

## تأثير المعاملة بأشعة غاما على بعض المحتويات الكيميائية لصنفي التبغ (البلدي (شك البنت) والفيرجينيا)

صالح قبيلي \*

مجد درويش \*\*

نزار علي معلا \*\*\*

منار محمد الرياحي \*\*\*\*

(تاريخ الإيداع ٢٠٢٣/٨/٢٤ . قَبْلُ للنشر في ٢٠٢٣/١٠/١٢)

### □ ملخص □

نُفذ البحث في مخابر كلية الهندسة الزراعية - جامعة تشرين و في مركز بحوث التبغ (جبله) و مخابر هيئة الطاقة الذرية في دمشق، عرّضت بذور صنفين من التبوغ هما (البلدي (شك البنت) و الفيرجينيا ) لأربع مستويات من أشعة غاما (100-200-300- 400 gy) ، لدراسة تأثير المعاملة بأشعة غاما على محتوى الأوراق من النيكوتين و السكر و البروتين والكلور .

بيّنت النتائج الأثر الإيجابي للمعاملة بالجرعة (100 gy) من أشعة غاما على جميع الصفات المدروسة، فقد زادت نسبة النيكوتين من ( ٢.٤٨%) و(٠.٩%) في معاملة الشاهد لكل من الصنفين البلدي والفيرجينيا إلى (٣.٠٥%) و(١.٢%) على التوالي، كما أدت نفس المعاملة إلى زيادة نسبة السكر إلى (٣.٥٧%) و(١٥.٧١%) لدى الصنفين مقارنة ب ( ٢.٦٦) و(١١.٤١%) في معاملة الشاهد، وكذلك زادت نسبة البروتين في كلا الصنفين المدروسين من ( ١١.٧٥) و ( ٥.٩٦%) في معاملة الشاهد إلى (١٧.٩٧) و(٩.٨٢%) في المعاملة (B=100 gy) التي أعطت أيضاً أعلى نسبة من الكلور (١.٤١%) للبلدي و (١.١٥%) للفيرجينيا مقارنة مع الشاهد وكانت باقي المعاملات التي سجلت في البلدي (١.٦٥%) و(١.٧١%) و(١.٨%) خاصة بالمعاملات (100,200,300 gy) و في الفيرجينيا (١.٣٧%) و(١.٣٩%) و(١.٧١%) خاصة بالمعاملات (100,200,300 gy) على التوالي.

وكذلك أدت زيادة جرعات المعاملة بأشعة غاما حتى (400 gy) إلى انخفاض محتوى الأوراق الجافة من السكر والنيكوتين، وزيادة محتوى البروتين و الكلور .

**الكلمات المفتاحية:** تبغ - أشعة غاما - نيكوتين - سكر - بروتين - كلور .

\* أستاذ في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الهندسة الزراعية - جامعة تشرين .

\*\* أستاذ مساعد في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الهندسة الزراعية - جامعة تشرين.

\*\*\* مدرس في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الهندسة الزراعية - جامعة تشرين.

\*\*\*\* طالبة دراسات عليا (دكتوراه) في قسم المحاصيل الحقلية بكلية الهندسة الزراعية - جامعة تشرين.

## Effect of gamma radiation treatment on some chemical contents of two tobacco varieties (Baladi (Shak Al-Bint) and Virginia)

Saleh koubili\*

Majd Darwish\*\*

Nizar moualla\*\*\*

Manar Alreyahi\*\*\*\*

(Received 24/8/2023 . Accepted 12/10/2023)

### □ ABSTRACT □

The research was carried out in the laboratories of the Faculty of Agricultural Engineering - Tishreen University, the Tobacco Research Center (Jableh) and the laboratories of the Atomic Energy Authority in Damascus. Seeds of two tobacco varieties (Baladi (Shak Al-Bent) and Virginia) were exposed to four levels of gamma radiation (100-200-300-400 gy), To study the effect of gamma radiation treatment on leaves content of nicotine, sugar, protein and chlorine.

The results showed the positive effect of treatment with dose (100 gy) of gamma radiation on all studied traits, The nicotine percentage increased from (2.48%) and (0.9%) in the control treatment for both the Baladi and Virginia brands to (3.05%) and (1.2%), respectively, The same treatment also increased the percentage of sugar to (3.57%) and (15.71%) in the two cultivars, compared to (2.66) and (11.41%) in the control treatment, The percentage of protein increased in both studied cultivars from (11.75) and (5.96%) in the control treatment to (17.97) and (9.82%) in the treatment (B = 100 gy), which also gave the highest percentage of chlorine (1.41%) for Baladi and ( 1.15%) for Virginia compared to the control and The control and the rest of the treatment that were recorded in the municipality (1.65%), (1.71%) and (1.8%) for the treatments (100, 200, 300 GY) and in Virginia (1.37%) and (1.39%) and (1.71%) for the treatment (100 , 200, and 300 GY) respectivel.

**Key words:** Nicotiana tabacum – Gamma rays – nicotine- sugar- protein- chlorine.

---

\* PhD in department of field crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University.

\*\* PhD in department of field crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University .

\*\*\* PhD in department of field crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University .

\*\*\* PhD student in department of field crops, Faculty of Agriculture, Tishreen University .

## ١- المقدمة:

يعدّ التبغ *Nicotiana tabacum L.* أحد أهم المحاصيل غير الغذائية المزروعة في العالم ، وتتم زراعة أصناف عديدة لها خصائص شكلية و كيميائية مميزة . (Piano *et al*, 2006) تزرع في سوريا العديد من أصناف التبغ ، كصنف شك البنت (البلدي) من تبوغ القوة و برليب و بصما من الأصناف العطرية ، وزغرين (أبحاث ٧) و غرناطة (أبحاث ٥) من الأصناف المحايدة (نصف العطرية)، والبرلي والفيرجينيا من التبوغ الأمريكية ، إضافة إلى التبتاك المحلي . (التبغ السوري ، ١٩٨١). يحتوي التبغ على عدد كبير من المكونات النشطة بيولوجياً مثل القلويدات و البوليفينول. (Banozic *et al*, 1995) و التي تتميز بوظائفها المضادة للأكسدة و الإلتهابات و الفطريات. (Shen *et al*, 2006) حيث أصبح في السنوات الأخيرة استخراج المركبات النشطة بيولوجياً من مصادر نباتية و بحرية متنوعة اتجاهاً شائعاً. (Suleria *et al*, 2016)

