International Journal of Innovative Research and Scientific Studies, 3 (4) 2020, Pages: 98-105

IJIRSS International Journal of Innovative Research & Scientific Studies

**ISSN:** 2617-6548

URL: www.ijirss.com

# Studying the Effects of Potassium Phosphite (1%) on Physiological Changes in Potato (*Solanum tubrusum* L.) Tuber Under Late Blight Stress

Mohammad Aqa Mohammadi[1, 2]*, Fraidoon Karimi[2], Mohammad Naser Taheri[2], Naveedullah Sediqui[2]

[1]*College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China*
[2]*Department of Horticulture, College of Agriculture, Alberoni University, Kohistan 1254, Kapisa, Afghanistan*

*Corresponding author: Mohammad Aqa Mohammadi (*mohammadaqam85@gmail.com*)

## Abstract

Phosphite-based fungicides are a group of chemicals that are directly harmless to the environment and have a direct fungicide effect, while also indirectly stimulating the plant immune response. Potato late blight is one of the most destructive potatoes diseases globally, causing many morphological and physiological changes in potato leaves and tubers. In current experiment, the potato plants with three-time spray of potassium phosphite (KPhi) on potato leaves, following three months in storage, and inoculated with late blight were investigated. This study examined the possible role of KPhi in delays of late blight invasion and physiological responses including the reactive oxygen species (ROS) metabolism in potato tubers after challenging with late blight pathogen. Samples were collected at 0, 24, 48, 72 and 96 hours of time points for evaluations. Antioxidant enzymes such as superoxidase dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), in addition content of metabolites such as phytoalexin and phenolic after infection with pathogen was investigated. Meanwhile, KPhi treatment resulted in plant tolerance with improved resistance, increased antioxidant enzymes activities and non-enzymatic compounds compare to untreated plants under similar stress. The results of this study indicate that the role of KPhi reduces the adverse effects of pathogens, suppress potato late blight and improves antioxidant enzymes activities and non-enzymatic compounds in potato tubers.

**Keywords:** Antioxidant Enzymes, Non-enzymatic Compounds, Potato, Potassium Phosphite, Late Blight.

**DOI:** 10.53894/ijirss.v3i4.41
**Funding:** This study received no specific financial support.
**History: Received:** 18 February 2020/**Revised:** 2 September 2020/**Accepted:** 25 September 2020/**Published:** 5 October 2020
**Licensed:** This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 License
**Acknowledgement:** All authors contributed to the conception and design of the study.
**Competing Interests:** The authors declare that they have no conflict of interests.
**Transparency:** The authors confirm that the manuscript is an honest, accurate, and transparent account of the study was reported; that no vital features of the study have been omitted; and that any discrepancies from the study as planned have been explained.
**Ethical:** This study follows all ethical practices during writing.

# مطالعه تآثیرات پوتاشیم فاسفایت (1% ) بالای تغییرات فزیولوژیکی در تیوبرکچالو تحت شرایط تنش بلایت پسینه

محمدآقا محمدی [1,2,*]، فریدون کریمی[2]، محمدناصر طاهری[2]، نویدالله صدیقی[2]

[1] دانشکده هارتیکلچر، دانشگاه زراعت و جنگلداری فوجیان، فوجو 350002، چین

[2] دیپارتمنت هارتیکلچر، دانشکده زراعت، دانشگاه البیرونی، کوهستان 1254، کاپیسا، افغانستان

**خلاصه**

قارچ کش ها بر اساس فاسفایت گروپی از مواد کیمیایی هستند که برای محیط زیست بی ضرر و دارای اثر قارچ کشی مستقیم بوده و در عین حال به صورت غیر مستقیم پاسخ ایمنی نبات را تحریک میکنند. بلایت پسینه کچالو یکی مدهش ترین امراض کچالو درسراسرجهان است که سبب تغییرات شدید مورفولوژیک وفزیولوژیک دربرگ ها و تیوبرهای کچالومی گردد. در این تحقیق، پوتاشیم فاسفایت طی سه مرحله در فصل نمویی بالای برگهای کچالو استعمال شده، و تیوبرهای کچالوی برای سه ماه ذخیره گردیده، و بعدا با بلایت پسینه، مصاب مصاب شده است. این تحقیق نقش احتمالی پوتاشیم فاسفایت را جهت به تاخیر اندازی حمله قارچ بلایت پسینه و تغییرات متعدد فزیولوژیکی و بیوکیمیاوی مورد بررسی قرار داد که شامل میتابولیزم گونه های فعال اکسیجن (Reactivity Oxygen Species) در تیوبر کچالومی باشد. نمونه ها پس از مدت 0، 24، 48، 72، و 96 ساعت مصابیت جمع آوری گردیدند. پس از تلقیح تنش قارچی فعالیت انزایم های دفاعی شامل سوپراکسید دیسمیوتیز (SOD)، پراکسیداز (POD) وکاتالیز (CAT)، و همچنین مقدار ترکیبات غیرانزایمی نظیر فایتوالکسین (Phytoalexin) و فینولیک (Phenolic) بررسی شد. استعمال پوتاشیم فاسفایت در برگ نبات شدت بیماری را در تیوبر کاهش داده و سبب تراکم انتی اکسیدانت های مهم، محتویات فایتوالکسین (phytoalexin) و فینولیک (phenolic) درتیوبر های کچالو گردید. در تیوبر های حاصل از استعمال پوتاشیم در برگ و تلقیح شده فعالیت های انتی اکسیدانت های انزایمی و غیر انزایمی در مقایسه با کنترول افزایش چشمگیر یافت. همزمان با آن، استعمال پوتاشیم فاسفایت نبات کچالو را در برابر بلایت پسینه متحمل ساخته و مقاومت آنرا بهتر ساخت، وسبب ازدیاد فعالیت انتی اکسیدانت های انزایمی و ترکیبات غیر انزایمی در مقایسه با کنترول گردید. نتایج این تحقیق نشان می دهد که پوتاشیم فاسفایت تاثیر شدت بیماری بلایت پسینه را کاهش داده، از رشد این قارچ جلوگیری کرده و ترکیبات انتی اکسیدانتی و بیوکیمیاوی تیوبرهای کچالو را بهبود بخشید.

