрация этанола и ацетата составляет 10 г/л, глюкозы — 40, ЭПС — 1 г/л; Н. о. — не определяли; «—» — отсутствие ЭПС.

* Среда содержит 0,2% дрожжевого автолизата в качестве источника ростовых факторов.

шанной культуры количественное содержание монокультур составляло: *Acinetobacter* sp. — 70—80%, *Micrococcus* sp. — 15—20, *C. tropicalis* — 5—10%.

Как видно из данных, представленных в табл. 1, *Acinetobacter* sp. и *C. tropicalis* ассимилируют этанол в качестве единственного источника углерода и энергии, при этом для роста *Acinetobacter* sp. необходимы дополнительные факторы роста. Культура *Micrococcus* sp. ни этанол, ни ацетат не усваивает, но ассимилирует глюкозу. Ни одна из выделенных культур не использует ЭПС, синтезируемый смешанной культурой, в качестве источника углеродного питания. Штамм *Acinetobacter* sp. является ответственным за образование ЭПС в смешанной культуре. *Micrococcus* sp. и *C. tropicalis* ЭПС не синтезируют. Смешанная культура на минеральной среде с этанолом без дополнительных факторов роста синтезирует ЭПС в тех же количествах, что и *Acinetobacter* sp. в присутствии дрожжевого автолизата (табл. 1). В связи с этим применение смешанной культуры с целью получения ЭПС представляется более перспективным, и изучение трофических взаимоотношений в культуре необходимо для создания надежно функционирующей, управляемой микробной ассоциации.

Выявление трофических связей в смешанной культуре микроорганизмов осуществляли методом «градиентного поиска» [3]. Суть его состоит в том, что, поддерживая смешанные культуры, включающие малое число видов, исследуют механизм того, как с изменением структуры ассоциации, ее видового состава, типов взаимодействия между видами меняется эффективность использования субстрата, параметры роста отдельных видов, т. е. в результате перехода от двухвидовой системы к многовидовой оцениваются функции, выполняемые монокультурами в ассоциации, и возникающие при этом изменения связей между всеми видами ассоциации.

В процессе реализации градиентного поиска возможны два подхода: составление экспериментальных ассоциаций из монокультур исходной смешанной культуры и установление способности роста отдельных мо-

Таблица 2

Некоторые параметры культивирования искусственных микробных ассоциаций и исходной смешанной культуры на этаноле (1 об.%)

Состав микробной ассоциации	Биомасса, г/л	ЭПС, г/л	Вязкость культуральной жидкости, сП	$pH_{конечный}$
Acinetobacter sp. + *C. tropicalis*	3,30±0,10	1,75±0,05	8,40	6,70
Acinetobacter sp. + *Micrococcus* sp.	0,50±0,20	0,30±0,10	25,70	5,00
C. tropicalis + *Micrococcus* sp.	3,60±0,10	Сл.	1,50	5,40
Acinetobacter sp. + *C. tropicalis* + *Micrococcus* sp.	3,20±0,10	3,00±0,05	1130,00	6,80
Исходная смешанная культура	3,00±0,05	2,90±0,10	1017,00	6,80

нокультур на фильтратах культуральной жидкости после выращивания микроорганизмов, входящих в состав смешанной культуры. Нами были использованы оба подхода.

Для изучения трофических взаимоотношений в ЭПС-образующей смешанной культуре, растущей на этаноле, анализировали рост и образование ЭПС у экспериментально составленных бинарных и трехкомпонентной ассоциаций.

Как видно из табл. 2, для образования высоковязкого ЭПС культурой *Acinetobacter* sp. в составе ассоциации необходимо наличие как дрожжевой культуры, так и бактерий *Micrococcus* sp. При полунепрерывном культивировании бинарной ассоциации, состоящей из *Acinetobacter* sp. и *C. tropicalis*, концентрации биомассы и ЭПС остаются неизменными, однако снижается вязкость культуральной жидкости. Культивирование бинарной ассоциации *Acinetobacter* sp. и *Micrococcus* sp. в аналогичных условиях приводило к вымыванию обеих культур. Совместное выращивание *C. tropicalis* и *Micrococcus* sp. позволило получить устойчивую бинарную ассоциацию с более высокой концентрацией биомассы, чем при культивировании *C. tropicalis* в монокультуре (табл. 1 и 2). При этом ЭПС в культуральной жидкости не обнаружен.

