



بررسی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت تنش گل‌جالیز با استفاده از روش‌های آماری چند متغیره

مریم طهماسب عالی^۱، امیر فیاض مقدم^۲، رضا درویش‌زاده^۳ و حسین عباسی هولاسو^۴

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲- دانشیار، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، (نویسنده مسؤل: a.fmoghaddam@urmia.ac.ir)
۳- استاد، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۴- دانش‌آموخته دکتری اصلاح نباتات، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
تاریخ دریافت: ۹۸/۱۰/۶ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱/۱۸
صفحه: ۱۶۰ تا ۱۷۴

چکیده

در تحقیقی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) و تنش گل‌جالیز طی سال‌های زراعی ۸۷-۱۳۸۶ و ۸۸-۱۳۸۷ در مرکز تحقیقات توتون ارومیه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار بررسی شد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس مرکب نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از لحاظ کلیه صفات مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد که این امر حاکی از تنوع ژنتیکی بالا بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی می‌باشد؛ بنابراین به‌طور بالقوه می‌توانند در برنامه‌های اصلاح توتون برای مقاومت به گل‌جالیز مورد استفاده قرار گیرند. براساس نتایج برآورد ضریب تغییرات ژنوتیپی، تنوع بالایی در بین صفات مورد مطالعه بخصوص از لحاظ صفات وزن تر و خشک برگ در شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز مشاهده شد. بیشترین مقدار وراثت‌پذیری، در هر دو شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز در صفات تاریخ گلدهی، ارتفاع بوته و تعداد برگ مشاهده شد. بیشترین مقدار پیشرفت ژنتیکی برای صفات شاخص سطح برگ، وزن تر اندام هوایی گیاه، ارتفاع بوته و وزن تر برگ مشاهده شد. براساس نتایج ضرایب همبستگی ژنتیکی صفات، در هر دو شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز همبستگی مثبت و معنی‌داری بین وزن خشک برگ با کلیه صفات مشاهده شد. با انجام تجزیه خوشه‌ای، تحت شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز ژنوتیپ‌های مورد بررسی در چهار گروه قرار گرفتند. در شرایط تنش گل‌جالیز، جدول رتبه‌بندی خوشه‌ها از نظر میانگین صفات نشان داد که گروه‌های دوم و چهارم حاوی ژنوتیپ‌هایی هستند که براساس میانگین صفات نسبت به تنش گل‌جالیز به ترتیب مقاوم و حساس می‌باشند. لذا می‌توان با انتخاب والدین مناسب از این گروه‌ها و تلاقی آنها، جهت تولید جمعیت‌های در حال تفرق در برنامه‌های به‌نژادی برای مقاومت به گل‌جالیز و ایجاد تغییرات مطلوب در وزن خشک برگ ژنوتیپ‌های مورد بررسی اقدام نمود. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط تجزیه تابع تشخیص مورد تایید قرار گرفت. از طرفی با انجام تجزیه به مولفه‌های اصلی در هر دو شرایط مورد بررسی، دو مولفه شناسایی شد که ۷۵ و ۷۳ درصد از واریانس کل صفات را به ترتیب در شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز توجیه می‌نمودند. با توجه به نتایج تجزیه خوشه‌ای در شرایط تنش گل‌جالیز، از ژنوتیپ‌های قرار گرفته در گروه دوم می‌توان برای کشت در مناطق آلوده به گل‌جالیز استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: اصلاح برای مقاومت، پرازیت اجباری، توتون، تنش زیستی، تجزیه چند متغیره، وراثت‌پذیری

مقدمه

افراد یک جمعیت از موجودات زنده در یک یا چند مکان ژنی^۱ ممکن است باهم متفاوت باشند. این تفاوت‌ها را تنوع ژنتیکی^۲ می‌نامند. موتاسیون در توالی ژن‌ها، رانش ژنتیکی^۳، جریان ژنی^۴ و انتخاب طبیعی دلایل ایجاد تنوع ژنتیکی می‌باشند. ارزیابی تنوع ژنتیکی در گیاهان برای برنامه‌های به‌نژادی و حفاظت از ذخایر توارثی اهمیت حیاتی دارد. آگاهی از تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی برای انتخاب نژادهای والدینی در جهت حصول ارقام با عملکرد بالا، کیفیت بهتر و متحمل به تنش‌های زیستی و غیرزیستی مهم است (۳۳، ۲۸، ۲۷، ۱۰).

