

دور المعالجة الحيوية لأوراق الأشجار ببعض الفطريات في تحسين إنتاج الغاز الحيوي

توفيق عثمان*

(تاريخ الإيداع 2024 /5/19 – تاريخ النشر 2024 /8/4)

□ ملخص □

أجريت هذه الدراسة للتحري عن أنواع الفطريات الموجودة في زرق الدجاج (PD) Poultry Dropping ودراسة دورها في تفكيك وتحليل أوراق الأشجار (I) Leaves وتعزيز إنتاج الغاز الحيوي. تم الحصول على عزلتين فطريتين هما: *Aspergillus fumigatus* و *Mucor circinelloides*. تمت عملية التخمير اللاهوائي بخمس معاملات هي: زرق دجاج (PD)، زرق دجاج مع أوراق (PDI)، زرق دجاج مع أوراق معالجة بالفطر *M. circinelloides* (PDM)، زرق دجاج مع أوراق معالجة بالفطر *A. fumigatus* (PDA)، زرق دجاج مع أوراق معالجة بالفطرين معاً (PDMx). بينت النتائج أن أفضل مردودية للغاز الحيوي كانت في المعاملة PDmx بقيمة قدرها (5578.51) مل، إذ تفوقت على جميع معاملات التجربة بمعنوية عالية، كما تبين أن أدنى مردودية كانت في المعاملة PD بقيمة قدرها (608.06) مل. وأشارت النتائج إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملتين PDM و PDA وذلك عند مستوى معنوية (5) % . وبذلك تعد عملية المعالجة الحيوية بالفطريات من الطرق الواعدة وذات الأهمية في تفكيك المركبات العضوية وبالتالي تحسين مردودية الغاز الحيوي الناتجة. الكلمات المفتاحية: معالجة حيوية، أوراق الأشجار، *Aspergillus fumigatus*، *Mucor circinelloides*، غاز حيوي.

*دكتور - قسم الوقاية البيئية - المعهد العالي لبحوث البيئة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

Role of bioremediation of tree leaves with some fungi in enhancing biogas production

Tofek Othman*

(Received 19/5/2024. Accepted 4/8/2024)

□ABSTRACT □

This study was conducted to investigate the types of fungi which is found in Poultry Dropping (PD), then study their role in breaking down and decomposing tree leaves and enhancing biogas production. Two fungal isolates were obtained: *Mucor circinelloides* and *Aspergillus fumigatus*.

The anaerobic fermentation process was carried out in five treatments: poultry dropping (PD), poultry dropping with leaves (PDI), poultry dropping with leaves treated with *M.circinelloides* (PDm), poultry dropping with leaves treated with the fungus *A. fumigatus* (PDa), and poultry dropping with leaves treated with both fungi (PDmx).

The results showed that the best biogas yield was in PDmx treatment with a value of (5578.51) ml, as it outperformed all experimental treatments with a high significance. It was also found that the lowest yield was in PD treatment with a value of (608.06) ml. The results indicated that there were no significant differences between the two treatments, PDm and PDa, at (5)%.

Thus, bioremediation with fungi is one of the most promising and important methods in degrading organic compounds and improving the yield of the resulting biogas.

Key words: Bioremediation, Tree Leaves, *Mucor circinelloides*, *Aspergillus fumigatus*, Biogas.

* Doctor- Department of Environmental Prevention- Higher Institute for Environmental Research- Tishreen University- Lattakia- Syria.

المقدمة:

ينتج سنوياً كميات كبيرة جداً من المخلفات عن العمليات الزراعية سواء كانت نباتية كالفحم والخبث والخشب وأوراق الأشجار أو حيوانية كروث الأبقار وزرق الدجاج، ويستفاد من جزء منها كعلف للحيوانات أو في الصناعة أو الحصول على العديد من المنتجات العضوية أهمها السماد العضوي أو الغاز الحيوي أو الفحم الحيوي أو الوقود الحيوي (Goswami *et al.*, 2020)، في حين أن الجزء الأكبر يبقى في الطبيعة دون الاستفادة منه أو يتم حرقه مسبباً آثاراً سلبية للبيئة (Gupta *et al.*, 2016). ولكن العائق في ذلك أن غالبية هذه المخلفات تحتوي على مركبات صعبة التحلل والتفكك كمركب السيلولوز Cellulose، والهيميسيلولوز Hemicellulose، والمواد البكتينية Pectic Substances، وهذا ما يجعل طريقة معالجتها أصعب. وللتخلص السليم منها تم الاعتماد على طرائق متعددة للمعالجة كطريقة المعالجة الأولية والحيوية (Chaurasia *et al.*, 2019).

يشير مصطلح المعالجة الحيوية Bioremediation إلى استخدام الكائنات الحية كالبكتيريا أو الفطريات أو النباتات في تفكيك وتحطيم وتحليل المخلفات العضوية الملوثة للبيئة والتخلص منها وتحويلها إلى نواتج أخرى أقل سمية وإلى غاز (CO₂) والماء (H₂O)، ومن ثم إطلاقها إلى البيئة (Simpanen, 2016).

أما الهضم اللاهوائي (Anaerobic digestion) هو عملية حيوية تتم تحت ظروف لاهوائية يتم خلالها تحويل المادة العضوية (مخلفات الزراعة، المنزل،...) إلى مصدر للطاقة يدعى بالغاز الحيوي، إضافة إلى مخلفات غنية بالمغذيات تستخدم كأسمدة. وتتم هذه العملية من خلال مجموعة من الأحياء الدقيقة أهمها البكتيريا والفطريات (Korres *et al.*, 2013). ويعد الغاز الحيوي مصدراً نظيفاً وجيداً للطاقة حيث يمكن استثماره في مجال توليد الكهرباء والطهي وغيرها، وخاصة في ظل النقص الحاد في حوامل الطاقة (Haryanto *et al.*, 2018).

سلطت الدراسات المرجعية الضوء على استخدام البكتيريا التي تحلل المخلفات العضوية بشكل أكبر من الفطريات (المعالجة بالفطريات Mycoremediation)، إذ تعد الفطريات من الكائنات الحية الدقيقة المسؤولة في المقام الأول عن التحلل النهائي لمركبات المواد العضوية المعقدة التي تحتوي على اللجنين والسيلولوز والهيميسيلولوز والبكتين كالفحم والخبث وأوراق الأشجار (Goodell *et al.*, 2020).

