



Razi University



Cereal Biotechnology and Biochemistry

Activity of antioxidant enzymes in rice genotypes under blast pathogen sporulation

Reza Jalalifar¹, Atefeh Sabouri¹, Sedigheh Mousanejad² & Ahmad Reza Dadras³

¹ Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

² Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran.

³ Agricultural and Horticultural Sciences Research Department, Zanjan Agricultural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Zanjan, Iran.

✉ Corresponding author. E-mail: a.sabouri@guilan.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Rice (*Oryza sativa* L.) is the primary food source for more than half of the world's population. Among the various biological stresses, the blast pathogen is recognized as the most destructive for rice, significantly reducing its yield. The extent of its damage depends on various environmental factors, leading to a 10-30% loss in global rice yield. Under stress, plants experience increased levels of reactive oxygen species (ROS), causing cellular damage and potentially death. Plants utilize enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense systems to mitigate ROS levels during stress. Investigating the responses of different genotypes in terms of antioxidant enzyme levels and changes can help identify disease-resistant varieties. This research was designed based on this premise.

Materials and methods: to investigate the changes in the activity of antioxidant enzymes during blast pathogen sporulation in rice genotypes in different sampling times, the present research was conducted in 2022 in the greenhouse of the Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan. The experimental plant materials were 19 rice genotypes, including 13 recombinant inbred lines selected from an F₁₁ population derived from the crossing of Shahpasand and IR28 varieties, which, together with the parents of a population and Dorfak, Sadri and Hashemi varieties along with an aerobic rice genotype IR 82639-B-B- 1-140 (18A) were evaluated.

Results: The analysis of variance showed that blast pathogen spore had a significant effect on the activity of enzymes and photosynthetic pigments. The mean comparison results indicated the increase in the activity of peroxidase and catalase enzymes in most of the studied genotypes under stress induced by blast pathogen sporulation. The highest peroxidase and catalase activities were observed in IR28, with 81.46 and 433.74 units/mg of protein per minute, respectively, before stress. Also, the stress in different sampling times in most blast-resistant and semi-resistant genotypes increased the activity of the phenylalanine ammonia-lyase enzyme. While blast disease sensitive genotypes showed different behaviors from each other. Before stress, the highest phenylalanine ammonia-lyase activity was in line L132 (2658.64 units/mg protein. min). In resistant genotypes, stress decreased superoxide dismutase activity, while semi-resistant genotypes showed varied responses and sensitive genotypes exhibited increased enzyme activity at different sampling times than before stress. Furthermore, stress containing blast pathogen spores reduced the content of photosynthetic pigments in resistant, semi-resistant, and sensitive genotypes.

Conclusion: The results indicated that the stress induced by blast pathogen sporulation activated the antioxidant system in the studied rice genotypes. While the activities of peroxidase and catalase enzymes increased in most genotypes, the changes in enzyme activities varied across different genotypes and sampling times. This suggests complex and diverse mechanisms by which rice genotypes respond to blast pathogen.

Keywords: Pathogen, Peroxidase, Photosynthetic pigments, Catalase, Reactive oxygen species.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 30 May 2024, Revised: 20 Jul 2024, Accepted: 10 Sep 2024, Published online: 22 Sep 2024

Cite this article: Jalalifar, R., Sabouri, A., Mousanejad, S. & Dadras, A. R. (2024). Activity of antioxidant enzymes in rice genotypes under blast pathogen sporulation. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 3(3), 376-395. DOI: [10.22126/cbb.2024.11171.1084](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.11171.1084)



© The Author(s).
[10.22126/cbb.2024.11171.1084](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.11171.1084)

Publisher: Razi University



فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ژنوتیپ‌های برنج تحت اسپورزایی بیمارگر بلاست

رضا جلالی^۱، عاطفه صبوری^۱، صدیقه موسی‌نژاد^۲ و احمدرضا دادرسی^۳

^۱ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

^۲ گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ایران.

^۳ گروه تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش منابع کشاورزی زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی (AREEO)، زنجان، ایران.

✉ نویسنده مسئول، رایانامه: a.sabouri@guilan.ac.ir

چکیده

مقدمه: برنج (*Oryza sativa* L.) تأمین‌کننده غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت دنیا می‌باشد. در بین تنش‌های زیستی مختلف، بیمارگر بلاست به عنوان مخرب‌ترین بیمارگر برنج شناخته می‌شود و عملکرد آن را به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد. میزان خسارت آن به عوامل محیطی متعددی بستگی دارد که منجر به از دست دادن ۱۰ تا ۳۰ درصد از عملکرد جهانی برنج می‌شود. زمانی که گیاهان تحت تنش قرار دارند، سطح گونه‌های فعال اکسیژن در سلول افزایش می‌یابد که باعث آسیب سلولی و منجر به مرگ می‌شود. گیاهان جهت مهار و کنترل میزان سطح گونه‌های فعال اکسیژن به هنگام تنش، از سازوکارهایی مانند سیستم‌های دفاع آنتی-اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند. بررسی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف از لحاظ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تغییرات آن‌ها می‌تواند در شناسایی ارقام از لحاظ میزان مقاومت به بیماری کمک کننده باشد. بر این اساس تحقیق حاضر طراحی شد.

مواد و روش‌ها: به منظور بررسی تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت اسپورزایی بیمارگر بلاست، در ژنوتیپ‌های برنج در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری، پژوهش حاضر در سال ۱۴۰۱ و در گلخانه گروه گیاهپزشکی دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان اجرا شد. مواد گیاهی آزمایش ۱۹ ژنوتیپ برنج شامل ۱۳ رگه خویش‌آمیخته نوترکیب انتخاب شده از یک جمعیت F₁₁ مشتق از تلاقی ارقام شاه‌پسند و IR28 بودند، که به همراه والدین جمعیت و ارقام درفک، صدی و هاشمی به همراه یک ژنوتیپ هواری IR 82639-B-B-140-1 (18A) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس نشان داد اسپور بیمارگر بلاست روی فعالیت آنزیم‌ها و همچنین رنگیزه‌های فتوسنتزی اثر معنی‌داری داشت. نتایج مقایسه میانگین‌ها، حاکی از افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در اکثر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تحت تنش ناشی از اسپورپاشی بیمارگر بلاست بود. حداکثر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز متعلق به رقم IR28 به ترتیب با ۸۱/۴۶ و ۴۳۳/۷۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در زمان پیش از اعمال تنش به دست آمد. همچنین تنش در بازه‌های متفاوت زمانی در اغلب ژنوتیپ‌های مقاوم و نیمه مقاوم به بلاست، باعث افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز شد، درحالی‌که ژنوتیپ‌های حساس به بلاست، رفتارهای متفاوت از یکدیگر را نشان دادند. بیش‌ترین فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز مربوط به رگه L132 (۲۶۵۸/۶۴) واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) در زمان پیش از اعمال تنش بود. تنش در ژنوتیپ‌های مقاوم سبب کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز شد، در ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم، رفتاری متفاوت مشاهده شد و در ژنوتیپ‌های حساس نیز موجب افزایش فعالیت آنزیمی در بازه‌های زمانی مختلف در مقایسه با زمان پیش از اعمال تنش شد. همچنین تنش حاوی اسپورهای بیمارگر بلاست، باعث کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در ژنوتیپ‌های مقاوم، نیمه مقاوم و حساس شد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد تنش ناشی از اسپورپاشی بیمارگر بلاست سبب فعال‌شدن سیستم آنتی‌اکسیدان در ژنوتیپ‌های برنج مورد مطالعه شد. اگرچه فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در اکثر ژنوتیپ‌های برنج افزایش یافت، اما تغییر فعالیت اکثر آنزیم‌های مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های مختلف در مراحل نمونه‌برداری مختلف متفاوت بود که نشان‌دهنده سازوکارهای پیچیده و در عین حال مختلف و متنوع ژنوتیپ‌های برنج در واکنش به بیمارگر بلاست می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بیمارگر، پراکسیداز، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاتالاز، گونه‌های فعال اکسیژن.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۱۰ **اصلاح:** ۱۴۰۳/۰۴/۳۰ **پذیرش:** ۱۴۰۳/۰۶/۲۰، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۳/۰۷/۰۱

استناد: جلالی فر، ر.، صبوری، ع.، موسی‌نژاد، ص. و دادرسی، ا. (۱۴۰۳). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ژنوتیپ‌های برنج تحت اسپورزایی بیمارگر بلاست.

