تاثیر قارچ اندومایکوریز *Piriformospora indica* و اسید سالیسیلیک بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گندم حساس به بیماری سفیدک سطحی

لیلا آهنگر*[1]، غلامعلی رنجبر[2]، ولی الله بابایی زاد[2] ، حمید نجفی زرینی[3] و عباس بیابانی[4]

۱- استادیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس.
۲- دانشیاران گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
۳- استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری.
۴- دانشیار گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبد کاووس.
*مسئول مکاتبه ، L.ahangar63@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۲۰

چکیده

استفاده از ترکیبات قارچ‌کش علیه بیماری سفیدک سطحی در گندم که توسط *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* ایجاد میگردد، چندان مورد توجه قرار نمی‌گیرد. لذا کاربرد روش‌های دیگری مانند به کارگیری فعال کننده‌های مصنوعی مکانیسم دفاعی که می‌توانند مقاومت را به صورت سیستمیک در گیاهان القا نمایند، مطلوب به نظر می‌رسد. به‌دین منظور گیاهان گندم رقم فلات به عنوان رقم حساس به سفیدک، پس از همزیستی با قارچ اندومیکوریز *Piriformospora indica* به همراه گیاهان شاهد در معرض عامل بیماری قرار گرفت. از سویی دیگر، گیاهان دو هفته ای گندم فلات در آزمایش جداگانه‌ای، ۴۸ ساعت پس از تیمار با اسید سالسیلیک با قارچ عامل بیماری تلقیح گردید. میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در چهار بازه زمانی صفر، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آلودگی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که گیاهان تیمار شده با اسید سالسیلیک هم قبل از آلودگی و هم بعد از آلودگی به قارچ عامل بیماری، فعالیت آنزیمی کمتری را نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند (به استثنای آنزیم پراکسیداز که فعالیت آن هم قبل و هم بعد از آلودگی گیاه افزایش یافت). گیاهان همزیست شده با قارچ اندومایکوریز نیز به جز بیان بالای آنزیم پراکسیداز، تفاوت معنی‌داری را از نظر فعالیت سایر آنزیم‌ها با گیاه شاهد نشان ندادند، بنابراین می‌توان چنین استنباط نمود که قارچ همزیست در القای مقاومت از طریق مسیر آنزیمی چندان موثر نمی‌باشد. احتمالا این قارچ همزیست می تواند از طریق فعال نمودن مسیرهای دیگری مثل فعال‌سازی پروتئین‌های مرتبط به بیماری‌زایی نقش ایفا نماید. اسید سالسیلیک بوسیله کاهش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و القای مرگ سلولی به مبارزه با این بیمارگر بیوتروف می‌پردازد، لذا کاربرد اسید سالسیلیک علیه بیماری سفیدک سطحی توصیه می‌گردد.

واژه‌های کلیدی : آنزیم‌های آنتی اکسیدان، *Piriformospora indica* ، اسید سالسیلیک، القای مقاومت.

مقدمه

گندم از گیاهان تیره غلات در بیش از ۴۰ کشور جهان از نظر تغذیه‌ای از اهمیت برخوردار می‌باشد (کوله و تیموتی ۲۰۰۸). سالیانه مقادیر زیادی از این محصول در اثر عوامل بیماریزای مختلف ازبین رفته و یا غیر قابل مصرف می گردد. بیماری سفیدک سطحی که بوسیله یک قارچ انگل اجباری بنام *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Bgt*) ایجاد می‌گردد، یکی از مخرب‌ترین بیماری‌ها در شرایط آب و هوایی معتدل است که تولید این محصول را با چالش مواجه می‌کند (کونر و همکاران ۲۰۰۳). مطالعات نشان داده اند که در پی شرایط تنش‌زا و فعالیت‌های اکسیداتیو قوی در گیاهان، گونه‌های فعال اکسیژن[1] (ROS) تولید می‌شود و یا میزان آن‌ها در گیاه افزایش می‌یابد تا اثرات زیان آور تنش را کاهش دهد (حسیبی و همکاران ۲۰۰۷). گونه‌های اکسیژن فعال، نظیر سوپر اکسید، هیدروکسیل و پراکسید هیدروژن بسیار واکنش‌گر و برای سلول سمی بوده و در صورت عدم کارایی برخی سازوکارهای محافظ، اختلال جدی و برگشت ناپذیری را در ساختار گیاه ایجاد می‌کنند.

[1]Reactive Oxygen Species

گیاهان جهت مقابله با تنش های حاصله از ROS قادر به حذف و سمیت زدایی این ترکیبات، توسط انواع مختلفی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر پراکسیداز (POX)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون رداکتاز (GTX) می‌باشند (اشرف ۲۰۰۹). هاراچ و همکاران (۲۰۰۸) القای قابل ملاحظه‌ای از آنزیم پراکسیداز را در همان ساعات اولیه پس از آلودگی با سفیدک سطحی در لاین حساس و مقاوم جو مشاهده نمودند. مطالعات انجام شده توسط ال-خلال (۲۰۰۷) نشان داد که فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان CAT در برگ‌های آلوده گوجه فرنگی به *Fusarium oxysporum* افزایش یافت که نشان دهنده‌ی موثر بودن این آنزیم در حذف ROS در برگ آلوده بود.

