مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (40) العدد (2) 2018
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (40) No. (2) 2018

Study of enzymatic properties of some local fungal isolates Lattakia in Syria

Zenan Tanjour*

(Received 12 / 2 / 2018. Accepted 20 / 3 /2018)

□ ABSTRACT □

Isolation of fungal strains from local agricultural products is importance to produce enzymes and this explains the ability of these microorganisms to grow among containing macromolecular organic compounds. This work serves to isolate some fungal (*Aspergillus niger, Geotrichum candidum, Saccharomycopsis fibuligera*) and examine some enzymatic activities such as pectinase (Polygalactorunase, Pectin esterase, Indo-Polygalactorunase), Cellulase, Saccharase, β-amylase and Amyloglocosidase in liquid medium containing various carbon sources (Medium M1 Molasses 4 g%ml, M2 beet sugar residue 2%ml with wheat husks powder 3g%ml and M3 citrus sub-products 3g%ml) fermented by the selected fungal strains demonstrates that their biosynthesis potential for producing some important enzymes for use in different areas of applications, where she gave a significant production capacity of some enzymes by type of fungal and medium of culture.

The studied fungus gave good results from Pectinase enzymes in three medium but high amounts by Aspergillus niger and Saccharomycopsis fibuligera has given moderate amounts of Polygalacturonase enzymes in medium M1 and M3 and very little in medium M2 and without Indogalacturonase, and that all the isolated fungal didn't produce Cellulase in medium M1 and it gave a high activities of Cellulase in the middle M2 with Aspergillus niger and Geotrichum candidum medium, and all strains gave Invertase activity in three mediums of convergent values (40-70) activity unit and Invertase activity of A.niger in the Middle M3 override (U = 160), while Aspergillus niger and Saccharomycopsis fibuligera produce high amounts of enzymes of Amylase in three mediums.

Keywords: Fungi, Enzymes, Food residues, Pectinase, Cultivated medium

*Academic Assistant, Food Engineering and work lecturer in Agriculture Faculty, Tishreen University, Syria.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم البيولوجية المجلد (40) العدد (2) 2018
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series Vol. (40) No. (2) 2018

دراسة الخواص الأنزيمية لبعض العزلات الفطرية المحلية من محافظة اللاذقية في سوريا

زنان طنجور*

(تاريخ الإيداع 12 / 2 / 2018. قبل للنشر في 20 / 3 / 2018)

☐ ملخّص ☐

يعتبر عزل سلالات فطرية من المنتجات الثانوية الزراعية المحلية من الأهمية لإنتاج الأنزيمات وهذا يفسر مقدرة هذه الأحياء الدقيقة على النمو في أوساط تحتوي على مركبات عضوية عالية الوزن الجزيئي.

يقدم هذا العمل عزل بعض الفطور الدقيقة (*Aspergillus niger*، *Geotrichum candidum*، *Saccharomycopsis fibuuligera*) ودراسة بعض النشاطات الإنزيمية لهذه الفطور مثل الانزيمات البكتينية (Polygalactorunase، Pectin eterase، Indo-Polygalactorunase) والانزيمات السللوزية Cellulase و أنزيم β – فركتوفورانوزيداز Saccharase وغلوكوزيداز (β–amylase، Amyloglocosidase)، في الوسط السائل الذي يحتوي على مختلف مصادر الكربون المتخمرة (وسطM_1 مولاس 4 غ% ووسط M_2 تفل شوندر سكري 2% قشور قمح مطحون 3 غ % ووسط M_3 مخلفات حمضيات 3%) وهذا ما يبرهن مقدرتها الكامنة على الاصطناع الحيوي لإنتاج بعض الأنزيمات الهامة من اجل استخدامها في مجالات تطبيقية مختلفة، حيث أعطت قدرات إنتاجية هامة لبعض الأنزيمات حسب نوع الفطر والوسط الزرعي.

أعطت الفطريات المدروسة نتائج جيدة من الأنزيمات البكتينية في الأوساط الثلاثة لكن بكميات عالية من قبل Aspergillus niger، أما العزله *Saccharomycopsis fibuligera* أعطت كميات متوسطة من أنزيمات البوليغالاكتوروناز في الوسط M1 وM3 وكميات قليلة جداً في الوسط M2 وبدون اندوغالاكتوروناز، وبأن جميع السلالات المدروسة لم تنتج السيللولاز في الوسط M1 وأنها أعطت في الوسط M2 نشاطات عالية السيللولاز مع *Aspergillus niger* ومتوسطة *Geotrichum candidum*، وأن جميع السلالات أعطت نشاط إنفرتاز في الأوساط الثلاثة بقيم متقاربة (40–70) وحدة نشاط أنزيمي وان النشاط الإنفرتازي للسلالة *A.niger* في الوسط M3 تجاوز (U=160)، بينما السلالتين *Aspergillus niger* و*Saccharomycopsis fibuligera* تنتج كميات عالية من الأنزيمات الأميلازية في الأوساط الثلاثة.

