

تأثير بروتين الهاربين Harpin_{Ea} المؤشب في تحفيز إنبات القمح وتحريض مقاومته لبعض فطريات تعفن الجذور

إسماعيل الصالح^{1*}، محمود أبو غرة²، عرب المصيري³

^{1*} طالب دكتوراة في كلية الزراعة في قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة دمشق.

² أستاذ دكتور في قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة دمشق.

³ باحث في الهيئة العامة للتقانة الحيوية دمشق.

الملخص:

أجريت هذه الدراسة لتقييم تأثير بروتين الهاربين Harpin - المنتج محليا في هيئة الطاقة الذرية - في نمو نبات القمح، حيث أخذت قراءات نسبة الإنبات وطول الجذير والسويقة وعدد الجذور والوزن الرطب والجاف وتركيز الكلورفيل في البادرات كمؤشرات أولية لقوة النمو؛ وبيّنت التجربة وجود تأثير معنوي للهاربين في طول الجذير والسويقة في بادرات القمح بعمر أسبوع (153.95 ، 170.03) مم على التوالي مقارنة بالشاهد الماء (102.27 ، 131.84) مم، ورافق زيادة الطول للسويقة والجذير زيادة معنوية في متوسط الوزن الرطب والجاف لبادرات القمح المعاملة بالهاربين حيث كان (1.20 ، 1.27) على التوالي ضعف الوزن الرطب والجاف للبادرات المعاملة بالشاهد الماء، وبنفس الوقت ازدادت كمية اليخضور معنوياً من 11.2 مغ / 100 غ نبات في الشاهد إلى 14.2 مغ / 100 غ في البادرات المعاملة بالهاربين.

كذلك قيّم تأثير بروتين الهاربين في تحفيز مقاومة القمح لمرض عفن جذور القمح واستخدمت عزلات ممرضة تنتمي للأجناس (*Fusarium*, *Pethium*, *Rhizoctonia*) لعدوى الصنف بحوث 5 القابل للإصابة بالمرض، وقورن الهاربين بالماء كشاهد أول ومعقم بذار دايفنكونازول كشاهد ثان.

أظهرت النتائج أنّ بروتين الهاربين أعطى فعالية بتحفيز مقاومة القمح للإصابة بأعفان الجذور الثلاثة المدروسة مقارنة بالشاهد الماء وكانت فعاليته ضد فطر *Fusarium* مماثلة لمعقم البذار دايفنكونازول (درجة إصابة = 0)، وتفوق على معقم البذار المستخدم عند العدوى بالفطر *Pethium* حيث معاملة الهاربين أدت لدرجة إصابة = 0 بينما معاملة معقم البذار أظهرت درجة إصابة = 1، بينما كان المعقم أفضل منه عند العدوى بالفطر *Rhizoctonia*.

وبهذا نجد أن بروتين الهاربين المنتج محلياً أعطى نتائج أولية جيدة في تعزيز النمو في القمح وتحريض المقاومة لمرض أعفان.

الكلمات المفتاحية: هاربين، قمح، تحفيز نمو وتحريض مقاومة، أعفان الجذور

تاريخ الايداع: 2023/3/22

تاريخ القبول: 2023/5/3



حقوق النشر: جامعة دمشق - سورية،

يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب

الترخيص CC BY-NC-SA 04

The effect of Harpin_{Ea} protein on promoting growth in wheat and inducing resistance to root rot disease

Ismaeel alsaleh^{*1}, Abu-ghorrah Mahmoud², Aroub Almasri³

^{1*} Department of plant protection -faculty of agriculture – Damascus University

² Department of plant protection -faculty of agriculture – Damascus University

³ National commission for biotechnology(NCBT)

Abstract:

This study was conducted to evaluate the effect of Harpin_{Ea} protein, produced at Atomic Energy Commission, on the growth of wheat. The percent of germination, root and peduncle length, number of roots, wet and dry seedling weight, and chlorophyll concentration were recorded as primary indicators of growth. The experiment showed that there was a significant effect of Harpin on length of root and peduncle and in wheat seedlings compared to the control. Also, there was a significant increase in wet and dry weight of seedlings treated with Harpin, the amount of chlorophyll increased significantly from 11.2 mg/100 g in the control to 14.2 mg/100 g in the seedlings treated with Harpin.

