

EMILIA MAŁKUSZ<sup>1</sup>, TERESA KRZYŚKO-ŁUPICKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*SKN Biotechnologów*

<sup>2</sup>*Inżynierii Środowiska i Biotechnologii*

*Uniwersytet Opolski*

*Kominka 6A, 45-035 Opole*

*E-mail: teresak@uni.opole.pl*

## GRZYBY ZIMNOLUBNE W BIODEGRADACJI KSENOBIOTYKÓW

### WSTĘP

Ksenobiotyki należą do trudnodegradowalnych, antropogennych substancji zanieczyszczających środowisko. Istotną rolę w ich biodegradacji przypisuje się mikroorganizmom mezofilnym, a głównie bakteriom. Znaczną część środowisk charakteryzuje temperatura poniżej 5°C, a mimo to zimne ekosystemy są zasiedlane przez przystosowane do tych warunków, psychrofilne i psychrotolerancyjne mikroorganizmy (HÄGGBLÖM i MARGESIN 2005). Dla psychrofilii optymalna temperatura wzrostu wynosi 15°C, a powyżej 20°C ich rozwój jest zahamowany. Natomiast optymalna i maksymalna temperatura wzrostu dla psychrotrofów to odpowiednio 20°C i 25°C (MORITA 1975). Te grupy mikroorganizmów cechuje nie tylko duża heterogeniczność, ale także różne środowiska bytowania. Są to zarówno miejsca o ustalonym zimnym klimacie, jak i takie, w których niskie temperatury występują okresowo (TURKIEWICZ 2006). Grzyby, oprócz tego, że podlegają ekstremalnie niskiej temperaturze, muszą przetrwać różne warunki stresowe, w tym powtarzające się cykle zamrażania i rozmrażania, narażenie na promieniowanie UV (głównie UV-B), małą wilgotność, duże zasolenie, niską dostępność składników odżywczych i wysychanie (HASSAN i współaut. 2016). Grzyby zimnolubne, aby przetrwać i ograniczyć negatywny wpływ niskich temperatur na reakcje biochemiczne, wykształciły wiele mechanizmów adaptacji na różnych poziomach organizacji komórki (HÄGGBLÖM i MARGESIN 2005). Jednym z mechanizmów przystosowawczych jest zwiększony udział nienasyconych reszt kwasów tłuszczowych w lipidach błonowych, m.in. kwasów arachido-

nowego i linolowego, które ułatwiają utrzymanie płynności błony komórkowej. Mikroorganizmy te mają także zdolność wytwarzania różnych substancji rozpuszczonych, głównie alkoholi cukrowych (polioli), np. glicerolu lub mannitolu, których główną funkcją jest osmoregulacja, a także ochrona przed uszkodzeniem poprzez obniżenie temperatury zamarzania płynu wewnątrzkomórkowego. Podobne działanie przypisuje się trehalozie. Dodatkowo w grzybach izolowanych głównie z terenów polarnych, stwierdzono obecność barwnika – melaniny, który chroni komórki przed stresem środowiskowym, głównie promieniowaniem UV (HASSAN i współaut. 2016). Istotnym elementem jest także przystosowanie białkowych struktur komórkowych do ekstremalnych warunków, m.in. enzymów. Budowa tych struktur wytwarzanych przez psychrofile i mezofile jest zbliżona, ale występują zmiany w strukturze drugorzędowej i większa elastyczność w przypadku psychrozymów. Grzyby w określonych warunkach mogą produkować charakterystyczne białka, m.in. zapobiegające zamrażaniu (ang. antifreeze protein, AFP), które adsorbują się na zarodkach kryształów lodu i nie pozwalają na ich dalszy rozwój, a to zabezpiecza komórki przed degradacją. Kolejne specyficzne białka to CSP (ang. cold shock proteins), których zadaniem jest zapoczątkowanie, a następnie kontrola odpowiedniej sekwencji transkrypcji i translacji w niskich temperaturach (TURKIEWICZ 2006).

Trudne warunki klimatyczne, niska wilgotność, niski stopień parowania i ograniczony dostęp do składników odżywczych powodują, że skażenia utrzymują się w środowisku przez wiele lat, a proces ich biodegradacji jest utrud-

niony (DE JESÚS i współaut. 2015). Biodegradacja to metaboliczna zdolność mikroorganizmów do przekształcania lub mineralizacji skażeń organicznych w mniej szkodliwe lub nieszkodliwe substancje, które są następnie włączane do naturalnych cykli biogeochemicznych (MARGESIN i SCHINNER 2001).

Rdzenne mikroorganizmy przystosowane do niskich temperatur odgrywają istotną rolę w biodegradacji ksenobiotyków w zimnych środowiskach, gdzie temperatury otoczenia często pokrywają się z zakresem temperatur ich wzrostu (MARGESIN i SCHINNER 2001). Dostępne wyniki dotychczasowych badań wskazują na zdolność grzybów psychrofilnych i psychrotroficznych do biodegradacji różnych ksenobiotyków, m.in.: fenolu, monocyklicznych węglowodorów aromatycznych, policyklicznych węglowodorów aromatycznych, węglowodorów alifatycznych i związków fosforoorganicznych (Tabela 1).

#### BIODEGRADACJA FENOLU ORAZ MONOCYKLICZNYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH

Środowiska charakteryzujące się zimnym klimatem lub tylko okresowym obniżeniem temperatur często skażone są fenolem i jego pochodnymi, ale nawet w tych warunkach grzyby są w stanie wykorzystywać te ksenobiotyki jako jedyne źródło węgla i energii (MARGESIN i współaut. 2005). Podczas tlenowej degradacji fenolu, dochodzi do jego orto-hydroksylacji do katecholu, przy udziale hydroksylazy fenolowej. Na ketachol kolejno oddziałuje 1,2-dioksygenaza katecholowa w szlaku orto rozszczepienia lub 2,3-dioksygenaza ketacholowa w szlaku meta rozszczepienia (GERGINOVA i współaut. 2013a, PATEL i współaut. 2017). Zbadano także inny sposób rozkładu fenolu; w drugim szlaku fenol jest najpierw przekształcany przez para-hydroksylację do hydrochinonu z udziałem hydroksylazy fenolowej, a kolejno hydroksylowany przez hydroksylazę hydrochinonu do 1,2,4-trihydroksybenzenu. Ostatnim etapem jest inicjacja rozpadu pierścieni przez enzym 1,2,4-dioksygenazę trihydroksybenzenową (GERGINOVA i współaut. 2013a).

Zdolność do wykorzystania fenolu jako jedyne źródła węgla wykazały grzyby wyizolowane z gleby antarktycznej (GERGINOVA i współaut. 2013a, LITOVA i współaut. 2014), a trzy z izolatów były zdolne do degradacji fenolu w ilości 0,5 g/dm<sup>3</sup>, w czasie do dwóch tygodni. Zidentyfikowano je jako *Aspergillus fumigatus* AL8, *Aspergillus fumigatus* AMA1102 i *Aspergillus fumigatus* AL9. Szczepy AMA1102 i AL9 charakteryzował podobny poziom zarówno hydroksylazy fenolowej, jak i hydroksylazy hydrochinonu, co może świadczyć o możliwości

