

УДК 579.222

Ю. Г. Максимова^{a,b}, Е. Ю. Бурлуцкая^b

^a Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, Пермь, Россия

^b Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

НАКОПЛЕНИЕ ПОЛИГИДРОКСИАЛКАНОАТОВ В КЛЕТКАХ РОДОКОККОВ ПРИ НЕСБАЛАНСИРОВАННОМ РОСТЕ

Определено общее содержание полигидроксиалканоев (ПГА) в клетках штаммов бактерий рода *Rhodococcus* при периодическом двухстадийном росте на полноценной и лимитированной по источнику азота или фосфора среде культивирования с разными источниками углерода. Методом фазово-контрастной световой микроскопии изучена морфология бактериальных клеток при несбалансированном росте. Не было обнаружено значимых различий в накоплении этих запасных питательных веществ как при росте изученных штаммов на разных источниках углерода, так и на средах, лимитированных по азоту или фосфору. Показано, что *R. ruber* П5-8 накапливает наибольшее количество ПГА на среде, лимитированной по фосфору, при росте на бутирате и ацетате натрия в качестве источника углерода – 312.5 и 466.7 мкг/мг соответственно. При росте *R. ruber* П5-8 на среде, дефицитной по азоту, отмечается заметное изменение морфологии, которое выражается в неравномерных утолщениях клеток. Наибольшее накопление биомассы *R. ruber* П5-8 (до 9.4 мг АСБ/мл) наблюдается при росте на среде, лимитированной по фосфору, с бутиратом натрия в качестве источника углерода.

Ключевые слова: полигидроксиалканоев; родококки; цитоплазматические включения; запасные питательные вещества; морфология бактериальной клетки.

Yu. G. Maksimova^{a,b}, E. Yu. Burlutskaya^b

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch RAS, Perm, Russian Federation

^b Perm State University, Perm, Russian Federation

POLYHYDROXYALKANOATES ACCUMULATION IN RHODOCOCCUS CELLS UNDER UNBALANCED GROWTH

The total content of polyhydroxyalkanoates (PHA) in *Rhodococcus* cells under periodic two-stage growth on balanced and limited by source of nitrogen or phosphorus culture medium with different carbon sources was determined. Morphology of bacterial cells under unbalance growth was studied by the method of phase-contrast light microscopy. The objects of the study were the strains of bacteria of the *Rhodococcus* genus. There were no significant differences in the accumulation of these nutrients during growth of these strains on various carbon sources, and on media limited by nitrogen or phosphorus. It is shown that *R. ruber* P5-8 accumulates maximum of PHA on the medium limited by phosphorus, when grown on butyrate and sodium acetate as a carbon source – 312.5 and 466.7 µg / mg, respectively. Under growth of *R. ruber* P5-8 on a medium deficient in nitrogen, there is a marked change in morphology, which is expressed in irregular thickening of the cell. The highest accumulation of *R. ruber* P5-8 biomass (9.4 mg / ml) was observed during growth on a medium limited by phosphorus and sodium butyrate as a carbon source.

Key words: polyhydroxyalkanoates; *Rhodococcus*; cytoplasmic inclusions; reserve nutrients; morphology of bacterial cells.

Полигидроксиалканоев (ПГА) – это полимеры гидроксипроизводных алкановых кислот, внутриклеточные углеродсодержащие запасные питательные вещества, продуцируемые бактериями более чем 90 родов в условиях несбалансированного роста, лимитированного по источнику азота или фосфора в присутствии избытка соединений углерода [Волова, Шишацкая, 2011; Możejko-

Ciesielska, Kiewisz, 2016]. Интерес к изучению ПГА связан с возможностью их использования как биodeградебельных, биосовместимых термопластиков, в качестве альтернативы полимерам, производимым нефтехимической промышленностью [Anderson, Dawes, 1990; Sudesh, Abe, Doi, 2000; Colombo et al., 2016; Ke et al., 2016]. *Ralstonia eutropha* (ранее известный как *Wautersia eutropha*;

Alcaligenes eutrophus) – микроорганизм-суперпродукент, который способен аккумулировать ПГА в количестве 80% от абсолютно сухой биомассы [Anderson, Dawes, 1990; Sudesh, Abe, Doi, 2000; Волова и др., 2007]. Он используется в промышленном масштабе для производства биodeградебельного термопластика [Волова, Шишацкая, 2011].

