



Screening of basidiomycetes fungi possible to use in decolorization of RBBR dye

Wioletta PRZYSTAŚ¹, Ewa ZABŁOCKA-GODLEWSKA²

¹ Silesian University of Technology, Akademicka 2A, tel.: +48 32 237 2855, e-mail: wioletta.przystas@polsl.pl

² Silesian University of Technology, Akademicka 2A, tel.: +48 32 237 2855, e-mail: ewa.zablocka-godlewska@polsl.pl

Abstract

Synthetic dyes are a serious threat if they get into the environment, even in small quantities. Therefore, studies to improve the treatment of waste water containing dyes is still a challenge. One of the most frequently used groups of dyes in the dyeing are those belonging to the anthraquinone class. The aim of the study was to determine the possibility of using fungi in decolorization of dye belonging to this group as is Remazol Brilliant Blue R. The tests were carried out on solid media of different composition. Among the 9 strains tested, the highest activity was recorded for species: *Pleurotus ostreatus* (strain K4), *Xerocomus badius* (strain K45) and *Hypholoma fasciculare* (strain K47). They were effectively removing dye added to the medium rich in organic compounds, but reduction of nutrient concentrations in medium stimulated discoloration of the dye.

Keywords: fungi, decolorization, anthraquinone dye, RBBR

Streszczenie

Badania przesiewowe grzybów podstawkowych w kierunku wykorzystania w dekoloryzacji barwnika RBBR

Barwniki syntetyczne stanowią poważne zagrożenie jeśli dostaną się do środowiska nawet w niewielkiej ilości. Dlatego też praca nad udoskonaleniem oczyszczania ścieków zawierających te substancje stanowi wciąż wyzwanie. Jednymi z częściej wykorzystywanych w procesach barwienia są barwniki antrachinonowe. Celem badań było określenie możliwości wykorzystania grzybów podstawkowych w dekoloryzacji zaliczanego do tej grupy remazolowego błękitu brylantowego R. Testy prowadzono na podłożach stałych o różnym składzie. Spośród 9 testowanych szczepów największą efektywność dekoloryzacji stwierdzono w przypadku: *Pleurotus ostreatus* (szczep K4), *Xerocomus badius* (szczep K45) i *Hypholoma fasciculare* (szczep K47). Usuwały one efektywnie barwnik dodany do podłoża bogatego w związki organiczne, natomiast obniżenie stężenia składników odżywczych stymulowało dekoloryzację tego barwnika.

Słowa kluczowe: grzyby, dekoloryzacja, barwnik antrachinonowy, RBBR

1. Wprowadzenie

Produkcja barwników syntetycznych zaliczana jest do najnowocześniejszych i najszybciej rozwijających się branż, ze względu na stałe unowocześnianie technologii, w tym również zmniejszanie ryzyka środowiskowego. Nacisk kładzie się na produkcję barwników wysokiej jakości i wydajności [1]. Ocenia się, iż rocznie rejestrowanych jest 7000 patentów dotyczących syntetycznych barwników i pigmentów [2]. Powszechne wykorzystanie tych związków powoduje, że są one obecne w środowisku naturalnym, co szczególnie widoczne jest w przypadku wód powierzchniowych. Już niewielkie ich stężenia w wodzie powodują wyraźne zmiany jej barwy, a poprzez pogorszenie warunków świetlnych hamują procesy produkcji pierwotnej ekosystemach. Wiele z tych związków jest również toksycznych, a przemiany, jakim podlegają w środowisku, mogą też prowadzić do