***کلمات کلیدی***: انتی اکسیدانت های انزایمی، انتی اکسیدانت های غیرانزایمی، کچالو، پوتاشیم فاسفایت، بلایت پسینه

## مقدمه.1

سولاناسه (Solanaceae) یکی از خانواده های مهم نباتات بوده که شامل انواع مختلف اهلی و وحشی و چندین نوع مهم اقتصادی می باشد. کچالو (Solanum tuberosum.) متعلق به این خانواده بوده وسومین محصول غذایی پر مصرف پس از گندم و برنج می باشد [1] . تولید جهانی کچالو در سال 2017 به 376.8 میلیون تن رسیده است که عمده ترین تولید کننده گان کشورهای در حال توسعه است. در حال حاضر چین بزرگترین تولید کننده کچالو، با تولید سالانه99.1 میلیون تن، در سراسر جهان بوده به تعقیب آن هندوستان و فدراتیف روسیه مقام دوم و سوم را به خود اختصاص داده اند . [1]عامل بیماری بلایت پسینه قارچ (Phythophthora infestans) بوده که یکی از معمولترین امراض نباتی در سراسر جهان است. این بیماری باعث ازبین بردن برگ می شود که در نتیجه منجر به کاهش قابل توجه تولید محصول می انجامد [2] . این پتوجن همچنان می تواند تیوبرها را مصاب کند که سبب کاهش عمر ذخیره ای و کیفیت آنها می شود. مصابیت به پتوجن باعث می شود که عکس العمل فیزیولوژیکی همراه با محتویات بیوکیمیاوی آنها تغییر کند. مواد بیوکیمیاوی می تواند ازتکثر پتوجن ها جلوگیری نموده، محیط میزبان را برای رشد پتوجن نامساعد ساخته و یا مستقیماً حمله مایکروارگانیسم ها را دفع کند [2]. فعال سازی سیستم ایمنی نبات توسط عوامل مختلف کیمیاوی می تواند راهی برای افزایش مقاومت نبات در برابر عوامل زنده و غیرزنده باشد [3, 4]. تحقیقات نشان داده است که ترکیبات کیمیاوی و بیولوژیکی مختلف می توانند واکنش های دفاعی نبات را بدون حمله واقعی پتوجن ایجاد کنند. این ترکیبات به عنوان القاح کننده های مقاومت (Systemic Resistance Inducers) و یا تقویت کننده های نباتی شناخته شده اند [5]. فاسفیت ($HPO3^{2-}$، Phi)، نمک القلی فسفریک اسید ($H_3PO_4$) و فاسفایت ($H_2PO_3$) برای کنترل امراض نباتی منحیث افزایش دهنده واکنش معرفی گردیده اند [6]. فاسفایت مستقیما از اکسیدیشن فاسفورس در متابولیسم قارچ جلوگیری کرده و اثرات غیر مستقیم که باعث پاسخ به حفاظت از میزبان شده، در نهایت مانع رشد پتوجن می شود [7]. فاسفایت نقش مهمی را به عنوان یک قارچ کش، کود یا تجمع کننده مواد بیوکیمیاوی بازی می کند و یا می تواند حداقل یکی از این خواص را در سیستم های مختلف بازی کند [8] . علاوه بر این، گزارش جامعی را در رابطه به نقش فاسفایت هنگام استفاده در ترکیب با یکی از علف کش محافظوی Chlorothalonyl گزارش داده اند [9, 10]. همچنان، تودور بوزرا و همکاران تحقیقاتی گسترده ای را در استعمال فاسفایت در برگ و تیوبر، جذب و انتقال آن در برگ و تیوبر مورد مطالعه قرار داده اند [11]. محققان م. ف. ماشینندیارانا و همکاران، م. ویزل و همکاران نشان دادند که، فاسفایت باعث ایجاد مقاومت در برابر بیماری با افزایش تولید هایدروجن پراکساید ($H_2O_2$)، ظهور ژن مرتبط با پتوجنز پروتئین ( Pathogenesis-Realated Proteins)، گلوکاناز (glucanase) و phenyamylalanine ammonialase [12, 13] و هم چنان باعث افزایش محلول تجمع پروتئین در نبات Arabidopsis، کچالو و بادنجان رومی شده است [5, 14]. پوتاشیم فاسفایت بالای نباتات برای ایجاد مقاومت در برابر پتوجن های مختلف از نوع Oomycete، Phytophthora [15]، و نوع Pseudoperonospora [5] مورد استفاده قرار گرفته، از رشد قارچ جلوگیری نموده است. در تحقیق آنها استعمال پوتاشیم فاسفایت در طول فصل نمویی، بهبود در حاصل به طرز قابل توجهی به دلیل استفاده از مقدار زیاد فاسفایت مشاهده شده است. برعلاوه در دو برنامه کاربردی قارچ کش پس از استفاده از فاسفایت به طور قابل توجهی برای کنترل بیماری سرخی سویابین و بیماری خاکسترک بکار رفته است، و هم چنان حاصل و وزن بذر را در مقایسه با استعمال تنها قارچ کش افزایش داد. برعلاوه پتاشیم فاسفایت برای جلوگیری از متابولیسم طبیعی قارچ Oomycetes، محدود کردن رشد و تحریک مکانیزم های دفاعی نباتات و همچنین افزایش ترکیب و انتقال میتابولیت های دومی مورد مطالعه قرار گرفته است [16]. استعمال آن باعث فعال شدن مقاومت القای فراگیر یا سیستمیک (Induced Systemic Resistance) در نبات شد. پوتاشیم فاسفایت می تواند باعث افزایش مالیکول های دفاعی شود. مانند فایتوالکسین و فینول که مواد کیمیایی دفاعی برای مقاومت در برابر بیماری و غلبه بر حملات بیماری زا هستند، انزایم های انتی اکسیدانت نقش مهم در پاکسازی انواع فعال اکسیجن (ROS) از طریق یکعده تعاملات پیچیده ایفا می کند [17, 18].

کاتالاز (Catalase) از شناخته شده ترین انزایم های انتی اکسیدانت است که نقش مهمی در پاکسازی هایدروجن پراکساید ($H_2O_2$) و کاهش اثرات تخریبی آن در پراکسی زوم و گلی اکسیزم و میتوکندری [19] ایفا می کند. همچنین هایدروجن پراکساید تولید شده در نتیجهٔ فعالیت سوپراکسیداز را تجزیه تجزیه نموده و با فعالیت این انزایم هایدروجن پراکساید به آب و اکسیجن تبدیل می شود. انزایم پراکسیداز (POD) گروپی از انزایم های اسیدوردوکتاز است

که قادر به تجزیهٔ ماده زهری هایدروجن پراکساید ($H_2O_2$) در پروسه های مختلف حجرات است، این انزایم در سیتوزول فعالیت داشته و از گلوتاتیون به عنوان کوفاکتور خود استفاده می کند. این واکنش ها شامل تبدیل اکسیجن رادیکال به هایدروجن پر اکساید توسط انزایم سوپراکسیداز و سم زدایی هایدروجن پراکساید به وسیلهٔ انزایم های متعدد از جمله پراکسیداز، پولی فینول اکسیداز (PPO)، کاتالاز و گاياکول پراکسیداز (GPX) است [20]. عملکرد دفاع حجرات در برابر عوامل اکسیدیشن نیز می تواند با افزایش سوپراکسیداز و پراکسیداز اندازه گیری شو,.[21, 22] علاوه بر این، گزارش دادند که محلول پاشی فاسفایت بالای برگ های کچالوی مصاب شده با پتوجن های مختلف، مقدار فایتوالکسین، فینول، و فعالیت های انزایم انتی اکسیدانت را افزایش داده است.[23] این مطالعه به هدف، بررسی نقش فاسفایت برای حفاظت در برابر پتوجن با بلایت پسینه و تغییرات در مقدار فعالیت برخی از انزایم های کلیدی و میتابولیت های مرتبط به آن در تیوبر های کچالوی ذخیره شده صورت گرفته است.

## 2 . مواد و روش

### 1.2 محل تحقیق و کشت نبات

در این آزمایش نبات کچالو (Solanum tubrusum L.) نوع (Zhongshu No. 3) در گلخانه های دانشکده هارتیکلچر در دانشگاه علوم زراعت و جنگلات فوجیان، واقع شهر فوجو، ولایت فوجیان، کشور چین (عرض جغرافیایی 260، ' 5 و" 16 N، طول البلد 190، ' 14 و" 6 E، ارتفاع 42.09 متر) ، در ماه های اکتوبر 2017 تا جنوری 2018 کشت گردید. در گلخانه حرارت روزانه 15-24 و حرارت شبانه 15-17 درجهٔ سانتی گراد بود. مدت روشنائی (Photoperiod) 15 ساعت روشنایی و 9 ساعت تاریکی در گلدان های پلاستیک (25×30 سانتی متر) که در انتها و دیوار آن ها سوراخ هایی ایجاد شده بود، و حاوی peat، perlite و vermiculite (1:2:1) کشت شدند. گلدان ها در پطنوس های پلاستیکی قرار گرفته و از محلول غذایی که دارای تناسب مختلف (نایتروجن فاسفورس و پتاشیم) برای تغذیه نباتات از قسمت زیرین استفاده شد.

