

真菌降解环境中有毒芳香化合物的研究进展

王晶晶, 李为, 徐 昀 (合肥师范学院生命科学学院, 安徽合肥 241000)

摘要 综述了近年来真菌对环境中有机化学品, 尤其是有毒的芳香化合物降解的研究进展, 总结了已分离到的可降解有毒芳香化合物的真菌, 探讨了真菌适合于芳香化合物的生物修复和降解过程的内在机理, 其中包含了对芳香化合物的降解途径、作用机制及作用的酶系, 这些将有助于理解真菌参与的疾病发育机制, 并为新型治疗方法的建立提供参考。

关键词 真菌; 有毒芳香化合物; 降解

中图分类号 X172 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)10-0046-03

Research Progress on Fungal Degradation of Toxic Aromatic Compounds in the Environment

WANG Jing-jing, LI Wei, XU Yun (Faculty of Life Science, Hefei Normal College, Hefei, Anhui 241000)

Abstract This article reviewed the research progress of fungi on the degradation of organic chemicals, especially the toxic aromatic compounds, and summarized the fungi that degraded toxic aromatic compounds. The intrinsic mechanism of fungi suitable for bioremediation and degradation of aromatic compounds was explored, including the degradation pathway, action mechanism and enzyme system, which contributes to understand the mechanism of disease development in fungi and provides reference for the establishment of new treatments.

Key words Fungi; Aromatic compounds; Degradation

芳香化合物(Aromatic compounds)通常指一类结构中具有苯环的化合物, 因性质多样、种类繁多、化学性质稳定, 在人类的生活和生产等各方面都发挥重要作用, 如可以用作有机溶剂、染料、前体加工食品、医药、聚合物等。它们是一类难降解的有机污染物, 在环境中持久滞留并可生物富集。不同种类的芳香化合物分别参与了微生物细胞个体或群体的信号传递、生长发育和代谢等生理过程, 对环境中微生物的生命活动具有普遍影响。芳香化合物可通过多种途径进入外界环境, 不仅对自然界造成污染较大, 而且严重影响人类健康, 所以开发出高效的、环境友好型的降解芳香化合物的方法和途径已受到越来越多的关注^[1-2]。

真菌, 无论是单独作用还是和细菌或植物共同作用, 其都是生物技术来修复污染的土壤、水和空气的重要组成部分。至目前为止, 真菌的生物修复并不都是成功案例, 因为它往往忽视自身的生态要求, 利用一些有机体与细菌竞争生存在污染菌环境中。因此, 真菌在生物修复和废物处理中的潜在用途没有受到足够的关注。水生和陆地栖息的真菌长期暴露于人为释放的化学物质的环境中, 其以腐生菌、酵母、地衣共生物和菌根共同作用形成植物的根部, 它们也能够彼此联系形成内生菌根和外生菌根, 进而改变土壤的结构、理化性质以及植物的生长^[3]。笔者归纳总结了目前已分离到的可降解有毒芳香化合物的真菌和种属, 重点探讨了其降解有毒芳香化合物的内在机理, 以期进一步理解真菌参与的疾病发育机制, 并为新型治疗方法的建立提供参考。

1 参与芳香化合物代谢的真菌

1.1 子囊菌 子囊菌是水生和陆生环境中最大的真菌类群, 约占真菌数量的64%, 其中分布最广的是盘菌亚门, 其可以降解环境中的有机污染物^[4]。例如, 着色芽生菌

(*Cladophialophora*) 和外瓶霉(*Exophiala*) 可以吸收甲苯^[5]; 曲霉属(*Aspergillus*) 和青霉菌(*Penicillium* spp.) 可以降解脂肪烃、氯代酚、多环芳烃、农药、合成染料和三硝基甲苯等^[3,6-8]; 冬虫夏草(*Cordyceps*)、镰刀霉(*Fusarium*)、假阿利什霉菌(*Pseudallescheria* spp.) 可以降解二恶英^[6,9]; 除子囊菌亚门(Pezizomycotina) 以外, 茎点霉属(*Phoma* spp.) 能够降解多环芳烃、农药和预合成染料^[3,10-12]。