powstania toksycznych pochodnych [3-5]. Konieczne jest więc eliminowanie tych zanieczyszczeń ze ścieków jeszcze przed odprowadzeniem do odbiorników. Szczególnym utrudnieniem w procesach oczyszczania jest ich zróżnicowana struktura chemiczna, co znacząco zmniejsza efektywność i zwiększa koszty usuwania ich ze ścieków. Tradycyjne metody fizykochemiczne i biologiczne (w tym wykorzystujące osad czynny) nie pozwalają często osiągnąć zadowalającej efektywności. Metody takie jak ozonowanie, techniki elektrochemiczne i ultradźwiękowe, filtracja membranowa, fotokataliza i adsorpcja są z kolei drogie i prowadzą do gromadzenia niebezpiecznych odpadów poprocesowych [6-11]. Duże nadzieje wiąże się z wykorzystaniem procesów biologicznych w eliminacji barwników ze ścieków i dlatego prowadzone są obecnie w tym kierunku liczne badania. Wśród testowanych organizmów są głównie bakterie, grzyby, ale również drożdże, glony i rośliny wyższe. W badaniach biologicznej dekoloryzacji wykorzystuje się mechanizm adsorpcji na żywej lub martwej biomacie, jak również procesy biotransformacji. Zainteresowanie organizmami żywymi wiąże się z możliwością ich wykorzystania do akumulacji, sorpcji i degradacji różnorodnych zanieczyszczeń [12-13].

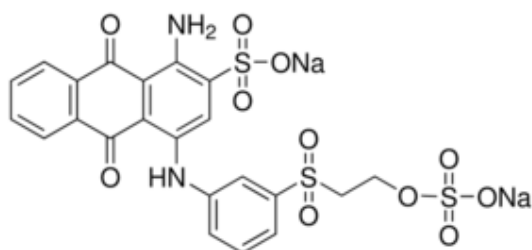
Jednymi z najczęściej badanych w aspekcie dekoloryzacji organizmami są grzyby strzępkowe. Wynika to z ich zdolności do produkcji znacznej ilości wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych enzymów (np. peroksydaz i lakaz), dzięki którym dochodzi do rozkładu również takich zanieczyszczeń organicznych, jak węglowodory pierścieniowe, typowe dla struktury barwników syntetycznych [14-17]. Niska specyficzność substratowa wielu z tych produkowanych również przez grzyby enzymów, pozwala na ich wykorzystanie do degradacji wielu barwników, o zróżnicowanej strukturze [18]. Na szczególną uwagę zasługują przedstawiciele ogólnie dostępnych w środowisku grzybów podstawkowych (Basidiomycota), z których wiele ma również zdolność wytwarzania takich enzymów.

Celem pracy było znalezienie pośród, izolowanych ze środowiska grzybów podstawkowych, szczepów potencjalnie zdolnych do efektywnego rozkładu barwników antrachinonowych. W badaniach przesiewowych (screeningowych) wykorzystano w tym celu jeden z lepiej przebadanych barwników - remazolowy błękit brylantowy R (RBBR). Substancja ta zaliczana jest do barwników reaktywnych, słabo wiązanych przez włókna (75-80%) i często wykorzystywana jest w procesach technologicznych do syntezy barwników polimerowych, o dużej trwałości i silnych właściwościach toksycznych [19-20].

2. Metodyka badań

2.1. Charakterystyka użytego w badaniach barwnika

W badaniach dekoloryzacji poddawano podłoża zawierające barwnik antrachinonowy remazolowy błękit brylantowy R (C.I. 61200), o wzorze chemicznym $C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$ i masie molowej 626,54 g/mol (rys. 2.1). Wyznaczona doświadczalnie długość fali (spektrofotometr UV-VIS Hitachi 1900), przy której obserwowano maksymalną absorbancję wynosiła $\lambda_{max} = 593$ nm. Wykorzystano produkt Reactive Blue 19 firmy Acros Organics.



Rys. 2.1. 2D struktura chemiczna barwnika RBBR

2.2. Metody izolacji szczepów grzybów podstawkowych

Wykorzystane w doświadczeniu grzyby podstawkowe zebrano w południowej Polsce z terenów parków i ogrodów. Na podstawie cech morfologicznych owocników zakwalifikowano je do gatunku bądź rodzaju. Egzemplarze owocników będących reprezentantami 42 gatunków w ilości 58 sztuk, zebrano do papierowych torebek i bezpośrednio po przetransportowaniu do laboratorium dokonano izolacji szczepów metodą tkankową lub zarodnikową. Izolacji dokonywano na podłożu MEA (Malt Extract Agar, (- Fluka). W przypadku metody tkankowej powierzchnię owocników oczyszczono alkoholem izopropylowym, a następnie z wnętrza owocnika pobrano fragment tkanki i umieszczono na płytce Petriego z podłożem. Izolacja metodą zarodnikową (*spore print*) polegała na oczyszczeniu owocników i odcięciu trzonków, a następnie pozostawieniu kapeluszy na czystej kartce papieru na okres 24h pod przykryciem (po pierwszych 2h kartkę zmieniano na świeżą). Otrzymane w ten sposób spory przeniesiono sterylną igłą na podłoże hodowlane. Szczepy inkubowano przez 7 dni w temp. 26°C i pasażowano, aż do uzyskania czystej hodowli.

