

The study of the feeding behavior of *Galleria mellonella* larvae from polyethylene plastic and the detection of functional groups in the production of biomass, with Fourier, Transform Infrared Spectrometry

Hamed Ramezani Awal Riabi

Ph. D student, Department of Environment Engineering, Faculty Natural Resources and Environment, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Seyed Alireza Hajiseyed**Mirzahosseini**

* Assistant Professor, Department of Environment Engineering, Faculty Natural Resources and Environment, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Corresponding Author : mirzahosseini@gmail.com

Ali Firoozi Chahak

Assistant Professor, Department of Occupational Health, School of Public Health, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran

Ali Reza Mohammadzadeh

Professor, Department of Microbiology, School of Medicine, Gonabad University of Medical Sciences, Gonabad, Iran

Jalil Imani Harsini

Assistant Professor, Department of Environment Sciences and Forest, Faculty of Natural Resources and Environment, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Received: 2023/02/04

Accepted: 2023/04/14

Document Type: Research article

Doi: 10.22038/jreh.2023.70753.1587

ABSTRACT

Background and purpose: Today, polyethylene plastics pose a significant environmental health problem due to excessive waste production, endangering the environment. However, insects have emerged as a potential solution, with the sizeable wax-eating moth (*Galleria mellonella*) showing the ability to digest polyethylene plastic, polyester, aluminum foil, and even fabric masks, thanks to the microbiome in its larva's stomach. This study aimed to investigate the capability of *G. mellonella* larvae to degrade polyethylene plastic for the first time in Iran.

Materials and Methods: In June 2022, *G. mellonella* larvae were sampled from honey apiaries in Gonabad city. The larvae were then reared in the Gonabad University of Medical Sciences medical entomology laboratory. They were provided with beeswax and synthetic food in plastic boxes in dark rooms at a temperature of 25 ± 2 °C and a humidity of 33%. Pieces of plastic film cut into 10×10 cm diameters from freezer bags, garbage bags, and shopping bags (commonly known as bags with handles) were used to feed the larvae. These plastic pieces were placed on ten Petri dishes (8×8 cm diameter) containing ten larvae. Placing an additional petri dish, which had a hole for larvae to breathe, on the polyethylene films allowed the biomass produced by the larvae for each type of plastic to be analyzed separately using Fourier Transform Infrared Spectrometry (FT-IR).

Results: The analysis of eight types of biomass produced by larvae feeding on wax (control) compared to polyethylene plastics (target item) using FT-IR revealed the presence of functional groups such as C-CL, C=O, C=C, R-OH, CH₂, and -C-C-, indicating polyethylene plastic degradation. Furthermore, a significant difference ($P < 0.05$) was observed in the amount of plastic removal among the larvae fed on different types of polyethylene films.

Conclusion: *G. mellonella* larvae demonstrate promising potential as a biological method for effectively removing plastic from the environment in the future.

Keywords: *Galleria mellonella*, Polyethylene plastic, Biomass, Digestion plastic, FT-IR

► **Citation:** Ramezani Awal Riabi H, Hajiseyed Mirzahosseini A, Firoozi Chahak A, Mohammadzadeh AR, Imani Harsini J. The study of the feeding behavior of *Galleria mellonella* larvae from polyethylene plastic and the detection of functional groups in the production of biomass, with Fourier, Transform Infrared Spectrometry. *Journal of Research in Environmental Health*. Summer 2023; 9(2): 183-196.

مطالعه رفتار تغذیه‌ای لارو *Galleria mellonella* از پلاستیک پلی‌اتیلن و آشکارسازی گروه‌های عاملی در زیست‌توده تولیدی، با اسپکترومتری مادون قرمز تبدیل فوری

چکیده

زمینه و هدف: امروزه پلاستیک‌های پلی‌اتیلن به معضل بزرگ بهداشت محیط یعنی تولید بی‌رویه پسماند تبدیل شده است و محیط زیست را به خطر انداخته است. ولی حشرات به کمک محیط زیست آمده است و در این میان، شب‌پره بزرگ موم‌خوار (*Galleria mellonella*) قادر است به کمک میکروبیوم معده در مرحله لاروی، پلاستیک پلی‌اتیلن، پلی‌استر، فویل آلومینیوم و حتی ماسک‌های پارچه‌ای را هضم کند. مطالعه حاضر با هدف بررسی توانایی لاروهای گالریا ملونلا در حذف پلاستیک پلی‌اتیلن برای اولین بار در ایران انجام شد.

مواد و روش‌ها: ابتدا لاروهای گالریا ملونلا در خرداد ماه ۱۴۰۱ از زنبورستان‌های عسل شهرستان گناباد-خراسان رضوی، جمع‌آوری شد. لاروها در آزمایشگاه حشره‌شناسی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گناباد با غذای موم و مصنوعی در پاکس‌های پلاستیکی و در اتاقک‌های تاریک (دما $25 \pm 2^\circ\text{C}$ و رطوبت ۳۳٪) پرورش یافتند. برای تغذیه لاروها از پلاستیک‌های فریزری، زباله و فروشگاهی (اصطلاحاً دسته‌دار) قطعات فیلم پلاستیک به قطر 10×10 سانتی‌متر برش زده شد و بر روی ۱۰ پتری دیش به قطر 8×8 سانتی‌متر حاوی ۱۰ لارو گذاشته شد و روی فیلم‌های پلی‌اتیلن، یک پتری دیش دیگر (دارای سوراخ جهت تنفس لاروها) قرار گرفت. بیوماس تولید شده لاروهای مربوط به هر نوع پلاستیک، جداگانه با دستگاه اسپکترومتری مادون قرمز تبدیل فوری (FT-IR) آنالیز شدند.

یافته‌ها: آنالیز ۸ نوع زیست‌توده تولیدی، تغذیه لاروها از موم (کنترل) در مقایسه با پلاستیک‌های پلی‌اتیلن (مورد هدف) با FT-IR گروه‌های عاملی C-CL ، C=O ، C=C ، R-OH ، CH_2 ، -C-C که نشانه تخریب پلاستیک پلی‌اتیلن است را آشکار کرد. همچنین مقایسه میزان حذف پلاستیک در بین لاروهای تغذیه شده بر روی انواع فیلم پلی‌اتیلن اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: لارو گالریا ملونلا به‌عنوان یک روش بیولوژیک، در آینده می‌تواند در حذف پلاستیک از طبیعت مؤثر باشد.

کلید واژه‌ها: پلاستیک پلی‌اتیلن، حذف پلاستیک، زیست توده، *Galleria mellonella*، FT-IR.

حامد رمضانی اول ربابی

دانشجوی دکتری، گروه تخصصی مهندسی محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

سید علیرضا حاجی سید میرزا حسینی

* استادیار گروه مهندسی محیط زیست، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. نویسنده مسئول: mirzahosseini@gmail.com

علی فیروزی چاهک

استادیار گروه بهداشت حرفه ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران

علیرضا محمدزاده

دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گناباد، گناباد، ایران

جلیل ایمانی هرسینی

استادیار گروه علوم محیط زیست و جنگل، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۵

نوع مقاله: پژوهشی

◀ **استناد:** رمضانی اول ربابی ح، حاجی سید میرزا حسینی ع، فیروزی ع، محمدزاده ع، ایمانی هرسینی ج. مطالعه رفتار تغذیه‌ای لارو *Galleria mellonella* از پلاستیک پلی‌اتیلن و آشکارسازی گروه‌های عاملی در زیست‌توده تولیدی، با اسپکترومتری مادون قرمز تبدیل فوری. فصلنامه پژوهش در بهداشت محیط. تابستان ۱۴۰۲؛ ۹(۲): ۱۸۳-۱۹۶.

مقدمه

پیشرفت‌های روزمره انسان در تمامی حوزه‌های صنعت، کشاورزی، پزشکی و غیره باعث افزایش تولید پلاستیک‌های پلی اتیلن به دلیل هزینه پایین تولید و استقامت آنها در برابر نیروهای سنگین ناشی از حمل اشیاء و غیره شده است و در ۳ سال گذشته با پاندمی کرونا و نیاز انسان به بسته‌بندی مواد غذایی یا حمل آن، تولید پسماندهای پلاستیک افزایش یافته است و از توان شهرداری در جهت جمع‌آوری این پسماندها خارج است (۱، ۲).

