Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 17, Issue 4, 2025 p: 10-21

OPEN ACCESS

Research Paper

The Effect of Potassium Phosphite on the Expression Patterns of Some Defense Response Genes in the Hashemi Rice Cultivar in Interaction with *Pyricularia oryzae*

Elham Khalili[1], Valiolah Babaeizad[2], Vahid Khosravi[3], Mohammad Ali Tajik Ghanbari[4] and Shahram Naimi[5]

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: babaeizad@sanru.ac.ir)
3- Research Assistant Professor, Department of Plant Protection, Rice Research Institute of Iran, Mazandaran Branch, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Amol, Iran
4- Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
5- Research Associated Professor, Department of Biological Control Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran

Received: 29 January, 2025 Revised: 20 May, 2025 Accepted: 25 June, 2025

Extended Abstract

Background: Rice is considered one of the strategic crops that plays an important role in providing food security to more than 50% of the world's population, especially in Asia. Blast caused by *Pyricularia oryzae*, one of the most important diseases of rice, poses a serious threat to rice cultivation every year. Induction of resistance in rice via biotic and abiotic factors, including phosphite, as one of the safe and modern management tools, has been used globally as an environmentally friendly alternative, and this method activates the defense mechanism in plants and increases their ability to respond to pathogen invasion. In this study, therefore, the effect of potassium phosphite on the expression changes of several defense genes, including PAL, LOX, NPR1, PR1, and PR5 at the transcriptional level, was evaluated in response to the resistance of the Hashemi rice cultivar against the blast disease agent.

Methods: The Split-time experiment in a completely randomized design with three replications was used in this research. After planting the same seedlings in pots, potassium phosphite at a concentration of 2 g/L was used for the foliar spraying of 4-5-leaf seedlings, and sterile distilled water was used for the control treatment. After 2 days, the spore suspension of *P. oryzae* at a concentration of 5×10^5 spores per ml with 0.05% Tween 20 was used to inoculate all plants. Leaf tissues of treated and control seedlings were sampled at four times: zero (before fungal inoculation), 48, 96, and 144 hours after pathogen inoculation, respectively. The severity of blast disease was recorded 10 days after inoculation. After extracting RNA from the samples and making cDNA, quantitative real-time PCR was used to investigate changes in the expression of defense genes, and the Ubiquitin gene was considered the housekeeping gene. The statistical analysis and the average comparison using Duncan's test at a probability level of 0.01% were done using SAS 9.1 software. Graphs were drawn with Excel 2010 software.

Results: A significant difference was observed in the disease severity, with less infection in the seedlings treated with potassium phosphite than in the control plants. The evaluation results of the effect of potassium phosphite treatment on the expression changes in NPR1, PR1, PR5, LOX, and PAL genes indicated that the data were significantly different from each other compared to the control. The comparison of the means showed that the expression patterns of NPR1, PR5, and LOX genes increased at all times after pathogen inoculation in potassium phosphite treatment, but the maximum expression of these genes was observed 48 hours after pathogen inoculation. The transcript levels of NPR1, PR5, and LOX genes in potassium phosphite treatment at 48 hours after pathogen inoculation were 7.08, 4.2, and 7.28, respectively, with increased activity by 2.36, 2.83, and 5.83 times, respectively, at the same time compared to control plants. PR5 gene activity was significantly highest in both potassium phosphite and control plants 48 hours after inoculation, after which the gene expression decreased at 96 hours and increased again at 144 hours. However, the gene activity was significantly lower in the control treatment than in the potassium phosphite treatment. The expression level of the PR1 gene in plants treated with potassium phosphite and control showed

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]

[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

Copyright ©2025. Khalili et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 Unported License, which allows users to read, copy, distribute, and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

the highest value 48 hours after inoculation, with increases of 1.65 and 1.4 times compared to time zero, respectively. The expression pattern of the PR1 gene showed an increase in control plants, and plants treated with potassium phosphite 48 hours after pathogen inoculation, and a decrease in expression was observed in the rest of the hours compared to time zero. Despite this, the gene expression level was higher in the potassium phosphite treatment than in the control at all times. The effect of potassium phosphite treatment was significant in increasing the expression level of the PAL gene. The PAL gene activity in the potassium phosphite treatment was evaluated as 0.58, 2.65, and 0.41 times at 48, 96, and 144 hours, respectively, compared to time zero, with the highest activity level of this gene observed 96 hours after pathogen inoculation. In the control treatment, however, an increase in PAL gene expression was observed 48 hours after pathogen inoculation.

Conclusion: The results indicate the effective role of potassium phosphite in increasing the expression of some defense genes in rice plants and consequently inducing plant resistance and protection against *P. oryzae*, preventing the spread of rice blast disease. Therefore, using potassium phosphite as a resistance inducer can help strengthen plant defense against subsequent attacks by pathogens.

Keywords: Defense genes, Potassium phosphite, Real-time qPCR, Rice blast, Systemic protection

How to Cite This Article: Khalili, E., Babaeizad, V., Khosravi, V., Tajik, M. A., & Naimi, Sh. (2025). The Effect of Potassium Phosphite on the Expression Patterns of Some Defense Response Genes in the Hashemi Rice Cultivar in interaction with *Pyricularia oryzae*. *J Crop Breed,* 17(4), 10-21. DOI: 10.61882/jcb.2025.1579

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]

[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

بررسی تاثیر فسفیت پتاسیم بر الگوهای بیان برخی ژن‌های القایی در برنج رقم هاشمی در برابر قارچ *Pyricularia oryzae*

الهام خلیلی[۱]، ولی اله بابایی‌زاد[۲]، وحید خسروی[۳]، محمدعلی تاجیک قنبری[۴] و شهرام نعیمی[۵]

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 مسوول: babaeizad@sanru.ac.ir)
۳- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، موسسه تحقیقات برنج کشور معاونت مازندران (آمل)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، آمل، ایران
۴- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران
۵- دانشیار پژوهش، بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۱۰ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۰۴
صفحه ۱۰تا ۲۱

