

مقاله پژوهشی

مطالعه تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای بر پاسخ برخی از ژنوتیپ‌های گل محمدی با تکیه بر روابط آبی

سارا رضایی^۱، سحر عزیزی فسندوز^۱، حنیفه سید حاجی‌زاده^{۱*}، فرزاد رسولی^۱ و فتانه یاری^۲

^۱ گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

^۲ سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۱۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۰۲/۱۷)

چکیده

گل محمدی یکی از قدیمی‌ترین و با ارزش‌ترین واریته‌ها است که شرایط خشکی را تا حدودی تحمل می‌کند. با این وجود انتخاب و شناسایی ژنوتیپ‌هایی که تحمل بیشتری نسبت به خشکی دارند در توسعه کشت و کار آن مؤثر خواهد بود. بدین منظور آزمایشی تحت شرایط درون شیشه‌ای با استفاده از پلی‌اتیلن گلایکول در پنج سطح (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ گرم در لیتر) بر روی چهار ژنوتیپ گل-محمدی (مراغه، ارومیه، پاکدشت و کاشان) اجرا و میزان تحمل ژنوتیپ‌ها به تنش خشکی براساس صفات مربوط به روابط آبی گیاه به روش سطح پاسخ (RSM) سنجیده شد. نتایج نشان داد با افزایش شدت خشکی، درصد ماده خشک در ژنوتیپ‌های مراغه، ارومیه و کاشان در مقایسه با شاهد افزایش یافت. ژنوتیپ مراغه در تنش خشکی ۱۰۰ گرم بر لیتر دارای بیشترین وزن تر و خشک، کلروفیل کل، کلروفیل *a* و کلروفیل *b* و کمترین تعداد برگ و ارتفاع نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بود. میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ‌های ارومیه و مراغه در ۱۰۰ گرم بر لیتر پلی‌اتیلن گلایکول بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. با افزایش خشکی محتوای آب برگ در ژنوتیپ‌های مراغه، کاشان و ارومیه کاهش یافت. ژنوتیپ مراغه با داشتن بیشترین محتوای نسبی آب برگ، از طرفی با کاهش رطوبتی آب، میزان آب نسبی از دست‌رفته و کمبود آب اشباع، نسبت به سه ژنوتیپ دیگر عملکرد بهتری در برابر تنش خشکی نشان داد. پس از ژنوتیپ مراغه، ژنوتیپ پاکدشت نیز تا سطح ۷۵ گرم بر لیتر پلی‌اتیلن گلایکول تاحدی در برابر تنش خشکی مقاوم بود.

کلمات کلیدی: تنش غیرزیستی، روابط اسمزی، ریز ازدیادی، ژنوتیپ متحمل

مقدمه

الکترون در کلروپلاست و سایر سلول‌ها را کاهش می‌دهد و باعث انباشت گونه‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) از جمله رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل، هیدروژن پراکسید و رادیکال اکسیژن می‌شود (Demiralay et al., 2013). کشور ایران با داشتن حدود یک سوم بارش جهانی و نوسان‌های شدید مکانی و زمانی، جز کشورهایی است که خسارت

خشکی از تنش‌های مهم غیرزیستی است که بر رشد و روابط مواد مغذی، فتوسنتز و تنفس گیاه تأثیر گذاشته (Farooq et al., 2009) و سبب کاهش میزان تعرق، محتوای نسبی آب برگ و پتاسیل آب برگ می‌شود (Antonic et al., 2016). تنش خشکی به دستگاه‌های فتوسنتزی آسیب می‌رساند و انتقال

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: hajizade@maragheh.ac.ir

هنگفتی را از این تهدید به‌ویژه طی دهه‌های اخیر دریافت کرده است (بابایی فینی و علیجانی، ۱۳۹۲).

پلی‌اتیلن گلایکول (PEG) ترکیبی است که می‌تواند پتانسیل اسمزی را از طریق فعال‌سازی زیر واحدهای اتیلن اکسید کاهش دهد که این کار به‌وسیله چسباندن مولکول‌های آب با باندهای هیدروژنی به همدیگر صورت می‌گیرد (Siaga et al., 2016). اضافه کردن پلی‌اتیلن گلایکول به محیط موراشیگ و اسکوگ سبب کاهش پتانسیل آب در محیط درون شیشه‌ای تحت شرایط تنش می‌شود (Errabii et al., 2006). لذا پلی‌اتیلن گلایکول را می‌توان برای مطالعه مکانیسم تحمل تنش خشکی، به‌عنوان شبیه‌ساز تحت شرایط کشت‌بافت استفاده کرد (Elmaghrabi et al., 2017).

مهمترین مرحله در توسعه گیاهان متحمل به خشکی ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل و حساس است که یکی از روش‌های مؤثر برای رسیدن به این هدف استفاده از شرایط درون شیشه‌ای است. در سال‌های اخیر تلاش‌های زیادی به‌منظور تولید گیاهان مقاوم در برابر تنش و به‌ویژه متحمل به شوری، در کشت‌بافت انجام شده است (Barakat and Abdel-latif, 1996). سیستم کشت‌بافت برای ارزیابی تحمل به تنش‌های محیطی مفید است، زیرا عوامل محیطی در شرایط درون‌شیشه‌ای به سادگی قابل کنترل هستند (Errabii et al., 2006) و توسط بسیاری از پرورش‌دهندگان، به‌دلیل پتانسیل زیاد برای تولید انبوه و تولید محصولات سالم و عاری از بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرد (Pati et al., 2005).

گل محمدی با نام علمی *Rosa damascena* Mill. از خانواده Rosaceae، یکی از قدیمی‌ترین و با ارزش‌ترین واریته‌ها است (Nooddezh et al., 2012). ارزشمندترین بخش قابل مصرف در این گیاه گل آن می‌باشد که به اشکال مختلف نظیر گل خشک، مربا و گلاب در غذای انسان به مصرف می‌رسد. اسانس آن در صنایع عطرسازی، آرایشی و عطردرمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Mahboubi, 2016). گل محمدی از نظر نیاز آبی گیاهی کم توقع است و از جمله گیاهانی است که به‌واسطه مکانیسم‌های مقاومتی موجود، شرایط محیطی

خشک و کم آب را تا حدودی تحمل می‌کند، لذا در بسیاری مناطق با بارندگی کم تا متوسط قادر به رشد است. با این وجود انتخاب و شناسایی ارقامی که تحمل بیشتری نسبت به شرایط خشکی دارند در توسعه کشت‌وکار این گیاه به‌منظور استفاده‌های دارویی، جنبه‌های زینتی و نیز استفاده بهینه از منابع محدود آبی مؤثر خواهد بود (پورحسن، ۱۳۹۲). رشدونمو گل محمدی تحت تنش خشکی به‌شدت مهار می‌شود (Hassan et al., 2018). نتایج Pane و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد در سه ژنوتیپ Kaba، Argomulyo و Anjasmore سویا در ۲ درصد پلی‌اتیلن گلایکول میزان وزن تر ریشه در مقایسه با شاهد $۸۳/۴\%$ ، $۷۸/۷\%$ و $۷۵/۹\%$ کاهش داشت و در وزن خشک همه ژنوتیپ‌ها تحت شرایط تنش، کاهش معنی‌داری مشاهده شد. نتایج بدست آمده در گیاه نوروک (*Salvia leriifolia*) نشان داد که غلظت کم PEG (۵٪) تأثیر منفی بر وزن تر و خشک و شدت قهوه‌ای شدن نداشت درحالی‌که غلظت‌های بالاتر PEG (۷/۵ – ۱۰٪) میزان وزن تر و خشک شاخساره‌ها را کاهش داد و شدت قهوه‌ای شدن با افزایش پلی‌اتیلن گلایکول افزایش یافت (Hosseini et al., 2020). تحقیقات Luo و همکاران (۲۰۱۱) در *Brachypodium distachyon* و بررسی‌های Jiang و همکاران (۲۰۱۷) نشان داد گیاهانی که کمترین میزان پژمردگی برگ را داشته با بیشترین مقدار وزن خشک، محتوای آب برگ و حداکثر کارایی کوانتومی فتوشیمیایی فتوسیستم II (Fv/Fm) همراه هستند، در مقابل تنش خشکی تحمل بهتری دارند. تنش آبی با کاهش میزان آماس و قابلیت دسترسی به آب در کل گیاه موجب بسته‌شدن روزنه‌ها، پژمردگی و کاهش رشدونمو سلول می‌شود (Basit et al., 2020). خشکی شدید با خروج بیش از حد آب از گیاه ممکن است باعث توقف فتوسنتز، بدترشدن وضعیت سوخت‌وساز و درنهایت موجب مرگ سلولی شود (Bohnert and Jensen, 1996).

روش‌شناسی سطح پاسخ (RSM) مجموعه‌ای از تکنیک‌های ریاضی-آماري مفید برای مدل‌سازی و تجزیه و تحلیل یک فرآیند است که در آن پاسخ موردنظر ممکن است، تحت تأثیر چندین عامل مستقل قرار بگیرد (Myers et al.,

2016). هدف طرح‌های سطح پاسخ، بهینه‌سازی پاسخ (متغیر خروجی) متأثر از چندین متغیر مستقل (متغیرهای ورودی) برای ساخت مدل‌های تجربی با طراحی آزمایش‌هایی بر مبنای شناسایی و تحلیل متغیرهای مؤثر بر خروجی‌ها با کمترین تعداد آزمایش است (Omar et al., 2004). در بسیاری از پدیده‌های فیزیولوژیک به دلیل تعدد عوامل کنترل‌کننده، نامعلوم بودن مکانیسم یا پیچیدگی محاسباتی، امکان ارایه یک مدل ریاضی ساده مقدور نبوده و در چنین شرایطی استفاده از روش‌های تجربی مدل‌سازی کارساز است؛ روش سطح پاسخ به عنوان روش مدل‌سازی تجربی کارآمد، مطرح است (Myers et al., 2016). در سال ۱۹۷۱ از این روش برای بهینه‌سازی محیط کشت بافت استفاده شد (Myers, 1971).

با توجه به اینکه خشکی پدیده طبیعی و غیرقابل تغییر جغرافیایی کشور است، از طرف دیگر کاهش منابع انرژی، آب و مواد غذایی به طور روز افزون در جامعه ادامه دارد، بایستی درصدد مقابله با آن برآمد و چاره‌اندیشی کرد و در این رابطه اندازه‌گیری مستقیم رطوبت گیاه بهترین شاخص نیاز گیاه به آبیاری است. لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی تحمل به تنش خشکی در چهار توده بومی گل محمدی و معرفی مناسب‌ترین توده بومی با تأکید بر روابط آبی گیاه در شرایط درون شیشه‌ای است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش تحت عنوان شبیه‌سازی تنش خشکی در برخی ژنوتیپ‌های گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای و با هدف بررسی اثر تنش خشکی با استفاده از ماده پلی‌اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ و ارزیابی ژنوتیپ‌های متحمل به تنش خشکی بر روی چند ژنوتیپ گل محمدی در سال ۹۹-۱۳۹۷ در محل مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، آزمایشگاه‌های آموزشی و پژوهشی گروه علوم و مهندسی باغبانی دانشکده کشاورزی، آزمایشگاه گیاهشناسی و همچنین آزمایشگاه مرکزی دانشگاه مراغه صورت گرفت.

جمع‌آوری مواد گیاهی: به منظور تهیه ریزنمونه، قلمه‌هایی

از چهار توده محلی گل محمدی از شهرهای مراغه (37.3892° N, 46.2534° E)، ارومیه (37.5498° N, 45.0786° E)، پاکدشت (33.9850° N, 51.6861° E) و کاشان (35.4669° N, 51.4100° E) تهیه گردید و سپس گره‌های حاوی جوانه به طول ۱/۵ سانتی‌متری جدا شد و پس از ضدعفونی سطحی در شرایط درون‌شیشه‌ای کشت شدند. بعد از گذشت سه هفته و اطمینان از سلامت ریزنمونه‌ها، جوانه‌های رشدیافته به محیط پرآوری بهینه‌شده منتقل شدند.

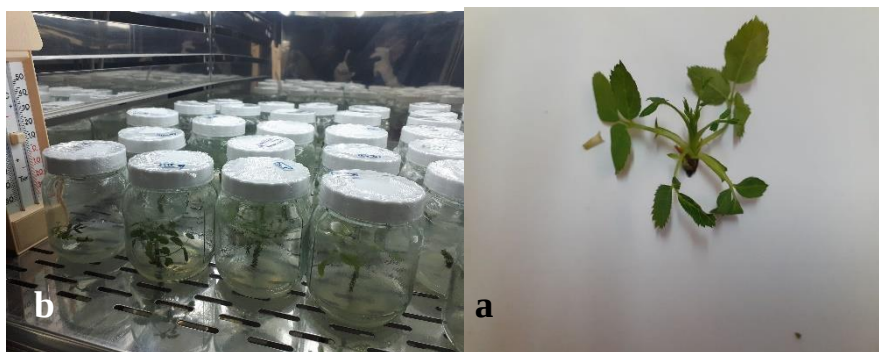
استقرار، پرآوری ریزنمونه و القای تنش در محیط کشت:

کلیه ریزنمونه‌های تهیه‌شده از ارقام مختلف گل محمدی با استفاده از روش یاری و همکاران (۱۳۹۰) ضدعفونی، کشت و پرآوری شدند. برای اجرای آزمایش تعداد پنج ریزنمونه پرآوری‌شده با میانگین ارتفاع 2 ± 0.2 سانتی‌متر انتخاب (شکل ۱b) و پس از باز برش انتهای شاخساره تنها جوانه انتهایی در حال رشد به همراه دو برگ پایینی بر روی ریزنمونه حفظ شده و به منظور القا تنش در هر شیشه کشت شد که در شکل ۱ نشان داده شده است. بدین وسیله یکنواختی ریزنمونه‌ها برای اجرای آزمایش همسان‌سازی شد. به منظور القا تیمار تنش، پنج سطح محلول پلی‌اتیلن گلیکول (صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ گرم در لیتر) پس از فیلتر استریل به محیط کشت‌ها افزوده شد و سپس کشت ریزنمونه‌های ذکرشده در بالا در این محیط‌ها صورت گرفت و پس از دو واكشت با فاصله ۲۱ روز صفات ذیل بررسی و یادداشت‌برداری شدند.

