



متوفرة على الموقع: <http://www.basra-science-journal.org>



ISSN -1817 -2695

دراسة مظهرية لعدد من سلالات النوع *T. atroviride* P. Karst.

اسراء مال الله حنظل كاظم جاسم حمادي علي عيود شريف

قسم علوم الحياة /كلية التربية للعلوم الصرفة

جامعة البصرة

الاستلام 2013-12-15 ، القبول 2013-12-30

الخلاصة

جمعت عينات تربه من مناطق متعددة من محافظتي البصرة وكربلاء للكشف عن تواجد الفطر *T. atroviride* باستخدام طرق عزل مختلفة. تم خلال هذه الدراسة و بالأعتماد على الصفات الزرعية والمظهرية تم تسجيل النوع *T. atroviride* بأربعة سلالات لأول مرة في العراق فضلا عن تأكيد التصنيف من قبل المعهد البريطاني العالمي للفطريات (International Mycological Institute) IMI والتي أعطت لكل سلالة رقم خاص وهي : IMI (501472 , 501467 , 501466 , 501762 IMI). فضلا عن وصف ورسم وتصوير السلالات المعزولة .

كلمات مفتاحية : *T. atroviride* , stains of *T. atroviride* , morphology of *T. atroviride*

المقدمة Introduction

للفطر *T. harzianum* والمرتبطة بالعفن الأخضر green mold للعرهون المنتج تجاريا [6][7] . و إحدى هذه السلالات Th3 شخصت على انها *T. atroviride* . [8] وان هذه السلالة غير مرضية [4] و ايضا من الأمثلة على الخلط في تشخيص *T. atroviride* و *T. harzianum* تمثل بعمل Hermosa و آخرون [9] الذين اعدوا تقييم سلالات المقاومة الحيوية biocontrol strains المسجلة على انها *T. harzianum* و *T. viride* ، و وجدوا أربعة مجاميع كان من بينها *T. atroviride* وكذلك وجد [10] النوع *T. atroviride* من بين سلالات المقاومة

أن أول من وصف النوع *Trichoderma atroviride* P. Karst هو Karsten [1] من عينات أوربية . لكن بعد ذلك أغفل Rifai [2] هذا النوع ولم يظهره في مقاله monograph حول *Trichoderma* . ثم أعاد كل من Bissett [3] و Samuels و آخرون [4] وصف هذا النوع و ادخل من جديد للجنس *Trichoderma* . وفي الأبحاث و النشريات المختلفة ، كثيرا ما كان يختلط النوع *T. atroviride* مع النوع المشابه له مظهريا Rifai *T. harzianum* والذي يمتلك ايضا كونيديات كروية إلى شبه كروية لمساء [5]. ومن الأمثلة التي توضح هذا الاختلاط هو السلالات الأربعة

الواسعة الأستخدام في الدراسات الكيموحيوية والفعاليات البايولوجية و وجد انه ينتج بعض الأنزيمات [15] و أنه فعال ضد مرض التعفن البني للثمار ذات النوى الحجرية [16] و ضد الفطر *Rizoctonia solani* على البطاطا [17] و أعطى وقاية جيدة ضد الفطر *F.culmorum* عندما يضاف لبذور الحنطة [18].

أن كفاءة النوع *T.atroviride* في المقاومة الحيوية بسبب قدرته على افراز أنزيمات الكايتين الداخلية endochitinase enzyme [19][20] وكذلك لأنتاجه مضادات للفطريات antifungals تشمل aromatic pyrone [21] و أنتاج الببتيدات Peptides [22]. وبالنظر لعدم وجود دراسات تصنيفية تناولت هذا الفطر في العراق ولأهمية هذا الفطر في العراق ولا سيما في مجال المكافحة الحيوية و الفعاليات الحيوية جاءت هذه الدراسة التصنيفية.

في المختبر لتجف ثم وضعت في أكياس نايلون أو حافظات بلاستيكية صغيرة لحين الاستعمال

مقتر معقم و علمت هذه الأنبوبة (10^{-2}) وتعاد العملية وصولاً إلى 10^{-7} بعدها نقل 1مل من كل من التخافيف ما بين (10^{-3} - 10^{-7}) ووضع في طبق بتري معقم حاو على الوسط ألزاعي PDA معقم والمضاف إليه المضاد الحيوي chloramphenicol وحرك الطبق حركة رجوية ليتجانس الوسط مع العينة و تركت الاطباق لتتصلب ثم حضنت بدرجة حرارة ($25^{\circ}\pm 2$) م لمدة سبعة أيام. بعدها فحصت الأطباق.

2- ب : أخذ 10غم من التربة وأضيف إلى دورق حاوي على 90مل ماء مقطر ومعقم وكذلك يحتوي على 0.1% من مادة الآكار وخلط جيداً. ثم أخذ مجموعة من الأنابيب وعلمت بـ (10^{-7})

الحيوية المسجلة في المصادر على أنها *T harzianum* (ATCC74058 و IMI206040 و ATCC36042) .

وصفت كل من الدراسات المظهرية وبيانات التابع الجيني ان النوع *T.atroviride* في section *Trichoderma* [3][11][12] ويضم هذا section لأنواع المهمة اقتصادياً وهي *T.atroviride* و *T.viride* و *T.koningii* بالإضافة الى النوع *T.asperellum* والنوع *Hypocrea muroiana* [12][13][14].

يمثل النوع *Hypocrea atroviridis* الطور الكامل Telomorph للنوع *T.arroviride* [8] و وجد [5] ان هناك انحياز جغرافي geographic bias في بعض سلالات النوع *T.atroviride* و أن هذا النوع عالمي الأنتشار ومتباين وراثياً وهو من الفطريات

المواد وطرائق العمل Material and methods

أخذت عينات التربة بعد إزالة الطبقة السطحية وتم التركيز على المنطقة المحيطة بالجذور النباتية للبااميا والبرسيم، من محافظتي كربلاء والبصرة، وبعدها تركت

طرائق عزل الفطريات

استخدمت الطرائق التالية لعزل الفطريات من التربة:

1- طريقة الزرع المباشر Direct plate method :- نثر 1غم من التربة بعد إزالة الشوائب منها على وسط Potato dextrose agar (PDA) معقم ومتصلب في أطباق بتري بلاستيكية 9 سم ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 25° م لمدة أسبوع.

2- طريقة التخفيف :واتبع في هذه الطريقة أسلوبان هما :
2- أ : بعد خلط التربة وإزالة الشوائب منها أخذ 10غم ووضع في دورق زجاجي حاو على 90 مل ماء مقطر معقم ورج المزيج جيداً ، ثم نقل 1 مل من العالق بواسطة ماصة معقمة إلى أنبوبة اختبار حاوية على 9 مل ماء

السابقة في الأسلوب الأول في التخفيف [23][24].

الوسط Malt extract agar (MEA) ، تم استخدام هذا الوسط لزراعة الفطر بدرجة حرارة 20° م لمدة يومين في الظلام تليها يومين تحت الإضاءة لغرض قياس أقطار المستعمرة ، أما على الوسط PDA 25° م حضنت لمدة ثلاثة أيام لمعرفة قابليتها على إفراز الأصباغ، فضلا عن ملاحظة الصفات المظهرية بشكل أدق و أوضح

(10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) و أعيدت نفس الخطوات

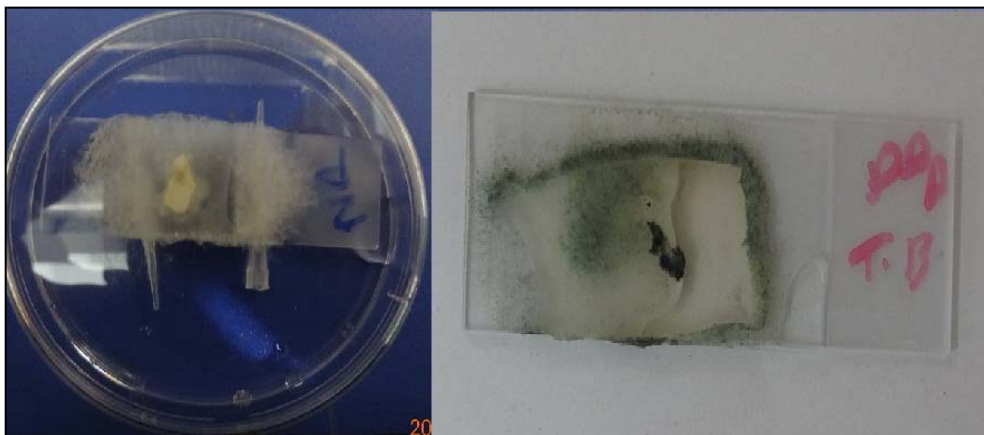
فحص وتشخيص الفطريات

فحصت الأطباق تحت مجهر التشريح للبحث عن مستعمرات فطريات من الجنس *Trichoderma* بالاعتماد على الصفات المظهرية العامة كاللون و أشكال المستعمرات وطبيعة النمو وطريقة تجمع الكونيدات والرائحة ثم نقيت العزلات المراد دراستها من الفطريات النامية بنقلها إلى أطباق بتري حاوية على أوساط زراعية معقمة ومتصلبة آذ اعتمد في هذه الدراسة على وسطين حسب [2] Rifai و [25] Bissett .

