ژنتیک نوین
دوره شانزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰
صفحه ۲۷۹ - ۲۷۱

تعیین فعالیت آمیلازی قارچ‌های گرمادوست جداسازی شده از خاک بکر و کمپوست در استان کرمانشاه

Determination of amylase activity of thermophilic fungi isolated from soil and compost in Kermanshah Province

زهرا یوسفوند[۱]، صمد جمالی*[۱]، هادی خاطری[۱]

۱- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، دانشیار، استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

Yousofvand Z[1], Jamali S[*1], Khateri H[1]

1- Graduated MSc, Associate Professor, Assistant Professor, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Razi University, Kermanshah, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: S.jamali@razi.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۹/۱۲/۱۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۳)

چکیده

قارچ‌های گرمادوست آنزیم‌های مختلفی تولید می‌کنند که علاوه بر فعالیت بیوکاتالیستی در پروسه‌های بیولوژیکی در بسیاری از صنایع از جمله صنایع غذایی، کاغذ، مواد شوینده، مواد دارویی، حذف ضایعات سمی و حفاری نفت به‌طور گسترده استفاده می‌شوند. استحصال آنزیم‌ها و به‌ویژه آمیلاز از قارچ‌های گرمادوست کمک شایانی به صنعت و اقتصاد جهانی کرده است به‌طوری که یکی از شاخص‌های رونق اقتصادی در کشورهای پیشرفته بهره‌مندی از این آنزیم است. هدف از این تحقیق جداسازی و شناسایی قارچ‌های گرمادوست از خاک، کمپوست ضایعات شهری و کمپوست قارچ خوراکی و بررسی توانایی تولید آنزیم آمیلاز در جدایه‌ها می‌باشد. جداسازی به روش سری رقت روی محیط کشت عصاره سیب‌زمینی-دکستروز-آگار در دمای ۴۵ و ۵۰ درجه سلسیوس انجام شد. شناسایی مولکولی جدایه‌ها با تکثیر ناحیه ITS rDNA (ITS1–5.8S–ITS2) با استفاده از آغازگرهای عمومی ITS1 و ITS4 طی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد. فعالیت آمیلازی جدایه‌ها در محیط کشت آگاردار حاوی نشاسته بررسی شد که با توجه به هاله روشن ایجاد شده در اطراف پرگنه‌ها پس از ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس اکثر جدایه‌ها قادر به تجزیه و فعالیت آنزیمی بودند. بیشترین هاله روشن و فعالیت آمیلازی مربوط به یک گونه از *Thermomyces* sp. و به‌دنبال آن گونه‌های *Thermomyces dopuntii*، *Malbranchea cinnamomea*، *Thermomyces lanuginosus*، *Aspergillus nidulance*، *Aspergillus fumigatus*، *Aspergillus niger* و *Aspergillus terreus* به‌ترتیب دارای بیشترین فعالیت آمیلازی بودند. دو گونه *Thielavia arenaria* و *Melanocarpus albomyces* هیچ‌گونه فعالیتی مبنی بر توانایی تولید آنزیم آمیلاز از خود نشان ندادند. این اولین بررسی جامع در خصوص قارچ‌های گرمادوست دارای توانایی تولید آنزیم آمیلاز در ایران است. تمام جدایه‌های مطالعه حاضر جهت نگهداری به مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور ارسال شدند.

واژه‌های کلیدی

شناسایی مولکولی
Aspergillus
Malbranchea
Thermomyces

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.8.0]

مقدمه

یکی از مهم‌ترین فاکتورهای کلیدی برای رشد و زنده ماندن میکروارگانیسم‌ها دما می‌باشد (Maijala et al. 2012). قارچ‌ها بر اساس نیاز دمایی به انواع سرمادوست، معتدل دوست و گرمادوست طبقه‌بندی می‌شوند. اغلب قارچ‌های شناخته شده معتدل دوست هستند که در دمای بین ۳۵-۵ درجه سلسیوس رشد می‌کنند و دمای مطلوب رشد آن‌ها بین ۳۵-۲۵ درجه سلسیوس است (Gupta et al. 2003). در بین موجودات دارای هسته‌ی واقعی، گروه کوچکی از قارچ‌ها قادرند در دمای بالاتر از ٤٥ درجه سلسیوس رشد کنند که به دو گروه گرمادوست و متحمل به گرما تقسیم می‌شوند. حداکثر دمای رشد قارچ‌های گرمادوست ۵۰ درجه سلسیوس یا بالاتر و حداقل دمای رشد آن‌ها ۲۰ درجه سلسیوس یا بالاتر است. در حالی‌که قارچ‌های متحمل به گرما در دمای نزدیک به ۵۰ درجه سلسیوس و زیر ۲۰ درجه سلسیوس رشد می‌کنند (Singh et al. 2015). قارچ‌های گرمادوست از انواع خاک‌ها و محل‌های تجزیه مواد گیاهی شامل کمپوست، توده‌های کاه و کلش، دانه‌های انباری، توده تراشه‌های چوب، فضولات لانه‌ی پرندگان و حیوانات، زباله‌های شهری و همچنین سایر انباشت‌های مواد آلی گزارش شده‌اند (Salar and Aneja 2007). از جمله ویژگی‌هایی که باعث سازگاری قارچ‌های گرمادوست به دماهای بالا می شود، کاهش اندازه ژنوم (White et al. 1999) و تکثیر ژن‌های جذاب مانند ژن مسئول ملانیزه کردن ریسه می‌باشد که در مقاومت قارچ‌های گرمادوست به دمای بالا، خشک شدن و اشعه ماوراء بنفش نقش دارد (Djekrif-Dakhmouche et al. 206).