اندازه‌گیری وزن تر و خشک ریزنمونه: در انتهای رشد،

وزن تر پنج ریزنمونه موجود در شیشه کشت با استفاده از ترازوی حساس (با دقت ۰/۰۱) اندازه‌گیری شد. سپس ریزنمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت خشک و دوباره وزن شده و براساس رابطه زیر درصد وزن خشک ریزنمونه‌ها محاسبه شد.

$$\text{درصد وزن خشک} = \frac{\text{وزن خشک گیاه یا ریشه}}{\text{وزن تر گیاه یا ریشه}} \times 100$$



شکل ۱- ریزنمون‌های (a) کشت‌شده در محیط MS بعد از گذشت سه هفته و (b) ریزنمون‌های پرآوری‌شده

اندازه‌گیری ارتفاع ریزنمون: برای اندازه‌گیری این شاخص از کولیس دیجیتالی استفاده گردید. ارتفاع شاخساره‌ها برحسب میلی‌متر اندازه و ثبت گردید. برای اینکار ارتفاع پنج شاخساره موجود در شیشه کشت اندازه‌گیری شد.

تعیین رطوبت ریزنمون: صفاتی همچون وزن تر و خشک، وزن تورژسانس، محتوای رطوبت نسبی آب برگ (RWC; Relative Water Content)، کمبود آب نسبت به حالت اشباع (WSD; Water Saturation Deficit)، محتوای اولیه آب برگ (IWC; Initial water Content)، محتوای آب برگ (LWC; Leaf Water Content)، آب از دست‌رفته در برگ‌های بریده‌شده (ELWL; Excised Leaf water Loss)، مقدار آب نگهداری‌شده در برگ (ELWR; Excised Leaf Water Retention)، میزان آب نسبی از دست‌رفته از برگ (RWL; Rate of Water Loss)، حفظ محتوای نسبی رطوبت (RWP; Relative Water Protective) و کاهش محتوای رطوبتی آب برگ (LWL; Leaf Water Loss) اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری رنگی‌ها: برای اندازه‌گیری رنگی‌های فتوسنتزی از روش Arnon (۱۹۴۹) استفاده شد بدین ترتیب که مقدار ۰/۵ گرم از ماده تر گیاهی با استفاده از نیتروژن مایع خرد و به‌خوبی له گردید. سپس ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به نمونه‌ها اضافه گردید و به مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره را برداشته و درون تیوب‌ها ریخته و با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریژ شدند. در نهایت مقدار جذب مایع رویی به‌وسیله اسپکتروفوتومتر (UV-1800 Shimadzu, Japan) در طول‌موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل *a* و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل *b* و ۴۷۰ برای کاروتنوئیدها خوانده گردید. سپس میزان کلروفیل *a*، *b* و کاروتنوئیدها با روابط زیر برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شدند.

$$\begin{aligned} \text{Chl } a &= [12.7 (A663) - 2.69 (A645)] \times V/1000\text{FW} \\ \text{Chl } b &= [22.9 (A645) - 4.68(A663)] \times V/1000\text{FW} \\ \text{Total Chl} &= [20.2 (A645) + 8.02(A663)] \times V/1000\text{FW} \\ \text{Car} &= 100(A470) + 3.27(\text{mg chl. } a) - 104(\text{mg chl. } b)/227 \end{aligned}$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها: به‌منظور بهینه‌سازی تنش خشکی در چهار ژنوتیپ گل محمدی موردنظر در این آزمایش، با استفاده از نرم‌افزار Design Expert نسخه ۱۱ و روش سطح پاسخ (RSM; Response Surface Metodology) بر پایه

$$\text{RWC} = \left[\frac{\text{WF} - \text{WD}}{\text{WT} - \text{WD}} \right] \times 100\% \quad (\text{Ritchie, 1990})$$

$$\text{WSD} = \left[\frac{\text{WT} - \text{WF}}{\text{WT} - \text{WD}} \right] \times 100\% \quad (\text{Ashkani et al., 2007})$$

$$\text{RWL} = 100 - \text{RWC} \quad (\text{Yang et al., 1991})$$

$$\text{IWC} = \left[\frac{\text{WF} - \text{WD}}{\text{WD}} \right] \times 100\% \quad (\text{Clarke and Townley-Smith, 1984})$$

$$\text{LWC} = \left[\frac{\text{WF} - \text{WD}}{\text{WF} - \text{W}_3} \right] \times 100\% \quad (\text{Clarke and Caig, 1982})$$

$$\text{ELWL} = \left[\frac{\text{WF} - \text{W}_3}{\text{WF} - \text{WD}} \right] \times 100\% \quad (\text{Manette et al., 1988})$$

$$\text{ELWR} = \left[1 - \left(\frac{\text{WF} - \text{W}_3}{\text{WF}} \right) \right] \times 100\% \quad (\text{Yang et al., 1991})$$

$$\text{LWL} = \left[\frac{\text{WF} - \text{W}_1}{\text{WF}} \right] \times 100\% \quad (\text{Xing, 2004})$$

$$\text{RWP} = \left[\frac{\text{W}_3 - \text{WD}}{\text{WF} - \text{WD}} \right] \times 100\% \quad (\text{Hasheminasab et al., 2012})$$

هیستوریکال تیمارها برنامه‌ریزی شدند و پس از اجرای آزمایش نتایج حاصل از بررسی برای مدلسازی به نرم‌افزار منتقل شد و تجزیه و تحلیل آماری صورت گرفت. روش سطح پاسخ مجموعه ای از تکنیک‌های آماری است بر مبنای داده‌های حقیقی است که در بهینه‌سازی فرآیندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. با کمک این طرح آماری، تعداد آزمایش‌ها کاهش یافته و کلیه ضرایب مدل رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل فاکتورها، قابل برآورد هستند. مهم‌ترین مسأله تحقیق حاضر بررسی آثار اصلی و متقابل فاکتورها بود، از این‌رو طرح آماری سطح پاسخ بر مبنای هیستوریکال دیتا برای تحلیل نتایج مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

به‌منظور تعیین میزان اثر پلی‌اتیلن گلایکول و مدلسازی اثرات تنش این فاکتور به‌صورت عددی در دو سطح (صفر، و ۱۰۰ گرم در لیتر) بر روی چهار ژنوتیپ گل محمدی (مراغه، ارومیه، پاکدشت و کاشان) به‌عنوان فاکتور طبقه‌بندی (جدول ۱) در نرم‌افزار Design Expert، با استفاده از روش سطح پاسخ بر مبنای هیستوریکال دیتا، مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج حاصل از تنش خشکی بر شاخص‌های مورفولوژیکی در چهار ژنوتیپ گل محمدی: نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس به روش سطح پاسخ (RSM) نشان‌دهنده

معنی‌داری اثرات متقابل پلی‌اتیلن گلایکول بر صفات شاخص فیزیولوژیکی وزن تر و خشک در چهار ژنوتیپ گل محمدی (مراغه، ارومیه، پاکدشت و کاشان) در سطح احتمال یک درصد و بر میزان درصد ماده خشک در سطح احتمال ۵ درصد بود (جدول ۲). همچنین نتایج نشان داد که میزان تطابق داده‌های پیش‌بینی‌شده مدل با داده‌های واقعی (R^2)، مقدار تطابق داده‌ها برای پارامترهای مدل نسبت به نقاط در نظر گرفته شده ($Adjusted-R^2$) و میزان دقت مدل در پیش‌بینی داده‌های جدید

(Predicted- R^2) از دقت بیشتری برخوردار است (جدول ۳).

تأثیر تنش خشکی بر ارتفاع چهار ژنوتیپ گل محمدی

تحت شرایط درون شیشه‌ای: اثرات متقابل پلی‌اتیلن گلایکول بر میزان ارتفاع چهار ژنوتیپ گل محمدی در شکل (۲a) نشان داده شده است. بر این اساس ژنوتیپ مراغه در سطح صفر پلی‌اتیلن گلایکول دارای کمترین میزان ارتفاع و ژنوتیپ پاکدشت بیشترین ارتفاع را در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها دارد. با افزایش سطوح پلی‌اتیلن گلایکول از صفر تا ۱۰۰ گرم بر لیتر در سه ژنوتیپ ارومیه، پاکدشت و کاشان کاهش محسوسی در ارتفاع شاخساره‌ها مشاهده شد. چنانچه با افزایش سطح پلی‌اتیلن گلایکول به ۱۰۰ گرم بر لیتر به‌ترتیب در ژنوتیپ مراغه، ارومیه، پاکدشت و کاشان ۱۴/۲۰، ۳۴/۵۷، ۳۵/۷۹ و ۳۳/۷۴ درصد در مقایسه با شاخساره‌های شاهد کاهش در میزان ارتفاع حاصل شد. ژنوتیپ مراغه در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها با افزایش غلظت پلی‌اتیلن گلایکول کاهش جزئی در میزان ارتفاع شاخساره‌ها نشان داد.

مطالعات آزمایشگاهی در مورد تأثیر پلی‌اتیلن گلایکول در گیاه تارو (*Colocasia esculenta* L.) و سیب‌زمینی چینی (*Solenostemon rotundifolius* Poir) نشان داد پلی‌اتیلن گلایکول رشد کل را از نظر تعداد برگ، تعداد شاخساره، طول شاخساره و ریشه‌زایی در مقایسه با گیاه شاهد به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد و موجب کاهش رشد گیاه می‌شود. با محدود شدن آب، اختلال در فرآیندهای تقسیم سلولی و کاهش طول ناشی از کاهش جذب آب در اثر فشار تورژانس ایجاد می‌گردد که در نهایت رشدونمو گیاه را محدود می‌کند (Sahoo et al., 2020; Hellal et al., 2018; et al., 2006). از طرفی مهار رشد گیاه به ژنوتیپ و شدت تنش نیز بستگی دارد (Sahoo et al., 2020). در آزمایشی مشخص گردید گیاه ذرت قرارگرفته در معرض تنش خشکی شبیه‌سازی‌شده با PEG-6000 در غلظت ۱۵٪ میزان رشد گیاه کاهش یافت که با نتایج به‌دست آمده در این آزمایش مطابقت دارد (Xie et al., 2018). کاهش در خصوصیات مورفولوژیکی از جمله طول ساقه، قطر، سطح برگ و کلروفیل کل در گیاه دارویی

جدول ۱- متغیرهای مستقل و سطوح مقادیر تعریف شده آنها در نرم افزار

متغیرهای مستقل	نماد ریاضی	نوع متغیر	حداقل	حداکثر	کد پایین	کد بالا	میانگین	انحراف معیار
پلی اتیلن گلیکول (g/L)	A	عددی	۰/۰	۱۰۰	-1 ↔ 0.00	+1 ↔ 100.00	۵۰	۳۵/۸۶
ژنوتیپ‌ها	B	طبقه‌بندی	مراغه، ارومیه، پاکدشت و کاشان			سطح=		
			۴					

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس حاصل از تنش خشکی بر شاخص‌های مورفولوژیکی در چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای

منابع تغییرات	درجه آزادی	ارتفاع شاخساره	تعداد برگ	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	درصد ماده خشک
پلی اتیلن گلیکول (A)	۱	۴۶/۰۰**	۱۳/۵۵**	۱۴۱/۹۶**	۰/۱۰ ^{ns}	۱۶۰۶/۵۹**
ژنوتیپ (B)	۳	۳۸۶/۰۲**	۶۴/۴۸**	۵۹/۸۲**	۹/۴۵**	۲۱۸/۹۳**
پلی اتیلن گلیکول × ژنوتیپ (AB)	۳	۳۰/۳۷**	۲۰/۸۷**	۴/۵۳**	۰/۶۹**	۹۸/۴۶*
خطا	۱۶	۴/۶۴	۰/۷۹	۰/۴۶	۰/۰۶	۲۶/۷۴
ضریب تغییرات %		۷/۷۷	۵/۷۵	۶/۷۷	۱۰/۳۳	۱۹/۹۰

^{ns} عدم اختلاف معنی‌دار، ** بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و * بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد

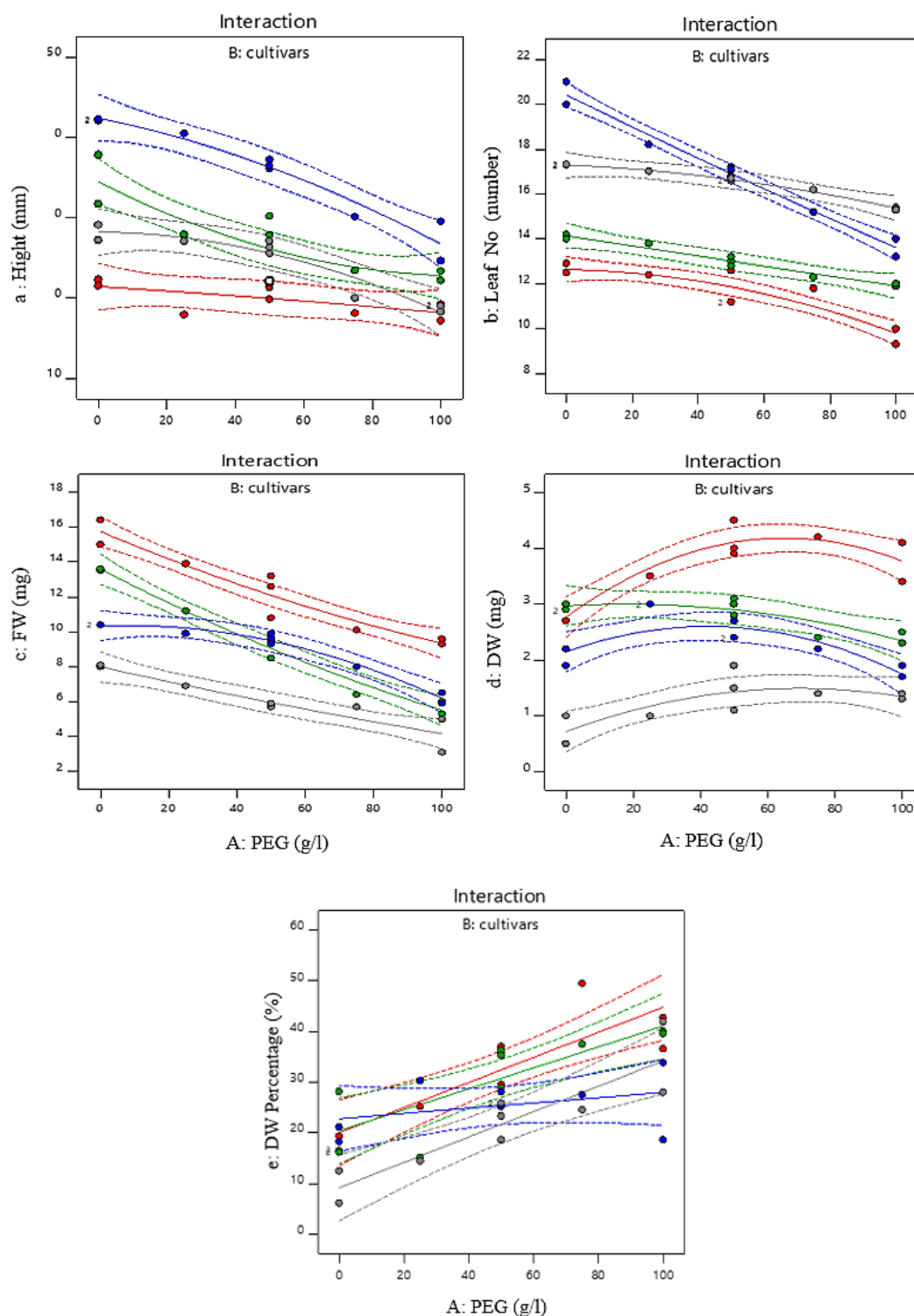
جدول ۳- میزان تطابق داده‌های پیش‌بینی شده مدل با داده‌های واقعی (R^2)، میزان نقاط در نظر گرفته شده (Adjusted-R^2) و میزان دقت مدل در پیش‌بینی داده‌های جدید (Predicted-R^2) در پارامترهای مورفولوژیکی

ردیف	مدل	R^2	Adjusted R^2	Predicted R^2
۱	ارتفاع	۰/۹۴	۰/۹۱	۰/۸۶
۲	تعداد برگ	۰/۹۴	۰/۹۱	۰/۸۶
۳	وزن تر	۰/۹۷	۰/۹۶	۰/۹۳
۴	وزن خشک	۰/۹۵	۰/۹۳	۰/۸۹
۵	درصد ماده خشک	۰/۷۵	۰/۶۸	۰/۵۴

تر و خشک برگ در سطح احتمال یک درصد بود (جدول ۲). بالاترین میزان وزن تر و خشک برگ در ژنوتیپ مراغه در گیاه شاهد و در تمام سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول مشاهده شد و پایین‌ترین مقدار برای ژنوتیپ کاشان در مقایسه با سه ژنوتیپ دیگر بود. در سطح ۲۵ و ۵۰ گرم بر لیتر PEG، وزن تر در ژنوتیپ مراغه، ارومیه و کاشان کاهش یافت و در ژنوتیپ پاکدشت با حفظ وزن تر نسبت به گیاه شاهد تغییری

Allium hirtifolium و جو نیز با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول مشاهده شده است (Hellal et al., 2018; Ghassemi-). (Golezani et al., 2018)

تأثیر تنش خشکی بر میزان وزن تر و خشک و درصد ماده خشک چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: نتایج بیانگر تأثیر اثر متقابل تنش خشکی حاصل از پلی اتیلن گلیکول در چهار ژنوتیپ گل محمدی بر میزان وزن



شکل ۲- نمودار دو بعدی حاصل از روش سطح پاسخ (RSM) نشان‌دهنده اثرات متقابل پلی اتیلن گلیکول در چهار ژنوتیپ گل محمدی (مراغه B₁، ارومیه B₂، پاکدشت B₃ و کاشان B₄) بر میزان ارتفاع (a)، تعداد برگ (b) وزن تر (c)، وزن خشک (d) و درصد ماده خشک (e)

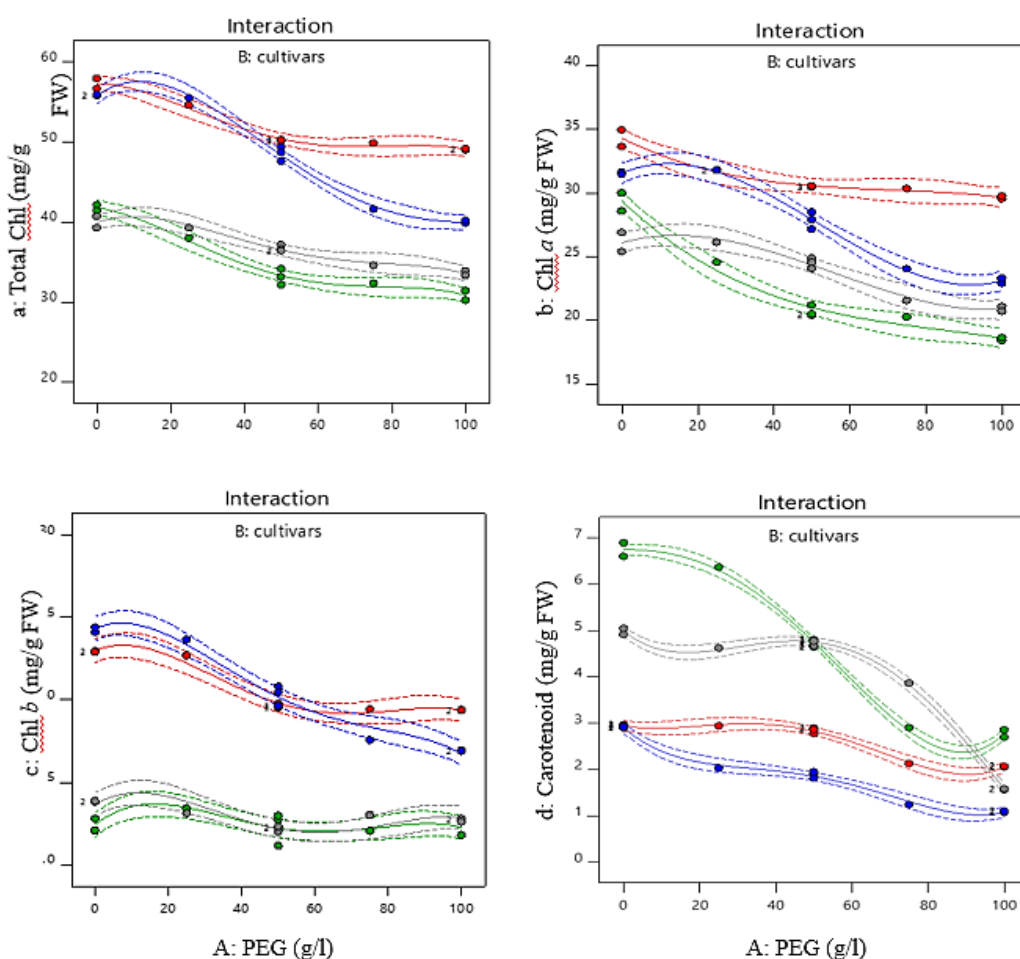
حاصل نشد. در غلظت‌های ۷۵ و ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG، وزن تر چهار ژنوتیپ گل محمدی کاهش یافت به‌طوری‌که ژنوتیپ مراغه بالاترین میزان وزن تر را در این سطح در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها داشت (شکل ۲b). در غلظت ۲۵ گرم بر لیتر PEG، میزان وزن خشک در ژنوتیپ مراغه و ارومیه افزایش و در ژنوتیپ کاشان کاهش یافت. از طرفی وزن خشک ژنوتیپ مراغه و کاشان در سطح ۵۰ گرم بر لیتر PEG، بالاتر از سایر ژنوتیپ بود و کاهش در ژنوتیپ پاکدشت مشاهده شد. درحالی‌که ژنوتیپ ارومیه تا حدودی با حفظ وزن خشک خود نسبت به گیاه شاهد تغییر آنچنانی نداشت. از غلظت ۷۵ تا ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG، در همه ژنوتیپ‌ها کاهش در وزن خشک مشاهده شد بجز در ژنوتیپ کاشان که با افزایش غلظت پلی‌اتیلن گلیکول وزن خشک برگ در مقایسه با ژنوتیپ‌های دیگر افزایش یافت (شکل ۲c). در بین ژنوتیپ‌های گل محمدی ژنوتیپ مراغه با داشتن بالاترین میزان وزن تر و خشک در بیشترین مقدار پلی‌اتیلن گلیکول (تنش خشکی شدید) یکی از مطلوب‌ترین ژنوتیپ‌ها در مقایسه با دیگر ژنوتیپ‌ها در برابر تنش خشکی بود.

درصد ماده خشک تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی قرار گرفت به‌طوری‌که اثر متقابل ژنوتیپ و پلی‌اتیلن گلیکول در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). ژنوتیپ مراغه با ۳۹/۵۶ و ۴۹/۵ درصد ماده خشک در سطح ۲۵ و ۷۵ گرم بر لیتر PEG و ژنوتیپ ارومیه با ۳۶/۸۲ و ۴۴/۸۱ درصد ماده خشک در غلظت ۵۰ و ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG دارای بالاترین میزان درصد ماده خشک نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بودند. روند تغییرات درصد ماده خشک در سه ژنوتیپ مراغه، ارومیه و کاشان در مقایسه با شاخص‌های شاهد با افزایش سطح تنش افزایش یافت درحالی‌که در ژنوتیپ پاکدشت درصد ماده خشک کاهش یافت (شکل ۲d).

در آزمایشی مشخص شد در صورت استفاده از ۳٪ PEG میزان وزن تر ژنوتیپ‌های زغال اخته در مقایسه با شاهد افزایش و در غلظت ۷٪ PEG کاهش یافت (Mazurek et al., 2020). نتایج مشابه در کاهش فاکتورهای رشد به‌ویژه وزن تر

و خشک همراه با کاهش شدید فشار اسمزی گزارش شد که کسری آب در بافت‌های گیاهی موجب کاهش وزن تر نهایی شد (Jatoi et al., 2014; Fahad et al., 2017; Sarmadi et al., 2019; Sergiev et al., 2019). تنش اسمزی بر فتوسنتز و تولید کربوهیدرات تأثیر منفی می‌گذارد و در نتیجه باعث اختلال در رشد گیاه می‌شود. برخی از محققان معتقدند افزایش ماده خشک در گیاهان در طول تنش آبی ممکن است نشان‌دهنده تحمل به تنش خشکی باشد (Pane et al., 2018). وزن برگ و درصد ماده خشک برگ یکی از صفات مهم در گیاهان است و به‌عنوان یک صفت مورفو-فیزیولوژیکی برای مطالعه تحمل خشکی در بسیاری از گیاهان استفاده می‌شود. افزایش وزن خشک برگ تحت تنش خشکی در درخت هلو نیز گزارش شده است (Martinez, 2010). تغییرات در وزن برگ در شرایط تنش ممکن است به‌دلیل تغییرات در مقدار کربوهیدرات‌ها از جمله نشاسته باشد (Xu and Zhou, 2005). همچنین گزارش شده که در شرایط تنش، تجمع ماده خشک در بافت‌های ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام متحمل بیشتر از ارقام حساس است (Meeks et al., 2013). وزن خشک اندام هوایی گیاه تحت تأثیر فتوسنتز و رشد رویشی گیاه قرار می‌گیرد (Abid et al., 2001). با توجه به افزایش پارامترهای فتوسنتزی در ژنوتیپ مراغه (شکل‌های ۳c-a) چنین برداشت می‌شود که میزان دریافت نور و در نتیجه فتوسنتز خالص میزان درصد ماده خشک را افزایش می‌دهد.

تأثیر تنش خشکی بر تعداد برگ چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار تنش خشکی بر میزان تعداد برگ بود. در سطح ۲۵ گرم بر لیتر PEG، میزان تعداد برگ در ژنوتیپ مراغه، کاشان و ارومیه نسبت به شاهد تقریباً بدون تغییر و در ژنوتیپ پاکدشت کاهش ۲۵/۸۵ درصدی مشاهده شد. با اینکه تعداد برگ در ژنوتیپ پاکدشت کاهش یافت ولی در مقایسه با سه ژنوتیپ دیگر دارای برگ بیشتری بود. در غلظت ۵۰ گرم بر لیتر PEG، تعداد برگ در ژنوتیپ‌های کاشان، مراغه و ارومیه تقریباً بدون تغییر یا کاهش



شکل ۳- نمودار دو بعدی حاصل از روش سطح پاسخ (RSM) نشان‌دهنده اثرات متقابل پلی‌اتیلن گلیکول در چهار ژنوتیپ گل محمدی (مراغه B₁، ارومیه B₂، پاکدشت B₃ و کاشان B₄) بر میزان کلروفیل کل (a)، کلروفیل a (b) و کلروفیل b (c) و کارتنوئید (d)

Anjasromo در ۴٪ پلی‌اتیلن گلیکول و ژنوتیپ Argomulyo در غلظت ۲ درصد پلی‌اتیلن گلیکول در مقایسه با گیاه شاهد تعداد برگ بیشتری داشتند. کاهش برگ‌ها ممکن است به علت جذب کمتر آب و کاهش پتانسیل اسمزی خارجی توسط پلی‌اتیلن گلیکول باشد (Pane et al., 2018).

