

جداسازی قارچ‌های تجزیه کننده سلولز و بررسی فعالیت سلولولیتیک آن‌ها در بخشی از میکروفلور خاک استان زنجان

بهاره مقیمی^۱، مهرداد حمیدی^۲، رحیم سروری^۳، سیامک جوانی^۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان.

۲- دانشیار، دانشکده داروسازی زنجان دانشگاه علوم پزشکی زنجان. hamidim@sums.ac.ir

۳- دانشیار، گروه میکروبی شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان.

۴- گروه بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی زنجان.

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۰/۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱/۶

چکیده

سلولز فراوان ترین بیوپلیمر در بیوسفر و یکی از مهم ترین اجزا ساختاری دیواره سلولی گیاهان است. تجزیه بیولوژیک سلولز در خاک نقش مهمی را در جریان کربن و تغییر کربن تثبیت شده به صورت CO₂، هم چنین تولید محصولات بیولوژیک پایدار و بیوانرژی دارد. در این تحقیق با توجه به پتانسیل بالای قارچ‌ها در تجزیه سلولز، به نمونه برداری از مناطق مختلف شهرستان‌های زنجان و ابهر و جداسازی قارچ‌ها از خاک پرداخته شده است. سپس ایزوله‌ها در محیط کشت انتخابی دارای اویسل، به عنوان منبع کربن کشت شده و فعالیت آنزیمی آن‌ها با روش DNS مورد بررسی قرار گرفت. در میان ۶۷ نمونه مورد ارزیابی، آسپرژیلوس نایجر بالاترین میزان میانگین فراوانی و بالاترین میزان فعالیت را در میان ایزوله‌ها دارا بود.

کلید واژه: قارچ، سلولز، میکروفلور، فعالیت سلولولیتیک.

مقدمه

خاک یک اکوسیستم پویا و متشکل از اجزا زنده و غیر زنده است. ارگانیسم‌های زنده خاک به دو گروه مجزا شامل میکروفلور و فون تقسیم می‌شوند. میکروفلور شامل گروه متنوعی از ارگانیسم‌هاست که عمدتاً با چشم غیر مسلح قابل رویت نیستند و شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها، جلبک‌ها و اکتینومایست‌ها می‌باشند. (۶) تعداد زیادی از میکروارگانیسم‌ها از جمله قارچ‌ها، باکتری‌ها، اکتینومایست‌ها و پروتوزوئرها قادر به تجزیه سلولز هستند. به نظر می‌رسد که قارچ‌ها به دلیل دارا بودن سیستم آنزیمی قوی تر مهم ترین نقش را در تجزیه ترکیبات سلولزی در خاک بر عهده دارند. (۳)

آنزیم سلولاز دارای کاربردهای متعددی است که از

سلولز فراوان ترین بیوپلیمر در بیوسفر و یکی از مهم ترین اجزا ساختاری دیواره سلولی گیاهان است که تقریباً حدود ۵۰ درصد از توده درختان را شامل می‌شود. در دیواره سلولی گیاهان میکروفیبریل‌های سلولز در ماتریکسی حاوی همی سلولزها و پکتین قرار دارد. (۱۲)

تجزیه بیولوژیک سلولز در خاک که به وسیله سلولازها و سلولوزم‌های تولید شده توسط شماری از میکروارگانیسم‌ها صورت می‌پذیرد، نقش مهمی را در جریان کربن و تغییر کربن تثبیت شده به CO₂، هم چنین تولید محصولات بیولوژیک پایدار و بیوانرژی به منظور جایگزینی برای سوخت‌های فسیلی دارد. (۱۴)

۰/۱، ۰/۰۱، ۰/۰۰۱ و ۰/۰۰۰۱ تهیه شد. که به دلیل عدم رشد اکثر نمونه‌ها در رقت ۰/۰۰۰۱ از تهیه این رقت در ادامه کار صرف نظر شد. پس از آن نمونه‌ها به روش خطی در محیط سابورودکستروز آگار کشت شدند و در انکوباتور با دمای ۲۹ درجه قرار داده شدند. برای جلوگیری از رشد باکتری‌ها پنیسیلین به محیط افزوده شد. به منظور جداسازی نمونه‌های ترموفیل تعدادی از پلیت‌ها در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از گذشت تقریباً چهار روز و ظهور کلنی‌ها در محیط کشت سابورودکستروز آگار از تمامی کلنی‌ها تک کلنی گرفته شد. (۹)