قارچ‌های گرمادوست آنزیم‌هایی با فعالیت در دماهای بالا تولید می‌کنند که آنزیم‌های ترموزایم نامیده می‌شوند و در بسیاری از صنایع از جمله صنایع غذایی و کاغذ، مواد شوینده، دارویی، حذف ضایعات سمی و حفاری نفت به‌طور گسترده استفاده می‌شوند (Hassen et al. 2001). آنزیم‌های میکروبی دارای اهمیت زیادی هستند و گونه‌های آسپرژیلوس انواع زیادی از آنزیم‌های خارج سلولی را تولید می‌کنند که آمیلاز یکی از آن‌هاست و اهمیت صنعتی زیادی دارد (Hussain et al. 2013). مزایای استفاده از میکروارگانیسم‌ها برای تولید آمیلاز، ظرفیت تولید انبوه اقتصادی و دستکاری راحت میکروب‌ها برای دستیابی به ویژگی‌های مطلوب است (Maheshwari et al. 2000). آمیلازهای میکروبی مهم‌ترین آنزیم‌های موجود در بیوتکنولوژی امروزی هستند زیرا پاسخ‌گوی نیازهای صنعتی هستند (Sakthi et al. 2012). آمیلازها در صنایع فرآوری نشاسته، پلی ساکاریدهایی مثل نشاسته را به قندهای ساده هیدرولیز می‌کنند (Mouchacca 1997). آمیلاز میکروبی به‌ویژه آمیلازی که از قارچ‌ها تهیه می‌شود، ایمن شناخته شده است (Haki and Rakshit 2003). آنزیم‌های آمیلاز به سه نوع آلفا آمیلاز، بتا آمیلاز و گاما آمیلاز تقسیم می‌شوند (van Noort et al. 2013). آلفا آمیلاز از چندین قارچ، مخمر، باکتری و اکتینومایست استخراج شده است، با این حال آنزیم‌های با منابع قارچی و باکتریایی در بخش‌های صنعتی کاربرد بیشتری دارند (Mojsov 2012). آمیلازها در صنایع مواد غذایی مانند نانوایی، تهیه آبجو، تولید مکمل‌های گوارشی، تولید کیک، آبمیوه و شربت نشاسته، مواد شوینده، صنایع دارویی، صنایع کاغذسازی و خمیر کاغذ و نساجی کاربرد دارند (Da Lage et al. 2007; Johnson et al. 2014). کاربرد گسترده‌ی آمیلازها در صنعت نشاسته است که برای تبدیل نشاسته به فروکتوز و گلوکز استفاده می‌شود (Straatsma et al. 1994). آمیلاز از گیاهان، حیوانات و میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شود اما تولید از دو منبع اول به دلایل زیر محدود است: غلظت آنزیم‌ها معمولاً در مواد گیاهی کم است در حالی‌که صنایع فرآوری نشاسته به مقدار زیادی آنزیم نیاز دارد. همچنین آنزیم با منشأ حیوانی یک محصول جانبی از صنعت گوشت است و بنابراین تهیه کردن آن نیز محدود است. با وجود این‌که هزینه تولید آمیلاز بالاست، اما کشورهایی که این آنزیم را وارد می‌کنند، هزینه بیشتری می‌پردازند (Ratnasri et al. 2014). بنابراین با غربالگری جدایه‌های قارچی آمیلولیتیک که قادر به تولید آمیلاز هستند هزینه صنایعی که از این آنزیم استفاده می‌کنند کاهش یافته و فرصت‌های اقتصادی برای کشورهای در حال توسعه نیز فراهم می‌شود (Kalpana et al. 2013). در خصوص بررسی تولید آنزیم آمیلاز از قارچ‌های گرمادوست در ایران تاکنون مطالعه جامعی صورت نگرفته است و تنها گزارش‌های پراکنده‌ای از تولید آنزیم توسط تعدادی از قارچ‌های معتدل دوست وجود

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.8.0]

دارد. با توجه به اینکه قارچ‌های گرمادوست منابع با ارزشی از آنزیم‌های هیدرولیتیک مقاوم به گرما هستند و این آنزیم‌ها در صنایع مختلف دارای اهمیت می‌باشند و از طرفی واردات آنزیم آمیلاز از نظر اقتصادی هزینه هنگفتی برای کشور ما ایجاد می‌نماید، بنابراین شناسایی قارچ های گرمادوست تولید کننده آنزیم آمیلاز اولین مرحله در تولید این محصول می‌باشد. پس از شناسایی می‌توان بهترین استرین‌ها را انتخاب و برای تجاری سازی این محصول و کاهش هزینه‌های واردات استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری طی سال‌های ۹۸–۱۳۹۶ از خاک مناطق مختلف شهرستان‌های کرمانشاه، کمپوست ضایعات شهری (شرکت بازیافت مواد و تولید کود آلی) و کمپوست قارچ خوراکی (کارگاه پرورش قارچ خوراکی به نام *Agaricus bisporus* در شهر کرمانشاه) صورت گرفت. در مورد نمونه‌برداری از خاک، ابتدا بقایای گیاهی سطح خاک کنار زده شده و نمونه‌ها از عمق ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متری جمع‌آوری شدند. تعداد پنج نمونه به وزن یک کیلوگرم از هر منطقه جمع‌آوری و در نهایت یک نمونه مرکب به وزن دو کیلوگرم پس از ثبت مشخصات کامل (تاریخ و محل نمونه‌برداری) در پاکت مقوایی به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه برای بررسی‌های بیولوژیکی بلافاصله مورد استفاده قرار گرفتند. برای نمونه‌برداری از کمپوست ضایعات شهری از مرحله دوم کمپوست سازی (فاز گرمادوستی) و نمونه‌برداری از کمپوست قارچ به‌صورت تازه صورت گرفت.