DOI: [10.22126/cbb.2024.11171.1084](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.11171.1084) .۳۹۵-۳۷۶ (۳)۳، بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات،



مقدمه

تشکیل شده است (Santos & Franco, 2023). هنگامی که سطح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS^1) در سلول از محدوده سیستم‌های مهارکننده فراتر رود، سلول‌ها وارد حالت اکسیداتیو شده و در نتیجه تغییرات اکسیداتیو و آسیب سلولی ایجاد می‌شود که می‌تواند منجر به مرگ شود. سازوکارهای مهار ROS به هنگام تنش، شامل سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشد (Huang et al., 2019). در نتیجه، افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند پراکسیداز، فنیل‌آلانین آمونیلایز، کاتالاز و همچنین ترکیبات فنلی، به دلیل همین پاسخ دفاعی در برابر بیمارگر یا عامل بیماری می‌باشد (Zakariazadeh et al., 2023). در پژوهشی که عبادی الماس و همکاران (Ebadi Almas et al., 2019) با هدف ارزیابی فعالیت برخی از آنزیم‌های دفاعی مهم در برنج جهش‌یافته مقاوم به بیماری بلاست (شامل رقم جهش‌یافته پویا و رقم والد مربوط به آن، موسی طارم) انجام دادند، گزارش نمودند که با توجه به نقش مثبت آنزیم‌های دفاعی در کنترل پیشرفت بیماری بلاست، رقم جهش‌یافته پویا با فعالیت بیش‌تر آنزیم‌های دفاعی وضعیت بهتری نسبت به رقم والد خود نشان داد که بیانگر مقاومت آن در برابر این بیماری است. همچنین طبق گزارش آنوشری و همکاران (Anushree et al., 2016) در پژوهشی که با هدف بررسی پاسخ بیوشیمیایی (فعالیت آنزیم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدان) ژنوتیپ‌های برنج در برابر بیماری بلاست انجام دادند، بیان داشتند که فعالیت

غلات منبع مطمئنی جهت تأمین غذای مردم به شمار می‌آیند. در این بین، برنج (*Oryza sativa* L.) به طور رایج و گسترده‌تر از سایر محصولات، در سراسر دنیا به ویژه در آسیا و آفریقا کشت می‌شود. بیماری‌ها به عنوان عمده‌ترین تنش‌های زیستی در برنج، منجر به کاهش کیفیت و کمیت عملکرد آن می‌شوند. در میان تمام بیماری‌هایی که بر رشد برنج تأثیر می‌گذارند، بیماری بلاست برنج به دلیل پراکندگی جهانی و کاهش شدید عملکرد، مدت‌هاست که به عنوان یکی از مخرب‌ترین بیماری‌های برنج شناخته شده است. میزان خسارت آن به عوامل محیطی متعددی بستگی دارد که منجر به از دست دادن ۱۰ تا ۳۰ درصد از عملکرد جهانی برنج می‌شود. بنابراین، پیشگیری و درمان بیماری جهت رشد و نمو برنج امر ضروری به شمار می‌آید. بیماری بلاست برنج توسط قارچ *Pyricularia grisea* (مترادف *Pyricularia oryzae* Cav؛ تئومورف *Magnaporthe grisea*) ایجاد می‌شود. بیمارگر *Pyricularia oryzae* پرمطالعه‌ترین گونه در *Magnaportheales* می‌باشد و بر اساس اهمیت علمی و اقتصادی بیماری که در برنج ایجاد می‌کند، در بین ۱۰ عامل بیماری‌زای گیاهی قارچی برتر در جهان، رتبه اول را کسب کرده است (Mandal et al., 2023).

گیاهان عالی بی‌تحرک هستند و این وضعیت می‌تواند نقطه ضعف دفاعی آن‌ها در برابر تنش‌ها باشد. با این وجود، در طول تکامل، سیستم دفاعی بسیار تخصصی در آن‌ها که شامل سیگنال‌های شیمیایی و مولکولی می‌باشد،

¹ Reactive oxygen species

قابل توجهی داشته باشند، بازدهی انتخاب رگه‌های برتر بیش‌تر خواهد شد؛ به طوری که حتی می‌توان نتایج را شناسایی کرد که برتر از والدین باشند (McCouch, 2004; Sabouri *et al.*, 2022).

با وجود تحقیقات گسترده در برنج تحت تنش‌های زیستی، اما روند تغییر فعالیت آنزیمی و محتوی رنگیزه-های فتوسنتزی به هنگام وقوع بیماری بلاست، بسیار کم مورد توجه قرار گرفته است. در پژوهش حاضر ضمن استفاده از رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب، سعی شد تا تنوع بین رگه‌ها و واکنش آن‌ها از لحاظ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در مقابله با بیمارگر بلاست مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی تحقیق حاضر شامل ۱۹ ژنوتیپ برنج شامل ۱۳ رگه خویش‌آمیخته نوترکیب (L42, L40, L17, L43, L72, L80, L111, L128, L130, L132, L135, L136 و L151) انتخاب شده از یک جمعیت F₁₁ مشتق از تلاقی ارقام شاه‌پسند و IR28 بودند که به همراه والدین جمعیت و ارقام درفک، صدری و هاشمی به همراه یک ژنوتیپ هوازی IR 82639-B-B-140-1 (18A) مورد ارزیابی قرار گرفتند. انتخاب رگه‌ها و ارقام به گونه‌ای انجام شد که در بین آن‌ها ژنوتیپ‌های مقاوم، نیمه‌مقاوم و حساس به بیماری بلاست وجود داشته باشند تا بتوان تغییر فعالیت آنزیمی در آن‌ها را در واکنش به بیمارگر بلاست مقایسه نمود. بر اساس آزمایشات اولیه در خزانه

آنزیم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های برگ‌های از بیماری در بین ژنوتیپ‌ها متفاوت بود و حتی در دو ژنوتیپ حساس به بیماری بلاست نیز بیش‌تر بود. در حال حاضر از چندین روش برای مبارزه با بیماری بلاست برنج مانند انتخاب و ایجاد انواع ارقام مقاوم به بیماری، کنترل شیمیایی و کنترل بیولوژیک، استفاده می‌شود (Yang *et al.*, 2023). اما راه‌حل با کاربرد گسترده و اثربخشی و دوام بیش‌تر را می‌توان تنها از طریق برنامه‌های به‌نژادی و شناسایی منابع مقاوم‌تر به دست آورد (Devanna *et al.*, 2024). به این منظور، باید در بررسی ژرم‌پلاسما، ژنوتیپ‌هایی که مقاوم به بیماری هستند، شناسایی و مورد بهره‌برداری قرار گیرند (Yanting *et al.*, 2024).

یکی از جمعیت‌هایی به‌نژادی که بستر مناسبی برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم را فراهم می‌کند، جمعیت رگه-های خویش‌آمیخته نوترکیب^۲ است که حاصل تلاقی دو والد و سپس چندین نسل خودباروری است. تلاقی، سازوکاری را فراهم می‌کند که به وسیله آن ژن‌ها بین والدین مبادله می‌شوند؛ به طوری که حاصل آن، طیف گسترده‌ای از نتایج متنوع در نسل‌های بعدی است. از منظر به‌نژادی، وجود این تنوع، بستری را برای انتخاب فراهم می‌کند تا افرادی که دارای بهترین ویژگی‌های از هر دو والد هستند، پس از خلوص، انتخاب شوند. در تشکیل جمعیت رگه‌های خویش‌آمیخته نوترکیب با انتخاب والدینی که برای صفت مورد نظر از نظر ژنتیکی فاصله

^۲ Recombinant inbred lines (RILs).

برگی روی برگ‌های سالم گیاهان انجام گرفت. گیاهان شاهد (بدون اعمال تنش) نیز با آب مقطر سترون اسپری شدند. نمونه‌های برگ‌ی در چند مرحله شامل پیش از اعمال اسپورپاشی، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از اعمال اسپورپاشی بیمارگر بلاست (Ebadi Almas *et al.*, 2019) تهیه و با نیتروژن مایع منجمد شدند و تا زمان سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی به فریزر -۷۰ درجه سلسیوس انتقال داده شدند.

پروتئین‌های محلول موجود در نمونه‌ها به روش بردفورد استخراج (Bradford, 1976) و جذب آن‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت و منحنی رسم شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز، به روش چنس و ماهلی (Chance & Maehly, 1955) انجام شد و در نهایت جذب محلول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت سه دقیقه قرائت شد. سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با استفاده از روش جیانوپولیتیس و ریئس (Giannopolitis & Ries, 1997) و با کمی تغییر به کمک سنجش مهار احیای نوری^۳ نیتروبلوترازولیوم^۴ در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد. برای سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیلایاز از روش دکنها و همکاران (D'cunha *et al.*, 1996) با کمی تغییر استفاده شد. واکنش با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر کلریدریک اسید شش مولار متوقف و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد

بلاست، ژنوتیپ‌های IR28, L132, L111, L80, L17, L136, L128 و 18A به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم، رگه‌های L72, L40, L135, L128 و L136 به عنوان ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم و ژنوتیپ‌های L151, L130, L43, L42 و شاه‌پسند حساس به بیماری بلاست شناسایی شدند.

