

## **Expression of OsWRKY45 and OsAOS2 genes in the signaling pathways of salicylic acid and jasmonic acid in leaf and spike blast disease of rice**

### **Ehsan Norouzi**

Master's student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.. E-mail address: ehsan.n69@gmail.com

### **Saied Navabpour**

\*Corresponding author. Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.. E-mail address: s.navabpour@yahoo.com

### **Dariush Ebadi**

PhD student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran. E-mail address: d\_ebadi@yahoo.com

---

### ***Abstract***

#### **Objective**

Defense responses against most pathogens are mainly controlled by three messenger molecules, salicylic acid, jasmonic acid and ethylene. One of the effective ways to produce resistant plants is to modify the genetic pathways of message transmission involved in the defense mechanism, through the manipulation of genes encoding messenger molecules related to defense proteins. For hemibiotrophic pathogens such as rice blast *Magnaporthe oryzae*, both salicylic acid and jasmonic acid pathways are necessary for resistance.

#### **Materials and methods**

In this study, the amount of expression changes of OsWRKY45 and OsAOS2 genes involved in the message pathways of salicylic acid and jasmonic acid using qRT-PCR method and chlorophyll content at zero, 36 and 72 hours after infection in the seedling stage (leaf blast) ) and clustering (neck blast) as well as traits related to resistance components including the number of spore spots, infected stem surface and spot size seven days after inoculation with IC-25 isolate of *M. oryzae* was investigated at the clustering stage. In order to validate the results, the experiment was

repeated and the standard error value was calculated by performing statistical analysis in order to compare the averages using the LSD method.

## Results

The studied cultivars include the dynamic variety (resistant to blast) which was created using the method of mutation induction in the Musitaram variety (sensitive to blast), which have the same genetic background and different response to the disease. The evaluation of the resistance components showed that in both seedling and clustering stages, the dynamic variety was tolerant and the Musitaram variety was susceptible to the fungus. After inoculation, the chlorophyll content decreased, and the intensity and speed of this decrease was higher in the dynamic variety than in Musa Tarem. The results of gene expression evaluation indicated an increase in the expression of studied genes after inoculation in both cultivars with different patterns. In general, the increase in expression in the dynamic variety was more than the Musitaram variety, and it continued to occur in the early hours of infection.

## Conclusions

Based on the results of this research, the content of salicylic acid increased immediately from 0.5 to 2 hours after infection with the fungus, but jasmonic acid increased gradually and more slowly in the dynamically resistant variety. While in Musa Tarem variety, salicylic acid content increased after 8-12 hours and jasmonic acid increased after 2 hours. Therefore, earlier expression of jasmonic acid can be one of the reasons for the occurrence of sensitivity.

**Keywords:** Jasmonic acid, Salicylic acid, Rice blast, OsWRKY45, OsAOS2

**Paper Type:** Research Paper.

**Citation:** Norouzi E, Navabpour S, Ebadi E (2023) Expression of OsWRKY45 and OsAOS2 genes in the signaling pathways of salicylic acid and jasmonic acid in leaf and spike blast disease of rice. *Agricultural Biotechnology Journal* 15 (4), 105-124.

---

*Agricultural Biotechnology Journal* 15 (4), 105-124.

DOI: 10.22103/jab.2023.21017.1457

Received: August 20, 2023.

Received in revised form: October 14, 2023.

Accepted: October 15, 2023.

Published online: December 30, 2023.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant



Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian  
Biotechnology Society.

© the authors


## بیان ژن های *OsAOS2* و *OsWRKY45* در مسیرهای پیام رسانی سالیسیلیک اسید و

### جاسمونیک اسید بیماری بلاست برگ و خوشه برنج

احسان نوروزی

دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

رایانامه: ehsan.n69@gmail.com

سعید نواب پور 

\*نویسنده مسئول: دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه:

s.navabpour@yahoo.com

داریوش عبادی

دانش آموخته دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران. رایانامه:

d\_ebadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۲۹ تاریخ دریافت فایل اصلاح شده نهایی: ۱۴۰۲/۰۷/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۲۳

#### چکیده

**هدف:** پاسخ‌های دفاعی بر علیه اکثر پاتوژن‌ها به طور عمده به وسیله سه مولکول پیام‌رسان، سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید و اتیلن کنترل می‌شود. یکی از راه‌کارهای موثر در تولید گیاهان مقاوم، اصلاح مسیرهای ژنتیکی انتقال پیام دخیل در مکانیسم دفاعی، از طریق دستکاری ژن‌های کدکننده مولکول‌های پیام‌رسان مرتبط با پروتئین‌های دفاعی می‌باشد. برای عوامل بیماری‌زای همی-بیوتروفیک مثل بلاست برنج *Magnaporthe oryzae* هر دو مسیر سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید برای مقاومت ضروری است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه میزان تغییر بیان ژن‌های *OsAOS2* و *OsWRKY45* دخیل در مسیرهای پیام‌رسانی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید با استفاده از روش qRT-PCR و محتوای کلروفیل در زمان‌های صفر، ۳۶ و ۷۲ ساعت پس از آلودگی در مرحله گیاهچه‌ای (leaf blast) و خوشه‌دهی (neck blast) و همچنین صفات مربوط به اجزای مقاومت شامل تعداد لکه اسپورزا، سطح ساقه آلوده و اندازه لکه هفت روز پس از مایه‌زنی با جدایه IC-25 قارچ *M. oryzae* در مرحله خوشه‌دهی مورد بررسی

قرارگرفت. به منظور اعتبار بخشی نتایج، آزمایش به صورت تکرار دار انجام پذیرفت و با انجام تجزیه آماری مقدار خطای معیار به منظور انجام مقایسات میانگین‌ها به روش LSD محاسبه شد.

**نتایج:** ارقام مورد مطالعه شامل واریته پویا (مقاوم به بلاست) که با استفاده از روش القاء موتاسیون در واریته موسی طارم (حساس به بلاست) ایجاد شده که دارای زمینه ژنتیکی یکسان، و پاسخ متفاوت نسبت به بیماری را دارند. ارزیابی اجزای مقاومت نشان داد که در هر دو مرحله گیاهچه‌ای و خوشه‌دهی، واریته پویا متحمل و واریته موسی طارم حساس به قارچ بودند. پس از مایه‌زنی، محتوای کلروفیل کاهش یافت، که شدت و سرعت این کاهش در واریته پویا نسبت به موسی طارم بیشتر بود. نتایج ارزیابی بیان ژن حاکی از افزایش بیان ژن‌های مورد مطالعه پس از مایه زنی در هر دو رقم با الگوی متفاوت بود. به طور کلی افزایش بیان در واریته پویا نسبت به واریته موسی طارم بیشتر و در ساعات اولیه آلودگی بوقوع پیوست.

**نتیجه‌گیری:** براساس نتایج این تحقیق در رقم مقاوم پویا محتوای سالیسیک اسید بلافاصله ۰/۵ الی ۲ ساعت پس از آلودگی با قارچ افزایش یافته اما جاسمونیک اسید به تدریج و کندتر افزایش یافته است. در حالی که در رقم موسی طارم محتوای سالیسیک اسید پس از حدود ۸ الی ۱۲ ساعت افزایش داشته و جاسمونیک اسید پس از ۲ ساعت افزایش یافت. بنابراین زودتر بیان شدن جاسمونیک اسید می‌تواند یکی از دلایل وقوع حساسیت باشد.

**کلیدواژه‌ها:** اسید جاسمونیک، اسید سالیسیلیک، بلاست برنج، *OsAOS2*، *OsWRKY45*.

**نوع مقاله:** پژوهشی.

**استناد:** نوروزی احسان، نواب پور سعید، امامی داریوش (۱۴۰۲). بیان ژن‌های *OsWRKY45* و *OsAOS2* در مسیرهای پیام‌رسانی سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید بیماری بلاست برگ و خوشه برنج. *مجله بیوتکنولوژی کشاورزی*، ۱۵(۴)، ۱۰۵-۱۲۴.

