Journal of Iranian Plant Protection Research

https://jpp.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 4, Winter 2023, p. 399-411

Evaluation of Resistance and Biochemical Responses of Different Barley Cultivars in Interaction with *Meloidogyne incognita*

M. Ahmadi[1], E. Mahdikhani- Moghadam[2*], H. Rouhani[3], M. Mehrvar[4]

Received: 04-05-2022
Revised: 15-08-2022
Accepted:08-09-2022
Available Online: 15-02-2023

How to cite this article:
Ahmadi, M., Mahdikhani-Moghaddam, E., Rouhani, H., & Mehrvar, M. (2023). Evaluation of Resistance and Biochemical Responses of Different Barley Cultivars in Interaction with *Meloidogyne incognita*. *Journal of Iranian Plant Protection Research 36*(4): 399-411. (In Persian with English abstract)
DOI: 10.22067/jpp.2022.76935.1097

Introduction

Meloidogyne incognita is the most well-known root knot nematode, with more than 2000 host species. Integrated nematode management (INM) is recommended to manage the destructive plant parasitic nematode. Integrated management is generally performed by using the maximum available management methods (at least two methods) and the minimum use of chemical nematicides to bring the pathogen population below the economic threshold. The use of resistant cultivars is of particular importance in integrated management, due to environmental compatibility, economic efficiency, and sometimes the impossibility of implementing other methods, especially in developing countries. Therefore, it is necessary to evaluate the resistance of the important barley plant (*Hordeum vulgare*) to prevent damage and also to investigate nematode interactions with it.

Materials and Methods

In the current study, the resistance of different barley cultivars (i.e., Nik, Nimrouz, and Zarjow) was evaluated based on plant growth factors (length, fresh, and dry weight of aerial part and roots) and nematode gall index at 60 days post inoculation. Then the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and ascorbate peroxidase (APX) enzymes were measured on days 0, 1, 2, 3, and 4 days post inoculation.

Results and Discussion

Regarding the mean number of galls, the Nik cultivar showed a significant difference compared to Nimroz and Zarjow cultivars ($P \leq 0.05$). However, no significant difference was observed between Nimroz and Zarjow cultivars. Based on plant growth factors, *M. incognita* nematode was found to have a negative effect on the aerial part length and weight and a positive effect on root weight. Evaluation of the gall index showed Nik is moderately susceptible, and Nimrouz and Zarjow are moderately resistant cultivars. SOD enzyme in Nik, Nimrouz, and Zarjow showed maximum activity in 2.72, 1.91, and 2.15 U mg^{-1} protein on the 4, 4, and 3 days post inoculation, respectively. The enzyme in Nik was determined to be 1.42 and 1.25 times higher than Nimrouz and Zarjow. There was a significant difference between 0, 1, and 2 with the 3 and 4 days of the infected samples in Nik ($P \leq 0.05$). In the other cultivars, enzyme activity increased with a slight slope. CAT enzyme peaked in Nik, Nimrouz, and Zarjow at 0.204, 0.09, and 0.11 µmol min^{-1} mg^{-1} protein on the fourth-day post inoculation. In the Nik cultivar, unlike the other two cultivars, the enzyme increased more and had a steep slope from the second to the fourth day. In infected plants of Nimrouz, despite the gradual increase of enzyme, no significant difference was found between any of the days. APX enzyme peaked at 0.26, 0.27, and 0.24 µmol min^{-1} mg^{-1} protein in Nik, Nimrouz, and Zarjow on the fourth day, respectively. The activity of the above enzyme had an increasing trend in three cultivars. The maximum activity of this enzyme was at Nimrouz, which was determined to be 1.03 and 1.1 times higher than Nik and Zarjow, respectively. In this cultivar, the upward trend

1 2, 3 and 4- PhD. Student, Professors and Associate Professor, Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, respectively.
(*- Corresponding Author Email: mahdikhani-e@um.ac.ir)

was rapid, although there was a significant difference between all-time points at the level of 0.05. In the current research, it was found that the invasion of the root knot nematode *M. incognita* reduces the growth of length, fresh and dry weight in the aerial part, reduces the length of the root but increases the fresh weight of it.

Conclusion

The hallmark of inducing pathogenicity in the sedentary root knot nematodes is the formation of special feeding cells named giant cells, which require controlling the expression of host genes and manipulation of plant hormones like auxin and cytokinin hormones. It is obvious that during the invasion of root knot nematodes and the formation of giant cells in host roots, the plant is weakened due to impaired transport of water and nutrients, and the host growth factors, especially in the aerial part, are reduced. However, due to hormonal disorders and the formation of galls, the weight of the roots increases. The higher expression of antioxidant enzymes superoxide dismutase, catalase, and ascorbate peroxidase in Nik possibly has occurred due to the compatible interaction, as a result of lack of necrosis and programmed cell death and to tolerate stress (nematode invasion). Less expression of SOD, CAT, and APX enzymes in Nimrouz and Zarjow cultivars possibly have occurred due to their moderate resistance to *M. incognita* invasion.

Keywords: Antioxidant enzymes, Barley, Gall, Nematode, Resistance

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران
https://jpp.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۱، ص. ۴۱۱-۳۹۹

ارزیابی مقاومت و پاسخ بیوشیمیایی ارقام مختلف جو در برهمکنش با نماتد ریشه‌گرهی (*Meloidogyne incognita*)

میدیا احمدی[۱]- عصمت مهدیخانی مقدم[۲*]- حمید روحانی[۳]- محسن مهرور[۴]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۷
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۰۹

چکیده

Meloidogyne incognita شناخته شده‌ترین نماتد ریشه گرهی است که بیش از ۲۰۰۰ گونه‌ی میزبانی دارد. در مدیریت نماتدها، استفاده از ارقام مقاوم به دلیل سازگاری با محیط زیست، صرفه‌ی اقتصادی و گاهاً عدم امکان پیاده سازی سایر روش‌ها در کشورهای در حال توسعه، از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است. از این رو، ارزیابی مقاومت گیاهان مهم اقتصادی از جمله جو (*Hordeum vulgare*) جهت جلوگیری از ایجاد خسارت و بررسی برخی تعاملات نماتد با این گیاه ضروری می‌نماید. طی این پژوهش، به ارزیابی مقاومت ارقام مختلف جو شامل نیک، نیمروز و زرجو بر پایه‌ی فاکتورهای رشدی گیاه (طول، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه) و شاخص گال نماتد در ۶۰ روز پس از مایه‌زنی پرداخته شد. سپس طی آزمون بیوشیمیایی، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در روزهای صفر، یک، دو، سه و چهار روز پس از مایه زنی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که دو رقم نیمروز و زرجو با شاخص گال سه به عنوان نسبتاً مقاوم و رقم نیک با شاخص گال چهار به عنوان نسبتاً حساس تعیین شد. بر اساس فاکتورهای رشدی گیاه، نماتد تاثیر منفی بر طول و وزن اندام هوایی و طول ریشه و تاثیر مثبت بر وزن ریشه داشت. آنزیم SOD در ارقام نیک، نیمروز و زرجو به ترتیب در مقادیر ۲/۷۲، ۱/۹۱ و ۲/۱۵ واحد میلی‌گرم بر پروتئین در روزهای چهارم، چهارم و سوم پس از مایه زنی، فعالیت حداکثری نشان داد. فعالیت آنزیم فوق، در رقم نیک ۱/۴۲ و ۱/۲۵ برابر فعالیت بیشینه نیمروز و زرجو تعیین گردید. بین نقاط زمانی صفر، یک و دو با روزهای سوم و چهارم نمونه آلوده در رقم نیک، اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. در دو رقم دیگر، فعالیت آنزیم با شیبی ملایم افزایش یافت. آنزیم CAT در ارقام نیک، نیمروز و زرجو در مقادیر ۰/۲۰۴، ۰/۰۹ و ۰/۱۱ میکرومول بر دقیقه میلی‌گرم پروتئین در روز چهارم پس از مایه‌زنی به پیک رسید. در رقم نیک، برخلاف دو رقم دیگر آنزیم به میزان بیش‌تری افزایش یافته و از روز دو تا چهارم شیب تندی داشت. در گیاهان آلوده‌ی نیمروز، علیرغم افزایش تدریجی آنزیم، اختلاف معنی داری بین هیچ یک از روزها یافت نشد. آنزیم APX در مقادیر ۰/۲۶، ۰/۲۷ و ۰/۲۴ میکرومول بر دقیقه میلی‌گرم پروتئین به ترتیب در ارقام نیک، نیمروز و زرجو در روز چهارم به اوج رسید. فعالیت آنزیم نامبرده در سه رقم روند افزایشی داشت. حداکثر فعالیت این آنزیم در نیمروز بوده که به ترتیب ۱/۰۳ و ۱/۱ برابر نیک و زرجو تعیین گردید. در این رقم، روند افزایشی سریع بوده و بین همه نقاط زمانی اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ وجود داشت. احتمالاً نماتد جهت تشکیل سلول غول‌آسا مانع از انتقال بهینه آب و مواد غذایی به اندام هوایی و در نتیجه کاهش رشد آن شده و به دلیل ایجاد گره، موجب افزایش وزن ریشه شده است. فعالیت بیش‌تر آنزیم‌های فوق در رقم نیک احتمالاً به دلیل برهمکنش سازگاری و ناتوانی گیاه در القای پاسخ فوق حساسیت علیه نماتد صورت گرفته است. بیان کم‌تر آنزیم‌ها در ارقام نیمروز و زرجو نیز احتمالاًبه دلیل مقاومت نسبی به نماتد می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، فاکتور تولید مثلی نماتد، کاتالاز، گال