jednoczesnej degradacji fenolu dwoma szlakami. Natomiast szczep AL8 cechujący się najlepszą wydajnością utylizacji fenolu, wykazywał jedynie aktywność hydroksylazy fenolowej. U wszystkich trzech szczepów szybkość degradacji fenolu korelowała z aktywnością 1,2-dioksygenazy katecholowej – im wyższa aktywność enzymu tym szybsze było rozszczepienie pierścienia (GERGINOVA i współaut. 2013a). Wyizolowano także inny szczep należący do tego samego gatunku – *Aspergillus fumigatus* AL3 i testowano go pod kątem wzrostu na podłożu z dodatkiem 0,3 g/dm<sup>3</sup> fenolu lub jego dwóch pochodnych: o-krezolu i ketacholu. Udowodniono, że szczep AL3 był zdolny do degradacji katecholu i o-krezolu, ale wolniej niż fenolu. Znaczące różnice w stężeniu hydroksylazy fenolowej pomiędzy substratami, świadczą o preferencji enzymu wobec fenolu w porównaniu z jego pochodnymi (GERGINOVA i współaut. 2013b). Wzrost tego szczepu oraz kilku innych (*Penicillium commune* AL2, *Penicillium coprobium* AL4, *Penicillium commune* AL5 i *Alternaria maritima* AL10), został także oceniony przy tym samym stężeniu ksenobiotyku, ale przy zmienionych temperaturach (10°C i 5°C). W wyższej temperaturze wszystkie testowane szczepy wykazywały zdolność do biodegradacji fenolu, a w bardziej ekstremalnych warunkach (5°C) tylko *P. commune* AL2 i *A. fumigatus* AL3 (LITOVA i współaut. 2014).

Poważnym zanieczyszczeniem wód pitnych, szczególnie w obszarze polarnym, są potencjalnie канцерогенне алкілофеноле, takie jak: 4-butylofenol (4-P), 4-sec-butylofenol (4-s-BP), 4-tertbutylofenol (4-t-BP), 4-nonylofenol (4-NP), 4-tert-oktylofenol (4-t-OP), 4-chlorofenol (4-CP), fenol, bisfenol A (BPA), benzen, toluen, ksylen, naftalen i fenantren. Ich źródłem są detergenty (CHANG i współaut. 2016). Oceniono zdolność szczepu *Penicillium* sp. CHY-2, wyizolowanego z gleby antarktycznej do metabolizowania toksycznych alkilofenoli, w temperaturach 4°C i 15°C w płynnych podłożach mineralnych z ksenobiotykami. Zanotowano duży wpływ temperatury na biodegradację; w cieplejszym środowisku wszystkie procesy rozkładu zachodziły szybciej i z większą wydajnością. W obu przypadkach *Penicillium* sp. CHY-2 metabolizował z wydajnością powyżej 50% takie związki jak: 4-t-BP, 4-s-BP, 4-t-BP, 4-P, 4-NP, 4-CP i fenol. Z największą wydajnością został rozłożony 4-t-BP, szeroko stosowany w przemyśle, m.in. do produkcji żywic fenolowych, poliwęglanowych i epoksydowych, a Tween 80 dodatkowo wpłynął na przyspieszenie tego procesu. Przeanalizowano także możliwość tego grzyba do oczyszczania sztucznie skażonej gleby 4-t-BP. Związek ten o stężeniu 50 mg/kg gleby został całkowicie zdegradowany w ciągu 21 dni, a w płynnym podłożu

Tabela 1. Psychrofilne i psychrotroficzne grzyby zdolne do biodegradacji ksenobiotyków.

GRZYB	BIODEGRADOWANY KSENOBIOTYKU	LITERATURA
GRZYBY STRZĘPKOWE		
<i>Alternaria maritima</i> AL10	Fenol, naftalen, antracen, fenantren	LITOVA i współaut. 2014, GERGINOVA i współaut. 2013c
<i>Aspergillus fumigatus</i> AL8 <i>Aspergillus fumigatus</i> AMA1102 <i>Aspergillus fumigatus</i> AL9	Fenol	GERGINOVA i współaut. 2013a
<i>Aspergillus fumigatus</i> AL3	Fenol, katechol, o-krezol	GERGINOVA i współaut. 2013b, LITOVA i współaut. 2014
<i>Geomyces pannorum</i> P15	Kwas fosfonooctowy (PA)	KLIMEK-OCHAB 2014
<i>Lecanicillium</i> AL12	Naftalen, antracen	GERGINOVA i współaut. 2013c
<i>Mortierella</i> sp.	Dodekan	HUGHES i współaut. 2007
<i>Mucor</i> sp. AL13	Naftalen, antracen	GERGINOVA i współaut. 2013c
<i>Penicillium commune</i> AL2 <i>Penicillium commune</i> AL5 <i>Penicillium coprobium</i> AL4	Fenol	LITOVA i współaut. 2014
<i>Penicillium</i> sp. CHY-2	4-butylofenol, 4-sec-butylofenol, 4-tert-butylofenol, 4-nonylofenol, 4-chlorofenol, fenol, naftalen, acenaften, dekan	CHANG i współaut. 2016, CHANG i współaut. 2020, GOVARTHANAN i współaut. 2017
<i>Penicillium waksmanii</i> AL14	Naftalen, antracen, fenantren	GERGINOVA i współaut. 2013c
<i>Penicillium rugulosum</i> AL7 <i>Penicillium</i> sp. AL11	Naftalen, antracen	
DROŹDŹE		
<i>Candida</i> sp.	Fenol, fenantren, antracen, heksadekan	MARGESIN i współaut. 2003
<i>Candida subhashii</i> <i>Candida oregonensis</i>	Fenol	FILIPOWICZ i współaut. 2017, 2020
<i>Cryptococcus terreus</i>	Fenol, ketachol, rezorycynol, hydrochinon, benzoesan, salicylan	BERGAUER i współaut. 2005, KRALLISH i współaut. 2006
<i>Exophiala macquariensis</i> sp. nov	Toluen	ZHANG i współaut. 2019
<i>Pichia caribbica</i>	Ropa naftowa, undekan, dodekan, tridekan, tetradekan	MARTORELL i współaut. 2017
<i>Rhodotorula creatinivora</i>	Fenol, ketachol, rezorycynol, hydrochinon, benzoesan, salicylan, p-krezol	BERGAUER i współaut. 2005, KRALLISH i współaut. 2006
<i>Rhodotorula</i> spp.	Fenol, fenantren, antracen, heksadekan	MARGESIN i współaut. 2003
<i>Rhodotorula ingeniosa</i>	Fenol, rezorycynol, hydrochinon, benzoesan, salicylan, m-krezol	BERGAUER i współaut. 2005
<i>Rhodotorula lusitaniae</i> <i>Rhodotorula psychrophila</i> sp. nov <i>Rhodotorula psychrophena</i> sp. nov <i>Rhodotorula glacialis</i> sp. nov	Fenol, ketachol, rezorycynol, hydrochinon, benzoesan	BERGAUER i współaut. 2005, MARGESIN i współaut. 2007
<i>Schizoblastosporion starkeyi-henricii</i>	Fenol	FILIPOWICZ i współaut. 2017, 2020
<i>Solicoccozyma terricola</i> M 3.1.4	Glifosat	STOSIEK i współaut. 2019
<i>Trichosporon dulcitum</i> <i>Urediniomycetes</i>	Fenol	MARGESIN i współaut. 2005
<i>Yarrowia lipolytica</i> RM7/11	Dodekan, heksadekan	MARGESIN i współaut. 2003

zawierającym 50 mg/dm<sup>3</sup> w czasie 7 dni. Można więc przypuszczać, że gleba nie zapewnia szczepowi CH-2 odpowiedniego kontaktu ze składnikami odżywczymi, ksenobiotykiem i tlenem, przez co rozkład trwa dłużej. Przeprowadzone analizy wskazują, że psychrofilny grzyb *Penicillium* sp. CHY-2 może być wykorzystywa-

ny do bioremediacji *in situ* zarówno wody, jak i gleby zanieczyszczonej alkilofenolami (z wyjątkiem toluenu) w środowiskach o obniżonej temperaturze (CHANG i współaut. 2016, 2020).