أشارت الدراسات المرجعية إلى إمكانية استخدام المعالجة الحيوية بالأحياء الدقيقة في معالجة الانسكابات النفطية (Biswas *et al.*, 2022)، وفي معالجة مياه الصرف من المخلفات الطبية (Shahid *et al.*, 2021)، وكذلك في التخلص من المبيدات الزراعية (Bokade *et al.*, 2021).

تم إجراء العديد من الدراسات في مجال استخدام الفطريات في مجال التحلل الحيوي لبقايا النباتات والمحاصيل كدراسة Vasmara وآخرين (2015) الذي قام بمعالجة قش القمح بثلاثة أنواع من الفطريات المحللة للسيلولوز ثم خلطها مع روث الخنزير، فتبين أن *C. subvermispora* أعطى أكبر كمية من الغاز الحيوي بزيادة قدرها (17%) مقارنة مع عدم الإضافة.

أيضاً استخدم Szűcs وآخرين (2021) الفطريات الخيطية (filamentous fungi) لتحسين مردودية الغاز الحيوي من مخلفات زراعية مختلفة كبقايا محصول الذرة وقش القمح. وقد وجد الزيادة في

المردودية عند المعالجة الأولية بالفطريات مقارنة بعدم المعالجة بها، وكانت الإنتاجية في بقايا الذرة أكبر من مثيلتها في قش القمح.

كما أثبتت دراسة Pujati وآخرين (2023) أن معالجة تفل قصب السكر بالفطر *Aspergillus flavus* وخلطه مع روث الأبقار أدى إلى زيادة في كمية الغاز الحيوي الناتجة بمقدار 40%. وفي ذات السياق أظهرت دراسة Silva وآخرين (2024) أن المعالجة الأولية بالفطر *A. niger* لبقايا الكسافا (*Manihot esculenta*) - وهو نبات يستخلص منه السكر - ثم التخمير المشترك مع روث الأبقار، قد زادت من إنتاجية الغاز الحيوي.

مشكلة البحث:

تشكل المخلفات الزراعية كزرق الدجاج وأوراق الأشجار (Leaves) جزءاً كبيراً من الكتلة الحيوية على مستوى سوريا، ويستخدم الزرق في بلدنا كسماد عضوي بطريقة التخمير التقليدية (الهوائية) مما يؤدي لانبعاث غازات ملوثة للهواء، ويمثل التخلص منها بطريقة سليمة وفعالة من حيث التكلفة وصديقة للبيئة تحدياً كبيراً في الوقت الحالي. حيث تعد طريقة المعالجة الحيوية جيدة في معالجتها، ولكن قلة أو عدم وجود دراسات مرجعية محلية تبين إمكانية استخدام أنواع معينة من الفطريات في معالجة هذه المخلفات أظهر المشكلة الحقيقية لهذا البحث.

والسؤال المطروح هنا هل يمكن الاعتماد على الفطريات كطريقة حيوية للمساعدة في معالجة هذه المخلفات وتحسين إنتاجية الغاز الحيوي؟

أهمية البحث وأهدافه:

إن استخدام واستغلال وإعادة تدوير المخلفات الزراعية يعد وسيلة صديقة للبيئة وفعالة للتخلص من هذه المخلفات، وذلك من خلال الاعتماد على طريقة المعالجة الأولية والحيوية لأوراق الأشجار ثم إجراء عملية التخمير اللاهوائي لها مع زرق الدجاج، وهذا ما يقلل من رمي هذه المخلفات في البيئة كما يمنع من انطلاق غازات الدفيئة عند حرقها أو تخمرها بشكل عشوائي. كما أنه ينتج أيضاً سماد عضوي يمكن استخدامه في الزراعة وهذا ما يقلل من تكاليف الأسمدة المعدنية.

هدف هذا البحث إلى المعالجة الأولية والحيوية (بالفطريات) لأوراق الأشجار قبل إخضاعها لعملية التخمير اللاهوائي مع زرق الدجاج وذلك من أجل دراسة كفاءة تطلها والحصول على مردود أفضل من الغاز الحيوي.

مواد البحث وطرقه:

1 - موقع الدراسة والاعتيان:

تم الحصول على عينات زرق الدجاج من مدجنة البياض التي تقع على طريق حلب- اللاذقية وذلك خلال العام 2024، كما تم جمع أوراق الأشجار من الأنواع الموجودة في موقع المدجنة والأراضي القريبة منها. بعد ذلك تم وضع العينات في أكياس حتى الوصول إلى المختبر والحفظ في درجة (4) °م لحين إجراء التحاليل اللازمة.

2 - المخمرات اللاهوائية:

تم استخدام نموذج من المخمرات اللاهوائية المخبرية ذات الحجم (2) ليتر، حيث أن له فتحة دخول المخلفات وفتحة لخروج الغاز، وموصول إلى كيس جمع الغاز، وعلى أسطوانة مدرجة لقياس حجم الغاز، كما يحتوي على خلاط يدوي لتقليب محلول التخمر.

3 - عزل الفطريات وتحضير البيئات:

تم استخدام البيئات المتخصصة للفطريات وهي PDA (Potato Dextrose Agar) و CZA (Czapex Dox Agar) حيث تم حلها في الماء المقطر وتعقيمها في جهاز الأوتوغلاف على حرارة 121° لمدة 15 دقيقة.

تم عزل الفطريات الموجودة بشكل طبيعي في الزرق وذلك لكونها متأقلمة مع وسط الزرق ونشطة فيه وقادرة على تفكيك المكونات العضوية. حيث تم تفريق العزلات الفطرية وتعريفها وفق الطرائق المعتمدة عالمياً (David *et al.*, 2007; Cappuccino *et al.*, 1996)، إذ تمت الزراعة بطريقة الفرش باستخدام ماصة معقمة، بعدها تم عزل المستعمرات الفطرية النامية بنقلها إلى أطباق بتري معقمة وحُضنت عند الدرجة (28) °م لمدة (7) أيام، وكُررت العملية حتى الوصول إلى عزلات فطرية نقية. صُنفت الأجناس والأنواع الفطرية وفق الطرائق المعتمدة عالمياً، وذلك اعتماداً على خصائصها المورفولوجية والمزرعية.