برای جداسازی قارچ‌های گرمادوست از خاک و کمپوست، یک گرم خاک یا کمپوست را در نه سی‌سی آب مقطر سترون ریخته و سری رقت 10^{-1} تا 10^{-3} تهیه شد، سپس از هر رقت یک سی‌سی روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار حاوی آنتی‌بیوتیک کلرامفنیکل (دو صدم گرم در لیتر) و دی استرپتومایسین (۰/۰۵ گرم در لیتر) در سه تکرار ریخته شد (Kane and Mullins 1973). تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای ٤٥ درجه و ۵۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۷ درصد قرار داده شدند. برای اندازه‌گیری دما و رطوبت از دستگاه دماسنج و رطوبت سنج (HTC–1) استفاده شد. نمونه‌ها هر روز مورد بازدید قرار گرفته و در صورت ظهور ریسه قارچ، به‌ترتیب به محیط کشت عصاره سیب‌زمینی–دکستروز–آگار و سپس آب آگار منتقل و خالص‌سازی به روش نوک ریسه صورت گرفت و جدایه‌ها در دمای ٤٥ و ۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. نگهداری جدایه‌ها در لوله‌های حاوی محیط کشت سیب‌زمینی–دکستروز–آگار و در دمای ۲۰ درجه سلسیوس صورت گرفت. تمام جدایه‌ها برای نگهداری بلند مدت و اخذ شماره دسترسی به کلکسیون قارچ شناسی مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور ارسال شدند.

از کشت‌های خالص برای شناسایی قارچ‌های گرمادوست استفاده شد. شناسایی براساس خصوصیات ریخت‌شناختی جدایه‌ها روی محیط کشت‌های مختلف از جمله محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار و محیط کشت عصاره مالت–آگار و با بررسی صفات ماکروسکوپی و میکروسکوپی فرم‌های غیرجنسی و جنسی با استفاده از کلیدهای تاکسونومیکی معتبر قارچ‌شناسی صورت گرفت (Mtibaà et al. 2018; Sujeeta et al. 2017; Couto and Sanromán 2006; Apinis 1964). برای بررسی ریخت‌شناسی و تاکسونومیکی جدایه‌ها، حداقل ۵۰ عدد از هر کدام از اندام‌های قارچی اندازه‌گیری شدند. برای تهیه اسلایدهای میکروسکوپی از محلول اسید فوشین و کاتن بلو استفاده شد. از صفات مذکور با استفاده از میکروسکوپ نوری المپوس مدل BX51 متصل به دوربین دینوکاپچر (X2)، عکس‌برداری شد.

استخراج دی.اِن.اِی از کشت هفت روزه جدایه‌های منتخب روی محیط کشت سیب‌زمینی-دکستروز-آگار با استفاده از روش CTAB (Gardes and Bruns 1993) و همچنین استفاده از کیت‌های شرکت ایده‌سازان زیستی زاگرس و Cinnapure–DNA Kit (50t–PR881613–EX6011) ساخت ایران براساس دستور شرکت سازنده صورت گرفت. جهت بررسی کیفیت نمونه‌های استخراج شده دی.اِن.اِی از ژل آگارز یک درصد الکتروفورز استفاده شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای تکثیر ناحیه ITS (ITS1–5.8S–ITS2) دی.اِن.اِی ریبوزومی با استفاده از ترکیب آغازگرهای عمومی (5′–TCCGTAGGTGAACCTGCG–3′) ITS1 و ITS4 (5′–TCCTCCGCTTATTGATATGC–3′) و

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.8.0]

به‌کمک دستگاه ترموسایکلر مدل TPersonal (Biometra, USA) انجام شد. خالص‌سازی قطعات تکثیر شده با استفاده از کیت انجام و برای توالی‌سنجی به شرکت ماکروژن کره‌جنوبی ارسال شد و از یک جهت با استفاده از آغازگر ITS1 توالی‌سنجی شدند. ویرایش توالی‌ها با استفاده از نسخه هفت نرم‌افزار BioEdit صورت گرفت.

غربالگری اولیه توسط روش پلیت نشاسته آگار انجام شد. قارچ‌های جدا شده روی محیط نشاسته آگار حاوی دو درصد نشاسته و یک و نیم درصد آگار کشت داده شدند (Salar 2018). برای تهیه محیط نشاسته آگار ابتدا ۲۰ گرم نشاسته وزن شده و در یک لیتر آب‌مقطر حل شده و خوب هم زده شد تا یک مایع شیری رنگ به‌دست آید، سپس ۱۵ گرم آگار به این محلول اضافه کرده و در آخر روی ارلن با فویل و پنبه محکم شده و داخل انکوباتور در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس قرار داده شد. جدایه‌های قارچی شناسایی شده برای تعیین فعالیت آمیلولیتیک با استفاده از آزمون هیدرولیز نشاسته روی محیط نشاسته آگار کشت داده شدند و در دمای ۵۰–۴۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از رشد قارچ با افزودن محلول لوگول (ید در یدور پتاسیم) محیط کشت را غرقاب کردیم. جهت تهیه محلول لوگول، ۲ گرم یدور پتاسیم، یک گرم ید و ۳۰۰ میلی‌لیتر آب‌مقطر را مخلوط کرده و این محلول را چند ساعت نگه می داریم تا به‌خوبی حل شود. طی این واکنش رنگ محیط به آبی تیره تغییر می‌کند و در صورتی‌که قارچ نشاسته را هیدرولیز کرده باشد هاله بی رنگی در اطراف محل رشد ایجاد می‌شود که بیانگر مثبت بودن تولید آمیلاز است و جدایه به‌عنوان تولیدکننده آمیلاز در نظر گرفته می‌شود (Tansey and Jack 1976). قطر منطقه روشن برای هر پرگنه جداگانه اندازه‌گیری شد، به این صورت که فاصله قطر منطقه روشن با قطر پرگنه برای هر جدایه تعیین شد (Balkan Singh et al. 2016; and Ertan 2005).