جداسازی قارچ‌های سلولولیتیک

برای جداسازی قارچ‌های سلولولیتیک از محیط کشت Mandel & Reese استفاده شد و کلنی‌های رشد یافته در محیط کشت سابورودکستروز آگار به این محیط منتقل شدند و سپس فعالیت آنزیم سلولاز با نمونه برداری از گونه‌های رشد یافته در محیط مندل، با استفاده از روش DNS مورد ارزیابی قرار گرفت. (۳)

تهیه سوبسترای مورد استفاده در محیط کشت مندل

در این مرحله به منظور regeneration سلولز، ۱۲/۵ گرم پودر اوپسل را در ۷۵ میلی لیتر اسید فسفریک ۸۵٪ W/V حل کرده، و به مدت یک ساعت در ظرف حاوی یخ قرار دادیم و هر ۳-۴ دقیقه یک بار مخلوط را هم زدیم. پس از گذشت مدت یک ساعت سوسپانسیون ژله مانند را در ظرف حاوی تقریباً یک لیتر آب یخ خالی کردیم و نیم ساعت در داخل یخچال به حال خود گذاشتیم. پس از آن مایع رویی را خالی کرده و چند بار با آب دکانته کردیم تا حالت اسیدی آن خنثی شود. سپس ژله برجا مانده با دور rpm ۳۰۰۰ برای مدت ۱۰ دقیقه، ۳ بار با آب و دوبار با محلول ۱٪ بی‌کربنات سدیم سانتریفوژ گردید.

- تهیه محیط کشت مندل

به منظور جداسازی قارچ‌های سلولولیتیک از محیط کشت انتخابی مندل سالت مدیوم استفاده شد. (۳)
مواد زیر برای تهیه محیط انتخابی مندل استفاده شد:

آن جمله می‌توان به استفاده از آن در صنعت نساجی به جهت نرم کردن و رنگ زدن پارچه‌های کتانی، در تولید دترجنت‌ها به منظور حفظ رنگ، پاک‌سازی بهتر، در صنایع غذایی به منظور خیساندن، و استفاده در کاغذ سازی و نیز کاربرد در زمینه داروسازی اشاره کرد.

در طول دهه‌های اخیر، با توجه به کاربردهای فزاینده آنزیم سلولاز در صنعت و نقش قابل توجه میکروارگانیزم‌ها در تولید سلولاز و تجزیه مواد سلولزی، به منظور تولید آنزیم سلولاز و بهینه‌سازی شرایط تولید این آنزیم، به جداسازی و بررسی فعالیت میکروارگانیزم‌های سلولولیتیک پرداخته شده است. (۱۴)

در این تحقیق کوشیده ایم میکروفلور خاک استان زنجان را که دارای طبیعت بکر و مناطق متنوع اقلیمی است، را از لحاظ دارا بودن قارچ‌های سلولولیتیک بررسی کنیم. به منظور نیل به این هدف، با ایجاد تغییراتی در سوبسترا، از محیط کشت مندل سالت مدیوم استفاده کردیم. گونه‌هایی که قادر به رشد در این محیط کشت بودند قادر به استفاده سوبسترا به عنوان منبع کربن و یا فعالیت سلولولیتیک می‌باشند.

مواد و روش‌ها

نمونه برداری

در این مرحله مناطقی از شهرستان زنجان و شهرستان ابهر برای نمونه برداری انتخاب شدند. از هر منطقه ۳ نمونه به روش زیر برداشته شد. در ابتدا با یک بیلچه تمیز و استریل، با کنار زدن تقریباً ۲ سانتی متر از سطح خاک، از مناطق مختلف که موقعیت جغرافیایی آن‌ها با دستگاه GPS بر روی نقشه ثبت گردید. سپس نمونه‌ها در ظروف استریل ریخته شد و به آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشکده داروسازی زنجان برده شد و تا زمان آزمایش در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه داری شدند. (۱)

جداسازی قارچ‌ها از خاک

محیط کشت سابورودکستروز آگار با نسبت ۶۵ گرم / لیتر تهیه شد و در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. از نمونه‌های خاک چهار رقت

با بلانک (آب مقطر) در یک لوله ریخته و روی آن‌ها ۳ میلی لیتر از معرف DNS روی هر یک از غلظت‌ها اضافه کردیم و سپس به مدت ۵ دقیقه آن‌ها را در حمام آب جوش قرار دادیم. پس از ۵ دقیقه لوله‌ها را در آب سرد فوراً سرد کردیم.