الكلمات المفتاحية: فطريات، أنزيمات، مخلفات غذائية، بكتيناز، وسط زرعي

* مهندسة غذائية وقائمة بالأعمال في كلية الزراعة –جامعة تشرين –سورية

مقدمة:

استخدمت الفطور في الإنتاج على المستوى التصنيعي والتجاري للعديد من المواد الحيوية (أنزيمات، مضادات حيوية، فيتامينات، حموض أمينية،.....) بسبب تنوعها العالي ودورة حياتها المختلفة بين الزراعات السطحية والعميقة وطبيعة وسط النمو بالإضافة إلى أن العديد من العوامل البيئية والفيزيائية والكيميائية تؤثر على إنتاجيتها (مصادر الكربون والآزوت والفوسفات والعناصر النادرة والأوكسجين المنحل وثاني أوكسيد الكربون وpH ودرجة الحرارة ونوعية المخمرات وعملية التحريك ونظام الزرع المتقطع أو التغذية المتقطعة أو المستمرة، والصفات الفيزيولوجية (Papagianni, 2004)

تعتبر أنزيمات البكتيناز مسؤولة عن تحلل المواد البكتينية المتواجدة في النباتات وأيضاً تعتبر هامة في العمليات التصنيعية كمثبت في العصائر وزيادة استخراج اللب من الفواكه والخضار وتخمير حبوب الكاكاو ومستحضرات الشاي الذائبة وفي صناعة النسيج وفي معالجة المياه العادمة وتصنيع الورق (Kashyap, 2001)، ويتم الحصول على مستحضرات البكتيناز من مزارع *Aspergillus niger* التي تكون بشكل تركيبات ممزوجة من الأنزيمات (الأميلاز و ارابينوفورانوزيداز وأنزيمات أخرى) والمستقلبات وتستخدم في عمليات الاستخلاص التنقية والنقع. (Almeida, 2003; Kester, 1990)

تفرز بعض الخمائر نماذج نوعية من الأنزيمات المحللة للبكتينات والتي تستخدم لتحضير مزائج أنزيمية معيارية للاستخدام الصناعي. (Angayarkanni,2002)، وبين الباحث Sharma وزملاؤه (2006) أن الأنزيمات المحللة للبكتينات تطبق في مختلف العمليات التصنيعية على أساس متطلبات الـpH من أجل النشاط الأنزيمي المثالي، وتضم أنزيمات تفكيك المواد البكتينية على مجموعة من الأنزيمات مثل Pectin methylesterase (EC 3.1.11.1) وEndo-polygalacturonase (EC 3.2.1.15) وExo-polygalacturonase (EC 3.2.1.67) و Pectin lyase (EC 4.2.2.2) وExo-pectate lyase (EC 4.2.2.9) وEndopectin lyase (EC 4.2.2.10) (Celestino, 2006)

تعتبر أنزيمات الـPectinases مجموعة من الأنزيمات المحللة للبكتين بآليات مختلفة وغالباً ما تنتج في النباتات والفطور والبكتيريا، وبينت العديد من الدراسات ان انتاج pectinesterase الخارجي يتم بواسطة *Aspergillus sp.* باستخدام سوبسترات البكتين أو تفل الشوندر السكري أوغيرها، وإن وجود البكتين في الوسط الزرعي يحرض إنتاج هذه الأنزيمات وتمت أيضاً دراسة آلية تنظيم الإنتاجية في البكتيريا والفطور (Hadj-Taieb, 2002) ، وبين الباحث De Gregrio وزملاؤه (2002) أنه يمكن إنتاج محتوى عالي من الأنزيمات المحللة للبكتين بزراعة *Trichoderma viride* و*Aspergillus niger* على مخلفات عصير الحمضيات، واستخدم الباحث Silva وزملاؤه (2005) خليط من مخلفات البرتقال مع قشور القمح بنسبة (1:1) بزراعة *Penicillium viridicatum* كسوبسترات ورطوبة70% و80% على التوالي في وسط تخمر صلب حيث أنتج كميات عالية من البكتيناز.

