بسم الله الرحمن الرحيم

تعهدنامه‌ی اصالت اثر و رعایت حقوق دانشگاه

تمامی حقوق مادّی و معنوی مترتب بر نتایج، ابتکارات، اختراعات و نوآوری‌هایِ ناشی از انجام این پژوهش، متعلق به **دانشگاه محقق اردبیلی** می‌باشد. نقل مطلب از این اثر، با رعایت مقرّرات مربوطه و با ذکر نام دانشگاه محقق اردبیلی، نام استاد راهنما و دانشجو بلامانع است.

اینجانب رقیه عزیزیان دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی ۹۰۳۳۴۴۳۱۱۱ که در تاریخ از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان ارزیابی تحمل تنش شوری در ژنوتیپ‌های توتون با استفاده صفات مورفولوژیکی 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 صحّت 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 مقرّرات 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 هر گونه بهره‌برداری اعم از نشر کتاب، ثبت اختراع و ... از این پایان‌نامه را داشته باشم، از حوزه‌ی معاونت پژوهشی و فنّاوری 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 شود، عواقب ناشی از آن (منجمله ابطال مدرک تحصیلی، طرح شکایت توسط دانشگاه و ...) را می‌پذیرم و دانشگاه محقق اردبیلی را مجاز می‌دانم با اینجانب مطابق ضوابط و مقرّرات مربوطه رفتار نماید.

نام ونام خانوادگی دانشجو: رقیه عزیزیان

امضا

تاریخ

دانشکده علوم کشاورزی

گروه آموزشی زراعت و 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 مورفولوژیکی و ارتباط آن‌ها با نشانگرهای پروتئینی

اساتید راهنما:

دکتر امید سفالیان

دکتر رسول اصغری زکریا

اساتید مشاور:

دکتر ناصر زارع

دکتر سارا دژستان

پژوهشگر:

رقیه عزیزیان

دی – ۱۳۹۲

دانشکده‌ی علوم کشاورزی

گروه آموزشی زراعت و 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 مورفولوژیکی و ارتباط آن‌ها با نشانگرهای پروتئینی

پژوهشگر:

رقیه عزیزیان

ارزیابی و تصویب شده‌ی کمیته‌ی داوران پایان‌نامه با درجه‌ی .....

نام و نام خانوادگی	مرتبه‌ی علمی	سمت	امضاء
امید سفالیان	دانشیار	استاد راهنما و رییس کمیته داوران	
رسول اصغری زکریا	دانشیار	استاد راهنما	
ناصر زارع	استادیار	مشاور	
سارا دژستان	استادیار	مشاور	

دی – ۱۳۹۲

تقدیم به پدر مهربانم

الگوی استقامت و پایداری

و

تقدیم به شاهکار آفریدگارم

مادر مهربانم، الگوی صبر، رنج و مهربانی

در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می نهم و با دلی مملو از عشق و محبت و خضوع بر دستانشان بوسه می زنم

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

تقدیر و تشکر

سپاس بی پایان خدایی را سزاست که انسان را مختار آفرید تا برگزیند.

فرصت را مغتنم می شمارم تا صمیمانه ترین سپاس هایم را تقدیم محضر ارجمند اساتید بزرگوارم، آقایان دکتر امید سفالیان و دکتر رسول اصغری زکریا نایم.

نام خانوادگی دانشجو: عزیزیان	نام: رقیه
عنوان پایان‌نامه: ارزیابی تحمل تنش شوری در ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از صفات مورفولوژیکی و ارتباط آن‌ها با نشانگرهای پروتئینی	
اساتید راهنما: دکتر امید سفالیان - دکتر رسول اصغری زکریا	
اساتید مشاور: دکتر ناصر زارع- دکتر سارا دژستان	
مقطع تحصیلی: **کارشناسی ارشد** رشته: زراعت اصلاح نباتات گرایش: اصلاح نباتات دانشگاه: **محقق اردبیلی**	
دانشکده: علوم کشاورزی تاریخ فارغ التحصیلی:۹ /۱۰ /۹۲	تعداد صفحه: ۱۲۱
کلید واژه: توتون، شوری، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای پروتئینی	

از اساتید مشاورم، دکتر ناصر زارع و دکتر سارا دژستان، که در تهیه و تدوین این پایان نامه مرا یاری نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از آقای دکتر علی اصغری که زحمت بازخوانی و داوری این پایان نامه را تقبل نموده اند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از آقای دکتر بهروز اسماعیل پور و از تمام اساتید محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات و همچنین از مسئولان آزمایشگاه اصلاح نباتات مولکولی و زراعت، آقایان آردن و آقازاده کمال تشکر را دارم.