توتون (*Nicotiana tabacum* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان صنعتی و اقتصادی در بسیاری از کشورهاست (۵)، که در شرایط مختلف آب و هوایی در بیش از یکصد کشور جهان با سطح زیر کشت بالغ بر ۴/۸ میلیون هکتار کشت می‌شود (۵). ایران به‌ویژه نواحی شمال و شمالغرب آن به علت شرایط اقلیمی خاص، از مناطق مستعد کشت توتون می‌باشد. سطح زیر کشت آن در سال ۲۰۱۷ حدود ۹۶۴۹ هکتار و برگ

خشک تولید شده ۱۹۶۹۴ تن بوده است (۹). ارزش اقتصادی این گیاه بطور عمده به برگ‌های آن مربوط می‌شود (۴۱). به‌علاوه بذرهای این گیاه حاوی ۳۸ درصد روغن غیر خوراکی است که می‌تواند جایگزین مناسبی برای سوخت‌های دیزلی باشد (۱۱). اخیراً از این گیاه در زراعت مولکولی^۷ برای تولید دارو و واکسن به صورت گسترده‌ای استفاده می‌شود (۲). علف هرز گل‌جالیز، گیاهی است پرازیت که اختصاصاً به ریشه گیاهان متصل شده و ضمن جذب و تخلیه مواد غذایی باعث تغییرات مورفولوژیکی نامطلوبی در گیاه میزبان می‌شود (۴۳). گونه‌های جنس گل‌جالیز (*Orobanche*) باعث خسارت شدید در تعداد زیادی از محصولات زراعی از جمله آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.)، توتون و گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L.) می‌شوند (۴۲). در میان تنش‌های زنده و غیر زنده، علف‌هرز گل‌جالیز مهم‌ترین عامل در کاهش عملکرد توتون می‌باشد (۱۳). بدلیل ارتباط مستقیم با میزبان، زندگی طولانی مدت در زیر خاک و تولید تعداد زیادی بذر ریز و پایدار، کنترل علف هرز گل‌جالیز بسیار مشکل می‌باشد. روش‌های مختلف از جمله زراعی، شیمیایی

- | | | | |
|--------------|------------------------|----------------------|------------------|
| 1- Locus | 2- Genetic variability | 3- Genes sequence | 4- Genetic drift |
| 5- Gene flow | 6- Biodiesel | 7- Molecular farming | |

غیر از *V. faba*، مکانیسم اصلی مقاومت در برابر گل جالیز کاهش القای جوانه‌زنی بذر گل جالیز است (۴۷). در باقلا مقاومت از طریق کاهش القای جوانه‌زنی بذر گل جالیز (گونه‌های *O. foetida* و *O. Crenata*) کمتر دیده شده است. تا به امروز مکانیسم‌های مقاومت توصیف شده در باقلا، Pre-haustorial هستند، یعنی مقاومت بعد از اتصال و نفوذ انگل به بافت‌های میزبان و قبل از توسعه هستوریوم (ارگان متصل کننده دو بافت آوندی میزبان و انگل) مشاهده می‌شود (۱۴).

بررسی تنوع ژنتیکی و تعیین روابط ژنتیکی در مواد گیاهی از نظر انتخاب ترکیبات والدینی مناسب برای تولید جمعیت‌های در حال تفرق، پاسخ به گزینش طولانی مدت و کاهش آسیب‌پذیری ژنتیکی حائز اهمیت می‌باشد (۵۱). در پژوهش حاضر ارزیابی تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت تنش گل جالیز با استفاده از صفات آگرو مورفولوژیک و با بهره‌مندی از روش‌های آماری چند متغیره انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

نود و دو ژنوتیپ توتون شرقی^۴ و تنباکو در دو شرایط آلوده به علف هرز گل جالیز (محیط تنش دار) و بدون علف‌هرز گل جالیز (محیط بدون تنش) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به ترتیب با ۳ و ۲ تکرار در مرکز تحقیقات توتون ارومیه در شرایط گلدانی و در فضای باز طی سال‌های ۸۷-۱۳۸۶ و ۸۸-۱۳۸۷ مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول ۱). طول و عرض جغرافیایی منطقه انجام آزمایش به ترتیب ۳۷° و ۴۵° شمالی و ۵° شرقی و ارتفاع از سطح دریا ۱۳۱۳ متر می‌باشد. اقلیم منطقه سرد و نیمه خشک است و میانگین بارندگی و دمای منطقه با توجه با آمارهای هواشناسی شانزده ساله به ترتیب ۱۸۴ میلی‌متر و ۱۲ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

