

Isolation of phytase-producing fungi from the soil poultry house¹

Omid Nikbakht

Faculty of Veterinary Medicine, Bab.C., Islamic Azad University, Babol, Iran.

Omida8643@gmail.com

Amirhossein Esmaili

Paramedical Department, Bab.C., Islamic Azad University, Babol, Iran.

2140447549@iau.ir

Issa Gholampourazizi

Department of Mycology, Bab.C., Islamic Azad University, Babol, Iran (**Corresponding author**).
azad_vet2002@yahoo.com

Abstract

Objective: Phosphorus is an essential micronutrient of plants and plays a role in important biological functions. In nature, phosphorus is mostly found in immobile minerals and in fixed organic forms, including phytic acid and phosphoesteric compounds. However, the bioavailability of limited phosphorus can be increased by using phosphate solubilizing microorganisms such as bacteria and fungi.

Materials and methods: Samples were taken from the depth of 3-5 cm of the soil where the poultry live and after preparing 10^{-1} to 10^{-5} dilutions and pore plate culture in Potato dextrose agar (PDA) medium containing antibiotics, after one-week storage at temperature 28 degrees, molds were isolated and identified. Then these molds were inoculated in PSM (Phytase Screening Medium) culture medium and the mushrooms that had the clearest aura were selected and the enzyme index (EI) and phosphate solubility efficiency (SE) were determined and finally the phytase enzyme activity was determined with a spectrophotometer was measured.

Findings: In this study, the fungi that were able to form a clear halo around the colony in the specific culture medium of phytase screening (PSM) included *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. *Aspergillus flavus* was more effective than *Niger* by 2.17%. Their average enzyme activity was 5.07 ± 0.17 and 4.94 ± 0.15 Iu/L, respectively.

Conclusion: This research can provide effective solutions for the development of an ideal phytase to improve animal nutrition, human health and environmental protection in the near future.

Keywords: soil, *Aspergillus* PSM, phytase.

¹ Received: 2024/07/19 ; Revised: 2024/09/11 ; Accepted: 2024/11/03 ; Published online: 2024/12/22



جداسازی و شناسایی قارچ های مولد آنزیم فیتاز از خاک محل زندگی طیور^۲

امید نیک‌بخت

دانشکده دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران. Omida8643@gmail.com

امیرحسین اسماعیلی

گروه پیراپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران. 2140447549@iau.ir

عیسی غلامپورعزیزی

گروه قارچ شناسی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، بابل، ایران (نویسنده مسئول). azad_vet2002@yahoo.com

چکیده

هدف: فسفر یک ریز مغذی اساسی گیاهان است و در عملکردهای مهم بیولوژیکی نقش دارد. در طبیعت، فسفر بیشتر در مواد معدنی بی حرکت و به شکل آلی ثابت از جمله اسید فیتیک و ترکیبات فسفواستری وجود دارد. با این حال، فراهمی زیستی قابل دسترسی فسفر محدود می تواند با استفاده از میکروارگانیسم های حل کننده فسفات مانند باکتری ها و قارچ ها افزایش یابد.

مواد و روشها: از عمق ۳-۵ سانتی متری خاک محل زندگی طیور نمونه گرفته و پس از تهیه رقتهای 10^{-1} تا 10^{-5} و کشت پور پلیت در محیط پتیتو دکستروز آگار (PDA) حاوی آنتی بیوتیک، بعد یک هفته نگهداری در دمای ۲۸ درجه، کپکها جداسازی و شناسایی شدند. سپس این کپک ها در محیط کشت PSM (Phytase Screening Medium) تلقیح شده و قارچهای که دارای بیشترین هاله شفاف بودند، انتخاب و ایندکس آنزیمی (EI) و راندمان حل پذیری فسفات (S.E) با محاسبه قطر هاله شفاف تجزیه و قطر کلنی قارچ، تعیین گردیده و در نهایت فعالیت آنزیمی فیتاز با دستگاه اسپکتوفوتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر سنجیده شد.

یافته ها: در این مطالعه قارچهای که در محیط کشت اختصاصی غربالگری فیتاز (PSM) توان تشکیل هاله شفاف اطراف کلنی را داشتند، شامل کپک آسپرژیلوس گونه های آ. نایجر و آ. فلاووس بودند. گونه فلاووس نسبت به گونه نایجر ۲/۱۷ درصد موثر تر عمل نموده است. میانگین فعالیت آنزیمی آنها به ترتیب 5.07 ± 0.17 و 4.94 ± 0.15 Iu/L بدست آمدند.

