

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تعهدنامه‌ی اصالت اثر و

تمامی حقوق مادی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات و نوآوری‌های ناشی از انجام این پژوهش، متعلق به **دانشگاه محقق اردبیلی** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقررات مربوطه با ذکر نام دانشگاه محقق اردبیلی،

اینجانب کبری عزیزیان دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات دانشکده-ی کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی ۹۰۳۳۴۴۳۱۱۲ که در تاریخ ۲۸/۷/۹۲ از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان ارزیابی تحمل تنش شوری در ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از صفات فیزیولوژیکی و ارتباط آن‌ها با نشانگرهای پروتئینی دفاع نموده‌ام، متعهد می‌شوم که

(۱) این پایان‌نامه را قبلاً برای دریافت هیچ‌گونه مدرک تحصیلی یا به عنوان هرگونه فعالیت پژوهشی در سایر دانشگاه‌ها و مؤسسات آموزشی و پژوهشی داخل و خارج از کشور ارائه ننموده‌ام.

(۲) مسئولیت صحت و سقم تمامی مندرجات پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود را بر عهده می‌گیرم.

(۳) این پایان‌نامه، حاصل پژوهش انجام شده توسط اینجانب می‌باشد.

(۴) در مواردی که از دستاوردهای علمی و پژوهشی دیگران استفاده نموده‌ام، مطابق ضوابط و مقررات مربوطه و با رعایت اصل امانتداری علمی، نام منبع مورد استفاده و سایر مشخصات آن را در متن و فهرست منابع و مآخذ ذکر نموده‌ام.

(۵) چنانچه بعد از فراغت از تحصیل، قصد استفاده یا هرگونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه محقق اردبیلی، مجوزهای لازم را اخذ نمایم.

(۶) در صورت ارائه‌ی مقاله‌ی مستخرج از این پایان‌نامه در همایش‌ها، کنفرانس‌ها، سمینارها، گردهمایی‌ها و انواع مجلات، نام دانشگاه محقق اردبیلی را در کنار نام نویسندگان (دانشجو و اساتید راهنما و مشاور) ذکر نمایم.

(۷) چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت



کشاورزی

دانشکده علوم

گروه زراعت و اصلاح نباتات

ارزیابی تحمل تنش شوری در ژنوتیپهای توتون با استفاده
از صفات فیزیولوژیکی و ارتباط آنها با نشانگرهای
پروتئینی

اساتید راهنما:

دکتر امید سفالیان

دکتر علی اصغری

اساتید مشاور:

دکتر ناصر زارع

دکتر محمد صدقی

پژوهشگر:

کبری عزیزیان

مهر - ۱۳۹۲



دانشکده‌ی علوم
گروه آموزشی زراعت و
کشاورزی
اصلاح نباتات

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد
در رشته‌ی مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات
عنوان:

ارزیابی تحمل تنش شوری در ژنوتیپ‌های توتون با استفاده
از صفات فیزیولوژیکی و ارتباط آن‌ها با نشانگرهای
پروتئینی

پژوهشگر:

کبری عزیزیان

ارزیابی و تصویب شده‌ی کمیته‌ی داوران پایان‌نامه با درجه‌ی

.....

نام و نام خانوادگی	مرتبه‌ی علمی	سمت	امضاء
امید سفالیان	استادیار	استاد راهنما	
علی اصغری	دانشیار	استاد راهنما	
ناصر زارع	استادیار	مشاور	
محمد صدقی	دانشیار	مشاور	

مهر - ۱۳۹۲

تقدیم به پدر مهربانم

الگوی استقامت و پایداری

تقدیم به شاهکار آفریدگارم

مادر مهربانم، الگوی صبر، رنج و مهربانی

در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می‌نهم و با دلی مملو از
عشق و محبت و خضوع بر دستانشان بوسه می‌زنم

تقدیم به روح برادرم که یادش تا ابد در دلم زنده است

تقدیم به آنان که توانشان رفت تا به توانی برسم، آنان که راستی
قامتم در شکستگی قامتشان تجلی یافت

سپاسگزارِی:

ای سزاورثای خویش! ای شکرکننده ی عطای خویش!
ای شیرین نماینده ی بلای خویش! رهی به ذات خود از ثنای تو عاجز،
و به عقل خود از شناخت منت تو عاجز، و به توان خود از سزای تو عاجز!
سپاس و ستایش خداوند بلندمرتبه را که به من قدرت و توان حرکت در مسیر آموختن
و دانستن عطا فرمود. هر قدم که برداشتم سنگی از جلوی پایم آب نمود و مسیر را بر من
هموار نمود. گاه درماندم، اما به ناگاه، جرقه ی امید را در دلم روشن نمود و به پا
خاستم.

الهی تا آموختنی را آموختم، و آموخته را جمله بسوختم!
اندوخته را برانداختم و انداخته را ببندوختم!
نیست را بفروختم تا هست را بیفروختم!
آموختم و دانستم هست را نیست نمود، که من لذت ببرم، از قدرت و توانش، از زیبایی
کراماتش.

شکرخدا ی را به جای می آورم، که در تمام مسیر انجام این پژوهش، بزرگانی چون
استادان گرانقدرم جناب آقای دکتر امید سفالیان و دکتر علی اصغری را راهنمایان

من قرار داد تا آنرا با موفقیت به پایان برسانم. منت خدای بلندمرتبه‌ای که حضور

نام خانوادگی دانشجو: عزیزیان	
عنوان پایان‌نامه: ارزیابی تحمل تنش شوری در ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از صفات فیزیولوژیکی و ارتباط آنها با نشانگرهای پروتئینی	
اساتید راهنما: دکتر امید سفالیان - دکتر علی اصغری	
اساتید مشاور: دکتر ناصر زارع - دکتر محمد صدقی	
مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: زراعت اصلاح نباتات
دانشکده: علوم کشاورزی	تاریخ فارغ
التحصیل: ۱۳۹۰/۰۷/۲۷	تاریخ فارغ: ۱۳۹۰/۰۷/۲۷
کلید واژه: توتون، شوری، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای پروتئینی	

مشاوران بزرگوار آقایان دکتر ناصر زارع و جناب آقای دکتر محمد صدقی دلگرمی من قرار داد. ستایش خداوندی که، این افتخار را نصیب من نمود که سرکار خانم دکتر سدابه جهانبخش پایان نامه ام را داوری نمایند.

از تمامی دوستان و همکلاسی‌های گرامیم، خصوصاً خواهر عزیزم رقیه عزیزیان، خانم وحیده سیاهی، خانم آرزو حاجی‌زاده، آقای رامین سیفی و خانم حمیده ابراهیمی صمیمانه سپاسگذارم که از نثار یاری دوستانه‌شان دریغ نورزیدند و در طول این دوره یاور و همراهم بودند.

چکیده :