جهت مبارزه با انگل گل جالیز به کار برده شده است اما هیچ کدام از این روش‌ها چندان موثر نبوده است (۴۴،۳۰). در چند دهه اخیر سناریوی تولید و توسعه ارقام مقاوم به عنوان یکی از موثرترین روش‌های کنترل مطرح شده است (۴۴). تولید ارقام مقاوم به گل جالیز اقتصادی، عملی و یک روش دوستدار محیط زیست^۱ می‌باشد (۱۲،۲۲). گیاهان متحمل به گل جالیز در طبیعت نادر هستند (۴۴). تحمل به گل جالیز نتیجه‌ی چندین مکانیسم شامل کاهش در القا جوانه‌زنی بذر انگل، چوبی شدن محل آلودگی و کاهش توسعه غده‌های پارازیت می‌باشد (۴۴).

تفاوت‌هایی در حساسیت گونه‌های مختلف نخود (*Pisum spp.*) در برابر گل جالیز Crenate (*O. crenata* Forsk) در اسپانیا مشاهده شده است (۴۰). در مطالعه اخیر گزارش شده است که مکانیسم مقاومت مجموعه‌ای پیچیده شامل سرعت جوانه‌زنی کند، میزان نفوذ و استقرار کم و مرگ تیوبرسل‌های گل جالیز Crenate می‌باشد. در تحقیقی مشاهده شد که ارقام حساس و مقاوم آفتابگردان، هر دو جوانه‌زنی بذرهای گل جالیز را تحریک می‌کنند، اما پس از نفوذ هستوریوم^۳ به میزبان مقاوم، توسعه و پیشروی آن متوقف می‌شود (۸). لایروس و همکاران (۲۶) دریافتند که مقاومت چندین گونه آفتابگردان وحشی به گل جالیز به دلیل سرعت جوانه‌زنی و اتصال پایین گل جالیز به آفتابگردان و توانایی میزبان در افزایش رسوب دیواره سلولی، انسداد آوندها و بهم‌ریختگی سلولی انگل است. مطالعات نشان داده‌اند ترکیبات فیتوکسیک در آفتابگردان مقاوم تحریک شده و باعث انحطاط گل جالیز می‌شوند (۴۶). مقاومت در باقلا و حبوبات در برابر گل جالیز یک پاسخ چند وجهی است که عمدتاً شامل تقویت دیواره سلولی (۳۹،۳۶،۳۸)، تولید ترکیبات سمی (۲۹،۶) و مسدود کردن بافت‌های آوندی است (۳۷). در بسیاری از گونه‌های باقلا به

