

Irena Maliszewska, Joanna Urbaniak

## Zastosowanie pleśni z rodzaju *Penicillium* do biodegradacji związków chloroorganicznych

Organiczne połączenia fluorowców (halogenopochodne, chlorowcopochodne) stanowią grupę związków szeroko rozpowszechnionych w środowisku naturalnym. Najczęściej spotykane są połączenia chloru i bromu z węglowodorami, alkoholami, fenolami i kwasami. Są to substancje pochodzenia biogenego lub antropogenicznego.

Problemem występowania halogenopochodnych w środowisku naturalnym zainteresowano się już na początku XX wieku [1], a pierwszym opisanym w 1904 r. naturalnym związkiem halogenoorganicznym była diploicyna wytwarzana przez porosty [2]. Przez wiele lat sądzono, że zdolność organizmów żywych do syntezy tych substancji jest niezwykle rzadka. Obecnie wiadomo, że związki chlorowcoorganiczne są wytwarzane przez morskie rośliny i zwierzęta (korale, gąbki, ślimaki), jak również przez rośliny lądowe [3]. Najbardziej znanymi naturalnymi halogenopochodnymi są chloromycyna, kwas fluorooctowy, tyroksyna, purpura tyryjska i wiele innych. Do roku 1994 opisano około 2400 biogenych chlorowcopochodnych [2].

Naturalnym źródłem halogenowanych związków organicznych są również wybuchy wulkaniczne. W gazach i popiołach wulkanicznych wykryto chlorowane pochodne etenu, bifenylu oraz różne freony. Pożary lasów i stepów także dostarczają substancji chlorowcopochodnych. Stwierdzono, że dym z płonącego drewna zawiera ponad 200 organicznych związków chloru [3]. Ogromne ilości organicznych halogenopochodnych znajdują się w torfie i tzw. substancjach huminowych występujących w glebach i wodach. Szacuje się, że wśród związków chlorowcoorganicznych jedynie bioprodukcja chlorometanu ma znaczący udział w sumarycznej emisji do środowiska [2].

Głównym źródłem substancji chlorowcopochodnych jest działalność człowieka. Współczesny przemysł wytwarza wiele produktów zawierających organiczne połączenia fluorowców (głównie chloru), wśród których znajdują się rozpuszczalniki organiczne (trichlorometan, trichloroetan, heksachloroetan, trichloroetylen), pestycydy (Lindan, Aldrin, Dieldrin, Heptachlor i do niedawna DDT), półprodukty syntez chemicznych (chloroetan, tetrachloroetylen, chloroform) itp. Największą ilościowo grupę stanowią pochodne metanu i etanu, których wytwarza się około 6 mln ton rocznie, przy czym liczba ta nie obejmuje chlorku winylu i 1,2-dichloroetanu, półproduktów do otrzymywania chlorku poliwinylu (PCW) [2].

Ponadto oczyszczanie wody, a właściwie jej chlorowanie, stanowi źródło różnych halogenopochodnych [4,5]. W tym

procesie substancje humusowe, obecne w wodzie w sposób naturalny, ulegają halogenowaniu i degradacji. Produktami tych reakcji są szkodliwe dla zdrowia człowieka pochodne, głównie metanu (THM), takie jak chloroform, chlorodibromometan, bromodichlorometan, bromoform, tetrachlorometan itp. Wśród wymienionych substancji najwięcej jest chloroformu. Szacuje się, że globalna roczna produkcja tego związku w wodach wodociągowych wynosi kilkadziesiąt tysięcy ton [2].

W wodzie po chlorowaniu, oprócz podanych wyżej związków, stwierdzono obecność ponad 100 innych chlorowcopochodnych, takich jak kwasy chlorooctowe, chloroaceton, chloronitryle i polichlorowane fenole [6]. Dużą grupę znanych chloropochodnych stanowią tzw. chloroparafiny. Otrzymuje się je w wyniku chlorowania alkanów o różnej długości łańcucha węglowego (powyżej C<sub>10</sub>). Stosowane są one w przemyśle metalowym i chemicznym, np. jako plastyfikatory do produkcji PCW i dodatki do farb. Szacuje się, że roczna światowa produkcja tych substancji wynosi 300 tys. ton [8].