نتایج

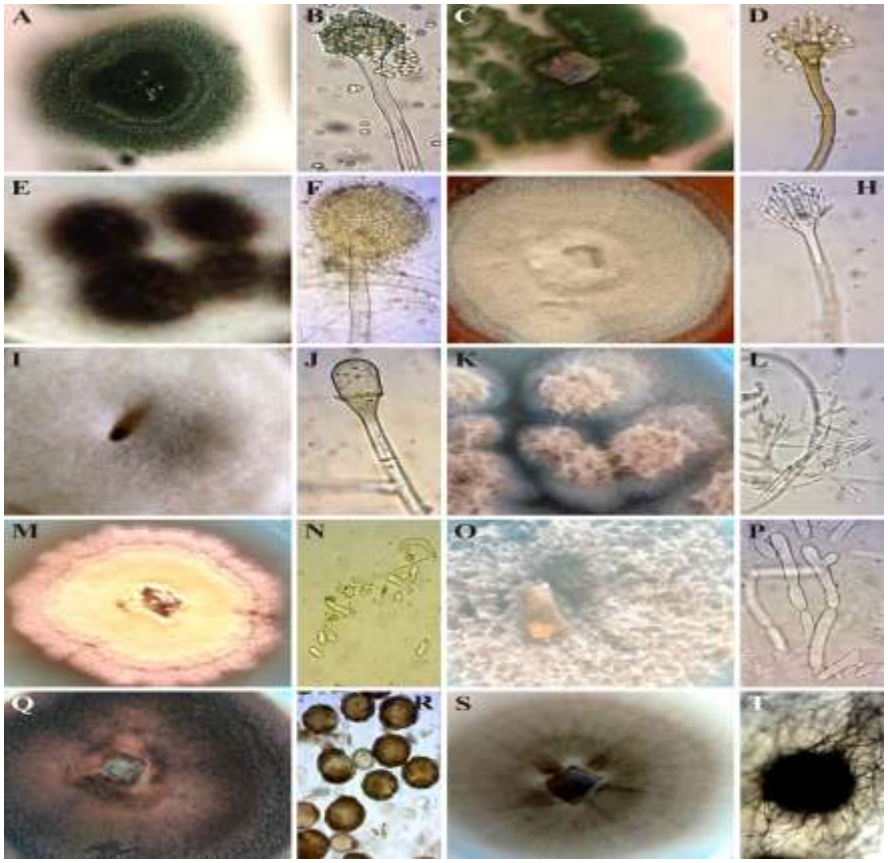
در این بررسی ۲۴ جدایه قارچ گرمادوست و متحمل به گرما از بسترهای مختلف از جمله خاک، کمپوست قارچ خوراکی و کمپوست ضایعات شهری جداسازی شد که به ۱۱ گونه تعلق داشتند. قارچ‌های گرمادوست و متحمل به گرما با فراوانی بسیار پایین از نمونه‌های خاک جداسازی شدند. در بین نمونه‌های جداسازی شده از خاک تنها گونه *Thielavia arenaria* Mouch. گرمادوست بود و در دمای ۴۵ درجه سلسیوس رشد کرد، و بقیه جدایه‌های به‌دست آمده از خاک، متحمل به گرما بودند. بیشترین فراوانی در بین نمونه‌های خاک، مربوط به گونه *Aspergillus fumigatus* Fresen بود. از نمونه‌های کمپوست ضایعات شهری و کمپوست قارچ خوراکی، قارچ‌های گرمادوست و متحمل به گرما از تمام رقت‌ها جداسازی شد. جدایه‌های مربوط به کمپوست ضایعات شهری همگی گرمادوست بودند و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس رشد سریعی داشتند. جدایه‌های به دست آمده از کمپوست قارچ خوراکی نیز همگی متحمل به گرما بودند و در دمای ۵۰ درجه سلسیوس رشد نکردند. قارچ‌های شناسایی شده بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی متعلق به پنج جنس شامل *Aspergillus* Micheli، *Malbranchea* Sacc.، *Melanocarpus* Arx، *Thermomyces* Tsikl. و *Thielavia* Zopf بودند. تکثیر ناحیه ITS rDNA جدایه‌های مورد بررسی در این تحقیق، منجر به ایجاد یک قطعه ۵۰۰ تا ۷۰۰ جفت‌بازی شد. بر اساس خصوصیات ریخت‌شناسی و مقایسه توالی‌های ناحیه ITS rDNA، تعداد نه گونه شناسایی شد که عبارت بودند از: *Absidia* sp. (یک جدایه)، *Aspergillus fumigatus* Fresen (چهار جدایه)، *Aspergillus nidulans* Winter (سه جدایه)، *Aspergillus niger* Tiegh. (یک جدایه)، *Aspergillus terreus* Thom (چهار جدایه)، *Melanocarpus albomyces* Arx (دو جدایه)، *Malbranchea cinnamomea* Oorschot and de Hoog (دو جدایه)، *Thermomyces dupontii* Houbraken and Samson (دو جدایه)، *Thermomyces lanuginosus* Tsikl. (دو جدایه) و *Thielavia arenaria* Mouch. (یک جدایه) (شکل ۱).

