

Barbara Kołwzan, Waldemar Adamiak, Andrzej M. Dziubek

## Możliwości zastosowania grzybów w technologiach oczyszczania i remediacji wybranych elementów środowiska

Unieszkodliwianie zanieczyszczeń wprowadzanych do środowiska na skutek działalności ludzi stwarza wiele problemów i jest niezmiernie kosztowne. Przy doborze metod usuwania zanieczyszczeń z różnych elementów środowiska naturalnego należy brać pod uwagę nie tylko aspekty finansowe – ważne jest także, aby zastosowana metoda była przyjazna środowisku i nie powodowała dodatkowych szkód. W ostatnich latach coraz bardziej popularne stają się nie tylko biologiczne metody remediacji środowiska gruntowo-wodnego, ale także unieszkodliwiania gazów odlotowych i odorów. Bioremediacja jest procesem oczyszczania, w którym mikroorganizmy wykorzystywane są do detoksykacji zanieczyszczeń. Przeprowadzają one rozkład substancji szkodliwych do mniej toksycznych, nietoksycznych, względnie całkowicie je eliminują, przy czym po zakończeniu procesu liczebność populacji drobnoustrojów maleje. Zaletą bioremediacji – obok wysokiej skuteczności – są stosunkowo niskie koszty unieszkodliwiania zanieczyszczeń, a także brak zagrożeń środowiska. Przyspieszenie procesu biodegradacji zanieczyszczeń można osiągnąć przez regulację parametrów mających podstawowy wpływ na rozwój mikroorganizmów, dzięki czemu wzrasta nie tylko ich liczebność, ale także aktywność degradacyjna. Zdarzają się jednak sytuacje, w których szczepy autochtoniczne nie wykazują zdolności do rozkładu zanieczyszczeń, względnie ich liczebność jest na tyle mała, że wymaga wsparcia poprzez wprowadzenie mikroorganizmów z zewnątrz, na drodze tzw. bioaugmentacji. Do inokulacji mogą być wykorzystywane biopreparaty zawierające wyselekcjonowane mikroorganizmy autochtoniczne lub allochtoniczne. Mikroorganizmy stosowane w procesie bioaugmentacji powinny charakteryzować się odpowiednimi właściwościami metabolicznymi, być zdolne do współpracy z mikroorganizmami naturalnie zasiedlającymi zanieczyszczony teren oraz nie mogą stwarzać zagrożeń dla innych żywych organizmów. W skład biopreparatów wchodzi najczęściej aktywne degradacyjnie szczepy bakterii. W ostatnich latach notuje się zainteresowanie możliwością wykorzystania do tego celu grzybów. Wykazano, że są one zdolne do biodegradacji wielu skomplikowanych związków organicznych.

Celem przedstawionej pracy był przegląd wyników badań dotyczących aktywności degradacyjnej grzybów oraz ocena możliwości ich praktycznego zastosowania w technologiach remediacji środowiska.

### Charakterystyka grzybów

Grzyby odgrywają bardzo ważną rolę w przyrodzie. Można je podzielić na trzy grupy ekologiczne – saprobionty (saprofity), pasożyty oraz grzyby symbiotyczne. Podział ten wynika ze zróżnicowania źródeł składników odżywczych, interakcji grzybów z innymi organizmami oraz roli, jaką pełnią w środowisku. Grzyby saprobowe zajmują się w przyrodzie dekompozycją substratów organicznych, których źródłem są najczęściej drewno, martwe rośliny i zwierzęta oraz ich odchody. Tego typu grzyby znajdują się we wszystkich strefach klimatycznych, łącznie z Arktyką i Antarktyką [1]. Biorą one udział w obiegu pierwiastków w przyrodzie, przekształcając złożone substancje organiczne w proste związki nieorganiczne. Uczestniczą zatem w procesie mineralizacji, dostarczając azotu, fosforu, potasu i innych pierwiastków roślinom wykorzystującym je do wzrostu. Sposób odżywiania poszczególnych gatunków grzybów jest selektywny. Na przykład istnieje zasadnicza różnica w doborze substratu pokarmowego w przypadku tak zwanych grzybów białej i brunatnej zgnilizny. Grzyby brunatnej zgnilizny specjalizują się w trawieniu celulozy i hemicelulozy, ale są nieskuteczne w procesie dekompozycji ligniny, która z kolei jest rozkładana selektywnie przez grzyby białej zgnilizny.

Grzyby pasożytnicze odżywiają się przez rozkład komórek czy tkanek żywych organizmów. Są patogenami roślin, zwierząt, ludzi lub innych gatunków grzybów. Jak wszystkie pasożyty, odgrywają znaczącą rolę w funkcjonowaniu ekosystemu – kształtują strukturę biocenozy poprzez oddziaływanie na interakcje troficzne, konkurencję i różnorodność biologiczną. Grzyby mikoryzowe żyją natomiast w symbiozie z korzeniami roślin. Ich współzycie polega na wzajemnym dostarczaniu składników pokarmowych. Grzyb dzięki roślinie pozyskuje substancje organiczne (asymilaty), zaś roślina otrzymuje od grzyba wodę i substancje mineralne. Zależności symbiotyczne nie są ograniczone tylko do kwestii pokarmowych – grzyby przyczyniają się do poprawy odporności drzew na suszę poprzez zwiększanie przepływu wody, zapewniają pewną ochronę przed patogenami wnikającymi do korzenia, tworząc fizyczną barierę dla patogenów lub wytwarzając antybiotyki czy związki przeciwgrzybiczne, mają także zdolność do łagodzenia niekorzystnych warunków glebowych [2].

Dr hab. B. Kołwzan: Polskie Zrzeszenie Inżynierów i Techników Sanitarnych, Oddział Dolnośląski, ul. Józefa Piłsudskiego 74, 50-020 Wrocław [barbara.kolwzan@gmail.com](mailto:barbara.kolwzan@gmail.com)

Dr W. Adamiak: Politechnika Wrocławska, Wydział Inżynierii Środowiska, Zakład Biologii Sanitarnej i Ekotechniki, Wybrzeże Stanisława Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław, [waldemar.adamiak@pwr.edu.pl](mailto:waldemar.adamiak@pwr.edu.pl)

Dr inż. A.M. Dziubek: Politechnika Wrocławska, Wydział Inżynierii Środowiska, Katedra Technologii Oczyszczania Wody i Ścieków, Wybrzeże Stanisława Wyspiańskiego 27, 50-370 Wrocław

Pod względem systematycznym grzyby są jednym z czterech królestw organizmów należących do domeny Eukariota, obok zwierząt, roślin i protistów. Do tej pory opisano około 70 tysięcy gatunków grzybów, ale szacuje się, że jest ich wielokrotnie więcej. Badania porównawcze sekwencji nukleotydów w kwasach nukleinowych (zwłaszcza 16S rRNA) wykazały, że są one bliżej spokrewnione ze zwierzętami niż z roślinami [3]. Organizmy te mają wiele zalet, które mogą sprawić, że bioremediacja będzie bardziej skuteczna i mniej kosztowna. Należą do nich:

- mniejsza wrażliwość na toksyczne oddziaływanie zanieczyszczeń,
- zdolność do przeżywania w warunkach niedoboru składników odżywczych,

- mała wrażliwość na działanie czynników środowiskowych, takich jak temperatura, wartość pH czy wilgotność.

Opisane właściwości grzybów wynikają z ich budowy oraz przebiegu procesów metabolicznych. Jako organizmy eukariotyczne, grzyby istotnie różnią się od należących do domeny Prokariota bakterii i archeonów:

- ich komórki mają jądro komórkowe i są średnio przynajmniej o rząd wielkości większe (grzyby około 10 µm, bakterie około 1 µm),

- tworzą często specyficzny nitkowaty i rozgałęziony twór, zwany grzybnią, która zapewnia im dużą powierzchnię zdolną do pobierania składników odżywczych oraz umożliwia szybkie przemieszczanie i łatwość kolonizacji nowych terenów,

- ich ściana komórkowa zbudowana jest z wielocukrów, w tym chityny (a nie z peptydoglikanu, jak u bakterii),

- odżywiają się osmotycznie, wydzielając na zewnątrz enzymy rozkładające substancje organiczne, a następnie pobierają na zasadzie osmozy rozłożony pokarm (wytwarzane enzymy często nie wykazują wysokiej specyficzności substratowej).

Obecnie stosowanych jest kilka systemów klasyfikacji grzybów, z których najbardziej popularny dzieli je na pięć podstawowych typów:

- grzyby podstawkowe, czyli podstawczaki (*Basidiomycota*),

- grzyby workowe, czyli workowce (*Ascomycota*),

- *Chytridiomycota* (zwane skoczkwcami),

- *Glomeromycota* (grzyby mikoryzowe),

- grzyby sprzężniowe (*Zygomycota*).

Pierwsze dwie grupy (podstawczaki i workowce) określane bywają „grzybami wyższymi”, a pozostałe „grzybami niższymi”. Istnieją też zwyczajowe określenia nawiązujące do morfologii grzybów, takie jak „pleśń” (grzyby tworzące watowate naloty lub kożuszki na powierzchni różnych substratów), „drożdże” (jednokomórkowe grzyby rozmnażające się przez pączkowanie), „grzyby mikroskopowe” (obejmujące pleśń, drożdże i inne grzyby mikroskopijnych rozmiarów), „grzyby nitkowate” lub „strzępkowe” (obejmujące pleśń i inne grzyby tworzące strzępki grzybni) oraz „grzyby wielkoowocnikowe”, do których zalicza się powszechnie znane grzyby podstawkowe i workowe, tworzące widoczne gołym okiem owocniki – struktury służące do rozmnażania.

Grzyby wyższe mają specyficzny cykl rozwojowy, w którym występują trzy różne fazy jądrowe – haploidalna ( $n$  – z jednym garniturem chromosomów), dikariotyczna ( $n+n$  – występująca w przyrodzie tylko u grzybów, z dwoma garniturami chromosomów w odrębnych jądrach, tak zwanych jądrach sprzężonych) i diploidalna ( $2n$  – z dwoma garniturami chromosomów w jednym wspólnym jądrze).

Przykładem może być cykl rozwojowy podstawczaków – jednokomórkowy, jednojądrowy i haploidalny ( $n$ ) zarodnik (zwany u podstawczaków bazydiosporą), gdy znajdzie się na odpowiednim podłożu, kiełkuje wytwarzając haploidalne strzępki tak zwanej grzybni pierwotnej (haplofaza). Gdy grzybnia pierwotna zetknie się z drugą grzybnią pierwotną wyrosłą z innego zarodnika, ale o przeciwnym typie kojarzeniowym (płciowym), dochodzi do ich złączenia (plazmogamii) i tworzy się grzybnia wtórna z komórkami dikariotycznymi ( $n+n$  – dikariofaza). Taka grzybnia rozrasta się szybciej niż grzybnia pierwotna i wkrótce zaczyna dominować. Pod wpływem pewnych czynników środowiskowych (temperatura, wilgotność) strzępki grzybni wtórnej zaczynają się splatać ze sobą wytwarzając owocnik – charakterystyczną dla każdego gatunku strukturę zbudowaną ze zbitych dikariotycznych strzępek i służącą do rozsiewania zarodników. Część komórek owocnika tworzy warstwę rodzajną (hymenium), w której powstają zarodniki. U podstawczaków zarodniki powstają na specjalnych maczugowatych komórkach zwanych podstawkami (*basidium*) – stąd nazwa tej grupy grzybów. Znajdują się one zwykle na powierzchni blaszek lub na wewnętrznej powierzchni rurki, po spodniej stronie kapelusza. W podstawce dochodzi do zlania się obu jąder (kariogamii) i staje się ona komórką diploidalną ( $2n$ ). Podstawki to jedyne w całym grzybie komórki diploidalne. Po kariogamii zachodzi mejoza, czyli podział redukcyjny jądra i na każdej podstawce wytwarzają się cztery haploidalne ( $n$ ) zarodniki, zwane bazydiosporami. Przykładowo, powierzchnia blaszek przeciętnej pieczarki wynosi 200 cm<sup>2</sup>, a liczba bazydiospor wytworzonych przez jeden owocnik sięga wielu milionów.

## Mykoremediacja

Mykoremediacja (z greckiego *mykos* – grzyb i z łacińskiego *remedium* – lek, środek zaradczy) jest odmianą bioremediacji, w której do naprawy stanu środowiska wykorzystuje się technologie oparte na aktywności degradacyjnej grzybów. Znajduje ona zastosowanie przede wszystkim w przypadku szczególnie toksycznych, trwałych i trudno biodegradowalnych zanieczyszczeń, które nie mogą być rozłożone przez inne mikroorganizmy, a także związków o ograniczonej rozpuszczalności w wodzie. Przydatność mykoremediacji wynika z faktu, że grzyby są zdolne do równoczesnego rozkładu wielu związków chemicznych. Warto również zwrócić uwagę na to, że inicjacja procesu biodegradacji u niektórych grzybów, w przeciwieństwie do pozostałych drobnoustrojów, nie wymaga dodatkowego czasu adaptacji niezbędnego do uruchomienia syntezy odpowiednich enzymów degradacyjnych [4]. Nie zachodzi u nich także blokowanie syntezy enzymów w sytuacji, gdy ilość substancji chemicznej jest zbyt mała. Ważną zaletą grzybów jest to, że ich hodowla nie jest kosztowna, gdyż wykorzystują w charakterze substratu pokarmowego najczęściej tanie odpadowe substraty lignocelulozowe. Mykoremediacja jest zatem metodą nie tylko tanią, lecz także przyjazną środowisku. W większości przypadków może być prowadzona w miejscu skażenia, a zarodniki grzybów pozostają długo w środowisku umożliwiając kontynuację procesu oczyszczania. W trakcie remediacji grzyby powodują całkowitą lub częściową mineralizację zanieczyszczeń, możliwe jest także przekształcanie metali śladowych i pierwiastków promieniotwórczych w formy słabo rozpuszczalne, które są mniej toksyczne. Usuwanie metali z gleby może polegać na ich gromadzeniu się w plechach

grzybów, a następnie zbieraniu tych plech jako odpadów niebezpiecznych, analogicznie jak ma to miejsce w przypadku stosowania roślin do fitoremediacji gleb skażonych metalami śladowymi [5].

Jak do tej pory, największe zastosowanie w biotechnologii środowiska znajdują grzyby workowe, na przykład pędzlaki (*Penicillium* sp.), kropidlaki (*Aspergillus* sp.) i różne gatunki drożdży [6]. Jednak od lat osiemdziesiątych ubiegłego wieku, po wyizolowaniu enzymu utleniającego ligninę (peroksydazy ligninowej) z podstawczaka *Phanerochaete chrysosporium* [7], obserwuje się wzrastające zainteresowanie grzybami rozkładającymi drewno (white rot fungi – WRF), a zwłaszcza powodującymi tak zwaną białą zgniliznę drewna (rys. 1). Do tej grupy należą głównie podstawczaki – *Trametes versicolor* (rys. 2), *T. gallica*, *T. villosa*, *T. hirsuta*, *Bjerkandera adusta*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, *Cerrena unicolor* oraz niektóre gatunki należące do workowców – *Myceliophthora thermophila* czy *Chaetomium thermophilum* [8]. Okazało się, że peroksydaza ligninowa i inne enzymy grzybowe, biorące udział w rozkładzie ligniny (głównie peroksydaza manganowa i lakaza), wykazują niską specyficzność substratową i katalizują nie tylko utlenianie ligniny, ale także wielu bardzo różnorodnych strukturalnie związków będących zanieczyszczeniami środowiskowymi, znanych z oporności na biodegradację, do których należą niektóre węglowodory aromatyczne i alifatyczne, chlorowane związki organiczne, pestycydy, barwniki czy pozostałości materiałów wybuchowych i leków [9]. Ważniejsze grupy ksenobiotyków rozkładanych przez grzyby przedstawiono w tabeli 1.



Rys. 1. Biała zgnilizna drewna (widoczne białe włókna celulozowe odsłonięte po rozkładzie ligniny przez grzyby)

Fig. 1. White wood rot (visible white cellulose fibers exposed after decomposition of lignin by white rot fungi)



Rys. 2. Wrośniak różnobarwny (*Trametes versicolor*)

Fig. 2. The white-rot fungus *Trametes versicolor*

Większość znanych przykładów degradacji węglowodorów aromatycznych przez grzyby opartych jest na zjawisku kometabolizmu, jednak wiele doniesień wskazuje na możliwość wykorzystywania przez niektóre grzyby węglowodorów w charakterze jedyne go źródła węgla i energii. Wykazano, że biorą one bezpośredni udział w biodegradacji takich związków, jak benzen, toluen czy styren [10–12]. Grzyby wykorzystują inną niż bakterie drogę tlenowej degradacji węglowodorów aromatycznych. Utlenianie pierścienia aromatycznego zachodzi u nich z udziałem monooksygenazy cytochromu P-450, w wyniku czego powstają tlenki arenu, które mogą następnie izomeryzować do fenoli lub ulec enzymatycznej hydroksylacji katalizowanej przez hydroksylazę epoksydową z wytworzeniem trans-dihydrodioli. Niskocząsteczkowe węglowodory aromatyczne (dwu- i trójpierścieniowe) są degradowane przez wiele gatunków grzybów, należących między innymi do rodzajów *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Candida*, *Penicillium*, *Psilocybe* czy *Smittium* [13]. Okazuje się, że grzyby pełnią także ważną rolę w przemianach wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środowisku [14]. Są to węglowodory bardzo toksyczne, podlegające akumulacji i słabo biodegradowalne. W ich rozkładzie biorą udział grzyby pleśniowe należące między innymi do rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma* i *Fusarium* [15] oraz grzyby białej zgnilizny drewna należące do rodzajów *Phanerochaete*, *Polyporus*, *Stereum*, *Lentinus*, *Bjerkandera*, *Irpex*, *Pleurotus*, *Phlebia* oraz *Trametes*, *Schizophyllum*, *Pycnoporus*, *Coprinus* czy *Ganoderma* [16, 17].

