

## BIODEGRADACJA ZWIĄZKÓW FOSFONOWYCH PRZEZ GRZYBY

### BIODEGRADATION OF PHOSPHONATES BY FUNGI

**Dorota Wieczorek, Jacek Lipok\***

*Wydział Chemii, Uniwersytet Opolski,  
ul. Oleska 48, 45-052 Opole  
\*e-mail: jacek.lipok@uni.opole.pl*

---

Abstract

Wykaz stosowanych skrótów

Wprowadzenie

1. Grzyby jako organizmy inicjujące przemiany fosfonianów
2. Związki fosfonoorganiczne – mniej znane składniki żywych organizmów oraz ksenobiotyki
3. Biodegradacja związków fosfonowych
  - 3.1. Ścieżki biodegradacji związków fosfonowych

Uwagi końcowe

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

---

**Dr Dorota Wieczorek**, w roku 2007 ukończyła studia na kierunku chemia (specjalność Agrobiochemia) na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Opolskiego. Stopień doktora nauk chemicznych uzyskała w 2012 roku. W latach 2012 – 2019 pracowała w Opolskim Laboratorium Badań Strukturalnych. Obecnie pracuje w Katedrze Chemii Analitycznej i Ekologicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Opolskiego. Realizowane przez nią badania naukowe związane są z oceną aktywności biologicznej związków chemicznych oraz analizą przemian związków fosforowych w komórkach organizmów żywych.



<https://orcid.org/0000-0001-9028-9765>

---

**Dr hab. Jacek Lipok, prof. UO**, jest absolwentem unikatowej specjalności Agrobiochemia, prowadzonej na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Wyższej Szkoły Pedagogicznej w Opolu. Zainteresowanie naturalnymi i syntetycznymi związkami chemicznymi, jako regulatorami aktywności owadów, zaowocowało obroną rozprawy doktorskiej (1995). W późniejszym okresie podjął badania nad przemianami związków fosfonoorganicznych w ekosystemach, koncentrując się na opracowaniu procedur umożliwiających śledzenie biotransformacji tych związków przez mikroorganizmy. Prace te zostały zwieńczone uzyskaniem w 2011 roku stopnia doktora habilitowanego. Aktualne zainteresowania naukowe Autora związane są z oceną aktywności biologicznej naturalnych i syntetycznych związków chemicznych, ukierunkowaną biosyntezą modulatorów metabolizmu oraz z analizą przemian katalizowanych przez organizmy, z wykorzystaniem metod spektroskopowych.



<https://orcid.org/0000-0002-8567-5351>

---

**ABSTRACT**

Phosphonates are the group of organophosphorus compounds, which are characterized by the presence of covalent bond(s) between carbon and phosphorus atom in their structure. Both; the natural and synthetic phosphonic compounds, are encountered in various ecosystems, however because of their wide range of applications, the latter ones are considerably more frequently discussed. Regarding the broad spectrum of biological activity, capability to chelate metal cations and environmental stability of direct carbon to phosphorus bond under physiological conditions, phosphonic compounds found a variety of applications e.g. as pesticides, drugs, anticorrosive agents, additives to surfactants and flame resistant (partially)polymers. Such massive use of phosphonates, together with mentioned environmental stability of those compounds, results in their common presence as xenobiotic environmental pollutants. Scientific efforts dedicated to recognising the fate and biodegradation of phosphonic compounds in the environment had begun in 80's last century. Currently it is known that many microorganisms, mainly bacteria, but also fungi, are able to decompose the C-P bond. Interestingly however, the number of known species of fungi that are able to biodegrade and/or to bio-transform the phosphonates, is relatively low. It seems to be surprising, because especially the fungi are known from their impressive skills to adaptation to various nutritional conditions. Such a thesis may be supported by the fact that the process of biodegradation of phosphonates may occur via several pathways. Enzymes which are known to catalyse this process are phosphonoacetaldehyde hydrolase, phosphonoacetate hydrolase, phosphonopyruvate hydrolase and C-P lyase complex. This article briefly presents the issue of degradation pathways of phosphonates, and the role of phosphonate-degrading fungi.

Keywords: phosphonates, biotransformation, biodegradation, fungi

Słowa kluczowe: związki fosfonowe, biotransformacja, biodegradacja, grzyby

---

**WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW**

2-AEP	– kwas aminetanofosfonowy, ciliatyna (ang. <i>2-aminoethylphosphonic acid</i> )
AMPA	– kwas aminometylofosfonowy (ang. <i>aminomethylphosphonic acid</i> )
ATMP	– kwas aminotrimetylofosfonowy (ang. <i>aminotris(methylphosphonic) acid</i> )
ATP	– adenozylo-5'-trifosforan
PRPP	– 5-fosforybozylo-1-pirofosforan (ang. <i>phosphoribosyl pyrophosphate</i> )
HDTMP	– kwas heksametylenodiamino-N,N,N',N'-tetrakis(metylofosfonowy) (ang. <i>hexamethylenediamine-N,N,N',N'-tetrakis(methylphosphonic)acid</i> )
Pi	– reszta fosforanowa
PA	– kwas fosfonooctowy (ang. <i>phosphonoacetic acid</i> )

## WPROWADZENIE

Od niemal pięćdziesięciu lat - od wprowadzenia herbicydu N-fosfonometyloglicyny (glifozatu) do powszechnego stosowania w praktyce rolniczej, wykorzystanie pochodnych fosfonowych i losy tych substancji w ekosystemach są powodem wielu dyskusji i kontrowersji. Początkowa euforia związana z wprowadzeniem, jak wtedy uważano, w pełni biodegradowalnej substancji aktywnej hamującej rozwój wyłącznie roślin, w miarę upływu czasu ustąpiła miejsca refleksji dotyczącej znacznie szerszego spektrum oddziaływania glifozatu, niż pierwotnie zakładano [1]. Obecnie, kiedy substancja ta reprezentuje liczną grupę pochodnych kwasów fosfonowych wykorzystywanych powszechnie w różnych sferach ludzkiej aktywności, poszukiwanie informacji przemawiających za zastosowaniem fosfonianów stanowi interesujący wątek badań naukowych. Jednym z istotnych aspektów tych działań jest ustalenie losu pochodnych fosfonowych w środowisku i wskazanie możliwości przekształceń tych substancji. Chociaż zdecydowana większość szczegółowych informacji związanych z biokatalizowanymi przemianami fosfonianów dotyczy aktywności bakterii [2], stopniowo rośnie liczba danych wskazujących na znaczący udział grzybów mikroskopowych w tych procesach [3, 4].

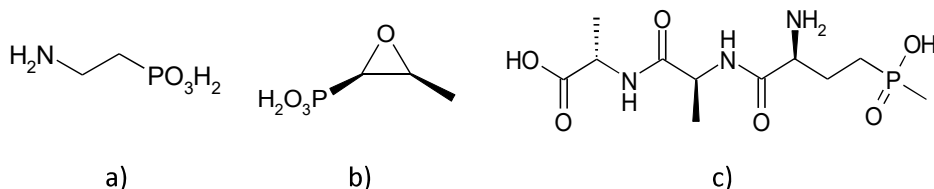
### 1. GRZYBY JAKO ORGANIZMY INICJUJĄCE PRZEMIANY FOSFONIANÓW