4 - المعالجة الأولية والحيوية:

تم تقطيع وطحن أوراق الأشجار بالخلاط الكهربائي إلى طول (1-1.5) سم وذلك من أجل تسهيل تحليلها من قبل الأحياء الدقيقة، بعد ذلك وضعت في الأوتوغلاف للقضاء على جميع أشكال الأحياء الدقيقة، ثم تمت معالجتها حيويًا من خلال الفطريات لمدة 15 يوماً وذلك لتسهيل تكسير وتفكيك المكونات الصعبة التحلل كالسيلولوز وغيرها.

5 - تحضير المعاملات:

تم تحضير خمس معاملات للتجربة، وقد كانت المعاملات كالاتي:

(PDC): 350 غ زرق دجاج.

(PDI): 275 غ زرق دجاج و(75) غ أوراق الأشجار دون معالجة بالفطريات.

(PDM): 275 غ زرق دجاج و(75) غ أوراق الأشجار معالجة بالفطر *Mucor circinelloides*.

(PDA): 275 غ زرق دجاج و(75) غ أوراق الأشجار معالجة بالفطر *fumigatus* *Aspergillus*.

(PDMx): 275 غ زرق دجاج و(75) غ أوراق الأشجار معالجة بالفطرين معاً.

بعد ذلك تمت إضافة بادئ حيوي نشط تم الحصول عليه من مادة عضوية متخمرة سابقاً (هاضم حيوي آخر) وذلك لكل معاملة والهدف هو تنشيط وتحفيز انطلاق عملية التخمر.

6 - تصميم التجربة:

تم تصميم التجربة في المخمرات المخبرية بتوزيع المعاملات على الوحدات التجريبية بطريقة عشوائية كاملة (CRD)، وكررت كل معاملة ثلاث مرات. بعدها تم إجراء اختبار أقل فرق معنوي (LSD) باستخدام برنامج Genstat لمعرفة معنوية الفروق بين المعاملات عند مستوى (5)%. تم

اعتماد نظام الدفعة الواحدة أي التغذية لمرة واحدة حتى انتهاء عملية التخمر، بعدها تم الوضع في الحاضنة على حرارة (37) °م. تم قياس حجم الغاز الناتج اليومي بطريقة الإزاحة، وذلك من خلال وضع أنبوب خروج الغاز في أسطوانة مدرجة مقلوبة وموجودة ضمن محلول ملحي تركيزه (28) % حيث يمنع الغاز من الانحلال فيه، وبالتالي سوف يتجمع الغاز ويزيح المحلول، فتكون هذه الإزاحة هي حجم الغاز الناتج (Ekwenchi and Yaro, 2010).

7 - التحاليل الفيزيائية والكيميائية:

حُدثت نسبة الرطوبة والمادة الجافة الكلية للزرق والأوراق من خلال تجفيف العينات في الفرن على حرارة (105)°م حتى ثبات الوزن لمدة (24) ساعة، وتم الحساب من خلال الفرق في الوزن، كما في المعادلة (1)

$$TS = (M1 * 100) / M0 \quad (1)$$

M0 = الوزن الأولي للمادة قبل التجفيف (غ)، M1 = الوزن النهائي للمادة بعد التجفيف (غ).

أما نسبة الرطوبة تم حسابها من المعادلة (2): (2) MC = 100 - TS%

والمواد الصلبة الطيارة تم تقديرها اعتماداً على طريقة الترميد، إذ وُضعت العينات في الفرن على حرارة (550) °م لمدة (6) ساعات، كما في المعادلة (3): (3) VS = (M1 - M2) * (APHA, 2005) VS100/M1 = المواد الطيارة (غ مادة طيارة/ غ مادة صلبة)

M1 = كتلة المادة الجافة (غ). M2 = كتلة المادة المجففة على حرارة (550) °م (غ).

تم تقدير المادة العضوية (OM) بطريقة (Walkley and Black, 1934)، وقُدر الأزوت الكلي (TN) بطريقة كلداهل، والفوسفور بجهاز المطياف الضوئي بكاشف بارتون (Reuter and Robinson, 1997)، أما البوتاسيوم بواسطة جهاز التحليل الطيفي باللهب، وتم تقدير الطلب الكيميائي للأكسجين حسب (APHA, 2005).

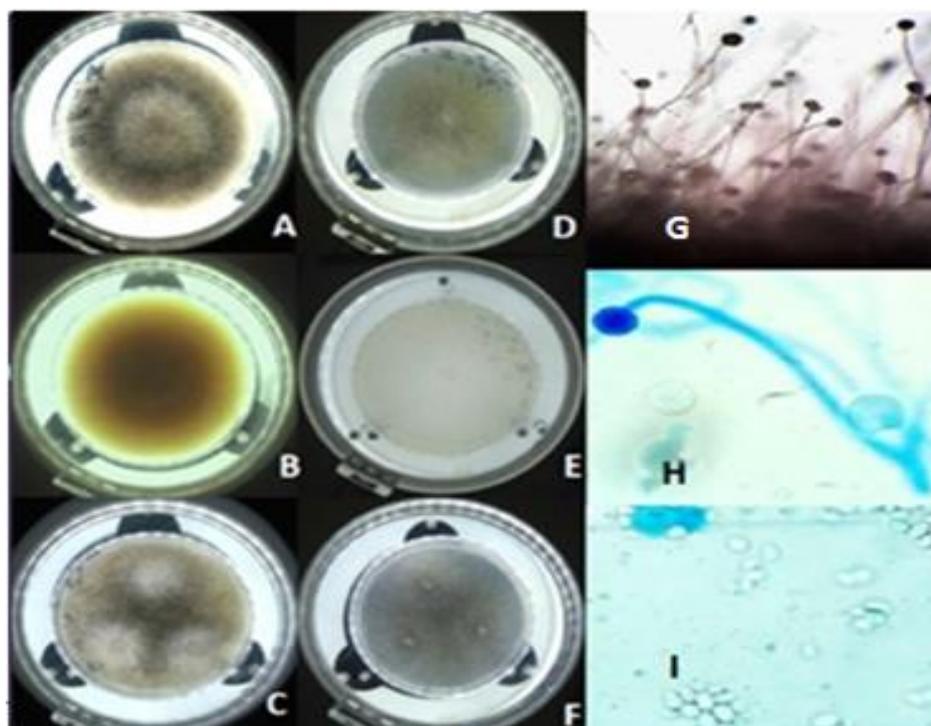
النتائج والمناقشة:

1- عزل الفطريات وتوصيفها:

تم تحديد عزلتين فطريتين من زرق الدجاج، وتمت دراسة كل من الصفات المزرعية والشكلية والمجهرية لها كالاتي:

الصفات المزرعية والشكلية للعزلة الفطرية (A):

كانت المستعمرة سريعة النمو على الوسط الزراعي (PDA)، وصل قطرها إلى (90) مم خلال أربعة أيام، أخذ الوجه العلوي لوناً بنياً إلى رمادياً داكناً، أما لون الوجه السفلي فقد كان زيتونياً. أيضاً على الوسط الزراعي (CZA) كانت المستعمرة سريعة النمو، وصل قطرها إلى (90) مم خلال ثلاثة أيام، اتصف الوجه العلوي باللون الأخضر الزيتوني، أما الوجه السفلي كان عديم اللون، كما هو موضح في الشكل (1).