W ostatnich latach dowiedziono, że niektóre chlorowcopochodne wykazują działanie genotoksyczne (również kancerogenne). Na liście związków rakotwórczych znalazły się m.in. pochodne metanu, 1,2-dichloroetan, 1,2,3-trichloropropan, tetrachloroetylen, chlorek winylu. Oddziaływanie niektórych związków chloroorganicznych na organizmy żywe przedstawiono w tabeli 1 [7].

Tabela 1. Wpływ niektórych związków chloroorganicznych na organizmy żywe

Związek	Oddziaływanie
Chloroform	rakotwórczy; gromadzi się w tkance tłuszczowej; może uszkadzać wątrobę, system nerwowy i nerki; rozkłada się do tlenku węgla, który zmniejsza zdolność przenoszenia tlenu przez krew i może uszkadzać mózg
Tetrachlorek węgla	rakotwórczy; może uszkadzać wątrobę, mózg i płuca
1,2-Dichloroetan	rakotwórczy; mutagenny; może uszkadzać wątrobę
Chlorek winylu	rakotwórczy; podejrzany o działanie teratogenne
1,1,1-Trichloroetan	podejrzany o działanie rakotwórcze
Chlorek metylenu	podejrzany o działanie rakotwórcze
Trichloroetylen	rakotwórczy; mutagenny
Tetrachloroetylen	rakotwórczy; może uszkadzać wątrobę, mózg i płuca
Haloacetonitryle	rakotwórcze dla zwierząt
Chlorobenzeny	rakotwórcze; kumulują się w ludzkiej tkance tłuszczowej
Chlorowane pestycydy	rakotwórcze; Lindan powoduje niedorozwój płazmy i uszkodzenia szpiku kostnego; DDT jest embriotoksyczny i teratogeny, powoduje zmniejszenie grubości skorupki ptasich jaj i spadek populacji ptaków
Polichlorowane bifenyle	odkładają się w tkankach roślin i zwierząt; dla człowieka są rakotwórcze i teratogenne

Szkodliwość omawianej grupy związków jest na tyle duża, że zaczęto zastanawiać się nad sposobami ograniczenia emisji tych substancji do środowiska oraz nad metodami eliminacji istniejących już zanieczyszczeń. Jednakże różnorodność organicznych połączeń, głównie chloru, sprawia, że trudno jest opracować jedną skuteczną metodę ich rozkładu, która ponadto nie byłaby uciążliwa dla środowiska i nie naruszała i tak rozchwyanej już równowagi. Dlatego w ostatnich latach zainteresowano się możliwością usuwania tych zanieczyszczeń z wykorzystaniem metabolizmu mikroorganizmów (tzw. bioremediacja). Stwierdzono, że bakterie należące m.in. do rodzajów *Pseudomonas* [9], *Xantobacter* [10], *Arthrobacter* [11], *Acinetobacter* [12] i *Corynebacterium* [13] efektywnie wykorzystują niektóre chloropochodne jako źródło węgla, rozkładając te substancje do dwutlenku węgla i wody. Ponadto dowiedziono, że pierwszym etapem biodegradacji tych związków jest ich dehalogenacja, czyli zerwanie wiązania węgiel-halogen.

Część substancji – szczególnie pochodzenia antropogenicznego – jest słabo biodegradowalna przez mikroorganizmy, co jest prawdopodobnie związane z brakiem szlaków metabolicznych lub tworzeniem się produktów, które nie mogą być wykorzystane w procesach biosyntezy. Ponadto niektóre z powstających produktów biodegradacji są toksyczne, akumulują się w komórce i zaburzają jej normalny metabolizm. Prowadzi to jedynie do częściowego rozkładu związków, a nie do całkowitej ich mineralizacji. Dlatego obiecujące wydaje się zastosowanie tzw. kultur mieszanych do rozkładu chlorowcopochodnych. Kultury mieszane, nazywane też konsorcjami drobnoustrojów, to mieszaniny wyselekcjonowanych, żywych mikroorganizmów, najczęściej bakterii, o wysokiej aktywności enzymatycznej, zdolnych do rozkładu różnych substancji organicznych. Utylizacja zanieczyszczeń organicznych z zastosowaniem kultur mieszanych polega na wprowadzeniu do ścieków tzw. zaszczepu (biopreparatu), zawierającego specyficzną mikroflorę przystosowaną do pracy w określonych warunkach środowiska. Stanowi ona uzupełnienie dla naturalnej mikroflory oraz rozpoczyna biologiczny rozkład zanieczyszczeń, przyspieszając ich utylizację.