Obok związków aromatycznych grzyby degradują węglowodory alifatyczne, w tym także słabo dostępne dla bakterii. Na przykład *Aspergillus niger*, *A. ochraceus* i *Trichoderma asperellum* są zdolne do biodegradacji tri-, tetra-, penta-, heksa-, hepta- i oktadekanu [18]. Szczepy grzybów z rodzaju *Trichoderma* biorą udział w rozkładzie n-ikozanu z wytworzeniem kwasów – nonadekanowego, heksadekanowego, oleinowego czy stearynowego [19]. Czwartorzędowe sole amoniowe (QACs) oraz związki imidazoliowe (ICs) są natomiast degradowane przez *Glucoladium roseum*, *Penicillium brevicompactum*, *P. funiculosum*, *Phialophora fastigiata* i *Verticillium lecanii* [20].

Z udziałem grzybów zachodzi biodegradacja nie tylko pojedynczych węglowodorów, ale także ich mieszanin, takich jak na przykład olej napędowy, ropa naftowa czy smoła węglowa [21]. Proces rozkładu zachodzi zarówno w środowisku glebowym, jak i wodnym. Autorzy prac [22–26] wskazują na możliwość wykorzystania grzybów z rodzajów *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cephalosporium* i *Mucor* do oczyszczania gleby zanieczyszczonej produktami naftowymi, natomiast drożdże z gatunku *Yarrowia lipolytica* znalazły zastosowanie w procesie bioremediacji gruntu zanieczyszczonego olejem kreoizotowym oraz substancjami ropopochodnymi [27, 28].

Niektóre grzyby są zdolne do degradacji chlorowanych związków organicznych. Ważną grupą zanieczyszczeń aromatycznych są polichlorofenole, ze względu na powszechność ich wykorzystywania w fungicydach, insektycydach, herbicydach i innych pestycydach. Obserwowano wzrost grzybów należących do rodzajów *Bjerkandera*, *Anthraco-phyllum*, *Phanerochaete*, *Trametes* w obecności pentachlorofenolu (PCP) [29–31]. Rozkład tego związku przebiega wieloetapowo – w niektórych przypadkach biotransformacja i mineralizacja PCP oraz innych chlorofenoli wymaga wprowadzenia dodatkowego źródła węgla i energii. Na przykład degradacja 4-CP przez *Phanerochaete chrysosporium* możliwa jest jedynie w obecności glukozy i glicerolu [32].

Tabela 1. Przykłady ksenobiotyków rozkładanych przez grzyby  
Table 1. Examples of xenobiotics degraded by fungi

Ksenobiotyk		Rodzaj/Gatunek	Źródło
Węglowodory	niskocząsteczkowe aromatyczne	<i>Rhizopus</i> sp., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Candida</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Psilocybe</i> sp., <i>Smittium</i> sp., <i>Trichoderma viride</i>	[10–13]
		<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	[88]
		<i>Exophiala</i> sp., <i>E. oligospermum</i>	[71, 93]
		<i>Paecilomyces variotii</i> , <i>Scedosporium apiospermum</i>	[72, 83]
		<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	[87, 88]
	wielopierścieniowe aromatyczne	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp., <i>Fusarium</i> sp. <i>Phanerochaete</i> sp., <i>Polyporus</i> sp., <i>Stereum</i> sp., <i>Lentinus</i> sp., <i>Bjerkandera</i> sp.	[15]
		<i>Irpex</i> sp., <i>Pleurotus</i> sp., <i>Phlebia</i> sp., <i>Trametes</i> sp., <i>Schizophyllum</i> sp., <i>Pycnoporus</i> sp., <i>Coprinus</i> sp., <i>Ganoderma</i> sp.	[16, 17]
		<i>Lentinus tigrinus</i> PW993-4, <i>Irpex lacteus</i> Fr.238 617/93, <i>Bjerkandera adusta</i> BOS55	[4]
		<i>Agaricus bisporus</i> , <i>Lentinula edodes</i>	[60]
		<i>Polyporus</i> sp. S133	[19]
		<i>Schizophyllum commune</i> , <i>Pycnoporus coccineus</i> , <i>Coprinus cinereus</i> , <i>Pleurotus ostreatus</i>	[16]
	alifatyczne	<i>Aspergillus niger</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>Trichoderma asperellum</i> , <i>Penicillium</i> sp.	[18]
		<i>Fusarium solani</i>	[74]
<i>Trichoderma</i> sp.		[19]	
Chlorowane związki organiczne	PCP	<i>Bjerkandera</i> sp., <i>Anthrachophyllum discolor</i> , <i>Phanerochaete</i> sp., <i>Trametes</i> sp.	[29–31]
	PCE, TCE	<i>Trametes versicolor</i> , <i>Ganoderma lucidum</i> , <i>Irpex lacteus</i>	[33, 34]
	PCB	<i>Phlebia brevispora</i> , <i>Phanerochaete chrysosporium</i>	[36, 37]
	chlorobenzen	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	[89]
	PCDD/F	<i>Phlebia lindtneri</i> , <i>Phlebia brevispora</i>	[38]
Barwniki polimerowe	Poly R-478	<i>Trametes versicolor</i> , <i>Bjerkandera adusta</i> CCBAS 930	[8, 115]
Barwniki antrachinonowe	brylantowy błękit remazolowy R	<i>Pleurotus ostreatus</i> , <i>Xerocomus badius</i> , <i>Hypholoma fasciculare</i> , <i>Bjerkandera adusta</i> CCBAS 930	[52, 115]
	błękit alizarynowy, kwas karminowy	<i>Haematonectria haematococca</i> BwIII43, K37, <i>Trichoderma harzianum</i> BsIII33	[116]
Barwniki trójfenylometanowe i azowe	zieleń malachitowa	<i>Penicillium pinophilum</i> , <i>Myrothecium roridum</i>	[113]
	zieleń brylantowa, błękit Evansa	<i>Pleurotus ostreatus</i> BWPB, <i>Gloeophyllum odoratum</i> DCa, <i>Fusarium oxysporum</i> G1	[114]
Nitrozwiązki aromatyczne	TNT, RDX, HMX	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> , <i>Ph. sordida</i> , <i>Phlebia brevispora</i> , <i>Cyathus stercoreus</i>	[49]
		<i>Yarrowia lipolytica</i>	[50]
		<i>Gymnopilus luteofolius</i> , <i>Kuehneromyces mutabilis</i> , <i>Phanerochaete velutina</i>	[59]
Insektycydy	endosulfan	<i>Chaetosartorya stromatoides</i> , <i>Aspergillus terricola</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. niger</i>	[41]
	lindan	<i>Conidiobolus</i> 03-1-56	[42]
Fungicydy	bifenyl	<i>Talaromyces helicus</i>	[39]
	trójbromofenol	<i>Trametes versicolor</i> , <i>Agaricus augustus</i> , <i>Laetoporeus sulfureus</i> , <i>Gloeophyllum trabeum</i> , <i>Ganoderma australe</i>	[40]
Herbicydy	atrazyna	<i>Pleurotus pulmonarius</i>	[63]
	sulfentrazon	<i>Eupenicillium</i> sp., <i>Paecilomyces</i> sp., <i>Cladosporium</i> sp.	[45]
	fluometuron	<i>Trichoderma viride</i> , <i>Metarhizium anisopliae</i> , <i>Beauveria bassiana</i>	[46]
	chloronitrofen	<i>Phlebia brevispora</i>	[47]
	alachlor	<i>Paecilomyces marquandii</i>	[48]
	DDT	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	[43]
		<i>Gloeophyllum trabeum</i> , <i>Fomitopsis pinicola</i> , <i>Daedalea dickinsi</i>	[44]
HCH	<i>Bjerkandera adusta</i>	[35]	
Mieszanki węglowodorów	olej kreozotowy	<i>Yarrowia lipolytica</i>	[27, 28]
	ropa naftowa	<i>Aspergillus</i> sp., <i>Trichoderma</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Cephalosporium</i> sp., <i>Mucor</i> sp.	[22–25]
		<i>Yarrowia lipolytica</i>	[28]
	olej siłnikowy	<i>A. candidus</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. luchiensis</i> , <i>A. fumigates</i> , <i>A. ochraceus</i> , <i>Rhizopus nigricans</i>	[6]
	smoła węglowa	<i>Pleurotus</i> sp., <i>Schizophyllum</i> sp., <i>Irpex lacteus</i> , <i>Bjerkandera adusta</i>	[21]
olej napędowy	<i>Cladosporium</i> sp.	[26]	

W warunkach tlenowych *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum* i *Irpex lacteus* degradują perchloroetylen (PCE) i trójchloroetylen (TCE), doprowadzając do ograniczenia ich toksyczności [33, 34], a *Bjerkandera adusta* bierze udział w rozkładzie sześcioclorocykloheksanu (HCH) do 1-(3-chloro-4-metoksyfenilo)etanonu oraz chlorku (2,4-dichloro-3-metoksy)-1-benzenokarbonylu [35]. Wykazano, że *Phlebia brevispora* może rozkładać polichlorowane bifenyly (PCB), wytwarzając m-metoksyloowane, p-dechlorowane i p-metoksyloowane metabolity [36], natomiast 4,4'-dichlorobifenyl (4,4'-DCB) jest rozkładany przez grzyby z rodzaju *Phanerochaete*, z wytworzeniem 2-hydroksy-4,4'-DCB, 3-metoksy-4,4'-DCB i 4-hydroksy-3,4'-DCB oraz kwasu 4-chlorobenzoowego, 4-chlorobenzaldehydu i alkoholu 4-chlorobenzylowego [37].

Ciekawą alternatywę wobec stosowanych obecnie metod fizyczno-chemicznych stanowi wykorzystanie grzybów do rozkładu dioksyn. Polichlorowane dibenzo-p-dioksyny (PCDDs) i polichlorowane dibenzofurany (PCDFs) są niezwykle toksycznymi zanieczyszczeniami środowiska. Wykazano, że *Phlebia lindtneri* i inne grzyby białej zgnilizny zdolne są do biotransformacji dichloro-, trichloro- i tetrachlorodibenzodiioksyn z wytworzeniem dużej gamy metabolitów pośrednich [38].

Jednym z najczęściej stosowanych, mimo wysokiej toksyczności, fungicydów jest bifenyly i jego monohydroksyloowane pochodne – 2-hydroksy- i 4-hydroksybifenyly. Okazuje się, że takie grzyby, jak *Talaromyces helicus* utleniają bifenyly do hydroksyloowanych pochodnych – 4,4'-dihydroksybifenyly, 3,4-dihydroksybifenyly, 2-hydroksybifenyly, 2,5-dihydroksybifenyly oraz produktu rozszczepienia pierścienia kwasu 4-fenylo-2-pirano-6-karboksylowego [39]. Popularny fungicyd trójbromofenol (TBP) stosowany jest do konserwacji drewna. *Trametes versicolor* i *Agaricus augustus* potrafią skutecznie zmniejszać jego zawartość przeprowadzając proces biotransformacji do odpowiednich metabolitów, takich jak trójbromoanizol (TBA). Inne grzyby stosowane do jego degradacji to *Laetoporeus sulfureus*, *Gloeophyllum trabeum* i *Ganoderma australe* [40].

Grzyby degradują także wiele chemicznych środków owadobójczych. Na przykład endosulfan rozkładany jest w 75% przez *Chaetosartorya stromatoides*, *Aspergillus terricola* i *A. terreus*, a produktami jego rozkładu są diol endosulfanu i siarczan endosulfanu [41]. Badano również biodegradację innych znanych insektycydów, takich jak toksafen czy lindan przez grzyby białej zgnilizny *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes hirsuta*, *Bjerkandera adusta* i *Pleurotus* sp. [42]. Grzyby białej oraz brązowej zgnilizny degradują dichlorodifenylotrichloroetan (DDT) z wytworzeniem odpowiednich metabolitów – 1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorofenylo)etan (DDD), 1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorofenylo)etylen (DDE) oraz 4,4-dichlorobenzofenon (DBP) [43, 44].

Warto również zwrócić uwagę na możliwość biodegradacji pozostałości herbicydów w glebie przez niektóre grzyby. Na przykład sulfentrazon biodegradowany jest przez *Chrysosporium* sp., *Eupenicillium* sp., *Paecilomyces* sp., a fluometuron w 85% degradują *Trichoderma viride*, *Metarhizium anisopliae* i *Beauveria bassiana* [45, 46]. Chloronitrofenon (CNP) transformowany jest przez *Phlebia brevispora* do pochodnych monometoksylowych i 2,4,6-trichlorofenolu [47], natomiast herbicyd alachlor jest degradowany przez grzyb strzępkowy *Paecilomyces marquandii* w warunkach niedoboru tlenu oraz zróżnicowanego zasolenia [48].

Pozostałości materiałów wybuchowych stanowią poważny problem ekologiczny. Wchodzące w ich skład związki nitroaromatyczne, takie jak trójnitrotoluen (TNT), heksogen (RDX) i oktogen (HMX) oraz ich metabolity są słabo podatne na biodegradację oraz wykazują niezwykle toksyczne właściwości. Zdaniem niektórych badaczy grzyby białej zgnilizny (np. *Phanerochaete chrysosporium*, *Ph. sordida*, *Phlebia brevispora*, *Cyathus stercoreus*) charakteryzują się mniejszą niż bakterie wrażliwością na ich toksyczne oddziaływanie oraz przeprowadzają proces ich biodegradacji. Zachodzi on w warunkach tlenowych kilkietapowo, a powstające w efekcie końcowym metabolity są rozkładane do ilości niewykrywalnych [49]. Rozkład TNT poprzez redukcję pierścienia aromatycznego oraz bezpośrednią redukcję grup nitrowych prowadzą także niektóre szczepy drożdży należących do gatunku *Yarrowia lipolytica* [50].

### Wykorzystanie grzybów do remediacji gleb

Autorami pierwszych doniesień dotyczących zdolności grzybów do rozkładu zanieczyszczeń byli w 1973 r. C. E. Cerniglia i J. J. Perry [51], którzy wykazali, że grzyby nieligninolityczne należące do gatunku *Cunninghamella elegans* przeprowadza biodegradację ropy naftowej. Późniejsze prace naukowe przyniosły więcej informacji na temat potencjału degradacyjnego także grzybów ligninolitycznych oraz możliwości ich praktycznego wykorzystania w procesach remediacyjnych. Zdaniem autora pracy [4] na ich podstawie można wyciągnąć następujące wnioski:

- grzyby białej zgnilizny najskuteczniej rozkładają trwale zanieczyszczenia dzięki wydzielanym przez nie enzymom modyfikującym ligninę (lignin-modifying enzymes – LMEs),

- grzyby ligninolityczne wykorzystują w procesie degradacji zarówno mechanizmy nieenzymatyczne, jak i enzymatyczne,

- dzięki niskiej specyficzności substratowej LMEs rozkładają różnorodne związki organiczne o strukturze molekularnej podobnej do ligniny,

- degradacja związków organicznych zachodzi u nich w trakcie metabolizmu wtórnego, zazwyczaj w warunkach niedoboru składników pokarmowych (np. azotu),

- wydzielanie enzymów pozakomórkowo umożliwia im degradację cząsteczek większych niż degradowane przez bakterie,

- grzyby ligninolityczne są w stanie mineralizować zanieczyszczenia organiczne lub wytwarzać niskomolekularne metabolity, które następnie degradowane są przez bakterie,

- w przeciwieństwie do bakterii, najczęściej nie wykorzystują zanieczyszczeń w charakterze jedyne go źródła węgla i energii, lecz wymagają dostarczenia dodatkowego źródła węgla do wspomaganie ich wzrostu (zwykle jest to substrat lignocelulozowy),

- grzyby ligninolityczne tolerują duże ilości zanieczyszczeń organicznych oraz metali śladowych, które nie powodują obniżenia ich aktywności enzymatycznej,

- w glebie prowadzą humifikację zanieczyszczeń organicznych, przyczyniają się ponadto do ich wiązania przez substancje humusowe, co z kolei obniża ich dostępność oraz toksyczność.

