

# 以生物反應器進行木黴菌孢子生產最適化條件之探討

王志玄、謝建元

E-mail: 9302083@mail.dyu.edu.tw

## 摘要

木黴菌(*Trichoderma virens* Tv-R42)能夠防治土壤傳播性病害、促進植株生長，並且能夠誘導作物產生抗性，所以被視為極具開發潛力的微生物製劑。本研究以回應曲面法進行木黴菌之液態與固態發酵，分別探討其最適培養基與最佳產量。另外，為了縮短固態發酵時間以二階段發酵進行探討。液態發酵於搖瓶中進行，經回應曲面試驗所得之最適培養基組成為33.39% 酒槽水、0.91% 葡萄糖、0.73% 硫酸銨及pH值為5.55，厚膜孢子產量為 $2.03 \times 10^7$  chlamydo spores/mL。將最適培養基以2L液態發酵槽進行培養，可得到厚膜孢子產量為 $2.38 \times 10^7$  chlamydo spores /mL。固態發酵於太空包中進行培養，經回應曲面試驗後，可得到最適培養基為1.23% 米糠、0.23% 大豆粉、1.04% C.S.P及0.52% 蔗渣，分生孢子產量為 $2.47 \times 10^9$  conidia/g-substrate dry weight。將最適培養基以1L固態發酵槽進行培養，可得到分生孢子產量為 $2.96 \times 10^9$  conidia/g-substrate dry weight，以22L固態發酵槽進行培養，分生孢子產量為 $1.54 \times 10^9$  conidia/g-substrate dry weight。二階段發酵是以液態發酵作為第一階段培養，將液態發酵之菌體導入固態進行第二階段培養，實驗顯示以液態培養一天之菌體，接菌量為 $1.91 \times 10^{-3}$  % (w/w) 之產量最佳，分生孢子產量為 $2.60 \times 10^9$  conidia/g-dry weight。

