



The effect of potassium phosphite as a defense stimulant in rice seedlings against *Pyricularia oryzae* and antioxidant enzymes activity

Elham Khalili¹ , Valiollah Babaeizad^{2✉} , Vahid Khosravi³ , Mohammad-Ali Tajik Ghanbari⁴ , Shahram Naimi⁵

1. Department of Plant Protection, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: e.khalili@sanru.ac.ir
2. Corresponding author, Department of Plant Protection, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: v.babaeizad@sanru.ac.ir
3. Department of Plant Protection Research, Rice Research Institute of Iran, Deputy of Mazandaran, Education and Extension Organization, Amol, Iran. E-mail: khosraviv@yahoo.com
4. Department of Plant Pathology, Faculty of Crop Sciences, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: m.tajick@sanru.ac.ir
5. Research Associate Professor, Biological Control Research Department, National Plant Pathology Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran. E-mail: shnaeimi@yahoo.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	Rice blast, caused by <i>Pyricularia oryzae</i> , is a major rice disease that reduces crop yield annually. One method of controlling this disease is the use of fungicides, which pose risks to humans and the environment. Therefore, environmentally friendly inducers of resistance, such as potassium phosphite, may reduce chemical pesticide use and enhance plant resistance through induced defenses. In this study, the effect of potassium phosphite as a defense stimulant on reducing rice blast disease and on the activity of catalase, peroxidase, and superoxide dismutase enzymes was evaluated using a factorial design in a completely randomized layout. Samples were collected from rice seedlings treated with potassium phosphite and mock-treated at 0, 48, 96, and 144 hours after inoculation. Results showed that potassium phosphite significantly reduced disease severity by 48%. Moreover, the activities of the defense-related enzymes in treated plants were higher than those in control plants at all time points after inoculation. The highest activities were observed for peroxidase (protein1-U = 62.277 mg) and superoxide dismutase (protein1-U = 17.246 mg) at 144 hours after inoculation, representing 1.38- and 1.30-fold increases, respectively, compared with the control. These findings indicate that pretreatment of rice with potassium phosphite can enhance seedling resistance by inducing defense-related enzyme activity and may be effective for disease management.
Article history: Received: 10 April 2025 Revised: 17 May 2025 Accepted: 31 May 2025 Published online: Spring and Summer 2025	
Keywords: <i>Rice blast</i> , <i>Induced resistance</i> , <i>Catalase</i> , <i>Peroxidase</i> , <i>Superoxide dismutase</i> .	

Cite this article: Khalili, E., Babaeizad, V., Khosravi, V., Tajik Ghanbari, M. A. & Naimi, Sh. (2025). The effect of potassium phosphite as a defense stimulant in rice seedlings against *Pyricularia oryzae* and antioxidant enzymes activity. *Iranian Journal of Plant Protection Science*, 56 (1), 295-309. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.391543.1007080>



© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.391543.1007080>

Extended Abstract

Introduction

Rice blast disease, caused by *Pyricularia oryzae*, threatens rice production globally and annually reduces crop yield. Chemical fungicides used to control the disease pose risks to human health and the environment. Environmentally friendly inducers can reduce reliance on chemical pesticides and mitigate associated environmental concerns. One such compound is phosphite, which has been used to manage plant diseases for decades. Potassium phosphite salt is absorbed systemically and rapidly within the plant and can induce

systemic defense responses against pathogen attack through priming. In the present study, the effect of potassium phosphite (KPhi) as a defense stimulant in the control of blast disease was investigated under greenhouse conditions.

Materials and methods

The experiment investigated the effect of potassium phosphite on disease severity in rice seedlings of the cv. Hashemi. A factorial experiment in a completely randomized design was used, with two factors:

- 1) Foliar treatment: potassium phosphite solution vs. sterile distilled water (control)
 - 2) Sampling time: four levels—before inoculation (zero time) and 48, 96, and 144 hours after inoculation
- Pathogen inoculation was performed two days after foliar spraying. Seedling samples were then collected for enzyme analysis. The activities of antioxidant enzymes were measured spectrophotometrically. Disease severity was assessed ten days after inoculation.

Research findings

The results showed a significant difference in rice disease severity between treated seedlings and control, with treatment reducing disease severity. In addition, the activities of antioxidant enzymes in treated plants were higher than in control plants at all time points. Catalase activity reached its peak at $4.69 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$ 48 hours after inoculation, while the lowest activity occurred in control plants on day six. Peroxidase and superoxide dismutase (SOD) activities showed a similar increasing pattern, with peak activities for peroxidase (GPX) at $62.277 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$ and for SOD at $246.17 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$ on day six after inoculation. These increases were 1.38- and 1.30-fold, respectively, compared with control.

Conclusion

Potassium phosphite treatment can enhance rice seedling resistance to rice blast by increasing the activity of defense-related enzymes. While these greenhouse results are promising, field trials are necessary to confirm the effectiveness of potassium phosphite for blast disease management under real-world conditions.

Author contribution

All authors contributed equally to the conceptualization of the article and writing of the original and subsequent drafts.

Data availability

The data will be made available on request.

Acknowledgement

This research was supported by the Plant Protection Department of University of Kurdistan. We thank university of Kurdistan for providing research facility and support.

Ethical consideration

The study was conducted on plant-pathogen fungus and beneficial entophytic fungi that are abundant in the environment and do not require ethical approval.

Conflict of interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.



اثر محرک دفاعی فسفیت پتاسیم بر گیاهچه‌های برنج علیه *Pyricularia oryzae* و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

الهام خلیلی^۱ | ولی اله بابایی زاد^۲ | وحید خسروی^۳ | محمدعلی تاجیک قنبری^۴ | شهرام نعیمی^۵

۱. گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: e.khalili@sanru.ac.ir
۲. نویسنده مسئول، گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: v.babaeizad@sanru.ac.ir
۳. بخش تحقیقات گیاهپزشکی، موسسه تحقیقات برنج کشور معاونت مازندران (آمل)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، آمل، ایران. رایانامه: khosraviv@yahoo.com
۴. گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. رایانامه: m.tajick@sanru.ac.ir
- ۵- بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران. رایانامه: shnaeimi@yahoo.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله:	بلاست، با عامل <i>Pyricularia oryzae</i> از بیماری‌های مهم برنج است که سالانه موجب کاهش عملکرد محصول می‌شود. یکی از شیوه‌های کنترل بیماری، استفاده از قارچکش‌ها است که خطراتی برای انسان و محیط زیست دارد. از این رو، استفاده از القاکنده‌های مقاومت سازگار با محیط زیست، نظیر فسفیت، می‌تواند مصرف سموم شیمیایی را کاهش دهد و از طریق مقاومت القایی باعث افزایش مقاومت در گیاه شود. در این پژوهش، اثر محرک دفاعی فسفیت پتاسیم بر کاهش بیماری بلاست و فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نمونه‌های برگ‌های گیاهچه‌های بیمار شده با فسفیت پتاسیم و شاهد در زمان‌های صفر، ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ ساعت پس از مایه‌زنی بیمارگر تهیه شدند. در این بررسی، فسفیت پتاسیم منجر به کاهش معنی‌دار شدت بیماری تا ۴۸ درصد گردید. همچنین، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد در همه بازه‌های زمانی بیشتر بود. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز ($4/69 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$)، ۴۸ ساعت پس از مایه‌زنی با بیمارگر و کمترین میزان فعالیت آن در گیاهان شاهد ($1/62 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) و در روز ششم مشاهده شد. بیشترین فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز ($62/277 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) و سوپراکسیددیسموتاز ($246/17 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$)، به ترتیب با ۱/۳۸ و ۱/۳۰ برابر افزایش نسبت به شاهد، در ۱۴۴ ساعت بعد از مایه‌زنی بوده است. یافته‌ها نشان می‌دهد که پیش تیمار فسفیت پتاسیم می‌تواند با القای فعالیت آنزیم‌های مرتبط با دفاع، موجب افزایش مقاومت گیاهچه‌های برنج شود و جهت مدیریت بیماری بلاست موثر به نظر می‌رسد.
مقاله پژوهشی	
تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۱/۲۱	
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۲/۲۷	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۰	
تاریخ انتشار: بهار و تابستان ۱۴۰۴	
کلیدواژه‌ها:	
بلاست برنج، پراکسیداز، کاتالاز، مقاومت القایی.	

