تحسين إنتاج أندول حامض الخليك من عزلتين مطفرتين من الفطر *Trichoderma harzianum* باستخدام الأشعة فوق البنفسجية

محمد حمزة عباس و محمد عبد الرزاق حميد

مركز أبحاث النخيل/جامعة البصرة

البصرة - جمهورية العراق

ISSN –1817 –2695

الاستلام 2006/3/27, القبول 2006/6/5

الخلاصة

نفذت هذه الدراسة في مختبرات مركز أبحاث النخيل وكلية الزراعة/ جامعة البصرة لتحديد مقدرة عزلات مختلفة من الفطر *Trichoderma harzianum* على أنتاج منظم النمو أندول حامض الخليك(IAA)، وتحسين إنتاجيتها، عزلت ثماني عزلات من الفطر من مصادر مختلفة، تميزت عزلتان منها بالمقدرة على إفراز منظم النموIAA وبتركيز 1.77 و 33.24 جزء بالمليون في راشح العزلتين البريتين T7 و T2،على التوالي، انتخبت العزلة البرية .wt T2 وعرضت للأشعة فوق البنفسجية لتحسين إنتاجيتها من منظم النمو، وأثبتت نتائج التحليل الكروموتوغرافي (باستخدام الجهاز HPLC) الزيادة في إنتاج منظم النموIAA في راشحي العزلتين المطفرتين T2 mut 75 و T2 mut 90 والتي بلغت 65.50 و 47.72 جزء بالمليون، على التوالي، وانعكست هذه الزيادة على التقييم الحيوي لبذور الحنطة والذرة، إذ أديا إلى زيادة معدلات دليل نمو البادرات/سم بشكل عالي المعنوية، وأثبتت النتائج تحمل العزلتان المطفرتان للتراكيز العالية من المبيد الفطري بنليت بلغت 1000 جزء بالمليون، مقارنة بالعزلة البرية الحساسة.

- **الكلمات المفتاحية:** أندول حامض الخليك، التطفير بالأشعة فوق البنفسجية، حيوية الابواغ، *Trichoderma harzianum*.

المقدمة

نال الفطر *Trichoderma* spp. بأنواعه المختلفة مكانةً متميزةً في الدراسات المحلية والعالمية في برامج المقاومة الاحيائية للممرضات النباتية، وأثبتت تلك الدراسات الكفاءة التضادية العالية لها، سيما النوع *T. harzianum* ضد طيف واسع من الممرضات على النباتات الاقتصادية مثل زهرة الشمس والحنطة والبطاطا والقطن والبطيخ والخيار (فياض، 1997، عباس ، 1998، Tsror وآخرون، 2001، Howell وآخرون، 2002، السامر، 2003، حسن وآخرون، 2003). أشارت معظم هذه الدراسات إلى مقدرة الفطر *T. harzianum* على تشجيع نمو النباتات المعامل بها مع تأشير زيادة إنتاجيتها، وفسر هذا التشجيع باحتمالية مقدرة الفطر على إفراز منظمات النمو Growth regulators مثل أندول حامض الخليك (IAA)Indole-3- acetic acid (Malgorzata وآخرون ،1997) ، كما أن أنتاج مثل هذه المواد ذات الأهمية الكبيرة عادة ما يكون قليلا نسبيا ، لذا لجأت العديد من البحوث إلى دراسة إمكانية زيادة وتحسين إنتاج الفطريات للعديد من المركبات المهمة مثل الإنزيمات المحللة والهرمونات (الكعبي، 1997، Zaldivar وآخرون، 2001)، وأن مثل هذه الزيادة يمكن الوصول أليها عن طريق التطفير Mutation والذي ممكن أن يؤدي إلى إحداث تغير في المادة الوراثية النيوكلوتيدات على شريط DNA ، وقد تحدث الطفرة بصورة طبيعية وتعرف بالتلقائية Spontaneous mutatiuon أو طفرات مستحثة Induced mutation بفعل عوامل فيزيائية أو كيميائية Physical or chemical mutagenic (Nakkaeeran وآخرون،2005).

ومن المطفرات الفيزيائية الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet radiation، لذا هدفت الدراسة الحالية التي تعد الأولى من نوعها في العراق إلى الحصول على عزلات مختلفة من الفطر *T. harzianum* واختبار مقدرتها على أنتاج منظم النمو IAA وتحسين إنتاجيتها بالتطفير بالأشعة فوق البنفسجية.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

مواد العمل وطرائقه

1- عزلات الفطر *T. harzianum*

عزلت ثماني عزلات مختلفة من الفطر *T. harzianum* من مصادر مختلفة وذلك بطريقة الزرع المباشر على الوسط الغذائي PDA المضاف أليه المضاد الحياتي Chloramphenicol بعد التعقيم بمعدل 200 ملغم /لتر، تم تأكيد تشخيص الفطر *T. harzianum* اعتمادا على Rifai(1969).

جدول(1) العزلات الفطرية للفطر *T. harzianum* من مصادر مختلفة.

رقم العزلة	مصدر العزل
T1	بذور حنطة
T2	تربة زراعية/ سفوان
T3	تربة زراعية/ الزبير
T4	بذور زهرة الشمس
T5	بذور بطيخ
T6	نباتات بطيخ/ سفوان
T7	نباتات باميا/ الهارثة
T8	تربة زراعية/ شط العرب

2 -تحضير رواشح مستعمرات عزلات الفطر *T. harzianum*

حضرت كمية من الوسط الغذائي السائل PD Broth ووزعت في دوارق زجاجية حجم 250 مل بمعدل(150 مل/دورق)، عقمت في جهاز التعقيم البخاري، لقحت بأقراص أقطارها 0.5 سم من مستعمرة كل عزلة، حضنت الدوارق في الحاضنة على درجة حرارة 30±2° م لمدة 15 يوما ، سحب الغزل الفطري بعد نهاية المدة بوساطة ملقط وتم الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع Whatman no. 1 وأعيد الترشيح باستعمال ورق ترشيح نوع (Millipore 0.45 mm) بمساعدة جهاز التفريغ الهوائي.