關鍵詞：木黴菌、厚膜孢子、分生孢子、二階段發酵

## 目錄

第一章 緒論 .....	1	第二章 文獻回顧 .....	3	2.1 生物防治背景 .....	3	2.1.1 生物防治背景 .....	3
.....	3	2.2 木黴菌之分類 .....	4	2.2 木黴菌之分類 .....	4	2.2.1 木黴菌之分類 .....	4
.....	3	2.3 木黴菌之型態、生存條件及特性 .....	4	2.3 木黴菌之型態、生存條件及特性 .....	4	2.3.1 木黴菌之型態、生存條件及特性 .....	4
.....	3	2.4 木黴菌對病原菌之防治機制 .....	6	2.4 木黴菌對病原菌之防治機制 .....	6	2.4.1 木黴菌對病原菌之防治機制 .....	6
.....	3	2.5 適用範圍與應用 .....	8	2.5 適用範圍與應用 .....	8	2.5.1 適用範圍與應用 .....	8
.....	3	2.6 固態發酵 .....	10	2.6 固態發酵 .....	10	2.6.1 固態發酵 .....	10
.....	3	2.7 回應曲面法 .....	12	2.7 回應曲面法 .....	12	2.7.1 回應曲面法之原理 .....	13
.....	3	2.7.1 回應曲面法之原理 .....	13	2.7.1 回應曲面法之原理 .....	13	2.7.1.1 回應曲面法之原理 .....	13
.....	3	2.7.2 二水準因子設計 .....	14	2.7.2 二水準因子設計 .....	14	2.7.2.1 二水準因子設計 .....	14
.....	3	2.7.3 陡升路徑法 .....	15	2.7.3 陡升路徑法 .....	15	2.7.3.1 陡升路徑法 .....	15
.....	3	2.7.4 中心混成設計 .....	16	2.7.4 中心混成設計 .....	16	2.7.4.1 中心混成設計 .....	16
.....	3	2.7.5 回應曲面模式適切性之統計檢驗 .....	16	2.7.5 回應曲面模式適切性之統計檢驗 .....	16	2.7.5.1 回應曲面模式適切性之統計檢驗 .....	16
.....	3	第三章 材料與方法 .....	18	第三章 材料與方法 .....	18	3.1 儀器與設備 .....	18
.....	3	3.1 儀器與設備 .....	18	3.1 儀器與設備 .....	18	3.1.1 儀器與設備 .....	18
.....	3	3.2 試驗培養基 .....	18	3.2 試驗培養基 .....	18	3.2.1 試驗培養基 .....	18
.....	3	3.3 實驗方法 .....	20	3.3 實驗方法 .....	20	3.3.1 菌種與菌源之製備 .....	20
.....	3	3.3.1 菌種與菌源之製備 .....	20	3.3.1 菌種與菌源之製備 .....	20	3.3.1.1 菌種與菌源之製備 .....	20
.....	3	3.3.2 斜面培養 .....	20	3.3.2 斜面培養 .....	20	3.3.2.1 斜面培養 .....	20
.....	3	3.3.3 太空包之製備 .....	20	3.3.3 太空包之製備 .....	20	3.3.3.1 太空包之製備 .....	20
.....	3	3.4 分析方法 .....	21	3.4 分析方法 .....	21	3.4.1 分生孢子產量計算方法 .....	21
.....	3	3.4.1 分生孢子產量計算方法 .....	21	3.4.1 分生孢子產量計算方法 .....	21	3.4.1.1 分生孢子產量計算方法 .....	21
.....	3	3.4.2 厚膜孢子產量計算方法 .....	21	3.4.2 厚膜孢子產量計算方法 .....	21	3.4.2.1 厚膜孢子產量計算方法 .....	21
.....	3	3.4.3 菌體重量之測量方式 .....	22	3.4.3 菌體重量之測量方式 .....	22	3.4.3.1 菌體重量之測量方式 .....	22
.....	3	3.4.4 培養基質含水率之測定 .....	22	3.4.4 培養基質含水率之測定 .....	22	3.4.4.1 培養基質含水率之測定 .....	22
.....	3	3.4.5 發芽率之測定 .....	22	3.4.5 發芽率之測定 .....	22	3.4.5.1 發芽率之測定 .....	22
.....	3	3.5 液態發酵最適化條件之探討 .....	23	3.5 液態發酵最適化條件之探討 .....	23	3.5.1 回應曲面法 .....	23
.....	3	3.5.1 回應曲面法 .....	23	3.5.1 回應曲面法 .....	23	3.5.1.1 回應曲面法 .....	23
.....	3	3.5.2 部分因子試驗 .....	23	3.5.2 部分因子試驗 .....	23	3.5.2.1 部分因子試驗 .....	23
.....	3	3.5.3 陡升路徑試驗 .....	23	3.5.3 陡升路徑試驗 .....	23	3.5.3.1 陡升路徑試驗 .....	23
.....	3	3.5.4 中心混成設計實驗 .....	26	3.5.4 中心混成設計實驗 .....	26	3.5.4.1 中心混成設計實驗 .....	26
.....	3	3.5.5 固態發酵最適化條件之探討 .....	26	3.5.5 固態發酵最適化條件之探討 .....	26	3.5.5.1 固態發酵最適化條件之探討 .....	26
.....	3	3.6.1 回應曲面法 .....	30	3.6.1 回應曲面法 .....	30	3.6.1.1 回應曲面法 .....	30
.....	3	3.6.2 因子範圍之搜尋 .....	30	3.6.2 因子範圍之搜尋 .....	30	3.6.2.1 因子範圍之搜尋 .....	30
.....	3	3.6.3 部分因子試驗 .....	30	3.6.3 部分因子試驗 .....	30	3.6.3.1 部分因子試驗 .....	30
.....	3	3.6.4 陡升路徑試驗 .....	31	3.6.4 陡升路徑試驗 .....	31	3.6.4.1 陡升路徑試驗 .....	31
.....	3	3.6.5 中心混成設計實驗 .....	31	3.6.5 中心混成設計實驗 .....	31	3.6.5.1 中心混成設計實驗 .....	31
.....	3	3.7 二階段發酵對分生孢子產量之影響 .....	35	3.7 二階段發酵對分生孢子產量之影響 .....	35	3.7.1 液態培養 .....	35
.....	3	3.7.1 液態培養 .....	35	3.7.1 液態培養 .....	35	3.7.1.1 液態培養 .....	35
.....	3	3.7.2 固態培養 .....	35	3.7.2 固態培養 .....	35	3.7.2.1 固態培養 .....	35
.....	3	第四章 結果與討論 .....	39	第四章 結果與討論 .....	39	4.1 液態發酵最適化條件之探討 .....	39
.....	3	4.1 液態發酵最適化條件之探討 .....	39	4.1 液態發酵最適化條件之探討 .....	39	4.1.1 部分因子實驗 .....	39
.....	3	4.1.1 部分因子實驗 .....	39	4.1.1 部分因子實驗 .....	39	4.1.1.1 部分因子實驗 .....	39
.....	3	4.1.2 陡升路徑實驗 .....	39	4.1.2 陡升路徑實驗 .....	39	4.1.2.1 陡升路徑實驗 .....	39
.....	3	4.1.3 中心混成實驗 .....	41	4.1.3 中心混成實驗 .....	41	4.1.3.1 中心混成實驗 .....	41
.....	3	4.1.4 回應曲面模式適切性之統計檢驗 .....	43	4.1.4 回應曲面模式適切性之統計檢驗 .....	43	4.1.4.1 回應曲面模式適切性之統計檢驗 .....	43
.....	3	4.2 固態發酵最適化條件之探討 .....	52	4.2 固態發酵最適化條件之探討 .....	52	4.2.1 因子範圍之搜尋 .....	52