## ٢- الدراسة المرجعية:

تعود المحاولات الأولى لتحفيز نمو النبات عن طريق تعريض البذور للإشعاع المؤين بجرعات منخفضة إلى الستينات من القرن الماضي. (Sax, 1963) تتعرض النباتات في النظم البيئية الطبيعية أو الصناعية لأنواع مختلفة من الإشعاع المؤين ، سواء من مصادر طبيعية أو بسبب الإطلاق العرضي ، ومن المهم تقييم حساسية النباتات لمثل هذا الإشعاع و يعتبر إشعاع غاما الأكثر نشاطاً و بالتالي الأكثر ضرراً. (Wi *et al*, 2007) أشعة غاما هي اشعاعات كهرومغناطيسية قصيرة الموجة ذات عمق اختراق مرتفع ، لها تأثيرات هامة على نمو وتطور النبات من خلال التغيرات المورفولوجية و الفيزيولوجية و الكيميائية الحيوية والوراثية و الخلوية في الخلايا والأنسجة اعتماداً على نوع الإشعاع. (Irfaq and Nawab, 2003) تؤثر الجرعات العالية من أشعة غاما سلباً على الخصائص البيوكيميائية و الفيزيولوجية للنباتات. (Katiyar, *et al*, 2022) و للإشعاع المؤين ومنه أشعة غاما آثار سلبية على صفات النمو و الإنتاجية للنبات من خلال إنتاج الجذور الحرة. (Preuss *et al*, 2003) ولا تزال الطريقة التي يؤثر بها الإشعاع على نمو و تطور النبات غير محددة بدقة ، ولا تزال البيانات المتاحة مثيرة للجدل ، وعادة ما يكون حجم التأثيرات الهرمونية للإشعاع صغيراً و يمثل حوال ١٠% من إجمالي التأثير. (Miller and Miller, 1987) يؤدي تعرض النظام البيولوجي للإشعاع المؤين إلى تنشيط عدد من التفاعلات الفيزيائية و الكيميائية بين الإمتصاص الأولي للطاقة و الإصابة البيولوجية النهائية ، أحد أهم الأهداف هو جزيء الماء. (Esnault *et al*, 2010)

يمكن للجذور الحرة الناتجة عن المعاملة بأشعة غاما أن تؤثر على الحمض النووي والكربوهيدرات و الدهون الغشائية (Suzuki *et al*, 2012) كما تعمل على تعديل مكونات الخلية و قد يظهر هذا التأثير على وظائف الأعضاء و التشريح حسب الجرعات الإشعاعية ، وتتضمن هذه التأثيرات تغيرات في بنية الخلايا النباتية و التمثيل الغذائي والوضوي و مضادات الأكسدة و المركبات الفينولية. (wi *et al*, 2007) (Kim *et al*, 2004) يعتمد التركيب الكيميائي لأوراق التبغ إلى حد كبير على التفاعل البيئي الوراثي. (Andersen *et al*, 1973)

تحتوي جميع أنسجة نبات التبغ على نحو (٥٧٠٠) مكون كيميائي مختلف بما في ذلك الكربوهيدرات و المركبات النتروجينية و القلويدات والأصباغ و الإيزوبرينودات و الأحماض الكربوكسيلية و الفينولات و الستيرويدات و المركبات غير العضوية.(Rodgman,2013)

تتأثر محتويات القلويدات والسكريات بالتركيب الوراثي النباتي والظروف البيئية والتفاعل فيما بينها والممارسات الزراعية وعمليات نضج الأوراق أثناء عمليات النمو والمعالجة والتجفيف ، تخضع نباتات التبغ لسلسلة من العمليات الفسيولوجية والاستقلابية التي تسبب تغيرات في التركيب الكيميائي للأوراق ، مثل محتوى القلويد والسكر. ( Bolton *et al*,2013)

هناك أربع قلويدات رئيسية تتراكم في جنس *Nicotiana* هي : النيكوتين ، النورنيكوتين ، الأنابازين ، الأنابيين. والتي تشكل الغالبية العظمى من إجمالي قلويدات التبغ. (Kaminski *et al*,2020) و بالنسبة للعديد من الأنواع يعتبر النيكوتين القلويد الرئيسي و يشكل (٩٠%) من إجمالي القلويدات ، وحوالي (٤%) من إجمالي الوزن الجاف ، ويشكل النور نيكوتين و الأنابازين و الأنابيين النسبة الباقية.(Dewey and Xi,2013) يعد النيكوتين أكثر القلويدات وفرة في التبغ المزروع (*Nicotiana tabacum L.*) ، وهو مثبط قوي للحشرات و الحيوانات العاشبة ومحفز عصبي لوظيفة الدماغ. يتم التحكم في التخليق الحيوي للنيكوتين من الناحية التطورية ، ويمكن تحفيزه عن طريق الضغوط الحيوية واللا حيوية، و أدى التعديل الوراثي للتبغ إلى زيادة إنتاج النيكوتين حتى تسعة أضعاف ، كما أدت المعالجة بحمض ميثيل جاسمونيك إلى زيادة إنتاج النيكوتين في النباتات. (Liu *et al*, 2019)، ويتم تصنيع النيكوتين حصرياً في جذور التبغ ، ثم ينتقل إلى الأجزاء الهوائية من النبات. (Shitan *et al*, 2014).

تنتج نباتات التبغ المزروعة في الظروف المثالية و خلال دورة النمو الطبيعي وعدم وجود إجهاد حيوي أو غير حيوي كبير مستويات قليلة فقط من النيكوتين بسبب التكلفة العالية لعملية التمثيل الغذائي ، ويرتفع مستوى الإنتاج بسرعة كاستجابة للحشرات أو الحيوانات العاشبة أو الجرح الناجم عن قطع النورة الزهرية بشكل طبيعي أو بواسطة بشرية. (Baldwin,1998)

إن استجابة قطع الرأس أو الجرح تؤدي إلى التخليق الحيوي المستحث كجزء من إشارة تلف من النبات إلى الجذر لتعزيز التخليق الحيوي للنيكوتين و النتيجة هي تخليق حيوي سريع للنيكوتين.(Baldwin *et al*,1994)، وقد تطورت عملية التخليق الحيوي للقلويدات في أنواع التبغ كجزء من آلية دفاعها الحيوي. (Mishra and Mishra, 2013)

تتراوح مستويات القلويدات التي بين ٠.١٧-٤.٩٣% في ١٥٢ صنف مزروع ، وكل خطوة في عملية إنتاج التبغ ستؤثر على محتوى القلويد بدرجة محددة ومختلفة.(Djordjevic and Doran,2009) لذلك من المتوقع أن الشتول المختلفة من نفس النوع تختلف في نسبة القلويدات حتى عندما تنمو في بيئة واحدة ، كما تتأثر هذه النسبة بالمعاملات التي تتعرض لها الأوراق قبل القطاف وبعده. (Saitoh *et al*,1995)

أدت المعاملة بالأشعة المؤينة إلى زيادة إنتاج النيكوتين في التبغ.(Kartusch and Mittendorfer,1990)، ويتم تغيير القلويدات الموجودة في البذور عن طريق التشعيع ، من خلال التغييرات على المستوى الجزيئي التي تسببها طاقة الإشعاع المطبقة على البذور. تتفاعل جينات النبات بشكل مختلف مع الإشعاع لأن بعض الجينات ستكون أكثر تعبيراً عن غيرها. علاوة على ذلك ، تم إثبات أن الجينات يتم تنظيمها بشكل أعلى ومنخفضة التنظيم عن طريق تشعيع

