Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 53, No 4, Winter 2023 (967-976)
DOI: 10.22059/ijhs.2022.339643.2008

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۳، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۴۰۱ (ص ۹۷۶-۹۶۷)

نشریه پژوهشی:

بررسی مولکولی و پاسخ‌های مورفو- فیزیولوژیک برخی دانهال‌های وحشی گیلاس تحت تنش خشکی

سارا جلیلی[۱]، کاظم ارزانی[۲*]، ناصر بوذری[۳]، محمود رضا روزبان[٤]، نیما احمدی[٥] و پدرو مارتینز گومز[٦]
۱، ۲ و ۵. دانشجوی دکتری، استاد و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳. دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
٤. استادیار، دانشکده فناوری کشاورزی، دانشکدگان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران
٦. استاد، مؤسسه CEBAS-CSIC، اسپیناردو مورسیا، اسپانیا
(تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۱۲/۱۵ - تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/٤/۲۲)

چکیده

گیلاس (*Prunus avium* L.) جزو بهترین میوه‌ها برای تازه‌خوری می‌باشد که در صنعت میوه‌کاری ایران از جایگاه و اهمیت خاصی برخوردار است. با توجه به ژرم‌پلاسم غنی زیر جنس سراسوس (*Cerasus*) در ایران، دانش در مورد پتانسیل ژنتیکی این زیر جنس برای شناخت مخازن‌ژنی و توسعه استراتژی‌های موثر برای حفاظت از ژرم‌پلاسم مهم است. در این مطالعه، بذور ژنوتیپ‌های زیرجنس سراسوس متعلق به گونه‌های *P. avium*، *P. microcarpa* و *P. incana* کشت شدند و در شرایط آبیاری کامل و بدون آبیاری با انجام تجزیه و تحلیل فیزیولوژیک در پاسخ به تنش مورد سنجش قرار گرفتند. از نقطه نظر ژنومی، تنوع ژنتیکی دانهال‌های این ژنوتیپ‌ها با استفاده از نشانگرهای توالی ساده تکراری (SSR) بررسی شد. از نظر مورفولوژیکی، گونه *P. microcarpa* سطح برگ، ارتفاع و قطر ساقه کمتری را در مقایسه با گونه‌های *P. incana* و به‌طور عمده *P. avium* نشان داد. میزان فتوسنتز در دانهال‌ها طی تنش خشکی کاهش یافت ولی این کاهش در گونه *P. avium* ژنوتیپ Avi-Ala 11 (5.500 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) در مقایسه با گونه *P. incana* ژنوتیپ Inc-Kho (10.760 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) و گونه *P. microcarpa* ژنوتیپ Mic-Kor 3 (10.340 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) بیشتر بود. نتایج نشان داد که هر دو گونه *P. microcarpa* و *P. incana* را می‌توان به‌عنوان پایه مقاوم به خشکی در گیلاسی‌ها و منبع ژنتیکی احتمالی اصلاح‌گران خشکی در نظر گرفت. نتایج این تحقیق همچنین می‌تواند به تعیین رابطه بین داده‌های فنوتیپی و مولکولی برای شناسایی نشانگرهای مولکولی مرتبط با تحمل به خشکی کمک کند.

واژه‌های کلیدی: **توالی‌های ساده تکرار شونده (SSR)، زیر جنس *Cerasus*، فتوسنتز، *Prunus*.**

Molecular studies and the morpho-physiological response of some wild cherry genotypes under drought stress

Sara Jalili[1], Kazem Arzani[2*], Naser Bouzari[3], Mahmoud Reza Roozban[4], Nima Ahmadi[5] and Pedro Martínez-Gómez[6]
1, 2, 5. Ph.D. Student, Professor, and Associate Professor, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, (TMU), Tehran, Iran
3. Associate Professor, Temperate Fruits Research Center, Horticultural Science Research Institute (HSRI), Agriculture, Education and Extention Organization (AREEO), Karaj, Iran
4. Assistant Professor, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Pakdasht, Iran
6. Professor, CEBAS-CSIC Institute, Espinardo, Murcia, Spain
(Received: March 06, 2022- Accepted: July 13, 2022)

ABSTRACT

Cherry (*Prunus avium* L.) is one of the best fresh fruits, which has a special place and importance in the Iranian fruit industry. Considering the rich germplasm of the *Cerasus* subgenus in Iran, knowledge of the genetic potential of this subgenus is important for identifying gene reservoirs and developing effective strategies for germplasm conservation. In this study, the seedling of some genotypes in the *Cerasus* subgenus *P. avium*, *P. microcarpa,* and *P. incana* species was assayed in full and without irrigation conditions performing physiological analysis in response to stress. From a genomic point of view, the genetic diversity of these genotypes seedlings was assessed using simple-sequence repeat markers (SSR). Morphologically, *P. microcarpa* species showed lower leaf area, height, and diameter compared to *P. incana* and mainly *P. avium*. Photosynthesis in seedlings decreased during drought stress, but this decrease was more in Avi-Ala 11 (5,500 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) compared to Inc-Kho (10,760 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) and Mic-Kor 3 (10,340 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}). Our results show that both *P. microcarpa* and *P. incana* species can be considered drought-resistant rootstock in cherries and a possible genetic source for drought breeders. The results of this research can also help to determine the relationship between phenotypic and genotypic data for the identification of molecular markers associated with drought tolerance.

Keywords: *Cerasus* subgenus, photosynthesis, *Prunus*, simple sequence repeats (SSR).