.....	3	4.2.1 因子範圍之搜尋 .....	52	4.2.1 因子範圍之搜尋 .....	52	4.2.1.1 因子範圍之搜尋 .....	52
.....	3	4.2.2 部分因子實驗 .....	52	4.2.2 部分因子實驗 .....	52	4.2.2.1 部分因子實驗 .....	52
.....	3	4.2.3 陡升路徑實驗 .....	54	4.2.3 陡升路徑實驗 .....	54	4.2.3.1 陡升路徑實驗 .....	54
.....	3	4.2.4 中心混成實驗 .....	54	4.2.4 中心混成實驗 .....	54	4.2.4.1 中心混成實驗 .....	54
.....	3	4.2.5 回應曲面模式適切性之統計檢驗 .....	57	4.2.5 回應曲面模式適切性之統計檢驗 .....	57	4.2.5.1 回應曲面模式適切性之統計檢驗 .....	57
.....	3	4.3 二階段發酵 .....	65	4.3 二階段發酵 .....	65	4.3.1 液態培養 .....	65
.....	3	4.3.1 液態培養 .....	65	4.3.1 液態培養 .....	65	4.3.1.1 液態培養 .....	65
.....	3	4.3.2 固態培養 .....	68	4.3.2 固態培養 .....	68	4.3.2.1 固態培養 .....	68
.....	3	第五章 結論 .....	74	第五章 結論 .....	74	5.1 結論 .....	74
.....	3	5.1 結論 .....	74	5.1 結論 .....	74	5.1.1 結論 .....	74
.....	3	參考文獻 .....	76	參考文獻 .....	76	6.1 參考文獻 .....	76
.....	3	附錄 .....	84	附錄 .....	84	6.2 附錄 .....	84
.....	3	圖目錄 .....	45	圖目錄 .....	45	6.3 圖目錄 .....	45
.....	3	圖4-1 酒槽水與pH值對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	45	圖4-1 酒槽水與pH值對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	45	6.4 圖4-1 酒槽水與pH值對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	45
.....	3	圖4-2 酒槽水與葡萄糖對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	46	圖4-2 酒槽水與葡萄糖對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	46	6.5 圖4-2 酒槽水與葡萄糖對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	46
.....	3	圖4-3 酒槽水與硫酸銨對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	47	圖4-3 酒槽水與硫酸銨對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	47	6.6 圖4-3 酒槽水與硫酸銨對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	47
.....	3	圖4-4 pH值與葡萄糖對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	48	圖4-4 pH值與葡萄糖對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	48	6.7 圖4-4 pH值與葡萄糖對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	48
.....	3	圖4-5 pH值與硫酸銨對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	49	圖4-5 pH值與硫酸銨對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	49	6.8 圖4-5 pH值與硫酸銨對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	49
.....	3	圖4-6 葡萄糖與硫酸銨對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	50	圖4-6 葡萄糖與硫酸銨對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	50	6.9 圖4-6 葡萄糖與硫酸銨對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	50
.....	3	圖4-7 米糠與大豆粉對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	59	圖4-7 米糠與大豆粉對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	59	6.10 圖4-7 米糠與大豆粉對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	59
.....	3	圖4-8 米糠與C.S.P對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	60	圖4-8 米糠與C.S.P對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	60	6.11 圖4-8 米糠與C.S.P對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	60
.....	3	圖4-9 米糠與蔗渣對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	61	圖4-9 米糠與蔗渣對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	61	6.12 圖4-9 米糠與蔗渣對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	61
.....	3	圖4-10 大豆粉與C.S.P對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	62	圖4-10 大豆粉與C.S.P對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	62	6.13 圖4-10 大豆粉與C.S.P對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	62
.....	3	圖4-11 大豆粉與蔗渣對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	63	圖4-11 大豆粉與蔗渣對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	63	6.14 圖4-11 大豆粉與蔗渣對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	63
.....	3	圖4-12 C.S.P與蔗渣對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	64	圖4-12 C.S.P與蔗渣對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	64	6.15 圖4-12 C.S.P與蔗渣對木黴菌孢子產量之回應曲面圖 .....	64
.....	3	圖4-13 瓶塞在搖瓶培養中對pH值之時間曲線 .....	64	圖4-13 瓶塞在搖瓶培養中對pH值之時間曲線 .....	64	6.16 圖4-13 瓶塞在搖瓶培養中對pH值之時間曲線 .....	64