### 2.2 طرز تهیه محلول و استعمال پتاشیم فاسفایت

پتاشیم فاسفیت ($KH_2PO_3$) با pH= 6.3 برای محلول پاشی برگی نبات تهیه شد. برای تهیهٔ این ترکیب، ابتدا 10 گرام فاسفوریک اسید را در آب حل کرده و به مقدار 1 گرام پوتاشیم هایدروکساید (KOH) بخاطر خنثی سازی آن اضافه شده است. محلول اساسی پوتاشیم فاسفایت به اندازه 1 % (1 گرم در 100 میلی لیتر) رقیق شد و با استفاده از یک ادویه پاش دستی به مقدار 30 ملی لیتر در هر نبات (4.5 لیتر در هکتار) بالای بته ها اسپری شد. نباتات در طی فصل رشد سه بار توسط پوتاشیم فاسفایت مورد محلول پاشی قرار گرفت. پوتاشیم فاسفایت دراولین استعمال 35 روز پس از ظهور برگ ها، بار دوم 15 روز پس از اولین محلول پاشی و محلول پاشی بار سوم 15 روز پس از محلول پاشی دوم صورت گرفت.

### 3.2 تهیه پتوجن و روش تلقیح

در این مطالعه، جدایه (Isolate) پتوجن عامل مرض که ASO نام گزاری شده، از ولایت یونان کشور چین توسط کارکنان دا نشکده حفاظه نباتات دانشگاه علوم زراعت و جنگلداری فوجیان مورد استفاده قرار گرفت. این جدایه (Isolate) بالای نوع Zhongshu No. 3 کچالو کشت شدند و در حرارت 18 درجه سانتی گراد و رطوبت نسبتی 90% نگهداری شدند. پس از هفت روز، مایسلیوم در آب مقطر جمع آوری شد و برای آزادسازی اسپور ها در حرارت 4 درجه سانتی گراد به مدت 6 ساعت تحریک شد. سپس به وسیله 4 لایه تکه نخی صافی گردیده، محلول قبل از استفاده در زیر میکروسکوپ مشاهده شده است. مقدار اسپورها با استفاده از hematocytometer به $4\times10^{-4}$ اسپور/میلی لیتر تنظیم شد.

### 4.2 ارزیابی مقاومت نبات در مقابل بلایت پسینه

تیوبر های کچالو نوع Zhongshu No. 3 قبلاً ادویه پاشی شده با 1% پتاشیم فاسفایت و کنترول (0% پتاشیم فاسفایت) در حرارت 8 درجه سانتیگراد و رطوبت نسبتی 55% به مدت 3 ماه ذخیره شدند. سپس تیوبر ها در آب مقطر شسته شده و به مدت 5 دقیقه در محلول سودیم هیپوکلرایت 2 درصده غوطه و بعد دوباره با آب مقطر شسته شدند و سپس، برای بررسی بیماری، مورد استفاده قرار گرفتند. اندازه تیوبر ها (قطر 5 تا 6 سانتی متر و ضخامت 10 میلی متر) با 50 میلی لیتر از محلول اسپور ($4\times10^{-4}$ اسپور /میلی لیتر) تلقیح شده و درحرارت 18 درجه سانتی گراد درتاریکی نگهداری گردید. علایم شدت بیماری بالای سطح بالایی تیوبر 7 روز پس از تلقیح بر اساس روش یکه توسط محققان دیگر نیز مورد بررسی قرار گرفته است .[23] شدت بیماری با مقیاس از 1 تا 10 ثبت شد که در آن 1= بدون ضایعات، 2= چند حلقه، 3= تا 5٪، 4= 5-10%، 5= 10-25%، 6= 25- 50%، 7= 50-75%، 8=-85% 75، 9= 85-95% و 10= 95-100% علائم بیماری بالای سطح پارچه های مصاب شده به بیماری مورد استفاده قرار گرفت و در مجموع 25 عدد تیوبر درتیمار در سه تکرار استفاده شد.

### 5.2 استخراج محلول انزایمی

برای استخراج محلول های انزایمی کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، 0.5 گرام از نمونهٔ تیوبر منجمد شده در هایدروجن مایع و با استفاده از هاون، همگون (Homoganize) شده و سپس 5 میلی لیتر از فاسفیت بفر سرد (حاوی 5 ملی مولره Ethylene Diamine Tetraacetic Acid با pH=5.8)به آن اضافه شد. همگون شده ها پس از انتقال به لوله های آزمایش، به مدت 15 دقیقه با دور 2000 در دقیقه و حرارت 4 درجهٔ سانتیگراد، سانتریفیوژ شدند. برای پیشگیری از تأثیر بد انجماد و ذوب متوالی نمونه ها، محلول انزایمی به دست آمده به سه قسمت تقسیم و تا زمان اندازه گیری در حرارت 20 درجه سانتیگراد نگهداری شد.

### 6.2 روش اندازه گیری فعالیت انزایم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

برای اندازه گیری انزایم سوپراکسید دیسموتاز، از 1500 میکرولیتر فاسفیت بفر 50 میلی مولره، 300 میکرولیتر سودیم کاربونیت 50 میلی مولره، 300 میکرولیتر متیونین 12 میلی مولر، 300 میکرولیتر نایتروبلوتترازولیوم کلورایڈ 75 میکرومولره، 300 میکرولیتر ریبوفلاوین 1 میکرومولره و 300 میکرولیتر عصاره انزایم استفاده شد. پس از آنکه مخلوط حل شد، در تیوبهای آزمایش شیشه ای، به مدت ده دقیقه، در زیر یک چراغ فلورسنت 15 وات به فاصلهٔ 35 سانتی متر قرار داده شد. با خاموش کردن چراغ تعامل متوقف و جذب مخلوط تعامل در طول موج 560 نانومتر با دستگاه طیف سنج نوری (اسپکتروفتومتر) اندازه گیری گردید.[23] همچنین ازتیوب های آزمایش حاوی مخلوط تعامل به جز عصاره انزایمی به عنوان کنترل استفاده شده است. یک واحد فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به عنوان مقدار انزایم در نظر گرفته شد که منجر به مهار 50 درصد احیای نوری نایتروبلوتترازولیوم می شود.

### 7.2 روش اندازه گیری فعالیت انزایم پراکسیداز (POD)

ترکیب تعامل شامل 1 میلی لیتر فاسفیت بفر 100 میلی مولره (pH=7 ، 250 میکرولیتر EDTA 0.1 میلی مولره،1 میلی لیتر گاياکول 5 میلی مولره،1 میلی لیتر هایدروجن پراکساید 15 میلی مولره و 50 میکرولیترمحلول انزایمی استخراج شده است). تعامل با اضافه کردن محلول انزایم آغاز و افزایش جذب درطول موج 470 نانومتر به مدت 1 دقیقه ثبت شد. فعالیت انزایمی براساس مقدار تتراگایاکول تشکیل و ذریعه ضریب خاموشی 1.33 میلی مول فی سانتی متر به دست آمد [20].

