

一株玉米赤霉烯酮降解菌的筛选及其降解特性

陈昌翠¹, 王乾支¹, 孙洋洋¹, 陈静¹, 闫达中¹, 邱东茹², 戴景程^{1*}

1 武汉轻工大学 生命科学与技术学院, 湖北 武汉

2 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉

陈昌翠, 王乾支, 孙洋洋, 陈静, 闫达中, 邱东茹, 戴景程. 一株玉米赤霉烯酮降解菌的筛选及其降解特性[J]. 微生物学报, 2025, 65(3): 1266-1282.

CHEN Changcui, WANG Qianzhi, SUN Yangyang, CHEN Jing, YAN Dazhong, QIU Dongru, DAI Jingcheng. Screening and degradation characterization of a zearalenone-degrading strain[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(3): 1266-1282.

摘要: 玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)是一种由镰刀菌属真菌产生的次级代谢产物, 严重危害人类和动物的健康。【目的】筛选出可降解 ZEN 的细菌菌株, 并探究其在不同条件下的生长与降解特性。【方法】以 ZEN 为唯一碳源, 从安徽某地连作的玉米田的土壤样品中筛选出一株能够高效降解 ZEN 的细菌菌株。通过形态学观察、生理生化试验和 16S rRNA 基因序列系统发育树分析对菌株进行鉴定; 研究不同温度、pH 值和培养时间对菌株生长速率和 ZEN 降解效率的影响; 测定菌株不同活性成分对 ZEN 的降解效率, 并对其活性物质进行定位。【结果】从土壤样品中共筛选出 21 株 ZEN 降解菌候选菌株, 其中菌株 DC-R2 的降解效果最佳。经形态学观察、生理生化检测和 16S rRNA 基因序列系统发育树分析, 鉴定该菌株属于戈登氏菌属(*Gordonia* sp.)。该菌株的最适培养基为 BHI 培养基, 最适 ZEN 降解温度和 pH 值分别为 37 °C 和 8.0。在此条件下, 孵育 6 h 时可降解 100% 的 ZEN (5 µg/mL)。活性成分定位试验结果表明, 菌株 DC-R2 主要以胞内酶降解 ZEN。【结论】本研究报道了一株能够高效降解 ZEN 毒素的戈登氏菌 DC-R2, 该菌株所具有的胞内酶是降解 ZEN 的关键。本研究为后续工作中关键降解酶的纯化及其潜在应用奠定了坚实基础。

关键词: 玉米赤霉烯酮; 戈登氏菌; 筛选; ZEN 降解菌

资助项目: 湖北省自然科学基金(2022CFB403); 湖北省教育厅科学技术研究计划(Q20221614)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Hubei Province (2022CFB403) and the Scientific Research Items Foundation of Hubei Educational Committee (Q20221614).

*Corresponding author. E-mail: daijingcheng@whpu.edu.cn

Received: 2024-10-04; Accepted: 2024-11-19; Published online: 2024-12-23

Screening and degradation characterization of a zearalenone-degrading strain

CHEN Changcui¹, WANG Qianzhi¹, SUN Yangyang¹, CHEN Jing¹, YAN Dazhong¹, QIU Dongru², DAI Jingcheng^{1*}

¹ School of Life Science and Technology, Wuhan Polytechnic University, Wuhan, Hubei, China

² Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, Hubei, China

Abstract: Zearalenone (ZEN) is a secondary metabolite produced by the filamentous fungi of *Fusarium*, causing serious harm to human and animal health. **[Objective]** To identify a ZEN-degrading strain and investigate its growth and degradation characteristics under different conditions. **[Methods]** A bacterial strain that can efficiently degrade ZEN was screened out with ZEN as the only carbon source from soil samples of a field with continuous maize cropping in Anhui Province, China. The strain was identified by morphological observation, biochemical tests, and phylogenetic analysis based on 16S rRNA gene sequences. The effects of temperature, pH, and incubation time on the growth rate and ZEN degradation efficiency of the strain were studied. Furthermore, the efficiency of different active components of the strain on ZEN degradation was measured, and the locations of the active components were determined. **[Results]** A total of 21 ZEN-degrading strains were isolated from the soil samples, among which strain DC-R2 showed the strongest degradation effect and it was identified as *Gordonia* sp. BHI medium was the optimal medium for the growth of this strain. The optimal culture conditions of the strain for ZEN degradation were 37 °C and pH 8.0, under which 100% ZEN (5 µg/mL) was degraded within 6 h. Intracellular enzymes were the main contributors in DC-R2 to ZEN degradation. **[Conclusion]** We isolated a strain *Gordonia* sp. DC-R2 capable of efficiently degrading ZEN. The intracellular enzyme present in this strain is the key to the degradation of ZEN. This provides a foundation for the purification of the key degrading enzyme in subsequent work and the potential application.

Keywords: zearalenone (ZEN); *Gordonia*; screening; ZEN-degrading strains

玉米赤霉烯酮(zearalenone, ZEN)最早于1962年由Stob等从感染禾谷镰刀菌的霉变玉米中分离并鉴定出来^[1-2]。ZEN是一种常见且具有高度污染性的饲料及粮食污染物,小麦、豆类、谷子等多种农作物及其制品均存在被其霉变污染的报道,其污染范围广,毒性作用大^[3-4]。作为主要谷物和饲料的有毒污染物,ZEN常通过食物链危害人类及动物的健康^[5-6]。ZEN的存在不仅会给农业生产带来经济损失,还会通过农

产品对人类及家禽等的健康造成极大危害^[7-8]。据联合国粮食与农业组织的数据显示,全球25%的粮油作物受到真菌毒素的污染^[9],而ZEN是其中污染范围最广、毒性最大的毒素之一^[10]。朱文倩^[11]对我国159例玉米油样本的ZEN含量进行分析,发现多数玉米油样品中均检出ZEN,平均含量约170.1 µg/kg,部分油样中ZEN含量较高,最高浓度可达1950.0 µg/kg。戎晓平等^[12]对北京、山东、河南、四川等地的

179 份饲料原料进行免疫亲和柱净化-高效液相色谱法检测,发现棉粕/棉籽、麸皮、青贮饲料等样品中 ZEN 检出率为 100%,其中玉米样品的 ZEN 含量和超标率最高,最高含量为 3 387.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$,超标率为 23.21%。因此,加强作物田间管理和谷物储藏管理,抑制禾谷镰刀菌的感染,降低 ZEN 生成的可能性至关重要。同时,针对已生成 ZEN 的谷物或有生成 ZEN 嫌疑的谷物,开发有效的脱毒方法,既能保持农产品的质量,减少损失,又能将对环境和生物的影响降到最低。

目前,关于 ZEN 脱毒的方法主要包括物理、化学和生物脱毒法^[13-14]。物理方法主要通过高温、吸附或辐射使 ZEN 变性或去除;化学方法则采用臭氧化、双氧水或碳酸钠浸泡等处理降解 ZEN^[15-16]。然而,物理法和化学法往往成本高昂,并可能导致农产品的营养流失及二次污染等问题^[17]。生物脱毒法是利用功能微生物的吸附或微生物中的酶将其降解,该方法规避了物理法和化学法的缺点,具有更为绿色、安全、高效的特点,其在处理如 ZEN 这类霉菌毒素污染问题上展现出广阔的前景^[14,18-19]。多种微生物对 ZEN 具有一定的降解效果,Ben Taheur 等^[20]从开菲尔培养物中分离鉴定出开菲尔乳杆菌 (*Lactobacillus kefir*) KFLM3,在牛奶培养条件下对 ZEN 吸附率为 82%-100%。De Troyer 等^[4]发现一株链霉菌 (*Streptomyces rimosus*) LMG 19352,可在 24 h 内完全降解 LB 培养基中的 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ZEN。Li 等^[21]成功分离出一株芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*) L9,在 24 h 内对 ZEN 的降解率达到 91.14%。Gruber-Dorninger 等^[22]在饲料中添加 ZEN 降解酶 ZenA,发现其可有效降解鸡、猪和虹鳟鱼胃肠道中的 ZEN 为水解玉米赤霉烯酮(hydrolysis ZEN, HZEN),并抑制猪体内 α -ZEL 的形成。Fruhauf 等^[23]对 ZEN 和 HZEN

在 2 种体外模型中进行了测试,并比较了 ZEN 与 HZEN 对雌性仔猪生殖道形态的影响,结果表明与 ZEN 相比,HZEN 的雌激素活性显著降低,且不会引起雌性仔猪生殖道的形态变化。Ji 等^[24]从黑曲霉细胞外酶溶液中分离纯化出一种对 ZEN 降解率为 75%-80% 的生物酶。因此,生物脱毒法降解 ZEN 具有安全性高、反应温和、价格低廉且对环境污染小等优点。此外,ZEN 降解酶在未来可能是生物脱毒法中降解 ZEN 最有效的方法之一,并具有一定的商业价值^[25]。然而要获得高效的 ZEN 降解酶,必须筛选出可降解 ZEN 的安全无毒菌株,并探究其具体降解机制仍然是未来的研究热点和难点。

本研究的主要目的是筛选一株可高效降解 ZEN 的细菌菌株,通过探究其在不同培养条件下的生长特性和降解情况,并对 ZEN 降解酶进行细胞定位,探究其对 ZEN 的降解特性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品采集

本研究样品来自安徽省某地连作的玉米田土壤样品。

1.1.2 主要试剂和仪器

玉米赤霉烯酮(ZEN)标准品、甲醇,赛默飞世尔科技公司; Brain-Heart Infusion Broth, 青岛高科技工业园海博生物技术有限公司; Biolog 1030 GEN III 鉴定板, Biolog 公司。

摇床,上海新苗医疗器械制造有限公司; 生化培养箱,上海知楚仪器有限公司; 高效液相色谱,安捷伦科技有限公司; PCR 仪,耶拿分析仪器有限公司; pH 计, Mettler Toledo 公司。

