



Study of some morpho-physiological and biochemical characteristics of Volkameriana and sour orange rootstocks under saline and alkaline stress conditions

Abbas Danaeifar^{1✉} , Esmaeil Khaleghi² , Shohreh Zivdar³ , Khosro Mehdikhanlou⁴ 

1. Corresponding Author, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: a.danaei@scu.ac.ir
2. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: khaleghi@scu.ac.ir
3. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: zivdar-s@scu.ac.ir
4. Department of Plant Production Engineering and Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. E-mail: k.mehdikhanlou@gmail.com

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:

Received: 20 January 2025
Received in revised form: 22 April 2025
Accepted: 11 May 2025
Published online: Winter 2025

Keywords:

Alkalinity, carbohydrates, photosynthesis, salinity, Volkameriana.

ABSTRACT

Citrus is one of the most economically important fruit crops in the world, mostly belonging to the genus *Citrus* and the family Rutaceae. One of the limiting factors for citrus production is salinity and alkalinity stress. Salinity and alkaline stresses are among the most important abiotic stresses that affect all vital and metabolic activities of plants. One of the methods for increasing tolerance to stress conditions is to use appropriate rootstocks. Therefore, to investigate the resistance of two citrus rootstocks, sour orange and Volkameriana, to stress conditions, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four replications in the greenhouse of the Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahvaz. In this experiment, the effects of four concentrations of 0, 30, 60, and 90 mM sodium chloride and two pH levels (6.5 and 8.2) on some morpho-physiological and biochemical characteristics of two citrus rootstocks, sour orange and Volkameriana, were investigated. The results showed that in both sour orange and Volkameriana rootstocks, increasing salinity concentration significantly reduced shoot fresh and dry weight, root dry weight, photosynthesis, transpiration, and relative water content at both pH levels, with greater reductions at pH 8.2 than at pH 6.5. The lowest shoot fresh weight (89 g) and root dry weight (15.88 g) were obtained in Volkameriana rootstock at pH 8.2 and 90 mM sodium chloride. pH 8.2 with 90 mM NaCl reduced photosynthesis by 51.83% in sour orange and by 57.5% in Volkameriana rootstock compared to the control. Also, stress conditions significantly reduced chlorophyll content and increased ion leakage, proline, and carbohydrates. The reduction in chlorophyll content was 29.29% in sour orange and 45.12% in Volkameriana. The highest proline content (23.02 $\mu\text{mol/g}$ fresh weight) was obtained in the sour orange rootstock at pH 8.2 and 60 mM NaCl, and the highest carbohydrate content (29.89 mg/g f.w.) was obtained in the Volkameriana rootstock at pH 8.2 and 30 mM sodium chloride. In general, the sour orange rootstock, with higher proline content, photosynthetic pigments, and gas exchange, had higher tolerance to salinity and alkalinity stress conditions and exhibited more favorable morphological characteristics than Volkameriana.

Cite this article: Danaeifar, A., Khaleghi, E., Zivdar, Sh. & Mehdikhanlou, Kh. (2025). Study of some morpho-physiological and biochemical characteristics of Volkameriana and sour orange rootstocks under saline and alkaline stress conditions.. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 56 (4), 641-656. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhs.2025.388795.2241>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhs.2025.388795.2241>

Publisher: The University of Tehran Press.

Extended Abstract

Introduction

Citrus is one of the most economically important fruit crops in the world, mostly belonging to the genus *Citrus* and the family Rutaceae. They are mainly trees or shrubs adapted to tropical and subtropical regions. The trend of citrus production is continuously increasing, so citrus is among the most widespread tree fruit crops in the world, although its production can be limited by abiotic stresses. Salinity is one of the major abiotic stresses that significantly affects plant growth and yield. The continuous increase in salinity in agricultural lands due to poor cultivation practices and climate change has devastating global effects, and approximately 50% of arable land will be lost by the middle of the 21st century. Another limiting factor for plant growth and development is alkaline stress, which directly affects the absorption of mineral elements due to high pH and disrupts ionic homeostasis. Alkaline stress is one of the most important abiotic stresses that has been increasing in recent years, especially in areas with calcareous waters. High pH can lead to reduced seed germination, destruction of root cell structure, changes in nutrient availability, especially iron, and consequently a significant reduction in plant growth and yield.

Simultaneous salinity and alkalinity stress affect root acidification and iron absorption due to their negative effects on the activity of enzymes involved in iron absorption or siderophore production in plants. The response of citrus trees to stress conditions depends on several factors such as irrigation system, soil, climate, and rootstock type. Rootstock selection is a very important decision that is made based on the climatic and soil conditions of the region.

Materials and Methods

This experiment investigated the tolerance of two citrus rootstocks, including sour orange and Volkameriana, to salinity and alkaline stress. For this purpose, one-year-old seedlings of these rootstocks were obtained from a commercial nursery in Dezful in 2019 and transferred to the greenhouse of the Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, and then cultivated in 7-liter pots (containing a sand substrate). Hoagland nutrient solution was used to nourish and facilitate the establishment of the seedlings. After establishing the seedlings in the new conditions in June, they were subjected to salinity (sodium chloride) and alkaline stress conditions. Salinity stress included concentrations of 0, 30, 60, and 90 mM sodium chloride. (To prevent osmotic shock to the plant, the salinity treatment was gradually applied in three stages). Alkaline stress was applied by increasing the pH of the nutrient solution using sodium carbonate from 6.5 to 8.2. Stress was continued until the plants showed signs of stress. This experiment was a factorial experiment in a completely randomized design with four replications. During and at the end of the experiment, traits such as fresh and dry weight of shoots, fresh and dry weight of roots, photosynthesis, transpiration, ion leakage, relative water content, chlorophyll, carotenoids, proline, and carbohydrates were measured.

Results and Discussion

According to the results obtained in sour orange and Volkameriana rootstocks, increasing salinity concentration caused a decrease in morphological characteristics, including fresh and dry weight of shoots and fresh and dry weight of roots at both pH levels, with a greater reduction at pH 8.2 than at pH 6.5. The lowest fresh weight of shoots (89 g) was obtained in Volkameriana with pH 8.2 and 90 mM NaCl, and the highest fresh weight of shoots (180.50 g) was observed in sour orange with pH 6.5 and 0 mM NaCl. Volkameriana rootstock with 90 mM NaCl and pH 8.2 had the lowest dry weight of roots (15.88 g), which was a decrease of 48.88% compared to the control of this rootstock. In sour orange and Volkameriana, salinity and alkalinity stress significantly reduced the rate of photosynthesis, which was directly related to the increase in stress intensity and reached its lowest level at pH 8.2 with 90 mM NaCl, which caused a 51.83% reduction in sour orange and a 57.5% reduction in Volkameriana compared to the control. Salt-alkali stress increased the amount of ion leakage, proline, and carbohydrate in both sour orange and Volkameriana rootstocks. The highest amount of ion leakage (42.57%) was obtained in Volkameriana rootstock at 90 mM NaCl with pH 8.2, which was an increase of 74.03% compared to sour orange with pH 6.5 and 0 mM salinity. The highest amount of proline (23.02 $\mu\text{mol/g f.w.}$) was observed in sour orange with pH 8.2 and 60 mM NaCl, and Volkameriana at pH 8.2 and 30 mM NaCl had the highest amount of carbohydrate (29.89 mg/g f.w.). Stress conditions caused a decrease in photosynthetic pigments and gas exchange due to reduced absorption of nutrients, including magnesium, and increased chlorophyllase activity, which ultimately reduced the fresh and dry weight of the plant. Also, to increase tolerance to stress conditions, the amount of osmolytes increases. The accumulation of compatible nitrogenous osmolytes, including proline, plays a role in osmotic regulation, protecting cellular macromolecules against salinity damage, nitrogen storage, and free radical inhibition. It increases the activity of sucrose phosphate synthetase, which increases the amount of soluble sugars.

Author Contributions

A. D. designed the study, conducted the experiments, and wrote the draft. E. K. contributed to data analysis and methodology. Sh. Z. and Kh. M. reviewed and provided critical revisions to the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.”

Data Availability Statement

The datasets generated and analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Acknowledgements

Acknowledgment: This project was supported by Shahid Chamran University of Ahvaz. The authors would like to thank the reviewers for their constructive comments and suggestions.

