

"Research Paper" The Effect of Potassium Phosphite in the Induction of Some Rice Resistance Genes in Following the Sheat Blight Disease Agent *Rhizoctinia Solani*

Milad Habibi Daronkolaei¹, Valiollah Babaeizad², Mohammad Ali Tajick Ghanbari³,
Heshmatollah Rahimian⁴ and Ali Dehestani

- 1- Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University - Departeman of Plant Protection, Agronomy Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran
2- Associated prof. Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Departeman of Plant Protection, Agronomy Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran, (Corresponding author: babaeizad@yahoo.com)
3- Associated prof. Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Departeman of Plant Protection, Agronomy Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran
4- Professor Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Departeman of Plant Protection, Agronomy Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran, Iran
5- Assistant Professor, Tabarstan Biotechnology Research Institute, Tabarstan Genetics and Biotechnology Research Institute, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Mazandaran, Iran
Received: 21 August, 2022 Accepted: 10 December, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the most important cereals which known to have high nutritional value in foods population worldwide. Rice sheath blight is considered as a critical diseases and *Rhizoctonia solani* (Teleomorph: *Thanatephorus cucumeris*) is the causal agent of the disease. Induction of resistance by chemical compounds is a very interesting alternative approach in plant disease management. Various biotic and abiotic factors have a role in activation of resistance genes expression in plants. Potassium phosphite is among the chemical compounds which is able to induce of resistance genes in plants and leads to suppression of diseases by directly affecting the pathogens and indirectly by stimulating the host defense responses. In this study, the effects of potassium phosphite application was considered on the expression of some pathogenesis related genes in both Tarom (Resistance) and Khazar (susceptible) cultivars in challenging with *R. solani*.

Material andMethods: The factorial experiment completely randomized design was used in this research. The effect of Potassium phosphite on Tarom (Resistance) and Khazar (Sensitive) rice cultivars in challenging with *R. solani* was considered. Four weeks old rice treated with potassium phosphite and as well mock plants were infected with the disease causal agent, *R. solani*. The sampling carried out at 0, 24, 48, 72 and 96 hours after infection. After total RNA extraction and cDNA synthesis, real-time quantitative PCR was performed to studying the expression pattern of PAL, LOX, PR1, PR3 and PR5 genes using specific primers.

Results: In this research, findings demonstrated that there is a significant increase in the expression of PAL, LOX, PR1, PR3 and PR5 genes in potassium phosphite treated rice when compared to the mock plants. The effects of the treatments in all traits in the expression level of LOX, PR1, PR3 and PR5 genes were significant, but in the expression level of the PAL gene, in the treatment-cultivar and treatment-cultivar-time traits were not significant. Nevertheless, for the other traits it was significant. Between the Tarom (Resistance) and Khazar (Susceptible) cultivars, except for the PR1 gene, there was a significant difference in the rest of mentioned genes. As well, between the treatments, all five genes had a significant mean comparison.

Conclusion: These findings show that potassium phosphite causes a rapid and intense response of the rice plant against *R. solani* through the induction of different genes and leads to increase in sheat blight disease resistance. Actually in Tarom cultivar, resistance genes were expressed faster and further than Khazar cultivar.

Keywords: Potassium phosphite, Rice, *R. solani*, Resistance genes

"مقاله پژوهشی"

بررسی اثر فسفیت پتاسیم در القای بیان برخی ژن‌های مقاومت در برنج در پیرو آلودگی با عامل بیماری شیت بلایت *Rhizoctinia solani*

میلاذ حبیبی درونکلایی^۱، ولی اله بابایی زاد^۲، محمد علی تاجیک قنبری^۳، حشمت اله رحیمیان^۴ و علی دهستانی^۵

۱- دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
۲- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران،
(نویسنده مسؤل: babaeizad@yahoo.com)

۳- دانشیار دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، کیلومتر ۹ جاده دریا، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
۴- استاد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، کیلومتر ۹ جاده دریا، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران
۵- استادیار پژوهشکده زیست فناوری طبرستان، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری تبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۱۹ صفحه: ۶۲ تا ۷۲

چکیده مسوط

مقدمه و هدف: برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از مهم‌ترین غلات می باشد که دارای ارزش غذایی بالایی بوده و در اکثر کشورها یکی از اصلی‌ترین اجزا در سبد غذایی مردم است. سوختگی غلاف برنج یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برنج بوده و عامل آن نیز پاتوژن *Rhizoctonia solani* (Teleomorph: Thanatephorus cucumeris) می باشد. القای بیان ژن‌های مرتبط با مقاومت یکی از کم هزینه‌ترین و امن‌ترین روش‌ها در مدیریت بیماری‌های گیاهی محسوب شده و عوامل زیستی و غیر زیستی مختلفی در افزایش بیان این ژن‌ها در گیاهان ایفای نقش می کنند. فسفیت‌ها از جمله ترکیبات شیمیایی هستند که باعث القای مقاومت شده و قادر به کنترل بیماری‌ها با اثر مستقیم بر پاتوژن و غیرمستقیم با تحریک پاسخ‌های دفاعی میزبان می‌شوند. در این تحقیق، اثرات کاربرد فسفیت پتاسیم بر میزان بیان برخی از ژن‌های مقاومت در دو رقم طارم (مقام) و خزر (حساس) آلوده شده با *R. solani* بررسی شد. **مواد و روش:** پژوهش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو رقم طارم (مقاوم) و خزر (حساس) و دو تیمار فسفیت پتاسیم و قارچ *R. solani* انجام گردید. برگ‌های تیمار شده با فسفیت پتاسیم و شاهد به قارچ عامل بیماری آلوده و در زمان‌های ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از آلودگی، نمونه برداری شدند. پس از استخراج RNA و ساخت cDNA، واکنش Real-time PCR جهت بررسی الگوی بیان با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ژن‌ها PAL، LOX، PR1، PR3 و PR5، برگ‌های انجام گردید.

یافته‌ها: در این مطالعه افزایش معنی‌داری در میزان بیان ژن‌های PAL و LOX در ساعت ۲۴ و ژن‌های PR1، PR3 و PR5 در ساعت ۴۸ تیمارها نسبت به شاهد مشاهده شد. اثرات تیمارها در تمامی صفات در میزان بیان ژن‌های LOX، PR1، PR3 و PR5 معنی‌دار بوده ولی در میزان بیان ژن PAL اثرات تیمارها در صفات تیمار-رقم و تیمار-زمان غیر معنی‌دار ولی در صفات دیگر معنی‌دار بود. بین رقم مقاوم (طارم) و رقم حساس (خزر) به جز ژن PR1 در مابقی ژن‌ها مقایسه میانگین معنی‌دار بود و بین تیمارها تمامی پنج ژن دارای مقایسه میانگین معنی‌دار وجود داشت.

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان‌دهنده این است که فسفیت پتاسیم باعث پاسخ سریع و شدید گیاه در برابر بیمارگر *R. solani* از طریق القای ژن‌های مختلف شده و به دنبال آن منجر به افزایش تحمل گیاه می شود. در رقم طارم به‌دلیل این که ژن‌های بررسی شده زودتر و بیشتر بیان شدند دارای مقاومت بیشتری نسبت به رقم خزر است.

واژه‌های کلیدی: برنج، فسفیت پتاسیم و ژن‌های مقاومت، *R. solani*

مقدمه

برنج (*Oryza sativa*) یکی از مهم‌ترین غلات شناخته شده است که دارای ارزش غذایی بالایی بوده و در اکثر کشورها یکی از اصلی‌ترین اجزا در سبد غذایی مردم است و به دلیل این که به طور مستقیم (به‌عنوان غذای انسان) یا به‌طور غیرمستقیم (به‌عنوان خوراک دام) مورد استفاده قرار می‌گیرد، در سلامتی جسمی انسان تاثیر بسیار زیادی است (۵۴).