1.1.3 培养基

液体基本培养基 (minimal medium, MM)

(g/L): 磷酸氢二钠 14.3, 磷酸二氢钾 3.0, 七水硫酸亚铁 0.000 3, 500×Storage solution 0.002, ddH₂O 定容至 1.0, pH 7.0, 121 °C 灭菌 30 min。固体培养基中加入 1.5%–2.0% 琼脂粉。

LB 液体培养基(g/L): 胰蛋白胨 10.0, 酵母提取物 5.0, 氯化钠 10.0, ddH₂O 定容至 1.0 L, 121 °C 灭菌 30 min。固体培养基中加入 1.5%–2.0% 琼脂粉。

Reasoner's 2A (R2A) 液体培养基(g/L): 胰蛋白胨 0.5, 酵母提取物 0.5, 可溶性淀粉 0.5, 丙酮酸钠 0.3, 硫酸镁 0.021, 磷酸氢二钾 0.3, 酶水解酪蛋白 0.5, ddH₂O 定容至 1.0 L, 121 °C 灭菌 30 min。

Mueller-Hinton broth (MH) 液体培养基: MH 培养基 21.0 g, 加热溶解于 1.0 L 蒸馏水中, 121 °C 灭菌 15 min。

脑心浸液(Brain-heart infusion broth, BHI) 液体培养基: BHI 培养基 38.5 g, 加热溶解于 1.0 L 蒸馏水中, 121 °C 灭菌 15 min。

1.2 降解玉米赤霉烯酮菌株的富集和分离

采集安徽省某地连作的玉米田的土壤样本, 取 0.5 g 土壤样品放入 100 mL 含有 ZEN (50 µg/mL) 的 MM 培养基中[加入终浓度为 2 mmol/L 的(NH₄)₂SO₄作为氮源], 28 °C、200 r/min 条件下培养 7 d。取 MM 培养基的上清液, 5% 的接种量加入到 100 mL 含有 50 µg/mL 的 ZEN 液体 MM 培养基中[加入终浓度为 2 mmol/L 的(NH₄)₂SO₄作为氮源], 并在 28 °C、200 r/min 摇床中继续培养 7 d。经过连续传代 8 次后, 获得含有能够降解 ZEN 菌株的混合培养物。

1.3 降解玉米赤霉烯酮菌株的纯化与复筛

将分离初筛的降解 ZEN 的菌液划线于固体 MM 培养基上[ZEN 终浓度为 10 µg/mL,

(NH₄)₂SO₄ 终浓度为 2 mmol/L], 于 28 °C 培养箱中倒置培养 7 d 后, 挑取不同的单菌落于含终浓度 10 µg/mL 的 ZEN、2 mmol/L 的(NH₄)₂SO₄ 的液体 MM 培养基中, 于 28 °C、200 r/min 的条件下培养 7 d。如此连续划线、挑取单菌落 2 次。将所得单菌落接种到 5 mL 液体 MM 培养基中, 其中 ZEN 终浓度为 10 µg/mL, (NH₄)₂SO₄ 终浓度为 2 mmol/L, 以不加菌为空白对照, 每个菌均做 3 次重复, 于 28 °C、200 r/min 条件下摇床培养 12 h。根据高效液相色谱(HPLC)法对培养液中的 ZEN 含量进行检测, 色谱柱为 Accucore C18 柱(长度 100 mm×内径 4.6 mm×粒径 2.6 µm), 流动相 A 相为 80% 甲醇、B 相为 20% 纯水, 流速为 0.5 mL/min, 进样量为 20 µL, 柱温 30 °C, 紫外检测器(波长 236 nm)。按照公式(1)计算降解率, 筛选出降解率最高的菌株。

$$\text{ZEN降解率} = \frac{(\text{对照组浓度} - \text{实验组浓度})}{\text{对照组浓度}} \times 100\% \quad (1)$$

1.4 菌株形态及理化特性检测

将筛选出的菌株接种到 LB 固体培养基上, 于 28 °C 培养 48 h 左右, 观察其菌落形态, 挑取单菌落进行电镜观察。将 DC-R2 菌株接入 Biolog GEN III 鉴定板, 96 孔板分布有阳性、阴性对照以及 71 种碳源、23 化学敏感物质, 培养 48 h 后通过观察其颜色反应判断菌株碳源利用情况。

1.5 16S rRNA 基因序列检测

以 DC-R2 基因组 DNA 为模板, 利用 16S rRNA 基因通用引物^[26]27F (5'-AGAGTTT GATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGTAC CTTGTTACGACTT-3') 进行 PCR。采用细菌基因组 DNA 快速抽提试剂盒(武汉勤致杰生物科技有限公司)提取 DNA, 以目的菌种基因组 DNA 为模板进行 PCR 扩增。PCR 反应体系

(25 μL): $2\times\text{Taq Mix}$ 12.5 μL , ddH₂O 10 μL , 上、下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)各 1 μL , DNA 模板 0.5 μL 。PCR 扩增条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 2 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 5 min。将扩增后的 PCR 产物送到测序公司进行测序。将测序所得到的结果在 NCBI 数据库中进行序列比对, 选取 26 个相似度较高的菌株的序列为参考序列, 并利用 MEGA 7.0 软件, 采用 Neighbor-Joining 法进行分子系统学分析。

1.6 不同条件对菌株生长的影响

将复苏的 DC-R2 菌液以体积分数为 1% 的比例分别接种于 5 mL R2A 培养基、5 mL MH 培养基、5 mL BHI 培养基、5 mL LB 培养基中, 在 28 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 条件下培养, 实验设置 3 个平行。于 24 h 时取菌液 1 mL, 使用紫外分光光度计测量其 OD_{600} 值, 分析菌株 DC-R2 的最适培养基。

将复苏的 DC-R2 菌液以体积分数为 1% 的比例接种于 100 mL BHI 培养基中, 于 28 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 条件下摇床培养 72 h, 实验设置 3 个平行。分别在 0、6、12、18、24、30、36、42、48、54、60、66、72 h 时取菌液样品 1 mL, 使用紫外分光光度计测量其 OD_{600} 值。以时间为横坐标, OD_{600} 值为纵坐标, 绘制菌株 DC-R2 的生长曲线。

将复苏的 DC-R2 菌液以体积分数为 1% 的比例接种于 5 mL BHI 培养基中, 分别在 15、20、25、28、37、40、45 $^{\circ}\text{C}$ 温度下 200 r/min 摇床培养 24 h, 实验设置 3 个平行。取菌液样品 1 mL, 使用紫外分光光度计测量其 OD_{600} 值。以温度为横坐标, OD_{600} 值为纵坐标, 绘制温度与 OD_{600} 的关系曲线, 判断菌株 DC-R2 的最适生长温度。

将复苏的 DC-R2 菌液以体积分数为 1% 的

比例接种于 5 mL BHI 培养基中, 预先将培养基的初始 pH 分别调整为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 条件下摇床培养 24 h, 实验设置 3 个平行。取菌液样品 1 mL, 使用紫外分光光度计测量其 OD_{600} 值。以 pH 为横坐标, OD_{600} 值为纵坐标, 绘制 pH 与 OD_{600} 的关系曲线, 判断菌株 DC-R2 的最适生长 pH。

1.7 不同条件对菌株降解 ZEN 的影响

取复苏的 DC-R2 菌液 8 000 r/min 离心 1 min, 收集菌体, 使用无菌水清洗 2 次并悬浮菌体, 将悬浮菌液加入到 30 mL MM 培养基中, 同时加入 ZEN (终浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$), 并补充 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (终浓度为 2 mmol/L) 作为氮源。根据上述最适生长条件, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 条件下孵育 15 h。分别于 0、3、6、9、12、15 h 时取样 1 mL 测定其 OD_{600} , 分析菌株 DC-R2 以 ZEN 为唯一碳源时的生长能力。

取复苏的 DC-R2 菌液 8 000 r/min 离心 1 min, 收集菌体, 使用无菌水清洗 2 次并悬浮菌体, 将菌液按 1% 接种量接种于 5 mL MM 培养基中。同时加入 ZEN (终浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$), 并补充 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (终浓度为 2 mmol/L) 作为氮源在 15、28、37、45 $^{\circ}\text{C}$ 温度下 200 r/min 摇床培养, 分别于 0、1、2、3、4、5、6 h 时取样。

取复苏的 DC-R2 菌液 8 000 r/min 离心 1 min, 收集菌体, 使用无菌水清洗 2 次并悬浮菌体, 将菌液按 1% 接种量分别接种于初始 pH 值为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 的 MM 培养基中。同时加入 ZEN (终浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$), 并补充 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (终浓度为 2 mmol/L) 作为氮源, 最终培养物总体积为 5 mL。将其在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、200 r/min 条件下孵育 3 h。

挑取复苏的 DC-R2 菌液 8 000 r/min 离心

1 min, 收集菌体, 使用无菌水清洗 2 次并悬浮菌体, 将菌液按 1% 接种量接种于 5 mL MM 培养基中, 同时加入 ZEN, 使初始 ZEN 终浓度分别为 5、10、20、30、40、50 $\mu\text{g/mL}$, 并补充 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (终浓度为 2 mmol/L) 作为氮源, 在 37 $^\circ\text{C}$ 、200 r/min 条件下孵育 3 h。

以上实验均以不接种菌液为对照, 实验均设置 3 个平行。取菌液 500 μL , 加入 500 μL 甲醇终止反应, 充分混匀后, 使用 0.22 μm 滤膜过滤, 使用 HPLC 法检测 ZEN 残留量(峰面积), 计算 ZEN 的降解率。