* Corresponding author E-mail: arzani_k@modares.ac.ir

مقدمه

در چند دهه اخیر، بزرگترین چالش به ویژه در بخش کشاورزی که جهان با آن مواجه است، تغییر اقلیم یا گرم شدن کره زمین است. به دنبال تغییرات اقلیمی، خشکسالی به احتمال زیاد به مهم‌ترین محدود کننده بهره‌وری محصولات و در نهایت امنیت غذایی در سراسر جهان تبدیل شده است. علاوه بر این برهمکنش خشکی و دمای بالا با افزایش تبخیر اثرات منفی قابل توجهی در بهره‌وری محصولات کشاورزی خواهد داشت (Tomás *et al*., 2014; Lobell *et al*., 2011; Yordanov *et al.,* 2000). در ایران نیز خشکی یک تهدید جدی برای تولید اکثر محصولات کشاورزی به‌شمار می‌آید. میزان بارندگی غیر قابل اطمینان بوده و همه ساله برداشت آب از سفره‌های زیرزمینی افزایش یافته و سبب افت شدید سطح آب زیرزمینی شده است. در حال حاضر راه‌های منطقی و معقولی برای تغذیه بهتر سفره‌ها به نظر نمی‌رسد و بهترین راه مبارزه با خطرات خشکی همراهی با آن است. یعنی می‌بایست از ارقام و پایه‌هایی که به آب کمتری نیاز دارند استفاده کرد (Ghasemi *et al.,* 2016; Arzani, 2017). لذا مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که جمع‌آوری ژنوتیپ‌های وحشی و بومی در درختان میوه علاوه بر این که اهمیت بالایی برای تقویت و حفظ ژرم پلاسم کشور و کارهای اصلاحی دارد، راهی برای شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی با کارایی مصرف آب بالا است. گسترش طبیعی انواع گونه‌های اهلی و وحشی گیلاس در ایران بیانگر این مطلب است که امکان بهره‌برداری از شرایط طبیعی در ایران برای پرورش این محصولات بسیار خوب است (Mozaffarian, 2002). در حالی که بیشتر ارقام تجاری به خشکی حساس هستند، ژنوتیپ‌های وحشی در مناطق محدود آب به خوبی رشد می‌کنند. با نگاهی به میزان تولید گیلاسی‌ها در ایران طی سال‌های ۲۰۱۰ الی ۲۰۲۰ ، میزان تولید از ۲۲۸۰۹۳ تن به ۱۶۴۰۸۰ تن در سال رسیده است، که این نشان‌دهنده کاهش قابل توجه میزان تولید این میوه در ایران باوجود افزایش جمعیت و تقاضا است (FAO, 2020). برخی محققان بر این باورند که تنش خشکی تولید گونه‌های فعال اکسیژن را افزایش داده و موجب صدمه به غشائ سلولی و از بین رفتن گیاه می‌شود (Li *et al*., 2011). کمبود آب باعث کاهش مقدار آب بافت‌های گیاه، طول برگ و فتوسنتز شده و با تغییر در سنتز پروتئین‌ها، متابولیسم نیتروژن و ویژگی‌های غشائ سلولی، تولید گیاه را کاهش می‌دهد (Bogoslavsky & Neumann, 1998). اگرچه دو گونه وحشی *P. incana* و *P. microcarpa* به خشکی مقاوم هستند (Jalili *et al*., 2021)، اما تاکنون تحقیقی در مورد مقاومت آنها در برابر کم آبی انجام نشده است. این گونه‌های وحشی نه‌تنها می‌توانند به‌عنوان منبع ژن‌ها یا آلل‌های جدید مورد استفاده قرار گیرند، بلکه احتمالاً پتانسیل پرورش پایه‌های پاکوتاه، مقاوم به سرما و خشکی را نیز دارند (Mozaffarian, 2002). در این مطالعه ارتباط ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های مربوط به گونه‌های مورد بررسی با استفاده از نشانگرهای توالی‌های تکرار شونده (SSR) نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. در برخی از مطالعه‌های انجام شده قبلی، ارتباط ژنتیکی میان برخی پایه‌های ایرانی و ژنوتیپ‌های بومی ایران از زیرجنس سراسوس با ارزیابی صفات مورفولوژیکی و نشانگرهای مولکولی مورد مطالعه قرار گرفته است (Zamani *et al*., 2012; Zeinalabedini *et al*., 2014; Homayouni *et al*., 2012). همچنین، تنوع ژنتیکی برخی ژنوتیپ‌های گونه‌ی محلب با استفاده از نشانگرهای مورفولوژیکی بررسی شده است (Ganji-Moghadam *et al*., 2006). Shahi-Gharahlar *et al.* (2010) نیز برخی ژنوتیپ‌های بومی زیر جنس سراسوس را با استفاده از صفات رویشی طبقه‌بندی کردند.

از آنجایی که ایران یکی از کشورهای مبدأ گیاهان زیرجنس سراسوس است و تاکنون مطالعه‌ای در مورد تحمل به خشکی روی این زیرجنس انجام نشده است، هدف از این مطالعه بررسی پاسخ‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک *P. incana* و *P. microcarpa* به تنش خشکی است. اطلاعات بدست آمده از تحلیل جامع سازگاری با خشکی در این گونه‌ها ممکن است بینش‌های جدیدی را در مورد مکانیسم‌های مولکولی این دو گونه به تنش خشکی در مقایسه با ژنوتیپ‌های کشت‌شده از گونه *P. avium* ارائه کند.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش، حدود ۳۷ ژنوتیپ وحشی گیلاس از گونه‌های محلب (*P. mahaleb*)، مازارد (*P. avium*)، اینکانا (*P. incana*) و میکروکارپا (*P. microcarpa*) از بخش‌های مختلف کشور از جمله استان‌های قزوین، کرمان، کردستان و کرمانشاه جمع‌آوری شده (جدول ۱) و پس از سرمادهی در سردخانه موسسه تحقیقاتی میوه‌های معتدله واقع در کرج تحت دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت دو ماه، در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس واقع در اتوبان تهران - کرج کشت شدند. ژنوتیپ‌های جمع‌آوری شده که در اسفند ۱۳۹۵ در پلاستیک کشت شده بودند، در اسفند ۱۳۹۶ به گلدان منتقل شدند. از هر ژنوتیپ به طور میانگین ۵۰ عدد کشت شدند. در کل حدود ۸۵۰ دانهال کشت شد. به علت برخی محدودیت‌ها مثل گرمای شدید، تنها حدود ۲۳ ژنوتیپ وارد طرح آزمایشی شده و تحت تنش خشکی قرار گرفتند. این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی شامل ۲۳ ژنوتیپ از ۴ گونه، دو تیمار و در سه تکرار انجام گردید. به طوری که از هر ژنوتیپ ۳۰ گلدان در سه تکرار وارد آزمایش شد. اعمال تنش خشکی به صورت نگهداشت آب (Water holding) با دو تیمار (آبیاری نرمال و تنش خشکی) در خرداد ماه به‌مدت ۲۰ روز انجام شد (Centritto, 2005; Čereković *et al*., 2013). به‌طوری‌که ابتدا بعد از اندازه‌گیری ظرفیت زراعی گلدان‌ها، تمامی‌گلدان‌ها به‌طور کامل آبیاری شدند. سپس نیمی از گلدان‌ها تحت تنش خشکی قرار گرفته و نیمی دیگر بدون هیچ‌گونه تنشی، به‌عنوان شاهد آبیاری شدند. پس از اعمال تیمار تنش خشکی، برخی پارامترهای مبادلات گازی از جمله نرخ فتوسنتز خالص و هدایت روزنه‌ای برگ اندازه‌گیری شدند. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی از هر گروه نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌برداری طی دو مرحله، ۱۵ و ۲۰ روز بعد از تنش انجام شد. در هر تیمار نمونه‌های برگی برداشت‌شده بلافاصله در ازت مایع قرار داده شده و به فریزر ۸۰- واقع در آزمایشگاه پومولوژی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس منتقل شدند. برای ارزیابی هر پارامتر مورفولوژیک و فیزیولوژیک پنج تکرار بیولوژیکی مورد سنجش قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری سطح برگ، در اواخر فصل رشد از هر ژنوتیپ و برای هر تکرار شش نمونه برگی از برگ‌های بالغ موجود در قسمت‌های میانه نهال جمع آوری شد و با استفاده از دستگاه سطح سنج برگ مدل Leaf Are Meter-(ΔT-ENGLAND) سطح برگ‌ها اندازه‌گیری و میانگین‌گیری شد. درصد ماده خشک برگ نیز با استفاه از فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\text{درصد ماده خشک} = \frac{M2}{M1} \times 100$$