نتایج حاصل از تنش خشکی بر شاخص‌های فیزیولوژیکی در چهار ژنوتیپ گل محمدی، تأثیر تنش خشکی بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۴) نشان داد اثر متقابل تیمار پلی‌اتیلن گلیکول در چهار ژنوتیپ گل محمدی (مراغه، ارومیه، پاکدشت و کاشان) بر صفات کلروفیل کل، کلروفیل a،

جزیی داشت درحالی‌که تعداد برگ در ژنوتیپ پاکدشت نسبت به شرایط بدون تنش و سطح تنش ۲۵ گرم بر لیتر PEG کاهش یافت. در غلظت ۷۵ گرم بر لیتر PEG تعداد برگ در ژنوتیپ پاکدشت کاهش و در ژنوتیپ مراغه افزایش یافت. با افزایش غلظت پلی‌اتیلن گلیکول به ۱۰۰ گرم بر لیتر کاهش محسوسی در تعداد برگ ژنوتیپ پاکدشت و مراغه حاصل شد. بیشترین تعداد برگ در بالاترین سطح تنش خشکی مربوط به ژنوتیپ کاشان بود (شکل ۱ e). در بررسی عملکرد جوانه‌زنی ژنوتیپ سویا تحت تنش خشکی القاشده با PEG-6000 در غلظت‌های صفر، ۲٪، ۴٪ و ۶٪ مشخص شد تعداد برگ در هنگام مواجه با تنش اسمزی بسته به نوع ژنوتیپ نتایج متفاوتی نشان می‌دهد. ژنوتیپ Grogogan در ۶٪ پلی‌اتیلن گلیکول، ژنوتیپ

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس حاصل از تنش خشکی بر شاخص‌های فیزیولوژیکی در چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای

منابع تغییرات				درجه آزادی	
میانگین مربعات					
کلروفیل کل	کلروفیل <i>a</i>	کلروفیل <i>b</i>	کاروتنوئید		
۵۲۲/۴۱**	۲۵۱/۱۴**	۴۹/۱۲**	۲۹/۷۱**	۱	پلی اتیلن گلایکول (A)
۶۲۹/۷۸**	۱۴۰/۳۷**	۱۸۸/۲۰**	۱۴/۸۳**	۳	ژنوتیپ (B)
۲۳/۴۶**	۹/۳۰**	۱۲/۹۱**	۲/۴۶**	۳	پلی اتیلن گلایکول (AB) × ژنوتیپ
۰/۴۳	۰/۳۰	۰/۲۲	۰/۰۰	۱۶	خطا
۱/۵۶	۲/۱۴	۳/۱۳	۲/۵۴	ضریب تغییرات %	

^{ns} عدم اختلاف معنی‌دار، ** بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و * بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۵- میزان تطابق داده‌های پیش‌بینی شده مدل با داده‌های واقعی (R^2)، میزان نقاط در نظر گرفته شده (Adjusted-R^2) و میزان دقت مدل در پیش‌بینی داده‌های جدید (Predicted-R^2) در رنگیزه‌های فتوسنتزی

ردیف	مدل	R^2	Adjusted R^2	Predicted R^2
۱	کلروفیل کل	۰/۹۹	۰/۹۹	۰/۹۸
۲	کلروفیل <i>a</i>	۰/۹۹	۰/۹۸	۰/۹۶
۳	کلروفیل <i>b</i>	۰/۹۹	۰/۹۸	۰/۹۷

لیتر PEG، تغییر در مقدار کلروفیل کل ژنوتیپ مراغه و ارومیه مشاهده نشد درحالی‌که در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG، مقدار کلروفیل کل در ژنوتیپ ارومیه کاهش جزئی و در ژنوتیپ مراغه بدون تغییر بود. ژنوتیپ پاکدشت و کاشان در غلظت ۲۵ گرم بر لیتر PEG، یک روند ثابت در میزان کلروفیل کل داشتند که با افزایش غلظت به ۵۰ و ۷۵ گرم بر لیتر PEG، در هر دو ژنوتیپ میزان کلروفیل کل کاهش یافت. در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG نیز میزان کلروفیل کل در ژنوتیپ پاکدشت به شدت کاهش یافت ولی در ژنوتیپ کاشان تغییری مشاهده نشد (شکل ۳a).

تأثیر تنش خشکی بر میزان کلروفیل *a* و *b* چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: در غلظت ۲۵ گرم بر لیتر PEG، میزان کلروفیل *a* در ژنوتیپ مراغه، ارومیه و کاشان کاهش و در ژنوتیپ پاکدشت افزایش یافت. در غلظت ۵۰ گرم بر لیتر PEG، میزان کلروفیل *a* در همه ژنوتیپ‌های گل محمدی کاهش و در غلظت ۷۵ گرم بر لیتر PEG، در ژنوتیپ

کلروفیل *b*، کاروتنوئید و نشت الکترولیت در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. از طرفی با استفاده از اطلاعات به دست آمده از جدول ۵ میزان تطابق داده‌های پیش‌بینی شده مدل با داده‌های واقعی (R^2)، مقدار تطابق داده‌ها برای پارامترهای مدل نسبت به نقاط در نظر گرفته شده (Adjusted-R^2) و میزان دقت مدل در پیش‌بینی داده‌های جدید (Predicted-R^2) از دقت بیشتری برخوردار است. همچنین به متغیرهای مستقل، نماد ریاضی و سطوح مختلف پلی اتیلن گلایکول در جدول ۱ اشاره شده است.

تأثیر تنش خشکی بر میزان کلروفیل کل چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: با افزایش غلظت پلی اتیلن گلایکول توانایی فتوسنتزی سیستم گیاه با تأثیر بر آنزیم‌های متابولیسم کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی کاهش یافت. در ژنوتیپ مراغه و ارومیه با افزایش غلظت پلی اتیلن گلایکول به ۵۰ گرم بر لیتر میزان کلروفیل کل نسبت به شاهد یک روند کاهشی و پس از آن با افزایش غلظت به ۷۵ گرم بر

مراغه تغییری مشاهده نشد ولی میزان کلروفیل a در این سطح تنش در سه ژنوتیپ دیگر کاهش یافت. در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر نیز تغییری در میزان کلروفیل a ژنوتیپ مراغه به وجود نیامد و ژنوتیپ کاشان، ارومیه و پاکدشت دارای روند کاهشی بودند که سرعت روند کاهش در ژنوتیپ پاکدشت در مقایسه با سه ژنوتیپ دیگر بسیار بیشتر بود (شکل ۳b). در تنش خشکی شدید (۱۰۰ گرم بر لیتر پلی اتیلن گلیکول) بالاترین میزان کلروفیل a در ژنوتیپ مراغه و کمترین مقدار آن در ژنوتیپ ارومیه مشاهده شد. همچنین روند تغییرات کلروفیل b در ژنوتیپ ارومیه و کاشان یکسان بود و کمترین میزان کلروفیل b را نسبت به سایر ژنوتیپ‌های گل محمدی داشتند. در سطح ۲۵ و ۵۰ گرم بر لیتر PEG بالاترین میزان کلروفیل b در ژنوتیپ پاکدشت مشاهده شد و از سطح ۷۵ تا ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG ژنوتیپ مراغه دارای بیشترین میزان کلروفیل b بود (شکل ۳c).

تأثیر تنش خشکی بر میزان کاروتنوئید چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ مراغه تا غلظت ۵۰ گرم بر لیتر PEG یک روند ثابت داشت ولی در غلظت ۷۵ تا ۱۰۰ گرم بر لیتر میزان کاروتنوئید کاهش یافت. واکش ژنوتیپ کاشان به افزایش سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول یک روند کاهش، بعد افزایش و سپس دوباره کاهش یافت. میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ پاکدشت و ارومیه با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول کاهش یافت. بالاترین میزان کاروتنوئید در سطح تنش ۲۵ و ۱۰۰ گرم بر لیتر پلی اتیلن گلیکول مربوط به ژنوتیپ ارومیه و پایین‌ترین مقدار مربوط به ژنوتیپ پاکدشت بود (شکل ۳d).

تنش خشکی ناشی از کمبود آب باعث تغییر فرایندهای متابولیکی گیاه از جمله کاهش بیوستنز رنگدانه‌های فتوسنتزی، مهار رشدونمو یا حتی مرگ گیاهان می‌شود (Hazrati et al., 2016; Mazurek et al., 2020). نتایج یک تحقیق نشان داد که تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول باعث کاهش میزان کلروفیل کل در برنج (Hsu and Kao, 2003)، گندم (Guo et al., 2013) و ماش (Pratap and Sharma, 2010) شد. افزایش

پلی اتیلن گلیکول در محیط باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند O_2^- و H_2O_2 می‌شود که از طریق پراکسیداسیون لیپیدها در تخریب کلروفیل نقش دارند (Tatrai et al., 2016; Meher et al., 2018). با افزایش سطح تنش خشکی میزان کلروفیل کل، a و b کاهش یافت که با نتایج Hajhashemi و Sofo (۲۰۱۸) همخوانی دارد. کاهش میزان کلروفیل به دلیل اکسیداسیون رنگدانه‌ها و تخریب رنگدانه‌ها در اثر تنش خشکی، یک علامت بارز در تنش اکسیداتیو است (Farooq et al., 2009). تیمار با پلی اتیلن گلیکول در محیط کشت گیاه آویشن پس از چهار هفته نشان داد میزان کلروفیل کل ۳۹/۲٪، کلروفیل a ۲۴/۵٪، کلروفیل b ۴۸/۴٪ و کاروتنوئید به میزان ۲۰/۵٪ نسبت به گیاه شاهد کاهش یافت (Razavizadeh et al., 2019). از بین رفتن کلروفیل ممکن است ناشی از افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌از و به دنبال آن افزایش تخریب کلروفیل باشد (Zou et al., 2010). کاهش میزان کلروفیل احتمالاً به دلیل افزایش تولید ROS در تنش خشکی القاشده توسط پلی اتیلن گلیکول است که منجر به پراکسیداسیون لیپیدها و به تبع آن تخریب کلروفیل شده است. پلی اتیلن گلیکول با ایجاد تنش اسمزی باعث کاهش سرعت فتوسنتز شده و بر میزان کلروفیل a و کلروفیل b اثر می‌گذارد. هر گونه تنش به مکانیسم فتوسنتز گیاهی در سطح سلولی که شامل رنگدانه‌ها، سیستم حمل و نقل الکترونی و مسیرهای کاهش CO_2 است، کاهش فتوسنتز را به دنبال دارد (Shivakrishna et al., 2018).

تأثیر تنش خشکی بر پارامترهای محتوای رطوبتی چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: با توجه به نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۶)، مشخص شد اثر متقابل تیمار پلی اتیلن گلیکول بر صفات محتوای رطوبت نسبی آب (RWC)، کمبود اشباع آب (WSD) و میزان آب نسبی از دست‌رفته (RWL) از برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. کاهش رطوبت آب (LWL)، مقدار اولیه آب (IWC) و محتوای آب (LWC) در سطح احتمال یک درصد و اثرات اصلی ژنوتیپ در مقدار آب از دست‌رفته (ELWL) در سطح احتمال یک درصد و در صفت

جدول ۶- نتایج تجزیه واریانس حاصل از تنش خشکی بر پارامترهای محتوای آب در چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط شریط درون شیشه‌ای

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		محتوای نسبی آب	کمبود اشباع آب	مقدار اولیه آب	محتوای آب
پلی اتیلن گلایکول (A)	۱	۳۷۸۸/۶۹**	۳۷۷۴/۲۰**	۵۹/۳۷**	۱۵۹۷/۱۵**
ژنوتیپ (B)	۳	۲۳۶/۴۳ ^{ns}	۲۳۵/۷۸ ^{ns}	۱۰/۱۶**	۲۴۷/۱۸**
(B) × (A)	۳	۳۵۵/۵۹*	۳۴۷/۰۲*	۱۰/۹۴**	۱۳۴/۵۵*
خطا	۱۶	۹۰/۱۸	۸۱/۲۹	۰/۵۳	۴۳/۹۷
ضریب تغییرات		۲۹/۷۲	۱۳/۰۴	۲۱/۴۲	۸/۶۵

^{ns} عدم اختلاف معنی‌دار، ** بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و * بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد

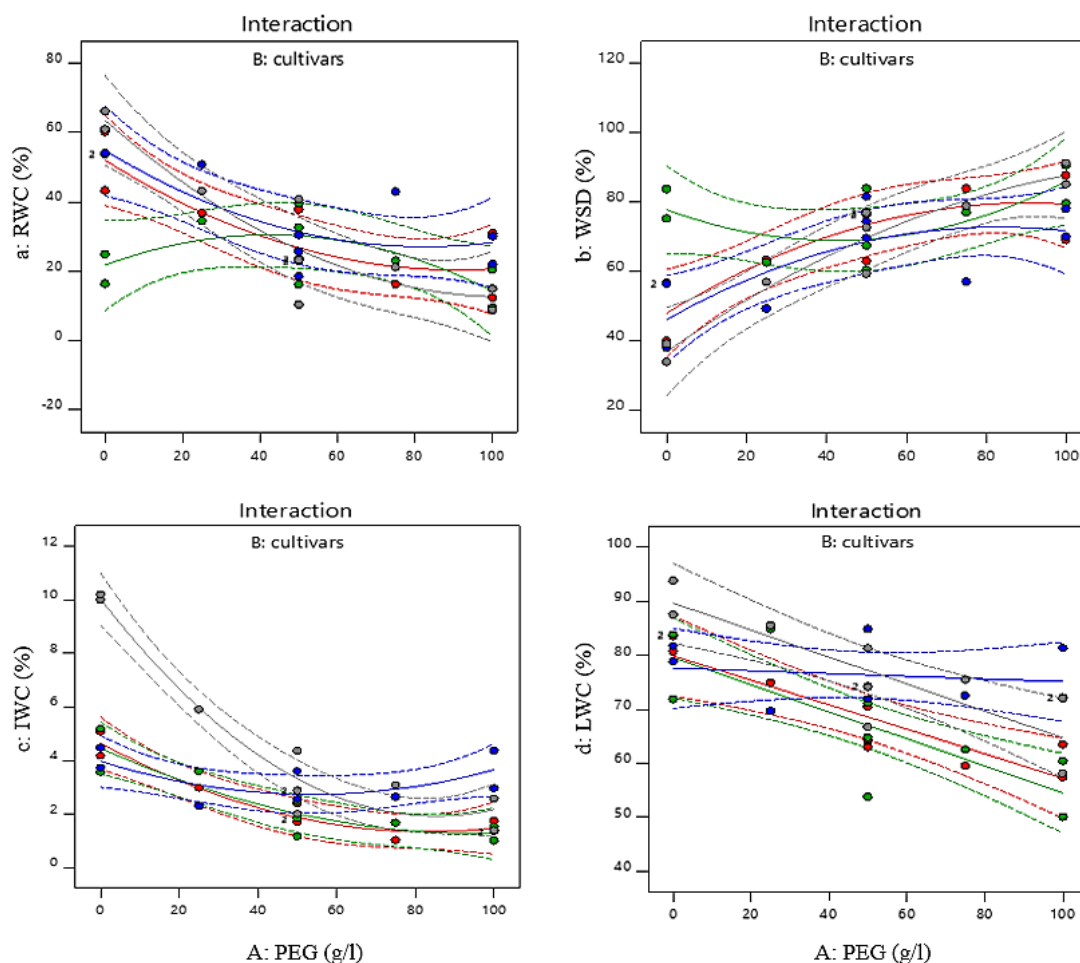
ادامه جدول ۶-

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		مقدار آب نگهداری شده	میزان آب نسبی از دست‌رفته	حفظ محتوای نسبی آب	کاهش رطوبتی آب
پلی اتیلن گلایکول (A)	۱	۲۱۷۴/۹۶**	۳۸۱۷/۷۶**	۷۰/۳۴**	۲۹۴۸/۶۳**
ژنوتیپ (B)	۳	۱۱۱/۳۴ ^{ns}	۲۶۷/۳۰ ^{ns}	۳۴/۱۸*	۴۱۰/۶۳**
(B) × (A)	۳	-	۳۴۷/۰۵*	۵/۳۹ ^{ns}	۱۴۴/۳۷**
خطا	۱۶	۷۹/۹۷	۱۳۲/۵۲	۹/۱	۴/۶۱
ضریب تغییرات		۲۶/۷۷	۱۵/۴۹	۵۹/۱۰	۴/۴۴