Grzyby to królestwo szeroko rozpowszechnionych, nie fotosyntezujących eukariontów, które jako reducenty odgrywają istotną rolę w obiegu materii i energii w środowisku przyrodniczym [5]. Zgodnie z systematyką podawaną przez światową bazę danych gatunków „*Catalogue of Life*” w skład tego królestwa wchodzi organizmy reprezentujące pięć typów: *Ascomycota*, *Basidiomycota*, *Chytridiomycota*, *Glomeromycota* oraz *Zygomycota* [6]. Pomimo tego, że przedstawiciele poszczególnych jednostek taksonomicznych wykazują duże zróżnicowanie pod względem budowy grzybni oraz organów i sposobów rozmnażania, to w większości charakteryzują się wspólną cechą – heterotroficznym sposobem odżywiania, opartym na działaniu zewnątrzkomórkowych enzymów (tzw. egzoenzymów) [7]. Komórki grzybów wydzielają do peryplazmy, tj. przestrzeni występującej pomiędzy zewnętrzną błoną cytoplazmatyczną a ścianą komórkową oraz bezpośrednio do podłoża enzymy, które są zdolne do rozkładu złożonych substancji organicznych. Uzyskane w ten sposób prostsze formy związków chemicznych, mogą być z łatwością transportowane przez ścianę komórkową, a następnie przyswajane przez komórki grzybni [7, 8]. Węgiel – podstawowy pierwiastek biogeny – jest najczęściej pobierany przez grzyby w postaci cukrów prostych. Azot jest zazwyczaj transportowany do wnętrza komórek w postaci jonów azotanowych lub amonowych, zaś najlepiej przyswajalną

formą fosforu są jony diwodorofosforanowe. Inne pierwiastki, takie jak potas, siarka czy magnez, wnikają do komórek również w odpowiedniej formie jonowej [9].

## **2. ZWIĄZKI FOSFONOORGANICZNE – MNIEJ ZNANE SKŁADNIKI ŻYWYCH ORGANIZMÓW ORAZ KSENOBIOTYKI**

Mianem związków fosfonowych (związkami fosfonoorganicznymi) określa się substancje organiczne będące pochodnymi kwasu fosforowego(III) -  $H_3PO_3$ . Kowalencyjne wiązanie węgiel–fosfor (C-P), które stanowi strukturalną cechę charakterystyczną tych substancji, odznacza się znaczną trwałością i odpornością wobec działania wielu czynników fizycznych oraz chemicznych. W konsekwencji związki fosfonowe zachowują dużą stabilność w szerokim zakresie pH i temperatury [10]. Nie do końca znane jest pochodzenie fosfonianów występujących w biosferze naszej planety. Przypuszczalnie, w pierwotnej atmosferze Ziemi zawierającej jedynie niewielkie stężenie tlenu, związki fosfonoorganiczne stanowiły dominującą formę fosforu, jednak wraz z wpływem czasu i stopniową dominacją organizmów tlenowych, której towarzyszył wzrost stężenia tlenu w atmosferze, ustąpiły one miejsce pochodnym organicznym kwasu fosforowego(V) -  $H_3PO_4$  [10]. Hipotezę tę potwierdza analiza składu chemicznego meteorytu Murchison, odkrytego w 1969 roku w południowej Australii. Na powierzchni tego chondrytu węglistego, liczącego sobie około 4 miliardy lat, wśród wielu związków organicznych zidentyfikowano również pochodne fosfonowe [11, 12]. Obecnie, w różnych ekosystemach ziemskiej biosfery możemy wyróżnić fosfoniany pochodzenia zarówno naturalnego, jak i antropogenicznego [13, 14]. Naturalne związki fosfonowe, zostały zidentyfikowane w komórkach różnorodnych taksonomicznie organizmów. Występują dosyć powszechnie w ewolucyjnie starszych formach życia, takich jak bakterie lub grzyby, gdzie stanowią zwykły element strukturalny egzopolisacharydów, glikoprotein lub lipidów [15]. Substancje te spotyka się także w komórkach organizmów bardziej złożonych – mięczaków, owadów, a nawet ssaków [15]. Obecnie znanych jest kilkadziesiąt naturalnie występujących pochodnych fosfonowych [13], spośród których warto wymienić ciliatyne, fosfomycynę oraz bialafos (Rys. 1).



Rysunek 1. Struktury przykładowych naturalnych związków fosfonowych: ciliatyna (a), fosfomycyna (b), bialafos (c)

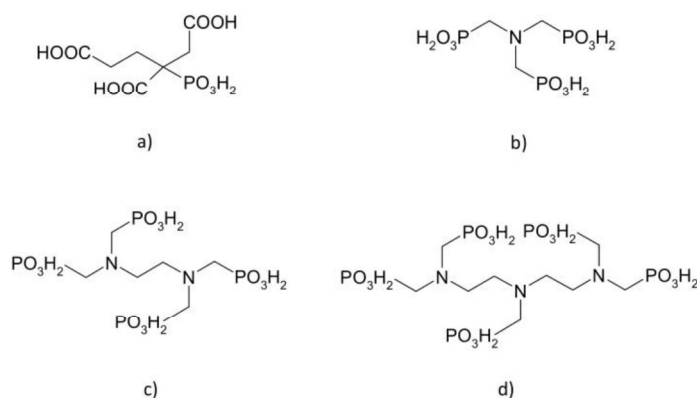
Figure 1. The structures of some natural phosphonic compounds: ciliatine (a), fosfomycin (b), bialaphos (c)

Ciliatyna (kwas 2-aminoetanofosfonowy, 2-AEP) zapisała się w historii związków fosforoorganicznych jako pierwszy zidentyfikowany, biogeny fosfonian. Substancja ta została wyizolowana w 1959 roku z komórek pierwotniaków stanowiących naturalną mikroflorę żwacza owiec [16]. Obecnie uważa się, że 2-AEP jest najbardziej rozpowszechnionym w przyrodzie, naturalnym związkiem zawierający wiązanie C-P. Kolejna wspomniana substancja – fosfomycyna (kwas *cis*-(1*R*,2*S*)-epoksypropanofosfonowy) – była pierwszym odkrytym naturalnym fosfonianem wykazującym aktywność antybiotyczną. Metabolit ten jest wytwarzany przez niektóre gatunki bakterii z rodzaju *Streptomyces* oraz *Pseudomonas* [17, 18]. Jego działanie opiera się na inhibicji transferazy UDP-N-acetylglukozamino-3-O-enolopirogronianu - pierwszego enzymu biorącego udział w ścieżce biosyntezy peptydoglikanu, który stanowi istotny składnik ściany komórkowej bakterii [19]. Fosfomycyna wykazuje szerokie spektrum działania zarówno wobec bakterii Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych. Ze względu na swoje właściwości antybiotyk ten znalazł zastosowanie w leczeniu infekcji układu moczowego ssaków [20].

Z kolei bialafos jest tripeptydem wykazującym działanie herbicydowe. Prócz dwóch cząsteczek L-alaniny, w skład tej substancji wchodzi także kwas 2-amino-4-(metylofosfinylo)-butanowy, będący fosfonowym analogiem kwasu glutaminowego i zapewniający cząsteczce aktywność biologiczną. Kwas 2-amino-4-(metylofosfinylo)-butanowy, zwyczajowo nazywany fosfinotricyną, posiada silne właściwości hamujące działanie roślinnej oraz bakteryjnej syntetazy glutaminowej [21].

Prócz naturalnych związków fosfonowych, w wielu ekosystemach można spotkać ksenobiotyki fosfonoorganiczne, których obecność związana jest z działalnością człowieka. Obecnie liczba fosfonianów stworzonych na drodze syntezy chemicznej jest znacznie większa od liczby znanych, naturalnych połączeń fosfonowych [14]. Fakt ten wynika z interesujących właściwości fizykochemicznych, które predestynują te substancje do zastosowania w różnych

dziedzinach gospodarki [14]. Jedną z najbardziej użytecznych cech pochodnych fosfonowych, która zadecydowała o ich szerokim zastosowaniu w przemyśle, jest zdolność chelatowania jonów metali [22]. Możliwości kompleksotwórcze fosfonianów wzrastają proporcjonalnie do liczby grup  $-\text{PO}_3\text{H}_2$  w cząsteczce, a ponadto reszty fosfonowe są znacząco lepszymi ligandami w porównaniu do ich karboksylowych odpowiedników. Dzięki temu związki takie jak kwas 2-fosfonobutano-1,2,4-trikarboksylowy (PBTC), kwas aminotrimetylenofosfonowy (ATMP), kwas etylenodiaminotetra(metylenofosfonowy) (EDTMP) oraz kwas dietylenotriaminopenta(metylenofosfonowy) (DTPMP) są z powodzeniem stosowane jako środki antykorozyjne w instalacjach wodnych, substancje przeciwdziałające tworzeniu się kamienia kotłowego w systemach chłodniczych i grzewczych, czy dodatki do kosmetyków, środków piorących oraz czyszczących [22, 14] (Rys. 2).