2.3. Badania screeningowe dekoloryzacji RBBR

Spośród 58 grzybów pochodzących z różnych miejsc udało się wyizolować 14 szczepów. W dalszych badaniach wykorzystano 9 szczepów, charakteryzujących się intensywnym wzrostem grzybni (tab. 2.3.1). Badania prowadzono na dwóch agarowych podłożach hodowlanych, do których dodano barwnika RBBR w stężeniu 0,07 g/l. Wykorzystane w badaniach podłoże MEA (Fluka) charakteryzowało się bogatszą zawartością składników organicznych (ekstrakt słodowy 30g/l, pepton 5g/l), zaś MSB zawierało jedynie glukozę (10 g/l), winian amonu (0,2 g/l) i tiaminę (10 mg/l), oraz substancje mineralne: KH_2PO_4 (2 g/l), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,5 g/l), CaCl_2 (0,1 g/l). Podłoże zestalono agarem (20 g/l), a pH ustalono na poziomie 5,6.

Tabela 2.3.1 Wyizolowane i wykorzystane w badaniach szczepy grzybów

Szczep	Gatunek	Metoda izolacji
K4	Bocznik ostrygowaty <i>Pleurotus ostreatus</i>	Zarodnikowa
K10	Mleczaj <i>Lactarius</i> sp.	Tkankowa
K11	Mleczaj wełnianka <i>Lactarius torminosus</i>	Tkankowa
K34	<i>Lactarius</i> sp.	Zarodnikowa
K44	Mleczaj miły <i>Lactarius quietus</i>	Zarodnikowa
K45	Podgrzybek brunatny <i>Boletus badius</i>	Zarodnikowa
K47	Maślanka wiązkowa <i>Hypholoma fasciculare</i>	Zarodnikowa
RSW2	Czernidłak gromadny <i>Coprinus disseminatus</i>	Zarodnikowa
RSW3	Drobnołuszczak <i>Pluteus</i> sp.	Zarodnikowa

W centralnej części płytek Petriego zawierających wyżej wymienione podłoża hodowlane z barwnikiem, umieszczono krążek grzybni o średnicy 0,5 cm pobrany z 7 dniowej hodowli na podłożu MEA. Każdą próbkę badawczą przygotowano w 6 powtórzeniach dla każdego z podłoży. Codziennie prowadzono obserwacje wzrostu grzybni oraz mierzono strefy przejaśnienia wokół każdej kolonii, świadczące o zdolności do dekoloryzacji użytego w doświadczeniu barwnika. Obserwowano również odbarwianie podłoża pod kolonią rozwijającą się na płytkach. Eksperyment zakończono po 9 dniach i wyznaczono współczynniki dekoloryzacji z zależności 2.3.1.

$$D = \frac{D_p}{D_k} \quad (2.3.1)$$

gdzie:

D – współczynnik dekoloryzacji;

D_p – średnica strefy przejaśnienia na podłożu [mm];

D_k – średnica kolonii rozwijającej się na podłożu [mm].

3. Wyniki i dyskusja

Badania dekoloryzacji z udziałem grzybów prowadzone są od szeregu lat. Najczęściej badanymi przedstawicielami tej grupy organizmów są grzyby zaliczane do *Basidiomycota*, w tym szczególną uwagę zwraca się na *Bjerkandera adusta*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* i *Trametes versicolor* [21-24]. Gatunki te mają zdolność tlenowej depolimeryzacji i mineralizacji ligniny, celulozy czy hemicelulozy, co umożliwia produkcję peroksydazy ligninowej (LiP), peroksydazy Mn-zależna (MnP) oraz lakazy [13-14, 16, 21, 24].

