تاثيرمستخلص الفطر *Aspergillus niger* في انسجة بادرات الماش

فائزة احسان عاصم
جامعة بغداد– كلية الزراعة

المستخلص :

اجريت دراسة حول تاثير راشح الفطر *Aspergillus niger* في بذور نبات الماش *Vigna radiata* (L.) Wilczer ، اذ نقعت البذور في راشح الفطر لمدة ثمان ساعات ، ثم اخذت مقاطع يدوية مجهرية لدراسة تكشف الانسجة في الجذر و السويقة التحت الفلقية والفلقتين في البذور النابتة . بينت النتائج ان الراشح سبب انخفاضا في نسبة الانبات في البذور المعاملة، علاوة على اعاقة النمو في الجذور والسويقة التحت الفلقية . واظهرت المقاطع المجهرية في السويقة التحت الفلقية للبذور النابتة المعاملة زيادة في عدد زوائد البشرة واضطرابا في تنظيم وترتيب الخلايا البرنكيمية للقشرة واختلافا في حجومها وتغيرات في فجوات خلايا القشرة الداخلية مكونه حلقة فجوية متواصلة حول الاسطوانه الوعائية ، وكذلك حصول تشتت واختفاء في بعض اوعية الخشب . اما في المقاطع العرضية للفلقتين في البذور المعاملة فقد ظهرت حبوب النشاء وهي منتشرة في معظم الخلايا البارنكيمية بينما في البذور الغير المعاملة اختفت من الخلايا البارنكيمية باستثناء الخلايا المحيطة بالحزم الوعائية ، ولم تظهر اي تغيرات في اللب .

المقدمة:

لقد توسعت الدراسات التشريحية على مختلف اجزاء النباتات في الاونه الاخيره في معظم المجالات النظريه والتطبيقيه ، و تاثيرات العوامل البيئية ، لما لذلك المجال من اهمية في تنمية النباتات وتربيتها وانتاجها ، فضلا عن اهميته في الدراسات النظرية الاخرى بما فيها تصنيف النباتات وكيميائها ووراثتها وفسلجتها وغير ذلك ، ولعل التاثير التشريحي التكشفي للاصابة بالمسبب المرضي هو من المواضيع المهمة التي تنفع في مجال الكشف عن طبيعة الاصابة وحساسية النبات لها بغية التوصل الى معرفة العلاقة المتبادلة بين الطفيلي والعائل . (1 ،2، 3)

تصاب بذور الماش بالكثير من الفطريات التي تجعلها غير صالحة للاستهلاك البشري ، بالاضافة الى انها تؤثر في نسب انباتها وحدوث تشوهات في البادرات ، ومنها الفطر *Aspergillus niger*، و هو من الفطريات التي تصيب كثير من البذور وتسبب خسائر اقتصادية (4، 5، 6، 7، 8)، لذلك اختير لهذه الدراسة نبات الماش *Vigna radiata* (L.) Wilczer لكون هذا النبات من المحاصيل الزراعية الاقتصادية المهمة ، اضافة الى كونه محصول صيفي يتحمل الجفاف والملوحة والحرارة العالية ،مما يناسب مع ظروف العراق ، هذا الى جانب ان هذا المحصول بقولي مخصب للتربة (9) وغني بالبروتين اذ تبلغ نسبة البروتين في بذوره 20–25% وهو بروتين جميعه قابل للهضم ، وعليه فهو مرشح ممتاز لتغذية كافة الاعمار وبخاصة الاطفال بالاضافة الى نسبة جيدة من الالياف والفيتامينات (10) (11) ، فضلا عن صلاحيته كمحصول علف جيد ،عدا ذلك فهو يستحق الدراسة لكونه لم يتعرض لاية دراسة تشريحية بصوره تفصيلية وبخاصة الصنف المحلي العراقي منه .

المواد وطرائق البحث

عزل الفطر :

تم عزل الفطر *Aspergillus niger* من بذور ماش [*Vigna radiata*(L)Wilczer] من الصنف المحلي ، وتم حفظه على الوسط الغذائي PDA.

راشح الفطر :

تم الحصول على راشح الفطر باخذ قرص بقطر نصف سم بثاقبة فلين معقمة من مايسليوم وكونيديا الفطر من مستعمرة بعمر 6 ايام ونقلها الى دوارق بحجم 250 مل حاوية على 100 مل من ميديا سائلة PDB ثم حضنها بدرجة حرارة 25 م لمدة اربعة اسابيع . و للحصول على مستخلص الفطر لوحده مررت الميديا من خلال ورق ترشيح معقم و استعمل الراشح لمعاملة البذور به (12).

