

آماده انتشار

اثر القاگرها بر صفات رشدی و فتوسنتزی پایه نارنج تحت تنش غرقاب

The Impact of Elicitors on Growth and Photosynthetic Traits of Sour Orange Rootstock Under Waterlogging Stress

نویسندگان: سیده فایزه فاطمی نیا^۱، علی دهستانی^{۲*}، اسماعیل سیفی^۳، پویان مهربان جوبانی^۴، علی اسدی کنگرشاهی^۵

^۱ دانشجوی دکترا، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^{۲*} دانشیار، پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری،

ایران

^۳ دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۴ استادیار، گروه علوم پایه، دانشکده علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

^۵ دانشیار، بخش تحقیقات خاک و آب، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران، ساری، ایران

Seyedeh Faezeh Fatemini¹, Ali Dehestani^{2*}, Esmail Seifi³, Pooyan Mehrabanjubani⁴, Ali Asadi Kangarshahi⁵

¹Ph.D. Student, Department of Horticultural Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

²Associate Professor, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran

³Associate Professor, Department of Horticultural Sciences, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

⁴Assistant professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Sari, Iran

⁵Associate Professor, Department of soil and water research, Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Sari Iran

اثر القاگرها بر صفات رشدی و فتوستتزی پایه نارنج تحت تنش غرقاب

چکیده

سابقه و هدف: تنش غرقاب یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد در گیاهان است که به‌طور عمده سبب کمبود اکسیژن شده و موجب اختلال در فرآیند فیزیولوژیکی، اختلال در تنفس هوازی و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می‌شود. با توجه به ماهیت اکسایشی تنش غرقاب که ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد در گیاه است. در این مطالعه برای مقابله با این تنش، از برخی ترکیبات با خاصیت انتی اکسیدانی به عنوان راهکاری برای کنترل اثرات زیان‌بخش تنش استفاده شد.

مواد و روش‌ها: پژوهش حاضر به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی طراحی و در سه تکرار در سال ۱۴۰۰ در پژوهشکده ژنتیک و زیست‌فناوری طبرستان مازندران اجرا شد. فاکتور اول تیمار آبی در دو سطح (تنش غرقاب و ظرفیت مزرعه) و فاکتور دوم سه القاگر هر کدام در دو غلظت بود. القاگرها عبارت بودند از ملاتونین (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار)، گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا) (۵ و ۱۰ میلی‌مولار) و فسفیت پتاسیم (۲ و ۳ گرم بر لیتر) که جهت کاهش اثرات تنش غرقاب استفاده شدند. همچنین برای گیاهان شاهد از آب مقطر استفاده شد. تنش غرقاب به مدت چهار هفته بر گیاهان اعمال شد و القاگرها به‌طور هفتگی محلول‌پاشی شدند و در پایان صفات رشدی، بیوشیمیایی و فتوستتزی نارنج بررسی شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل نشان داد که تنش غرقاب سبب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه و برگ نسبت به گیاهان شاهد شد. درحالی‌که کاربرد گابا ۱۰ میلی‌مولار سبب افزایش وزن تر و خشک برگ و وزن تر ریشه به ترتیب ۱۵٪، ۶٪ و ۲۳٪ نسبت به گیاهان شاهد گردید. وزن خشک ریشه در هر دو غلظت گابا در ظرفیت زراعی افزایش معنی‌داری پیدا کرد و در شاهد غرقاب، نسبت به شاهد ظرفیت زراعی ۴۷ درصد کاهش یافت. در این پژوهش، کمترین میزان قطر طوقه (۲/۹۸ میلی‌متر) در شاهد غرقاب و بیشترین قطر در تیمار فسفیت پتاسیم ۲ گرم بر لیتر تحت تنش مشاهده شد. تحت تنش غرقاب، افزایش معنی‌دار اختلاف فشار بخار آب برگ در ملاتونین ۱۰۰ (۶۸/۵۱ پاسکال بر کیلوپاسکال)، ملاتونین ۵۰ میکرومولار (۶۵/۸۹ پاسکال بر کیلوپاسکال) و گابا ۱۰ میلی‌مولار (۶۴/۳۳ پاسکال بر کیلوپاسکال) مشاهده شد. این افزایش همراه با کاهش معنی‌دار میزان رسانایی روزنه در این تیمارها بود. میزان جذب دی‌اکسید کربن در ظرفیت زراعی تحت تیمار فسفیت پتاسیم ۳ گرم بر لیتر و گابا ۱۰ میلی‌مولار (به ترتیب ۳/۷۴ و ۳/۸۸ میکرومول دی‌اکسید کربن بر متر مربع بر ثانیه) بیشترین میزان بودند، درحالی‌که در شاهد غرقاب به پایین‌ترین میزان رسید. بالاترین کارایی مصرف آب تحت تنش غرقاب در ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار و گابا ۱۰ میلی‌مولار (به ترتیب ۲/۳۷ و ۲/۲۶ میکرومول دی‌اکسید کربن بر میلی‌مول بخار آب) و همچنین بالاترین کارایی فتوسیستم در ظرفیت زراعی در گابا ۱۰ میلی‌مولار و ملاتونین ۱۰۰ میکرومولار حاصل شد.

نتیجه‌گیری: در این پژوهش، تنش غرقاب سبب کاهش معنی‌دار زیست‌توده گیاه و از طرف دیگر القاگر گابا ۱۰ سبب بهبود این صفات شد. به نظر می‌رسد کاربرد القاگرها توانسته است، با تغییر رفتار روزنه و بهبود ظرفیت فتوستتزی به گیاه تحت تنش کمک کند. از طرفی بهبود کارایی مصرف آب روزنه منجر به جلوگیری از اتلاف آب شده است که می‌تواند در افزایش تحمل گیاه تحت تنش موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: تنش اکسیداتیو، ظرفیت زراعی، فسفیت پتاسیم، گاما آمینوبوتیریک اسید، ملاتونین

ایران رتبه هفتم جهان در تولید مرکبات را به خود اختصاص داده است (۱). امروزه، تغییر الگوهای بارشی به دلیل گرم شدن کره زمین منجر به افزایش بارش‌های شدید و جاری شدن سیل شده است. پیش‌بینی می‌شود که با افزایش سیل و غرقاب شدن زمین‌های باغی در دهه‌های آینده، مشکلات ناگواری در تولید محصولات زراعی و امنیت غذایی ایجاد شود (۲). در سواحل مدیترانه و دیگر نواحی عمده کشت مرکبات در جهان، باران‌های شدید سبب غرقاب شدن کوتاه‌مدت خاک می‌شوند (۳).

غرقاب تنشی فصلی در برخی مناطق جهان است که موجب تغییرات شیمیایی، بیوشیمیایی و الکتروشیمیایی در محلول خاک می‌شود. مهم‌ترین اثر آن محدودیت در دسترسی به اکسیژن و دی‌اکسید کربن برای تنفس هوازی و فتوسنتز است (۴). بسیاری از گونه‌های گیاهی، از جمله مرکبات، تحت این شرایط دچار تنش اکسیداتیو می‌شوند (۵) و این تنش منجر به تغییرات در هورمون‌های گیاه (۶)، کاهش سطح رنگدانه‌ها (۷)، بسته شدن روزنه‌ها (۸)، اختلال در جذب و حمل‌ونقل نیتروژن (۹) و در نهایت کاهش بهره‌وری می‌گردد (۱۰). با توجه به آنکه، این تنش باعث ایجاد چندین اختلال در شرایط فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه می‌شود، اهمیت ویژه‌ای برای مرکبات دارد؛ زیرا این گیاهان سازگاری خاصی با این شرایط تنش محیطی مانند تشکیل آثرانسیم یا عدسک هیپرتروفی ندارند. مرکبات و گونه‌های وابسته به آن‌ها به‌عنوان گیاهان حساس به غرقاب طبقه‌بندی می‌شوند. اگرچه اختلافاتی بین ژنوتیپ‌ها از نظر توانایی تحمل گزارش شده است، اما این تحمل متفاوت از توانایی از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن است (۳). تنش غرقاب یکی از مشکلات باغداری مرکبات در برخی از مناطق شمال کشور است؛ بنابراین، با توجه به ماهیت اکسایشی تنش فوق و واکنش داخلی گیاهان در تولید و افزایش سطح آنتی‌اکسیدانت‌ها برای مقابله با این تنش‌ها در درختان میوه، مطالعه اثر برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌عنوان راهکاری برای کنترل اثرات زیان‌بخش تنش و بهره‌گیری از آن‌ها برای رشد و افزایش راندمان در واحد سطح اهمیت ویژه‌ای دارد.

