بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده‌ی علوم کشاورزی

گروه آموزشی زراعت و اصلاح نباتات

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته‌ی مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات

عنوان:

ارزیابی تنش کم‌آبی در ژنوتیپ‌های توتون با استفاده از صفات زراعی و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی

اساتید راهنما:

دکتر امید سفالیان و دکتر علی اصغری

اساتید مشاور:

دکتر علی رسول‌زاده و مهندس سید رضا علوی

پژوهشگر:

آرزو حاجی‌زاده

تابستان ۱۳۹۲

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 آرزو حاجی‌زاده دانش‌آموخته‌ی مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات دانشکده‌ی علوم کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی به شماره‌ی دانشجویی ۹۰۳۳۴۴۳۱۰۵ که در تاریخ ۹۲/۷/۲۸ از پایان‌نامه‌ی تحصیلی خود تحت عنوان ارزیابی تنش کم‌آبی در ژنوتیپ های توتون با استفاده از صفات زراعی و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی 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: آرزو حاجی‌زاده

امضا

تاریخ

تعهدنامه‌ی اصالت اثر و رعایت حقوق دانشگاه

دانشکده‌ی علوم کشاورزی

گروه آموزشی زراعت و اصلاح نباتات

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌ی کارشناسی ارشد

در رشته‌ی مهندسی کشاورزی گرایش اصلاح نباتات

عنوان:

ارزیابی تنش کم‌آبی در ژنوتیپ های توتون با استفاده از صفات زراعی و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی

پژوهشگر:

آرزو حاجی‌زاده

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

نام و نام خانوادگی	مرتبه‌ی علمی	سمت	امضاء
امید سفالیان	استادیار	استاد راهنما و رییس کمیته داوران	
علی اصغری	دانشیار	استاد راهنما	
علی رسول‌زاده	استادیار	مشاور	
سید رضا علوی	مربی پژوهشی	مشاور	

تابستان – ۱۳۹۲

تقدیم به دو وجود مقدّس:

آن دو که ناتوان شدند تا من به توانایی برسم...

موهایشان سپید شد تا من روسفید شوم...

و عاشقانه سوختند تا گرمابخش وجود من و روشنگر راهم باشند...

پدرم مادرم

سپاسگزاری:

ای سزاوار ثنای خویش! ای شکر کننده ی عطای خویش!

ای شیرین نماینده ی بلای خویش! رهی به ذات خود از ثنای تو عاجز،

و به عقل خود از شناخت منّت 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 میندوختم!

نیست را بفروختم تا هست را بیفروختم!

آموختم و دانستم، هست را نیست نمود، که من لذت ببرم، از قدرت و توانش، از زیبایی کرامتش.

شکر خدای را به جای می آورم، که در تمام مسیر انجام این پژوهش، بزرگانی چون استادان گرانقدرم جناب آقای دکتر سفالیان و دکتر اصغری راهنمای من قرار داد تا آنرا با موفقیت به پایان برسانم. منّت

نام خانوادگی دانشجو: حاجی‌زاده		نام: آرزو
عنوان پایان‌نامه: ارزیابی تنش کم‌آبی در ژنوتیپ های توتون با استفاده از صفات زراعی و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی		
اساتید راهنما: دکتر امید سفالیان و دکتر علی اصغری اساتید مشاور: دکتر علی رسول‌زاده و مهندس سید رضا علوی		
مقطع تحصیلی: **کارشناسی ارشد**		رشته: کشاورزی
گرایش: اصلاح نباتات		دانشگاه: **محقق اردبیلی**
دانشکده: علوم کشاورزی	تاریخ دفاع:۹۲/۷/۲۸	تعداد صفحات:۱۲۹

خدای بلند مرتبه ای که حضور مشاوران بزرگوار جناب آقای دکتر رسول زاده و جناب آقای مهندس علوی را مایه ی دلگرمی من قرار داد. ستایش خداوندی که، این افتخار را نصیب من نمود که جناب آقای دکتر زارع پایان نامه ام را داوری نمایند و قدردانی و تشکر ویژه از دکتر اسماعیل پور و جناب آقای مهندس آردن و آقازاده و از تمامی دوستانم که در تمامی مسیر امید بخش حرکت من بودند.

