شناسایی مخمرهای ایزوله شده از خمیرترش‌های بومی ایران با استفاده از تکنیک پی سی ار

محمد جواد اکبریان میمند[1]، مرتضی خمیری[2*]، علیرضا صادقی ماهونک[2]، مهران اعلمی[2]

١- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
٢- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: ٩٣/١/١٨ تاریخ پذیرش: ٩٣/٥/٢٤)

چکیده

خمیرترش، خمیری است که از آب و آرد تشکیل شده است و میکروارگانیسم‌های اصلی آن باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها هستند. فرایند تخمیر خمیر ترش بر پایه تخمیر لاکتیکی و الکلی است که به‌ترتیب توسط باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها انجام می‌شود. هم‌چنین این میکروارگانیسم‌ها نقش مهمی در بهبود طعم، بافت و ماندگاری فراورده‌های نانوایی ایفا می‌کنند. در این پژوهش، نمونه‌های خمیرترش جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران به منظور بررسی فلور مخمری، مورد مطالعه قرار گرفتند. جهت رسیدن به این هدف، مخمرها با روش‌مورفولوژی کلنی جداسازی و سپس جهت شناسایی دقیق با جفت آغازگرهای عمومی قارچ‌ها، ژن ٢٦S rRNAs تکثیر داده شد. قطعاتی که تکثیرشدند، پس از خالص‌سازی به‌منظور توالی‌یابی به شرکت بیوساینس انگلستان ارسال شد. سپس با مقایسه توالی‌های حاصل با توالی‌های موجود در بانک اطلاعاتی ژنتیک (NCBI)، گونه‌ی مخمرهای مورد مطالعه شناسایی شدند. نتایج نشان داد که مخمرهای ایزوله شده شامل *ساکارومایسس سرویزیه*، *ساکارومایسس اگزیگوس*، *ایساتچنیکا اورنتالیس*، *تورولوسپورا فرانسیسکا*، *تورولوسپورا دلبروکی* و *پیشیا فرمنتاس* بودند که گونه‌های غالب مربوط به *ساکارومایسس سرویزیه* و *ساکارومایسس اگزیگوس* بودند.

کلید واژگان: خمیر ترش، روش‌مورفولوژی کلنی، ژن ٢٦S rRNAs، مخمر.

*مسئول مکاتبات: khomeiri@gau.ac.ir

۱- مقدمه

خمیر ترش یک سیستم بیولوژیکی بسیار پیچیده است و اساس تشکیل آن هم‌زیستی بین فلور میکروبی آرد و کشت‌های تجاری *لاکتوباسیلوس*[1] می‌باشد که به‌عنوان آغازگر اختصاصی و به‌دلایل خاص مانند بهبود آروما و طعم، افزایش زمان ماندگاری، ارزش تغذیه‌ای و یا حتی ایجاد خواص سلامتی بخش در فرآیند تخمیر نان مورد استفاده قرار می‌گیرد. در خمیرترش بر اساس اثر متقابل اسید لاکتیک باکتری‌ها و مخمرها، ترکیبات فعال عطر و طعم تولید می‌شود. اسید لاکتیک باکتری‌های هتروفرمنتاتیو عمدتاً اتیل استات، الکل‌های معین و آلدئیدها را تولید می‌کنند، در حالی‌که اسید لاکتیک باکتری‌های هموفرمنتاتیو، دی استیل و دیگر کربونیل‌ها را سنتز می‌کنند. در تخمیر مخمری ایزوالکل‌ها تولید می‌شوند که شاید در تولید عطر و طعم نهایی محصول مشارکت کمی داشته باشند. فروکتوز، گلوکز یا سیترات موجود در خمیر نیز می‌توانند مشارکت اسید لاکتیک باکتری‌ها را در تشکیل مواد فرار در پخت را افزایش دهند. البته واکنش‌های مایلارد و کاراملیزاسیون نیز در عطر و طعم محصولات نانوایی دخالت دارند [۱].