ملاتونین (N-استیل-۵-متوکسی‌تریپتامین) یک پاک‌کننده قوی رادیکال‌های آزاد و یک آنتی‌اکسیدان است. این مولکول، برخلاف دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها، آمفی‌فیلیک است که باعث می‌شود بتواند از تمام بخش‌های سلولی از جمله سیتوزول، غشا، میتوکندری و کلروپلاست عبور کند (۱۱). مشاهدات زنگ و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد که ملاتونین با حفظ تنفس هوازی و کارایی فتوسنتز، سبب کاهش آسیب اکسیداتیو شده و تحمل نهال سیب را در برابر تنش غرقاب به‌طور قابل توجهی بهبود بخشید.

(۱۲). همچنین، اثر پیش تیمار ملاتونین بر تنش غرقاب در یونجه باعث تجمع ملاتونین درون زاد در گیاهان شد. تنش غرقاب باعث کاهش قابل توجهی در رشد گیاه، محتوای کلروفیل، کارایی فتوسنتز و نرخ خالص فتوسنتزی شد. گاما آمینوبوتریک اسید (گابا، GABA) به طور گسترده‌ای در گیاهان و حیوانات وجود دارد و با ایفای نقش در چندین مکانیسم فیزیکی و بیوشیمیایی می‌تواند رشد گیاه را بهبود بخشد. این ماده می‌تواند به عنوان یک مولکول پیام‌رسان عمل کرده و در تنظیم بیان بسیاری از ژن‌ها، از جمله ژن‌های مرتبط با هورمون‌ها، مشارکت کند و در پاسخ به تنش گیاهان مفید باشد (۱۳). استفاده خارجی از گابا بر صفات بیوشیمیایی، متابولیکی، مولکولی و فیزیولوژیکی دو پایه هلو تحت تنش کمبود اکسیژن ناشی از غرقاب اثر گذاشته و موجب افزایش سطح mRNA برخی از ایزوفرم‌های GAD (آنزیم سنتزکننده گابا)، بهبود صفات فتوسنتزی، افزایش میزان جذب دی‌اکسید کربن و هدایت روزنه‌ای، کاهش سطح هیدروژن پراکساید و افزایش سطح گابا درون‌زا شده است (۱۴). فسفیت پتاسیم (Kphi) ابتدا به عنوان یک قارچ‌کش محافظ پیشنهاد شد، اما مطالعات نشان داد که این ترکیب پتانسیل بالقوه‌ای به عنوان یک ماده القاگر زیستی گیاه دارد (۱۵) و باعث تحمل گیاه به تنش‌های غیرزیستی می‌شود. این اثر از طریق تحریک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مانند سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز تأیید شده است (۱۶).

نارنج به عنوان یکی از پایه‌های اصلی مرکبات در جهان بوده و گسترده‌ترین پایه مورد استفاده در سطح جهانی است. ارقام پیوندی روی این پایه، دارای قدرت رشد متوسط و تاجی متوسط تا بزرگ هستند. نارنج سیستم ریشه‌ای عمیق و منشعب دارد (۱۷)؛ اما نتایج پژوهش‌ها نشان داده‌اند که این پایه توانایی تحمل به تنش غرقاب را ندارد و یکی از گونه‌های حساس به این تنش محسوب می‌شود (۱۸). هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر سه القاگر ملاتونین (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار)، گابا (۵ و ۱۰ میلی‌مولار) و فسفیت پتاسیم (۲ و ۳ گرم بر لیتر) بر صفات رشدی، بیوشیمیایی و فتوسنتزی پایه نارنج تحت تنش غرقاب بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش به منظور بررسی اثر القاگرها بر تحمل نارنج به تنش غرقاب در گلخانه پژوهشکده ژنتیک و زیست فناوری طبرستان مازندران با دمای حدوداً ۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی ۶۰-۷۰ درصد در سال ۱۴۰۰ انجام شد. بذره‌ای تهیه شده از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، در بستری از ماسه و پرلیت (۱:۱) کشت شدند. از میان نهال‌های رشدیافته، آن‌هایی که از نظر، قطر، اندازه و شکل گیاه یکسان بوده انتخاب و درون گلدان نایلونی ۳ لیتری کشت و به طور هفتگی با محلول

هوگلند تغذیه شدند (۱۹). برای شروع تنش غرقاب، نهال‌ها با سن ۶ ماه درون سطل‌های بزرگ‌تر حاوی آب و محلول غذایی رقیق قرار گرفتند. سطح آب در تمام مدت تنش حدود ۲ سانتی‌متر بالاتر از سطح خاک گلدان‌ها حفظ و تنش غرقاب به مدت ۴ هفته اعمال شد. القاگرها شامل شاهد (آب مقطر)، گابا در دو غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار، ملاتونین در دو غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار و فسفیت پتاسیم نیز در دو غلظت ۲ و ۳ گرم بر لیتر به صورت هفتگی بر گیاهان محلول‌پاشی شدند. این آزمایش در دو سطح تنش غرقاب و ظرفیت مزرعه (هر دو سطح محلول‌پاشی شدند) انجام شد. نمونه‌برداری برگ‌ها بالغ گیاه، کل ریشه و انتقال آن به ازت مایع در پایان مرحله غرقاب صورت گرفت.

اندازه‌گیری صفات رشدی

پس از اعمال تنش غرقاب، اندام هوایی و زمینی گیاه که شامل برگ‌ها و ریشه بودند به آزمایشگاه منتقل شدند. وزن تر و خشک نمونه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک، نمونه‌های مورد نظر به مدت ۴۸ ساعت در آون الکتریکی با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد گذاشته شدند تا به وزن ثابت رسیدند. اندازه‌گیری قطر طوقه گیاه با کولیس انجام شد.

اندازه‌گیری تبادلات گازی و فلورسانس کلروفیل

اندازه‌گیری اختلاف فشار بخار آب، رسانایی روزنه، جذب دی‌اکسید کربن، کارایی مصرف آب و کارایی فتوسنتز در آخرین روز تنش مرحله غرقاب توسط دستگاه فتوسنتز متر-تبادلات گازی (GFS-3000 Portable Gas Exchange Fluorescence, Walz GmbH, Germany) در ساعات ۹ تا ۱۱ صبح انجام گردید. بدین منظور پس از تنظیم دستگاه، از سومین برگ توسعه‌یافته جوان اما بالغ استفاده و صفات مربوطه اندازه‌گیری شد (۵).

فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت پلی‌فنل اکسیداز برگ، عصاره آنزیمی برگ گیاه به کمک بافر فسفات (pH=۷) استخراج شد. در ادامه برای اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم، به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی، ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار و ۱۰۰ میلی‌مولار کتکول اضافه شد. روند افزایش جذب در طول موج ۴۹۵ در مدت ۳ دقیقه ثبت گردید و محاسبه فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر دقیقه بر گرم انجام شد (۲۰).