پلاستیک‌ها از پلیمرهای آلی مصنوعی ساخته شده‌اند که به‌طور گسترده در مصارف انسانی مختلف اعم از بطری آب، پوشاک، بسته‌بندی مواد غذایی، لوازم پزشکی، کالاهای الکترونیکی، مصالح ساختمانی و غیره استفاده می‌شود. در ۶ دهه گذشته، پلاستیک به یک محصول ضروری و همه‌کاره با طیف وسیعی از خواص، ترکیبات شیمیایی و کاربردها تبدیل شده است. اگرچه در ابتدا تصور می‌شد که پلاستیک بی‌ضرر و بی‌خطر است، با این حال، سال‌ها دفع پلاستیک در محیط زیست یک مشکل بهداشت محیطی جدی مطرح بوده است (۳، ۴)؛ به‌ویژه در محیط آبی که در آن تجزیه بیوفیزیکی طولانی مدت پلاستیک‌ها وجود دارد (۵، ۶)، اثرات منفی بر حیات وحش دارد (۷، ۸) و گزینه‌های محدود حذف پلاستیک (۹، ۸، ۶) در بسیاری از موارد، باعث شده است که ورق‌ها و پلاستیک‌های بسته‌بندی پس از استفاده، دور ریخته شوند، اما به دلیل دوام آنها، این پلاستیک‌ها به راحتی توسط آب و باد جابه‌جا شده و در نتیجه در شرایط مختلف ماندگار هستند (۱۰).

در حال حاضر چاره‌ای جز سوزاندن پسماندهای پلی اتیلن نیست که این خود آلودگی‌های زیست‌محیطی را به همراه دارد. سوزاندن پلاستیک همچنین به دلیل تولید گازهای مضر مانند دیوکسین‌ها، فوران‌ها، بی‌فنیل‌های پلی کلره و سایر مواد سرطان‌زا محدود شده است (۱۱، ۱۲).

رایج‌ترین و فراوان‌ترین پلیمرها شامل: پلی اتیلن فشرده (HDPE^۱)، پلی اتیلن با چگالی کم (LDPE^۲)، پلی وینیل کلراید

(PVC^۳)، پلی استایرن (PS^۴)، پلی پروپیلن (PP^۵)، و پلی اتیلن ترفتالات (PET^۶) هستند که روی هم تقریباً ۹۰٪ از کل تولید پلاستیک در سراسر جهان را تشکیل می‌دهند. پلاستیک‌های پلی اتیلن و پلی استایرن به مراتب خطرات زیست‌محیطی آنها برای انسان و حیوانات بالاست و می‌توانند تا سال‌ها در خاک باقی مانده و مواد سمی آنها در خاک رهاسازی شود (۱۳).

زباله‌های پلاستیکی معمولاً تحت شرایط محیطی به میکروپلاستیک‌ها تبدیل می‌شوند که اصطلاحاً به ذرات کمتر از ۵ میلی‌متر گفته می‌شود (۱۴).

پلی اتیلن (PE) یک پلاستیک معمولی مبتنی بر نفت است که به صورت $[CH_2 - CH_2]_n$ ، بیان می‌شود و به دلیل دوام و مقاومت بسیار زیاد در برابر تخریب، طبیعتاً غیرقابل تجزیه زیستی در نظر گرفته شده است. مقاومت ذاتی پلی اتیلن در برابر تجزیه زیستی ناشی از ساختار سه‌بعدی، وزن مولکولی بالا، ماهیت آب‌گریزی و عدم وجود گروه‌های عاملی قابل تشخیص توسط سیستم‌های آنزیمی میکروبی است (۱۵). روش‌های مرسوم مورد استفاده برای تخریب زباله‌های پلی اتیلن از جمله دفن زباله، سوزاندن، تصفیه شیمیایی و تخریب حرارتی برای محیط زیست کشنده هستند و اثرات خطرناکی بر موجودات زنده ایجاد می‌کنند (۱۶).

سوزاندن مستقیم ضایعات پلی اتیلن، بخارهایی تولید می‌کند که شامل بسیاری از ترکیبات سرطان‌زای سمی مانند کتون‌ها، آکروئین و گازهای گلخانه‌ای مانند متان می‌شود که خطرات جدی برای سلامتی و محیط زیست ایجاد می‌کند (۱۷). ضایعات پلی اتیلن دفن شده در خاک ممکن است بر گیاهان تأثیر بگذارد، موجودات مفید خاکری را از بین ببرد و حاصل‌خیزی خاک را مختل کند (۱۸). برای مبارزه با این مشکل رو به افزایش، تحقیقات در مورد تجزیه زیستی پلی اتیلن توسط قارچ‌ها و باکتری‌ها به‌طور

3. Poly Vinyl Chloride

4. Poly Styrene

5. Poly Propylene

6. Poly Ethylene Terephthalate

1. High Density Poly Ethylene

2. Low Density Poly Ethylene

مداوم افزایش یافته است. مطالعات زیادی در مورد بررسی تخریب زیستی پلی اتیلن در شرایط محیطی مختلف از جمله دریا، خاک، کمپوست و لجن انجام شده است (۱۹-۲۳).

پاک سازی طبیعت از میکروپلاستیک ها کار ساده ای نیست، بنابراین تخریب زیستی میکروبیولوژیکی به عنوان روشی نو که توسط آنزیم های تولید شده از باکتری های همزیست برخی سوسک ها و پروانه ها صورت می گیرد، روش ساده تری خواهد بود (۲۴).

کرم های مومی اخیراً برای تخریب پلاستیک مورد توجه قرار گرفته اند. بکارگیری شب پره مومی بزرگ (*G. mellonella*) و پروانه هندی (*Plodia interpunctella*) برای تجزیه زیستی پلی اتیلن گزارش شده است (۲۵) و به طور مشابه، گزارش شده است که لارو کرم آردآلود زرد (*Tenebrio manitor*) پلی استایرن و پلی اتیلن را تجزیه می کند (۲۶، ۲۷). دستگاه اسپکتروفتومتری مادون قرمز فوری (FTIR) ^۱ مدت هاست که به عنوان ابزاری آسان و راحت برای نظارت بر تجزیه زیستی پلاستیک استفاده می شود، زیرا نسبت به ظاهر شدن پیوندهای C=O، C-O و O-H که در طول این تخریب ایجاد می شوند، بسیار حساس است. با این حال، همان طور که توسط جکسون و ماننچ اشاره شده است، هنگامی که یک تکنیک بسیار گسترده می شود، مشکلاتی وجود دارد که اغلب در عمل آشکار می شوند. اندازه گیری های طیف سنجی FTIR را می توان در بسیاری از حالت های اندازه گیری انجام داد که ممکن است برای انواع مختلف پلاستیک و محیط های نمونه مناسب باشد؛ از جمله در حالت انتقال برای پودرهای ریز، لایه های پلیمری نازک یا قطعات نازک پلاستیکی (۲۸). مطالعه حاضر با هدف دستیابی به پاسخ سؤالات مطرح در خصوص میزان توانایی پروانه بزرگ موم (گالریا ملونلا) در حذف پلاستیک های با ساختار پلی اتیلن و آشکارسازی گروه های عاملی حاصل از تخریب ساختار پلی اتیلن در زیست توده لارو انجام شد.

روش کار

جمع آوری لارو گالریا ملونلا از طبیعت

لارو گالریا ملونلا که آفت مهم زنبورستان های شهرستان گناباد- استان خراسان رضوی می باشد، از زنبورستان های برنند به همراه موم های آلوده در خرداد ماه ۱۴۰۱ جمع آوری و به آزمایشگاه تحقیقاتی حشره شناسی دانشگاه علوم پزشکی گناباد منتقل شد.

مراحل سیکل لارو شب پره گالریا ملونلا در آزمایشگاه

تخم: سفید شیری به طول ۰/۴۴-۰/۴۷ میلی متر و عرض ۰/۳۹-۰/۳۹ میلی متر به اشکال مربع، پنج ضلعی، شش ضلعی و هفت ضلعی در کنار یکدیگر قرار گرفته بود. بعد از یک هفته لاروها در داخل تخم ها قابل مشاهده بودند. تعداد تخم ها از ۵۰ عدد تا ۳۵۰ عدد متغیر بود. رنگ تخم ها بعد از باز شدن به رنگ کرم تا صورتی کم رنگ تغییر می یافت.

لارو: لاروها به طول ۲-۴ سانتی متر، به رنگ زرد متمایل به نارنجی با یک کپسول سر نارنجی و آرواره هایی که برای جویدن مجهز شده اند، تمامی بندهای بدن دارای موهای شفاف بود. ۳ جفت پای ۵ قسمتی در ناحیه قفسه سینه قابل مشاهده بود و سایر بندها تا بند ۱۱ شکمی یک جفت پای کاذب داشت. گالریا ملونلا در این مطالعه ۵ مرحله لارو داشت که لاروهای سن یک سفید شیری و بسیار فعال بودند. البته در برخی مطالعات ۷ و تا ۱۰ مرحله لاروی گزارش شده است. قابل ذکر است که لاروها در کندوهای زنبور عسل برای به دست آوردن پروتئین از موم تغذیه می کنند و بیشتر در کندوهای خالی از زنبور یا ضعیف مشاهده می شوند. در این مطالعه طول دوره لاروی حدوداً ۳۰ روز بود. زمین گرایی منفی داشتند و در صورت خروج از موم سریعاً خود را به یک درز و شکاف جهت پنهان شدن می رساندند. دمای مناسب رشد لاروها تقریباً 26 ± 2 درجه سانتی گراد و رطوبت حدود ۳۰٪ بود.