Publisher: Faculty of Agriculture and Technology Institute of Plant

Production, Shahid Bahonar University of Kerman-Iranian

Biotechnology Society.

© the authors



## مقدمه

برنج (*Oryza sativa*) بخش اصلی غذای بیش از سه میلیارد نفر از جمعیت دنیاست که در نواحی مختلف کشاورزی در سطح جهان کشت می‌شود، درحالی که عملکرد و کیفیت آن به شدت توسط عوامل بیمارگر در معرض خطر قرار می‌گیرد، بلاست برنج که به وسیله عامل بیمارگر قارچی *M.oryzae* ایجاد می‌شود، مخرب‌ترین بیماری در برنج است (De-xi et al. 2010). حدود ۱۰ تا ۳۰ درصد از تولید سالیانه برنج در اثر این بیماری از بین می‌رود (Wei et al. 2013) و تمام اندام گیاهی به جز ریشه را آلوده می‌کند. بر حسب نوع اندام آلوده گیاه، این بیماری به نام‌های بلاست برگ، خوشه و بلاست سنبله نامیده می‌شود که

بیشترین خسارت را در مرحله گیاهچه‌ای (leaf blast) و مرحله خوشه‌دهی (neck blast) وارد می‌کند (Kazan, 2015). واکنش بین پاتوژن و گیاه باعث اعمال تغییرات زیادی در بیان ژن‌های دفاعی از طریق مولکول‌های پیام رسان می‌شود که نشان دهنده نقش بسیار مهم مولکول‌های پیام رسان در پاسخ دفاعی است (Cheng et al. 2015). مطالعات ترانسکریپتومی پیشین به وسیله ریزآرایه‌ها و آنالیز RNA-Seq برای پی بردن به ماهیت واکنش بین برنج و قارچ بلاست صورت گرفته است. براساس این مطالعات، الگوی بیان ژن‌ها در ارقام مقاوم و حساس در مراحل اولیه آلودگی به مقدار زیادی مشابه است، با این تفاوت که در ارقام مقاوم مسیرهای پیام رسان گیاه به سرعت توسط پروتئین‌های پذیرنده به کار گرفته می‌شوند (Wang et al. 2014). در تحقیق دیگری نشان داده شد که پروفایل ترانسکریپتومی بین ارقام مقاوم و حساس در زمان آلودگی به مقدار زیادی مشابه، اما با تغییرات برجسته در بیان برخی از ژن‌ها در رقم مقاوم همراه بود. آنالیز کارکردی آشکار نمود که این تغییرات در ژن‌های دخیل در مسیر پیام رسان، متابولیت‌های ثانویه و ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی WRKY به میزان معنی‌داری افزایش یافته است (Wei et al. 2013). مطالعات انجام شده تعداد زیادی از مولکول‌های پیام رسان مثل فاکتورهای رونویسی و کینازهای پروتئینی را شناسایی نموده‌اند که در پاسخ ایمنی نقش دارند (Takatsuji 2014). با به کار بردن برخی اجزای سیستم دفاعی، امکان توسعه استراتژی‌های جدید برای تولید گیاهان مقاوم وجود دارد. یکی از استراتژی‌ها برای تولید گیاهان مقاوم اصلاح مسیرهای پیام رسان که در مکانیسم دفاعی نقش دارند می‌باشد برای این منظور ژن‌های کدکننده مولکول‌های پیام رسان مرتبط با پروتئین‌های دفاعی دستکاری می‌شوند (Takatsuji 2014). پاسخ دفاعی که بر علیه اکثر پاتوژن‌ها در گیاهان القاء می‌شود به طور عمده به وسیله سه مولکول پیام رسان شامل: اسیدسالیسیلیک (SA)، اسیدجاسمونیک (JA) و اتیلن (ET) تنظیم می‌شود. واکنش بین مسیرهای پیام رسان بسیار پیچیده است اما گیاهان می‌توانند با توجه به عامل بیمارگر که با آن مواجه می‌شوند با آن مقابله نمایند، برای پاتوژن‌های همی بیوتروفیک مثل *M. oryzae* هر دو مسیر SA و JA برای مقاومت ضروری هستند (Shimono et al. 2007; Mutuku et al. 2015). از طریق استفاده هم‌تای SA یعنی بنزو تیادیازول<sup>۱</sup>، فاکتوررونویسی *OsWRKY45* را شناسایی کردند که باعث القای مقاومت می‌شد. در برنج ژن‌های *OsWRKY45*، *OsWRKY62* و *OsWRKY76* به وسیله تیمار SA القاء می‌شوند و نشان داده شده است که همه آن‌ها در پاسخ ایمنی نقش دارند. درمیان آن‌ها *OsWRKY45* نقش اساسی را در مقاومت القاء شده به وسیله SA را ایفا می‌کند (Nakayama et al. 2013). آلن اکسید سینتاز<sup>۲</sup> (*OsAOS2*) یکی از آنزیم‌های کلیدی در سنتز JA از اسیدهای چرب می‌باشد. هم‌چنین این آنزیم نقش مهمی در مسیر جاسمونیک اسید تولید شده به وسیله حمله عوامل بیمارگر به گیاه ایفا می‌کند (Mei et al. 2007). افزایش بیان ژن *OsAOS2* باعث افزایش میزان JA درون زاد در گیاه و در نتیجه باعث افزایش بیان پروتئین‌های دفاعی می‌شود (Xie et al. 2011). مطالعات اخیر به این نتیجه رسیده است که استعمال JA باعث مقاومت به بلایت باکتریایی نیز می‌شود. در این گیاهان میزان بیان *OsAOS2* افزایش یافته بود (Yamada et al. 2012). فاکتور