Celem badań prowadzonych w tym kierunku jest taki dobór mikroorganizmów i utworzenie konsorcjum bakteryjno-grzybowego, które mogłoby znaleźć zastosowanie jako preparat przyspieszający biodegradację alifatycznych chloroorganicznych zanieczyszczeń środowiska. Przedstawione w niniejszym artykule wyniki badań laboratoryjnych dotyczą określenia zdolności wyselekcjonowanych grzybów pleśniowych z rodzaju *Penicillium* do rozkładu prostych struktur chemicznych mono- i dichloropochodnych alkanów o różnej długości łańcucha węglowego (od C<sub>3</sub> do C<sub>10</sub>) oraz chloropochodnych niektórych kwasów.

## Materiały i metodyka

Badaniom poddano 1-chloropropan, 1,2-dichloropropan, 1,3-dichloropropan, 1-chlorobutan, 2-chlorobutan, 1-chloropentan, 1,5-dichloropentan, 1-chlorodekan, 1,10-dichlorodekan, kwas 2-chloropropionowy, kwas 3-chloropropionowy, kwas 4-chloromasłowy i kwas 5-chlorowalerianowy.

Izolację, selekcję i hodowlę mikroorganizmów prowadzono na podłożu mineralnym, uzyskanym przez rozpuszczenie w 1 dm<sup>3</sup> wody destylowanej 7 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,5 g Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,1 g MgSO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O i 1 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (pH=7,0+7,2).

Do pożywki dodawano glukozę lub związki chloroorganiczne jako źródło węgla. W celu izolacji drobnoustrojów zdolnych do wzrostu na badanych chloropochodnych próbkę gleby posiano na mineralne podłoże płynne, zawierające mieszaninę testowanych związków jako źródło węgla i energii. Po siedmiu dobach inkubacji w temperaturze pokojowej z hodowli pobrano 1 cm<sup>3</sup> zawiesiny drobnoustrojów i przeniesiono do świeżego podłoża mineralnego z dodatkiem substancji chloropochodnych. Po upływie kolejnych siedmiu dobach hodowli zawiesinę mikroorganizmów posiano na mineralne podłoże stałe. W ten sposób, metodą tzw. hodowli wzbogaceniowej, wyizolowano szczep pleśni z rodzaju *Penicillium*, oznaczony symbolem G3, zdolny do wzrostu na mieszaninie chlorowanych związków organicznych. Następnie wybrany mikroorganizm namnożono na płynnym podłożu mineralnym z dodatkiem 0,5% glukozy. Po 72 godzinach inkubacji hodowle odsączono i osady przemyto czystym podłożem. W celu uzyskania jednorodnej zawiesiny mikroorganizmów osady homogenizowano w homogenizatorze mechanicznym w temperaturze 8 °C. Tak uzyskane zawiesiny ponownie przemyto i odsączono na sączkach typu Synpor. Przygotowana w ten sposób grzybnia mikroorganizmu stanowiła materiał do dalszych badań.

Zdolność wyselekcjonowanego drobnoustroju do rozkładu wybranych chloropochodnych badano na płynnym podłożu mineralnym, w kolbach o pojemności 500 cm<sup>3</sup>, zawierających 150 cm<sup>3</sup> podłoża i 0,750 cm<sup>3</sup> badanego związku. Kolby były zamknięte korkami ze szlifem. Każdą pożywkę zaszczepiono 2 g mokrej masy grzyba. Mikroorganizm hodowano w temperaturze 25 °C, ze wstrząsaniem. Wzrost mikroorganizmu na testowanych chloropochodnych badano oznaczając suchą masę grzybni. W tym celu sterylnie pobrano po 20 cm<sup>3</sup> hodowli, odsączano ją, odmyto pozostałości podłoża i wysuszono w temperaturze 105 °C do stałej masy. Suchą masę grzybni podano w przeliczeniu na 1 dm<sup>3</sup> pożywki.