شفیره: آخرین مرحله لاروی جهت تبدیل به شفیره، خود را به درز و شکاف داخل کندو زنبور عسل رسانده و با تغذیه از چوب، حفره ای جهت تبدیل شدن به شفیره ایجاد می کند. لارو بلافاصله شروع به تنیدن ابریشم به دور خود می کند و بعد از ۲-۳ روز در داخل آن

منتقل شد و بر روی باکس ها تاریخ جمع آوری، زمان، دما و رطوبت یادداشت گردید. جهت تبادل هوا و پیشگیری از مرگ و میر لاروها، در درب باکس ها سوراخ هایی ایجاد شد. جهت تبدیل شدن لاروها به بالغ، از لوله های خالی دستمال کاغذی استفاده شد. با توجه به اینکه لاروها از نور گریزان هستند و جهت پیشگیری از تأثیر نور محیط بر رشد و تغذیه لاروها، باکس های پلاستیکی در یک اتاقک تاریک نگهداری می شد و روزانه وضعیت تغذیه و تولید شب پره بررسی می گردید. دمای استاندارد محیط 26 ± 2 درجه سانتی گراد و رطوبت مکان با گذاشتن ظروف آب در داخل آزمایشگاه در حدود ۳۰٪ حفظ شد. جهت تأیید گونه گالریا ملونلا ۴ شب پره از جنس نر و ماده که از نظر مورفولوژی با یکدیگر تفاوت داشتند، به مؤسسه گیاه پزشکی ایران بخش سیستماتیک حشرات ارسال گردید و با کلیدهای تشخیص مورفومتریک، گونه گالریا ملونلا تأیید گردید.

خصوصیات رژیم های تغذیه پلاستیک

در این پژوهش ۳ نوع پلاستیک پلی اتیلن با دانسیته پایین (LDPE) از برندهای معروف ایران به نام های پلاستیک فریزری، زباله و فروشگاه استریل شده و با همان ترکیباتی که در پلاستیک های مصرف روزانه مشتریان در نظر گرفته می شود، در محل کارخانه سفارش داده شد.

پرورش لاروها بر روی فیلم پلی اتیلن فریزری، زباله و فروشگاه
در این قسمت تحقیق برای هر برند پلاستیک، تعداد ۱۰۰ لارو از باکس پرورش در سن ۴ و ۵ برداشته شد و در ۲ شیشه استریل خالی به مدت ۴۸ ساعت بدون تغذیه با موم نگهداری شدند. برای پیش گیری از تبدیل شدن لاروها به شفیره، هر ۵ ساعت شیشه ها تکان داده شده و لاروها تحریک می شدند. بعد از ۴۸ ساعت، لاروها به تعداد ۱۰ لارو به ۱۰ پتری دیش به قطر ۸۰ میلی متر منتقل شدند و بر روی پتری دیش ها یک لایه فیلم پلی اتیلن با برند (شکل ۲. الف و ب) موردنظر و به قطر ۱۰۰ میلی متر گذاشته شد و یک پتری دیش سوراخ دار جهت اکسیژن رسانی به لاروها بر روی فیلم قرار گرفت، سپس با چسب نواری ثابت شد. بر روی تمام پتری های حاوی لارو، تاریخ انتقال و نوع برند فیلم پلی اتیلن

تبدیل به شفیره قهوه ای رنگ می شود. در آزمایشگاه پيله تولیدی، تخم مرغی شکل و سفید رنگ بود. در انتهای پيله شب پره بالغ از محل دریچه ای که لارو قبلاً ایجاد کرده بود، خارج می شدند. معمولاً پيله های ماده ها بزرگ تر از پيله نرها بود. شفیره در فاصله زمانی ۱۶-۲۰ روز تبدیل به بالغ می شدند.

شب پره بالغ: پروانه هایی از خانواده پیرالیده که بعد از خروج از پيله، سفید رنگ و بال ها چروکیده بود و بعد از ۱ روز به رنگ خاکستری با نقش و نگارهایی بر روی بال ها تبدیل می شدند. در نمونه های جمع آوری شده این مطالعه، تنوع درون گونه ای مشاهده می شد. بالغ ها به طول ۲-۴۰ میلی متر بوده و ماده ها بزرگ تر از نرها بودند. طول عمر ماده ها بعد از تخم گذاری ۱ هفته و نرها حدود ۱۴ روز بود. شب پره ماده در فیلد برای تخم گذاری در قسمت های تاریک کندو مستقر شده و تخم های خود را در ردیف های ۲ تا ۳ تایی، حدود ۴۰۰ عددی قرار می دهند. این مرحله شب پره نیاز به هیچ گونه تغذیه نداشت.



شکل ۱. مراحل سیکل زندگی شب پره بزرگ موم (*G. mellonella*) از تخم تا شب پره بالغ

پرورش آزمایشگاهی لارو شب پره بزرگ موم (*G. mellonella*)
لاروها به همراه موم های آلوده به ابریشم این آفت به ۳ باکس پلاستیکی شفاف درب دار استریل شده با آب ۶۰ درجه سانتی گراد (۴۰×۴۰×۳۰ سانتی متر) به تعداد حدود ۵۰۰ لارو در هر باکس

تخریب پلاستیک زباله و فریزری با لارو تغذیه شده از غذای منحصرأ مصنوعی

با توجه به اینکه لارو گالریا ملونلا جهت داشتن سیکل زندگی نرمال، وابستگی منحصر به فردی به موم دارد و از آنجایی که در فصول سرد سال معمولاً موم زنبور جهت پرورش آزمایشگاهی این شب پره در دسترس نیست، لذا به منظور پیشگیری از وقفه در چرخه هضم پلاستیک به عنوان روش جایگزین، روش های کنونی حذف پلاستیک از طبیعت، لاروهای حاصل از نسل دوم آزمایشگاهی گالریا ملونلا (انتقال ۳۰۰ تخم) با غذای مصنوعی (شکر قهوه ای ۲ گرم، آرد نخود ۵ گرم، آرد گندم ۵ گرم، مخمر ۲ گرم، شیرخشک ۳ گرم، سبوس گندم ۲ گرم و گلیسرین ۵ سی سی) در داخل شیشه های استریل پرورش یافتند. لاروها قبل از تبدیل به شفیره، بر روی پلاستیک فریزر و زباله رهاسازی شدند. روزانه به مدت ۱۰ روز، وضعیت حذف پلاستیک بررسی و درصد تشکیل شفیره ثبت می شد.



(الف)



(ب)

یادداشت گردید. روزانه تا زمان تبدیل تمامی لاروها به شفیره، رفتار تغذیه از پلاستیک ارزیابی می شد. بعد از اینکه لاروها به شفیره تبدیل شدند، ابتدا بیوماس تولید شده لاروها که از برندهای تحت مطالعه تغذیه کرده بودند، جهت انجام تکنیک FT-IR در پتری های استریل جمع آوری و در دمای ۴ درجه سانتی گراد تا زمان آماده سازی جهت بررسی گروه های عاملی ناشی از هضم پلاستیک پلی اتیلن توسط میکروبیوم معده لاروها نگهداری شد. سپس شفیره ها به ۱۰ پتری دیش دیگر منتقل و بر روی آن کاغذ صافی جهت تخم ریزی پروانه ها گذاشته شد و یک پتری دیش دیگر جهت نگهداری کاغذ قرار گرفت و با چسب نواری ثابت گردید (شکل ۲. پ و ت). بر روی پتری ها تاریخ انتقال شفیره ها و برند پلاستیک یادداشت شد. روزانه خروج پروانه بالغ بررسی می گردید. بعد از ۱۰ روز به جهت پیشگیری از تلف شدن لاروهای نوزاد، کاغذ صافی حاوی تخم به همراه شفیره های باز نشده به شیشه های استریل دارای ۱۰ گرم موم و ۲۰ گرم غذای مصنوعی منتقل شدند و دهانه آن با کاغذ صافی که بر روی آن یک پتری دیش حاوی سوراخ قرار گرفته بود، مسدود شد. روزانه روند خروج لاروها از تخم بررسی می شد. مجدداً لاروهای نسل دوم به همان روش گفته شده در بالا بر روی فیلم های پلی اتیلن رهاسازی و نرخ رشد لارو و درصد پلی اتیلن تغذیه شده محاسبه گردید و با نسل اول مقایسه گردید.