Wśród gatunków psychrofilnych i psychrotolerancyjnych zdolnych do biodegradacji fenolu i jego pochodnych oprócz grzybów strzępkow-

wych, wyróżnić można także szereg drożdży (Tabela 1).

ZHANG i współaut. (2019), wykorzystując zasadę, że podczas oksydacji węglowodorów aromatycznych przez mikroorganizmy bezbarwny indol utlenia się do czerwonego indoksyłu wykazali, że *Exophiala macquariensis* sp. nov, w temperaturze 10°C metabolizuje różne węglowodory, w tym także toluenu. Steżenie toluenu w próbie inokulowanej tymi drożdżami w ciągu 14 dni, w porównaniu do kontroli, ulegało obniżeniu o połowę (z 0,8 mg/dm<sup>3</sup> do 0,4 mg/dm<sup>3</sup>).

Z kolei MARGESIN i współaut. (2005) w podłożach mineralnych z fenolem, olejem napędowym i n-heksadekanem oceniali zdolność ich biodegradacji przy udziale zimnolubnych drożdży *Trichosporon dulcitum* i szczepu klasy Urediniomycetes (prawdopodobnie reprezentującego nowy gatunek). Wykazali oni, że *T. dulcitum* w niskiej temperaturze metabolizował jedynie fenol, a ponieważ rozwijał się także w temperaturze 25°C, uznano go za psychrotrafa. Z kolei drugi z badanych przez nich mikroorganizmów był typowym psychrofilem i w temperaturze 10°C wydajnie biodegradował fenol, a także olej napędowy. Drożdże rozkładały fenol o stężeniu nawet do 15 mM, przy udziale 1,2-dioksygenazy katecholowej. Natomiast żaden z testowanych szczepów nie biodegradował n-heksadekanu (MARGESIN i współaut. 2005).

W temperaturze 10°C zdolność do degradacji fenolu, etylobenzenu, hydrochinonu, rezorcynolu, benzoesanu, katecholu, salicylanu, izomerów ksylenu i krezolu przez 32 zimnolubne szczepy drożdży, wyizolowane ze środowisk alpejskich badali BERGAUER i współaut. (2005). Wzrost wszystkich szczepów był prawie całkowicie hamowany przez etylobenzen i trzy izomery ksylenu. Badane drożdże nie tolerowały żadnych wysoce lotnych związków monoaromatycznych jako jedyne źródła węgla, zaś nielotne i niskolotne związki aromatyczne były wykorzystywane przez wiele szczepów. Najlicniejsza grupa testowanych drożdży, bo 94% z nich metabolizowało fenol. Kolejno najczęściej wykorzystywanymi związkami były: hydrochinon, rezorcynol, benzoesan, katechol i salicylan. Kilka szczepów rozkładało *p*-krezol i *m*-krezol, lecz z małą wydajnością. Dużą wszechstronnością metaboliczną w tych badania wyróżniały się drożdże rodzaju *Rhodotorula* (*R. creatinivora*, *R. ingeniosa*, *R. lusitaniae*) i gatunku *Cryptococcus terreus*, zdolne do wykorzystywania jako jedyne źródła węgla od pięciu do siedmiu związków chemicznych (BERGAUER i współaut. 2005). Wychodząc z założenia, że immobilizacja komórek drożdży mogłaby je chronić i zapewniać stały wzrost i rozwój, a tym samym ciągłą biodegradację związku w środowisku (KRALLISH i współaut.

2006), trzy z testowanych szczepów (*Cryptococcus terreus* PB4, *Rhodotorula creatinivora* PB7 i *Rh. creatinivora* PB12) unieruchamiano na zeolicie i piasku filtracyjnym. Drożdże te immobilizowane na zeolicie w temperaturze 10°C efektywniej rozkładały fenol (w pożywce MSM z dodatkiem 200 mg/dm<sup>3</sup> fenolu) niż immobilizowane na piasku filtracyjnym.

Także MARGESIN i współaut. (2007) donoszą o wyizolowaniu trzech nowych, psychrofilnych gatunków drożdży rodzaju *Rhodotorula* (*R. psychrophila* sp. nov, *R. psychrophenolica* sp. nov i *R. glacialis* sp. nov). Wszystkie szczepy posiadały zdolność do wykorzystania fenolu, katecholu, rezorcynolu, hydrochinonu lub benzoesanu (w ilości 200 mg/dm<sup>3</sup>) jako jedyne źródła węgla. Różniły się jednak efektywnością metabolizowania fenolu w temperaturze 10°C. Największe stężenia fenolu, do 12,5 mM, tolerował tylko szczep *Rhodotorula psychrophila* sp. nov (MARGESIN i współaut. 2007).

Opisane dotychczas grzyby pochodziły ze środowisk skażonych przez działalność człowieka, które znajdowały się na terenach polarnych lub o ustalonym zimnym klimacie, ale psychrotrofy mogą występować także na obszarach o klimacie umiarkowanym. Przypuszcza się, że źródło grzybów biodegradujących mogą stanowić też gleby i wody niezanieczyszczone, a mikroorganizmy biodegradujące fenol pochodzący z natury będą również zdolne do rozkładu tego ksenobiotyku pochodzącego ze źródeł antropogenicznych. Z próbek środowiskowych pochodzących z torfowiska Rucianka wyizolowano i zidentyfikowano trzy szczepy drożdży psychrotolerancyjnych: *Candida subhashii* A011, *Candida oregonensis* B021 i *Schizoblastosporion starkeyi-henricii* L012, które w hodowlach wstrząsanych prowadzonych w temperaturze 18°C rozkładały fenol o stężeniach 500 i 750 mg/dm<sup>3</sup>, a szczepy A011 i L012 dodatkowo o stężeniu 1000 mg/dm<sup>3</sup>, w czasie nieprzekraczającym 2 dni (FILIPOWICZ i współaut. 2017). W tych drożdżach wykryto aktywność 1,2-dioksygenazy katecholowej i obecność kwasu cis,cis-mukonowego w analizowanych próbkach, z czego wynika, iż biodegradacja fenolu zachodziła na drodze orto-rozszczepiania. FILIPOWICZ i współaut. (2020) podają, że powstający podczas rozkładu produkt pośredni (kwas cis,cis-mukonowy) mógłby znaleźć zastosowanie jako substrat do produkcji m.in. tworzyw sztucznych (PET). Najwyższe stężenie tego kwasu (do 10 mg/dm<sup>3</sup>) wydziela się podczas biodegradacji prowadzonej przez *Candida oregonensis* B021. Ten szczep mógłby być także wykorzystany w procesach biotransformacji fenolu i katecholu (FILIPOWICZ i współaut. 2020).