الشكل (1) الصفات المزرجية والشكلية للعزلة الفطرية (A) حيث (A,B,C) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط PDA، (D,E,F) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط CZA، (G) الأكياس البوغية، (H) حوامل الأكياس البوغية، (I) الأبواغ.

بعدها تمت دراسة الصفات المجهرية للعزلة الفطرية (A) وفق الجدول (1).

الجدول (1) الصفات المجهرية للعزلة الفطرية (A)

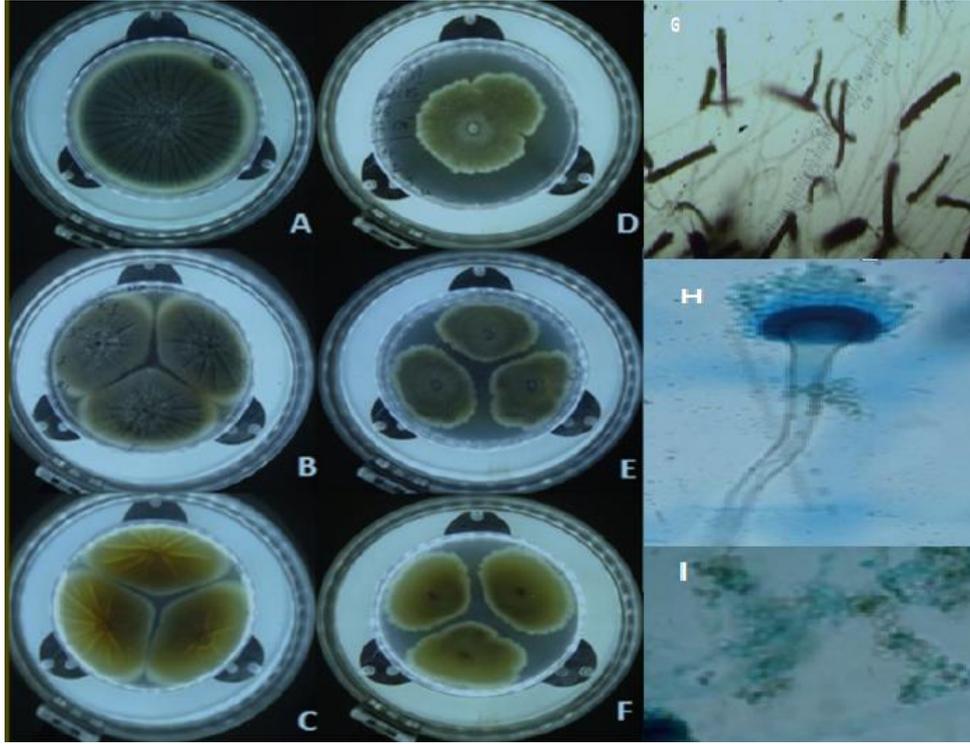
A		العزلة الفطرية الخصائص
PDA	CZA	
كروية، تكون عديمة اللون ثم تصبح بنية داكنة	كروية، تكون عديمة اللون ثم تصبح بنية داكنة	الأكياس البوغية
تصل حتى 55	تصل حتى 45	أبعاد الأكياس البوغية (μm)
تفرع المحور كاذب - منحنية غالباً - شفافة	تفرع المحور كاذب - منحنية غالباً - شفافة	حوامل الأكياس البوغية
تصل حتى 3000	تصل حتى 2000	طول حامل الأكياس البوغية (μm)
4-8.5	5-7.5	عرض حامل الأكياس البوغية (μm)
وحيدة الخلية كروية-شفافة	وحيدة الخلية كروية-شفافة	شكل أبواغ الأكياس البوغية
4-6 * 3-5	3-5 * 3-4.5	أبعاد أبواغ الأكياس البوغية (μm)
كروي إلى بيضوي	كروي إلى بيضوي	العماد (μm)
15-30	20-25	أبعاد العماد (μm)

تبين من خلال نتائج الاختبارات السابقة أن هذه العزلة الفطرية هي *Mucor circinelloides*.

الصفات المزرجية والشكلية للعزلة الفطرية (B):

كانت المستعمرة سريعة النمو على الوسط الزرعي (PDA)، وقد وصل قطرها إلى (60) مم، اتصف الوجه العلوي في البداية بلون أزرق مائل للأخضر مائلاً إلى الرمادي وأصبح رمادياً مع التقدم بالعمر، أما الوجه السفلي فقد أخذ اللون الأصفر الداكن. أما على الوسط الزرعي (CZA) أيضاً كانت المستعمرة سريعة

النمو، وصل قطرها إلى (48) مم، اتصف الوجه العلوي بلون أخضر زيتوني، أما الوجه السفلي كان أصفر داكن إلى أخضر زيتوني باهت، الشكل (2).



الشكل (2) الصفات المزرعية والشكلية للعزلة الفطرية (B) حيث (A,B,C) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط PDA، (D,E,F) تظهر الوجه العلوي والسفلي للمستعمرة على وسط CzA، (G) الرأس الكونيدي، (H) الحويصل والحامل الكونيدي، (I) الأبواغ الكونيدية.

بعدها تمت دراسة الصفات المجهرية للعزلة الفطرية (B) وفق الجدول (2).