پرورش لاروها بر روی رژیم تغذیه موم- پلاستیک

در این خصوص ۱۰۰ لارو سنین ۴ و ۵ برای تغذیه از هر یک از پلاستیک های پلی اتیلن این پژوهش، از باکس پرورش اصلی که حداقل ۷۲ ساعت تغذیه از موم داشتند، خارج و مستقیماً به ۱۰ پتری دیش تقسیم شد و مراحل تغذیه از پلاستیک همانند روش بالا ارزیابی شد. در این روش نیز زیست توده لاروها بعد از تبدیل شدن به شفیره، جمع آوری و جهت آنالیز FT-IR در دمای ۴ درجه سانتی گراد تا زمان انجام کار نگهداری شد. در این خصوص نیز شفیره ها بعد از تبدیل به بالغ و تخم گیری به روش بالا و ظهور لاروها، تغذیه با غذای موم و مصنوعی شروع شد و لاروها در سنین آخر مجدد بر روی پلاستیک ها رهاسازی شدند.

به شکل قرص درآورده شدند. طیف همه نمونه‌ها در حالت جذب و در ناحیه طیفی ۴۰۰-۴۰۰۰ سانتی‌متر^{-۱} با وضوح ۰/۶۳۲۹ سانتی‌متر^{-۱} و حداقل ۸ اسکن به دست آمد.

آنالیز آماری

جهت بررسی معنی‌دار بودن تفاوت تغذیه لارو از موم در مقایسه با رژیم‌های پلاستیک، اطلاعات حاصل از محاسبه میزان هضم پلاستیک وارد نرم‌افزار SPSS، ورژن ۲۰ شد و با آزمون Skewness (چولگی) و Kurtosis (کشیدگی) نرمال یا عدم نرمال بودن داده‌ها بررسی شد و با آزمون ناپارامتریک کروسکال والیس در سطح آلفای ۰/۰۵، معنی‌دار بودن میزان هضم نوع پلاستیک در مقایسه با تغذیه از رژیم موم مقایسه شد.

یافته‌ها

آنالیز FT-IR زیست‌توده تولیدی ناشی از تغذیه لارو گالریا ملونلا از موم و پلاستیک پلی‌اتیلن

تجزیه زیستی سه نوع پلاستیک در روده لارو با استفاده از تجزیه و تحلیل FTIR مورد بررسی قرار گرفت. ارزیابی طیف فوریه برای کنترل زیست‌توده لاروی تغذیه شده با موم و تغذیه شده با رژیم موم-پلاستیک و پلاستیک تنها، تغییرات پیوند و ادغام اکسیژن را نشان داد که با تخریب/دپلمیریزاسیون پلاستیک به روش تابش، پیری و تبدیل زیستی مرتبط بود. ادغام گروه‌های عاملی اکسیژن در زنجیره هیدروکربنی با زنجیره بلند به عنوان مرحله اولیه در تخریب پلاستیک در نظر گرفته می‌شود. در ۷ نمونه Frass لاروهای تغذیه شده با پلاستیک و پلاستیک - موم، گروه‌های عاملی جدیدی پیدا شد، قله‌هایی در ۱۰۶۱-۱۱۱۹ سانتی‌متر^{-۱} (C-O-) ۱۶۴۸ سانتی‌متر^{-۱} (C=C-) و کشش ۱۶۶۱-۱۷۳۷ سانتی‌متر^{-۱} (C=O)، که تنها (شکل ۵) نشان‌دهنده این است، یعنی فرآیند اکسیداسیون و دپلمیریزاسیون پلاستیک در روده لارو اتفاق افتاده است (۲۷، ۲۸). قله‌های وسیع در ۳۲۷۹-۳۴۲۰ سانتی‌متر^{-۱} در زیست‌توده حاصل از تجزیه پلاستیک پلی‌اتیلن به گروه‌های هیدروکسیل و کریوکسیلیک اختصاص داده شد و



(پ)



(ت)

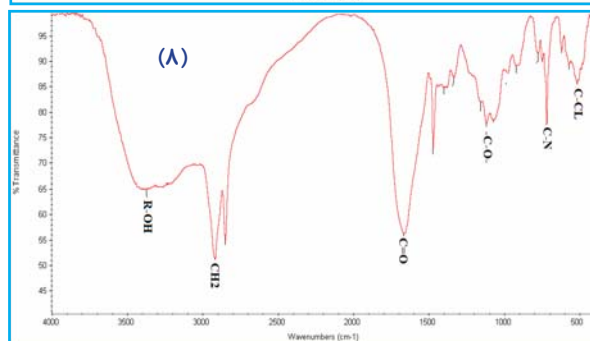
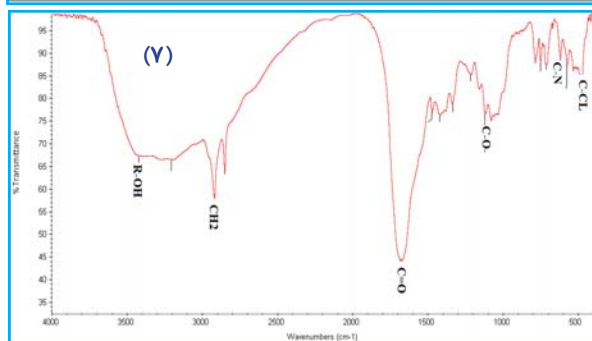
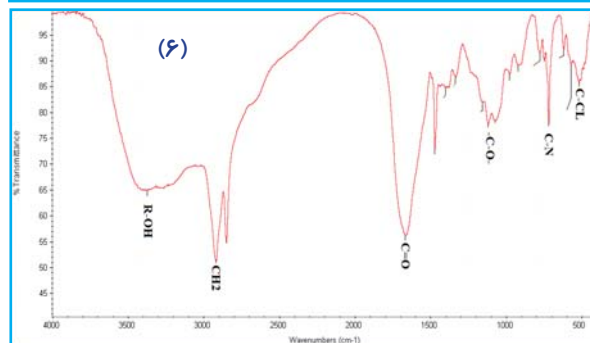
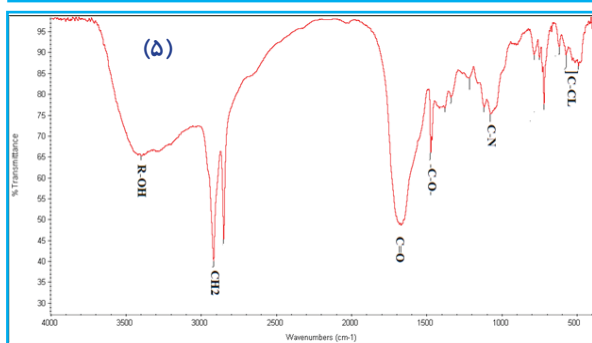
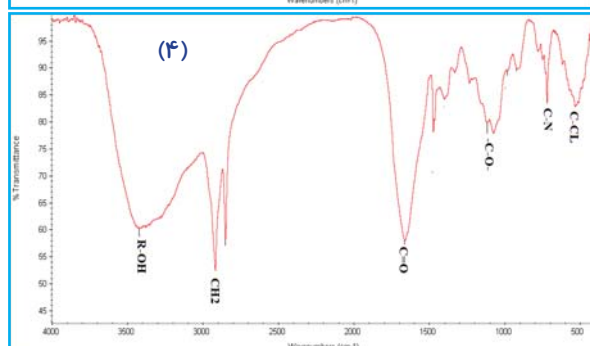
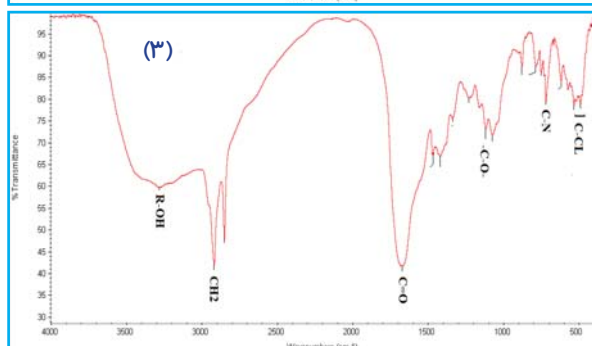
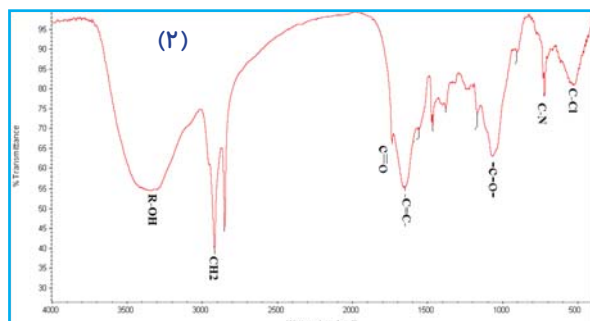
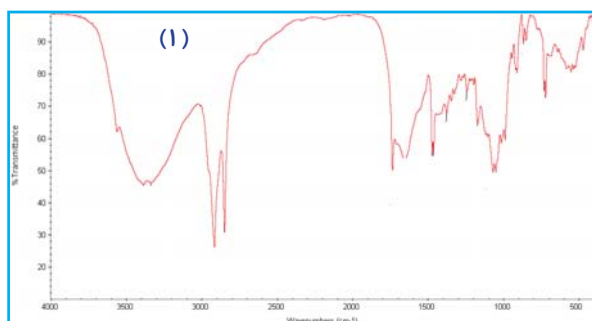
شکل ۲. مراحل پرورش و تغذیه لارو گالریا ملونلا از پلاستیک پلی‌اتیلن. آثار تغذیه لاروها از فیلم پلاستیک زباله (الف)، آثار تغذیه لاروها از فیلم پلی‌اتیلن فریزری و فروشگاهی (ب)، تولید سفیره و خروج شب پره‌های تغذیه شده با پلاستیک (پ)، تخم‌گذاری شب پره‌های خارج شده از سفیره (ت).