^{ns} عدم اختلاف معنی‌دار، ** بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد و * بیانگر اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۷- میزان تطابق داده‌های پیش‌بینی شده مدل با داده‌های واقعی (R^2)، میزان نقاط در نظر گرفته شده (Adjusted-R^2) و میزان دقت مدل در پیش‌بینی داده‌های جدید (Predicted-R^2) در پارامترهای رطوبتی

ردیف	مدل	R^2	Adjusted R^2	Predicted R^2
۱	محتوای رطوبت نسبی آب (RWC)	۰/۷۶	۰/۶۵	۰/۴۸
۲	کمبود اشباع آب (WSD)	۰/۷۶	۰/۶۵	۰/۴۵
۳	مقدار اولیه آب (IWC)	۰/۹۲	۰/۸۹	۰/۸۲
۴	محتوای آب (LWC)	۰/۷۱	۰/۶۴	۰/۵۳
۵	آب از دست‌رفته (ELWL)	۰/۶۴	۰/۴۸	۰/۰۰۹
۶	مقدار آب نگهداری شده (ELWR)	۰/۵۲	۰/۴۶	۰/۳۶
۷	میزان آب نسبی از دست‌رفته (RWL)	۰/۷۰	۰/۵۷	۰/۲۷
۸	حفظ محتوای نسبی آب (RWP)	۰/۶۰	۰/۴۲	-۰/۱۴
۹	کاهش رطوبتی آب (LWL)	۰/۹۶	۰/۹۵	۰/۹۲



شکل ۴- نمودار دو بعدی حاصل از روش سطح پاسخ (RSM) نشان‌دهنده اثرات متقابل پلی اتیلن گلاکول بر چهار ژنوتیپ گل محمدی (مراغه B₁، ارومیه B₂، پاکدشت B₃ و کاشان B₄) بر محتوای نسبی آب برگ (a) (RWC)، کمبود اشباع آب (b) (WSD)، مقدار اولیه آب (c) (IWC)، محتوای آب (d) (LWC)

داده‌های جدید (Predicted-R^2) بیان شده است. همچنین به متغیرهای مستقل، نماد ریاضی و سطوح مختلف پلی اتیلن گلاکول در جدول ۱ اشاره شده است.

تأثیر تنش خشکی بر میزان پارامترهای محتوای رطوبت نسبی (RWC) چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: با افزایش غلظت پلی اتیلن گلاکول میزان محتوای رطوبت نسبی آب برگ در همه ژنوتیپ کاهش یافت. بالاترین میزان محتوای رطوبت نسبی آب برگ در غلظت ۷۵ گرم بر لیتر PEG برای ژنوتیپ پاکدشت و پایین‌ترین مقدار در غلظت سایر ژنوتیپ‌ها در سطح تنش خشکی شدید دارای محتوای رطوبت نسبی آب برگ بیشتری بود. در غلظت ۵۰

۱۰۰ گرم بر لیتر برای ژنوتیپ کاشان بود. مقایسه سطوح مختلف تنش خشکی نشان داد که ژنوتیپ پاکدشت نسبت به حفظ محتوای آب برگ (RWP) در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اثر اصلی سطوح مختلف تنش خشکی در صفت حفظ محتوای نسبی آب (RWP)، مقدار آب از دست‌رفته (ELWL) و مقدار آب نگهداری‌شده (ELWR) در برگ در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

با استفاده از اطلاعات به‌دست آمده از جدول ۷ میزان تطابق داده‌های پیش‌بینی‌شده مدل با داده‌های واقعی (R^2)، مقدار تطابق داده‌ها برای پارامترهای مدل نسبت به نقاط در نظر گرفته‌شده (Adjusted-R^2) و میزان دقت مدل در پیش‌بینی

گرم بر لیتر PEG محتوای رطوبت نسبی آب در ژنوتیپ ارومیه برخلاف روند کاهشی سایر ژنوتیپ‌ها یک روند صعودی داشت و از سطح ۷۵-۱۰۰ گرم بر لیتر PEG کاهش در محتوای رطوبت نسبی آب مشاهده شد (شکل ۴a).

ژنوتیپ پاکدشت و مراغه با داشتن بالاترین میزان رطوبت نسبی آب برگ متحمل‌ترین گیاه و ژنوتیپ کاشان با کمترین محتوای رطوبت نسبی حساس‌ترین گیاه به شرایط تنشی ایجاد شده بود. آزمایشات متعدد در گندم (Siddique et al., 2000)، ختمی چینی (Egilla et al., 2005)، اسفرزه (Rahimi et al., 2010)، نخود (Rahbarian et al., 2011) و برنج (Akte et al., 2016) نشان داد که با افزایش غلظت پلی‌اتیلن گلاکول محتوای رطوبت نسبی آب کاهش یافت که مشابه با نتایج ما بود. اندازه‌گیری محتوای رطوبت نسبی آب، وضعیت آب در بافت‌های گیاه و میزان فعالیت متابولیکی برای درک بهتر تحمل گیاه به شرایط کم آبی مشخص می‌شود را نشان می‌دهد (Sinclair and Ludlow, 1986). طی فرایند سازگاری، گیاهان استراتژی‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در پاسخ به تنش خشکی توسعه می‌دهند. زمانی که فشار بخار برگ نسبت به هوا یا رطوبت نسبی تغییر می‌کند، یکی از مهم‌ترین و سریع‌ترین پاسخ گیاهان، بستن روزنه‌ها برای محافظت از برگ در برابر از دست دادن آب و حفظ راندمان بالای مصرف آب است (Setter and Fregene, 2007). برخی تغییرات ساختاری خاص در آناتومی برگ گونه‌های مختلف گل محمدی وجود دارد که دلیل موفقیت آن‌ها در برابر تنش‌های محیطی است. این تغییرات شامل برگ‌های ضخیم، ضخامت بالای اپیدرم فوقانی، سلول‌های بزرگ با تراکم احاطه‌گری بالا، آوند چوبی وسیع، آوند آبکشی بزرگ و حاوی روزنه‌های بیشتر به خصوص در اپیدرم بالایی برگ است (Nawaz et al., 2011). برگ‌های ضخیم به‌خصوص در شرایط تنش اسمزی دارای مزیت زیادی هستند، زیرا قادر به ذخیره آب بیشتر در شرایط نامطلوب هستند (Brouillette et al., 2006; Donovan et al., 2007). اپیدرم ضخیم به‌ویژه در سطح فوقانی برگ در حفاظت از آب برای جلوگیری از کاهش آب در شرایط تنش نقش

مهمی دارد. این ممکن است مؤثرترین مکانیسم تحت شرایط تنش اسمزی در برابر کاهش آب از طریق سطح برگ باشد (Nawaz et al., 2011). گونه‌های متحمل به‌طورکلی مجهز به اپیدرم ضخیم هستند (Jenks and Ashworth, 1999). از دلایل موفقیت‌آمیز زیست‌محیطی گونه‌های مختلف گل محمدی وجود روزنه‌ها در هر دو سطح برگ است که نشان می‌دهد این گونه‌ها دارای حداکثر هدایت CO₂ در برگ و حداکثر بهره‌وری فتوسنتز هستند (Mott and Michaelson, 1991). علاوه بر این، تراکم بالاتر روزنه به‌همراه روزنه‌های بزرگ رابطه مستقیمی با کارایی مصرف آب دارد زیرا این امر هدایت روزنه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Zhang et al., 2007).

تأثیر تنش خشکی بر میزان کمبود آب نسبت به حالت اشباع (WSD) چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: با افزایش سطح تنش خشکی مقدار کمبود آب نسبت به حالت اشباع (WSD) در همه ژنوتیپ افزایش یافت. میزان کمبود آب نسبت به حالت اشباع در ژنوتیپ‌های کاشان و مراغه در شرایط بدون تنش کمتر بود. با افزایش سطح تنش به ۲۵ گرم بر لیتر PEG ژنوتیپ پاکدشت در مقایسه با سه ژنوتیپ دیگر گل محمدی میزان WSD کمتری داشت. با افزایش شدت تنش خشکی میزان کمبود آب نسبت به حالت اشباع در غلظت ۵۰ و ۷۵ گرم بر لیتر PEG در دو ژنوتیپ کاشان و پاکدشت کمتر از بقیه بود. ژنوتیپ ارومیه تا غلظت ۵۰ گرم بر لیتر PEG بر خلاف دیگر ژنوتیپ‌ها روند کاهشی نشان داد. کمترین مقدار کمبود آب نسبت به حالت اشباع در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG در ژنوتیپ پاکدشت و مراغه مشاهده شد (شکل ۴b). نتایج ما با یافته‌های Mannan و Shashi (۲۰۱۹) در ذرت همخوانی دارد. محققان معتقدند کمبود آب نسبت به حالت اشباع به‌عنوان یک ویژگی غربالگری میدانی، می‌تواند برای شناسایی گونه‌های متحمل ارزشمند باشد. WSD به میزان کمبود آب بافت اشاره دارد، پدیده‌ای که به‌عنوان اولین علائم پاسخ گیاهان به محرک‌های مختلف محیطی از جمله شوری، خشکی، سیلاب و دمای بیش از حد است (Grudkowska and Zagdanska, 2010).

محاسبه مقدار واقعی LLWR و IWC در مزرعه یا گلخانه برای انواع مختلف گیاهان باشد و هر چه مقدار IWC در شرایط تحت تنش زیاد باشد میزان تحمل گیاه به شرایط نامساعد افزایش می‌یابد (Kazemi et al., 2020).

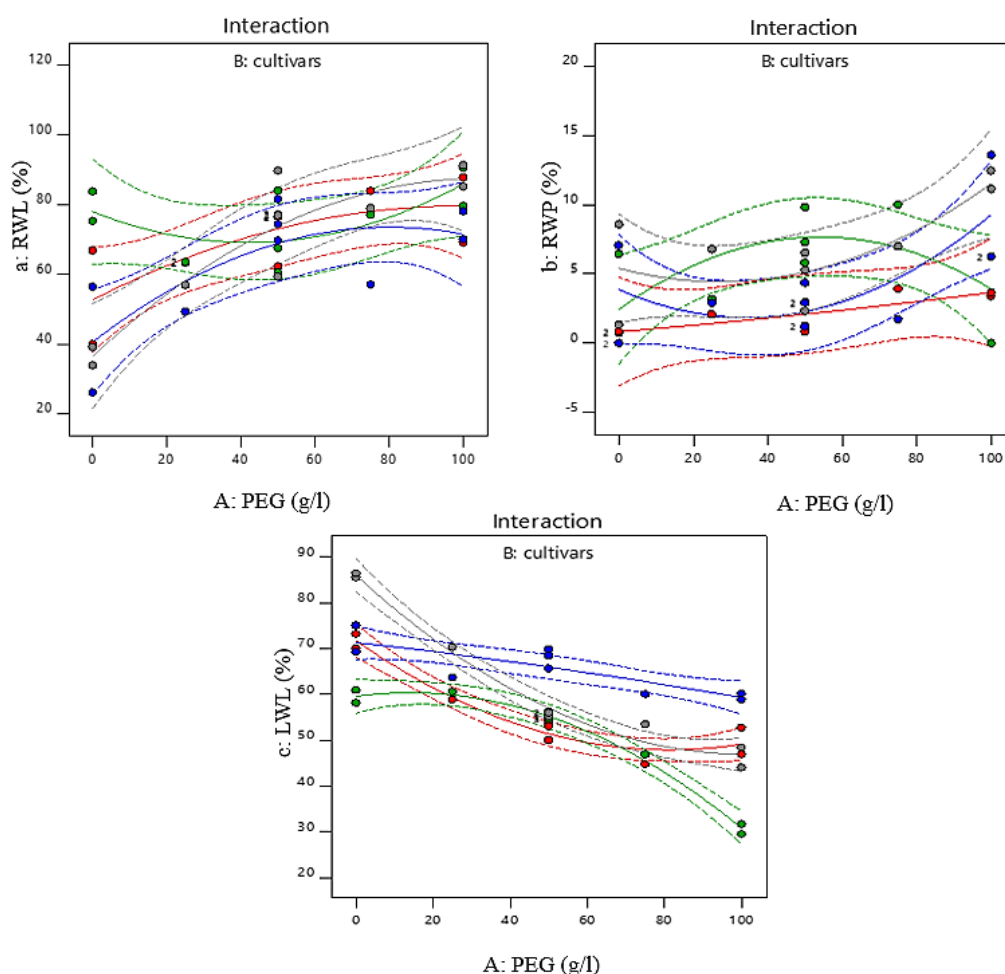
تأثیر تنش خشکی بر میزان محتوای آب برگ (LWC)

چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: با افزایش شدت تنش میزان محتوای آب برگ در ژنوتیپ مراغه، کاشان و ارومیه کاهش یافت. در شرایط بدون تنش محتوای آب برگ در ژنوتیپ کاشان با میانگین ۷۹/۴۵ درصد بالاترین مقدار و در ژنوتیپ ارومیه با میانگین ۶۵/۹۴ درصد پایین‌ترین مقدار بود. با افزایش غلظت پلی‌اتیلن گلیکول به ۲۵ گرم بر لیتر بیشترین مقدار محتوای آب برگ در ژنوتیپ کاشان مشاهده شد. مقایسه میانگین درصدهای به‌دست آمده نشان داد ژنوتیپ پاکدشت در سطح ۵۰ گرم بر لیتر PEG با ۶۹/۶۱ درصد بالاترین و ژنوتیپ ارومیه با ۴۶/۶۴ درصد محتوای آب برگ کمتری داشتند. با افزایش سطح پلی‌اتیلن گلیکول به ۱۰۰ گرم بر لیتر ژنوتیپ پاکدشت و مراغه به‌ترتیب با میانگین ۴۹/۹۷ و ۴۹/۷۷ درصد دارای محتوای آب بیشتری بودند. با افزایش غلظت PEG از ۰-۱۰۰ گرم بر لیتر میزان آب برگ در ژنوتیپ مراغه ۳۴/۱۴٪، در ژنوتیپ ارومیه ۵۷/۴۰٪، در ژنوتیپ پاکدشت ۳۰/۷٪ و در ژنوتیپ کاشان ۵۳/۸۲٪ نسبت به شاهد کاهش یافت. لذا با افزایش سطح تنش خشکی ژنوتیپ پاکدشت و مراغه با کمترین میزان کسری آب نسبت به گیاهان شاهد دارای شرایط بهینه‌ای در برابر تنش محیطی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها گل بودند (شکل ۴d). تحمل به خشکی در گیاهان ممکن است از طریق حفظ پتانسیل بالای آب درونی اتفاق بیفتد. بنابراین، محتوای آب برگ (LWC) یک پارامتر مناسب برای ارزیابی وضعیت آب گیاه در شرایط تحت تنش خشکی است (Kong et al., 2019). برگ مهم‌ترین ارگان در جذب، تعرق و همچنین حساس‌ترین اندام در برابر تنش خشکی است (Czajkowski et al., 2009). محتوای آب برگ مستقیماً می‌تواند وضعیت واقعی رشدونمو را نشان دهد و بهترین شاخص برای نشان‌دادن وضعیت حفاظت از آب برگ‌ها

پژمردگی گیاه یک واکنش فیزیولوژیکی است که به راحتی قابل مشاهده بوده و در ارتباط با فرآیندهای بیوشیمیایی پیچیده‌ای است که منجر به القاء تحمل به تنش یا مرگ برنامه‌ریزی‌شده سلول تحت شرایط تنش شدید در گیاهان می‌شود (Kosova et al., 2015; Miazek et al., 2017). نوسانات WSD به‌عنوان یک صفت فنوتیپی ساده، شرایط لازم برای تحمل گیاه به تنش را فراهم می‌کند (Miazek et al., 2017) ولی بهتر است میزان کلروفیل و فلورسانس کلروفیل نیز همراه با این صفت اندازه‌گیری شود (Rybka et al., 2019). با افزایش سطح تنش مقدار کمبود آب نسبت به حالت اشباع افزایش می‌یابد و ژنوتیپی که کمترین مقدار کمبود آب نسبت به حالت اشباع را دارد، تحمل بهتری نسبت به سایر ژنوتیپ در برابر تنش نشان می‌دهند. در پژوهش حاضر نیز در تنش شدید، ژنوتیپ پاکدشت و مراغه میزان کمبود آب نسبت به حالت اشباع کمتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها داشتند.

تأثیر تنش خشکی بر مقدار اولیه آب برگ (IWC) چهار

ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: پاسخ ژنوتیپ‌ها به مقدار اولیه آب برگ نسبت به افزایش شدت تنش خشکی متفاوت بود چنانچه در غلظت ۲۵ گرم بر لیتر PEG ژنوتیپ کاشان دارای بالاترین مقدار اولیه آب برگ بود درحالی‌که مقدار اولیه آب سایر ژنوتیپ‌ها کاهش یافته بود. با مقایسه میانگین داده‌ها در سطح ۵۰ گرم بر لیتر PEG مشخص شد ژنوتیپ پاکدشت بالاترین مقدار اولیه آب و ژنوتیپ ارومیه کمترین مقدار و در سطح ۷۵ گرم بر لیتر PEG ژنوتیپ کاشان بالاترین و پایین‌ترین مقدار اولیه آب در ژنوتیپ مراغه مشاهده شد. در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG کمترین میزان آب اولیه برگ در ژنوتیپ‌های مراغه و ارومیه و بیشترین مقدار در ژنوتیپ پاکدشت مشاهده شد (شکل ۴c). محدوده کم آبی (LLWR) و ظرفیت اولیه آب (IWC) دو مفهوم مهم هستند که برای محاسبه میزان آب در گیاه استفاده می‌شوند. خصوصیات فیزیولوژیکی مانند تعرق و میزان فتوسنتز، شاخص کلروفیل، پتانسیل آب برگ و محتوای نسبی آب نیز می‌توانند شاخص‌های مناسبی برای نظارت بر وضعیت آب گیاه و



شکل ۵- نمودار دو بعدی حاصل از روش سطح پاسخ (RSM) نشان‌دهنده اثرات متقابل پلی اتیلن گلیکول در چهار ژنوتیپ گل محمدی (مراغه B₁، ارومیه B₂، پاکدشت B₃ و کاشان B₄) میزان درصد آب نسبی از دست‌رفته از برگ بریده‌شده (RWL) (a)، بر میزان آب نسبی حفاظت‌شده در برگ (RWP) (b)، بر میزان درصد کاهش محتوای آب (LWL) (c)

تأثیر تنش خشکی بر میزان آب از دست‌رفته در برگ-های بریده‌شده (ELWL)، مقدار آب نگهداری‌شده در برگ (ELWR) چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: اگر چه اثر متقابل تنش خشکی بر میزان آب از دست‌رفته و مقدار آب نگهداری‌شده در برگ چهار ژنوتیپ گل محمدی معنی‌دار نبود. اما (ELWL) تحت تأثیر میزان پلی اتیلن گلیکول قرار گرفته و در ارقام مختلف هم میزان این صفت متغیر بوده است (جدول ۶). بالاترین و کمترین میزان تلفات رطوبتی به‌ترتیب در ژنوتیپ مراغه و ارومیه مشاهده شد. با افزایش سطح پلی اتیلن گلیکول میزان آب از دست‌رفته (ELWL) کاهش (شکل ۵a) و مقدار آب نگهداری‌شده

است (El-Hendawy *et al.*, 2019). تغییر در LWC می‌تواند میزان خشکسالی محصولات زراعی را تا حدی منعکس کند. با توجه به اختلاف سن برگ، وضعیت رشدونمو و صفات عملکردی، میزان تغییرات LWC در موقعیت‌های مختلف برگ تحت تنش خشکی و همچنین عملکرد فتوسنتزی در موقعیت‌های مختلف برگ متفاوت است (Li *et al.*, 2019). طی فرآیند رشدونمو محصول، LWC در موقعیت‌های مختلف برگ در تنش‌ها در یک زمان مشخص واکنش متفاوتی نشان می‌دهد. در آزمایش حاضر میزان محتوای آب برگ در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG در ژنوتیپ‌های پاکدشت و مراغه نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر بود.

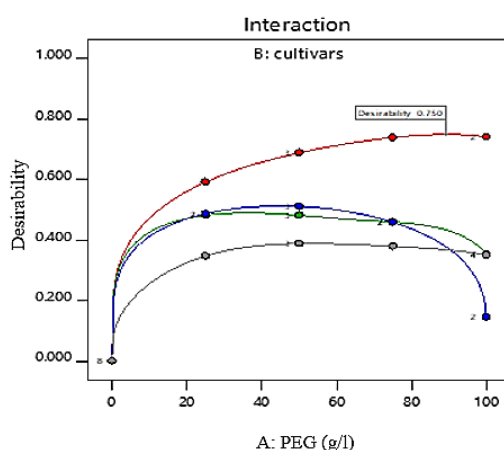
(ELWR) افزایش یافت (شکل ۵b). خشکی تأثیر زیادی بر حفظ آب برگ جداشده (ELWR) و میزان آب از دست‌رفته (ELWL) دارد و به‌عنوان نشانگرهای اصلی فشار آب در برگ به حساب می‌آیند (Merah, 2001). محققان مشخص کردند ۸۰٪ بافت گیاهی از آب تشکیل شده است، بنابراین کاهش آب می‌تواند اثرات منفی آشکاری داشته باشد و به‌عنوان مهم‌ترین عوامل محدودکننده برای رشدونمو گیاهان در نظر گرفته شود (Basit et al., 2020). همچنین در طول تنش خشکی پتانسیل آب اطراف گیاه کمتر از وضعیت طبیعی بوده و گیاهان در جذب آب با مشکل روبرو می‌شوند (Zabihi et al., 2014). در نتیجه با کاهش تأمین آب کافی، از افزایش رشد گیاه، سطح برگ، میزان تقسیم سلولی و بزرگ‌شدن گیاه جلوگیری می‌شود (Basit et al., 2020). همچنین جذب عناصر اساسی و ظرفیت فتوسنتزی تحت کمبود آب کاهش می‌یابد که به‌طور غیرمستقیم از تشکیل شاخه‌های رویشی، برگ جلوگیری و درنهایت وزن‌های تر و خشک کاهش می‌یابند (Nohong and Nompo, 2015). پاسخ ژنوتیپ‌ها به از دست‌دادن آب برگ به‌دلیل تنوع ژنوتیپی در بین ژرم پلاسماها متفاوت است، لذا می‌توان از این شاخص برای شناسایی ژنوتیپ متحمل استفاده کرد (Dhanda and Sethi, 2002). گونه‌های سازگار با محیط‌های خشک، در شرایط تنش، آب کمتری از لایه کوتیکول از دست می‌دهند (Clarke and McCaig, 1982). بنابراین، ELWL می‌تواند به‌عنوان یک استاندارد برای انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل به کمبود آب استفاده شود (Liu et al., 2015). نتایج Raina و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد کاهش مقدار آب از دست‌رفته ارتباط معنی‌داری با عملکرد دانه در گندم دارد. همچنین Munjal و Dhanda (۲۰۰۵) با بررسی ۳۰ ژنوتیپ گندم براساس آب از دست‌رفته تحت سطوح مختلف آبیاری (شرایط آبیاری تنش و نرمال) متوجه شدند ژنوتیپ‌های متحمل دارای ELWL کمتری بودند.

تأثیر تنش خشکی بر میزان آب نسبی از دست‌رفته از برگ بریده‌شده (RWL) چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: در ژنوتیپ پاکدشت میزان RWL در

شرایط بدون تنش کمتر بود و ژنوتیپ ارومیه آب نسبی از دست‌رفته بیشتری داشت. در ژنوتیپ مراغه، ارومیه و کاشان با افزایش غلظت PEG از ۵۰-۱۰۰ گرم بر لیتر میزان آب نسبی از دست‌رفته افزایش یافت. در غلظت ۲۵-۵۰ گرم بر لیتر PEG در ژنوتیپ پاکدشت ابتدا کاهش و سپس افزایش و در غلظت ۷۵ گرم بر لیتر PEG کاهش و دوباره با اوج گرفتن سطح تنش افزایش در میزان آب نسبی از دست‌رفته مشاهده شد. در تنش شدید میزان آب نسبی از دست‌رفته در ژنوتیپ‌های پاکدشت و مراغه کمتر و در ژنوتیپ کاشان بیشتر بود که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر این ژنوتیپ نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها در برابر تنش خشکی است (شکل ۵a). نتایج یک تحقیق نشان داد که در ژنوتیپ‌های متحمل گندم مقدار RWL کاهش و میزان ELER نسبت به ژنوتیپ‌های حساس افزایش یافت (Geravandi et al., 2011).

تأثیر تنش خشکی بر میزان آب نسبی حفاظت‌شده در برگ (RWP) چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: نتایج نشان داد با افزایش سطوح مختلف پلی‌اتیلن گلیکول میزان آب نسبی حفاظت‌شده در برگ افزایش یافت (شکل ۵b). نتایج آزمایشات نشان داد مقادیر برخی پارامترهای رطوبت شامل RWL، RWC، IWC، LWC و ELWL به‌تدریج در شرایط تنش آبی کاهش و در مقابل سایر پارامترهای WSD، ELWR و RWP به‌طور پیوسته افزایش می‌یابند (Nadafzadeh and Mehdizadeh, 2019).

تأثیر تنش خشکی بر میزان کاهش محتوای رطوبتی آب برگ (LWL) چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه‌ای: در ژنوتیپ پاکدشت با افزایش سطح پلی‌اتیلن گلیکول کاهش میزان رطوبت آب در غلظت ۲۵ و ۷۵ گرم بر لیتر ژنوتیپ مراغه نسبت به سایر ژنوتیپ بیشتر بود. در غلظت ۵۰ گرم بر لیتر با بررسی میانگین درصدها مشخص شد کاهش محتوای رطوبتی آب در ژنوتیپ مراغه کمتر و در ژنوتیپ پاکدشت بیشتر بود اما در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG کاهش در محتوای رطوبتی ژنوتیپ‌های ارومیه، کاشان و مراغه کمتر



شکل ۶- نمودار ارزیابی توسط روش RSM جهت معرفی متحمل ترین ژنوتیپ به تنش خشکی ایجادشده توسط پلی اتیلن گلیکول در چهار ژنوتیپ گل محمدی (مراغه B₁، ارومیه B₂، پاکدشت B₃ و کاشان B₄)



شکل ۷- ریز نمونه های گل محمدی بعد از اعمال تیمار پلی اتیلن گلیکول در غلظت ۵۰ گرم بر لیتر (مراغه B₁، ارومیه B₂، پاکدشت B₃ و کاشان B₄)

در میزان LWL با افزایش تنش خشکی مشاهده شد و در ژنوتیپ هایی با LWL بالا میزان کارایی فتوسنتزی کاهش یافت (Raina et al., 2016).

