

EDN: LTFCNM

УДК 582.232.5

## Fatty Acids Composition in Cyanobacteria and Their Ability to Synthesize Degradable Polyhydroxyalkanoates (PHA)

Natalia O. Zhila<sup>a\*</sup>,

Galina S. Kalacheva<sup>a</sup>, Ekaterina I. Shishatskaya<sup>b</sup>,

Fares D. E. Ghorabe<sup>b</sup> and Tatiana G. Volova<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Biophysics SB RAS*

*Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”*

*Krasnoyarsk, Russian Federation*

<sup>b</sup>*Infochemistry Scientific Centre, ITMO University*

*Saint Petersburg, Russian Federation*

Received 11.12.2023, received in revised form 06.09.2024, accepted 12.09.2024

**Abstract.** The composition of fatty acids of lipids and the ability of cyanobacteria to synthesize degradable polyhydroxyalkanoates (PHA) were examined in previously unstudied cyanobacteria isolated from a number of water bodies of the Yenisei River Basin. Ten strains of various species belonging to the orders Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales and Leptolyngbyales were investigated. Thirty-three fatty acids (FAs) were identified in the lipid composition of the studied cyanobacterial strains. The ratio of FAs was to a high extent species-specific with the lipid saturation ranging from 0,4 to 9,5. In all strains, palmitic acid was identified as the main FA with the content ranging from 24 to 47 % of the total FA. The dominant monoenoic FAs were C16:1 $\omega$ 7 and C18:1 $\omega$ 9; their content varied from 2 to 16 and from 2 to 24 % of the total FA, respectively. All strains synthesized polyenoic acids of the C16- and C18 series but in different amounts. Five strains (*Chroococcus limneticus* ACCS019, *Trichormus variabilis* ACCS039, *Trichormus variabilis* ACCS060, *Anabaena aequalis* ACCS089 and *Cylindrospermum stagnale* ACCS051) were determined to be able to synthesize a homopolymer of 3-hydroxybutyric acid – poly(3-hydroxybutyrate). A modification of the standard nutrient medium (the exclusion of nitrogen and phosphorus from its composition) ensured a multiple increase in the intracellular content of the polymer. The cyanobacteria *Chroococcus limneticus* ACCS019, *Anabaena aequalis* ACCS089 and *Cylindrospermum stagnale* ACCS051 with the polymer content of 8.9, 4.7 and 3.2 %, respectively, can be considered as potential producers of PHA in photosynthesis.

**Keywords:** cyanobacteria, water bodies of the Yenisei River Basin, fatty acid composition of lipids, synthesis of polyhydroxyalkanoates.

© Siberian Federal University. All rights reserved

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License (CC BY-NC 4.0).

\* Corresponding author E-mail address: nzhila@mail.ru

ORCID: 0000-0002-6256-0025 (Zhila N.); 0000-0001-7967-243X (Shishatskaya E.); 0000-0001-9392-156X (Volova T.)

**Acknowledgements.** The study was funded by State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project No. FWES-2021–0025).

Citation: Zhila N. O., Kalacheva G. S., Shishatskaya E. I., Ghorabe F. D. E., Volova T. G. Fatty acids composition in cyanobacteria and their ability to synthesize degradable polyhydroxyalkanoates (PHA). J. Sib. Fed. Univ. Biol., 2024, 17(3), 264–277. EDN: LTFCNM



## Состав жирных кислот цианобактерий и способность к синтезу разрушаемых полигидроксиалканоатов (ПГА)

Н. О. Жила<sup>а</sup>, Г. С. Калачева<sup>а</sup>,  
Е. И. Шишацкая<sup>б</sup>, Ф. Д. Э. Гораб<sup>б</sup>, Т. Г. Волова<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт биофизики СО РАН

ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН»

Российская Федерация, Красноярск

<sup>б</sup>Научный центр инфохимии Университета ИТМО

Российская Федерация, Санкт-Петербург

**Аннотация.** Исследованы состав жирных кислот липидов и способность к синтезу разрушаемых полигидроксиалканоатов (ПГА) у ранее не изученных цианобактерий, выделенных из водоемов бассейна р. Енисей. Изучено 10 штаммов различных видов, относящихся к порядкам Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales и Leptolyngbyales. В составе липидов исследованных штаммов цианобактерий идентифицированы 33 жирные кислоты, соотношение которых в зависимости от видовой специфики цианобактерий значительно варьировало, оказывая влияние на насыщенность липидов, которая составляла от 0,4 до 9,5. Для всех штаммов в качестве основной жирной кислоты (ЖК) идентифицирована пальмитиновая кислота, содержание которой составляло от 24 до 47 % от суммы ЖК. Доминирующими моноеновыми ЖК были C16:1 $\omega$ 7 и C18:1 $\omega$ 9, содержание которых варьировало от 2 до 16 и от 2 до 24 % от суммы ЖК соответственно. Все штаммы синтезировали полиеновые кислоты C16- и C18 рядов, но в различной степени. Выявлены пять штаммов (*Chroococcus limneticus* ACCS019, *Trichormus variabilis* ACCS039, *Trichormus variabilis* ACCS060, *Anabaena aequalis* ACCS089 и *Cylindrospermum stagnale* ACCS051), обладающих способностью синтезировать полимер, который у всех штаммов представлен гомополимером 3-гидроксимасляной кислоты – поли(3-гидроксибутиратом). Модификация стандартной питательной среды (исключение из ее состава азота и фосфора) обеспечила многократное повышение внутриклеточного содержания полимера. Цианобактерии *Chroococcus limneticus* ACCS019, *Anabaena aequalis* ACCS089 и *Cylindrospermum stagnale* ACCS051, в которых содержание полимера составило, соответственно, 8,9, 4,7 и 3,2 %, можно рассматривать в качестве потенциальных продуцентов ПГА в процессах фотосинтеза.

**Ключевые слова:** цианобактерии, водоемы бассейна реки Енисей, жирнокислотный состав липидов, полигидроксиалканоаты.

**Благодарности.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (проект № FWES-2021–0025).

Цитирование: Жила Н. О. Состав жирных кислот цианобактерий и способность к синтезу разрушаемых полигидроксиалканоатов (ПГА) / Н. О. Жила, Г. С. Калачева, Е. И. Шишачкая, Ф. Д. Э. Гораб, Т. Г. Волова // Журн. Сиб. федер. ун-та. Биология, 2024. 17(3). С. 264–277. EDN: LTFCNM

## Введение

Цианобактерии, широко и повсеместно распространенные в природе, являются источником разнообразных ценных соединений пищевого, технического и медицинского назначения. Привлекательность этих организмов как продуцента целевых продуктов определяется независимостью от источников органического сырья и способностью к росту за счет усвоения углекислого газа в процессах окислительной фотосинтеза (Abed et al., 2009; Castenholz et al., 2001). Последнее особо значимо в связи с наблюдающимся накоплением CO<sub>2</sub> в биосфере и обоснованным беспокойством, связанным с влиянием парниковых газов на глобальные изменения климата, что актуализирует поиск решений для снижения углеродного следа.

