

Bożena Muszyńska✉

Jan Lazur

Konrad Dobosz

Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Kraków

✉Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków; tel.: (22) 620 54 433, e-mail: muchon@poczta.fm

Artykuł otrzymano 31 października 2017 r.

Artykuł zaakceptowano 15 listopada 2017 r.

**Słowa kluczowe:** grzyby jadalne, peroksydaza ligninowa, peroksydaza manganozależna, lakaza, bioremediacja

## STRESZCZENIE

Grzyby jadalne według istniejących hipotez dzięki procesom biochemicznym i enzymom przyczyniły się do rozwoju ewolucji żywych organizmów na Ziemi. Celem pracy jest przedstawienie roli grzybn i owocników grzybów jadalnych, w procesach związanych z bioremediacją środowiska. Obecność ksenobiotyków w środowisku jest poważnym problemem ze względu na ich szkodliwy wpływ na organizmy żywe, a ich usunięcie uznaje się za istotne dla ochrony zdrowia. Grzyby wykazują tę zdolność dzięki enzymom, występującym w strzępkach oraz wydzielanym do środowiska. Organizmy te dekontaminują zanieczyszczenia na drodze biodegradacji, biosorpcji i biokonwersji. Ich duża skuteczność jest również spowodowana szybkim wzrostem, produkcją dużej ilości biomasy i powszechnym występowaniem strzępek w środowisku. Z udziałem enzymów, grzyby wykazują wysoki potencjał do usuwania zanieczyszczeń takich jak wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, oraz do oczyszczania gleb skażonych metalami ciężkimi, dzięki zdolności do ich akumulacji. Głównymi enzymami biorącymi udział w rozkładzie ksenobiotyków są: peroksydaza ligninowa, peroksydaza manganozależna, enzymy wytwarzające nadtlenek wodoru, oraz lakaza, która może rozkładać difenole, aryloaminy, aminofenole. Obecność tych enzymów w grzybn i oraz ich wydzielanie może być wykorzystane do usuwania ksenobiotyków ze środowiska.

## WPROWADZENIE

Zanieczyszczenie środowiska nieorganicznymi i organicznymi substancjami stało się jednym z głównych problemów na świecie. Substancje wprowadzane do środowiska nazywane są ksenobiotykami, czyli związkami niewystępującymi naturalnie w naturze oraz większość z nich nie jest degradowana przez rdzenną mikroflorę i faunę [1-3].

Gdyby nie zdolność grzybów do rozkładu materii organicznej to prawdopodobnie grubość jej warstwy i brak obiegu pierwiastków pochodzących z rozkładu, stałaby się przyczyną zahamowania procesów życiowych na Ziemi. Dzięki obecności m.in. niespecyficznego enzymów lignolitycznych czy też związków bogatych w reszty sulfhydrylowe w ścianie komórkowej, organizmy te zdolne są do biotransformacji ksenobiotyków do postaci niezagrażającej środowisku a w przypadku metali ciężkich, które nie mogą być rozłożone do nieszkodliwych produktów, do akumulacji i zamknięcia w postaci specyficznych połączeń [1].

Obecność ksenobiotyków w środowisku naturalnym oraz w organizmach żywych jest poważnym problemem ze względu na ich szkodliwy wpływ na człowieka i środowisko. Z tego powodu opracowanie skutecznych metod pozwalających na usunięcie ksenobiotyków ze środowiska jest szczególnie istotne [1-3].

Obecnie najczęściej stosowanym sposobem remediacji jest spalanie, ale metoda ta posiada wady takie jak wysokie koszty i duże zużycie energii [4,5]. W następstwie tego procesu związki chemiczne, które zostają wprowadzone do środowiska stanowią zagrożenie dla zdrowia i życia organizmów żywych. Eliminacja zanieczyszczeń i odpadów ze środowiska jest konieczna, aby utrzymać jego homeostatyczny rozwój. Rozmiary tego problemu w obecnym czasie i brak uniwersalnego rozwiązania, wymuszają poszukiwanie taniej, skutecznej i bezpiecznej metody oczyszczania środowiska [2,3].

Bioremediacja polega na zastosowaniu żywych organizmów glebowych takich jak grzyby, bakterie i rośliny, do rozkładania zanieczyszczeń organicznych w zanieczyszczonej glebie. Mikroorganizmy zastosowane w tym procesie muszą być przetestowane i mieć udowodnioną skuteczność. Bakterie są szczególnie skuteczne w bioremediacji gleb takimi związkami jak np. chlorowane węglowodory. Innym ważnym zadaniem w procesie bioremediacji jest usuwanie oleju z wód. Dla poprawienia rozwoju bakterii odpowiedzialnych za rozkład oleju, dodaje się do środowiska nawozy azotowe i fosforowe, a głównymi zanieczyszczeniami gleb są: policykliczne aromatyczne węglowodory (PAH), jako pozosta-

łości z przeróbki ropy naftowej, smoły, węgla i podobnych substancji, polichlorowane bifenyle (PCB), które stosowane są jako środki chłodzenia w transformatorach, oraz dioksyny jako produkty uboczne procesów chemicznych, znajdujące się w lotnych popiołach, powstałych w procesie spalania [4,5].

Głównym celem bioremediacji jest stymulowanie naturalnej biodegradacji poprzez organizmy występujące naturalnie w środowisku; może być ona wykonana *in-situ* i/ lub *ex-situ*. Ta pierwsza dotyczy traktowania zanieczyszczonych materiałów na miejscu, a ta druga polega na usunięciu zanieczyszczonego materiału i poddaniu go procesom bioremediacji w innym miejscu. W piśmiennictwie naukowym dotyczącym tych metod, można znaleźć liczne informacje na temat wykorzystania bakterii. Grzyby są rzadziej badane w tym kierunku mimo tego, że obecnie znana jest ich istotna rola w degradacji materiałów organicznych w ekosystemach oraz, że posiadają duży potencjał do remediacji zanieczyszczonej gleby i wody. [6]. Metody biologiczne oparte na biotechnologii przemysłowej i środowiskowej skupiają się na rozwoju „czystych technologii”, które kładą nacisk na maksymalną produkcję, zmniejszenie wytwarzania odpadów, obróbkę i konwersję odpadów w użytecznej formie. Technologie te koncentrują się na wykorzystaniu biologicznych metod w rekultywacji odpadów. Jedną z takich biologicznych metod jest właśnie mykoremediacja, która opiera się na wykorzystaniu grzybów do usuwania odpadów ze środowiska [1]. Grzyby dekontaminują zanieczyszczenia na drodze biodegradacji, biosorpcji i biokonwersji. Każdy z tych procesów ma swoje zalety i ograniczenia w stosowaniu [1,2]. Zdolność grzybów do neutralizowania wielu toksycznych substancji spowodowała, że zwrócono na nie uwagę w wykorzystaniu w bioremediacji. Organizmy te mają zdolności bioremediacyjne dzięki enzymom, występującym w ich strzępkach; ich duża skuteczność w procesach oczyszczania środowiska jest również spowodowana szybkim wzrostem, produkcją dużej ilości biomasy i powszechnym występowaniem strzępek w środowisku [4,5].

