

إنتاج السكر المتعدد الخارج خلوي بواسطة عزلة محلية جرثومة *Serratia marcescens*

م.م. إنعام جاسم محمد الحمداني
كلية التربية بنات - جامعة الموصل

تاريخ تسليم البحث : 2008/11/10 ؛ تاريخ قبول النشر : 2009/5/6

ملخص البحث :

تم في هذه الدراسة عزل جرثومة *Serratia marcescens* وتشخيصها من تربة منطقة بعشيقية في محافظة نينوى. وتم دراسة تأثير ظروف زرعية مختلفة لتعزيز إنتاج السكر المتعدد الخارج خلوي مثل استخدام مصادر كاربونية مختلفة وأنواع مختلفة من المصدر النتروجينية ومدة حضانة مختلفة. أعلى إنتاجية للسكر المتعدد (2.79 غم / لتر) بعد 7 أيام من التحضين. تم الحصول على أقصى إنتاجية عند استخدام الكلوكوز كمصدر كاربوني حيث بلغت الإنتاجية (2.83 غم / لتر). وأقل إنتاجية عند استخدام اللاكتوز كمصدر كاربوني. أعطى NO₃ بوصفه مصدراً نتروجينياً أعلى إنتاجية من السكر المتعدد (2.90 غم / لتر).

Production of Extracellular Polysaccharide by local Isolated *Serratia marcescens*

Assist Lecturer

Inaam Jasim Mohammed Al – Hamdani

College of Education for Girls - University of Mosul

Abstract:

In this study *Serratia marcescens* was isolated and diagnosed from the soil of Ba'shiqa sub district in Ninevah Province, as well as studying the effect of different transplanting conditions to promote the production of Extracellular polysaccharide like using various carbonic sources, different types of nitrogen sources and various periods of incubation. The highest productivity of polysaccharide (2.79 gr.\Lt.) has been obtained after seven days of incubation. The highest productivity

(2.83 gr.\Lt.) has been obtained when the glucose was used as a carbonic source and the lowest productivity has been obtained when the lactose was used as a carbonic source. Sodium Nitrate- as a nitrogen source – has yielded the highest productivity (2.90) of polysaccharide.

المقدمة:

تعد السكريات المتعددة الميكروبية احدى اهم النتاجات التي بدأت تستكشف حديثا حيث تنتج هذه السكريات بكميات كبيرة جدا وعلى نطاق تجاري باستخدام مخمرات صناعية Fermentars ذات استيعابية كبيرة جدا (1978, Cottrell , Kang). موقع هذه السكريات اما تكون داخل الخلايا او خارجها وتمثل الاساس في تصنيف هذه السكريات لذلك فانها تقسم على ثلاث مجموعات كان تكون داخل الخلايا الجراثيم Intracellular Polysaccharide او احد المركبات التركيبية بخلايا الجراثيم او قد تكون السكريات المتعددة خارج الخلايا Extracellular Polysaccharide (Sasaki) واخرون ، 1985 .

ومن اهم السكريات المتعددة الميكروبية التي تنتج تجاريا الزانثان Xanthan التي تنتجها جرثومة *Xanthomonas compertris* (1979,Sandford) وصمغ الجيلان Gellan gum الذي تنتجه جرثومة *Sphingomonas paueimobits* (Giavasis) واخرون ، 2000) والديكستران Dextran الذي تنتجه جرثومة *Mesentroides Leuconostos* (1984,Schwartz) . والبوليولان الذي ينتجه الفطر *Aureobasidium Pulluans* (1958,Bernier) . ان للسكريات المتعددة مدى واسعا جدا من التطبيقات ومن اهمها استخدامها في الصناعات الغذائية والدوائية المتعددة نظرا لكونها غير سامة على الاطلاق ولا تترك اية اعراض جانبية عند استخدامها من قبل الانسان (Sandford 1979) . كما تستخدم بوصفها مثبتات في صناعات الاصباغ والصبوغ وصناعة الالياف والانسجة كما تستخدم بوصفها مواد تزييت فضلا عن استخدامها في استخراج بقايا النفوط المتبقية في الحقول. وللسكريات تطبيقات مميزة في المجال الطبي والبيئي حيث تعد السكريات المتعددة بوليمرات غير ملوثة للبيئة لكونها قابلة للتحلل الحيوي Biodegradable (Sasaki) واخرون ، 1985)