مهم‌ترین وظیفه‌ای که مخمرها در تهیه نان دارند، پوک کردن محصول از طریق متابولیسم مخمرها و ایجاد گاز دی اکسید کربن می‌باشد. علاوه براین مخمرها الکل، آلدئید و اسیدهای آلی نیز تولید می‌کنند که در تشکیل عطر و بوی نان و محصولات پخت اثر می‌گذارند. مخمرهای موجود در خمیرترش، بر باکتری‌های گرم منفی که از طریق آلودگی آرد یا خمیر ترش وارد خمیر می‌شوند، اثر آنتی‌بیوتیکی دارند. این مخمرها از نظر سیستماتیک دارای گروه یکسانی نیستند و در بین آن‌ها گونه‌های مختلف *ساکارومایسس*[1]، *ترولوپسیس*[2]، *تورولا*[3]، *مایکوتورولا*[4]، *مایکودرما*[5] و *هانسنولا*[6] نیز می‌توانند فعالیت کنند [۲].

امروزه ابزارهای جدیدی برای طبقه‌بندی و شناسایی باکتری‌های اسید لاکتیک در حال جایگزین شدن هستند که روش‌های قدیمی که بر پایه فنوتیپ بودند را تکمیل می‌سازند. برای کاربردهای روزمره، مطمئن‌ترین روش، توالی‌یابی ژن ۱۶S rRNA بر پایه‌ی PCR و الگوهای پروتئین محلول است. برای تعیین موقعیت فیلوژنیک گونه‌ها و جنس‌ها، RNA ریبوزومی(rRNA) مناسب‌تر است؛ زیرا این توالی هم دارای نواحی کاملاً حفظ شده و هم نواحی کمتر حفاظت شده می‌باشد. در حال حاضر، تعیین توالی rRNA باکتری‌ها کار نسبتاً آسانی است. تاکسونومی کنونی تا میزان زیادی بر اساس روابط فیلوژنیک استوار است که براساس کار توالی‌های ژنتیکی حاصل شده است [۳].

در گذشته برای تعیین توالی این ژن از روش نسخه‌برداری معکوس استفاده می‌شد [٤] اما امروزه تعیین توالی این ژن‌ها، با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) صورت می‌گیرد [٥]. مقایسه این توالی‌ها، قدرتمندترین و صحیح‌ترین تکنیک را برای تعیین روابط فیلوژنیک میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌آورد [٦]. یکی از مزایای مهم این روش، شناسایی و توصیف دقیق جنس-های جدید می‌باشد [۷].

هدف از این پژوهش شناسایی مخمرهای ایزوله شده از خمیرترش‌های ایرانی که از مناطق مختلف ایران جمع آوری شدند، بود.

۲- مواد و روش

۲-۱- مواد

موادی که در این پژوهش استفاده شدند شامل محیط کشت‌های Y.G.C آگار، YM براث، بافرتریس بورات اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (TBA)، کلروفرم، اتانول و مسترمیکس بودند.

1. *lactobacillus*

1. *Saccharomyces cerevisiae*
2. *Torulopsis*
3. *Torula*
4. *Mycotorula*
5. *Mycoderma*
6. *Hansenula*

۲-۲- روش آماده‌سازی نمونه‌های خمیرترش

نمونه‌های خمیرترش از نواحی مختلف ایران شامل گنبد، گرگان، مشهد، همدان، شهربابک، کرمان، لار، تهران، شهرکرد و زاهدان جمع آوری و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. سپس طی دو مرحله و در شرایط استریل فعال سازی شدند. بدین منظور نمونه‌های خمیر ترش به‌مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرم خانه‌گذاری شدند. پس از آن ۱۰ گرم از هر نمونه خمیر ترش در شرایط استریل با ۹۰ میلی‌لیتر محلول سرم فیزیولوژی (۸/۵ گرم کلرید سدیم در لیتر) مخلوط و یکنواخت گردید و در دستگاه استومیکر (مدل سیوارد، ساخت کشور انگلستان) به‌مدت ۱ دقیقه و با دور نرمال هموژن گردید. سپس محلول رویی به‌عنوان رقت 10^{-1} برای تهیه رقت‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفت. رقت‌های 10^{-2} تا 10^{-5} در محلول کلرید سدیم ۱۰۰ درصد تهیه شد. آزمایشات فوق در دو تکرار انجام شدند (۸،۹ و ۱۰).

۲-۳- روش کشت

به‌منظور کشت باکتری و مخمرها از روش کشت سطحی استفاده شد. در این روش ۰/۱ میلی‌لیتر از رقت تهیه شده به وسیله سمپلر بر سطح محیط Y.G.C آگار تزریق و سپس با میله‌ی شیشه‌ای پخش شد. پس از خشک شدن، پلیت در شرایط هوازی و دمای ۲۵ درجه سلسیوس گرم‌خانه‌گذاری گردید [۱۱].

