

«مقاله علمی-مروری»

فسفیت، بیوتکنولوژی و کشاورزی نوین

زهرا فتحی^۱، کتابون زمانی^{۲*}، محمدعلی ملبویی^۳

۱. دانشجوی مقطع دکتری تخصصی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، شهرک علم و فناوری پژوهش، بلوار پژوهش، تهران، ایران.
 ۲. استادیار، گروه پژوهشی مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
 ۳. استاد، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، شهرک علم و فناوری پژوهش، بلوار پژوهش، تهران، ایران.
 (تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۹/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۲۴)

Phosphite, Biotechnology, Modern Agriculture

Zahra Fathi¹, Katayoun Zamani^{2*}, Mohammad Ali Malboobi³

1. Ph.D. Student, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Shahrak-e Pajooesh, Tehran, I.R. Iran.
 2. Assistant Professor, Department of Genetic Engineering and Biosafety, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.
 3. Professor, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Shahrak-e Pajooesh, Tehran, I.R. Iran.
 (Received: -Accepted:)

Abstract

Phosphite is a reduced form of phosphate, wherein an oxygen replaces a hydrogen atom, and this substitution has a significant effect on its performance in living organisms. Phosphite is readily transferred into plant cells through phosphate transporters. However, plants do not have the ability to use phosphite as a phosphorus resource such that this property has limited the use of phosphite as fertilizer; however, phosphite has been used as a fungicide and biostimulant in agriculture. Some bacteria are able to oxidize phosphite into phosphate to cover for various cellular functions. In the last decade, the molecular mechanism of this biological oxidation has been elucidated to occur by the enzyme phosphite oxidoreductase or phosphite dehydrogenase. Phosphite is produced in large quantities in various chemical industries as a by-product or waste that is not recycled. The identification of the enzyme phosphite dehydrogenase, that catalyses the oxidation of phosphite to phosphate, has opened a new path for the recycle of this waste. Recently, there have been reports for the production of transgenic plants expressing *ptxD* gene. In practice, *ptxD* gene can be used as a marker in the selection of transgenic plants. By producing these transgenic plants, phosphite can be used as a herbicide and even as a phosphorus fertilizer.

Keywords: Biostimulant, fungicide, Phosphite, *ptxD*, selectable marker.

چکیده

فسفیت شکل احیا شده‌ای از فسفات است، که در آن یک اتم اکسیژن با هیدروژن جایگزین شده و این جایگزینی، بر عملکرد آن در موجودات زنده تأثیر قابل توجهی دارد. فسفیت به راحتی از طریق ناقل‌های فسفات به سلول‌های گیاهی وارد می‌شود. با این حال، گیاهان توانایی استفاده از فسفیت را به‌عنوان منبع فسفر ندارند و این ویژگی باعث ایجاد محدودیت در استفاده از این ماده به‌عنوان کود شده است؛ و لیکن فسفیت به‌عنوان قارچ‌کش و محرک زیستی در کشاورزی کاربرد داشته است. برخی باکتری‌ها قابلیت اکسیداسیون فسفیت به فسفات، جهت انجام عملکردهای مختلف سلولی را دارا هستند. در دهه گذشته، سازوکار مولکولی این اکسیداسیون روشن شده است که توسط آنزیم فسفیت اکسیدوردوکناز یا فسفیت دهیدروژناز انجام می‌شود. فسفیت در مقادیر بسیار زیاد در صنایع شیمیایی گوناگون به‌عنوان یک محصول جانبی یا پسماند تولید می‌شود که بازیافت نمی‌شود. شناسایی آنزیم فسفیت دهیدروژناز که قادر به اکسیداسیون فسفیت به فسفات است مسیری جدید برای استفاده از این پسماندها گشوده است. به‌تازگی نیز گزارش‌هایی مبنی بر تولید گیاهان تراریخته بیان‌کننده ژن *ptxD* (*Phosphite-NAD⁺ oxidoreductase*) منتشر شده است. در عمل، ژن *ptxD* می‌تواند خود به‌عنوان یک ژن انتخاب‌گر برای انتخاب گیاهان تراریخته به‌کار رود. با تولید این گیاهان تراریخته فسفیت قابلیت استفاده به‌عنوان علف‌کش و حتی کود فسفره را خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: فسفیت، *ptxD*، گزینش‌گر انتخابی، قارچ‌کش، محرک رشد.

مقدمه

فسفر یکی از ۱۷ عنصر مورد نیاز برای رشد گیاهان است و در کلیه فرایندهای متابولیسمی همچون فتوسنتز، تنفس، ساخت اسیدهای نوکلئیک، تولید انرژی، ساخت غشاها و پایداری آنها، فعال‌سازی و غیرفعال نمودن آنزیم‌ها، واکنش‌های احیا، پیام‌رسانی، متابولیسم کربوهیدرات‌ها و تثبیت نیتروژن نقش مهمی بر عهده دارد. غلظت فسفر درون سلولی برای رشد مطلوب گیاه بین ۲۰-۵ میلی‌مولار است که با غلظت فسفر محلول در خاک که بین ۱۰-۱ میکرومولار است فاصله زیادی دارد (Shen et al., 2011; Vance et al., 2003).

با وجودی که یکی از عوامل اصلی افزایش تولید غذا در قرن بیستم مصرف بیشتر کودهای فسفاته بوده است؛ لیکن ذخایر معدنی فسفات محدود و در حال کاهش هستند. بنابراین برای تأمین غذای جمعیت رو به رشد جهان، دسترسی به منابع جدید فسفر برای آینده بشریت حیاتی است. کاهش مصرف فسفات، مصرف کارا تر آن و بازیافت فسفر از ضایعات صنعتی و فاضلاب شهری و استفاده از کودهای زیستی حاوی باکتری‌های حل‌کننده فسفات کشاورزی از راهکارهای ارائه شده برای مدیریت منابع فسفر است. از سوی دیگر، فسفیت که شکل احیا شده فسفات است به مقدار زیاد در صنایع شیمیایی و خودروسازی مانند صنایع آبکاری نیکل و تولید اسید کلرید تولید می‌شود. در ژاپن سالانه ۳۰۰۰۰ تن ضایعات فسفیت تولید می‌شود که بازیافت نمی‌شوند (Hirota et al., 2019). همچنین با وجود این که غالب‌ترین و پایدارترین شکل فسفر در طبیعت، فسفات است؛ ولیکن ترکیبات احیاشده فسفر در محیط‌هایی با احیای طبیعی همانند رسوبات دریایی، آب‌های گرم زیرزمینی و دهانه‌های آتشفشانی یافت شده است. ترکیبات احیا شده فسفر، هم به شکل آلی (فسفونات‌ها و فسفونیت‌ها) و هم معدنی (فسفیت، هیپوفسفیت و فسفین) وجود دارند (Loera-

Quezada et al., 2015). استفاده مجدد یا بازیافت فسفیت به روش‌های شیمیایی در حال حاضر مقرون به صرفه نیست. فرایند اکسیداسیون فسفیت به فسفات با استفاده از H_2O_2 و تحت تأثیر نور فرابنفش در مقیاس آزمایشگاهی انجام می‌شود که به انرژی زیادی نیاز دارد (Kuroda and Hirota, 2015). از سوی دیگر فسفیت برای موجودات زنده به استثنای برخی باکتری‌ها غیر قابل استفاده است. این باکتری‌ها دارای آنزیم Phosphite-NAD⁺ oxidoreductase (PtxD)، با قابلیت اکسیداسیون فسفیت به فسفات، همراه با احیای NAD^+ به NADH هستند. این آنزیم در نقش یک کاتالیزور زیستی، فسفیت را به فسفات تبدیل می‌نماید که یک ماده غذایی اصلی برای گیاه است و تولید NADH برای فرآوری‌های زیستی با صرفه اقتصادی همراه است. بیان هترولوگ آنزیم PtxD در موجودات مختلف به گسترش دامنه سوبستراهای فسفیدار آنها کمک نموده و به این موجودات در محیط‌های دارای فسفیت در رقابت با سایر موجودات برتری می‌بخشد (Hirota et al., 2019).