1.8 菌株 DC-R2 降解 ZEN 活性物质定位及粗酶液降解效果

将复苏的 DC-R2 菌液以体积分数为 1% 的比例接种于 100 mL BHI 培养基中, 在 37 $^\circ\text{C}$ 、200 r/min 条件下培养 24 h。菌液在 8 000 r/min 下离心 10 min, 将得到的菌体分为 3 份, 分别加入到 30 mL MM 培养基内, 并补加 ZEN 至终浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$, 诱导 1 h, 液相检测 ZEN 已完全降解, 将菌液在 8 000 r/min 下离心 10 min, 上清液使用 0.22 μm 滤膜过滤, 得到全细胞培养上清液。将得到的 3 份全细胞用无菌水清洗 2 次后, 各用 20 mL 无菌水将其悬浮。第 1 份无菌水悬浮的全细胞备用; 第 2 份全细胞放入高压蒸汽灭菌锅 121 $^\circ\text{C}$ 灭菌 30 min 后备用; 第 3 份使用超声破碎后, 将其在 12 000 r/min 下离心 30 min, 破碎菌体上清液使用 0.22 μm 滤膜过滤后得到菌体破碎后的上清。上述样品中加入 ZEN (5 $\mu\text{g/mL}$) 孵育 12 h 后, 检测 ZEN 残留量(峰面积), 计算 ZEN 降解率。

在上述试验的基础上, 取发挥主要降解作用的实验组进行处理: 加 1 mg/mL 蛋白酶 K (65 $^\circ\text{C}$, 水浴 2 h); 加蛋白酶 K (1 mg/mL) 和 1% SDS (65 $^\circ\text{C}$, 水浴 2 h); 热处理(100 $^\circ\text{C}$, 水浴 30 min), 并与 ZEN (5 $\mu\text{g/mL}$) 共同孵育

12 h, 检测 ZEN 残留量(峰面积), 计算 ZEN 降解率。

为了进一步验证活性物质的位置及其对 ZEN 的降解效率和降解时间。以不加活性物质作为对照, 在全细胞培养上清液、菌体破碎后的上清液、全细胞样品中加入 ZEN (终浓度为 6 $\mu\text{g/mL}$), 每隔 10 min 取样 1 次, 使用 HPLC 法检测 ZEN 残留量(峰面积), 计算 ZEN 的降解浓度。

1.9 金属离子对粗酶液降解 ZEN 的影响

粗酶液中分别加入终浓度为 5 mmol/L 的亚铁离子(Fe^{2+})、铜离子(Cu^{2+})、锰离子(Mn^{2+})、镁离子(Mg^{2+})、钙离子(Ca^{2+})、锌离子(Zn^{2+})、镍离子(Ni^{2+})、钴离子(Co^{2+})和乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA), 与 ZEN (5 $\mu\text{g/mL}$) 充分混匀后置于 37 $^\circ\text{C}$ 、200 r/min 摇床中共同孵育 12 h。采用 HPLC 检测 ZEN 的残留量(峰面积), 并计算 ZEN 的降解率。

2 结果与分析

2.1 ZEN 降解菌的筛选

在以 ZEN 为唯一碳源的 MM 培养基中培养 12 h 后, 共筛选获得 21 种潜在的 ZEN 降解细菌, 在温度为 28 $^\circ\text{C}$ 、ZEN 初始浓度为 5 $\mu\text{g/mL}$ 的条件下, 菌株 DC-R2 降解 ZEN 的效果最佳, 降解率为 100%, 其他菌株的 ZEN 降解率均低于 40% (图 1A), 因此, 选择 DC-R2 进行后续研究。HPLC 检测结果显示, 对照组中 ZEN 的检测峰出现在 14 min 左右(图 1B), 而实验组 DC-R2 培养液中 ZEN 的检测峰消失(图 1C)。上述结果表明菌株 DC-R2 对 ZEN 具有极佳的降解能力。

2.2 ZEN 降解菌株的鉴定

将具有 ZEN 降解能力的菌株 DC-R2 进行培

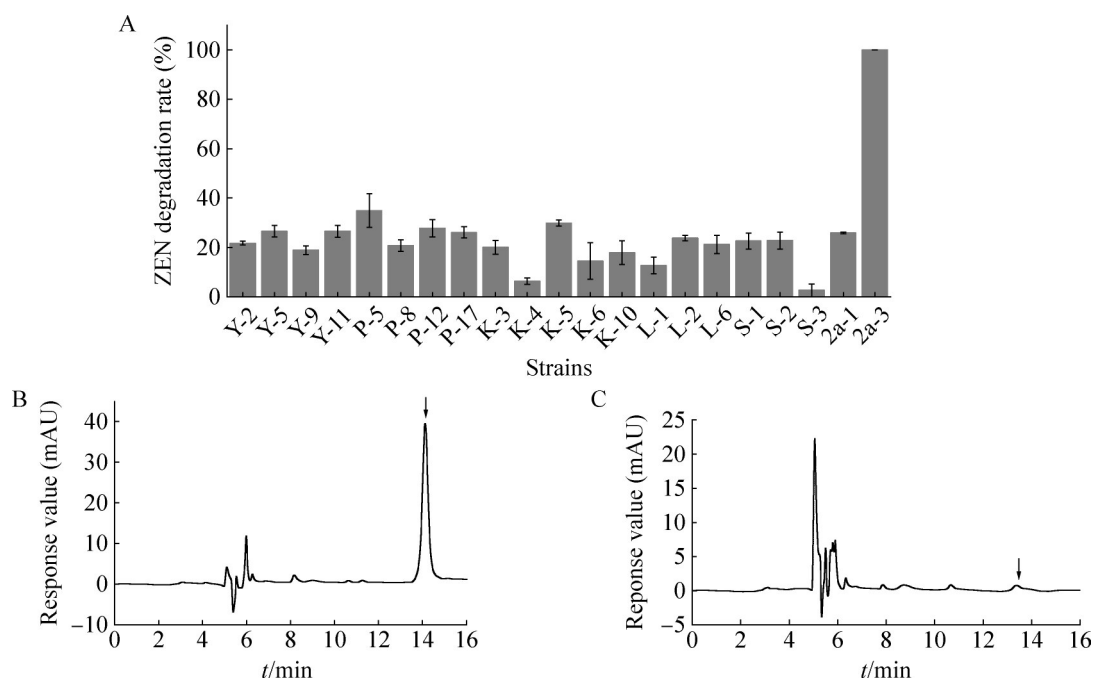


图1 菌株筛选及HPLC检测脱毒效果。A: 21个分离菌株对ZEN的降解率; B: 对照组高效液相色谱图; C: 实验组高效液相色谱图。

Figure 1 Strain screening and detection of detoxification of ZEN by HPLC. A: The degradation rates of ZEN by 21 strains; B: HPLC chromatogram of control group; C: HPLC chromatogram of the experimental group.

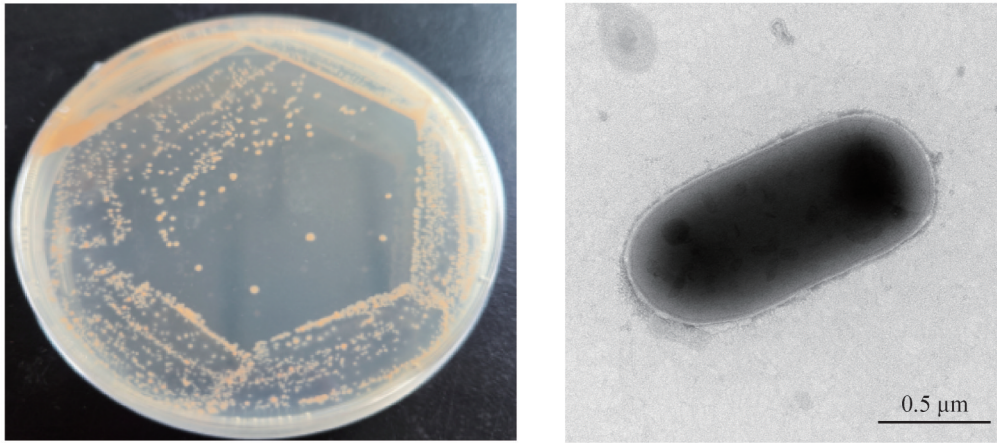
养后, 观察其菌落形态。菌落的形态一致, 呈现粉红色表型, 粗糙边缘不整齐(图 2A)。该菌株为革兰氏阳性菌, 呈杆状, 大小为 $(0.5-0.8) \mu\text{m} \times (1.2-1.8) \mu\text{m}$, 无鞭毛, 不产生菌丝(图 2B)。通过 Biolog GEN III 鉴定板进行代谢特性分析, 结果表明菌株 DC-R2 对纤维二糖、蔗糖、D-果糖、D-甘露糖、D-山梨醇、乳酸钠、D-阿拉伯醇、果胶、丙酸、氨曲南、 α -羟基-丁酸、吐温-40、丁酸钠等均呈阳性反应; 与龙胆二糖、D-丝氨酸、肌醇、四唑紫、四唑蓝、林肯霉素、洁霉素、万古霉素、溴酸钠等均呈阴性反应(表 1)。对该菌株的 16S rRNA 基因序列进行扩增并测序, 序列比对结果显示, DC-R2 与 *Gordonia westfalica* Kb2 的序列同源性最高。通过构建 16S rRNA 基因序列系统发育树进行分析, 发现 DC-R2 与 *Gordonia westfalica* DSM 44215 菌株

高度聚类(图 2C)。因此, 推断 DC-R2 菌株属于戈登氏菌属(*Gordonia* sp.)。

2.3 DC-R2 菌株不同条件的生长情况

菌株 DC-R2 在 28°C 、 200 r/min 条件下培养 24 h, 在 BHI 培养基中的 OD_{600} 值最高达 1.16, 而培养基 R2A、LB、MH 的 OD_{600} 值分别为 0.68、0.72、0.15 左右。因此, 可以确定 BHI 是菌株 DC-R2 的最适培养基(图 3A)。后续实验均选择 BHI 作为研究培养基。在 28°C 培养时, 菌株 DC-R2 的对数生长期为 24 h(图 3B)。菌株 DC-R2 的生长繁殖能力表现出显著的温度依赖性。在较低温度下, OD_{600} 值增长缓慢; 当温度提升至 25 、 28 、 37°C 时, OD_{600} 值稳步上升, 表明菌株 DC-R2 的生长繁殖能力在这一温度范围内逐渐增强; 然而, 当温度进一步升高至 40°C 以上时, OD_{600} 值明显下降, 说明菌株的生