دراسة تاثير راشح الفطر على نسب الانبات :

لدراسة تاثير راشح في انبات ونمو بذور الماش اخذت البذور بعد تعقيمها سطحيا بمادة هيبوكلورات الصوديوم بتركيز 1% لمدة 5 دقائق وغسلت بماء معقم . نقعت البذور في راشح الفطر لمدة 8 ساعات ثم نقلت الى اطباق بتري حاوية على طبقتين من اوراق الترشيح المعقمة والمبللة بماء معقم ايضا و بواقع 30 بذرة لكل طبق ثم حضنت بدرجة 25 م . حسبت نسبة

الانبات بعد اسبوع واحد من المعاملة . ولغرض اجراء المقارنة تم نقع البذور في الماء المعقم فقط ، وكذلك نقعت بذور اخرى في وسط غذائي غير ملقح للمقارنة ايضا . نفذت التجربة جميعها بواقع اربع مكررات لكل معاملة بما فيها الكونترول .

دراسة تاثير راشح الفطر على نشؤ وتطور الانسجة :

لدراسة نشؤ وتطور الانسجة في منطقة الجذر وفي السويقة التحت الفلقية Hypocotyl اخذت مقاطع يدوية رقيقة بصورة عمودية على محور الساق لبادرات بعمر اسبوع واحد بعد الانبات باستخدام موسى الحلاقة بعد غسله بالكحول لازالة اللمادة الشمعية الطلائية ، ولتصبيغ المقاطع النباتية استخدمت الصبغة المائية Toluidine Blue بتركيز 0.01 % .

جرت مقارنة مستوى تكشف الخلايا لكل من البشرة والقشرة والاسطوانة الوعائية واللب في منطقة الجذر والسويقة التحت الفلقية في النباتات المعاملة والمقارنة ، مع اخذ صورملونة لتلك المقاطع باستخدام المجهر المركب (kruss)بقوة 5×10 ،10×10 ،10×40 حسب الحاجة .

النتائج والمناقشة:

أ- تاثير الراشح في الانبات :

ان معاملة بذور الماش براشح الفطر *Aspergillus niger* لم يمهل البادرة لكي تنمو بصورة طبيعية اذ اصبحت بطيئة النمو ومشوهة بحيث لم يتبين الجذر عن السويقة التحت الفلقية اما

شكل- 1- أ بادرة طبيعية غير معاملة
ب بادرة معاملة بمستخلص الفطر

السويقة الفوق الفلقية فلم تنمو اصلا (شكل 1- ب) وبقيت الفلقتان متضخمتين بالمقارنة مع المعاملتين الاخريتين التي كانت الفلقتان ضامرتين كليا مما يدل على ان المواد الغذائية المخزونة

فيها مستنفذة لاغراض النمو والتطور ، والبادرات فيها متكاملة ونمت السويقة الفوق الفلقية ايضا وظهرت فيها الورقتان الاوليتان كما في الشكل (1-أ) ولغرض حساب نسب الانبات اعتبرت البذور التي فيها طرف الجذيرظاهرهي بذرة نابتة في جميع المعاملات . حيث تبين ان الراشح كان سببا في انخفاض نسبة الانبات بنسبة 40 % . وهذا يتوافق مع نتائج ابحاث اخرى استخدمت راشح نفس الفطر *Aspergillus niger* اومستخلصات فطرية اخرى (8 ، 13، 14، 15) بالاضافة الى حصول تشوهات في البادرات كالتي ظهرت في تجربتنا هذه على محاصيل اخرى (16، 17، 18) و تشوهات في كروموسومات خلايا جذور البصل (19) .

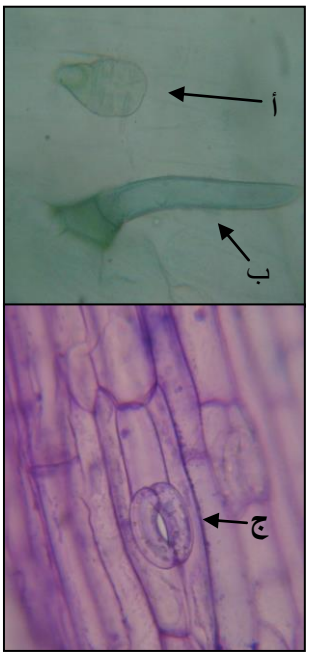
ب – تاثير راشح الفطر في تكشف ونمو الانسجة :

