

برخی پاسخ‌های بیوشیمیایی لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به کنه تارتن دونقطه‌ای  
(*Tetranychus urticae* Koch)

ماریه شورونی<sup>۱</sup>، عبدالهادی حسین‌زاده<sup>۲\*</sup>، رضا معالی امیری<sup>۳</sup> و حسین الهیاری<sup>۴</sup>  
۱، ۲، ۳. دانشجوی دکتری و دانشیاران گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج.  
۴. استاد گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۲۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۱۳)

چکیده

القای مقاومت در دو رقم مقاوم و حساس (به ترتیب، ناز و اختر) لوبیا نسبت به آلودگی کنه تارتن دونقطه‌ای، *Tetranychus urticae* Koch (Acari; Tetranychidae) بررسی شد. در این بررسی صفات محتوای فنل کل، مالون دی‌آلدئید، ظرفیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی)، و فعالیت آنزیم‌های دفاعی گیاه (گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX)) در گیاه غیر آلوده (شاهد)، و آلوده (۱، ۳ و ۵ روز پس از آلودگی) اندازه‌گیری شد. مقادیر فنل کل و ظرفیت پاداکسندگی رقم ناز (بیشینه: ۰/۸ و ۵۳/۶۷، به ترتیب) نسبت به اختر بیشتر بود، اما محتوای مالون دی‌آلدئید در رقم ناز پایین بود. همچنین، رقم ناز فعالیت آنزیمی بیشتری (GPX: ۳۷/۲۹ و APX: ۲۱/۸۷) را نسبت به رقم اختر نشان داد. نتایج گویای این بوده‌اند که آنزیم‌های دفاعی گیاه مانند APX و GPX در مقاومت لوبیا نسبت به *T. urticae* دخیل‌اند. بنابراین افزایش فعالیت GPX و APX همراه با تجمع فنل کل، مقاومت گیاه را نسبت به *T. urticae* افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های دفاعی، متابولیت‌های ثانویه، کنه تارتن دونقطه‌ای، لوبیا، مقاومت.

Some biochemical response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) to two spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch)

Mariya Sovuei<sup>1</sup>, Abdolhadi Hosseinzadeh<sup>2\*</sup>, Reza Mali Amiri<sup>3</sup> and Hossein Alhayari<sup>4</sup>  
1,2,3 Ph.D student and Associated Professors, Department of Agronomy and Plant Breeding, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran  
4. Professor, Department of Plant Protection, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran  
(Received: April 17, 2017- Accepted: July 4, 2017)

ABSTRACT

To assess the effects of drought stress on yield and some traits related to growth in soybean, two experiments were conducted as normal and 50% decrease in soil water to FC as stress condition in a randomized complete block design with three replications and 10 genotypes in Karaj in 1394. Results showed, that drought stress had different effects on traits. So that, the greatest increase was in %empty pod and the most decrease was in yield per plant and seed number. Some of traits such as the first pod, seed number, nod number had severe damage from drought, too. Seed filling period and yield decreased in susceptible genotypes, significantly but in tolerant genotypes had no significant decrease. While, %empty pod and RSD had significant increase in sensitive genotypes. Obtained results revealed that, genotypes had different reactions to drought in pigments of their leaves. Although, drought had increased pigments as average; leaf pigments in tolerant genotypes decreased while increased in susceptible genotypes.

**Keywords:** Soybean, Drought stress, related saturated decrease (RSD%), Photosynthetic pigments, percent variation in traits.

\* Corresponding author E-mail: ahzadeh@ut.ac.ir

## مقدمه

کنه تارتن دونقطه‌ای (*Tetranychus urticae* Koch) از گونه‌های بسیار چندین‌خوار (پلی‌فاژ) متعلق به خانواده Tetranychidae است که دامنه میزبانی بیش از ۱۱۰۰ گونه گیاهی را در برمی‌گیرد (Migeon and Dorkeld, 2006–2016). این آفت با فروربردن قطعه‌های دهانی خود در یاخته‌ها و بافت‌های گیاهی، از شیرۀ یاخته‌ای تغذیه کرده و نقاط بی‌رنگی را در محل تغذیه خود به‌جا می‌گذارد. در نتیجه تغذیه و افزایش جمعیت کنه تارتن، کلروپلاست برگ‌ها از بین رفته، روزنه‌ها بسته شده و در مجموع عملکرد کاهش می‌یابد. آلودگی‌های شدید در نهایت منجر به مرگ گیاه می‌شوند (Martinez-Ferrer *et al.*, 2006). در مناطق گرم و خشک، طول دوره رشد و نمو کنه کاهش و تولیدمثل آن افزایش می‌یابد، به‌گونه‌ای که می‌تواند بالغ بر ۲۰ نسل در سال داشته باشد (Scully *et al.*, 1991). گرچه آمار دقیقی از آسیب این آفت در ایران وجود ندارد اما گزارش‌های موجود نشان می‌دهد، کنه تارتن یکی از مهم‌ترین آفات مناطق لوبیاکاری استان‌های فارس، چهارمحال و بختیاری، لرستان، زنجان و مرکزی است (Saeidi and Salehi, 2005). از جمله روش‌هایی که به‌طور گسترده برای مدیریت ومهار (کنترل) آن در کشتزارها و گلخانه‌ها استفاده می‌شود، کنه‌کش‌های شیمیایی‌اند. اما به دلیل نایمن بودن آن‌ها برای حشرات سودمند و خطرهای زیست-محیطی‌شان، در دهه‌های اخیر کاربرد رقم‌های مقاوم به‌عنوان یک روش جایگزین در مدیریت و مهار این آفت توصیه شده است (Stumpf and Nauen, 2001). استفاده از رقم مقاوم یک روش اقتصادی بوده که منجر به کاهش آسیب، کاهش مصرف آفت‌کش‌ها و نیز ایمن برای محیط‌زیست است (Howe and Jander, 2008). برای دستیابی این امر گردآوری اطلاعات در رابطه با منبع‌های مقاومت، شناسایی نوع مقاومت شامل پادهمزیستی و پادزیستی (آنتی‌زنوبیوز، آنتی‌بیوز و تحمل) و سازوکار عمل آن، نخستین گام در جهت توسعه رقم‌های زراعی مقاوم است (Diaz-Montano *et al.*, 2006). به‌طور کلی گیاهان مجموعه گسترده‌ای از