از خانواده ی بسیار عزیزیم قدردانی می کنم که در لحظات سخت سرگشتگی پشتیبان من بودند. سر خضوع بر آستان بلند و کبریایی خداوند مهربانی می سایم که به من نعمت فرزندی پدری را عطا فرمود که همواره در سایه فداکاری و ایثارش سرافراز بوده ام و مادری که تا ابد زلال عشق خدایش سیراب خواهم شد. امید که خداوند بر این بنده حقیر منت نهاده و توفیق خدمت به این دو عزیز را عنایت فرماید. همچنین از برادرم علی به پاس زحمات بی دریغش کمال تشکر و قدردانی را دارم.

از تمامی دوستان و همکلاسی های گرامیم، خصوصاً خواهر عزیزم کبری عزیزیان، خانم وحیده سیاهی، خانم آرزو حاجی زاده، آقای رامین سیفی و خانم حمیده ابراهیمی صمیمانه سپاسگذارم که از نثار یاری دوستانشان دریغ نورزیدند و در طول این دوره یاور و همراهم بودند.

فهرست مطالب

شماره و عنوان مطالب **صفحه**

فصل اول: مقدمه و مروری بر تحقیقات گذشته

چکیده:

به منظور ارزیابی تحمل شوری در ژنوتیپ‌های مختلف توتون و ارتباط آن‌ها با نشانگرهای پروتئینی، تحقیقی 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) انجام شد. نتایج نشان داد که افزایش تنش شوری منجر به افزایش در صد پروتئین کل و تأخیر در گلدهی و کاهش معنی‌دار در صفات مورفولوژیکی مورد مطالعه شد. میانگین اکثر صفات مورد ارزیابی نشان داد که از بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، ژنوتیپ‌های TRoborbon، Sough Carolina، Florida 513 ، Bergerac، R.C.N.2، Comstak Sponish، NC60 و P.B.D.6 در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار در گروه ژنوتیپ‌های متحمل قرار گرفتند. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه‌ی خوشه‌ای، ژنوتیپ‌های TRUMPF، P.B.D.6، NC60، Comstak Sponish و Bergerac به طور مشترک در شوری ۱۰۵ و ۲۱۰ میلی‌مولار در گروه ژنوتیپ‌های متحمل بودند و ژنوتیپ‌های Exil PRI، Virginia Aurea، Coker 55 و Carolina در گروه ژنوتیپ‌های حساس بودند. نتایج حاصل از شاخص‌های تحمل به تنش نشان داد که در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار و ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، ژنوتیپ‌های TRUMPF، Carolina و Golden gift با داشتن میانگین بالا در گروه ژنوتیپ‌های متحمل و ژنوتیپ‌های Virginia Aurea، Coker 55 و TL1112 با داشتن میانگین پایین در گروه ژنوتیپ‌های حساس قرار گرفتند. با توجه به نتایج به دست آمده برای تجزیه به عامل‌ها، ژنوتیپ‌های TRUMPF، TRoborbon، R.C.N.2، Bergerac، P.B.D.6 و NC60 به عنوان بهترین ژنوتیپ‌ها شناسایی شدند. بر اساس تجزیه رگرسیون گام به گام پروتئین‌های محلول کل از برگ و صفات مورفوفیزیولوژیک، عملکرد بیولوژیک بیشترین ضریب تبیین تصحیح شده را نسبت به بقیه صفات داشت و نشانگر ۶ در صورت تأیید توسط آزمون‌های آماری تکمیلی (FDR) می‌تواند به عنوان نشانگر مثبت در اهداف اصلاحی به کار رود.

۱- فصل اول..... ۱

۱-۱- مقدمه.....۲

۱-۲- معرفی گیاه توتون..... ۵
۱-۳- تاریخچه‌ی گیاه توتون..... ۶
۱-۴- اهمیت و مصارف و اقتصاد فرآورده‌های توتون..... ۶
۱-۵- تنش، انواع تنش‌های محیطی و اهمیت توجه به تنش..... ۶
۱-۶- شوری..... ۸
۱-۷- شوری و اثرات آن بر گیاهان..... ۱۰
۱-۸- مکانیسم‌های تحمل تنش شوری..... ۱۰
۱-۹- ضرورت اصلاح گیاهان متحمل به شوری..... ۱۱
۱-۱۰- اثر شوری بر جنبه‌های مورفولوژیکی..... ۱۳
۱-۱۱- شاخص‌های تحمل..... ۱۵
۱-۱۱-۱- شاخص تحمل (TOL)..... ۱۶
۱-۱۱-۲- شاخص میانگین هارمونیک تولید (HARM)..... ۱۷
۱-۱۱-۳- شاخص میانگین هندسی تولید (GMP)..... ۱۷
۱-۱۱-۴- شاخص تحمل به تنش (STI)..... ۱۷
۱-۱۱-۵- شاخص حساسیت تنش (SSI)..... ۱۸
۱-۱۲- تنوع ژنتیکی و اهمیت آن..... ۱۸
۱-۱۳- نشانگرهای مورفولوژیکی..... ۱۹
۱-۱۴- نشانگرهای بیوشیمیایی..... ۲۰
۱-۱۵- مروری بر تحقیقات انجام شده در زمینه شوری و نشانگرهای پروتئینی در توتون..... ۲۰
۱-۱۶- تکنیک الکتروفورز..... ۲۲
۱-۱۷- الکتروفورز پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه..... ۲۳
۱-۱۷-۱- الکتروفورز ژل آکریلآمید..... ۲۳

