

拟康宁木霉 SMF2 防治大白菜软腐病机理研究

李海云^{1,2}, 宋晓妍¹, 张秀省^{2,*}, 张玉忠¹

(¹ 山东大学, 微生物技术国家重点实验室, 济南 250100; ² 聊城大学农学院园艺工程系, 山东聊城 252059)

摘 要: 以大白菜 (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*) ‘丰抗 70’ 为试材, 研究了拟康宁木霉 SMF2 对大白菜软腐病的诱抗效果; 并通过研究拟康宁木霉 SMF2 对接种和未接种主要致病菌——欧氏杆菌胡萝卜软腐亚种 (*Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*) 的大白菜幼苗生长、内源激素含量及保护酶活性的影响, 探讨了木霉防治大白菜软腐病的机制。结果表明: 施用拟康宁木霉 SMF2 (孢子 $\geq 0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 显著降低大白菜叶柄软腐病病斑长度。无论大白菜幼苗是否接种软腐病菌, 施用拟康宁木霉 SMF2 显著提高大白菜地上部和根系鲜质量、根冠比值, 提高叶片玉米素核苷 (ZR)、吲哚乙酸 (IAA)、脱落酸 (ABA) 含量, 以及多酚氧化酶 (PPO) 和过氧化物酶 (POD) 活性。说明拟康宁木霉 SMF2 可能主要通过促生作用和诱导抗性防治大白菜软腐病。

关键词: 大白菜; 拟康宁木霉 SMF2; 软腐病; 保护酶; 内源激素

中图分类号: S 634.1

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2012) 07-1373-07

Research on Mechanism of *Trichoderma pseudokoningii* SMF2 Controlling Soft Rot of Chinese Cabbage

LI Hai-yun^{1,2}, SONG Xiao-yan¹, ZHANG Xiu-sheng^{2,*}, and ZHANG Yu-zhong¹

(¹State Key Laboratory of Microbial Technology, Shandong University, Ji'nan 250100, China; ²Department of Horticulture, College of Agriculture, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059, China)

Abstract: The induced resistance effects of *Trichoderma pseudokoningii* SMF2 on soft rot of the Chinese cabbage ‘Fengkang 70’ were studied by measuring the lesion length, and the control mechanism of *T. pseudokoningii* SMF2 was deduced from its effects on growth, endogenous hormone contents and protective enzyme activities of Chinese cabbage seedlings inoculated with the main pathogens, *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* or not. The results showed that the lesion length of soft rot in petiole of Chinese cabbage were decreased significantly when treated with *T. pseudokoningii* SMF2 (spore $\geq 0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$). The fresh weight of shoot and root, ratio of root to shoot of seedlings, zeatin riboside (ZR), indole acetic acid (IAA) and abscisic acid (ABA) contents, polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) activities in leaves of Chinese cabbage seedlings treated by *T. pseudokoningii* SMF2 were increased significantly, whether they were inoculated with *Erwinia carotovora* ssp. *carotovora* or not. Based on these results, it suggested that growth-promoting and induced resistance were probably the main reasons for *T. pseudokoningii* SMF2 controlling soft rot of Chinese cabbage.

收稿日期: 2012-03-27; 修回日期: 2012-06-05

基金项目: 国家‘863’计划项目 (2011AA090704); 国家自然科学基金项目 (30870047)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhangxiusheng@lcu.edu.cn)

Key words: Chinese cabbage; *Trichoderma pseudokoningii* SMF2; soft rot; protect enzyme; endogenous hormones

软腐病是大白菜三大病害之一,严重影响大白菜的产量和品质(Pennypacker et al., 1981)。对于这种由欧文氏菌属(*Erwinia*)导致的细菌病害(方中达, 1998),传统的化学药剂防治不仅使病原菌产生抗性,还污染环境(Naseby et al., 2000)。由于化学农药的公害问题日趋严重,生物防治日益受到人们重视(Lyon & Newton, 1997),拮抗微生物在植物病害生物防治中的应用备受关注。

