Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 53, No 3, Autumn 2022 (629-646)
DOI: 10.22059/ijhs.2022.319911.1903

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۳، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۴۰۱ (ص ۶۴۶-۶۲۹)

نشریه پژوهشی:

سازوکارهای دفاعی مورفولوژیک، رشدی و بیوشیمیایی تحمل به خشکی در ارقام انتخابی تجاری سیب

حامد اکبری[1] و حسن حاج نجاری[2*]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲. دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، گروه ژنتیک و به نژادی، موسسه تحقیقات علوم باغبانی ، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج ، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۱۳)

چکیده

بررسی‌های فنوتیپی و عملکردی ۹۳ رقم و نژادگان سیب پس از وقوع تنش خشکی شدید منجر به شناسایی ۱۴ رقم تجاری و دو نژادگان گردید که از توانایی حفظ محصول تا زمان رسیدن برخوردار بودند. مطالعات تکمیلی پساتنش با ارزیابی ۱۴ مولفه مورفولوژیک و ویژگی‌های رشدی مانند ارتفاع درخت، سطح سایه‌گستر، محیط تنه و شدت تظاهر صفات عادت رشد با هدف شناسایی سازوکارهای دفاعی ثابت تکوینی انجام شد. میزان پرولین و کربوهیدرات محلول کل نمونه‌های برگی ارقام و دو نژادگان متحمل در مقایسه با دو شاهد حساس 'گلدن دلیشز' و 'عسلی' مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. بین کاهش سطح کل فتوسنتزکننده و تحمل به خشکی همبستگی مثبتی وجود داشت. قدرت رشد در ۱۲ رقم و نژادگان کم، ۲ رقم متوسط و تنها ۲ رقم در سطح بالا بود. در ارقام و نژادگان‌های متحمل ارتفاع، سطح سایه گستر، محیط تنه، سطح پهنک، طول و عرض برگ کم‌تر و طول میانگره کوتاه‌تر بود و شاخه‌های یک‌ساله دارای طول و قطر دمبرگ، ضخامت شاخه، کرک سطح پایینی پهنک و کرک نیمه انتهایی شاخه بیشتر بود. ارقام متحمل با میانگین طول میانگره ۹/۹۱ میلی‌متر رشد کمتری نسبت به ارقام حساس با ۱۹/۳۱ میلی‌متر داشتند. میزان پرولین و کلروفیل کل نمونه‌های برگی در ارقام متحمل با ۱/۵۵ میلی‌گرم در لیتر و ۲۷/۴۸ بیشتر از ارقام حساس با ۱/۳۵ میلی‌گرم در لیتر و ۲۲/۵۶ بود. میزان کربوهیدرات محلول کل برگ در ارقام حساس با ۱۶۲/۵۷ میلی‌گرم در لیتر نسبت به ارقام مقاوم با ۱۲۵/۷ میلی‌گرم در لیتر بیشتر بود.

واژه‌های کلیدی: **تنش خشکی، تحمل، گزینش، صفات پایدار، تکوین، سازوکار دفاعی.**

Defensive mechanisms of the selected drought tolerant apple commercial cultivars crossed by morphologies, growth and biochemical traits

Hamed Akbari[1] and Hassan Hajnajari[2*]
1. M. Sc. Gratuate, Department of Horticultural Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Associate Professor, Temperate Cold Fruit Research Center, Genetic improvement Group, Horticulture Science Research Institude, (AREEO), Karaj, Iran
(Received: Mar. 03, 2021 - Accepted: Feb. 02, 2022)

ABSTRACT

Post-drought stress phenotyping and cropping assessments of 93 apple cultivars and genotypes led to individuation of 14 commercials and two drought tolerant genotypes, capable to keep the crop til ripening. Further studies were achieved at post-stress stage. Scion tree vigor components as tree height, shading area, trunk diameter, internode length and thickness, leaf length and width, stock length and diameter, leaf page hair fitness, leaf area index, leaf axis angle, cortex color, stomata number of annual shoots, hair fitness on annual shoot apex to distinct the defense mechanisms of the evolved stable traits were invetigated. The proline and total carbohydrates contents of the leaf samples were measured as well as fruit biochemical traits of pH, TSS and TA of the tolerant and susceptible 'Golden Delicious' and 'Assali'. Positive correlation was found between reduced total photosynthetic area and drought tolerance so that tree vigor was ranked as weak in 12 Cvs, middle in 2 Cvs and only high in 2 Cvs. The tolerant CVs tree height, shading area, trunk diameter, leaf area index, leaf length and width, internode length demonstrated lower values but the annual shoots presented higher rates of leaf stalck length and diameter shoot diameter, and higher hair density of leaf and shoot apex. The mean if internode length, 9/91 mm, was lower in tolerant Cvs than controls as 19.31 mm. The leaf samples of tolerant Cvs had higher proline 1.55 mg/l, total chlorophyll contents of 27.48 than 1.35 and 22.56 related to the controls. The control Cvs showed increased leaf carbohydrates 162.57 mg/l than tolerant Cvs 125.7 mg/l.

Keywords: Drought stress, tolerance, selection, stable traits, evolution, defense mechanism.

* Corresponding author E-mail: hassanhajnajari@yahoo.com

مقدمه

انعطاف‌پذیری ژنتیک بالا در سیب (*Malus*× *domestica* Bork) منجر به گسترش آن در شرایط مختلف اقلیمی و افزایش سطح زیر کشت در جهان شده است (Gharghani *et al*., 2009). تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدود کننده تولیدات گیاهی بویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک شناخته می‌شود (Ennajeh *et al*., 2010; Laajimi *et al*., 2011) و سالانه منجر به خسارات جدی به عملکرد و کیفیت محصولات از جمله سیب می‌شود (Naschitz *et al*., 2014; Jie *et al*., 2010; Wang and Stutte,1992). مساحت ۶۵ درصدی مناطق خشک در کشور با متوسط بارندگی ۱۵۰ میلی‌متر همراه با تغییرات اقلیمی، برنامه‌ریزی برای مقابله با تنش خشکی را ضروری می‌سازد (Heidari Sharif Abad, 2001). هریک از دو ریخته وراثتی (Genome) رقم و پایه نقش ویژه در برابر تنش خشکی ایفا می‌کنند. سطوح حساسیت و یا تحمل متفاوت به خشکی در پایه و پیوندک سیب گزارش شده‌است. کلکسیون ارقام سیب به عنوان مخزن ژنتیک برای اهداف به‌نژادی، همواره جایگاه ارزشمندتری می‌یابند، زیرا از طریق ارزیابی ارقام زمینه برای کشف ظرفیت‌های ناشناخته و گزینش نژادگان‌های برتر فراهم می‌شود (Wei *et al*., 2014). کارآیی انتخاب شامل شناسایی سریع و بسیار دقیق نژادگان‌ها و نتاج امیدبخش یک مسئله کلیدی در برنامه های به نژادی است. شناسایی ارقام با ویژگی‌ها و ظرفیت‌های ژنتیک لازم با قابلیت مطرح شدن در بین انبوهی از ارقام تجاری یک امر ضروری است (Kellerhals *et al*., 2009). تجمع اسمولیت‌های درون سلولی در سیستم ریشه‌ای و توانایی جذب و نگهداری رطوبت بیشتر از خاک از سازوکارهای تحمل به خشکی در پایه های رویشی سیب برشمرده شد (Atashkar *et al*., 2018). در ارقام سیب متحمل به خشکی بسته به سطح تحمل، تلفیق‌های متفاوتی از سازوکارهای دفاعی شناسایی شده‌است. بسته به ژنتیک گیاه، سازوکارهای دفاعی می‌تواند یا با وقوع تنش به صورت لحظه ای فعال شوند و یا به صورت صفات پایدار در تحولات تکوینی ساختاری، تشریحی و زیستی گیاه وجود داشته باشند. شناسایی سازوکارهای تکوینی تحمل به خشکی در درختان میوه که درجریان انتخاب طبیعی (Natural selection) تکوین یافته‌اند نقش موثری در تحقیقات به‌نژادی دارند. بررسی‌های میکروسکوپی ارقام مقاوم سیب دلالت بر وجود ساختار تشریحی تخصص یافته بافت‌های پارانشیمی و دسته‌جات آوندی در مزوفیل برگ‌ها داشت (Hajnajari *et al*., 2019). تنوع ژنتیک کارآمدترین ابزار زیستی برای گزینش ارقام متحمل به تنش است. بررسی منابع نشان می دهد مطالعه سازو-کارهای دفاعی تحمل به خشکی درختان میوه بیشتر به توانایی گیاهان در شرایط گلدانی متمرکز شده‌است و به ندرت به واکنش گیاهان به تنش در مرحله باردهی پرداخته شده‌است. قدرت رشد درختان تعیین‌کننده بود به طوری که درختان اسپوری (Spur type) با قدرت رشد بیشتر حساسیت بیشتری نسبت به ارقام اسپوری با قدرت رشد کمتر داشتند (Ebel *et al*., 2001). واکنش آنی به تنش خشکی منجر به کاهش متغیرهای مورفولوژیک طول برگ، سطح برگ، وزن تر و نیز محتوای کلروفیل در ارقام سیب هنگرو (Hongro) نسبت به 'فوجی (Fuji) شد. کمبود رطوبت باعث کاهش تقسیم میتوتیک سلولی در برگ، اندازه و طول پهنک می‌شود. تنش شدید خشکی شدید با بازدارندگی بیوسنتز پروتئین‌های کلروپلاست مانع اعمال حیاتی کلروفیل می‌گردد. بررسی مقایسه‌ای ارقام، سطح تحمل بیشتر 'فوجی' را اثبات کرد (Bhusal *et al*., 2019). بر اساس گزارش (Treder *et al*., 1997) وقوع تنش خشکی لحظه‌ای منجر به افزایش طول دوره تولید نهال گردید. اندازه‌گیری مقاومت روزنه‌ای نهال سیب 'لوبو' (Lobo) نشان داد اثرات تنش خشکی مدتی پس از تنش ادامه داشت به طوری که علی‌رغم آبیاری تکمیلی ارتفاع نهال‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت. تجمع اسمولیت‌ها در سلول منجر به کاهش پتانسیل اسمزی سلول، نگهداری جذب آب و فشار تورگر سلولی می‌شود، که علاوه بر حفاظت از غشاء و مجموعه پروتئین‌ها ممکن است به حفظ فعالیت‌های فیزیولوژیک، مانند باز شدن روزنه‌ها، فتوسنتز و توسعه رشد کمک کند و تحمل

