University of Guilan
Faculty of Agricultural Sciences

Cereal Research
Vol. 15, No. 3, Autumn 2025 (251-267)
doi: 10.22124/CR.2025.30794.1867
pISSN: 2252-0163 eISSN: 2538-6115

RESEARCH PAPER **OPEN ACCESS**

Studying the effect of several biological inducers of resistance in wheat against powdery mildew agent fungus (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*)

Farideh Farajollahi[1], Valiollah Babaeizad[2*], Mohammad Ali Tajick Ghanbary[3] and Ali Dehestani[4]

1. Ph.D. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
2. Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran ([*] Corresponding author: v.babaeizad@sanru.ac.ir)
3. Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
4. Associate Professor, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Comprehensive abstract

Introduction

Wheat (*Triticum aestivum*) is one of the most important food crops worldwide, and it faces several challenges, including fungal diseases such as powdery mildew caused by *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Bgt*). This pathogen can reduce wheat yield and quality. Fungicides and increasing plant genetic resistance are indeed common methods for controlling plant diseases but, these methods face limitations such as pathogen resistance and environmental concerns. As a result, there has been increased demand to alternative methods such as biological control by beneficial fungi and bacteria. These microbial agents not only combat pathogens, but also enhance the plant immune system. Also, non-host resistance is considered as a sustainable and widespread strategy to combat incompatible pathogens, and its induction can create a high level of sustainable immunity in plant. Finally, enhancing defense responses, such as the production of reactive oxygen species and the activation of their associated enzymes, plays an important role in plants defense response against fungal diseases.

Materials and methods

This study examined the effect of several biological agents such as *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*, *Tricoderma harzianum*, *Alternaria alternate*, *Serendipita indica*, *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* in susceptible and resistant wheat cultivars against powdery mildew disease. For this purpose, two wheat cultivars Ehsan and Tirgan were used as susceptible and resistant cultivars, respectively. This study was conducted as a factorial experiment on a completely randomized design with three replications. The treatments were sprayed on wheat seedlings at the two-leaf stage. Leaf sampling of control and with biological agents-treated wheat plants at 0, 24, 48, and 72 hours after inoculation with *Bgt*, and then the samples were used to assess the activity of catalase and polyphenol oxidase enzymes, as well as the expression of *PAL* gene. The pathogenicity intensity was evaluated seven days after *Bgt* inoculation. SPSS software was used to analysis of variance and comparison of means using Duncan's multiple range test at 5% probability level, and Excel software was used to create the figures.

Research findings

The results of this study showed that different biocontrol agents had varying effects on two wheat cultivars (susceptible and resistant) in response to the wheat powdery mildew pathogen. The number of fungal colonies significantly reduced in the resistant wheat cultivar compared to the susceptible one.

In the resistant wheat cultivar, treatment of *Serendipita indica* resulted in the lowest number of colonies. In the susceptible wheat cultivar, catalase activity was highest upon treatment of *Pseudomonas fluorescens*, showing a 160.7% increase compared to the control treatment, whereas in the resistant wheat cultivar, catalase activity increased by about 62% in *P. fluorescens* and *B. graminis* f. sp. *hordei* treatments. Additionally, the highest activity of polyphenol oxidase in the susceptible wheat cultivar was observed in *S. indica* tratetment, with a 190.2% increase compared to the control treatment. In the resistant wheat cultivar, the highest activity of this enzyme was recorded in treatments with *P. fluorescens* and *S. indica*, indicating 155.2% and 145.7% higher activity than the control, respectively. Moreover, *PAL* gene expression level revealed that most biocontrol treatment up-regulated PAL expression after *Bgt* inoculation, with the highest induction recorded in wheat plants treated with *P. fluorescens* at 24 hours post-inoculation (hpi).

Conclusion

The results of this study indicated that biological treatments can have different effects on disease resistance and enzyme activity in wheat. These agents can be considered as a suitable option for plant disease management in wheat.

Keywords: Antioxidant enzymes, Biological control, Induced resistance

Received: June 2, 2025 Accepted: September 23, 2025

Cite this article:

Farajollahi, F., Babaeizad, V., Tajick Ghanbary, M. A., & Dehestani, A. (2025). Studying the effect of several biological inducers of resistance in wheat against powdery mildew agent fungus (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*). *Cereal Research*, *15*(3), 251-267. doi: 10.22124/CR.2025.30794.1867.

تحقیقات غلات
دوره پانزدهم، شماره سوم، پاییز ۱۴۰۴ (۲۶۷-۲۵۱)
doi: 10.22124/CR.2025.30794.1867
مقاله پژوهشی
دسترسی آزاد

بررسی تأثیر چند القاکننده زیستی مقاومت در گیاه گندم در برابر قارچ عامل سفیدک پودری (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*)

فریده فرج‌اللهی[۱]، ولی‌الله بابایی‌زاد[۲*]، محمدعلی تاجیک قنبری[۳] و علی دهستانی[۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۲- استاد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران (* نویسنده مسئول: v.babaeizad@sanru.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۴- دانشیار، پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

چکیده جامع

مقدمه: گندم (*Triticum aestivum*) یکی از مهم‌ترین محصولات غذایی جهان است که با چالش‌های متعددی از جمله بیماری‌های قارچی مانند سفیدک پودری ناشی از *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Bgt*) مواجه است. این بیماری می‌تواند عملکرد و کیفیت گندم را کاهش دهد. روش‌های رایج کنترل بیماری شامل استفاده از قارچ‌کش‌ها و افزایش مقاومت ژنتیکی گیاه است، اما این روش‌ها با محدودیت‌هایی مانند مقاومت بیمارگرها و نگرانی‌های زیست‌محیطی مواجه هستند. به این دلیل، توجه به روش‌های جایگزین مانند کنترل زیستی با استفاده از قارچ‌ها و باکتری‌های مفید افزایش یافته است. این عوامل نه تنها با بیمارگرها مقابله می‌کنند، بلکه سیستم ایمنی گیاه را نیز تقویت می‌کنند. همچنین، مقاومت غیرمیزبانی به‌عنوان یک راه‌کار پایدار و گسترده برای مقابله با بیمارگرهای ناسازگار مورد توجه قرار گرفته است و القای آن می‌تواند سطح بالایی از مقاومت پایدار را در گیاه ایجاد کند. در نهایت، تقویت پاسخ‌های دفاعی مانند تولید گونه‌های فعال اکسیژن و فعال‌سازی آنزیم‌های مرتبط با آن‌ها، نقش مهمی در مقابله گیاه با بیماری‌های قارچی دارد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، اثر چند عامل زیستی شامل قارچ‌های *Tricoderma harzianum*، *Alternaria alternata*، *Serendipita indica* و *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*(*Bgh*) و باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* بر پاسخ رقم‌های حساس و مقاوم گندم به بیماری سفیدک پودری مورد مطالعه قرار گرفت. برای این منظور از دو رقم گندم احسان و تیرگان به‌ترتیب به‌عنوان رقم‌های حساس و مقاوم استفاده شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای عوامل زیستی در مرحله دوبرگی روی گیاهچه‌ها اسپری شدند. نمونه‌برداری از برگ گیاهان شاهد و تیمار شده با عوامل کنترل زیستی برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز و بیان ژن *PAL* در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* انجام شد. ارزیابی تعداد کلنی‌های تشکیل شده بیمارگر، هفت روز بعد از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* صورت گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

یافته‌های تحقیق: نتایج این مطالعه نشان داد که تیمارهای مختلف عوامل زیستی در دو رقم حساس و مقاوم گندم در پاسخ به قارچ عامل سفیدک پودری تأثیر متفاوتی داشتند. تعداد کلنی‌های قارچ در رقم مقاوم به‌طور معنی‌داری کم‌تر از رقم حساس بود و کاربرد عوامل زیستی موجب کاهش کلنی‌های بیمارگر شد. در میان تیمارها، قارچ *Serendipita indica* در رقم مقاوم کم‌ترین تعداد کلنی را القا کرد. فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم حساس پس از تیمار با *Pseudomonas fluorescens* بیش‌ترین فعالیت را نشان داد که نسبت به شاهد ۱۶۰/۷ درصد افزایش داشت، در حالی‌که در رقم مقاوم تیمارهای *P. fluorescens* و *B. graminis f. sp. hordei* افزایش حدود ۶۲ درصد را القا کردند. همچنین، فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در رقم حساس پس از تیمار با *S. indica* بیش‌ترین مقدار را نشان داد که نسبت به شاهد ۱۹۰/۲ درصد افزایش داشت. در رقم مقاوم، بیش‌ترین فعالیت این آنزیم مربوط به تیمارهای *P. fluorescens* و *S. indica* بود که به‌ترتیب حدود ۱۵۵/۲۴ و ۱۴۵/۶۵ درصد بیش‌تر از تیمار شاهد بودند. علاوه بر این، نتایج بیان ژن *PAL* نشان داد که بیش‌تر عوامل زیستی موجب القای بیان ژن *PAL* پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* شدند، اما بیش‌ترین بیان در تیمار *P. fluorescens* در ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* ثبت شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که عوامل زیستی تأثیر متفاوتی بر مقاومت به بیماری و فعالیت آنزیمی در گندم دارند و برخی از این عوامل می‌توانند به‌عنوان یک گزینه مناسب برای مدیریت بیماری سفیدک سطحی در گندم در نظر گرفته شوند.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، کنترل زیستی، مقاومت القایی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۷/۰۱