## BIODEGRADACJA WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH (WWA)

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) stanowią uciążliwe i częste skażenia gruntów i wody. Amerykańska Agencja Ochrony Środowiska zakwalifikowała aż 16 z nich do substancji mutagennych i kancerogennych, wyznaczono dla nich także dopuszczalny zakres współczynników toksyczności (ang. toxicity equivalency factor, TEF). Kontrole stężenia tych związków w środowisku uznano za działania priorytetowe, m.in. ze względu na ich właściwości mutagenne i rakotwórcze, zdolność gromadzenia się w środowisku i trwałość (ACEVEDO i współaut. 2011, HUSSAR i współaut. 2012). Rozkład węglowodorów aromatycznych przez grzyby może odbywać się z udziałem różnych enzymów i zależy od konkretnego gatunku oraz jego uwarunkowań metabolicznych. Biodegradację WWA prowadzono głównie przy udziale mezofilnych grzybów ligninolitycznych i nieligninolitycznych, które metabolizują WWA (GHOSAL i współaut. 2016). Grzyby ligninolityczne przy udziale enzymów (peroksydazy ligninowej (LiP), peroksydazy manganowej (MnP) i lakazy) przekształcają WWA do pochodnych chinonowych, a kolejno dochodzi do rozszczepienia pierścienia aromatycznego i jego całkowitej biodegradacji (LIBUDZISZ i współaut. 2013, GHOSAL i współaut. 2016). W przypadku grzybów nieligninolitycznych katalizatorem biodegradacji WWA jest monooksygenaza zawierająca cytochrom P-450, wprowadzająca do pierścienia aromatycznego tylko jeden atom tlenu, drugi zaś jest redukowany do cząsteczki wody. W wyniku tej reakcji powstawał nietrwały i silnie toksyczny organiczny związek chemiczny, który w procesie nieenzymatycznym ulegał przekształceniu do fenoli, a przy udziale hydroksylazy epoksydowej – do trans-dihydrodiolu (GHOSAL i współaut. 2016).

GERGINOVA i współaut. (2013c) z gleby Antarktyki wyizolowali grzyby psychrotroficzne, gdyż w temperaturze 23°C ocenili ich zdolność do biodegradacji niskocząsteczkowych WWA: antracenu, naftalenu i fenantrenu. Tolerancja badanych szczepów na zastosowane WWA znacznie się różniła. Tylko *Alternaria maritima* AL10 i *Penicillium waksmanii* AL14 wykorzystywały każdy z badanych związków jako jedyne źródło węgla i energii. Do szczepów biodegradujących zarówno naftalen, jak i antracen należały: *Penicillium rugolusum* AL7, *Penicillium* sp. AL11, *Lecanicillium* AL12 i *Mucor* sp. AL13. Natomiast wiele grzybów rozkładało naftalen, co może wynikać z faktu, iż związek ten jest najprostszym i najlepiej rozpuszczalnym spośród WWA (GERGINOVA i współaut. 2013c).

Także GOVARTHANAN i współaut. (2017) z gleby antarktycznej wyizolowali szczep *Penicillium* sp. CHY-2 i w temperaturze 20°C oznaczyli jego uzdolnienia do degradacji naftalenu, acenaftenu i benzopirenu w pożywkach mineralnych. Związki te zastosowano w stężeniach 100 i 500 mg/dm<sup>3</sup>. W obecności niższego stężenia ksenobiotyków szczep ten wykazywał zdolność do biodegradacji naftalenu na poziomie 15,0%, acenaftenu – 10,0% i benzopirenu – 2,0%, a przy wyższym ich stężeniu wykazywał jedynie minimalną aktywność wobec naftalenu i benzopirenu (GOVARTHANAN i współaut. 2017).

Porównano także potencjał bakterii i drożdży zaadaptowanych do zimna, wyizolowanych z nieskażonych siedlisk, do wykorzystania węglowodorów ropopochodnych (w tym WWA) do wzrostu w temperaturze 10°C. Zdolność do wykorzystania WWA wykazało 13% z 61 szczepów bakteryjnych i 21% (dla fenantrenu) lub 32% (dla antracenu) z 28 testowanych szczepów drożdży. Lepszy wzrost w obecności tych ksenobiotyków wykazywały bakterie, a jedynie drożdże *Rhodotorula* spp. i *Candida* sp. mogły rosnąć w obecności wszystkich węglowodorów użytych w eksperymencie, a więc fenantrenu i antracenu (z grupy WWA) oraz heksadekanu i fenolu. Dodatkowo zaobserwowano u nich brak czynności metabolicznych w temperaturach powyżej 20°C, a więc można je zaliczyć do psychrofilii (MARGESIN i współaut. 2003).

## BIODEGRADACJA WĘGLOWODORÓW ALIFATYCZNYCH

Rozkład węglowodorów alifatycznych w szczególności badany jest ze względu na ich obfitość w mieszaninie ropy naftowej, która składa się prawie wyłącznie z alkanów i cykloalkanów (tzw. nafteny). Wyciek ropy naftowej jest jednym z największych potencjalnych zagrożeń środowiskowych również na Antarktydzie, ponieważ stała się ona najczęściej wykorzystywanym paliwem (STALLWOOD i współaut. 2005, DACCÒ i współaut. 2020). Skażenia węglowodorami są bardziej trwałe w niskiej temperaturze, co wynika ze zmniejszonej ich lotności i parowania oraz dostępności dla mikroorganizmów, co znacznie hamuje ich aktywność degradacyjną (WONG i współaut. 2021). Rozkład alkanów odbywa się poprzez hydroksylację, najczęściej jest to utlenianie terminalne, a czasami subterminalne, które jest katalizowane przez monooksygenazy. W kolejnym etapie aktywność dehydrogenazy alkoholowej powoduje utlenienie alkoholi do aldehydów, które pod wpływem dehydrogenazy alkoholowej ulegają przekształceniu do kwasów tłuszczowych, a te są rozkładane poprzez -oksydację. Alkeny są hydroksylowane zazwyczaj w miejscu podwójnego wiązania, po czym

ich rozkład odbywa się tak, jak metabolizm alkanów (LIBUDZISZ i współaut. 2013). Brak dostatecznego rozeznania wpływu na środowisko antarktyczne węglowodorów i oleju opałowego oraz roli grzybów strzępkowych w ich biodegradacji stało się przesłanką do prowadzenia licznych badań.

Na podstawie przyrostu biomasy grzyba *Mortierella* sp. w podłożu z dodekanem jako jedynym źródłem węgla, w porównaniu do kontroli (podłoże z glukozą), HUGHES i współaut. (2007) stwierdzili, iż mikroorganizm wykazywał zdolność do jego biodegradacji.

Kolejnym grzybem strzępkowym o szerokich możliwościach metabolicznych jest *Penicillium* sp. CHY-2, który wykazywał zdolność do biodegradacji WWA, ale z większą wydajnością rozkładał alkanę, a szczególnie dekan. Rozkład dekanu o stężeniu 100 mg/dm<sup>3</sup> w mineralnej pożywce przyspieszał dodatek glukozy i Tween-80 w ilości 5 g/dm<sup>3</sup>. Po 28 dobach inkubacji w temperaturze 20°C wydajność biodegradacji wynosiła 75%, a w temperaturze 10°C – 61%. Zanotowano także aktywność metaboliczną wobec dekanu nawet w 4°C, chociaż ubytek był zdecydowanie niższy. Dodatkowo dowiedziono, że enzymem biorącym udział w biodegradacji przez *Penicillium* sp. CHY-2 była peroksydaza manganozależna (MnP) (GOVARTHANAN i współaut. 2017).

Zdolność do biodegradacji alkanów, takich jak heksadekan i dodekan, wykazano także dla drożdży i bakterii psychrofilnych. Doświadczenie przeprowadzono w 10 cm<sup>3</sup> płynnego podłoża mineralnego z dodatkiem 1 g/dm<sup>3</sup> heksadekanu lub dodekanu i 250 l gęstej zawiesiny komórek drobnoustrojów. Po inkubacji w 10°C, określono wzrost mikroorganizmów. Do biodegradacji heksadekanu zdolne były 22 szczepy drożdży, a w tych samych warunkach niewiele mikroorganizmów metabolizowało dodekan. Najefektywniej dekompozycję przeprowadzał szczep *Yarrowia lipolytica* RM7/11, który po 8 dniach rozłożył 39,9% dodekanu i 35,4% heksadekanu. Szczep ten także w niskich temperaturach (od 0 do 20°C) skutecznie degradował olej napędowy (MARGESIN i współaut. 2003). Komórki drożdży *Pichia caribbica*, wyizolowane z Antarktydy, także przyswajały różnego rodzaju n-alkany. Badania przeprowadzono w podłożu płynnym do którego dodano po 1% ropy naftowej, undekanu, dodekanu, tridekanu lub tetradekanu i inkubowano w temperaturze 15°C. Wspomniany szczep degradował wszystkie węglowodory, co korelowało z aktywnością enzymów: amylaz, celulaz, lipaz, proteaz, pektynaz, ksylanaz i esteraz (MARTORELL i współaut. 2017). Wzmoczoną produkcję lipaz i esteraz, już we wcześniejszych badaniach, wiązano ze zdolnością do biodegradacji węglowodorów (MARGESIN i FELLER 2010).