تجزیه آماری

این پژوهش، به صورت طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتور اول تیمار آبی در دو سطح (تنش غرقاب و ظرفیت مزرعه) و فاکتور دوم سه القاگر هر کدام در دو غلظت و در سه تکرار بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری Infostat و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) صورت گرفت.

نتایج و بحث

اثر القاگرها بر صفات رشدی نارنج تحت تنش غرقاب

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر ساده تیمار آبی بر تمامی صفات وزن تر و خشک برگ، وزن تر و خشک ریشه و قطر طوقه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). اثر القاگر بر وزن تر برگ، وزن خشک ریشه، قطر طوقه در سطح ۱ درصد و بر وزن تر ریشه و وزن خشک برگ در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل تیمار آبی و القاگر بر وزن خشک ریشه و قطر طوقه در سطح ۵ درصد معنی‌دار و بر سایر صفات غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمار آبی و القاگرها بر صفات رشدی نارنج.

Table 1- Variance analysis of the effect of water treatment and elicitors on growth the traits of sour orange.

میانگین مربعات MS					درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
قطر طوقه Crown diameter	وزن خشک ریشه Root dry weight	وزن تر ریشه Root fresh weight	وزن خشک برگ Leaf dry weight	وزن تر برگ Leaf fresh weight		
0.53**	0.88**	25.37**	0.0005**	0.0217**	1	تیمار آبی Water treatment
0.23**	0.026**	0.35*	0.0001*	0.0011**	6	القاگر Elicitor
0.15*	0.004*	0.28 ^{ns}	0.00004 ^{ns}	0.0002 ^{ns}	6	تیمار آبی × القاگر Elicitor × Water treatment
0.06	0.001	0.12	0.00002	0.0002	28	خطا Error
7.08	5.46	11.73	3.57	4.59	-	ضریب تغییرات CV (%)

** و *: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد. ns: عدم تفاوت معنی‌دار.

**, *: Significant difference at 1 and 5% probability level, respectively. ns: no significant difference.

نتایج نشان داد که تحت تنش غرقاب، وزن تر و خشک برگ و وزن تر ریشه کاهش معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۲). بالاترین وزن تر برگ در گابا ۱۰ با ۰/۳۲۲ گرم و کمترین در شاهد ۰/۲۷۹ گرم دیده شد و در سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کاربرد گابا در هر دو غلظت و ملاتونین ۱۰۰ سبب افزایش وزن خشک برگ شد و گابا ۱۰ با حدود ۷ درصد افزایش بیشترین تغییر را نسبت به شاهد نشان داد. وزن تر ریشه نیز تحت تأثیر القاگر گابا ۱۰ نسبت به شاهد (۲/۵۹ گرم) حدود ۲۳ درصد افزایش یافت. وزن خشک ریشه تحت تنش کاهش یافته که شاهد غرقاب کمترین مقدار و تمامی تیمارها تحت تنش غرقاب افزایش معنی‌داری را نسبت به شاهد غرقاب (۰/۳۶۷ گرم) نشان دادند که بالاترین افزایش در گابا ۱۰ در ظرفیت زراعی مشاهده شد (شکل ۱-الف). به‌طورکلی نتایج حاصل نشان داد که تنش غرقاب سبب کاهش وزن تر و خشک برگ و ریشه گیاه شد و تیمار با القاگرها به‌طور معنی‌داری بر این صفات اثرگذار بود. سه جزء اصلی زیست‌توده گیاهی شامل سلولز، همی سلولز و لیگنین هستند که ۹۰ درصد وزن خشک سلول‌های گیاهی را تشکیل می‌دهند (۲۱). تغییرات در این ترکیبات می‌تواند بر زیست‌توده گیاه اثر بگذارد. وزن خشک شاخه و برگ نشانگر محدودیت اولیه رشد و نمو گیاه ناشی از غرقاب است (۲۲). نتایج محمود و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد که تنش توام غرقاب و شوری در گیاه ذرت به کاهش معنی‌دار صفات رشدی نظیر ارتفاع شاخه، وزن تر و خشک ریشه و برگ منجر شد که به علت اختلال در متابولیسم فتوسنتزی گیاه است (۲۳). در شرایط بی‌هوازی، کاهش تخصیص کربن به ریشه و در نتیجه کاهش عرضه مواد مغذی، تجمع فیتوتوکسیک متابولیت‌ها، انسداد فسفوریلاسیون اکسیداتیو و کاهش تولید ATP رخ می‌دهد (۲۴). وُو و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که خصوصیات رشدی نهال‌های مرکبات، مانند ارتفاع، قطر ساقه، وزن تر ساقه و وزن تر ریشه نیز در اثر تنش غرقاب به‌صورت معنی‌داری کاهش پیدا کردند (۲۵). بهره‌وری گیاه در شرایط نامساعد محیطی، به قدرت انعطاف‌پذیری آن در تقسیم ماده خشک و توزیع زمانی زیست‌توده مرتبط است (۲۶). استفاده از گابا ممکن است با تحریک تقسیم سلولی و یا بزرگ شدن آن‌ها، از طریق حفظ تعادل متابولیکی بافت، به بهبود زیست-توده گیاه کمک کند (۲۷).

قطر طوقه گیاهان شاهد تحت تنش غرقاب نسبت به شاهد تحت ظرفیت زراعی حدود ۸ درصد کاهش پیدا کرد (شکل ۲-ب). بالاترین قطر طوقه در القاگر فسفیت پتاسیم ۲ تحت تنش غرقاب (۴۰۰۵ میلی‌متر) و کمترین آن در شاهد غرقاب (میلی‌متر ۲۰۹۸) حاصل شد. کاربرد تمامی القاگرها تحت تنش غرقاب سبب افزایش قطر طوقه نسبت به شاهد غرقاب شدند. در مرکبات،

قطر تنه به شرایط آب بسیار حساس است. در آزمایشی بر روی سه پایه یک ساله ماکروفیلا، کلئوپاترا و فورنر، تنش غرقاب به مدت ۳۰ روز رشد قطر تنه را متوقف کرد. تحت تنش غرقاب بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه نظیر تثبیت کربن در برگ گیاه کاهش می یابد. کاهش رشد قطر گیاه در مرکبات با اختلال در فعالیت فتوسنتزی در شرایط غرقاب مرتبط بوده است (۲۸).

جدول ۲- اثر ساده تیمارآبی و القاگرها بر صفات رشدی نارنج.

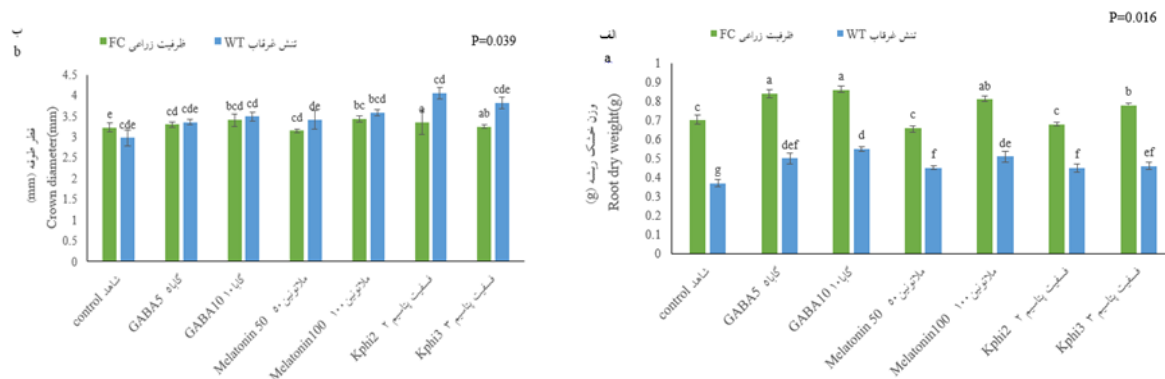
Table 2- The simple effect of water treatment and elicitors on growth traits of sour orange.