۱-۱۷-۲- الکتروفورز ژل پلی‌آکریل-آمید در حضور سدیم دودسیل سولفات (SDS- PAG)..... ۲۳

۱-۱۸- اهداف تحقیق ۲۴

فصل دوم: مواد وروش‌ها

۲-۱- موادگیاهی..... ۲۶

۲-۲- اندازه‌گیری پارامترهای مرتبط با تنش شوری..... ۲۷

۲-۳- صفات مورفولوژیکی ۲۷

۲-۴- شاخص‌های تحمل..... ۲۸

۲-۵- برآورد پارامتر های ژنتیکی..... ۲۹

۲-۶- در صد پروتنین برگ ۳۰

۲-۷- روش‌های آماری در تجزیه و تحلیل داده‌های مورفولوژیک..... ۳۰

۲-۸- ارزیابی ژنوتیپی ۳۱

۲-۸-۱- الکتروفورز پروتئین‌های محلول در آب و نمک و پروتئین‌هایی با وزن مولکولی پایین (LMW)..... ۳۱

۲-۸-۲- استخراج پروتئین‌های محلول در آب و نمک و پروتئین‌هایی با وزن مولکولی پایین (LMW)..... ۳۱

۲-۸-۳- آماده‌سازی محلول‌ها و ژل‌گذاری..... ۳۱

۲-۸-۴- الکتروفورز پروتئین‌های کل محلول از برگ..... ۳۳

۲-۸-۵- روش استخراج پروتئین ۳۴

۲-۹- رتبه‌دهی و تجزیه آماری داده‌های پروتئینی..... ۳۵

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- تجزیه واریانس داده‌ها..... ۳۷

۳-۲- مقایسه میانگین صفات مورفوفیزیولوژیک ۳۹

۳-۳- نتایج همبستگی صفات مورد بررسی ۵۰

۳-۳-۱- همبستگی صفات در سطح شاهد.....۵۰
۳-۳-۲- همبستگی صفات در سطح شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم..... ۵۱
۳-۳-۳- همبستگی صفات در سطح شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم.....۵۲
۳-۴- ارزیابی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس شاخص‌های تحمل..... ۵۹
۳-۵- تجزیه‌ی خوشه‌ای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه بر اساس صفات مورفوفیزیولوژیک.....۶۵
۳-۶- برآورد پارامترهای ژنتیکی بر اساس صفات مورفوفیزلوژیک.....۷۴
۳-۷- تجزیه به عامل‌ها برای صفات مورفوفیزیولوژیک.....۷۶
۳-۸- تجزیه داده‌های حاصل از پروتئین.....۸۴
۳-۸-۱- چند شکلی نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های محلول در آب و نمک) در سطح شاهد در برگ.....۸۴
۳-۸-۲- چند شکلی نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های با وزن مولکولی پایین LMW) برای بذور در سطح شاهد.....۸۴
۳-۸-۳- گروهبندی ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (LMW) در سطح شاهد در بذر.....۸۵
۳-۹- تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی برای پروتئین‌های با وزن مولکولی پایین (LMW).....۸۸
۳-۹-۱- چند شکلی نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های کل محلول از برگ) برای در سطح شاهد.....۸۹
۳-۹-۲- گروهبندی ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از پروتئین‌های کل محلول از برگ در سطح شاهد.....۹۰
۳-۱۰- تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی برای پروتئین کل محلول از برگ.....۹۳
۳-۱۱- آزمون مانتل.....۹۴
۳-۱۲- رابطه‌ی بین صفات فیزیولوژیک و داده‌های پروتئینی.....۹۶
۳-۱۳- نتیجه‌گیری کلی.....۱۰۰
۳-۱۴- پیشنهادات ۱۰۱
ضمیمه .....