3-دراسة قابلية عزلات الفطر *T. harzianum* على إنتاج أندول حامض الخليك في الوسط الغذائي السائل PD Broth

استخدمت طريقة Hassan(2002) في استخلاص أندول حامض الخليك وذلك بأخذ الراشح المحضر من مستعمرة كل عزلة كما في الفقرة السابقة بمعدل 250 مل، عدلت حموضة الراشح إلى 2.5 باستعمال واحد عياري من حامض االهيدروكلوريك ثم استخلص بحجم مكافيء من Ethyl acetate، ليتم تبخيره بعد ذلك باستعمال Rotary evaporator نوع Buchi(Switzerland)، المتبقي تم إذابته باستخدام الأسيتون، وتم التحليل باستخدام جهاز الكروموتوغرافي السائل عالي الكفاءة HPLC(High performance liquid chromatography) نوع Perkin Elmer إنتاج ألماني لسنة 2004، بالمواصفات الآتية:

Series 200 UV/VIS Detector ; HPLC Column: Macherey-Nagel; EC 125/4; Nucleosil 100-5 C 18 ; Particle size 5 µM; length 125mm; Internal diameter 4.0.; Series 200 LC Pump (Perkin Elmer).

وكانت ظروف التحليل بالمذيبات 5% ميثانول و 95% خلات الامونيوم، Flow rate: 1 ml/min وضبط الكاشف Detector على 260 nm، كما أجري تحليل العينة القياسية من منظم النمو IAA الذي تم الحصول عليه من مركز أبحاث النخيل/جامعة البصرة، وحضر المحلول القياسي باستعمال الأسيتون ليكون المحلول بتركيز 100 جزء بالمليون.

العينة المحقونة كانت بحجم 10 µL بواسطة Micro injector نوع Perkin Elmer استرالي الصنع.

4-التطفير بالأشعة فوق البنفسجية

اعتمدت الطريقة الواردة في Bapiraju وآخرون(2004) مع بعض التحوير بتنمية عزلة الفطر *T. harzianum* (T2)في أطباق بتري حاوية على الوسط PDA (Potao dextrose agar) وحضنت لمدة سبعة أيام على درجة حرارة 30±2° م، ثم أضيف على سطح المستعمرة تسعة مل من محلول NaCl (0.9%) المعقم وقشط سطح المستعمرة بوساطة loop معقم، وحسب عدد الابواغ في العالق البوغي بوساطة شريحة العد Haemocytometer وعدل عدد الابواغ إلى 10^7 بوغ/مل، وحضرت المخففات إلى 10^{-5} من العالق، ونشر 0.1 مل العالق على طبق

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

بتري حاو على الوسط PDA ، وحضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 30±2° م لمدة 18 ساعة وحسب عدد الابواغ النابتة في كل طبق بتري، واختير التخفيف الذي يعطي في حدود 400−500 بوغ نابت في الطبق.
عرض المعلق البوغي المحدد للأشعة فوق البنفسجية في كابينة خاصة مزودة بمصباح UV مواصفاتها TUP 40 W فرنسية الصنع، مثبتة على 2540−2550 A^{O} وكانت العينات المعرضة على بعد 20.0 سم من مصدر الإضاءة، اخذ 0.1 مل من المعلق بعد وقت (صفر، 15،30 ، 45، 60، 75 و90 دقيقة) من التعرض ونشر على الوسط PDA بواقع ست أطباق لكل معاملة، حضنت ثلاثة أطباق على درجة حرارة 30±2° م لغرض حساب نسبة القتل(بعد 18 ساعة من الحضن)، أما الأطباق الثلاثة المتبقية [فهي تحتوي على 1000 جزء بالمليون من المادة الفعالة (Benzimidazole 50) للمبيد الفطري بنليت (Benlate) والمنتج من شركة Du Pont] فقد حضنت في الظروف نفسها، وحسبت النسبة المئوية لإنبات الابواغ(عباس،2004).

5− التقييم الحيوي لراشح العزلتين المطفرتين T2 mut. 70 و T2 mut. 90 من الفطر *T. harzianum*

اعتمدت الطريقة الواردة في Hassan (2002) للتقييم الحيوي Bioassay باستخدام بذور الحنطة والبطيخ وذلك بتعقيمها سطحيا بمحلول NaOCl(3%) لمدة ثلاث دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر المعقم ثلاث مرات، وضعت 20 بذرة في طبق معقم حاو على ورق ترشيح لتعامل بعدها بـ 5 مل من 10 mM من المادة القياسية للاندول IAA (Indole -3- acetic acid) ، والراشح للمستعمرتين المطفرتين كلا على حدة مع تنفيذ معاملة مقارنة بالكمية نفسها من الماء المقطر المعقم، كررت كل معاملة خمس مرات، حضنت الأطباق في الحاضنة على درجة حرارة 25±2° م لمدة ثلاثة أيام، وحسبت النسبة المئوية للإنبات وطول الرويشة والجذير (سم)ودليل نمو البادرات (سم) وفقاً للمعادلة الواردة في Hassan(2002) :−

دليل نمو البادرات(سم) = طول الرويشة+ طول الجذير X النسبة المئوية للإنبات

كما حضر راشح مستعمرتي العزلتين المطفرتين T2 mut. 75 و T2 mut.90 وقدر أندول حامض الخليك كما في الفقرة(3).

6−التحليل الإحصائي

نفذت جميع تجارب الدراسة وفقاً للتصميم تام العشوائية CRD بالتجارب وحيدة العامل، حللت النسب المئوية للبيانات بعد تحويلها زاويا Arcsine transformation، قورنت المتوسطات للبيانات بطريقة أقل فرق معنوي المعدل RLSD تحت مستوى احتمال 0.01 (الراوي وخلف الله،1980).