يتوسط أنزيم α-glucosidase (Ec 3.2.1.20) تحرير α-غلوكوز من النهاية اللامرجعة للسوبسترات (مالتوز، مالتوسكاريدات، α–غلوكوزيدات أو α-غلوكان) وينتج من مصادر مختلفة الثدييات والحشرات والنباتات والفطور والبكتيريا، حيث يفكك الروابط الغليكوزيدية (α-1-4 وα-1-6) وصنف إلى عائلتين اعتماداً على السوبسترات والتسلسل الحموض الأمينية (غلوكوزيداز I يحلل سوبسترات غير متجانسة بشكل أعلى وغلوكوزيداز II يعطي نشاط أعلى مع السكريات المتجانسة) (Yamamoto, 2004; Noguchi, 2003) أثبت أن α-glucosidase عالي النوعية بالتأثير على مختلف السوبسترات فيفضل المالتوز والمالتوتريوز ومالتوتيتروز بالإضافة إلى الرابطةα-(1−4) وكما أنه يفكك

الروابط α-(1–2) وα-(1–3) وα-(1–6) لكن بشكل أقل وأنه يؤثر على العديد من السكريات المتعدد (نشاء، ديكسترينات، غليكوجين،.....) (Shimba et al, 2009)

بين الباحث Chi وزملاؤه (2009) التطبيقات البيوتكنولوجية لاستخدام *Saccharomycopsis fibuuligera* وفرزه للعديد من الأنزيمات بكميات كبيرة من الأميلاز والبروتياز وβ–غلوكوزيداز والتي تستخدم في التطبيقات التخمرية، ويفكك أنزيم β-glucosidase الرابطة β(1–4) وينتج الغلوكوز ويستخدم هذا الأنزيم في تدوير المواد السللوزية النباتية ويستخدم في تفكيك السيللوز والسيليبيوز إلى غلوكوز (Han, 2008; Canizares, 2010)، وبين الباحث Giannesi وزملاؤه (2006) تأثير مصدر الكربون على إنتاجية α-glucosidase بواسطة *Chaetomium thermophilum*

يعتبر السللوز المركب الغالب في جدر الخلايا النباتية من مصدر بيولوجي هام قابل للتدوير في المحيط الحيوي ويتم اصطناع الكحول الايتيلي من الليغنوسيللوز حيث يشكل إستراتيجية للطاقات المتجددة ولكن وجد أن أنزيمات السيلولاز تفكك السيللوز الذي يتثبط بواسطة سيليبيوز وعلى نطاق اقل بالغلوكوز ولذلك يضاف β-glucosidase الذي يقلل من عملية التثبيط ويعتبر هذا الأنزيم واسع الانتشار في الطبيعة وخاصة الأحياء الدقيقة مثل *Aspergillus niger* وأيضاً في النباتات والحيوانات (Han, 2008)

استخدم الباحث Ota وزملاؤه (2009) مزيج من الديكسترين والمالتوز بحضنها مع إنزيم α-glucosidase من مصدر *Aspergillus niger* لمدة خمسة أيام على 25°م وأيضاً مع مزيج من النشاء والمالتوز فوجد أن هذا الأنزيم يؤثر على النشاء أكثر من تأثيره على الديكسترين، كما استخدم الباحث Song وزملاؤه (2010) الأنزيم β-glucosidase المثبت والمستخلص من *Aspergillus niger* في عملية إضافة الصباغات إلى الأنسجة القطنية، كما أوضح الباحث Turner وزملاؤه (2002) أن هذا الأنزيم هو يفرز خارج الخلية ويفكك الروابط β–(1–4) من النهاية المرجعة في جزيئة السيللوز والسيليبيوز إلى غلوكوز.

يعتبر أنزيم Cellulase المنتج من قبل العديد من الفطور الخيطية الذي يتضمن Endoglucanase (EC3.2.1.4) و(EC3.2.1.91) Exoglucanase التي تفكك السيللوز إلى سيليبيوز وقطع من السيللوز وفي النهاية تتحول إلى غلوكوز بواسطة β-glucosidase (EC 3.2.1.21) (Chi et al, 2003)

بين الباحث McBride وزملاؤه (2005) أن الخمائر *Saccharomyces serevisiae* و*Saccharomycopsis fibuuligera* تفرزان أنزيم β-glucosidase الذي يحلل السيللوز، كما بين الباحث Haan وزملاؤه (2007) أنه يوجد أنزيمات السيللولاز في *Saccharomycopsis fibuuligera* مكودات وراثياً أحدهما Endoglucanase والآخر β-glucosidase التي تفكك السيللوز بهدف إنتاج الكحول من قبل S. serevisiae.

أيضاً بين الباحث Joo وزملاؤه (2010) أن بعض سلالات *Penicillium pinophilum* تنتج كميات عالية من β-glucosidase في شروط مثالية والتي تفكك السيللوز على مركبات قابلة للتجديد في التربة وهامة من الناحية التصنيعية.

