



قابلية التكسير الحيوي للبولي أثيلين واطئ الكثافة بوساطة الفطريات
المعزولة من ترب بعض مكبات النفايات في محافظة البصرة واختبار
نشاطها الانزيمي

رسالة مقدمة إلى

كلية العلوم/ جامعة البصرة

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في علم البيئة (التقانات البيئية)

تقدمت بها

مروة صبيح خلف الطائي

بكالوريوس علم البيئة

2017

بإشراف

أ.د. مصطفى عبد الوهاب نجم



**Ability of low density polyethylene biodegradation
by fungi isolated from some landfill soils in Basrsh
province and testing their enzymatic activity**

**A thesis submitted to
The Council of College of Science, University of Basrah,
In:**

**A partial fulfillment of the requirements for the Degree of Master of
Science in Ecology**

(Ecotechnology)

By

Marwah Sabeeh Khalaf Altaee

B.Sc. Ecology, University of Basrah, 2017

Supervised by:

Prof. Dr. Mustafa A. Najim

April /2021

Ramadan/1442

الخلاصة

تركزت الدراسة الحالية على دراسة قابلية بعض الفطريات على التكسير الحيوي للبولي الاثيلين الواطئ الكثافة (LDPE) مع دراسة بعض العوامل المثلى المؤثرة على عملية التكسير، حيث جمعت 8 عينات من التربة الملوثة بالمواد البلاستيكية من مكبات النفايات في محافظة البصرة، عُزل منها 13 نوعاً فطرياً تعود الى 9 اجناس، جاءت الفطريات الممثلة للحالة اللاجنسية anamorphic fungi في المرتبة الاولى وبنسبة ظهور 69.23% وكان الجنس *Aspergillus* الاكثر ظهوراً وبنسبة ظهور 100% إذ ظهر في جميع العينات وبعدد 5 أنواع وسجل الفطر *Aspergillus niger* أعلى نسبة ظهور بلغت 100% إذ ظهر في جميع العينات، جاءت الفطريات اللاقحية Zygomycota بالمرتبة الثانية بنسبة ظهور 23.07% وجاء بعدها في المرتبة الثالثة الفطريات الكيسية Ascomycota بنسبة ظهور بلغت 7.69%.

لاحقاً أُجري اختبار تأكيدي لمعرفة قابلية الفطريات على التكسير الحيوي لمركب LDPE حيث نمت الفطريات المعزولة على وسط معدني حاوي على مركب LDPE فقط كمادة مغذية للتأكد من قدرتها على النمو واستهلاك هذا المركب وكانت الفطريات *Aspergillus flavus*

، *A. niger*، *Penicillium sp.*، *Rhizopus sp.* و *Stachybotrys sp.* هي الافضل في النمو إذ استطاعت هذه الأنواع أن تنمو على الوسط بصورة عالية، أما بقية الأنواع فقد تراوحت قابليتها على النمو من الضعيف كما في الفطر *Absidia sp.* الى المتوسط كما في الفطر *A. versicolor*.

في المرحلة اللاحقة اختبرت الفعالية الانزيمية للأنواع الفطرية المعزولة لمعرفة الأنواع ذات الإفراز الانزيمي الأفضل لثلاثة انزيمات هي المنغيز بيروكسيديز، اللكنيز والسليليز، أظهرت النتائج أن 11 نوعاً فطرياً تمكن من إفراز انزيم المنغيز بيروكسيديز، أما انزيم اللكنيز فقد استطاعت 9 أنواع فطرية من إنتاجه، ثم جاء بالمرتبة الثالثة انزيم السليليز إذ استطاعت 8 انواع فطرية من إفرازه. أظهرت الفطريات *Aspergillus flavus*، *A. niger*، *A. fumigatus*

Stachybotrys sp. و *Penicillium sp. A. terreus* قابلية على إفراز الأنواع الثلاثة من الإنزيمات أما بقية الأنواع فتراوحت قابليتها من إفراز نوع واحد من الإنزيمات كما في الفطرين *Alternaria alternata* و *A. versicolor* الى قابليتها على إفراز نوعين من الإنزيمات كما في الفطرين *Absidia sp.* و *Chaetomium bostrychodes*.

