

## بررسی تغییرات کمی آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در گیاهچه‌های ارقام خیار حساس و متحمل به نماتد مولد گره ریشه، در حضور قارچ مایکوریز

آمنه حسینی خواه<sup>۱</sup>، سعید رضائی<sup>۱</sup>، سالار جمالی<sup>۲</sup>، حمیدرضا زمانی زاده<sup>۱</sup>، فرهاد رجالی<sup>۳</sup>

۱- گروه بیماری‌شناسی گیاهی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران؛ ۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران؛ ۳- موسسه تحقیقات خاک و آب، کرج، ایران  
(تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۶؛ تاریخ پذیرش: مرداد ۱۳۹۷)

### چکیده

هدف از این تحقیق، مقایسه تأثیر قارچ مایکوریز آربوسکولار *Funneliformis mosseae* بر فعالیت آنزیم‌های دفاعی تولید شده در اثر حمله نماتد مولد گره *Meloidogyne incognita* به ریشه خیار ارقام متحمل (سوپردومینوس) و حساس (دانیتو) بوده است. به این منظور آزمایشی در گلخانه با چهار تیمار و چهار تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی (طرح خرد شده در زمان) انجام گرفت. ابتدا گیاهچه‌های خیار در خاک سترون پرورش یافت. به تیمارهای حاوی مایکوریز میزان ۷۵ گرم زادمایه قارچ در هر کیلوگرم خاک اضافه گردید. ۴۵ روز بعد از مایه زنی قارچ مایکوریز، تعداد ۱۵۰۰ عدد لارو سن دوم در هر کیلوگرم خاک اضافه شد. تغییرات کمی آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در روزهای دوم، چهارم، ششم و هشتم بعد از مایه زنی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در تیمار مایه زنی شده با نماتد، میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور به نسبت گیاه شاهد افزایش یافت. در تیمار قارچ مایکوریز به تنهایی، میانگین فعالیت آنزیم‌ها در تمام زمان‌ها، بالاتر از میانگین شاهد و تیمار نماتد بود. در هر دو رقم، در تیمار نماتد به همراه قارچ مایکوریز، فعالیت آنزیم‌های مذکور به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. به طور کلی، میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در رقم متحمل به طور قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر از رقم حساس در همان تیمارها و روزهای اندازه‌گیری بود که می‌تواند با نقش این آنزیم‌ها در افزایش تحمل نسبت به نماتد ارتباط داشته باشد. تأثیر قارچ مایکوریز در افزایش مقادیر آنزیم‌های دفاعی در تیمارهای مورد بررسی از دیگر نتایج این تحقیق به شمار می‌رود.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، *Funneliformis mosseae*، *Meloidogyne incognita*، *Cucumis sativus*

### Investigation of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes quantitative changes in sensitive and tolerant cucumber to root knot nematode, due to mycorrhizal fungus

A. HOSSEINIKHAH CHOSHALI<sup>1</sup>, S. REZAAE<sup>1</sup>, S. JAMALI<sup>2</sup>, H. R. ZAMANIZADEH<sup>1</sup>, F. REJALI<sup>3</sup>

1. Department of Plant Pathology, College of Agriculture and Natural Resources, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran  
2. Plant Protection Department, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran; 3. Soil and Water Research Institute, Tehrān, Iran

### Abstract

The aim of this study was to compare the effect of *Funneliformis mosseae* mycorrhizal fungus on the activity of defense enzymes produced by *Meloidogyne incognita* attack on roots of tolerant and sensitive cucumber cultivars. For this purpose, an experiment was conducted in a greenhouse with four treatments and four replications in a completely randomized design (split design in time). Cucumber seedlings were planted in sterile soil. Mycorrhizal treatments were added to 75 grams inoculum per kilogram soil. 45 days after *F. mosseae* inoculation, 1500 J2 were added per each kilogram soil. The quantitative activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes was measured after six and eight days after inoculation. The results showed that the activity of the enzymes in inoculated with nematode increased in comparison with the control plants. In the inoculated with AMF alone, the average activity of enzymes in different days of measurement was higher than control and nematode treatment. In both cultivars, the activity of these enzymes increased significantly in nematode with mycorrhizal fungus. Totally, the activity of peroxidase and polyphenol oxidase enzymes in tolerant cultivar was significantly higher than sensitive in the same treatments and days of measurement which can be related to these enzymes roll in increasing tolerance to the nematode. Effect of mycorrhizal fungus on increasing the amount of defense enzymes in the treatments are considered as other results of this research.

**Keywords:** *Cucumis sativus*, *Funneliformis mosseae*, *Meloidogyne incognita*, Peroxidase, Polyphenol oxidase

## مقدمه

خیار (*Cucumis sativus* L.) گیاهی است یک ساله از تیره کدوئیان و از نظر اهمیت اقتصادی مقام چهارم را بعد از گوجه‌فرنگی، کلم پیچ و پیاز در بین سبزی‌های مهم، به خود اختصاص داده است (Peyvast, 2007). نماتدهای مولد گره ریشه (*Meloidogyne* spp.) از نظر اقتصادی جزو مهم‌ترین نماتدهای انگل گیاهی در سطح جهان می‌باشند که از دامنه میزبانی وسیعی برخوردار بوده و با کاهش پنج درصدی محصولات کشاورزی سبب آلودگی اکثر گیاهان گلدار شده‌اند (Hussey and Janssen, 2002; Oka et al., 2000). خسارت ناشی از این بیمارگرها، شامل ضعف و جلوگیری از رشد ریشه‌ها و ایجاد گال روی آن‌هاست. این نماتدها نه تنها مواد غذایی گیاه را کسب می‌کنند بلکه باعث تغییر سیستم آوندی و اختلال در انتقال مواد غذایی از خاک نیز می‌شوند. تغییر فیزیولوژیکی رخ داده در کل گیاه میزبان نیز از عواقب ایجاد آلودگی می‌باشد (Vovlas et al., 2005). با توجه به گسترش جغرافیایی، دامنه میزبانی و اهمیت این گروه از نماتدها، کنترل آن‌ها امری اجتناب ناپذیر است. با توجه به این که برخی روش‌های کنترل از کارایی لازم برخوردار نبوده و مبارزه شیمیایی نیز خطراتی برای سلامتی انسان و محیط زیست به همراه دارد، لذا بهره‌مندی از ارقام مقاوم و یا متحمل به‌عنوان یکی از اقتصادی‌ترین و بی‌خطرترین روش‌های مدیریت، کاهش خسارت را در پی خواهد داشت (Gharabadiyan et al., 2013; Olowe, 2007; Moon et al., 2010; Starr et al., 2002). گیاه مقاوم باعث جلوگیری و یا محدود کردن تولید مثل نماتد از طریق فعال کردن مکانیزم‌های دفاعی شده است که این عمل توانسته نفوذ لاروهای سن دوم نماتد را محدود نموده و یا از تشکیل مکان تغذیه‌ای نماتد و تولید مثل آن جلوگیری کند (Rodrigo et al., 2013). اخیراً نقش قارچ‌های مایکوریز در تغییر عکس‌العمل گیاهان نسبت به عوامل بیماری‌زا، از جمله نماتدهای انگل گیاهی مورد توجه واقع شده است. آن‌ها به‌طور مستقیم با ایجاد یک مانع فیزیکی روی ریشه و یا تولید