وزن تر ریشه (g) Root fresh weight (g)	وزن خشک برگ (g) Leaf dry weight (g)	وزن تر برگ (g) Leaf fresh weight (g)		
P<0.001	P<0.001	P<0.001		تیمار آبی
3.68 a	0.126 a	0.32 a	ظرفیت زراعی	Water treatment
			Field capacity	
2.12b	0.119 b	0.27 b	غرقاب	Waterlogging stress
			Wterlogging stress	
P=0.020	P=0.039	P<0.001		
2.59 d	0.120 b	0.279 c	شاهد Control	
3.14 ab	0.124ab	0.298 b	گابا ۵ GABA5	
3.21 a	0.128a	0.322 a	گابا ۱۰ GABA10	القاگر
				Elicitor
2.64cd	0.120 b	0.297 b	ملاتونین ۵۰	
			Melatonin 50	
2.79bcd	0.123 ab	0.297 b	ملاتونین ۱۰۰	
			Melatonin 100	
2.91 a-d	0.121 b	0.287 bc	فسفیت پتاسیم ۲ Kphi 2	
3.03 abc	0.122 b	0.301 b	فسفیت پتاسیم ۳ Kphi 3	

در هر تیمار از یک ستون، حروف مختلف تفاوت معنی دار (در سطح احتمال ۵٪، LSD) را نشان می دهند.

In each treatment of a column, different letters indicate significant difference (at 5% probability level, LSD).

Abbreviations: GABA (Gamma-aminobutyric acid), Kphi (Potassium phosphite).



شکل ۱- اثر متقابل تیمار آبی و القاگر بر وزن خشک ریشه (الف) و قطر طوقه (ب) نارنج. حروف مختلف تفاوت معنی دار (در سطح احتمال ۵٪، LSD) را نشان می‌دهند.

Fig 1- Interaction effect of water treatment and elicitor on root dry weight (a) and crown diameter (b) of sour orange. Different letters indicate significant difference (at 5% probability level, LSD). Abbreviations: GABA (Gamma-aminobutyric acid), Kphi (Potassium phosphite).

اثر القاگرها بر صفات فتوسنتزی، تبادلات گازی و بیوشیمیایی نارنج تحت تنش غرقاب

مطابق با نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) اثر ساده تیمار آبی و القاگر در اختلاف فشار بخار آب برگ، رسانایی روزنه، میزان جذب دی‌اکسید کربن، کارایی مصرف آب، کارایی فتوسیستم و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در سطح ۱ درصد معنی دار بود. اثر متقابل تیمار آبی و القاگر نیز در اختلاف فشار بخار آب برگ، رسانایی روزنه، کارایی مصرف آب، کارایی فتوسیستم و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز در سطح ۱ درصد و در میزان جذب دی‌اکسید کربن در سطح ۵ درصد معنی دار بود.

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تیمار آبی و القاگرها بر صفات فتوسنتزی، تبادلات گازی و بیوشیمیایی نارنج.

Table 3- Variance analysis of the effect of water treatment and elicitors on the photosynthetic, gas exchanges and biochemical traits of sour orange.

میانگین مربعات MS							منابع تغییرات S.O.V
فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز	کارایی فتوسیستم	کارایی مصرف آب	جذب دی‌اکسید کربن	رسانایی روزنه	اختلاف فشار بخار آب	درجه آزادی	
Polyphenol oxidase activity	Fv/Fm	Water use efficiency	CO2 assimilation rate (A _{CO2})	Stomatal conductance (G _{H2O2})	Vapor pressure deficit	df	
0.015**	0.49**	4.12**	26.31**	171821.06**	908.15**	1	تیمار آبی Water teartment
0.005**	0.03**	1.12**	1.74**	7676.35**	87.07**	6	القاگر Elicitor
0.008**	0.03**	1.25**	0.55*	9749.85**	38.46**	6	تیمار آبی × القاگر Water

treatment × Elicitor						
خطا	28	7.11	73.05	0.22	0.02	0.0016
Error						0.001
ضریب تغییرات	-	4.76	9.37	19.67	15.32	6.37
CV (%)						18.14

*** و **: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد. ns: عدم تفاوت معنی‌دار.

***, **: Significant difference at 1 and 5% probability level, respectively. ns: no significant difference.

نتایج نشان داد که میزان اختلاف فشار بخار آب برگ تحت تنش غرقاب به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۴). بالاترین اختلاف فشار در القاگرهای ملاتونین ۱۰۰ و ۵۰ و گابا ۱۰ تحت تنش غرقاب و کمترین در فسفیت پتاسیم ۳ (۴۶,۴۴) پاسکال بر کیلوپاسکال) مشاهده شد، درحالی‌که بیشترین افزایش توسط ملاتونین ۱۰۰ نسبت به شاهد غرقاب به مقدار حدود ۲۳ درصد بود. رسانایی روزنه نیز تحت تاثیر قرار گرفت و بالاترین رسانایی (۲۸۴,۲۸ میلی‌مول بر متر مربع بر ثانیه) تحت تیمار فسفیت پتاسیم ۳ در ظرفیت زراعی و کمترین میزان (۹,۹۵ میلی‌مول بر متر مربع بر ثانیه) در گابا ۱۰ تحت تنش غرقاب مشاهده شد، درحالی‌که با تیمارهای ملاتونین تحت تنش اختلاف معنی‌داری نداشت. به‌طورکلی، تمامی القاگرها تحت تنش نسبت به شاهد غرقاب میزان پایین‌تری رسانایی روزنه نشان داده‌اند. نتایج همچنین نشان داد که جذب دی‌اکسید کربن، در فسفیت پتاسیم ۳ (۳,۷۴ میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه) و گابا ۱۰ (۳,۸۸ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه) تحت ظرفیت زراعی بیشترین بود و تحت تنش غرقاب نسبت به ظرفیت زراعی، تمامی تیمارها میزان پایین‌تری نرخ جذب دی‌اکسید کربن نشان دادند. بااین‌حال، گابا ۱۰ و ملاتونین ۱۰۰ تحت تنش نسبت به شاهد غرقاب افزایش معنی‌داری در جذب دی‌اکسید کربن نشان دادند. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که شاهد تحت تنش نسبت به شاهد ظرفیت زراعی کارایی مصرف آب کمتری داشت و کاربرد القاگرها اثر معنی‌داری بر این صفت نشان داد، بدین ترتیب که بالاترین کارایی مصرف آب در گابا ۱۰ (۲,۲۶ میکرومول دی‌اکسید کربن بر میلی‌مول بخار آب) و ملاتونین ۱۰۰ (۲,۳۷ میکرومول دی‌اکسید کربن بر میلی‌مول بخار آب) تحت تنش حاصل شد (جدول ۴). رفتار روزنه‌ها به غلظت دی‌اکسید کربن اتمسفر، اختلاف فشار بخار آب برگ و دسترسی به آب وابسته است. هنگامی‌که اختلاف فشار بخار آب برگ و اتمسفر افزایش می‌یابد، سلول‌های محافظ روزنه منقبض و بسته می‌شوند و افزایش اختلاف فشار بخار آب روزنه‌ها سبب بسته شدن غیر فعال هیدرولیکی روزنه‌ها می‌شود. این فرآیند جهت کاهش اتلاف آب و جلوگیری از خشک شدن برگ‌ها در تعلق بالا رخ می‌دهد (۲۹). همچنین، نتایج مطالعات وی و همکاران (۲۰۱۸) در گیاه آراییدوپسیس نشان داد که ملاتونین با واسطه هیدروژن

پراکساید و سیگنال انتقال آبشاری کلسیم، بسته شدن روزنه‌ها را تنظیم می‌کند (۳۰). با بررسی ژنوتیپ‌های مختلف ذرت در تنش خشکی، مشخص شد که کاهش تعرق در پاسخ به افزایش اختلاف فشار، راندمان مصرف آب را افزایش می‌دهد (۳۱). رسانایی روزنه‌ای در اثر میزان باز شدن منفذ روزنه، تراکم روزنه و بازخورد پتانسیل آب برگ (به‌عنوان شاخص وضعیت آب گیاه) تغییر می‌کند (۳۲). گابا می‌تواند با تغییر اندازه روزنه برای تسهیل جذب دی‌اکسید کربن و تحرک بهتر آب به واکنش‌های فتوسنتز کمک کند (۳۳).