و بعد روی هر یک از لوله‌ها ۲۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته و با چند بار Inversion محلول یکنواختی از نظر رنگ حاصل شد محلول‌ها را برای مدت ۲۰ دقیقه به حال خود رها کردیم. سپس جذب نمونه‌ها در ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و منحنی استاندارد برای گلوکز رسم شد. به منظور تعیین فعالیت نمونه‌ها ی میکروبی از روش مورد قبول کمیسیون بیوتکنولوژی استفاده شد که به شرح آن می‌پردازیم:

ابتدا ۲۰ لوله با ظرفیت تقریبی ۲۵ میلی لیتر به بالا اختیار کرده و در هر کدام از آن‌ها یک نوار کاغذی واتمن شماره ۱ (ابعاد ۱×۶ سانتی متر و وزن ۵۰ میلی گرم) که آن را بریده و به دور یک میله بلوری پیچانده و به حالت فنی گرد در آورده ایم، می‌اندازیم.

در مرحله بعد ۰/۵ میلی لیتر از محلول رویی کشت میکروبی و در یک لوله نیز ۰/۵ محیط کشت تلقیح نشده را به لوله‌های حاوی نوار کاغذی می‌افزاییم. آن گاه به تمامی لوله‌ها ۱ میلی لیتر بافر سترات ۵۰ میلی مول می‌افزاییم و در انکوباتور ۵۰ درجه به مدت یک ساعت قرار دادیم تا واکنش آنزیمی صورت بگیرد. پس از گذشت یک ساعت لوله‌ها را برداشته و روی هر یک از آن‌ها ۳ میلی لیتر DNS اضافه کرده و در حمام آب جوش به مدت ۵ دقیقه قرار داده و سپس فوراً در آب سرد، لوله‌ها را سرد کردیم.

سپس لوله‌ها را در اسپکتروفتومتر با طول موج ۵۴۰ نانومتر قرار داده و جذب نمونه‌ها را خواندیم. (۲)

نتایج

تعداد کل قارچ‌های منطقه زنجان ۵۷ کلنی به صورت تک کلنی و در منطقه ابهر ۱۰ کلنی می‌باشد. بر اساس نتایج

KH_2PO_4 : ۲g/l , Urea: ۰,۳g/l, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$:۱,۴g/l, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$:۰,۴g/l , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$:۰,۳g/l
Peptone: ۱,۰ g/l, Tween ۸۰:۰,۲g/l, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$:۵,۰ mg/l, $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$:۱,۶ mg/l
 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$:۱,۴ mg/l, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: ۲۰,۰ mg/l,
Carbon source (Avicel ۱۰,۰ g/l)

مواد زیر را در یک ارلن مایر ۱۰۰۰ با هم مخلوط کرده و سپس سوبسترا (اویسل تیمار شده) را به مواد فوق می‌افزاییم. محیط را به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتی گراد قرار دادیم. تمام کلنی‌ها را در محیط مندل کشت داده و در انکوباتور shake به مدت ۱۴ روز در دمای ۳۰ درجه با دور rpm ۱۵۰ قرار داده شدند. (۸).

در روزهای ۱، ۴، ۸، ۱۰ و ۱۴ به منظور بررسی روند فعالیت آنزیمی از محیط نمونه برداری شد.

ارزیابی فعالیت آنزیم سلولاز

برای ارزیابی فعالیت سلولاز از روش DNS، که مبتنی بر اندازه گیری قندهای احیا کننده می‌باشد استفاده شد. مواد زیر در تهیه معرف DNS مورد استفاده قرار گرفتند:

Dinitrosalicylic acid	۴g
Phenol	۰,۸g
Sodium sulfite	۰,۲g
Na/K tartarate (Rochelle salt)	۸۰g

تمام مواد فوق در ۲۰۰ میلی لیتر محلول آبی ۲٪ NaOH حل شده و سپس با ۴۰۰ میلی لیتر رقیق شدند. (۵) در این مرحله برای سنجش فعالیت آنزیم منحنی کالیبراسیون روش DNSA با غلظت‌های مختلف گلوکز که در ناحیه خطی جذب اسپکتروفتومتر باشد، به دست آوردیم و سپس نمونه‌ها را مورد سنجش قرار دادیم.