<sup>1</sup> Benzothiadiazole<sup>1</sup>

<sup>2</sup> Allene Oxide Synthase<sup>2</sup>

رونویسی BSRD1 موجب بیان ژن پروکسیداز در زمان تنش می‌شود، بیان این فاکتور رونویسی توسط فاکتور رونویسی دیگری به نام MYB کنترل (سرکوب) می‌شود، آلل bsrd1 در اثر یک جهش یک نقطه ای در پروموتور آن (A به G) به وجود آمده که موجب محکم‌تر چسبیدن MYB به پروموتور شده در نتیجه بیان پروکسیداز کمتر شده و در نهایت محتوای  $H_2O_2$  افزایش یافته و موجب مقاومت به طیف گسترده‌ای از جدایه‌های بلاست می‌شود (Takatsuji and Hayashi, 2017). القاء جهش روشی برای افزایش تنوع ژنتیکی می‌باشد که همراه با انتخاب، نوترکیبی و یا ترکیبی از این دو در اصلاح گیاهان مورد استفاده قرار می‌گیرد. مزیت مهم اصلاح موتاسیونی، پتانسیل اصلاح یک یا چند صفت بدون تغییر منابع ژنی می‌باشد (Wani and Anis 2008). گیاهان موتانت حاصل از اصلاح موتاسیونی به دلیل داشتن زمینه ژنتیکی یکسان با والدشان، مواد آزمایشی مناسبی برای آنالیزهای مقایسه‌ای و تشریح مکانیسم‌های مولکولی هستند (Lin et al. 2016). رقم پویا با استفاده از روش القاء موتاسیون در رقم برنج موسی طارم به عنوان رقم پرکیفیت ولی پابلند و حساس به بیماری بلاست به وجود آمده است که با حفظ سایر خصوصیات برتر رقم محلی صفات پاکوتاهی و مقاومت به بیماری بلاست را دارا می‌باشد. به‌علاوه، مطالعات و بررسی‌های به عمل آمده در اواخر دهه ۸۰ میلادی روشن نمود که مکانیسم‌های مولکولی در زمره مهم‌ترین فرایندهای ژنتیکی (مشمتمل بر همانندسازی DNA، رونویسی، ترجمه و حتی نحوه تنظیم ژن‌ها) هستند (Mohammadabadi 2020; Safaei et al. 2022). ماده ژنتیکی<sup>۳</sup> یک سلول از تعداد زیادی ژن تشکیل شده است که هیچ‌گاه همه به طور همزمان بیان نمی‌شوند و در هر لحظه فقط تعداد کمی از آنها بیان شده و پروتئین یا آنزیم مورد نیاز سلول را تولید می‌نمایند (Arabpour et al. 2021; Mohammadabadi et al. 2021). محیطی که موجود در آن رشد می‌کند مشخص می‌کند که آیا ژن بیان شود و یا این که نیازی به فرآورده آن نیست و باید غیرفعال و یا خاموش شود. ساز و کار بیان ژن اولین بار در باکتری *E.coli* کشف شد (Mohammadabadi et al. 2018; Masoudzadeh et al. 2020). ژن‌های یوکاریوتی بیان‌شان تحت کنترل موقت و چندبعدی است. در هر یک از انواع بافت‌ها تنها یک مجموعه نسبتاً کوچک از تمام ژنوم بیان می‌شود و نیز بیان ژن‌ها به مرحله نمو بستگی دارد. بنابراین، بیان ژن در یوکاریوت‌ها برای هر بافت اختصاصی است (Jafari Ahmadabadi et al. 2023). همچنین مقدار محصولات ژن که در همان بافت و نیز در سایر بافت‌هایی که آن محصول را می‌سازند، ساخته شده سبب تنظیم بیان آن ژن می‌شود (Mohammadabadi 2021; Shahsavari et al. 2021). یکی از اقدامات اساسی در به‌نژادی مولکولی مطالعه ژن‌ها و پروتئین‌های مرتبط با صفات مهم و مطالعه آنها در سطح سلولی یا کروموزومی است (Mohammadabadi and Soflaei 2020; Shahsavari et al. 2022). در این مطالعه میزان بیان ژن *OsAOS2* و *OsWRKY45* در زمان‌های صفر، ۳۶ و ۷۲ ساعت پس از استقرار عامل بیمارگر بر روی گیاهان در دو مرحله گیاهچه‌ای (۴-۵ برگی) و خوشه‌دهی بررسی شد شایان ذکر است که شناسایی مسیرهای ژنتیکی در القا و انتقال ژن‌های مقاومت به‌لحاظ بنیادی و کاربردی حایز اهمیت است.

<sup>3</sup> DNA

## مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی و شرایط رشد:** از دو ژنوتیپ برنج شامل وارپته والد (موسی طارم) و وارپته موتانت مربوط به آن (پویا) به عنوان مواد گیاهی استفاده گردید. وارپته موتانت مورد بررسی، توسط موتازن فیزیکی گاما با هدف زودرسی، مقاومت به خوابیدگی و عدم آلودگی به بیماری بلاست وارپته موسی طارم در سال ۱۳۷۶ تولید شد و در سال ۱۳۸۵ در آژانس بین‌المللی انرژی اتمی<sup>۴</sup> ثبت گردید. ابتدا بذر ژنوتیپ‌ها با محلول (هیپوکلرید سدیم ۱٪ ضدعفونی و پس از شستشو با آب در سینی نشاء در سه تکرار و به تعداد ۱۸ بذر در هر ردیف کشت شدند. سپس گیاهچه‌ها تا مرحله خوشه‌دهی در گلخانه نگهداری شدند. به منظور اعتبار بخشی نتایج آزمایش به صورت تکرار دار انجام پذیرفت و با انجام تجزیه آماری مقدار خطای معیار به منظور انجام مقایسات میانگین‌ها محاسبه شد.

**مایه‌زنی و نمونه‌گیری:** مایه تلقیح با استفاده از روش Mackill and Bonman (1986) بر روی محیط کشت Prune-Agar تهیه شد. در مرحله بعد جدایه قارچ *M. oryzae* با نام IC-25 که دارای قابلیت و ثبات بیماری‌زایی بالایی بود بر روی محیط کشت Prune-Agar گردید. مایه‌زنی در مرحله گیاهچه‌ای در اتاقک رشد با اسپری دستی و بصورت یکنواخت بر روی گیاهچه‌های چهار برگی انجام شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری شدند. سپس دمای اتاقک رشد در ۲۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۹۵ درصد، میزان روشنایی ۱۴ و تاریکی ۱۰ ساعت تنظیم گردید. مایه‌زنی در مرحله خوشه‌دهی زمانی که حدود ۷۰٪ از هر خوشه از غلاف مربوطه خارج شدند انجام شد. بوته‌های مایه‌زنی شده در فضای گلخانه با دمای ۲۴ تا ۳۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی بیش از ۹۵ درصد نگهداری شدند. نمونه‌گیری از برگ‌ها در زمان‌های صفر، ۳۶ و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی انجام شد سپس نمونه‌های برگ و ساقه بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد و به فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

**ارزیابی اجزای مقاومت به بیماری و میزان کلروفیل:** هفت روز پس از مایه‌زنی، از هر تکرار هشت نمونه در مرحله گیاهچه و خوشه‌دهی به صورت تصادفی انتخاب و به آزمایشگاه منتقل شدند. صفات مورد ارزیابی شامل تعداد و طول لکه‌های موجود روی گیاهچه و سطح آلودگی بود که به روش Mackill and Bonman (1992) و برای اندازه‌گیری کلروفیل از روش Porra et al. (1989) استفاده شد.

**استخراج RNA:** استخراج RNA با استفاده از بافر استخراج پی بایوزول شرکت بیوفلکس (توکيو، ژاپن) صورت گرفت.

کیفیت RNA استخراج‌شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین گردید (Kazemi et al. 2010).

<sup>4</sup> International Energy Agency; IAEA

**تعیین کیفیت RNA:** جهت بررسی کیفیت RNA، سه میکرولیتر از نمونه‌های RNA همراه با نشانگر اندازه مولکولی ۱۰۰ تا ۳۰۰۰ جفت باز با دو میکرولیتر رنگ بارگذاری فلوروسنت<sup>۵</sup> مخلوط گردید و بر روی ژل آگارز یک درصد (1X) TBE الکتروفورز شد. پس از بارگذاری، با استفاده از دستگاه آشکارساز ژل، نوارهای مورد نظر بررسی و عکس‌برداری از آن‌ها صورت گرفت.

**ساخت و تایید cDNA با واکنش زنجیره‌ای پلیمرز استاندارد:** ساخت cDNA طبق پروتکل پیشنهادی شرکت ترموساینتیفیک و با کیت RevertAid Erststrang-cDNA-Synthesekit انجام گرفت. طراحی آغازگر با استفاده از نرم افزار Oligo7 و با توجه به ناحیه 3'-UTR توالی ژن‌های *OsAOS2*، *OsWRKY45* و ژن خانه‌دار *Actin* انجام شد. مشخصات آغازگرها در جدول ۱ آورده شده است. برای هر نمونه سه تکرار تکنیکی برای ژن اختصاصی و سه تکرار نیز برای ژن خانه‌دار *Actin* در نظر گرفته شد.