جذب دی‌اکسید کربن برای متابولیسم گیاه اهمیت اساسی دارد، زیرا گیاهان کربن را تثبیت می‌کند. این واکنش‌ها نشان‌دهنده کسب انرژی شیمیایی ذخیره شده است که در نهایت اسکلت کربنی ساختار گیاهان را فراهم می‌کند. در شرایط تنش، مانند غرقاب، کاهش جذب دی‌اکسید کربن می‌تواند تأثیر منفی بر زیست‌توده داشته باشد (۳۴)، همان‌طور که در این مطالعه نشان داده شده است، در گیاهان تحت تنش میزان جذب دی‌اکسید کربن تحت تأثیر قرار گرفت. پژوهش‌های زیادی بیانگر کاهش ظرفیت فتوسنتزی گیاهان تحت تنش غرقاب هستند که این کاهش نرخ فتوسنتز و کاهش هدایت روزنه‌ای در پایه کلئوپاترا تحت تنش غرقاب مشاهده شده است (۳۵). گیاهان تحت شرایط نامساعد نیاز بالایی به جذب دی‌اکسید کربن برای تولید زیست‌توده دارند (۳۶). بسته شدن روزنه، با محدود کردن دسترسی به دی‌اکسید کربن بر تبادل گاز و سرعت فتوسنتز نیز تأثیر می‌گذارد، با این حال توانایی در حفظ سرعت فتوسنتز علیرغم کاهش رسانایی روزنه‌ای احتمالاً به دلیل فعال شدن رویسکو است. در یک مطالعه در مرکبات، نهال‌های ماکروفیل و فورنر توانستند سرعت فتوسنتز خود را در طول غرقاب حفظ کنند؛ اما در پایه حساس کلئوپاترا سیستم فتوسنتزی ناکارآمد بیانگر آسیب‌پذیری این پایه در برابر شرایط غرقاب بود (۲۸).

جدول ۴- اثر متقابل تیمار آبی و الفاگر بر صفات فتوسنتزی و تبادلات گازی نارنج.

Table 4- The interaction effect of water treatment and elicitor on the photosynthetic and gas exchanges traits of sour orange.

کارایی مصرف آب	جذب دی‌اکسید کربن	رسانایی روزنه	اختلاف فشار بخار	الفاگر	تیمار آبی
Water use efficiency ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$)	CO ₂ assimilation rate (A_{CO_2}) ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Stomatal conductance ($G_{\text{H}_2\text{O}_2}$) ($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Vapor pressure deficit (Pa kPa ⁻¹)	Elicitor	Water treatment
P<0.001	P=0.043	P<0.001	P<0.001		
0.57 ef	3.14 abc	106.47 d	51.97 cde	Control	ظرفیت زراعی
0.30 gh	3.34 ab	228.8 b	47.97 ef	GABA5 گابا ۵	Field capacity
0.43 fg	3.88 a	185.58 c	52.40 cde	GABA10 گابا ۱۰	

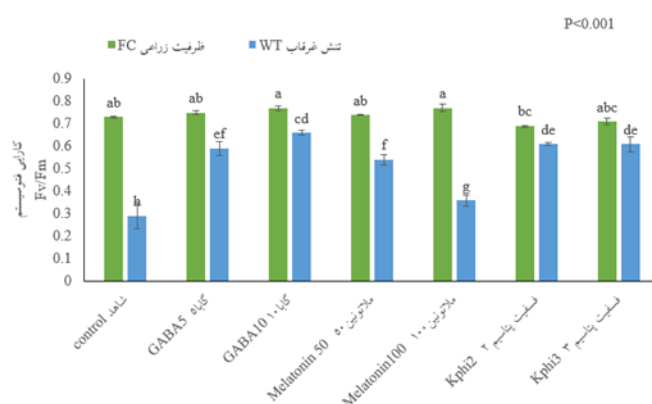
0.22 h	1.99 ef	178.64 c	50.52 def	ملاتونین ۵۰ Melatonin 50	
0.68 de	3.31 abc	87.05 e	55.84 bc	ملاتونین ۱۰۰ Melatonin 100	
0.96 bc	2.77 bcd	51.30 f	54.15 cd	فسفیت پتاسیم ۲ Kphi 2	
0.35 gh	3.74 a	248.28 a	46.44 f	فسفیت پتاسیم ۳ Kphi 3	
0.34 gh	0.91 g	48.15fg	55.98 bc	شاهد Control	غرقاب
1.04 b	2.56 cd	22.02hi	59.43 b	GABA5 گابا ۵	Wterlogging stress
2.26 a	1.86 ef	9.95 i	64.23 a	GABA10 گابا ۱۰	
0.80 cd	0.98 g	18.69 i	65.89 a	ملاتونین ۵۰ Melatonin 50	
2.37 a	2.04 def	11.08 i	68.51 a	ملاتونین ۱۰۰ Melatonin 100	
0.31 gh	1.29 fg	44.97 fg	55.32 bc	فسفیت پتاسیم ۲ Kphi 2	
0.76 cde	1.43 fg	35.80 gh	55.02 bc	فسفیت پتاسیم ۳ Kphi 3	

در هر ستون، حروف مختلف تفاوت معنی‌دار (در سطح احتمال ۵٪، LSD) را نشان می‌دهند.

In each column, different letters indicate significant difference (at 5% probability level, LSD). Abbreviations: GABA (Gamma-aminobutyric acid), Kphi (Potassium phosphite).

در نارنج نیز کاهش جذب دی‌اکسید کربن در اثر تنش غرقاب گزارش شده است (۳۷). یکی از پاسخ‌های گیاه به غرقاب بسته شدن روزنه‌ها و سپس کاهش تبادل گازی گیاه است که به دنبال آن کاهش تعرق و افزایش کارایی مصرف آب و در نتیجه جلوگیری از کم‌آبی گیاه روی می‌دهد، این پدیده در مرکبات نیز تحت تنش غرقاب مشاهده شده است (۲۸). کاهش کارایی مصرف آب تحت تنش احتمالاً به دلیل کاهش فرآیند فتوسنتزی و تولید کربوهیدرات است، درحالی‌که اتلاف آب از طریق باز ماندن روزنه و تعرق ادامه می‌یابد. این کاهش کارایی آب تحت غرقاب در گیاه خیار نیز مشاهده شد (۳۴). مطالعه رودریگز و همکاران (۲۰۱۱) روی نهال یک‌ساله سیترنج تحت تنش غرقاب به مدت ۳۵ روز، کاهش معنی‌دار هدایت روزنه‌ای و تعرق را نشان داد و علت بسته شدن سریع روزنه‌ها را با انتقال سریع هورمون ابسیزیک اسید از برگ‌های بالغ به برگ‌های جوان مرتبط دانست (۸). نتایج صلاح و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که کاربرد گابا خارجی، اندازه کلروپلاست و تعداد گرانوم‌های کلروپلاست را در مقایسه با تیمار غرقاب در ذرت افزایش داد. این امر می‌تواند ظرفیت جذب فتوسنتز را افزایش دهد که به دلیل کاهش تخریب و حفظ ساختار کلروپلاست است (۳۸).