موادی مانند آنتی بیوتیک‌ها و ترکیبات دیگر، رشد بیمارگر را محدود نموده و در نتیجه موجب افزایش مقاومت گیاه می‌شوند. قارچ‌های مایکوریز فعالیت آنتی اکسیدانی را در گیاهان افزایش داده‌اند (Baslam and Goicoechea, 2012; Ruiz-Sanchez et al., 2010).

در شرایط تنش مانند حمله بیمارگرها، تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی (ROS) افزایش می‌یابد که با همه مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها، چربی‌ها، کربوهیدرات‌ها، DNA و RNA واکنش داده و باعث آسیب رسیدن به آن‌ها شده‌اند (Pareek et al., 2017; Mahfouz et al., 2012; Chen et al., 2000). گیاهان به‌منظور از بین بردن رادیکال‌های آزاد اضافی تولید شده ناشی از تنش‌های زنده و غیرزنده، تولید چندین آنزیم از جمله پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دسیمیوتاز، پلی فنل اکسیداز و ترکیباتی شبیه به فنل به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه را افزایش می‌دهند (Honty et al., 2005; Reddy et al., 2005; Gout et al., 2001). تحقیقات نشان داده است که ترکیبات دفاعی در مقاومت علیه بیمارگرهای گیاهی به ویژه نماتدها به صورت سیستمیک دخالت دارند (Pareek et al., 2017; Bhargava et al., 2007). پلی فنل اکسیداز در بسیاری از مکانیزم‌های مقاومت گیاهان نقش دارند (Faize et al., 2004). تحقیقات نشان داده است که آنزیم پلی فنل اکسیداز به‌طور طبیعی در گیاهان پس از زخمی شدن افزایش یافته و عمدتاً با قهوه‌ای شدن بافت همراه است (Mohammadi and Kazemi, 1989; Fattah and Webster, 2002). مطالعات نشان دادند که آنزیم پلی فنل اکسیداز باعث اکسید شدن ترکیبات فنلی به کنیون‌ها شده که کنیون‌ها بسیار سمی‌تر از فنل‌های طبیعی‌اند و همبستگی مثبت بین سطوح آنزیم پلی فنل اکسیداز و مقاومت گیاهان به پاتوژن‌ها مشاهده شده است (Mayer, 2006). هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی تأثیر قارچ مایکوریز آربوسکولار بر تحریک فعالیت آنزیم‌های دفاعی اکسید کننده تولید شده در اثر حمله نماتد مولد گره ریشه به خیار متحمل و حساس بوده است.

## روش بررسی

۱- تهیه زادمایه نماتد مولد گره ریشه *M. incognita*

جمعیت خالص تکثیر یافته به روش تک کیسه تخم از نماتد مولد گره ریشه گونه *Meloidogyne incognita* نژاد یک، از بخش گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان تهیه شد. جهت تکثیر نماتد مولد گره ریشه از گوجه فرنگی رقم حساس به نماتد ارلی اوربانا وای (early urbana Y) استفاده شد. به این منظور، بذور گوجه فرنگی توسط هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و در لیوان‌های پلاستیکی یک‌بار مصرف حاوی خاک و شن استریل به نسبت دو به یک کاشته شدند. پس از گذشت چهار هفته و رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله چهار برگی، جهت مایه زنی نماتد در اطراف طوقه گیاه چهار حفره به عمق تقریبی سه سانتی‌متر ایجاد و چهار عدد کیسه تخم نماتد درون حفره‌ها قرار گرفت. سپس روی حفره‌ها با خاک پوشیده شد و آبیاری گردید. یک هفته بعد از مایه زنی کیسه تخم نماتد، گیاهان به گلدان‌های دو کیلوگرمی حاوی مخلوط شن و خاک سترون به نسبت دو به یک منتقل و به مدت دو ماه در شرایط گلخانه (دمای ۲۷-۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت ۷۰ درصد) نگهداری شدند. به‌منظور مایه زنی گیاهچه‌های خیار، تخم نماتد با استفاده از روش هوسی و بارکر استخراج گردید (Hussey and Barker, 1973). برای شمارش جمعیت لاروهای سن دوم، از ظروف پتری مدرج استفاده شد. به این منظور ابتدا تخم‌های نماتد به روش ذکر شده استخراج شدند. سوسپانسیون حاصله با تتراسایکلین به مقدار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۳۰ دقیقه و سولفات استرپتومایسین به مقدار ۰/۰۴۴ گرم در لیتر به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شد. سپس تخم‌ها روی الک ۵۰۰ مش توسط آب مقطر سترون شسته شدند. سپس سوسپانسیون حاصل روی کاغذ صافی‌های ۰/۲ میکرون که در تماس با آب مقطر سترون بود، منتقل و جهت تفریح در دمای ۲۸ درجه سلسیوس نگهداری شد. پس از گذشت ۷ روز لاروهای سن دوم نماتد تفریح شدند.

## ۲- تهیه زادمایه قارچ میکوریز آربوسکولار

هم‌چنین جدایه خالص تجاری از قارچ میکوریز گونه *Funneliformis mosae* از شرکت زیست فناور توران، برای انجام مراحل تحقیق فراهم گردید. به‌منظور مایه زنی گیاهچه‌های خیار با زادمایه قارچ میکوریز، استخراج اسپور با استفاده از روش تغییر یافته الک مرطوب و گرادیان ساکارز، بوسیله سانتریفیوژ انجام شد (Brundrett et al., 1996). فراوانی اسپورها بوسیله شمارش آن‌ها زیر بینوکولار تعیین گردید.