۱، ۲، ۳ و ۴- به‌ترتیب دانشجوی دکتری، استادان و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: mahdikhani-e@um.ac.ir)

DOI: 10.22067/jpp.2022.76935.1097

مقدمه

نماتدهای انگل گیاهی بسیار متنوع بوده و با آلوده کردن تقریباً تمامی گیاهان کشت شده موجب ایجاد خسارت ۱۷۳ میلیارد دلاری در سال می‌شوند. در میان طیف وسیع این موجودات، نماتدهای ریشه گرهی (*Meloidogyne* spp.) کاملاً تکامل یافته بوده و با استقرار سلول‌های غذایی ویژه در ریشه‌ی گیاهان به نام سلول‌های غول آسا، در مقایسه با سایر نماتدها خسارت بیش‌تری به گیاهان وارد می‌کنند (Elling, 2013). این نماتدها با هدف قرار دادن ریشه، مانع از انتقال بهینه‌ی آب و مواد غذایی به سمت شاخ و برگ گیاهان می‌شوند (Roland and Maurice, 2015). در میان گونه‌های مختلف این جنس، نماتد *M. incognita* شناخته شده‌ترین گونه می‌باشد که علیرغم تولید مثل از نوع بکرزایی اجباری، بیش از ۲۰۰۰ گونه‌ی میزبانی دارد و بسیار مورد توجه محققین می‌باشد (Elling, 2013). به دلیل مشکلات فوق و خسارت بالای اقتصادی، مدیریت نماتدهای انگل گیاهی به ویژه نماتدهای ریشه گرهی ضروری است. تا پیش از سال ۱۹۸۷، موثرین حربه علیه نماتدهای انگل گیاهی سموم تدخینی به ویژه متیل بروماید محسوب می‌شد که از آن پس طی پروتکل مونترال، به جهت تخریب لایه‌ی اوزون منع گردید (Patric *et al*., 2013). این مهم تلنگر بزرگی به محققین وارد کرده و آن‌ها را به تجدید نظر و تمرکز ویژه بر هرکدام از روش‌های مدیریتی به منظور رفع نقایص و ارتقاء تمام گزینه‌های روی میز واداشت که در نهایت به بکارگیری چندین روش در قالب مدیریت تلفیقی نماتدها[1] (INM) انجامید. مدیریت تلفیقی عموماً با به کارگیری حداکثری روش‌های مدیریتی در دسترس (حداقل دو روش) و حداقل استفاده از سموم شیمیایی به اجرا در می‌آید تا جمعیت بیمارگر به زیر آستانه‌ی اقتصادی برسد (Stenberg, 2017). در میان تمامی روش‌های موجود برای مدیریت نماتدها از جمله نماتدهای ریشه گرهی، مقاومت گیاهان یک روش مدیریتی بسیار حائز اهمیت است، بدون آن که اثر مخربی بر محیط زیست برجای بگذارد، از لحاظ اقتصادی به صرفه بوده و با سایر روش‌های مدیریتی نیز سازگاری دارد (Dong *et al*., 2007). استفاده از این نوع گیاهان، سازگار با محیط زیست بوده و از لحاظ اقتصادی به ویژه در کشورهای در حال توسعه به صرفه است. عموماً گیاهانی به عنوان مقاوم شناخته می‌شوند که نرخ تولید مثل نماتد در آن‌ها کم‌تر است (Molinari, 2011). لازم به ذکر است مقاومت به نماتدها عمدتاً بر پایه‌ی ژن مقاومت[2] (R) است که این ژن‌ها معمولاً دارای موتیف مکان اتصال به نوکلئوتید/تکرارهای غنی از لوسین (NBS-LRR)[3] در انتهای کربوکسی هستند و اغلب در نواحی خاصی از کروموزوم قرار گرفته‌اند (Barbary *et al*., 2015). با شناسایی میزان مقاومت محصولات کلیدی از جمله جو (*Hordeum vulgare*) به عنوان چهارمین محصول غله‌ی مهم جهان پس از ذرت، برنج و گندم (Langridge, 2017)، می‌توان علاوه بر پیشگیری از خسارت اقتصادی، به بررسی تعاملات نماتد با این گیاه تک لپه‌ای پرداخت.

برخی ارقام گیاهان به صورت طبیعی دارای مقاومت به نماتدهای انگل گیاهی هستند و شناسایی این ارقام و درک مکانیسم‌های دخیل، جالب توجه می‌باشد. به دلیل ضرورت شناسایی مقاومت محصولات مختلف نسبت به نماتدها، تاکنون پژوهش‌های فراوانی در این زمینه انجام شده است. کویسنبری و همکاران (۱۹۸۹) مقاومت شبدر قرمز نسبت به سه گونه‌ی نماتد ریشه گرهی *M. arenaria*، *M. incognita* و *M. javanica* بر اساس شاخص گال یا توده‌ی تخم را بررسی کرده و با گزینش متحمل‌ترین ارقام طی چند نسل مشخص شد، هنگام آلودگی گیاهان متحمل از تعداد گال و توده‌ی تخم نماتد کاسته می‌شود. بنا بر گزارش فسک و استار (۲۰۰۹)، در پنبه مقاومت علیه نماتد *M. incognita* بر پایه‌ی فاکتورهای پس از نفوذ نماتد بوده و موجب بلوغ دیر هنگام نماتدها وکاهش تخم/توده‌ی تخم و جمعیت نهایی نماتد گردید. در پژوهشی دیگر، بر پایه‌ی فاکتور تولید مثل نماتد و شاخص گال، مقاومت ارقام مختلف لوبیا چشم بلبلی نسبت به نماتد *M. incognita* به چهار دسته‌ی بسیار مقاوم، مقاومت، نسبتاً مقاوم و کمی مقاوم طبقه بندی شدند (Oliveira *et al*., 2012). مقایسه‌ی مقاومت ارقام مختلف بامیه بسیار حساس، حساس، نسبتاً حساس و نسبتاً مقاوم به نماتد *M. incognita* مشخص کرد که در رقم نسبتاً مقاوم از نرخ تولید مثل نماتد کاسته می‌شود (Hussain *et al*. 2014). دونگ و همکاران (Dong *et al*., 2007) جهت بهینه‌سازی پروتکل غربالگری مقاومت گیاهان بادام زمینی علیه نماتد ریشه گرهی *M. arenaria*، فاکتورهای مختلفی از جمله نوع مایه‌ی تلقیح (تخم/لارو مهاجم)، میزان آن‌ها و تاریخ مایه زنی را بررسی کردند. با افزایش مایه‌ی تلقیح، مقاومت ارقام زودتر مشخص شده، با این حال استفاده از تخم یا لارو مهاجم جهت مایه زنی نتایج مشابه نشان داد. چنان چه مایه‌زنی ۲۰-۱۰ روز پس از کشت صورت بگیرد، شناسایی مقاومت ارقام به درستی صورت می گیرد اما افزایش این زمان به ۴۰ روز موجب بروز اشتباه شد. در بررسی مقاومت محصولات گرامینه شامل ۱۴ رقم گیاه جو، هفت رقم گندم و چهار رقم یولاف نسبت به نماتد ریشه گرهی، مشخص شد که دو رقم جو و به ترتیب یک و سه رقم از گیاهان گندم و یولاف