جایگزینی یک اتم اکسیژن با هیدروژن در فسفیت، بر عملکرد شیمیایی و زیستی این ترکیب تأثیر قابل توجهی دارد. به عنوان مثال همه نمک‌های فسفیت محلول‌تر از نمک‌های فسفات هستند. تحقیقات نشان داده است که سلول‌های گیاهی و مخمرها به هنگام جذب، توانایی تشخیص فسفیت را از فسفات ندارند (McDonald et al., 2001b; Varadarajan et al., 2002). در نتیجه، فسفیت به راحتی از طریق ناقل‌های فسفات با میل ترکیبی زیاد و کم در برگ‌ها و ریشه‌های گیاه جذب شده و از طریق آوندها به سایر بافت‌ها و اندام‌های گیاه منتقل می‌شود (Gómez-Merino and Trejo-Téllez, 2015; Pharmawati et al., 2018). لیکن توانایی شرکت در متابولیسم گیاه را ندارد و این ویژگی باعث ایجاد محدودیت در استفاده از این ماده به عنوان کودی مفید و پرکاربرد شده است. پژوهش‌های انجام

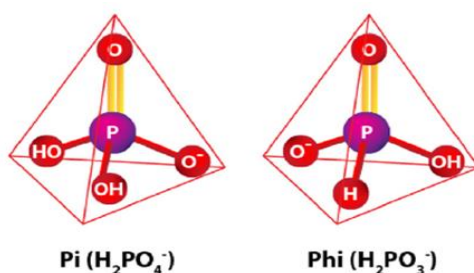
بین رفته است، در نتیجه فعالیت زیستی آن نیز تغییر می‌کند. به نظر می‌رسد که در طی واکنش‌های بیوشیمیایی - آنزیمی در موجودات زنده، جایگاه‌های اتصال سه اتم اکسیژن از چهار اتم را تشخیص می‌دهند و اکسیژن چهارم که از سطح مولکول فسفات بیرون زده، برای شرکت در واکنش‌های آنزیمی در دسترس است (McDonald *et al.*, 2001a). از این رو، فسفیت نمی‌تواند در واکنش‌های بیوشیمیایی مشابه، مانند فسفات شرکت کند زیرا فاقد اتم اکسیژن چهارم در فسفات است. بنابراین، بسیاری از آنزیم‌های درگیر در واکنش‌های انتقال فسفریل به راحتی می‌توانند بین فسفیت و فسفات تمایز قائل شوند (Plaxton, 1998). از نظر ساختاری، فسفیت یک آنالوگ فسفات است، و به طور کلی همه نمک‌های فسفیت محلول‌تر از نمک‌های آنالوگ فسفات هستند. در نتیجه، فسفیت به راحتی توسط برگ‌ها و ریشه‌های گیاه از طریق ناقل‌های با میل ترکیبی زیاد و کم فسفات جذب شده و از طریق آوندها به سایر بافت‌ها و اندام‌های گیاه منتقل می‌شود (Gómez-Merino and Trejo-Téllez, 2018; Pharmawati *et al.*, 2015).

تحقیقات نشان داده است که در برخی گونه‌های گیاهان و مخمرها، ناقل‌های فسفات و همچنین حسگرهای تشخیص فسفات در سلول فسفیت را به عنوان فسفات می‌شناسند (McDonald *et al.*, 2001b; Varadarajan *et al.*, 2002).

شده نشان می‌دهند که فسفیت آثار دوگانه مثبت و منفی بر رشد گیاهان و عملکرد آنها دارد. از اوایل دهه ۱۹۷۰ از ترکیبات دارای فسفیت به عنوان مواد ضدقارچ در خصوص کنترل قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی رده اوومیسیت‌ها بویژه قارچ فیتوفترا استفاده شده است. در دهه اخیر، گزارش‌هایی مبنی بر تولید گیاهان تراریخت دارای ژن *ptxD* و قابلیت متابولیسم فسفیت به فسفات در گیاهان تراریخته منتشر شده است (López-Arredondo and Herrera- 2016; Achary Estrella 2012; Manna *et al.*, 2017). تولید این گیاهان می‌تواند نویدبخش یافتن ماده‌ای با داشتن چندین عملکرد (قارچ‌کش، علف‌کش، محرک رشد و کود فسفره بر پایه فسفیت) در عملیات کشاورزی نوین باشد. در این نوشتار سعی شده است مزایای استفاده از فسفیت در کشاورزی و کاربردهای مختلف آن بیان شود.

ویژگی‌های شیمیایی فسفیت

همان‌طور که در مقدمه آمد جایگزینی یک اتم اکسیژن با هیدروژن در فسفات تاثیر قابل توجهی در ویژگی‌های شیمیایی آن می‌گذارد. در فسفات، اتم فسفر در مرکز یک چهاروجهی منظم و اتم‌های اکسیژن در راس‌های آن قرار می‌گیرند (شکل ۱). ساختار فسفات کاملاً متقارن است زیرا توزیع بار حتی در یون نیز وجود دارد. در فسفیت نیز اتم فسفر در مرکز چهار ضلعی قرار گرفته است، اما تقارن کامل از



شکل ۱. ساختار شیمیایی سه بعدی فسفات ($\text{Pi: H}_2\text{PO}_4^-$) و ساختار چهار ضلعی فسفیت ($\text{Phi: H}_2\text{PO}_3^-$).

(منبع: Gómez-Merino and Trejo-Téllez, 2015)

جذب، انتقال و جابجایی فسفیت در سلول‌های گیاهی همان‌گونه که ذکر شد، هر دو ناقل‌های با میل ترکیبی زیاد و کم برای فسفات (Guest and Grant, 1991; Ullrich-Eberius et al., 1981) در جذب فسفیت نیز نقش دارند (d'Arcy-Lameta and Bompeix, 1991; Danova-Alt et al., 2008; Jost et al., 2015). پژوهش‌ها چهار خانواده از ژن‌های ناقل فسفات (با نام‌های *Pht1*، *Pht2*، *Pht3* و *Pht4*) را در گیاهان شناسایی کرده‌اند که در جذب و توزیع فسفات در کل گیاه نقش دارند (Lopez-Arredondo et al., 2014; Shen et al., 2014; Jost et al., 2015; Sun et al., 2017; Wang et al., 2017). اگرچه تحقیقات زیادی هم در آرآیدوپسیس و هم در برنج، در مورد خانواده ژنی *Pht* در پاسخ به کمبود و فراوانی فسفات انجام شده است، ولی اطلاعات زیادی در مورد نقش و فعالیت خانواده *Pht* در شرایط وجود مقدار زیاد فسفیت در گیاهان وجود ندارد. به‌عنوان مثال، حضور فسفیت باعث کاهش بیان ناقل‌های فسفات ۲ (*AtPT2*) در آرآیدوپسیس می‌شود که نوعی تضعیف پاسخ به تنش کمبود فسفات یا Phosphate starvation response (PSR) است (Ticconi et al., 2001). همچنین فسفیت جذب فسفات را در سلول‌های BY-2 توتون به صورت رقابتی مهار می‌کند (Danova-Alt et al., 2008). فسفیت در سیتوپلاسم سلول‌های با کمبود فسفات انباشته شده و تأمین فسفات منجر به جریان خروج سریع فسفیت از سلول می‌شود. در گونه‌های قارچ *Phytophthora* رقابت بین آنیون‌های فسفات و فسفیت در اتصال به ناقل‌های فسفات مشاهده شده است (Barchietto et al., 1989; Griffith et al., 1989).

