

Application of fungal microorganisms for the in vitro degradation of synthetic polymers

José Paulo Guerrero Cabrera, Bachiller¹, Rita Cabello Torres, Maestro¹, Alcides Garzon Flores¹,
Patricia Reynoso Quispe, Maestro², Lorgio Valdiviezo-Gonzales, Doctor³

¹Escuela de Ingeniería Ambiental, campus San Juan de Lurigancho- Universidad César Vallejo, Lima, Perú
rcabello@ucv.edu.pe, agarzonf@ucv.edu.pe

²Universidad Nacional Agraria la Molina, UNALM-Lima -Perú, preynoso14@gmail.com

³Universidad Tecnológica del Perú, UTP, campus de San Juan de Lurigancho, Lima, Perú, lvaldiviez@utp.edu.pe

Abstract– The present study evaluated the application of 6 fungal microorganisms in the degradation of high-density polyethylene (HDPE) and low-density polyethylene (LDPE), both in pellet form. The fungal microorganisms evaluated were: Aspergillus flavus, Aspergillus niger, Fusarium culmorum, Penicillium italicum, Pycnoporus sanguineus, isolated from different sources (leaves, fruits, agricultural soil, and vegetables). While, Pleurotus ostreatus was also provided by the Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM). The degradative capacity of the fungi was evaluated in two stages. The first was carried out in an incubator for a period of 46 days at 26°C using an artisanal culture medium (Potato Dextrose Agar, PDA). The highest degradation percentages of 2.85 % and 1.83% were achieved with Fusarium culmorum on HDPE and LDPE, respectively, followed by Pycnoporus sanguineus with 2.16% on HDPE and 1.73% on LDPE. These results were confirmed by Scanning Electron Microscopy (SEM), hyphae development, micelle formation, as well as cracks and striations on the surface of the plastic were observed. In a second stage, both fungi and polymers were evaluated for a period of 4 months, and a higher percentage of mass reduction was produced with Fusarium culmorum with values of 6.24% for HDPE and 7.81% for LDPE. The biodegradation of both polymers was evidenced, and further research is needed to improve efficiency by optimizing parameters such as time, temperature, and culture medium.

Keywords-- Fusarium culmorum, high-density polyethylene, low-density polyethylene, degradation, plastics.

Digital Object Identifier (DOI):

<http://dx.doi.org/10.18687/LACCEI2022.1.1.155>

ISBN: 978-628-95207-0-5 **ISSN:** 2414-6390

Aplicación de microorganismos fúngicos para la degradación “in vitro” de polímeros sintéticos

José Paulo Guerrero Cabrera, Bachiller¹, Rita Cabello Torres, Maestro¹, Alcides Garzon Flores¹,

Patricia Reynoso Quispe, Maestro², Lorgio Valdiviezo-Gonzales, Doctor³

¹Escuela de Ingeniería Ambiental, campus San Juan de Lurigancho- Universidad César Vallejo, Lima, Perú

rcabello@ucv.edu.pe, agarzonf@ucv.edu.pe

²Universidad Nacional Agraria la Molina, UNALM-Lima -Perú, preynoso14@gmail.com

³Universidad Tecnológica del Perú, UTP, campus de San Juan de Lurigancho, Lima, Perú, lvaldiviez@utp.edu.pe

Abstract– The present study evaluated the application of 6 fungal microorganisms in the degradation of high-density polyethylene (HDPE) and low-density polyethylene (LDPE), both in pellet form. The fungal microorganisms evaluated were: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium italicum*, *Pycnoporus sanguineus*, isolated from different sources (leaves, fruits, agricultural soil, and vegetables). While, *Pleurotus ostreatus* was also provided by the Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM). The degradative capacity of the fungi was evaluated in two stages. The first was carried out in an incubator for a period of 46 days at 26°C using an artisanal culture medium (Potato Dextrose Agar, PDA). The highest degradation percentages of 2.85 % and 1.83% were achieved with *Fusarium culmorum* on HDPE and LDPE, respectively, followed by *Pycnoporus sanguineus* with 2.16% on HDPE and 1.73% on LDPE. These results were confirmed by Scanning Electron Microscopy (SEM), hyphae development, micelle formation, as well as cracks and striations on the surface of the plastic were observed. In a second stage, both fungi and polymers were evaluated for a period of 4 months, and a higher percentage of mass reduction was produced with *Fusarium culmorum* with values of 6.24% for HDPE and 7.81% for LDPE. The biodegradation of both polymers was evidenced, and further research is needed to improve efficiency by optimizing parameters such as time, temperature, and culture medium.