بافت به تنش خشکی را افزایش دهد (Dichio *et al*., 2005). در زیتون سطح پرولین قلمه‌های ریشه دار شده ارقام ماری طارم، زرد و روغنی تحت تنش خشکی افزایش یافت و 'ماری طارم' تحمل نسبی بیشتری نشان داد. برخلاف وجود اختلاف معنی دار در پتانسیل آب برگ، ارتفاع نهال بین ارقام تفاوتی وجود نداشت. محققان شناسایی منابع ژنتیک متحمل در مناطق خشک و نیمه‌خشک کشور را به‌عنوان راهکار بهینه مقابله با تنش برشمرده‌اند (Arji & Arzani, 2003). همراه با شاخص های فیزیولوژیک سطوح برخی متغیرهای بیوشیمیایی مانند گلوتاتیون، ویتامین ث، کلروفیل کل و کربوهیدرات‌های محلول در نمونه‌های برگی به عنوان نشاگر تنش خشکی شناسایی و برای تشخیص زمان آبیاری درختان سیب 'Elstar' و'Jonagold Wilmuta' مورد استفاده قرار گرفت. مدیریت تنش خشکی از طریق بهره برداری از تنوع زیستی همراه با کسر آبیاری تنظیم شده برای درختان گلابی ژاپنی، پسته و سایر درختان میوه توصیه شده‌است (Galindo *et al*., 2018). اعمال تنش ملایم خشکی معادل ۵۰٪-۶۰٪ ظرفیت اشباع بر درختان هفت ساله گلدانی 'گالا' موجب افزایش مواد جامد محلول و کربوهیدرات‌های محلول در آخرین مراحل رشد میوه شد (Yuanji *et al*., 2019). فرآیند تنظیم اسمزی که تجمع مواد محلول در ارقام سازگار به تنش خشکی است یک راهکار برای غلبه بر عواقب منفی خشکی می‌باشد (Serraj & Sinclair, 2002). تعداد ۳۵۰ نتاج دورگ نسل اولی سیب حاصل از تلاقی 'هانی کریسپ ×کینگوان' (Honey Crisp ×Qinguan) با هدف گزینش نتاج متحمل، تحت تنش خشکی قرار داده شدند. کاهش رطوبت در دسترس ریشه سیب 'دلیشز' به زیر ۳۵٪ در خاک با بافت شنی و اقلیم نیمه خشک واشینگتن مرکزی زیر تیمارهای کسر آبیاری منجر به ظهور علامت پیری برگ درختان از پایین به طرف بالای تاج شد. درختان کاشته‌شده در دو عمق کم و زیاد به ترتیب در اواسط تیر و اواخر مرداد خزان کردند و تفاوتی در واکنش درختان پیوندی به خشکی بر دو پایه M7 و M111 مشاهده نشد. محتوای نسبی آب برگ در نتاج متحمل برخلاف تعرق بیشتر کاهش کمتری یافت و شاخص‌های فتوسنتزی بهبود یافتند (Flore*et al*., 1985). نتاج پایه رویشی سیب AR1، AR4، AR8 وAR11 تحت تنش خشکی کمترین کاهش در تبادلات روزنه‌ای و فتوسنتز ثبت گردید (Atashkar *et al*., 2018). برای شناسایی محل ژن‌های مسئول کارآیی بهره‌وری آب با استفاده از ۱۰/۱۷۲ نشانگر سیب نقشه پیوستگی ژنتیک تراکم بالا ساخته شد که تعداد ۲۸ ژن واکنش معنی داری به تنش خشکی نشان دادند. این ژن‌ها در سیگنال‌دهی، فتوسنتز، واکنش به تنش، سوخت و ساز کربوهیدرات ها، پروتئین ها و هورمون ها، تنفس و تنظیم رونویسی دخالت دارند (Wang *et al*., 2018). تنش شدید و یا متوسط خشکی منجر به کاهش هدایت روزنه‌ای (Stomatal conductance)، کاهش تعرق و در نهایت کاهش نرخ فتوسنتز خالص (Net photosynthesis rate) گردید (Sircelj *et al*., 2007). پروتئینYTP اتصالی به RNA در حوزه ژنی YTH (domain-containing RNA binding protein) وابسته به تنش اکسیداتیو برای اولین بار در موش کشف شد. بر خلاف روشن بودن عمل پروتئین های YTPs در حیوانات و مخمر آب جو، هنوز این نقش در گیاهان روشن نیست. تاکنون مشخص شده است پروتئین‌های YTP1و YTP2 با ژن‌های MhYTP1 و MhYTP2 در گونه*Malus hupehensis* (Pamp.) Rehd، نقش فعالی در زوال برگ‌ها و رسیدگی میوه دارند ولی تاکنون تحقیقی بر نقش آنان در واکنش به تنش خشکی انجام نشده‌است (Wang *et al*., 2017). همسو با تحقیقات ژنتیک ملکولی (Molecular genetics)، تجارب عملی ارزیابی‌های فنومورفولوژیک (phenomorphological assessments) یا فنوتایپینگ (Phenotyping) ارقام سیب نشان داد در صورت دسترسی به یک حوضچه ژنتیک غنی امکان یافتن نژادگان‌های متحمل به تنش سرمای بهاره (Hajnajari & Eccher, 2006; Dimitrova *et al*., 2020)، تنش خشکی (Hajnajari *et al*., 2019; Nenko *et al*., 2018)، بیماری قارچی سفیدک سطحی سیب (Soroori *et al*., 2010)، لکه سیاه (Mratinić & Akšić, 2012) و پوسیدگی طوقه (Hajnajari, 2021) امکان‌پذیر است و

نیازی به انتقال ژن با برخی مخاطرات زیستی وجود ندارد (Marconi *et al*., 2018). محققان راهبردهای دفاعی گیاهان در برابر خشکی را حاصل واکنش‌هایی چون تجمع نگهدارنده‌های اسموتیک (Osmoprotectant)، ریشه عمیق، سازوکار دفاعی فنولوژیک فرار و در مجموع اثرات متقابل ساختارهای تشریحی، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی برشمرده‌اند که همگی به صورت مستقیم یا غیرمستقیم تحت کنترل ژنتیک هستند (Bassett *et al*., 2013). این پژوهش در سال‌های ۱۳۹۰-۱۳۸۹با هدف کاوش سازوکارهای دفاعی تکوینی در واکنش‌های دفاعی غیرلحظه‌ای یا پایدار رشدی، رویشی برگ و اندامک‌های برگی و ریخت‌شناسی درختان همراه با میزان کربوهیدرات کل نمونه‌ای برگی و عملکرد در درخت ۱۶ رقم گزینش شده متحمل به خشکی و دو رقم شاهد حساس 'گلدن دلیشز' و 'عسلی'، صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محل انجام آزمایش

شهرستان کرج با ارتفاع ۱۳۱۲ متر از سطح دریا، آب و هوای معتدل، طول جغرافیایی ۵۴ درجه و ۵۰ دقیقه و عرض جغرافیایی ۵۵ درجه و ۳۵ دقیقه، جزو نواحی نیمه‌خشک محسوب می‌شود (IMO, 2012). ۳۲۴ درخت ۲۵ ساله بارده، سیب بر پایه‌های بذری، هر رقم سه تکرار، فواصل کاشت ۴×۴ متر و فرم تربیت جامی در کلکسیون ملی ارقام تجاری سیب در خاکی با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (جدول ۱) ایستگاه تحقیقات باغبانی کمالشهر (کرج) وابسته به پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری موسسه تحقیقات علوم باغبانی مستقر بودند.

تعداد ۹۳ رقم تجاری بومی و وارداتی و نژادگان‌های امیدبخش، به دلیل حادثه ریزش چاه از اوائل تیر ماه ۱۳۸۵ تاپایان فصل رشد در دمای بالای تابستانه تحت تنش خشکی شدید قرار گرفتند. علاوه بر تفاوت در ویژگی‌های رشدی و رویشی، وجود تنوع ژنتیک بالای ارقام موجود در کلکسیون از نظر فنولوژی گلدهی، مراحل رشد و نمو میوه، زمان رسیدن و دوره رسیدگی یا تعداد روز پس از پایان گلدهی، ویژگی مهم حفظ درصد قابل قبول باردهی رقم تا زمان رسیدن به عنوان صفت شاخص بهینه تحمل برای گزینش در نظر گرفته شد (جدول ۲). این شاخص قوی زیستی مجموع صفات پایدار و لحظه‌ای تحمل را در بر دارد. ارقام در هنگام وقوع تنش از دهه اول تیرماه در شرایط متفاوت رویشی و عملکردی از نظر درصد میوه بندی و رشدی نمو و نیز زمان رسیدن بودند. تحقیق حاضر در سال بعد از وقوع تنش بر مجموعه‌ای از صفات رویشی ریخت‌شناسی، رشدی و رویشی اندام‌های هوایی با هدف بررسی اختلاف ارقام متحمل به حساس گلدن دلیشز و عسلی صورت گرفت. به دلیل ریزش شدید میوه ۱۰۸ رقم سیب بویژه در ارقام زودرس و غالب بودن ارقام میان‌رس ضرورتی برای سمپاشی و تغذیه یا سایر نیمارها وجود نداشت. ارزیابی‌های میدانی بر عملکرد در درخت ژرم‌پلاسم موجود در کلکسیون در مرحله پساتنش (Post-stress) منجر به شناسایی و انتخاب ۱۴ رقم تجاری و دو نژادگان متحمل سیب گردید، در حالی که میوه ۷۷ رقم دیگر قبل از مرحله میوه‌چه تا بلوغ فیزیولوژیک به‌تدریج دچار ریزش کامل شدند. ارقام گزینش شده ۶۰ تا ۷۵ درصد میانگین عملکرد سال‌های قبل از تنش را حفظ کردند (جدول۲). ارقام شناسایی شده با بالاترین سطح تحمل به تنش شامل امپایر آل رد، جین هاردی، گانی بیوتی، رد دلیشز، اورلئان، استارکینگ، اسکارلت ویلسون، رد اسپور کوپر، کوپر اسپور، گلدن اسپور، اورگون اسپور، گلشاهی، خورسیجان، شیشه‌ای تبریز، آی آر آی ۵ و آزایش انتخاب شدند (Hajnajari, 2010).

جدول ۱. خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک قطعه کلکسیون ارقام تجاری سیب در ایستگاه تحقیقات باغبانی کمالشهر.

Table 1. The soil physico-chemical properties of the apple cultivars collection in Kamalshahrs Station.

Soil depth (cm)	Silt (%)	Loam (%)	Clay (%)	Texture	Saturation (%)	Electrical Conductivity ($Ec\times10^3$)
0-35	18.2	52.2	29.6	Clay Loam	42.77	1.19
35-80	20.0	48.0	32.0	Clay Loam	38.00	0.69
Soil depth (cm)	pH	Organic Matter (%)	Total N (%)	Absorbable P (ppm)	Absorbable K (ppm)	T.N.V (%)
0-35	7.8	0.84	0.10	12.1	575	12.0
35-80	8.1	0.30	0.05	2.4	220	11.5

جدول ۲. فنولوژی پایان گلدهی و زمان سیدن، کلاس و دوره رسیدگی و عملکرد در درخت ارقام سیب انتخابی متحمل به خشکی.
Table 2. Phenology of bloom end, riprning time and class and yield per tree of the selected drought tolerant apple cultivars.

Days after bloom end	Ripening class	Ripening Time	Bloom End	Yield per tree %	Cultivar	Row
136	Mid-Late	Sep. 9	Apr.26	75	Red Spur Cooper	1
147	Mid	Aug. 27	Apr.24	75	IRI5	2
147	Late-Very late	Oct. 27	Apr.21	75	Scarlet Wilson	3
141	Mid-Late	Aug. 20	Apr.12	70	Golshahi	4
123	Late	Aug. 31	Apr.28	70	Azayesh	5
117	Mid	Aug. 20	Apr.25	70	Golden Spur	6
136	Mid-Late	Sep. 7	Apr.24	65	Empire All Red	7
135	Mid-Late	Sep. 6	Apr.24	60	Red Delicious	8
140	Mid-Late	Sep. 11	Apr.23	60	Khorsijan	9
157	Late-Very late	Oct. 29	Apr.25	55	Shisheai Tabriz	10
154	Late	Sep. 21	Apr.20	50	Oregon Spur	11
185	Late-Very late	Oct. 29	Apr.23	50	Cooper Spur	12
131	Mid-Late	Sep. 1	Apr.23	40	Orlean	13
160	Very late	Nov. 17	Apr.25	40	Starking	14
152	Late	Sep. 21	Apr.23	40	Ganny Beauty	15
102	Early-Mid	Aug. 18	Mar.4	35	Jeanne Hardy	16