استناد: خلیلی، الهام؛ بابایی زاد، ولی اله؛ خسروی، وحید؛ تاجیک قنبری، محمدعلی و نعیمی، شهرام (۱۴۰۴). اثر محرک دفاعی فسفیت پتاسیم بر گیاهچه‌های برنج علیه *Pyricularia oryzae* و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی. نشریه دانش گیاهپزشکی ایران، ۵۶ (۱)، ۳۰۹-۲۹۵. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.391543.1007080>



© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijpps.2025.391543.1007080>

مقدمه

برنج، یکی از مهمترین محصولات کشاورزی برای مصرف کنندگان در سراسر جهان است (Wang et al., 2023). این محصول پس از نیشکر و ذرت به عنوان سومین محصول کشاورزی جهان از نظر میزان تولید می‌باشد (FAO state, 2021). عملکرد گیاه برنج به طور مداوم توسط تنش‌های زیستی مختلف به چالش کشیده می‌شود. بلاست برنج که توسط *Pyricularia oryzae* ایجاد می‌شود، از مخرب‌ترین بیماری‌های برنج است که سالانه باعث کاهش شدید عملکرد می‌شود و تولید برنج را در سطح جهانی تهدید می‌کند (Younas et al., 2023).

قارچ *P. oryzae* یک بیمارگر همی‌بیوتروف است که سلول‌های گیاه میزبان را در مراحل اولیه از بین نمی‌برد بلکه با گسترش هیف‌های بیمارگر در سلول‌های اطراف محل نفوذ اولیه، باعث ایجاد نکروز می‌شود (Galhano & Talbot, 2011). قارچ عامل بلاست همچنین باعث ایجاد تغییرات در سازماندهی سلول‌های گیاهی، از جمله بیوترنز گسترده غشاء، تغییرات در پیکربندی اسکلت سلولی و اختلال در ارتباط سلول به سلول می‌شود (Yan et al., 2023). در حال حاضر، انواع مختلفی از قارچ‌کش‌ها ساخته شده‌اند که به تنهایی یا به صورت ترکیبی برای کنترل بیماری بلاست برنج مورد استفاده قرار می‌گیرند (Kongcharoen et al., 2020). با این حال، قارچ‌کش‌ها تهدید بزرگی برای سلامت انسان و محیط زیست هستند و به شدت میکروارگانسیم‌های مفید و جامعه قارچی در خاک را کاهش می‌دهند.

استفاده از القاکننده‌ها می‌تواند مصرف سموم شیمیایی را کاهش دهد و بنابراین نگرانی‌های زیست محیطی و اکولوژیکی مرتبط استفاده از آفت‌کش‌ها را برطرف می‌کند (Reglinski et al., 2023). در طول دهه‌های گذشته، القاگرهای زیستی و غیرزیستی ایمن متعددی برای دفاع گیاهی شناسایی شده است و در نتیجه مقاومت القایی (IR) را در برابر حملات بیمارگرهای بعدی تقویت می‌کنند (Bektas & Eulgem, 2015). استفاده از القاگر شیمیایی می‌تواند گزینه خوبی برای کنترل بلاست برنج باشد. یکی از این ترکیبات شیمیایی، فسفیت (Phi) است که از دهه ۱۹۷۰ برای مدیریت بیماری‌های ناشی از *Phytophthora* استفاده شده است (Achary et al., 2017). نمک فسفیت پتاسیم به صورت سیستمیک و به سرعت در گیاه جذب و به تمام قسمت‌های گیاه منتشر می‌شود. به‌طور کلی، به‌نظر می‌رسد که فسفیت پس از استفاده، اثرات ضدقارچی مستقیمی را در برابر عوامل بیماری‌زا به عنوان یک قارچ‌کش ایجاد می‌کند. علاوه بر این، استفاده از فسفیت پاسخ‌های دفاعی سیستمیک را در برابر حمله بیمارگر از طریق پرایمینگ القا می‌کند (Mohammadi et al., 2020; Silva et al., 2011). پاسخ‌های دفاعی شامل تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، تقویت دیواره سلولی، سنتز پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی (PR)، فعال شدن چندین آنزیم مرتبط با دفاع (Maksimov et al., 2014) و تولید و ترشح فیتوالکسین‌های ضد میکروبی می‌شوند (Li et al., 2020). گیاهان می‌توانند آنزیم‌های آنتی اکسیدانی مانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POD) و کاتالاز (CAT) و آنتی اکسیدان‌های مولکولی کوچک مانند گلوتاتیون را سنتز کنند تا استرس اکسیداتیو را کاهش دهند (Mansoor et al., 2022). القای مقاومت سیستمیک (ISR) با محلول پاشی نمک‌های فسفات به غلبه گروه‌های مختلف بیماری‌زا در محصولات مختلف از جمله برنج (Manandhar et al., 1998) قبلاً گزارش شده است. با این حال استفاده از فسفیت به‌عنوان یک قارچ‌کش برای مهار بیماری بلاست تاکنون به‌طور محدود مورد استفاده قرار گرفته است. بنابراین نظر به اهمیت بیماری بلاست و کاهش مصرف سموم در کنترل بیماری با توسعه روش‌های بهتر و سالم‌تر از جمله کاربرد القاگرها جهت برانگیختن مقاومت سیستمیک و فعال نمودن بیان ژن‌ها و آنزیم‌های درگیر در سیستم دفاعی گیاه برای مدیریت پایدار بیماری ضروری به‌نظر می‌رسد.

هدف از این پژوهش بررسی تاثیر فسفیت پتاسیم به عنوان یک ترکیب جدید در مهار عامل بیماری بلاست برنج و بررسی امکان القای آنزیم‌های مرتبط با مقاومت توسط آن در گیاه برنج در پاسخ به بیمارگر می‌باشد.