امروزه ثابت شده است که کاربرد القا کننده‌های مقاومت که قادرند مقاومت را علیه طیف وسیعی از بیماری‌ها القا نمایند، یک فرصت و ابزار مناسبی را برای کشاورز ایجاد کرده و از سویی کامل کننده‌ی مقاومت ژنتیکی گیاهان به بیماری‌های مختلف هستند. همچنین با توجه به اینکه کنترل عوامل بیماری‌زا همواره با مشکل مواجه بوده است، لذا بررسی امکان استفاده از روش-های تلفیقی و القای مقاومت در کنترل بیماری‌ها به نحوی که افزایش عملکرد و کاهش خسارت زیست محیطی را در بر داشته باشد، بسیار مورد توجه قرار گرفته است. از این رو کاربرد ترکیبات شیمیایی از جمله اسید سالسیلیک (SA) و عوامل بیولوژیکی (قارچ‌های همزیست) که می‌توانند مقاومت را به صورت سیستمیک در گیاهان القا نمایند، از اهمیت خاصی برخوردار می-باشد (وارما و همکاران ۱۹۹۹و وات و همکاران ۲۰۰۹). اسید سالیسیلیک یک هورمون درون‌زا است که سنتز ترکیبات آنتی اکسیدان را طی تنش های زنده و محیطی تنظیم می‌کند (هوراث و همکاران ۲۰۰۷). بنابراین SAمی‌تواند به عنوان مولکول پیام رسان داخلی سبب فعال نمودن بیان ژن‌های دفاعی، تغییر آنزیم‌ها و پروتئین‌های دفاعی، تغییرات اکسایشی سلول، فعال کردن مکانیسم دفاعی سلول و القا نمودن ژن‌های کد کننده در ساختارهای دفاعی در گیاه گردد (شارما و همکاران ۱۹۹۶). مطالعات نشان داده‌اند که SA در تحریک پاسخ‌های دفاعی پایین دست و ایجاد مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) نیز نقش بسیار مهمی دارد. به طوریکه بیان آنزیم تجزیه کننده SA که سالیسیلات هیدروکسیلاز نام دارد، سبب کاهش میزان SA در آرابیدوپسیس و در نتیجه افزایش حساسیت به نژادهای مختلف *Pseudomonas syringae* گردید (شارما و همکاران ۱۹۹۶). از سویی متوقف یا خاموش شدن فعالیت فنیل آلانین آمونیالیاز[1] (PAL) که در بالادست مسیر تولید SA قرار دارد، سبب حساسیت بالای گیاهان به آلودگی پاتوژنی شد (اگریوس ۲۰۰۵). اسید سالسیلیک همچنین باعث تنظیم رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آنتی‌اکسیدان‌ها می‌شود. این هورمون به عنوان یک مولکول پیام‌رسان داخلی، با مسیر پیام‌رسانی رادیکال‌های آزاد اکسیژن برهم‌کنش دارد. بطوریکه تیمار با SA سبب تجمع پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در آرابیدوپسیس، تنباکو و خردل شد (زائوزنیک و همکاران ۲۰۰۷).

از جمله عوامل میکروبی قارچ اندومایکوریز *Piriformospora indica* است که برای اولین بار در سال ۱۹۹۷ در شمال غرب هندوستان از گیاهان خشکی پسند کهور و کنار جداسازی گردید (وارما و همکاران ۱۹۹۹). این قارچ از طریق مقاومت سیستمیک القایی (ISR)، سبب حمایت از گیاه میزبان در برابر استرس‌های زیستی و غیرزیستی می‌گردد. دشموک و کوکل (۲۰۰۷) با کلونیزه کردن ریشه جو با *P. indica* نشان دادند که گیاهان همزیست شده تحمل بالایی را نسبت به قارچ بیماریزای *Fusarium graminearum* پیدا کرده‌اند. اشتاین و همکارانش (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که *P. indica* موجب حفاظت سیستمیک گیاه آرابیدوپسیس در برابر عامل *Golovinomyces orontii*، گردید. لذا نتایج این مطالعات حاکی از آنند که *P. indica* می‌تواند به عنوان یک عامل بالقوه برای کنترل زیستی بیماری‌ها فعالیت نماید. از سویی محققین با ارزیابی‌های بیوشیمیایی اعلام نمودند که قارچ *P. indica* بصورت سیستمیک میزان آنتی-اکسیدان موجود در برگ گیاه کلونیزه شده را افزایش داده و سبب مقاومت گیاه به تنش و افزایش عملکرد می-

[1] Phenylalanine Ammonia Lyase

شود. بطوریکه این قارچ، از طریق بهبود ظرفیت آنتی-اکسیدانت‌ها سبب مقاومت جو به بیماری سفیدک سطحی گردید (وات و همکاران ۲۰۰۹).

با توجه به مباحث ذکر شده، هدف از این مطالعه بررسی اثر همزیستی قارچ اندومایکوریز *P. indica* و تیمار اسید سالسیلیک در گندم حساس به سفیدک سطحی در القای مقاومت گیاه میزبان به بیماری و تعیین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت کاتالاز ، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان تیمار شده در مقایسه با گیاه شاهد می باشد.

مواد و روش ها

مواد گیاهی و نحوه تهیه و نگهداری قارچ سفیدک سطحی

در این بررسی به منظور ارزیابی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، رقم فلات به عنوان گندم حساس به سفیدک سطحی، مورد استفاده قرار گرفت. جدایه‌ی قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی (*Bgt*) از بخش تحقیقات پاتولوژی غلات موسسه‌ی تهیه نهال و بذر کرج تهیه و در آزمایشگاه بر روی یکی از ارقام نسبتاً حساس گندم به نام بولانی دردمای۲۲ درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰٪ تکثیر و نگهداری شد.

تیمار رقم فلات با اسید سالسیلیک

بذور مورد نیاز رقم فلات به مدت ۱۰ دقیقه با محلول یک درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شده و پس از شستشو با آب مقطر استریل، بر روی کاغذ فیلتر مرطوب در تشتک پتری قرار داده شدند. پس از جوانه زنی، بذور به گلدان حاوی خاک (خاک مزرعه+ ماسه+ خاک برگ به نسبت ۱:۲:۱) منتقل شده و در اتاقک رشد با تناوب ۱۶ ساعت روشنایی با دمای ۲۲ درجه‌ی سانتیگراد و هشت ساعت تاریکی با دمای ۲۰ درجه‌ی سانتیگراد با رطوبت نسبی ۷۰٪ نگهداری شدند. پس از گذشت دو هفته، گیاهچه‌ها بوسیله محلول SA با غلظت ۳mM تیمار شدند. جهت حل نمودن SA، ابتدا پودر در اتانول (۱۰٪ حجمی) حل شده و سپس با آب مقطر به حجم مورد نظر رسانیده شد. به منظور بررسی دقیق‌تر، گیاهان شاهد نیز بوسیله آب مقطر حاوی اتانول (۱۰٪ حجمی) تیمار گردیدند. گیاهان تیمار شده با SA حدود ۴۸ ساعت پس از تلقیح به همراه گیاهان شاهد بوسیله قارچ *Bgt* با غلظت ۵۰ کنیدیوم در میلیمتر مربع آلوده شدند.