جدول ۱- اسامی ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو مورد مطالعه

Table 1. The name of studied oriental and water pipe's tobacco genotypes

کد	ژنوتیپ	کد	ژنوتیپ	کد	ژنوتیپ	کد	ژنوتیپ
۱	Kharmanli 163	۳۴	Samsun 959	۶۷	SPT 412	شرقی (چپ)	
۲	Nevrokop	۳۵	Samsun dere	۶۸	Esfahan5	تنباکو	
۳	Trabozan	۳۶	OR-205	۶۹	SPT 420	شرقی (چپ)	
۴	Krumovgraid	۳۷	OR-345	۷۰	SPT 430	شرقی (چپ)	
۵	Basma.S.31	۳۸	OR-379	۷۱	SPT 432	شرقی (چپ)	
۶	Triumph	۳۹	C.H.T.209.12e	۷۲	SPT 433	شرقی (چپ)	
۷	Xanthi	۴۰	C.H.T.209.12e×F.K.40-1	۷۳	SPT 434	شرقی (چپ)	
۸	Matianus	۴۱	C.H.T.266-6	۷۴	SPT 436	شرقی (چپ)	
۹	Immni 3000	۴۲	C.H.T.283-8	۷۵	SPT 439	شرقی (چپ)	
۱۰	Melkin 261	۴۳	C.H.T.273-38	۷۶	SPT 441	شرقی (چپ)	
۱۱	Tyk-Kula	۴۴	Basma 12-2	۷۷	Esfahan2	تنباکو	
۱۲	Ss-289-2	۴۵	Basma 16-10	۷۸	SPT 413	شرقی (چپ)	
۱۳	Ohdaruma	۴۶	Basma 104-1	۷۹	Esfahani	تنباکو	
۱۴	Ploudive 58	۴۷	Basma 181-8	۸۰	Jahrom14	تنباکو	
۱۵	Line 20	۴۸	Zichna	۸۱	Borazjan	تنباکو	
۱۶	T-B-22	۴۹	Izmir	۸۲	L 16b	شرقی	
۱۷	Ts 8	۵۰	P.D.324	۸۳	Balouch	تنباکو	
۱۸	Alborz23	۵۱	P.D.325	۸۴	Lengeh	تنباکو	
۱۹	F.K.40-1	۵۲	P.D.406	۸۵	Saderati	تنباکو	
۲۰	Pz17	۵۳	P.D.328	۸۶	Eraghi	تنباکو	
۲۱	K.P.Ha	۵۴	P.D.329	۸۷	Shahrudi	تنباکو	
۲۲	K.B	۵۵	P.D.336	۸۸	T.K.L	شرقی	
۲۳	G.D.165	۵۶	P.D.345	۸۹	L 17	شرقی	
۲۴	H.T.I	۵۷	P.D.364	۹۰	C.H.T.269-12e	شرقی	
۲۵	Kramograd N.H.H. 659	۵۸	P.D.365	۹۱	Samsun 1	شرقی	
۲۶	T.K.23	۵۹	P.D.371	۹۲	Samsun Katenizi	شرقی	
۲۷	L 16a	۶۰	P.D.381	شرقی			
۲۸	Izmir 7	۶۱	SPT 403	شرقی (چپ)			
۲۹	Mutant 3	۶۲	SPT 405	شرقی (چپ)			
۳۰	Mutant 4	۶۳	SPT 406	شرقی (چپ)			
۳۱	Pobeda 1	۶۴	SPT 408	شرقی (چپ)			
۳۲	Pobeda 2	۶۵	SPT 409	شرقی (چپ)			
۳۳	Rustica	۶۶	SPT 410	شرقی (چپ)			

شدند. پس از آزمون توزیع نرمال اشتباهات و همگنی واریانس اشتباه‌های آزمایشی با آزمون بارتلت، تجزیه واریانس صفات و برآورد آماره‌های توصیفی در هر یک از شرایط در نرم‌افزار SAS^۲ نسخه ۹/۴ انجام شد. برآورد اجزای واریانس و وراثت‌پذیری بر مبنای میانگین نژادگان^۳ صفات در هر یک از شرایط با برنامه SAS توسعه‌یافته توسط Holland و همکاران (۱۶) انجام گرفت.

برنامه توسعه یافته در سایت با لینک <http://www4.ncsu.edu/~jholland/heritability/Inbre> ds.html قابل بازیابی است. ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی صفات بر طبق روش سنگ و چودوری (۴۸) با استفاده از فرمول‌های $CVg = CVp = \left(\frac{\delta p}{\bar{x}}\right) \times 100$ و $\left(\frac{\delta g}{\bar{x}}\right) \times 100$ محاسبه گردیدند که در آن‌ها δp و δg به ترتیب انحراف معیارهای فنوتیپی و ژنوتیپی و $\bar{x}$ میانگین صفت در کل جمعیت است. پیشرفت ژنتیکی برای شدت گزینش ۱۰ درصد مطابق با رابطه ذکر شده در مقاله بیک‌زاده و همکاران (۱) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$GC = K \times h_b^2 \times \frac{\sqrt{\delta_p^2}}{\bar{x}} \times 100$$

برای انجام آزمایش در هر یک از سال‌ها و در هر یک از شرایط از گلدان‌های سفالی به حجم ده کیلوگرم استفاده شد. گلدان‌ها با خاک تهیه شده از مزارع یونجه پر شدند. خاک گلدان‌ها در محیط تنش دار با ۰/۰۶ گرم بذر گل‌جالیز (*Orobanche cernua*) مخلوط شد. نشاء هر یک از ژنوتیپ‌های توتون در خزانه تهیه شده و وقتی گیاهچه‌های توتون به ارتفاع ۱۲ سانتیمتر رسیدند، به گلدان‌ها منتقل شدند. برای تهیه نشاء از ۵ گرم بذر در هر مترمربع استفاده شد. سطح خزانه بعد از بذر پاشی با یک لایه کود گوسفندی پوشیده شد.