۳- بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در گیاهچه‌های خیار در اثر برهمکنش قارچ میکوریز و نماتد مولد گره ریشه

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی (طرح خرد شده در زمان) با چهار تیمار و چهار تکرار انجام گرفت، تیمارهای در نظر گرفته شده به شرح زیر بوده‌اند: ۱- شاهد (فاقد میکوریز و نماتد)، ۲- تیمار نماتد به تنهایی، ۳- تیمار میکوریز به تنهایی و ۴- تیمار نماتد به همراه قارچ میکوریز. در این پژوهش، از بذور دو رقم خیار رایج گلخانه‌ای در ایران (رقم دانیتو به‌عنوان رقم حساس و سوپردومینوس به‌عنوان رقم متحمل) که درجه مقاومت و حساسیت آن‌ها نسبت به نماتد مولد گره ریشه گونه *M. incognita* در آزمایشات قبلی تعیین شده بود، استفاده گردید (Sadeh Moosavi et al., 2006). بذور توسط هیپوکلریت سدیم دو درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و در لیوان‌های پلاستیکی یکبار مصرف حاوی خاک و شن سترون به نسبت دو به یک کاشته شدند. بعد از رسیدن به مرحله چهار برگی، گیاهچه‌ها به گلدان‌های دو کیلوگرمی حاوی خاک و شن سترون به نسبت دو به یک منتقل شدند. هنگام انتقال نشاها در تیمارهای ۳ (تیمار حاوی قارچ میکوریز به تنهایی) و تیمار ۴ (تیمار حاوی قارچ میکوریز + نماتد مولد گره ریشه)، میزان ۷۵ گرم زادمایه قارچ در هر کیلوگرم خاک اضافه شد. بخشی از زادمایه قارچ در تماس با ریشه خیار قرار گرفت و بقیه هم با خاک گلدان مخلوط شد. به تیمارهای ۱ و ۲ فاقد قارچ میکوریز به میزان

(محدوده نورآبی) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. این روش نیاز به معرف برادفورد و محلول پروتئین استاندارد (BSA) دارد. به کمک منحنی استاندارد، مقدار کل پروتئین محلول هر نمونه گیاهی به صورت میلی گرم پروتئین در هر گرم بافت تازه ریشه گیاه محاسبه گردید.

۳-۴- ارزیابی فعالیت آنزیم پراکسیداز: دو میلی لیتر مخلوط واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی، ۲۰ میکرولیتر گوئیکول و مقدار ۱/۸۶ میلی لیتر بافر سترات فسفات ۲۵ میلی مول pH=5.4 تا به حجم نهایی دو میلی لیتر برسد، در یک لوله آزمایش ریخته و دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از این مخلوط در طول موج ۴۷۵ نانومتر صفر گردید. سپس ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد به این مخلوط اضافه شد و سریعاً تغییرات جذب نور به فواصل ده ثانیه، به مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد (Mohammadi and Kazemi, 2002).

۴-۴- ارزیابی آنزیم پلی فنل اکسیداز: دو میلی لیتر مخلوط واکنش شامل مقداری از عصاره که دارای ۴۰ میلی گرم پروتئین باشد، ۲۰ میکرولیتر محلول پرولین و مقدار ۱/۸۶ میلی لیتر بافر سترات- فسفات ۲۵ میلی مول pH= ۶/۴ در یک لوله آزمایش کاملاً مخلوط شد. این مخلوط توسط ورتکس به مدت دو دقیقه هوادهی و سپس دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از این مخلوط صفر گردید. سپس بلافاصله ۴۰ میکرولیتر محلول پیروکتکول ۱۰۰ میلی مول به مخلوط واکنش افزوده، سریع مخلوط و بلافاصله تغییرات جذب نور در طول موج ۵۱۵ نانومتر به مدت یک دقیقه با فاصله ۱۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب نور در دقیقه بر میلی گرم پروتئین محاسبه شد (Mohammadi and Kazemi, 2002).

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش LSD انجام گردید. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

مساوی زادمایه قارچ سترون شده در اتوکلاو (به مدت یک ساعت در دو روز پی در پی) استفاده شد تا شرایط گلدان‌ها یکسان باشد. گلدان‌ها هر روز با آب سترون آبیاری شدند. به منظور اطمینان از کلونیزاسیون قارچ مایکوریز در ریشه گیاهچه‌های خیار، قطعات ریشه به طور تصادفی با استفاده از روش فیلیپس و هایمن (Philips and Hayman, 1970). رنگ آمیزی و جهت مشاهده اندام‌های مختلف قارچ (اسپور، وزیکول و آربوسکول) زیر میکروسکوپ بررسی شدند. در نهایت ۴۵ روز بعد از مایه زنی قارچ مایکوریز، میزان ۱۵۰۰ لارو سن دوم نماتد به تیمارها اضافه شد. بدین منظور در اطراف طوقه گیاه چهار حفره به عمق تقریبی سه سانتی متر ایجاد و با پییت زادمایه به درون حفرات ایجاد شده تزریق گردید. روی حفره با خاک پوشانده و آبیاری شد. گلدان‌ها هر روز با آب سترون آبیاری گردیدند. جهت بررسی فعالیت آنزیم‌ها در روزهای دوم، چهارم، ششم و هشتم بعد از مایه زنی نماتد، نمونه برداری از ریشه‌ها انجام گرفت. ریشه‌ها تا زمان اندازه‌گیری آنزیم در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

#### ۴- روش بررسی فعالیت آنزیمی

۴-۱- استخراج عصاره پروتئینی: نیم گرم از بافت گیاهی ریشه در هاون چینی با استفاده از ازت مایع کوبیده و له شد. سپس یک میلی لیتر بافر نمونه فسفات سدیم ۰/۱ مول با pH=6 به آن اضافه و کاملاً مخلوط شد. مخلوط حاصله بلافاصله به میکروتیوب‌های دو میلی لیتری منتقل و توسط میکروسانتریفوژ در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در چهار درجه سلسیوس سانتریفوژ شد. مایع رویی برای انجام آزمایش‌ها جدا و تا قبل از آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد (Reuveni, 1995).