طريقة عمل الشرائح الزجاجية الزرعية Slides cultures method

و25° م عند استعمال الوسط MEA، بعدها تركت الشريحة لمدة (1-2) يوم في المختبر لحت الفطر على تكوين الكونيديات ثم اخذ غطاء الشريحة ووضع على شريحة زجاجية جديدة حاوية على قطرة من صبغة اللاكتيوفينول الزرقاء وثبت غطاء الشريحة لغرض الفحص. ويمكن الحصول على شريحة ثانية وذلك بإزالة الوسط MEA و PDA من الشريحة الاولى بحذر مع أبقاء الفطر النامي على الشريحة ثم وضع على الشريحة قطرات من صبغة اللاكتيوفينول الزرقاء، وغطيت بغطاء شريحة كما في الشكل (1).

أتبعت طريقة Longa [26] وذلك بوضع كمية من احد الأوساط الزرعية (MEA أو الوسط PDA) المعقمة على شريحة زجاجية بشكل طبقة رقيقة ثم اخذ جزء من اللقاح بواسطة إبرة معقمة needle من مزرة فطرية نقيه ووضع هذا اللقاح على الوسط الموجود على الشريحة الزجاجية ثم وضع غطاء الشريحة عليها، ووضعت الشريحة بطبق بتري حاوٍ على قطرات ماء معقم بحيث ترتفع الشريحة عن قطرات الماء باستعمال قضيب معقم ثم حضن الطبق في الحاضنة لمدة (3-5) يوم بدرجة حرارة 25° م عند استعمال الوسط PDA و20° م



شكل (1) نموذج من الشرائح الزجاجية الزرعية للفطريات المدروسة

لكل من [25] Bissett(1991a) و Gams & Bissett [27].
صورت الشرائح الزجاجية المحضرة آنفاً باستعمال المجهر
Photomicroscope ورسمت باستعمال كاميرا لوسيدا
مربوطة على مجهر ضوئي مع مراعاة ضبط مقياس الرسم
لكل شكل وصورة.

الصالحية). و (العزلة الرابعة) فهي من نفس المحافظة
قضاء (شط العرب) من التربة المحيطة بجذور نبات
الباميا
و للغرض تصوير العزلات ورسمها اعتمد في الدراسة
الحالية على الشرائح الزجاجية الزرعية إذ بينت النتائج ان
إزالة الوسط PDA, MEA وإبقاء الفطر النامي على
الشريحة أعطت نتائج أفضل وأدق

وتم الاعتماد على طريقة الشرائح الزجاجية في دراسة نظام
تفرعات الحوامل الكونيدية للفطريات المدروسة وأشكال
الفياليدات وأحجامها وكذلك أشكال الكونيدات وقياساتها

باستعمال العدسات القياسية ocular lenses بقوة تكبير
X100 وصنفت الفطريات اعتماداً على المفاتيح التصنيفية

النتائج والمناقشة Results and Discussion

أظهرت نتائج عزل الفطريات في الدراسة الحالية أن
طريقة التخفيف (الأسلوب الثاني) أفضل من (الأسلوب
الأول) إذ تم الحصول على أكثر العزلات بطريقة
(الأسلوب الثاني) وهي طريقة إضافة الاكار إلى الماء
المعقم بنسبة 0.1% .

عزل الفطر *T. atroviride* (العزلة الأولى) من
محافظة كربلاء منطقة (الحائر الشريف) ، أما (العزلة
الثانية والثالثة) فقد عزلنا من محافظة البصرة منطقة (

Trichoderma atroviride

Trichoderma atroviride P.Karsten,Final.Mögelsvamper p. 21 :1892

3-3-1 وصف السلالات

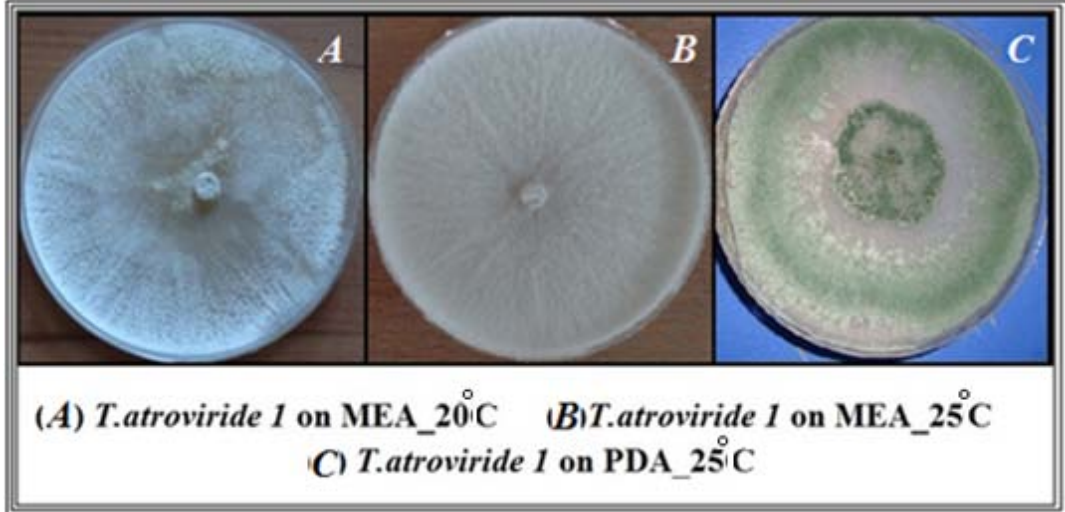
الحوامل الكونيدية مناطق حلقية (ring-like zone)
باللون الاخضر الداكن كما في الشكل (C-2).
وعلى الوسط MEA في درجتي الحرارة 25° م و
درجة حرارة 20° م يكون النمو الفطري متشابه على
شكل خصل بيضاء كثيفة جداً ممتدة في وسط الطبق
نحو حافته وتملا الطبق بثلاثة ايام عند درجة 25° م مع
وجود الخيوط الفطرية الهوائية بينما بدرجة 20 ° م
يصل قطر المستعمرة الى 8 سم خلال أربعة أيام،
الشكل (A-B-2).

تم الحصول على اربع سلالات تابعة لهذا النوع
وفيما يلي وصف لكل سلالة مع قياساتها (جدول 1) :

1- السلالة الاولى *T. atroviride* [لوحة رقم

(1), شكل (2,3)]

تنمو بدرجة حرارة 25° م بصورة سريعة على
وسط PDA ويصل قطر المستعمرة خلال ثلاثة ايام من
الحضن الى 9 سم, و تبدأ المستعمرة بالنمو على شكل
خصل بيضاء اللون ثم تتحول تدريجيا الى اللون
الاخضر الفاتح أو الغامق وتشكل الكونيدات مع



شكل (2) الاطباق الزرعية لفطر *T. atroviride* السلالة الاولى على الاوساط الزرعية المختلفة

ثلاثي أو على شكل سواري 2-5 ويكون ترتيبها متماثلاً symmetrical على جهتي الحامل الكونيدي وقد تتصل الفيااليدات بالحامل مباشرة بدون تفرع.

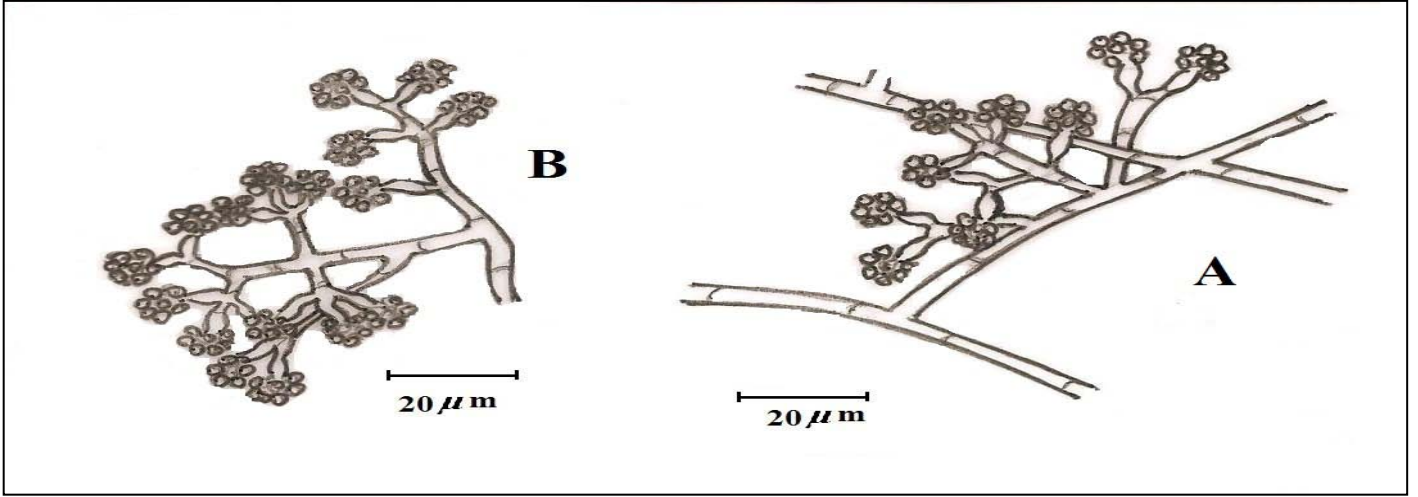
وما يميز هذا النوع وجود الفيااليدات المنحنية curved phialid وتنتهي الفيااليدات عادة بكونيدة واحدة مفردة أو مجموعة من الكونيدات التي تشكل الرأس الكونيدي وهذه السلالة سرعان ما تكون الرؤوس الكونيدية بكثافة كبيرة في غضون يومين.

