

The Effect of Drought Stress on Morphological and Biochemical Characteristics of Some Lily Species Under *in-vitro* Condition

Rezvan Ahadi Rad¹, Younes Pourbeyrami Hir^{*2}, Esmael Chamani³,
Hassan Maleki Lajayer⁴, Nouraddin Izadi⁵

1. M.Sc. Graduate in Breeding and Physiology of Ornamental Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran. E-mail: rezvan69ahadi@gmail.com
2. Corresponding Author, Assistant Prof., Dept. of Horticulture and Landscaping, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran. E-mail: younes_ph62@uma.ac.ir
3. Professor, Dept. of Horticulture and Landscaping, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran. E-mail: echamani@uma.ac.ir
4. Assistant Prof., Dept. of Horticulture and Landscaping, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran. E-mail: malekih@uma.ac.ir
5. Ph.D. Graduate in Breeding and Physiology of Ornamental Plants, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabili, Iran. E-mail: izadi3n@gmail.com

Article Info

Article type:

Full Length Research Paper

Article history:

Received: 12.23.2021

Revised: 02.02.2022

Accepted: 02.21.2022

Keywords:

Drought Stress,
Lily,
Polyethyleneglycol,
Proline

ABSTRACT

Background and Objectives: Drought stress is one of the most important factors limiting the growth of plants in the world, which threatens most of the world's lands and causes a decrease in agricultural products. In this research, the effects of drought stress on some morphological and physiological behaviors of the medicinal and ornamental lily have been investigated in order to achieve the maximum yield by managing drought stress.

Material 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 this study, drought stress reduced the growth indices of lily by affecting different physiological, biochemical and hormonal processes, while the amount of biochemical indices increased compared to the control under drought stress conditions. The increase of proline, soluble carbohydrates and some secondary metabolites, in addition to increasing the yield of the product, was a mechanism of tolerance to drought stress and was considered as an indicator to evaluate the plant's resistance to drought stress.

Cite this article: Ahadi Rad, Rezvan, Pourbeyrami Hir, Younes, Chamani, Esmaeil, Maleki Lajayer, Hassan, Izadi, Nouraddin. 2023. The Effect of Drought Stress on Morphological and Biochemical Characteristics of Some Lily Species Under *in-vitro* Condition. *Journal of Plant Production Research*, 30 (1), 49-65.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/JOPP.2022.19771.2899

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

تأثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و زیست‌شیمیایی برخی گونه‌های گل‌سوسن در شرایط درون‌شیشه‌ای

رضوان احدی راد^۱، یونس پور بیرامی هیر^{۲*}، اسماعیل چمنی^۳، حسن ملکی لجایر^۴، نورالدین ایزدی^۵

۱. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد اصلاح و فیزیولوژی گل‌ها و گیاهان زینتی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: rezvan69ahadi@gmail.com
۲. نویسنده مسئول، استادیار گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: younes_ph62@uma.ac.ir
۳. استاد گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: echamani@uma.ac.ir
۴. استادیار گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: malekih@uma.ac.ir
۵. دانش‌آموخته دکتری اصلاح و فیزیولوژی گل‌ها و گیاهان زینتی، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: izadi3n@gmail.com

| اطلاعات مقاله | چکیده |
|---|---|
| نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی | سابقه و هدف: تنش خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان در جهان می‌باشد که بخش بیش‌تری از اراضی جهان را تهدید کرده و باعث کاهش محصولات کشاورزی می‌شود. در این پژوهش اثرات تنش خشکی بر برخی رفتارهای ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی و زینتی گل‌سوسن مورد بررسی قرار گرفته است تا با مدیریت تنش خشکی بتوان به حداکثر محصول دست یافت. |
| تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۰۲ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۲ | مواد و روش‌ها: این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی در آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی دانشگاه محقق اردبیلی به منظور غربال‌گری درون‌شیشه‌ای سه گونه گل‌سوسن نسبت به تنش خشکی انجام گردید. فلس‌های سوخک درون‌شیشه‌ای <i>L. tsingtauense</i> ، <i>L. regale</i> و <i>L. ledebourii</i> در محیط کشت پایه MS حاوی غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن گلیکول (۰، ۵، ۱۰، ۲۰، 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. |
| واژه‌های کلیدی: پرولین، پلی‌اتیلن گلیکول، تنش خشکی، گل‌سوسن | |