M2= وزن خشک نمونه، M1= وزن اولیه یا تر نمونه

برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC)، نمونه‌گیری از برگ‌های بالغ انجام و بلافاصله به آزمایشگاه پومولوژی گروه علوم باغبانی منتقل شدند. سپس با استفاده از دستگاه پانچ شش عدد دیسک برگی تهیه و بلافاصله جهت تعیین وزن‌تر توزین شدند. برای اندازه‌گیری وزن تورژسانس، نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در تاریکی در پتری‌دیش بر روی آب مقطر قرار گرفتند تا با جذب آب به مرحله تورژسانس کامل برسند و سپس وزن شدند. برای اندازه‌گیری وزن خشک، دیسک‌ها را به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد در آون نگهداری و وزن خشک آن‌ها توزین گردید. سپس محتوای نسبی آب برگ با استفاده از معادله زیر محاسبه و گزارش گردید (Arzani, 1994).

$$RWC= ((WF-WD)/ (WT-WD)) \times 100$$

WF= وزن تر برگ، WT= وزن آماس برگ، WD= وزن خشک برگ.

برای اندازه‌گیری تبادلات گازی از دستگاه لایکور LC4 (مدل ۶۴۰۰، ساخت کشور آمریکا) در زمان‌های مشخصی بعد از اعمال تیمار استفاده شده است (Rasouli *et al*., 2012). اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل برگ با استفاده از دستگاه اندازه گیری Plant Stress Meter در میانه روزهای مشخص طی دوره تنش خشکی اندازه‌گیری شده است. همچنین برای اندازه‌گیری کلروفیل از دستگاه SPAD (کلروفیل‌سنج مدل CCM-200، ساخت کشور آمریکا) استفاده شد (Ling *et al*., 2011; Fattahi *et al*., 2020).

جدول ۱. فهرست بیش از ۲۰ ژنوتیپ از گونه‌های زیر جنس *Cerasus* مورد استفاده در این مطالعه به همراه کد و محل جمع‌آوری.
Table 1. Species, origin, accession code, and collection site of more than 20 accessions from *Cerasus* subgenus species used in this study.

Accessions code	*Scientific name*	Origin	Region of collection	Accessions code	*Scientific name*	Origin	Region of collection
Mah-Urm*	*Prunus mahaleb*	Iran	Urmia – West Azarbayjan	Avi-Ala 11	*Prunus avium*	Iran	Alamout - Qazvin
Avi-Ala 1	*Prunus avium*	Iran	Alamout - Qazvin	Mic-Kor 11	*Prunus microcarpa*	Iran	Kurdestan
Avi-Ala 2	*Prunus avium*	Iran	Alamout - Qazvin	Avi-Ala 12	*Prunus avium*	Iran	Alamout – Qazvin
Mic-kor 3	*Prunus microcarpa*	Iran	Kurdestan	Avi-Ala 12	*Prunus avium*	Iran	Alamout – Qazvin
Avi-Ala 3	*Prunus avium*	Iran	Alamout - Qazvin	Avi-Ala 13	*Prunus avium*	Iran	Alamout – Qazvin
Avi-Ala 5	*Prunus avium*	Iran	Alamout - Qazvin	Avi-Ala 14	*Prunus avium*	Iran	Alamout – Qazvin
Avi-Ala 7	*Prunus avium*	Iran	Alamout - Qazvin	Avi-Ala 16	*Prunus avium*	Iran	Alamout – Qazvin
Inc-Kho 8	*Prunus incana*	Iran	Khoy – West Azarbayjan	Avi-Ala 18	*Prunus avium*	Iran	Alamout – Qazvin
Avi-Ala 8	*Prunus avium*	Iran	Alamout - Qazvin	Avi-Ala 22	*Prunus avium*	Iran	Alamout – Qazvin
Mic-Kor 10	*Prunus microcarpa*	Iran	Kurdestan	Avi-Ala 23	*Prunus avium*	Iran	Alamout – Qazvin
Avi-Ala 11	*Prunus avium*	Iran	Alamout - Qazvin	Avi-Ala 24	*Prunus avium*	Iran	Alamout - Qazvin
Mic-Kor 11	*Prunus microcarpa*	Iran	Kurdestan				

* این گونه به علت عدم جوانه‌زنی و تعداد پایین دانهال‌های بدست آمده در ارزیابی‌های پاسخ به تنش خشکی وارد نشده است و تنها در بررسی تنوع ژنتیکی لحاظ شده است.

*This accession was not tested for drought, so just evaluated for genetic diversity, because of low seed germination and insufficient number of emerged seedlings.

برای انجام کارهای مولکولی، نمونه‌های فریز شده به آزمایشگاه‌های مؤسسه CEBAS واقع در کشور اسپانیا منتقل شده و DNA آنها برای بررسی تنوع ژنتیکی بین گونه‌ها استخراج شد. برای بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌ها، DNA نمونه‌های برگی تهیه شده از دانهال‌ها با استفاده از روش CTAB و طبق دستور العمل اصلاح شده Doyle & Doyle (1989) استخراج شده و بعد از تعیین کیفت و کمیت آنها با استفاده از نانودراپ، برای بررسی برخی مارکرهای SSR مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). برای ساخت دندوگرام UPGMA از نرم‌افزار MEGA استفاده شد (Kloosterman *et al*., 1993; Nei & Li, 1979).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این تحقیق به صورت طرح فاکتوریل در قالب بلوک‌های کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. داده‌ها پس از جمع‌آوری، مرتب شده و با استفاده از نرم‌افزارهای MEGA، InfoStat و StepOne مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج صفات مورفولوژی اندازه‌گیری شده