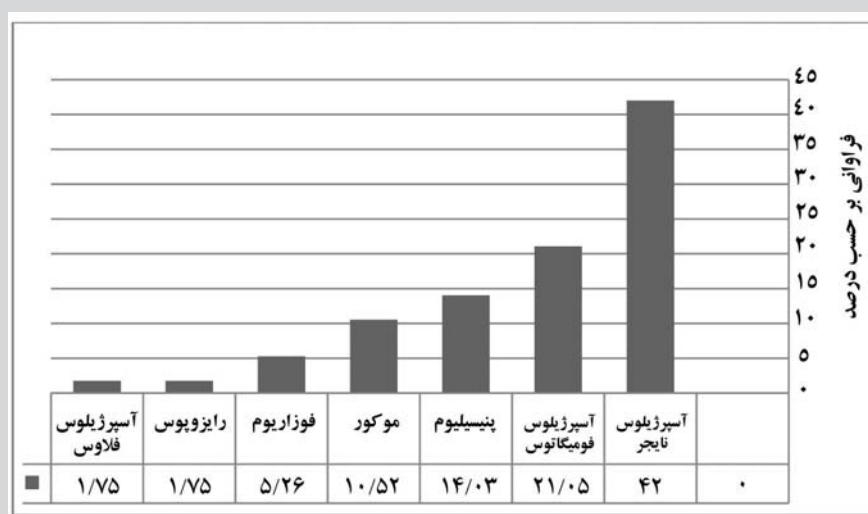
ابتدا محلول ذخیره گلوکز با غلظت ۳ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه کردیم و سپس غلظت‌هایی بین ۰/۱ تا ۴ میلی گرم را در ۱/۵ میلی لیتر با استفاده از محلول ذخیره فوق درست کردیم. آن گاه ۱/۵ میلی لیتر از غلظت‌ها را همراه

آمده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر برای هر گونه ذکر نموده است. (جدول ۱،۲)

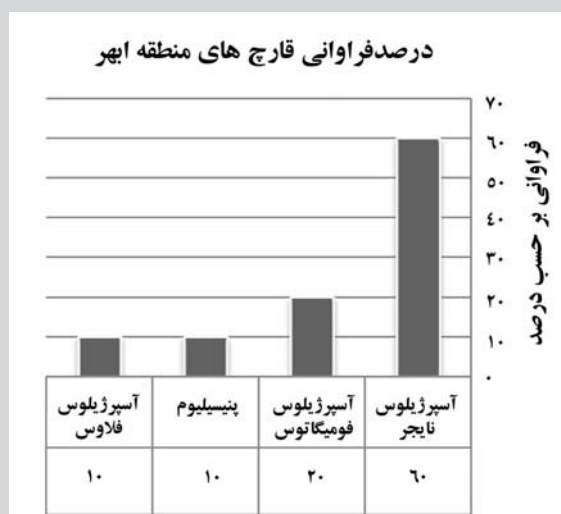
در این تحقیق با استفاده از محیط کشت اولیه سابورودکستروز آگار به جداسازی قارچ‌ها از بخشی از میکروفلور خاک استان زنجان پرداخته شد. بیشترین ایزوله‌های هر دو منطقه مربوط به آسپرژیلوس نایجر بود. دومین قارچی که بالاترین میزان فراوانی را پس از آسپرژیلوس نایجر داشت، آسپرژیلوس فلاوس بود. فراوانی قارچ‌های ایزوله شده از این دو شهرستان به ترتیب چنین است:

به دست آمده از بررسی میکروفلور خاک شهرستان‌های زنجان و ابهر قارچ آسپرژیلوس نایجر که ۴۲ درصد کل پلیت‌ها در شهرستان زنجان و ۶۰ درصد پلیت‌ها را در شهرستان ابهر شامل می‌شود. (نمودار ۱،۲) این قارچ در محیط کشت مندل سالت مدیوم که به حالت برات است محیط را به خوبی کدر می‌کند و دارای فعالیت سلولولیتیک است. (شکل ۱،۲)

نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنزیم سلولاز به روش DNS که به صورت جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر هر فعالیت هر نوع قارچ به صورت متوسط جذب به دست



نمودار ۱- درصد فراوانی قارچ‌های ایزوله شده از شهرستان زنجان



نمودار ۲- درصد فراوانی قارچ‌های ایزوله شده از شهرستان ابهر

نوع کلنی	فراوانی در شهرستان زنجان	فراوانی در شهرستان ابهر	درصد فراوانی در زنجان	درصد فراوانی در ابهر	مجموع فراوانی	درصد فراوانی کل
آسپرژیلوس نایجر	۲۴	۸	٪۴۲	٪۶۰	۳۲	٪۴۷/۷۶
آسپرژیلوس فومیگاتوس	۱۲	۲	٪۲۱/۰۵	٪۲۰	۱۴	٪۲۰/۸۹
پنسیلیوم	۸	۱	٪۱۴/۰۳	٪۱۰	۹	٪۱۳/۴۳
موکور	۶	-----	۱۰/۵۲	-----	۶	٪۸/۹۵
فوزاریوم	۳	-----	۵/۲۶	-----	۳	٪۴/۴۷
آسپرژیلوس فلاوس	۱	-----	۱/۷۵	-----	۲	٪۲/۹۸
رایزوپوس	۱	-----	۱/۷۵	-----	۱	٪۱/۴۷



شکل ۱- آسپرژیلوس فلاوس رشد یافته بروی محیط سابورد کستروز آگار ایزوله شده از زنجان



شکل ۲- آسپرژیلوس فلاوس و آسپرژیلوس نایجر رشد یافته در محیط مندل سالت مدیوم .

نوع کلنی	میانگین جذب اولیه - جذب روز اول در ۵۴۰ نانومتر	میانگین جذب روز ۴ در ۵۴۰ نانومتر	میانگین جذب روز ۸ در ۵۴۰ نانومتر	میانگین جذب روز ۱۰ در ۵۴۰ نانومتر	میانگین جذب روز ۱۴ در ۵۴۰ نانومتر
A.niger	۰/۰۶۴	۰/۳۲۹	۰/۸۴۵	۰/۶۱۲	۰/۴۵۹
A.fumigatus	۰/۱۱۴	۰/۳۰۹	۰/۶۹۹	۰/۵۷۶	۰/۴۳۹
Penicillium sp.	۰/۰۹۳	۰/۲۷۷	۰/۴۲۳	۰/۷۰۹	۰/۵۴۷
A.flavus	۰/۰۶	۰/۱۳۴	۰/۶۰۹	۰/۵۴۱	۰/۳۱۹
Rhizopus sp.	۰/۰۵۲	۰/۱۴۷	۰/۴۱۲	۰/۳۱۸	۰/۲۳۵
Mucor sp.	۰/۱۲۹	۰/۲۸۹	۰/۶۵۶	۰/۴۶۹	۰/۳۹۲
Fusarium sp.	۰/۱۵۱	۰/۳۰۳	۰/۶۷	۰/۵۴۴	۰/۴۴

جدول ۱- میانگین جذب مربوط به قارچ‌های منطقه زنجان در ۵۴۰ نانومتر

نوع کلنی	میانگین جذب اولیه - جذب روز اول در ۵۴۰ نانومتر	میانگین جذب روز ۴ در ۵۴۰ نانومتر	میانگین جذب روز ۸ در ۵۴۰ نانومتر	میانگین جذب روز ۱۰ در ۵۴۰ نانومتر	میانگین جذب روز ۱۴ در ۵۴۰ نانومتر
A.niger	۰/۰۹۳	۰/۲۳۸	۰/۵۸۶	۰/۵۴۲	۰/۴۳۵
A.fumigatus	۰/۱۱۶	۰/۳۵	۰/۵۷۸	۰/۵۱۲	۰/۴۹
Penicillium sp.	۰/۰۶۶	۰/۱۴۳	۰/۵۲۶	۰/۳۴۷	۰/۲۳۱
A.flavus	۰/۰۵۶	۰/۱۴۴	۰/۵۳۹	۰/۲۵۳	۰/۱۷۸

جدول ۲- میانگین جذب مربوط به قارچ‌های منطقه ابهر در ۵۴۰ نانومتر

در ۶۷ نمونه ای که از هر دو منطقه ایزوله شدند آسپرژیلوس نایجر دارای فعالیت سلولولیتیک بالا بود. در منطقه زنجان متوسط جذب آسپرژیلوس نایجر برابر با ۰/۸۴۵ nm بود که بالاترین میزان جذب را در این منطقه داشت. قارچ پنسیلیوم پس از آسپرژیلوس نایجر بالاترین میزان جذب را داشت و پایین ترین میزان جذب متوسط مربوط به گونه رایزوپوس بود.