جدول ۱. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در آزمایش qRT-PCR

Table 1. Specifications of the primers used in the real-time polymerase chain reaction test

نام ژن	نام آغازگر	توالی آغازگر	دمای ذوب	طول محصول
Gene	Accession	Initiator	(°C)	(bp)
name		name	Melting temperature	Product length
			(C°)	(bp)
Wrky45	AK066255	Forward	GACCAGGAGGAGGTGCTGA	60
		Reverse	GCAGGGAGGACGTGACATC	57.9
AOS2	AY310358	Forward	AGCTTCAACCTCCGCCGTCA	51.4
		Reverse	AGCCATGCAAGAATTCAGGTACG	53.9
Actin	X15865	Forward	GAGCTACGAGCTTCCTGATGGA	60
		Reverse	CCTCAGGCAGCGGAAA	60

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** آنالیز داده‌های بیان ژن با استفاده از نرم افزار REST (2009) و بیان نسبی دلتا-دلتا<sup>۶</sup> انجام شد (Sharma et al. 2007). مقادیر هر صفت، حاصل میانگین سه تکرار به همراه اشتباه استاندارد آن‌ها بود. بیان نسبی ژن‌های مورد بررسی با استفاده از فرمول Pfaffl (2001) محاسبه گردید.

<sup>۵</sup> - Green safe DNA loading dye

<sup>۶</sup> - Delta-delta;  $\Delta\Delta$



$$Ratio = \frac{(E_{t \text{ arg et}})^{\Delta CP_{t \text{ arg et}} (control-sample)}}{(E_{ref})^{\Delta CP_{ref} (control-sample)}}$$

در این معادله نسبت سطح بیان یک ژن هدف بر اساس راندمان واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (E) برای ژن هدف و مرجع و تفاوت ( $\Delta$ ) نقطه تقاطع<sup>۷</sup> (CP) یک نمونه ناشناخته در مقابل کنترل ( $\Delta CP_{control-sample}$ ) محاسبه می‌شود. ارزیابی میزان بیان ژن توسط نرم‌افزار Excel و REST انجام شد. در این آزمایش، نمونه‌ها را نسبت به یک ژن خانه‌دار که در اینجا *Actin* بود و در تمام مراحل رشدی گیاه و تحت همه شرایط بیان یکسانی داشت می‌سنجند. رنگ مورد استفاده جهت ردیابی تکثیر نمونه سایبر گرین و کیت مورد استفاده، کیت سایبر بایو پارس (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان) بود که با اتصال به محصولات سبب بررسی میزان تابش اشعه می‌شود. در پایان واکنش و پس از دریافت نمودارها، اطلاعات به نرم‌افزار REST منتقل شده و تجزیه داده‌ها انجام گرفت. آنالیز داده‌ها با آزمون t استیودنت جفت‌شده<sup>۸</sup> در سطح احتمال پنج درصد توسط نرم‌افزار SPSS 16.0 انجام شد. رسم گراف و نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel انجام گردید.

## نتایج و بحث

**اجزای مقاومت به بیماری:** نتایج ارزیابی اجزای مقاومت به ترتیب در مرحله گیاهچه‌ای و خوشه‌دهی نشان داد که وارپته موسی طارم دارای شاخص‌های آلودگی بالا در تعداد لکه اسپورزا (۲۱/۳، ۲۱/۶)، سطح ساقه آلوده شده (۱۹٪، ۲۳٪) و اندازه لکه (۷/۳، ۱/۴) بود، درحالی‌که وارپته پویا با تعداد کم لکه اسپورزا (۱/۲، ۲/۴)، سطح ساقه آلوده شده پایین (۲٪، ۵٪) و اندازه لکه کوچک (۰/۱۲، ۰/۲۳) بود (جدول ۲). مسئله رایج در تولید برنج دوره کوتاه مقاومت در وارپته‌های آن است، در نتیجه یافتن راهی برای افزایش طول عمر مقاومت در اصلاح برنج یک ضرورت است. اغلب مطالعات صورت گرفته برای بررسی مقاومت به بلاست در مرحله گیاهچه‌ای صورت گرفته است و اطلاعات کمی در خصوص نحوه عمل ژن‌ها و یا مکانیسم تنظیمی که در مقاومت به بلاست در مرحله خوشه‌دهی موجود می‌باشد (Liu et al. 2010). نتایج قبلی به دست آمده از بررسی صفات مورفولوژیکی در مقاومت به بلاست در مرحله گیاهچه توسط (Ebadi et al. 2019) و همچنین نتایج حاصل از این تحقیق، نشان دهنده مقاومت وارپته جهش یافته پویا در هر دو مرحله مهم در حمله پاتوژن درمقابل نژاد IC-25 بود. در حالی‌که وارپته والدی موسی طارم در هر دو مرحله گیاهچه‌ای و خوشه‌دهی نسبت به بیماری حساس بود. لازم به ذکر است که مقاومت به بلاست برگی لزوماً به معنای مقاومت به بلاست خوشه و بالعکس نمی‌باشد. مکانیسم دقیق این نوع از مقاومت به طور دقیق شناسایی نشده است (Hao et al. 2009).

<sup>7</sup>- Crossing point

<sup>۸</sup>- Paired student's t-test

جدول ۲. اجزای مقاومت ژنوتیپ‌های مورد مطالعه پس از مایه‌زنی با جدایه IC-25

Table 2. Resistance components of studied genotypes after inoculation with IC-25 isolate

مرحله	ژنوتیپ	تعداد لکه	سطح آلوده شده (%)	اندازه لکه (mm <sup>2</sup> )
the stage	Genotype	The number of spots	Contaminated surface (%)	Spot size (mm <sup>2</sup> )
گیاهچه‌ای seedling	موسی طارم (والد) Musatarom (Parents)	21.3	19	7.3
	پویا (موتانت) Poya (mutant)	1.2	0.2	0.12
خوشه‌دهی clustering	موسی طارم (والد) Musataram (Parents)	21.6	23	1.4
	پویا (موتانت) Poya (mutant)	3.2	0/5	0.23

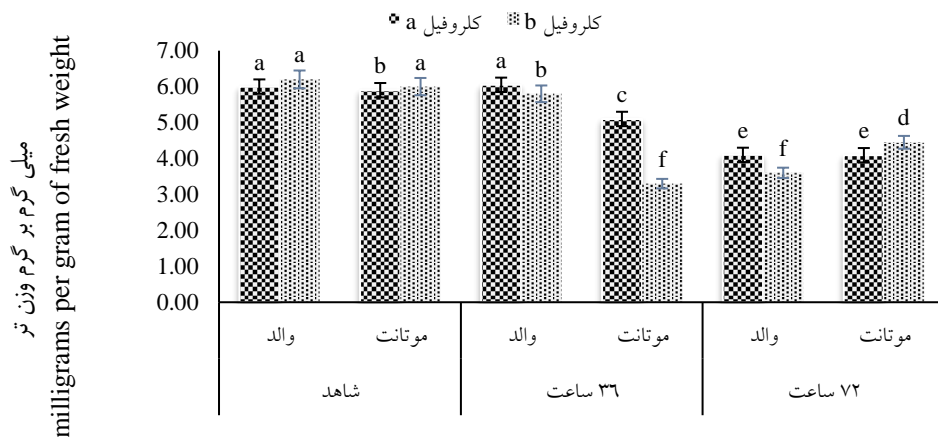
محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در مرحله گیاهچه‌ای: در هر دو وارسته موتانت و والدی در مرحله گیاهچه‌ای پس از

حمله پاتوژن میزان کلروفیل کاهش یافت. اما میزان کاهش آن در ساعات اولیه آلودگی ۳۶ ساعت پس از آلودگی در وارسته موتانت بیشتر از وارسته والدی بود. میزان کلروفیل a در وارسته پویا در ۳۶ و ۷۲ ساعت نسبت به شاهد روند کاهشی داشت. کلروفیل b هم در ۳۶ ساعت روند کاهشی و در ۷۲ ساعت روند افزایشی برای هر دو رقم داشت اما میزان این افزایش در رقم پویا بیشتر بود. در مقایسه میزان کلروفیل بین دو وارسته می‌توان نتیجه گرفت که کاهش میزان کلروفیل در وارسته پویا نسبت به موسی طارم سریعتر اتفاق افتاد. در وارسته پویا کاهش محتوای کلروفیل b در ۳۶ ساعت نسبت به کلروفیل a بیشتر بود و در ۷۲ ساعت محتوای آن رو به افزایش بود در حالی که کلروفیل a سیر نزولی را تا زمان ۷۲ ساعت همانند کلروفیل a و b در وارسته موسی طارم طی کرد. در وارسته موسی طارم تفاوت محسوسی بین محتوای کلروفیل a و b در طول واکنش به پاتوژن وجود نداشت (شکل ۱).