چکیده:

به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های توتون، ۱۸ ژنوتیپ در قالب طرح کرت‌های خرد شده بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی در گلخانه دانشکده کشاورزی کاشته شد. فاکتورهای اصلی سطوح تنش شامل شاهد (بدون تنش)، ۵۰ درصد تخلیه مجازآب قابل نگهداری و ۷۵ درصد تخلیه مجازآب قابل نگهداری بود و فاکتور فرعی ژنوتیپ بود . نتایج تجزیه واریانس تنوع قابل ملاحظه‌ای را بین ژنوتیپ‌ها نشان داد. تجزیه خوشه‌ای در هر سه سطح تنش آبی، ژنوتیپ‌ها را در گروه‌های مختلف قرار داد که ژنوتیپ Roseca Nela در هر سه شرایط در گروه‌هایی قرار گرفتند که میانگین صفات بیشتری نسبت به بقیه ژنوتیپ‌ها داشتند. براساس بررسی‌های مولکولی، ۲۴ آغازگر ISSR بررسی شدند که از این میان تعداد ۹ آغازگر ۵۰ نوار چند شکل واضح و تکرار پذیر را برای ژنوتیپ‌ها نشان دادند. چند شکلی برای کل نشانگرها برابر با ۳۷ درصد بود. تجزیه خوشه‌ای ماتریس داده‌های مولکولی با استفاده از ضریب تشابه ژاکارد، ژنوتیپ‌ها را به ۴ گروه متمایز منتسب کرد. نتایج حاصل از ماتریس داده‌های مورفولوژیکی و مولکولی نشان داد که همبستگی غیر معنی‌دار بین این دوسری داده‌ها وجود دارد. براساس نتایج حاصل از شاخص‌های تحمل به تنش‌آبی نشان داد که ژنوتیپ‌های RXT و NC 60 حساس به تنش آبی و ژنوتیپ هاRoseca Nela، p.B.D. 6 و TRumf متحمل به تنش آبی معرفی شدند. نتایج حاصل از رگرسیون گام به گام نشان داد که در سطح شاهد نشانگر PP3L5، در تنش ۵۰ درصد تخلیه مجازآب قابل نگهداری نشانگر PP3L2 و در سطح تنش ۷۵ درصد نشانگر PP1L9 بیشترین ارتباط را با صفات زراعی داشتند. نتایج این تحقیق می‌تواند در حفاظت و طبقه بندی و اصلاح ژنوتیپ‌های توتون موثر باشد.

کلید واژه‌ها: توتون، تنوع ژنتیکی، نشانگرهای مولکولی، ISSR

فهرست مطالب

شماره و عنوان مطالب **صفحه**

فصل اول: کلیات پژوهش

۱-۱-مقدمه ۲

۱-۲- تاریخچه ۳

۱-۳- سطح زیر کشت و تولید توتون در جهان و ایران ۴

۱-۴- گیاهشناسی توتون..... ۴
۱-۵- اکولوژی توتون..... ۵
۱-۶- خانواده توتون..... ۶
۱-۷- انواع توتون..... ۷
۱-۷-۱- توتون‌های تیپ غربی..... ۷
۱ -۷-۲-توتون تیپ شرقی..... ۷
۱-۷-۳- توتون تیپ نیمه شرقی..... ۸
۱-۸- فواید توتون..... ۸
۱-۹- اهمیت توجه به تنش..... ۸
۱-۱۰- مفهوم تنش..... ۹
۱-۱۱- انواع تنش..... ۹
۱-۱۲- انواع مکانیسم‌های مقاومت به خشکی..... ۱۰
۱-۱۲-۱- فرار از خشکی..... ۱۰
۱-۱۲-۲- اجتناب از خشکی..... ۱۱
۱-۱۲-۳- تحمل به خشکی..... ۱۱
۱-۱۲-۴- بازیافت پس از خشکی..... ۱۲
۱-۱۳- اثر تنش آبی بر صفات مورفولوژیک..... ۱۲
۱-۱۴- اثر تنش آبی بر جنبه‌های فیزیولوژیکی..... ۱۴
۱-۱۵- اثر تنش آبی بر پرولین ۱۴
۱-۱۵- ۱- کارکرد پرولین ۱۵
۱-۱۶- اثر تنش آبی بر محتوای نسبی آب..... ۱۶
۱-۱۷- اثر تنش آبی بر کلروفیل برگ ۱۷