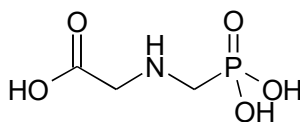


Rysunek 2. Struktury fosfonowych kompleksonów jonów metali: kwas 2-fosfonobutano-1,2,4-trikarboksylowy (a), kwas aminotrimetylenofosfonowy (b), kwas etylenodiamino tetra-(metylenofosfonowy) (c), kwas dietylenotriaminopenta(metylenofosfonowy) (d)

Figure 2. The structures of phosphonic metal complexing agents: 2-phosphonobutane-1,2,4-tricarboxylic acid (a), nitrilotris(methylene phosphonic acid) (b), ethylenediamine tetra(methylene phosphonic acid) (c), diethylenetriamine penta(methylene phosphonic acid) (d)



Inną, cenną cechą pochodnych fosfonowych jest aktywność biologiczna. Wynika ona głównie z tetraedrycznej geometrii grupy fosfonowej, co odpowiada geometrii grupy karboksylowej w stanach przejściowych reakcji enzymatycznych oraz możliwości występowania tego ugrupowania jako akceptora lub też donora protonów, co istotne w fizjologicznym zakresie pH [23]. Przez wzgląd na te właściwości, związki fosfonoorganiczne stosunkowo często są inhibitorami enzymów należących do różnych klas oraz wykazują działanie antybakteryjne i antywirusowe [13, 23]. Dzięki specyficznym aspektom wspomnianej aktywności, fosfoniany są z powodzeniem stosowane jako pestycydy oraz leki [23]. Szczególne intrygujące zdolności do oddziaływania z układami biologicznymi posiadają aminofosfoniany, będące analogami aminokwasów, w których grupa karboksylowa jest zastąpiona przez grupę fosfonową [23, 24]. Dynamiczny wzrost zainteresowania aminofosfonianami rozpoczął się w pierwszej połowie lat 70 ubiegłego stulecia, po zsyntetyzowaniu i odkryciu właściwości herbicydowych *N*-fosfonometyloglicyny, znanej również pod nazwą glifozat (Rys. 3). Glifozat po dziś dzień stanowi najpopularniejszą na świecie, co oznacza najszerzej i najpowszechniej stosowaną, substancję aktywną środków chwastobójczych [25]. Herbicydy zawierające *N*-fosfonometyloglicynę klasyfikowane są jako preparaty powschodowe, nieselektywne, działające systemicznie i stosowane są w zwalczaniu niepożądanych roślin jedno- i wieloletnich, zarówno na użytkach rolnych, jak i w obszarach miejskich i przemysłowych [25]. Spośród wielu formułacji handlowych środków ochrony roślin zawierających glifozat, najbardziej znanym i najczęściej stosowanym jest Roundup<sup>®</sup>, będący wodnym roztworem soli izopropylloaminowej glifozatu i środka powierzchniowo-czynnego z grupy polietoksyloanych amin [26]. Sposób działania glifozatu opiera się na zahamowaniu aktywności syntazy 5-enolopirogronianoszikimowo-3-fosforanowej (EPSPS; E.C. 2.5.1.19), jednego z enzymów katalizujących przemiany zachodzące w tzw. szlaku kwasu szikimowego [1]. Skutkiem inhibicji EPSPS jest zatrzymanie biosyntezy aminokwasów aromatycznych, a w konsekwencji również białek oraz metabolitów wtórnych, co stosunkowo szybko prowadzi do śmierci rośliny [1].



Rysunek 3. Struktura *N*-fosfonometyloglicyny (glifozat)

Figure 3. Structure of *N*-(phosphonomethyl)glycine (glyphosate)

### 3. BIODEGRADACJA ZWIĄZKÓW FOSFONOWYCH

Losy związków chemicznych w środowisku, zarówno tych występujących naturalnie jak i ksenobiotyków, zależą od podatności ich molekuł na działanie czynników biotycznych oraz abiotycznych. Wśród czynników abiotycznych największe znaczenie przypisuje się odczynowi, temperaturze oraz obecności i energii fal elektromagnetycznych, głównie światła. Z kolei w odniesieniu do czynników biotycznych za najbardziej istotne uważa się rodzaj i liczebność mikroorganizmów bytujących w środowisku, w którym obecna jest dana substancja [27]. Aktywność metaboliczna, a czasem sama obecność wybranych komponentów organizmów, inicjuje procesy biotransformacji, w toku których następuje przekształcenie wyjściowej struktury związku organicznego. Reakcje biotransformacji mogą więc prowadzić do zmian: rozpuszczalności, biodostępności, a także toksyczności danej substancji [28]. Procesy biotransformacji substancji chemicznych w środowisku obejmują również procesy biodegradacji zachodzące przy udziale żywych organizmów. W wyniku tych przemian nie zawsze dochodzi do całkowitego rozkładu związku organicznego i przekształcenia do prostych substancji nieorganicznych. Znacznie częściej rezultatem tych transformacji są mniej złożone zawierające mniejszą liczbę atomów względem substratu, cząsteczki [29].

W przeciwieństwie do naturalnie występujących substancji organicznych, które stosunkowo łatwo ulegają przemianom w środowisku przyrodniczym, niektóre z syntetycznych związków organicznych z trudem poddają się procesom biotransformacji. Zgodnie z wytycznymi Organizacji Współpracy Gospodarczej i Rozwoju, ksenobiotyki fosfonowe uznaje się za substancje trudno biodegradowalne [30]. Niemniej jednak, występowanie związków fosfonoorganicznych, jako naturalnych składników żywych organizmów, dowodzi istnienia mechanizmów biochemicznych, które umożliwiają transformowanie tych związków w procesach biokatalitycznych. Wyniki badań zapoczątkowanych w latach 80-tych ubiegłego stulecia potwierdzają, że wiele mikroorganizmów posiada zdolność niemal całkowitej biodegradacji fosfonianów, a tym samym czerpania z tych substancji podstawowych składników pokarmowych – fosforu i/lub azotu oraz zdecydowanie rzadziej węgla [31]. Mikroorganizmy wykazujące taką umiejętność to przede wszystkim bakterie Gram dodatnie, np. *Bacillus megaterium*, Gram ujemne, np. *Escherichia coli* [31]; cyjnobakterie np.: *Anabaena variabilis* [32], ale także grzyby mikroskopowe (grzyby strzępkowe, drożdże).

Liczba znanych gatunków grzybów degradujących związki fosfonowe (Tabela 1) jest wyraźnie mniejsza niż liczba bakterii wykazujących analogiczne zdolności. Biorąc pod uwagę różnorodność gatunkową i uznane możliwości

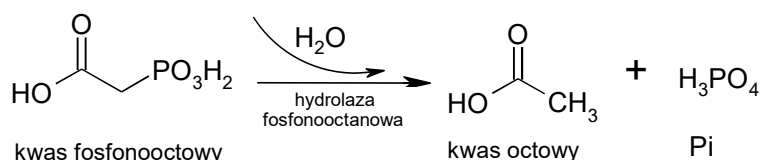
przystosowywania się grzybów do zmieniających się warunków środowiska, fakt ten może budzić zadziwienie. Taki stan rzeczy może być spowodowany tym, że grzyby znacznie rzadziej, niż bakterie, bywają przedmiotem badań związanych z biodegradacją związków fosfonoorganicznych.

