

ارزیابی خواص آنتاگونیستی و تنوع ژنتیکی جدایه های جهش یافته *Trichoderma harzianum*

* سکینه عباسی ایرانق، ناصر صفایی و مسعود شمس بخش

گروه بیماری شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس abbasi11368@gmail.com

قارچ تریکودرما از مهم ترین عوامل بیوکنترل و آنتاگونیست محسوب می شود و القای جهش تصادفی یکی از راه کارهای افزایش خواص آنتاگونیستی می باشد. در این پژوهش القای جهش توسط اشعه گاما با دز ۱۵۰ گری روی *Trichoderma harzianum* صورت گرفت و ۲۴ جدایه موتانت از یک جدایه مادری (تیپ وحشی) انتخاب شدند. جهت بررسی خاصیت آنتاگونیستی جدایه های جهش یافته نسبت به جدایه مادری، آزمون های کشت متقابل، متابولیت های فرار و عصاره های خارج سلولی تریکودرما علیه چهار قارچ بیمارگر خاکزی *Sclerotinia sclerotiorum* و *Fusarium graminearum* *Rhizoctonia solani* *Macrophomina phaseolina* در سه تکرار در قالب طرح کامل تصادفی انجام شد و جدایه های ۱۱، Th ۹، Th ۱، Th ۴ و Th ۲۲ بیشترین میزان بازدارندگی از رشد را نشان دادند و به عنوان جدایه های برتر برای آزمون های گلخانه ای انتخاب شدند. هم چنین تنوع ژنتیکی این جدایه ها با استفاده از RAPD بررسی شد و در آن جدایه Th ۹ از جدایه مادری و بقیه جدایه های جهش یافته متمایز شد.

کلمات کلیدی: تریکودرما، جهش و RAPD

مقدمه:

RAPD استرین برتر بیوکنترل T1 را در خاک های غیر استریل از دیگر استرین های *T. atroviride* تشخیص دادند. ساوازینی و همکاران (Savazzini et al., 2008) با استفاده از real time PCR به صورت اختصاصی استرین بیوکنترل SC1 *T. atroviride* را از دیگر جمعیت های تریکودرما در خاک غیر استریل شناسایی کردند. عباسی و همکاران (Abbasi et al., 1999) با استفاده از RAPD براساس الگوی انگشت نگاری توانستند استرین 382 *Trichoderma hamatum* در مخلوط های بدون خاک از دیگر گونه های تریکودرما تشخیص دهند.

استرین های با تولید بهبود یافته از نظر تولید آنزیم های خارج سلولی ممکن است در اثر یک دوره کوتاه مدت القا به عوامل بیوکنترل موثری تبدیل شوند. یکی از این ابزارهای بالقوه در بهبود استرین ها جهش (موتاسیون) است (Szekeres et al., 2004). در واقع جهش از روش های افزایش توانایی آنتاگونیسمی است. یکی از راه های القای جهش کاربرد امواج الکترومغناطیس می باشد

گونه های قارچ *Trichoderma* به طور وسیع در بیوکنترل به کارگرفته شده اند و با تولید اثرات مفید به صورت طبیعی باعث بقای محصولات کشاورزی می شوند. خاصیت آنتاگونیستی تریکودرما ناشی از میکوپارازیتسم (از طریق تولید آنزیم های تجزیه کننده دیواره سلولی، ایجاد حلقه و ساختارهای اپرسوریوم مانند) (Carsolio et al., 1999) و تولید متابولیت های ثانویه (آنتی بیوتیک های سمی مثل هارزینیک اسید *Trichoderma harzianum*) (Schirmbocket et al., 1994, Vinale et al., 2009) می باشد. هم چنین تریکودرما باعث تقویت رشد گیاه (Yedidia et al., 2001, Lindsey et al., 1967)، القای واکنش های دفاعی در گیاه و ایجاد مقاومت می شود (Yedidia et al., 2000). یکی از راه کارهای افزایش کارایی این عوامل بیوکنترل انتخاب استرین های برتر می باشد. کوردیر و همکاران (Cordier et al., 2007) با استفاده از SCAR (طراحی آغازگرهای الیگونوکلئوتیدی مبتنی بر PCR روی محصولات)

مواد و روش ها:

۱- کشت قارچ ها، پرتو تابی جدایه های *T.harzianum* با اشعه ی گاما و تعیین دز مناسب اشعه: سوسپانسیون رقیقی از اسپور جدایه 65 *T.harzianum* تهیه و با استفاده از میله ی شیشه ای سترون بر سطح محیط کشت آب - آگار پخش شد(در حدود ۱۰۰ اسپور). تشتک های حاوی اسپور بلافاصله در دستگاه گاماسل(با چشمه کبالت ۶۰ و اکتیویته ۲۵۰۰ کوری و نرخ دوز ۰/۳۸ گری در ثانیه) و در معرض تابش اشعه گاما با دز ۱۵۰ گری قرار گرفت. برای تعیین دز مناسب اشعه گاما ابتدا سوسپانسیونی از اسپور خالص قارچ حاوی ۱۰ اسپور در هر میلی لیتر تهیه و ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون مذکور با استفاده از میله شیشه ای بر سطح تشتک های پتری حاوی محیط کشت PDA پخش شد. تشتک های مذکور در معرض دز ۰ (شاهد)، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ گری قرار گرفتند. برای این منظور چهار تشتک برای هر دز منظور شد. عملیات پرتو تابی در پژوهشکده ی تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی (سازمان انرژی اتمی ایران) انجام گرفت. نمونه ها پس از پرتو تابی در دمای آزمایشگاه و در زیر هود قرار گرفتند.

۲- تهیه محیط کشت (PDB) **Potato dextrose broth** آبیگری بیوماس و استخراج DNA ژنومی:

میسلیوم ها برای استخراج DNA ژنومی از تلقیح میسلیوم ها از محیط کشت PDA روی PDB (ترکیب آن مثل PDA ولی فاقد آگار می باشد) حاصل می شود. این میسلیوم ها(پلاگ) به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سلسیوس روی شیکر (rpm ۱۲۵) قرار داده شد. پس از آبیگری بیوماس با قیف بوختر، استخراج DNA با استفاده از روش صفایی و همکاران صورت گرفت(صفایی و همکاران، ۱۳۸۴). پس از اتمام عملیات استخراج، کیفیت DNA استخراج شده به وسیله الکتروفورز و غلظت آن

که طی آن عوامل میکروارگانیسم در معرض تابش شدت های مشخصی از اشعه گاما، ایکس و یا UV قرار می گیرند. زو و همکاران (Zhou et al., 2008) از یک استرین جهش یافته جدید *Trichoderma viride* T100-14 ترکیب عمدتا سلولزی با فعالیت بالا شناسایی و خالص سازی کردند. فول و همکاران (Faull et al., 1994) تولیدآنتی بیوتیک هموتالین ۲ توسط جهش یافته های القا شده توسط UV از *Trichoderma harzianum* را گزارش کردند درحالی که استرین وحشی آن قادر به تولید آنتی بیوتیک ایزونیتیل نمی باشد. این آنتی بیوتیک دامنه فعالیت وسیعی علیه اومیست ها، آسکومیست ها، بازیدیومیست ها، باکتری های گرم مثبت و منفی دارد. ذکرس و همکاران (Szekeres et al., 2004) استفاده از جهش یافته های *Trichoderma harzianum* با توانایی تولید پروتئاز بیشتر و در نتیجه فعالیت بیوکنترل قوی علیه بیمارگر های قارچی گیاهی را پیشنهاد نموده اند. گرم و همکاران (Graeme-Cook and Faull, 1991) اثر جهش توسط UV را در تغییر میزان تولید آنتی بیوتیک *Trichoderma harzianum* روی بیمارگرهای *Rhizoctonia Fusarium, Pythium, solani* در شرایط درون شیشه ای بررسی کردند. میزان بازدارندگی از رشد این بیمارگر ها افزایش یافته که به نظر می رسد ناشی از بازداشتن کلونیزاسیون توسط آنتی بیوتیک افزایش یافته باشد. ری و همکاران (Rey et al., 2001) بررسی کردند ترشح آنزیم های کیتیناز و بتا ۱، ۳ و ۶ گلوکاناز در *Trichoderma harzianum* CECT2413 جهش یافته نسبت به تیپ وحشی و نیز مقدار رنگدانه زرد آلفا پیرون (موثر در آنتاگونیسم) ترشح شده افزایش یافته است. زالدیوار و همکاران (Zaldívar et al., 2001) بررسی کردند میزان ترشح سلولاز و بتاگلوکاناز(سلوبیاز) جهش یافته *Trichoderma aureoviride* نسبت به تیپ وحشی و هم چنین میزان رشد در محیط کشت جامد و مایع افزایش یافته است. در این تحقیق برای غربال استرین جهش یافته برتر از نظر آنتاگونیستی از نشانگر RAPD استفاده شد.