Keywords-- *Fusarium culmorum*, high-density polyethylene, low-density polyethylene, degradation, plastics.

Resumen– En el presente estudio se evaluó la aplicación de 6 microorganismos fúngicos en la degradación de polietileno de alta densidad (PEAD) y el polietileno de baja densidad (PEBD), ambos en forma de pellets. Los microorganismos fúngicos evaluados fueron: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium italicum*, *Pycnoporus sanguineus*, aislados de distintas fuentes (hojas, frutas, suelo agrícola y vegetales). Mientras, el *Pleurotus ostreatus* fue proporcionado por la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM). La capacidad degradativa de los hongos se evaluó en 2 etapas. La primera fue realizada en una incubadora, por un periodo de 46 días a 26°C usando un medio de cultivo artesanal (Agar Papa Dextrosa, PDA). Los mayores porcentajes de degradación de 2.85 % y 1.83%, se lograron con el *Fusarium culmorum* en PEAD y en PEBD respectivamente, seguido del *Pycnoporus sanguineus* con 2.16% en PEAD y 1.73% en PEBD. Estos resultados se confirmaron mediante Microscopia Electrónica de Barrido (MEB), se observó el desarrollo de hifas, la formación de micelas, así como fisuras y estrías en la superficie del plástico. En una segunda etapa, se evaluaron ambos hongos y polímeros por un periodo de 4 meses, se

produjo un mayor porcentaje de reducción de masa con el *Fusarium culmorum* con valores de 6.24% para PEAD y 7.81 % para PEBD. Se evidenció la biodegradación de ambos polímeros, siendo necesario más investigaciones, para mejorar la eficiencia, mediante la optimización de parámetros como tiempo, temperatura y medio de cultivo.

Palabras clave-*Fusarium culmorum*, polietileno de alta densidad, polietileno de baja densidad, degradación, plásticos

I. INTRODUCCIÓN

En nuestro planeta, se ha estimado la producción de 335 millones de toneladas (Mt) de plástico en 2016 [1] y 500 Mt en 2020 [2]; asimismo entre 40 y 50% del plástico fabricado, es usado como empaque de primer uso y se convierte rápidamente en residuo [3].

En el Perú se utilizan tres millones de bolsas plásticas por año y sólo en Lima metropolitana y Callao se genera el 46% de residuos plásticos de un solo uso de todo el país [2]. Al respecto el gobierno peruano promulgó el decreto supremo, DS 013-2018 MINAM, que promueve el uso responsable del plástico y la reducción del plástico de un solo uso, sin embargo, su implementación se vio afectada por la pandemia del COVID-19 [4]

Asimismo, en la costa peruana se han reportado diversos estudios acerca de la contaminación por plástico, principalmente en arena de playas [5] macroinvertebrados [6] peces [7] y algunas especies de moluscos [8].

Los residuos plásticos generan impactos negativos en los diversos ecosistemas, principalmente en la cadena alimenticia y salud humana [9], por sus características cancerígenas, mutagénicas y disruptivas endocrinas [10]. Este contaminante ha sido relacionado con alteraciones de los diversos mecanismos biológicos dentro del organismo [11], incluidos el sistema circulatorio, el cerebro e hígado [12].

La incineración, reciclaje y uso de vertederos (actuales tratamientos de estos residuos) resultan ser poco sostenibles o muy costos [13]. Es por ello, que las actuales investigaciones están dirigidas a la búsqueda de alternativas de reúso o biodegradación de plásticos [14, 15]. Por ejemplo, se ha reportado investigaciones con el uso de hongos como el género *Aspergillus sp.* [16,17], *Penicillium sp.* [16], *Penicillium citrinum* [18], hongos filamentosos [19], asimismo, el uso de hongos de origen marino [20]. Se debe

resaltar que la mayoría de estudios abordan la degradación de polímeros de baja densidad.

Es decir, los polímeros sintéticos pueden ser colonizados rápidamente por microorganismos como hongos, diatomeas o bacterias, formando biofilms en la superficie del polímero [21], y adaptándose a la fuente de carbono logrando la mineralización del plástico [22].

La presente investigación evalúa la aplicación, in vitro, de seis microorganismos fúngicos en la degradación de polietileno de alta densidad (PEAD) y el polietileno de baja densidad (PEBD) en ambientes controlados.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Recolección de muestras

Los polímeros sintéticos (PEAD y PEBD) en forma de pellets (aproximadamente 1.5 cm de diámetro) fueron proporcionados por la empresa procesadora de plástico PERUPLAST S.A.C. Posteriormente, se realizó la recolección de muestras infectadas en hojas, suelos, vegetales y frutas cítricas que cumplieran con las características de marchitez o pudrición. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio de ingeniería forestal de la Universidad Agraria la Molina (UNALM) para su respectiva preparación y tratamiento.