سوختگی غلاف برنج یکی از مهم‌ترین بیماری‌های برنج محسوب می‌شود و عامل آن نیز پاتوژن *Rhizoctonia solani* (Teleomorph: Thanatephorus cucumeris) است (۳۶). علائم سوختگی غلاف به‌صورت لکه‌های قهوه‌ای بیضوی آسوخته هستند (۳۲). این قارچ منجر به کاهش عملکرد تا ۴۵ درصد می‌شود (۴۶).

قارچ *R. solani*، دامنه میزبانی وسیع، تنوع بیماری‌زایی بالا و ماندگاری طولانی مدت در خاک دارد بنابراین مدیریت بیماری سوختگی غلاف با روش‌های معمول مدیریت شیمیایی، کم تاثیر و دشوار است (۴۸).

استفاده از قارچ‌کش‌ها یک روش معمول برای کنترل بیماری‌های گیاهی است ولی کنترل از طریق شیمیایی هزینه تولید را به میزان قابل توجهی افزایش داده و تهدید کننده سلامتی انسان و محیط زیست است. علاوه بر این با ظهور نژادهای مقاوم به قارچ‌کش، استفاده از آن‌ها تاثیر مطلوب و با دوامی ندارد (۱۶). بیشتر انواع برنج در سرتاسر جهان به *R. solani* دچار می‌شوند، اگرچه میزان مقاومت کم تا زیاد برای ارقام مختلف گزارش شده است (۳۹).

یک روش جدید در مدیریت یکپارچه محصولات استفاده از ترکیبات شیمیایی است که باعث تحریک واکنش‌های دفاعی گیاه به دنبال حمله بیمارگرها می‌شوند. این ترکیبات به نام القا کننده‌های مقاومت یا تقویت کننده‌های گیاهی شناخته می‌شوند (۴۴). از ویژگی‌های بارز این ترکیبات استفاده از دوز پایین‌تر نسبت به قارچ‌کش‌های سنتی، کم خطر بودن برای سلامتی انسان و محیط زیست و مقرون به صرفه از نظر اقتصادی است (۱).

گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) افزایش می‌یابد که منجر به از بین رفتن انواع مختلفی از مولکول‌های بزرگ درون سلولی می‌شود (۴۲). آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APx)، پلی فنول اکسیداز (PPO)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز (GSH) اجزای مهم آنتی اکسیدانی هستند که نقش مهمی در حفظ تعادل بین تولید و خاموش کردن ROS در سلول‌های گیاهی داشته (۲۵) و در گیاهان پیش تیمار شده با فسفیت پتاسیم در برابر تنش‌های زیستی، غلظت بالایی از آنزیم‌های دفاعی در بافت گیاه دیده شده است (۸).

فسفیت پتاسیم از طریق افزایش سیگنال‌دهی مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) و مقاومت سیستمیک القایی (ISR) باعث مهار رشد میسلوم و کاهش تغییر متابولیسم پاتوژن و افزایش تولید فیتوالکسین‌ها، گونه‌های اکسیژن فعال، القای PRs و تقویت دیواره سلولی می‌گردد.

هدف پژوهش بررسی القای مقاومت در گیاه برنج تیمار شده با فسفیت پتاسیم و روند و نرخ بیان ژن‌های مقاومت (PR1, LOX, NH1, PR3 و PR5) پس از آلودگی با قارچ *R. solani* است.

مواد و روش‌ها

تیمار آزمایشی

مطالعه حاضر به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و دو تیمار فسفیت پتاسیم و *R. solani* در یک سطح مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج مقایسه میانگین بر اساس LSD در سطح ۰/۰۱ درصد توسط نرم افزار آماری SAS 9.1 انجام گرفت. نمودارهای بیان ژن با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم گردید.

کشت گیاهچه‌های همسان

بذور رقم‌های طارم محلی و خزر از پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی تبرستان تهیه شد. به‌منظور تولید گیاهچه‌های همسان و کاملاً عاری از هر گونه پاتوژن بذور پس از ضد عفونی ۱ دقیقه‌ای در الکل ۷۰ درصد با آب مقطر شستشو، سپس ۳۰ دقیقه در هیپوکلرید سدیم تجاری ۱ درصد تیمار و سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از جوانه‌دار کردن بذور روی کاغذ فیلتر مرطوب در شرایط تاریکی در دمای آزمایشگاه، گیاهچه‌های همسان به گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک استریل منتقل و گلدان‌ها به اتاقک رشد (با تناوب نوری ۱۶ ساعت نور با دمای ۲۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۵ درصد و ۸ ساعت تاریکی با دمای ۱۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰ درصد) انتقال یافتند.

تیمار گیاهچه‌ها با فسفیت پتاسیم

۰/۵ گرم اسید فسفرو (H_2PO_3) و ۰/۵ گرم هیدروکسید پتاسیم (KOH) را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل شد سپس با استفاده از محلول KOH، pH در مقدار ۶/۵ تنظیم گردید سپس به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از KPhi رقیق شده ۱ درصد (۱ گرم در یک لیتر آب) برای هر بوته اسپری شد (۳۵).

مقاومت القایی (IR) مکانیزمی است که در اثر محرک‌های زیستی و غیرزیستی فعال می‌شود و باعث افزایش سطح مقاومت گیاهان در برابر تنش‌های بعدی شده که بر اساس تفاوت در مسیر سیگنال‌دهی به دو نوع، مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) و مقاومت سیستمیک القایی (ISR) تقسیم می‌شود. در مقاومت القایی ممکن است پاسخ‌های دفاعی مستقیماً فعال نشود بلکه مکانیسم‌های دفاعی پایه که وجود دارد، سریع‌تر و بسیار بیشتر در هنگام نفوذ بیمارگر فعال شود (۱۷).

پاسخ‌های اولیه شامل، انفجار اکسیداتیو، تجمع سریع گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species; ROS)، رسوب موادی که باعث تقویت دیواره سلولی می‌شوند (کالوز و لیگنین) و القای ژن‌های مرتبط با بیماریزایی (Pathogenesis Related genes; PRs) است (۴۹).

فسفیت‌ها از جمله ترکیبات شیمیایی هستند که باعث القای مقاومت می‌شوند و قادر به کنترل بیماری‌ها با اثر مستقیم بر پاتوژن و غیرمستقیم با تحریک پاسخ‌های دفاعی میزبان‌اند (۹). اثر مستقیم شامل مهار رشد میسلوم و کاهش تغییر متابولیسم پاتوژن (۳۰) و غیر مستقیم شامل تحریک دفاع در گیاه مانند افزایش تولید فیتوالکسین‌ها، گونه‌های اکسیژن فعال، القای PRs و تقویت دیواره سلولی است (۲۷). ترکیب اسید فسفرو (H_3PO_3) با عناصر Mg, Ca, K, Mn, Zn و نمک‌های فسفیت به دست می‌آید (۲۴).

فسفیت پتاسیم سیگنال‌دهی مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) و مقاومت سیستمیک القایی (ISR) را افزایش می‌دهد (۵). همچنین با واکنش فوق حساسیت منجر به افزایش مرگ برنامه ریزی شده سلولی در سلول‌های آلوده می‌شود (۱۲). فسفیت پتاسیم در شرایط آزمایشگاهی از رشد قارچ‌های *Phytophthora infestans*, *Fusarium solani*, *Rhizoctonia solani*, *Erwinia cartovora* و *Streptomyces* جلوگیری می‌کند (۳۱). نتایج یک بررسی نشان داد فسفیت پتاسیم باعث افزایش مقاومت گوجه فرنگی در برابر *Phytophthora* و *Pseudoperenospora* می‌شود (۲۳، ۴۴).