### 3.1. ŚCIEŻKI BIODEGRADACJI ZWIĄZKÓW FOSFONOWYCH

Biodegradacja związków fosfonowych zachodzi w toku różnych przemian biochemicznych, z wykorzystaniem mechanizmów zależnych głównie od specyfiki metabolizmu mikroorganizmu i od budowy molekuł substancji fosfonowej [10]. Mechanizmy te zostały w większości przypadków scharakteryzowane i opisane dla bakterii [10]. W przypadku grzybów, chociaż wiadomo, że pewne przemiany zachodzą analogicznie do tych typowych dla bakterii [49], ścieżki biodegradacji fosfonianów w dużej mierze wciąż wymagają wyjaśnienia.

#### *Biodegradacja kwasu fosfonooctowego*

Biodegradacja kwasu fosfonooctowego (PA) po raz pierwszy została opisana jako proces katalizowany przez wyizolowany z osadu czynnego szczep bakterii - *Pseudomonas fluorescens* 23F [50]. Wykazano, że bakterie te posiadają zdolność enzymatycznej hydrolizy kwasu fosfonooctowego do kwasu octowego oraz fosforanu, które z łatwością mogą być włączane w kolejne procesy metaboliczne (Rys. 4).



Rysunek 4. Biodegradacja kwasu fosfonoactowego  
Figure 4. Biodegradation of phosphonoacetic acid

Indukcja aktywności enzymu odpowiedzialnego za ten proces - hydrolazy fosfonoactanowej (PhnA, EC 3.11.1.2) - nie jest zależna od statusu fosforowego komórki, a jedynie od obecności kwasu fosfonoactowego [50]. Stwierdzono, że w przypadku *P. fluorescens* enzym ten wraz z powiązonym transporterem fosfonianowym jest kodowany w operonie, którego ekspresja jest regulowana przez układ transkrypcyjny LTTR, wrażliwy na obecność jonów fosfonoactanu [51, 52]. Wykazano, że również 2-fosfonopropionian, pomimo że nie jest dobrym

Tabela 1. Grzyby degradujące/biotransformujące związki fosfonowe  
 Table 1. Phosphonates-degrading fungi

Gatunek/Szczep grzybowy	Typ/ Gromada lub Klasa*	Zródło pochodzenia Mikroorganizmu	Transformowana substancja	Fizjologiczna rola fosfonianu	Lit.
<i>Alternaria alternata</i>	Ascomycota/ Dothideomycetes	powierzchnia nasion marchwi	Kwas amino(3-metoksyfenilo)metylofosfonowy	Źródło azotu, fosforu oraz węgla	[33]
<i>Aspergillus terreus</i>	Ascomycota/ Eurotiomycetes	Kolekcja czystych kultur drobnoustrojów przemysłowych LOCK (Politechnika Łódzka)	ATMP, AMPA, HDTMP	Źródło fosforu	[34]
<i>Aspergillus niger</i>	Ascomycota/ Eurotiomycetes	Grunty orne (Polska)	Ciliatyna Glifozat Kwas amino(3-metoksyfenilo)metylofosfonowy	Źródło fosforu	[35]
<i>Aspergillus oryzae</i> A-F02	Ascomycota/ Eurotiomycetes	Zbiornik w fabryce pestycydów	Glifozat	-	[36]
<i>Aspergillus oryzae</i> AM1 <i>Aspergillus oryzae</i> AM2	Ascomycota/ Eurotiomycetes	Użytki rolne	Glifozat	Źródło azotu i fosforu	[37]
<i>Candida maltosa</i> L4	Ascomycota/ Saccharomycetes	Kolekcja Wydziału Biologii (Uniwersytet w Greifswaldzie)	Fosfonoalanina	Źródło azotu	[38]
<i>Kluyveromyces fragilis</i> UU1	Ascomycota/ Saccharomycetes	-	Kwas 4-aminobutylofosfonowy	Źródło azotu	[39]
<i>Fusarium oxysporum</i> 91148 <i>Fusarium oxysporum</i> 55.1	Ascomycota/ Sordariomycetes	Cukier	Glifozat	Źródło fosforu	[40]
<i>Geomyces pannorum</i> P11	Ascomycota/ Leotiomycetes	Kolekcja czystych kultur drobnoustrojów przemysłowych LOCK (Politechnika Łódzka)	Ciliatyna	Źródło fosforu i azotu	[41]
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll.	Ascomycota/ Eurotiomycetes	pożywka CDM zawierająca ciliatynę jako jedyne źródło azotu i fosforu	Ciliatyna	Źródło fosforu i azotu	[42]
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll.	Ascomycota/ Eurotiomycetes	pożywka CDM zawierająca ciliatynę jako jedyne źródło azotu i fosforu	Kwas 3-amino-3-fosfonopropanowy, Kwas 1-aminoetanofosfonowy, Kwas 1-amino-1-fenylometylofosfonowy	Źródło fosforu	[42]
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Ascomycota/ Eurotiomycetes	-	Glifozat	Źródło azotu	[43]
<i>Penicillium citrinum</i>		Kolekcja Politechniki Wrocławskiej	Ciliatyna 2-okso-3,3-dimetylofosfonian sodu 2-okso-3-metylofosfonian sodu	Źródło fosforu	[44]
<i>Penicillium commune</i>	Ascomycota/ Eurotiomycetes	Kolekcja Instytutu Mykologii (Uniwersytet w Padwie, Włochy)	Ciliatyna	Źródło fosforu	[3]
<i>Penicillium nota tum</i>	Ascomycota/ Eurotiomycetes	szczep wyizolowany z próbki 9-di-n-butyl-9-hydroksyfluorenyl-9-fosfonianu	Różne strukturalnie związki fosfonowe, głównie aminofosfoniany	Źródło fosforu	[45]
<i>Penicillium minioluteum</i>	Ascomycota/ Eurotiomycetes	Kolekcja Uniwersytetu w Pawii	kwasy fosfonoctowe	Źródło fosforu	[46]
<i>Penicillium oxalicum</i>	Ascomycota/ Eurotiomycetes	Kolekcja Uniwersytetu w Pawii	kwasy fosfonoctowe	Źródło fosforu	[46]

<i>Scopulariopsis sp.</i>	Ascomycota/ Sordariomycetes	Grunty orne (Polska)	Ciliatyna Glifozat Kwas amino(3- metoksyfenilo) Metylofosfonowy	Źródło fosforu	[35]
<i>Solicoccozyma terricola M 3.1.4.</i>	Basidiomycota/ Tremellomycetes	Gleba pochodząca z plantacji jagód oraz sądów owocowych (Polska)	Glifozat	Źródło fosforu i azotu	[4]
<i>Trichoderma harzianum</i>	Ascomycota/ Sordariomycetes	Grunty orne (Polska)	Ciliatyna Glifozat Kwas amino(3- metoksyfenilo)metylof osfonowy	Źródło fosforu	[35]
<i>Trichoderma harzianum</i>	Ascomycota/ Sordariomycetes	Osad pochodzący z oczyszczalni ścieków	AMPA	-	[47]
<i>Trichoderma viride FRP 3</i>	Ascomycota/ Sordariomycetes	-	Glifozat	Źródło fosforu	[48]

\*na podstawie Catalogue of Life [1]

substratem, może inicjować aktywność omawianej hydrolazy [51]. Hydrolaza fosfonoocotanowa wyizolowana z komórek bakterii *P. fluorescens* 23F składa się z dwóch identycznych podjednostek o łącznej masie 80 kD. Jest enzymem metalozależnym, a jego aktywność znacząco wzrasta w obecności jonów  $Zn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ . Optymalnymi warunkami działania tego enzymu są temperatura 37°C oraz pH = 7,8 [53]. Aktywność typu hydrolazy fosfonoocotanowej wykazano także w ekstraktach białkowych uzyskanych ze szczepów bakterii *Pseudomonas* sp., *Curtobacterium* sp. i *Agromyces fucosus* Vs2 [54, 55].