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: برنج یکی از گیاهان زراعی راهبردی به‌شمار می‌رود که نقش مهمی در تامین امنیت غذایی بیش از ۵۰ درصد از جمعیت جهان به‌ویژه در آسیا ایفا می‌کند. بلاست با عامل *Pyricularia oryzae* یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برنج، سالانه تهدیدی جدی را برای رشد این محصول ایجاد می‌کند. القای مقاومت در برنج از طریق عوامل زیستی و غیر زیستی از جمله فسفیت، به‌عنوان یکی از ابزارهای مدیریتی ایمن و نوین، در سطح جهانی به‌عنوان جایگزینی سازگار با محیط‌زیست مورد استفاده قرارگرفته است و این روش باعث فعال‌سازی مکانیسم دفاعی در گیاهان و افزایش توانایی آن در پاسخ به تهاجم بیمارگرها می‌شود. لذا در این پژوهش، تأثیر فسفیت پتاسیم بر تغییرات بیان چند ژن دفاعی شامل PAL، LOX، NPR1، PR1 و PR5 در سطح رونویسی، در پاسخ به مقاومت برنج رقم هاشمی در برابر عامل بیماری بلاست مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: این پژوهش در گلخانه به‌صورت اسپلیت‌پلات در زمان در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. رقم هاشمی به‌عنوان رقم بومی رایج منطقه و حساس به بیماری بلاست انتخاب گردید. پس از کاشت گیاهچه‌های همسان در گلدان‌ها، محلول‌پاشی فسفیت پتاسیم رقیق‌شده با غلظت دو گرم در لیتر و محلول‌پاشی آب مقطر سترون به‌عنوان تیمار شاهد روی گیاهچه‌های برنج در مرحله چهار تا پنج برگی انجام شد. پس از دو روز، سوسپانسیون اسپور قارچ بیمارگر با غلظت 5×10^5 اسپور در هر میلی‌لیتر و به‌همراه ۰/۰۵ درصد توئین ۲۰ برای مایه‌زنی تمام بوته‌ها مورد استفاده قرار گرفت. زمان نمونه‌برداری از بافت برگی گیاهچه‌های تیمارشده و شاهد به‌ترتیب در چهار زمان صفر (قبل از مایه زنی با قارچ)، ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ ساعت بعد از مایه‌زنی بیمارگر انجام شد. شدت بیماری بلاست ۱۰ روز بعد از مایه‌زنی ثبت گردید. به‌منظور بررسی تغییرات بیان ژن‌های دفاعی، پس از استخراج RNA نمونه‌ها و ساخت cDNA، از روش Quantitative real- time PCR استفاده گردید و ژن Ubiquitin به‌عنوان ژن خانه‌دار در نظر گرفته شد. تجزیه آماری داده‌های به‌دست‌آمده از این آزمایش و مقایسه میانگین داده‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۰/۰۱ درصد با نرم‌افزار SAS 9.1 و همچنین رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel 2010 انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس داده‌های شدت بیماری بلاست ناشی از اثر فسفیت پتاسیم در مرحله برگی روی رقم هاشمی نشان دادند که گیاهان تیمارشده در مقایسه با گیاهان شاهد، آلودگی بسیار معنی‌دار کمتری نسبت به بیماری از خود نشان دادند. نتایج ارزیابی اثر تیمار فسفیت پتاسیم بر میزان تغییرات بیان ژن‌های NPR1، PR1، PR5، LOX و PAL در مقایسه با شاهد حاکی از آن بودند که داده‌ها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که الگوهای بیان ژن NPR1، PR5 و LOX در همه زمان‌ها، پس از مایه‌زنی بیمارگر در تیمار فسفیت پتاسیم، افزایش بیان داشت اما حداکثر بیان این ژن‌ها ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی بیمارگر مشاهده شد. میزان رونوشت ژن‌های NPR1، PR5 و LOX در تیمار فسفیت پتاسیم در ساعت ۴۸ بعد از مایه‌زنی بیمارگر به‌ترتیب ۷/۰۸، ۴/۲ و ۷/۲۸ بود که نسبت به گیاهان شاهد در همان زمان به‌ترتیب ۲/۳۶، ۲/۸۳ و ۵/۸۳ برابر افزایش فعالیت داشتند. فعالیت ژن PR5 در ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی در هر دو تیمار فسفیت پتاسیم و شاهد با تفاوت معنی‌داری بیشترین مقدار بود، سپس بیان ژن در ساعت ۹۶ کاهش و مجددا در ساعت ۱۴۴ افزایش داشت اما میزان فعالیت ژن در تیمار شاهد با اختلاف معنی‌دار کمتر از تیمار فسفیت پتاسیم بود. سطح بیان ژن PR1 در گیاهان تیمارشده با فسفیت پتاسیم و شاهد در زمان ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی به‌ترتیب با ۱/۶۵ و ۱/۴ برابر افزایش نسبت به زمان صفر بیشترین مقدار را نشان داد. در الگوی بیان ژن PR1 در گیاهان شاهد و گیاهان تیمارشده با فسفیت پتاسیم در ساعت ۴۸ بعد از مایه‌زنی بیمارگر افزایش و در بقیه ساعات نسبت به زمان صفر کاهش مشاهده شد. با وجود این، میزان بیان ژن در تیمار فسفیت پتاسیم در همه‌ی زمان‌ها بیشتر از شاهد بود. اثر تیمار فسفیت پتاسیم بر افزایش میزان بیان ژن PAL معنی‌دار بود. میزان فعالیت ژن PAL در تیمار فسفیت پتاسیم، در ساعات ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ به‌ترتیب ۰/۵۸، ۲/۶۵ و ۰/۴۱ برابر در مقایسه با زمان صفر ارزیابی شد و بیشترین سطح فعالیت این ژن در ساعت ۹۶ پس از مایه‌زنی بیمارگر بود. اما در تیمار شاهد افزایش سطح بیان ژن PAL در ساعت ۴۸ پس از مایه‌زنی بیمارگر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نقش مؤثر فسفیت پتاسیم در افزایش بیان برخی ژن‌های دفاعی در گیاه برنج و در نتیجه القا مقاومت و حفاظت گیاه در برابر قارچ *p. oryzae* را نشان می‌دهند که از گسترش بیماری بلاست برنج جلوگیری می‌کند. بنا بر این، استفاده از فسفیت پتاسیم به‌عنوان محرک مقاومت می‌تواند به تقویت دفاع گیاه در برابر حملات بعدی عوامل بیماری‌زا کمک کند.

واژه‌های کلیدی: بلاست برنج، ژن‌های دفاعی، فسفیت پتاسیم، حفاظت سیستمیک، Real-time qPCR

مقدمه

برنج یکی از قدیمی‌ترین گیاهان زراعی با ارزش و راهبردی است که نقش مهمی در تامین امنیت غذایی بیش از ۵۰ درصد از مردم دنیا به‌ویژه در آسیا دارد (Li *et al*., 2022). سطح زیر کشت برنج در دنیا ۱۶۸۳۵۶۵۶۶ و ایران ۷۴۹۷۴۶ هکتار است (FAO, 2023). متوسط عملکرد این محصول در کشور در سال ۰۲-۱۴۰۱ به میزان ۴/۵۸۵ تن در هکتار بود (Center for Statistics of Iran, 2023).

با وجود این، عملکرد و بهره‌وری این محصول مهم کشاورزی در معرض چالش‌های مداومی است که توسط طیفی از عوامل تنش‌زای زیستی و غیر زیستی بوجود می‌آید (Younas *et al*., 2024). بلاست برنج که توسط قارچ

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-24]

[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

Pyricularia oryzae ایجاد می‌شود، یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برنج است که سالانه تهدید بزرگی برای کشت برنج ایجاد می‌کند و منجر به کاهش تولید از ۱۰ درصد تا ۳۰ درصد در سال‌هایی با خسارت متوسط و تا ۵۰ درصد کاهش عملکرد در موارد شدید بیماری شده است (Gao *et al*., 2023). با توجه به مشکلات روش مبارزه شیمیایی از جمله آلودگی محیط زیست، هزینه بالا، امکان بروز مقاومت و افزایش قدرت بیماری‌زایی در جمعیت بیمارگر، این روش به‌تنهایی نمی‌تواند روشی موثر در جلوگیری از توسعه بیماری باشد. بنا بر این، باید به‌دنبال روشی بود که علاوه بر ایجاد کشاورزی پایدار و حفظ اکوسیستم، خطر کمتری برای انسان و موجودات دیگر داشته باشد.

القای مقاومت در برنج در برابر عوامل بیماریزا از طریق عوامل زیستی و غیر زیستی یکی از روش‌های مدیریتی ایمن و نوین است. مقاومت القایی به‌عنوان یک راهکار برای حفاظت از محصولات و به‌عنوان جایگزینی سازگار با محیط زیست در سطح جهانی مطرح شده است. در این روش، میزان مقاومت در گیاهان توسط برخی محرک‌های طبیعی و مصنوعی تحریک و فعال می‌گردد و در نتیجه از کل گیاه در برابر حمله بعدی محافظت می‌کند. کاربرد القاکننده‌ها در گیاه برنج عمدتاً از طریق تجمع پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی (PR) مانند PR1 و PR5، تجمع ترکیبات فنلی، بیان بیش از حد لیپواکسیژنازها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، مهار گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، افزایش بیان‌ژن‌های دفاعی از جمله PAL و LOX و افزایش بیان ژن NPR1 باعث افزایش مقاومت می‌شود (Shasmita *et al*., 2023).

تجمع پروتئین‌های PR موجب القای سیستم ایمنی ذاتی گیاه می‌شود و به گیاهان کمک می‌کند تا از آلودگی مجدد جلوگیری کنند (Yuan *et al*., 2021). پروتئین‌های PR عملکردهای متنوعی دارند و عمدتاً در گیاهان به‌صورت کیتینازها، گلوکانازها و پروتئین‌های شبه تائوماتین بیان می‌شوند. آن‌ها به انتقال پیام، فعالیت‌های ضد میکروبی و استحکام دیواره سلولی گیاه کمک می‌کنند (Gao *et al*., 2023). در برنج اولین بار القای PR1 (OsPR1b) به‌دنبال تیمار برگ‌ها با بیمارگر بلاست و جاسمونیک اسید شناسایی شد. کیم و همکاران (Kim *et al*., 2001) نشان دادند که هر دو ژن PR1a وPR1b در برگ‌های برنج تلقیح‌شده با قارچ عامل بلاست یا عامل بلایت باکتریایی بیان شدند. یکی دیگر از گروه‌های مهم، PR-5 است. پروتئین‌های PR5 می‌توانند به‌سرعت در پاسخ به استرس زیستی یا غیر زیستی در سطوح بالایی انباشته شوند و فعالیت ضد قارچی مانند تغییر نفوذپذیری غشای پلاسمایی و فعالیت اندو1-3-β گلوکاناز برای تخریب دیواره سلولی قارچ را در گونه‌های مختلف گیاهی نشان دهند (Petre *et al*., 2011).

نقش ژن‌های فنیل‌آلانین آمونیا لیئاز (PAL) در مقاومت به بیمارگرهای گیاهی به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. PAL در بیوسنتز هورمون گیاهی اسیدسالیسیلیک (SA) نقش دارد. آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا لیئاز (PAL) واکنش تبدیل L- فنیل آلانین به ترانس سینامیک‌اسید را تسریع و تسهیل می‌کند. مسیر فنیل پروپانوئید متابولیت‌های گیاهی متنوعی را تولید می‌کند که در فرآیندهای مختلف از جمله حمایت ساختاری و دفاع گیاه نقش اساسی دارند (Liu *et al*., 2024). پژوهش‌های قبلی نشان دادند که حذف ژن‌های PAL در برنج باعث کاهش قابل‌توجه فعالیت PAL و محتوای SA و همچنین افزایش حساسیت به قارچ *Pyricularia oryzae* شد (Duan *et al*., 2014).