٢-٤- استخراج DNA از جدایه‌های مخمری

به‌منظور استخراج DNA از کلونی‌های تک خالص‌سازی شده، از کیت‌های استخراج DNA(U.S.A, Fermentas) استفاده شد. بدین صورت که:

۱- ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم از سلول‌های باکتریایی در ۲۰۰ میکرولیتر بافر تریس اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (TEبافر)[1] حل شد

۲- ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه با ٤۰۰ میکرولیتر از lysis solution مخلوط و در دمای ٦٥ درجه‌ی‌سلسیوس به‌مدت ٥ دقیقه گرم‌خانه‌گذاری شد.

۳- فوراً ٦۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه و با ۳ تا ٥ بار زیر و رو کردن آرام مخلوط امولسیفیه شد و نمونه در rpm ۱۰۰۰۰به‌مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ شد.

٤- آماده کردن precipitation solution (بدین منظور ۷۲۰ میکرولیتر از آب دیونیزه استریل با ۸۰ میکرولیتر supplied 10X concentrated Precipitation Solution) مخلوط شد.

٥- قسمت آبی بالایی (سوپرناتانت) حاوی DNA را به یک تیوپ جدید انتقال داده و ۸۰۰ میکرولیتر از محلول تازه آماده شده مرحله ۳ به آن اضافه شد. مخلوط به آرامی با زیر و رو کردن به‌مدت ۱ تا ۲ دقیقه در دمای اتاق هم زده و در rpm ۱۰۰۰۰ به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ شد.

٦- سوپرناتانت به‌طور کامل جدا شد و رسوب DNA به آرامی در ۱۰۰ میکرولیتر از محلول NaCl حل شد.

۷- ۳۰۰ میکرولیتر اتانول مطلق را اضافه و اجازه داده شد تا DNA رسوب کرده (۱۰ دقیقه در ۲۰- درجه سلسیوس) و سپس به مدت ۳ تا ٤ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰rpm به‌مدت ۳ تا ٤ دقیقه سانتریفوژ و اتانول حذف شد.

۸- غلظت DNA به‌وسیله اسپکتروفتومتر و هم‌چنین به‌صورت چشمی در ژل آگار اندازه‌گیری شد (کیت فرمنتاز).

۲-٥- واکنش PCR

واکنش PCR در حجم نهایی ٥۰ میکرولیتر با مقادیر بهینه شده‌ی جدول ۱ انجام پذیرفت. پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن ۲٦S rRNA شامل F 5GCATAT CAATAA GCG GAG GAA AAG 3′ و R5′ GGT CCG TGT TTC AAG ACG G 3′ بودند [۱۲].

1.Trisethylene diamine tetra acetic acid buffer

جدول ۱ میزان مواد استفاده شده در واکنش **PCR**

مواد	مقدار
مستر میکس(۲x)	۲۵ میکرو لیتر
پرایمر رفت	۰/۱ – ۱ میکرومول
پرایمر برگشت	۰/۱–۱ میکرومول
DNA الگو	۱۰ پیکومول - ۱میکرومول
آب مقطر	رسیدن به حجم ۵۰ میکرولیتر
حجم نهایی	۵۰ میکرولیتر

پس از اضافه کردن هر یک از اجزای مخلوط واکنش، میکروتیوپ‌ها در داخل دستگاه ترموسایکلر قرار گرفتند و برنامه دمایی به صورت جدول ۲ تنظیم گردید.

جدول ۲ مراحل انجام واکنش **PCR**

مراحل	دما درجه سلسیوس	زمان	تعداد سیکل
دناتورهشدناولیه	۹۵	۳ دقیقه	۱
دناتوره شدن	۹۵	٤۰ ثانیه	۲۵–٤۰
اتصال پرایمرها	٤۵	٤۰ ثانیه	
طویل شدن	۷۲	۳ دقیقه	
طویل شدن نهایی	۷۲	۱۵دقیقه	۱