69 圖4-14 瓶塞在搖瓶培養中對菌重生長之時間曲線 70 圖4-15 二階段發酵菌絲種菌培養時間對分生孢子產量之影響 72 圖4-16 菌絲接種量對分生孢子產量之影響 73 表目錄 表3-1 26-2 部分因子實驗設計 24 表3-2 26-2 部分因子設計中各自變數的水準與相對濃度 25 表3-3 陡升路徑實驗設計 27 表3-4中心混成實驗設計 28 表3-5中心混成設計中各自變數的水準與相對濃度 29 表3-6 25-1 部分因子實驗設計 32 表3-7 25-1 部分因子設計中各自變數的水準與相對濃度 33 表3-8 陡升路徑實驗設計 34 表3-9 中心混成實驗設計 36 表3-10 中心混成設計中各自變數的水準與相對濃度 37 表4-1 26-2 部分因子設計及實驗結果 40 表4-2 根據26-2部分因子設計實驗結果所進行之陡升路徑 42 表4-3 中心混成設計及其實驗結果 44 表4-4 中心混成設計回應值之變異數分析 51 表4-5 因子範圍之搜尋 53 表4-6 25-1 部分因子設計及實驗結果 55 表4-7 根據25-1部分因子設計實驗結果所進行之陡升路徑 56 表4-8 中心混成設計及實驗結果 58 表4-9 中心混成設計回應曲面之變異數分析 66 表4-10 實際實驗數據與回應模式所預估的預測值比較 67