1- Integrated Nematode Management
2- Resistance Gene
3- Nucleotide Binding Site-Leucine Rich Repeat Region

نسبت به نماتد ایمن هستند. بقیه‌ی ارقام به جز دو رقم جو حساس و یک رقم متحمل گندم، مقاوم گزارش شدند (Karajeh, 2011). لینسل و همکاران (۲۰۱۳) جهت مطالعه‌ی مقاومت گیاهان گندم به نماتد مولد زخم ریشه (*Pratylenchus thornei*) گزارش دادند ارقام مقاوم با تولید ترکیبات بازدارنده موجب جلوگیری از مهاجرت، تخم گذاری، تفریخ، بلوغ لاروها و تولید مثل نماتد شدند. در پژوهشی دیگر، مقاومت ۲۲ رقم مختلف یولاف، گندم و سورگوم نسبت به دو گونه نماتد ریشه گرهی شامل *M. incognita* و *M. javanica* بر اساس شاخص‌های گال و توده‌ی تخم و نیز فاکتور تولید مثلی نماتد در گیاهان آلوده ارزیابی شد. گیاهان یولاف و گندم مقاومت بیش‌تری نسبت به نماتد بروز داده، در حالی که ارقام مختلف سورگوم واکنش های متفاوتی نشان داده و از ده رقم مورد مطالعه سورگوم، تنها سه رقم این گیاه مقاوم معرفی شدند (De Brida *et al*., 2017).

از سوی دیگر، گیاهان در مواجهه با نماتدهای انگل گیاهی، گونه‌های فعال اکسیژن[1] (ROS) تولید می‌کنند (Torres *et al*., 2006).گونه‌های فعال اکسیژن گروهی از رادیکال‌های آزاد، ملکول های واکنش‌پذیر و یون‌ها هستند که عمدتاً از اکسیژن مولکولی (O_2) مشتق شده‌اند. این گونه‌ها شامل رادیکال‌های آزاد مانند آنیون سوپراکسید (O_2^-) و رادیکال هیدروکسیل (OH) و از طرف دیگر شامل ملکول‌های غیر رادیکال از جمله پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، اکسیژن (O_2) و غیره می‌باشد. با این حال، طی تهاجم بیمارگر ممکن است تعادل بین تولید و مهار گونه‌های فعال اکسیژن مختل شود که موجب افزایش سریع سطح گونه‌های فعال اکسیژن درونی می‌شود و با اکسیده شدن لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، آسیب‌های جبران‌ناپذیری وارد می‌شود (Sharma *et al*., 2012). بنابراین گیاهان دارای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی هستند تا غلظت گونه‌های فعال اکسیژن را تنظیم کنند (Sharma *et al*., 2012; Torres *et al*., 2006). آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) از جمله مهم‌ترین اجزای آنزیمی سیستم تجزیه کننده‌ی گونه‌های فعال اکسیژن هستند که در هنگام مواجهه با تنش اکسیداتیو، به صورت هماهنگ پاسخ می‌دهند (Torres *et al*., 2006).

در این پژوهش، نخست مقاومت سه رقم نیک، نیمروز و زرجو از گیاه جو در حضور نژاد ۲ نماتد *M. incognita* بررسی شد. در این راستا، فاکتورهای رشدی گیاه جو (شامل طول، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه گیاه) و شاخص گال مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله بعد به منظور بررسی نقش احتمالی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بروز مقاومت، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز طی روزهای صفر، یک، دو، سه و چهار روز پس از مایه زنی ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه جمعیت خالص نماتد (*M. incognita*) و بذر ارقام مختلف جو

به منظور بررسی مقاومت جو نسبت به نژاد ۲ نماتد *M. incognita*، بذور ارقام محلی جو شامل نیک، نیمروز و زرجو از ایستگاه تحقیقاتی نهال و بذر کرج تهیه گردید. جمعیت خالص نماتد نیز که از تکثیر متوالی و کشت خالص تک کیسه‌ی تخم این گونه، شناسایی ریخت‌شناسی و تایید ملکولی آن به دست می‌آید، از آزمایشگاه نماتدشناسی دانشگاه فردوسی مشهد دریافت گردید. به منظور حفظ و ازدیاد جمعیت نماتد، مقداری از آن به نشاهای چهار برگی حقیقی گوجه‌فرنگی، در شرایط گلخانه مایه زنی شد. برای تفریخ لاروهای سن دو (مهاجم) مورد نیاز برای آزمون‌ها، از روش هوسی و بارکر (۱۹۷۳) استفاده گردید. لاروها با استفاده از تشتک پتری مدرج شمارش و تعداد لاروها به ازای هر سی‌سی آب محاسبه گردید.

کاشت بذور ارقام مختلف جو و مایه‌زنی آن‌ها

بذور ارقام مختلف نیک، نیمروز و زرجو در گلدان‌های حاوی یک کیلوگرم خاک استریل (با نسبت مساوی خاک، ماسه و خاک برگ) کشت گردید. گیاهان بر اساس مرحله‌ی رشدی ۱۲ زادوک (Zadoks, 1999)، ۱۲ روز پس از کشت با ۲۰۰۰ لارو سن دو نماتد برای یک کیلوگرم خاک گلدان مایه‌زنی شدند. گلدان‌های مربوطه در دمای ۳۳-۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت پنجاه درصد در گلخانه‌ی گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد نگهداری شدند. نمونه‌های تیمار شده با آب و نماتد به عنوان گیاهان آلوده به نماتد و نمونه‌های تیمار شده با آب نیز به عنوان گیاهان سالم در نظر گرفته شدند. به مدت ۶۰ روز، هر روز گیاهان از نظر شرایط مطلوب رشدی و کنترل آفات و بیماری بررسی می‌شدند. پس از گذشت زمان مذکور و تشکیل گال‌ها، گیاهان جو را با دقت از خاک بیرون آورده و ریشه‌ها به خوبی شست و شو داده شدند.

بررسی فاکتورهای رشدی جو و شاخص گال نماتد (*M. incognita*)

پس از گذشت ۶۰ روز، گیاهان جو از لحاظ فاکتورهای رشدی گیاه میزبان شامل طول و وزن (تر و خشک) در اندام هوایی و طول و وزن تر ریشه مورد ارزیابی قرار گرفتند (Wikes and Kirkpatrick,

1- Reactive Oxygen Species

2020 ;Rao *et al*., 2002). برای تعیین مقاومت گیاهان مختلف نسبت به نماتد ریشه گرهی از روش شاخص گال (GI) مختار و همکاران (۲۰۱۳) استفاده گردید. در این روش شاخص گال صفر: بدون گال (ایمن)، ۱: ۲-۱ گال (بسیار مقاوم)، ۲: ۳-۱۰ گال (مقاوم)، ۳: ۳۰-۱۱ گال (نسبتاً مقاوم)، ۴: ۷۰-۳۱ گال (نسبتاً حساس)، ۵: ۱۰۰-۷۱ گال (حساس) و ۶: بیش از ۱۰۰ گال را به عنوان بسیار حساس تعیین می‌کند.

بررسی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان سالم و آلوده ارقام مختلف

پس از گذشت ۱۲روز از کشت جو، میزان ۲۰۰۰ لارو سن دو به ازای هر کیلوگرم خاک، به گیاهان مایه‌زنی شده و نمونه‌برداری در پنج زمان مختلف (صفر، یک، دو، سه و چهار روز پس از مایه‌زنی) از نمونه‌های سالم (تیمار شده با آب) و آلوده (تیمار شده با آب و نماتد) انجام گرفت. آزمون در قالب طرح کاملاً تصادفی دو بار تکرار شده و در هر تکرار برای هر تیمار حداقل سه تکرار در نظر گرفته شد.

استخراج عصاره آنزیمی: میزان ۲۰۰ میلی‌گرم از نمونه‌های ریشه را به کمک ازت مایع پودر کرده، سپس سه میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته ۶/۸) به آن اضافه و مخلوط گردید. نمونه‌ها را به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ یخچال‌دار (۱۵۰۰۰ دور در دقیقه) قرار داده و با گذشت زمان مربوطه، مایع رویی (عصاره آنزیمی) به میکروتیوب دیگری انتقال داده شده و تا زمان شروع آزمایش در دمای ۲۰- نگه‌داری شدند (Kar and Mishra, 1976).