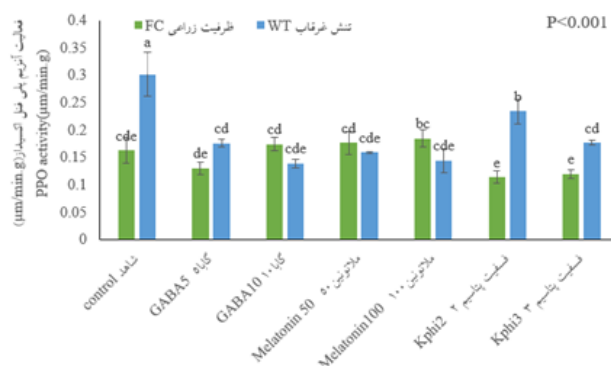
نتایج نشان داد که کارایی فتوسیستم تحت تنش کاهش پیدا کرد. بالاترین کارایی فتوسیستم در ملاتونین ۱۰۰ و گابا ۱۰ در ظرفیت زراعی (۰/۷۷) مشاهده شد، اما در تنش غرقاب کاربرد فسفیت پتاسیم در هر دو غلظت (۰/۶۱) و گابا ۱۰ (۰/۶۶) بیشترین افزایش را نسبت به شاهد غرقاب نشان دادند (شکل ۲). نسبت کارایی فتوسیستم (Fv/Fm) به عنوان شاخص سلامت و تحمل به شرایط نامطلوب در گیاهان بیان می شود و حداکثر بازده واکنش فیتوشیمیایی با تبدیل نور به انرژی شیمیایی مرتبط است (۳۹). در پژوهش حاضر، با استفاده از الفاگر گابا ۱۰ و ملاتونین ۱۰۰ در ظرفیت زراعی به حداکثر میزان یعنی ۰/۷۷ رسید. هنگامی که گیاهان در معرض تنش قرار می گیرند، پیام فیزیولوژیکی به روش های مختلفی تغییر می کند. در گیاهان تحت تنش، غیر فعال شدن مراکز واکنش فتوسیستم دو (PSII) می تواند به آسیب اکسیداتیو کلروپلاست منجر شود که معمولاً با اتلاف حرارت و کاهش کارایی فتوسیستم همراه است (۴۰). به عنوان مثال، هنگامی که پایه های کاریزو، ترویر و سی تی ۳۳ مرکبات، تحت تنش غرقاب قرار گرفتند، بیشترین کاهش کارایی فتوسیستم، در دمای بالای ۳۵ درجه سانتی گراد مشاهده شد، اما پایه ترویر میزان دی اکسید کربن خود را در سطح پایین حفظ کرد (۴۱). کاهش کارایی فتوسیستم، حساسیت دستگاه فتوسنتزی را به تنش غرقاب و ناتوانی گیاهان در احیای روبیسکو در شرایط نامطلوب نشان می دهد (۴۲). یک مطالعه دیگر در ذرت نشان داد که راندمان کارایی فتوسیستم تحت سمیت کادمیوم کاهش یافت. با این حال، استفاده از گابا باعث افزایش بازده فتوسیستم گیاهان تحت تنش شد و این افزایش بازده از طریق تنظیم جذب کادمیوم، کاهش گونه های اکسیژن فعال و متابولیسم پلی آمین ایجاد گردید (۴۳).



شکل ۲- اثر متقابل تیمار آبی و الفاگر بر کارایی فتوسیستم نارنج. حروف مختلف تفاوت معنی دار (در سطح احتمال ۵٪، LSD) را نشان می دهند.

Fig 2- The interaction effect of water treatment and elicitor on the photosystem efficiency of sour orange.
Different letters indicate significant difference (at 5% probability level, LSD). Abbreviations: GABA (Gamma-aminobutyric acid), Kphi (Potassium phosphite).

طبق نتایج حاصل، داده‌های فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز، تیمار آبی و القاگرها سبب تغییر معنی‌دار فعالیت آنزیمی شد (شکل ۳). بالاترین میزان فعالیت در شاهد غرقاب و پس از آن در فسفیت پتاسیم ۲ تحت تنش بود. در سایر تیمارها تحت تنش اختلاف معنی‌داری با شاهد ظرفیت زراعی مشاهده نشد. تحت ظرفیت زراعی نیز فسفیت پتاسیم در هر دو غلظت میزان فعالیت پایین‌تری نسبت به شاهد نشان داد.



شکل ۳- اثر متقابل تیمار آبی و القاگر بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز برگ نارنج. حروف مختلف تفاوت معنی‌دار (در سطح احتمال ۵٪، LSD) را نشان می‌دهند.

Fig 3- The interaction effect of water treatment and elicitor on the activity of polyphenol oxidase enzyme in sour orange leaves. Different letters indicate significant difference (at 5% probability level, LSD). Abbreviations: GABA (Gamma-aminobutyric acid), Kphi (Potassium phosphite).

پلی فنل اکسیدازها آنزیم‌های حاوی مس هستند که اکسیداسیون مونوفنول‌ها را به O-quinones کاتالیز می‌کنند. مطالعات اخیر، پروتئین پلی فنل اکسیداز را در کلروپلاست گیاه نیز شناسایی کرده است (۴۴). تاکنون چندین نقش پلی فنل اکسیداز که می‌توانند مستقیماً بر فتوسنتز تأثیر بگذارند، از جمله عملکرد آن به عنوان یک بافر اکسیژن، تعدیل‌کننده چرخه پراکسیداز و تأثیر آن در چرخه آب، گزارش شده است (۴۵). هنگامی که در گیاه تحت تنش تقاضای انرژی برای فرآیندهای متابولیک کلروپلاست و سیتوزولی بسیار کاهش می‌یابد، پلی فنل اکسیداز در حفظ تعادل ROS مورد نیاز برای عملکرد سلولی سالم شرکت می‌کند، بنابراین پلی فنل اکسیداز با کاهش آسیب‌های فتواکسیداتیو در شرایط تنش غیرزیستی، به بهبود عملکرد فتوسنتزی گیاه کمک کند (۴۴). به نظر می‌رسد که در این پژوهش نیز افزایش پلی فنل اکسیداز در شاهد غرقاب و تیمار فسفیت پتاسیم ناشی از کنترل تنش اکسیداتیو

باشد. بررسی صفات فتوستتزی در برگ‌های شبدر وحشی و جهش‌یافته تحت شرایط شاهد و تحت تیمار با تنش نور زیاد و سرما نشان داد که آسیب اکسیداتیو پروتئین در گونه جهش‌یافته نسبت به انواع وحشی بیشتر است (۴۴).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش غرقاب اثر نامطلوبی بر زیست‌توده گیاه نارنج داشته است. همچنین مشخص شد که کاربرد القاگرها می‌تواند سبب بهبود این صفات شود. از طرفی القاگرها با تغییر رفتار روزنه منجر به پاسخ سریع روزنه‌ها و بسته شدن آن‌ها شده‌اند که در این میان القاگر گابا ۱۰ و ملاتونین ۱۰۰ بیشترین تأثیر را داشته‌اند. از این‌رو افزایش سرعت‌العمل روزنه‌ها در بسته شدن و حفظ فرآیند فتوستتزی گیاه تحت تنش سبب افزایش کارایی مصرف آب در گیاه شده است. به نظر می‌رسد که القاگرها از جمله گابا ۱۰ و ملاتونین ۱۰۰ می‌توانند با تغییر واکنش گیاه تحمل آن را به تنش غرقاب بهبود بخشند.