ارزیابی کلی مدل در تأثیر تنش خشکی بر میزان تحمل چهار ژنوتیپ گل محمدی تحت شرایط درون شیشه ای: با استفاده از نمودار تجزیه و تحلیل حاصل از روش سطح پاسخ (RSM) و بررسی تمامی پارامترهای اندازه گیری شده، ژنوتیپ مراغه در مقایسه با سایر ژنوتیپ ها در برابر تنش خشکی مطلوب ترین و متحمل ترین ژنوتیپ با بالاترین سطح بهینه شناسایی شد (شکل ۶). ژنوتیپ پاکدشت تا غلظت ۷۵ گرم بر لیتر پلی اتیلن گلیکول با کمبود آب کمتر و آب از دست رفته

بود. در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر PEG، ژنوتیپ های ارومیه، کاشان و مراغه به ترتیب با کمترین میزان کاهش محتوای رطوبتی آب تحمل بهتری در برابر تنش خشکی داشتند (شکل ۵c). پارامترهای مدیریت آب از قبیل محتوای رطوبت نسبی آب (RWC) و کاهش محتوای رطوبتی آب (LWL) گروه مهمی از صفات گیاهی هستند که باید در هنگام ارزیابی تحمل به خشکی مورد توجه قرار بگیرند (Jorge et al., 2019). نتایج ما با یافته های Jorge و همکاران (۲۰۱۹) در گیاه عدس مطابقت دارد. شاخص LWL به عنوان یک صفت برای شناسایی ژنوتیپ های ماش در پاسخ های فیزیولوژیکی و مولکولی به تنش خشکی مورد استفاده قرار گرفت که افزایش

کمتر و نیز با محتوای آب بیشتر می‌تواند تنش خشکی را تحمل نماید. ژنوتیپ ارومیه نیز با افزایش میزان تنش روند ثابت ولی در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر پلی‌اتیلن گلایکول روند کاهش نشان داد درحالی‌که ژنوتیپ کاشان روند ثابتی داشت. همچنین براساس پیش‌بینی نرم‌افزار، بهترین ژنوتیپ که بتواند در شرایط تنش بهترین مطلوبیت را از نظر ارتفاع زیاد، تعداد برگ بیشتر، میزان کلروفیل بالا و با کمترین میزان رطوبت از دست‌رفته داشته باشد تا حدود ۷۵ درصد ژنوتیپ مراغه است که در برابر تنش خشکی محمل‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها است. این موضوع به‌وضوح در شکل ۷ که تحمل ژنوتیپ‌های مختلف گل محمدی در غلظت ۵۰ گرم بر لیتر پلی‌اتیلن گلایکول را نشان می‌دهد، نمایان است.

نتیجه‌گیری

تنش‌های غیرزنده علت اصلی از دست‌رفتن محصولات و کاهش عملکرد اکثر گیاهان به میزان ۵۰٪ هستند. از طرفی تنش خشکی یکی از گسترده‌ترین تنش‌های محیطی است و مانند سایر تنش‌های غیرزنده، فعالیت‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی را در گیاه محدود می‌کند. استفاده از محلول‌های پلی‌اتیلن گلایکول یک روش جایگزین برای غربالگری ژنوتیپ‌ها در تنش خشکی هستند. ژنوتیپ مراغه تحت شرایط تنش خشکی القاشده با پلی‌اتیلن گلایکول، در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها با افزایش غلظت پلی‌اتیلن گلایکول کاهش جزئی در میزان ارتفاع شاخساره‌ها داشت. با افزایش غلظت پلی‌اتیلن گلایکول به ۱۰۰ گرم بر لیتر کاهش محسوسی در تعداد برگ ژنوتیپ‌های پاکدشت و مراغه مشاهده شد و در

منابع

- بابایی فینی، ا. و علیجانی، ب. (۱۳۹۲) تحلیل فضایی خشکسالی‌های بلند مدت ایران. مجله پژوهش‌های جغرافیای طبیعی ۳: ۱۲-۱.
- پورحسن، ا. (۱۳۹۲) غربالگری درون شیشه‌ای ژنوتیپ‌های گل محمدی نسبت به تنش خشکی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران.
- یاری، ف.، موسوی، ا.، مستوفی، ی.، زمانی، ذ.، سیدی، س. م.، مطلبی آذر، ع. و لایمر، م. (۱۳۹۰) بهینه‌سازی کشت درون شیشه‌ای پنج رقم گل رز شاخه بریده (*Rosa hybrid L.*). فن آوری زیست کشاورزی ۲: ۱۷-۲۶.

این بین ژنوتیپ کاشان بیشترین تعداد برگ را داشت. در بالاترین غلظت پلی‌اتیلن گلایکول میزان کلروفیل کل و کلروفیل *a* در ژنوتیپ مراغه بیشترین و در ژنوتیپ ارومیه کمترین مقدار بود. بیشترین میزان کلروفیل *b* در غلظت ۲۵ و ۵۰ گرم بر لیتر PEG در ژنوتیپ پاکدشت مشاهده شد در حالی‌که با افزایش غلظت PEG از ۷۵ تا ۱۰۰ گرم بر لیتر ژنوتیپ مراغه دارای بیشترین میزان کلروفیل *b* بود. میزان کاروتنوئید در ژنوتیپ‌های ارومیه و مراغه در غلظت ۱۰۰ گرم بر لیتر بالاتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. ژنوتیپ مراغه با داشتن بیشترین میزان وزن خشک و درصد ماده خشک به‌ترتیب به مقدار ۳۳/۹۲ و ۱۲۸/۸۴ درصد و از طرفی کاهش ۳۹/۸۰ درصدی وزن تر این ژنوتیپ در مقایسه با شاهد دارای بیشترین میزان وزن تر در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در بالاترین سطح تنش بود. محتوای رطوبت نسبی آب برگ و محتوای آب برگ با افزایش سطح تنش در ژنوتیپ مراغه و پاکدشت افزایش یافت. ژنوتیپ مراغه در حفظ محتوای نسبی آب در طول تنش یک روند ثابتی را طی کرد. از طرفی کاهش محتوای آب برگ، میزان آب از دست‌رفته و کمبود آب در سطح ۱۰۰ گرم بر لیتر پلی‌اتیلن گلایکول در ژنوتیپ مراغه و بعد در ژنوتیپ پاکدشت در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها در کمترین میزان بود. در کل ژنوتیپ مراغه متحمل‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها نسبت به تنش خشکی بوده و ژنوتیپ‌های پاکدشت، ارومیه و کاشان در رده‌های بعدی قرار دارند.

- Abid, M., Qayyum, A., Dasti, A. and Wajid, R. (2001) Effect of salinity and salinity of irrigation water on yield, physiological growth parameters of maize (*Zea mays* L.) and properties of the soil. *Journal of Research Sciences* 12: 26-33.
- Akte, J., Yasmin, S., Bhuiyan, M. J. H., Khatun, F., Roy, J. and Goswami, K. (2016) In vitro screening of rice genotypes using polyethylene glycol under drought stress. *Progressive Agriculture* 27: 128-135.
- Antonic, D., Milosevic, S., Cingel, A., Lojic, M., Trifunovic-Momcilov, M., Petric, M. and Simonovic, A. (2016) Effects of exogenous salicylic acid on *Impatiens walleriana* L. grown in vitro under polyethylene glycol-imposed drought. *South African Journal of Botany* 105: 226-233.
- Arnon, D. I. (1949) Copper enzymes in isolated chloroplasts Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 11-15.
- Ashkani, J., Pakniyat, H., Emam, Y., Assad, M. T. and Bahrani, M. J. (2007) The evaluation and relationships of some physiological traits in spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under stress and non-stress water regimes. *Journal of Agricultural Science and Technology* 9: 267-277.
- Barakat, M. N. and Abdel-Latif, T. H. (1996) In vitro selection of wheat callus tolerant to high levels of salt and plant regeneration. *Euphytica* 91: 127-140.
- Basit, A., Alam, M., Ahmad, I., Ullah, I., Alam, N., Ullah, I. and ul Ain, N. (2020) Efficacy of chitosan on performance of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plant under water stress condition. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 33: 27-41.
- Bohnert, H. J. and Jensen, R. G. (1996) Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology* 14: 89-97.
- Brouillette, L. C., Gebremedhin, M., Rosenthal, D. M. and Donovan, L. A. (2006) Testing hypothesized evolutionary shifts toward stress tolerance in hybrid *Helianthus* species. *Western North American Naturalist* 66: 409-419.
- Clarke, J. M. and McCaig, T. N. (1982) Evaluation of techniques for screening for drought resistance in wheat 1. *Crop Science* 22: 503-506.
- Clarke, J. M. and Townley-Smith, T. F. (1984) Screening and selection techniques for improving drought resistance. *Crop Breeding: A Contemporary Basis* 137-162.
- Czajkowski, T., Ahrends, B. and Bolte, A. (2009) Critical limits of soil water availability (CL-SWA) for forest trees—an approach based on plant water status. *Landbauforschung Volkenrode* 59: 87-93.
- Demiralay, M., Saglam, A. and Kadioglu, A. (2013) Salicylic acid delays leaf rolling by inducing antioxidant enzymes and modulating osmoprotectant content in *Ctenanthe setosa* under osmotic stress. *Turkish Journal of Biology* 37: 49-59.
- Dhanda, S. S. and Sethi, G. S. (2002) Tolerance to drought stress among selected Indian wheat cultivars. *The Journal of Agricultural Science* 139: 319-326.
- Donovan, L. A., Dudley, S. A., Rosenthal, D. M. and Ludwig, F. (2007) Phenotypic selection on leaf water use efficiency and related ecophysiological traits for natural populations of desert sunflowers. *Oecologia* 152: 13-25.
- Egilla, J. N., Davies, F. T. and Boutton, T. W. (2005) Drought stress influences leaf water content, photosynthesis, and water-use efficiency of *Hibiscus rosa-sinensis* at three potassium concentrations. *Photosynthetica* 43: 135-140.
- El-Hendawy, S. E., Al-Suhaibani, N. A., Elsayed, S., Hassan, W. M., Dewir, Y. H., Refay, Y. and Abdella, K. A. (2019) Potential of the existing and novel spectral reflectance indices for estimating the leaf water status and grain yield of spring wheat exposed to different irrigation rates. *Agricultural Water Management* 217: 356-373.
- Elmaghrabi, A. M., Rogers, H. J., Francis, D. and Ochatt, S. J. (2017) PEG induces high expression of the cell cycle checkpoint gene WEE1 in embryogenic callus of *Medicago truncatula*: Potential link between cell cycle checkpoint regulation and osmotic stress. *Frontiers in Plant Science* 8: 1-12.
- Errabii, T., Gandonou, C. B., Essalmani, H., Abrini, J., Idaomar, M. and Skali-Senhaji, N. (2006) Growth, proline and ion accumulation in sugarcane callus cultures under drought-induced osmotic stress and its subsequent relief. *African Journal of Biotechnology* 5: 1488-1493.
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A. and Ihsan, M. Z. (2017) Crop production under drought and heat stress: Plant responses and management options. *Frontiers in Plant Science* 8: 1-16.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. B. S. M. A. and Basra, S. M. A. (2009) *Plant Drought Stress: Effects, Mechanisms and Management*. Sustainable Agriculture, Springer, Dordrecht.
- Geravandi, M., Farshadfar, E. and Kahrizi, D. (2011) Evaluation of some physiological traits as indicators of drought tolerance in bread wheat genotypes. *Russian Journal of Plant Physiology* 58: 69-75.
- Ghassemi-Golezani, K., Farhadi, N. and Nikpour-Rashidabad, N. (2018) Responses of in vitro-cultured *Allium hirtifolium* to exogenous sodium nitroprusside under PEG-imposed drought stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 133: 237-248.
- Grudkowska, M. and Zagdanska, B. (2010) Acclimation to frost alters proteolytic response of wheat seedlings to drought. *Journal of Plant Physiology* 167: 1321-1327.