صفات مورد ارزیابی

سازوکارهای دفاعی گیاهان متحمل و حساس از نظر تغییرات در صفات مورفولوژیک شامل نوع درخت، عادت رشدی و مولفه‌های صفت قدرت رشد شامل ارتفاع، سطح سایه‌گستر، محیط تنه درخت در سه تکرار؛ صفات طول و ضخامت میانگره شاخه یک‌ساله، طول و عرض پهنک برگ، طول و قطر دمبرگ در ۱۰ نمونه مورد و ارزیابی مقایسه قرار گرفت. شاخص سطح برگ (Leaf Area Index) با استفاده از دستگاه سطح سنج برگ (Leaf Area Meter) مدل Bio-Scientific ABC انگلستان اندازه‌گیری شد. میزان کلروفیل کل در ۱۵نمونه برگی سالم و کامل ارقام متحمل و شاهد به‌وسیله دستگاه کلروفیل‌سنج قابل حمل Opti-Sciences, Inc. مدل CCM-200 ساخت آمریکا در محل باغ اندازه‌گیری شد. شدت تظاهر صفات عادت رشد، رنگ پوست و تعداد عدسک در شاخه یک‌ساله، کرک روی نیمه انتهایی شاخه یک‌ساله، زاویه پهنک نسبت به شاخه و کرک روی سطح پایینی پهنک برگ طبق کدهای تعریف شده بر اساس شدت تظاهر صفات در توصیفگر سیب گروه بندی شدند. داده‌ها بر اساس کدهای تعریف شده صفات در نرم‌افزار اکسل وارد گردید. به‌منظور پرهیز از خطا در تشخیص شدت بیان صفات کمی غیر قابل اندازه‌گیری مانند عادت رشد و همچنین دادن کد صحیح به صفات کمی قابل اندازه‌گیری، سطح بیان کمینه و بیشینه هر صفت با بهره‌گیری از تنوع وسیع ژنتیک ارقام موجود در کلکسیون، به عنوان شاخص شناسایی و ثبت گردید. برای مثال حد کمینه صفت اندازه میوه 'قندک کاشان' و حد بیشینه 'بل دوپونتواز' تعیین شد. به این ترتیب، دسته‌بندی و تعیین دامنه داده‌ها (Ranking)، با ارزیابی دقیق از بیان واقعی صفات با مطالعه مخزن وسیع ژرم پلاسم سیب موجود در کلکسیون صورت پذیرفت. به طوری که هر صفت مورد مطالعه در ۱۶ رقم و نژادگان متحمل و دو رقم حساس گلدن دلیشز و عسلی به دو روش گروه‌بندی استاندارد بین‌المللی و نیز بهره‌گیری از شاخص سطح بیان کمینه و بیشینه ژن های هر صفت صورت گرفت. مقایسه میانگین صفات ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس صورت گرفت. برای بررسی صفات بیوشیمیایی شامل میزان پرولین وکربوهیدرات‌های محلول موجود در برگ، نمونه‌برداری برگی از درختان ارقام متحمل و حساس با ۳ تکرار در رقم انجام شد. اندازه‌گیری میزان پرولین در بافت تر گیاهی با استفاده از روش Bates *et al.* (1973) و اندازه‌گیری کل قندهای محلول به روش فنل- اسید سولفوریک (بر اساس روش AOAC، ۱۹۹۵)، در آزمایشگاه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران به عمل آمد. مطالعات مقایسه‌ای بر ارقام انتخابی سیب متحمل و حساس به خشکی پس از وقوع تنش در شرایط محیطی غیر تنشی با هدف شناسایی سطح بیان ژن‌های مسئول گروهی از صفات پایدار تکوینی و موثر صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده ها

این آزمایش به صورت طرح کاملا تصادفی، هر رقم در سه تکرار و ۱۰ نمونه در هر واحد آزمایشی بر ۱۸ رقم انجام شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها با

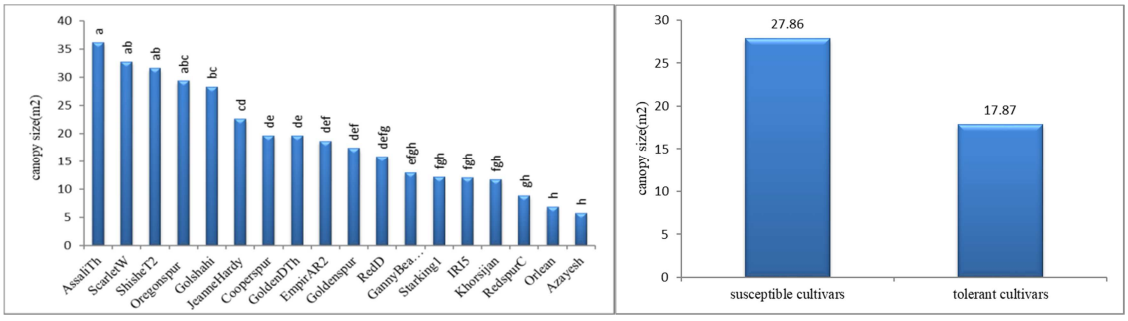
نرم‌افزار آماری SAS و تجزیه همبستگی توسط نرم‌افزار SPSS صورت پذیرفت. مقایسات میانگین توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

سطح سایه گستر: درختان شاهد 'عسلی' با ۳۶/۱۳ مترمربع و 'آزایش' متحمل ۵/۷۴ مترمربع به ترتیب بیشترین و کم‌ترین میانگین سطح سایه گستر را با اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد به خود اختصاص دادند (شکل a-۱). در مجموع، شاهدهای حساس با میانگین ۲۷/۸۶ مترمربع نسبت به ارقام متحمل با میانگین ۱۷/۸۷ مترمربع دارای سطح سایه‌گستر بیشتری بودند (شکل b-۱).

سطح سایه گستر محدود به عنوان صفت تکوینی پایدار یک مولفه مهم قدرت رشد و تکوین نوعی اسکلت با تاج کوچک برای تحمل تنش خشکی است. تنوع ژنتیک بالای ارقام تبیین سطح سایه‌گستر درخت را به دلیل ویژگی‌های رفتار رشدی آنان با پیچیدگی مواجه می‌سازد. برخلاف این تنوع زیستی یک غالبیت گسترده نسبی از ارقام با تاج حجیم‌تر در مجموع ۹۳ رقم به چشم می خورد. در حالی‌که در بین ۱۴ رقم انتخابی متحمل به خشکی ۱۰ رقم متحمل از قدرت رشد محدود، حجم تاج متراکم و فشرده برخوردار بودند و صرفا تعداد چهار رقم متحمل اسکارلت ویلسون، اورگون اسپور، شیشه ای تبریز و گلشاهی علی رغم حفظ محصول تا زمان رسیدن از قدرت رشد بالا برخوردار بودند. هرچند این نتایج در خصوص قرار گرفتن درختان 'گلدن اسپور' با قدرت رشد زیاد در بین گیاهان متحمل با گزارش Ebel *et al.* (2001) همخوانی ندارد، در عوض با نتایج آنان در رابطه با تحمل بالای ارقام اسپورتایپ با قدرت رشد کم مانند رد اسپور کوپر، کوپر اسپور، گلدن اسپور و اورگون اسپور مطابقت دارد.

به استثنای سه یا چهار رقم متحمل با قدرت رشد زیاد که الزاما مجهز به دیگر سازوکارهای دفاعی هستند، نتایج به صورت قاطع نشان‌دهنده وجود راهبرد دفاعی زیستی حفظ رطوبت درون بافتی و کاستن میزان تبخیر و تعرق از طریق کاهش اندازه تاج و سطح سایه گستر در ارقام متحمل سیب می‌باشد. در برخی ارقام، آمیختگی قدرت رشد بالا با عادت رشد افراشته شرایط شبیه ریزاقلیم مرطوب درون تاج متراکم درختان اسپوری ایجاد می‌شود. کاهش سطح کل فتوسنتزکننده موجب افت میزان تابش دریافتی و مانع هدررفت رطوبت درون بافتی از طریق روزنه ها می‌گردد. Peng *et al.* (2017) در نبود ارقام و پایه‌های متحمل دست به روش های مدیریت باغ می‌زنند. در چین، به منظور افزایش ظرفیت نگهداری رطوبت خاک‌های خشک فلات لواس به عنوان وسیع ترین دشت سیب کاری جهان از تیمارهای کود آلی استفاده می‌شود. در استرالیا، اقدام به خشک نگاه داشتن نیمی از کره ریشه با آبیاری یک طرفه درختان 'پینک لیدی' در سیستم کشت متراکم، با ۱۴۰۰ درخت در هکتار گردید. هرچند افت پتانسیل آب برگ، رشد طولی شاخه های جانبی را کاهش داد ولی نتایج نامطلوبی در اندازه میوه و عملکرد ثبت شد (Mark *et al.*, 2007). به نظر می رسد صفات پایدار تکوینی علاوه بر قدرت رشد و عادت رشد در تعیین فرم اسکلت و شاخه‌بندی درختان (Tree architecture) متحمل سیب نقش دارند (Coupel-Ledru*et al.*, 2019).



شکل ۱. مقایسه‌میانگین سطح سایه‌گستر درخت سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم شاهد حساس.

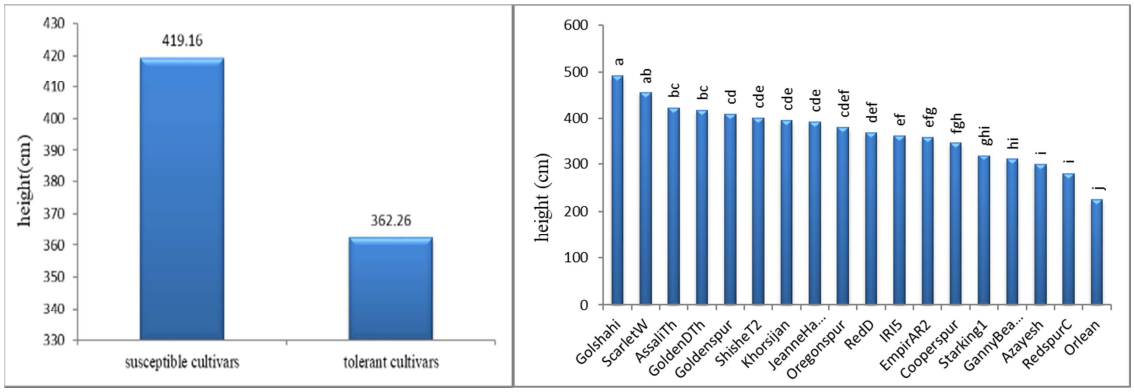
Figure 1. Mean comparison of canopy size in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.

ارتفاع درخت

از مجموع ۱۶ رقم متحمل، ۱۴ رقم میانگین ارتفاع کم‌تری نسبت به شاهدها داشتند. دو شاهد حساس 'عسلی' و 'گلدن دلیشز' پس از 'گلشاهی' و 'اسکارلت ویلسون'، به ترتیب با ۴۲۱/۶۶ و ۴۱۶/۶۶ سانتی‌متر بیشترین میانگین ارتفاع و 'اورلئان' متحمل با ۲۲۴/۶۷ سانتی‌متر کم‌ترین میانگین ارتفاع درخت را دارا می‌باشند (شکل a-۲). ارقام شاهد حساس با میانگین ۴۱۹/۱۶ سانتی‌متر نسبت به درختان مقاوم با میانگین ۳۶۲/۲۶ سانتی‌متر دارای ارتفاع درخت بیشتری هستند (شکل b-۲). در حالی که کاهش ارتفاع، سطح سایه‌گستر و تولید محصول در ارقام انتخابی متحمل به خشکی به‌عنوان رفتار فنوتیپی پایدار در زیست‌شناسی گیاه تکوین یافته و استمرار دارد ارقام دارای واکنش مقاومت لحظه‌ای بلافاصله پس از تنش دچار کاهش عملکرد می‌شوند (Mark *et al*., 2007).