آنالیز FT-IR بر روی زیست‌توده حاصل از تغذیه لارو گالریا ملونلا از رژیم‌های پلاستیک در مقایسه با رژیم موم

نمونه‌های زیست‌توده لاروهای جمع‌آوری شده از رژیم‌های مختلف پلاستیک و موم به آزمایشگاه دانشکده علوم دانشگاه فردوسی مشهد ارسال شد. طیف FT-IR از نمونه‌های زیست‌توده (Frass) لاروهای تغذیه شده با پلاستیک (PE) با استفاده از طیف‌سنج Nicolet (Thermo Fisher Scientific, USA) S50 آنالیز شد. نمونه‌های فرس با برومید پتاسیم (KBr) به پودرهای همگن برای اسکن و رسم نمودار با FT-IR آسیاب و

پلاستیک-موم بسیار ضعیف‌تر بود که نشان‌دهنده کاهش پلیمر پلی‌اتیلن در زیست‌توده دفع شده و نشان‌دهنده افزایش تخریب زیستی می‌باشد.

تغییری از ویژگی‌های سطح آب‌گریز به آب‌دوست اضافی پیشنهاد شد. شدت قله‌های ارتعاش خم حلقه در ۶۲۵-۹۷۰ سانتی‌متر^{-۱} در موم کنترل قوی بود، اما در نمونه‌های زیست‌توده حاوی پلاستیک و



نمودار ۱. آنالیز FT-IR نمونه زیست‌توده حاصل از تغذیه لاروها از موم به‌عنوان کنترل و تغذیه از انواع فیلم پلی‌اتیلن به‌عنوان مثبت. گراف FT-IR زیست‌توده کنترل (۱)، آنالیز زیست‌توده تغذیه از رژیم تغذیه پلاستیک زباله-موم (۲)، گراف آنالیز زیست‌توده حاصل از تغذیه لارو از پلاستیک زباله (۳)، آنالیز زیست‌توده لارو تغذیه شده از رژیم پلاستیک فریزری (۴)، آنالیز زیست‌توده حاصل از تغذیه لارو نسل دوم از پلاستیک فریزر (۵)، گراف آنالیز بیوماس لارو تغذیه شده با رژیم موم-پلاستیک دسته‌دار (۶)، آنالیز فرس حاصل از تغذیه لارو نسل دوم از پلاستیک زباله (۷)، گراف FT-IR فرس لارو تغذیه شده با پلاستیک فریزر-موم (۸).

پلاستیک هضم شده توسط لارو، مساحت پلاستیک بر اساس مساحت صفحات پتری دیش (۵۰/۲۴ میلی متر) محاسبه شد. در نسل اول، تغذیه از رژیم موم - پلاستیک، برای موم-پلاستیک فریزر، زیاله و کیسه خرید به ترتیب ۸۹/۵، ۵۹/۷ و ۶۹/۶ درصد بود و در مورد رژیم پلاستیک به تنهایی برای پلاستیک فریزر، زیاله و کیسه خرید به ترتیب ۷۱/۶، ۸۹/۵ و ۲۹/۸ درصد محاسبه گردید (نمودار ۲. گراف پ و ت). در نسل دوم، این میزان برای پلاستیک فریزر، زیاله و کیسه فروشگاهی به ترتیب ۷۹/۶، ۵۹/۷ و ۱۹/۹ درصد بود و این میزان در گروه رژیم موم- پلاستیک تنها پلاستیک زیاله ۱/۳ برابر بیشتر هضم شده بود و سایر پلاستیک ها کاهش مصرف توسط لارو داشتند (نمودار ۲. گراف ث و ج). شکل خوراک نشان می دهد که تغذیه لارو از جیره پلاستیکی در نسل اول و دوم تفاوت های منحصر به فردی داشته است.

میزان بقای لاروها

میزان بقای لارو برای جیره های مختلف تغذیه محاسبه شد که به ترتیب ۹۹/۵٪ برای موم زنبور عسل، ۹۸٪ برای پلاستیک فریزر، ۹۷٪ برای زیاله و ۹۶/۵٪ برای کیسه های خرید بود.

مقایسه آماری میزان هضم رژیم موم- پلاستیک و رژیم منحصر به فرد پلاستیک های پلی اتیلن توسط لارو

با توجه به متغیرهای آماری جدول ۲، تفاوت معنی داری در بررسی مقایسه ای میزان هضم پلاستیک توسط لاروهای تغذیه شده با جیره موم - پلاستیک وجود داشت ($p < 0.05$, $\chi^2 = 114/94$, $df = 2$). همچنین این مقایسه در مورد تغذیه لاروها از پلاستیک به تنهایی پس از نگهداری در شرایط بدون تغذیه (به مدت ۴۸ ساعت) با توجه به مؤلفه های آماری جدول ۳ تفاوت معنی داری داشت ($p < 0.05$, $\chi^2 = 130/94$, $df = 2$).

در این مطالعه تنها در آنالیز زیست توده حاصل از تغذیه لارو از رژیم موم- پلاستیک زیاله، گروه های عاملی -C-C- و C=O مشاهده شد که نشان دهنده ترکیبات اضافه شده به پلی اتیلن استفاده شده در کیسه زیاله بود (نمودار ۱. گراف ۱). گروه عاملی کریوکسیلیک (CH_2) در دو طیف حاصل از آنالیز زیست توده تولیدی از تغذیه لاروها از پلاستیک فریزر در نسل دوم و تغذیه از موم- پلاستیک زیاله، درصد جذب اشعه ماورای بنفش در آنها بیشتر بود (نمودار ۱. گراف ۵ و ۱). بیشترین جذب اشعه در خصوص گروه عاملی هیدروکسیلیک در طیف حاصل از آنالیز زیست توده تولیدی در رژیم تغذیه موم پلاستیک زیاله بود. با توجه به این یافته ها به نظر می رسد ترکیبات ساختار پلاستیک های زیاله نسبت به سایر پلاستیک های با ساختار پلی اتیلن می تواند برای محیط زیست مخرب تر باشد، بنابراین میکروبیوم معده لارو گالریا ملونلا می تواند در تخریب ساختار شیمیایی پلاستیک های پلی اتیلن مؤثر باشد.