A



B

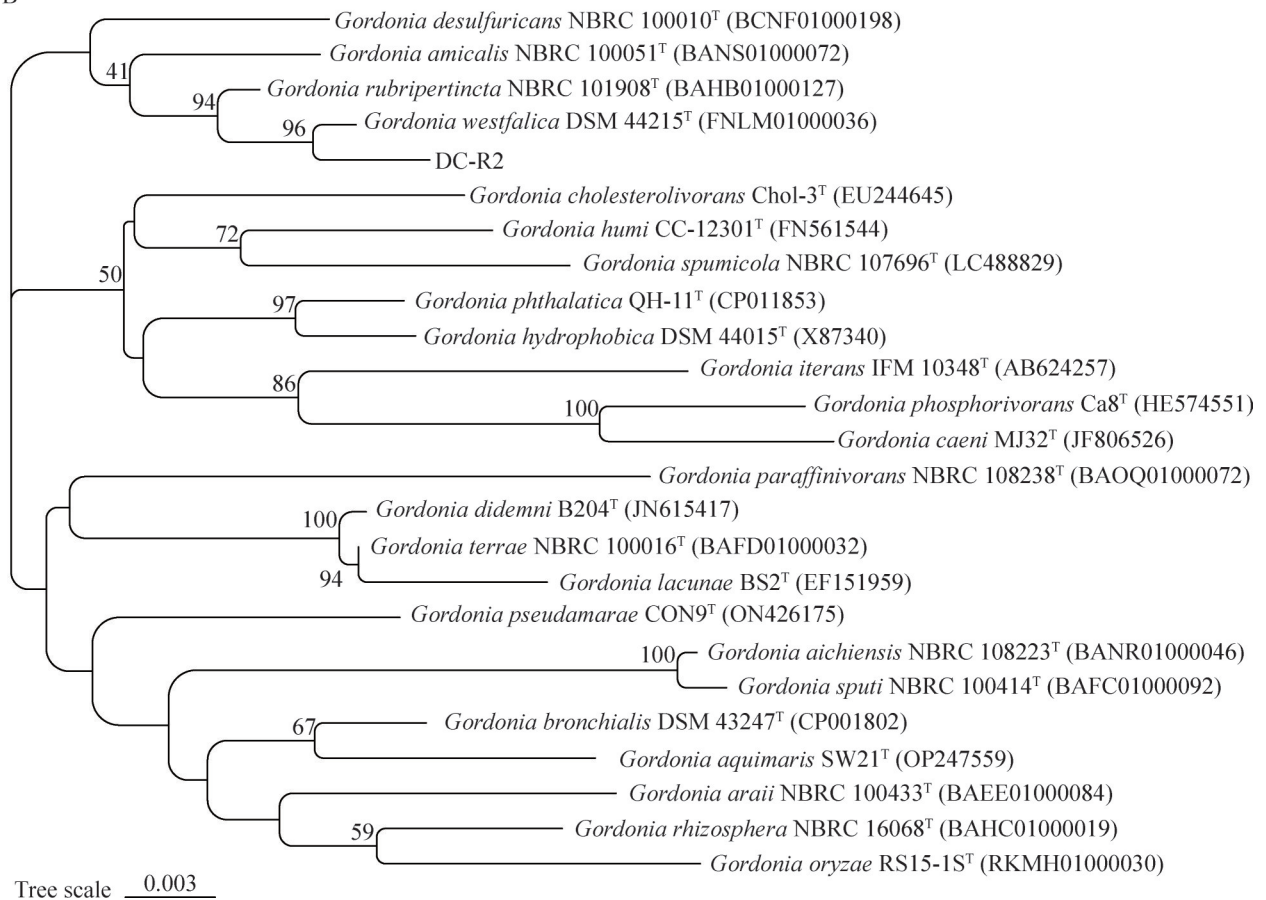


图2 菌株筛选及鉴定。A: DC-R2菌落形态; B: DC-R2电子透射电镜观察; C: 基于16S rRNA基因序列的系统发育树。

Figure 2 The screening and characterization of strain. A: Colony morphology of strain DC-R2; B: Morphology of strain DC-R2 under transmission electron microscope; C: The phylogenetic evolutionary tree based on the 16S rRNA gene sequence of strain DC-R2.

表1 ZEN降解菌DC-R2的Biolog GEN III鉴定板结果

Table 1 The results of the Biolog GEN III identification plate for the ZEN degradation bacteria DC-R2

Biochemical projects	Results	Biochemical projects	Results	Biochemical projects	Results	Biochemical projects	Results
Negative control	-	α -D-glucose	+	Gelatin	w	p-hydroxy-phenylacetic acid	w
Dextrin	+	D-mannose	+	Glycyl-L-proline	w	Methyl pyruvate	w
D-maltose	w	D-fructose	+	L-alanine	+	D-lactic acid methyl ester	+
D-trehalose	+	D-galactose	w	L-arginine	w	L-lactic acid	w
D-cellobiose	+	3-methyl glucose	w	L-aspartic acid	-	Citric acid	w
Gentiobiose	-	D-fucose	w	L-glutamic acid	w	α -keto-glutaric acid	+
Sucrose	+	L-fucose	w	L-histidine	w	D-malic acid	+
D-turanose	+	L-rhamnose	w	L-pyroglutamic acid	w	L-malic acid	+
Stachyose	w	Inosine	w	L-serine	w	Bromo-succinic acid	+
Positive control	+	1% sodium lactate	+	Lincomycin	-	Nalidixic acid	+
pH 6.0	+	Fusidic acid	-	Guanidine HCl	+	Lithium chloride	+
pH 5.0	w	D-serine	-	Niaproof 4	-	Potassium tellurite	+
D-raffinose	w	D-sorbitol	+	Pectin	+	Tween-40	+
α -D-lactose	w	D-mannitol	+	D-galacturonic acid	w	γ -amino-butyric acid	w
D-melibiose	w	D-arabitol	+	L-galactonic acid lactone	w	α -hydroxy-butyric acid	+
β -methyl-D-glucoside	w	myo-inositol	-	D-gluconic acid	w	β -hydroxy-D,L-butyric acid	+
D-salicin	-	Glycerol	w	D-glucuronic acid	w	α -keto-butyric acid	+
N-acetyl-D-Glucosamine	w	D-glucose-6-PO ₄	w	Glucuronamide	w	Acetoacetic acid	+
N-acetyl- β -D-mannosamine	w	D-fructose-6-PO ₄	w	Mucic acid	w	Propionic acid	+
N-acetyl-D-galactosamine	w	D-aspartic acid	w	Quinic acid	w	Acetic acid	+
N-acetylneuraminic acid	-	D-serine	w	D-saccharic acid	w	Formic acid	-
1% NaCl	+	Troleandomycin	-	Vancomycin	-	Aztreonam	+
4% NaCl	w	Rifamycin SV	w	Tetrazolium violet	-	Sodium butyrate	+
8% NaCl	w	Minocycline	-	Tetrazolium blue	-	Sodium bromate	-

+: 阳性; -: 阴性; w: 弱阳性。

+: Positive; -: Negative; w : Weakly positive.

长能力受到显著抑制。因此,菌株 DC-R2 的最适生长温度为 37 °C 左右(图 3C)。在 37 °C 条件下,当初始 pH 为 3.0–5.0 时,菌株 DC-R2 的 OD_{600} 值增加缓慢;当初始 pH 为 6.0–10.0 时, OD_{600} 值较高;当初始 pH 为 11.0 时,菌株 DC-R2 的 OD_{600} 值未见增加;其中,当初始 pH

为 8.0 时, OD_{600} 值最高,说明最适生长 pH 为 8.0 (图 3D)。

2.4 DC-R2 菌株降解 ZEN 受不同条件的影响

在温度为 37 °C、初始 pH 8.0 的条件下,菌株 DC-R2 能在 6 h 内完全降解 5 μ g/mL 的 ZEN;