OPA-14	TCTGTGCTGG
--------	------------

۴- ارزیابی های درون شیشه ای جدایه های جهش یافته تریکودرما نسبت به تیپ وحشی علیه چهار قارچ بیمارگر خاکزی:

خصوصیات آنتاگونیستی جدایه های جهش یافته و تیپ وحشی تریکودرما علیه چهار بیمارگر خاکزاد شامل: *Macrophomina phaseolina* (جداسازی شده از نمونه های آلوده خربزه به بیماری پوسیدگی ذغالی از استان های خراسان، سمنان و اهواز به دلیل اهمیت در کشت خربزه)، *Rhizoctonia*، *Fusarium solani* و *Sclerotinia sclerotiorum* تعیین و درجه کاهش رشد آنها محاسبه شد. آزمون های مختلف در آزمایشگاه جهت غربال جدایه های جهش یافته برتاستفاده شد. شامل:

(۱) بررسی کشت متقابل جدایه های جهش یافته و وحشی تریکودرما علیه بیمارگر: کشت متقابل جدایه های تریکودرما علیه بیمارگر با استفاده از روش دنیس و وبستر (Dennis and Webster, ۱۹۷۱) صورت گرفت. پتری های با قطر ۹ سانتی متری حاوی محیط PDA با پلاگ های به قطر ۷ میلی متری از کشت سه روزه بیمارگر و تریکودرما تلقیح شده و در انکوباتور با دمای 27 ± 1 درجه سلسیوس قرار داده شد (به جز قارچ اسکروتینیا که در 23 درجه سلسیوس نگهداری شد). در پتری تیمار شاهد پلاگی از محیط PDA به جای پلاگ تریکودرما استفاده شد. میزان رشد شعاعی بیمارگر به فاصله 24.48 و 72 ساعت پس از کشت اندازه گیری شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی و در سه تکرار صورت گرفت.

(۲) بررسی اثر متابولیت های فرار جدایه های جهش یافته و وحشی تریکودرما در جلوگیری از رشد بیمارگر: ارزیابی با دارندگی از رشد جدایه های تریکودرما علیه بیمارگر به وسیله

توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مورد سنجش قرار گرفت و رقت لازم برای واکنش PCR تهیه شد.

۳- بررسی تنوع ژنتیکی جدایه های جهش یافته و تیپ وحشی با استفاده از RAPD-PCR:

بررسی تنوع ژنتیکی با به کارگیری آغازگرهای opa09, opa07, opa 018, opa 010, opa 03, opa 04, opa 02, opa 011, opa 016 و opa014 صورت گرفت که از بین آن ها opa 011, opa 016, opa 011, 010 و opa09 بهترین الگوی بانندی را نشان دادند. واکنش PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر شامل دو میکرولیتر بافر (PCR buffer ۱۰x)، $0.5 \mu\text{g}$ Taq Polymerase ($5 \text{ unit}/\mu\text{l}$)، 0.6 mM MgCl_2 ، 0.4 مخلوط نوکلئوتید ها و یک میکرولیتر آغازگر (همه اجزا ساخت شرکت sinacron) به همراه یک میکرولیتر (20 ng) DNA صورت گرفت. دمای واسرشته سازی اولیه سه دقیقه در 92 درجه سلسیوس، دمای واسرشته سازی یک دقیقه در 92 درجه، دمای اتصال 33 درجه سلسیوس و دمای گسترش اولیه 72 درجه به مدت دو دقیقه و دمای گسترش نهایی 72 درجه 5 دقیقه در دستگاه ترموسایکلر eppendorf (ساخت شرکت آلمان) صورت پذیرفت. محصولات PCR، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز (1.4%) جدا شده و با رنگ آمیزی توسط اتیدیوم بروماید (۱ میلی گرم در یک میلی لیتر)، الگوی باندهای ایجاد شده در بین جدایه های جهش یافته و مادری مقایسه و داده ها با استفاده از نرم افزار MVSP مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نام آغازگرها	توالی
OPA-09	GGGTAACGCC
OPA-10	GTGATCGCAG
OPA-11	CAATCGCCGT
OPA-16	AGCCAGCGAA

که در آن dc قطر کلونی شاهد و dt قطر کلونی در تیمار می باشد.