محتوای کلروفیل a و b در زمان خوشه‌دهی: همانند مرحله گیاهچه‌ای در زمان خوشه دهی نیز مقدار کلروفیل در

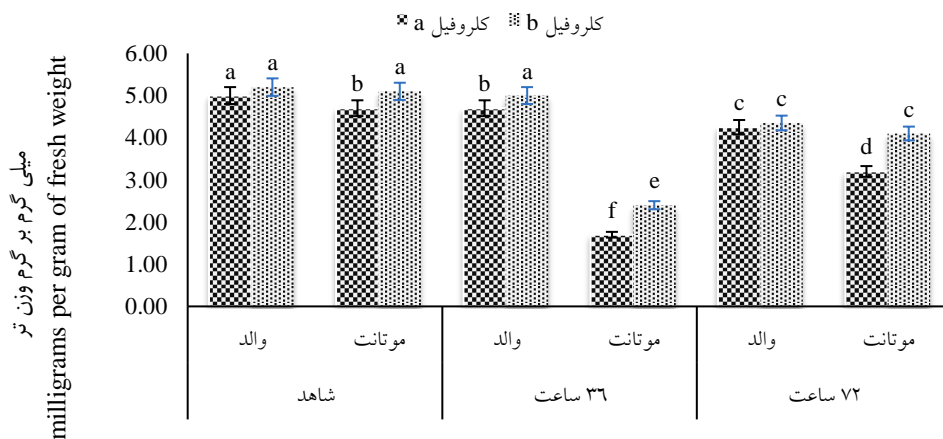
پاسخ به حمله پاتوژن در هر دو وارسته کاهش نشان داد. همین‌طور میزان کاهش آن در ساعات اولیه آلودگی ۳۶ ساعت پس از آلودگی در وارسته پویا بیشتر از وارسته موسی طارم بود. کاهش در میزان کلروفیل در هر دو زمان ۳۶ ساعت و ۷۲ ساعت در هر دو کلروفیل a و b نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۲). در مقایسه میزان کلروفیل بین دو وارسته در زمان خوشه‌دهی می‌توان گفت که کاهش در میزان کلروفیل در وارسته پویا نسبت به موسی طارم سریعتر و با شدت بیشتر در ۳۶ ساعت اتفاق افتاد، در حالی که در ۷۲ ساعت پس از تلقیح با سرعت کمتری ادامه یافت. momilactone A و momilactone B در اثر تیمار JA، الیسیتورها، و پاتوژن‌ها به

خصوص بلاست تولید و ترشح می‌شوند، پیش ماده تولید این فیتوالکسین‌ها GDP<sup>۹</sup> است که طی دو مرحله حلقوی سازی در برنج رخ می‌دهد (Kato 2011).



شکل ۱. محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در مرحله گیاهچه ای

Figure 1. The content of chlorophyll a and chlorophyll b in the seedling stage



شکل ۲. محتوای کلروفیل a و کلروفیل b در مرحله خوشه دهی

Figure 2. The content of chlorophyll a and chlorophyll b in the clustering stage

<sup>9</sup> Geranylgeranyl diphosphate

با مقایسه محتوای کلروفیل در دو مرحله گیاهچه و خوشه‌دهی بین دو وارسته، وارسته پویا در هر دو مرحله کاهش قابل توجهی در میزان کلروفیل در زمان ۳۶ ساعت پس از آلودگی داشته و با توجه به اینکه پاتوژن پس از ۲۴ الی ۲۸ ساعت پس از مایه‌زنی وارد سلول گیاهی می‌شود، این کاهش در مرحله خوشه‌دهی کاملاً محسوس بود (Fernandez and Wilson 2014). در مقابله با پاتوژن‌ها قبل از ورود به سلول گیاهی، گیاهان از طریق شناسایی پاتوژن با  $PRR^{10}$ ها به تولید فیتوالکسین مبادرت می‌نمایند و از طرفی با توجه به اینکه پیش ماده کلروفیل، جیبرلیک اسید و فیتوالکسین‌ها یکسان می‌باشد (Wang et al. 2014)، احتمال دارد گیاه با تغییر مسیر سنتز کلروفیل و جیبرلیک اسید برای ترشح فیتوالکسین‌ها اقدام به مقابله با پاتوژن نموده باشد. با استناد به این نکته که فیتوالکسین‌ها در مقابله با بلاست برنج از طریق هورمون JA سنتز و تولید می‌شوند، احتمال دارد که مسیر JA خصوصاً در زمان خوشه‌دهی (به علت کاهش شدید در محتوای کلروفیل در ۳۶ ساعت پس از آلودگی) فعال باشد.

#### نتایج حاصل از ارزیابی الگوی تظاهر ژن *OsWRKY45* در مرحله گیاهچه‌ای: با توجه به شکل ۳، بیان ژن

*OsWRKY45* پس از آلودگی به پاتوژن در ۳۶ ساعت پس از آلودگی حدوداً ۶ برابر نسبت به شاهد در وارسته پویا افزایش نشان داد. همزمان در وارسته موسی طارم نیز گیاه در پاسخ به حمله پاتوژن، بیان ژن *OsWRKY45* را افزایش داد. با گذشت زمان بیان ژن *OsWRKY45* در وارسته پویا نسبت به ۳۶ ساعت کاهش یافت، اما بیان آن در وارسته موسی طارم همچنان رو به افزایش بود. مسیر وابسته به مقاومت SA وابسته به بیان ژن *OsWRKY45* در بالادست و یا پایین دست<sup>۱۱</sup> می‌باشد و باعث ایجاد مقاومت می‌شود. خاموش شدن ژن *OsWRKY45* باعث حساسیت به قارچ بلاست و بیان افزایشی<sup>۱۲</sup> آن موجب مقاومت حتی در ارقام حساس می‌شود. براساس مطالعات Shimono et al. (2012) بیان افزایشی *OsWRKY45* علاوه بر بلاست برگی باعث مقاومت به بلاست خوشه‌ای نیز می‌شود. بر این اساس چنین به نظر می‌رسد که ژن *OsWRKY45* حداقل در بخشی از مسیر سالیسیلیک اسید نقش اساسی را ایفا می‌کند.

#### میزان بیان ژن *OsAOS2* در مرحله گیاهچه‌ای: نتایج آنالیز بیان ژن *OsAOS2* نشان می‌دهد که این ژن در نمونه

موتانت نسبت به نمونه والد پدری در اثر آلودگی با قارچ افزایش بیان داشته است. با توجه به شکل ۴، بیان ژن *OsAOS2* در هر دو وارسته روند صعودی داشت، با این تفاوت که در وارسته پویا میزان افزایش خصوصاً در زمان ۷۲ ساعت دو برابر نسبت به شاهد و همچنین ۳ برابر ۳۶ ساعت پس از آلودگی بیشتر بود.