الجدول (2) الصفات المجهرية للعزلة الفطرية (B)

B		العزلة الفطرية
PDA	CzA	الخصائص
عمودي	عمودي	شكل الرأس الكونيدي
100-200 * 25-80	100-250 * 25-75	أبعاد الرأس الكونيدي (μm)
مقسم	مقسم	الميسليوم
70-150	50-200	طول الحامل الكونيدي (μm)
4-7	6-9	عرض الحامل الكونيدي (μm)
شبه كروي	شبه كروي	شكل الحويصل
10-15	12-18	أبعاد الحويصل (μm)
شبه كروية	شبه كروية	شكل الأبواغ الكونيدية
3.5-4.3	3-3.8	أبعاد الأبواغ الكونيدية (μm)
6-7 * 2.8-3	6-8 * 2-2.5	أبعاد الصف الثاني من الذنبيات (μm)

تبين من خلال نتائج الاختبارات السابقة أن هذه العزلة الفطرية هي *Aspergillus fumigatus*.

2 - نتائج التحاليل الفيزيائية والكيميائية:

تم حساب قيم المؤشرات المدروسة لكل معاملة قبل بدء عملية التخمير وبعدها ، وتم إيضاحها في الجدول (3).

الجدول (3) قيم المؤشرات المدروسة في معاملات الدراسة المختلفة

بعد التخمير					قبل التخمير					المعاملة المؤشر المدروس
PDmx	PDa	PDm	PDI	PDc	PDmx	PDa	PDm	PDI	PDc	
85.13 a	84.27a	83.93 a	83.85a	85.47a	58.83b	58.83b	58.83b	56.21	60.67 b	MC%
14.87b	15.73b	16.02b	16.25b	14.53b	41.17a	41.17a	41.17a	43.79a	39.33 a	TS%
42.68b	45.27b	47.35b	50.4b	61.67b	69.78a	69.78a	69.78a	74.24a	70.99a	VS of TS%
ND	ND	ND	ND	ND	29.71	30.67	29.71	32.51	27.9	OM%
ND	ND	ND	0.71b	1.45b	ND	ND	ND	1.03a	3.15a	N%
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3	3.75	P%
ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.3	4.2	K%
ND	ND	ND	ND	ND	25.43	23.1	20.2	18.31	5.14	C/N
23.69b	30.16b	34.23b	39.68b	86.64b	70.29a	70.29a	70.29a	74.17a	102.44a	COD g/l
66.29	57.09	51.3	46.5	15.42	ND	ND	ND	ND	ND	COD removal %

ND: غير محدد، الأحرف المتشابهة تدل على عدم وجود المعنوية.

أظهرت نتائج الجدول (3) عدة تغيرات في المادة المدروسة، وكانت كما يلي:

ازدادت نسبة الرطوبة MC% بعد انتهاء عملية التخمير من (60.67) % حتى (85.47) % في معاملة زرق الدجاج (PDC)، أما في معاملة زرق الدجاج مع الأوراق (PDI) فقد ازدادت من (56.21) % إلى (83.85) %، وفي معاملات الزرق مع الأوراق المعالجة بالفطريات *M. circinelloides* (PDm) و *A.fumigatus* (PDa) والاثنتين معاً (PDmx) ازدادت من (58.83) % إلى (83.98)، (84.27، 85.13) % على الترتيب، وهذا منطقي كونه تم التخفيف بنسبة من الماء للوصول إلى نسبة التخفيف اللازمة لبدء انطلاق عملية التخمير.

أيضاً تبين انخفاض في نسبة المواد الصلبة الكلية TS% بعد التخمير عن مثيلاتها قبل التخمير حيث انخفضت نسبتها من (39.33) % إلى (14.53) % في معاملة زرق الدجاج، ومن (43.79) % إلى (16.15) % في معاملة زرق الدجاج مع الأوراق. أما في معاملات الزرق مع الأوراق المعالجة بالفطريات *M. circinelloides* (PDm) و *A.fumigatus* (PDa) والاثنتين معاً (PDmx) فقد انخفضت من (41.17) % إلى (14.87، 15.73، 16.02) % على الترتيب. يمكن تفسير انخفاض في نسبة المواد الصلبة الكلية TS% ونسبة VS% بعد التخمير يعود إلى فقد وتحويل جزء منها بواسطة

الأحياء الدقيقة والأنزيمات التي تنتجها إلى أشكال عضوية أخرى كالأحماض وغاز CO₂ (Vuorinen and Saharinen, 1997; Chen *et al.*, 2012).

يلاحظ في معاملة زرق الدجاج (PDC) أن نسبة C/N منخفضة جداً وهنا تقوم الأحياء الدقيقة باستهلاك الكربون أكثر من الآزوت مما يرفع تركيز الآزوت والأمونيا في الوسط مؤدياً إلى تثبيط الأحياء الدقيقة وانخفاض في كمية الغاز الناتجة (Riya *et al.*, 2016). وفي معاملة الزرق مع الأوراق كانت نسبة C/N تعادل (18.31) وهي نسبة قريبة من الحدود المثلى لإنتاج الغاز الحيوي، وهنا أدى وجود قيمة جيدة لنسبة C/N إلى تنشيط الأحياء الدقيقة وبدء تفكيك المركبات المعقدة الموجودة في الزرق والأوراق وتحويلها عبر سلسلة من التفاعلات إلى غاز حيوي (Kerga, 2011).

أما في معاملات الزرق مع الأوراق المعالجة بالفطريات (*M. circinelloides* (PDM) و *A. fumigatus* (PDA) والاثنتين معاً (PDMx) ازدادت هذه النسبة حتى أصبحت ضمن الحدود المثلى والتي هي بحدود (20 - 30) (Khalid *et al.*, 2011)، حيث أخذت القيم (20.2، 23.1، 25.43) على الترتيب. يمكن شرح ذلك بأن الفطريات تعمل على تفكيك المركبات ذات الأوزان الجزيئية الكبيرة كالسيللوز والهيميسيللوز الموجودين في الأوراق إلى مركبات أبسط وهذا ما يرفع من نسبة الكربون العضوي ويجعل هذه المواد متاحة للتحلل بسهولة خلال عملية التخمر اللاهوائي (Mshandete *et al.*, 2006).