۱-۱۸- اثر تنش آبی بر فلورسانس کلروفیل..... ۱۸
۱-۱۹- اثر تنش بر هدایت روزنه‌ای..... ۲۰
۱-۲۰- شاخص‌های تحمل به تنش آبی ۲۱
۱-۲۱- استفاده از تنوع ژنتیکی..... ۲۲
۱-۲۲- روش‌های برآورد تنوع ژنتیکی..... ۲۳
۱-۲۳- تاریخچه کاربرد نشانگرهای DNA..... ۲۳
۱-۲۴- نشانگرهای DNA..... ۲۳
۱-۲۵- نشانگر ISSR..... ۲۴
۱-۲۶- مروری بر تحقیقات انجام شده در زمینه نشانگرهای مولکولی مورد استفاده در توتون..... ۲۴
۱-۲۷- هدف و ضرورت تحقیق..... ۲۵

فصل دوم: مواد وروش‌ها

۲- ۱- مواد گیاهی و نوع طرح آزمایش ۲۷
۲-۲- شیوه اعمال تنش..... ۲۸
۲-۳- اندازه گیری صفات..... ۳۰
۲-۴- صفات مورفولوژیک ۳۱
۲- ۵- صفات فیزیولوژیک..... ۳۱
۲- ۵-۱- اندازه‌گیری میزان سبزینگی..... ۳۱
۲- ۵-۲- محتوای نسبی آب (RWC)..... ۳۱
۲- ۵-۳- فلورسانس کلروفیل..... ۳۲
۲- ۵-۴- هدایت روزنه‌ای..... ۳۳
۲-۶ - صفات مورد مطالعه تخریبی..... ۳۳
۲- ۶-۱- اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی..... ۳۳

۲- ۶-۲- سنجش مقدار پرولین در برگ..... ۳۴
۲-۷- برآورد شاخص‌های تحمل به تنش آبی..... ۳۵
۲- ۸- تجزیه و تحلیل داده های کمی..... ۳۶
۲- ۹- استخراج DNA ژنومی ۳۶
۲-۱۰- تعیین کمیت و کیفیت DNA..... ۳۶
۲-۱۱- تجزیه ISSR ۳۷
۲- ۱۲- تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی ۳۷

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- نتایج تجزیه واریانس صفات..... ۴۱
۳-۲- مقایسه میانگین صفات..... ۴۳
۳- ۳- همبستگی بین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های توتون..... ۶۰
۳-۳-۱- همبستگی بین صفات مورفوفیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های توتون در سطح شاهد..... ۶۱
۳-۳-۲- همبستگی بین صفات مورفوفیزیولوژیک در سطح تنش ۵۰ درصد تخلیه مجازآب قابل نگهداری..... ۶۳
۳-۳-۳- همبستگی بین صفات مورفوفیزیولوژیک در سطح تنش ۷۵ درصد تخلیه مجازآب قابل نگهداری..... ۶۴
۳-۴- شاخص‌های تحمل به تنش آبی ۷۳
۳-۵- تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ هامورد مطالعه براساس صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک..... ۷۷
۳-۶- تجزیه به عامل‌ها..... ۸۴
۳-۷- تجزیه داده های مولکولی حاصل از نشانگر ISSR..... ۹۰
۳-۷-۱- چندشکلی نشانگر ISSR..... ۸۶
۳-۷-۲-تجزیه خوشه‌ای داده‌های مولکولی..... ۹۳
۳-۷-۳- تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی (PCOA)..... ۹۸
۳-۸- آزمون مانتل..... ۱۰۰

۳-۹- تجزیه رگرسیون گام به گام ۱۰۲
۴-۱-نتایج کلی ۱۱۲
۵-۱-پیشنهادات ۱۱۴
۶-۱- فهرست منابع ۱۱۵