تمتاز جرثومة *Serratia* بكونها عصيات قصيرة بقطر 0.5 – 0.8 مايكروميتر وطول 0.2 – 0.9 مايكروميتر 6 سالبة لصبغة كرام ، متحركة باسواط ، لا تحتاج الى متطلبات نمو خاصة اذا يمكنها النمو على الاوساط الغذائية البسيطة ، كما يمكنها النمو على الاوساط الغذائية التركيبية مستخدمة مركبات مختلفة مصدرا للكربون ، ينفرد جنس *Serratia* عن بقية الاجناس الواقعة ضمن العائلة .بانتاجه لثلاثة انزيمات رئيسية وهي انزيم (Lipase ، Gelatinase ، Deoxyribonuclease Dnase) (Matsuyama) واخرون

1986 و Koneman وآخرون , 1997) . وكذلك لها القابلية على إنتاج بعض الإنزيمات والسكر المتعدد خارج خلوي ومتعدد السكريات الدهني (Lipopoly scacharides Falkiner) (and Hejazi 1997, .

الظروف الزراعية ومكونات الوسط الغذائي الذي تنمى فيه الأحياء المجهرية دورا كبيرا في تحديد كمية هذه السكريات المتعددة ونوعها كالرقم الهيدروجيني الأولي ، درجة الحرارة التهوية ، نوع ومصدر الكربون والنيتروجيني ، من الممكن إجراء تغييرات وراثية باستخدام تقنيات الهندسة الوراثية على الأحياء المجهرية المنتجة للسكريات المتعددة التي من الممكن ان تؤدي الى إنتاج بوليمرات حيوية جديدة تفتح آفاقا جديدة من التطبيقات (العبيدي ، 1998) .

استهدف هذا البحث عزل جرثومة *Serratia marcesens* وتشخيصها من التربة واختبار قابلية العزلة على إنتاج السكر المتعدد وتحديد الظروف المثلى لإنتاجه من خلال دراسة تأثير مدة الحضانة وتأثير عدد من المصادر الكربونية والنيتروجينية في إنتاجه من قبل هذه البكتيريا.

المواد وطرائق العمل :

1. عزل الجرثومة من التربة :

عزلت جرثومة *Serratia marcesens* من تربة منطقة بعشيفة في محافظة نينوى حيث تم وزن 1غم من التربة ووضع في انابيب اختبار معقمة حاوية على 10 مل من الماء المقطر المعقم وتم تخفيفه بطريقة متسلسلة لغاية التخفيف (10^{-6}) ، ثم لقت قطره من كل تخفيف في أطباق تبيري حاوية على وسط الأكار المغذي (Nutrient Agar) وحضنت بدرجة حرارة 28 ± 1 مدة 24 ساعة المستعمرات التي تميزت بلونها البرتقالي وبقوامها اللزج نقلت الى أطباق حاوية على وسط الأكار المغذي (Nutrient Agar) وحضنت عند درجة حرارة 28 ± 1 مدة 3 - 4 ايام للحصول على عدة مستعمرات بكتيرية نقية .

2. الفحوصات التشخيصية :

تم إجراء الاختبارات التشخيصية على العزلة الجرثومية التي تم عزلها من التربة وهذه الاختبارات تمثلت باختبارات Holt وجماعته (Holt وآخرون , 1994) وهي (اليوريز ، الأوكسيدز ، فوكس بروسكر ، المثل الأحمر ، الستريت ، الأرابنوز ، لاكتوز ، سكروز ، وإنتاج الأندول) .

واختبار نظام API 20 E Systemest) الذي يبين التفاعلات الكيموحيوية الرئيسية على نحو محدد ومنظم (Nester وآخرون, 2004) وبالاعتماد على الطريقة المعتمدة من قبل Sedey وجماعته (Sedey وآخرون , 1997) .

3. حفظ جرثومة *Serratia marcesens*

تم زرع جرثومة *Serratia marcesens* على موائل الاكار المغذي وحضنت بدرجة حرارة 28 ± 1 ولمدة 24 ساعة ، ثم حفظت بالثلاجة عند درجة 4°C وبعدها نشطت باعادة زرعها كل اسبوعين .

