

The effect of drought stress on morphological and biochemical characteristics of some lily species under *in-vitro* condition

Esmaeil Chamani^{*1}, Sheyda Aminian², Younes Pourbeyrami Hir³

1. Corresponding Author, Professor, Dept. of Horticulture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: echamani@uma.ac.ir

2. M.Sc. Student, Dept. of Horticulture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: sh.aminian@gmail.com

3. Assistant Prof., Dept. of Horticulture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: younes_ph62@uma.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 07.06.2021
Revised: 09.13.2021
Accepted: 12.01.2021

Keywords:
Drought Stress,
Lily,
Polyethyleneglycol,
Proline

ABSTRACT

Background and Objectives: Environmental stresses could cause changing in the plants growth and development and drought stress is one of the most important factors limiting plant growth in the world and is the most common stress that threatens a large part of the world lands and reduces various crops. The use of plant tissue culture methods in laboratory conditions compared to field culture has provided a controlled environment for physiological studies such as the effects of drought stress using plants to manage the environmental factors to maximize productivity. Therefore, in this study, the effect of *in-vitro* drought stress on the growth of three species of lily and some of its compounds was investigated.

Materials and Methods: This study was performed as a factorial experiment in a completely randomized design in the tissue culture and biotechnology laboratory of university of mohaghegh ardabili for screening *in-vitro* of three species of lilies for drought stress. *In-vitro* bulblet scales of *L. tsingtauense*, *L. regale* and *L. ledebourii* in MS medium containing different concentrations of polyethyleneglycol 6000 (0, 5, 10, 20 and 40 g/l) was cultured. After two months, morphological characteristics of regenerated plantlets such as plantlets height, leaf length and number, number of bulblets, number of roots and fresh weight, as well as biochemical parameters such as proline, soluble carbohydrates, phenol, flavonoid, anthocyanin, chlorophyll and carotenoid were measured and evaluated separately in each of the treatments.

Results: In the present study, among the three species of lily, only *L. regale* regenerated leaves. The results showed that the plantlet height, number and length of leaf, number of bulblet and number of root and fresh weight of plantlet decreased with increasing drought stress. The highest number of bulblet was obtained from *L. ledebourii*, the highest number of root was obtained from *L. regale* and the highest fresh weight was obtained from *L. tsingtauense* explants. The highest amount of phenol and carotenoid was obtained from *L. regale* and the highest amount of proline was obtained from *L. ledebourii*, while *L. tsingtauense* had more flavonoid, anthocyanin and chlorophyll than other species. According to the results, the levels of proline, flavonoids and anthocyanin had a positive correlation with drought stress, but the highest amount of soluble carbohydrates and phenol from the treatment of 10 g/l PEG and the highest amount of carotenoid from the concentration of 5 g/l PEG was obtained.

Conclusion: In conditions of water deficiency, lily cause a series of morphophysiological changes to reduce the harmful effects of drought stress as drought tolerance mechanisms. In this study, drought stress caused by PEG *in-vitro*, by affecting physiological, biochemical and hormonal processes, reduced the growth indices of lily species, while the amount of biochemical indices associated. Therefore, the increase of proline, soluble carbohydrates and secondary metabolites, in addition to increasing the medicinal performance of the product, is a mechanism of drought tolerance in lily.

Cite this article: Chamani, Esmail, Aminian, Sheyda, Pourbeyrami Hir, Younes. 2022. The effect of drought stress on morphological and biochemical characteristics of some lily species under *in-vitro* condition. *Journal of Plant Production Research*, 29 (2), 201-219.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/JOPP.2022.19293.2846

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و زیست-شیمیایی برخی گونه‌های گل سوسن در شرایط درون‌شیشه‌ای

اسماعیل چمنی^{۱*}، شیدا امینیان^۲، یونس پوربیرامی^۳ هیر

۱. نویسنده مسئول، استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: echamani@uma.ac.ir

۲. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: sh.aminian@gmail.com

۳. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: younes_ph62@uma.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
<p>نوع مقاله: مقاله کامل علمی- پژوهشی</p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۱۵ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۱۰</p>	<p>سابقه و هدف: تنش‌های محیطی سبب ایجاد تغییراتی در رشد و نمو گیاهان می‌شود و تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در جهان می‌باشد و متداول‌ترین تنش است که بخش زیادی از اراضی جهان را تهدید و باعث کاهش محصولات مختلف می‌شود. استفاده از شیوه‌های کشت بافت گیاهان در شرایط آزمایشگاهی نسبت به کشت‌های مزرعه‌ای، محیط کنترل شده‌ای را برای مطالعات فیزیولوژیکی مانند اثرات تنش خشکی با استفاده از گیاهان فراهم کرده است تا با مدیریت عوامل محیطی بتوان به حداکثر محصول دست یافت. بنابراین در این پژوهش اثر تنش خشکی درون‌شیشه‌ای بر رشد سه گونه از گل سوسن و برخی ترکیبات آن مورد مطالعه قرار گرفت.</p>
<p>واژه‌های کلیدی: پرولین، پلی‌اتیلن‌گلیکول، تنش خشکی، گل سوسن</p>	<p>مواد و روش‌ها: این پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل و به صورت طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی دانشگاه محقق اردبیلی به‌منظور غربال‌گری درون‌شیشه‌ای سه گونه گل سوسن نسبت به تنش خشکی انجام گردید. فلس‌های سوخک درون‌شیشه‌ای <i>Lilium regale</i>، <i>Lilium singtauense</i> و <i>Lilium ledebourii</i> در محیط کشت پایه MS حاوی غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول (۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ گرم در لیتر) کشت گردید پس از دو ماه شاخص‌های ریخت‌شناسی گیاهچه‌های باززایی شده مانند ارتفاع گیاهچه، طول و تعداد برگ، تعداد سوخک، تعداد ریشه و وزن تر و هم‌چنین شاخص‌های بیوشیمیایی مانند میزان پرولین، کربوهیدرات‌های محلول، فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین، کلروفیل و کاروتنوئید در هر یک از تیمارها به‌صورت جداگانه اندازه‌گیری و مورد ارزیابی قرار گرفت.</p>
	<p>یافته‌ها: در پژوهش حاضر از بین سه گونه مورد مطالعه فقط ریزنمونه‌های <i>L. regale</i> برگ باززایی کرد نتایج نشان داد که ارتفاع گیاهچه، تعداد و طول برگ، تعداد سوخک و تعداد</p>

ریشه و وزن تر گیاهچه‌ها با افزایش تنش خشکی کاهش یافت. بیش‌ترین تعداد سوخک از *L. ledebourii*، بیشترین تعداد ریشه از *L. regale* و بیش‌ترین وزن تر از گیاهچه‌های *L. tsingtauense* به‌دست آمد. بیش‌ترین مقدار فنل و کاروتنوئید از *L. regale* و بیش‌ترین مقدار پرولین از *L. ledebourii* حاصل شد در حالی که *L. tsingtauense* نسبت به گونه‌های دیگر از فلاونوئید، آنتوسیانین و کلروفیل بیش‌تری برخوردار بود. طبق نتایج به‌دست آمده میزان پرولین، فلاونوئید و آنتوسیانین همبستگی مثبتی با میزان تنش خشکی داشت اما بیش‌ترین میزان کربوهیدرات‌های محلول و فنل از تیمار ۱۰ گرم در لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول و بیش‌ترین مقدار کاروتنوئید نیز از غلظت ۵ گرم در لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: در شرایط کمبود آب، گل سوسن یک سری تغییرات ریخت‌شناسی - فیزیولوژیکی را جهت کاهش اثرات مضر تنش خشکی به عنوان سازوکارهای تحمل به خشکی ایجاد می‌کند. در این پژوهش تنش خشکی حاصل از پلی‌اتیلن‌گلیکول در شرایط درون‌شیشه‌ای با تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی، زیست-شیمیایی و هورمونی شاخص‌های رشدی گیاهچه‌های گونه‌های گل سوسن را کاهش داد در حالی که میزان شاخص‌های زیست-شیمیایی تجمع پیدا کردند بنابراین افزایش پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و متابولیت‌های ثانویه علاوه بر افزایش عملکرد دارویی محصول، نوعی ساز و کار تحمل به تنش خشکی در گل سوسن محسوب می‌شود.