B. Aislamiento y cultivos de los microorganismos

En el laboratorio las muestras se desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio al 2 % durante 1 minuto, luego se enjuagó 3 veces con agua destilada, logrando obtener 4 a 5 piezas de 1cm² de área infectada. Mientras que el *Pleurotus ostreatus* obtenido de la UNALM se cultivó (5 días a 26°C, con una humedad relativa > 85%) a través de micelio de segundo nivel en trigo en una incubadora (Thermo Scientific IGS100d). Terminado el plazo de incubación, se realizaron los repiques de las siembras iniciales, para obtener especies purificadas y su posterior identificación de género y especie, mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).

Asimismo, se valoraron dos medios de cultivo: el Agar Papa dextrosa (PDA) (artesanal: 16% de papa + 0.81 % dextrosa + 1.4 % agar en 1 l de agua) acidificado al 25% con ácido láctico [23] y el Czapek Dox (2.9% de sacarosa + 0.3% NaNO₃ + 1.4% agar-agar, en un base de 1L de agua), para determinar la mayor adhesión y crecimiento de enzimas sobre los polímeros. Los microorganismos fúngicos se desarrollaron en placas Petri de 90 x 15 mm, incubados durante 5 días a 26 °C. Después del tiempo previsto se observó un mayor crecimiento y producción de enzimas en el medio PDA.

C. Selección de especies fúngicas de mayor eficiencia (primera etapa)

En una etapa previa, los plásticos fueron desinfectados para eliminar otros agentes microbiológicos en su superficie, estos fueron sumergidos en hipoclorito de sodio por 1 minuto, luego en 50 ml de alcohol por 3 minutos, finalmente

reposados en agua destilada durante 24 horas, en condiciones ambientales, según lo descrito por Louzi, & Carvalho [24].

Las 6 especies de microorganismos fúngicos aislados (*Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum*, *Penicillium italicum*, *Pycnoporus sanguineus*, *Pleurotus ostreatus*) fueron identificados mediante observación visual y confirmados por PCR.

Para el aislamiento y purificación del ADN genómico se aplicó el kit QIAamp DSP DNA FFPE Tissue (U.S.A) y oligonucleótidos 5'-CAGGGGAGGTAGTGACAATAA-3' y 5'-ACAAATCACTCCACCAACTAAG-3 y ITS1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') e ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATG 3') teniendo como referencias anteriores estudios [25 y 26]. La temperatura de alineamiento fue 59 °C. Se usó el Termiciclador Eppendorf programado a 95 °C por 15 min, con 35 ciclos de 94 °C por 1 min; temperatura de alineamiento por 1 min, 72 °C por 1 min; y temperatura de elongación igual a 72 °C durante 10 min, de tal manera que la identificación se hizo aplicando electroforesis en gel de agarosa al 1.5%.

Las especies fúngicas, se pusieron en contacto con los polímeros sintéticos, bajo las mismas condiciones en esta primera etapa (46 días a 26°C, en medio Agar Papa Dextrosa sin renovación-PDA). Se identificaron las especies que obtuvieron un mayor porcentaje de degradación.

En la siguiente etapa (4 meses), se ampliaron los tamaños de las placas Petri (100 x 15 mm), para una posterior siembra con las especies que tuvieron los mejores resultados.

D. Cálculo de eficiencia de degradación y observación por Microscopía Electrónica de Barrido

La eficiencia se determinó en función del porcentaje de degradación o masa perdida (Pp) usando una balanza analítica (SARTORIUS/ BP210D); mediante las ecuaciones 1 y 2 [27]:

$$P_o - P_f = P_p \quad (1)$$

$$\% = \frac{P_p \times 100}{P_o} \quad (2)$$

Donde P_o y P_f es el masa inicial y final del polímero. Asimismo, se realizó un análisis de Microscopía Electrónica de Barrido, MEB (HITACHI/ SU8230), a los polímeros sintéticos + hongo, con el objetivo de constatar las características de adaptación del hongo, y los cambios en la superficie del polímero por enzimas biodegradadoras.