استخراج پروتئین کل به روش برادفورد (۱۹۷۶) انجام شد که طی آن غلظت پروتئین محلول با استفاده از آلبومین سرم گاوی[1] (BSA) به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شده و جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری (Biowave II, vrw company, USA) ثبت شد.

بررسی فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD): مخلوط واکنش شامل متیونین ۰/۰۱۳ مولار، NBT[2] (نیتروبلو تترازولیوم) ۶/۳ میکرومولار، ریبوفلاوین ۶/۵ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۵ مولار بوده که در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Wang *et al*., 2010).

بررسی فعالیت کاتالاز (CAT): برای این منظور، بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن ۷۰ میلی‌مولار را در آب مقطر استریل ترکیب نموده و پس از افزودن عصاره‌ی پروتئینی، پس از یک دقیقه میزان جذب در فواصل زمانی ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر ثبت گردید (Beers and Sizer, 1952).

بررسی فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX): از ترکیب ۸۵۰ میکرولیتر آسکوربیک اسید ۰/۵ میلی‌مولار با فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن ۲ میلی‌مولار در آب مقطر، بافر مربوطه را ساخته، سپس با افزودن عصاره‌ی پروتئینی و گذشت یک دقیقه، میزان جذب به مدت ۱۸۰ ثانیه و به فواصل زمانی ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۹۰ نانومتر سنجش و ثبت شد (Nakano and Asada, 1981).

آنالیز آماری

آزمون به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با حداقل سه تکرار (پنج تکرار برای آزمون مقاومت و سه تکرار برای آزمون بیوشیمیایی) از هریک از نمونه‌های سالم و آلوده‌ی ارقام نیک، نیمروز و زرجو انجام گرفت. آزمون دو بار تکرار شده و آزمون تجزیه واریانس (آنوا) داده‌های حاصله به وسیله‌ی آزمون توکی ($P \leq$ ۰/۰۵) مقایسه شد. داده‌ها به صورت میانگین دو آزمون ارائه شدند. به منظور انجام آنالیزها، نرم افزار IBM SPSS Statistics 26 مورد استفاده قرار گرفت. تمامی نمودارها با استفاده از Excel 2016 رسم شدند.

نتایج و بحث

نتایج فاکتورهای رشدی گیاه

نتایج تغییرات فاکتورهای رشدی اندام هوایی در حضور نماتد *M. incognita*

از لحاظ میانگین طول اندام هوایی، به ترتیب نمونه‌های آلوده‌ی نیک، نیمروز و زرجو نسبت به نمونه‌های سالم متناظر به میزان ۱/۲-، ۱/۸- و ۱۲- سانتی‌متر کاهش پیدا کردند. از نظر میانگین طول اندام هوایی گیاهان آلوده زرجو با نیک در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار نشان داده‌اند. در بین ارقام نیک، نیمروز و زرجو، تنها گیاهان آلوده زرجو نسبت به گیاهان سالم همان رقم اختلاف معنی‌داری داشتند. از نظر میانگین وزن تر، گیاهان آلوده ارقام نیک، از نظر میانگین وزن تر اندام هوایی گیاهان سالم ارقام نیک، نیمروز و تیمار به ترتیب نسبت به نمونه‌های آلوده به نماتد به میزان ۰/۱۵، ۰/۱۴ و ۰/۵۷ گرم کاهش پیدا کردند. به عبارت دیگر، نمونه‌های سالم ارقام نیک، نیمروز و زرجو به ترتیب ۱/۹۳، ۱/۸۲ و ۵/۷۵ برابر نمونه‌های آلوده متناظر تعیین شدند. در این مورد به غیر از وجود اختلاف معنی‌داری (در سطح ۰/۰۱) بین نمونه‌های سالم و آلوده‌ی هر رقم، بین نمونه‌های آلوده‌ی ارقام با یکدیگر اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید. از نظر میانگین وزن خشک اندام هوایی، گیاهان سالم ارقام نیک، نیمروز و زرجو نسبت به

1- Bovine Serum Albomin
2- Nitro Blue Tetrazolium

نمونه‌های سالم متناظر به ترتیب ۰/۰۳۸، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۵ گرم کاهش نشان دادند. گیاهان آلوده رقم نیک با نیمروز و زرجو در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار داشته اما بین گیاهان آلوده دو رقم نیمروز و زرجو هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در این میان، بین نمونه‌های سالم و آلوده هر سه رقم در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار وجود داشت.

نتایج تغییرات فاکتورهای رشدی ریشه در حضور نماتد *M. incognita*

میانگین طول ریشه ارقام سالم نیک، نیمروز و زرجو نسبت به نمونه‌های آلوده کاهش ۸/۴، ۷/۶ و ۰/۴ سانتی‌متری نشان داد. گیاهان آلوده نیک و زرجو در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار نشان دادند. گیاهان آلوده‌ی نیمروز و زرجو نیز در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی دار نشان دادند. گیاهان آلوده نیک و زرجو در سطح ۰/۰۱ اختلاف معنی‌دار نشان دادند. از نظر طول ریشه بین نمونه‌های سالم و آلوده هر سه رقم در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. از نظر میانگین وزن تر ریشه، نمونه‌های آلوده افزایش وزن نشان داده و نمونه‌ها ی ارقام نیک، نیمروز و زرجو در حضور نماتد به ترتیب ۰/۰۱۱، ۰/۰۲۱ و ۰/۰۳۹ سانتی‌متر افزایش طول نشان دادند. گیاهان آلوده نیک با گیاهان آلوده نیمروز و زرجو اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ نشان داد. از این نظر اختلاف معنی‌داری در سطح۰/۰۱ بین نمونه‌های سالم و آلوده نیک وجود نداشت اما بین نمونه‌های سالم و آلوده نیمروز و زرجو در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید. لازم به ذکر است ریشه این ارقام بسیار ظریف و کم وزن تر از ۰/۰۰۱ گرم بوده و جهت جلوگیری از بروز خطا حذف گردید.

نتایج فاکتورهای تولید مثلی نماتد

از نظر میانگین تعداد گال، رقم نیک اختلاف معنی‌دار نسبت به دو رقم نیمروز و زرجو نشان داد ($P \leq 0.05$). این در حالی است بین دو رقم نیمروز و زرجو اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. بررسی شاخص گال مشخص نمود که دو رقم نسبتاً مقاوم و یک رقم نسبتاً حساس است.

نتایج بررسی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ارقام نیک، نیمروز و زرجو

در نمونه‌های آلوده رقم نیک، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز طی روزهای اول و دوم تقریباً روند ثابتی در پیش گرفته، از روز سوم به بعد رو به افزایش گذاشته و در روز چهارم با مقدار ۲/۷۲ واحد میلی‌گرم بر پروتئین به پیک رسید. بین نقاط زمانی صفر، یک و دو با روزهای سوم تا چهارم پس از مایه‌زنی در این رقم آلوده، اختلاف معنی‌داری (در سطح ۰/۰۵) مشاهده گردید. در نمونه‌های آلوده رقم نیمروز، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز با شیبی ملایم افزایش پیدا کرده و با مقدار ۱/۹۱ واحد میلی‌گرم بر پروتئین به پیک رسید. در این رقم، روز چهارم پس از مایه‌زنی از نظر فعالیت سوپراکسید دیسموتاز اختلاف معنی‌داری با سایر نقاط زمانی داشت.

جدول ۱- میانگین طول، وزن تر و خشک اندام هوایی و طول و وزن تر ریشه در گیاهان جو سالم نسبت به گیاهان آلوده به نماتد *M. incognita* در ارقام نیک، نیمروز و زرجو

Table 1- Mean in aerial part length, fresh and dry weight and root length and fresh weight in non-infected plants to *M. incognita* infected plants in Nik, Nimroz and Zarjow barley cultivars

نمونه Sample	طول اندام هوایی Aerial part length (cm)	وزن تر اندام هوایی Aerial part fresh weight (g)	وزن خشک اندام هوایی Aerial part dry weight (g)	طول ریشه Root length (cm)	وزن تر ریشه Root fresh weight (g)
نیک شاهد (Nik-control)	27.2 ± 0.86	0.31 ± 0.01	0.054 ± 0.002	18 ± 0.83	0.016 ± 0.0007
نیک آلوده (Nik-inoculated)	26 ± 0.07	0.16 ± 0.02	0.016 ± 0.007	9.6 ± 0.87	0.027 ± 0.0007
نیمروز شاهد (Nomrouz-control)	29 ± 1.3	0.31 ± 0.1	0.057 ± 0.002	17.4 ± 0.92	0.014 ± 0.8
نیمروز آلوده (Nimrouz-inoculated)	27.2 ± 1.01	0.17 ± 0.004	0.042 ± 0.003	9.8 ± 0.58	0.035 ± 0.002
زرجو شاهد (Zarjow-control)	42.4 ± 0.92	0.69 ± 0.2	0.097 ± 0.004	14.2 ± 0.58	0.023 ± 0.6
زرجو آلوده (Zarjow-inoculated)	30.4 ± 0.92	0.12 ± 0.002	0.047 ± 0.001	13.8 ± 0.66	0.062 ± 0.009

نتایج به صورت میانگین و با آزمون توکی با خطای ۰/۰۵ بیان شده‌اند.