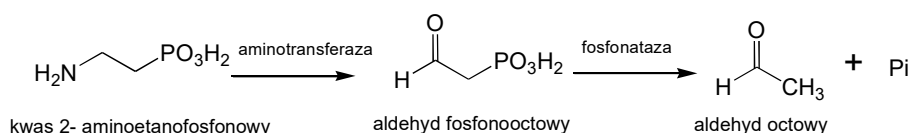
Zdolność do biodegradacji kwasu fosfonoocotowego wykazują grzyby z rodzaju *Penicillium*. Następujące szczepy z gatunku: *P. oxalicum* oraz *P. minioluteum* będące elementami kolekcji mikroorganizmów Uniwersytetu w Pawii, a także *P. purpurogenum*, *P. crutosum* oraz *P. funiculosum* (S1 oraz S2), pozyskane z użytków rolnych, na których stosowano herbicyd Roundup®, były zdolne do wzrostu na pożywce zawierającej ten fosfonian jako jedyne dostępne źródło fosforu [46]. Wyniki analiz płynów pochodowlanych zebranych po zakończeniu hodowli eksperymentalnych, w zależności od zastosowanego szczepu oraz stężenia PA, wykazały spadek zawartości kwasu fosfonoocotowego (gdy stanowił on jedyne źródło Pi) w granicach 20-50%. Jednocześnie w podłożach nie wykryto reszt fosforanowych, co oznacza, że uwolnione z cząsteczek degradowanego fosfonianu ugrupowania Pi były pobierane i wykorzystywane do prowadzenia procesów metabolicznych przez grzyby [46].

Podobnie jak w przypadku bakterii, za proces biodegradacji kwasu fosfonoocotowego przez grzyby odpowiada hydrolaza fosfonoocotanowa. Aktywność typową dla tego enzymu stwierdzono w ekstraktach białkowych ww. szczepów *Penicillium*. Ponadto w przypadku *P. oxalicum* enzym ten został wyizolowany, oczyszczony i scharakteryzowany [49]. W 20% określono także jego

pierwszorzędową strukturę. Jak stwierdzono, grzybowa hydrolaza fosfonoctanowa jest monomerycznym białkiem o masie ok. 43 kDa, wykazującym maksymalną zdolność katalityczną w środowisku o pH = 8,3 i w temperaturze 52°C. Interesującym jest, że w odróżnieniu od analogicznego enzymu wyizolowanego z szczepu bakterii *P. fluorescens*, aktywność hydrolazy grzybowej nie zależy od obecności dwuwartościowych kationów metali. Warto wspomnieć, że hydrolaza fosfonoctanowa jest jedynym do tej pory opisanym enzymem grzybowym, odpowiadającym za degradację pochodnych fosfonowych [49].

#### Rozkład ciliatyny

Biodegradacja najbardziej rozpowszechnionego w świecie przyrody naturalnego fosfonianu – ciliatyny, jest procesem dwuetapowym (Rys. 5). W pierwszym kroku, następuje przeniesienie grupy aminowej z 2-AEP na cząsteczkę pirogronianu, w wyniku czego utworzony zostaje aldehyd fosfonoctowy i alanina. Enzymem katalizującym ten proces jest aminotransferaza kwasu 2-aminoetanofosfonowego (PhnW; EC 2.6.1.37). W kolejnym kroku, przy udziale hydrolazy aldehydu fosfonoctowego, potocznie zwanego fosfonatazą (PhnX, EC 3.11.1.1) następuje hydrolityczny rozkład wiązania C-P, co prowadzi do uwolnienia reszty fosforanowej oraz aldehydu octowego [56, 57]. W reakcji tej etapem pośrednim rozpadu wiązania C-P, jest utworzenie zasady Schiffa pomiędzy aldehydem fosfonoctowym, a lizyną obecną w centrum aktywnym enzymu [58, 59].



Rysunek 5. Ścieżka biodegradacji ciliatyny  
Figure 5. Degradation pathway of ciliatine

Oba enzymy biorące udział w degradacji ciliatyny zostały wyizolowane z komórek bakteryjnych. Aminotransferaza kwasu 2-aminoetanofosfonowego została wyodrębniona z bakterii z gatunku *Pseudomonas aeruginosa* i *Salmonella typhimurium*, zaś fosfonataza z komórek *Bacillus cereus*. Fosfonataza jest enzymem należącym do grupy dehalogenaz halogenokwasów. Wykazano, że jest białkiem homodimerycznym o masie 30kDa, wykazującym największą aktywność w obecności kationów magnezu. Enzym ten wykazuje wysoką specyficzność

substratową w stosunku do ciliatyny oraz kwasu aminometanofosfonowego, ponadto udowodniono jego słabą aktywność w stosunku do tiofosfonoacetaldehydu oraz oksopropylofosfonianu [58, 60].

Mikroorganizmy degradujące kwas 2-aminoetanofosfonowy można podzielić na dwie grupy. W przypadku mikroorganizmów należących do pierwszej grupy (np. *Salmonella typhimurium*) 2-AEP służy jako źródło fosforu, a jego wykorzystanie jest możliwe jedynie w warunkach braku tego pierwiastka w podłożu, zatem proces utylizacji jest inicjowany przez regulon Pho. Z kolei mikroorganizmy należące do drugiej grupy (np. *Pseudomans putida*) mogą wykorzystywać 2-AEP jako źródło azotu, węgla lub fosforu. W tym przypadku proces jest niezależny od statusu fosforowego komórki, a ekspresja genów odpowiedzialnych za syntezę wymaganych białek, indukowana jest przez substrat i odbywa się za pośrednictwem regulatora transkrypcyjnego podobnego do LysR (LTTR). Wciąż nie wiadomo co jest przyczyną wspomnianych różnic w przebiegu procesu rozkładu ciliatyny [2].

Również wśród grzybów można znaleźć gatunki, posiadające zdolność biodegradacji 2-AEP (Tabela 1). Należą do nich m.in. psychrofilny *Geomyces pannorum* [41], mezofilny *Penicillium commune* [3] oraz *Penicillium purpurogenum* [42]. Zdolność metabolizowania ciliatyny przez *Penicillium purpurogenum* odkryto przez przypadek, kiedy pleśń ta rozwinęła się na zestalonej agarem pożywce Czapka, w której fosfonian w stężeniu 4mM zastępował nieorganiczne źródło fosforu i azotu. Dalsze badania wykazały, że grzyb ten rozkłada 2-AEP nie tylko w warunkach głodu fosforowego, ale także w warunkach dostępności tego składnika w podłożu. Badany szczep *Penicillium* metabolizuje ciliatynę dodawaną do pożywki w stężeniu 4mM w 70 %, gdy stanowi ona jedyne źródło azotu i fosforu i aż w 100%, gdy stanowi ona jedynie źródło azotu (przy dostępności Pi) [42].

Pomimo tego, że do tej pory nie wyodrębniono enzymów grzybowych odpowiedzialnych za degradację ciliatyny, wydaje się, że proces ten zachodzi w sposób podobny (jednak nie identyczny) jak u bakterii. Ekstrakty białkowe pozyskane z grzybni *P. purpurogenum* oraz *P. commune* wykazywały aktywność typową dla transaminazy oraz fosfonatazy [3, 42]. W odróżnieniu jednak od aminotransferazy kwasu 2-aminoetanofosfonowego pochodzenia bakteryjnego specyficznej wobec pirogronianu, transaminaza grzybowa obecna w pozyskanych ekstraktach, wykazywała większą swoistość w stosunku do kwasu  $\alpha$ -ketoglutowego oraz szczawiooctowego [42].