Рост *Acinetobacter* sp. при совместном культивировании с *C. tropicalis* обеспечивается, видимо, метаболитами, выделяемыми в среду дрожжевой культурой. В этом случае pH культуральной жидкости близко к нейтральному — оптимальному для роста и синтеза ЭПС бактериями (рис. 1). При культивировании *Acinetobacter* sp. с бактериальной культурой *Micrococcus* sp. наблюдается снижение pH, обусловленное накоплением ацетата в культуральной жидкости. Однако совместное культивирование *C. tropicalis* и *Micrococcus* sp. стимулирует рост обеих культур. В этом случае значение pH является оптимальным для роста *C. tropicalis* (рис. 1), а дрожжи синтезируют метаболиты, обеспечивающие рост бактерий *Micrococcus* sp.

Из данных, представленных в табл. 3, видно, что при росте *Acinetobacter* sp. на среде, содержащей фильтрат культуральной жидкости после выращивания дрожжей, уровень биомассы и ЭПС повышается незначительно. Установлена способность культуры *Micrococcus* sp. расти в присутствии фильтрата культуральной жидкости дрожжей. В дальнейших исследованиях *Micrococcus* sp. выращивали на фильтрате дрожжей и после отделения клеток использовали как фильтрат *Micrococcus* sp. Добав-

Таблица 3

Влияние метаболитов, продуцируемых ассоциантами, на образование биомассы и ЭПС монокультурами

Исследуемые монокультуры	Фильтрат после выращивания	Биомасса, г/л	ЭПС, г/л	Вязкость культуральной жидкости, сП	pH
Acinetobacter sp.	Контроль	0,25	0,20	3,04	4,50
	C. tropicalis	0,40	0,40	3,10	6,80
	Micrococcus sp.	0,60	0,55	32,30	5,20
	C. tropicalis + *Micrococcus* sp.	0,95	0,82	58,90	6,80
C. tropicalis	Контроль	3,10	—	Н. о.	6,80
	Acinetobacter sp.	3,00	—	»	6,80
	Micrococcus sp.	2,90	—	»	5,20
	Acinetobacter sp. + + *Micrococcus* sp.	2,80	—	»	5,50
Micrococcus sp.	Контроль	0,12	—	Н. о.	6,80
	Acinetobacter sp.	1,10	—	»	4,40
	C. tropicalis	1,80	—	»	5,70
	Acinetobacter sp. + + *C. tropicalis*	2,50	—	»	5,20

Примечание. Контроль — среда Кодама с 1% этанола без дрожжевого автолизата; «—» — отсутствие ЭПС; Н. о — не определяли.

ки этого фильтрата стимулируют рост и синтез ЭПС *Acinetobacter* sp., вязкость культуральной жидкости увеличивается в 8—10 раз по сравнению с контролем. Внесение в среду для выращивания *Acinetobacter* sp. смеси фильтратов культуральной жидкости обеих культур (*C. tropicalis* и *Micrococcus* sp.) в соотношении 1 : 15, что соответствует их соотношению в микробной ассоциации, приводит к увеличению уровня ЭПС в 3—

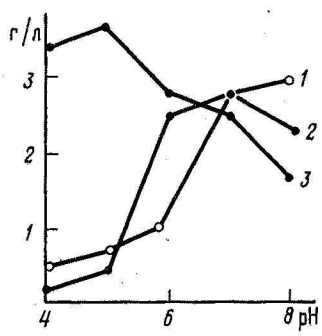

Рис. 1. Влияние pH на образование биомассы культурами *Acinetobacter* sp. (*2*) и *C. tropicalis* (*3*), синтез ЭПС *Acinetobacter* sp. (*1*). По оси ординат — биомасса, ЭПС

4 раза и вязкости более чем в 10 раз по сравнению с показателями культивирования *Acinetobacter* sp. на среде без добавок указанных фильтратов (табл. 3).