## BIODEGRADACJA ZWIĄZKÓW FOSFONOORGANICZNYCH

Związki fosfonoorganiczne (fosfoniany), to substancje organiczne, które są pochodnymi kwasu fosforowego (III). Charakteryzują się obecnością kowalencyjnego wiązania C-P odporne na degradację chemiczną (hydrolityczną), termiczną lub fotolityczną. Z tego względu preferowaną metodą ich utylizacji jest biodegradacja. Ilość ksenobiotyków fosfonoorganicznych jest obecnie znacznie większa od liczby znanych, naturalnych połączeń fosfonowych, gdyż m.in. ze względu na zdolność chelatowania jonów metali mają szerokie zastosowanie w przemyśle jako środki antykorozyjne, substancje przeciwdziałające tworzeniu się kamienia kotłowego w systemach chłodniczych i grzewczych lub jako dodatki do kosmetyków, środków piorących i czyszczących (ROTT i współaut. 2018). Inną, cenną cechą pochodnych fosfonowych jest aktywność biologiczna; są inhibitorami enzymów należących do różnych klas i wykazują działanie antimikrobiologiczne, dlatego stosowane są jako pestycydy i leki (ORSINI i współaut. 2010, TUSEK-BOŻIĆ 2013).

Biodegradacja związków fosfonowych zachodzi na drodze różnych przemian biochemicznych i zależy od struktury substancji fosfonowej i metabolizmu mikroorganizmów, głównie mezofilnych. W większości przypadków mechanizmy te zostały opisane dla bakterii, a w przypadku grzybów, chociaż wiadomo, że pewne przemiany zachodzą analogicznie do tych typowych dla bakterii, szlaki biodegradacji fosfonianów wymagają wyjaśnienia. Początkowo uważano, że mikrobiologiczna degradacja fosfonianów zachodzi tylko w warunkach ograniczenia fosforanów, za pośrednictwem liazy C-P, pod kontrolą regulonu Pho, którego ekspresja następuje tylko podczas głodu fosforanowego. Jednak nowsze badania wykazały niezależny od regulonu Pho rozkład trzech biogennych fosfonianów: kwasu 2-aminoetylofosforowego (cyliatyna), kwasu fosfonoctowego (PA) i kwasu 2-amino-3-fosfonopropionowego (fosfonoalanina) przez środowiskowe bakterie, wytwarzające fosfonohydrolazy. Rozkład przez hydrolazę fosfonoctanową jest wyjątkowy, ponieważ jest indukowany przez substrat, a jego ekspresja jest niezależna od dostępności fosforu. Enzymy te są w stanie funkcjonować w warunkach, w których liazy C-P są nieaktywne i mogą odgrywać dotychczas nierozpoznaną rolę w rozkładzie fosfonianów w środowisku (QUINN i współaut. 2007). W badaniach modelowych jako substrat wykorzystano kwas fosfonoctowy (PA) i bakterie *Pseudomonas fluorescens* 23F i wykazano, że hydroliza PA do octanu i nieorganicznego fosforanu jest katali-

zowana przez zależną od cynku hydrolazę fosfonooctową (MCMULLAN i QUINN 1994).

W przeciwieństwie do bakteryjnych hydrolaz fosfonooctanowych, enzym wytwarzany przez mezofilny grzyb *Penicillium oxalicum* nie wymagał ani nie był stymulowany przez dwuwartościowe kationy (KLIMEK-OCHAB i współaut. 2003). Wykazano także, że psychrofilny szczep grzyba *Geomyces pannorum* P15 był w stanie wykorzystać PA jako źródło fosforu w sposób niezależny od fosforanów, ale nie udało się zbadać enzymów zaangażowanych w ten szlak. Brak wykrywalnej aktywności hydrolazy fosfonooctanowej może sugerować obecność enzymów podobnych, tolerujących zimno lub działanie całkowicie nowych enzymów zaangażowanych w rozkład PA przez psychrofile (KLIMEK-OCHAB 2014).

Do grupy fosfonianów zalicza się m.in. glifosat [N-(fosfonometylo)glicyna; FMG], będący substancją czynną herbicydu Roundup™ o szerokim spektrum działania, który w 1974 r. do obrotu wprowadziła firma Monsanto Chemical. Herbicyd był pierwotnie używany do zwalczania chwastów w uprawach roślin oraz wokół linii energetycznych i torów kolejowych, jednak po rozpowszechnieniu nasion Roundup Ready™, użycie środka znacznie wzrosło (RICHMOND 2018). Uważano, iż N-(fosfonometylo)glicyna jest nieszkodliwa dla całej biocenozy oraz nie gromadzi się w wodzie i glebie, jednak w ostatnich latach substancja ta została sklasyfikowana jako potencjalnie rakotwórcza, a przeprowadzone badania udowadniają, iż wraz z produktami rozkładu jest niebezpieczna dla wszystkich istot żywych (BAI i OGBOURNE 2016).

Rozkład mikrobiologiczny FMG jest najlepszą metodą usuwania herbicydu, jednak okres półtrwania tego związku w glebie zależy m.in. od warunków klimatycznych, rodzaju gruntu i aktywności biodegradacyjnej mikroorganizmów (STOSIEK i współaut. 2019). Mikroorganizmy mezofilne mogą wykorzystywać glifosat jako jedyne źródło fosforu, węgla i azotu. Obecny stan wiedzy wskazuje, że FMG może ulegać biotransformacji w wyniku różnych przemian enzymatycznych. Intensywne wykorzystywanie herbicydów na bazie FMG oraz liczne kontrowersje wywołane ich stosowaniem doprowadziły do przeprowadzania wielu szczegółowych badań nad biodegradacją FMG i opisem trzech szlaków rozkładu (ZHAN i współaut. 2018, SINGH i współaut. 2020).

Jednym ze szlaków jest konwersja glifosatu do AMPA (kwasu aminometylofosfonowego) i glioksyłanu poprzez rozszczepienie wiązania C-N przez oksydoreduktazę glifosatu (GOX). Glioksyłan zwykle wchodzi w cykl kwasów tricarbonsylnych jako substrat energetyczny dla większości bakterii rozkładających FMG. Nato-

miast AMPA może być: uwalniany do środowiska i wykazuje potencjalną toksyczność; dalej metabolizowany do metyloaminy i fosforanu przez C-P wiązkę lub najpierw metabolizowany do fosfonoformaldehydu przez transaminazę, a następnie przekształcany w fosforan i formaldehyd w celu dalszego metabolizmu przez fosfatazę (szlak fosfatazy). Ten ostatni szlak jest nadal hipotezą, ponieważ żaden z jego enzymów nie został wyizolowany ani scharakteryzowany. Drugim szlakiem degradacji jest metabolizm glifosatu do fosforanów i sarkozyny poprzez bezpośrednie rozszczepienie wiązania C-P, katalizowane przez wiązkę C-P. Fosforan może być wykorzystany przez inne drobnoustroje, a sarkozyna pod wpływem oksydazy sarkozynowej, może być dalej metabolizowana do glicyny i formaldehydu. Glicyna jest następnie metabolizowana przez mikroorganizmy, a formaldehyd rozkładany jest do CO<sub>2</sub> i NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (BORGGAARD i GIMSING 2008). W tym przypadku produkty końcowe nie są toksyczne dla środowiska. Trzeci szlak degradacji polega na N-acetylowaniu glifosatu przy udziale acetylotransferazy glifosatu i powstaniu acetyloglifosatu (SHUSHKOVA i współaut. 2016).