- Guo, R., Hao, W. P., Gong, D. Z., Zhong, X. L. and Gu, F. X. (2013) Effects of water stress on germination and growth of wheat, photosynthetic efficiency and accumulation of metabolites. Chapter 13: 367-380.
- Hajihashemi, S. and Sofo, A. (2018) The effect of polyethylene glycol-induced drought stress on photosynthesis, carbohydrates and cell membrane in *Stevia rebaudiana* grown in greenhouse. *Acta Physiologiae Plantarum* 40:8 1-9.
- Hasheminasab, H., Assad, M. T., Aliakbari, A. and Sahhafi, S. R. (2012) Evaluation of some physiological traits associated with improved drought tolerance in Iranian wheat. *Annals of Biological Research* 3: 1719-1725.
- Hassan, F. A. S., Ali, E. F., Alamer, K. H. (2018) Exogenous application of polyamines alleviates water stress-induced oxidative stress of *Rosa damascena* Miller var. trigintipetala Dieck. *South African Journal of Botany* 116: 96-102.
- Hazrati, S., Tahmasebi-Sarvestani, Z., Modarres-Sanavy, S. A. M., Mokhtassi-Bidgoli, A. and Nicola, S. (2016) Effects of water stress and light intensity on chlorophyll fluorescence parameters and pigments of *Aloe vera* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 106: 141-148.
- Hellal, F. A., El-Shabrawi, H. M., Abd El-Hady, M., Khatab, I. A., El-Sayed, S. A. A. and Abdelly, C. (2018) Influence of PEG induced drought stress on molecular and biochemical constituents and seedling growth of Egyptian barley cultivars. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* 16: 203-212.
- Hosseini, N. S., Ghasimi Hagh, Z. and Khoshghalb, H. (2020) Morphological, antioxidant enzyme activity and secondary metabolites accumulation in response of polyethylene glycol-induced osmotic stress in embryo-derived plantlets and callus cultures of *Salvia leriifolia*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 140: 143-155.
- Hsu, S. Y. and Kao, C. H. (2003) Differential effect of sorbitol and polyethylene glycol on antioxidant enzymes in rice leaves. *Plant Growth Regulation* 39: 83-90.
- Jatoi, S. A., Latif, M. M., Arif, M., Ahson, M. and Siddiqui, S. U. (2014) Comparative assessment of wheat landraces against polyethylene glycol simulated drought stress. *Science Technology and Development* 33: 1-6.
- Jenks, M. A. and Ashworth, E. N. (1999) Plant epicuticular waxes: Function, production, and genetics. *Horticultural Reviews* 23: 1-68.
- Jiang, Y., Wang, X., Yu, X., Zhao, X., Luo, N., Pei, Z. and Garvin, D. F. (2017) Quantitative trait loci associated with drought tolerance in *Brachypodium distachyon*. *Frontiers in Plant Science* 8: 1-11.
- Jorge, G. L., Kisiala, A., Morrison, E., Aoki, M., Nogueira, A. P. O. and Emery, R. N. (2019) Endosymbiotic *Methylobacterium oryzae* mitigates the impact of limited water availability in lentil (*Lens culinaris* Medik.) by increasing plant cytokinin levels. *Environmental and Experimental Botany* 162: 525-540.
- Kazemi, S., Nasiri, M., Lajayer, B. A. and Hatami, M. (2020) Integral water capacity (IWC) and least limiting water range (LLWR): Prediction using plant growth indices and soil properties. *3 Biotech* 10: 1-22.
- Kong, W., Huang, W., Zhou, X., Mortimer, H., Ma, L., Tang, L. and Li, C. (2019) Estimating leaf water content at the leaf scale in soybean inoculated with arbuscular mycorrhizal fungi from in situ spectral measurements. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* 12: 149-155.
- Kosova, K., Vitamvas, P., Hlavackova, I., Urban, M. O., Vlasakova, E. and Prasil, I. T. (2015) Responses of two barley cultivars differing in their salt tolerance to moderate and high salinities and subsequent recovery. *Biologia Plantarum* 59: 106-114.
- Li, Y., Song, H., Zhou, L., Xu, Z. and Zhou, G. (2019) Tracking chlorophyll fluorescence as an indicator of drought and rewetting across the entire leaf lifespan in a maize field. *Agricultural Water Management* 211: 190-201.
- Liu, Y., Zhang, X., Tran, H., Shan, L., Kim, J., Childs, K. and Zhao, B. (2015) Assessment of drought tolerance of 49 switchgrass (*Panicum virgatum*) genotypes using physiological and morphological parameters. *Biotechnology for Biofuels* 8: 152.
- Luo, N., Liu, J., Yu, X. and Jiang, Y. (2011) Natural variation of drought response in *Brachypodium distachyon*. *Physiologia Plantarum* 141: 19-29.
- Mahboubi, M. (2016) *Rosa damascena* as holy ancient herb with novel applications. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 6: 10-16.
- Manette, A. S., Richard, C. J., Carver, B. F. and Mornhinweg, D. W. (1988) Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science* 28: 526-531.
- Mannan, M. A. and Shashi, M. A. (2019) *Amelioration of Drought Tolerance in Maize Using Rice Husk Biochar*. *Maize-Production and Use*. IntechOpen, London.
- Martinez, X. (2010) Effects of irrigation and nitrogen application on vegetative growth, yield and fruit quality in peaches (*Prunus persica* L. Batsch cv. Andross) for processing. *Universitat de Lleida*.
- Mazurek, M., Siekierzynska, A., Jacek, B. and Litwinczuk, W. (2020) Differences in response to drought stress among highbush blueberry plants propagated conventionally and by tissue culture. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 155: 172-178.
- Meeks, M., Murray, S. C., Hague, S. and Hays, D. (2013) Measuring maize seedling drought response in search of tolerant germplasm. *Agronomy* 3: 135-147.

- Meher, P. S., Reddy, K. A. and Rao, D. M. (2018) Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi Journal of Biological Sciences* 25: 285-289.
- Merah, O. (2001) Potential importance of water status traits for durum wheat improvement under Mediterranean conditions. *The Journal of Agricultural Science* 137: 139-145.
- Miazeck, A., Nykiel, M. and Rybka, K. (2017) Drought tolerance depends on the age of the spring wheat seedlings and differentiates patterns of proteinases. *Russian Journal of Plant Physiology* 64: 333-340.
- Mott, K. A. and Michaelson, O. (1991) Amphistomy as an adaptation to high light intensity in *Ambrosia cordifolia* (Compositae). *American Journal of Botany* 78: 76-79.
- Munjal, R. and Dhanda, S. S. (2005) Physiological evaluation of wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for drought resistance. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* 65: 307-308.
- Myers, R. H. (1971) *Response Surface Methodology*, Allyn and Bacon. Inc., Boston, MA.
- Myers, R. H., Montgomery, D. C. and Anderson-Cook, C. M. (2016) *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*. John Wiley and Sons.
- Nadafzadeh, M. and Mehdizadeh, S. A. (2019) Design and fabrication of an intelligent control system for determination of watering time for turfgrass plant using computer vision system and artificial neural network. *Precision Agriculture* 20: 857-879.
- Nawaz, T., Hameed, M., Ashraf, M., Al-Qurainy, F., Ahmad, M. S. A., Younis, A. D. N. A. N. and Hayat, M. U. S. L. I. M. (2011) Ecological significance of diversity in leaf tissue architecture of some species/cultivars of the genus *Rosa* L. *Pakistan Journal of Botany* 43: 873-883.
- Nohong, B. and Nompo, S. (2015) Effect of water stress on growth, yield, proline and soluble sugars contents of Signal grass and Napier grass species. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture* 14-22.
- Noodezh, H. M., Moieni, A. and Baghizadeh, A. (2012) In vitro propagation of the Damask rose (*Rosa damascena* Mill.). *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 48: 530-538.
- Omar, M., Abdullah, M. A., Hasan, M. A. and Marziah, M. (2004) Development of growth medium for *Centella asiatica* cell culture via response surface methodology. *American Journal of Applied Sciences* 1: 215-219.
- Pane, R. F., Damanik, R. I. and Khardinata, E. H. (2018) Germination performance of selected local soybean (*Glycine max* (L.) Merrills) cultivars during drought stress induced by Polyethylene Glycol (PEG). *Environmental Earth Sciences* 122: 1-7.
- Pati, P. K., Sharma, M., Sood, A. and Ahuja, P. S. (2005) Micropropagation of *Rosa damascena* and *R. bourboniana* in liquid cultures. In *Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation*. Springer, Dordrecht.
- Pratap, V. and Kumar Sharma, Y. (2010) Impact of osmotic stress on seed germination and seedling growth in black gram (*Phaseolus mungo*). *Journal of Environmental Biology* 3: 721-726.
- Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri, A. and Najafi, F. (2011) Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. *Acta Biologica Cracoviensia Botanica* 53: 47-56.
- Rahimi, A., Hosseini, S. M., Pooryoosef, M. and Fateh, I. (2010) Variation of leaf water potential, relative water content and SPAD under gradual drought stress and stress recovery in two medicinal species of *Plantago ovata* and *P. psyllium*. *Plant Ecophysiology* 2: 53-60.
- Raina, S. K., Govindasamy, V., Kumar, M., Singh, A. K., Rane, J. and Minhas, P. S. (2016) Genetic variation in physiological responses of mungbeans (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) to drought. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 1-12.
- Razavizadeh, R., Farahzadianpoor, F., Adabavazeh, F. and Komatsu, S. (2019) Physiological and morphological analyses of *Thymus vulgaris* L. in vitro cultures under polyethylene glycol (PEG)-induced osmotic stress. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 55: 342-357.
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T. and Holaday, A. S. (1990) Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science* 30: 105-111.
- Rybka, K., Janaszek-Mankowska, M., Siedlarz, P. and Mankowski, D. (2019) Machine learning in determination of water saturation deficit in wheat leaves on basis of Chl a fluorescence parameter. *Photosynthetica* 57: 226-230.
- Sahoo, M. R., Das Gupta, M. and Mukherjee, A. (2006) Polyethelene glycol-mediated osmotic stress on hybrid taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott). *Annal of Tropical Research* 28: 1-11.
- Sahoo, M. R., Devi, T. R., Dasgupta, M., Nongdam, P. and Prakash, N. (2020) Reactive oxygen species scavenging mechanisms associated with polyethylene glycol mediated osmotic stress tolerance in chinese potato. *Scientific Reports* 10: 1-9.
- Sarmadi, M., Karimi, N., Palazon, J., Ghassempour, A. and Mirjalili, M. H. (2019) Improved effects of polyethylene glycol on the growth, antioxidative enzymes activity and taxanes production in a *Taxus baccata* L. callus culture. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 137: 319-328.

- Sergiev, I., Todorova, D., Shopova, E., Jankauskiene, J., Jankovska-Bortkevici, E. and Jurkoniene, S. (2019) Exogenous auxin type compounds amend PEG-induced physiological responses of pea plants. *Scientia Horticulturae* 248: 200-205.
- Setter, T. L. and Fregene, M. A. (2007) Recent advances in molecular breeding of cassava for improved drought stress tolerance. In *Advances in Molecular Breeding Toward Drought and Salt Tolerant Crops*. Springer, Dordrecht.
- Shivakrishna, P., Reddy, K. A. and Rao, D. M. (2018) Effect of PEG-6000 imposed drought stress on RNA content, relative water content (RWC), and chlorophyll content in peanut leaves and roots. *Saudi Journal of Biological Sciences* 25: 285-289.
- Siaga, E., Maharijaya, A. and Rahayu, M. S. (2016) Plant growth of eggplant (*Solanum melongena* L.) in vitro in drought stress polyethylene glycol (PEG). *Biological Research Journal* 2: 10-17.
- Siddique, M. R. B., Hamid, A. I. M. S. and Islam, M. S. (2000) Drought stress effects on water relations of wheat. *Botanical Bulletin of Academia Sinica* 41: 35-39.
- Sinclair, T. R. and Ludlow, M. M. (1986) Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. *Functional Plant Biology* 13: 329-341.
- Tátraí, Z. A., Sanoubar, R., Pluhar, Z., Mancarella, S., Orsini, F. and Gianquinto, G. (2016) Morphological and physiological plant responses to drought stress in *Thymus citriodorus*. *International Journal of Agronomy* 2016: 1-16.
- Xie, T., Gu, W., Zhang, L., Li, L., Qu, D., Li, C. and Li, W. (2018) Modulating the antioxidant system by exogenous 2-(3, 4-dichlorophenoxy) triethylamine in maize seedlings exposed to polyethylene glycol-simulated drought stress. *PLoS One* 13: 1-22.
- Xing, Z. Z. (2004) Flavor mixing and CP violation of massive neutrinos. *International Journal of Modern Physics A* 19: 1-79.
- Xu, Z. Z. and Zhou, G. S. (2005) Effects of water stress and high nocturnal temperature on photosynthesis and nitrogen level of a perennial grass *Leymus chinensis*. *Plant and Soil* 269: 131-139.
- Yang, X., Stern, C. L. and Marks, T. J. (1991) Cation-like homogeneous olefin polymerization catalysts based upon zirconocene alkyls and tris (pentafluorophenyl) borane. *Journal of the American Chemical Society* 113: 3623-3625.
- Zabihi, A., Satei, A. and Ghorbanli, M. (2014) Evaluation effect of putrescine treatment on growth factors of soybean (*Glycine max* L.) under drought stress induced by polyethylene glycol. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences* 4: 24-32.
- Zhang, Z. B., Shao, H. B., Xu, P., Chu, L. Y., Lu, Z. H. and Tian, J. Y. (2007) On evolution and perspectives of bio-watersaving. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 55: 1-9.
- Zou, J. J., Wei, F. J., Wang, C., Wu, J. J., Ratnasekera, D., Liu, W. X. and Wu, W. H. (2010) Arabidopsis calcium-dependent protein kinase CPK10 functions in abscisic acid-and Ca^{2+} -mediated stomatal regulation in response to drought stress. *Plant Physiology* 154: 1232-1243.

Study of *in vitro* drought stress on the response of some genotypes of Damask rose relying on water relations

Sara Rezaei¹, Sahar Azizi Fesendouz¹, Hanifeh Seyed Hajizadeh^{1*}, Farzad Rasouli¹ and Fataneh Yari²

¹ Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

² Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran

(Received: 08/12/2021, Accepted: 07/05/2022)

Abstract

Damask rose is one of the oldest and most valuable rose varieties that to some extent, tolerates water deficiency. However, the selection and identification of genotypes that are more tolerant to drought stress will be effective in development of cultivation of the plant. In this case, an experiment was performed under *in vitro* conditions using polyethylene glycol at five levels (0, 25, 50, 75 and 100 g L⁻¹) on four genotypes of Damask rose (Maragheh, Urmia, Pakdasht and Kashan) and the tolerance of genotypes to drought stress was measured based on water relations traits of the plant via response surface method (RSM). Results showed that as the severity of drought stress increased, the percentage of dry matter was increased in genotypes of Maragheh, Urmia and Kashan compared to the control. At concentration of 100 g L⁻¹ PEG, Maragheh genotype had the highest fresh and dry weight, total chlorophyll, chl *a* and chl *b* and the lowest leaf number and height compared to the other genotypes. Carotenoid contents in Urmia and Maragheh genotypes were higher in 100 g L⁻¹ PEG than other genotypes. As water deficiency increased, leaf water content in Maragheh, Kashan and Urmia genotypes decreased. Maragheh genotype with high values of relative leaf water content, on the other hand, with a decrease in water moisture reduction, relative water loss and saturated water deficiency, showed a better protection mechanism against drought stress than the other three genotypes. After Maragheh genotype, Pakdasht genotype was partially resistance to drought stress up to 75 g L⁻¹ polyethylene glycol.

Keywords; abiotic stress, osmotic relations, micropropagation, tolerant genotype

Corresponding author, Email: hajizade@maragheh.ac.ir