木霉菌是一类普遍存在的生防菌,其防治真菌病害的作用机制包括抗生作用、重寄生作用、溶菌作用、竞争作用及诱导抗性等(Yedidia et al., 1999; Segarra et al., 2010; Bae et al., 2011)。木霉已被公认为是一类具有重要生防价值的植物病害生防菌(庄敬华 等, 2006)。但以往的研究大多集中于木霉对土传真菌病害的作用,有关木霉对细菌病害的研究鲜见报道;有关致病机理的研究也主要集中于木霉与致病菌之间的相互作用,而对于木霉与植物之间的相互作用关注相对较少。

研究发现拟康宁木霉 SMF2 对革兰氏阴性细菌病害——大白菜软腐病具有较好的防治效果(胡明江 等, 2009),而拟康宁木霉 SMF2 及其代谢物康宁霉素对欧文氏菌都没有明显的抑制作用(Song et al., 2006),木霉防治细菌性病害的作用机理如何,尚未明确。因此有必要对木霉对大白菜软腐病的防治机理进行探讨,从而为木霉的生防作用以及大白菜的可持续生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

大白菜品种为‘丰抗 70’,由济南市巨龙种苗有限公司提供。

拟康宁木霉 SMF2 (*Trichoderma pseudokoningii* SMF2) 菌种为本实验室保存,活化后接种于固体发酵培养基[麸皮 8 g, 草粉 2 g, KH_2PO_4 0.048 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.048 g, CaCl_2 0.02 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02 g, pH 5.5, 55 kPa 灭菌 30 min] (Song et al., 2007), 28 °C 发酵 5 d, 孢子形成后将固体发酵培养物风干过筛(150 目),得到杂质较少的孢子粉(孢子含量约为 2×10^9 个 $\cdot \text{g}^{-1}$)。

病原菌悬浮液的配制: 欧氏杆菌胡萝卜软腐亚种(*Erwinia carotovora* ssp. *carotovora*), 简称 *Ecc*, 是大白菜细菌性软腐病的主要病原菌(臧威 等, 2006), 由东北农业大学张耀伟老师提供。接种前一天把活化的病原菌接种在 LB 培养液中, 28 °C 振荡培养($160 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$) 10 h, 用无菌水稀释, 采用混浊度计数法计算其浓度。

1.2 诱导抗性试验

将大白菜种子播种在装有培养土(事先分别按质量分数为 0、0.05、0.10、0.15 和 0.20 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土加入拟康宁木霉分生孢子粉)的营养钵(直径 12 cm, 高 15 cm)中, 每钵 3 粒种子, 每处理 45 钵。出苗后每钵留苗 1 株。

待长至 5~6 片真叶时, 取各处理幼苗基部叶柄 6 个, 剪成 4 cm 长的小段, 酒精表面消毒后用无菌水冲洗 3 次, 置于铺有两层滤纸并滴加 6 mL 无菌水的大培养皿中(直径 12 cm)。在叶柄小段中心用刀片横、纵切 4 mm 左右的伤口, 用移液器滴加 0.01 mL 的 *Ecc* 菌悬液(1.1×10^9 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$)于伤口呈液滴悬浮, 28 °C 培养 48 h 后测量病斑长度, 并计算诱抗效果。诱抗效果(%) = (对照病斑长度 - 处理病斑长度) / 对照病斑长度 $\times 100$ 。

1.3 防治机理试验

根据诱导抗性试验结果，共设置如下 4 种处理：①对照（未接种欧氏杆菌胡萝卜软腐亚种 *Ecc*，未施木霉）；②只施木霉；③只接种 *Ecc*；④既施木霉，也接种 *Ecc*。

木霉的施用：播种前在培养土中加入质量分数为 $0.15\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的拟康宁木霉 SMF2 分生孢子粉。