Wśród mikroorganizmów mezofilnych zdolnych do degradacji tego herbicydu zdecydowanie dominują bakterie (ZHAN i współaut. 2018) i nieliczne grzyby mezofilne, głównie z rodzajów *Penicillium*, *Aspergillus*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Fusarium* i *Mucor* (BUJACZ i współaut. 1995, KRZYŚKO-LUPICKA i ORLIK 1997, KRZYŚKO-LUPICKA i współaut. 1997, KLIMEK i współaut. 2001, ADELOWO i współaut. 2014, CARRANZA i współaut. 2017, FU i współaut. 2017).

Nadal mało jest doniesień o grzybach psychrofilnych czy psychrotolerancyjnych zdolnych do rozkładu FMG. STOSIEK i współaut. (2019), z gleby z uprawy borówki amerykańskiej w województwie lubelskim, wyizolowali szczepy zimnolubnych drożdży. Ponieważ temperatura gleb w Polsce w ciągu roku wynosi od 0,4 do 25,2°C na powierzchni oraz od 3,2 do 20,7°C w głębszych partiach założono, że można wyizolować drożdże, które są w stanie bytować i metabolizować w temperaturze 10°C, ale nie wyższej niż 25°C. Hodowle badanych szczepów drożdży prowadzono w podłożu z FMG jako jedynym źródłem fosforu i/lub azotu w temperaturze 10°C, a stopień degradacji FMG oceniano metodą LC-MS (chromatografia cieczowa w połączeniu ze spektrometrią mas). Zdolność do biodegradacji glifosatu wykazywał szczep sklasyfikowany jako *Solicocozyma terricola* M 3.1.4, który rozkładał FMG w szlaku AMPA (przy udziale oksydoreduktazy glifosatu (GOX)). Chociaż VILLAMAR-AYALA i współaut (2019) podają, że w warunkach naturalnych głównym szlakiem biodegradacji jest szlak AMPA, a w laboratoryjnych szlak sarko-

zynowy. Grzyby mogą przeprowadzić degradację FMG zarówno z tworzeniem AMPA, jak i sarkozyny (uznawanym za główny szlak degradacji), ale NJOKU i współaut (2020) także zidentyfikowali szczepy grzybów zdolne do degradacji glifosatu poprzez szlak GOX ze względu na obecność metabolitu AMPA.

## PODSUMOWANIE

Na tle powyższych rozważań zasadne wydaje się stwierdzenie, iż grzyby należące do psychrofilii i psychrotrofów mogą skutecznie przeprowadzać biodegradację ksenobiotyków. Rozwój przemysłu, w szczególności sektora chemicznego, prowadzi do pojawiania się na rynku nowych substancji, które cechują się trwałością, toksycznością, ale także opornością na biodegradację. Ksenobiotyki przedostając się do środowiska mogą się w nim kumulować i stanowić zagrożenie zarówno dla roślin, jak i dla zwierząt. Wśród nich dominują takie substancje jak: pestycydy, rozpuszczalniki, farby, tworzywa sztuczne czy różnego rodzaju mieszaniny węglowodorów alifatycznych i aromatycznych. To wszystko sprawiło, iż poszukuje się metod biologicznego usuwania tych ksenobiotyków, które będą jak najmniej ingerowały w ekosystemy, a jednocześnie okażą się skuteczne (MARCHUT-MIKOŁAJCZYK i współaut. 2013, JAIN i współaut. 2005). Psychrofile i psychrotrofy, a także wytwarzane przez nie substancje znajdują szerokie zastosowanie m.in. w przemyśle spożywczym, kosmetykach, detergentach, farmaceutykach, krioprotektantach i biotransformacji, a co najważniejsze, można je stosować w bioremediacji (TURKIEWICZ 2006, RAFIQ i współaut. 2019). Pomimo tego, iż bioremediacja z wykorzystaniem bakterii została dużo lepiej zbadana, to grzyby mogą być lepszymi kandydatami do rozkładu np. węglowodorów (MARGESIN i współaut. 2005, WONG i współaut. 2021). Dzięki intensyfikacji w ostatnich latach badań naukowych nad gatunkami zaadaptowanymi do zimna, wyizolowano już szereg grzybów, które są potencjalnymi kandydatami do wykorzystania w bioremediacji zarówno na terenach o klimacie okołobiegunowym, jak i umiarkowanym.

### Streszczenie

Ilość szkodliwych ksenobiotyków w ekosystemach nieustannie się zwiększa ze względu na dużą dostępność i wykorzystanie detergentów, pestycydów, farmaceutyków, rozpuszczalników czy ropy naftowej. Takie substancje chemiczne jak: fenol, monocykliczne węglowodory aromatyczne, policykliczne węglowodory aromatyczne, węglowodory alifatyczne i związki fosfonoorganiczne są wyjątkowo trwałe w niskich temperaturach ze względu na zwiększoną gęstość i mniejszą biodostępność. Jednym ze skutecznych sposobów oczyszczania środowiska może być bioremediacja opierająca się na biologicznym rozkładzie skażeń, czyli

ich przekształcaniu przez mikroorganizmy w mniej szkodliwe lub nieszkodliwe formy. Dotychczas wykorzystywano głównie bakterie mezofilne, jednak badania dowodzą, że także grzyby oraz drożdże psychrofilne i psychrotroficzne mogą skutecznie przeprowadzać biodegradację ksenobiotyków. Zdolność tą przypisuje się między innymi gatunkom z rodzajów: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Geomyces*, *Lecanicillium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Penicillium*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Exophiala*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Schizoblastosporion*, *Solicocozyma*, *Trichosporon* oraz *Yarrowia*. Wymienione mikroorganizmy są potencjalnymi kandydatami do bioremediacji zanieczyszczeń pomimo tego, iż dla niektórych gatunków nie zbadano kompleksu enzymatycznego zaangażowanego w rozkład ksenobiotyków.