Zarówno grzyby ligninolityczne, jak i pozostałe mogą być wykorzystywane w procesach remediacyjnych. W warunkach *in situ* do bioremediacji zanieczyszczonych gleb

stosuje się naturalną atenuację (samooczyszczanie), metodę rolniczą (obróbka agrotechniczna), biowentylację oraz bioremediację stymulowaną wodą, natomiast do oczyszczania *ex situ* stosuje się najczęściej metodę przyzmoiania oraz metodę bioreaktorową. Sposób przyjętej techniki usuwania zanieczyszczeń z gruntu zależy w dużej mierze od rodzaju i ilości zalegających zanieczyszczeń oraz ich toksyczności, względnie toksyczności metabolitów powstających podczas biodegradacji. W przypadku występowania realnych zagrożeń środowiska proces oczyszczania gleb czy wód powinien być prowadzony w warunkach *ex situ*. Można wówczas uniemożliwić przedostawanie się szkodliwych zanieczyszczeń lub ich metabolitów do środowiska. W takich przypadkach konieczny jest także monitoring ekotoksykologiczny procesu, który pozwala określić zagrożenia wynikające z desorpcji zanieczyszczeń z matrycy glebowej, wzrostu ich rozpuszczalności, a także powstawania podczas biodegradacji metabolitów toksycznych dla żywych organizmów [14]. Stosując odpowiednie organizmy wskaźnikowe można określić toksyczność wody, gleby oraz wyciągów glebowych. Wykorzystywane są także testy określające ich działanie mutagenne i rakotwórcze. Warto także pamiętać, że sukces prowadzonego procesu oczyszczania zależy będzie od szeregu czynników biotycznych i abiotycznych, które należy rozpoznać przed przystąpieniem do opracowywania sposobu oczyszczania skażonego terenu.

Wszystkie techniki oczyszczania elementów środowiska mogą być także wspomagane na drodze bioaugmentacji i biostymulacji, przy czym do bioaugmentacji wykorzystywane są zarówno bakterie, jak i grzyby. Intensywny rozwój grzybów w zanieczyszczonej glebie wymaga:

- doboru odpowiedniego gatunku grzyba zdolnego do degradacji zanieczyszczenia oraz tolerowania istniejących warunków środowiskowych i obecności innych zanieczyszczeń, na przykład metali śladowych,

- przygotowania inokulum zawierającego aktywne metabolicznie grzyby zdolne do konkurencji z mikrobiotą autochtoniczną,

- stałego monitorowania parametrów fizyczno-chemicznych gruntu i utrzymywania na optymalnym poziomie zawartości substancji biogennej w glebie, niezbędnych do rozwoju grzyba.

Bioaugmentacja może być prowadzona z zastosowaniem całych komórek grzybów lub wytwarzanych przez nie enzymów. Wykorzystanie żywych komórek grzybów jest biotechnologią, która może być realizowana zarówno w warunkach *in situ*, jak i *ex situ*. Zwykle stosuje się w niej grzyby wyizolowane z terenu podlegającego oczyszczaniu. Czyste kultury grzybów strzępkowych można izolować z pojedynczych spor lub pobierając końce strzępek, natomiast grzyby podstawkowe izoluje się bezpośrednio z ich owocników (tzw. metoda tkankowa lub sporowa) [52], a następnie pobrane spory lub fragmenty plechy umieszczone są na odpowiednim podłożu w celu namnożenia. Autochtoniczne grzyby poddaje się selekcji i wstępnej hodowli w obecności specyficznych zanieczyszczeń, takich jak węglowodory naftowe czy pestycydy [16]. Do otrzymywania mutantów o wysokiej aktywności degradacyjnej wykorzystuje się promieniowanie laserowe i nadfioletowe [49]. Szczepy wykazujące wysoką aktywność degradacyjną przechowywane są na skosach, w wodzie destylowanej lub zamrażane. Uzyskanie inokulum do zaszczepiania zanieczyszczonego obszaru polega na ich hodowli w sterylnych warunkach z wykorzystaniem odpowiednich podłoży

mikrobiologicznych. Hodowla prowadzona jest w specjalnych bioreaktorach na podłożu stałym lub płynnym. Zaletą stosowania grzybów jest nie tylko ich zdolność do wydzielania enzymów zewnątrzkomórkowych, ale także wytwarzanie strzępek, które łatwo penetrują w głąb gleby i rozprzestrzeniają się w środowisku, co ułatwia im dostęp do zanieczyszczeń. Ponadto grzyby mają zdolność do przetrwania w warunkach stresu, jakim może być niska wartość pH, ograniczona zawartość substancji odżywczych lub mała aktywność wody ( $\alpha_w$ ).

Praktyczne zastosowanie grzybów w procesach remediacyjnych ma także pewne ograniczenia, do których należą trudności w produkcji odpowiednich ilości inokulum zdolnego do wzrostu i rozwoju w naturalnych warunkach środowiskowych. Ze względu na kometaboliczny charakter procesu biodegradacji zanieczyszczeń przez niektóre grzyby, wymagane jest wzbogacenie gleby w podstawowy dla nich substrat pokarmowy, co zwiększa koszty oczyszczania [53]. Ponadto badania wykazały, że wyniki uzyskane w warunkach laboratoryjnych przy zastosowaniu sterylnych gleb różnią się znacznie od efektów działania tych samych grzybów w warunkach niejałowych. Przyczyną tego zjawiska jest obecność naturalnych konkurentów oraz często wysoka zawartość zanieczyszczeń w glebie. Potwierdzają to badania nad biodegradacją PCP przez *Lentinula edodes*, które wykazały, że skuteczność rozkładu tych związków w warunkach niesterylnych była znacznie mniejsza [54, 55]. Stosunkowo najwięcej przykładów użycia grzybów do transformacji trwałych zanieczyszczeń organicznych dotyczy wykorzystania grzybów białej zgnilizny, chociaż wiadomo, że inne gatunki także zdolne są do ich przekształcania (*Cunninghamella* sp., *Penicillium* sp. i *Aspergillus niger*) [56]. Spośród grzybów białej zgnilizny często stosowane są szczepki należące do gatunku *Phanerochaete chrysosporium*. Wadą tego gatunku jest jednak wysoka optymalna temperatura wzrostu, która wynosi 40°C, co może ograniczać jego stosowanie tylko do cieplejszych stref klimatycznych. Ponadto w glebie występują naturalni konkurenci utrudniający jego wzrost. Lepsze zdolności do rozwoju w nowych niszach oraz konkurowania lub współpracy z naturalną mikrobiotą mają grzyby należące do rodzaju *Pleurotus* oraz gatunku *Dichomitus squalens* [57].

Nowe techniki związane z inokulacją gleby poddawanej oczyszczaniu muszą ułatwić rozwój grzybów przy stosunkowo niskich nakładach finansowych. Dobre efekty daje wprowadzanie inokulum w postaci zasiedlonych przez grzyby kolb kukurydzy, słomy, trocin czy torfu. Zaobserwowano również, że wzbogacenie gleby w słomę przyczynia się zwiększenia długości strzępek i szybkości rozkładu zanieczyszczeń. Ilości wprowadzanych dodatków zależą od ich rodzaju i są stosunkowo duże. Stosunek wagowy słomy do gleby powinien wynosić 1:4, a kolb kukurydzy do gleby 4:1, co podraża koszty remediacji. Z ekonomicznego punktu widzenia najlepiej jest wówczas, gdy wprowadzany dodatek należy do grupy odpadów dostępnych w najbliższej okolicy, gdzie prowadzi się oczyszczanie gleby. Ostateczny efekt i czas bioremediacji zależy jednak od rodzaju gleby, sposobu inokulacji oraz ilości i typu, a także wieku zanieczyszczenia [58].

W eksperymentach opisanych w pracy [59] inokulację gruntu skażonego TNT prowadzono z sukcesem za pomocą perforowanych tub ze szkła organicznego, które wypełniono inokulum w postaci wiórów drzewnych zasiedlonych przez grzyby. Tuby zostały umieszczone poziomo w przyzmoie. W czasie oczyszczania grzybnia poprzez otwory

w tubach rozrastała się poza ich ściany, dzięki czemu wydzielane przez nią enzymy miały szansę dotrzeć do zanieczyszczeń i dokonać ich degradacji. Skuteczność rozkładu TNT była wysoka zarówno w warunkach laboratoryjnych, jak i polowych (70÷80%). Zdaniem autorów ta sama metoda inokulacji może być stosowana do zaszczepiania gruntu oczyszczanego w warunkach *in situ*. W tym przypadku rury z inokulum umieszczane są pionowo w gruncie do głębokości występowania zanieczyszczenia, a rozrastająca się grzybnia wypełnia przestrzeń między rurami zapewniając właściwy przebieg procesu oczyszczania.

Korzystne z ekologicznego i ekonomicznego punktu widzenia jest stosowanie kompostu z produkcji grzybów jadalnych do oczyszczania zanieczyszczonych gleb. Z doświadczenia przeprowadzonego przez autorów pracy [60] wynika, że przydatny do eliminacji WWA z gleby może być kompost pogrzybowy z produkcji pieczarek dwuzarodnikowych (*Agaricus bisporus*) i grzybów shiitake (*Lentinula edodes*), uzyskane wyniki badań nie są jednak jednoznaczne [60, 61].

Stwierdzono, że stosowanie mikroorganizmów autochtonicznych, a więc pochodzących z zanieczyszczonego gruntu, może być bardziej skuteczne niż stosowanie egzogenego szczepu w inokulancie. Ponadto okazało się, że w naturalnych ekosystemach zdolność grzybów do bioremediacji była ściśle związana ze współpracą z bakteriami. Przykładem mogą być badania, z których wynika, że całkowity rozkład chloropiryfosu (insektycyd) był możliwy przy udziale bakterii i grzybów. Pierwszy etap procesu rozkładu do 3,5,6-trichloro-2-pirydynolu (TCP) prowadził szczep bakterii *Cellulomonas fimi*, a grzyb *Phanerochaete chrysosporium* rozkładał TCP [62]. Dlatego dalsze badania powinny skupiać się na opracowaniu inokulum zawierającego mieszaną kulturę mikroorganizmów. Dobre efekty daje także zastosowanie w biopreparatach grzybów immobilizowanych na nośnikach bądź poddanych otoczkowaniu. Immobilizacja zwiększa odporność grzybów na działanie czynników środowiskowych o charakterze fizyczno-chemicznym bądź biologicznym (konkurencja). Stwierdzono, że w porównaniu do agarozy, karagenu, chitozanu i żelatyny lepiej do immobilizacji grzybów (*I. lacteus* i *T. versicolor*) nadają się alginiany [49]. Obecnie brak jest jednak pewnej i wydajnej technologii prowadzącej do wytworzenia stabilnego inokulum grzybowego, którego rozwój w skażonym środowisku nie będzie w żaden sposób hamowany. Produkcja takiego inokulum z zastosowaniem techniki immobilizacji jest zbyt kosztowna, aby mogła być stosowana na dużą skalę, w przypadku gdy remediacja prowadzona jest metodą *in situ*.

Rozwój grzybów jest uwarunkowany obecnością w podłożu niektórych pierwiastków biogennych, do których należy azot potrzebny do syntezy białek, kwasów nukleinowych, koenzymów czy chityny. Większość grzybów może wykorzystywać azot amonowy jako źródło azotu, a niektóre (takie jak grzyby mikoryzowe) mają enzymy niezbędne do wykorzystania azotanów i azotynów, natomiast wszystkie grzyby mogą wykorzystywać związki organiczne zawierające azot do zaspokojenia swoich wymagań pokarmowych. Do wzrostu grzybów niezbędny jest też fosfor, stosowany w syntetycznych podłożach zwykle w postaci ortofosforanów, przy czym grzyby zasiedlające środowisko glebowe są w stanie pozyskiwać ten pierwiastek przez rozkład organicznych związków fosforu.

Stymulację procesu oczyszczania można także osiągnąć wprowadzając do gleby inne dodatki, takie jak środki

powierzchniowo czynne czy niektóre pierwiastki (na przykład mangan). Wprowadzenie surfaktantów obniża napięcie powierzchniowe i zwiększa biodostępność hydrofobowych zanieczyszczeń, natomiast wprowadzenie manganu prowadzi do zwiększenia przepuszczalności membran i stymuluje aktywność peroksydazy manganowej [63]. Poprawa wzrostu grzybów wymaga zwykle regulacji innych wskaźników jakości gleby, takich jak wartość pH czy wilgotność, jednakże skuteczność stosowanych zabiegów zależy przede wszystkim od stopnia skompleksowania zanieczyszczeń z matrycą glebową. Czasami, w przypadku silnie skompleksowanych zanieczyszczeń, stosowanie metod biologicznych możliwe jest dopiero po przeprowadzeniu zabiegów o charakterze fizyczno-chemicznym, takich jak na przykład przemywanie gleby.

Dobłą alternatywą w przypadku długo zalegających w glebie zanieczyszczeń, lecz występujących w małych ilościach, jest stosowanie fitoremediacji wspomaganą za pomocą grzybów mikoryzowych [64]. Mikoryza jest zjawiskiem polegającym na współżyciu między komórkami korzeni lub nasion roślin naczyniowych a grzybami. Dzięki grzybom roślina zwiększa powierzchnię chłonną korzeni i zaopatrzenie w związki mineralne (P, N, mikroelementy) oraz uzyskuje dostęp do substancji pokarmowych rozkładanych i wchłanianych przez grzybnie, natomiast rośliny dostarczają grzybom składniki organiczne w postaci produktów asymilacji, a hormony roślinne indukują ich wzrost. Wyróżnia się mikoryzę endotroficzną (arbuskułarną) i ektotroficzną (ektomikoryzę). W mikoryzie endotroficzej, występującej znacznie częściej, zewnętrzne strzępki grzybni przenikają do gleby, czasem bardzo głęboko, natomiast wewnętrzne wnikają do komórek miękiszu korowego korzeni. W ektomikoryzie grzyb rozwija się na powierzchni korzeni rośliny, tworząc coś w rodzaju muffki, składającej się ze splecionych nitek grzybni, która przenika do przestworów pomiędzy komórkami kory, ale nigdy nie wnika do wnętrza komórek. Rozwój grzybni umożliwia tworzenie stabilnych agregatów glebowych, czego efektem jest zwiększona penetracja wody, zdolność zatrzymywania wody w glebie i ograniczenie jej erozji. Mikoryza zwiększa także tolerancję roślin na stres wodny, odporność na suszę oraz przewodnictwo hydrauliczne korzeni. Dodatkowo grzyby endomikoryzowe wytwarzają glomaliny (glikoproteiny), które oplaszczają agregaty glebowe i chronią je przed roz biciem, sprzyjając w ten sposób tworzeniu gruzelkowej struktury gleby [65]. Grzyby mogą być wykorzystywane w większości stosowanych technik fitoremediacyjnych, takich jak fitostabilizacja, fitoekstrakcja, fitodegradacja i fitoulatnianie. Odgrywają szczególną rolę w degradacji trwałych trudno dostępnych roślinom zanieczyszczeń organicznych, jakimi są WWA, PCB czy TNT. Enzymy wydzielane przez grzyby wspomagają degradację mikrobiologiczną tych związków, w efekcie czego powstają nietoksyczne metabolity pośrednie pobierane przez rośliny i wbudowywane w ich biomasę. W pracy [66] wykazano, że najlepsze efekty daje zastosowanie szczepionek grzybowych w procesie fitoremediacji gleby zanieczyszczonej WWA, prowadzonej za pomocą roślin jednoliściennych. Stwierdzono także, że w skład inokulum użytego do zaszczepiania powinny wchodzić grzyby autochtoniczne dobrze przystosowane do warunków, w jakich odbywa się fitoremediacja. Współpraca roślin z grzybami egzystującymi w strefie korzeniowej pozwala na skuteczną eliminację wielu zanieczyszczeń. Wadą tej metody jest długi czas trwania procesu oczyszczania, a zaletą – niskie koszty [67].

## Wykorzystanie grzybów w oczyszczaniu gazów

Biologiczne oczyszczanie gazów jest tanim i bezpiecznym ekologicznie sposobem unieszkodliwiania zanieczyszczeń w nich zawartych. W metodzie tej związki obecne w oczyszczanych gazach muszą przeniknąć do fazy ciekłej, w której znajdują się mikroorganizmy, a następnie do wnętrza ich komórek, gdzie stają się substratem pokarmowym. Proces oczyszczania zachodzi w normalnej temperaturze i ciśnieniu atmosferycznym, a zanieczyszczenie jest usuwane (mineralizowane, zamieniane na biomasę lub przekształcane w związki mniej toksyczne i bezzapachowe), a nie tylko przenoszone do innej fazy [68]. Najbardziej podatne na biologiczny rozkład są związki dobrze rozpuszczalne w wodzie, o małej masie cząsteczkowej i prostej budowie chemicznej. Najczęściej stosowane są trzy rozwiązania – oczyszczanie w bioskrubkach, biofiltrach oraz biofiltrach przepłukiwanych (zraszanych), przy czym najlepsze warunki do wykorzystania specyficznych cech grzybów panują w biofiltrach. W bioskrubkach i biofiltrach zraszanych faza wodna jest ruchoma, natomiast w biofiltrach nieruchoma (związana z nośnikiem, złożem). Biomasa w bioskrubkach jest zawieszona, a w obu typach biofiltrów jest związana z nośnikiem.