Способность к накоплению ПГА известна у представителей большого количества родов микроорганизмов из разнообразных экологических ниш – деструкторов углеводов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Sphingobacterium*, *Brochothrix*, *Caulobacter*, *Ralstonia*, *Burkholderia*, *Yokenella* [Dalal et al., 2010]; галофилов *Halobacterium*, *Haloferax*, *Halomonas*, *Haloarcula* [Quillaguamran et al., 2010; Saharan, Grewal, Kumar, 2014]; фотосинтетиков – цианобактерий [de Philippis et al., 1992; Nishioka et al., 2001; Panda, Sharma, Mallick, 2005]; ризосферных бактерий *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Sinorhizobium*, *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium* [Trainer, Charles, 2006; Ratcliff, Kadam, Denison, 2008]; стрептомицетов – продуцентов антибиотиков [Mapna, Banerjee, Paul, 1999]; светящихся бактерий [Бояндин и др., 2008]; бактерий аэробного и анаэробного активного ила [Bengtsson et al., 2008; Venkateswar Reddy et al., 2012; Venkateswar Reddy, Venkata Mohan, 2012; Cavaillé et al., 2013; Lee et al., 2015; Cha et al., 2016]. В то же время незаслуженно мало внимания уделяется изучению биосинтеза ПГА у актинобактерий рода *Rhodococcus*, известных своим биodeградативным потенциалом и способностью к росту на различных углеводородных субстратах [Ившина, Пшеничнов, Оборин, 1987; Соляникова и др., 2010; Ившина и др., 2011]. Только единичные работы посвящены изучению биосинтеза ПГА и генов, вовлеченных в метаболизм этих соединений у родококков [Pieper, Steinbuchel, 1992; Anderson et al., 1995; Hernández et al., 2008; Matias et al., 2009].

Известно, что при недостатке в среде культивирования элементов, необходимых для синтеза компонентов бактериальной клетки, избыток углеродных субстратов приводит к накоплению в ней запасных питательных веществ. Синтез и деградация ПГА в нормальных условиях происходят одновременно, поэтому, чтобы достигнуть эффективной аккумуляции этих веществ, ферменты биосинтеза ПГА должны быть индуцированы, тогда как деградации – ингибированы [Kim, Park, Lee, 1996]. Однако не до конца ясно, какое сочетание лимитированных и избыточных элементов в среде культивирования способно привести к максимальному накоплению ПГА в клетках родококков. При этом интересен вопрос о предпочтительном углеродном субстрате, наличие которого в среде культивирования приводит к максимальному синтезу ПГА у различных групп микроорганизмов. Так, есть сведения, что таким субстратом может являться бутират [Marang et al., 2013]. Также механизм образо-

вания запасных питательных веществ часто изучается у культур микроорганизмов, растущих на простых, легко биodeградируемых субстратах, таких как ацетат или глюкоза [Biros et al., 2014].

В связи с этим, целью настоящей работы являлось сравнение уровня накопления ПГА в клетках бактерий рода *Rhodococcus* при росте на содержащих различные источники углерода средах, лимитированных по азоту или фосфору.

Материалы и методы исследования

Бактериальные штаммы *Rhodococcus erythropolis* ПЗ-8, 4-1, 6-21 и *R. ruber* П5-8, изолированные из почв Пермского края и способные к гидролизу и синтезу сложных эфиров [Осипова, Ремезовская, Максимов, 2015], культивировали последовательно на среде 1 и среде 2. Среда 1 служила для накопления биомассы и была сбалансирована по источникам углерода, азота и фосфора. Она состояла из минеральной основы, содержащей (г/л): KH_2PO_4 – 1.0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$ – 1.6; NaCl – 0.5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.5, микроэлементы CaCl_2 – 0.005; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.01; $\text{CoCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$ – 0.01; pH 7.2±0.2. Источником азота являлся 0.01 М хлорид аммония, источниками углерода – глюкоза (0.1%), сахароза (0.1%), ацетат натрия (0.02 М), бутират натрия (0.1 М). Среда 2 служила для синтеза ПГА и была дефицитной по азоту, в этом случае представляла собой минеральную основу, как в среде 1, без источника азота с глюкозой (5%), сахарозой (5%), ацетатом натрия (0.2 М), бутиратом натрия (0.5 М) в качестве источников углерода. В случае дефицитной по фосфору среды 2 ее основой был физиологический раствор (0.9%-ный хлорид натрия), содержащий микроэлементы, как в среде 1, и хлорид аммония (0.01 М). Концентрация источников углерода соответствовала таковой безазотистой среды.

Культивирование проводили в колбах Эрленмейера объемом 100 мл в 50 мл среды 1 в течение 5 дней при температуре 25°C на шейкере со скоростью перемешивания 140 об/мин, затем переносили в стерильные центрифужные пробирки, центрифугировали 20 мин. при 10 000 g, отмывали однократно от среды стерильным физиологическим раствором, и вносили 10 мл среды 2. Культивировали в тех же условиях еще 5 дней, центрифугировали, высушивали биомассу до постоянного веса и определяли общее содержание ПГА.