راهبرد (استراتژی)های دفاعی را در برابر آفات گیاه-خوار دارند که می‌تواند ساختاری و یا القایی باشند. ترکیب‌های دفاعی ساختاری همواره در گیاه بدون در نظر گرفتن محرک خارجی وجود دارند حال آنکه مقاومت القایی در پاسخ به محرک‌های بیرونی ایجاد می‌شود (War *et al.*, 2012a). از آنجاکه تنش‌های زنده منجر به افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شوند، بنابراین لازم است گیاه به‌گونه‌ای تأثیر زیانبار آن‌ها را کنترل کند (Mittler *et al.*, 2004). کنترل ROSها و واکنش‌های آن‌ها نیاز به درجه بالایی از هماهنگی و تعادل بین نشانه (سیگنال)ها و مسیرهای سوخت‌وسازی (متابولیکی) دارد (Racchi, 2013). این سامانه مدیریت و مهار شامل متابولیت‌ها و آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدانت) هستند که عمل آن‌ها حذف ROSها و آسیب اکسایشی (اکسیداتیو) ناشی از فعالیتشان و نیز تعدیل آن‌ها به‌عنوان ناقلان پیام است (Bailly, 2004). متابولیت‌های پاداکسنده در واقع بازدارنده اکسایش (اکسیداسیون) دیگر مولکول‌ها شده، در نتیجه آسیب و زیان‌های ناشی از کسایش را کاهش می‌دهند. مولکول‌های آب‌گریزی (هیدروفوبی) مانند گلوکوتانیون و فنل‌ها جزو این دسته از ترکیب‌ها قرار می‌گیرند (Gill and Tuteja, 2010). در این بین فنل‌ها تنها ترکیب‌هایی هستند که با ظرفیت پاداکسندگی همبستگی دارند (Racchi, 2013). از دیگر شاخص‌های مرتبط با مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی، میزان پراکسیداسیون چربی (لیپید)هاست. مالون‌دی‌آلدهید (MDA) یکی از مهم‌ترین فرآورده‌های پراکسیداسیون چربی‌هاست که در مسیرهای انتقال پیام گیاهی در مقابل بسیاری از تنش‌ها نقش دارد (Wei *et al.*, 2007). این ترکیب یک شاخص بسیار مهم دفاعی در برابر حمله آفات است، این ترکیب در برانگیختن نشر ترکیب‌های فرار گیاهی در پاسخ به حمله گیاه‌خواران به‌منظور جلب دشمنان طبیعی آن‌ها مؤثر است (Arimura *et al.*, 2009). همچنین در میان آنزیم‌های پاداکسنده می‌توان به گایاکول پراکسیداز (GPX)، و آسکوربات پراکسیداز (APX) اشاره کرد (War *et al.*, 2012b).

های نمونه برداری) در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار در اتاقک رشد (دما  $1 \pm 25^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی ۶۵٪ و ۱۶ ساعت روشنایی) گروه زراعت و اصلاح نباتات کشت شدند. کشت در گلدان‌های پلاستیکی با قطر درونی دهانه ۲۵cm و با مخلوط خاک کشتزار: پیت‌ماس: پرلیت به نسبت ۱:۱:۱ انجام شد. در مرحله شش برگی حقیقی (Meier 1997)، جوان‌ترین برگ (هر برگ واجد سه برگچه) که به خوبی توسعه یافته انتخاب و در مجموع ۴۵ کنه ماده بالغ روی هر برگ رهاسازی شد. نمونه‌گیری از برگ‌های شاهد (گیاه سالم بدون کنه)، و برگ‌های آلوده شده در روزهای اول، سوم و پنجم پس از رهاسازی کنه انجام شد.

#### اندازه‌گیری محتوای فنل کل

محتوای ترکیب‌های فنلی در عصاره متانولی با استفاده از روش Lin and Tang (2007) و با توجه به منحنی استاندارد اسید گالیک ( $\lambda=765\text{ nm}$ ) توسط دستگاه پلیت ریدر (Biotek-EON) صورت گرفت و به صورت  $\text{mg g}^{-1}$  اسید گالیک ارائه شد. به این منظور، به  $0.1\text{ g}$  از بافت برگ حدود  $1/5\text{ mL}$  متانول اسیدی (حاوی  $\text{HCl}$   $0.5\%$  نرمال در متانول  $80\%$ ) اضافه شد. مخلوط حاصل یک شب در دمای  $4^\circ\text{C}$  نگهداری و سپس به مدت ۵ دقیقه در  $20000\text{ g}$  در دمای  $4^\circ\text{C}$  سانتریفیوژ شد.  $30\ \mu\text{L}$  نمونه (عصاره متانولی)،  $1/17\text{ mL}$  آب مقطر و به دنبال آن  $75\ \mu\text{L}$  Folin-Ciocalteu اضافه شد. ترکیب به مدت ۱ تا ۸ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد و آنگاه  $1\ \mu\text{L}$  محلول کربنات سدیم ۲۰ درصد به آن اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای  $40^\circ\text{C}$  قرار داده شد و سپس خوانش جذب نمونه‌ها انجام شد.

#### اندازه‌گیری ظرفیت پاداکسندگی

برای اندازه‌گیری ظرفیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) به  $0.1\text{ g}$  از بافت برگ حدود  $1/5\text{ mL}$  متانول اسیدی (حاوی  $\text{HCl}$   $0.5\%$  نرمال در متانول  $80\%$ ) اضافه شد. مخلوط حاصل یک شب در دمای  $4^\circ\text{C}$  نگهداری شد و آنگاه به مدت ۵ دقیقه در  $20000\text{ g}$  در دمای  $4^\circ\text{C}$  سانتریفیوژ شد.  $50\ \mu\text{L}$  از عصاره نمونه درون لوله