Bioskrubery (zwane też płuczkami biologicznymi) oczyszczają gazy w dwóch etapach – absorpcji zanieczyszczeń przez płynny sorbent (którym może być osad czynny) i biodegradacji w bioreaktorze, którym może być komora osadu czynnego. Oba etapy przebiegają w oddzielnych reaktorach – pierwszy w absorberze, a drugi w napowietrzanym bioreaktorze. Mikroorganizmy uczestniczące w procesie oczyszczania gazów występują w ruchomej fazie wodnej w formie zawieszanej. Ze względu na duży udział fazy wodnej, ten sposób oczyszczania nadaje się do zanieczyszczeń gazowych o dobrej rozpuszczalności w wodzie. W przypadku klasycznych biofiltrów strumień oczyszczanych gazów przepuszczany jest przez złożo zasiedlone przez mikroorganizmy (heterotroficzne i autotroficzne) tworzące na jego powierzchni biofilm. Zanieczyszczenia obecne w gazach, po przejściu do fazy ciekłej i biofilmu, są rozkładane do  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  i soli oraz zamieniane w biomasę. Najczęściej stosuje się naturalne złoża organiczne (kompost, torf, włókno kokosowe), które są zasiedlone przez drobnoustroje i zawierają substancje odżywcze, przy czym stosowane także są złoża inertne, pozbawione mikroorganizmów i biogenów. Częstość zabiegów jest zaszczepienie złoża mieszaniną niezidentyfikowanych drobnoustrojów (np. osadem czynnym) albo wyizolowanym szczepem o znanej aktywności enzymatycznej. Zaszczepiać można każdy rodzaj złoża, ale w przypadku złoża słabo lub w ogóle nie zasiedlonych przez drobnoustroje, zaszczepienie jest koniecznością. Problemem operacyjnym w pracy biofiltrów jest kontrola wilgotności złoża, które jest podatne na wysychanie, utrzymanie odpowiedniej wartości pH i zasilanie biogenami niezbędnymi dla drobnoustrojów. W biofiltrach skuteczność usuwania związków trudno rozpuszczalnych w wodzie jest większa niż w biofiltrach zraszanych, a tym bardziej bioskrubkach. Biofiltry zasadniczo stosuje się do usuwania niewielkich ilości zanieczyszczeń i przy dużych prędkościach przepływu gazu. W biofiltrach zraszanych mikroorganizmy są immobilizowane na złożu z materiału niedegradowalnego, inertnego (np. pianka poliuretanowa, kształtki z materiałów syntetycznych), a faza wodna z substancjami biogennymi jest ciągle recykulowana, gdyż materiał, z którego zbudowane jest złożo

nie ma wystarczającej zdolności zatrzymywania wody, ani nie zawiera substancji odżywczych. Nie występują tu problemy związane z wysychaniem złoża, jak w tradycyjnych biofiltrach. Często dochodzi jednak do nadmiernego rozwoju biomasy i zatykania złoża (clogging). W urządzeniach tego typu usuwa się głównie związki dobrze rozpuszczalne w wodzie.

Zwykle czynnikiem dominującym w oczyszczaniu biologicznym, niezależnie od rozwiązań technicznych, jest aktywność enzymatyczna bakterii, jednak obok nich zawsze obecne są grzyby, których udział w procesie oczyszczania może być większy lub mniejszy, zależnie od warunków procesu. W układach oczyszczających gazy, które są układami otwartymi, bardzo trudne jest utrzymanie założonego składu mikrobiologicznego złoża i często, po pewnym czasie, obok pierwotnie obecnych lub zaszczepionych drobnoustrojów pojawiają się w złożu, wraz z napływającymi gazami, inne szczepy, zarówno grzybów, jak i bakterii. Mikrobiota pierwotna jest zastępowana mikrobiotą wtórną. Dlatego określenia: „złożo bakteryjne” czy „złożo grzybowe” w odniesieniu do biofiltrów nie zawsze jest poprawne, bo w pracującym złożu najczęściej są obecne (w różnych proporcjach) obie grupy mikroorganizmów. Procentowy udział szczepu zastosowanego jako pierwotne inokulum zależy zarówno od warunków fizyczno-chemicznych, w jakich przebiega proces oczyszczania, jak i zdolności konkurencyjnych samego szczepu. W warunkach sprzyjających określonym drobnoustrojom można jednak utrzymywać ich dominację w złożu, przy czym łatwiej jest utrzymać dominację grzybów niż bakterii, stwarzając warunki ekstremalne, które grzyby znoszą lepiej. Autorzy pracy [69] opisali biofiltrację toluenu na czterech różnych złożach pierwotnie zasiedlonych głównie przez bakterie. Po 80 dobach pracy biofiltrów stwierdzili zmianę dominacji w mikrobiocie złoża z bakteryjnej na grzybową, która utrzymywała się już do końca badań trwających 240 dób. Przyczyną tej zmiany było postępujące zakwaszenie złoża z powodu wytwarzania kwasu benzoowego, a zakwaszone złożo z dominacją grzybów miały lepsze parametry oczyszczania niż w przypadku dominacji bakteryjnej (większa maksymalna szybkość usuwania toluenu (do  $95 \text{ g}/(\text{m}^3\text{h})$ ) i odporność na obniżoną wilgotność złoża). Również autorzy pracy [70] wykazali, że złożo, w których populacje grzybowe dominują nad bakteryjnymi zwykle lepiej oczyszczają gazy z zanieczyszczeń hydrofobowych.

Niektóre szczepy grzybów wprowadzone na sterylne złożo utrzymują się w nich jako jedyne lub dominujące przez długi czas pracy biofiltru. Przykładem może być workowiec *Exophiala oligospermum*, który na złożu perlitowym zapewniał wielomiesięczną stabilną biodegradację toluenu, przy wysokiej szybkości procesu (ok.  $77 \text{ g}/(\text{m}^3\text{h})$ ) [71] lub inny workowiec – *Scedosporium apiospermum*, który wprowadzony do złoża wermikulitowego w postaci zarodników, szybko przerósł złożo i dominował w nim przez cały czas badań (2 miesiące) biofiltracji toluenu przy wysokich obciążeniach, umożliwiając osiągnięcie bardzo dużej szybkości oczyszczania ( $258 \text{ g}/(\text{m}^3\text{h})$ ) [72]. Z tego względu coraz częściej bada się możliwość zaszczepiania złoża biofiltrów wyizolowanymi szczepami grzybów, a nie głównie bakteriami, jak to ma zwykle miejsce, przy czym większe nadzieje wiąże się z grzybami tworzącymi nitkowatą grzybnię niż z grzybami drożdżowymi.

Jedną z najważniejszych cech grzybów, dającą im przewagę nad bakteriami, jest odporność na dwa główne czynniki obniżające zwykle sprawność biofiltracji – wysuszenie



złoża i zakwaszenie. Grzyby, zwłaszcza strzępkowe, mogą przejawiać aktywność metaboliczną przy niższej wilgotności względnej niż bakterie. Poza tym grzyby tolerują środowisko o niższej aktywności wody ( $\alpha_w$ ), czyli o jej mniejszej dostępności. Optymalna dla nich aktywność wody to przedział 0,98÷0,93, a niektóre kserotolerancyjne gatunki rosną nawet w środowisku o aktywności około 0,6 (bakterie wymagają zwykle aktywności wody  $\alpha_w > 0,99$ , a wartość minimalna dla większości z nich to 0,9) [72, 73]. Grzyby są aktywne w szerokim zakresie wartości pH (3÷7), a bakterie preferują zwykle środowisko obojętne lub lekko zasadowe (wyjątkiem są bakterie rozkładające nieorganiczne i organiczne związki siarki, które mogą tolerować jeszcze mniejszą wartość pH niż tolerują grzyby) [73].

Grzyby tworzące nitkowate strzępki (grzyby nitkowate) wytwarzają dwa rodzaje grzybni – grzybnię substratową wrastającą w podłoże (substrat) i czerpiącą z niego wodę oraz składniki pokarmowe, a także grzybnię powietrzną (wyrastającą ponad substratem) służącą do oddychania i wytwarzania form reprodukcyjnych. Niska rozpuszczalność hydrofobowych lotnych związków organicznych (zwłaszcza o wysokiej stałej Henry’ego, jak n-heksan lub n-pentan) stanowi jedno z głównych ograniczeń w biologicznym oczyszczaniu gazów. Rozpuszczalność związków hydrofobowych jest zwykle większa w obecności biomasy i jej metabolitów, ale obecność hydrofobowych strzępek grzybowych jeszcze bardziej ją zwiększa [74]. Grzyby strzępkowe zmniejszają ograniczenia przechodzenia związków z fazy gazowej do biofilmu dzięki rozwinięciu dużej powierzchni wymiany masy przez grzybnię powietrzną, o wiele większej niż tworzy dość jednorodna i zwykle grubsza warstwa biofilmu bakteryjnego. Poza tym przenikanie zanieczyszczeń hydrofobowych do biofilmu grzybowego jest ułatwione dzięki hydrofobowości ścian komórkowych strzępek grzybowych [75]. W warunkach małej wilgotności złoża, tolerowanej lepiej przez grzyby niż bakterie, istnieje nawet możliwość bezpośredniego przechodzenia zanieczyszczeń z fazy gazowej do biomasy grzybowej z pominięciem fazy ciekłej [76]. Znaczenie grzybni powietrznej w procesie biofiltracji określono ilościowo w pracy [77] badając usuwanie n-pentanu jako modelowego hydrofobowego związku z grupy lotnych związków organicznych (VOC) w biofiltrze ze złożem wermikulitowym zaszczeplonym grzybem *Fusarium solani*. Stwierdzono, że w badanym układzie oczyszczającym biomasą grzybni powietrznej, stanowiącą 26% całej biomasy, odpowiadała za 71% eliminacji n-pentanu.

Grzyby lepiej też niż bakterie znoszą warunki głodo-we, a ponadto ich zaletą jest zdolność do rozkładu zanieczyszczeń hydrofobowych w szerokim zakresie warunków procesowych [75]. Ma to szczególne znaczenie, gdy biofiltracja przebiega w warunkach stanu przejściowego, częstego w skali przemysłowej (zmiany obciążenia, zmiany stopnia nawilżenia złoża i wartości pH, przestoje w pracy, po których następuje nagłe obciążenie złoża ładunkiem zanieczyszczeń, co zwykle negatywnie wpływa na pracę biofiltru ze złożem bakteryjnym) [78]. Grzyby mają jednak pewne wady w porównaniu z bakteriami. Jedną z nich jest wolniejszy wzrost i mniejsza aktywność biochemiczna [68]. W konsekwencji czas adaptacji złoża grzybowego bywa zwykle dłuższy niż bakteryjnego.

Szczepy grzybów workowych o wysokiej aktywności wobec określonego ksenobiotyku wykazują zazwyczaj dosyć wąski zakres zdolności metabolicznych wobec innych związków [73], w przeciwieństwie do podstawczaków

o aktywności ligninolitycznej [79]. Grzyby strzępkowe z jednej strony zwiększają powierzchnię kontaktu z fazą gazową dzięki grzybni powietrznej, ale z drugiej strony sprzyjają zatykaniu się złoża i spadkowi ciśnienia w biofiltrze, co upośledza jego pracę [68, 73]. Interesującym sposobem ograniczania nadmiernego rozrostu biomasy grzybów jest użycie drobnych pajęczaków, konsumentów grzybni – roztoczy [80, 81]. Inną potencjalną wadą jest możliwość wytwarzania i emisji zarodników, choć nie dotyczy ona wszystkich form grzybów. Niektóre szczepy stosowane w biofiltracji i wykazujące dużą aktywność biodegradacyjną są potencjalnie niebezpieczne, np. tak zwane czarne drożdże *Exophiala jeanselmei*, wydajnie oczyszczające gazy ze styrenu i związków z grupy BTEX, są patogenami oportunistycznymi, mogącymi wywołać choroby u osób z osłabioną odpornością. Jednak, jak wykazały badania, zanieczyszczenie powietrza grzybami wokół biofiltru nie jest duże, a poza tym stwierdzono możliwość skutecznej kontroli emisji zarodników za pomocą fotoreaktora emitującego promieniowanie nadfioletowe [82]. Większość przykładów wykorzystania grzybów w oczyszczaniu gazów (tab. 2) dotyczy workowców, głównie tworzących nitkowatą grzybnię, ale i drożdżowych. Największe znaczenie przypisuje się workowcom z rodzaju *Exophiala*, które wydajnie rozkładają związki BTEX i styren [73] oraz gatunkom *Paecilomyces variotii* i *Scedosporium apiospermum*, które sprawdziły się w biofiltracji toluenu [83]. Wymienione grzyby to anamorfy, a więc formy nie rozmnażające się płciowo. Są pospolite w przyrodzie i z natury są saprofitami.

Grzybami często zaszczeplia się nieorganiczne złoża inertne (perlit, wermikulit), które są trwalsze od tradycyjnie stosowanych naturalnych złóż organicznych (kompost, torf), a ponieważ nie zawierają substancji biogennych, umożliwiają lepszą kontrolę wzrostu biomasy. Grzyby nadają się głównie do oczyszczania gazów z organicznych związków hydrofobowych [84], zarówno aromatycznych (związki z grupy BTEX i styren), jak i alifatycznych, a także cyklicznych monoterpenu ( $\alpha$ -pinen). Wartości maksymalnej szybkości ( $EC_{maks}$ ) eliminacji różnych zanieczyszczeń gazowych są najczęściej większe od stwierdzonych w przypadku tradycyjnych złóż, w których dominują bakterie. Przykładowe wartości  $EC_{maks}$  stwierdzane zwykle w badaniach biofiltrów bakteryjnych, w przypadku związków z grupy BTEX wynoszą 55÷60 g/(m<sup>3</sup>h) [76], styrenu – 81÷118 g/(m<sup>3</sup>h) [85], metanu – 18 g/(m<sup>3</sup>h) i n-heksanu – 5 g/(m<sup>3</sup>h) [76]. Grzyby lepiej niż bakterie radzą też sobie z rozkładem  $\alpha$ -pinenu, lotnego związku organicznego emitowanego przez przemysł drzewny i papierniczy. Autorzy pracy [86] badając biofiltrację na złożu zaszczeplonym workowcem *Ophiostoma* sp. uzyskali maksymalną szybkość oczyszczania 143 g/(m<sup>3</sup>h) przy skuteczności oczyszczania niemal 90% (100% skuteczność stwierdzono przy obciążeniu złoża 100 g/(m<sup>3</sup>h)). Biofiltr z tradycyjnym złożem kompostowym usuwał  $\alpha$ -pinen z maksymalną szybkością 35 g/(m<sup>3</sup>h) [76].

Spośród podstawczaków bada się głównie wykorzystanie grzybów białej zgnilizny. Dotychczasowe (nieliczne) badania dały gorsze rezultaty niż w przypadku workowców. Autorzy pracy [87] badali biofiltrację związków z grupy BTX na złożu inertnym zasiedlonym przez *Phanerochaete chrysosporium*, jednak stwierdzona szybkość oczyszczania (<10 g/(m<sup>3</sup>h)) okazała się mniejsza niż na złożach z workowcami czy bakteriami. Dużo lepszy wynik uzyskano badając biofiltrację toluenu (110 g/(m<sup>3</sup>h)) i ksyleny (77 g/(m<sup>3</sup>h)), jednak użyte złożo zaszczeplone było nie

Tabela 2. Przykłady grzybów wykorzystywanych do oczyszczania gazów w procesie biofiltracji  
Table 2. Examples of fungi employed in purification of gases by biofiltration

Typ/Grupa	Gatunek/Rodzaj	Materiał złoża	Składnik gazów	EC <sub>maks</sub>	Źródło
Podstawczaki	<i>Trametes versicolor</i>	torf	anilina	3,6	[138]
		słoma	butanol	26,5	
	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	szklane kulki	BTX	<10	[87]
		wióry drzewne	toluen	110	[88]
			ksylen	77	
kawałki bambusa	chlorobenzen	94	[89]		
Workowce pleśniowe	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	wióry drzewne	ksylen	77	[88]
			110		
	<i>Paecilomyces variotii</i>	pierścienie ceramiczne	toluen	290	[83]
				55	
	<i>Graphium</i> sp.	kompost	metan	37	[139]
	<i>Fusarium solani</i>	wermikulit	n-pentan	130	[68]
		perlit	n-heksan	<200	
<i>Aspergillus niger</i>	keramzyt		680	[77]	
<i>Ophiostoma</i> sp.	skała wulkaniczna	α-pinen	143	[86]	
Workowce drożdżowo-pleśniowe	<i>Exophiala</i> sp. (dominant)	perlit	BTEX	244	[93]
	<i>Exophiala jeanselmei</i> (czysty szczep)		styren	91	[73]
Workowce pleśniowe	<i>Sporothrix varicibatus</i>			336	[140]
Workowce drożdżowe	<i>Pichia pastoris</i>		metanol	1320	[94]

EC<sub>maks</sub> – maksymalna szybkość oczyszczania, g/(m<sup>3</sup>h)

tylko podstawczakiem *Ph. chrysosporium*, ale i workowcem *Cladosporium sphaerospermum*, więc nie wiadomo, jaki udział w biodegradacji miał ten pierwszy [88]. Autorzy pracy [89] badając biofiltrację chlorobenzenu na złożu bambusowym przerośniętym *Ph. chrysosporium* stwierdzili dobrą pracę złoża (94 g/(m<sup>3</sup>h)), jednak inne badania dowodzą, że biofiltry bakteryjne mogą usuwać chlorobenzen także z większą szybkością [90].

