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

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

تاريخ تسليم البحث : ٢٠٠٨/١١/١٠ ؛ تاريخ قبول النشر : ٢٠٠٩/٥/٦

ملخص البحث :

تم في هذه الدراسة عزل جرثومة *Serratia marcescens* وتشخيصها من تربة منطقة بعشيقة في محافظة نينوى. وتم دراسة تاثير ظروف زرعية مختلفة لتعزيز انتاج السكر المتعدد الخارج خلوي مثل استخدام مصادر كاربونية مختلفة وانواع مختلفة من المصدر النتروجينية ومدة حضانة مختلفة.أعلى إنتاجية للسكر المتعدد (٢.٧٩ غم / لتر) بعد ٧ ايام من التحضين .تم الحصول على اقصى انتاجية عند استخدام الكلوكوز كمصدر كاربوني حيث بلغت الانتاجية (٢.٨٣ غم /لتر) . واقل انتاجية عند استخدام اللاكتوز كمصدر كاربوني . أعطى NO3 بوصفه مصدراُ نتروجينياً أعلى إنتاجية من السكر المتعدد (٢.٩٠ غم /لتر).

Production of Extrcellular Polyscchride by local Isolated *Serratia maressence*

Assist Lecturer
Inaam Jasim Mohammed Al – Hamdani
College of Education for Girls - University of Mosul

Abstract:

In this study Serratia maressence 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 Governorate of Extracellular polyscchride like using various carbonic sources, different types of nitrogen sources and various periods of incubation. The highest productivity of polyscchride (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 polyscchride.

المقدمة:

تعد السكريات المتعددة الميكروبية احدى اهم النتاجات التي بدات تستكشف حديثا حيث تنتج هذه السكريات بكميات كبيرة جدا وعلى نطاق تجاري باستخدام مخمرات صناعية Fermentars ذات استيعابية كبيرة جدا (Cottrell , Kang, ١٩٧٨). 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 Intracelular Polysaccharide او احد المركبات التركيبية بخلايا الجراثيم او قد تكون السكريات المتعددة خارج الخلايا Extracellular Polysaccharide (Sasaki واخرون ، ١٩٨٥) .

ومن اهم السكريات المتعددة الميكروبية التي تنتج تجاريا الزانثان Xanthan التي تنتجة جرثومة *Xanthomonas compertris* (1979,Sandford) وصمغ الجيلان Gellan gum الذي تنتجه جرثومة *Sphingomonus paueimobits*. (Giavasis واخرون , 2000) والديكستران Dextran الذي تنتجه جرثومة *Leuconostos Mesentroides* (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 غيرسامة على الاطلاق ولا تترك اية اعراض جانبية عند استخدامها من قبل الانسان (Sandford 1979 ,) . كما تستخدم بوصفها مثبتات في صناعات الاصباغ والصموغ وصناعة الالياف والانسجةكما 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 ، ١٩٨٥)

تمتاز جرثومة *Serratia* بكونها عصيات قصيرة بقطر ٠.٥ – ٠.٨ مايكروميتر وطول ٠.٢ – ٠.٩ مايكروميتر ٦ سالبة لصبغة كرام ، متحركة باسواط ، لا تحتاج الى متطلبات نمو خاصة اذا يمكننها النمو على الاوساط الغذائية البسيطة ، كما يمكنها النمو على الاوساط الغذائية التركيبية مستخدمة مركبات مختلفة مصدرا للكاربون ، ينفرد جنس *Serratia* عن بقية الاجناس الواقعة ضمن العائلة .بانتاجه لثلاثة انزيمات رئيسية وهي انزيم Dnase) Deoxyribonuclease ، Gelatinase ، Lipase) (Matsuyama واخرون

١٩٨٦ و Koneman واخرون , ١٩٩٧) . وكذلك لها القابلية على انتاج بعض الانزيمات والسكر المتعددخارج خلوي ومتعدد السكريات الدهني Lipopoly scacharides (Falkiner and Hejazi 1997,) .

الظروف الزراعية ومكونات الوسط الغذائي الذي تنمى فيه الاحياء المجهرية دورا كبيرا في تحديد كمية هذه السكريات المتعددة ونوعها كالرقم الهيدروجيني الاولي ، درجة الحرارة التهوية ، نوع ومصدر الكاربون والنيتروجيني ، من الممكن اجراء تغيرات وراثية باستخدام تقنيات الهندسة الوراثية على الاحياء المجهرية المنتجة للسكريات المتعددة التي من الممكن ان تؤدي الى انتاج بوليمرات حيوية جديدة تفتح افاقا جديدة من التطبيقات (العبيدي ، ١٩٩٨) .