پیشینه پژوهش

در بررسی که محمدی و همکاران (Mohammadi et al., 2020) روی پیش تیمار گیاه سیب زمینی با استفاده از فسفیت پتاسیم انجام دادند نشان دادند که با افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و مواد غیر آنزیمی (مانند فنول‌ها، فلاونوئیدها و پرولین) تحمل گیاه نسبت به پاتوژن *Phytophthora infestans* افزایش یافت. دا کروز و همکاران (da Cruz et al., 2011) پتانسیل قارچی پیشگیرانه پتاسیم فسفیت را در برابر پاتوژن بلاست گندم گزارش کرد. در گزارش دیگری، پاگانی و همکاران (Pagani et al., 2014) کاربرد مواد معدنی سیلیکون، پتاسیم فسفیت و سایر مواد شیمیایی مصنوعی را در آزمایشات مزرعه‌ای در کاهش بلاست گندم و افزایش عملکرد موثر دانستند. هوانگ و همکاران (Huang et al., 2020) گزارش کردند که پرایمینگ گیاهچه‌های برنج با فسفیت پتاسیم موجب تغییرات رونویسی در بیان ژن‌ها، القای ترکیبات بیوشیمیایی، افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی و همچنین افزایش محتوای فیتوالکسین‌ها و فل‌ها شده است که همگی در کنترل بیماری ناشی از *P. oryzae* مؤثر بودند. علاوه بر این، فسفیت پتاسیم می‌تواند تولید و فعالیت آنزیم‌های دفاعی و آنتی اکسیدانی را افزایش دهد و فعالیت آنزیم‌های کیتیناز، 1-β، 3-گلکاناز را القا کند.

مهتا و همکاران (Mehta et al., 2022) فعالیت ضدقارچی و محرک دفاعی فسفیت پتاسیم را در برابر *P. oryzae* در برنج به صورت پیشگیرانه و درمانی مورد ارزیابی قرار دادند. استفاده از فسفیت پتاسیم موجب افزایش سطح رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل، کاروتنوئیدها) همراه با افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی فنیل آلانین آمونیاک لیاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و افزایش القا برخی ژن‌های مرتبط با دفاع (OsPDF2.2 و OsCEBiP) در برگ برنج گردید. علاوه بر این کاربرد پیشگیرانه آن بهتر از کاربرد درمانی بود. در پژوهشی که توسط گایکواد و بالگاد (Gaikwad & Balgude, 2016) انجام شد عوامل زیستی و عوامل غیرزیستی مختلف از جمله پتاسیم هیدروژن فسفات، موجب افزایش مقاومت در برابر تهاجم *P. oryzae* در برنج از طریق القای مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) و افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با دفاع بیان شدند. کلبوش (Kalboush, 2019) نشان داد که فعالیت آنزیمی فنیل آلانین آمونیاک لیاز، کیتیناز و آنزیم آنتی اکسیدانی یعنی پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز با فرآیند القای مقاومت سیستمیک در ژنوتیپ‌های برنج پس از مایه زنی با قارچ عامل بلاست افزایش یافت.

روش شناسی پژوهش

کشت گیاه

بذر برنج رقم هاشمی به عنوان رقم حساس به بیماری بلاست از موسسه تحقیقات برنج کشور معاونت آمل تهیه گردید. به منظور حذف آلودگی‌های سطحی، بذرها با محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰ درصد ضدعفونی و روی کاغذ صافی مرطوب درون تشتک پتری در شرایط تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سلسیوس جهت جوانه‌زنی قرار گرفتند. تعداد هشت تا ده بذر جوانه‌زده برنج در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۲۵ و ارتفاع ۲۲ سانتی‌متر حاوی خاک سیلتی-رسی سترون با pH= ۷/۴ و ۱/۵ درصد ماده‌ای آلی (۰/۰۸ درصد نیتروژن، ۴/۹۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم فسفر و ۱۳۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم پتاسیم) منتقل شدند. سپس گلدان‌ها در گلخانه تحت دمای ۲۱-۳۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی حدود ۹۰ درصد نگهداری شدند.

تهیه فسفیت پتاسیم و محلول پاشی گیاه

برای تهیه فسفیت پتاسیم ابتدا ۰/۵ گرم اسید فسفرو (H_2PO_3) و ۰/۵ گرم هیدروکسید پتاسیم (KOH) در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردی، پس از آن pH محلول با استفاده از KOH برابر با ۶/۵ تنظیم گردید. آنگاه، از فسفیت پتاسیم رقیق شده

(یک گرم در یک لیتر آب) برای محلولپاشی گیاهچه‌های برنج در مرحله پنجه زنی در گلخانه انجام و در گیاهان شاهد از آب مقطر سترون استفاده شد (Mohammadi et al., 2019).

تهیه و تکثیر قارچ عامل بیماری بلاست برنج و آلوده سازی گیاه

جدایه ۲۷۴ قارچ *P. oryzae* از بخش تحقیقات گیاهپزشکی موسسه تحقیقات برنج کشور معاونت آمل تهیه گردید و برای آلوده‌سازی گیاه برنج استفاده شد. برای رشد اولیه قارچ، از محیط PDA و برای تولید اسپور، از محیط کشت آلو-آگار (Prune-Agar) شامل سه عدد آلو، یک گرم عصاره مخمر، پنج گرم لاکتوز و ۲۰ گرم آگار در یک لیتر آب استفاده گردید (Hayashi et al., 2009). سوسپانسیون اسپور قارچ با غلظت 5×10^5 اسپور در هر میلی لیتر با استفاده از لام هماسیتومتر تهیه و همراه با ۰/۰۵ درصد توئین ۲۰، جهت مایه‌زنی مورد استفاده قرار گرفت. گیاهچه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در شرایط رطوبت نسبی بالا (حدود ۹۰ درصد) قرار داده شدند. مایه‌زنی گیاهان با بیمارگر دو روز بعد از محلولپاشی با فسفیت پتاسیم انجام شد.

انتخاب نمونه در زمان‌های مختلف

جهت ارزیابی آنزیم‌های دفاعی، نمونه‌برداری از برگ‌های بالایی (اول و دوم) گیاهان تیمار شده با فسفیت پتاسیم و شاهد به ترتیب در فاصله‌های زمانی صفر (قبل از مایه زنی بیمارگر)، ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ ساعت بعد از مایه زنی بیمارگر انجام گرفت. نمونه‌های برگ به سرعت در نیتروژن مایع قرار گرفتند و تا زمان انجام آزمایش در فریزر با دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

ارزیابی شدت بیماری

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

استخراج عصاره گیاه

نمونه‌های برگ با استفاده از هاون چینی کاملاً سرد شده و نیتروژن مایع با ساییدن پودر شدند. عصاره آنزیمی با استفاده از ۱/۸ میلی لیتر بافر استخراج (۵۰ میلی مولار محلول Tris-HCl با pH 8، Triton 1 X، ۰.۱٪ مرکاپتواتانول) تهیه شد که به ۲۰۰ میلی گرم از بافت پودری برگ اضافه شد (Rodriguez-Rosales et al., 1999). محلول به مدت ۱۵ دقیقه در rpm ۱۵۰۰۰ در دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. مایع رویی برای تخمین محتوای پروتئین کل استخراج شده به روش بردفورد (Bradford, 1976) و سنجش فعالیت آنزیم‌های مختلف استفاده شد. اساس روش بردفورد بر تشکیل ترکیب بین رنگ آبی کماسی بلو و پروتئین‌های موجود در محلول استوار است. سنجش پروتئین به روش رنگ سنجی و در طول موج ۵۹۵ نانومتر انجام شد و مبنای گزارش غلظت پروتئین قرار گرفت.

سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش بوچمپ و فریدوویچ اندازه‌گیری شد (Beauchamp & Fridovich, 1971). مخلوط واکنش (پنج میلی‌لیتر) حاوی بافر فسفات پتاسیم (۵۰ میلی‌مولار)، EDTA (۰/۱ میکرومولار)، متیونین (۰/۰۱۳ میلی‌مولار)، نیتروبلو تترازولیوم (NBT) (۷۵ میکرو مولار)، ریوفلاوین (دو میکرومولار)، و ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئین در معرض نور نسبتاً شدید ($300 \text{ lmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) به مدت یک دقیقه قرار گرفت. یک واحد آنزیمی در این آزمایش معادل ۵۰ درصد کاهش فتوشیمیایی NBT در طول موج ۵۶۰ نانومتر در مقایسه با شاهد برآورد شد. نمونه کنترل که شامل موارد ذکر شده بالا به غیر عصاره آنزیمی بود تهیه شد. از محلول نور ندیده به عنوان بلانک برای صفر کردن دستگاه استفاده شد. همچنین محلول تحت نور و فاقد آنزیم به عنوان شاهد استفاده شد و از جذب نمونه‌ها کسر شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش ابی (Aebi, 1984) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش (سه میلی‌لیتر) حاوی بافر فسفات سدیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH 7)، H_2O_2 ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی بود. کاهش جذب H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه به عنوان فعالیت آنزیم CAT در نظر گرفته شد و واحد آنزیمی از ضریب خاموشی ($\epsilon = 39.7$ Mol-1cm-1) برآورد شد و معادله $A = \epsilon bc$ بود. محلول جذب زمینه (blank) شامل تمام موارد استفاده شده بجز عصاره آنزیمی استخراج شده بود.

سنجش فعالیت پراکسیداز (POD)

سنجش پراکسیداز گایاکول با مخلوطی از بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH 7)، ۸/۲۶ میلی‌مولار گایاکول، ۸/۸ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی محاسبه شد (Putter, 1974). واکنش با اضافه کردن عصاره آنزیمی شروع و جذب در طول دو دقیقه در ۴۷۰ نانومتر تغییر می‌کند. واحد آنزیمی از ضریب خاموشی ($\epsilon = 25.5$ mMol-1cm-1) تعریف شد، و رابطه $A = \epsilon bc$ بود.

محاسبات آماری

تجزیه واریانس داده‌ها برای شدت بیماری در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و برای فعالیت آنزیم‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام و در آن فاکتورها شامل محلول‌پاشی در دو سطح (محلول‌پاشی فسفیت پتاسیم و محلول‌پاشی آب مقطر سترون به عنوان تیمار شاهد) و زمان نمونه‌برداری در چهار سطح (قبل از آلودگی گیاهان با قارچ عامل بیماری به عنوان زمان صفر و شاهد، و ۴۸، ۹۶ و ۱۴۴ ساعت پس از مایه زنی بیمارگر) بودند. تمامی داده‌ها ابتدا مورد تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) قرار گرفتند و سپس مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال یک درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل توسط نرم‌افزار آماری SAS 9.1 انجام و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 رسم شدند.

یافته‌های پژوهشی**تأثیر فسفیت پتاسیم روی شدت بیماری بلاست در شرایط گلخانه**

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این آزمایش برای شدت بیماری بلاست اندازه‌گیری شده در گلخانه در جدول ۱ ارائه شده است. تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این آزمون نشان داد که در سطح اطمینان ۱٪ شدت بیماری در تیمار فسفیت پتاسیم با شاهد (آب مقطر استریل) اختلاف معنی‌داری دارد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، همانطور که در جدول ۲ دیده می‌شود بیانگر تأثیر فسفیت پتاسیم در کاهش بیماری بلاست برگی در مقایسه با شاهد بوده و موجب حفاظت گیاه در برابر بیماری شده است (شکل ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای فسفیت پتاسیم و شاهد بر شدت بیماری گیاهچه‌های برنج ده روز پس از مایه‌زنی با قارچ *Pyricularia oryzae*، عامل بلاست برنج در شرایط گلخانه.

• منابع تغییرات	• درجه آزادی	• میانگین مربعات (شدت بیماری)
تیمار	۱	۱/۶۲۲۴.۰۰
خطا	۴	۰/۰۵۹۱۳
ضریب تغییرات		۹/۰۲۸۷۲

***: معنی داری در سطح یک درصد

جدول ۲. مقایسه میانگین شدت بیماری بلاست روی گیاهچه‌های برنج در تیمارهای فسفیت پتاسیم و شاهد (آپاشی) ده روز پس از مایه‌زنی با *Pyricularia oryzae* در گلخانه.

تیمار	شدت بیماری
فسفیت پتاسیم	^b ۲/۵۲
شاهد	^a ۳/۲۱

* - اعدادی که با حروف مشابه نشان داده شده

اند، در سطح ۱٪ اختلاف معنی داری ندارند.



شکل ۱. نمونه لکه‌های ایجاد شده روی برگ‌های گیاهچه برنج ده روز پس از مایه‌زنی با قارچ عامل بلاست در تیمارهای فسفیت پتاسیم (سمت راست) و شاهد (سمت چپ) در شرایط گلخانه.

تأثیر فسفیت پتاسیم روی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه برنج در شرایط گلخانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از این آزمایش برای فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس میزان فعالیت آنزیم‌های مورد مطالعه نشان داد که در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی داری بین محلول‌پاشی فسفیت پتاسیم و شاهد آب مقطر برای آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پروکسیداز مشاهده شد. از نظر زمان نمونه‌برداری و نیز، اثر متقابل محلول‌پاشی × زمان نمونه‌برداری بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز دارای اختلاف معنی دار بود. نتایج مقایسه میانگین بین تیمار فسفیت پتاسیم و شاهد در میزان فعالیت آنزیم‌ها در جدول ۴ ارائه شده است که حاکی از اثر فسفیت پتاسیم در افزایش میزان تولید آنزیم‌های آنتی اکسیدانی دارد.

جدول ۳. تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی اندازه‌گیری شده در آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی.