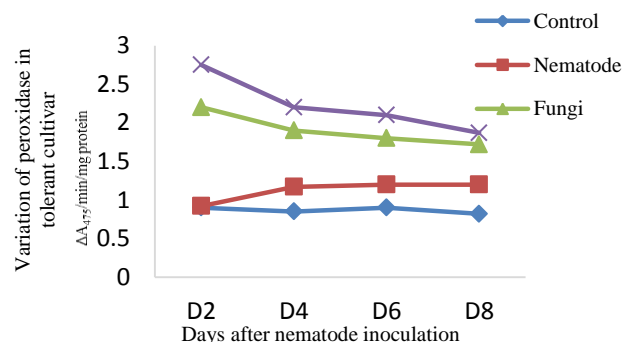
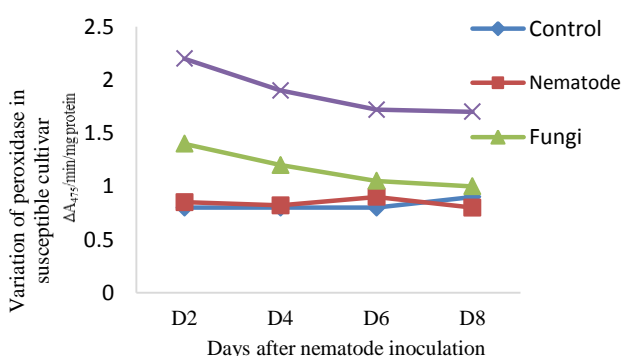
۴-۲- تعیین میزان کل پروتئین قابل حل در عصاره: سنجش میزان پروتئین کل موجود در عصاره ریشه چه نمونه‌ها با استفاده از روش برادفورد (Bradford, 1976) انجام شد. میزان جذب نور در طول موج حداکثر ۵۹۵۸ نانومتر

نتایج و بحث

تغییرات کمی آنزیم پراکسیداز در دو رقم خیار حساس و متحمل: در رقم حساس، بین فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه شاهد (بدون نماتد) با گیاه مایه‌زنی شده با نماتد در روزهای مختلف اندازه‌گیری، اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. اما بین گیاهان مایه‌زنی شده با مایکوریز به تنهایی و گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و مایکوریز، اختلاف معنی‌دار بود (جدول ۱). بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، در تیمار نماتد به همراه قارچ مایکوریز بود (جدول ۱). در رقم حساس، فعالیت پراکسیداز در روز دوم از بیشترین مقدار برخوردار بوده و با روزهای چهارم، ششم و هشتم اختلاف معنی‌دار مشاهده است. بین روزهای چهارم و ششم اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. در روز دوم بعد از مایه‌زنی نماتد، بین گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ و گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و قارچ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. همچنین بین گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و قارچ و قارچ و گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. در رقم حساس در روز چهارم بعد از تلقیح نماتد نیز بین گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و قارچ اختلاف معنی‌دار آماری دیده شد. همچنین گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ به تنهایی و گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ و نماتد اختلاف معنی‌دار آماری داشتند. در روز ششم و هشتم بعد از مایه‌زنی

نیز بین گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و قارچ، از نظر فعالیت آنزیم پراکسیداز اختلاف آماری معنی‌دار وجود داشت. همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز بین گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ به تنهایی و گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ و نماتد اختلاف آماری معنی‌دار داشت.

در رقم متحمل، آنزیم پراکسیداز در روز دوم با روز چهارم در تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۱). همچنین فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان شاهد با گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد به تنهایی دارای اختلاف معنی‌دار نبود، ولی نسبت به تیمارهای قارچ به تنهایی و قارچ به همراه نماتد اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (جدول ۱). بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم در تیمار نماتد و قارچ، در روز دوم اندازه‌گیری مشاهده گردید (جدول ۱). در رقم متحمل در روز هشتم اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در تیمارهای مختلف آزمایش دارای اختلاف معنی‌دار بود و بیش‌ترین مقدار آنزیم در تیمار نماتد و قارچ مشاهده شد (جدول ۱). در رقم متحمل، در روز دوم بعد از مایه‌زنی نماتد، بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ و نماتد مشاهده گردید و بعد از آن در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ به تنهایی، کم‌ترین میزان فعالیت در روز هشتم مشاهده شد. در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد به تنهایی بیش‌ترین میزان آنزیم پراکسیداز در روز چهارم مشاهده گردید. در روز دوم بعد از مایه‌زنی میزان آنزیم در حد شاهد بود (شکل ۱).



شکل ۱- تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم متحمل و حساس خیار در تیمارهای مختلف.

Fig. 1. Variation of peroxidase activity in susceptible and tolerant cucumber in different treatments.

جدول ۱- مقایسه میانگین‌های تغییرات آنزیم پراکسیداز در رقم حساس و متحمل در روزها و تیمارهای مختلف بعد از مایه‌زنی نماتد.

Table 1. Comparison of peroxidase changes means in susceptible and tolerant cucumber in different days after inoculation of nematode.

	Treatment	2 Day	4 Day	6 Day	8 Day
Susceptible cultivar	Control	0.8 <sup>c</sup>	0.8 <sup>c</sup>	0.8 <sup>c</sup>	0.9 <sup>c</sup>
	Nematode	0.85 <sup>c</sup>	0.82 <sup>c</sup>	0.9 <sup>bc</sup>	0.8 <sup>bc</sup>
	Fungi	1.4 <sup>b</sup>	1.2 <sup>b</sup>	1.05 <sup>b</sup>	1 <sup>b</sup>
	Fungi+Nematode	2.2 <sup>a</sup>	1.9 <sup>a</sup>	1.72 <sup>a</sup>	1.7 <sup>a</sup>
	LSD	0.9	0.14	0.15	0.15
Tolerant cultivar	Control	0.92 <sup>c</sup>	0.85 <sup>d</sup>	0.9 <sup>d</sup>	0.82 <sup>d</sup>
	Nematode	2.2 <sup>c</sup>	1.17 <sup>c</sup>	1.2 <sup>c</sup>	1.2 <sup>c</sup>
	Fungi	1.4 <sup>b</sup>	1.9 <sup>c</sup>	1.8 <sup>b</sup>	1.72 <sup>b</sup>
	Fungi+Nematode	2.75 <sup>a</sup>	2.2 <sup>a</sup>	2.1 <sup>a</sup>	1.87 <sup>a</sup>
	LSD	0.17	0.17	0.09	0.14

تیمارهایی که دارای حروف مشترک می باشند از نظر آماری اختلاف آماری با یکدیگر نداشته و در یک گروه قرار می گیرند.