لیپوکسیژنازهای گیاهی (LOX) با ایجاد دفاع اولیه در برابر آسیب‌های ناشی از بیمارگرها، نقش مهمی در رشد و پاسخ‌های دفاعی گیاه دارند. این پروتئین‌ها واکنش اکسیژن‌رسانی اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه را تسهیل و تسریع می‌کنند تا به ترکیباتی مانند جاسمونیک اسید و تروماتین متابولیزه شوند. ژنوم برنج، ۱۴ پروتئین LOX را به رمز در می‌آورد که ممکن است به درک بهتر شروع، پیشرفت و اثرات فوق‌حساسیت و پاسخ به تنش‌های زنده و غیر زنده و آبشارهای پیامدهی در گیاهان کمک کنند (Umate, 2011).

چگونگی مقاومت NPR1 در برابر انواع بیمارگرها و تنش‌ها به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. NPR1 و پارالوگ‌های آن به‌عنوان گیرنده SA و یک تنظیم‌کننده اصلی پاسخ‌های ایمنی با واسطه سالیسیلیک‌اسید (SA) هستند. دایمر NPR1 متصل به SA با پل‌زدن دو دایمر فاکتور رونویسی TGA، رونویسی را القا می‌کند و یک کمپلکس برای القای بیان‌ژن دفاعی را تشکیل می‌دهد.

فسفیت (Phi) از ترکیبات شیمیایی محرک القا مقاومت است که از دهه ۱۹۷۰ برای مدیریت بیماری‌های ناشی از قارچ *Phytophthora* استفاده شده است (Achary *et al*., 2017). فسفیت از نظر زیست‌محیطی ایمن و ارزان است، سمیت کمی برای حیوانات دارد و توجه روزافزونی را به‌خود جلب کرده است. این القاکننده با اثر مستقیم و غیر مستقیم در پاسخ به بیمارگرهای باکتریایی و قارچی استفاده شده است (de Fátima Pereira Silva *et al*., 2023; Drakhshan *et al*., 2023). کاربرد فسفیت به‌عنوان قارچ‌کش برای مهار بیماری بلاست تاکنون به‌طور کامل مورد مطالعه قرار نگرفته است. دا کروز و همکاران (da Cruz *et al*., 2011) اثر پیشگیرانه فسفیت پتاسیم را روی بلاست گندم *P. grisea* گزارش کردند. در گزارش دیگری، مهتا و همکاران (Mehta *et al*., 2022) با استفاده از فسفیت پتاسیم پاسخ‌های دفاعی سیستمیک را در برابر حمله قارچ بلاست القا کردند که در نهایت منجر به عملکرد بهتر کاربرد پیشگیرانه نسبت به درمان شد. حبیبی و همکاران (Habibi *et al*., 2023) نشان دادند که فسفیت پتاسیم از طریق القای ژن‌های مختلف از جمله LOX, PR1 وPR5 باعث پاسخ سریع و شدید گیاه برنج علیه *Rhizoctonia solani* شد و در نهایت منجر به افزایش مقاومت به بیماری سوختگی غلاف گردید.

با توجه به نقش فسفیت در القای مقاومت در برابر بیمارگرها، در این مطالعه اثر فسفیت پتاسیم بر میزان تغییرات بیان چند ژن دفاعی *NPR1*، *PR1*، *PR5*، *LOX* و *PAL* در سطح رونویسی در پاسخ به مقاومت برنج رقم هاشمی در برابر

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]
[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

عامل بیماری بلاست در گیاهان تیمارشده و شاهد توسط روش Real-timePCR ارزیابی گردید.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تاثیر فسفیت پتاسیم بر الگوهای بیان برخی ژن‌های پاسخ دفاعی برنج در برابر قارچ عامل بلاست، رقم هاشمی به‌عنوان رقم بومی رایج منطقه و حساس به بیماری بلاست در نظر گرفته شد (Musa Nejad *et al*., 2013). بذور از بخش تحقیقات اصلاح و تهیه بذر موسسه تحقیقات برنج کشور معاونت مازندران (آمل) تهیه شدند.

کاشت گیاهچه‌های همسان

ابتدا بذور پس از شستشو به‌مدت ۲۴ ساعت در آب قرار گرفتند. آن‌گاه با محلول هیپوکلریدسدیم (۲۰ میلی‌لیتر محلول تجاری در ۸۰ میلی‌لیتر آب) ضدعفونی و مجددا با آب مقطر سترون شستشو داده شدند. سپس برای جوانه‌زنی روی کاغذ صافی مرطوب در انکوباتور در دمای ۲۶ درجه سانتی‌گراد به‌مدت سه شبانه‌روز نگهداری شدند. در ادامه، بذرهای جوانه‌زده به گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۲۵ و ارتفاع ۲۲ سانتی‌متر حاوی خاک سیلتی–رسی سترون با pH = ۷/۴ و ۱/۵ درصد ماده‌ی آلی (۰/۰۸ درصد نیتروژن، ۴/۹۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر و ۱۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم پتاسیم) منتقل شدند. کودهای ازت، پتاس و فسفر به‌ترتیب به میزان ۱۵۰، ۱۰۰ و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به آن‌ها اضافه شدند و با آبیاری و هم‌زدن به‌حالت غرقابی درآمدند. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دما ۲۱ تا ۳۲ درجه سانتیگراد و رطوبت بالای ۹۰ درصد به‌مدت ۴ هفته نگهداری و آبیاری گلدان‌ها به‌طور مرتب و روزانه انجام شد.

محلول‌پاشی گیاهچه‌ها با فسفیت پتاسیم

۰/۵ گرم هیدروکسید پتاسیم (KOH) و ۰/۵ گرم اسیدفسفرو (H2PO3) را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل گردید و سپس pH با استفاده از محلول KOH، به‌مقدار ۶/۵ تنظیم شد. آن‌گاه، ۱۰ میلی‌لیتر از فسفیت پتاسیم رقیق‌شده (۲ گرم در یک لیتر آب) برای هر بوته ۴–هفته‌ای اسپری شد (Mohammadi *et al*., 2019). برای تیمار شاهد، محلول‌پاشی با آب مقطر سترون انجام شد.

تهیه و آماده‌سازی مایه تلقیح قارچ عامل بیماری بلاست برنج

در این پژوهش، جدایه بیماری‌زای *P. oryzae* 274 با نژاد IA-82 که نژاد غالب در مناطق مرکزی استان مازندران است، مورد استفاده قرار گرفت (Khosravi, 2006). این جدایه از بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی معاونت موسسه تحقیقات برنج کشور در مازندران تهیه گردید. برای رشد اولیه قارچ از محیط PDA و برای تولید اسپور کافی جهت مایه‌زنی از محیط کشت آلو–آگار استفاده شد. پس از یک هفته رشد قارچ در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، جهت تحریک اسپورزایی محیط‌کشت تحت تناوب ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفت. آن‌گاه، کنیدی‌ها با استفاده از چاقوی آزمایشگاهی در آب مقطر سترون جمع‌آوری شدند (Mackill & Bonman, 1992). غلظت سوسپانسیون با استفاده از هموسایتومتر به تعداد 10^5 اسپور در میلی‌لیتر تنظیم شد. برای اتصال بهتر کنیدی‌ها به اندام‌های هوایی برنج مقدار ۰/۰۵ درصد از Tween 20 به سوسپانسیون بیمارگر اضافه شد.

تلقیح عامل بیماری به گیاه و نمونه‌برداری

دو روز پس از محلول‌پاشی با فسفیت پتاسیم، سوسپانسیون اسپور قارچ بیمارگر بر روی تمام بوته‌ها اسپری شد. ۲۴ ساعت قبل و بعد از تلقیح بیمارگر روی همه گلدان‌ها، آب مقطر سترون پاشیده شد. برای فراهم‌شدن رطوبت نسبی کافی (۹۰ درصد) گلدان‌ها به‌وسیله کیسه‌های پلاستیکی شفاف پوشانیده شدند. دمای گلخانه در مدت انجام آزمایش ۳۱–۲۰ درجه سانتی‌گراد بود. گلدان‌ها به‌طور مرتب مورد بازدید قرار گرفتند.

نمونه‌برداری برای استخراج RNA و ارزیابی بیان‌ژن‌های دفاعی از بافت برگی گیاهچه‌های تیمارشده و شاهد به‌ترتیب در بازه‌های زمانی صفر، ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ ساعت بعد از مایه‌زنی بیمارگر انجام گرفت. نمونه‌های برگی پس از انتقال به لوله‌های فالکون به‌سرعت در نیتروژن مایع فرو برده، آن‌گاه به فریزر با دمای ۸۰– درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

ارزیابی شدت بیماری بلاست

شدت بیماری بلاست ۱۰ روز بعد از مایه‌زنی بیمارگر با استفاده از سیستم ارزیابی استاندارد موسسه بین‌المللی تحقیقات برنج با تعیین درصد سطح برگ آلوده یادداشت برداری شد (IRRI, 2013).