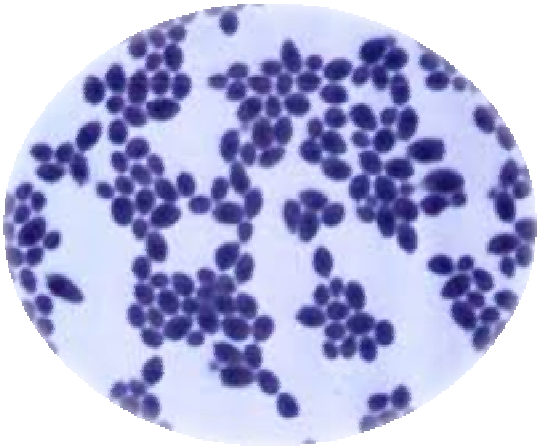
برای مشاهده نتایج واکنش PCR پس از بار گذاری واکنش‌های PCR در ژل آگارز ۱/۵ درصد، الکتروفورز با ولتاژ ۸۰ ولت و به‌مدت ۳۵ دقیقه انجام شد (۱۳).

٦-۲- تعیین توالی و مقایسه توالی‌ها

جهت تعیین توالی ژن‌های حاصل از رشد جدایه‌ها، واکنش‌های PCR به شرکت بیوساینس انگلستان ارسال گردید. از پرایمر F جهت تعیین توالی استفاده شد. با کمک برنامه BLAST توالی-های حاصل با توالی‌های موجود در بانک ژنی(NCBI) مقایسه شدند. جدایه‌هایی که توالی‌شان با موارد موجود در سایت بانک اطلاعاتی ژنتیک (NCBI)، ۹۷ درصد یا به‌میزان بالاتری مشابهت نشان دادند به‌عنوان همان گونه شناسایی شدند.

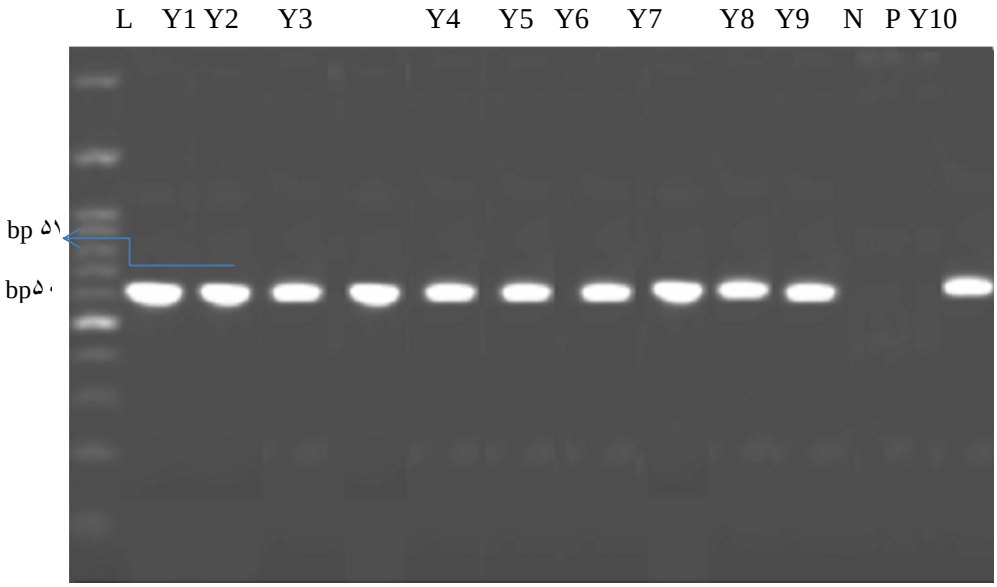
۳- بحث و نتایج

در این پژوهش پس از کشت رقت‌های تهیه شده، نمونه‌هایی که دارای کلنی‌های صاف، گنبدی یا کروی شکل و دارای قطری معادل ۵ میلی‌متر و رنگ سفید و کرم بودند انتخاب و سپس رنگ‌آمیزی شدند و کلنی‌هایی که مطابق شکل زیر بودند جهت شناسایی تکمیلی انتخاب شدند.



شکل ۱ تصویر مخمرهای شناسایی شده زیر میکروسکوپ با بزرگ-نمایی ۱۰۰ X

پس از به‌دست آوردن کلنی خالص DNA، نمونه‌ها استخراج و سپس در واکنش PCR توسط پرایمرهای عمومی قارچ‌ها تکثیر داده شدند که نتایج حاصل در شکل ۲ آورده شده است.