Ethical considerations

Not applicable: the study was conducted on plant samples only, and no human or animal subjects were involved.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

بررسی برخی خصوصیات مورفوفیزیولوژیک و بیوشیمایی پایه‌های ولکامریانا و نارنج تحت شرایط تنش شوری و قلیایی

عباس دانایی فر^۱ | اسماعیل خالقی^۲ | شهره زیودار^۳ | خسرو مهدی خانلو^۴

۱. نویسنده مسئول، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، رایانامه: a.danaei@scu.ac.ir

۲. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، رایانامه: khaleghi@scu.ac.ir

۳. گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، رایانامه: zivdar-s@scu.ac.ir

۴. گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، رایانامه: k.mehdikhanlou@gmail.com

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	مرکبات از مهم‌ترین محصولات میوه‌ای از نظر اقتصادی در جهان بوده و عمدتاً به جنس <i>Citrus</i> از خانواده <i>Rutaceae</i> تعلق دارند. یکی از عوامل محدودکننده تولید مرکبات، تنش‌های شوری و قلیایی است. تنش شوری-قلیایی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که فعالیت‌های حیاتی و متابولیسم گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از روش‌های افزایش تحمل گیاه نسبت به شرایط تنش، استفاده از پایه مناسب است. لذا، به منظور بررسی مقاومت دو پایه نارنج و ولکامریانا نسبت به شرایط تنش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز انجام گرفت. در این آزمایش، اثر چهار غلظت صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلراید و دو سطح pH (۵/۶ و ۸/۲) بر برخی خصوصیات مورفو-فیزیولوژیک و بیوشیمیایی دو پایه نارنج و ولکامریانا بررسی گردید. نتایج نشان داد که در هر دو پایه نارنج و ولکامریانا، افزایش غلظت شوری موجب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه، فتوسنتز، ترق و محتوای نسبی آب در هر دو pH گردید که این کاهش در pH ۸/۲ نسبت به pH ۶/۵ بیشتر بود. کمترین وزن تر اندام هوایی (۸۹ گرم) و وزن خشک ریشه (۱۵/۸۸ گرم) در پایه ولکامریانا با pH ۸/۲ و ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلراید به دست آمد. pH ۸/۲ همراه با شوری ۹۰ میلی‌مولار، میزان فتوسنتز را در نارنج ۵۱/۸۳ درصد و در پایه ولکامریانا ۵۷/۵ درصد نسبت به شاهد کاهش داد. همچنین، شرایط تنش موجب کاهش معنادار میزان کلروفیل و افزایش نشت یونی، پرولین و کربوهیدرات گردید. کاهش میزان کلروفیل در پایه نارنج ۲۹/۲۹ درصد و در پایه ولکامریانا ۴۵/۱۲ درصد بود. بیشترین میزان پرولین (۲۳/۰۲ میکرومول بر گرم وزن تر) در پایه نارنج با pH ۸/۲ و شوری ۶۰ میلی‌مولار و بیشترین میزان کربوهیدرات (۲۹/۸۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در پایه ولکامریانا با pH ۸/۲ و شوری ۳۰ میلی‌مولار سدیم کلراید به دست آمد. به طور کلی، پایه نارنج نسبت به ولکامریانا، با افزایش میزان پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی و تبادلات گازی، تحمل بالاتری نسبت به شرایط تنش شوری و قلیایی داشت و از نظر خصوصیات مورفولوژیک نیز عملکرد بهتری نشان داد.

استناد: دانایی فر، عباس؛ خالقی، اسماعیل؛ زیودار، شهره و مهدی خانلو، خسرو (۱۴۰۴). بررسی برخی خصوصیات مورفو-فیزیولوژیک و بیوشیمیایی پایه‌های ولکامریانا و نارنج تحت شرایط تنش شوری و قلیایی. نشریه علوم باغبانی ایران، ۵۶ (۴)، ۶۴۱-۶۵۶. DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhs.2025.388795.2241>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijhs.2025.388795.2241>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

مرکبات از اقتصادی‌ترین میوه‌ها در جهان هستند و از ۱۶۰ جنس و بیش از ۱۶۰۰ گونه تشکیل شده‌اند که بیشتر آن‌ها به جنس *Citrus* از خانواده *Rutaceae* تعلق دارند. اساساً شامل درختان یا بوته‌هایی سازگار با مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری هستند (Talón et al., 2020). رشد و تولید این محصولات می‌تواند تحت تأثیر تنش‌های زنده و غیرزنده قرار بگیرد. قرار گرفتن درختان مرکبات در معرض تنش غیرزیستی، از جمله شوری، نسبت سدیم به کلسیم و پتاسیم را افزایش می‌دهد و در نتیجه، جذب آب از خاک توسط ریشه گیاه مختل شده و رشد آن کاهش می‌یابد. چندین فرآیند فیزیولوژیکی در گیاهان می‌توانند تحت تأثیر تنش شوری، از جمله سازوکارهای اکسیداتیو و سمیت یونی قرار گیرند (Danaeifar et al., 2024). شوری همزمان با شرایط قلیایی، به دلیل اثرات منفی بر فعالیت آنزیم‌های درگیر در جذب آهن و تولید سیدروفور در گیاهان، اسیدی‌شدن ریشه و جذب آهن را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Boukari et al., 2019).

پیشینه پژوهش

مرکبات در سراسر جهان، به پنج گروه با اهمیت اقتصادی تقسیم می‌شوند: پرتقال شیرین، نارنگی، گریپ‌فروت، لیمو و لیموترش. گونه‌های دیگر، مانند پوملو، سیترین، فورچونا و سایر گونه‌ها، اهمیت تجاری کمتری دارند، اگرچه بدیهی است که در مناطق تولید، از منافع اقتصادی برخوردارند. روند گسترش مرکبات به‌طور مداوم در حال افزایش است؛ لذا، مرکبات با تولید بالا، یکی از گسترده‌ترین محصولات میوه‌ای درختی در جهان هستند (Zhong and Nicolosi, 2020). این تولید می‌تواند تحت تأثیر تنش‌های غیرزنده محدود شود. شوری یکی از عمده‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که به‌طور قابل توجهی بر رشد و عملکرد گیاه تأثیر می‌گذارد (Danaeifar et al., 2023). افزایش مستمر شوری در زمین‌های زراعی، به دلیل شیوه‌های ضعیف کشت و تغییرات آب‌وهوایی، پیامدهای مخربی در سراسر جهان دارد و پیش‌بینی می‌شود تقریباً ۵۰ درصد از زمین‌های قابل کشت تا اواسط قرن بیست‌ویکم از بین برود (Kumar et al., 2021). علاوه بر این، زمانی که هدایت الکتریکی حدود چهار دسی‌زیمنس بر سانتی‌متر و فشار اسمزی حدود منفی ۰/۲ مگاپاسکال باشد، تنش شوری ایجاد می‌شود و منجر به کاهش عملکرد می‌گردد. شوری، به علت دخالت یون سدیم، منجر به کلروز و نکروزه‌شدن می‌گردد. اثرات مضر شوری تا حد زیادی به شرایط اقلیمی، شرایط خاک، شدت نور و گونه‌های گیاهی بستگی دارد (Acosta-Motos et al., 2017). عامل محدودکننده دیگری برای رشد و نمو گیاهان، تنش قلیایی است که به دلیل pH بالا، مستقیماً بر جذب عناصر معدنی تأثیر می‌گذارد و هموستازی یونی را مختل می‌کند (Liu et al., 2015). تنش قلیایی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که در سال‌های اخیر، به‌ویژه در مناطقی که آب‌های آهکی دارند، در حال افزایش است و از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Alvarez et al., 2018). pH بالا می‌تواند منجر به کاهش جوانه‌زنی بذر، تخریب ساختار سلول‌های ریشه و تغییر در دسترسی مواد مغذی، به‌ویژه آهن، شود و در نتیجه، کاهش قابل توجه رشد و عملکرد گیاهان را به دنبال داشته باشد (Abdel Latef and Tran, 2016). آهن چهارمین عنصر فراوان پوسته زمین و ریزمغذی ضروری برای گیاهان است. آهن به‌عنوان کوفاکتور برای چندین آنزیم درگیر در فرایندهای متابولیکی حیاتی، مانند فتوسنتز و تنفس، نقش مهمی ایفا می‌کند. علاوه بر این، در متابولیسم نیتروژن و گوگرد سهیم است و برای سنتز کلروفیل نیاز است (Gattullo et al., 2018). اگرچه آهن در بیشتر خاک‌های کشاورزی فراوان است و میانگین غلظت آن ۲۰ تا ۴۰ گرم در کیلوگرم است، با این حال، تقریباً برای گیاهان غیرقابل‌دسترس است (Gattullo et al., 2018). بیشتر آهن خاک به‌صورت فریک است و توسط گیاه جذب نمی‌شود. میزان آهن مؤثر در

1. *C. sinensis* L. Osbeck
2. *C. reticulata* Blanco and *C. unshiu* Marc
3. *C. paradisi* Macfadyen
4. *C. limon* L. Burmann f.
5. *C. aurantifolia* Christm. Swingle
- 6 Fe³⁺