یافته‌ها: در پژوهش حاضر از بین سه گونه گل سوسن فقط *L. regale* برگ تولید کرد نتایج نشان داد که ارتفاع گیاهچه، تعداد و طول برگ، تعداد سوخک و تعداد 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 نمونه‌های *L. tsingtauense* به‌دست آمد. بالاترین مقدار فنل و کاروتنوئید از *L. regale* و بیش‌ترین مقدار پرولین از *L. ledebourii* حاصل شد در حالی‌که *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 ولی بالاترین 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 این پژوهش تنش خشکی با تأثیر بر روی فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و هورمونی شاخص‌های رشدی گیاهچه‌های گونه‌های گل سوسن را کاهش داد در حالی‌که میزان شاخص‌های بیوشیمیایی نسبت به شاهد در شرایط تنش خشکی تجمع پیدا کردند. افزایش پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و برخی متابولیت‌های ثانویه علاوه بر افزایش عملکرد محصول، نوعی سازوکار تحمل به تنش خشکی بوده و شاخصی جهت ارزیابی مقاومت گیاه به تنش خشکی محسوب می‌شود.

استناد: احدی راد، رضوان، پور بیرامی هیر، یونس، چمنی، اسماعیل، ملکی لجایر، حسن، ایزدی، نورالدین (۱۴۰۲). تأثیر تنش خشکی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی و زیست‌شیمیایی برخی گونه‌های گل سوسن در شرایط درون‌شیشه‌ای. نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی، ۳۰ (۱)، ۴۹-۶۵.

DOI: 10.22069/JOPP.2022.19771.2899



© 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 عوامل بیماری‌زای 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 نشان‌دهنده 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 به شمار 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 به‌ویژه 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

مختلف پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ (شرکت سیگما) (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 و اکنش 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 افزودن تدریجی ۲ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد کاملاً له گردید. سپس به ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره به دست 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 اسپکتروفوتومتر (نانودراپ) قرائت و ثبت گردید. منحنی استاندارد نیز با استفاده از گلوکز تهیه شد. به منظور اندازه‌گیری میزان فنل پس از تهیه عصاره با متانول ۸۰ درصد،

متحمل کمک کند و هم‌چنین به عنوان 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 زیتنی و داروئی گل سوسن مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل و به صورت 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. regale*، *L. tsingtauense* 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 سانتی‌مترمربع ضدعفونی گردید و در نهایت ریزنمونه‌ها بعد از سه بار شستشو با آب مقطر دو بار استریل کشت گردید پس از باززایی و واکشت ریزنمونه‌ها در محیط کشت جدید، فلس سوخک‌های با وزن تقریبی ۱/۵ تا ۲ گرم جمع‌آوری و در محیط کشت پایه MS جامد حاوی غلظت‌های

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 چنددامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

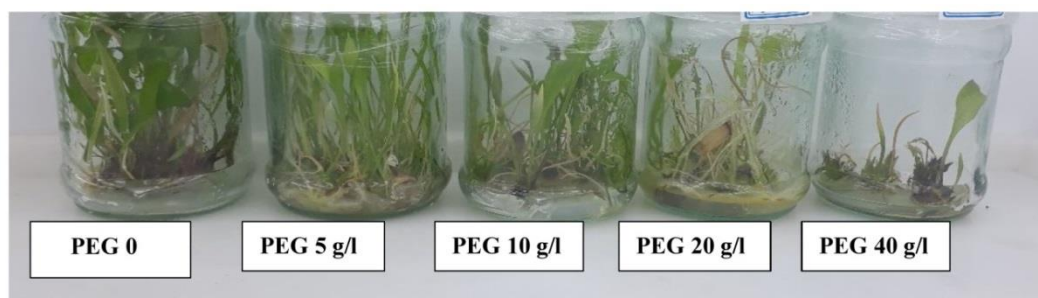
ارتفاع و برگ گیاهچه: در پژوهش حاضر از بین سه گونه مورد مطالعه گل سوسن در *L. regale* برگ باززایی شد در حالی که در گونه‌های *L. ledebourii* (Baker) Boiss و *L. tsingtauense* سوخک بدون برگ تولید شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر گونه و اثر غلظت‌های پلی‌اتیلن گلیکول و هم‌چنین اثر متقابل 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 پلی‌اتیلن گلیکول ارتفاع گیاهچه، طول و تعداد برگ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت طوری که تیمار شاهد دارای بیش‌ترین و تیمار پلی‌اتیلن گلیکول (۴۰ میلی‌گرم در لیتر) نیز دارای کم‌ترین ارتفاع گیاهچه، طول و تعداد برگ بود (جدول ۲) (شکل ۱). گزارش‌های فراوانی مبنی بر کاهش طولی شدن و تقسیم سلولی در اثر تنش خشکی وجود دارد پدیده تنش خشکی با تأثیر بر فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی مانند فتوسنتز، تنفس، کربوهیدرات‌ها، انتقال و جذب یون‌ها، متابولیسم مواد و هورمون‌های مختلف رشد گیاه را کاهش می‌دهد (۱۵ و ۱۶). پژوهش‌های زیادی روی گیاهان دارویی مختلف از جمله خانواده نعناعیان و گل محمدی تحت تنش خشکی انجام شده که در