أما الكونيدات فتكون خضراء صغيرة كروية وبيضوية الشكل وتظهر تحت المجهر الضوئي بلونين الفاتح والغامق و تتراوح أبعادها ما بين (3-2 X 4-3 -2.0) مايكرون.

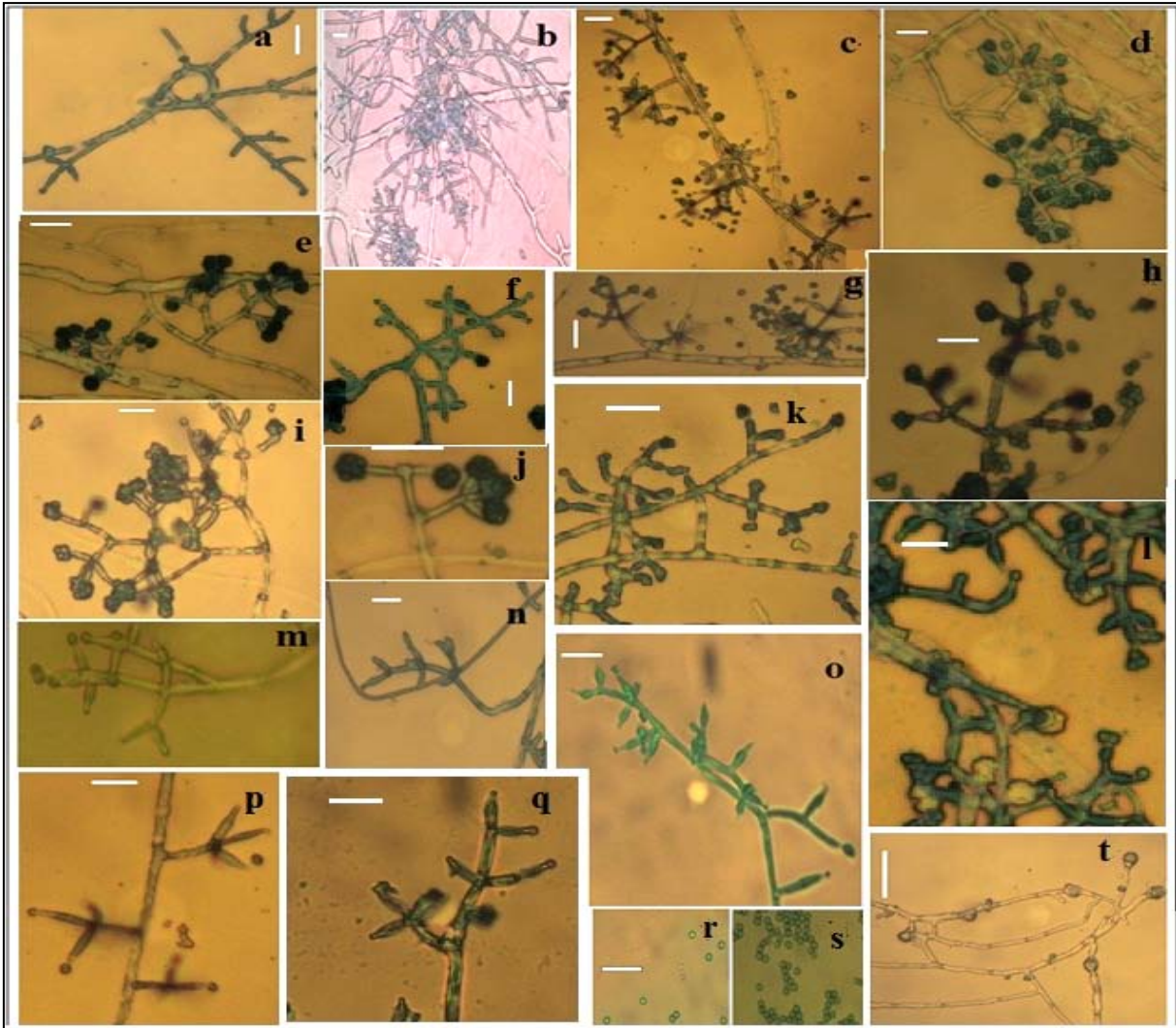
وتكون الابواغ الحرشفية Chlamydospores بينية أو طرفية ذات اشكال كروية أبعادها ما بين (5-) 6-8 x 5-7 (- 8.0) مايكرون.

ويكون ظهر المستعمرة غير ملون والخيوط الفطرية مقسمة ورقيقة الجدار يصل قطرها الى 3-5 مايكرون وهي كثيرة التفرعات وملتفة احيانا، ويحتوي الخيط الفطري على الحوامل الكونيدية ذات التفرعات المحورية اذ يكون المحور الرئيس للحامل الكونيدي الذي يصل قطره الى 2-3 مايكرون متفرع الى تفرعات ثانوية تترتب بمسافات متعاقبة على المحور الرئيسي وتدرجيا تكون التفرعات الثانوية قصيرة وسميكة وتترتب التفرعات الثانوية على شكل احادي أو ثنائي ثلاثي، وقد تأخذ تفرعات الحامل الكونيدي شكل الهرم أي أن الحامل الكونيدي يحمل صفات *Trichoderma sect.*

وتنتهي الحوامل الكونيدية عادة بفيااليدة واحدة متطاولة يصل طولها الى 11-20 مايكرون، ويكون شكل الفيااليدات دورقي flask shape = او مسماري nin- pin shape تتراوح ابعادها ما بين 5- 10 (-) 12x(1.5-) 2-3 مايكرون وتترتب حول محور الحامل الكونيدي على شكل احادي solitary أو ثنائي أو



شكل (3) الفطر *T. atroviride* السلالة الاولى (A) يبين الشكل القاروري للفياليدات وتوزيعها المتمائل على جانبي الحامل الكونيدي وتكوينها الكثيف للرؤوس الكونيدية (B) يبين التوزيع الثنائي المنتظم للتفرعات الثانوية للحامل الكونيدي.

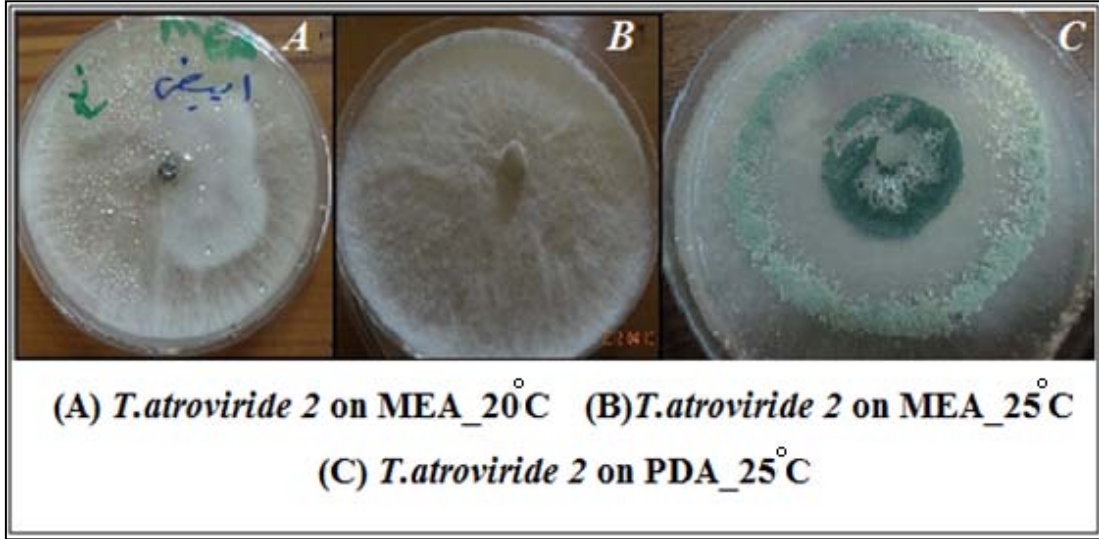


لوحة (1) السلالة الاولى *T. atroviride*

(b-a): الخيوط الفطرية الملتفة والمقسمة.

