

تأثیر کاربرد توأم کائولین و سالیسیلیک اسید بر برخی صفات بیوشیمیایی کامکوات ناگامی (*Fortunella margarita*)

اکرم مصطفایی اسگندانی^۱، فریبرز زارع نهندی^{۲*} و اسد اسدی آبکنار^۳
۱ و ۲. دانشجوی دکتری و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۳. دانشیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی ایران، رشت، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۲۴ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲۰)

چکیده

کامکوات یکی از مرکباتی است که به تدریج در دنیا اهمیت پیدا کرده است. میوه‌های کامکوات در آفتاب شدید دچار آفتاب‌سوختگی می‌شوند. به منظور کاهش اثرات نامطلوب تابش خورشید، در این آزمایش از تیمارهای کائولین (صفر، ۳ و ۵ درصد) و سالیسیلیک اسید (با غلظت‌های صفر، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار) به صورت محلول‌پاشی روی نمونه‌های گلدانی استفاده شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. صفات مورد ارزیابی شامل محتوای نسبی آب، جذب خالص CO₂، پارامترهای بیوشیمیایی داخلی برگ، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و غلظت عناصر غذایی بودند. نتایج نشان داد که تیمارهای تلفیقی، تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای اندازه‌گیری شده داشتند. کائولین با ایجاد پوشش نازک روی گیاه و محافظت از آن در برابر شرایط تنش‌زای محیطی و کاهش دمای گیاه، هدایت روزنه‌ای و جذب خالص CO₂ را افزایش داد. سالیسیلیک اسید نیز تأثیرات مثبتی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی داشت. اثرات این تیمار بر تعادل عناصر غذایی گیاه محسوس نبود، فقط در برخی موارد تغییراتی مشاهده شد. به طور کلی نتایج این آزمایش نشان داد که استفاده از کائولین ۵ درصد و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید می‌تواند به عنوان یک روش ارزان و مؤثر در کامکوات برای محافظت از گیاه در شرایط دمای بالا و پرتوهای شدید استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: مرکبات، آنتی‌اکسیدان، محتوای نسبی آب، تبادلات گازی.

The effect of simultaneous application of kaolin and salicylic acid on some biochemical characteristics of Nagami kumquat

Akram Mostafaei Esgandani¹, Fariborz Zaare Nahandi^{2*} and Asad Asadi Abkenar³
1, 2. Ph. D. Candidate and Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. Associate Professor, Institute of Biotechnology, Rasht, Iran
(Received: Apr. 13, 2022 - Accepted: Sep. 11, 2022)

ABSTRACT

Kumquat is one of the citrus fruits that has gradually become important in the world. The fruits of kumquat suffer from sunburn in intense sunlight. In order to reduce the adverse effects of solar radiation, in this experiment, treatments of kaolin (0, 3 and 5%) and salicylic acid (with concentrations of 0, 0.1 and 1 mM) were used as foliar spray on potted samples. The evaluated treatments included relative water content, gas exchange, biochemical characteristics of the leaves, antioxidant enzymes activity and concentrations of nutrients. The results showed that treatments had significant effects on the measured parameters. Kaolin increased stomatal conductance and net CO₂ uptake by creating a thin coating on the plant and protecting it from environmental stresses and reducing plant temperature. Salicylic acid also had positive effects on the activities of antioxidant enzymes. The effects of treatments on the balance of plant nutrients were not very noticeable, although slight changes were observed in some cases. In general, the results of this experiment showed that the use of kaolin 5% and 1mM salicylic acid together can be considered as a cheap and effective treatment in kumquat and in order to protect the plant in high temperature and severe radiation conditions.

Keywords: Citrus fruits, antioxidant, relative water content, gas exchanges.

* Corresponding author E-mail: fzaare@gmail.com

مقدمه

کامکوات ناگامی (*Fortunella margarita*) یکی از مرکبات محبوب در دنیاست که به علت ارزش تغذیه‌ای و زیبایی چشمگیرش مورد توجه است. درختچه‌ای کوچک، همیشه‌سبز، جمع و جور و به ارتفاع ۳/۵ متر با شاخه‌های سبز روشن، برگ‌ها به طور متناوب بر روی بال باریک، پهنک برگ ساده، تخم مرغی شکل نوک تیز تا بیضوی، ۱۰-۵×۴/۵-۳ سانتی‌متر، قاعده آن میخی تا تقریباً گرد است. راس زاویه نیمه حاده تا حاده، سبز تیره، سطح رویی براق و سطح زیرین کم‌رنگ‌تر است. کامکوات در مناطقی با گرمای ملایم رشد می‌کند و دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس و گاهی اوقات سرما را تا ۸- درجه سلسیوس تحمل می‌کند. کامکوات از آفتاب کامل اواسط تابستان آسیب می‌بیند و باید در محل سایه روشن پرورش داده شود. میزان تابش در ایران در تابستان بیش از حد نیاز این گیاه است و می‌تواند این گیاه را دچار تنش کند. امکان کشت این گیاه در خاکهای بدون زهکش وجود ندارد و در خاکهای با زهکش مناسب، حاصلخیز، نسبتاً اسیدی با pH ۶ تا ۶/۵ بهترین عملکرد را دارد. سهم صادرات کامکوات در بازار جهانی بیش از ۱۰۸ میلیون دلار است. بزرگ‌ترین کشورهای صادرکننده آن پاکستان، آمریکا و هلند هستند. رشد صادرات کامکوات در ۵ سال اخیر بیش از ۹/۵ درصد است (Manner et al., 2006).

یکی از مشکلات مهمی که در پرورش کامکوات وجود دارد آفتاب‌سوختگی گیاه و میوه‌ها است، زیرا این گیاه تاج انبوهی ندارد و در صورت تابش بیش از حد نور آفتاب و مخصوصاً در دماهای بالا دچار تنش شده و کیفیت میوه نیز به کلی افت می‌کند. مناسب‌ترین دمای رشد (شب/ روز) ۲۰/۱۲ درجه سلسیوس ذکر شده‌است (Chang et al., 2020). به نظر می‌رسد آسیب در میوه بیشتر از برگ است چون در میوه فرآیندهای مؤثر برای پراکنده کردن و یا استفاده از نور خورشید وجود ندارد. در واقع این عامل فیزیکی هم‌زمان باعث افزایش تولید عوامل اکسیداتیو در سلول‌ها و نیز افزایش دمای گیاه می‌شود (El-Tanany et al., 2019; Gullo et al., 2020). افزایش سطوح رادیکال‌های آزاد تولید شده در شرایط تنش، از