استهدف هذا البحث عزل جرثومة *Serratia marcesens* وتشخيصها من التربة واختبار قابلية العزلة على انتاج السكر المتعدد وتحديد الظروف المثلى لانتاجه من خلال دراسة تاثير مدة الحضانة وتاثير عدد من المصادر الكاربونية والنيتروجينية في انتاجه من قبل هذه البكتريا.

المواد وطرائق العمل :

١. عزل الجرثومة من التربة :

عزلت جرثومة *Serratia marcesens* من تربة منطقة بعشيقة في محافظة نينوى حيث تم وزن ١غم من التربة ووضع في انابيب اختبار معقمة حاوية على ١٠ مل من الماء المقطر المعقم وتم تخفيفه بطريقة متسلسلة لغاية التخفيف ($١٠^{-٦}$) ، ثم لقحت قطره من كل تخفيف في اطباق تبري حاوية على وسط الاكار المغذي (Nutrient Agar) وحضنت بدرجة حرارة ٢٨ ± ١ مدة ٢٤ ساعة المستعمرات التي تميزت بلونها البرتقالي وبقوامها اللزج نقلت الى اطباق حاوية على وسط الاكار المغذي (Nutrient Agar) وحضنت عند درجة حرارة ٢٨ ± ١ مدة ٣ – ٤ ايام للحصول على عدة مستعمرات بكترية نقية .

٢. الفحوصات التشخيصية :

تم اجراء الاختبارات التشخيصية على العزلة الجرثومية التي تم عزلها من التربة وهذه الاختبارات تمثلت باختبارات Holt وجماعته (Holt واخرون , 1994) وهي (اليوريز، الاوكسديز ، فوكس بروسكر ، المثيل الاحمر ، الستريت ، الارابنوز ، لاكتوز ، سكروز ، وانتاج الاندول) .

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

٣. حفظ جرثومة *Serratia marcesens*

تم زرع جرثومة *Serratia marcesens* على موائل الاكار المغذي وحضنت بدرجة حرارة ٢٨ ± ١ ولمدة ٢٤ ساعة ، ثم حفظت بالثلاجة عند درجة ٤م° وبعدها نشطت باعادة زرعها كل اسبوعين .

٤. الاوساط وظروف الزرع :

استخدم الوسط القياسي الذي يتكون من ٢٠ غم كلوكوز ، ٥ غم فوسفات البوتاسيوم احادية الهيدروجين ، ١.٠ غم كبريتات المغنيسيوم المائية ، ٠.٥ غم من مستخلص الخميرة ، ٠.٤ غم اليوريا في لتر من الماء المقطر ، وضبط الرقم الهيدروجيني عند (٧.٠) (Hayens واخرون , 1955) وذلك لمتابعة نمو الجرثومة وتاثير المصادر الكاربونية والنيتروجينية خلال مدة التحضين في هذا الوسط ، وحسب طريقة (الصميدعي، ٢٠٠١) حضر اللقاح بنقل جرثومة *Serratia marcesens* على وسط الاكار المغذي الى دورق مخروطي سعته ٢٥٠ مل يحتوي على ٥٠ مل من الوسط القياسي المعقم ووضع الدورق في الحاضنة الهزازة درجة حرارة ٢٨ ± ١م وبسرعة (١٥٠ دورة / دقيقة) ومدة ٤٨ ساعة ولغرض انتاج السكر المتعدد لقح الوسط القياسي الموزع في دوارق سعتها ٢٥٠ مل بمعدل (٤٥ مل / دورق) وبـ ٥ مل من المعلق الجرثومي وحضنت بعد ذلك الدوارق في الحاضنة الهزازة بدرجة حرارة ٢٨ ± ١م وبمعدل (١٥٠ دورة / دقيقة) ومدة (٢،٣،٤،٥،٦،٧،٨،٩) ايام .

٥. طرائق التحليل :

بعد انتهاء مدة الحضانة سحبت الدوارق من الحاضنة الهزازة ثم اجريت عليها البسترة Pesteurizotion بالحمام المائي في درجة حرارة ٦٠م° ومدة ٥ 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 (٩٠٠٠ دورة / دقيقة) لمحتوى كل دورق ومدة ٣٠ دقيقة لغرض حساب الكتلة الحيوية للخلايا المترسبة التي جمعت بعد ذلك في اطباق زجاجية صغيرة جافة وموزونة مسبقا وجففت في فرن كهربائي بدرجة حرارة ٦٠م° ومدة ٢٤ ساعة ولغرض تقدير السكر المتعدد في الراشح الجرثومي فقد اخذ ١٠ مل

منه واضيف اليه ٣٠ مل الرقم من الأسيتون ثم طرد مركزيا عند سرعة (٩٠٠٠ دورة / دقيقة) ومدة ٣٠ دقيقة نقل السكر المتعدد المترسب في اطباق زجاجية معلومة الوزن وجفف محتوياتها في الفرن الكهربائي عند ٦٠م^{0} ومدة ٢٤ ساعة وحسب وزن الكتلة الحيوية (Tait واخرون , 1986). والسكر المتعدد بفارق الوزنين، ثم قيست الكتلة الحيوية بفارق الوزنين باستخدام ميزان حساس .