محیط تنه

تنه درختان شاهد حساس 'عسلی' با ۶۲/۶۶ سانتی‌متر، پس از 'گلشاهی' و 'اسکارلت ویلسون' متحمل از بیشترین و 'آزایش' با ۲۹ سانتی‌متر از کم‌ترین میانگین محیط تنه درخت در بین ارقام برخوردارند. در مجموع ۱۲ رقم متحمل دارای محیط تنه کم‌تری نسبت به شاهد 'گلدن دلیشز' و ۱۴ رقم دارای محیط تنه کم‌تری نسبت به شاهد 'عسلی' بودند (شکل a-۳). مقایسه میانگین محیط تنه درخت نشان داد درختان حساس با میانگین ۵۹/۳۳ سانتی‌متر نسبت به ارقام متحمل با میانگین ۴۷/۳۷ سانتی‌متر دارای محیط تنه درخت بیشتری هستند (شکل b-۳). صفت محیط تنه نیز از دیگر اجزای صفت قدرت رشد بشمار می‌رود. کاهش ارتفاع در غالب درختان ارقام متحمل با کاهش اندازه تاج همراه بوده است. همسو با محدودیت اندازه تاج، ابعاد شبکه آوندی محدودتر در طول تنه (ارتفاع کم‌تر)، و در طول شاخه های جانبی کوتاه تر وجود خواهد داشت. بنابراین گیاهان متحمل با تغییر رفتار در مولفه های رشدی مانند کاهش محیط تنه (Michelakis *et al*., 1995)، توزیع حجم ورودی آب و برگشت شیره پرورده از طریق ساختمان تشریحی تخصص یافته بازتنظیم می‌شود. برعکس، شبکه آوندی شاهد حساس 'گلدن دلیشز' بین ساختمان ریشه و شاخه بندی اسکلت هماهنگ با برگ های دارای بافت پارانشیمی نرده ای با کوتیکول نازک، تعداد بیشتر، اندازه روزنه های بزرگ‌تر و تراکم کرک برگ کم‌تر به صورت کاملا متفاوت عمل می‌کند. ارقام غیرمتحمل سازگار با شرایط آب و هوایی ملایم و برخورداری از منابع آبی کافی با افزایش محیط تنه رفتار خود را با شرایط اقلیمی هماهنگ نموده‌اند. در نتیجه محیط تنه و نیز اندازه، حجم آوندها و ساختار تشریحی شبکه آوندی برای ورودی حجم آب بیشتر برای پاسخ دادن به سطح و حجم گسترده‌تر تغییر و افزایش می‌یابد (Hajnajari *et al*., 2019).



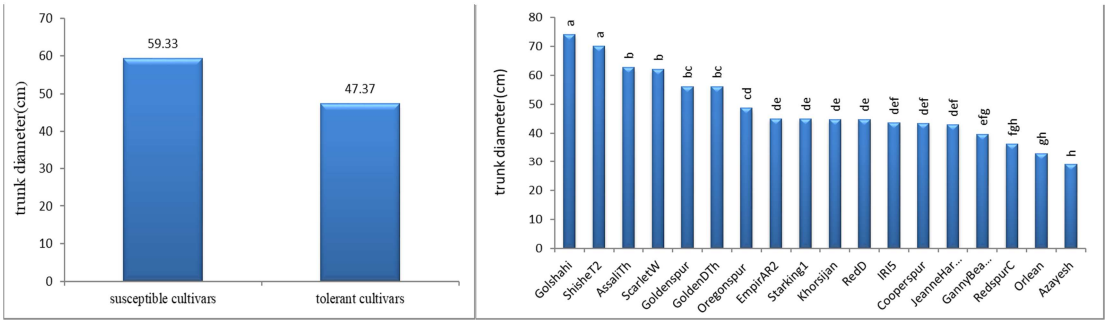
شکل ۲. مقایسه میانگین ارتفاع درخت سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم شاهد حساس.

Figure 2. Mean comparisons of tree height in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.

طول میانگره شاخه یک‌ساله

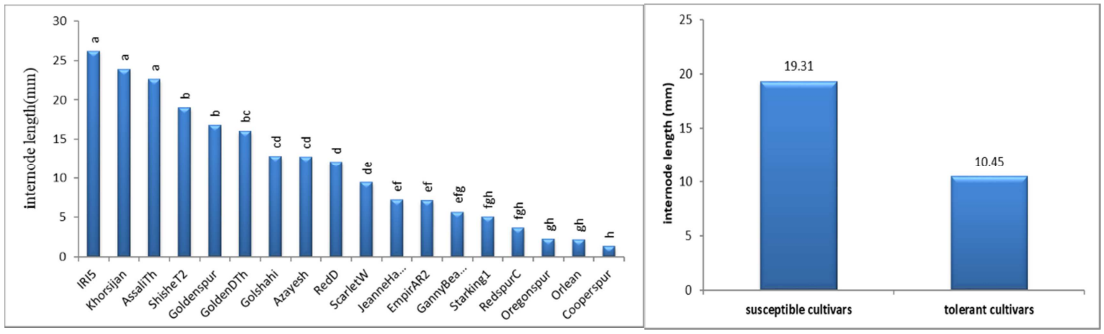
بررسی‌های انجام‌شده نشان داد نژادگان متحمل آی آر آی۵ بیشترین میانگین طول میانگره شاخه یک‌ساله را با ۲۶/۲ میلی‌متر و رقم متحمل کوپر اسپور کم‌ترین میانگین طول میانگره شاخه یک‌ساله را با ۱/۳۳ میلی‌متر در بین ارقام دارا می‌باشند (شکل a-۴). این نتایج با گزارش بررسی عملکرد و خصوصیات رویشی ارقام تجاری و اسپور تایپ سیب مطابقت دارد (Hasani *et al.*, 2013). در یک آزمایش بلند مدت سازگاری دیگر در کرج (Atashkar, 2009)، ارقام رد اسپور، دلیشز اسپور، کوپر اسپور، یلو اسپور سازگار با شرایط آب و هوایی کشور و مناسب برای احداث باغ های متراکم گزارش شدند. با وجود ارتفاع کوتاه و کوچک بودن اندازه تاج درختان در هر دو نوع درخت استاندارد و اسپور متحمل سیب، وجود اختلاف معنی‌دار طول میانگره را می توان در نوع رشد آنان یافت. طول بلند میانگره در درختان 'آی آر آی۵' به دلیل نوع رشد استاندارد آن در مقایسه با نوع رشد اسپوری در رقم کوپر اسپور است.

غالب درختان اسپوری موتانت هستند و میانگره‌های فشرده به دلیل ایجاد جهش در ریخته وراثتی آن-هاست. بررسی میانگین طول میانگره شاخه یک‌ساله نشان داد که ارقام حساس با میانگین ۱۹/۳۱میلی‌متر نسبت به ارقام متحمل با میانگین ۱۰/۴۵ میلی‌متر دارای طول میانگره شاخه یک‌ساله بیشتری هستند (شکل b-۴). در مجموع ۱۲ رقم متحمل دارای طول میانگره شاخه یک‌ساله کم‌تری نسبت به شاهد گلدن دلیشز و ۱۴ رقم دارای طول میانگره شاخه یک‌ساله کم‌تری نسبت به شاهد 'عسلی' بودند. دیگر بررسی‌ها نشان داد ارقام اسپوری مشتق شده از 'دلیشز' لزوما همه دارای تاج فشرده نیستند و در صفت طول میانگره تفاوت دارند. فرار جوانه های انتهایی از حالت اسپوری و تاج فشرده گزارش شده است. برخی ارقام اسپوری به شدت از نظر رشد و اندازه تاج متفاوتند (Walsh *et al.*, 1984). نتایج این تحقیق نشان داد کاهش رشد طولی میانگره‌ها با افزایش ضخامت همراه است. طول میانگره در ارقام متحمل به خشکی کاهش زیادی نسبت به ارقام حساس داشت.



شکل ۳. مقایسه‌میانگین محیط تنه درخت سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم شاهد حساس.

Figure 3. Mean comparisons of tree trunk diameter in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.



شکل ۴. مقایسه‌میانگین طول میانگره شاخه یک‌ساله سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم حساس.

Figure 4. Mean comparisons of internode length in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.

محققان کیفیت و عملکرد میوه ۲۹ کلون مختلف 'دلیشز' بر دو پایه M7 و MM111 را در انواع خاک و رژیم‌های آبیاری بررسی کردند. ارقام استاندارد غیراسپوری نسبت به انواع اسپوری حساسیت بیشتری به خشکی نشان دادند (Ebel *et al*., 2001). در حقیقت، نحوه رشد میانگره‌ها به عنوان کوچک‌ترین واحدهای حامل جوانه‌های جانبی، اندازه کلی درخت و حتی شکل و اسکلت را تعیین می‌کند. از طرف دیگر با افزایش ضخامت شاخه یک‌ساله سرعت حرکت مواد در آوندها نیز بر اساس خاصیت موئینگی کاهش یافته و در نتیجه ساختار تشریحی به حفظ رطوبت درون بافتی گیاه و تحمل آن به شرایط تنش خشکی کمک خواهد کرد.

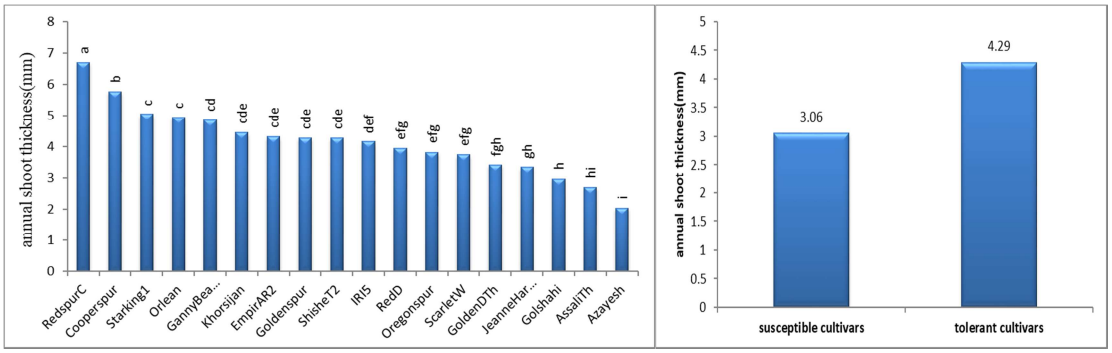
ضخامت شاخه یک‌ساله

دو رقم متحمل رد اسپور کوپر و آزایش به ترتیب با ۶/۷ میلی‌متر و ۲/۰۴ میلی‌متر بیشترین و کمترین میانگین ضخامت شاخه یک‌ساله را داشتند (شکل a-۵). بررسی میانگین ضخامت شاخه یک‌ساله نشان داد ارقام حساس با میانگین ۳/۰۶ میلی‌متر نسبت به ارقام متحمل به تنش خشکی با میانگین ۴/۲۹ میلی‌متر دارای ضخامت شاخه یک‌ساله کم‌تری هستند (شکل b-۵). در مجموع ۱۳ رقم متحمل دارای ضخامت شاخه یک‌ساله بیشتری نسبت به شاهد حساس گلدن دلیشز و ۱۵ رقم دارای ضخامت شاخه یک‌ساله بیشتری نسبت به شاهد حساس 'عسلی' بودند. در مجموع ارقام متحمل دارای ضخامت شاخه یک‌ساله بیشتری در مقایسه با شاهدهای حساس هستند. با توجه به اصل سازوکار دفاعی تحمل به خشکی درکوچک‌سازی سطوح تنفسی در ارقام متحمل، طول اندام رویشی، میانگره‌ها، کاهش می‌یابند و در عوض قطر شاخه یک‌ساله به عنوان مخزن‌های رطوبتی و مواد غذایی افزایش می‌یابد. شدت تظاهر صفت ضخامت میانگره، در کاشتارهای اسپور تایپ به بالاترین سطح می‌رسد. با کاهش طول میانگره به عنوان واحد رشدی طول شاخه، اندازه و حجم تاج دچار کاهش می‌شود.

کلروفیل کل پهنک

بررسی‌های انجام شده نشان داد 'رد اسپور کوپر' با ۳۸/۷۵ واحد بیشترین و 'امپایر آل رد' با ۱۸/۷۲ واحد کم‌ترین میانگین کلروفیل کل یا سبزینگی را در بین ارقام دارا می‌باشند (شکل a-۶). بررسی میانگین شدت رنگ سبز پهنک برگ نشان داد که دوشاهد حساس با میانگین ۲۶/۵۶ واحد نسبت به ارقام متحمل با میانگین ۲۷/۴۸ واحد دارای شدت رنگ سبز پهنک برگ کم‌تری هستند (شکل b-۶).