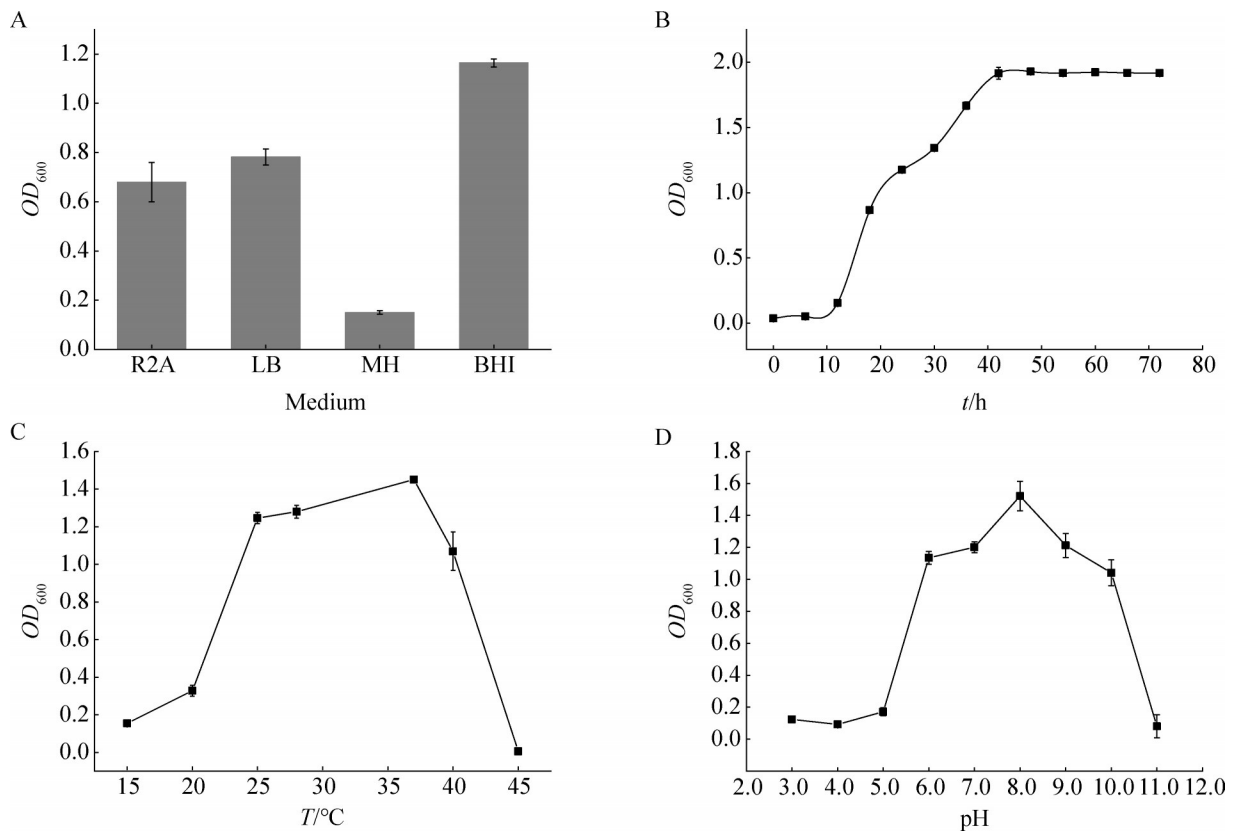


图3 菌株DC-R2培养条件。A: 最适培养基; B: 戈登氏菌DC-R2生长曲线; C: 最适温度; D: 最适pH。

Figure 3 Optimization of culture conditions for strain DC-R2. A: The optimization of different medium; B: The growth curve of strain *Gordonia* sp. DC-R2; C: The optimization of temperature; D: The optimization of pH.

在 3 h 内, ZEN 含量迅速减少, 降解率达到 90%; 在 3–6 h 内, 剩余的 ZEN 被完全降解。菌株 DC-R2 在 0–6 h 迅速生长, 到 6 h 时, OD_{600} 值约为 0.18, 6–9 h 时, DC-R2 生长速度减缓, 9 h 时样品中 DC-R2 浓度最高, OD_{600} 值可达 0.20, 9–12 h 时样品 OD_{600} 值迅速下降, 最终 15 h 时 OD_{600} 约为 0.12 (图 4A)。在初始 pH 为 3.0–11.0 的范围内, ZEN 降解率呈现先升高后降低的趋势。当初始 pH 为 7.0–10.0 时, DC-R2 对 ZEN 的降解率极高, 达到 95% 以上; 其中, 当初始 pH 为 8.0 时, ZEN 被完全降解。在酸性及强碱性条件下, ZEN 的降解率明显下降, 说明降解 ZEN 的活性物质在中性及弱碱

性环境下具有最佳活性, 而在酸性及强碱性环境下活性被明显抑制 (图 4B)。当温度在 15–45 °C 范围内时, DC-R2 对 ZEN 的最适降解温度为 37 °C, 在 4 h 内能完全降解 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ZEN, 降解率达到 100%; 其次为 28 °C, 降解率约为 60%; 当温度为 15 °C 和 45 °C 时, ZEN 的降解率明显降低, 6 h 内 ZEN 的降解率分别约为 40% 和 20% (图 4C)。随着 ZEN 初始浓度的增加, ZEN 降解率逐渐降低。当 ZEN 初始浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, DC-R2 对 ZEN 的降解效果最好, 降解率为 100%; 当 ZEN 初始浓度为 30–50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时, ZEN 降解率仅约 20% (图 4D)。

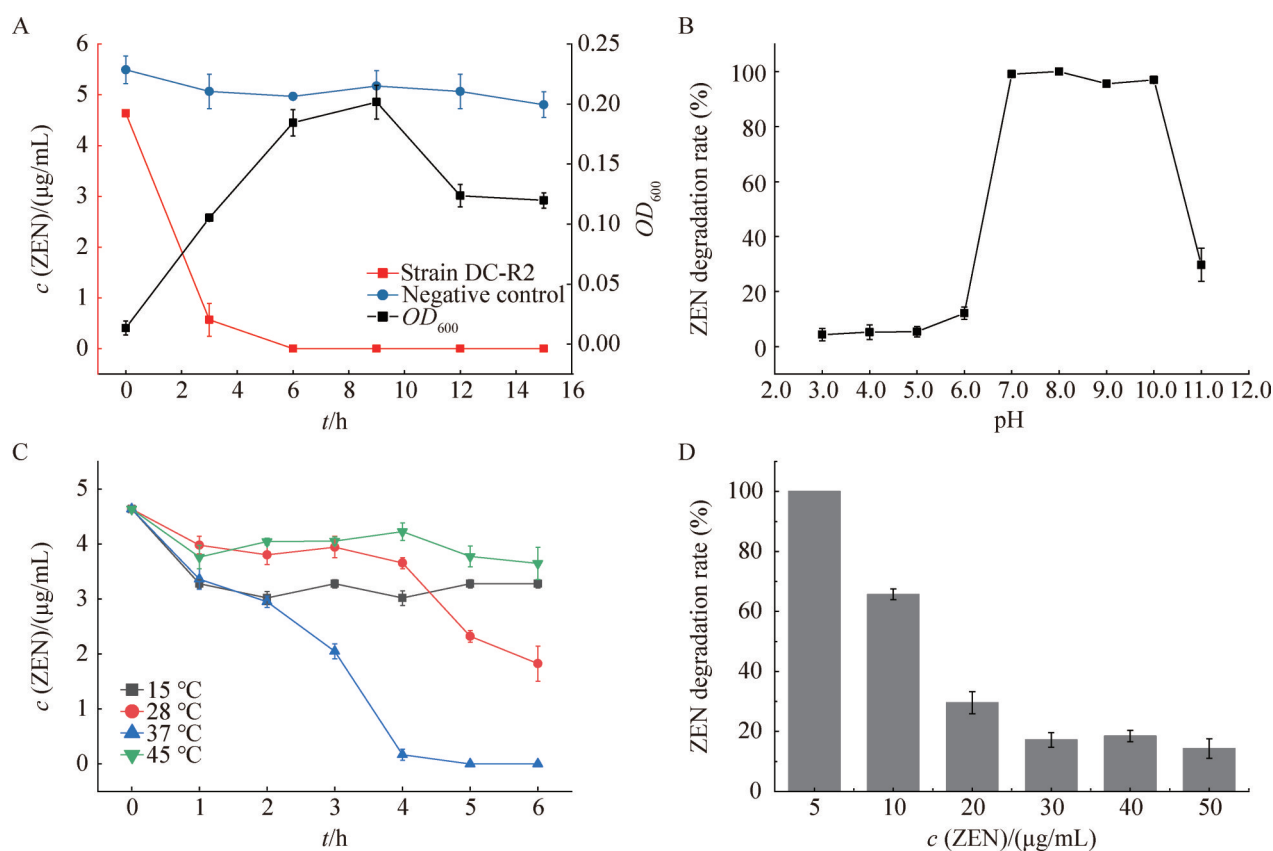


图4 菌株DC-R2降解ZEN的条件。A: 时间; B: pH; C: 温度; D: ZEN浓度。

Figure 4 Optimization of ZEN degradation conditions by strain DC-R2. A: Optimization of time; B: Optimization of pH; C: Optimization of temperature; D: ZEN concentration.

2.5 菌株 DC-R2 降解 ZEN 活性位置定位及粗酶液降解效果

在温度为 37 °C、ZEN 初始浓度为 6 μg/mL 的条件下孵育 12 h 后, DC-R2 全细胞和菌株破碎的上清对 ZEN 的降解率达到 100%, 而灭活菌体、全细胞培养上清液及煮沸处理后的破碎菌体上清对 ZEN 的降解率均在 10% 以下(图 5A)。此外, 在同等条件下, 菌体破碎后的上清液中加入蛋白酶 K、SDS 及 SDS 与蛋白酶 K 处理后, 其对 ZEN 的降解率分别下降到 13.62%、10.14% 和 10.07%(图 5B)。由此推测降解 ZEN 的活性物质存在于细胞内。为了进一步验证菌株 DC-R2 降解 ZEN 的活性酶位置, 分别取 ZEN 降解完全的全细胞、全细胞培养上清

液和全细胞破碎后收集的粗酶液, 并用二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白质浓度对粗酶液中的蛋白质进行定量(9.6 mg/mL)。结果表明, 该全细胞破碎后收集的粗酶液与全细胞在温度为 37 °C 条件下, 20 min 内对初始浓度为 6 μg/mL 的 ZEN 降解率分别达到 100% 和 90% 以上, 而全细胞培养上清液在 60 min 内未将 ZEN 降解(图 5C)。继续在 37 °C 条件下孵育 2 h 后, 将含有 6 μg/mL ZEN 的全细胞培养上清液和全细胞破碎后得到的粗酶液分别再用 HPLC 法检测。结果显示, 在粗酶液中并未检测到 ZEN 的存在, 而细胞培养上清液中仍然可以检测出约 6 μg/mL 浓度的 ZEN。