فهرست اشکال

شکل ۱-۱- شمای کلی از گیاهشناسی توتون..... ۶
شکل ۲-۱- اعمال تنش بر روی توتون..... ۳۰
شکل۳-۱- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ‌ها در سطوح تنش براساس ارتفاع بوته..... ۴۴
شکل ۳-۲- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ‌ها در سطوح تنش براساس تعداد برگ..... ۴۵
شکل ۳-۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ‌ها در سطوح تنش بر اساس وزن تر برگ..... ۴۷
شکل ۳-۴- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ‌ها در سطوح تنش برای صفت وزن خشک برگ ۴۷
شکل ۳-۵- مقایسه میانگین اثرمتقابل ژنوتیپ‌ها در سطوح تنش براساس صفت وزن تر ساقه..... ۴۸
شکل ۳-۶- مقایسه میانگین اثرمتقابل ژنوتیپ‌ها در سطوح تنش براساس صفت وزن خشک ساقه ۴۸
شکل ۳-۷- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ‌ها در سطوح تنش براساس وزن تر کل اندام هوایی..... ۵۰
شکل۳- ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ‌ها در سطوح تنش براساس وزن خشک اندام هوایی ۵۰

شکل ۳-۹- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپها در سطوح تنش براساس طول برگ.....۵۱
شکل ۳- ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپها در سطوح تنش براساس عرض برگ.....۴۹
شکل۳- ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپها در سطوح تنش برای صفت وزن تر ریشه ۵۲
شکل۳- ۱۲- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپها در سطوح تنش برای صفت هدایت روزنه‌ای ۵۳
شکل۳-۱۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپها در سطوح تنش برای صفت فلورسانس حداکثر ۵۴
شکل ۳-۱۴- گروه بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپهای توتون در سطح شاهد با استفاده از روش وارد ۷۸
شکل۳-۱۵- گروه بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپهای توتون در سطح ۵۰ درصد با استفاده از روش وارد.....۷۹
شکل ۳-۱۶- گروه بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپهای توتون در سطح ۷۵ درصد با استفاده از روش وارد ۷۹
شکل ۱۷-۳ – نمودار انحراف از میانگین صفات مورد مطالعه در چهار خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای در سطح شاهد.....۸۲
شکل ۳-۱۸- نمودار انحراف از میانگین صفات مورد مطالعه در سه خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای در سطح تنش ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۸۲
شکل ۳-۱۹- – نمودار انحراف از میانگین صفات مورد مطالعه در سه خوشه حاصل از تجزیه خوشه‌ای در سطح تنش ۷۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۸۳
شکل ۳-۲۰- – نمودار دو بعدی پراکنش ژنوتیپها براساس دو عامل اول برای صفات اندازه گیری شده در سطح شاهد برای ژنوتیپهای توتون ۸۹

شکل ۳-۲۱- نمودار دو بعدی پراکنش ژنوتیپ‌ها براساس دو عامل اول برای صفات اندازه گیری شده در سطح تنش ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۸۹
شکل ۳-۲۲-. نمودار دو بعدی پراکنش ژنوتیپ‌ها براساس دو عامل اول برای صفات اندازه گیری شد در سطح تنش ۷۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری برای ژنوتیپ‌های توتون ۹۰
شکل۳- ۲۳- الگوی نوار بندی حاصل از نشانگر شماره ۲ ISSR ۹۲
شکل ۳- ۲۴- گروه بندی حاصل از داده‌های مولکولی براساس روش UPGMA و ماتریس تشابه تطابق ساده برای ۱۸ ژنوتیپ توتون ۹۶
شکل۳-۲۵- نمایش سه بعدی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در توتون براساس سه مولفه هماهنگ اول ۱۰۰
شکل۳-۲۶- آزمون مانتل برای مقایسه ماتریس صفات مورفولوژیکی و مولکولی در سطح شاهد ۱۰۱
شکل۳-۲۷ - آزمون مانتل برای مقایسه ماتریس صفات مورفولوژیکی و مولکولی در سطح تنش ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۱۰۲
شکل۳-۲۸- آزمون مانتل برای مقایسه ماتریس صفات مورفولوژیکی و مولکولی در سطح تنش ۷۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۱۰۲