خاک، به‌ویژه خاک‌های قلیایی، بسیار پایین است. بنابراین، کمبود آهن در گیاهان یک مشکل جدی است (Liu et al., 2017). همانند بسیاری از گیاهان دیگر، این تنش‌ها موجب کاهش رشد درختان مرکبات و بروز اختلالات فیزیولوژیک می‌شوند. پاسخ درختان مرکبات به شرایط تنشی به چندین فاکتور، از قبیل سیستم آبیاری، خاک، اقلیم و نوع پایه، بستگی دارد (Mohamad, 2016). انتخاب پایه، تصمیم بسیار مهمی است که بر اساس شرایط اقلیمی و خاکی منطقه صورت می‌گیرد. اگرچه هر رقمی از مرکبات می‌تواند به‌عنوان پایه استفاده شود، برخی پایه‌ها بر اساس شرایط ویژه نسبت به دیگر پایه‌ها مناسب‌ترند (Cimen and Yesiloglu, 2016). پایه‌های مرکبات توانایی متفاوتی در جذب آهن در خاک‌های آهنی دارند. یکی از پایه‌هایی که می‌تواند نسبت به کمبود آهن در خاک‌های قلیایی توانایی بالایی داشته باشد، ولکامرانا است (Incesu et al., 2015). لذا، هدف از این مطالعه، ارزیابی برخی خصوصیات مورفو-فیزیولوژیک و بیوشیمیایی پایه‌های ولکامرانا و نارنج تحت شرایط تنش شوری و قلیایی است.

روش‌شناسی پژوهش

این آزمایش شامل بررسی میزان تحمل دو پایه مرکبات، شامل نارنج و ولکامرانا به شرایط شوری و خاک‌های قلیایی بود. به این منظور، نهال‌های یک‌ساله این پایه‌ها در آذرماه ۱۳۹۸ از نهالستان تجاری در دزفول تهیه و به گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل و سپس در گلدان‌های ۷ لیتری (حاوی بستر ماسه) کشت شدند. از محلول غذایی هوگلند جهت تغذیه و استقرار بهتر نهال‌ها استفاده شد. نهال‌ها پس از استقرار در خردادماه تحت شرایط تنش شوری (سدیم کلرید) و قلیایی قرار گرفتند. تنش شوری شامل غلظت‌های صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلرید بود (برای جلوگیری از ایجاد شوک اسمزی به گیاه، تیمار شوری طی سه مرحله و به‌صورت تدریجی اضافه شد؛ بدین صورت که آبیاری اول ۳۰ میلی‌مولار، آبیاری دوم ۶۰ میلی‌مولار و آبیاری سوم ۹۰ میلی‌مولار بود و تا پایان مراحل رشد گیاهان، این آبیاری با محلول سدیم کلرید ادامه داشت). اعمال تنش قلیایی به‌صورت افزایش pH محلول غذایی با استفاده از سدیم کربنات از ۶/۵ به ۸/۲ بود. اعمال تنش تا زمان بروز علائم تنش در گیاهان ادامه یافت. در طی مراحل آزمایش، از محلول غذایی هوگلند جهت تغذیه استفاده شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل ۴×۲×۲ با ۱۶ تیمار در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار، شامل دو پایه (نارنج و ولکامرانا)، دو سطح pH (۶/۵ و ۸/۲) و چهار سطح شوری (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار) انجام گرفت. هر تکرار شامل دو گلدان و هر گلدان حاوی یک نهال بود. در طول و پایان آزمایش (۳ ماه پس از اعمال تیمار)، گیاهان از گلدان خارج و فاکتورهای ذکرشده در زیر اندازه‌گیری شدند.

وزن تر و خشک اندام هوایی

در پایان آزمایش، پس از جدا کردن اندام هوایی از ریشه، وزن تر اندام هوایی با استفاده از ترازوی دیجیتال و وزن خشک اندام هوایی پس از قرار دادن نمونه‌ها در آون به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد.

وزن تر و خشک ریشه

پس از پایان آزمایش و جدا کردن ریشه از اندام هوایی، ابتدا خاک اطراف ریشه با آب شست‌وشو و پس از گرفتن آب اضافی، وزن تر ریشه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال و وزن خشک ریشه‌ها بعد از قرار دادن نمونه‌ها در آون به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد.

پارامترهای فتوسنتزی

اندازه‌گیری پارامترهای فتوسنتزی توسط دستگاه LCI^۱ انجام گرفت. این اندازه‌گیری بر روی برگ‌های گره‌های سه تا شش از بالای گیاه و در حالت اتصال برگ به گیاه، در شرایط نوری کامل انجام شد. هر برگ به‌مدت حداقل ۲۰ ثانیه درون اتاقک اندازه‌گیری قرار گرفت تا گازها توسط تهویه کوچک داخل اتاقک به‌خوبی مخلوط، هوای پایدار و یکنواخت برای فتوسنتز ایجاد

1 LCI Console model, UK

و فرایند سنجش صفات فتوسنتزی از طریق لوله‌های متصل به حسگرهای دی‌اکسید کربن انجام شود. اندازه‌گیری در شرایط آفتابی و نور کامل خورشید، بین ساعات ۸ تا ۱۰ صبح صورت گرفت.

نشت یونی

پایداری غشای سلولی با اندازه‌گیری نشت الکترولیت (به‌عنوان معیاری از آسیب به سلول) بر اساس مطالعات Lutts و دیگران در سال ۱۹۶۶ اندازه‌گیری شد. تعداد مساوی دیسک از برگ‌ها در هر تکرار، پس از شست‌وشو با آب دوبار تقطیر جهت حذف آلودگی‌های احتمالی، درون لوله‌های آزمایش دارای ده میلی‌لیتر آب مقطر استریل منتقل شد و جهت آماده‌سازی برای اندازه‌گیری EC1، نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه روی شیکر قرار داده شدند. میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها با دستگاه EC سنج دیجیتالی (RS232-8301AZ model, USA) قرائت شد. در مرحله بعد، لوله‌های آزمایش دارای نمونه به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. پس از خنک‌شدن لوله‌ها، دوباره هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری (EC2) و در نهایت، درصد نشت یونی با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$EC (\%) = (EC1/EC2) \times 100$$

محتوای نسبی آب

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ، قطعه‌های کوچک از قسمت‌های سالم برگ (۰/۵ گرم) جدا و با کمک ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) توزین شدند. در مرحله بعد، نمونه‌ها به پتری‌دیش‌های دارای آب مقطر منتقل و به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط (۲۳ درجه سلسیوس) و در تاریکی قرار داده شدند. پس از خارج کردن آن‌ها از آب مقطر، جهت حذف رطوبت اضافی، نمونه‌های برگ بین دو لایه کاغذ صافی قرار گرفتند و سپس وزن آماس آن‌ها اندازه‌گیری شد. پس از آن، قطعه‌های برگ به مدت ۴۸ ساعت به آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس منتقل و وزن خشک آن‌ها با ترازوی دیجیتالی (با دقت ۰/۰۰۱ گرم) تعیین و سپس، با استفاده از رابطه زیر، محتوای نسبی آب برگ محاسبه شد (Smart and Bingham, 1974).

$$(\%) = \left(\frac{\text{وزن برگ خشک} - \text{وزن برگ تازه}}{\text{وزن برگ خشک} - \text{وزن برگ آماس}} \right) \times 100$$

میزان کلروفیل کل و کاروتنوئید کل برگ

برای اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (1987) استفاده شد. ابتدا، ۱۰۰ میلی‌گرم از برگ‌های فریز شده در نیتروژن مایع وزن و در هاون با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد همگن، به فالدکون منتقل و سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۴۳/۶، ۶۴۶/۶ و ۴۷۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (model 7315, Jenway, UK) قرائت شد. برای محاسبه غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید کل بر حسب میکروگرم بر میلی‌گرم (میلی‌گرم بر گرم)، از روابط Porra (2002) که در زیر نوشته شده است، استفاده گردید:

$$[chl\ a] = 12.25\ E663.6 - 2.55\ E646.6$$

$$[chl\ b] = 20.31\ E646.6 - 4.91\ E663.6$$

$$\text{Total Chl} = 17.76\ E646.6 + 7.34\ E663.6$$

که در آن E663.6 میزان جذب در طول موج ۶۴۳/۶ نانومتر و E646.6 میزان جذب در طول موج ۶۴۶/۶ نانومتر است.