نحوه استناد به این مقاله:

فرج‌اللهی، فریده، بابایی‌زاد، ولی‌الله، تاجیک قنبری، محمدعلی، و دهستانی، علی. (۱۴۰۳). بررسی تأثیر چند القاکننده زیستی مقاومت در گیاه گندم در برابر قارچ عامل سفیدک پودری (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*). *تحقیقات غلات*، *۱۵*(۳)، ۲۶۷-۲۵۱.
doi: 10.22124/CR.2025.30794.1867

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum*) به‌طور قابل توجهی در تأمین کالری انسان، امنیت غذایی و پایداری کشاورزی جهانی کمک می‌کند. تقاضا برای تولید گندم تحت تأثیر افزایش جمعیت انسانی است؛ با این‌حال، این محصول به‌طور مداوم توسط بیمارگرهای قارچی مختلف تهدید می‌شود (Mapuranga *et al*., 2022). قارچ *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Bgt*) به‌عنوان ششمین بیمارگر قارچی مهم در جهان شناخته می‌شود و باعث ایجاد بیماری سفیدک پودری و تخریب برگ‌ها می‌شود (Dean *et al*., 2012; Liu *et al*., 2021). بروز بیماری سفیدک پودری در گندم از مرحله گیاهچه‌ای تا مرحله رسیدگی کامل قابل مشاهده است و شدت آلودگی‌ها می‌تواند به ۵۰ درصد برسد (Gao *et al*., 2018; Savary *et al*., 2019). این بیماری کیفیت دانه را در بوته‌های آلوده کاهش می‌دهد (Samobor *et al*., 2006). کنیدیوم‌ها و آسکوسپورها از عوامل اصلی در ایجاد بیماری هستند. *Bgt* عمدتاً با تکثیر غیرجنسی از طریق تولید مکرر کنیدیوم، موجب ایجاد آلودگی می‌شود (Zhu *et al*., 2017).

روش‌های رایج برای کنترل بیماری سفیدک پودری شامل ایجاد مقاومت در میزبان و استفاده از قارچ‌کش‌ها است. از آنجا که بیماری‌زایی بیمارگر و مقاومت میزبان به‌طور همزمان تکامل می‌یابند، مقاومت کیفی به‌سرعت کارایی خود را از دست می‌دهد (McDonald & Linde, 2002). استفاده مداوم از قارچ‌کش‌ها خطراتی برای انسان و محیط زیست دارد و همچنین باعث مقاومت قارچ‌ها به قارچ‌کش‌ها می‌شوند (Safaei *et al*., 2022). عوامل کنترل زیستی به‌عنوان یک راه حل مقرون به‌صرفه و قابل قبول از نظر سلامت محیط زیست، احتمال ظهور سویه‌های مقاوم به قارچ‌کش‌ها را کاهش می‌دهند و می‌توانند به‌عنوان یک راهبرد کاربردی در برنامه‌های مدیریت یکپارچه بیماری سفیدک پودری گندم گنجانده شوند تا حفاظت در برابر بیماری را افزایش دهند و در عین حال سودآوری و تولید را نیز حفظ کنند (Choudaker *et al*., 2024).

قارچ اندوفیت *Serendipita indica*، نوع کلاسیکی از همزیستی متقابل مایکوریزایی را با طیف وسیعی از گیاهان میزبان برقرار می‌کند (Qiang *et al*., 2012). مطالعات نشان می‌دهند که *S. indica* می‌تواند تعاملات مفیدی با میزبان‌های مختلف از جمله تک‌لپه‌ای‌ها مانند گندم، جو، برنج و ذرت و نیز دولپه‌ای‌ها مانند آرابیدوپسیس و تنباکو برقرار کند (Qiang *et al*., 2012). مایه‌زنی *S. indica* باعث مقاومت جو در برابر *Cochliobolus sativus* (Sahay & Varma, 1999) و مقاومت سیستمیک در برابر *Blumeria graminis* شده است (Deshmukh & Kogel, 2007). لی و همکاران (Li *et al*., 2022) در مطالعه‌ای بیان داشتند که *S. indica* در برابر قارچ‌های *Fusarium graminearum* و *Rhizoctonia cerealis* اثر مهارکنندگی داشته است.

ریزوباکتری‌ها به‌عنوان عوامل کنترل زیستی برای سرکوب بیماری‌های گیاهی و القا کننده مکانیسم‌های مقاومت به بیماری‌ها مورد بررسی قرار گرفته‌اند (Gerhardson, 2002; El-Sayed *et al*., 2014). به‌ویژه، دو سویه *Pseudomonas* و *Bacillus* برای مدیریت بیمارگرهای گیاهی و افزایش رشد گیاهان به‌طور مؤثری استفاده شده‌اند (Chen *et al*., 2009; El-Sayed *et al*., 2014).

گونه‌های قارچ *Trichoderma* به‌عنوان عوامل کنترل زیستی شناخته می‌شوند که از گیاهان در برابر تعداد زیادی از بیمارگرهای گیاهی محافظت می‌کنند (Benítez *et al*., 2004). چندین مکانیزم مولکولی برای توانایی کنترل زیستی این قارچ‌ها از جمله تداخل با چرخه‌های زندگی بیمارگرهای گیاهی از طریق میکوپارازیتیسم یا هایپرپارازیتیسم، ترشح آنتی‌بیوتیک‌ها (ترکیبات آلی فرار) و آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی خارج‌سلولی، رقابت برای مواد مغذی و فضا، تغییر شیمیایی شرایط محیطی و تنظیم عملکرد ایمنی ذاتی میزبان گزارش شده است (Saadaoui *et al*., 2023). استفاده از این قارچ موجب افزایش مقاومت به بیماری در برابر طیف وسیعی از قارچ‌های بیمارگر گیاهی می‌شود (Yuan *et al*., 2019; Kthiri *et al*., 2020; Saadaoui *et al*., 2023).

مقاومت غیرمیزبانی به معنای مقاومت گیاهان در برابر تمامی بیمارگرهای ناسازگار است و به‌عنوان پایدارترین و کارآمدترین سیستم ایمنی در گیاهان شناخته می‌شود (Barna *et al*., 2022). مطالعات نشان می‌دهد که القای مقاومت غیرمیزبانی در برابر یک بیمارگر، می‌تواند مقاومت قابل ملاحضه‌ای ایجاد کند (Panstruga & Kuhn, 2019). علاوه بر این، این نوع مقاومت، مقاومت القایی حفاظتی پایدار فراهم می‌کند که می‌تواند از چند هفته تا چند ماه ادامه داشته باشد (Kogel & Langen, 2005). مایه‌زنی بیمارگر غیرمیزبان سفیدک پودری جو (*Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) به گندم، باعث القای مقاومت در برابر آلودگی توسط *Blumeria*

graminis f.sp. *tritici* (*Bgt*) و همچنین زنگ ساقه *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* شده است (Barna *et al*., 1998; Barna *et al*., 2022; Martinelli *et al*., 1993). قارچ *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl در انواع مختلف گیاهان در سرتاسر جهان وجود دارد. در حالی که این قارچ پتانسیل تهاجمی دارد، اما اکثر آن‌ها به‌دلیل مقاومت غیرمیزبانی، قادر به حمله به گیاهان غیرمیزبان نیستند (Otani *et al*., 1991; Egusa *et al*., 2013). القای مقاومت غیرمیزبانی در برابر قارچ *Alternaria alternata* در گیاه آرابیدوبسیس (Narusaka *et al*., 2005) گزارش شده است.

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که گیاهان با فعال‌سازی پاسخ‌های دفاعی، می‌توانند مکانیسم‌های دفاعی مناسبی را برای شناسایی و مقاومت در برابر بیمارگرها تکامل دهند (Dangl & Jones, 2001). یکی از این واکنش‌ها، تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH) و آنیون‌های سوپراکسید (O_2) است (Zhang *et al*., 2021). آنزیم‌های پاک‌سازی ROS مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز آسکوربات (APX) نقش اساسی در تنظیم سطوح ROS و میزان آسیب اکسیداتیو ایفا می‌کنند (Zhang *et al*., 2021). در گیاهان عالی، پاسخ دفاعی دیگری وجود دارد که مسیر فنیل پروپانوئید نامیده می‌شود (Hou *et al*., 2019). فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) اولین آنزیم دخیل در سنتز تعدادی از ترکیبات فنولی و لیگنینی دفاعی با ساختارهای متنوع است. پلی‌فنول اکسیداز (PPO) نیز آنزیم کلیدی دیگری است که در تشکیل ترکیبات فنولی برای دفاع در برابر بیمارگرها در گیاهان نقش دارد (Niu *et al*., 2018).