В фильтрате культуральной жидкости дрожжевой культуры обнаружены аминокислоты, восстанавливающие моносахара, и витамины группы В — биотин, тиамин и пантотеновая кислота (табл. 4). Внесение указанных аминокислот в этанолсодержащую среду культивирования *Acinetobacter* sp. не стимулирует рост культуры (табл. 5). Выращивание *Mi-*

Таблица 4

Состав фильтратов после выращивания монокультур

Соединения	*C. tropicalis*	*Acinetobacter* sp.	*Micrococcus* sp.
Аминокислоты, мкмоль/мл			
Треонин	0,0052	Сл.	—
Лизин	0,0071	Сл.	—
Гистидин	0,0088	—	—
Аргинин	0,0104	—	—
Тирозин	0,0204	—	—
Фенилаланин	0,0392	—	—
Глутамин	0,0576	—	—
Изолейцин	0,0586	—	—
Лейцин	0,1000	—	—
Серин	0,1132	Сл.	—
Валин	0,1478	—	Сл.
Аланин	0,2620	Сл.	—
Глицин	0,3780	—	Сл.
Пролин	0,4000	Сл.	Сл.
Витамины, мкг/мл			
Тиамин	0,05	—	—
Рибофлавин	—	—	—
Пантотенат	0,01	—	0,50
Пиридоксин	—	—	—
Биотин	0,01	—	—
Моносахара в соотношении			
Глюкоза	1,00	—	—
Манноза	0,24	—	—
Галактоза	0,24	—	—
Арабиноза	3,30	—	—
Рамноза	0,013	—	—

Примечание. Знак «—» — отсутствие соединения.

crococcus sp. на фильтрате культуральной жидкости дрожжей дало положительные результаты. *Micrococcus* sp. ассимилирует моносахара и аминокислоты, синтезируемые *C. tropicalis* (табл. 5). Таким образом, субстратом для *Micrococcus* sp. в смешанной культуре являются сахара и аминокислоты. В фильтрате культуральной жидкости после выращивания *Acinetobacter* sp. обнаружена пантотеновая кислота в количестве 0,5 мкг/мл. Внесение пантотеновой кислоты в среду культивирования *Acinetobacter* sp. в количестве, синтезируемом *Micrococcus* sp., приводит к повышению уровня биомассы (табл. 5). Содержание ЭПС увеличивается в 2—3 раза, при этом вязкость культуральной жидкости возрастает до 300—400 сП. В этом случае накопления ацетата не наблюдается, т. е. при участии пантотеновой кислоты, являющейся составной частью кофермента А, ацетат посредством ацетил-КоА, вероятно, включается в конструктивный метаболизм.

В изучаемой ассоциации две культуры могут конкурировать за источник углеродного питания. Однако максимальная удельная скорость роста *Acinetobacter* sp. на этаноле в оптимальных условиях (в присутствии факторов роста) составляет 0,35 $ч^{-1}$ и выше, для *C. tropicalis* $\mu_{max} = 0{,}18\ ч^{-1}$ в идентичных условиях культивирования на этанолсодержащей среде. Рост дрожжевой культуры ограничен также значением pH

Таблица 5

Влияние различных комбинаций метаболитов, выявленных в фильтрате *C. tropicalis*, на образование биомассы исследуемых монокультур

Исследуемые метаболиты в качестве		Культура		
субстрата для роста	фактора роста	*Acinetobacter* sp.	*C. tropicalis*	*Micrococcus* sp.
		Концентрация биомассы, г/л		
Моносахара	Аминокислоты	1,50	2,00	2,20
Моносахара	Витамины	2,30	1,90	1,90
Моносахара	—*	0,40	1,20	1,50
Аминокислоты	Витамины	0,95	1,20	1,30
Аминокислоты	—	0,30	1,00	1,20
Контроль—этанол	Аминокислоты	0,35	3,60	0,20
Этанол	Витамины	1,90	3,20	Нет рост
Этанол	Пантотеновая кислота	2,05	3,20	»
Этанол	Дрожжевой автолизат	2,00	3,40	»
Этанол	—	0,25	3,00	»

Примечание. Состав моносахаров, аминокислот, витаминов приведен в табл. 4, используемые их концентрации — в разделе «Материалы и методы».