Ecc 的接种方法：播种后 10 d 幼苗长至“拉十字”时，使用注射器向每株幼苗根系周围的培养土中注射 10 mL 浓度为 2.2×10^8 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 的 *Ecc* 菌悬液，向对照和只施木霉的处理注射 10 mL 无菌水。

培养条件及重复次数：20 株为 1 次重复，每处理重复 3 次。将幼苗置于人工气候室中，相对湿度为 95%，温度 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$ ，光周期为光照 16 h，黑暗 8 h。

分别于接种 *Ecc* 后 20、25 和 30 d 测定第 4 叶保护酶活性。愈创木酚法测定过氧化物酶（POD）活性（李合生，2000），紫外吸收法测定过氧化氢酶（CAT）活性（赵世杰 等，2002），邻苯二酚法测定多酚氧化酶（PPO）活性（李靖和利容千，1991）。

接种 *Ecc* 后 30 d，测定生长指标，同时在中国农业大学农学与生物技术学院采用酶联免疫法（ELISA）测定第 4 叶生长素（IAA）、赤霉素（GA₃）、玉米素核苷（ZR）和脱落酸（ABA）含量（李宗霆和周燮，1996）。

试验数据采用 SAS 软件 Duncan’s 多重比较法进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 拟康宁木霉 SMF2 诱导对大白菜软腐病的抗性

由表 1 可以看出，随木霉孢子施用量的增加，大白菜幼苗叶柄的病斑长度呈降低趋势，而诱抗效果呈上升趋势。施用木霉孢子质量分数为 $0.15\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.20\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时，病斑最小，诱抗效果最好，与其它处理相比差异达到显著或极显著水平。说明木霉孢子浓度为 $0.15\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时就能达到较好的诱抗效果。

表 1 拟康宁木霉 SMF2 对大白菜幼苗软腐病的诱抗效果
Table 1 Reduced resistance effect of *T. pseudokoningii* SMF2 on soft rot of Chinese cabbage seedlings

木霉孢子/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) <i>Trichoderma</i> spores	病斑长度/cm Lesion length	诱抗效果/% Induced resistance effect
0	4.0 ± 0.05 aA	-
0.05	3.8 ± 0.08 aA	5 ± 1.20 cC
0.10	3.0 ± 0.10 bAB	25 ± 1.67 bB
0.15	2.0 ± 0.04 cB	50 ± 0.45 aA
0.20	1.8 ± 0.06 cB	55 ± 0.89 aA

注：不同小写字母表示差异达显著水平（ $P \leq 0.05$ ），不同大写字母表示差异达极显著水平（ $P \leq 0.01$ ）。下同。
Note: Different small letters indicate the significant difference at $P \leq 0.05$ level, different capital letters indicate the extremely significant difference at $P \leq 0.01$ level. The same below.

2.2 拟康宁木霉 SMF2 对大白菜幼苗生长的影响

由表 2 可知，与对照组相比较，接种软腐病菌后大白菜幼苗地上部和地下部鲜质量均有所降低，而拟康宁木霉处理提高了地上部鲜质量、地下部鲜质量和根冠比。无论是否接种软腐病菌，拟康宁木霉都能促进大白菜幼苗的生长，提高其根冠比值。

表 2 拟康宁木霉 SMF2 对大白菜幼苗生长的影响

Table 2 The effects of *T. pseudokoningii* SMF2 on growth of Chinese cabbage seedlings

处理 Treatments	地上部鲜质量/(g·plant ⁻¹) Shoot fresh weight	地下部鲜质量/(g·plant ⁻¹) Root fresh weight	根冠比 R/T
对照 Control	3.452 ± 0.309 bA	0.112 ± 0.009 bB	0.032 ± 0.004 cB
接种木霉 Inoculated with <i>Trichoderma</i>	3.774 ± 0.278 aA	0.174 ± 0.014 aA	0.046 ± 0.006 aA
接种 <i>Ecc</i> Inoculated with <i>Ecc</i>	3.223 ± 0.269 cB	0.109 ± 0.011 bB	0.034 ± 0.005 cB
木霉 + <i>Ecc</i> <i>Trichoderma</i> and <i>Ecc</i>	3.733 ± 0.299 aA	0.153 ± 0.013 aA	0.041 ± 0.004 bA