شکل۲ تصویر آمپلیکون‌های **bp** ۵۷۵ حاصل از واکنش **PCR ٢٦S rRNA** در ژل الکتروفورز
از سمت چپ: L - نردبان ژنتیکی، Y1–Y10- جدایه‌ها،NC- کنترل منفی وNP- کنترل مثبت

پس از انجام واکنش PCR، فراورده‌های واکنش جهت تعیین توالی به شرکت بیوساینس انگلستان ارسال گردید. نتایج حاصل از تعیین توالی با اطلاعات موجود در بانک اطلاعات NCBA مقایسه شد که بلاست توالی ٢٦rRNAS نمونه Y3 با توالی موجود در بانک اطلاعاتی ژنتیک (NCBI) در شکل ۳ آورده شده است. همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود نتایج حاصل نشان داد که مخمرهای ایزوله شده مربوط به *ساکارومایسس سرویزیه*، *ساکارومایسس اگزیگوس*[1]، *ایساتچنیکا اورنتالیس*[2]، *تورولوسپورا فرانسیسکا*[3]، *تورولوسپورا دلبروکی*[4]، *پیشیا فرمنتاس*[5] و *کاندیدا پاراروگوسا*[6] بودند.

1. *Saccharomyces exiguous*
2. *Issatchenkiaorientalis*
3. *Torulasporafranciscae*
4. *Torulasporadelbrueckii*
5. *Pichia fermentans*
6. *Candida pararugosa*

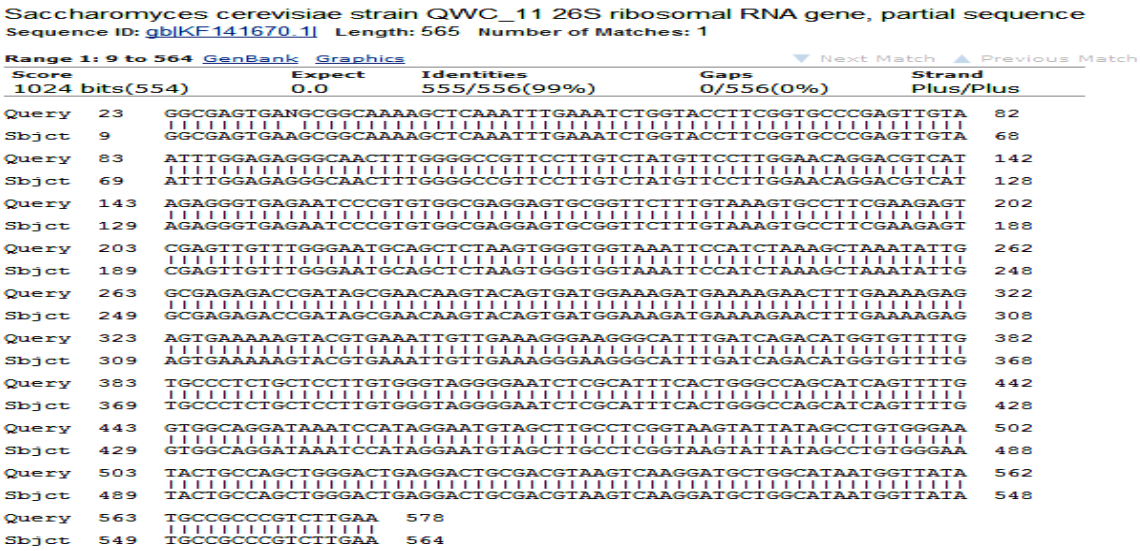
وایست و نیسنز (۲۰۰۵) در تحقیقی حضور مخمرهای *ساکارومایسس*، *تورولوسپورا*، *کاندیدا* در خمیر ترش نان پانتون[7] را نشان دادند (١٤). ورنوچی و همکاران (٢٠٠٤) موفق به جداسازی و شناسایی مخمرهای*کاندیدا مایلری*[8] و *ساکارومایسس سرویزیه* در طول فرایند تولید نان کلومبا[9] بوسیله‌ی RAPD-PCR شدند [١٥].

کاتینا (۲۰۰۵) گونه‌های مختلفی از مخمر را از خمیر ترش ایزوله کرد که گونه‌های غالب آن‌ها *ساکارومایسس* و پیشیا بودند [١٦].