تم في هذا العمل تطبيق بعض طرق العزل الاختيارية والتأكدية وعزل سلالات فطرية من بعض المنتجات الزراعية (فواكه – حبوب – ألبان ......) وتم انتقاء هذه الزرعات الفطرية ودراسة خواصها (في أوساط حمضية ومقدرتها على الاستقلاب النوعي للأحماض العضوية وسرعة نموها على أوساط تحتوي مصادر مختلفة من السكريات المتعددة وكمية البيوماس والبروتين الناتج عن نموها في هذه الأوساط ، حيث تم دراسة ثلاثة عزلات فطرية في مقدرتها الكامنة على الاصطناع الحيوي للأنزيمات في أوساط مثالية لإنتاج الأنزيمات.

أهمية البحث وأهدافه

تعتبر عملية إنتاج الأنزيمات والمستحضرات الأنزيمية من التطبيقات الهامة لعزلها من الأحياء الدقيقة ودراسة نشاطاتها مما يحقق جدوى أقتصادية لاستخدامها في التطبيقات التصنيعية المختلفة (كيميائية، غذائية، صحية.......)، ويأتي هدف البحث من خلال دراسة عزل بعض الفطريات العالية الانتاج من البيئة المحلية لمدينة اللاذقية ودراسة خواص هذه الأنزيمات الهامة في التطبيقات الغذائية وغيرها.

طرائق البحث ومواده

المواد والأدوات المستخدمة

وسط تشابك، $NaNo_3$، $(NH_4)SO_4$، k_2HPO_4 سيترات الصوديوم، $MgSO_4.7H_2O$، مولاس، تفل شوندر سكري، قشور قمح مطحون، مخلفات حمضيات، بكتين حمضيات، سللوز مبلور CC، كاربوكسي متيل السيللوز CMC، سكروز، نشاء، مالتوز.

-أطباق بتري، أرلينات، بياشر، هاون بورسلان ، أدوات عزل وتعداد ميكروبي، هزاز (Shaker)، مثقلة، جهاز أوستفالد للزوجة، حاضنة، أوتوغلاف، مطحنة قهوة.

عزل الفطريات المستخدمة

تم عزل السلالات الفطرية على وسط تشابك جامد في مخابر كلية الزراعة- جامعة تشرين من بعض المخلفات الزراعية وهي مزرعه واحدة من *Aspergillus niger* من قشور الحمضيات المعفنة ومزرعة واحدة من *Geotrichum candidum* من منتجات لبن محمض وعزله واحدة من *Saccharomycopsis fibuuligera* من وسط حبوب قمح مرطب وبعد انتقائها ودراسة خواصها المورفولوجية والاستقلابية على وسط يحوي حمض عضوي أو سكر كمصدر وحيد للكربون ثم حفظت في أنابيب اختبار بوسط جامد آغار لحين الاستخدام، حيث تم تنميتها من جديد على أوساط جامدة لتستخدم كبادئات متجددة ونشطة .

كانت شروط الزرع ثابتة من اجل كل السلالات المعزولة حيث تمت الزراعة في وسط سائل على هزاز (Shaker) لمدة 72 ساعة / 28-30 درجة مئوية وبعد إعطاء البادئ وحيد الزرعه في الوسط المعقم سابقاً والذي يحتوي 1 مل منه تقريباً على 10^5/ سم^3 خلية وأهم خواص الفطريات المستخدمه:

-*Aspergillus niger* (A.n) يعتبر من الفطور العفنية التي تنمو على مختلف المصادر النباتية (فواكه، خضار، حبوب ومشتقاتها) وينتج العديد من المركبات الهامه حيوياً مثل حمض السيتريك والأنزيمات.

-*a* (S.f) يعد من الخمائر التي تتكاثر بالتبرعم والميسيليوم تنمو على مشتقات الحبوب وتفرز عدد من الأنزيمات الهامة في التطبيقات البيوتكنولوجية.

–(G.c) يعتبرمن الفطور العفنية التي تنمو على المشتقات اللبنية وفي المخللات وتعطي العديد من المركبات الحيوية.