استناد: چمنی، اسماعیل، امینیان، شیدا، پوربیرامی، هیر، یونس (۱۴۰۱). تأثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و زیست-شیمیایی برخی گونه‌های گل سوسن در شرایط درون‌شیشه‌ای. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۲۹ (۲)، ۲۱۹-۲۰۱.

DOI: 10.22069/JOPP.2022.19293.2846



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

جنس سوسن‌ها مربوط به تیره سوسن‌سانان، تقریباً شامل صد گونه بوده که زیرگونه‌ها و واریته‌های آن عمدتاً در مناطقی از نواحی معتدل و سرد آسیای میانه گسترش یافته است. این گیاه علفی و دائمی جز گیاهان پیازی بدون پوشش دارای عمر طولانی، گل‌های قیفی شکل هستند و دارای متابولیت‌های ثانویه با ارزشی بوده که در صنعت دارویی، بهداشتی و غذایی قابل استفاده می‌باشد (۱). تنش‌های محیطی به مقدار قابل توجهی میزان متابولیت‌های ثانویه در گیاهان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد و در مقابل متابولیت‌های ثانویه نیز نقش محافظتی گیاهان در شرایط تنش را بر عهده می‌گیرند. این ترکیبات گیاهان را در مقابل عوامل مزاحم خارجی مانند آفات و پاتوژن‌های مختلف و شرایط نامساعد محیطی مانند خشکی و یا شرایط نامساعد خاک حفاظت می‌کند تا گیاهان بتوانند به حیات خود ادامه دهند. شواهد زیادی وجود دارد که نشان دهنده افزایش چند برابری متابولیت‌های ثانویه در برخی گیاهان تحت تنش‌های محیطی است در مواردی نیز کاهش میزان متابولیت‌های ثانویه تحت شرایط تنش‌های محیطی دیده می‌شود (۲).

تنش خشکی مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در جهان بوده که تقریباً ۲۵ درصد از اراضی جهان را محدود کرده و باعث کاهش عملکرد محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌شود (۳). کاهش مقدار آب در دسترس گیاه منجر به تنش خشکی و بروز تغییرات نامناسب ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی در گیاه می‌شود. کاهش درصد جوانه‌زنی بذرها، تغییر در میزان و کیفیت متابولیت‌های ثانویه گیاه مانند فلاونوئیدها و

آنتوسیانین‌ها، آلکالوئیدها، گلیکوزیدها، استروئیدها و روغن‌های فرار و همچنین تغییر در جذب و انتقال عناصر از اثرات تنش خشکی در گیاهان می‌باشد (۴). عملکرد یک گیاه دارویی نیز وقتی مقرون به صرفه است که مقدار متابولیت‌های اولیه و ثانویه آن به حد مطلوب رسیده باشد بنابراین با مدیریت عوامل محیطی مانند تنش خشکی می‌توان به حداکثر محصول دست یافت (۵).

پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG) نوعی پلی‌مر با وزن ملکولی بالا، جذب‌کننده آب و قابل انعطاف بوده که به دلیل کاهش پتانسیل آب محیط کشت باعث ایجاد فشار اسمزی منفی شده و از ورود آب به داخل سلول گیاه جلوگیری می‌کند و از این طریق برای تحمیل تنش آبی به گیاهان در شرایط درون‌شیشه‌ای کاربرد فراوان دارد. عدم جذب پلی‌اتیلن‌گلیکول و عدم ایجاد سمیت آن در شرایط درون‌شیشه‌ای و ثابت ماندن آن در تمام مدت تنش از مزایای آن به‌شمار می‌رود (۶) و برای تنش‌های اسمزی در مقایسه با دیگر محلول‌های سازگار مانند مانیتول و نمک بهترین تیمار شناخته شده است (۷).

تنش‌های محیطی و به ویژه تنش خشکی یکی از موانع اصلی در کاهش تولید محصولات گیاهان دارویی در بسیاری از نقاط دنیا به ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک مانند ایران محسوب می‌شود و ممکن است ترکیبات تولید شده در گیاهان دارویی تحت‌تأثیر تنش‌های محیطی افزایش یابد.

تاکنون پژوهش‌های فراوانی در مورد استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول در شرایط درون‌شیشه‌ای مانند گوجه‌فرنگی (۸)، ذرت (۹)، گندم (۱۰) و غیره گزارش شده است اثرات تنش خشکی بر رفتارهای مورفولوژیکی و متابولیت‌های ثانویه *Lilium davidii* هم توسط لی و همکاران (۲۰۲۰) مورد مطالعه قرار

گرفته است (۱۱). بررسی برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی در شرایط تنش خشکی درون‌شیشه‌ای می‌تواند به گزینش گونه‌های گیاهی متحمل کمک کند و هم‌چنین به‌عنوان روشی ارزشمند برای ارزیابی پاسخ‌های گیاهان به تنش خشکی باشد (۱۲). در پژوهش حاضر سعی شده است علاوه بر غربال کردن سه گونه از گل سوسن نسبت به تنش خشکی درون‌شیشه‌ای، مناسب‌ترین تیمارهای تنش خشکی برای حصول بیش‌ترین میزان ترکیبات دارویی در گیاه زینتی و دارویی گل سوسن مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل و به‌صورت طرح کاملاً تصادفی (CRD) در سال ۱۳۹۷-۱۳۹۸ در آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی دانشگاه محقق اردبیلی انجام گردید. در این آزمایش از سه گونه گل سوسن *L. tsingtauense*، *L. regale* و *L. ledebourii* (سوسن چلچراغ) استفاده شد. سوخک سوسن چلچراغ اواخر فصل تابستان از رویشگاه طبیعی آن در منطقه حیران استان اردبیل جمع‌آوری گردید ولی ریزنمونه‌های درون‌شیشه‌ای استریل دو گونه دیگر از دانشگاه بیجینگ کشور چین تهیه گردید. فلس‌های سالم و بیرونی سوخک سوسن چلچراغ به دقت از صفحه پایگاهی جدا و یک ساعت زیر آب جاری جهت شستشوی سطحی قرار گرفت. جهت استریل سطحی به مدت ۳۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد و سپس ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲ درصد قرار گرفت محیط کشت پایه MS جامد بدون تنظیم‌کننده‌های رشدی با pH=۵/۷ و حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز پس از تهیه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد در فشار ۱/۲ کیلوگرم بر

سانتی‌متر مربع استریل گردید و در نهایت ریزنمونه‌ها بعد از سه بار شستشو با آب مقطر دوبار استریل کشت گردید پس از باززایی و واکشت ریزنمونه‌های استریل گونه‌ها در محیط کشت جدید، فلس سوخک‌های با وزن تقریبی ۱/۵ تا ۲ گرم جمع‌آوری و در محیط کشت پایه MS جامد حاوی غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ (شرکت سیگما) (۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ گرم در لیتر) با ۳ تکرار و هر تکرار دارای ۵ ریزنمونه کشت گردید و تمامی کشت‌ها به مدت دو ماه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت دوره نوری در روز و زیر تابش مداوم لامپ فلوروسنت سفید نگهداری شدند. پس از این مدت، ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاهچه‌های باززایی شده از فلس‌ها از لحاظ ارتفاع گیاهچه، تعداد و طول برگ، تعداد سوخک، تعداد ریشه و وزن تر اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری شاخص‌های زیست-شیمیایی: برای اندازه‌گیری پرولین، نمونه‌های گیاهی در هاون چینی حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد ساییده شد و با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف گردید، ۲ میلی‌لیتر از هر کدام از محلول صاف شده، معرف ناین‌هیدرین و اسید استیک باهم مخلوط شد و به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم ۱۰۰ درجه سلسیوس حرارت داده شد واکنش با گذاشتن داخل یخ متوقف شد. پس از افزودن ۴ میلی‌لیتر تولوئن، به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه ورتکس شد. جذب نوری محلول قرمز رنگ فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر (نانودراپ) قرائت شد و از تولوئن نیز به عنوان شاهد استفاده شد (۱۳).