تمامی عملیات زراعی در طول دوره رشد توتون با توجه به استاندارد موجود برای توتون‌های شرقی و تنباکوها انجام گرفت. برگ‌های ژنوتیپ‌ها در زمان رسیدگی صنعتی برداشت و در جلوی آفتاب خشک^۱ شدند. پس از مرحله ی گلدهی صفات مختلف مانند تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک ریشه (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr)، وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr) در هر یک از محیط‌ها (محیط: ترکیب شرایط- سال) اندازه‌گیری

و تعداد برگ در بوته دارای بیشترین ضریب تغییرات فنوتیپی و قطر ساقه دارای کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی بودند. وجود تنوع بالا در صفات مختلف توسط حسین‌زاده فشالمی و همکاران (۱۹) در بررسی ۳۶ رقم توتون تیپ شرقی نیز گزارش شده است. تنوع بالا کارایی بالای روش‌های به‌نژادی در بهبود این صفات و صفات مرتبط با آن‌ها را نوید می‌دهد.

یکی از عوامل موفقیت در برنامه‌های به‌نژادی و حصول پیشرفت ژنتیکی، تأثیرپذیری پایین صفت مورد گزینش از تغییرات محیطی است. بنا بر نظر استانسفیلد (۴۹) چنانچه توارث‌پذیری صفتی بیشتر از ۰/۵ باشد، صفت دارای توارث‌پذیری بالا، بین ۰/۲ تا ۰/۵ باشد، صفت دارای توارث‌پذیری متوسط و کمتر از ۰/۲ باشد، صفت توارث‌پذیری پایین دارد. طبق این نظریه در شرایط نرمال همه صفات به غیر از سطح برگ و وزن خشک ریشه توارث‌پذیری بالا داشتند. وراثت‌پذیری سطح برگ و وزن خشک ریشه متوسط بود. در شرایط تنش گل‌جالیز وراثت‌پذیری صفات تاریخ گلدهی، ارتفاع بوته، تعداد برگ و وزن تر ریشه بالا و وراثت‌پذیری سطح برگ، وزن خشک ریشه، وزن تر برگ، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ و وزن خشک برگ متوسط بود. بالاترین وراثت‌پذیری در شرایط نرمال (جدول ۲) در صفت تاریخ گلدهی و پایین‌ترین وراثت‌پذیری در صفت سطح برگ مشاهده شد. در شرایط تنش گل‌جالیز، بالاترین وراثت‌پذیری در تاریخ گلدهی و پایین‌ترین آن در صفت وزن خشک برگ مشاهده شد.

جانسون و همکاران (۲۴)، پیشنهاد کردند که تخمین وراثت‌پذیری همراه با پیشرفت ژنتیکی در پیشگویی انتخاب مفید می‌باشد. وراثت‌پذیری بالا همراه با پیشرفت ژنتیکی مطلوب صفات نشان‌دهنده مهم بودن اثرات افزایشی ژن‌ها در کنترل صفات و وراثت‌پذیری بالا همراه با پیشرفت ژنتیکی کم نشان‌دهنده اثرات غیر افزایشی ژن‌ها می‌باشد. بنابراین وراثت‌پذیری و پیشرفت ژنتیکی بالا برای صفات تاریخ گلدهی، ارتفاع بوته، وزن تر برگ، وزن خشک برگ، وزن تر ریشه و وزن تر اندام هوایی به جزء برگ در شرایط نرمال و برای صفات ارتفاع بوته و وزن تر ریشه در شرایط تنش گل‌جالیز (جدول ۳) احتمالاً بیانگر اهمیت ژن‌های با اثرات افزایشی به عنوان مهمترین جز کنترل‌کننده این صفات و تأثیر کمتر محیط بر این صفات در توتون می‌باشد و بنابراین می‌توان پاسخ به گزینش مطلوبی را برای این صفات پیش‌بینی نمود. در این صورت به‌نژادی صفات مذکور از طریق روش‌های گزینش فنوتیپی امکان‌پذیر خواهد بود. وراثت‌پذیری عملکرد در مقایسه با سایر صفات تا حدی پایین بود که بیانگر کنترل پیچیده صفت مذکور توسط عوامل ژنتیکی و تأثیر زیاد عوامل محیطی می‌باشد و بنابراین بهبود آن از طریق گزینش غیر مستقیم برای یک یا چند صفت موثر در عملکرد سودمند خواهد بود. در شرایط تنش گل‌جالیز میزان وراثت‌پذیری تمامی صفات به جز سطح برگ نسبت به شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) کاهش نشان دادند (جدول ۲ و ۳). در پژوهشی که توسط عید و همکاران (۷) انجام شد گزارش کردند برخی صفات که در شرایط نرمال وراثت‌پذیری