On the other hand, we study the effect of Harpin protein in inducing wheat resistance to root rot disease. We used three fungal isolates of *Fusarium*, *Pethium*, *Rhizoctonia* in this study, the results showed that Harbin protein stimulated response defense in wheat against root rots, compared to the control.

As a result, we find that the Harbin protein- produced locally- showed good preliminary results in promoting growth in wheat and inducing resistance to root rot disease, therefore it is recommended to use it and conduct other studies on other plants and diseases in future.

Key Words: Harpin, Wheat, Promoting Growth And Inducing Resistance, Roots Rots

Received: 22/3/2023

Accepted: 3/5/2023



Copyright: Damascus University- Syria, The authors retain the copyright under a CC BY- NC-SA

المقدمة:

أثبتت الدراسات أهمية الأنماط الجزيئية المرتبطة بالمرض PAMPs- وهي جزيئات مرتبطة بالمرض - في تحسين نمو النباتات وزيادة مقاومتها وتحملها للجهادات الإحيائية واللاإحيائية (Sands وآخرون، 2022)

يعد بروتين الهاربين من الجزيئات المرتبطة بالمرض PAMPs المستخدمة في تحريض الآليات الدفاعية في النبات وتعزيز نمو بعض النباتات (Akbulak وآخرون، 2006؛ Li وآخرون، 2014؛ Chuang، 2017)، تنتج عدة أنواع من البكتيريا الممرضة للنبات تابعة لجنس *Pseudomonas* وكذلك البكتيريا *Erwinia amylovora* المسببة لمرض اللقحة النارية على التفاحيات (Reboulter وآخرون، 2007) يُفرز الهاربين عن طريق نظام الإفراز الثالث في البكتيريا سالبة غرام الممرضة للنبات (Choi وآخرون، 2013)، يعدّ من البروتينات الغنية بالغلايسين والفقرية بالسيستين (Vrancken وآخرون، 2013)، يمتاز بثباته الحراري (15 دقيقة على درجة حرارة 100 م°) يمتاز بـ pH حامضي وحساس للبروتينات، وزنه الجزيئي 44 كيلو دالتون عند *Erwinia amylovora* (Wei وآخرون، 1992)، منحل بالماء (Dong وآخرون، 2004)

دور الهاربين في تعزيز نمو النبات: أشارت دراسات عديدة بأنّ الهاربين يعزز ويحفز نمو النبات (Choi وآخرون، 2013)؛ حيث تزداد بشكل إيجابي الكتلة الحيوية للنبات ويزداد الإزهار والنضج المبكر وغلة المحصول وتحسن النوعية (Kothari و Patel، 2004)، فقد عزز رش بادرات الـ *Arabidopsis* أو نقع بذورها بمحلول حاوي على الهاربين HrpN من نمو البادرات (Dong وآخرون، 2004)، أدى استخدامه على المجموع الخضري للرز إلى تعزيز نمو النبات ككل وتحسين من إنتاجية الحبوب وزيادة الغلة (Chen وآخرون، 2008)، وفي دراسة لتأثير الهاربين على العناب بين Li وآخرون (2013) أنه حسن من نسبة الفاكهة الجيدة وحسن جودتها، كما أدى نقع بذار القنب بالهاربين إلى زيادة نمو البادرات مقارنةً بالشاهد الماء (Sands وآخرون، 2022).