با توجه به موارد بالا و با توجه به این که شناسایی عوامل زیستی که قادر به مهار بیمارگرهای گیاهی هستند، برای توسعه عوامل کنترل زیستی ضروری است، از این‌رو این مطالعه انجام شد که هدف از آن بررسی اثر قارچ‌های *Trichoderma harzianum*، *Alternaria alternata*، *Serendepita indica*، *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* (*Bgh*) و باکتری‌های *Pseudomonas fluorescences* و *Bacillus subtilis* بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز و بیان ژن *PAL* در پاسخ به قارچ سفیدک پودری در گیاه گندم بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و نگهداری قارچ عامل سفیدک پودری گندم و جو

قارچ‌های *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* و *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه و کنیدیوم‌های قارچ‌ها روی واریته حساس گندم (احسان) و جو (افضل) در اتاقک رشد در دمای ۲۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۷۰ درصد و تناوب ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بر اساس روش پائول و همکاران (Paul *et al*., 2000) نگهداری شدند.

کشت عوامل زیستی و تهیه سوسپانسیون

قارچ‌های *Trichoderma harzianum*، *Alternaria alternate* و *Serendipita indica* از آزمایشگاه قارچ‌شناسی و باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* و *Bacillus subtilis* از آزمایشگاه باکتری‌شناسی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تهیه شدند. قارچ‌های *T. harzianum*، *S. indica* و *A. alternate* در محیط PDA (Potato Dextrose Agar) کشت و در دمای ۲۸ درجه سلسیوس در انکوباتور نگهداری شدند. پس از رشد کافی پرگنه قارچ‌ها، با خراش دادن کلنی‌ها، اسپورها جمع‌آوری و در آب و توئین ۲۰ (به‌نسبت نیم میلی‌لیتر توئین ۲۰ در یک لیتر آب) با استفاده از ورتکس مخلوط و سوسپانسیون اسپور با غلظت ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد (Kthiri *et al*., 2020). باکتری‌های *B. subtilis* و *P. fluorescens* نیز در محیط کشت NAS (Nutrient Agar Sucros) کشت و پس از یک یا دو روز رشد، سوسپانسیونی با غلظت $۱۰^{۸}$ سلول در میلی‌لیتر آب مقطر تهیه شد.

کشت گیاهچه‌های همسان و تیمار با عوامل زیستی

در این پژوهش از رقم احسان به‌عنوان ژنوتیپ حساس و رقم تیرگان به‌عنوان ژنوتیپ مقاوم استفاده شد. بذرهای هر دو رقم از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه شد. بذرهای گندم به‌مدت پنج دقیقه در محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی و سپس سه بار با آب مقطر استریل شسته شدند تا هر گونه باقیمانده هیپوکلریت سدیم حذف شود. به‌منظور جوانه‌زنی، بذرهای ضدعفونی شده در ظرف پتری حاوی کاغذ صافی مرطوب پخش شدند. چهار روز پس از جوانه‌زنی بذرها،

جوانه‌های تقریباً یکسان برای مایه‌زنی با عوامل زیستی و سپس کاشت در گلدان انتخاب شدند.

بذرهای جوانه‌زده به‌مدت چهار ساعت در سوسپانسیون تهیه شده از *T. harzianum*، *S. indica* و *B. subtilis* در دمای اتاق نگهداری و سپس به گلدان حاوی خاک استریل (یک قسمت پرلیت، یک قسمت ماسه، دو قسمت گیاه‌خاک و سه قسمت خاک رس) منتقل شدند. بقیه بذرهای جوانه‌زده به‌منظور تیمار با سایر عوامل زیستی به گلدان‌های مجزا منتقل شدند. گلدان‌ها در گلخانه در دمای ۲۴-۲۸ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۷۰ درصد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از طی یک هفته و تولید گیاهچه‌های جوان، گلدان‌هایی که برای تیمار سفیدک جو در نظر گرفته شده بودند، با سوسپانسیون تهیه شده از قارچ *Blumeria graminis* f.sp. *hordei* با غلظت 5×10^5 اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر و گلدان‌هایی که برای تیمار *A. alternata* و *P. fluorescens* در نظر گرفته شده بودند، با سوسپانسیون تهیه شده از این عوامل زیستی به‌صورت اسپری مایه‌زنی شدند.

مایه‌زنی گیاهچه‌ها با قارچ عامل سفیدک پودری *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*(*Bgt*)

گیاهچه‌های در حال رشد، ده روز پس از تیمار با *T. harzianum*، *S. indica* و *B. subtilis* و سه روز پس از تیمار با *Bgh*، *P. fluorescens* و *A. alternata* توسط قارچ عامل سفیدک پودری (*Bgt*) *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* با غلظت 5×10^5 اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر مایه‌زنی شدند. مایه‌زنی با استفاده از یک افشانه دستی و طبق روش استاندارد تشریح شده توسط پائول و همکاران (Paul *et al*., 1999) انجام شد.

تهیه نمونه‌های برگی

نمونه‌برداری از بافت برگ در زمان‌های صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی با *Bgt* انجام شد. نمونه‌های برگی در یک قطعه فویل آلومینیومی پیچیده و به‌سرعت در ازت مایع غوطه‌ور و سپس به فریزر ۸۰- درجه سلسیوس منتقل شدند.

استخراج عصاره آنزیمی

نمونه‌های مربوط به ساعت ۷۲ در ازت مایع پودر شد و ۰/۱ گرم از این پودر با ۱/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=6.8) مخلوط شد. سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ و مایع بالایی به‌عنوان منبع آنزیم استفاده شد (Reuveni, 2017).

اندازه‌گیری محتوای پروتئین محلول

محتوای پروتئین محلول عصاره‌های آنزیمی با استفاده از روش برادفورد آلبومین سرم گاوی محاسبه شد (Bradford, 1976).

اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز و پلی‌فنول اکسیداز

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، ۲۵ میکرولیتر عصاره آنزیمی با سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار حاوی ۵ میلی‌مولار H_2O_2 مخلوط و تغییرات جذب آن‌ها به‌مدت ۲ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از اسپکترفتومتر قرائت شد (Aebi, 1984). فعالیت آنزیم به‌صورت نرخ کاهش جذب در دقیقه به‌ازای هر گرم پروتئین در نمونه‌های بافت تازه کمی‌سازی شد. جهت اندازه‌گیری فعلیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نیز ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی با دو میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار و ۵۰۰ میکرولیتر کاتکول ۰/۰۵ مولار مخلوط و تغییرات جذب آن‌ها در طول موج ۴۲۰ نانومتر با استفاده از اسپکترفتومتر قرائت شد (Liu *et al*., 2005). تغییرات جذب به‌طور سیستماتیک در فواصل ۳۰ ثانیه‌ای طی دو دقیقه ثبت شد. مقدار فعالیت پلی‌فنل اکسیداز به‌صورت نرخ تغییر جذب در دقیقه به‌ازای هر گرم پروتئین در نمونه‌های بافت تازه کمی‌سازی شد.

بررسی بیان ژن

نمونه‌های مربوط به تمام بازه‌های زمانی (۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی با *Bgt*) در ازت مایع سائیده و پودر شدند و سپس ۱۰۰۰ میلی‌گرم از پودر حاصل به ویال دو میلی لیتری منتقل شدند. استخراج RNA توسط کیت RNX-Plus (شرکت سیناکلون) انجام و کیفیت RNA استخراج شده با الکتروفورز ژل آگارز ۱/۵ درصد در بافر TBE تعیین شد. به‌منظور حذف آلودگی‌های احتمالی DNA از RNA از کیت DNase I, RNase-free ساخت شرکت Thermo استفاده شد. برای ساخت cDNA، از کیت SinaClon First Strand cDNA Synthesis Kit استفاده شد. نمونه‌های cDNA سنتز شده در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. جهت بررسی کیفیت نمونه‌های cDNA سنتز شده از qPCR (*Quantitative PCR*) با آغازگر اختصاصی *B- Actin* استفاده شد.

تجزیه و تحلیل بیان ژن با روش Quantitative real-time PCR انجام شد. برای این منظور از دستگاه Applied Biosystems® StepOnePlus™ Real-Time PCR و کیت Ampliqon Syber Green Master Mix (2X) استفاده و واکنش بر اساس برنامه دمایی و زمانی خاص در هر چرخه انجام شد (جدول ۱). در این بررسی، ژن *B-Actin* به‌عنوان ژن خانه‌دار و ژن *PAL* به‌عنوان ژن هدف مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). آنالیز نتایج بیان ژن نیز با استفاده از رابطه $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ انجام شد (Livak & Schmittgen, 2001).

