

**Department** : Genetics

**Field of study** : Genetics

**Scientific Degree** : Ph. D.

**Date of Conferment:** Apr. 18 , 2018

**Title of Thesis** : **ENHANCED PRODUCTION OF TRICHODERMA CELLULASES THROUGH RECONSTRUCTION OF CELLULASE GENES**

**Name of Applicant** : Mahmoud Shaker Mohammad Helwa

**Supervision Committee:**

- Dr. Kh. A. El-Halafawy: Prof. of Genetics, Genetic Engineering and Biotechnology Research Institute, University of Sadat City.
- Dr. Ragaa A. Eissa : prof. of Genetics, Fac. of Agric., Menoufia Univ.
- Dr. H. A. Hamza : Prof. of Genetics, Res. Institute, Univ. of Sadat City.
- Dr. A. I. Fahmi : prof. of Genetics, Fac. of Agric., Menoufia Univ.

---

**ABSTRACT:** *Trichoderma fungi produce economically important cellulases that comprise three key enzymes; endoglucanases, exoglucanases, and  $\beta$ -glucosidases. In this study, a total of 28 isolates from Nile Delta were analyzed. The objectives were: 1) species identification of isolates, 2) evaluation of strains' cellulases production in submerged (SmF) and solid state (SSF) fermentation systems, 3) improve strains' cellulases production by mutagenesis and 4) enhance production of strains' cellulases through protoplast fusion and genome shuffling. On the basis of morphological characterization and molecular identification by DNA sequences analysis of ITS region, isolates were identified to species level as strains. 11 strains were chosen because of their unique properties in cellulase screening tests and they were investigated for the production of cellulases in SmF and rice straw SSF cultures. According to detailed examinations of culture filtrates, four promising strains were selected and subjected to genetic improvement through mutagenesis. Nine produced mutants showed better cellulases production than their parents. Moreover, the protoplast fusion of the nine mutants produced stable fusants that showed a marked increase in cellulase production over their mutant parents and original wild-type parents. Finally, genome shuffling of *Trichoderma* cells produced strains were higher than their original wild-type parents in cellulase production.*

**Key words:** *Trichoderma cellulases, endoglucanases, exoglucanases,  $\beta$ -glucosidases.*

---

**السليوليز .**

اسم الباحث :	محمود شاكر محمد حلوة
الدرجة العلمية:	دكتور الفلسفة فى العلوم الزراعية
القسم العلمى :	الوراثة
تاريخ موافقة مجلس الكلية :	18 أبريل 2018
لجنة الإشراف:	أ.د/ خليل عبد الحميد الحقاوي
	أستاذ الوراثة - معهد الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية - جامعة مدينة السادات ونائب رئيس جامعة المنوفية للدراسات العليا والبحوث الأسبق
	أ.د/ رجاء عبد العزيز عيسى
	أستاذ الوراثة- قسم الوراثة - كلية الزراعة - جامعة المنوفية
	أ.د/ حنفي احمد حمزة
	أستاذ الوراثة - معهد الهندسة الوراثية والتكنولوجيا الحيوية - جامعة مدينة السادات
	أ.د/ عبد المجيد إبراهيم فهمي
	أستاذ الوراثة - قسم الوراثة - كلية الزراعة- جامعة المنوفية

---

**الملخص العربي**

تنتج فطريات التريكوودرما إنزيمات السليوليز ذات الأهمية الاقتصادية و التي تشتمل على ثلاث مجموعات إنزيمية هي **endoglucanases** و **exoglucanases** و **β-glucosidases**. تمت الدراسة على 28 عزلة تريكوودرما من دلنا النيل، وهدفت إلى: (1) تحديد أنواع العزلات. (2) تقييم إنتاج السليوليز من السلالات في أنظمة التخمر المغمورة (SMF) والصلبة (SSF). (3) تحسين إنتاج السليوليز من سلالات التريكوودرما عن طريق إستحداث الطفرات. (4) زيادة كفاءة السلالات في إنتاج إنزيمات السليوليز من خلال الدمج البروتوبلاستي والخلط الجينومي. تم تعريف العزلات على مستوى الأنواع، على أساس التوصيف المظهري والجزيئي عن طريق تحليل تواليات الـ DNA لمنطقة ITS. أختير 11 سلالة لها خصائص متميزة في اختبارات القدرة السليوليزية وأختبرت لإنتاج السليوليز في بيئات SMF وSSF لنقش الأرز المعالج. وفقاً للاختبارات التفصيلية للراشح الناتج من التخمر تم اختيار أربع سلالات واعدة ليتم تحسينها وراثياً باستخدام الطفرات. أظهرت تسعة طفرات منتخبة نتائج أعلى في إنتاج إنزيمات السليوليز عن آباءها البرية. أنتج الدمج البروتوبلاستي للطفرات التسعة سلالات ثابتة وراثياً، وأظهرت زيادة ملحوظة في إنتاج السليوليز عن آباءهم من الطفرات وآباءهم البرية. وأخيراً أنتجت عملية الخلط الجينومي لخلايا التريكوودرما سلالات أعلى في إنتاج السليوليز من الآباء البرية.