دور الهاربين كمحرض مقاومة: إضافةً لتحفيزه للنمو تبين أيضاً تحريضه لتفاعل فرط الحساسية HR ولردود الفعل الدفاعية عند النباتات، فخفّض الرش الورقي للهاربين في نبات البندورة الإصابة بمرض اللقحة المتأخرة المسبب من الممرض *Phytophthora infestans* والعفن الرمادي *Botrytis cinerea* (Fontanilla وآخرون، 2005a؛ Fontanilla وآخرون، 2005b). كما بين de Capdeville وآخرون (2003) انخفاض أعراض العفن الأزرق الذي يسببه الفطر *Penicillium expansum* في التفاح المعامل بالهاربين. وكذلك أظهرت نتائج Boro وآخرون (2011) أنّ معاملة ما بعد القطاف للمشمش بمنتجات تجارية حاوية على 80 مغ / ل مادة فعالة إلى انخفاض تطور المرض *Monilinia fructicola*.

ذكر Li وآخرون (2012) بأنّ البروتين هاربين حرّض المقاومة الجهازية المكتسبة (SAR) في العناب الشتوي؛ فبعد معاملة أشجار العناب الشتوي ببروتين الهاربين، انخفض معدل الإصابة بالصدأ بشكل ملحوظ بنسبة تصل إلى 87.1% مقارنةً بالشاهد المعامل بالماء، وتبين معهم بأنّ التركيز الأكثر فعالية من الهاربين كان 20 µg/ml.

وأشارت دراسات عديدة بأنّ تحريض الهاربين لردود الفعل الدفاعية يتم من خلال تحفيزه لمسارات الإيتيلين في النبات (Choi وآخرون، 2013)

درس في هذه المقالة تأثير الهاربين في تحريض مقاومة تعفن جذور القمح والذي يعد أحد أشيع الأمراض الفطرية التي تصيب القمح في العالم (Ledingham وآخرون، 1973) وهو من أمراض القمح المسجلة في سوريا (النائب وآخرون، 2002)، أهم أعراضه تلون السلامة تحت التاج باللون البني الداكن ويمكن أن يمتد التلون إلى أغصان الأوراق السفلية مؤدياً لتمزقها (Tinline، 1994) كما يسبب لقحة البادرات وموت الاضطادات وبيضاض السنابل (الدخيل، 2020).

تأثير بروتين الهاربين HarpinEa المؤشب في تحفيز إنبات القمح وتحريض مقاومته الصالح وأبو غرة و المصري

يسبب المرض عدة ممرضات فطريات أهمها *Pythium* والذي يتبع فصيلة Pythiaceae ورتبة Peronosporales ويسبب مرض تعفن البذور أو ذبول طري للبادرات وينتشر عندما تكون البادرات متزاحمة والرطوبة الأرضية مرتفعة، *Rhizoctonia* والذي يتبع فصيلة Thelephoraceae ورتبة Mycelia sterilia متعدد العوائل يسبب عفناً للبذور وذبول البادرات وهو يصيب المنطقة التاجية مسبباً تضيقاً واختناقاً فيها كما يسبب تقرح الساق، *Fusarium* من الفطريات الناقصة يتبع فصيلة Tuberculariaceae ورتبة Hyphales أبواغه الكونيدية الكبيرة تكون شفافة منجلية الشكل وتقسم ب 3-6 حواجز إلى عدد من الخلايا النابت وآخرون (2002).
هدف البحث لدراسة تأثير بروتين الهاربين المحلي في تعزيز إنبات القمح ونموه وتحفيزه ليقاوم مرض عفن الجذور.

المواد والطرائق:

مكان تنفيذ الدراسة: أجريت الدراسة في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية ومخبر أمراض النبات في قسم وقاية النبات - كلية الزراعة-جامعة دمشق

النبات: اختير صنف القمح بحوث 5 القابل للإصابة بمرض عفن جذور النبات وفق ما ذكر في (النائب وآخرون، 2002)
محفز النمو والمقاومة: استخدم بروتين هاربين مؤشب، منتج في هيئة الطاقة الذرية- سوريا عن طريقة تنسيل مورثة *HrpN* مأخوذة من عزلة بكتيرية *Erwinia amylovora* محلية وتعبيرها في بكتيريا *Escherichia coli* غير ممرضة ، واعتمد تركيز المعاملة على توصية الجهة المنتجة؛ حيث استخدم بعد تمديده بالماء المقطر المعقم بنسبة (1:1).