النتائج والمناقشة

1 −تقدير أندول حامض الخليك(IAA) في رواشح مستعمرات عزلات الفطر *T. harzianum*

أشارت نتائج التحليل في جهاز الـ HPLC(High performance liquid chromatography) إلى وجود منظم النمو IAAفي راشح عزلتين فقط من أصل ثماني عزلات بعد 15 يوما من التحضين، وبمقارنة وقت الاحتجاز Retention time والمساحة Area تم تحديد الكمية المفروزة في الوسط السائل PD Broth، وسجلت العزلة المعزولة من تربة زراعية في منطقة سفوان (T2) ومن نباتات باميا مزروعة في منطقة الهارثة (T7) وكان معدل إنتاجه 33.24 و 1.77 جزء بالمليون من IAA، على التوالي، وكما موضح في الشكل(a1 و b)، اعتماداً على نتائج المنحنى القياسي لمنظم النمو IAA (الشكل 2) المحضر من المادة القياسية بتركيز 150 جزء بالمليون، في حين لم يسجل أي نشاط إفرازي في مستعمرات باقي العزلات.
أشارت دراسات عدة إلى مقدرة أنواع من الفطريات على إفراز منظم النمو IAA في رواشحها ومنها الفطر *Rhizoctonia solani* و *Colletotrichum gleosporioides* و *Fusarium oxysporum* و *Pisolithus tinctorius* و *Paxillus involutus* و *Glomus intraradices* (البياتي وآخرون، 1989، Robinson وآخرون، 1998، Hassan وآخرون، 2002، Neimi وآخرون، 2002، Fitze وآخرون، 2005).
بناء على هذه النتائج انتخبت العزلة البرية .wt T2من الفطر ***T. harzianum*** لتجربة التطفير بالأشعة فوق البنفسجية لتحسين إنتاجها من منظم النمو IAA.

2− التطفير بالأشعة فوق البنفسجية

يوضح الشكل(4) منحنى البقاء Survival curve لابواغ الفطر *T. harzianum* (العزلة T2) بعد تعريضها لأوقات مختلفة للأشعة فوق البنفسجية (صفر، 15، 30، 45، 60، 75 ، 90 دقيقة)، وتبين إن ابواغ العزلة المطفرة للفطر *T. harzianum* كانت مقاومة للتأثير المميت Lethal effect للأشعة خلال ألـ 45 دقيقة الأولى من التعرض دون أن تفقد مقدرتها على الإنبات، لتنخفض هذه المقدرة بشكل عالي المعنوية لتصل النسبة المئوية للقتل 98.50 و 99% خلال الوقت 75 و 90 دقيقة، على التوالي. أن التأثير المميت للأشعة فوق البنفسجية لابواغ الفطريات تمت الإشارة إليه في العديد من الدراسات، فقد بين Hopwood وآخرون (1985) التأثير المميت عند تعرض ابواغ .*Streptomyces* spp للأشعة خلال ألـ 45 و 60 و75 دقيقة من التعرض، واتفقت هذه النتائج مع ما أشار إليه Braga و Rangel (2002) من أن

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

تعريض ابواغ الفطرين *Verticillium lecanii* و *Aphanocladium album* للأشعة فوق البنفسجية بشدة 290 nm أدى إلى قتل 90%من الابواغ.

وقد فسر تأثير الأشعة فوق البنفسجية في استحداث الطفرات بالاتحاد الذي يحدث بين القواعد النايتروجينية المتجاورة من نوع Pyrimidine الموجودة على الحلزون نفسه ويحدث الاتحاد بين ثايمين–ثايمين المتجاورين (Sancar، 1994، Griffiths وآخرون، 1998).

وبينت النتائج إن ابواغ الفطر *T. harzianum* كانت حساسة للمبيد الفطري بنليت (1000جزء بالمليون) إذ سجلت نسبة مئوية للإنبات بلغت 22.50%، لترتفع هذه النسبة بزيادة مدة التعرض للأشعة لتصل معدلها الأقصى في الوقت 75 و 90 / دقيقة (78.5و 88.00%) على التوالي، (الشكل5).

واختلفت هذه النتائج مع دراسة Papavizas وآخرون(1982) و Abd-Elmoity وآخرون(1982) الذين بينوا أن عزلتهم كانت حساسة لتراكيز المبيد بنليت (25–100جزء بالمليون)، واتفقت مع عباس(1998) الذي سجل نموا لعزلة الفطر *T. harzianum* في التركيز 1000جزء بالمليون، إن الاختلاف مع نتائج البحوث السابقة قد يعزى إلى نوع العزلة المستخدمة بكونها متحملة Tolerant للمبيد(وهي معزولة من تربة زراعية في منطقة سفوان– راجع طرائق العمل/ عزلات الفطر *T. harzianum*)، مما يرجح احتمال أن تعرضها للمبيد بنليت أدى إلى زيادة تحملها لتراكيزه العالية ، سيما وقد أثبتت بعض الدراسات أن تعرض عزلة ما إلى المبيد البنليت يؤدي إلى زيادة تحملها لتراكيزه(Abd-Elmoity وآخرون، 1982، بدن، 1996).

إن زيادة إنبات ابواغ عزلتي الفطر *T. harzianum* المطفرتين T2 mut.75 و T2mut.90 يؤشر حدوث طفرة أدت إلى زيادة التحمل. اعتمادا على هذه النتيجة ومع ما أشارت إليه نتائج العديد من الدراسات من إن النسبة المئوية لقتل الابواغ 99% هي المطلوبة والملائمة للحصول على عزلات مطفرة ذات مواصفات إنتاجية محسنة (Hopwood وآخرون، 1985، Ellaiah وآخرون، 2002، Bapiraju وآخرون، 2004)، تم اختيار العزلة المطفرة في 75و 90 دقيقة(T2 mut. 90و T2 mut.75) لاستكمال الدراسة الحالية.