جاما ،قد يكون هذا بسبب الاختلافات في إصلاح تلف تسلسل الحمض النووي أو وجود جينات زائدة عن الحاجة أو تغييرات في بنية الجينات وخصائصها الوظيفية.(Benslimani *et al*,2019)

أدت معاملة التبغ بأشعة غاما بجرعات (-٣٠٠-٦٠٠-٩٠٠-١٢٠٠ gy ) إلى زيادة في محتوى النيكوتين والنيتروجين الكلي و انخفاض محتوى السكر وتحسين النكهات والبخور والمذاق و جودة التدخين . JiLiang *et al*,2010 )

تعدّ السكريات من أهم المركبات الموجودة في التبغ و معرفة مستويات السكر أمراً مهماً للعديد من قطاعات صناعة التبغ ،لأنها تلعب دوراً مهماً في الخصائص الحسية لدخان التبغ. ( Li *et al*,2018 ) ترتبط الاختلافات في تركيز السكريات في أوراق التبغ بالنكهات المختلفة في الدخان ، وبالتالي بمستويات الجودة المختلفة. ( Maimaitiyiming *et al*,2016) علاوة على ذلك ، يمكن أن يكشف قياس السكريات أيضاً الكثير عن جوانب نشاط النبات مثل (نقص التغذية ومحتوى البورون المنخفض) . ( Jacquemoud *et al*,1990) لهذا السبب ، تراقب صناعة التبغ باستمرار كل من القلويات والسكريات أثناء اختيار النمط الجيني ومعالجته. ( Fletcher and Reddy, 2016 )

السكريات الأكثر وفرة في أوراق التبغ المجفف هي الجلوكوز والفركتوز والسكروروز . ( Clarke *et al*,2006 ) هناك اختلافات ملحوظة في محتوى السكر بين أصناف التبغ ، يحتوي الفيرجينيا على نسبة عالية من السكر (٨-٣٠%) بينما بيرلي يتميز بمحتوى منخفض من السكريات (١-١.٥%) ( Geiss and Kotzias,2007 ) و من جانب آخر تحتوي التبوغ الشرقية على نسبة (١٠-٢٠%) من السكريات. ( Adam *et al*,2004 ) و أفاد باحثون سابقون أن الكمية الإجمالية للسكريات في أوراق التبغ تصل إلى 22% ، منها ٣٠% سكريات مختزلة . ( Binns *et al*, 1982 ) على عكس الكربوهيدرات الأخرى (النشا ، السليلوز ، البكتين )، فإن وجود السكر المختزل له تأثير إيجابي على خصائص تدخين التبغ ، وتحسين النكهة والرائحة.( Pang *et al*,2007 ) عادةً ما يكون التبغ عالي السكر هو الخيار الأول لمنتجات التبغ لأن تفضيل منتجات التبغ يتناسب مع مستوى السكر. ( Talhout *et al*,2006 )

يمكن أن يرجع الانخفاض في محتويات السكر للنباتات تحت مرحلة النضج إلى عاملين ، شيخوخة الأوراق التي يسببها إشعاع جاما والعامل الآخر هو تقليل التمثيل الضوئي ،فضلاً عن تدهور أصباغ التمثيل الضوئي التي يعززها الإجهاد التأكسدي أثناء التشجيع(Jan,2011)

تلعب البروتينات دوراً في نقل الإشارة ، الدفاع المضاد للأكسدة ، مضاد التجمد ، الصدمة الحرارية ، الربط المعدني ، ومضادات الأمراض أو تخليق الأسمولية الضرورية لوظيفة النبات ونموه.(Gygi *et al*,1999) و نظراً لتغير التعبير الجيني تحت تأثير المعاملة بأشعة غاما ، تكون التغيرات النوعية والكمية في إجمالي محتويات البروتين واضحة ( Corthals *et al*,2000 ) ولقد ثبت أن تشجيع جاما يؤثر بشكل كبير على استقلاب الخلية وتخليق البروتين في الخلايا النباتية. ( Casarett,1968 ) حيث يمكن للجذور الحرة الناتجة عن الإجهاد التأكسدي تعديل الخصائص الجزيئية للبروتينات الدائبة الكلية مسببة تعديلات مؤكسدة لها. (Wilkinson and Gould,1996) تعتمد هذه التغييرات على الطبيعة الكيميائية للبروتين وحالته الفيزيائية و ظروف التشجيع (Woods and Pickaev,1994) كما تعتبر زيادة مستويات البروتين في النباتات إحدى آليات وقاية النبات من أضرار أشعة جاما ( Al-Rumaih ,. 2008 )

عند معاملة التبغ بأشعة غاما بجرعات (3,6,9 Kgy) ، قللت المعاملة (6 kgy) بشكل كبير من محتوى السكر الكلي وزادت محتوى النيكوتين و البروتين. (Wang *et al*, 2010) أدت معاملة بذور نبات *Orthosiphon stamineus* بأشعة غاما بجرعات (10,20,30,40,50,60,70 gy) إلى زيادة محتوى البروتين في النباتات المعاملة بالجرعات (10-20 gy) مقارنة مع نباتات الشاهد ، حيث بلغت الزيادة (22.3%) عند الجرعة (10 gy) و (4.9%) عند الجرعة (20 gy). (Kiong *et al*,2008) وفي في دراسة أجراها (Bajaj, 1970) لتأثير تشيع جاما على محتوى البروتين في الفول ، وجد أنه عند جرعة الإشعاع العالية (80 gy) ينخفض محتوى البروتين. ولكن عند الجرعات المنخفضة (20-30 gy)، لم يكن هناك فرق كبير في محتوى البروتين بين النباتات المشعة وغير المشعة. وفقاً للنتائج التي حصل عليها (Stajner *et al*, 2007) في دراسة بذور فول الصويا ، تسببت جرعة (10gy) في زيادة طفيفة في محتوى البروتين الذائب الكلي ، بنسبة قدرها (11%) مقارنة بالبذور غير المشعة. قدمت النتائج زيادة كبيرة في إجمالي البروتين مع جرعات متزايدة تصل إلى (40 gy) ثم انخفضت بزيادة مستويات جرعة أشعة جاما. تبعاً لذلك ، حيث أعطت الجرعة (40 Gy) أكبر قيمة (4.9 mg/g). (El-Beltag *et al*,