APX یک آنزیم اصلی در سامانه سم‌زدایی پراکسید هیدروژن در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون کلروپلاست، میتوکندری، سیتوسول و پراکسی‌زوم‌های گیاهی است (Asada, 1992). این آنزیم به همراه کاتالاز (CAT) از آنزیم‌های کلیدی در تعدیل سطح  $\text{H}_2\text{O}_2$  هستند که تنظیم بیان نواحی پایین دست مسیر اسید سالیسیلیک را بر عهده دارند و به‌عنوان یک ناقل ثانویه در مسیر انتقال پیام عمل می‌کنند و به گیاه این امکان را می‌دهد تا مقاومت اکتسابی عمومی (SAR) را توسعه دهد. تفاوت این دو آنزیم در این است که CAT مسئول پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد در فرایند تنش است، حال آنکه APX مسئول تنظیم بهینه آن‌ها به‌عنوان ناقلان پیام است (Davletova et al., 2005). GPXها خانواده بزرگی از آنزیم‌های مختلف‌اند که در کاتالیز واکنش‌های پراکسیداسیون نقش دارند. برخلاف APX که در سمیت‌زدایی  $\text{H}_2\text{O}_2$  نقش دارد، GPXها در دیگر بخش‌های سوخت‌وساز (متابولیسم) پاداکسندگی شامل حذف پراکسیداسیون چربی‌ها ایفای نقش می‌کنند. همچنین فنل‌ها را اکسید و سمی‌کوتینون‌ها را تولید می‌کنند که برای آفات بسیار سمی‌اند و بر رشد و نمو آن‌ها تأثیر می‌گذارد (Barbehenn et al., 2010). این تحقیق با هدف شناسایی سازوکارهای بیوشیمیایی مؤثر در بروز مقاومت به کنه تارتن در گیاه لوبیا به‌عنوان یکی از میزبان‌های مهم این آفت انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

کنه تارتن دونقطه‌ای از کشتزارهای لوبیای کرج گرد-آوری و پس از تعیین گونه توسط گروه گیاه‌پزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، روی میزبان حساس (رقم اختر) به مدت سه نسل در اتاقک رشد یا انکوباتور (دما  $1 \pm 25^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی ۶۵٪ و ۱۶ ساعت روشنایی) افزونش شد. به‌منظور انجام آزمایش‌ها دو رقم ناز (به‌عنوان رقم مقاوم) و اختر (به‌عنوان رقم حساس) بر پایه بررسی‌های پیشین انتخاب شدند (Tahmasebi et al., 2014) و به‌صورت آزمایش فاکتوریل (عامل اصلی رقم، عامل فرعی زمان-

$$(\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}) \text{MDA} = 6/45(A_{532} - A_{600}) - (0/56 A_{450})$$

### اندازه‌گیری فعالیت ویژه آنزیم‌های وابسته به تنش

فعالیت ویژه آنزیم‌های پاداکسنده بر پایه میزان پروتئین موجود در بافت اندازه‌گیری شد. به این منظور به ۰/۱ گرم بافت برگ ۰/۹ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۵ مولار (pH=۷/۲) اضافه و همگن (هموژن) شد. پس از به دست آمدن یک مخلوط همگن، نمونه‌ها در ۱۴۰۰۰g به مدت ۱۶ دقیقه در دمای ۴ °C سانتریفیوژ شده و محلول بالای به‌دست‌آمده برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی استفاده شد (Lowry *et al.*, 1951). مقدار پروتئین موجود در عصاره با روش Bradford (1976) ( $\lambda=595\text{nm}$ ) در دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر Shimadzu A-150 خوانده و با استفاده از رابطه و منحنی استاندارد (سرم آلبومین گاوی)، محاسبه شد.

### فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

میزان فعالیت GPX بنا بر روش Shannon & Grieve (1966) با دستگاه طیف‌سنج نوری ( $\lambda=470\text{ nm}$ ) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل عصاره آنزیمی ۱۰۰ μL، بافر فسفات (pH=۶,۸) ۱۷۸۰ μL و گایاکول ۱mM (۲۰ μL) / ۱۰۰ μL محلول H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (۱۰ mM) به محلول بالا اضافه و تغییرپذیری‌های افزایش جذب نور به مدت یک دقیقه در فاصله زمانی ۵ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم برابر ضریب خاموشی  $26/6\text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  محاسبه شد.

$$(\text{mmol min}^{-1} \text{mgprotein}^{-1})$$

$$= \left( \frac{\Delta A \times \text{حجم بافر استخراج } (\mu\text{L})}{\text{حجم محلول واکنش } (\mu\text{L}) \times \text{وزن نمونه } (\text{g}) \times \text{زمان } (\text{min}) \times 2.66} \right) \Bigg/ \text{مقدار پروتئین در وزن تر}$$

(۰/۱mM) ۱۵۰ μL و آسکوربیک اسید (۰/۵ mM) ۹۰ μL بود. واکنش با اضافه کردن ۱۰ mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> آغاز شد و کاهش تغییرپذیری‌های جذب در ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی  $2/8\text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  محاسبه شد.

ریخته و ۹۵۰ μL محلول DPPH ۶۰ mM به آن اضافه شد. محلول به‌دست‌آمده به مدت ۳۰ ثانیه تکان داده (ورتکس) و به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظه تاریک در دمای اتاق نگهداری شد.

سپس میزان جذب شاهد (۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ نرمال DPPH) و نمونه با روش (Lin and Tang, 2007) و با خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد DPPH (۲ و ۲دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) با دستگاه پلیت ریدر ( $\lambda=517\text{nm}$ ) و با فرمول زیر تعیین شد.

$$\text{Scavenging}(\%) = [(A_{\text{cont}} - A_{\text{amp}}) / A_{\text{cont}}] * 100$$

### اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون چربی‌ها

۰/۱g بافت برگ در ۱/۵ mL تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱۰ درصد تکان داده، آنگاه عصاره به‌دست‌آمده به مدت ده دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. به ۱mL از محلول رویی ۲mL تری-کلرواستیک اسید ۱۰ درصد که حاوی ۰/۶ درصد تیوباربتوریک اسید است اضافه شد. مخلوط بالا به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ °C) قرار گرفت. سپس بی‌درنگ وارد حمام یخ سرد شد و در پایان در دور ۶۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. میزان پراکسیداسیون چربی‌ها با روش Cakmak and Horst (1991) و اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی صورت گرفت. میزان جذب (۶۰۰ nm و ۵۳۲،  $\lambda=450$ ) با دستگاه پلیت ریدر خوانده و با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

### فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

میزان فعالیت APX بنا بر روش Nakano & Asada (1981) و از طریق کاهش جذب ( $\lambda=290\text{ nm}$ ) به دست آمد. مخلوط واکنش شامل عصاره آنزیمی ۱۰۰ μL، بافر فسفات (۵۰ mM) ۱۱۶۰ μL EDTA

(mmol min<sup>-1</sup> mgprotein<sup>-1</sup>)

$$= \left( \frac{\Delta A \times \text{حجم بافر استخراج } (\mu\text{L})}{2.8 \times \text{زمان } (\text{min}) \times (\text{g}) \times \text{وزن نمونه} \times \text{حجم محلول واکنش } (\mu\text{L})} \right) // \text{مقدار پروتئین در وزن تر}$$

## نتایج و بحث

های پاداکسنده GPX و APX در رقم‌ها و روزهای مختلف اندازه‌گیری در جدول (۱) نشان داده شده است.