النتائج والمناقشة

١. عزل جرثومة *Serratia marcesens*

عزلت الجرثومة من تربة منطقة بعشيقة 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 واخرون ،1999) .

وتم اجراء مجموعة الاختبارات الكيموحيوية كما موضح في الجدول رقم (١) والتاكد من التشخيص باستخدام النظام التشخيصي API 20E (API 20 E System) واوضحت النتائج ان الجرثومة تعود الى جنس *Serratia* والنوع *marcescens* .

الجدول (١)

الاختبارات الكيموحيوية

الاختبارات	النتيجة	الاختبارات	النتيجة
اليوريز	+	الستريت	+
الاوكسديز	+	الارابينوز	−
فوكس بروكسر	+	لاكتوز	−
المثيل الاحمر	−	سكروز	+
انتاج الاندول	−	الجيلاتين	+

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

٢. تاثير مدة الحضانة في انتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens*

تم في هذه التجربة تنمية الجرثومة على الوسط التركيبي المستخدم في انتاج الزانثان (Souw واخرون ١٩٧٩ ، Ramirez واخرون ١٩٨٨ ، وSanchez واخرون ١٩٩٧ ، العبيدي ، ١٩٩٨) تم بعد ذلك متابعة انتاج السكر المتعدد والكتلة الحيوية والتغيرات الاخرى خلال فترات حضانة مختلفة (٧،٨،٩،٢،٣،٤،٥،٦) . اوضحت النتائج ان اقصى انتاجية للسكر المتعدد اذ بلغت (٢.٧٩غم /لتر) بعد ٧ ايام من التحضين اذ في حين اقل انتاجية للسكر المتعدد (٠.٥٦ غم / لتر) بعد ٢يوم من التحضين .وتبين تفاوت في انتاج الكتلة الحيوية خلال فترات التحضين المختلفة حين بلغت اقصى انتاجية للكتلة الحيوية (١.٩١ غم / لتر) بعد ٢ ايام من التحضين واقل انتاجية للكتلة الحيوية بلغت (٠.٩٢ غم /لتر) بعد ٩ ايام من التحضين. تبين ان الوسط القياسي لم يعطي انتاجا عاليا من الكتلة الحيوية على الرغم من كون هذا الوسط اعطى انتاجية جيدة من السكر المتعدد هذه النتيجة مقاربة لما توصل اليه الباحث (الصميدعي ، ٢٠٠١) عند استخدامه الجرثومة *Xanthomans* . وبالنسبة للاس الهيدروجيني النهائي تبين انخفاض واضحا على الاس الهيدروجيني في الوسط القياسي نتجه لتراكم عدد من الحوامض العضوية في اثناء مدة التخمير نتجة للعمليات الايض التي تحدث من خلال الجرثومة (العبيدي ، ١٩٩٨ ؛ الصميدعي ، ٢٠٠١) .

الجدول (٢)

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
٢	٠.٥٦ (٠.١٨)	١.٩١ (٠.١٥)	٦.٣٥ (٠.٠٣)
٣	٠.٧١ (٠.٠٩)	١.٨٥ (٠.٤٢)	٥.٧٨ (٠.١٦)
٤	١.٦٢ (٠.٢٥)	١.٨٩ (٠.٣٥)	٥.٦١(٠.٦٦)
٥	١.٨٨ (٠.١٢)	٠.٩٦ (٠.٢٩)	٥.٣٤ (٠.٧٢)
٦	٢.٣٠ (٠.٥٥)	٠.٩٠ (٠.١٦)	٥.٠٥ (٠.٠٥)
٧	٢.٧٩ (٠.٢٣)	١.٣٧(٠.٣٢)	٤.٨٠ (٠.١٤)
٨	٢.١٨ (٠.١١)	١.١٦ (٠.١٧)	٤.٢٩ (٠.٢٢)
٩	١.٥٩ (٠.٨٢)	٠.٩٢ (٠.٢٩)	٤.١١ (٠.١٩)

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

٣. تاثير اضافة مصادر كاربونية مختلفة في انتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens*

تمت تنمية جرثومة *Serratia* في الوسط القياسي باستخدام سكريات مختلفة بتركيز (٢%)(وزن/حجم) وهي السكريات التالية (كلوكوز ، سكروز ، فركتوز ، ارابينوز ، لاكتوز).