The results are expressed as mean and compared byTukey's test at significant difference at 0.05

جدول ۲- میانگین تعداد گال‌های نماتد *M. incognita* در ریشه‌ی ارقام مختلف جو

(نتایج به صورت میانگین و با آزمون توکی با خطای ۰/۰۵ بیان شده‌اند.)

Table 2- The average number of galls of *M. incognita* in the root system of different cultivars

(The results are expressed as mean. Significant at the 0.05 level.)

رقم Cultivar	میانگین تعداد گال[1] Gall mean	شاخص گال GI	رتبه‌بندی مقاومت Resistance rating
نیک Nik	*38.4 ± 1.36	4	نسبتاً حساس (moderately susceptible)
نیمروز Nimrouz	12.8 ± 0.96	3	نسبتاً مقاوم (moderately resistant)
زرجو Zarjow	14 ± 1.14	3	نسبتاً مقاوم (moderately resistant)

۱: تعداد گال‌ها در گیاه، شاخص گال (GI) ارقام مختلف جو در برابر تهاجم نماتد *M. incognita*

1: number of galls, gall index (GI) in *M. incognita* inoculated genotypes

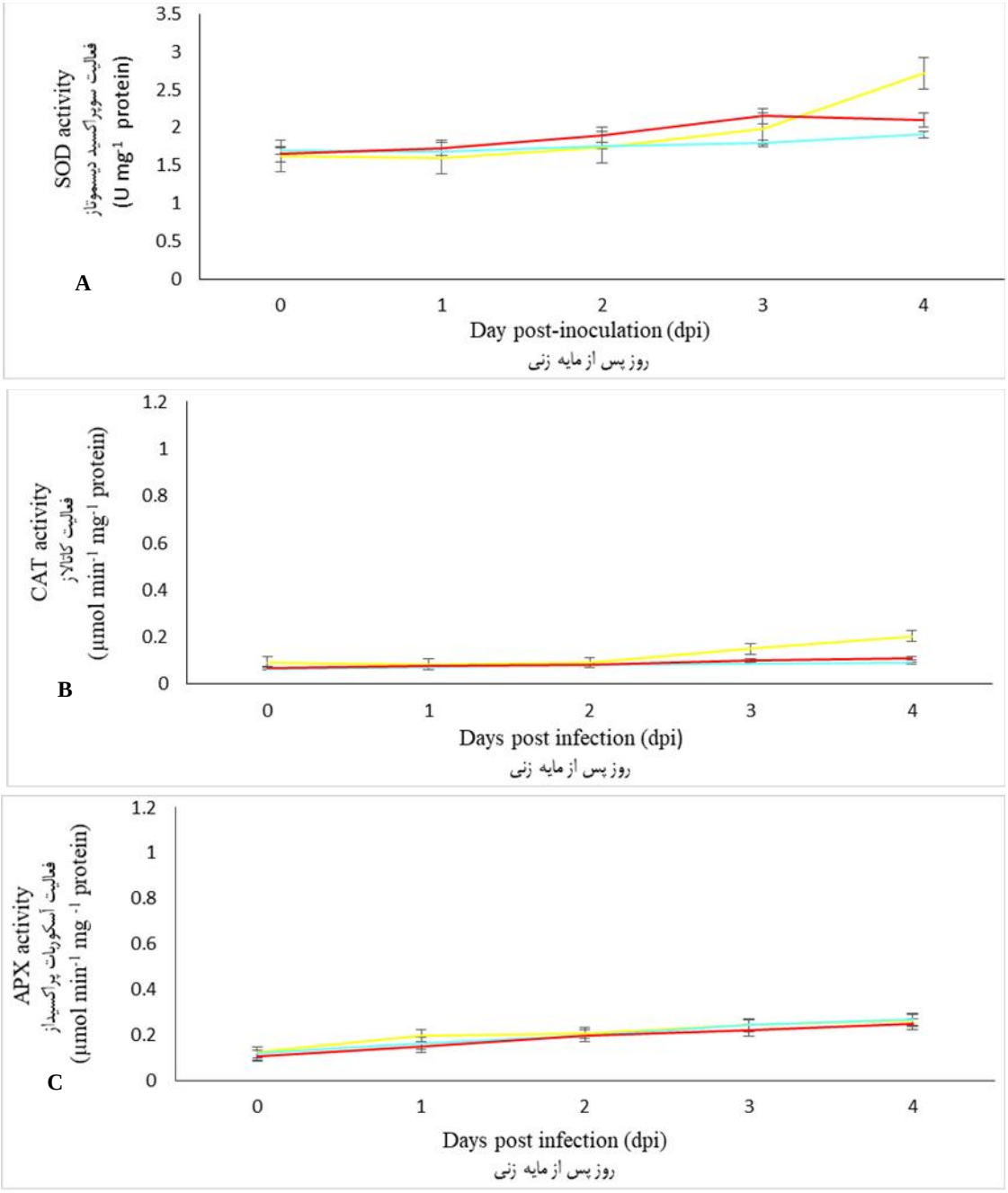
در رقم زرجو برخلاف رقم نیک و نیمروز، فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در روز سوم با مقدار ۲/۱۵ واحد میلی‌گرم بر پروتئین به اوج رسید و به دنبال آن در روز چهارم پس از مایه‌زنی کاهش نشان داده اما کماکان در سطح بالا قرار داشت. به غیر از نقاط زمانی صفر و یک، در سایر موارد اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید. نتایج فوق نشان می‌دهد، به دنبال تهاجم نماتد میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ارقام نیک، نیمروز و زرجو افزایش نشان داده، هر چند در مورد رقم زرجو در روز سوم و در مورد دو رقم دیگر پیک فعالیت آنزیم اندکی متفاوت بود. حداکثر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در رقم نیک ۱/۴۲ برابر فعالیت بیشینه در رقم نیمروز و ۱/۲۵ برابر در رقم زرجو تعیین گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام نیک، نیمروز و زرجو

در گیاهان آلوده‌ی نیک، فعالیت آنزیم کاتالاز در ابتدا تقریباً یکنواخت بوده اما طی شیبی تند از روز دوم افزایش یافته و در روز چهارم با مقدار ۰/۲۰۴ میکرومول بر دقیقه میلی‌گرم پروتئین به پیک رسید. بیش‌ترین اختلاف معنی‌داری بین روز چهارم با روزهای صفر، یک و دو در سطح ۰/۰۱ و روز چهارم با روز سوم در سطح ۰/۰۵ تعیین گردید. فعالیت کاتالاز در رقم آلوده نیمروز با شیبی ملایم زیاد شده و در روز چهارم با مقدار ۰/۰۹ میکرومول بر دقیقه میلی‌گرم پروتئین به نقطه پیک رسید. با این حال در گیاهان آلوده‌ی این رقم، اختلاف معنی داری بین هیچ یک از روزها یافت نشد. در گیاهان آلوده‌ی زرجو نیز هر چند طی روزهای صفر، یک و دو، نوساناتی وجود داشت اما در دو روز آخر (روزهای سوم و چهارم) بر میزان فعالیت آنزیم افزوده و در روز چهارم با مقدار ۰/۱۱ میکرومول بر دقیقه میلی گرم پروتئین، به بیش‌ترین میزان رسید. طی روند افزایشی کاتالاز در رقم نامبرده، به جز در نقاط زمانی یک و دو، در سایر موارد با اختلاف معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم افزوده شد. به طور کلی، به مرور زمان بر فعالیت آنزیم در سه رقم افزوده شد. هر چند که این تغییرات در رقم نیک با شدت بیش‌تر و ناگهانی صورت گرفت. فعالیت حداکثری آنزیم کاتالاز در نیک ۲/۲ و ۱/۸ برابر ارقام متناظر نیمروز و زرجو ثبت گردید.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ارقام نیک، نیمروز و زرجو

