

## RESPONSE AKAR PADI PADA KONDISI CEKAMAN DEFISIENSI PHOSPHOR

Nurul Hidayatun<sup>1</sup> dan Joko Prasetyono<sup>1</sup>

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi  
dan Sumberdaya Genetik Pertanian  
Jl. Tentara Pelajar No. 3A, Bogor 16111  
Phone. 0251-8337975 Fax. 0251-8338820  
email: nurulhi23@yahoo.com

### ABSTRAK

Cekaman keracunan aluminium (Al) dan defisiensi Phosphor (P) merupakan hambatan paling utama dalam produksi pertanian di lahan masam. Tanaman bertahan hidup dalam kedua cekaman tersebut dengan berbagai cara. Dalam mengatasi cekaman terhadap keracunan Al, tanaman mengembangkan dua mekanisme utama, yaitu dengan menghambat masuknya Al ke dalam jaringan tanaman dan dengan cara mendetoksifikasi Al tersebut di dalam jaringan tanaman. Sementara, dalam mengatasi kekurangan P, tanaman mengembangkan dua mekanisme yaitu dengan cara meningkatkan kemampuan pengambilan P atau dengan cara meningkatkan efisiensi dalam pemanfaatannya. Pertumbuhan akar biasa digunakan dalam penilaian ketahanan terhadap kedua macam cekaman tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respons pertumbuhan akar pada empat genotype padi yang telah teridentifikasi ketahanannya terhadap cekaman Al dan P pada kondisi ketersediaan P dalam tanah yang berbeda. Percobaan dilakukan dalam rancangan split-plot dengan tiga ulangan, menggunakan empat genotype padi yang ditanam dalam pot tanah dengan dan tanpa perlakuan pemupukan P. Pengambilan sampel dan pengukuran akar dilakukan saat tanaman berumur 7, 14, dan 21 hari. Hasil percobaan menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan akar pada kondisi P yang kurang tersedia, akan tetapi keragaman pertumbuhan akar lebih dominan disebabkan oleh genotype padi. Varietas Dupa sebagai varietas yang tahan terhadap cekaman Al tidak menunjukkan ketahanan terhadap cekaman defisiensi P.

**Kata kunci:** lahan masam, akar padi, cekaman Al, defisiensi P.

### ABSTRACT

**Response of Rice Roots on Phosphorus Deficiency Stress Conditions.** Plant stress due to aluminum (Al) toxicity and Phosphorous (P) deficiency considered as two most crucial problems limiting crop production in acid soil area. Plants cope with these two stress in various ways. In order to cope up with Al stress, plants develops two main mechanisms, the external exclusion to avoid Al absorbtion into the cell, and the internal tolerance mechanism where Al detoxified inside the

plant cell. whereas, in order to overcome P deficiency, the plant develops two mechanisms: by increasing the capacity of P uptake or by increasing the efficiency in its utilization in the cell. Root growth is commonly used in screening resistance to these two stresses. This study was subjected to observe the response of root growth in four rice genotypes (which previously been identified as resistance to stress Al and P) under soil with different condition of P availability. Experiments were carried out in a split-plot design with three replications, using four genotypes of rice treated in soil tray with and without P application. Sampling and root measurements conducted on the 7, 14, and 21 days after the treatment. The results showed root growth inhibition under non-P condition. However, this variation on the root growth variables were caused by the difference of rice genotype. Dupa, the Al tolerant variety showed susceptible to P deficiency.