جدول‌ها

جدول۲-۱- نام ژنوتیپ‌های زراعی توتون مورد استفاده در ارزیابی تنش آبی..... ۲۷
جدول ۲-۲- توالی آغازگرهای ISSR مورد استفاده..... ۳۷
جدول ۲-۳- اجزای واکنش PCR برای آغازگرهای ISSR..... ۳۸
جدول ۳-۱- تجزیه واریانس صفات مورفولوژیک در ژنوتیپ‌های توتون در شرایط تنش آبی..... ۴۲
جدول ۳-۲- مقایسه میانگین سطوح تنش برای صفات مورفوفیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های توتون..... ۵۹

جدول ۳-۳- مقایسه میانگین صفات مورفوفیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های توتون ۵۶
جدول۳-۴- همبستگی بین صفات مورفوفیزیولوژیک در سطح شاهد در ژنوتیپ‌های توتون.....۶۷
جدول ۳-۵- همبستگی بین صفات مورفوفیزیولوژیک در سطح تنش ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۶۹
جدول ۳-۶- همبستگی بین صفات مورفوفیزیولوژیکی در سطح تنش ۷۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری.....۷۱
جدول ۳- ۷- تجزیه واریانس شاخص‌های تحمل به آبی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه ۷۴
جدول ۳- ۸- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های مقاومت یه تنش آبی و عملکرد در سطح ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۷۵
جدول ۳- ۹- ضرایب همبستگی بین شاخص‌های مقاومت یه تنش آبی و عملکرد در سطح ۷۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۷۵
جدول ۳- ۱۰- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها براساس شاخص‌های تحمل در سطح ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۷۶
جدول ۳- ۱۱- مقایسه میانگین ژنوتیپ‌هایبراساس شاخص‌های تحمل در سطح ۷۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ... ۷۷
جدول ۳-۱۲ - ماتریس ضرایب عامل‌ها بعد از چرخش واریماکس برای صفات در ژنوتیپ‌های توتون در سطح شاهد ۸۷
جدول ۳-۱۳- ماتریس ضرایب عامل‌ها برای بعد از چرخش واریماکس برای سطوح تنش در ژنوتیپ‌های توتون ۸۸
جدول۳- ۱۴- آغازگرهای مورد استفاده دمای اتصال، تعداد نوار چند شکل، درصد چند شکلی ۹۲
جدول ۳-۱۵- ماتریس شباهت ژنتیکی ژاکارد مربوط به ژنوتیپ‌های مورد مطالعه براساس نشانگر مولکولی. ISSR.....
۷۹
جدول ۳-۱۶-. مقادیر ویژه درصد واریانس و واریانس تجمعی برای ۱۰ مولفه هماهنگ اول ۹۹

جدول ۳- ۱۷- ضرایب رگرسیون بین صفات اندازه گیری شده و نشانگر ISSR در سطح شاهد ۱۰۶
جدول ۳-۱۸- ضرایب رگرسیون بین صفات اندازه گیری شده و نشانگر ISSR در سطح تنش ۵۰ درصد تخلیه آب قابل نگهداری..... ۱۰۸
جدول ۳- ۱۹- ضرایب رگرسیون بین صفات اندازه گیری شده و نشانگر ISSR در سطح تنش ۷۵ درصد تخلیه آب قابل نگهداری ۱۱۰

فصل اول:

کلیات پژوهش

۱-۱- مقدمه

توتون (*Nicotiana tabacum*) از جمله گیاهان صنعتی است که در اقتصاد بسیاری از کشورها اهمیت دارد. علاوه بر برگ به عنوان بخش اقتصادی مهم آن، بذر توتون حاوی ۳۸ درصد روغن غیر خوراکی می‌باشد که می‌تواند به عنوان یک جایگزین مناسب برای سوخت‌های دیزلی مورد استفاده قرار گیرد. ایران به علت شرایط اقلیمی خاص و مناسب از دیرباز به عنوان یکی از مناطق مستعد جهت کشت انواع توتون محسوب شده است (زمانی، ۱۳۸۹). با وجود این که در تقسیم‌بندی مقاومت گیاهان به خشکی، توتون گیاه نسبتاً مقاوم به خشکی شناخته شده است، اما تحقیقات نشان می‌دهد که تخلیه مجاز آب قابل نگهداری آن در طول دوره رشد سریع و دوره رشد برگ‌ها بالا است (میشل و آنتونی، ۲۰۰۷). نظر به اهمیت اقتصادی محصول توتون و با در نظر گرفتن اینکه یکی از مشکلات زراعت توتون در کشور، تنش آبی می‌باشد، شناخت اثرات تنش مذکور بر خصوصیات مورفوفیزلوژیکی از ساز و کارهای مقاومت و بقای گیاه به منظور افزایش تحمل در برابر تنش ضرورت دارد. درک کامل و دقیق واکنش‌های فیزیولوژیک (متابولیت‌های سازگاری از قبیل پرولین) و عکس العمل گیاهان در مقابل تنش محیطی برای اعمال روش‌های جدید جهت کاهش اثرات تنش، لازم و از کارهای اساسی است (رابرت و واکر، ۱۳۷۳).