Grzyby do prawidłowego wzrostu grzybni potrzebują substratów takich jak np. celuloza (źródło węgla i energii) i z tego właśnie powodu kolby kukurydzy, słoma czy też trociny mogą być używane jako składniki pożywki, co może też przyczyniać się do zwiększenia szybkości degradacji zanieczyszczeń. Ponadto, wytwarzanie strzępek pod ziemią, pozwala na bardziej efektywną kolonizację i eksplorację zanieczyszczonej gleby [6,7]. Spośród wszystkich innych organizmów, grzyby są unikatowe z tego powodu, że wydzielają wiele enzymów pozakomórkowo, a te mogą uczestniczyć w degradacji zanieczyszczeń [7]. Najłatwiejszą metodą oczyszczania gleby jest dodanie glebowej materii organicznej, składającej się z resztek zwierzęcych i roślinnych (w różnych stadiach rozkładu), co umożliwi tworzenie związków pomiędzy toksycznymi ksenobiotykami a cząsteczkami organicznymi znajdującymi się w kompoście. Koncepcja kompostowania stosowana do przekształcania odpadów w ściółkę i pożywkę glebową jest obecnie wykorzystywana do unieszkodliwiania odpadów niebezpiecznych. Istnieje dużo informacji na temat procesu bioremediacji pestycydów przez grzyby [8]. Ciekawe podejście do oczyszczania

środowiska przez grzyby wywodzi się z badań degradacji węglowodorów ropopochodnych [9].

Określenie „biodegradacja” używane jest do opisu całkowitej degradacji i recyklingu cząsteczki złożonej ze składników mineralnych. Proces ten polega na mineralizacji związku wyjściowego do prostszych związków, takich jak: CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NO<sub>3</sub> i innych związków nieorganicznych, przez organizmy żywe. Opublikowanych zostało wiele raportów na temat związków wytwarzanych przez degradację odpadów i czynników wpływających na ten proces. Grzyby syntetyzują zewnątrzkomórkowe peroksydazy, celulazy, ligninazy, pektynazy, ksylanazy i oksydazy, jednakże mechanizm biodegradacji jest bardzo skomplikowany. Powodem jest wpływ na ten proces innych systemów biochemicznych i interakcje enzymów lignolitycznych z systemem innych enzymów (np. monooksygenazy cytochromu P450) oraz z nieenzymatycznym układem związków niskocząsteczkowych takich jak rodnik hydroksylowy, anionorodnik ponadtlenkowy, nadtlenuk wodoru, które są wytwarzane przez grzyby [1-3].

Drugim ważnym sposobem usuwania zanieczyszczeń ze środowiska przez grzyby jest biosorpcja. Sposób ten stosowany jest do oczyszczania ścieków przemysłowych. Biosorpcja to proces, w którym mikroorganizmy są stosowane do usuwania i odzyskiwania substancji toksycznych (w tym metali) z roztworów wodnych. Metoda ta znana jest od kilku lat, ale w ostatnim czasie stała się obiecującą technologią ze względu na jej niskie koszty. W procesie tym, pobieranie metali ciężkich jak i związków radioaktywnych, następuje w wyniku oddziaływań fizyko-chemicznych pomiędzy jonami metali a związkami organicznymi obecnymi w strzępkach grzybów. Biosorpcja jest skuteczną metodą odzyskiwania metali ze względu na wysoką zdolność absorpcji zanieczyszczeń przez strzępki grzybów; technika ta staje się coraz bardziej popularna do usuwania zanieczyszczeń zawierających metale [1,2].

Biokonwersja (inaczej biotransformacja) polega na przetwarzaniu różnych substancji chemicznych za pośrednictwem enzymów organizmów żywych. Proces ten może zachodzić przy udziale enzymów wyizolowanych z mikroorganizmów lub przy udziale całych strzępek, komórek czy tkanek, syntetyzujących określone enzymy. Enzymy w takich reakcjach pełnią rolę biokatalizatora i mogą selektywnie wybierać dany substrat do reakcji biokonwersji. Wszelkie odpady lignocelulozowe, generowane przez przemysł, mogą być używane do hodowli grzybów, które w dalszym etapie będą stosowane jako produkt komercyjny. Wybór podłoża pod uprawę grzybów jest zwykle zależny od rodzaju materii organicznej w danym podłożu oraz od wymagań grzyba uprawianego na danym podłożu [4].

## ENZYMY GRZYBÓW BASIDIOMYCOTA W BIOREMEDIACJI

Grzyby białej zgnilizny drewna (WRF, ang. *white rot fungi*) są nazywane tak, ponieważ katalizują procesy degradacji prowadzące do wybielenia drewna [10,11]. Enzymatyczny proces trawienia ligniny w drewnie powoduje jej rozkład i pozostawienie biomasy drewna o białym kolorze. Proces

bioremediacji w wyniku działania grzybów wykorzystuje inne mechanizmy niż te, które występują u bakterii [7]. Główną przewagą jaką mają grzyby nad bakteriami w procesie rozkładu materii jest to, że nie wymagają one wstępnego przygotowania pod konkretne zanieczyszczenie. Zazwyczaj bakterie muszą być początkowo prezentowane na działanie zanieczyszczenia, aby zapoczątkować syntezę enzymów degradujących bądź transformujących dane zanieczyszczenie. W tym przypadku rodzaj skażenia musi znajdować się w znacznym stężeniu, w innym wypadku nie nastąpi indukcja syntezy enzymów bakteryjnych. Z tego powodu bakterie mogą degradować zanieczyszczenia tylko od pewnego stężenia [7]. Lang (1995) opisuje, że grzyby białej zgnilizny drewna wykazują niezwykle zdolności do przekształcania opornych zanieczyszczeń takich jak wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) [12]. Według tych autorów, zdolności te mogą być zastosowane do odkażania gleb zanieczyszczonych ropą naftową, jednakże gleby te muszą zostać wzbogacone o lignocelulozowe tak aby mógł być możliwy wzrost określonych gatunków grzybów. Grzyby białej zgnilizny drewna są również stosowane w bioremediacji gleb skażonych metalami ciężkimi, dzięki zdolności do ich akumulacji [12].

#### MECHANIZM DEGRADACJI KSENOBIOTYKÓW PRZEZ GRZYBY BIAŁEJ ZGNILIZNY DREWNA

Główny mechanizm degradacji katalizowany przez grzyby białej zgnilizny drewna dotyczy rozkładu polimeru ligniny w środowisku naturalnym. Pozakomórkowe enzymy modyfikujące ligninę mają małą specyficzność substratową, więc są zdolne do mineralizowania dużej ilości różnych wysoce opornych zanieczyszczeń organicznych podobnych strukturalnie do ligniny [13]. Głównymi enzymami systemu degradacji ligniny są: peroksydaza ligninowa, peroksydaza manganozależna, lakaza oraz enzymy wytwarzające  $H_2O_2$ , chociaż nie wszystkie grzyby lignolityczne syntetyzują je w jednakowym stopniu [10].

Lignina, jako jeden z głównych składników drewna razem z celulozą i hemicelulozą, jest najbardziej trwałym związkiem drewna i jednym z najbardziej trwałych surowców naturalnych. Zawdzięcza tę cechę skomplikowanej strukturze, w skład której wchodzi monolignole (pochodne fenylopropanu) i trzy alkohole (*p*-kumarylowy, koniferylowy, synapinowy) [14]. Grzyby białej zgnilizny drewna należą w większości do gromady podstawczaków (Basidiomycota), a tylko niektóre do workowców (Ascomycota). Są one ważnymi organizmami z tego powodu, że jako jedyne wykazują zdolność do mineralizacji ligniny i w efekcie do syntezy  $CO_2$  i  $H_2O$ . Termin „biała zgnilizna” był używany do opisu form próchnienia drewna gdzie degradowana jest lignina, hemiceluloza i celuloza, zostawiając jasne, białe, włókniste pozostałości całkowicie różne od brązowego proszku, będącego pozostałością rozkładu drewna powodowanego przez grzyby brązowej zgnilizny drewna [15]. Lignina nie jest jedynym źródłem węgla dla grzybów białej zgnilizny drewna, ale rozkładają ją, aby uzyskać dostęp do celulozy i hemicelulozy.