**Keywords:** *Acid soil, rice root, Al toxicity, P deficiency*

## PENDAHULUAN

Lahan masam menempati sekitar 30% dari keseluruhan daratan di permukaan bumi (Von Uexküll dan Mutert, 1995). Kemasaman (pH) tanah sangat mempengaruhi produktivitas tanah untuk pertanian. Masalah utama di lahan masam adalah tercucinya ion-ion logam alkalis ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ), berkurangnya hingga tidak-tersedianya Ca, Mg, P, Mo, dan Si dan meningkatnya konsentrasi Al, Mn dan berbagai kation yang bersifat racun bagi tanaman. Dalam tanah yang masam Al akan terlarut dan menyebabkan keracunan bagi tanaman. Sementara, Phosphorus, yang merupakan salah satu nutrisi utama bagi pertumbuhan tanaman menjadi kurang tersedia bagi tanaman karena terikat oleh Al dan Fe. Bentuk primer P yang diambil oleh tanaman adalah berupa orthophosphates,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  dan  $\text{HPO}_4^-$ . Bentuk ini dominan pada kondisi tanah dengan pH normal, akan tetapi dalam kondisi tanah alkalin elemen ini akan membentuk kompleks dengan kalsium; sedangkan dalam kondisi tanah masam elemen ini membentuk kompleks dengan Al dan Fe (Kochian et al., 2004). Dari beberapa permasalahan di lahan masam, keracunan oleh Al dan defisiensi P merupakan dua hal yang sangat mengganggu produksi pertanian. Kedua cekaman ini seringkali timbul secara bersama-sama di area dataran tinggi/upland (Kochian et al., 2004).

Tanaman bertahan hidup dalam kedua cekaman tersebut dengan berbagai cara. Dalam mengatasi cekaman terhadap keracunan Al, tanaman mengembangkan dua mekanisme utama, yaitu dengan penolakan/penghambatan masuknya Al ke dalam jaringan tanaman (external exclusion) dan dengan cara mendetoksifikasi Al tersebut di dalam jaringan tanaman (internal tolerance/detoxification). Mekanisme penolakan Al secara eksternal berlangsung di luar-akar dengan mencegah masuknya Al ke dalam sel. Termasuk dalam mekanisme adalah pembentukan penghalang dengan pH zona sekitar akar, pengikatan Al oleh senyawa yang disekresikan oleh akar, imobilisasi pada dinding sel, peningkatan selektivitas permeabilitas plasma membran, menon-aktifkan dengan eksudasi dari senyawa penkelat (seperti asam organik dan senyawa fenolik), dan pengeluaran Al dari ujung akar (Kochian et al.,

2004). Toleransi Al secara internal memungkinkan Al memasuki sel tumbuhan tanpa menunjukkan efek keracunan. Mekanisme detoksifikasi aktif setelah Al memasuki sel. Di dalam sel, Al ditumpas dan diikat di sitosol oleh anion asam organik dan isoform enzim toleransi Al yang lain atau dapat diasingkan dan diisolasi dalam vakuola (Ma et al, 2001; Kochian et al, 2004).

Sementara, dalam mengatasi kekurangan P, tanaman mengembangkan dua mekanisme yaitu dengan cara meningkatkan kemampuan pengambilan P atau dengan cara meningkatkan efisiensi dalam pemanfaatannya (Otzurk et al, 2005). Kedua mekanisme ini secara luas berdasar pada kemampuan dalam mengambil P dari tanah dengan cara pengubahan dalam arsitektur akar, secara luas bergantung pada kemampuan untuk mendapatkan P dari tanah melalui perubahan arsitektur perakaran, eksudasi senyawa yang dapat memobilisasi P dan perubahan dalam transporter Pi pada plasma membran, dan meningkatkan efisiensi penggunaan P melalui kebutuhan P seluler yang lebih rendah, remobilisasi P yang lebih efisien, atau melalui pengaturan transporter Pi (Kochian et al., 2004). Tanaman dapat mengembangkan modifikasi arsitektur akar seperti peningkatan percabangan akar dan rambut akar, atau berkaitan dengan mikoriza untuk mengeksplorasi volume tanah yang lebih luas untuk mendapatkan dan meningkatkan serapan P. Beberapa tanaman juga dapat mengeluarkan senyawa organik atau membuat perubahan yang dimediasi akar terhadap kondisi kimia area rhizosper untuk melepaskan P dan meningkatkan ketersediaannya bagi tanaman (Wissuwa, 2003). Pada padi, sebagian besar toleransi terhadap defisiensi P dijelaskan oleh variasi genotip dalam penyerapan fosfor, sedangkan variasi dalam efisiensi penggunaan fosfor secara internal dapat diabaikan (Wissuwa dan Ae, 2001a). Dengan menggunakan model pertumbuhan tanaman yang dikembangkan untuk padi, Wissuwa (2003) menemukan bahwa perubahan kecil dalam parameter pertumbuhan terkait akar memiliki efek besar pada serapan P.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui respon empat genotype padi terhadap kondisi ketersediaan P yang berbeda. Keempat genotype tersebut memiliki karakteristik toleran terhadap cekaman Al (Dupa), peka terhadap cekaman Al (ITA131), memiliki lokus Pup-1 (IR74-Pup1) dan tetuanya, IR74. Respon yang diberikan oleh keempat genotype tersebut diharapkan dapat memberikan gambaran mengenai keterkaitan antara ketahanan terhadap keracunan Al dan defisiensi P.