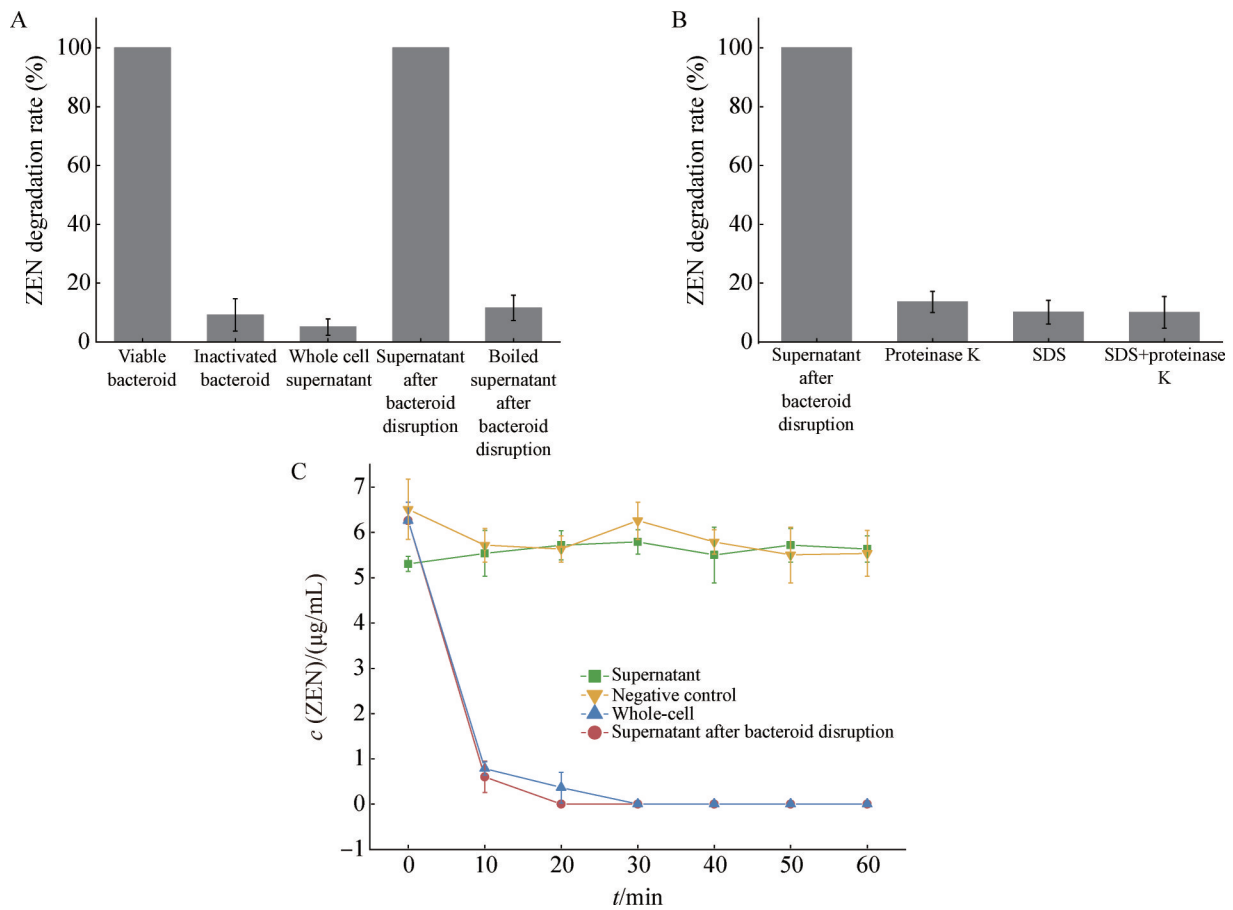


图5 菌株DC-R2降解ZEN活性物质定位及粗酶液降解效果。A: DC-R2不同组分对ZEN降解率的影响; B: SDS与蛋白酶K对DC-R2破碎后的上清液降解ZEN的影响; C: 不同时间粗酶液对ZEN的降解情况。

Figure 5 Localization of ZEN-degrading active substances in strain DC-R2 and degradation efficiency of crude enzyme solution. A: Effects of different components of DC-R2 on ZEN degradation rates; B: Effects of SDS and protease K on ZEN degradation in supernatant after bacteroid disruption; C: Effects of crude enzyme solution on ZEN degradation at different times.

2.6 金属离子对粗酶液降解ZEN效果的影响

在温度为 37 °C、ZEN 初始浓度为 5 µg/mL 的条件下, 不同金属离子对粗酶液降解 ZEN 的效果展现出了显著差异, Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 这 3 种金属离子对粗酶液的影响相对微弱, 它们存在时粗酶液对 ZEN 的降解率依然保持在 100%, 表明这些金属离子在此浓度下并未对粗酶液的降解活性产生明显的抑制作用。相比之下, Ni^{2+} 与 Co^{2+} 则对粗酶液的降解效果产生了一定程度

的影响, 导致降解率下降至大约 50%, 这意味着这 2 种金属离子在一定程度上干扰了粗酶液的降解功能, 但并未完全抑制其活性。 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 和 Zn^{2+} 则严重抑制了粗酶液对 ZEN 的降解能力, 在它们存在的情况下, ZEN 降解率分别急剧下降至 22%、11% 和 2.5% 左右。此外, EDTA 的引入也会影响粗酶液对 ZEN 的降解效果, ZEN 降解率下降至 14.5% 左右。上述研究表明这些金属离子在给定浓度下显著干扰了粗酶液的降解机制, 几乎完全抑制了其降解 ZEN

的能力。EDTA 作为一种高效的金属螯合剂，在加入反应体系后，能够迅速与溶液中的金属离子结合形成稳定且不易解离的络合物。这一现象揭示了菌株 DC-R2 中降解酶的一个关键特性：它对金属离子具有较高的敏感性。因此，当反应体系中的金属离子被 EDTA 螯合而减少时，菌株 DC-R2 的降解酶会因此失去这些必要的金属离子支持，从而导致其降解活性显著降低(图 6)。

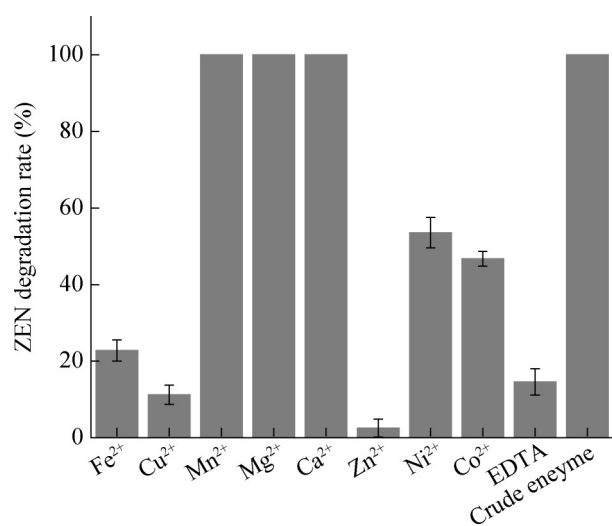


图6 金属离子对粗酶液降解ZEN效果的影响

Figure 6 Effects of metal ions on ZEA degradation in crude enzyme solution.

3 讨论

ZEN 是最常见的污染性真菌毒素之一，主要由禾谷镰刀菌产生，对人类食品安全和动物饲料安全构成严重威胁。因此，寻找高效安全的脱毒方法对于保障我国食品和饲料安全具有重要意义。本研究以 ZEN 为唯一碳源，从土壤样品中筛选到了一株可高效降解 ZEN 的戈登氏菌 DC-R2，在 37 °C、初始 pH 8.0 的条件下培养 6 h 后，对 ZEN (5 μg/mL)降解率为 100%。

戈登氏菌属放线菌是一类棒状稀有放线菌。

1971 年，Tsukamura 首次从土壤中分离出戈登氏菌属细菌；1988 年，Tsukamura 等^[27]及 Stackebrandt 等^[28]通过 16S rRNA 基因序列分析，将其归为 *Gordona* 属，随后更名为 *Gordonia*。Liu 等^[29]从鸡渗滤液富集培养物中分离出可降解 17β-雌二醇的 *Gordonia* 属菌株 R9，并对其生长条件进行优化，发现 *Gordonia* sp. R9 可以耐受较宽的温度(4–40 °C)和 pH 值(1.0–11.0)。Wang 等^[30]则分离出能降解水溶液和土壤中邻苯二甲酸二正辛酯污染的 *Gordonia* sp. Lff，并发现其最佳温度和 pH 值分别为 35 °C 和 8.0^[30]。本研究对菌株 DC-R2 进行 16S rRNA 基因序列扩增并测序，通过序列比对，发现 DC-R2 与 *Gordonia westfalica* Kb2 序列同源性最高，因此推测菌株 DC-R2 属于戈登氏菌属。为了探究不同培养条件对菌株生长的影响，我们设置了不同温度条件对 DC-R2 进行培养，结果发现在 28–37 °C 时菌株 DC-R2 的 *OD*₆₀₀ 值呈稳定上升趋势，因此推测其最适温度在 37 °C 左右，与 Liu 等^[29]和 Wang 等^[30]研究戈登氏菌的最适温度相近。戈登氏菌具有特异的生物降解功能，Chandramouli Swamy 等^[31]分离鉴定出一株菌株 *Gordonia* sp. CN2K，该菌株能在 45 d 内降解 40.43% 的 PET 微塑料。Frantsuzova 等^[32]研究表明菌株 *Gordonia polyisoprenivorans* 135 含有芳香族化合物分解代谢基因，能够利用多种芳香族化合物。Guo 等^[33]以四甲基菊酯作为唯一碳源，从活性污泥中分离出一株可高效降解四菊酯的细菌，经鉴定为 *Gordonia cholesterolivorans* A16。Silva 等^[34]鉴定出 2 株 *Gordonia* sp. 菌株，分别为 MTZ052 和 MTZ096，其对正十六烷的降解率分别为 86% 和 100%^[34]。