میزان ترکیبات فنلی موجود در آن را بر اساس روش اسلینکرد و سینگلتون (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 به‌مدت 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 آلومینیوم کلراید، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۱/۸ میلی‌لیتر آب اضافه شد و پس از مخلوط شدن به‌مدت 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 کوئرتستین استفاده شد. برای به‌دست آوردن مقدار آنتوسیانین 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

مریم‌گلی و همیشه بهار با افزایش سطح خشکی در شرایط محیطی طول گیاهچه‌ها به‌طور معنی‌دار کاهش می‌یابد (۱۸).

تمامی آن‌ها تنش خشکی در شرایط محیطی سبب کاهش تعداد و مساحت برگ شده است (۱۷). بارنت و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که در گیاهان



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).

تولید کرد (۱۹) در همین راستا 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

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 گیاهچه 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

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 گیاهچه‌های *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 بیش‌تری داشت در حالی‌که *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 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.

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 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

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

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

| وزن تر | تعداد ریشه | تعداد برگ | طول برگ | ارتفاع گیاهچه | پلی‌اتیلن‌گلیکول | گونه |
|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------|----------------------|------------------|------------------------|
| Fresh weight | Root number | Leaf number | Leaf length (cm) | Plantlet Height (cm) | PEG | 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 ^{def} | 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

L. ledebourii نسبت به دو گونه دیگر از میزان پرولین بیش‌تری برخوردار است در هر یک از گونه‌های گل سوسن با افزایش غلظت پلی‌اتیلن گلیکول در محیط کشت مقدار پرولین افزایش یافت طوری که حداکثر غلظت پرولین در تیمارهای ۴۰ گرم در لیتر پلی‌اتیلن گلیکول و حداقل غلظت پرولین در تیمارهای شاهد به دست 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 سنتز 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 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 این که افزایش مقدار پرولین با افزایش سطح خشکی همبستگی مثبت دارد بنابراین مشخص می‌شود که افزایش پرولین از طریق تنظیم پتانسیل اسمزی نوعی سازوکار 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.

وزن تر: طبق نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها اثر گونه و اثر غلظت‌های پلی‌اتیلن گلیکول 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 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 این که برگ‌ها آب بیش‌تری در بافت خود دارند کاهش بیش‌تر وزن تر در این گونه نسبت به دو گونه دیگر دور از انتظار نبود. میزان آب بافت‌ها در گل سوسن تحت تنش خشکی از طریق برخی سازوکارهای 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 پلی‌اتیلن گلیکول 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

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 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 قندهای 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 سازوکار حفاظتی محسوب می‌شود.