Биомассу гидролизуют в концентрированной серной кислоте на водяной бане при температуре 100°C в течение часа, концентрацию кротоновой кислоты определяли спектрофотометрически при 235 нм по калибровочному графику, построенному по оптической плотности кротоновой кислоты возрастающей концентрации, которая была получена в тех же условиях из поли[(R)-3-гидроксибутирата] (Sigma-Aldrich, Германия).

Контролем служили культуры, выращенные в течение суток на полноценной среде Лурия-

Бертани (LB).

Микрофотографии получали в световом микроскопе Leica DM LS (Германия) с фазовым контрастом при увеличении 1000 раз.

Статистическую обработку проводили с использованием непараметрического Т-критерия Вилкоксона и U-критерия Манна-Уитни с использованием пакета стандартных программ Statistica 10.0 ("StatSoft Inc.", 2012). Различия считали значимыми при $p < 0.05$.

Результаты и их обсуждение

Изучено накопление ПГА в клетках родококков при двустадийном выращивании. Среда, сбалансиро-

ванная по источникам питания, способствовала накоплению биомассы, в то время как перенос в среду, лимитированную по одному из источников питания, приводил к накоплению ПГА в клетках. Наибольшее количество ПГА было накоплено в клетках *R. ruber* П5-8 при росте на среде, лимитированной по фосфору, с ацетатом или бутиратом натрия в качестве источников углерода (табл. 1). При вычислении U-критерия Манна-Уитни было определено, что накопление ПГА только у *R. ruber* П5-8 при росте на не сбалансированных по азоту и фосфору средах значимо отличается от других штаммов ($U_{\text{min}} = 11-13$, $p < 0.05$).

Таблица 1

Накопление ПГА у родококков при росте на средах, лимитированных по азоту и фосфору, мкг/мл

Источники угле- рода	Штаммы			
	<i>R. erythropolis</i> П3-8	<i>R. erythropolis</i> 4-1	<i>R. ruber</i> П5-8	<i>R. erythropolis</i> 6-21
Среда, лимитированная по азоту				
Ацетат натрия	109.0 ± 33.5	62.2 ± 3.4	88.2 ± 14.3	128.5 ± 35.9
Бутират натрия	70.5 ± 0.0	67.4 ± 0.0	64.1 ± 0.0	41.1 ± 0.0
Глюкоза	60.3 ± 4.4	60.1 ± 4.9	77.6 ± 6.9	64.7 ± 3.5
Сахароза	84.3 ± 3.5	120.1 ± 33.2	85.5 ± 7.8	66.6 ± 3.4
Среда, лимитированная по фосфору				
Ацетат натрия	36.5 ± 0.0	40.7 ± 0.0	466.7 ± 0.0	40.8 ± 0.0
Бутират натрия	31.0 ± 0.0	58.9 ± 0.0	312.5 ± 0.0	31.1 ± 0.0
Глюкоза	84.2 ± 0.0	70.1 ± 0.0	64.1 ± 0.0	67.2 ± 0.0
Сахароза	57.1 ± 0.0	73.7 ± 0.0	124.0 ± 0.0	57.3 ± 0.0
Среда LB				
Полноценная среда	31.1 ± 2.1	38.6 ± 12.8	62.5 ± 5.9	42.5 ± 2.7

Сравнивали влияние различных источников углерода при росте на несбалансированных средах на накопление ПГА в клетках родококков. При вычислении Т-критерия Вилкоксона не было обнаружено значимых различий в накоплении этих запасных питательных веществ как при росте изученных штаммов на разных источниках углерода, так и между образованием ПГА в клетках на среде, лимитированной по азоту, и среде, лимитированной по фосфору. Наименьший р-уровень значимости составлял 0.068 при сравнении содержания ПГА в клетках родококков, выращенных на LB и среде без азота с глюкозой, сахарозой и ацетатом, без фосфора с глюкозой и сахарозой.