منابع

1. Food and Agriculture Organization. (2019). Statistics division (FAOSTAT). <https://www.fao.org/statistics/en>
2. Yang, J., Zhang, C., Wang, Z., Sun, S., Zhan, R., Zhao, Y., & Li, M. (2019). Melatonin-mediated sugar accumulation and growth inhibition in apple plants involves down-regulation of fructokinase 2 expression and activity. *Frontiers in Plant Science*, 10, 150. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00150>
3. Arbona, V., Hossain, Z., Lopez-Climent, M., Pérez-Clemente, R. M., & Gómez-Cadenas, A. (2008). Antioxidant enzymatic activity is linked to waterlogging stress tolerance in citrus. *Physiologia Plantarum*, 132(4), 452–466. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01046.x>
4. Bailey-Serres, J., Fukao, T., Gibbs, D. J., Holdsworth, M. J., Lee, S. C., Licausi, F., Perata, P., Voesenek, L., & van Dongen, J. T. (2012). Making sense of low oxygen sensing. *Trends in Plant Science*, 17(3), 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2011.12.016>
5. Hossain, Z., López-Climent, M. F., Arbona, V., Pérez-Clemente, R. M., & Gómez-Cadenas, A. (2009). Modulation of the antioxidant system in citrus under waterlogging and subsequent drainage. *Journal of Plant Physiology*, 166(13), 1391–1404. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2009.02.018>
6. Arbona, V., & Gómez-Cadenas, A. (2008). Hormonal modulation of citrus responses to flooding. *Journal of Plant Growth Regulation*, 27(3), 241–250. <https://doi.org/10.1007/s00344-008-9059-x>
7. Posso, D. A., Borella, J., Reissig, G. N., & Bacarin, M. A. (2018). Root flooding-induced changes in the dynamic dissipation of the photosynthetic energy of common bean plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 40(12), 21–22. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2785-1>
8. Rodriguez-Gamir, J., Ancillo, G., Gonzalez-Mas, M., Primo-Millo, E., Iglesias, D., & Forner-Giner, M. (2011). Root signaling and modulation of stomatal closure in flooded citrus seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49, 636–645. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.01.021>
9. Martínez-Alcántara, B., Jover, S., Quinones, A., Forner-Giner, M. Á., Rodríguez-Gamir, J., Legaz, F., & Iglesias, D. J. (2012). Flooding affects uptake and distribution of carbon and nitrogen in citrus seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 169(12), 1150–1157. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2012.04.008>

10. Linkemer, G., Board, J. E., & Musgrave, M. E. (1998). Waterlogging effects on growth and yield components in late-planted soybean. *Crop Science*, 38(6), 1576–1584. <https://doi.org/10.2135/cropsci1998.0011183X003800060034x>
11. López, A., García, J. A., Escames, G., Venegas, C., Ortiz, F., & López, L. C. (2009). Melatonin protects the mitochondria from oxidative damage reducing oxygen consumption, membrane potential, and superoxide anion production. *Journal of Pineal Research*, 46(2), 188–198. <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2008.00647.x>
12. Zheng, X., Zhou, J., Tan, D., Wang, N., Wang, L., Shan, D., & Kong, J. (2017). Melatonin improves waterlogging tolerance of *Malus baccata* L. Borkh. seedlings by maintaining aerobic respiration, photosynthesis and ROS migration. *Frontiers in Plant Science*, 5(8), 483. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00483>
13. Shi, S. Q., Shi, Z., Jiang, Z. P., Qi, L. W., Sun, X. M., Li, C. X., Liu, J. F., Xiao, W. F., & Zhang, S. G. (2010). Effects of exogenous GABA on gene expression of *Caragana intermedia* roots under NaCl stress: Regulatory roles for H₂O₂ and ethylene production. *Plant, Cell & Environment*, 33(2), 149–166. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.02066.x>
14. Salvatierra, A., Toro, G., Mateluna, P., Opazo, I., Ortiz, M., & Pimentel, P. (2020). Keep calm and survive: Adaptation strategies to energy crisis in fruit trees under root hypoxia. *Plants*, 9(9), 1108. <https://doi.org/10.3390/plants9091108>
15. Gomez-Merino, F. C., & Trejo-Tellez, L. I. (2015). Biostimulant activity of phosphite in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.09.021>
16. Mohammadi, M. A., Cheng, Y., Aslam, M., Jakada, B. H., Wai, M. H., Ye, K., & Qin, Y. (2021). ROS and oxidative response systems in plants under biotic and abiotic stresses: Revisiting the crucial role of phosphite triggered plant defense response. *Frontiers in Microbiology*, 12, 631318. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.631318>
17. Bowman, K. D., McCollum, G., & Albrecht, U. (2021). SuperSour: A new strategy for breeding superior citrus rootstocks. *Frontiers in Plant Science*, 12, 741009. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.741009>
18. Partiya, R., Fotouhi Ghazvini, R., Fifaei, R., & Ghasemnezhad, M. (2018). Response of different citrus genotypes to continuous flooding conditions. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 5(2), 253–263. <https://doi.org/10.22059/ijhst.2018.253274.237>
19. Arbona, V., Zandalinas, S. I., Manzi, M., González-Guzmán, M., Rodríguez, P. L., & Gómez-Cadenas, A. (2017). Depletion of abscisic acid levels in roots of flooded Carrizo citrange (*Poncirus trifoliata* L. Raf. × *Citrus sinensis* L. Osb.) plants is a stress-specific response associated to the differential expression of PYR/PYL/RCAR receptors. *Plant Molecular Biology*, 93, 623–640.
20. Mayer, A. M., Harel, E., & Ben-Shaul, R. (1966). Assay of catechol oxidase—a critical comparison of methods. *Phytochemistry*, 5, 783–789. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)86438-X](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)86438-X)
21. Pang, Y. X., Sharmin, N., Wu, T., & Pang, C. H. (2023). An investigation on plant cell walls during biomass pyrolysis: A histochemical perspective on engineering applications. *Applied Energy*, 343, 121055. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2023.121055>
22. Trought, M. C. T., & Drew, M. C. (1980). Development of waterlogging damage in wheat seedlings (*Triticum aestivum* L.): I. Shoot and root growth in relation to changes in the concentrations of dissolved gases and solutes in the soil solution. *Plant and Soil*, 54, 77–94. <https://doi.org/10.1007/BF02182001>
23. Mahmood, U., Hussain, S., Hussain, S., Ali, B., Ashraf, U., Zamir, S., Asir, S., Alzahrani, F. O., & Hano, C. (2021). Morpho-physio-biochemical and molecular responses of maize hybrids to salinity and waterlogging during stress and recovery phase. *Plants*, 10(7), 1345. <https://doi.org/10.3390/plants10071345>
24. Dat, J., Folzer, H., Parent, C., Badot, P. M., & Capelli, N. (2006). Hypoxia stress: Current understanding and perspectives. *Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology: Advances and Topical Issues*, 3, 664–674.