4. الاوساط وظروف الزرع :

استخدم الوسط القياسي الذي يتكون من 20 غم كلوكوز ، 5 غم فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدروجين ، 1.0 غم كبريتات المغنيسيوم المائية ، 0.5 غم من مستخلص الخميرة ، 0.4 غم اليوريا في لتر من الماء المقطر ، وضبط الرقم الهيدروجيني عند (7.0) (Hayens وآخرون , 1955) وذلك لمتابعة نمو الجرثومة وتأثير المصادر الكربونية والنيتروجينية خلال مدة التحضين في هذا الوسط ، وحسب طريقة (الصميدعي، 2001) حضر اللقاح بنقل جرثومة *Serratia marcesens* على وسط الاكار المغذي الى دورق مخروطي سعته 250 مل يحتوي على 50 مل من الوسط القياسي المعقم ووضع الدورق في الحاضنة الهزازة درجة حرارة 28 ± 1 م وبسرعة (150 دورة / دقيقة) ومدة 48 ساعة ولغرض انتاج السكر المتعدد لفتح الوسط القياسي الموزع في دوارق سعته 250 مل بمعدل (45 مل / دورق) وب 5 مل من المعلق الجرثومي وحضنت بعد ذلك الدوارق في الحاضنة الهزازة بدرجة حرارة 28 ± 1 م وبمعدل (150 دورة / دقيقة) ومدة (2,3,4,5,6,7,8,9) ايام .

5. طرائق التحليل :

بعد انتهاء مدة الحضانة سحبت الدوارق من الحاضنة الهزازة ثم اجريت عليها البسترة Pesteurizotion بالحمام المائي في درجة حرارة 60°C ومدة 5 دقائق وذلك لغرض قتل خلايا الجرثومة والحفاظ على البيئة المحلية من التلوث بهذه الجرثومة ، تركت الدوارق بعد ذلك لكي تبرد وضبط قيمة الرقم الهيدروجيني النهائي لكل دورق واجريت عملية نبذ مركزي (9000 دورة / دقيقة) لمحتوى كل دورق ومدة 30 دقيقة لغرض حساب الكتلة الحيوية للخلايا المترسبة التي جمعت بعد ذلك في اطباق زجاجية صغيرة جافة وموزونة مسبقا وجففت في فرن كهربائي بدرجة حرارة 60°C ومدة 24 ساعة ولغرض تقدير السكر المتعدد في الراشح الجرثومي فقد اخذ 10 مل

منه واضيف اليه 30 مل الرقم من الأسيتون ثم طرد مركزيا عند سرعة (9000 دورة / دقيقة) ومدة 30 دقيقة نقل السكر المتعدد المترسب في اطباق زجاجية معلومة الوزن وجفف محتوياتها في الفرن الكهربائي عند 60م⁰ ومدة 24 ساعة وحسب وزن الكتلة الحيوية (Tait وآخرون , 1986). والسكر المتعدد بفارق الوزنين، ثم قيست الكتلة الحيوية بفارق الوزنين باستخدام ميزان حساس .

النتائج والمناقشة

1. عزل جرثومة *Serratia marcescens*

عزلت الجرثومة من تربة منطقة بعشيقية في محافظة نينوى واعتمد في تشخيصها على الخصائص الشكلية للعزلات الجرثومية *Serratia* وذلك بعمل مسحات رقيقة صبغت بصبغة كرام ولوحظ انها سالبة لصبغة كرام وفحصت تحت المجهر الضوئي المركب انها بكتريا عصوية ، ناعمة *Smoth* ومخاطية لزجة *Mucoid* وبرتقالية اللون (Murray وآخرون ، 1999) .
 وتم اجراء مجموعة الاختبارات الكيموحيوية كما موضح في الجدول رقم (1) والتأكد من التشخيص باستخدام النظام التشخيصي *API 20E* (API 20 E System) واوضحت النتائج ان الجرثومة تعود الى جنس *Serratia* والنوع *marcescens* .