با توجه به نتایج ارزیابی کیفی و کمی صفات رویشی، ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورفولوژیکی تنوع بالایی را نشان دادند. جالب توجه است که Mic-Kor 2 دارای کمترین سطح برگ، قطر ساقه و کمترین ارتفاع با گره‌های کوتاه در بین ژنوتیپ‌ها بود که می‌تواند برای اصلاح‌کنندگان جالب باشد. بیشترین سطح برگ و بالاترین ارتفاع متعلق به ژنوتیپ Avi-Ala 11 و بیشترین قطر ساقه در ژنوتیپ Avi-Ala 24 بود. از نظر مورفولوژیکی، ژنوتیپ‌های گونه *P. microcarpa* سطح برگ، ارتفاع و قطر کمتری را در مقایسه با *P. incana* و عمدتا ژنوتیپ‌های *P. avium* نشان داد (جدول ۳). علاوه بر این، ژنوتیپ‌های *P. microcarpa* نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها تمایل به عادت رشدی خوابیده با دندانه‌های برگ بیشتری داشتند. در *P. incana* و *P. microcarpa*، برگ‌ها در سطح زیرین دارای کرک بوده که به راحتی با چشم غیر مسلح قابل مشاهده هستند. در نهایت، *P. incana* برعکس *P. microcarpa*، دارای برگ‌های کشیده و تیره است. همانطور که انتظار می‌رفت، تفاوت قابل توجهی در صفات مورفولوژیکی اندازه‌گیری شده و پاسخ به تنش بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. طبق مشاهده‌های میدانی از درختان مادری بومی و تا حدودی داده‌های مورفولوژیکی در این تحقیق، دو گونه *P. incana* و *P. microcarpa* احتمالاً می‌توانند در برنامه‌های اصلاحی به‌عنوان پایه‌های پاکوتاه و مقاوم به خشکی در آلبالو و گیلاس استفاده شوند که نیاز به مطالعه بیشتری دارد. طبق مطالعات انجام‌شده قبلی، این

گونه‌ها می‌توانند در خاک‌های سنگلاخی و خشک رشد کنند. داشتن برگ‌های کوچک با کرک زیاد نشان‌دهنده مقاومت آنها در برابر شرایط نامناسب خاک و خشکی است (Mozaffarian, 2002; Zamani *et al*., 2012).

ارزیابی صفات فیزیولوژیک

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که پارامترهای فیزیولوژیک به‌ویژه در شرایط کمبود آب طولانی‌مدت به‌طور متفاوتی تحت تأثیر خشکسالی قرار می‌گیرند.

جدول ۲. نام نشانگرها و تعداد آلل‌های شناسایی شده توسط پرایمرهای SSR در ژنوتیپ های مورد مطالعه زیر جنس *Ceracus*

Table 2. Marker names and the number of alleles detected by SSR primers used in studied genotypes.

Markers	Reference	Repeat motif	Ta (°C)	Alleles (no.)	Heterozygosity	PD
PceGA34	Downey *et al*. (2000)	-	60	7	0.364	0.744
UDAp471	Messina *et al*. (2004)	-	56	7	0.727	0.826
UDP98-025	Testolin *et al*. (2000)	(CA)19	57-63	4	0.500	0.694
UDP98-410	Testolin *et al*. (2000)	(AG)23	57-63	7	0.308	0.805
UDP98-416	Testolin *et al*. (2000)	(AG)18	57-63	3	0.111	0.370
UDAP-412	Messina *et al*. (2004)	(AG)9(N)7(AG)18	56	6	0.273	0.810
UDP-008	Cipriani *et al*. (1999)	(CA)23	55-63	2	0.000	0.180
UDAp456	Messina *et al*. (2004)	-	56	7	0.727	0.826
BPPCT-034	Dirlewanger *et al*. (2002)	(GA)19	57-60	5	0.200	0.680
BPPCT-012	Dirlewanger *et al*. (2002)	(CT)13 CC(CT)7	57-60	5	0.222	0.765
BPPCT-007	Dirlewanger *et al*. (2002)	(AG)22 (CG)2 (AG)4	57-60	3	0.308	0.473
BPPCT030	Dirlewanger *et al*. (2002)	(AG)25	57-60	4	0.091	0.446
PACITA10	Lopes *et al*.(2001)	(CT)26	46	3	0.100	0.340
PACITA23	Lopes *et al*.(2001)	(AC)2(AG)18	50	5	0.417	0.681
PACITA6	Lopes *et al*.(2001)	(GA)23	50	5	0.727	0.645
CPSCT005	Mnejja *et al*. (2004)	(CT)16	62	4	0.615	0.627
CPSCT044	Mnejja *et al*. (2004)	(GT)8(AT)4 …(GA)7CA(GA)4	62	1	0.000	0.000
CPPCT006	Aranzana *et al*. (2002)	(CT)16	57-60	3	0.167	0.569
CPPCT023	Aranzana *et al*. (2002)	(CT)9	55	1	0.000	0.000
CPPCT-008	Aranzana *et al*. (2002)	(CT)6 …(CT)7	59	4	0.083	0.514
Total				86	-	-

جدول ۳. مقایسه میانگین صفات کمی مورفولوژیکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از گونه‌های زیرجنس *Cerasus* (*P. avium*, *P.microcaropa* و *P. incana*). پنج تکرار بیولوژیکی برای ارزیابی هر پارامتر مورفولوژیکی مورد سنجش قرار گرفت.

Table 3 Means comparison of quantitative morphological traits of studied genotypes from some species of subgenus *Cerasus* (*P. avium, Pmicrocaropa,* and *P. incana*), Five biological replicates were assayed to evaluate each physiological parameter..