میزان کاروتنوئید طبق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$Cx + c = (1000 \times A470 - 1.90\ Chla - 63.14\ Chlb) / 214$$

که در آن A470 میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر است. برای تبدیل میلی‌گرم بر لیتر به میلی‌گرم بر گرم از رابطه

زیر استفاده شد:

$$Chl \left(\frac{mg}{g} \right) = \left(\frac{Chl \left(\frac{mg}{l} \right) \times 0.01(l)}{\text{weight (g)}} \right)$$

استخراج عصاره برای اندازه‌گیری پرولین آزاد و قندهای محلول کل

برای اندازه‌گیری میزان پرولین و قندهای محلول کل، ۰/۵ گرم نمونه برگ منجمدشده با پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی عصاره‌گیری شد. قسمت روشن عصاره به‌دست‌آمده جمع‌آوری و عملیات استخراج از رسوبات برگ باقی‌مانده، طی دو مرحله شست‌وشو و در هر مرحله با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد ادامه یافت. عصاره‌های الکلی جمع‌آوری‌شده، به‌مدت ده دقیقه در دمای چهار درجه سلسیوس و با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و تا زمان تعیین مقادیر پرولین آزاد و قندهای محلول کل، داخل لوله‌های آزمایش درپوش‌دار و در دمای چهار درجه سلسیوس نگهداری شدند (Irigoyen et al., 1992).

پرولین

به منظور استخراج پرولین ابتدا دو میلی‌لیتر از عصاره الکلی در فالكون ۱۵ میلی‌لیتر ریخته و به آن، دو میلی‌لیتر نین‌هیدرین اسید و دو میلی‌لیتر استیک اسید خالص اضافه شد. سپس محلول حاصل ابتدا به مدت یک ساعت در حمام آب جوش و پس از آن در ظرف آب یخ قرار گرفت. پس از خنک شدن، چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر لوله آزمایش اضافه و به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه با ورتکس کاملاً هم زده شد. این کار باعث جدا شدن فازهای آلی و معدنی از یکدیگر و تشکیل ماده رنگی در فاز بالایی که دارای تولوئن است، می‌شود. بلافاصله جذب اسپکتروفتومتری فاز فوقانی نمونه‌ها، در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید (Bates et al., 1973).

میزان کل قندهای محلول

برای اندازه‌گیری قندهای محلول کل از روش Irigoyen و دیگران (۱۹۹۲) استفاده شد. بدین صورت که ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره الکلی تهیه شده، در لوله‌های آزمایش درپوش‌دار ۱۵ میلی‌لیتر ریخته و سه میلی‌لیتر معرف آنترون تازه آماده شده، به آن اضافه گردید. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ده دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند. پس از خنک شدن لوله‌های آزمایش، جذب نمونه‌ها و استانداردها در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه طیف‌سنج مرئی فرابنفش خوانده شد.

اندازه‌گیری نشاسته

اندازه‌گیری نشاسته به روش Marshall (1986) انجام گرفت. برای این کار، فالكن‌های حاوی تفاله‌های باقی‌مانده از اندازه‌گیری پرولین و کربوهیدرات در هوای آزاد قرار گرفتند تا الکل آن‌ها کاملاً خارج و مواد باقی‌مانده خشک شوند (۱ تا ۲ روز). از این بقایا برای اندازه‌گیری نشاسته استفاده شد. پیش از این مرحله، فالكن‌های ۱۵ میلی‌لیتری و آنترون آماده در یخچال نگهداری شدند تا کاملاً سرد شوند.

سپس، به بقایای مواد که کاملاً در ته فالكن‌ها خشک شده بودند، پنج میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید ۱/۱ درصد اضافه شد. برای بهتر حل شدن نمونه‌ها در اسید، فالكن‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار داده شدند. عصاره‌ها از صافی عبور داده شدند و از عصاره‌های صاف‌شده، یک میلی‌لیتر برداشته و به پنج میلی‌لیتر آنترون آماده اضافه شد. بلافاصله، فالكن‌ها در ظرف مملو از یخ قرار داده شدند. سپس، به‌مدت ده دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند و دوباره در ظرف یخ قرار داده شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت شد.

یافته‌های پژوهش

براساس نتایج به‌دست‌آمده از جدول ۱، وزن تر اندام هوایی تحت تأثیر اثرات سه‌گانه پایه، تنش قلیایی و تنش شوری قرار گرفت. در هر دو پایه نازنج و ولکامریانا، افزایش غلظت شوری موجب کاهش وزن تر اندام هوایی در هر دو سطح pH شد که این کاهش در pH ۸/۲ نسبت به pH ۶/۵ بیشتر بود. کمترین وزن تر اندام هوایی (۸۹ گرم) در پایه ولکامریانا با pH ۸/۲ و ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلرید به‌دست آمد و بیشترین وزن تر اندام هوایی (۱۸۰/۵۰ گرم) در پایه نازنج با pH ۶/۵ و صفر میلی‌مولار سدیم کلرید به‌دست آمد.

در پایه‌های نارنج و ولکامریانا، افزایش غلظت شوری موجب کاهش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی در هر دو سطح pH شد که این کاهش در pH ۸/۲ نسبت به pH ۶/۵ به مراتب بیشتر بود. کمترین وزن خشک اندام هوایی در بین دو پایه، در پایه ولکامریانا با pH ۸/۲ و شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌دست آمد که نسبت به اغلب تیمارها کاهش معنی‌داری داشت. وزن تر ریشه نیز تحت تأثیر شرایط تنش قرار گرفت و با افزایش شدت تنش شوری و قلیایی، وزن تر ریشه کاهش یافت؛ به‌طوری‌که در بالاترین سطح pH و شوری، در پایه ولکامریانا کمترین میزان وزن تر ریشه به‌دست آمد، اما این کاهش نسبت به سایر تیمارها معنادار نبود.

مطابق با یافته‌های حاصل از جدول، اثرات سه‌گانه پایه، تنش قلیایی و تنش شوری بر وزن خشک ریشه نشان داد که در پایه نارنج، با افزایش غلظت شوری در هر دو سطح pH، وزن خشک ریشه در اغلب موارد به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش یافت و غلظت ۶۰ میلی‌مولار سدیم کلرید در pH ۸/۲ دارای کمترین وزن خشک ریشه (۱۷/۴۵ گرم) بود که کاهش ۳۷/۵ درصدی نسبت به شاهد داشت.

در پایه ولکامریانا با pH ۶/۵، افزایش غلظت شوری به ۶۰ و ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلرید و در pH ۸/۲، در تمامی سطوح شوری، وزن خشک ریشه را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش داد. در پایه ولکامریانا، شوری ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلرید در pH ۸/۲ دارای کمترین وزن خشک ریشه (۱۵/۸۸ گرم) بود که کاهش ۴۸/۸۸ درصدی نسبت به شاهد این پایه داشت.

جدول ۱. اندازه‌گیری خصوصیات مورفولوژیک دو پایه نارنج و ولکامریانا تحت شرایط تنش شوری و قلیایی

پایه	pH	شوری (میلی-مولار)	وزن تر اندام هوایی (گرم)	وزن خشک اندام هوایی (گرم)	وزن تر ریشه (گرم)	وزن خشک ریشه (گرم)
نارنج	۶/۵	۰	۱۸۰/۵۰a	۸۲/۵۰a	۶۸/۰۰a	۲۷/۹۲ab
		۳۰	۱۳۷/۰۰bcd	۶۸/۷۸abc	۵۴/۵۰a	۱۹/۸۱def
		۶۰	۱۴۴/۷۵b	۶۹/۸۰bc	۶۳/۵۰a	۲۱/۴۷cdef
	۸/۲	۰	۱۲۱/۲۵bcdef	۶۷/۱۷bc	۵۲/۲۵a	۱۷/۷۴ef
		۳۰	۱۲۳/۰۰bcdef	۶۵/۱۴bc	۶۸/۲۵a	۲۵/۴۴abcd
		۶۰	۱۴۱/۵۰bc	۷۲/۲۸b	۶۴/۵۰a	۲۳/۲۰bcde
ولکامریانا	۶/۵	۰	۱۴۷/۵۰b	۶۸/۲۶bc	۵۶/۷۵a	۳۱/۰۷a
		۳۰	۱۱۹/۷۵bcdef	۵۱/۸۰d	۴۴/۲۵a	۲۶/۲۸abc
		۶۰	۹۸/۷۵ef	۴۶/۱۳def	۳۴/۰۰a	۱۶/۱۹f
	۸/۲	۰	۱۰۰/۲۵def	۴۱/۹۱efg	۳۷/۲۵a	۱۷/۶۲ef
		۳۰	۱۲۰/۲۵bcdef	۴۳/۱۳def	۳۸/۰۲a	۱۷/۶۸ef
		۶۰	۱۲۳/۵۰bcdef	۳۸/۸۷fgh	۳۴/۳۰a	۱۸/۹۰ef
	۹۰	۳۰	۱۲۱/۵۰bcdef	۳۰/۴۰h	۳۳/۵۵a	۱۷/۴۱ef
		۶۰	۸۹/۰۰f	۳۲/۷۹gh	۲۹/۴۰a	۱۵/۸۸f
		۳۰				
		۶۰				

برای هر صفت میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون چند دامنه دانکن اختلاف معناداری ($P < 0.05$) ندارند.