There is no significant difference between means having the same letters

قارچی اختلاف قابل ملاحظه و معنی داری با شاهد داشتند. در روز دوم بیشترین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در تیمار نماتد و قارچ مشاهده گردید (جدول ۲). در روز چهارم اندازه‌گیری در رقم حساس فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهان شاهد با گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد تفاوت قابل ملاحظه‌ای داشت. در روز چهارم بین تیمارهای مورد بررسی از لحاظ میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز اختلاف معنی داری مشاهده گردید. بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را در روز چهارم در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و قارچ مشاهده گردید (جدول ۲). در روز ششم اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در رقم حساس، در همه تیمارهای مورد بررسی دارای اختلاف معنی دار بودند و بیشترین میزان فعالیت آنزیم در روز ششم اندازه‌گیری، در تیمار نماتد و قارچ مشاهده گردید (جدول ۲). در روز هشتم در رقم حساس، میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهان شاهد با میزان فعالیت آنزیم در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد اختلاف معنی داری دارند (جدول ۲). بیشترین سطح فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در روز ششم در رقم حساس در گیاهان تیمار شده با نماتد و قارچ مشاهده گردید (جدول ۲). نتایج تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در رقم متحمل و حساس در تیمارهای مختلف در نمودار ۲ آورده شده است. از نمودار می‌توان دریافت که در رقم متحمل و حساس بیشترین میزان فعالیت آنزیم در روز چهارم بعد از مایه‌زنی نماتد مشاهده شده و کمترین میزان در روز هشتم بوده است در گیاه شاهد میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز به نسبت تیمارهای حاوی قارچ

تغییرات آنزیم پلی فنل اکسیداز در دو رقم خیار حساس و متحمل: در رقم حساس، میانگین فعالیت پلی فنل اکسیداز در تیمارهای مورد بررسی در روزهای مختلف بعد از مایه‌زنی نماتد، با همدیگر اختلاف معنی دار داشته و بیشترین میانگین پلی فنل اکسیداز در تیمار قارچ و نماتد مشاهده گردید (جدول ۲). آنزیم پلی فنل اکسیداز در روز دوم، با روز چهارم و ششم اختلاف معنی دار داشته ولی با روز هشتم اختلاف معنی دار نداشت و بیشترین میانگین فعالیت آنزیم در روز چهارم گزارش شد (جدول ۲). فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نیز در رقم متحمل در روزهای دوم، چهارم در تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی دار بود و هم‌چنین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در روز چهارم در تمامی تیمارها بیش‌تر بود (جدول ۲). در رقم متحمل میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهان شاهد با گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد به تنهایی دارای اختلاف معنی دار نبود (جدول ۲). تیمارهای حاوی قارچ دارای اختلاف معنی دار نسبت به بقیه تیمارها داشتند (جدول ۲). در رقم متحمل در روز هشتم اندازه‌گیری فعالیت آنزیم در تیمارهای مختلف آزمایش دارای اختلاف معنی دار بود و بیشترین مقدار آنزیم در تیمار نماتد و قارچ مشاهده شد (جدول ۲). در روز دوم بعد از مایه‌زنی نماتد بین تیمارهای مختلف و فعالیت آنزیم‌های مورد اندازه‌گیری اختلاف معنی دار در سطح یک درصد مشاهده گردید (جدول ۲). با توجه به نتایج میانگین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در روز دوم بعد از مایه‌زنی نماتد در گیاهان شاهد با گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد اختلاف معنی دار نداشت. فعالیت آنزیم در تیمارهای

شد. در تحقیق حاضر مشخص شد که در رقم متحمل، در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد به تنهایی، آنزیم در روز دوم کم‌ترین میزان را داشته و در حد گیاهان شاهد در همان روز بوده است. به تدریج میزان آنزیم افزایش یافت ولی در رقم حساس میزان آنزیم در حد گیاهان شاهد بوده و اختلاف معنی‌داری با آن نداشت. این موضوع می‌تواند مؤید تأثیر مثبت افزایش آنزیم پراکسیداز در رقم متحمل، در تحریک دفاع گیاه در مقابل حمله نماتد مولد گره ریشه باشد. این نتایج با نتایج محققین دیگر مطابقت دارد (Honty *et al.*, 2005; Reddy *et al.*, 2005; Gout *et al.*, 2001). نماتد بعد از رسیدن به ریشه و نفوذ به داخل بافت، باعث زخمی شدن ریشه می‌شود و روی واکنش‌های بیوشیمیایی اثر گذاشته و کاهش سنتز ترکیبات دفاعی از قبیل آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز می‌شوند (Windham *et al.*, 1989). تحقیق حاضر نیز این مطلب را تأیید می‌نماید چون در رقم حساس به نماتد، نماتد مهاجم با سرکوب تولید آنزیم پراکسیداز شانس ورود به داخل گیاه و تولید مثل خود را بالا می‌برد ولی در رقم متحمل به دلیل داشتن سازوکارهای ویژه، آنزیم پراکسیداز سطح بالایی داشته و از خسارت نماتد جلوگیری می‌کند. بررسی‌های دیگر نشان داده است که تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز گویای تغییرات بیوشیمیایی گیاه بوده و بخشی از واکنش مقاومت میزبان محسوب می‌شود (Reuveni and Bothma, 1985). مطالعات نشان داده است که پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز نقش مهمی در مقاومت به *M. incognita* دارد و تغییر در فعالیت آنزیم پراکسیداز به عنوان یک نشانگر فرآیندهای بیوشیمیایی در گیاهان می‌باشد (Premachandran and Dasgupta, 1983; Kuc, 2001; Faize *et al.*, 2004). فعالیت آنزیم پراکسیداز با آغاز القاء مقاومت گیاه که شامل مکانیسم‌های دفاعی از قبیل لیگنینی شدن و سوبرینی شدن است مرتبط می‌باشد (Yao and Tian, 2005). تجمع چندین آنزیم از جمله پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسمیوتاز و پلی فنل اکسیداز و ترکیباتی فنلی به عنوان متابولیت‌های ثانویه در پاسخ به تنش به اثبات رسیده است (Honty *et al.*, 2005).