* Без внесения факторов роста.

среды, близким к нейтральному, и содержанием аммонийного азота в среде Кодама (нитратную форму азота дрожжи не усваивают). Максимальная удельная скорость роста *C. tropicalis* на ацетате выше, чем на этаноле, и составляет 0,28 $ч^{-1}$. Поэтому при культивировании в ассоциации дрожжи потребляют ацетат, накапливающийся в среде при ассимиляции этанола бактериями *Acinetobacter* sp. в условиях недостатка факторов роста, и снимают репрессирующий эффект этого вторичного субстрата на рост бактерий. *Micrococcus* sp. не конкурирует за субстрат с *Acinetobacter* sp. и *C. tropicalis*. Источником углерода для этого штамма являются восстанавливающие сахара и аминокислоты, синтезируемые дрожжевой культурой. *Micrococcus* sp. синтезирует пантотеновую кислоту в количествах, необходимых для роста и синтеза высоковязкого ЭПС *Acinetobacter* sp. на среде с этанолом (табл. 5).

Проведенные нами исследования подтверждают предложенную Дегеременджи и Фуряевой «экологическую теорему», заключающуюся в том, что число стационарно сосуществующих видов не должно превышать число контролирующих рост независимых факторов, определяемых плотностями этих видов. В нашем случае контролирующими и определяющими плотность популяций *Acinetobacter* sp. факторами являются наличие пантотеновой кислоты в среде культивирования и значение pH, близкое к нейтральному, для *C. tropicalis* — значение pH и концентрация аммонийного азота в среде, для *Micrococcus* sp. — концентрация восстанавливающих сахаров и аминокислот. В сложившейся ЭПС-образующей ассоциации, растущей на этаноле, монокультуры выполняют строго специфичные функции. Взаимоотношение между культурами в ассоциации можно представить в виде схемы (рис. 2).

Таким образом, взаимодействие между монокультурами, входящими в ассоциацию, осуществляется через субстратную зависимость роста од-

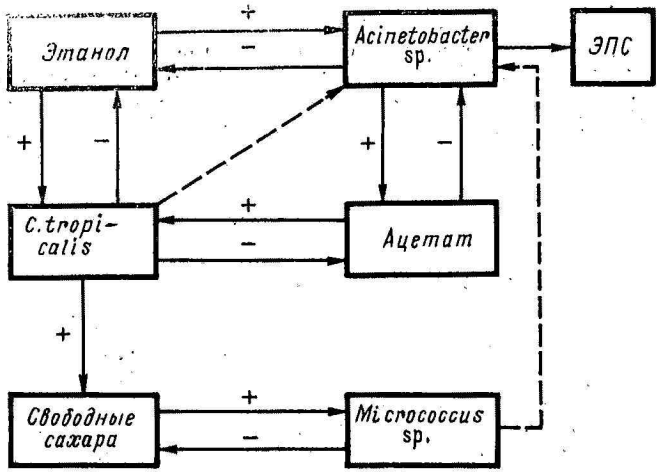

Рис. 2. Взаимоотношения между монокультурами в экзополисахаридобразующей ассоциации. Знак «+» — положительное взаимодействие, «—» — отрицательное, штриховая стрелка — стимуляция

ного вида от роста другого, а также через метаболиты, являющиеся необходимыми и стимулирующими факторами роста и синтеза ЭПС культурой *Acinetobacter* sp.

Согласно существующей классификации типов взаимоотношений между микроорганизмами одного трофического уровня в бинарных ассоциациях их можно определить следующим образом: *Acinetobacter* sp. и *C. tropicalis* — комменсализм, *C. tropicalis* и *Micrococcus* sp. — мутуализм, *Acinetobacter* и *Micrococcus* sp. — нейтрализм. Однако трехкомпонентная ассоциация представляет собой симбиотическую систему, синтезирующую высоковязкий ЭПС.