1.2 担子菌 担子菌约占真菌数量的34%, 主要栖息于陆地环境, 很少分布于水生环境中^[4]。伞菌亚门(Agaricomycotina) 可利用非特异性、氧化木质素和纤维素的胞外氧化酶矿化许多有机化合物^[13]。例如, 木生白腐真菌的白腐菌(*Phanerochaete chrysosporium*)、平菇(*Pleurotus* spp.) 和栓菌属(*Trametes* spp.) 可以矿化各种氯芳烃、多环芳烃和三硝基甲苯^[3,8,14-15]。栖息于土壤中的担子菌如田头菇属(*Agrocybe* spp.)、大球盖菇属(*Stropharia* spp.) 也具有矿化有机污染物的能力。虽然褐腐菌矿化环境化学物质并不常见, 但是密褶褶菌(*Gloeophyllum* spp.) 也具有矿化氯酚类和氟喹诺酮类抗生素的能力^[15-16]。担子菌柄锈菌亚门(Pucciniomycotina) 中, 属于丝孢酵母的红酵母属(*Rhodotorula*) 可代谢甲酚、原油成分、多环芳烃等, 而其他属仅可降解原油和二苯并噻吩。此外, 毛霉亚门(Mucoromycotina) 数量不及真菌的1%, 其中毛霉(*Cunninghamella*) 和根霉属(*Rhizopus*) 均可降解多环芳烃、农药、纺织染料和三硝基甲苯等有机污染物^[3,6,8]。

2 真菌对芳香化合物的降解途径

结构简单的芳香化合物一般是在单加氧酶的作用下, 在苯环上引入一个羟基, 形成邻苯二酚或其衍生物后, 再在双加氧酶的作用下通过裂解反应开环, 形成直链羧酸类化合物, 然后逐步氧化并最终进入三羧酸循环途径(Three carboxylic acid cycle, TCA) 的基础代谢中, 氧化成二氧化碳和水^[17]。研究发现, 分子量较高的芳香化合物由于其结构的复杂性及较低的溶解度, 难以被微生物直接降解, 如菲、蒽、萘等多环芳烃降解速率随着所含碳原子数量的增加而越来越

基金项目 安徽省自然科学基金青年项目(1708085QC68); 安徽省高校自然科学基金重点项目(KJ2015A194)。

作者简介 王晶晶(1983—), 女, 安徽合肥人, 讲师, 博士, 从事真菌漆酶的调控机制研究。

收稿日期 2018-01-22; **修回日期** 2018-01-30

越低^[17-19]。而对于一些结构较为简单、分子量较小的芳香类化合物,如四环以内的芳香烃,其可以作为许多微生物的唯一的碳源或能源被加以利用,进而最终完全被矿化^[17]。

一般来说,真菌对三环以上的多环芳烃通过共代谢的方式将其降解。近年来,对多环芳烃的代谢途径研究比较清楚的只有一些结构较为简单、分子量较低的芳香类化合物,其降解取决于芳香烃化学结构的复杂性和降解酶特性,芳香烃的溶解性越低、苯环数目越高越难被降解,除此之外还与芳香烃的取代基及其位置等因素有关,而且不同种类的微生物对多环芳烃的降解机制也有很大的差异^[20-21]。萘是结构最简单的多环芳烃,其生物降解途径主要包括:首先,双加氧酶将其氧化形成顺式二羟基萘;随后,在脱氢酶和双加氧酶的作用下,形成水杨酸和邻苯二酚,最终形成 TCA 的中间物进入有氧代谢途径^[17,22]。而四环以上、结构复杂的多环芳烃的生物降解机理还正处于研究阶段。

3 真菌降解有毒物质的作用机制

研究表明,真菌一般是通过分泌胞外以及胞内产生的解毒酶来降解复杂的芳香化合物,如细胞色素单加氧酶 P450、木质素氧化酶等^[3]。许多真菌代谢的酶类特异性较低,这使得它们可以代谢一些属于不同的污染物类别、结构不同的化合物,如黄孢原毛平革菌(*Phanerochaete chrysosporium*)既可以降解苯、甲苯、乙苯和二甲苯等化合物,也可以降解含氮元素的硝基芳烃和杂环炸药(TNT 和 RDX),以及一些有机氯(氯酚、多氯联苯、PCDDs 等)、多环芳烃、农药、合成染料、合成聚合物等种类繁多的化合物^[23-25]。然而,大多有机污染物都具有苯环,即属于芳香族类的化合物,其化学性质稳定,在环境中持久滞留并可生物富集。真菌细胞为了应对外界有毒的芳香化合物、提高自身的生存能力,主要通过体外分泌多种胞外酶,如漆酶、木质素过氧化物酶等木质素降解酶,以及体内合成大量的氧化酶来降解这些有毒的化合物,这可能是迫于氧化压力的一种保护机制^[3,26-27]。