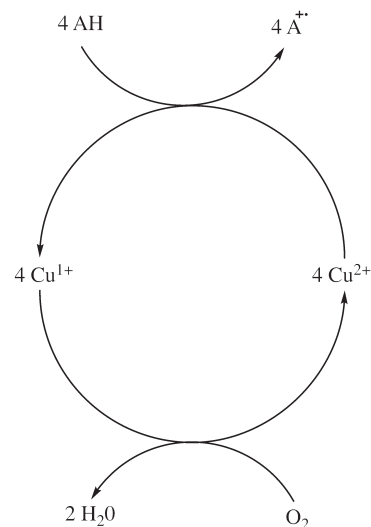
Rozkład ligniny bazuje na zdolności WRF do syntezy jednego lub więcej pozakomórkowych enzymów modyfikują-

cych ligninę, które dzięki braku specyficzności substratowej są także zdolne do degradacji dużej ilości ksenobiotyków, nawet, jeśli występują one w niskich stężeniach [16]. Dzięki tej zdolności można możliwe jest zastosowanie kultur grzybowych do usuwania zanieczyszczeń organicznych ze środowiska.

Enzymy modyfikujące ligninę (LMEs, ang. *Lignin modifying enzymes*) to przede wszystkim oksydoreduktazy katalizujące przepływ elektronów z jednego substratu na inny. LMEs działają poprzez generowanie wolnych rodników, które losowo reagują z polimerem ligniny, rozrywając wiązania kowalencyjne i uwalniając związki fenolowe. Wyróżnia się dwa główne typy enzymów modyfikujących ligninę: peroksydazy i lakazy (fenolowe oksydazy). Jak już wcześniej wspomniano głównymi LMEs są peroksydaza ligninowa (LiP, ang. *lignin peroxidase*), peroksydaza manganozależna (MnP, ang. *manganese peroxidase*), uniwersalna peroksydaza (VP, ang. *versatile peroxidase*) i lakazy (Lac, ang. *laccase*). LMEs mogą być traktowane jako metabolity wtórne WRF, bo utlenianie ligniny nie dostarcza energii grzybom [17]. Enzymy te są odpowiedzialne za generowanie wysoce reaktywnych i niespecyficznych wolnych rodników, dzięki czemu zachodzą zaawansowane reakcje utleniania, podczas których enzymy te mogą utleniać trwale i szkodliwe związki [18].

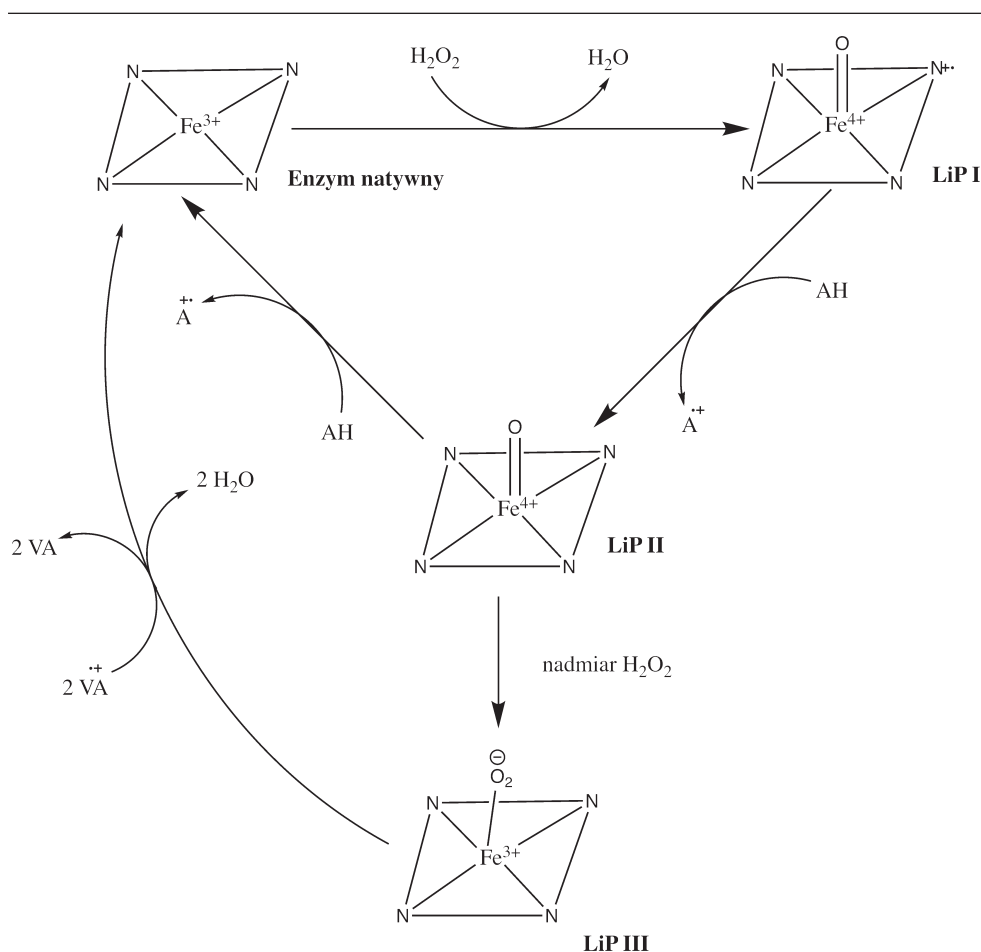
#### LAKAZA

Lakaza jest oksydazą z czterema kationami miedzi w centrum aktywnym. Katalizuje reakcję utleniania poprzez przeniesienie czterech elektronów z czterech cząsteczek substratu na jedną cząsteczkę tlenu, która następnie jest zredukowana do dwóch cząsteczek wody (Ryc. 1) [17]. Lakaza wykazuje niską specyficzność substratową i może reagować z difenolami, aryloaminami i aminofenolami. Potencjał redoks większości lakaz grzybowych wynosi pomiędzy 780-800 mV (*vs.* NHE). W obecności specyficznych związków niskocząsteczkowych, zwanych mediatorami, lakaza może utleniać także substraty niefenolowe [17,19]. Enzym ten posiada ciekawe właściwości w zależności od gatunku grzy-



Rycina 1. Schemat działania lakazy; AH – substrat reakcji; A<sup>+</sup> – substrat utleniony.





**Rycina 2.** Schemat działania peroksydazy ligninowej (szczegółowy opis w tekście); LiP – peroksydaza ligninowa, AH – substrat aromatyczny niefenolowy; A<sup>+</sup> – substrat aromatyczny niefenolowy utleniony; VA<sup>+</sup> – kationorodnik alkoholu weratrylowego; VA – alkohol weratrylowy.

ba, który ją syntetyzuje i od miejsca lokalizacji w strzępce. Uważa się, że uczestniczy między innymi w procesach wirulencji (drożdże, bakterie, grzyby chorobotwórcze), współuczestniczy z innymi peroksydazami w degradacji ligniny (grzyby białej zgnilizny drewna), w syntezie ligniny i regeneracji uszkodzonych tkanek (rośliny), w syntezie barwników (grzyby, bakterie) a także w linieniu owadów [20].

W analizie farmaceutycznej lakaza znalazła zastosowanie w jednoczesnym rozróżnianiu morfiny i kodeiny dzięki specjalnie przygotowanemu sensorowi zawierającemu immobilizowaną lakazę oraz dehydrogenazę glukozy. Morfina jest utleniana przez lakazę a następnie regenerowana przez dehydrogenazę glukozy natomiast kodeina nie jest utleniana przez lakazę. Jest to metoda selektywna, szybka i tania dla rozróżnienia morfiny i kodeiny w jednym roztworze [21].

#### PEROKSYDAZA LIGNINOWA

Peroksydaza ligninowa (LiP) była pierwszym enzymem wyizolowanym z grzyba *Phanerochaete chrysosporium*, w latach osiemdziesiątych XX wieku, dla którego wykazano, że rozkłada ligninę [10]. Enzym ten to glikoproteina o masie cząsteczkowej 38-47 kDa, która jest aktywna w niskich wartościach pH, wynoszących około 3. Specyficzność enzymatyczna tego związku jest niska, wykazuje zdolność do

utleniania związków fenolowych oraz wielu związków aromatycznych, niefenolowych o budowie zbliżonej do ligniny a także związków organicznych, których potencjał redoks przekracza 1,4 V (vs. NHE) [18].