نتایج:

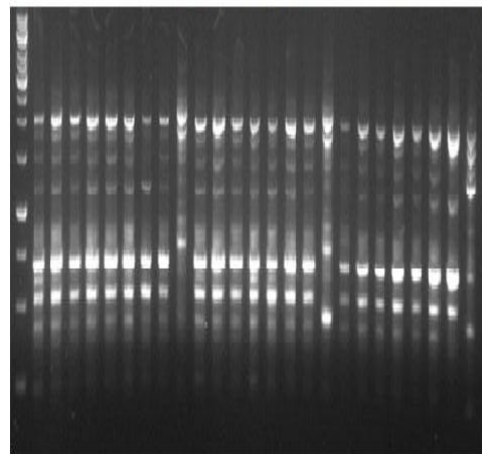
نتایج حاصل از پرتوتابی: با گذشت ۱۲ ساعت از پرتوتابی سه عدد اسپور جوانه زده مربوط به هر سطح دز مشخص گشته و با استفاده از سوزن به محیط PDA منتقل شد. با گذشت ۱۰ روز مقایسه رشد با اندازه گیری قطر کلونی ها انجام گرفت. علاوه بر این، درصد جوانه زنی اسپورها پس از گذشت ۱۸ ساعت ثبت شد. تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از نرم افزار MSTATC و در قالب طرح کامل تصادفی با شش تیمار و سه تکرار انجام پذیرفت و ۲۴ جدایه از یک جدایه مادری (تیپ وحشی) انتخاب شدند (اهری و همکاران، ۱۳۸۹).

نتایج حاصل از تنوع ژنتیکی: برای تجزیه و تحلیل داده ها، براساس وجود یا عدم وجود باند به ترتیب صفر و یک قرار داده شد و با استفاده از روش UPGMA و ضریب تشابه جاکارد (Jaccard's coefficient) تجزیه و تحلیل خوشه ای انجام شد. نتایج ناشی از تجزیه و تحلیل خوشه ای داده های حاصل از پنج آغازگر opa014, opa 010, opa 016, opa011, opa09 نشان داد بین جدایه های جهش یافته و تیپ وحشی تفاوت وجود دارد. جدایه های Th ۹ و Th ۱۷ در یک خوشه و بقیه جدایه ها در خوشه دیگر و با فاصله نزدیک نسبت به تیپ وحشی قرار گرفته اند. آغازگر opa 010، ۱۲ لوکوس، آغازگر opa011، ۱۷ لوکوس، آغازگر opa 016، ۱۳ لوکوس، آغازگر opa09، ۱۳ لوکوس و آغازگر opa014، ۱۲ لوکوس را شناسایی کرد.

تولید متابولیت های فرار با استفاده از روش دنیس و وبستر (Dennis and Webster, ۱۹۷۱a) صورت گرفت. در این روش پلاگ به قطر ۷ میلی متر تریکودرما در وسط پتری حاوی محیط PDA گذاشته شده و سر پتری محیط حاوی تریکودرما با کف پتری حاوی پلاگ سه روزه بیمارگر جایگزین شده و اطراف آن ها با نوار پارافیلیم بسته شده و در انکوباتور (در دمای 27 ± 1 درجه سلسیوس) قرار گرفت. پتری شاهد فاقد پلاگ تریکودرما در کف خود می باشد. میزان رشد شعاعی بیمارگر به فاصله ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از کشت اندازه گیری شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی و در سه تکرار صورت گرفت.

۳) بررسی اثر ترشحات مایع خارج سلولی جدایه های جهش یافته و تیپ وحشی تریکودرما در جلوگیری از رشد بیمارگر: اثر مواد غیر فرار تولید شده توسط تریکودرما توسط روش دنیس و وبستر (Dennis and Webster, ۱۹۷۱ a) ارزیابی شد. کشت سه روزه جدایه های تریکودرما در ۱۰۰ میلی لیتر محیط PDB فاقد آنتی بیوتیک تلقیح شدند. ارلن های حاوی محیط تلقیح شده با تریکودرما به مدت ۱۲ روز در شیکر انکوباتور با دمای 22 ± 1 درجه سلسیوس و دور ۷۰ دور در دقیقه نگهداری می شوند. محتویات ارلن ها پس از عبور از کاغذ صافی، از فیلترهای ۰.۲۲ میکرومتر عبور داده شد و عصاره های گرفته شده با محیط PDA (با دمای ۴۰ درجه سلسیوس) مخلوط شد تا غلظت نهایی به ۱۰ درصد (حجم/حجم) برسد پلاگ به قطر ۷ میلی متر از کشت سه روزه بیمارگر در وسط پتری قرار داده شد و میزان رشد شعاعی بیمارگر ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از کشت اندازه گیری شد. پلاگ تریکودرما در پتری شاهد فاقد عصاره کشت شد. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی و در سه تکرار صورت گرفت. در تمامی آزمون ها میزان باز داری از رشد بیمارگر توسط تریکودرما با استفاده از این فرمول محاسبه شد: $growth\ reduction\% = \frac{dc}{dt} * 100$

