The Effect of Aspersion by Hydrogen Peroxide(H_2O_2) on inducing the Broad bean (*Vicia faba*) resistance against *Aspergillus niger* fungi.

تأثير الرش ببيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في نمو بادرات الباقلاء *Vicia faba* واستحثاث مقاومتها ضد الفطر *Aspergillus niger*

م.م. أفراح مهدي عبد علي الظالمي
جامعة الكوفة / كلية التربية للبنات

الخلاصة :-

أجريت هذه الدراسة في أحد المشاتل الخاصة بإكثار الفاكهة في محافظة النجف الأشرف لغرض اختبار قابلية بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 في نمو بادرات الباقلاء واستحثاث مقاومتها ضد الفطر*Aspergillus niger* وذلك للفترة من 2009/10/15 ولغاية 2009/12/1.وقد تم رش البادرات بالتراكيز المختلفة من بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 وهي 0، 0.25% ، 0.5% ، 1% بعد 15 يوما من الزراعة، ولوحظ انه قد سبب زيادة معنوية في المؤشرات المدروسة مقارنة مع مجموعة السيطرة باستثناء كمية الكلوروفيل والوزن الجاف للبادرات حيث سبب H_2O_2 انخفاضاً معنوياً فيهما.وتفوق التركيز 0.25% معنويا في معدل ارتفاع النبات20.96 سم،وعدد التفرعات3.33 ،وعدد الأوراق10.8،والمساحة الورقية14.92سم^2، والوزن الطري 4.972غم. ثم رش العالق الفطري بعد30 يوما من الزراعة لمعرفة مدى مقاومة الباقلاء للفطر *Aspergillus niger* حيث لوحظ انه قد انخفاضا معنويا في النسبة المئوية للأوراق المصابة وشدة الاصابة وقطر المستعمرة ومساحتها للنباتات المعاملة بالتراكيز المختلفة من H_2O_2 مقارنة مع مجموعة السيطرة ، وزيادة معنوية في مؤشرات نمو نباتات الباقلاء من ارتفاع النبات والمساحة الورقية وكمية الكلوروفيل ، كما تفوق التركيز0.25 % معنويا على بقية التراكيز في خفض النسبة المئوية للأوراق المصابة 18.51% وشدة الإصابة 29.08 وقطر المستعمرة5.3 سم ومساحتها8.32 سم^2 .ومن خلال هذه الدراسة وجد ان بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 يساعد في نمو بادرات الباقلاء واستحثاث مقاومتها ضد الفطر *Aspergillus niger* المسبب لمرض التفحم الأسود black mold للبذور والبادرات من خلال خفض كل مؤشرات الإصابة.

Summary:

This study was accrue in one of nurseries concerning production fruits in Najaf to test the capability of Hydrogen peroxide (H_2O_2) in inducing the growth of *Vicia faba* seedling and it resistance against the *Aspergillus niger* fungi, during the period from 15/ 10/ 2009 to 1/ 12/2009.after 15 days of sowing , seedlings were aspersed by hydrogen peroxide solutions in the concentration (0 , % 0.25 , % 0.5 , %1). The results indicated many positive effects for the use of H_2O_2 on seedling growth compared with the control . H_2O_2 caused significantly increase in : plant high , number of branches , number of leaves, leaf area and shoot fresh weight, compared with control.(%0.25) concentration of H_2O_2 give the highest average of high of seedling (20.96cm) , number of branches (3.33), number of leaves(10.8), leaf area(14.92cm^2) and shoot fresh weight (4.972).

On the other hand, H_2O_2 caused significantly decrease in leaves chlorophyll content and shoot dry weight of seedling treated with the different concentration of H_2O_2 compared with control. Then seedlings were aspersed by suspension fungal solution, and the results indicated the positive effect for the use of H2O2 in decreasing of seedling infection by Aspergillus niger . (%0.25) concentration of H2O2 give the highest decreasing in percentage of infected leaves (%18.51) , Disease severity (29.08), fungal colony diameter (5.3), and colony area (8.32)cm^2 .

This study indicated that Hydrogen peroxide is affective in Vicia faba seedling growth and it resistance against *Aspergillus niger* fungi.

المقدمـــــة :-

تتميز النباتات عموماً بتكوينها نواتج طبيعية هي عبارة عن مركبات كيميائية تبنى ضمن مقومات النبات التركيبية وان هذه النواتج الطبيعية ذات قدرة عالية في تطوير واستحثاث المقاومة الدفاعية ضد الممرضات النباتية(1)، إلا انه من الممكن استحثاث هذه المقاومة وتنشيطها بعوامل حيوية أو غير حيوية(2).حيث أمكن في الدراسات الحديثة تحريض واستحثاث المقاومة ضد الممرضات النباتية من خلال استخدام مواد كيميائية مختلفة مشابهة لتلك النواتج الطبيعية(3).

ويعد بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 والأشكال الأوكسجينية النشطة Active Oxygen Species اشارة استحثاث مهمة في النبات،فعند تعرض النبات لهجوم فطري يعمل الH_2O_2 ذو الخواص المزدوجة وظيفيا باتجاهين فهو أما ان يتحد مع البيروكسيديزPeroxidase لتحطيم انزيم الPectinase للفطر أو يتحد مع الاشكال الاوكسجينية النشطة (AOS)مثل superoxidase ليعملا معا كإشارة استحثاث في النبات للاستجابة للغزو الفطري(4)،ولهذا فإن الدراسات قد أثبتت أن بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 يكون فعالاً في تثبيط النمو الفطري ولا سيما عند رشه بعد الإنبات(5) .

ولكون الباقلاء *Vicia faba* الذي يعود للعائلة البقلية Leguminacae من أهم المصادر النباتية المحتوية على نسبة عالية من البروتينات والأحماض الأمينية مثل السيستين والتربتوفان والهستدين(6)، ولدورها المهم في التثبيت البايولوجي للنايتروجين الجوي(7) ، ولكون فطر *Aspergillus niger* من أهم الفطريات الممرضة للمحاصيل المختلفة حيث يهاجم البذور المخزونة والبادرات على حد سواء مسبباً مرض التفحم الاسود Black mold على الأوراق والجذور والبذور المخزونة (8) فضلا عن كونه يسبب ذبول بادرات الباقلاء وتحلل الكلوروفيل وبالتالي موتها (9) ، ولكون هذا الفطر يعد من الفطريات القادرة على انتاج السموم الفطرية وخاصة الافلاتوكسينB1 (10)،لذا ارتأينا أجراء هذا البحث لمعرفة مدى قابلية بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في نمو بادرات الباقلاء *Vicia faba* واستحثاث مقاومتها ضد الفطر*Aspergillus niger* .