در بررسی فعالیت آمیلازی، جدایه‌ها بعد از رشد کامل و بدون آلودگی روی محیط کشت نشاسته آگار در سه تکرار، در محدوده دمایی ۵۰–۴۰ (دمایی که رشد مطلوبی رو نشان دادند) و در مدت زمان ۷۲–۴۸ ساعت قرار داده شدند. بعد از رشد قارچ، تشتک‌های پتری با محلول لوگول غرقاب شده و اطراف پرگنه قارچ هاله روشن مشاهده شد. بیشترین هاله روشن و فعالیت

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

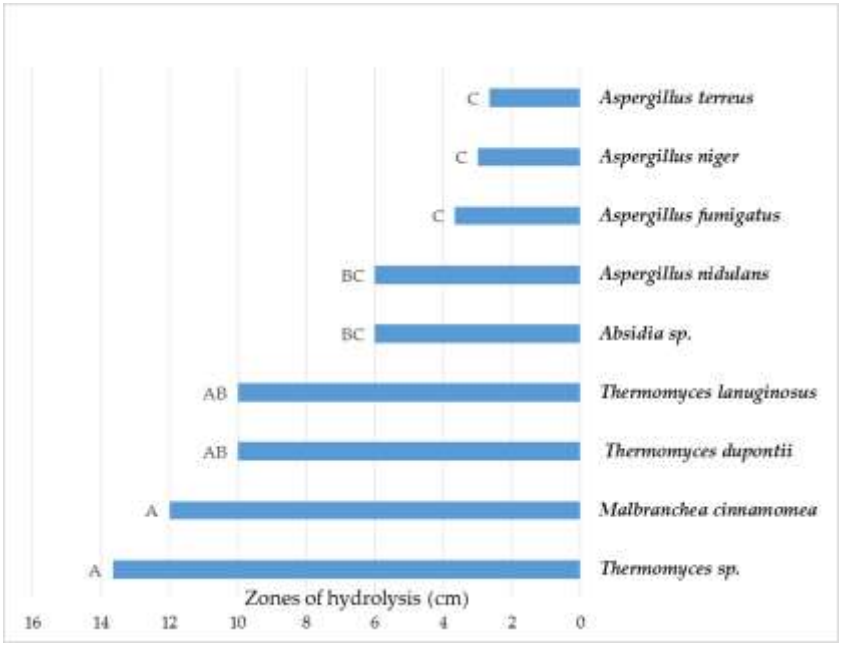
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.8.0]

آمیلازی به‌ترتیب مربوط به گونه‌های *Thermomyces* sp.، *Malbranchea cinnamomea*، *Thermomyces dopuntii*، *Thermomyces lanuginosus*، *Absidia* sp.، *Aspergillus nidulance*، *Aspergillus fumigatus*، *Aspergillus niger* و *Aspergillus terreus* بود (شکل ۲). گونه‌ی *Aspergillus fumigatus* در چند دما مورد بررسی قرار گرفت و به‌دلیل رشد مطلوب در محدوده دمایی ۴۵-۴۲ درجه سلسیوس، بیشترین قطر هاله و فعالیت آمیلازی این گونه در این دما مشاهده شد. حداکثر دمای رشد گونه‌ی *Aspergillus niger*، ۴۰ درجه سلسیوس است که به‌منظور بررسی خاصیت مقاومت به حرارت، آنزیم تولیدی آن در این دما قرار داده شد ولی دمای بهینه رشد آن ۲۵ درجه سلسیوس است و در این دما بیشترین قطر هاله روشن برای این گونه مشاهده شد. برای مشاهده هاله روشن اطراف پرگنه قارچ شرایط زیادی از جمله استفاده از منشأ بدون آلودگی جدایه، محیط کشت تازه و بدون آلودگی، استفاده از جدایه تازه وا کشت شده، سالم و تنظیم بودن تجهیزات آزمایشگاهی لازم است. مشاهده هاله روشن اطرف پرگنه قارچ نشان دهنده‌ی توانایی قارچ در تولید آنزیم آمیلاز می‌باشد و عدم هاله روشن در دو گونه‌ی *Thielavia arenaria* و *Melanocarpus albomyces* نشان‌دهنده‌ی عدم توانایی این دو گونه برای تولید آنزیم آمیلاز است ولی تولید آنزیم‌های دیگری از جمله سلولاز و لاکاز برای این دو گونه گزارش شده است.



شکل ۱- قارچ‌های مطالعه حاضر. *Aspergillus fumigatus* (A, B)، *Aspergillus nidulance* (C, D)، *Aspergillus niger* (E, F)، *Aspergillus terreus* (G, H)، *Absidia sp.* (I, J)، *Thermomyces dopuntii* (K, L)، *Malbranchea cinnamomea* (M, N)، *Melanocarpus albomyces* (O, P)، *Thermomyces lanuginosus* (Q, R)، *Thielavia arenaria* (S, T). تمام اشکال با بزرگ‌نمایی ۴۰ گرفته شده است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.8.0]



شکل ۲- مقایسه قارچ‌های گرمادوست از نظر میزان تولید آنزیم آمیلاز. میله‌های نمودار، هاله روشن ایجاد شده در اطراف قارچ‌ها که نتیجه هیدرولیز نشاسته است را بر حسب سانتی‌متر نشان می‌دهد.