مایکوریز و بدون قارچ مایکوریز کم‌تر بوده. در روز هشتم بعد از مایه‌زنی نماتد در رقم متحمل میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در حد آنزیم در تیمار شاهد بود. در رقم حساس میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در روز هشتم بعد از مایه‌زنی نیز در حد شاهد و گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ به تنهایی بود. در رقم حساس میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در روز هشتم بعد از مایه‌زنی نماتد، کاهش یافته و تقریباً در حد میزان فعالیت در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد و شاهد رسید. در هر دو رقم در روز دوم بعد از مایه‌زنی نماتد در بیش‌ترین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در تیمار نماتد در حضور قارچ مایکوریز مشاهده گردید. در روز چهارم بعد از مایه‌زنی نماتد در هر دو رقم بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهان مایه‌زنی شده با قارچ مایکوریز و نماتد مشاهده گردید. روز چهارم میزان افزایش آنزیم پلی فنل اکسیداز در رقم متحمل بالاتر از رقم حساس بود (نمودار ۲). از آنجایی که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد در روزهای چهارم و ششم بالا بود و در همان زمان‌ها میزان آنزیم در گیاهان مایکوریزی هم بالا بود، بنابراین می‌توان بخشی از کاهش خسارت نماتد را در گیاهان مایکوریزی مایه‌زنی شده با نماتد، به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز نسبت داد. که این افزایش در رقم متحمل بیش‌تر از رقم حساس بود. این مطلب با نتیجه تحقیقات انجام گرفته مطابقت نشان می‌دهد به نحوی که فعالیت پراکسیداز در ریشه‌های گوجه فرنگی آلوده به نماتد، در گیاهان مقاوم دو برابر گیاهان حساس بوده است (Zacheo *et al.*, 1993). تحقیقات نشان داده است که آنزیم پراکسیداز ترکیبات پروتئین دیواره سلولی از قبیل هیدروکسی پرولین را تغییر داده که باعث مقاومت دیواره سلولی در برابر آنزیم‌های مخرب پاتوژن شده است (Hammerschmidt *et al.*, 1995). در رقم‌های حساس و متحمل، در تمامی روزهای اندازه‌گیری، در گیاهان مایه‌زنی شده با مایکوریز بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقایسه با گیاهان آلوده به نماتد به‌تنهایی مشاهده

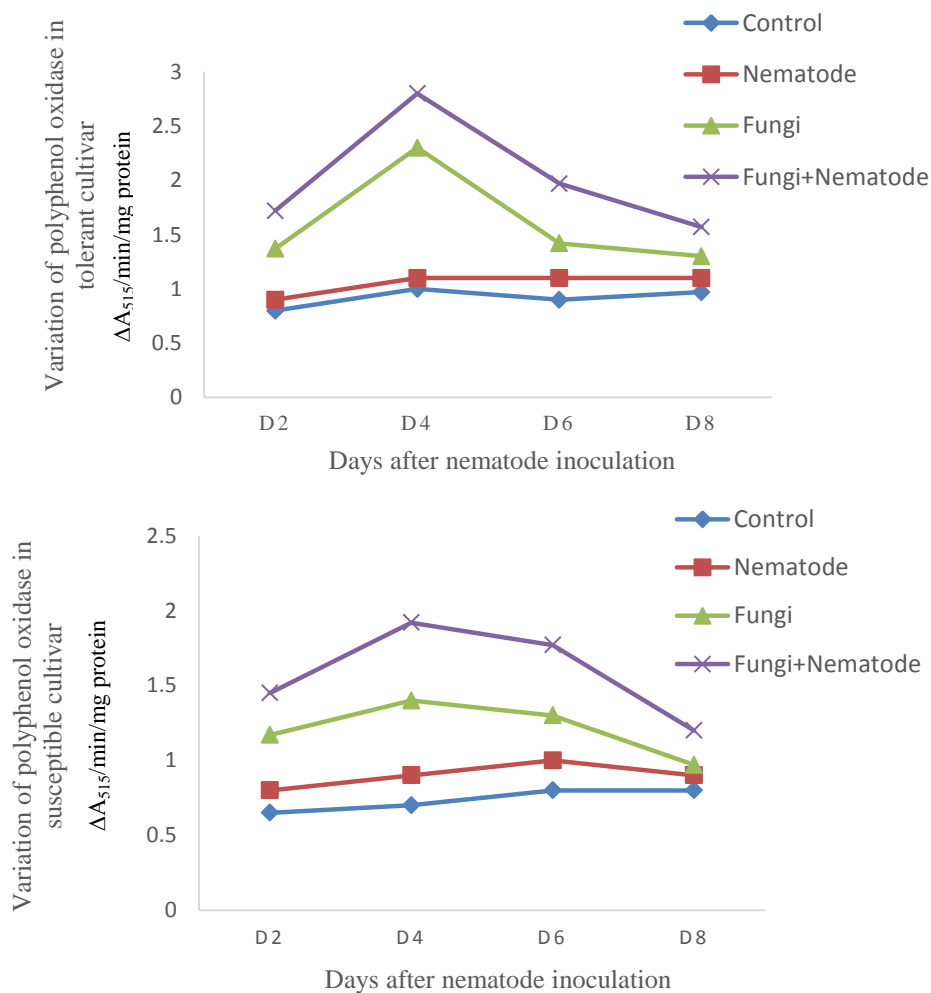
جدول ۲- مقایسه میانگین های تغییرات آنزیم پراکسیداز در رقم حساس و متحمل در روزها و تیمارهای مختلف بعد از مایه زنی نماتد.

Table 2. Comparison of peroxidase change means in susceptible and tolerant cucumber in different days after inoculation of nematode.

	Treatment	2 Day	4 Day	6 Day	8 Day
Susceptible cultivar	Control	0.65 <sup>c</sup>	0.7 <sup>d</sup>	0.8 <sup>d</sup>	0.8 <sup>d</sup>
	Nematode	0.8 <sup>c</sup>	0.9 <sup>c</sup>	1 <sup>c</sup>	0.9 <sup>c</sup>
	Fungi	1.17 <sup>b</sup>	1.4 <sup>b</sup>	1.3 <sup>b</sup>	0.97 <sup>b</sup>
	Fungi+Nematode	1.45 <sup>a</sup>	1.92 <sup>a</sup>	1.77 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>
	LSD	0.19	0.14	0.11	0.14
Tolerant cultivar	Control	0.8 <sup>c</sup>	1 <sup>c</sup>	0.9 <sup>d</sup>	0.97 <sup>c</sup>
	Nematode	0.9 <sup>c</sup>	1.1 <sup>c</sup>	1.1 <sup>c</sup>	1.1 <sup>c</sup>
	Fungi	1.37 <sup>b</sup>	2.3 <sup>b</sup>	1.42 <sup>b</sup>	1.3 <sup>b</sup>
	Fungi+Nematode	1.73 <sup>a</sup>	2.8 <sup>a</sup>	1.97 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>
	LSD	0.15	0.11	0.19	0.17

تیمارهایی که دارای حروف مشترک می باشند از نظر آماری اختلاف آماری با یکدیگر نداشته و در یک گروه قرار می گیرند.