در منطقه ابهر نیز آسپرژیلوس نایجر با میزان متوسط جذب ۰/۵۸۷ nm بالاترین میزان جذب را داشت. آسپرژیلوس فومیگاتوس در این منطقه پس از آسپرژیلوس نایجر

رایزوپوس

آسپرژیلوس نایجر پس از انتقال به محیط سلولولیتیک مدل سالت مدیوم توانست کدورت در محیط ایجاد کند. پس از این مرحله فعالیت آنزیم سلولاز به وسیله روش DNS مورد ارزیابی قرار گرفت. در ارزیابی فعالیت سلولاز بیشتر از روش‌های مبتنی بر بررسی محصولات هیدرولیز استفاده می‌شود. در این تحقیق از روش DNS استفاده شده که معمول ترین روش ارزیابی فعالیت سلولاز و دارای قابلیت بالای اندازه گیری قندهای احیا کننده است و کمترین تداخل را با آنزیم سلولاز ایجاد می‌کند،

سالت مدیوم به عنوان محیط حاوی سلولز به عنوان منبع کربن استفاده شده است در تحقیق صورت گرفته توسط Kader نیز به جداسازی قارچ‌های سلولولیتیک اکتفا شده است. تعداد کل قارچ‌های ایزوله شده توسط وی ۱۶ کلنی است که شامل دو قارچ آسپرژیلوس، تریکودرما است. تعداد کلنی‌های تک کلنی گرفته شده در تحقیق حاضر ۶۷ کلنی و شامل سه گونه از جنس آسپرژیلوس و بقیه کلنی‌ها از جنس‌های پنسیلیوم، موکور، فوزاریوم، رایزوپوس است که در مجموع تنوع بیشتری نسبت به کار صورت گرفته توسط دارد. (۸،۱۰،۱۱)

در ارزیابی فعالیت سلولولیتیک با استفاده از روش DNS بیشترین فعالیت به دست آمده مربوط به قارچ آسپرژیلوس نایجر بود که متوسط جذب ۳۲ گونه آسپرژیلوس نایجر ۰/۷۱۵ نانومتر است. در زمینه ارزیابی فعالیت سلولولیتیک در ایران فعالیت قابل توجهی صورت نگرفته و حمیدی، ۱۳۷۲ به جداسازی میکروارگانیسم‌های سلولولیتیک از شهر اردبیل پرداخته است که در این تحقیق شناسایی گونه‌ها صورت پذیرفته و فعالیت قارچ‌ها را با تریکودرما ریزی مقایسه نموده است. (۱)

در مطالعه حاضر حداقل تولید آنزیم در میان گونه‌ها بین روز ۴ تا ۸ در اکثر موارد به حداکثر رسیده است که با مطالعه صورت گرفته توسط حمیدی، ۱۳۷۲ مطابقت داشت. با توجه به موارد ذکر شده و نتایج به دست آمده آسپرژیلوس نایجر دارای بالاترین میزان فراوانی و بالاترین میزان فعالیت در میان ایزوله‌های مناطق مورد ارزیابی در استان زنجان است. (۷)

Rao L.V.(2005). Novel mutation method for increased cellulase production, Journal of Applied Microbiology, 98:318-323.

4. Duncan S.M, Minaski R. Farell R.L, Thwaites J.M, Held B.W., Arenz B.E, Jurgens J.A. ,Blanchette R.A.(2008). Screening fungi isolated from historic Discovery Hut on Ross

Island, Antarctica for cellulose degradation . Antarctic Science page 1-8.