جدول ۱- برنامه دمایی استفاده شده در واکنش Real Time PCR

Table 1. Temperature program used in the Real Time PCR reaction

Step name	Temperature (ºC)	Time	Cycle
Denaturation	95	10 min	1
Denaturation	95	15 sec	40
Annealing / Extension	60	1 min	
Denaturation	95	15 sec	1
Annealing	60	1 min	
Extension	95	15 sec	

جدول ۲- توالی آغازگرهای مورد استفاده در این مطالعه

Table 2. Primers sequences used in this study

Gene name	Forward primer	Reverce primer
B- Actin	GGAAAAGTGCAGAGAGACACG	TACAGTGTCTGGATCGGTGGT
PAL	CCAATGTTCTGTCCGTCCTT	CTTCAGCTTGTGGGTCAGGT

ارزیابی توانایی عوامل زیستی در القای مقاومت

به‌منظور بررسی توانایی عوامل زیستی در القای مقاومت در گندم در برابر قارچ *Bgt*، نمونه‌برداری از برگ گیاهچه‌های شاهد و گیاهچه‌های همزیست شده با عوامل زیستی مانند قارچ‌های *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*، *T. harzianum*، *A. alternata* و *S. indica* و باکتری‌های *P. fluorescences* و *B. subtilis* هفت روز پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* صورت گرفت و تعداد کلنی قارچ بیمارگر رشد یافته در ۲/۵ سانتی‌متر مربع از هر برگ شمارش شد (Ahangar *et al*., 2016).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

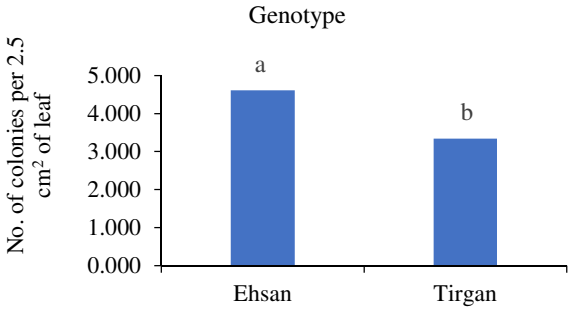
این مطالعه به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. مقایسه میانگین بین تیمارها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد تا تفاوت‌های معنی‌دار بین تیمارهای مورد مطالعه در سطح احتمال پنج درصد مورد بررسی و شناسایی قرار گیرد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶,۰) استفاده شد و نمودارهای مورد نیاز نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel نسخه ۱۶ رسم شدند.

نتایج و بحث

ارزیابی توانایی عوامل زیستی در القای مقاومت در برابر قارچ *Bgt*

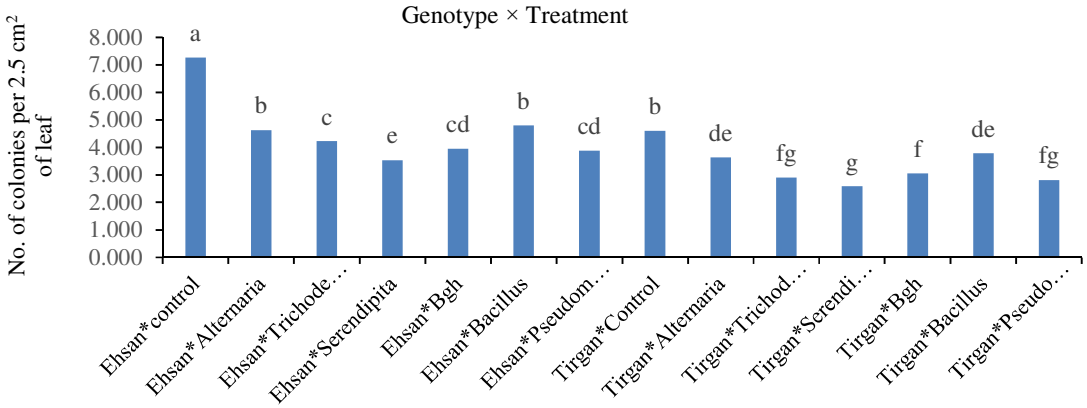
نتایج بررسی تعداد کلنی‌های رشدیافته در برگ دو رقم حساس و مقاوم گندم تیمار شده با عوامل زیستی (شامل قارچ‌های *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*، *Tricoderma harzianum*، *Alternaria alternata* و *Serendipita indica* و باکتری‌های *Bacillus subtilis* و *Pseudomonas fluorescences*) بعد از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* نشان داد که تعداد کلنی‌های رشدیافته قارچ بیمارگر در رقم مقاوم (تیرگان) به‌میزان ۲۷/۵۹ درصد کم‌تر از رقم حساس (احسان) بوده و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود (شکل ۱). نتایج مقایسه میانگین برهمکنش عوامل زیستی و رقم از نظر تعداد کلنی‌های رشدیافته بیمارگر پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* نیز نشان داد که عوامل زیستی در کاهش تعداد کلنی‌های بیمارگر در هر دو رقم حساس و مقاوم مؤثر بودند، اما پاسخ دو رقم حساس و مقاوم به عوامل زیستی متفاوت بود، به‌طوری که کم‌ترین تعداد کلنی مربوط به عامل *S. indica* در رقم مقاوم تیرگان با حدود ۲/۵۸ عدد کلنی در هر ۲/۵

سانتی‌متر مربع بود و در مقابل بیش‌ترین تعداد کلنی در تیمار شاهد و در رقم حساس احسان با حدود ۷/۲۶ کلنی در هر ۲/۵ سانتی‌متر مربع و پس از آن در تیمارهای *B. subtilis* و *A. alternata* به‌ترتیب با ۴/۸ و ۴/۶۳ کلنی در هر ۲/۵ سانتی‌متر مربع مشاهده شد (شکل ۲). اثر آنتاگونیستی عوامل میکروبی مانند *P. fluorescens*، *Bacillus amyloliquefaciens*، *B. subtilis*، *T. harzianum* و *Aspergillus niger* در برابر قارچ سفیدک سطحی در گندم (Choudaker *et al*., 2024) و همچنین اثر مهارکنندگی *B. tequilensis* بر قارچ سفیدک پودری گندم گزارش شده است (Bi *et al*., 2025). این نتایج نشان می‌دهند که عوامل زیستی استفاده شده در برابر قارچ *Bgt* موجب بازدارندگی از رشد بیمارگر در گندم می‌شوند.



شکل ۱- مقایسه تعداد کلنی‌های رشدیافته در ۲/۵ cm^2 از برگ دو رقم گندم حساس (احسان) و مقاوم (تیرگان) تیمار شده با عوامل زیستی پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt*

Figure 1. Comparison of the number of colonies per 2.5 cm² of wheat leaves in two susceptible and resistant wheat cultivars treated with biocontrol agents after inoculation with *Bgt*



شکل ۲- مقایسه تعداد کلنی‌های رشدیافته در ۲/۵ cm^2 از برگ دو رقم گندم تیمارشده با عوامل زیستی پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt*

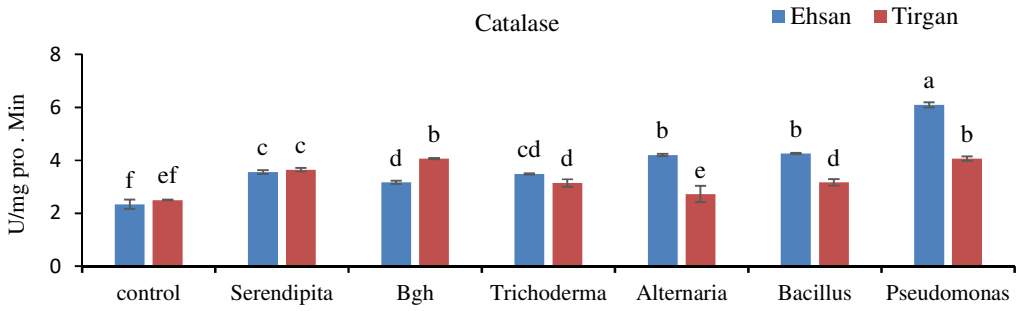
Figure 2. Comparison of the number of colonies per 2.5 cm² of wheat leaves treated with biocontrol agents after inoculation with *Bgt*

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در دو رقم حساس و مقاوم گندم در تیمارهای مختلف پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* تفاوت معنی‌داری را نشان داد. بر این اساس، در رقم حساس (احسان) تیمار شده با عوامل زیستی مختلف پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt*، افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد. بیش‌ترین مقدار فعالیت این آنزیم در تیمار *P. fluorescens* (۶/۰۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) مشاهده شد، به‌طوری که نسبت به تیمار شاهد، ۱۶۰/۷۳ درصد افزایش داشت. پس از آن، تیمارهای *B. subtilis* و *A. alternata* نیز افزایش قابل توجهی نسبت به تیمار شاهد (به‌ترتیب در حدود ۸۲ و ۷۹/۷۱ درصد) نشان دادند. در مقابل، بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم مقاوم تیرگان در تیمارهای *P. fluorescens* و *Bgh* ثبت شد که به‌ترتیب ۶۲/۳۶ و ۶۲/۵۵ درصد نسبت به شاهد افزایش داشت. همچنین، کم‌ترین میزان فعالیت

آنزیم کاتالاز برای رقم حساس در تیمارهای شاهد و *A. alternata* (به‌ترتیب با ۲/۳۳ و ۲/۷۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و برای رقم مقاوم در تیمارهای شاهد و *Bgh* (به‌ترتیب با ۲/۵ و ۳/۱۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) ثبت شد (شکل ۳). همچنین، دو رقم فعالیت آنزیمی متفاوتی در هر یک از تیمارها نشان دادند. برای مثال، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار *A. alternata* در رقم مقاوم تیرگان تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت، در حالی‌که در رقم حساس احسان ۷۹/۷۱ درصد در مقایسه با شاهد افزایش یافت. همچنین، در تیمار *Bgh* فعالیت آنزیم در رقم تیرگان حدود ۲۸/۱۱ درصد بیش‌تر از رقم احسان بود (شکل ۳). این نتایج نشان می‌دهد که سطح فعالیت آنزیم کاتالاز به رقم گندم و نوع تیمار عامل زیستی بستگی دارد و برهمکنش آن‌ها می‌تواند اثر تعیین کننده‌ای در پاسخ دفاعی گیاه به بیمارگر داشته باشد.