جمله رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) به‌عنوان محصولات جانبی متابولیسم، یکپارچگی غشای سلول را از بین برده و منجر به نشت الکترولیت و مرگ سلول می‌شوند (Santini et al., 2012; El-Tanany et al., 2019). سالیسیلیک اسید (SA) یک هورمون قوی و تنظیم‌کننده متابولیسم و رشد داخلی گیاهان از ترکیبات فنولیک و دارای حلقه آروماتیک با گروه هیدروکسیل است. سالیسیلیک اسید در رشد و فتوسنتز و روابط آبی گیاهان و فعالیت آنزیم‌ها نقش به‌سزایی دارد. SA سیگنال پاسخ دفاعی در برابر پاتوژن‌ها و محرک سیستم مقاومت اکتسابی (SAR) است. از جمله نقش‌های مهم SA در تنظیم رشد و میزان تولید، افزایش سطح برگ و وزن خشک، بهبود جوانه‌زنی و رشد جوانه و تجمع ماده خشک است. نقش SA در افزایش مشخصه‌های رشد، محتوای رنگدانه، نسبت فتوسنتز، محتوای کربوهیدرات، ارتفاع، تعداد و سطح برگ، قطر ساقه، وزن خشک ساقه و برگ و افزایش محتوای پرولین مشخص شده‌است (Hayat et al., 2010). در گیاهی که تحت تنش قرار می‌گیرد، ناکارآمدی از نظر فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دیده می‌شود، که از آن جمله کاهش پارامترهای فتوسنتز، شاخص مقاومت غشا، پتانسیل آب برگ، فعالیت آنزیم‌های نیترات ردوکتاز و کربنیک انیدراز، محتوای کلروفیل و محتوای آب نسبی قابل ذکر است (Hayat et al., 2010). با توجه به بروز تنش اکسیداتیو در شرایط تنش و پیامدهای آن در گیاه، به کار گرفتن SA در این شرایط سبب افزایش کارایی سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاه شده و وضعیت را بهبود می‌بخشد. بهبود عمل آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز در شرایط تنش در بسیاری از گیاهان از جمله کامکوات (*Fortunella japonica*) (Swingle) گزارش شده‌است (Hayat et al., 2010; Barreca et al., 2011).

کائولین با فرمول شیمیایی $Al_2Si_2O_5(OH)_4$ یک کانی رسی است. کائولین در کشاورزی به عنوان یک حامل و به عنوان کامپوزیت‌های شیمیایی در کود، آفت‌کش‌ها و محصولات کشاورزی مورد استفاده قرار

استفاده در این آزمایش، ناگامی بود که بر روی پایه‌های سیترنج پیوند شده بودند و در گلدان‌هایی با قطر ۲۰ سانتی‌متر با ترکیب خاک (یک سوم پرلایت و دوسوم پیت‌ماس) کشت شدند، سپس گلدان‌ها به فضای باز انتقال یافتند. آبیاری روزانه به میزان ۲۵۰ سی‌سی انجام گرفت و سه نوبت با کود ۲۰-۲۰-۲۰ تغذیه شدند. حداکثر مطلق دما در طول مدت زمان آزمایش ۳۵/۳ درجه سلسیوس و حداقل مطلق دما ۱۴/۵ درجه سلسیوس بود. متوسط دمای حداکثر روزانه در بازه آزمایش ۲۹/۵ درجه سلسیوس و متوسط دمای حداقل روزانه ۲۱/۳ درجه سلسیوس بود.

تیمارهای مورد استفاده

سوسپانسیون کائولین (سپیدان WP، شرکت کیمیاگرین، ایران) در سه سطح (صفر، ۳ و ۵ درصد) و سالیسیلیک اسید (شرکت مرک آلمان) در سه سطح (صفر، ۱/۱ و ۱ میلی‌مولار) محلول‌پاشی شدند. به دلیل ماندگاری طولانی مدت کائولین بر روی گیاه، محلول‌پاشی فقط در یک مرحله، قبل از گلدهی (هفته اول خرداد) صورت گرفت. بعد از یک ماه نمونه‌های برگ برداشت شده و فاکتورهای زیر مورد ارزیابی قرار گرفتند:

هدایت روزنه‌ای (g_s)

اندازه‌گیری پارامتر هدایت روزنه‌ای (g_s) با روش Rosati *et al.* (2007) با دستگاه پورومتر ساخت شرکت (DELTA-T) انجام شد. اندازه‌گیری از پنج برگ بالغ در هر تکرار از طریق سنسور دستگاه صورت گرفت.

محتوای نسبی آب (RWC)

مقدار RWC با استفاده از روش Aganchich *et al.* (2007) انجام شد. از طول پهنک برگ با استوانه فلزی به فواصل منظم نمونه برداشت شد و بلافاصله در آب مقطر داخل یک لوله شیشه‌ای از پیش وزن شده غوطه‌ور شد. سپس لوله‌ها وزن شدند و از افزایش وزن لوله‌ها برای تعیین کردن وزن تر برگ استفاده شد. پس از ۴۸ ساعت نگهداری در نور کم، برگ‌ها مجدداً وزن شدند تا وزن توری آنها نیز به دست آید. وزن خشک پس از خشک‌شدن در دمای ۸۰ درجه

می‌گیرد و همچنین با ایجاد پوشش سفید و یکنواخت روی گیاهان موجب کاهش چشمگیر خسارت حشرات، آفتاب‌سوختگی و کم‌آبی می‌شود و از این طریق موجب کاهش و یا توقف آلودگی‌های ناشی از مصرف بی‌رویه سموم شیمیایی و اثرات منفی کم‌آبی و در نتیجه افزایش محصول می‌شود (Manner *et al.*, 2006). کاربرد اسپری کائولین روی گیاه در شرایط تنش، سبب تغییراتی در گیاه می‌شود که از آن جمله می‌توان به این موارد اشاره نمود: میزان محتوای آب نسبی، تراکم روزنه‌ها، مقدار لیکوپین و بتاکاروتن، فعالیت فتوسنتزی، کاهش در میزان اسید آسازیک و متابولیسم ثانویه. کائولین با ایجاد میکروکلیمای ویژه در اطراف برگ باعث بهبود وضعیت آب گیاه شده و از اتلاف آب در شرایط تنش جلوگیری کرده و توانایی توازن آب و عمل فتوسنتز در گیاه را افزایش داده و از کاهش کلروفیل گیاه جلوگیری می‌کند. کائولین به طور گسترده مورد آزمایش قرار گرفته‌است و هیچ شواهدی از سمیت آن برای انسان مشاهده نشده‌است. سازمان غذا و داروی آمریکا برای کائولین وضعیت GRAS (ایمن) را در صورت استفاده در غذای انسان اعطا کرده‌است. به عنوان مثال، سازمان غذا و دارو (FDA) کائولین را به عنوان یک ماده بسته‌بندی برای غذاهای خشک تأیید کرده‌است. این ماده بدون داشتن اثرات مضر برای گیاه و محیط، در جهت کاهش آسیب‌های تنش ناشی از نور مازاد خورشید، می‌تواند مورد استفاده قرار گیرند. در مطالعات متعدد اثرات مفید کائولین بر روی گیاهان مختلف، مورد آزمایش قرار گرفته‌است و مثمر ثمر بودن آن به اثبات رسیده‌است. این آزمایش‌ها روی گیاهانی مثل سیب، زیتون، پرتقال و اشنگتن ناول و گوجه‌فرنگی انجام شده‌است (Faghhih *et al.*, 2019; El Zayat & Ali, 2019). در راستای اهداف فوق در مطالعه حاضر به بررسی اثرات کائولین و سالیسیلیک اسید در درخت کامکوات پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این آزمایش در منطقه چابکسر استان گیلان انجام گرفت. رقم کامکوات (*Fortunella margarita*) مورد