میانگین مربعات			درجه آزادی	منابع تغییرات
SOD	POD	CAT		
۶۱۳۶/۰۰۲۶۰**	۱۰۱۰/۸۸۲۴۰**	۱۸/۴۶۲۶**	۱	تیمار
۱۹۶۳۲/۵۳۹۴۴**	۹۹۵۴۸**/۱۵۸۳	۳/۹۲۴۸**	۳	زمان
۶۴۴/۱۴۱۴۰**	۱۲۶/۴۴۷۸۴**	۰/۹۶۸۵**	۳	تیمار×زمان
۱۳۰/۸۶۰۷	۰۰۳۵۹/۹	۰۲۳۱/۰	۱۴	خطای آزمایش
۵/۱۶۹۳	۹/۲۰۶۳	۵/۱۰۳۹		ضریب تغییرات

**:: معنی داری در سطح یک درصد

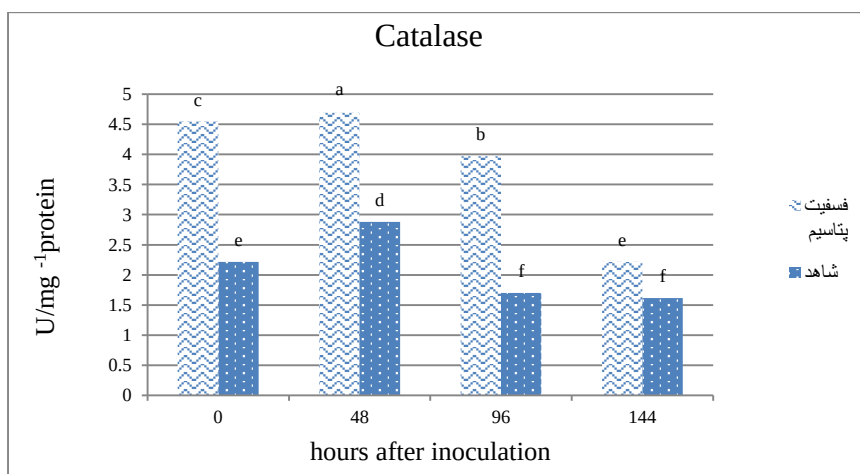
جدول ۴. مقایسه میانگین بین تیمارها در میزان فعالیت آنزیم‌های CAT, SOD و POD.

تیمارها	آنزیم‌ها		
	CAT	SOD	POD
فسفیت پتاسیم	^a ۸۶/۳	^a ۳۱/۱۷۵	^a ۱۳۳/۴۲
شاهد	^b ۱۰۲/۲	^b ۳۳/۱۴۳	^b ۱۵۳/۲۹

- اعدادی که با حروف مشابه نشان داده شده اند، در سطح ۱٪ اختلاف معنی داری ندارند.

آنزیم کاتالاز (CAT)

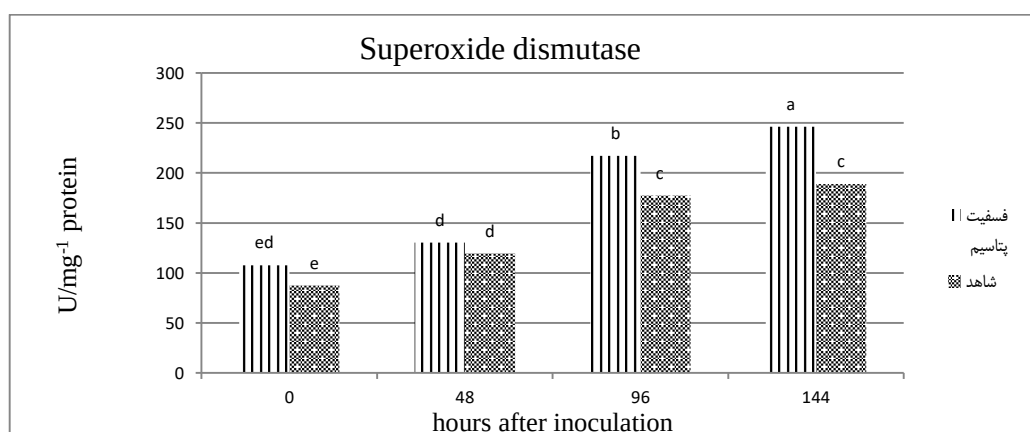
تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که اثر تیمار فسفیت پتاسیم و تاثیر زمان در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان برنج مایه زنی شده با قارچ *P. oryzae* در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود. بر اساس مقایسه میانگین بین تیمارها، که در شکل ۲ آورده شده، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز ($4/69 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) ۴۸ ساعت پس از مایه زنی با بیمارگر و کمترین میزان فعالیت آن در گیاهان شاهد ($1/62 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) و در روز ششم مشاهده شد. فعالیت آنزیم در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد در تمام ساعات‌های بعد از مایه زنی بیشتر بود.



شکل ۲. مقایسه میزان تغییرات آنزیم کاتالاز در گیاهان برنج تیمار شده با فسفیت پتاسیم و شاهد در زمان‌های مختلف پس از مایه زنی با قارچ *P. oryzae* (دانکن ۱٪ $p <$).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

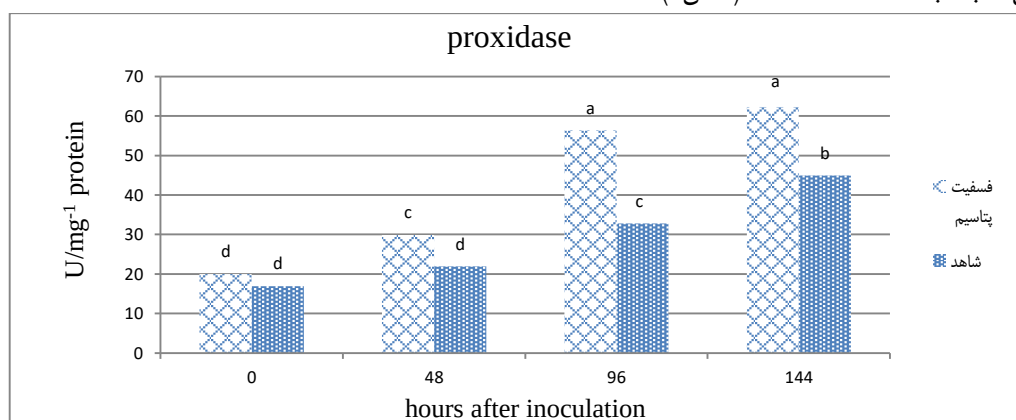
با احتمال ۹۹/۹ درصد بین میزان فعالیت آنزیم SOD در تیمار فسفیت پتاسیم، شاهد و در زمان‌های مختلف بعد از مایه زنی اختلاف معنی داری وجود داشت. براساس مقایسه میانگین که در شکل ۳ نشان داده شده، تحت تاثیر تیمار فسفیت پتاسیم، میزان فعالیت آنزیم SOD در تمام ساعات‌های بعد از مایه زنی در مقایسه با شاهد افزایش یافت، بطوریکه بیشترین فعالیت آنزیم ($246/17 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) مربوط به ساعت ۱۴۴ بعد از مایه زنی بیمارگر با ۱/۳ برابر افزایش نسبت به شاهد بوده است.



شکل ۳. مقایسه میزان تغییرات آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهان برنج تیمار شده با فسفیت پتاسیم و شاهد در زمان‌های مختلف پس از مایه زنی با قارچ *P. oryzae* (دانکن $p < 1\%$).

آنزیم پراکسیداز (POD)

نتایج تجزیه واریانس آنزیم پراکسیداز نشان داد، اثر فسفیت پتاسیم و زمان بر میزان فعالیت آنزیم در گیاه برنج پس از آلوده شدن به قارچ بیمارگر، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. بر اساس مقایسه میانگین در گیاهان تیمار شده با فسفیت پتاسیم و گیاهان شاهد فعالیت آنزیم روند افزایشی داشته است و تغییر فعالیت آنزیم پراکسیداز مشابه آنزیم SOD بوده است. به گونه‌ای که در روز ششم بعد از مایه زنی بیمارگر، بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز ($62/277 \text{ U mg}^{-1} \text{ protein}$) با $1/38$ برابر افزایش نسبت به شاهد مشاهده شد (شکل ۴).