### 8.2 روش اندازه گیری فعالیت انزایم کاتالاز (CAT)

ترکیب تعامل شامل 1.5 میلی لیتر پتاشیم فاسفیت بفر میلی مولر با پی اچ 7، به اندازه 0.5 میلی لیتر هایدروجن پراکساید 5.7 میلی مولره و 50 میکرولیتر محلول انزایمی است. حجم نمونه ها با اضافه کردن آب مقطر به 3 میلی لیتر رسانده شد. با افزودن هایدروجن پراکساید تعامل آغاز می شود و کاهش در جذب نمونه ها در طول موج 240 نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت شد. تغییر جذب بدست آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این تعامل که برابر 3.6 میلی مولر فی سانتی متر تقسیم شد و فعالیت انزایمی از محاسبهٔ مقدار هایدروجن پراکساید تجزیه شده توسط انزایم محاسبه گردید.[24]

### 9.2 استخراج محتویات فایتوالکسین (Phytoalexin)

توته های کچالو به وزن (1 گرم) در محلول 10 میلی لیتر کلوروفارم/ میتانول/ استیک اسید (50:5:45) با استفاده از یک مخلوط کن همگون شد. [25]مخلوط همگون شده به مدت یک شب در حرارت اتاق (تقریباً 15 درجه سانتیگراد) نگهداری شده و سپس از طریق تکه کتانی صافی شد. کلوروفارم و استیک اسید 0.2 مولره در حجم مساوی با مخلوط فلتر شده اضافه شدند. مخلوط ها خوب تکان داده شده تا به دو لایه جدا شوند. لایه بالایی کلوروفارم حاوی فایتوالکسین را جدا کرده و در حرارت 60 درجه سانتیگراد در یک دستگاه خشک کن برقی الکتروترمال (Shanghai Yiheng scientific instrument Co., Ltd.) خشکانده شد. نمونه خشك شده به 1 ميلي ليتر سايكلوهگزان حل شده و 2 ميلي ليتر سلفوريک اسيد ($H_2SO_4$) به محلول اضافه گردیده، و مخلوط به مدت 30 دقیقه در 12000 دور در دقیقه سنترفیوژ شد. سپس لایه سرخ تشکیل شده که سلفوریک اسید است، در قسمت تحتانی تیوب در طول موج 500 نانومتر در اسپکتروفتومتر (UV5100H Shanghai Yuanhua Instrument Co., Ltd) خوانده شد تا فایتوالکسین به عنوان µg /g FW تعیین شود.

### 10.2 استخراج محتویات فینولیک (Phenolic)

فینولیک بر اساس روش رنگ آمیزی Folin-Ciocalteu با اندک تغییرات استخراج گردیده است .[26] به طور خلاصه، 0.5 گرم نمونه تیوبر با 2.5 میلی لیتر Folin-Ciocalteau 0.2 N همگون گردیده و سپس 0.2 میلی لیتر سودیم کاربونیت (75 گرم در لیتر) اضافه شد. این مخلوط در حرارت اتاق برای مدت دو ساعت قبل از اندازه گیری نگهداری شده و بعداً در طول موج 760 نانومتر با استفاده از یک اسپکتروفتومتر اندازه گیری گردیده است. غلظت فینول به عنوان معادل استاندارد گالیک اسید (mg GAE /g) FW نشان داده شد.

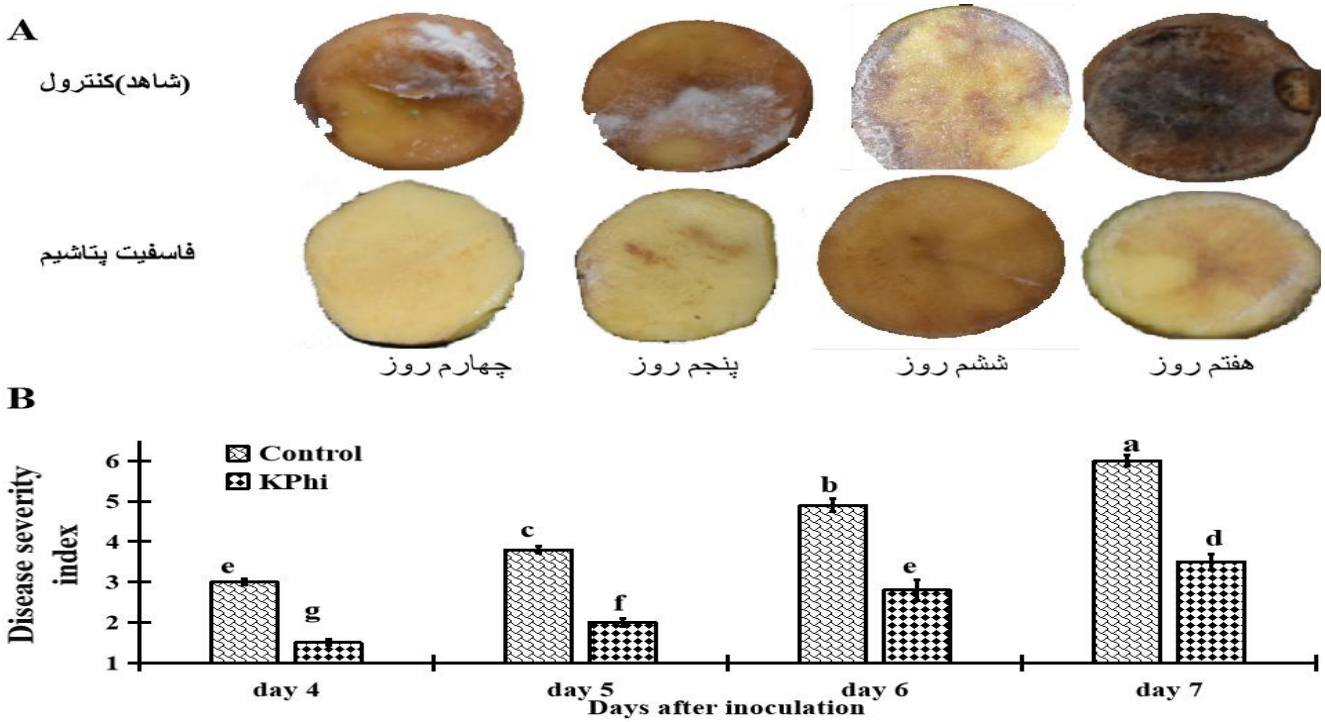
### 11.2 تجزیه وتحلیل آمارها

تمام آزمایش ها در قالب بلاک های کاملاً تصادفی (Randomized Complete Block Design) انجام شد. قسمت های مصاب شده تیوبر، فایتوالکسین، فینولیک و فعالیت های انزایمی با استفاده از روش آنالیز واریانس یک طرفه (one way ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل آمار از SPSS (Version 22, SPSS, Chicago) استفاده شده است. برای مقایسهٔ اوسط آمارها از آزمون LSD در سطح احتمال (p >0.05) مورد نظر استفاده شد.

## 3. نتایج

### 1.3 تاثیر پتاشیم فاسفایت برای جلوگیری از قارچ بلایت پسینه

تاثیر استعمال برگی پوتاشیم فاسفایت در شرایط گلخانه اي موجب کاهش حساسیت در مقابل بلایت پسینه در تیوبر کچالو شده است. مقایسه اوسط لکه پارچه های تیوبر تلقیح شده نوع Zhongshu No. 3 کاهش قطر رشد پتوجن ازنبات مصاب با پوتاشیم فاسفایت را در این نوع نشان داد شکل 1(A). آمار شکل 1(B1) اثرات قابل توجهی از درمان پوتاشیم فاسفایت را نشان دادند که باعث کاهش مقدار ضایعه ناشی از بلایت پسینه در تیوبر های کچالو شده است. همچنین آمار فوق نشان میدهد که Zhongshu No. 3 حساسیت بالایی به بلایت پسینه را در توته های کچالو نسبت به کنترل دارد (شکل 1، A و B).