همزیست نمودن گندم رقم فلات با قارچ اندومایکوریز *P. indica*

جدایه WP2 قارچ میکوریز *P. indica* توسط پروفسور کوگل از طرف موسسه بیماری شناسی و جانور شناسی کاربردی دانشگاه گیسن آلمان اهدا شده و در محیط کشت جامد اختصاصی پیچیده (Complex Medium) کشت و تکثیر گردید. بذور مورد نیاز رقم فلات در ابتدا ضدعفونی و پس از جوانه‌زنی، ریشه‌چه‌های آن‌ها به مدت ۱۲ ساعت در سوسپانسیون اسپور قارچ *P. indica*(با غلظت ۵×۱۰^{۵} اسپوردر میلی لیتر) غوطه ور گردید تا با قارچ اندوفیت تلقیح گردد. سپس گیاهچه‌ها در گلدان-های پلاستیکی حاوی پرلیت و ماسه استریل در سه تکرار کاشته شدند. برای تیمارهای شاهد گیاهچه‌های جوانه زده بدون تلقیح با اسپور قارچ در گلدان حاوی بستر کشت شدند. پس از کشت، تمامی گیاهچه‌ها در اتاقک رشد به مدت سه هفته قرار گرفتند و به وسیله محلول هوگلند آبیاری شدند. سه هفته پس از همزیستی فلات با قارچ *P. indica*، گیاهان کلونیزه شده به همراه گیاهان شاهد بوسیله قارچ *Bgt* آلوده شده و در اتاقک رشدی قرار گرفتند.

ارزیابی توانایی قارچ اندومیکوریز *P. indica* و SA در القاء مقاومت به سفیدک پودری

بمنظور بررسی توانایی قارچ اندوفیت *P. indica* و SA در القاء مقاومت در گندم علیه *Bgt*، برگ‌های گیاهان همزیست شده و تیمار شده با SA به همراه گیاهان شاهد در محیط آب آگار حاوی ۲۰میلی گرم در لیتر بنزومیدازول در تشتک‌های پتری قرار گرفتند. نمونه‌های برگی در اتاقک مکعبی شکل بوسیله قارچ *Bgt* با نسبت پنج اسپور در میلیمتر مربع آلوده شده و سپس در اتاقک رشدی قرار گرفتند. پس از گذشت یک هفته از آلوده-

سازی، تعداد کلنی رشد یافته در ۲/۵ سانتیمتر مربع از هر برگ شمارش گردید.

تهیه‌ی عصاره گیاهی و سنجش فعالیت آنزیمی

در تمامی آزمایشات در زمان های ۰، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آلودگی، از ارقام کشت شده در گلدان مجموعا چهار برگ در هر مرحله انتخاب و در فریزر ۸۰°C- نگهداری شدند. جهت استخراج عصاره‌ی سلولی ۰/۵ گرم از بافت گیاهی منجمد شده در نیتروژن مایع در بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) در دمای چهار درجه‌ی سانتیگراد ساییده و عصاره‌گیری شد. سپس محصول حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX)

سنجش فعالیت آنزیم POX با استفاده از روش این و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد. در این روش از آب‌اکسیژنه و محلول گایاکول استفاده شد. فعالیت آنزیمی با استفاده از قانون بیر-لامبرت و ضریب خاموشی محصول کاتالیز گایاکول پراکسیداز ($۲۶/۶\ mM^{-1}cm^{-1}$) در طول موج ۴۷۰ نانومتر بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

سنجش فعالیت آنزیم CAT بر طبق روش لوک (۱۹۷۴) انجام شد. مخلوط واکنش شامل بافرفسفات حاوی آب‌اکسیژنه دو میلی‌مولار بود. سپس فعالیت آنزیمی در طول موج ۲۴۰ نانومتر با ضریب خاموشی ($۴۰\ mM^{-1}cm^{-1}$) بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

برای سنجش فعالیت آنزیم APX از روش ناکانو و آسادا (۱۹۸۷) استفاده شد. بدین منظور بافر فسفات با EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، اسید آسکوربیک پنج میلی‌مولار و آب‌اکسیژنه ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط شد. سپس میزان فعالیت آنزیم در طول موج ۲۹۰ نانومتر با ضریب خاموشی ($۲/۸\ mM^{-1}cm^{-1}$) بر حسب میکرومول بر گرم بافت تازه محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش به روش طرح کاملا تصادفی با نرم افزار SAS انجام گرفت و با مشاهده تفاوت معنی دار در آنالیز واریانس، مقایسه میانگین به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام گرفت.

نتایج

ارزیابی توانایی قارچ اندومیکوریز *P. indica* و SA در القاء مقاومت به سفیدک پودری

نتایج بررسی توانایی قارچ اندوفیت *P. indica* و SA در القاء مقاومت در گندم علیه *Bgt*، نشان داد که تعداد کلنی رشد یافته در برگ گیاهان همزیست شده و تیمار شده با SA به ترتیب ۴۷ و ۴۲ درصد نسبت به گیاهان شاهد کاهش(معنی‌دار) داشت. این نتایج حاکی از آن است که مقاومت القاء شده توسط *P. indica* و SA نقش مهمی در مقاومت گندم علیه سفیدک پودری و کاهش پیشرفت بیماری ایفا می‌کند (آهنگر و همکاران ۲۰۱۴و آهنگر و همکاران ۲۰۱۶).

آنزیم پراکسیداز (POX)

نتایج تجزیه واریانس حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین گیاهان همزیست شده و کنترل از نظر فعالیت آنزیم POX بود (جدول۱). بطوریکه گیاهان همزیست شده قبل از آلودگی به *Bgt*، فعالیت بالایی از آنزیم POX را نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند. از سویی بررسی میزان فعالیت این آنزیم پس از آلودگی نیز حاکی از روند افزایش این آنزیم در هر دو گروه از گیاهان بود (شکل ۱). به طوریکه نتایج بررسی الگوی فعالیت آنزیم POX نشان داد که افزایش فعالیت این آنزیم در ۱۲ ساعت پس از آلودگی در هر دو گروه از گیاهان آغاز شده و سپس در ۲۴ ساعت پس از آلودگی به روند افزایشی خود ادامه داده و در نهایت در ۴۸ ساعت پس از آلودگی به بیشینه فعالیت خود رسید. در حالیکه نتایج مقایسه میانگین بین گیاهان همزیست شده و شاهد حاکی از تفاوت معنی‌دار بین این دو گروه از گیاهان بود. به طوریکه گیاهان

همزیست شده در تمامی بازه‌های زمانی پس از آلودگی فعالیت بالاتری را نسبت به گیاهان کنترل نشان دادند که این میزان افزایش در سطح احتمال یک درصد نسبت به شاهد معنی‌دار بود.