4 真菌降解芳香化合物的主要酶系

4.1 胞内氧化酶 许多真菌的胞内酶可以参与化合物的分解,如胞内的细胞色素 P450 氧化酶(Cytochrome P450 proteins, CYP)、苯酚-2-单加氧酶、硝基还原酶等^[28-29]。细胞色素 P450 普遍存在于真菌的细胞壁结构中,如子囊菌、担子菌、壶菌等,具有催化环氧化、对大量污染物的芳香环或脂肪链进行羟基化处理的能力,较为突出的例子是对多环芳烃和二恶英在体内的降解^[28-29]。苯酚-2-单加氧酶多分布于子囊菌亚门和担子菌亚门中,可将不同酚类化合物的羟基氧化成对应的邻苯二酚,对进入胞内的化合物进行氧化降解^[30]。

此外,真菌胞内代谢酶的数量较多,如细胞色素 P450 在胞内一般存在多个基因编码,这使得真菌木质素降解菌的类型更为多样化,有助于大量地进行有机物质的代谢,如真菌中的细胞色素 P450 可以发起对二恶英、壬基酚和多环芳烃等不同外源有机物的代谢。初级代谢可能产生羟基化的代谢产物,如初级代谢产物氯酚在下一步代谢受阻的情况下不

断富集,可能会形成非生物氧化偶联现象。然而,初级代谢产物也可以进行下一步的代谢,直到矿化完成。如果随后的降解受到阻碍,也可能导致在不同氧化阶段代谢物的过量分泌^[29-31]。

4.2 木质素氧化酶系 自 1934 年首次发现降解木质素的微生物种群,人们对木质素的生物降解进行了大量的研究。真菌可利用向胞外分泌相对非特异活性的氧化还原酶来降解有机化合物,这些酶可能参与了木质纤维素的生长、解聚和木质素及其衍生物腐殖物质的去除等^[32]。木质素酶即降解为其中的一种,它对木质纤维素的降解主要通过如下 4 种酶系来完成:木质素过氧化物酶(Lignin peroxidase, LiP)、锰过氧化物酶(Manganese peroxidase, MnP)、多功能过氧化物酶(Versatile peroxidase, VP)、漆酶(Laccase)等^[33-34]。这几种酶作为同一酶系,彼此相互协同,有时却又分工明确,如在 *P. chrysosporium* 菌中,对于木质素起到降解作用的只有 LiP 和 MnP,而在 *Tramete sp* AH28-2 中只有漆酶具有活性^[32]。不同真菌中发挥作用的木质素降解酶不同,这是否与所处环境导致的作用机制不同有关,目前并没有相关报道。

进一步研究发现,细胞色素 P450 参与抗炎药、脂质监管、抗癫痫及抗镇痛药物、二苯醚类除草剂等的真菌代谢过程。当某些真菌缺乏胞外氧化酶时,细胞色素 P450 有助于提高真菌分解的多样性,例如,它们使雅致小克银汉霉(*Cunninghamella elegans*)氧化具有 2~5 环的多环芳烃^[3,35]。因而,胞外和胞内均可产生对有毒芳香化合物进行降解的代谢酶,但当菌体处于有毒污染物的环境下,胞外和胞内的代谢酶是处于相互竞争状态还是彼此协助共同代谢的状态目前并没有相关报道。现有的研究表明,这可能与菌体所处的具体环境有关,不同条件的环境下,胞外或胞内降解酶表达水平的高低决定它们采取的降解途径。

5 展望

大量研究已证实,真菌独特的生长环境和自身构造使得它们在降解环境有毒污染物方面具有重要作用,其对环境中的芳香化合物的生物降解和代谢是重要的微生物生态过程,了解这些过程中真菌的作用机制有助于理解真菌参与的疾病发育机制,并为新型治疗方法的建立提供参考,同时可以为新型生物技术方法的开发提供理论依据。然而,真菌要应用于环境治理还有许多问题需要研究与解决,如其在降解过程中酶的种类,以及其降解有毒芳香化合物的机理等有待更进一步的研究证实。