## **BAHAN DAN METODE**

Percobaan dilakukan dengan menggunakan rancangan Split-plot dengan tiga ulangan. Sebanyak empat genotype padi, yaitu Dupa, ITA131, IR74, dan IR74-Pup1 digunakan dalam penelitian ini, sedangkan perlakuan yang diberikan adalah berupa pemupukan dengan dan tanpa penambahan unsur Phosphat (P) (Tabel 1).

Percobaan dimulai dengan persiapan perkecambahan. Sebanyak 100 butir benih padi dari masing-masing genotype dioven dalam suhu 50°C selama 3 hari untuk memecah dormansi. Setelah itu tanaman direndam dalam aquades selama 24

jam dan kemudian dikecambahkan dalam cawan petri. Benih yang berkecambah dan menunjukkan ukuran seragam kemudian dipindahkan ke bak berisi tanah yang telah dicampur dengan dan tanpa P.

**Tabel. 1.** Komposisi senyawa yang digunakan dalam perlakuan pemupukan

Sumber hara	Konsentrasi (gram pupuk per 6 kg tanah)	
	+P	-P
(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.429	0.429
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	0.376	0.000
KCl	0.077	0.077
ZnSO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	0.087	0.087

Pengambilan sampel dilakukan dengan mencabut tanaman tanpa menanam kembali, yang dilakukan pada umur 7, 14, dan 21 hari setelah persemaian di bak tersebut. Sampel tanaman dibersihkan akarnya, dan kemudian di lakukan pengukuran. Pengukuran meliputi pengukuran secara manual terhadap panjang akar dan tunas, dan scanning akar untuk mengukur berbagai variable pertumbuhan akar seperti total panjang akar, diameter akar, luas permukaan akar, volume akar, diameter akar, ujung akar, dan percabangan akar. Scanning akar dilakukan dengan menggunakan alat WhinRizo root scanner (dual lens system STD 4800 root scanner Epson Perfection V700, Regents Instrument Canada Inc.). Sampel kemudian dikeringkan dalam oven 50°C selama 5 hari dan kemudian diukur bobot kering akar dan daun/tunasnya. Data hasil pengamatan disusun dalam program excel, dan analisis statistik dilakukan dengan menggunakan program Statistical Tool for Agricultural Research (STAR).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