فهرست اشکال

فهرست اشکال .....صفحه

شکل ۳- ۱- تغییرات میانگین وزن تر اندام هوایی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری.....۴۷

شکل۳- ۲- تغییرات میانگین وزن خشک اندام هوایی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری ۴۷

شکل۳- ۳- تغییرات میانگین وزن عملکرد بیولوژیک ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری..... ۴۷

شکل۳- ۴- تغییرات میانگین وزن خشک ساقه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری..... ۴۸

شکل۳- ۵- تغییرات میانگین وزن خشک ریشه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری..... ۴۸

شکل۳- ۶- تغییرات میانگین طول ریشه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری..... ۴۸

شکل۳- ۷- تغییرات میانگین حجم ریشه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری..... ۴۹

شکل۳- ۸- تغییرات میانگین وزن تر ساقه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری.....۴۹

شکل۳- ۹- تغییرات میانگین وزن تر برگ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری.....۴۹

شکل۳- ۱۰- تغییرات میانگین وزن خشک برگ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری.....۵۰

شکل۳- ۱۱- تغییرات میانگین وزن خشک ریشه به اندام هوایی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری.....۵۰

شکل۳- ۱۲- تغییرات میانگین سطح برگ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری.....۵۰

شکل۳- ۱۳- تغییرات میانگین تعداد برگ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری ۵۱

شکل۳- ۱۴- تغییرات میانگین طول ساقه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری ۵۱

شکل۳-۱۵- تغییرات میانگین طول برگ ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری ۵۱

شکل ۳- ۱۶- تغییرات میانگین در صد پروتئین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری ۵۲

شکل۳- ۱۷- تغییرات میانگین گلدهی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط نرمال و سطوح تنش شوری ۵۲

شکل ۳- ۱۸- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون برای صفات مورد مطالعه به روش Ward در شرایط بدون تنش ۶۸

شکل ۳- ۱۹- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون برای صفات مورد مطالعه به روش Ward در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم ۶۹

شکل ۳- ۲۰- گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون برای صفات مورد مطالعه به روش Ward در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ۶۹

شکل۳-۲۱- انحراف از میانگین کل صفات در پنج خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای در سطح شاهد ۷۰

ادامه شکل۳-۲۱- انحراف از میانگین کل صفات در پنج خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای در سطح شاهد ۷۰

شکل۳- ۲۲- انحراف از میانگین کل صفات در سه خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم ۷۰

ادامه شکل۳- ۲۲- انحراف از میانگین کل صفات در سه خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم ۷۱

شکل۳- ۲۳- انحراف از میانگین کل صفات در چهار خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ۷۱

ادامه شکل ۳- ۲۳ - دو بعدی پراکنش ژنوتیپ‌ها براساس دو عامل اول برای صفات در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم..... ۷۱

شکل ۳-۲۴- دو بعدی حاصل از تجزیه تابع تشخیص بر اساس دو تابع اول به منظور تایید گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال..... ۷۲

شکل ۳-۲۵- دو بعدی حاصل از تجزیه تابع تشخیص بر اساس دو تابع اول به منظور تایید گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها درشوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید ۷۳

شکل ۳-۲۶- دو بعدی حاصل از تجزیه تابع تشخیص بر اساس دو تابع اول به منظور تایید گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ۷۳

شکل ۳- ۲۷- دو بعدی پراکنش ژنوتیپ‌ها براساس دو عامل اول برای صفات در شرایط نرمال..... ۸۲

شکل۳- ۲۸- دو بعدی پراکنش ژنوتیپ‌ها براساس دو عامل اول برای صفات در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم ۸۳

شکل ۳- ۲۹- دو بعدی پراکنش ژنوتیپ‌ها براساس دو عامل اول برای صفات در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم ۸۳

شکل ۳- ۳۰- تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های توتون بر اساس داده مولکولی پروتئین‌های LMW برای بذور در شرایط نرمال..... ۸۶

شکل۳- ۳۱- نمایش دو بعدی ژنوتیپ‌های توتون مورد مطالعه براساس دو مؤلفه هماهنگ اول و دوم برای داده‌های پروتئینی (پروتئین‌های با وزن مولکولی پایین)..... ۸۸

شکل۳- ۳۲- تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های توتون براساس داده مولکولی پروتئین‌های کل محلول از برگ برای بذور در شرایط نرمال..... ۱۷

شکل۳- ۳۳- نمایش دو بعدی ژنوتیپ‌های توتون مورد مطالعه براساس دو مؤلفه هماهنگ اول و دوم برای داده‌های پروتئینی (پروتئینهای کل محلول از برگ) ۹۳