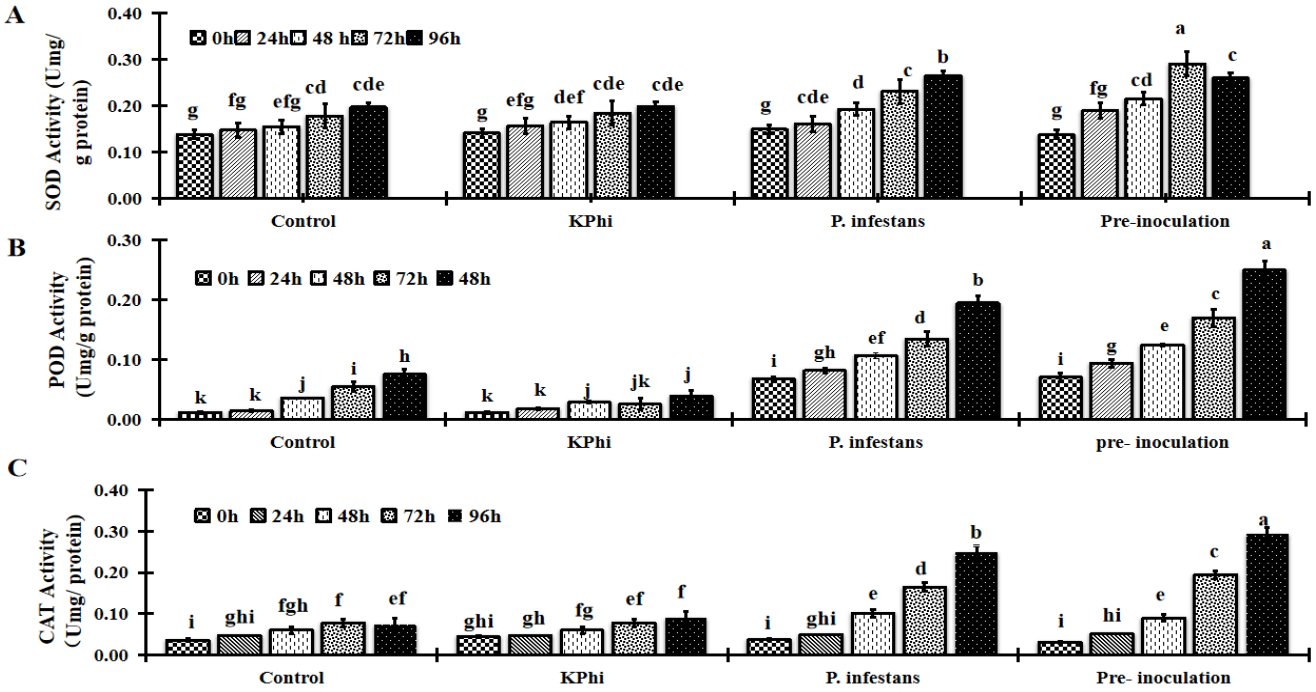



**شکل 1.** تغییرات شکل ظاهری تیوبر های کچالو سه بارمحلول پاشی شده برگ ها با 1% پوتاشیم فاسفایت و یا کنترول مصاب شده با جدایه پتوجن ASO. شدت و علائم بیماری بعد از چهار، پنج، شش و هفت روز مصابیت ثبت شد. (B) شاخص شدت بیماری را طوری که در مواد و روش تحقیق ذکرشد، اندازه گیری گردید.

### 2.3 تأثیر پتاشیم فاسفایت بر فعالیت انزایم های آنتی اکسیدانت درتیوبر تلقیح شده با قارچ بلایت پسینه

نتایج تجزیهٔ واریانس آمارا ها نشان داده که، تأثیر پتاشیم فاسفایت، تأثیر زمان و همچنین اثر متقابل این دو عامل روی فعالیت انزایم های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در تیوبر های کچالو تلقیح شده با قارچ بلایت پسینه در سطح احتمال 1 درصد معنی دار بود (شکل 1). همچنین مقدار

فعالیت انزایم در زمان های مختلف و کاربرد پوتاشیم فاسفایت نیز تفاوت معنی داری نشان داده و پوتاشیم فاسفایت توانسته منجر به افزایش فعالیت انزایم های دفاعی شود. فعالیت انزایم سوپراکسید دیسموتاز در تیوبر های کچالوی بدست آمده از استعمال پوتاشیم فاسفایت با غلظت 10 گرم بر لیتر در برگ نبات بیشترین اندازه آن ($0.3\ U\ mg^{-1}$ protein) را در 72 ساعت پس از تلقیح با قارچ و در تیمار کنترول کمترین اندازه ($0.137\ U\ mg^{-1}$ protein) را در صفر ساعت از خود نشان داده است (شکل2 (A)). همچنین در استعمال پتاشیم فاسفایت با مصابیت بعد از 96 ساعت یک کاهش نیز دیده شده است شکل 2 (A). همان طور که درشکل 2(B) دیده می شود مقدار فعالیت انزایم پراکسیداز در تیوبر های به دست آمده از استعمال پتاشیم فاسفایت در همهٔ تیمار ها در24 ساعت پس از تلقیح با قارچ بیشتر بوده است. بیشترین مقدار فعالیت این انزایم $0.25$protein $U\ mg^{-1}$ در استعمال 10 گرم بر لیتر در 96 ساعت پس از تلقیح با قارچ و کمترین مقدار فعالیت آن ($0.04\ U\ mg^{-1}$ protein) درکنترول و در ساعت صفر بوده است. فعالیت این انزایم برخلاف فعالیت انزایم سوپراکسید دیسموتاز درغلظت پوتاشیم فاسفایت استعمال شده 96 ساعت پس از تلقیح بیش بوده و با پوتاشیم فاسفایت کنترول شده، فعالیت این انزایم همانند شاهد افزایش چشمگیر از خود نشان نداده است شکل 2(A). نتایج مقایسهٔ اوسط ارقام ها برای اثر متقابل انزایم کاتالاز شکل 2(C) نشان داد، بیشترین مقدار فعالیت این انزایم 96 ساعت پس از تلقیح با قارچ و تیمار با فاسفایت بوده در حالی که کمترین مقدار فعالیت آن ($0.036\ U\ mg^{-1}$ protein) درنبات کنترل تلقیح نشده با قارچ و در ساعت ابتدایی بوده است. نتایج همچنین نشان داد، صرف نظر از زمان، با غلظت پوتاشیم فاسفایت 10 گرم بر لیتر، فعالیت انزایم کاتالاز را به طور قابل ملاحظه نیز افزایش داده است شکل 2(C).




**شکل 2.** تغییر مقدار فعالیت (A) انزایم سوپراکسید دیسموتاز، پراکسداز وکاتالاز درتیوبر نبات استعمال شده با پوتاشیم فاسفایت در ساعات 0، 24، 48، 72 و 96 ساعت پس از مصابیت با قارچ فیتوفتورا. در شکل فوق Control (بدون استعمال پوتاشیم فاسفایت و مصابیت با قارچ)، KPhi (استعمال 1% پوتاشیم فاسفایت)، *P.* infestans (ملوث شده با قارچ بدون استعمال پوتاشیم فاسفایت).