العزلات الفطرية المدروسة: تم الحصول على العزلات الفطرية من مخبر المبيدات الفطرية في كلية الزراعة قسم وقاية النبات معرفة مسبقاً وهي 3 عزلات تنتمي للأجناس (*Fusarium, Pethium, Rhizoctonia*) حيث تم تجهيز 3 أطباق بتري، طبق لكل عزلة يحوي هيفات فطرية نماء على وسط مغذي PDA، وللحصول على مشيجة جديدة أخذت قطعة 8 مم من المشيجة لكل طبق ونقلت إلى طبق جديد يحوي وسط مغذي PDA وحضنت ل 3 أيام على درجة حرارة 25 م° واستخدمت المشيجة الجديدة في الإلحاق

التأثير في إنبات القمح ونموه: عقت بذور القمح سطحياً بكحول ايتيلي 70% لمدة 3 دقائق ثم غسلت بالماء المقطر المعقم 3 مرات، نعت بذور القمح بالهاربين والماء كشاهد لمدة 24 ساعة كل معاملة 100 بذرة، وزعت البذور ضمن طبق بتري على ورق نشاف مبلل، بحيث وضع في كل طبق 5 بذور، وحضنت الأطباق على درجة 20 س°. قسمت الأطباق لمجموعتين، المجموعة الأولى أخذت القراءات بعد أسبوع حيث حددت نسبة الإنبات وقياس طول الجذير والسويقة وعدد الجذور كمؤشرات أولية على تأثير الهاربين في قوة النمو، المجموعة الثانية نقلت البذار المنبتة إلى أصص صغيرة قطر 10 سم مملوءة إلى ثلثها بالتورب وبعد 3 أسابيع أخذت أوزانها الرطبة والجافة، بعد أخذ قراءات الوزن الرطب للبادرات، أخذ وزن 100 مغ من كل معاملة ويقدر 3 مكررات، طحنت هذه العينات باستخدام جفنة ومدقة في 10 مل اسيتون 80%، ثم ثقلت بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقائق حيث فصلت الرشاحة ووضعت في أنبوب جديد وأكمل الحجم إلى 20 مل بالاسيتون السابق، أخذت القراءات باستخدام مطياف ضوئي على طول موجة 663 و 645 نانو متر وحسبت تراكيز اليخضور باستخدام معادلة Arnon الموثقة في (الجواري، 2004):

$$\text{مغ الكلوروفيل/ مغ نبات} = (D_{645} * 20.2) + (D_{633} * 18.2) * V * (W * 100)$$

بحيث V: الحجم النهائي للرشاحة، W: الوزن الرطب (غ)

حللت نتائج المجموعتين احصائياً عن طريق اختبار T باستخدام برنامج SPSS17 .

تأثير بروتين الهاربين HarpinEa المؤشب في تحفيز إنبات القمح وتحريض مقاومته الصالح وأبو غرة و المصري

التأثير في مقاومة القمح لعفن الجذور: عقت بذار القمح سطحياً بكحول 70% لمدة 3 دقيقة ثم غسلت بالماء المقطر المعقم 3 مرات ثم قسمت البذار لـ 3 مجموعات، نقعت المجموعة الأولى لمدة 24 ساعة في محلول الهاربين بالتركيز المنصوح به (المعاملة الأولى) ونقعت مجموعة أخرى بالماء كشاهد أول (معاملة ثانية) أما الأخيرة فبعد نقعها بالماء غمرت 5 د بمعقم البذار دايفنكونازول بالتركيز المنصوح به (معاملة ثالثة)

وضعت البذور في أطباق تحوي ورق نشاف مرطب ريثما تتبت، ثم زرعت في أصص قطرها 10 سم جهزت مسبقاً؛ حيث وضع بأسفل الأصص طبقة قطن ثم طبقة رمل ثم تربة معقمة بالايوتوغلاف لتتلاءم ثلثي الأصيص، عد كل أصيص (مكرر) وزرع فيه 3 بذور منبثة، وأجريت العدوى بوضع أقراص من الفطر الممرض بقطر 8 مم قرب البذار وتغطيتها بالتربة، حضر لكل عزلة 3 مكررات وبذلك يكون لدينا 27 أصيص [3 عزلات فطرية * 3 مكررات * 3 معاملات (هاربين + ماء + معقم)].

