

**Natalia Zielonka**

## **Biodegradacja związków fosfonowych przez grzyby**

### Streszczenie:

Kwasy fosfonowe i ich pochodne stanowią systematycznie rosnący odsetek przemysłowo produkowanych substancji chemicznych. Dzieje się tak głównie za sprawą ich stosowania na masową skalę jako herbicydów fosfonowych. Związki te charakteryzują się obecnością kowalencyjnego wiązania pomiędzy atomem węgla i atomem fosforu, które nadaje im wyjątkowo stabilną strukturę i odporność na degradację. Zdolność bakterii do mineralizacji tych związków została dobrze udokumentowana. Natomiast, dane dotyczące biochemicznej charakterystyki metabolizmu związków P-C u organizmów eukariotycznych, czy też ekstremofilnych są nadal znikome.

W niniejszej pracy zbadano mechanizmy degradacji modelowych kwasów fosfonowych przez grzyby z rodzaju *Penicillium* i nowo wyizolowany gatunek drożdży psychrotolerancyjnych *Solicoccozyma terricola* M 3.1.4.

W ramach badań prowadzonych we współpracy z zespołem naukowym Pana dr hab. inż. Huberta Cieślińskiego, prof. uczelni z Politechniki Gdańskiej, zbadano kinetykę rozkładu *N*-fosfonometyloglicyny (PMG) przez psychrotolerancyjny szczep drożdży *Solicoccozyma terricola* M 3.1.4 oraz badano aktywność enzymatyczną ekstraktu bezkomórkowego względem w/w związku. Szczep ten wykorzystywał badany fosfonian jako źródło azotu i fosforu dla celów komórkowych, w sposób niezależny od obecności fosforanu nieorganicznego w podłożu. Na podstawie przeprowadzonych badań zaproponowano sposób degradacji PMG przez *S. terricola* M 3.1.4, wskazując zaangażowanie szlaku oksydoreduktazy glifozatu (GOX) w proces rozkładu ww. ksenobiotyku.

Dodatkowo, przeprowadzono analizę metabolomiczną wybranych grzybów zdolnych do degradacji kwasu fosfonooctowego (PA), która pozwoliła na otrzymanie profili metabolicznych dwóch izolantów środowiskowych: *Penicillium crustosum* S2 i *Penicillium funiculosum* S4, które zestawiono i porównano z profilem metabolicznym szczepu *Penicillium commune*. Badania te stanowią kontynuację badań prowadzonych w naszym Zespole nad hydrolazą fosfonooctanu i zostały wykonane w celu zrozumienia różnic w metabolizmie badanych *Penicilliów*.

Istotnym celem części eksperymentalnej była charakterystyka dwuetapowego procesu biodegradacji kwasu 2-aminoetylofosfonowego (2-AEP) u szczepu *Penicillium commune*. Zbadano kinetykę rozkładu 2-AEP przez badany szczep grzybowy i potwierdzono, że wykorzystanie substratu fosfonowego jest zależne od statusu fosforanowego komórki. Dokonano charakterystyki pierwszego etapu rozkładu substratu – procesu transaminacji ciliatyny. Określono najbardziej efektywny akceptor grupy aminowej w reakcji katalizowanej przez transaminazę 2-AEP. Po raz pierwszy wyizolowano i częściowo oczyszczono eukariotyczną fosfonatazę, katalizującą drugi etap tej reakcji - enzymatyczne rozszczepienie stabilnego wiązania C-P w cząsteczce aldehydu fosfonoctowego. Dokonano charakterystyki tego enzymu i porównano go z opisanymi w literaturze analogicznymi enzymami bakteryjnymi. Częściowo oczyszczona grzybowa fosfonataza prawdopodobnie należy do enzymów z nadrodziny HAD i podobnie jak jej bakteryjne odpowiedniki, do swojej aktywności wymaga obecności jonów magnezu ( $Mg^{2+}$ ).

Sposób przemian strukturalnie różnych związków fosfonowych w środowisku może być poznany tylko w przybliżeniu. Im więcej będzie wiadomo o aktywności poszczególnych drobnoustrojów i ich zdolnościach do rozkładu danej grupy związków organicznych, tym bardziej obraz tego, co dzieje się w środowisku naturalnym będzie odwzorowywał rzeczywistość.