بالاترین میزان جذب را داشت. پایین ترین میزان جذب در میان قارچ‌های ایزوله شده از منطقه ابهر مربوط به آسپرژیلوس فلاوس بود.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعات انجام شده به جداسازی قارچ‌ها و تهیه محیط سلولولیتیک مناسب برای رشد قارچ‌ها پرداخته شده است ولی فعالیت قارچ‌های ایزوله شده از خاک مورد بررسی واقع نشده است. ما در این تحقیق علاوه بر جداسازی قارچ‌ها و کشت آن‌ها در محیط سلولولیتیک، به بررسی میزان قندهای احیا کننده به وسیله روش DNS پرداخته‌ایم. (۹،۱۳)

در مطالعه انجام شده از نواحی مورد بررسی با آب و هوای سرد *Aspergillus funiculosus* دارای بیشترین درصد فراوانی در میان ایزوله‌ها بود با توجه به کوهستانی و سردسیر بودن شهرستان زنجان، در تحقیق حاضر *Aspergillus niger* دارای بالاترین درصد فراوانی است. (۴،۹،۱۵)

شهرستان ابهر به صورت دشت و دارای آب و هوای معتدل است در این شهرستان نیز بالاترین درصد فراوانی مربوط به قارچ *Aspergillus niger* بود.

بیشترین قارچ ایزوله شده در مجموع در مطالعه قارچ *Aspergillus niger* دارای بالاترین درصد فراوانی (۴۵/۴۶ درصد) بود، که با نتایج به دست آمده در تحقیق ما (۴۷/۷۶ درصد کل ایزوله‌ها) مطابقت داشت. (۹،۱۶)

در تحقیق صورت گرفته توسط محیط کشت مندل

منابع

۱. حمیدی، مهرداد (۱۳۷۲). رساله برای دریافت دکترای داروسازی . جداسازی و بررسی میکروارگانیسم‌های سلولولیتیک بخشی از میکروفلور ایران. دانشگاه علوم پزشکی تهران.

2. Adney B., Baker J.(2008). Measurement of Cellulase Activities. Laboratory Analytical Procedure. 1-11.

3. Chand .P, Aruna A. , Maqsood A.M .and

5. Ghose T.K. (1987). Measurement of cellulase activities. *Pure & App Chem*, 59(2), 258-267.
6. Franzluebbbers A.J.(2004) .Soil biology. USDA Agricultural Research Service,24 (1):1-7.
7. Gow N.A.R, Robson G.D, Gadd G.M.(1999). The fungal colony. Published for British mycologists society ,Cambridge university press.
8. Kadir A.J, Omar O, Feng L.S,(1999). Isolation of Cellulolytic fungi from the Bario Highlands, SARAWAK, ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation . 2:1-3.
9. Mahmood K., Wei-jun Y , Nazir.K , Zahid Iqbal R , Abdullah G.(2006). Study of cellulolytic soil fungi and two nova species and new medium. 7(6):459-466
10. Mathew G.M, Sukumaran R.K, Singhania R.R, Pandey A.(2008). Progress in research on fungal cellulases for lignocellulose degradation. 67:898-907.
11. Mirzaakhmedov Sh. Ya., Ziyavitdinov Zh. F., Akhmedova Z. R., Saliev A. B., Ruzmetova D. T. ,Ashurov Kh. B., Fessas D., Iametti S. (2007). Isolation, Purification, and Enzymatic activity of cellulase components of the fungus *Aspergillus terreus* . *Chemistry of natural compounds* ,43(5):594-597.
12. Nutt.A. (2006). Hydrolytic and Oxidative Mechanisms Involved in Cellulose Degradation.
13. Pečiulytė D. (2007). Isolation of cellulolytic fungi from waste paper gradual recycling materials. *EKOLOGIJA* ,53(4), 11-18.
14. Percival Zhang Y.-H, Himmel M.H, Mielenz J.R.(2006) .Outlook for cellulase improvement: Screening and selection strategies. *Biotechnology Advances*, 24, 452–481.
15. Perez S., Mackie B.(2001). Structure and Morphology of Cellulose. 11(4):1-21.
16. Zhao K., Ping W., Hao Q.Li.S. , Zhao L., Gao T., Zhou D.(2009). *Aspergillus niger* var. *taxi*, a new species variant of taxol-producing fungus isolated from *Taxus cuspidata* in China. *Journal of Applied Microbiology*.68:1-6 .



Archive