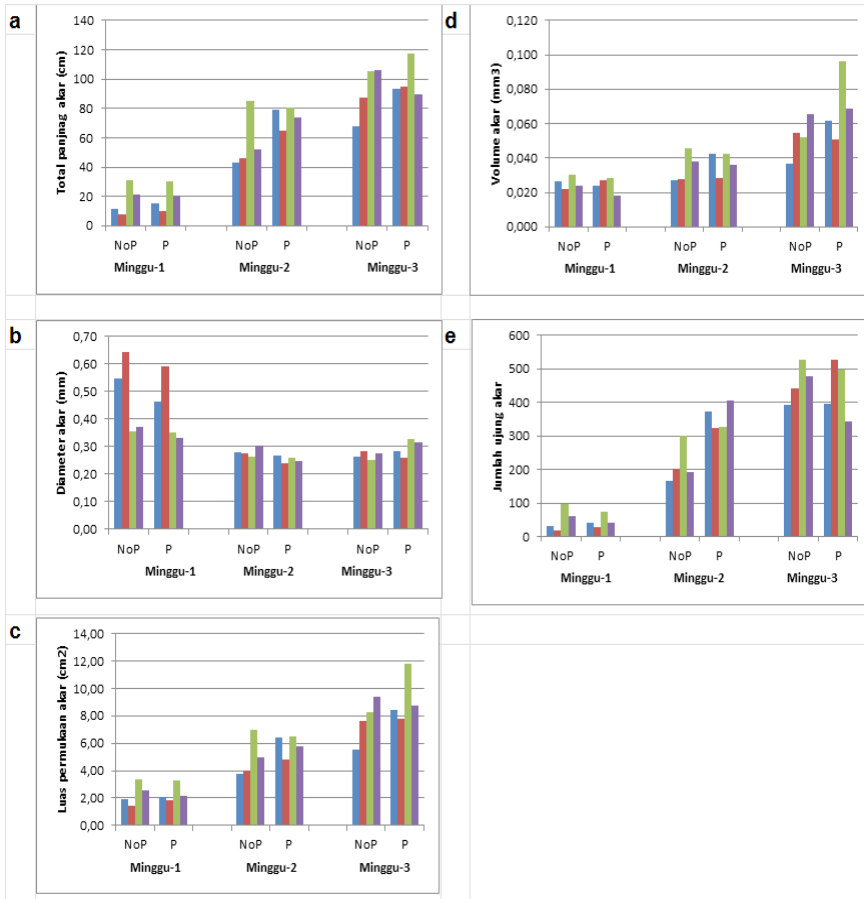
### Hasil

Tanaman padi menunjukkan respon yang berbeda terhadap kondisi difisiensi P. Secara umum, pertanaman yang dipelihara pada tanah dengan perlakuan pemupukan P menunjukkan penampilan yang lebih baik dibandingkan dengan tanaman yang dipelihara tanpa pemberian pupuk P. Dalam kondisi tanpa pemberian pupuk P, tanaman memiliki rerata total panjang akar, jumlah ujung akar, volume akar, dan luas permukaan akar yang lebih rendah, sedangkan rerata diameter akar pada kondisi pemupukan lebih rendah (Tabel 2; Gambar 1).

**Tabel 2.** Karakter pertumbuhan akar pada dua kondisi ketersediaan Phosphor yang berbeda.

Karakter	Tanpa P		Dengan P	
	Mean	StdDev	Mean	StdDev
Total panjang akar_1* (cm)	17.67	10.56	19.16	8.90
Total panjang akar_2* (cm)	56.45	21.63	74.47	22.52
Total panjang akar_3* (cm)	90.49	31.17	100.45	29.45
Jumlah ujung akar_1	51.61	35.37	46.94	22.20
Jumlah ujung akar_2	215.31	82.17	357.88	166.22
Jumlah ujung akar_3	419.22	167.41	481.68	155.26
Volume akar_1 (cm <sup>3</sup> )	0.03	0.01	0.02	0.01
Volume akar_2 (cm <sup>3</sup> )	0.03	0.01	0.04	0.01
Volume akar_3 (cm <sup>3</sup> )	0.06	0.03	0.06	0.02
Luas permukaan akar_1 (cm <sup>2</sup> )	2.30	1.02	2.33	0.65
Luas Permukaan akar_2 (cm <sup>2</sup> )	4.94	1.76	5.88	1.65
Luas Permukaan akar_3 (cm <sup>2</sup> )	8.45	3.04	8.47	2.57
Diameter akar_1 (mm)	0.48	0.15	0.43	0.13
Diameter akar_2 (mm)	0.28	0.02	0.25	0.02
Diameter akar_3 (mm)	0.30	0.03	0.27	0.02