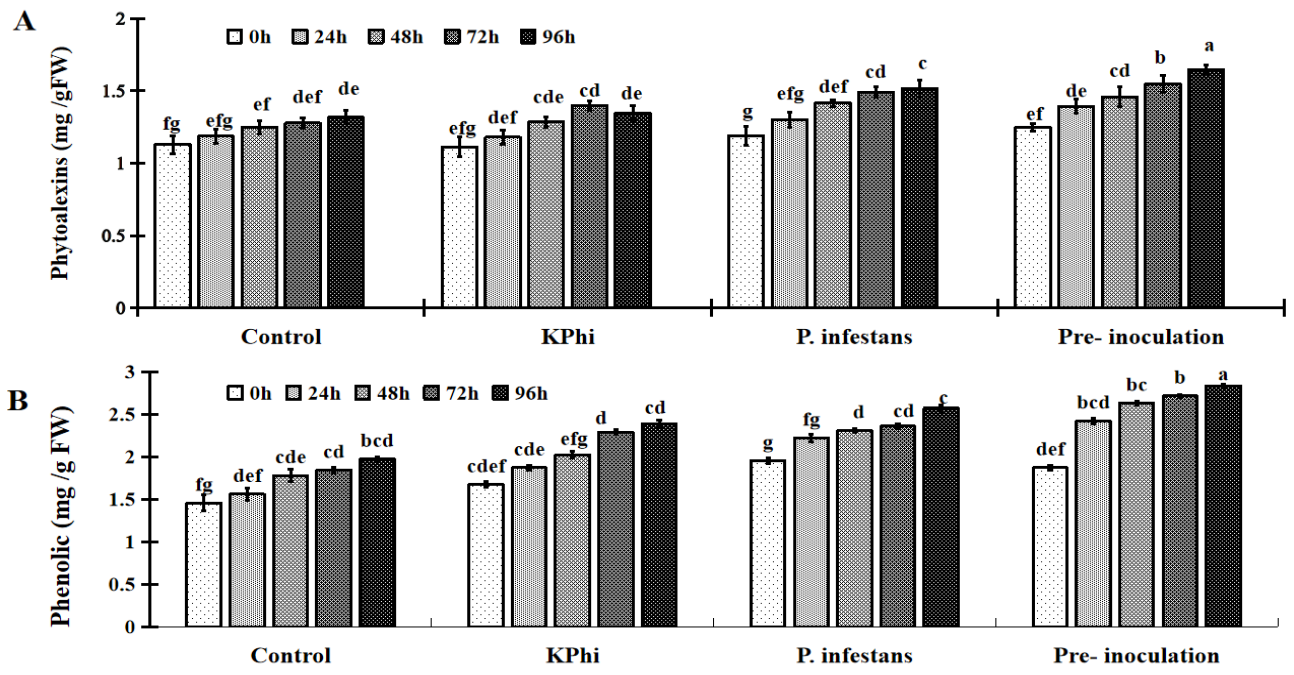
### 3.3 اثر پتاشیم فاسفایت بالای تجمع ترکیبات غیرانزایمی بعداز تلقیح با بلایت پسینه

محتویات فایتوالکسین در قطعات تیوبر های بدست آمده از نباتات تحت استعمال شده با پوتاشیم فاسفایت یا بدون استعمال و تلقیح شده با پتوجن اندازه گیری شده اند شکل 3(A). بالاترین مقدار فایتوالکسین یک هفته پس از مصابیت با بلایت پسینه دیده شد، در حالی که کمترین در تیوبر های بدون استعمال شده شکل 3(A) اندازه گیری شد. محتویات فایتوالکسین در تیوبر های آزمایش شده مورد آزمایش 3 برابر افزایش یافته و به دنبال آن بدون استعمال فاسفایت اما مصاب شده با بلایت پسینه شکل 3(A).

کمترین فایتوالکسین در تیوبر های سالم شناسایی شده است. همانطور که در شکل 3 نشان داده شده است، 96 ساعت بعد از مصابیت نوع Zhongshu No. 3 مقدار تجمع فایتوالکسین بالاترین حد آن را تولید کرده است. زیادترین محتویات فینول در نباتات استعمال شده با فاسفایت و مصاب با قارچ، و به تعقیب آن نباتات تحت کنترول و مصاب به بیماری 96 ساعت بعد از تلقیح تیوبر افزایش یافت (شکل 3A.). مصابیت پتوجن (*P. infestans*) باعث افزایش محتوای فینول در نوع Zhongshu در مقایسه با کنترل آنها گردید. نمونه های تیمار با (KPhi) نیز در مقایسه با شاهد در این نوع افزایش معنی داری در محتوای فینول داشتند. بالاترین مقدار فینول پس از تلقیح تیوبر های استعمال شده با KPhi در این نوع شناسایی.

## 4. مباحثه

با توجه به نتایج این تحقیق، مقدار غلظت استعمال 1% پوتاشیم فاسفایت نسبت به کنترول بعداز مصابیت قارچ کاهش(50 درصد) را داشت. همچنین درصد پوسیدگی در کنترول روز چهارم، پنجم، ششم، و هفتم به ترتیب 90، 75، 50 و 45 درصد بود. در تحقیق های قبلی، چگونگی و عمل کرد فعالیت قارچ کش های فاسفایت دار بخاطر کنترل قارچ بلایت پسینه مورد مطالعه قرار گرفت، آزمایش نتایج این بررسی نشان داد، غلظت فاسفایت مستقیما متناسب است به کنترول بیماری. [10, 27]همچنین محققان دیگر نیز تأثیر فاسفایت رابالای قارچ های فایتوفتورا و فیوزاریم بررسی کردند، نتایج تحقیقات آنان نشان داد، فاسفایت حتی در غلظت های پایین میتواند رشد این قارچ ها را محدود سازد. [17, 28] نتایج این تحقیق نشان داد، القاء و افزایش ساخت انزایم های انتی اکسیدانت مورد نظر در موجودیت پوتاشیم فاسفایت می تواند به عنوان یک پاسخ دفاعی در برابر قارچ در نبات کچالو باشد. در عین حال بررسی های گسترده برای دریافت ارتباط بین این انزایم ها و میکانیزم های مالیکولی برای پوتاشیم فاسفایت نیاز است. فعالیت انزایم های دفاعیکاتالاز ، سوپراکسیداز دیسمیوتاز و مقدار فایتوالکسین در نباتات مصاب شده به قارچ تحت استعمال با پوتاشیم فاسفایت به ترتیب 2.8، 2.2، 1.4 و 1.5 برابر نسبت به شاهد (تلقیح نشده با قارچ) افزایش یافته است. این درحالی است که مقدار فینول، 47.7 درصد نسبت به شاهد افزایش و 37.5 درصد نسبت به استعمال پوتاشیم فاسفایت کاهش یافته است




**شکل 3 .** مقدار تغییرفایتوالکسین (A) وفینول (B) درتیوبر های حاصل به دست آمده از استعمال پتاشیم فاسفایت در ساعات 0، 24، 48، 72 و 96 پس از مصابیت با قارچ. در شکل فوق Control (بدون استعمال پوتاشیم فاسفایت و مصابیت با قارچ)، KPhi (استعمال 1% پوتاشیم فاسفایت)، *P.* infestans (ملوث شده با قارچ بدون استعمال پوتاشیم فاسفایت).