با توجه به نیاز روز افزون به محصولات کشاورزی و لزوم تولید ژنوتیپ هااصلاح شده گیاهان، لازم است تا ذخایر ژنتیکی گیاهی مورد بررسی قرار گیرند. تنوع ژنتیکی قابل دسترس در برنامه‌های اصلاحی هر محصول حایز اهمیت است. با توجه به اینکه تنوع مبنای انتخاب است و با افزایش دامنه تنوع ژنتیکی در یک جامعه، توانایی و بازدهی ناشی از انتخاب افزایش می‌یابد. روش‌های مختلفی جهت ارزیابی تنوع ژنتیکی درون جوامع گیاهی وجود دارد. ارزیابی صفات مورفولوژیک گیاه همواره در برنامه های اصلاحی جهت برآورد تنوع و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها مورد استفاده بوده است، ولی با توجه به اینکه اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک برای تعداد زیادی نمونه، نیاز به صرف وقت و هزینه زیادی دارد و هم-چنین ارزیابی مورفولوژیک به دلیل اثر متقابل محیط بر ژن‌ها، ممکن است روش قابل اعتمادی برای تعیین تفاوت‌های ژنتیکی نباشد، امروزه برای بررسی تنوع ژنتیکی از نشانگرهای مولکولی به طورگسترده استفاده می‌شود. گروهی از این نشانگرها مانند SSR، AFLP، RAPD، ISSR که مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) هستند، بیشتر کارایی دارند. نشانگرهای ISSR از جمله نشانگرهای مبتنی بر PCR هستند که مزایای هر سه نشانگر فوق را دارا بود و فاقد معایبی از قبیل تکرارپذیری کم و هزینه بالا می‌باشند.

۱-۲- تاریخچه

توتون گیاهی است متعلق به دنیای جدید که در سال ۱٤۹۲ میلادی پس از کشف قاره آمریکا توسط کریستف کلمب و پیاده شدن وی در جزیره باهاما در قاره آمریکا شناخته شد و پس از آن به سایر کشورها راه یافت. تصور مردم آن بود که برگ‌هایی که دود می‌کنند، برای مداوای بعضی از بیماری‌ها سودمند می‌باشد. توتون نخستین بار در سال ۱٥٤۸ میلادی توسط پرتغالی‌ها در کشور برزیل کشت گردید. و در سال ۱٥٥٦ میلادی توسط سفیر فرانسه در پرتغال به نام ژان نیکوت به فرانسه برده شد و به

افتخار او جنس توتون، *Nicotiana* و آلکالوئید آن نیکوتین نامیده شد. توتون در اواسط قرن ١٦ میلادی به ژاپن وارد شد و کشت آن از سال ١٥٩٦ میلادی معمول گردید (زمانی، ١٣٨٩).

١-٣- سطح زیر کشت و تولید توتون در جهان و ایران

توتون یکی از محصولات با ارزش کشاورزی و صنعتی است که در شرایط مختلف آب و هوایی در بیش از صد کشور دنیا کشت می‌شود و در اقتصاد بعضی از آنها اهمیت بسزایی دارد. حدود ٨٠ درصد توتون دنیا در کشورهای چین، هند، برزیل، ایالات متحده امریکا، ترکیه تولید می‌گردد. کشور چین با ٣٥ درصد از کل تولید جهان، بزرگترین تولید کننده توتون می‌باشد (انونیموس، ٢٠٠٥). سطح زیر کشت توتون در دنیا ٤/٧٧ میلیون هکتار، تولید سالانه ٧/١ میلیون تن، عملکرد آن در کشورهای در حال توسعه حدود ١/٦ تن در هکتار و در کشورهای توسعه یافته حدود ٢/٢ تن در هکتار است (نجارجان و پرا سدرا، ٢٠٠٤).