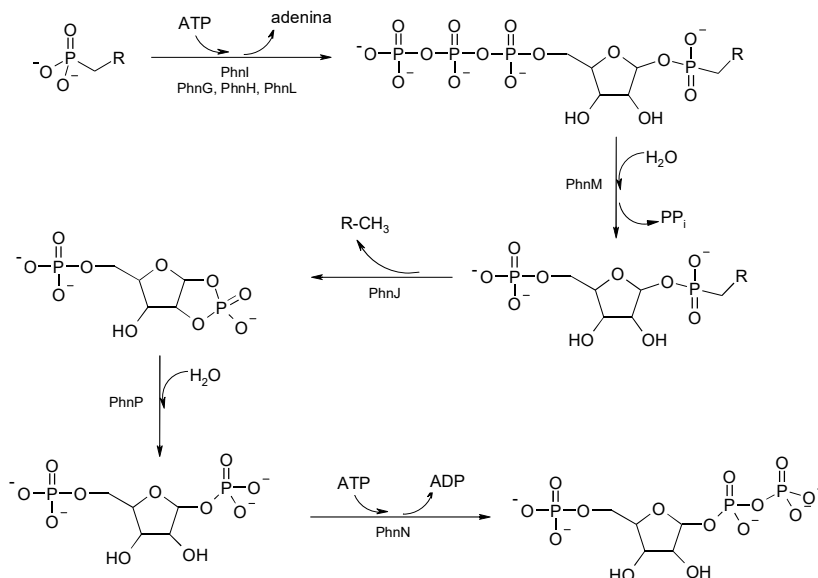


alifatycznej lub aromatycznej części wyjściowej struktury związku fosfonowego. Szczegółowy przebieg tych przemian długo pozostawał tajemnicą, chociaż od początku przypuszczano, że rozkład wiązania C-P musi zachodzić w sposób homolityczny (rodnikowy), przy udziale odpowiedniej liazy, a sam proces przebiega z utworzeniem pochodnych D-rybozoloowych [65]. Ten sposób degradacji związków fosfonowych, obecnie zwany ścieżką C-P liazy, nie jest procesem jednoetapowym, a obejmuje kilka reakcji pośrednich, katalizowanych przez różne enzymy.

Mechanizm rozkładu pochodnych fosfonowych na ścieżce C-P liazy został szczegółowo opisany dla bakterii *Escherichia coli*. W przypadku tych bakterii, uczestniczące w tym szlaku enzymy kodowane są przez 14-cistronowy operon *phn*, określane jako „CDEFGHIJKLMNOP”. Operon *phn* jest częścią większego zestawu genów (tzw. regulonu *Pho*), odpowiedzialnych za transport oraz metabolizowanie związków fosforowych przez komórki bakteryjne. Jego transkrypcja rozpoczyna się w warunkach niedoboru przyswajalnych form fosforu, takich jak:  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , w środowisku życia mikroorganizmu [2, 66, 67].

Kluczowy etap rozkładu związku fosfonowego obejmuje następujące procesy (Rys. 7) [25, 61, 67]:

1. aktywację fosfonianu poprzez jego przyłączenie w miejsce reszty adeninowej, będącej strukturalną częścią ATP. Reakcja katalizowana jest przez PhnI i wspomagana przez PhnG, PhnH i PhnL;
2. hydrolizę bezwodnika  $\alpha,\beta$ -fosforanu, w wyniku której powstaje 5-fosforybozylo-1-fosfonian oraz reszta difosforanowa. Reakcja katalizowana przez difosfohydrolazę trifosforybozylo 1-fosfonianu (PhnM);
3. rozcięcie wiązania węgiel - fosfor w cząsteczce 5-fosforybozylo-1-fosfonianu, w następstwie którego uwolniona zostaje alifatyczna lub aromatyczna część wyjściowej struktury fosfonianu oraz powstaje 5-fosforybozylo-1,2-cyklofosforan. Reakcja katalizowana przez C-P liazę (PhnJ);
4. utworzenie rybozylo-1,5-bisfosforanu poprzez hydrolizę 5-fosforybozylo-1,2-cyklofosforanu. Reakcja katalizowana przez fosforybozylo cyklofosfodiesterazę (PhnP);
5. fosforylację rybozylobisfosforanu i utworzenie 5-fosforybozylo-1-pirofosforanu (PRPP), przy udziale fosfokinazy rybozylopirofosforanu (PhnN).



Rysunek 7. Biodegradacja związków fosfonowych na ścieżce C-P liazy [66]

Figure 7. Biodegradation of phosphonates in C-P lyase pathway [66]

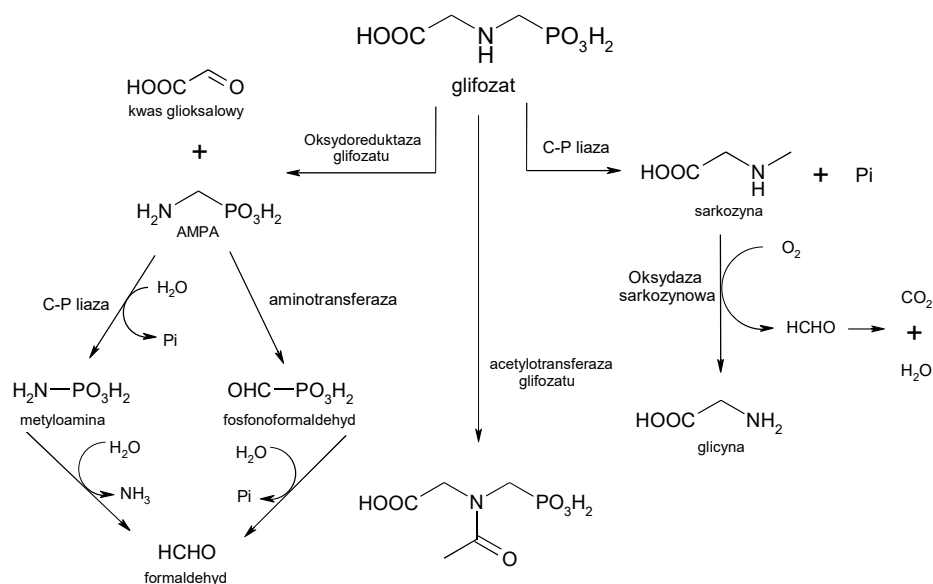
Reakcja, w której powstaje PRPP jest ostatnią, która zachodzi w tzw. ścieżce C-P liazy. Wydzielenie reszty fosforanowej Pi z PRPP wymaga obecności dwóch dodatkowych enzymów niekodowanych przez operon *phn*: fosforybozylotransferazy, która usuwa ugrupowanie difosforanowe z rybozylodifosforanu i difosfatazy, która hydrolizuje difosforan do Pi [2, 66, 67].

Oprócz enzymów bezpośrednio zaangażowanych w konwersję fosfonianów, operon *phn* koduje również zespół białek odpowiedzialnych za transport tych pochodnych do wnętrza komórki. Wśród tych białek znajdują się: transportery ABC (PhnC), białka transbłonowe (PhnE) oraz peryplazmatyczne białka wiążące fosfoniany (PhnD) [2, 66, 67].

Wydaje się, że z powodu bardzo małej specyficzności substratowej, kompleks enzymatyczny C-P liazy odgrywa największą rolę w rozkładzie fosfonianów. Zdolność do transformowania związków fosfonoorganicznych w taki właśnie sposób przypisuje się bakteriom [2, 31] oraz grzybom strzępkowym. Przykładem tych ostatnich może być *Penicillium notatum*, który wykazywał zdolność do wzrostu w podłożu zawierającym jako źródło fosforu m.in.: kwas 1-metylo-2-oksopropylfosfonowy, L-feniloalanylocilatynę, glicylocilatynę, kwas amino-(3-metoksyfenilo)-metylofosfonowy [45].