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 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)

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 of 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 پلی اتیلن گلیکول 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 | پلی اتیلن گلیکول PEG | گونه Specie |
|--------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------|----------------------------|--------------------|-------------------------|------------------------|
| 8.23 ^c | 0.98 ^d | 19.09 ^{efg} | 0.75 ^{ed} | 0.37 ^{ef} | 2.74 ^e | 0 | <i>L. tsingtauense</i> |
| 9.22 ^c | 1.57 ^{ab} | 27.63 ^{bc} | 1.18 ^{dc} | 0.69 ^a | 2.67 ^e | 5 | |
| 8.40 ^c | 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 ^h | 0.42 ^e | 0.31 ^f | 3.11 ^{de} | 0 | <i>L. ledebourii</i> |
| 3.91 ^{fg} | 0.34 ^f | 10.18 ^h | 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 معنی داری می باشد

The common letters in each column indicate a nonsignificant difference

خشکی به علت افزایش رادیکال‌های آزاد ترکیبات فنلی را افزایش داده تا بتواند واکنش دفاعی مناسبی را در پیش گیرد.

فلاونوئید: نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری فلاونوئید نشان داد که اثر گونه و غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول و اثر متقابل آن‌ها از لحاظ مقدار فلاونوئید در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۲). نتایج به دست 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 بیش‌ترین مقدار آن در بین تیمارها از غلظت ۲۰ گرم در لیتر پلی اتیلن گلیکول به دست آمد و ولی در گونه‌های دیگر غلظت فلاونوئید همبستگی مثبتی با مقدار پلی اتیلن گلیکول 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)

فنل: نتایج نشان داد که اثر گونه و اثر متقابل آن با غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول در سطح احتمال یک درصد و اثر غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول از لحاظ مقدار فنل در سطح احتمال پنج درصد معنی دار بود (جدول ۲). بر اساس نتایج به دست آمده از جدول مقایسه میانگین در *L. tsingtauense* محیط کشت دارای پلی اتیلن گلیکول ۱۰ گرم در لیتر و در *L. ledebourii* پلی اتیلن گلیکول ۵ گرم در لیتر مقدار فنل بیش‌تری داشت در حالی که در *L. regale* با افزایش پلی اتیلن گلیکول 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 تنش‌های محیطی با تأثیر بر روی متابولیت‌های ثانویه و محتوای فنل باعث افزایش عملکرد گیاه شده و راهکار مناسبی برای افزایش راندمان و عملکرد گیاهی هست (۳۵) بنابراین گل سوسن در شرایط تنش

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

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* /ز 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 آنتی‌اکسیدانی را متأثر کرده (۲۸) و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی را تحریک می‌کنند (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

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر گونه و پلی اتیلن گلیکول 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

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 سازوکار دیگری است که قادر است در برگ انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن آزاد شده نقش آنتی‌اکسیدانی ایفا کنند (۴۲). توحیدی (۲۰۱۵) گزارش کرد که تغییرات رنگیزه‌های 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

کاروتنوئید: بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس گونه‌های مختلف گل سوسن و غلظت‌های پلی اتیلن گلیکول 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 ولی در *L. regale* که دارای برگ بودند با افزایش تنش خشکی غلظت کاروتنوئید به‌طور معنی‌دار افزایش یافت طوری که بیش‌ترین غلظت در تیمار ۴۰ میلی‌گرم در لیتر پلی اتیلن گلیکول 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 حالی‌که در دو گونه دیگر که فاقد برگ بودند رابطه معکوسی بین

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.

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 سیگنال‌دهی هر تنش غیرزیستی شامل مراحل کلیدی خاصی مانند درک سیگنال، انتقال، پاسخگویی، همراه با فعال شدن واکنش‌های فیزیولوژیکی و متابولیکی می‌باشد (۲۱). در شرایط کمبود آب، گیاهان یک سری تغییرات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی را به‌عنوان بخشی از استراتژی 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 زیست‌شیمیایی و هورمونی شاخص‌های رشد گیاهچه‌ها

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. Biol. 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 Signal 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. Org. Cult. 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. Equip. 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. Biol. 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: 7.
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: 127p.
 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. *Gazi Univ. 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. Enology Viticult. 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 surfaces B. Biointerfaces 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*). *Applied 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. *Agronomy.* 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. Exp. 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. Aromatic 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 Biol. 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. Plant 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., Ikinci, A. and Tonkaz, A.T. 2014. The effect of water stress on some morphological physiological, and biochemical characteristics and bud success on 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 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. Exp. 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 *Anthem 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. Advance Agronomy. 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.

