



Effect of Three Pathogen Races of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* on the Activity of Antioxidant Enzymes in Susceptible and Resistant Wheat Genotypes at the Seedling Stage

Sonia Jodeir¹ , Nasrin Moshtaghi² & Ali Omrani³

¹ PhD of Agricultural Biotechnology, Departement of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

² Departement of Biotechnology and and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

³ Crop and Horticultural Science Research Department, Ardabil Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Moghan, Iran.

Corresponding author. E-mail: moshtaghi@um.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Stem rust disease of wheat, caused by *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*, (*Pgt*) is the most devastating disease affecting wheat crops. Findings have demonstrated that antioxidant enzymes play a vital role in conferring resistance to biotic stresses, particularly against biotrophic fungi. This study aims to compare the effects of three distinct races of *Pgt* on the activity of antioxidant enzymes in susceptible and resistant wheat cultivars at three time points 24, 48, and 72 hours after inoculation (hai).

Materials and methods: Seeds of two wheat genotypes including susceptible (Morocco) and resistant (Btsr24Agt) to stem rust and spores of three stem rust races (PTRTF, TKTTF and TTKTK) were obtained from Seed and Seedling Breeding and Production Research Institute of Karaj, Iran. The experiment was carried out as a factorial in a completely randomized design with three replications. The seeds were planted in 24 cm diameter pots containing a mixture of peat moss, sand, and soil and were maintained under conditions of 16 hours of light and 8 hours of darkness at 22-24°C. Inoculation of *Pgt* races on the whole leaf surface of seedlings was carried out by a brush paint when they were in stage 12 of the Zadox scale. Control seedlings were treated in the same way with sterile distilled water. In order to establish the disease, the inoculated and control plants were kept in the darkness for 18 hours at 18°C with 100% relative humidity and then maintained in a growth chamber with the above conditions. The leaves of the inoculated and control plants were harvested at 24, 48 and 72 hours after inoculation and the activities of superoxide dismutase (SOD) and guaiacol peroxidase (GPX) were measured.

Results: The activity of the GPX enzyme was significantly increased in infected plants compared to the control at all time points. The lowest GPX activity was recorded at 24 hours, followed by increases at 48 and 72 hai, and the highest activity was observed at 72 hai. Notably, the resistant genotype exhibited higher GPX activity than the susceptible cultivar. In contrast, SOD enzyme activity increased in both cultivars at 24 hai compared to 48 and 72 hai. The PTRTF and TKTTF races showed a significant increase in SOD activity compared to the controls, while the TTKTK race did not exhibit any changes. Additionally, the susceptible cultivar demonstrated increased enzyme activity compared to the controls, whereas the resistant cultivar showed no significant changes.

Conclusion: The resistant genotype consistently had higher GPX activity than the susceptible cultivar. Across all time points and races, this enzyme likely plays a crucial role in scavenging reactive oxygen species (ROS) induced by pathogens, thereby contributing to the plant's defense mechanisms. In plant-biotrophic pathogen interactions, the activity of antioxidant enzymes is influenced by the type of interaction (compatible or incompatible) and the specific race, host variety, and hours after inoculation.

Keywords: Wheat stem rust, Superoxide dismutase, Guaiacol peroxidase, Reactive Oxygen Species.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 04 May 2024, Revised: 24 May 2024, Accepted: 12 Aug 2024, Published online: 22 Sep 2024

Cite this article: Jodeir, S., Moshtaghi, N. & Omrani, A. (2024). Effect of Three Pathogen Races of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* on the Activity of Antioxidant Enzymes in Susceptible and Resistant Wheat Genotypes at the Seedling Stage. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 3(3), 361-375. DOI: [10.22126/cbb.2024.11345.1090](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.11345.1090)



© The Author(s).
[10.22126/cbb.2024.11345.1090](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.11345.1090)

Publisher: Razi University



تأثیر سه نژاد بیمارگر زنگ ساقه (*Puccinia graminis f. sp. Tritici*) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو ژنوتیپ حساس و مقاوم گندم در مرحله گیاهچه‌ای

سونیا جدیر^۱، نسرين مشتاقی^۲ و علی عمرانی^۳

^۱ دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

^۲ عضو هیات علمی گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران.

^۳ عضو هیات علمی بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اردبیل (مغان)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مغان، ایران.

✉ نویسنده مسئول. رایانامه: moshtaghi@um.ac.ir

چکیده

مقدمه: بیماری زنگ ساقه گندم که توسط عامل قارچی *Puccinia graminis f. sp. tritici* (Pgt) ایجاد می‌شود، یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های گندم است. یافته‌ها پیش از این نشان داده‌اند که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در مقاومت به تنش‌های زیستی به‌ویژه قارچ‌های بیوتروفی دارند. مطالعه حاضر به مقایسه اثرات سه نژاد مختلف Pgt بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو رقم حساس و مقاوم گندم در سه نقطه زمانی مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: بذر دو ژنوتیپ گندم حساس (موروکو) و مقاوم (Btsr24Agt) به زنگ ساقه و اسپور سه نژاد بیمارگر زنگ ساقه شامل PTRTF، TTKTK و TKTTF از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. بذرها در گلدان‌هایی به قطر ۲۴ سانتی‌متر حاوی مخلوطی از پیت‌ماس، ماسه و خاک کشت شد و در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مایه‌زنی اسپور نژادهای Pgt در سطح برگ‌های گیاهان هنگامی که در مرحله ۱۲ از مقیاس زادوکس بودند با یک برس به نحوی انجام شد که سطح همه برگ‌ها به اسپور آغشته شود. گیاهچه‌های شاهد به همان روش با آب مقطر استریل تیمار شدند. به‌منظور استقرار بیماری، گیاهان مایه‌زنی شده به همراه شاهد به مدت ۱۸ ساعت در تاریکی در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد (در حد اشباع) قرار گرفتند و سپس در اتاقک رشد با شرایط ذکر شده نگهداری شدند. برگ‌های گیاهان مایه‌زنی شده و کنترل در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی برداشت شدند و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: فعالیت آنزیم GPX در همه زمان‌های اندازه‌گیری شده در گیاهان آلوده در مقایسه با شاهد افزایش یافت. کم‌ترین میزان فعالیت GPX در زمان ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی و با گذشت زمان در ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی افزایش یافت، به‌نحوی که بیشترین میزان فعالیت مربوط به ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی بود. میزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ مقاوم به وضوح بیشتر از رقم حساس بود. در حالی که فعالیت آنزیم SOD در هر دو ژنوتیپ حساس و مقاوم در ۲۴ ساعت پس از مایه‌زنی بیش از زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی بود. فعالیت آنزیم SOD در نژادهای PTRTF و TKTTF نسبت به شاهد افزایش محسوس داشت. در مقابل، نژاد TTKTK نسبت به شاهد تغییری نشان نداد. همچنین میزان فعالیت آنزیم SOD در رقم حساس نسبت به شاهد افزایش نشان داد در حالیکه در ژنوتیپ مقاوم نسبت به شاهد تغییری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: از آنجا که میزان فعالیت GPX در همه زمان‌ها و نژادهای بررسی شده در ژنوتیپ مقاوم بیش از ژنوتیپ حساس بود، شاید بتوان برای این آنزیم نقش مهمی در مهار ROS ناشی از بیمارگر و در نتیجه مکانیسم‌های دفاعی قائل شد. در میان‌کنش بین گیاه و بیمارگر بیوتروف، عموماً فعالیت هر یک از آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی علاوه بر متأثر بودن از نوع تعامل (سازگار و ناسازگار)، به نژاد، رقم و زمان پس از مایه‌زنی بستگی دارد.