الجدول (1)

الاختبارات الكيموحيوية

الاختبارات	النتيجة	الاختبارات	النتيجة
اليوريز	+	الستريت	+
الاوكديز	+	الارابينوز	-
فوكس بروكسر	+	لاكتوز	-
المثيل الاحمر	-	سكروز	+
انتاج الاندول	-	الجيلاتين	+

الاشارة (-) يعني سالبة Negative و (+) يعني موجبة موجبة Positive

2. تأثير مدة الحضانة في إنتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens*

تم في هذه التجربة تنمية الجرثومة على الوسط التركيبي المستخدم في إنتاج الزانثان (Souw واخرون 1979 ، Ramirez واخرون 1988 ، Sanchez واخرون 1997 ، العبيدي ، 1998) تم بعد ذلك متابعة إنتاج السكر المتعدد والكتلة الحيوية والتغيرات الأخرى خلال فترات حضانة مختلفة (2،3،4،5،6،7،8،9) . اوضحت النتائج ان أقصى إنتاجية للسكر المتعدد اذ بلغت (2.79غم /لتر) بعد 7 ايام من التحضين اذ في حين اقل إنتاجية للسكر المتعدد (0.56 غم / لتر) بعد 2يوم من التحضين .وتبين تفاوت في إنتاج الكتلة الحيوية خلال فترات التحضين المختلفة حين بلغت أقصى إنتاجية للكتلة الحيوية (1.91 غم / لتر) بعد 2 ايام من التحضين واقل إنتاجية للكتلة الحيوية بلغت (0.92 غم /لتر) بعد 9 ايام من التحضين . تبين ان الوسط القياسي لم يعطي إنتاجا عاليا من الكتلة الحيوية على الرغم من كون هذا الوسط اعطى إنتاجية جيدة من السكر المتعدد هذه النتيجة مقارنة لما توصل اليه الباحث (الصميدعي ، 2001) عند استخدامه الجرثومة *Xanthomans* . وبالنسبة لاس الهيدروجيني النهائي تبين انخفاض واضحا على الاس الهيدروجيني في الوسط القياسي نتجه لتراكم عدد من الحوامض العضوية في اثناء مدة التخمير نتيجة للعمليات الايض التي تحدث من خلال الجرثومة (العبيدي ، 1998 ، الصميدعي ، 2001) .

الجدول (2)

تأثير مدة الحضانة في إنتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens*

مدة الحضانة (يوم)	السكر المتعدد (غم/لتر)	الكتلة الحيوية (غم/لتر)	ال pH النهائي
2	0.56 (0.18)	1.91 (0.15)	6.35 (0.03)
3	0.71 (0.09)	1.85 (0.42)	5.78 (0.16)
4	1.62 (0.25)	1.89 (0.35)	5.61(0.66)
5	1.88 (0.12)	0.96 (0.29)	5.34 (0.72)
6	2.30 (0.55)	0.90 (0.16)	5.05 (0.05)
7	2.79 (0.23)	1.37(0.32)	4.80 (0.14)
8	2.18 (0.11)	1.16 (0.17)	4.29 (0.22)
9	1.59 (0.82)	0.92 (0.29)	4.11 (0.19)

القيم الواردة اعلاه تمثل معدل مكررين ، النتائج بين القوسين فتمثل الانحراف المعياري (S.D)

3. تأثير اضافة مصادر كاربونية مختلفة في انتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens*

تمت تنمية جرثومة *Serratia* في الوسط القياسي باستخدام سكريات مختلفة بتركيز (2%) (وزن/حجم) وهي السكريات التالية (كلوكوز ، سكروز ، فركتوز ، اراينوز ، لاكتوز).
 اظهرت النتائج جدول (3) بعد (7) ايام من التحضين ان سكر الكلوكوز بوصفه مصدرا كاربونيا قد اعطى اقصى انتاجية للسكر المتعدد عند استخدام اللاكتوز مصدرا كاربونيا (0.55 غم/لتر) وان هذه النتيجة كانت مقاربة لما توصل اليه (العبيدي ، 1998) . اذ اكد ان الكلوكوز من المصادر الكاربونية ذات كفاءة عالية لانتاج البوليولان من الفطر *Aureibasidium pullulans* . وقد تم الحصول على اقصى انتاج من الكتلة الحيوية اذ بلغت (2.01 غم/لتر) عند استخدام سكر الفركتوز في حين اقل انتاجية للكتلة الحيوية اذ بلغت (0.72 غم/لتر) عند استخدام المصدر الكاربوني اللاكتوز ، اما بالنسبة للرقم الهيدروجيني النهائي انخفض بشكل واضح عن الرقم الهيدروجيني الاولي كما موضح في الجدول رقم (1).