بالنسبة لمؤشر إزالة COD يوجد علاقة طردية بين نسبة إزالته وبين كمية الغاز الحيوي الناتجة حيث تزداد كمية الغاز مع زيادة هذه النسبة (Stafford, 1980). ويلاحظ من خلال الجدول (3) بعد انتهاء عملية التخمر اللاهوائي انخفاض في مؤشر إزالة COD وهذا يعود إلى أن المعالجة بالفطريات إضافة إلى نشاط الجراثيم المفككة بما فيها الميتانية، قد ساهم في تحلل المركبات العضوية بما فيها السيللوز إلى ثاني أكسيد الكربون والماء تحت الظروف الهوائية وإلى ميثان ثنائي أكسيد الكربون والماء في الظروف اللاهوائية (Macias-Corral *et al.*, 2008; Harindintwali *et al.*, 2020).

ويتبين من الجدول (3) أن نسبة إزالة COD عند المعالجة بالفطرين معاً كانت الأفضل إذ بلغت القيمة (66.29) %، واتفقت هذه النتائج مع Viji و Neelanarayanan (2015) التي أشارت إلى أن أعلى نسبة تحلل كانت عند استخدام عدة أنواع من الفطريات. يمكن تفسير ذلك بأن النشاط المشترك لكلا الفطرين قد ساهم بشكل فعال في تحلل المادة العضوية، حيث تتميز فطريات الجنس *Aspergillus sp.* بقدرتها على تحليل السيللوز إلى سكريات كالغلوكوز وأحماض عضوية، وتتميز فطريات الجنس *Mucor sp.* بنشاط عالي لأنزيم البروتياز الذي يحسن عملية هضم المخلفات العضوية (Alves *et al.*, 2005; Pujiati and Sulistyarsi, 2013).

3 - كمية الغاز الحيوي:

تم تسجيل النتائج التي تم الحصول عليها بعد إجراء عملية التحليل الإحصائي لها في الجدول (4).

الجدول (4): كمية الغاز الحيوي الناتجة عن معاملات التجربة المختلفة

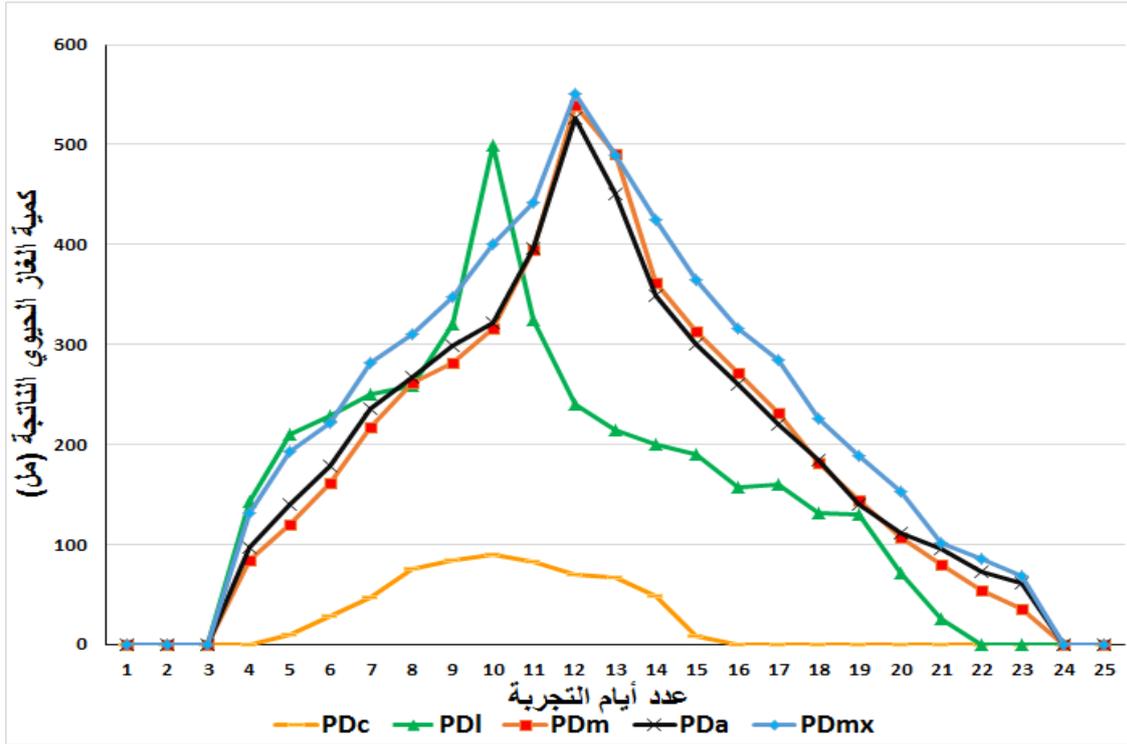
المعاملة	كمية الغاز الحيوي الناتجة (مل)
PDC	608.96d
PDI	3751.6c
PDM	4643.3 b

4701.01b	PDa
5578.51a	PDmx
877.06	LSD 0.05

من خلال دراسة معاملات التجربة يتبين تفوق المعاملة (PDmx) بمعنوية عالية على جميع معاملات التجربة في كمية الغاز الحيوي التراكمية (الكلية)، إذ تم الحصول على الكمية (5578.51) مل منها. يمكن مناقشة ذلك بأن إضافة الأوراق للزرق في البداية قد رفعت من قيمة C/N مقارنة بالزرق الخام وهذا أول عامل مساعد في بدء تحلل الكتلة الحيوية. والعامل الثاني هو أن المعالجة الأولية الحيوية بالفطريات قد ساهمت بشكل فعال في التحلل، حيث أنها تعمل على تفكيك المركبات ذات الأوزان الجزيئية الكبيرة إلى مركبات أبسط وهذا ما يجعلها متاحة للتحلل بسهولة خلال عملية التخمير اللاهوائي (Mshandete *et al.*, 2006)، وهذا ما اتفق مع نتائج دراسة Muthangya وآخرين (2009) على أوراق نبات السيزال (*Agave sisalana*) -وهو نبات يمكن استخدام أوراقه في صناعة الخيوط والحبال وغيرها- حيث تبين أن عملية المعالجة الأولية بالفطريات قد زادت من إنتاج الميثان بنسبة كبيرة وصلت (101)% مقارنة مع عدم المعالجة بها. وكذلك توافقت هذه الدراسة مع دراسة Viji و Neelanarayanan (2015) التي أشارت إلى أن معالجة قش الأرز بثلاثة أنواع من الفطريات قد أعطت أعلى نسبة للتحلل مقارنة بعدم المعالجة. أما العامل الثالث الذي سهل من تفكك وتحلل المادة العضوية هو وجود البادئ الحيوي المضاف من مخمر نشط.