شکل ۴. مقایسه میزان تغییرات آنزیم پراکسیداز در گیاهان برنج تیمار شده با فسفیت پتاسیم و شاهد در زمان‌های مختلف پس از مایه زنی با قارچ *P. oryzae* (دانکن $p < 1\%$).

بحث

در این مطالعه، نقش فسفیت پتاسیم به عنوان یک محرک برای القای مقاومت و کاهش بیماری بلاست در آزمایش‌های گلخانه‌ای و آنزیمی تأیید شد. فسفیت به عنوان یک ترکیب پایدار زیست‌محیطی برای سیستم‌های زراعی در نظر گرفته می‌شود زیرا توسط موجودات یوکاریوتی متابولیزه نمی‌شود. بنابراین، تأثیر منفی بر تنوع زیستی و محیط‌زیست ایجاد نمی‌کند (Gómez-Merino & Trejo-Téllez, 2015; Manna et al., 2016). فسفیت پتاسیم بیماری بلاست برنج را در گیاهان تیمار شده در مقایسه با شاهد کاهش داد. نتایج این تحقیق با اثرات ضدقارچی و محرک دفاعی فسفیت پتاسیم در برابر *P. oryzae*

(Mehta et al., 2022)، لکه قهوه‌ای برنج (Nascimento et al., 2016)، بادزدگی سیب زمینی (Feldman et al., 2020) و زنگ قهوه ای (Pereira-Silva et al., 2023) مطابقت دارد. هان و همکاران (Han et al., 2021) گزارش کرده‌اند که به دنبال کاربرد فسفیت، عملکرد گیاه سیب زمینی و در مجموع مسیرهای متعدد متابولیسم اولیه و ثانویه، مانند بیوستنز فلاونوئیدها، متابولیسم نشاسته و ساکارز، و بیوستنز فنیل پروپانویید بهبود یافت. آنها بیان داشتند که فسفیت به‌عنوان یک محرک زیستی از طریق پرایم کردن گیاهان عمل می‌کند، یعنی با ایجاد تغییرات در بیان ژن و متابولیت‌ها به گیاهان اجازه می‌دهد عملکرد بهتری داشته باشند.

مهتا و همکاران (Mehta et al., 2022) اثر ضدقارچی و محرک دفاعی فسفیت پتاسیم را در برابر *P. oryzae* به افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی (PAL، SOD و APX) همراه با افزایش سطح رنگدانه‌های فتوسنتزی و القا ژن‌های مرتبط با دفاع در برگ برنج نسبت دادند. بررسی‌های محققین نشان می‌دهد که فسفیت برای مکان‌های اتصال فسفات در آنزیم‌های فسفریله‌کننده رقابت می‌کند و در نتیجه موجب اختلال در متابولیسم و مهار رشد بیمارگر می‌شود. بیان مولکول‌های دفاعی گیاه مانند فیتوالکسین‌ها و پروتئین‌های مرتبط با بیماری‌زایی مسیر را برای مسدود کردن مستقیم بیمارگر تحریک می‌کند. این مولکول‌ها سیگنال‌های هشدار سیستمیک را به سلول‌های مجاور غیر آلوده ارسال می‌کنند و برخی مکانیسم‌های پاسخ دفاعی را از طریق رسوب پلی‌ساکاریدها در گیاه میزبان القا می‌کنند (Pereira-Silva et al., 2023). همچنین میزان فعالیت آنزیم کل در زمان‌های مختلف پس از مایه زنی بیمارگر و در تیمار فسفیت پتاسیم نیز تفاوت معنی‌داری با شاهد نشان داده است و فسفیت پتاسیم توانست منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی گردد. مشخص شده است که قارچ *P. oryzae* در طول آلودگی، باعث ایجاد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در سلول می‌شود (Aver'yanov, 2015). گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، در سیتوزول از طریق آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک متابولیسم را مختل می‌کنند. اعتقاد بر این است که این متابولیت‌های واکنش‌دهنده، تعادل پرواکسیدانی/آنتی‌اکسیدانی را تغییر می‌دهند و فعالیت تش‌زدایی را فعال می‌کنند تا از ایجاد انفجار اکسیداتیو جلوگیری کنند (Hao et al., 2012). این افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سبب کاهش تخریب غشا سلولی ناشی از اثرات منفی رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده به بقای گیاهچه کمک می‌نماید (Pullen & Saeed, 2012).

در این پژوهش، تیمار برگی فسفیت پتاسیم سطح کاتالاز را در برنج در برابر *P. oryzae* افزایش داد. اخیراً افزایش فعالیت کاتالاز با واسطه کاربرد فسفیت و متعاقب آن کاهش بیماری در برنج (Mehta et al., 2022; Esfahani et al., 2023) و محصولات متنوع (Mohammadi et al., 2020; Dallagnol et al., 2023) گزارش شده است. کاتالاز بالاترین و سریع‌ترین پتانسیل از بین بردن پراکسید هیدروژن را در بین آنزیم‌ها دارا است و با همکاری پراکسیداز و دیگر آنزیم‌ها، پراکسید هیدروژن تولید شده در شرایط تنش را از بین می‌برند و نقش مهمی در کاهش اثرات تخریبی ROS، محافظت از غشاها و پروتئین‌ها در برابر اکسیداسیون ایفا می‌کنند (Foyer et al., 1994; Blokhina & Fagerstedt, 2010).

در این بررسی اثر فسفیت پتاسیم و زمان بر میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در گیاه برنج پس از آلوده شدن به قارچ بیمارگر روند افزایشی داشتند. کوک (Kuč, 2001) بیان داشت که آنزیم آنتی‌اکسیدانی POD برای القای مقاومت سیستمیک ضروری است و می‌تواند به عنوان نشانگر زیستی مقاومت القایی در گیاهان استفاده شود. در مطالعات لوباتو و همکاران (Lobato et al., 2011)، فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان سیب زمینی تیمار شده با فسفیت پتاسیم پس از آلودگی یا زخم تغییر می‌کند. پراکسیدازها از گروه آنزیم‌های اکسیدوردوکتاز هستند که بطور گسترده در گیاهان فعالیت دارند و نقش‌های متعددی از جمله دخالت در بیوستنز لیگنین، متابولیسم اکسین، پلیمریزاسیون گلیکوپروتئین‌های غنی از هیدروکسی پرولین، رشد سلول، ایجاد اتصالات عرضی دیواره سلول، بهبود زخم و مقاومت در برابر عوامل بیماری‌زا و بخصوص پاسخ به

تنش‌های محیطی را دارند. برای پیگیری مسیر مقابله سلول با عوامل تنش‌زا و رویارویی با موقعیت‌هایی مثل استرس اکسیداتیو گزینه خوبی به شمار می‌رود (Dixon et al., 1998; Khavari-Nejad, 2019).