Была изучена морфология клеток штаммов *R. erythropolis* 4-1 и *R. ruber* П5-8 на 5-е сутки культивирования на среде 2, лимитированной по азоту или фосфору, с бутиратом или ацетатом натрия в качестве источников углерода (рис. 1–10). В клетках *R. ruber* П5-8 на среде, лимитированной как по азоту, так и по фосфору, как на бутирате, так и на ацетате натрия, в клетках заметны опалесцирующие включения ПГА (рис. 7–10). Заметное изменение морфологии *R. ruber* П5-8 отмечается при росте на среде, дефицитной по азоту (рис. 7, 8). Клетки имеют неравномерные утолщения, палочки неровные, не наблюдаются длинных ветвящихся клеток. Однако у *R. erythropolis* 4-1 опа-

лесцирующие включения отмечены только при росте на лимитированной по азоту среде (рис. 2, 3). Значительного изменения морфологии клеток этого штамма не выявлено ни при росте без азота, ни при культивировании на бесфосфорной среде (рис. 2–5).

При сравнении урожая клеток (табл. 2) было показано, что максимальная биомасса может быть получена при двустадийном росте *R. ruber* П5-8 на сбалансированной среде с бутиратом натрия как источником углерода, с переносом биомассы на среду, лимитированную по источнику фосфора, с бутиратом натрия, добавленным в избытке. Остальные значения, отражающие накопление биомассы, были близки у изученных штаммов при росте на вышеперечисленных вариантах питательных сред.

Таблица 2

Урожай биомассы на несбалансированных средах, мг АСБ/мл

Вещество	<i>R. erythropolis</i> 4-1	<i>R. ruber</i> П5-8
Среда, лимитированная по азоту		
Ацетат натрия	0.28	0.24
Бутират натрия	0.56	0.55
Глюкоза	0.44	0.43
Сахароза	0.24	0.64