تجزیه واریانس داده‌های فنل کل، ظرفیت پاداکسندگی، پراکسیداسیون چربی‌ها و فعالیت آنزیم-

جدول ۱. تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در رقم‌های لوبیای آلوده به کنه تارتن دونقطه‌ای.

Table 1. Analysis of variance of measured traits in common bean-infected plants to two spotted spider mite

ANOVA		Mean Squares				
	df	Total Phenol	DPPH	MDA	GPX	APX
Genotype	1	0.056**	188.68**	0.214**	46.27**	105.19**
Day	3	0.102**	738.08**	0.083**	612.49**	123.41**
Genotype × Day	3	0.006 <sup>n.s</sup>	7.72**	0.031**	113.34**	9.71**
Error	16	0.003	3.10	0.005	1.451	1.47
CV%		6.97	4.88	29.26	6.77	9.01

\*\*Significant (p≤0.01)

n.s No significant difference

CV: Coefficient of Variation

\*\*معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

n.s نبود تفاوت معنی‌دار

بررسی‌های خود نشان داده‌اند، افزایش محتوای فنل برگ‌ها سبب کاهش معنی‌دار شمار تخم گذاشته شده توسط کنه تارتن روی گیاه داوودی می‌شود همچنین نشان دادند، محتوای فنل برگ‌های جوان‌تر بیش از برگ‌های بالغ است که می‌تواند بازدارنده تغذیه کنه تارتن شود. افزایش محتوای فنل‌ها پس از تغذیه کنه در زیتون (Cetin et al. 2011) و بادام‌زمینی (War et al., 2012a) نشان داده شده که با نتایج به دست آمده از این تحقیق همخوانی دارند.

### ظرفیت پاداکسندگی

تجزیه واریانس داده‌های ظرفیت پاداکسندگی نشان داد، بین رقم‌ها، روزهای مختلف و نیز اثر متقابل آن‌ها تفاوت بسیار معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱).

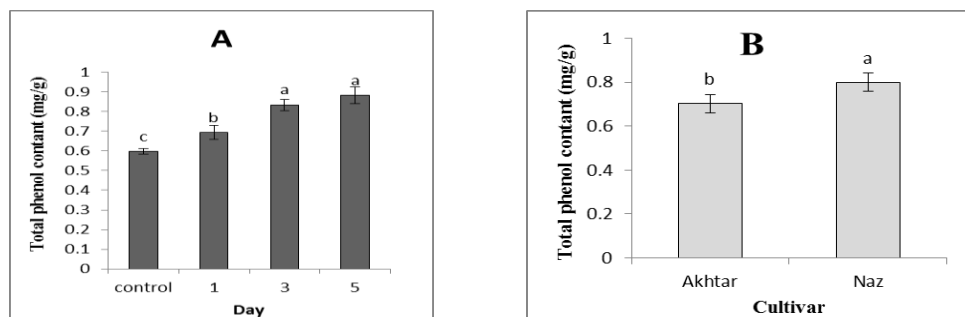
همان‌گونه که شکل (۲a) نشان می‌دهد، با افزایش سطح تنش ظرفیت پاداکسندگی در هر دو رقم تا روز سوم افزایش و در روز پنجم کاهش نشان داد. کمترین مقدار ظرفیت پاداکسندگی در روز شاهد در رقم اختر (حساس) و بیشترین مقدار آن در روز سوم و در رقم ناز (مقاوم) مشاهده شد. همچنین در همه روزهای اندازه‌گیری ظرفیت پاداکسندگی در رقم ناز بیشتر بود.

### ارزیابی میزان فنل کل

تجزیه واریانس محتوای فنل کل نشان داد، بین رقم‌ها و نیز روزهای مختلف اندازه‌گیری تفاوت بسیار معنی‌داری وجود دارد اما اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نیست (جدول ۱). در بین روزهای مختلف اندازه‌گیری، کمترین مقدار فنل کل در روز شاهد و بیشترین مقدار آن در روز پنجم مشاهده شد (شکل ۱a). همچنین بیشترین محتوای فنل کل در رقم ناز (مقاوم) مشاهده شد (شکل ۱b). این نتایج می‌تواند گویای نقش مستقیم این ترکیب‌ها در بروز مقاومت به کنه تارتن باشد. فنل‌های گیاهی در تعامل گیاه با بیمارگر/گیاه-خوار به خوبی شناخته و نقش آن‌ها به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه با ویژگی پاداکسندگی و تنظیم‌کننده فعالیت دیگر ترکیب‌های بیوشیمیایی گیاهی نشان داده شده است. لذا تجمع آن‌ها در گیاه و در پاسخ به گیاهخواران یک پدیده عمومی بوده و با تأثیر منفی روی رشد و نمو لارو حشرات همراه است (Sharma 2007). همچنین کوئینون‌ها، ROSها و دیگر ترکیب‌های ناشی از اکسایش فنل‌ها سبب فعال‌سازی آنزیم‌های دفاعی گیاه می‌شود (Johnson and Felton 2001). Kietkiewicz & VandeVrie (1990) در نتایج

ظرفیت پاداکسندگی اندازه‌گیری می‌شود نتیجه تعامل آن‌ها با یکدیگر است (Camejo *et al.*, 2010).