There is no significant difference between means having the same letters



شکل ۲- تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در رقم متحمل و حساس خیار در تیمارهای مختلف.

Fig. 2. Variations of polyphenol oxidase activity in susceptible and tolerant cucumber in different treatments.



مایکوریز، فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از روز دوم و طی روزهای بعد افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان دادند و در روز چهارم به حداکثر میزان خود رسید و به دنبال آن به تدریج کاهش یافت. در گیاه مایه‌زنی با قارچ در رقم متحمل آنزیم پلی فنل اکسیداز نسبت به رقم حساس افزایش قابل ملاحظه‌ای در تمام روزهای اندازه‌گیری نسبت به شاهد نشان داد. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در آزمایش مایه‌زنی با نماتد به گیاهان پیش مایه‌زنی شده با قارچ مایکوریز (تیمار نماتد و قارچ) در تمام روزهای اندازه‌گیری اختلاف معنی‌داری با شاهد (مایه‌زنی شده با قارچ) نشان داد. و در رقم متحمل به نسبت حساس فعالیت آنزیم بیش‌تر بود. نتایج حاصل با نتیجه محققین دیگر مشابهت دارد. آن‌ها دریافتند فعالیت پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز در ژنوتیپ‌های مقاوم فلفل در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس فلفل در برابر حمله پاتوژن بسیار بالاتر بود (Latournerie-Moreno et al., 2015). در تحقیق مشابه دیگر، سطوح پلی فنل اکسیداز در رقم مقاوم نسبت به رقم حساس بیش‌تر بود (Wuyts et al., 2006). هم‌چنین در تحقیقی دیگر نیز میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز در هیبریدهای مقاوم موز بالاتر از هیبریدهای حساس به نماتد *Radopholus similis* بود (Sankar et al., 2017). آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهان گوجه‌فرنگی آلوده به نماتد مولد گره ریشه به مقدار بسیار بالایی بیان شده و بیان زیاد این آنزیم با افزایش مقاومت به بیمارگرها همراه است (Li and Steffens, 2002). از یافته‌های تحقیق حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که قارچ مایکوریز آربوسکولار موجب القای مقاومت سیستمیک از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی در گیاه میزبان آلوده به نماتد *M. incognita* می‌گردد.

در طی تحقیقی دیگر مشخص شد که پلی فنل اکسیداز و دوپامین در ریشه موز در مقاومت بر علیه نماتد زخم ریشه *Radopholus similis* نقش دارد و میزان فعالیت پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در رقم مقاوم نسبت به رقم حساس بیش‌تر بود (Wuyts et al., 2006). نتایج به‌دست آمده حاکی از این است که سطوح فعالیت آنزیم در تیمار نماتدی در رقم متحمل بیش‌تر از رقم حساس بود. این نتایج با نتیجه صاحبانی و همکاران در سال ۱۳۸۶ مشابهت دارد. آن‌ها دریافتند که نماتد قادر است روند طبیعی ساخت آنزیم را در گیاه تغییر دهد و اینگونه استنباط کردند که در شروع حمله نماتد از تعداد معدودی سلول غول‌آسا جهت تغذیه استفاده می‌کند و تعداد زخم ایجاد شده کم می‌باشد. برای القای سیستم دفاعی گیاه کافی نیست. چهار روز بعد از نفوذ که همزمان با شروع تشکیل سلول‌های غول‌آسا در منطقه تغذیه نماتد است، میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز در مقایسه با روزهای قبل کاهش محسوس و قابل توجهی نشان داد. این زمان مصادف با شروع تعامل نماتد با سلول گیاه و شروع تغذیه نماتد می‌باشد. در این تحقیق، در هر دو رقم سطح آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهان مایه‌زنی شده با نماتد، طی روزهای متوالی افزایش معنی‌داری نشان نداد ولی نسبت به شاهد در روز ششم اختلاف معنی‌دار دیده شد و به دنبال آن به تدریج کاهش یافت. در رقم متحمل سطح فعالیت آنزیم نسبت به حساس بیش‌تر بود و این نشان می‌دهد که نماتد در روز دوم و چهارم نتوانسته سیستم دفاعی گیاه را فعال کند. و در روز ششم که احتمالاً مصادف با ورود نماتد مولد گره ریشه به داخل بافت ریشه بوده، سطح آنزیم افزایش نشان داد. نتایج مشخص کرد که در هر دو رقم، در مایه‌زنی گیاه با قارچ

## References

- BASLAM, M. and N. GOICOECHEA. 2012. Water deficit improved the capacity of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) for inducing the accumulation of antioxidant compounds in lettuce leaves. *Mycorrhiza*. 22: 347-359.
- BHARGAVA S., M. K. SHARMA and P. K. DASHORA. 2007. Histopathological and Biochemical changes