مقایسه میزان هضم پلاستیک های پلی اتیلن توسط لارو گالریا ملونلا

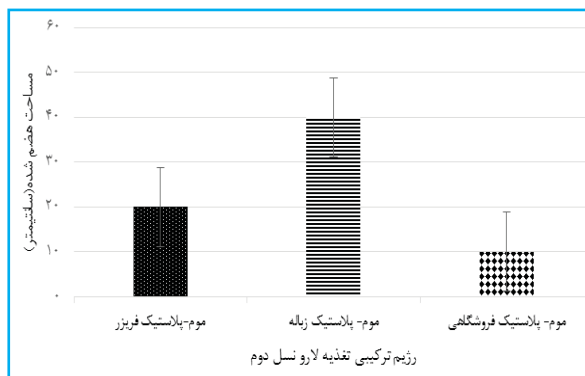
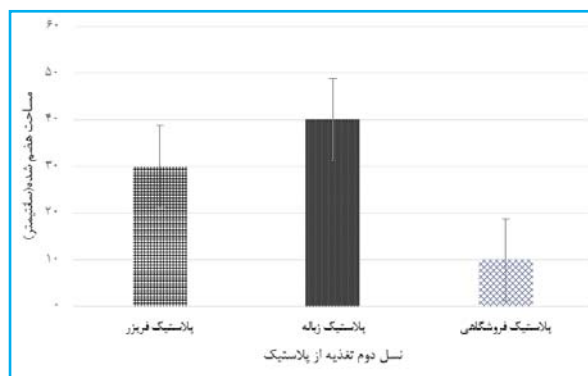
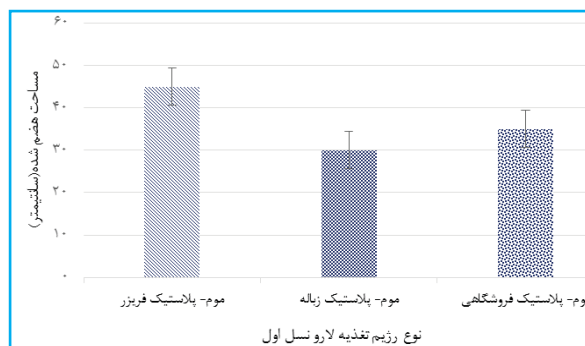
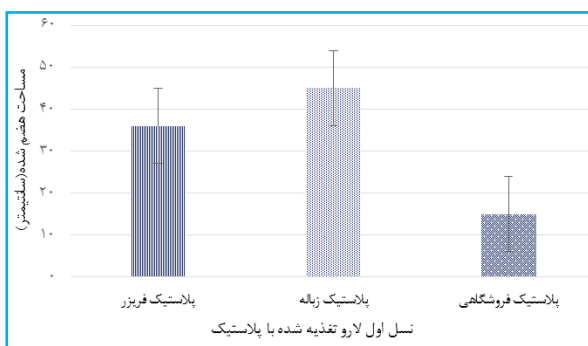
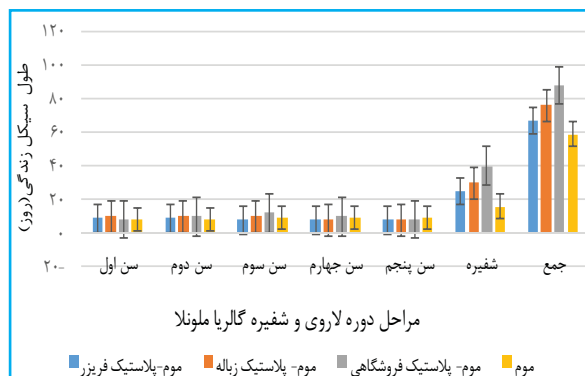
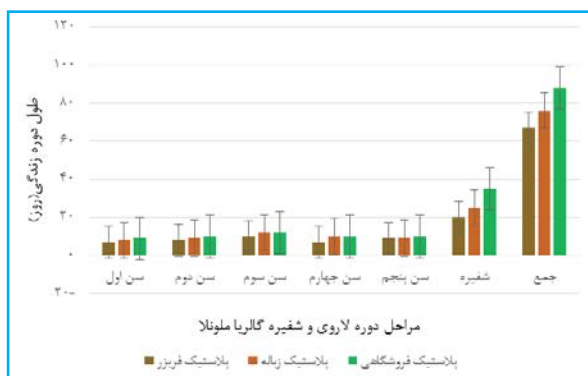
طول عمر لاروی *G. mellonella* بر اساس نوع جیره پلی اتیلن- موم در مقایسه با جیره فقط موم زنبور عسل متفاوت بود، بنابراین یک سیکل دوره زندگی شب پره موم خوار در جیره موم زنبور عسل حدوداً ۵۹ روز بود، در صورتی که این سیکل در مورد رژیم موم - پلاستیک برای لاروهای تغذیه شده با پلاستیک فریزر، زیاله و دسته دار (فروشگاهی) به ترتیب حدود ۶۷، ۷۶ و ۸۸ روز محاسبه شد (نمودار ۲. گراف الف). تفاوت معنی داری در طول عمر لاروها بین جیره های پلی اتیلن وجود نداشت و برای تغذیه از پلاستیک فریزر، زیاله و پلاستیک فروشگاهی به ترتیب حدود ۶۱، ۷۳ و ۸۶ روز بود (نمودار ۲. گراف ب). برای محاسبه میانگین درصد

جدول ۱. متغیرهای آماری تغذیه لاروها از رژیم موم و انواع پلاستیک

منبع تغذیه لارو	تعداد لارو	خطای استاندارد $\pm$ میانگین	میانگین رتبه ای	ماکزیم $\pm$ مینیم	df	سطح معنی داری
موم- پلاستیک فریزر	۳۰۰	۲/۵ $\pm$ ۰/۱	۲۲۳/۳۵	۰/۰۴ $\pm$ ۱/۰۳	۲	۰/۰۰
موم- پلاستیک زیاله		۱ $\pm$ ۰	۱۰۴/۵	۰/۰۴ $\pm$ ۰/۳		
موم- پلاستیک فروشگاهی		۱ $\pm$ ۰	۱۲۳/۶۵	۰/۰۳ $\pm$ ۰/۳۶		

جدول ۲. متغیرهای آماری تغذیه لاروها از رژیم انواع پلاستیک

منبع تغذیه لارو	تعداد لارو	خطای استاندارد $\pm$ میانگین	میانگین رتبه ای	ماکزیمم $\pm$ مینیمم	df	سطح معنی داری
پلاستیک فریزر	۳۰۰	$۰/۴۴ \pm ۱/۰۹$	۱۸۵/۹۲	$۲/۵ \pm ۰/۲$	۲	۰/۰۰
پلاستیک زباله		$۰/۴۱ \pm ۱/۱۳$	۱۹۲/۵	$۲/۵ \pm ۰/۲$		
پلاستیک فروشگاهی		$۰/۳۴ \pm ۰/۴۲$	۷۳/۰۹	۱ ± ۰		



نمودار ۲. طول دوره لاروی نسل اول *G. mellonella* با توجه به نوع جیره غذایی (الف و ب)، مساحت پلی اتیلن تغذیه شده توسط لارو *G. mellonella* (نسل اول و دوم) با توجه به نوع رژیم غذایی (پ - ج)

بحث

مطالعه حاضر برای اولین بار در ایران و به دنبال پاندمی کرونا در جهان و ایران که مصرف پلاستیک‌های پلی اتیلن نسبت به گذشته افزایش چشمگیری پیدا کرده است، طراحی شد و از آنجایی که در مطالعات خارجی، توانایی لاروهای گالریا ملونلا در هضم پلاستیک‌های پلی اتیلن به اثبات رسیده است، این موضوع در ایران نیز بررسی شد که نتایج نشان‌دهنده آن بود که گونه بومی ایران نیز توانایی حذف پلاستیک را دارد و حتی در مواردی، میزان حذف پلاستیک بیشتر از گزارشات قبلی بود. نحوه تغذیه لاروها از رژیم پلاستیک در این مطالعه نسبت به مطالعات محققین قبلی، ایده‌پردازی شده است و با نوآوری همراه بود. مطالعه حاضر در دو بخش حشره‌شناسی و رفتارشناسی شب‌پره گالریا ملونلا و آنالیز زیست‌توده تولید شده توسط لاروهای تغذیه شده بر روی موم عسل در مقایسه با رژیم‌های حاوی پلاستیک بود.

تأیید تخریب پلاستیک پلی اتیلن با آشکارسازی گروه‌های عاملی زیست‌توده تولیدی لاروها

همانطور که در مطالعات دیگر نشان داده شده است، گروه‌های شیمیایی عملکردی موجود در Frass لاروهای تغذیه شده بر روی پلاستیک با تجزیه و تحلیل FTIR تعیین شد (۲۹). از آنجایی که لاروی *G. mellonella* مواد مغذی طبیعی را در داخل یا اطراف موم زنبور عسل و موم/پارافین به دست می‌آورد، این مواد به دلیل شباهت‌های ساختاری‌شان، به عنوان یک مولکول مدل برای مطالعات تخریب پلاستیک در نظر گرفته شدند (۳۰). داده‌های طیف به دست آمده، تشکیل یک سری نوارهای جذب الکل و آمین و ناپدید شدن گروه‌های استر را در نتیجه تخریب موم نشان داد که با گزارش‌های قبلی که هیدرولیز استرها در طی فرآیند تخریب حرارتی موم زنبور عسل منجر به تشکیل الکل‌ها و اسید پالمیتیک و مشتقات فنولیک شد، مطابقت داشت. تجزیه و تحلیل طیفی نمونه‌های بیوماس لاروهای که جیره‌های مخلوط را مصرف می‌کردند، ترکیبات شیمیایی را نشان داد که ممکن است با تخریب موم یا پلیمر مرتبط باشد، اما حذف آنها ممکن نبود. آنها همچنین

می‌توانند از بقایای جذب شده در حین مصرف مشتق شوند. طیف فوریه از لاروهای تغذیه شده با پلاستیک، ظاهر پیوندهای کربوکسیل را در نمونه‌های بیوماس نشان داد. اوجا و همکاران در مطالعه خود وجود پیوندهای کربونیل (C=O) و همچنین کشش از گروه‌های الکل‌های سوم (C=O) را به عنوان محصولات اصلی در اکسیداسیون پلاستیک‌ها نشان دادند (۳۱).