واژه‌های کلیدی: زنگ ساقه گندم، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز، گونه‌های فعال اکسیژن.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۱۵ **اصلاح:** ۱۴۰۳/۰۳/۰۴ **پذیرش:** ۱۴۰۳/۰۵/۲۲ **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۳/۰۷/۰۱

استناد: جدیر، س، مشتاقی، ن. و عمرانی، ع. (۱۴۰۳). تأثیر سه نژاد بیمارگر زنگ ساقه (*Puccinia graminis f. sp. Tritici*) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در

دو ژنوتیپ حساس و مقاوم گندم در مرحله گیاهچه‌ای. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۳(۳)، ۳۶۱-۳۷۵. DOI: [10.22126/cbb.2024.11345.1090](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.11345.1090)



© نویسندگان

ناشر: دانشگاه رازی

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) مهمترین محصول زراعی راهبردی در تأمین امنیت غذایی مردم جهان است و حدود ۲۶ درصد از کل غله تولید شده در سراسر جهان را به خود اختصاص می‌دهد (FAO, 2022). با این حال، عملکرد و کیفیت دانه آن به شدت تحت تأثیر بیماری‌های قارچی مختلف از جمله زنگ ساقه قرار می‌گیرد (Lorrain et al., 2018). بیمارگر قارچی زیوا پرور (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (Pgt)) عامل بیماری زنگ ساقه گندم، می‌تواند سبب از بین رفتن عملکرد دانه تا ۱۰۰ درصد در واریته‌های حساس شود (Salcedo, 2018). این بیمارگر در طول سال‌های متمادی به گونه‌ای تکامل یافته و نژادهای فیزیولوژیک متعددی را به وجود آورده است که می‌توانند در سریع‌ترین زمان ممکن، ساختار ژنتیکی خود را تغییر دهند و با ظهور نژادهای جدید با الگوهای بیماری‌زایی متفاوت، بر مقاومت موجود در واریته‌های زراعی غلبه نمایند. ظهور نژاد Ug99 (TTKTK) این بیمارگر برای اولین بار در شرق آفریقا در سال ۱۹۹۹ که نسبت به بسیاری از ژن‌های مقاومت موجود پرازار است، تهدیدی جدی برای تولید گندم در سراسر جهان محسوب می‌شود (Chen et al., 2019). از یک سو، گسترش نژاد Ug99 در سرتاسر مناطق رشد گندم در آفریقا، آسیا و خاورمیانه و از سوی دیگر، میزان بالای وابستگی مردم به تغذیه از گندم در این مناطق، باعث شده است که امروزه این بیماری، اصلی‌ترین نگرانی محسوب شود. این نژاد دارای

پروفایل بیماری‌زایی منحصر به فردی است و به علت سرعت بالای جهش در آن، تاکنون ۱۳ واریانت جدید در دودمان Ug99 تشخیص داده شده است (Lidwell et al., 2020). معمولاً تنش‌های زنده، تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species) مانند آنیون سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$) را در گیاهان تحریک می‌کنند (Mittler, 2017). تولید ROS یکی از اولین واکنش‌های بافت‌های گیاهی به محرک‌ها و حمله بیمارگرها است. علاوه بر این، ROS نه تنها به عنوان یک ترکیب ضد میکروب عمل می‌کند، بلکه نقش پیام‌رسان را در پاسخ‌های دفاعی گیاه دارد و باعث ایجاد پاسخ فوق حساسیت یا HR (hypersensitive response) می‌شود. پاسخ فوق حساسیت سبب مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی در سلول‌های آلوده می‌شود. این مرگ سلولی به عنوان یکی از پاسخ‌های دفاعی میزبان در برابر بیمارگرهای بیوتروف در نظر گرفته می‌شود، زیرا بیمارگرهای بیوتروف برای رشد و تولیدمثل، به سلول‌های میزبان زنده نیاز دارند (Seifi et al., 2012). مطالعات قبلی روی بیمارگرهای قارچی به ویژه زنگ نواری گندم نشان داده است که این بیمارگرها می‌توانند تولید $O_2^{\cdot-}$ و H_2O_2 در مرحله گیاهچه‌ای و نیز گیاه بالغ را تحریک کنند (Chen et al., 2015; Wang et al., 2007; Zhang et al., 2012). با این حال، سطوح بیش از حد ROS به طور بالقوه به سلول‌های گیاهی آسیب می‌رساند؛ مگر اینکه توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سم‌زدایی شوند.

پس از مایه‌زنی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۴۰۲ اجرا شد. بذر دو ژنوتیپ گندم حساس (موروکو) و مقاوم (Btsr24Agt) به زنگ ساقه و اسپور سه نژاد بیمارگر شامل PTRTF، TKTF و TTKTK از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد. رقم موروکو نسبت به هر سه نژاد واکنش حساسیت و ژنوتیپ Btsr24Agt نسبت به هر سه نژاد واکنش مقاومت داشت. بذرها به طور جداگانه در گلدان‌هایی با قطر ۲۴ سانتی‌متر حاوی مخلوطی از پیت‌ماس، ماسه و خاک کشت شدند و در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۲-۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. عمل مایه‌زنی هنگامی انجام شد که گیاهان در مرحله ۱۲ از مقیاس زادوکس بودند. مایه‌زنی اسپور نژادهای *Pgt* در سطح برگ‌های گیاهان نیز هنگامی انجام شد که در مرحله ۱۲ از مقیاس زادوکس (Zadoks et al., 1974) بودند. با توجه به مقدار حجم آزمایش، به ازای هر گلدان، نیم گرم اسپور با سه برابر پودر تالک به خوبی مخلوط و توسط برس روی برگ‌ها پاشیده شد، به نحوی که سطح همه برگ‌ها به اسپور آغشته گردید. گیاهچه‌های شاهد (کنترل)، به همان روش با آب مقطر استریل تحت تیمار قرار گرفتند. به منظور استقرار بیماری، گیاهان مایه‌زنی شده به همراه شاهد به مدت ۱۸ ساعت در تاریکی در دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد با رطوبت نسبی در حد اشباع قرار گرفتند و سپس در اتاقک رشد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸

یافته‌ها پیش از این نشان داده‌اند که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در مقاومت به تنش‌های زیستی به ویژه قارچ‌های بیوتروفی دارند (Anahid et al., 2013; Asthir et al., 2010; Chen et al., 2015; Zainy et al., 2023).