Genotype	Leaf Area (mm^2)	Height (cm)	Diameter (mm)
Avi-Ala 1	867.26 dce	56.66 jhik	3.56 j
Avi-Ala 2	824.39 ij	53.33 jlk	3.89 ijhg
Avi-Ala 3	835.823 higj	53.66 jlk	4.57 ef
Avi-Ala 5	833.51 higj	52.66 lk	3.73 ij
Avi-Ala 7	834.79 higj	45.00 mn	4.13 ijhgf
Avi-Ala 8	851.73 hdgfe	42.33 n	4.57 ef
Avi-Ala 11	920.73 a	168.00 a	5.49 ab
Avi-Ala 12	868.82 dce	75.00 d	5.73 ab
Avi-Ala 13	816.71 j	66.00 e	4.56 ef
Avi-Ala 14	839.85 higfj	61.00 fheg	3.70 ij
Avi-Ala 16	827.80 hij	53.33 jlk	3.71 ij
Avi-Ala 18	859.07 dgfe	46.66 mn	3.77 ijh
Avi-Ala 20	890.40 bc	64.33 feg	4.41 egf
Avi-Ala 22	874.46 dc	44.33 mn	4.33 ehgf
Avi-Ala 23	826.194 hij	45.33 mn	4.27 ehgf
Avi-Ala 24	819.71 j	133.66 b	5.87 a
Mean values	**856.86 mm^2**	**70.51 cm**	**4.44 cm**
Mic-kor 1	15.80 l	29.33 o	5.17 bdc
Mic-Kor 2	14.94 l	12.66 p	2.73 k
Mic-Kor 3	17.07 l	76.66 d	4.40 egf
Mean values	**15.93 mm^2**	**39.55 cm**	**4.12**
Inc-Kho 8	226.08 k	53.00 jlk	4.73 edc

در هر ستون میانگین‌هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری ندارند .

In each column means followed by at least a common letter, are not significantly difference at 1% probability level.

به‌طوری‌که بین تیمارها اختلاف معنی‌داری ($P\leq$۰/۰۱) نسبت به شاهد وجود دارد و بالاترین میزان تبادلات گازی در ژنوتیپ‌ها به طور متفاوت در تیمار شاهد و کمترین میزان در زمان تنش مشاهده شد (شکل ۱). به طور قابل انتظاری، گیاهان تحت تنش خشکی پس از ۱۵ روز تنش میزان فتوسنتز کمتری را نشان دادند اما این کاهش در ژنوتیپ Avi-Ala 11 (5.500 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) در مقایسه با ژنوتیپ‌های Inc-Kho (10.760 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) و Mic-Kor 3 (10.340 µmol CO_2 m^{-2} s^{-1}) بیشتر بود. فرآیندهای فتوسنتزی، از جمله فتوسنتز خالص (Pn)، هدایت روزنه‌ای (gs) و کلروفیل با ادامه تنش خشکی به شدت کاهش یافتند که مشابه یافته‌های قبلی است (Wang *et al*., 2015; Monakhova & Chernyadev, 2002). در بادام (*P. mongolica*)، بیان کم رونوشت‌های مربوط به چرخه فتوسنتزی منجر به کاهش کارایی فتوسیستم I، فتوسیستم II، و در نهایت کاهش فتوسنتز شد (Fahad *et al*., 2017). آسیب به سیستم‌های فتوسنتزی و کاهش کلروفیل برگ نیز می‌تواند به دلیل کاهش جذب CO_2 به دلیل تنش خشکی باشد. بالاترین بازده فتوشیمیایی (Fv/Fm) در Avi-Ala 7, 2 (۰/۷۳۰ و ۰/۷۲۷) به ترتیب و Inc-Kho (۰/۷۲۰ درصد) مشاهده شد (شکل ۱). کاهش Fv/Fm نشان‌دهنده آسیب فتوشیمیایی در فتوسیستم II است که جذب را کاهش می‌دهد. همچنین می‌تواند ناشی از اختلال در سیستم انتقال الکترون فتوسنتزی یا آسیب به غشای تیلاکوئید باشد (García-Sánchez *et al*., 2007). غلظت کلروفیل برگ نیز به طور معنی داری تحت تأثیر خشکی پس از ۱۵ روز تنش قرار گرفت (شکل ۱). به طوری که نمونه‌های Avi-Ala 18 (۲۰/۰۳ درصد)، Inc-Kho (۱۹/۶۰ درصد)، Mic-Kor 3 (۱۹/۱۰ درصد) بیشترین و Avi-Ala 14 (۱۲/۲۳ درصد) کمترین کلروفیل برگ را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند. نتایج مشابه دیگری در مورد پاسخ‌های فیزیولوژیک پرانوس نسبت به تنش آبی توسط چندین مطالعه گزارش شده است (Jiménez *et al*., 2013; Escobar-Gutiérrez *et al*., 1998). گیاهان می‌توانند با موفقیت از استراتژی‌های فیزیولوژیک و مولکولی پیچیده برای مقابله با فشارهای محیطی استفاده کنند. در این مطالعه، اندازه‌گیری‌های فیزیولوژیک تأیید کرد که گیاهانی که به طور خاص تحت تأثیر تنش آبی هستند برای مقابله با آن پاسخ‌های فیزیولوژیک ارائه می‌دهند. فتوسنتز مهمترین متابولیسم گیاهی برای تامین انرژی است. می‌توان گفت هدایت روزنه‌ای مهم‌ترین عامل مؤثر بر فتوسنتز است که در تنش خشکی، کاهش آن را می‌توان به تغییر رطوبت خاک نسبت داد. تأثیر تنش خشکی بر تبادلات گازی می‌تواند مستقیماً توسط متابولیسم فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین یا غیرمستقیم با افزایش استرس اکسیداتیو باشد (García-Sánchez *et al*., 2007).