از آنجا که مولکول‌های مختلف (فلاونوئیدها، کارتنوئیدها، ویتامین ث و ...) تأثیر مشارکتی روی ظرفیت پاداکسندگی دارند، لذا آنچه در نهایت به عنوان

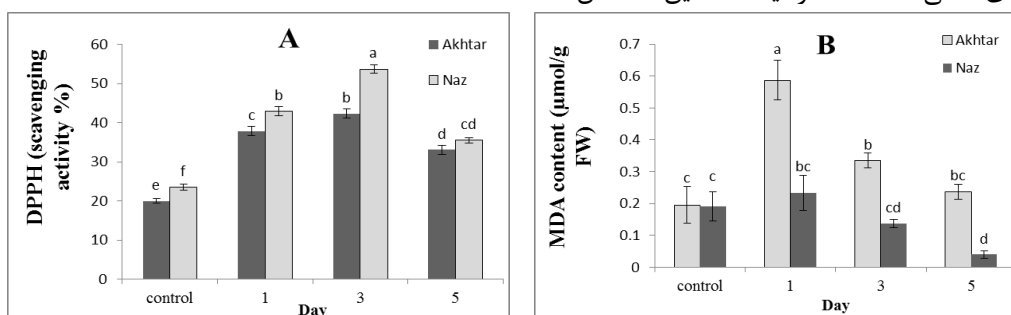


شکل ۱. تغییرپذیری میزان فنل کل در رقم‌های لوبیای آلوده به کنه تارتن دونقطه‌ای، (a) روزهای مختلف و (b) رقم‌ها در گیاه لوبیای آلوده شده. میانگین‌هایی که واجد حرف‌های مشترکند تفاوت معنی‌داری ندارند و با آزمون LSD ( $p \leq 0.05$ ) تعیین شده‌اند.

Figure 1. The change of phenolic compounds in common bean-infected plants to two spotted spider mite, (a) different days and (b) cultivars. Means followed by the same letter are not significantly different, as determined by LSD test ( $p \leq 0.05$ ).

افزایش ظرفیت پاداکسندگی در لوبیا نسبت به کرم غوزه پنبه (Kaur *et al.*, 2009) مشاهده شده است که با نتایج به دست آمده از این تحقیق همخوانی دارد. Sytykiewicz (2014) در نتایج بررسی‌های خود نشان داد، رقم‌های ذرت مقاوم نسبت به رقم‌های حساس کاهش بیشتری در محتوای رادیکال‌های DPPH در پاسخ به آلودگی شته نشان دادند

با این وجود ظرفیت پاداکسندگی به‌طور عمده با محتوای فنل کل مرتبط است به‌گونه‌ای که می‌توان با اندازه‌گیری فنل کل، ظرفیت پاداکسندگی را پیش‌بینی کرد (Fu *et al.*, 2011). نتایج این آزمایش نیز افزایش محتوای فنل کل را در نتیجه تغذیه کنه نشان داده‌اند، لذا شاید بتوان افزایش ظرفیت پاداکسندگی را نتیجه فعال‌سازی مسیرهای دفاعی وابسته به ترکیب‌های فنلی دانست. در یک تحقیق همسان،



شکل ۲. تغییرپذیری ظرفیت پاداکسندگی (a) و مالون دی‌آلدئید (b) در گیاه لوبیای آلوده شده به کنه تارتن دونقطه‌ای. بار خطای استاندارد است. میانگین‌هایی که واجد حرف‌های مشترکند تفاوت معنی‌داری ندارند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD ( $p \leq 0.05$ ) تعیین شده‌اند؛ FW= وزن تر.

Figure 2. The change of antioxidant activity (a) and malondialdehyde (b) in common bean-infected plants to two spotted spider mite. Bars represent standard error. Means followed by the same letter are not significantly different, as determined by LSD test ( $p \leq 0.05$ ); FW= fresh weight

روزهای مختلف اندازه‌گیری و اثر متقابل آن‌ها تفاوت بسیار معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱) همان‌گونه که

اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون چربی‌ها نتایج تجزیه واریانس MDA نشان داد، بین رقم‌ها،

افزایش آن در نژادگان مقاوم کمتر از نژادگان حساس است که با نتایج به دست آمده از این تحقیق همخوانی دارد، اما بیشترین مقدار آن را ۹۶ ساعت پس از تغذیه ثبت کردند. همان گونه که شکل ۲b نشان می دهد هر دو رقم روند کاهشی محتوای MDA مشاهده می شود، حال آنکه تغذیه کنه همچنان ادامه دارد. نکته جالب اینجاست که کمترین مقدار MDA در رقم ناز و روز پنجم پس از آلودگی مشاهده می شود به گونه ای که حتی میزان آن از گیاهان بدون تنش نیز کمتر است. همسان این وضعیت در یک تحقیق توسط Moustafa *et al.* (2016) Farag نشان داده شده است. یعنی پس از افزایش ناگهانی، MDA به سطحی پایین تر از شاهد کاهش یافت. محققان این کاهش را به واسطه سامانه پاداکسندگی دانسته و دلیل آن را القای فعالیت آنزیم های مانند آسکوربات پراکسیداز و دیگر آنزیم های پاداکسنده دانستند، زیرا مهار معنی دار محتوای MDA بازتاب ظرفیت پاداکسندگی بالا است که به مقاومت و یا تحمل بالا در برابر تهاجم گیاه خوار مربوط است (Zhang *et al.*, 2008). در ادامه میزان فعالیت آنزیم های گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به منظور بررسی نقش آن ها در بروز مقاومت و در نتیجه پراکسیداسیون چربی ها نشان داده شده است.

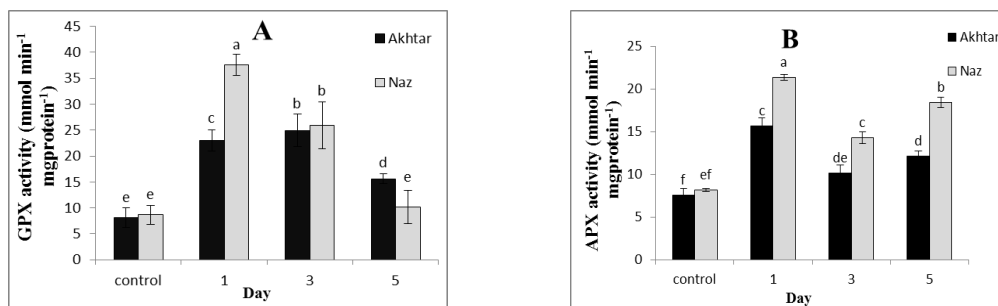
#### فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