مقدار فایتوالکسین به عنوان یک نشانگر برای ارزیابی وضعیت درون انساج در شرایط تنش استفاده می شود. افزایش معنی دار فایتوالکسین در استعمال پوتاشیم فاسفایت نسبت به استعمال پوتاشیم فاسفایت (بدون کاربرد پوتاشیم فاسفایت) می تواند نشان دهنده کاهش تخریب انساج و مهار بیماری باشد. تنش قارچی باعث تنش اکسیدیشن شده که نتیجهٔ آن تجمع انواع فعال اکسیجن مانند سوپراکساید ($O^{2-}$) شود [29] که با تغییراتی در فعالیت انزایم های پراکسداز، کاتالاز [30] ، سوپراکسیداز دیسمیوتیز وپراکسیداز برای دفاع در برابر ROS همراه است. در این تحقیق نیز انزایم های پاکسازی کننده هایدروژن پراکسید (CAT، POD وSOD) که در سم زدایی میتابولیت سمی نقش دارند، در استعمال نبات با پتاشیم فاسفایت به طور معنی داری نسبت به کنترول افزایش یافتند. ازطرف دیگر، با توجه به افزایش انزایم های انتی اکسیدانت بعداز استعمال پوتاشیم فاسفایت، کاهش فعالیت انزایم های انتی اکسیدانت تحت تنش قارچ بدون استعمال پوتاشیم فاسفایت به نظر می رسد که، افزایش فعالیت این انزایم ها یکی از میکانیزم های دفاعی به تنش قارچی است. از سوی دیگر، استعمال پتاشیم فاسفایت به طور مؤثر منجر به افزایش قابل ملاحظه فعالیت انزایم های انتی اکسیدانت در نبات کچالو گردید، که احتمال دارد میتابولیزم عمل پتاشیم فاسفایت برای حفاظت از تنش ناشی از بیماری قارچ بلایت پسینه از همین راه باشد. نتایج این بخش از تحقیق با نتایج [31] همخوانی دارد. نتایج این محققان نشان داد، در نبات (Arabidopsis thaliana) تلقیح شده با P. palmivora و P. cinnamomi که با پوتاشیم فاسفایت ادویه پاشی شده بودند، مقاومت در برابر مصابیت با سرعت بیشتر و به طور بهتری انجام گرفت بود. همچنین آنها اظهار داشتند، که پوتاشیم فاسفایت نه تنها باعث افزایش تولید ROS می شود، بلکه با افزایش ترکیبات شحمی (لیگنینی) در تقویت دیوار حجرات نقش دارد. به هر حال، افزایش در فعالیت انزایم های انتی اکسیدانت در نتیجهٔ استعمال پوتاشیم فاسفایت، نقش این ترکیب را به عنوان یک وسیله تنظیم کننده فعالیت انزایم های یادشده نشان می دهد. تحقیقات پیشین نشان داده است، استعمال پوتاشیم فاسفایت منجر به افزایش تجمع فایتوالکسین و فینول در نبات کچالوی تلقیح شده با قارچ بلایت پسینه شده و در نتیجه باعث افزایش مقاومت به عامل این بیماری گردید.[12] در این بررسی نیز مقدار تجمع ترکیبات بیوکیمیاوی در انساج و نیز زمان تجمع آن با انزایم های دفاعی CAT، POD و SODهمخوانی داشته و افزایش آن ها متوازن بوده است. احتمالا تولید به نوعی پیش ساخت (سنتز) انزایم های دفاعی است و افزایش تولید فایتوالکسین درنتیجه تنش می تواند به عنوان یک سیگنال القایی برای فعال سازی میکانیزم های دفاعی عمل کند. [32] بنابراین اکسیجن فعال می تواند به عنوان یک شاخص حجروی برای تنش در نظر گرفته شود و نقش یک پیام رسان دومی را در مسیر انتقال پیام بازی کند. بررسی های دیگر نشان داد، استعمال فاسفایت در نباتات کچالو تلقیح شده با قارچ بلایت پسینه، بعداز استعمال پوتاشیم فاسفایت منجر به افزایش ترکیبات ضد میکروبی مانند فایتوالکسین و فینول نیز ش .د [14]صرف نظر از استعمال پوتاشیم فاسفایت، مقدار انزایم های انتی اکسیدانت در زمان های مختلف اندازه گیری متفاوت بود. فعالیت انزایم های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و میتابولیت های دومی فایتوالکسین و فینول به ترتیب در ساعات 0، 24، 48، 72 و 96 پس از تلقیح افزایش قابل ملاحظه یافته است. در غلظت 10 گرم بر لیتر پوتاشیم فاسفایت، مقدار فعالیت انزایم ها نسبت به شاهد بیشتر مشاهده شد. این موضوع بیانگر این است، که پوتاشیم فاسفایت می تواند، در افزایش ساخت انزایم های دفاعی نقش داشته باشد و تأثیر بازدارندگی آن را در تیوبر نیز در خود داشته است.

## 5. نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان داد که، استعمال پوتاشیم فاسفایت با غلظت 1%، از طریق افزایش فعالیت انزایم های دفاعی می تواند منجر به مقاومت در برابر قارچ بلایت پسینه عامل بیماری پوسیدگی کچالو (بلایت پسینه کچالو) شود. نتایج بدست آمده بیانگر اینست که، در غلظت پوتاشیم فاسفایت فوق برای افزایش انزایم های دفاعی، مناسب بوده است که نبات در این غلظت بیشترین فعالیت انزایم های دفاعی را در ساعات 72 و 96 پس از تلقیح با قارچ را داشته است. با این وجود این تحقیق می تواند به مشکلات تولید مواد غذایی را کاهش بخشیده و باعث بوجود آوردن مصوونیت غذایی در مناطق شیوع بیماری گردد، چرا که این بیماری یکی از عوامل محدود کننده برای تولید کچالو در سراسر جهان محسوب می شود.

**قدردانی**

این تحقیق در لابراتوار الحاقیه دانشگاه دالهوسی کانادا با (دانشگاه زراعت و جنگلات فوژیان) و با حمایت مالی آن لابراتوارانجام شده است. بدین وسیله از مدیرو کارکنان این لابراتوار، تشکر و قدردانی میگردد.

## References


[1] G. W. Norton and S. M. Swinton, "Precision agriculture: Global prospects and environmental implications, Tomorrow's Agriculture: Incentives, Institutions," in *Infrastructure and Innovations-Proceedings of the Twenty-fouth International Conference of Agricultural Economists*, 2018, p. 269.

[2] M. C. Lobato, G. R. Daleo, A. B. Andreu, and F. P. Olivieri, "Cell Wall Reinforcement in the Potato Tuber Periderm After Crop Treatment with Potassium Phosphite," *Potato Research*, pp. 1-11, 2017 .

[3] T. S. Lim, R .D. Borza, R. H. Peters, K. I. Coffin, D. M. Al-Mughrabi, G. Pinto, and Wang-Pruski, "Proteomics analysis suggests broad functional changes in potato leaves triggered by phosphites and a complex indirect mode of action against phytophthora infestans," *Journal of Proteomics*, vol. 93, pp. 207-223, 2013 .

[4] Y. Xi, X. Han, Z. Zhang, J. Joshi, T. Borza, M. M. Aqa, B. Zhang, H. Yuan, and G. Wang-Pruski, "Exogenous phosphite application alleviates the adverse effects of heat stress and improves thermotolerance of potato (Solanum tuberosum L.) seedlings," *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 190, p. 110048, 2020.Available at: https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110048 .

[5] O. Silva, H. Santos, M. Dalla Pria, and L. May-De Mio, "Potassium phosphite for control of downy mildew of soybean," *Crop Protection*, vol. 30, pp. 598-604, 2011.Available at: https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.02.015 .

[6] A. E. McDonald, B. R. Grant, and W. C. Plaxton, "Phosphite (phosphorous acid): Its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response," *Journal of Plant Nutrition*, vol. 24, pp. 1505-1519, 2001.Available at: https://doi.org/10.1081/pln-100106017 .

[7] R. Daniel and D. Guest, "Defence responses induced by potassium phosphonate in phytophthora palmivora-challenged Arabidopsis thaliana," *Physiological and Molecular Plant Pathology*, vol. 67, p. 194 to 201, 2005.Available at: https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2006.01.003 .

[8] H. T. B. Thao and T. Yamakawa, "Phosphite (phosphorous acid): Fungicide, fertilizer or bio-stimulator?," *Soil Science and Plant Nutrition*, vol. 55, pp. 228-234, 2009.Available at: https://doi.org/10.1111/j.1747-0765.2009.00365.x .