*Biodegradacja glifozatu*

Zdecydowana większość prac poświęconych biodegradacji fosfonianów odnosi się do glifozatu, który traktuje się jak związek modelowy w badaniach biotransformacji związków fosfonoorganicznych. Taki stan rzeczy spowodowany jest skalą komercyjnego zastosowania herbicydu oraz licznymi kontrowersjami związanymi z bezpieczeństwem tej substancji dla wielu elementów biocenozy. Aktualny stan wiedzy wskazuje, że N-fosfonometyloglicyna może być biotransformowana w wyniku różnych przemian enzymatycznych [25]. Podobnie jak w przypadku wcześniej opisywanych związków fosfonoorganicznych, procesy te najdokładniej zostały scharakteryzowane dla bakterii (Rys. 8).



Rysunek 8. Szlaki mikrobiologicznej degradacji N-fosfonometyloglicyny  
 Figure 8. Microbial degradation pathway of N-(phosphonomethyl)glycine

Jedna ze ścieżek mineralizacji glifozatu zakłada, że w pierwszej kolejności kompleks enzymatyczny C-P liazy rozcina wiązanie węgiel-fosfor. W wyniku tego procesu powstaje grupa fosforanowa pobierana przez mikroorganizm oraz sarkozyna, będąca aminokwasem niebiałkowym. W kolejnym kroku, sarkozyna ulega działaniu oksydazy sarkozynowej [EC 1.5.3.1], czego konsekwencją jest jej demetylacja oraz utworzenie glicyny. Drugi sposób biodegradacji glifozatu prowadzi najpierw przez enzymatyczny rozkład wiązania łączącego atomy węgla i azotu, przy udziale oksydoreduktazy glifozatu [1.5.3.23]. W wyniku tej reakcji

powstaje kwas glioksalowy oraz kwas aminometylofosfonowy (AMPA). Kwas glioksalowy może być m.in. włączany w cykl Krebsa, zaś AMPA poddawana jest działaniu C-P liazy, w wyniku czego do środowiska uwalniana jest reszta fosforanowa oraz metyloamina. Niektóre doniesienia naukowe wskazują również alternatywną drogę degradacji AMPA przy udziale enzymu z grupy aminotransferaz, prowadzącą do utworzenia fosfonoformaldehydu, rozkładanego dalej do formaldehydu oraz fosforanu [25]. O wiele mniej znanym procesem, w którym *N*-fosfonometyloglicyna traci właściwości herbicydowe jest jej *N*-acetylowanie. Zdolność do przeprowadzenia takiej reakcji zaobserwowano w przypadku bakterii *Bacillus licheniformis*. Enzymem odpowiedzialnym za ten proces jest acetylotransferaza glifozatu (GAT) [68].

Wśród grzybów, dla których potwierdzono zdolność do rozkładu *N*-fosfonometyloglicyny, znajdują się zarówno grzyby strzępkowe: *Aspergillus oryzae* [36, 37], *Fusarium oxysporum* [40], *Penicillium chrysogenum* [43], *Trichoderma viridae* [48], *Trichoderma harzianum* [35], jak i drożdże *Solicocozyma terricola* [4]. Wymienione gatunki rozkładają glifozat, wykorzystując tę pochodną jako źródło fosforu, a w niektórych przypadkach również jako źródło azotu [4, 37]. W przypadku grzybów, jako produkt pośredni degradacji glifozatu zwykle wymieniany jest AMPA, co sugeruje udział w tym procesie enzymów o aktywności tożsamej lub podobnej do oksydoreduktazy glifozatu. Co interesujące, powstawanie tego metabolitu zaobserwowano również podczas działania na glifozat peroksydazy manganowej oraz lakazy - enzymów ligninolitycznych produkowanych przez grzyby [69]. Taki rezultat przemian sugeruje inny, niż w przypadku bakterii, sposób biodegradacji tej substancji.

## UWAGI KOŃCOWE

Widoczna dysproporcja w liczbie i szczegółowości informacji dotyczących przemian związków fosfonoorganicznych przez bakterie i przez grzyby, wyraźnie korzystna dla tych pierwszych wskazuje, że analiza procesów biodegradacji prowadzonych przez organizmy eukariotyczne jest bardziej złożonym zagadnieniem. Jedną z istotnych przyczyn tego stanu rzeczy może być różnica w mechanizmach adaptacji i strategii przetrwania, charakteryzujących te odmienne taksonomicznie grupy organizmów. Odmienność wspomnianych mechanizmów sprawia, że o ile „odpowiedź katalityczną” bakterii na obecność fosfonianów cechuje większa dynamika procesów biotransformacji, to grzyby wydają się posiadać większy potencjał do bardziej zróżnicowanych przemian tych substancji i bardziej wszechstronnego wykorzystania produktów.

**PODZIĘKOWANIA**

Publikacja powstała w ramach realizacji projektu badawczego OPUS UMO-2017/27/B/NZ4/00698, finansowanego ze środków przyznanych przez Narodowe Centrum Nauki.

**PIŚMIENNICTWO CYTOWANE**

- [1] M.E. Richmond, *J. Environ. Stud. Sci.*, 2018, **8**, 416.
- [2] J.W. McGrath, J.P. Chin, J.P. Quinn, *Nat. Rev. Microbiol.*, 2013, **11**, 412.
- [3] N. Stosiek, M. Klimek-Ochab, *Biotechnologia*, 2018, **99**, 357.
- [4] N. Stosiek, A. Terebieniec, A. Ząbek, P. Młynarz, H. Cieśliński, M. Klimek-Ochab, *Bioorg. Chem.*, 2019, **93**, 102866.
- [5] K. Kavanagh, *Fungi Biology and Application*, John Wiley & Sons, 2005.
- [6] <http://www.catalogueoflife.org>.
- [7] G.W. Gooday, *Fungal exoenzymes*, in: *The growing fungus*, Springer Netherlands, 1994.
- [8] A. Casadevall, J.D. Nosanchuk, P. Williamson, M.L. Rodrigues, *Trends Microbiol.*, 2009, **17**, 158.
- [9] Z. Libudzisz, K. Kowal, *Mikrobiologia techniczna*, T.1. PWN, Warszawa, 2008.
- [10] J.P. Quinn, A.N. Kulakova, N.A. Cooley, J.W. Mcgrath, *Environ. Microbiol.*, 2007, **9**, 2392.
- [11] C. Ponnampuruma, *Ann NY Acad Sci*, 1972, **194**, 56.
- [12] W. Cooper, W.M. Onwo, J.R. Cronin, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1992, **56**, 4109.
- [13] G.P. Horsman, D.L. Zechel, *Chem. Rev.*, 2017, **117**, 5704.
- [14] E. Rott, H. Steinmetz, J.W. Metzger, *Sci. Total Environ.*, 2018, **615**, 1176.
- [15] W.W. Metcalf, W.A. Donk *Annu Rev Biochem.*, 2009, **78**, 65.
- [16] M. Horiguchi, M. Kandatsu, *Nature*, 1959, **184**, 901.
- [17] D. Hendlin, E.O. Stapley, M. Jackson, H. Wallick, A.K. Miller, F.J. Wolf, T.W. Miller, L. Chaiet, F.M. Kahan, L.E. Foltz, H.B. Woodruff, J.M. Mata, S. Hernandez S. Mochales, *Science*, 1969, **166**, 122.
- [18] J. Shoji, T. Kato, H. Hino, *J. Antibiot.*, 1986, **39**, 1011.
- [19] F.M. Kahan, J.S. Kahan, P.J. Cassidy, H. Kropp, *Ann NY Acad Sci*, 1974, **235**, 122.
- [20] M.E. Falagas, K.P. Giannopoulou, G.N. Kokolakis, P.I. Rafailidis, *Clin. Infect. Dis.* 2008, **46**, 1069.
- [21] T. Murakami, H. Anzai, S. Imai, A. Satoh, K. Nagaoka, C. J. Thompson, *Mol. Gen. Genet.*, 1986, **205**, 42.
- [22] B. Nowack, *Water Res.*, 2003, **37**, 2533.
- [23] P. Kafarski, B. Lejczak, *Curr. Med. Chem., Anticancer Agents*, 2001, **1**, 301.
- [24] E.D. Naydenova, P.T. Todorov, P.I. Mateeva, R.N. Zamfirova, N.D. Pavlov, S.B. Todorov, *Amino Acids*, 2010, **39**, 1537.
- [25] H. Zhan, Y. Feng, X. Fan, S. Chen, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2018, **102**, 5033.
- [26] J. Lipok, H. Studnik, S. Gruyaert, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 2010, **73**, 1681.
- [27] A.B. Boxall, C.J. Sinclair, K. Fenner, D. Kolpin, S. J. Maund, *Environ. Sci. Technol.*, 2004, **38**, 368A.
- [28] <http://www.eolss.net/Sample-Chapters/C17/E6-58-09-08.pdf>
- [29] I. Greń, *Chemik*, 2012, **8**, 835.
- [30] OECD Guidelines for Testin of Cemicals, Section 3. Degradation and Accumulation,” 1992.
- [31] S.V. Kononova, M.A. Nesmeyanova, *Biochemistry (Moscow)*, 2002, **67**, 184.