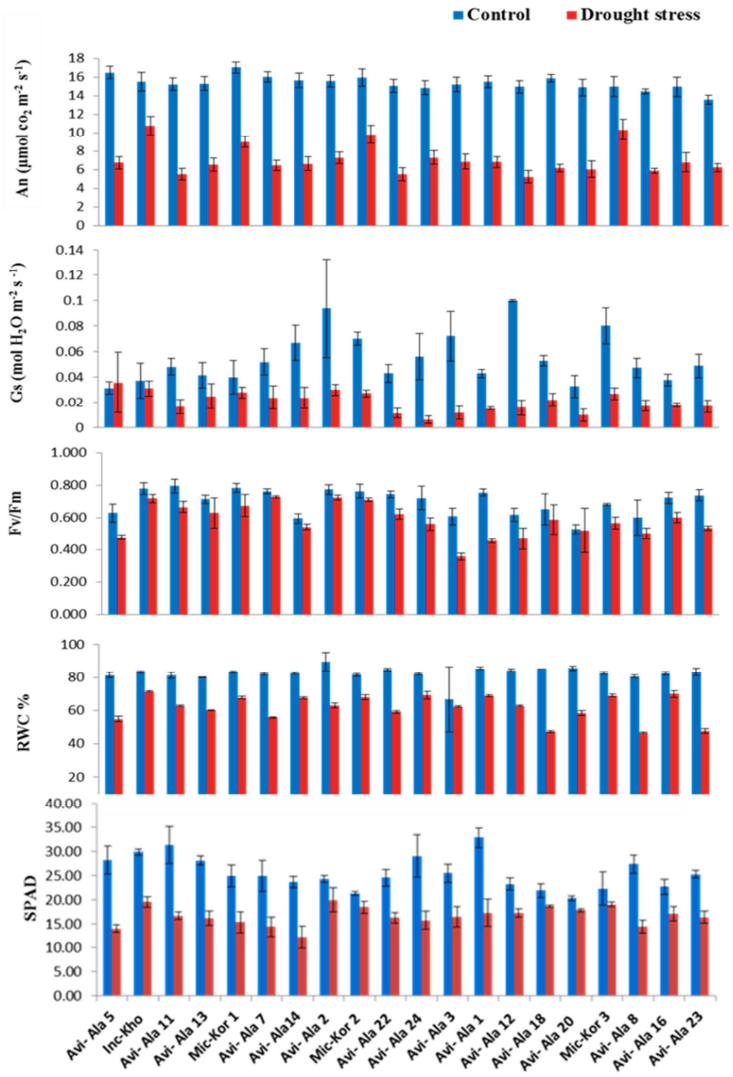
محتوای نسبی آب برگ (RWC) در همه ژنوتیپ‌های تحت تنش خشکی بعد از ۱۵ روز نسبت به گیاهان شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد و تفاوت معنی‌داری در بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. برخی از ژنوتیپ‌های *P. avium* حداقل مقدار محتوای نسبی آب (۴۷/۱۷ درصد) را در مقابل *P. incana* با حداکثر محتوای نسبی آب (۷۱/۴۸ درصد) نشان دادند (شکل ۱). محتوای نسبی آب به‌عنوان یک معیار مهم برای وضعیت آب گیاه در نظر گرفته می‌شود که نشان‌دهنده فعالیت متابولیک در بافت‌ها است و کاهش آن به دلیل تنش آبی را می‌توان به عدم دسترسی به آب در خاک و یا ناتوانی سیستم‌های ریشه در جبران آب از دست رفته در اثر تعرق نسبت داد (Martínez-García *et al*., 2020; Shalhevet, 1993; Gadallah, 2000).

خصوصیات ژنومی

برای مطالعه تنوع ژنتیکی، نواحی حفظ شده ۲۰ جفت آغازگر SSR در ۱۳ ژنوتیپ جمع‌آوری شده از چهار گونه مورد بررسی قرار گرفته و در مجموع ۸۶ آلل تولید شده است (به‌علت انجام این آزمایش در کشور اسپانیا، DNA استخراج‌شده از برخی ژنوتیپ‌ها کیفیت پایینی داشته که از چرخه آزمایش خارج شدند). سطح بالایی از چند شکلی در بین گونه‌های مورد مطالعه مشاهده شد و بنابراین برای مطالعه انگشت‌نگاری در ژرم‌پلاسم زیرجنس *Cerasus* مفید بودند. بیشتر اندازه

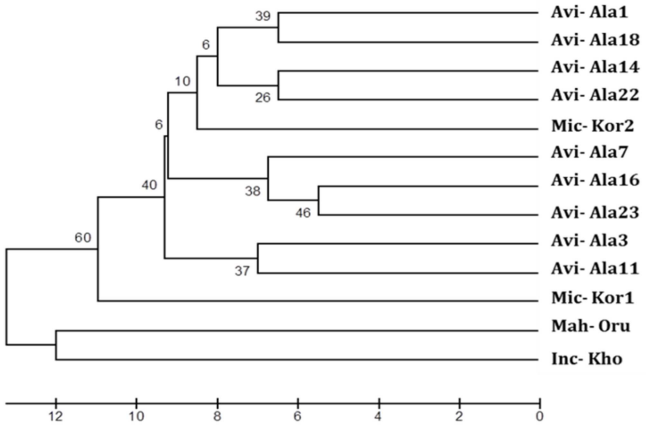
آلل‌های تکثیر شده بین ۱۰۰ تا ۱۸۰ جفت باز بود. برخی از این آلل‌ها در گونه‌های مختلف مشترک بودند. بیشترین تعداد آلل (۷) در جایگاه‌های PceGA34، UDAp471، UDAp456 و UDP98-410، وکمترین تعداد آلل (۱) در جایگاه‌های CPDCT044 و CPPCT023 به‌دست آمد و در بین ژنوتیپ‌ها، Inc-Kho با ده آلل بیشترین تعداد آلل را نشان داد. بعد از آن Avi-Ala 22 و Mic-Kor 2 با هشت آلل بیشترین و Avi-Ala 1 با چهار آلل کمترین تعداد آلل را نشان دادند.

ژنوتیپ‌های Inc-Kho و Mah-Urm در یک گروه قرار گرفتند و در بین ژنوتیپ‌ها، Inc-Kho و Mic-Kor در همه نشانگرها بیشترین چندشکلی را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند. براساس نتایج، CPPCT-008 کمترین (۰/۰۸) و UDAp471، UDAp456 و PACITA6 بیشترین (۰/۷۲) مقدار هتروزیگوسیتی را نشان دادند. ژنوتیپ‌های Avi-Ala 23 و Avi-Ala 22 بیشترین هتروزیگوسیتی را نشان دادند. مطابق با فاصله ماتریس ژنتیکی، Avi-Ala 11 با Avi-Ala 14 و Avi-Ala 16 با Inc-Kho به ترتیب نزدیک‌ترین و دورترین ژنوتیپ‌ها بودند (شکل ۲).



شکل ۱. نرخ فتوسنتز (Pn)، هدایت روزنه (gs)، حداکثر بازده فتوشیمیایی (Fv/Fm)، درصد محتوای نسبی آب برگ (%RWC) و میزان کلروفیل (SPAD) در نهال های شاهد و تحت ۱۵ روز تیمار تنش خشکی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه زیر جنس سراسوس *P. avium*، *P. incana* و *P. microcarpa*

Figure 1. Photosynthesis rate (Pn), stomatal conductance (gs), maximum photochemical efficiency (Fv/Fm), percentage of leaf relative water content (%RWC), and chlorophyll content (SPAD) in the control and 15 days under drought-stressed treatments of genotypes in *Cerasus* subgenus *P. avium, P. incana, and P. microcarpa*.



شکل ۲. دندروگرام UPGM حاصل از آنالیز مارکرهای SSR در ۱۳ ژنوتیپ از چهار گونه ژرم پلاسم *Cerasus*

Figure 2. UPGM dendrogram from SSR marker analysis in 13 genotypes of 4 species from *Cerasus* germplasm.

