حث نباتات الكلغان *Syllibium marianum* بحامض الساليسليك و الاسيتايل ساليسليك لمقاومة مرض البياض الدقيقي

نديم احمد رمضان* صفا رافع عبد الإله نبراس ناصح سعيد

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

*E.mail: nadeem.ramadan53@yahoo.com

(أستلم 2013/ 12 /29 ؛ قبل 2014/ 3/ 10)

الملخص

اظهر الفحص المجهرى أن المسبب لمرض البياض الدقيقي على الكلغان هو الفطر *Erysiphe cichoracaerum* وتبدأ الأعراض بالظهور في منتصف شهر آذار. تشير النتائج إلى أن رش النباتات بمبيد النيم مرتين (5%) لم يكن له تأثير في نسبة الكلوروفيل ولكنه أدى إلى خفض شدة ونسبة الإصابة إلى 0.22 و 50.0% على التوالي. وإن استخدام تراكيز مختلفة من حامض الساليسليك (SA) والاسيتايل ساليسليك (ASA) أدت إلى زيادة في الوزن الطري والجاف وارتفاع النباتات، وسبب التركيز 1 ملي مول ASA /رشة واحدة إلى زيادة الوزن الطري إلى 10.9 غم واختلف الوزن الجاف معنويا عن بقية المعاملات عدا التركيز 1ملي مول AS /رشة واحدة.

إن أفضل تركيز أدى إلى زيادة نسبة الكلوروفيل في النباتات المصابة بمرض البياض الدقيقي هو 5 ملي مول SA / رشة واحدة اذ بلغت 24% و اختلفت معنويا عن بقية المعاملات الأخرى عدا معاملة 5 ملي مول SA رشتين وكانت النسبة 21.3%، وكان التركيز 5 ملي مول SA أفضل في حث المقاومة مما أدى إلى خفض شدة الإصابة إلى 0.2 وبنسبة انخفاض 95.54 % وجد أن نباتات الكلغان المعاملة رشا بحامض الساليسليك أدى إلى زيادة نشاط أنزيم البيروكسيداز في أوراق نباتات الكلغان التي رشت مرتين بحامض ASA وبالتركيز 5 ملي مول (0.089) وبنسبة زيادة بلغت 0.036 عن المقارنة (0.053) واختلف معنويا عن جميع المعاملات الأخرى. ارتفع نشاط أنزيم الفينيل الانين امونيا لاييز 0.62 في النباتات التي رشت مرة واحدة و بالتركيز 5 ملي مول ASA (53%) و اختلفت معنويا عن بقية المعاملات عدا التركيز 10 ملي مول ASA رشة واحدة.

الكلمات الدالة: حامض الساليسليك، الاسيتايل ساليسليك، حث المقاومة الجهازية، الأنزيمات.

Salicylic Acid and Acetylsalicylic Induced Resistance to Powdery Mildew Disease of Milk thistle (*Syllibium marianum*)

Nadeem A. Ramadan*

Safa R. Abd-Alela

Nebras N. Saaed

Department of Biology/ College of Science/ University of Mosul

ABSTRACT

Microscopic examination showed that *Erysiphe cichoracaerum* is the causal agent of Milk thistle powdery mildew and its symptoms begin to appear in the middle of March.

Plants sprayed with Neem (5%) had no effect on the percentage of chlorophyll, but reduced the severity percentage infection to 2.2, 50.0% respectively. The use of different concentrations of salicylic acid (SA) acetylsalicylic acid (ASA) led to an increase in wet and dry weight and higher plants hieght. One spray with 1 mmole ASA increased the wet weight to 10.9 g. In the meantime, the dry weight differed significantly from other treatments except of 1 mmole SA once spray.

The better concentration was (24%) for increasing the percentage of chlorophyll in infected plants with powdery mildew was observed with 5 mmole SA once spray and significantly different from the rest of the treatments other than 5 mmol SA sprayed twice which was 21%. The concentration of 1 mmol. SA also was found the best in inducing resistance resulting in a reduction of the infection severity to 0.2 and percentage of infection severity to 95%.

Spraying of Milk thistle plants with SA increased the activity of peroxidase enzyme (60%) in plants sprayed twice with SA 5 m mole (0.089) comparing to the control (0.053).

Also, the enzyme activity of phenylalanine ammonia lyase was increased (0.618) in plants sprayed twice with 5 mmole SA (53%) and hence significantly different from other treatments other than SA 10 mmole sprayed twice.