الجدول (3)

تأثير اضافة مصادر كاربونية مختلفة في انتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens* بعد (7) ايام من التحضين

المصادر الكاربونية (%)	السكر المتعدد (غم/لتر)	الكتلة الحيوية (غم/لتر)	ال pH النهائي
كلوكوز	2.83 (0.01)	1.43 (0.20)	4.73 (0.33)
سكروز	2.75 (0.19)	1.90 (0.21)	4.89 (0.21)
فركتوز	1.97 (0.02)	2.01 (0.42)	5.62 (0.34)
ارابينوز	0.95 (0.17)	1.88 (0.53)	4.02 (0.19)
لاكتوز	0.55 (0.44)	0.72 (0.27)	4.30 (0.01)

القيم الواردة تمثل معدل مكرين ، النتائج بين القوسين فتمثل الانحراف المعياري (S.D)

4. تأثير اضافة مصادر نيتروجينية مختلفة في انتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens* بعد (7) ايام من التحضين

تمت اضافة مصادر نيتروجينية مختلفة الى الوسط القياسي المستخدم لتنمية جرثومة *Serratia* لغرض التعرف على المصدر النيتروجيني الامثل الذي يدعم انتاج السكر المتعدد . اضيفت مصادر نيتروجينية مختلفة التي هي (نترات الصوديوم ، نترت الصوديوم ، كبريتات الامونيوم ، يوريا ، نترات الامونيوم) بتركيز (0.018 %) اعتمادا على تركيز النروجين في اليوريا المستخدم في الوسط القياسي . اذ اوضحت النتائج المبينة في جدول (4) بعد (7) ايام من التحضين ان المصدر النيتروجيني نترات الصوديوم قد اعطى اقصى انتاجية من السكر المتعدد اذ بلغت (2.90 غم/لتر) . وان هذه النتيجة مقارنة لنتائج (Souw و Demain ، 1979) وعلى النقيض من ذلك فان هذه النتيجة قد لا تتفق مع ما توصل اليه الباحثين (Seviour, 1992) . في حين اقل انتاج السكر المتعدد تم الحصول عليها عند استخدام نترت Na اذ بلغت (0.95 غم/لتر) اما نمو جرثومة *Serratia* قد تأثر تأثيرا خفيفا باختلاف انواع المصادر النيتروجينية . وقد تم الحصول على اقصى انتاجية للكتلة الحيوية عند استخدام نترات الصوديوم اذ بلغت (1.92 غم/لتر) واقل كتلة الحيوية عند استخدام نترات الامونيوم حيث بلغت (0.86 غم/لتر). وتبين انخفاض الاس الهيدروجيني بعد التخمر مقارنة بالاس الهيدروجيني الاولي عند استخدام مصادر نيتروجينية مختلفة في هذه التجربة .

الجدول (4)

تأثير اضافة مصادر نيتروجينية مختلفة في انتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens* بعد (7) ايام من التحضين

المصادر النيتروجينية (%0.018)	السكر المتعدد (غم/لتر)	الكتلة الحيوية (غم/لتر)	ال pH النهائي
نترات الصوديوم	2.90 (0.01)	1.92 (0.34)	4.60 (0.17)
نترت Na	0.95 (0.11)	0.71 (0.52)	4.21 (1.01)
كبريتات الامونيوم	1.65 (0.24)	0.93 (0.09)	5.69 (0.04)
يوريا	2.85 (0.05)	1.52 (0.81)	4.62 (0.00)
نترات الامونيوم	1.98 (0.91)	0.86 (0.05)	5.10 (0.23)