علاوه بر این، گیاهان پیش تیمار شدن با SA نیز افزایش معنی داری از آنزیم POX را نسبت به گیاهان شاهد نشان دادند که این افزایش در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). علاوه بر این، بررسی میزان فعالیت آنزیم POX پس از آلودگی به *Bgt*، نیز حاکی از فعالیت بالای این آنزیم در هر دو گروه از گیاهان می‌باشد. در حالیکه نتایج آنالیز آماری بیانگر تفاوت معنی‌دار بین گیاهان پیش تیمار شده با SA و گیاهان کنترل در تمامی بازه‌های زمانی پس از آلودگی بود (شکل ۲). به طوریکه فعالیت این آنزیم در گیاهان پیش تیمار شده در ۲۴ ساعت پس ازآلودگی افزایش یافته و نهایتاً در بازه زمانی ۴۸ ساعت پس از آلودگی به بیشترین میزان فعالیت خود رسید که افزایش معنی‌داری را در سطح پنج درصد نسبت به گیاه کنترل نشان داد.

آنزیم کاتالاز (CAT)

نتایج فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان همزیست شده با *P. indica* و گیاهان کنترل حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین هر دو گروه از گیاهان در تمامی بازه‌های زمانی قبل و پس از آلودگی با قارچ *Bgt* بود (جدول۲). از سویی بررسی الگوی فعالیت آنزیم کاتالاز حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین بازه‌های زمانی پس از آلودگی با قارچ *Bgt* بود (شکل۱). به طوریکه در بازه‌های زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از آلودگی بیشترین میزان فعالیت آنزیمی در هر دو گروه از گیاهان مشاهده شد.

درحالیکه بررسی این آنزیم بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار (سطح ۱ درصد) بین گیاهان پیش تیمار شده با SA و کنترل در تمامی بازه‌های زمانی قبل و پس از آلودگی با قارچ *Bgt* بود (جدول۲). بررسی الگوی میزان فعالیت آنزیم کاتالاز حاکی از کاهش میزان فعالیت آنزیم در گیاهان تیمار شده بود به طوریکه این گیاهان در ۲۴ ساعت پس از آلودگی به کمترین میزان فعالیت آنزیمی خود رسیدند. در حالیکه گیاهان کنترل روند افزایشی از فعالیت آنزیم را نشان دادند (شکل ۲). به طوریکه در نتایج حاصله از مقایسه میانگین نیز تفاوت معنی‌داری در هر بازه زمانی از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان پیش تیمار شده و گیاهان کنترل مشاهده شد.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

نتایج حاصل از آنالیز فعالیت آنزیمی APX پس از اعمال آلودگی با قارچ سفیدک سطحی نشان داد که تغییر فعالیت این آنزیم در گیاهان همزیست شده در تمامی بازه‌های زمانی در مقایسه با گیاه شاهد معنی‌دار نبود. درحالیکه گیاهان تیمار شده با SA تفاوت معنی‌دار را قبل و بعد از آلودگی با گیاهان کنترل نشان دادند (جدول۳). به طوریکه بررسی روند فعالیت آنزیمی نشان دهنده‌ی سیر صعودی فعالیت آنزیم در گیاهان کنترل بود. فعالیت APX در این گیاهان از ۱۲ ساعت پس از آلودگی القا گردید و سپس در ۴۸ ساعت به بالاترین حد خود رسید. در حالیکه گیاهان پیش تیمار شده روند کاهشی از فعالیت آنزیمی را نشان دادند (شکل ۲). نتایج مقایسه میانگین نیز حاکی از وجود این تفاوت می‌باشد، بطوریکه بیشترین تفاوت بین گیاهان پیش تیمار شده و کنترل در بازه زمانی ۲۴ ساعت پس از آلودگی مشاهده گردید.

بحث

هرچند به علت وجود بر همکنش‌های فراوان در مسیر پاسخ به تنش و سازگاری، شناخت عوامل تحمل امری دشوار است، اما با این حال این گونه آزمایشات کمک بسزایی به درک راهکارهای تحمل می‌نماید. بررسی عوامل دخیل در صدمه سلولی نشان داده که یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده‌ی خسارت، ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) است که منجر به تغییر عوامل دخیل در حفظ ترکیبات غشایی، ترکیبات ضد انجماد، آنتی اکسیدان‌ها و فرآیندهای متعدد دیگر می‌شود (تورس و همکاران ۲۰۰۶). کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز از جمله آنزیم‌های مهم در مقابله با ROS ها از جمله پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌باشند (لیو و همکاران ۲۰۰۸).

جدول ۱- تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان گندم رقم فلات همزیست شده با قارچ ***Piriformospora indica*** و تیمار شده با اسید سالسیلیک و گیاهان شاهد در بازه های زمانی مختلف پس از آلودگی به قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی.

تیمار	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز			
			قبل از آلودگی	۱۲ ساعت پس از آلودگی	۲۴ ساعت پس از آلودگی	۴۸ ساعت پس از آلودگی
P. indica	تیمار	۱	۰/۰۴۴ **	۰/۱۰۰۲ **	۰/۱۷ **	۰/۰۷۷ *
	خطا	۴	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۷	۰/۰۰۵
SA	تیمار	۱	۰/۰۰۹ *	۰/۰۳۱**	۰/۰۱۶ *	۰/۰۷۷ *
	خطا	۴	۰ /۰۰۰۵	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۴

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و **ns** عدم وجود تفاوت معنی‌دار.

جدول ۲- تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان گندم رقم فلات همزیست شده با قارچ ***Piriformospora indica*** و تیمار شده با اسید سالسیلیک و گیاهان شاهد در بازه های زمانی مختلف پس از آلودگی به قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی

تیمار	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات میزان فعالیت آنزیم کاتالاز			
			قبل از آلودگی	۱۲ ساعت پس از آلودگی	۲۴ ساعت پس از آلودگی	۴۸ ساعت پس از آلودگی
P. indica	تیمار	۱	۰/۰۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۰۹ ns	۰/۰۰۱۳ ns	۰/۰۰۱ ns
	خطا	۴	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۲
SA	تیمار	۱	۰/۰۳**	۰/۰۲۴**	۰/۰۸۳ **	۰/۰۲۱ **
	خطا	۴	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱۹	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۵

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و **ns** عدم وجود تفاوت معنی‌دار.