## 參考文獻

1. 巫永裕 (2001), 利用酒槽水進行木黴菌厚膜孢子之液態發酵, 大業大學食品工程研究所碩士論文。
2. 李易芳 (1989), 木黴菌屬(*Trichoderma* spp.)原生質體的製備及再生, 國立中興大學植物學研究所碩士論文。
3. 林芳源 (1993), 生物防治菌哈氏木黴菌之轉型系統。國立中興大學植物學研究所碩士論文。
4. 謝建元、高穗生 (2002), 生物性農藥固態發酵量產開發, 化工技術, 10(4), 166-175。
5. 羅朝村 (1996), 生物防治在作物病害管理上的應用, 台灣省農業試驗所特刊, 57, 141-150。
6. Aziz, N. H., El-Fouly, M. Z., El-Essawy, A. A., and Khalaf, M. A. (1997) Influence of bean seedling root exudates on the rhizosphere colonization by *Trichoderma lignorum* for the control of *Rhizoctonia solani*. *Botanical Bulletin*, 38, 33-39.
7. Ahmad, J. S., and Baker, R. A. (1988) Fungi-agents of biological control. In: Mukeri, K. G., and Garg, K. L. (eds.) *Biocontrol of Plant disease Vol 1*. CRC Press, Boca Raton, 211, pp. 8.
8. Altomare, C., Norvell, W. A., Bjoerkman, T., and Harman, G. E. (1999) Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 2926- 2933.
9. Baker, K. F., and Cook, R. F. (1974) *Biological Control of Plant Pathogens*. W. H. Freeman Co., San Francisco, 433, pp. 10.
10. Baker, K. F. (1987) Evolving concepts of biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 25, 67-85.
11. Bjorkman, T., Blanchard, L. M., and Harman, G. E. (1998) Growth enhancement of shrunken-2 (sh2) sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22:effect of environmental stress. *Journal of the American Society for Horticulture Science*, 123, 35-40.
12. Caldwell, R. (1963) Observation on the fungal flora of decomposing beech litter in soil. *Transactions of the British Mycological Society*, 46, 249-261.
13. Chang, Y. C., Y. Chang, R. Baker, O. Kleifeld, and I. Chet. (1986) Increased growth of plant induced by the biological control agent, *Trichoderma harzianum*. *Plant Disease*, 70, 45-148.
14. Dennis, C. and J. Webster. (1971) Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57, 25-39.
15. Danielson, R. M., and C.B. Davey. (1973) Carbon and nutrition of *Trichoderma*. *Soil Biology and Biochemistry*, 5, 506-515.
16. De Meyer, G., Bigirimana, J., Elad, Y., and Hoefte, M. (1998) Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinerea*. *European Journal Plant Pathology*, 104, 279-286.
17. Elad, Y., Chet, I., and Katan, J. (1980) *Trichoderma Harzianum*: abiocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*, 70, 119-121.
18. Eveleigh, D.E. (1985) *Trichoderma*. In: *Biology of Industrial Microorganisms* (Demin, A. L and N.A.Solomon eds.), 459- 87, pp. 19.
19. Elad, Y. (2000) Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Prot.* 19:709-714. (1988). Implications of rhizosphere competence of *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal of Microbiology*, 34, 229-234.
20. Farrow, W. M. (1954) *Tropical soil fungi*. *Mycologia*, 46, 632-645.
21. Garrett, S. D. (1965) *Towards Biological Control of Soil-borne Plant Pathogens*. University of California Press, Berkeley, 571, pp. 22.
22. Harris, G. M. (1982). Protoplasts from *Gibberella fujikuroi*. *Phytopathology*, 72, 1403-1407.
23. Hou, H. H., and S. C. Jong. (1985). Protoplast formation from mycelia of *Penicillium digitatum* by cell wall-lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. *Journal Fermentation Technology*, 63, 189-192.
24. Hubbard, D. W., Harris, L. R. and Wierenga, M. K. (1988) Scale up for polysaccharide fermentation. *Chemical Engineering Progress*, 8, 55-61.
25. Harman, G. E., Latorre, B., Agosin, E., San Martin, R., Riegel, D. G., Nielsen, P. A., Tronsmo, A., and Pearson, R. C. (1996) Biological and integrated control of *Botrytis bunch rot* of grape using *Trichoderma* spp. *Biological Control*, 7, 259-266.
26. Howell, C. R., Hanson, L. E., Stipanovic, R. D., and Puckhaber, L. S. (2000) Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. *Phytopathology*, 90, 248-252.
27. Lifshitz, R., Windham, M. T., and Baker, R. (1986) Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea *Pisum Sativum* cultivar laxton-progress by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 76, 720-725.
28. Lo, C. T. (1997) *Biological Control of Turf Diseases Using Trichoderma harzianum*. *Plant Protection Bulletin*, 39, 207-225.
29. Liu, B. L. and Tzeng, Y. M. (1999) Water content and water activity for the production of cyclodepsipeptides in solid-state fermentation by *Metarhizium anisopliae*. *Biotechnology Letter*, 21, 657-661.
30. Lo, C. T., Liao, T., and Deng, T. C. (2000) Induction of systemic resistance of cucumber to cucumber green mosaic virus by the root-colonizing *Trichoderma* spp. *Phytopathology*, 90, S47.
31. Mehrotra, R. S., Aneja, K. R., Gupta, A. K., and Aggarwal, P. F. (1979). Fungal protoplasts: isolation, reversion, and fusion. *Annuaire Review Microbiology*, 33, 21-39.
32. Marcel, G-C, Leticia, P., Patricia, M., Robert, P. T. (1999) Mixed culture solid substrate fermentation of *Trichoderma reesei* with *Aspergillus niger* on sugar cane bagasse. *Tetrahedron Letter*, 41, 61-64.
33. Peberdy, J. F. (1985) Mycolytic enzymes. In: Peberdy, J. F., and L. Ferenczy(eds), *Fungal Protoplasts: Applications in Biochemistry and Genetics*, 31-44, pp. New York, U.S.A.: Warcel Dekker, Inc.
34. Papvizas, G. C. (1985) *Trichoderma and Gliocladium: biology, ecology, and potential for biocontrol*. *Annual Review of Phytopathology*, 23, 23-54.
35. Reddy, T. K. R., and R. Knowles. (1965) The fungal flora of a boreal