أخذت القراءات حتى بعد ظهور الأوراق الثلاثة الأولى

حددت نسبة الإصابة من المعادلة : نسبة الإصابة = عدد النباتات التي ظهر فيها تلون بني بالسلامية تحت التاج / العدد الكلي للنباتات ضمن كل معاملة

حسبت شدة الإصابة بالمرض باعتماد سلم تقييس ثلاثي (Ledinghamet وآخرون، 1973) عدم تلون السلامة تحت التاج = 0، تلون بني يغطي ربع السلامة تحت التاج = 1، تلون بني يغطي مساحة أكبر من ربع السلامة تحت التاج = 2 .

حللت التجربة إحصائياً عن طريق اختبار Kruskal-Wallis باستخدام برنامج SPSS17

النتائج والمناقشة:

التأثير في إنبات القمح ونموه: أظهرت النتائج أن الهاربين لم يؤثر في نسبة الإنبات مقارنةً مع الشاهد، حيث كانت الفروق غير معنوية $p\text{-value} = 0.66$ ، عند قيمة $T = 0.447$.

التأثير في قوة النمو:

بينت نتائج تأثير الهاربين على بادرات القمح للمجموعة الأولى الجدول (1) زيادة معنوية في طول الجذير مقارنةً بالشاهد حيث كانت $P\text{-value}$ أصغر من 0.01، وبلغ متوسط طول الجذير 153.95 مم، في حين انخفض طول الجذير وبشكل معنوي في الشاهد الذي بلغ متوسط طوله 102.27 مم.

الجدول (1) تأثير معاملة بذار القمح بالهاربين في نمو السويقة والجذير وعدد الجذور *

المعاملة	متوسط طول الجذير/ مم	متوسط طول السويقة/ مم	متوسط عدد الجذور
الشاهد	102.27 ^a	131.84 ^a	3 ^a
الهاربين	153.95 ^b	170.03 ^b	3 ^a
قيمة T المحسوبة	43.78	34.25	0

*: يشير اختلاف الأحرف ضمن العمود الواحد لوجود فروق معنوية بين المتوسطات

كذلك كانت الفروق معنوية بمتوسط طول السويقة بين البادرات المعاملة بالهاربين والشاهد جدول (1) حيث بلغ متوسط الطول في الشاهد 131.84 مم، وازداد معنوياً في البادرات المعاملة بالهاربين فبلغ متوسطه 170.03 مم، وكانت قيمة $p\text{-value}$ أقل من

0.01، أي إن تأثير الهاربين في نمو بادرات القمح كان متشابهاً في كل من المؤشرين طول السويقة والجذير، بينما لم تؤد معاملة بذور القمح بالهاربين إلى تغيير معنوي في عدد الجذور .

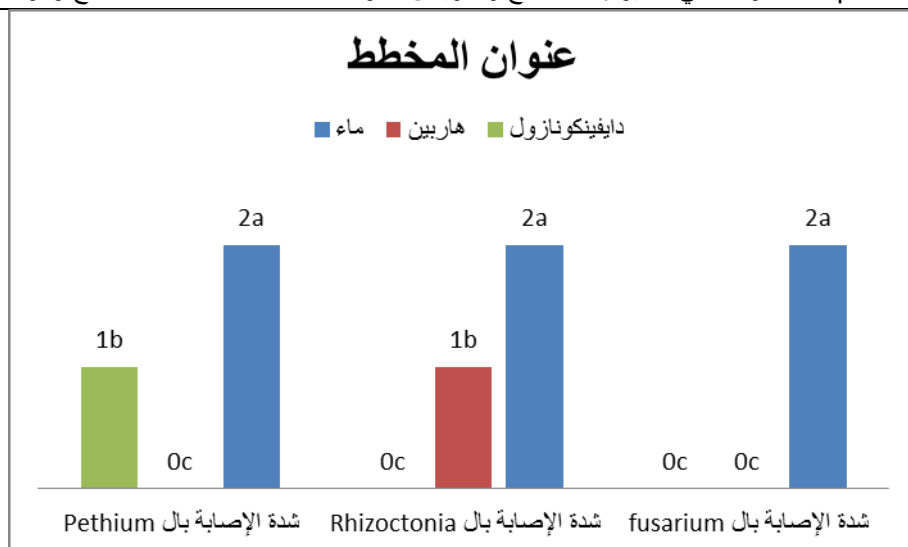
أخذت بادرات المجموعة الثانية وقيست أوزانها الرطبة والجافة، وأظهر التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية (p-value أقل من 0.01) بين البادرات التي عوملت بذورها بالهاربين والمعاملة بالماء كشاهد، حيث كان متوسط الوزن الرطب لبادرات القمح المعاملة بالهاربين 1.2 ضعف متوسط الوزن الرطب للشاهد، وكذلك الوزن الجاف للبادرات المعاملة بالهاربين كان أعلى بنسبة 127% من الشاهد.

