

白腐真菌在碳素循环中的地位和作用

李慧蓉

(江苏石油化工学院, 常州 213016)

白腐真菌是一类丝状真菌,因腐生在树木或木材上,引起木质的白色腐烂而得此名。这类真菌因能对木质素进行彻底的生物降解而在自然界的碳素循环中占有重要地位,它独特的降解能力和机制引起世界上生物学家、生物化学家及分子生物学家普遍兴趣和积极关注,成为探索地球上与碳相关的几种主要的资源与能源物质相互关系的模式生物之一^[1]。

1 白腐真菌的基本生物学背景

分类学上,白腐真菌属担子菌纲(Basidiomycetes)。国际上研究最多并表现出更有效降解能力的是其中一典型种

Phanerochaete chrysosporium Burdsall, 中文名为黄孢原毛平革菌,属非褶菌目(Phyllophorales),伏革科(Corticaceae),显革菌属(*Phanerochaete*)。普遍分布于北美,在我国尚未发现有分布。菌丝体为多核,一细胞内随机分布多达15个核。少有隔膜,无锁状联合。多核的分生孢子常为异核,担孢子却是同核体。交配系统有同宗配合和异宗配合^[2]。

白腐真菌靠降解木质素-纤维素材料的能力穿入木质,侵入木质细胞腔内,释放降解木质

1995-06-28收稿

素和其它木质组分的酶,导致木质腐烂成为淡色的海绵状团块——白腐,团块内白色的囊穴和条层相间。电子显微镜观察发现有时木质素在离菌丝有一段距离情况下发生降解,而且是从腔内向中层逐渐消失的^[3]。

2 白腐真菌的木质素降解及原理

白腐真菌是已知的唯一能在纯系培养中有效地将木质素降解为 CO_2 和 H_2O 的一类微生物^[2]。

它的降解过程概况是,在木质素降解条件(Lignolytic Condition)——即营养物(碳、氮和硫)限制情况下,白腐真菌应答合成多种酶并分泌到细胞外,构成降解系统的主要成分。其中关键的两类过氧化物酶:木质素过氧化物酶(Lignin Peroxidase, LiP)和锰过氧化物酶(Manganese Peroxidase, MnP),在分子氧参与下,依靠自身形成的 H_2O_2 ,触发启动一系列自由基链反应,实现对木质素的彻底氧化。

2.1 木质素的结构

木质素是一种杂聚物,其结构的基本单元是类苯基丙烷(Phenyl Propanoid),靠多种共价键连接形成一种不溶性的、异质的、无光学活性的、不规则的、非晶体的、高度分枝的三维网络大分子^[2]。分子量约 $600 \sim 1000 \text{ ku}$ ^[3]。

木质素前体物主要是酚醇类,其中主要有三种: ρ -羟基肉桂醇,即对香豆醇;4-羟基-3-甲基肉桂醇,即松柏醇;3,5-二甲氧基-4-羟基肉桂醇,即芥子醇。

至少有12种不同类型的键参与木质素各单元间的连接,主要包括: β -O-4型键,属于醚键,为一单元的丙基侧链上的 β 碳原子与相邻单元环碳上4位的氧原子相连; β -1型键,属于碳-碳键,为一单元的丙基侧链上的 β 碳原子与相邻单元环碳上的1位的碳原子相连;其它,还有联苯型和双苯基醚等。这些键都是稳定的键,属于不可水解的键。

2.2 木质素的生物降解特点

从理论上,木质素的结构特征决定其生物降解有以下三个特点^[1,3]。

非专一性:木质素是一种异质的不规则的

聚合物,其结构组分种类和连接键类型的多样性意味着结构之复杂与不专一,则破坏降解它们的反应机制也不可能是特异的。

非水解性:木质素的线型骨架中并不存在可以水解的键,稳定的碳-碳键和醚键结构对生物的酶水解不产生正常反应,只可能以另一种特殊方式进行降解。

细胞外性:木质素是不溶于水的惰性物质,其分子量相对细胞而言太大,是不可能进入细胞内而只能在细胞外发生降解。

实验及研究证明,白腐真菌降解木质素的真实情况也确实如此。

2.3 木质素降解的基本原理

白腐真菌对木质素的生物降解,其原理十分复杂,主要机制如下。

2.3.1 降解的结构物质^[4]:

①酶系统:这类酶是白腐真菌在对营养(主要是氮)限制反应时生物合成并向细胞外分泌的,构成了整个降解系统的主体。

(i)需要 H_2O_2 的过氧化物酶:白腐真菌主要合成两类过氧化物酶,它们均需要 H_2O_2 激活。LiP 在催化木质素解聚中起重要作用,并催化非酚类芳香族底物。MnP 依赖于 Mn,催化 Mn^{2+} 为 Mn^{3+} , Mn^{3+} 再氧化大量酚类底物,还与 H_2O_2 产生及木质素解聚有关。

这两类酶都是同功酶族,为糖蛋白和血红素蛋白,静止态铁为三价。图1是它们的催化循环示意图。

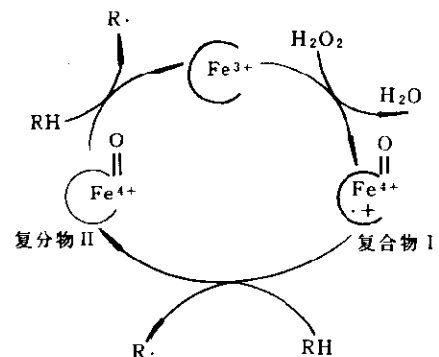


图1 过氧化氢酶催化循环

(R 为催化底物)

(ii)产生 H_2O_2 的氧化酶: 一为细胞内的葡萄糖氧化酶, 二是细胞外的乙二醛氧化酶。在分子氧的参与下, 它们各自氧化相应的底物——葡萄糖或乙二醛, 产生的 H_2O_2 对 LiP 和 MnP 中的 3 价铁进行氧化, 从而启动这些过氧化物酶的催化循环。

(iii)漆酶、还原酶、甲基化酶、蛋白酶及其它酶。

②其它组分:

(i)藜芦醇: *Phanerochaete chrysosporium* 次生代谢中利用葡萄糖合成一种代谢物——藜芦醇 (Veratry Alcohol, VA), 主要功能是电子调节者、LiP 底物、保护 LiP 的活性及再度激活无活性状态的 LiP。

(ii)醌和醌还原酶: 白腐真菌向细胞外分泌一种纤维素二糖-醌还原酶 $CBQR_{ase}$, 靠图 2 所示机制为 MnP 催化的还原反应维持一种氢醌库。

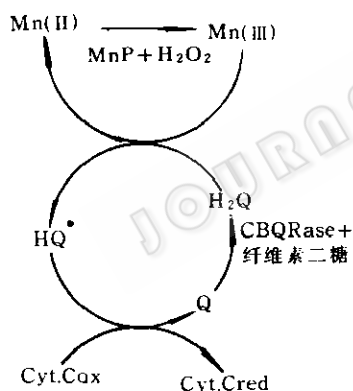


图 2 MnP 还原机制

H_2Q 氢醌, HQ 半醌, Q 醌, $CBQR_{ase}$ 纤维素二糖: 醌还原酶

2.3.2 降解的反应过程: 白腐真菌对木质素的降解是一个以自由基为基础的链反应过程^[4]。

以各种代表木质素亚单位的木质素模式化合物为底物所进行的离体降解研究表明: 依赖 H_2O_2 的过氧化物酶是自由基链反应的启动者。首先, 木质素解聚: 生成许多高度有活性的自由基中间体, 它们继而以链反应方式产生许多不同的自由基, 导致种种连接键断裂, 使木质素解聚成各种低分子量片断; 其中小于 1kd 的占多数^[3], 再经过完全彻底氧化直至降解为

CO_2 。

这种自由基反应是高度非特异性和无立体选择性的, 正好对应于木质素结构的多变性, 方能完成这种异质大分子高聚物的瓦解。

2.3.3 降解的主要环境条件^[5]: 白腐真菌降解木质素是一个高度需氧过程, 是一种对营养成分限制作反应的系统。离体培养中需偏酸环境 (pH 约 3.0), 喜热温度 (37~40℃)。实验证明: 在 *Phanerochaete chrysosporium* 中木质素降解是一种次生代谢现象, 在这一点上以及不被底物所诱导方面完全区别于其它一般的生物化合物降解。