- induced by Root Knot Nematode *Meloidogyne incognita* of resistance and susceptible varieties of cowpea. Journal of Mycology and Plant Pathology. 37:112-117.
- CHEN C., R. R. BELANGER, N. BENHAOU and T. C. PAULITZ. 2000. Defense enzymes induced in cucumber roots by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria and *pythium aphanidermatum*. Plant pathology, 56: 13-23.
- FAIZE, M., L. FAIZE, N. KOIKE, M. ISHIZAKA and H. ISHII. 2004. Acibenzolar-S-methyl-induced resistance to Japanese pear scab is associated with potentiation of multiple defense responses. Phytopathology. 94: 604-612.
- FATTAH F.A. and J. M.WEBSTER. 1989. Ultrastructural modifications of *Meloidogyne javanica* induced giant cells caused by fungal culture filtrates. Revue de Nematology. 12: 197 - 210.
- GHARABADIYAN, F., S. JAMALI and H. R. KOMEILI. 2013. Determining of root knot (*Meloidogyne javanica*) damage function for tomato cultivars. Journal of Agricultural Science. 58:147-157.
- GOUT, E., A. M. BOISSON, S. AUBERT, R. DOUC and R. BLIGNY. 2001. Origin of the cytoplasmic pH changes during anaerobic stress in higher plant cell carbon-13 and phosphorous-31 nuclear magnetic resonance studies. Journal of Plant Physiology. 125:912.
- HAMMERSCHMIDT, R. and J. KUC. 1995. Induced resistance to disease in plants. Kluwer Academic Publishers, American. 183 Pp.
- HUSSEY, R. S. and K. R. BARKER. 1973. A comparison of methods of collecting inoculation of *Meloidogyne* species, including a new technique. Plant Disease. 57:1025-1028
- HAMMERSCHMIDT, R. and J. KUC. 1995. Induced resistance to disease in plants. Kluwer Academic Publishers, American. 183 Pp.
- HUSSEY, R. S. and G. J. W. JANSSEN. 2002. Root -knot nematodes: *Meloidogyne* species In "Plant resistance to parasitic nematodes (Starr, J. L. Cook, R. Bridge, J. eds.) CAB International, Wallingford, Oxon, UK. pp. 43-70.
- KUC, J. 2001. Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. European Journal of Plant Pathology, 107, 7-12.
- LATOURNERIE- MORENO, L., A. IC-CAAMAL, E. RUIZ-SANCHEZ, H. BALLINAGOMEZ, I. ISLAS-FLORES, W. CHAN-CUPUL and D. GONZALEZ-MENDOZA. 2015. Survival of *Bemisia tabaci* and activity of plant defense related enzymes in genotypes of *Capsicum annum* L. *Chilean*. Journal of Agricultural Researches. 75: 71-77.
- LI, L. and J. C. STEFFENS. 2002. Over expression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. Planta. 215, 239-247.
- MAHFOUZ M. M., Abd-Elgawad, K. MARIE-CLAIRE, M. SERGIO, F. Abd-El-Kareem and S. A. Sanaa. 2012. Histopathological changes and enzymatic activities induced by *Meloidogyne incognita* on resistance and susceptible potato. Plant Pathology. 1:62.
- MAYER, A. M. 2006. Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. Phytochemistry. 2006 Nov; 67(21):2318-31. Epub 2006 Sep 14.
- MOHAMMADI, M. and H. KAZEMI. 2002. Changes in Peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *Fusarium graminearum* and induced resistance. Plant Science, 162, 491-498.
- MOON, H. S., Z. KHAN, S. G. KIM, S. H. SON and Y. H. KIM. 2010. Biological and structural mechanisms of disease development and resistance in chili pepper infected with the root-knot nematode. Plant Pathology. 26:149-153.
- OKA, Y., H. KOLTAI, M. BAR-EYAL, M. MOR, E. SHARON, I. CHET and Y. SPIEGEL. 2000. New strategies for the control of plant parasitic nematodes. Pest management science, 56: 983-988.
- OLWE, T. 2007. Host reaction of cowpea cultivars to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. Nematologia Mediterranea 35:177-182.
- PAREEK, A., A. GAUR, A. KUMAR and P. LODHA. 2017. Impacts of root knot nematode infestation on metabolites and antioxidant enzymes in *Abelmoschus*

- esculentus* L. Moench. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 2017; 6(4): 1093-1096
- PHILIPS J. M. and D. S. HAYMAN. 1970. Improved procedures clearing root and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infections. Transaction of British Mycological Society 55: 158-161.
- PEYVAST, G. 2007. Vegetabele Production. 4thed., Daneshpazir Press, Rasht, 362 p.
- REDDY, A. M., S. G. KUMAR, G. JYOTHSNAKUMARI, S. THIMMANAIK and C. SAKARHUD. 2005. Lead induced changes in antioxidant metabolism of horsegram (*Macrotyloma uniflorum* (Lam.) Vedic.) and Bengal gram (*Cicer arietinum* L.). Chemosphere. 60:97-104.
- REUVENI, R. and G. C. BOTHEMA. 1985. The relationship between peroxidase activity and resistance of *Sphaerotheca fuliginea* in melons, Phytopathologische zeitschrift, 114: 260.
- REUVENI, R. 1995. Biochemical markers as tools for screening resistance against plant pathogens, In: Reuveni, R. (Eds.), Novel Approaches to Integrated Pest Management, CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 21-45.
- RUIZ-SANCHEZ, M., R. AROCA and Y. MUNOZ. 2010. The arbuscular mycorrhizal symbiosis enhances the photosynthetic efficiency and the antioxidative response of rice plants subjected to drought stress. Journal of Plant Physiology. 2010; 167: 862-869.
- SADEGH MOOSAVI, S., A. KAREGAR and A. DELJOO. 2006. Responses of some common cucumber cultivars in Iran to root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, under greenhouse condition. Iranian Journal of Plant Pathology 42(2): 241-252 (in Persian).
- SANKAR, C., K. SOORIANATHASUNDARAM, N. KUMAR and M. SIVAKUMAR. 2017. Identification of resistance and biochemical changes against *Radopholus similis* in banana hybrids under pot culture conditions.12 (1): 331-340 (Supplement on Agronomy)
- SREEDHAR, M., A. CHATURVEDI, M. APARNA, P. D. KUMAR, R. K. SINGHAL and B. P. VENU. 2013. Influence of  $\gamma$ -radiation stress on scavenging enzyme activity and cell ultra-structure in groundnut (*Arachis hypogea* L.). Advanced Applied Science Research. 4:35.
- STARR, J. L., J. BRIDGE and R. COOK. 2002. Resistance to plant-parasitic nematodes: History, current use and future potential. pp: 1-22.
- VOVLAS, N., D. MIFSUD, B.Vb. LANDA and P. CASTILLO. 2005. Pathogenicity of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* on potato. Plant Pathology. 54, 657-664.
- WINDHAM, G. I., M. T. WINDHAM and W. P. WILLIAMS. 1989. Effect of *Trichoderma* spp. on maize grows and *Meloidogyne arenaria* reproduction. Plant Disease. 73, 493- 494.
- WUYTS N, D. De WAELE and R. SWENNEN. 2006. Activity of phenylalanine ammonia-lyase, peroxidase and polyphenol oxidase in roots of banana (*Musa acuminata* AAA, CVs 'Grande Naine' and 'Yangambikm 5' before and after infection with *Radopholus similis*). Journal of Nematology. 38:201-209.
- 35- YAO, H. J. and S. P. TIAN. 2005. Effect of biocontrol agent methyl jasmonate on postharvest diseases of peach fruit and the possible mechanisms involved. Journal of Applied Microbiology. 98: 941-950.
- ZACHEO, G., C. ORLANDO and T. BLEVE ZACHEO. 1993. Characterization of anionic peroxidase in tomato isolines infected by *Meloidogyne incognita*. Journal of Nematology. 1993; 25:249-256.