لما كانت منطقة التحول transition zone وكذلك السويقة التحت الفلقية hypocotyl تمثلان جزءا حاسما في حياة النبات ، فمنطقة التحول تتوافق فيها انسجة الجذر مع انسجة الساق المختلفتان تشريحيا وذلك لضمان تواصل مرور المواد الاولية وكذلك المصنعة خلال اوعية خشب ولحاء الجذر مع نظيرتيهما في الساق علاوة على ضرورة توافق الانسجة الاخرى لكل منهما مع الاخر علما بان هذه المنطقة بالذات مستهدفة من العديد من المسببات المرضية في التربة هي منطقة ضعيفة غير مقاومة للاصابة بسبب هذا التحول على الارجح. وعليه فقد درس تشريح تفصيلي لهذه المنطقة وما يجاورها من جهة الجذر ومن جهة السويقة التحت الفلقية .

ففيما يتعلق بالبشرة لم تظهر تاثيرات واضحة لراشح الفطر في خلايا البشرة الاعتيادية بصورة عامة ، لكن لوحظ ان زوائد البشرة الغدية الرباعية الخلايا التي تشكل معا شكلا صولجانيا شكل (2 أ) و كذلك الشعيرة المدببة الاحادية الخلية مع خلية قاعدية كما في الشكل (2 ب) قد ظهرت في منطقة السويقة التحت الفلقية بصورة اكثف في البادرات المعاملة على خلاف كثافتها المتباعدة في البادرات الغير المعاملة . اما في السويقة الفوق الفلقية في البادرات الغير المعاملة فقد كانت كثيفة ولم نستطع ملاحظة ذلك في البادرات المعاملة لانها توقفت تماما عن النمو ولم تنمو السويقة الفوق الفلقية .

كما لوحظ ان توزيع وشكل الخلايا الحارسة او الثغور في تلك المنطقة لم تتاثر بالمعاملة شكل 2 ج .

وهذا واضح تماما ذلك لان للثغور وظيفة ميتابولية تساعد في رفع الماء والمعادن بالدرجة الاساسية



شكل-2- أ - زوائد البشرة الصولجانية الشكل
ب- الزوائد المدببة

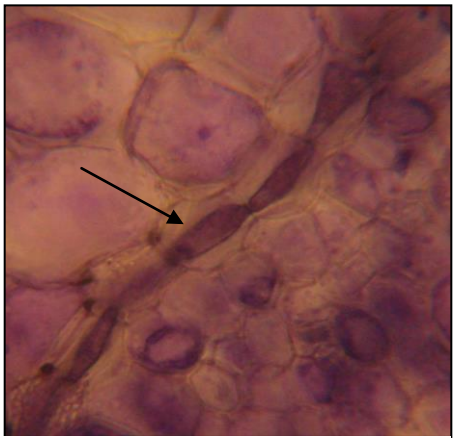
بينما ليس للترايكومات سوى وظيفة دفاعية فحسب.

ان زيادة كثافة الترايكومات في هذه المنطقة قد تكون هي استجابة للاصابة المرضية كوسيلة دفاعية او وقائية . وعموما لم تلاحظ اية اختلافات في تكشف خلايا البشرة الاعتيادية بين البادرات المعاملة وغير المعاملة .

اما القشرة فتكون خلاياها في البادرات غير المعاملة اقرب الى الكروية المضلعة و منتظمة بحلقات حول الاسطوانة الوعائية متدرجة في الحجم حيث تقع الخلايا الاكبر حجما في الحلقات الوسطى والخلايا الاصغر في الحلقات الطرفية وتكون الخلايا في الحلقات الاقرب للبشرة (الخارجية) اصغر من تلك الاقرب للدائرة المحيطية (الداخلية) كما في الشكل (3 ا) . اما خلايا القشرة في النباتات المعاملة بالمستخلص فقد تحورت هذه الانتظامية لتصبح خلايا القشرة فيها غير مكتملة الحلقات بسبب كون قسم من الخلايا متطاولة باتجاه عمودي على المحور وهي تتخلل الخلايا الاعتيادية شكل (3 ب) ، او ظهور حلقة من الخلايا الصغيرة وهي تحيط بخلية قشرة كبيرة وكل ذلك يؤدي الى عدم انتظام صفوف الحلقات ذلك الانتظام الذي تميزت به حلقات قشرة البادرات الغير معاملة . ان هذا التغيير في شكل الخلايا من الكروي الى المتطاول في قشرة