نتایج مطالعات ژو و همکاران (Hu *et al.*, 2019) نشان داد که *B. tequilensis* می‌تواند با افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی، مقاومت به بیماری را در گیاهان افزایش دهد. لی و همکاران (Li *et al.*, 2022) نشان دادند که میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، POD، کاتالاز و گلوتاردوکسین (GPX) در گندم تیمار شده با *S. indica* پس از آلودگی با *Rhizoctonia cerealis* و *Fusarium graminearum* افزایش یافت. یافته‌های چوداکر و همکاران (Choudaker *et al.*, 2024) نیز نشان داد که تیمار گیاه گندم با *B. subtilis* پس از آلودگی به قارچ بیمارگر *Bgt* باعث افزایش قابل توجه محتوای فنول کل و پروتئین محلول و آنزیم‌های دفاعی نظیر POD، PPO، کاتالاز و کیتیناز شد. همچنین، تیمار گیاهچه‌های گندم با ترکیب سویه‌های *B. subtilis*، *B. amyloliquefaciens* و *P. fluorescens* نیز منجر به افزایش مشابهی در واکنش‌های دفاعی گیاه شد. در مطالعه دیگری مشاهده شد که در گندم‌های تیمار شده با *B. tequilensis* که بعد از ۴۸ ساعت در معرض بیماری سفیدک پودری قرار گرفتند، میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی از جمله POD، CAT، SOD و PPO به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (Bi *et al.*, 2025).



شکل ۳- تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در دو رقم گندم تیمار شده با عوامل زیستی پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt*

Figure 3. Changes of the activity of catalase enzyme in two wheat cultivars treated with biological agents after infection with *Bgt*

یافته‌های این مطالعه با نتایج مطالعات قبلی که ارتباط مثبت بین فعالیت آنزیم‌های POD، CAT و SOD و مقاومت به سفیدک پودری در گیاه پیچ امین‌الدوله را نشان دادند، مطابقت داشت (He *et al.*, 2022). در مطالعه بارنا و همکاران (Barna *et al.*, 2022) مشاهده شد که پیش‌تیمار رقم‌های مختلف گندم با سفیدک پودری جو، موجب افزایش جزئی در فعالیت آنزیم‌های APX ، گلوتاتیون-S ترانسفراز (GST) و CAT پس از مایه‌زنی با سفیدک پودری گندم شد. این محققان بیان داشتند که افزایش نسبتاً جزئی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان احتمالاً به‌دلیل تعداد نسبتاً کم تعاملات و مرگ‌های سلولی فوق حساسیت پس از تیمار با سفیدک پودری جو است. یک مطالعه دیگر نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز در یک رقم مقاوم گندم پس از آلودگی با عامل زنگ برگی افزایش یافت که با افزایش غلظت H_2O_2 در برگ‌ها همراه بود (Ivanov *et al.*, 2005).

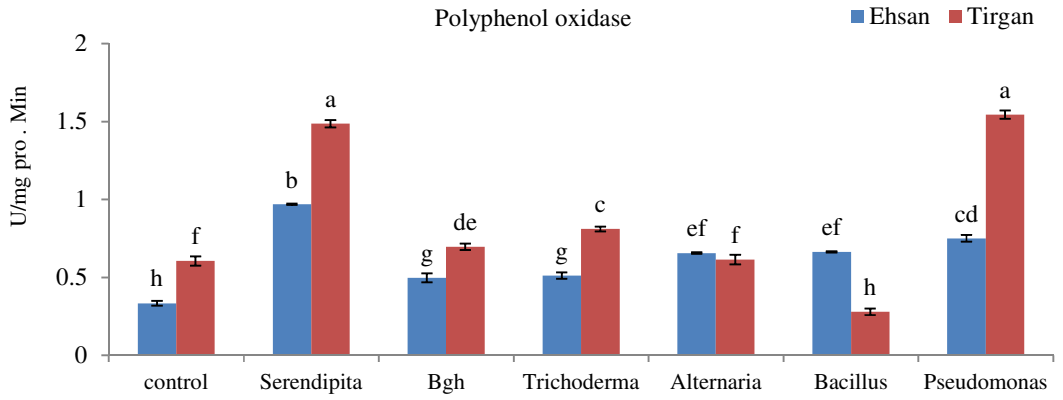
فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در دو رقم حساس و مقاوم گندم در تیمارهای مختلف پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* تفاوت معنی‌داری را نشان داد. در رقم مقاوم (تیرگان)، بیش‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در

تیمارهای *P. fluorescens* و *S. indica* مشاهده شد که به‌ترتیب افزایش ۱۵۵/۲۴ و ۱۴۵/۶۵ درصدی در مقایسه با تیمار شاهد داشتند. کم‌ترین مقدار فعالیت این آنزیم در رقم مقاوم نیز در تیمار *B. subtilis* (۰/۲۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) مشاهده شد. از طرف دیگر، در رقم حساس احسان، بیش‌ترین فعالیت این آنزیم در تیمار قارچ *S. indica* ثبت شد که نسبت به تیمار شاهد ۱۹۰/۱۷ درصد افزایش داشت. کم‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در رقم حساس نیز مربوط به تیمارهای شاهد و *Bgh* (به‌ترتیب با ۰/۳۳ و ۰/۴۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) بود (شکل ۴). در مجموع، فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در دو رقم حساس و مقاوم بعد از مایه‌زنی با *Bgt* در تیمارهای مختلف متفاوت بود، به‌طوری که فعالیت این آنزیم در تیمار *S. indica* و *P. fluorescens* در رقم مقاوم به‌طور معنی‌داری بیش‌تر از رقم حساس بود، در حالی‌که در تیمار *A. alternata* تفاوت معنی‌داری بین دو رقم وجود نداشت (شکل ۴).

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش با یافته‌های مانزار و همکاران (Manzar *et al*., 2021) و کاشیاپ و همکاران (Kashyap *et al*., 2022) مطابقت داشت و نشان داد که بیوپرایمینگ بذر با *Bacillus sp.* یا عوامل کنترل زیستی منجر به فعال‌سازی آنزیم‌های دفاعی مانند PAL، POD و PPO می‌شود و از این‌رو مقاومت در برابر سفیدک پودری را افزایش می‌دهد. نتایج مطالعه دیگری نشان داد که تیمار گیاهچه‌های گندم با قارچ *T. harzianum* فعالیت آنزیم POD و ترکیبات فنولی را افزایش و کلونیزاسیون قارچ فوزاریوم را کاهش داد (Yuan *et al*., 2019). تأثیر باکتری *Bacillus spp.* و قارچ *Trichoderma spp.* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پاسخ گیاه کدو به بیماری سفیدک پودری نیز گزارش شده است (Hafez *et al*., 2018; Reyad *et al*., 2022). با این‌حال، نقش این کنترل کننده‌های زیستی به تنظیم بالای آنزیم‌های دفاعی مانند CAT، POD و PPO نسبت داده شد که ویژگی‌های رشد و عملکرد گیاه تیمارشده را تحریک می‌کنند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در رقم مقاوم در تیمار گیاهچه‌ها با *B. subtilis* پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* کم بود (شکل ۴). ریزوباکتری‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی را افزایش می‌دهند. در گیاهان فلفل تیمارشده با *Bacillus amyloliquefaciens* که تحت آلودگی با *Botrytis pelargonii* یا *A. alternata* قرار داشتند، کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها گزارش شده است (Kazerooni *et al*., 2021). این کاهش فعالیت نشان‌دهنده پیشرفت در حذف ROS انباشته شده و کاهش آسیب‌های اکسیداتیو است که به حفاظت بهینه از گیاه کمک می‌کند (Dumanović *et al*., 2021).