参考文献

- [1] TROPEL D, VAN DER MEER J R. Bacterial transcriptional regulators for degradation pathways of aromatic compounds[J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2004, 68(3): 474-500.
- [2] NGUYEN V D, WOLF C, MÄDER U, et al. Transcriptome and proteome analyses in response to 2-methylhydroquinone and 6-brom-2-vinyl-chroman-4-on reveal different degradation systems involved in the catabolism of aromatic compounds in *Bacillus subtilis* [J]. Proteomics, 2007, 7(9): 1391-1408.
- [3] HARMS H, SCHLOSSER D, WICK L Y. Untapped potential: Exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals [J]. Nat Rev Microbiol, 2010, 9(3): 177-192.
- [4] GLASS N L, RASMUSSEN C, ROCA M G, et al. Hyphal homing, fusion

- and mycelial interconnectedness[J]. Trends Microbiol, 2004, 12(3): 135 – 141.
- [5] PRENAFETA-BOLD U F X, SUMMERBELL R, DE HOOG S G. Fungi growing on aromatic hydrocarbons: Biotechnology's unexpected encounter with biohazard? [J]. FEMS Microbiol Rev, 2006, 30(1): 109 – 130.
 - [6] PINEDO-RIVILLA C, ALEU J, COLLADO I G. Pollutants biodegradation by fungi[J]. Curr Org Chem, 2009, 13: 1194 – 1214.
 - [7] HOFRICHTER M, BUBLITZ F, FRITSCH W. Unspecific degradation of halogenated phenols by the soil fungus *Penicillium frequentans* Bi 7/2[J]. J Basic Microbiol, 1994, 34(3): 163 – 172.
 - [8] SCHEIBNER K, HOFRICHTER M, HERRE A, et al. Screening for fungi intensively mineralizing 2,4,6-trinitrotoluene[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 1997, 47(4): 452 – 457.
 - [9] CHANG Y S. Recent developments in microbial biotransformation and biodegradation of dioxins[J]. J Mol Microbiol Biotechnol, 2008, 15(2/3): 152 – 171.
 - [10] JIGAMI Y, OMORI T, MINODA Y, et al. Screening of *n*-alkylbenzenes assimilating yeasts and identification of oxidation products from *n*-alkylbenzenes[J]. Agric Biol Chem, 1974, 38(2): 401 – 408.
 - [11] MURPHY G L, PERRY J J. Assimilation of chlorinated alkanes by hydrocarbon-utilizing fungi[J]. J Bacteriol, 1984, 160(3): 1171 – 1174.
 - [12] VALLINI G, FRASSINETTI S, D'ANDREA F, et al. Biodegradation of 4-(1-nonyl)phenol by axenic cultures of the yeast *Candida aquatextoris*: Identification of microbial breakdown products and proposal of a possible metabolic pathway[J]. Int Biodeter Biodegr, 2001, 47(3): 133 – 140.
 - [13] SHEARER C, DESCALS E, KOHLMAYER B, et al. Fungal biodiversity in aquatic habitats[J]. Biodiv Conserv, 2007, 16(1): 49 – 67.
 - [14] SACK U, HEINZE T M, J DECK J, et al. Comparison of phenanthrene and pyrene degradation by different wood-decaying fungi[J]. Appl Environ Microbiol, 1997, 63(10): 3919 – 3925.
 - [15] FAHR K, WETZSTEIN H G, GREY R, et al. Degradation of 2,4-dichlorophenol and pentachlorophenol by two brown rot fungi[J]. FEMS Microbiol Lett, 1999, 175(1): 127 – 132.
 - [16] WETZSTEIN H G, STADLER M, TICHY H V, et al. Degradation of ciprofloxacin by basidiomycetes and identification of metabolites generated by the brown rot fungus *Gloeophyllum striatum*[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65(4): 1556 – 1563.
 - [17] CAIN R. The uptake and catabolism of lignin-related aromatic compounds and their regulation in microorganisms [M]//KIRK T K, HIGUCHI T, CHANG H. Lignin biodegradation: Microbiology, chemistry and potential applications. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1980.
 - [18] DAS N, CHANDRAN P. Microbial degradation of petroleum hydrocarbon contaminants: An overview [J]. Biotechnology research international, 2011, 30: 1 – 13.