شکل۳- ۳۴- آزمون مانتل با استفاده از ماتریس فاصله حاصل از داده‌های پروتئین با وزن مولکولی پایین (LMW) و ماتریس فاصله‌ی حاصل از صفات مورفوفیزیولوژیک در شرایط نرمال در ژنوتیپ‌های توتون..... ۹۵

شکل ۳- ۳۵- آزمون مانتل با استفاده از ماتریس فاصله حاصل از داده‌های پروتئینی(داده‌های پروتئین کل برگ) و ماتریس فاصله‌ی حاصل از صفات مورفوفیزیولوژیک در شرایط نرمال در ژنوتیپ‌های توتون..... ۹۵

جدول‌ها

فهرست جداول.....صفحه

جدول ۲-۱- نام ژنوتیپ‌های توتون مورد مطالعه در ارزیابی تحمل شوری..... ۲۶

جدول ۲-۲- مقادیر مورد نیاز از محلول‌های پایه.....۳۳

جدول ۲-۳- مواد تشکیل دهنده‌ی محلول‌های رنگ آمیزی و رنگ‌بری.....۳۳

جدول ۳- ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های توتون در شرایط نرمال و تنش شوری.....۳۸

ادامه جدول ۳- ۱-تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های توتون در شرایط نرمال و تنش شوری.....۳۸

جدول ۳- ۲- همبستگی ساده صفات مورفوفیزیولوژیک ژنوتیپ‌های توتون در شرایط نرمال.....۵۳

جدول ۳-۳- همبستگی ساده صفات مورفوفیزیولوژیک ژنوتیپ‌های توتون در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم ۵۴

جدول ۳-۴- همبستگی ساده صفات مورفوفیزیولوژیک ژنوتیپ‌های توتون در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم.....۵۵

جدول ۳- ۵- تجزیه واریانس شاخص‌های تحمل در شوری ۱۰۵ و ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم..... ۵۹

جدول ۳- ۶- مقادیر شاخص های مقاومت به شوری در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم.....۶۲

جدول ۳-۷- مقادیر شاخص های مقاومت به شوری در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم.....۶۳

جدول۳- ۸- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های تحمل در شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم.....۶۴

جدول ۳- ۹- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های تحمل در شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم.....۶۴

جدول ۳- ۱۰- تجزیه واریانس چند متغیره براساس گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای برمبنای صفات مورفوفیزیولوژیک در سطوح مختلف شوری.....۶۸

جدول ۳- ۱۱- پارامترهای ژنتیکی برآورد شده برای صفات مورفوفیزلوژیک ژنوتیپ‌های توتون مورد بررسی در شرایط تنش شوری.....۷۵

جدول ۳- ۱۲- ماتریس ضرایب عاملی صفات مورد اندازه گیری بعد از چرخش واریماکس در شرایط نرمال ۷۹

جدول ۳- ۱۳- ماتریس ضرایب عاملی صفات مورد اندازه گیری بعد از چرخش واریماکس در شرایط تنش شوری ۱۰۵ میلی‌مولار کلرید سدیم..... ۸۰

جدول ۳- ۱۴- ماتریس ضرایب عاملی صفات مورد اندازه گیری بعد از چرخش واریماکس در شرایط تنش شوری ۲۱۰ میلی‌مولار کلرید سدیم..... ۸۱

جدول ۳- ۱۵- تنوع ژنتیکی براساس شاخص نی و شانون در پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (LMW) در سطح شاهد..... ۸۵

جدول ۳- ۱۶-جدول ماتریس تشابه ژاکارد بین ژنوتیپ‌های توتون در پروتئین‌های LMW در شرایط بدون تنش..... ۸۷

جدول ۳- ۱۷-مقادیر ویژه درصد واریانس و واریانس تجمعی برای ۱۰ مولفه هماهنگ اول..... ۸۹

جدول ۳- ۱۸- تنوع ژنتیکی براساس شاخص نی و شانون در پروتئین‌های با وزن مولکولی بالا (LMW) در سطح شاهد..... ۹۰

جدول ۳- ۱۹- جدول ماتریس تشابه ژاکارد بین ژنوتیپ‌های توتون در پروتئین‌های کل برگ در شرایط بدون تنش..... ۹۲

جدول ۳- ۲۰- مقادیر ویژه، درصد واریانس و واریانس تجمعی برای ۱۲ مولفه هماهنگ اول..... ۹۴

جدول ۳-۲۱- ضرایب رگرسیون بین صفات مورفوفیزیولوژیک و نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های با ورن مولکولی پایین (LMW)..... ۹۷