مواد وطرائق العمل :-

1- مكان التجربة:-

أجريت الدراسة في أحد المشاتل الخاصة لاكثار الفاكهة في محافظة النجف الأشرف للفترة من 2009/10/15 ولغاية 12/1/ 2009 ، إذ تم انتخاب مساحة من الارض مقدارها 15م^2 تقريباً أعدت لوضع الدايات عليها حيث عدلت ونظفت من الحشائش والأدغال ورشت بالمبيد الفطري الريدوميل كولد Redomile gold بتركيز 3% لمنع نمو وانتشار الفطريات التي قد تنمو فيما بعد عند توفر الظروف الملائمة لها،ثم وضعت أعمدة خشبية فيها ارتفاع كل منها 1.5 م لرفع الغطاء البلاستيكي عن الأرض ولمنع تماس أوراق البادرات بالبلاستيك بعد إنباتها، كما أعدت مساحة أخرى مقدارها 2 م^2 لزراعة البذور غير المعقمة للحصول على نباتات مصابة بالفطريات.

تم تهيئة دايات فلينية للزراعة بأبعاد 68×40 سم وضعت في المساحة المخصصة لها وتركت مسافة مقدارها 25 سم بين كل داية وأخرى وكانت كل داية تحتوي على 209 مربع ملئت المربعات بالتربة على ارتفاع7سم، وكانت التربة مزيجية مكونة من الرمل و البيتموس بنسبة 1:1 تم تعقيمها حرارياً بإغداقها بماء في درجة الغليان وقبل الزراعة بعشرة أيام ثم رشت بالمبيد الفطري الريدوميل كولد بتركيز 1% وبعد وضعها في الدايات نقعت بالماء المقطر إلى ان خرجت قطرات الماء من الثقوب السفلية للدايات وقد تم تسجيل درجات حرارة كل من الوسط والجو المحيط بالدايات خلال فترة الدراسة واستخرجت المعدلات الأسبوعية كما قيست دالة الحموضة في التربة إذ كانت حوالي 8.2 .

2- زراعة البذور المعقمة:-

تم انتخاب بذور الباقلاء *Vicia faba* المعقمة النقية 98% صنف Luz Deota A6 تركية والمجهزة من قبل شركةRegiasy normac EC وكان معدل وزن البذرة الواحدة 1.45 غم وقد زرعت بذرة في كل مربع ولثلاث مكررات لكل معاملة على ان البذور جميعها قد زرعت في يوم واحد.وبعد زراعة البذورغطيت الدايات بغطاء بلاستيكي لزيادة الرطوبة النسبية وللمحافظة على درجة الحرارة داخل الظلة البلاستيكية لتسهيل عملية الإنبات وكان الغطاء يرفع يومياً في العاشرة صباحاً للتهوية ويعاد في الساعة 4 عصراً ، بعد إعادة الغطاء البلاستيكي يتم تشغيل هيتر كهربائي قدرته 600 واط موضوع بين الدايات على مسافات متساوية لزيادة التدفئة أثناء الليل.

سقيت الدايات مرتين يومياً بالماء المقطر وبمعدل 1 لتر/ داية بطريقة الرش الرذاذي وباستعمال المرشة اليدوية ، كما رشت البادرات بعد الاسبوع الثالث بمحلول اليوريا $CO(NH2)_2$ بتركيز 2غم / لتر ماء مقطر وبمحلول سوبر فوسفات الكالسيوم$Ca(PO4)_2$ بتركيز80 ملغم/لتر بعد الاسبوع الخامس من الزراعة لدورهما في زيادة نمو البادرات.

3- زراعة البذور الملوثة وعزل الفطر الممرض *Aspergillus niger* :-

أما الدايات التي تم زراعة بذور الباقلاء الملوثة فيها (عن طريق تعفينها بوضعها في مكان مظلم لمدة 15 يوماً) فقد ملئت بتربة غير معقمة من الرمل والبيتموس وإلى نفس الارتفاع وعزلت عن موقع الدراسة في المساحة المخصص لها والتي تميزت بالإضاءة القليلة والرطوبة العالية لتحفيز نمو الفطريات على البادرات النامية لعزلها وتشخيصها فيما بعد.

وبعد 15 يوماً من زراعة البذور الملوثة وبعد ظهور الإصابة من حيث الذبول وظهور التفحم الأسود على الأوراق النباتية وخاصة السفلى عزلت الفطريات بحسب طريقة أبو شبع (11) وذلك بأخذ أوراق عشوائية ترتفع فيها نسبة الإصابة وقطعت إلى أجزاء وعقمت بهايبوكلورات الصوديوم تركيز(1%) لمدة دقيقتين بعدها غسلت بالماء المقطر ، ثم نشفت بورق ترشيح وزرعت في أطباق بتري قطر الواحد منها 9 سم وتحتوي على الوسط الزرعي Potato Dextrose Agar (P.D.A) المعقم بواقع 4قطع/ طبق وحضنت الأطباق بدرجة حرارة (25±2) لمدة أسبوع لزيادة نمو الفطريات وبعد انتهاء مدة الحضن تم تنقية عزلة الفطر بطريقة طرف الهيفا (12) ثم أخذت مسحة وفحصت تحت المجهر وشخص الفطر *Aspergillus niger* بالاعتماد على الصفات التصنيفية التي ذكرها(13) ، بعدها وضعت الأطباق المتبقية في الثلاجة لحين تحضير العالق الفطري منها.

4- تحضير تراكيز بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 :-

تم تحضير تراكيز مختلفة من محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 المحضر تجارياً بتركيز 9% حيث خفف 1 مل منه بـ 35 مل من الماء المقطر Distiled Water للحصول على تركيز 0.25 % وخفف 1 مل منه بـ17 مل ماء مقطر للحصول على التركيز 0.5 % وأخيراً خفف منه 1مل بـ35 مل ماء مقطر للحصول على تركيز (1%) من H_2O_2 ، وقد رشت البادرات من هذه التراكيز بعد 15 يوما من زراعة بذور الباقلاء المعقمة وبمعدل 500مل/وحدة تجريبية، أما معاملة السيطرة فقد رشت البادرات فيها بالحجم نفسة بالماء المقطر(14) .

5- تحضير العالق الفطري:-

بعد 15 يوماً من رش البادرات بالتراكيز المختلفة من بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 تم تحضير العالق الفطري من الأطباق المنمى عليها فطر *Aspergillus niger* وذلك بقشط السبورات النامية في كل طبق ووضعت في 125 مل من المحلول الملحي المتعادل Normal saline بتركيز 9% ورجت لفترة من الزمن، وبعد تعكر المحلول بسبورات الفطر أصبح االعالق الفطري جاهزا للرش(15)، وقد رش العالق على بادرات الباقلاء بمعدل 500 مل لكل وحدة تجريبية.

وبعد 45 يوما من من زراعة بذور الباقلاء أي بعد 15 يوماً من إضافة العالق الفطري تم عزل الفطر *Aspergillus niger* من نباتات الباقلاء التي ظهرت فيها الإصابة إذ أخذت أوراق نباتية عشوائية وقطعت إلى مربعات مساحة الواحدة منها 1سم2 ووضعت في أطباق بتري تحتوي على الوسط الزرعي P.D.A وتركت لينموعليها الفطر*Aspergillus niger* كما في الفقرة 3 ، للتأكد من وجود المسبب المرضي نفسه.