7. Panettone
8. *Candidamilleri*
9. Caelumba

جدول۳ شناسایی مخمرهای ایزوله شده براساس ناحیه ۲٦s rRNA

کد ایزوله	منطقه جمع آوری	درصد شباهت با زنجیره ثبت شده در NCBI	کدثبت شده NCBI	نام گونه شناسایی شده
Y1	گنبد	۹۹	AY305680.1	*Issatchenkiaorientalis*
Y2	زاهدان	۹۸	U73604.1	*Torulasporafranciscae*
Y3	شهربابک			
Y5	شهرکرد	۱۰۰	KF141670.1	*Saccharomyces cerevisiae*
Y8	گرگان			
Y4	تهران	۹۹	JQ965838.1	*Torulasporadelbrueckii*
Y6	مشهد	۹۹	AF335972	*Candida pararugosa*
Y7	شهربابک	۹۷	JX645717.1	*Saccharomyces exigueus*
Y9	لار			
Y10	زاهدان	۱۰۰	AY497672	*Pichia fermentans*



شکل

۳ بلاست توالی ۲٦srRNAنمونه Y3 با توالی موجود در بانک اطلاعاتی(NCBI)

کارستی و همکاران (۲۰۰۱) طی تحقیقی به جداسازی و شناسایی مخمرها از خمیرترش‌های گندم پرداختند که نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که مخمرهای جداسازی شده شامل *ساکارومایسس سرویزیه*، *ساکارومایسس اگزیکوس*، *کاندیدا کروسئی*[1]، *ساکارومایسس اینوسیتاز*[2]، *کلوکولاسا ترولوپسیس*[3]، *ترولوپسیس کاندیدا*[4]، *کاندیدا ستلا*[5]، *ردوتورولا گلوتنیس*[6]، *کاندیدا گویلیریماندی*[7]، *کاندیدا بوینیدی*[8]، *کاندیدا مایلری‌وهانسنولا نومالا*[9]

1. *Candida krusei*
2. *Saccharomyces inusitas*

3. *collucolasaTorulopsis*
4.*Torulopsis candida*
5. *Candida stellate*
6.*Rodotorulaglutinis*
7. *Candida goilireimondi*
8. *Candida bouidini*
9. *Hansenulaanomalla*

بودند [١٧]. برندت و همکاران (٢٠٠٧) بیان کردند که فلور مخمری خمیر ترش اغلب یکنواخت است و به‌طور کلی مخمرهای خمیرترش مربوط به کاندیدا مایلری یا گونه‌های وابسته *به ساکارومایسس سرویزیه* است [١٨].

٤- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که خمیرترش‌های ایرانی یک منبع غنی از مخمر هستند. مخمرهای ایزوله شده و جداسازی شده از خمیرترش‌های جمع آوری شده شامل *ساکارومایسسسرویزیه، ساکارومایسس اگزیگوس، ایساتچنیکا اورنتالیس، تورولوسپورا فرانسیسکا، تورولوسپورا دلبروکی و پیشیا فرمنتاس* بودند که بیشترین نمونه‌ها مربوط به دو گونه *ساکارومایسس سرویزیه وساکارومایسس اگزیگوس بودند.*

٥- تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان از خانم مهندس سمانه فرجی و خانم مهندس نازنین شیرنگی به دلیل همکاری‌هایی که در انجام این تحقیقداشته‌اند کمال تقدیر و تشکر را دارند.

٦- منابع

[1] Rehman, S. U., Paterson, A., and Piggott, J. R. 2006. Flavourin sourdough breads: a review.*Food Science and Technology*.17: 557-566.

[2] Rajabzadeh,N. 2005. Breed Technology. Tehran University Press.

[3] Axelsson, L. 2004. Lactic acid bacteria: classification and physiology. In: Lactic acid bacteria. Microbiology and functional aspects.Salminen S, von wright A. (3th Edition). Marcel Dekker, New York: 1–72.

[4] Lane, D. J., Pace, B., Olsen, G.J., Stahl, D.A., Sogin, M.L., and Pace, N.R. 1985. Rapid determination of 16S ribosomal RNA sequences for phylogenetic analysis. Proceedings of the National Academy Sciences of the USA, 82: 6955– 6959.

[5] Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis K. B., and Erlich, H. A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with thermostable DNA polymerase.*Food Science*, 239: 487– 494.

[6] Woesce, C. R. 1987. Bacterial evolution. Microbiology Reviews, 51: 221–271.

7- Wallbanks, S., Martinez-Murcia, A. J., Fryer, J.L., Phillips, B. A., and Collins, M. D. 1990. 16S rRNA sequence determination for members of the genus *Carnobacterium* and related lactic acid bacteria and description of *Vagococcussalmonarium* sp. nov. Systematic Bacteriology, 40: 224–230.