2.3 拟康宁木霉 SMF2 对大白菜幼苗叶片内源激素含量的影响

由图 1 可知,与对照相比,拟康宁木霉 SMF2 处理显著提高大白菜幼苗叶片 4 种内源激素含量,其中 IAA 含量的增幅最高,达到 24.48%;接种 *Ecc* 显著降低 ZR 和 IAA 含量,提高 GA₃ 和 ABA 含量。木霉 + *Ecc* 处理 ZR、IAA 和 ABA 含量均显著高于接种 *Ecc* 处理,两种处理的 GA₃ 含量差异不显著。说明拟康宁木霉可通过内源激素含量的改变来调节大白菜幼苗的生长和对软腐病的抗性。

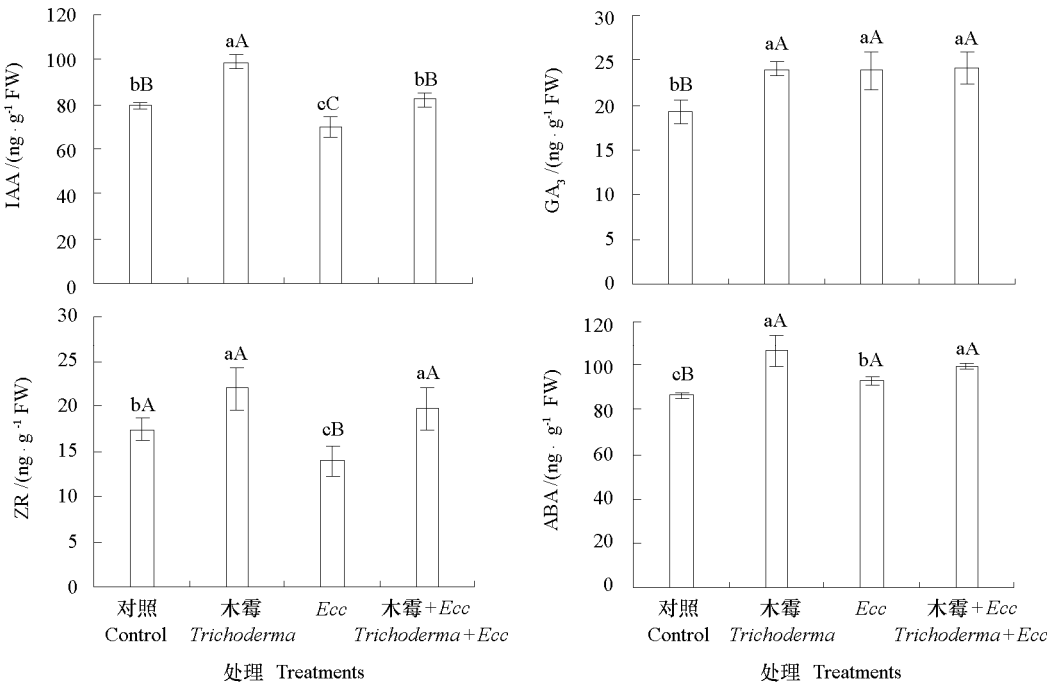


图 1 拟康宁木霉 SMF2 对大白菜叶片内源激素含量的影响

Fig. 1 The effects of *T. pseudokoningii* SMF2 on endogenous hormone contents in leaves of Chinese cabbage

2.4 拟康宁木霉 SMF2 对大白菜幼苗叶片保护酶活性的影响

图 2 表明,接种 *Ecc* 处理后 20、25 和 30 d,接种木霉的处理幼苗叶片 PPO 和 POD 活性均高于对照,木霉 + *Ecc* 处理明显高于只接种 *Ecc* 处理。只接种 *Ecc* 处理的大白菜幼苗叶片 PPO 和 POD 活性随接种后时间的延长而下降,对照、接种木霉和木霉 + *Ecc* 则随之升高。对照的大白菜幼苗叶片 CAT 活性随时间的延长而上升,其余处理随时间延长没有明显变化。接种后 20 d 和 25 d,都是