Do najpopularniejszych testów, pozwalających ocenić możliwość wykorzystania danego szczepu do dekoloryzacji, zalicza wzrost na podłożach stałych, przy czym można wykorzystać podłoża o różnym składzie i udziale składników odżywczych [16, 25, 25-30]. Przeprowadzone badania potwierdziły, iż nie każdy grzyb podstawkowy może zostać wykorzystany do dekoloryzacji barwników (tabela 3.1). Dekoloryzację podłoża zawierającego RBBR stwierdzono jedynie w przypadku 4 spośród 9 badanych szczepów. Były to szczepy: *Pleurotus ostreatus* (K4), *Pluteus* sp. (RSW3), *Xeroconomus badius* (K45) i szczep *Hypholoma fasciculare* (K47). Żaden ze szczepów zaliczanych do rodzaju *Lactarius* nie usuwał tego barwnika niezależnie od wykorzystanego w badaniach podłoża. ten może dziwić, ponieważ dane literaturowe wskazują, że grzyby z tego rodzaju produkują zarówno peroksydazę Mn-zależną, jak i, w mniejszej ilości, lakazę, [31]. Jednocześnie stwierdzono, iż w przypadku szczepu RSW3 ogromne znaczenia ma skład podłoża, bowiem barwnik ulegał usunięciu jedynie na ubogim w składniki odżywcze podłożu MSB,. Na podłożu MEA, mimo intensywnego i szybkiego wzrostu grzybni, będącego wynikiem zasobności podłoża w związki węgla i azotu, nie obserwowano procesu odbarwienia. Mniejsza zawartość związków organicznych w podłożu MSB i obecność tiaminy, może stymulować produkcję enzymów ligninolitycznych, a przez to istotnie zwiększyć efektywność dekoloryzacji w przypadku grzybów zgnilizny drewna, co jest w zgodzie z danymi literaturowymi [13, 16, 21-23].

Tabela 3.1 Wzrost i dekoloryzacja RBBR przez wyizolowane szczepy grzybów na dwóch podłożach.

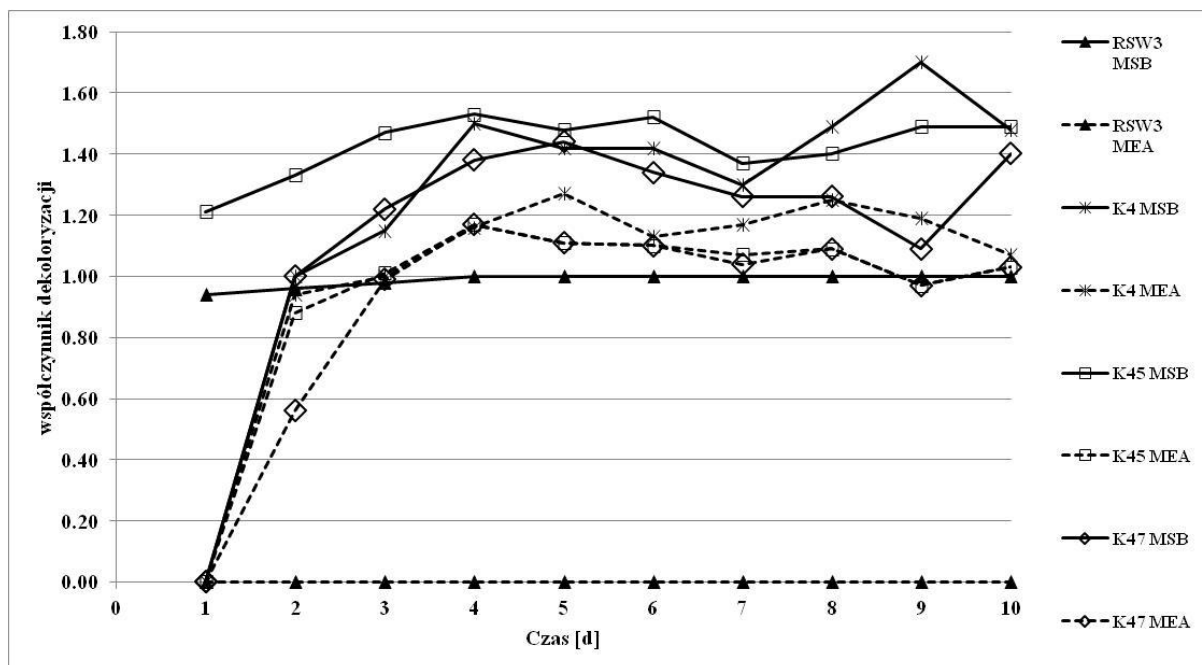
Szczep	RSW2	RSW3	K4	K10	K11	K34	K44	K45	K47
MEA	+0	+0	++	+0	+0	+0	+0	++	++
MSB	+0	++	++	+0	+0	+0	+0	++	++