## LITERATURA

- ACEVEDO F., PIZZUL L., CASTILLO M. P., CUEVAS R., DIEZ M. C., 2011. *Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by the Chilean white-rot fungus Anthracophyllum disco lor.* J. Haz. Mat. 185, 212-219.
- ADELOWO F. E., OLU-AROTIOWA O. A., AMUDA O. S., 2014. *Biodegradation of glyphosate by fungi species.* Adv. Biosci. Bioeng. 2, 104-118.
- BAI S.H., OGBOURNE S.M., 2016. *Glyphosate: environmental contamination, toxicity and potential risks to human health via food contamination.* Environ. Sci. Pollut. Res. 23, 18988-19001.
- BERGAUER P., FONTEYNE P-A., NOLARD N., SCHINNER F., MARGESIN R., 2005. *Biodegradation of phenol and phenol-related compounds by psychrophilic and cold-tolerant alpine yeasts.* Chemosphere 59, 909-918.
- BORGGGAARD O. K. GIMSING A. L., 2008. *Fate of Glyphosate in Soil and the Possibility of Leaching to Ground and Surface Waters: A Review.* Pest. Manag. Sci. 64, 441-456.
- BUJACZ E., WIECZOREK P., KRZYŚKO-ŁUPICKA T., GOŁA Z., LEJCZAK B., KAFARSKI P., 1995. *Organophosphate Utilization by the Wild-Type Strain of Penicillium notatum.* Appl. Environ. Microbiol. 61, 2905-2910.
- CARRANZA C. S., BARBERIS C. L., CHIACCHIERA S. M., MAGNOLI C. E., 2017. *Assessment of growth of Aspergillus spp. from agricultural soils in the presence of glyphosate.* Rev. Argent. Microbiol. 49, 384-393.
- CHANG Y. C., FUZISAWA S., REDDY M. V., KOBAYASHI H., YOSHIDA E., YAJIMA Y., HOSHINO T., CHOI D. B., 2016. *Degradation of toxic compounds at low and medium temperature conditions using isolated fungus.* CLEAN-Soil, Air, Water 44, 1-9.
- CHANG Y. C., ONODERA R., REDDY M. V., 2020. *Degradation of 4-tert-butylphenol in contaminated soil using Penicillium sp. CHY-2 isolated from pristine Antarctica.* Water-Energy Nexus 3, 11-14.
- DACCÒ C., GIROMETTA C., ASEMOLOYE M. D., CARPANI G., PICCO A. M., TOSI S., 2020. *Key fungal degradation patterns, enzymes and their applications for the removal of aliphatic hydrocarbons in polluted soils: a review.* Int. Biodeterior. Biodegrad. 147, 1-11.
- DE JESÚS H. E., PEIXOTO R. S., ROSADO A. S., 2015. *Bioremediation in Antarctic soils.* J. Pet. Environ. Biotechnol. 6, 1-11.
- FILIPOWICZ N., MOMOTKO M., BOCZKAJ G., PAWLIKOWSKI T., WANARSKA M., CIEŚLIŃSKI H., 2017. *Isolation and characterization of phenol-degrading psychrotolerant yeasts.* Water Air Soil Pollut. 228, 210, 1-16.



- FILIPOWICZ N., MOMOTKO M., BOCKAJ G., CIEŚLIŃSKI H., 2020. Determination of phenol biodegradation pathways in three psychrotolerant yeasts, *Candida subhashii* A011, *Candida oregonensis* B021 and *Schizoblastosporion starkeyi-henricii* L012, isolated from Ruciánka peatland. *Enzyme Microb. Technol.* 141, 1-10.
- FU G.-M., CHEN Y., LI R.-Y., YUAN X.-Q., LIU C. M., LI B., WAN Y., 2017. Pathway and rate-limiting step of glyphosate degradation by *Aspergillus oryzae* A-F02. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 47, 782-788.
- GERGINOVA M., MANASIEV J., YEMENDZHIEV H., TERZIYSKA A., PENEVA N., ALEXIEVA Z., 2013a. Biodegradation of phenol by Antarctic strains of *Aspergillus fumigatus*. *Z. Naturforsch. C. J. Biosci.* 68, 384-393.
- GERGINOVA M., PENEVA N., KRASTANOV A., ZLATKA A., 2013b. Analysis of key enzymes involved in the degradation of catechol and o-cresol by *Aspergillus fumigatus* strain AL3, isolated from the antarctic soil. *Scientific Works Volume Lx Food Science, Engineering And Technology 2013*, 1483-1485.
- GERGINOVA M., PENEVA N., KRUMOVA E., ALEXIEVA Z., 2013c. Biodegradation ability of fungal strains isolated from Antarctic towards PAH. [W:] *Proceedings of the 13th International Conference of Environmental Science and Technology*. Sept 5-7, Athens, Greece, 1-9.
- GHOSAL D., GHOSH S., DUTTA T. K., AHN Y., 2016. Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Front. Microbiol.* 7, 1-27.
- GOVARTHANAN M., FUZISAWA S., HOSOGAIA T., CHANG Y.-H., 2017. Biodegradation of aliphatic and aromatic hydrocarbons using the filamentous fungus *Penicillium* sp. CHY-2 and characterization of its manganese peroxidase activity. *RSC Adv.* 7, 20716-20723.
- HASSAN N., RAFIQ M., HAYAT M., SHAH A., HASAN F., 2016. Psychrophilic and psychrotrophic fungi: a comprehensive review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 15, 147-172.
- HÄGGBLOM M., MARGESIN R., 2005. Microbial life in cold ecosystems. *FEMS Microbiol. Ecol.* 53, 1-2.
- HUGHES K. A., BRIDGE P., CLARK M. S., 2007. Tolerance of Antarctic fungi to hydrocarbons. *Sci. Total Environ.* 372, 539-548.
- HUSSAR E., RICHARDS S., LIN Z. Q., DIXON R. P., JOHNSON K. A., 2012. Human health risk assessment of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons in soils of Chattanooga, Tennessee, USA. *Water Air Soil Pollut.* 223, 5535-5548.
- JAIN R. K., KAPUR M., LABANA S., LAL B., SARMA P. M., BHATTACHARYA D., THAKUR I. S., 2005. Microbial diversity: application of microorganisms for the biodegradation of xenobiotics. *Curr. Sci.* 89, 101-112.
- KLIMEK M., LEJCZAK B., KAFARSKI P., FORLANI G., 2001. Metabolism of the phosphonate herbicide glyphosate by a non-nitrate-utilizing strain of *Penicillium chrysogenum*. *Pest. Manag. Sci.* 57, 815-821.
- KLIMEK-OCHAB M., 2014. Phosphate-independent utilization of phosphonoacetic acid as sole phosphorus source by a psychrophilic strain of *Geomyces pannorum* P15. *Folia Microbiol.* 59, 375-380.
- KLIMEK-OCHAB M., LEJCZAK B., FORLANI G., 2003. Metal-independent hydrolase from a *Penicillium oxalicum* strain able to use phosphonoacetic acid as the only phosphorus source. *FEMS Microbiol. Lett.* 222, 205-209.
- KRALLISH I., GONTA S., SAVENKOVA L., BERGAUER P., MARGESIN R., 2006. Phenol degradation by immobilized coldadapted yeast strains of *Cryptococcus terreus* and *Rhodotorula creatinivora*. *Extremophiles* 10, 441-449.
- KRZYŃSKO-LŪPICKA T., ORLIK A., 1997. Use of glyphosate as the sole source of phosphorus or carbon for the selection of soil-borne fungal strains capable to degrade this herbicide. *Chemosphere* 34, 2601-2605.
- KRZYŃSKO-LŪPICKA T., STROF W., KUBŚ K., SKORUPA M., WIECZOREK P., LEJCZAK B., KAFARSKI P., 1997. The ability of soil-borne fungi to degrade organophosphonate carbon-to-phosphorus bonds. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48, 549-552.
- LIBUDZISZ Z., KOWAL K., ŻAKOWSKA Z., 2013. *Mikrobiologia techniczna, t. 2*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- LITOVA K., GERGINOVA M., PENEVA N., MANASIEV J., ALEXIEVA Z., 2014. Growth of Antarctic fungal strains on phenol at low temperatures. *J. BioSci. Biotech. SE/ONLINE*, 43-46.
- MCMULLAN G., QUINN J. P., 1994. *In vitro* characterization of a phosphate starvation-independent carbon-phosphorus bond cleavage activity in *Pseudomonas fluorescens* 23F. *J. Bacteriol.* 176, 320-324.
- MARCHUT-MIKOŁAJCZYK O., KWAPISZ E., ANTCZAK T., 2013. Enzymatyczna bioremediacja ksenobiotyków. *Inż. Ochr. Środ.* 16, 39-55.
- MARGESIN R., SCHINNER F., 2001. Biodegradation and bioremediation of hydrocarbons in extreme environments. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56, 650-663.
- MARGESIN R., FELLER G., 2010. Biotechnological applications of psychrophiles. *Environ. Technol.* 31, 835-844.
- MARGESIN R., GANDER S., ZACKE G., GOUNOT A. M., SCHINNER F., 2003. Hydrocarbon degradation and enzyme activities of cold-adapted bacteria and yeasts. *Extremophiles* 7, 451-458.
- MARGESIN R., FONTEYNE P.-A., REDL B., 2005. Low-temperature biodegradation of high amounts of phenol by *Rhodococcus* spp. and basidiomycetous yeasts. *Res. Microbiol.* 156, 68-75.
- MARGESIN R., FONTEYNE P.-A., SCHINNER F., SAMPAIO J. P., 2007. *Rhodotorula psychrophila* sp. nov., *Rhodotorula psychropholica* sp. nov. and *Rhodotorula glacialis* sp. nov., novel psychrophilic basidiomycetous yeast species isolated from alpine environments. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57, 2179-2184.
- MARTORELL M. M., RUBERTO L. A. M., FERNÁNDEZ P. M., CASTELLANOS DE FIGUEROA L. I., MAC CORMACK W. P., 2017. Bioprospection of cold-adapted yeasts with biotechnological potential from Antarctica. *J. Basic Microbiol.* 9999, 1-13.
- MORITA R.Y., 1975. Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 39, 144-167.
- NJOKU K. L., ELUDINI P. O., ADESUYI A. A., UDE E. O., OYELAMI A. O., 2020. Physiological and molecular characterization of active fungi in pesticides contaminated soils for degradation of glyphosate. *Res. Square*, 1-19.
- ORSINI F., SELLO G., SISTI M., 2010. Aminophosphonic acids and derivatives. *Synthesis and biological applications*. *Curr. Med. Chem.* 17, 264-289.
- PATEL A., SARTAJ K., ARORA N., PRUTHI V., PRUTHI P. A., 2017. Biodegradation of phenol via meta cleavage pathway triggers de novo TAG biosynthesis pathway in oleaginous yeast. *J. Hazard. Mater.* 340, 47-56.

