

تحسين كفاءة عزلة محلية
من فطر *Trichoderma viride* في إنتاج
أنزيم السليوليز باستخدام عوامل فيزيائية وكيميائية

رسالة تقدمت بها
رغد نبهان عبد القادر إبراهيم العزو

إلى
مجلس كلية العلوم في جامعة الموصل
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير
في علوم الحياة / نبات

بإشراف
الاستاذ المساعد الدكتور
رياض خليل داؤد البرهاوي

الخلاصة

أجريت الدراسة بهدف الحصول على عزلات فطرية كفوءة في إنتاج أنزيم السليوليز Cellulase وبروتين الخلية الواحدة Single Cell Protein بواسطة عزلة محلية من فطر *Trichoderma viride* بفعل التأثير التطفيري للأشعة فوق البنفسجية القصيرة الموجة UVC وبعض مبيدات الفطريات Fungicides ومبيدات الأدغال Herbicides .

لوحظ من خلال تعريض أبواغ عزلة الفطر المحلية *T.viride* (العزلة الأبوية) لأشعة UVC أن فترة التشعيع المؤثرة هي 45 دقيقة ، والتي أظهرت فيها العزلة الأبوية تغيرات مورفولوجية واضحة ومميزة عما كانت عليه قبل تعرضها للإشعاع ، اذ شملت تبدلات في كل من شكل المستعمرة ولونها وقابليتها على النمو ، فضلا عن التغيرات الدقيقة للغزول الفطرية والتي أمكن ملاحظتها من خلال الفحص المجهرى باستخدام طريقة Slide Culture Technique ، وقد رمز لهذه العزلة الطافرة بالرمز (UVC₃) .

أما بالنسبة لمبيدات الفطريات التي لم يتم الحصول فيها على عزلة طافرة فكانت (Captan و Carbendazim و Benomyl) اذ كان لها تأثير قاتل بكافة التراكيز المستخدمة لكل مبيد ولجميع تراكيز العالق البوغي ، في حين لوحظ ان لمبيدات الفطريات المستخدمة الأخرى (Cyproconazole و Vinclozolin و Tolclofos-methyl) تأثيراً تطفيرياً واضحاً على عزلة الفطر الأبوية وبالتراكيز (1.0 و 2.0 و 2.5) ملغم / مل على التوالي ، وقد تم الحصول على ثلاث عزلات جديدة طافرة من هذه المبيدات أعطيت الرموز (CYP_{1.0} و VIN_{2.0} و TOL_{2.5}) على التوالي .

ومن ناحية أخرى تبين ان لمبيدات الأدغال (Glyphosate و Trifluralin و Haloxyfop – methyl) تأثيراً تطفيرياً واضحاً على العزلة الأبوية وبالتراكيز (0.2 و 0.5 و 0.6) مل / مل على التوالي ، إذ تم الحصول على ثلاث عزلات جديدة أعطيت الرموز (GLY_{0.6} و TRI_{0.5} و HAL_{0.2}) . وقد تم الحصول على عزلة جديدة اخرى بفعل مبيد الأدغال Paraquat وبالتركيز 0.12 مل/مل ، إلا أنه قد تم إهمالها بسبب فقدان مقاومتها للمبيد بتكرار الزرع على الوسط الخالي من المبيد .

وقد تم إجراء اختبار نوعي لمعرفة كفاءة العزلات الجديدة الطافرة لإنتاج أنزيم السليوليز في الأوساط الصلبة ، كما أجري اختبار كمي باستخدام الأوساط السائلة لتحديد أكفاً عزلة فطرية في إنتاج أنزيم السليوليز وبروتين الخلية الواحدة والتي تبين أنها العزلة HAL_{0.2} اذ حققت أعلى فعالية نوعية لأنزيم السليوليز (7.965) مايكرومول/ دقيقة / ملغم بروتين ونسبة بروتين (39.329 %) في الوزن الجاف ، وبذلك حققت هذه العزلة زيادة في النشاط الأنزيمي والمحتوى البروتيني بمقدار (1.58 و 1.65) مرة على التوالي مقارنة بالعزلة الأبوية .

Improvement of the Efficiency of a Local Isolate of the
Fungus *Trichoderma viride* for The Production of the
Enzyme Cellulase by using
Physical and Chemical agents

A Thesis Submitted

By

Raghad N. Abdul Qadre Al-Azzo

To

The Council of the College of Science

University of Mosul

**As A partial Fulfillment of the Requirements for the Degree
of Master of Science
In Biology / Botany**

Supervised By

Assistant Professor

Dr. Riyadh K. Dawood Al-Barhawi

Summary

This study was conducted aiming to find efficient fungal isolates in Cellulase and single cell protein (SCP) production from the local isolate *Trichoderma viride*, by the mutation effect of ultraviolet rays UVc and some fungicides and herbicides.

As *T.viride* spores were exposed to UVc it was noticed that the most effective period was (45 minutes), as the isolate showed clear morphological changes in colony shapes, colour, ability for growth in addition to the profound changes in fungal mycelia which was confirmed in microscope by the application of slide culture technique as compared with parent isolate and the mutant isolate was marked (UVc3).

In concerning fungicides it was found that Captan, Carbendazim and Benomyl have lethal effect on the isolate at all concentrations and in all concentrations of spores suspension used. At the same time other fungicides namely, Cyproconazole, Vinclozolin and Tolclofos-methyl have a noticeable mutation effect on the isolate at (1.0, 2.0, and 2.5)mg/ml respectively; accordingly a three new mutants had been developed and marked as: (CYP_{1.0}, VIN_{2.0} and TOL_{2.5}) respectively.

On the other hand it was found that the herbicides (Glyphosate, Trifluralin and Haloxyfop-methyl) have a clear mutation effect on the parent isolate at the concentration (0.6, 0.5, and 0.2) ml/ml respectively, accordingly a three new isolates had been developed marked as: (GLY_{0.6}, TRI_{0.5} and HAL_{0.2}) respectively. Another mutant isolate was obtained using " Paraquat " at the concentration of 0.12 ml/ml but it was neglected because it failed to persist the new characters after repeated culture on herbicide free culture.

A qualitative and quantitative tests have been carried out to explore the efficiency of the new mutant isolates for cellulase production in solid media and for cellulase and SCP production in liquid media. HAL_{0.2} achieved highest ability for specific activity of cellulase (7.965) micromole / min / mgm protein and protein percentage (39.329%) in dry weight, Accordingly it attained an increase in specific activity of cellulase and protein content; (1.58 and 1.65) time as compared with the parent isolate.