به منظور تهیه اسپور بیمارگر بلاست، برگ و گردن خوشه حاوی لکه بلاست از مزارع برنج دانشگاه گیلان، مؤسسه تحقیقات برنج رشت و شهر رودسر جمع‌آوری و به صورت قطعاتی کوچکتر که حاوی لکه دوکی شکل بلاست بود، تقسیم و به تعداد پنج عدد در داخل هر پتری‌دیش قرار داده شد. برای این منظور، قبل از قراردادن قطعات مذکور، در داخل پتری‌دیش کاغذ صافی قرار داده شد و سپس با آب مقطر مرطوب شد. برگ‌ها و گردن خوشه‌ها به مدت دو دقیقه در داخل محلول سفیدکننده هیپوکلریت سدیم پنج درصد و سپس به مدت ۲۰ الی ۳۰ دقیقه در داخل آب مقطر قرار داده شدند. در نهایت به وسیله پنس، برگ‌ها و گردن خوشه‌ها به درون پتری‌دیش‌ها منتقل شدند. جهت کنترل عدم آلودگی به سایر بیمارگرها (غیر از بیمارگر بلاست) و نیز تهیه سوسپانسیون اسپور با غلظت مناسب، پتری‌دیش‌ها به آزمایشگاه گیاه‌پزشکی منتقل شدند. ابتدا برگ‌ها و گردن‌های آلوده به بیمارگر بلاست زیر بینوکولار مشاهده و از عدم آلودگی به بیمارگر غیر بلاست اطمینان حاصل شد. آنگاه تعدادی از گردن‌ها و برگ‌های حاوی اسپور درون میزانی از آب مقطر ریخته شدند تا محلولی با غلظت بین 2×10^5 تا 10^7 اسپور در هر میلی‌لیتر تهیه شد. اسپورپاشی در مرحله سه الی چهار

³ Photoreduction

⁴ Nitro blue tetrazolium

اعمال اسپورپاشی بیمارگر بلاست) بود. پس از ثبت داده‌ها، در گام نخست، مفروضات تجزیه واریانس با کمک نرم افزار آماری SAS v.9.9 آزمون شد. پس از اطمینان از برقراری مفروضات، تجزیه واریانس و سپس مقایسه میانگین بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده معنی‌داری اثر اسپور بیمارگر بلاست روی فعالیت آنزیم‌ها (جدول ۱) و همچنین رنگی‌های فتوسنتزی (جدول ۲) در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بود. ژنوتیپ، زمان نمونه‌برداری و اثر متقابل این دو عامل، برای تمامی آنزیم‌ها و رنگی‌های فتوسنتزی در سطح احتمال یک درصد، تفاوت معنی‌دار داشتند.

(Alipour *et al.*, 2014). به منظور بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز، از روش آبی و همکاران (Aebi *et al.*, 1986) استفاده شد. در مدت ۱۸۰ ثانیه فعالیت کاتالاز بر حسب تغییرات جذب بر دقیقه ترسیم و فعالیت آنزیمی بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین‌های محلول گزارش شد. محتوای کلروفیل با استفاده از استون ۸۰ درصد سنجش شد و سپس جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۴، ۶۶۷ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد (Feiziasl *et al.*, 2018).

الگوی آماری مورد استفاده، اسپلیت پلات در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. فاکتور اصلی ژنوتیپ برنج در ۱۹ سطح و فاکتور فرعی زمان‌های نمونه‌برداری در چهار سطح (پیش از اعمال اسپورپاشی، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) فعالیت آنزیم‌های مورد بررسی در ژنوتیپ‌های مختلف برنج تحت تأثیر بیمارگر بلاست

Table 1- Variance analysis (mean squares) of the investigated enzymes in different genotypes of rice under the influence of blast pathogen

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	پراکسیداز Peroxidase	کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز superoxide dismutase	فنیل آلانین آمونیالیاز Phenylalanine ammonialyase
ژنوتیپ Genotype	18	1367**	0.179**	18123**	2490881 **
اشتباه اصلی Main error	38	18.5	0.0005	3.88	568
زمان نمونه‌برداری Sampling time	3	9840**	1.570**	26113**	3733090**
ژنوتیپ × زمان نمونه‌برداری Sampling time × Genotype	54	347**	0.181**	7252**	441587**
اشتباه فرعی Sub error	114	16.7	0.0005	4.94	529
ضریب تغییرات (%) C.V. (%)		14.5	10.1	4.60	4.00

***: معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

** : significance at the one percent probability level.

جدول ۲- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی مورد بررسی در ژنوتیپ‌های مختلف برنج تحت تاثیر بیمارگر بلاست

Table 2- Variance analysis (mean squares) of the concentration of photosynthetic pigments investigated in different genotypes of rice under the influence of blast pathogen

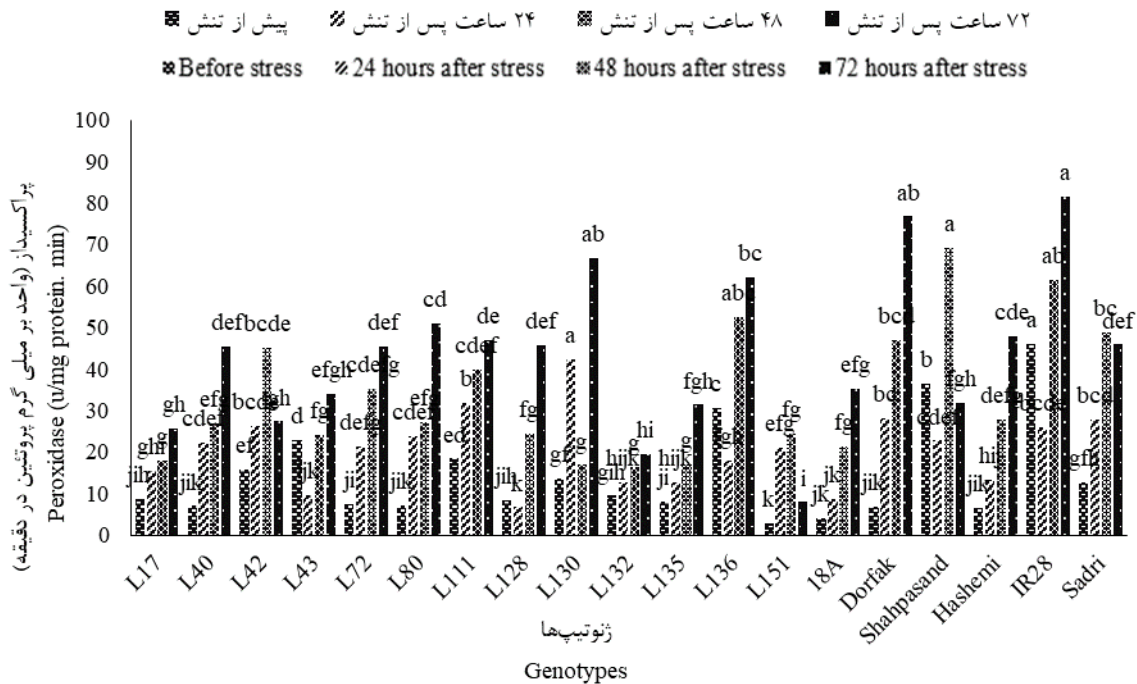
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی d.f	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل کل Total chlorophyll	کارتونوئیدها Carotenoid
ژنوتیپ Genotype	18	48.7**	22.5**	121**	5.861**
اشتباه اصلی Main error	38	0.016	0.266	0.236	0.064
زمان نمونه‌برداری Sampling time	3	1370**	348**	3097**	79.3**
ژنوتیپ × زمان نمونه‌برداری Sampling time × Genotype	54	47.8**	27.8**	137**	3.206**
اشتباه فرعی Sub error	114	0.020	0.249	0.195	0.049
ضریب تغییرات (%) C.V. (%)		1.04	6.51	2.08	6.99

** : معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

** : significance at the one percent probability level.

(Kumar, 2020). بر اساس گزارش کریستینافیلیپ و همکاران (Cristina Filipp *et al.*, 2014) فعالیت آنزیم پراکسیداز در پاسخ به آلودگی ایجاد شده توسط یک جدایه غیر بیماری‌زای *P. oryzae*، به طور معنی‌داری افزایش یافت. این نتایج با مشاهدات این پژوهش مطابقت داشت. می‌توان این‌طور بیان نمود که آنزیم پراکسیداز سبب القای مقاومت در ژنوتیپ‌های برنج تحت تنش بیمارگر بلاست می‌شود. کالبوش (Kalboush, 2019) با هدف شناسایی ۲۰ جدایه و ارزیابی ۲۱ ژنوتیپ برنج برای مقاومت به بیماری بلاست و همچنین تعیین تغییرات بیوشیمیایی آن‌ها پس از تلقیح با بیمارگر بلاست نشان داد که این تنش، باعث ایجاد تغییرات بیوشیمیایی در فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز شد. مدت ۹۶ ساعت پس از تلقیح با بیمارگر، فعالیت این آنزیم افزایش و سپس کاهش یافت.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین با آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد (شکل ۱)، بیش‌ترین و کم‌ترین فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در رقم والدینی IR28 (۸۱/۴۶) واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه، ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش و رگه L151 (۲/۷۹) واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) پیش از اعمال تنش (اسپورپاشی بیمارگر بلاست) ثبت شد که به ترتیب مقاوم و حساس به بیماری بلاست شناسایی شده بودند. به طور کلی اعمال تنش سبب تغییر در فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. فعالیت این آنزیم در تمام ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری بلاست از پیش از اعمال تنش تا زمان ۷۲ ساعت پس از عمل اسپری اسپورهای بیمارگر بلاست، روند افزایشی نشان داد. گیاهان با ایجاد پروفایل بیانی و فعالیت بسیاری از آنزیم‌ها، با افزایش پاسخ دفاعی، سرعت گسترش بیماری و توسعه آن را در سیستم گیاهی کاهش می‌دهند.