For each parameter, the averages with at least one same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

نتایج به‌دست‌آمده از جدول مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که در پایه‌های نارنج و ولکامریانا، در هر دو سطح pH، افزایش غلظت شوری میزان فتوسنتز را به‌طور معناداری کاهش داد که این کاهش در سطح دوم pH بیشتر بود. در pH ۸/۲ و شوری ۹۰ میلی‌مولار سدیم کلرید، میزان فتوسنتز به کمترین مقدار رسید که در نارنج موجب کاهش ۵۱/۸۳ درصدی و در پایه ولکامریانا موجب کاهش ۵۷/۵ درصدی نسبت به شاهد شد.

میزان تعرق تحت تأثیر اثرات سه‌گانه پایه، تنش قلیایی و تنش شوری قرار گرفت و در هر دو پایه نارنج و ولکامریانا و هر دو سطح pH، افزایش غلظت شوری در اغلب موارد موجب کاهش معنی‌دار میزان تعرق شد. به‌طوری‌که میزان تعرق در پایه

نارنج با pH ۸/۲ و شوری ۶۰ میلی مولار، به کمترین میزان (۰/۳۸ میلی مول بر مترمربع بر ثانیه) رسید و موجب کاهش ۴۴/۱۱ درصدی نسبت به نارنج با pH ۶/۵ و شوری صفر شد. بیشترین میزان تعرق (۰/۷۰ میلی مول بر مترمربع بر ثانیه) در پایه ولکامریانا با pH ۶/۵ و شوری صفر میلی مولار به دست آمد که این افزایش نسبت به شرایط مشابه در نارنج معنادار نبود. میزان نشت یونی تحت تأثیر اثرات متقابل پایه، تنش قلیایی و تنش شوری قرار گرفت؛ به طوری که در پایه نارنج، افزایش غلظت شوری در pH ۶/۵ موجب افزایش نشت یونی شد که این افزایش معنادار نبود، اما در pH ۸/۲، افزایش غلظت سدیم کلرید در تمامی موارد، نشت یونی را به طور معنی داری افزایش داد. در پایه ولکامریانا، افزایش غلظت شوری در هر دو سطح pH موجب افزایش معنی دار نشت یونی نسبت به شاهد شد. بیشترین میزان نشت یونی (۴۲/۵۷ درصد) در پایه ولکامریانا، در غلظت ۹۰ میلی مولار سدیم کلرید و pH ۸/۲ به دست آمد که افزایش ۷۴/۰۳ درصدی نسبت به نارنج با pH ۶/۵ و شوری صفر میلی مولار داشت.

در هر دو رقم نارنج و ولکامریانا، افزایش غلظت شوری، میزان محتوای نسبی آب را در هر دو سطح pH به طور معنی داری کاهش داد که این کاهش در pH ۸/۲، در اغلب موارد نسبت به pH ۶/۵ بیشتر بود. در پایه نارنج، کاهش محتوای نسبی آب در شوری ۳۰ میلی مولار نسبت به شوری صفر معنی دار نبود. پایه ولکامریانا با pH ۶/۵ و شوری صفر میلی مولار سدیم کلرید دارای بیشترین محتوای نسبی آب (۷۱/۵۱ درصد) و پایه نارنج با pH ۶/۵ و شوری ۹۰ میلی مولار دارای کمترین میزان محتوای نسبی آب (۴۹/۸۷ درصد) بود. میزان کاهش محتوای نسبی آب در پایه نارنج ۳۸/۳۸ درصد و در پایه ولکامریانا ۱۶/۲۲ درصد بود.

جدول ۲. اندازه گیری خصوصیات فیزیولوژیک دو پایه نارنج و ولکامریانا تحت شرایط تنش شوری و قلیایی

پایه	pH	شوری (میلی مولار)	فتوسنتز (میکرومول بر مترمربع بر ثانیه)	تعرق (میلی مول بر مترمربع بر ثانیه)	نشت یونی (%)	محتوای نسبی آب (درصد)
نارنج	۶/۵	۰	۱۰/۹۰a	۰/۶۸ab	۲۴/۴۶g	۶۶/۸۴a
		۳۰	۹/۳۰bc	۰/۶۱de	۲۴/۵۰g	۶۴/۳۹bc
		۶۰	۸/۵۰bcde	۰/۴۵i	۲۵/۵۶g	۵۹/۹۴ef
		۹۰	۸/۲۵cdef	۰/۳۹j	۲۵/۹۴g	۴۹/۸۷i
	۸/۲	۰	۷/۵۰defgh	۰/۵۲gh	۲۸/۰۷f	۵۵/۳۱g
		۳۰	۷/۰۰efghi	۰/۴۲i	۲۸/۷۲f	۵۴/۶۵gh
		۶۰	۷/۰۰efghi	۰/۳۸j	۴۰/۳۸b	۵۸/۲۲f
		۹۰	۵/۲۵jk	۰/۵۵fg	۳۰/۹۹e	۵۲/۴۶h
ولکامریانا	۶/۵	۰	۱۰/۰۰ab	۰/۷۰a	۲۹/۰۲f	۷۱/۵۱a
		۳۰	۹/۰۰bcd	۰/۶۱de	۳۳/۸۸cd	۶۵/۰۱bc
		۶۰	۸/۰۰cdefg	۰/۶۴cd	۳۲/۶۶de	۶۰/۴۹ef
		۹۰	۶/۵۰ghij	۰/۶۸ab	۳۵/۳۹c	۶۱/۵۸de
	۸/۲	۰	۶/۷۵fghij	۰/۴۹h	۳۵/۷۸c	۶۳/۳۰cd
		۳۰	۵/۷۵ij	۰/۵۸ef	۳۹/۸۶b	۵۹/۹۱ef
		۶۰	۶/۰۰hij	۰/۶۵bc	۳۴/۰۱cd	۶۱/۵۸de
		۹۰	۴/۲۵k	۰/۴۴i	۴۲/۵۷a	۶۵/۳۴bc

برای هر صفت میانگین های با حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون چند دامنه دانکن اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) ندارند.

For each parameter, the averages with at least one same letter are not significantly different according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

مقایسه میانگین حاصل از اثرات سه گانه (جدول ۳) نشان داد که میزان کلروفیل تحت تأثیر اثرات متقابل پایه و تنش قلیایی در شوری قرار گرفت. میزان کلروفیل تحت تنش شوری و قلیایی در هر دو پایه به طور معنی داری کاهش یافت که این کاهش در پایه ولکامریانا نسبت به نارنج و pH ۸/۲ نسبت به pH ۶/۵ بیشتر بود.

بیشترین میزان کلروفیل (۱/۹۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) در پایه نارنج با pH ۶/۵ و شوری صفر میلی مولار و کمترین میزان کلروفیل (۱/۰۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) در پایه ولکامریانا با pH ۸/۲ و شوری ۹۰ میلی مولار به دست آمد. کاهش میزان کلروفیل در پایه نارنج ۲۹/۲۹ درصد و در پایه ولکامریانا ۴۵/۱۲ درصد بود. میزان پرولین تحت تأثیر اثرات متقابل پایه و تنش

قلیایی در تنش شوری قرار گرفت و افزایش شدت تنش شوری در هر دو پایه نارنج و ولکامریانا میزان پرولین را در هر دو سطح pH به طور معنی‌داری افزایش داد. این افزایش در پایه نارنج نسبت به ولکامریانا بیشتر بود.

بیشترین میزان پرولین (۲۳/۰۲ میکرومول بر گرم وزن تر) در پایه نارنج با pH ۸/۲ و شوری ۶۰ میلی مولار به دست آمد که نسبت به شرایط مشابه با شوری صفر افزایش ۵۵/۰۱ درصدی داشت. پایه ولکامریانا در pH ۶/۵ با شوری صفر میلی مولار دارای کمترین میزان پرولین (۹/۸۸) بود. در هر دو پایه نارنج و ولکامریانا افزایش غلظت سدیم کلرید میزان کربوهیدرات را در هر دو سطح pH افزایش داد که این افزایش در pH ۸/۲ نسبت به pH ۶/۵ و پایه ولکامریانا نسبت به نارنج بیشتر بود و در اغلب موارد معنادار گردید پایه ولکامریانا در pH ۸/۲ با شوری ۳۰ میلی مولار سدیم کلرید دارای بیشترین (۲۹/۸۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) و پایه نارنج در pH ۶/۵ با شوری ۶۰ میلی مولار سدیم کلرید دارای کمترین میزان کربوهیدرات (۱۸/۱۷ میلی گرم بر گرم وزن تر) بود.