أي أن الزيادة المعنوية في أطوال السويقة والجذير رافقتها زيادة معنوية في الأوزان الرطبة والجافة وبالتالي نجد أن الهاربين قد أسهم في زيادة الكتلة الحيوية لبادرات القمح، توافق هذه النتائج الأولية ما وجدته Sands وآخرون (2022) بأن بروتين الهاربين زاد من طول بادرات القنب المعاملة بضعف طول الشاهد بعد أسبوع من المعاملة، ومع ما بينه Dong (2004) بأن معاملة النبات بالهاربين قد أدت لزيادة في الوزن الرطب للنبات، وتؤكد ما ذكر بأن بروتين الهاربين يستخدم كمحفز لنمو النبات (Choi وآخرون، 2013).

حساب تركيز اليخضور: بعد أخذ القراءات على أطوال الأمواج السابقة حسب تراكيز اليخضور في المعاملتين وكان متوسط تركيز اليخضور بالمعاملة الأولى (هاربين) للمكررات الثلاث = 14.2 مغ / غ وزن طري بينما انخفض معنوياً (p-value = 0.0003 وقيمة T = 11.078) وفق التحليل الإحصائي في الشاهد إلى 11.3 مغ / 100 غ وزن طري، وافقت الزيادة المعنوية لليخضور في البادرات المعاملة بذورها بالهاربين مع ما أظهرته نتائج (Akbulak، وآخرون، 2006) بأن معاملة الفليفلة بالهاربين زادت من محتوى الكلوروفيل الكلي وقلل الانخفاض بمحتوى الكلوروفيل في نباتات الفليفلة المعدية بفطر *Botrytis*.

التأثير في مقاومة القمح لعفن الجذور: من خلال استخدام سلم التقييس الثلاثي وجد أن البادرات المعاملة بالماء كانت بدرجة إصابة = 2 عند العدوى بالفطور الثلاثة حيث غطت الإصابة أكثر من ربع السلامة تحت التاج بينما البادرات المعاملة بالهاربين كانت درجة الإصابة = 0 في النباتات التي أعديت بفطر *Fusarium* و *Pethium* فلم تظهر على السلامة التاجية أي تلون، بينما ظهر تلون بني خفيف لأقل من ربع السلامة تحت التاج في البادرات المعدية بالفطر *Rhizoctonia* وبالتالي كانت درجة الإصابة = 1

وبينت نتائج المعاملة بمعقم البذار الديفكونازول سلامة النباتات المعدة بفطر *Fusarium* و *Rhizoctonia* حيث كانت درجة الإصابة = 0، أما النباتات المعدية بالفطر *Pethium* ظهر تلون غطى ربع السلامة تحت التاج وبالتالي درجة الإصابة = 1، ويبين التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين المعاملات موضحة بالدلالات الإحصائية الشكل (1)



الشكل (1) تأثير الهاربين مقارنة بالدايفينكونازول والماء في تحريض المقاومة لأعفان الجذور في القمح*