شکل ۱- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ‌های مختلف برنج در زمان‌های مختلف قبل و بعد از آلودگی به بیمارگر بلاست. حروف مشترک در ستون‌های مربوط به هر تیمار زمانی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد

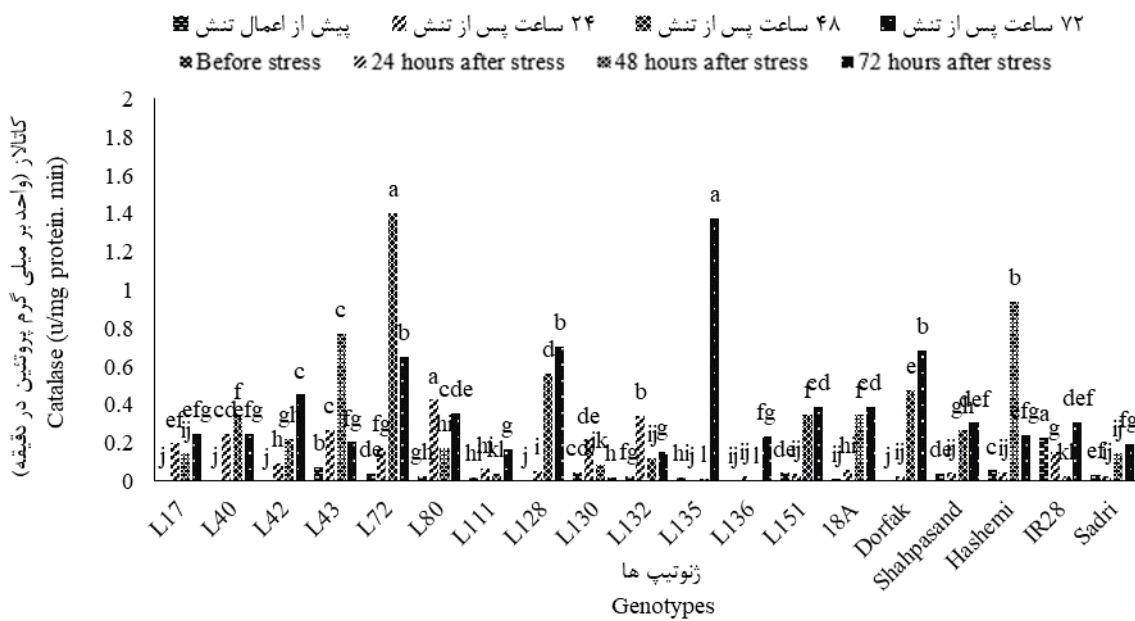
Figure 1- Mean comparison of the peroxidase enzyme activity in different genotypes of rice at different times before and after blast pathogen infection. Same letters in the columns related to each time treatment indicate no significant difference based on Tukey's test at the five percent probability level

بر اساس نتایج زکریازاده و همکاران (Zakariyazadeh *et al.*, 2023)، اثر تیمارها بر فعالیت آنزیم کاتالاز، از اولین روز پس از مایه‌زنی تا روز هفتم در سطح یک درصد معنی‌دار بود که نشان‌دهنده پاسخ سریع گیاه در تولید آنزیم کاتالاز در برابر عامل بیماری است. گوپتا و همکاران (Gupta *et al.*, 2021) با ارزیابی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان حساس (گندم، ذرت، جو و علف برنج باتلاقی) و مقاوم (برنج) در هنگام برهمکنش با

بر اساس نتایج مقایسه میانگین آزمون توکی (شکل ۲)، رگه‌های L72 (در ۴۸ ساعت) و L135 (در ۷۲ ساعت) به ترتیب با ۱/۴۰۳ و ۱/۳۷۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه، بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز را به خود اختصاص دادند. همچنین کم‌ترین فعالیت آنزیمی مربوط به رگه L42 با ۰/۰۰۲۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در زمان پیش از اعمال تنش بود. رگه L42 در آزمایشات اولیه به عنوان رگه حساس به بلاست شناسایی شده بود.

تلقیح سوختگی برگ با *B. elliptica* انجام شد، فعالیت کاتالاز بین هیبریدهای بسیار مقاوم و بسیار حساس، متفاوت بود. همچنین اشری و محمد (Ashry & Mohamed, 2011) گزارش نمودند که فعالیت آنزیم کاتالاز به طور قابل توجهی در برگ‌های لاین‌های حساس و مقاوم کتان در اثر بیماری کپک پودری افزایش یافته است.

Magnaporthe oryzae Triticum (MoT) اظهار نمودند که فعالیت آنزیم کاتالاز در تمام گیاهان در پاسخ به تلقیح MoT با چند استثناء افزایش یافت. حداد و سالک جلالی (Haddad & Salek Jalali, 2009) بیان داشتند که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش خشکی افزایش یافت. همچنین بر اساس نتایج لیو و همکاران (Liu et al., 2019) که با هدف بررسی تغییر در فعالیت آنزیمی مربوط به مقاومت در چندین رقم سوسن پس از

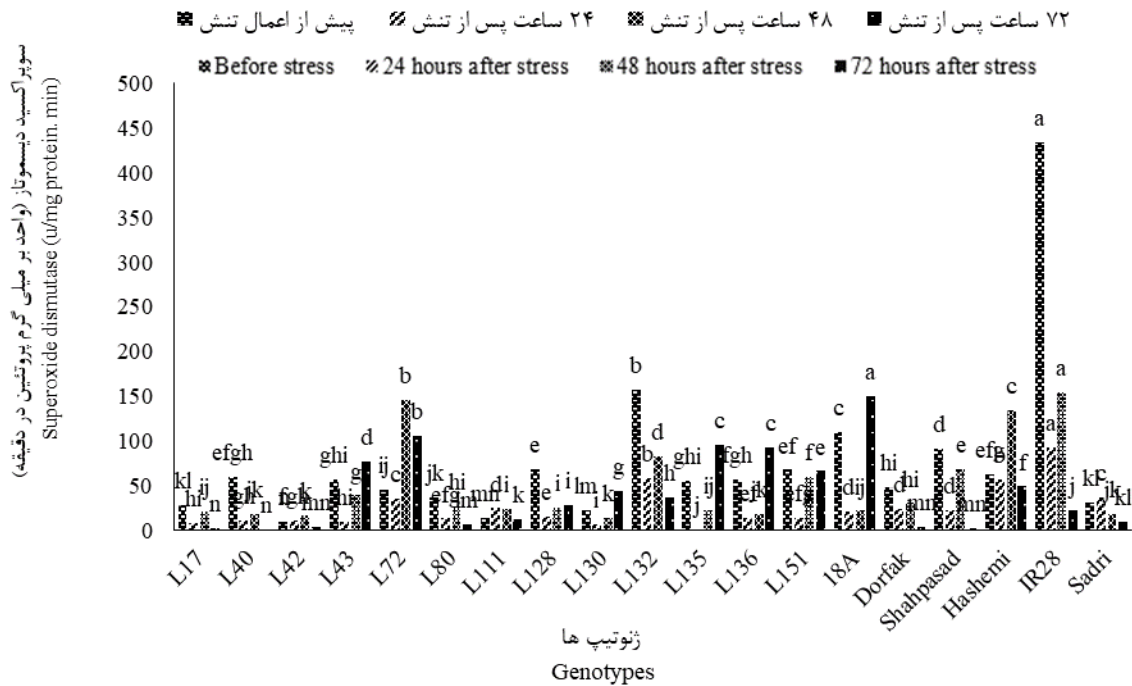


شکل ۲ - مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های مختلف برنج تحت اعمال تنش حاوی اسپور بیمارگر بلاست در زمان‌های مختلف. حروف مشترک در هر تیمار زمانی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد

Figure 2 – Mean comparison of the catalase enzyme activity in different genotypes of rice under stress containing pathogenic blast spores at different times. Same letters in each time treatment indicate the non- significant differences based on Tukey’s test at the five percent probability level

شاه‌پسند و رگه L151 در زمان پیش از اعمال تنش، رقم صدری در زمان ۲۴ ساعت، رقم هاشمی و رگه L42 در زمان ۴۸ ساعت و در نهایت رگه‌های L43 و L130 در زمان ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش، بیش‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را داشتند. احسانی مقدم و همکاران (Ehsani-Moghaddam *et al.*, 2008) بیان داشتند که افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و ایزوفرم‌های آن در بافت گیاه ممکن است با مقاومت در برابر حمله بیمارگر همراه باشد. برعکس، ارقام حساس دارای سطح پایین‌تری از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز نسبت به ارقام مقاوم هستند. حداد و سالک جلالی (Haddad & Salek Jalali, 2009) بیان داشتند که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت شرایط تنش خشکی افزایش یافت. اما ضعیفی‌زاده و همکاران (Zaefyzadeh *et al.*, 2009) با بررسی رابطه بین ژنوتیپ و شرایط محیطی (خشکی و نرمال) بر میزان سوپراکسید دیسموتاز گزارش نمودند که فقط در ارقام مقاوم به خشکی با افزایش تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز افزایش یافت.