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات محلول، نمونه گیاهی حاوی برگ و سوخک داخل هاون چینی که در داخل ظرف حاوی یخ بود قرار داده شد سپس با

ابتدا ۰/۵ گرم از نمونه گیاهی در هاون چینی سائیده شد و کم‌کم ۲ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول/اسید کلریدریک: ۱/۹۹) به عنوان حلال به آن افزوده شد بعد از سائیدن نمونه گیاهی و تهیه محلول یکنواخت، عصاره سانتریفیوژ شده به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای معمولی اتاق قرار گرفت. میزان جذب رنگ در طول موج ۵۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از فرمول ضریب خاموشی استفاده شد. برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل و کاروتنوئید مقدار ۰/۱ گرم از بافت تازه برگ و سوخک گیاه با ۱ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد سائیده و له شد. مخلوط به‌دست آمده پس از سانتریفیوژ به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (نانودراپ) در سه طول موج مختلف ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر قرائت و ثبت گردید. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل شد و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

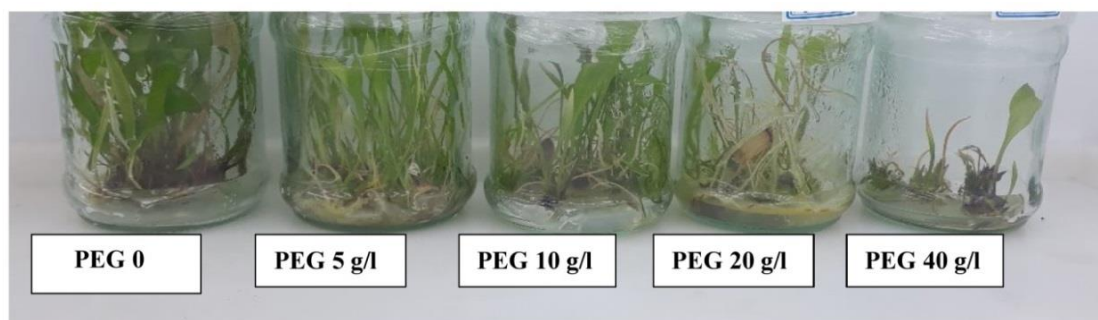
ارتفاع و برگ گیاهچه: در پژوهش حاضر از بین سه گونه مورد مطالعه گل سوسن در *L. regale* برگ باززایی شد در حالی که در گونه‌های *L. tsingtauense* و *L. ledebourii* (Baker) Boiss سوخک بدون برگ تولید شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر گونه و اثر غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول و همچنین اثر متقابل آنها بر ارتفاع گیاهچه، طول و تعداد برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج جدول مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که با افزایش غلظت

افزودن تدریجی ۲ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد کاملاً له گردید. سپس به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره به‌دست آمده ۳ میلی‌لیتر آنترون اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم در حال جوش قرار گرفت میزان جذب رنگ آن در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (نانودراپ) قرائت و ثبت گردید. منحنی استاندارد نیز با استفاده از گلوکز تهیه شد. به‌منظور اندازه‌گیری میزان فنل پس از تهیه عصاره با متانول ۸۰ درصد، میزان ترکیبات فنلی موجود در آن را بر اساس روش اسلینکرد و سینگلتن (۱۹۹۷) به‌دست آمد به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی سانتریفیوژ شده ۱/۵ میلی‌لیتر فولین‌سیوکالتیو ۱۰ برابر رقیق شده اضافه شد. بعد از گذشت ۵ دقیقه در دمای اتاق، مقدار ۱/۴ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷ درصد به آن افزوده و پس از مخلوط کردن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی نگهداری شده و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (نانودراپ) میزان جذب رنگ در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت و ثبت گردید. منحنی استاندارد نیز با استفاده از ماده اسیدگالیک رسم گردید (۱۴).

جهت اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل، ۰/۵ گرم از نمونه گیاهی داخل هاون چینی با افزودن تدریجی ۲ میلی‌لیتر اتانول اسیدی (اتانول/اسید کلریدریک: ۱/۹۹) سائیده و له گردید. بعد از تهیه محلول یکنواخت، فاز جامد و فاز مایع آن با سانتریفیوژ جدا کرده و به یک میلی‌لیتر از عصاره آماده شده ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم‌کلراید، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۱/۸ میلی‌لیتر آب اضافه شد و پس از مخلوط شدن به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی در دمای اتاق نگهداری شد در مرحله بعد میزان جذب رنگ در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. برای رسم منحنی استاندارد نیز از کوئرستین استفاده شد. برای به‌دست آوردن مقدار آنتوسیانین

سوخت‌وساز مواد و هورمون‌های مختلف رشد گیاه را کاهش می‌دهد (۱۵ و ۱۶). پژوهش‌های زیادی روی گیاهان دارویی مختلف از جمله خانواده نعنائیان و گل محمدی تحت تنش خشکی انجام شده که در تمامی آن‌ها تنش خشکی در شرایط محیطی سبب کاهش تعداد و مساحت برگ شده است (۱۷). بارت و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که در گیاهان مریم‌گلی و همیشه بهار با افزایش سطح خشکی در شرایط محیطی طول گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌دار کاهش می‌یابد (۱۸).

پلی‌اتیلن‌گلیکول ارتفاع گیاهچه، طول و تعداد برگ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت طوری که تیمار شاهد دارای بیش‌ترین و تیمار پلی‌اتیلن‌گلیکول (۴۰ میلی‌گرم در لیتر) نیز دارای کم‌ترین ارتفاع گیاهچه، طول و تعداد برگ بود (جدول ۲) (شکل ۱). گزارش‌های فراوانی مبنی بر کاهش طویل شدن و تقسیم سلولی در اثر تنش خشکی وجود دارد پدیده تنش خشکی با تأثیر بر فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و زیست-شیمیایی مانند فتوسنتز، تنفس، کربوهیدرات‌ها، انتقال و جذب یون‌ها،



شکل ۱- رشد گیاهچه‌های گل سوسن (*Lilium regale*) در سطوح مختلف تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلیکول به ترتیب از چپ به راست: (۰، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ گرم در لیتر).

Fig. 1. Growth of lily seedlings (*Lilium regale*) at different levels of drought stress caused by polyethylene glycol from left to right respectively: (0, 5, 10, 20 and 40 g/l).

عبدالرحمان و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که در شرایط درون‌شیشه‌ای طول و تعداد برگ گیاه شاهی با افزایش سطح تنش خشکی به‌صورت معنی‌دار کاهش یافت (۲۰) که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر همسو بود.

رانی‌روی و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که بیش‌ترین ارتفاع شاخساره در ژنوتیپ‌های مختلف گوجه‌فرنگی در شرایط درون‌شیشه‌ای از تیمار شاهد به‌دست آمد در حالی که محیط‌کشت حاوی بیش‌ترین مقدار پلی‌اتیلن‌گلیکول، کمترین ارتفاع شاخساره را تولید کرد (۱۹) در همین راستا

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس اثر گونه و پلی‌اتیلن‌گلیکول بر صفات ریخت‌شناسی گل سوسن.

Table 1. Analyses of variance of the effect of specie and PEG on morphological traits on lily.