3–التقييم الحيوي لراشح العزلتين المطفرتين T2 mut. 75 وT2 mut. 90 من الفطر *T. harzianum*

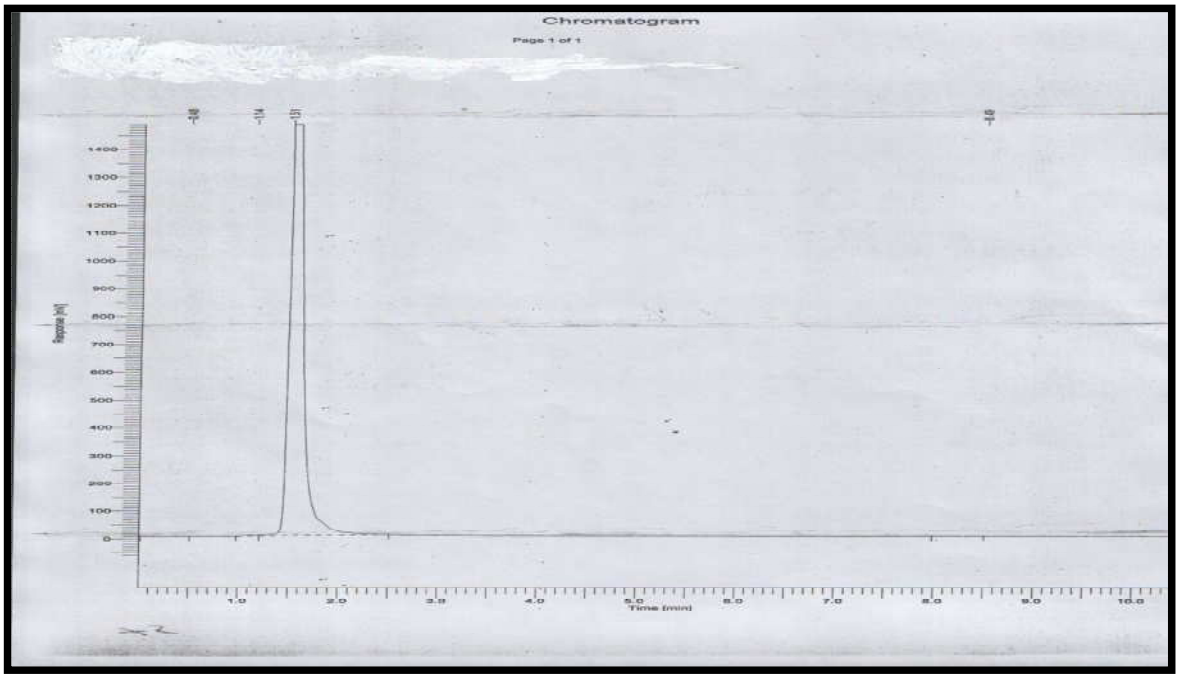
أشارت النتائج المبينة في الجدول(2) إلى عدم وجود فروق معنوية لتأثير راشحي العزلتين المطفرتين في النسبة المئوية لإنبات بذور الحنطة والذرة، إذ لم تختلف معنويا عن معاملة المقارنة ومنظم النمو IAA، في حين أتضح التأثير التشجيعي لنمو البادرات جليا في مؤشر دليل نمو البادرات/سم للحنطة والذرة إذ أرتفع معدليهما عند المعاملة بـ 5 مل من راشح العزلتين المطفرتين T2 mut. 75 وT2 mut. 90 وسجل معدل نمو البادرة1152 و1232.25 سم، للحنطة على التوالي، و 1551 و1567.5 سم، للذرة على التوالي، وتفوقت هذه المعدلات معنويا على معاملات المقارنة والاندول والعزلة البرية T2 wt.، مما يدل على وجود زيادة في إفراز منظم النمو IAA في راشح مستعمرتي العزلتين المطفرتين أدى إلى تشجيع نمو بادرات الحنطة والذرة.

وقد فسرت الزيادة في نمو البادرات إلى إن بعض منظمات النمو تعمل على تشجيع عمل الإنزيمات المحللة Hydrolytic enzymes مما ينعكس إيجابا على تحليل المخزون الغذائي(Karabaghliوآخرون، 1998، ألبياتي وآخرون، 1998).واتفقت نتائج تشجيع IAAلنمو بادرات الحنطة والذرة مع نتائج Hassan (2002) و Fitze وآخرون(2005) الذين بينوا دور منظم النمو أندول حامض الخليك في تشجيع نمو بادرات الحنطة والذرة وزيادة عدد ونمو الجذور المتكونة.

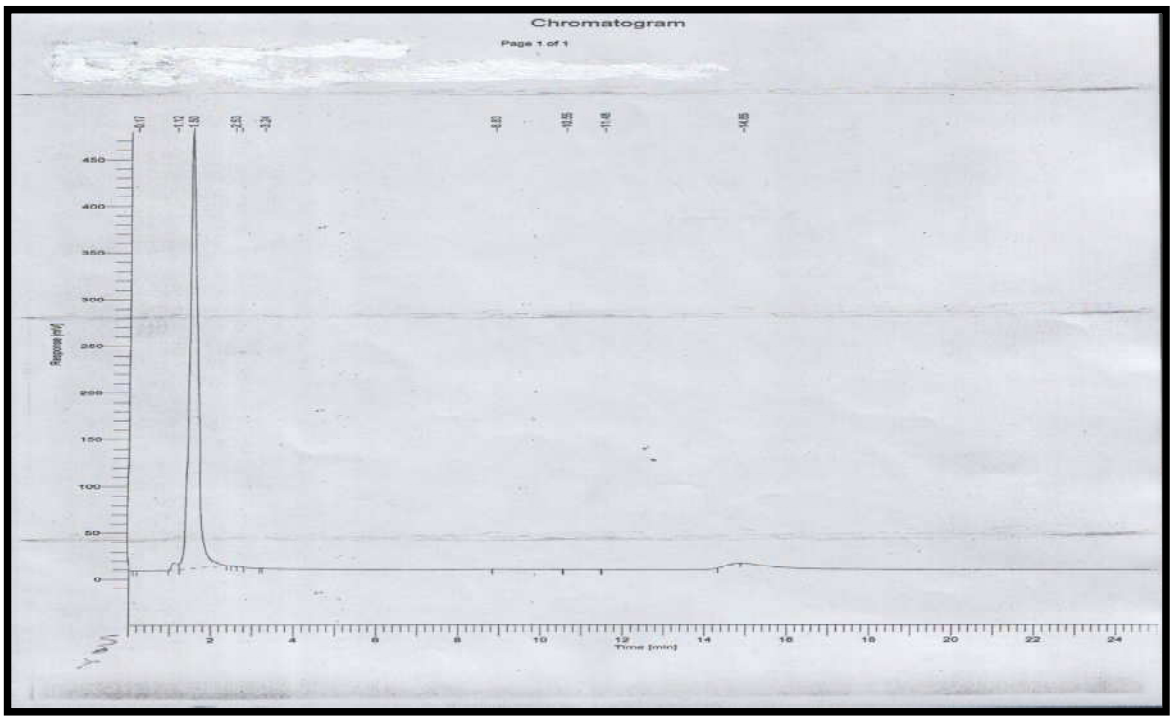
أما عن نتائج تحليل راشحي المستعمرتين المطفرتين T2 mut. 75 و T2 mut.90 فقد سجلت زيادة في معدل أنتاج منظم النمو أندول حامض الخليك عن العزلة البرية T2 wt. والتي سجلت مسبقا ما مقداره 33.24 جزء بالمليون(راجع الفقرة 1 من النتائج والمناقشة)، لتسجل 65.50 و47.72 جزء بالمليون للعزلتين المطفرتين، على التوالي وكما موضح في الشكل(3 a و b)، وأن هذه الزيادة في أنتاج الأندول تعزى إلى حدوث طفرة بفعل الأشعة فوق البنفسجية أدت إلى تحسين أنتاج منظم النمو سيما الطفرة في المدة 75 و90 دقيقة التي سبق وان سببت نسبة قتل بلغت أكثر من 98%، والجراثيم المتبقية سجلت مستعمراتها تلك الزيادة في الإنتاج كدليل على تحسينه، واتفقت هذه الدراسة مع العديد من البحوث أثبتت كفاءة التطفير بالأشعة فوق البنفسجية في تحسين أنتاج مركبات حيوية أخرى مثل أنزيم السليليز Cellulase في الفطر *Aspergillus fumigatus* ، وأنزيم البروتيز Protease في الفطر *Trichoderma hamatum*، وأنزيم اللاييبز Lipase في الفطر *Rhizopus* sp.(Wase و Vaid، 1984، الكعبي، 1998، Bapiraju وآخرون، 2004).