对照组 CAT 活性最低, 其它 3 种处理间差异不显著; 接种后 30 d, 4 种处理没有明显差异。说明拟康宁木霉 SMF2 通过提高大白菜幼苗叶片 PPO 和 POD 活性, 从而增强对软腐病的抗性。

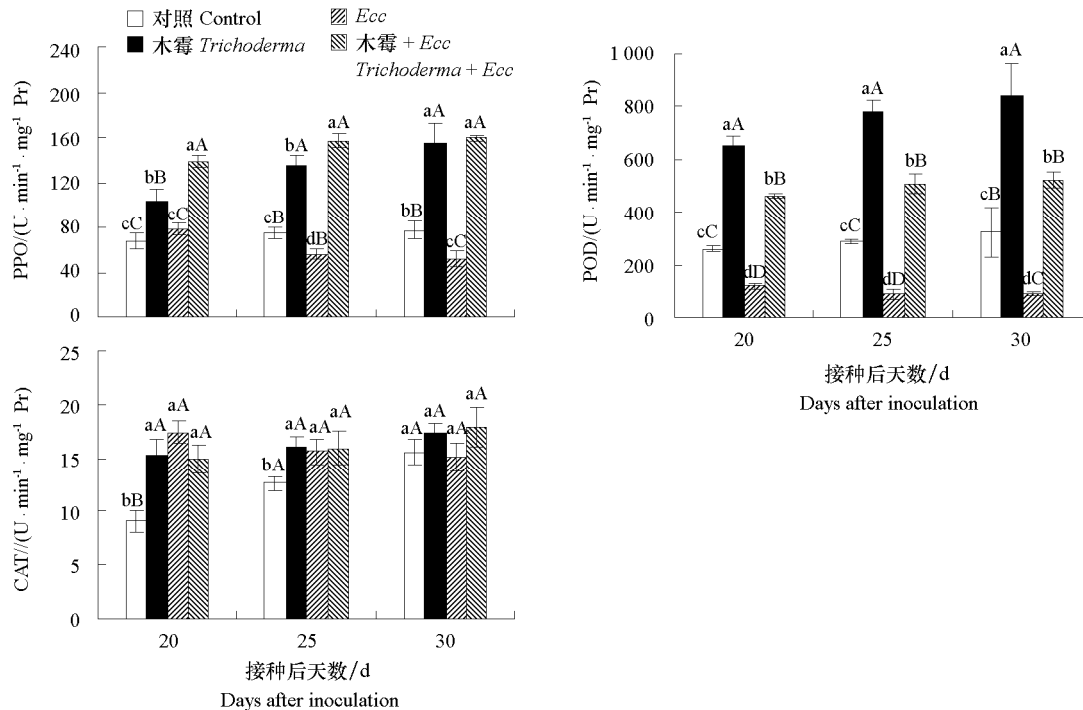


图 2 拟康宁木霉 SMF2 对大白菜叶片保护酶活性的影响

Fig. 2 The effects of *T. pseudokoningii* SMF2 on protective enzymes activity in leaves of Chinese cabbage

3 讨论

在以前的研究中, SMF2 菌株归类于康宁木霉 (Song et al., 2006), 但是根据对其 18S rRNA 基因序列的分析, 最近被定为拟康宁木霉 (Chen et al., 2009)。