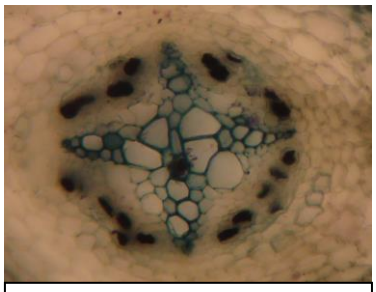
البادرات المعاملة هو وسيلة دفاعية تجبر الطفيلي على المرور من خلال السايتوبلازم اطول مسافة ليتسنى معالجته او مقاومته قدر الامكان

اما بخصوص خلايا القشرة الداخلية الاندوديرمس وهي خلايا متكشفة اصلا لوقاية الاسطوانة الوعائية وبخاصة الخشب من تسرب الاحياء الدقيقة المتلفة لاوعية الخشب من خلال امتلاكها شريط كاسبر ، فقد لوحظ ا ن وسطها في البادرات المعاملة يتصبغ بلون داكن كما هو مؤشر في شكل 4 ، وعند التدقيق فيه تبين انه فجوة الخلية اتخذت شكلا متطاولا في وسطها ممتدا من جدار جانبي الى جدار جانبي مقابل وكانه امتداد لشريط كاسبر .



شكل- 4 – مقطع عرضي يبين خلايا القشرة الداخلية (10*40)

ان شريط كاسبر يمنع مرور الماء الحامل للاحياء الدقيقة من خلال الجدران ليجبرها على لمرور من خلال السايتوبلازم (الفجوة) ليتم اتلافها قبل الوصول الى اوعية الخشب الميتة والتي لا تستطيع الدفاع ضد الجراثيم بينما سايتوبلازم الخلية الحي يستطيع مقاومتها فان (الصفيحة الفجوية) المتكونه ستجبر هذه المره مرور الطفيليات من خلالها على اعتبار انها (الفجوة) هي المكان الذي يمكن فيها افراز مواد متلفة للطفيليات دون ان يتاثر السايتوبلازم .

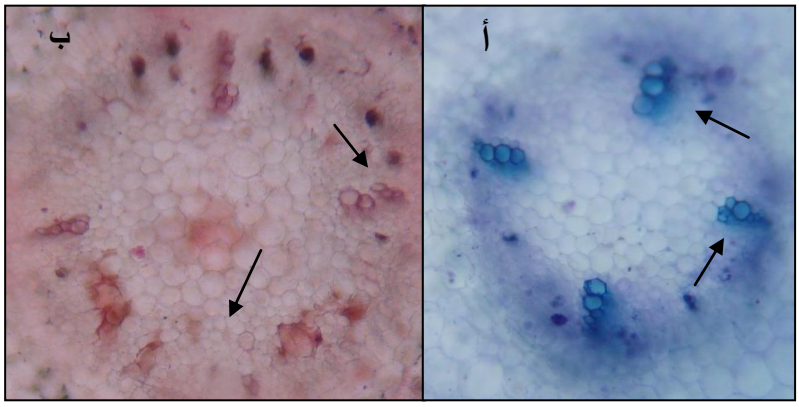


شكل 5- مقطع عرضي في منطقة الجذر لبادرة غير معاملة

قد يكون هذا البناء الفجوي الصفيحي هو على الارجح استجابة وقائية لتاثير مادة تنذر الخلية الاندوديرمية باختراق فطر ممرض في حين لم يلاحظ ذلك في البادرات الغير المعاملة .

تعد المنطقة تابعة للجذر اذا كان خشبها يحتل المركز شكل 5 وبمجرد ظهور خلايا برنكيمية في المركز (اللب) فان هذه المنطقة يمكن تسميتها بالمحايدة التي يتوسع خلال اللب اكثر فاكثر (شكل 6) مع عدم ظهور اية بادرة تدل على انشطار الخشب الذي يميز منطقة التحول .