به منظور ارزیابی تحمل شوری در ژنوتیپ‌های مختلف توتون و ارتباط آن با نشانگر-های پروتئینی تحقیدی در دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۱ انجام شد. آزمایش روی ۲۰ ژنوتیپ توتون به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و سه سطح تنش (شاهد، ۱۰۵ و ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) به صورت کشت در خاک انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری مقدار پرولین و درصد خسارت، افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی وجود داشت. صفات فیزیولوژیکی دیگر به طور معنی‌داری کاهش یافتند. میانگین اکثر صفات مورد ارزیابی نشان داد که از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، ژنوتیپ‌های TRoborbon، Sough، Carolina، Rozecan Nela، Florida 513 در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار و ژنوتیپ‌های Rozecan Nela، Grixalla و Florida 513 در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار در گروه ژنوتیپ‌های متحمل قرار گرفتند. شاخص مقاومت Ti نیز نشان داد ژنوتیپ‌های Florida 513، Rozecan Nela و Troborbon با میانگین بیشتر در گروه ژنوتیپ‌های متحمل قرار گرفتند و ژنوتیپ‌های Exil 169، NC60، Bergerac و Carolina با داشتن میانگین کم جزو ژنوتیپ‌های حساس بودند. تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌ها نیز نشان داد که در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار ژنوتیپ‌های Sough Carolina، Comstak Spanish، TRoborbon، Rozecan Nela، NC60 و در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار ژنوتیپ‌های Rozecan Nela، Virginia Free، Florida 513، Troborbon و NC60 در گروه ژنوتیپ‌های مقاوم بودند. ژنوتیپ‌های Exil PRI، Virginia Aurea، P.B.D.6 و Pennb 169 و Bergerac به طور مشترک در شوری ۱۰۵ و ۲۱۰ میلی‌مولار در گروه ژنوتیپ‌های حساس بودند. همچنین، نشانگرهای پروتئینی می‌توانند به عنوان ابزاری تکمیلی برای بررسی تنوع ژنتیکی در ژنوتیپ‌های توتون مورد استفاده قرار گیرد. نتایج حاصل از تجزیه پروتئین‌های محلول در آب و نمک در شرایط بدون تنش و شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و پروتئین‌هایی با وزن مولکولی بالا در شرایط بدون تنش و شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نشان داد، میانگین تنوع ژنتیکی برای تمام مکان‌های ژنتیکی به ترتیب برابر ۰/۲۳، ۰/۱۹، ۰/۴۴ و ۰/۱۷ بود. به عبارتی در ژنوتیپ‌های توتون تنوع ژنتیکی برای پروتئین‌های محلول در آب و نمک نسبت به پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا کم بود و مقدار شاخص شانون به ترتیب برای هر دو نوع پروتئین‌های محلول در آب و نمک و پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا برابر ۰/۳۸، ۰/۲۹، ۰/۶۳ و ۰/۵۳ بود. تجزیه رگرسیون داده‌های حاصل از پروتئین‌های محلول در آب و نمک و پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا با صفات فیزیولوژیک نشان داد که صفت کلروفیل b در سطح شاهد بیشترین ضریب تبیین تصحیح شده را داشت. در پروتئین‌های محلول در آب و نمک نشانگر ۴ و پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا نشانگرهای ۱، ۲ و ۳ به دلیل داشتن ارتباط با صفات بیشتر به عنوان مؤثرترین نشانگر شناسایی شد.

فهرست مطالب

شماره و عنوان مطالب	صفحه
فصل اول: مقدمه و مروری بر تحقیقات گذشته	
۱-۱ -	مقدمه
۲	۲
۱-۲ - معرفی گیاه	توتون
۵	۵
۱-۳ - تاریخچه گیاه	توتون
۶	۶
۱-۴ - اهمیت و مصارف و اقتصاد فرآورده های	توتون
۷	۷
۱-۵ -	تنش
۸	۸
۱-۶ - اهمیت توجه به	تنش
۸	۸
۱-۷ - تنش های	محیطی

.....

۹.

۱-۸- انواع تنش‌های

..... محیطی

..... ۱۰.....

۱-۹-

..... شوری

..... ۱۱.....

۱-۱۰- تنش شوری و اهمیت

..... آن

..... ۱۳.....

۱-۱۱- شوری خاک و علل

..... شوری

..... ۱۵.....

۱-۱۲- وسعت شوری در جهان و

..... ایران

..... ۱۶.....

۱-۱۳- تعریف تحمل

..... شوری

..... ۱۷.....

۱-۱۴- مکانیسم‌های تحمل تنش

..... شوری

..... ۱۸.....

۱-۱۵- انواع گیاهان از نظر تحمل

..... شوری

..... ۲۰.....

ب

۱-۱۶- شوري و اثرات آن بر

..... گیاهان
.....
..... ۲۰

۱-۱۷- روشهاي مقابله با

..... شوري
.....
..... ۲۱

۱-۱۸- اثر شوري بر جنبه هاي

..... فیزیولوژیکی
.....
..... ۲۲

۱-۱۸-۱- هدایت روزنه-

..... ای
.....
..... ۲۲

۱-۱۸-۲- محتوای نسبی

..... آب
.....
..... ۲۳

۱-۱۸-۳- فلورسانس

..... کلروفیل
.....
..... ۲۴

۱-۱۸-۴- میزان

..... کلروفیل
.....
..... ۲۷

۱-۱۸-۵

..... پرولین
.....
.....