#### میزان بیان ژن *OsWRKY45* در مرحله خوشه‌دهی: بیان ژن *OsWRKY45* در هر دو ژنوتیپ افزایش یافت. با

توجه شکل ۵، میزان افزایش بیان این ژن در وارسته پویا در ۳۶ در مقایسه با وارسته موسی طارم افزایش بسیار بیشتری داشت و در

<sup>10</sup> pattern-recognition receptors

<sup>11</sup> Upstream or downstream

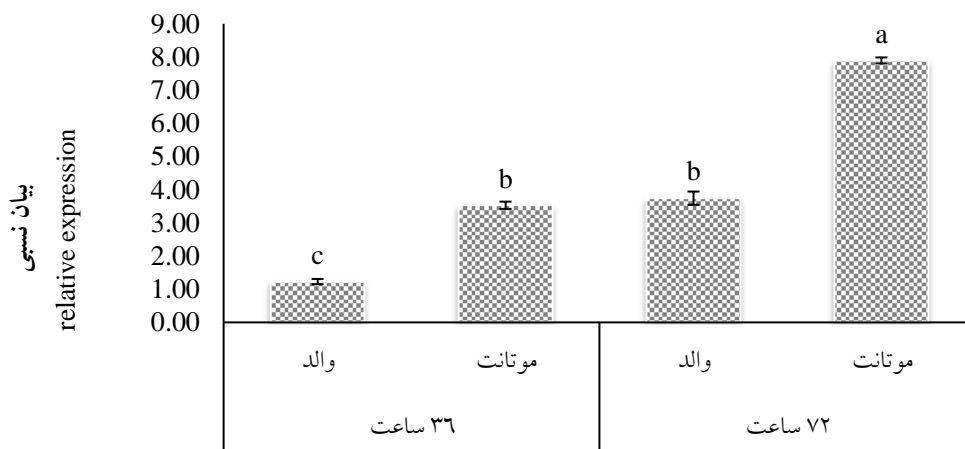
<sup>12</sup> Over expression

زمان ۷۲ ساعت نیز نسبت به ۳۶ ساعت بیان ژن *OsWRKY45* به طور معنی داری افزایش یافت. در وارپته موسی طارم نیز همانند وارپته پویا میزان بیان در مقایسه با زمان ۳۶ ساعت افزایش پیدا کرد.



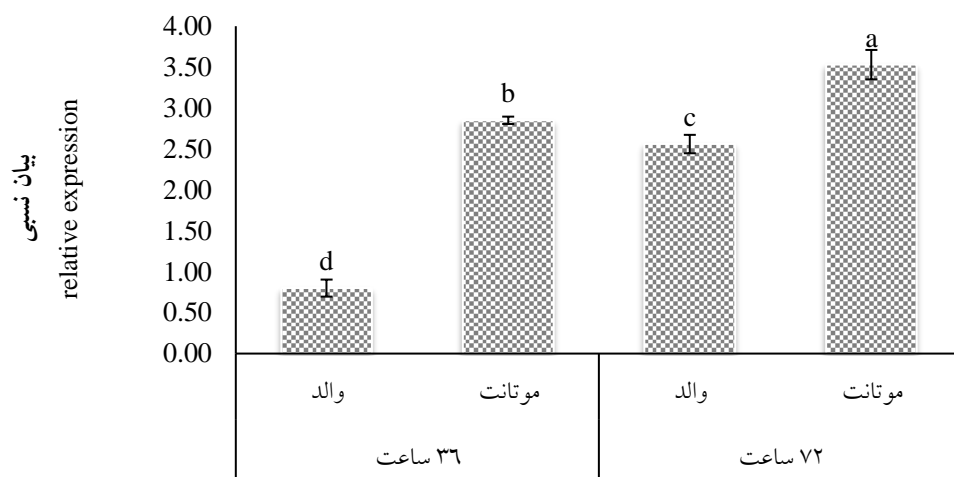
شکل ۳. بیان ژن *OsWRKY45* در مرحله گیاهچه ای

Figure 3. Expression of *OsWRKY45* gene in seedling stage



شکل ۴. بیان ژن *OsAOS2* در مرحله گیاهچه ای

Figure 4. *OsAOS2* gene expression in seedling stage

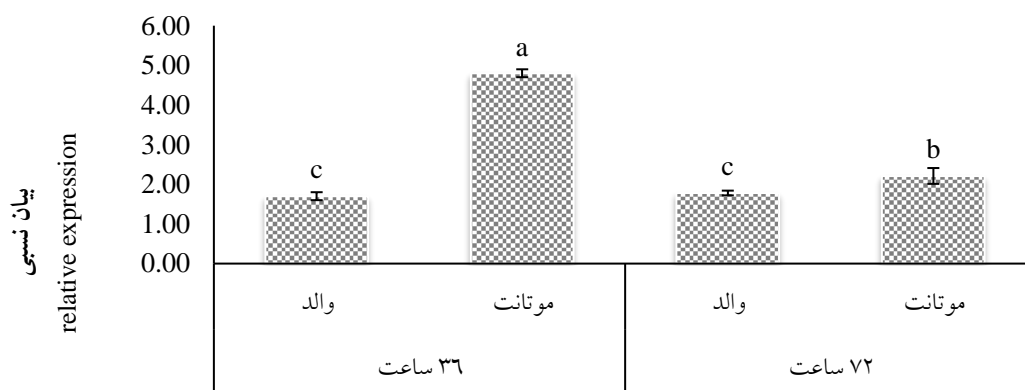


شکل ۵. بیان ژن *OsWRKY45* در مرحله خوشه دهی

Figure 5. *OsWRKY45* gene expression in the clustering stage

میزان بیان ژن *OsAOS2* در مرحله خوشه دهی: بارزترین نکته در بیان ژن *OsAOS2* در مرحله خوشه دهی، افزایش

بیان قابل ملاحظه آن در زمان ۳۶ ساعت و متعاقبا کاهش آن در زمان ۷۲ ساعت در واریته پویا نسبت به شاهد و واریته موسی طارم بود. در واریته موسی طارم بیان ژن *OsAOS2* نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد، در حالی که تغییر معنی داری در بیان آن بین زمان های ۳۶ و ۷۲ ساعت مشاهده نگردید (شکل ۶). در مرحله خوشه دهی واریته موتانت پویا سریعتر و با شدت بیشتر بیان ژن را نشان داد.