جدول ۳-۲۲- ضرایب رگرسیون بین صفات مورفوفیزیولوژیک و نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های کل محلول از برگ)..... ۹۸

ادامه جدول ۳- ۲۲- ضرایب رگرسیون بین صفات مورفوفیزیولوژیک و نشانگرهای پروتئینی (پروتئین‌های کل محلول از برگ)..... ۹۹

فصل اول

مقدمه و مروری

بر تحقیقات گذشته

۱-۱- مقدمه

توتون یکی از نباتات صنعتی است که در آمد حاصل از فرآورده‌های مختلف این گیاه رقم قابل توجهی از درآمد ملی کشورهای تولید کننده‌ی آن را تشکیل می‌دهد (بصیری، ۱۳۷۶). توتون در مقایسه با سایر محصولات زراعی گیاه نسبتاً جدیدی می‌باشد که ارزش‌های اقتصادی و آسیب‌رسانی‌های بهداشتی آن موجب گشته تا این گیاه جاذبه و دافعه پیدا نماید (خدابنده، ۱۳۷۶). تنش‌های زنده و غیر زنده نظیر شوری، خشکی، آفات و غیره مشکلات اصلی سیستم‌های کشاورزی هستند. گستره‌ی وسیع تنش‌های زنده و غیر زنده، ذهن هر انسان مسئول را به مدیریت هر چه بهتر و صحیح‌تر این مشکلات وا می‌دارد. (مونز و همکاران، ۱۹۸۸). زمین‌های آبشویی شده که یک سوم غذای جهان را تولید می‌کنند، به طور پیوسته شوری‌شان افزایش می‌یابد و تخمین زده می‌شود که ۲۰ درصد از آنها تحت تأثیر شوره‌زایی واقع می‌شوند (مونز، ۲۰۰۵). در این بین، شوری به عنوان تنشی که اثرات سوء فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و در نهایت اقتصادی بر محصولات کشاورزی دارد، به عنوان یک مشکل اساسی در کشاورزی مطرح است (یاماگوچی و بلوم والد، ۲۰۰۵). این تنش یکی از مهم‌ترین و رایج‌ترین تنش‌های غیر زیستی بوده که تولید محصولات کشاورزی و بازده استفاده از اراضی مناطق خشک و نیمه خشک را کاهش می‌دهد (بایبوردی و همکاران ۲۰۱۰). به طوری‌که، پیش‌بینی شده است تا سال ۲۰۵۰ بیشتر از ۵۰ درصد از زمین‌های زراعی به طور جدی شور خواهند شد (مایرا و همکاران، ۲۰۰۵). در نتیجه، تأثیری منفی روی تولیدات زمین‌های زراعی سراسر دنیا چه از نظر زیستی و چه از نظر اقتصادی دارد (شوجی و یوکی، ۱۱۶۵). همچنین، این تنش وسعت اراضی قابل کشت را محدود می‌کند و تنش‌های اسمزی سلولی و مسمومیت یونی را شامل می‌شود که برآیند این تنش‌ها، تنش‌های ثانویه (کمبود مواد غذایی و تنش‌های اکسیداتیو) است (زو، ۲۰۰۱). تنش‌های غیرزیستی (خصوصاً خشکی و شوری) خود به تنهایی باعث کاهش ۵۰ درصدی رشد و عملکرد گیاهان زراعی می‌شوند (یوسف، ۲۰۰۹). محصولات کشاورزی به وسیله خاک‌های شور تحت تأثیر قرار گرفته‌اند و اثرات زیان آور تجمع شوری در خاک‌های زراعی تمدن‌های دیرینه و مدرن را تحت تأثیر قرار داده است (زانگ و بلوم والد، ۲۰۰۲). به طور کلی، شوری