استخراج RNA و بررسی کیفیت RNA استخراجی

نمونه‌های برگی در حضور نیتروژن مایع به‌صورت پودر درآمدند و سپس استخراج RNA کل مطابق دستورالعمل کیتRNX-Plus (شرکت سیناکلون) انجام شد. کمیت و کیفیت RNA استخراجی با دستگاه اسپکتروفتومتر و الکتروفورز در ژل آگارز ۱/۵ درصد در بافر TBE 1X ارزیابی شدند. سپس با UV دستگاه ژل‌خوان کداک (Gel Logic ۲۰۰) از آن عکس‌برداری و صحت نمونه‌ها ارزیابی شد.

زدودن DNA ژنومی از نمونه‌های RNA استخراج‌شده و ساختDNA مکمل (cDNA)

به‌منظور حذف آلودگی‌های احتمالی DNA از RNA از کیت DNase I, RNase-free ساخت شرکت سیناکلون (sinaclon) (Cat. No: MO5401) استفاده گردید. ساخت cDNA هر نمونه توسط کیت First strand cDNA synyhesis kit شرکت سیناکلون (Cat. No: RT5201) مطابق با دستورالعمل عنوان شده انجام گردید و جهت بررسی صحت ساخت و کیفیت نمونه‌های cDNA سنتز شده از PCR با آغازگر اختصاصی Ubiquitin استفاده گردید. آن‌گاه، نتیجه PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد با مشاهده باند مورد نظر در مکان مناسب روی ژل بررسی شد.

بررسی بیان ژن‌ها و تجزیه داده‌ها

میزان بیان ژن‌های *NH1*، *PR1*، *PR5*، *LOX* و *PAL* به‌عنوان ژن‌های هدف با تکنیک Quantitative real- time PCR و ژن Ubiquitin به‌عنوان ژن خانه‌دار با دستگاه Applied Biosystems® StepOnePlus™ Real-Time PCR بررسی شد. توالی آغازگرها در جدول ۱ نشان داده شده است.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]
[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

برای این آزمایش از سایبر گرین Real Q Plus 2x Master Mix Green, High ROX شرکت Sinalon استفاده شد و دوره‌های زمانی جهت تکثیر ژن‌های مورد نظر بر اساس برنامه دمایی و زمانی خاص در هر چرخه انجام گرفتند. تناوب دمایی برای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز شامل مرحله واسرشت‌سازی اولیه به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، سپس ۳۵ چرخه شامل مرحله واسرشت‌سازی به‌مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، به‌مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال آغازگر و گسترش به‌مدت ۴۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۳۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و در نهایت مرحله بسط نهایی به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. داده‌های حاصل به فایل اکسل وارد شدند و آنالیز نتایج با فرمول $2^{-(\Delta\Delta CT)}$ ارزیابی شد (Livak *et al*., 2001).

$$\Delta CT = (CT\ \text{ژن هدف} - CT\ \text{ژن خانه‌دار})$$
$$\Delta\Delta CT = (\Delta CT\ \text{نمونه آزمایشی} - \Delta CT\ \text{نمونه کنترل})$$

جدول ۱- آغازگرهای مورد استفاده برای انجام واکنش Real-time PCR

Table 1. The primers used in the Real-time PCR assay

منبع Reference	دمای اتصال Annealing (°C)	طول قطعه تکثیر شده (bp) Product size(bp)	توالی آغازگر برگشت (۵'→۳') Reverse primer (5'→3)	توالی آغازگر رفت (۳'→۵') Forward primer (5'→3)	ژن Gene
Rostami et al., 2019	60	145	GCAGATCGAAAGCAACACCT	CTACCCCTTCAAGCCTCCAA	Ubiquitin
Praveen, et al., 2020	60	135	ACGAGACCCAGCGAGTTCA	GGACTACGGGTTCAAGGGC	PAL
sayari et al., 2014	60	69	CATGGAAGTCGAGCATGAACA	AGATGAGGCGCGTGATGAC	*LOX*
Hekmati et al., 2014	60	155	AGGTGGATTTGCACCAGAAC	TGGCAGGTGAGAGTCTACGA	*NPR1*
Mitsuhara et al., 2008	60	114	CGTGGTTTTGTCTTTATTTCAATCC	CGCTGTGTGTTTGTGTTATGTC	*PR1*
Delteil et al., 2012	60	80	ACGACTTGGTAGTTGCTGTTGC	CGCTGCCCCGACGCTTAC	*PR5*

آزمایش در دو تکرار تکنیکال انجام و بنا بر این از میانگین CT نتایج هر ژن برای تعیین کمیت نسخه‌ها استفاده شد. پس از انجام واکنش Real timePCR، منحنی‌ذوب و صحت پیک مربوط به هر ژن هدف و عدم تشکیل آغازگر دایمر تایید گردید.

به‌منظور تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده از آزمایش، تجزیه واریانس و مقایسه میانگین دانکن در سطح احتمال ۰/۰۱ درصد از نرم‌افزار SAS 9.1 و همچنین رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2010 استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌های شدت بیماری بلاست حاصل از اثر فسفیت پتاسیم در مرحله برگی روی رقم هاشمی نشان دادند که گیاهان تیمارشده با فسفیت پتاسیم در مقایسه با گیاهان تیمارنشده در سطح احتمال ۰/۰۱ درصد دارای اختلاف بسیار معنی‌داری باهم بودند. رقم هاشمی از ارقام حساس به بیماری بلاست محسوب می‌شود و کاهش شدت بیماری بلاست در گیاهان برنج که با فسفیت پتاسیم تیمارشده بودند قبلا گزارش شد (Mehta *et al*, 2022;Gaikwad & Balgude, 2016).

اثر محلول‌پاشی فسفیت پتاسیم بر ژن‌های مرتبط با دفاع از طریق تجزیه و تحلیل qRT-PCR

نتایج تجزیه واریانس انجام‌گرفته در سطح احتمال ۰/۰۱ درصد روی میزان تغییرات بیان ژن‌های *NH1*، *PR1*، *PR5*، *LOX* و *PAL* در گیاهچه‌های برنج حاکی از آن بودند که اثر تیمار متقابل فسفیت پتاسیم و تاثیر زمان دارای اختلاف معنی‌داری بود (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین که در شکل ۱ نشان داده شده است، بیشترین فعالیت ژن‌ها (به‌جز PAL) در ساعت ۴۸ پس از مایه‌زنی بیمارگر بود.

جدول ۲- تجزیه واریانس بیان ژن‌های اندازه‌گیری‌شده در آزمایش اسپلیت‌پلات در زمان در قالب طرح کاملا تصادفی

Table 2. Analysis of variance for gene expression measured in the Split-time experiment in a completely randomized design

میانگین مربعات Mean squared					درجه آزادی Degree of Freedom	منابع تغییرات Sources of variation
PR5	*PR1*	*NPR1*	*LOX*	*PAL*		
6.521**	0.462**	28.580**	48.935**	0.833**	1	تیمار Treatment
0.019	0.0005	0.020	0.037	0.008	4	خطای a
3.744**	0.928**	18.937**	11.932**	1.846**	3	زمان نمونه برداری Time
2.122**	0.085**	7.792**	11.272**	1.729**	3	تیمار*زمان Treatment*Time
0.011	0.003	0.016	0.029	0.024	12	خطا Error
5.833	5.788	4.801	7.072	15.774	ضریب تغییرات Coefficient of variation	

**: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱

اثر تیمارها بر میزان بیان ژن لیپواکسیژناز (*LOX*)

بررسی بیان ژن *LOX* در این تحقیق نشان داد که بیان این ژن ۴۸ ساعت پس از آلودگی افزایش معنی‌داری داشت و

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]
[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

پس از آن کاهش یافت با این تفاوت که در تیمار فسفیت پتاسیم افزایش ۵/۶ برابری نسبت به شاهد در این زمان نشان داد (شکل ۱). نتایج حاکی از آن بودند که فسفیت پتاسیم در واکنش با قارچ بیمارگر توانست باعث افزایش معنی‌داری در سطح بیان ژن لیپواکسیژناز در قیاس با تیمار بیمارگر شود که نشان‌دهنده‌ی تاثیر مثبت فسفیت پتاسیم بر افزایش مقاومت گیاه در برابر عامل بیماریزا و نیز افزایش کارایی استفاده از فسفیت پتاسیم است.