E. Degradación cuantitativa de polímeros sintéticos

Las dos especies que mostraron mejores resultados en la etapa previa fueron evaluados a un tiempo mayor (4 meses), tiempo superior a otros estudios (28 días-polietileno-*Aspergillus flavus* por Zhang et al. [28]; 150 días-plástico LDPE-*Penicillium simplicissimum* por Ghosh, et al. [29]; 45 días-polietileno de baja densidad (LDPE)-*Trichoderma viride* y RH06 - *Aspergillus nonius* por Munir et al. [14].

La biodegradación de plásticos se realizó a 26°C en medio PDA y se hizo de la siguiente manera: Se prepararon 12 placas para la degradación de PEAD y 12 placas para la degradación de PEBD usando *Fusarium culmorum*, cada mes fueron separadas 3 placas de cada plástico, para hacer la medición correspondiente, el proceso duro 4 meses. El mismo procedimiento fue aplicado para el *Pycnoporus sanguineus*. Al finalizar la incubación, estos fueron pesados y además se determinó el porcentaje de masa perdida.

F. Análisis estadístico

Se verificó la normalidad de los datos, mediante la prueba estadística Shapiro-Wilk, posteriormente se aplicó la prueba de normalidad ANOVA, para verificar las diferencias estadísticas de las medias y la prueba TUKEY y determinar la medias más altas y más bajas. Se consideró un nivel de confianza del 95% y se usó el software estadístico Minitab V.18.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Microorganismos fúngicos con mayor biodegradación

Los valores de degradación de PEAD y PEBD por acción de los distintos hongos evaluados, son presentados en la tabla I. Destacan los valores obtenidos por las especies *Fusarium culmorum* y *Pycnoporus sanguineus*, que alcanzaron un consumo en masa media de 0.0023 y 0.0017 gramos, representando el 2.85% y 2.16% de pérdida de masa, respectivamente. El *P. italicum* presentó una reducción de la masa de 2% y las especies *A. niger*, *A. flavus* y *P. ostreatus* valores inferiores al 1%. Asimismo, el *Fusarium culmorum* y *Pycnoporus sanguineus* en contacto con el PEBD mostraron pérdida de masa de 0.0028 y 0.0022 gramos representando el 1.83 y 1.73 %, respectivamente. En cambio, las especies *P. italicum*, *A. niger*, *A. flavus* y *P. ostreatus* presentaron valores de reducción inferiores al 1% de la masa inicial, similar a lo registrado para PEAD.

TABLA I

APLICACIÓN DE MICROORGANISMOS FÚNGICOS PARA LA DEGRADACIÓN DE PEAD Y PEBD, EXPRESADO EN MASA PERDIDA (gramos) Y PORCENTAJE (%) (PRIMERA ETAPA: 46 DÍAS).

Hongos	PEAD		PEBD	
	gramos	%	gramos	%
<i>Aspergillus flavus</i>	6 ±0.11	0.87±0.11	8 ±0.2	0.63±0.2
<i>Aspergillus niger</i>	1±0.10	0.14±0.10	2 ±0.2	0.17±0.2
<i>Penicillium italicum</i>	1.3±0.10	1.89±0.10	1.4±0.2	0.90±0.2
<i>Fusarium</i>	2.3±0.11	2.85±0.11	2.8 ±0.2	1.83±0.2

<i>culmorum</i>				
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	1.7±0.10	2.16±0.10	2.2±0.2	1.73±0.2
<i>Pleurotus ostreatus</i>	0.0	0.00	0.0	0.00

Asimismo, en la Figura 1, se observa la presencia de enzimas, producidas (coloración rojiza) por los hongos *Fusarium culmorum* y *Pycnoporus sanguineus* sobre la superficie de los pellets (color negro). Esto evidencia la actividad de estos hongos (adhesión de coloración blanca) sobre la base de carbono disponible.

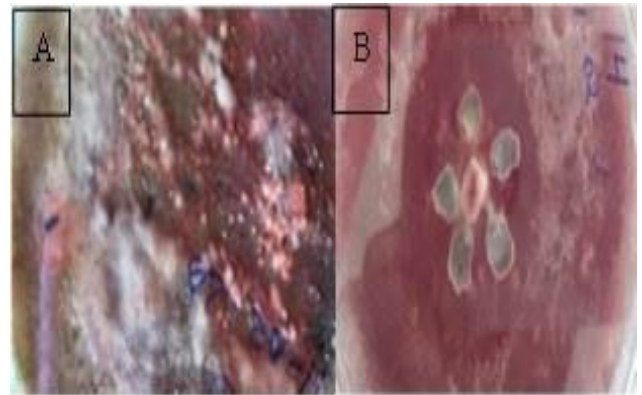


Fig. 1 Adhesión (color blanco) y producción de enzimas (color rojizo) sobre PEAD mediante el A) *Pycnoporus sanguineus* y B) *Fusarium culmorum*