6- الصفات المدروسة:-

أما الصفات المدروسة فقد أخذت لفترتين هما :-

A- تأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 على نمو البادرات بعد 30 يوما من الزراعة:-

أعتمدت 6 نباتات عشوائية لكل وحدة تجريبية وكانت كالآتي:-

1- معدل ارتفاع البادرات:-وتم قياسه بالمسطرة من نقطة تماس النبات مع التربة.
2- معدل عدد التفرعات: على الساق الرئيسي لكل بادرة.
3- معدل عدد الأوراق: وحسبت كل الأوراق للنباتات الستة التي تم اختيارها عشوائياً.
4- المساحة الورقية: أعتمدت طريقة (16) لقياس المساحة الورقية إذ أخذت ثلاث اوراق عشوائية من كل نبات وفي كل وحدة تجريبية بعد الورقة رقم 6 من الأسفل في النبات ووزنت بعد فصل الأعناق منها وأخذت مربعات معلومة المساحة من هذه الأوراق واستخرج وزن المربع المقطوع وتم حساب المساحة الورقية حسب المعادلة الآتية:

$$S = G \times s / g$$

S = مساحة الورقة cm^2
s = مساحة المربع المقطوع cm^2
G= وزن الورقة gm
g = معدل وزن المربع المقطوعgm.

5- كمية الكلوروفيل في الأوراق: أخذت ورقتين عشوائيتين لكل نبات بالقرب من قمة النبات وقسيت كمية الكلوروفيل لها حسب طريقة (17) بحساب وزنها واستخلاص الصبغات باستعمال الأسيتون المركز 80% لمرتين متتاليتين ثم رشح

المستخلص بواسطة ورق ترشيح وتم قياس حجمه وقرئت الامتصاصية على الطوليين الموجيين 663 نانوميتر و645 نانوميتر بواسطة جهاز المطياف الضوئيSpectrophotometer وحسبت كمية الكلوروفيل حسب المعادلة الآتية:

كمية الكلوروفيل ملغم/ 100غم وزن طري= 20.21 (A645) + 8.02 (A633) × (v / 100 × W)

V = حجم المستخلص

W = الوزن الطري للعينة

A = الامتصاصية عند الطوليين الموجيين 633 و 645 نانوميتر.

6- معدل الوزنين الطري والجاف للمجموع الخضري للبادرات:- تم قياس الوزن الطري بقص المجموع الخضري للبادرات من منطقة اتصال الساق بالتربة ووضعت في أكياس بلاستيكية مغلقة وجلبت إلى المختبر مباشرة وسجلت أوزانها الطرية بواسطة ميزان حساس Sensitive balance ، ثم أدخلت بعدها إلى الفرن الكهربائي بدرجة حرارة 75م^{o} لمدة 72 ساعة ولحين ثبوت الوزن الجاف، ثم أخرجت العينات من الفرن ووزنت مرة أخرى لحساب الوزن الجاف (16).

B- تأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 في إصابة البادرات ومقاومتها بعد إضافة العالق الفطري وبعد 45 يوما من الزراعة:-

1- النسبة المئوية للأوراق المصابة: وتم حسابها بأخذ 6 نباتات عشوائية في كل وحدة تجريبية، وحسبت النسبة المئوية كالآتي:-

2- النسبة المئوية للأوراق المصابة = $\frac{\text{عدد الأوراق المصابة}}{\text{العدد الكلي للأوراق}} \times 100$

3- شدة الإصابة:- وقيست حسب طريقة(18) إذ قسمت النباتات أولاً إلى ثلاث فئات اعتماداً على النسبة المئوية للأوراق المصابة وكالآتي: الفئة الأولى: النباتات ضعيفة الإصابة.

الفئة الثانية: النباتات متوسطة الإصابة.

الفئة الثالثة: النباتات عالية الإصابة.

ثم حسبت شدة الإصابة Disease severity كما في المعادلة الآتية:

$$\text{Disease severity} = \frac{NPC \times CR}{NIP \times MSC}$$

NPC = عدد البادرات المصابة في تلك الفئة

CR = رقم الفئة

NIP = العدد الكلي للنباتات المصابة

MSC = أعلى رقم فئة مصابة

4- قطر المستعمرة ومساحتها: تم قياس قطر مستعمرة الفطر بأخذ عينة عشوائية للأوراق المصابة وأخذ منها مربعات مساحة الواحد منها 1 سم2 ووضعت في أطباق بتري قطر الواحد منها 9 سم تحتوي على الوسط الزرعي P.D.A ،إذ وضع مربع العينة في منتصف الطبق وعند وصول النمو الفطري لمعاملة السيطرة إلى حواف الطبق قيست أقطار المستعمرات للمعاملات الأخرى وذلك بأخذ قطرين متعامدين(11) ،أما المساحة فقد تم قياسها على اعتبار ان الفطر *Aspergillus niger* ذو نمو شعاعي، ولذلك استخرجت المساحة كالآتي: مساحة المستعمرة = نق2 × π.

5- معدل ارتفاع النبات: وتم قياسه كما في (الفقرة أولاً 1).

6- معدل المساحة الورقية:وتم قياسه كما في(الفقرة أولاً 4).

7- كمية الكلوروفيل: وقيست كما في المرة السابقة(الفقرة أولاً 6).

جدول -1- يوضح المعدلات الأسبوعية لدرجات حرارة الجوالمحيط بالبادرات والتربة خلال فترة الدراسة

أسابيع الدراسة	حرارة الوسط المحيط بالبادرات ْم	حرارة التربةْم
الأسبوع الأول	25.55 ْم	24.51 ْم
الأسبوع الثاني	24.45 ْم	23.92 ْم
الأسبوع الثالث	23.80 ْم	22.31 ْم
الأسبوع الرابع	22.25 ْم	20.61 ْم
الأسبوع الخامس	21.86 ْم	20.15 ْم
الأسبوع السادس	20.37 ْم	18.30 ْم

النتائج والمناقشة:-

أولاً: تأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 على مؤشرات النمو بعد30 يوماً من الزراعة(قبل إضافة المحلول الفطري):-

يتضح من نتائج الجدول 2 ان معدلات ارتفاع النبات لبادرات الباقلاء المعاملة بالتركيزين 0.25% و0.5% من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 قد اختلفا معنوياً عن معدلي ارتفاع النبات في معاملتي التركيز1% والسيطرة، وقد تفوق التركيز 0.25% معنوياً على بقية التراكيز وأعطى أعلى معدل لارتفاع النبات بلغ 20.96 سم مقارنة مع 18.33 سم و15.97 سم للتركيزين 0.25% و 0.5**%** وعلى التوالي.وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه(18) من ان H_2O_2 قد سبب زيادة معنوية في طول المجموع الخضري لنبات عباد الشمس ومع(20) من ان H_2O_2 قد سبب زيادة معنوية في طول ونمو البادرات.وقد يعود السبب في التأثير الإيجابي للتركيزين 0.25% و 0.5% من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 إلى انه يعمل كناقل إشارة لعمليات النمو والتطور في النباتات كالنمو الطولي للنبات واستطالة الخلايا وزيادة انقسام الخلايا ونموها(21 و 22 و 23)، وقد يكون دوره في النمو من خلال تحفيزه العمليات التأكسدية خلال عمليات التطور Ontogenesis في النبات(24) ، أما انعدام التأثير المعنوي للتركيز 1% في معدل ارتفاع النبات فمن الممكن ان يرجع إلى ان التراكيز العالية من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 والأشكال الأوكسجينية النشطة تعطل من الوظائف الخلوية والفسلجية الطبيعية في النبات(25) ، لأنها تسبب ضرراً تأكسدياً شديداً في الجزيئات البايولوجية الموجودة في الأغشية مثل البروتينات والدهون والأحماض النووية DNA (26).