(c-h): التوزيع المنتظم للحوامل الكونيدية الثانوية على الحامل الرئيسي بشكل ثنائي [متقابل (h)، ومتبادل (d)، متجاور (c-g)، والترتيب الهرم (d,i), (k-)].
 الفيااليدات المنحنية، (m-o): فياليدات قارورية وقصيرة ثنائية التوزيع على الحامل، (p-q): التوزيع الثلاثي للفياليدات، (j): الرأس الكونيدي، (r-s):
 كونيدات كروية وشبه كروية خضراء اللون، (t): الابواغ الحرشفية البينية والطرفية الموقع. (scale bar 10 μm)

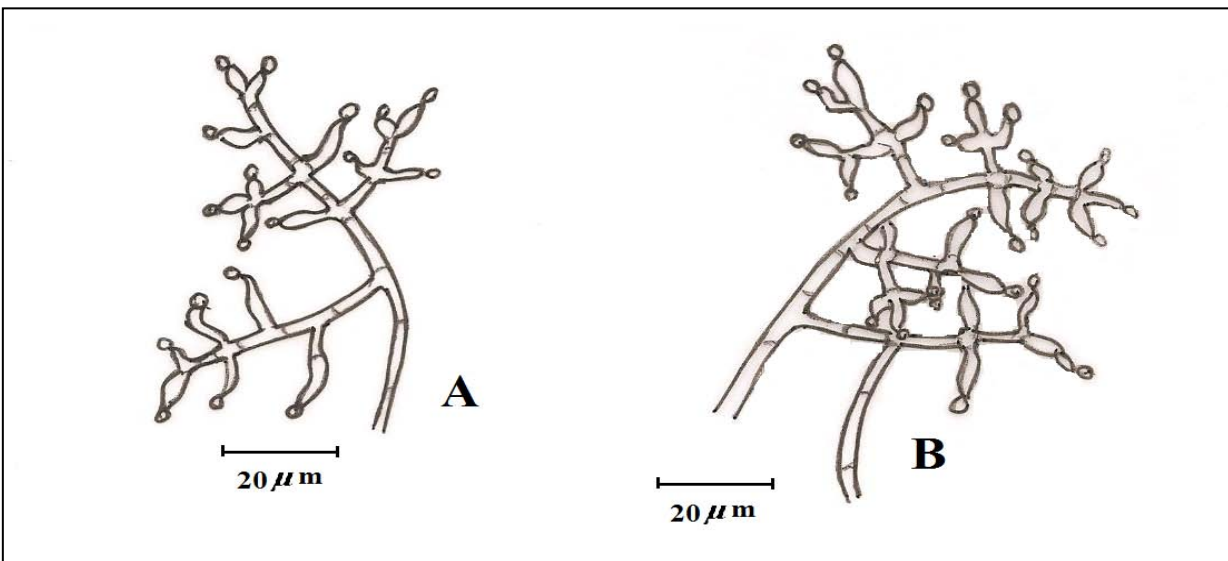
2- السلالة الثانية لجنس *T. atroviride* [لوحة (2)، شكل (4،5)]
من الناحية المظهرية تشبه في نموها السلالة الأولى الموصوفة سابقا في درجات حرارة (25° م و 20° م على الوسط (MEA) و (25° م على الوسط (PDA)



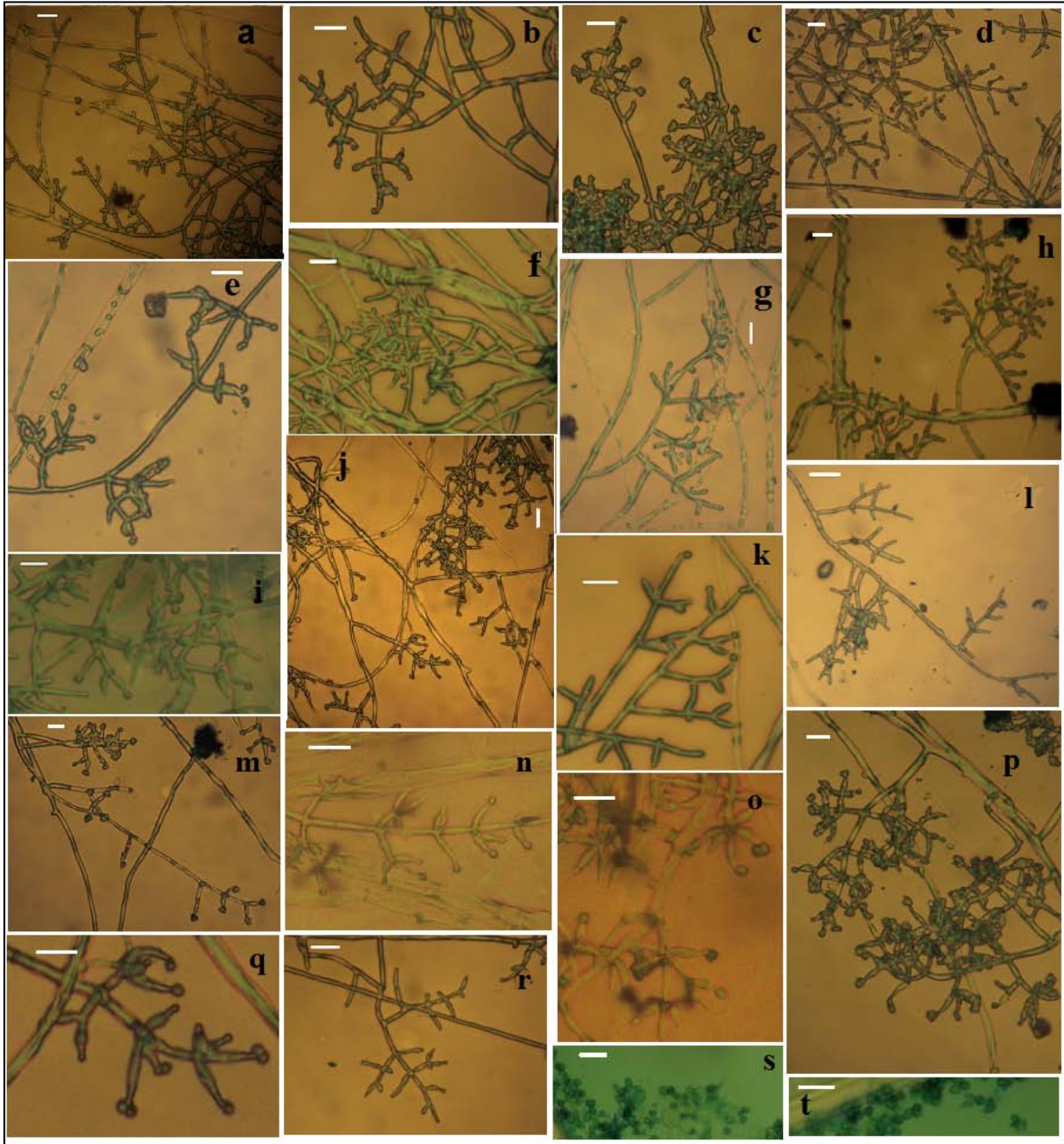
شكل (4) الأطباق الزرعية لفطر *T. atroviride* السلالة الثانية على الأوساط الزرعية (MEA و PDA)

أما الكونيدات فتكون بلون اخضر بيضوية وكروية الشكل ابعادها ما بين (2.0-3) x 2-3 مايكرون والابواغ الحرشفية تكون كروية الشكل طرفية الموقع ذات ابعاد 10-7 (-5.0) x (-6) -7-11 مايكرون .

وتكون الخيوط الفطرية مقسمة ورقيقة الجدار ذات ابعاد 4-5 مايكرون وتحتوي على حوامل كونيدية تشبه في ترتيبها وتفرعاتها السلالة السابقة وتكون الفيااليدات في السلالة الثانية مقارنة في قياساتها للسلالة السابقة إذ تتراوح ابعادها ما بين (5.0 -) -7 -10 x 2-3 مايكرون ويكون ترتيبها مماثل الى السلالة الاولى.