تركيب الأوساط الزرعية :

استخدم محلول الأملاح التالية (غ% ماء) $NaNo_3$ (0.3)، $(NH_4)SO_4$ (0.3)، k_2HPO_4 (0.2) سيترات الصوديوم (0.8) $MgSO_4.7H_2O$ (0.2) بإضافته على الأوساط التالية:

- الوسط الأول M_1: مولاس 4 غ%
- الوسط الثاني M_2: تفل شوندر سكري 2% قشور قمح مطحون 3 غ %
- الوسط الثالث M_3: مخلفات حمضيات 3%

تحديد نشاط الأنزيمات

تم في نهاية عملية التخمر طحن البيوماس مع السائل المتخمر في هاون بإضافة قليل من الرمل البحري المعالج ثم فصل السائل بعملية التثقيل واستخدم في تحديد النشاطات الانزيمية التالية:

1- ***الانزيمات البكتينية*** (Sardar, 2005) (Silva, 2005) (Antov, 2004)

– بوليغالاكتوروناز Polygalactorunase (سوبسترات بكتين حمضيات pH=4 ودرجة حرارة 30°م) والنشاط الأنزيمي (UA = µ.equiv/min)

– بكتين استيراز Pectin eterase (سوبسترات بكتين حمضيات pH=7.5 ودرجة حرارة 30°م) والنشاط الأنزيمي (UA = µ.equiv/min)

– إندوبوليغالاكتوروناز Indo-Polygalactorunase (سوبسترات بكتين حمضيات pH=7.5 ودرجة حرارة 30°م) والنشاط الأنزيمي

Saccharomycopsis fibuligera

(انخفاض اللزوجة 30%)

2- الانزيمات السللوزية Cellulase (إندوغلوكاناز): (Chi, 2009) [سوبسترات سللوز مبلور CC وكاربوكسي متيل السيللوز CMC إلى pH=4.8 ودرجة حرارة 60°م] والنشاط الأنزيمي (مغ غلوكوز ناتج/ساعة)

3- ***أنزيم β – فركتوفورانوزيداز Saccharase*** (Chi, 2009) (سوبسترات سكروز إلى pH=4.5 ودرجة حرارة 55°م والنشاط الأنزيمي (مغ سكر محول/ دقيقة)

4- ***غلوكوزيداز:*** (Chi, 2009) (Yamamoto, 2004)

– β- أميلاز β–amylase (سوبسترات نشاء إلى pH=4.8 ودرجة حرارة 25°م والنشاط الأنزيمي (مغ مالتوز ناتج/ دقيقة)

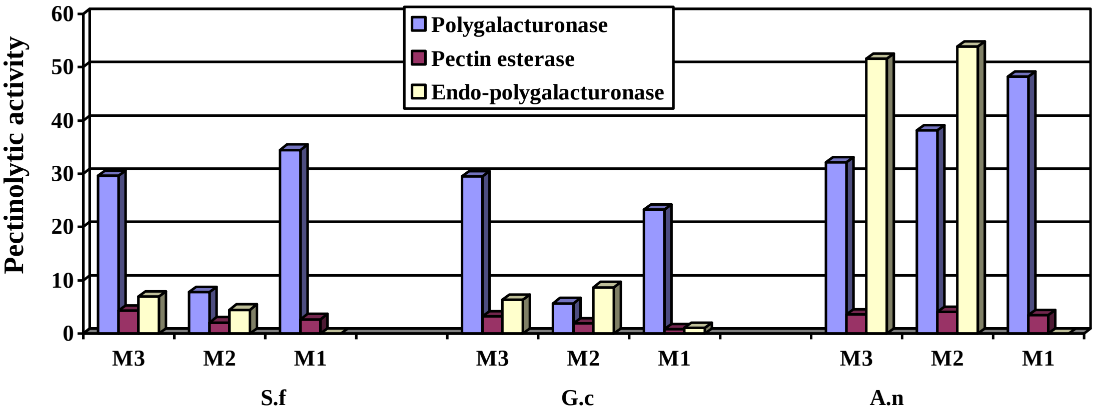
– أميلوغلوكوزيداز Amyloglocosidase (سوبسترات نشاء إلى pH=4.8 ودرجة حرارة 55°م والنشاط الأنزيمي (مغ مالتوز ناتج/ دقيقة)

– α غلوكوزيداز Maltase (سوبسترات مالتوز إلى pH=4.3 ودرجة حرارة 25°م والنشاط الأنزيمي (مغ مالتوز متفكك / دقيقة)

النتائج والمناقشة

نشاط الأنزيمات البكتينية

من خلال دراسة النشاطات لثلاثة أنزيمات بكتينية للسلالة *Aspergillus niger* أعطت كميات كبيرة من الأنزيمات وأن الفرق بين الأوساط الثلاثة كانت قليلة باستثناء الوسط الأول M1 مع (المولاس) لم تعط أنزيم (أندوبوليغالاكتوروناز) أما السلالة *Geotrichum candidum* أعطت نتائج متوسطه من الأنزيمات البكتينية في الأوساط الثلاثة لكن بكميات اقل من Aspergillus niger، وأيضاً السلالة *Saccharomycopsis fibuligera* أعطت كميات متوسطة من أنزيمات البوليغالاكتوروناز في الوسط M1 وM3 وكميات قليلة جداً في الوسط M2 وبدون اندوغالاكتوروناز كما هو موضح في الشكل (1)