۳۰ .

۱-۱۸-۶- پایداری

..... غشاء

.....
.....
.....

۳۹.....

۱-۲۶-۱ - الکتروفورز

..... کاغذی
.....

..... ۳۹.....

۱-۲۶-۲ - الکتروفورز ژل

..... آگارز
.....

..... ۴۰.....

۱-۲۶-۳ - الکتروفورز استات

..... سلولز
.....

..... ۴۰.....

۱-۲۶-۴ - الکتروفورز ژل

..... نشاسته
.....

..... ۴۱.....

۱-۲۶-۵ - الکتروفورز ژل

..... آکریلامید
.....

..... ۴۱.....

۱-۲۶-۶ - الکتروفورز ژل پلی آکریل-آمید در حضور سدیم دودسیل

سولفات (-SDS)

..... (PAG) ۴۲.....

فصل دوم: مواد و روشها

۲-۱ - مواد گیاهی:

.....
.....
.....

..... ۴۴.....

۲-۲ - اندازه گیری پارامترهای مرتبط با تنش

..... شوری

.....
۴۶.....

۲-۳-صفتات

..... فیزیولوژیک

..... ۴۶.....

۲-۳-۱- میزان سبزینگی

..... برگ

..... ۴۶.....

۲-۳-۲- محتوای نسبی آب (RWC)

..... ۴۴.....

۲-۳-۳- فلورسانس

..... کلروفیل

..... ۴۷.....

۲-۳-۴- هدایت روزنه-

..... ای

..... ۴۷.....

۲-۴-صفتات مورد مطالعه

..... تخریبی

..... ۴۷.....

۲-۴-۱- سنجش مقدار پرولین در

..... برگ

..... ۴۸.....

۲-۴-۲- اندازه گیری رنگیزه های

..... فتوسنتزی

..... ۴۸.....

۲-۴-۳- پایداري

غشاء
.....
..... ۴۹

۲-۵-۵- شاخص‌هاي

تحميل
.....
..... ۵۰

۲-۶-۶- روش‌هاي آماری در تجزیه و تحلیل داده‌هاي

فيزيولوژیک
..... ۵۰

۲-۷-۷- ارزیابی

ژنوتیپی
.....
.....
..... ۵۱

۲-۷-۱- الکتروفورز پروتئین‌هاي محلول در آب و

نمک
..... ۵۱

۲-۷-۲- استخراج پروتئین‌هاي محلول در آب و نمک و پروتئین‌هاي با

وزن مولکولي بالا (HMW) ۵۱

۲-۷-۳- آماده‌سازي محلول‌ها و ژل-

گذاري
.....
..... ۴۹

۲-۸-۸- رتبه‌دهي و تجزیه آماری داده-

ها
.....
..... ۵۳

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- تجزیه واریانس داده-

ها
.....
..... ۵۶

۳-۲- مقایسه میانگین صفات

..... فیزیولوژیک
.....
..... ۵۷

۳-۲-۱- رنگیزه های

..... فتوسنتز
.....
..... ۵۷

۳-۲-۲- شاخص

..... سبزینگی
.....
..... ۶۳

۳-۲-۳- پایداری

..... غشاء
.....
..... ۶۴

۳-۲-۴- محتوای آب

..... نسبی
.....
..... ۶۷

۳-۲-۵- هدایت روزنه-

..... ای
.....
..... ۶۹

۳-۲-۶-

..... پرولین
.....
..... ۷۰

۳-۲-۷- فلورسانس

..... کلروفیل
.....
..... ۷۲

۳-۳-نتایج همبستگی صفات مورد

بررسی.....
.....
۷۵.....

۳-۳-۱- همبستگی صفات در سطح

شاهد.....
.....
۷۵.....

۳-۳-۲- همبستگی صفات در سطح شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید

سدیم.....
۷۵.....

۳-۳-۳- همبستگی صفات در سطح شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید

سدیم.....
۸۰.....