Stężenie jonów chlorkowych w płynie pohodowlanym oznaczono metodą kolorymetryczną [14]. Pozostałe w płynie pohodowlanym chloroalkany ekstrahowano eterem etylowym, a ich stężenie oznaczono za pomocą chromatografii gazowej przy użyciu aparatu typu GCHF 18.3 z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID). W wypadku oznaczania zawartości 1-chloropropanu (60 °C), 1,2-dichloropropanu (90 °C), 1,3-dichloropropanu (120 °C), 1-chlorobutanu i 2-chlorobutanu (70 °C), 1-chloropentanu (80 °C), 1,5-dichloropentanu (140 °C) i 1-chlorodekanu (150 °C) zastosowano kolumnę (3 m) z wypełnieniem, które stanowił 15% glikol polietylenowy 1000 na Chromosorbie P (w nawiasach podano temperatury prowadzenia procesu). Chromatograficzne oznaczenie stężenia 1,10-dichlorodekanu prowadzono na aparacie Hewlett Packard 5890 (seria 2) z kolumną kapilarną HP1 o długości 25 metrów w temperaturze 165 °C. Obliczenia ilościowe wykonano metodą kalibracji powtarzając każdy pomiar (próbki i wzorca o znanym stężeniu) 2+3-krotnie.

## Dyskusja wyników

W wyniku izolacji i selekcji mikroorganizmów wybrano szczep *Penicillium sp.* G3, zdolny do wzrostu na mieszaninie chlorowanych związków organicznych. Z przeprowadzonych doświadczeń wynika, że szczep ten wykorzystywał wszystkie testowane związki jako źródła węgla i energii.

W tabeli 2 przedstawiono wyniki przyrostu biomasy (wydajność wzrostu) tego mikroorganizmu na różnych substancjach chloropochodnych.

Tabela 2. Wzrost *Penicillium* sp. G3 na różnych źródłach węgla

Źródło węgla	Wydajność wzrostu*, g/dm <sup>3</sup>
1-Chloropropan	0,70
1,2-Dichloropropan	0,95
1,3-Dichloropropan	1,15
1-Chlorobutan	0,65
2-Chlorobutan	0,85
1-Chloropentan	1,10
1,5-Dichloropentan	0,40
1-Chlorodekan	0,69
1,10-Dichlorodekan	0,28
Kwas 2-chloropropionowy	0,35
Kwas 3-chloropropionowy	0,90
Kwas 4-chloromasłowy	1,10
Kwas 5-chlorowalerianowy	1,15

\*Wydajność wzrostu jest różnicą pomiędzy początkową i maksymalną masą grzybnicy; wartość ta jest wyrażona w gramach suchej masy w przeliczeniu na 1 dm<sup>3</sup> pożywki [15]

Wśród badanych chloroalkanów najlepszym źródłem węgla dla wzrostu szczepu były mono- i dichloropochodne propanu, natomiast najgorszy wzrost mikroorganizmu obserwowano w wypadku 1,10-dichlorodekanu. Obserwacje te potwierdzają doniesienia literaturowe podające, iż podatność chloroalkanów na biologiczny rozkład zależy od długości łańcucha węglowodorowego i liczby atomów chloru w cząsteczce.

Wśród badanych kwasów najlepszym źródłem węgla dla wzrostu mikroorganizmu okazały się kwasy 4-chloromasłowy i 5-chlorowalerianowy. Wydaje się, że badany szczep *Penicillium* sp. G3 lepiej rósł na chloropochodnych kwasów niż na chloroalkanach.

Z doniesień literaturowych wiadomo, że decydującym krokiem w procesie biodegradacji większości związków chloroorganicznych jest ich dehalogenacja. W tabeli 3 przedstawiono wyniki oznaczeń stężenia jonów chlorkowych w płynie pochodzącym.

Tabela 3. Biodehalogenacja chloropochodnych przez szczep *Penicillium* sp. G3

Związek	Stężenie jonów chlorkowych*, gCl <sup>-</sup> /m <sup>3</sup>		
1-Chloropropan	18,5	24,7	15,3
1,2-Dichloropropan	18,5	27,8	15,3
1,3-Dichloropropan	2,8	9,1	6,0
1-Chlorobutan	31,0	40,3	352,8
2-Chlorobutan	18,5	21,6	212,2
1-Chloropentan	24,7	27,8	34,1
1,5-Dichloropentan	**	2,8	**
1-Chlorodekan	21,6	21,6	21,6
1,10-Dichlorodekan	56,0	102,8	156,0
Kwas 2-chloropropionowy	18,5	24,7	*
Kwas 3-chloropropionowy	18,5	24,7	43,5
Kwas 4-chloromasłowy	74,7	71,6	140,3
Kwas 5-chlorowalerianowy	65,3	68,5	77,8