نتیجه گیری: این پژوهش می تواند راه حل های موثر برای توسعه یک فیتاز ایده آل برای بهبود تغذیه حیوانات، سلامت انسان و حفاظت از محیط زیست در آینده نزدیک شود.

کلیدواژه ها: خاک، آسپرژیلوس، PSM، فیتاز.

^۲ تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۲۹ ؛ تاریخ اصلاح: ۱۴۰۳/۰۶/۲۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۱۳ ؛ تاریخ انتشار آنلاین: ۱۴۰۳/۱۰/۰۲



۱. مقدمه

فیتاز متعلق به دسته آنزیم های فسفاتاز است که قادر به هیدرولیز فسفات های حاوی مولکول های آلی مانند فیتات و سپس در یک واکنش گام به گام فسفر معدنی آزاد می شود (۱). اولین فیتاز قارچی در سال ۱۹۶۴ از *A. niger* شناسایی شد و در سال ۱۹۹۱ به بازار عرضه شد. به طور مشابه، بسیاری از قارچ ها از جمله *A. niger* *A. ficuum* *A. oryzae* *A. fumigatus* *R. oryzae oligosporus* *Neurospora sitophila* و *Penicillium purpurogenum* به عنوان تولیدکنندگان آنزیم فیتاز گزارش شدند (۲). فیتاز تولید شده از قارچ ها طیف گسترده ای از ویژگی سوستر را نشان می دهد، محدوده pH بین ۱/۳ تا ۸ و محدوده دما از ۳۷°C تا ۶۷°C می باشد (۳). فیتازهای قارچی معمولاً با استفاده از روش های تخمیر حالت جامد (SSF) تولید می شوند که در آن از ضایعات کشاورزی و سایر بسترهای طبیعی ارزان به عنوان بستر در فرآیند SSF استفاده می شود (۴). فیتازهای قارچی پروتئین های مونومر در نظر گرفته می شوند و به طور کلی دارای وزن مولکولی بین ۱۴ تا ۳۵۳ کیلو دالتون هستند. فیتازهای قارچی دارای سوسترای وسیعی هستند. PH و دمای مطلوب به ترتیب بین ۱/۳ و ۸ و ۳۷-۶۷ درجه سانتیگراد است. فیتازهای قارچی به طور گسترده در مواد افزودنی غذا و خوراک دام برای بهبود کارایی دریافت فسفر و کاهش میزان فسفر در محیط استفاده می شوند (۵).

اسید فیتیک بخش اصلی دانه های گیاهی را شامل شده که یک تا سه درصد وزن برخی غلات و دانه های روغنی را در بر می گیرد (۶) ساختار غیرمعمول اسید فیتیک موجب شده تا شش گروه فسفر در اسید فیتیک حامل ۱۲ بار منفی باشند. بنابراین، باندهای یگانه، دوگانه و سه گانه می تواند به شکل موثری بین اسید فیتیک و کاتیون ها تشکیل شود و در نتیجه محصول ایجاد شده نامحلول خواهد بود (۷). کمپلکس های فیتات و مواد معدنی، که غالباً در pH فیزیولوژیک نامحلول هستند می توانند با جذب مواد معدنی ضروری در روده و کاهش قابلیت جذب مواد معدنی نقش نا مطلوبی ایفا نمایند (۸). جذب تغذیه ای کاتیون های مهم نظیر کلسیم، منیزیم، روی و آهن و برخی پروتئین ها توسط فیتات می تواند سوئی تغذیه را، با تاثیر بر میزان هضم و رسوب شونده گی شان، تحریک نماید. علاوه بر این، فیتات می تواند به نشاسته، پروتئین و لیپیدها متصل شده که کاهش دهنده ظرفیت هضمی و بازدارنده میزان جذب می باشد (۹). فیتاز ها گروهی از فسفاتاز ها هستند که قادر به تجزیه یا آب کافت فیتاتها هستند و این توانایی را دارند که حداقل یک گروه فسفات را از فیتات آزاد نمایند (۱۰). فیتیک اسید نیز یک ترکیب طبیعی است که می تواند روی ساختار و ویژگی مواد غذایی اثر بگذارد. فیتیک اسید یک کربوهیدرات حلقوی ساده است با گروه های فسفات متصل به هر کربن. فیتاز ها از آنزیم های گسترده در طبیعت هستند، فعالیت فیتازی در گیاهان، جانوران و میکروارگانیسم ها گزارش شده است (۱۱). به خاطر این که حیوانات تک معده ای از قبیل خوک، پرندگان و ماهی ها (همچنین انسان) فاقد آنزیم فیتاز در سیستم گوارشی خود هستند و یا فعالیت فیتازی آن ها بسیار پایین است (۱۲) در نتیجه، مقادیر مازاد فیتات غیر قابل هضم از طریق مدفوع دفع شده و همراه با فسفر غیرآلی تجزیه شده توسط میکروب های خاک به زمین های کشاورزی راه یافته و باعث آلودگی آب های مجاور و زمین های کشاورزی می گردد (۱۳). در حالی که فسفاتاز از منابع مختلف در خاک مسئول آزادسازی فسفر در مناطق ریزوسفری خاک است، فیتازها برای هیدرولیز اسید فیتیک در خاک مورد نیاز هستند و به طور گسترده در طبیعت توسط بسیاری از قارچ ها، مخمرها، گیاهان، حیوانات و باکتری ها تولید می شوند. علاوه بر فسفات معدنی، یکی از اشکال اصلی فسفر آلی که حدود ۵۰ تا