در رقم نیک، فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز طی روزهای صفر تا دو نوساناتی داشته، به دنبال آن روند صعودی در پیش گرفته و با مقدار ۰/۲۶ میکرومول بر دقیقه میلی‌گرم پروتئین در روز چهارم حداکثر فعالیت آن به ثبت رسید. به جهت افزایش ناگهانی فعالیت آنزیم پس از روز صفر، اختلاف معنی‌داری بین نقطه صفر با سایر نقاط زمانی یافت شد. به دنبال آن آنزیم علی‌رغم نوساناتی در روز دوم، روند صعودی داشت. به دلیل شیب بسیار تند و صعودی آنزیم بین تمام نقاط زمانی اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ مشاهده گردید. در گیاهان آلوده نیمروز، آنزیم آسکوربات پراکسیداز با شیبی تند روند صعودی داشته و با مقدار ۰/۲۷ میکرومول بر دقیقه میلی‌گرم پروتئین بیش‌ترین فعالیت آنزیم مربوطه در این رقم تعیین گردید. در این مورد نیز هر چند شیب آسکوربات پراکسیداز اندکی ملایم‌تر از نمونه‌های نیک بود، اما بین تمام نقاط زمانی اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در نمونه‌های آلوده‌ی رقم زرجو نیز، روند فعالیت آنزیم افزایشی بوده و در مقدار ۰/۲۴ میکرومول بر دقیقه میلی‌گرم پروتئین به پیک رسید. فعالیت آنزیم فوق در سه رقم نیک، نیمروز و زرجو روند افزایشی داشت. حداکثر فعالیت این آنزیم در رقم نیمروز ثبت گردید که به ترتیب ۱/۰۳ و ۱/۱ برابر ارقام نیک و زرجو تعیین گردید.



شکل ۱- میزان تغییرات آنزیم‌های A. سوپراکسید دیسموتاز، B. کاتالاز و C. آسکوربات پراکسیداز در روزهای صفر، یک، دو، سه و چهار روز نمونه‌های سالم و آلوده ارقام مختلف نیک (رنگ زرد)، نیمروز (آبی) و زرجو (قرمز) در حضور نماتد ریشه گرهی نژاد ۲ *Meloidogyne incognita*

Figure 1- A. superoxide dismutase (SOD), B. catalase (CAT), and C. ascorbate peroxidase activity in 0, 1, 2, 3, and 4 days post inoculation with root-knot nematode *Meloidogyne incognita* race 2 in Nik (yellow), Nimrouz (blue), and Zarjow (red)

طی این پژوهش مشخص گردید که حضور نماتد *M. incognita* موجب کاهش رشد طول، وزن تر و خشک اندام هوایی، کاهش طول ریشه اما افزایش وزن تر آن می‌گردد. مشخصه‌ی بارز القای بیماری زایی در نماتدهای ریشه گرهی تشکیل سلول‌های غذایی ویژه به نام

سلول‌های غول آسا می‌باشد که این مهم نیازمند به کنترل درآوردن بیان ژن‌های میزبان و دستکاری هورمون‌های گیاهی است. بدیهی است که هنگام تهاجم نماتد ریشه گرهی و تشکیل سلول غول آسا، به دلیل اختلال در انتقال آب و مواد غذایی گیاه تضعیف شده و فاکتورهای رشدی میزبان به ویژه در اندام هوایی کاهش پیدا می‌کنند. با این حال به دلیل اختلال هورمونی و ایجاد گره، وزن ریشه افزایش می‌یابد (Hussain *et al*., 2014). برخی از هورمون‌ها نظیر اکسین برای القا سلول غول آسا ضروری بوده و برخی دیگر مانند سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید با فعال کردن سیستم دفاعی گیاه، علیه نماتدهای مهاجم نقش دارند. نماتدها به کمک افکتورهایشان (پروتئین‌های بیماری‌زایی) هورمون رشدی اکسین را که در شاخ و برگ تولید می‌شود به طرف ریشه هدایت می‌کنند و با نگه داشتن آن، سلول غول آسا را تشکیل می‌دهند. سپس به کمک سیتوکنین گیاه، چرخه‌ی سلولی میزبان را به کنترل درآورده و حوضچه‌ی غذایی تشکیل می‌دهند. افزایش وزن ریشه را می‌توان به تجمع اکسین جهت تشکیل سلول غول آسا نسبت داد (Gheysen and Mitchum, 2019). تاکنون پژوهش‌های فراوانی در زمینه‌ی بررسی مقاومت گیاهان مختلف علیه نماتدهای انگل گیاهی و عمدتاً بر پایه‌ی خصوصیات نماتدها طراحی شده‌اند. طی بررسی‌های پیشین، محصولات مختلف گرامینه به عنوان حساس، نیمه حساس، متحمل، مقاوم و ایمن تعیین شده‌اند (De Brida *et al*.,; Yao *et al*., 2020 Karajeh, 2011; 2017). سه رقم نیک، نیمروز و زرجو طی بررسی بیوشیمیایی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز روند افزایشی با شیب زیاد یا کم نشان دادند. این سه آنزیم در هماهنگی با هم فعالیت کرده و با میزان کردن گونه‌های فعال اکسیژن، به تنش‌ها پاسخ مناسب می‌دهند. به این صورت که سوپراکسید دیسموتاز، آنیون سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تجزیه می‌کند که یکی از فرم‌های ابتدایی گونه‌های فعال اکسیژن است و سایر گونه‌های دیگر از آن مشتق می‌شوند (Shi *et al*., 2018). کاتالاز به دلیل قابلیت پخش شدن در غشا نقش مهمی در دفاع علیه بیمارگرها دارد (Bowler *et al*., 1992). این آنزیم می تواند با سرعت، اختصاصیت بالا و بدون مصرف انرژی سلولی پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن کاهش دهد (Schatzman and Scandalios, 2005; Culotta, 2018). از سوی دیگر، آسکوربات پراکسیداز نیز قابلیت تجزیه‌ی پراکسید هیدروژن را داشته و نسبت به کاتالاز تمایل بسیار بالاتری نسبت به پراکسید هیدروژن دارند (Sharma *et al*., 2012). میزان فعالیت هر یک از آنزیم‌ها با تاثیر بر غلظت گونه‌های فعال اکسیژن، نوع واکنش گیاه به بیمارگر را مشخص می‌کند. پژوهش‌های پیشین نشان می‌دهند که در ریشه‌ی گیاهان حساس به نماتد ریشه گرهی بر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز افزوده شده، در حالی که در گیاهان مقاوم بر غلظت سوپراکسید افزوده و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز کم‌تر شده است (Bowler *et al*., 1992; Du *et al*., 2021). به نظر می‌رسد فعالیت کم‌تر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به گونه‌های وابسته به اکسیژن اجازه می‌دهد تا سلول‌های گیاهی را از طریق فرایندهایی مانند پراکسیداسیون لیپید از بین برده و منجر به بروز واکنش فوق حساسیت شود (Bowler *et al*., 2005). در حالی که در گیاهان حساس فعالیت بالای سوپراکسید دیسموتاز در گیاه موجب تجزیه اکسی رادیکال‌ها می‌شود در نتیجه هیچ مرگ موضعی در سلول‌ها اتفاق نمی‌افتد (Bowler *et al*., 1992). احتمالاً در گیاه حساس به منظور سیگنال دهی جهت مقابله با تنش، میزان فعالیت این آنزیم بیش‌تر می‌شود (Bowler Zacheo and Bleve-Zacheo, 1988 ; Korayen *et al*., 2012; Oliveira *et al*., 2012*et al*., 2005 ;). به دنبال سوپراکسید دیسموتاز، آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز فعالیت خود را آغاز می‌کنند. گزارشات ضد و نقیضی در مورد نقش کاتالاز در واکنش سازگاری (بیماری) و ناسازگاری (مقاومت) وجود دارد. برخی پژوهشگران عنوان کرده‌اند که به دنبال تهاجم نماتد، فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه مقاوم رو به کاهش نهاده (Oliveira *et al*., 2012; Molinari *et* Mhamadi *et al*., 2010; *al*., 2014) و برخی دیگر نیز معتقدند رو به افزایش می‌گذارد (Korayem *et al*., 2014; Labudda *et al*., 2020). اولیویرا و همکاران (Oliveira *et al*., 2012) طی ارزیابی بیوشیمیایی دو رقم بسیار مقاوم و اندک مقاوم (مقاومت بر اساس توده‌ی تخم) گیاه لوبیا چشم بلبلی به نماتد ریشه گرهی *M. incognita*، افزایش سوپراکسید دیسموتاز و کاهش کاتالاز در رقم مقاوم را به دلیل تجمع پراکسید هیدروژن عنوان کردند . دو و همکاران نیز معتقدند پاسخ مقاومت موجب افزایش سوپراکسید دیسموتاز و مهار فعالیت کاتالاز می‌شود تا گونه‌های فعال اکسیژن توسعه پیدا کنند (Du *et al*., 2021). در مورد آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز مشخص شده میزان فعالیت آن در گیاهان مقاوم بیش‌تر از گیاهان حساس است (Simonetti *et al*., 2010) و در برخی موارد نیز گزارشاتی مبنی بر کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در نمونه‌های آلوده نسبت به نمونه‌های سالم وجود دارد. لابودا و همکاران (Labudda *et al*., 2020)، در بررسی واکنش بیوشیمیایی گیاه جو علیه نماتد *Heterodera filipjevi* گزارش کردند که آنیون سوپراکسید و آسکوربات پراکسیداز کاهش پیدا کرده اما پراکسید هیدروژن و کاتالاز افزایش یافتند. در این پژوهش همانند بررسی کورایم و همکاران (Korayem *et al*., 2012) افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز صورت گرفته که احتمالاً به دلیل برهمکنش حساسیت، در نتیجه عدم بروز نکروز و مرگ برنامه ریزی شده‌ی سلولی و جهت تحمل به تنش (تهاجم نماتد) صورت گرفته است. گیاه