拟康宁木霉对真菌病害和病毒病的防治效果和机理已有报道 (Song et al., 2006; Luo et al., 2010), 而对细菌病害的研究相对较少。

木霉对许多作物具有促生作用 (Gravel et al., 2007; de Souza et al., 2008; Sofo et al., 2010), 拟康宁木霉 SMF2 对大白菜幼苗的生长也有促进作用, 无论大白菜幼苗是否受到软腐病菌侵染。有些木霉菌株之所以能促进植物生长, 是因为其分泌代谢产物具有类似于生长素的活性 (Liliana et al., 2009), 或者是木霉改变内源激素的水平 (Adriano et al., 2011)。本试验中, 接种木霉的大白菜幼苗叶片 IAA 含量显著高于对照, 木霉 + Ecc 处理显著高于只接种 Ecc 处理, 这可能是拟康宁木霉 SMF2 促进植株生长的原因。但拟康宁木霉 SMF2 通过何种途径提高 IAA 含量, 还有待于进一步研究。

以前有关木霉防治病害机理的研究主要集中于木霉与致病菌之间的相互作用, 包括抗生、重寄生、溶菌和竞争作用 (Harman et al., 2004; Segarra et al., 2010; Bae et al., 2011), 而木霉与植物的相互作用研究相对较少。Viterbo 等 (2005) 的研究发现绿色木霉能够诱导黄瓜系统抗性的产生, 抑制由丁香假单胞菌引起的细菌性角斑病。本研究结果表明, 拟康宁木霉 SMF2 不仅提高了植株 IAA 含量, 还显著提高了 ABA 含量, 这与黄绿木霉 T1010 提高日光温室番茄功能叶片 ABA 含量的结

果一致(陈为京 等, 2010)。可推测 ABA 参与了拟康宁木霉 SMF2 对大白菜软腐病抗性的调节。

PPO、POD、CAT 这些保护酶作为植物体防御系统的一部分,可以降低或消除活性氧对膜脂的攻击能力,提高植物体的抗性(庄敬华 等, 2005),因此酶活性的高低可以作为衡量植物体抗性强弱的标准。已有报道 PPO 和 POD 参与大白菜软腐病抗性机制(张耀伟 等, 2000),本试验结果表明拟康宁木霉 SMF2 确实显著提高大白菜幼苗 PPO 和 POD 活性,这两种酶活性都随接种后时间延长而升高;但对 CAT 活性影响不大。说明 PPO 和 POD 在拟康宁木霉 SMF2 诱导大白菜幼苗对软腐病的抗性中发挥着重要作用。

拟康宁木霉 SMF2 及其代谢物康宁霉素对 *Ecc* 都没有明显的抑菌作用(Song et al., 2006),但它对大白菜软腐病具有较好的防治效果(胡明江 等, 2009)。本文表 1 的结果的确说明拟康宁木霉 SMF2 对病斑长度有抑制作用,但这主要原因应该是拟康宁木霉 SMF2(播种前施入了木霉孢子)诱导植物产生系统抗性所致,以往提到的没有抑制作用是指拟康宁木霉 SMF2 及其代谢物对欧文氏菌没有抑制作用,即生防机制中的竞争作用、重寄生作用(菌菌作用)和抗生作用(代谢物抑制致病菌)都不是拟康宁木霉 SMF2 防治大白菜软腐病的机理。作者根据本试验结果,总结认为拟康宁木霉 SMF2 之所以能防治大白菜软腐病,一是因为拟康宁木霉 SMF2 能通过调节 IAA 含量来促进植物生长,二是因为木霉能增强大白菜幼苗 PPO 和 POD 活性,提高逆境激素——ABA 含量,从而提高其抗性。