Среди продуктов, синтезируемых цианобактериями, различные биоактивные соединения (полисахариды, белки, липиды и др.) (Prasanna et al., 2010), а также разрушаемые полигидроксиалканоаты (ПГА) – «зеленые» биопластики (Price et al., 2020; Fritz et al., 2020).

ПГА – это семейство биоразрушаемых термопластичных полимеров различного химического строения, синтез которых возможен с использованием различных субстратов, включая отходы (Tan et al., 2021; Koller, Mukherjee, 2022). ПГА отнесены к разряду перспективных материалов XXI века для применения в различных сферах – от коммунального и сельского хозяйства до фармакологии

и биомедицины (Dalton et al., 2022; Palmeiro-Sánchez et al., 2022).

ПГА накапливаются в клетках в виде гранул в специализированных условиях несбалансированного роста (например, при отсутствии в среде азота, фосфора, серы или кислорода и др.) большинством известных продуцентов. При несбалансированном росте ацетил-КоА не включается в цикл трикарбоновых кислот, а уровень свободного КоА при этом низок. Это является благоприятным условием для активизации ферментов синтеза ПГА. Показано, что в цианобактериях функционируют типичные три фермента синтеза ПГА: β-кетотиолаза, ацетоацетил-КоА-редуктаза, ПГА-синтаза (Fritz et al., 2020). При этом полагают, что ПГА-синтазы у всех цианобактерий во многом сходны (Hai et al., 2001; Fritz et al., 2020).

Актуальность поиска новых продуцентов ПГА и разработка эффективных технологий их производства связана с тем, что выпуск синтетических не разрушаемых пластиков превысил 400 млн тонн в год; основная их часть скапливается на свалках и аккумулируется в Мировом океане, создавая глобальную экологическую проблему (Geyer, 2020). ПГА имеют большой потенциал для вклада в «The Circular Economy» (Koller, Mukherjee, 2022). Показано, что замена синтетических полимеров на нефтяной основе разрушаемыми биопластиками – потенциальное реше-

ние для снижения выбросов CO<sub>2</sub>, так как их производство и потребление сопровождается значительно более низкими выбросами углерода и потребностями в энергии (Harding et al., 2007; Meereboer et al., 2020). Поэтому цианобактерии, наряду с другими продуцентами ПГА, рассматривают не только как источник получения экологически чистых полимерных материалов, но и как средство снижения CO<sub>2</sub> в биосфере (Meereboer et al., 2020; Jo et al., 2021). Среди цианобактерий, способных к синтезу ПГА, описаны представители различных таксонов.

Проблема фототрофного синтеза ПГА – весьма низкие продукционные показатели. Это актуализирует поиск новых фотопродуцентов разрушаемых биопластиков и определило цель данной работы – сравнительное исследование состава жирных кислот

и оценка потенциала цианобактерий, обитающих в водоемах бассейна реки Енисей, для продукции ПГА.

## Материалы и методы

### Культивирование цианобактерий

Изучено 10 альгологически чистых штаммов (табл. 1) из коллекции культур водорослей и цианобактерий Сибирского федерального университета (акроним ACCS), зарегистрированной под № 936 во Всемирном центре баз данных микроорганизмов (WDCM) (World Data Centre for Microorganisms, 2009). Микроорганизмы выделены из водоемов бассейна р. Енисей (Восточная Сибирь, Россия) (Kozhevnikov, Kozhevnikova, 2011).

Цианобактерии культивировали при 22–25 °С и непрерывной облученности с интенсивностью света 3–4 кЛк в колбах Эрлен-

Таблица 1. Цианобактерии, выделенные из водоемов бассейна р. Енисей

Table 1. Cyanobacteria isolated from some water bodies of the Yenisei River Basin

№	Штамм	Таксон	Способность к азотфиксации	Географическое происхождение
Порядок Chroococcales – Хроококковые				
1	ACCS019	<i>Chroococcus limneticus</i>	-	Река Карабула (приток р. Ангара), 2008
Порядок Leptolyngbyales				
2	ACCS007	<i>Leptolyngbya</i> sp.	-	н.и.
Порядок Oscillatoriales – Осцилляториевые				
3	ACCS033	<i>Phormidium subfuscum</i>	-	Река Ильбинчик (приток р. Кан), 2008
Порядок Nostocales – Ностоковые				
4	ACCS022	<i>Trichormus variabilis</i>	+	Река Анжа (приток р. Кан), 2008
5	ACCS029	<i>Trichormus variabilis</i>	+	Река Карабула (приток р. Ангара), 2008
6	ACCS039	<i>Trichormus variabilis</i>	+	Озеро Большое Буровое (Ванкор), 2008
7	ACCS060	<i>Trichormus variabilis</i>	+	Река Большая Хета, 2008
8	ACCS045	<i>Wollea saccata</i>	+	Река Енисей (вблизи г. Игарка), 2008
9	ACCS051	<i>Cylindrospermum stagnale</i>	+	Река Енисей (вблизи г. Игарка), 2008
10	ACCS089	<i>Anabaena aequalis</i>	+	н.и.

н.и. – неизвестно

мейра (500 мл) на солевой среде BG11 (Stanier et al., 1971), а также ее модификации без источника азота с добавлением 5 мМ NaHCO<sub>3</sub> в зависимости от способности исследуемого штамма к азотфиксации, а также без источника фосфора. В зависимости от используемого штамма время культивирования цианобактерий составляло от 14 до 28 суток. Для определения состава жирных кислот внутриклеточных липидов пробы биомассы отбирали в экспоненциальной фазе роста, для определения внутриклеточного содержания полимера пробы биомассы отбирали в стационарной фазе роста.