بسیار هوشمند بوده، نوع بیمارگر (انگل اجباری یا نکروتروف) را تشخیص داده و علیه هر کدام مسیرها و هورمون‌های دفاعی خاصی را فعال می‌کند (Jones and Dangle, 2006). گیاهان واکنش‌های بیوشیمیایی متفاوتی را علیه بیمارگرهای انگل اجباری و نکروتروف القا می‌کنند. در صورتی که بیمارگر انگل اجباری (مانند نماتد ریشه گرهی) گیاه را آلوده کند، چنان چه نماتد ویرولانت (دارای قدرت بیمازی‌زایی بالا) نباشد، گیاه تنها لایه مقاومت پایه (یا دفاع مبتنی بر بیمارگر، PTI[1]) را فعال می‌کند که علیه تمام تنش‌های زیستی (نکروتروف یا انگل اجباری) و غیر زیستی به صورت یکسان عمل می‌کند. اگر گیاه دارای ژن مقاومت باشد و نماتد نیز ویرولانت باشد، میزبان افکتورهای بیمارگر را شناسایی کرد ه و نوعی لایه‌ی دفاعی اختصاصی به نام پاسخ دهی دفاعی به نام ایمنی مرتبط با افکتور (ETI[2]) را القا می کند. در هر دو لایه‌ی دفاعی، کلسیم خارج سلولی به سیتوپلاسم وارد شده که همین منجر به فعال شدن مسیرهای سیگنال دهی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، نیتریک اکسید (NO) و جریانات آبشاری پس از ترجمه‌ی MAPK [3]، برنامه ریزی مجدد رونویسی[4] و تولید ترکیبات ضد میکروبی می‌شود. چنان چه واکنش ناسازگاری[5] بین نماتد ویرولانت و گیاه مقاوم رخ دهد، کینازهای پروتئینی فعال شونده توسط میتوژن (MAPK)[6] و سالیسیلیک اسید بیش‌تری تولید می‌شود. غلظت ROS بالاتر رفته و با انفجار اکسیداتیو[7]، واکنش فوق حساسیت، مرگ برنامه ریزی شده‌ی سلولی همراه است. در مواردی نیز، مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR)[8] فعال می‌گردد. ETI تنها علیه بیمارگرهای بیوتروف (نه نکروتروف) که نیازمند سلول زنده‌ی میزبان هستند، موثر است (Jones and Dangle, 2006). در واکنش ناسازگاری بین نماتد ویرولانت و گیاه مقاوم، میزبان، گونه‌های فعال اکسیژن بیش‌تری تولید می‌کند تا با القای انفجارهای اکسیداتیو و مرگ سلول‌های اطراف بیمارگر مانع از رشد و پیشروی بیش‌تر نماتد شود. لازمه‌ی این امر تولید کم‌تر آنزیم-های آنتی اکسیدانی یا فعالیت کم‌تر آن‌هاست تا گونه‌های فعال اکسیژن افزایش یابند. اگر واکنش سازگاری بین نماتد و گیاه رخ دهد، گیاه از القای پاسخ بهینه ناتوان می‌ماند و تلاش می‌کند با افزایش نسبی آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، حضور بیمارگر را تحمل کند. این در حالی است که بیمارگرهای نکروتروف در بافت‌های آلوده گونه‌های فعال اکسیژن القا می‌کنند تا موجب مرگ سلولی بافت گیاهی شوند و راحت‌تر بتواند آلودگی ایجاد کند، از این رو اگر گیاه به بیمارگر نکروتروف مقاوم باشد از بروز مرگ سلولی جلوگیری می‌کند (Torres *et al*., 2006;Lightfoot *et al*., 2017).

نتیجه‌گیری

درک برهمکنش نماتد–گیاه از جمله اهداف کلیدی نماتد شناسی گیاهی است که تحقق این امر منجر به بهینه‌تر شدن مدیریت نماتدهای انگل گیاهی می شود. تنها در صورت روشن شدن مکانیسم بیماری‌زایی یا مقاومت در ارقام حساس یا مقاوم می‌توان به این مهم جامه‌ی عمل پوشاند. بدیهی است اولین گام در این راستا شناسایی ارقام مقاوم/حساس در گیاهان مهم اقتصادی می‌باشد. لذا طی این پژوهش به ارزیابی مقاومت ارقام مختلف گیاه اقتصادی جو طی برهمکنش به نژاد ۲ نماتد *M. incognita* پرداخته شد. مشخص گردید این نماتد توانایی ایجاد بیماری‌زایی در ارقام جو را داشته و بر بیش‌تر فاکتورهای رشدی گیاه به ویژه در اندام‌های هوایی مانند طول، وزن تر و خشک اندام هوایی تاثیر منفی گذاشته، با این حال احتمالاً به جهت تشکیل سلول‌های غول آسا موجب افزایش وزن ریشه‌ی گیاه میزبان گردید. نماتد در رقم نیک به خوبی گال‌های ریز را در سیستم ریشه تشکیل داد. از سوی دیگر، تهاجم نماتد موجب افزایش بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز گردید. بررسی بیماری‌زایی نماتد در جو نیازمند پژوهش‌های بیش‌تر به ویژه در زمینه‌ی ترانسکریپتوم و توالی‌یابی RNA نمونه‌های سالم و آلوده (ترجیحاً از گیاهان مقاوم و حساس سالم و آلوده) می‌باشد تا به خوبی روشن شود چه ژن‌هایی در مقاومت یا بیماری‌زایی نقش دارند و در مرحله بعد، به کمک مهندسی ژنتیک معکوس به ویژه خاموشی ژن (RNA interference) و ویرایش ژن (CRISPR/Cas9) عملکرد ژن‌ها در برهمکنش مشخص گردد.