2022) وتأثر إجمالي محتوى البروتين في أجزاء مختلفة من الباذنجان بجرعات الإشعاع (50-100 gy)، حيث زاد عند الجرعة (40 Gy) أعطت هذه الجرعة أعلى محتوى (11.6 ، 16.04 ، 17.87 ملجم / جرام وزن جاف) في الأجزاء المختلفة (اللب ، الثمرة الكاملة و القشر) على التوالي. (Aly *et al*, 2019) وأظهرت دراسات أخرى أيضاً أن البروتين الكلي يتناقص مع ارتفاع جرعات أشعة جاما بسبب ارتفاع الإستقلاب وارتفاع نشاط الإنزيمات. (Maity *et al*, 2004)

بعد الكلور من المغذيات الدقيقة النباتية الأساسية التي تؤثر على التنظيم التناضحي ، وتطور الأكسجين أثناء البناء الضوئي ، ومقاومة الأمراض وتحملها. (Chen *et al*,2010) حيث يرتبط تراكم الكلوريد بزيادة خصائص الرطوبة في الأوراق الخضراء والمعالجة. (Moore *et al*,2011)، كما يرتبط التراكم بانخفاض معدل الاحتراق وقدرة الاحتفاظ بالنيران في السجائر (Tso,1990)

تقلل تركيزات الكلور العالية في الأوراق المعالجة من جودتها بسبب تقليل القابلية للاشتعال زيادة الرطوبة التأثير الضار للكلور في الأوراق. (Miner and Tucker,1990)

يلعب الكلور دوراً في منع تخريب و تمزق أنسجة الورقة ، وبالتالي يقاوم مظاهر الشيخوخة التي يتعرض لها النبات عند التعرض لعوامل مجهدة مثل أشعة غاما. (Mekonnen *et al*, 2016)

### ٣- مشكلة البحث:

تعاني الأصناف المزروعة في سورية من تغيرات تؤثر بشكل كبير في النباتات و ينعكس التأثير على الإنتاجية والنوعية والمحتويات الكيميائية المؤثرة بدورها على الناتج النهائي ، وبالتالي تدني مواصفات منتج التبغ.

#### ٤- أهمية البحث وأهدافه:

تأتي أهمية البحث كون محصول التبغ أحد أهم المحاصيل الاستراتيجية المزروعة في سورية ، و بسبب التدهور الذي يصيب الأصناف المزروعة ، تبرز أهمية الدراسة لإحداث تحسين في بعض الصفات المرغوبة في الصنفين المزروعين من خلال المعاملة بأشعة غاما ، وذلك بهدف دراسة تأثير المعاملة بأشعة غاما على نسبة النيكوتين و السكريات و البروتين والكلور .

#### ٥- طرائق البحث ومواده :

**1-5مكان تنفيذ البحث :** مركز بحوث التبغ - المؤسسة العامة للتبغ ، هيئة الطاقة الذرية - دمشق، كلية الهندسة الزراعية- جامعة تشرين.

**2.5-المادة النباتية:** تم استخدام بذور صنفين من التبغ المزروع في سورية هما البلدي (شك البنت ) و الفيرجينيا .

البلدي: صنف محلي المنشأ. الشكل العام للنبات مخروطي مزدوج، متوسط ارتفاع النبات:(45-50 cm)، عدد الأوراق على النبات:(١٣-١٦ ورقة ). يزرع في المرتفعات الجبلية على ارتفاع (350-900 m) عن سطح البحر، بكثافة:(١٣-١٦ شتلة) في المتر المربع الواحد ، مقطوع العنقود الزهري ، يجفف في المناشر المعرضة لأشعة الشمس (المناشر الشمسية)، يمتاز بطعمه الخاص و المميز و بقوة تدخين ظاهرة جداً.

الفيرجينيا: صنف زيمبابوي المنشأ. الشكل العام للنبات: مخروطي الشكل، متوسط ارتفاع النبات:( 180-210 cm)، عدد الأوراق على النبات : (٢٢-٢٥ ورقة)، يزرع مروباً في السهول الساحلية، الكثافة ( 2.2-2.5 ) شتلة في المتر المربع الواحد، العنقود الزهري مقطوع ، يجفف ضمن أفران خاصة بالفيرجينيا، القوة خفيفة إلى ما دون الوسط ، العطر جيد مع طعم حلو و مميز .

#### 3.5-المعاملة بأشعة غاما :

تمت معاملة البذور بأشعة غاما في هيئة الطاقة الذرية بأربع جرعات لكل صنف هي ( 100,200,300,400 gy) بواسطة جهاز خلية غاما سيزيوم ١٣٧ ، معدل الجرعة (217.46 gy/hour) .

#### 4.5-المؤشرات المأخوذة :

- ١- نسبة النيكوتين% (Coresta,1994)
- ٢- نسبة السكريات% .التقدير بالطريقة اللونية (Dubois, et al,1956)
- ٣- نسبة البروتين% . (Aurand and wells, 1987)
- ٤- نسبة الكلور%:
- ٥- طريقة العمل

زُرعت الشتول الناتجة عن البذور المعاملة بأشعة غاما في أرض تابعة لمركز بحوث التبغ في المؤسسة العامة للتبغ في الرميلا - جبلة ، وفق تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بأربع مكررات بكثافة ( ١٥ شتلة / م<sup>٢</sup> ) بالنسبة لتبغ البلدي و ( ٢ شتلة / م<sup>٢</sup> ) بالنسبة لصنف الفيرجينيا ، وتم اعتماد توصيات المؤسسة العامة للتبغ في الري و التسميد و عمليات الخدمة لكلا الصنفين .

## 6.5- التحليل الإحصائي:

تم إجراء تحليل التباين للبيانات باستخدام اختبار (ANOVA)، وتم حساب أقل فرق معنوي لإظهار معنوية الفروق عند مستوى المعنوية (1 %).

## ٦- النتائج و المناقشة :

### ١-٦. تأثير المعاملة بأشعة غاما في نسبة النيكوتين في الأوراق الجافة % :

بيّنت النتائج الواردة في الجدول (1) تأثير المعاملة بجرعات أشعة غاما على نسبة النيكوتين، في صنف الفيرجينيا تفوقت المعاملة (B=100 gy) بنسبة نيكوتين (1.2%) على باقي المعاملات، وكانت النسبة في معاملة الشاهد (0.9%) و انخفضت إلى (0.74%) عند الجرعة (C=200 gy) و(0.72%) عند الجرعة (D=300 gy) و بلغت أدنى قيمة (0.45%) مع ارتفاع الجرعة إلى (E=400 gy) ، و كانت جميع الفروق بين المعاملات معنوية باستثناء الفروق بين المعاملات (A,C) و (A,D) لم تكن معنوية. في صنف البلدي سجلت المعاملة (B=100gy) أعلى نسبة نيكوتين في الورقة (3.05%) متفوقة على المعاملات (E-D-C-A) التي كانت نسب السكر فيها (2.48، 2.23، 1.92، و 1.64 %) على التوالي و الفروقات بين المعاملات جميعها معنوية باستثناء الفرق بين المعاملتين (A,C) لم تكن معنوية .