کوندوگال و همکاران در مطالعه بر روی قابلیت‌های تخریب پلی اتیلن فشرده توسط لارو کرم موم کوچک (*Achroia grisella*) و توانایی آن برای تکمیل چرخه زندگی خود هنگام تغذیه با HDPE تمرکز نمودند. این محققین در تجزیه و تحلیل بیوماس تولیدی با FTIR و $^1\text{H NMR}$ شکل‌گیری گروه‌های آلی عملکردی جدید را نشان دادند که تجزیه زیستی PE در کرم‌های مومی را نشان می‌داد. این تحلیل بر روی نمونه‌های پلی اتیلن، حضور گروه‌های کربونیل و الکی جدید را با افزایش هیدروکربن غیراشباع نشان می‌داد که نشان‌دهنده شکاف یا تشکیل پیوندهای جدیدی است که می‌تواند اکسیداسیون پلاستیک را تقویت کند (۳۲، ۳۳). در مطالعه رن و همکاران، تشکیل گروه‌های عاملی جدید مربوط به گروه‌های عملکردی هیدروکسیل، اتر و کربونیل پیشنهاد شد که می‌تواند با تخریب پلی اتیلن توسط *Aspergillus flavus* PEDX3 جدا شده از محتویات روده لارو *G. mellonella* مرتبط باشد (۳۳).

تجزیه زیستی پلی اتیلن با استفاده از شاخص کربونیل تخمین زده شد که به عنوان نسبت بین مساحت پیک جذب نوار گروه‌های کربونیل (۱۶۵۰-۱۷۰۰ سانتی‌متر^{-۱}) به آن ناحیه از پیوند اوج قیچی شکل CH_2 (حدود ۷۱۸ سانتی‌متر^{-۱}) تعریف می‌شود (۳۴، ۳۵). از تجزیه و تحلیل واضح است که فلور روده / روده کرم مومی ممکن است آنزیم‌های خارج سلولی را آزاد کند که به طور فعال در تخریب پلاستیک نقش دارند.

باند جذب در ۱۷۹۶ سانتی‌متر در نمونه پلاستیک و افزایش یک پیک جدید گروه کربونیل با افزایش شدت مشاهده شد که

ممکن است اکسیداسیون پلاستیک با همپوشانی ترکیبات کربونیل مختلف با آمیدها (۱۶۶۰-۱۶۵۴ سانتی متر^{-۱} - باشد (۳۶-۳۸).

قله‌های حدود ۳۴۰۰ و ۱۶۵۴ سانتی متر^{-۱} - به مواد پروتئینی اختصاص داده شدند که ممکن است به دلیل عملکرد آنزیمی باکتری‌های روده باشد (۳۹). تجزیه و تحلیل FTIR نمونه‌های frass، افزایش رشد شدت آمین‌های آلیفاتیک کشش C-N (۱۰۰۰-۱۲۰۰ سانتی متر^{-۱} -) و سایر پیک‌های اختصاص داده شده به C-Cl الکیل هالیدهای کششی (۵۵۰-۸۵۰ سانتی متر^{-۱} -) را نشان داد، در حالی که کرم موم بزرگ که از پلی‌اتیلن مخلوط شده با رژیم موم غذایی طبیعی تغذیه می‌شود، پیک‌های جدید آمیدهای ۲ و ۳ به دلیل ارتعاشات کششی ترکیبات نیترو نامتقارن N-H و ارتعاشات صفحه آمین‌های آلیفاتیک کششی C-N و آلکین‌های خمشی C- پیوند سه گانه C-H:C-H (۱۵۲۰، ۱۲۲۳ و ۶۲۳ سانتی متر^{-۱} -) را نشان می‌داد. نتایج FTIR تجزیه بیولوژیکی پلی‌اتیلن را نشان می‌داد و بیوماس موم به عنوان شاهد تمام نمونه‌ها در مقایسه با نمونه‌های پلاستیک و موم- پلاستیک، جابجایی و ظهور پیک‌های جدید را نشان داد (۳۹).

لیو و همکاران نیز در مطالعه خود معتقد بود که تشکیل C=O و C-O حاوی گروه‌های عاملی و اسیدهای چرب با زنجیره بلند به عنوان واسطه‌های متابولیکی پلاستیک در پلیمرهای باقی‌مانده نشان‌دهنده پلیمریزاسیون و تجزیه زیستی است (۴۰).

مقایسه میزان بقای لاروهای تغذیه شده بر روی رژیم موم و پلاستیک

برخلاف آنچه تصور می‌شد که تغذیه لاروها از موم، باعث بقای آنها شده و تغذیه از رژیم پلاستیک احتمالاً تأثیر منفی بر رشد لاروها و ادامه سیکل زندگی آنها داشته باشد، نتایج این پژوهش نشان داد که تغییر رژیم غذایی لاروها تأثیری بر سیکل زندگی شب‌پره گالریا ملونلا ندارد و تمامی لاروهای تغذیه شده با رژیم‌های مختلف توانستند از دوره لاروی عبور کرده و تبدیل به پروانه شده و ادامه نسل با تخم‌گذاری پروانه‌ها صورت گیرد که یک امتیاز مثبت در

مورد این حشره محسوب می‌شود. این موضوع در مطالعه کوندوگال و همکاران نیز گزارش شد، ولی اختلافی که بین لاروهای تغذیه شده با رژیم‌ها پلاستیک با رژیم موم مشاهده شد، مربوط به مرحله شفیره و خروج شب‌پره‌ها بود؛ به‌ویژه در خصوص رژیم‌های غذایی که پلاستیک در آنها وجود داشت، این اختلاف نسبت به رژیم موم ۲ برابر بود.

اختلاف میزان حذف پلاستیک توسط لاروهای گالریا ملونلا در مقایسه بین رژیم‌های غذایی حاوی پلاستیک

همانطور که نتایج نشان داد، در مواردی که لاروها از یک رژیم غذایی موم و پلاستیک استفاده کرده بودند، تمایل لاروها به تغذیه از پلاستیک‌ها کاهش داشت و میزان تغذیه از پلاستیک فریزی بیشتر و پلاستیک زباله نسبت به سایر رژیم‌ها کمتر بود. برخلاف آن لاروهایی که به مدت ۴۸ ساعت به صورت گرسنه نگهداری شده بودند، در مقایسه با رژیم ترکیبی، تمایل بیشتری به تغذیه از پلاستیک‌ها داشتند؛ به‌طوری‌که در برخی پلیت‌های پلاستیک فریزی و زباله، تقریباً بیش از ۹۰٪ آن خورده شده بود، ولی باید توجه داشت که اگر ۷۲ ساعت از گرسنگی لاروها بگذرد، سریعاً به شفیره تبدیل شده و تمایل آنها به تغذیه از پلاستیک کاهش می‌یابد. هرچه نسل آزمایشگاهی لاروها بیشتر شود (نسل دوم به بعد)، لاروها از نظر وزنی و سائز طولی نسبت به نسل اول کاهش یافته و میزان تغذیه از پلاستیک کاهش می‌یابد. کرم‌های مومی بزرگ که با پلاستیک تغذیه می‌شدند، در طول آزمایش نسبت به کرم‌های مومی تغذیه شده با موم، زیست‌توده کمتری تولید کردند که احتمالاً به‌خاطر کمبود مواد مغذی و آب نسبت به رژیم موم بود (۳۲). در خصوص تغذیه لاروها با رژیم منحصر به فرد مصنوعی، به علت کاهش وزن لاروها، توانایی آنها در حذف پلاستیک کاهش می‌یابد که توصیه می‌گردد حتماً در کنار رژیم مصنوعی از غذای کمکی موم نیز استفاده گردد.

نتیجه‌گیری

آثار تخریبی مشاهده شده در انواع پلاستیک پلی‌اتیلن، گواه توانایی لارو گالریا ملونلا در حذف پلاستیک از طبیعت است

همچنین هرگونه تضاد منافع حقیقی یا مادی که ممکن است بر نتایج یا تفسیر مقاله تأثیر بگذارد را رد می کنند.

تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از رساله دانشجویی رشته مهندسی محیط زیست- گرایش مواد زائد و جامد (پسماند) جهت اخذ دانشنامه دکتری می باشد که در مورخه ۱۸ شهریور ماه ۱۴۰۱ به تصویب شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران با کد ۱۲۳۴۴۸۹۰۰۷۳۰۸۲۴۱۴۸۰۱۷۱۶۲۳۸۲۵۱ رسیده است. بدین وسیله از همکاری صمیمانه شورای پژوهشی دانشکده محیط زیست واحد علوم و تحقیقات تهران در پیگیری تصویب رساله و همچنین از همکاری همکاران محترم دانشگاه علوم پزشکی گناباد، جناب آقای حسین نوری و سرکار خانم سالاری کارشناسان آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده پیراپزشکی تقدیر و تشکر می گردد.

و می تواند به عنوان روش جایگزین حذف پلاستیک از محیط زیست باشد. همچنین تشکیل گروه های کربونیل عاملی به عنوان واسطه های متابولیکی پلاستیک ها در پلیمرهای باقی مانده مشاهده شده در نمونه های زیست توده (frass)، نشان دهنده تجزیه زیستی است. بنابراین در مطالعات آینده با بررسی میکروبیوم معده لارو گالریا ملونلا در آزمایشگاه و شناسایی باکتری های مؤثر در تخریب پلاستیک، قدمی نو در حفظ سلامت محیط زیست خشکی و آبی برداشته خواهد شد. تولید اتیلن گلیکول در اثر تخریب پلاستیک که در زیست توده لاروها قابل استخراج است نیز در آینده می تواند به یک محصول مفید جانبی در صنایع شیمیایی به کارگیری شود.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمام نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده ها و داده سازی را در این مقاله رعایت کرده اند.