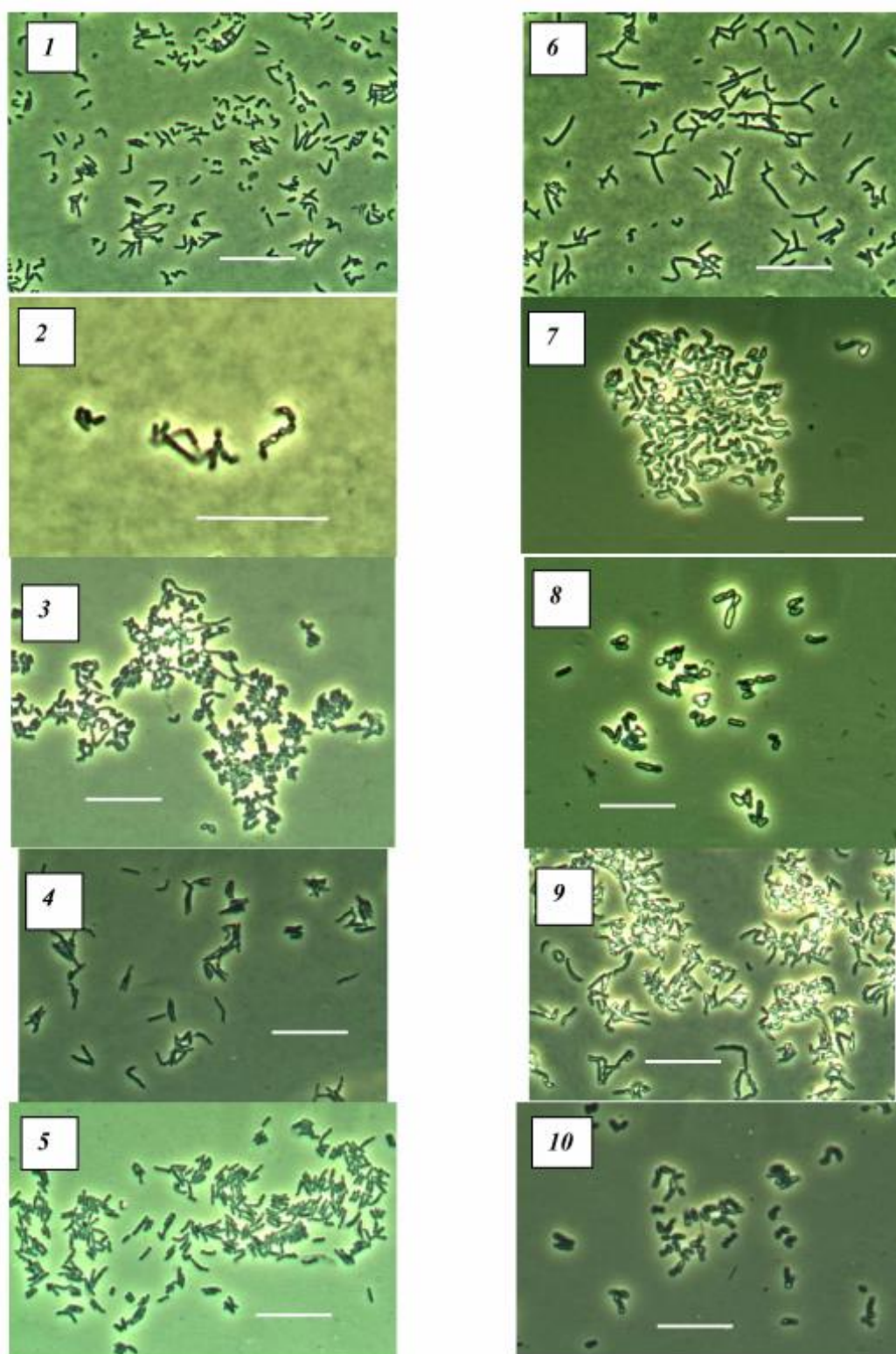


Рис. 1–10. Морфология *R. erythropolis* 4-1 (1–5) и *R. ruber* П5-8 (6–10) при росте на полноценной (LB) (1, 6) и лимитированной по азоту (2, 3, 7, 8) или фосфору (4, 5, 9, 10) средах с бутиратом натрия (2, 4, 7, 9) или ацетатом натрия (3, 5, 8, 10).

Масштабная линейка соответствует 20 мкм

Окончание табл. 2

Вещество	<i>R. erythropolis</i> 4-1	<i>R. ruber</i> П5-8
Среда, лимитированная по фосфору		
Ацетат натрия	1.70	2.83
Бутират натрия	2.29	9.41
Глюкоза	1.54	2.22
Сахароза	1.78	0.60

Таким образом, наиболее перспективным штаммом из изученных является *R. ruber* П5-8, накапливающий наибольшее количество ПГА на среде, лимитированной по фосфору. Также у этого штамма отмечаются заметные изменения морфологии клетки, связанные, по-видимому, с ростом на несбалансированной среде, и наибольшее накопление биомассы при росте на среде с бутиратом натрия, лимитированной по фосфору.

Работа поддержана Комплексной программой Уральского отделения РАН (0426-2015-0028), проект № 15-4-4-26 «Биосинтез и биокаталитическая трансформация полимерных соединений».

Библиографический список

- Бояндин А.Н. и др. Синтез резервных полигидроксиалканоев светящимися бактериями // Микробиология. 2008. Т. 77, № 3. С. 364–369.
- Волова Т.Г. и др. Биосинтез многокомпонентных полигидроксиалканоев бактериями *Wautersia eutropha* // Микробиология. 2007. Т. 76, № 6. С. 797–804.
- Волова Т.Г., Шницацкая Е.И. Разрушаемые биополимеры: получение, свойства, применение. Красноярск, 2011. 392 с.
- Вашина И.Б. и др. Биокатализаторы многофункционального назначения на основе ресурсного потенциала коллекции алканотрофов // Инновационные биотехнологии в странах ЕвразЭС. Минск, 2011. С. 105–119.
- Вашина И.Б., Пшеничников Р.А., Оборин А.А. Пропанокисляющие родококки. Свердловск, 1987. 125 с.
- Осипова И.А., Ремезовская И.Б., Максимов А.Ю. Биотрансформации, катализируемые эстеразами в гетерогенных системах // Российский иммунологический журнал. 2015. Т. 9(18), № 2(1). С. 744–746.
- Солженикова И.И. и др. Бактерии рода *Rhodococcus* – перспективные деструкторы устойчивых поллютантов для очистки сточных вод // Вода: химия и экология. 2010. № 4. С. 18–26.
- Anderson A.J., Dawes E.A. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates // Microbiological reviews. 1990. Vol. 54, № 4. P. 450–472.
- Anderson A.J. et al. Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in *Rhodococcus ruber* // Canadian Journal of Microbiology. 1995. Vol. 41 (Suppl. 1). P. 4–13.
- Bengtsson S. et al. Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater // Bioresource Technology. 2008. Vol. 99, № 3. P. 509–516.