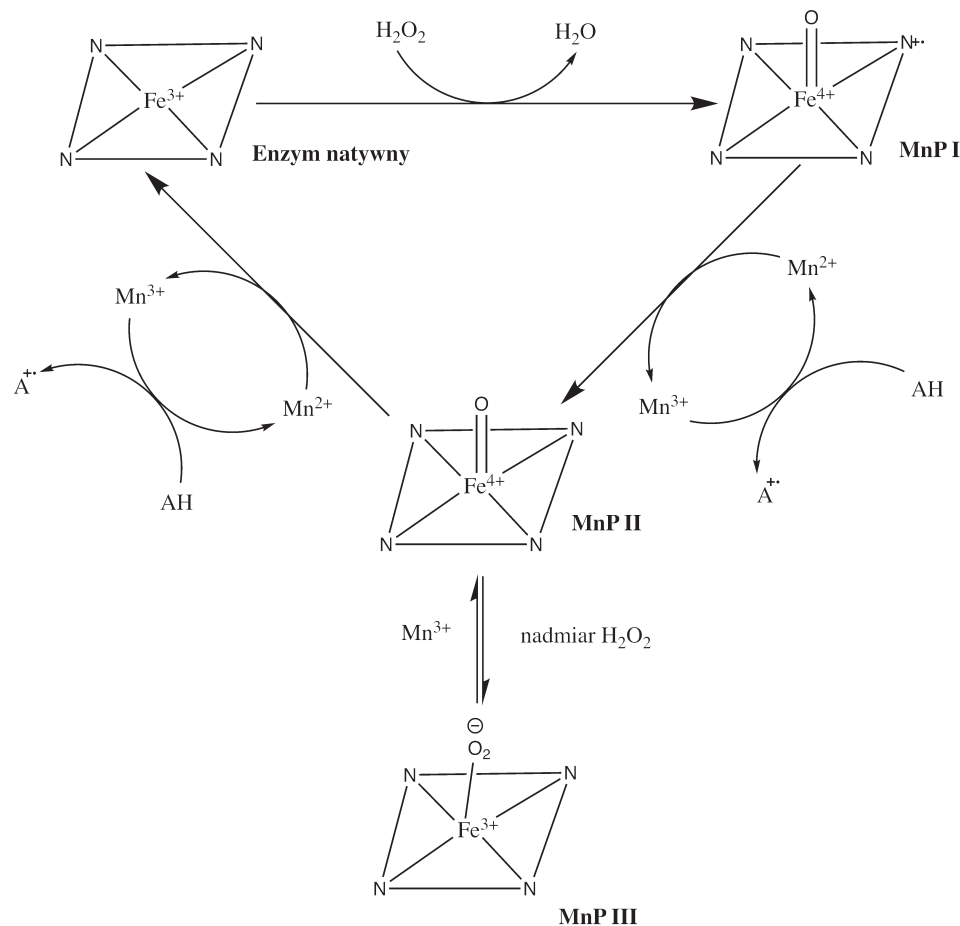
Cykl katalityczny peroksydazy ligninowej składa się z jednego etapu utleniania i dwóch etapów redukcji (Ryc. 2). W pierwszym etapie dochodzi do utlenienia jonu żelaza Fe<sup>3+</sup> do Fe<sup>4+</sup> za pomocą nadtlenku wodoru. W drugim etapie dochodzi do jednoelektronowej redukcji cząsteczki LiP I do LiP II z równoczesnym utlenieniem cząsteczki substratu. Cykl katalityczny kończy się w momencie ponownej jednoelektronowej redukcji cząsteczki LiP II do formy natywnej. W przypadku, gdy wartość pH wynosi 3,0 w obecności nadmiaru nadtlenku wodoru i braku reduktora może dojść do powstania nieaktywnej formy enzymu – LiP III, która może przejść w formę natywną w wyniku działania kationorodnika alkoholu weratrylowego. Enzym ten wykazuje względną specyficzność do swoich substratów, a jednym z nich jest alkohol weratrylowy (VA, ang. *veratryl*

*alcohol*), który jest naturalnym metabolitem wtórnym WRF, zwiększającym aktywność peroksydazy ligninowej oraz szybkość degradacji ligniny [19].

#### PEROKSYDAZA MANGANOZALEŻNA

Peroksydaza manganozależna (MnP) jest pozakomórkowym enzymem odkrytym w *Phanerochaete chrysosporium* przez Kuwahara (1984) i uważa się ją za najbardziej rozpowszechnioną peroksydazę lignolityczną, wytwarzaną przez prawie wszystkie grzyby białej zgnilizny drewna z taksonu Basidiomycota [17,21]. Peroksydaza manganozależna jest glikoproteina o masie cząsteczkowej pomiędzy 32 a 62,5 kDa. Enzym ten posiada podobny cykl katalityczny do innych peroksydaz z udziałem dwuelektronowego utleniania, jednakże MnP jest zdolna do utleniania jonów Mn<sup>2+</sup> powodując powstawanie dyfuzyjnych utleniaczy (Mn<sup>3+</sup>) zdolnych do penetracji ściany komórkowej i utleniania substratów fenolowych [19].

Cykl katalityczny MnP rozpoczyna się poprzez związanie cząsteczki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> z natywnym (zawierającym jony Fe<sup>3+</sup>) enzymem i utworzenie kompleksu żelazo – H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Ryc. 3). Późniejsze rozerwanie wiązania pomiędzy atomami tlenu w cząsteczce H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wymaga przeniesienia dwóch elektronów z hemu w centrum aktywnym enzymu, co powoduje



Rycina 3. Schemat mechanizmu działania peroksydazy manganozależnej (szczegółowy opis w tekście); MnP – peroksydaza manganozależna; AH – substrat aromatyczny; A<sup>+</sup> – substrat aromatyczny utleniony.

powstawanie formy MnP-I (Fe<sup>4+</sup>). Następnie wiązanie O-O ulega heterologicznemu rozerwaniu i uwalnia się cząsteczka H<sub>2</sub>O. Późniejsza redukcja przebiega przez formę MnP-II (Fe<sup>4+</sup>). Jon Mn<sup>2+</sup> działa jako jednoelektronowy donator dla pośrednika porfirynowego i jest utleniany do Mn<sup>3+</sup>. Redukcja MnP-II przebiega w podobny sposób i powstaje kolejny jon Mn<sup>3+</sup> z Mn<sup>2+</sup>, prowadząc do powstania natywnej formy i uwolnienia drugiej cząsteczki wody. MnP jest wrażliwa na wysokie stężenia H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, które powodują odwracalną inaktywację enzymu poprzez utworzenie formy MnP-III, znajdującej się w katalitycznie nieaktywnym stanie utlenienia, ale może on być odwrócony dzięki jonom Mn<sup>3+</sup> [22], jednak w przeciwieństwie do LiP, obecność jonów Mn<sup>3+</sup> powoduje ponowne powstawanie formy MnP-II – enzymu katalitycznie aktywnego. Jony Mn<sup>3+</sup> są niestabilne w środowisku wodnym. Aby przezwyciężyć tę wadę, formują one kompleksy z kwasami organicznymi, takimi jak kwas malonowy lub szczawiowy. Kompleksy te powodują jednoelektronowe reakcje utleniania różnych substratów takich jak fenole, aminy aromatyczne, kwasy karboksylowe, tiole czy nienasycone kwasy tłuszczowe. Ponadto, mogą spełniać inne funkcje fizjologiczne takie jak: przyspieszanie dysocjacji Mn<sup>2+</sup> z enzymu i zwiększanie jego aktywności, kontrolowanie wartości pH, sekwestrację jonów Ca<sup>2+</sup> w celu zwiększenia porów w ścianach komórkowych komórek roślinnych i ułatwienia penetracji enzymu oraz reagowanie z O<sub>2</sub> (w wyniku tej reakcji powstaje H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ważny dla aktywności enzymu) [19].