اغلب مطالعاتی که در راستای مقابله با بیمارگر *Pgt* انجام شده‌است، مربوط به شناسایی ژن‌های مقاومت در ذخایر ژنتیکی گیاهی موجود در سراسر جهان است که با وجود تلاش‌های بسیار، تعداد ژن‌های مقاومت مؤثر شناسایی شده، زیاد نیست و از طرف دیگر، نرخ جهش در نژاد Ug99 بسیار بالاست و واریانت‌های مختلف این نژاد از بیمارگر زنگ ساقه سبب شکستن مقاومت در ارقام مقاوم می‌شوند. درک نحوه استقرار بیماری توسط بیمارگر و همچنین تعامل گیاه و بیمارگر می‌تواند در تولید مقاومت‌های مؤثر در ژنوتیپ‌های مطلوب از لحاظ مجموع صفات زراعی با عملکرد بالا در گندم مؤثر واقع شود. مطالعات پیرامون نقش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تعامل گندم با زنگ‌ها بسیار محدود است. در مطالعه حاضر، برای اولین بار به مقایسه اثرات سه نژاد مختلف *Pgt* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در دو ژنوتیپ گندم حساس (موروکو) و مقاوم (Btsr24Agt) در سه نقطه زمانی مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

به منظور مقایسه اثر سه نژاد بیمارگر *Pgt* بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه گندم، آزمایشی به صورت فاکتوریل تحت سه فاکتور نژاد بیمارگر، رقم گیاه و ساعت

ساعت تاریکی و دمای ۲۲-۲۴ نگهداری شدند. برای بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، نمونه برگ‌های گیاهان آغشته به اسپور *Pgt* و شاهد در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت برداشت شدند و جهت تهیه عصاره آنزیمی مورد استفاده قرار گرفتند. لازم به ذکر است که پس از نمونه‌برداری جهت مشاهده علائم بیماری و تأیید استقرار بیمارگر، گیاهان تا روز هفتم پس از مایه‌زنی در شرایط ذکر شده حفظ شدند.

تهیه عصاره آنزیمی

جهت تهیه عصاره آنزیمی، ۰/۲ گرم از نمونه برگ تازه در پنج میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار (pH 7.0) سرد همگن شد. مخلوط در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و مایع رویی به عنوان عصاره آنزیمی برای تعیین فعالیت‌های آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گایاکول پراکسیداز (GPX) مورد استفاده قرار گرفت (Zainy et al., 2023).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

مخلوط واکنش (چهار میلی‌لیتر) حاوی ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH 7.8)، سه میلی‌مولار EDTA، ۲/۲۵ میلی‌مولار کلرید تترازولیوم نیتروبلو (NBT)، ۲۰۰ میلی‌مولار متیونین، ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۶۰ میکرومولار ریبوفلاوین بود. مخلوط واکنش به مدت ۱۵

دقیقه در زیر لامپ‌های فلورسنت ۴۰ وات قرار داده و با خاموش کردن لامپ، واکنش متوقف شد. تشکیل فرامازون بنفش نشان‌دهنده انجام واکنش نوری است که در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. برای سنجش فعالیت آنزیم، نیاز به شاهد روشنایی است. این نمونه شامل محلول واکنش فاقد عصاره آنزیمی است. به این ترتیب، میزان فعالیت آنزیم SOD در نمونه‌ها در مقایسه با شاهد روشنایی سنجیده می‌شود. به دلیل عدم وجود آنزیم در شاهد روشنایی، در حضور نور احیای تمام نیتروبلوتترازولیوم (NBT) موجود در محلول واکنش، به طور ۱۰۰ درصد انجام شده و به فورمازون تبدیل می‌شود. میزان جذب این شاهد در ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده ۱۰۰ درصد احیای نوری NBT است و نیمی از آن، معادل یک واحد آنزیمی می‌باشد. بنابراین، یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی است که موجب ۵۰ درصد ممانعت از احیای نوری NBT می‌شود. اختلاف جذب نمونه‌ها و شاهد روشنایی در 560 نانومتر، در حضور آنزیم SOD نشان‌دهنده مهار احیای نوری NBT موجود در نمونه می‌باشد. با استفاده از این اختلاف جذب، واحد آنزیمی نمونه‌ها، محاسبه شده و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در وزن تر بیان گردید (Beauchamp & Fridovich, 1971).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

برای تعیین فعالیت GPX، مخلوط واکنش (چهار میلی‌لیتر) حاوی ۲۰ میلی‌مولار گایاکول (۰/۵ میلی‌لیتر)، ۰/۱

در hai-۲۴ وارد بافت گیاهی شده، در hai-۴۸ هیفا (hypha) توسعه می‌یابد و تشکیل هاستوریا (haustoria) و ایجاد عفونت قارچی در hai-۷۲ صورت می‌گیرد (Zhang et al., 2012). از این پس، در همه جای مقاله منظور از ساعت، ساعت پس از مایه‌زنی است.

معنی‌دار بودن اثر بیمارگر (در هر دو آنزیم) نشان از تنوع ژنتیکی موجود در نژادهای بیمارگر از لحاظ الگوی بیماری‌زایی است. معنی‌دار بودن اثر زمان (در هر دو آنزیم) نشان از متفاوت بودن میزان پاسخ ژنوتیپ‌ها نسبت به نژادهای بیمارگر در ساعات مختلف است. معنی‌دار بودن اثر ژنوتیپ (در هر دو آنزیم) بیانگر این مطلب است که ژنوتیپ‌ها نسبت به نژادهای بیمارگر واکنش یکسانی نداشته‌اند (جدول ۱).

میلی‌مولار بافر استات (pH 5.0)، ۴۰ میلی‌مولار H_2O_2 و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی است. چگالی نوری هر نمونه در طول موج ۴۷۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت GPX براساس افزایش جذب ناشی از اکسیداسیون گایاکول به تتراگوآیکول تعیین شد. افزایش جذب ناشی از اکسیداسیون گایاکول (ضریب خاموشی ۲۴۷۰ مولار بر سانتی‌متر) در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت دو دقیقه در فواصل ۲۰ ثانیه‌ای اندازه‌گیری شد و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در وزن تر بیان گردید (De Souza & MacAdam, 1998).