#### Аналитические исследования

Содержание и состав полимера определяли хроматографией метиловых эфиров жирных кислот с применением хромато-масс-спектрометра (6890/5975С, Agilent Technologies, США). Основные методы анализа липидов и жирных кислот подробно описаны в работах (Kalacheva, Volova, 2007; Kalacheva et al., 2002). Для анализа содержания ПГА и жирнокислотного анализа липидов цианобактерий 50–100 мл каждой культуры центрифугировали при 5000 g в течение 10 мин. Клетки двукратно промывали дистиллированной водой. Липиды из сырой биомассы выделяли смесью хлороформа и этанола (2:1 по объему). Экстракт липидов высушивали на роторном испарителе и в дальнейшем подвергали метанолизу для получения метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК), которые далее анализировали на хромато-масс-спектрометре Agilent 6890/5975С (Agilent Technologies, США). Идентификацию ЖК проводили сравнением их времени удерживания и масс-спектров с таковыми имеющихся стандартов.

Эксперименты проведены в трех повторностях. Статистический анализ выполнен

с использованием Microsoft Excel. Приведены арифметические средние и их стандартные ошибки.

#### Результаты и обсуждение

Для ряда микроорганизмов синтез ПГА тесно связан с метаболизмом липидов и жирных кислот, причем источником мономеров полимера могут являться промежуточные метаболиты синтеза или β-окисления жирных кислот (Kessler, Witholt, 2001; Afreen et al., 2021; Agarwal et al., 2022; Yogeswar et al., 2023) (рис. 1). Поэтому при выборе перспективного продуцента ПГА необходимо прежде всего изучить особенности состава липидов исследуемых организмов.

Анализ биомассы клеток исследованных цианобактерий показал, что содержание внутриклеточных липидов колебалось в них незначительно и составляло минимально 7,5 % к абсолютно сухой биомассе (АСБ) у *Phormidium subfuscum* (ACCS033); максимально – 9,2 % к АСБ у *Chroococcus limneticus* (ACCS019) (рис. 2).

Состав ЖК внутриклеточных липидов у исследованных штаммов цианобактерий, относящихся, согласно (Guiry, Guiry, 2024), к четырем порядкам класса Cyanophyceae: Chroococcales, Oscillatoriales, Nostocales и Leptolyngbyales, представлен в табл. 2.

Идентифицированы 33 жирные кислоты, присутствующие в составе липидов исследованных штаммов цианобактерий. Соотношение насыщенных кислот к ненасыщенным значительно варьировало, составляя минимально (0,4; 0,5; 0,7 и 0,8) у штаммов соответственно ACCS007, ACCS033, ACCS089 и ACCS029; максимально (9,5) у штамма ACCS019; у остальных пяти штаммов это соотношение было близким (1,0–1,5). Подавляющее количество ЖК представлено кислотами C16–C18 рядов, что характерно для видов,

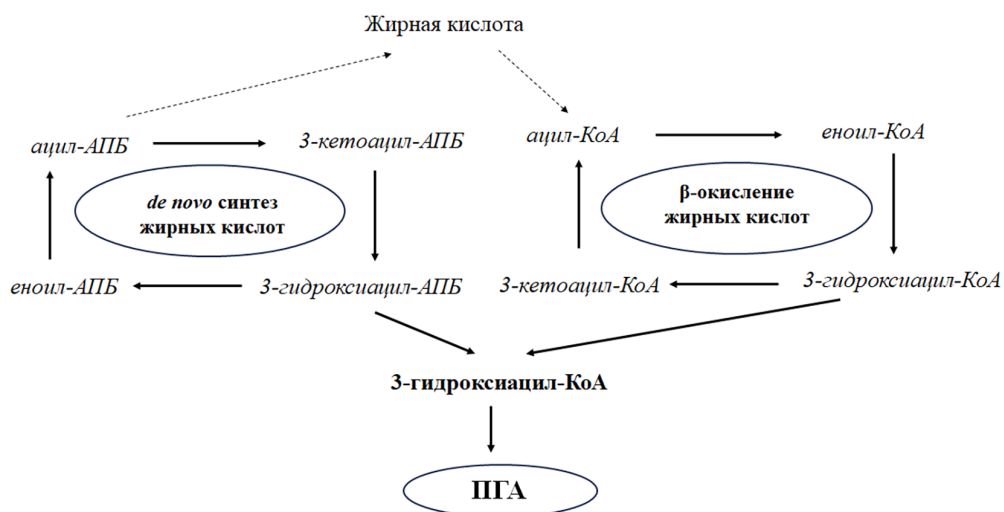


Рис. 1. Основные связи внутриклеточного обмена жирных кислот и биосинтеза ПГА (на основе Afreen, 2021; Agarwal, 2022)

Fig. 1. Basic relationships between intracellular fatty acid metabolism and PHA biosynthesis (based on Afreen, 2021; Agarwal, 2022)

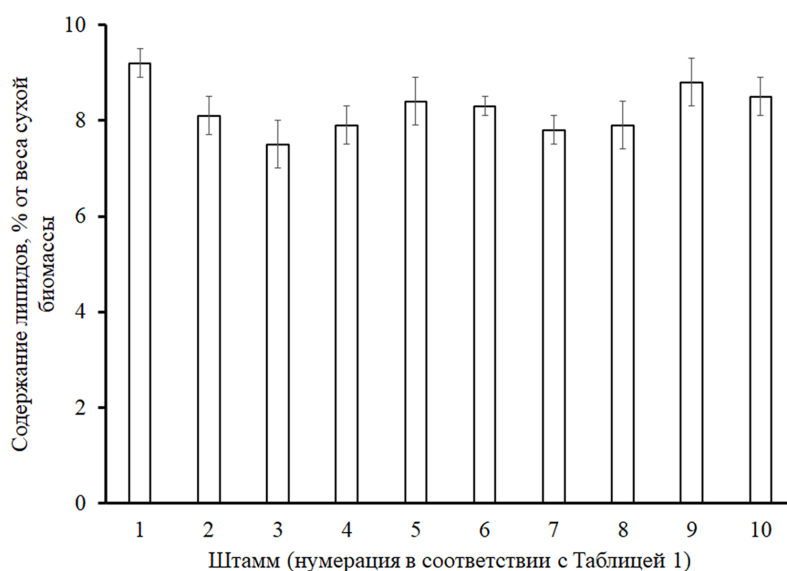


Рис. 2. Содержание внутриклеточных липидов у исследованных штаммов цианобактерий

Fig. 2. Content of intracellular lipids in the studied strains of cyanobacteria

принадлежащих к отделу цианобактерий (Temina et al., 2007). Для всех штаммов в качестве основной ЖК идентифицирована пальмитиновая кислота (C16:0), относительное содержание которой варьировало значительно, от 24,7 до 46,9 % от суммы ЖК. Из насыщен-