Grzyby białej zgnilizny, mimo niezwykłych właściwości biodegradacyjnych, mają też wady, które mogą utrudniać ich wykorzystanie w biologicznym oczyszczaniu gazów. Organizmy te nie zawsze w pełni mineralizują rozkładane substraty aromatyczne i mogą akumulować toksyczne produkty pośrednie przemiany materii [91], co z czasem może negatywnie wpływać na aktywność metaboliczną złoża. Ich enzymy ligninolityczne, umożliwiające rozkład wielu związków aromatycznych, wytwarzane są podczas metabolizmu wtórnego. Oznacza to konieczność wprowadzenia do złoża pierwotnego źródła węgla i energii, ponieważ rozkładane związki, będące zanieczyszczeniem, nie są wykorzystywane jako substraty pokarmowe [92, 73]. Może to powodować nadmierny przyrost biomasy w złożu, spadek ciśnienia, a nawet zatkanie złoża. Wykorzystanie tych grzybów wymaga więc dalszych badań.

Zwykle przebieg biofiltracji lotnych związków organicznych bada się w warunkach mezofilnych (20÷30°C), jednakże niektóre szczepy grzybów zachowują aktywność w wyższych temperaturach. Pozwala to na znaczne zwiększenie aktywności biologicznej, która wzrasta dwukrotnie z każdym podniesieniem temperatury o 10°C. W pracy [93] wykazano możliwość oczyszczania gazów zanieczyszczonych związkami z grupy BTEX w temperaturze 50°C przez 80 dob. Dominującym mikroorganizmem w użytym złożu perlitowym był niezidentyfikowany gatunkowo szczep

workowca *Exophiala* sp. Biofiltr osiągnął maksymalną szybkość oczyszczania (360 g/(m<sup>3</sup>h)) w warunkach stabilnych, wykazując szczególną skuteczność wobec benzenu (do 100%). Również w warunkach niestabilnych, po nagłych zmianach obciążenia, praca biofiltru szybko wracała do normy.

Interesujące jest wykorzystanie grzybów do biofiltracji połączonej z produkcją białek. W pracy [94] opisano biofiltrację metanolu (emitowanego w dużych ilościach przez przemysł papierniczy) na złożu perlitowym zaszczipionym drożdżami *Pichia pastoris*. Gatunek ten jest od dawna stosowany w przemyśle biotechnologicznym do produkcji różnych ważnych protein, na przykład interferonu. Drożdże te są metylotrofami i korzystają z metanolu jako jedyne-go źródła węgla. W omawianej pracy zastosowano szczep zmodyfikowany genetycznie, uzdolniony do syntezy chitynazy – enzymu hydrolizującego chitynę, która jest (po celulozie) najpowszechniej występującym polisacharydem w przyrodzie (składnik ścian komórkowych grzybów i pancerzy owadów czy skorupiaków). Pochodne chityny, uzyskane dzięki aktywności chitynazowej, mają ciekawe zastosowania, na przykład w przemyśle wyrobów medycznych jako składnik aktywnych materiałów opatrunkowych stymulujących odpowiedź immunologiczną organizmu [95], a także do usuwania barwników z wody [96]. Ten sam szczep drożdży został użyty przez autorów pracy [97], którzy określili optymalne warunki procesowe biofiltracji metanolu w celu maksymalizacji produkcji chitynazy.

Porównując aktywności złożeń biofiltracyjnych zaszczipionych grzybami należy brać pod uwagę nie tylko stwierdzone wartości szybkości oczyszczania, ale też obciążenie złoża, skuteczność oczyszczania, czas zatrzymania, czas adaptacji, czas stabilnej pracy biofiltru, reakcję złoża na zmiany obciążenia, szybkość readaptacji po przerwach

w pracy (warunki głodowe), stopień nawilżenia złoża i inne. Wiele publikowanych prac nie podejmuje jednak niektórych z tych aspektów. Potrzebne są więc dalsze badania, aby wyjść poza skalę badań laboratoryjnych, która dotyczy zdecydowanej większości publikowanych doniesień na ten temat.

### Wykorzystanie grzybów w oczyszczaniu ścieków

W ostatnich latach wykazano, że grzyby mogą znaleźć zastosowanie w technologiach oczyszczania ścieków. Zarówno użycie żywych komórek grzybów, jak i preparatów enzymatycznych pozwala na skuteczne usuwanie ze ścieków ksenobiotyków, w tym takich, które charakteryzują się wysoką toksycznością i słabą podatnością na biodegradację. Biotransformacja zanieczyszczeń prowadzona przez żywe komórki grzybów nie wymaga izolacji i oczyszczania odpowiednich enzymów, w związku z czym jest mniej kosztowna i bardziej ekonomicznie uzasadniona. Ścieki powstające podczas działalności przemysłowej charakteryzują się bardzo zróżnicowanym składem chemicznym. W przemyśle spożywczym powstają ścieki o dużym ładunku zanieczyszczeń w postaci substancji rozpuszczonych, koloidów lub zawiesin. Spośród związków organicznych najczęściej występują białka i tłuszcze, a nieorganicznych – chlorki, azotany, siarczany i fosforany. Zanieczyszczenia obecne w tego rodzaju ściekach są zwykle podatne na rozkład mikrobiologiczny. Przykładem mogą być wysoko obciążone ścieki z zakładów przetwórstwa ziemniaków i produkcji skrobi. Badania wykazały przydatność grzybów strzępkowych należących do rodzajów *Aspergillus* i *Rhizopus* do ich biodegradacji, a wytworzona biomasa charakteryzująca się dużą zawartością białka może być wykorzystywana jako pasza [98, 99]. Do produkcji białka paszowego przydatne okazały się także grzyby z rodzaju *Pleurotus* hodowane na ściekach browarniczych [100].

Ścieki z przemysłu rolno-spożywczego, obok składników łatwo ulegających biodegradacji, mogą zawierać także substancje toksyczne. Na przykład podczas produkcji oliwy, skrobi, cukru, bawełny czy papieru powstają ścieki charakteryzujące się wysoką wartością ChZT, zawartością fenolu i jego pochodnych, często cyjanów, chlorowanych lignin czy związków barwnych. Za ciemnobrązowe zabarwienie ścieków odpowiadają najczęściej pochodne lignin. Obecność związków fenolowych jest szczególnie niepożądana ze względu na ich bakteriobójcze działanie mogące przyczynić się do obniżenia sprawności oczyszczania ścieków osadem czynnym. Zastosowanie wstępnego oczyszczania tego typu ścieków z użyciem grzybów, dzięki produkowanym przez nie enzymom, zapewnia obniżenie zawartości fenoli i odbarwienie ścieków nawet do 100%, a zmniejszenie wartości BZT<sub>5</sub> może wynosić do 85,4% [101]. Wstępna obróbka ścieków z wykorzystaniem grzybów wymaga niekiedy wprowadzenia kosubstratów i substancji biogennych niezbędnych do ich rozwoju i dopiero wówczas uzyskuje się zmniejszenie wartości ChZT, zawartości fenoli i odbarwienie ścieków [102]. Wzbogacenie podłoża hodowlanego w kosubstrat stanowiący źródło węgla oraz związki mineralne (MgSO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) zwiększyło do 69% skuteczność eliminacji przez *A. niger* zabarwienia buraczanego wywaru melasowego [103]. Podobnych zabiegów, a więc wprowadzenia kosubstratu, wymagają także ścieki powstające w przemyśle celulozowo-papierniczym. Umożliwia to ich odbarwienie oraz detoksykację przez takie gatunki grzybów, jak *Ceriporiopsis*

*subvermispora*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Rhizopus oryzae* i *Rhizomucor pusillus* [104]. Stwierdzono, że fermentacja ścieków z celulozowni (metoda Kraft) poddanych wstępnej obróbce grzybem *P. chrysosporium* jest bardziej skuteczna w porównaniu do ścieków surowych i przyczynia się do zwiększenia stopnia degradacji związków o wysokiej masie cząsteczkowej nawet do 79% [98]. Wykazano ponadto, że wstępna obróbka ścieków z produkcji oliwy (olive-mill wastewater – OMW) z wykorzystaniem grzybów wpływa nawet na kilkukrotny wzrost ilości wytwarzanego biogazu [105, 106].

Grzyby mogą być także z powodzeniem wykorzystywane do stymulacji procesu oczyszczania ścieków komunalnych. Efektem ich aktywności jest spadek zawartości w ściekach fosforanów, azotu amonowego, azotu ogólnego oraz zmniejszenie wartości ChZT. Zastosowanie bioaugmentacji ścieków komunalnych grzybami *Aspergillus niger* przyczyniło się do prawie dwukrotnie większej niż w próbie kontrolnej wydajności usuwania zanieczyszczeń (ChZT) i zawartości białek [99]. Badania wykazały, że poszczególne gatunki grzybów różnią się zdolnością do usuwania zanieczyszczeń. W pracy [107] uzyskano najlepsze wyniki stosując *Trichothecium roseum* do usuwania fosforanów (97,5%), a *Epicoccum nigrum*, *Geotrichum candidum* i *Trichoderma* sp. do usuwania azotu amonowego (84%), azotu ogólnego (86,8%) i zmniejszenia wartości ChZT (72,3%). Autorzy pracy [108] wykazali, że do odbarwiania ścieków pochodzących z obróbki osadów ściekowych najlepiej nadają się grzyby białej zgnilizny, takie jak *Corioliolus hirsutus* (70%).

W ściekach powstających między innymi w przemyśle chemicznym, farmaceutycznym, fotograficznym, kosmetycznym i tekstylnym występują takie zanieczyszczenia, jak pestycydy, metale śladowe, pigmenty i barwniki, zawierające często substancje słabo biodegradowalne, a w niektórych przypadkach nawet toksyczne. Substancje te – z uwagi na toksyczność w stosunku do mikroorganizmów – są słabo i powoli usuwane ze ścieków. Proces biodegradacji tego typu zanieczyszczeń może w niektórych przypadkach prowadzić do ich przekształcania w związki bardziej toksyczne, a nawet mutagenne [109]. Poważne zagrożenie ekologiczne stanowi także formaldehyd obecny w ściekach powstających w takich przemyślach, jak petrochemiczny, farb, lakierów i klejów, tworzyw sztucznych, meblarski i papierniczy. Z uwagi na dużą toksyczność zanieczyszczeń klasyczne metody biologicznego oczyszczania ścieków są w tym przypadku mało skuteczne. Dobre rezultaty uzyskano stosując do oczyszczania ścieków z przemysłu meblarskiego systemy oparte na specyficznych biocenozach wzbogaconych w kulturę drożdży metlotroficznych *Hansenula polymorpha* D14 [110].

Od wielu lat prowadzone są badania nad wykorzystaniem grzybów w technologiach odbarwiania ścieków zawierających naturalne i syntetyczne barwniki, trudne do wyeliminowania ze ścieków tradycyjnymi metodami. W procesach tych wykorzystuje się właściwości sorpcyjne grzybów, ich zdolność do bioakumulacji barwników oraz wytwarzania enzymów biorących udział w biodegradacji zanieczyszczeń. W obecności żywej biomasy zachodzi zarówno biosorpcja, jak i biodegradacja barwników [111]. Biosorpcja jest zwykle pierwszym etapem procesu odbarwiania, po którym dochodzi do biodegradacji barwników przez żywe komórki grzybów. Zastosowanie martwej biomasy umożliwia jedynie fizyczną biosorpcję tych związków na powierzchni komórek. Związany w ten sposób

barwnik może być odzyskany na drodze desorpcji. Wykazano, że pojemność sorpcyjna martwej biomasy grzybów często jest większa niż żywej. Jednakże zarówno w przypadku żywej, jak i martwej biomasy zdolność do biosorpcji zależy głównie od budowy chemicznej barwników. Zaletą tego procesu jest duża szybkość wiązania danego barwnika oraz brak konieczności wspomaganie przez wprowadzanie substancji odżywczych [112].

Grzyby należące do rodzajów *Candida*, *Pichia*, *Rhodotorula* i *Saccharomyces* potrafią eliminować barwniki na drodze bioakumulacji. Proces ten polega na początkowym wiązaniu barwnika do ściany komórkowej, a następnie transporcie i akumulacji w obrębie cytoplazmy. Przebieg bioakumulacji i jej skuteczność zależą od zawartości węgla i azotu w podłożu hodowlanym, a także od ilości barwnika oraz obecności innych substancji działających toksycznie na mikroorganizmy [112, 113]. Barwniki mogą być także eliminowane przez lakazy na skutek reakcji sprzęgania, której efektem jest polimeryzacja barwników do nierozpuszczalnych agregatów tworzących zawiesiny łatwe do eliminacji z wody na drodze filtracji [8].

Grzyby można stosować do biodegradacji pojedynczych barwników a także ich mieszanin [114, 115]. Spośród grzybów wyższych uzdolnienia do biodegradacji wykazują grzyby białej i brunatnej zgnilizny drewna należące do takich gatunków, jak *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus*, *Funalia trogii*, *Phlebia tremellosa*, *Irpex lacteus*, *Dichomitus squalens* czy *Bjerkandera adusta*. Decyduje o nich aktywność ligninolityczna grzybów związana z biosyntezą zewnątrzkomórkowych oksydoreduktaz obejmujących peroksydazy i lakazę [116, 117]. Enzymy te charakteryzują się niską specyficznością substratową, co umożliwia rozkład syntetycznych barwników strukturalnie pokrewnych ligninie, takich jak barwniki azowe i antrachinonowe [117]. Ustalono, że zdolności odbarwiającej mają także niektóre grzyby należące do *Ascomycota* i *Deuteromycota* (*Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Mucor* sp., *Fusarium* sp.) [112, 118].

Skuteczność odbarwiania ścieków zależy od zastosowanego szczepu grzyba, rodzaju i ilości barwnika, pH roztworu, stopnia zasolenia, zawartości jonów metali, a także obecności innych zanieczyszczeń [119]. Zastosowanie techniki biologii molekularnej do oceny zdolności ligninolitycznych wyselekcjonowanych grzybów przyspiesza znacznie dobór odpowiednich szczepów. Praktyczne wykorzystanie grzybów w procesie oczyszczania ścieków zawierających barwniki może być bardziej skuteczne dzięki technice immobilizacji. Unieruchomienie biomasy grzybów na odpowiednim nośniku uniemożliwia migrację komórek, a także pozwala na prowadzenie procesu oczyszczania ścieków w systemie ciągłym. Dobre efekty daje przygotowanie inkulum na takich nośnikach, jak gąbka poliuretanowa czy siatka wykonana z żyłki polipropylenowej [111], natomiast aktywność enzymatyczna grzybów poddanych immobilizacji na nośnikach ze stali nierdzewnej, włókna poliamidowego czy włókna szklanego jest znacznie niższa [49]. Do czynników fizyczno-chemicznych decydujących o powodzeniu procesu odbarwiania ścieków należy również zaliczyć stopień natlenienia hodowli oraz obecność niezbędnych substancji biogennych, a także obecność substancji toksycznych hamujących wzrost grzybów. W hodowlach laboratoryjnych wykazano, że wstrząsanie pozwala na zwiększenie powierzchni kontaktu barwnika z biomasą i lepsze natlenienie [67].

Poważne zagrożenie środowiska oraz zdrowia człowieka i zwierząt stanowią farmaceutyki, które trafiają w coraz większych ilościach wraz ze ściekami do wód i gleby. Mianem farmaceutyków określa się substancje biologicznie czynne stosowane w weterynarii i medycynie (pharmaceuticals and personal care products – PPCPs). Do tej grupy należą także suplementy i odżywki oraz kosmetyki. Niebezpieczeństwo związane z ich obecnością w środowisku wynika głównie z toksycznych właściwości niektórych farmaceutyków względnie ich metabolitów. Substancje te mogą ponadto zaburzać równowagę hormonalną w organizmach człowieka i zwierząt oraz być przyczyną szerzenia się lekooporności wśród bakterii. Dotychczas opracowane metody usuwania tego typu zanieczyszczeń ze środowiska są niedoskonałe i kosztowne. Dlatego poszukuje się nowych rozwiązań, do których należą metody biologiczne oparte na wykorzystaniu właściwości grzybów. Wykazano, że enzymy wydzielane przez grzyby białej zgnilizny są w stanie degradować wiele farmaceutyków, takich jak leki antydepresyjne (citalopram, fluoksetyna), antybiotyki (sulfametoksazol, sulfapirydyna, sulfatiazol, sulfametazyna, sulfametoksazol, tetracyklina, oksytetracyklina), przeciwzapalne (diklofenak, ibuprofen, naproksen), psychotropowe (karbamazepina), uspokajające (diazepam),  $\beta$ -bloker (propranolol, atenolol), estrogeny (estron (E1)),  $17\beta$ -estradiol (E2),  $17\alpha$ -etynyloestradiol (EE2)) czy kontrasty jodowe (jodowane benzoesy, iopromek). Niektóre gatunki grzybów białej zgnilizny (*Bjerkandera adusta* CCBAS 930) mogą prowadzić odbarwianie ścieków zawierających daunomycynę, pochodną antrachinonu, półprodukt w produkcji leków przeciwnowotworowych [120]. Stopień usunięcia leków był bardzo zróżnicowany i uzależniony od budowy chemicznej farmaceutyku, szczepu grzyba i warunków prowadzenia procesu degradacji [121, 122].