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 N



شکل ۱. الگوی باندهای opa010. چاهک های ۱ تا ۲۴ مربوط به جدایه های جهش یافته و چاهک ۲۵ مربوط به تیپ وحشی را نشان می دهد. N، کنترل منفی و M، ladder 1KB

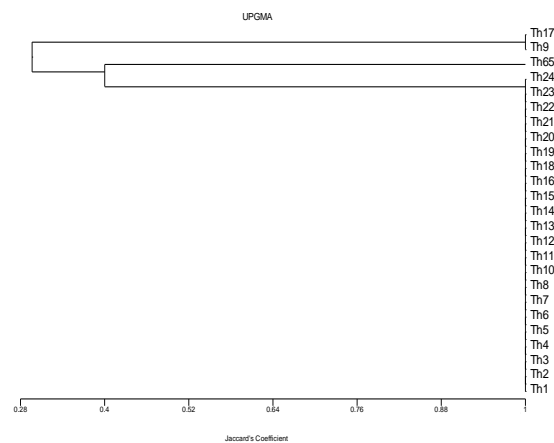
فوزاریوم صورت گرفت دز های ۱۲۰ تا ۱۸۰ گری باعث کاهش معنی داری در رشد قطر کلونی و کاهش بیماری زایی نسبت به شاهد و سایر دزها شد. در تحقیق صورت گرفته، دز ۱۵۰ گری اشعه گاما باعث به وجود آمدن جدایه های جهش یافته ای شده که تفاوت معنی داری از نظر آنتاگونیستی با تیپ وحشی نشان می دهند. استفاده از نشانگر مولکولی RAPD باعث شناسایی جدایه ۹ Th شد که با توجه به نتایج حاصل از آزمون های آنتاگونیستی جز جدایه های برتر محسوب می شود.

نتایج حاصل از آزمون های آنتاگونیستی:

آزمون های کشت متقابل، ترکیبات فرار تولید شده و عصاره های خارج سلولی تریکودرما علیه چهار قارچ بیمارگر ذکر شده جدایه های ۱۱ Th، ۹ Th، ۱ Th، ۴ Th و ۲۲ Th بیشترین میانگین بازدارندگی از رشد را داشتند. قارچ *S.sclerotiorum* از نظر رشد رویشی و هم چنین از نظر تشکیل اسکلت بیشترین میزان حساسیت را نشان داد. جدایه های فوق برای آزمون های گلخانه ای بیوکنترل انتخاب شدند.

بحث: در تحقیقاتی که توسط اهری و همکاران (اهری و

همکاران، ۱۳۸۹) به منظور به وجود آوردن جهش یافته های غیر بیماری زای فوزاریوم برای کنترل جدایه های بیماری زای



شکل ۲. دندروگرام تجزیه و تحلیل خوشه ای حاصل از تلفیق داده های پنج آغازگر با استفاده از روش UPGMA و ضریب تشابه Jaccard's coefficient

Abbasi, P.A., Miller, S.A., Meulia, T., Hoitink, H.a.J. and Kim, J.M. (1999). Precise

detection and tracing of *Trichoderma hamatum* 382 in compost-amended potting mixes by using molecular markers. *Applied and environmental microbiology*, **65**: 5421

Carsolio, C., Benhamou, N., Haran, S., Cortes, C., Gutierrez, A., Chet, I. and Herrera-Estrella, A. (1999). Role of the

Trichoderma harzianum endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. *Applied and environmental microbiology*, **65**: 929.

(T1) of *Trichoderma atroviride* and study its population dynamics in soils. *Journal of microbiological methods*, **68**: 60-68.