المصادر

- العبيدي ، صفاء اسماعيل رشيد .1998. ظروف انتاج وطبيعة السكر المتعدد (البوليولان) المنتج بواسطة عزلة محلية لفطر *Aureobasidium pulluans* رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل .
- الصميدعي ، طه عبدالوهاب خميس جمعة . 2001 . انتاج الزانثان بواسطة البكتريا *Xanthomonas campestris* . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل .
- Bernier, B. 1985. The production of polysaccharides by fungi active in the decomposition of wood and forest litter, can. J. Microbiol. , 4 : 195.
- Ciavasis I.L.Mi. Harrvey and B.Mc. Neil, .2000. Gellan Gum. Critic Rev. Biotchnol. P.p. 1-83.
- Cottrell, I.W., and K.S. Kang.1978. Xanthan gum a unique bacterial polysaccharide for food applications. Develop. Industrial. Microbial 19: 117-131.
- Hayens, W.C.; J. Wickerham and C.W. Hesseltine . 1955. Maintenance of culture of industrially important microorganisms Appl. Microbiol.. 3.361-368.
- Hejazi, A. and Falkiner, F.R. 1997. *Serratia marcescens*. J. Med. Microbiol., 46 (11): 903-912.
- Holt, J.G; Krieg, N.R, Snenath, P.H.A.; Staley, J.T. and Williams, S.T. and Williams, S.T. 1994. Bergeyes Manual of determinative bacteriology. 9th., Lippincott, Williams and Wilkins Comp., Baltimore, U.S.A.
- Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Dowell, V.R.; Janda, W.M., Sommer, H.A. and Winn, W.CC.1997. Color Atlas and Text Books of Diagnostic Microbiology 5th ed., J.B. Lippinaott comp, Philadelphia, U.S.A.

- Matsuyama, T., Murakani, T.; Fujita, M.; Fujita S. and Yano, I. 1986. Extracellular vesicle formation and biosurfactant production by *serratia marcescens* J. Gene. Microbiol. 132: 865-875.
- Murray, P.R.; Baron, E.J.; Pfaller, M.A.; Tenorer, F.C. and Tenorer, R.H. 1999. "Manual of Clinical Microbiology" 7th Massachusetts Avenue, New York. USA.
- Nester E.W. ; DG. Anderson; C.E. Roberts; Pearsall and M.T. Nester, 2004. "Microbiology A Human Perspective". 4th ed, McGraw-Hill Comp. USA .
- Ramirez, M.E.; L. Fucikovsky; F. Garcia-Jimenez; R. Quintero and E. Galindo.1988. Xanthan gum production by altered pathogenicity variants of *Xanthomonas campestris*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29:5-10.
- Sanchez, A.; M.E. Ramires; L.G. Torres, and E. Galind.1997. Characterization of xanthan from selected *Xanthamonas* strain cultivated under constant dissolved oxgen. World. J. Microbiol. Biotechnol. 13: 443-451.
- Sandford P.A.1979. Advances in Carbohydrate chemistry and Biochemistry. 36: 366-312 .
- Sasaki, S.; K. Uchida and H. yoshino. 1985. Antitumor activity Aspergillus cell walls. Agric. Boil. Chem., 49: 1291.
- Schwartz, R.D. and E.A. Bodie. 1984. production of viscous dextran-containing whey-sucrose broths by leuconostoc mesenteroides ATCC 14935.A.ppl.Envivon Microbiol.48:678-679.
- Sedey H.W. ; P.J. Van Demark and J.J. 1997. Lee "Selected Exorcises from Microbes in Action" A laboratory Manual of Microbiology" 4th ed, W.H. Freeman and Comp., New York, USA.

- Seviour, R. J. and B. Kristiansen. 1983. Effect of ammonium ion concentration on polysaccharide production by *Aureobasidium pullulans* Eur. J. Appl. Microbiol Biotechnol., 17:178.
- Seviour, R.J.; S.J. Stasinopoulos D.P.F. Auer and P.A. Gibbs.1992. production of pullulan and other exopolysaccharides by filamentous fungi Crit. Biotechnol. 12: 279.
- Souw, P. and A.L. Demain.1979. Nutritional studies on xanthan production by *Xanthomonas campestris* NRRL. B. 1459 Appl. Environ. Microbiol. 37:1186-1192.
- Tait, M. Ii; W. Sutherl and A.J. Clarke-Sturman.1986. Effect of growth conditions on the production, composition and viscosity of *Xanthomonas campestris* exopolysaccharride J. Gen. Microbiol. 132: 1483-1492.