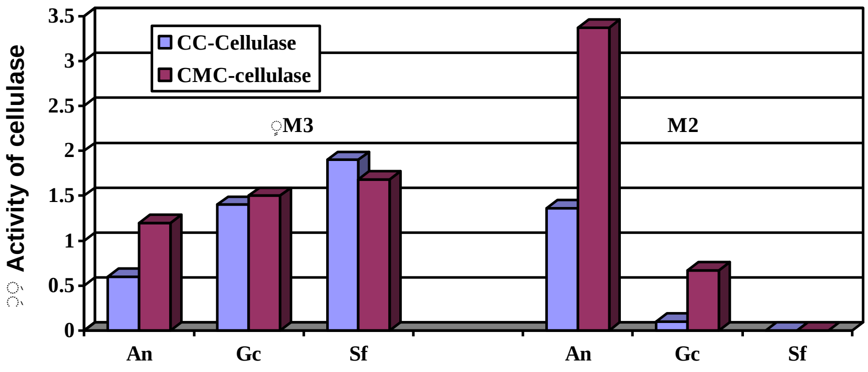
الشكل (1) يوضح النشاط أنزيمات البيكتيناز من قبل السلالات الفطرية المعزولة
على أوساط زرعية مختلفة M1, M2, M3 (72 ساعة/28°م)

يتبين من النتائج في الشكل (1) أنهامتقاربه مع دراسة الباحث (Hadj-Taieb, 2002) والباحث De Gregrio وزملاؤه (2002) أنه يمكن إنتاج محتوى عالي من الأنزيمات المحللة للبكتين بزراعة *Trichoderma viride* و*Aspergillus niger* على مخلفات عصير الحمضيات وأيضاً دراسة الباحث Silva وزملاؤه (2005) على خليط من مخلفات البرتقال مع قشور القمح.

النشاط الانزيمي السللولازي :

تبين من الشكل (2) بأن جميع السلالات المدروسة لم تنتج السيللولاز في الوسط M1 وأنها أعطت في الوسط M2 نشاطات عالية السيللولاز مع *Aspergillus niger* ومتوسطة *Geotrichum candidum* وخالية مع *Saccharomycopsis fibuligera* أما في الوسط (M3) أعطت قيم مختلف من تراكيز سيللولاز مع كل

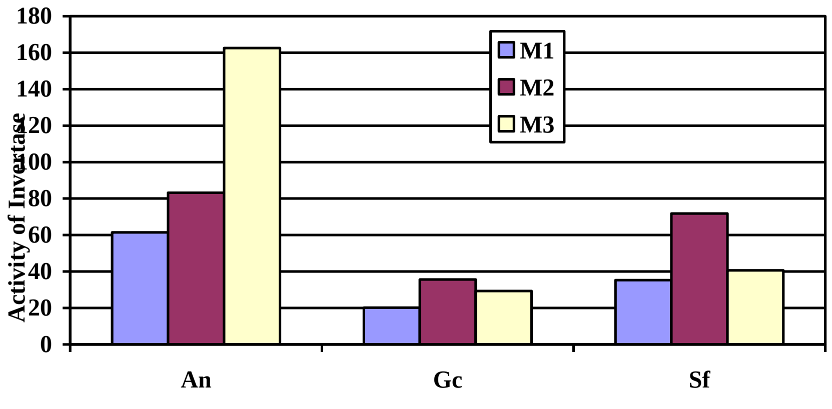
السلالات وأعلاها مع *S. fibuligera* يليها *G. candidum* ثم *A. niger* مع كلا السوبسترات المستخدمة (CC و CMC) وهذه النتائج تشابه الدراسة عند الباحثين (Han, 2008; Canizares, 2010) كما هو موضح في الشكل (2)



الشكل (2) يوضح النشاط الأنزيمات السيللولازي من قبل السلالات الفطرية المعزولة
على أوساط زرعية مختلفة M_1, M_2, M_3 (72 ساعة/28°م)

دراسة نشاط β – فركتوفورانوزيداز (انفرتاز)