۶۰ درصد در خاک وجود دارد اسید فیتیک به صورت فیتات است (نمک اسید فیتیک). علاوه بر این، اسید فیتیک منبعی از فسفر آلی است که در دسترس گیاهان نیست، زیرا فسفر با کاتیون‌ها کمپلکس می‌کند یا به اجزای مختلف خاک جذب می‌شود (۱۴). در این تحقیق قارچ‌های مولد آنزیم فیتاز از خاک اطراف مرغداری جدا خواهند شد. یکی از چالش‌های موجود در فرآیند تولید آنزیم‌ها از قارچ‌ها، جداسازی و شناسایی سویه‌های موثر و تولیدکننده آنزیم‌های مورد نظر می‌باشد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. مواد: در این پژوهش از محیط کشت پتیتو دکستروز آگار (PDA) و محیط کشت اختصاصی غربالگری فیتاز (PSM) استفاده شد.

۲-۲. نمونه برداری: برای جداسازی قارچ‌های مولد فیتاز از خاک محل زندگی طیور ابتدا از ۵۰ قسمت، از هر قسمت ۱۰۰ گرم خاک از عمق ۳-۵ سانتی متر نمونه گرفته، در نایلون فریزر قرار داده و به آزمایشگاه انتقال داده شد (۱۵ و ۱۶).

۲-۳. کشت در محیط PDA: پس از مخلوط کردن یک گرم خاک با ۹ سی سی محلول استریل سرم فیزیولوژی، سوسپانسیون تهیه کرده، از هر نمونه سوسپانسیون خاک، رقت 10^{-1} تا 10^{-5} تهیه کرده و از هر رقت مقدار ۱ سی سی در PDA حاوی آنتی بیوتیک دی استرپتومایسین (۵ صدم درصد گرم در لیتر) پور پلیت تهیه کرده سپس پلیت‌ها به مدت یک هفته در دمای ۲۸ درجه نگهداری شدند (۱۵ و ۲۰).

۲-۴. جداسازی و شناسایی قارچ‌ها: برای تشخیص نوع قارچ جدا شده از خاک محل زندگی طیور، از کلنی‌هایی که تفاوت ظاهری داشتند استفاده شد. برای این کار ابتدا از کلنی مورد نظر با رنگ آمیزی لاکتوفنل کاتن بلو تیمان تهیه کرده و سپس در صورت نیاز با روش اسلاید کالچر لام تهیه شد. جنس و گونه قارچی زیر میکروسکوپ نوری شناسایی شد (۲).

۲-۵. کشت در محیط PSM (Phytase Screening Medium): قارچ‌های جدا شده به محیط PSM تلقیح شده و به مدت ۳ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد وارد انکوباتور شدند. بعد از این مدت قارچ‌های که دارای بیشترین هاله شفاف بر حسب میلی متر هستند، انتخاب و ایندکس آنزیمی (EI) برابر معادله $EI = \frac{R}{r}$ که R قطر هاله شفاف تجزیه و r قطر کلنی قارچ می‌باشد، محاسبه گردید و قطر هاله شفاف در دو زمان ۷۲ و ۹۶ ساعت اندازه‌گیری شد (Agu, et al., 2023). افزایش میزان EI نشان دهنده میزان تراوش فیتاز است. چنانچه این عدد در ۱۰۰ ضرب شود راندمان حل‌پذیری فسفات (S.E) بصورت درصد بدست می‌آید (۲):