اختير الفطرين *Aspergillus niger* و *Stachybotrys sp.* بسبب قدرتهم العالية على النمو وبكثافة على وسط LDPE اثناء الاختبار التأكدي ومقدرتهم الانزيمية الفعالة اذ تمكن الفطرين من انتاج الانزيمات الثلاثة المدروسة وبكفاءة عالية وتم دراسة قابلية الفطرين على التكسير الحيوي لمركب LDPE بصورة مختبرية ودراسة تأثير كل من نوع الوسط ، درجة الحرارة، الاس الهيدروجيني ، المصدر المغذي ومدة الحضان على قابليتهم على النمو وبالتالي قابليتهم على التكسير الحيوي لمركب LDPE . بينت النتائج إن الوسط السائل ودرجة حرارة 30م° والاس الهيدروجيني 6.5 والمصدر المغذي الكلوكوز وفترة الحضان 30 يوماً كانت هي الافضل من حيث تأثيرها على الوزن الجاف للفطرين وإعطائهم أفضل نمو ، وكان الفطر *A. niger* هو الافضل في إنتاج الغزل الفطري بالمقارنة مع الفطر *Stachybotrys sp.*

بعدها طبقت العوامل المثلى للنمو على الفطرين لمعرفة تأثيرهم على قابلية التكسير الحيوي لمركب LDPE في الاوساط السائلة حيث جرى متابعة عملية التكسير وزيادة الوزن الجاف للفطرين كل 15 يوماً ولمدة 90 يوماً في حالتين مع اضافة الكلوكوز ومن دون اضافة الكلوكوز . بينت النتائج عند تطبيق الظروف المثلى مع وجود المصدر المغذي الكلوكوز أن نسبة الفقد لمركب LDPE المسجلة من قبل الفطر *Aspergillus niger* بلغت 26.128 % بعد 90 يوماً من الحضان ورافق ذلك زيادة في الوزن الجاف إذ ارتفع الى 0.4113 غم بعد 90 يوماً من الحضان مقارنة مع الوزن الجاف لعينة السيطرة كان 0.0371 غم،

أما الفطر *Stachybotrys sp.* لوحظ ايضا ان نسبة الفقد بدأت تزداد ولكن كانت أقل من الفطر *A. niger* حيث بلغت 9.210% بعد 90 يوماً من الحضان ورافق ذلك زيادة في الوزن الجاف للفطر *Stachybotrys sp.* لكن كانت بنسبة اقل من الفطر *A. niger* حيث بلغ 0.1951 غم بعد 90 يوماً من الحضان مقارنة مع الوزن الجاف لعينة السيطرة كان 0.0142 غم .

وبينت النتائج عند تطبيق الظروف المثلى ومن دون وجود المصدر المغذي الكلوكوز أن نسبة الفقد المسجلة بواسطة الفطر *A. niger* بلغت 7.894% بعد 90 يوماً من الحضان ورافق ذلك زيادة في الوزن الجاف للغزل الفطري للفطر *A. niger* حيث بلغ 0.2541 غم بعد 90 يوماً من الحضان مقارنة مع الوزن الجاف لعينة السيطرة كان 0.0139 غم، أما الفطر *Stachybotrys* sp. لوحظ ايضاً ان نسبة الفقد بدأت تزداد لكن بنسبة اقل من الفطر *A. niger* إذ بلغت 6.015% بعد 90 يوماً من الحضان ورافق ذلك زيادة في الوزن الجاف لكن بنسبة أقل من الفطر *A. niger* إذ سجل الوزن الجاف للغزل الفطري 0.0542 غم بعد 90 يوماً من الحضان مقارنة مع الوزن الجاف لعينة السيطرة كان 0.0131 غم .

بينت النتائج ان نسبة الفقد لمركب LDPE والوزن الجاف للغزل الفطري للفطرين *Aspergillus niger* و *Stachybotrys* sp. من دون وجود الكلوكوز كانت اقل من مع وجود الكلوكوز ويعود السبب الى ان وجود الكلوكوز قد حفز النمو الفطري وزيادة النشاط الانزيمي، واطهر الفطر *A. niger* مقدرة اكبر في التكسير الحيوي لمركب LDPE من *Stachybotrys* sp. حتى من دون وجود الكلوكوز بسبب قوة الفطر والفعالية الانزيمية العالية.

Summary

The current study focused on studying the ability of some fungi on biodegradation of Low Density Polyethylene (LDPE) in addition to study of some optimal factors affecting the biodegradation process. Eight soil samples were contaminated with plastic materials have been collected from landfill sites in Basra governorate, thirteen fungal species belonging to nine genera have been isolated. The anamorphic fungi were the predominant, with 69.23% percentage, the genus *Aspergillus* was appeared 100% percentage of appearance, it was appeared in all samples with five species, the species *Aspergillus niger* has recorded the highest percentage of appearance with 100% as it appears in all samples. Followed by the Zygomycota in the second place with an occurrence rate of 23.07%, followed by the Ascomycota in the third place with an percentage of occurrence 7.69%.