با توجه به اینکه نشانگرهای SSR به‌عنوان نشانگرهای مهم برای مطالعات تنوع ژنتیکی در گیلاس انتخاب شده اند (Stanys *et al*., 2002)، در این مطالعه از SSR برای ارزیابی تنوع ژنتیکی و روابط ژنوتیپ‌های منتخب استفاده شد. تنوع مشاهده شده در ژرم‌پلاسم می‌تواند به برنامه‌های اصلاحی و انتخاب پایه کمک زیادی کند. تفاوت جغرافیایی و احتمالاً گرده‌افشانی باز این ژنوتیپ‌ها منجر به تنوع ژنتیکی بالایی در گونه‌های وحشی این زیرجنس شده است. Inc-Kho و Mah-Ur در یک گروه قرار گرفتند و دو گونه مورد بررسی *P. microcarpa* به طور جداگانه با ژنوتیپ‌های *P. avium* گروه‌بندی شدند که احتمالاً به دلیل گرده‌افشانی بین آنها بود. بر خلاف تصور، تمام ژنوتیپ‌های *P. avium* در یک خوشه قرار نگرفتند. این می‌تواند به دلیل مکان متفاوت جمع‌آوری و احتمالاً گرده‌افشانی متقابل باشد. Khadivi-Khub *et al*. (2014) ارتباط ژنتیکی میان برخی ژنوتیپ‌های بومی ایران از زیرجنس سراسوس با ارزیابی نشانگرهای توالی‌های ساده تکرارشونده (SSR) را بررسی کردند که تا حدودی با نتایج ما همخوانی داشت.

نتیجه‌گیری نهایی

ایران یکی از خاستگاه‌های گیلاس بوده و با توجه به شرایط اقلیمی و ژرم پلاسم قوی این گیاه در ایران، اکثر پایه‌های مورد استفاده در ایران از مازارد منشاء می‌گیرند که تفاوت معنی‌داری از لحاظ مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده نسبت به ارقام تجاری دارد. در همین حال، *P. incana* و *P. microcarpa* به‌طور گسترده در کوه‌های ایران استقرار یافته‌اند و نسبت به خشکسالی تحمل زیادی از خود نشان می‌دهند. طبق نتایج بدست آمده در این مطالعه، دو گونه ی وحشی یاد شده مقاومت بالایی به تنش خشکی نشان دادند که این موضوع از لحاظ ظاهری دانهال‌ها کاملاً مشهود بود. جهت ارزیابی و درک مناسب مکانیسم‌ها، بررسی پاسخ‌های بیوشیمیایی این گونه‌ها نیز پیشنهاد می‌شود. چرا که تغییرات در سطح هورمون‌ها (مانند اکسین و اسید آبسیزیک) احتمالاً در بسته شدن روزنه‌ها و کاهش رشد برای ارتقای بقای آنها در محیط‌های خشک نقش دارند. در این مطالعه، فرضیه ما مبنی بر تحمل بالای *P. incana* و *P. microcarpa* به تنش خشکی تأیید شد. مطالعه ما برای اولین بار ارزیابی تحمل به خشکی گونه‌های *P. incana* و *P. microcarpa* را آغاز کرد و بخش قابل توجهی را به درک چگونگی پاسخ آنها به تنش خشکی ارائه داد که ممکن است به روشن کردن مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با پاسخ به خشکی *Prunus* کمک کند.

سپاسگزاری

از دانشگاه تربیت مدرس و آزمایشگاه پومولوژی گروه علوم باغبانی دانشگاه، صندوق حمایت از پژوهشگران کشور (INSF) و مؤسسه CEBAS-CSIC اسپانیا برای فراهم‌نمودن امکانات و حمایت های مالی این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Aranzana, M.J., García-Mas, J., Carbó, J., & Arús, P. (2002). Development and variability analysis of microsatellite markers in peach. *Plant Breeding,* 121, 87-92.
2. Arji, I., Arzani, K., & Latifi, S. M. (2002). The effect of different amounts of irrigation on physical and growth reactions of young seedlings of `Zard' cultivar. *Journal of Soil and Water Sciences*, 16 (1), 111-120. (In Farsi)
3. Arzani, K. (1994). *Horticultural and physiological aspects of vigor control in apricot* (*Prunus armeniaca* L.) *under orchard and controlled environment conditions*. Ph.D. Thesis. Department of Plant Science, Massey University. New Zealand.
4. Arzani, K. (2017). The potential and limiting environmental conditions on fruit trees germplasm and yield of established orchards in Iran. *First International Horticultural Science Conference of Iran (IrHC2017),* September 4-7, Tarbiat Modares University (TMU), Tehran Iran, Abstracts Book, 110.
5. Bogoslavsky, L., & Neumann, P.M. (1998). Rapid regulation by acid pH of cell wall adjustment and leaf growth in maize plants responding to reversal of water stress. *Plant Physiology*, 118, 701-709.
6. Centritto, M. (2005). Photosynthetic limitations and carbon partitioning in cherry in response to water deficit and elevated [CO2]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 106(2-3), 233-242.
7. Čereković, N., Pagter, M., Kristensen, H. L., Pedersen, H. L., Brennan, R., & Petersen, K. K. (2013). Effects of drought stress during flowering of two pot-grown blackcurrants (*Ribes nigrum* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 162, 365-373.
8. Cipriani, G., Lot, G., Huang, W. G., Marrazzo, M. T., Peterlunger, E., and Testolin, R. (1999). AC/GT and AG/CT microsatellite repeat in peach [*Prunus persica* (L) Batsch]: Isolation, characterization and cross-species amplification in *Prunus*. *Theoretical and Applied Genetics*, 99, 65-72.
9. Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranzana, M. J., Poizat, C., Zanetto, A., Arus, P. & Laigret, F. (2002). Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). *Theoretical and Applied Genetics*. 105, 127-138.
10. Downey, S. L., & Iezzoni, A. F. (2000). Polymorphic DNA markers in black cherry (*Prunus serotina*) are identified using sequences from sweet cherry, peach, and sour cherry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 125, 76-80.
11. Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1989). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry*. Bull, 19, 11-15.
12. Escobar-Gutiérrez, A. J., Zipperlin, B., Carbonne, F., Moing, A., & Gaudillére, J. P. (1998). Photosynthesis, carbon partitioning and metabolite content during drought stress in peach seedlings. *Functional Plant Biology*, 25, 197-205.
13. Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., & Farooq, A. (2017). Crop production under drought and heat. *Frontiers*, 8, 1-16.
14. Fattahi, B., Arzani, K., Souri, M., & Barzegar, M. (2020). Effect of cadmium and lead on morpho-physiological traits and photosynthesis of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.)', *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50(4), 839-849. (In Farsi).
15. Food and Agriculture Organization (FAO). (2020). (http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC).
16. Gadallah, M. A. A. (2000). Effects of indole-3-acetic acid and zinc on the growth, osmotic potential and soluble carbon and nitrogen components of soybean plants growing under water deficit. *Arid Environment Journal*, 44, 451-467.
17. Ganji-Moghaddam, E., Mokhtarian, A., & Kiani, M. R. (2006). Investigation on genetic variation of sour cherry (*Prunus cerasus* L.) populations for selection of dwarf genotypes using morphological characters. *Seed and Plant*, 22 (4), 417-428. (In Farsi).
18. García-Sánchez, F., Versluesrtsen, J. P., Gimeno, V., Botía, P., & Perez-Perez, J. G. (2007). Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiologiae Plantarum*, 130, 532-542.
19. Ghasemi M., Arzani, K., Yadollahi, A. & Hokmabadi, H. (2016). Leaf and root mineral concentrations of four pistachio seedling rootstocks under different irrigation regimes. Iranian Journal of Horticultural Science 46(4): 659-667 (In Farsi).
20. Homayouni, A., Bouzari, N., & Abdousi, V. (2012). Genetic diversity of some Iranian sour cherry genotypes based on morphological and molecular markers. *Seed and Plant Improvement Journal,* 28-1 (2), 239-254. (In Farsi).
21. Jalili, S., Arzani, K., Salazar, J.A., Martínez-García, P.J., Martínez-Gómez, P., Bouzari, N., Roozban, M.R., Ahmadi, N. & Prudencio, A.S. (2021). Transcriptional responses of wild cherries under drought stress and their molecular characterization by using *Prunus* SSR sequences. *Acta Horticulturae* 1307, 307-314.