در پایه نارنج شوری ۶۰ میلی مولار در pH ۸/۲ دارای بیشترین میزان این اسمولیت بود که افزایش ۳۳/۷۲ درصدی نسبت به شاهد داشت و در پایه ولکامریانا شوری ۳۰ میلی مولار در pH ۸/۲ بیشترین میزان کربوهیدرات را داشت که افزایش ۴۹/۶۷ درصدی نسبت به pH ۶/۵ و شوری صفر در این پایه داشت. میزان نشاسته در پایه نارنج با افزایش غلظت شوری در هر دو سطح pH نسبت به شاهد افزایش یافت که این افزایش تنها در pH ۶/۵ با غلظت ۹۰ میلی مولار سدیم کلرید معنادار گردید که دارای بیشترین میزان نشاسته بود و افزایش ۲۱/۰۳ درصدی نسبت به شاهد داشت. در پایه ولکامریانا افزایش غلظت شوری در pH ۶/۵ در همه موارد و در pH ۸/۲ در غلظت‌های ۶۰ و ۹۰ میلی مولار سدیم کلرید میزان نشاسته را کاهش داد که این کاهش در غلظت ۶۰ میلی مولار با pH ۸/۲ معنادار گردید.

جدول ۳. اندازه‌گیری برخی خصوصیات بیوشیمیایی دو پایه نارنج و ولکامریانا تحت شرایط تنش شوری و قلیایی

پایه	pH	شوری (میلی-مولار)	کلروفیل (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)	پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر)	کربوهیدرات (میلی گرم بر گرم وزن تر)	نشاسته (میلی گرم بر گرم وزن تر)
نارنج	۶/۵	۰	۱/۹۸a	۰/۱۱a	۱۱/۱۰j	۱۸/۷۷h	۱۲/۴۱bcd
		۳۰	۱/۸۷c	۰/۱۰a	۱۳/۷۶fg	۲۱/۵۱f	۱۳/۸۴ab
		۶۰	۱/۸۳d	۰/۱۱a	۱۴/۷۸ef	۱۸/۱۷h	۱۳/۶۳abc
	۸/۲	۹۰	۱/۶۳f	۰/۰۴a	۱۷/۷۸d	۲۲/۲۸f	۱۵/۰۲a
		۰	۱/۵۵g	۰/۰۳a	۱۴/۸۵ef	۲۲/۷۱ef	۱۳/۲۳bcd
		۳۰	۱/۵۴g	۰/۰۳a	۱۹/۰۷c	۲۳/۷۳de	۱۲/۷۷bcd
ولکامریانا	۶/۵	۶۰	۱/۴۸h	۰/۰۳a	۲۳/۰۲a	۲۵/۱۰c	۱۲/۰۹cde
		۹۰	۱/۴۰j	۰/۰۲a	۲۱/۱۸b	۲۴/۵۰cd	۱۳/۰۶bcd
		۰	۱/۹۵b	۰/۱۲a	۹/۸۸k	۱۹/۹۷g	۱۲/۰۶cde
	۸/۲	۳۰	۱/۷۱e	۰/۰۹a	۱۱/۱۷ij	۲۳/۷۳de	۱۰/۷۴ef
		۶۰	۱/۶۱f	۰/۰۸a	۱۳/۰۱gh	۲۵/۰۱c	۱۱/۶۷de
		۹۰	۱/۳۶k	۰/۰۹a	۱۳/۸۳fg	۲۵/۴۴c	۱۰/۷۰ef
	۸/۲	۰	۱/۴۴i	۰/۰۸a	۱۵/۳۹e	۲۵/۴۴c	۱۲/۳۴bcd
		۳۰	۱/۳۷l	۰/۰۷a	۱۲/۲۶hi	۲۹/۸۹a	۱۲/۳۸bcd
		۶۰	۱/۲۶l	۰/۰۶a	۱۴/۳۰ef	۲۸/۴۳b	۹/۸۵f
		۹۰	۱/۰۷m	۰/۰۵a	۱۱/۶۵ij	۲۷/۵۸b	۱۱/۸۱de

برای هر صفت میانگین‌های با حداقل یک حرف مشترک براساس آزمون چند دامنه دانکن اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) ندارند.

For each parameter, the averages with at least one same letter are not significantly differentns according to Duncan's multiple range test ($P < 0.05$).

بحث

براساس نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، تنش شوری و قلیایی خصوصیات مورفولوژیک، از جمله وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه، را کاهش دادند. اثر تنش شوری - قلیایی بر پارامترهای مورفولوژیک، بسته به پایه مرکبات و

سطح تنش، متفاوت بود. شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که باعث کاهش رشد گیاه می‌گردد. کاهش وزن تر و خشک گیاه را می‌توان با کاهش توانایی فتوسنتز تحت تنش توضیح داد. این نتایج با نتایج گزارش شده توسط Safdar و دیگران در سال ۲۰۱۹ مطابقت دارد که اظهار داشتند شوری یکی از قدیمی‌ترین و قوی‌ترین چالش‌های محیطی است که رشد گیاه را کاهش داده و در نهایت موجب مرگ گیاه می‌شود. تنش‌های محیطی، بسته به شدت تنش و گونه‌های گیاهی، میزان فتوسنتز را کاهش می‌دهند و از رشد گیاه جلوگیری می‌کنند. Muhammad و دیگران نیز در سال ۲۰۲۱ کاهش وزن گیاه در شرایط تنش را به دلیل اختلال در میزان فتوسنتز گزارش کردند.

فتوسنتز مکانیسم اساسی در گیاهان برای به‌دست‌آوردن مواد و انرژی است. بیش از ۹۰ درصد ماده خشک در گیاهان به‌طور مستقیم از فتوسنتز حاصل می‌شود. با این حال، فتوسنتز یکی از فرایندهای حساس به تنش، به‌ویژه تنش شوری، نیز می‌باشد که کاهش آن موجب کاهش وزن خشک گیاه می‌گردد (Kaiwen et al., 2020). وزن خشک کمتر گیاهان در شرایط شوری را می‌توان به کاهش پتانسیل اسمزی خاک و عدم تعادل تغذیه‌ای نسبت داد. چندین مطالعه نشان داده‌اند که تنش شوری موجب کاهش جذب مواد مغذی و دسترسی گیاه به آب، عدم تعادل اسمزی خاک - گیاه، تنش اکسیداتیو و در نهایت کاهش وزن خشک اندام هوایی و ریشه می‌گردد (Zarei and Paymaneh, 2014; Safdar et al., 2019). Ibrahim در سال ۲۰۱۸ نیز گزارش شد که تحت شرایط تنش، رشد و در نتیجه وزن تر و خشک گیاه کاهش یافت. کاهش رشد گیاه و در نتیجه کاهش وزن تر و خشک گیاه تحت تنش شوری، قلیایی و تنش همزمان شوری و قلیایی توسط Paz و دیگران در ۲۰۱۲ گزارش گردید. تنش شوری - قلیایی، جذب آب توسط ریشه را کاهش داده و در نتیجه وزن تر و خشک *Leymus chinensis* را کاهش داد (Lin et al., 2017).

همچنین، کاهش ارتفاع بوته، تعداد شاخه، تعداد برگ و وزن تر و خشک گیاه تحت شرایط تنش، به دلیل کاهش تقسیم سلولی، طول شدن سلول و سمیت یونی است (Hassan and Ali, 2014; Danaeifar et al., 2024). سیستم ریشه گیاه بخشی است که مستقیماً در معرض تنش شوری و قلیایی قرار دارد و همچنین یکی از قسمت‌هایی است که به تنش شوری و قلیایی حساس است. آسیب سیستم ریشه گیاه مستقیماً منجر به محدود شدن آب و جذب مواد مغذی توسط گیاه می‌شود (Kaiwen et al., 2020).

علاوه بر عوامل مورفولوژیک، تنش‌های غیرزیستی پارامترهای فیزیولوژیک را نیز تحت تأثیر قرار دادند. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه حاضر، تبادلات گازی تحت تأثیر تیمارهای مختلف پایه، شوری و قلیایی قرار گرفتند؛ به‌طوری‌که افزایش شدت شوری و تنش قلیایی باعث کاهش معنی‌دار تبادلات گازی شد. یکی از واکنش‌های اولیه گیاهان به شرایط تنش، کاهش سطح برگ است که باعث کاهش تبادلات گازی، از جمله فتوسنتز، می‌گردد (Golbashy et al., 2010). غلظت بیش از حد نمک بر سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی تأثیر می‌گذارد یا تجزیه آن‌ها را تسریع می‌کند. در چنین حالتی، جذب و استفاده از انرژی نور در مراکز واکنش PSI و PSII کاهش یافته و انتقال الکترون مسدود می‌شود که توانایی جذب کربن را محدود می‌کند. PSI و PSII به تنش شوری حساس هستند و تنش شوری اغلب منجر به کاهش فعالیت آن‌ها می‌شود (Kaiwen et al., 2020).