بحث

قارچ‌های گرمادوست بدلیل توانایی تجزیه طیف گسترده‌ای از مواد آلی و پراگندگی اسپورها در همه جا حضور دارند (Samson et al. 2014). برای جداسازی قارچ‌های گرمادوست و محتویات مواد آلی خاک ارتباط خاصی بیان نشده است و این احتمال وجود دارد که تمام خاک‌های مورد مطالعه دارای ماده آلی مناسب برای رشد این قارچ‌ها باشند (Tiquia-Arashiro and Rodrigues 2016). اگر چه در بین زیستگاه‌های طبیعی که قارچ‌های گرمادوست مورد برررسی قرار گرفته‌اند، خاک خیلی مهم است ولی قارچ‌های گرمادوست جداسازی شده از خاک نسبت به کمپوست‌ها خیلی کمتر بوده‌اند. مطالعات اولیه در مورد قارچ‌های گرمادوست توسط میهه در سال ۱۹۰۷ روی کمپوست متمرکز شده بود. اما اکنون مشخص شده که آن‌ها در اکوسیستم‌های متنوع زندگی می‌کنند و می‌توانند از طیف گسترده‌ای از بسترها جدا شوند. توزیع گسترده‌ی گرمادوست‌ها همچنین به احتمال زیاد بیانگر فراوانی زیستگاه‌های کوچک سرشار از منابع کربن است که دوره‌هایی از دما و رطوبت را برای رشد مطلوب قارچ‌های گرمادوست تحمل کرده‌اند، چنین سازگاری در همه اکوسیستم‌های معتدل، خشک و گرمسیری گزارش شده است (Sharma 1989). قارچ‌های گرمادوست نقش مهمی در فرایند کمپوست‌سازی از طریق تجزیه سلولز به کمک فرایندهای گرمازایی و همچنین حذف عوامل بیماری‌زا در کمپوست دارند (Kravetz and Guin 1985). در این بررسی به استثنای گونه *Thielavia arenaria* Mouch. که گرمادوست بود و از خاک جداسازی شد، بقیه گونه‌ها متحمل به گرما بودند که بیشترین فراوانی مربوط به گونه‌های آسپرژیلوس و بخصوص گونه *Aspergillus fumigatus* Fresen، بود. این نتایج با نتایج سایر محققان مطابقت داشت (Cooney and Emerson 1964). در بین گونه‌های آسپرژیلوس *A. nidulans* بیشترین میزان تولید آنزیم آمیلاز را داشت. بنابراین در بین گونه‌های آسپرژیلوس، گونه *A. nidulans* برای تولید آنزیم آمیلاز توصیه می‌شود. آسپرژیلوس یک جنس متنوع با تأثیر اقتصادی و اجتماعی بالاست. گونه‌های آن در زیستگاه‌های مختلف در سراسر جهان وجود دارند و در بیوتکنولوژی برای تولید متابولیت‌های مختلف مانند آنتی‌بیوتیک‌ها، اسیدهای آلی، داروها و آنزیم‌ها مورد توجه هستند (Sandona et al. 2019). در بررسی‌های زیادی گونه‌های آسپرژیلوس به‌منظور تولید آنزیم آمیلاز غربالگری و فعالیت آمیلازی آن‌ها تایید شده است (Alva et al. 2007). گونه‌های

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.8.0]

آسپرژیلوس در دمای پایین‌تر از ۴۵ درجه سلسیوس رشد می‌کنند و با توجه به این تعریف متحمل به گرما در نظر گرفته می‌شوند (Couto and Sanromán 2006). گونه *Aspergillus niger* ظرفیت هیدرولیتیکی مهمی برای تولید آلفا-آمیلاز دارد (Domingues and Peralta 1993). اهمیت گونه‌های *A. oryzae* و *A. niger* در تولید قابل توجه آنزیم‌هاست که در صنعت به‌طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرند (Monnet et al. 2010). فعالیت آنزیمی این گونه در مورد آنزیم‌های آمیلولیتیک، سلولیتیک، پروتئولیتیک و لیپولیتیک مثبت بوده و نشان‌دهنده توانایی این قارچ در تولید این آنزیم‌ها است (Abdel-Sater et al. 2017; Abdulla and El-Gindy 1987; Evans 1971; Oyeleke and Oduwole 2009). در مطالعه حاضر گونه *A. niger* از نظر میزان تولید آنزیم آمیلاز پس از گونه‌های *A. fumigates* و *A. nidulans* قرار داشت. گونه *A. fumigatus*، به‌دلیل خاصیت سلولایتیکی و متحمل به گرما بودن در فرایند کمپوست‌سازی غالب است که در نمونه‌های کمپوست مورد مطالعه به فراوانی وجود داشت (Hernández et al. 2006).

در این بررسی اکثر قارچ‌های گرمادوست تولید کننده آنزیم آمیلاز از کمپوست جداسازی شدند. در بین قارچ‌های گرمادوست تولید کننده آنزیم آمیلاز بیشترین فعالیت آمیلازی مربوط به یک گونه از *Thermomyces* بود، ضمن اینکه سایر گونه‌های این جنس از جمله *Thermomyces dopuntii* و *Thermomyces lanuginosus* نیز از نظر تولید آنزیم آمیلاز قابل توجه بودند و برای استفاده در آینده توصیه می‌شوند. در اغلب مطالعات توانایی تولید آنزیم‌های فیتاز، آلفا آمیلاز و گلوکوآمیلاز توسط گونه‌های Thermomyces و به‌خصوص *T. lanuginosus* گزارش شده است (Kunamneni et al. 2005; Grishkan 2018). این گونه همچنین از چوب پوسیده، کمپوست و زباله جداسازی و تولید آنزیم‌های زایلاناز و مناز آن تایید شده است (Cooney and Emerson 1964; Mohan 2000). در مطالعات زیادی گونه *Malbranchea cinnamomea* به‌عنوان یک منبع مناسب برای تولید آنزیم آمیلاز معرفی شده است (Han et al. 2013). در مطالعه حاضر نیز علاوه بر گونه‌های *Thermomyces*، گونه *Malbranchea cinnamomea* فعالیت آمیلازی قابل توجه‌ای داشت. علاوه بر گونه‌های مذکور، تعدادی از گونه‌های Thielavia نیز به‌عنوان قارچ گرمادوست معرفی شده‌اند. یک گونه از این جنس از توده‌های ذغال سنگ و نمونه‌های خاک در دمای ۴۵ درجه سلسیوس گزارش شده است (Abdullah and Al-Bader 1990). گونه‌های دیگری از این قارچ از خاک‌های گرم جنوب هند و کمپوست گزارش شده است (Anastasi et al. 2005; Tiquia-Arashiro and Rodrigues 2016). تولید آنزیم لاکاز توسط این جنس گزارش شده (Olagoke 2014)، اگرچه در تحقیق حاضر این گونه قادر به تولید آنزیم آمیلاز نبود که با نتایج سایر محققان مطابقت دارد.