22. Jiménez, S., Dridi, J., Gutiérrez, D., Moret, D., Irigoyen, J. J., Moreno, M. A., & Gogorcena, Y. (2013). Physiological, biochemical, and molecular responses in four *Prunus* rootstocks submitted to drought stress. *Tree Physiology*, 33, 1061-1075.
23. Khadivi-Khub, A., Zamani, Z., Fattahi, R., & Wünsch, A. (2014). Genetic variation in wild *Prunus* L. subgenus *Cerasus* germplasm from Iran characterized by nuclear and chloroplast SSR markers. *Trees*, 28(2), 471-485.
24. Kloosterman, A. D., Budowle, B., & Daselaar, P. (1993). PCR- amplification, and detection of the human DIS80 VNTR Locus. Amplification conditions and application in forensic analysis. *International Journal of Legal Medicine*, 105, 257-264.
25. Li, Y., Zhao, H., Duan, B., Korpelainen, H., & Li, C. (2011). Effect of drought and ABA on growth, photosynthesis, and antioxidant system of *Cotinus coggygria* seedlings under two different light conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 71, 107-13.
26. Ling, Q., Huang, W., & Jarvis, P. (2011). Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsis thaliana*. *Photosynthesis Research*, 107, 209-214.
27. Lobell, D. B., Schlenker, W., & Costa-Roberts, J. (2011). Climate trends and global crop production since 1980. *Science*, 333, 616-620.
28. Lopes, M. S., Sefc, K. M., Laimer, M., & Machado, A. D. C. (2002). Characterization of microsatellite loci in apricot. *Molecular Ecology Notes*, 2, 24-26.
29. Martínez-García, P. J., Hartung, J., Pérez de los Cobos, F., Martínez-García, P., Jalili, S., Sánchez-Roldán, J. M., Rubio, M., Dicenta, F., & Martínez-Gómez, P. (2020). Temporal response to drought stress in several *Prunus* rootstocks and wild Species. *Agronomy*, 10, 1383
30. Messina, R., Lain, O., Marrazzo, M. T., Cipriani, G., & Testolin, R. (2004). New set of microsatellite loci isolated in apricot. *Molecular Ecology Notes*, 4, 432-434.
31. Mnejja, M., García-Mas, J., Howad, W., Badenes, M. L., & Arús, P. (2004). Simple-sequence repeat (SSR) markers of Japanese plum (*Prunus salicina* Lindl.) are highly polymorphic and transferable to peach and almond. *Molecular Ecology Notes*, 4, 163-166.
32. Monakhova, O. F., & Chernyadev, I. I. (2002). Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 38, 373–380.
33. Mozaffarian,V. (2002). Studies on the flora of Iran, new species, and new records. *Pakistan Journal of Botany*, 34, 391-396.
34. Nei, M., & Li, W. H. (1979). Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, USA, 76, 5269-5273.
35. Rasouli, M., & Arzani, K. (2012). A study of total photosynthesis rate and growth pattern in nine Asian pear (*Pyrus serotina* Rhed) cultivars grown under Tehran environmental conditions. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 42(4), 329-338. (In Farsi).
36. Shahi-Gharahlar, A., Zamani, Z., Fatahi Moghaddam, M. R., & Bouzari, N. (2010). Assessment of morphological variation among some Iranian wild *Cerasus* sub-genus genotypes. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 51, 308-318.
37. Shalhevet, J. (1993). Plants under salt and water stress. *Plant Adaptation to Environmental Stress*, 1, 133-154.
38. Stanys, V., Frercks, B., Siksnianiene, J.B., Stepulaitiene, I., Gelvonauskiene, D., Staniene, G., & Bobinas, C. (2012). Identification of sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars using AFLP and SSR markers. *Zemdirbyste*, 99, 437-444.
39. Testolin, R., Marrazzo, T., Cipriani, G., Quarta, R., Verde, I., Dettori, M. T., & Sansavini, S. (2000). Microsatellite DNA in peach (*Prunus persica* L. Batsch) and its use in fingerprinting and testing the genetic origin of cultivars. *Genome*, 43, 512-520.
40. Tomás, M., Medrano, H., Escalona, J. M., Martorell, S., Pou, A., Ribas-Carbó, M., & Flexas, J. (2014). Variability of water use efficiency in grapevines. *Environmental and Experimental Botany*, 103, 148-157.
41. Wang, J., Zheng, R., Bai, S., Gao, X., Liu, M., & Yan, W. (2015). Mongolian almond (*Prunus mongolica* Maxim): The morpho-physiological, biochemical, and transcriptomic response to drought stress. *Plos One*, 10, e012442.
42. Yordanov, I., Velikova, V., & Tsonev, T. (2000). Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica 38*, 171-186.
43. Zamani, Z., Shahi-Gharahlar, A., Fatahi, R., & Bouzari, N. (2012). Genetic relatedness among some wild cherry (*Prunus* subgenus *Cerasus*) genotypes native to Iran assayed by morphological traits and random amplified polymorphic DNA analysis. *Plant Systematics and Evolution*, 298(2), 499-509.