شكل (5) الفطر *T. atroviride* السلالة الثانية (A) يبين الشكل القاروري للفيااليدات وتوزيعها المتماثل على جانبي الحامل الكونيدي وتكوينها للكونيدات (B) يبين الحامل الكونيدي الرئيسي والحوامل الثانوية المنتظمة التوزيع على جانبية



لوحة (2) السلالة الثانية *T. atroviride*

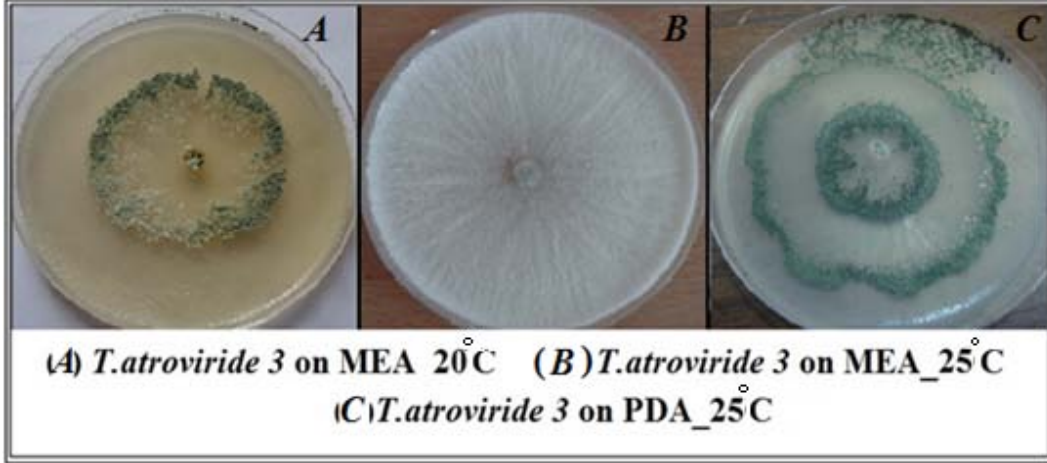
(a-d,j): الغزل الفطري المقسم والمتشعب والملتوي, (e,p): التوزيع المنتظم للحوامل الكونيدية على الحامل الرئيسي, (f-h): الحوامل الكونيدية محورية وهرمية التوزيع, (i): فياليديات ثلاثية التنظيم, (k-m): التوزيع الثنائي للفياليديات حول الحامل الكونيدي, (n): التركيب السواري الثلاثي للفياليديات, (o): التركيب السواري الرباعي والخماسي للفياليديات, (q): فياليديات منحنية, (r): توزيع الفياليديات على الحامل الكونيدي المماثل لتوزيع الحوامل الكونيدية على الخيط الفطري صورة a, (s-t): الكونيديات و الابواغ الحرشفية. (scale bar 10µm)

[لوحة (3)، شكل (6،7)]

الثالث من حضنها وتكون المستعمرات بلون اخضر غامق وتتمركز الكونيدات في وسط الطبق على شكل حلقات كما توجد الخيوط الفطرية الهوائية شكل (6).

3- السلالة الثالثة للنوع *T. atroviride*

لا تختلف في نموها عند درجة حرارة 25° م على الوسطين PDA,MEA عن السلالتين السابقتين الا ان نموها في 20° م على MEA اسرع من السلالتين السابقتين إذ يصل قطر المستعمرة الى 9 سم خلال اليوم



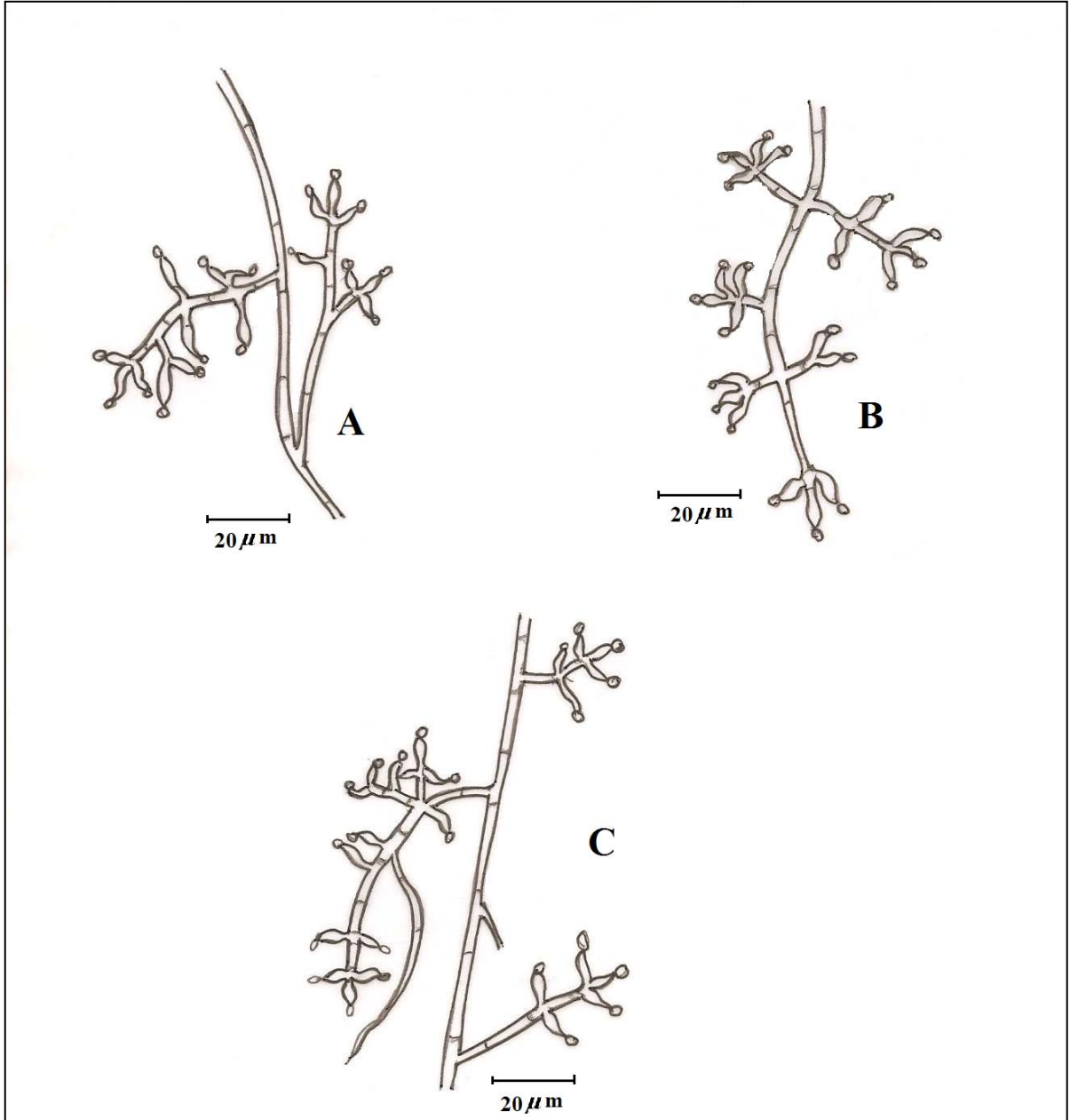
شكل (6) الاطباق الزرعية لفطر *T. atroviride* السلالة الثالثة على الأوساط الزرعية (MEA-PDA)

هذا النوع هو ان تفرعات الحامل الكونيدي مع الفيااليدات التي يحملها تكون منحنية نحو الاسفل.

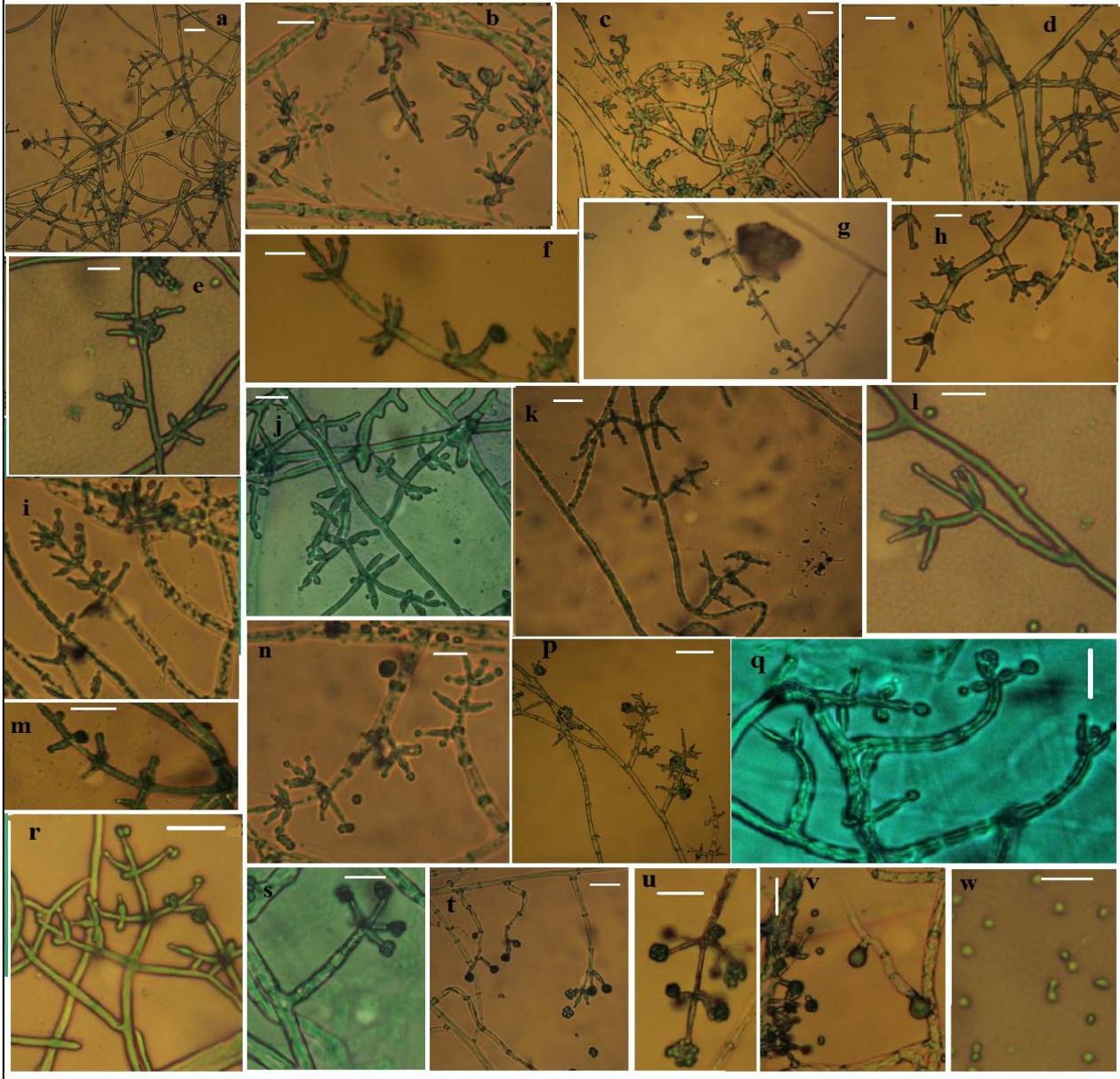
اما الفيااليدات التي تتراوح ابعادها ما بين 2-3 X 6-10 مايكرون فتكون قصيرة ومنقخة من الوسط اكثر من فيااليدات السلالات السابقة ويكون ترتيب الفيااليدات حول محور الحامل الكونيدي مماثل للسلالتين السابقتين وكذلك تنتهي الفيااليدات بكونيدة واحدة أو مجموعة كونيدات (رأس كونيدي).