Uniwersalna peroksydaza (VP) łączy w sobie specyficzność substratową dwóch wcześniej omawianych peroksydaz grzybowych: peroksydazy manganozależnej oraz peroksydazy ligninowej. Dzięki temu, jest zdolna do utleniania substratów o niskim i wysokim potencjale redoks, w tym jonów Mn<sup>2+</sup>, fenolowych i niefenolowych dimerów ligniny, podstawionych związków fenolowych, alkoholu weratrylowego oraz różnych typów barwników (Reactive Black 5, zieleń malachitowa) [23]. Peroksydaza VP jest syntetyzowana przez grzyby z rodzaju *Pleurotus*, *Bjerkandera* i *Leptista*. Wykazuje ona różne optymalne wartości pH utleniania w zależności od utlenianego substratu, np. dla Mn<sup>2+</sup> jest to wartość pH 5, a dla związków aromatycznych wartość pH 3. Wartości te są podobne do tych wykazywanych przez LiP oraz MnP. W cyklu katalitycznym VP zachodzi dwuelektronowe utlenianie nieaktywnej formy peroksydazy (zwierającej Fe<sup>3+</sup>) przez nadtlenek wodoru (Ryc. 4). Powstaje forma VP-I, którego jednoelektronowa redukcja będzie prowadzić do powstania formy VP-II i następnie

w procesie redukcji do natywnej formy enzymu. Warto zwrócić uwagę, że redukcja formy VP-I oraz formy VP-II może zachodzić zarówno przy udziale jonów Mn<sup>2+</sup> (tak jak w przypadku MnP) lub przy udziale związków arylowych (tak jak w przypadku LiP) [25]. Podobnie jak w przypadku peroksydaz MnP i LiP, w warunkach nadmiaru nadtlenu wodoru i braku reduktora może dojść do powstania nieaktywnej formy peroksydazy VP, proces ten jest jednak w przypadku tej peroksydazy nieodwracalny [26]. Przykłady najczęściej stosowanych w procesie mykoremediacji grzybów Basidiomycota przedstawiono w tabeli 1.

#### AKUMULACJA METALI CIĘŻKICH PRZEZ WYBRANE GATUNKI GRZYBÓW

Ze względu na coraz większy rozwój przemysłu uwalnianie metali ciężkich do środowiska stale wzrasta, przez co rośnie skażenie środowiska, a tym samym wzrasta ich akumulacja w kolejnych poziomach łańcuchów pokarmowych, co z kolei powoduje zagrożenie dla zdrowia człowieka. Spośród wszystkich elementów środowiskowych gleba najsilniej jest narażona na ekspozycję zanieczyszczeniami w tym zwłaszcza metalami ciężkimi. W przeciwieństwie do wielu odpadów organicznych, pierwiastki te nie mogą być przekształcane do produktów biologicznie nieszkodliwych.

**Tabela 1.** Najczęściej wykorzystywane gatunki grzybów Basidiomycota w mykoremediacji.

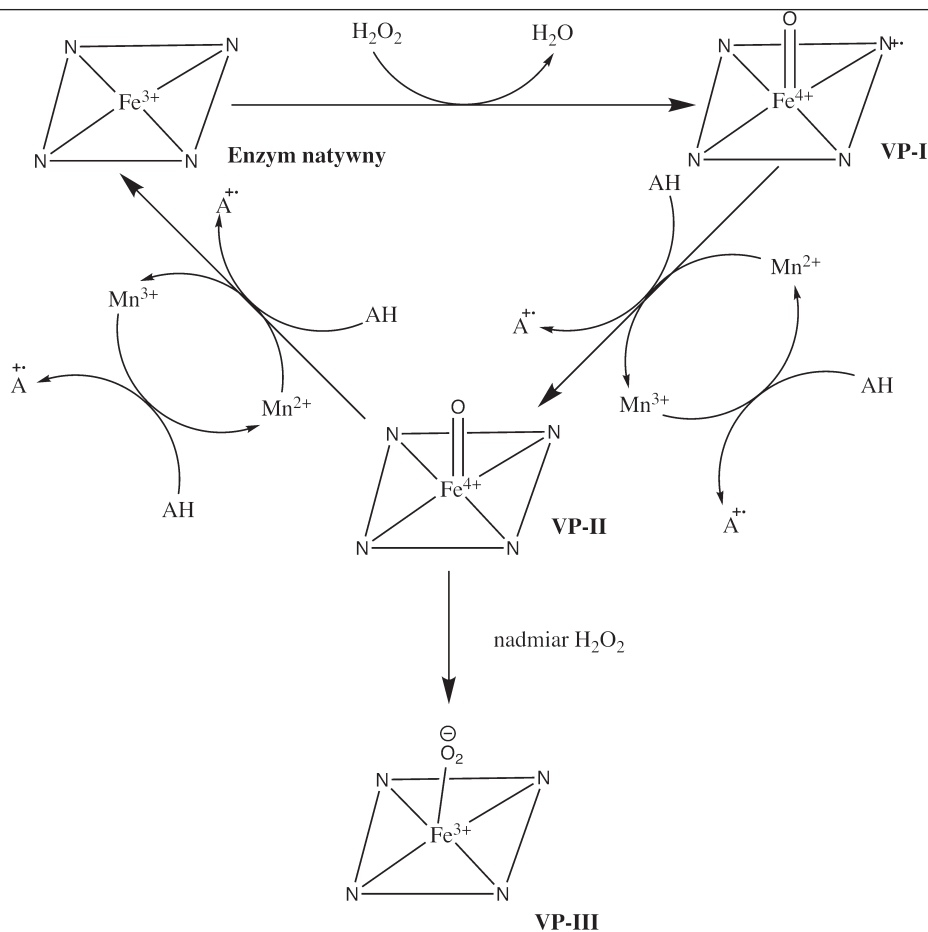
Lp.	Gatunek grzyba	Rodzaj odpadu	Zachodzący proces	Piśmiennictwo
1.	<i>Lentinula edodes</i>	Pulpa kawowa	Degradacja odpadów z kawy	[8]
2.	<i>Lentinula edodes</i>	2,4-Dichlorofenol	Degradacja związku przy użyciu waniliny jako aktywatora	[6]
3.	<i>Lentinula subnudus</i>	Olej	Bioremediacja gleby z ropopochodnych	[9]
4.	<i>Lentinula squarrosulus</i>	Olej	Bioremediacja gleby z ropopochodnych	[9]
5.	<i>Trametes spp.</i>	Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne	Degradacja produktu w podłożu	[11]
6.	<i>Trametes versicolor</i>	Syntetyczne barwniki, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne	Degradacja produktu w podłożu	[11]
7.	<i>Pleurotus spp.</i>	Barwniki azowe	Odbarwienie barwników	[23]
8.	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	Ropa naftowa	Degradacja ropy naftowej	[23]
9.	<i>Pleurotus tuber-regium</i>	Białka, tłuszcze, węglowodory	Degradacja substratu w pożywkach hodowlanych	[23]