After that, a confirmatory test was conducted to find out the ability of the fungi to biodegradation the LDPE compound, as the isolated fungi were grown on a mineral medium containing only LDPE as a nutrient source to ensure their ability to grow and consume the compound. The fungi *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *Penicillium* sp., *Rhizopous* sp. and *Stachybotrys* sp. were the best in growing as these species were able to grow on the medium in a high rate . As for the rest of the species, their ability to grow ranged from weak as in the fungus *Absidia* sp. to medium as in *A. versicolor*.

In the next stage, the enzymatic activity of the isolated species was tested to find out the species with the best enzymatic secretion for three enzymes, which are manganese peroxidase, lignase and cellulase. The results have showed that 11 fungal species were able to secrete the manganese peroxidase enzyme, Regarding the lignase enzyme, nine

fungal species were able to produce it. The cellulase enzyme came in third place, as 8 fungal species were able to secrete it. The fungi *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Penicillium* sp. and *Stachybotrys* sp. have showed the ability to secrete the three types of enzymes. the ability of the rest of the species ranged from secrete one type of enzyme, as in *Alternaria alternata* and *Aspergillus versicolor* to its ability to secrete two types of enzymes as in *Absidia* sp. and *Chaetomium bostrychodes* .

A. niger and *Stachybotrys* sp. were chosen because of their high ability to grow densely on LDPE medium during a confirmatory test and their effective enzymatic capacity. The two fungi were able to produce the three studied enzymes with high efficiency to study their ability to biodegradation LDPE compound in the laboratory and to study the effect of the medium type, temperature, pH, the nutrient source and the incubation period on their grow with ability and thus their ability to biodegradation LDPE compound. The results have showed that the liquid medium, temperature of 30° C, pH 6.5, the nutrient source, glucose, and the incubation period 30days were the best in terms of the dry weight of the fungi and give them the best growth. Moreover, the fungus *A. niger* was the best in the production of the mycelium compared to *Stachybotrys* sp.

Then, the optimal growth factors were applied to the fungi to find out their effect on the biodegradation ability for the LDPE compound in liquid media, where the biodegradation process and the increase in the dry weight of the fungi were every 15 days for a period of 90 days in two cases with the addition of glucose and without the addition of glucose. The results were shown that , with the presence of the nutrient source glucose, the percentage of loss for LDPE compound which recorded by

fungus *A. niger* was 26.128% after 90 days of incubation, and this was accompanied by an increase in the dry weight, which increased to 0.4113 g after 90 days of incubation compared to the dry weight of the control sample which was 0.0371. As for *Stachybotrys* sp. it was also observed that the percentage of loss started to increase, but it was less than that of *A. niger*, as it reached to 9.210% after 90 days of incubation, this was accompanied by an increase in the dry weight of *Stachybotrys* sp. However, it was less than *A. niger*, as it reached to 0.1951 g after 90 days of incubation, compared with the dry weight of the control sample, which was 0.0142 g.

The results have showed that when applying the optimal conditions but without the presence of the nutrient source glucose, the percentage of loss for LDPE compound which recorded by the fungus *A. niger* was 7.894% after 90 days of incubation, this was accompanied by an increase in the dry weight of *A. niger*, which increased to 0.2541g after 90 days of incubation compared to the dry weight of the control sample which was 0.0139 g. For *Stachybotrys* sp., it was also observed that the percentage of loss began to increase, but by a smaller percentage than the fungus *A. niger*, as it reached to 6.015% after 90 days of incubation. Also, this was accompanied by an increase in dry weight but by a lesser percentage than *A. niger*, where the dry weight of the fungus was recorded to 0.0542g after 90 days of incubation compared to the dry weight of the control sample which was 0.0131g.

The results have showed that the percentage of loss for LDPE compound and dry weight of fungus *A. niger* and *Stachybotrys* sp. without the presence of the nutrient source glucose is a lesser than with the presence of the nutrient source glucose and the reason is that the glucose has stimulated fungal growth and increased the enzymatic

summary

activity. The fungi *A. niger* has showed higher ability for LDPE compound biodegradation than *Stachybotrys* sp. even without the presence of glucose because of the fungi power and high enzymatic ability.