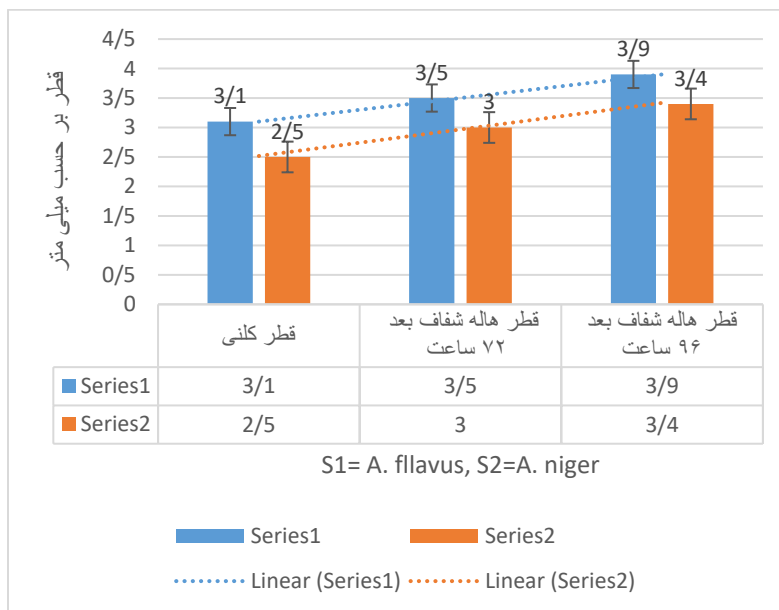
$$S.E = \frac{\text{Diameter of clear zone around colony}}{\text{Diameter of colony}} \times 100$$

قارچ‌های تولیدکننده اسید می‌توانند فیتات سدیم را حل کرده و هاله تشکیل دهند. بنابراین جهت دیدن هاله‌ها با وضوح بیشتر و حذف نتایج مثبت کاذب رنگ آمیزی شد. جهت رنگ آمیزی از محلول کلرید کبالت ۲ درصد به مدت ۵ دقیقه پوشانده می‌شود. این روش رنگ آمیزی به دیدن بهتر هاله‌ها کمک کرده و نشان می‌دهد که هاله‌های ایجاد شده در اثر تولید آنزیم فیتاز و تجزیه فیتات موجود در محیط می‌باشد (۱۷). قارچ‌های که هاله تشکیل دادند، جهت آزمایش بعدی در لوله شیب‌دار حاوی محیط PDA انتقال داده شد.

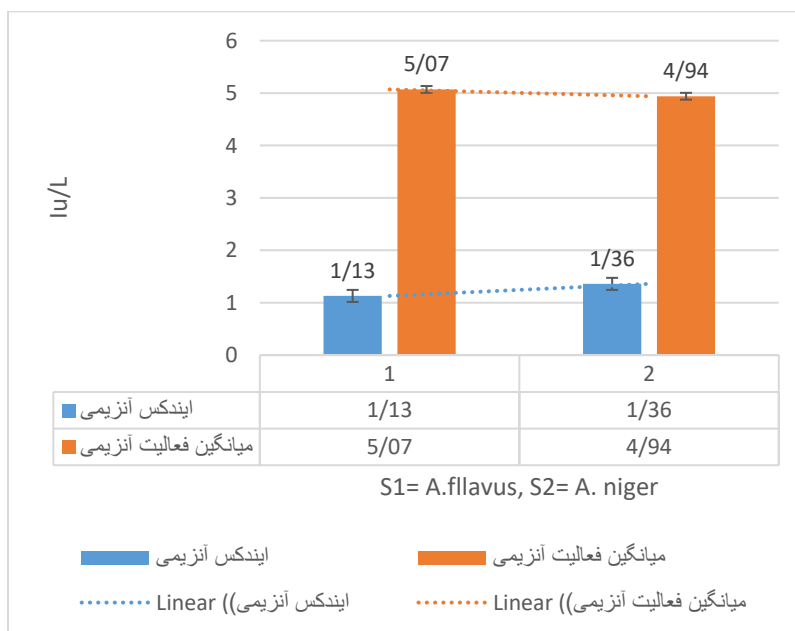
۲-۶. سنجش فعالیت آنزیمی فیتاز: مقدار فعالیت آنزیم فیتاز از دید بیوشیمی (Iu) مقدار آنزیمی است که بتواند در مدت زمان ۱ دقیقه ۱ نانو مواد فسفر را از سوبسترای حاوی فسفر جدا کند. جهت ارزیابی فعالیت آنزیم فیتاز در قارچ‌های مولد فیتاز از ۲ محیط کشت اختصاصی غربالگری فیتاز (PSM) و محیط مایع عصاره سبوس گندم استفاده شد و در نهایت توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۵ نانومتر جذب آن تعیین شد و تغییرات جذب اولیه و ثانویه با گذشت زمان یک دقیقه بعد، بر دقیقه (دلتا A بر دقیقه) بیانگر فعالیت آنزیم فیتاز (Iu بر L) می‌باشد (۱۸).