جدول ۳- تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهان گندم رقم فلات همزیست شده با قارچ ***Piriformospora indica*** و تیمار شده با اسید سالسیلیک و گیاهان شاهد در بازه های زمانی مختلف پس از آلودگی به قارچ عامل بیماری سفیدک سطحی

تیمار	منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز			
			قبل از آلودگی	۱۲ ساعت پس از آلودگی	۲۴ ساعت پس از آلودگی	۴۸ ساعت پس از آلودگی
P. indica	تیمار	۱	۰/۴۶ ns	۰/۲۵ ns	۰/۱۳۲ ns	۱/۸۶ ns
	خطا	۴	۰/۰۷	۰/۱۷۲	۰/۵۶	۰/۳۱
SA	تیمار	۱	۲/۵*	۳/۱۵**	۱۵/۱۳ **	۷/۷ *
	خطا	۴	۰/۱۵	۰/۰۴۷	۰/۰۸۷	۰/۴۸

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و **ns** عدم وجود تفاوت معنی‌دار.

نتایج این مطالعه حاکی از افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان همزیست شده با قارچ اندومایکوریز *P. indica* و پیش تیمار شده با SA در مقایسه با گیاهان کنترل قبل و پس از آلودگی با *Bgt* بود. مطالعات مربوط به آنزیم POX نشان می‌دهد این آنزیم دارای ایزوزایم‌های مختلفی است که علاوه بر غیرفعال

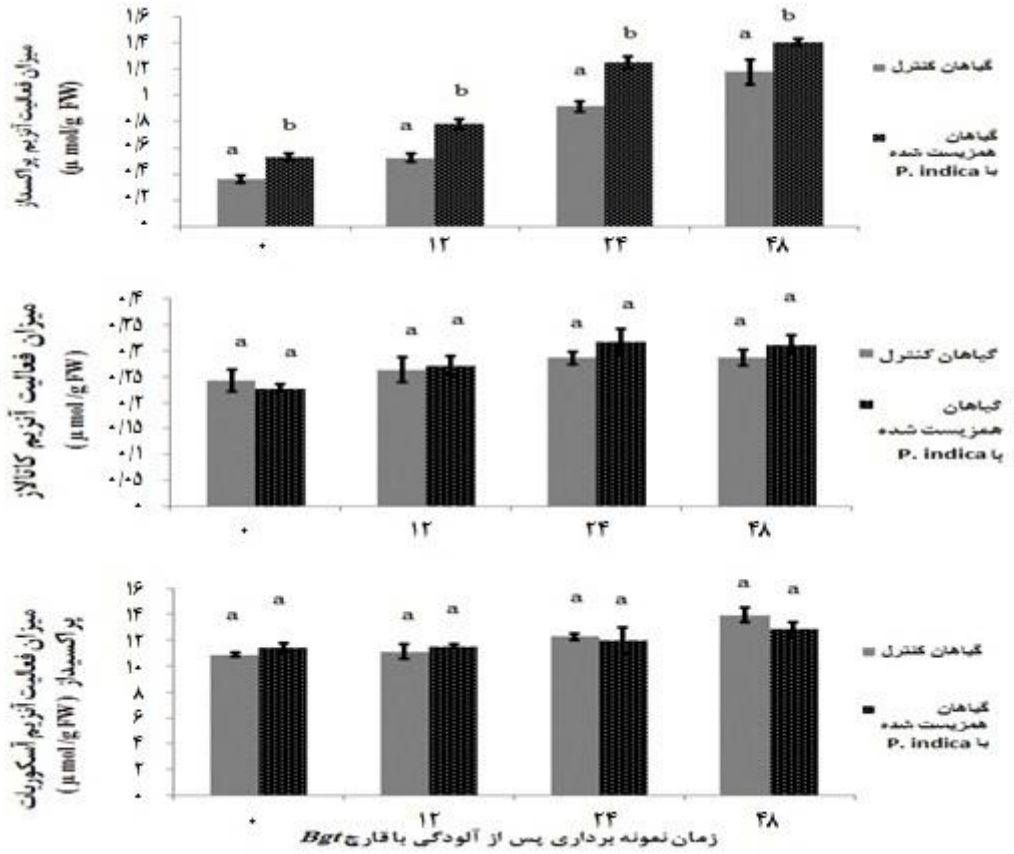
نمودن H_2O_2، نقش مهمی را در تولید آن ایفا می‌نماید به طوریکه تولید این H_2O_2، برای تشکیل لیگنین در سلول به واسطه پراکسیداز مورد نیاز می‌باشد (آستیر و همکاران ۲۰۰۲). در غلات نشان داده شده که القای لیگنینی و سوبرینی شدن سلولی به عنوان یک مکانیسم مهم مقاومت به طیف وسیعی از قارچ‌ها از جمله سفیدک و زنگ می‌باشد (مولدن هور و همکاران ۲۰۰۶ و هاراچ و همکاران ۲۰۰۸). علاوه بر این، آنزیم POX به دلیل تولید H_2O_2 در سلول در القای مرگ سلولی (HR) نیز بسیار موثر می‌باشد (هوکلهوفن و همکاران ۱۹۹۹). لذا بر اساس نتایج حاصله، فعالیت بالای این آنزیم در ساعات اولیه آلودگی می‌تواند به دلیل نقش آن در اتصالات عرضی و سنتز لیگنین در جهت بستن منافذ و تقویت دیواره سلولی باشد و از سویی تولید بالای آن در بازه ۴۸ ساعت پس از آلودگی می‌تواند به دلیل نقش آن درالقای مرگ سلولی باشد تا از پیشرفت بیماری ممانعت نمایند.

از سویی نتایج بدست آمده بیانگر نقش موثر قارچ اندوفیت *P. indica* و SA در القای مقاومت از طریق فعال نمودن آنزیم POX می‌باشد. بطوریکه نتایج این بررسی در گیاهان تیمار شده با SA با نتایج سیاهپوش و همکاران (۲۰۱۱) و نی (۲۰۰۶) مطابقت داشت. چاندرا و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که در لوبیا چشم بلبلی تیمار شده با SA میزان فعالیت POX در پاسخ به *Rhizoctonia solani* به طور قابل توجهی افزایش یافت. علاوه براین، مطالعات زیادی از تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان همزیست شده با قارچ *P. indica* تحت تنش‌های مختلف موجود می‌باشد (هی و ولین ۲۰۰۵، کواکس و همکاران ۲۰۱۱) ولی به نظر می‌رسد این اولین گزارش از فعالیت این آنزیم در بیماری سفیدک سطحی گندم باشد.