En la figura 2, se presentan las microfografías obtenidas a de las dos especies más eficientes: *Fusarium culmorum* (A1-3 y C1-3) y *Pycnoporus sanguineus* (B1-3 y D1-3) en contacto el PEAD y PEBD, antes de tratamiento (A1, B1, C1 y D1) después de 46 días de contacto hongo-polímero (A2, B2, C2 y D2) y la superficie del polímero libre de hongo, también después de 46 días de contacto (A3, B3, C3 y D3).

Estas microfografías muestran una mayor adhesión del *Fusarium culmorum* tanto sobre el PEAD (A2) y en el PEBD (C2) observándose hifas, clamidiosporas y la formación de micelio sobre la superficie. Esto no se observó en el caso de *Pycnoporus sanguineus* (B2 y D2), pero si la presencia de basidiosporas.

Asimismo, es notorio la presencia de grietas (A3) sobre la superficie del PEAD después de 46 días de contacto, con la especie *Fusarium culmorum*. Mientras que la formación de estrías, fueron más características de la especie *Pycnoporus sanguineus* en ambos polímeros (B2 y D2). Esto debido a su fijación sobre la estructura superficial polimérica (PEAD y PEBD), mientras que la acción enzimática posterior genera la degradación polimérica, con la proliferación de basidiosporas en forma de estrías.