یکی از پاسخ‌های اولیه گیاهان به تنش، بسته‌شدن روزنه‌هاست که تبادل گاز بین اتمسفر و برگ را محدود می‌کند (Mafakheri et al., 2010; Golbashy et al., 2010). Shahid و دیگران در سال ۲۰۱۹ بیان کردند که تنش شوری میزان تبادلات گازی را در پایه‌های مرکبات کاهش داد. کاهش تبادلات گازی می‌تواند ناشی از تجمع سدیم کلرید در برگ باشد که فعالیت آنزیم‌ها را تغییر می‌دهد (Tabatabaei, 2006). به‌طور کلی، فتوسنتز یک شاخص مهم برای حساسیت فیزیولوژیک به تنش غیرزیستی است که در محیط‌های شوری - قلیایی به‌طور قابل‌توجهی کاهش می‌یابد. از سوی دیگر، تنش همزمان شوری و قلیایی می‌تواند اثرات بیوشیمیایی و فتوشیمیایی بر فتوسنتز داشته باشد (Lin et al., 2017). در گیاهانی مانند یونجه و گندم، کاهش فتوسنتز به دلیل تخریب رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئید) مشاهده شده است.

(Muhammad et al., 2021). تنش شوری باعث افزایش نشت الکترولیت می‌شود که بر نفوذپذیری غشا تأثیر می‌گذارد (Hassan and Ali, 2014). در شرایط تنش، غشای سلولی آسیب می‌بیند و تولید گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد که به افزایش نشت الکترولیت و کاهش محتوای نسبی آب منجر می‌شود (Soltabayeva et al., 2021).

با توجه به نتایج پژوهش حاضر، مقدار کلروفیل تحت شرایط تنش کاهش یافت. کاهش این رنگیزه فتوسنتزی تحت تنش می‌تواند به دلایل متعددی از جمله موارد زیر باشد: ۱- تشکیل آنزیم‌های پروتولیتیک، مانند کلروفیلاز، که مسئول تجزیه کلروفیل است؛ ۲- آسیب به دستگاه فتوسنتزی؛ ۳- سرکوب آنزیم‌های خاصی که وظیفه سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی را بر عهده دارند؛ ۴- کاهش جذب مواد معدنی، از جمله منیزیم، که برای سنتز کلروفیل ضروری است؛ ۵- کاهش حجم منافذ کلروپلاست‌ها و بازتولید گونه‌های فعال اکسیژن؛ و ۶- آسیب به غشاها (Hassan and Ali, 2014). تنش شوری باعث عدم تعادل در تغذیه می‌شود که موجب افزایش جذب سدیم و کاهش جذب پتاسیم، منیزیم و سایر عناصر دخیل در سنتز کلروفیل می‌گردد. تنش همچنین باعث از بین رفتن آنزیم‌های خاصی می‌شود که مسئول سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی هستند و در نهایت باعث کاهش میزان کلروفیل و کاروتنوئیدها می‌گردد (Zarei and Paymaneh, 2014). Guo و دیگران نیز در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که کاهش میزان کلروفیل ناشی از تنش، به دلیل کاهش سطح منیزیم، مهار سنتز کلروفیل و افزایش فعالیت آنزیم‌های مرتبط با تخریب کلروفیل است. در شرایط تنش شوری و قلیایی، محتوای کلروفیل کاهش یافت که موجب کاهش میزان فتوسنتز گردید (Ye et al., 2019).

مطابق با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، افزایش شدت تنش شوری و قلیایی میزان پرولین را افزایش داد. این نتایج با نتایج حاصل از مطالعات Esmaeili and Danaeifar در سال ۲۰۲۲ مطابقت دارد که گزارش کردند تنش‌های محیطی منجر به تجمع پرولین در گیاهان می‌شوند. تجمع پرولین به افزایش تحمل گیاهان از طریق تنظیم اسمزی، حفظ تورژسانس سلولی و یکپارچگی غشاها کمک می‌کند و از نشت الکترولیت جلوگیری کرده و با قراردادن غلظت ROS در محدوده طبیعی، آسیب اکسیداتیو را کاهش می‌دهد.

یکی از واکنش‌های گیاهان تحت تنش، افزایش محتوای پرولین است. افزایش سطح پرولین در پاسخ به تنش به خوبی شناخته شده است. پرولین دارای عملکرد تنظیم اسمزی در گیاهان است و ممکن است در سازگاری با تنش درون سلولی نقش داشته باشد. تجمع اسمولیت‌های سازگار با نیتروژن، از جمله پرولین، در تنظیم اسمزی، محافظت از ماکرومولکول‌های سلولی در برابر آسیب ناشی از شوری، ذخیره نیتروژن و مهار رادیکال‌های آزاد نقش دارد (Hassan and Ali, 2014). گیاهان می‌توانند تحمل خود را در برابر تنش شوری - قلیایی از طریق مسیرهای بیوشیمیایی مختلف، مانند تولید متابولیت‌های اسمزی، افزایش دهند. پرولین می‌تواند ساختارهای درون سلولی را تثبیت کند و رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد (Ye et al., 2019). براساس نتایج به دست آمده، شرایط تنش در اغلب موارد میزان کربوهیدرات را افزایش و میزان نشاسته را کاهش داد. این نتایج با نتایج پژوهش Moalleemi و دیگران در سال ۲۰۲۲ مطابقت دارد که گزارش کردند تحت شرایط تنش، قندهای محلول افزایش پیدا می‌کنند. این افزایش برای تنظیم پتانسیل اسمزی، حفظ متابولیسم، تأمین انرژی و افزایش تحمل نسبت به شرایط تنش مفید است. همچنین، تنش شوری باعث افزایش فعالیت ساکارز فسفات سنتتاز می‌شود که میزان قندهای محلول را افزایش می‌دهد (Hassan and Ali, 2014).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

به طور کلی نتایج نشان داد که تنش‌های مرکب شوری و قلیایی در هر دو پایه نارنج و ولکامریانا خصوصیات مورفولوژیکی، تبادلات گازی، محتوای نسبی آب و رنگیزه‌های فتوسنتزی را به طور معناداری کاهش دادند که این کاهش در pH ۸/۲ نسبت به pH ۶/۵ و پایه ولکامریانا نسبت به پایه نارنج بیشتر بود. همچنین براساس نتایج میزان نشت یونی، پرولین و کربوهیدرات به طور معنی‌داری افزایش یافت. پایه نارنج نسبت به پایه ولکامریانا با افزایش میزان اسمولیت‌ها تحت شرایط تنش مقاومت بیشتری داشت.