نتایج این بررسی حاکی از کاهش میزان فعالیت آنزیم CAT در گندم فلات پیش تیمار شده با SA نسبت به گیاهان کنترل بود، درحالیکه گیاهان همزیست شده تفاوت معنی‌داری را با گیاهان کنترل نشان ندادند بدین معنی که قارچ *P. indica* بر خلاف SA نمی‌تواند در القای مقاومت از طریق مسیر آنزیمی CAT نقشی مهمی را ایفا نماید. مطالعات نشان داد SA به دلیل داشتن اکسیژن در گروه هیدروکسیل آزاد بر روی حلقه بنزوئیک خود قادر به کلاته کردن آهن موجود در کاتالاز بوده و بدین ترتیب فعالیت جاروب کنندگی H_2O_2 این آنزیم را بطور اختصاصی سرکوب می‌نماید (کیگوا و ژوژان ۲۰۰۸). لذا ۴۸ ساعت پس از پیش تیمار رقم فلات با SA، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان کنترل کاهش یافت و پس از اعمال آلودگی با قارچ *Bgt*، نیز همچنان این روند کاهشی در گیاهان پیش تیمار شده ادامه یافت. در حالیکه در گیاهان کنترل، فعالیت آنزیم کاتالاز روند نسبتاً افزایش را نشان داد به طوریکه در ۲۴ ساعت پس از آلودگی بیشترین تفاوت معنی‌دار با گیاهان پیش تیمار شده مشاهده شد. ضیغمی نژاد و شریفی سیرچی (۲۰۱۴) نیز فعالیت پایینی از آنزیم کاتالاز را پس از تیمار با SA گزارش نمودند. آن‌ها نشان دادند که پیش تیمار کردن گیاهان با SA سبب کنترل موثر سفیدک پودری در کدوگردید.

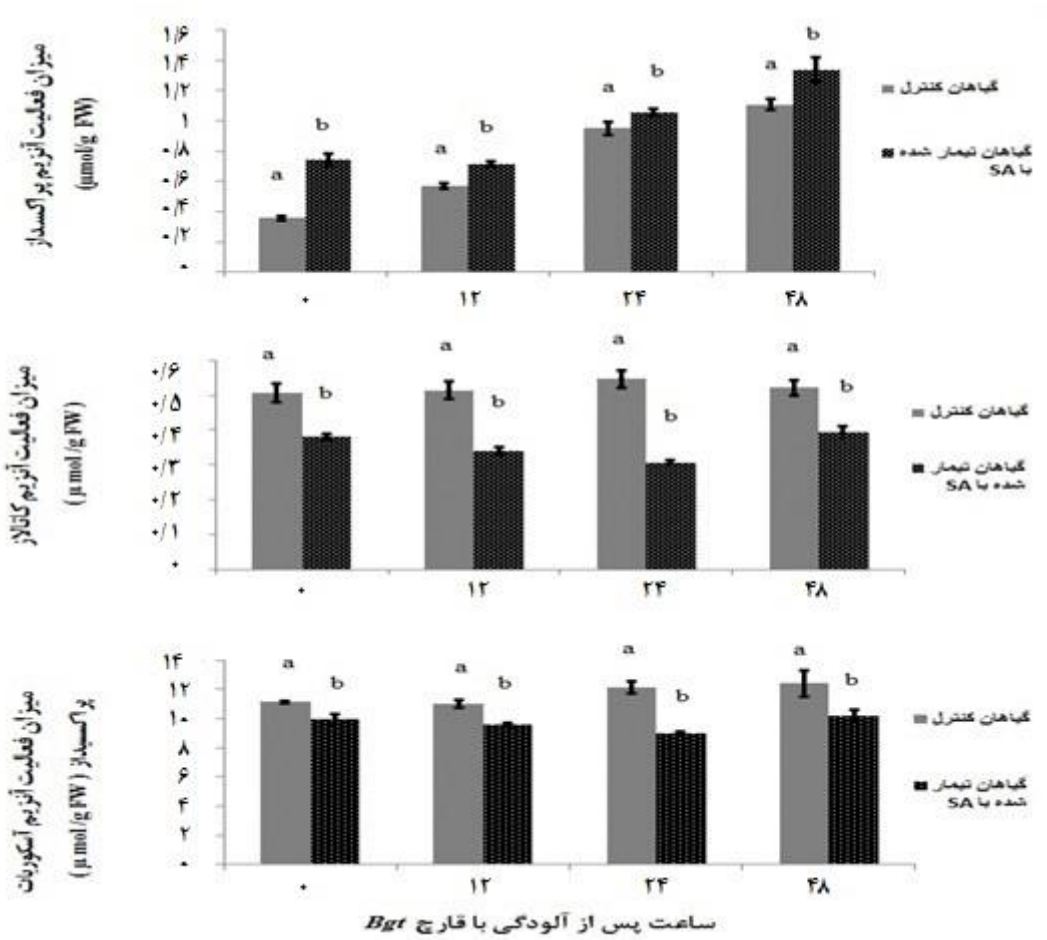
از سویی تحقیقات نشان داده است اگرچه که، H_2O_2 در غلظت‌های بالا برای گیاه می‌تواند سمی باشد، اما در حین حال می‌تواند نقش پیام‌آور در القای مسیرهای دفاعی در گیاه را ایفا نماید به طوریکه میتلر و همکاران (۱۹۹۹) نشان دادند کاهش آنزیم‌های کاتالاز سبب افزایش مرگ برنامه ریزی شده سلولی (PCD) در توتون‌های تراریخت تحت حمله بیمارگر گردید. بنابراین بر اساس نتایج این تحقیق استنباط می‌شود که گیاهان پیش تیمار شده با SA با کاهش فعالیت آنزیم CAT پس از آلودگی با *Bgt* سبب افزایش سطح H_2O_2 به عنوان یک سیگنال در گیاه می‌گردند تا با فعال‌سازی القای مرگ سلولی و ژن‌های پروتئین های مرتبط با بیماری (PR پروتئین) در گیاه از آن در برابر بیمارگر بیوتروف سفیدک محافظت نمایند.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز یکی از آنزیم‌های کلیدی از بین برنده H_2O_2 بوده که نقش بسیار مهمی را به عنوان واسطه سیگنال‌دهی، برای فعال کردن اتفاقات پایین دست از جمله بیان ژن برای ایجاد مقاومت به تنش



شکل ۱- میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان گندم رقم فلات همزیست شده با *Piriformospora indica* و گیاهان شاهد پس از آلودگی با *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. مقایسه میانگین‌ها بر اساس حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در هر بازه زمانی در سطح احتمال ۵ درصد.