Kolejnym ciekawym sposobem wykorzystania grzybów może być eliminacja metali śladowych ze ścieków pochodzących z przemysłów metalurgicznego, hutniczego czy też ze spalarni odpadów. Rozpuszczalne formy niektórych pierwiastków śladowych są niebezpieczne dla zdrowia człowieka i środowiska, ponieważ ulegają akumulacji w tkankach organizmów żywych przyczyniając się do ich dysfunkcji. Należy zatem je wyeliminować ze środowiska zanim dojdzie do ich nagromadzenia w łańcuchu troficznym. Usuwanie metali śladowych za pomocą metod fizyczno-chemicznych jest kosztowne. Dlatego wykorzystanie biomasy – w tym także grzybów – stanowi alternatywę dla tych metod. Zdolności sorpcyjne biomasy grzybów wynikają z obecności w ścianie komórkowej tych organizmów szeregu makrocząsteczek zawierających ugrupowania (grupy funkcyjne) stanowiące miejsca wiązania jonów metali. Należą do nich grupy karboksylowe i aminowe, a także fosforany, lipidy, melaniny oraz siarczany. Mechanizm usuwania metali z roztworu polega na adsorpcji, chemisorpcji (wymiana jonowa), kompleksowaniu, chelatacji, adsorpcji fizycznej i wytrącaniu [99]. Na skuteczność biosorpcji metali ma wpływ szereg czynników, takich jak rodzaj metalu i jego ilość, a także rodzaj grzyba wykorzystanego w charakterze biosorbentu i jego stan fizjologiczny. Nie bez znaczenia są także czynniki środowiskowe, takie jak temperatura, pH, siła jonowa, obecność innych metali [123]. Stosując obróbkę fizyczno-chemiczną biomasy grzybów udało się niektórym badaczom wydalnie zwiększyć liczbę grup funkcyjnych, co umożliwiło uzyskanie większej szybkości i wydajności adsorpcji metali przez grzyby [124]. W komórkach saprofitycznych grzybów

radiotolerancyjnych (*Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Trichoderma viridae*) może zachodzić akumulacja pierwiastków promieniotwórczych (np.  $^{137}\text{Cs}$ ,  $^{60}\text{Co}$ ,  $^{152}\text{Eu}$ ). Grzyby mikroskopowe wykazujące pozytywny radiotropizm mogą być wykorzystane w procesie bioremediacji środowiska skażonego pierwiastkami promieniotwórczymi, a także jako biowskaźniki stopnia skażenia promieniotwórczego [125, 126].

Obiecujące wyniki uzyskano analizując możliwość zastosowania grzybów do oczyszczania wód skażonych mikrobiologicznie. W procesie tym wykorzystuje się interakcje zachodzące między grzybami i bakteriami. Zdaniem wielu badaczy bakterie mogą w istotny sposób wpływać na rozwój grzybni oraz tworzenie owocników. Stwierdzono także, że niektóre grzyby należące do podstawczaków mogą wykorzystywać martwe komórki bakterii w charakterze substratu pokarmowego, a nawet pasożytować na żywych komórkach. Zjawisko to leży u podstaw procesu mykofiltracji służącego do usuwania z wód bakterii niebezpiecznych dla zdrowia. Proces oczyszczania odbywa się w układzie filtracji wody przez przepuszczalne biofiltry wypełnione grzybnią wyhodowaną na wiórach drzewnych (rys. 3) lub przez maty sporządzone ze słomy zasiedlonej przez grzyby. Badania przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych w latach 2007–2008 wykazały eliminację 20÷38% bakterii grupy coli typu fekalnego z zanieczyszczonych wód. Skuteczność oczyszczania zależała w dużej mierze od zastosowanego gatunku grzyba oraz składu jakościowego mikroorganizmów zanieczyszczających wodę. Nie zanotowano jednakże negatywnego wpływu warunków środowiskowych (np. skrajnych temperatur) na przebieg procesu, co oznacza możliwość wdrożenia mykofiltracji jako alternatywnej, proekologicznej metody oczyszczania wód słodkich i słonych, ścieków deszczowych oraz spływów powierzchniowych z terenów uprawianych rolniczo [53].



Rys. 3. Wióry bukowe zasiedlone przez *Trametes versicolor*  
Fig. 3. Beech shavings colonized by *Trametes versicolor*

Mykofiltracja może także znaleźć zastosowanie do eliminacji naturalnych substancji organicznych (NOM) z wody, w skład których wchodzi aminokwasy, kwasy tłuszczowe, fenole, sterole, sacharydy, węglowodory oraz naturalne polimery, takie jak polipeptydy, tłuszcze, polisacharydy oraz substancje humusowe. Zanieczyszczenia te nie stanowią wprawdzie bezpośredniego zagrożenia, lecz

wpływają na intensywność barwy wody i mogą być prekursorami związków chloroorganicznych powstających w procesie dezynfekcji oraz przyczyniać się do namnażania drobnoustrojów w wodzie przeznaczonej do spożycia. Zdaniem niektórych autorów [127, 128] grzyby białej zgnilizny (*Trametes* sp., *Polyporus* sp., *Bjerkandera* sp., *Phanerochaete* sp.) mogą skutecznie usuwać makroaniony organiczne zawarte w koncentracie powstającym podczas oczyszczania wody z wykorzystaniem żywicy MIEX®. Z ich udziałem zachodzi ponadto degradacja związków wielkocząsteczkowych do produktów podlegających z powodzeniem biodegradacji przez inne mikroorganizmy.

### Perspektywy mykoremediacji

Grzyby są organizmami wyjątkowo interesującymi z punktu widzenia inżynierii środowiska, ponieważ pełnią niezwykle złożone funkcje w każdym ekosystemie, wpływając istotnie na żyzność siedlisk. Ważną rolę w naturalnej regulacji liczebności populacji roślin odgrywają pasożytnicze gatunki grzybów, a gatunki symbiotyczne są niezbędne do prawidłowego rozwoju i wzrostu wielu gatunków roślin. Ich różnorodność taksonomiczna, genetyczna i funkcjonalna jest ogromna i stanowi obszerne źródło organizmów użytecznych w procesach bioremediacji. Notowane ostatnio zainteresowanie aktywnością degradacyjną tych mikroorganizmów wynika z rozwoju nauk biologicznych, a w szczególności biologii molekularnej umożliwiającej precyzyjne rozpoznanie i identyfikację aktywnych populacji mikroorganizmów. Rozwój diagnostyki molekularnej, w połączeniu z tradycyjnymi metodami mikrobiologicznymi, pozwala na znaczne skrócenie czasu identyfikacji mikroorganizmów. Wyjaśnienie mechanizmu biosyntezy zewnątrzkomórkowych enzymów możliwe jest dzięki wykorzystaniu technik biologii molekularnej. Duże możliwości daje również perspektywa wykorzystania mutagenyzy do zwiększenia ich zdolności degradacyjnych wobec zanieczyszczeń niepodatnych na rozkład mikrobiologiczny.

Znajomość mechanizmów degradacyjnych ułatwia wybór najskuteczniejszych szczepów grzybów i umożliwia zwiększenie wydajności procesu rozkładu zanieczyszczeń. Z kolei optymalizacja składu pożywek hodowlanych oraz warunków hodowli jest bardzo ważna w aspekcie uzyskania dobrej wydajności degradacji zanieczyszczeń. Ponadto poznanie organizacji genów umożliwia stymulację biosyntezy najważniejszych enzymów odpowiadających za poszczególne etapy procesu biodegradacji.

Interesujące wydaje się także użycie preparatów opartych na enzymach wytwarzanych przez grzyby. Bioremediacja enzymatyczna jest nowym narzędziem biotechnologii. Jej celem jest wykorzystanie możliwości katalitycznych enzymów do eliminacji zanieczyszczeń ze środowiska. Przygotowane preparaty w postaci kompleksów enzymatycznych lub pojedynczych biokatalizatorów mogą być wykorzystane do modyfikacji struktury chemicznej związków stanowiących dane zanieczyszczenie, do zmniejszenia mineralizacji związków organicznych [129, 130]. W porównaniu z obecnie stosowanymi metodami remediacji mikrobiologicznej, zastosowanie preparatów enzymatycznych daje możliwość rozkładu szerszej gamy zanieczyszczeń trudno biodegradowalnych. Ponadto grzyby charakteryzują się dużą tolerancją na zmiany ich ilości. Wadą dotąd wykorzystywanych enzymów bakteryjnych jest ich mała

stabilność w formie wyizolowanej oraz konieczność stosowania odpowiednich kosubstratów [131]. Dlatego znacznie bardziej korzystne – także z ekonomicznego punktu widzenia – wydaje się stosowanie enzymów grzybowych, do których należą enzymy pozyskiwane z grzybów białej zgnilizny drewna związane z rozkładem lignin (peroksydaza ligninowa, peroksydaza manganowa, lakaza) [129, 130].

Skuteczność działania preparatów enzymatycznych w praktyce uzależniona jest od czynników środowiskowych, takich jak pH oraz temperatura czy obecność związków toksycznych. Z tego też względu dużo łatwiej stosować remediację enzymatyczną w warunkach *ex situ*, gdzie jest możliwość zapewnienia optymalnych warunków ich działania [132]. Oddziaływanie warunków środowiskowych na enzymy można ograniczyć stosując ich stabilizację na drodze immobilizacji. Badania krajowe [133] wykazały, że aktywność lakazy zależy od rodzaju nośnika wykorzystanego do jej unieruchomienia. Najlepszym nośnikiem tego enzymu okazała się krzemionka z aminowymi grupami funkcyjnymi aktywowana glutaraldehydem.

Zaletą stosowania enzymów jest ich szybka eliminacja po zakończeniu procesu oczyszczania metodami *in situ*, gdyż podlegają strawieniu przez mikroorganizmy autochtoniczne. Główną wadą tej metody są wysokie nadal koszty produkcji preparatów enzymatycznych oraz brak możliwości samoreplikowania się enzymów, co sprawia, że stale muszą być dostarczane nowe partie enzymów aż do całkowitego wyeliminowania zanieczyszczenia. Zdaniem autorów pracy [134] najlepsze efekty można uzyskać przez połączenie bioremediacji mikrobiologicznej z bioremediacją enzymatyczną, co pozwoli na obniżenie kosztów oczyszczania. Ponadto pozyskiwanie enzymów z drobnoustrojów żyjących w warunkach ekstremalnych może znacznie zwiększyć możliwości stosowania bioremediacji enzymatycznej. Dobre perspektywy ma także stosowanie kompleksów enzymatycznych do wspomagania bioremediacji środowisk zanieczyszczonych jednocześnie wieloma związkami organicznymi. Użycie enzymów, w porównaniu do zastosowania żywych komórek grzybów, znacznie podraża koszty wdrożenia tej technologii oczyszczania. Duże nadzieje wiąże się z postępem w dziedzinie technik unieruchamiania enzymów zwiększających nie tylko ich wydajność i aktywność, ale także umożliwiających ich wielokrotne użycie. Jedną z nich jest kapsułkowanie enzymów degradujących ksenobiotyki za pomocą nanocząstek (1÷100 nm), co poprawia stabilność enzymów i obniża ich wrażliwość na działanie czynników zewnętrznych. Warto zwrócić uwagę na fakt, że grzyby – obok bakterii i roślin – są zdolne do biosyntezy nanocząstek metali. Tak zwana zielona synteza nanocząstek metali (MNPS) daje możliwość otrzymywania cząstek o unikalnych właściwościach i jest procesem przyjaznym środowisku. Nanocząstki znajdują zastosowanie w wielu obszarach życia i działalności człowieka, w tym także w ochronie środowiska. W literaturze szeroko omawiane są badania wskazujące na potencjalne możliwości wykorzystania nanocząstek w remediacji wód i gruntów [135]. Zdaniem wielu badaczy stymulują one procesy degradacji zanieczyszczeń organicznych, a także zwiększają biodostępność substancji biogennych w procesie fitoremediacji. Obserwowano pozytywny wpływ nanocząstek na kiełkowanie nasion, wzrost siewek roślin, wzrost zawartości chlorofilu, jak również poziomu kwasów nukleinowych i stosunku długości pędów do korzeni [136]. Obawy budzi jednak toksyczne oddziaływanie nanocząstek metali na ludzi i inne organizmy żywe [137].

Większość procesów technologicznych z udziałem grzybów jest na etapie eksperymentów laboratoryjnych. Praktyczne wdrożenie uzyskanych wyników w pełnej skali technicznej napotyka na szereg trudności, których konsekwencją jest konieczność prowadzenia dalszych badań i optymalizacji procesu biodegradacji zanieczyszczeń. Niezwykle ważne okazuje się także poznanie cech ekofizjologicznych grzybów. Warunki środowiskowe oraz interakcje zachodzące między organizmami autochtonicznymi a tymi zawartymi w szczepionkach decydują bowiem o możliwości rozwoju w skażonym środowisku aktywnych degradacyjnie szczepów i skuteczności prowadzonego przez nie procesu bioremediacji. Pierwsze sygnały dotyczące wdrożenia technologii opartych na aktywności degradacyjnej grzybów białej zgnilizny pochodzą z Niemiec (Gebruder Huber Bodenrecycling) i Stanów Zjednoczonych (Earth-Fax Development Corporation) [55]. Zastosowanie grzybów w technologiach remediacji środowiska jest niezwykle obiecujące, jednak wymaga prowadzenia dalszych badań laboratoryjnych i eksperymentów polowych.

## LITERATURA

1. B. T. HASSETT, R. GRADINGER: Chytrids dominate arctic marine fungal communities. *Environmental Microbiology* 2016, Vol. 18, No. 6, pp. 2001–2009.
2. R. D. FINLAY: Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: With special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of Experimental Botany* 2008, Vol. 59, No. 5, pp. 1115–1126.
3. C. R. WOESE, O. KANDLER, M. L. WHEELIS: Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 1990, Vol. 87, pp. 4576–4579.
4. L. V. CARRERA: Two *ex situ* fungal technologies to treat contaminated soil. Academic dissertation, University of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry, Helsinki 2010.
5. C. J. RHODES: Mycoremediation (bioremediation with fungi) – growing mushrooms to clean the earth. *Chemical Speciation & Bioavailability* 2014, Vol. 26, No. 3, pp. 196–198.
6. R. THENMOZHI, K. ARUMUGAM, A. NAGASATHYA, N. THAJUDDIN, A. PENEERSELVAM: Studies on mycoremediation of used engine oil contaminated soil samples. *Advanced in Applied Science Research* 2013, Vol. 4, No. 2, pp. 110–118.
7. M. TIEN, T. K. KIRK: Lignin-degrading enzyme from Hymenomycete *Phanerochaete chrysosporium* Burds. *Science* 1983, Vol. 21, No. 4611, pp. 661–663.
8. K. WLIZŁO, J. POLAK, A. JAROSZ-WILKOŁAZKA: Lakaza – niebieski enzym dla kolorowej biotechnologii. W: K. KROPIWIEC, M. SZALA [red.]: *Biotechnologia w analizie, ochronie środowiska, medycynie i przemyśle*, Fundacja TYGIEL, Lublin 2015, ss. 178–196.
9. C. A. REDDY, Z. MATHEW: Bioremediation potential of white rot fungi. In: G. M. GADD [Ed.]: *Fungi in Bioremediation*, Cambridge University Press, Cambridge 2001.
10. F. X. PRENAFETA-BOLDU, R. SUMMERBELL, G. SYBREN de HOOG: Fungi growing on aromatic hydrocarbons: Biotechnology's unexpected encounter with biohazard? *FEMS Microbiology Reviews* 2006, Vol. 30, No. 1, pp. 109–30.
11. C. HOU, G. MA: Performance experiment on aerobic biodegradation of benzene, toluene and xylene by fungus *Trichoderma viride* Pers. ex Fr. *Huanjing Gongcheng* 2007, Vol. 25, No. 3, pp. 45–47.
12. G. VIGUERAS, K. SHIRAI, D. MARTINS, T. T. FRANCO, L. F. FLEURI, S. REVAH: Toluene gas phase biofiltration by *Paecilomyces lilacinus* and isolation and identification of a hydrophobic protein produced thereof. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2008, Vol. 80, No. 1, pp. 147–154.