همه LOXها متعلق به یک خانواده ژنی هستند و افزایش بیان ژن *LOX* می‌تواند منجربه تولید هیدروپراکسید، رادیکال‌های آزاد، ترکیبات ضدمیکروبی و جاسمونیک‌اسید شود (Zhang *et al*., 2022). جاسمونات‌ها و اکسی‌لیپین‌های در بهبود زخم و دفاع گیاه در برابر عوامل بیماری‌زا باکتریایی، قارچی و حشرات شرکت می‌کنند (Montero & Badr, 2000). لیپوکسیژنازها باعث لیپوپراکسیداسیون غشاهای بیولوژیکی می‌شوند و در مسیر مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلولی و پاسخ به تنش‌های زیستی و غیر زیستی در گیاهان نقش دارند (Umate, 2011). در برنج، JA برای افزایش تجمع فیتوالکسین‌های مشتق‌شده از مسیر فنیل‌پروپانوئید، ازجمله نارینژنین و ساکورانتین شناخته شده است و دفاع در برابر قارچ بلاست را تقویت می‌کند (Lahari *et al*., 2024). مطالعه رستمی و همکاران (Rostami *et al*., 2019) نشان داد که افزایش بیان ژن LOX پس از کاربرد سیلیکات پتاسیم و القا کننده‌های زیستی در برابر بیماری *Rhizoctonia solani* برنج بیانگر نقش مستقیم این ژن در فعالیت‌های دفاعی گیاه برنج بود. در گزارشات قبلی، هائو و همکاران (Hao *et al*., 2012) نیز به نتایج مشابه در خصوص نقش LOX در پاسخ دفاعی به عامل بیماری بلاست *M. oryzea* در گیاه برنج اشاره داشتند. در نتیجه، می‌توان گفت که فسفیت‌پتاسیم قادر است گیاه را وارد مسیرهای مقاومت کند و باعث القای مقاومت و تحمل در گیاه برنج شود.

بیان ژن فنیل‌آلانین آمونیالیئاز (*PAL*)

نتایج تجزیه واریانس نشان دادند که اثر تیمار فسفیت‌پتاسیم بر افزایش میزان بیان ژن *PAL* معنی‌دار بود (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین بیشترین بیان این ژن در تیمار فسفیت‌پتاسیم، ۹۶ ساعت پس از مایه‌زنی بیمارگر و در گیاهان شاهد ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی به‌ترتیب با ۲/۶۵ و ۱/۱۴ برابر نسبت به زمان صفر بود (شکل ۱). پس از آن، میزان بیان کاهش داشت و کمتر از یک بود.

آنزیم PAL اولین واکنش مسیر فنیل‌پروپانوئید را تسهیل و مجموعه وسیعی از متابولیت‌های گیاهی را تولید می‌کند. از جمله ترکیباتی که تولید می‌شوند شامل فیتوهورمون SA، ترکیبات فنلی، اسیدهای هیدروکسیل‌سینامیک، مونولیگنول‌ها، کومارین‌ها، استیلبن‌ها و فلاونوئیدها هستند (Jun *et al*., 2018). علاوه بر این، بسیاری از فیتوالکسین‌ها، متابولیت‌هایی که به‌سرعت بر اثر عفونت بیمارگر تجمع می‌یابند و در دفاع گیاه نقش دارند، نیز از مسیر فنیل پروپانوئید مشتق می‌شوند (Deng & Lu, 2017). بسیاری از این متابولیت‌ها به‌عنوان فعال زیستی در برابر بیمارگرها، به‌طور مستقیم و غیر مستقیم در دفاع گیاه نقش دارند (Zaynab *et al*., 2018). در پژوهش قبلی، نقش Pal در مقاومت گیاه برنج به بیمارگرها نشان داده شده است (Drakhshan *et al*., 2023).

در بسیاری از گیاهان، برهمکنش بین مسیر فنیل‌پروپانوئید و اسیدجاسمونیک و افزایش تجمع چندین کلاس متابولیت‌های ثانویه گزارش شده است (Wasternack & Strnad, 2019). شاران و همکاران (Sharan *et al*., 1998) گزارش کردند که JA باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های PAL در تنباکو و تجمع فنیل پروپانوئیدها مانند کومارین و اسکوپولتین شد. از سوی دیگر، پژوهش قبلی نشان می‌دهد که فعال‌شدن مسیر فنیل پروپانوئید منجربه کاهش غلظت JA و سیگنال‌دهی پایین‌دست می‌شود (Alon *et al*., 2013) که نشان‌دهنده روابط پیچیده بین هر دو مسیر است.

بیان بیش از حد OsPAL1 در یک رقم حساس نشان‌دهنده مقاومت افزایش‌یافته به *P. oryzae* و تجمع لیگنین بالاتر است (Zhou *et al*., 2018). این نتایج نشان می‌دهند که PAL در دفاع گیاه در برابر بیمارگرهای متعدد، حداقل تا حدی از طریق تجمع لیگنین و بیوسنتز SA نقش دارد. در این بررسی، مشاهده شد که بیان این ژن در تیمار فسفیت‌پتاسیم به‌طور معنی‌داری بیشتر از شاهد بود. بنا بر این، این ژن با مصرف فسفیت‌پتاسیم پتانسیل بیشتری برای بیان دارد، در هنگام مواجهه با بیماری Pal به‌میزان بیشتری بیان می‌شود و در دفاع گیاه در برابر بیمارگر نقش دارد.

بیان نسبی ژن *NPR1*

نتایج حاصل از داده‌های Real Time PCR نشان دادند که الگوی بیان ژن OsNPR1 در رقم هاشمی در زمان‌های مختلف دارای تفاوت معنی‌داری بود. بیشترین بیان این ژن در گیاهان تیمارشده با فسفیت‌پتاسیم و گیاهان شاهد در زمان ۴۸ ساعت پس از تلقیح با *P. oryzae* اتفاق افتاد. این افزایش بیان در گیاهان تیمارشده با فسفیت‌پتاسیم و گیاهان شاهد به‌ترتیب ۷/۰۸ و ۲/۹۹ برابر نسبت به زمان صفر بود (شکل۱). افزایش بیان این ژن نشان‌دهنده‌ی حضور آن در مسیرهای دفاعی در گیاه برنج است. افزایش بالای ژن NPR1 در ۴۸ ساعت پس از تلقیح بیمارگر جهت مقابله با حمله و گسترش هیف مهاجم قارچ به اولین سلول گیاهی است (Ribot *et al*., 2008).

NPR1 عملکردهای چندگانه خود را از طریق تشکیل رسوبات بیومولکولی متمایز هسته‌ای و سیتوپلاسمی هماهنگ می‌کند. علاوه‌بر این، NPR1 با تنظیم تداخل بین SA و سایر هورمون‌های دفاعی و رشد، نقش اصلی را در سلامت گیاه بازی می‌کند (Zhou *et al*., 2023; Zavaliev *et al*., 2024). بررسی‌های زیادی بیانگر افزایش مقاومت علیه بیماری‌ها توسط ژن OsNPR1 و ارتولوگ‌های آن هستند. به‌عنوان نمونه، نظری و همکاران (Nazari *et al*., 2021) گزارش کردند افزایش بیان ژن OsNPR1 در مقاومت علیه قارچ بلاست برنج موثر بود و افزایش بیان این ژن پس از آلودگی با این قارچ مشاهده گردید. در این بررسی، افزایش بیان ژن NPR1 در گیاهان تیمارشده با فسفیت‌پتاسیم در

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]
[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

ساعت ۴۸ با ۲/۳۶ برابر افزایش، اختلاف معنی‌داری را با گیاهان شاهد نشان داد. می‌توان نتیجه گرفت که فسفیت‌پتاسیم باعث پاسخ سریع و بیان بیشتر در گیاهان در مقابله با بیمارگر می‌شود.

بیان نسبی ژن *PR1*

میزان بیان ژن *PR1* در پاسخ به آلودگی *P. oryzae* در گیاهان تیمارشده با فسفیت پتاسیم در تمامی ساعات پس از مایه‌زنی بیمارگر با اختلاف معنی‌دار بیشتر از شاهد بوده‌است (جدول ۲). بیان این ژن در زمان ۴۸ در هر دو گیاه تیمارشده با فسفیت‌پتاسیم و تیمارنشده به بیشینه‌ی خود رسید که سطح آن به‌ترتیب ۱/۶۵ و ۱/۴ برابر زمان صفر بود و در زمان ۹۶ در گیاه شاهد نرخ بیان به کمترین میزان خود رسید (شکل ۱).

پروتئین‌های PR-1 دارای فعالیت ضد میکروبی هستند و این نقش ممکن است به‌دلیل توانایی PR-1 در جداسازی استرول‌ها از غشاهای بیمارگر و در نتیجه مهار رشد باشد (Gamir *et al*, 2017). بررسی‌ها نشان داده‌اند که ژن *PR1* در پیری، آسیب، استرس غیر زیستی، پردازش هورمون‌ها و حتی رشد و تکامل طبیعی نقش دارد (*Zeng et al*., 2019).