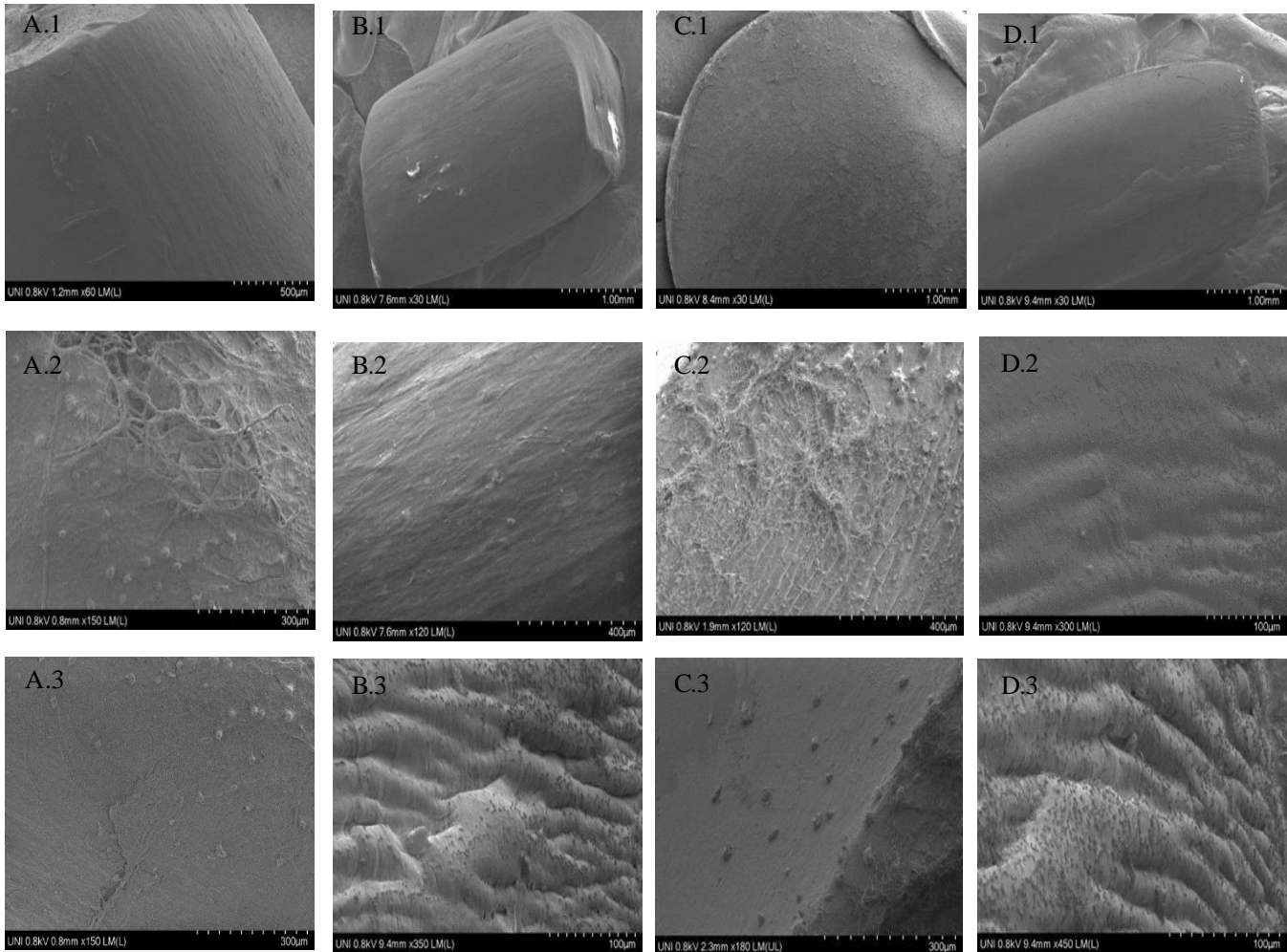


Figura 2. A) *Fusarium culmorum* - PEAD, B) *Pycnoporus sanguineus* - PEAD, C) *Fusarium culmorum* - PEBD y D) *Pycnoporus sanguineus* - PEBD, antes del tratamiento (A1-D1) luego de 46 días de tratamiento, polímero + hongo (A2-D2) y superficie de polímero sin hongo (A3-D3)

La prueba estadística Shapiro-Wilk, confirmó la normalidad de la muestra ($p > 0.05$), mientras que los resultados del ANOVA con un solo factor y $p < 0.05$, reportó una diferencia estadística significativa entre las medias del porcentaje de pérdida de masa de plástico para ambas especies. La prueba Tukey confirmó una mayor degradación del polímero por la especie *Fusarium culmorum*.

Los resultados son similares a lo reportado por Alhosni et al. [29], quienes identificaron al género *Fusarium sp.* como responsable de la degradación de polímeros, por adhesión sobre la superficie de estos, creando una bio-película. Mientras que, Sheik et al. [22] indicaron que la actividad fúngica de los hongos endofíticos identificada por la producción de enzimas extracelulares, degradó un máximo de 3.5% del polietileno de baja densidad, desarrollando hifas sobre la estructura del polímero. Asimismo, Méndez et al. [30] indicaron que las especies como *Penicillium sp.*, *Fusarium sp.*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger* pueden degradar polietileno.

Sin embargo, no todos los microorganismos presentan una capacidad de degradación de los polímeros, tal como lo indicaron Uribe et al. [15] y ha sido confirmado en nuestro estudio. La tabla 2 muestra los mayores porcentajes de degradación del PEAD (0.0034 gramos 4.52%) y PEBD (0.0046 gramos; 6.24%) usando el *Pycnoporus sanguineus*, superado por la degradación sobre el PEAD (0.0083 gramos 5.8 %) y PEBD (0.0115 gramos; 7.81 %) causado por el *Fusarium culmorum*.

Los resultados indican una creciente y sostenible degradación de los polímeros con el tiempo, ello debido a que el plástico es la única fuente de carbono de los hongos. Es por ello la necesidad de investigaciones considerando tiempos superiores a los 4 meses.

TABLA II
DEGRADACIÓN DE POLÍMEROS SINTÉTICOS EN EL PERÍODO DE 4 MESES (SEGUNDA ETAPA)

Meses	PEAD		PEBD	
	Masa (M±DS) x10 ⁻⁴ y porcentaje perdido (%)			
	gramos	%	gramos	%
<i>Pycnoporus sanguineus</i>				
1	1.2±0.11	1.53±0.11	1.7±0.12	1.12±0.14

2	1.9±0.12	2.82±0.12	3.4±0.11	2.19±0.12
3	2.7±0.11	3.60±0.11	5.2±0.10	3.74±0.11
4	3.4±0.11	4.52±0.11	8.3 0.11	5.80±0.11
<i>Fusarium culmorum</i>				
1	1.6±0.11	2.07±0.11	2.7 ±0.12	1.87±0.12
2	2.5±0.12	3.49±0.12	3.8 ±0.11	2.65±0.11
3	3.6±0.10	4.62±0.10	7.0 ±0.10	4.58±0.10
4	4.6±0.11	6.24±0.11	11.5±0.11	7.81±0.13

IV. CONCLUSIONES

El estudio permitió identificar al *Fusarium culmorum* como la especie con mejores resultados en la degradación de ambos polímeros (PEAD y PEBD) con valores de hasta 6.24± 0.11 % y 7.81± 0.13 % en masa perdida de plástico, en un periodo de 4 meses. Sin embargo, no se observaron grandes diferencias entre la degradación de PEAD y PEBD.