اخیراً، لی و همکاران (Li et al., 2019) مشاهده کردند که افزایش سطوح SOD در برنج برای تنظیم ایمنی در برابر *P. oryzae* مرتبط است. فعالیت SOD در گیاهچه برنج آلوده به بلاستین افزایش می‌یابد، همان مشاهدات قبلاً توسط هاو و همکاران (Hao et al., 2012) در خوشه برنج تحت تأثیر قارچ عامل بیماری بلاست گزارش شده بود. جالب توجه است که پاشاندن پیشگیرانه فسفیت باعث افزایش SOD در گیاهان برنج می‌شود که ممکن است ایمنی پایه را برای محافظت از گیاهان در برابر آلودگی بلاست افزایش دهد. به نظر می‌رسد SOD اولین آنزیمی است که در خط دفاعی در خصوص حذف ROS عمل می‌کند و رادیکال‌های سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند (Rossatto et al., 2017). سپس پراکسید هیدروژن توسط آنزیم‌های POD و CAT به H_2O و O_2 یا توسط گلوکاتایون به H_2O تبدیل می‌شود (Mansoor et al., 2022).

در مجموع، فرض بر این است که فسفیت از گیاهان زراعی به طور پیشگیرانه با فعال سازی دفاع سیستمیک محافظت می‌کند (Felipini et al., 2016). با در نظر گرفتن تمام نتایج، فسفیت پتاسیم سطوح آنزیم‌های آنتی اکسیدانی را تغییر داد تا میزان بروز و شدت بلاست در گیاه برنج را کاهش دهد. از سوی دیگر با توجه به افزایش آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در تیمار تنش بیمارگر بدون اعمال فسفیت به نظر می‌رسد افزایش فعالیت این آنزیم‌ها از سازوکارهای تحمل به تنش قارچی است. از این رو، احتمالاً سیستم‌های دفاعی گیاهی برای محدود کردن رشد و نمو *P. oryzae* در همراهی با فسفیت عمل می‌کند.

نتیجه گیری و پیشنهادها

مسیرهای دفاعی گیاه از مسیرهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برای افزایش مقاومت در برابر تهاجم بیمارگرها استفاده می‌کنند. نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد تیمار گیاهچه‌های برنج با فسفیت پتاسیم، از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی می‌تواند مقاومت را در برابر قارچ *P. oryzae* عامل بیماری بلاست برنج بهبود بخشد. گیاهچه برنج بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز را در ۴۸ ساعت پس از مایه زنی با قارچ نشان داد و فعالیت آنزیم پراکسیداز مشابه سوپراکسید دیسموتاز با افزایش زمان افزایش یافت. علاوه بر این، نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد فسفیت پتاسیم به عنوان یک القاکنده اولیه، پاسخ‌های دفاعی گیاهچه برنج را تقویت می‌کند. براساس نتایج بدست آمده در این پژوهش پیشنهاد می‌شود که به منظور بهره برداری از پتانسیل کنترل فسفیت پتاسیم، مطالعات بیشتر در مورد روش‌های کاربرد آنها همراه با آزمایش‌های مزرعه‌ای صورت گیرد. همچنین با تهیه فرمولاسیون مناسب محصول می‌توان اثرات آن را مورد ارزیابی قرار داد. از طرفی دیگر به مطالعه فعالیت آنزیم‌های این تحقیق در بازه‌های زمانی کوتاه‌تر نیز پرداخته شود. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان امیدوارتر بود که پس از اجرای پژوهش‌های تکمیلی آتی، این القاگرها جایگزین سموم خطرناک شیمیایی برای کنترل بلاست برنج گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، موسسه تحقیقات برنج کشور معاونت آمل و پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان تشکر و قدردانی می‌گردد.

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://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/pbi.12803>
- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods In Enzymology*, 105, 121–126. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(84\)05016-3](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(84)05016-3)
- Aver'yanov, A. A., Pasechnik, T. D., Lapikova, V. P., Romanova, T. & Baker, S. C. J. (2015). Systemic reduction of rice blast by inhibitors of antioxidant enzymes. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62(5), 586-594, <https://doi.org/10.1134/S1021443715050052>
- Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1), 276–287, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(71\)90370-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8)
- Bektas, Y. & Eulgem, T. (2015). Synthetic plant defense elicitors. *Frontiers in Plant Science*, 5(804), 1-17, <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00804>
- Blokhina, O. & Fagerstedt, K. V. (2010). Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation. *Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 48(5), 359-373, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.01.007>
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254, [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- 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>
- Dallagnol, L. J., De Oliveira, T. S., Simmi, F. Z., Farias, R. S., Peres, L. E., Pascholati, S. F. & Camargo, L. E. A. (2023). The contributions of potassium phosphite and hormonal pathways to the control of *Phytophthora infestans* in tomato cv. Micro-Tom. *Plant Pathology*, 72(3), 468-475, <https://doi.org/10.1111/ppa.13669>
- Dixon, D. P., Cummins, L., Cole, D. J. & Edwards, R. (1998). Glutathione-mediated detoxification systems in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 1(3), 258-266, [https://doi.org/10.1016/s1369-5266\(98\)80114-3](https://doi.org/10.1016/s1369-5266(98)80114-3)
- Esfahani, L., Babaeizad, V., Rahimian, H. & Dehestani, A. (2023). Investigation of changes in antioxidant enzyme activities in rice plants treated with various abiotic inducers against the bacterial blight agent *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 11(1), 41-53, <https://doi.org/10.22058/JPMB.2024.2010427.1284>
- FAO. (2021). FAOSTAT agriculture. Food and Agriculture Organization of United Nations. Retrieved May 10, 2021, from <http://fao.org/crop/statistics>.
- Feldman, M. L., Guzzo, M. C., Machinandiarena, M. F., Rey-Burusco, M. F. Beligni, Di Rienzo, M. V. J., Castellote, M. A., Daleo, G. R. & Andreu, A. B. (2020). New insights into the molecular basis of induced resistance triggered by potassium phosphite in potato. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 109(1), 101452-101461, <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2019.101452>
- Felipini, R.B., Boneti, J.I., Katsurayama, Y., Neto, A.C.R., Veleirinho, B., Maraschin, M., & Di Piero, R. M. (2016). Apple scab control and activation of plant defence responses using potassium phosphite and chitosan. *European Journal of Plant Pathology*, 145(4), 929–939, <https://doi.org/10.1007/s10658-016-0881-2>
- Foyer, C. H, Lelandais, M. & Kunert, K. J. (1994). Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 92(4), 696 – 717, <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1994.tb03042.x>
- 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.
- Galhano, R. & Talbot, N. J. (2011). The biology of blast: understanding how *Magnaporthe oryzae*