بر طبق نتایج، در بین ۱۹ ژنوتیپ مورد بررسی، بیش‌ترین و کم‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، در رقم IR28 با ۴۳۳/۷۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه (پیش از اعمال تنش) و رگه L135 با ۰/۵۳ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه (مدت ۲۴ ساعت پس از تنش) به دست آمد (شکل ۳). رقم IR28 به عنوان والد مقاوم و رگه L135 در آزمایشات اولیه به عنوان رگه نیمه مقاوم معرفی شدند. به طور کلی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری بلاست به جز ژنوتیپ هوازی 18A، روندی مشابه هم داشتند. ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم به جز رگه L40 (در زمان ۷۲ ساعت پس از تنش) سایر رگه‌ها در ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش کم‌ترین میزان از فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را نشان دادند. رگه‌های L135 و L136 در زمان ۷۲ ساعت و رگه‌های L40 و L128 نیز در زمان پیش از اعمال تنش، بیش‌ترین فعالیت آنزیمی را داشتند، اما برای ژنوتیپ‌های حساس به بلاست، در رگه‌های L43، L130 و L151 در زمان ۲۴ ساعت و رگه L42 به همراه ارقام شاه‌پسند، صدری و هاشمی در ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش، حداقل فعالیت آنزیمی مشاهده شد. همچنین رقم



شکل ۳- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ‌های مختلف برنج تحت اعمال تنش حاوی اسپور بیماریگر بلاست در زمان‌های مختلف. حروف مشترک در هر تیمار زمانی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد

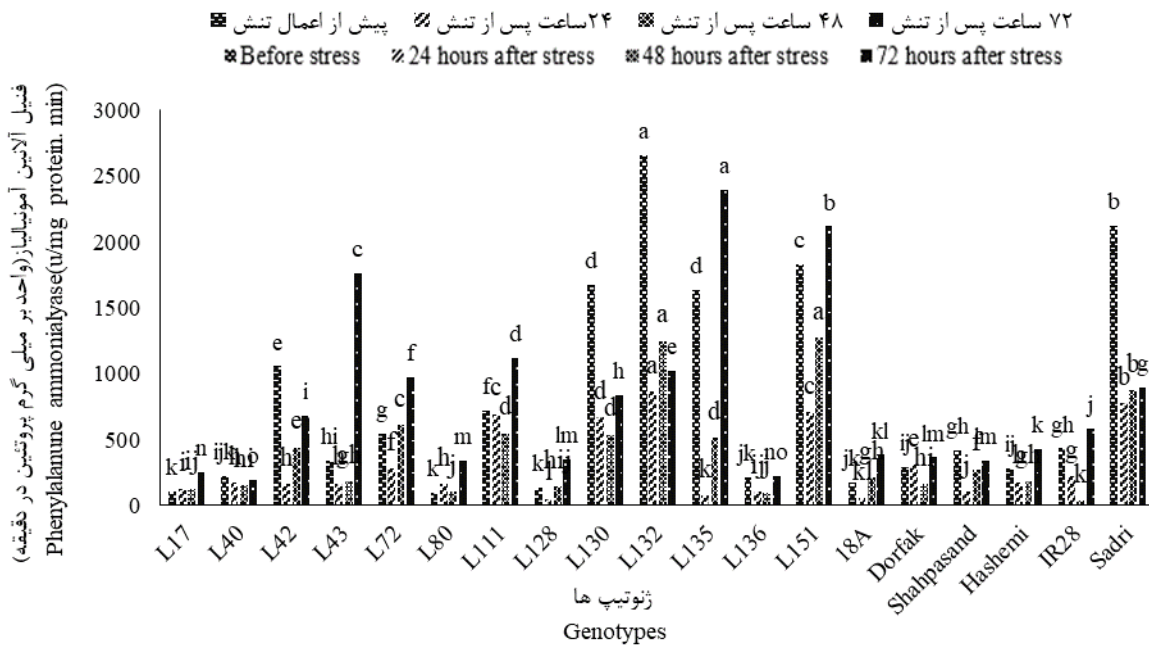
Figure 3- Mean comparison of the superoxide dismutase enzyme activity in different genotypes of rice under stress containing pathogenic blast spores at different times. Same letters in each time treatment indicate no significant difference based on Tukey's test at the five percent probability level

بیماری بلاست شناسایی شده بود. در رگه‌های نیمه مقاوم به بیماری بلاست به جز رگه L40، حداکثر میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز در زمان ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش به دست آمد. این امر به دلیل اثر متقابل گیاه-بیمارگر و به دنبال آن، افزایش فعالیت این آنزیم تحت تأثیر حمله بیمارگر و در نتیجه تجمع و تنظیم متابولیسم ترکیبات فنلی مانند اسیدهای فنلی و فلاونوئیدها و در نهایت مقاومت گیاهان در برابر تنش می‌باشد (Rostami *et al.*, 2018). همچنین رگه‌های L72 و L128 و L135 در زمان ۲۴ ساعت و رگه‌های L40 و

بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیلایز به ترتیب متعلق به رگه L132 در پیش از اعمال تنش (۲۶۵۸/۶۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) و رقم IR28 در زمان ۴۸ ساعت پس از اسپورپاشی بیمارگر بلاست بر روی آن (۳۳/۷۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) مشاهده شد (شکل ۴). به طور کلی در تمام ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری بلاست به جز رگه L132، حداکثر فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیا-لیاز در زمان ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش مشاهده شد. رگه L132 در آزمایشات اولیه به عنوان رگه مقاوم به

یافت. فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز در نمونه‌های برگ عاری از بیماری در بین ژنوتیپ‌ها متفاوت بود و حتی در دو ژنوتیپ حساس به بیماری بلاست نیز بیش‌تر بود. نتایج پژوهش کومار گوپتا و همکاران (Kumar, Gupta *et al.*, 2012) بر روی گیاه تراریخته برنج تایپه ۳۰۹ حاوی ژن *Pi54*، حاکی از افزایش قابل توجه فعالیت آنزیمی فنیل آلانین آمونیاز پس از ۷۲ ساعت تلقیح سویه *PLP-1 M. oryzae* بود.

L136 در زمان ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش حداقل فعالیت را داشتند. در مطالعه آنوشری و همکاران (Anushree *et al.*, 2016) با هدف بررسی پاسخ بیوشیمیایی (فعالیت آنزیم‌های دفاعی و آنتی‌اکسیدان) ۱۱ ژنوتیپ برنج در برابر بیماری بلاست (*Magnaporthe oryzae*)، بیان داشتند که در همه ژنوتیپ‌های برنج، فعالیت فنیل آلانین آمونیاز به طور معنی‌داری در نمونه‌های برگ آلوده به بیمارگر افزایش

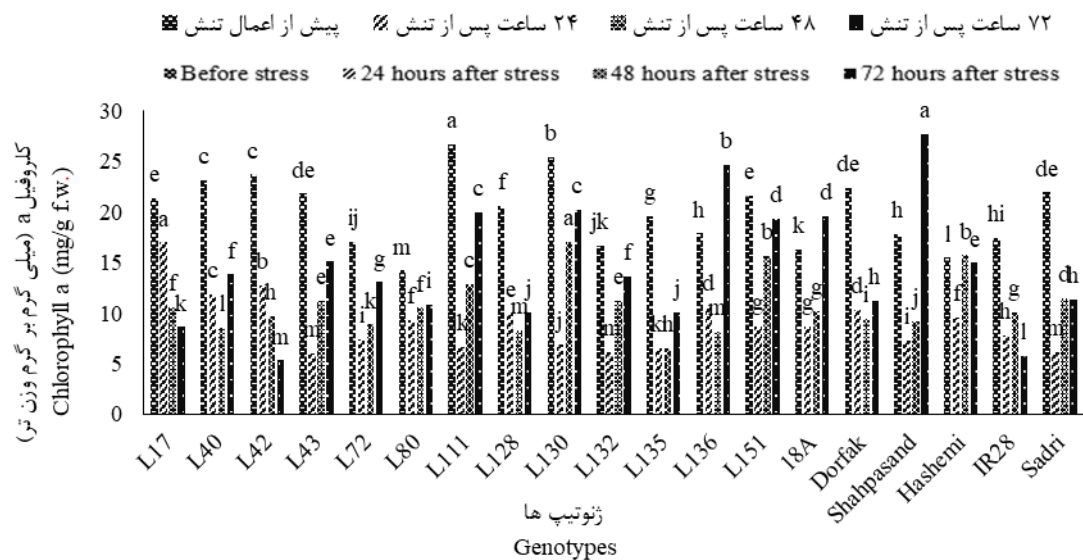


شکل ۴- مقایسه میانگین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیاز در ژنوتیپ‌های مختلف برنج تحت اعمال تنش حاوی اسپور بیمارگر بلاست در زمان‌های مختلف. حروف مشترک در هر تیمار زمانی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد

Figure 4- Mean comparison of the phenylalanine ammoniolyase enzyme activity in different genotypes of rice under the stress of containing pathogenic blast spores at different times. Same letters in each time treatment indicate the non-significant differences based on Tukey's test at the five percent probability level

L136، در زمان پیش از اعمال تنش، حداکثر میزان محتوای کلروفیل a را داشتند. ضمن اینکه حداکثر میزان محتوای کلروفیل a برای تمامی ژنوتیپ‌های حساس به جز ارقام هاشمی و شاه‌پسند (به ترتیب در ۴۸ و ۷۲ ساعت) در زمان پیش از اعمال تنش به دست آمد. ژنوتیپ‌های حساس به بیماری بلاست در زمان ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش به جز رگه L42 (در زمان ۷۲ ساعت) دارای حداقل محتوای کلروفیل a بودند.

بیش‌ترین و کم‌ترین میزان محتوای کلروفیل a به ترتیب به رقم شاه‌پسند (۲۷/۶۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و رگه L42 (۵/۲۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) اختصاص یافت که هر دو در زمان ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش حاوی اسپوره‌های بیمارگر بلاست، مشاهده شد (شکل ۵). به طور کلی در تمامی ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری بلاست به غیر از ژنوتیپ هوازی 18A، حداکثر محتوای کلروفیل a در زمان پیش از اعمال تنش حاوی اسپوره‌های بیمارگر بلاست مشاهده شد. ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم به جز رگه



شکل ۵- مقایسه میانگین محتوای کلروفیل a در ژنوتیپ‌های مختلف برنج تحت اعمال تنش حاوی اسپور بیمارگر بلاست در زمان‌های مختلف. حروف مشترک در هر تیمار زمانی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد

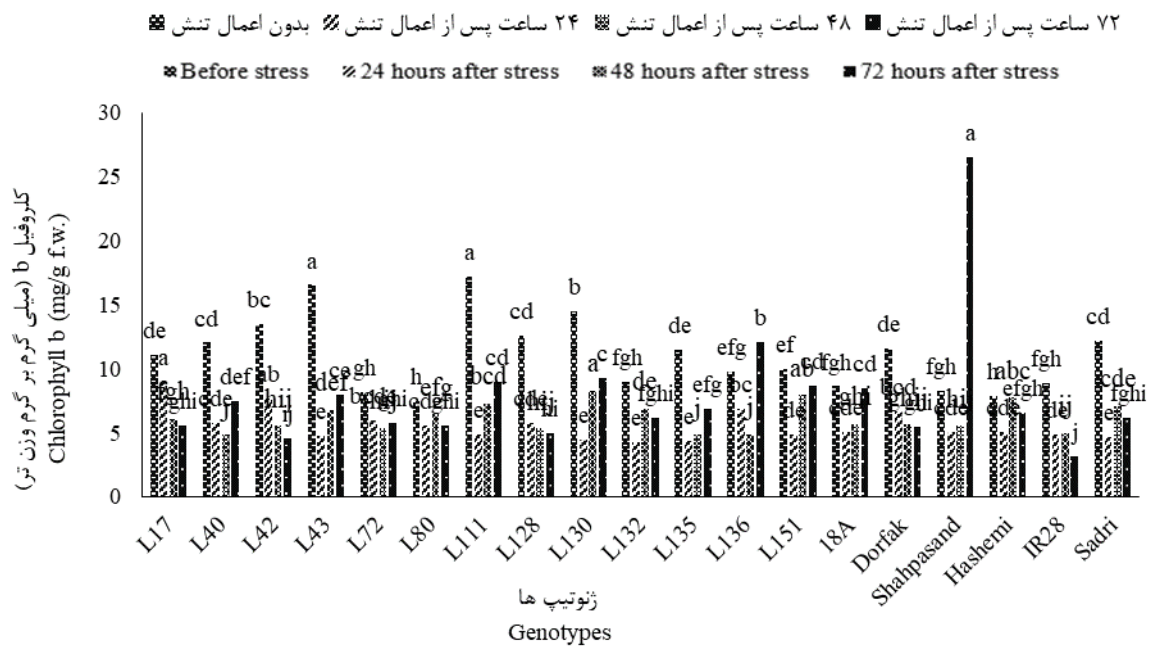
Figure 5- Mean comparison of the content of chlorophyll a in different genotypes of rice under stress containing pathogenic blast spores at different times. Same letters in each time treatment indicate the non-significant differences based on Tukey's test at the five percent probability level

ب میلی‌گرم بر گرم وزن تر) میزان محتوای کلروفیل a مربوط به زمان ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش را به خود

ارقام والدینی شاه‌پسند و IR28 به ترتیب بیش‌ترین (۲۶/۴۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و کم‌ترین (۳/۱۵۸)

۲۴ و ۷۲ ساعت و رگه‌های L40، L72 و L136 در زمان ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش حداقل محتوای کلروفیل b را نشان دادند. همچنین حداکثر محتوای کلروفیل b در ژنوتیپ‌های حساس به بیماری بلاست به غیر از رقم شاه-پسند (در زمان ۷۲ ساعت پس از تنش)، مربوط به زمان پیش از اعمال تنش بود. تمام ژنوتیپ‌های حساس به بیماری بلاست به غیر از رگه L42 (در زمان ۷۲ ساعت پس از تنش)، کم‌ترین محتوای کلروفیل b در زمان ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش را نشان دادند.

اختصاص دادند (شکل ۶). تمام ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری بلاست، در زمان پیش از اعمال تنش، بیش‌ترین و در مقابل رگه‌های L111، L132 و ژنوتیپ 18A در زمان ۲۴ ساعت و سایر ژنوتیپ‌ها در زمان ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش کم‌ترین میزان محتوای کلروفیل b را نشان دادند. همچنین بررسی در رگه‌های نیمه مقاوم نشان داد که به جز رگه L136 (در زمان ۷۲ ساعت) سایر رگه‌ها در زمان پیش از اعمال تنش، حداکثر محتوای کلروفیل b را داشتند. رگه L135 و رگه L128 به ترتیب در زمان‌های

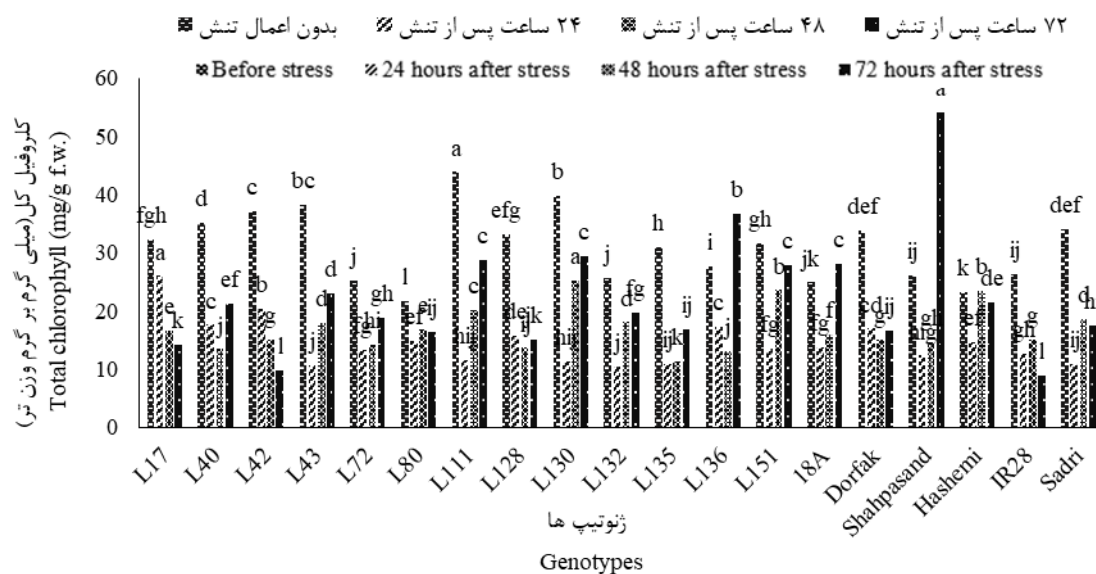


شکل ۶- مقایسه میانگین محتوای کلروفیل b در ژنوتیپ‌های مختلف برنج تحت اعمال تنش حاوی اسپور بیمارگر بلاست در زمان‌های مختلف. حروف مشترک در هر تیمار زمانی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد

Figure 6- Mean comparison of the content of chlorophyll b in different genotypes of rice under stress containing pathogenic blast spores at different times. Same letters in each time treatment indicate the non-significant differences based on Tukey's test at the five percent probability level

تمام ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم به جز رگه L136 (در زمان ۷۲ ساعت) مربوط به زمان پیش از اعمال تنش بود. حداقل محتوای کلروفیل کل نیز برای رگه‌های L72 و L135 در زمان ۲۴ ساعت و برای سایر رگه‌های نیمه مقاوم در زمان ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش مشاهده شد. به غیر از ارقام هاشمی و شاه‌پسند (به ترتیب در ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش) سایر ژنوتیپ‌های حساس در زمان پیش از اعمال تنش حداکثر میزان محتوای کلروفیل کل را نشان دادند. حداقل میزان محتوای کلروفیل کل در تمام ژنوتیپ‌های حساس به بیماری بلاست به جز رگه L42 (در زمان ۷۲ ساعت) در زمان ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش رخ داد.