تجزیه داده‌ها

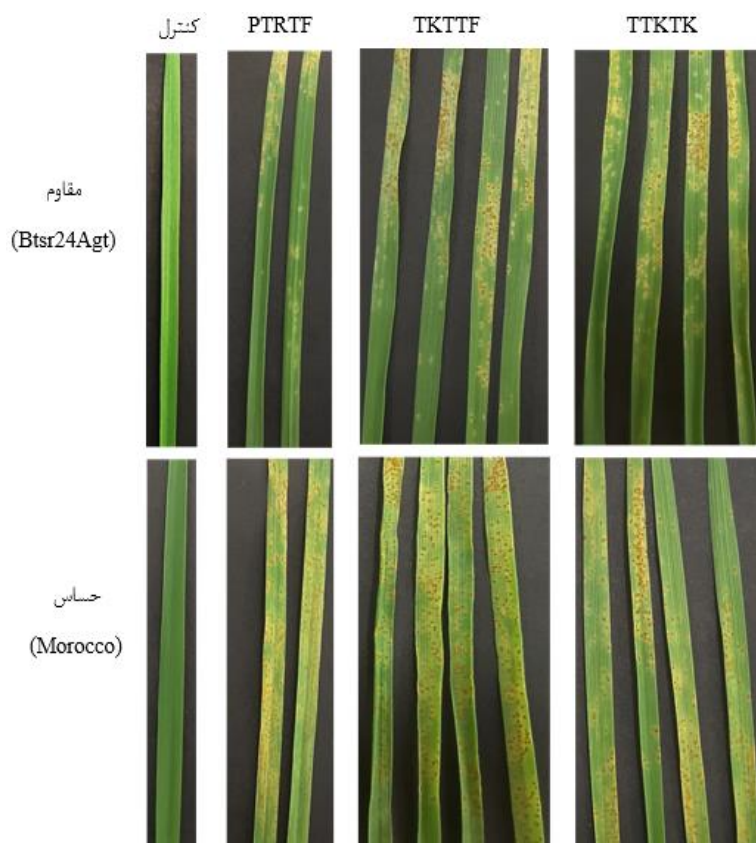
داده‌های آزمایش، با استفاده از نرم‌افزار JMP تجزیه شد. برای مقایسه بین میانگین‌ها، آزمون LSD و در سطح احتمال یک درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

علائم بیماری زنگ ساقه گندم، هفت روز پس از مایه‌زنی، روی برگ ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم گیاه قابل مشاهده بود. شکل (۱) میزان حساسیت در ارقام حساس و مقاوم را نسبت به سه نژاد مختلف *Pgt* نشان می‌دهد و استقرار موفق بیماری را تأیید می‌کند.

در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سه نقطه زمانی مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی (hai^1) بررسی شد. زیرا در این نقاط زمانی قارچ در مرحله رشد فعال و مهاجم چرخه عفونت قرار دارد. عامل قارچی

¹ hours after inoculation



شکل ۱- علائم زنگ ساقه گندم مربوط به سه نژاد (PTRTF، TKTTF و TTKTK) و هفت روز پس از مایه‌زنی روی ژنوتیپ‌های مقاوم (Btsr24Agt) و حساس (موروکو) به زنگ ساقه در مرحله گیاهچه‌ای.

Figure 1- Symptoms of three races (TRTF, TKTTF and TKTK) of *Pgt* infection at 7 days post inoculation (dpi) on the susceptible (Morocco) and resistant (Btsr24Agt) wheat genotypes at the seedling stage.

است. کمترین میزان فعالیت در ۲۴ ساعت است (شکل ۲A). در نمودار بیمارگر-رقم بیشترین فعالیت آنزیم GPX در ژنوتیپ مقاوم در پاسخ به نژاد PTRTF و کمترین فعالیت در پاسخ به نژاد TKTTF است. اما در رقم حساس، بیشترین فعالیت در پاسخ به نژاد TKTTF و کمترین میزان فعالیت در پاسخ به PTRTF است (شکل ۲B). در نمودار بیمارگر-زمان نکته قابل توجه این است که کمترین میزان فعالیت در ۲۴ ساعت مربوط به نژاد TKTTF است (شکل ۲C).

نتایج نشان داد میزان فعالیت آنزیم GPX در تمامی زمان‌های اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ مقاوم بیش از رقم حساس است (شکل ۲A). میزان فعالیت این آنزیم در پاسخ به هر سه نژاد در ژنوتیپ مقاوم بیش از رقم حساس است (شکل ۲B). همچنین فعالیت GPX در تمامی زمان‌ها در گیاهان آلوده (هر سه نژاد) بیش از کنترل (شاهد) است (شکل ۲C). در نمودار زمان-رقم بیشترین میزان فعالیت در رقم حساس در ۲۴ و ۷۲ ساعت و کمترین میزان در ۴۸ ساعت است. در حالی که در ژنوتیپ مقاوم بیشترین میزان فعالیت در ۴۸ و سپس ۷۲ ساعت

جدول ۱- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم GPX و SOD در ارقام حساس و مقاوم گندم تحت آلودگی سه نژاد *Pgt* (PTRTF، TKTTF و TTKTK).