ных ЖК в значительном количестве обнаружена стеариновая кислота (C18:0), содержание которой колебалось от 2,3 до 18,9 %. Доля остальных насыщенных кислот в зависимости от штамма составляла от 2 до 26 %. У всех штаммов среди мононенасыщенных кислот

Таблица 2. Состав жирных кислот внутриклеточных липидов исследованных штаммов цианобактерий

Table 2. Fatty acid composition of intracellular lipids of the studied cyanobacterial strains

Жирная кислота	порядок Chroococcales			порядок Leptolyngbyales			порядок Oscillatoriales			порядок Nostocales					
	ACCS019	ACCS007	ACCS033	ACCS022	ACCS029	ACCS039	ACCS060	ACCS045	ACCS051	ACCS089					
12:0	0,9±0,1	0,1±0,0	0,1±0,0	0,3±0,0	0,2±0,0	0,1±0,0	0,2±0,0	следы	1,1±0,0	0,3±0,0					
14:0	5,5±0,2	0,3±0,0	0,5±0,0	1,7±0,1	1,1±0,0	1,0±0,1	2,1±0,2	0,8±0,0	3,1±0,0	1,0±0,1					
15:0	2,9±0,1	0,2±0,0	0,1±0,0	0,6±0,0	0,5±0,0	0,4±0,0	1,0±0,0	0,3±0,0	1,4±0,0	0,2±0,0					
16:0	45,6±0,9	24,7±0,7	27,8±1,1	41,7±2,4	36,5±1,8	39,3±1,1	37,8±0,9	46,9±2,0	35,6±1,5	35,1±2,0					
ai-16:0	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	0,1±0,0					
16:1ω9	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.	0,2±0,0					
16:1ω7	1,7±0,2	12,0±0,6	2,5±0,3	2,8±0,1	2,7±0,1	16,5±1,1	2,6±0,1	2,2±0,1	2,9±0,2	3,9±0,3					
16:1ω5	0,5±0,1	0,8±0,1	0,4±0,0	5,6±0,3	2,6±0,1	0,5±0,0	3,6±0,2	2,2±0,1	5,3±0,2	3,6±0,1					
16:2	н.о.	1,4±0,1	7,9±0,4	2,4±0,2	2,8±0,1	н.о.	3,0±0,2	1,5±0,1	н.о.	4,0±0,2					
16:3ω3	н.о.	н.о.	9,2±0,6	2,4±0,2	4,2±0,4	следы	4,3±0,3	2,4±0,1	н.о.	0,9±0,0					
17:0	2,1±0,1	0,6±0,0	0,3±0,0	0,5±0,0	0,6±0,0	0,5±0,0	0,8±0,0	0,8±0,0	1,9±0,1	0,4±0,0					
18:0	18,9±0,6	2,9±0,5	2,3±0,1	3,6±0,3	2,8±0,1	4,0±0,3	6,0±0,3	3,9±0,3	13,5±0,6	3,3±0,2					
18:1ω9	2,9±0,2	24,2±1,4	2,6±0,3	4,2±0,3	2,5±0,1	10,9±0,3	3,4±0,1	5,3±0,2	8,7±0,4	8,8±0,3					
18:1ω7	0,8±0,0	0,3±0,0	0,7±0,0	0,8±0,0	1,4±0,1	2,2±0,1	0,5±0,0	0,4±0,1	2,6±0,1	2,9±0,1					
18:2ω6	0,7±0,0	21,1±1,2	22,9±1,6	15,4±0,9	8,7±0,5	7,9±0,3	7,9±0,3	6,7±0,2	12,0±0,8	16,8±0,6					
18:3ω3	1,7±0,1	9,0±0,7	21,6±1,2	14,3±1,2	30,1±2,3	6,0±0,2	20,6±0,9	25,5±0,8	2,5±0,1	17,9±0,8					
18:4ω3	н.о.	н.о.	н.о.	следы	н.о.	6,2±0,2	н.о.	н.о.	н.о.	н.о.					
20:0	1,7±0,1	0,2±0,1	0,1±0,0	0,3±0,0	0,2±0,0	0,3±0,0	0,5±0,0	0,1±0,0	1,0±0,0	0,2±0,0					
22:0	6,5±0,3	0,5±0,0	0,2±0,0	0,9±0,1	0,8±0,1	0,8±0,0	1,8±0,0	0,7±0,0	0,8±0,1	н.о.					
24:0	3,9±0,3	н.о.	0,2±0,0	0,4±0,0	н.о.	0,9±0,0	1,1±0,1	н.о.	н.о.	н.о.					
Другие*	3,8±0,2	1,9±0,1	0,6±0,0	0,5±0,0	2,2±0,8	2,7±0,1	2,9±0,1	0,4±0,0	7,7±0,2	0,7±0,0					
Σнасыщ. ЖК	90,5±2,7	29,6±0,5	31,7±1,0	50,9±2,2	42,8±2,1	47,5±1,1	52,0±1,4	53,5±2,8	60,1±2,7	40,6±1,3					
Σненасыщ. ЖК	9,5±0,6	70,4±2,1	68,3±2,7	49,1±2,0	57,3±1,9	52,5±2,3	48,0±2,2	46,5±1,3	39,9±1,2	59,4±2,7					
Σнасыщ. ЖК/ненасыщ. ЖК	9,5±0,4	0,4±0,0	0,5±0,0	1,0±0,0	0,8±0,0	0,9±0,0	1,1±0,0	1,2±0,0	1,5±0,0	0,7±0,0					

н.о. – не обнаружено

\*. C8:0, C9:0, C10:0, C13:0, ai-C15:0, i-C15:0, ai-C17:0, i-C17:0, C19:0, C20:2ω6, C20:3ω3, C20:4ω3, C22:1