الیویری و همکاران (۲۰۱۲) فسفیت پتاسیم را بر روی شاخ، برگ و غده سیب‌زمینی تیمار کردند و بیان داشتند که پس از آلودگی به *F. solani*، میزان پکتین، مهارکننده‌های پروتئینازی و پلی گالاکتورونازی و دو ایزوفرم کیتیناز در بخش‌های تیمار شده افزایش یافت (۳۷).

نتایج تحقیقی نشان داد که فسفیت پتاسیم از به‌دلیل افزایش غلظت پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، خسارت بیماری قارچ *Pythium ultimum* var. *ultimum* در خیار را تا حد زیادی جلوگیری کرده و مانع پیشرفت بیماری شد (۳۴).

تنش زیستی باعث مختل شدن فتوسنتز (PSII) و سایر بخش‌های زنجیره انتقال الکترون شده که نتیجه آن، کاهش رنگدانه‌های کلروفیل و انتقال الکترون‌های فتوسنتزی می‌باشد (۱۴). در طول تنش زیستی و غیر زیستی غلظت

تلقیح عامل بیماری به گیاه

برای تلقیح بلوکی به قطر ۵/۰ سانتی‌متر از محیط کشت تازه R. solani به وسیله چوب پنبه سوراخ‌کن در زیر غلاف برگ گذاشته شد و با پلاستیک پوشانده شد. پس از ظهور علائم بیماری چسب برداشته شد (۴۰).

نمونه‌برداری

نمونه‌برداری از بافت برگ گیاهچه‌های تیمار شده و شاهد به ترتیب در بازه‌های زمانی ۰، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از تیمار انجام گرفت و نمونه برداری در بازه زمانی ساعت ۱۰-۱۲ روز انجام گرفت. نمونه‌های برگ پس از انتقال به لوله‌های فالتون به سرعت در نیتروژن مایع فرو برده و سپس به فریزر با دمای ۸۰- درجه سلسیوس منتقل شدند.

استخراج RNA

کل از برگ‌های نمونه برداری شده در بازه‌های زمانی مختلف با استفاده از کیت RNx plus (شرکت سیناژن) انجام شد. به منظور زدودن DNA ژنومی از نمونه‌های RNA کیت Thermo RQ1 RNase-free DNase ساخت شرکت طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد.

بررسی کیفیت نمونه‌های استخراج شده، با استفاده از ژل

آگارز ۱/۵ درصد انجام شدند.

ساخت cDNA

سنتز cDNA با استفاده از کیت Revert Aid first strand cDNA (Thermo) انجام شد. جهت بررسی کیفیت نمونه‌های cDNA سنتز شده از PCR با آغازگر اختصاصی 18s استفاده گردید.

بررسی بیان ژن‌ها

تجزیه و تحلیل بیان ژن با تکنیک Quantitative real-time PCR انجام شد. برای این منظور از دستگاه Applied Biosystems® StepOnePlus™ Real-Time PCR استفاده شد. کیت استفاده شده در این واکنش Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2X) Thermo بود و بر اساس برنامه دمایی و زمانی خاص در هر چرخه انجام گرفت (جدول ۲) آنالیز نتایج با فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ انجام شد (۲۹).

در این بررسی ژن 18s به عنوان ژن خانه دار و ژن‌های PR1، PR3، PR5، LOX و PAL به عنوان ژن‌های هدف مورد استفاده قرار گرفتند (جدول ۱).

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

Table 1. The primers used in Real time PCR assay

ژن Gene	توالی آغازگر رفت (۵'→۳')	توالی آغازگر برگشت (۵'→۳')	شماره دسترسی Accession number	طول قطعه تکثیر شده (bp) Product size [bp]	دمای اتصال (°C) Temperature binding (°C)	منبع Refer ence
18s	ATGATAACTCGACGGATCGC	CCTGGATGTGGTAGCCGTTT	AK059783	169	60	33
PR1	AGGCGTTCGCGGAGAACTA	GAAGAGGTTCTCGCCAAGGTT	U89895	92	60	20
PR3	TACTGTGTCCAGAGCTCGCAGTGG	TCTGGTTGTAGCAGTCCAAGT	D16221	165	60	43
PR5	ACCTCTTCCGCTGTCCTC	GAAGACGACTTGGTAGTTGC	X68197	241	60	43
PAL	AGATGAGGCGCGTGATGAC	CATGGAAGTCGAGCATGAACA	D14000	185	60	43
LOX	GGTGTCTGCGAGGTGATGA	AGGGTGGTGCTTCAGCTTGT	X16099	180	60	43

جدول ۲- تناوب دمایی برای واکنش Real-time PCR

Table 2. Thermocycler program for Real -time PCR reaction

مرحله Step	دما (°C) Temperature (°C)	زمان Time	سیکل Cycle
واشرشت‌سازی Denaturation	95	10 دقیقه 10 Minute	1
واشرشت‌سازی Denaturation	95	15 ثانیه 15 Second	40
اتصال / گسترش Annealing/ Extension	60	1 دقیقه 1 Minute	
واشرشت‌سازی Denaturation	95	15 ثانیه 15 Second	1
اتصال Annealing	60	1 دقیقه 1 Minute	
گسترش Extension	95	15 ثانیه 15 Second	

نتایج و بحث

نتیجه بررسی نشان داد، گسترش بیماری شیت بلایت در رقم طارم و خزر تیمار شده با فسفیت پتاسیم نسبت به شاهد کاهش یافته و اختلاف بین دوتیمار معنی‌دار بوده است (حبیبی و همکاران در دست چاپ). نتایج تجزیه واریانس در جدول ۳ نشان داد که اثرات تیمارها در تمامی منابع تغییرات در میزان

بیان ژن‌های LOX، PR1، PR3 و PR5 معنی‌دار بوده ولی در میزان بیان ژن PAL اثرات تیمارها در تیمار-رقم و تیمار-رقم-زمان غیر معنی‌دار ولی در منابع دیگر معنی‌دار بود. معنی‌دار بودن اثرات متقابل به این معنی است که در پژوهش حاضر تیمارها به صورت مستقل از هم عمل نمی‌کند.

جدول ۳- تجزیه واریانس بیان ژن‌های اندازه‌گیری شده در آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی
Table 3. Analysis of variance gene expression measured in factorial experiment in the form of complete of randomized design

میانگین مربعات Mean squared					درجه آزادی Degree of Freedom	منابع تغییرات Sources of changes
PR5	PR3	PR1	LOX	PAL		
1.058**	13.048**	1.488**	1.335**	14.820**	1	تیمار Treatment
2.736**	5.055**	4.042**	0.782**	4.796**	4	زمان Time
3.034**	10.450**	0.348**	4.833**	5.024**	1	رقم Cultivar
1.847**	3.517**	1.358**	0.932**	2.197**	4	تیمار×زمان Treatment*Time
0.036**	4.202**	0.127**	0.856**	0.154 ^{ns}	1	تیمار×رقم Treatment* Cultivar
0.688**	2.766**	0.430**	0.618**	1.041**	4	زمان×رقم Time * Cultivar
0.048**	1.078**	0.186**	0.548**	0.091 ^{ns}	4	تیمار×زمان×رقم Treatment*Time* Cultivar
0.001	0.059	0.001	0.001	0.027	38	خطای آزمایش Error
4.566	21.985	7.400	5.997	12.822		ضریب تغییرات Coefficient of variation

ns: عدم معنی داری و **: معنی داری در سطح یک درصد

بیان ژن فنیل آلانین آمونیا لیناز (PAL)

در طارم و خزر تیمار شده با فسفیت پتاسیم و در طارم شاهد، ۲۴ ساعت پس از آلودگی بیان ژن PAL بیشترین میزان را داشت با این تفاوت که در طارم و خزر تیمار شده با فسفیت پتاسیم به ترتیب ۴/۲۱ و ۲/۷۶ و در طارم شاهد ۱/۸۹ برابر نسبت به زمان صفر بود پس از آن میزان بیان کاهش یافته است ولی در خزر شاهد بیان این ژن در طول ۹۶ ساعت کمتر از یک بوده است (شکل ۱).