میانگین مربعات Mean squares						درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V
وزن تر Fresh weight	تعداد ریشه Root number	تعداد برگ Leaf number	طول برگ Leaf Length (cm)	تعداد سوخک Bulblet number	ارتفاع گیاهیچه Plantlet Height (cm)		
0.33**	0.81**	4.58**	2.71**	8.13**	1.21**	2	گونه Specie
0.55**	0.25**	0.30**	0.34**	0.38**	0.08**	4	پلی‌اتیلن‌گلیکول PEG
0.02**	0.25**	0.30**	0.34**	0.05 ^{ns}	0.08**	8	گونه × پلی‌اتیلن‌گلیکول Specie × PEG
0.003	0.016	0.02	0.006	0.06	0.005	20	اشتباه آزمایشی Error
6.57	4.96	15.65	8.67	14.66	8.64	-	ضریب تغییرات (درصد) CV%

** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد

** and ^{ns} Significant at 1% and nonsignificant probability levels

سوخک را صرف تکمیل چرخه زندگی در شرایط خشکی می‌کند و بدین طریق مقاومت به خشکی را تا حدودی بهبود می‌بخشد (۱۱).

تعداد ریشه: طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها اثر گونه و اثر غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر تعداد ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بررسی جدول مقایسه میانگین داده نشان داد که واکنش گونه‌های مختلف گل سوسن از لحاظ شاخص‌های ریشه‌زایی کمی متفاوت بود. بیش‌ترین تعداد ریشه در گیاهیچه‌های *L. tsingtauense* به‌دست آمد و کم‌ترین تعداد ریشه نیز از *L. ledebourii* نسبت به دو گونه دیگر به‌دست آمد هم‌چنین نتایج نشان داد که در *L. ledebourii* و *L. tsingtauense* محیط کشت دارای ۵ گرم در لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول تعداد ریشه

تعداد سوخک: بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر گونه و اثر غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول بر تعداد سوخک در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی اثر متقابل گونه و غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول بر تعداد سوخک معنی‌دار نبود (جدول ۱). بررسی حاصل از نتایج جدول مقایسه میانگین داده‌ها نیز نشان داد که گونه *L. ledebourii* نسبت به گونه‌های دیگر از تعداد سوخک بیش‌تری برخوردار است هم‌چنین با افزایش غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول تعداد سوخک در هر یک از گونه‌ها کاهش یافت (جدول ۵). لی و همکاران (۲۰۲۰) نیز در پژوهشی مشابه گزارش کردند که در *Lilium davidii* var. *unicolor* با افزایش سطوح خشکی در شرایط مزرعه به‌طور معنی‌داری سوخک‌های باززایی شده کاهش یافت بنابراین گل سوسن مواد مغذی مورد نیاز برای تولید

درون‌شیشه‌ای نسبت به تنش خشکی حاصل از غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول غربال‌گری نمود در ارقام مورد مطالعه شاخص‌های رشدی از جمله تعداد و طول ریشه با افزایش سطوح تنش کاهش یافت (۲۱) که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر هم‌راستا می‌باشد.

بیش‌تری داشت در حالی که *L. regale* تیمار شاهد نسبت به تیمارهای دیگر از تعداد ریشه بیش‌تری برخوردار بود (جدول ۲). فاروق و همکاران (۲۰۰۹) گزارش دادند که تنش خشکی شاخص‌های رشدی گیاه را محدود و کاهش می‌دهد (۱۵). هرناندزپرز و همکاران (۲۰۲۱) ارقام مختلف نیشکر را در شرایط

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر گونه و پلی‌اتیلن‌گلیکول بر صفات ریخت‌شناختی گل سوسن.

Table 2. Comparison of the mean effect of specie and PEG on morphological traits of lily.

وزن تر Fresh weight	تعداد ریشه Root number	تعداد برگ Leaf number	طول برگ Leaf length (cm)	ارتفاع گیاهچه Plantlet Height (cm)	پلی‌اتیلن‌گلیکول PEG	گونه Specie
1.49 ^a	1.88 ^{bc}	0 ^d	0 ^e	0 ^e	0	<i>L. tsingtauense</i>
1.43 ^a	2.21 ^b	0 ^d	0 ^e	0 ^e	5	
1.16 ^b	2.02 ^{bc}	0 ^d	0 ^e	0 ^e	10	
1.09 ^{bc}	2.08 ^b	0 ^d	0 ^e	0 ^e	20	
1.07 ^{bc}	1.87 ^{bcd}	0 ^d	0 ^e	0 ^e	40	
1.05 ^{cd}	0.76 ^{ef}	0 ^d	0 ^e	0 ^e	0	<i>L. ledebourii</i>
0.98 ^{cd}	1.13 ^{cdef}	0 ^d	0 ^e	0 ^e	5	
0.94 ^d	0.55 ^f	0 ^d	0 ^e	0 ^e	10	
0.83 ^e	0.79 ^{ef}	0 ^d	0 ^e	0 ^e	20	
0.77 ^e	0.61 ^f	0 ^d	0 ^e	0 ^e	40	
0.75 ^e	6.78 ^a	3.71 ^a	3.71 ^a	1.65 ^a	0	<i>L. regale</i>
0.75 ^e	2.14 ^b	2.11 ^b	1.29 ^b	0.76 ^b	5	
0.71 ^{ef}	1.96 ^{bc}	1.63 ^{cb}	0.72 ^c	0.54 ^c	10	
0.61 ^f	2.13 ^b	1.33 ^c	0.65 ^c	0.54 ^c	20	
0.60 ^f	1.58 ^{bcd}	0.23 ^d	0.26 ^d	0.23 ^d	40	

حروف مشترک در هر ستون نمایان‌گر عدم تفاوت معنی‌داری می‌باشد

The common letters in each column indicate a nonsignificant difference

وزن تر نیز روند کاهشی پیدا کرد (جدول ۲) بنابراین روشن می‌شود یکی از واکنش‌های گونه‌های گل سوسن در مقابل تنش خشکی کاهش وزن تر می‌باشد. در این آزمایش *L. regale* دارای برگ بود ولی دو گونه دیگر فاقد برگ بودند با توجه این‌که برگ‌ها آب بیش‌تری در بافت خود دارند کاهش بیش‌تر وزن تر در این گونه نسبت به دو گونه دیگر

وزن تر: طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها اثر گونه و اثر غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول و هم‌چنین اثر متقابل آن بر وزن تر گیاهچه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). بر اساس نتایج به‌دست آمده *L. regale* در مقایسه با دو گونه دیگر از وزن تر بیش‌تری برخوردار بود. بررسی جدول مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش سطوح خشکی

بروز آسیب به گیاه ممانعت شود، این نتایج توسط قربانلی و همکاران (۲۰۱۰) نیز در گیاه سیاهدانه گزارش شده بود (۲۶). پرولین در تنظیم فشار اسمزی، حفاظت از مولکول‌های پروتئینی و یکپارچگی غشای سلولی، ذخیره کربن و نیتروژن و عمل آنتی‌اکسیدانی نقش دارد (۲۷) و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن را به عهده می‌گیرد (۴). رضوی‌زاده و همکاران (۲۰۱۴) تجمع میزان پرولین در اثر تنش کمبود آب در گیاه زنیان را گزارش نمود (۲۸). ممنوعی و همکاران (۲۰۱۰) در گیاه جو (۲۹)، علی‌آبادی و همکاران (۲۰۰۸) در گیاه گشنیز نیز به نتایج مشابهی دست یافت (۳۰) که تمامی این یافته‌ها در راستای تأیید نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. در پژوهش حاضر با توجه به این‌که افزایش مقدار پرولین با افزایش سطح خشکی همبستگی مثبت دارد بنابراین مشخص می‌شود که افزایش پرولین از طریق تنظیم پتانسیل اسمزی نوعی ساز و کار حفاظتی و تحمل به تنش خشکی بوده و یکی از واکنش‌های فیزیولوژیکی سوخک گل سوسن در مقابل تنش خشکی می‌باشد (۲۷) بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که سوسن چلچراغ نسبت به دو گونه دیگر در مقابل تنش خشکی متحمل‌تر است.