مما تقدم توصي الدراسة الحالية بتحديد مدى ثبات الطفرة وتأثير مدة الخزن في نشاطها الإفرازي والإفادة من مقدرة العزلتين المطفرتين على تحمل التراكيز المرتفعة من المبيد بنليت وزيادة إنتاجها لمنظم النمو IAA { الذي ثبت دوره الايجابي في تشجيع النمو } لإدخالها في برامج المقاومة المتكاملة للممرضات النباتية.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com



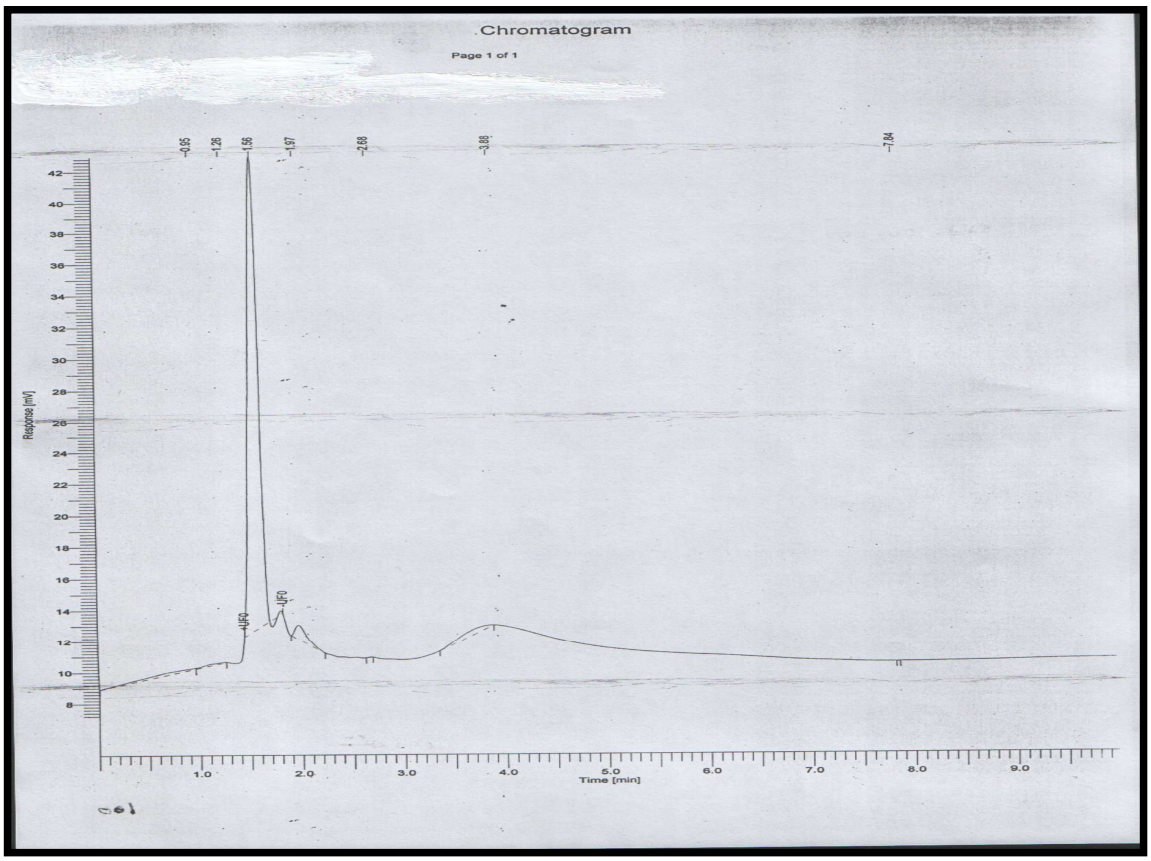
a العزلة البرية T2



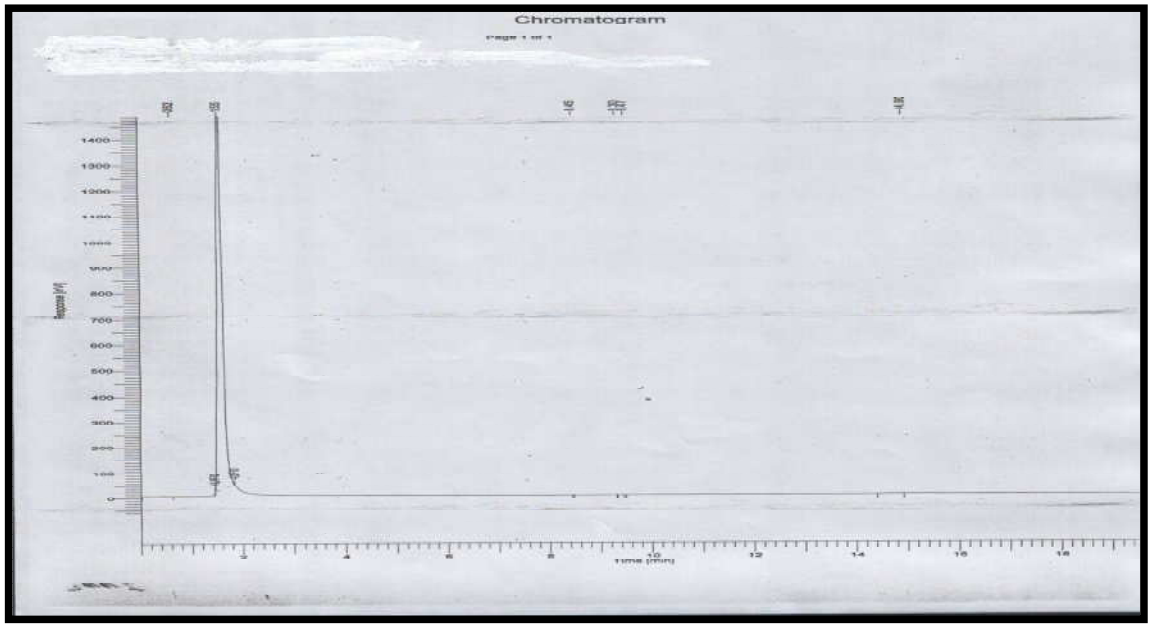
b العزلة البرية T7

شكل(1) التحليل الكروموتوغرافي لراشح مستعمرتي الفطر *T. harzianum* البريتين T2و T7 .

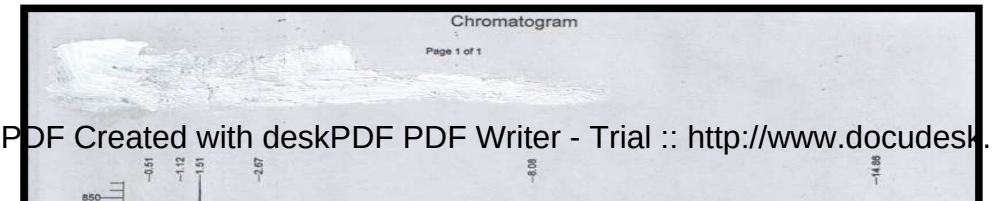
PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com



شكل(2) المنحني القياسي لمنظم النمو.IAA.