سطح زیر کشت توتون و تنباکو در کشور در سال زراعی ١٣٨٩ حدود ١٠ هزار هکتار برآورد شده که ٩٢/٧ درصد آن آبی و بقیه دیم بوده است. استان گلستان با ٢٣/٢ درصد از اراضی توتون و تنباکو در کشور مقام اول را داشته و استان‌های بوشهر، هرمزگان، مازندران و گیلان به ترتیب در رتبه‌های دوم تا پنجم هستند. متوسط عملکرد توتون و تنباکو در اراضی آبی کشور ١١٥١ کیلوگرم در هکتار و در اراضی دیم ١٠٢٩ کیلوگرم در هکتار می‌باشد (زمانی، ١٣٨٩).

١-٤- گیاهشناسی توتون

توتون (*Nicotiana. tabaccum*) با نام انگلیسی Virginian tobacco یا Tobacco و با نام عربی دخان، گیاهی صنعتی با ٣٨ =٤x= ٢n کروموزوم و تتراپلوئید می‌باشد. توتون گیاهی با بوته استوار، علفی، یکساله و روز بلند می‌باشد. ریشه اصلی آن مستقیم بوده و انشعاب‌های کم و بیش فراوانی دارد.

طول ریشه وابسته به نوع اقلیم بوده و بین ۵۰ تا ٦۰ سانتی‌متر می‌باشد و در مناطق خشک به ۲۰۰ سانتی-متر هم می‌رسد (لاتین ونیلسن، ۱۹۹۹). مهم‌ترین قسمت گیاه توتون از نظر اقتصادی برگ می‌باشد که بسته به تیپ زراعی توتون از نظر تعداد، اندازه، شکل، رنگ، نحوه قرار گرفتن روی ساقه، وضعیت رگبرگ‌ها و سایر مشخصات با هم تفاوت دارند. برگ‌های توتون نسبتا بزرگ و دمبرگ‌دار یا فاقد دمبرگ و به اشکال قلبی شکل، تخم مرغی شکل، نیزه‌ای شکل، خمیده و یا صاف دیده می‌شوند. ساقه آغوش، بیضوی و به رنگ سبز دارد. گل‌های آن نر – ماده و صورتی رنگ بوده و دارای پنج پرچم می‌باشد. میوه آن پوشینه، بیضوی و محتوی دانه‌های (بذر) بسیار است. بذر توتون بسیار کوچک و کم و بیش بیضی شکل و رنگ آن قرمز تیره‌ای است. چنانچه بذرهای توتون در شرایط مناسبی نگهداری شوند تا چند سال قوه رویشی خود را حفظ خواهند کرد.

۱-۵- اکولوژی توتون

دمای مطلوب برای جوانه‌زنی بذر توتون ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد و برای خاک ۱۵ درجه سانتی‌گراد است. دمای مناسب در مرحله رشد و نمو برگ‌ها حدود ۲۰ درجه سانتی‌گراد است و در این مرحله تغییرات درجه حرارت نباید از ۱۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر باشد. گیاه توتون به سرما حساس است ولی نشاهای قوی آن برای مدت کوتاهی قادر به تحمل دمای ۱- نیز می‌باشند. نور سبب افزایش مقدار آلکالوئیدهای برگ توتون می‌شود. در طول رویش گیاه توتون، ۳٦۰ الی ٤۵۰ میلی‌متر آبیاری نیاز می-باشد. آب فراوان گرچه سبب افزایش عملکرد برگ می‌شود، ولی با کاهش نیکوتین و پروتئین برگ‌ها همراه است. در مناطقی که مقدار بارندگی سالانه زیاد است گیاه را باید در زمین‌های شیب‌دار کشت نمود (زمانی، ۱۳۸۹). کاشت و تکثیر توتون توسط بذر انجام می‌گیرد. در این روش در اواسط بهار هنگامی که بوته‌ها پنج تا هفت برگی هستند نشاها را می‌توان به زمین اصلی انتقال داد. نشاها در ردیف-