尽管已有众多关于戈登氏菌降解环境污染物的研究，但关于其对 ZEN 的降解却未见报道^[35]。因此，关于戈登氏菌降解 ZEN 的研究可

丰富戈登氏菌属的生物降解功能认知。目前, 关于降解 ZEN 的微生物多见于其他菌属, 如 Lee 等^[2]分离鉴定出一株解淀粉芽孢杆菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*) LN 可在 36 h 后使 ZEN 浓度降低了 92%。Zhai 等^[36]从动物肠道内容物中分离得到一株产孢梭菌 (*Clostridium sporogenes*) F39, 该菌在 48 h 内对 ZEN 的降解率为 87.35%。Gan 等^[37]发现了 2 株可降解 ZEN 的乳杆菌, 分别为副干酪乳杆菌 (*Lactobacillus paracasei*) 85 和布氏乳杆菌 (*Lactobacillus buchneri*) 93, 其在 48 h 内的降解率分别达到 77.7% 和 72.8%^[37]。本研究筛选到的一株戈登氏菌 DC-R2, 在温度为 37 °C、初始 pH 8.0 的条件下, 3 h 内将 ZEN (5 µg/mL) 降解 90% 左右, 并在 6 h 内完全降解, 其降解效率远高于已报道的菌株。由于菌株的生长活性和降解率受培养条件的影响, 在生长环境适宜、营养条件充分的情况下, 观察到菌株的高生长活性, 从而充分降解 ZEN^[16]。因此, 我们对其最适培养基进行筛选, 并探究其不同生长及降解的时间、温度、pH 等条件下的生长情况, 以期找到最适生长降解条件使其高效降解 ZEN。

王继雯等^[38]从有机磷农药严重污染的土壤中分离鉴定出一株假单胞菌 (*Pseudomonas stutzeri*) J7-4, 该菌能高效降解有机磷农药, 并定位其降解酶为胞内酶, 该酶最适 pH 为 9.0, 最适反应温度为 45 °C。为了定位降解 ZEN 的活性酶位置, 我们对 ZEN 诱导后的不同组分在温度为 37 °C 条件下进行 ZEN 降解活性的测定, 结果发现 DC-R2 全细胞和菌株破碎的上清液可将 ZEN (5 µg/mL) 完全降解, 而全细胞的上清液与煮沸处理后的菌株破碎的上清液对 ZEN 几乎无降解效果。初步认定菌株破碎的上清液可能对 ZEN 具有降解效果。进一步对菌体破碎后的上清液样品进行加蛋白酶 K; 加蛋白酶 K

(1 mg/mL) 和 1% SDS 和热处理后与 ZEN (5 µg/mL) 共同孵育 12 h 后并用 HPLC 检测 ZEN 残留量, 结果发现处理后的样品对 ZEN 的降解率均下降到 10% 以下。为了进一步验证活性物质的位置及其降解效果, 再次对不同时间的全细胞与破碎后的菌体上清液的降解效率进行研究。结果发现, 在 37 °C 条件下, 全细胞与破碎后的菌体上清液在 30 min 内对 6 µg/mL 的 ZEN 降解率为 100%, 全细胞上清在 60 min 内对 ZEN 基本无降解。上述结果表明, 菌株 DC-R2 能够降解 ZEN 的原因并非菌株的吸附作用; 菌株 DC-R2 降解 ZEN 的酶可能并非分泌到胞外, 而是定位于胞内。因此, DC-R2 降解 ZEN 的作用主要归因于细胞内酶的降解作用。ZEN 能够被胞内酶降解的原因可能是, 当以 ZEN 为唯一碳源培养菌株 DC-R2 时, 其通过感知周围环境中的碳源浓度变化调控转运蛋白的表达, 这些转运蛋白起到了通道的作用, 使得 ZEN 能够通过细胞膜进入细胞内部从而达到摄取碳源的目的^[39]。我们推测, 在菌株 DC-R2 中, 存在具有转运真菌毒素 ZEN 的通道蛋白, 它们将 ZEN 转运到胞内被活性酶进一步降解。后续研究可通过高效液相色谱质谱法、转录组和蛋白质组学的方法挖掘菌株 DC-R2 对 ZEN 的代谢途径和降解酶, 并解析其降解的分子机制。

Bi 等^[40]通过基因工程的手段, 在毕赤酵母中表达出可降解 ZEN 的酶 ZENC, 将 800 单位的 ZENC 添加到含有可溶物的干谷物副产品 (distillers dried grains with solubles, DDGS)、玉米副产品以及玉米麸皮 (各 25 g) 的实验中, 观察到了显著的 ZEN 浓度下降现象。DDGS 中的 ZEN 浓度降低了 70.9%, 玉米副产品中的 ZEN 浓度减少了 88.9%, 而玉米麸皮中的 ZEN 浓度更是大幅下降了 94.7%。ZENC 的所有这些特性都使其在动物饲料和食品行业具有广阔的应用前景。

因此, 我们未来将进一步挖掘 DC-R2 中降解 ZEN 的关键活性酶, 并通过体外克隆表达和纯化获得高效率的 ZEN 降解酶。目前, 我们已经通过全基因组测序和转录组分析, 初步挖掘到 ZEN 降解的代谢途径, 包括各种内酯酶、水解酶、脱羧酶和硫酯酶等, 这些酶可能在 ZEN 降解过程中起到重要的作用。

4 结论

本研究以 ZEN 为唯一碳源进行分离筛选, 从土壤样品中筛选出一株高效降解 ZEN 的菌株 DC-R2。通过形态学和 16S rRNA 基因测序分析表明该菌株属于戈登氏菌属(*Gordonia* sp.)。降解试验表明, DC-R2 菌株降解 ZEN 的最佳条件为温度 37 °C、pH 8.0、培养时间在 6 h 内, DC-R2 菌株可将初始浓度为 5 μg/mL 的 ZEN 完全降解。活性物质定位试验发现, 该菌株主要通过胞内酶发挥 ZEN 的降解作用。

作者贡献声明

陈昌翠: 实验设计、实验操作、数据处理、文章撰写及修改; 王乾支: 数据整理、文章撰写; 孙洋洋: 实验设计、实验操作、文章修改; 陈静: 实验指导、文章指导; 闫达中: 实验指导、文章指导; 邱东茹: 实验指导、文章指导; 戴景程: 实验设计、实验指导、文章指导及修改。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] STOB M, BALDWIN RS, TUIITE J, ANDREWS FN, GILLETTE KG. Isolation of an anabolic, uterotrophic compound from corn infected with *Gibberella zeae*[J]. *Nature*, 1962, 196: 1318.
- [2] LEE A, CHENG KC, LIU JR. Isolation and characterization of a *Bacillus amyloliquefaciens* strain with zearalenone removal ability and its probiotic potential[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0182220.
- [3] MA R, ZHANG L, LIU M, SU YT, XIE WM, ZHANG NY, DAI JF, WANG Y, RAJPUT SA, QI DS, KARROW NA, SUN LH. Individual and combined occurrence of mycotoxins in feed ingredients and complete feeds in China[J]. *Toxins*, 2018, 10(3): 113.
- [4] De TROYER L, de ZUTTER N, de SAEGER S, DUMOULIN F, CROUBELS S, de BAERE S, de GELDER L, AUDENAERT K. Actinobacteria as promising biocontrol agents for *in vitro* and in planta degradation and detoxification of zearalenone[J]. *Toxins*, 2024, 16(6): 253.
- [5] LO EKK, LEE JCY, TURNER PC, EL-NEZAMI H. Low dose of zearalenone elevated colon cancer cell growth through G protein-coupled estrogenic receptor[J]. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 7403.
- [6] LEUNG HKM, LO EKK, CHEN CJ, ZHANG FF, FELICIANNA, ISMAIAH MJ, EL-NEZAMI H. Zearalenone attenuates colitis associated colorectal tumorigenesis through Ras/Raf/ERK pathway suppression and SCFA-producing bacteria promotion[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2023, 164: 114973.
- [7] WU KT, REN CX, GONG YF, GAO X, ALI RAJPUT S, QI DS, WANG S. The insensitive mechanism of poultry to zearalenone: a review[J]. *Animal Nutrition*, 2021, 7(3): 587-594.
- [8] QU Z, REN XF, DU ZL, HOU J, LI Y, YAO YP, AN Y. *Fusarium* mycotoxins: the major food contaminants[J]. *mLife*, 2024, 3(2): 176-206.
- [9] 孔德旭, 朱延光, 郑焱诚, 王平东, 顾雨熹, 和肖营, 陈晋莹, 刘洋, 罗永昶, 孙学勇. 玉米中真菌毒素的类型、污染现状及控制对策的研究进展[J]. *粮食储藏*, 2024, 53(4): 29-39, 111.
- [10] KONG DX, ZHU YG, ZHENG YC, WANG PD, GU YX, HE XY, CHEN JY, LIU Y, LUO YC, SUN XY. Current status and produce of corn mycotoxins and recent development in control measures for mycotoxins in maize[J]. *Grain Storage*, 2024, 53(4): 29-39, 111 (in Chinese).
- [11] 张大伟, 杨海麟, 华宇, 周旌, 李安平, 关舒, 安纲, 宁霄. 玉米中隐蔽性毒素和新型毒素污染情况分析: 基于 2020 年中国玉米主产区采样情况[J]. *粮油食品科技*, 2021, 29(6): 119-130, 30.
- [12] ZHANG DW, YANG HL, HUA Y, ZHOU J, LI AP, GUAN S, AN G, NING X. Analysis on the mask-mycotoxins and emerging-mycotoxins in maize—samples from the maize cultivated region in 2020, China[J]. *Science and Technology of Cereals, Oils and Foods*, 2021, 29(6): 119-130, 30 (in Chinese).
- [11] 朱文倩. 玉米油中玉米赤霉烯酮的测定和脱除[D]. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 2018.
- [12] ZHU WQ. Determination and removal of zearalenone from corn oil[D]. Wuxi: Master's Thesis of Jiangnan University, 2018 (in Chinese).