**Keterangan:** angka 1, 2, dan 3: pengamatan ke 1, 2 dan 3 pada umur 1, 2, dan 3 minggu setelah perlakuan



**Gambar 1.** Performa pertumbuhan akar pada kondisi tanah dengan ketersediaan unsur P berbeda.

Ket:

a). Total panjang akar, b). Diameter akar, c). Luas permukaan akar, d). Volume akar, dan e). Jumlah ujung akar

■ Dupa ■ ITA ■ IR74Pup1 ■ IR74

Hasil analisis keragaman menunjukkan efek perbedaan ketersediaan P tersebut tidak signifikan. Variasi dalam berbagai karakter yang diamati lebih disebabkan oleh perbedaan genotype, dan bukan oleh karena perbedaan perlakuan pemupukan P (Tabel. 3).

**Tabel 3.** Variasi karakter pertumbuhan akar pada kondisi pemupukan yang berbeda pada empat genotype padi

Karakter	Hasil analisis keragaman (nilai P<F)		
	Pemupukan P	Varietas	Interaksi
Total panjang akar_1 (cm)	0.5061	0.0000	0.8542
Total panjang akar_2 (cm)	0.2459	0.0365	0.1774
Total panjang akar_3 (cm)	0.5295	0.7601	0.3596
Jumlah ujung akar_1	0.5500	0.0003	0.2393
Jumlah ujung akar_2	0.1568	0.5094	0.8837
Jumlah ujung akar_3	0.4212	0.9570	0.5832
Volume akar_1 (cm <sup>3</sup> )	0.7050	0.4287	0.6879
Volume akar_2 (cm <sup>3</sup> )	0.6251	0.1182	0.1791
Volume akar_3 (cm <sup>3</sup> )	0.4599	0.1272	0.0279
Luas permukaan akar_1 (cm <sup>2</sup> )	0.8937	0.0036	0.7201
Luas Permukaan akar_2 (cm <sup>2</sup> )	0.3567	0.0886	0.0990
Luas Permukaan akar_3 (cm <sup>2</sup> )	0.9844	0.3095	0.1445
Diameter akar_1 (mm)	0.4122	0.0004	0.8786
Diameter akar_2 (mm)	0.1080	0.0108	0.1967
Diameter akar_3 (mm)	0.0270	0.1156	0.0428

**Keterangan:** 1, 2, dan 3: pengamatan ke 1, 2 dan 3 pada umur 1, 2, dan 3 minggu setelah perlakuan

Total panjang akar pada bibit umur 7 dan 14 hari berbeda nyata pada empat genotype padi yang diamati (Tabel 2). Pada batasan umur ini, IR74-Pup1 menunjukkan panjang akar total yang lebih tinggi dibandingkan IR74, Dupa dan ITA131, baik pada kondisi dengan atau tanpa pemberian pupuk P. Akan tetapi, pada bibit umur 21 hari efek positif lokus Pup1 ini hanya terdeteksi pada kondisi tanah dengan pemberian pupuk P. Sementara itu Dupa dan ITA131 tidak menunjukkan perbedaan nyata dalam panjang total akar, dalam semua kondisi tanah (Gambar 1).

Genotype padi yang diamati juga menunjukkan perbedaan nyata dalam hal jumlah ujung akar, luas permukaan akar, dan diameter akar. Akan tetapi perbedaan nyata pada ketiga variabel tersebut hanya pada umur bibit 7 hari. Sementara, pada umur bibit 14 dan 21 hari tidak ada beda nyata antara ketiga variabel tersebut.