- تشير الأرقام فوق الأعمدة إلى درجة الإصابة، وتشير الأحرف المختلفة إلى وجود فروق معنوية ضمن كل عزلة فطرية على حدا. وبهذا نجد أن بروتين الهاربين أعطى فعالية وحرص مقاومة القمح لأعفان الجذور مقارنة بالشاهد الماء وكانت فعاليته ضد فطر *Fusarium* مماثلة لمعقم البذار دايفينكونازول، وتفوق على معقم البذار المستخدم عند العدوى بالفطر *Pethium* بينما كان المعقم أفضل منه عند العدوى بالفطر *Rhizoctonia*. هذه النتائج موافقة لما أورده Choi وآخرون (2013) بأن أبحاث ودراسات عديدة أظهرت فعالية بروتين الهاربين في تحريضه للمقاومة عند النباتات، حيث خفض من نسبة الإصابة بعفن الفيلفلة مقارنة بالشاهد حسب Tezcan وآخرون (2013)، وخفض رش نبات البندورة ببروتين الهاربين من الإصابة بمرض اللبحة المتأخرة المسبب من الممرض *Phytophthora infestans* والعفن الرمادي *Botrytis cinerea* (Fontanilla وآخرون، 2005). وبذلك نجد أن الهاربين المنتج محليا أعطى نتائج أولية جيدة في تحريض مقاومة القمح لأعفان الجذور وتعزيزه لنمو بادراته. التوصيات: إجراء دراسات على فعالية الهاربين لمقاومة أمراض أخرى وعلى تحفيزه لنمو نباتات أخرى وإجراء دراسات لتحديد الآليات الدفاعية التي تحدث في النبات بعد معاملته بالهاربين.

التمويل: هذا البحث ممول من جامعة دمشق وفق رقم التمويل (501100020595).

References:

1. الجواري، نهلة سالم حموك. (2004) نقع حبوب الحنطة (*Triticum aestivum* L.) بالأثيلين كلايكول وتأثيره في النمو والإنتاجية وزيادة التحمل للأنجماد . رسالة ماجستير . كلية التربية. جامعة الموصل. العراق. 153 صفحة.
2. الدخيل، بشار . 2020. فعالية فطر وبعض المبيدات في تطور بعض الفطريات المسببة لأعفان جذور القمح والشعير . المجلة السورية للبحوث الزراعية. 7(4): 397-407.
3. النائب، رنا؛ عمر يحيى، أحمد الأحمد وميلودي نشيط. 2002. مسح حقلي لمرض تعفن الجذور الشائع على القمح والشعير في محافظتي حلب وإدلب (شمال سوريا). مجلة وقاية النبات العربية. 20: 131-136.
4. Akbudak, N. U. R. A. Y., Tezcan, H., Akbudak, B., and Seniz, V. (2006). The effect of harpin protein on plant growth parameters, leaf chlorophyll, leaf colour and percentage rotten fruit of pepper plants inoculated with *Botrytis cinerea*. Scientia Horticulturae, 109(2), 107-112.
5. Boro, M. C., Beriam, L. O. S., and Guzzo, S. D. (2011). Induced resistance against *Xanthomonas axonopodis* pv. *passiflorae* in passion fruit plants. *Tropical Plant Pathology*, 36(2), 74-80.
6. Chen, L., Qian, J., Qu, S., Long, J., Yin, Q., Zhang, C., Wu, X., Sun, F., Wu, T., Hayes, M. and Beer, S.V. (2008). Identification of specific fragments of HpaGXooc, a harpin from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*, that induce disease resistance and enhance growth in plants. *Phytopathology*, 98(7), 781-791.
7. Choi, M. S., Kim, W., Lee, C., and Oh, C. S. (2013). Harpins, multifunctional proteins secreted by Gram-negative plant-pathogenic bacteria. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 26(10), 1115-1122.
8. Chuang, H. W. (2017). The Dual Function of Harpin in Disease Resistance and Growth in *Phalaenopsis* Orchids. In *Orchid Biotechnology* iii . (pp. 309-329).
9. de Capdeville, G., Beer, S. V., Watkins, C. B., Wilson, C. L., Tedeschi, L. O., and Aist, J. R. (2003). Pre-and post-harvest harpin treatments of apples induce resistance to blue mold. *Plant Disease*, 87(1), 39-44.
10. Dong, H. P., Peng, J., Bao, Z., Meng, X., Bonasera, J. M., Chen, G., Dong, H.P., Peng, J., Bao, Z., Meng, X., Bonasera, J.M., Chen, G., Beer, S.V. and Dong, H. (2004). Downstream divergence of the ethylene signaling pathway for harpin-stimulated Arabidopsis growth and insect defense. *Plant Physiology*, 136(3), 3628-3638.
11. Fontanilla, J. M., Montes, M., and De Prado, R. (2005a). Induction of resistance to the pathogenic agent *Botrytis cinerea* in the cultivation of the tomato by means of the application of the protein "Harpin" (Messenger). *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 70(3), 35-40.
12. Fontanilla, M., Montes, M., and De Prado, R. (2005b). Effects of the foliar-applied protein "Harpin (Ea)" (messenger) on tomatoes infected with *Phytophthora infestans*. *Communications in agricultural and applied biological sciences*, 70(3), 41-45.
13. Kothari, I. L., & Patel, M. (2004). Plant immunization. *Indian journal of Experimental biology*. 42, 244-252.
14. Ledingham, R. J., Atkinson, T. G., Horricks, J. S., Mills, J. T., Piening, L. J., and Tinline, R. D. (1973). Wheat losses due to common root rot in the prairie provinces of Canada, 1969-71. *Can. Plant Dis. Surv.*, 53, 113-122.
15. Li, M., Yu, M. L., Zhang, Z. Q., Wu, Y. C., Liu, Z. G., and Zhao, C. H. (2012). Harpin induces rust disease (*Phakopsora zizyphi-vulgaris*) resistance on winter jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. cv. *Dongzao*). *Biological Agriculture & Horticulture*, 28(3), 177-184.