PAL یکی از گسترده‌ترین ژن‌های گیاهی به‌ویژه در پاسخ به انواع شرایط محیطی است.

PAL آنزیم اصلی مسیر فنیل پروپانویید است که تبدیل ال فنیل آلانین به اسید ترانس سینامیک را کاتالیز می‌کند که پیش‌سازهایی برای انواع متابولیت‌های ثانویه مهم (مواد فنولی، لیگنین، و فیتوالکسین‌ها) می‌باشد. متابولیسم فنیل پروپانویید مکانیسم دفاعی برای محافظت در برابر تهاجم بیمارگرها است و القای PAL به خوبی به‌عنوان پاسخی به عفونت بیمارگر در برهمکنش‌های مختلف میزبان و بیمارگرها است (۵۶).

در پژوهش‌های قبلی نقش ژن PAL در مقاومت گیاه برنج به R. solani نشان داده شده است (۴۳).

سونگ و همکاران (۲۰۱۶) نشان دادند فعالیت پلی فنول اکسیداز (PPO) و فنیل آلانین آمونیاک لیاز (PAL) در برگ برنج تیمار شده با سیلیس نسبت به شاهد تحت تنش بیمارگر xanthomonas oryzae pv. oryzae بیشتر می‌شود (۴۷).

نشان داده شده است ژن PAL در ارقام مقاوم به میزان بالاتری نسبت به ارقام حساس در ساعات ابتدایی بیان می‌شود (۱۰).

در این بررسی مشاهده شد که بیان این ژن در رقم مقاوم (طارم) نسبت به رقم حساس (خزر) به‌طور معنی داری بیشتر بود. بنابراین چنین استنباط می‌شود که ژن PAL در ارقام مقاوم

نسبت به ارقام حساس پتانسیل بیشتری در بیان دارند به طوری که در هنگام آلودگی به بیماری ترکیبات PAL سریع‌تر و به میزان بیشتری در ارقام مقاوم بیان شده که در تحمل بیماری نقش دارد. افزایش بیان سریع و بالای این ژن در ارقام مقاوم برنج در مقایسه با ارقام حساس در برابر قارچ شیت بلایت برنج مشاهده شده (۶۰) و میزان بیان این ژن بین دو تیمار شاهد و فسفیت پتاسیم دارای اختلاف معنی داری بوده است، به گونه‌ای که در گیاهانی که با فسفیت پتاسیم تیمار شدند نسبت به گیاهان شاهد افزایش بیان وجود داشت که می‌توان نتیجه گرفت فسفیت پتاسیم باعث پاسخ سریع و میزان بیان بالا ژن PAL در گیاهان در برابر پاتوژن می‌شود که با نتایج محمدی و همکاران مطابقت دارد (۳۵).

ژن PAL نقش مهمی در مرحله عفونت با افزایش لیگنینی کردن دیواره سلولی و متابولیت‌ها ثانویه (مانند فنول‌ها، فلاونوئیدها و فیتوالکسین‌ها) دارد (۵۶) و فسفیت پتاسیم باعث افزایش بیان PAL در ۲۴ ساعت ابتدایی شده در نتیجه پیشرفت بیماری و میزان بیان کم شده است.

بیان نسی ژن لیپواکسیژناز (LOX)

ژن LOX در خزر شاهد و تیمار شده با فسفیت به ترتیب ۰/۱۳ و ۰/۴۲ شده است ولی در طارم شاهد و تیمار شده با فسفیت پتاسیم در زمان ۲۴ به اوج خود نسبت به زمان صفر (به ترتیب ۱/۳۵ و ۲/۰۷) رسید و پس از آن، میزان بیان کاهش یافت (شکل ۱).

در گیاهان، LOXها آنزیم‌های چند عملکردی هستند که واکنش دی‌اکسیژناسیون بسترهای لیپیدی را کاتالیز می‌کنند و براساس این که در کدام قسمت بافت گیاهی فعالیت عملکردی دارند و به کدام اتم کربن زنجیره هیدروکربنی اکسیژن رسانی کنند، طبقه بندی می‌شوند. کربن ۹ (9-LOX) یا کربن ۱۳ (13-LOX) از زنجیره هیدروکربنی اکسیژن دریافت می‌کنند که (9S)-hydroperoxy و (13S)-hydroperoxy را ایجاد می‌کند (۵۳). هیدروپراکسیدها بسیار واکنش پذیر هستند و به

بوده و این افزایش در ۴۸ ساعت در گیاهان تیمار شده به بالاترین حد خود رسیده است (۵۷).

تجمع رونوشت‌های دو ژن مرتبط با فعال‌سازی مکانیسم‌های دفاعی گیاه، یعنی Bgl و PR1، در برگ‌های گوجه‌فرنگی پس از محلول‌پاشی با فسفیت پتاسیم در مقایسه با گیاهان تیمار نشده حتی تا ۷ روز پس از آخرین برگ وجود داشته است. (۵۵).

ارقام طارم و خزر تیمار شده با فسفیت پتاسیم در مقایسه با تیمار نشده هنگامی که تحت تنش R. solani قرار می‌گیرند بیان ژن PR1 افزایش داشته و اختلاف بین گیاهان تیمار شده و شاهد معنی داری است (جدول ۴). می‌توان گفت فسفیت پتاسیم باعث افزایش مولکول‌های سیگنالینگ شده و به دنبال آن افزایش بیان PR1 صورت گرفته است؛ بنابراین در گیاهان تیمار شده با فسفیت پتاسیم افزایش بیان این ژن در زمان ۴۸ سبب ایجاد مرگ سلولی برنامه ریزی شده تا از توسعه بیماری در سلول میزبان جلوگیری و باعث ایجاد مقاومت می‌شود (۲۸) و در ادامه به دلیل کم شدن تحریک قارچ میزان بیان کم شده است.

بیان نسبی ژن کیتیناز (PR3)

بیان ژن PR3 در رقم‌های طارم (مقاوم) و خزر (حساس)، تحت تنش با R. solani در تمامی ساعات بعد از آلودگی به غیر از ساعت ۴۸ در رقم طارم که ۱/۲۷ برابر نسبت به شاهد بود، کم بود ولی در گیاهان تیمار شده با فسفیت پتاسیم به دنبال آلودگی با R. solani، ۲۴ ساعت بعد افزایش بیان وجود داشته است (طارم ۳/۵۱ و خزر ۱/۱۳ برابر نسبت به شاهد). اوج بیان در زمان ۴۸ بوده در طارم و خزر به ترتیب ۴/۹۷ و ۱/۳۹ بوده است و نرخ بیان این ژن پس از زمان اوج کاهش یافت (شکل ۱).