وتصل ابعاد الكونيدات الى 2.5 - 4 X 2-3 مايكرون وهي خضراء اللون كروية الى اهليجية الشكل كما توجد الابواغ الحرشفية chlamydo spores ذات الموقع الطرفي وباشكال بيضوية وكروية وقد ترتبط بمنطقة تشبه المفصل التي تربطها بالخيوط الفطري وتصل ابعادها الى (-6) X 7-9 (-5) X 6-8 مايكرون .

وظهر المستعمرة غير ملون ورائحة الطبق تشبه رائحة الكاكاو والخيوط الفطري يصل قطره الى 5 مايكرون ويكون مقسم وملتف ويحمل الحوامل الكونيدية التي يصل قطرها الى 2-3 مايكرون وذات تفرعات منتظمة التوزيع على جانبي المحور الرئيسي للحامل وتكون تفرعات الحامل غير مزدحمة ويتفرع الحامل الكونيدي الرئيسي عند قمته الى تفرعات ثانوية متماثلة على جهتي الحامل أو تكون تفرعات احادية وتنتهي تفرعات الحامل بفيااليدة مفردة متطاولة. ان ما يميز هذه السلالة ضمن



شكل (7) الفطر *T. atroviride* السلالة الثالثة (A) تبين التوزيع المنتظم المتبادل للحوامل الكونيدية والفياليدات وتوزيعها المتماثل على جانبي الحامل الكونيدي (B) الترتيب السواري الثلاثي والرباعي للفياليدات (C) يبين الحوامل الكونيدية المنحنية.



لوحة (3) السلالة الثالثة *T. atroviride*

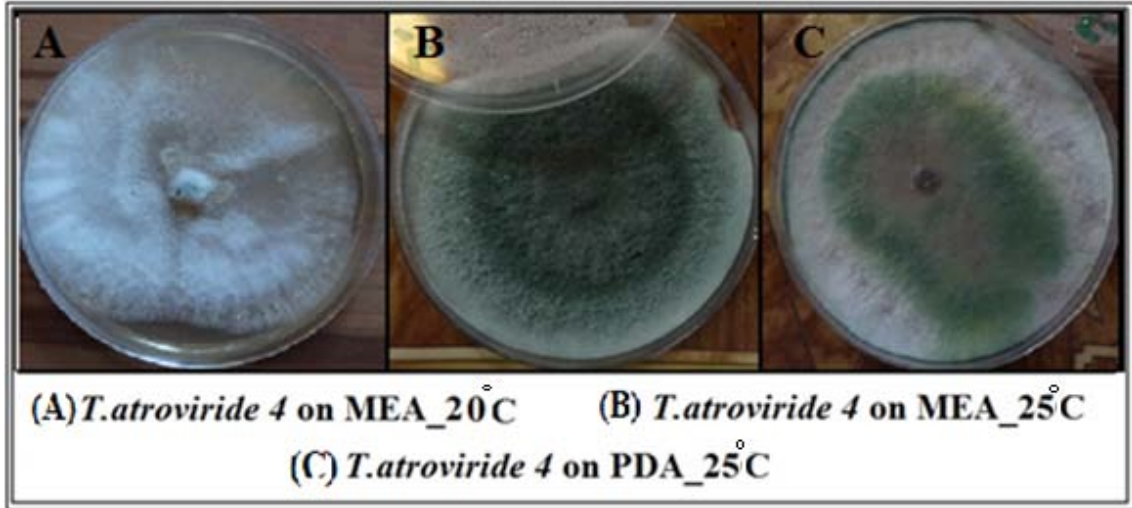
(a,b,c): الغزل الفطري مقسم وملتف, (d,h,t): التفرعات الثانوية للحوامل الثنائية المنتظمة (المتقابلة والمتجاورة) الترتيب, (g,p): تفرعات الحوامل الكونيدية غير المزدحمة (e,f): ترتيب الفياليدات بشكل احادي وسواري (3-4), (i): ترتيب الفياليدات السواري الخماسي, (n): تظهر كل انماط الترتيب للفياليدات الاحادي والسواري (2-5), (j,k,q): الحوامل الكونيدية المنحنية مع فياليداتها, (r): الترتيب الهرمي للحوامل الكونيدية الثانوية, (s,u): رؤوس كونيدية, (v,w): الابواغ الحرشفية والكونيدات. (scale bar 10µm)

[لوحة (4), شكل (8,9)]

4- السلالة الرابعة للنوع *T. atroviride*

باللون الاخضر الزيتوني ويملاً الفطر الطبقة خلال ثلاثة ايام, وبعد مرور حوالي اسبوع يكون شكل الطبقة كأنه قطعة واحدة بلون زيتوني غامق .
ولكنها بطيئة النمو على الوسط MEA إذ تشغل حوالي 8cm في درجة حرارة 20° م لمدة اربعة ايام والمستعمرة لونها ابيض مع وجود خيوط هوائية فطرية, شكل (8).

يكون نمو هذه السلالة سريعاً وتملا الطبقة خلال ثلاثة ايام 9cm في درجة حرارة 25° م على وسط PDA بشكل بلورات ابرية ذات لون اخضر فاتح أما على الوسط MEA بنفس درجة الحرارة ويكون نمو المستعمرة على شكل خصل غزيرة و تظهر الحلقات الكونيدية



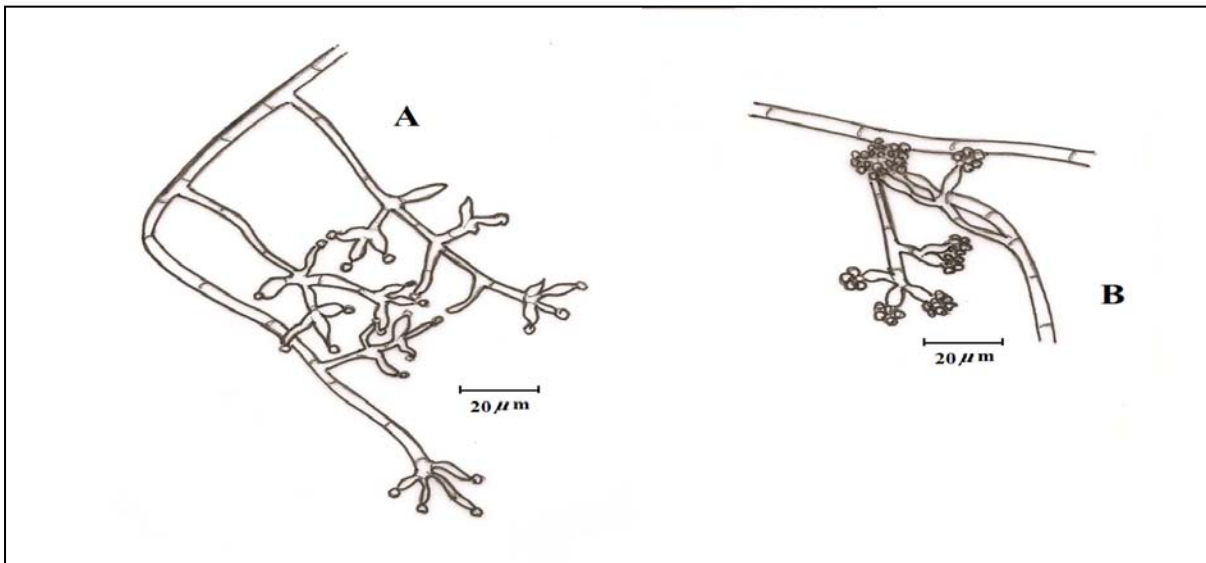
شكل(8) الاطباق الزرعية لفطر *T. atroviride* السلالة الرابعة على الاوساط الزرعية المختلفة

ايضاً عن سابقاتها بكونها اطول منها اذ تكون ابعادها ما بين 2-3 X 7-12 مايكرون.