(2012) تعیین شد. بعد از انجام مراحل مورد نیاز، داده‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Spekol 1500, Analytik Jena, Germany) در طول موج ۵۱۰ نانومتر قرائت شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش Brand-Williams *et al.* (1995) بر اساس ظرفیت مهار رادیکال آزاد DPPH (۲،۲-دی‌فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) اندازه‌گیری شد. ۲۵۰ میلی لیتر محلول متانولی DPPH با غلظت ۶۰ میکرومولار آماده شد و با ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه عصاره رقیق شده با ۱۹۵۰ میکرولیتر محلول متانولی DPPH مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در محیط تاریک و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و میزان جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره‌های رقیق شده با کمک معادله زیر تعیین و به صورت درصد بیان شد.

$$(2) \quad \text{فعالیت آنتی‌اکسیدان کل} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد}}{\text{جذب شاهد}} \times 100$$

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

بررسی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با اندازه‌گیری ممانعت آن از احیای نیتروبولوترازولیوم (NBT) وابسته به رادیکال آزاد سوپر اکسید بر اساس روش Beyer & Fridovich (1987) انجام شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز با اندازه‌گیری کاهش جذب مربوط به مصرف پراکسید هیدروژن در طول موج ۲۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر مطابق روش آئی تعیین شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با پی‌اچ ۷، پروکسید هیدروژن ۱۰ میلی‌مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود (Aebi, 1983).

فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز

میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز، با

سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت تعیین شد. مقدار نسبی آب برگ با استفاده از معادله زیر به دست آمد:

$$(1) \quad \text{مقدار نسبی آب} = \frac{(\text{وزن تازه برگ} - \text{وزن خشک})}{(\text{وزن تورژسانسی} - \text{وزن خشک})} \times 100$$

جذب خالص CO₂

اندازه‌گیری جذب خالص CO₂ (A_{CO2}) برگ‌ها با دستگاه LI-6200 Portable Photosynthesis System، انجام گرفت. در کووت اندازه‌گیری، دمای متوسط برگ ۲۹/۷±۱/۷ درجه سلسیوس و اختلاف فشار بخار برگ به هوا (VPD) ۲۶/۱±۵/۸ کیلوپاسکال بود (Bondada & Syvertsen, 2005).

کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها

کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل با روش Arnon (1949) تعیین شد. کلروفیل با ۸۰ درصد (v/v) استون استخراج شد. (۰/۵ سانتی‌متر مربع؛ تقریباً ۱۵۰ میلی‌گرم وزن تازه) از هر نمونه برگ استخراج شد. جذب با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۶۳ نانومتر اندازه‌گیری شد (Arnon, 1949; Sestak *et al.*, 1971). کاروتنوئید کل با روش Lichtenthaler (1987) تعیین شد.

محتوای فنل کل (TPC)

محتوای فنل کل با استفاده از روش Malick & Singh (1980) کمی شد. ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه تازه تهیه شده با ۸ میلی لیتر آب مقطر رقیق شد. ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین سیوکالتیو اضافه شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. ۱ میلی لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد اضافه شده و به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری شد و میزان جذب در طول موج ۶۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل (Shimadzu UV-1650) اندازه‌گیری شد. برای رسم منحنی استاندارد از گالیک اسید استفاده شد.

فلاونوئیدها (TFC)

ترکیبات فلاونوئیدی با استفاده از روش Zhang *et al.*

ندازه‌گیری کاهش جذب مربوط به اکسید شدن و مصرف آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر با روش Nakano & Asada (1981) انجام شد.

عناصر معدنی برگ

غلظت عناصر معدنی شامل نیتروژن (با استفاده از دستگاه کج‌دال)، فسفر (با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر)، پتاسیم (با استفاده از دستگاه فلیم فوتومتر) و کلسیم، منیزیم، مس، آهن، روی، منگنز (به وسیله اسپکتروفوتومتری جذب اتمی) تعیین شد (Bradstreet, 1954; Walinga *et al.*, 1989).

تأثیر یا عدم تأثیر کاتولین و میزان اثرگذاری آن بر RWC بستگی به نوع گیاه، شرایط رشد آن و میزان تحمل آن در شرایط استرس دارد. اثرات مثبت کاتولین، هم در گیاهانی که به خوبی آبیاری می‌شوند و همچنین در گیاهان تحت تنش، مشاهده شده است. برای مثال مطالعه بر روی گوجه‌فرنگی و زیتون، تأثیر مثبت کاتولین در بهبود RWC را نشان داده است (Brito *et al.*, 2018; AbdAllah, 2019). سالیسیلیک اسید نیز با داشتن نقش برجسته در تعدیل شرایط تنش و نامناسب رشد گیاه، سبب بهبود شرایط نامناسب ناشی از دمای بالا در گیاه می‌شود (Kang *et al.*, 2012). همچنین مطالعات انجام گرفته حاکی از آن است که SA سبب بهبود RWC می‌شود (Nazar *et al.*, 2015; Brito *et al.*, 2019).