بسیاری از مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که PR پروتئین‌ها دیواره سلولی قارچی را هیدرولیز کرده و منجر به مرگ سلولی می‌شود. پروتئین‌های PR2، PR3، PR4، PR5 و PR12 به‌عنوان پروتئین‌های ضد قارچی قوی در گیاهان بوده که افزایش بیان انفرادی یا ترکیبی از آن‌ها منجر به افزایش مقاومت در برابر پاتوژن‌های بیوتروف نکروتروف قارچی می‌شود (۶).

کیتینازها، اولین گروه شناسایی شده از PR پروتئین‌ها بوده که با تجزیه کیتین (از اجزای اصلی دیواره سلولی قارچ‌های Zygomycota، Basidiomycota و Ascomycota) باعث از بین رفتن پاتوژن می‌شود (۷).

PR1 و PR3 در برگ‌ها سیستمیک شده و نقش مهمی در مقاومت به طیف وسیع از بیمارگرها ایجاد می‌کند (۵۸).

بین برنج‌های تیمار شده و نشده با فسفیت پتاسیم اختلاف معنی‌داری در میزان بیان ژن کیتیناز وجود دارد (جدول ۴). سطح بیان PR3 به طور قابل توجهی در طارم و خزر تیمار شده با فسفیت نسبت به شاهد در ساعت ۴۸ بالاتر بود که قویاً نشان می‌دهد که فسفیت پتاسیم باعث می‌شود که گیاه پس از دریافت اولین سیگنال حمله بیمارگر شروع به بیان ژن PR3 کرده که باعث آزاد سازی آنزیم‌های کیتینازی شده و در نتیجه

سرعت به پیش‌سازهای برای سنتز جاسمونیک اسید مانند متیل جاسمونات (MeJ)، دی انوئیک اسیدهای مزدوج و چندین آلدئید فرار تجزیه می‌شود. LOXها نقش‌های متنوعی در طول مراحل مختلف رشدی و تنش‌های محیطی دارند (۱۵).

جاسمونات‌ها به‌عنوان سیگنال تحت تنش عوامل بیماری‌زا و حشرات عمل کرده و بیان ژن‌های مربوط به دفاع را تنظیم می‌کند (۵۰).

پس از تلقیح بوته‌های برنج با R. solani، سطح بیان LOX در رقم مقاوم (طارم) هم در حالت تیمار شده و هم تیمار نشده با فسفیت، در ۲۴ ساعت بعد از آلودگی افزایش حدوداً ۳ برابری نسبت به رقم حساس (خزر) تیمار شده یا نشده با فسفیت پتاسیم داشته است زیرا در ساعات اولیه بعد از آلودگی هیف‌های قارچ رشد فراوانی داشته و مقداری هیف به داخل سلول‌های اپیدرم نفوذ می‌کند (۶۲). و در زمان‌های بعدی با کنترل بیماری از میزان بیان کاهش یافته است.

همچنین نتایج به دست آمده نقش احتمالی جاسمونیک اسید را در مسیر سیگنالینگ در القای پاسخ‌های دفاعی در برنج پس از حمله با سوختگی غلاف را نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد که در این تعامل، هر دو مسیر JA و SA فعال شده و باعث محدود کردن پاتوژن می‌شود (۴۳).

بیان نسبی ژن PR1

در گیاهان شاهد (طارم و خزر) میزان بیان ژن PR1 در پاسخ به آلودگی R. solani کاهش بیان محسوسی مشاهده شد ولی در طارم و خزر تیمار شده با فسفیت پتاسیم، ۴۸ ساعت بعد از آلودگی بیان این ژن به بیشینه خود رسید که سطح آن به ترتیب ۲/۳۶ و ۱/۹۰ برابر زمان شاهد (زمان صفر) بود و ۷۲ ساعت پس از مایه‌زنی نرخ بیان به کمترین میزان خود رسید (شکل ۱).

خانواده PR1 فراوان‌ترین گروه در خانواده‌های ژن‌های PR بوده و طبقه‌بندی می‌شود (۵۱). ژن PR1 برای اولین بار در تنباکو (Nicotiana tabacum L.) کشف شد (۳). سپس ژن‌های PR1 در بسیاری از گیاهان دولپه‌ای و تک‌لپه‌ای شناسایی شدند (۲۶). اکثر پروتئین‌های PR1 دارای وزن مولکولی ۱۴ تا ۱۷ کیلو دالتون هستند. خانواده PR1 از نظر ساختار بسیار حفظ شده و سطح بالایی از شباهت در برخی قسمت‌ها (Domain) دارند (۱۱). اما عملکرد مولکولی آن ناشناخته باقی مانده است ولی به‌طور عمومی PR1 به‌عنوان یک شاخص مولکولی القایی در سیستم ایمنی گیاه در پاسخ فوق حساسیت و مقاومت اکتسابی سیستمیک و مقاوت سیستمیک القایی شناخته می‌شود (۱۱).

گزارش‌های قبلی نشان داده است که سطوح رونوشت ژن PR1 به‌طور قابل توجهی هنگامی که گیاهانی در معرض تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرند، افزایش می‌یابد (۲۱).

در برگ‌های سیب‌زمینی، تیمار شده با فسفیت پتاسیم در مقایسه با برگ‌های گیاهان تیمار شده با آب، در ۲۴ ساعت بعد از آلودگی به Phytophthora infestans بیان StPR1 بیشتر

بیماری را القا می‌شود و برای همولوگ‌های آن در گوجه‌فرنگی و سیب‌زمینی نشان داده شده است که دارای فعالیت ضد اوومیسیت در شرایط آزمایشگاهی در برابر *Phytophthora infestans* است و بیش بیانی PR5 در گیاهان تنباکو و سیب زمینی می‌تواند مقاومت به بیماری را افزایش دهد (۲۲). بیان یک پروتئین شبه تائوماتین برنج منجر به افزایش مقاومت به *Alternaria alternata* در تنباکو می‌شود (۵۲).

در این تحقیق میزان بیان PR5 در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد اختلاف معنی‌دار داشته است که این امر بیانگر این است که فسفیت پتاسیم در گیاه باعث افزایش بیان زیاد PR5 در برابر با قارچ *R. solani* شده و از رشد قارچ جلوگیری می‌کند (۱۶).

نشان داده شده است که PR5s پروتئین‌های معمولی میزبان هستند که در پاسخ‌های دفاعی نقش دارند (۱۸). در این بررسی میزان بیان PR5 در رقم مقاوم (طارم) نسبت به رقم حساس (خزر) تقریباً معنی‌دار و تقریباً دو برابر بوده است که نشان دهنده این است که پروتئین‌های PR5 در رقم مقاوم به مقدار بیشتری وجود داشته و بیان می‌شود که با نتایج ژانگ و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت دارد (۶۰).

نتیجه‌گیری کلی

فسفیت پتاسیم باعث افزایش میزان بیان ژن‌های PAL و LOX در ۲۴ ساعت ابتدایی در گیاهان تیمار شده نسبت به گیاهان شاهد شده و از آن جای که PAL و LOX قسمت بالادست سایر ژن‌ها قرار دارند، باعث افزایش بیان ژن‌های PR1، PR3 و PR5 نیز شده است. این نتایج نشان داد می‌توان از فسفیت پتاسیم به‌عنوان یک ترکیب غیرزیستی برای کاهش میزان آلودگی *R. solani* به جای قارچ‌کش‌ها استفاده کرد، که هزینه و خطر کمتری برای محیط زیست و انسان دارد.