نتایج این مطالعه نشان داد که اغلب قارچ‌های گرمادوست توانایی تولید آنزیم آمیلاز را دارند. آنزیم آمیلاز از گیاهان، حیوانات و میکروارگانیسم‌ها تولید می‌شوند. با این حال منابع میکروبی و از جمله قارچ‌ها به‌علت تنوع بالا مقادیر فراوانی آلفا آمیلاز برای برطرف کردن نیازهای ضروری بازار صنعتی فراهم می‌کنند (Johnson et al. 2014). در سال‌های اخیر استفاده از قارچ‌ها به‌عنوان منابع مهم تولید آنزیم‌های مرتبط با صنعت و از جمله آمیلاز به‌دلیل اهمیت فناوری و مزایای اقتصادی توجه زیادی پیدا کرده است (Salar 2018). این بررسی اولین مطالعه جامع در خصوص شناسایی قارچ‌های گرمادوست تولید کننده آنزیم آمیلاز بود که منجر به معرفی گونه‌های *Malbranchea cinnamomea*، *Thermomyces dopuntii*، *Thermomyces lanuginosus*، *Absidia* sp.، *Aspergillus nidulance*، *Aspergillus fumigatus*، *Aspergillus niger* و *Aspergillus terreus* شد که همگی توانایی تولید آنزیم آمیلاز را داشتند. در ایران به استثنای چند گونه از آسپرژیلوس، بقیه گونه‌های معرفی شده در این مطالعه برای تولید آنزیم استفاده نشده و نتایج مطالعه حاضر می‌تواند از جنبه‌های گوناگون در صنایع مختلف استفاده شوند. تحقیقات بیشتر در خصوص بستره مناسب برای تولید آنزیم آمیلاز که جز مهم ترکیبات بهداشتی و از جمله مواد شوینده است ضروری است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.8.0]

منابع

Abdel-Sater M, Abdel-Hafez S, Nemmat A, Eshraq A (2017) Fungi associated with maize and sorghum grains and their potential for amylase and aflatoxins production. Egyptian Journal of Botany 57:119-137.

Abdullah S, Al-Bader S (1990) On the thermophilic and thermotolerant mycoflora of Iraqi soils. Sydowia 42: 1-7.

Abdulla MES, El-Gindy A (1987) Mesophilic and thermotolerant fungi in soil of Jezan, Saudi Arabia. Zentralblatt für Mikrobiologie 142:143-147.

Alva S, Anupama J, Savla J, Chiu YY, Vyshali P, Shruti M, Yogeetha BS, Purvi J, Ruchi K, Kumudini BS, Varalakshmi KN (2007) Production and characterization of fungal amylase enzyme isolated from *Aspergillus* sp. JGI 12 in solid state culture. African Journal of Biotechnology 6:576-581.

Anastasi A, Varese GC, Filipello Marchisio V (2005) Isolation and identification of fungal communities in compost and vermicompost. Mycologia 97: 33-44.

Apinis A (1964) On fungi isolated from soils and Ammophila debris. Kew Bulletin 19:127-131.

Balkan B, Ertan F (2005) Production and properties of α-amylase from *Penicillium chrysogenum* and its application in starch hydrolysis. Preparative Biochemistry and Biotechnology 35:169-178.

Cooney DG, Emerson R (1964) Thermophilic fungi. WH Freeman San Francisco :1-7.

Couto SR, Sanromán MA (2006) Application of solid-state fermentation to food industry—a review. Journal of Food Engineering 76:291-302.

Da Lage JL, Danchin EG, Casane D (2007) Where do animal α-amylases come from? An interkingdom trip. FEBS letters 581:3927-3935.

Domingues CM, Peralta RM (1993) Production of amylase by soil fungi and partial biochemical characterization of amylase of a selected strain (*Aspergillus fumigatus* fresenius). Canadian Journal of Microbiology 39: 681-685.

Evans HC (1971) Thermophilous fungi of coal spoil tips: II. Occurrence, distribution and temperature relationships. Transactions of the British Mycological Society 57:255-266.

Gardes M, Bruns TD (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes—application to the identification of ectomycorrhizae and rusts. Molecular Ecology 2:113-118.

Grishkan I (2018) Thermotolerant mycobiota of Israeli soils. Journal of Basic Microbiology 58:30-40.

Gupta R, Gigras P, Mohapatra H, Goswami VK, Chauhan B (2003) Microbial a-amylases: a biotechnological perspective. Biochemistry 38:1599-1616.

Haki GD, Rakshit SK (2003) Developments in industrially important thermostable enzymes: a review. Bioresource Technology 89:17-34.

Han P, Zhou P, Hu S, Yang S, Yan Q, Jiang Z (2013) A Novel Multifunctional α-Amylase from the Thermophilic Fungus Malbranchea cinnamomea: Biochemical Characterization and Three-Dimensional Structure. Applied Biochemical Biotechnology 170:420-435.

Hassen A, Belguith K, Jedidi N, Cherif A, Cherif M, Boudabous A (2001) Microbial characterization during composting of municipal solid waste. Bioresource Technology 80:217-225.