ويتضح من الجدول نفسه ان بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 قد سبب زيادة معنوية في معدل عدد التفرعات الحديثة لكل نبات للبادرات المعاملة بالتراكيز المختلفة منه مقارنة مع مجموعة السيطرة، إلا انه لم تكن هناك فروقاً معنوية بين التراكيز وقد أعطى التركيز0.25% أعلى معدل لعدد التفرعات بلغ 3.33 فرع / نبات في حين أعطى التركيزان 0.5% و 1% معدلين لعدد التفرعات بلغا 3.00 فرع / نبات و 2.92 فرع/ نبات على التوالي.وتتفق هذه النتائج مع ما وجده(27) من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 قد حفز نمو التفرعات الحديثة من خلال نمو البراعم.

وقد يكون السبب في الزيادة المعنوية لعدد التفرعات بتأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 إلى ان الإضافة الخارجية لل H_2O_2تحفز بدرجة كبيرة من عمل Hydrogen cyanamide الذي يحفز من كسر كمون البراعم على السيقان من خلال تأثيره على الفعالية التنفسية وزيادة تركيز الANDH (28) ، وبالتالي نمو التفرعات الحديثة من مناطق البراعم وزيادة أعدادها.

جدول رقم (2) يوضح تأثير H_2O_2 على مؤشرات النمو بعد 30 يوماً من الزراعة.

مؤشرات النمو	التراكيز ملغم/ مل				L.S.D
	control	%0.25	%0.5	%1	
ارتفاع النبات سم	13.53	20.96	18.33	15.97	2.74
عدد التفرعات الحديثة فرع / نبات	1.67	3.33	3.00	2.92	1.24
عدد الأوراق في البادرات ورقة/ نبات	7.7	10.8	10.3	9.5	1.89
المساحة الورقية سم^2	7.84	14.92	14.47	13.91	4.14
كمية الكلوروفيل ملغم/100غم وزن طري	158.90	142.84	139.31	135.95	6.66

كما يوضح الجدول 2 أيضاً تأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 على عدد أوراق البادرات ، وقد سبب التركيزين 0.25% و 0.5% زيادة معنوية في عدد الأوراق مقارنة مع مجموعة السيطرة ، إلا انه لم يكن هناك فرقاً معنويا بين هذين التركيزين في الصفة المدروسة هذه، كما لم يختلف معنوياً التركيز 1% عن مجموعة السيطرة في هذه الصفة ، وقد أعطى التركيز 0.25% أعلى

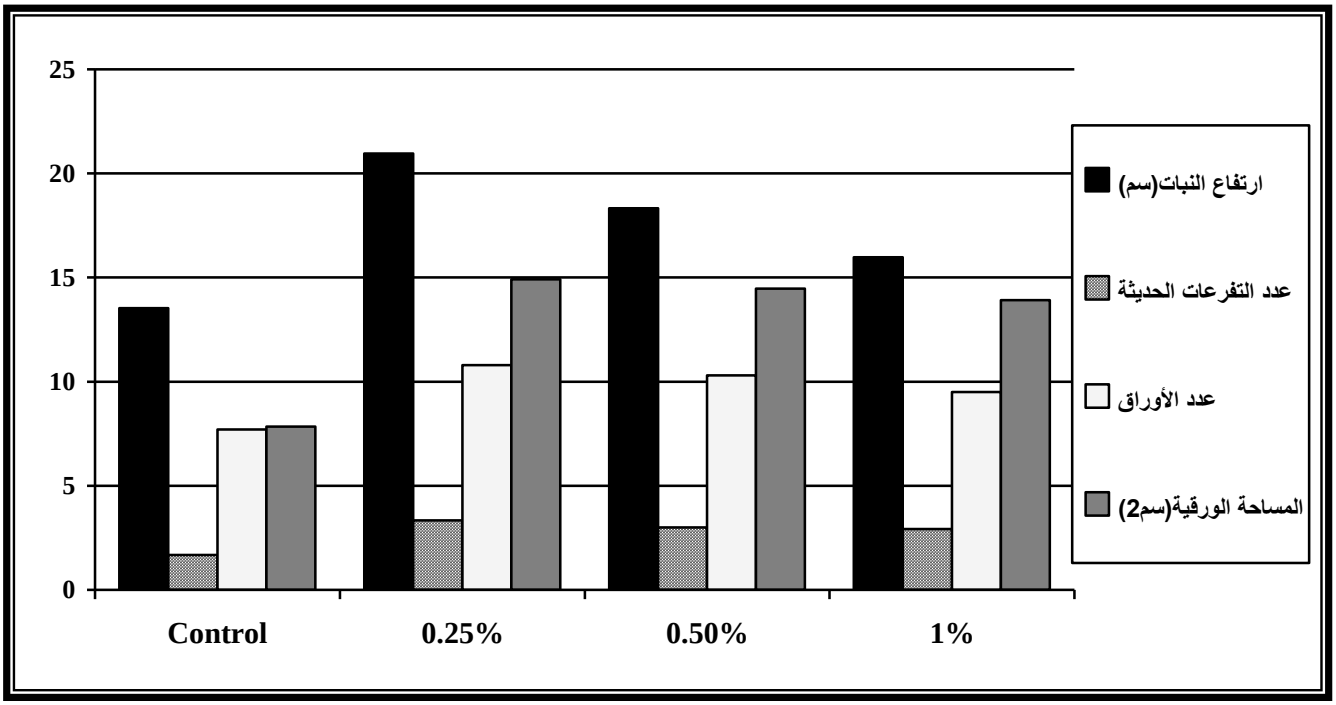
معدل لعدد الأوراق بلغ 10.8 ورقة/نبات ، فيما أعطى التركيزان 0.5% و 1% معدلين للعدد الأوراق بلغا 10.3 ورقة/نبات و 9.5 ورقة /نبات.

وقد يعود السبب في التأثير المعنوي للـH_2O_2 إلى دور الأشكال الأوكسجينية النشطةactive oxygen species ومنها H_2O_2 في التنظيم والسيطرة على الفعاليات البايولوجية كالنمو والتنظيم الهرموني مثل نمو الأوراق وتنظيم زيادة أطوالها (29 و 30) .