 - [19] EATON R W, CHAPMAN P J. Bacterial metabolism of naphthalene: Construction and use of recombinant bacteria to study ring cleavage of 1,2-dihydroxynaphthalene and subsequent reaction[J]. J Bacteriol, 1992, 174: 7542 – 7554.
 - [20] BEZALEL L, HADAR Y, CERNIGLIA C E. Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus*[J]. Appl Environ Microbiol, 1997, 63(7): 2495 – 2501.
 - [21] MACGILLIVRAY A R, SHIARIS M P. Biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons by yeasts isolated from coastal sediments[J]. Appl Environ Microbiol, 1993, 59(5): 1613 – 1618.
 - [22] ZHOU N Y, AL-DULAYYMI J, BAIRD M S, et al. Salicylate 5-hydroxylase from *Ralstonia* sp. strain U2: A monooxygenase with close relationships to and shared electron transport proteins with naphthalene dioxygenase[J]. J Bacteriol, 2002, 184(6): 1547 – 1555.
 - [23] POINTING S B. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2001, 57(1/2): 20 – 33.
 - [24] VALLI K, WARIISHI H, GOLD M H. Degradation of 2,7-dichlorodibenzo-p-dioxin by the lignin-degrading basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*[J]. J Bacteriol, 1992, 174(7): 2131 – 2137.
 - [25] BUMPUS J A, TIEN M, WRIGHT D, et al. Oxidation of persistent environmental pollutants by a white rot fungus[J]. Science, 1985, 228(4706): 1434 – 1436.
 - [26] TAKADA S, NAKAMURA M, MATSUEDA T, et al. Degradation of polychlorinated dieno-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans by the white rot fungus *Phanerochaete sordida* YK-624[J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62(12): 4323 – 4328.
 - [27] NAKAMIYA K, HASHIMOTO S, ITO H, et al. Degradation of dioxins by cyclic ether degrading fungus, *Cordyceps sinensis* [J]. FEMS Microbiol Lett, 2005(248): 17 – 22.
 - [28] YADAV J S, DODDAPANENI H, SUBRAMANIAN V. P450ome of the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*: Structure, evolution and regulation of expression of genomic P450 clusters[J]. Biochem Soc Trans, 2006, 34(P6): 1165 – 1169.
 - [29] ULLRICH R, HOFRICHTER M. Enzymatic hydroxylation of aromatic compounds[J]. Cell Mol Life Sci, 2007, 64(3): 271 – 293.
 - [30] BHUSHAN B, HALASZ A, SPAIN J, et al. Biotransformation of hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine catalyzed by a NAD(P)H: Nitrate oxidoreductase from *Aspergillus niger* [J]. Environ Sci Technol, 2002, 36(14): 3104 – 3108.
 - [31] CROCKER F H, INDEST K J, FREDRICKSON H L. Biodegradation of the cyclic nitramine explosives RDX, HMX, and CL-20[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2006, 73(2): 274 – 290.
 - [32] POINTING S B. Feasibility of bioremediation by white-rot fungi[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2001, 57(1/2): 20 – 33.
 - [33] HOFRICHTER M. Review: Lignin conversion by manganese peroxidase (MnP)[J]. Enzyme Microb Technol, 2002, 30(4): 454 – 466.
 - [34] BALDRIAN P. Wood-inhabiting ligninolytic basidiomycetes in soils: Ecology and constraints for applicability in bioremediation[J]. Fungal Ecol, 2008, 1(1): 4 – 12.
 - [35] MARCO-URREA E, PÉREZ-TRUJILLO M, VICENT T, et al. Ability of white-rot fungi to remove selected pharmaceuticals and identification of degradation products of ibuprofen by *Trametes versicolor* [J]. Chemosphere, 2009, 74(6): 765 – 772.

名词解释

扩展即年指标: 这是一个表征期刊即时反应速率的指标, 主要描述期刊当年发表的论文在当年被引用的情况。具体算法为:

$$\text{扩展即年指标} = \frac{\text{该期刊当年发表论文在统计当年被引用的总次数}}{\text{该期刊当年发表论文总数}}$$

扩展他引率: 指该期刊全部被引次数中, 被其他刊引用次数所占的比例。具体算法为:

$$\text{扩展他引率} = \frac{\text{被其他刊引用的次数}}{\text{期刊被引用的总次数}}$$

扩展学科扩散指标: 指在统计源期刊范围内, 引用该刊的期刊数量与其所在学科全部期刊数量之比。

$$\text{扩展学科扩散指标} = \frac{\text{引用刊数}}{\text{所在学科期刊数}}$$

扩展学科扩散指标: 指期刊所在学科内, 引用该刊的期刊数占全部期刊数量的比例。

$$\text{扩展学科扩散指标} = \frac{\text{所在学科内引用被评价期刊的数量}}{\text{所在学科期刊数}}$$