## PEMBAHASAN

Secara umum struktur perakaran yang bagus akan memiliki total panjang akar yang tinggi, dengan jumlah percabangan dan rambut akar yang banyak, yang kemudian akan menghasilkan area serapan yang lebih luas. Jumlah ujung akar sedikit banyak menggambarkan percabangan dan pertumbuhan akar lateral. Perkembangan akar yang bagus didukung oleh ketersediaan nutrisi yang mencukupi. Dalam penelitian ini perbedaan ketersediaan kandungan P dalam tanah sebagai media tanam tidak setara nyata menimbulkan perbedaan pada beberapa variabel pertumbuhan yang diamati. Dimungkinkan hal ini dikeranakan unsur P masih cukup tersedia pada media tanah yang dipupuk tanpa menyertakan unsur P. Genotype- genotype yang memiliki efisiensi serapan P yang tinggi menunjukkan pertumbuhan akar yang relatif lebih tinggi, karena tambahan P yang terserap akan menghasilkan akumulasi biomassa, termasuk pertumbuhan akar.

Respon setiap varietas berbeda-beda pada kedua kondisi ketersediaan P yang berbeda. Secara umum IR74-Pup1 menunjukkan penampilan akar yang lebih bagus dibandingkan ketiga genotype lainnya. Genotype ini merupakan turunan dari IR74 yang telah disisipi lokus Pup1 pada genomnya. Lokus Pup1 yang terletak di kromosom 12 ini diketahui merupakan lokus utama untuk toleransi terhadap defisiensi P (Wissuwa et. al., 1998; Wissuwa dan Ae, 2001; Nguyen and Bui, 2006; Heuer et al., 2009). Lokus ini menjaga pertumbuhan akar pada kondisi defisiensi P dan meningkatkan serapan P dan hasil panen (Wissuwa and Ae, 2001b). Performa unggul dari genotype ini merupakan ekspresi fungsional dari lokus tersebut. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa genotype- genotype yang memiliki efisiensi serapan P yang tinggi menunjukkan pertumbuhan akar yang relatif lebih baik, karena tambahan P yang terserap akan menghasilkan akumulasi biomassa, termasuk pertumbuhan akar (Wissuwa, 2003).

Dua varietas yang berbeda tingkat toleransinya terhadap Al, yaitu Dupa (toleran) dan ITA131 (peka), tidak menunjukkan perbedaan respon yang nyata pada kondisi ketersediaan P yang berbeda. Dimungkinkan, walaupun kedua genotype ini sangat berbeda dalam ketahanannya terhadap cekaman keracunan Al, tetapi kedua genotype ini juga memiliki tingkat toleransi yang relatif sama terhadap cekaman defisiensi P.

Kedua stress di atas sangat berkaitan, dan menariknya, kedua cekaman tersebut berkaitan dengan struktur pertumbuhan akar. Gejala cekaman Al dapat dilihat terutama pada hambatan pertumbuhan akar. Bagian ini merupakan bagian yang mengalami dampak serangan tercepat dan terparah, sehingga pertumbuhan akar merupakan variabel yang biasa digunakan untuk mengukur tingkat ketahanan tanaman terhadap cekaman keracunan Al. Tanaman yang toleran mengalami hambatan pertumbuhan yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan tanaman yang peka. Di sisi lain, Wissuwa dan Ae (2001a) menyatakan sistem perakaran juga dianggap karakteristik penting dari tanaman yang toleran terhadap defisien P. Menurut Wissuwa (2003), tanaman dapat meningkatkan serapan P, diantaranya

dengan cara mengembangkan modifikasi arsitektur akar seperti peningkatan percabangan akar dan rambut akar. Cara lain yaitu mengeluarkan senyawa organik untuk membantu merubah lingkungan kimia area rhizosper sehingga P dapat terlepas dan tersedia bagi tanaman.