مطالعات مربوط به جهش *Pho regulan* در مخمر نشان داد که فسفیت از طریق PHO84 به درون سلول منتقل می‌شود که یک ناقل فسفات با میل ترکیبی بالا در غشای پلاسمایی است

متابولیسم فسفیت در گیاهان

به‌دلیل تفاوت ساختاری فسفات و فسفیت، توزیع بار در هر مولکول متفاوت است. بنابراین، اتصال فسفات و فسفیت به مولکول‌های متقابل آنها نه تنها از نظر شکل بلکه در توزیع بار ساختار نیز تأثیر می‌گذارد. در نتیجه، بیشتر آنزیم‌های درگیر با واکنش‌های انتقال فسفریل به راحتی فسفیت را از یون‌های فسفات متمایز می‌کنند (Plaxton and Tran, 2011). با این وجود، برخی از پروتئین‌ها، از جمله ناقل‌های غشایی فسفات و پروتئین‌های درگیر در سنجش فسفات، ممکن است توانایی تشخیص فسفیت و فسفات را از یکدیگر نداشته باشند (McDonald et al., 2001) و فسفیت می‌تواند پاسخ‌های گیاه به کمبود فسفات را مختل کند (Varadarajan et al., 2002). افزایش رشد ریشه و همچنین نسبت ریشه به ساقه، که از پاسخ‌های گیاهان به تنش فسفات است، به شدت توسط فسفیت مهار می‌شود. در سطح مولکولی، بیان ژن‌های ناشی از کمبود فسفات، از جمله ناقل‌های فسفات با میل ترکیبی بالا (به‌عنوان مثال، *LePT1*، *LePT2*، *AtPT1* و *AtPT2*) و فسفاتازها (یعنی *LePS2* و *PAP1*) توسط فسفیت سرکوب می‌شوند (Varadarajan et al., 2002). از آنجاکه گیاهان فاقد سازوکارهای بیوشیمیایی جهت متابولیسم فسفیت هستند، این یون معمولاً در بافت‌های گیاهی تجمع پیدا کرده و اثرات سیستمیکی در آن نشان می‌دهد (Ouimette and Coffey, 1990). اگر مقدار فسفیت به‌کاررفته و وضعیت فسفات گیاه مناسب باشد، فسفیت ممکن است اثرات مفیدی به‌عنوان یک محرک زیستی

به کار بردن فسفیت در خاک، تماس این یون با میکروارگانیزمها را تسهیل می‌کند، که واسطه اکسیداسیون فسفیت به فسفات می‌شوند. در نتیجه، پس از متابولیسم فسفیت توسط میکروارگانیزمهای خاک، فسفیت می‌تواند به‌عنوان یک منبع فسفر در دسترس گیاه قرار گیرد. البته این تبدیل ممکن است چند ماه یا حتی سال‌ها طول بکشد (McDonald et al., 2001).

کاربردهای فسفیت در کشاورزی

فسفیت به‌عنوان آفت‌کش

گزارش‌های متعدد نشان داده است که فسفیت می‌تواند به‌عنوان یک آفت‌کش کارآمد در برابر فیتوپاتوژن‌های مختلف از جمله نامتدها، قارچ‌ها، اوومیسیت‌ها و باکتری‌ها عمل کند (Chase, 1993; Smilli et al., 1989; Deliopoulos et al., 2010; Hofgaard et al., 2010; Dias-Arieira et al., 2013; Percival and Banks, 2014; Puerari et al., 2015). فسفیت طیف گسترده‌ای از مقاومت را در برابر عوامل بیماری‌زا تحریک نموده، شدت علائم بیماری را در گیاهان کاهش داده و به‌عنوان یک مولکول آغازگر پاسخ‌های دفاعی گیاه نقش مهمی دارد (Machinandiarena et al., 2012; Massoud et al., 2012; Dalio et al., 2014). فسفیت می‌تواند موجب پاسخ‌های دفاعی سریع‌تر و قوی‌تر در گیاهان در برابر تعدادی از قارچ‌ها و اوومیسیت‌ها از جمله جنس *Rhizoctonia* و *Fusarium*، *Phytophthora* شود (Smillie et al., 1989; Forster et al., 1998; Pilbeam et al., 2000; Machinandiarena et al., 2012; Alexandersson et al., 2016). نمک‌های فسفیت با کارایی بالا مانع از رشد قارچ‌های بیماری‌زا بر روی برگ و غده‌های بذر سیب زمینی شده‌اند. در یک پژوهش که اثر بازدارنده نمک‌های مختلف

داشته باشد و سازوکارهای دفاعی را در برابر تعدادی از عوامل بیماری‌زا، از جمله قارچ‌ها و اوومیسیت‌ها القا کند. با این حال، اگر فسفیت در غلظت‌های بالا استفاده شود و گیاه در شرایط کمبود فسفات باشد، فسفیت ممکن است تجمع یافته و اثرات نامطلوبی نشان دهد (Loera-Quezada et al., 2015). از اثرات منفی ناشی از استفاده نامناسب از فسفیت می‌توان به مهار ژن‌های درگیر در پاسخ به کمبود فسفات اشاره نمود (Ticconi et al., 2001; Varadarajan et al., 2002). در کل، فسفیت با مهار جذب فسفات به صورت رقابتی، هموستازی فسفر در گیاه را تغییر می‌دهد (Kobayashi et al., 2006; Danova-Alt et al., 2008; Berkowitz et al., 2013). از سوی دیگر، فسفات به‌طور قابل توجهی از جذب فسفیت (Pratt et al., 2009; Jost et al., 2015) جلوگیری می‌کند. هنگامی که فسفیت توسط گیاه جذب می‌شود، اساساً در بافت‌های ذخیره‌ای تجمع می‌یابد (Nartvaranant et al., 2004; Jost et al., 2015). بنابراین فسفیت باعث ایجاد hormesis می‌شود، که پاسخی دوگانه به غلظت‌های متفاوت مورد استفاده از یک ماده است، یعنی فسفیت با مقدار کم اثرات محرک و مفید و با مقدار بالا اثرات سمی و بازدارنده دارد. بنابراین، کاربرد ترکیبات حاوی فسفیت باید دقیقاً تنظیم شود (Gómez-Merino and Trejo-Téllez, 2015; Mattson, 2008).

نیمه‌عمر تقریبی اکسیداسیون فسفیت به فسفات در خاک تقریباً ۱۲ تا ۱۶ هفته است (Adams and Conrad, 1953). پاشش فسفیت بر روی شاخ و برگ به اندازه تزیق آن دوام ندارند. به‌عنوان مثال، اثر پاشش فسفیت بر روی شاخ و برگ ممکن است چند هفته طول بکشد، درحالی‌که تزیق آن در ساقه ممکن است حداقل ۴ سال در گیاه باقی بماند (Shearer and Fairman, 2007). با این وجود،

اسید فسفات‌های ناشی از تنش کمبود فسفات را سرکوب کرد (McDonald *et al.*, 2001a,b). پاسخ‌های دفاعی ناشی از فسفیت همچنین می‌تواند شامل تجمع فیتوآلکسین‌ها و لیزش‌دگی دیواره سلولی نیز باشد. آنزیم‌های لیزکننده تولید شده توسط گیاه در پاسخ به فسفیت می‌توانند در کنترل عامل بیماری‌زا نقش داشته باشند. از سوی دیگر فسفیت می‌تواند باعث مرگ سلولی فوق‌حساس شده و بنابراین از تکثیر سلول‌های آلوده جلوگیری نماید (Alexandersson *et al.*, 2016).

بسیاری از قارچ‌کش‌ها در بازار آمریکا و اروپا از فسفیت به‌عنوان یک جزء اصلی استفاده کرده‌اند. فسفیت به‌عنوان یک قارچ‌کش عالی برای کنترل بسیاری از عوامل بیماری‌زای گیاهی شناخته شده است و محصولات مختلف حاوی فسفیت با نام‌های گوناگون تجاری در بازارهای جهانی عرضه شده‌اند (Leymonie, 2007; Alexandersson *et al.*, 2016).

فسفیت به‌عنوان علف‌کش

در سال‌های اخیر، استفاده بی‌رویه از علف‌کش‌ها در کشاورزی منجر به تکامل علف‌های هرز مقاوم در برابر علف‌کش شده است. تاکنون در ۲۵۴ گونه علف هرز، مقاومت به علف‌کش در سطح جهان تایید شده است (Heap, 2018) و وقوع گسترده آن تهدیدی جدی برای تولید محصولات زراعی محسوب می‌شود (Dillon *et al.*, 2017; Price *et al.*, 2011). پژوهش‌های متعددی جهت شناسایی مولکول‌های جدید با هدف یافتن علف‌کش‌های جدید در حال انجام است. در بین همه میکروارگاناسم‌ها، اکسیداسیون فسفیت در باکتری *Pseudomonas stutzeri* سویه WM88 به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. Costas و همکارانش (۲۰۰۱) پروتئینی از این باکتری شناسایی کردند که قادر به اکسیداسیون فسفیت است و آن را "فسفیت

فسفیت روی چهار گونه عامل بیماری‌زای قارچی از خانواده‌های متفاوت و دور از هم شامل *Rhizoctonia*، *Phytophthora infestans*، *Fusarium solani* و *Streptomyces solani* بررسی شد، نشان دادند که نمک فسفیت مس بالاترین فعالیت ضد قارچی و مهارکنندگی را دارد (Lobato *et al.*, 2010). استفاده از فسفیت باعث کاهش چشم‌گیر کپک‌های آبی ناشی از *Penicillium expansum* در میوه‌های زخمی و تلقیح شده سیب شده است (Amiri and Bompeix, 2011)، همچنین تزریق فسفیت در کنترل بیماری آتشک ناشی از *Erwinia amylovora* در درختان سیب مؤثر است (Aćimović *et al.*, 2015).