جدول (1): تأثير المعاملة بأشعة غاما في نسبة النيكوتين % في الأوراق الجافة للصنفين المدروسين بلدي و فيرجينيا :

الجرعات (المعاملات) (gy)	البلدي (شك البنات )	الفيرجينيا
A= 0	٢.٤٨	٠.٩
B= 100	٣.٠٥	١.٢
C= 200	٢.٢٣	٠.٧٤
D= 300	١.٩٢	٠.٧٢
E= 400	١.٦٤	٠.٤٥
LSD 1%	٠.٣٧	٠.٢٧

يمكن أن تؤدي الجرعات العالية إلى تخريب المنظمات والهرمونات النباتية التي تحفز إنتاج النيكوتين في الجذر وانتقاله للأوراق ومنها الأوكسين ، الذي يؤدي إنخاضه إلى التقليل من إنتاج النيكوتين، و تعتمد الحساسية الإشعاعية على نوع النبات و التركيب الوراثي و الإستجابة المضادة للأكسدة وعملية الإصلاح و الظروف البيئية مثل (محتوى الرطوبة في البذور و الأوكسجين ودرجة الحرارة). (Caplin and Willey, 2018) و تشكل التأثيرات الهرمونية للإشعاع على النبات نسبة منخفضة ومتغيرة حسب النبات ، و غالباً ما تكون مقتصرة على الجرعات المنخفضة. (Miller and Miller, 1987) وتوافقت هذه النتائج مع نتائج (Kartusch and Mittendorfer, 1990) و نتائج (JiLiang et al, 2010) على التبغ.

## ٢-٦- تأثير المعاملة بأشعة غاما في نسبة السكر في الأوراق الجافة %:

تشير النتائج الواردة في الجدول (٢) إلى تأثير المعاملة بجرعات أشعة غاما على نسبة السكر في الصنفين المدروسين، حيث بلغت أعلى نسبة في صنف الفيرجينيا (١٥.٧١) عند الجرعة (A=100 gy) مقارنة مع باقي المعاملات والشاهد الذي بلغت نسبة السكر فيه (١١.١٤%) وعلى المعاملة (C=200 gy) بنسبة (١٠.٩٦%) و المعاملة (D=300 gy) بنسبة (١٠.٣٩%) و المعاملة (E=400 gy) بنسبة (١٠.٤٢%) ، و الفروق بين المعاملات معنوية عدا الفروق بين المعاملات (A,C) و (C,D) و (D,E) لم تكن معنوية ، بينما تفوقت المعاملة (B=100 gy) في صنف البلدي على باقي المعاملات بنسبة سكر (٣.٥٧%) و على الشاهد الذي بلغت نسبة السكر فيه (٢.٦٦%) و على المعاملة (C=200 gy) التي بلغت نسبة السكر فيها (٢.١٢%) و المعاملة (D=300 gy) بنسبة (١.٨٩%) و المعاملة (E=400 gy) بنسبة (١.٥%) واتسمت الفروق بين المعاملات المدروسة بالمعنوية باستثناء الفروق بين المعاملتين (C,D) كانت غير معنوية.

جدول (٢): تأثير المعاملة بأشعة غاما في نسبة السكر % في الأوراق الجافة للصنفين المدروسين بلدي و فيرجينيا :

الجرعات (المعاملات) (gy)	البلدي (شك البنت )	الفيرجينيا
A= 0	٢.٦٦	١١.٤١
B= 100	٣.٥٧	١٥.٧١
C= 200	٢.١٢	١٠.٩٦
D= 300	١.٨٩	١٠.٣٩
E= 400	١.٥	١٠.٤٢
LSD 1%	٠.٣٢	٠.٥٨

تعاني الأوراق مع زيادة جرعة الأشعة من الشيخوخة و انخفاض في التمثيل الضوئي و تدهور أصباغ التمثيل الضوئي الناتجة عن الإجهاد التأكسدي ، الأمر الذي يعكس سلباً على محتوى السكر في الأوراق الجافة و الذي ينخفض مع زيادة جرعة الأشعة. وتوافقت هذه النتائج مع نتائج (JiLiang et al,2010) على التبغ، الذي أشار فيها إلى انخفاض السكر مع ارتفاع جرعة الأشعة التي تعرضت لها البذور. إضافة إلى أن النباتات المعرضة لهذه الجرعات عانت من انخفاض أبعاد الورقة و بالنتيجة مساحتها مما أثر على مساحة المسطح الورقي و إنتاجية التمثيل الضوئي. كما يحفز الإشعاع بالجرعات المنخفضة النمو و المحتويات الكيميائية من خلال تغيير شبكة الإشارات الهرمونية في الخلايا النباتية ، أو عن طريق زيادة القدرة المضادة للأكسدة للخلايا للتغلب على عوامل الإجهاد. (Kim et al,2004) وهذا يفسر الزيادة في محتوى السكر عند الجرعة المنخفضة ، وبالمقابل تؤدي الجرعات العالية من الإشعاع المؤين إلى إحداث تغييرات فيزيولوجية وإتلاف المكونات الجزيئية الخلوية مثل جدران الخلايا و الأغشية والحمض النووي. (Wi et al,2005)

### ٦-٣- تأثير المعاملة بأشعة غاما في نسبة البروتين في الأوراق الجافة %:

أظهرت نتائج الجدول (٣) تأثير الجرعات المختلفة من أشعة غاما في نسبة البروتين في الأوراق الجافة لصنف التبع الفيرجينيا و البلدي ، حيث بلغت أعلى نسبة في صنف الفيرجينيا (١١.٤٨%) عند الجرعة (E=400 gy) متفوقة على الشاهد والمعاملات ، فقد سجل البروتين نسبة (٥.٩٦%) في الشاهد وارتفعت هذه النسبة مع زيادة جرعة الأشعة ، و أعطت (٩.٨٢%) عند الجرعة (B=100 gy) و بلغت النسبة و(١٠.٣١%) عند الجرعة (C=200 gy) ووصلت إلى (١١.١٢%) عند الجرعة (D=300 gy)، واتسمت الفروق بين المعاملات بالمعنوية باستثناء الفروق بين المعاملات (D,C) و (E,D) و (E,C) و (E,D) لم تكن معنوية. في صنف البلدي كانت النسبة الأعلى من البروتين أيضاً عند المعاملة (E=400 gy) حيث بلغت (٢٢.١٣%) متفوقة على جميع المعاملات و الشاهد الذي بلغت نسبة البروتين فيه (١١.٥%) و(١٧.٩٧٥) في المعاملة (B=100 gy) و أعطت (٢٠.٤%) و (٢٢.١%) في المعاملتين (C=200 gy) و (D=300 gy) على الترتيب.