Keywords: Salicylic acid, Actyl salicylic acid, Induced systemic resistance, Enzymes.

المقدمة

تعود نباتات الكلغان (Milk thistle) الى العائلة المركبة Asteraceae، ولهذا النبات أهمية طبية لاحتواء بذوره على العديد من المركبات الفلافينية التي تسمى معقدات سليمارين (Silymarin-complex) وهو خليط معقد من الفينولات و التي تشمل Silybinin و Silydianin و Silychristin و Taxifolin (Porter, 2003). يستوطن مرض البياض الدقيقي في المحافظات الشمالية من العراق و يصيب العديد من المحاصيل الحقلية و البستانية و الأدغال و تصاب نباتات الكلغان بمرض البياض الدقيقي المتسبب عن فطر *E. cichoracaerum* ابتداءً من النصف الأول لشهر آذار (الكراني، 2006).

ترتبط مقاومة أمراض النبات بتراكم الأنزيمات والمضادات الحيوية والمثبطات ويمكن حث المقاومة الجهازية للعائل النباتي ضد المسببات المرضية عن طريق استخدام حامض الساليسليك و الاسيتايل سلسليك (Delaney, 1997 و Maleck et al., 2000). حامض الساليسليك (الحامض أليفصافي أو حامض الصفصاف) هو حامض كربوكسيلي أروماتي تركيبه الكيميائي $(C_6H_4(OH)COOH)$ عديم اللون يستخلص طبيعياً من بعض النباتات كالصفصاف الأبيض وإكليلية المروج ويمكن صنعه كذلك في المختبر وهو المركب الرئيسي لعدة أدوية معروفة خاصة الأسيرين (Maria and 2007) (Martínez-Merino).

أشارت العديد من الدراسات الى التأثير المباشر لمستخلص نباتات وثمار النيم في الآفات و مسببات امراض النبات (Eppler, 1995; Amadioha, 2000). معلومات محدودة متوفرة عن تأثير مستخلصات النيم في المكونات الكيميائية لأوراق النباتات و حث المقاومة ضد مسببات الامراض. وجد (Singh and Prithiviraj, 1997). ان النيم حث مقاومة نباتات البزاليا ضد البياض الدقيقي المتسبب عن فطر *Erysiphe pisi*. تهدف الدراسة الحالية إلى حث المقاومة المكتسبة في نباتات الكلغان ضد الفطر المسبب لمرض البياض الدقيقي باستخدام حامض الساليسليك والاسيتايل ساليسليك و مبيد النيم رشا على النباتات.

المواد وطرائق العمل

جمعت نباتات الكلغان من حقول كلية الزراعة و الغابات - جامعة الموصل في نهاية شهر شباط (18\2\2013) وهي في عمر 2-4 أوراق و زرعت في سنادين (قطرها 20 سم) و تحتوي على 5 كغم تربة معقمة مسبقاً بالفورمالين 1% (Mustafee and Chattopadhyay, 1981) و بمعدل نبات لكل سندان. تركت النباتات في الحديقة الخلفية لقسم علوم الحياة و قسمت إلى 15

مجموعة كل مجموعة تضم 5 سنادين ورشت النباتات بالمواد وكانت رشة واحدة في 7 آذار 2013 و الرشة الثانية في 25 آذار 2013، نفذت تجربة عاملية وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة وكمايلي:

- 1- رش النباتات بالماء فقط (المقارنة).
- 2- رش النباتات بمبيد النيم رشة واحدة 5%
- 3- رش النباتات بمبيد النيم رشتين 5%.
- 4- رش النباتات مرة واحدة بالتراكيز 1 و 5 و 10 ملي مول من حامض الساليسيليك.
- 5- رش النباتات مرتين بالتراكيز 1 و 5 و 10 ملي مول من حامض الساليسيليك.
- 6- رش النباتات مرة واحدة بالتراكيز 1 و 5 و 10 ملي مول من الاسيتايل ساليسيليك.
- 7- رش النباتات مرتين بالتراكيز 1 و 5 و 10 ملي مول من الاسيتايل ساليسيليك.

عند وصول النباتات مرحلة قبيل الأزهار تم اخذ القراءات التالية : طول المجموع الخضري والوزن الطري والجاف للمجموع الخضري وقياس المحتوى النسبي للكلوروفيل وأنزيم البيروكسيداز و قياس أنزيم الفينيل الانين امونيا لاييز. حللت النتائج إحصائياً واختبرت بطريقة دنكن المتعدد المدى (عنتر، 2010).