در خیار (*Cucumis sativus*)، فسفیت به‌طور مؤثری مرگ ناشی از *Pythium* را مهار کرده و کنترل بیماری با افزایش غلظت فسفیت افزایش می‌یابد (Abbasi and Lazarovits 2005). در انگور (*Vitis vinifera*)، فسفیت *Plasmopara viticola* به‌خوبی کنترل کرده، اما در برابر *Oidium tuckeri* و *Pseudopezizicula tracheiphila* بی‌اثر است (Speiser *et al.*, 2000).

فسفیت همچنین خسارت سفیدک دروغین ناشی از قارچ *Peronospora manshurica* را در سویا کاهش می‌دهد (Silva *et al.*, 2011). همچنین Simonetti و همکاران (۲۰۱۵) برای اولین بار شاهد کنترل کارآمد پوسیدگی زغالی (*Macrophomina phaseolina*)، با استفاده از تیمار ترکیبی از ریزوباکتری‌های تقویت‌کننده رشد گیاه (PGPR) با فسفیت در سویای رشد یافته در شرایط گلخانه‌ای بودند. اثر بازدارنده فسفیت در قارچ‌ها باعث مهار واکنش‌های فسفریلاسیون در آنها می‌شود (Niere *et al.*, 1994). پژوهشگران دریافته‌اند که در آنزیم‌های فسفریله کننده، فسفیت برای جایگاه‌های کاتالیزوری اتصال فسفات رقابت می‌کند (Barchietto *et al.*, 1992). در مخمر نیز همانند گیاهان، فسفیت القای

با استفاده از فسفیت مهار می‌شود و این گیاهان قادر به رشد در خاک حاوی فسفیت نیستند. فسفیت به‌عنوان علف‌کش هم قبل و هم بعد از پیدایش علف‌هرز قابلیت استفاده دارد (Lopez-Arredondo and Herrera- Estrella, 2012). در پژوهشی که توسط Manna و همکاران (۲۰۱۶) بر روی گیاهان برنج تراریخته با ژن *ptxD* انجام شده است پاشش برگی فسفیت، علف‌های هرز پهن‌برگ *Phyllanthus niruri* و *Euphorbia hirta* را به‌طور کامل از بین برده و باعث توقف رشد در *Portulaca oleracea* و *Amaranthus spinosus* شده است. در علف هرز تک‌په‌ای *Chloris barbata* نیز باعث سفید شدن برگ‌ها و ظاهری بیمارگونه در گیاه شده است ولی بر روی گیاهان تراریخته برنج اثری نداشته است. همچنین در این گیاهان سطح کلروفیل به‌طور قابل توجهی بالاتر از گیاهان نوع وحشی بود و فعالیت فتوسیستم II (PS II) بهبود یافته بود. در گیاهان تراریخته‌ای که به مدت ۶۵ روز در معرض فسفیت رشد کرده بودند، سنجش اسپکتروفتومتری سطح فسفیت، تقریباً هیچ اثری از باقیمانده فسفیت نشان نداد. در مقابل، گیاهان نوع وحشی سطح بسیار بالایی از فسفیت انباشته در شرایط مشابه پس از تیمار فسفیت داشتند (Manna et al., 2016).

در پژوهش دیگری، اثر فسفیت و توان رقابتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، هنگامی که فسفر به شکل فسفیت وجود دارد، گیاهان پنبه بیان‌کننده ژن *ptxD*، در هر دو بستر مصنوعی و خاک‌های طبیعی مزارع کشاورزی، با وجود سه گونه مختلف علف‌های هرز تک‌په و دولپه در آزمایش‌ها و همچنین علف‌های هرز طبیعی موجود در خاک‌های آزمایشی رقابت قابل توجهی کردند. گیاهان پنبه تراریخته به راحتی و به‌طور مؤثر توانستند در برابر تهاجم علف‌های هرز از جمله *B. distachyon* *Ipomoea purpurea* رقابت کنند. سیستم *ptxD/Phi* در مهار رشد Palmer *amaranth* مقاوم به گلیفوسیت نیز بسیار مؤثر بود

دهیدروژناز یا فسفیت اکسیدوردوکتاز یا *ptxD* نام‌گذاری کردند. این باکتری می‌تواند از فسفیت به‌عنوان تنها منبع فسفر استفاده کند. *ptxD* یکی از چهار ژن اپرون PtxABCD باکتری *P. stutzeri* است (Metcalf and Wolfe, 1998). همان‌گونه که ذکر شد، فسفیت نمی‌تواند توسط گیاهان به فسفات اکسیده شود و در شرایط فقدان فسفات می‌تواند باعث مرگ گیاه شود. ساختار سلولی گیاهان دارای ویژگی‌هایی است که به‌طور دقیق برای استفاده از یون‌های فسفات تکامل یافته و قابلیت متابولیسم نمودن فسفیت را ندارد. این ویژگی از یک سو به شدت باعث اختلال در فرآیندهای مختلف متابولیسمی و در نهایت منجر به مهار رشد به‌دلیل وجود و تجمع فسفیت در گیاه شده و از سوی دیگر فسفیت باعث توقف پاسخ به شرایط تنش کمبود فسفات و در نتیجه کاهش عملکرد سلول در این شرایط می‌شود (Ticconi et al., 2001).

در سال ۲۰۱۲ Lopez-Arredondo and Herrera-Estrella تأثیر فسفیت را بر علف‌های هرز را مورد آزمایش قرار داده و اثر علف‌کشی آن را روی علف‌های هرز *Brachypodium distachyon* و *Ipomoea purpurea* تأیید نمودند. این پژوهشگران به‌منظور ارزیابی امکان استفاده از فسفیت به‌عنوان علف‌کش و تبدیل فسفیت به فسفات در گیاهان، رخدادهای تراریخته‌ای از آراییدوپسیس و توتون ایجاد کردند که ژن *ptxD* را تحت کنترل پروموتور CaMV35S بیان می‌کرد. بذر گیاهان توتون تراریخته با بذر *B. distachyon* مخلوط و در گلخانه در خاک غیر استریل مزرعه کشت شد. آبیاری و کوددهی این گلدان‌ها با فسفیت به‌عنوان تنها منبع فسفر به خوبی رشد علف‌های هرز را متوقف نمود، درحالی‌که گیاهان توتون تراریخته رشد مناسبی داشتند. آنها همچنین نشان دادند که رشد علف‌هرز *Amaranthus hybridus* که از نظر زراعی بسیار مهم است به خوبی

(Pandeya et al., 2017).

معمولاً مولکول‌های علف‌کش با اتصال به جایگاه کاتالیزوری آنزیم‌های هدف آنها را غیر فعال نموده و در عملکرد سلول اختلال ایجاد می‌کنند. بنابراین، تنها چند جهش در جایگاه فعال آنزیم می‌تواند به‌طور قابل توجهی اتصال علف‌کش را به محل مورد نظر خود کاهش داده، و در نتیجه باعث تکامل سریع علف‌های هرز مقاوم در برابر علف‌کش شود. برای ایجاد مقاومتی با سازوکار مشابه در برابر فسفیت نیاز به جهش‌های متعدد در ژن‌هایی است که در متابولیسم فسفات در گیاهان نقش دارد و چون فسفات در واکنش‌های بسیاری دخالت دارد، چنین جهش‌هایی تأثیر مخربی بر متابولیسم فسفات و پیام‌رسانی به واسطه فسفات در سلول خواهند داشت و چنین پدیده‌ای به سختی اتفاق خواهد افتاد و برای گیاهان به‌طور کلی کشنده خواهد بود. از این‌رو ایجاد مقاومت به فسفیت تا حد زیادی غیر ممکن است. از سوی دیگر تنها سازوکاری که علف‌های هرز می‌توانند در برابر فسفیت مقاومت لازم را به‌دست آورند، تکامل توانایی اکسیداسیون فسفیت است که نیازمند پیدایش ژن جدید در ژنوم علف‌های هرز است. این پدیده نیز در چنین مدت زمان کوتاهی غیرممکن است (Lopez-Arredondo and Herrera- (Estrella, 2012). بنابراین، استفاده از فسفیت به‌عنوان علف‌کش ممکن است سرعت تکامل علف‌های هرز متحمل به علف‌کش را در طبیعت کاهش دهد، حتی اگر به‌طور کامل آن‌ها را متوقف نکند.