در مجموع ۱۲ رقم متحمل دارای سبزینگی پهنک برگ بیشتری نسبت به شاهد 'گلدن دلیشز و ۵ رقم دارای سبزینگی پهنک بیشتری نسبت به شاهد 'عسلی' بودند. به نظر می‌رسد افزایش کلروفیل کل در برگ‌ها موجب جبران کاهش سطح برگ است. نیاز به کربوهیدرات‌ها در گیاهان متحمل به خشکی با تاج کم حجم نسبت به ارقام حساس با رشد رویشی زیاد کم‌تر نیست، با این تفاوت که مسیر متابولیک در درختان با قدرت رشد ضعیف تفاوت کرده است چون استفاده از انرژی شیمیایی حاصل از فتوسنتز به جای تولید اندام‌های رویشی صرف تشکیل اندام زایشی می‌شود.



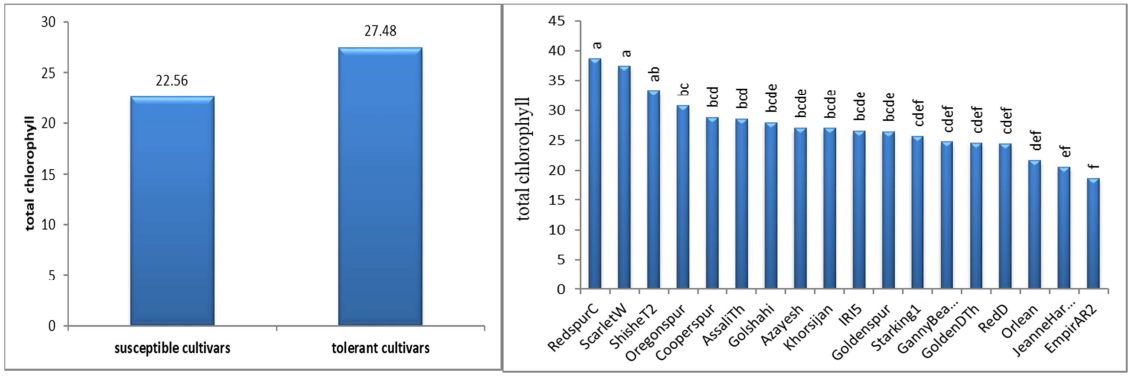
شکل ۵. مقایسه‌میانگین ضخامت شاخه یک‌ساله سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم حساس.

Figure 5. Mean comparisons of annual shoot thickness in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.

افزایش درصد میوه‌بندی و رشد و نمو میوه ها با صرف انرژی زیاد همراه است. تنفس درخت در انجام اعمال حیاتی میلیون‌ها روزنه برای تحرک مستمر سلول‌های نگهبان در مقابله با تنش افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد همراه با کاهش طول و عرض برگ، طول میانگره، ارتفاع درخت، سطح سایه گستر و محیط تنه در غالب ارقام متحمل سیب به خشکی، یک سازوکار دفاعی جبرانی در شکل افزایش میزان کلروفیل کل برگ در حداقل ۱۰ رقم متحمل فعال شده است. رفتار متعارضی در ارقام با قدرت رشد زیاد و عرض سایه گستر بالا مانند اسکارلت ویلسون، شیشه ای تبریز، اورگون اسپور و گلشاهی مشاهده شد به طوری که میزان کلروفیل کل آن ها به بالاترین سطح ممکن معادل ۳۳ تا ۳۹ واحد در مقایسه با ۱۲ رقم با قدرت رشد کم برابر ۲۵ تا ۳۳ واحد بود. 'امپایر آل رد' با قدرت رشد ضعیف-متوسط دارای ۱۸ واحد کلروفیل حد کمینه و اورلئان با قدرت رشد بسیار ضعیف معادل ۲۰ واحد از میزان سبزینگی را داشتند. به این ترتیب نه تنها شرایط لازم برای تامین انرژی شیمیایی لازم فراهم می‌آید بلکه بسته به سطح مقاومت گیاه انرژی لازم برای مقابله با اثرات منفی تنش خشکی تامین می‌شود. محققین در بررسی اثرات شدت تنک بر درختان ۷ ساله ترکیب پیوندی 'برابرن'-M26 بر اندازه و کیفیت میوه نتیجه گرفتند میزان مواد جامد محلول و ماده خشک با کاهش باردهی افزایش یافت. نرخ فتوسنتز درختان بدون باردهی به طور معنی داری پایین تر ۴۰درصد و ۶۰ درصد به ترتیب ۷۵ روز و ۱۱۸ روز پس از پایان گلدهی بود. فعالیت فتوسنتزی به صورت خطی با افزایش غلظت کربوهیدرات برگ ها کاهش یافت ولی همبستگی مستقیم و مثبت معنی داری با هدایت روزنه ای داشت (Wünsche *et al*., 2005).

تخریب و کاهش کلروفیل برگ منجر به نبود قند و اختلال در اعمال حیاتی کاهش تنفس، افزایش سطح ریزش در گیاهان حساس و نیز ریزش میوه‌ها در شدت‌های مختلف به عنوان تنک طبیعی و نزدیک نشدن به نقطه پژمردگی باشد. در نقطه مقابل در گیاهان متحمل افزایش میزان کلروفیل کل در گیاه به حفظ بخش قابل قبولی از عملکرد در شرایط وقوع خشکی کمک می‌کند. در یک آزمایش مقایسه ای برای انتخاب ارقام سیب متحمل به خشکی، محتوای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل نمونه های برگی سیب 'یانفو۳' دچار کاهش شدید شد. برگ‌های ضخیم 'هانی کریسپ' دارای کوتیکول ضخیم تر و پارانشیم نردبانی بلندتر بود و ظرفیت فتوسنتزی بالاتری نسبت به 'یانفو۳' داشت که این مشاهدات با نتایج ما همخوانی داشت. شاخص های هدایت روزنه ای، غلظت دی اکسید بین سلولی، سطح تبخیر و تعرق ارقام حساس در مقایسه با 'هانی کریسپ' به صورت معنی داری کاهش یافت و برای توسعه سطح زیر کشت در کشور چین انتخاب شد (Bai *et al*., 2019).

طول و عرض پهنک برگ: بررسی‌های انجام شده نشان داد رقم گلدن اسپور بیشترین میانگین طول پهنک برگ را با ۱۰/۶۳ سانتی‌متر و رقم آزایش کم‌ترین میانگین طول پهنک برگ را با ۵/۳۳ سانتی‌متر در بین ارقام دارا می‌باشند.



شکل ۶. مقایسه‌میانگین کلروفیل کل پهنک سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم شاهد حساس.

Figure 6. Mean comparisons of total chlorophyll in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.

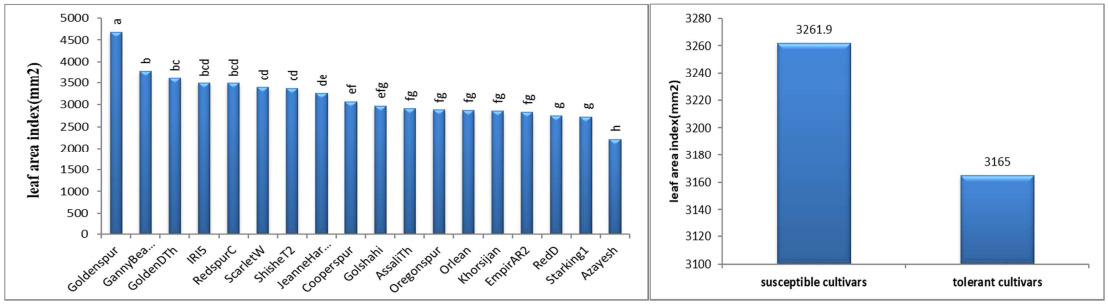
مشخص شد شاهدهای حساس با میانگین ۸/۲۱ سانتی‌متر نسبت به ارقام متحمل با میانگین ۸/۱۳ سانتی‌متر دارای طول پهنک برگ بیشتری هستند. در مجموع ۱۲ رقم متحمل دارای طول پهنک برگ کم‌تری نسبت به شاهد گلدن دلیشز و ۶ رقم دارای طول پهنک برگ کم‌تری نسبت به شاهد عسلی بودند. 'شیشه‌ای تبریز' با قدرت رشد بالا بیشترین میانگین عرض پهنک برگ را با ۶/۲۶ سانتی‌متر و 'آزایش' با قدرت رشد ضعیف، کم‌ترین میانگین عرض پهنک برگ را با ۲/۶ سانتی‌متر دارا می‌باشند. ارقام حساس با میانگین ۴/۲۷ سانتی‌متر نسبت به ارقام متحمل با میانگین ۴/۱۰ سانتی‌متر دارای عرض پهنک برگ بیشتری هستند. در مجموع ۱۲ رقم متحمل دارای عرض پهنک برگ کم‌تری نسبت به شاهد 'گلدن دلیشز' و پنج رقم دارای عرض پهنک برگ کم‌تری نسبت به شاهد 'عسلی' بودند. کاهش طول و عرض پهنک برگ در ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس نشان دهنده کاهش سطح برگ و در نتیجه کاهش سطح کل فتوسنتز کننده است (Flore *et al*., 1985; Ishihara, 1981). از طرفی با کاهش سطح برگ به واسطه کاهش سطح تنفسی، بویژه در صورت تلفیق با کاهش تعداد روزنه و افزایش لایه مومی ضخامت کوتیکول تلفات آبی گیاه نیز کاهش یافته و منجر به سازگاری گیاه به شرایط کم آبی می‌شود.

شاخص سطح برگ: بررسی‌های انجام شده نشان داد ارقام گلدن اسپور و آزایش به ترتیب بیشترین و کمترین میانگین شاخص سطح برگ را با ۴۶۸۱/۸ میلی‌مترمربع و ۲۲۱۶/۱ میلی‌مترمربع داشتند (شکل a-۷). شاهدهای حساس با میانگین ۳۲۶۱/۹ میلی‌مترمربع نسبت به افراد متحمل با میانگین ۳۱۶۵ میلی‌مترمربع دارای شاخص سطح برگ بیشتری هستند (شکل b-۷). در مجموع ۱۴ رقم متحمل دارای شاخص سطح برگ کم‌تری نسبت به شاهد 'گلدن دلیشز' و ۷ رقم دارای سطح برگ کم‌تری نسبت به شاهد 'عسلی' بودند. کاهش سطح پهنک گیاهان متحمل نسبت به حساس نشان دهنده کاهش شاخص سطح برگ منتهی به کاهش سطح کل فتوسنتزکننده گیاه می‌گردد (Flore *et al*., 1985; Ishihara, 1981).

تراکم کرک سطح پایینی پهنک: نتایج بررسی‌های سطح زیرین پهنک برگ‌های برگرفته از درختان تحت مطالعه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین ارقام حساس و متحمل به تنش خشکی از نظر تراکم کرک زیر برگ است (جدول ۳). سطح بیان صفت تراکم کرک درشاهدهای حساس ضعیف و در ارقام متحمل به تنش با بسامد بالا در سطح متوسط ثبت گردید. میزان تراکم کرک صفحه زیرین برگ در ارقام گزینش شده متحمل بیشتر از نمونه‌های برگی شاهد بود. تراکم بالای کرک برگ یک لایه ظریف مرطوب ایجاد می‌کند که از قرار گرفتن روزنه ها در معرض مستقیم دمای بالا، وزش باد، تابش نور و اتلاف رطوبت درون بافتی حفاظت می‌کند.