تجزیه واریانس میزان فعالیت GPX نشان داد، بین رقم ها، روزهای مختلف اندازه گیری و اثر متقابل آن ها از نظر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تفاوت بسیار معنی داری وجود دارد (جدول ۱). بر پایه مقایسه میانگین ارائه شده در شکل (۳a) میزان فعالیت آنزیم در هر دو رقم پس از تغذیه کنه تارتن دستخوش تغییرهایی شده است که میزان این تغییرها در رقم ناز سطح بالاتری داشته است. در نخستین روز پس از تغذیه کنه فعالیت GPX افزایش یافته و به بیشترین مقدار خود در رقم ناز رسید و پس از آن روند کاهشی را در این رقم تا روز پنجم طی کرد. اما در رقم اختر در روز اول کمی افزایش یافته و بیشترین مقدار فعالیت آنزیم در روز سوم مشاهده شد و پس از آن در روز

شکل ۲b نشان می دهد، در طی روزهای مختلف اندازه گیری، مقدار MDA در رقم اختر نسبت به رقم ناز تغییرپذیری های بیشتری دارد. در حالی که در رقم ناز تغییر چندانی در روزهای اول و سوم پس از آلودگی نسبت به شاهد مشاهده نمی شود، کمترین مقدار MDA مربوط به رقم ناز و روز پنجم و بیشترین مقدار در رقم اختر و روز اول پس از تغذیه کنه است به گونه ای که محتوای آن به بیش از سه برابر مقدار اولیه اش می رسد. در هر دو رقم در روز اول افزایش مقدار MDA مشاهده شد و پس از آن تا روز پنجم روند کاهشی مشاهده شد. از آنجا که هنگام تغذیه با فروربردن میله (استایلت) های دهانی خود در یاخته و پاره کردن دیواره و غشای یاخته ای، شیره یاخته ای را مصرف می کند (Martinez-Ferrer *et al.*, 2006) بنابراین آزادسازی ترکیب های ناشی از تخریب غشا دور از انتظار نیست، MDA نیز یکی از ترکیب های مهمی است که از آسیب به غشا و در اثر پراکسیداسیون چربی ها تولید می شود. در نتیجه پراکسیداسیون چربی ها، یک واکنش زنجیره وار از رادیکال های آزاد است. در واقع افزایش پراکسیداسیون چربی ها نتیجه آزاد شدن ROSهاست که در نهایت سبب به هم خوردن ساختار غشای یاخته ای و نشت یون ها از یاخته می شود (Goel and Sheoran, 2003). Zhang *et al.* (2008) در نتایج بررسی های خود نشان دادند، محتوای MDA دانهال های خیار پس از تغذیه مگس سفید افزایش می یابد و این افزایش را گویای وجود تنش اکسایشی در گیاه دانستند. بنابراین می توان نتیجه گرفت افزایش تولید MDA ناشی از ضعف سامانه پاداکسندگی در مهار ROSها است (Bailly *et al.*, 2000)، لذا با توجه به بالاتر بودن ظرفیت پاداکسندگی رقم مقاوم که پیشتر ارائه شد، می توان محتوای کمتر MDA رقم مقاوم (ناز) نسبت به رقم حساس (اختر) را به دلیل سامانه پاداکسندگی کارآمدتر آن در کنترل رادیکال های آزاد دانست. در بررسی همسان، War *et al.* (2012a) مقدار MDA نژادگان (ژنوتیپ) های حساس و مقاوم بادام زمینی نسبت به گرم غوزه پنبه اندازه گرفتند و نشان دادند،

فنل‌ها توسط GPX به دیگر ترکیب‌ها چون کوئینون‌ها دانست که به پروتئین‌های برگ متصل شده و قابلیت مصرف اسیدهای آمینه را تغییر دهند (Moran 2001). کاهش فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده به‌طور عمده سبب افزایش ROSها و به دنبال آن افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و دیگر درشت (ماکرو)مولکول‌های زیستی یاخته می‌شود (Goel and Sheoran, 2003). بنابراین با توجه با پایین بودن محتوای MDA رقم مقاوم نسبت به رقم حساس می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت آنزیم‌های پاداکسنده مانند GPX رقم مقاوم به حد مطلوبی کارآمد بوده است که بتواند بازدارنده پراکسیداسیون چربی‌ها شوند. War و همکاران (2015) افزایش فعالیت پراکسیداز را در گیاهان پس از حمله آفات، نتیجه پاسخ اولیه گیاه به آسیب ناشی از تغذیه آفت و در پاسخ به فعال شدن مسیر جاسمونیک اسید دانستند. افزایش فعالیت GPX در نتیجه تغذیه کنه تارتن در لوبین (Trevisan *et al.*, 2003)، نیز گزارش شده که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (War *et al.*, 2012b).

پنجم کاهش یافت و تنها در روز پنجم نسبت به رقم ناز مقدار بالاتری داشت. افزایش سریع‌تر و فعالیت بیشتر این آنزیم در رقم مقاوم (ناز) می‌تواند گویای نقش مهم آن در بروز مقاومت باشد. GPX نقش مهمی در تولید متابولیت‌های ثانویه سمی داشته و از آنجا که می‌تواند همزمان به‌صورت اکسیدان و پاداکسنده عمل کند، تأثیر بسزایی در پاسخ‌های دفاعی گیاه نسبت به انواع تنش‌ها بر عهده دارد (Han *et al.*, 2009; Gulsen *et al.*, 2010). GPX می‌تواند با کاتالیز اکسایش فنل‌ها، تک‌بار (مونومر)های لیگنین و فعال‌سازی مسیرهای انتقال پیام، پاسخ‌های فیزیکی و شیمیایی گیاه را در مقابل آفات تنظیم کند (Dowd 1994). همان‌گونه که شکل (۱) نشان می‌دهد، تغییر در محتوای فنل کل بسیار نزدیک به تغییرپذیری فعالیت GPX است به‌طوری‌که در روز اول پس از تغذیه کنه که بیشترین فعالیت GPX مشاهده می‌شود، محتوای فنل کل نیز پایین‌تر از روزهای سوم و پنجم تغذیه کنه است که فعالیت GPX در آن‌ها کاهش یافته است. و دلیل آن را می‌توان اکسایش



شکل ۳. تغییرپذیری فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز (A) و آسکوربات پراکسیداز (B) در رقم‌های لوبیای آلوده به کنه تارتن دونقطه‌ای. مقادیر به‌صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد با سه تکرار هستند. میانگین‌های دارای حرف‌های همسان تفاوت معنی‌داری ندارند و با آزمون LSD تعیین شده‌اند

Figure 3- The change of activity of guaiacol peroxidase (A) and ascorbate peroxidase (B) in common bean cultivars infected by two spotted spider mite. Values are mean  $\pm$  SE of three replicates. Means followed by the same letter are not significantly different ( $p \leq 0.05$ ), as determined by LSD test.