13. J. NOWAK: Bioremediacja gleb z ropy i jej produktów. *Biotechnologia* 2008, nr 1, ss. 97–108.
14. D. GHOSAL, S. GHOSH, T.K. DUTTA, Y. AHN: Current state of knowledge in microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. *Frontiers in Microbiology* 2016, Vol. 7, Art. 1369.
15. P. SANYAL, P. SAMADDAR, A.K. PAUL: Degradation of poly(3-hydroxybutyrate) and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) by some soil *Aspergillus* spp. *Journal Polymers and the Environment* 2006, Vol. 14, No. 3, pp. 257–263.
16. M. MATSUBARA, J.M. LYNCH, F.A.A.M. de LEIJ: A simple screening procedure for selecting fungi with potential for use in the bioremediation of contaminated land. *Enzyme Microbial Technology* 2006, Vol. 39, No. 7, pp. 1365–1372.
17. S. RODRIGUES-COUTO: Industrial and environmental application of white-rot fungi. *Mycosphere* 2017, Vol. 8, No. 3, pp. 456–466.
18. A. HUSAINI, H.A. ROSLAN, K.S.Y. HII, C.H. ANG: Biodegradation of aliphatic hydrocarbon by indigenous fungi isolated from used motor oil contaminated sites. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2008, Vol. 24, No. 12, pp. 2789–2797.
19. T. HADIBARATA, S. TACHIBANA, K. ITOH: Biodegradation of n-eicosane by fungi screened from nature. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 2007, Vol. 10, No. 11, pp. 1804–1810.
20. J. ZABIELSKA-MATEJUK, K. CZACZYK: Biodegradation of new quaternary ammonium compounds in treated wood by mould fungi. *Wood Science and Technology* 2006, Vol. 40, pp. 461–475.
21. N. TISO, J. MIKASAUŠKAITE, M. STANKEVICIUS, V. SNIESKIENE, A. STANKEVICIENE, C. POLCARO, E. GALLI, E. DONATI, M. ZACCHINI, D. LEVIŠAUSKAS, T. TORKIUS, O. RAGAŽINSKIENĖ, T. DREVINSKAS, V. BARTKUVIENĖ, O. KORNYŠOVA, V. KAŠKONIENĖ, A. MARUŠKA: Isolation and identification of fungi tolerant to polycyclic aromatic hydrocarbons and coal tar from different habitats in Lithuania. *Toxicological and Environmental Chemistry* 2015, Vol. 98, No. 1, pp. 77–89.
22. G. CHENG, P. LI: Phytoremediation and microbial remediation of petroleum contaminated soil. *Chinese Journal of Environmental Engineering* 2007, Vol. 7, No. 6, pp. 91–96.
23. S. LI, F. LI, Z. ZHANG, Y. LUO, S. YANG, B. WEI: In-situ remediation of microorganisms in frozen and thawed petroleum-contaminated soil from Liaohe Oil Field, Liaoning Province. *Journal of Liaoning Technical University* 2008, Vol. 27, No. 4, pp. 599–601.
24. S.Y. KASUMOVA, I. BABAEVA: Several physiological and biochemical properties of naphthalen petroleum fungi-destroyers. *Biologiya Elmlari* 2007, Vol. 5–6, pp. 123–128.
25. S.Y. KASUMOVA: Culturing micromycetes on the medium with naphthalen petroleum. *Biologiya Elmlari* 2005, Vol. 3–4, pp. 154–160.
26. Y.-Q. LI, H.-F. LIU, Z.-L. TIAN, L.-H. ZHU, Y.-H. WU, H.-Q. TANG: Diesel pollution biodegradation: Synergetic effect of *Mycobacterium* and filamentous fungi. *Biomedical and Environmental Science* 2008, Vol. 27, No. 3, pp. 181–187.
27. M. ROBAK, T. BORUCZKOWSKI, W. DROŹDŹ, Z. LAZAR, M. BARANOWSKA, D. PRZĄDO, M. STEININGER: Zastosowanie drożdży *Yarrowia lipolytica* do bioremediacji gruntu zanieczyszczonego olejem kreozytowym (Application of the yeasts *Yarrowia lipolytica* for in-situ bioremediation of soil contaminated with creosote oil – a case study). *Ochrona Środowiska* 2011, vol. 33, nr 2, ss. 27–33.
28. T. FERREIRA, D. AZEVEDO, M.A. COELHO, M.H. ROCHA-LEÃO: The crude oil degrading potential of *Yarrowia lipolytica*. *New Biotechnology* 2009, Vol. 25, pp. S80–S81.
29. O. RUBILAR, G. FEIJOO, M.C. DIEZ, T.A. LU-CHAU, M.T. MOREIRA, J.M. LEMA: Biodegradation of pentachlorophenol in soil slurry cultures by *Bjerkandera adusta* and *Anthracoxyllum discolor*. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 2007, Vol. 46, No. 21, pp. 6744–6751.
30. B. ZENG, D.L. NING, H. WANG: Preliminary study on biodegradation of pentachlorophenol by white-rot fungus. *Huanjing Huaxue (Environmental Chemistry)* 2008, Vol. 27, No. 2, pp. 181–185.
31. C.I. FORD, M. WALTER, G.L. NORTHCOTT, H.J. DI, K.C. CAMERON, T. TROWER: Fungal inoculum properties: Extracellular enzyme expression and pentachlorophenol removal by New Zealand *Trametes* species in contaminated field soils. *Journal Environmental Quality* 2007, Vol. 36, No. 6, pp. 1749–1759.
32. R. SZEWCZYK, J. DLUGOŃSKI: Mikrobiologiczny rozkład pentachlorofenolu. *Biotechnologia* 2007, nr 1(76), ss. 121–134.
33. E. MARCO-URREA, X. GABARRELL, M. SARRA, G. CAMINAL, T. VICENT, C.A. REDDY: Novel aerobic perchloroethylene degradation by the white-rot fungus *Trametes versicolor*. *Environmental Science & Technology* 2006, Vol. 40, No. 24, pp. 7796–7802.
34. E. MARCO-URREA, G. CAMINAL, X. GABARRELL, T. VICENT, C.A. REDDY: Aerobic degradation/mineralization of trichloroethylene and perchloroethylene by white-rot fungi. Proceedings of the 9<sup>th</sup> International In Situ and On-Site Bioremediation Symposium, Baltimore (Maryland, USA) 2007, pp. H44/1–H44/6.
35. J.C. QUINTERO, T.A. LU-CHAU, M.T. MOREIRA, G. FEIJOO, J.M. LEMA: Bioremediation of HCH present in soil by the white-rot fungus *Bjerkandera adusta* in a slurry batch bioreactor. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2007, Vol. 60, No. 4, pp. 319–326.
36. I. KAMEI, S. SONOKI, K. HARAGUCHI, R. KONDO: Fungal bioconversion of toxic polychlorinated biphenyls by white-rot fungus, *Phlebia brevispora*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2006, Vol. 73, No. 4, pp. 932–940.
37. I. KAMEI, R. KOGURA, R. KONDO: Metabolism of 4,4'-dichlorobiphenyl by white-rot fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Phanerochaete* sp. MZ142. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2006, Vol. 72, No. 3, pp. 566–575.
38. I. KAMEI, R. KONDO: Biotransformation of dichloro-, trichloro-, and tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin by the white-rot fungus *Phlebia lindneri*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2005, Vol. 68, No. 4, pp. 560–566.
39. M.C. ROMERO, E. HAMMER, R. HANSCHKE, A.M. ARAMBARRI, F. SCHAUER: Biotransformation of biphenyl by the filamentous fungus *Talaromyces helicus*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2005, Vol. 27, No. 2, pp. 101–106.
40. M. MONRROY, J. FREER, J. BAEZA, J. RODRIGUEZ: Degradation of tribromophenol by wood-rot fungi and Hamilton system. *Electronic Journal of Biotechnology* 2006, Vol. 9, No. 3, pp. 253–257.
41. T.S. BHALERAO, P.R. PURANIK: Biodegradation of organochlorine pesticide, endosulfan, by a fungal soil isolate, *Aspergillus niger*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2007, Vol. 59, No. 4, pp. 315–321.
42. V. NAGPAL, M.C. SRINIVASAN, K.M. PAKNIKAR: Biodegradation of  $\gamma$ -hexachlorocyclohexane (Lindane) by a non-white rot fungus *Conidiobolus* 03-1-56 isolated from litter. *Indian Journal of Microbiology* 2008, Vol. 48, No. 1, pp. 134–141.
43. S.K.M. HOSSAIN, N. ANANTHARAMAN: Studies on aerobic biodegradation of DDT using *Phanerochaete chrysosporium*. *Indian Journal of Environmental Protection* 2005, Vol. 25, No. 5, pp. 454–457.
44. A.S. PURNOMO, I. KAMEI, R. KONDO: Degradation of 1,1,1-trichloro-2,2-bis (4-chlorophenyl) ethane (DDT) by brown-rot fungi. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2008, Vol. 105, No. 6, pp. 614–621.
45. C.O. MARTINEZ, C.M. MAGANHOTTO de SOUZA SILVA, E.F. FAY, R.B. ABAKERLI, A. de HOLANDA NUNES MAIA, L.R. DURRANT: The effects of moisture and temperature on the degradation of sulfentrazone. *Geoderma* 2008, Vol. 147, No. 1–2, pp. 56–62.

46. A.A. ROMEH: Adsorption and biodegradation of the herbicide fluometuron in liquid media. *Journal of Environmental Research* 2006, Vol. 7, pp. 29–47.
47. I. KAMEI, R. KONDO: Simultaneous degradation of commercially produced CNP herbicide and of contaminated dioxin by treatment using the white-rot fungus *Phlebia brevispora*. *Chemosphere* 2006, Vol. 65, No. 7, pp. 1221–1227.
48. M. SŁABA, M.A. PIĄTEK, J. DŁUGOŃSKI: Degradacja alachloru przez mikroskopowy grzyb strzępkowy *Paecilomyces marquandii* w warunkach niedoboru tlenu i zróżnicowanego zasolenia. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych* 2011, vol. 48, ss. 104–111.
49. D. GAO, L. DU, J. YANG, W.M. WU, H. LIANG: A critical review on the application of white rot fungus to environmental pollution control. *Critical Reviews in Biotechnology* 2010, Vol. 30, pp. 70–77.
50. A.M. ZIGANSHIN, R. GERLACH, T. BORCH, A.V. NAUMOV, R.P. NAUMOVA: Production of eight different hydride complexes and nitrite release from 2,4,6-trinitrotoluene by *Yarrowia lipolytica*. *Applied and Environmental Microbiology* 2007, Vol. 73, pp. 7898–7905.
51. C.E. CERNIGLIA, J.J. PERRY: Crude oil degradation by microorganisms isolated from marine environment. *Journal of Basic Microbiology* 1973, Vol. 13, No. 4, pp. 299–306.
52. W. PRZYSTAŚ, E. ZABŁOCKA-GODLEWSKA: Screening basidiomycetes fungi possible to use in decolorization of RBBR dye. *Archives of Waste Management and Environmental Protection* 2016, Vol. 18, No. 4, pp. 1–8.
53. A.W. TAYLOR, P.E. STAMETS: Implementing Fungal Cultivation in biofiltration Systems – The Past, Present, and Future of Mycofiltration. *USDA Forest Service Proceeding* 2014, RMRS-P-72.
54. B.C. OKEKE, A. PATERSON, J.E. SMITH, I.A. WATSON-CRAIK: Comparative biotransformation of pentachlorophenol in soils by solid substrate cultures of *Lentinula edodes*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 1997, Vol. 48, pp. 211–214.
55. H. SINGH: Mycoremediation: Fungal Bioremediation. John Wiley & Sons, Inc., New Jersey 2006.
56. L. LAUNEN, L. PINTO, C. WIEBE, E. KIEHLMAN, M. MOORE: The oxidation of pyrene and benzo[a]pyrene by nonbasidiomycete soil fungi. *Canadian Journal of Microbiology* 1995, Vol. 41, pp. 477–488.
57. A. ANASTASI, V. TIGINI, G.C. VARESE: The bioremediation potential of different ecophysiological groups of fungi. In: E.M. GOLTAPPEH, Y.R. DANESH, A. VARMA [Eds.]: *Fungi as Bioremediators*, Soil Biology 32, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 2013, pp. 29–49.
58. N. MAGAN, S. FRAGOIRO, C. BASTOS: Environmental factors and bioremediation of xenobiotics using white rot fungi. *Mycobiology* 2010, Vol. 38, No. 4, pp. 238–248.
59. F. ANASONYE, E. WINQUIST, M. RASANEN, J. KONTRÖ, K. BJORKLOF, G. VASILYEVA, K. S. JORGENSEN, K.T. STEFFEN, M. TUOMELA, Bioremediation of TNT contaminated soil with fungi under laboratory and pilot scale conditions. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2015, Vol. 105, pp. 7–12.
60. M. GASECKA, K. DRZEWIECKA, J. STACHOWIAK, M. SIWULSKI, P. GOLINSKI, K. SOBIERALSKI, I. GOLAK: Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by spent mushroom substrates of *Agaricus bisporus* and *Lentinula edodes*. *Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus* 2012, Vol. 11, No. 4, pp. 39–46.
61. C. WANG, Y. DONG, W. SHI, H. XU: Application of spent mushroom (*Lentinula edodes*) substrate and acclimated sewage sludge on the bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon polluted soil. *RSC Advances* 2016, Vol. 6, No. 43, pp. 37274–37285.
62. M. SUPREETH, N.S. RAJU: Biotransformation of chlorpyrifos and endosulfan by bacteria and fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2017, Vol. 101, No. 15, pp. 5961–5971.
63. S. MASAPHY, Y. HENIS, D. LEVANON: Manganese-enhanced biotransformation of atrazine by the white rot fungus *Pleurotus pulmonarius* and its correlation with oxidation activity. *Applied and Environmental Microbiology* 1996, Vol. 62, pp. 3587–3593.
64. K. TURNAU, A. JURKIEWICZ, B. GRZYBOWSKA: Rola mikoryzy w bioremediacji terenów zanieczyszczonych. *Kosmos* 2002, vol. 51, nr 2, ss. 185–194.
65. A. GAŁĄZKA, K. GAWARYJALEK: Glomalina – glikoproteina glebowa produkowana przez grzyby mykoryzy arbuskularnej. *Postępy Mikrobiologii* 2015, t. 54, ss. 331–34.
66. A. MAŁACHOWSKA-JUTSZ: Mikoryzacja roślin a efektywność remediacji gruntów zanieczyszczonych węglowodarami. *Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej* 2008, nr 1782.
67. K. MIKSCH, G. CEMA, E. FELIS, A. SOCHACKI: Nowoczesne techniki i technologie inżynierii środowiska. *Rocznik Ochrona Środowiska* 2015, vol. 15, ss. 833–857.
68. S. REVAH, A. VERGARA-FERNANDES, S. HERNANDES: Fungal biofiltration for the elimination of gaseous pollutants from air. In: A.L. LEITÃO [Ed.]: *Mycofactories*, Bentham Science Publishers Ltd., 2011, pp. 109–120.
69. J. MAESTRE, X. GAMISANS, D. GABRIEL, J. LAFUENTE: Fungal biofilters for toluene biofiltration: Evaluation of the performance with four packing materials under different operating conditions. *Chemosphere* 2007, Vol. 67, pp. 684–692.
70. M.C. VEIGA, C. KENNES: Parameters affecting performance and modeling of biofilters treating alkylbenzene-polluted air. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2001, Vol. 55, pp. 254–258.
71. E. ESTEVES, M.C. VEIGA, C. KENNES: Fungal biodegradation of toluene in gas-phase biofilters. In: W. VERSTRAETE [Ed.]: *European Symposium on Environmental Biotechnology*, Taylor & Francis Group, London 2004, pp. 337–340.
72. E.I. GARCIA-PENA, S. HERNANDEZ, E. FAVELA-TORRES, R. AURIA, S. REVAH: Toluene biofiltration by the fungus *Scedosporium apiospermum* TBI. *Biotechnology and Bioengineering* 2001, Vol. 76, pp. 61–69.
73. C. KENNES, M.C. VEIGA: Fungal biocatalysts in the biofiltration of VOC-polluted air. *Journal of Biotechnology* 2004, Vol. 113, pp. 305–319.
74. A. VERGARA-FERNANDES, B. van HAAREN, S. REVAH: Phase partition of gaseous hexane and surface hydrophobicity of *Fusarium solani* when grown in liquid and solid media with hexanol and hexane. *Biotechnology Letters* 2006, Vol. 28, pp. 2011–2017.
75. A. KENNES, M.C. VEIGA: *Bioreactors for Waste Gas Treatment*. Kluwer, Dordrecht 2001.
76. J.S. DEVINNY, M.A. DESHUSSES, T.S. WEBSTER: *Biofiltration for Air Pollution Control*. CRC Press, Boca Raton 1999.
77. A. VERGARA-FERNANDES, F. SCOTT, P. MORENO-CASAS, L. DIAZ-ROBLES, R. MUNOZ: Elucidating the key role of the fungal mycelium on the biodegradation of *n*-pentane as a model hydrophobic VOC. *Chemosphere* 2016, Vol. 157, pp. 89–96.
78. Y.M. JIN, L. GUO, M.C. VEIGA, C. KENNES: Fungal biofiltration of  $\alpha$ -pinene: Effects of temperature, relative humidity, and transient loads. *Biotechnology and Bioengineering* 2007, Vol. 96, pp. 433–443.
79. D.P. BARR, S.D. AUST: Mechanisms white rot fungi use to degrade pollutants. *Environmental Science & Technology* 1994, Vol. 28, No. 2, pp. 79A–87A.
80. A.O.J. PRADO, J.A. MENDOZA, M.C. VEIGA, C. KENNES: Optimization of nutrient supply in a downflow gas-phase biofilter packed with an inert carrier. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2002, Vol. 59, pp. 567–573.
81. J.W. van GROENESTIJN, W.N.M. van HEININGEN, N.J.R. KRAAKMAN: Biofilters based on the action of fungi. *Water Science and Technology* 2001, Vol. 44, No. 9, pp. 227–232.