طول دمبرگ

حد بهینه و کمینه صفت در بین ارقام متحمل وجود داشت. 'رد اسپور کوپر' با ۳/۶۲ سانتی‌متر و 'آزایش' با ۱/۷۸ سانتی‌متر به ترتیب بیشترین و کمترین حد از بیان صفت طول دمبرگ را دارا می‌باشند (شکل a-۸). دو شاهد حساس با میانگین ۲/۶۸ سانتی‌متر نسبت به ارقام متحمل با میانگین ۲/۹۳ سانتی‌متر دارای طول دمبرگ کم‌تری هستند (شکل b-۸). در مجموع هشت رقم متحمل دارای طول دمبرگ بیشتری نسبت به شاهد 'گلدن دلیشز' و ۱۴ رقم دارای طول دمبرگ بیشتری نسبت به شاهد 'عسلی' بودند. به نظر می رسد ارقام متحمل دارای طول دمبرگ بیشتری باشند. سیب نوسان دمایی روز و شب را می پسندد. درختان بویژه برگ‌ها برای سازگاری به دمای بالا، تابش شدید آفتاب و کاهش رطوبت در طول روز نیاز به ساختار تشریحی تخصص یافته برای انجام فعالیت های زیستی خود دارند. ساختار تشریحی و مورفولوژیک دمبرگ به عنوان پل ارتباطی بین شبکه اصلی آوندی شاخه و شبکه آوندی رگبرگی برگ بایستی تغییرات حجمی رطوبت را هموار کنند. ساختار تشریحی شاهد حساس 'عسلی' در مقایسه با ارقام متحمل تضاد اساسی نشان داد. به احتمال، افزایش طول دمبرگ در صورت تلفیق با کاهش ضخامت بتواند سرعت نقل و انتقال رطوبت را افزایش دهد، چرا که ساختار شاهد 'عسلی' با رقم حساس گلدن دلیشز متفاوت بود.



شکل ۷. مقایسه‌میانگین شاخص سطح برگ سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم شاهد حساس.

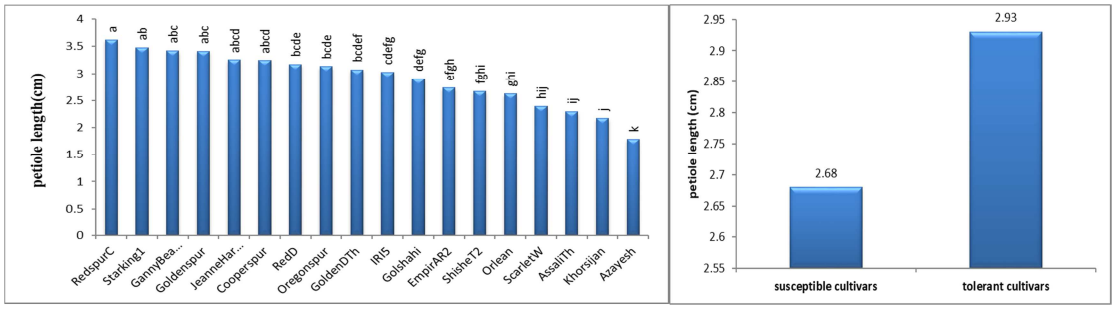
Figure 7. Mean comparisons of leaf area index in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.

جدول ۳. ارزیابی ارقام متحمل و حساس به تنش خشکی سیب از نظر تراکم کرک در صفحه زیرین پهنک و فراوانی بیان صفت (کد غالب). حالت تظاهر صفت و کد مربوطه: ندارد یا کم (کد۱)- متوسط (کد۲)- زیاد (کد۳).

Table 3. Evaluation of the selected drought tolerant cultivars related to the susceptible apples for leaf hair density and expression frequency (dominant code).

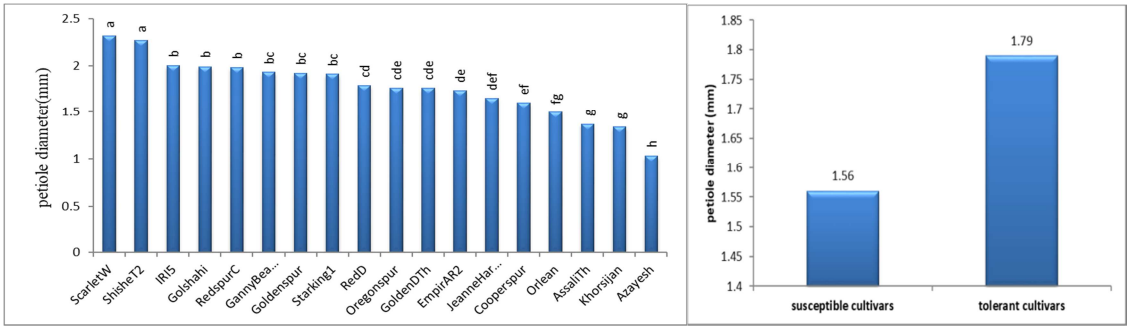
Expression level and the given codes: none or low (code 1) - medium (code 2) - high (code 3)

Dominant code	Codes	Code range (leaf hair density e)	Variables	Row
1	1	1-2-3	Susceptible cultivars	1
2	1,2,3	1-2-3	Tolerant cultivars	2



شکل ۸. مقایسه‌میانگین طول دمبرگ سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم شاهد حساس.

Figure 8. Mean comparisons of petiole length in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.



شکل ۹. مقایسه‌میانگین قطر دمبرگ سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم شاهد حساس.

Figure 9. Mean comparisons of petiole diameter in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.

قطر دمبرگ

ارقام متحمل اسکارلت ویلسون و آزایش با بیشترین و کمترین میانگین قطر دمبرگ به ترتیب برابر ۲/۳۲ میلی‌متر و ۱/۰۳ میلی‌متر دارا بودند (شکل a-۹). ارقام حساس با میانگین ۱/۵۶ میلی‌متر نسبت به ارقام متحمل به تنش خشکی با میانگین ۱/۷۹ میلی‌متر دارای قطر دمبرگ کمتری بودند (شکل b-۹). بر اساس نتایج بدست آمده، تفاوت میانگین کل بین ارقام متحمل و حساس ناچیز است و پراکنش حاصل از تنوع ژنتیک حتی بین دو رقم شاهد زیاد است.

زاویه پهنک برگ نسبت به ساقه

ارقام شاهد حساس دارای زاویه پهنک برگ نسبت به ساقه کمتر و ارقام متحمل به تنش خشکی دارای فراوانی غالب زاویه پهنک برگ نسبت به ساقه بیشتر بود. نحوه قرار گیری برگ نسبت به ساقه احتمالا در بهره گیری از نور و کارایی فتوسنتز و یا در انعکاس طول موج‌هایی از نور که منجر به ایجاد گرما می‌شود موثر است.

تراکم کرک شاخه یک‌ساله (نیمه انتهایی)

بین ارقام حساس و متحمل از نظر صفت تراکم کرک روی نیمه انتهایی شاخه یک‌ساله اختلاف معنی‌داری وجود داشت. شاخه یک‌ساله در شاهدهای حساس دارای کرک یا فاقد کرک و یا تراکم در حد بسیار کم و کرک کم بودند. ولی شدت بیان صفت تراکم کرک شاخه ها در ارقام متحمل به تنش خشکی با بسامد بسیار بالا در حد تراکم کرک زیاد بودند (جدول۴). بر اساس نتایج بدست آمده تراکم بالای کرک در سطوح شاخه یک‌ساله ارقام سیب متحمل بیشتر از ارقام حساس بود. در شرایط نازک بودن پوست اپیدرمید و بشره شاخه یک‌ساله جوان و در صورت نبود کرک و یا تراکم اندک کرک شرایط آماده‌ای برای هدررفت رطوبت بافت در دمای بالا و تابش بالای آفتاب ایجاد می‌شود ولی تراکم زیاد کرک با ایجاد یک سپر محافظ، تاثیرات منفی تنش تابش مستقیم آفتاب و دمای بالا را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، گیاهان متحمل با بهره‌گیری از این سازوکار دفاعی در برابر تنش خشکی، رطوبت درون‌بافتی را حفظ می‌کنند.

تعداد عدسک در شاخه یک‌ساله

بین شاهدهای حساس و ارقام متحمل به تنش خشکی از نظر تعداد عدسک در شاخه یک‌ساله اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تعداد عدسک در شاخه‌های یک‌ساله ارقام شاهد متوسط ولی در ارقام متحمل به تنش خشکی با بسامد بسیاربالا تعداد عدسک کم بود. با کاهش تعداد عدسک تنفس و تعرق به صورت خطی کاهش می یابد و در نتیجه تلفات آبی گیاه به حداقل ممکن می‌رسد.

رنگ پوست شاخه یک‌ساله (جهت رو به آفتاب)

بررسی‌ها نشان داد رنگ پوست شاخه یک‌ساله در ارقام شاهد گلدن دلیشز و عسلی قهوه‌ای مایل به قرمز و در ارقام متحمل با بسامد بالا به رنگ پوست قهوه‌ای مایل به قرمز و قهوه‌ای بود.

تجزیه همبستگی

نتایج حاصل از همبستگی ساده میان صفات (جدول ۵) نشان داد که بیشترین همبستگی مثبت با ۰/۸۶۰ در سطح ۱٪ به اثر متقابل صفات ارتفاع و محیط تنه درخت اختصاص داشته و بیشترین همبستگی منفی با ۰/۵۰۸- در سطح ۵٪ بین صفات ارتفاع درخت و ضخامت شاخه یک‌ساله وجود داشت. همانطور که ضرایب نشان می‌دهند، ارتفاع درخت با سطح سایه گستر و محیط تنه درخت در سطح ۱٪ و با طول میانگره شاخه یک‌ساله در سطح ۵٪ دارای ارتباط مثبت و معنی‌دار و با ضخامت شاخه یک‌ساله در سطح ۵٪ دارای ارتباط و همبستگی منفی بود. سطح سایه گستر درخت تنها با ارتفاع و محیط تنه ارتباط مثبت و معنی‌دار داشت و این ارتباط در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. محیط تنه درخت با ارتفاع و سطح سایه گستر در سطح ۱٪ و با عرض برگ و قطر دمبرگ در سطح ۵٪ ارتباط مثبت و معنی‌دار داشت.

جدول ۴. ارزیابی ارقام سیب متحمل و حساس به تنش خشکی از نظر تراکم کرک روی نیمه انتهایی شاخه یک‌ساله و تشخیص فراوانی بیان صفت (کد غالب). حالت تظاهر صفت و کد مربوطه: ندارد یا بسیار کم (کد۱)- کم (کد۳)- متوسط (کد۵)- زیاد (کد۷)- بسیار زیاد (کد۹).

Table 4. Evaluation of the annual shoot tip hair density in the selected tolerant cultivars and susceptible to drought apples in and the trait expression frequency (dominant code). Expression grade and relative code: none or very low (code 1)- low (code 3)- medium (code 5)- high (code 7)- very high (code 9).

Dominant code	Codes	Code range (annual shoot tip hair density)	Variables	Row
1,3	1,3	1-3-5-7-9	Susceptible cultivars	1
7	3,5,7,9	1-3-5-7-9	Tolerant cultivars	2

جدول ۵. ضرایب همبستگی ساده صفات رویشی، رشدی و عملکردی سیب.
Table 5. Simple correlation coefficient of vegetative, growth and yield traits of apple.