هدایت روزنه‌ای و جذب خالص CO₂

با توجه به این‌که بیشترین مقدار g در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۵ درصد کاتولین و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید با مقدار ۰/۰۸۸ مول آب بر مترمربع بر ثانیه مشاهده شد (شکل B-۱) و با در نظر گرفتن نتایج جدول تجزیه واریانس می‌توان گفت تیمار تلفیقی کاتولین و سالیسیلیک‌اسید اثر معنی‌داری بر هدایت روزنه‌ای برگ در سطح احتمال یک درصد داشت (جدول ۱). با افزایش میزان کاتولین در تیمارها، افزایش محسوسی در مقدار هدایت روزنه‌ای دیده شد. میزان A_{CO2} نیز در مقایسه با شاهد به ترتیب با مقدارهای ۶/۱۵ و ۵/۷ میکرومول CO₂ بر مترمربع بر ثانیه، در تیمار با ۳ درصد کاتولین و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید، اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد داشت (جدول ۱، شکل C-۱). میزان جذب CO₂ در اکثر مرکبات کم است که به عنوان یک عامل محدودکننده مطرح می‌باشد. در نور و

اندازه‌گیری کاهش جذب مربوط به اکسید شدن و مصرف آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر با روش Nakano & Asada (1981) انجام شد.

عناصر معدنی برگ

غلظت عناصر معدنی شامل نیتروژن (با استفاده از دستگاه کج‌دال)، فسفر (با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر)، پتاسیم (با استفاده از دستگاه فلیم فوتومتر) و کلسیم، منیزیم، مس، آهن، روی، منگنز (به وسیله اسپکتروفوتومتری جذب اتمی) تعیین شد (Bradstreet, 1954; Walinga *et al.*, 1989).

واکاوی آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده با چهار تکرار و به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آماری IBM SPSS Statistics 26 آنالیز شدند. برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2016 استفاده شد.

نتایج و بحث

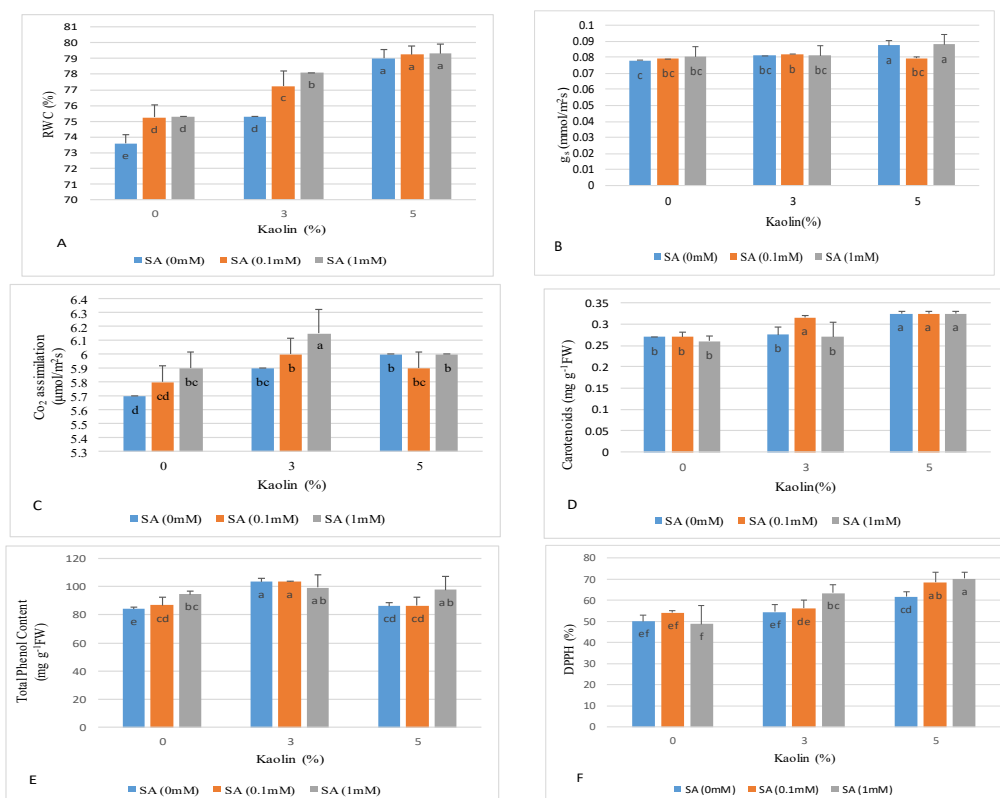
محتوای نسبی آب

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، بیشترین میزان RWC در گیاهان محلول‌پاشی شده با ۵ درصد کاتولین و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک‌اسید و کمترین مقدار در گیاهان شاهد به ترتیب ۷۹/۳ و ۷۳/۶ درصد بدست آمد (شکل A-۱).

این نتایج نشان داد که، تیمار تلفیقی کاتولین و سالیسیلیک‌اسید اثر معنی‌داری بر وضعیت آب برگ در سطح احتمال پنج درصد داشت (جدول ۱). با توجه به مقادیر به‌دست آمده، با افزایش میزان کاتولین و سالیسیلیک‌اسید در تیمارها، مقدار RWC افزایش یافت. شرایطی که گیاه با کاربرد کاتولین در آن قرار می‌گیرد، بسیار مشابه به شرایط قرارگیری در سایه است. قرارگیری در سایه ضخامت برگ و تراکم کرک را کاهش می‌دهد و سبب بهبود وضعیت آب برگ می‌شود (Gregoriou *et al.*, 2007). کاتولین با کاهش

2013) که با کاربرد کائولین و انعکاس نور و کاهش تجمع گرما، تعدیل در میزان بسته شدن روزنه‌ها اتفاق می‌افتد. در مورد اثر سالیسیلیک اسید بر هدایت روزنه‌ای نیز مطالعات مختلفی انجام گرفته‌است. با توجه به نقش بسیار مهم SA در تعدیل تنش‌ها، بیشتر این مطالعات تحت شرایط تنش‌های مختلف از جمله خشکی و شوری انجام یافته‌اند. برای مثال در گوجه فرنگی و ماش با توجه به شرایط آزمایش نتایج متفاوتی به دست آمده است، به طوری که در شرایط بدون تنش در گیاه، کاربرد SA تأثیر معنی‌داری نداشت اما تحت تنش شوری، تعدیل شرایط و افزایش g_s مشاهده شد (Stevens *et al.*, 2006; Lotfi *et al.*, 2020). در گوجه‌فرنگی در شرایط تنش کم‌آبی، با کاربرد SA، افزایش g_s و به دنبال آن افزایش شارش CO_2 مشاهده شد (Habibi, 2012; Lobato *et al.*, 2021).