فسفیت به‌عنوان محرک زیستی

اثرات محرک زیستی فسفیت در بهبود تولید و کیفیت عملکرد گیاهان هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است. اما تعدادی از گیاهان اثرات مثبتی از بهبود عملکرد و تولید با استفاده از فسفیت را نشان داده‌اند (Gómez-Merino and Trejo-Téllez, 2015,) یکی از اولین گزارش‌ها در مورد اثرات محرک زیستی فسفیت توسط Rickard (۲۰۰۰)

ارائه شده است. در این گزارش کاربرد فسفیت باعث افزایش تولید و کیفیت محصول سیب زمینی، فلفل، پیاز و کرفس می‌شود. این نتایج به تبدیل احتمالی فسفیت به فسفات توسط ریزسازواره‌های خاک یا برگ نسبت داده شده است، گرچه این ایده بسیار بحث‌برانگیز است.

همچنین، مطالعات دیگر نشان داده‌اند که فسفیت، محتوای آنتوسیانین و اسیدآسکوربیک، غلظت کلروفیل، اسیدآمینها و پروتئین‌های برگ را افزایش داده و رشد ریشه، شاخساره‌ها و سازوکارهای دفاعی گیاه را در ارقام توت‌فرنگی بهبود بخشیده است (Moor et al., 2009; Estrada-Ortiz et al., 2011, 2012, 2013; Glinicki et al., 2010). کاربرد برگی پتاسیم فسفیت در پرتقال منجر به افزایش اندازه میوه، مواد جامد محلول و نسبت مواد جامد محلول به اسید شده است (Lovatt, 1998, 1999). پاشش برگی فسفیت در آووکادو نیز باعث افزایش عملکرد حاصل از افزایش قابل توجه سایز میوه شده است (Lovatt et al., 2013).

کاربرد پتاسیم فسفیت باعث کاهش فاصله بین کاشت و افزایش سطح برگ، وزن خشک و کلنی میکوریزا در غده‌های سیب‌زمینی شده است (Tambascio et al., 2014). همچنین کاربرد فسفیت بر روی بذر سیب‌زمینی و برگ آن باعث افزایش محتوای پکتین و فعالیت پلی‌گالاکتورونازی شده، به القای تشکیل ایزوفریم جدید کیتیناز در غده‌ها کمک نموده و فعالیت پروتئینازی را مهار کرده است (Olivieri et al., 2012). از سوی دیگر در غده‌های سیب‌زمینی تیمار شده با پتاسیم فسفیت میزان فیتوآلکسین، کیتیناز و محتوای پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز افزایش یافته است (Lobato et al., 2011). این نتایج نشان می‌دهد که کاربرد فسفیت واکنش‌های دفاعی را افزایش می‌دهد. علاوه بر نقش آن به‌عنوان محرک زیستی، آثار مثبت فسفیت در تنش القاء شده با UV-B در غده سیب زمینی

موجود هستند نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های گران قیمت بسیار ارزان هستند. همچنین، پایداری زیاد نمک‌های فسفیت در برابر گرما و نور باعث می‌شود از ثبات آن در مدت زمان طولانی به‌عنوان عامل انتخابی در هر دو شرایط کشت بافت و گلخانه اطمینان حاصل کرد. نمک‌های فسفیت برای جانوران و انسان‌ها بی‌ضرر هستند، بنابراین نیاز به استفاده از اقدامات احتیاطی خاص در استفاده از آن‌ها از بین می‌رود. محصول اکسیداسیون فسفیت در سلول اورتوفسفات و NADH است که هر دو از مواد بی‌ضرر حاصل از اغلب واکنش‌های شیمیایی و آنزیمی در همه سلول‌های زنده هستند. در سال ۱۹۹۷، سلامت فسفیت توسط آژانس حفاظت از محیط زیست آمریکا به منظور استفاده در صنایع غذایی به‌عنوان قارچ‌کش تأیید شده است (López-Arredondo and Herrera-Estrella, 2012).

انتخاب گیاهان تراریخته بر پایه فسفیت در شرایط گلخانه و با جوانه‌زدن بذرها به‌طور مستقیم روی خاک حاوی فسفیت امکان‌پذیر است، بنابراین انتخاب بذر تراریخته از طریق کشت بافت که نه تنها گران و پرهزینه است بلکه نیازمند وجود مواد و تجهیزات گیاهی است، از بین می‌رود. پژوهش‌هایی که با استفاده از فسفیت به‌عنوان نشانگر انتخابی انجام شده نشان می‌دهد که فسفیت بازدارنده رشد ریشه است، از این مشخصه می‌توان به‌عنوان یک فنوتیپ اضافی برای شناسایی گیاهچه‌های تراریخته، زودتر از مرحله توسعه و رشد نهایی استفاده کرد. از ژن *ptxD* به‌عنوان نشانگر انتخابی جهت گزینش گیاهان تراریخته ذرت استفاده شد و کارایی فسفیت با محیط انتخابی *bar/bialaphos* مورد مقایسه قرار گرفت (Nahampun *et al.*, 2016). بررسی‌ها نشان داد که حضور فسفیت و فقدان فسفات در محیط، تشکیل و توسعه کالوس نوع وحشی را در مراحل اولیه سرکوب می‌کند. در جنین‌های

مشاهده شده است. نتایج نشان می‌دهد که مسیرهای پیام‌رسانی فعال‌شده با فسفیت، گیاهان را در برابر تنش اکسیداتیو ناشی از UV-B محافظت نموده و با القای محتوای کلروفیل و بیان پروتئین فتوستتزی psbA در غده سودمند بوده است (Oyarburo *et al.*, 2015).

نقش فسفیت به‌عنوان کود فسفره و نشانگر انتخابی جدید جهت گزینش گیاهان تراریخته

همان‌گونه که ذکر شد، پیشرفت‌های اخیر در مهندسی ژنتیک به تولید گیاهان تراریخته با قابلیت تبدیل فسفیت به فسفات کمک نموده است (López-Arredondo and Herrera-Estrella, 2012; Manna *et al.*, 2016; Achary *et al.*, 2017) و به گیاه توانایی استفاده از فسفیت به‌عنوان یک منبع جایگزین فسفر را بخشیده است. گیاهان تراریخته بیان‌کننده ژن *ptxD* در صورت وجود فسفیت به ۵۰٪ فسفات کمتر نیاز دارند تا عملکردی مشابه با گیاهانی داشته باشند که تنها از فسفات به‌عنوان منبع فسفر می‌کنند (López-Arredondo and Herrera-Estrella, 2012).

نشانگرهای انتخابی، جزء ضروری برای تولید گیاهان تراریخته هستند. روش معمول، استفاده از آنتی‌بیوتیک‌هایی مانند کانامایسین و هیگرومایسین، در کشت بافت است. فسفیت می‌تواند جایگزین مناسبی برای آنتی‌بیوتیک‌ها در فرآیند تراریختی و حذف ژن‌های مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها از گیاهان تراریخته باشد. به همین دلیل می‌توان از آن برای بازرایی گیاهان تراریخته عاری از نشانگر انتخابی آنتی‌بیوتیکی استفاده کرد. علاوه بر این، انتخاب به واسطه فسفیت در فرآیند تراریختی چندین مزیت نسبت به گزینش گیاهان تراریخته به‌واسطه آنتی‌بیوتیک دارد. به‌عنوان مثال، نمک‌های سدیم (Na) و پتاسیم (K) فسفیت که به‌راحتی در بازار

مخمر *Schizosaccharomyces pombe* و ۵ سویه از مخمر *Saccharomyces cerevisiae* استفاده شده است. سلول‌های Sz. Pombe تراریخت شده با سازه حاوی ژن *ptxD* به‌طور مستقیم بر روی محیط حاوی فسفیت آگار کشت شدند و پس از گذشت هفت روز از تلقیح، کلونی‌های تراریخته بر روی محیط کشت با کارایی حدود 5×10^3 transformants/ μ g DNA باز یافت شدند که نشان دهنده کارایی این سیستم در مخمر است (Kanda et al., 2014).