عند اخذ المقاطع في المنطقة المحايدة باتجاه منطقة التحول في البادرات غير المعاملة لوحظ ظهور اللب في وسط الخشب مع انحسار الخشب ليصبح 4 مجاميع ذراعية في الاركان حيث



شكل 6 مقطع عرضي يبين اذرع الخشب –أ- بادرات غير معاملة
ب- بادرات معاملة بمستخلص الفطر

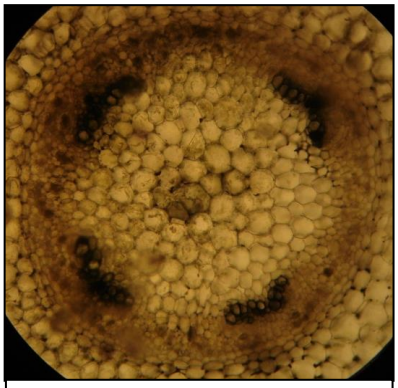
يكون الخشب التالي نحو الداخل والخشب الاول نحو الخارج بهيئة سلسلة متواصلة (شكل 6أ) ويلاحظ

ايضا بداية انشطار الحزمة واستدارتها كما هو مؤشر في شكل 6 أ . اما بالنسبة للبادرات المعاملة فلوحظ في نفس المنطقة وجود اللب ايضا لكن الخشب اتخذ شكلا غير منتظم بسبب اختفاء اما ذراع كامل او اجزاء من الذراع بحيث يظهر متقطعا ومبعثرا كما هو مؤشر في الشكل 6 ب وهذا يعني ان التكشف الذي بدا في

منطقة التحول لم يتواصل مع منطقة الجذر . وهذه الحالة قد تكون بسبب عرقلة او منع نواتج الجين المسؤول عن تعين موقع اللحاء وتكشفه في الماش فيتكشف خشب في موقع اللحاء بصورة مبعثر هنا وهناك (20) .

اما في حالة اختفاء اذرع الخشب او جزء منها فان راشح الفطر قد يحتوي على مواد تمنع منظمات النمو من تادية دورها في تكشف اوعية الخشب (21، 22، 23، 24) .

وقد لوحظ في منطقة السويقة التحت الفلقية في مقاطع بادرات غير معاملة توسع في عدد واحجام



شكل 7 مقطع عرضي في السويقة التحت الفلقية يبين انشطار الحزم

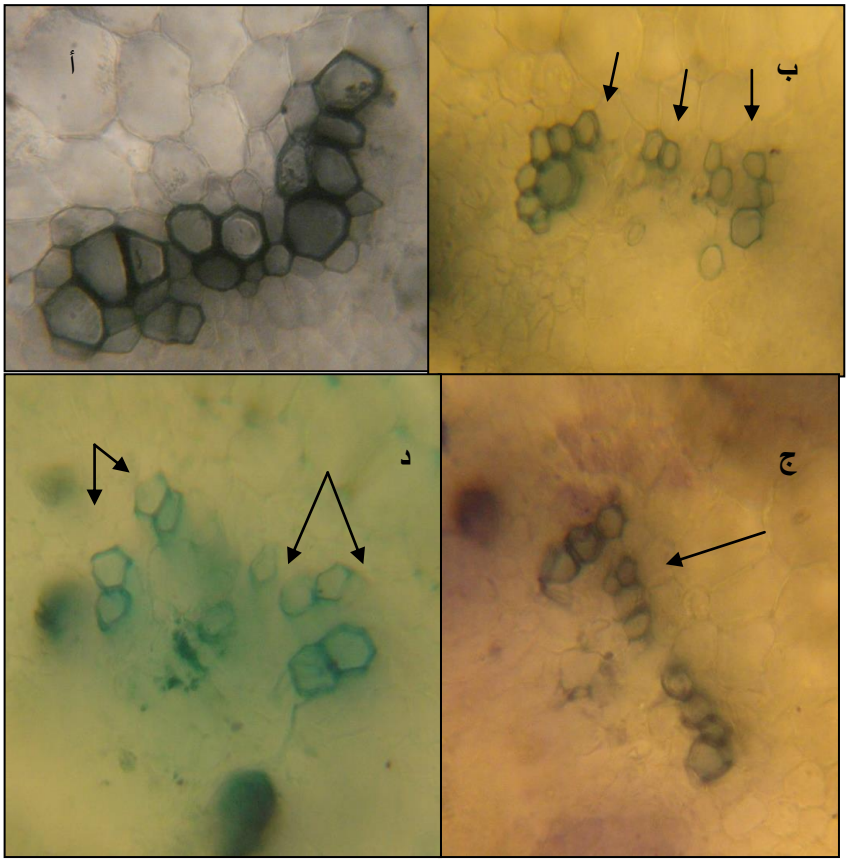
خلايا منطقة اللب واتخاذ الحزم اربعة اركان متقابلة ومتعامدة مع بقاء الخشب الاول نحو الخارج والخشب التالي نحو الداخل بشكل واضح ومنتظم وعلى استقامة واحدة.