که در آن K دیفرانسیل گزینش استاندارد شده (۱/۷۶) برای ۱۰ درصد گزینش (۴)، h_b^2 وراثت‌پذیری عمومی صفات، δ_p^2 واریانس فنوتیپی و $\bar{x}$ میانگین صفت در کل جمعیت است. همبستگی صفات در هر یک از شرایط به روش بیشینه‌درستمایی محدود شده^۱ در نرم‌افزار SAS محاسبه شد (۱۷). گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مورد بررسی در هر یک از شرایط پس از استاندارد کردن داده‌ها با استفاده از الگوریتم Ward در نرم‌افزار SPSS^۲ نسخه ۲۱ انجام گرفت. تجزیه تابع تشخیص^۳ و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی^۴ در نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس و آماره‌های توصیفی صفات

آماره‌های توصیفی مربوط به صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو در جداول ۲ و ۳ آورده شده است. به طور کلی تنوع قابل ملاحظه‌ای برای کلیه صفات اندازه‌گیری شده در ژنوتیپ‌های مورد بررسی در هر یک از شرایط مشاهده شد. هم در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) و هم در شرایط تنش گل‌جالیز، بیشترین واریانس فنوتیپی در صفت شاخص سطح برگ مشاهده شد. بیشترین مقدار واریانس ژنتیکی به ترتیب در صفات شاخص سطح برگ، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ و وزن تر برگ مشاهده شد. واریانس فنوتیپی برآورد شده در همه صفات اختلاف زیادی با واریانس ژنوتیپی داشت که این مطلب تأثیر محیط بر صفات را نشان می‌دهد. بررسی ضرایب تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار ضرایب تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی به ترتیب مربوط به وزن خشک برگ‌های بوته و تاریخ گلدهی می‌باشد (جدول ۲ و ۳). با توجه به اینکه وزن خشک برگ به عنوان عملکرد گیاه توتون محسوب می‌شود و سایر صفات مورفولوژیکی با آن رابطه دارند لذا وجود تنوع از لحاظ این صفت حائز اهمیت بوده و می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرد. درصد ضریب تغییرات اندک برای صفت تاریخ گلدهی دلالت بر یکنواختی ژنتیکی در بین ژنوتیپ‌های توتون برای این صفت می‌کند. مقدار ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی در اکثر صفات به هم نزدیک بودند که این امر نشان‌دهنده این است که تنوع بین ژنوتیپ‌ها بیشتر ناشی از اثرات ژنتیکی می‌باشد. هرچقدر اختلاف ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی بیشتر باشد تأثیر محیط بر آن صفت بیشتر است (۲۵). نتایج محاسبه پیشرفت ژنتیکی نشان داد که در کلیه صفات با انجام گزینش می‌توان باعث بهبود صفات در نسل بعد گردید با این حال بیشترین مقدار پیشرفت ژنتیکی هم در شرایط نرمال و هم در شرایط تنش گل‌جالیز برای صفات شاخص سطح برگ، وزن تر اندام هوایی گیاه، ارتفاع بوته و وزن تر برگ مشاهده شد (جدول ۲ و ۳). میزان پیشرفت ژنتیکی برای تمامی صفات مورد بررسی در شرایط تنش گل‌جالیز نسبت به شرایط نرمال کمتر بود.

حاتمی ملکی و همکاران (۱۵) با بررسی ۱۰۰ ژنوتیپ توتون شرقی گزارش دادند که وزن تر برگ، وزن خشک برگ

1- Restricted (or residual, or reduced) maximum likelihood (REML)
3- Discriminant function analysis (DFA)

2- Statistical package for the social sciences
4- Principal component analysis (PCA)

تجزیه واریانس در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) و تنش گل‌جالیز نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد (جدول ۴ و ۵) که این امر حاکی از تنوع ژنتیکی بالا بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی بوده که به طور بالقوه می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی برای مقاومت به گل‌جالیز مورد استفاده قرار گیرد.