1- Pathogen Triggered Immunity
2- Effector Triggered Immunity
3- Post-translational MAPK cascade
4- Transcriptional reprogramming
5- Incompatible interaction
6- Mitogen Associated Protein Kinase
7- Oxidative burst
8- Systemic Acquire Resistance

منابع

1. Barbary, A., Djian-Caporalino, C., Palloix, A., & Castagnone-Sereno, P. (2015). Host genetic resistance to root-knot nematodes, *Meloidogyne* spp., in solanaceae: from genes to the field. *Pest Management Science* 71: 1591–1598. https://doi.org/10.1002/ps.4091.
2. Beers, R.F., & Sizer, I.W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *The Journal of Biological Chemistry* 195: 133–140.
3. Bowler, C., Montagu, M.V., & Inze, D. (1992). Superoxide dismutase and stress tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants* 43: 83-116.
4. Bowler, C., Montagu, M.V., & Inze, D. (2005). Superoxide dismutase and abiotic stress tolerance. *Physiology and Molecular Biology of Plants 11*(2): 187–198.
5. Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 2: 248-254.
6. De Brida, A.L., Da Silva Correia, E.C.S., De Castro, E., Castro, B.M., Cola Zanuncio, J., & Wilcken, S.R.S. (2017). Oat, wheat, and sorghum genotype reactions to *Meloidogyne incognita* and *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology 49*(4): 386–389. https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-086.
7. Dong, W., Holbrook, C.C., Timper, P., Brenneman, T.B., & Mullinix, B.G. (2007). Comparison of methods for assessing resistance to *Meloidogyne arenaria* in peanut. *Journal of Nematology* 39: 169–175.
8. Du, C., Shen, F., Li, Y., Zhao, Z., Xu, X., Jiang, J., & Li, J. (2021). Effects of salicylic acid, jasmonic acid and reactive oxygen species on the resistance of *Solanum peruvianum* to *Meloidogyne incognita*. *Scientia Horticulturae* 275. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109649.
9. Elling, A.A. (2013). Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology* 103: 1902-1102. https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-13-0019-RVW.
10. Gheysen, G., & Mitchum, M.G. (2019). Phytoparasitic nematode control of plant hormone pathways. *Plant Physiology* 179. https://doi.org/1212–1226. 10.1104/pp.18.01067.
11. Hussain, M.A., Mukhtar, T., & Kayani, M.Z. (2014). Characterization of susceptibility and resistance responses to root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) infection in okra germplasm. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences* 51: 309–314. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.12.024.
12. Hussey, R.S., & Barker, K.R. (1973). A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp. including a new technique. *Plant Disease Reports* 57: 1025-1028.
13. Jones, J.D., & Dangl, J.L. (2006). The plant immune system. *Nature 444*(7117): 323-329. https://doi.org/10.1038/nature05286.
14. Kar, M., & Mishra, D. (1976). Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology 57*(2): 315–319.
15. Karajeh, M.R. (2011). Response of wheat, barley and oat cultivars and accessions to *Meloidogyne javanica*. *Nematologia Mediterranea* 39: 85–89.
16. Korayem, A.M., El-Bassioun, H.M.S., El-Monem, A.A.A., & Mohamed, M.M.M. (2012). Physiological and biochemical changes in different sugar beet genotypes infected with root-knot nematode. *Acta Physiologiae Plantarum 34*(5):1847–1861. https://doi.org/10.1007/s11738-012-0983-1.
17. Labudda, M., Tokarz, K., Tokarz, B., Muszynska, E., Gietler, M., Gorecka, M., Rozanska, E., Rybarczyk-Plonska, A, Fidler, J., Prabucka, B., Dababat, A.A., & Lewandowski, M. (2020). Reactive oxygen species metabolism and photosynthetic performance in leaves of *Hordeum vulgare* plants co-infested with *Heterodera filipjevi* and *Aceria tosichella*. *Plant Cell Reports 39*(12): 1719–1741. https://doi.org/10.1007/s00299-020-02600-5.
18. Langridge, P. (2017). *Economic and academic importance of barley*. Stein N., and Muehlbauer F. J. (2018). Springer International Publishing AG, part of Springer Nature. pp. 1-8. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-92528-8_1.
19. Lightfoot, D.J., Mcgrann, G.R.D., & Able, A.J. (2017). The role of a cytosolic superoxide dismutase in barley–pathogen interactions. *Molecular Plant Pathology 18*(3): 323–335. https://doi.org/10.1111/mpp.12399.
20. Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F., & Noctor, G. (2010). Catalase function in plants: a focus on Arabidopsis mutants as stress-mimic models. *Journal of Experimental Botany 61*(15): 4197–4220. https://doi.org/10.1093/jxb/erq282.
21. Molinari, S. (2011). Natural genetic and induced plant resistance, as a control strategy to plant-parasitic nematodes alternative to pesticides. *Plant Cell Reports 30*(3): 311–323.
22. Molinari, S., Fanelli, E., & Leonetti, P. (2014). Expression of tomato salicylic acid (SA)-responsive pathogenesis-related genes in Mi-1-mediated and SA-induced resistance to root-knot nematodes. *Molecular Plant Pathology 15*(3): 255–264. https://doi.org/10.1111/mpp.12085.
23. Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-888.

24. Oliveira, J.T.A., Andrade, N.C., Martins-Miranda, A.S., Soares, A.A., Gondim, D.M.F., Araujo-Filho, J.H., Freire-Filho, F.R., & Vasconcelos, I.M. (2012). Differential expression of antioxidant enzymes and PR-proteins in compatible and incompatible interactions of cowpea (*Vigna unguiculata*) and the root-knot nematode *Meloidogyne incognita. Plant Physiology and Biochemistry* 51: 145–152. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.10.008.
25. Patric, P.J., Simon, R.W., Ivan, G.G., & Martin, C. (2013). *Chemical control of nematodes.* Plant nematology. Perry R., and Moens M. (2013). CAB International. pp. 459-479.
26. Quesenberry, K.H., Baltensperger, D.D., Dunn, R.A., Wilcox, C.J., & Hardy, S.R. (1989). Selection for tolerance to root-knot nematodes in red clover to evaluate. *Crop Science* 65: 62–65.
27. Roland, N.P., & Maurice, M. (2015). *Introduction to plant-parasitic nematodes; modes of parasitism. Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions*. Jones J., Gheysen G., and Fenoll C. Springer Science+Business Media B.V. pp. 1-17. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0434-3_1.
28. Rao, M.S.S., Bhagsari, A.S., & Mohamad, A.I. (2002). Fresh green seed yield and seed nutritional traits of vegetable soybean genotypes. *Crop Science* 42: 1950–1958. https://doi.org/10.2135/cropsci2002.1950.
29. Scandalios, J.G. (2005). Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research 38*(7): 995–1014. https://doi.org/10.1590/s0100-879x2005000700003.
30. Schatzman, S.S., & Culotta,V.C. (2018). Chemical warfare at the microorganismal level: a closer look at the superoxide dismutase enzymes of pathogens. *ACS Infectious Diseases* 4: 893–903. https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.8b00026.
31. Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 2012: 1–26. https://doi.org/10.1155/2012/217037.
32. Shi, Q., Mao, Z., Zhang, X., Ling, J., Lin, R., Zhang, X., Liu, R., Wang, Y., Yang, Y., Cheng, X., & Xie, B. (2018). The novel secreted *Meloidogyne incognita* effector MiISE6 targets the host nucleus and facilitates parasitism in *Arabidopsis. Frontiers in Plant Science* 9: 1–16. https://doi.org/10.1155/2012/217037.
33. Simonetti, E., Alba, E., Montes, M.J., Delibes, A., & Lopez-Brana, I. (2010). Analysis of ascorbate peroxidase genes expressed in resistant and susceptible wheat lines infected by the cereal cyst nematode, *Heterodera avenae*. *Plant Cell Reports 29*(10): 1169–1178. https://doi.org/10.1007/s00299-010-0903-z.
34. Stenberg, J.A. (2017). A Conceptual framework for integrated pest management. *Trends in Plant Science 22*(9): 759–769. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.06.010.
35. Torres, M.A., Jones, J.D.G., & Dangl, J.L. (2006). Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. *Plant Physiology 141*(2): 373–378. https://doi.org/10.1104/pp.106.079467.
36. Wang, Y.C., Qu, G.Z., Li, H.Y., Wu, Y.J., Wang, C., Liu, G.F., & Yang, C.P. (2010). Enhanced salt tolerance of transgenic poplar plants expressing a manganese superoxide dismutase from *Tamarix androssowii. Molecular Biology Reports* 37: 1119- 1124. https://doi.org/10.1007/s11033-009-9884-9.
37. Wikes, J.E., & Kirkpatrick, T.L. (2020). The effects of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* on the yield and quality of edamame (*Glycine max* L.) in Arkansas. *Journal of Nematology* 52:1-15.
38. Yao, S., Huang, Y., & Yang, J-in. (2020). The Screening of Resistance against *Meloidogyne graminicola* in Oats. *Agriculture* 352: 1-10.
39. Zacheo, G., & Bleve-Zacheo, T. (1988). Involvement of superoxide dismutases and superoxide radicals in the susceptibility and resistance of tomato plants to *Meloidogyne incognita* attack. *Physiological and Molecular Plant Pathology 32*(2): 313–322.
40. Zadoks, J.C., & Board, E. (1999). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research* 14: 415-421.