كما يلاحظ من الجدول (4) عدم وجود فروق معنوية بين المعاملة المعالجة بالفطر *M. circinelloides* (PDm) والمعاملة المعالجة بالفطر *A. fumigatus* (PDa)، حيث تم الحصول منهما على الكمية (4643.3، 4701.01) مل على الترتيب. إذ تتميز فطريات الجنس *Mucor* sp. بأنها تنتج أنزيم السيلولاز المحلل للسيلولوز وهذا ما يحسن عملية هضم المخلفات العضوية في مخمرات الغاز الحيوي (Ibukunoluwa *et al.*, 2021). كما يعد الجنس *Aspergillus* sp. قادراً على تفكيك وتحليل المركبات المعقدة كالسيلولوز إلى سكريات كالغلوكوز وأحماض عضوية والتي هي من الركائز الأساسية لتصنيع الغاز الحيوي (Copete *et al.*, 2019).

احتلت معاملي زرق الدجاج (PDc) والزرقة مع الأوراق (PDI) المراتب الدنيا في إنتاج الغاز الحيوي حيث بلغتا القيم (3751.6، 608.96) مل على الترتيب. حيث أن إضافة الأوراق رفعت من نسبة C/N فقط دون تفكك للمركبات العضوية وهنا بسبب عدم إضافة الفطريات مقارنة بباقي المعاملات، إذ أن تحلل المواد السيلولوزية يكون أبطأ ويحتاج إلى فترة طويلة لكي يكون جاهزاً لعملية التخمير اللاهوائي دون معالجة مسبقة (Gerardi, 2003).



الشكل (3) كمية الغاز الحيوي الناتجة لمعاملات التجربة المختلفة

يوضح الشكل (3) الاتجاه العام لإنتاج الغاز حيث يبدأ بالارتفاع التدريجي ويزداد في الأيام الأولى لبدء عملية التخمر بسبب وجود تراكيز عالية من الكربوهيدرات وهنا تنشيط الأحياء الدقيقة وتبدأ بتفكيك هذه المركبات بسرعة (Aslanzadeh and Özmen, 2009)، بعدها يستمر الإنتاج بالتزايد مع الأيام حتى الوصول إلى القيمة العظمى في الأيام من (10) حتى (12) حيث تكون المواد العضوية المعقدة في هذه المرحلة قد تفككت إلى مواد أبسط وجاهزة للاستخدام المباشر وهذا ما يساهم في إسراع ونيرة عملية التخمر وبالتالي زيادة في كمية الغاز الحيوي الناتجة (Shah et al., 2014). بعد ذلك تبدأ مرحلة التدهور ليقبل معها الإنتاج من الغاز الحيوي وذلك بسبب انتهاء الركائز القابلة للاستخدام من قبل الأحياء الدقيقة وتراكم بعض المثبطات كالأمونيا التي ترفع قيمة الـ pH لتصبح قلووية، وتعد هذه الدرجة سامة للأحياء الدقيقة وخاصة البكتريا المنتجة للميثان، مما يقلل ويوقف عملية إنتاج الغاز الحيوي (Angelidaki and Ahring, 1993; Fotidis et al., 2013).

الاستنتاجات:

- 1 - تم الحصول على عزلتين فطريتين *Mucor circinelloides* و *fumigatus*، واستخدمت هذه العزلات في المعالجة الحيوية لزرع الدجاج مع أوراق الأشجار.
- 2 - ساهمت المعالجة بالفطريات في تحسين كفاءة الهضم اللاهوائي حيث تم الحصول على الكمية (4643.3) و(4701.01) لكل عزلة على الترتيب، مع المساهمة في تقليل مؤشر COD.
- 3 - أدت عملية المعالجة بالعزلتين الفطريتين معاً إلى أفضل كمية من الغاز الحيوي بقيمة قدرها (5578.51).

التوصيات:

العمل على متابعة عزل وتوصيف الأحياء الدقيقة (بما فيها الفطريات) المفككة للمخلفات العضوية المعقدة لاستخدامها في عمليات المعالجة الأولية للمخلفات الزراعية، وكذلك متابعة دراستها لفهم النشاط الاستقلابي والأنزيمي التي تقوم به.

المراجع:

- Alves, H., de Campos, M., Okada, K. and Milanez, I. (2005). Detection of extracellular protease in *Mucor* species. *Revista Iberoamericana de Micologia*, 22(2), 114.
- Angelidaki, I., and Ahring, K. (1993). Thermophilic anaerobic digestion of livestock waste: the effect of ammonia. *Appl. microbiology and biotechnology*, 38, 560-564.
- APHA. (2005). Standard methods for the examination of water and wastewater. American Public Health Association and Water Environment Federation.
- Aslanzadeh, S., and Özmen, P. (2009). Biogas production from municipal waste mixed with different portions of orange peel. University of Borås/School of Engineering.
- Biswas, J. K., Banerjee, A., and Biswas, S. (2022). Microbes and marine oil spills: oil-eating bugs can cure oily sea sickness. In *Advances in oil-water separation* (pp. 393-422). Elsevier.
- Bokade, P., Purohit, J., and Bajaj, A. (2021). Mycoremediation of chlorinated pesticides: insights into fungal metabolic system. *Indian Journal of Microbiology*, 61, 237-249.
- Cappuccino, James and Sherman, Natalie. (1996). Microbiology: a laboratory manual 5th.
- Chaurasia, K., Bharati, L., and Mani, A. (2019). Significances of fungi in bioremediation of contaminated soil. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 281-294). Elsevier.
- Chen, Y., Fu, B., Wang, Y., Jiang, Q., and Liu, H. (2012). Reactor performance and bacterial pathogen removal in response to sludge retention time in a mesophilic anaerobic digester treating sewage sludge. *Bioresource technology*, 106, 20-26.
- Copete, S., Alandete, F., Plácido, J., Correa, A., and Mora, L. (2019). Enhancement of ligninolytic enzymes production and decolourising activity in *Leptosphaerulina* sp. by co-cultivation with *Trichoderma viride* and *Aspergillus terreus*. *Science of the Total Environment*, 646, 1536-1545.
- David, E.; Stephen, D.; Helen, A.; Rosemary, H.; and Robyn, B. (2007). Descriptions of medical fungi. *Nexus Print Solutions, South Australia*.
- Ekwenchi, M and Yaro, M. (2010). Gaseous fuel Production Anaerobic fungal degradation of banana leaves. *Chem search Journal*, 1(1): 28-32.
- Fotidis, A., Karakashev, D. and Angelidaki, I. (2013). Bioaugmentation with an acetate-oxidising consortium as a tool to tackle ammonia inhibition of anaerobic digestion. *Bioresource technology*, 146, 57-62.
- Gerardi, H. (2003). *The Microbiology of Anaerobic Digesters*. John Wiley and Sons, Inc. USA.