شکل ۴- تغییرات فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در دو رقم گندم تیمار شده با عوامل کنترل زیستی پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt*

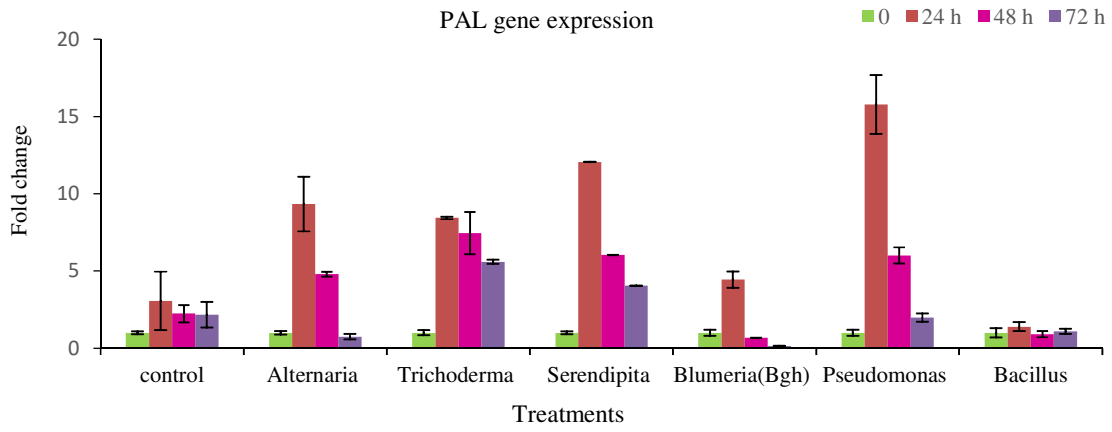
Figure 4. Changes of the activity levels of polyphenol oxidase enzyme in two wheat cultivars treated with biological agents and control after infection with *Bgt*

بیان ژن فنیل‌آلانین آمونیالیاز (*PAL*)

میزان بیان ژن *PAL* در رقم حساس گندم (احسان) تیمار شده با عوامل زیستی پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* در شکل ۵ ارائه شده است. نتایج نشان داد که به‌غیر از تیمار *B. subtilis* که در آن میزان بیان *PAL* با تیمار شاهد تفاوتی نداشت، سایر عوامل زیستی تیمارشده موجب القای بیان ژن *PAL* شدند. بیش‌ترین میزان بیان ژن *PAL* در ۲۴ ساعت بعد از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* مشاهده شد که

نشان‌دهنده فعال‌سازی زودهنگام مکانیسم‌های دفاعی گیاه است. همچنین، بالاترین میزان بیان این ژن مربوط به گیاهان تیمارشده با *P. fluorescens* در ۲۴ ساعت بعد از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* بود که نسبت به تیمار شاهد ۵/۲ برابر افزایش داشت. افزایش معنی‌داری در میزان بیان ژن *PAL* در گیاهچه‌های تیمارشده با *A. alternata*، *P. fluorescens*، *T. harzianum* و *S. indica* بعد از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* مشاهده شد، به‌طوری که در ۲۴ ساعت بعد به بالاترین مقدار خود (به‌ترتیب ۹/۳۳، ۱۵/۷۸، ۸/۴۳ و ۱۲/۰۶) رسید و در ساعات بعد روند کاهشی داشت، ولی میزان بیان در مقایسه با تیمار شاهد و ساعت صفر بالاتر بود. همچنین، در گیاهچه‌های تیمارشده با قارچ *Bgh* افزایش کندتری نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد و افزایش بیان در ۲۴ ساعت بعد از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* حدود ۱/۴۵ برابر بیش‌تر بود. بیان ژن در گیاهچه‌های گندم تیمارشده با *B. subtilis* و شاهد در تمام زمان‌های بعد از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* در حداقل باقی ماند. در ۴۸ ساعت بعد از مایه‌زنی با قارچ *Bgt*، بیش‌ترین سطح بیان ژن برای تیمار *T. harzianum* مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد به‌مقدار ۳/۳۳ برابر افزایش یافت. همچنین در این زمان کم‌ترین میزان بیان ژن *PAL* به تیمارهای *Bgh* و *B. subtilis* تعلق داشت که به‌ترتیب ۷۵/۳۴ و ۵۹/۴۳ درصد کم‌تر از شاهد بودند. علاوه براین، بررسی بیان ژن *PAL* در ۷۲ ساعت بعد از مایه‌زنی با *Bgt* نشان داد که بالاترین میزان بیان مربوط به تیمار *T. harzianum* با ۲/۵۸ برابر افزایش نسبت به شاهد و کم‌ترین میزان بیان مربوط به تیمار *Bgh* با ۹۳/۷۹ درصد کاهش نسبت به تیمار شاهد بود. بنابراین، این نتایج نشان می‌دهند که عوامل زیستی مختلف تأثیر متفاوتی بر القای بیان ژن *PAL* داشتند (شکل ۵).

ژن *PAL* نقش حیاتی در ایمنی گیاهان دارد و اولین مرحله در مسیر فنول پروپانوئید را کاتالیز می‌کند که منجر به تولید متابولیت‌های ثانویه‌ای مانند لیگنین و فیتوآلکسین‌ها می‌شود و در نتیجه مقاومت در برابر بیمارگرها را افزایش می‌دهد (Zhan *et al*., 2022). بیان ژن *PAL* می‌تواند در سطح رونویسی تحت تنش‌های خارجی (مانند آسیب مکانیکی، باکتری‌ها و ویروس‌ها) القا شود و فعالیت *PAL* به‌سرعت افزایش یابد و از این‌رو متابولیسم فنیل پروپانوئید را در سیستم دفاعی فعال سازد (Pina & Errea, 2008). گزارش‌های پیشین نشان داده‌اند که ژن *PAL* در فرآیندهای اصلی مقاومت در گندم دخالت دارد (Van Eck *et al*., 2010). همچنین، گزارش شده است که *PAL* برای القای اسید سالیسیلیک (SA) و بیوسنتز فیتوآلکسین‌های فنولی در پاسخ به بیمارگر نقش دارد (He *et al*., 2020). نتایج مطالعه‌ای نشان داد که ژن *TaPAL* با تنظیم سنتز لیگنین و ترکیبات فنولی به مقاومت گندم در برابر *Puccinia striiformis* f. sp *tritici* کمک می‌کند که این موضوع توسط تکنیک خاموشی ژن القاشده توسط ویروس نیز تأیید شد (Liu *et al*., 2023). در مطالعات دیگر نیز مشاهده شده است که بیان ژن *PAL* در القای مقاومت در برابر بیمارگرها به‌ویژه قارچ سفیدک پودری مؤثر بوده است (Pazarlar *et al*., 2017; Allario *et al*., 2023). در این مطالعه مشاهده شد که تیمار گیاهچه‌های گندم با عوامل زیستی منجر به القای بیان ژن *PAL* بعد از مایه‌زنی با قارچ *Bgt* شده است. افزایش بیان ژن *PAL* نشان می‌دهد که این عوامل زیستی می‌توانند به‌عنوان عوامل تحریک کننده عمل کرده و سیستم دفاعی پایه گیاه را در پاسخ به بیمارگر فعال کنند. این نتایج با نتایج مطالعه بی و همکاران (Bi *et al*., 2025) که نشان دادند همزیستی *B. tequilensis* در گندم باعث القای بیان ژن *PAL* در برابر قارچ سفیدک پودری گندم شد، همخوانی دارد. سینگ و همکاران (Singh *et al*., 2019) نیز گزارش کردند که بیان ژن *PAL* در گیاهان گندم تیمار شده با *T. harzianum* بعد از آلودگی با *Bipolaris sorokiniana* در مقایسه با تیمار شاهد افزایش یافت. نتایج مطالعه دیگری نشان داد که عامل *Trichoderma longibrachiatum* موجب القای بیان ژن *PAL* در پاسخ به قارچ *Fusarium pseudograminearum* در گندم شد و مسیر فنیل پروپانوئید را در مراحل اولیه پاسخ دفاعی فعال کرد (Boamah *et al*., 2021). به‌طور کلی، در این پژوهش مشاهده شد که تنوع قابل‌توجهی در القای بیان ژن *PAL* در میان عوامل زیستی مختلف وجود دارد. این موضوع نشان می‌دهد که هر عامل زیستی می‌تواند مسیرهای سیگنال‌دهی متفاوتی را در گیاه فعال کند و در نتیجه منجر به القای سطوح متنوعی از مقاومت در گیاه شود.



شکل ۵- میزان بیان ژن *PAL* در بازه‌های زمانی مختلف در رقم حساس احسان تیمار شده با عوامل زیستی پس از مایه‌زنی با قارچ *Bgt*

Figure 5. *PAL* gene expression levels at different time periods in susceptible wheat cultivar (Ehsan) treated with biological agents after infection with *Bgt*

نتیجه‌گیری کلی

نتایج این مطالعه نشان داد که عوامل زیستی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی مانند PPO و CAT و میزان بیان ژن *PAL* در گندم شدند. این نتیجه نشان می‌دهد که عوامل میکروبی نقش مهمی در القای پاسخ ایمنی ذاتی گیاه در برابر بیمارگرها دارند. نتایج این مطالعه با یافته‌های مطالعات قبلی که نشان دادند آنتاگونیست‌های میکروبی می‌توانند با فعال‌سازی مکانیزم‌های دفاعی مختلف، مقاومت سیستمیک را در گیاهان القا کنند، همخوانی داشت. این تنوع در کارایی آنتاگونیست‌های میکروبی، پیچیدگی‌های برهمکنش گیاه و میکروب را نشان می‌دهد و بنابراین بر انتخاب عوامل کنترل زیستی مناسب بر اساس روش عملکرد و سازگاری آن‌ها با سیستم دفاعی گیاه میزبان تأکید دارد. همچنین، نتایج این مطالعه پتانسیل استفاده از عوامل کنترل زیستی را برای افزایش تحمل محصولات زراعی از طریق ایجاد مقاومت نشان داد و بنابراین استفاده از این عوامل به‌عنوان یک روش سالم می‌تواند در مدیریت بیماری‌های گیاهی مطرح باشد.

تضاد منافع

نویسندگان تایید می‌کنند که این تحقیق در غیاب هر گونه روابط تجاری یا مالی که می‌تواند به‌عنوان تضاد منافع بالقوه تعبیر شود، انجام شده است.