идентифицированы C16:1 $\omega$ 7, C16:1 $\omega$ 5, C18:1 $\omega$ 9 и C18:1 $\omega$ 7. Доминировали C16:1 $\omega$ 7 и C18:1 $\omega$ 9 кислоты, относительное содержание которых варьировало от 1,7 до 16,5 и от 2,5 до 24,2 % соответственно от суммы ЖК. Все штаммы синтезировали полиненасыщенные кислоты C16- и C18-рядов, но в различной степени. В качестве основных идентифицированы линолевая (C18:2 $\omega$ 6) и  $\alpha$ -линоленовая (C18:3 $\omega$ 3) кислоты, содержание которых варьировало на два порядка, от 0,7 до 22,9 % и от 1,7 до 30,1 % соответственно. Полученные данные по составу ЖК у изученных цианобактерий согласуются с результатами других авторов, показавших, что в цианобактериях в качестве основных присутствуют C16:0, C18:0, C16:1 $\omega$ 7, C16:2, C18:2 $\omega$ 6 и C18:3 $\omega$ 3 жирные кислоты (Vargas et al., 1998; Temina et al., 2007). В составе липидов исследованных цианобактерий в небольших количествах обнаружены полиненасыщенные ЖК с двадцатью атомами углерода C20:2 $\omega$ 6, C20:3 $\omega$ 3 и C20:4 $\omega$ 3 у представителей порядков Oscillatoriales, Nostocales, Leptolyngbyales. Полиненасыщенные и разветвленные ЖК ранее были описаны у цианобактерий рода *Nostoc* (Vargas et al., 1998; Řezanka et al., 2003; Temina et al., 2007).

При сопоставлении состава ЖК выявлены видовые отличия (табл. 2). Так, для штамма *Chroococcus limneticus* (ACCS019), относящегося к порядку Chroococcales, характерно преимущественное содержание насыщенных ЖК (90,5 % от суммы ЖК) с доминированием пальмитиновой кислоты (45,6 %). Этот вид цианобактерий отличается высоким относительным содержанием стеариновой кислоты (18,9 % от суммы ЖК) и повышенным содержанием длинноцепочечных насыщенных кислот – C20:0, C22:0 и C24:0. В отличие от других исследованных цианобактерий, богатых полиненасыщенными ЖК, у *Chroococcus limneticus* ACCS019 найдены только две поли-

ненасыщенные кислоты (C18:2 $\omega$ 6 и C18:3 $\omega$ 3) с низким содержанием – 0,7 и 1,7 % соответственно. Моноеновые кислоты в липидах этого организма представлены небольшим набором изомеров – C18:1 $\omega$ 9 (2,9 %) и C16:1 $\omega$ 7 (1,7 %). Доминирование насыщенных ЖК описано для штамма *Chroococcus* sp., который, в отличие от изученного в настоящей работе штамма, в основном содержал C18:2 $\omega$ 6 кислоту и в небольших количествах синтезировал полиеновые C20:2 $\omega$ 6 и C20:4 $\omega$ 6 ЖК и моноеновую кислоту C22:1 $\omega$ 9 (Patil et al., 2007). Однако, согласно другой работе (Řezanka et al., 2003), у родственного штамма *Chroococcus minutus* состав ЖК был иным с доминированием ненасыщенных ЖК (62,22 % от суммы ЖК), что практически вдвое превышало сумму насыщенных кислот (32,4 %). Среди ненасыщенных ЖК в этом штамме идентифицированы главным образом C18:3 $\omega$ 3 (23,6 %), C18:1 $\omega$ 9 (20,8 %) и C18:2 $\omega$ 6 (9,5 %) (Řezanka et al., 2003).

Два других вида цианобактерий, *Leptolyngbya* sp. (ACCS007) и *Phormidium subfuscum* (ACCS033), принадлежащих к порядкам Leptolyngbyales и Oscillatoriales, отличались по соотношению мононенасыщенных и полиненасыщенных ЖК значительно (табл. 2). Если в липидах *Leptolyngbya* sp. доминировали моноеновые (38,1 %) и полиеновые кислоты (32,3 %) при суммарной доле насыщенных кислот 29,6 %, то у *Phormidium subfuscum* ACCS033 сумма моноеновых кислот составляла 6,1 %, а сумма полиеновых кислот была на порядок выше (62,2 %). Для вида *Leptolyngbya* sp. характерно высокое содержание C18:1 $\omega$ 9 (24,2 %) и C16:1 $\omega$ 7 (12,0 %). Среди полиеновых ЖК у *Phormidium subfuscum* в достаточно большом количестве были определены полиеновые кислоты C16-ряда – C16:2 (7,9 %) и C16:3 $\omega$ 3 (9,2 %), тогда как последняя у ACCS007 не обнаружена.



Общим для этих двух видов было высокое содержание ненасыщенных ЖК, вдвое превышающее содержание насыщенных ЖК. По литературным данным, для двух штаммов *Planktothrix* sp., принадлежащих к порядку Oscillatoriales, состав ЖК был сходным (Gugger et al., 2002), но отличался от выявленного у штаммов, выделенных из водоемов р. Енисей. Отличия включали отсутствие у *Planktothrix* sp. C18:1 $\omega$ 9 кислоты, высокое содержание C18:3 $\omega$ 3 (27–36 %) и наличие разветвленных ЖК в количестве 6–11 %.

В составе ЖК исследованных штаммов, относящихся к порядку Nostocales, четыре принадлежали к *Trichormus variabilis* (ACCS022, ACCS029, ACCS039, ACCS060) и по одному – к *Wollea saccata* (ACCS045), *Cylindrospermum stagnale* (ACCS051), *Anabaena aequalis* (ACCS089). Пять штаммов (ACCS022, ACCS029, ACCS060, ACCS045 и ACCS089), несмотря на отношение к различным видам, имели близкий состав ЖК, в отличие от штаммов ACCS039 и ACCS051, которые отличались значительно по содержанию полиеновых ЖК. В общем для пяти сходных по составу ЖК штаммов цианобактерий характерны высокие уровни насыщенных (40,6–53,5 % от суммы ЖК) и полиеновых (34,8–47,3 %) ЖК, в то время как уровни моноеновых ЖК были низкими (9,6–19,2 %). Штаммы продуцировали примерно одинаковое количество основных насыщенных ЖК C16:0 (35,1–46,9 %) и C18:0 (2,8–6,0 %); у них отмечено близкое содержание C16:1 $\omega$ 7 (2,2–3,9 %) и C16:1 $\omega$ 5 (2,2–5,6 %) в отличие от других изученных штаммов. В составе ЖК этих штаммов отмечалась достаточно большая доля C18:2 $\omega$ 6 (6,7–16,8 %) и C18:3 $\omega$ 3 (14,3–30,1 %).