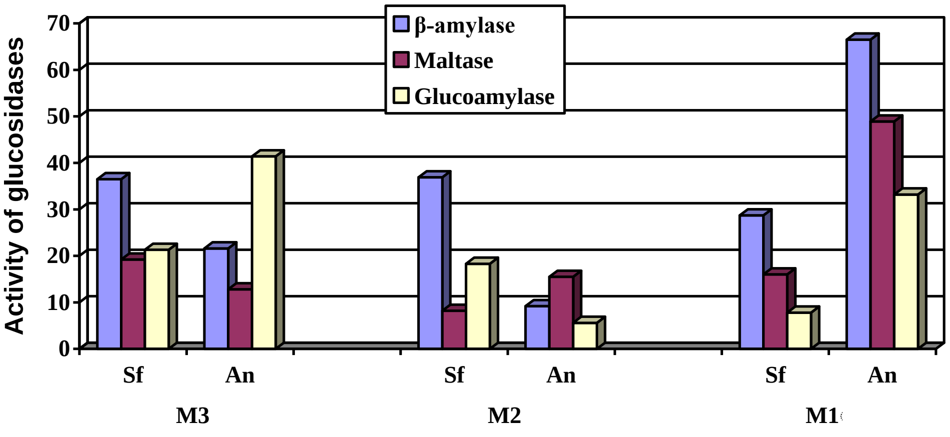
يلاحظ من الشكل (3) أن جميع السلالات أعطت نشاط إنفرتاز في الأوساط الثلاثة بقيم متقاربة (40–70) وحدة نشاط أنزيمي وان النشاط الإنفرتازي للسلالة *A.niger* في الوسط M3 تجاوز (U=160) كما هو موضح في الشكل (3)



الشكل (3) يوضح النشاط أنزيم السكاراز من قبل السلالات الفطرية المعزولة
على أوساط زرعية مختلفة M_1, M_2, M_3 (72 ساعة/28°م)

دراسة تأثير تركيب الوسط على النشاط الغلوكوزيدازي الخارجي :

من خلال دراسة نشاط المالتاز و β–أميلاز وغلوكوأميلاز الملاحظ في الشكل (4) بأن سلالة *Aspergillus niger* لاتنتج أي نشاط غلوكوزيدازي في حين أن السلالتين *G. candidum* و *Saccharomycopsis fibuligera* تنتج كميات لابأس فيها من الأنزيمات الأميلازية في الأوساط الثلاثة وكان أفضلها مع وسط المولاس (M1) بالنسبة لـ *Aspergillus niger* كما هو موضح في الشكل(4)



الشكل (4) يوضح النشاط أنزيمات الغلوكوزيداز من قبل السلالات الفطرية المعزولة على أوساط زرعية مختلفة M_1, M_2, M_3 (72 ساعة/28°م)

الاستنتاجات والتوصيات:

- تعتبر البيئة المحلية مصدر هام للأحياء الدقيقة الهامة في التطبيقات الصناعية
- إن عزل وتنقية هذه الفطور من الأوساط للمنتجات الزراعية مصدر هام وجيد لإنتاج الأنزيمات على أوساط تحتوي مواد عضوية ذات جزيئات كبيرة (مخلفات زراعية).
- خلال دراسة النشاط الأنزيمي في السوائل الزرعية المتخمرة لمختلف مصادر الكربون مع هذه الفطور المنتقاة يلاحظ المقدرة العالية لهذه الأحياء على التأقلم مع الوسط المدروس وإعطاء كوامنها في الاصطناع الحيوي وبالتالي استخدام هذه الأحياء الدقيقة في التطبيقات التصنيعيه المختلفة.
- يفضل دراسة الكوامن الانزيمية لهذه العزلات وتطبيقها على مجالات تصنيعية مختلفة

المراجع

1. Papagianni M., Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes, Biotechnology Advances 22 (2004) 189–259.
2. Kashyap, D. R., Vohra, P.K., Chopra, S., and Tewari, R.: Applications of pectinases in the commercial sector: a review. Bioresour. Technol., 77, 215–227 (2001).
3. Almeida C., Branyik T., Moradas-Ferreira P and Teixeira J, Continuous Production of Pectinase by Immobilized Yeast Cells on Spent Grains, Jor. of Bioscience and Bioeng. Vol. 96, No. 6, 513–518. 2003.
4. Angayarkanni J, Palaniswamy M, Murugesan S, and Swaminthan K., Improvement of Tea Leaves Fermentation with *Aspergillus* spp. Pectinase, Jor. of Bioscience and Bioeng. Vol. 94, No. 4,299-303.2002.
5. Kester, H. C. M. and Visser, J.: Purification and characterization of polygalacturonases produced by the hyphal Angus *Aspergillus niger*. Biotechnol. Appl. Biochem., 12, 150-160. 1990.
6. Sardar M., Gupta M. Immobilization of tomato pectinase on Con A–Seralose 4B by bioaffinity layering, Enzyme and Microbial Technology 37 (2005) 355–359.