دمای زیاد، اختلاف فشار بخار بین برگ و هوا زیاد شده و پتانسیل برگ برای از دست دادن آب از طریق تعرق افزایش می‌یابد. از آنجا که هدایت روزنه‌ای در مرکبات، حساس به اختلاف فشار بخار بین هوا و برگ (Vapor Pressure Difference (VPD) است. با افزایش VPD، کاهش هدایت روزنه‌ای و کاهش جذب CO_2 اتفاق می‌افتد. استفاده از کائولین موجب کاهش دمای تاج گیاه شده و در نتیجه VPD کاهش می‌یابد و به تبع آن g_s افزایش پیدا می‌کند (Jifon & Syvertsen, 2003). مطالعات بر روی انبه، گریپ فروت و برخی ارقام مرکبات نشان داد دمای زیاد و ایجاد اختلاف فشار بخار زیاد بین برگ و هوا، باعث بسته شدن روزنه‌ها و کم شدن g_s و محدود شدن انتقال CO_2 به داخل برگ و سرکوب فتوسنتز می‌شود (Veste *et al.*, 1999; Hu *et al.*, 2007; Chamchaiyaporn *et al.*,



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر تلفیقی کائولین و سالیسیلیک اسید بر (A) محتوای نسبی آب (B) هدایت روزنه‌ای (C) جذب خالص CO_2 (D) مقدار کارتنوئیدها (E) مقدار فنل کل (F) میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی. تیمارها: کائولین (صفر، ۳ و ۵ درصد) و سالیسیلیک اسید (صفر، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار).

میانگین‌های با حروف مشابه دارای اختلاف معنی‌دار با یکدیگر نیستند.

Figure 1. Comparison of the means of combined effect of kaolin and salicylic acid on A) relative water content B) stomatal conductance C) CO_2 net absorption D) carotenoids E) total phenol content F) DPPH. Treatments: kaolin (0, 3 and 5%) and salicylic acid (SA) (0, 0.1 and 1 mM).

Means with the same letters have not significant difference with each other.

کلروفیل ها و کاروتنوئیدها

در این مطالعه تغییرات کلروفیل a و کلروفیل کل (a و b) در سطح یک درصد معنی دار بود ولی تغییرات کلروفیل b در دامنه مورد نظر، معنی دار دیده نشد. بیشترین مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل در گیاهان محلول پاشی شده با ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید مشاهده گردید که به ترتیب معادل ۱/۴۵۰ و ۲/۰۶۷ میلی گرم بر گرم وزن تر بود. بررسی جدول تجزیه واریانس، تاثیر مثبت سالیسیلیک اسید در محافظت از کلروفیل را نشان می دهد (جدول ۱). در گیاهان محلول پاشی شده با ۵ درصد کاتولین، بیشترین مقدار کاروتنوئید معادل ۰/۳۲۵ میلی گرم بر گرم وزن تر به دست آمد (جدول ۱، شکل ۱-D). روند افزایشی در مقدار کاروتنوئیدها، با افزایش مقدار کاتولین و سالیسیلیک اسید در تیمارها، به طور محسوس قابل رویت است. هر چند کاتولین با ایجاد پوشش بر روی گیاه، تا حدودی از کلروفیل محافظت می کند اما این پوشش صد در صد نبوده و کاهش کلروفیل و به تبع آن افزایش کاروتنوئیدها، در تیمار با کاتولین دیده می شود. کاتولین تمام سطح برگ را نمی پوشاند و در بررسی های انجام شده بر روی بادام، میزان پوشاندگی کاتولین، فقط ۵۳ درصد از سطح برگ است، باقیمانده بخش ها برای نفوذ نور مساعد است (Rosati et al., 2007). مطالعات بر روی زیتون نشان داد که سالیسیلیک اسید نقش برجسته ای در جلوگیری از تخریب کلروفیل دارد (Brito et al., 2018). در مطالعه حاضر نیز، بیشترین مقدار به کار رفته از سالیسیلیک اسید، بهترین نتایج را در حفظ کلروفیل در گیاه نشان می دهد.

محتوای فنل کل و فلاونوئیدها

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده های مربوط به فنل

مشخص شد که تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد بین گیاهان تیمار شده به صورت تلفیقی از کاتولین ۳ درصد و سطوح مختلف سالیسیلیک اسید با شاهد وجود داشت. تیمار با کاتولین ۳ درصد دارای بیشترین مقدار ترکیبات فنلی معادل ۱۰۳/۶۲ میلی گرم اسید گالیک بر گرم وزن تر بود. در حالی که کمترین مقدار مربوط به نمونه های شاهد ثبت شد (جدول ۱، شکل ۱-E). به نظر می رسد سطح دوم از کاتولین و سالیسیلیک اسید اثر مثبتی بر محتوای فنل کل داشت. بررسی فلاونوئیدها در دامنه تعیین شده، تغییرات معنی داری را نشان نداد. کاتولین و سالیسیلیک اسید با راه های مختلف در تعدیل شرایط نامساعد رشدی، به گیاه کمک می کنند و یکی از این راهکارها در گیاه تولید برخی متابولیت های ثانویه است که از آن جمله می توان از فنل نام برد. افزایش ترکیبات فنولیک نقش مهمی در از بین بردن رادیکال های فعال اکسیژن دارد. با مطالعه ای که بر روی زیتون و جو انجام گرفته است، مشخص شده است که این ترکیبات نسبت به سایر ترکیبات آنتی اکسیدان، نقش بیشتری در جاروبگری این رادیکال ها ایفا می کنند (Xu & Mattos & Moretti, 2015; Chang, 2007).

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

تجزیه واریانس داده های مربوط به فعالیت آنتی اکسیدانی، نشانگر معنی داری آنها در سطح احتمال ۵ درصد بود. بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی، مربوط به تیمار تلفیقی کاتولین ۵ درصد و ۱ میلی مولار سالیسیلیک اسید و کمترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی، در نمونه های شاهد دیده می شد (جدول ۱، شکل ۱-F).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر کاتولین و سالیسیلیک اسید بر برخی صفات بیوشیمیایی کامکوات ناگامی

Table 1. Analysis of variance of the effect of kaolin and salicylic acid on some biochemical traits of Kumquat Nagami

Treatment	RWC	g _s	A _{CO2}	Chla	Chlb	Chlt	Car	TPC	DPPH	SOD	CAT	APX
KA	59.871**	0.0*	0.154**	0.248**	0.000 ^{ns}	0.837**	0.011**	658.253**	763.083**	0.968**	0.216**	32.543**
SA	8.614**	2.800*	0.074**	0.000 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.001*	116.807*	93.048*	4.554**	0.676**	662.653**
KA*SA	1.738*	3.533**	0.021*	0.010 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.006 ^{ns}	0.001*	96.643*	54.020	0.078 ^{ns}	0.008 ^{ns}	3.199 ^{ns}
Error	0.310	5.815	0.006	0.011	0.002	0.011	0.01	29.112	19.385	0.065	0.014	1.254

***, **, * ns: معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنی دار.

***, **, ns: Significantly differences at 1 and 5% of probability levels, and non-significantly difference, respectively.