++wzrost na podłożu i jego dekoloryzacja; +0 wzrost bez dekoloryzacji;

Część z testowanych szczepów usuwała jedynie barwnik znajdujący się bezpośrednio pod grzybnią (rys. 3.1). Takim szczepem był właśnie szczep RSW3, który dekoloryzował jedynie w przypadku podłoża MSB, co wskazuje na niski potencjał dekoloryzacji barwników antrachinonowych przez ten szczep. Dla odmiany szczep K45 wytwarzał intensywne strefy dekoloryzacji wokół kolonii na obu wykorzystanych w badaniach podłożach. Najwyższy uzyskany w przypadku tego szczepu współczynnik dekoloryzacji wynosił 1,53 po 4 dniach wzrostu grzybni na podłożu MSB i 1,17 po 4 dobach na podłożu MEA. Potwierdza to, iż podłoże MEA jest korzystniejsze dla intensywnego wzrostu grzybni, jednak do zwiększenia produkcji enzymów konieczny jest niedobór składników organicznych w podłożu. Podobną zależność stwierdzono w przypadku szczepów K4 i K47. Najwyższe współczynniki dekoloryzacji na podłożu MSB i MEA dla szczepu K4 wynosiły odpowiednio 1,70 (9 doba) i 1,27 (5 doba), a dla szczepu K47 odpowiednio 1,44 (5 doba) i 1,17 (4 doba). Szczególnie wysokie współczynniki uzyskane dla przedstawiciela gatunku *Pleurotus ostreatus* (szczep K4) podkreślają możliwość wykorzystania tego szczepu w dekoloryzacji barwników. Szczepy zaliczane do rodzaju *Pleurotus* znajdują szczególne zainteresowanie badaczy [16, 26, 32]. Knapp i Newby [16] udowodnili, że grzyby te są zdolne do dekoloryzacji barwników azowych, trojfenylometanowych, ftalocjanin, jak i antrachinonowych. Przedstawione powyżej badania są również zgodne z doniesieniami Novotny i wsp. [26], którzy wykazali, że *P. ostreatus* dekoloryzował efektywnie RBBR na wszystkich wykorzystanych w testach podłożach. Test płytkowy wykorzystano również w badaniach Moreira-Neto i wsp. [33], którzy przebadali zdolność dekoloryzacji u 12 przedstawicieli *Basidiomycetes*. Wszystkie wyizolowane szczepy wykazały wzrost w obecności dwóch barwników reaktywnych dodanych do podłoża, jednak tempo wzrostu i intensywność dekoloryzacji badanych szczepów były zróżnicowane. W przeciwieństwie jednak do omawianego powyżej szczepu K4, testowany przez Moreira-Neto i wsp. [33] szczep *P. ostreatus*, nie należał do najbardziej aktywnych.

Szczep K47 *H. fasciculare* dekoloryzował podłoża z mniejszą intensywnością. Szczep UHH 1-4-03 tego gatunku został wyizolowany z próbek wody przez Junghanns i wsp. [34] i aktywnie usuwał barwniki, w tym RBBR, na

podłożach stałych, zaś na podłożach płynnych usunął barwnik RBBR w 82%, a inne barwniki, jak acid blue 62 i diazo-1 direct blue, odpowiednio w 87 i 95% w ciągu 7 dni.



Rys. 3.1. Efektywność dekoloryzacji RBBR przez wybrane gatunki grzybów podstawkowych (test na podłożach stałych).