نوسان‌های زیادی داشته به‌این‌ترتیب که میزان فعالیت آن پس از افزایش در روز نخست با کاهش در روز سوم و افزایش دوباره در روز پنجم مواجه است (شکل ۳b). همانند CAT، شدت فعالیت در رقم ناز بسیار بیشتر از رقم اختر است. تفاوت قابل‌ملاحظه فعالیت این آنزیم

### فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

همان‌گونه که جدول (۱) نشان می‌دهد، در بین رقم‌ها، روزهای مختلف اندازه‌گیری و اثر متقابل آن‌ها از نظر فعالیت آنزیم APX اختلاف بسیار معنی‌داری وجود دارد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان می‌دهد، این آنزیم



### نتیجه‌گیری کلی

نتایج این تحقیق نشان داد، افزایش محتوای متابولیت‌های ثانویه‌ای چون فنل کل در نتیجه تغذیه کنه می‌تواند عامل مهمی در بروز مقاومت باشد. از آنجاکه این ترکیب‌ها نقش مهمی در ظرفیت پاداکسندگی دارند، افزایش ظرفیت پاداکسندگی مشاهده شده در رقم مقاوم نیز می‌تواند تأییدی بر نقش کلیدی این ترکیب‌ها باشد. گرچه رقم حساس و مقاوم از الگوی تغییر همسانی در پراکسیداسیون چربی‌ها پیروی کردند اما پایین‌تر بودن قابل ملاحظه این تغییرها در رقم مقاوم نسبت به رقم حساس، می‌تواند به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم مقاومت و تأییدی بر پایداری بیشتر غشای یاخته‌ای باشد. تغذیه کنه تارتن دونقطه-ای همچنین منجر به القای فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی GPX و APX در روزهای نخست پس از آلودگی به‌ویژه در رقم مقاوم شد که می‌تواند گویای نقش مؤثر این آنزیم‌ها را در القای مقاومت به کنه باشد. به‌طورکلی این‌گونه پاسخ‌های بیوشیمیایی می‌توانند در برنامه‌های بهنژادی به‌عنوان شاخص‌های مقاومت و به‌موازات صفات ریخت‌شناختی (مورفولوژیک) بررسی شوند.

بین رقم حساس و مقاوم می‌تواند گویای نقش مؤثر آن در بروز مقاومت باشد تفاوت قابل ملاحظه فعالیت این آنزیم بین رقم حساس و مقاوم گویای نقش مؤثر آن در بروز مقاومت است. با توجه به نقش مهم APX در مسیر SAR (Davletova *et al.*, 2005)، این امکان وجود دارد که مقاومت رقم ناز در برابر کنه تارتن دونقطه‌ای از طریق مسیر سالیسیلیک اسید و به‌واسطه فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی چون APX باشد. محققان دیگر نیز در نتایج بررسی‌های خود، افزایش فعالیت این آنزیم را در نتیجه تغذیه آفات نشان داده‌اند که با نتایج این تحقیق همخوانی دارند (War *et al.*, 2015). Barbehenn *et al.* (2005) در نتایج بررسی‌های خود نشان دادند، سطح بالای فعالیت APX منجر به کاهش میزان آسکوریات موجود در بافت‌های گیاهی شده و از این طریق سبب کاهش رشد و نمو حشرات می‌شود. افزون بر این، نبود آسکوریات در معده حشرات سبب افزایش تنش اکسیداتیو و به دنبال آن تولید گونه‌های فعال اکسیژن بسیار ناپایداری چون سمی کوئینون‌ها، پراکسیدازها و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود. همچنین APX با اکسید کردن فنل‌ها به کوئینون‌ها بازدارنده تغذیه حشرات می‌شود.

### REFERENCES

1. Arimura, G. I., Matsui, K. & Takabayashi, J. (2009). Chemical and molecular ecology of herbivore-induced plant volatiles: proximate factors and their ultimate functions. *Plant and Cell Physiology*, 50, 911-923.
2. Asada, K. (1992). Ascorbate peroxidase—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*, 85, 235-241.
3. Barbehenn, R., Cheek, S., Gasperut, A., Lister, E. & Maben, R. (2005). Phenolic compounds in red oak and sugar maple leaves have prooxidant activities in the midgut fluids of *Malacosoma disstria* and *Orgyia leucostigma* caterpillars. *Journal of chemical ecology*, 31(5), 969-988.
4. Bailly, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14, 93-107.
5. Bailly, C., Benamar, A., Corbineau, F. & Côme, D. (2000). Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming. *Seed Science Research*, 10, 35-42.
6. Barbehenn, R., Dukatz, C., Holt, C., Reese, A., Martiskainen, O., Salminen, J. P. & Constabel, C. P. (2010). Feeding on poplar leaves by caterpillars potentiates foliar peroxidase action in their guts and increases plant resistance. *Oecologia*, 164, 993-1004.
7. 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*, 72(1-2), 248-254.
8. Cakmak, I. & Horst, W. J. (1991). Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiologia Plantarum*, 83, 463-468.