7. Sharma D.C., Satyanarayana T., A marked enhancement in the production of a highly alkaline and thermostable pectinase by Bacillus pumilus dcsr1 in submerged fermentation by using statistical methods, Bioresource Tech. 97 (2006) 727–733.

8. Celestino S. M , Maria de Freitas S., Javier MedranoF., Valle de Sousa M., E. Ximenes Ferreira Filho Purification and characterization of a novel pectinase from *Acrophialophora nainiana* with emphasis on its physicochemical properties, Journal of Biotechnology 123 (2006) 33–42.

9. Hadj-Taieb N, Ayadi M, Trigui S, Bouabdallah F, Gargour A, Hyperproduction of pectinase activities by a fully constitutive mutant (CT1) of *Penicillium occitanis* , Enzyme and Microbial Technology 30 (2002) 662–666.

10. Antov M. G., Partitioning of pectinase produced by Polyporus squamosus in aqueous two-phase system polyethylene glycol 4000/crude dextran at different initial pH values, Carbohydrate Polymers 56 (2004) 295–300.

11. De Gregorio A., Mandalari G., Arena N., Nucita F., Tripodo M.M., R.B.Lo Curto, SCP and crude pectinase production by slurry-state fermentation of lemon pulps, Bioresource Technology 83 (2002) 89–94.

12. Silva D, Tokuioshi K, Martins E, Da Silva R, Gomes E, Production of pectinase by solid-state fermentation with Penicillium viridicatum RFC3, Process Biochemistry 40 (2005) 2885–2889.

13. Yamamoto T, Unno T, Watanabe Y, Yamamoto M, Okuyama M, Mori H, Chiba S, Kimura A, Purification and characterization of Acremonium implicatum α-glucosidase having regioselectivity for α-1,3-glucosidic linkage, Biochimica et Biophysica Acta 1700 (2004) 189–198.

14. Noguchi A, Nakayama T, Hemmi H, and Nishino T, Altering the substrate chain-length specificity of an α-glucosidase, Biochemical and Biophysical Research Communications 304 (2003) 684–690.

15. Cañizares R, Benitez E, Ogunseitan O. A., Molecular analyses of β-glucosidase diversity and function in soil, European Journal of Soil Biology 47 (2011) 1-8.

16. Giannesi G C, de Lourdes M, Polizeli T M, A novel α-glucosidase from Chaetomium thermophilum var. Coprophilum that converts maltose into trehalose: Purification and partial characterisation of the enzyme, Process Biochemistry 41 (2006) 1729–1735.

17. Han Y, Chen H, Characterization of β-glucosidase from corn stover and its application in simultaneous saccharification and fermentation, Bioresource Technology 99 (2008) 6081–6087.

18. Ota M, Okamoto T, Hoshino W, Wakabayashi H, Action of α-D-glucosidase from Aspergillus niger towards dextrin and starch, Carbohydrate Polymers 78 (2009) 287–291.

19. Song J, Imanaka H, Imamura K, Kajitani K, and Nakanishi K, Development of a highly efficient indigo dyeing method using indican with an immobilized β-glucosidase from Aspergillus niger, Journal of Bioscience and Bioengineering VOL. 110 No. 3, 281–287, 2010.

20. Turner B L , Hopkins D W., Haygarth P M., Ostle N, Glucosidase activity in pasture soils, Applied Soil Ecology 20 (2002) 157–162.

21. Chi Zh, Chi Z, Liu G, Wang F, Ju L, Zhang T, Saccharomycopsis fibuligera and its applications in biotechnology, Biotechnology Advances 27 (2009) 423–431.

22. Chi ZM, Liu J, Ji JR, Meng ZL. Enhanced conversion of starch to trehalose by a mutant of Saccharomycopsis fibuligera sdu. J Biotechnol 2003;102:135–41.

23. McBride J.E., Zietsman J.J., Van Zyl W.H., Lynd L.R., Utilization of cellobiose by recombinant β-glucosidase-expressing strains of *Saccharomyces cerevisiae*: characterization and evaluation of the sufficiency of expression, Enzyme and Microbial Technology 37 (2005) 93–101.

24. Haana R D, Rosea S H, Lyndb L R., Zyla W H., Hydrolysis and fermentation of amorphous cellulose by recombinant Saccharomyces cerevisiae, Metabolic Engineering 9 (2007) 87–94.

25. Joo A-R, Jeya M, Lee K, Lee K, Moona H-J, Production and characterization of β-1,4-glucosidase from a strain of Penicillium pinophilum, Process Biochemistry 45 (2010) 851–858.