	Tree height (cm)	Canopy (m2)	Trunk dia (Cm)	Clorophyll cont	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Petiole length (cm)	Petiole diam (mm)	Internode length (mm)	Shoot diam (mm)	Leaf area (mm2)	yield (%)
Tree height	1											
Canopy	**.77(**)**	1										
Trunk diam	**.86(**)**	**.83(**)**	1									
Clorophyl cont	0.18	0.31	0.30	1								
Leaf widthcm	0.45	0.44	**.56(*)**	0.32	1							
Leaf lengthcm	0.24	0.04	0.25	0.09	**.62(**)**	1						
Petiole lengthcm	-0.13	-0.12	-0.06	-0.01	0.29	**.71(**)**	1					
Petiole diammm	0.33	0.36	**.52(*)**	0.43	**.81(**)**	**.52(*)**	**.50(*)**	1				
Internode lengthmm	**.48(*)**	0.17	0.40	0.02	0.34	0.25	-0.42	-0.05	1			
Shoot diammm	**-.508(*)**	-0.38	-0.32	0.24	0.09	0.40	**.61(**)**	0.33	-0.44	1		
Leaf area	0.22	0.09	0.27	0.16	**.67(**)**	**.74(**)**	**.52(*)**	**.54(*)**	0.16	0.28	1	
Yield	-0.03	-0.25	-0.11	0.31	0.18	0.08	-0.02	0.29	-0.03	0.21	0.03	1

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).
*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

نتایج نشان داد که میزان کلروفیل کل با هیچکدام از صفات مورد بررسی همبستگی معنی‌داری نداشت. ضرایب بدست آمده از همبستگی پیرسون نشان داد که بین عرض برگ و صفات طول برگ، سطح برگ و قطر دمبرگ در سطح ۱٪ و با محیط تنه در سطح ۵٪ ارتباط مثبت و معنی‌داری وجود داشت. طول برگ با صفات عرض برگ، سطح برگ و طول دمبرگ در سطح ۱٪ و با قطر دمبرگ در سطح ۵٪ دارای ارتباط مثبت و معنی داری بود. طول دمبرگ با طول برگ و ضخامت شاخه یک‌ساله در سطح ۱٪ و با قطر دمبرگ و سطح برگ در سطح ۵٪ ارتباط مثبت و معنی‌داری داشت. قطر دمبرگ با عرض برگ در سطح ۱٪ و با طول دمبرگ، طول برگ، سطح برگ و محیط تنه در سطح ۵٪ دارای ارتباط مثبت و معنی‌دار بود. طول میانگره شاخه یک‌ساله تنها با ارتفاع درخت در سطح ۵٪ دارای ارتباط معنی‌دار از نوع مثبت بود. ضخامت شاخه یک‌ساله با طول دمبرگ در سطح ۱٪ ارتباط مثبت و معنی‌دار و با ارتفاع درخت در سطح ۵٪ ارتباط منفی و معنی‌داری داشت. ضریب‌های حاصله نشان داد که سطح برگ با طول و عرض برگ در سطح ۱٪ و با طول و قطر دمبرگ در سطح ۵٪ دارای ارتباط مثبت و معنی‌داری بود. در نهایت نتایج مشخص کرد که عملکرد درخت که بر حسب درصد بیان شده بود با هیچ یک از صفات مورد بررسی ارتباط و همبستگی معنی‌داری نداشت.

پرولین

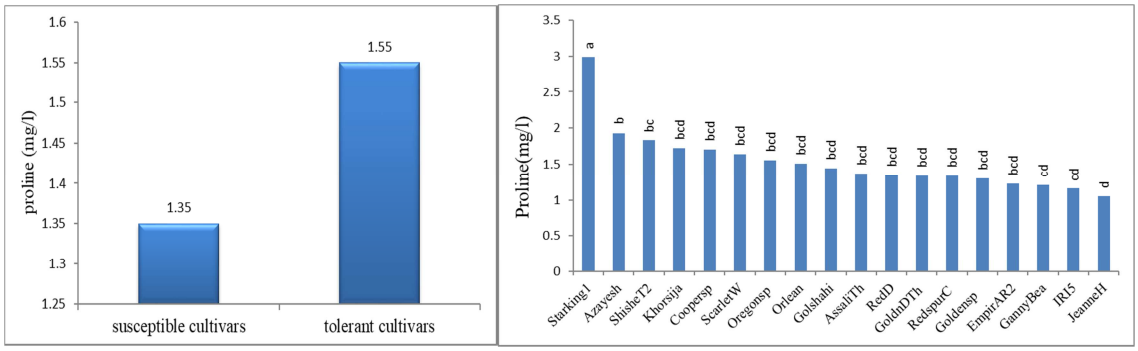
بررسی‌های انجام شده بر صفت میزان پرولین برگ در ۱۸ کاشتار تحت مطالعه با انجام مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن نشان داد که 'استارکینگ' با ۱/۰۳ مایکرومول بر گرم نمونه تر بیشترین و 'جین هاردی' با ۰/۳۵۹ مایکرومول بر گرم نمونه تر کم‌ترین میانگین میزان پرولین را در بین ارقام دارا بودند (شکل a-۱۰). شاهدهای حساس با میانگین ۰/۴۶۸ مایکرومول بر گرم نمونه تر نسبت به ارقام متحمل با میانگین ۰/۵۳۶ مایکرومول بر گرم نمونه تر دارای میزان پرولین کم‌تری بودند (شکل b-۱۰). بر اساس دامنه‌های آماری تعریف شده ارقام متحمل و حساس به تنش خشکی گروه‌بندی شدند. ارقام حساس گلدن دلیشز و عسلی در گروه اول یعنی میزان پرولین کم قرار گرفت. در مجموع ۱۱ رقم متحمل نسبت به شاهد 'گلدن دلیشز' و ۹ رقم متحمل نسبت به شاهد 'عسلی' دارای میزان پرولین بیشتری بودند. پرولین یکی از اسیدهای آمینه‌های فعال در پدیده تنظیم اسمزی است که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش بسزایی دارد. مقدار پرولین با افزایش تنش خشکی افزایش می‌یابد. آنزیم‌ها نیز به دلیل ساختمان پروتئینی خود تحت تاثیر این سازوکار پرولین قرار گرفته و محافظت می‌شوند (Kuznetsov & Shevykova, 1999). تجمع پرولین رابطه مثبت و مستقیم با افزایش مقاومت به تنش‌های کم آبی ایجاد شده در گیاهان دارد. مشخص شده‌است که تجمع پرولین در سیتوپلاسم مانند یک

اسموتیکوم در حفاظت ساختمان ماکروملکول‌ها در محیطی که تعادل یونی آن به هم خورده عمل می‌کند (Nayyar *et al.*, 2003).

کربوهیدرات‌های محلول: نمونه های برگی شاهد 'عسلی' با ۱۸۶/۹ میلی‌گرم در لیتر بیشترین و 'اورگون اسپور' با ۱۱۲/۹۳ میلی‌گرم در لیتر کم‌ترین میانگین میزان کربوهیدرات‌های محلول را در بین ارقام دارا بودند (شکل a-۱۱). ارقام حساس با میانگین ۱۶۲/۵۷ میلی‌گرم در لیتر نسبت به ارقام متحمل با میانگین ۱۲۵/۷ میلی‌گرم در لیتر دارای میزان کربوهیدرات‌های محلول بیشتری بودند (شکل b-۱۱). قندهای محلول در تنظیم اسمزی و حفظ فشار تورژسانس سلول‌ها و مقاومت به خشکی موثرند. تجمع قندهای محلول داخل سلول‌ها در تنظیم اسمزی نقش مهمی ایفا نموده و کمک می‌کند پتانسیل آب سلول کاهش یافته و آب بیشتری برای حفظ تورگر تحت تنش کم آبی داخل سلول باقی بماند (Sato *et al.*, 2004).

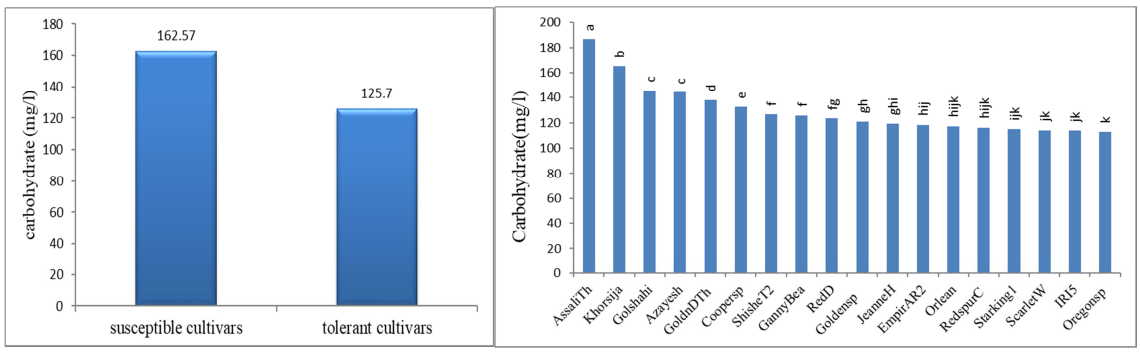
قندهای محلول در شدت‌های متوسط تنش افزایش قابل توجهی داشته و با شدیدتر شدن تنش خشکی مقدار آن شروع به کاهش می‌نماید. علت افزایش اولیه برای بالا بردن مقاومت گیاه به دلیل تنظیم فشار اسمزی سلول بوده ولی با شدیدتر شدن تنش، تولید قندها به شدت کاهش پیدا کرده و میزان قندهای محلول شروع به کاهش می‌نماید (Abbaszadeh *et al.*, 2008).

در این تحقیق نیز مشخص شد میزان کربوهیدرات‌های کل تحت تنش خشکی شدید در کاشتارهای متحمل به خشکی نسبت به ارقام حساس کاهش یافته بود. کاهش میزان قندهای محلول در تیمارهای تنش شدید می‌تواند به دلیل مصرف قندها در سنتز متابولیت‌هایی چون پرولین در اندام هوایی باشد (Irigoyen *et al.*, 1992). از طرفی می‌توان این فرضیه را نیز مطرح کرد که ارقام متحمل به تنش خشکی از قندهای محلول استفاده بهینه کرده و از آن‌ها در جهت حفظ عملکرد خود بهره برده‌اند. ولی آنچه مسلم است این است که زمانی که در اثر تنش خشکی رشد گیاه و نهایتا سطح کل فتوسنتزی کاهش می‌یابد، طبیعتاً میزان کربوهیدرات‌های کل کاهش می‌یابد.



شکل ۱۰. مقایسه‌میانگین محتوای پرولین برگ سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم شاهد حساس.

Figure 10. Mean comparisons of proline in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.



شکل ۱۱. مقایسه میانگین کربوهیدرات کل برگ سیب در ۱۶ رقم متحمل و دو رقم شاهد حساس.

Figure 11. Mean comparisons of total carbohydrate in 16 tolerant and two susceptible apple cultivars.

نتیجه‌گیری کلی

استفاده بهینه از ظرفیت بالقوه ژنتیک سیب موجود در کشور با کاربرد ارقام متحمل به خشکی امری اجتناب‌ناپذیر است. نتایج این تحقیق نشان داد مقاومت تکوینی و پایدار ژنتیک یا از طریق کاهش شدت بیان برخی صفات شامل سطح سایه گستر، ارتفاع، محیط تنه، طول میانگره شاخه یک‌ساله، سطح برگ، طول و عرض پهنک برگ، شاخص سطح برگ و یا از طریق افزایش شدت بیان صفات مانند افزایش تراکم کرک در سطح زیرین پهنک و نیمه انتهایی شاخه یکساله، رنگ شاخه و پرولین در ارقام سیب مقاوم فعلیت پیدا می‌کند. تمامی سازوکارهای دفاعی ارقام متحمل اعم از مورفولوژیک، تشریحی و بیوشیمیایی مهدوف به حفظ رطوبت درون بافتی است. کاهش سطح فتوسنتز کننده کل نیز با کاهش سطح تنفسی و حفظ رطوبت همراه است. این بررسی‌ها نشان داد هر رقم متحمل بر اساس ریخته وراثتی منحصر به فرد خود زیرگروه ویژه‌ای از تغییرات را به صورت پایدار جمع نموده است. با افزایش تدریجی سطح بیان هر یک از عامل‌های تحمل، رقم سطح تحمل بیشتری را به نمایش خواهد گذاشت. بنابراین وجود مجموعه پرشماری از عوامل رشدی، مورفولوژیک، فیزیولوژیک، تشریحی و بیوشیمیایی در کنار هم می‌تواند سطح تحمل را به صورت مدرج و یا تجمعی افزایش دهد. ضمن این که نبود یکی از عامل-های شناخته شده تحمل به خشکی، نمی‌تواند دلیلی برای حساس بودن آن رقم قلمداد گردد. این تغییرات به صورت ماکروسکوپیک در شکل کاهش اندازه اسکلت درخت و نوع رشد استاندارد، اسپوری و یا به صورت میکروسکوپیک در افزایش میزان کلروفیل کل و پرولین خودنمایی می کنند. افزایش قطر شاخه‌های یک‌ساله مخزن‌های ذخیره رطوبت، آب و انرژی لازم برای حفظ عملکرد درخت تا زمان رسیدن قلمداد می شوند. صفات دارای همبستگی مثبت با تنش خشکی به عنوان نشانگرهای مرفولوژیک در برنامه‌های به‌نژادی سیب برای گزینش نتاج متحمل در مرحله نونهالی قابل استفاده هستند. با توجه به تغییر اقلیم، ارقام سیب متحمل گزینش شده در این پژوهش پس از بررسی های بیشتر در مناطق مختلف برای توسعه باغات سیب کشور و نیز احداث باغات متراکم قابل بهره‌برداری هستند.