از ژن *ptxD* به‌عنوان یک نشانگر انتخابی در فرآیند ترانسفورم کلروپلاست در جلبک *Chlamydomonas reinhardtii* نیز استفاده شده است. نتایج به‌دست‌آمده حاکی از آن است که، بیان ژن *ptxD* امکان تشخیص کلونی‌های تراریخته را روی محیط انتخابی فسفیت بدون نیاز به آنتی‌بیوتیک فراهم می‌کند. علاوه بر این، با طولانی‌شدن زمان فقدان فسفات در سلول‌ها (P-starved cells) تا ۱۴ روز، کارایی تراریختی به‌طور چشمگیری افزایش یافت. همچنین جلبک‌های با کلروپلاست تراریخته، با توانایی تجمع فسفیت، توانستند تحت شرایط غیر استریل بدون هیچ گونه حمله قابل توجه قارچی یا باکتریایی رشد کنند (Sandoval-Vargas et al., 2019).

استفاده از فسفیت راهکاری نوین برای تحقق کشاورزی پایدار است و می‌تواند به کاهش استفاده بیش از حد منابع محدود فسفات کمک کرده و از نظر زیست محیطی نیز سالم‌تر است. بهره‌وری استفاده از فسفیت نزدیک به ۱۰۰ درصد است که به دلیل حلالیت زیاد، واکنش‌پذیری کم با اجزای خاک و غیرقابل استفاده بودن در اغلب ریزسازواره‌های خاکزی است. این ویژگی‌ها فسفیت را نسبت به کودهای رایج فسفات برتری می‌بخشد. گیاهان تراریخته قادر به بیش‌بیان ژن *ptxD* می‌توانند فسفیت را به‌عنوان منبع فسفر متابولیزه کنند. فناوری

تراریخته‌شده با سازه حامل *ptxD*، پیدایش کالوس‌های جنین‌زا با سرعت کمتری در مقایسه با جنین‌های انتخاب شده با بیالافوس انجام شد. محیط انتخابی فسفیت بر اندازه نهایی کالوس‌های جنین‌زا تأثیر داشت به‌طوری‌که اندازه کالوس‌ها در مقایسه با اندازه کالوس‌های در محیط انتخابی بیالافوس کوچکتر بود، اما شکل ظاهری و ویژگی‌های کالوس شبیه به گروه انتخابی بیالافوس بود. عملکرد فتوسنتزی مشاهده شده از لاین‌های کالوس تراریخته انتخاب شده با داده‌های ژنوتیپی آن‌ها ارتباط مثبت داشت، یعنی هرچه بیان ژن *ptxD* بالاتر باشد، کالوس در غلظت بالاتر فسفیت محیط کشت بهتر رشد می‌کرد. این نتایج نشان داد که کالوس‌های تراریخته می‌توانند فسفیت را به‌عنوان منبع فسفر متابولیزه کنند و همچنین توانایی رخداد تراریخته در متابولیزه کردن فسفیت به میزان بیان ژن بستگی دارد. ژن *ptxD* به‌عنوان یک سیستم مؤثر و کارآمد جهت گزینش سلول‌های تراریخته و تولید گیاهان پنبه رفته است. در سیستم انتخابی *ptxD/Phi* به‌طور متوسط ۳/۴۳ رخداد تراریخته از بین ۱۰۰ ریزنمونه آلوده شده، در مقابل فقط ۰/۴۱ درصد انتخاب *bar/phosphinothricin* (PPT) باززایی شد. میزان رخدادهای بازبایی شده در سیستم‌های *hpt/ hygromycin* و *nptII/kanamycin* به ترتیب ۲/۸۸ و ۲/۴۷ درصد بود. تجزیه و تحلیل مولکولی در رخدادهای باززایی شده، کارایی انتخاب ۹۷ درصدی را برای سیستم *ptxD/Phi* نشان داد. بنابراین، ثابت شد که *ptxD/Phi* یک سیستم انتخاب مثبت و بسیار کارآمد برای تولید گیاهان پنبه تراریخته با راندمان یکسان یا بالاتر در مقایسه با سیستم‌های انتخاب رایج است (Pandeya et al., 2017).

کاربرد ژن فسفیت دهیدروژناز به‌عنوان یک گزینش‌گر انتخابی در مخمر نیز مورد بررسی قرار گرفته است. در این تحقیق ۱۰ سویه از

محافظت نموده و سلامت آن در صنایع غذایی تأیید شده است. فسفیت یک ماده محرک زیستی عالی برای بسیاری از گیاهان باغی و زراعی است. فسفیت به همراه مقدار مناسبی از فسفات نه تنها باعث افزایش عملکرد و کیفیت محصول می شود، بلکه همزمان تحمل نسبت به تنش های زیستی و غیر زیستی را افزایش می دهد. کاربرد فسفیت از نظر محیطی از طریق کاهش مصرف کودهای شیمیایی فسفات، با وجود فراهم آوردن شرایط افزایش رشد گیاه و در عین حال کنترل علف های هرز و قارچ ها، در عمل هم هزینه ها را کاهش داده و هم از فرسایش خاک و آسیب های غیرقابل برگشت احتمالی به محیط زیست جلوگیری می نماید.

ترازیخته به همراه فسفیت نیاز به فسفات برای تولید بهینه محصولات زراعی را تا ۳۰ درصد مصرف فعلی کم نموده و در نتیجه هزینه های تولید را کاهش می دهد. از آنجاکه گیاهان غیرترازیخته قادر به متابولیسم فسفیت نیستند، فسفیت می تواند به عنوان یک علف کش سیستمیک قبل و بعد از جوانه زنی مورد استفاده قرار گیرد. فناوری مدیریت علف های هرز مبتنی بر فسفیت از نظر زیست محیطی از سایر روش های مدیریت فعلی علف های هرز سالمتر است. علاوه بر این، بر خلاف علف کش های سنتی، تولید علف های هرز مقاوم به فسفیت امکان پذیر نیست. کاربرد فسفیت، محصولات زراعی را در برابر چندین عامل بیماری زای قارچی و باکتریایی

REFERENCES

- Abbasi PA, Lazarovits G (2005) Effects of AG3 phosphonate formulations on incidence and severity of *Pythium damping-off* of cucumber seedlings under growth room, microplot, and field conditions. *Can J Plant Pathol* 27: 420-429.
- Achary VMM, Ram B, Manna M, Datta D, Bhatt A, Reddy MK (2017) Phosphite: a novel P-fertilizer for weed management and pathogen control. *Plant Biotechnol J*. 15: 1493-1408.
- Acimovic SG, Zeng Q, Mcghee GC, Sundin GW, Wise JC (2015) Control of fire blight (*Erwinia amylovora*) on apple trees with trunk-injected plant resistance inducers and antibiotics and assessment of induction of pathogenesis-related protein genes. *Front. Plant Sci* 6: 1-10.
- Adams F, Conrad JP (1953) Transition of phosphite to phosphate in soils. *Soil. Sci.* 75: 361-371.
- Alexandersson E, Mulugeta T, Lankinen A, Liljeroth E, Andreasson E (2016) Plant resistance inducers against pathogens in Solanaceae species-from molecular mechanisms to field application. *Int J Mol Sci* 17: 1673.
- Amiri A, Bompeix G (2011) Control of *Penicillium expansum* with potassium phosphite and heat treatment. *Crop Prot* 30: 222-227.
- Barchietto T, Saindrenan P, Bompeix G (1989) Characterization of phosphonate uptake in two *Phytophthora* spp. and its inhibition by phosphate. *Arch. Microbiol* 151: 54-58.
- Barchietto T, Saindrenan P, Bompeix G (1992) Physiological responses of *Phytophthora citrophthora* to a sub-inhibitory concentration of phosphonate. *Pestic. Biochem. Physiol* 42: 151-166.
- Berkowitz O, Jost R, Kolleh DO, Fenske R, Finnegan PM, O'Brien PA *et al* (2013) Acclimation responses of *Arabidopsis thaliana* to sustained phosphite treatments. *J Exp Bot* 64: 1731-1743.
- Casida LE (1960) Microbial oxidation and utilization of orthophosphite during growth, *J Bacteriol.* 80: 237-241.
- Chase AR (1993) Efficiency of fosetyl-Al for control of some bacterial diseases