۳. یافته ها

در این مطالعه از خاک محل زندگی طیور، قارچهای که در محیط کشت اختصاصی غربالگری فیتاز (PSM) توان تشکیل هاله شفاف اطراف کلنی را داشتند، شامل *آسپرژیلوس نایجر* و *آسپرژیلوس فلاووس* بودند. *آ. فلاووس* نسبت به گونه *آ. نایجر* ۲/۱۷ درصد موثر تر عمل نموده است ولی با آزمون آماری معنی دار نبود ($p \leq 0/05$). میانگین فعالیت آنزیمی آنها به ترتیب $5/07 \pm 0/17$ و $4/94 \pm 0/15$ Iu/L بدست آمدند. (نمودار ۱، ۲ و ۳).

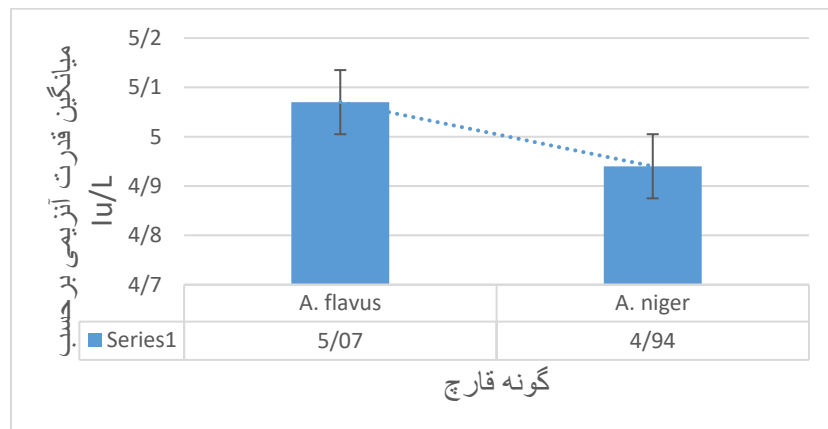


نمودار ۱- مقایسه قطر کلنی و هاله شفاف *آ. فلاووس* و *آ. نایجر* در محیط PSM





نمودار ۲- مقایسه ارزیابی فعالیت فیتازی *آ. فلاووس* و *آ. نایجر* جدا شده از خاک محل زندگی طیور



نمودار ۳- مقایسه میانگین قدرت فیتازی *آ. فلاووس* و *آ. نایجر* جدا شده از خاک محل زندگی طیور