- Biros Y. et al. Effect of acetate to biomass ratio on simultaneous polyhydroxybutyrate generation and direct microbial growth in fast growing microbial culture // Bioresource Technology. 2014. Vol. 171. P. 314–322.
- Cavaillé L. et al. Polyhydroxybutyrate production by direct use of waste activated sludge in phosphorus-limited fed-batch culture // Bioresource Technology. 2013. Vol. 149. P. 301–309.
- Cha S.-h. et al. Characterization of polyhydroxyalkanoates extracted from wastewater sludge under different environmental conditions // Biochemical Engineering Journal. 2016. Vol. 112. P. 1–12.
- Colombo B. et al. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production from fermented cheese whey by using a mixed microbial culture // Bioresource Technology. 2016. Vol. 218. P. 692–699.
- Dalal J. et al. Evaluation of bacterial strains isolated from oil-contaminated soil for production of polyhydroxyalkanoic acids (PHA) // Pedobiologia. 2010. Vol. 54, № 1. P. 25–30.
- Hernández M.A. et al. Biosynthesis of storage compounds by *Rhodococcus jostii* RHA1 and global identification of genes involved in their metabolism // BMC Genomics. 2008. Vol. 9. P. 600–614.
- Ke Y. et al. Reactive blends based on polyhydroxyalkanoates: Preparation and biomedical application // Materials Science and Engineering C. 2016. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.114>.
- Kim T.-W., Park J.-S., Lee Y.-H. Enzymatic characteristics of biosynthesis and degradation of poly-β-hydroxybutyrate of *Alcaligenes latus* // Journal of Microbiology and Biotechnology. 1996. Vol. 6, № 6. P. 425–431.
- Lee W.S. et al. Strategy for the biotransformation of fermented palm oil mill effluent into biodegradable polyhydroxyalkanoates by activated sludge // Chemical Engineering Journal. 2015. Vol. 269. P. 288–297.
- Manna A., Banerjee R., Paul A.K. Accumulation of poly(3-hydroxybutyric acid) by some soil Streptomyces // Current Microbiology. 1999. Vol. 39, № 3. P. 153–158.
- Matias F. et al. Polyhydroxyalkanoates production by actinobacteria isolated from soil // Canadian Journal of Microbiology. 2009. Vol. 55. P. 790–800.
- Marang L. et al. Butyrate as preferred substrate for polyhydroxybutyrate production // Bioresource Technology. 2013. Vol. 142. P. 232–239.
- Mozejko-Ciesielska J., Kiewisz R. Bacterial polyhydroxyalkanoates: Still fabulous? // Microbiological Research. 2016. Vol. 192. P. 271–282.
- Nishioka M. et al. Production of poly-β-hydroxybutyrate by thermophilic cyanobacterium, *Synechococcus* sp. MA19, under phosphate-limited conditions // Biotechnology Letters. 2001. Vol. 23, № 14. P. 1095–1099.
- Panda B., Sharma L., Mallick N. Poly-β-hydroxybutyrate accumulation in *Nostoc muscorum* and *Spirulina platensis* under phosphate limitation // Journal of Plant Physiology. 2005. Vol. 162, № 12. P. 1376–