a العزلة المطفرة T2 mut. 75

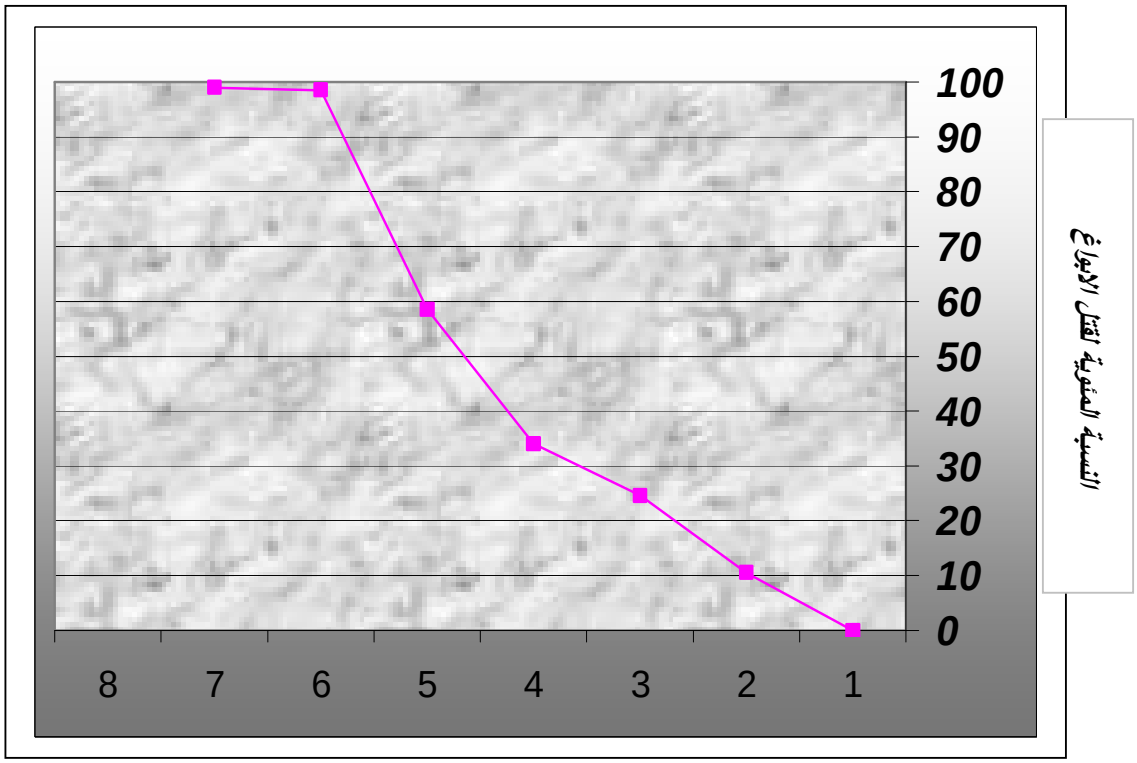


PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

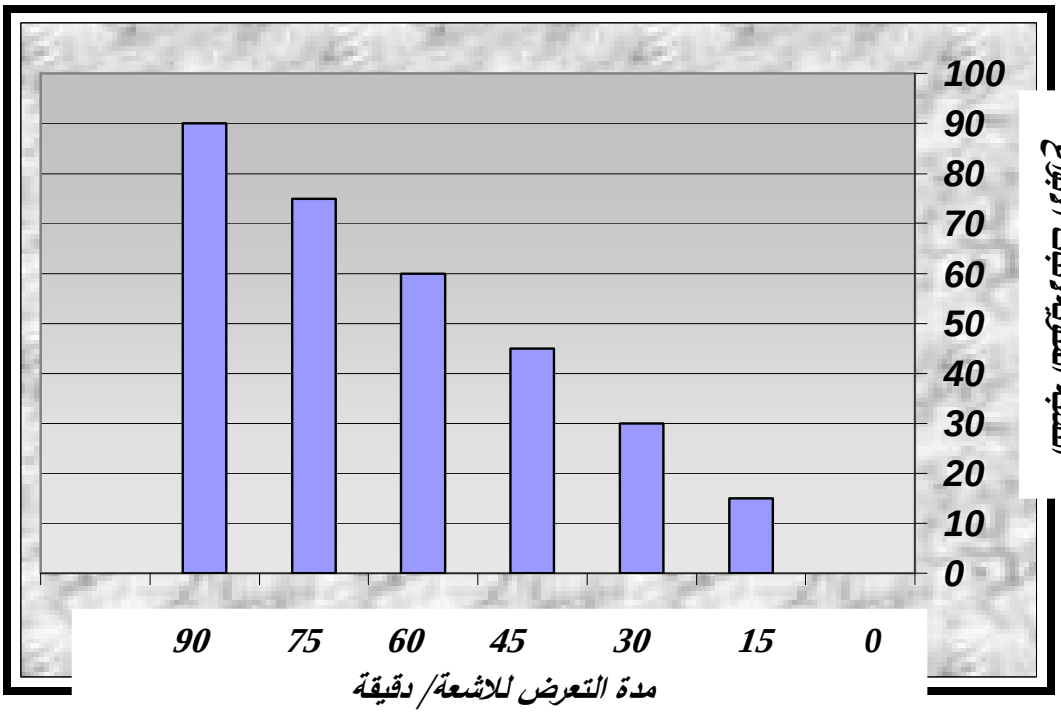
b العزلة المطفرة T2 mut. 90

شكل(3) التحليل الكروموتوغرافي لراشح مستعمرتي الفطر *T. harzianum* المطفرتين .

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com



(4) تأثير فترات التعرض للاشعة فوق البنفسجية(دقيقة) في النسبة المئوية لقتل ابواغ الفطر *T. harzianum* (العزلة T2)



شكل(5) تأثير فترات التعرض للاشعة فوق البنفسجية(دقيقة) في النسبة المئوية لإنبات ابواغ الفطر *T. harzianum* العزلة(T2) بوجود المبيد بنليت(1000جزء بالمليون) .

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

جدول(2)التقييم الحيوي لراشح العزلتين المطفرتين T2 mut. 75 و T2 mut. 90 من الفطر *T. harzianum* في نمو بادرات الحنطة الذرة.

المعاملات	%للإنبات		طول الرويشة/سم		طول الجذير/سم		دليل نمو البادرة/سم	
	الحنطة	الذرة	الحنطة	الذرة	الحنطة	الذرة	الحنطة	الذرة
مقارنة /ماء مقطر	80.50 a	72.00 a	7.50	10.13	5.50	9.20	c1046.50*	b1391.76
مقارنة/ منظم النمو IAA	78.00 a	70.50 a	7.80	11.25	6.25	9.30	c1095.90	b1448.75
العزلة البرية T2 wt	81.25 a	73.00 a	7.25	9.65	5.00	8.50	c995.30	b1324.95
العزلة المطفرة T2 mut.75	80.00 a	70.50 a	8.40	12.00	6.00	10.00	b1152.00	a1551.00
العزل المطفرة T2 mut.90	79.50 a	71.25 a	8.50	12.00	7.00	10.00	a1232.25	a1567.50

*الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية.

المصادر

بدن، محمد محسن ،تأثير بعض المبيدات على فطريات التربة غير المستهدفة.رسالة ماجستير، كلية الزراعة- جامعة البصرة، 83صفحة. 1996.