تأثير الإصابة في معدل الوزن الطري والجاف للمجموع الخضري للنباتات

قلعت النباتات من السنادين ووضعت في أكياس نايلون ونقلت إلى المختبر وأزيلت التربة العالقة بها بوضعها تحت ماء الحنفية لمدة نصف ساعة ووزنت ودونت النتائج، بعدها وضعت نباتات كل سندان في كيس ورقي ووضعت بالفرن الكهربائي في درجة 80م لمدة ثلاثة أيام حتى ثبات الوزن ثم أخرجت من الفرن ووزنت ثانية لحساب الوزن الجاف لنباتات كل سندان على حدى.

شدة الإصابة على أوراق نباتات الكلغان

قدرت شدة الإصابة على أوراق النباتات المصابة بالبياض الدقيقي بعد الرش الثانية بخمسة عشر يوما وبواقع ثلاثة نباتات لكل مستوى وقدرت شدة الإصابة تبعا لطريقة (Clark,1975) إذ حصرت شدة الإصابة بمدى يتراوح بين (0-5) كالاتي:

0= النباتات سليمة وخالية من الإصابة.

1= البياض الدقيقي يغطي 1-20% من مساحة الورقة.

2= البياض الدقيقي يغطي 21-40% من مساحة الورقة.

3= البياض الدقيقي يغطي 41-60% من مساحة الورقة.

4= البياض الدقيقي يغطي 61-80% من مساحة الورقة.

5= البياض الدقيقي يغطي 81-100% من مساحة الورقة.

تم حساب شدة الإصابة على الأوراق تبعا لمعادلة (Vakalunakis,1990) وكما يلي :

عدد النباتات من الفئة الاولى × دليلها المرضي + عدد النباتات من الفئة الثانية × دليلها المرضي +

شدة الإصابة = -----

العدد الكلي للنباتات × أعلى فئة

قياس الكلوروفيل

تم قياس المحتوى النسبي للكلوروفيل في اوراق نباتات الكلغان بواسطة الجهاز الحقلي (Chlorophyll -Meter Spad-502) من أنتاج شركة (Konica Minolta -Japan). و بمعدل ثلاثة قراءات لكل نبات.

قياس فعالية أنزيم البيروكسيداز (Peroxidase)

أخذ 0.5 غم من الوريقات لكل معاملة وسحقت الوريقات مع 2 مل من المحلول المنظم الفوسفاتي ذي الأس الهيدروجيني 6 في هاون خزفي، حضر المحلول المنظم الفوسفاتي مسبقاً من مزج محلولي NaH_2PO_4 و Na_2HPO_4 بتركيز 0.1 مولاري لكل منهما ووضع المزيج في أنابيب اختبار سعة 10 مل، خضعت الأنابيب إلى عملية انتباز بسرعة 4000 دورة/دقيقة مدة 15 دقيقة، حفظ الراشح على درجة صفر درجة مئوية لحين إجراء فحص فعالية أنزيم البيروكسيداز.

تم قياس فعالية أنزيم البيروكسيداز بواسطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer (Hettich IVD CE-) Germany وذلك بوضع خليط مكون من 1مل من الراشح مع 1مل من بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 20% و 1مل من Guaiacol بتركيز 1% ومتابعة التغير في امتصاص الضوء على طول موجي 470 نانومتر بأخذ معدل ثلاث مكررات (Houssien *et al.*, 2010).

قياس فعالية أنزيم الفينيل الانين امونيوم لايز (PAL).

حضر الراشح كما في الطريقة السابقة (قياس أنزيم البيروكسيداز) وتم قياس فعالية أنزيم PAL بوسطه جهاز المطياف الضوئي وذلك بوضع 0.5 مل من الحامض الاميني فينيل الانين بتركيز 6 مايكرو مول مع 0.5 مل من المحلول المنظم Tris - HCl بتركيز 0.5 مولاري 8 (pH) مع 0.2 مل من الراشح في أنابيب اختبار، حضن المزيج ساعة عند درجة حرارة 37 °م، تم إيقاف التفاعل بإضافة 0.05 مل HCl بتركيز 5 عياري، ثم متابعة تغير اللون على طول موجي 290 نانومتر بأخذ معدل 3 مكررات (Beavdoin-Eagan and Thorpe, 1985).