كانت الفروق بين جميع المعاملات في صنف البلدي معنوية باستثناء الفرق بين المعاملتين (D,E) غير معنوية.

جدول (٣): تأثير المعاملة بأشعة غاما في نسبة البروتين % في الأوراق الجافة للصنفين المدروسين بلدي و فيرجينيا :

الجرعات (المعاملات) (gy)	البلدي (شك البنت )	الفيرجينيا
A= 0	١١.٥	٥.٩٦
B= 100	١٧.٩٧	٩.٨٢
C= 200	٢٠.٤	١٠.٣١
D= 300	٢١.١	١١.١٢
E=400	٢٢.١٣	١١.٤٨
LSD 1%	١.٠٣	١.٢٧

أدت الجرعات المنخفضة من أشعة غاما إلى زيادة نسبة البروتين في الأوراق بسبب التأثير المحفز للجرعات المنخفضة ، و بسبب الإنخفاض في النمو الذي يصيب النبات مع زيادة الجرعة من الأشعة الأمر الذي يؤدي إلى زيادة إنتقال المواد الأزوتية إلى الأوراق (Xio et al,2016) ، و أشار (Al-Rumaih, 2008) إلى أن زيادة نسبة البروتين تعد إحدى آليات المقاومة للضرر الناتج عن أشعة غاما ، حيث أتت النتائج متوافقة مع هذا الرأي. إن دور البروتين كمضاد للأكسده حسب (Gygi et al,1999) يفسر كذلك زيادة النسب عن الحدود الطبيعية وعن معاملة الشاهد كرد فعل مقاوم من قبل النبات على تأثيرات الجذور الحرة الناتجة عن التشعيع.

### ٦-٤- تأثير المعاملة بأشعة غاما في نسبة الكلور في الأوراق الجافة %:

تبين النتائج الواردة في الجدول (٤) تأثير المعاملة بالجرعات المختلفة من أشعة غاما على نسبة الكلور في الأوراق الجافة، والتي بلغت في صنف البلدي أعلى نسبة (١.٨%) عند المعاملة بالجرعة الأعلى (E=400 gy) متفوقة على الشاهد (١.١٥%) و باقي المعاملات التي أعطت (١.٤١%) و(١.٦٥%) و (١.٧١%) على التوالي في المعاملات (B=100 gy) و (C=200 gy) و (D=300 gy) و الفروق بين المعاملات كانت معنوية باستثناء الفروق بين المعاملات (C,D) و (C,E) و (D,E) لم تكن معنوية . في صنف الفيرجينيا أعطت المعاملة (E=400 gy) أعلى نسبة من الكلور (١.٧١%) وتفوقت على الشاهد الذي بلغت نسبة الكلور فيه (١.٠٧%) وعلى المعاملة (B=100 gy) التي أعطت (١.١٥%) و المعاملة (C=200 gy) التي أعطت (١.٣٧%) وفي المعاملة (D=300gy) بلغت النسبة (١.٣٩%) ، كانت الفروق بين المعاملات غير معنوية باستثناء الفروق بين (A,E) و (B,E) و (C,E) كانت معنوية.

جدول (٤): تأثير المعاملة بأشعة غاما على نسبة الكلور % في الأوراق الجافة للصنفين المدروسين البلدي والفيرجينيا:

الجرعات (المعاملات) (gy)	البلدي (شك البنت )	الفيرجينيا
A= 0	١.١٥	١.٠٧
B= 100	١.٤١	١.١٥
C= 200	١.٦٥	١.٣٧
D= 300	١.٧١	١.٣٩
E=400	١.٨	١.٧١
LSD 1%	٠.٢١	٠.٤٣

نتج عن زيادة جرعة المعاملة بأشعة غاما للصنفين المدروسين زيادة في نسبة الكلور في الأوراق ، ويؤدي مستوى الكلور المرتفع في الأوراق إلى رداءة الإحترق ، والرائحة غير المستحبة إضافة إلى تأثيره على خصائص أخرى في التبغ. (Cakir and Cebi, 2010) ويمكن أن تكون هذه الزيادة إحدى أشكال المقاومة للآثار السلبية المجهدة لأشعة غاما على النبات ، كما أوضح (Mekonnen *et al*,2016) إلى أن الكلور قد يقاوم مظاهر الشيخوخة التي تتعرض لها الأوراق عند التعرض للأشعة.

#### الإستنتاجات :

- ١- أدت المعاملة بأشعة غاما بالجرعة المنخفضة (A=100 gy) إلى تحسين محتوى النيكوتين و السكر في صنفى البلدي و الفيرجينيا المدروسين مقارنة بالشاهد .
- ٢- أعطت المعاملة (E=400 gy) أعلى نسبة من البروتين و الكلور في الأوراق لكلا الصنفين.
- ٣- انخفضت متوسطات النيكوتين و السكر و زادت متوسطات البروتين و الكلور مع زيادة جرعات أشعة غاما.

#### التوصيات:

استخدام أشعة غاما كمحفز لزيادة محتوى النيكوتين و السكر بالجرعات المنخفضة ، ومتابعة الدراسة على جرعات مختلفة و أقل من (100 gy) لمعرفة تأثيراتها على المحتويات الكيميائية الأخرى ذات التأثير على الجودة النهائية لمنتج التبغ.