82. J.O. SAUCEDO-LUCERO, G. QUIJANO, S. ARRIAGA, R. MUNOZ: Hexane abatement and spore emission control in a fungal biofilter-photoreactor hybrid unit. *Journal of Hazardous Materials* 2014, Vol. 276, pp. 287–294.
83. S. DETCHANAMURTHY, P.A. GOSTOMSKI: Metabolic uncouplers in environmental research: a critical review. *Reviews in Chemical Engineering* 2012, Vol. 28, pp. 309–317.
84. Z. SHAREEFDEEN, B. HERNER, A. SINGH: Biotechnology for Odor Air Pollution Control. Springer, Berlin-Heidelberg-New York 2005.
85. B. BINA, R. DEGHANZADEH, H. POURMOGHADAS, A. KALANTARY, A. TORKIAN: Removal of styrene from waste gas stream using a biofilter. *Journal of Research in Medical Sciences* 2004, Vol. 6, pp. 280–288.
86. Y.M. JIN, M.C. VEIGA, C. KENNES: Performance optimization of the fungal biodegradation of  $\alpha$ -pinene in gas-phase biofilter. *Process Biochemistry* 2006, Vol. 41, No. 8, pp. 1722–1728.
87. Y.S. OH, S.C. CHOI, Y.K. KIM: Degradation of gaseous BTX by biofiltration with *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Microbiology* 1998, Vol. 36, pp. 34–38.
88. H. JORIO, Y. JIN, H. ELMRINI, J. NIKIEMA, R. BRZEZINSKI, M. HEITZ: Treatment of VOCs in biofilters inoculated with fungi and microbial consortium. *Environmental Technology* 2009, Vol. 30, No. 5, pp. 477–485.
89. C. WANG, J.Y. XI, H.Y. HU, X.H. WEN: Biodegradation of gaseous chlorobenzene by white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Biomedical and Environmental Sciences* 2008, Vol. 21, pp. 474–478.
90. Y.S. OH, R. BARTHA: Design and performance of a trickling air biofilter for chlorobenzene and o-dichlorobenzene vapors. *Applied and Environmental Microbiology* 1994, Vol. 60, No. 8, pp. 2717–2722.
91. C. KENNES, J. LEMA: Simultaneous biodegradation of *p*-cresol and phenol by the basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Journal of Industrial Microbiology* 1994, Vol. 13, No. 5, pp. 311–314.
92. A. BRAUN-LULLEMANN, A. MAJCHERCZYK, N. TEBBE, A. HUTTERMANN: Bioluftfilter auf der Basis von Weißfäulepilzen. In: A.J. DRAGT, J. van HAM [Eds.]: Biotechniques for Air Pollution Abatement and Odour Control Policies, Elsevier, Amsterdam 1992, pp. 91–95.
93. B.T. MOHAMMAD, E.R. RENE, M.C. VEIGA, C. KENNES: Performance of a thermophilic gas-phase biofilter treating high BTEX loads under steady- and transient-state operation. *International Biodeterioration and Biodegradation* 2017, Vol. 119, pp. 289–298.
94. S. ARIAGA, M.A. SERRANO, A.P. BARBA de la ROSA: Methanol vapor biofiltration coupled with continuous production of recombinant endochitinase Ech42 by *Pichia pastoris*. *Process Biochemistry* 2012, Vol. 47, No. 12, pp. 2311–2316.
95. K. SKOŁUCKA-SZARY, P. RIESKE, S. PIASKOWSKI: Praktyczne aspekty zastosowania chityny i jej pochodnych w leczeniu raka. *Chemik* 2016, t. 70, nr 2, ss. 89–98.
96. K. BARBUSIŃSKI, S. SALWICZEK, A. PASZEWSKA: The use of chitosan for removing selected pollutants from water and wastewater – short review. *Architecture Civil Engineering Environment* 2016, Vol. 9, No. 2, pp. 107–115.
97. R. PALOMO-BRIONESSET, A.P.B. de la ROSA, S. ARRIAGA: Effect of operational parameters on methanol biofiltration coupled with Endochitinase 42 production. *Biochemical Engineering Journal* 2015, Vol. 100, pp. 9–15.
98. J. NOWAK, B. GÓRNA, W. NOWAK: Wykorzystanie grzybów strzępkowych do biodegradacji ścieków z przemysłu ziemniaczanego z jednoczesną produkcją biomasy pleśniewej na cele paszowe. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2013, nr 6(91), ss. 191–203.
99. L. COULIBALY, G. GOURENE, N.S. AGATHOS: Utilization of fungi for biotreatment of raw wastewaters. *African Journal of Biotechnology* 2003, Vol. 2, No. 12, pp. 620–630.
100. M. HULTBERG H. BODIN: Fungi-based treatment of brewery wastewater – biomass production and nutrient reduction. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2017, Vol. 101, pp. 4791–4798.
101. S. SAYADI, N. ALLOUCHE, M. JAOUA, F. ALOUI: Detrimental effects of high molecular-mass polyphenols on olive mill wastewater biotreatment. *Process Biochemistry* 2000, Vol. 35, No. 7, pp. 725–735.
102. N. ASSAS, L. MAROUANI, M. HAMDI: Scale down and optimization of olive mill wastewater decolorization by *Geotrichum candidum*. *Bioprocess Engineering* 2000, Vol. 22, No. 6, pp. 503–507.
103. M.P. MIRANDA, G.G. BENITO, N. san CRISTOBAL, C.H. NIETO: Color elimination from molasses wastewater by *Aspergillus niger*. *Bioresource Technology* 1996, Vol. 57, No. 3, pp. 229–235.
104. B. van DRIESSEL, L. CHRISTOV: Adsorption of colour from a bleach plant effluent using biomass and cell wall fractions from *Rhizomucor pusillus*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 2002, Vol. 77, pp. 155–158.
105. J.A. MORILLO, B. ANTIZAR-LADISLAO, M. MONTEOLIVA-SANCHEZ *et al.*: Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2009, Vol. 82, pp. 25–39.
106. A. GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, F. CUADROS: Effect of aerobic pretreatment on anaerobic digestion of olive mill wastewater (OMWW): An ecoefficient treatment. *Food and Bioprocess Processing* 2015, Vol. 95, pp. 339–345.
107. N.C. THANH, R.E. SIMAR: Biological treatment of domestic sewage by fungi. *Mycopathologia et Mycologia Applicata* 1973, Vol. 51, pp. 223–232.
108. M. FUJITA, A. ERA, M. IKE, S. SODA, N. MIYATA, T. HIRAO: Decolorization of heat-treatment liquor of waste sludge by a bioreactor using polyurethane foam-immobilized white rot fungi equipped with an ultramembrane filtration unit. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 2000, Vol. 90, pp. 387–394.
109. F.M.D. CHEQUER, D.J. DORTA, D. PALMA de OLIVEIRA: Azo dyes and their metabolites: Does the discharge of the azo dye into water bodies represent human and ecological risks? In: P.J. HAUSER [Ed.]: Advances in Treating Textile Effluent, InTech 2011.
110. P. KASZYCKI, K. CZECHOWSKA, P. PETRYSZAK, H. KOŁOCZEK: Konstrukcja efektywnych biocenzów degradujących formaldehyd i jego pochodne w uciążliwych ściekach przemysłowych. *Acta Scientiarum Polonorum. Biotechnologia* 2003, nr 2(1–2), ss. 91–103.
111. J. POLAK, A. JAROSZ-WILKOŁAZKA: Unieruchomiona biomasa grzybowa jako biokatalizator w syntezie barwników tekstylnych. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna* 2012, t. 51, nr 4, ss. 174–175.
112. A. GÓRALCZYK, A. JASIŃSKA, J. DŁUGOŃSKI: Mikroorganizmy w usuwaniu toksycznych barwników przemysłowych. *Postępy Mikrobiologii* 2016, t. 55, z. 4, ss. 424–432.
113. A. JASIŃSKA, S. RÓŻALSKA, P. BERNAT, K. PARASZKIEWICZ, J. DŁUGOŃSKI: Malachite green decolorization by non-basidiomycete filamentous fungi of *Penicillium pinophilum* and *Myrothecium roridum*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 2012, Vol. 73, pp. 33–40.
114. W. PRZYSTAŚ, E. ZABŁOCKA-GODLEWSKA, E. GRABIŃSKA-SOTA: Effectiveness of dyes removal by mixed fungal cultures and toxicity of their metabolites. *Water, Air and Soil Pollution* 2013, Vol. 224, pp. 1534–1543.
115. T. KORNIŁOWICZ-KOWALSKA, K. RYBCZYŃSKA: Decolorization of Remazol Brilliant Blue (RBBR) and Poly R-478 dyes by *Bjerkandera adusta* CCBAS 930. *Central European Journal of Biology* 2012, Vol. 7, pp. 948–956.
116. K. RYBCZYŃSKA, T. KORNIŁOWICZ-KOWALSKA: Evaluation of dye compounds' decolorization capacity of selected *H. haematococca* and *T. harzianum* strains by principal component analysis (PCA). *Water, Air, and Soil Pollution* 2015, 226: 228.

117. A. JAROSZ-WILKOŁAZKA, J. KOCHMAŃSKA-RDEST, E. MAKARCZYK, W. WARDAS, A. LEONOWICZ: Fungi and their ability to decolorize azo and anthraquinone dyes. *Enzyme and Microbial Technology* 2002, Vol. 30, pp. 566–572.
118. A. ANASTASI, V. PRIGIONE, L. CASIERI, G. C. VARESE: Decolorisation of model and industrial dyes by mitosporic fungi in different culture conditions. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 2009, Vol. 25, pp. 1383–1374.
119. M. SOLECKA, S. LEDAKOWICZ: Biologiczne procesy oczyszczania barwnych ścieków włókienniczych. *Biotechnologia* 2005, nr 2(69), ss. 103–124.
120. T. KORNILÓWICZ-KOWALSKA, M. WRZOSEK, G. GINALSKA, H. IGLIK, R. BANCERZ: Identification and application of a new fungal strain *Bjerkandera adusta* R59 in decolorization of daunomycin wastes. *Enzyme and Microbial Technology* 2006, Vol. 38, pp. 583–590.
121. U. GUZIK, K. HUPERT-KOCUREK, A. MAZUR, D. WOJCIESZYŃSKA: Biotransformacja wybranych niesteroidowych leków przeciwzapalnych w środowisku. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna* 2013, t. XLVI, nr 1, ss. 105–112.
122. C. CRUZ-MORATO, C. E. RODRIGUEZ-RODRIGUES, E. MARCO-URREA, M. G. SARRA, G. CAMINAL, T. VICENT, A. JELIĆ, M. J. GARCIA-GALAN, S. PEREZ, M. S. DIAZ-CRUZ, M. PETROVIC, D. BARCELO: Biodegradation of pharmaceuticals by fungi and metabolites identification. In: T. VICENT, G. CAMINAL, E. ELJARRAT, D. BARCELO [Eds.]: *Emerging Organic Contaminants in Sludges. Analysis, Fate and Biological Treatment. The handbook of Environmental Chemistry*, Springer Heidelberg, New York-Dordrecht-London 2013.
123. P. BALDRIAN: Interactions of heavy metals with white-rot fungi. *Enzyme and Microbial Technology* 2003, Vol. 32, No. 1, pp. 78–91.
124. G. Y. YAN, T. VIRARAGHAVAN: Effect of pretreatment on the biosorption of heavy metals on *Mucor rouxii*. *Water SA* 2000, Vol. 26, pp. 119–23.
125. N. N. ZHDANOVA, T. I. REDCHITS, V. A. ZHELTON-ZHISKY, L. V. SADOVNIKOV, M. H. GERZABEK, S. OLSSON, F. STREBL, K. MÜCK: Accumulation of radionuclides from radioactive substrata by some micromycetes. *Journal of Environmental Radioactivity* 2003, Vol. 67, pp. 119–130.
126. D. M. MATUSIAK: Drobnoustroje radiotolerancyjne – charakterystyka wybranych gatunków oraz ich potencjalne zastosowanie. *Postępy Mikrobiologii* 2016, t. 55, z. 2, ss. 182–194.
127. S. JEYABHARATHI, R. STEPHAN: Drinking water treatment of natural organic wastes matter with HPSEC profile using white rot fungus. *International Journal of Science and Research (IJSR)* 2017, Vol. 6, No. 9, pp. 2319–7064.
128. S. SOLARSKA: Application of white-rot fungi for the biodegradation of natural organic matter from potable water. PhD thesis, RMIT University, Melbourne 2009.
129. M. ALCADE, M. FERRER, F. J. PLOU, A. BALLESTEROS: Environmental biocatalysis: from remediation with enzymes to novel green processes. *Trends in Biotechnology* 2006, Vol. 24, pp. 281–287.
130. D. H. PIEPER, V. A. MARTINS dos SANTOS, P. N. GOLYSHIN: Genomic and mechanistic insight into the biodegradation of organic pollutants. *Current Opinion in Biotechnology* 2004, Vol. 15, pp. 215–224.
131. A. GULLOTTO, S. BRANCIAMORE, I. DUCHI, M. F. P. CANO, D. RANDAZZO, S. TILLI, S. GIARDINA, G. SANNIA, A. SCOZZAFAVA, F. BRIGANTI: Combined action of a bacterial monooxygenase and a fungal laccase for the biodegradation of mono- and poly-aromatic hydrocarbons. *Bioresource Technology* 2008, Vol. 99, pp. 8353–8359.
132. T. P. RUGGABER, J. W. TALLEY: Enhancing bioremediation with enzymatic processes: A review. *Practice Periodical of Hazardous, Toxic, And Radioactive Waste Management ASCE* 2006, Vol. 10, No. 2, pp. 73–85.
133. K. WLIZŁO, J. POLAK, M. GRAŻ, J. BRYJAK, A. JAROSZ-WILKOŁAZKA: Zastosowanie unieruchomionej lakazy grzybowej w biotransformacji związków aromatycznych. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna* 2015, t. 54, ss. 211–212.
134. O. MARCHUT-MIKOŁAJCZYK, E. KWAPISZ, T. ANT-CZAK: Enzymatyczna bioremediacja ksenobiotyków. *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2013, vol. 16, nr 1, ss. 1–15.
135. K. K. YADAV, J. K. SINGH, N. GUPTA, V. KUMAR: A review of nanobioremediation technologies for environmental cleanup: A novel biological approach. *Journal of Materials and Environmental Sciences* 2017, Vol. 8, pp. 740–757.
136. P. SUGANYA, P. U. MAHALINGAM: Green synthesis and characterization of zinc sulphide nanoparticles from macro fungi *Pleurotus florida*. *Journal of Applied Chemistry* 2017, Vol. 10, No. 7, pp. 37–42.
137. M. ŁEBKOWSKA, M. ZAŁĘSKA-RADZIWIŁŁ: Występowanie i ekotoksyczność nanocząstek. *Ochrona Środowiska* 2011, vol. 33, nr 4, ss. 23–26.
138. W. ADAMIAK, M. SZKLARCZYK: Possibilities of using ligninolytic fungi for biological waste gas treatment. *Environment Protection Engineering* 2001, Vol. 27, pp. 45–58.
139. R. LEBRERO, J. C. LOPEZ, I. LEHTINEN, R. PEREZ, G. QUIJANO, R. MUNOZ: Exploring the potential of fungi for methane abatement: Performance evaluation of a fungal-bacterial biofilter. *Chemosphere* 2016, Vol. 144, pp. 97–106.
140. E. R. RENE, M. C. VEIGA, C. KENNES: Biodegradation of gas-phase styrene using the fungus *Sporothrix variegatus*: Impact of pollutant load and transient operation. *Chemosphere* 2010, Vol. 79, No. 2, pp. 221–227.

**Kolwzan, B., Adamiak, W., Dziubek, A.M. Possible Applications of Fungi in Purification and Environmental Remediation Technologies. *Ochrona Środowiska* 2018, Vol. 40, No. 1, pp. 3–20.**

**Abstract:** Fungi possess many features useful to environmental engineering, which gives them an advantage over bacteria. Their ability to decompose many complex organic compounds, including xenobiotics, such as difficult to biodegrade polycyclic aromatic compounds, polychlorinated hydrocarbons, dioxins, pesticides and explosive residues has been documented. Parasitic fungi species play an important role as natural regulators of plant population size, while symbiotic species are essential to proper development and growth of many plant species. The enormous taxonomic, genetic and functional diversity of fungi constitutes a rich source of organisms useful in bioremediation process. The literature review demonstrated that various types of fungi could be employed in remediation of soil-water environment as well as in treatment of wastewater and waste gases. However, most often current studies on fungal applications are carried out on a laboratory scale.

At the current stage, as demonstrated by semi-technical and field-scale experiments, practical use of fungi in environmental engineering systems is not economically justified. Maintenance of dominance of fungal strains with high degradation activity in open purification systems in competition with indigenous microorganisms remains an open problem. Great promises are held out for simultaneous use of fungal and bacterial environments in treatment systems, as their biodegradation effectiveness may complement each other. Improvement of strains by the *in vitro* methods and screening tests to isolate strains with broader metabolic abilities are necessary in order to take full advantage of the specific benefits of fungi. Similarly, use of immobilized fungal enzymes in bioremediation offers good prospects for the future. Development of molecular techniques will allow for reduction of persistently high costs of enzyme production, purification and immobilization on appropriate carriers.

**Keywords:** Environment purification, wastewater, soil, gases, toxic pollution, biodegradation, bioremediation, mycoremediation, biofiltration, decolorization, white rot fungi (ligninolytic), biofilm, xenobiotics, bioaccumulation, biosorption.