پروتئین‌های PR نقش مهمی در پاسخ مقاومت به بیماری برنج دارند (Mitsuhara *et al*., 2008). بررسی‌های گذشته نشان می‌دهند که پروتئین‌های PR در شرایط رشد طبیعی در برگ‌های برنج بیان می‌شوند و در رشد برنج نقش دارند. همچنین، PR1 برنج پس از تلقیح باکتری *Xanthomonas oryzae* Pv. *oryzae* بیان می‌شود (Hou *et al*., 2012). در گیاه گوجه‌فرنگی، تحت عفونت *Pseudomonas syringae*، بیان PR1 در گیاهان ژنوتیپ مقاوم به میزان قابل‌توجهی افزایش یافت (Akbudak *et al*., 2020). *PR1* در برگ‌ها سیستمیک می‌شوند و نقش مهمی در ایجاد مقاومت گیاهان در برابر طیف وسیعی از بیمارگرها دارند (Xu *et al*., 2021).

بین گیاهان برنج تیمارشده و نشده با فسفیت‌پتاسیم اختلاف معنی‌داری در بیان ژن *PR1* وجود داشت (جدول ۲). سطح بیان *PR1* در گیاهان تیمارشده با فسفیت‌پتاسیم در تمام زمان‌ها بالاتر بود که نشان می‌دهد فسفیت‌پتاسیم باعث می‌شود تا گیاه پس از دریافت سیگنال حمله بیمارگر شروع به بیان این ژن نماید و با تخریب غشا بیمارگر از پیشروی بیماری جلوگیری کند.

بیان نسبی ژن *PR5*

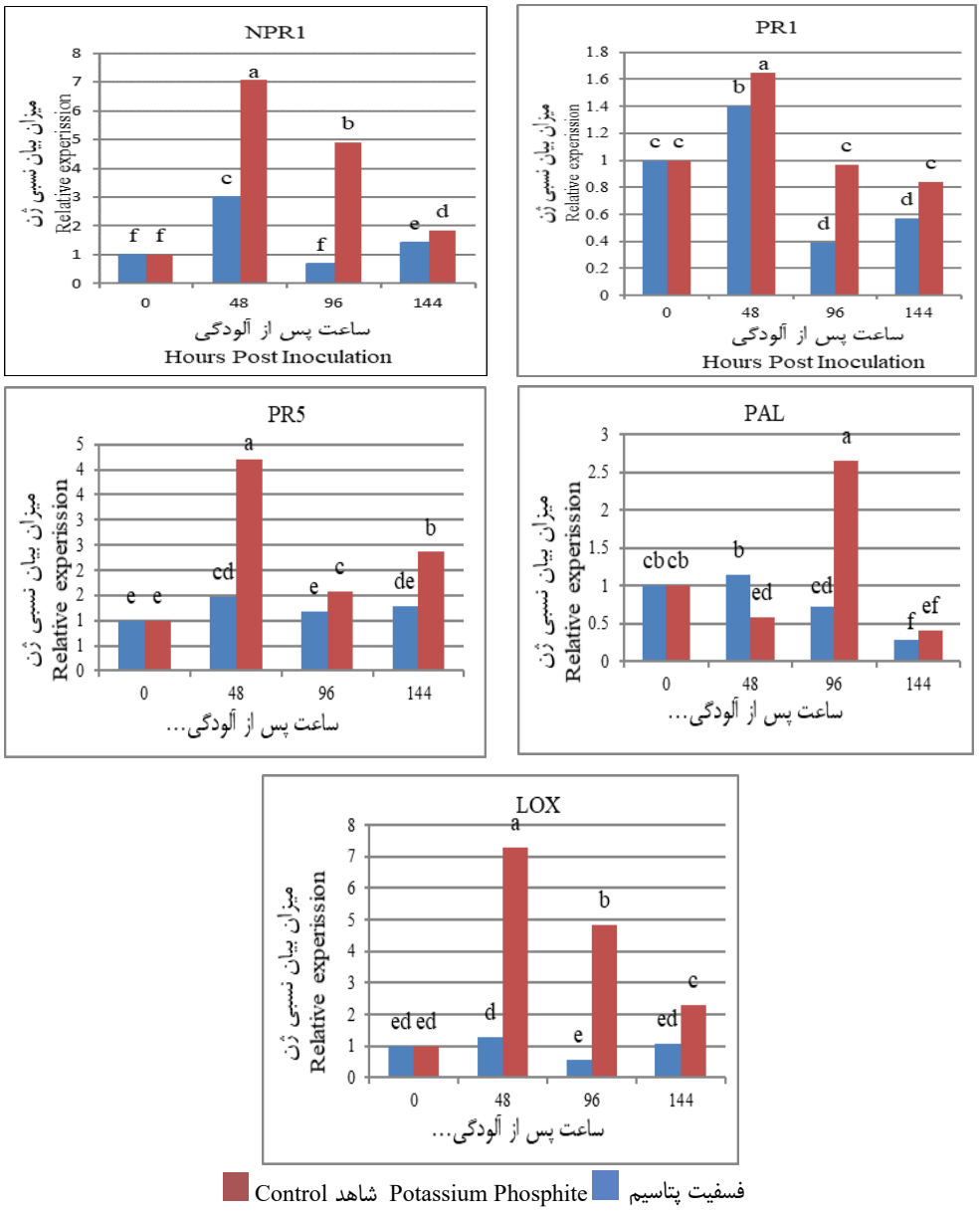
نتایج به‌دست‌آمده از بررسی بیان‌ژن *PR5* در این آزمایش نشان دادند که بر اثر تیمار فسفیت‌پتاسیم و بیمارگر بلاست میزان بیان این ژن، ۴۸ ساعت بعد از آلودگی در هر دو تیمار با تفاوت معنی‌داری بیشترین مقدار بود، اما تیمار فسفیت‌پتاسیم افزایش بیان ۲/۷ برابری در مقایسه با شاهد در این زمان داشت. سپس، بیان ژن در زمان ۹۶ کاهش و مجددا در زمان ۱۴۴ افزایش نشان داد (شکل۱).

پروتئین‌های PR5 عموماً فعالیت ضد قارچی خود را از طریق افزایش بسیار سریع و چشم‌گیر و با ایجاد اختلال در دو لایه لیپیدی غشای پلاسمایی بیمارگر و ایجاد منافذ غشایی اعمال می‌کنند. پروتئین‌های پرماتین و اسموتین متعلق به این گروه هستند. اسموتین در مسیر انتقال پیام بیمارگر تداخل ایجاد می‌کند تا حساسیت سلول‌های قارچی را افزایش دهد (Yun *et al*., 1998). بررسی‌ها نشان می‌دهند که علاوه بر فعالیت ضد قارچی شناخته‌شده برای پروتئین‌های PR5، آن‌ها ممکن است عملکردهای بیشتری در سلول‌های گیاهی داشته باشند. پروتئین‌های PR5 نیز ممکن است به‌طور غیر مستقیم در سایر مکانیسم‌های تنظیم‌کننده دفاعی مانند مسیرهای فنیل پروپانوئید و تجمع فیتوالکسین نقش داشته باشند (El-keremy *et al*., 2011).

طبق مطالعه هائو و همکاران (Hao *et al*., 2012)، PR5 عمدتاً می‌تواند در دفاع برابر بلاست گردن خوشه برنج شرکت کند. بیان بیش از حد پروتئین PR5 در گیاهان تراریخته به‌طورکلی منجر به افزایش مقاومت بیماری در برخی از گونه‌های گیاهی شده است. به‌عنوان مثال، اسموتین سیب‌زمینی مقاومت را در برابر بیمارگر سوختگی دیررس سیب‌زمینی *Phytophtohra infestans* افزایش می‌دهد (Liu *et al*., 1994). در برنج، TLP-D34 مقاومت در برابر بیمارگر سوختگی غلاف، *R. solani* را افزایش می‌دهد (Datta *et al*., 1999).