References

- Adriano S, Antonio S, Michele M, Mauro D N, Giancarlo T, Jacopo T, Raffaele D F, Ettore N. 2011. *Trichoderma harzianum* strain T-22 induces changes in phytohormone levels in cherry rootstocks (*Prunus cerasus* × *P. canescens*). *Plant Growth Regul*, 65: 421 – 425.
- Bae H, Roberts D P, Lim H S, Strem M, Park S C, Ryu C M. 2011. Endophytic *Trichoderma* isolates from ropical environments delay disease and induce resistance against phytophthora capsici in hot pepper using multiple mechanisms. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 24: 336 – 351.
- Chen L L, Liu L J, Shi M, Song X Y, Zheng C Y, Chen X L, Zhang Y Z. 2009. Characterization and gene cloning of a novel serine protease with nematocidal activity from *Trichoderma pseudokoningii* SMF2. *FEMS Microbiol lett*, 299: 135 – 142.
- Chen Wei-jing, Li Run-fang, Yang Huan-ming, Chen Jian-ai. 2010. Regulating effect of *Trichoderma aureoviride* 1010 on plant hormone of tomato under inferior-chilling stress in solar-greenhouse. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 23 (3): 814 – 819. (in Chinese)
- 陈为京, 李润芳, 杨焕明, 陈建爱. 2010. 黄绿木霉 T1010 对亚低温胁迫下日光温室番茄内源激素的调控效应. *西南农业学报*, 23 (3): 814 – 819.
- De Souza J T, Bailey B A, Pomella A W V. 2008. Colonization of cacao seedlings by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. *Biological Control*, 46: 36 – 45.
- Fang Zhong-da. 1998. *Plant pathology research methods*. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 方中达. 1998. 植病研究方法. 北京: 中国农业出版社.
- Gravel V, Antoun H, Tweddell R J. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*, 39: 1968 – 1977.
- Harman G E, Howell C R, Viterbo A, Chet I, Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat Rev Microbiol*. 2: 43 – 56.
- Hu Ming-jiang, ZhangXiu-sheng, Cao Xing, Zhang Yu-zhong. 2009. Studies on the control effect of *Trichoderma kningii* oud. against soft rot of Chinese cabbage. *Northern Horticulture*, (6): 102 – 103. (in Chinese)
- 胡明江, 张秀省, 曹 兴, 张玉忠. 2009. 康宁木霉 SMF2 防治大白菜软腐病研究. *北方园艺*, (6): 102 – 103.
- Li He-sheng. 2000. *Principles and techniques of plant physiological biochemical experiment*. Beijing: Higher Education Press. (in Chinese)