25. Wu, Q. S., Zou, Y. N., & Huang, Y. M. (2013). The arbuscular mycorrhizal fungus *Diversispora spurca* ameliorates effects of waterlogging on growth, root system architecture and antioxidant enzyme activities of citrus seedlings. *Fungal Ecology*, 6(1), 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2012.10.006>
26. Kage, H., Kochler, M., & Stützel, H. (2004). Root growth and dry matter partitioning of cauliflower under drought stress conditions: Measurement and simulation. *European Journal of Agronomy*, 20(4), 379–394. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2003.09.008>
27. Bashir, R., Riaz, H. N., Anwar, S., Parveen, N., Khalilzadeh, R., Hussain, I., & Mahmood, S. (2021). Morpho-physiological changes in carrots by foliar γ -aminobutyric acid under drought stress. *Brazilian Journal of Botany*, 44, 57–68. <https://doi.org/10.1007/s40415-020-00676-7>
28. Pérez-Jiménez, M., & Pérez-Tornero, O. (2021). Short-term waterlogging in citrus rootstocks. *Plants*, 10(12), 2772. <https://doi.org/10.3390/plants10122772>
29. Nikinmaa, E., Hölttä, T., Hari, P., Kolari, P., Mäkelä, A., Sevanto, S., & Vesala, T. (2013). Assimilate transport in phloem sets conditions for leaf gas exchange. *Plant, Cell & Environment*, 36(3), 655–669. <https://doi.org/10.1111/pce.12012>
30. Wei, J., Li, D. X., Zhang, J. R., Shan, C., Rengel, Z., Song, Z. B., & Chen, Q. (2018). Phyto-melatonin receptor PMTR1-mediated signaling regulates stomatal closure in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Pineal Research*. <https://doi.org/10.1111/jpi.12514>
31. Messina, C. D., Sinclair, T. R., Hammer, G. L., Curan, D., Thompson, J., Oler, Z., Gho, C., & Cooper, M. (2015). Limited- transpiration trait may increase maize drought tolerance in the US Corn Belt. *Agronomy Journal*, 107(6), 1978–1986. <https://doi.org/10.2134/agronj15.0005>
32. Zhu, X., Cao, Q., Sun, L., Yang, X., Yang, W., & Zhang, H. (2018). Stomatal conductance and morphology of arbuscular mycorrhizal wheat plants response to elevated CO₂ and NaCl stress. *Frontiers in Plant Science*, 9, 410525. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01363>
33. Shomali, A., Aliniaiefard, S., Didaran, F., Lotfi, M., Mohammadian, M., Seif, M., Strobel, W. R., Sierka, E., & Kalaji, H. M. (2021). Synergistic effects of melatonin and gamma-aminobutyric acid on protection of photosynthesis system in response to multiple abiotic stressors. *Cells*, 10(7), 1631. <https://doi.org/10.3390/cells10071631>
34. Barickman, T. C., Simpson, C. R., & Sams, C. E. (2019). Waterlogging causes early modification in the physiological performance, carotenoids, chlorophylls, proline, and soluble sugars of cucumber plants. *Plants*, 8(6), 160. <https://doi.org/10.3390/plants8060160>
35. Pérez-Jiménez, M., Pérez-Tornero, O. 2021. Short-term waterlogging in citrus rootstocks. *Plants*. 10(12):2772. <https://doi.org/10.3390/plants10122772>.
36. Joshi, R., Singla-Pareek, S. L., & Pareek, A. (2018). Engineering abiotic stress response in plants for biomass production. *Journal of Biological Chemistry*, 293(14), 5035–5043. <https://doi.org/10.1074/jbc.R117.809723>
37. Martinez-Cuenca, M., Quinones, A., Primo-Millo, E., & Forner-Giner, M. (2015). Flooding impairs Fe uptake and distribution in citrus due to the strong down-regulation of genes involved in strategy I responses to Fe deficiency in roots. *PLOS ONE*, 10, e123644. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123644>
38. Salah, A., Zhan, M., Cao, C., Han, Y., Ling, L., Liu, Z., Li, P., Ye, M., & Jiang, Y. (2019). γ -Aminobutyric acid promotes chloroplast ultrastructure, antioxidant capacity, and growth of waterlogged maize seedlings. *Scientific Reports*, 9, 17160. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53517-y>
39. Hassannejad, S., & Porheidar Ghafarbi, S. (2018). Assessment of some chlorophyll a fluorescence parameters of different corn cultivars in response to clodinafop-propargyl herbicide and salicylic acid. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, 8(1), 47–57.
40. Murchie, E. H., & Lawson, T. (2013). Chlorophyll fluorescence analysis: A guide to good practice and understanding some new applications. *Journal of Experimental Botany*, 64(13), 3983–3998. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert208>

41. Otero, A., Goñi, C., & Syvertsen, J. P. (2015). Flooding and soil temperature affect water relations and photosynthesis of citrus rootstock leaves. *Acta Horticulturae*, 1065, 1399–1406. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1065.170>
42. Smethurst, C. F., Garnett, T., & Shabala, S. (2005). Nutritional and chlorophyll fluorescence responses of lucerne (*Medicago sativa*) to waterlogging and subsequent recovery. *Plant and Soil*, 270, 31–45. <https://doi.org/10.1007/s11104-004-1022-9>
43. Seifikalhor, M., Aliniaiefard, S., Bernard, F., Seif, M., Latifi, M., Hassani, B., Didaran, F., Bosacchi, M., Rezadoost, H., & Li, T. (2020). γ -Aminobutyric acid confers cadmium tolerance in maize plants by concerted regulation of polyamine metabolism and antioxidant defense systems. *Scientific Reports*, 10(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-74307-0>
44. Boeckx, T., Webster, R., Winters, A. L., Webb, K. J., Gay, A., & Kingston-Smith, A. H. (2015). Polyphenol oxidase-mediated protection against oxidative stress is not associated with enhanced photosynthetic efficiency. *Annals of Botany*, 116(4), 529–540. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv111>
45. Boeckx, A. L., Winters, K. J., Webb, A. H., & Kingston-Smith, A. H. (2015). Polyphenol oxidase in leaves: Is there any significance to the chloroplastic localization? *Journal of Experimental Botany*, 12, 3571–357

The Impact of Elicitors on Growth and Photosynthetic Traits of Sour Orange Rootstock Under Waterlogging Stress

Abstract

Background and objectives: Waterlogging stress is a major factor limiting plant growth, primarily due to oxygen deficiency, which disrupts physiological processes, impairs aerobic respiration, and ultimately reduces plant performance. Due to the oxidative nature of waterlogging stress, which is caused by the production of free radicals in the plant. In this study, to deal with this stress, some compounds with antioxidant properties were used as a way to control the harmful effects of stress.

Materials and methods: This study was conducted as a factorial experiment based on a completely randomized design, incorporating two factors and three replications three in the year 2021 at the Genetics and Biotechnology Research Institute of Tabarestan, Mazandaran. The first factor was water treatment at two levels: waterlogging stress and field capacity. The second factor involved three elicitors, each tested at two concentrations. The elicitors were melatonin (50 and 100 μM), gamma-aminobutyric acid (GABA) (5 and 10 mM), and potassium phosphite (Kphi) (2 and 3 g L^{-1}). Distilled water was also used for control plants. Waterlogging stress was applied to the plants for four weeks, and the elicitors were sprayed weekly. At the end of the experiment, various growth, biochemical, and photosynthetic traits of sour orange were evaluated.

Results: Waterlogging stress significantly reduced both the fresh and dry weights of roots and leaves compared to control plants. However, the application of 10 mM GABA led to an increase in the fresh 15% and dry weight 6% of leaves, as well as an increase in the dry weight of roots 23% compared to controls. In field capacity conditions, both concentrations of GABA significantly increased root dry weight. The lowest crown diameter (2.98 mm) was observed in the waterlogged control, while the largest was recorded in plants treated with 2 g L^{-1} Kphi under stress. Waterlogging stress also caused a marked increase in leaves vapor pressure deficit, with the highest values observed in plants treated with melatonin 100 μM (68.51 Pa kPa^{-1}), melatonin 50 μM (65.89 Pa kPa^{-1}), and GABA 10 mM (64.23 Pa kPa^{-1}), accompanied by a significant reduction in stomatal conductance. Under field capacity conditions, the highest CO_2 assimilation rates were observed in plants treated with Kphi 3 g L^{-1} and GABA 10 mM

(3.74 and 3.88 $\mu\text{molCO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, respectively), while the lowest rate was found in the waterlogged control. The highest water use efficiency under waterlogging stress was observed in plants treated with 100 μM melatonin and GABA 10 mM (2.37 and 2.26 $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$, respectively). Additionally, the highest photosystem efficiency under field capacity was recorded in plants treated with GABA 10 mM and melatonin 100 μM .

Conclusion: This study demonstrates that waterlogging stress significantly reduces plant biomass. However, the use of GABA 10 Mm as an elicitor improved several growth traits. The results suggest that elicitors can enhance plant tolerance to stress by modulating stomatal behavior and increasing photosynthetic capacity. Improved stomatal water use efficiency helps prevent water loss, thereby enhancing plant resilience under stress conditions.

Keywords: Field capacity, Gamma-aminobutyric acid, Melatonin, Oxidative stress, Potassium phosphite