رعایت اخلاق در نشر

نویسندگان اعلام می‌کنند که در نگارش این مقاله به‌طور کامل از اخلاق نشر از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و انتشار دوگانه، پیروی کرده‌اند. همچنین، این مقاله حاصل یک کار تحقیقاتی اصیل بوده و تا کنون به‌طور کامل به هیچ زبانی و در هیچ نشریه یا همایشی چاپ و منتشر نشده است و هیچ اقدامی نیز برای انتشار آن در هیچ نشریه یا همایشی صورت نگرفته و نخواهد گرفت.

اجازه انتشار مقاله

نویسندگان با چاپ این مقاله به‌صورت دسترسی باز موافقت کرده و کلیه حقوق استفاده از محتوا، جدول‌ها، شکل‌ها، تصویرها و غیره را به ناشر واگذار می‌کنند.

References

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, *105*, 121-126. doi: 10.1016/s0076-6879(84)05016-3.

Ahangar, L., Babaeizad, V., Ranjbar, G. A., NajafiZarrini, H., & Biabani, A. (2016). Study of *PR* gene expression pattern related to induced resistance to powdery mildew in susceptible wheat genotype after treating with salicylic acid. *Journal of Crop Breeding*, *17*(42), 208–217. [In Persian]. doi: 10.18869/acadpub.jcb.8.17.218.

Allario, T., Fourquez, A., Magnin-Robert, M., Siah, A., Maia-Grondard, A., Gaucher, M., & Baltenweck, R. (2023). Analysis of defense-related gene expression and leaf metabolome in wheat during the early infection stages of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. *Phytopathology*, *113*(8), 1537-1547. doi: 10.1094/PHYTO-10-22-0364-R.

Barna, B., Abdou, S., Manninger, K., & Király, Z. (1998). Systemic acquired resistance in wheat against stem and leaf rusts. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, *33*, 31-36.

Barna, B., Máté, G., Preuss, J., Harrach, B. D., Gullner, G., Manninger, K., & Fodor, J. (2022). Defence responses triggered by *Blumeria graminis* f. sp. hordei in non-host wheat genotypes results in a decrease in *Puccinia triticina* infection. *Journal of Phytopathology*, *170*(2), 82-90. doi: 10.1111/jph.13057.

Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codon, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, *7*(4), 249-260.

Bi, Q., Lu, F., Wu, J., Liu, X., Han, X., & Zhao, J. (2025). The control effect and induced disease resistance mechanism of *Bacillus tequilensis* on wheat powdery mildew. *Biological Control*, 105698. doi: 10.1016/j.biocontrol.2025.105698.

Boamah, S., Zhang, S., Xu, B., Li, T., & Calderón-Urrea, A. (2021). *Trichoderma longibrachiatum* (TG1) enhances wheat seedlings tolerance to salt stress and resistance to *Fusarium pseudograminearum*. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 741231. doi: 10.3389/fpls.2021.741231.

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.

Chen, X., Koumoutsi, A., Scholz, R., Schneider, K., Vater, J., Süssmuth, R., Piel, J., & Borriss, R. (2009). Genome analysis of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 reveals its potential for biocontrol of plant pathogens. *Journal of Biotechnology*, *140*(1-2), 27-37. doi: 10.1016/j.jbiotec.2008.10.011.

Choudaker, K. R., Singh, V. K., Kashyap, A. S., Patel, A. V., Sameriya, K. K., Yadav, D., Manzar, N., Kamil, D., Prasad, L., & Saharan, M. (2024). Evaluating the efficacy of microbial antagonists in inducing resistance, promoting growth, and providing biological control against powdery mildew in wheat. *Frontiers in Microbiology*, *15*, 1419547. doi: 10.3389/fmicb.2024.1419547.

Dangl, J. L., & Jones, J. D. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, *411*(6839), 826-833. doi: 10.1038/35081161.

Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J. J., Dickman, M., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, *13*(4), 414-430. doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x.

Deshmukh, S., & Kogel, K. H. (2007). *Piriformospora indica* protects barley from root rot caused by *Fusarium graminearum*/*Piriformospora indica* schützt Gerste vor der von *Fusarium graminearum* verursachten Wurzelfäule. *Journal of Plant Diseases & Protection*, 114, 263-268. doi: 10.1007/BF03356227.

Dumanović, J., Nepovimova, E., Natić, M., Kuča, K., & Jaćević, V. (2021). The significance of reactive oxygen species and antioxidant defense system in plants: A concise overview. *Frontiers in Plant Science*, *11*, 552969. doi: 10.3389/fpls.2020.552969.

Egusa, M., Miwa, T., Kaminaka, H., Takano, Y., & Kodama, M. (2013). Nonhost resistance of *Arabidopsis thaliana* against *Alternaria alternata* involves both pre-and postinvasive defenses but is collapsed by AAL-toxin in the absence of LOH2. *Phytopathology*, *103*(7), 733-740. doi: 10.1094/PHYTO-08-12-0201-R.

El-Sayed, W. S., Akhkha, A., El-Naggar, M. Y., & Elbadry, M. (2014). In vitro antagonistic activity, plant growth promoting traits and phylogenetic affiliation of *rhizobacteria* associated with wild plants grown in arid soil. *Frontiers in Microbiology*, *5*, 651. doi: 10.3389/fmicb.2014.00651.

Gao, H., Niu, J., & Li, S. (2018). Impacts of wheat powdery mildew on grain yield & quality and its prevention and control methods. *American Journal of Agriculture & Forestry*, *6*(5), 141-147. doi: 10.11648/j.ajaf.20180605.14.

Gerhardson, B. (2002). Biological substitutes for pesticides. *Trends in Biotechnology*, *20*(8), 338-343. doi: 10.1016/S0167-7799(02)02021-8.

Hafez, Y. M., El-Nagar, A. S., Elzaawely, A. A., Kamel, S., & Maswada, H. F. (2018). Biological control of *Podosphaera xanthii* the causal agent of squash powdery mildew disease by upregulation of defense-related enzymes. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *28*, 1-8. doi: 10.1186/s41938-018-0058-8.

He, J., Liu, Y., Yuan, D., Duan, M., Liu, Y., Shen, Z., Yang, C., Qiu, Z., Liu, D., Wen, P., Huang, J., Fan, D., Xiao, S., Xin, Y., Chen, X., Jiang, L., Wang, H., Yuan, L., & Wan, J. (2020). An R2R3 MYB transcription factor confers brown planthopper resistance by regulating the phenylalanine ammonia-lyase pathway in rice. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, *117*(1), 271-277. doi: 10.1073/pnas.1902771116.

He, P., Cui, W., & Peng, L. (2022). Biocontrol efficacy of *Bacillus velezensis* HC-8 against powdery mildew of honeysuckle caused by *Erysiphe lonicerae* var. Lonicerae. *Biological Control*, *166*, 104834. doi: 10.1016/j.biocontrol.2021.104834.

Hou, L., Wang, L. N., Wu, X. L., Gao, W., Zhang, J. X., & Huang, C. Y. (2019). Expression patterns of two *PAL* genes of *Pleurotus ostreatus* across developmental stages and under heat stress. *BMC Microbiology, 19*(1), 231. doi: 10.1186/s12866-019-1618-4.

Hu, Z., Qiuxia, Z., Ling, H., Huajun, Z., Zuohua, R., & Erming, L. (2019). Isolation and identification of *Bacillus tequilensis* JN-369 and antimicrobial substance analysis. *Chinese Journal of Pesticide Science*, *21*(1), 52-58. doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2019.0007.

Ivanov, S., Miteva, L., Alexieva, V., Karjin, H., & Karanov, E. (2005). Alterations in some oxidative parameters in susceptible and resistant wheat plants infected with *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Journal of Plant Physiology*, *162*(3), 275-279. doi: 10.1016/j.jplph.2004.07.010.

Kashyap, A. S., Manzar, N., Nebapure, S. M., Rajawat, M. V. S., Deo, M. M., Singh, J. P., Kesharwani, A. K., Singh, R. P., Dubey, S. C., & Singh, D. (2022). Unraveling microbial volatile elicitors using a transparent methodology for induction of systemic resistance and regulation of antioxidant genes at expression levels in chili against bacterial wilt disease. *Antioxidants*, *11*(2), 404. doi: 10.3390/antiox11020404.

Kazerooni, E. A., Maharachchikumbura, S. S., Al-Sadi, A. M., Kang, S.-M., Yun, B.-W., & Lee, I.-J. (2021). Biocontrol potential of *Bacillus amyloliquefaciens* against *Botrytis pelargonii* and *Alternaria alternata* on *Capsicum annuum*. *Journal of Fungi*, *7*(6), 472. doi: 10.3390/jof7060472.

Kogel, K. H., & Langen, G. (2005). Induced disease resistance and gene expression in cereals. *Cellular Microbiology*, *7*(11), 1555-1564. doi: 10.1111/j.1462-5822.2005.00592.x.

Kthiri, Z., Jabeur, M. B., Machraoui, M., Gargouri, S., Hiba, K., & Hamada, W. (2020). Coating seeds with *Trichoderma* strains promotes plant growth and enhance the systemic resistance against *Fusarium* crown rot in durum wheat. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *30*, 1-10. doi: 10.1186/s41938-020-00338-6.