دیواره سلولی قارچ را تخریب و از پیشروی بیماری جلوگیری می‌کند و با از بین رفتن قارچ در زمان‌های بعدی میزان بیان در زمان‌های بعدی کاهش یافته است و همچنین کیتیناز حداقل به‌عنوان بخشی از سیستم نظارتی شناخته می‌شود (۵۹). علاوه بر این، میزان بیان PR3 در رقم مقاوم (طارم) نسبت به رقم حساس (خزر) معنی‌دار بوده است (جدول ۴).

بیان نسبی ژن PR5

در گیاهان شاهد در پاسخ به *R. solani* میزان بیان PR5 در تمامی ساعات بعد از آلودگی کم بود. به جز در زمان ۴۸ رقم طارم که ۱/۳۷ شاهد متناظر بود و پس از آن کاهش یافت. ولی در گیاهان تیمار شده با فسفیت پتاسیم میزان بیان این ژن در پاسخ به آلودگی ۲۴ ساعت بعد از مایه‌زنی افزایش یافت و پس از آن نیز این روند افزایشی بیان این ژن تا ۴۸ ساعت بعد از آلودگی ادامه یافته و به بیشینه بیان خود رسید. این سطح بیان در رقم طارم ۲/۴۴ و در خزر ۱/۲۴ نسبت به زمان صفر خود بود (شکل ۱).

پروتئین‌های خانواده PR5، به‌عنوان پروتئین‌های شبه تائوماتین نیز شناخته می‌شوند. جرم مولکولی حدود ۲۰-۳۰ کیلو دالتون داشته و یک ساختار سه بعدی بسیار پایدار دارند (۴). پروتئین PR5 دارای فعالیت بتا گلوکاناز است در نتیجه سبب تغییر نفوذپذیری اجزای ساختار دیواره سلولی و در نهایت مرگ سلول می‌شود (۳۸).

پروتئین‌های خانواده PR5 در بسیاری از گونه‌ها پس از عفونت با پاتوژن‌ها گزارش شده‌اند و دارای فعالیت ضد میکروبی هستند. نشان داده شده است که PR5 در شرایط آزمایشگاهی علیه *Verticillium dahliae* دارای فعالیت ضد قارچی است (۲). اسموتین، بر اساس القای آن توسط تنش اسمزی نامگذاری شده است و متعلق به خانواده PR5 است (۴۵). اسموتین پروتئین PR5 تنباکو هم توسط تنش اسمزی و هم عوامل

جدول ۴- مقایسه میانگین بین تیمارها و در ژن‌های PAL، LOX، PR1، PR3 و PR5

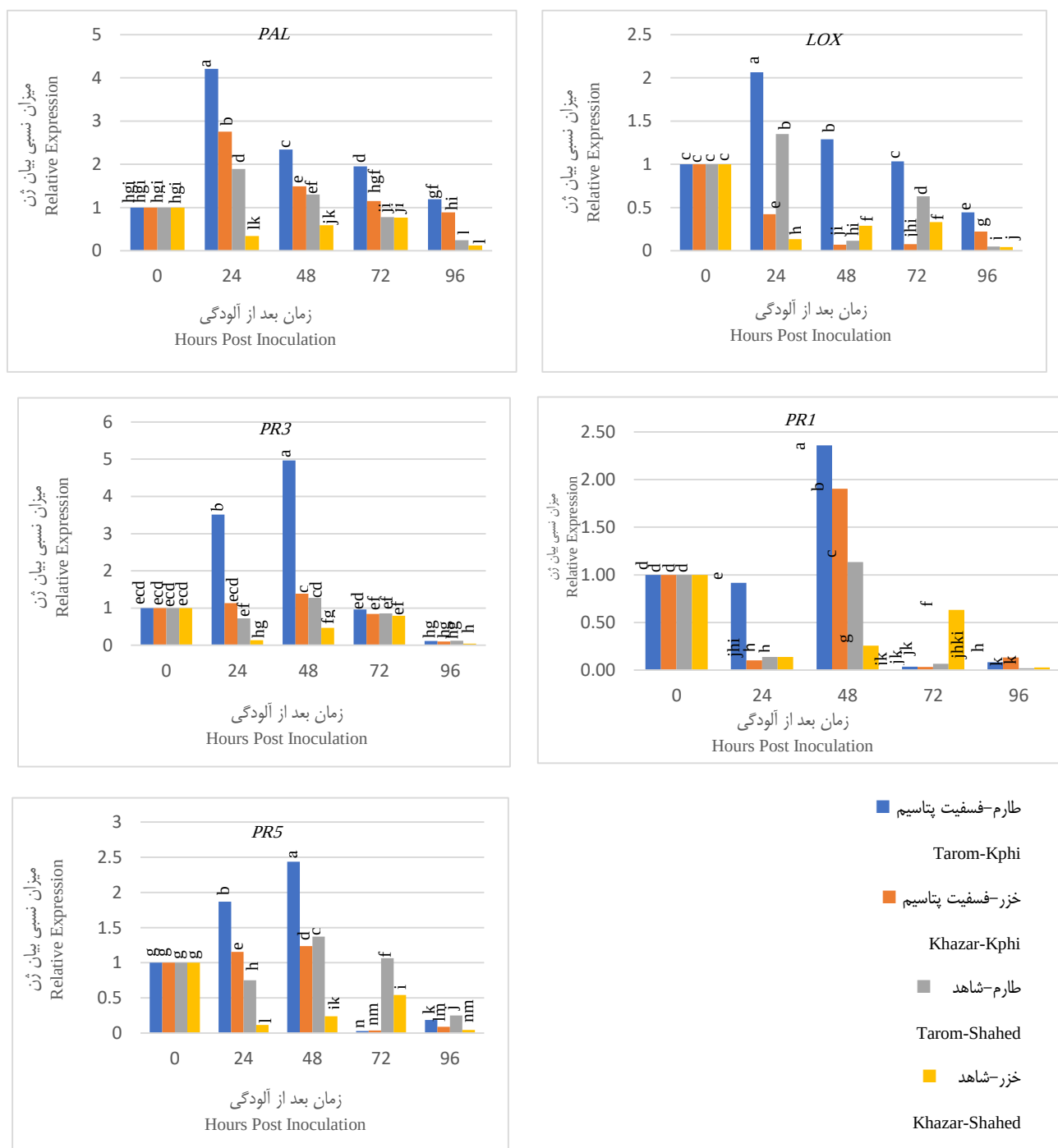
Table 3. Average comparison between treatments PAL, LOX, PR1, PR3 and PR5 genes

PR5	PR3	PR1	LOX	PAL	تیمار Treatment
0.90 ^a	1.58 ^a	0.76 ^a	0.76 ^a	1.80 ^a	فسفیت پتاسیم Potassium Phosphite
0.64 ^b	0.64 ^b	0.44 ^b	0.47 ^b	0.80 ^b	ریزوکتونیا Rhizoctonia

جدول ۵- مقایسه میانگین بین رقم‌ها در میزان در ژن‌های PAL، LOX، PR1، PR3 و PR5

Table 4. Comparison of the average between numbers in PAL, LOX, PR1, PR3 and PR5 genes

PR5	PR3	PR1	LOX	PAL	رقم Cultivar
1.00 ^a	1.53 ^a	0.68 ^a	0.90 ^a	1.59 ^a	طارم Tarom
0.55 ^b	0.69 ^b	0.52 ^a	0.33 ^b	1.01 ^b	خزر Khazar



شکل ۱- نرخ بیان ژن PAL، LOX، PR1، PR3 و PR5 در رقم‌های طارم و خزر، شاهد و تیمار شده با فسفیت پتاسیم در زمان‌های مختلف پس از آلودگی با *R. solani*

Figure 1. PAL, LOX, PR1, PR3 and PR5 gene expression level in Tareh and Khazar cultivars, control and treated with potassium phosphite at different times after infection with *R. solani*

منابع

- Achary, V.M., M.B. Ram, M. Manna, D. Datta, A. Bhatt, M.K Reddy and P.K. Agrawal. 2017. Phosphite: a novel P fertilizer for weed management and pathogen control. Plant Biotechnology Journal, 15(12): 1493-1508.
- Anil Kumar, S., P. Hima Kumari, G. Shravan Kumar, C. Mohanalatha and P. Kavi Kishor. 2015. Osmotin: a plant sentinel and a possible agonist of mammalian adiponectin. Frontiers in Plant Science, 6: 163.