بعدئذ يبدا انشطار كل حزمة وعائية الى شطرين من جهة المركز واستدارتهما وذلك في منطقة التحول مع بقاء الشطرين متصلين طرفيا بنقطة واحدة كما في الشكل 7. ويزداد التباعد بين طرفي الشطرين في المقاطع الاعلى من السويقة التحت الفلقية شكل (8 ا) حتى يصبح الطرفان على خط مستقيم بعئذ تستمر الاستدارة وتزداد الزاوية بينهما في المقاطع الاعلى من تلك السويقة لتصبح 180 مع انفصال الشطرين كليا عن بعضها وتباعدها فتصبح 4 ازواج اي ثمانية حزم مع

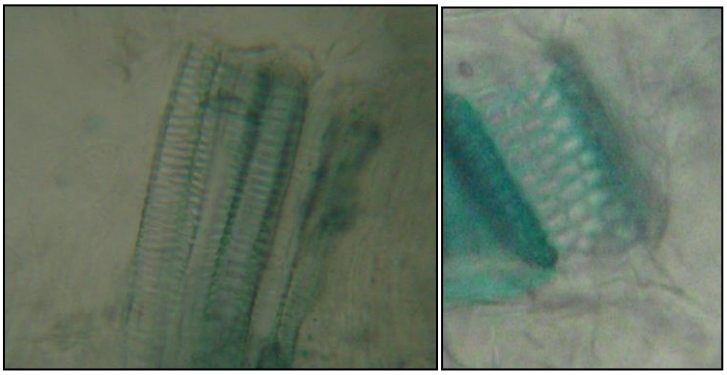
تحول اتجاه الخشب الاول نحو الخارج والخشب التالي نحو الداخل ويصبح اللحاء نحو الخارج والخشب نحو الداخل وهذا يتطابق مع نوع ترتيب الحزم في الساق عموما (حزم جانبية).

اما في حالة بادرات البذور المعاملة فقد لوحظ عدم انتظام انشطار مجموعتي اوعية الخشب واللحاء عن بعضها و اختفاء اوبعثرة البعض منها مما ادى الى اتخاذها اشكالا متباينة لا تتشابه مع الانشطار الطبيعي لاوعية الخشب كما في الشكل 8 ب،ج،د .

لوحظ ايضا ان التغلضات في الاوعية الخشبية لم تتاثر بالمعاملة حيث كانت من نوع الحلزوني والشبكي سواء اكانت في البادرات المعاملة او في البادرات الغير معاملة كما في الشكل 9



شكل-8- مقطع عرضي في السويقة التحت الفلقية يبين شطري اوعية الخشب - أ في الغير معاملة. ب ،ج ، د في المعاملة بمستخلص الفطر لاحظ تعدد الحزم الوعائية الصغيرة وتشتتها كما هو مؤشر بالاسهم .