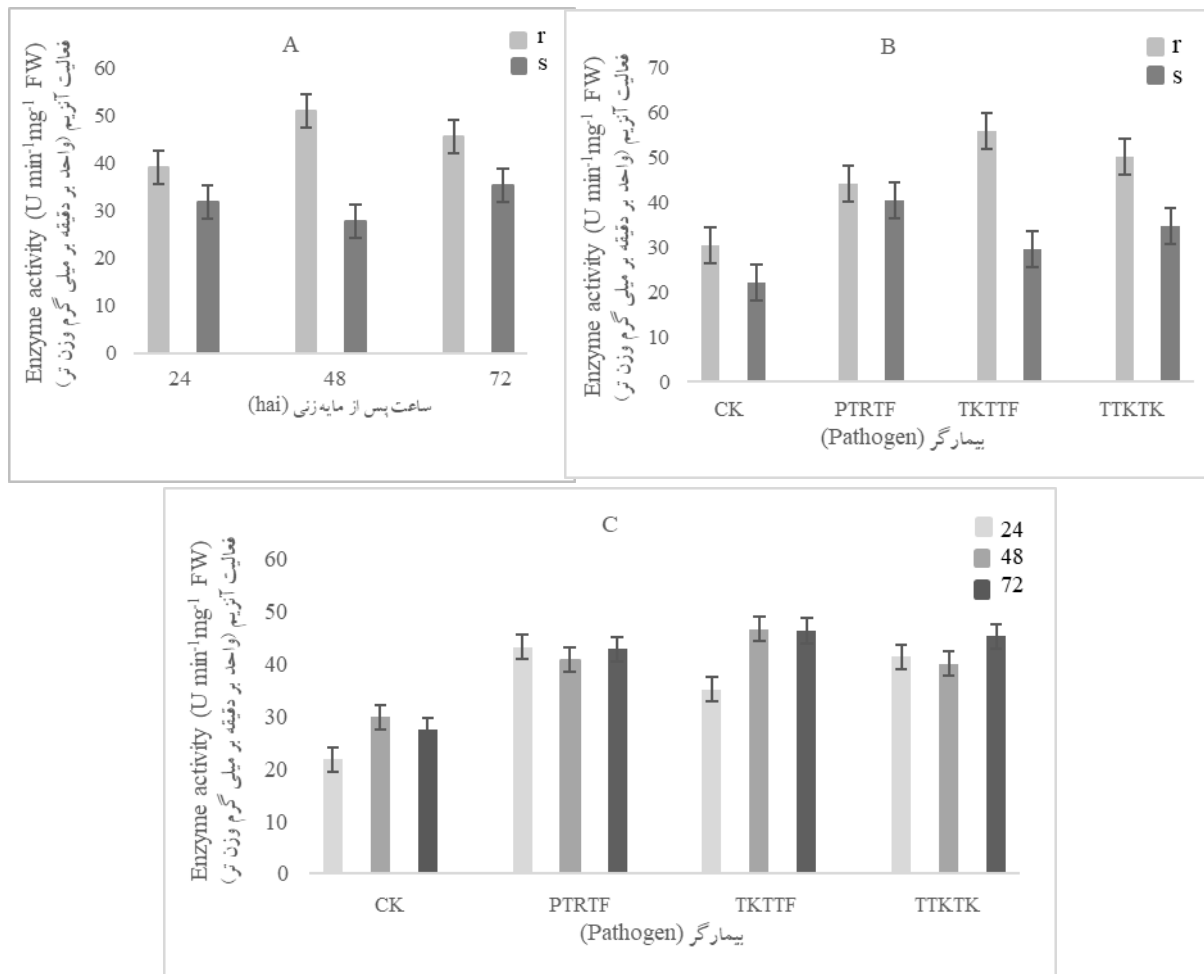
Table 1- Analysis of variance for the GPX and SOD activity in the susceptible (Morocco) and resistant (Btsr24Agt) wheat genotypes under the infection by three races of *Pgt* (TRTF, TKTTF and TKTK).

میانگین مربعات	میانگین مربعات	درجه آزادی	منابع تغییرات
Mean of squares	Mean of squares	df	Sources of variations
SOD	GPX		
0.0263**	1162.971**	3	بیمارگر
			Pathogen
0.0155**	173.292**	2	زمان
			Time
0.0262**	3296.436**	1	ژنوتیپ
			Genotype
0.0109**	82.165**	6	زمان × بیمارگر
			Time × Pathogen
0.0033 ^{ns}	419.780**	2	زمان × ژنوتیپ
			Time × Genotype
0.0289**	441.437**	3	بیمارگر × ژنوتیپ
			Pathogen × Genotype
0.00173	21.174	52	خطا
			Error
20.88	11.98		ضریب تغییرات (/.)
			(%) Coefficient of Variation

** در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است.

** Significant level (1%).

GPX: guaiacol peroxidase, SOD: superoxide dismutase



شکل ۲- اثر آلودگی سه نژاد *Pgt* بر فعالیت آنزیم GPX. A: فعالیت آنزیم GPX در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی در ژنوتیپ‌های حساس (s) و مقاوم (r). B: فعالیت آنزیم GPX تحت اثر سه نژاد *Pgt* در ژنوتیپ‌های حساس (s) و مقاوم (r). C: فعالیت آنزیم GPX تحت اثر سه نژاد *Pgt* در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی. میله‌های روی هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Figure 2- Effects of three races of *Pgt* infection on the GPX activity. A: GPX activity at 24, 48 and 72 (hai) in susceptible and resistance genotypes, B: GPX activity under effect of three races of *Pgt* in susceptible and resistance genotypes, C: GPX activity under effect of three races of *Pgt* at 24, 48 and 72 (hai) in susceptible and resistance genotypes. The bars on each column indicate the standard error (SE).

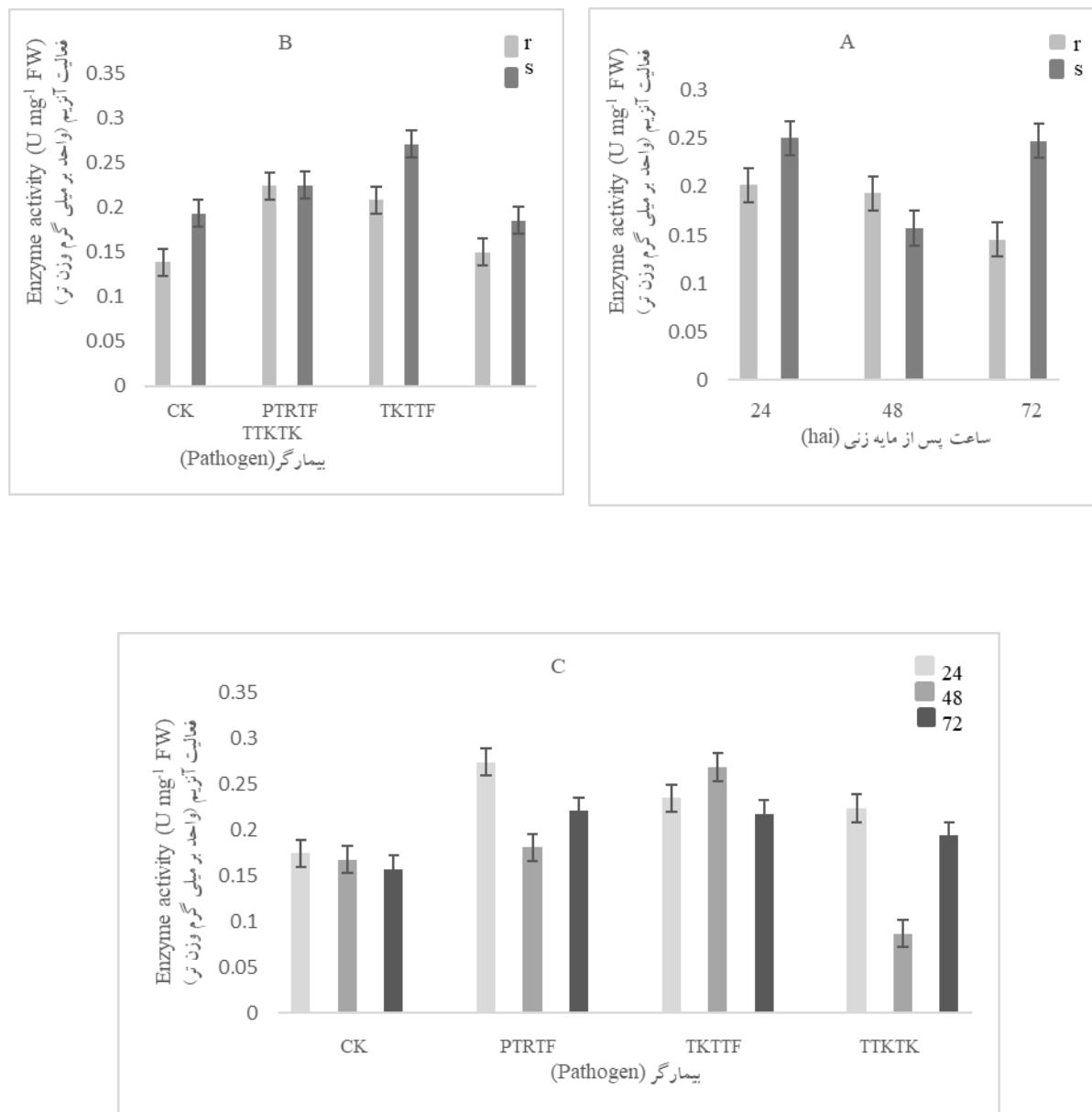
SOD در پاسخ به هر سه نژاد در رقم حساس بیش از ژنوتیپ مقاوم است (شکل ۳B).