## المراجع:

- ١- سعد الله، الإبراهيم; الشيخ يوسف، محمد ; أيوب، عزمي.(١٩٨٣). *التبغ السوري (زراعة ، تجفيف ، وقاية) ، المؤسسة العامة للتبغ ، سورية ، ٨٦٠.*
- 2- ANDERSON,R.1973, *Chemical composition of tobacco leaves altered by near-ultraviolet and intensity of visible light* . Plant Physiol.
- 3- ALY,A.A ;ELWA,E,A; MOHAMED,H; and ABDEL-MEGID,A. 2019,*Stimulating Effect of Gamma Radiation on some Active Compounds in Eggplant Fruits*. Egypt. J. Rad. Sci. Applic. 32(1): 61 – 73.
- 4- ADAM, T; T. FERGE; MITSCHKE,S; STREIBEL,T; R.R. BAKER,R,R; and ZIMMERMANN,R .2004, *Discrimination of three tobacco types (Burley, Virginia and Oriental) by pyrolysis single-photon ionisation? time-of-flight mass spectrometry and advanced statistical metho* . Anal. Bioanal. Chem. 381: 487–499.
- 5- Al-RUMAIH, M.M.2008, *Influence of ionizing radiation on antioxidant enzymes in three species of Trigonella*. Am. J. Environ. Sci. 4 151–156.
- 6- AURAND, L.W; and WELLS, M.R.1987, ). *Food composition and analysis*. Van Nostrand Reinhold Company, New York, 665.
- 7- BANOZIC,M; BABIC,J; and JOKIS,S. 1995, *Recent advances in extraction of bioactive compounds from tobacco industria waste-a review*. Ind. Crops.prod.144 .
- 8- BALDWIN,I.T. 1998, *Jasmonate-induced responses are costly but benefit plants under attack in native population*. Pro.Natl.Acad.sci.USA.95:8113-8118.
- 9- BALDWIN,I.T; SCHMELZ,E,A; and OHNMESS,E,T. 1994, *Wound-induced changes in root and shoot jasmonic acid pools correlate with induced nicotine synthesis in Nicotiana Sylvestris spregazzini*. J.Chem.Ecol.20:2139-2157.
- 10- BAGAG, Y.P.S.1970, *Effect of gamma-irradiation on growth, RNA, protein, and nitrogen contents of bean callus cultures*. Journal of Botany, 23(1): 231-236.
- 11- BENSLIMANI,N; SLAOU,M; MORSALIA,A; DJERRAD,A; ALRAMAMNEH,E; MAKHZOUM,A; and KHELIFI,L. 2019,Effects of gamma irradiation on the alkaloid content in seeds of *Datura stramonium* and the radiosensitivity of derived seedlings. *Plant Science Today*. 6(4): 533-540.
- 12- BINNS,M.R; ZILKY,B,F; CORT,W,A; WALKER,E,K; DIRKS,V,A; and K.P.BASRUR,P,K. 1982, *Chemical studies on Canadian tobacco and tobacco smoke*.
- 13- BOLTON,D.K.2013, *Forecasting crop yield using remotely sensed vegetation indices and crop phenology metrics* .Agric. For. Meteorol.
- 14- BIOS, M; GILLES, K.A; HAMILTON, J.K; REBERS, P.A; and SMITH, F.1956, *Colorimetric method for determination of sugars and related substances*. Analytical Chemistry. 28: 350-356.
- 15- CAKIR,R; and CEBI,U.2010, *The effect of irrigation scheduling and water stress on the maturity and chemical composition of Verginia tobacco leaf*.Field Crops Research ,119(2-3):269-276.
- 16- CAPLIN , N; WILLEY,N.2018,*Ionizing radiation , higher plants , and radioprotection: from a cut high dosesto chron,Mic low doses* Front plant sci.9: 847.
- 17- CASARETT, A.P; 1968. *Radiation Chemistry*. New Jersey: Prentice Hall.
- 18- CHEN, W; HE, Z, L; YANG, X, E; MISHRA, S; & STOFFLLA, P.9J. 2010, *Chlorine nutrition of higher plants: Progress and perspectives*. Journal of Plant Nutrition, 33(7): 943–952.

- 19-CORESTA. 1994, *Determination of the purity of nicotine and nicotine salts by gravimetric analysis-Tungstosilicic acid method*. Recommended Method N 39.
- 20- CLARKE, M ; BEZABEH,B; and HOWARD,Z,D. 2006, *Determination of Carbohydrates in Tobacco Products by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry: A Comparison with Ion Chromatography and Application to Product Discrimination*. J. Agric. Food Chem. 54: 1975–1981 .
- 21- CORTHALS, G; GYGI,S; AEBERSOLD,R; and PATTERSON,D,S. 2000, *Identification of proteins by mass spectrometry*. Proteome research. 2(1): 197-231.
- 22- DEWEY,R,E; and XIE,J.2013, *Molecular genetics of Alkaloid biosynthesis in Nicotiana tabacum*. Phytochemistry .94:10-27.
- 23- DJORDJEVIC,V; and DORAN,A,K. 2009, *Nicotine content and delivery across tobacco products*. Hand Exp pharmacol. 192:61-82.
- 24- EI-BELTAGI,S,H; MARAEI,S,R; SHALABY.A,K; andLY.A,A .2022, *Metabolites, Nutritional Quality and Antioxidant Activity of Red Radish Roots Affected by Gamma Rays*. Agronomy . 12(8), 1916.
- 25- ESNAULT, A. M; LEYUE, F., CHENAL, C.2010, *Ionization radiation: advances in plant respons*. Journal of Environ. Expbot. Vol.(68) No.(10) ,231-237 .
- 26- FLETCHER,R,S; and REDDY,K. 2016, *Random forest and leaf multispectral reflectance data to differentiate three soybean varieties from two pigweeds*. Comput. Electron. Agric.128:199-206.
- 27- GEISS, O; and KOTZIAS,D .2007,*Tobacco, Cigarettes and Cigarette Smoke an Overview*. In *Institute for Health and Consumer Protection; Joint Research Center/Institute for Health and Consumer Protection (IHCP)*. Isra, Italy:1-72.
- 28- GYGI, S,P; ROCHO,Y; FRANZA,R,B; andAEBERSOLD,R. 1999,*Correlation between protein and mRNA abundance in yeast*. Molecular Cell Biology. 19(1): 1720-1730.
- 29- IRFAQ, M; and NAWAB,k.2003, *Astudy to determine the proper dose of gamma radiation for inducing beneficial genetic variability in bread wheat (Triticum aestivum ) Plant .Asian . sci.20:20*.
- 30- JACQUEMOUD, S; and BARET,F. 1990, *PROSPECT: A model of leaf optical properties spectra*. mote Sens. Environ.75(2):75-91.
- 31- JAN, S. 2011, *Developmental and metabolic changes in Psoralea corylifolia L. with reference to ionising radiation*. PhD thesis (Awarded). Hamdard University, Department of Botany, Jamia Hamdard, New Delhi, India.
- 32- JILIANG,M; YI,W; YONGZHI,C; XUN,D; JILIANG,Z; and YANGZHL .2010, *Effects of <sup>60</sup>Co-γ irradiation on alcoholization of flue-cured tobacco leaves*. Journal of Yunnan Agricultural University .25(6 ):822-826.
- 33- KAMINSKI,k,P ; BOVET,L; LAPARRA,H; LANG,G; DEPALO,P; SIERRA,N; GEOPPFERT,S; and IVANOV,N.2020, *Alkaloid chemophenetics and transcriptomics of the Nicotiana genus*.Phytochemistry.177:112-124.
- 34- Kiong.A.; A.Grace.; S.Hussein.; and A.R.Harun .2008, *Physiological Responses of Orthosiphon stamineus Plantles to Gamma Irradiation*. Am.-Eurasian J. Sustain. Agric. 2(2):135-149.
- 35- KATHIYAR,P; PANDY,N; KESHAVAKANT,S. 2022, *Gamma radiation : A potential tool for abiotic stress mitigation and management of agroecosystem*. Plant Stress ,20: 100089.
- 36- KARTUSH,R; and MITTENDOR,B.1990, *Ultra violet Radiation increases Nicotiana production in Nicotiana callus cultures*. J.of. Plantphysiology.136(1):110-114.