Цианобактерии *Trichormus variabilis* ACCS039 по составу ЖК имели отличия от других штаммов, отнесенных к поряд-

ку Nostocales, доминированием C16:1 $\omega$ 7 и C18:1 $\omega$ 9 (16,5 и 10,9 % от суммы ЖК) и низким содержанием C16:1 $\omega$ 5 (0,5 %). Этот штамм способен синтезировать C18:4 $\omega$ 3 (6,2 %), которая больше не была обнаружена у других изученных штаммов, за исключением ACCS022, в котором ее содержание было в следовых значениях. Содержание C18:3 $\omega$ 3 (6,0 %) и C16:3 $\omega$ 3 (следовые значения) также было низким по сравнению с другими штаммами порядка Nostocales. Другой штамм цианобактерий (*Cylindrospermum stagnale* ACCS051) отличался высоким содержанием C18:0 (13,5 %) и отсутствием полиеновых кислот C16-ряда; среди моноеновых кислот с 16 атомами углерода C16:1 $\omega$ 5 была основной ЖК, а относительное содержание C18:3 $\omega$ 3 (2,5 %) было существенно ниже, чем у других представителей этого порядка.

По литературным данным, для штамма PCC 7417, принадлежащего к этому же виду *Cylindrospermum stagnale* (Gugger et al., 2002), характерно наличие C16:1 $\omega$ 9 (14,2 % от суммы ЖК) и ai-C16:0 (6 % от суммы ЖК). Эти ЖК также идентифицированы в другом исследованном виде, относящемся к Nostocales, – *Anabaena aequalis* ACCS089, которые не обнаружены в других представителях Nostocales, обитающих в водоемах бассейна р. Енисей (табл. 2). В штамме *Cylindrospermum stagnale* PCC 7417, в отличие от *Cylindrospermum stagnale* ACCS051, доминировали ненасыщенные ЖК; содержание C18:0 было следовым, а C18:3 $\omega$ 3, напротив, весьма высоким (13,4 %). Сопоставление данных по составу ЖК исследованных представителей цианобактерий показало сходство состава жирных кислот у штаммов из других родов Nostocales (Vargas et al., 1998). Авторы этой работы отметили высокий уровень полиеновых и насыщенных ЖК и низкое содержание моноеновых кислот, а также отметили возможность высоко-

го содержания у отдельных представителей кислоты C18:3 $\omega$ 3. Аналогично данным этой работы, в штаммах, выделенных из водоемов бассейна р. Енисей, показано доминирование C18:1 $\omega$ 9 из идентифицированных моноеновых кислот. Данные еще двух публикаций (Li, Watanabe, 2001; 2004), в которых был исследован состав ЖК нескольких родов цианобактерий (*Anabaena*, *Aphanizomenon* и *Nostoc*), также согласуются с результатами определения специфики жирных кислот у исследованных нами цианобактерий, т.е. выявленные высокие уровни насыщенных и полиеновых ЖК на фоне низкого уровня моноеновых ЖК.

Определение состава ЖК у *Anabaena aequalis* ACCS089 показало отсутствие принципиальных отличий от других исследованных штаммов цианобактерий подсемейства Nostocales (ACCS022, ACCS029, ACCS060 и ACCS045). При этом были выявлены отличия в составе ЖК у представителей рода *Anabaena*, описанных в работе Gugger et al. (2002), в которых отмечена в качестве основной моноеновой ЖК C16:1 $\omega$ 9, содержание которой в штамме ACCS089 было всего 0,2 %. В то же время в другой работе (Vargas et al., 1998) в составе ЖК у штаммов рода *Anabaena* наличие кислоты C16:1 $\omega$ 9 не было обнаружено, а в качестве основной моноеновой ЖК

идентифицирована C18:1 $\omega$ 9, что совпадает с нашими данными.

Таким образом, показано, что исследованные 10 штаммов цианобактерий различных таксонов весьма отличаются насыщенностью и доминирующими жирными кислотами и их соотношением. Среди них только пять штаммов показали наличие в клетках ПГА (табл. 3).

На полной питательной среде внутриклеточное содержание полимера было низким и варьировало от 0,05 до 0,70 % от сухой биомассы клеток. Самое низкое содержание ПГА было у *Anabaena aequalis* ACCS089, а самое высокое – у *Chroococcus limneticus* ACCS019. При исключении азота из состава питательной среды у нескольких штаммов синтез ПГА активизировался. Наиболее значительно, практически на порядок по сравнению с ростом на полной питательной среде, содержание ПГА возросло у *Chroococcus limneticus* ACCS019 (от 0,7 до 6,6 %); у *Anabaena aequalis* ACCS089 – в 14 раз (от 0,05 до 0,70 %) и *Trichormus variabilis* ACCS039 – в 8 раз (от 0,08 до 0,63 %). Исключение азота из состава питательной среды не влияло на содержание ПГА у *Cylindrospermum stagnale* ACCS051 и негативно сказалось на продукции полимера у *Trichormus variabilis* ACCS060, отмечено уменьшение ПГА от 0,21 до 0,05 %.

Таблица 3. Штаммы цианобактерий, обладающие способностью синтезировать ПГА

Table 3. Cyanobacterial strains with the ability to synthesize PHA

Штамм	ACCS 019	ACCS 039	ACCS 051	ACCS 089	ACCS 060
Полная питательная среда BG11					
Содержание ПГА, % к АСБ	0,70±0,07	0,08±0,01	0,21±0,01	0,05±0,01	0,21±0,02
Питательная среда BG11 без азота					
Содержание ПГА, % к АСБ	6,60±0,11	0,63±0,04	0,20±0,01	0,70±0,03	0,05±0,00
Питательная среда BG11 без азота и фосфора					
Содержание ПГА, % к АСБ	8,90±0,25	1,63±0,11	3,20±0,19	4,70±0,23	1,30±0,05

Следует отметить, что все штаммы, показавшие способность аккумулировать ПГА, за исключением *Chroococcus limneticus* (ACCS019), являются азотфиксаторами. Поэтому эти организмы не были лимитированы по азоту, хотя этот элемент отсутствовал в среде. Далее из состава среды был исключен источник фосфора. Это оказалось более результативным. Внутриклеточное содержание ПГА у всех штаммов значительно повысилось, максимально до 8,90 %, у штамма ACCS019; до 4,70 % и 3,20 % – у штаммов ACCS089 и ACCS051 соответственно. С применением хромато-масс-спектрометрии показано, что, независимо от систематической принадлежности, все цианобактерии синтезировали один тип ПГА – гидроксимасляной кислоты – поли(3-гидроксibuтират) [П(ЗГБ)]. Это согласуется с результатами работы (Fritz et al., 2020).