شکل ۶. بیان ژن *OsWRKY45* در مرحله خوشه دهی

Figure 6. *OsWRKY45* gene expression in the clustering stage

معمولاً در گیاهان SA موجب مقاومت به پاتوژن‌های بیوتروفیک و همی بیوتروفیک می‌شود و در مقابل JA در مقاومت به پاتوژن‌های نکروتروفیک نقش دارد. در اکثر گیاهان رابطه بین SA و JA رقابتی است، در حالی که در برنج هنوز چگونگی این رابطه به طور واضح آشکار نشده است. علاوه بر این نشان داده شده است که مسیر پیام رسان وابسته به JA در پاسخ به بلاست (پاتوژن همی بیوتروفیک) نقش اساسی ایفاء می‌کند. تجمع JA-IIe فرم بیو اکتیو JA از طریق آلودگی با قارچ بلاست القاء می‌شود، از طرفی موتانت‌های hebiba و cpm2 دچار کمبود جاسمونات به این بیماری حساس هستند (Riemann et al. 2013). در مقایسه بیان دو ژن در مرحله گیاهچه‌ای بین دو وارپته، مشخصاً بیان ژن‌های مذکور مشابه اما با شدت و سرعت تغییر بیان بیشتر در وارپته پویا همراه بود. بیان ژن *OsWRKY45* در مقایسه با *OsAOS2* در زمان ۳۶ ساعت بیشتر بود و سپس در ۷۲ ساعت پس از آلودگی این روند معکوس شد. براساس تحقیقات Zhang et al. (2019) تغذیه آفات *C. suppressalis* و *N. lugens* قبل از آلودگی با قارچ بلاست از طریق افزایش محتوای SA و JA، باعث افزایش مقاومت در مقابل بلاست می‌شود. اما تغذیه آفت *C. medinalis* محتوای JA را افزایش و SA را کاهش داده و باعث حساسیت به بلاست می‌شود. اما استعمال SA و نه JA در همان گیاه بعد از تغذیه آفت موجب بروز فنوتیپ مقاوم می‌شود. براساس این تحقیق در حالت مقاوم محتوای SA بلافاصله ۰.۵ الی ۲ ساعت پس از آلودگی با قارچ افزایش یافته اما JA به تدریج و کندتر افزایش یافته است. در حالی که در حالت حساس محتوای SA پس از حدود ۸ الی ۱۲ ساعت افزایش داشته و JA پس از ۲ ساعت افزایش یافته است. بنابراین زودتر بیان شدن JA یکی از دلایل بروز حساسیت می‌باشد. این رابطه در بلاست<sup>۱۳</sup> باکتریایی (پاتوژن بیوتروفیک) برعکس است یعنی در ارقام مقاوم به بلاست JA سریعتر و بیشتر از SA تولید می‌شود، به طوری که بیان افزایشی *OsDESI*، ژن دخیل در مسیر مقاومت به بلاست باعث افزایش محتوای JA زودتر از SA و مقاومت آن به بلاست شده و خاموش شدن این ژن باعث سنتز سریعتر SA و مقاومت به بلاست و حساسیت به بلاست می‌شود (ke et al. 2019) بعلاوه خاموش شدن این ژن باعث افزایش بیان *OsAOS2*، *OsWRKY45* و *OsLOX* شده، به این معنی که خاموش شدن آن موجب سنتز هردو هورمون شده اما سنتز SA سریعتر رخ داده است. از طرفی Uji et al. (2019) گزارش دادند که بیان افزایشی *OsVQ13*، ژن دخیل در مسیر سیگنالینگ JA، موجب افزایش بیان ژن *OsMPK6* می‌شود، MPK6 در فسفوریلاسیون *OsWRKY45* نقش دارد. ژن *OsVQ13* در پاسخ دفاعی القاء شده از طریق تیمار JA با روش ریزآرایه‌ها شناسایی شد. *OsWRKY45* ژنی است که در پاسخ به استعمال SA در مواجهه با بلاست قویاً بیان می‌شود. وقتی که سطوح بیان ژن‌هایی که توسط SA و JA تغییر کرده را با روش ریزآرایه‌ها مقایسه کنیم، بیش از نیمی از آنها که بیان آنه با SA افزایش یافته با JA نیز افزایش یافته است. این نتایج حاکی از آن است که با وجود مشابهت بالا در پاسخ دفاعی اعمال شده توسط هر کدام از مولکول‌های پیام‌رسان در مواجهه با پاتوژن‌ها، زمان‌بندی در تولید مولکول‌های پیام‌رسان نقش تعیین کننده در موفقیت یا عدم موفقیت پاسخ دفاعی دارد. به طوری که گیاه پس از حمله می‌بایست با توجه به نوع پاتوژن، مولکول

<sup>۱۳</sup> Xanthomonas oryzae

پیام‌رسان مناسب را در زمان و شدت معین تولید نماید. این نکته با کاهش محتوای کلروفیل در زمان ۷۲ ساعت در مرحله گیاهچه ای نیز در ارتباط است. بر این اساس با بیان *OsAOS2* در زمان ۷۲ ساعت محتوای جاسمونیک اسید افزایش یافته و در فرایند تولید فیتوالکسین‌ها میزان کلروفیل کاهش یافته است. با توجه به اینکه بیان افزایشی ژن *OsWRKY45* باعث افزایش در محتوای جاسمونیک اسید (به میزان کمتر نسبت به سالیسیلیک اسید) می‌شود. احتمالاً پس از بیان آن به مقدار زیاد در زمان ۳۶ ساعت باعث افزایش محتوای جاسمونیک اسید نیز شده است.

**نتیجه‌گیری:** این تحقیق به منظور مقایسه مکانیسم دفاعی وارپته موتانت (پویا) و وارپته والد (موسی طارم) تحت القای بیماری بلاست برگ و خوشه در برنج صورت گرفت. بر اساس نتایج اجزای مقاومت پس از مایه‌زنی با جدایه IC-25 قارچ *M. oryzae*، وارپته پویا دارای تیپ آلودگی مقاوم و وارپته موسی طارم حساس بود. نتایج بیان ژن‌ها پس از القای بیماری نشان داد که وارپته پویا در بیان ژن‌های *OsAOS2* و *OsWRKY45* افزایش معنی‌داری نسبت به وارپته موسی طارم داشت. هم‌چنین از محتوای کلروفیل با گذشت زمان پس از آلودگی کاسته شد. چنین بنظر می‌رسد این امر بدلیل افزایش بیان ژن *OsAOS2* و در پی آن افزایش محتوای اسید جاسمونیک بوده که بر اساس مطالعات صورت گرفته می‌تواند با تشدید تولید فیتوالکسین‌ها موجب کاهش میزان کلروفیل شده است.

**سپاسگزاری:** از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به خاطر حمایت مالی و حمایت معنوی و همکاری در اجرای پژوهش حاضر سپاسگزاری می‌شود.

## منابع

- بهادر یاسر، محمدآبادی محمد رضا، خضری امین، و همکاران (۱۳۹۵) مطالعه تنوع ژنتیکی جمعیت‌های زنبور عسل استان کرمان با استفاده از نشانگرهای ISSR، پژوهش‌های تولیدات دامی ۱۳، ۱۹۲-۱۸۶.
- جعفری احمدآبادی سید علی اصغر، عسکری‌همت حشمت‌اله، محمدآبادی محمدرضا، و همکاران (۱۴۰۲) تاثیر شاهدهانه بر بیان ژن DLK1 در بافت قلب بره‌های کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۵(۱)، ۲۱۷-۲۳۴.
- عرب پور رق آبادی زهرا، محمدآبادی محمدرضا، خضری امین (۱۴۰۰) الگوی بیانی ژن p32 در بافت‌های ران، دست، راسته و چربی پشت بره کرمانی. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۳(۴)، ۱۸۳-۲۰۰.
- محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۹) بیان ژن ESR1 در بز کرکی راینی با استفاده از real time PCR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۲(۱)، ۱۷۷-۱۹۲.
- محمدآبادی محمدرضا (۱۳۹۹) پروفایل بیانی mRNA مختص بافت ژن ESR2 در بز. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۲(۴)، ۱۸۴-۱۶۹.



محمدآبادی محمدرضا، سفلائی محمد (۱۳۹۹). پروفایل بیانی mRNA مختص بافت ژن BMP15 در بز. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۲(۳)، ۲۰۸-۱۹۱.

محمدآبادی محمدرضا، کرد محبوبه، نظری محمود (۱۳۹۷) مطالعه بیان ژن لپتین در بافت‌های مختلف گوسفند کرمانی با استفاده از real time PCR. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی ۱۰(۳)، ۱۲۲-۱۱۱.