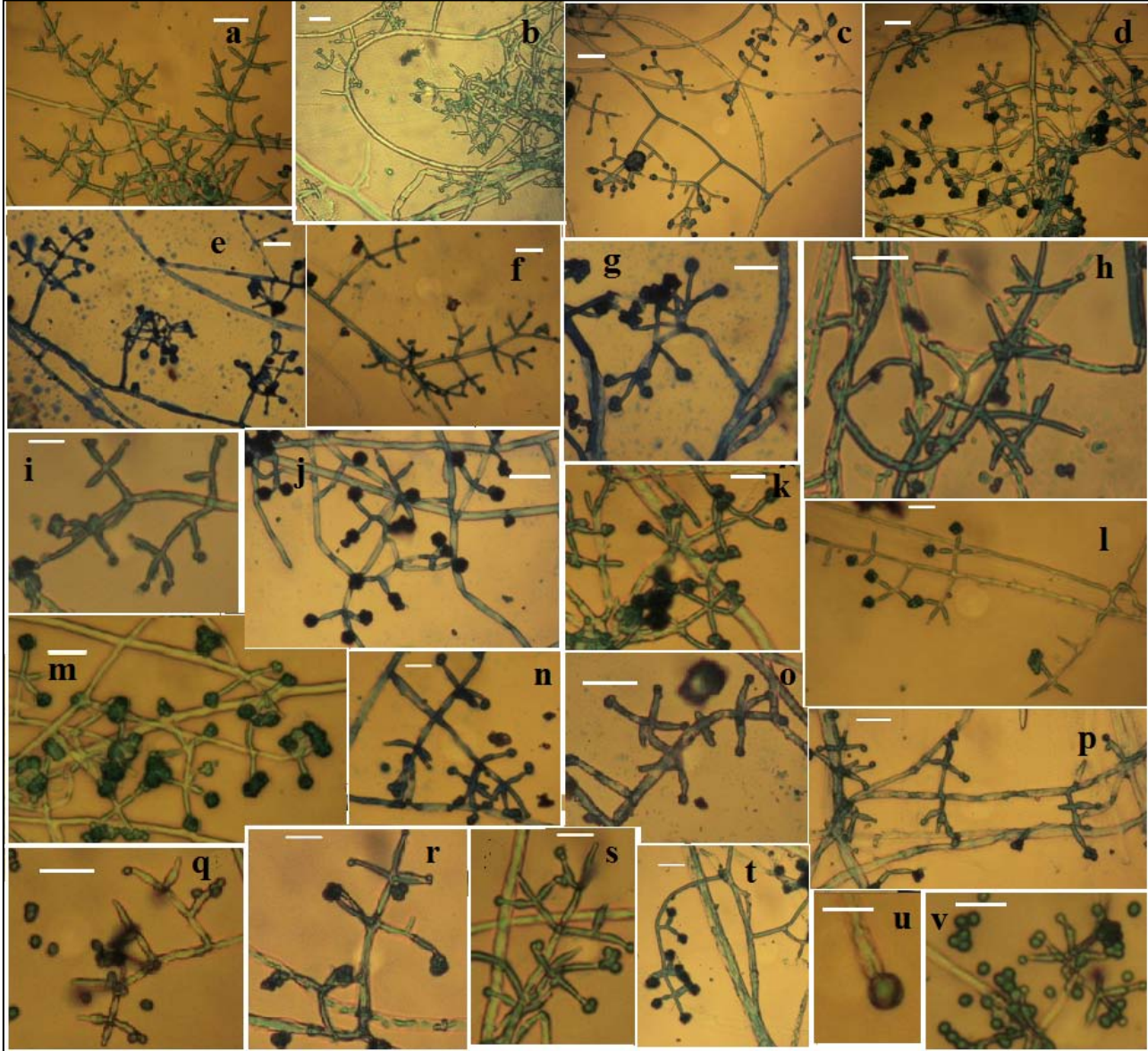
اما بالنسبة للكونيدات فتكون كروية الشكل خضراء اللون تتراوح قياساتها 3-4 X 2-3 مايكرون و الابواغ الحرشفية فانها تتكون بأعداد قليلة في هذه السلالة قياسا بالسلالات الاخرى وهي ذات شكل كروي بينية وطرفية الموقع تتراوح ابعادها ما بين (6 -) 6-8 X 7-10 مايكرون

ظهر المستعمرة عديم اللون ورائحة الطبق تشبه رائحة جوز الهند، والخيط الفطري رقيق الجدار اخضر اللون يصل قطره 5-6 مايكرون .

وما يميز هذه السلالة عن سابقاتها ان حواملها الكونيدية ذات تفرعات غير مزدحمة وقليلة قياسا بالسلالات السابقة اما ترتيب التفرعات مشابه لنمط التفرعات السابقة للسلالات الاخرى. ويتراوح قطر الحامل الكونيدي (-1) 2-4 مايكرون، والفياليدات تختلف



شكل (9) الفطر *T. atroviride* السلالة الرابعة (A) يبين الحوامل الكونيدية المنتظمة التوزيع وترتيب الفياليدات السواري وتوزيعها المنتظم على الحامل الكونيدي (B) تكوين الرؤوس الكونيدية .



لوحة (4) السلالة الرابعة *T. atroviride*

(b): غزل فطري ملتف. (a,d): التوزيع الهرمي للفرعات الثانوية للحوامل الكونيدية. (c,e): التوزيع الثنائي المتجاور للحوامل. (g,h,t): الحوامل المنحنية مع فياليداتها. (l,p): الفرعات الثانوية للحوامل غير المزدهمة. (n,m): ترتيب الفياليدات المماثل لترتيب تفرعات الحوامل في d, (i,o,q): ترتيب الفياليدات الاحادي والسواري (2-4). (k): ترتيب الفياليدات السواري الخماسي. (r): الرؤوس الكونيدية. (u): الابواغ الحرشفية الطرفية. (v): الكونيدات.

(scale bar 10µm)

جدول(1) قياسات سلالات الفطر *T. atroviride*

السلالة الرابعة	السلالة الثالثة	السلالة الثانية	السلالة الاولى	السلالة الفطر
<i>T. atroviride</i>				
الحامل الكونيدي				
(1) (4-2)	(3-2)	(3-2)	(3-2)	قطر الحامل
الفاليدات				
(12-7)	(10-6)	(10-7) (-5)	(12-) (10-5)	طول
(3-2)	(3-2)	(3-2)	(3-2) (-1.5)	عرض
الكونيدات				
(4-3)	(4-2.5)	(4-3) (-2)	(4-3) (-2)	طول
(5.-) (3-2)	(3-2)	(3-2)	(3-2)	عرض
الابواغ الحرشفية				
(10-7) (-6)	(9-7) (-6)	(12-) (10-7)	(8-6) (-5)	طول
(8-6)	(8-6) (-5)	(11-7) (-6)	(8 -) (7-5)	عرض

❖ وحدة القياس (مايكرون)

من الاسود خصوصا في المزارع القديمة لذلك اطلق عليها اسم atro والذي يعني باليونانية الاسود [24] . هذا النوع هو احد خمسة انواع من الجنس *Trichoderma* التي تمتلك كونيدات خضراء كروية الى شبه كروية وان الكونيدات الملساء smooth conidia تميزه عن *T. asperellum* و *T. viride* اذ يتميز النوعان الاخيران بوجود كونيدات مثألة warded conidia [14].

قام samules واخرون [4] بتصنيف هذا النوع تصنيفاً فسلجياً ووراثياً بالاضافة الى التصنيف بالطرائق التقليدية لتمييزه عن ما يشبهه من النوعين *T. harzianum* و *T. aggressivum* من حيث امتلاكه كونيديات اكبر حجماً و أنتاجه كميات أكبر من الأبواغ الحرشفية وبتأ نموه عند درجة حرارة 35م على وسط PDA قدرته على تكوين الروائح العطرية ولا يسبب التعفن الاخضر للعرهون التجاري.