REFERENCES

1. Abbaszadeh, B., Sharifi ashourabadi, E., Lebaschi, M.H., Naderi hajibagher Kandy, M. & Moghadami, F. (2008). The effect of drought stress on proline contents, soluble sugars, chlorophyll and relative water contents of balm (*Melissa officinalis* L.). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23, 504-513. (In Farsi).
2. Association of Official Analytical Chemists. (1995). *Official methods of analysis of AOAC International* (16th ed.). Arlington, VA., USA: AOAC.
3. Aras, S. & Keles, H. (2019). Responses of apple plants to drought stress. *Journal of Agricultural Studies*, 7 (3), 154-160.
4. Arji, I. & Arzani, K. (2003). Evaluation of the growth responses and proline accumulation in three Iranian native olive cultivars under drought stress. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 2, 10 (2), 91-101. (In Farsi).
5. Atashkar, D., Ershadi, A., Taheri, M. & Abdollahi, H. (2018). Screening for drought tolerance in some hybrid apple rootstocks based on photosynthesis characteristics. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*, 49, 1013-1024. (In Farsi).
6. Atashkar, D. (2009). Assessment of growth habit, genetic stability and commercial use of some spur type apples. *10th Iranian Genetic Congress*. 21 May. 2008. Tehran-Iran, P. 238, (In Farsi).
7. Bai, T., Li, Z., Song, C., Song, S., Jiao, J., Liu, Y., Dong, Z. & Zheng, X. (2019). Contrasting drought tolerance in two apple cultivars associated with difference in leaf morphology and anatomy. *American Journal of Plant Sciences*, 10, 709-722.
8. Bassett, C., Vahdati, K. & Leslie, C. (2013). Water use and drought response in cultivated and wild apples. In: *Abiotic Stress*. 249-275. Ch. 8. Publisher: IntechOpen.
9. Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.

10. Bhusal, N., Han, S., Tae-Myung, G. & Yoon, T.M. (2019). Impact of drought stress on photosynthetic response, leaf water potential, and stem sap flow in two cultivars of bi-leader apple trees (*Malus* × *domestica* Borkh.). *Scientia Horticulturae*, 246, 543-535.
11. Coupel-Ledru, A., Pallas, B. & Delalande, M. (2019). Multi-scale high-throughput phenotyping of apple architectural and functional traits in orchard reveals genotypic variability under contrasted watering regimes. *Horticultural Res*earch, 6, 52.
12. Dichio, B., Xiloyannis, C., Sofo, A. & Montanaro, G. (2005). Osmotic regulation in leaves and roots of olive trees during a water deficit and rewatering. *Tree Physiology*, 26, 179-185.
13. Dimitrova, S., Sotirov, D. & Liu, M. (2020). Reaction of apple cultivars to abiotic and biotic stress factors. *Acta Horticulturae*, 1281, 67-72.
14. Ebel, R. C., Proebsting, E. L. & Evans, R. G. (2001). Apple tree and fruit responses to early termination of irrigation in a semi-arid environment. *HortSience*, 36(7), 1197-1201.
15. Ennajeh, M., Vadel, A.M., Cochard, H., & Khemira, H. (2010). Comparative impacts of water stress on the leaf anatomy of a drought-resistant and a drought-sensitive olive cultivar. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 85 (4), 289-294.
16. Flore, J. A., Lakso, A. N. & Moon, J. W. (1985). The effect of water stress and vapor pressure gradient on stomatal conductance, water use efficiency, and photosynthesis of fruit crops. *Acta Horticulturae,* 171, 207-218.
17. Galindo, A., Collado-González, J. & Griñán, I. (2018). Deficit irrigation and emerging fruit crops as a strategy to save water in Mediterranean semiarid agrosystems. *Agricultural Water Management*, 202, 311-324.
18. Gharaghani, A., Zamani, Z., Talaie, A., Oraguzie, N.C., Fattahi, R., Hajnajari, H., Wiedow, C. & Gardiner, S.E. (2009). The role of Iran (Persia) in apple domestication, evolution and migration via the silk trade route. *Acta Horticulturae*, 859, 229-236.
19. Hajnajari, H. & Eccher, T. (2006). Natural selection of spring cold resistant cultivars and mechanisms of biological resistance among 108 apple genotypes. In: Abstracts and contents of *27th International Horticulture Congress*. August 13-19, P. 371, Seul. Korea.
20. Hajnajari, H**.** (2010). Cultivar evaluation program of the national Iranian apple collection in the last decade. Proceedings of *the International Scientific Conference of Fruit Growing Intensification in Belarus: Traditions, Progress, Prospects*, 31 September - 1 October, pp 33-39, Belarus.
21. Hajnajari, H. (2021). 33 half-sib apple clonal rootstocks tolerant to crown rot produced in a 14 years patho-breeding program. *Acta Horticulturae*, 1315, 227-236.
22. Hajnajari, H., Akbari, H. & Abdossi, V. (2019). Genesis of ultra-specialized histology with stable traits in mesophyll of drought tolerant apple cultivars. *Scientia Horticulturae*, 249, 168-176.
23. Hassani, Gh., Mahmudzadeh, H. & Dolati Baneh, H. (2013). Fruit yield efficiency and some vegetative characteristics of commercial and spur type apple cultivars. *Seed and Plant*, 3 (28-2), 373-376. (In Farsi).
24. Heidari Sharif Abad, H. (2001). *Plant, drought and aridity*. Research Institute of Forest and Rangelands. Tehran edition. (In Farsi).
25. Iranian Meteorological Organization. (2012). Retrieved September 2019. http://www.weather.ir/s7.pdf. (In Farsi).
26. Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. & Sánchez-Díaz, M. (1992). Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants *Physiologia Plantarum*, 84(1), 55 – 60.
27. Ishihara, K. (1981). Control of photosynthesis by various factors. Water content in soil and leaf, p.88-101. In: S. Miyachi (ed.). *Plant physiology*, Asakura Press. Tokyo.
28. Jie, Z., Yuncong, Y., Streeter, J. G. & Ferree, D. C. (2010). Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phophorus absorb in different section of leaves and stem of Fugi/M.9EML, a young apple seedling. *African Journal of Biotechnology*, 9 (33), 16,
29. 5320-5325.
30. Kellerhals, M., Spuhler, M., Duffy, B., Patocchi, A. & Frey, J.E. (2009). Selection efficiency in apple breeding. *Acta Horticulturae*, 814, 177-184.
31. Kuznetsov, V. I. & Shevykova, N.I. (1999) Proline under stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46, 274-287.
32. Laajimi, N.O., Boussadia, O., Skahiri, F.H., Silva, J.A.T., Rezgui, S. & Hellali, R.(2011) Anatomical adaptations in vegetative structures of apricot tree (*Prunus armeniaca* L.) cv. *'Amor El Euch'* grown under water stress. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 5, 46-51.
33. Marconi, G., Ferradini, N., Russi, L., Concezzi, L., Veronesi, F., Albertini, E. (2018). Apple genetic characterization of the germplasm collection in central Italy: the value of local varieties. *Froniers in Plant Sci*ence, 1460, 1-17.

34. Mark, G., Connell, O. & Goodwin, I. (2007). Responses of 'Pink Lady' to low irrigation and partial root zone drying: physiology, growth, yield, and fruit quality. *Australian Journal of Agricultural Research*, 58, 1068-1076.
35. Michelakis, N., Vouyoukalou, E. & Clapaki, G. (1995). Plant growth and yield response of the olive tree cv. Kalamon for different of soil water potential and methods of irrigation. *Advances in Horticulture Sciences*, 3, 136-139.
36. Mostofi, Y. & Najafi, F. (2016). *Analytical laboratory methods on horticultural science*. Tehran University Publication. 136 pages. (In Farsi).
37. Mratinić, E. & Akšić, M. F. (2012). Phenotypic diversity of apple (Malus sp.) germplasm in south Serbia. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *55*(3), 349-358.
38. Naschitz, S., Naor, A. & Wolf, S. (2014). The effects of temperature and drought on autumnal senescence and leaf shed in apple under warm, east mediterranean climate. *Trees*, 28, 879–890.
39. Nayyar, H. & Walia, D. W. (2003). Stress induced proline accumulation in contrasting wheat genotypes as affected by calcium and abscisic acid. *Biologia Plantarum*, 46, 275–279.
40. Nenko, N.I., Kisileva, G.K., Ulianovskaya, E.V., Yablonskaya, E.K. & Karavaeva, A.V. (2018). Physiological-biochemical criteria of the apple-tree resistance to the summer period abiotic stresses. *Eurasian Jiournal of BioScience*. 12, 55-61.
41. Peng, X., Guo, Z. & Zhang, Y. (2017). Simulation of long-term yield and soil water consumption in apple orchards on the Loess Plateau, China, in response to fertilization. *Scientific Rep*orts, **7,** 5444.
42. Sato, Y., Kawabuchi, Sh., Irimoto, Y. & Miyawaki, O. (2004). Effect of water activity and solvent-ordering on intermolecular interaction of high-methoxyl pectins in various sugar solutions. *Food Hydrocolloids*, 18, 527-534.
43. Serraj, R. & Sinclair, T. R. (2002). Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell and Environment*, 25, 333–341.
44. Sircelj, H., Tausz, M., Grill, D. & Batic. F. (2007). Detecting different levels of drought stress in apple trees by selected biochemical and physiological parameters. *Scientia Horticulturae,* 113, 362-369.
45. Soroori, S., Hajnajari, H., Rezaei, S. & Zamani Zadeh, H. (2010). Primary evaluation of apple powdery mildew in 5 populations of half sib progenies obtained from selective dwarf apple cultivars. Proceedings of *the International Scientific Conference of Fruit Growing Intensification in Belarus: Traditions, Progress, Prospects*, 31 September-1 October, pp. 48-52, Samokhvalovichi, Belarus.
46. Treder, W., Konopacki, P. & Mika, A. (1997). Duration of water stress and its influence on the growth of nursery apple trees planted in containers under plastic tunnel conditions. *Acta Horticulturae*, 499 (2), 541-544.
47. Walsh, C.S. and Miller, A.N. (1984). Observations of the growth and vigor of spur and non-spur-type apple trees. *Acta Horticulturae*, 146, 211-214.
48. Wang, N., Guo, T., Wang, P., Sun, X., Shao, Y., Jia, X., Liang, B., Gong, X. & Ma, F. (2017). *MhYTP1* and *MhYTP2* from apple confer tolerance to multiple abiotic stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Froniers in Plant Sci*ence, 8, 1367.
49. Wang, H., Zhao, S., Mao, K. (2018). Mapping QTLs for water-use efficiency reveals the potential candidate genes involved in regulating the trait in apple under drought stress. *BMC Plant Biology*, 18, 136.
50. Wei, L., Dondini, L., De Franceschi Paris, R., Sansavini, S. & Tartarini, S. (2014). Genetic diversity, population structure and construction of a core collection of apple cultivars from Italian germplasm. *Plant Molecular Biology Reporter*, 33, 1-16.
51. Wünsche, J.N., Greer, D., Laing, A.W. Palmer J.W. (2005). Physiological and biochemical leaf and tree responses to crop load in apple. *Tree Physiology*, 25, 1253-1263.
52. Yuanji, W., Li, L., Ying, W., Hongxia, T., Junliang, F., Zhengyang, Z. & Yanping, G. (2019). Effects of soil water stress on fruit yield, quality and their relationship with sugar metabolism in 'Gala' apple. *Scientia Horticulturae*, 258, 108753.