- 李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社.
- Liliana Hoyos-Carvajal, Sergio Orduz, John Bissett. 2009. Growth stimulation in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by *Trichoderma*. *Biological Control*, 51: 409 - 416.
- Li Jing, Li Rong-qian. 1991. On the change of enzyme activities of cucumber leaf infected by *Pseudoperonospora cubensis*(*Berk. et ctrt*) ros. *Acta Phytopathologica Sinica*, 21 (4): 277 - 283. (in Chinese)
- 李 靖, 利容千. 1991. 黄瓜感染霜霉病菌叶片中一些酶活性的变化. *植物病理学报*, 21 (4): 277 - 283.
- Li Zong-ting, Zhou Xie. 1996. *Phytohormone and immuno assay*. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press. (in Chinese)
- 李宗霆, 周 燮. 1996. 植物激素及其免疫检测技术. 南京: 江苏科学技术出版社.
- Lyon G D, Newton A C. 1997. Do resistance elicitors offer new opportunities in integrated disease control strategies? *Plant Pathol*, 46: 636 - 641.
- Luo Y, Zhang D D, Dong X W, Zhao P B, Chen L L, Song X Y, Wang X J, Chen X L, Shi M, Zhang Y Z. 2010. Antimicrobial peptides induce defense responses and systemic resistance in tobacco against tobacco mosaic virus. *FEMS Microbiol. Lett*, 313: 120 - 126.
- Naseby D C, Pascual J A, Lynch J M. 2000. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *pythium ultimum* population, soil microbial communities and soil enzyme activities. *Journal of Applied Microbiology*, 88: 161 - 169.
- Pennypacker B W, Smith C M, Diokey R S. 1981. Histopathology of a symptomless chrysanthemum cultivar infected by *Erwinia Chrysanthemi* and *E. carotovora* ssp. *Carotovora*. *Phytopathology*, 71: 141 - 148.
- Segarra G, Casanova E, Avilés M, Trillas I. 2010. *Trichoderma asperellum* strain T34 controls fusarium wilt disease in tomato plants in soilless culture through competition for iron. *CroB Ecol*, 59: 141 - 149.
- Sofo A, Milella L, Tataranni G. 2010. Effects of *Trichoderma harzianum* strain T-22 on the growth of two *Prunus* root stocks during the rooting phase. *Hortic Sci Biotechnol*, 85: 497 - 502.
- Song X Y, Shen Q T, Xie S T, Chen X L, Sun C Y, Zhang Y Z. 2006. Broad-spectrum antimicrobial activity and high stability of trichokonins from *Trichoderma koningii* SMF2 against plant pathogens. *FEMS Microbiol Lett*, 260: 119 - 125.
- Song X Y, Xie S T, Chen X L, Sun C Y, Shi M, Zhang Y Z. 2007. Solid-state fermentation for Trichokonins production from *Trichoderma koningii* SMF2 and preparative purification of trichokonin VI by a simple protocol. *Journal of Biotechnology*, 131: 209 - 215.
- Viterbo A, Harel M, Horwitz B A, Chet I, Mukherjee P K. 2005. *Trichoderma* mitogen-activated protein kinase signaling is involved in induction of plant systemic resistance. *Applied and Environmental Microbiology*, 71: 6241 - 6246.
- Yedidia I, Benhamou N, Chet I. 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 1061 - 1070.
- Zang Wei, Zhang Yao-wei, Sun Jian-qiu, Cui Chong-shi. 2006. Study on population structure and dominant pathogenic types of soft rot bacteria in *Brassica pekinensis*. *Journal of Plant Resources and Environment*, 15 (1): 26 - 29. (in Chinese)
- 臧 威, 张耀伟, 孙剑秋, 崔崇士. 2006. 大白菜软腐菌种群组成及优势菌致病型的研究. *植物资源与环境学报*, 15 (1): 26 - 29.
- Zhang Yao-wei, Cui Chong-shi, Pan Kai. 2000. Study on effect of several enzymes in resistance mechanism of soft rot in Chinese cabbage. *Journal of Northeast Agricultural University*, 31 (3): 248 - 252. (in Chinese)
- 张耀伟, 崔崇士, 潘 凯. 2000. 几种酶在大白菜软腐病抗性机制中的作用研究. *东北农业大学学报*, 31 (3): 248 - 252.
- Zhao Shi-jie, Shi Guo-an, Dong Xin-chun. 2002. *Experimental instruction of photobiology*. Beijing: Chinese Agricultural Science and Technology Press. (in Chinese)
- 赵世杰, 史国安, 董新纯. 2002. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科学技术出版社.
- Zhuang Jing-hua, Chen Jie, Yang Chang-cheng, Gao Zeng-gui, Liu Xian, Mu Lian-xiao, Zheng Ya-nan. 2006. Evaluation of biocontrol *Trichoderma* on biology security. *Scientia Agricultura Sinica*, 39 (4): 715 - 720. (in Chinese)
- 庄敬华, 陈 捷, 杨长城, 高增贵, 刘 限, 牟连晓, 郑雅楠. 2006. 生防木霉菌生物安全性评价. *中国农业科学*, 39 (4): 715 - 720.
- Zhuang Jing-hua, Gao Zeng-gui, Yang Chang-cheng, Chen Jie, Xue Cai-yun, Mu Lian-xiao. 2005. Biocontrol of fusarium wilt and induction of defense enzyme activities on cucumber by *Trichoderma viride* strain T23. *Acta Phytopathologica Sinica*, 35 (2): 131 - 135. (in Chinese)
- 庄敬华, 高增贵, 杨长城, 陈 捷, 薛彩云, 牟连晓. 2005. 绿色木霉菌 T23 对黄瓜枯萎病防治效果及其几种防御酶活性的影响. *植物病理学报*, 35 (2): 131 - 135.