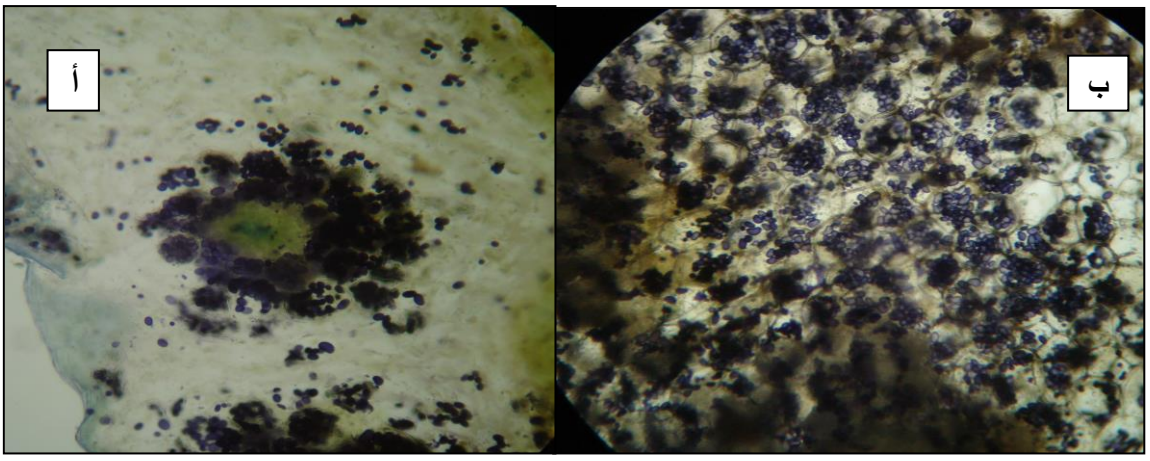


شكل -9- التغلضات الحلزونية والشبكية في اوعية الخشب

اما في منطقة اللب فلم تظهر اختلافات واضحة بين البادرات المعاملة وبين البادرات غير المعاملة وهذا يشير اشارة اولية الى ان الخطوط الوقائية الدفاعية ضد المستخلص اظهرت كفاءة في عرقلة اختراق المستخلص من وصوله الى اللب .

وعند اخذ مقاطع في الفلقتين لاحظنا في البادرات غير المعاملة اختفاء حبيبات النشاء من الخلايا عموما باستثناء وجودها في الخلايا المحيطة بالاوعية الناقلة كما في الشكل (10– أ)اما في فلقتي بادرات البذور المعاملة فقد بقيت حبيبات النشا في خلايا برنكمية منتشرة في كل المقطع بصورة مكثفة (شكل 10–ب).

وهذا يؤكد ان بادرات البذور المعاملة لم يحصل لها نمو يذكر يستوجب استهلاك النشا المخزون بينما في البادرات غير المعاملة كان النمو طبيعيا ادى الى استهلاك النشا المخزون وما بقي منه فهو متجمع في الخلايا البرنكيمية حول الاوعية الناقلة فقط.



شكل-10- مقطع عرضي في فلقتي بادرات أ غير معاملة ب معاملة بمستخلص الفطر

نستنتج من جميع ما ذكر في اعلاه ان بادرات البذور المعاملة براشح الفطر *Aspergillus niger* حاولت عرقلة الفطر من خلال اثاره الموجودة بمستخلصه ومنعه من الوصول الى الخشب وذلك من خلال تحوير التكشف في البشرة بتكوين ترايكومات افرازية وشعرية بكثافة اكبر مما في البادرات الغير المعاملة كخط دفاعي اول وتحوير تكشف الخلايا البارنكيمية في القشرة لتصبح متطاولة ومرصوصة وباقل فسح بينية لتجري عملية غربلة الماء الممتص من الخارج ليصل الى الخشب خاليا من الفطر واقامة حجب فجوية في خلايا الاندوديرمس لاجراء غربلة متقنه للماء المتجه للخشب لكن كل تلك المحاولات المعرقلة لم تنفع تجاه احتواء راشح الفطر على مادة او مواد اخلت بنواتج الجين المسؤول عن تعيين موقع اللحاء وتكشفه في الماش مما ادى الى تكشف خشب بصورة مبعثرة هنا وهناك في المواقع التي من المفروض ان تكون مواقع تكشف لحاء وهذا بسبب عدم تواصل خشب منطقة التحول مع خشب الجذر مما اعاق نمو البادرة وهلاكها .

المصادر :

1- Trygve krekling . Vincent R. Franceschi. Paal Krokene. Halvor Solheim 2004 Differential anatomical response of Norway spruce stem tissues to sterile and fungus infected inoculations . trees 18:1-9.

2- Silvana Da Silva , Evaris Mauro de castro, angela maria soares , 2003, Effect of different water regimes on the anatomical characteristics of roots of grass promising for re vegetation of areas surrounding hydroelectric reservoirs. Cienc.agrotec.,Lavras. V.27,n.2,p.393-397.

3- Harminder Pal Singh. Daizy R.Batish. Ravinder Kumar Kohli. Komal Arora 2004 Arsenic-induced root growth inhibition in mung bean (phaseolus aureus Roxb.) is due to oxidative stress resulting from enhanced lipid peroxidation. Plant growth regul 53:65-73

4- Sarhan, A.R.T. 2009 Identification of seed born fungi associated with some leguminous seed and their biological control in Iraq . Arab journal of plant protection , 27:135-144 .