16. Li, M., Yu, M. L., Zhang, Z. Q., Liu, Q. N., Wu, Y. C., and Liu, Z. G. (2013). Effects of Harpin protein on fruit quality and shelf life of winter jujube (*Ziziphus jujuba* Mill. cv. *Dongzao*). *Biological agriculture & horticulture*, 29(1), 58-68.
17. Li, X., Han, B., Xu, M., Han, L., Zhao, Y., Liu, Z., Dong, H and Zhang, C. (2014). Plant growth enhancement and associated physiological responses are coregulated by ethylene and gibberellin in response to harpin protein Hpa1. *Planta*, 239, 831-846.
18. Reboutier, D., Frankart, C., Briand, J., Biligui, B., Rona, J. P., Haapalainen, M., Barny., M.A., and Bouteau, F. (2007). Antagonistic action of harpin proteins: HrpWea from *Erwinia amylovora* suppresses HrpNea-induced cell death in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Cell Science*, 120(18), 3271-3278.
19. Sands, L. B., Cheek, T., Reynolds, J., Ma, Y., and Berkowitz, G. A. (2022). Effects of Harpin and Flg22 on Growth Enhancement and Pathogen Defense in *Cannabis sativa* Seedlings. *Plants*, 11(9), 1178.
20. Tinline, R. D. (1994). Etiology of prematurity blight of hard red spring wheat and durum wheat in Saskatchewan. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 16(2), 87-92.
21. Tezcan, H., Akbudak, N., and Akbudak, B. (2013). The effect of harpin on shelf life of peppers inoculated with *Botrytis cinerea*. *Journal of food science and technology*, 50, 1079-1087.
22. Vrancken, K., Holtappels, M., Schoofs, H., Deckers, T., and Valcke, R. (2013). Pathogenicity and infection strategies of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* in Rosaceae: state of the art. *Microbiology*, 159(5), 823-832.
23. Wei, Z. M., Laby, R. J., Zumoff, C. H., Bauer, D. W., He, S. Y., Collmer, H., and Beer, S. V. (1992). Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. *Science*, 257(5066), 85-88.