نشدن آن‌ها به وسیله آنتی‌اکسیدان‌ها، سبب آسیب ترکیبات سلولی من جمله لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک، متابولیت‌ها و پروتئین‌ها شده و در نهایت سبب مرگ سلول می‌شوند (Santini *et al.*, 2012). در این میان، H_2O_2 مازاد تولیدشده توسط سوپراکسیددیسموتاز، توسط کاتالاز در پراکسی‌زوم‌ها به اکسیژن و آب متابولیزه می‌شود. کاهش دمای گیاه، در اثر محافظت لایه نازکی از کاتولین بر سطح آن، فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی را بهبود می‌بخشد (Khavari *et al.*, 2021).

فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز

نتایج حاصل از فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز، مشابه فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بود و بیشترین فعالیت این آنزیم، با کاربرد ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید حاصل شد که برابر با ۷۵/۵۷ میلی‌مول اسکوربات اکسید شده بر میلی‌گرم پروتئین بود (جدول ۱). مقداری از H_2O_2 مازاد تولید شده توسط سوپراکسیددیسموتاز نیز، توسط اسکوربات پراکسیداز در کلروپلاست‌ها به اکسیژن و آب متابولیزه می‌گردد. با کاربرد کاتولین تجمع اسکوربات کمتر می‌شود و به نظر می‌رسد گیاه نیاز کمتری به تولید متابولیت‌های ثانویه دارد، این درحالی‌است که با استفاده از SA تجمع اسکوربات افزایش می‌یابد (Brito *et al.*, 2018) و این می‌تواند دلیل افزایش فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز در اثر تیمار سالیسیلیک اسید باشد.

مواد معدنی برگ

بررسی نتایج به‌دست آمده، تغییرات چشمگیری در میزان عناصر اندازه‌گیری شده نشان نداد. تیمارهای انجام گرفته، فقط تغییراتی در مورد عناصر نیتروژن و منگنز و تغییرات جزئی در عناصر کلسیم، منیزیم و مس نشان داد. تیمار تلفیقی کاتولین ۳ درصد و ۰/۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید با دارا بودن به ترتیب ۱/۳۱۷ درصد و ۴۶/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیشترین مقدار مربوط به نیتروژن و منگنز بودند (جدول ۲). علت این‌که کاربرد کاتولین تفاوت معنی‌داری در میزان مواد معدنی ایجاد نمی‌کند، می‌تواند به دلیل افزایش حجم کانوپی در گیاه بعد از اسپری کردن کاتولین باشد.

روند افزایشی در مقدار کاتولین و سالیسیلیک اسید در تیمارها، موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی شد. افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، در نتیجه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و متابولیت‌های ثانویه از جمله فنل حاصل می‌شود. در مطالعه حاضر نیز با کاربرد تیمار تلفیقی کاتولین و سالیسیلیک اسید، افزایش در هر دو مورد دیده می‌شود. تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی با کاربرد کاتولین، در گیاه انگور نشان داده شده‌است که در این بررسی، علت بهبود سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی، افزایش فنولیک‌ها، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت آنزیم‌های کلیدی چرخه اسکوربات-گلوتاتیون ذکر شده‌است (Brito *et al.*, 2019).

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز

نتایج تجزیه‌های بیوشیمیایی نشان داد با افزایش غلظت سالیسیلیک اسید فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز افزایش می‌یابد، به طوری که بیشترین فعالیت این آنزیم، با کاربرد ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید حاصل شد که معادل ۱۱/۰۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین (واحد: مقدار آنزیمی که باعث ۵۰ درصد ممانعت از احیای NBT شد) بود (جدول ۱). افزایش سطوح گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده، از جمله رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن در جریان متابولیسم طبیعی، باعث ایجاد استرس اکسیداتیو شده و متابولیسم را مختل می‌کنند. سوپراکسیددیسموتاز به طور مستقیم رادیکال O_2^- را به H_2O_2 تبدیل می‌کند. H_2O_2 مازاد باعث ایجاد اتوفازی کلروپلاست و پراکسی‌زوم و مرگ برنامه ریزی شده سلولی می‌شود (El-Tanany *et al.*, 2019).

فعالیت آنزیم کاتالاز

بالاترین مقدار فعالیت این آنزیم با کاربرد کاتولین سه درصد و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید برابر ۱/۷۰ میکرومول پراکسید هیدروژن تجربه شده در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین بود. کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در نمونه شاهد به‌دست آمد (جدول ۱). گروه‌های فعال اکسیژن مازاد، سبب بروز تنش اکسیداتیو شده و عدم بالانس بین این گروه‌های فعال و خنثی

جدول ۲. تجزیه واریانس اثر کائولین و سالیسیلیک اسید بر عناصر معدنی کامکوات ناگامی

Treatment	N	P	K	Ca	Mg	Fe	Cu	Zn	Mn
KA	0.105*	0.003ns	5.813ns	0.118ns	0.003ns	1.039ns	0.445ns	32.287ns	295.084**
SA	0.073ns	0.114ns	7.439ns	0.257*	0.010*	44.648ns	19.561*	16.688ns	22.801*
KA*SA	0.008ns	0.004ns	0.125ns	0.040ns	0.001ns	1.046ns	1.727ns	0.199ns	1.942ns
Error	0.013	0.074	3.574	0.061	0.002	30.137	2.698	22.924	4.872

ns: معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود اختلاف معنی دار.

**, *, ns: Significant differences at 1 and 5% of probability level, and non-significant difference, respectively.

جدول ۳. اثر ترکیب‌های مختلف کائولین و سالیسیلیک اسید بر پارامترهای بیوشیمیایی کامکوات ناگامی