References

- Alang E. Covid-19 and increase in plastic debris in coastal and marine environments. *Journal of Research in Environmental Health*. 2021; 7(1):11-6.
- Proshad R, Kormoker T, Islam MS, Haque MA, Rahman MM, Mithu MM. Toxic effects of plastic on human health and environment: A consequence of health risk assessment in Bangladesh. *International Journal of Health*. 2018; 6(1):1-5.
- Rochman CM, Browne MA, Halpern BS, Hentschel BT, Hoh E, Karapanagioti HK, Rios-Mendoza LM, Takada H, Teh S, Thompson RC. Classify plastic waste as hazardous. *Nature*. 2013; 494(7436):169-71.
- Taylor P. The state of the marine environment: A critique of the work and role of the joint Group of Experts on Scientific Aspects of Marine Pollution (GESAMP). *Marine Pollution Bulletin*. 1993; 26(3):120-7.
- Derraik JG. The pollution of the marine environment by plastic debris: a review. *Marine pollution bulletin*. 2002; 44(9):842-52.
- Thompson RC, Olsen Y, Mitchell RP, Davis A, Rowland SJ, John AW, McGonigle D, Russell AE. Lost at sea: where is all the plastic? *Science*. 2004; 304(5672):838.
- Kaiser J. The dirt on ocean garbage patches. 2010.
- Wilcox C, Van Seville E, Hardesty BD. The threat of plastic pollution to seabirds is global, pervasive, and increasing. *Proceedings of the national academy of Sciences* 2015; 112(38):11899-904.
- Jambeck JR, Geyer R, Wilcox C, Siegler TR, Perryman M, Andrady A, Narayan R, Law KL. Plastic waste inputs from land into the ocean. *Science*. 2015; 347(6223):768-71.
- Alabi OA, Ologbonjaye KI, Awosolu O, Alalade OE. Public and environmental health effects of plastic wastes disposal: a review. *Journal Toxicol Risk Assess*. 2019; 5(021):1-3.
- Rahmani Sani A, Tabasi A, Miri M. Determining the efficiency of plastic, rubber and electronic waste in municipal wastewater treatment. *Journal of Research in Environmental Health*. 2021; 7(1):42-52.
- Yang X, Sun L., Xiang J, Hu S, Su S. Pyrolysis and dehalogenation of plastics from waste electrical and electronic equipment (WEEE): a review. *Waste Management* 2013; 33 (2): 462-473.
- R. Geyer JR, Jambeck KL. Law, Production, use, and the Fate of all plastics ever made, *Sci. Adv*. 3 (2017). <https://doi.org/10.1126/sciadv.1700782>.
- Auta HS, Emenike CU, Fauziah SH. Distribution and importance of microplastics in the marine environment: a review of the sources, fate, effects, and potential solutions. *The environment was international*. 2017; 102:165-76. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.02.013>
- Harshvardhan K, Jha B. Biodegradation of low-density polyethylene by marine bacteria from pelagic waters, Arabian Sea, India. *Marine Pollution Bulletin* 2013; 77(1-2):100-6.

16. Yang CZ, Yaniger SI, Jordan VC, Klein DJ, Bittner GD. Most plastic products release estrogenic chemicals: a potential health problem that can be solved. *Environmental health perspectives*. 2011; 119(7):989-96.
17. Briassoulis D. An overview of the mechanical behavior of biodegradable agricultural films. *Journal of Polymers and the Environment*. 2004; 12:65-81.
18. Ali SS, Elsamahy T, Koutra E, Kornaros M, El-Sheekh M, Abdelkarim EA, Zhu D, Sun J. Degradation of conventional plastic wastes in the environment: A review on the current status of knowledge and future perspectives of disposal. *Science of the Total Environment*. 2021; 771:144719.
19. Zheng Y, Yanful EK, Bassi AS. A review of plastic waste biodegradation. *Critical reviews in biotechnology* 2005; 25(4):243-50.
20. Shah AA, Hasan F, Hameed A, Ahmed S. Biological degradation of plastics: a comprehensive review. *Biotechnology advances*. 2008; 26(3):246-65.
21. Amobonye A, Bhagwat P, Singh S, Pillai S. Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes. *Science of the Total Environment*. 2021; 759:143536.
22. Alshehrei F. Biodegradation of synthetic and natural plastic by microorganisms. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*. 2017; 5(1):8-19.
23. Sen SK, Raut S. Microbial degradation of low-density polyethylene (LDPE): a review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2015; 3(1):462-73.
24. Bilal H, Raza H, Bibi H, Bibi T. Plastic biodegradation through insects and their symbionts microbes: a review. *Journal of Bioresource Management*. 2021; 8(4):7.
25. Yang J, Yang Y, Wu WM, Zhao J, Jiang L. Evidence of polyethylene biodegradation by bacterial strains from the guts of plastic-eating waxworms. *Environmental science & technology*. 2014; 48(23):13776-84.
26. Brandon AM, Gao SH, Tian R, Ning D, Yang SS, Zhou J, Wu WM, Criddle CS. Biodegradation of polyethylene and plastic mixtures in mealworms (larvae of *Tenebrio molitor*) and effects on the gut microbiome. *Environmental science & technology*. 2018; 52(11):6526-33.
27. Yang Y, Yang J, Wu WM, Zhao J, Song Y, Gao L, Yang R, Jiang L. Biodegradation and mineralization of polystyrene by plastic-eating mealworms: Part 1. Chemical and physical characterization and isotopic tests. *Environmental science & technology*. 2015; 49(20):12080-6.
28. Peng H, Salmén L, Stevanic JS, Lu J. Structural organization of the cell wall polymers in compression wood as revealed by FTIR microspectroscopy. *Planta*. 2019; 250:163-71.
29. Umamaheswari S, Murali M. FTIR spectroscopic study of fungal degradation of poly (ethylene terephthalate) and polystyrene foam. *Chemical Engineering*. 2013; 64(19):159.
30. Puglisi E, Romaniello F, Galletti S, Boccaleri E, Frache A, Cocconcelli PS. Selective bacterial colonization processes on polyethylene waste samples in an abandoned landfill site. *Scientific reports*. 2019; 9(1):1-3.
31. Ojha N, Pradhan N, Singh S, Barla A, Shrivastava A, Khatua P, Rai V, Bose S. Evaluation of HDPE and LDPE degradation by fungus, implemented by statistical optimization. *Scientific Reports*. 2017; 7(1):39515.
32. Kundungal H, Gangarapu M, Sarangapani S, Patchaiyappan A, Devipriya SP. Efficient biodegradation of polyethylene (HDPE) waste by the plastic-eating lesser waxworm (*Achroia grisella*). *Environmental Science and Pollution Research*. 2019; 26:18509-19.
33. Ren L, Men L, Zhang Z, Guan F, Tian J, Wang B, Wang J, Zhang Y, Zhang W. Biodegradation of polyethylene by *Enterobacter* sp. D1 from the guts of wax moth *Galleria mellonella*. *International Journal of environmental research and public health*. 2019; 16(11): 1941.
34. Andrady AL, Pegram JE, Tropsha Y. Changes in carbonyl index and average molecular weight on embrittlement of enhanced-photodegradable polyethylenes. *Journal of environmental polymer degradation*. 1993; 1: 171-9.
35. Hadad D, Geresh S, Sivan A. Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis*. *Journal of applied microbiology*. 2005; 98(5): 1093-100.
36. Khabbaz F, Albertsson AC, Karlsson S. Chemical and morphological changes of environmentally degradable polyethylene films exposed to thermo-oxidation. *Polymer degradation and stability*. 1999; 63(1): 127-38.
37. Xu J, Yang W, Zhang C, Dong X, Luo Y. Photo-oxidation and biodegradation of polyethylene films containing polyethylene glycol-modified TiO₂ as pro-oxidant additives. *Polymer Composites*. 2018; 39: E531-9.
38. Muhonja CN, Makonde H, Magoma G, Imbuga M. Biodegradability of polyethylene by bacteria and fungi from Dandora dumpsite Nairobi-Kenya. *PloS one*. 2018; 13(7): e0198446.
39. Da Silva DJ, Wiebeck H. ATR-FTIR spectroscopy combined with chemometric methods for the classification of polyethylene residues containing different contaminants. *Journal of Polymers and the Environment*. 2022; (7): 3031-44.
40. Leu SY, Yang TH, Lo SF, Yang TH. Optimized material composition to improve the physical and mechanical properties of extruded wood-plastic composites (WPCs). *Construction and Building Materials*. 2012; 29: 120-7.