Stosuje się kilka sposobów usuwania metali z odpadów: strącanie chemiczne, koagulacja z alunem lub solami żelaza, filtracja membranowa, odwrócona osmoza, osmoza jonowymyenna oraz adsorpcja. W rekultywacji metali ciężkich coraz częściej wykorzystuje się tzw. czyste technologie, czyli metody, które polegają na zmniejszeniu wytwarzania odpadów oraz obróbkę i konwersję odpadów w użytecznej formie [26]. Jedną z takich metod jest mykoremediacja, biologiczne narzędzie wykorzystujące interakcje grzybów i toksycznych metali ciężkich obecnych w środowisku. Mykoremediacja

stosowana jest przede wszystkim w oczyszczaniu gruntów skażonych metalami ciężkimi, a także radioaktywnymi związkami organicznymi. Jest to złożony proces a na jego wydajność wpływają przede wszystkim typ i rodzaj biomasy grzybowej, stężenie początkowe jonów metalu oraz fizykochemiczne czynniki, takie jak: wartość pH, temperatura, czas procesu, siła jonowa [27-29]. Grzyby (w tym gatunki jadalne), wykazując zdolność do akumulacji pierwiastków z otaczającego środowiska, jednocześnie adoptują się do wysokich, często toksycznych stężeń metali ciężkich [30]. Ma to znaczenie zarówno ze względów toksykologicznych jak i z powodu

możliwości wykorzystania tych gatunków do remediacji podłoża stosowanych przez człowieka pod np. uprawy. Prowadzone są badania nad zależnością zdolności do bioakumulacji metali ciężkich od gatunku grzyba i tak np. wykazano, że owocniki *Pleurotus ostreatus* akumulowały 20 µg/g kadmu z płynnej pożywki zawierającej 150 µg/g tego pierwiastka, co stanowiło ok. 20% jonów kadmu zdeponowanych wewnątrzkomórkowo [30].

Jony metali ciężkich, takie jak  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{4+}$ ,  $Cu^{2+}$  i  $Pb^{2+}$  łatwo wchodzi w reakcje z cząsteczkami organicznymi i nieorganicznymi. Wiele z tych jonów posiada wysokie powinowactwo do białek a zwłaszcza do ich grup sulfhydrylowych a najważniejszymi białkami odpowiedzialnymi za wiązanie metali przez grzyby są metalotioneiny. Pomimo, że metale ciężkie są niezbędne w śladowych stężeniach do prawidłowego funkcjonowania, ich wyższe stężenia są zabójcze dla większości form życia [28]. Kadm i ołów są uwalniane do środowiska głównie w wyniku emisji za-



**Rycina 4.** Schemat działania uniwersalnej peroksydazy (opis szczegółowy w tekście); AH - substrat aromatyczny;  $A^+$  - substrat aromatyczny utleniony.

nieczyszczeń przez przemysł. Pierwiastki te kumulują się w organizmie człowieka, dlatego też kliniczne objawy chorobowe nie występują od razu przy niskich poziomach narażenia. Kadm jest szczególnie toksyczny dla organizmu człowieka, ponieważ jego związki mają działanie rakotwórcze, ponadto powodują uszkodzenie nerek, zapalenie oskrzeli, nieżyty przewodu pokarmowego, zaburzenie czynności szpiku kostnego [31-33]. WHO podaje maksymalną dozwoloną zawartość kadmu i ołowiu w surowcach roślinnych na poziomie odpowiednio 0,30 mg/kg i 10,0 mg/kg [31-34].

Stężenie metali ciężkich w owocnikach grzybów jest matrycą składu pierwiastkowego *środowiska*, w którym rósł dany gatunek grzyba, sposobu pobierania tych pierwiastków oraz procesu rozkładu materii [26]. Porównując stężenia ołowiu(II) i kadmu(II) w badanych gatunkach grzybów pochodzących ze stanowisk naturalnych, można zauważyć, że jest ono znacząco niższe od stężeń oznaczanych w kulturach *in vitro* wzbogaconych o te pierwiastki. Isildak (2004) oznaczył stężenie metali ciężkich w owocnikach jadalnych gatunków grzybów rosnących na terenie Turcji i dla *Agaricus bisporus* oznaczone stężenia kadmu(II) i ołowiu(II) wynosiły odpowiednio 1,7 µg/g s.m. (suchej masy) oraz 2,1 µg/g s.m., w owocnikach *Imleria badia* stężenia te wynosiły dla kadmu(II) 0,5 µg/g s.m., natomiast dla ołowiu(II) 2,1 µg/g s.m. Zakresy stężeń dla jonów kadmu i ołowiu w owocnikach grzybów jadalnych rosnących w Chinach wynosiły

odpowiednio 0,06–0,58 mg/kg s.m. i 0,67–12,90 mg/kg s.m. [35]. W badaniach prezentowanych przez Muszyńską stężenie jonów ołowiu(II) w owocnikach *A. bisporus*, *I. badia* oraz *Leatiphorus sulphureus* było niższe od granicy oznaczalności zastosowanej metody, natomiast stężenie jonów kadmu(II) wynosiło 0,59 µg/g s.m. i 0,07 µg/g s.m. odpowiednio dla *I. badia* oraz *L. sulphureus*. W przypadku owocników *A. bisporus* komercyjnego pochodzenia, stężenie kadmu(II) było niższe od limitu oznaczalności. Obecność jonów kadmu(II) lub ołowiu(II) w pożywce w stężeniu  $5 \cdot 10^{-5}$  M wpływa więc w sposób znaczący na stężenie tych pierwiastków w biomacie badanych gatunków: *A. bisporus*, *I. badia* oraz *L. sulphureus*, co potwierdza dużą zdolność do bioakumulacji tych jonów przez badane gatunki grzybów.

Miarą skuteczności bioakumulacji jest stosunek stężenia metalu w mycelium do stężenia metalu w podłożu, czyli tzw. współczynnik bioakumulacji [35,36]. W badaniach stwierdzono, że wartość współczynnika bioakumulacji wykazuje znaczną zmienność wśród badanych gatunków grzybów. Dla wszystkich grzybów była ona znacznie większa od jedności, co świadczy o wysokim potencjale bioakumulacji przez mycelium badanych gatunków grzybów. Ustalono, że zawartość metali ciężkich w biomacie badanych gatunków: *A. bisporus*, *I. badia* oraz *L. sulphureus* uzyskanych z kultur *in vitro*, których pożywki wzbogacono o jony kadmu(II) lub ołowiu(II) w stężeniu  $5 \cdot 10^{-5}$  M, była

Tabela 2. Stężenie metali ciężkich w owocnikach wybranych gatunków grzybów jadalnych.