۴. بحث

واکنش پذیری بالای یون های فسفات با ترکیبات متعدد خاک، منجر به تثبیت فسفر با سایر عناصر می شود. فسفر آلی منبع مهم و بالقوه فسفر برای تغذیه گیاه است. اسید فیتیک و نمک آن اکثریت فسفر آلی (۴۰-۵۰٪) در خاک را تشکیل می دهد. با این حال، حلالیت کم، ارتباط محکم با فاز جامد و پایداری بالا باعث می شود فیتات فسفر در سطوح پایین در دسترس باشد و یک محدودیت عمده برای استفاده از آن توسط ریشه گیاهان ایجاد می کند (۱۹). علیرغم وجود مقدار قابل توجهی فسفر کل (P) در بیشتر خاک ها، در دسترس بودن کم آن یک محدودیت عمده برای رشد گیاه است (۱۶). برای استفاده از مخزن فسفر آلی خاک، آنزیم های فیتاز/فسفاتاز نقش واسطه های مهم کانی سازی فسفر آلی دارند. این آنزیم ها نه تنها بقایای آلی تازه را تجزیه می کنند بلکه مواد معدنی را نیز P (Pi) از مواد آلی خاک آزاد می کنند. میکروارگانیسم ها اقتصادی ترین منابع طبیعی فیتازها هستند. علیرغم ارزش زراعی و اکولوژیکی بالای فیتازهای میکروبی، کاربرد بالقوه در صنایع دارند (۵). تعدادی از باکتری ها، مخمرها و قارچ های رشته ای گزارش شده است که فیتازها تولید می کنند. بیشتر قارچ های تولید کننده فیتاز به عنوان مکمل خوراک (برای تامین تغذیه فسفر) برای تک معده حیوانات کاربرد دارند (۱۹). فعالیت فیتاز خارج سلولی قارچ ها در مقایسه با باکتری ها بیشتر است. علاوه بر این، هیف های آنها می توانند مسافت طولانی را در خاک راحت تر از باکتری ها طی کنند و فسفر را کارآمدتر بسیج کنند. توانایی آنها در تحمل رطوبت کم و دما زیاد، به عنوان کاندیدای بالقوه کانی ساز فسفات تبدیل می کند. تحت شرایط استرس غیر زنده باید روی جداسازی قارچ های کارآمد تولیدکننده فیتاز متمرکز شود (۵). در این مطالعه ما از خاک محل زندگی طیور، قارچهای که در محیط کشت اختصاصی غربالگری فیتاز (PSM) توان تشکیل هاله شفاف اطراف کلنی را داشتند، شامل *آ. نایجر* و *آ. فلاووس* بودند. گونه فلاووس نسبت به گونه نایجر ۲/۱۷ درصد موثر تر عمل نموده است. میانگین فعالیت آنزیمی آنها به ترتیب ۵/۰۷ و ۴/۹۴ Iu/L بدست آمدند.

Sadaf و همکاران از آب و خاک کشاورزی ۱۳ گونه توانایی تولید فسفات به روش فلاسک متحرک مورد بررسی قرار دادند که فقط ۵ گونه *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium purourogenum*, and *Mucor rouxii* بالاترین میزان تولید فسفات را داشتند. فعالیت اولیه فیتاز و فعالیت اختصاصی فیتاز *آ. نایجر* و *آ. فلاووس* به ترتیب (4.8, 5.2 Units/mL, 2.85, 2.65 U/mg protien) بود. تولید این آنزیم توسط این قارچ ها در pH ۴-۸ و حرارت ۲۰-۶۰ بود (۲). Gaind



Nain & سه قارچ موثر مولد فیتاز و فسفاتاز متعلق به جنس *Aspergillus*، تریکودرما و پنی سیلیوم از خاک ریزوسفر حبوبات، غلات و محصولات سبزیجات با ترتیب کارایی قارچ ها از نظر هیدرولیز فیتات در شرایط آزمایشگاهی آسپرژیلوس < پنی سیلیوم < تریکودرما گزارش کردند. آسپرژیلوس نیجر دارای توانایی دو برابر بود. فعالیت در محدوده ۳۶۷-۸۳۰ میکرومول بود (۱۶).