- on ornamentals. *Plant Dis.* 77:771-776
- Costas AM, White AK, Metcalf WW (2001) Purification and characterization of a novel Phosphorus-oxidising enzyme from *Pseudomonas stutzeri* WM88. *J Biol Chem* 276: 17429-17436.
- D'Arcy-Lameta A, Bompeix G (1991) Systemic transport of tritiated phosphonate in tomato plantlets (*Lycopersicon esculentum mill*). *Pest Manag Sci.* 32: 7-14.
- Dalio RJD, Fleischmann F, Humez M, Osswald W (2014) Phosphite protects *Fagus sylvatica* seedlings towards *Phytophthora plurivora* via local toxicity, priming and facilitation of pathogen recognition. *PLoS One.* 9(1):1-10
- Danova-Alt R, Dijkema C, De Waard P, Kock M (2008) Transport and compartmentation of phosphite in higher plant cells: kinetic and ³¹P nuclear magnetic resonance studies. *Plant Cell Environ.* 31: 1510-1521.
- Deliopoulos T, Kettlewell PS, Hare MC (2010) Fungal disease suppression by inorganic salts: a review. *Crop Prot.* 29:1059-1075.
- Dias-Arieira CR, Santana-Gomes SM, Puerari HH, Fontana LF, Ribeiro LM, Mattei D (2013) Induced resistance in the nematodes control. *Afr J Agric Res.* 8:2312-2318.
- Dillon A, Varanasi VK, Danilova TV, Koo DH, Nakka S, Peterson DE, Tranel PJ, Friebe B, Gill BS, Jugulam M (2017) Physical mapping of amplified copies of the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase gene in glyphosate-resistant *Amaranthus tuberculatus*. *Plant physiology* 1:173(2):1226-34.
- Estrada-Ortiz E, Trejo-Téllez LI, Gómez-Merino FC, Núñez-Escobar R, Sandoval-Villa M (2013) The effects of phosphite on strawberry yield and fruit quality. *J Soil Sci Plant Nutr.* 13:612-620.
- Estrada-Ortiz E, Trejo-Téllez LI, Gómez-Merino FC, Nunez-Escobar R, Sandoval-Villa M (2012) Phosphite on growth and fruit quality in strawberry. *Acta Hort.* 947:277-282.
- Estrada-Ortiz E, Trejo-Téllez LI, Gómez-Merino FC, Núñez-Escobar R, Sandoval-Villa M (2011) Biochemical responses in strawberry plants supplying phosphorus in the form of phosphite. *Rev Chapingo Ser Hort.* 17:129-138
- Förster H, Adaskaveg JE, Kim DH, Stanghellini ME (1998) Effect of phosphite on tomato and pepper plants and on susceptibility of pepper to *Phytophthora* root and crown rot in hydroponic culture. *Plant Dis* 82:1165-1170.
- Glinicki R, Sas-Paszt L, Jadczyk-Tobjasz E (2010) The effect of plantstimulant/fertilizer resistim on growth and development of strawberry plants. *J. Fruit Ornam. Plant Res.* 18:111-124.
- Gómez-Merino FC, Trejo-Téllez LI (2016) Conventional and novel uses of phosphite in horticulture: potentialities and challenges. *Italus Hortus.* 23:1-13.
- Gómez-Merino FC, Trejo-Téllez LI, Alarcón A (2015) Plant and microbe genomics and beyond: potential for developing a novel molecular plant nutrition approach. *Acta Physiol Plant.* 37:208.
- Griffith JM, Akins LA, Grant BR (1989) Properties of the phosphate and phosphite transport systems of *Phytophthora palmivora*. *Arch. Microbiol.* 152:430-436.
- Guest D, Grant BR (1991) The complex action of phosphonates as antifungal agents. *Biol. Rev.* 66:159-187.
- Heap I (2018) The International Survey of Herbicide Resistant Weeds. <http://weedsociety.org/> Accessed 28 February 2018.
- Herrera-Estrella L, Lopez-Arredondo D (2016) Phosphorus: the underrated element for feeding the world. *Trends Plant Sci.* 21:461-463.
- Hirota R, Motomura K, Kuroda A (2019) Biological phosphite oxidation and its

- application to phosphorus recycling. In: Phosphorus Recovery and Recycling (eds). Springer, Singapore, pp 499-513.
- Hofgaard IS, Ergon A, Henriksen B, Tronsmo AM (2010) The effect of potential resistance inducers on development of *Microdochium majus* and *Fusarium culmorum* in winter wheat. *Eur J Plant Pathol.* 128:269-281.
- Jost R, Pharmawati M, Lapis-Gaza HR, Rossig C, Berkowitz O, Lambers H, Finnegan PM (2015) Differentiating phosphate-dependent and phosphate-independent systemic phosphate-starvation response networks in *Arabidopsis thaliana* through the application of phosphite. *J Exp Bot* 66(9):2501-14.
- Kanda K, Ishida T, Hirota R, Ono S, Motomura K, Ikeda T, Kitamura K, Kuroda A (2014) Application of a phosphite dehydrogenase gene as a novel dominant selection marker for yeasts, *J. Biotechnol.* 182(183): 68-73.
- Kobayashi K, Masuda T, Takamiya K, Ohta H (2006) Membrane lipid alteration during phosphate starvation is regulated by phosphate signaling and auxin/cytokinin cross-talk. *Plant. J.* 47(2):238-48.
- Kuroda A, Hirota R (2015) Environmental biotechnology for efficient utilization of industrial phosphite waste. *Global Environ Res.* 19(1):77-82.
- Leymonie JP (2007) Phosphites and Phosphates: When Distributors and Growers Alike could get Confused. <https://www.spectrumanalytic.com/support/library/pdf/>. Accessed September 2007. pp 36-41.
- Lobato MC, Machinandiarena MF, Tambascio C, Dosio GAA, Caldiz DO, Daleo GR *et al* (2011) Effect of foliar applications of phosphite on post-harvest potato tubers. *Eur J Plant Pathol.* 130:155-163.
- Lobato MC, Olivieri FP, Daleo GR, Andreu AB (2010) Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. *J Plant Dis Prot.* 117:102-109
- Loera-Quezada MM, Leyva-González MA, López-Arredondo D, Herrera-Estrella L (2015) Phosphite cannot be used as a phosphorus source but is non-toxic for microalgae. *Plant Sci.* 231:124-130.
- Loera-Quezada MM, Leyva-González MA, López-Arredondo D, Herrera-Estrella L (2015) Phosphite cannot be used as a phosphorus source but is non-toxic for microalgae. *Plant Sci.* 231:124-30.
- López-Arredondo DL, Herrera-Estrella L (2012) Engineering phosphorus metabolism in plants to produce a dual fertilization and weed control system. *Nat Biotechnol.* 30:889-893.
- Lopez-Arredondo DL, Leyva-Gonzalez MA, Gonzalez-Morales SI, Lopez-Bucio J, Herrera-Estrella L (2014) Phosphate nutrition: improving lowphosphate tolerance in crops. *Annu. Rev. Plant Biol.* 65:95-123.
- Lovatt CJ (1998) Managing yield with foliar fertilization. *Calif Citrograph.* 84:8-13.
- Lovatt CJ (1999) Timing citrus and avocado foliar nutrient applications to increase fruit set and size. *HortTechnology.* 9:607-612.
- Lovatt CJ (2013) Properly timing foliar-applied fertilizers increases efficacy: a review and update on timing foliar nutrient applications to citrus and avocado. *HortTechnology.* 23:536-541.
- Machinandiarena MF, Lobato MC, Feldman ML, Daleo GR, Andreu AB (2012) Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. *J Plant Physiol.* 169:1417-1424.
- Manna M, Achary VMM, Islam T, Agrawa PK, Reddy MK (2016) The development of a phosphite mediated fertilization and weed control system