بازی می‌نماید (بولر و فلور ۲۰۰۰). مطالعات نشان داد که SA از جاروب H_2O_2 توسط آسکوربات پراکسیداز سیتوزولی ممانعت نموده و سطح H_2O_2 را در گیاه بلافاصله پس از تیمار SA افزایش می‌دهد (دمسپی و همکاران ۱۹۹۹). نتایج تجزیه واریانس فعالیت APX این مطالعه نشان دهنده‌ی کاهش میزان فعالیت این آنزیم قبل و پس از آلودگی با قارچ *Bgt* در گیاهان پیش تیمار شده با SA بوده در حالیکه گیاهان کنترل روند افزایشی از فعالیت APX را نشان دادند. افزایش بالای این آنزیم در رقم کنترل به خصوص در ۲۴ ساعت پس از آلودگی احتمالا می‌تواند به دلیل نفوذ موفقیت آمیز قارچ به سلول‌های گیاه باشد. به طوریکه افزایش فعالیت این آنزیم در گیاه حساس با کاهش سطح H_2O_2 از مرگ سلولی در گیاه جلوگیری نموده تا قارچ بتواند به راحتی در گیاه توسعه یابد که با نتایج ال-زاهابی و همکاران (۱۹۹۵) در رابطه با جو آلوده به *Bgh* مطابقت داشت. از سویی کاهش معنی‌دار این آنزیم در فلات پیش تیمار شده می‌تواند با افزایش سطح H_2O_2 در القای مرگ سلول‌های مورد حمله قارچ توجیه گردد. به طوریکه توتون‌های تراریخت cAPX-S2 و cAPX-S3 که به ترتیب ۵۰ و ۷۵ درصد کمتر از گیاه وحشی دارای فعالیت APX می‌باشند، سطوح بالایی از H_2O_2 را نسبت به گیاه کنترل نشان دادند (ایشیکاوا و همکاران ۲۰۰۵).



شکل ۲- میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان رقم فلات تیمار شده با اسید سالسیلیک و گیاهان شاهد پس از آلودگی با ***Blumeria graminis* f. sp. *tritici***. مقایسه میانگین‌ها بر اساس حداقل تفاوت معنی‌دار (**LSD**) در هر بازه زمانی در سطح احتمال ۵ درصد.

به طور کلی مطالعات آنزیمی نشان داد که قارچ *P. indica* تنها سبب فعال نمودن آنزیم پراکسیداز در القای مقاومت گردیده در حالیکه با افزایش CAT و APX هم راستا با رقم حساس تنها به تنش پاسخ داده، ولی در مسیر القای مقاومت از طریق فعال نمودن مسیر آنزیمی کارایی چندانی نداشته است. لذا احتمالا این قارچ همزیست می‌تواند از طریق فعال نمودن مسیرهای دیگری مثل فعال سازی ژن‌های مرتبط به بیماری‌زایی (PR) و پروتئین‌های مرتبط در مسیر مقاومت نقش ایفا نماید. درحالیکه SA با افزایش آنزیم پراکسیداز و کاهش CAT و APX نقش مهمی را در القای مقاومت از طریق مسیر آنزیمی در رقم حساس علیه بیمارگر *Bgt* ایفا نمود. لذا استفاده از SA در القای مسیر آنزیمی علیه بیماری سفیدک سطحی توصیه می‌گردد.

منابع مورد استفاده

Agrios GN, 2005. Plant Pathology. Academic Press, Science 922-952.

Ahangar L, Babaezade V, Ranjbar Gh.A, Najafi Zarrini H and Biabani A, 2016. Study of PR gene expression pattern related to in induced resistance to powdery mildew in susceptible wheat genotype after treating with salicylic acid. Journal of Crop Breeding 8: 208-218

Ahangar L, Ranjbar Gh.A, Babaezade V, Najafi Zarrini H and Biabani A, 2014. Study on expression of phenylalanine ammonia-lyase and pathogensis-related genes in wheat symbiont with endomycorrhizal

fungus *Piriformospora indica* after infection with powdery mildew. Plant Disease Journal 50 : 369-384

Ashraf M, 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology Advances 27:84-93.

Asthir B, Duffus CM, Smith R and Spoor W, 2002. Diamine oxidase is involved in H_2O_2 production in the chalazal cells during barley grain filling. Journal of Experimental Botany 53: 677-682.

Bowler C and Fluhr R. 2000. The role of calcium and activated oxygens as signals for controlling cross-tolerance. Trends Plant Science Abbreviations 5: 241–246.

Chandra A, Saxena R, Dubey A and Saxena P, 2007. Change in phenylalanine ammonia lyase activity and isozyme patterns of polyphenol oxidase and peroxidase by salicylic acid leading to enhanced resistance in cowpea against *Rhizoctonia solani*. Acta Physiologiae Plantarum 29: 361–367

Conner RL, Kuzyk AD and Su H, 2003. Impact of powdery mildew on the yield of soft white spring wheat cultivars. Canadian Journal Plant Science 83: 725-728.

Dempsey DA, Shah J and Klessig DF, 1999. Salicylic acid and disease resistance in plants. Critical Reviews in Plant Science 18:547–75.

Deshmukh S and Kogel K, 2007. *Piriformospora indica* protects barely from root rot disease caused by Fusarium. Journal of Plant Disease and Protection 114: 263-268.

El- Khallal SM, 2007. Induction and modulation of resistance in tomato plants against *Fusarium* wilt disease by bioagent fungi (*Arbuscular mycorrhiza*) and/or hormonal elicitors (jasmonic acid and salicylic acid): 2-changes in the antioxidant enzymes, phenolic compounds and pathogen related-proteins. Australian Journal Basic and Applied Science 1: 717-732.

El-Zahaby HM, Gullner G and Kiràly Z, 1995. Effects of powdery mildew infection of barley on the ascorbate-glutathione cycle and other antioxidants in different host-pathogen interactions. Phytopathology 85:1225–1230.

Harrach BD, Fodor J, Pogány M, Preuss J and Barna B, 2008. Antioxidant, ethylene and membrane leakage responses to powdery mildew infection of near-isogenic barley lines with various types of resistance. European Journal of Plant Pathology 121: 21–33

Hassibi P, Moradi F and Nabipour M, 2007. Screening of rice genotypes for low temperature stress-using chlorophyll flourescence. Iranian Journal of Crop Science 9: 14-31.