النوع الموصوف *T. atroviride*

السلالة الأولى 2/7/2011 كربلاء

السلالة الثانية 28/9/2011 بصرة

السلالة الثالثة 8/10/2011 بصرة

السلالة الرابعة 8/10/2011 بصرة

ان هذا النوع بسلااته الأربعة يسجل لأول مرة في العراق في هذا البحث وقد تم الاحتفاظ بمزرعة حية من كل سلالة في مختبر أمراض نبات / كلية التربية - جامعة البصرة وسجلت في معشب IMI(International Mycological Institute) بالأرقام IMI 501472 للسلالة الأولى، IMI 501467 للسلالة الثانية، IMI 501466 للسلالة الثالثة، IMI 501762 للسلالة الرابعة. ما يميز هذا النوع وجود الفيااليدات المنحنية curved phialids نحو الاسفل وقد تطورت الحالة في السلالة الثالثة بوجود الحوامل الكونيدية مع فياليدات المنحنية نحو الاسفل وكذلك وجود المناطق الكونيدية الحاوية على الكونيدات والتي تكون باللون الغامق القريب

للأمراض عن طريق معاملة البذور النباتية بهذا النوع من الفطريات [26]. ويتفق وصف هذا النوع بكل عزلاته مع ما ذكر من وصف من قبل (1991a) [25] Bissett و Gams & Bissett [27].

وهناك بحوث ودراسات حديثة تناولت دراسة هذه الفطريات لأهميتها إذ درست الظروف المثلى لنمو هذه الفطريات من مغذيات و اوساط زراعية و الاس الهيدروجيني pH الملائم لها ودرجة حرارة نمو هذه الفطريات لاستخدامها في تحسين نمو النبات ومقاومته

References

- [1] Karsten PA. 1892. Finlands mögelsvamper (Hyphomycetes fennici). Helsinki. 192 p.
- [2] Rifai, M. A. (1969). A revision of the genus *Trichoderma*. Mycological, 116:1- 56 .
- [3] Bissett, J. (1992). *Trichoderma atroviride*. Can. J. Bot., 70:639–641.
- [4] Samuels, G. J.; Dodd, S. L.; Gams, W.; Castlebury, L. A.; and Petrini, O. (2002) *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. Mycologia, 94:146-170
- [5] Dodd, S., Lieckfeldt, E., and Samuels, G. J. 2003. *Hypocrea atroviridis* sp. nov.: The teleomorph of *Trichoderma atroviride*. Mycologia 95: 27-40.
- [6] Muthumeenakshi, S.; Brown, A.E. and Mills, P.R. (1998) Genetic comparison of the aggressive weed mould strains of *Trichoderma harzianum* from mushroom compost in North America and the British Isles. Mycol. Res. 102:385–390.
- [7] Seaby, D. (1998). *Trichoderma* as a weed mould or pathogen in mushroom cultivation. In: Harman, G.E. and Kubicek, C.P. eds. *Trichoderma and Gliocladium*. Vol. 2. Enzymes, biological control and commercial applications. London: Taylor & Francis p. 267–287.
- [8] Dodd, S.L, Crowhurst, R.N, Rodrigo, A.G, Samuels, G.J, Hill, R.A and Stewart, A. (2000). Examination of *Trichoderma* phylogenies derived from ribosomal DNA sequence data. Mycol Res 104:23–34.
- [9] Hermosa, M.R, Grondona, I.; Iturriaga, E.A, Diaz-Minguez, J.M Castro, C.Monte E. and Garcia- Acha, J.M. 2000. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. Appl Environ Microbiol 66:1898-1890.
- [10] Kullnig, C. M., Krupica, T., Woo, S. L., Mach, R. L., Rey, M., Lorito, M., and Kubicek, C. P. 2001. Confusion abounds over identities of *Trichoderma* biocontrol isolates. Mycol. Res. 105:770-771.
- [12] Lieckfeldt, E., Samuels, G. J., and Nirenberg, H. I. 1999. A morphological and molecular perspective of *Trichoderma viride*: Is it one or two species? Appl. Environ. Microbiol. 65:2418-2428.
- [13] Lieckfeldt, E., Kuhls, K., and Muthumeenakshi, M. 1998. Molecular taxonomy of *Trichoderma* and *Gliocladium* and their teleomorphs. Pages 35-56 in: *Trichoderma and Gliocladium*. Vol. 1. C. P. Kubicek and G. E. Harman, eds. Taylor & Francis, London.
- [14] Kuhls, K., Lieckfeldt, E., Samuels, G. J., Börner, T., Meyer, W., and Kubicek, C. P. 1997. Revision of *Trichoderma* sect. *Longi*. *brachiatum* including related

- teleomorphs based on analysis of ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Mycologia* 89:442-460
- [15] Holker, U.; Ludwig, S.; Scheelm, T. and Hofer, M. 1999. Mechanisms of coal solubilization by the deuteromycetes *Trichoderma atroviride* and *Fusarium oxysporum*. *Appl Microbiol Biotechnol* 52:57-59.
- [16] Hong, C.X, Michailides, T.J, Holtz, B.A. (1998). Effects of wounding, inoculum density, and biological control agents on postharvest brown rot of stone fruits. *Plant Dis* 82:1210-1216.
- [17] McBeath, J.H; Carpenter, E.; and Sun, M. (1995) Evaluation of *Trichoderma atroviride* in controlling *Rhizoctonia solani* of potato under potato field conditions in Montana *Phytopathology* 85 :1153. (Abstract)
- [18] Roberti, R.; Flori, P.; Pisi, A.; Brunelli, A.; and Cesari, A. (2000). Evaluation of biological seed treatment of wheat for control of seed-borne of *Fusarium culmorum*. *J Plant Dis. Prot* 107:484-493(18).
- [19] Mach, R.I ; Peterbauer, C.K ; Payer, K. ; Jaksits, S.; Woo, S.L. ; Zeilinger, S.; Kulling, C.M. ; Lorito, M. and Kubicek (1999). Expression of two major chitinase genes of *Trichoderma atroviride* (*T.harzianum* P1) is triggered by different regulatory signals. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:1858 - 1863.
- [20] Kulling, C.; Mach, R.L.; Lorito, M.; Kubicek, C.P. (2000). Enzyme diffusion from *Trichoderma atroviride* (*T. harzianum* P1) to *Rhizoctonia solani* is a prerequisite for triggering of *Trichoderma ech42* gene expression before mycoparasitic contact. *Appl Environ Microbiol* 66:2232-2234.
- [21] Keszler, A. ; Forgacs, E., Kotai, L., Vizcaino, J.A., Monte, E., and Garcia Acha I. (2000). Separation and identification of volatile components in the fermentation broth of *Trichoderma atroviride* by solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromat. Sci.* 38:421-424 .
- [22] Oh, S.U.; Lee, S.J.; Kim, J.H.; and Yoo, I.D. (2000). Structural elucidation of new antibiotic peptides A troviridins A, B, and c from *Trichoderma atroviride*. *Tetrahedron Lett* 41:61 -64
- [23] Scherm, B. (2008). Biodiversity of the genus *Trichoderma* and identification of marker genes involved in the antagonism between *Trichoderma* spp and plant pathogenic fungi Ph.D. Thesis Sassari University 113pp.
- [24] Bourguignon, E. (2008). Ecology and diversity of indigenous *Trichoderma* species in vegetable cropping systems Ph. D. Thesis Lincoln University 225.
- [25] Bissett, J. (1991a). A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J. Bot.*, 69: 2357-2372.
- [26] Longa, o. (2007). Fungal Biocontrol Agents: Identification And Fate of *Trichoderma atroviride* P. Karst. In *The Environment* Ph.D. Thesis Pavia University. 109pp.
- [27] Gams, W. and Bisset, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma* In: *Trichoderma and Gliocladium*, vol.1, Taylor and Francis Ltd London. 278 pp.
- [28] Samuels, G. J.; Lieckfeldt, E. and Nirenberg, H. I. (1999). *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription *T. viride*. *Sydowia*, 51:71-88.

Morphological study of a number of strains of the species *Trichoderma atroviride* P.Karst.

Israa Mal-Allah Handhal Kadhim Jasim Hammadi Ali Abod Sharif

Abstract

This study was conducted in the plant pathology laboratory /college of Education and in the date palm research center laboratories' /Basra University

cultural properties of these strains such as, colonies forms and colors on different media ,presence of pigment in the agar and measurement of diameter of colonies, as well as the morphological characters namely branches conidiophores, shapes and dimensions of phailids, conidia , besides Chlamydo spores.

slides cultures was photographed by photomicroscope and drawn by using camera Lucida to illustrate its morphological characterizations with exact scale bar.

A number of taxonomical keys were used for classification and identification of strains of this fungus.

Four strains of the species *T. atroviride* were recorded for the first time in Iraq. Classification of these strains has been confirmed by international mycological institute in Britain and it gave a number for each strain(IMI 501762,IMI 501466,IMI 501467,IMI 50 1472).

Key words: *T. atroviride* , stains of *T.atroviride* , morphology of *T .atroviride*