- for rice. *Sci Rep.* 6:24941
- Massoud K, Barchietto T, Le Rudulier T, Pallandre L, Didierlaurent L, Garmier M *et al* (2012) Dissecting phosphite-induced priming in *Arabidopsis* infected with *Hyaloperonospora arabidopsidis*. *Plant Physiol.* 159:286-298.
- Mattson MP (2008) Hormesis defined. *Ageing Res Rev* 7:1-7.
- McDonald, A.E., Grant, B.R. and Plaxton, W.C. (2001a) Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture, and influence on the plant phosphate starvation response. *J. Plant Nutr.* 24:1505-1519.
- McDonald, A.E., Niere, J.O. and Plaxton, W.C. (2001b) Phosphite disrupts the acclimation of *Saccharomyces cerevisiae* to phosphate starvation. *Can. J. Microbiol.* 47:969-978.
- Metcalf WW, van der Donk WA (2009) Biosynthesis of phosphonic and phosphinic acid natural products. *Annu Rev Biochem.* 78:65-94.
- Metcalf WW, Wolfe RS (1998) Molecular genetic analysis of phosphite and hypophosphite oxidation by *Pseudomonas stutzeri* WM88. *J. Bacteriol.* 180:5547-5558.
- Mogollon JM, Beusen AHW, van Grinsven HJM, Westhoek H, Bouwman AF (2018) Future agricultural phosphorus demand according to the shared socioeconomic pathways. *Glob Environ Chang.* 50:149-163.
- Moor U, Pöldma P, Tõnutare T, Karp K, Starast M, Vool E (2009) Effect of phosphite fertilization on growth, yield and fruit composition of strawberries. *Sci Hort.* 119:264-269.
- Nahampun HN, Lopez-Arredondo D, Xu X, Herrera-Estrella L, Wang, K (2016) Assessment of *ptxD* gene as an alternative selectable marker for *Agrobacterium*-mediated maize transformation. *Plant Cell Rep.* 35:1121-1132.
- Nartvaranant P, Hamill S, Leonardi J, Whiley AW, Subhadrabandhu S (2004) Seasonal effects of foliar application of phosphonate on phosphonate translocation: in vitro pollen viability and pollen germination in 'Hass' avocado (*Persea americana mill.*). *J Hort Sci Biotech.* 79:91-96
- Niere JO, DeAngelis G, Grant BR (1994) The effect of phosphonate on the acid-soluble phosphorus components in the genus *Phytophthora*. *Microbiology.* 140:1661-1670.
- Olivieri FP, Feldman ML, Machinandiarena MF, Lobato MC, Caldiz DO, Dalio GR, Andreu AB (2012) Phosphite applications induce molecular modifications in potato tuber periderm and cortex that enhance resistance to pathogens. *Crop Prot.* 32:1-6.
- Ouimette DG, Coffey MD (1990) Symplastic entry and phloem translocation of phosphonate. *Pestic Biochem Physiol.* 38:18-25.
- Oyarburo NS, Machinandiarena MF, Feldman ML, Daleo GR, Andreu AB, Olivieri FP (2015) Potassium phosphite increases tolerance to UV-B in potato. *Plant Physiol Biochem.* 88:1-8.
- Pandey BK, Mehra P, Verma L, Bhadouria J, Giri J (2017) OsHAD1, a haloacid dehalogenase-like APase enhances phosphate accumulation. *Plant Physiol.* 174(4):2316-2332.
- Percival GC, Banks JM (2014) Evaluation of plant defence activators for the potential control of *Pseudomonas syringae* pv. *aesculi*. *Arboric. J.* 36(2):76-88.
- Pharmawati M, Jost R, Lapis-Gaza MHR, Rossig C, Berkowitz O, Lambers H, Finnegan PM (2015) Differentiating phosphate-dependent and phosphate-independent systemic phosphate-starvation response networks in *Arabidopsis thaliana* through the application of phosphite, *J. Exp. Bot.* 66(9): 2501-14
- Pilbeam RA, Colquhoun IJ, Shearer BL, Hardy GESJ (2000) Phosphite

- concentration: its effect on phytotoxicity symptoms and colonisation by *Phytophthora cinnamomi* in three understorey species of *Eucalyptus marginata* forest. Australas Plant Pathol. 29:86-95.
- Plaxton WC, Tran HT (2011) Metabolic adaptations of phosphate-starved plants. Plant Physiol. 156:1006-1015.
- Plaxton WC (1998) Metabolic aspects of phosphate starvation in plants. In Phosphorus in Plant Biology: Regulatory Roles in Molecular, Cellular, Organismic, and Ecosystem Processes (Lynch JP, Deikman J, eds). pp 229-241.
- Pratt J, Boisson AM, Gout E, Bligny R, Douce R, Aubert S (2009) Phosphate (Pi) starvation effect on the cytosolic Pi concentration and Pi exchanges across the tonoplast in plant cells. An in vivo ³¹P-NMR study using methylphosphonate as a Pi analogue. Plant Physiol. 151:1646-1657.
- Puerari HH, Dias-Arieira CR, Cardoso MR, Hernandez I, Brito ODC (2015) Resistance inducers in the control of root lesion nematodes in resistant and susceptible cultivars of maize. Phytoparasitica. 43:383-389.
- Rickard DA (2000) Review of phosphorus acid and its salts as fertilizer materials. J Plant Nutr. 23:161-180.
- Sandoval-Vargas JM, Jiménez-Clemente LA, Macedo-Osorio KS, Oliver-Salvador MC, Fernández-Linares LC, Durán-Figueroa NV, Badillo-Corona JA (2019) Use of the *ptxD* gene as a portable selectable marker for chloroplast transformation in *Chlamydomonas reinhardtii*. Mol. Biotechnol. 61(6): 461-468.
- Shearer BL, Fairman RG (2007) A stem injection of phosphite protects Banksia species and *Eucalyptus marginata* from *Phytophthora cinnamomi* for at least four years. Australasian Plant Pathol. 36:78-86
- Shen C, Yue R, Yang Y, Zhang L, Sun T, Tie S, Wang H (2014) OsARF16 is involved in cytokinin-mediated inhibition of phosphate transport and phosphate signaling in rice (*Oryza sativa* L.). PLoS ONE. 9(11): e112906.
- Shen J, Yuan L, Zhang J, Li H, Bai Z, Chen X, Zhang W, Zhang F. (2011) Phosphorus dynamics: from soil to plant. Plant Physiol. 156(3): 997-1005.
- Silva OC, Santos HAA, Dalla Pria M, May-De Mio LL (2011) Potassium phosphite for control of downy mildew of soybean. Crop Prot. 30:598-604.
- Simonetti E, Viso NP, Montecchia M, Zilli C, Balestrasse K, Carmona M (2015) Evaluation of native bacteria and manganese phosphite for alternative control of charcoal root rot of soybean. Microbiol Res. 180:40-48.
- Smillie RH, Grant BR, Guest D (1989) The mode of action of phosphite. Evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* spp. in plants. Phytopathology. 79(9): 921-926.
- Speiser B, Berner A, Haseli A, Tamm L (2000) Control of downy mildew of grapevine with potassium phosphonate: effectivity and phosphonate residues in wine. Biol. Agric Hortic. 17:305-312.
- Sun T, Li M, Shao Y, Yu L, Ma F (2017) Comprehensive genomic identification and expression analysis of the phosphate transporter (*PHT*) gene family in apple. Front Plant Sci. 8:426.
- Tambascio C, Covacevich F, Lobato MC, de Lasa C, Caldiz D, Dosio G *et al* (2014) The application of K phosphites to seed tubers enhanced emergence, early growth and mycorrhizal colonization in potato (*Solanum tuberosum*). Am J Plant Sci. 5:132-137.
- Ticconi CA, Delatorre CA, Abel S (2001) Attenuation of phosphate starvation responses by phosphite in Arabidopsis. Plant Physiol. 127:963- 972.
- Trejo-Téllez L, Gómez-Merino F (2018) Phosphite as an inductor of adaptive

- responses to stress and stimulator of better plant performance. *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. 203-238. Springer Nature, Singapore.
- Ullrich-Eberius CI, Novacky A, Fischer E, Luttge U (1981) Relationship between energy-dependent phosphate uptake and the electrical membrane potential in *Lemna gibba* G1. *Plant Physiol.* 67: 797-801.
- Vance CP, Uhde-Stone C, Allan DL (2003) Phosphorus acquisition and use: Critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource. *New Phytologist*. 157: 423-447.
- Varadarajan DK, Karthikeyan AS, Matilda PD, Raghothama KG (2002) Phosphite, an analog of phosphate, suppresses the coordinated expression of genes under phosphate starvation. *Plant Physiol.* 129: 1232-1240.
- Wang DLS, Jiang P, Li Y (2017) Roles, regulation, and agricultural application of plant phosphate transporters. *Front Plant Sci.* 8:817.