وتوضح النتائج المعروضة في الجدول نفسه تأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 على معدل المساحة الورقية لأوراق البادرات وقد سبب بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 زيادة معنوية في معدل المساحة الورقية للبادرات المعاملة بالتركيزين 0.25% و 0.5% مقارنة مع معاملة السيطرة.في حين ان التركيز 1% لم يسبب أي زيادة معنوية في معدل المساحة الورقية ، وقد أعطى التركيز0.25% أعلى معدل للمساحة الورقية بلغ 14.92 سم^2، في حين أعطى التركيزان 0.5% و 1% معدلين للمساحة الورقية بلغا 14.47 سم^2 و 13.91 سم^2 وعلى التوالي.

وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (30) من ان بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 قد سبب زيادة معنوية في أطوال ومساحات الأوراق، ومع ما توصل إليه (30) من ان H_2O_2 سبب زيادة معنوية في مساحة نصول الأوراق من خلال اتساع خلايا الأوراق.وقد يكون السبب في الزيادة المعنوية في المساحة الورقية التي سببها التركيزان 0.25% و 0.5% إلى ان بروكسيد الهيدروجين والأشكال الأوكسجينية النشطة الأخرى تسبب تجزئة وانشطار السكريات المتعددة في الجدر الخلوية للأوراق في الحالات الطبيعية وبالتالي تزداد لدانة الجدران مما يؤدي إلى اتساع الخلايا(32) وكبر المساحة الورقية.

كما يوضح الجدول نفسه 2 تأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 على كمية الكلوروفيل في أوراق الباقلاء حيث سبب بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 انخفاضاً معنوياً في كمية الكلوروفيل في بادرات الباقلاء المعاملة بالتراكيز المختلفة منه مقارنة مع معاملة السيطرة ، وازداد الانخفاض بزيادة التركيز ، وقد تفوق التركيز 1% من بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 في تسجيل أعلى انخفاض معنوي في معدل كمية الكلوروفيل وبلغت 135.95 ملغم/100غم وزن طري ، ولكنه لم يختلف معنوياً عن التركيز 0.5% الذي سجل كمية كلوروفيل بلغت 139.31 ملغم/100غم وزن طري، وقد اختلفا هذان التركيزان معنوياً عن التركيز0.25% الذي سجل معدل لكمية الكلوروفيل بلغ 142.84 ملغم/100غم وزن طري .وتتفق هذه النتائج مع ما أشار إليه (33) من ان التراكيز المختلفة من بيرو كسيد الهيدروجينH_2O_2 قد سببت انخفاضاً معنوياً في كمية الكلوروفيل في الأوراق.وقد يعود السبب في الانخفاض المعنوي في كمية الكلوروفيل بتأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 إلى انه يشترك في إنتاج جذر (OH) وبعض التفاعلات التي تسرع من شيخوخة الأوراق(34) ، أو ان بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 يزيد من تحلل الكلوروفيل والكاروتينات والبروتينات بعمليات الاكسدة باعتباره عاملاً مؤكسداً فعالاً(33) .



شكل 1 تأثير بيروكسيد الهيدروجين في بعض صفات النمو(ارتفاع النبات،عدد التفرعات،عدد الأوراق، المساحة الورقية) بعد30 يوما من الزراعة

أما نتائج الجدول 3 فتوضح تأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 على الوزن الطري للمجموع الخضري للبادرات ، حيث سبب بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 زيادة معنوية في الوزن الطري للمجموع الخضري للبادرات المعاملة بالتركيزين 0.25% و 0.5% مقارنة مع معاملة السيطرة، إلا انه لم يكن هناك اختلاف معنوي بين هذين التركيزين في هذه الصفة المدروسة ، كما لم يكن هناك اختلاف معنوي بين معاملة السيطرة والتركيز 1% .وقد سجل التركيز 0.25% أعلى معدل للوزن الطري بلغ 4.972 غم ، بينما سجل التركيزان 0.5% و 1% معدلين للوزن الطري بلغا 4.928 غم و 3.945 غم وعلى التوالي.وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليها (20) من ان بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 قد سبب زيادة معنوية في الوزن الطري للبادرات بعد 8أيام من اضافته مقارنة مع السيطرة.ومن الممكن ان يكون السبب في التأثير المعنوي لبيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 في زيادة الوزن الطري هو انه يحفز التغيرات السريعة في pH للسايتوبلازم والفجوة العصارية في الخلايا الحارسة للباقلاء، ويحفز -H^+ ATPase للغشاء البلازمي مما يسبب زيادة في حامضية الغشاء وقاعدية السايتوبلازم ، كما يعمل على زيادة أيونات Ca^{2+} وتغيرات في أيونات K^+ للغشاء مما يؤدي في نهاية هذه التغيرات إلى غلق الخلايا الحارسة(35) وبالتالي يقلل من عمليات النتح وزيادة احتفاظ البادرات بالماء مما يؤثر إيجاباً على الوزن الطري.

جدول- 3 - تأثيرH2O2 على الوزنين الطري والجاف للمجموع الخضري للبادرات(بالغرامات) بعد 30 يوماً من الزراعة.

مؤشرات النمو	التراكيز ملغم / مل				L.S.D P<0.05
	control	%0.25	%0.5	%1	
الوزن الطري	3.280	4.972	4.928	3.945	1.63
الوزن الجاف	0.4277	0.3978	0.3928	0.3883	0.022

ويلاحظ كذلك من الجدول نفسه 3 تأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 على الوزن الجاف للمجموع الخضري لبادرات الباقلاء ، فقد سبب انخفاضاً معنوياً في الوزن الجاف في البادرات المعاملة بالتراكيز المختلفة من بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 مقارنة مع مجموعة السيطرة، وقد سجل التركيز 1% أعلى انخفاض معنوي في الوزن الجاف بلغ 0.3883 غم ، إلا انه لم يختلف معنوياً عن التركيزين 0.25% و 0.5% الذين أعطيا معدلين للوزن الجاف بلغا 0.3978 غم و 0.3928 غم وعلى التوالي.

وقد يعود السبب في الانخفاض المعنوي في الوزن الجاف بفعل بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 إلى انه يعمل كمحفز تنفسي قوي يسرع من تحلل المواد الغذائية المخزونة لتجهيز دعم إضافي وسريع للطاقة والمواد التي يحتاجها النبات في مناطق النمو (36) ولذلك فإن للأشكال الأوكسجينية النشطة ومنها بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 القابلية على تحليل وتحطيم المواد والمركبات الخلوية والتقليل من المحتوى البروتيني(37 و 38)، مما يؤثر سلباً على الوزن الجاف للبادرات.