5-A.A.M. Syedur Rahman, Ism ail Hossain, Joyjit Barua, M.Mahboob. Hossain and Md.Abu Taher Sahel 2007 Control of mycoflora of farmers stored seeds of mung bean, Asian journal of plant science v.6 (1) 115-121

6-Vijaya kumara and D. karan Seed mycoflora of cowpea (vigna catjung) and its effect on seed germination . 1981 Indian J. Bot. 4(2) 187-190

7- Teama, E. A. E.; Hemida, S. K.; Abdel-Mallek, A. Y. Seed. 2000 viability of mung bean in relation to seed-borne fungi and artificial fungal infestation. Assiut Journal of Agricultural Sciences Vol. 31 No. 5 pp. 187-201

8- Zainun Nik .W and Hasbullah Mamat 1982 Storage of mungbean seed *(Vigna radiata* (L) Wilczek) inoculated with four species of Aspergilli. Pertanika 5(2), 212-218

9- Sarosh Tariq, Safdar Ali, Shahzada Sohail Ijaz Improving nitrogen fixation capacity and yield of mungbean and mashbean by phosphorous mangment in pothowar Sarhad J. Agric. Vol. 23, No. 4, 2007

10 -Adsule,RN, Kadam SS, Salunkhe DK 1986 Chemistry and technology of green gram (Vigna radiate [L.] Wilczek). Crit Rev. Food Sci. Nutr 25(1):73-105.

11 − Kylen,Anne M. ,McCaready, Rolland M. 1975 Nutrients in seeds and sprouts of alfalfa, lentils, mung beans, and soybeans Journal of food science 40 (5) 1008-9

12- Nahed Z. Haikal 2008 Effect of Filtrates of Pathogenic Fungi of Soybean on Seed Germination and Seedling Parameters. Journal of Applied Sciences Research, 4(1): 48-52

13 -Haider,M.M , E.D. Sulaiman and R.K. Dawwood effect of culture filtrate of five species of fungi and their mixture on seed germination and seedling development of safflower JBSR vol. 17(1) 1986

14 -Vijayan, A.K. and P.S. Rehill, 1990 effect of culture filtrate of some seed born fungi of albergaia sissoo on seed germination and seedling growth .Ind. Forest 116(7) :559-63.

15- ¯Borah I.P., A,Borauh and J.Singh, 2001 Effect of metabolites of seed mycoflora on seeed germination and seedling growth of leucocephala. Annals forst 9(2):323 26

16− Singh, S.D. 2003 effect of fungal metabolites on seed germination and seedling vigour of radish .J.Mycol.Plant Path. 34(1):127

17 -Desai S.D, A.L. Siddaramaiah and R.K. Hegde 1981 effect of culture filtrate of five species of fungi on seed germination root shoot elongation of Niger Mysore J. Sci., 14: 48-50

18- Suhaila A. Younis and Faiza I. alrawi 1989 Proc. 5th Conf./SRC vol.5 part 2 effect of culture filtrate of some fungi on seed germina tion and seedling growth of local red onion..

19- Narayana K.J.P. , M. Srikanth, M. Vijayalakshmi and N. Lakshmi Toxic Spectrum of Aspergillus niger Causing Black Mold Rot of Onions. 2007 Research Journal of Microbiology vol.2 :11:881-884.

20 −Martin bonk, siripong thitamadee , ari pekka mahonen, marie-theres hauser & yka helariutta . APL regulates vascular tissue identity in Arrabidopsis ,nature 426, 181-186 2003

21- Aloni R. ,Differentiation of Vascular Tissues .Annual Review of Plant Physiology. Volume 38, Page 179-204, Jun 1987

22 − Natalie kalev , R.Aloni , role of auxin and gibberelin in regenerative differentiation of tracheids in pinus pinea seedlings . new phytologist (138) – 3- p.461-468 1998

23- Zheng-Hua Ye , 2002 Vascular tissue differentiation AND PATTERN formation in plants , Annual Review of Plant Biology Vol. 53: 183-202 ,

24- Jan Dettmer, Annakaisa Elo, Ykä Helariutta 2009 .Hormone interactions during vascular development *Molecular Biology* 69(4):347-360

Abstract

A study was carried out to investigate the effect of *Aspergillus niger* culture filtrate on mung bean *Vigna radiate* seed. Seeds were socked in the fungi filtrate for 8 hours , free hand sectioning were made for tissue differentiation studies in root , hypocotyl and cotyledon of germinated seeds.

The treated seeds showed a decrease in their germination percentage , and inhibition in the root , and hypocotyl growth , sections showed increased numbers of trichomes in the epidermis , disturbance in size, shape and organization of parenchyma cells in the cortex . Changes in vacuoles of endodermis cell making a continues vacuolar ring , and disappearing and disperse in some xylem bundles. Cross sections in cotyledon showed the mass starch grain distributed in all parenchyma cells which disappeared except from cells surrounding vascular bundles in treated sections , no changes were found in the pith .