در نمودار پاتوژن- زمان فعالیت آنزیم SOD (به جز زمان ۴۸ ساعت و در پاسخ به نژاد TTKTK) در پاسخ به هر

نتایج نشان داد آنزیم SOD در هر دو ژنوتیپ حساس و مقاوم در ۲۴ ساعت، بیشترین میزان فعالیت را داشته - است (شکل ۳A). همچنین نمودار زمان-ژنوتیپ نشان داد فعالیت این آنزیم در همه زمان‌ها به جز زمان ۴۸ ساعت در رقم حساس بیش از ژنوتیپ مقاوم است. فعالیت آنزیم

افزایش نشان داد (شکل ۳C).

سه نژاد در همه زمان‌های اندازه‌گیری نسبت به شاهد



شکل ۳- اثر آلودگی سه نژاد *Pgt* بر فعالیت آنزیم SOD. A: فعالیت آنزیم SOD در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی در ژنوتیپ‌های حساس (s) و مقاوم (r). B: فعالیت آنزیم SOD تحت اثر سه نژاد *Pgt* در ژنوتیپ‌های حساس (s) و مقاوم (r). C: فعالیت آنزیم SOD تحت اثر سه نژاد *Pgt* در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی. میله‌های روی هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Figure 3- Effects of three races of *Pgt* infection on the SOD activity. A: SOD activity at 24, 48 and 72 (hai) in susceptible and resistance genotypes, B: SOD activity under effect of three races

of *Pgt* in susceptible and resistance genotypes, C: SOD activity under effect of three races of *Pgt* at 24, 48 and 72 (hai) in susceptible and resistance genotypes. The bars on each column indicate the standard error (SE).

معمولاً به صورت مرگ سلولی است (Jones & Dangl, 2006).

تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، از مکانیسم‌های مهم در هر دو سیستم ایمنی است. اگرچه ROS به طور مداوم در طی واکنش‌های متابولیک هوازی در هر سلول زنده تولید می‌شوند. با این حال، در شرایط تنش، سطح ROS به عنوان یک پاسخ افزایش می‌یابد که به عنوان انفجار اکسیداتیو (Burst oxidative) یاد می‌شود (Das & Roychoudhury, 2014). نقش دوگانه‌ای در تعامل گیاه-بیمارگر ایفا می‌کند؛ از یک سو به عنوان مولکول پیام‌رسان سبب صدور پاسخ‌های دفاعی می‌شود و از سوی دیگر وجود این مولکول‌ها برای بیمارگرها سمیت ایجاد کرده و سبب حذف آن‌ها می‌شود (Feng et al., 2014). نقش ROS در پاسخ‌های دفاعی گیاه به غلظت آن بستگی دارد (Mittler et al., 2004). در غلظت‌های بهینه، ROS مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی محافظ را القا و پاسخ سیستمیک را ایجاد می‌کند، در حالی که تولید بیش از حد آن به محیط سلولی آسیب می‌رساند و باعث آسیب اکسیداتیو به DNA، لیپیدها و پروتئین‌ها می‌شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بازیگران کلیدی در کاهش سطوح ROS و دفاع از سلول‌ها در برابر اثرات مخرب آن هستند. این آنزیم‌ها شامل، سوپراکسید دیسموتاز، گویاکول پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز،

سیستم ایمنی گیاه از دو سطح پاسخ دفاعی تشکیل شده است که گیاه را در برابر عوامل بیماری‌زای مهاجم محافظت می‌کند. این دو سطح شامل ایمنی تحریک شده با الگوی مولکولی مرتبط با بیمارگر یا PTI (PAMP trigger immunity) و ایمنی تحریک شده توسط افکتور یا ETI (Effector-trigger immunity) است (Jones & Dangl, 2006). PTI به عنوان اولین سطح دفاعی عمل می‌کند و طی آن الگوهای مولکولی مرتبط با بیمارگر یا PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern) توسط گیرنده‌های تشخیص الگو یا PRR (Pattern recognition receptor) که در غشای سلول گیاهی قرار دارند، شناسایی می‌شوند (Zipfel, 2014).

درک PAMP توسط PRR باعث ایجاد یک سری پاسخ-های پایین دستی می‌شود که منجر به بیان ژن‌های مرتبط با دفاع (PR) می‌شود. بیمارگر برای مقابله با PTI پروتئین‌های افکتور را ترشح می‌کند. افکتورها جنبه‌های مختلف ایمنی گیاه را دستکاری می‌کنند و منجر به حساسیت ناشی از افکتور یا ETS (Effector-triggered susceptibility) می‌شوند. در مقابل، گیاهان برای شناسایی این افکتورها با پروتئین‌های NLR تکامل یافته-اند. شناسایی افکتورها توسط NLRها منجر به افزایش مقاومت و صدور پاسخ فوق حساسیت (HR) می‌شود که

همه زمان‌ها و نژادهای بررسی شده در ارقام مقاوم بیش از ارقام حساس است، شاید بتوان برای این آنزیم نقش مهمی در مهار ROS ناشی از بیمارگر و در نتیجه مکانیسم‌های دفاعی قایل شد.