3. Wnioski

Przeprowadzone badania wykazały, iż spośród wyizolowanych 14 szczepów 9 wykazywało zdolności wzrostu w obecności barwnika antrachinonowego RBBR, jednak tylko 4 z nich mogą być wykorzystane do efektywnej jego dekoloryzacji. Największym potencjałem charakteryzowały się gatunki *Pleurotus ostreatus*, *Xerocomus badius* i *Hypholoma fasciculare*. Stwierdzono również, iż pomimo obiecujących danych literaturowych, dotyczących zdolności dekoloryzacji barwników przez grzyby z rodzaju *Lactarius*, wyizolowane i użyte w badaniach szczepki nie wydają się być użyteczne do usuwania ze ścieków barwników antrachinonowych. Badania wykazały, że skład podłoża ma duży wpływ na efektywność rozkładu barwników, prawdopodobnie przez pobudzenie produkcji enzymów. Na uboższych pod względem zawartości składników organicznych podłożach, uzyskano lepsze efekty dekoloryzacji. Szczególnie wysoka efektywność dekoloryzacji barwnika RBBR przez szczep K4 wymaga dalszych badań i wskazuje na potencjalne możliwości aplikacji tego szczepu w procesach usuwania barwników antrachinonowych.

Literatura

1. http://www.prweb.com/releases/pigments_dyes/inorganic_organic/prweb81312_64.htm (5.03.2013).
2. <http://www.scienceclarified.com/Di-EI/Dyes-and-Pigments.html> (5.03.2013).
3. Majewska-Nowak K. (1986). Usuwanie barwników ze ścieków przemysłowych. *Ochrona Środowiska* 488(4):17-22.
4. McKay G., Otterburn M.S., Aga D.A. (1985). Fullers earth and red clay as adsorbent for dye stuffs. Equilibrium and rate constants. *Water Air Soil Pollut.* 24:307-22.

5. Rehman R., Abbas A., Ayub A., Qurat-ul-Ain, Salman M., Mahmud T., Shafique U., Waheed-uz-Zaman. (2011). Comparative study of brilliant green dye adsorption from water by radish peels, jamun stem and coal. *Electron J Environ Agric Food Chem.* 10(7):2531-2543.
6. Anjaneyulu Y., Chary N.S., Suman Raj D.S. (2005). Decolorization of industrial effluents – available methods and emerging technologies – a review. *Rev Environ Sci Biotechnol.* 4(4):245-273.
7. Yang C.L., McGarrahan J. (2005). Electrochemical coagulation for textile effluent decolorization. *J Hazard Mater.* B127:40-47.
8. Gupta V.K. Suhas. (2009). Application of low-cost adsorbents for dye removal – A review. *J Environ Manage.* 90(8):2313-2342.
9. Hameed B.H. (2009). Removal of cationic dye from aqueous solution using jackfruit peel as non-conventional low-cost adsorbent. *J Hazard Mater.* 162:344-350.
10. Kurniawan A., Kosasih A.N., Febrianto J., Ju Y.-H., Sunarso J., Indraswati N., Ismadji S. (2011). Evaluation of cassava peel waste as lowcost biosorbent for Nisorption: equilibrium, kinetics, thermodynamics and mechanism. *Chem Eng J.* 172:158-166.
11. Dotto G.L., Pinto L.A.A. (2011). Adsorption of food dyes onto chitosan: optimization process and kinetic. *Carbohydr Polym.* 187:164-170.
12. McMullan G., Meehan C., Conneely A., Kirby N., Robinson T., Nigam P., Banat I.M., Marchant R., Smyth W.F. (2001). Microbial decolourisation and degradation of textiles dyes. *Appl Microbiol Biot.* 56:81-87.
13. Fu Y., Viraraghavan T. (2001). Fungal decolorization of dye wastewater: a review. *Bioresource Technol.* 79:251.
14. Wesenberg D., Kyriakides I., Agathos S. N. (2003). White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. *Biotechnol Adv.* 22:161-187.
15. Khan R., Bhawana P., Fulekar M.H. (2013). Microbial decolorization and degradation of synthetic dyes: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol.* 12:75-97.
16. Knapp J.S., Newby P.S., Reece L.P. (1995). Decolorization of wood-rotting basidiomycete fungi. *Enzyme Microb Technol.* (17):664-668.
17. Jarosz-Wilkolazka A., Kochmańska-Rdest J., Malarczyk E., Wardas W., Leonowicz A. (2002). Fungi and their ability to decolourize azo and antraquinonic dyes. *Enzyme Microb Technol.* 30:566-572.
18. Kapdan I.K., Kargi F. (2002). Biological decolorization of textile dyestuff containing wastewater by *Coriolus versicolor* In a rotating biological contractor. *Enzyme Microb Technol.* 30:195-199.
19. Janaki V., Oh B.T., Shanthi K., Lee K.J., Ramasamy A.K., Kamala-Kannan S. (2012a). Polyaniline/chitosan composite: an eco-friendly polymer for enhanced removal of dyes from aqueous solution. *Synthetic Metals.* 162:974-980.
20. Memon F.N., Memon S. (2012). Calixarenes: A Versatile Source for the Recovery of Reactive Blue-19 Dye from Industrial Wastewater. *Pak J Anal Environ. Chem.* 13(2):148-158.
21. Rodriguez-Couto S. (2009). Dye removal by immobilized fungi. *Biotechnol Adv.* 27:227-235.
22. Radha K.V., Regupathi A., Arunagiri A., Murugesan T. (2005). Decolorization studies of synthetic dyes using *Phanerochaete chrysosporium* and their kinetics. *Process Biochem.* 40(10):3337-3345.
23. Eichlerova I., Homolka L., Nerud F. (2007b). Decolorization of high concentrations of synthetic dyes by the white rot fungus *Bjercandera adusta* strain CCBAS 232. *Dyes Pigments.* 75:38-44.
24. Forootanfar H., Moezzi A., Aghaie-Khozani M., Mahmoudjanlou Y., Ameri A., Niknejad F., Faramarzi M.A. (2012). Synthetic dye decolorization by three sources of fungal laccase. *Iran J Environ Health Sci Eng.* 9:27.