Анализ современной литературы показал, что водорослевая продукция П(ЗГБ) значительно варьирует. В работе (Roja et al., 2019) водоросли, выделенные из морской воды (*Synechococcus elongates*, а также *Chlorella* sp., *Oscillatoria salina*, *Leptolingbya valderiana*), исследованы как потенциальные продуценты ПГА. Самый активный рост наблюдали у *Leptolingbya valderiana*, у которых урожай биомассы составил 2,75 г/л. Синтезированные образцы ПГА были представлены П(ЗГБ). Рост природного штамма *Synechococcus elongatus* UAM–C/S 03 при культивировании в фотобиореакторе в условиях дефицита азота исследован в работе (González-Resendiz et al., 2021); самая высокая продуктивность биомассы составила 324 мг/л сут., общий выход П(ЗГБ) составил 29,4 %. В работе (Rueda Hernández et al., 2019) исследована продукция П(ЗГБ) цианобактериями *Synechocystis* sp., и *Synechococcus* sp., которые культивировали от 20 до 23 суток. В зависимости от режима

освещенности скорость роста штаммов варьировала от 0,021 до 0,013 ч<sup>-1</sup>; максимальное накопление П(ЗГБ) достигало 3 мг/л сутки, составив к концу наблюдения до 5 %. Продукция ПЗГБ цианобактериями *Anabaena* sp. изучена в работе (Simonazzi et al., 2021) при варьировании состава среды. Наибольшая продуктивность полимера (0,06 г/г · сут) и содержание полимера около 40 % получены в отсутствие источника фосфора в среде и в присутствии ацетата натрия. Урожай биомассы водоросли однако был низким, порядка 0,1 г/л. Максимальное содержание П(ЗГБ) в культуре *Anabaena* sp. составляло 2 % к АСБ при культивировании в безазотной среде в присутствии ацетата, что в 10–20 раз ниже, чем наблюдалось для других азотфиксирующих цианобактерий, таких как *Nostoc muscorum* (Ansari, Fatma, 2016; Lama et al., 1996). Выход полимера в культуре *Nostoc muscorum* на различных источниках углерода максимально достигал 21,5 % (Haase et al., 2012). В культуре *Spirulina subsalsa* выход П(ЗГБ) зафиксирован на уровне 27,6 % (Shrivastav et al., 2010). В целом приведенные данные по результатам продукции ПГА в культуре различных видов цианобактерий показали существенно меньшие выходы по сравнению с бактериальными продуцентами и значительные разбросы, что обусловлено видовой спецификой, а также различными режимами углеродного питания, освещенности и другими факторами.

## Заключение

Исследованы состав жирных кислот липидов и способность к синтезу разрушаемых полигидроксисалканоатов у ранее не изученных 10 штаммов цианобактерий различных видов, выделенных из водоемов бассейна р. Енисей. В составе липидов исследованных штаммов цианобактерий идентифицированы 33 жирные кислоты, соотношение которых

в зависимости от видовой специфики цианобактерий значительно варьировало, оказывая влияние на соотношение насыщенных жирных кислот к ненасыщенным жирным кислотам, которое составляло от 0,4 до 9,5. Выявлены пять штаммов, обладающих способностью синтезировать ПГА. Модификация стандартной питательной среды и исключение из ее состава азота и фосфора обеспечили многократное повышение внутриклеточного содержания полимера, от следовых концентраций до 3–9 % к АСБ. К потенциальным продуцентам ПГА в процессах фотосинтеза отнесены *Chroococcus limneticus* ACCS019, *Anabaena aequalis* ACCS089 и *Cylindrospermum stagnale* ACCS51.

### Список литературы / References

- Abed R. M. M., Dobretsov S., Sudesh K. (2009) Applications of cyanobacteria in biotechnology. *Journal of Applied Microbiology*, 106(1): 1–12
- Afreen R., Tyagi S., Singh G. P., Singh M. (2021) Challenges and perspectives of polyhydroxyalkanoate production from microalgae/cyanobacteria and bacteria as microbial factories: An assessment of hybrid biological system. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9: 624885
- Agarwal P., Soni R., Kaur P., Madan A., Mishra R., Pandey J., Singh S., Singh G. (2022) Cyanobacteria as a promising alternative for sustainable environment: Synthesis of biofuel and biodegradable plastics. *Frontiers in Microbiology*, 13: 939347
- Ansari S., Fatma T. (2016) Cyanobacterial polyhydroxybutyrate (PHB): screening, optimization and characterization. *PLoS One*, 11(6): e0158168
- Castenholz R. W., Wilmotte A., Herdman M., Rippka R., Waterbury J. B., Itean I., Hoffmann L. (2001) Phylum BX. Cyanobacteria. *Bergey's manual of systematic bacteriology. Volume one: The Archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria*. Boone D. R., Castenholz R. W., Garrity G. M. (eds.) New York, Springer, p. 473–599
- Dalton B., Bhagabati P., De Micco J., Padamati R. B., O'Connor K. (2022) A review on biological synthesis of the biodegradable polymers polyhydroxyalkanoates and the development of multiple applications. *Catalysts*, 12(3): 319
- Fritz I., Meixner K., Neureiter M., Drosig B. (2020) Comparing heterotrophic with phototrophic PHA production – concurring or complementing strategies? *The handbook of polyhydroxyalkanoates. Microbial biosynthesis and feedstocks*. Koller M. (ed.) Boca Raton, CRC Press, p. 331–356
- Geyer R. (2020) Production, use, and fate of synthetic polymers. *Plastic waste and recycling: Environmental impact, societal issues, prevention, and solutions*. Letcher T. M. (ed.) London, Elsevier Inc., p. 13–32
- González-Resendiz L., Sánchez-García L., Hernández-Martínez I., Viguera-Ramírez G., Jiménez-García L. F., Lara-Martínez R., Morales-Ibarria M. (2021) Photoautotrophic poly(3-hydroxybutyrate) production by a wild-type *Synechococcus elongatus* isolated from an extreme environment. *Bioresource Technology*, 337: 125508
- Gugger M., Lyra C., Suominen I., Tsitko I., Humbert J. F., Salkinoja-Salonen M. S., Sivonen K. (2002) Cellular fatty acids as chemotaxonomic markers of the genera *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Nostoc* and *Planktothrix* (cyanobacteria). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 52(3): 1007–1015

Guiry M.D., Guiry G.M. (2024) *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, University of Galway. <https://www.algaebase.org>