La degradación de los polímeros fue confirmada con micrografías, evidenciando la formación de grietas y estrías sobre la superficie ambos polímeros estudiados.

La evaluación de parámetros tales como: medio de cultivo, tiempo (superiores a 4 meses), temperatura e identificación de enzimas responsables de la biodegradación; deben realizarse, afín de profundizar y mejorar este tratamiento.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan su agradecimiento a los técnicos de laboratorio y docentes por su apoyo en la realización de los diferentes análisis realizados en este estudio.

REFERENCIAS

[1] C. Rosevelt, M. Los Huertos, C. Garza, & H. Nevins, "Marine debris in central California: quantifying type and abundance of beach litter in Monterey Bay, CA". 299–306, s.l.: Mar. Pollut. Bull., vol. 71, pp 299-306, 2013.

[2] MINAM. Cifras del mundo y el Perú, ¿Por qué es necesario tomar conciencia? Menos plástico más vida. [En línea] [Citado el: 10 de mayo de 2022.] <http://www.minam.gob.pe/menos-plastico-mas-vida/cifras-del-mundo-y-el-peru/>.

[3] PlasticsEurope. Plastics - the Facts 2016 - an Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data [En línea] PlasticsEurope, 2016. [Citado el: 02 de febrero de 2022.] <files/4315/1310/4805/plastics-the-fact-2016.pdf>

[4] W. Vilca-Quispe, Á. Ramírez-Puraca, C. Medina-Sotelo, & E. Loanavarró, "Residuos Biocontaminantes, otro Legado del COVID-19". Producción+ Limpia, vol.16, no. 2, pp.197-211.2021

[5] G. De-la-Torre, D. Dioses-Salinas, J. Castro, R. Antay, N. Fernández, D. Espinoza-Morriberón, & M. Saldaña-Serrano, "Abundance and distribution of microplastics on sandy beaches of Lima, Peru". Mar. Pollut. Bull., vol.151, p.110877, 2020.

[6] G. De-la-Torre, D. Dioses-Salinas, B. Pérez-Baca, L. Cumpa, C. Pizarro-Ortega, F. Torres, ... & L. Santillán, "Marine macroinvertebrates inhabiting plastic litter in Peru". Mar. Pollut. Bull., vol.167, p.112296, 2021

[7] C. Fernández-Ojeda, M. Muniz, R. Cardoso, R. Dos Anjos, E. Huaríngá, C. Nakazaki, ... & O. Garcés-Ordóñez, "Plastic debris and natural food in two commercially important fish species from the coast of Peru". Mar. Pollut. Bull., vol.173, p.113039, 2021.

[8] G. De-la-Torre, D. Apaza-Vargas & L.Santillán, "Microplastic ingestion and feeding ecology in three intertidal mollusk species from Lima, Peru". Rev Biol Mar Oceanogr, vol.55, no2, pp.167-171, 2020

[9] Y. Wang, Y. Lee, I. Chiu, Y. Lin & H. Chiu, "Potent impact of plastic nanomaterials and micromaterials on the food chain and human health". Int. J. Mol. Sci., vol. 21, no 5, pp.1727, 2020

[10] M. Bläsing & W. Amelung, "Plastics in soil: Analytical methods and possible sources". Sci. Total Environ, vol, 612, pp 422-435, 2018

[11] R. Thompson, C. Moore, F. Vom Saal, & S. Swan, "Plastics, the environment and human health: current consensus and future trends. Philosophical transactions of the royal society B." Biol. Sci, vol. 364, no 1526, pp. 2153-2166, 2009.

[12] L.Peng, D. Fu, H. Qi, C. Lan, H. Yu, & C. Ge, "Micro-and nano-plastics in marine environment: Source, distribution and threats—A review". Sci. Total Environ, vol. 698, p.134254, 2020.

[13] A. Amobonye, P. Bhagwat, S. Singh, & S. Pillai, "Plastic biodegradation: Frontline microbes and their enzymes". Sci. Total Environ, vol. 759, p. 143536, 2021

[14] E. Munir, R. Harefa, N. Priyani, & D. Suryanto, "Plastic degrading fungi Trichoderma viride and Aspergillus nomius isolated from local landfill soil in Medan". IOP Conf Ser.: Earth Environ. Sci, vol. 126, no.1, p.012145, March 2018.