- invades rice plants. *Fungal Biology Reviews*, 25(1), 61–67, <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2011.01.006>
- Han, X., Xi, Y., Zhang, Z., Mohammadi, M. A., Joshi, J., Borza, T. & Wang-Pruski, G. (2021). Effects of phosphite as a plant biostimulant on metabolism and stress response for better plant performance in *Solanum tuberosum*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 210(12), <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111873>.
- 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*, 57(8), 222–230, <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.05.009>
- Huang, Y., Cai, S., Zhang, G., and S. Ruan. 2020. Transcriptome-Based Analysis of Phosphite-Induced Resistance Against Pathogens in Rice. *Plants (Basel, Switzerland)*, 9(10), 1334, <https://doi.org/10.3390/plants9101334>
- IRRI. (2013). Standard evaluation system for rice. International Rice Research Institute, P.O. Box 933, 1099 Manila, Philippines.
- Kalboush Z. A. (2019). Resistance of rice genotypes to the blast fungus and the associated biochemical changes. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 97(1), 39-55, <https://doi.org/10.21608/ejar.2019.68552>
- Khavari-Nejad, S. (2019). A review on plant peroxidases. *Nova Biologica Reperta*, 5(4), 428-437, <https://doi.org/10.29252/nbr.5.4.428> (In Persian).
- Kongcharoen, N., Kaewsalong, N. & Dethoup, T. (2020). Efficacy of fungicides in controlling rice blast and dirty panicle diseases in Thailand. *Scientific Reports*, 10(1), 16233, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73222-w>
- Kuč, J. (2001). Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application. *European Journal of Plant Pathology*, 107(1), 7–12, <https://doi.org/10.1023/A:1008718824105>
- Li, P., Lu, Y. J., Chen, H. & Day, B. (2020). the lifecycle of the plant immune system. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 39(1), 72-100, <https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1757829>
- Li, Y., Cao, X. L., Zhu, Y., Yang, X. M., Zhang, K. N., Xiaom, Z. Y., Wang, H., Zhao, J. H., Zhang, L. L., Li, G. B., Zheng, Y. P., Fan, J., Wang, J., Chen, X. Q., Wu, X. J., Zhao, J. Q., Dong, O. X., Chen, X. W., Chern, M. & Wang, W. M. (2019). Osa-miR398b boosts H2O2 production and rice blast disease-resistance via multiple superoxide dismutases. *New Phytologist*, 222(3), 1507-1522, <https://doi.org/10.1111/nph.15678>
- Lobato, M. C., Machinandiarena, M. F., Tambascio, C., Dosio, G. A., Caldiz, D. O., Daleo, G. R. & Olivieri, F. P. (2011). Effect of foliar applications of phosphite on post-harvest potato tubers. *European Journal of Plant Pathology*, 130(2), 155-163, <https://doi.org/10.1007/s10658-011-9741-2>
- Manandhar, H. K., Lyngs, J. H. J., Mathur, S. B. & Petersen, V. S. (1998). Resistance to rice blast induced by ferric chloride, di-potassium hydrogen phosphate and salicylic acid. *Crop Protection*, 17(4), 323-329, [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(98\)00020-9](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(98)00020-9)
- Mansoor, S., Ali Wani, O., Lone, J. K., Manhas, S., Kour, N., Alam, P., Ahmad, A. & Ahmad, P. (2022). Reactive oxygen species in plants: from source to sink. *Antioxidants*, 11(2), 225, <https://doi.org/10.3390/antiox11020225>
- Mehta, S., Kumar, A., Achary, V. M. M., Ganesan, P., Patel, A., Singh, A., Rathi, N., Das, T. K., Lal, Sh. 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>
- Mohammadi, M. A., Han, X., Zhang, Z., Xi, Y., Boorboori, M. & Wang-Pruski, G. (2020). Phosphite application alleviates *Phytophthora infestans* by modulation of photosynthetic and physio-biochemical metabolites in potato leaves. *Pathogens*, 9(3), 170,

- <https://doi.org/10.3390/pathogens9030170>
- Mohammadi, M. A., Zhang, Z., Xi, Y., H. and Han, F. Lan, B. Zhang & 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/aer/1702_44994514
- Nascimento, K. J. T., Araujo, L., Resende, R. S., Schurt, D. A., Silva, W. L. D. & Rodrigues F. D. A. (2016). Silicon, acibenzolar-S-methyl, and potassium phosphite in the control of brown spot in rice. *Bragantia*, 75(2), 212–221, <https://doi.org/10.1590/1678-4499.281>
- Pagani, A. P. S., Dianese, A. de C., & Café-Filho A. C. 2014. Management of wheat blast with synthetic fungicides, partial resistance and silicate and phosphite minerals. *Phytoparasitica* 42(3), 609–617, <https://doi.org/10.1007/s12600-014-0401-x>
- Pereira-Silva, P. D. F., Vilela-De Resende, M. L., Reichel, T., De Lima-Santos, M., Dos Santos-Botelho, D. M., Batista-Ferreira, E. & Chagas-Freitas, N. (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>
- Pullen, J. & Saeed, K. (2012). An overview of biodiesel oxidation stability. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(8), 5924-5950, <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.06.024>
- Putter, J. (1974). Peroxidase. In: Bergmeyer, H. u. (Eds.). *Methods of Enzymatic Analysis*. Verlag Chemie, Weinhan.
- Reglinski, T., Havis, N., Rees, H. J. & de Jong, H. (2023). The practical role of induced resistance for crop protection. *Phytopathology*, 113(4), 719-731, <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-22-0400-IA>
- Rodriguez-Rosales, M. P., Kerkeb, L., Bueno, P. & Donaire, J. P. (1999). Changes induced by NaCl in lipid content and composition, lipoxygenase, plasma membrane H⁺-ATPase and antioxidant enzyme activities of tomato (*Lycopersicon esculentum*. Mill) calli. *Plant Science*, 143(2), 143–150, [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(99\)00046-1](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(99)00046-1)
- Rossatto, T., do Amaral, M. N., Benitez, L. C., Vighi, I. L., Braga, E. J. B., de Magalhães Júnior, A. M., Maia, M. A. C. & da Silva Pinto L. (2017). Gene expression and activity of antioxidant enzymes in rice plants, cv. BRS AG, under saline stress. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 23(4), 865-875, <https://doi.org/10.1007/s12298-017-0467-2>
- Silva, O.C., Santos, H. A. A., Dalla Pria, M. & May-De Mio, L.L. (2011). Potassium phosphite for control of downy mildew of soybean. *Crop Protection*, 30(6), 598–604, <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.015>
- Wang, Z., Wu, Q., Guo, L., Pu, X., Wang, C., Shi, Y., Gan, Y., Li, C. & Wang, Y. (2023). Pathogenicity and genetic variations in *Magnaporthe oryzae* isolates from one rice variety planting in paddy and upland fields. *Agronomy*, 13(5), 1246, <https://doi.org/10.3390/agronomy13051246>
- Yan, X., Tang, B., Ryder, L. S., MacLean, D., Were, V. M., Eseola, A. B., Cruz-Mireles, N., Ma, W., Foster, A. J., Osés-Ruiz, M. & Talbot, N. J. (2023). The transcriptional landscape of plant infection by the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae* reveals distinct families of temporally co-regulated and structurally conserved effectors. *The Plant Cell*, 35(5), 1360-1385, <https://doi.org/10.1093/plcell/koad036>
- Younas, M. U., Wang, G., Du, H., Zhang, Y., Ahmad, I., Rajput, N., Li, M., Feng, Z., Hu, K., Khan, N. U., Xie, W., Qasim, M., Chen, Z. & Zuo, S. (2023). Approaches to reduce rice blast disease using knowledge from host resistance and pathogen pathogenicity. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4985, <https://doi.org/10.3390/ijms24054985>