- QUINN J. P., KULAKOVA A. N., COOLEY N. A., MCGRATH J. W., 2007. *New ways to break an old bond: the bacterial carbon-phosphorus hydrolases and their role in biogeochemical phosphorus cycling*. Environ. Microbiol. 9, 2392-2400.
- RAFIQ M., HASSAN N., REHMAN M., HASAN F., 2019. *Adaptation mechanisms and applications of psychrophilic fungi*. [W:] *Fungi in Extreme Environments: Ecological Role and Biotechnological Significance*. TIQUIA-ARASHIRO S. M., GRUBE M. (red.). Springer, Cham, 157-174.
- RICHMOND M. E., 2018. *Glyphosate: A review of its global use, environmental impact, and potential health effects on humans and other species*. J. Environ. Stud. Sci. 8, 416-434.
- ROTT E., STEINMETZ H., METZGER J. W. 2018. *Organophosphonates: A review on environmental relevance, biodegradability, and removal in wastewater treatment plants*. Sci. Total Environ. 615, 1176-1191.
- SHUSHKOVA T. V., VINOKUROVA N. G., BASKUNOV B. P., ZELENKOVA N. F., SVIRIDOV A. V., ERMAKOVA I. T., LEONTIEVSKY A., 2016. *Glyphosate acetylation as a specific trait of *Achromobacter* sp. K9 16 physiology*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 100, 847-855.
- SINGH S., KUMAR V., GILL J. P. K., DATTA S., SINGH S., DHAKA V., KAPOOR D., WANI A. B., DHANJAL D. S., KUMAR M., HARIKUMAR S. L., SINGH J., 2020. *Herbicide glyphosate: Toxicity and microbial degradation*. Int. J. Environ. Res. Public Health 17, 1-18.
- STALLWOOD B., SHEARS J., WILLIAMS P. A., HUGHES K. A., 2005. *Low temperature bioremediation of oil-contaminated soil using biostimulation and bioaugmentation with a *Pseudomonas* sp. from maritime Antarctica*. J. Appl. Microbiol. 99, 794-802.
- STOSIEK N., TEREBIENIEC A., ZĄBEK A., MIYNARZ P., CIEŚLIŃSKI H., KLIMEK-OCHAB M., 2019. *N-phosphonomethylglycine utilization by the psychrotolerant yeast *Solicoccozyma terricola* M 3.1.4*. Bioorg. Chem. 93, 1-9.
- TURKIEWICZ M., 2006. *Drobnoustroje psychrofilne i ich biotechnologiczny potencjał*. Kosmos 55, 307-320.
- TUŠEK-BOŽIĆ L. J., 2013. *Aminophosphonate metal complexes of biomedical potential*. Curr. Med. Chem. 20, 2096-2117.
- VILLAMAR-AYALA C. A., CARRERA-CEVALLOS J. V., VASQUEZ-MEDRANO R., ESPINOZA-MONTERO P. J., 2019. *Fate, eco-toxicological characteristics, and treatment processes applied to water polluted with glyphosate: A critical review*. Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. 49, 1476-1514.
- WONG R. R., LIM Z. S., SHAHARUDDIN N. A., ZULKHARNAIN A., GOMEZ-FUENTES C., AHMAD S. A., 2021. *Diesel in Antarctica and a bibliometric study on its indigenous microorganisms as remediation agent*. Int. J. Environ. Res. Public Health 18, 1-18.
- ZHAN H., FENG Y., FAN X., CHEN S., 2018. *Recent advances in glyphosate biodegradation*. Appl. Microbiol. Biot. 102, 5033-5043.
- ZHANG C., SIRIJOVSKI N., ADLER L., FERRARI B. C., 2019. **Exophiala macquariensis* sp. nov., a cold adapted black yeast species recovered from a hydrocarbon contaminated sub - Antarctic soil*. Fungal Biol. 123, 151-158.

**KOSMOS Vol. 71, 2, 135-144, 2022**

EMILIA MAŁKUSZ<sup>1</sup>, TERESA KRZYŚKO-ŁUPICKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Student Research Group of Biotechnologists, <sup>2</sup>Institute of Environmental Engineering and Biotechnology, University of Opole, 6A Kominka Str., 45-035 Opole, E-mail: teresak@uni.opole.pl

#### PSYCHROPHILIC FUNGI IN XENOBIOTICS BIODEGRADATION

##### Summary

The amount of harmful xenobiotics in ecosystems is constantly increasing due to the high availability and use of detergents, pesticides, pharmaceuticals, solvents, and crude oil. Chemicals such as phenol, monocyclic aromatic hydrocarbons, polycyclic aromatic hydrocarbons, aliphatic hydrocarbons, and organophosphorus compounds are extremely stable at low temperatures due to their increased density and lower bioavailability. One of the effective methods of environmental cleaning may be bioremediation, based on the biological decomposition of contaminants, that is their transformation by microorganisms into less harmful or harmless forms. Mainly mesophilic bacteria were used in this direction, but research shows that also psychrophilic and psychrotrophic fungi and yeasts can efficiently biodegrade xenobiotics. This ability is attributed, among others, to species of the genera: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Geomyces*, *Lecanicillium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Penicillium*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Exophiala*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Schizoblastosporion*, *Solicoccozyma*, *Trichosporon* and *Yarrowia*. These microorganisms are potential candidates for bioremediation of pollutants, despite the fact that for some species the enzyme complex involved in the degradation of xenobiotics has not been investigated.

Key words: biodegradation, fungi, psychrophiles, psychrotrophs, xenobiotics