Gatunek grzyba jadalnego	Stężenie metali ciężkich w owocnikach	Piśmiennictwo
<i>Agaricus bisporus</i>	Cu (107), Cd (1,7), Pb (2,1), Zn (57,2), Mn (25,9), Fe (290), Cr (6,5), Ni (7,9)*, Cd (3,5)* Pb (2,41), Cd (3,48), Hg (0,60), Cu (5,22), Mn (22,3), Zn (17,8), Fe (126)* Hg (0,03), Pb (0,28), Cd (0,74), Fe (31,3), Cu (13,5), Mn (3,61), Zn (22,5)** Pb (0,46), Cd (0,70), Hg (0,04), Fe (15,8), Cu (6,61), Mn (2,27), Zn (9,32)*	[35] [33] [37] [38] [39]
<i>Armillaria mellea</i>	Pb (1,28), Cd (2,48), Hg (0,91), Cu (21,1), Mn (26,8), Zn (76,8)* Pb (1,6), Cd (11,0), Hg (0,3), Cu (31,0)*	[40] [41]
<i>Boletus edulis</i>	Pb (0,96), Cd (1,03), Hg (0,13), Cu (4,7), Mn (2,9), Zn (26,2), Fe (31,1)* Hg (32,4), Cu (66,4), Cd (6,58), Pb (3,03)*	[39] [32]
<i>Calvatia excipuliformis</i>	Hg (4,4)*, Pb (1,5), Cd (1,1), Cu (25), Mn (28), Zn (58), Fe (924)*	[41] [42]
<i>Lepiota rhacodes</i>	Hg (8), Pb (66), Cd (3,7)*	[31]
<i>Lepista nuda</i>	Cu (68,4), Cd (2,9), Pb (3,5), Zn (47,6), Mn (49,3), Fe (321), Cr (10,4), Ni (4,2)* Fe (568), Cu (20), Mn (16), Zn (45), Pb (1,4), Cd (1,1)* Hg (84,7), Cu (231), Cd (3,26), Pb (15,3)*	[35] [42] [32]
<i>Paxillus involutus</i>	Pb (16,0)*, Cu (57,0)*	[31,33]
<i>Psalliota campestris</i>	Pb (1,85), Cd (5,55)*	[43]
<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Pb (7,0), Cd (33,0)**	[27]
<i>Pleurotus ostreatus</i>	Pb (3,24), Cd (1,18), Hg (0,42), Cu (13,6), Mn (6,27), Zn (29,8), Fe (86,1)* Pb (0,11), Cd (0,55), Hg (0,31), Fe (48,6), Cu (5,0), Mn (10,3), Zn (19,3)* Cd (11,2), Hg (1,2), Zn (0,8)*	[37] [39] [44]
<i>Russula delica</i>	Cu (73,0), Zn (57,0), Mn (9,6), Fe (244), Co (1,5), Cd (0,31), Ni (3,2), Pb (2,7)* Pb (3,1), Cd (1,1), Hg (0,26), Cu (13,6), Mn (6,6), Zn (32,6), Fe (74,8)* Pb (4,8), Cd (2,0), Hg (0,21), Fe (54,5), Cu (10,8), Mn (12,1), Zn (19,3)*	[45] [37] [39]
<i>Tricholoma terreum</i>	Cu (25), Zn (179), Mn (19), Fe (744), Co (2,6), Cd (0,56), Ni (5,6), Pb (4,4)* Pb (2,4), Cd (1,6), Hg (0,06), Cu (35,8), Mn (24,8), Zn (48), Fe (169,0)* Pb (0,69), Cd (0,78), Hg (0,21), Fe (37,0), Cu (51,0), Mn (10,8), Zn (16,8)*	[35] [37] [39]

\*mg/kg suchej masy, \*\*µg/g suchej masy



kilkaset razy wyższa dla wszystkich badanych gatunków w porównaniu do stężeń tych pierwiastków znajdujących się w owocnikach, pochodzących ze stanowisk naturalnych. Mycelialne kultury *in vitro*, pozwalają dzięki zastosowaniu powtarzalnych warunków hodowli na monitorowanie pobierania metali z pożywek oraz określenie stopnia bioakumulacji, a tym samym doboru gatunku do oczyszczania środowiska z konkretnego pierwiastka. Uzyskane wyniki badań potwierdzają możliwość zastosowania badanych gatunków grzybów, a szczególnie *L. sulphureus* w procesie remediacji metali ciężkich [37-47].

Grzyby wychwytyują metale ciężkie z podłoża poprzez bardzo rozbudowaną grzybnię. Wiek i wielkość owocnika nie odgrywa większego znaczenia w kumulacji metali, natomiast proporcja zawartości metali pochodzących z depozycji atmosferycznych wydaje się mieć mniejsze znaczenie ze względu na krótki czas istnienia owocnika, który zazwyczaj wynosi 10-14 dni. Na zawartość metali w owocnikach w znacznym stopniu wpływa wiek grzybni i odstęp w czasie między tworzeniem owocników [46-47]. Metale są nierównomiernie rozmieszczone w owocnikach. Najwyższy ich poziom obserwuje się w części, gdzie znajdują się formy przetrwalnikowe (hymenium), ale nie w zarodnikach, niższa zawartość w pozostałej części kapelusza, a najniższa w trzonie. Mechanizm transportu metali z grzybni poziomej do owocnika nie jest do końca poznany. Naukowcy opisali następujące grzyby, jako potencjalne bioadsorbenty metali ciężkich: *Agaricus bisporus*, *Armillaria mellea*, *Boletus edulis*, *Calvatia excipuliformis*, *Lepiota rhacodes*, *Lepista nuda*, *Russula delica*, *Tricholoma terreum* (Tab. 2).

## PODSUMOWANIE

Znaczenie grzybów w remediacji środowiska wynika zarówno z ich zdolności do biotransformacji ksenobiotyków jak i akumulacji metali ciężkich. Procesy te zależą przede wszystkim od gatunku, podczas gdy rola rodzaju lub przynależność systematyczna ma mniejsze znaczenie, podobnie jak strategia symbiozy, tzn.: mykoryza, pasożytnictwo czy saprofityzm. Głównymi czynnikami regulującymi wchłanianie metali przez grzyby są biodostępność i rodzaj gleby natomiast ksenobiotyków zależy od czynników glebowych, takich jak zdolność wymiany kationów, wartość pH, czy też zawartości materii organicznej. Skład podłoża jest ważnym czynnikiem, ponieważ istnieją duże różnice w pobieraniu poszczególnych substancji. Kompozycja, ilość obecnych w nim zanieczyszczeń, ale również różny wiek grzybni, która może występować w przyrodzie wiele lat lub (w porównaniu) tylko kilka miesięcy w warunkach hodowlanych. Znanym faktem jest to, że zawartość w owocnikach grzybów jest skorelowana z emisją zanieczyszczeń.

## PIŚMIENNICTWO

1. Kryczyk A, Piotrowska J, Sito M, Sulikowska-Ziaja K, Dobosz K, Opoka W, Muszyńska B (2017) Remediation capacity of Cd and Pb ions by mycelia of *Imleria badia*, *Laetiporus sulphureus* and *Agaricus bisporus* *in vitro* culture. *J Environ Sci Health B* 52: 617-622
2. Kulshreshtha S, Mathur N, Bhatnagar P (2014) Mushroom as a product and their role in mycoremediation. *AMB Express* 4: 29
3. Das N (2005) Heavy metals biosorption by mushrooms. *Nat Prod Rad* 4: 454-459