شرایط محیط کشتی مختلف باعث افزایش یا کاهش تولید فیتاز از سویه های مختلف قارچی می شود. این شرایط شامل pH، دما، بستر، غلظت سوبسترا، منابع کربن و منابع نیتروژن است. سویه های قارچی در طی سنجش آنزیمی می توانند با مشکلات زیادی مانند اکسیژن ناکافی، انتقال جرم، سطح کم و زیاد مواد مغذی آبگوشت و رشد توده های مواجه شوند که می تواند بر تولید فیتاز تأثیر بگذارد (۲). عوامل مختلف تولید، مانند نوع سویه، شرایط کشت، ماهیت بستر و در دسترس بودن مواد مغذی، همه عوامل حیاتی در نظر گرفته می شوند که می توانند روی بازده محصول تأثیر بگذارند. در نتیجه، هر یک از آن عوامل باید در نظر گرفته شود. کشت یک قارچ رشته ای اغلب با چندین چالش همراه است، مانند رشد توده ای، ویسکوزیته مایع بالا، اکسیژن ناکافی و انتقال جرم که منجر به کاهش سطح بهره وری می شود. افزودن فیتاز به رژیم غذایی غیر نشوآوردکنندگان نه تنها دسترسی زیستی پروتئین ها و مواد معدنی را بهبود می بخشد، بلکه باعث مبارزه با آلودگی فسفر محیطی در مناطق دامپروری و نیز محتوای آهن و روی و فراهمی زیستی بهبود یافته از مواد معدنی و پروتئین ها می شود. کاهش محتوای اسید فیتیک در غلات توسط مهندسی ژنتیک می تواند یک رویکرد جدید برای افزایش جذب مواد معدنی از رژیم غذایی مبتنی بر مواد غذایی گیاهی باشد. همچنین این می تواند یک استراتژی جدید برای به حداقل رساندن سوء تغذیه و آلودگی فسفر باشد (۵). فیتاز تولید شده از قارچ ها طیف گسترده ای از ویژگی سوبسترا را نشان می دهد، محدوده pH بین ۱/۳ تا ۸ و محدوده دما از ۳۷ °C تا ۶۷ °C می باشد. با استفاده از فیتاز قارچی، بهبود حاصلخیزی خاک، افزایش کیفیت غذایی گیاه و بهره وری کشاورزی با کاهش استفاده از کودهای شیمیایی حاصل می شود و از این رو می تواند از نظر اقتصادی مفید باشد. فیتازهای قارچی روشی ارزان برای استفاده از فیتات بلااستفاده مخزن فسفر، در خاک های کشاورزی هستند. شکل موجود فسفر موجود در خاک همیشه محدود است و می تواند باعث ایجاد بحران بالقوه آینده در کشاورزی شود (۲). سوبستراهای فیتات کاربردهای مختلف زیست پزشکی و بیوتکنولوژیکی دارند. از جمله آنهایی که با خواص آنتی اکسیدانی مرتبط هستند. به عنوان یک عامل ضد سرطان و یک شلاتور با خواص محافظت کننده عصبی که می تواند باعث ایجاد اتوفازی و کاهش التهاب آن شود. علاوه بر این، آنها نیز خواص درمانی مختلفی را به عنوان عوامل ضد سرطان از خود نشان داد (در برابر سرطان روده بزرگ، سرطان سینه، کارسینوم کبدی، سرطان پروستات، رابدومیوسارکوم، سرطان پانکراس و سرطان خون/ مغز استخوان) و مشخص شده است. موثر در برابر بیماری پارکینسون (۲۰).

۵. نتیجه گیری

به دلیل افزایش نگرانی در مورد آلودگی فسفر در مناطق مدیریت شدید دام، فیتازها دارای پتانسیل قابل توجهی در کاربردهای تجاری و زیست محیطی هستند. کاربردهای بالقوه فیتازها در بهبود عملکرد تغذیه و رشد غیرنشوآوردکنندگان اخیرا به طور فزاینده ای مورد توجه قرار گرفته اند. فیتازهای قارچی که در شرایط اسیدی فعالیت مطلوبی از خود نشان می دهند، پایداری حرارتی عالی و ویژگی گسترده سوبسترا، برای کاربرد تجاری امیدوارکننده تر است. فیتازهای قارچی توجه زیادی را به خود جلب کرده اند. استفاده در تولید مواد غذایی و در صنایع خوراک دام به عنوان روشی برای بهبود کیفیت تغذیه و کاهش سطح فسفر دارند. با این حال، تنها چند سویه قارچی از نظر تولید فیتاز مورد مطالعه قرار گرفته اند. بنابراین، کشف گونه های قارچی جدید با خواص و سطوح پیشرفته فیتاز، لازم و بسیار سودمند خواهد بود. نتایج آزمایش ها نشان میدهد که قارچ های مختلف با



سوس‌های متنوع تولنایی تولید آنزیم فیتاز را دارند اما فعالیت آنزیمی در هر کدام از نمونه‌های قارچ متفاوت می‌باشد. با توجه و شرایط آزمایشگاهی ما، pH خاک که نمونه برداری شده و عوامل میکروبی منجر گردید که گونه *آسپرژیلوس فلاووس* نسبت به گونه *نایچر* ۲/۱۷ درصد موثر تر عمل نموده است ولی با آزمون آماری معنی دار نبود ($p \leq 0.05$). میانگین فعالیت آنزیمی آنها به ترتیب 5.07 ± 0.17 و 4.94 ± 0.15 Iu/L بدست آمدند.