رقم شاه‌پسند با ۵۴/۱۶۰ بیشترین و رقم IR28 و رگه L42 به ترتیب با ۸/۹۳۲ و ۹/۸۷۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر، کمترین محتوای کلروفیل کل را در بین تمام ۱۹ ژنوتیپ به خود اختصاص دادند که در زمان ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش رخ داد (شکل ۷). در ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری بلاست به غیر از ژنوتیپ هوازی 18A، حداکثر میزان محتوای کلروفیل کل در زمان پیش از اعمال تنش مشاهده شد. حداقل میزان محتوای کلروفیل کل برای رگه‌های L80، L111، L132 و ژنوتیپ هوازی 18A در زمان ۲۴ ساعت و رقم درفک در ۴۸ ساعت و رقم IR28 و رگه L17 در زمان ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش ثبت شد. همچنین حداکثر محتوای کلروفیل کل در

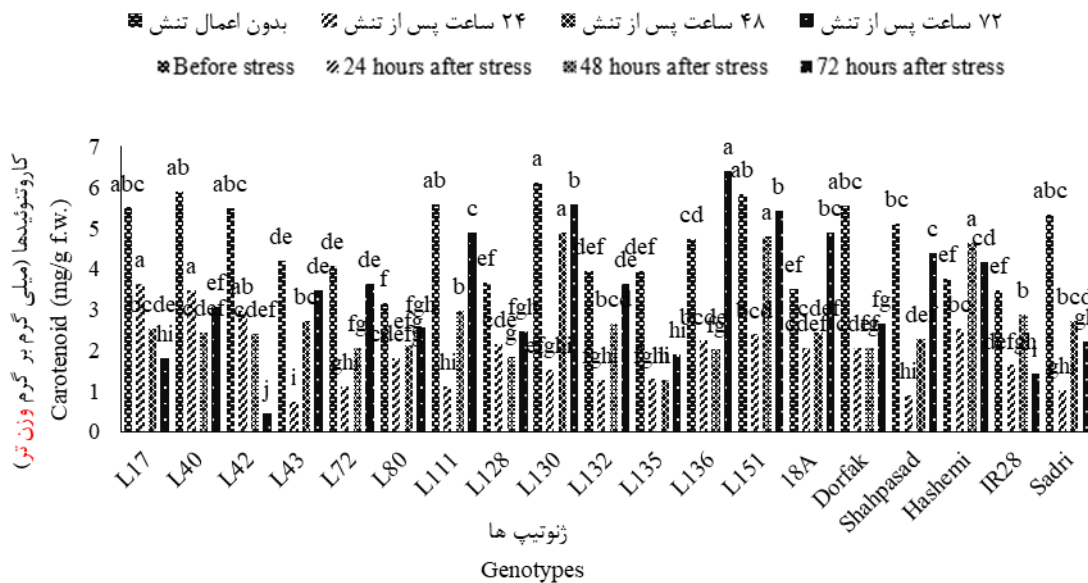


شکل ۷- مقایسه میانگین محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپ‌های برنج تحت اعمال تنش حاوی اسپور بیماری‌گر بلاست در زمان‌های مختلف. حروف مشترک در هر تیمار زمانی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد

Figure 7- Mean comparison of the total chlorophyll content in rice genotypes under stress containing pathogenic blast spores at different times. Same letters in each time treatment indicate the non-significant differences based on Tukey's test at the five percent probability level

ساعت پس از اعمال تنش حاصل شد. همچنین در تمام ژنوتیپ‌های حساس به بیماری بلاست به جز رقم هاشمی (در زمان ۴۸ ساعت) حداکثر محتوای کارتنوئیدها در زمان پیش از اعمال تنش و حداقل میزان محتوای آن به جز رگه L42 (در زمان ۷۲ ساعت) در زمان ۴۸ ساعت پس از اعمال تنش مشاهده شد. نتایج پژوهش خیاط‌نژاد و همکاران (Khayatnezhad *et al.*, 2011) بر روی ارقام ذرت در شرایط آبیاری و دیم نشان داد که ارقام مقاوم به تنش با عملکرد بالقوه و محتوای کلروفیل بالاتر، بیش از نیمی از ارقام مقاوم بودند. بر همین اساس، ژنوتیپ‌های BC678 و BC404 دارای بالاترین شاخص کلروفیل و میزان عملکرد و مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها به خشکی بودند. طبق نتایج نصیری و همکاران (Nasiri *et al.*, 2020) میزان کلروفیل a و b در گیاه برنج تحت تنش خشکی افزایش و غلظت کارتنوئیدها کاهش یافت.

در بین تمام ۱۹ ژنوتیپ و زمان‌های مورد بررسی، به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین محتوای کارتنوئیدها در زمان ۷۲ ساعت پس از اعمال تنش و در رگه‌های L136 (۶/۴۰۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و L42 (۰/۴۵۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۸). رگه L136 و رگه L42 در آزمایشات اولیه جز ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم و حساس به بیماری بلاست بودند. در تمام ژنوتیپ‌های مقاوم به بیماری بلاست به جز 18A (زمان ۷۲ ساعت)، حداکثر محتوای کارتنوئیدها در زمان پیش از اعمال تنش و حداقل آن به جز رقم IR28 و رگه L17 (در زمان ۷۲ ساعت)، در سایر ژنوتیپ‌ها در زمان ۲۴ ساعت پس از اعمال تنش به دست آمد. برای ژنوتیپ‌های نیمه مقاوم به جز رگه L136 (در زمان ۷۲ ساعت)، حداکثر محتوای کارتنوئیدها در زمان پیش از اعمال تنش و حداقل میزان آن به جز رگه L72 (در زمان ۲۴ ساعت)، در زمان ۴۸



شکل ۸- مقایسه میانگین محتوای کاروتنوئیدها در ژنوتیپ‌های برنج تحت اعمال تنش حاوی اسپور بیماریگر بلاست در زمان‌های مختلف. حروف مشترک در هر تیمار زمانی، نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد می‌باشد

Figure 8- Mean comparison of the content of carotenoids in rice genotypes under stress containing pathogenic blast spores at different times. Same letters in each time treatment indicate the non-significant differences based on Tukey's test at the five percent probability level

نتیجه‌گیری

مقایسه با پیش از اعمال تنش شد و برای آنزیم فنیل-آلانین آمونیا لیاز، در مراحل نمونه‌برداری مختلف، در اغلب ژنوتیپ‌های مقاوم و نیمه مقاوم، افزایش فعالیت آنزیم مشاهده شد. اما در ژنوتیپ‌های حساس به بیماری بلاست رفتارهای متفاوتی مشاهده شد که نشان‌دهنده سازوکار-های پیچیده و در عین حال مختلف و متنوع ژنوتیپ‌های برنج در واکنش به بیماریگر بلاست می‌باشد. در عین حال به طور کلی تنش حاوی اسپورهای بیماریگر بلاست، سبب کاهش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی در ژنوتیپ‌های مقاوم، نیمه مقاوم و حساس شد. ارزیابی بیان ژن‌های مربوط به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در این ژنوتیپ‌ها می-

بر اساس نتایج، تنش ناشی از اسپورپاشی بیماریگر بلاست موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در اکثر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه برنج شد که می‌تواند به دلیل تولید گونه‌های فعال اکسیژن در برگ‌های آلوده با فعال کردن آبشار دفاعی یا نمایش سمیت مستقیم نسبت به بیماریگر مهاجم باشد. بنابراین به نظر می‌رسد این دو آنزیم بتوانند به طور مؤثرتری گونه‌های فعال اکسیژن را کنترل کنند. در مقابل تنش در ژنوتیپ‌های مقاوم سبب کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، در رگه‌های نیمه مقاوم رفتاری متفاوت و در ژنوتیپ‌های حساس نیز موجب افزایش فعالیت آنزیمی در مراحل زمانی مختلف در

تواند در شناسایی دقیق‌تر سازوکارهای پاسخ به تنش این ژنوتیپ‌ها مؤثر باشد.