3 白腐真菌在碳素循环中的地位和作用

碳素循环, 指自然界中有机和无机含碳化合物在生物和非生物的作用下, 一系列相互转化的过程。它保证了 CO_2 资源的重复利用, 使植物生产能不断进行, 清除环境中的有机质废物, 保持碳素在自然界中的平衡。碳素在环境中的循环, 概括地可分为生物循环和地质循环^[10]。白腐真菌不仅在这两种循环中有其独特的功能, 而且成为它们间联系的重要环节 (图 3)。

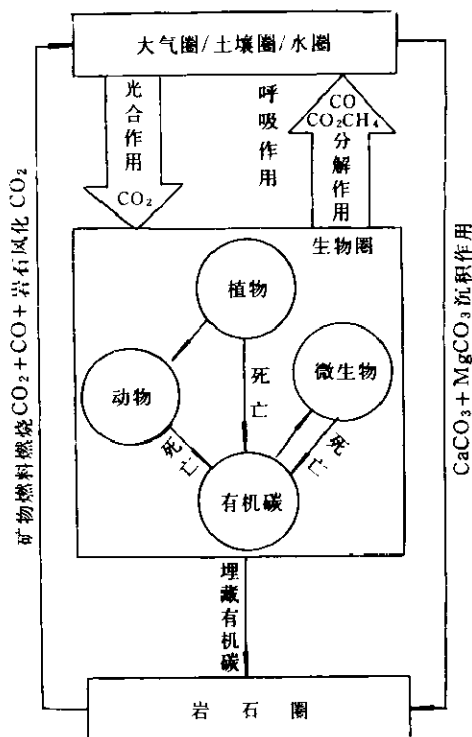


图 3 碳素循环(生物和地质循环)

3.1 白腐真菌在生物循环中的作用

绿色植物的光合作用是碳素在生物圈内循环的原动力。光合作用将 CO_2 以多种形式固定在植物体内。

木质素是高等植物的主要成分之一。它的大部分(~80%)存在于植物细胞壁中,构成木质细胞壁的15%~30%;木质素与半纤维素掺合一起,包围着纤维素;约20%的木质素则分布在细胞间隙中,成为细胞联合的粘连剂。木质素在植物干重中占1%至3.5%以上,在一些松、云杉裸子植物的应压木中浓度更高^[1,2]。

就木质素本身而言,是地球上主要的可再生芳香碳源。在陆地上,估计有65%的生物量合成。在还原碳和光合作用能量方面,木质素可能超过纤维素,它是最丰富而又可再生的有机资源。估计植物光合作用所固定的碳中的25%最终要转化为木质素。所以木质素在植物从太阳中捕捉的能量中占很大比例。这种丰富的聚合物是一种有价值的潜在能源,它是地球上仅次于纤维素的第二丰富的可再生资源,然而它的已有利用却很少,刚刚处于开端,是天然高分子中未开发的领域^[1,6]。白腐真菌对木质素彻底的降解性,独特的降解机制,无疑为我们研究开发木质素再利用提供了一个潜在的有效的工具和理想选择。

木质素与纤维素的关系十分密切。木质组织(木质素-纤维素)的生物降解是迄今为止地球上生物合成碳再循环中的最重要过程^[1]。在完整的木质组织中,木质素是以一种物理屏障存在的,它包围纤维素,成为外围基质,保护纤维素免遭微生物袭击和降解酶的进攻;也是许多工业化过程中有效利用纤维素的一个障碍。因此,在木质组织中,木质素的降解必须先于纤维素分解。从这个意义看,木质素生物降解经过演化而在地球上碳素循环中具有歧化和中心的重要地位,是整个碳素循环的限速步骤。白腐真菌超常的木质素降解性将有助于人类提高对纤维素的有效利用率,推动木质素-纤维素关系的进一步阐述。

3.2 白腐真菌在地质循环中的作用

矿物燃料(煤和石油)的开发打破了碳素的地质循环的平衡。从历史角度看,木质素又是现存煤和石油的基本前体物^[7]。

一般认为木质素是成煤的主要植物成分^[8],石油成因也与木质素有密切关系^[9]。所以木质素与煤和石油存在某种历史的亲缘联系。从结构上看,木质素又和煤、石油有许多相似之处:煤的主体也是一种三维空间的高分子聚合物,它的结构单元的核心为缩合芳香环,外围为烷基侧链和官能团,它们均是木质素含有的,结构单元间的桥键如次甲基键、醚键、芳香碳-碳键等也是木质素的主要键型^[8];石油从化学组成看是一类烃化合物为主的复杂混合物,以烷烃、环烷烃和芳香烃为主,其中许多结构单位与木质素相类似,包括各种连接键^[9]。