بر خلاف آنزیم GPX، فعالیت آنزیم SOD در ساعات اولیه پس از مایه‌زنی افزایش و سپس به مرور کاهش یافت. در واقع در تعامل گیاه-بیمارگر، اولین خط دفاعی در برابر تجمع ROS، تولید سوپراکسید دیسموتاز (SOD) است که رادیکال‌های O_2 را به H_2O_2 تبدیل می‌کند (Maurya & Namdeo, 2021). سپس محصول پراکسید توسط پراکسیدازها از بین می‌رود. فعالیت آنزیم SOD تحت اثر دو نژاد PTRTF و TKTF افزایش یافت اما در نژاد TTKTK نسبت به شاهد تفاوتی دیده نشد. نکته قابل تأمل در مورد آنزیم SOD این است که میزان فعالیت آن در رقم حساس بیش از ژنوتیپ مقاوم بود؛ در حالی که در ژنوتیپ مقاوم نسبت به شاهد تغییری مشاهده نشد. این نتیجه با برخی گزارشات قبلی مطابقت دارد. مطالعه اثر آلودگی سه نژاد بیمارگر Pgt بر ۱۵ رقم حساس و مقاوم، افزایش فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی در ارقام بسیار حساس و در مقابل کاهش فعالیت آن‌ها را در ارقام بسیار مقاوم نشان داد (Alafari et al., 2024). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، آلودگی گندم به عامل بیماری زنگ زرد سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی CAT، POX و PPO در ارقام مقاوم در مقایسه با ارقام حساس شد (Abdelaal et al., 2014) و محققان معتقد بودند علت این مهم، وجود ژن

دهیدروآسکوربات ردوکتاز، مونودیهیدروآسکوربات ردوکتاز است (Foyer & Noctor, 2005).

مطالعات قبلی نشان داده است که عفونت بیمارگرهای قارچی بیوتروف از جمله زنگ‌ها سبب تجمع ROS به-میزان قابل توجهی در گیاهان به‌ویژه گندم می‌شود. تجمع بالای ROS در تعامل سازگار^۲ در مقایسه با تعامل ناسازگار^۳ نشان می‌دهد که سیستم ناسازگار می‌تواند ROS بیش از حد را به‌طور مؤثری از بین ببرد، زیرا ROS در غلظت کم می‌تواند مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانی محافظ را القا و مسیرهای پیام‌رسان را فعال کند (Mittler, 2017; Torres et al., 2006).

در مطالعات انجام شده در حوزه تعامل گیاه-بیمارگر، به دنبال عفونت قارچی به‌ویژه زنگ‌ها، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ارقام مقاوم و در مقابل کاهش فعالیت آن‌ها در ارقام حساس گزارش شده‌است. به‌طور مثال آلودگی گندم به عامل بیماری زنگ نواری سبب شد فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله GPX و SOD در ارقام مقاوم در مقایسه با ارقام حساس افزایش یابد (Asthir et al., 2010; Chen et al., 2015; Chen et al., 2019; Zainy et al., 2023). این مهم نشان می‌دهد این آنزیم‌ها ممکن است نقش مهمی در تنظیم سطوح ROS در ارقام مقاوم مورد بررسی داشته باشند. نتایج حاصل از فعالیت آنزیم GPX با این گزارشات مطابقت دارد. از آنجا که میزان فعالیت GPX در

² Compatible

³ Incompatible

مسلم است، مهار ROS تولید شده توسط میزبان برای بیماریزایی قارچی ضروری است. بیمارگر، ROS را در گیاه سرکوب می‌کند تا مانع صدور پاسخ ایمنی شود و به نظر می‌رسد این عمل را به دو روش انجام می‌دهد. این بیمارگرها با تولید آنزیم‌های سم‌زدایی ROS و یا از طریق دستکاری سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی میزبان در برابر این مکانیسم دفاعی مقاومت می‌کنند. آنزیم‌های اکسیدانی زیادی در بیمارگرهای قارچی بیوتروپی شناسایی شده‌اند که نقش حیاتی در از بین بردن ROS میزبان ایفا می‌کنند و جهش‌های حذفی در این آنزیم‌ها مانع از استقرار بیمارگر شده است. البته مکانیسم مولکولی فعال شدن آنزیم‌های سم‌زدایی ROS در بیمارگرهای قارچی در پاسخ به تولید ROS میزبان مبهم باقی مانده است (Wang et al., 2020). همچنین افکتورهای قارچی شناسایی شده‌اند که فاکتورهای تنظیمی گیاه را هدف قرار می‌دهند و بنابراین هموستازی سلول را مختل می‌کنند. برای مثال *M. oryzae* افکتوری را به کار می‌گیرد که ساختار حسگر Ca^{2+} برنج را تقلید می‌کند و در رقم حساس کاتالاز میزبان را برای از بین بردن ROS فعال می‌کند (Kanja & Kosack, 2020).

مقاومت *Yr18* و سرکوب تجمع ROS است که ممکن است سبب کاهش فعالیت آنزیمی در ارقام مقاوم شود. بر اساس گزارش چن و همکاران (Chen et al., 2019)، آلودگی با زنگ نواری در گندم سبب شد میزان فعالیت آنزیم‌های APX و SOD در رقم حساس کاهش یابد ولی در رقم مقاوم نسبت به شاهد تغییری ایجاد نشد. از بررسی و مقایسه نتایج این آزمایش و مطالعات قبلی اینگونه به نظر می‌رسد که در یک تعامل گیاه-بیمارگر قارچی بیوتروف، فعالیت هر یک از آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی علاوه بر متأثر بودن از نوع تعامل (سازگار و ناسازگار)، به نژاد (در مواردی حتی در سطح سویه)، رقم گیاه میزبان و زمان پس از مایه‌زنی بستگی دارد. در واقع الگوی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در تعامل یک نژاد خاص بیمارگر با یک رقم خاص میزبان در زمان‌های مختلف پس از مایه‌زنی منحصر به فرد است. شاید این امر ناشی از همان اصل مقاومت مختص نژاد و یا مدل Gene for Gene باشد.