25. Casieri L., Varese G.C., Anastasi A., Prigione V., Svobodová K., Filippello Marchisto V., Novotný Č. (2008). Decolorization and detoxication of reactive industrial dyes by immobilized fungi *Trametes pubescens* and *Pleurotus ostreatus*. *Folia Microbiol.* 53(1):44-52.
 26. Novotný Č., Rawal B., Bhatt M., Patel M., Šašek V., Molitoris H.P. (2001). Capacity of *Irpex lacteus* and *Pleurotus ostreatus* for decolorization of chemically different dyes. *J Biotechnol.* 89(2-3):113-122.
 27. Novotný Č., Svobodová K., Kasinath A., Erbanová P. (2004). Biodegradation of synthetic dyes by *Irpex lacteus* under various growth conditions. *Int Biodeter Biodegr.* 54(2-3):215-223.
 28. Singh S., Pakshirajan K. (2010). Enzyme activities and decolorization of single and mixed azo dyes by white-rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Int Biodeter Biodegr.* 64:146-150.
 29. Torres J.M.O., Cardenas C.H.V., Moron L.S., Guzman A.P.A., dela Cruz T.E.E. (2011). Dye Decolorization Activities of Marine-Derived Fungi Isolated from Manila Bay and Calatagan Bay, Philippines. *Philippine J Sci.* 140(2):133-143.
 30. Radhika R., Jebapriya G.R., Gnanadoss J.J. (2014). Decolorization of Synthetic Textile Dyes using the Edible Mushroom Fungi *Pleurotus*. *Pakistan J Biological Sci.* 17:248-253.
 31. Erden E., M. Ucar M.C., Gezer T., Pazarlioglu N.K. (2009). Screening for Ligninolytic Enzymes from Autochthonous Fungi and Applications for Decolorization of Remazole Marine Blue, *Braz J Microbiol.* 40:346-353
 32. Swamy J., Ramsay J.A. (1999a). The evaluation of white rot fungi in the decoloration of textile dyes. *Enzyme Microb Technol.* 24:130-7.
 33. Moreira-Neto S.L., Mussatto S.I., Machado K.M.G., Milagres A.M.F. (2013). Decolorization of salt-alkaline effluent with industrial reactive dyes by laccase-producing basidiomycetes strains. *Lett App Microbiol.* 56:283-290.
 34. Junghanns Ch., Krauss G., Schlosser D. (2008) Potential of Aquatic Fungi Derived from Diverse Freshwater Environments to Decolourise Synthetic Azo and Anthraquinone Dyes. *Bioresource Technol.* 99:1225-1235.
-