Dennis C, Webster J (1971b). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* 11. Production of volatile

منابع:

اهری مصطفوی، ح.، صفایی، ن.، فتح الهی، ه.، بابایی، م.، دری، ح و لک، م. (۱۳۸۹). شناسایی پاتولوژیکی و مولکولی جدایه های فوزاریوم سولانی اختصاصی لوبیا و تعیین آهنگ دز پرتوگاما مناسب برای القای جهش در آن. مجله علوم و فنون هسته ای، جلد ۵۱، شماره ۱ صفحات ۴۸-۵۱.

صفایی، ن.، علیزاده، ع.، سعیدی، ع.، رحیمیان، ح و آدم، گ. (۱۳۸۴). تشخیص مولکولی و بررسی تنوع ژنتیکی جمعیت ایرانی *Fusarium graminearum* عامل بلایت سنبله گندم. مجله بیماریهای گیاهی. جلد ۴۱: صفحه ۱۸۹-۱۷۱.

Cordier, C., Edel-Hermann, V., Martin-Laurent, F., Blal, B., Steinberg, C. and Alabouvette, C. (2007). SCAR-based real time PCR to identify a biocontrol strain

- Schirmbock, M., Lorito, M., Wang, Y.L., Hayes, C.K., Arisan-Atac, I., Scala, F., Harman, G.E. and Kubicek, C.P.** (1994). Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Applied and environmental microbiology*, **60**: 4364.
- Szekeres, A., Kredics, L., Antal, Z., Kevei, F. and Manczinger, L.** (2004). Isolation and characterization of protease overproducing mutants of *Trichoderma harzianum*. *FEMS Microbiology Letters*, **233**: 215-222.
- Yedidia, I., Benhamou, N., Kapulnik, Y. and Chet, I.** (2000). Induction and accumulation of PR proteins activity during early stages of root colonization by the mycoparasite *Trichoderma harzianum* strain T-203. *Plant Physiology and Biochemistry*, **38**: 863-873.
- Yedidia, I., Srivastva, A.K., Kapulnik, Y. and Chet, I.** (2001). Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and soil*, **235**: 235-242.
- Vinale, F., Ghisalberti, E., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A., Ferracane, R., Woo, S. and Lorito, M.** (2009). Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **57**: 41-48.
- Dennis C, Webster J.** (1971c). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* 11. Hyphal interactions. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **57**: 363-369.
- Dennis C, Webster J.** (1971a). Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* 1. Production of non-volatile antibiotics. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **57**: 25-39.
- Graeme-Cook, K. and Faull, J.** (1991). Effect of ultraviolet-induced mutants of *Trichoderma harzianum* with altered antibiotic production on selected pathogens *in vitro*. *Canadian journal of microbiology*, **37**: 659-664.
- Faull, J., Graeme-Cook, K. and Pilkington, B.** (1994). Production of an isonitrile antibiotic by an UV-induced mutant of *Trichoderma harzianum*. *Phytochemistry*, **36**: 1273-1276.
- Rey, M., Delgado-Jarana, J. and Benítez, T.** (2001). Improved antifungal activity of a mutant of *Trichoderma harzianum* CECT 2413 which produces more extracellular proteins. *Applied microbiology and biotechnology*, **55**: 604-608.
- Savazzini, F., Longa, C.M.O., Pertot, I. and Gessler, C.** (2008). Real-time PCR for detection and quantification of the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* strain SC1 in soil. *Journal of microbiological methods*, **73**: 185-194.

different plant pathogens. Letters in applied microbiology,**48**: 705-711.

Zaldívar, M., Velásquez, J.C., Contreras, I. and Pérez, L.M.(2001). *Trichoderma aureoviride* 7-121, a mutant with enhanced production of lytic enzymes: its potential use in waste cellulose degradation and/or biocontrol. Electronic Journal of Biotechnology,**4**: 13-14.

Zhou, J., Wang, Y.H., Chu, J., Zhuang, Y.P., Zhang, S.L. and Yin, P. (2008). Identification and purification of the main components of cellulases from a mutant strain of *Trichoderma viride* T 100-14. Bioresource technology,**99**: 6826-6833.

Surf and download all data from SID.ir: www.SID.ir

Translate via STRS.ir: www.STRS.ir

Follow our scientific posts via our Blog: www.sid.ir/blog

Use our educational service (Courses, Workshops, Videos and etc.) via Workshop: www.sid.ir/workshop