可见,木质素与煤、石油这两种最重要的能源物质的密切关系决定其生物降解与煤和石油的利用也必定具有十分直接的相关性。事实已证明,白腐真菌能氧化分解不少煤和石油组分。Tien等人就以煤和石油大结构组分——一种杂环硫化物噻吩为模式化合物,研究白腐真菌的降解性。他们从石油和煤与木质素代表性结构成分相似性出发,相信白腐真菌对煤和石油脱硫、加工等领域有应用潜力^[7]。Bumpus则表示对煤的兴趣,他研究这类真菌在低级煤的增溶和解聚中的作用。类似这样的研究,将在理论上有助于探索白腐真菌在碳素地质循环中的地位,在实践上将对能源物质间的转化及加工有作用。

3.3 白腐真菌在整个碳素循环中的地位

碳素的生物循环和地质循环是整个碳素循环的两个独立的过程:一个发生在生物圈内,另一个主要在岩石圈中进行。两个循环间的联系,主要借助于沉积作用,使生物残体经过悠长的年代转变为矿物燃料。

白腐真菌作为生物圈中微生物王国的成员,以降解木质素为中心,与纤维素、煤和石油这些重要的碳源能源物质的密切关系,使之成为碳素的生物循环和地质循环间现存的连接者。由于白腐真菌的存在和活动、利用,使整个

碳素循环更为活跃,并加快其运转周期。

因此,白腐真菌作为唯一能彻底降解木质素的生物,无疑是自然界生态系统中极其宝贵的生物资源,它的特殊位置及重要性是不言而喻的。

4 结束语

目前国际上对于白腐真菌的研究正向纵深发展。一方面利用它为模式微生物,探索降解机制,已从一般的生物化学、酶学发展到细胞、分子和基因水平。另一方面将其对木质素的降解扩大到对许多异生物质的降解范围,成为生物补救的重要策略工具^[2, 11~13]。白腐真菌奇特的降解能力,和其在理论、实践上的巨大潜能已引起国际科学界和工业界的极大兴趣与高度重视,在我国微生物领域,生物化学及工业界,也将有广阔的研究开发前途。由于该菌 *Phanerochaete chrysosporium* 在我国尚未被发现,与世界的研究现状与趋势相比,我国则显得落伍和迟缓。愿有更多的生物工作者对此能感兴趣并致力于这一领域的研究与应用。

参 考 文 献

- [1] Kirk T K. Degradation of Lignin. In: Microbial Degradation of Organic Compounds. D T Gibson ed. Dekker, New York. 1984, 399~437.
- [2] Gold M H, Alic M. Microbiological Review, 1993, 57 (3): 605~622.
- [3] Kirk T K. Ann Rev Microbiol, 1987, 41: 465~505.
- [4] Barr D P, Aust S D. Pollutant Degradation by White Rot Fungi, In: Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, Vol. 138. Springer-Verlag, New York, Inc. 1994, 49~72.
- [5] Kirk T K, Schultz E, Connors W J, et al. Arch Microbiol, 1978, 117: 277~285.
- [6] 甘景镛, 甘纯玘, 胡炳环. 天然高分子化学. 北京: 高等教育出版社, 1993, 234~242.
- [7] Schreiner R P, Stevens S E, Tien M. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(7): 1858~1860.
- [8] 郭崇涛主编. 煤化学. 北京: 化学工业出版社, 1992, 6~19, 76~81.
- [9] 陈绍洲, 徐佩君编著. 石油化学. 上海: 华东化工学院出版社, 1993, 1~59.
- [10] 岳贵春, 吴吉琨, 杜尧国编著. 环境化学. 长春: 吉林大学出版社, 1991, 91~93.
- [11] Barr D P, Aust S D. Environ Sci Technol, 1994, 28(2): 78A~87A.
- [12] Singleton I. J Chem Tech Biotechnol, 1994, 59: 9~23.
- [13] Lamar R T. Current Opinion in Biotechnology, 1992, 3 (3): 261~266.