ثانياً: تأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 على صفات النمو بعد15 يوما من إضافة العالق الفطري:-

توضح نتائج الجدول4 تأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 على النسبة المئوية للأوراق المصابة بالفطر *Aspergillus niger* بعد 15 يوما من إضافة العالق الفطري، واشارت النتائج إلى ان بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 قد سبب انخفاضا معنوياً في النسبة المئوية للأوراق المصابة للبادرات المعاملة بالتراكيز المختلفة منه مقارنة مع مجموعة السيطرة ، وقد تفوق التركيز 0.25% معنوياً على بقية التراكيز وأعطى أعلى معدل انخفاض معنوي في النسبة المئوية للأوراق المصابة بلغ 18.51% مقارنة مع 22.99% و 35.06% للتركيزين 0.5% و 1% على التوالي.وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه(5) من ان بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 يقلل من نسبة الاصابة من خلال تثبيط نمو الفطر*phytophthora erythroseptica* وان اضافته بعد الإنبات سيساعد على منع نمو الفطر. ومن الممكن ان يكون السبب في الانخفاض المعنوي في النسبة المئوية للأوراق المصابة بتأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 إلى انه يلعب دوراً مهماً خلال تفاعلات المقاومة في النبات من خلال سيطرته على الممرضات الفطرية بتحطيم خلايا الممرض نفسه قبل نموه داخل النبات (23) أو انه والأشكال الاوكسجينية النشطة active oxygen species الأخرى تعد إشارة استحثاث مهمة داخل النبات للاستجابة للإجهادات الحيوية كالغزو الفطري بشكل عام(4) .

كما يتضح من الجدول نفسه تأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 على شدة الإصابة بالفطر *Aspergillus niger* حيث أشارت النتائج إلى ان بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 قد سبب انخفاضا معنويا في شدة الإصابة بالفطر في البادرات المعاملة بالتراكيز المختلفة منه مقارنة مع مجموعة السيطرة ، وقد تفوق التركيزان 0.25% و 0.5% معنوياً على التركيز 1% في خفض معدل شدة الإصابة ، وأعطيا معدلين هما 29.08 و 34.33 في حين سجل التركيز1% أقل النتائج وقد بلغ 41.41.

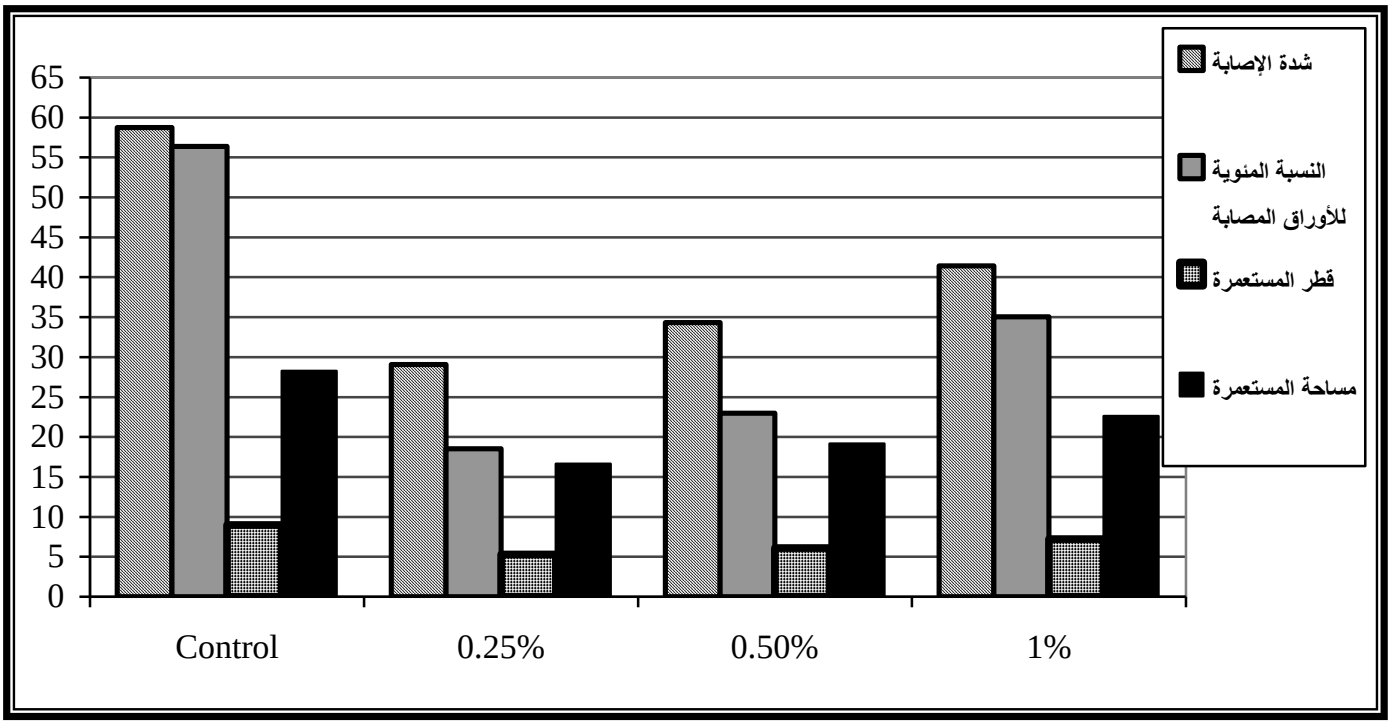
وقد يعود السبب في الانخفاض المعنوي لشدة الإصابة باستعمال بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 إلى ان المثيرات غير الإحيائية كالاشكال الأوكسجينية النشطة وبضمنها بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 تؤدي إلى تكوين الحاميات النباتية

Phytoalexine التي تلعب دوراً أساسياً في حث مقاومة النبات وحمايته من الإصابة بالغزو الفطري(38) وبالتالي التقليل من شدة الإصابة ، أو ان بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 يقلل من شدة الإصابة لدوره المهم في الجدار الخلوي الذي يتنبه للمقاومة قبل دخول المسببات المرضية (40)،على ان الجدار الخلوي يتنبه للمقاومة من خلال ترسيب اللكنين وتكوين الكالس في الوصلات البلازمية كما هو الحال في الأنابيب الغربالية واستحثاث تقوية الروابط العرضية في الجدر الخلوية وغيرها (41) .

جدول 4 تأثيرH_2O_2 على مؤشرات الإصابة بعد 15 يوماً من إضافة العالق الفطري.

مؤشرات الإصابة	التراكيز ملغم / مل				L.S.D
	Control	% 0.25	% 0.5	% 1	
النسبة المئوية للأوراق المصابة(%)	56.38	18.51	22.99	35.06	12.38
شدة الإصابة	58.76	29.08	34.33	41.41	12.24
معدل قطر المستعمرة (سم)	9.0	5.3	6.1	7.2	2.4
مساحة المستعمرة(سم^2)	14.13	8.32	9.58	11.30	3.77

ومن نتائج الجدول 4 يتضح أيضا تأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 على قطر مستعمرة الفطر ومساحتها ، حيث سبب التركيزان 0.25% و 0.5% انخفاضاً معنوياً في معدلي قطر مستعمرة الفطر ومساحتها مقارنة مع معاملة السيطرة، وسجل التركيز 0.25% أعلى انخفاض لمعدلي قطر المستعمرة ومساحتها بلغا 5.3 سم و 8.32 سم^2 وعلى التوالي، في حين لم يسجل التركيز 1% أي اختلاف معنوي في معدلي قطر المستعمرة ومساحتها مقارنة مع مجموعة السيطرة. وقد يعود الانخفاض المعنوي الذي سببه بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 في قطر المستعمرة ومساحتها إلى ان بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 وكما ذكر سابقاً يقلل من الإصابة بالفطر ويثبط من نموه ، وبما أن الفطر*Aspergillus niger* ذو نمو شعاعي باتجاه الأقطار في المستعمرات النامية على الأطباقلذلك يقل قطر المستعمرة ومساحتها(11).