[15] D. Uribe, D. Giraldo, S. Gutiérrez & F. Merino, "Biodegradación de polietileno de baja densidad por acción de un consorcio microbiano aislado de un relleno sanitario, Lima, Perú". Rev. peru. biol, vol. 17, no. 1, pp. 133-136, 2010.

[16] U. Zafar, P. Nzeram, A. Langarica-Fuentes, A. Houlden, A. Heyworth, A.Saiani, & G. Robson, "Biodegradation of polyester polyurethane during commercial composting and analysis of associated fungal communities". Bioresour. Technol, vol. 158, pp.374-377, 2014.

[17] G. D'Souza, R. Sheriff, V. Ullanat, A. Shrikrishna, A. Joshi, L. Hiremath, & K. Entoori, "Fungal biodegradation of low-density polyethylene using consortium of Aspergillus species under controlled conditions". Heliyon, vol. 7, no.5, p. e07008, 2021

[18] S. Khan, S. Ali & A. Ali, "Biodegradation of Low Density Polyethylene (LDPE) by Mesophilic fungus "Penicillium citrinum" isolated from soils of plastic waste dump yard, Bhopal, India". Environ Technol, (just-accepted), pp.1-28. 2022

[19] F. Spina, M. Tummino, A. Poli, V. Prigione, V. Ilieva, P.Cocconcelli, ... & G. Varese, "Low density polyethylene degradation by filamentous fungi". Environ Pollut, vol.274, p.116548, 2021

[20] E. Zeghal, A. Vaksmaa, H. Vielfaure, T. Boekhout & H. Niemann, "The Potential Role of Marine Fungi in Plastic Degradation—A Review". Front. Mar. Sci. vol. 8, p.738877. 2021

[21] A. Delacuvellerie, V. Cyriaque, S.Gobert, S.Benali & R.Wattiez, "The plastisphere in marine ecosystem hosts potential specific microbial degraders including Alcanivorax borkumensis as a key player for the low-density polyethylene degradation". J. Hazard. Mater. vol. 380, p. 120899, 2019.

[22] S. Sheik, K.Chandrashekar, K.Swaroop & H. Somashekarappa, "Biodegradation of gamma irradiated low density polyethylene and polypropylene by endophytic fungi, Int. Biodeterior. Biodegradation, vol. 105, pp.21-29, 2015.

[23] T. Ames de Icochea, "Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos". International Potato Center, ISBN: 92-9060-238-4 1. CA, 2004.

[24] V. Louzi, & J. de Carvalho, "Corona treatment applied to synthetic polymeric monofilaments (PP, PET, and PA-6)". Surf. Interfaces. Vol 14, pp. 98-107, 2019

[25] H. Pérez-Cano, "Establecimiento de una reacción en cadena de la polimerasa para la detección de bacterias y hongos". Rev. Mex. de Oñalmol. Vol. 88, no. 2, pp.67-72, 2014

[26] S. González, "Diagnóstico y control de especies de aspergillus productoras de ocratoxina". Tesis doctoral Universidad Complutense de Madrid. facultad de ciencias biológicas. Departamento de Genética, 2010

[27] K. Janczak, K. Hryniewicz, Z. Znajewska, & G. Dąbrowska, "Use of rhizosphere microorganisms in the biodegradation of PLA and PET polymers in compost soil". Int. Biodeterior. Biodegradation, vol. 130, pp. 65-75, 2018.

[28] J. Zhang, D. Gao, Q. Li, Y. Zhao, L. Li, H. Lin, ... & Y. Zhao, "Biodegradation of polyethylene microplastic particles by the fungus

- Aspergillus flavus* from the guts of wax moth *Galleria mellonella*". *Sci. Total Environ*, vol. 704, p. 135931, 2020.
- [29] S. Ghosh, & S. Pal, "De-polymerization of LDPE plastic by *Penicillium simplicissimum* isolated from municipality garbage plastic and identified by ITSs locus of rDNA". *Vegetos*, vol. 34, pp. 57–67, 2021.
- [30] J. Al hosni, J. Pittman & G. Robson, "Microbial degradation of four biodegradable polymers in soil and compost demonstrating polycaprolactone as an ideal compostable plastic". *Int J Environ Waste Manag*, vol. 97, pp. 105-104, 2019.
- [31] C. Méndez, G. Vergaray, V. Béjar & K. Cárdenas, "Aislamiento y caracterización de micromicetos biodegradadores de polietileno". *Rev. Peru. Biol*, vol. 13, no 3, pp. 203-206, 2007.