[8] Saeed M., Anjum, F. M., Zahoor, T., Nawaz, H., and Rehman, S. U. 2009. Isolation and fermentation of sourdough.*Agriculture and biology*. 11: 329-332.

[9] Lacerda, I. C. A., Miranda, R. L., Borelli, B. M., Nunnes, A. C., Nardi, R. M. D., Lachance, M., and Rosa, C. A. 2005. Lactice acid bacteria and yeast associated with spontaneous fermentations during the production of sour cassava strach in Brazil. *Food Microbiology*. 105: 213-219.

[10] Luanngsakul, N., Keeratipibul, S., Jindamorakot, S., and Tnanasupawat, S. 2009. Lactic acid bacteria and yeasts isolated from the starter doughs for chinese steamed buns in Thailand. *Food Science and Technology*. 42: 1404-1412.

[11] Torres-Llanez, M. J., Vallejo-Cordoba, B., Diaz-Cinco, M.E, Mazorra-Manzano, M. A., and Gonzalez-Cordoba, A. F .2006.Chareterization of the natural microflora of artisanal mexicanfersco cheese. *Food Control*. 17: 683-690.

[12] Angelis, M. De., et al. 2006.Fermentation by selected sourdough lactic acid bacteria to decrease coeliac intolerance to rye flour. *Cereal Science*. 43: 301–314.

[13] Fell, J., Boekhout, T., Fonseca, A., Scorzetti, G., Statzell-Tallman, A. 2000. Biodi-versity and systematics of basidiomycetous yeasts as determined by large - subunit rDNA D1/D2 domain sequence analysis. *Systematic and Evolutionary Microbiology*. 50:1351–71.

[14] Vuyst, L. D., and Neysens, P. 2005. The sourdough microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Food Science and Technology*.16: 43-56.

[15] Vernocchi, P., Valmorri, S., Gatto, V., Torriani, S., Gianotti, A., Suzzi, G., Guerzoni,

M. E., and Gardini, F. 2004.Asurvey on yeast microbiotaassiciated with an Italian traditional sweet-leavened baked good fermentation.*Food Research International*.37: 469-476.

[16] Katina, K. 2005. Sourdough: a tool for the improved flavour, texture and shelf-life of wheat bread. VTT Biotechnology. VTT Technical Research Centre of Finland, 569: 13-41, 53-75.

[17] Corsetti, A., Lavermicocca, P., Morea, M., Baruzi, F., Tosti, N., and Gobbetti, M. 2001. Phenotypic and molecular identification and clustering of lactic acid bacteria and yeast from Italy. *Food Microbiology*.64: 95-104.

[18] Brandt, M. J. 2007. Sourdough products for convenient use in baking.*Food Microbiology*.24: 161-64.

Identification of yeasts isolated from native Iranian sourdough using PCR technique

Akbariyan Meymanad, M. J. [1], Khomeiri, M. [2*], Sadeghi Mahoonak, A. R. [2], Alami, M. [2]

1. MSc. in Food Science and Technology. Gorgan university of agricultural sciences and natural resources.
2. Associate professor. Department of Food Science and Technology. Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.

(Received: 93/1/18 Accepted: 93/5/24)

The sourdough is a paste that is madeupof water and flour and yeasts and lactic acid bacteria are its key microorganisms. Sourdough fermentation process is based on lactic and alcoholic fermentation that is done by lactic acid bacteria and yeasts respectively. Also these microorganisms play an important role in improving the flavor, texture and shelf life of bakery products. In this research, samples of sourdough were collected from different regions of Iran to verify the yeast flora, were studied.Toachieve this aim the yeasts isolated by the colony morphology method and then had reproduced 26S rRNA gene whit generalprimers for identification exactly. The sections that replicated sent to bioscience company UK for Sequencing.Thencompare theresultingsequence whit sequencesinthe gene bank(NCBI), the yeast species studied were identified. The resultsshowed that theyeasts isolated included *Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces exiguous*, *Issatchenkiaorientalis*, *Torulasporafranciscae, Torulasporadelbrueckii*, *Pichiafermentans* that dominantspecies related to *Saccharomyces cerevisiae* and*Saccharomyces exiguous*.

Keywords: Sourdough, Colony morphology method, 26S rRNA gene, Yeast.

* Corresponding Author E-Mail Address: khomeiri@gau.ac.ir