و بازده ژنتیکی مطلوبی داشتند در شرایط تنش میزان بازده ژنتیکی آنها کاهش یافت که ممکن است این صفات دارای مجموعه آلل‌های متفاوت در مکان‌های ژنی مختلف باشند که در پاسخ به تنش و بسته به شرایط محیطی فعال می‌شوند. در مطالعه ایشان کاهش وراثت‌پذیری به عنوان نتیجه‌ای از تنش خشکی بیان شد. حسین‌زاده فشالمی و همکاران (۱۸)، با بررسی ۵۶ ژنوتیپ توتون هوا خشک گزارش دادند که ارتفاع گیاه دارای بیشترین وراثت‌پذیری (۸۹ درصد) و درصد پروتئین (۱۱ درصد) دارای کمترین مقدار وراثت‌پذیری بودند.

جدول ۲- آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز)
Table 2. Descriptive statistics for studied traits in oriental and water pipe's tobacco genotypes under normal (without Orobanche stress) conditions

صفات	میانگین	فوتیپی	ژنوتیپی	واریانس	محیطی	وراثت‌پذیری عمومی	ضریب تغییرات (%)	پیشرفت ژنتیکی
FD	۶۰/۹۸	۷۱/۴۰	۶۲/۷۱	۴/۸۹	۰/۸۸	۱۳/۸۶	۱۲/۹۹	۱۳/۰۹
PH	۶۴/۲۳	۴۱۰/۳۳	۳۳۴/۴۶	۸۶/۴۹	۰/۸۲	۳۱/۵۴	۲۸/۴۸	۲۹/۲۳
NL	۲۲/۶۵	۶۲/۱۳	۴۳/۹۰	۲۴/۴۸	۰/۷۱	۳۴/۸۰	۲۹/۲۵	۹/۸۵
LAI	۱۸۱۹/۱۳	۱۵۹۳۷۴۴/۰۸	۷۳۱۵۶۰/۷۰	۱۰۴۱۶۱۰/۷۹	۰/۴۶	۶۹/۴۰	۴۷/۰۲	۱۰۲۲/۰۷
FWL	۵۲/۸۶	۱۷۳۸	۱۰۷۹/۷۰	۷۶۳/۰۹	۰/۶۲	۷۲/۰۵	۵۶/۷۹	۴۵/۴۹
DLYP	۱۴/۲۸	۱۲۷/۵۲	۷۵/۶۸	۳۹/۷۵	۰/۵۹	۷۸/۵۳	۶۰/۴۹	۱۱/۷۳
FWR	۲۹/۹۲	۱۹۵/۶۴	۱۲۵/۹۲	۸۳/۳۴	۰/۶۴	۴۶/۷۵	۳۷/۵۰	۱۵/۷۶
DWR	۹/۸۲	۳۵/۱۸	۱۶/۶۱	۱۸/۰۳	۰/۴۷	۶۰/۴۰	۴۱/۵۰	۴/۹۱
APFW	۷۰/۹۰	۱۶۵۰/۹۰	۹۴۴/۲۹	۹۰۷/۷۳	۰/۵۷	۵۷/۳۱	۵۷/۳۱	۴۰/۷۶
APDW	۱۷/۶۰	۹۰/۶۳	۵۲/۱۴	۴۵/۴۹	۰/۵۸	۵۴/۰۹	۴۱/۰۳	۹/۷۲

تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک ریشه (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr)، وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr).

جدول ۳- آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت تنش گل‌جالیز
Table 3. Descriptive statistics for studied traits in oriental and water pipe's tobacco genotypes under Orobanche stress conditions