کربوهیدرات‌های محلول: بررسی نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که گونه‌های گل سوسن و غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول و اثر متقابل آن‌ها از لحاظ مقدار کربوهیدرات‌های محلول در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در بین گونه‌های مورد مطالعه *L. tsingtauense* نسبت به دو گونه دیگر از لحاظ کربوهیدرات‌های محلول غنی‌تر بود مقایسه میانگین داده‌ها هم نشان داد که در این گونه تیمارهای ۵ و ۱۰ گرم در لیتر در مقایسه با تیمارهای دیگر از کربوهیدرات‌های محلول بیش‌تری برخوردار بود در حالی‌که در گونه‌های دیگر گل

دور از انتظار نبود. میزان آب بافت‌ها در گل سوسن تحت تنش خشکی از طریق برخی ساز و کارهای فیزیولوژیکی برای افزایش جذب آب تنظیم می‌شود و با افزایش شدت تنش مقدار میزان انبساط سلولی در نتیجه از دست دادن تورگور کاهش و به دنبال آن وزن تر کاهش می‌یابد (۲۲) که این نتایج با نتایج پژوهش کولوم و همکاران (۲۰۰۳) و جانگپروما و همکاران (۲۰۱۰) نیز مطابقت دارد (۲۳ و ۲۴). لی و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان دادند که در گونه‌ای از گل سوسن وزن تر و وزن خشک گیاهچه‌ها همبستگی منفی با سطوح تنش خشکی دارند (۱۱). رانی‌روی و همکاران (۲۰۱۷) نیز در ژنوتیپ‌های مختلف گوجه‌فرنگی نتایج مشابهی را گزارش کرده بودند (۱۹) که این نتایج با یافته‌های این پژوهش همسو می‌باشد.

پرولین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر گونه‌های گل سوسن و غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول و اثر متقابل آنها بر شاخص پرولین در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بررسی نتایج به‌دست آمده از جدول مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در بین سه گونه گل سوسن *L. ledebourii* نسبت به دو گونه دیگر از میزان پرولین بیش‌تری برخوردار است در هر یک از گونه‌های گل سوسن با افزایش غلظت پلی‌اتیلن‌گلیکول در محیط کشت مقدار پرولین افزایش یافت طوری که حداکثر غلظت پرولین در تیمارهای ۴۰ گرم در لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول و حداقل غلظت پرولین در تیمارهای شاهد به‌دست آمد (جدول ۴). افزایش پرولین گیاهان در زمان بروز تنش می‌تواند ناشی از تغییر در سرعت اکسیداسیون پرولین به گلوتامات یا عدم دخالت آن در ساخت پروتئین باشد (۲۵). تجمع اسید آمینه پرولین در شرایط تنش‌های اسمزی نه تنها فعالیت‌های شیمیایی گیاه را متوقف نمی‌کند بلکه به‌عنوان یک محافظ اسمزی ایفای نقش می‌کند تا از

تنش در شرایط محیطی افزایش می‌یابد (۳۳). لی و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی اثر تنش خشکی بر *Lilium davidii* به این نتیجه رسیدند که با افزایش سطوح خشکی فندهای محلول، پلی‌ساکاریدها و فروکتوز کاهش پیدا کرد و در مقابل گلوکز و تری‌هالوز افزایش پیدا کرد (۱۱) بنابراین گونه‌های مختلف گل سوسن پاسخ‌های فیزیولوژیکی متفاوتی به سطوح خشکی نشان می‌دهند و در پژوهش حاضر تجمع کربوهیدرات محلول به موازات تجمع پرولین در جهت تنظیم اسمزی گل سوسن با افزایش میزان پلی‌اتیلن‌گلیکول در محیط کشت نیز نوعی ساز و کار حفاظتی محسوب می‌شود.

سوسن با افزایش تنش خشکی به‌طور منظم کربوهیدرات‌های محلول افزایش پیدا کرد (جدول ۴). علت این پدیده می‌تواند به دلیل افزایش تجزیه کربوهیدرات‌های نامحلول و بالا رفتن سطح کربوهیدرات‌های محلول، سنتز مواد اسمزی از مسیرهای غیرتوسنتزی، توقف رشد، کاهش سرعت انتقال مواد و افزایش میزان سنتز ساکارز باشد (۳۱) هم‌چنین تجمع کربوهیدرات‌های محلول در سلول‌های گیاهی کاهش پتانسیل اسمزی سلول‌ها را سبب شده و بدین طریق سبب ادامه و حفظ جذب آب و فشار تورگر می‌شود (۳۲). آران و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی اثر تنش خشکی در انگور گزارش کردند که میزان کربوهیدرات‌های محلول کل با افزایش شدت

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر گونه و پلی‌اتیلن‌گلیکول بر صفات زیست- شیمیایی گل سوسن.

Table 3. Analysis of variance of the effect of specie and PEG on biochemical traits on lily.

میانگین مربعات Mean squares							درجه آزادی df	منابع تغییر S.O.V
کاروتنوئید Carotenoid	کلروفیل Chlorophyll	آنتوسیانین Anthocyanin	فلاونوئید Flavonoid	فنول Phenol	کربوهیدرات Carbohydrate	پرولین Proline		
76.44**	0.21**	5.00**	400**	3.02**	0.11**	10.96**	2	گونه Specie
3.88**	0.02**	0.34**	250**	1.7*	0.04**	14.59**	4	پلی‌اتیلن‌گلیکول PEG
36.02**	0.001 ^{ns}	0.10*	101**	0.82**	0.03**	1.73**	8	گونه × پلی‌اتیلن‌گلیکول Specie × PEG
0.33	0.0025	0.04	6.86	0.09	0.001	0.25	28	اشتباه آزمایشی Error
9.79	14.44	19.79	12.10	25.19	9.50	13.88	-	ضریب تغییرات (درصد) CV%

*, ** و ^{ns} به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ۱ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد

*, ** and ^{ns} Significant at 5%, 1% and nonsignificant probability levels

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل گونه و پلی‌اتیلن‌گلیکول بر صفات زیست- شیمیایی گل سوسن.

Table 4. Comparison of the mean effect of specie and PEG on biochemical traits of lily.

کاروتنوئید Carotenoid	آنتوسیانین Anthocyanin	فلاونوئید Flavonoid	فنل Phenol	کربوهیدرات Carbohydrate	پرولین Proline	پلی‌اتیلن‌گلیکول PEG	گونه Specie
8.23 ^e	0.98 ^d	19.09 ^{efg}	0.75 ^{ed}	0.37 ^{ef}	2.74 ^e	0	<i>L. tsingtauense</i>
9.22 ^e	1.57 ^{ab}	27.63 ^{bc}	1.18 ^{dc}	0.69 ^a	2.67 ^e	5	
8.40 ^e	1.60 ^{ab}	28.68 ^{bc}	1.66 ^{bc}	0.70 ^a	2.65 ^e	10	
4.10 ^f	1.74 ^{ab}	30.70 ^b	1.24 ^{cd}	0.59 ^b	3.08 ^{de}	20	
3.59 ^{fgh}	1.89 ^a	21.49 ^{def}	0.42 ^e	0.43 ^{de}	4.41 ^{bc}	40	
4.08 ^f	0.31 ^f	8.63 ^b	0.42 ^e	0.31 ^f	3.11 ^{de}	0	<i>L. ledebourii</i>
3.91 ^{fg}	0.34 ^f	10.18 ^b	0.59 ^e	0.39 ^{ef}	3.83 ^{cd}	5	
2.95 ^{ghi}	0.37 ^f	17.22 ^{fg}	0.56 ^e	0.38 ^{ef}	4.94 ^b	10	
2.90 ^{ghi}	0.50 ^{ef}	17.97 ^{efg}	0.53 ^e	0.41 ^{ed}	5.03 ^b	20	
2.72 ^{hi}	0.53 ^{ef}	23.68 ^{cd}	0.30 ^e	0.52 ^{bc}	6.34 ^a	40	
1.92 ⁱ	0.84 ^{de}	15.42 ^g	1.30 ^{cd}	0.32 ^f	1.56 ^f	0	<i>L. regale</i>
5.72 ^e	0.89 ^{de}	19.39 ^{efg}	1.60 ^c	0.35 ^{ef}	1.66 ^f	5	
6.95 ^d	1.41 ^{bc}	21.71 ^{def}	1.75 ^{bc}	0.40 ^{ef}	2.33 ^{ef}	10	
10.57 ^b	1.21 ^{cd}	22.39 ^{de}	1.72 ^{bc}	0.47 ^{ed}	4.55 ^{bc}	20	
12.75 ^a	1.10 ^{cd}	39.24 ^a	2.19 ^{ab}	0.51 ^{bc}	6.05 ^a	40	