Экспериментально составленная ассоциация, включающая три монокультуры, в условиях полунепрерывного культивирования в течение 10 сут сохраняла способность роста и синтеза ЭПС. Это свойство сохранялось и после хранения в течение 3 мес в смешанной культуре при 4°. При этом соотношение клеток монокультур варьировало незначительно.

Приведенные нами данные свидетельствуют о стабильности селекционированной ЭПС-образующей ассоциации, растущей на этаноле, что объясняется сложившимися трофическими взаимоотношениями между микроорганизмами, входящими в ее состав.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Гринберг Т. А.*//Микробиол. журн. 1987. Т. 49. № 2. С. 52.
2. *Гринберг Т. А., Дерябин В. В., Краснопевцева Н. В. и др.*//Микробиол. журн. 1987. Т. 49. № 4. С. 24.
3. *Гуревич Ю. Л.* Смешанные проточные культуры микроорганизмов. Новосибирск: Наука, 1981. С. 168.
4. *Дегеременджи Л. Г.* Смешанные проточные культуры микроорганизмов. Новосибирск: Наука, 1981. С. 26.
5. *Захарова И. Я., Косенко Л. В.* Методы изучения микробных полисахаридов. Киев: Наук. думка, 1982. 192 с.
6. *Иерусалимский Н. Д.* Основы физиологии микробов. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 244 с.

7. *Кодама Т., Накахара Т., Омори Т. и др.*//Рост микроорганизмов на C_1-соединениях (12—16 сентября 1977, Пущино): Тез. докл. симп. Пущино: НЦБИ АН СССР, 1977. С. 213.
8. Методы общей бактериологии/Под ред. Ф. Герхардта и др. М.: Мир, 1983. Т. 1. 535 с.
9. *Одинцова Е. Н.* Микробиологические методы определения витаминов. М., 1959. 379 с.
10. *Файгль Ф.* Капельный анализ органических соединений. М.: Госхимиздат, 1962. 836 с.
11. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 8th ed. Baltimore; London: Williams and Wilkins Co., 1974. 1268 p.
12. *Dubois M., Gilles K., Hamilton J. et al.*//Anal. Chem. 1956. V. 28. № 3. P. 350.
13. *Le Duy A., Yarmóff J., Chagraoui A.*//Biotechnol. Lett. 1983. V. 5. № 1. P. 35.
14. The Yeasts. A Taxonomic Study (2nd ed.)/Ed. by Lodder J. Amsterdam; London: North-Holland Publ. Co., 1970. 1385 p.
15. Pat. 0092761 Eur. Pat., IC³ C 12 P 19/04/H. Voelskow, M. Schlingmann. Publ. 02.11.83.

Институт микробиологии
и вирусологии им. Д. К. Заболотного,
Киев

Поступила в редакцию
30.VI.1989
Рецензент Г. А. Заварзин

Grinberg T. A., Pirog T. P., Buklova V. N., Malashenko Yu. R.

INTERRELATIONSHIP OF MICROORGANISMS IN AN EXOPOLYSACCHARIDE-SYNTHESIZING MIXED CULTURE

A microbial association which produced an exopolysaccharide was studied. Three monocultures were isolated from it and identified as *Acinetobacter* sp., *Micrococcus* sp., and *Candida tropicalis*. Their content in the association was 70—80%, 15—20% and 5—10%, respectively. The exopolysaccharide in the associaton was synthesized by *Acinetobacter* sp. This exopolysaccharide synthesized by the association was not utilised by any of the monocultures as a carbon and energy source.

The interrelationship between the monocultures in the experimental association was realised via the substrate dependence of the growth of one species on the growth of another one as well as via metabolites which were essential and stimulating factors for the growth and exopolysaccharide synthesis in *Acinetobacter* sp.

The selected microbial association could grow and synthesize the exopolysaccharide under the conditions of semicontinuous cultivation upon numerous passages as well as after a long storage as a mixed culture at 4°C. This is indicative of its stability and can be attributed to trophic relationship between the monocultures in the association.