سه تأثیر بالقوه، کاهش پتانسیل آب در اثر وجود نمک‌ها در محیط ریشه، اثر سمیت یون بویژه یون‌های سدیم و کلر و اختلال در جذب یون‌های ضروری در گیاه دارد. اختلال در جذب یون ممکن است مورد توجه قرار نگیرد. زیرا، تعدادی از این عناصر متحرک بصورت ذخیره در گیاه وجود دارد و تأثیر آنی مشاهده نمی‌شود (فلاورز و همکاران، ۲۰۰۵). گفته می‌شود که، نزدیک به ۵۰ در صد سطح اراضی تحت آبیاری کشور (۸/۵ میلیون هکتار) به درجات مختلف با مشکل شوری، قلیایی بودن و غرقابی بودن رو به رو می‌باشند. پیش‌بینی می‌شود، این میزان تا ۷۶ درصد کل اراضی فاریاب کشور پیشروی کند. بنابر آمار، بیش از ۷ در صد از اراضی کل زمین و ۵۰ –۲۵ در صد از نواحی قابل آبیاری آن با مشکل شوری روبرو می‌باشند (میر محمدی میبدی، ۱۳۸۱؛ شیلپی و توتجا، ۲۰۰۵). در عین حال، بیش از ۶/۱ میلیارد هکتار، معادل ۴۷/۲ درصد از سطح کره زمین را مناطق خشک و نیمه‌خشک تشکیل می‌دهد. بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی کل جهان در معرض شوری قرار دارد. این مقدار بیش از ۶ در صد کل خشکی-های دنیا را شامل می‌شود. از این میان زمین‌های تحت آبیاری، تنها ۱۵ درصد از کل زمین‌های قابل کشت را شامل می‌شوند. اما، چون قدرت تولید آن‌ها حداقل دو برابر زمین‌های دیم است، حدود یک سوم از غذای جهان را تولید می‌کنند. از ۲۳۰ میلیون هکتار از زمین‌های آبیاری، ۴۵ میلیون هکتار (۲۰٪) شور هستند (مونز و تستر، ۲۰۰۸). این مسئله به همراه افزایش روز افزون جمعیت باعث شده که محققان بخش کشاورزی در جهت پیشگیری یا مقابله با این تنش، اقدام به تحقیقات وسیعی در سراسر جهان نمایند. بنابراین، با توجه به افزایش توسعه‌ی اراضی شور و کمبود اراضی زراعی مطلوب برای کشاورزی، شناسایی گیاهان مقاوم به شوری اهمیت زیادی دارد (صفرنژاد و حمیدی، ۱۳۸۶). اولین قدم مهم برای کشاورزی در خاک‌های شور، انتخاب گونه‌های زراعی است که بتوانند رشد اقتصادی و سودبخشی داشته باشند (حال، ۲۰۰۱). انتخاب و اصلاح ارقام مقاوم به تنش شوری به صورت قابل ملاحظه‌ای مشکلات شوری را به حداقل می‌رسانند (داسگان و همکاران، ۲۰۰۲). اصلاح ارقام مقاوم به شوری یکی از مهم‌ترین روش‌های مؤثر در بهره برداری از خاک و آب شور به منظور افزایش عملکرد محسوب می-شود (میرمحمدی میبدی و قره‌یاضی، ۲۰۰۲). با وجود اهمیت تنش‌های غیر زیستی، تأثیرات تنش شوری در گیاهان سودمند زراعی کمتر مطالعه شده است. یک مورد گیاه توتون است که با وجود اینکه در برخی از مناطق جنوبی آمریکا اهمیت اقتصادی دارد، مطالعات کمتری در پاسخ به شوری به عمل آمده است. به هر حال، اخیراً شوری خاک اهمیت پیدا کرده است (سیفولیا و پوستیگلرون، ۲۰۰۲)

انتخاب و تنوع مبنای همه‌ی گزینش‌ها در اصلاح نباتات است. انتخاب بر مبنای ژنوتیپ نیازمند تنوع ژنتیکی است. با افزایش تنوع ژنتیکی در یک جامعه دامنه‌ی انتخاب وسیع‌تر می‌شود (عبدمیشانی و شاه نجات بوشهری، ۱۳۷۷). تنوع ژنتیکی اساس اصلاح نباتات است که از تکامل طبیعی ناشی شده و از اجزای مهم پایداری نظام‌های بیولوژیکی می‌باشد. ارزیابی تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی برای برنامه‌های اصلاح نباتات و حفاظت از ذخایر توارثی کاربرد حیاتی دارد. آگاهی از تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی، انتخاب نژادهای والدین در جهت حصول دورگ‌های مناسب و پیش‌بینی دو رگ‌ها به ویژه در محصولاتی که دورگ آن‌ها ارزش تجاری دارند، مهم است (محمدی و پراسانا، ۲۰۰۳). برآورد تنوع ژنتیکی در گیاهان زراعی، نقش بسیار مهمی در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و حفاظت از منابع ژنتیکی دارد که از طریق صفات مورفولوژیکی، بررسی شجره‌ها و نشانگرهای مولکولی میسر می‌شود. افزایش تولید و بهبود کیفیت محصولات زراعی و استفاده‌ی بهینه از ذخایر ژنی مستلزم جمع آوری، نگهداری، توصیف و ارزیابی مواد ژنتیکی است (پیرس و همکاران، ۲۰۰۰). تنوع ژنتیکی در گیاهان برای رسیدن به محصول بیشتر و پایداری عملکرد الزامی است. از سوی دیگر، در صورت وجود تنوع ژنتیکی می‌توان منابع ژنتیکی مفید برای برنامه‌های اصلاحی را شناسایی و حفظ کرد (جپت و همکاران، ۲۰۰۳). این فرض که تنوع ژنتیکی اهمیت اساسی برای سازگاری گونه‌ها به تغییرات محیطی آینده دارد، یک فرض منطقی است (باریت و همکاران، ۲۰۰۸؛ پرنتیس، ۲۰۰۸). لذا، برآورد دقیق سطح تنوع ژنتیکی در ژرم‌پلاسم‌های گیاهی و بین مواد اصلاحی، پایه و اساس بسیاری از برنامه‌های اصلاح نباتات در گیاهان زراعی می‌باشد (پور ساربانی و همکاران، ۱۳۸۴). وجود تنوع ژنتیکی در کارهای اصلاحی به عنوان یک برتری محسوب می‌شود (قنادها و همکاران، ۱۳۸۳).