حروف مشترک در هر ستون نمایانگر عدم تفاوت معنی‌داری می‌باشد

The common letters in each column indicate a nonsignificant difference

تنش‌های محیطی با تأثیر بر روی متابولیت‌های ثانویه و محتوای فنل باعث افزایش عملکرد گیاه شده و راهکار مناسبی برای افزایش کارایی و عملکرد گیاهی هست (۳۵) بنابراین گل سوسن در شرایط تنش خشکی به علت افزایش رادیکال‌های آزاد ترکیبات فنلی را افزایش داده تا بتواند واکنش دفاعی مناسبی را در پیش گیرد.

فلاونوئید: نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری فلاونوئید نشان داد که اثر گونه و غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول و اثر متقابل آن‌ها از لحاظ مقدار فلاونوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج به‌دست آمده از جدول مقایسه میانگین نشان داد که از بین سه گونه *L. tsingtauense* نسبت به دو گونه دیگر بیش‌ترین غلظت فلاونوئید را داشت و

فنل: نتایج نشان داد که اثر گونه و اثر متقابل آن با غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول در سطح احتمال یک درصد و اثر غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول از لحاظ مقدار فنل در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بر اساس نتایج به‌دست آمده از جدول مقایسه میانگین در *L. tsingtauense* محیط کشت دارای پلی‌اتیلن‌گلیکول ۱۰ گرم در لیتر و در *L. ledebourii* پلی‌اتیلن‌گلیکول ۵ گرم در لیتر مقدار فنل بیش‌تری داشت در حالی که در *L. regale* با افزایش پلی‌اتیلن‌گلیکول تا ۴۰ گرم در لیتر میزان فنل افزایش یافت (جدول ۴). گیاهان با تولید مانند فنل از ساختارهای سلولی خود در برابر رادیکال‌های فعال تولید شده در شرایط تنش محافظت می‌کنند (۳۴). دهقانی بیدگلی (۲۰۱۸) هم نشان دادند که استفاده از

آنتی‌اکسیدانی را متأثر کرده (۲۸) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحریک می‌کند (۴۰).

کلروفیل: بررسی نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر گونه‌ها و غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن‌گلیکول بر کلروفیل در سطح احتمال یک درصد اثر معنی‌داری است ولی اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نیست (جدول ۲). در این آزمایش بیش‌ترین میزان کلروفیل از *L. tsingtauense* به‌دست آمد در هر یک از گونه‌ها با افزایش میزان پلی‌اتیلن‌گلیکول در محیط کشت از میزان کلروفیل کاسته شد (جدول ۵). لی و همکاران (۲۰۲۰) با مطالعه اثر تنش خشکی بر میزان کلروفیل *Lilium davidii var. unicolor* اثبات کردند که همبستگی منفی بین تنش خشکی و میزان کلروفیل وجود دارد (۱۱). با کاهش سطح برگ، انسداد روزنه‌ها، کاهش فعالیت‌های پروتوپلاسمی و تثبیت گاز کربنیک، باعث کاهش میزان کلروفیل می‌شود. پتانسیل آب در برگ‌ها میزان فتوسنتز را مستقیم تحت‌تأثیر قرار داده و به‌طور مستقیم بر فرآیندهای زیست-شیمیایی مربوط به فتوسنتز اثر گذاشته و به‌طور غیرمستقیم ورود گاز کربنیک به داخل روزنه‌ها را کاهش می‌دهد و جذب گاز کربنیک، انتقال مواد فتوسنتزی و انتقال مواد خام در آوندهای چوبی کاهش پیدا می‌کند (۴۱) بنابراین با افزایش میزان پلی‌اتیلن‌گلیکول در محیط‌کشت از فتوسنتز ممانعت شده و به دنبال آن باعث تغییر در میزان کلروفیل و صدمه به ساختارهای فتوسنتزی می‌شود که علت آن اختلال در تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و سازوکارهای دفاعی برطرف‌کننده این رادیکال‌هاست که به تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و القای تنش اکسیداتیو و به دنبال آن خسارت به پروتئین‌ها، لیپیدهای غشا و سایر اجزای سلولی منجر می‌شود (۴۱). کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تنش ممکن است افزایش محتوای پرولین آزاد

بیش‌ترین مقدار آن در بین تیمارها از غلظت ۲۰ گرم در لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول بدست آمد و ولی در گونه‌های دیگر غلظت فلاونوئید همبستگی مثبتی با مقدار پلی‌اتیلن‌گلیکول در محیط کشت داشت (جدول ۴). فلاونوئیدها در برابر رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش حفاظتی دارند و قادرند تولید رادیکال‌های آزاد را مهار کنند (۳۶). فابریکی اورنگ و داودنیا (۲۰۱۹) نشان دادند که میزان متابولیت‌های ثانویه از جمله میزان فلاونوئید کل برگ تحت شرایط تنش خشکی در آویشن باغی افزایش می‌یابد (۳۷) که این نتایج با نتایج پژوهش حاضر هم‌راستا است.

آنتوسیانین: بر اساس نتایج به‌دست آمده گونه‌های مختلف گل سوسن و غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول در سطح احتمال یک درصد و اثر متقابل آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد بر مقدار آنتوسیانین اثر معنی‌داری داشت (جدول ۲). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها بیش‌ترین غلظت آنتوسیانین در *L. tsingtauense* بود هم‌چنین نتایج نشان داد که حداکثر غلظت آنتوسیانین در *L. regale* از تیمار ۲۰ گرم در لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول حاصل شد و در گونه‌های دیگر با افزایش غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول به‌طور منظم بر مقدار آنتوسیانین نیز افزوده شد (جدول ۴). نقش آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین‌ها می‌تواند از طریق تابش و گونه‌های اکسیژن فعال رخ دهد (۳۸). با توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی آنتوسیانین‌ها افزایش معنی‌دار مقدار آنتوسیانین‌ها در طی تنش خشکی گیاهان و افزایش بیش‌تر آن‌ها در زمان تنش قابل توجه است بنابراین گل سوسن برای کاهش خسارت حاصل از تنش اکسیداتیو، مقدار آنتوسیانین را افزایش داده تا بتواند در برابر تنش آبی مقاومت کند. افزایش مقدار آنتوسیانین در گیاهان در پاسخ به تنش خشکی توسط پژوهشگران زیادی به اثبات رسیده که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (۳۹). آنتوسیانین‌ها ظرفیت

نتیجه کاهش رنگدانه‌ها می‌باشد. تنش خشکی باعث اختلال در سامانه‌های آنزیمی جاروب‌کننده گونه‌های اکسیژن فعال و در نتیجه افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و خسارت به غشای سلولی و تخریب رنگیزه‌ها می‌شود (۳۶).

باشد. گلوتامات پیش‌ماده مشترک سنتز کلروفیل و پرولین بوده و در شرایط تنش خشکی با توجه به این‌که پرولین افزایش می‌یابد از میزان کلروفیل کاسته می‌شود. از دلایل دیگر کاهش کلروفیل طی تنش خشکی تولید گونه‌های فعال اکسیژن، تجزیه و در

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر گونه و پلی‌اتیلن‌گلیکول بر تعداد سوخک و کلروفیل گل سوسن.