البياتي، ماجد هزاع، علي حسين االبهادلي، وخليل إبراهيم بندر، قابلية العزلة الممرضة وغير الممرضة للفطر *Rhizoctonia solani* على أنتاج الاوكسينات في الوسط الصناعي وشبه الصناعي.المجلة العراقية للأحياء المجهرية،1(1):25-30. 1989.

حسن، محمد صادق، بشرى صبير المالكي، و عبد الإله صادق الكويتي، استعمال المخلفات الحيوانية والفطر *Trichoderma harzianum* في مكافحة الفطر *Pythium aphanidermatum* على الخيار.مجلة الزراعة العراقية،8(3):96-.103.2003.

الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز محمد خلف الله، تصميم وتحليل التجارب الزراعية.دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، 488 صفحة.1980.

السامر، محمد عبد الرزاق حميد, تشخيص السلالات الفسلجية للفطر *Fusarium oxysporum* f.sp . *melonis* المسبب للذبول الفيوزارمي على البطيخ *Cucumis melo* ومكافحته بصورة متكاملة . أطروحة دكتوراة، كلية العلوم. جامعة البصرة، 86 صفحة. 2003.

عباس، محمد حمزة دراسة مرض تعفن بذور وموت بادرات نبات الحنطة المتسبب عن الفطر *Rhizoctonia solani*في منطقه البصرة، رسالة ماجستير ، كليه الزراعة، جامعة البصرة، 88صفحة,2003.

عباس، محمد حمزة، كفاءة بعض المبيدات الفطرية في تثبيط نمو الفطر *Mauginiella scaettae* المسبب لمرض خياس طلع النخيل في البصرة، مجلة البصرة للعلوم الزراعية 16(3):151-161, 2004.

فياض، محمد عامر .أستجابة تراكيب وراثية مختلفة من زهرة الشمس .L *Helianthus annus* للإصابة بالفطر *Macrophomina phaseolina* ودور بعض الطرق الإحيائية في المقاومة.أطروحة دكتوراة، كلية الزراعة-جامعة بغداد، 91 صفحة.1997 .