3. Antoniwi, J.F., C.E. Ritter, W.S. Pierpoint and L.C. Van Loon. 1980. Comparison of three pathogenesis-related proteins from plants of two cultivars of tobacco infected with TMV. *Journal of General Virology*, 47(1): 79-87.
4. Breiteneder, H. 2004. Thaumatin-like proteins—a new family of pollen and fruit allergens *Allergy*, 59(5): 479-481.
5. Costa, B.H.G., de Resende, M.L.V., Monteiro, A.C.A., Ribeiro Júnior, P.M., Botelho, D.M.D.S., and B.M.D. Silva. 2018. Potassium phosphites in the protection of common bean plants against anthracnose and biochemical defence responses. *Journal of Phytopathology*, 166(2): 95-102.
6. Dai, L., D. Wang, X. Xie, C. Zhang, X. Wang, Y. Xu, Y. Wang and J. Zhang. 2016. The Novel Gene VpPR4-1 from *Vitis pseudoreticulata* increases powdery mildew resistance in transgenic *Vitis vinifera* L. *Frontiers in plant science*, 7:695.
7. Punja, Z.K. 2004. Genetic engineering of plants to enhance resistance to fungal pathogens. *Fungal Disease Resistance in Plants*, 207-258.
8. Debnath, B., M. Irshad, S. Mitra, M. Li, H.M. Rizwan, S. Liu, T. Pan and D. Qiu. 2018. Acid rain deposition modulates photosynthesis, enzymatic and non-enzymatic antioxidant activities in tomato. *International Journal of Environmental Research*, 12(2): 203-214.
9. Deliopoulos, T., P.S Kettlewell and M.C Hare. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. *Crop Protection*, 29(10): 1059-1075.
10. Derakhshan, A., M. Salari, V. Babaeizad, N. Panjehkeh and A. Taheri. 2021. Study of Biochemical and Molecular Changes of Iranian Rice Cultivars in Interaction with Bacterial Pathogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Causes Leaf Blight Disease. *Journal Plant Crop Breeding*, 12(36): 77-88.
11. Edreva, A. 2005. Pathogenesis-related proteins: research progress in the last 15 years. *Gen Appl Plant Physiol*, 31(1-2): 105-24.
12. Eshraghi, L.E., J. Anderson, N. Aryamanesh, B. Shearer, J. McComb, G.S. Hardy and P. A.O'Brien. 2011. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology*, 60(6): 1086-1095.
13. Feussner, I. and C. Wasternack. 2002. The lipoxygenase pathway. *Annual Review of Plant Biology*, 53: 275.
14. Forouzanfar, M.H., A. Afshin, L.T. Alexander, H.R. Anderson, Z.A. Bhutta, S. Biryukov and J.J. Carrero. 2016. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: a systematic analysis for the global burden of disease Study 2015. *The Lancet*, 388(10053): 1659-1724.
15. Gao, G., S. Zhang, C. Wang, X. Yang, Y. Wang, X. Su, J. Du and C. Yang. 2011. *Arabidopsis* CPR5 independently regulates seed germination and postgermination arrest of development through LOX pathway and ABA signaling. *PLoS One*, 6(4):19406.
16. Ghosh, P., S. Sen, J. Chakraborty and S. Das. 2016. Monitoring the efficacy of mutated *Allium sativum* leaf lectin in transgenic rice against *Rhizoctonia solani*. *BMC Biotechnology*, 16(1): 1-10.
17. Goellner, K and U. Conrath. 2007. Priming: it's all the world to induced disease resistance. In *Sustainable Disease Management in a European Context*, 121: 233-242.
18. Gómez-Casado, C., A. Murua-García, M. Garrido-Arandia, P. González-Melendi, R. Sánchez-Monge, D. Barber and A. Díaz-Perales. 2014. Alt a 1 from *Alternaria* interacts with PR5 thaumatin-like proteins. *FEBS letters*, 588(9): 1501-1508.
19. González, M., N. Brito and C. González. 2017. The *Botrytis cinerea* elicitor protein BcIEB1 interacts with the tobacco PR5-family protein osmotin and protects the fungus against its antifungal activity. *New Phytologist*, 215(1): 397-410.
20. Hao, Z.N., L.P. Wang and R.X. Tao. 2009. Expression patterns of defence genes and antioxidant defence responses in a rice variety that is resistant to leaf blast but susceptible to neck blast. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 74(2): 167-174.
21. Hou, L., C. Gao, Y. Che, F. Zhao and X. Liu. 2012. Gene cloning and expression analysis of pathogenesis-related protein 1 in *Vitis vinifera*. *Plant Physiology Communications*, 48(1): 57-62.
22. Hu, X. and A.S.N. Reddy. 1997. Cloning and expression of a PR5-like protein from *Arabidopsis*: inhibition of fungal growth by bacterially expressed protein. *Plant Molecular Biology*, 34(6): 949-959.
23. Kim, H.K., Y.H. Choi and R. Verpoorte. 2010. NMR-based metabolomic analysis of plants. *Nature Protocols*, 5(3): 536-549.
24. Kromann, P., W.G. Pérez, A. Taipe, E. Schulte-Geldermann, B.P. Sharma, J.L. Andrade-Piedra and G.A. Forbes. 2012. Use of phosphonate to manage foliar potato late blight in developing countries. *Plant Disease*, 96(7): 1008-1015.
25. Lee, S., H.J. Lee, J.H. Jung and C.M. Park. 2015. The *Arabidopsis thaliana* RNA-binding protein FCA regulates thermotolerance by modulating the detoxification of reactive oxygen species. *New Phytologist*, 205(2): 555-569.
26. Li, Z.T., S.A. Dhekney and D.J. Gray. 2011. PR-1 gene family of grapevine: a uniquely duplicated PR-1 gene from a *Vitis* interspecific hybrid confers high level resistance to bacterial disease in transgenic tobacco. *Plant Cell Reports*, 30(1): 1-11.
27. Lim, S., T. Borza, R.D. Peters, R.H. Coffin, K.I. Al-Mughrabi, D.M. Pinto and G. Wang-Pruski. 2013. 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*, 93: 207-223.
28. Liu, Y., L. Wang, G. Cai, S. Jiang, L. Sun and D. Li. 2013. Response of tobacco to the *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 is mainly dependent on salicylic acid signaling pathway. *FEMS Microbiology Letters*, 344(1): 77-85.