Table 5. Comparison of the mean effect of specie and PEG on bulblet number and chlorophyll of lily.

کلروفیل Chlorophyll	تعداد سوخک Bulblet number	تیمار Treatment
0.39 ^b	1.25 ^b	<i>L. regale</i>
0.21 ^c	5.18 ^a	<i>L. ledebourii</i>
0.44 ^a	1.67 ^b	<i>L. tsingtauense</i>
0.41 ^a	3.59 ^a	PEG 0
0.37 ^{ab}	2.73 ^b	PEG 5 (mg L ⁻¹)
0.33 ^b	2.69 ^b	PEG 10 (mg L ⁻¹)
0.34 ^b	2.42 ^b	PEG 20 (mg L ⁻¹)
0.28 ^c	2.05 ^b	PEG 40 (mg L ⁻¹)

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌داری می‌باشد

The common letters in each column indicate a nonsignificant difference

یافت طوری که بیش‌ترین غلظت در تیمار ۴۰ میلی‌گرم در لیتر پلی‌اتیلن‌گلیکول و کم‌ترین غلظت در تیمار شاهد بود (جدول ۴). با توجه به این‌که در این پژوهش گونه *L. regale* علاوه بر سوخک دارای برگ فراوانی بود که با افزایش سطح خشکی کاروتنوئید نیز روند صعودی داشت در حالی که در دو گونه دیگر که فاقد برگ بودند رابطه معکوسی بین سطح خشکی و میزان کاروتنوئید وجود داشت. در این پژوهش رنگیزه‌های کاروتنوئیدی در کلروپلاست برگ‌های تحت تنش خشکی *L. regale* تجمع پیدا کردند تا غشاءهای کلروپلاستی را در مقابل تنش اکسیداتیو محافظت کند و در واقع ساز و کار دیگری است که قادر است در برگ انرژی زیاد طول موج‌های

کاروتنوئید: بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس گونه‌های مختلف گل سوسن و غلظت‌های پلی‌اتیلن‌گلیکول و اثر متقابل آن‌ها بر مقدار تولید کاروتنوئید در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). بیش‌ترین غلظت کاروتنوئید در *L. regale* و کم‌ترین غلظت کاروتنوئید در *L. ledebourii* بود. بررسی نتایج حاصل از جدول مقایسه میانگین نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان کاروتنوئید در *L. tsingtauense* و *L. ledebourii* که فاقد برگ بودند به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و تیمارهای شاهد از لحاظ مقدار کاروتنوئید غنی‌تر بود اما در *L. regale* که دارای برگ بودند با افزایش تنش خشکی غلظت کاروتنوئید به‌طور معنی‌دار افزایش

را به‌عنوان بخشی از راهبرد برای کاهش اثرات مضر تنش خشکی بروز می‌دهد که در نتیجه آن سازوکارهای تحمل به خشکی ایجاد می‌شود (۴۶). در پژوهش حاضر نیز تنش خشکی با کاهش طولی شدن و تقسیم سلولی و با تأثیر بر فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و زیست-شیمیایی و هورمونی شاخص‌های رشد گیاهچه‌ها مانند ارتفاع گیاهچه، طول و تعداد برگ، تعداد سوخک، تعداد ریشه و وزن تر را کاهش داد. تجمع پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و برخی متابولیت‌های ثانویه مانند ترکیبات فنلی و فلاونوئید و آنتوسیانین در زمان وقوع تنش حاصل از خشکی نوعی سازوکار تحمل به تنش خشکی بوده و شاخصی جهت ارزیابی مقاومت گیاهچه‌ها به تنش محسوب می‌شود. استفاده از تنش خشکی با تأثیر بر متابولیت‌های ثانویه علاوه بر بالا بردن واکنش دفاعی گل سوسن راهکار مناسبی برای افزایش راندمان و عملکرد دارویی می‌باشد. به‌طورکلی در این پژوهش تنش خشکی باعث افزایش ترکیبات پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و برخی متابولیت‌های ثانویه شد با وجود این، تأیید چنین نتایج امیدبخشی به پژوهش‌های تکمیلی در شرایط مزرعه‌ای نیازمند است.

کوتاه را با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن آزاد شده نقش آنتی‌اکسیدانی ایفا کنند (۴۲). توحیدی (۲۰۱۵) گزارش کرد که تغییرات رنگی‌های فتوسنتزی علاوه بر برداشت نوری و حفاظت از آسیب اکسیداتیوی ناشی از اثر خشکی، نقش‌های متنوعی دارند و افزایش محتوای کاروتنوئیدها برای تحمل تنش خشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۴۳). کاهش کاروتنوئید با افزایش تنش خشکی در گیاه زوفا توسط قربانلی و همکاران (۲۰۱۰) (۲۶) هم‌چنین در گیاه شوید توسط ستایش مهر (۲۰۱۲) گزارش شده است (۴۴) که این یافته‌ها با نتایج مربوط به *L. regale* مطابقت و با نتایج مربوط به دو گونه دیگر پژوهش حاضر مغایرت دارد بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نوع گونه گیاهی در واکنش به مقدار تولید کاروتنوئید در شرایط تنش خشکی می‌تواند متفاوت باشد که اشرف و فاروق (۲۰۰۵) نیز در پژوهش خود به چنین نتیجه‌ای دست یافته بود (۴۵).

نتیجه‌گیری

مسیر نشانک‌دهی هر تنش غیرزیستی شامل مراحل کلیدی خاصی مانند درک نشانک، انتقال، پاسخگویی، همراه با فعال شدن واکنش‌های فیزیولوژیکی و سوخت‌وسازی می‌باشد (۲۱). در شرایط کمبود آب، گیاهان یک سری تغییرات ریخت‌شناسی-فیزیولوژیکی

منابع

1. Azad, P. and Khosh-Khui, M. 2007. Micropropagation of *Lilium Ledebourii* bioss. as affected by plant growth regulator, sucrose concentration, harvesting season and cold treatments. J. Biotech. 10: 4. 583-591.
2. Walpola, B.C. and Arunakumara, K.K. 2017. Effect of salt stress on decomposition of organic matter and nitrogen mineralization in animal manure amended soils. Agric. Sci. J. 5: 1. 9-18.
3. Khan, A.S., Ul-Allah, S. and Sadique, S. 2010. Genetic variability and correlation among seedling traits of wheat (*Triticum sativum*) under water stress. Agric. Biology J. 12: 2. 247-250.
4. Amobeigi, M. and Razavizadeh, R. 2013. Effects of drought stress and PBA on flavonoid accumulation and minerals in *Brassica napus*. J. Plant Echophysiol. 8: 31.12-22. (In Persian)

5. Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C. and Takahashi, Y. 2008. Polyamines: essential localizations of anthocyanin in arabidopsis. *Plant Signaling Behavior J.* 10: e1027850.
6. Dami, I. and Hughes, H. 1995. Leaf anatomy and water loss of in-vitro polyethylene glycol treated of 'Valiant' Grape. *Plant Cell. Tiss. Organ Cul. J.* 42: 2. 179-184.
7. Georgieva, M.D., Djilianov, D., Konstantinova T. and Parvanova, D. 2004. Screening of bulgarian raspberry cultivars and elites for osmotic tolerance in-vitro. *Biotech. Equipment J.* 18: 2. 95-98.
8. Naveed, M.S., Manzoor, A., Javed, A. and Tariq, M.A. 2019. In-vitro screening of different tomato genotypes against peg induced water stress. *World J. Bio. Biotech.* 4: 15-19.
9. Raj, R.N., Gokulakrishnan, J. and Prakash, M. 2020. Assessing drought tolerance using PEG-6000 and molecular screening by SSR markers in maize (*Zea mays* L.) hybrids. *Maydica.* 64: 7p.
10. Kaur, A. and Sarlach, R.S. 2020. Leaf area, relative water content and stay-green habit of iranian landraces (*Triticum aestivum* L.) under water stress in field conditions. *Adv. Res.* 21: 1-13.
11. Li, W., Wang, Y. and Zhang, Y. 2020. Impacts of drought stress on the morphology, physiology, and sugar content of Lanzhou lily (*Lilium davidii* var. unicolor). *Acta Physiol. Plant.* 42: 127.
12. Turan, T.O. and Ekmekci, Y. 2009. Effect of water deficit induced by PEG and NaCl on chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars and lines at early seedling stages. *J. Sci.* 22: 1. 5-14.
13. Bates, L., Waldren, P.P. and Teare, J.D. 1973. Rapid determination of the free proline of water stress studies. *Plant Soil J.* 39: 201-205.
14. Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1997. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Soc. Eno. Viti. J.* 28: 49-55.
15. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management, *Argon. Sustain J. Dev.* 29: 185-212.
16. Jaleel, C.A., Manivannan, P., Lakshmanan, G.M.A., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. 2008. Alterations in morphological parameters and photosynthetic pigment responses of *Catharanthus roseus* under soil water deficits. *Colloids and surfaces B. Biointer. J.* 61: 298-303.
17. Irrigoyen, J.H., Emerich, D.W. and Sanchez Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentration of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. *Phys. Plantarum J.* 84: 55-66.
18. Burnett, S., Thomas, P. and Van Iersel, M. 2005. Post germination drenches with Polyethylene Glycol 8000 reduce growth of salvia and marigolds. *Hort. Sci. J.* 40: 675-679.
19. Rani Roy, M., Rais Uddin Rashed, M.D. and Sharmin Mitu, A. 2017. Screening and diversity of drought tolerance genotypes in-vitro in tomato. *Agric. Res. Tech. J.* 4: 2.1-6.
20. Abdolrahman, R.A., Gaber, Hanan, A.M.M., AL-Sayed, M.A. and Smetanska, I. 2012. Effect of drought and salinity stress on total phenolic, flavonoids and flavanols contents and antioxidant activity in-vitro sprout cultures of garden cress (*Lepidium sativum*). *Appl Sci. Res. J.* 8: 8. 3934-3942.
21. Hernandez-Perez, C.A., Gomez-Merino, F.C., Spinoso-Castillo, J.L. and Bello-Bello, J.J. 2021. In-vitro screening of sugarcane cultivars (*Saccharum* spp. Hybrids) for tolerance to polyethylene glycol-induced water stress. *Agron.* 11: 598.
22. Bhatt, R.M. and Srinivasa Rao, N.K. 2005. Influence of pod load on response of okra to water stress. *Indian J. Plant Phys.* 10: 1. 54-59.
23. Colom, M.R. and Vazzana, C. 2003. Photosynthesis and PSII functionality of drought resistant and drought sensitive weeping love grass plants. *Environ. Exper. Bot.* 49: 135-144.

24. Jangpromma, N., Kitthaisong, S., Lomthaisong, K., Daduang, S., Jaisil, P. and Thammasirirak, S. 2010. A proteomics analysis of drought stress responsive proteins as biomarker for drought tolerant sugarcane cultivars. *American J. Biochem. Biotech.* 6: 2.89-102.
25. Nasir Khan, M., Siddiqui, M.H., Mohammad, F., Masroor, M., Khan, A. and Naeem, M. 2007. Salinity induced changes in growth, enzyme activities, photosynthesis. Proline accumulation and yield in linseed genotype. *Agric. Sci. J.* 3: 685-695.
26. Ghorbanli, M., Bakhshi Khaniki, G.R., Salimi Elizei, S. and Hedayati, M. 2010. Effect of water deficit and its interaction with ascorbate on proline, soluble sugars, catalase and glutathione peroxidase amounts in (*Nigella sativa* L.). *Med. Arom. Plants J.* 26: 465-476.
27. Heidari-Sharifabad, H. 2001. Plants, aridity and drought research. *Inst. Forest. Rang. Press J.* 200p.
28. Razavizadeh, R., Shafghat, M. and Najafi, Sh. 2014. The effect of water shortage stress on morphological and physiological characteristics of *Carum copticum*. *J. Plant Bio. Iran.* 6: 22. 25-38. (In Persian)
29. Mamnoei, E. and Seyyed Sharifi, R. 2010. Study the effects of deficit on chlorophyll fluorescence indices and the amount of proline in six barely genotypes and its relation with canopy temperature and yield. *Plant Bio. J.* 2: 5. 51-62.
30. Aliabadi, F.H., Lebaschi, M.H., Shiranirad, A.H., Valadabadi, A.R. and Daneshian, J. 2008. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi, different levels of phosphorus and drought stress on water use efficiency, relative water content and proline accumulation rate of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Med. Plant Res. J.* 2: 6. 125-131.
31. Arndt, S.K.K., Clifford, S.C., Wanek, W., Jones, H.G. and Popp, M. 2001. Physiological and morphological adaptations of the fruit tree *Ziziphus rotundifolia* in response to progressive drought stress. *Tree Phys. J.* 21: 705-715.
32. Serraj, R. and Sinclair, T.R. 2002. Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions. *Plant cell. Environ. J.* 25: 333-341.
33. Aran, M., Abedi, B., Tehranifar, A. and Parsa, M. 2017. Effect of drought stress on morphological and physiological traits of grape. *Hort. Sci. J.* 31: 2. 315-326.
34. Bano, A., Ullah, F. and Nosheen, A. 2012. Role of abscisic acid and drought stress on the activities of antioxidant enzymes in wheat. *Plant Soil Environ J.* 58: 4. 181-185.
35. Dehghani Bidgoli, R. 2018. The effect of drought and salinity stresses on some secondary metabolites of *Rosmarinus officinalis*. *J. Plant Ecophys. App. Res.* 5: 1. 27-51. (In Persian)
36. Anjum, N.A., Arena, C. and Singhgill, S. 2014. Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS scavengers during environmental stress in plant. *Frontiers in Environ Sci.* 2: 1-13.
37. Fabriki Orang, S. and Davudnia, B. 2019. Investigation of changes in growth traits and secondary metabolites in medicinal plant of *Thymus vulgaris* L. under mild salinity and drought stress. *J. Med. Plants Ecophys.* 22: 2. 27-40. (In Persian)
38. Farah, S., Hosseinian, A., Wende Li, A. and Trust, B. 2008. Measurement of anthocyanin's and other phytochemicals in purple wheat. *Food Chem.* 109: 916-924.
39. Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., Ikinici, A. and Tonkaz, A.T. 2014. The effect of water stress on some morphological physiological, and biochemical characteristics and bud succession apple and quince rootstocks. *The Scientific World J.* pp. 1-9.
40. Epstein, E. 1994. The anomaly of silicon in plant biology. *Proceedings of the National Academy of Sci.* 91: 11-17.
41. Fu, J. and Huang, B. 2001. Involvement of antioxidants and lipid peroxidation in the adaptation of two cool-season grasses to localized drought stress. *Environ. Exper. Bot. J.* 45: 2. 105-114.

42. Ilektra, S. and Michael, M. 2012. Interaction of proline, sugars and anthocyanin's during photosynthetic acclimation of *Arabidopsis thaliana* to drought stress. *Plant Phys.* 169: 577-585.
43. Tohidi, Z. 2015. The effect of drought stress on physiological characteristics of plants. Malaysia international conference on research in science and technology. pp. 1-7.
44. Setayeshmehr, Z. 2012. Effect of drought stress on growth rate, proline content and photosynthetic pigments of *Antheum graveolens*. The first national conference of biotechnology students of Golestan Univ. Gorgan, Iran.
45. Ashraf, M. and Farooq, M. 2005. Pre-Sowing seed treatment a shotgun approach to improve germination, plant growth and crop yield under saline and non-saline conditions. *Adv. Agron. J.* 88: 223-271.
46. Kramer, P.J. 1980. Drought stress, and the origins of adaptations. *Adaptation of plants to water and high temperature stress*. New York, Wiley. pp. 7-22.