اظهرت النتائج جدول (٣) بعد (٧) ايام من التحضين ان سكر الكلوكوزبوصفه مصدرا كاربونيا قد اعطى اقصى انتاجية للسكر المتعدد اذ بلغت (٢.٨٣ غم/لتر) بينما اقل انتاجية للسكر المتعدد عند استخدام اللاكتوز مصدرا مصدرا كاربونيا (٠.٥٥ غم/لتر) وان هذه النتيجة كانت مقاربة لما توصل اليه (العبيدي ، ١٩٩٨) . 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 (٢.٠١ غم/لتر) عند استخدام سكر الفركتوز في حين اقل انتاجية للكتلة الحيوية اذ بلغت (٠.٧٢ غم/لتر) عند استخدام المصدر الكاربوني اللاكتوز ، اما بالنسبة للرقم الهيدروجيني النهائي انخفض بشكل واضح عن الرقم الهيدروجيني الاولى كما موضح في الجدول رقم (١).

الجدول (٣)

تأثير اضافة مصادر كاربونية مختلفة في انتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens* بعد (٧) ايام من التحضين

المصادر الكاربونية (٢%)	السكر المتعدد (غم/لتر)	الكتلة الحيوية (غم/لتر)	ال pH النهائي
كلوكوز	٢.٨٣ (٠.٠١)	١.٤٣ (٠.٢٠)	٤.٧٣ (٠.٣٣)
سكروز	٢.٧٥ (٠.١٩)	١.٩٠ (٠.٢١)	٤.٨٩ (٠.٢١)
فركتوز	١.٩٧ (٠.٠٢)	٢.٠١ (٠.٤٢)	٥.٦٢ (٠.٣٤)
ارابينوز	٠.٩٥ (٠.١٧)	١.٨٨ (٠.٥٣)	٤.٠٢ (٠.١٩)
لاكتوز	٠.٥٥ (٠.٤٤)	٠.٧٢ (٠.٢٧)	٤.٣٠ (٠.٠١)

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

٤. تأثير اضافة مصادر نيتروجينية مختلفة في انتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens* بعد (٧) 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 ، نتريت الصوديوم ، كبريتات الامونيوم ، يوريا ، نترات الامونيوم) بتركيز (٠.٠١٨ %) اعتمادا على تركيز النتروجين في اليوريا المستخدم في الوسط القياسي . اذ اوضحت النتائج المبينة في جدول (٤) بعد (٧) ايام من التحضين ان المصدر النتروجيني نترات الصوديوم قد اعطى اقصى انتاجية من السكر المتعدد اذ بلغت (٢.٩٠ غم/لتر) . وان هذه النتيجة مقاربة لنتائج (Souw و Demain ، ١٩٧٩) وعلى النقيض من ذلك فان هذه النتيجة قد لاتتفق مع ما توصل اليه الباحثين (1992, Seviour) . في حين اقل انتاج السكر المتعدد تم الحصول عليها عند استخدام نتريت Na اذ بلغت (٠.٩٥ 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 (١.٩٢ غم/لتر) واقل كتلة الحيوية عند استخدام نترات الامونيوم حيث بلغت (٠.٨٦ غم/لتر). وتبين انخفاض الاس الهيدروجيني بعد التخمر مقارنة بالاس الهيدروجيني الاولي عند استخدام مصادر نتروجينية مختلفة في هذه التجربة .

الجدول (٤)

تأثير اضافة مصادر نيتروجينية مختلفة في انتاج السكر المتعدد ونمو جرثومة *Serratia marcescens* بعد (٧) ايام من التحضين

المصادر النتروجينية (٠.٠١٨%)	السكر المتعدد (غم/لتر)	الكتلة الحيوية (غم/لتر)	ال pH النهائي
نترات الصوديوم	٢.٩٠ (٠.٠١)	١.٩٢ (٠.٣٤)	٤.٦٠ (٠.١٧)
نتريت Na	٠.٩٥ (٠.١١)	٠.٧١ (٠.٥٢)	٤.٢١ (١.٠١)
كبريتات الامونيوم	١.٦٥ (٠.٢٤)	٠.٩٣ (٠.٠٩)	٥.٦٩ (٠.٠٤)
يوريا	٢.٨٥ (٠.٠٥)	١.٥٢ (٠.٨١)	٤.٦٢ (٠.٠٠)
نترات الامونيوم	١.٩٨ (٠.٩١)	٠.٨٦ (٠.٠٥)	٥.١٠ (٠.٢٣)

المصادر

- العبيدي ، صفاء اسماعيل رشيد .١٩٩٨. ظروف انتاج وطبيعة السكر المتعدد (البوليولان) المنتج بواسطة عزلة محلية لفطر *Aureobasidium pulluans* رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل .
- الصميدعي ، طه عبدالوهاب خميس جمعة . ٢٠٠١ . انتاج الزانثان بوساطة 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. Extracelluar 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 Yolken, 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 expolysaccharides 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. Enrivon. 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.