در تفسیر نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در یک تعامل گیاه-بیمارگر قارچی بیوتروف باید نقش بیمارگر نیز در نظر گرفته شود. آنچه

References

- Abdelaal, K.A., Hafez, Y., Badr, M., Youseef, W., & Esmail, S. M. 2014. Biochemical, histological and molecular changes in susceptible and resistant wheat cultivars inoculated with stripe rust fungus *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 24(2).
- Alafari, H.A., Hafez, Y., Omara, R., Murad, R., Abdelaal, K., Attia, K., & Khedr, A. 2024. Physio-biochemical, anatomical, and molecular analysis of resistant and susceptible wheat cultivars infected with TTKSK, TTKST, and TTTSK novel puccinia graminis races. *Plants*, 13(7), 104. <https://doi.org/10.3390/plants13071045>

- Anahid F., Zaeifizadeh M., Shahbazi H., Ghasemi M. 2013. Changes in activity of antioxidative enzymes in wheat cultivars seedling against stripe rust. *Int. J. Agron. Plant Prod.*, 4, 2606–2611. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.101960>
- Asthir, B., Koundal, A., Bains, N., & Mann, S. 2010. Stimulation of antioxidative enzymes and polyamines during stripe rust disease of wheat. *Biologia Plantarum*, 54, 329-333 . <https://doi.org/10.1007/s10535-010-0057-4>
- Beauchamp, C., & Fridovich, I. 1971. Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.*, 44(1), 276-287. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Chen, Y., Mao, H., Wu, N., Ma, J., Yuan, M., Zhang, Z., Yuan, S., & Zhang, H. 2019. Effects of stripe rust infection on the levels of redox balance and photosynthetic capacities in wheat. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(1), 268. <https://doi.org/10.3390/ijms21010268>
- Chen, Y.E., Cui, J.M., Su, Y.Q., Yuan, S., Yuan, M., & Zhang, H.Y. 2015. Influence of stripe rust infection on the photosynthetic characteristics and antioxidant system of susceptible and resistant wheat cultivars at the adult plant stage. *Frontiers in Plant Science*, 6, 779 . <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00779>
- Das, K., & Roychoudhury, A. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*, 2, 53 . <https://doi.org/10.3389/fenvs.2014.00053>
- De Souza, I.R., & MacAdam, J.W. 1998. A transient increase in apoplastic peroxidase activity precedes decrease in elongation rate of B73 maize (*Zea mays*) leaf blades. *Physiologia Plantarum*, 104(4), 556-562. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1040406.x>
- FAO (2022). FAOSTAT, Crop and livestock statistics products, Last Update October 7, 2024, Retrieved from <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>.
- Feng, H., Wang, X., Zhang, Q., Fu, Y., Feng, C., Wang, B., Huang, L., & Kang, Z. 2014. Monodehydroascorbate reductase gene, regulated by the wheat PN-2013 miRNA, contributes to adult wheat plant resistance to stripe rust through ROS metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms*, 1839(1), 1-12 . <https://doi.org/10.1016/j.bbarm.2013.11.001>
- Foyer, C.H., & Noctor, G. 2005. Redox homeostasis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. *The Plant Cell*, 17(7), 1866-1875 . <https://doi.org/10.1105/tpc.105.033589>
- Jones, J.D. & Dangl, J.L. 2006. The plant immune system. *Nature*, 444(7117), 323-329 . <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Kanja C, Hammond-Kosack KE. 2020. Proteinaceous effector discovery and characterization in filamentous plant pathogens. *Molecular Plant Pathology*, 21, 1353-1376. <https://doi.org/10.1111/mp.12980>
- Lidwell-Durnin, J., & Lapthorn, A. 2020. The threat to global food security from wheat rust: Ethical and historical issues in fighting crop diseases and preserving genetic diversity. *Global Food Security*, 26, 100446 . <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2020.100446>
- Lorrain, C., Petre, B., & Duplessis, S. 2018. Show me the way: rust effector targets in heterologous plant systems. *Current Opinion in Microbiology*, 46, 19-25. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.01.016>
- Maurya, R., & Namdeo, M. 2022. Superoxide Dismutase: A Key Enzyme for the survival of intracellular pathogens in host. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.100322>
- Mittler, R. 2017. ROS are good. *Trends Plant Science*, 22(1), 11-19. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.08.002>
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9(10), 490-498 . <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>
- Salcedo, A.F. 2018. Unraveling the mechanisms of Sr35-based resistance in the wheat-*Puccinia graminis f. sp. tritici* pathosystem.
- Seifi, H., Serajazari, M., Kaviani, M., Pauls, P., Booker, H., & Navabi, A. 2021. Immunity to stripe rust in wheat: A case study of a hypersensitive-response (HR)-independent

- resistance to *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in Avocet-Yr15. Canadian Journal of Plant Pathology, 43(sup2), S188-S197 . <https://doi.org/10.1080/07060661.2021.1907448>
- Torres, M.A., Jones, J.D., & Dangl, J.L. 2006. Reactive oxygen species signaling in response to pathogens. Plant Physiology, 141(2), 373-378. <https://doi.org/10.1104/pp.106.079467>
- Wang, C.F., Huang, L.L., Buchenauer, H., Han, Q.M., Zhang, H.C., & Kang, Z.S. 2007. Histochemical studies on the accumulation of reactive oxygen species (O_2^- and H_2O_2) in the incompatible and compatible interaction of wheat—*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*. Physiological and Molecular Plant Pathology, 71(4-6), 230-239 . <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2008.02.006>
- Wang, X., Che, M.Z., Khalil, H.B., McCallum, B. D., Bakkeren, G., Rampitsch, C., & Saville, B.J. 2020. The role of reactive oxygen species in the virulence of wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina*. Environmental Microbiology, 22(7), 2956-2967. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15063>
- Zaid, A., Wani, S.H. 2019. Reactive oxygen species generation, scavenging and signaling in plant defense responses. Bioactive Molecules in Plant Defense, 111-132. https://doi.org/10.1007/978-3-030-27165-7_7
- Zainy, Z., Fayyaz, M., Yasmin, T., Hyder, M.Z., Haider, W., & Farrakh, S. 2023. Antioxidant enzymes activity and gene expression in wheat-stripe rust interaction at seedling stage. Physiological and Molecular Plant Pathology, 124, 101-960 . <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2023.101960>
- Zhang, H., Wang, C., Cheng, Y., Chen, X., Han, Q., Huang, L., Wei, G., & Kang, Z. 2012. Histological and cytological characterization of adult plant resistance to wheat stripe rust. Plant Cell Reports, 31, 2121-2137 .<https://doi.org/10.1007/s00299-012-1322-0>
- Zipfel, C. 2014. Plant pattern-recognition receptors. Trends in Immunology, 35(7), 345-351. <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.05.004>
- Zadoks, J.C., Chang, T.T., & Konzak, C.F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. Weed research, 14(6), 415-421. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x>