در این تحقیق، سطح بیان *PR5* به‌طور قابل توجهی در تیمار فسفیت‌پتاسیم در زمان ۴۸ و ۱۴۴ بیشتر از شاهد بود. این امر بیانگر این است که فسفیت‌پتاسیم در گیاهان باعث افزایش بیان *PR5* در برابر قارچ *P. oryzae* می‌شود و از گسترش آلودگی و رشد قارچ جلوگیری می‌کند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]
[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]



شکل ۱- الگوهای بیان ژن‌های NPR1، PR1، PR5، PAL و LOX در برنج رقم هاشمی تیمارشده با فسفیت‌پتاسیم و شاهد در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با قارچ *P. oryzeae*

Figure 1. NPR1, PR1, PR5, PAL, and LOX gene expression levels in the Hashemi cultivar, control, and those treated with potassium phosphite at different times after infection with *P. oryzeae*

نتیجه‌گیری کلی

در این پژوهش، بیان القایی برخی از ژن‌های دفاعی شناخته‌شده به کمک فسفیت پتاسیم در کنترل بیماری بلاست برنج بررسی گردید. فسفیت پتاسیم عمدتا باعث افزایش میزان بیان ژن‌های دفاعی در ۴۸ ساعت ابتدایی در گیاهان تیمارشده نسبت به گیاهان شاهد شد و از آن‌جایی‌که PAL و LOX در قسمت بالادست سایر ژن‌ها قرار دارند، باعث افزایش بیان ژن‌های PR1 و PR5 نیز شد. شناسایی محصولات ژنی بیماری‌زا توسط محصولات ژن مقاومت گیاهی منجربه بیان سریع و هماهنگ ژن‌های دفاعی می‌شود. این نتایج می‌توانند تا حدودی بیانگر حفاظت سیستمیک گیاه برنج رقم هاشمی در مقابل قارچ *P. oryzae* بر اثر کاربرد پیشگیرانه فسفیت‌پتاسیم و در نتیجه القا مقاومت به‌واسطه افزایش بیان ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی باشند.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-24]
[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

References

Achary, V. M. M., Ram, B., Manna, M., Datta, D., Bhatt, A., Reddy, M. K., & Agrawal, P. K. (2017). Phosphite: a novel P fertilizer for weed management and pathogen control. *Plant Biotechnology Journal*, *15*(12), 1493–1508. https://doi.org/10.1111/pbi.12803

Akbudak, M. A., Yildiz, S., & Filiz, E. (2020). Pathogenesis related protein-1 (PR-1) genes in tomato (*Solanum lycopersicum* L.): Bioinformatics analyses and expression profiles in response to drought stress. *Genomics,* 112(6), 4089–4099. https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.07.004

Alon, M., Malka, O., Eakteiman, G., Elbaz, M., Moyal Ben Zvi, M., Vainstein, A., & Morin, S. (2013). Activation of the Phenylpropanoid pathway in Nicotiana tabacum improves the performance of the whitefly Bemisia tabaci via reduced jasmonate signaling. *PloS One*, *8*(10), e76619. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076619

Center for Statistics, Information and Communication Technology. (2023). *Agricultural Statistics. Ministry of Agricultural Jihad*. 103.

da Cruz, M. F. A., Diniz, A. P. C., Rodrigues, F. A. & de Barros, E. G. (2011). Foliar application of products on the reduction of blast severity on wheat. *Tropical Plant Pathology*, *36*(6), 424–428. https://doi.org/10.1590/S1982-56762011000600014

Datta, K., Velazhahan, R., Oliva, N., Ona, I., Mew, T., Khush, G. S., Muthukrishnan, S. & Datta, S. K. (1999). Over-expression of the cloned rice thaumatin-like protein (PR-5) gene in transgenic rice plants enhances environmental friendly resistance to Rhizoctonia solani causing sheath blight disease. *Theoretical and Applied Genetics*, *98*, 1138–1145. https://doi.org/10.1007/s001220051178

de Fátima Pereira Silva, P., de Resende, M. L. V., Reichel, T., de Lima Santos, M., Dos Santos Botelho, D. M., Ferreira, E. B., & Freitas, N. C. (2023). Potassium Phosphite Activates Components Associated with Constitutive Defense Responses in Coffea arabica Cultivars. *Molecular Biotechnology*, 65(11), 1777–1795. https://doi.org/10.1007/s12033-023-00683-5

Drakhshan, A., Salari, M., babaeizad, V., Radman, N. & Taheri, A. (2023). Involvement of NPR1 and Some Pathogenesis-Related Genes in Challenging with Bacterial Rice Blight caused by *Xanthomonas Oryzae* pv. Oryzae. *Journal of Crop Breeding, 15*(45), 115-124. dorl: 20.1001.1.22286128.1401.15.45.10.2 [In Persian]

Duan, L., Liu, H., Li, X., Xiao, J., & Wang, S. (2014). Multiple phytohormones and phytoalexins are involved in disease resistance to *Magnaporthe oryzae* invaded from roots in rice. *Physiologia Plantarum*, *152*(3), 486–500. https://doi.org/10.1111/ppl.12192

El-kereamy, A., El-sharkawy, I., Ramamoorthy, R., Taheri, A., Errampalli, D., Kumar, P., & Jayasankar, S. (2011). Prunus domestica pathogenesis-related protein-5 activates the defense response pathway and enhances the resistance to fungal infection. *PloS One*, 6(3), e17973. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0017973

FAO. (2023). Statics division 2023. http://www.fao.org/faostats/en/data

Fu, Y., Duan, X., Tang, C., Li, X., Voegele, R. T., Wang, X., Wei, G., & Kang, Z. (2014). TaADF7, an actin-depolymerizing factor, contributes to wheat resistance against Puccinia striiformis f. sp. tritici. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 78(1), 16–30. https://doi.org/10.1111/tpj.12457

Gaikwad, A. P., & Balgude, Y. S. (2016). Induction of systemic resistance in rice against blast disease by bioagents and chemical. *Journal of Rice Research,* 9(2), 63-66.

Gamir, J., Darwiche, R., Van't Hof, P., Choudhary, V., Stumpe, M., Schneiter, R., & Mauch, F. (2017). The sterol-binding activity of Pathogenesis-Related Protein 1 reveals the mode of action of an antimicrobial protein. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 89(3), 502-509. https://doi.org/10.1111/tpj.13398

Gao, P., Li, M., Wang, X., Xu, Z., Wu, K., Sun, Q., Du, H., Younas, M. U., Zhang, Y., Feng, Z., Hu, K., Chen, Z., & Zuo, S. (2023). Identification of Elite *R*-Gene Combinations against Blast Disease in *Geng* Rice Varieties. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(4), 3984. https://doi.org/10.3390/ijms24043984

Habibi Daronkolaei, M., Babaeizad, V., Tajick Ghanbari, M. A., Rahimian, H. & Dehestani, A. (2023). The Effect of Potassium Phosphite in the Induction of Some Rice Resistance Genes in Following the Sheet Blight Disease Agent *Rhizoctinia Solani*. *Journal of Crop Breeding, 15*(46), 62-72. dorl: 20.1001.1.22286128.1402.15.46.7.5 [In Persian]

Han, Z., Xiong, D., Schneiter, R., & Tian, C. (2023). The function of plant PR1 and other members of the CAP protein superfamily in plant-pathogen interactions. *Molecular Plant Pathology*, 24(6), 651–668. https://doi.org/10.1111/mpp.13320

Hao, Z., Wang, L., Huang, F., & Tao, R. (2012). Expression of defense genes and antioxidant defense responses in rice resistance to neck blast at the preliminary heading stage and full heading stage. *Plant Physiology and Biochemistry : PPB*, *57*, 222–230. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.05.009

Hou, M., Xu, W., Bai, H., Liu, Y., Li, L., Liu, L., Liu, B., & Liu, G. (2012). Characteristic expression of rice pathogenesis-related proteins in rice leaves during interactions with Xanthomonas oryzae pv. oryzae. *Plant Cell Reports*, *31*(5), 895–904. https://doi.org/10.1007/s00299-011-1210-z

IRRI. (2013). Standard Evaluation System for Rice. International Rice Research Institute, P.O. Box 933, 1099 Manila, Philippines.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]

[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

Jun, S. Y., Sattler, S. A., Cortez, G. S., Vermerris, W., Sattler, S. E., & Kang, C. (2018). Biochemical and Structural Analysis of Substrate Specificity of a Phenylalanine Ammonia-Lyase. *Plant Physiology*, *176*(2), 1452–1468. https://doi.org/10.1104/pp.17.01608

Khosravi, V. (2006). Identification of new races of *Magnaporthe grisea*, the causal agent of rice blast disease in Mazandaran. Final Report of Research Project. Iranian Rice Research Institute Publication.

Kim, S., Ahn, I. P., Park, C. H., Park, S. G., Park, S. Y., Jwa, N. S., & Lee, Y. H. (2001). Molecular characterization of the cDNA encoding an acidic isoform of PR-1 protein in rice. *Molecules and Cells*, 11(1), 115–121.

Lahari, Z., van Boerdonk, S., Omoboye, O. O., Reichelt, M., Höfte, M., Gershenzon, J., Gheysen, G., & Ullah, C. (2024). Strigolactone deficiency induces jasmonate, sugar and flavonoid phytoalexin accumulation enhancing rice defense against the blast fungus Pyricularia oryzae. *The New Phytologist*, *241*(2), 827–844. https://doi.org/10.1111/nph.19354

Li, Z., Wei, X., Tong, X., Zhao, J., Liu, X., Wang, H., Tang, L., Shu, Y., Li, G., Wang, Y., Ying, J., Jiao, G., Hu, H., Hu, P., & Zhang, J. (2022). The OsNAC23-Tre6P-SnRK1a feed-forward loop regulates sugar homeostasis and grain yield in rice. *Molecular plant,* 15(4), 706–722. https://doi.org/10.1016/j.molp.2022.01.016

Liu, D., Raghothama, K. G., Hasegawa, P. M., & Bressan, R. A. (1994). Osmotin overexpression in potato delays development of disease symptoms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *91*(5), 1888–1892. https://doi.org/10.1073/pnas.91.5.1888

Liu, J., Lefevere, H., Coussement, L., Delaere, I., De Meyer, T., Demeestere, K., Höfte, M., Gershenzon, J., Ullah, C., & Gheysen, G. (2024). The phenylalanine ammonia-lyase inhibitor AIP induces rice defence against the root-knot nematode Meloidogyne graminicola. *Molecular Plant Pathology*, *25*(1), e13424. https://doi.org/10.1111/mpp.13424

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods (San Diego, Calif.)*, *25*(4), 402–408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Mackill, D. J., & Bonman, J. M. (1992). Inheritance of blast resistance in nearisogenic lines of rice. *Phytopathology*, *82*, 746-749.