[9] T. Borza, R. Peters, Y. Wu, A. Schofield, J. Rand, Z. Ganga, K. Al-Mughrabi, R. Coffin, and G. Wang-Pruski, "Phosphite uptake and distribution in potato tubers following foliar and postharvest applications of phosphite-based fungicides for late blight control," *Annals of Applied Biology*, vol. 170, pp. 127-139, 2017.Available at: https://doi.org/10.1111/aab.12322

[10] G. Wang-Pruski, R. H. Coffin, R. D. Peters, K. I. Al-Mughrabi, H. W. Platt, D. Pinto, S. Veenhuis-MacNeill, W. Hardy, S. Lim, and T. Astatkie, "Phosphorous acid for late blight suppression in potato leaves," *Am. J. Plant Sci. Biotechnol*, vol. 4, 2010 .

[11] T. Borza, A. Schofield, G. Sakthivel, J. Bergese, X. Gao, J. Rand, and G. J. C. p. Wang-Pruski, " Ion chromatography analysis of phosphite uptake and translocation by potato plants: dose-dependent uptake and inhibition of Phytophthora infestans development," vol. 56, pp. 74-81, 2014.Available at: https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.10.024 .

[12] M. F. Machinandiarena, M. C. Lobato, M. L. Feldman, G. R. Daleo, and A. B. Andreu, "Potassium phosphite primes defense responses in potato against phytophthora infestans," *Journal of Plant Physiology*, vol. 169, pp. 1417-1424, 2012.Available at: https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.05.005 .

[13] L. Wiesel, A. C. Newton, I. Elliott, D. Booty, E. M. Gilroy, I. Birch, and P. R. Hein, "Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection," *Frontiers in Plant Science* vol. 5, p. 655, 2014.Available at: https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00655 .

[14] M. Chandrasekaran, S. T. Belachew, E. Yoon, and S. C. Chun, "Expression of β-1, 3-glucanase (GLU) and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) genes and their enzymes in tomato plants induced after treatment with Bacillus subtilis CBR05 against Xanthomonas campestris pv. vesicatoria," *Journal of General Plant Pathology*, vol. 83, pp. 7-13, 2017.Available at: https://doi.org/10.1007/s10327-016-0692-5 .

[15] H. K. Kim, Y. H. Choi, and R. Verpoorte, "NMR-based metabolomic analysis of plants," *Nature Protocols*, vol. 5, p. 536, 2010.Available at: https://doi.org/10.1038/nprot.2009.237 .

[16] J. Kuć, "Concepts and direction of induced systemic resistance in plants and its application," *European Journal of Plant Pathology*, vol. 107, pp. 7-12, 2001.Available at: https://doi.org/10.1023/A:1008718824105 .

[17] R. J. Dalio, F. Fleischmann, M. Humez, and W. Osswald, "Phosphite protects fagus sylvatica seedlings towards phytophthora plurivora via local toxicity, priming and facilitation of pathogen recognition," *PloS One*, vol. 9, p. e87860.2014 ,Available at: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087860 .

[18] M. Ramezani, F. Rahmani, and A. Dehestani, "Study of physio-biochemical responses elicited by potassium phosphite in downy mildew-infected cucumber plants," *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, vol. 50, pp. 540-554, 2017.Available at: https://doi.org/10.1080/03235408.2017.1341140 .

[19] B. Seckin, I. Turkan, A. H. Sekmen, and C. Ozfidan, "The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of Hordeum marinum Huds.(sea barleygrass) and Hordeum vulgare L.(cultivated barley)," *Environmental and Experimental Botany*, vol. 69, pp. 76-85, 2010.Available at: https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2010.02.013 .

[20] B. Debnath, M. Irshad, S. Mitra, M. Li, H. M. Rizwan, S. Liu, T. Pan, and D. Qiu, "Acid rain deposition modulates photosynthesis, enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities in tomato," *International Journal of Environmental Research*, vol. 12, pp. 203-214, 2018.Available at: https://doi.org/10.1007/s41742-018-0084-0 .

[21] B. Debnath, M. Hussain, M. Li, X. Lu, Y. Sun, and D. Qiu, "Exogenous melatonin improves fruit quality features, health promoting antioxidant compounds and yield traits in tomato fruits under acid rain stress," *Molecules*, vol. 23 ,p. 1868, 2018.Available at: https://doi.org/10.3390/molecules23081868 .

[22] P. Majer, G. Czégény, G. Sándor, P. J. Dix, and É. Hideg, "Antioxidant defence in UV-irradiated tobacco leaves is centred on hydrogen-peroxide neutralization," *Plant Physiology and Biochemistry*, vol. 82, pp. 239-243, 2014.Available at: https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.06.011 .

[23] M. Mohammadi, Z. Zhang, Y. Xi, H. Han, F. Lan, B. Zhang, and G. Wang-Pruski, "Effects of potassium phosphite on biochemical contents and enzymatic activities of chinese potatoes inoculated by phytophthora infestans," *Applied Ecology and Environmental Research*, vol. 17, pp. 4499-4514, 2019.Available at: https://doi.org/10.15666/aeer/1702_44994514 .

[24] I. M. Ahmed, F. Cao, M. Zhang, X. Chen, G. Zhang, and F. Wu, "Difference in yield and physiological features in response to drought and salinity combined stress during anthesis in Tibetan wild and cultivated barleys," *PloS One*, vol. 8, p. e77869, 2013.Available at: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077869 .

[25] M. Lobato, F. Olivieri, E. G. Altamiranda, E. Wolski, G. Daleo, D. Caldiz, and A. Andreu, "Phosphite compounds reduce disease severity in potato seed tubers and foliage," *European Journal of Plant Pathology,* vol. 122, pp. 349-358, 2008.Available at: https://doi.org/10.1007/s10658-008-9299-9 .

[26] M. Škerget, P. Kotnik, M. Hadolin, A. R. Hraš, M. Simonič, and Ž. Knez, "Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities," *Food Chemistry,* vol. 89, pp. 191-198, 2005.Available at: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.025 .

[27] E. Liljeroth, Å. Lankinen, L. Wiik, D. D. Burra, E. Alexandersson, and E. Andreasson, "Potassium phosphite combined with reduced doses of fungicides provides efficient protection against potato late blight in large-scale field trials," *Crop Protection,* vol. 86, pp. 42-55, 2016.Available at: https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.04.003 .

[28] A. F. L. Cerqueira, *Effects of phosphite in Pinus radiata-Fusarium circinatum interaction*: Universidade de Aveiro, 2016.

[29] L. Wu, X. Gao, F. Xia, J. Joshi, T. Borza, and G. Wang-Pruski, "Biostimulant and fungicidal effects of phosphite assessed by GC-TOF-MS analysis of potato leaf metabolome," *Physiological and Molecular Plant Pathology,* vol. 106, pp. 49-56, 2019.Available at: https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2018.12.001 .

[30] M. Mofidnakhaei, V. Abdossi, A. Dehestani, H. Pirdashti, and V. Babaeizad, "Potassium phosphite affects growth, antioxidant enzymes activity and alleviates disease damage in cucumber plants inoculated with Pythium ultimum," *Archives of Phytopathology and Plant Protection,* vol. 49, pp. 207-221, 2016.Available at: https://doi.org/10.1080/03235408.2016.1180924 .

[31] D. B. Lobell, W. Schlenker, and J. Costa-Roberts, "Climate trends and global crop production since 1980," *Science,* vol. 333, pp. 616-20, 2011.Available at: https://doi.org/10.1126/science.1204531 .

[32] R. Hammerschmidt, "Phytoalexins: What have we learned after 60 years?," *Annual Review of Phytopathology,* vol. 37, pp. 285-306, 1999.Available at: https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.37.1.285 .