\*Oznaczane w płynie pochodzącym po 24, 96 i 168 godzinach hodowli

\*\*Stężenie jonów chlorkowych poniżej 2 gCl<sup>-</sup>/m<sup>3</sup>

Rosnące stężenie tych jonów świadczy o postępującym procesie biodegradacji związku. Jedynie w wypadku rozkładu 1,5-dichloropentanu nie zaobserwowano intensywnego procesu biodehalogenacji. Uzyskane wyniki wykazują, że chloropochodne kwasów były szybciej dehalogenowane niż chloroalkany. Najlepiej dehalogenowanym substratem był kwas 4-chloromasłowy, natomiast najwolniejszy proces odłączania atomów

chloru obserwowano w wypadku kwasu 2-chloropropionowego. Wydaje się też, że chlor był łatwiej usuwany z pozycji 3 kwasu 3-chloropropionowego. Prawdopodobnie dlatego kwas 3-chloropropionowy był lepszym (niż kwas 2-chloropropionowy) źródłem węgla i energii dla wzrostu badanego grzyba.

W następnym etapie badań oznaczono metodą chromatografii gazowej stężenia pozostałych w pożywce chloroalkanów, które nie uległy rozkładowi (tab.4).

Tabela 4. Biodegradacja chloroalkanów przez szczep *Penicillium* sp. G3

Związek	Pozostałe chloroalkany*, %
1-Chloropropan	60
1,2-Dichloropropan	50
1,3-Dichloropropan	40
1-Chlorobutan	67
2-Chlorobutan	75
1-Chloropentan	60
1,5-Dichloropentan	12
1-Chlorodekan	97
1,10-Dichlorodekan	64

\*Wartości oznaczone metodą chromatografii gazowej po 168 godzinach hodowli (za 100% przyjęto początkową ilość związku dodanego do pożywki)

Z przeprowadzonych badań wynika, że najmniejsze stężenie pozostałego w pożywce związku obserwowano w wypadku 1,5-dichloropentanu. Po 168 godzinach hodowli w płynie pochodzącym pozostało jedynie 12% tego alkanu. Najwolniej metabolizowane były chloropochodne dekanu (szczególnie 1-chlorodekan). Po 168 godzinach inkubacji jedynie 3% związku ulegało biodegradacji. W wypadku chloropochodnych propanu i butanu, w pożywce pozostawało odpowiednio 40+60% i 67+75% związków, które nie uległy rozkładowi. Ponadto zauważono, że ilość rozłożonych chloroalkanów była większa niż wynikałoby to z ilości uwolnionych jonów chlorkowych. Prawdopodobnie w trakcie procesu biodegradacji następowało rozrywanie wiązań węgiel-węgiel i powstawały krótsze łańcuchy węglowodorowe ze związanymi atomami chloru. Można więc przypuszczać, że badany mikroorganizm nie był zdolny do pełnej mineralizacji związków w tak wysokich stężeniach (ok. 0,4%). Dokładne wyjaśnienie tych obserwacji wymaga jednak dodatkowych badań.

Badania nad szybkością rozkładu związków chloroorganicznych przez wyselekcjonowany szczep pleśni *Penicillium* sp. G3 w obecności dodatkowego źródła węgla (dane nie publikowane) wykazały, że dodanie glukozy do pożywki kilkakrotnie przyspieszyło proces biodehalogenacji chloropochodnych. Można więc przypuszczać, że w warunkach naturalnych, a więc w obecności dodatkowych źródeł węgla i energii, proces biodegradacji będzie przebiegał jeszcze intensywniej. Ponadto warto podkreślić, że wyizolowany mikroorganizm wykazywał szerokie zdolności dehalogenujące, zarówno w stosunku do chloroalkanów o różnej długości łańcucha węglowego (C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub>, C<sub>5</sub>, C<sub>10</sub>), jak i w stosunku do chloropochodnych kwasów i alkoholi (dane nie publikowane). Tak szerokie zdolności degradacyjne nie są spotykane wśród opisywanych w literaturze szczepów bakterii. Mimo iż wyselekcjonowany drobnoustrój nie był zdolny do całkowitej mineralizacji alifatycznych chloropochodnych, może on być jednym ze składników tworzonego konsorcjum bakteryjno-grzybowego (biopreparatu) i ze względu na szerokie zdolności biodehalogenacyjne będzie efektywnie zapoczątkowywał proces bioremediacji.

Badania były sfinansowane ze środków KBN (projekt badawczy 3 T09B 01910).