الكعبي، وسن جعفر إبراهيم،أنتاج وتحسين أنزيم البروتيز للحليب من الفطر *Trichoderma hamatum*(Bonord.)Bain ، رسالة ماجستير، كلية الزراعة- جامعة البصرة، 55 صفحة. 1997.

Abd-Elmoity,T.H.;Papavizas,G.C. and Shatla,M.N.Induction new isolate of *Trichoderma harzianum* tolerant to fungicides and their experimental use for control white rot of Onion.Phytopathology 72:396-400. 1982.

Bapiraju,K.V.V.S.N.; Sujatha, P.;Ellaiah,P. and Ramana,T.Mutation induced enhanced biosynthesis of lipase. African J. of Biotech.3(11):618-621. 2004.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

Braga,G.U. and Rangel,D.E.N.Damage and recovery from UV-B exposure in conidia of the entomopathogenic *Verticillium lecanii* and *Aphanocladium album*.Mycologia,94(6):912-920. 2002.

Ellaiah,P.; Prabhakar, T., Ramakrishana,B.; Taleb,A.T.and Adinarayana, K.Strain improvement of *Aspergillus niger* for the production of lipase. Indian J. Microbiol. 24:151-153. 2002.

Fitze,D.; Wiepning,A.; Kaldorf,M. and Jutta,L.Auxins in the development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis in maize. J. Plant Physiol.162:1210-1219. .2002.

Griffiths,H.R.; Mistry,P.; Herbert, K.E. and Lunec,J. Molecular and cellular effects of ultraviolet light induced genotoxicity.Ctri. Rev. Clin. Lab. Sci.35:189-237. 1998.

Hassan,H.A.H.Gibberellin and auxin production by plant root-fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction.Rostlina Vyroba,48(3):101-1. 2002.

Hopwod,D.A.; Bibb, M.J.; Chater, K.F.; kieser,T.; Bruton,C.J.; Kieser,H.M.; Lydiate, D.J.; Smith, C.P.; Ward, J.M. and Schremp,H.Genetic manipulation of Streptomyces- A Laboratory manual. The John Innes Foundation.Norrwick(Abstr.). .1985.

Howell,C.R.; Hanson, L.E.; Stipanovic, R.D. and Puckhaber, Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens.*Phytopathology 90:248-252. 2002.

Karabaghli,C.; Frey-Klet,P.; Sotta, B.; Bonnet,M. and Le Tacon, F. *In vitro* effect of *Laccaria bicolor* S238 and *Pseudomonas flouroescence* strain BBc6 on rooting of derooted shoot hypocotyl of Norway spruce. Tree Physiology ,18:103-111. 2002.

Malgorzata,M.; Dorota,F.; Alekandra, P. and Hanna,D. Promoting effect of *Trichoderma* on cutting growth in biocontrol of *Fusarium* carnation. Folia Horticulture Turae,3-13. 1997.

Nakkaeeran,S.; Renukadevi, P. and Marimutha,T. Antagonistic potentiality of *Trichoderma viride* and assessment of its efficacy of the management of cotton root rot. Archi. Phytopathol. Plant Protec. 38(3):209-225. 2005.

Niemi,K.; Vuorinen, T.; Ernstsen,A. and Haggman,H.Ectomycorrhizal fungi and exogenous auxins influence root and mycorrhiza formation of Scots pine hypocotyls cuttings *in vitro*. Tree Physiology, 22:1231-1239. .2002

Papavizas,G.C.;Lewise,J.A. and Abd-Elmoity. Evaluation of new biotypes of *Trichoderema harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities.Phytpathhology 72:126-132. 1982.

Rifai,M.A. Arevision of the genus *Trichoderma* .Commonw.Mycol.Inst.Mycol.Papers,116:1-56.

Robinson,M.; Riov, J. and Sharon, A.1998.Indole-3-acetic acid Biosynthesis in *Colletotrichum gleosporioides* f.sp. *aeschynomene*.Appl.Envir.Microbiol.64(12):5030-5032. 1969.

Sancar,A. Structure and function of DNA photolyase.Biochemistry,33:2-9. 1994.

Tsror,L.;Barak,R. and Senh, Biological control of black scurf of potato under organic management source. Crop protection, 20(2):145-150. 2001.

Wase,D.A, and Vaid ,A.K.Isolation and mutation of highly cellulolytic of *Aspergillus fumigatus* .Microbiol.Abs.Sec.A.19(4):2707. 1984.

Zaldivar,M.; Juan Carlos, V. and Luz Maria,P.*Trichoderma auroviride* 7-121, a mutant with enhanced production of lytic enzymes: its potential use in waste cellulose degradation and/or biocontrol. Electronic J. Biotechinol.4(3). 2001.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com

Improve production of Indole-3- acetic acid From two mutant isolates of *Trichoderma harzianum* by UV. radiation

Mohammed H. Abass And Mohammed A. Hameed
Date Palm Research Center/Basrah University
Basrah-Republic of Iraq

Abstract

The present study has been performed at Date Palm Research Center and Agricultural college laboratories to determine the ability of different isolates of *Trichoderma harzianum* to produce Indole-3-acetic acid(IAA), and enhance their productivity. Two wild isolates (T2 and T7) showed an ability to produce IAA at levels of 1.77 and 33.24 ppm, respectively. T2 wt. isolate was selected and improved by exposing it to UV radiation. The results of chromatography analysis (by using HPLC) revealed the enhancement production of IAA in the fungal filtrates of mutant T2mut. 75 and T2mut. 90 , which were 65.50 and 47.72 ppm, respectively. This enhancement correlated positively with the bioassay of Wheat and Corn seeds, the seedlings viability index (cm) increased significantly when treated with colony filtrates of mutants. Results proved the tolerance of two mutants to the high concentration of Benlate fungicide reached 1000 ppm, in contrast with susceptible wild isolates of *T. harzianum* .

- **Keywords**: Indole-3- acetic acid; Mutation; Ultraviolet irradiation; *Trichoderma harzianum*, Spore viability.

PDF Created with deskPDF PDF Writer - Trial :: http://www.docudesk.com