REFERENCES

- Abdel Latef, A. A. & Tran, L. S. P. (2016). Impacts of priming with silicon on the growth and tolerance of maize plants to alkaline stress. *Frontiers in Plant Science*, (7), 1-10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00243>
- Acosta-Motos, J., Ortuño, M., Bernal-Vicente, A., Diaz-Vivancos, P., Sanchez-Blanco, M. & Hernandez, J. (2017). Plant responses to salt stress: adaptive mechanisms. *Agronomy*, (7), 1-18. [Doi: 10.3390/agronomy7010018](https://doi.org/10.3390/agronomy7010018)
- Alvarez-Acosta, C., Marrero-Dominguez, A., Gallo-Llobet, L. & Gonzalez-Rodriguez, A. M. (2018). PHysiological response of selected avocados (*Persea americana*) subjected to NaCl and NaHCO₃ stress. *Scientia Horticulturae*, (237), 81-88. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.04.010>
- Bates, L. S., Waldaren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil*, (39), 205-208. <https://doi.org/10.1007/BF00018060>
- Boukari, N., Jelali, N., Renaud, J. B., Youssef, R. B., Abdelly, C. & Hannoufa, A. (2019). Salicylic acid seed priming improves tolerance to salinity, iron deficiency and their combined effect in two ecotypes of Alfalfa. *Environmental and Experimental Botany*, (167), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103820>
- Cimen, B. & Yesiloglu, T. (2016). Rootstock breeding for abiotic stress tolerance in citrus. In Abiotic and Biotic Stress in Plants-Recent Advances and Future Perspectives. *IntechOpen*, (23), 527-562. [DOI: 10.5772/62047](https://doi.org/10.5772/62047)
- Danaeifar, A., Khaleghi, E., Zivdar, S., & Mehdikhanlou, K. (2023). Physiological, biochemical, and gene expression of Sour Orange (*Citrus aurantium* L.) to Iron (II)-Arginine Chelate under salinity, alkalinity, and salt-alkali combined stresses. *Scientia Horticulturae*, (8), 319-346. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2023.112146>
- Danaeifar, A., Khaleghi, E., Zivdar, S. & Mehdikhanlou, K. (2024). Effects of NaCl and Alkaline pH Stress on Some Morphophysiological and Biochemical Parameters of Two Citrus Rootstocks. *Journal of Agricultural Science and Technology*, (8), 371-385. [Doi: 10.22034/JAST.26.2.371](https://doi.org/10.22034/JAST.26.2.371)
- Esmaeili, S., & Danaeifar, A. (2022). Improved growth indices and tolerance of myrtle (*Myrtus communis* L.) to water-deficit stress by alleviating antioxidants and compatible osmolytes using a superabsorbent polymer. *Flower and Ornamental Plants*, (1), 163-172. [Doi: 10.61186/flowerjournal.7.1.163](https://doi.org/10.61186/flowerjournal.7.1.163)
- Gattullo, C. E., Youry, P. I. I., Allegretta, I., Medici, L., Cesco, S., Mimmo, T. & Terzano, R. (2018). Iron mobilization and mineralogical alterations induced by iron-deficient cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) in a calcareous soil. *PedospHere*, (28), 59-69. [Doi: 10.1016/s1002-0160\(15\)60104-7](https://doi.org/10.1016/s1002-0160(15)60104-7)
- Golbashy, M., Ebrahimi, M., Khorasani, S. K. & Choukan, R. (2010). Evaluation of drought tolerance of some corn (*Zea mays* L.) hybrids in Iran. *African Journal of Agricultural Research*, (5), 2714-2719. [http://doi: 10.4236/academicjournals.org/AJAR](http://doi:10.4236/academicjournals.org/AJAR)
- Guo, R., Yang, Z., Li, F., Yan, C., Zhong, X., Liu, Q. & Zhao, L. (2015). Comparative metabolic responses and adaptive strategies of wheat (*Triticum aestivum*) to salt and alkali stress. *BMC plant biological*, (15), 1-13. [DOI 10.1186/s12870-015-0546-x](https://doi.org/10.1186/s12870-015-0546-x)
- Hassan, F. & Ali, E. (2014). Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme activity and some other physiological parameters in jojoba [*Simmondsia chinensis*(link) schneider] plant. *Australian Journal of Crop Science*, (8), 1615-1624. <https://doi.org/10.3390/su132313199>
- Ibrahim, D. S., Eissa, A. M., Attala, A. Z. M., Sabbah, S. M. & Khalil, H. A. (2018). Alleviation of salinity stress by exogenous plant growth regulators in three citrus rootstocks. *Journal Agriculture Research*. (7), 437-455. <https://doi.org/10.1201/9781351075756-8>
- Incesu, M., Yesilo, T., Cimen, B. & Yilmaz, B. (2015). Influences of different iron levels on plant growth and pHotosynthesis of W. Murcott mandarin grafted on two rootstocks under high pH conditions. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, (39), 838-844. <https://doi.org/10.3906/tar-1501-25>
- Irigoyen, J. J., Einerich, D. W. & SánchezDíaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativd*)

- plants. *physiologia plantarum*, (84), 55-60. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1992.tb08764.x>
- Kaiwen, G., Zisong, X., Yuze, H., Qi, S., Yue, W., Yanhui, C., Jiechen, W., Wei, L. & Huihui, Z. (2020). Effects of salt concentration, pH, and their interaction on plant growth, nutrient uptake, and photochemistry of alfalfa (*Medicago sativa*) leaves. *Plant Signaling and Behavior*, (15), 1-10. : <https://doi.org/10.1080/15592324.2020.1832373>
- Kumar, S., Li, G., Yang, J., Huang, X., Ji, Q., Liu, Z. & Hou, H. (2021). Effect of salt stress on growth, physiological parameters, and ionic concentration of water dropwort (*Oenanthe javanica*) cultivars. *Frontiers in plant science*, (12), 1-15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.660409>
- Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In *Methods in enzymology*, (148), 350-382. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)48036-1](https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1)
- Mafakheri, A., Siosemardeh, A. F., Bahramnejad, B., Struik, P. C. & Sohrabi, Y. (2010). Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, (4), 580-585. <https://doi.org/10.3390/agronomy13122963>
- Lin, J., Wang, Y., Sun, S., Mu, C. & Yan, X. (2017). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, photosynthesis and photosynthetic pigments of *Leymus chinensis* seedlings under salt-alkali stress and nitrogen deposition. *Science of the Total Environment*, (576), 234-241. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.091>
- Liu, N., Gong, B., Jin, Z., Wang, X., Wei, M., Yang, F. & Shi, Q. (2015). Sodic alkaline stress mitigation by exogenous melatonin in tomato needs nitric oxide as a downstream signal. *Journal of Plant Physiology*, (186), 68-77. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2015.07.012>
- Liu, D., Yang, Q., Ge, K., Hu, X., Qi, G., Du, B. & Ding, Y. (2017). Promotion of iron nutrition and growth on peanut by *Paenibacillus illinoisensis* and *Bacillus* sp. strains in calcareous soil. *Brazilian journal of microbiology*, (48), 656-670. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.02.006>
- Lutts, S., Kinet, J. M. & Bouhrammon, J. (1996). Na-Cl induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa*) cultivars: difference in salinity resistance. *Annals of Botany*, (78), 389-398. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0134>
- Marshall, J. D. 1986. Drought and shade interact to cause fine-root mortality in Douglas-fir seedlings. *Plant and Soil*, (91), 51-60. <https://doi.org/10.3390/su132313199>
- Moallemi, N., Khaleghi, E. & Danaeifar, A. (2022). "Investigating the effect of using three types of superabsorbent polymers on NPK absorption under drought stress conditions." *Agricultural Engineering*, (45), 153-166. <http://doi:10.22055/AGEN.2022.41572.1642>
- Mohamed, R. A. A. (2016). Some Physiological Studies on Salinity Tolerance for Some Citrus Rootstocks. [Doi: 10.20608/EJOH.2023.218924.1258](https://doi.org/10.20608/EJOH.2023.218924.1258)
- Muhammad, I., Shalmani, A., Ali, M., Yang, Q. H., Ahmad, H. & Li, F. B. (2021). Mechanisms regulating the dynamics of photosynthesis under abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, (11), 1-25. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.615942>
- Paz, R. C., Rocco, R. A., Reinoso, H., Menéndez, A. B., Pieckenstein, F. L. & Ruiz, O. A. (2012). Comparative study of alkaline, saline, and mixed saline-alkaline stresses with regard to their effects on growth, nutrient accumulation, and root morphology of *Lotus tenuis*. *Journal of Plant Growth Regulation*, (31), 448-459. <https://doi.org/10.1007/s00344-011-9254-4>
- Porra, R. J. (2002). The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, (73), 149-156.
- Safdar, H., Amin, A., Shafiq, Y., Ali, A., Yasin, R., Shoukat, A. & Sarwar, M. I. (2019). A review: Impact of salinity on plant growth. *Nature Science*, (17), 34-40. <https://doi.org/10.7537/marsnsj170119.06>
- Shahid, M. A., Balal, R. M., Khan, N., Simón-Grao, S., Alfosea-Simón, M., Cámara-Zapata, J. M. & Garcia-Sanchez, F. (2019). Rootstocks influence the salt tolerance of Kinnow mandarin trees by altering the antioxidant defense system, osmolyte concentration, and toxic ion accumulation. *Scientia Horticulturae*, (250), 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.02.028>
- Smart, R. E. & Bingham, G. E. (1974). Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology*,

- (53), 258–260. <https://doi.org/10.1104/pp.53.2.258>
- Soltabayeva, A., Ongaltay, A., Omondi, J. O. & Srivastava, S. (2021). Morphological, Physiological and Molecular Markers for Salt-Stressed Plants. *Plants*, (10), 1-18. <https://doi.org/10.3390/plants10020243>
- Tabatabaei, S. J. (2006). Effects of salinity and N on the growth, photosynthesis and N status of olive (*Olea europaea* L.) trees. *Scientia horticulturae*, (108), 432-438. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2006.02.016>
- Talón, M., Wu, G. A., Gmitter, F. G. & Rokhsar, D. S. (2020). The origin of citrus. In The genus citrus. *Woodhead Publishing*. 9-31. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812163-4.00002-4>
- Ye, L., Zhao, X., Bao, E., Cao, K. & Zou, Z. (2019). Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on watermelon growth, elemental uptake, antioxidant, and photosystem II activities and stress-response gene expressions under salinity-alkalinity stresses. *Frontiers in Plant Science*, (10), 1-12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00863>
- Zarei, M. & Paymaneh, Z. (2014). Effect of salinity and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and some physiological parameters of Citrus jambheri. *Archives of Agronomy and Soil Science*, (60), 993-1004. <https://doi.org/10.1080/03650340.2013.853289>
- Zhong, G. & Nicolosi, E. (2020). Citrus origin, diffusion, and economic importance. In The Citrus Genome. Springer Cham. 5-21. https://doi.org/10.1007/978-3-030-15308-3_2