forest raw humus. Canadian Journal of Microbiology , 2, 837-843. 36.Ritz, K. (1995) Growth responses of some soil fungi to spatially heterogeneous nutrients. FEMS Microbiology Ecological Applications, 16, 269-280. 37.Sivan, A., Y. Elad, and I. Chet. (1984) Biological control effects of a new isolate of *Trichoderma harzianum* on *Pythium aphanide-rmatum*. Phytopathology, 74, 498-501. 38.Stasz, T. E., and G. E. Harman. (1987) Improved biocontrol strains of *Trichoderma harzianum* developed by protoplast fusion. Phytopathology, 77, 1771. 39.Stasz, T. E., G. E. Harman, and N. F. Weeden. (1988) Protoplast preparation and fusion in two biocontrol strains of *Trichoderma harzianum*. Mycologia, 80, 141-150. 40.Toyama, H., A. Shinmyo, and H. Okada. (1983) Protoplast for-mation from conidia of *Trichoderma viride*. Journal Fermentation Technology, 61, 409-411. 41.Weindling, R. (1932) *Trichoderma lignorum* as a parasite of other fungi. Phytopathology, 22, 837-845. 42.Windham, M. T., Y. Elad ,and R. Baker. (1986) A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. Phytopathology, 76, 203-209. 43.Yedidia, I., Benhamou, N., and Chet, I. (1999) Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Applied Environmental Microbiology, 65, 1061-1070.