- 1379.
- de Philippis R. et al. Factors affecting poly- β -hydroxybutyrate accumulation in cyanobacteria and in purple non-sulfur bacteria // *FEMS Microbiology Reviews*. 1992. Vol. 103, № 2–4. P. 187–194.
- Pieper U., Steinbüchel A. Identification, cloning and sequence analysis of the poly(3-hydroxyalkanoic acid) synthase gene of the gram-positive bacterium *Rhodococcus ruber* // *FEMS Microbiology Letters*. 1992. Vol. 75, № 1. P. 73–79.
- Quillaguaman J. et al. Synthesis and production of polyhydroxyalkanoates by halophiles: current potential and future prospects // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2010. Vol. 85, № 6. P. 1687–1696.
- Ratcliff W.C., Kadam S.V., Denison R.F. Poly-3-hydroxybutyrate (PHB) supports survival and reproduction in starving rhizobia // *FEMS Microbiology Ecology*. 2008. Vol. 65, № 3. P. 391–399.
- Saharan B.S., Grewal A., Kumar P. Biotechnological production of polyhydroxyalkanoates: a review on trends and latest developments // *Chinese Journal of Biology*. 2014. URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/802984>.
- Sudesh K., Abe H., Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters // *Progress in Polymer Science*. 2000. Vol. 25. P. 1503–1555.
- Trainer M.A., Charles T.C. The role of PHB metabolism in the symbiosis of rhizobia with legumes // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2006. Vol. 71, № 4. P. 377–386.
- Venkateswar Reddy M. et al. *Pseudomonas otitidis* as a potential biocatalyst for polyhydroxyalkanoates (PHA) synthesis using synthetic wastewater and acidogenic effluents // *Bioresource Technology*. 2012. Vol. 123. P. 471–479.
- Venkateswar Reddy M., Venkata Mohan S. Influence of aerobic and anoxic microenvironments on polyhydroxyalkanoates (PHA) production from food waste and acidogenic effluents using aerobic consortia // *Bioresource Technology*. 2012. Vol. 103, № 1. P. 313–321.
- ### References
- Boyandin A.N. et al. [Synthesis of reserve polyhydroxyalkanoates by luminous bacteria]. *Microbiologiya*. V. 77 No. 3 (2008): pp. 364–369. (In Russ.)
- Volova T.G. et al. [Biosynthesis of multicomponent polyhydroxyalkanoates by *Wautersia eutropha*]. *Microbiologiya*. V. 76 No. 6 (2007): pp. 797–804. (In Russ.)
- Volova T.G., Shishatskaya E.I. *Razrušaemye polimery: polučenie, svojstva, primenenie* [Destructible biopolymers: production, properties, applications]. Krasnoyarsk, 2011. 392 p. (In Russ.)
- Ivshina I.B. et al. [Multi-purpose biocatalysts based on resource potential of alcanotrophic's collection]. *Innovacionnye biotekhnologii v stranach EvrAzES* [Innovative biotechnology in EurAsEC countries]. Minsk, 2011, pp. 105–119. (In Russ.)
- Ivshina I.B., Pshenichnov R.A., Oborin A.A. *Propanokisljajušće rodokokki* [Propane oxidising *Rhodococcus*]. Sverdlovsk, 1987. 125 p. (In Russ.)
- Osipova I.A., Remezovskaya N.B., Maksimov A.Yu. [Esterase-catalyzed biotransformation in heterogeneous systems] *Rossijskij immunologičeskij žurnal*. V. 9(18) No. 2(1) (2015): pp. 744–746. (In Russ.)
- Solyanikova I.P. et al. [Bacteria of the *Rhodococcus* genus – promising destructors of stable pollutants for sewage treatment]. *Voda: chimija i ekologija*. No. 4 (2010): pp. 18–26. (In Russ.)
- Anderson A.J., Dawes E.A. Occurrence, metabolism, metabolic role, and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiological reviews*. V. 54 No. 4 (1990): pp. 450–472.
- Anderson A.J., Williams D.R., Dawes E.A., Ewing D.F. Biosynthesis of poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) in *Rhodococcus ruber*. *Canadian Journal of Microbiology*. V. 41 (Suppl. 1) (1995): pp. 4–13.
- Bengtsson S., Werker A., Christensson M., Welander T. Production of polyhydroxyalkanoates by activated sludge treating a paper mill wastewater. *Bioresource Technology*. V. 99 No. 3 (2008): pp. 509–516.
- Biros Y., Cokgor E.U., Yaşar N., Pala-Ozkok I., Cakar Z.P., Sozen S., Orhon D. Effect of acetate to biomass ratio on simultaneous polyhydroxybutyrate generation and direct microbial growth in fast growing microbial culture. *Bioresource Technology*. V. 171 (2014): pp. 314–322.
- Cavaillé L., Grousseau E., Pocquet M., Lepeuple A.-S., Uribebarrea J.-L., Hernandez-Raquet G., Paul E. Polyhydroxybutyrate production by direct use of waste activated sludge in phosphorus-limited fed-batch culture. *Bioresource Technology*. V. 149 (2013): pp. 301–309.
- Cha S.-h., Son J.-h., Jamal Y., Zafar M., Park H.-s. Characterization of polyhydroxyalkanoates extracted from wastewater sludge under different environmental conditions. *Biochemical Engineering Journal*. V. 112 (2016): pp. 1–12.
- Colombo B. et al. Polyhydroxyalkanoates (PHAs) production from fermented cheese whey by using a mixed microbial culture. *Bioresource Technology*. V. 218 (2016): pp. 692–699.
- Dalal J., Sarma P.M., Lavania M., Mandal A.K., Lal B. Evaluation of bacterial strains isolated from oil-contaminated soil for production of polyhydroxyalkanoic acids (PHA). *Pedobiologia*. V. 54 No. 1 (2010): pp. 25–30.
- Hernández M.A. et al. Biosynthesis of storage compounds by *Rhodococcus jostii* RHA1 and global identification of genes involved in their metabolism. *BMC Genomics*. V. 9 (2008): pp. 600–614.
- Ke Y. et al. Reactive blends based on polyhydroxyalkanoates: Preparation and biomedical application. *Materials Science and Engineering C*. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2016.03.114>.
- Kim T.-W., Park J.-S., Lee Y.-H. Enzymatic characteristics of biosynthesis and degradation of poly- β -hydroxybutyrate of *Alcaligenes latus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. V. 6 No. 6 (1996): pp. 425–431.
- Lee W.S., Chua A.S.M., Yeoh H.K., Nittami T., Ngho G.C. Strategy for the biotransformation of fermented