شكل -2- تأثير بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 على مؤشرات الإصابة بعد 15 يوما من إضافة العالق الفطري

ومن نتائج الجدول 5 يتضح تأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 على ارتفاع النبات بعد إضافة المحلول الفطري، وقد سبب بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 زيادة معنوية في ارتفاع النبات في البادرات المعاملة بالتراكيز المختلفة منه مقارنة مع معاملة السيطرة، إلا انه لم يسبب اختلافاً معنوياً بين التراكيز، وقد أعطى التركيز 0.25% أعلى معدل لارتفاع النبات بلغ 31.45 سم .

ومن الممكن ان يعود السبب في التأثير الإيجابي لبيروكسيد الهيدروجين H_2O_2على ارتفاع النبات بعد الإصابة بالعالق الفطري مقارنة مع مجموعة السيطرة إلى ان التأثيرات التي تساعد على كبح الممرضات النباتية وخفض تأثيراتها الضارة تشجع في الوقت نفسه من نمو النبات (42) أو ان السيقان كلما تزداد فيها الإصابة بالفطريات يحدث فيها تلكأ في عملية نقل الماء والمغذيات إلى الأجزاء الأخرى في النبات وبالتالي يحدث تلكأ في عملية النمو والتطور في النبات(43) .

جدول 5 تأثيرH_2O_2 على مؤشرات النمو بعد 15 يوماً من إضافة العالق الفطري.

مؤشرات النمو	التراكيز ملغم / مل				L.S.D
	control	% 0.25	% 0.5	% 1	
ارتفاع النبات(سم)	19.19	31.45	28.56	27.08	5.13
المساحة الورقية (سم^2)	13.79	20.04	17.80	16.13	3.11
كمية الكلوروفيل(ملغم/100غم وزن طري)	140.44	151.12	150.67	145.46	4.33

كما يوضح الجدول 5 تأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2على المساحة الورقية بعد 15 يوما من إضافة المحلول الفطري، وقد سبب التركيزان 0.25% و 0.5% زيادة معنوية في المساحة الورقية مقارنة مع معاملة السيطرة وسجلا معدلين للمساحة الورقية بلغا 17.04 سم^2 و 14.80 سم^2 وعلى التوالي ، في حين لم يختلف التركيز (1%) عن معاملة السيطرة في هذه الصفة.وقد يعود السبب في الزيادة المعنوية التي سببها بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 في معدل المساحة الورقية إلى انه شجع في نمو البادرات قبل وبعد الإصابة كما أشارت إليه النتائج وفي كل أجزاء النبات من أوراق وسيقان ،أو ان الأوراق المصابة بالفطريات تضعف قابليتها على البناء الضوئي حيث يصبح النبات غير قادر على تصنيع الغذاء الأمر الذي يؤدي إلى تأخر في نمو الأوراق وزيادة مساحتها(43) .

وأشارت النتائج في الجدول نفسه 5 إلى تأثير بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 في كمية الكلوروفيل في الأوراق بعد 15 يوما من إضافة المحلول الفطري، وقد سبب بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 بكل تراكيزه المستعملة زيادة معنوية في كمية الكلوروفيل في الأوراق مقارنة مع معاملة السيطرة، وتفوق التركيزان 0.25% و 0.5% معنوياً على التركيز 1% في هذه الصفة المدروسة.وسجل التركيز0.25% أعلى معدل لكمية الكلوروفيل بلغ 151.12 بينما سجل التركيزان 0.5% و 1% معدلين لكمية الكلوروفيل بلغا 150.67 ملغم/100غم وزن طري و 145.46 ملغم/100غم وزن طري وعلى التوالي.وقد يعود السبب في الزيادة المعنوية الحاصلة في كمية الكلوروفيل بفعل بيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 إلى ان سبورات فطر *Aspergillus niger* تؤدي إلى تحليل الكلوروفيل في الأوراق وبالتالي التقليل من كميته(44) ، وبما ان لبيروكسيد الهيدروجينH_2O_2 دور في التقليل من الإصابة بالفطر فلذلك أصبح له دور في التقليل من انحلال الكلوروفيل بفعل الفطريات.

References

1. Al-Whaibi, M. H. (2007) .Phytoalexins (Minireview) .Saudi Journal of Biological Science., Vol.14, No.1: 1-12.
2. Kloepper, J.W; Tuzun,S. and Ku'c,J (1992). Proposed definitions related to induced disease resistance. Biocontrol Sci.Technol.,2: 349-451.
3. عتيق، عمر(2007): دور المقاومة الجهازية المكتسبة في نبات البندورة إزاء الأمراض المتسببة عن الجنس Alternaria ، رسالة ماجستير ، كلية الزراعة، جامعة حلب ، سوريا.
4. Van Breusegem,F.; Varnova .E.; Dat,L. and Inze,D.(2001). The role of Active oxygen species in plant signal transduction. Plant Science.,161: 405-414.