النتائج و المناقشة

أظهر الفحص المجهرى ان المسبب المرضي للبياض الدقيقي على الكلغان هو الفطر *E.cichoracaerum* وتبدأ الأعراض بالظهور في منتصف شهر آذار (الكراني، 2006).

تشير النتائج إلى ان رش النباتات بالمبيد نيم (5%) لم يكن له تأثير معنوي في زيادة نسبة الكلوروفيل ولكنه ادى الى خفض شدة ونسبة الإصابة الى 0.22 و 50.0% على التوالي (الجدول 1).

إن أفضل تركيز أدى إلى زيادة نسبة الكلوروفيل في النباتات المصابة بمرض البياض الدقيقي هو 5 ملي مول SA / رشة واحدة اذ بلغت 24% و اختلفت معنوياً عن بقية المعاملات الأخرى عدا الرشة الاولى 5 ملي مول ASA وكانت النسبة 21.3%، وكان التركيز 5 ملي مول SA رشة واحدة أفضل في حث المقاومة مما أدى إلى خفض شدة الإصابة إلى 0.2 ونسبة انخفاض 95.54% (الجدول 2). نباتات الكلغان حساسة للإصابة بالفطر *E.cichoracaerum* المسبب لمرض البياض الدقيقي والإصابة قد تصل إلى 100% ومن النادر العثور في نهاية الموسم على نباتات سليمة من الإصابة (الكراني، 2006).

درس Achuo وآخرون (2004) تأثير حامض الساليسليك في حث المقاومة ضد الفطر المسبب للبياض الدقيقي في الطماطا والتبغ (*Oidium neolycopersici*) و وجد انه يعمل على تكوين مادة Benzothiadiazole (BTH) و التي تحث المقاومة ضد الفطر الممرض و اظهر الفحص المجهرى أن مادة BTH تعمل على منع دخول الفطر إلى أوراق النباتات وبالتالي فشل الإصابة أو تأخرها وأن معاملة التربة (ربا) أو الأوراق (رشا) بمادة BTH يحث مقاومة النباتات ضد الفطريات. و يعد أنزيم الفينيل الانين امونيا لايز مفتاحاً لتخليق مادة phenylpropanoid في النباتات الراقية و التي تعمل على تحول phenylalanine الى trans-cinnamic acid والذي يجهز مواد بادئه flavanoids و lignins و phytoalexins (Hahlbrock and Scheel, 1989). وتوصل طه و رمضان (2013) الى ان استخدام فوسفات البوتاسيوم و بيروكسيد الهيدروجين رشا على نباتات الباقلاء ادى الى زيادة الوزن الطري والجاف و الى خفض شدة الإصابة.

الجدول 1: تأثير الرش بحامض الساليسليك (SA) والاسيتايل ساليسليك (ASA) في المحتوى النسبي و شدة الإصابة لنباتات الكلغان المصابة بمرض البياض الدقيقي.

المعاملات	التركيز	المحتوى النسبي لكلوروفيل	شدة الإصابة	% لخفض شدة الإصابة
المقارنة (الماء)				
المبيد نيم	رشة واحدة	4.9d	0.24	45.45
		4.7de	0.22	50.00
SA	رشة واحدة	7.9c	0.04	90.90
		24.0a	0.2	95.54
		1.2f	0.04	90.90
		8.5c	0.26	40.90
	رشتين	1.5f	0.10	77.27
		2.0f	0.12	72.72
		8.9c	0.06	86.36
		21.3a	0.04	90.90
ASA	رشة واحدة	3.0ef	0.04	90.90
		14.2b	0.24	45.45
		1.8f	0.18	59.09
	رشتين	2.0f	0.14	68.18
		10 مل مول		
		5 مل مول		
		1 مل مول		
		10 مل مول		
		5 مل مول		
		1 مل مول		

*المعاملات التي تحمل حروف متشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 5% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

إن رش النباتات بحامض SA و ASA أدى الى زيادة نشاط أنزيم البيروكسيداز في أوراق نباتات الكلغان التي رشت مرتين بحامض ASA وبالتركيز 5 ملي مول (0.089) و بنسبة زيادة وصلت الى 60% عن المقارنة (0.053) واختلف معنويا عن جميع المعاملات الأخرى (الجدول 3). تلعب مادة بيروكسيد الهيدروجين دورا مهما بشكل مباشر او غير مباشر في استحثاث المقاومة في النبات حيث تسبب تكوين الأوكسجين الفعال في الجدار الخلوي للنبات و في الغشاء البلازمي و الذي يعد حاجزا دفاعيا ضد الفطريات الممرضة للنبات (Galal and Abdou, 1996). أن أنزيمات البيروكسيداز لا تشترك فقط بالبناء الحيوي للمركبات المضادة للميكروبات واللكنين ولكن أيضا تعمل منظم لجميع العمليات الايضية (Peng and Kuc, 1992). للبيروكسيداز دور في أكسدة الروابط العرضية بين التراكيب البروتينية الغنية بالحامض الاميني هيدروكسي برولين في الجدر الخلوية مما يجعل جدار الخلية أكثر مقاومة للتحلل بواسطة أنزيمات الميكروبات (Stermer and Hammerschmidt, 1987).