Mehta, S., Kumar, A., Achary, V. M. M., Ganesan, P., Patel, A., Singh, A., Rathi, N., Das, T. K., Lal, S. K., & Reddy, M. K. (2022). Antifungal and defense elicitor activity of Potassium phosphite against fungal blast disease on ptxD-OE transgenic indica rice and its acceptor parent. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *182*, 105026. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2021.105026

Mitsuhara, I., Iwai, T., Seo, S., Yanagawa, Y., Kawahigasi, H., Hirose, S., Ohkawa, Y., & Ohashi, Y. (2008). Characteristic expression of twelve rice PR1 family genes in response to pathogen infection, wounding, and defense-related signal compounds (121/180). *Molecular Genetics and Genomics: MGG*, *279*(4), 415–427. https://doi.org/10.1007/s00438-008-0322-9

Mohammadi, M. A., Zhang, Z., Xi, Y., Han, H., Lan, F., Zhang, B., & Wang-Pruski, G. (2019). Effects of potassium phosphite on biochemical contents and enzymatic activities of Chinese potatoes inoculated by Phytophthora Infestans. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(2), 4499-4514. https://doi.org/10.15666/aeer/1702_44994514

Montero, A., & Badr, K. F. (2000). 15-Lipoxygenase in glomerular inflammation. *Experimental Nephrology*, *8*(1), 14–19. https://doi.org/10.1159/000020643

Musa Nejad, S., Momeni, A., & Javan Nikkhah, M. (2013). Study and investigation of blast resistance compounds in Iranian rice cultivars. *Plant Diseases*, *4*, 23-36. [In Persian]

Nazari, S., Alaei, H., Babaeizad, V., & Momeni, A. (2021). Investigation of pathogenesis-related genes expression in rice symbiont with *Trichoderma harzianum* after inoculation with *Magnaporthe oryzae* fungus. *Agricultural Biotechnology Journal*, *13*(3), 107-130. https://doi.org/10.22092/BCPP.2021.125077 [In Persian]

Petre, B., Major, I., Rouhier, N., & Duplessis, S. (2011). Genome-wide analysis of eukaryote thaumatin-like proteins (TLPs) with an emphasis on poplar. *BMC Plant Biology*, *11*, 33. https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-33

Rakwal, R., Agrawal, G. K., & Yonekura, M. (1999). Separation of proteins from stressed rice (Oryza sativa L.) leaf tissues by two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis: induction of pathogenesis-related and cellular protectant proteins by jasmonic acid, UV irradiation and copper chloride. *Electrophoresis*, *20*(17), 3472–3478. https://doi.org/10.1002/(SICI)1522-2683(19991101)20:17<3472::AID-ELPS3472>3.0.CO;2-0

Ribot, C., Hirsch, J., Balzergue, S., Tharreau, D., Nottéghem, J. L., Lebrun, M. H., & Morel, J. B. (2008). Susceptibility of rice to the blast fungus, Magnaporthe grisea. *Journal of Plant Physiology*, *165*(1), 114–124. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.06.013

Rostami, M., Tarighi, S., Taheri, P., & Rahimian, H. (2018). Study of lipoxygenase and phenylalanine ammonia-lyase gene expression and activity of related enzymes in rice under stress of Rhizoctonia solani, the causal agent of sheath blight disease, antagonistic and inducer bacteria in combination with potassium silicate. *BioControl in Plant Protection*, *6*(1), 59-76. https://doi.org/10.22092/bcpp.2018.119377 [In Persian]

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]

[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]

Sharan, M., Taguchi, G., Gonda, K., Jouke, T., Shimosaka, M., Hayashida, N., & Okazaki, M. (1998). Effects of methyl jasmonate and elicitor on the activation of phenylalanine ammonia-lyase and the accumulation of scopoletin and scopolin in tobacco cell cultures. *Plant Science*, *132*, 13–19. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(97)00260-4

Shasmita, Swain, B. B., Mishra, S., Mohapatra, P. K., Naik, S. K., & Mukherjee, A. K. (2023). Chemopriming for induction of disease resistance against pathogens in rice. *Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology*, *334*, 111769. https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2023.111769

Umate P. (2011). Genome-wide analysis of lipoxygenase gene family in Arabidopsis and rice. *Plant Signaling & Behavior*, *6*(3), 335–338. https://doi.org/10.4161/psb.6.3.13546

van Loon, L. C., Bakker, P. A., & Pieterse, C. M. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, *36*, 453–483. https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.453

Van Loon, L. C., Pierpoint, W. S., Boller, T. & Conejero, V. (1994). Recommendations for naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology Reporter*, *12*, 245–264. https://doi.org/10.1007/BF02668748

Wasternack, C., & Strnad, M. (2019). Jasmonates are signals in the biosynthesis of secondary metabolites - Pathways, transcription factors and applied aspects - A brief review. *New Biotechnology*, *48*, 1–11. https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.09.007

Younas, M. U., Ahmad, I., Qasim, M., Ijaz, Z., Rajput, N., Parveen Memon, S., UL Zaman, W., Jiang, X., Zhang, Y. & Zuo, S. (2024). Progress in the Management of Rice Blast Disease: The Role of Avirulence and Resistance Genes through Gene-for-Gene Interactions. *Agronomy, 14*(1), 163. https://doi.org/10.3390/agronomy14010163

Xu, R., Zhou, J., Zheng, E., Yang, Y., Li, D., Chen, Y., & Wang, X. (2021). Systemic acquired resistance plays a major role in bacterial blight resistance in a progeny of somatic hybrids of cultivated rice (*Oryza sativa* L.) and wild rice (*Oryza meyeriana* L.). *Journal of Plant Diseases and Protection, 128*(4), 1023-1040. https://doi.org/10.1007/s41348-021-00457-8

Yuan, M., Ngou, B. P. M., Ding, P., & Xin, X. F. (2021). PTI-ETI crosstalk: an integrative view of plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology*, 62, 102030. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102030

Yun, D. J., Ibeas, J. I., Lee, H., Coca, M. A., Narasimhan, M. L., Uesono, Y., Hasegawa, P. M., Pardo, J. M., & Bressan, R. A. (1998). Osmotin, a plant antifungal protein, subverts signal transduction to enhance fungal cell susceptibility. *Molecular Cell*, *1*(6), 807–817. https://doi.org/10.1016/s1097-2765(00)80080-5

Zavaliev, R., & Dong, X. (2024). NPR1, a key immune regulator for plant survival under biotic and abiotic stresses. *Molecular Cell*, 84(1), 131–141. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.11.018

Zaynab, M., Fatima, M., Abbas, S., Sharif, Y., Umair, M., Zafar, M. H., & Bahadar, K. (2018). Role of secondary metabolites in plant defense against pathogens. *Microbial Pathogenesis*, 124, 198–202. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.08.034

Zeng, J., Ye, Z., He, X., & Zhang, G. (2019). Identification of microRNAs and their targets responding to low-potassium stress in two barley genotypes differing in low-K tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 234-235, 44–53. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2019.01.011

Zhang, J., Ng, C., Jiang, Y., Wang, X., Wang, S., & Wang, S. (2022). Genome-wide identification and analysis of *LOX* genes in soybean cultivar "Zhonghuang 13". *Frontiers in Genetics*, *13*, 1020554. https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1020554

Zhou, P., Zavaliev, R., Xiang, Y., & Dong, X. (2023). Seeing is believing: Understanding functions of NPR1 and its paralogs in plant immunity through cellular and structural analyses. *Current Opinion in Plant Biology*, *73*, 102352. https://doi.org/10.1016/j.pbi.2023.102352

Zhou, X., Liao, H., Chern, M., Yin, J., Chen, Y., Wang, J., Zhu, X., Chen, Z., Yuan, C., Zhao, W., Wang, J., Li, W., He, M., Ma, B., Wang, J., Qin, P., Chen, W., Wang, Y., Liu, J., Qian, Y., … Chen, X. (2018). Loss of function of a rice TPR-domain RNA-binding protein confers broad-spectrum disease resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(12), 3174–3179. https://doi.org/10.1073/pnas.1705927115

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-02-24]

[DOI: 10.61882/jcb.2025.1579]