Haase S.M., Huchzermeyer B., Rath T. (2012) PHB accumulation in *Nostoc muscorum* under different carbon stress situations. *Journal of Applied Phycology*, 24(2): 157–162

Hai T., Hein S., Steinbüchel A. (2001) Multiple evidence for widespread and general occurrence of type-III PHA synthases in cyanobacteria and molecular characterization of the PHA synthases from two thermophilic cyanobacteria: *Chlorogloeopsis fritschii* PCC 6912 and *Synechococcus* sp. strain MA19. *Microbiology*, 147(11): 3047–3060

Harding K.G., Dennis J.S., von Blottnitz H., Harrison S.T. L. (2007) Environmental analysis of plastic production processes: Comparing petroleum-based polypropylene and polyethylene with biologically-based poly- $\beta$ -hydroxybutyric acid using life cycle analysis. *Journal of Biotechnology*, 130(1): 57–66

Jo S. Y., Son J., Sohn Y. J., Lim S. H., Lee J. Y., Yoo J. I., Park S. Y., Na J. G., Park S. J. (2021) A shortcut to carbon-neutral bioplastic production: Recent advances in microbial production of polyhydroxyalkanoates from C1 resources. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192: 978–998

Kalacheva G.S., Volova T.G. (2007) Fatty acid composition of *Wautersia eutropha* lipids under conditions of active polyhydroxyalkanoates synthesis. *Microbiology*, 76(5): 535–540

Kalacheva G.S., Zhila N.O., Volova T.G. (2002) Lipid and hydrocarbon compositions of a collection strain and a wild sample of the green microalga *Botryococcus*. *Aquatic Ecology*, 36(2): 317–331

Kessler B., Witholt B. (2001) Factors involved in the regulatory network of polyhydroxyalkanoate metabolism. *Journal of Biotechnology*, 86(2): 97–104

Koller M., Mukherjee A. (2022) A new wave of industrialization of PHA biopolyesters. *Bioengineering*, 9(2): 74

Kozhevnikov I.V., Kozhevnikova N.A. (2011) Taxonomic studies of some cultured strains of Cyanobacteria (Nostocales) isolated from the Yenisei River basin. *Inland Water Biology*, 4(2): 143–152

Lama L., Nicolaus B., Calandrelli V., Manca M.C., Romano I., Gambacorta A. (1996) Effect of growth conditions on endo- and exopolymer biosynthesis in *Anabaena cylindrica* 10 C. *Phytochemistry*, 42(3): 655–659

Li R., Watanabe M.M. (2001) Fatty acid profiles and their chemotaxonomy in planktonic species of *Anabaena* (Cyanobacteria) with straight trichomes. *Phytochemistry*, 57(5): 727–731

Li R., Watanabe M.M. (2004) Fatty acid composition of planktonic species of *Anabaena* (cyanobacteria) with coiled trichomes exhibited a significant taxonomic value. *Current Microbiology*, 49(5): 376–380

Meereboer K.W., Misra M., Mohanty A.K. (2020) Review of recent advances in the biodegradability of polyhydroxyalkanoate (PHA) bioplastics and their composites. *Green Chemistry*, 22(17): 5519–5558

Palmeiro-Sánchez T., O’Flaherty V., Lens P.N. L. (2022) Polyhydroxyalkanoate bio-production and its rise as biomaterial of the future. *Journal of Biotechnology*, 348: 10–25

Patil V., Källqvist T., Olsen E., Vogt G., Gislerød H.R. (2007) Fatty acid composition of 12 microalgae for possible use in aquaculture feed. *Aquaculture International*, 15(1): 1–9

Prasanna R., Sood A., Jaiswal P., Nayak S., Gupta V., Chaudhary V., Joshi M., Natarajan C. (2010) Rediscovering cyanobacteria as valuable sources of bioactive compounds (review). *Applied Biochemistry and Microbiology*, 46(2): 119–134

Price S., Kuzhiumparambil U., Pernice M., Ralph P.J. (2020) Cyanobacterial polyhydroxybutyrate for sustainable bioplastic production: Critical review and perspectives. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(4): 104007

Řezanka T., Dor I., Prell A., Dembitsky V.M. (2003) Fatty acid composition of six freshwater wild cyanobacterial species. *Folia Microbiologica*, 48(1): 71–75

Roja K., Sudhakar D.R., Anto S., Mathimani T. (2019) Extraction and characterization of polyhydroxyalkanoates from marine green alga and cyanobacteria. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 22: 101358

Rueda Hernández E., García Serrano J., García Galán M.J., Suárez Ojeda M.E. (2019) *Photosynthetic production of polyhydroxybutyrates (PHB) by cyanobacteria isolated from wastewater treatment processes*. Universitat Autònoma de Barcelona, 45 p.

Simonazzi M., Pezzolesi L., Galletti P., Gualandi C., Pistocchi R., De Marco N., Paganelli Z., Samorì C. (2021) Production of polyhydroxybutyrate by the cyanobacterium cf. *Anabaena* sp. *International Journal of Biological Macromolecules*, 191: 92–99

Shrivastav A., Mishra S.K., Mishra S. (2010) Polyhydroxyalkanoate (PHA) synthesis by *Spirulina subsalsa* from Gujarat coast of India. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(2): 255–260

Stanier R. Y., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G. (1971) Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales). *Bacteriological Reviews*, 35(2): 171–205

Tan D., Wang Y., Tong Y., Chen G.-Q. (2021) Grand challenges for industrializing polyhydroxyalkanoates (PHAs). *Trends in Biotechnology*, 39(9): 953–963

Temina M., Rezankova H., Rezanka T., Dembitsky V.M. (2007) Diversity of the fatty acid of the *Nostoc* species and their statistical analysis. *Microbiological Research*, 162(4): 308–321

Vargas M. A., Rodriguez H., Moreno J., Olivares H., Del Campo J. A., Rivas J., Guerrero M. G. (1998) Biochemical composition and fatty acid content of filamentous nitrogen-fixing cyanobacteria. *Journal of Phycology*, 34(5): 812–817

World Data Centre for Microorganisms. Algae Culture Collection of Siberia N 936 (2009) <https://ccinfo.wdcm.org/details?regnum=936>

Yogeswar M., Valle N., Nagarajan A. (2023) Cyanobacteria as a source of biodegradable plastics. *Cyanobacteria – recent advances and new perspectives*. Tiwari A. (ed.) London, IntechOpen, p. 1–28