Keracunan Al dan defisiensi P seringkali terjadi bersama-sama di area dataran tinggi yang masam. Selain adanya interaksi antara Al dan P di tanah, beberapa studi menunjukkan adanya interaksi Al dan P pada tanaman. Ketersediaan P yang cukup akan menjamin pertumbuhan tanaman yang bagus dan meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman abiotik yang lain. Sementara itu keracunan Al akan menghambat pertumbuhan akar, menurunkan kemampuan tanaman untuk menyerap P dari tanah, dan membuat tanaman menjadi lebih sensitif terhadap cekaman abiotik yang lain.

Keterkaitan antara kedua cekaman tersebut menimbulkan dugaan kemungkinan adanya ketahanan ganda terhadap kedua cekaman tersebut. Akan tetapi hasil percobaan ini kurang mendukung dugaan tersebut. Dupa sebagai padi yang toleran terhadap cekaman Al menunjukkan pertumbuhan akar yang tidak berbeda dengan ITA yang peka terhadap Al, dan keduanya menunjukkan pertumbuhan yang kurang bagus dibandingkan dengan IR74 dan IR74-*Pup1*. Hal ini dimungkinkan karena perbedaan mekanisme ketahanannya terhadap cekaman Al dan cekaman defisiensi P. Secara keseluruhan penelitian ini kurangnya mencukupi untuk bisa mendapatkan gambaran keterkaitan antara kedua mekanisme ketahanan terhadap cekaman Al dan defisiensi P. Oleh karena itu penelitian balik dengan mengecek pertumbuhan padi toleran defisiensi P pada kondisi cekaman Al dimungkinkan akan memberikan gambaran lebih lengkap.

## KESIMPULAN DAN SARAN

Empat genotype padi yang dianalisa memiliki respon yang berbeda terhadap ketersediaan P yang berbeda. Genotype Dupa tidak menunjukkan ketahanan terhadap cekaman defisiensi P. Cakupan penelitian ini masih kurang untuk mendapatkan gambaran keterkaitan ketahanan terhadap cekaman Al dan defisiensi P pada varietas lokal Dupa.

## DAFTAR PUSTAKA

- Heuer, S., X. Lu, J.H. Chin, J.P. Tanaka, H. Kanamori, T. Matsumoto, T. De Leon, V.J. Ulat, A.M. Ismail, M. YANO, M. Wissuwa. 2009. Comparative sequence analyses of the major quantitative trait locus phosphorus uptake 1(*Pup1*) reveal a complex genetic structure. *Plant Biotechnol.* 7: 456–471
- Kochian L V. O.A.Hoekenga. and M.A. Pineros. 2004. How Do Crop Plants Tolerate Acid Soils? Mechanism of Aluminum Tolerance and Phosphorus Efficiency. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55:459–93

- Ma JF, PR Ryan and E Delhaize. 2001. Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids. Review. Trends Plant Sci. 6 (6): 273 - 278
- Nguyen, T L, and B C Buu. 2006. Mapping QTLs For Phosphorus Deficiency Tolerance IN Rice (*Oryza sativa* . L). Omonrice 14 1-9
- Ozturk L, S Eker, B Torun and I Cakmak,3. 2005. Variation in phosphorus efficiency among 73 bread and durum wheat genotypes grown in a phosphorus-deficient calcareous soil. Plant and Soil (2005) 269: 69–80
- Wissuwa, M., Yano, M., and Ae, N. 1998. Mapping of QTLs for phosphorus-deficiency tolerance in rice (*Oryza sativa* L.). Theor Appl Genet 97 : 777—783
- Wissuwa, M. and N. Ae. 2001a. Genotypic variation for tolerance to phosphorus deficiency in rice and the potential for its exploitation in rice improvement. Plant Breed 120: 43–48
- Wissuwa and N Ae. 2001b. Further characterization of two QTLs that increase phosphorus uptake of rice (*Oryza sativa* L.) under phosphorus deficiency Plant and Soil 237: 275–286
- Wissuwa, M., 2003. How Do Plants Achieve Tolerance to Phosphorus Deficiency? Small Causes with Big Effects. Plant Physiol. 133:1947–1958.