Treatment	RWC (%)	g_s (mmol/m ² s)	A_{CO_2} (μmol/m ² s)	Car (mg g ⁻¹ FW)	TPC (mg g ⁻¹ FW)	DPPH (%)
K1S1(control)	73.6 ^c	.078 ^c	5.7 ^d	.270 ^b	84.27 ^d	50.02 ^{ef}
K1S2 (0.1 mM Salicylic acid)	75.25 ^d	.079 ^{bc}	5.8 ^{cd}	.270 ^b	86.80 ^{cd}	53.90 ^{ef}
K1S3 (1 mM salicylic acid)	75.3 ^d	.0805 ^{bc}	5.9 ^{bc}	.260 ^b	94.60 ^{bc}	48.57 ^f
K2S1 (3% kaolin)	75.3 ^d	.081 ^{bc}	5.9 ^{bc}	.275 ^b	103.62 ^a	54.42 ^{ef}
K2S2 (3% kaolin, 0.1 mM salicylic acid)	77.25 ^c	.082 ^b	6.0 ^b	.315 ^a	103.50 ^a	56.02 ^{de}
K2S3 (3% kaolin, 1 mM salicylic acid)	78.1 ^b	.081 ^{bc}	6.15 ^a	.270 ^b	99.25 ^{ab}	63.30 ^{bc}
K3S1 (5% salicylic acid)	79.0 ^a	.0875 ^a	6.0 ^b	.325 ^a	86.17 ^{cd}	61.65 ^{cd}
K3S2 (5% kaolin, 0.1 mM salicylic acid)	79.25 ^a	.0795 ^{bc}	5.9 ^{bc}	.325 ^a	86.70 ^{cd}	68.40 ^{ab}
K3S3 (5% kaolin, 1 mM salicylic acid)	79.3 ^a	.088 ^a	6.0 ^b	.325 ^a	97.70 ^{ab}	70.20 ^a

ستون های دارای حروف مشابه براساس آزمون دانکن، تفاوت معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

in each column means with the same letters do not have significant difference ($p \leq 0.05$) based on Duncan's test.

قرار دهد. بررسی نتایج نشان داد که کاربرد مقادیر ۳ و ۵ درصد کائولین اثرات مثبتی در مقدار کارتنوئید، فنل، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، هدایت روزنه‌ای، جذب خالص CO_2 و RWC داشت. از سوی دیگر سطوح مختلف سالیسیلیک اسید، تاثیر چشمگیری بر میزان آنزیم‌های کارآمد SOD، APX و CAT نشان داد. بنابراین با در نظر گرفتن اثر مثبت تیمار تلفیقی کائولین و سالیسیلیک اسید بر صفات بیوشیمیایی گیاه کامکوات، می‌توان در بهبود پرورش کامکوات از این تیمارها استفاده کرد. با توجه به مقایسه اثر تیمارها، به نظر می‌رسد تیمار کائولین ۵ درصد و ۱ میلی‌مولار سالیسیلیک اسید، می‌تواند نقش موثرتری داشته باشد. تغییرات به وجود آمده بر اثر کاربرد این دو ترکیب، سبب می‌شوند تا گیاه کامکوات بتواند شرایط بهتری را در مقابل تنش‌های دمای بالا و نور شدید آفتاب، برای خود ایجاد کند و تا حدودی از آسیب‌های وارده به تاج گیاه جلوگیری کند و این ترکیبات می‌توانند به عنوان یک تیمار ارزان و مؤثر در کامکوات مورد توجه قرار گیرند.

در ضمن همانطور که قبلاً هم ذکر شد کائولین سبب کاهش دمای کانوپی شده و به این شکل $VPD_{leaf-to-air}$ کاهش می‌یابد و در واقع کم شدن حرکت آب سبب می‌شود انتقال مواد معدنی کاهش یابد. به نظر می‌رسد افزایشی که در مورد نیتروژن دیده می‌شود به دلیل خاصیت ویژه آن است، چون میوه به‌عنوان مخزن قوی بوده و سبب حرکت نیتروژن می‌شود (Brito *et al.*, 2019). سالیسیلیک اسید می‌تواند باعث افزایش هدایت روزنه‌ای شده و حرکت آب را افزایش دهد و در نتیجه تغییراتی را در مقدار عناصر معدنی به وجود آورد. برای مثال اثر SA در افزایش P، K، Ca و Mg در توت‌فرنگی نشان داده شده است (Aghaeifard *et al.*, 2016). در این مطالعه نیز اثر سالیسیلیک اسید بر میزان Ca، Mg و Cu در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که، به کار بردن تیمار تلفیقی کائولین و سالیسیلیک اسید می‌تواند به شکل قابل توجهی شرایط پرورش گیاه کامکوات را تحت تاثیر

REFERENCES

1. AbdAllah, A. (2019). Impacts of Kaolin and Pinoline foliar application on growth, yield and water use efficiency of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) grown under water deficit: A comparative study. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(3), 256-268.
2. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, 105, 121-126.