الجدول 2: تأثير الرش بحامض الساليسليك (SA) والاسيتايل ساليسليك (ASA) في ارتفاع النباتات وشدة إصابة نباتات الكلغان بمرض البياض الدقيقي.

ارتفاع النباتات (سم)	الوزن الجاف (غم)	الوزن الرطب (غم)	التركيز (ملي مول)	المعاملات	
31.0 de	2.3 ab	* 2.2f	صفر	المقارنة (الماء)	
40.3bc	2.8ab	6.8d	5%	رشة واحدة	المبيد نيم
36,7cd	2.3ab	7.8cd		رشتين	
32.0de	3.4a	10.7a	1	رشة واحدة	SA
29.0ef	2.1 ab	6.48 d	5		
44.0b	2.4ab	9.7ab	10		
23.0g	1.2b	6.16d	1	رشتين	SA
33.0 de	1.9ab	8.0cd	5		
25.0fg	1.9ab	6.69d	10		
30.0e	1.9ab	10.9 a	1	رشة واحدة	ASA
33.0de	0.95b	4.3e	5		
37.0cd	2.4ab	8.8bc	10		
43.0b	2.7ab	7.0d	1	رشتين	ASA
52.0a	0.9b	6.1d	5		
33.0de	2.8ab	9.3bc	10		

*المعاملات التي تحمل حروف متشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 5% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود.

ووجد ان رش نباتات الكلغان بحامض الساليسليك ادى الى زيادة نشاط أنزيم الفينيل الاتين امونيا لاييز (PAL) وقد وصلت الى 0.62 (الشكل 1) في النباتات التي رشت مرتين و بالتركيز 5 ملي مول حامض اسيتايل الساليسليك (53%) و اختلفت معنويا عن بقية المعاملات عدا التركيز 10 ملي مول حامض الساليسليك الرشة الاولى أيضا. و توصل Vimala and Suriachandraselvan (2000) الى ان استخدام حامض الساليسليك رشا ادى الى زيادة نشاط أنزيم الفينيل الاتين امونيا لاييز في نباتات الباميا (Okra) المصابة بالفطر *E.cichoracearum*.

يتضح مما سبق ان رش النباتات مرة واحدة بتركيز 5 ملي مول حامض اسيتايل ساليسليك ادى الى حث المقاومة المكتسبة في نبات الكلغان ضد الاصابة الفطر المسبب لمرض البياض الدقيقي كما ادى الى زيادة الوزن الطري والجاف وارتفاع النباتات وخفض شدة الإصابة.

الجدول 3: تأثير الرش بحامض السالسليك (SA) والاسيتايل سالسليك (ASA) على نشاط أنزيم البيروكسيداز في نباتات الكلفان المعرضة للإصابة بمرض البياض الدقيقي.

المعاملات	التركيز (ملي مول)	المعدل
المقارنة		*0.053cde
بالمبيد نيم	رشة واحدة	0.019 f
		0.031 ef
SA	رشة واحدة	0.058cde
		0.034 ef
		0.039 def
	رشتين	0.038 def
		0.022 f
		0.053 cde
ASA	رشة واحدة	0.069 bc
		0.062 cd
		0.027 ef
	رشتين	0.051 cde
		0.089 a
		0.067bc

*المعاملات التي تحمل حروف متشابهة تدل على عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 5% حسب اختبار دنكن متعدد الحدود. وحدة الأنزيم : كمية الأنزيم التي تعمل على تكوين ملي مول واحد من الناتج / دقيقة .

الشكل 1: تأثير الرش بحامض السالسليك (SA) والاسيتايل سالسليك (ASA) في نشاط الفينيل الانين امونيا لاييز في نباتات الكلفان المعرضة للإصابة بمرض البياض الدقيقي.