5. Al-Maghrabi,K.I.(2006).Sensitivity to hydrogen peroxide in vitro of north American isolated of *phytophthora erythroseptica* . Plant Path.J.,5(1): 7-10.
6. القيسي،مهدي ضمد(2000).الآفات المستقبلية لتصنيع البقوليات ودورها في الأمن الغذائي، مجلة الزراعة والتنمية في الوطن العربي، 3: 50-55.
7. Jeleni'c,S.; Mitrikeski,P.T.; Papeš,D. and Jelaska,S.(2000).Agrobacterium- mediated transformation of broad bean *Vicia faba* L. Food Technol. Biotechnol., 38: 167-172.
8. Suzui,T. and Makino, T.(1980). Occurrence of Aspergillus crown rot of peanut caused by Aspergillus niger van Tieghem.Ann.Phytopathol.Soc.Japan.46:46-48.
9. David Clay and Francis J.Pierce (2007).Factional food and biotechnology .1st ed.CRC Press. India.
10. Wood, J.B.,(1998). Microorganisms in food.Academic and professional . An Imprint of Champan and Hall press. 101pp.
11. أبو شبع، رائد علي حسين(2003): دور التأثير السمي للأفلاتوكسينات التي يفرزها Aspergillus niger و *Aspergillus flavus* على بعض أنسجة الفأر الأبيض وإمكانية حماية حاصل الذرة الصفراء من الإصابة بهما. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الكوفة، العراق.
12. Dehimat L., and Atalla M.M., (1990). Etude des mycotoxines de moisissures contaminant les céréales et légumes secs variées . Thèse de magister ISN. Univ. Constantine.
13. Domsch,K.H.; Gams,W.and Anderson,T.H.(1980).Compendium of plant fungi .Academic London Press.2vols.
14. Mahmoud, E.Y.; Shokry, S.Y.M. and Hussin, Z.N.(2006). Induction of resistance in peanut plants against root rot disease under greenhouse by some chemical inducers. J. Agric. Sci. .Mansoura Univ., 31(6):3511-3524.
15. Mahalakshi ,S. and Reetha,D.(2009). Assessment of plant growth promoting activities of bacterial isolated from the Rhizophere of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.).Recent Res. In Sci. and Technol.1(1): 26-29.
16. الخفاف، آلاء عبد علي(2006). مقاومة مرض موت بادرات الخيار المتسبب عن الفطر *Pythium aphanidermatum* (Edson)Fitz بالمبيدين الحيويين فلوراميل وباسلين والمبيد الكيميائي بيلتانول ودورهما في تحسين صفات النمو والإنتاج.رسالة دكتوراه، كلية التربية للبنات، جامعة الكوفة،العراق.
17. Ranganna,S.(1977). Manual of analysis of fruit and vegetable products Tata.McGraw- Hill Publishing Compang Limited –New Delhi. India.
18. El-Ghamry,A.M.; Abd El-Hai,M.. and Ghoneem, M.(2009). Amino and Human acid promote growth , Yield and disease resistance of faba bean cultivate in clayey soil. Asut. J. Basic and Applied Sci., 3(2): 731-739.
19. Dolatabadiani,A; Mohammad,S. and Sanyvy,M.(2008).Effect of Ascorbic acid, Pyridoxine and Hydrogen peroxide treatment on germination catalase activity , protein and malondialdehyde content of Three oil seeds.Not.Bot.Hort.Agrobac. Cluj. Academic press.Vol.36(2):61-66.
20. Hameed,A.; Farooq, S., Iqbal,N. and Arshad, R.(2004).Influence of exogenous application of hydrogen peroxide on root and seedling growth on wheat (*Triticum aestivum* L.). Int.J.Agri. Biol., Vol.6, No.2: 366-369.
21. DeMarco,A. and Roubelakis-Angelakis,K.(1996). The complexity of enzymatic control of hydrogen peroxide concentration may effect the regeneration potential of plant protoplast. Plant Physiol.,110: 137-145.
22. Chein,Y.; Huang,R.; Xiao,Y.; Lü,P.; Chen,J. and Wang,X.(2004). Extracellular Camodulin – induced stomatal closure is mediated by Heterotri G protein and H2O2 .Plant physiol., 136:4096-4103.
23. Webber,C.L.III; Sandter,S.L. and Webber,C.L.(2007). Hydroxyl radicals as Active oxygen species soil amendent for greenhouse nasturtium production (*Tropaedum majus* L.) . Proceeding of Hort. Industry. Show. 26: 140-144.

24. Anonymous, L.(2002). Report by the Mass Governor's Advisory Council on Radiation Protection, 3rd Ed., Center for Nuclear Technology and Society at Worcester Polytechnic Institute, Worcester.
25. Gill,G. and Singler,K.(1995).Oxidative stress and living cells. Folia Microbiol., (40):131-152.
26. Alia,A; Prasad,K.V. and Pardha,S.P.(1995). Effect of Zinc on free radicals and praline in *Brassica juncea* and *Gajanus cajan*. Phytochemistry ,39:45-47.
27. Kuroda,H.; Sugiura,T. and Sugiura,H.(2005).Effect of Hydrogen Peroxide on Breaking Endodormancy in Buds of Japanese Pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). J.Japan. Soci. Horti.Sci., 74(3): 255-257
28. Peréz,F.J.; Vergara,R. and Rubio,S.(2008). H_2O_2 involved in the dormancy breaking – effect of hydrogen cyanamide in grapevine buds.J.Plant growth regulation.55(2): 149-155.
29. VanBreusegam ,F and Mittler, J.(2009).Reactive oxygen species.Plant physiol., 43(5) : 55-57.
30. Narimanov, A.A. and Y.N. Korystov, 1997. Low doses of ionizing radiation and hydrogen peroxide stimulate plant growth. Biologia (Bratislava), 52: 121–4
31. Rodrigues,A.A.; Grunberg,K.A. and Taleisnik, E.L.(2002). Reactive oxygen species in the Elongation zone of maize leaves are necessary for leaf extension. Plant Physiol.,Vol.129: 1627-1632.
32. Schweikert, C; Liszkay,A. and Schopfer,P.(2000). Scission of poly saccharaides by peroxidase generated hydroxyl radicals. Phytochemistry,53: 565-570.
33. Upadhyaya, H.; Khan, M.H. and Panda, S.K.(2007). Hydrogen peroxide induces oxidative stress in Detached leaves of *Oryza sativa* L. Plant physiol., 33(1-2): 83-95.
34. Panda, S.K. and Patra, H.K.(2000). Does Chromium (III) produce oxidative maizedamage in excised wheat leaves?.J.Plant Bio.,27:105-110.
35. Zhang,X; Dongi,F.; Gao,J.F. and Songi,C.P.(2001). Hydrogen peroxide – induced changes in intercellular pH of guard cell precede stomatal closure.Cell Res., 11:37-43.
36. Copeland,L.O and McDonald,M.B.(2001). Principles of seed science and technology , 4th ed. Kluwer Academic publishers.USA.108pp.
37. Hendry,G.A.F.(1993).Oxygen free radical process and seed longevity. Seed Scie. Res., 3: 141-153.
38. Casano,L.M.; Lascano,H.R. and Trippi, V.S.(1994). Hydroxyl radicals and a thylakoid bond endopeptidase are involved in light and oxygen induced proteolysis in at chloroplast . Plant cell physiol., 35: 145-152.
39. Soyln,S.; Bennett,M.H. and Mansfield,J.W.(2002). Induction of phytoalexin accumulation in broad been (Vicia faba L.) catyledons following treatments with biotic and abiotic elicitors.Turk.J.Agric.For.,26:343-348.
40. Wu,G; Shortt,B.J.; Lawrence,E.; Lerine, E.B; Fitzsimmons, K.C. and Shah,D.M.(1995). Disease resistance conferred by expression of Active oxygen species gene encoding H2O2 generating glucose oxidase in transgenic Potato plants. Plant cell.USA.,7(9): 1357-1368.
41. Talarczyk,A. and Hennig,J.(2001).Early defence responses in plants infected with pathogenic organisms. Cellular and Molecular Biology Letters, 6: 955-970.
42. Whipps,J.M.(2001). Microbial interaction and biocontrol in the Rhizosphere .J. Exp. Bot., 52: 487- 511.
43. Herren,R.V.(2007). The science of agriculture: A Biological approach , 3rd ed. Thomson Delmar Learning. Canada.
44. Li,M.Y.;Lan,W.Z.; Chen,C. and Yu,L.(2003).The effect of oligosaccharide and spores from Aspergillus niger on the defence responses to Taxus chinensis leaves in vitro. Ann.Phytopathol.Soc.Japan,56: 140-148.