4. Ashoka G, Geetha MS, Sullia SB (2002) Bioleaching of composite textile dye effluent using bacterial consortia. *Asian J Microb Biotechnol Environ Sci* 4: 65-68
5. Ma, J, Zhai G (2014) Antibiotic contamination: a global environment issue. *J Bioremed Biodeg* 5: 5-6
6. Tsujiyama S, Muraoka T, Takada N (2013) Biodegradation of 2,4-dichlorophenol by shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) using vanillin as an activator. *Biotechnol Lett* 4: 1079-1083
7. Asamudo NU, Dada AS, Ezeronye OU (2005) Bioremediation of textile effluent using *Phanerochaete chrysosporium*. *Afr J Biotechnol* 13: 1548-1553
8. Mata G, Pérez-Merlo R, Salmones D (2016) Hydrolytic enzyme activities in shiitake mushroom (*Lentinula edodes*) strains cultivated on coffee pulp. *Rev Argent Microbiol* 48: 191-195
9. Adenipekun CO Fasidi IO (2005) Bioremediation of oil-polluted soil by *Lentinus subnudus*, a Nigerian white-rot fungus. *Afr J Biotechnol* 4: 796-798
10. Novotný C, Svobodová K, Erbanová P, Cajthaml T, Kasinath A, Lang E, Šašeka V (2004) Ligninolytic fungi in bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate. *Soil Biol Biochem* 4: 1545-1551
11. Nyanhongo GS, Gübitz G, Sukyai P, Leitner C, Haltrich D, Ludwig R (2007) Oxidoreductases from *Trametes* spp. in biotechnology: A wealth of catalytic activity. *Food Technol Biotechnol* 4: 250-268
12. Muszyńska B, Rojowski J, Łazarz M, Kała K, Dobosz K, Opoka W (2018) The accumulation and release of Cd and Pb from edible mushrooms and their biomass. *Pol J Environ Stud* 27: 1-8
13. Mansur M, Arias ME, Copa-Patino JL, Flardh M, Gonzalez AE (2003) The white rot fungus *Pleurotus ostreatus* secretes laccase isozymes with different substrate specificities. *Mycologia* 95: 1013-1020
14. Kaneda M, Rensing KH, Wong JCT, Banno B, Mansfield SD, Samuels AL (2008) Tracking monolignols during wood development in lodgepole pine. *Plant Physiol* 147: 1750-1760
15. Schwarze F, Baum S, Fink S (2000) Dual modes of degradation by *Fistulina hepatica* in xylem cell walls of *Quercus robur*. *J Mycolopathol Res* 104: 846-852
16. Mester T, Tien M (2000) Oxidation mechanism of ligninolytic enzymes involved in the degradation of environmental pollutants. *Int Biodeterior Biodegradation* 46: 51-59
17. Wesenberg D, Kyriakides I, Agathos SN (2003) White rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnol Adv* 22: 161-187
18. Kersten P, Cullen D (2007) Extracellular oxidative systems of the lignin-degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Fungal Genet Biol* 44: 77-87
19. Wong DWS (2009) Structure and action mechanism of ligninolytic enzymes. *Biotechnol Appl Biochem* 157: 174-209
20. Riva S (2006) Laccases: blue enzymes for green chemistry. *Trends Biotechnol* 24: 219-226
21. Mayer AM, Staples RC (2002) Laccase: new functions for an old enzyme. *Phytochem* 60: 551-565
22. Hofrichter M (2002) Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme Microb Technol* 30: 454-466
23. Kunjadia PD, Sanghvi GV, Kunjadia AP, Mukhopadhyay PN, Dave GS (2016) Role of ligninolytic enzymes of white rot fungi (*Pleurotus* spp.) grown with azo dyes. *SpringerPlus* 5: 1487
24. Perez-Boada M, Ruiz-Duenas FJ, Pogni R, Basosi R, Choinowski T, Martinez MJ, Piontek K, Martinez AT (2005) Versatile peroxidase oxidation of high redox potential aromatic compounds: Site directed mutagenesis, spectroscopic and crystallographic investigation of three long range electron transfer pathways. *J Mol Biol* 354: 385-402
25. Fujii K, Uemura M, Hayakawa C, Funakawa S, Kosaki T (2013) Environmental control of lignin peroxidase, manganese peroxidase, and laccase activities in forest floor layers in humid Asia. *Soil Biol Biochem* 57: 109-115




26. Valderrama B, Ayala M, Vazquez-Duhalt R (2002) Suicide inactivation of peroxidases and the challenge of engineering more robust enzymes. *Chem Biol* 9: 555-565
27. Hofrichter Kellner H, Pecyna MJ, Ullrich R (2015) Fungal unspecific peroxygenases: heme-thiolate proteins that combine peroxidase and cytochrome p450 properties. In: Hrycay, E.G., Bandiera, S.M. (Eds.), *Monoxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Properties and Mechanisms of Cytochrome P450*. International Publishing AG Switzerland, str. 341-368
28. Damodaran D, Mohan BR, Vidya K (2013) The Uptake Mechanism of Cd(II), Cr(VI), Cu(II), Pb(II), and Zn(II) by Mycelia and Fruiting Bodies of *Galerina vittiformis*. *BioMed Res Int* 2013: 1-11
29. Das N (2005) Heavy metals biosorption by mushrooms. *Nat Prod Rad* 4: 454-459
30. Sharan AK, Sharma GD, Jee C, Jee J (2014) Effect of heavy metals on growth of mycelium of different strains of *Agaricus bisporus* L. *JPS* 3: 28-31
31. Volesky Z, Holan S, (1995) Biosorption of heavy metals. *J Biotechnol Microbiol* 3: 11235-11250
32. Kalač P, Svoboda L, (2000) A review of trace element concentrations in edible mushrooms. *Food Chem* 69: 273-281
33. Kalač P, Svoboda L, Havlickova B (2004) Contents of detrimental metals mercury, cadmium and lead in wild growing edible mushrooms: A Review. *Energy Educ Sci Technol* 13: 31-38
34. Kalač P (2010) Trace element contents in European species of wild growing edible mushrooms: A review for the period 2000-2009. *Food Chem* 122: 2-15
35. Isildak O, Turkekul I, Elmastas M, Tuzen M (2004) Analysis of heavy metals in some wild grown edible mushrooms from the middle black sea region, Turkey. *Food Chem* 86: 547-552
36. Zhu MJ, Du F, Zhang GQ, Wang HX, Ng TB (2013) Purification a laccase exhibiting dye decolorizing ability from an edible mushroom *Russula virescens*. *Int Biodeterior Biodegrad* 82: 33-39
37. Demirbas A (2001) Concentration of 21 metals in 18 species of mushrooms growing in the East Black Sea Region. *Food Chem* 75: 453-457
38. Sesli E, Tuzen M (1999) Levels of trace elements in the fruiting bodies of macrofungi growing in the East Black Sea Region of Turkey. *Food Chem* 65: 453-460
39. Tuzen M, Ozdemir M, Demirbas A (1998) Study of heavy metals in some cultivated and uncultivated mushrooms of Turkish origin. *Food Chem* 63: 247-251
40. Demirbas A (2002) Metal ion uptake by mushrooms from natural and artificially enriched soil. *Food Chem* 78: 89-93
41. Falandysz J, Kawano M, Swieczkowski A, Brzostowski A, Dadej M (2003) Total mercury in wild grown mushrooms and underlying soil from Wdzydze Landscape Park northern Poland. *Food Chem* 81: 21-26
42. Turkekul I, Elmastas M, Tuzen M (2004) Determination of iron, copper, manganese, zinc, lead, and cadmium in mushroom samples from Tokat, Turkey. *Food Chem* 84: 389-392
43. Zurera GG, Rincon-Leon F, Pozolara R (1990) Lead and cadmium content in mushroom species belonging to the genus *Psalliota*. *J Food Qual* 10: 311-318
44. Lasota W, Florezak J, Karmanska A (1990) Effects of toxic metals on protein content of mushrooms. *Bromatol Chem Toksykol* 23: 95-99
45. Yilmaz N, Solmaz M, Türkekul İ, Elmastaş M (2006) Fatty acids composition in some wild edible mushrooms growing in the middle Black Sea region of Turkey. *Food Chem* 99: 168-174
46. Zając M, Muszyńska B, Kała K, Sikora A, Opoka W (2015) Popular species of edible mushrooms as a good source of zinc released to artificial digestive juices. *Polish J Physiol Pharmacol* 66: 763-769
47. Zając M, Muszyńska B, Opoka W (2014) Występowanie wybranych biopierwiastków o znaczeniu prozdrowotnym w grzybach wielkoowocnikowych oraz stosowane w ich oznaczaniu metody analityczne. *Farm Pol* 70: 336-344

## Biological significance of edible mushrooms in mycoremediation

Bożena Muszyńska , Jan Lazor, Konrad Dobosz

Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University Medical College, 9 Medyczna St., 30-688 Kraków, Poland

 e-mail: muchon@poczta.fm

**Key words:** edible mushrooms, lignin peroxidase, manganese peroxidase, laccase, bioremediation

### ABSTRACT

The importance of fungi in environmental remediation is due both to their ability to biotransformation of xenobiotics and to accumulate heavy metals. These processes depend primarily on the species, while the role of the species or systematic affiliation is less important, as is the strategy of symbiosis, for example: mycorrhiza, parasitism or saprophytism. The main factors controlling the absorption of metals by mushrooms are bioavailability and soil type, while xenobiotics are dependent on soil factors such as cation exchange capacity, pH, or organic matter content. The composition of the substrate is an important factor as there are large differences in the intake of individual substances. The composition, the amount of impurities present, but also the age of the mycelium that may be present in nature for many years or (compared) only for several months under culture conditions. It is a well-known fact that the content of mushroom fruiting bodies is correlated with the emission of pollutants.