۳-۴- ارزیابی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس شاخص‌های

تحمل.....
۸۰.....

۳-۵- تجزیه‌ی خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس صفات

فیزیولوژیک.....
۸۴.....

۳-۶- تجزیه به عامل‌ها برای صفات

فیزیولوژیک.....
.....
۹۲.....

۳-۷- تجزیه داده‌های حاصل از

پروتئین.....
.....
۹۷.....

۳-۷-۱- چندشکلی نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های محلول در آب و نمک) در سطح شاهد در

بذر.....
۹۷.....

۳-۷-۲- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از پروتئین‌های

محلول در آب و نمک در سطح شاهد در بذر.....
۹۸.....

۳-۷-۳- چند شکلی نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW)) برای بذور در سطح شاهد..... ۱۰۱.....

۳-۷-۴- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW) برای بذور در سطح شاهد.....
.....
.....
..... ۱۰۲.....

۳-۷-۵- چندشکلی نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های محلول در آب و نمک) در سطح شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم.....
.....
.....
..... ۱۰۵.....

۳-۷-۶- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از پروتئین‌های محلول در آب و نمک در سطح شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم.

.....
.....
.....
..... ۱۰۶

۳-۷-۷- چندشکلی نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW)) در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم.....
.....
.....
..... ۱۰۹

۳-۷-۸- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (HMW) در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم

.....
.....
.....
..... ۱۱۰.....

۳-۸- آزمون

.....مانتل.....
.....

.....
..... ۱۱۳.....

۳-۹- رابطةى بين صفات فيزيولوژيک و داده‌هاى

پروتئينى.....
..... ۱۱۵.....

۳-۱۰- نتیجه‌گيرى

.....کلى.....
.....
..... ۱۲۰.....

۳-۱۱-

.....پيشنهادها.....
.....
.....
..... ۱۲۲.....

منابع مورد استفاده

.....
.....
..... ۱۱۹.....

فهرست اشکال

شکل ۱-۱- الف) ریشه‌ى توتون، ب) برگ و ساقه‌ى توتون، ج) گل آذین توتون، د) میوه‌ى

توتون..... ۶.....
شکل ۲-۱- مرحله ۴-۶ برگچه‌اى ژنوتیپ‌هاى توتون مورد مطالعه در گلخانه.....
..... ۴۴.....

شکل ۲-۳- نمایی از خزانه توتون در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی.....
..... ۴۵.....

شکل ۲-۴- تصویرى از گیاه توتون تحت تنش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی.....
..... ۴۵.....

شکل ۲-۵- دستگاہ OSI30 (کمپانى ABCBioscientific).....
.....
..... ۴۸.....

شکل ۲-۶ - دستگاه پرومتر مدل SC-1 Leaf prometer

.....

..... ۴۸

شکل ۳-۱ - مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای کلروفیل a.

.....
.....
.....

..... ۶۱

شکل ۳-۲ - مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای کلروفیل

b

.....
.....

..... ۶۲

شکل ۳-۳ - مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای کلروفیل

.....
.....

..... ۶۲

شکل ۳-۴ - مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای کارتنوئیدها

.....
.....
.....

..... ۶۲

شکل ۳-۵ - مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای کلروفیل a/b

.....
.....
.....

..... ۶۳

شکل ۳-۶ - مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری از نظر شاخص سبزینگی

.....
.....

.....
۶۴.....

شکل ۳-۷- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط
نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای درصد پاییداری
غشاء.....

.....
۶۶.....

شکل ۳-۸- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط
نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای درصد خسارت
غشاء.....

.....
۶۶.....

شکل ۳-۹- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط
نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای نسبی آب
برگ.....

.....
۶۸.....

شکل ۳-۱۰- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط
نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای هدایت روزنه-
ای.....

.....
۶۹.....

شکل ۳-۱۱- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط
نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای
پرولین.....

.....
۷۱.....

شکل ۳-۱۲- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط
نرمال و سطوح تنش شوری از نظر محتوای فلورسانس
اولیه.....