المصادر العربية

عنتر، سالم حمادي(2010). التحليل الإحصائي في البحث العلمي و برنامج SAS. دار ابن الأثير للطباعة و النشر. جامعة الموصل.

الكوراني، رمضان يوسف (2006). دراسة أمراض البياض الدقيقي في حقول محافظات شمال العراق. رسالة دكتوراه، كلية العلوم، جامعة الموصل.

طه، هبة هادي؛ رمضان، نديم احمد (2013) حث مقاومة نباتات الباقلاء لفطر *Alternaria alternata* باستخدام فوسفات البوتاسيوم و بيروكسيد الهيدروجين. مقبول للنشر في مجلة علوم الرافدين 2013.

المصادر الأجنبية

- Achuo, E.A.; Audenaert, K.; Meziane, H.; Höfte, M. (2004). The salicylic acid-dependent defense pathway is effective against different pathogens in tomato and tobacco. *Plant Pathology*, **53**, 65–72.
- Amadioha A.C. (2000). Controlling rice blast *in vitro* and *in vivo* with extracts of *Azadirachta indica*. *Crop Protect.* **19**, 287-290.
- Beavdoin–Eagan, L.D.; Thorpe, T.A. (1985). Tyrosine and phenyl alanine ammonia lyase activities during shoot initiation in tobacco callus. *Plant Physiol.*, **78**, 438–41
- Clark, R.L. (1975). Powdery mildew resistance in plant introduction of cucumber in Iowa. *Pl. Dis. Repter.*, **59**, 1024-1028.
- Delaney, T.P. (1997). Genetic dissection of acquired resistance to disease. *Plant Physiol*, **113**, 5–2.
- Eppler, A. (1995). Effects on viruses and organisms. In: Schmutterer, H.(ed.), The Neem Tree. Sources of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, medicine Industry and Other Purposes. pp. 93-117. Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo: VCH.
- Galal, A.A.; Abdou, El.S. (1996). Antioxidants for the control of fusarial disease in cowpea. *Egypt. J. Phytopathol.*, **24**, 1-12.
- Hahlbrock, K.; Scheel, D. (1989). Physiology and molecular biology of phenylpropanoid metabolism. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant, Mol. Bio.* **40**, 347-369.
- Houssien, A.A.; Ahmed, S.M.; Ismail, A.A. (2010). Activation of tomato plant defense response against *Fusarium* wilt disease using *Trichoderma harzianum* and Salicylic acid under greenhouse conditions. *J. Agric. and Bio. Sci.*, **6**, 328-338.
- Maleck, K.; Levine, A.; Eulgem, T. (2000). The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. *Nat. Genetics*, **26**, 403–410.
- Maria, J.G.; Martínez-Merino, V. (2007). Determination of the free salicylic acid concentration in aspirin by forming Fe^{+3} complexes. Exercise [I.11 .merino @unavarra .es.www.iupac.org/publications/cd/ medicinal_chemistry/](http://www.iupac.org/publications/cd/medicinal_chemistry/).
- Mustafee, T.P.; Chattopadhyay, S.B. (1981). Fungicide control of soil inhibiting pathogens. *Pesticides* **15**, 29-31.
- Peng, M.; Kuc, J. (1992). Peroxides-generated hydrogen peroxide as a source of antifungal activity *in vitro* and on tobacco leaf disks. *Phytopathology*, **82**, 696-99.
- Porter, B. (2003). Milk thistle production in Saskatchewan, Saskatchewan Agriculture, Food and Rural Revitalization. [Http://www.agr.gov. sk.ca /docs /crops/special crops /production infor](http://www.agr.gov.sk.ca/docs/crops/special%20crops/production%20infor).
- Singh, UP.; Prithiviraj (1997). Neemazal, a product of neem (*Azadirachta indica*), induces resistance in pea (*Pisum sativum*) against *Erysiphe pisi*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **51**, 181-194.
- Stermer, B.A.; Hammerschmidt, R. (1987). Association of heat shock induced resistance to disease with increased accumulation of insoluble extension and ethylene synthesis. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, **31**, 239-249.
- Vakalunakis, D.J. (1990). Host range of *Alternaria alternata* f. sp. *cucurbitae* causing leaf spot of cucumber. *Plant Dis.*, **84**, 27–30.
- Vimala, R.; Suriachandraselvan, M. (2000). Induced resistance in bhendi against powdery mildew by foliar application of salicylic acid. *J. Biopesticides*, **2**(1), 111-114.