References

1. Balwani I, Chakravarty K, Gaur S. Role of phytase producing microorganisms towards agricultural sustainability. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2017 Oct 1;12:23-9.
2. Sadaf N, Haider MZ, Iqbal N, Abualreesh MH, Alatawi A. Harnessing the Phytase production potential of soil-borne fungi from wastewater irrigated fields based on eco-cultural optimization under shake flask method. *Agriculture*. 2022 Jan 12;12(1):103.
3. Manghwar H, Hussain A, Ali Q, Saleem MH, Abualreesh MH, Alatawi A, Ali S, Munis MF. Disease severity, resistance analysis, and expression profiling of pathogenesis-related protein genes after the inoculation of *Fusarium equiseti* in wheat. *Agronomy*. 2021 Oct 23;11(11):2124.
4. Huang SJ, Chen CH, Tsai SY. Phytase production by *Grifola frondosa* and its application in inositol-enriched solid-state fermentation brown rice. *Int. J. Food Eng.* 2018 Dec;4:263-7.
5. Jatuwong K, Suwannarach N, Kumla J, Penkhruue W, Kakumyan P, Lumyong S. Bioprocess for production, characteristics, and biotechnological applications of fungal phytases. *Frontiers in Microbiology*. 2020 Feb 14;11:188.
6. Rizwanuddin S, Kumar V, Naik B, Singh P, Mishra S, Rustagi S, Kumar V. Microbial phytase: Their sources, production, and role in the enhancement of nutritional aspects of food and feed additives. *Journal of Agriculture and Food Research*. 2023 Jun 1;12:100559.
7. Wang Y, Ye X, Ding G, Xu F. Overexpression of *phyA* and *appA* genes improves soil organic phosphorus utilisation and seed phytase activity in *Brassica napus*. *PloS one*. 2013 Apr 3;8(4):e60801.
8. Widawati S, Ikhwan AZ, Sudiana IM. Phytase activity of phytase-producing bacteria isolated from mangrove sediment. *InIOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 2022 Feb 1 (Vol. 976, No. 1, p. 012041). IOP Publishing.
10. Zhang S, Gan Y, Xu B. Application of plant-growth-promoting fungi *Trichoderma longibrachiatum* T6 enhances tolerance of wheat to salt stress through improvement of antioxidative defense system and gene expression. *Frontiers in plant science*. 2016 Sep 15;7:1405.
11. Mahmood S, Shahid MG, Nadeem M, Haq IU. Screening of phytate degrading fungi and optimization of culture conditions for phytase synthesis using agro-industrial by-products. *Pak. J. Bot.* 2021 Apr 1;53(2):763-70.
12. González M, Brito N, González C. High abundance of Serine/Threonine-rich regions predicted to be hyper-O-glycosylated in the secretory proteins coded by eight fungal genomes. *BMC microbiology*. 2012 Sep 20;12(1):213.
13. Nassiri M, Ariannejad H. Comparative analysis of peripheral alkaline phytase protein structures expressed in *E. coli*. *Reports of Biochemistry & Molecular Biology*. 2015 Oct;4(1):10.
14. Kumar A, Chanderman A, Makolomakwa M, Perumal K, Singh S. Microbial production of phytases for combating environmental phosphate pollution and other diverse applications. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2016 Mar 18;46(6):556-91.
15. Agu KC, Umeoduagu ND, Victor-Aduloju AT, Uwanta LI, Adepeju DM, Udenweze EC, Awari VG, Chidubem-Nwachinemere NO, Nwosu JC, Udeh KC. Isolation and Characterization of Proteolytic Enzyme Produced from Fungi. *Cognizance Journal of Multidisciplinary Studies*. 2023;3(6):485-93.



16. Gaiind S, Nain L. Soil–phosphorus mobilization potential of phytate mineralizing fungi. *Journal of plant nutrition*. 2015 Dec 6;38(14):2159-75.
17. Qasim Ss, Shakir Ka, Al-Shaibani Ab. Isolation, Screening and Production Of Phytate Degrading Enzyme (Phytase) From Local Fungi Isolate. *Iraqi Journal of Agricultural Sciences*. 2016 Jan 1;47(1).
۱۸. Sasirekha B, Bedashree T, Champa KL. Optimization and partial purification of extracellular phytase from *Pseudomonas aeruginosa* p6. *Eur J Exp Biol*. 2012;2(1):95-104.
۱۹. Singh B, Satyanarayana T. Fungal phytases: characteristics and amelioration of nutritional quality and growth of non-ruminants. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2015 Aug;99(4):646-60.
20. Irshad M, Asgher M, Bhatti KH, Zafar M, Anwar Z. Anticancer and nutraceutical potentialities of phytase/phytate. *International Journal of Pharmacology*. 2017 Jan 1;13(7):808-17.