Goodell, B., Winandy, E., and Morrell, J. (2020). Fungal degradation of wood: Emerging data, new insights and changing perceptions. *Coatings*, 10(12), 1210.

Goswami, B., Mondal, R., and Mandi, K. (2020). Crop residue management options in rice–rice system: a review. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 66(9), 1218-1234.

Gupta, K., Kubicek, P., Berrin, G., Wilson, W., Couturier, M., Berlin, A. and Ezeji, T. (2016). Fungal enzymes for bio-products from sustainable and waste biomass. *Trends in biochemical sciences*, 41(7), 633-645.

Harindintwali, J. D., Zhou, J., and Yu, X. (2020). Lignocellulosic crop residue composting by cellulolytic nitrogen-fixing bacteria: a novel tool for environmental sustainability. *Science of the total environment*, 715, 136912.

Haryanto, A., Hasanudin, U., Afrian, C., and Zulkarnaen, I. (2018). Biogas production from anaerobic codigestion of cowdung and elephant grass (*Pennisetum Purpureum*) using batch digester. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 1(1), 012011.

Ibukunoluwa, D., Nelson, A., Ayinla, A., and Agboola, K. (2021). Production of cellulase by *Mucor ramanniacus* using submerged fermentation and its applications in biodegradation of agro-industrial waste.

Kerga, G. A. (2011). Optimum Production of Biogas from Bio-Municipal Solid Wastes Using Two Stage Anaerobic Digester. *Addis Ababa University, School of Graduate Studies. Addis Ababa Institute of Technology, Department of Chemical Engineering*.

Khalid, A.; Arshad, M.; Anjum, M.; Mahmood, T. and Dawson, L. (2011). The anaerobic digestion of solid organic waste. *Waste management*, 31(8): 1737-1744.

Korres, N. E., O'Kiely, P., Benzie, J. A., and West, J. S. (2013). *Bioenergy production by anaerobic digestion* (pp. 8-29). Abingdon, UK: Routledge.

Macias-Corral, M., Samani, Z., Hanson, A., Smith, G., Funk, P., Yu, H., and Longworth, J. (2008). Anaerobic digestion of municipal solid waste and agricultural waste and the effect of co-digestion with dairy cow manure. *Bioresource technology*, 99(17), 8288-8293.

Mshandete, A., Björnsson, L., Kivaisi, A. K., Rubindamayugi, M. S., and Mattiasson, B. (2006). Effect of particle size on biogas yield from sisal fibre waste. *Renewable energy*, 31(14), 2385-2392.

Muthangya, M., Mshandete, M., and Kivaisi, K. (2009). Two-stage fungal pre-treatment for improved biogas production from sisal leaf decortication residues. *International journal of molecular sciences*, 10(11), 4805-4815.

Pujiati, Ardhi, and Sulistyarsi, Ani. (2013). Isolation Of Cellulolytic Mold From Soil Of Teak Forest In Kresek, Madiun. *Proceeding International Conference, 2013 , The 4th Green Technology Faculty of Science and Technology Islamic of University State Maulana Malik Ibrahim Malang*: 23.

Pujiati, P., Pangesti, A., Dewi, K., Prasetyo, N., and Jadid, N. (2023). Enhancement of biogas production from bagasse biomass through *Aspergillus flavus* pretreatment. *Berkala Penelitian Hayati Journal Of Biological Researches*, 29(2), 41-46.

Reuter, D. and Robinson, JB. (1997). *Plant analysis: an interpretation manual*. (2nd edition). CSIRO publ., Australia.

- Riya, S.; Suzuki, K.; Terada, A.; Hosomi, M. and Zhou, S. (2016). *Influence of C/N ratio on performance and microbial community structure of dry-thermophilic anaerobic co-digestion of swine manure and rice straw*. *Journal of Medical and Bioengineering*, 5(1).
- Shah, A.; Mahmood, Q.; Maroof, SM.; Pervez, A. and Ahmad, AS. (2014). *Microbial ecology of anaerobic digesters: the key players of anaerobiosis*. *The Scientific World Journal*.
- Shahid, M. K., Kashif, A., Fuwad, A., and Choi, Y. (2021). Current advances in treatment technologies for removal of emerging contaminants from water—A critical review. *Coordination Chemistry Reviews*, 442, 213993.
- Silva, D. F., Bezerra, T. D., Rodrigues, L. B., Franco, M., and Santana, N. B. (2024). Biological Pretreatment of Cassava Husk with *Aspergillus Niger* ATCC 1004 to Improve Biogas Production. *Waste and Biomass Valorization*, 1-12.
- Simpanen, S. (2016). Evaluation of in situ remediation methods in soils contaminated with organic pollutants. *Helsinki: HELDA*.
- Stafford A., Hawkes L. and Horton, R. (1980). Methane production from waste organic matter. Boca Raton, FL: CRC.
- Szücs, C., Kovács, E., Bagi, Z., Rákhely, G., and Kovács, K. L. (2021). Enhancing biogas production from agroindustrial waste pre-treated with filamentous fungi. *Biologia Futura*, 72, 341-346.
- Vasmara, C., Cianchetta, S., Marchetti, R., and Galletti, S. (2015). BIOGAS Production from wheat straw pre-treated with ligninolytic fungi and co-digestion with pig slurry. *Environmental Engineering and Management Journal (EEMJ)*, 14(7).
- Viji, J., and Neelanarayanan, P. (2015). Efficacy of lignocellulolytic fungi on the biodegradation of paddy straw. *International Journal of Environmental Research*, 9(1), 225-232.
- Vuorinen, H., and Saharinen, H. (1997). Evolution of microbiological and chemical parameters during manure and straw co-composting in a drum composting system. *Agriculture, ecosystems and environment*, 66(1), 19-29.
- Walkley, A. and Black, A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil science*, 37(1): 29-38.