30. Lobato, M.C., M.F. Machinandiarena, C. Tambascio, G.A. Dosio, D.O. Caldiz, G.R. Daleo, and F.P. Olivieri. 2011. Effect of foliar applications of phosphite on post-harvest potato tubers. *European Journal of Plant Pathology*, 130(2): 155-163.
31. Lobato, M.C., F.P. Olivieri, G.R. Daleo and A. Andreu. B. 2010. Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 117(3): 102-109.
32. Mahdian, S., A. Alian, A. Shahsavari, 2010. Study on the Reaction of *Aeluropus littoralis* Parl. To Rice Important Pathogenic Fungi in Mazandaran Provice. *Journal of Crop Breeding*, 2(5):68-77 (in Persian).
33. Mizutani, M., T. Naganuma, K.I. Tsutsumi and Y. Saitoh. 2010. The syncytium-specific expression of the *Oryza*; KRP3 CDK inhibitor: implication of its involvement in the cell cycle control in the rice (*Oryza sativa* L.) syncytial endosperm. *Journal of Experimental Botany*, 61(3): 791-798.
34. Mofidnakhai, M., V. Abdossi, A. Dehestani, H. Pirdashti and V. Babaeizad. 2016. Potassium phosphite affects growth, antioxidant enzymes activity and alleviates disease damage in cucumber plants inoculated with *Pythium ultimum*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 49(9-10): 207-221.
35. Mohammadi, M.A., Z. Zhang, Y. Xi, H. Han, F. Lan, B. Zhang and G. Wang-Pruski. 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.
36. Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. *Annual Review of Phytopathology*, 25(1): 125-143.
37. Olivieri, F.P., M.L. Feldman, M.F. Machinandiarena, M.C. Lobato, D.O. Caldiz, R.G. Daleo and A.B. Andreu. 2012. Phosphite applications induce molecular modifications in potato tuber periderm and cortex that enhance resistance to pathogens. *Crop Protection*, 32: 1-6.
38. Palacín, A., L.A. Rivas, C. Gómez-Casado, J. Aguirre, L. Tordesillas, J. Bartra and A. Díaz-Perales. 2012. The involvement of thaumatin-like proteins in plant food cross-reactivity: a multicenter study using a specific protein microarray. *Plpos One*, 7(9): 44088.
39. Pan, X.B., M.C. Rush, X.Y. Sha, Q.J. Xie, S.D. Linscombe, S.R. Stetina and J.H. Oard. 1999. Major gene, nonallelic sheath blight resistance from the rice cultivars Jasmine 85 and Teqing. *Crop Science*, 39(2): 338-346.
40. Park, D.S., R.J. Sayler, Y.G. Hong, M.H. Nam and Y. Yang. 2008. A method for inoculation and evaluation of rice sheath blight disease. *Plant Disease*, 92(1): 25-29.
41. Punja, Z. K. 2004. Genetic engineering of plants to enhance resistance to fungal pathogens. *Fungal Disease Resistance in Plants*: 207-258.
42. Ramezani, M., F. Ramezani, F. Rahmani and A. Dehestani. 2018. Exogenous potassium phosphite application improved PR-protein expression and associated physio-biochemical events in cucumber challenged by *Pseudoperonospora cubensis*. *Scientia Horticulturae*, 234: 335-343.
43. Sayari, M., V. Babaeizad, M.A.T. Ghanbari and H. Rahimian. 2014. Expression of the pathogenesis related proteins, NH-1, PAL, and lipoxygenase in the Iranian Tarom and Khazar rice cultivars, in reaction to *Rhizoctonia solani*—the causal agent of rice sheath blight. *Journal of Plant Protection Research*, 54(1): 36-43.
44. Silva, O. C., H.A.A. Santos, M. Dalla Pria and L.L. May-De Mio. 2011. Potassium phosphite for control of downy mildew of soybean. *Crop Protection*, 30(6): 598-604.
45. Singh, N.K., A.K. Handa, P.M. Hasegawa and R.A. Bressan. 1985. Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. *Plant Physiology*, 79(1): 126-137.
46. Singh, P., P. Mazumdar, J.A. Harikrishna and S. Babu. 2019. Sheath blight of rice: a review and identification of priorities for future research. *Planta*, 250(5): 1387-1407.
47. Song, A., G. Xue, P. Cui, F. Fan, H. Liu, C. Yin and Y. Liang. 2016. The role of silicon in enhancing resistance to bacterial blight of hydroponic and soil-cultured rice. *Scientific Reports*, 6(1): 1-13.
48. Taheri, P. and M. Hofte. 2007. Riboflavin-induced resistance against rice sheath blight functions through the potentiation of lignin formation and jasmonic acid signalling pathway. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 72(2): 309-313.
49. Taheri, P. and S. Tarighi,. 2010. Riboflavin induces resistance in rice against *Rhizoctonia solani* via jasmonate-mediated priming of phenylpropanoid pathway. *Journal of Plant Physiology*, 167(3): 201-208.
50. Turner, J.G., C. Ellis and A. Devoto. 2002. The jasmonate signal pathway. *The Plant Cell*, 14(1): 153-164.
51. Van Loon, L.C. and E.A. Van Strien. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55(2): 85-97.
52. Velazhahan, R. and S. Muthukrishnan. 2003. Transgenic tobacco plants constitutively overexpressing a rice thaumatin-like protein (PR-5) show enhanced resistance to *Alternaria alternata*. *Biologia Plantarum*, 47(3): 347-354.
53. Vellosillo, T., M. Martínez, M.A. López, J. Vicente, T. Cascón, L. Dolan and C. Castresana, . 2007. Oxylipins produced by the 9-lipoxygenase pathway in *Arabidopsis* regulate lateral root development and defense responses through a specific signaling cascade. *The Plant Cell*, 19(3): 831-846.
54. Verma, DK. and P.P. Srivastav. 2020. Bioactive compounds of rice (*Oryza sativa* L.): Review on paradigm and its potential benefit in human health. *Trends in Food Science and Technology*, 97: 355-365.

56. Waewthongrak, W., S. Pisuchpeñ and W. Leelasuphakul. 2015. Effect of *Bacillus subtilis* and chitosan applications on green mold (*Penicillium digitatum* Sacc.) decay in citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 99: 44-49.
57. Wiesel, L., A.C. Newton, I. Elliott, D. Booty, E.M. Gilroy, P.R. Birch and I. Hein. 2014. Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection. *Frontiers in Plant Science*, 5: 655.
58. Xu, R., J. Zhou, E. Zheng, Y. Yang, D. Li, Y. Chen and X. Wang. 2021. Systemic acquired resistance plays a major role in bacterial blight resistance in a progeny of somatic hybrids of cultivated rice (*Oryza sativa* L.) and wild rice (*Oryza meyeriana* L.). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(4): 1023-1040.
59. Yan, H., Y. Zhong, B. Jiang, B. Zhou, B. Wu and G. Zhong. 2017. Guanggan (*Citrus reticulata*) shows strong resistance to *Phytophthora nicotianae*. *Scientia Horticulturae*, 225: 141-149.
60. Zhang, J., L. Chen, , C. Fu, L. Wang, H. Liu, Y. Cheng and A. Zheng. 2017. Comparative transcriptome analyses of gene expression changes triggered by *Rhizoctonia solani* AG1 IA infection in resistant and susceptible rice varieties. *Frontiers in Plant Science*, 8: 14-22.
61. Zhang, Y., Gao, Y., Liang, Y., Dong, Y., X. Yang and D. Qiu. 2019. *Verticillium dahliae* PevD1, an Alt a 1-like protein, targets cotton PR5-like protein and promotes fungal infection. *Journal of Experimental Botany*, 70(2): 613-626.
62. Zhao, C.J., A.R. Wang, Y.J. Shi, L.Q. Wang, W.D. Liu, Z.H. Wang and G.D. Lu. 2008. Identification of defense-related genes in rice responding to challenge by *Rhizoctonia solani*. *Theoretical and Applied Genetics*, 116(4): 501-516.