Hernández MS, Rodriguez MR, Guerra NP, Rosés RP (2006) Amylase production by *Aspergillus niger* in submerged cultivation on two wastes from food industries. Journal of Food Engineering 73:93-100.

Hussain I, Siddique F, Mahmood MS, Ahmed SI (2013) A Review of the Microbiological Aspect of α-amylase Production. International Journal of Agriculture and Biology 15.

Johnson FS, Obeng AK, Asirifi I (2014) Amylase production by fungi isolated from Cassava processing site. Journal of Microbiology and Biotechnology Research 4:23-30.

Kalpana C, Prem L, Reena k, Anita D (2013) Characterization and detection of enzyme (amylase) produced by amylolytic fungi isolated from agricultural soil. International journal of current technical report research 311-319.

Kane BE Mullins JT, (1973) Thermophilic fungi in a municipal waste compost system. Mycologia 1087-1100.

Kravetz L, Guin K (1985) Effect of surfactant structure on stability of enzymes formulated into laundry liquids. Journal of the American Oil Chemists Society 62:943-949.

Kunamneni A, Permaul K, Singh S (2005) Amylase production in solid state fermentation by the thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus.* Journal of Bioscience and Bioengineering 100:168-171.

Maheshwari R, Bharadwaj G, Bhat MK (2000) Thermophilic fungi: their physiology and enzymes. Microbiology and Molecular Biology Reviews 64:461-488.

Maijala P, Kango N, Szijarto N, Viikari L (2012) Characterization of hemicellulases from thermophilic fungi. Antonie Van Leeuwenhoek 101:905-917.

Mohan R (2000) Advances in microbial amylases. Biotechnology and Applied 31:131-152.

Mojsov K (2012) Microbial alpha-amylases and their industrial applications: a review. International Journal of Management, IT and Engineering (IJMIE) 2: 583-609.

Monnet D, Joly C, Dole P, Bliard C (2010) Enhanced mechanical properties of partially beta-amylase trimmed starch for material applications. Carbohydrate Polymers 80:747-752.

Mouchacca J (1997) Thermophilic fungi: biodiversity and taxonomic status. Cryptogamie Mycologie 18:19-70.

Mtibaà R, Barriuso J, de Eugenio L, Aranda E, Belbahri L, Nasri M, Martínez MJ, Mechichi T (2018) Purification and characterization of a fungal laccase from the ascomycete *Thielavia* sp. and its role in the decolorization of a recalcitrant dye. International Journal of Biological Macromolecules 120:1744-1751.

Olagoke OA (2014) Amylase activities of some thermophilic fungi isolated from municipal solid wastes and palm-kernel stack. American Journal of Microbiology and Biotechnol 1:64-70.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.8.0]

Oyeleke SB, Oduwole AA (2009) Production of amylase by bacteria isolated from a cassava waste dumpsite in Minna, Niger State, Nigeria. African Journal of Microbiology Research 3:143-146.
Ratnasri P, Lakshmi B, Ambikadevi K, Hemalatha K (2014) Extracellular amylase from the isolate, *Aspergillus tubingensis*. International Journal of Current Microbiology Applied Science 3:859-868.
Sakthi SS, Kanchana D, Saranraj P, Usharani G (2012) Evaluation of Amylase Activity of the amylolytic Fungi *Aspergillus niger* using Cassava as Substrate. International Journal of Applied Microbiology Science 1:24-34.
Salar RK (2018) Thermophilic Fungi: Basic Concepts and Biotechnological Applications. CRC Press.
Salar RK, Aneja KR (2007) Thermophilic Fungi: Taxonomy and Biogeography. Journal of Agricultural Technology 3:77-107.
Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, Hong SB, Hubka V, Klaassen CH, Perrone G, Seifert KA, Susca A, Tanney JB (2014) Phylogeny, identification and nomenclature of the genus Aspergillus. Studies in Mycology 78:141-173.
Sandona K, Billingsley Tobias TL, Hutchinson MI, Natvig DO, Porras-Alfaro A (2019) Diversity of thermophilic and thermotolerant fungi in corn grain. Mycologia 111:719-729.
Sharma HSS (1989) Economic importance of thermophilous fungi. Applied Microbiology and Biotechnology 31:1-10.
Singh V, Sharma R Sharma P (2015) Isolation, screening and optimization of amylase producing *Bacillus* sp. from soil. Asian Pacific Journal of Health Sciences 2:94-103.
Singh B, Poças-Fonseca MJ, Johri B, Satyanarayana T (2016) Thermophilic molds: biology and applications. Critical Reviews in Microbiology 42:985-1006.
Straatsma G, Samson RA, Olijnsma TW, Den Camp HJO, Gerrits JP, Van Griensven LJ (1994) Ecology of thermophilic fungi in mushroom compost, with emphasis on *Scytalidium thermophilum* and growth stimulation of *Agaricus bisporus* mycelium. Applied and Environmental Microbiology 60:454-458.
Sujeeta KM, Mehta S, Sihag K (2017) Isolation and screening of amylase producing fungi. International Journal of Current Microbiology Applied Science 6:783-788.
Tansey MR, Jack MA (1976) Thermophilic fungi in sun-heated soils. Mycologia 1061-1075.
Tiquia-Arashiro S, Rodrigues DF (2016) Extremophiles: Applications in Nanotechnology. book.
van Noort V, Bradatsch B, Arumugam M, Amlacher S, Bange G, Creevey C, Falk S, Mende DR, Sinning I, Hurt E (2013) Consistent mutational paths predict eukaryotic thermostability. BMC Evolutionary Biology: 13:1-7.
White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1999) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal rna genes for phylogenetics. PCR protocols: a guide to methods and applications 18:315-322.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-19]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1400.16.3.8.0]