3. Aganchich, B., Tahi, H., Wahbi, S., Elmodaffar, C. & Serraj, R. (2007). Growth, water relations and antioxidant defense mechanisms of olive (*Olea europaea* L.) subjected to Partial Root Drying (PRD) and Regulated Deficit Irrigation (RDI). *Plant Biosystems*, 141(2), 252-264.
4. Aghaeifard, F., Babalar, M., Fallahi, E. & Ahmadi, A. (2016). Influence of humic acid and salicylic acid on yield, fruit quality, and leaf mineral elements of strawberry (*Fragaria* × *Ananassa* Duch.) cv. Camarosa. *Journal of plant nutrition*, 39(13), 1821-1829.
5. Arnon, D. I. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant physiology*, 24(1), 1.
6. Barreca, D., Bellocco, E., Caristi, C., Leuzzi, U. & Gattuso, G. (2011). Kumquat (*Fortunella japonica* Swingle) juice: Flavonoid distribution and antioxidant properties *Food Research International*, 44(7), 2190-2197.
7. Beyer, W.F. & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, 161:559-566.
8. Bondada, B. R. & Syvertsen, J. P. (2005). Concurrent changes in net CO₂ assimilation and chloroplast ultrastructure in nitrogen deficient citrus leaves. *Environmental and experimental botany*, 54(1), 41-48.
9. Bradstreet, R. B. (1954). Kjeldahl method for organic nitrogen. *Analytical Chemistry*, 26(1), 185-187.
10. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
11. Brito, C., Dinis, L. T., Ferreira, H., Rocha, L., Pavia, I., Moutinho-Pereira, J. & Correia, C. M. (2018). Kaolin particle film modulates morphological, physiological and biochemical olive tree responses to drought and rewatering. *Plant Physiology and Biochemistry*, 133, 29-39.
12. Brito, C., Dinis, L. T., Luzio, A., Silva, E., Gonçalves, A., Meijón, M. & Correia, C. M. (2019). Kaolin and salicylic acid alleviate summer stress in rainfed olive orchards by modulation of distinct physiological and biochemical responses. *Scientia Horticulturae*, 246, 201-211.
13. Brito, C., Dinis, L. T., Moutinho-Pereira, J. & Correia, C. (2019). Kaolin, an emerging tool to alleviate the effects of abiotic stresses on crop performance. *Scientia Horticulturae*, 250, 310-316.
14. Chamchaiyaporn, T., Jutamane, K., Kasemsap, P., Vaithanomsat, P. & Henpitak, C. (2013). Effects of kaolin clay coating on mango leaf gas exchange, fruit yield and quality. *Agriculture and Natural Resources*, 47(4), 479-491.
15. Chang, Y. C. & Lin, T. C. (2020). Temperature effects on fruit development and quality performance of Nagami kumquat (*Fortunella margarita* [Lour.] Swingle). *The Horticulture Journal*, 89 (4), 351–358.
16. El-Tanany, M. M., Kheder, A. M. A. & Abdallah, H. R. (2019). Effect of some treatments on reducing sunburn in Balady Mandarin fruit trees (*Citrus reticulata*, Blanco). *Middle East J Agric Res*, 8, 889-897.
17. El Zayat, H. E. & Ali, M. S. (2019). Effect of some biological stimulants and kaolin particles sprays on fruit retention, productivity and fruit quality of Washington Navel orange trees. *Hortscience Journal of Suez Canal University*, 8(1), 69-78.
18. Faghih, S., Zamani, Z., Fatahi, R. & Liaghat, A. (2019). Effects of deficit irrigation and kaolin application on vegetative growth and fruit traits of two early ripening apple cultivars. *Biological research*, 52 (43) 1-12.
19. Gregoriou, K., Pontikis, K. & Vemmos, S. (2007). Effects of reduced irradiance on leaf morphology, photosynthetic capacity, and fruit yield in olive (*Olea europaea* L.). *Photosynthetica*, 45(2), 172-181.
20. Gullo, G., Dattola, A., Vonella, V. & Zappia, R. (2020). Effects of two reflective materials on gas exchange, yield, and fruit quality of sweet orange tree *Citrus sinensis* (L.) Osb. *European Journal of Agronomy*, 118, 126071.
21. Habibi, G. (2012). Exogenous salicylic acid alleviates oxidative damage of barley plants under drought stress. *Acta Biologica Szegediensis*, 56(1), 57-63.
22. Hayat, Q., Hayat, S., Irfan, M. & Ahmad, A. (2010). Effect of exogenous salicylic acid under changing environment: a review. *Environmental and experimental botany*, 68(1), 14-25.7
23. Hu, Y., Burucs, Z., von Tucher, S. & Schmidhalter, U. (2007). Short-term effects of drought and salinity on mineral nutrient distribution along growing leaves of maize seedlings. *Environmental and Experimental Botany*, 60(2), 268-275.
24. Jifon, J. L. & Syvertsen, J. P. (2003). Kaolin particle film applications can increase photosynthesis and water use efficiency of 'Ruby Red' grapefruit leaves. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(1), 107-112.
25. Kang, G., Li, G., Xu, W., Peng, X., Han, Q., Zhu, Y. & Guo, T. (2012). Proteomics reveals the effects of salicylic acid on growth and tolerance to subsequent drought stress in wheat. *Journal of Proteome Research*, 11(12), 6066-6079.

26. Khavari, M., Fatahi, R. & Zamani, Z. (2021). Salicylic acid and kaolin effects on pomological, physiological, and phytochemical characters of hazelnut (*Corylus avellana*) at warm summer condition. *Scientific Reports*, 11(1), 1-14.
27. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-382.
28. Lobato, A. K. D. S., Barbosa, M. A. M., Alsahli, A. A., Lima, E. J. A. & Silva, B. R. S. D. (2021). Exogenous salicylic acid alleviates the negative impacts on production components, biomass and gas exchange in tomato plants under water deficit improving redox status and anatomical responses. *Physiologia Plantarum*, 172(2), 869-884.
29. Lotfi, R., Ghassemi-Golezani, K. & Pessarakli, M. (2020). Salicylic acid regulates photosynthetic electron transfer and stomatal conductance of mung bean (*Vigna radiata* L.) under salinity stress. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 26, 101635.
30. Malick, C. P. & Singh, M. B. (1980). *Plant enzymology and histo enzymology*. Kalyani Publishers New Delhi pp, 286.
31. Manner, H. I., Buker, R. S., Smith, V. E., Ward, D. & Elevitch, C. R. (2006). *Citrus* (citrus) and *Fortunella* (kumquat). *Species profile for pacific island agroforestry*, 2, 1-35.
32. Mattos, L. M. & Moretti, C. L. (2015). Oxidative stress in plants under drought conditions and the role of different enzymes. *Enzyme Engineering*, 5(3), 1-6.
33. Mullan, D. & Pietragalla, J. (2012). Leaf relative water content. In *Physiological breeding II: A field guide to wheat phenotyping* Pask, A.J.D., Pietragalla, J., Mullan, D.M. and Reynolds, M.P. (Eds) Mexico, D.F. The International Maize and Wheat Improvement Center, CIMMYT. 25-27
34. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22(5), 867-880.
35. Nazar, R., Umar, S., Khan, N. A. & Sareer, O. (2015). Salicylic acid supplementation improves photosynthesis and growth in mustard through changes in proline accumulation and ethylene formation under drought stress. *South African Journal of Botany*, 98, 84-94.
36. Rosati, A., Metcalf, S. G., Buchner, R. P., Fulton, A. E. & Lampinen, B. D. (2007). Effects of kaolin application on light absorption and distribution, radiation use efficiency and photosynthesis of almond and walnut canopies. *Annals of botany*, 99(2), 255-263.
37. Santini, J., Giannettini, J., Herbette, S., Pailly, O., Ollitrault, P., Luro, F. & Berti, L. (2012). Physiological and biochemical response to photooxidative stress of the fundamental citrus species. *Scientia horticulturae*, 147, 126-135.
38. Sestak, Z., Catský, J. & Jarvis, P. G. (1971).. *Plant photosynthetic production. Manual of methods*. Netherlands, The Hague, Dr. W. Junk NV.
39. Stevens, J., Senaratna, T. & Sivasithamparam, K. (2006). Salicylic acid induces salinity tolerance in tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): associated changes in gas exchange, water relations and membrane stabilization. *Plant Growth Regulation*, 49(1), 77-83.
40. Veste, M., Ben-Gal, A. & Shani, U. (1999). Impact of thermal stress and high VPD on gas exchange and chlorophyll fluorescence of *Citrus grandis* under desert conditions. *Acta Horticulturae*, 531, 143-150.
41. Walinga, I., Van Vark, W., Houba, V. & Van der Lee, J. (1989). *Soil and plant analysis: part 7- plant analysis procedures*. The Netherlands: Wageningen Agricultural University.
42. Xu, Z., & Zhou, G. (2008). Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany*, 59(12), 3317-3325.
43. Zhang, M., Cao, J., Dai, X., Chen, X., & Wang, Q. (2012). Flavonoid contents and free radical scavenging activity of extracts from leaves, stems, rachis and roots of *Dryopteris erythrosora*. *Iranian journal of pharmaceutical research*, 11(3), 991-997.