9. Camejo, D., Martí, M. C., Román, P., Ortiz, A. & Jiménez, A. (2010). Antioxidant system and protein pattern in peach fruits at two maturation stages. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58, 11140-11147.
10. Çetin, H., Arslan, D. & Musa Özcan, M. (2011). Influence of Eriophyid mites (*Aculus olearius* Castagnoli and *Aceria oleae* (Nalepa) (Acarina: Eriophyidae)) on some physical and chemical characteristics of Ayvalık variety olive fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91, 498-504.
11. Davletova, S., Rizhsky, L., Liang, H., Shengqiang, Z., Oliver, D. J., Coutu, J. & Mittler, R. (2005). Cytosolic ascorbate peroxidase 1 is a central component of the reactive oxygen gene network of Arabidopsis. *The Plant Cell*, 17, 268-281.
12. Diaz-Montano, J., Reese, J. C., Schapaugh, W. T. & Campbell, L. R. (2006). Characterization of antibiosis and antixenosis to the soybean aphid (*Hemiptera: Aphididae*) in several soybean genotypes. *Journal of economic entomology*, 99, 1884-1889.
13. Dowd, P. F. (1994). Enhanced maize (*Zea mays* L.) pericarp browning: associations with insect resistance and involvement of oxidizing enzymes. *Journal of chemical ecology*, 20, 2777-2803.
14. Fu, L., Xu, B. T., Xu, X. R., Gan, R. Y., Zhang, Y., Xia, E. Q., & Li, H. B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129, 345-350.
15. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 48, 909-930.
16. Goel, A. & Sheoran, I. S. (2003). Lipid peroxidation and peroxide-scavenging enzymes in cotton seeds under natural ageing. *Biologia plantarum*, 46, 429-434.
17. Gulsen, O., Eickhoff, T., Heng-Moss, T., Shearman, R., Baxendale, F., Sarath, G. & Lee, D. (2010). Characterization of peroxidase changes in resistant and susceptible warm-season turfgrasses challenged by *Blissus occiduus*. *Arthropod-Plant Interactions*, 4, 45-55.
18. Han, Y., Wang, Y., Bi, J. L., Yang, X. Q., Huang, Y., Zhao, X. & Cai, Q. N. (2009). Constitutive and induced activities of defense-related enzymes in aphid-resistant and aphid-susceptible cultivars of wheat. *Journal of chemical ecology*, 35(2), 176-182.
19. Howe, G. A. & Jander, G. (2008). Plant immunity to insect herbivores. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 59, 41-66.
20. Johnson, K. S. & Felton, G. W. (2001). Plant phenolics as dietary antioxidants for herbivorous insects: a test with genetically modified tobacco. *Journal of chemical ecology*, 27, 2579-2597.
21. Kaur, H., Gupta, A. K., Kaur, N. & Sandhu, J. S. (2009). Differential response of the antioxidant system in wild and cultivated genotypes of chickpea. *Plant growth regulation*, 57, 109.
22. Kielkiewicz, M. & Van de Vrie, M. (1990). Within-leaf differences in nutritive value and defence mechanism in chrysanthemum to the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). *Experimental and Applied Acarology*, 10(1), 33-43.
23. Lin, J. Y. & Tang, C. Y. (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. *Food chemistry*, 101, 140-147.
24. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193, 265-275.
25. Martínez-Ferrer, M. T., Jacas, J. A., Ripollés-Moles, J. L. & Aucejo-Romero, S. (2006). Approaches for sampling the twospotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on clementines in Spain. *Journal of economic entomology*, 99, 1490-1499.
26. Meier, U. (1997). Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. Blackwell Wissenschafts-Verlag.
27. Migeon A., Dorkeld F. (2006-2016). Spider Mites Web: a comprehensive database for Tetranychidae [Internet] Available from: <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb>. Last accessed on November 2016
28. Migeon, A., Nouguié, E. & Dorkeld, F. (2011). in *Trends in Acarology*, Springer, 557-560.
29. Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. & Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in plant science*, 9, 490-498.
30. Moran, P. J. (2001). The effects of wilt symptom development and peroxidase induction on interactions between vascular wilt bacteria and cucumber beetles. *Entomologia experimentalis et applicata*, 98, 149-156.
31. Moustafa-Farag, M., Bingsheng, F., Malangisha Guy, K., Hu, Z., Yang, J. & Zhang, M. (2016). Activated antioxidant enzymes-reduced malondialdehyde concentration, and improved mineral

- uptake-promoted watermelon seedlings growth under boron deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 39(14), 1989-2001
32. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22, 867-880.
  33. Racchi, M. L. (2013). Antioxidant Defenses in Plants with Attention to *Prunus* and *Citrus* spp. *Antioxidants*, 2, 340-369.
  34. Saeidi, Z. & Slehi, F. (2005). The Study of resistance of selected lines from local common bean variety to two spotted spider mite. *Methods in enzymology*, 105, 121-126.
  35. Scully, B. T., East, D. A., Edelson, J. V. & Cox, E. L. (1991). Resistance to the two-spotted spider mite in muskmelon. In *Florida State Horticultural Society* (pp. 276-278).
  36. Shannon, M. C. & Grieve, C. M. (1998). Tolerance of vegetable crops to salinity. *Scientia Horticulturae*, 78, 5-38.
  37. Sharma, H. C. (2007). Host plant resistance to insects: modern approaches and limitations. *Indian Journal of plant protection*, 35(2), 179-184.
  38. Stumpf, N. & Nauen, R. (2001). Cross-resistance, inheritance, and biochemistry of mitochondrial electron transport inhibitor-acaricide resistance in *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 94, 1577-1583.
  39. Sytykiewicz, H. (2014). Differential expression of superoxide dismutase genes in aphid-stressed maize (*Zea mays* L.) seedlings. *PLoS One*, 9(4), e94847.
  40. Tahmasebi, Z., Mohammadi, H., Arimura, G. I., Muroi, A. & Kant, M. R. (2014). Herbivore-induced indirect defense across bean cultivars is independent of their degree of direct resistance. *Experimental and Applied Acarology*, 63(2), 217-239.
  41. Trevisan, M. T. S., Scheffer, J. J. & Verpoorte, R. (2003). Peroxidase activity in hop plants after infestation by red spider mites. *Crop Protection*, 22, 423-424.
  42. War, A. R., Paulraj, M. G., Ahmad, T., Buhroo, A. A., Hussain, B., Ignacimuthu, S. & Sharma, H. C. (2012a). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Plant signaling & behavior*, 7, 1306-1320.
  43. War, A. R., Paulraj, M. G., War, M. Y. & Ignacimuthu, S. (2012b). Differential defensive response of groundnut germplasm to *Helicoverpa armigera* (Hubner)(Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Plant Interactions*, 7, 45-55.
  44. War, A. R., Munghate, R. S. & Sharma, H. C. (2015). Expression of different mechanisms of resistance to insects in groundnut under field conditions. *Phytoparasitica*, 43(5), 669-677.
  45. Wei, H., Zhikuan, J. & Qingfang, H. (2007). Effects of herbivore stress by *Aphis medicaginis* Koch on the Malondialdehyde contents and the activities of protective enzymes in different alfalfa varieties. *Acta Ecologica Sinica*, 27(6), 2177-2183
  46. Zhang, S. Z., Hua, B. Z. & Zhang, F. (2008). Induction of the activities of antioxidative enzymes and the levels of malondialdehyde in cucumber seedlings as a consequence of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) infestation. *Arthropod-Plant Interactions*, 2(4), 209-213