جهت پیشبرد برنامه‌های اصلاحی و تعیین تنوع ژنتیکی گیاهان، از نشانگرهای مختلفی مانند نشانگرهای مورفولوژیک، بیوشیمیایی و DNA استفاده می‌شود (نقوی و همکاران، ۲۰۰۴). امروزه برای شناسایی تغییرات پروتئین‌ها در بافت‌های تحت تنش از روش الکتروفورز استفاده می‌شود (هو و ساچز، ۱۹۸۹). تکنولوژی‌های ژنومی جدید (ژنومیکس و پروتئومیکس) امید به پیشرفت در اصلاح نباتات را برای افزایش تحمل به تنش‌ها در گیاهان از طریق فهم ساختار بهتر فرآیندهای اساسی و شناسایی ژن‌های مسئول فراهم کرده است (متقی، ۱۳۹۰). لذا، الکتروفورز پروتئین‌ها روشی مطمئن

است که به وسیله‌ی آن می‌توان اختلافات ژنتیکی و روابط بین ارقام را بررسی کرد (علمی آخونی، ۱۳۷۰).

۱-۲- معرفی گیاه توتون

توتون یکی از گیاهان زراعی مهم صنعتی در ایران و جهان است (گاودین و همکاران، ۱۹۹۷). توتون با نام علمی *Nicotiana tabacum L*، گیاهی یکساله و علفی است که به تیره‌ی سولاناسه و جنس نیکوتیانا تعلق دارد. این گیاه یک آلوتتراپلویید می‌باشد که از طریق هیبریداسیون بین گونه‌های دیپلوییدِ *N. sylvestris* و *N. tomentosiformis* حاصل شده است. ماده‌ی مؤثر توتون آلکالوییدِ نیکوتین و پیریدین است. توتون گیاهی خودبارور است و درصد دگرباروری آن تا ۱۱/۳ درصد برآورد شده است. کشت توتون بین عرض‌های ۴۰ درجه شمالی و ۴۰ درجه جنوبی امکان پذیر است، ولی ارقام با طول روز بلند و حتی ارقام حساس به طول روز نیز وجود دارد. درکل، توتون گیاهی روز کوتاه است که به دمای بالا نیاز دارد (میرشکاری، ۱۳۸۰). ریشه‌ی توتون سطحی بوده و تکیه گاه ضعیفی برای اندام‌های هوایی می‌باشد. ساقه‌ی توتون فاقد انشعاب است و ارتفاع آن یک تا سه متر و حتی بیشتر هم به چشم می‌خورد. شکل برگ‌ها بیضی و نوک برگ‌ها پهن و یا نوک تیز است (زمانی، ۱۳۸۹). گل‌های کامل توتون گل‌آذین خوشه سنبل انتهایی دارند. جام گل در توتون ساده بوده و به پنج گلبرگ صورتی تا قرمز وصل می‌شود. گرده افشانی یک گل به تنهایی می‌تواند به تولید ۳۰۰۰ بذر ریز در کپسول دو لبی منجر شود (دانش، ۱۳۷۹).

۱-۳- تاریخچه‌ی گیاه توتون

زراعت توتون و استفاده از فرآورده‌های آن تا قبل از کشف قاره‌ی آمریکا برای مردم جهان، بخصوص کشاورزان بصورت امروزی ناشناخته بود. مبدأ توتون آمریکای جنوبی است. اولین کشت کنندگان توتون سرخ پوستان شمال و جنوب آمریکا بودند. استفاده از برگ‌های خشک توتون اولین بار در دو هزار سال قبل توسط اقوام مادیان در آمریکا آغاز شد. این گیاه توسط کاشفین آمریکا به اروپا برده شد و اولین کشور اروپایی که کشت توتون در آنجا صورت گرفت، کشور پرتغال بود. توتون از طریق