- palm oil mill effluent into biodegradable polyhydroxyalkanoates by activated sludge. *Chemical Engineering Journal*. V. 269 (2015): pp. 288-297.
- Manna A., Banerjee R., Paul A.K. Accumulation of poly(3-hydroxybutyric acid) by some soil Streptomyces. *Current Microbiology*. V. 39 No. 3 (1999): pp. 153-158.
- Matias F., Bonatto D., Padilla G., de Andrade Rodrigues M.F., Henriques J.A.P. Polyhydroxyalkanoates production by actinobacteria isolated from soil. *Canadian Journal of Microbiology*. V. 55 (2009): pp. 790-800.
- Marang L., Jiang Y., van Loosdrecht M.C.M., Kleerebezem R. Butyrate as preferred substrate for polyhydroxybutyrate production. *Bioresource Technology*. V. 142 (2013): pp. 232-239.
- Mozejko-Ciesielska J., Kiewisz R. Bacterial polyhydroxyalkanoates: Still fabulous? *Microbiological Research*. V. 192 (2016): pp. 271-282.
- Nishioka M., Nakai K., Miyake M., Asada Y., Taya M. Production of poly- β -hydroxybutyrate by thermophilic cyanobacterium, *Synechococcus* sp. MA19, under phosphate-limited conditions. *Biotechnology Letters*. V. 23 No. 14 (2001): pp. 1095-1099.
- Panda B., Sharma L., Mallick N. Poly- β -hydroxybutyrate accumulation in *Nostoc muscorum* and *Spirulina platensis* under phosphate limitation. *Journal of Plant Physiology*. V. 162 No. 12 (2005): pp. 1376-1379.
- de Philippis R., Ena A., Guastini M., Sili C., Vincenzini M. Factors affecting poly- β -hydroxybutyrate accumulation in cyanobacteria and in purple non-sulfur bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*. V. 103 No. 2-4 (1992): pp. 187-194.
- Pieper U., Steinbüchel A. Identification, cloning and sequence analysis of the poly(3-hydroxyalkanoic acid) synthase gene of the gram-positive bacterium *Rhodococcus ruber*. *FEMS Microbiology Letters*. V. 75 No. 1 (1992): pp. 73-79.
- Quillaguamran J., Guzmán H., Van-Thuoc D., Hatti-Kaul R. Synthesis and production of polyhydroxyalkanoates by halophiles: current potential and future prospects. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 85 No. 6. 2010. P. 1687-1696.
- Ratcliff W.C., Kadam S.V., Denison R.F. Poly-3-hydroxybutyrate (PHB) supports survival and reproduction in starving rhizobia. *FEMS Microbiology Ecology*. V. 65 No 3 (2008): pp.391-399.
- Saharan B.S., Grewal A., Kumar P. Biotechnological production of polyhydroxyalkanoates: a review on trends and latest developments. *Chinese Journal of Biology*. 2014. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/802984>
- Sudesh K., Abe H., Doi Y. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. *Progress in Polymer Science*. V. 25 (2000): pp. 1503-1555.
- Trainer M.A., Charles T.C. The role of PHB metabolism in the symbiosis of rhizobia with legumes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 71 No. 4. (2006): pp. 377-386.
- Venkateswar Reddy M., Nikhil G.N., Venkata Mohan S., Swamy Y.V., Sarma P.N. Pseudomonas otitidis as a potential biocatalyst for polyhydroxyalkanoates (PHA) synthesis using synthetic wastewater and acidogenic effluents. *Bioresource Technology*. V. 123 (2012): pp. 471-479.
- Venkateswar Reddy M., Venkata Mohan S. Influence of aerobic and anoxic microenvironments on polyhydroxyalkanoates (PHA) production from food waste and acidogenic effluents using aerobic consortia. *Bioresource Technology*. V. 103 No. 1 (2012): pp. 313-321.

Поступила в редакцию 11.09.2016

Об авторах

Максимова Юлия Геннадьевна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии и биотехнологии ФГБУН Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН
614081, Пермь, ул. Голева, 13; maks@iegm.ru; (342)2124476

доцент кафедры микробиологии и иммунологии ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
614990, Пермь, ул. Букирева, 15

Бурлуцкая Елена Юрьевна, аспирант ФГБОУВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»
614990, Пермь, ул. Букирева, 15;
burlutskajalena@yandex.ru

About the authors

Maksimova Yuliya Gennad'evna, doctor of biology, senior scientist of the laboratory of molecular microbiology and biotechnology Institute of Ecology and Genetics of Microorganism UB RAS. 13, Golev str., Perm, Russia, 614081; maks@iegm.ru; (342)2124476
associate professor of the Department of Microbiology and Immunology Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990

Burlutskaya Elena Yur'evna, postgraduate student Perm State University. 15, Bukirev str., Perm, Russia, 614990; burlutskajalena@yandex.ru