References

- Aebi, U., Cohn, J., Buhle, L., & Gerace, L. 1986. The nuclear lamina is a meshwork of intermediate-type filaments. *Nature*, 323, 560-564. <https://doi.org/10.1038/323560a0>.
- Alipour, S., Nasibi, F., & Farahmand, H. 2014. Effect of different concentrations of sodium nitroprusside on physiological characteristics and the vase-life of cut flowers of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). *Plant Research Journal (Iranian Biology Journal)*, 27 (5), 904-914. <https://doi.org/27514>. [In Persian]
- Anushree, P. U., Naik, R. M., Satbhai, R. D., Gaikwad, A. P., & Nimbalkar, C. A. 2016. Differential biochemical response of rice (*Oryza sativa* L.) genotypes against rice blast (*Magnaporthe oryzae*). *Cogent Biology*, 2, 1-15. <https://doi.org/10.1080/23312025.2016.1264162>.
- Ashry, A. N., & Mohamed, I. H. 2011. Impact of secondary metabolites and related enzymes in flax resistance and or susceptibility to powdery mildew. *World Journal of Agricultural Sciences*, 7 (1), 78-85.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999>.
- Chance, B., & Maehly, A. C. 1955. Assay of catalase and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 11, 764-775. [http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879\(55\)02300-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0076-6879(55)02300-8).
- Cristina Filipp, M., Barata da Silva, G., Lemes da Silva-Lobo, V., Fernandes Viana, H., Vinicius de Carvalho Barros Cortes, M., & Sitarama Prabhu, A. 2014. Induction of resistance to rice leaf blast by avirulent isolates of *Magnaporthe oryzae*. *Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, 4, 388-395. <http://dx.doi.org/10.4322/rca.1673>.
- D'cunha, G. B., Satyanarayan, V., & Nair, P. M. 1996. Purification of phenylalanine ammonialyase from *Rhodotorulag lutinis*. *Phytochem*, 42 (1), 17-20. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(95\)00914-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(95)00914-0).
- Devanna, B. N., Sucharita, S., Sunitha, N. C., Anilkumar, C., Singh, P. K., Pramesh, D., Samantaray, S., Behera, L., Lal Katara, J., Parameswaran, C., Rout, P., Sabarinathan, S., Rajashekara, H., & Raj Sharma, T. 2024. Refinement of rice blast disease resistance QTLs and gene networks through meta-QTL analysis. *Scientific Reports*, 14 (16458), 1-17. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-64142-0>.
- Ebadi Almas, D., Navabpour, S., Yamchi, A., Zaynali Nezhad, K., Moumeni, A., & Mirzaghaderi, G. 2019. Evaluation of several important defense enzyme activities in mutant rice resistant to blast disease. *Journal of Nuclear Science and Technology*, 39 (86), 100-108. <https://doi.org/10.24200/nst.2019.236>. [In Persian]
- Ehsani-moghaddam, B., Therese Charles, M., carisse, O., & Khanizadeh, S. 2008. Regulation of superoxide dismutase isoforms in resistant and susceptible strawberry cultivars subjected to leaf spot disease. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 41 (7), 492-500. <https://doi.org/10.1080/03235400600833738>.
- Feiziasl, V., Fotovat, A., Astaraei, A., Lakzian, A., & Jafarzadeh, J. 2019. Determination of chlorophyll content and nitrogen status using SPAD in dryland wheat (*triticum aestivum*

- L.) genotypes. Iranian Journal of Field Crops Research, 17 (2), 221-240. <https://doi.org/10.22067/gsc.v17i2.68973>. [In Persian]
- Giannopolitis, C.N., & Ries, S. K. 1977. Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology, 59, 309-314. <https://doi.org/10.1104/pp.59.2.309>.
- Haddad, R., & Salek Jalali, M. 2009. Protein changes and antioxidant enzymes activity on barley inbred lines under water shortage. Plant Production Technology, 9 (2), 1-10. [In Persian]
- Huang, H., Ullah, F., Zhou, D. X., Yi. M., & Zhao. Y. 2019. Mechanisms of ROS regulation of plant development and stress responses. Frontiers in Plant Science, 10, 1-10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00800>.
- Kalboush, Z. A. 2019. Resistance of rice genotypes to the blast fungus and the associated biochemical changes. Egyptian Journal of Agricultural Research, 97 (1), 39- 56. <https://dx.doi.org/10.21608/ejar.2019.68552>.
- Khayatnezhad, M., Gholamin, R., Jamaati-e-Somarin, SH., & Zabihi-eMahmoodabad, R. 2011. The leaf chlorophyll content and stress resistance relationship considering in Corn cultivars (*Zea Mays*). Advances in Environmental Biology, 5 (1), 118-122.
- Kumar D. 2020. Plant immune response strategies against pathogens. Plant Archives, 20 (1), 1169-1174.
- Kumar Gupta, S., Kumar Rai, A., Singh Kanwar, SH., Chand, D., Kumar Singh, N., & Raj Sharma, T. 2012. The single functional blast resistance gene *Pi54* activates a complex defence mechanism in rice. Journal of Experimental Botany, 63 (2), 757-772. <https://doi.org/10.1093/jxb/err297>.
- Liu, G., Su, X., Guan, L., & Hu. F. 2019. Comparison of defensive enzyme activities in the leaves of seven oriental lily hybrids after inoculation with *Botrytis elliptica*. Journal of the American Society for Horticultural Science, 144 (1), 55-62. <https://doi.org/10.21273/JASHS04511-18>.
- McCouch. S. 2004. Diversifying selection in plant breeding. PLoS Biology, 2 (10), 1507-1512. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0020347>
- Mandal, N., Adak, S., Das, D. K., Sahoo, R. N., Mukherjee, J., Kumar, A., Chinnusamy, V., Das, B., Mukhopadhyay, A., Rajashekar, H., & Gakhar, SH. 2023. Spectral characterization and severity assessment of rice blast disease using univariate and multivariate models. Frontiers in Plant Science, 14, 1-21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1067189>.
- Nasiri, M., Meskarbashi, M., Hassibi, P., & Pirdashti, H. 2020. Evaluation and selection of drought tolerant rice genotypes using fluorometric methods. Journal of Plant Production Research, 27 (3), 1-21. <https://doi.org/10.22069/jopp.2020.14475.2296>. [In Persian]
- Gupta, D.R., [Khanom, S.](#), [Rohman, Md. M.](#), [Hasanuzzaman, M.](#), [Zahan Surovy, M.](#), [Mahmud, N. U.](#), [Islam, Md. R.](#), [Shawon, A. R.](#), [Rahman, M.](#), [Abd-Elsalam, K. A.](#), & [Islam, T.](#) 2021. Hydrogen peroxide detoxifying enzymes show different activity patterns in host and non-host plant interactions with *Magnaporthe oryzae* *Triticum* pathotype. Physiology and Molecular Biology of Plants 27 (9), 2127-2139. <https://doi.org/10.1007/s12298-021-01057-4>.
- 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), 59-67. <https://doi.org/10.22092/bcpp.2018.119377>. [In Persian]

- Sabouri, A., Dadras, A. R., Azari, M., Saberi Kouchesfahani, A., Taslimi, M., & Jalalifar, R. 2022. Screening of rice drought-tolerant lines by introducing a new composite selection index and competitive with multivariate methods. *Scientific Reports*, 12 (2163), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06123-9>.
- Santos, C. D., & Franco, O. L. 2023. Pathogenesis-related proteins (PRs) with enzyme activity activating plant defense responses. *Plants*, 12 (2226), 1-13. <https://doi.org/10.3390/plants12112226>.
- Yang, Y., Zhang, Y., Zhang, L., Zhou, ZH., Zhang, J., Yang, J., Gao, X., Chen, R., Huang, ZH., Xu, ZH., & Li, L. 2023. Isolation of *Bacillus siamensis* B-612, a strain that is resistant to rice blast disease and an investigation of the mechanisms responsible for suppressing rice blast fungus. *International Journal of Molecular Sciences*. 24 (10), 1-15. <https://doi.org/10.3390/ijms24108513>.
- Yanting, L., Bingkui, W., Mengchao, ZH., Jing, Y., & Shenghai, Y. 2024. Sensitivity of genotypically diverse rice varieties to radiation and the related changes to antioxidant enzyme activities. *International Journal of Radiation Biology*, 100 (3), 453-456. <https://doi.org/10.1080/09553002.2023.2290293>.
- Zaefyzadeh, M., Alakbar Quliyev, R., Mashalla Babayeva, S., & Ali Abbasov, M. 2009. The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces. *Turkish Journal of Biology*, 33 (1), 1-7. <https://doi.org/10.3906/biy-0801-12>.
- Zakariazadeh, A., Shahryari, F., Ebadi, A., & Khoshkdaman, M. 2023. Induction of resistance in rice against *Pyricularia oryzae* by two plant growth promoting rhizobacteria. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 45 (4), 134-147. <https://doi.org/10.22055/ppr.2023.17996>. [In Persian].