- 张丽元. 我国部分地区饲料原料及配合饲料玉米赤霉烯酮污染情况调研[J]. 中国畜牧杂志, 2015, 51(22): 20-24.
- RONG XP, ZHAO LH, JI C, MA QG, WANG XY, ZHOU JC, LIU YJ, ZHANG LY. Research of zearalenone contamination of feedstuffs and feeds[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2015, 51(22): 20-24 (in Chinese).
- [13] YANG L, YANG LH, CAI YQ, LUO YF, WANG H, WANG L, CHEN JQ, LIU XM, WU YJ, QIN YH, WU ZL, LIU N. Natural mycotoxin contamination in dog food: a review on toxicity and detoxification methods[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 257: 114948.
- [14] FRUHAUF S, PÜHRINGER D, THAMHESL M, FAJTL P, KUNZ-VEKIRU E, HÖBARTNER-GUSSL A, SCHATZMAYR G, ADAM G, DAMBORSKY J, DJINOVIC-CARUGO K, PROKOP Z, MOLL WD. Bacterial lactonases *ZenA* with noncanonical structural features hydrolyze the mycotoxin zearalenone[J]. ACS Catalysis, 2024, 14(5): 3392-3410.
- [15] LIU MJ, FENG JX, FAN YQ, YANG XD, CHEN RK, XU C, XU HB, CUI DJ, WANG RX, JIAO Z, MA RN. Application of atmospheric cold plasma for Zearalenone detoxification in cereals: kinetics, mechanisms, and cytotoxicity analysis[J]. Journal of Advanced Research, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2024.04.024>.
- [16] 吴宗芮, 丁轲, 余祖华, 李旺, 李元晓, 曹平华, 何万领, 贾艳艳, 刘宁. 降解玉米赤霉烯酮菌株的筛选、降解机制及特性研究[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(9): 27-33.
- WU ZR, DING K, YU ZH, LI W, LI YX, CAO PH, HE WL, JIA YY, LIU N. Screening, degradation mechanism and characteristics of strains degrading zearalenone[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2022, 37(9): 27-33 (in Chinese).
- [17] ZHENG Z, NIU LY, YANG WC, CHEN Y, HUANG YS, LI C. Degradation of zearalenone by dielectric barrier discharge cold plasma and its effect on maize quality[J]. Foods, 2023, 12(6): 1129.
- [18] QIN X, XIN YZ, SU XY, WANG XL, WANG YR, ZHANG J, TU T, YAO B, LUO HY, HUANG HQ. Efficient degradation of zearalenone by dye-decolorizing peroxidase from *Streptomyces thermocarboxydus* combining catalytic properties of manganese peroxidase and laccase[J]. Toxins, 2021, 13(9): 602.
- [19] GARI J, ABDELLA R. Degradation of zearalenone by microorganisms and enzymes[J]. PeerJ, 2023, 11: e15808.
- [20] BEN TAHEUR F, FEDHILA K, CHAIEB K, KOUIDHI B, BAKHROUF A, ABRUNHOSA L. Adsorption of aflatoxin B1, zearalenone and ochratoxin A by microorganisms isolated from Kefiri grains[J]. International Journal of Food Microbiology, 2017, 251: 1-7.
- [21] LI YJ, CHEN SB, YU ZH, YAO J, JIA YY, LIAO CS, CHEN J, WEI Y, GUO RX, HE L, DING K. A novel *Bacillus velezensis* for efficient degradation of zearalenone[J]. Foods, 2024, 13(4): 530.
- [22] GRUBER-DORNINGER C, KILLINGER M, HÖBARTNER-GUßL A, ROSEN R, DOUPOVEC B, ALESCHKO M, SCHWARTZ-ZIMMERMANN H, GREITBAUER O, MARKOVIĆ Z, STANKOVIĆ M, SCHÖNDORFER K, VUKMIROVIC D, WEIN S, SCHATZMAYR D. Enzymatic degradation of zearalenone in the gastrointestinal tract of pigs, chickens, and rainbow trout[J]. Toxins, 2023, 15(1): 48.
- [23] FRUHAUF S, NOVAK B, NAGL V, HACKL M, HARTINGER D, RAINER V, LABUDOVA S, ADAM G, ALESCHKO M, MOLL WD, THAMHESL M, GRENIER B. Biotransformation of the mycotoxin zearalenone to its metabolites hydrolyzed zearalenone (HZEN) and decarboxylated hydrolyzed zearalenone (DHZEN) diminishes its estrogenicity *in vitro* and *in vivo*[J]. Toxins, 2019, 11(8): 481.
- [24] JI J, YU J, XU W, ZHENG Y, ZHANG YZ, SUN XL. Isolation and mechanistic characterization of a novel zearalenone-degrading enzyme[J]. Foods, 2022, 11(18): 2908.
- [25] QIN X, SU XY, TU T, ZHANG J, WANG XL, WANG YR, WANG Y, BAI YG, YAO B, LUO HY, HUANG HQ. Enzymatic degradation of multiple major mycotoxins by dye-decolorizing peroxidase from *Bacillus subtilis*[J]. Toxins, 2021, 13(6): 429.
- [26] WANG FF, TANG T, MAO T, GUO XL, DUAN YY, YOU JM. *Pseudomonas cichorii* causing leaf spot disease on Banxia (*Pinellia ternata*) in China[J]. Plant Disease, 2022, 106(12): 3198.
- [27] TSUKAMURA M. Proposal of a new genus, *Gordona*, for slightly acid-fast organisms occurring in sputa of patients with pulmonary disease and in soil[J]. Journal of General Microbiology, 1971, 68(1): 15-26.
- [28] STACKEBRANDT E, RAINEY FA, WARD-RAINEY NL. Proposal for a new hierarchic classification system, actinobacteria classis nov.[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1997, 47(2): 479-491.
- [29] LIU N, SHI YE, LI JL, ZHU ML, ZHANG TD. Isolation and characterization of a new highly effective 17 β -estradiol-degrading *Gordonia* sp. strain R9[J]. 3 Biotech, 2020, 10(4): 174.
- [30] WANG YY, REN Q, ZHAN WH, ZHENG KX, LIAO Q, YANG ZH, WANG YS, RUAN XL. Biodegradation of di-n-octyl phthalate by *Gordonia* sp. Lff and its application in soil[J]. Environmental Technology, 2022, 43(17): 2604-2611.
- [31] CHANDRAMOULI SWAMY TM, NAGARATHNA SV, REDDY PV, NAYAK AS. Efficient biodegradation of polyethylene terephthalate (PET) plastic by *Gordonia* sp. CN2K isolated from plastic contaminated environment[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2024, 281: 116635.
- [32] FRANTSUZOVA E, BOGUN A, KOPYLOVA O, VETROVA A, SOLYANIKOVA I, STRELETSKII R, DELEGAN Y. Genomic, phylogenetic and physiological characterization of the PAH-degrading strain *Gordonia polyisoprenivorans* 135[J]. Biology, 2024, 13(5): 339.
- [33] GUO YX, HUANG YH, PANG SM, ZHOU TH, LIN ZQ, YU HX, ZHANG GR, BHATT P, CHEN SH. Novel

- mechanism and kinetics of tetramethrin degradation using an indigenous *Gordonia cholesterolivorans* A16[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(17): 9242.
- [34] SILVA NM, de OLIVEIRA AMSA, PEGORIN S, GIUSTI CE, FERRARI VB, BARBOSA D, MARTINS LF, MORAIS C, SETUBAL JC, VASCONCELLOS SP, Da SILVA AM, de OLIVEIRA JCF, PASCON RC, VIANA-NIERO C. Characterization of novel hydrocarbon-degrading *Gordonia paraffinivorans* and *Gordonia sihwensis* strains isolated from composting[J]. *PLoS One*, 2019, 14(4): e0215396.
- [35] 汪洁, 黎尔彤, 田方圆, 金小宝, 刘文彬. 戈登氏菌属放线菌的研究进展[J]. *微生物学报*, 2023, 63(2): 494-508.
WANG J, LI ET, TIAN FY, JIN XB, LIU WB. Recent advances on *Gordonia*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(2): 494-508 (in Chinese).
- [36] ZHAI CN, YU YG, HAN J, HU JQ, HE D, ZHANG HY, SHI JR, MOHAMED SR, DAWOOD DH, WANG G, XU JH. Isolation, characterization, and application of *Clostridium sporogenes* F39 to degrade zearalenone under anaerobic conditions[J]. *Foods*, 2022, 11(9): 1194.
- [37] GAN M, HU J, WAN K, LIU XX, CHEN PR, ZENG R, WANG FH, ZHAO YR. Isolation and characterization of *Lactobacillus paracasei* 85 and *Lactobacillus buchneri* 93 to absorb and biotransform zearalenone[J]. *Toxics*, 2022, 10(11): 680.
- [38] 王继雯, 甄静, 刘莹莹, 李冠杰, 慕琦, 贾彬, 谢宝恩, 周伏忠, 陈国参. 一株有机磷农药高效降解菌的筛选及酶学性质研究[J]. *中国农学通报*, 2013, 29(21): 83-87.
WANG JW, ZHEN J, LIU YY, LI GJ, MU Q, JIA B, XIE BE, ZHOU FZ, CHEN GC. The screening of a high-efficiency organophosphorus pesticides-degrading strain and its enzyme properties[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2013, 29(21): 83-87 (in Chinese).
- [39] 李景龙. *Dordonia* sp. 菌属 *peh* 基因簇亚克隆表达及转运蛋白分析[D]. 武汉: 华中师范大学硕士学位论文, 2016.
LI JL. Cloning expression of *peh* gene cluster from *Dordonia* sp. and analysis of its transporter functions[D]. Wuhan: Master's Thesis of Central China Normal University, 2016 (in Chinese).
- [40] BI K, ZHANG W, XIAO ZZ, ZHANG DW. Characterization, expression and application of a zearalenone degrading enzyme from *Neurospora crassa*[J]. *AMB Express*, 2018, 8(1): 194.