- 37- KIM, J. H., BAEK, M. H., CHUANG, B. Y., WI, S. G., KIM, J. S. 2004, *Alteration in the photosynthetic pigments and antioxidant machineries of red pepper (Capsicum annum L.) seedlings from gamma – irradiation seeds*. Journal of plant Biotechnology. Vol.(47)No.(2), 314-321 .
- 38- LI,Z; LI,C; GAO,Y; MA,W; ZHENG,Y; NIU,Y; GUAN,Y; and HU.J. 2018, *Identification of oil, sugar and crude fiber during tobacco (Nicotiana tabacum L.) seed development based on near infrared spectroscopy*. Biomass Bioenergy.111:39-45.
- 39- LIU.H; and KOTOVA,M,A. 2019, *Increased leaf Nicotiana content by targeting transcription factor gene expression in commercial Flur-cured Tobacco (Nicotiana tabacum L.)*.Genes.10(11):930.
- 40- MAITY, J.P; CHAKRABORTY, A; SAHA, A; SANTRA, S.C; CHANDA,S.2004, *Radiation induced effects on some common storage edible seeds in India infested with surface microflora*. Radiat. Phys. Chem.71:1065–1072.
- 41- MAIMAITIYIMING,M.; ALLISON,M,G ;and GHULAM,A. 2016, *Discriminating spectral signatures among and within two closely related grapevine species*. Photogramm. Eng. Remote Sens.82(1):51-62.
- 42- MEKONNEN,D,W; FLUGGE,U,I; and LUDEWIG,F.2016, *Gamma-aminobutyric acid depletion affects stomata closure and drought tolerance of Arabidopsis thaliana*. Plant Science,245:25-34.
- 43- MILLER,M.W; and MILLER,W.M.1987, *Radiation hormes in plants*. Health Phys.52(5):607-616.
- 44- Miner, G.S. and M.R. Tucker. 1990. *Plant analysis as an aid in fertilizing tobacco*. pp. 645-657.
- 45- MISHRA,S; and MISHRA,M,B.2013, *Tobacco: its historical, cultural, oral and periodontal heath association. J. of international socity of preventive and community denstistry*.3:12-18.
- 46- MOORE, J. M; BAFALLUY, R; LAHUE, S. S;& TROXELL, C. E. 2011, *Evaluation of growth, yield, grade and chloride content of flue-cured tobacco fertilized with various rates of KCl and K-Mag as potassium sources*. CORESTA: 6–10.
- 47- PANG, T; YUAN,Z; DAI,Y; WANG,C; YANG,J; PENG,L; and XU,G. 2007, *Identification and determination of glycosides in tobacco leaves by liquid chromatography with atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry*.J. Sep. Sci. 30: 289–296.
- 48-PIANO,D.L.,SORRENTINOC,C.,ABET,M.,DIMURG,A.,BABATO,L.,SICIGNA NO,M.,CUCINIEHO,A.,OZZOLINO,E.2006.*Genetic polymorphism of tobacco varieties based on ISSR markers*. Coresta congress,Vol.(13) .
- 49- PREUSS,S.B; BRITT,A.B.2003,*A DNA-damage -induced cell cycle chekpoint in Arabidopsis*. Genetics.164:323-334.
- 50- RODGMAN,T.A.P.2013, *The chemical components of Tobacco and Tobacco smoke* .CSC Press: Boca Raton, FL,USA.
- 51- SAITOH,F;NOMA,M; and KAWASHIMA,K.1995, *The alkaloid contents of sixty Nicotiana species*. Phytochemister.24(3):477-480.
- 52- SAX,K.1963, *The stimulation of plant growth by Ionizing radiation*. Radiation Botany. 3(3):179-186.
- 53- SHEN,J; and .SHOA,X. 2006, *Determination of tobacco alkaloid by gas Chromatography-mass spectrometry using cloud point extraction as a preconcentration step*. Anal.Chim.Acta.561:83-87.

- 54- SHITAN,N; MINAMI,S; HASHIDAM,M; ITO,S; TAKANASHI,K; OMOTO,H; MORIYAMA.Y; SUGIYAMA,A; A.GOSSENS. 2014, *Involvement of the leaf-specific multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporter Nt-JAT2 in vacuolar sequestration of Nicotine in Nicotiana tabacum*. *Plone one*. 9(9):e108789.
- 55- STAJNER, D; MILOSEVIC,M; and POPOVIC,M,P. 2007, *Irradiation effects on phenolic content, lipid and protein oxidation and scavenger ability of soybean seeds*. *Journal of Molecular Science*, 8(2): 618-627.
- 56- SULER,A, H.A.R; GOBE,G; MASCI,P; and OSBOMS,S,A.2016, *Marina bioactive compounds and health promoting perspectives , innovation for dry discovery*. *Trend sci. Technol*.50:44-55.
- 57- SUZUKI,N; MITTELER,S,K; MILLER,R; ROS,G and RODEX.2012, *signaling in the respons of plants to abiotic stress*. *Journal of plant cell Environ*. Vol.(35) ,259-270
- 57- TALHOT, R; A.OPPERUIZEN,A; and AMESTERDAM,C. 2006, *Sugars as tobacco ingredient: Effects on mainstream smoke composition*. *Food Chem. Toxicol*. 44:1789– 1798.
- 58- TSO, T. C. (1990a). *Maturity, harvesting, and curing*. In T. C. Tso (Ed.) , *Production, physiology, and biochemistry of tobacco plant* : 105–124.
- 59- WANG,Y; YONGZHI,C; XUN,D; JIAWEI,Z; and; YANGZHONG,L. 2010, *Effects of <sup>60</sup>Co-γ irradiation on alcoholization of flue-cured tobacco leaves*. *Journal of Yunnan Agricultural University*. 25(6 ):822-826.
- 60- WI, S. C; CHUNG, B. Y; KIM, J. H; BAEK, M. H; YANG, D.H; LEE, J. W; KIM, J.S.2005, *Ultrastructural change of cell organelles in Arabidopsis stem after gamma irradiation*.*Journal of Plant Biol*. Vol.(48)No.(2), 195-200 .
- 61- WI ,S,G; CHUNG, B,Y; KIM, J,S; KIM, J,H; BAEK,M,H; Lee,J.W; KIM,Y.S. 2007, *Effect of gamma irradiation on morphologica changes and biological responses in plants*. *Micron*, 38:553-564.
- 62- WILKENSON,V.M; and GOULD,W,G. 1996, *Food Irradiation, A Reference Guide*. United Kingdom: Heinemann
- 63- WOODS,R.J. and PICKAEV,A.K. 1994, *Applied radiation chemistry*. Newyork: John wiley and sons.
- 64-XIE, H; YANG, D.H., YAO, H; BAI, G.E; ZHANG, Y. H. and XIAO, B.G. 2016, *iTRAQ-based quantitative proteomic analysis reveals proteomic changes in leaves of cultivated tobacco (Nicotiana tabacum) in response to drought stress*. *Biochemical and biophysical research communications*, 469(3), 768-775.