Li, L., Guo, N., Feng, Y., Duan, M., & Li, C. (2022). Effect of *Piriformospora* indica-induced systemic resistance and basal immunity against *Rhizoctonia cerealis* and *Fusarium graminearum* in wheat. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 836940. doi: 10.3389/fpls.2022.836940.

Liu, H., Jiang, W., Bi, Y., & Luo, Y., (2005). Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. *Postharvest Biology & Technology*, *35*(3), 263-269. doi: 10.1016/j.postharvbio.2004.08.006.

Liu, M., Braun, U., Takamatsu, S., Hambleton, S., Shoukouhi, P., Bisson, K. R., & Hubbard, K. (2021). Taxonomic revision of *Blumeria* based on multi-gene DNA sequences, host preferences and morphology. *Mycoscience*, *62*(3), 143-165. doi: 10.47371/mycosci.2020.12.003.

Liu, R., Lv, X., Wang, X., Yang, L., Cao, J., Dai, Y., Wu, W., & Wu, Y. (2023). Integrative analysis of the multi-omics reveals the stripe rust fungus resistance mechanism of the *TaPAL* in wheat. *Frontiers in Plant Science*, *14*, 1174450. doi: 10.3389/fpls.2023.1174450.

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔCT method. M*ethods*, *25*(4), 402-408. doi: 10.1006/meth.2001.1262.

Makarewicz, O., Farouk, A., Rosner, K., Greiner, R., Bochow, H., & Borriss, R. (2002). Extracellular phytase activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB45 contributes to its plant-growth-promoting effect. *Microbiology*, *148*(7), 2097-2109. doi: 10.1099/00221287-148-7-2097.

Manzar, N., Singh, Y., Kashyap, A. S., Sahu, P. K., Rajawat, M. V. S., Bhowmik, A., Sharma, P. K., & Saxena, A. K. (2021). Biocontrol potential of native *Trichoderma spp*. against anthracnose of great millet (*Sorghum bicolour* L.) from Tarai and Hill regions of India. *Biological Control*, *152*, 104474. doi: 10.1016/j.biocontrol.2020.104474.

Mapuranga, J., Chang, J., & Yang, W. (2022). Combating powdery mildew: Advances in molecular interactions between *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and wheat. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 1102908. doi: 10.3389/fpls.2022.1102908.

Martinelli, J., Brown, J., & Wolfe, M. (1993). Effects of barley genotype on induced resistance to powdery mildew. *Plant Pathology*, *42*(2), 195-202. doi: 10.1111/j.1365-3059.1993.tb01491.x.

McDonald, B. A., & Linde, C. (2002). Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annual Review of Phytopathology*, *40*(1), 349-379. doi: 10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443.

Narusaka, Y., Narusaka, M., Seki, M., Ishida, J., Shinozaki, K., Nan, Y., Park, P., Shiraishi, T., & Kobayashi, M. (2005). Cytological and molecular analyses of non-host resistance of *Arabidopsis thaliana* to *Alternaria alternata*. *Molecular Plant Pathology*, *6*(6), 615-627. doi: 10.1111/j.1364-3703.2005.00310.x.

Niu, J., Cao, Y., Lin, X., Leng, Q., Chen, Y., & Yin, J. (2018). Field and laboratory screening of anthurium cultivars for resistance to foliar bacterial blight and the induced activities of defence-related enzymes. *Folia Horticulturae*, *30*(1), 129-137. doi: 10.2478/fhort-2018-0013.

Otani, H., Kohmoto, K., Kodama, M., & Nishimura, S. (1991). Role of host-specific toxins in the pathogenesis of *Alternaria alternata*. In: Patil, S. S. (Ed.). Molecular Strategies of Pathogens and Host Plants. Springer, New York. pp. 139-149. doi: 10.1007/978-1-4612-3084-7_12.

Panstruga, R., & Kuhn, H. (2019). Mutual interplay between phytopathogenic powdery mildew fungi and other microorganisms. *Molecular Plant Pathology*, *20*(4), 463-470. doi: 10.1111/mpp.12771.

Paul, R., Basandrai, A. K., & Tyagi, P. (1999). Identification of resistance genes against *Erysiphe graminis* tritici in Indian and exotic wheats . *Indian Journal of Genetics & Plant Breeding*, *59*(02), 125-134.

Paul, R., Basandrai, A. K., & Tyagi, P. (2000). Virulence spectrum of *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* in Himachal Pradesh. *Indian Phytopathology*, *53*(4), 415-418.

Pazarlar, S., Cetinkaya, N., Bor, M., & Ozdemir, F. (2017). Ozone triggers different defence mechanisms against powdery mildew (*Blumeria graminis* DC. Speer f. sp. *tritici*) in susceptible and resistant wheat genotypes. *Functional Plant Biology*, *44*(10), 1016-1028. doi: 10.1071/FP17038.

Pina, A., Errea, P. (2008). Differential induction of phenylalanine ammonia-lyase gene expression in response to in vitro callus unions of *Prunus spp*. *Plant Physiology*, *165*(7), 705-714. doi: 10.1016/j.jplph.2007.05.015.

Qiang, X., Weiss, M., Kogel, K. H., & Schäfer, P. (2012). *Piriformospora indica*—a mutualistic basidiomycete with an exceptionally large plant host range. *Molecular Plant Pathology*, *13*(5), 508-518. doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00764.x.

Reuveni, R. (2017). Biochemical markers for disease resistance. In: Singh, U. S., & Singh, R. P. (Eds.). Molecular Methods in Plant Pathology. pp. 99-114. CRC Press. doi: 10.1201/9780203746523.

Reyad, N. E. H. A., Azoz, S. N., Ali, A. M., & Sayed, E. G. (2022). Mitigation of powdery mildew disease by integrating biocontrol agents and shikimic acid with modulation of antioxidant defense system, anatomical characterization, and improvement of squash plant productivity. *Horticulturae*, *8*(12), 1145. doi: 10.3390/horticulturae8121145.

Saadaoui, M., Faize, M., Bonhomme, L., Benyoussef, N. O., Kharrat, M., Chaar, H., Label, P., & Venisse, J. S. (2023). Assessment of *Tunisian trichoderma* isolates on wheat seed germination, seedling growth and fusarium seedling blight suppression. *Microorganisms*, *11*(6), 1512. doi: 10.3390/microorganisms11061512.

Safaei, M., Jorkesh, A., & Olfati, J. (2022). Chemical and biological products for control of powdery mildew on cucumber. *International Journal of Vegetable Science*, *28*(3), 233-238. doi: 10.1080/19315260.2021.1935388.

Sahay, N., & Varma, A. (1999). *Piriformospora indica*: A new biological hardening tool for micropropagated plants. *FEMS Microbiology Letters*, *181*(2), 297-302. doi: 10.1111/j.1574-6968.1999.tb08858.x.

Samobor, V., Vukobratović, M., & Marijan, J. (2006). Effect of powdery mildew attack on quality parameters and experimental bread baking of wheat. *Acta Agriculturae Slovenica*, *87*(2), 381-391. doi: 10.14720/aas.2006.87.2.15116.

Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*, *3*(3), 430-439. doi: 10.1038/s41559-018-0793-y.

Singh, U. B., Malviya, D., Singh, S., Kumar, M., Sahu, P. K., Singh, H. V., Kumar, S., Roy, M., Imran, M., Rai, J. P., Sharma, A. K., & Saxena, A. K. (2019). *Trichoderma harzianum*- and methyl jasmonate-induced resistance to *Bipolaris sorokiniana* through enhanced phenylpropanoid activities in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Frontiers in Microbiology*, *10*, 1697. doi: 10.3389/fmicb.2019.01697.

Van Eck, L., Schultz, T., Leach, J. E., Scofield, S. R., Peairs, F. B., Botha, A. M., & Lapitan, N. L. V. (2010). Virus-induced gene silencing of *WRKY53* and an inducible phenylalanine ammonia-lyase in wheat reduces aphid resistance. *Plant Biotechnology Journal*, *8*(9), 1023-1032. doi: 10.1111/j.1467-7652.2010.00539.x.

Yuan, M., Huang, Y., Ge, W., Jia, Z., Song, S., Zhang, L., & Huang, Y. (2019). Involvement of jasmonic acid, ethylene and salicylic acid signaling pathways behind the systemic resistance induced by *Trichoderma longibrachiatum* H9 in cucumber. *BMC Genomics*, *20*, 1-13. doi: 10.1186/s12864-019-5513-8.

Zhan, C., Li, Y., Li, H., Wang, M., Gong, S., Ma, D., & Li, Y. (2022). Phylogenomic analysis of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) multigene family and their differential expression analysis in wheat (*Triticum aestivum* L.) suggested their roles during different stress responses. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 982457. doi: 10.3389/fpls.2022.982457.

Zhang, S., Liu, J., Xu, B., & Zhou, J. (2021). Differential responses of *Cucurbita pepo* to *Podosphaera xanthii* reveal the mechanism of powdery mildew disease resistance in pumpkin. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 633221. doi: 10.3389/fpls.2022.982457.

Zhu, M., Riederer, M., & Hildebrandt, U. (2017). Very-long-chain aldehydes induce appressorium formation in ascospores of the wheat powdery mildew fungus *Blumeria graminis*. *Fungal Biology*, *121*(8), 716-728. doi: 10.1016/j.funbio.2017.05.003.