He CY and Wolyn DJ, 2005. Potential role for salicylic acid in induced resistance of asp aragus roots to *Fusarium oxysporum* f. sp. *asparagi*. Plant Pathology 54: 227–232.

Horvath E, Szalai G and Janda T, 2007. Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid signaling. Journal of Plant Growth Regulation 26: 290-300.

Hückelhoven R, Fodor J, Preis C and Kogel KH, 1999. Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with H_2O_2 but not with salicylic acid accumulation. Plant Physiology 119: 1251-1260.

In BC, Motomura S, Inamoto K and Doi M, 2007. Multivariente analysis of relation between preharvest environmental factors, postharvest morphological and physiological factors and vase life of cut Asomi Red Roses. Japanese Society for Horticultural Science 76: 66-72.

Ishikawa T, Morimoto Y, Madhusudhan R, Sawa Y, Shibata H, Yabuta Y, Nishizawa A and Shigeoka Sh, 2005. Acclimation to diverse environmental stresses caused by a suppression of Cytosolic Ascorbate Peroxidase in tobacco BY-2 cells. Plant Cell Physiology 46: 1264-1271.

Kole C and Timothy C, 2008. Compendium of transgenic crop plants. Transgenic cereals and forage grasses. Wiley-Blackwell Publishing Ltd. ISBN. 978-1405-169240.

Kovács V, Pál M, Vida G, Szalai G and Janda T, 2011. Effect of powdery mildew infection on the antioxidant enzyme activities in different lines of Thatcher-based wheat. Acta Biologica Szegediensis 55: 99-100.

Liu Q, Yang JL, He LS, Li YY and Zheng SJ, 2008. Effect of aluminium on cell wall, plasma membrane, antioxidants and root elongation in triticale. Biologia Plantarum 52: 87-92.

Luck H, 1974. Catalse in methods of enzymatic analysis. Vol Π, edited by Bergmeyer J and Grabi M. Academic Press. New York: Ed Bergmeyer p 885-890

Mittler R, Herr EH, Orvar BL, Van Camp W, Willekens H, Inze D and Ellis BE, 1999. Transgenic tobacco plants with reduced capability to detoxify reactive oxygen intermediates are herresponsive to pathogen infection. Proceeding of the Natural Academy of Science 96:14165-70.

Moldenhauer J, Moerschbacher BM and Van der Westhuizen AJ, 2006. Histological investigation of stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) development in resistant and susceptible wheat cultivars. Plant Pathology 55: 469-474.

Nakano Y and Asada K, 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. Plant Cell Physiology 28: 131-140.

Nie X, 2006. Salicylic acid suppresses Potato virus Y isolate N:O-induced symptoms in tobacco plants. Phytopathology 96: 255- 63

Qinghua SH and Zhujun Z, 2008. Effect of exogenous salicylic acid on manganese toxicity, element contents and antioxidative system in cucumber. Environmental and Experimental Botany 63:317-324

Siahpoush S, Sahebani N and Aminian H, 2011. Change of some defense compounds of cucumber treated with *Bacillus cereusand* salicylic acid against *Meloidogyne javanica*. African Journal of Plant Science 5: 829-834.

Sharma YK, Jeon J, Raskin I and Davis KR, 1996.Ozone-induced responses in *Arabidopsis thaliana*: The role of salicylic acid in the accumulation of defense-related transcripts and induced resistance. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 93: 5099-5104.

Stein E, Molitor A, Kogel KH and Waller F, 2008. Systemic resistance in Arabidopsis conferred by the mycorrhizal fungus *Piriformospora indica* requires jasmonic acid signaling and the cytoplasmic function of NPR1. Plant Cell Physiology 49: 1747-51.

Torres MA, Jonathan DG and Dangl JL, 2006. Reactive oxygen species signaling in response to pathogen. Plant Physiology 141: 373-378.

Varma A, Verma S, Sudha H, Sahay N, Beutehorn B and Franken P, 1999. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth promoting root endophyte. Applied Environment Microbiology 65: 2741-2744.

Vlot AC, Dempsey DA and Klessig DF, 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. Annual Review of Phytopathology 47: 177-206.

Zawoznik MS, Groppa MD, Tomaro ML and Benavides MP, 2007. Endogenous salicylic acid potentiates cadmium-induced oxidative stress in *Arabidopsis thaliana.* Plant Science 173: 190-197.

Zeighaminezhad R and Sharifi Sirchi GhR, 2014. Study of PR gene expression and activity of effective enzymes in induced resistance to Powdery mildew by Salicylic acid. Biotechnology Journal 5: 97-110.

The Effect of *Piriformospora indica* and Salicylic Acid on the Activity of Antioxidant Enzymes in the Wheat Sensitive to Powdery Mildew Fungus

L Ahangar*[1], GhA Ranjbar[2], V Babaeizad[3], H Najafi Zarrini[4] and A Biabani[5]

[1]Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Gonbad kavous
[2]Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
[3]Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
[4]Associated Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Gonbad kavous.
*Corresponding author: l.ahangar63@gmail.com
Received: 29 January 2017 Accepted: 10 January 2018

Abstract

Use of fungicides against wheat powdery mildew disease caused by biotrophic *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Bgt*)), is not taken into consideration. Therefore, employment of artificial activator of defense mechanism that can induce resistance in plants, is very important. For this purpose, Falat cultivar as a susceptible genotype to powdery mildew, was inoculated with *B. graminis* after colonizing with endomycorrhizal fungus, *Piriformospora indica*, together with control plants. In another experiment, two weeks old Falat plants were treated with salicylic acid after 48h and then, were inoculated with the pathogen. Then, the pattern of catalase, peroxidase and ascorbate peroxidase antioxidant enzymes were compared at 0, 12, 24 and 48 hours after infection in three replications. The results of this study showed that the enzyme activity of the Falat treated with SA were less than the control plant before and after the disease (except peroxidase enzyme, which increased before and after infection). In symbiont plants, there was no significant difference in the amount of enzyme activities than control plants, except overexpression of peroxidase enzyme. Therefore, it seems that the symbiotic fungi is hot effect for inducing resistance via enzymatic pathway. Probably these fungi can play an important role through the activation of other pathways such as activation of pathogens related proteins. While, SA can suppress the biotrophic pathogen by reducing the capacity of the antioxidant enzymes and inducting the rapid cell death. Therefore, the application of SA against powdery mildew is recommended.

Keywords: Antioxidant enzymes, *Piriformospora indica*, Salicilic Acid, Resistance induction.