- [32] D. Drzyzga, G. Forlani, J. Vermader, P. Kafarski, J. Lipok, *Environ. Microbiol.*, 2017, **19**, 1065.
- [33] J. Lipok, T. Cierpicki, P. Kafarski, *Phosphorus Sulfur and Silicon*, 2002, **177**, 1657.
- [34] P. Lenartowicz, P. Kafarski, J. Lipok, *Biodegradation*, 2014, **26**, 65.
- [35] T. Krzyśko-Lupicka, W. Strof, M. Skorupa, P. Wieczorek, P. Kafarski, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1997, **48**, 549.
- [36] G.M. Fu, Y. Chen, R. Li, X.Q. Yuan, C.M. Liu, Y. Wan, *Prep. Biochem. Biotechnol.*, 2017, **47**, 782.
- [37] C.S. Carranza, J.P. Regnicoli, M.E. Aluffi, N. Benito, S.M. Chiacchiera, C.L. Barberis, C.E. Magnoli, *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 2019, **16**, 7673.
- [38] D. Bode, R., Birnbaum, *Biochem. Physiol. Pflanzen.*, 1989, **184**, 163.
- [39] N.G. Ternan, G. McMullan, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2000, **184**, 237.
- [40] J.V. Castro, M.C.R. Peralba, M.A.Z. Ayub, *J. Environ. Sci. Heal. - Part B Pestic. Food Contam. Agric. Wastes*, 2007, **42**, 883.
- [41] M. Klimek-Ochab, A. Mucha, E. Zymańczyk-Duda, *Curr. Microbiol.*, 2014, **68**, 330.
- [42] M. Klimek-Ochab, A. Obojska, A. M. Picco, B. Lejczak, *Biodegradation*, 2007, **18**, 223.
- [43] M. Klimek, B. Lejczak, P. Kafarski, G. Forlani, *Pest. Manag. Sci.*, 2001, **57**, 815.
- [44] E. Zboinska, I. Maliszewska, B. Lejczak, P. Kafarski, *Lett. Appl. Microbiol.*, 1992, **15**, 269.
- [45] B. Bujacz, P. Wieczorek, T. Krzyśko-Lupicka, Z. Gołąb, B. Lejczak, P. Kafarski, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995, **61**, 2905.
- [46] G. Forlani, M. Klimek-Ochab, J. Jaworski, B. Lejczak, A.M. Picco, *Microbiol. Res.*, 2006, **110**, 1455.
- [47] R. Bouchiat, E. Veignie, D. Grizard, C. Soebert, M. Vigier, C. Rafin, *Desalin. Water Treat.*, 2016, **57**, 6740.
- [48] N. Arfarita, T. Imai, A. Kanno, T. Yarimizu, S. Xiaofeng, W. Jie, T. Higuchi, R. Akada, *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, 2013, **27**, 3518.
- [49] M. Klimek-Ochab, G. Raucchi, B. Lejczak, G. Forlani, *Res. Microbiol.*, 2006, **157**, 125.
- [50] G. McMullan, F. Harrington, J. P. Quinn, *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, **58**, 1364.
- [51] A. N. Kulakova, L. A. Kulakov, N.V. Akulenko, V.N. Ksenzenko, J.T. Hamilton, J.P. Quinn, *J. Bacteriol.*, 2001, **183**, 3268.
- [52] A.N. Kulakova, L.A. Kulakov, J.W. McGrath, J.P. Quinn, *Microb. Biotechnol.*, 2009, **2**, 234.
- [53] J.W. McGrath, G.B. Wisdom, G. McMullan, M.J. Larkin, J.P. Quinn, *Eur. J. Biochem.*, 1995, **230**, 225.
- [54] J.W. McGrath, A.N. Kulakova, J.P. Quinn, *J. Appl. Microbiol.*, 1999, **86**, 834.
- [55] S.N. O'Loughlin, R.L. Graham, G. McMullan, N.G. Ternan, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2006, **261**, 133.
- [56] J.M. La Nauze, J.R. Coggins, H.B.F. Dixon, *Biochem. J.*, 1977, **165**, 409.
- [57] C. Dumora, A.M. Lacoste, A. Cassaigne, *Biochim. Biophys. Acta (BBA)/Protein Struct. Mol.*, 1989, **997**, 193.
- [58] M.C. Morais, W. Zhang, A.S. Baker, G. Zhang, D. Dunaway-Mariano, K.N. Allen, *Biochemistry*, 2000, **39**, 10385.
- [59] A.S. Baker, M.J. Ciocci, W.W. Metcalf, J. Kim, P.C. Babbitt, B.L. Wanner, B.M. Martin, D. Dunaway-Mariano, *Biochemistry*, 1998, **37**, 9305.
- [60] D.B. Olsen, T.W. Hepburn, S.I. Lee, B.M. Martin, P.S. Mariano, D. Dunaway-Mariano, *Arch. Biochem. Biophys.*, 1992, **296**, 144.
- [61] N.G. Ternan, J.W. Grath, G.M. Mullan, J.P. Quinn, *Worlds J. Microbiol. Biotechnol.*, 1998, **14**, 635.
- [62] N.G. Ternan, J.T.G. Hamilton, J.P. Quinn, *Arch. Microbiol.*, 2000, **173**, 35.
- [63] A.N. Kulakova, G.B. Wisdom, L.A. Kulakov, J.P. Quinn, *J. Biol. Chem.*, 2003, **278**, 23426.

- 
- [64] A.N. Kulakova, L.A. Kulakov, J.F. Villarreal-Chiu, J.A. Gilbert, J.W. Mcgrath, J.P. Quinn, *FEMS Microbiol. Lett.*, 2009, **292**, 100.
- [65] L.Z. Avila, K.M. Draths, J.W. Frost, *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, 1991, **1**, 51.
- [66] M.C. Manav, N. Sofos, B. Hove-Jensen, D.E. Brodersen, *BioEssays*, 2018, **40**, 1800091.
- [67] P. Seweryn, L.B. Van, M. Kjeldgaard, C.J. Russo, L.A. Passmore, B. Hove-Jensen, B. Jochimsen, D.E. Brodersen, *Nature*, 2015, **525**, 68.
- [68] B. Delaney, J. Zhang, G. Carlson, J. Schmidt, B. Stagg, B. Comstock, A. Babb, C. Finlay, R.F. Cressman, G. Ladics, A. Cogbum, D. Siehl, L. Bardina, H. Sampson, Y. Han, *Toxicol. Sci.*, 2008, **102**, 425.
- [69] L. Pizzul, M.D.P. Castillo, J. Stenström, *Biodegradation*, 2009, **20**, 751.

Praca wpłynęła do Redakcji 3 stycznia 2020 r.