## References

- Arabpour Z, Mohammadabadi M, Khezri A (2021) The expression pattern of p32 gene in femur, humeral muscle, back muscle and back fat tissues of Kermani lambs. *Agric Biotechnol J* 13 (4), 183-200 (In Persian).
- Cheng H, Liu H, Deng Y, et al. (2015) The WRKY45-2 WRKY13 WRKY42 transcriptional regulatory cascade is required for rice resistance to fungal pathogen. *Plant Physiol J* 167, 1087-1099.
- De-xi C, Xue-w C, Bing-t M, et al. (2010) Genetic transformation of rice with pi-d2 gene enhances resistance to rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Rice Sci* 17(1), 19-27.
- Ebadi AD, Navabpour S, Yamchi A, et al. (2019) Evaluation of Several Important Defense Enzyme Activities in Mutant Rice Resistant to Blast Disease. *J Nucl Sci Technol* 86, 100-108.
- Fernandez J, and Wilson RA (2014) Cells in cells: morphogenetic and metabolic strategies conditioning rice infection by the blast fungus *Magnaporthe oryzae*. *Protoplasma* 251, 37-47.
- Hao Z N, Wang L P, and Tao R X (2009) Expression patterns of defense genes and antioxidant defence responses in a rice variety that is resistant to leaf blast but susceptible to neck blast. *Plant Physiol Biochem* 74, 167e174.
- Jafari Ahmadabadi SAA, Askari-Hemmat H, Mohammadabadi M, et al. (2023) The effect of Cannabis seed on DLK1 gene expression in heart tissue of Kermani lambs. *Agric Biotechnol J* 15 (1), 217-234 (In Persian).
- Kato-N H (2011) Convergent or parallel molecular evolution of momilactone A and B: Potent allelochemicals, momilactones have been found only in rice and the moss *Hypnum plumaeforme*. *J Plant Physiol* 168, 1511-1516.
- Kazan K (2015) Diverse roles of jasmonates and ethylene in abiotic stress tolerance. *Trend Plant Sci* 20, 219-229.
- Ke Y, Kang Y, Wu M, et al. (2019) Jasmonic Acid-involved oseds1 signaling in rice-bacteria interactions. *Rice* 12, e25.

- Lin K C, Jwo WS, and Chandrika N (2016) A rice mutant defective in antioxidant-defense system and sodium homeostasis possesses increased sensitivity to salt stress. *Biologia Plantarum* 60, 86-94.
- Liu J, Wang X, and Mitchell T (2010) Recent progress and understanding of the molecular mechanisms of the rice-Magnaporthe oryzae interaction. *Mol Plant Pathol* 11, 419–27.
- Mackill D J, and Bonman J M (1986) New hosts of *Pyricularia oryzae*. *Plant Dis* 70, 123-129.
- Mackill D J, and Bonman J M (1992) Inheritance of blast resistance line of rice. *Phytopathology* 82, 46-749.
- Masoudzadeh SH, Mohammadabadi MR, Khezri A, et al. (2020) Dlk1 gene expression in different Tissues of lamb. *Iran J Appl Anim Sci* 10 (4), 669-677.
- Mei C, Qi M, Sheng G, and Yang Y (2006) Inducible overexpression of a rice allene oxide synthase gene increases the endogenous jasmonic acid level, PR gene expression, and host resistance to fungal infection. *Mol Plant-Microbe Interact* 19, 1127-1137.
- Mohammadabadi M (2021) Tissue-specific mRNA expression profile of ESR2 gene in goat. *Agric Biotechnol J* 12 (4), 167-181 (In Persian).
- Mohammadabadi M, Masoudzadeh SH, Khezri A, et al. (2021) Fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder increases Delta-Like Non-Canonical Notch Ligand 1 gene expression in testis, liver, and humeral muscle tissues of growing lambs. *Heliyon* 7 (12), e08542.
- Mohammadabadi M, Soflaei M (2020) Tissue-specific mRNA expression profile of BMP15 gene in goat. *Agric Biotechnol J* 12, 191-208 (In Persian).
- Mohammadabadi MR (2020) Expression of ESR1 gene in Raini Cashmere goat using Real Time PCR. *Agric Biotechnol J* 12 (1), 177-192 (In Persian).
- Mohammadabadi MR, Kord M, Nazari M (2018) Studying expression of leptin gene in different tissues of Kermani Sheep using Real Time PCR. *Agric Biotechnol J* 10, 111-122 (In Persian).
- Mutuku M, Yoshida S, Shimizu T, Ichihashi Y, Wakatake T, Takahashi A, Seo M, and Shirasu K (2015) The WRKY45-dependent signaling pathway is required for resistance against *Striga* parasitism. *Plant Physiol Preview* 114, 256-304.
- Nakayama A, Fukushima S, Goto S, et al. (2013) Genome-wide identification of WRKY45-regulated genes that mediate benzothiadiazole-induced defense responses in rice. *BMC Plant Biol* 13, e150.
- Pfaffl MW (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 29(9), 45-45.

- Porra RJ, Thompson WA, Kriedmann PE (1989) Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* 975, 384-394
- Riemann M, Haga K, Shimizu T, et al. (2013) Identification of rice Allene Oxide Cyclase mutants and the function of jasmonate for defence against *Magnaporthe oryzae*. *Plant J* 74, 226-238.
- Safaei SMH, Dadpasand M, Mohammadabadi M, et al. (2022) An *Origanum majorana* Leaf Diet Influences Myogenin Gene Expression, Performance, and Carcass Characteristics in Lambs. *Animals* 13 (1), e14.
- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2021) Correlation between insulin-like growth factor 1 gene expression and fennel (*Foeniculum vulgare*) seed powder consumption in muscle of sheep. *Anim Biotechnol* 33, 1-11.
- Shahsavari M, Mohammadabadi M, Khezri A, et al. (2022) Effect of Fennel (*Foeniculum Vulgare*) Seed Powder Consumption on Insulin-like Growth Factor 1 Gene Expression in the Liver Tissue of Growing Lambs. *Gene Express* 21(2), 21-26.
- Sharma N, Rahman M H, Strelkov S, et al. (2007) Proteome-level changes in two *Brassica napus* lines exhibiting differential responses to fungal pathogen *Alternaria brassicae*. *Plant Sci* 172, 95-110.
- Shimono M, Koga H, Akagi A, et al. (2012) Rice WRKY45 plays important roles in fungal and bacterial disease resistance. *Mol Plant Pathol J* 13(1), 83-94
- Shimono M, Sugano S, Nakayama A, et al. (2007) Rice WRKY45 plays a crucial role in benzothiadiazole-inducible blast resistance. *Plant Cell* 19, 2064-2076.
- Takatsuji H (2014) Development of disease-resistant rice using regulatory components of induced disease resistance. *Front Plant Sci* 5, e630.
- Takatsuji H, Hayashi N (2017) Broad-Spectrum blast resistance: harnessing a natural allele of a transcription factor in rice. *Mol Plant* 10, 1144-1146
- Uji Y, Kashihara K, Kiyama H, et al. (2019) Jasmonic acid-induced VQ-motif-containing protein OsVQ13 influences the OsWRKY45 signaling pathway and grain size by associating with OsMPK6 in rice. *Inter J Mol Sci* 20, e2917
- Wang P, Li C, Wang Y, et al. (2014) Identification of a geranylgeranyl reductase gene for chlorophyll synthesis in rice. *Springerplus* 3, e201
- Wani A A, and Anis M (2008) Gamma ray-and EMS-induced bold-seeded high-yielding mutants in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *TÜBİTAK J* 32, 161-166.

- Wei T, Ou B, Li J, et al. (2013) Transcriptional profiling of rice early response to Magnaporthe Oryzae identified oswrkys as important regulators in rice blast resistance. PLoS ONE 8(3), e59720.
- Xie X Z, Xue Y J, Zhou J J, et al. (2011) Phytochromes regulate SA and JA signaling pathways in rice and are required for developmentally controlled resistance to Magnaporthe grisea. Mol Plant 4, e688-696.
- Yamada S, Kano A, Tamaoki D, et al. (2012) Involvement of OsJAZ8 in jasmonate-induced resistance to bacterial blight in rice. Plant Cell Physiol 53, 2060-2072
- Zhang KL, Liu QS, Kang HX, et al. (2020) Herbivore-induced rice resistance against rice blast mediated by salicylic acid. Insect Sci 27(1), 49-57.
- Kazemi G, Navabpour S, Ramezanzpour SS (2010) Evaluation of catalase gene expression and morphological traits in two wheat cultivar under salt stress. Modern Genet J 1, 79-87 (In Persian).