## LITERATURA

1. W. J. PENFOLD: The inhibitory selective action on bacteria of bodies related to monochloroacetic acid. (A contribution to the theory of cell intoxication). *J. Hygiene*, 1913. Vol. 13, p. 35.
2. P. MASTALERZ: Biogenne związki halogenoorganiczne. *Wiad. Chem.*, 1998, Vol. 52, s. 9.
3. P. MASTALERZ: Organiczne związki fluorowców w biosferze. *Wiad. Chem.*, 1995, Vol. 49, s. 117.
4. H. A. M. de KRUIJF, H. J. KOD: Organic Micropollutants in Drinking Water and Health. Elsevier, Amsterdam 1985.
5. E. W. B. de LEER: Aqueous chlorination products. The origin of organochlorine compounds in drinking and surface waters. Delft University Press, Delft 1987.
6. M. BIZIUK, J. CZERWIŃSKI: Występowanie związków organicznych w środowisku wodnym oraz metody ich oznaczania. *Substancje toksyczne w środowisku*, 1992, nr 2, s. 85.
7. D. HENSCHLER: Toxicity of chlorinated organic compounds: Effects of the introduction of chlorine in organic molecules. *Angew. Chem. Int.*, 1994, Vol. 33, p. 1920.
8. C. WISCHNAK, F. E. LOEFFLER, J. LI, J. W. URBANCE, R. MULLER: *Pseudomonas* sp. strain 273, an aerobic  $\alpha$ ,  $\omega$ -dichloroalkane degrading bacterium. *Appl. Environment. Microbiol.*, 1998, Vol. 64, p. 3507.
9. T. OMORI, M. ALEXANDER: Bacterial dehalogenation of halogenated alkanes and fatty acids. *Appl. Environment. Microbiol.*, 1978, Vol. 35, p. 512.
10. B. KOHLER-STAUH, H. P. E. KOHLER: Microbial degradation of  $\beta$ -chlorinated four-carbon aliphatic acids. *J. Bacteriol.*, 1989, Vol. 171, p. 1428.
11. R. SCHOLTZ, A. SCHMUCKLE, A. M. COOK, T. LEISINGER: Degradation of eighteen 1-monoalkanes by *Arthrobacter* sp. strain HA1. *J. Gen. Microbiol.*, 1987, Vol. 133, p. 267.
12. D. B. JANSSEN, D. JAGER, B. WITHOLD: Degradation of n-haloalkane and alpha, omega dihaloalkanes by wild type and mutant of *Acinetobacter* sp. strain GJ70. *Appl. Environment. Microbiol.*, 1987, Vol. 53, p. 561.
13. T. YOKOTA, H. FUSE, T. OMORI, Y. MINODA: Microbial dehalogenation of haloalkanes mediated by oxygenase or halohydrolyase. *Agric. Biol. Chem.*, 1986, Vol. 50, p. 453.
14. J. G. BERGMANN, J. SANIK: Determination of trace amounts of chlorine in naphtha. *Anal. Chem.*, 1957, Vol. 29, p. 241.
15. H. S. SCHLEGEL: *Mikrobiologia ogólna*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1996.

### Biodegradation of Chlororganic Compounds by Mildew of the *Penicillium* Genus

*Halogenated compounds occur widely in the biosphere either as natural products or as xenobiotic compounds entering the environment with the use of herbicides and pesticides. In recent years some microorganisms have been reported capable of degrading many of these substrates. Microbial growth on halogenated compounds requires production of catabolic enzymes to cleave the carbon-halogen bonds. The objective of the present study was to examine the ability of Penicillium sp. G3 (isolated from soil) to degrade chlorinated substrates. Penicillium sp. G3 was able to grow on the investigated halogenated compounds as sole carbon/energy source. Of these, mono- and dichloropropanes were found to be the best carbon/energy sources. Of the chlorinated acids used for the purpose of the study, 4-chlorobu-*

*tyric and 5-chlorovaleric acids were the best substrates for the growth of Penicillium sp. G3. All the investigated compounds were degraded with the release of chloride ions to the growth medium. The best substrate for dechlorination was 4-chlorobutyric acid. The addition of glucose to the medium stimulated dehalogenation. The results showed that Penicillium sp. G3 was not able to mineralize the chemicals tested. Thus, to provide complete mineralization it is necessary to use a mixed population of fungi and bacteria. Having a remarkable ability to dehalogenate a variety of chlorinated compounds, Penicillium sp. G3 may become an effective component of a mixed culture, thus initiating mineralization of the investigated chemicals.*