صفات	میانگین	فوتیپی	ژنوتیپی	واریانس	محیطی	وراثت‌پذیری عمومی	ضریب تغییرات (%)	پیشرفت ژنتیکی
FD	۵۸/۲۸	۴۸/۵۲	۳۹/۳۶	۶/۴۳	۰/۸۱	۱۱/۹۵	۱۰/۷۶	۹/۹۳
PH	۴۷	۳۵۳/۰۱	۲۲۱/۰۳	۱۲۲/۵۲	۰/۶۳	۳۹/۹۸	۳۱/۶۳	۲۰/۸۳
NL	۲۱/۰۹	۵۴/۳۷	۳۶/۹۴	۱۹/۲۱	۰/۶۸	۳۴/۹۶	۲۸/۸۲	۸/۸۲
LAI	۱۹۸۶/۷۲	۹۲۰۵۷۷	۴۳۹۰۸۴/۱۰	۵۶۱۶۸۲/۵۰	۰/۴۸	۴۸/۲۹	۳۳/۳۵	۸۱۰/۵۶
FWL	۵۱/۶۹	۹۴۰/۲۷	۲۸۴/۵۷	۴۵۶/۹۷	۰/۳۰	۵۹/۳۲	۶۴/۳۲	۱۶/۱۹
DLYP	۱۱/۶۶	۹۵/۵۴	۲۶/۷۳	۳۶/۷۹	۰/۲۸	۸۳/۸۳	۴۴/۳۴	۴/۸۲
FWR	۲۴/۱۶	۱۳۶/۳۵	۷۵/۶۴	۶۴/۳۵	۰/۵۵	۴۸/۳۳	۳۶	۱۱/۳۰
DWR	۷/۵۰	۲۱/۸۶	۷/۳۶	۱۴/۶۴	۰/۳۴	۶۲/۳۴	۳۶/۱۶	۲/۸۰
APFW	۶۹/۱۲	۸۸۱/۱۷	۳۹۴/۲۸	۳۹۱/۸۰	۰/۴۵	۴۲/۹۵	۲۸/۷۳	۲۳/۵۱
APDW	۱۲/۷۰	۷۰/۳۲	۲۵/۹۸	۳۶/۳۰	۰/۳۷	۶۶/۰۳	۴۰/۱۳	۵/۴۶

تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک ریشه (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr)، وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr).

جدول ۴- میانگین مربعات صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز)
Table 4. Mean squares of studied traits in oriental and water pipe's tobacco genotypes under normal (without Orobanche stress) conditions

منابع تغییرات	درجه آزادی	FD	PH	NL	LAI	FWL	DLYP	FWR	DWR	APFW	APDW
سال	۱	۳۷/۱۷*	۷۲/۴۵	۱۰/۴۵	۴۴۴۳۲/۲۰	۱۵۰/۳۱	۵۹۰/۴۸**	۵۲۳/۹۱*	۱۰۵/۰۳*	۱۳۷/۲۴	۶۱/۰۶
اشتباه ۱	۲	۵/۲۳	۳۹/۵۶	۴/۲۶	۴۴۵۳۹۰/۹۰	۸۸۱/۱۴	۸/۷۷	۴۸/۲۵	۱۴/۳۶	۱۵۰/۲۷	۴۰/۸۹
ژنوتیپ	۹۱	۳۶۵/۶۴**	۱۴۰۳/۰۹**	۱۸۷/۲۳**	۳۶۲۱۶۶۰/۵۰**	۴۸۷۲/۳۳**	۳۶۶/۶۳**	۵۵۹/۷۷**	۸۶/۵۴**	۴۲۸۲/۶۴**	۳۴۷/۲۴**
ژنوتیپ × سال	۹۱	۱۲/۴۸**	۶۵/۲۵	۱۲/۰۷	۶۸۲۶۴۰/۲۰	۵۵۳/۵۲	۶۳/۹۳**	۵۶/۱۰	۱۹/۲۶	۵۰۵/۴۸	۳۴/۵۲
اشتباه ۲	۱۸۲	۴/۸۷	۸۶/۴۹	۲۴/۶۴	۱۰۳۶۰۴۴/۳۰	۷۶۳/۰۹	۳۹/۷۵	۸۳/۲۴	۱۸/۷۸	۹۰۷/۷۳	۵۵/۳۲

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد. تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک ریشه (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr)، وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr).

جدول ۵- میانگین مربعات صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت تنش گل‌جالیز
Table 5. Mean squares of studied traits in oriental and water pipe's tobacco genotypes under Orobanche stress conditions

میانگین مربعات										منابع تغییرات	درجه آزادی
APDW	APFW	DWR	FWR	DLYP	FWL	LAI	NL	PH	FD		
۷۸۷/۳۸**	۶۵۸۵/۷۵**	۱۱۹/۷۲**	۶۱۹/۱۶**	۱۷۷۷/۴۱**	۱۶۳۶۳/۱۰**	۶۳۱۶۰/۶۱**	۱۹۰/۹۳**	۱۸۸۶/۶۰**	۴۷/۲۰**	۱	سال
۱۰/۶۴	۳۸۲/۷۹	۲۲/۹۶	۳۴/۶۸	۷/۷۵	۲۸۴/۷۲	۴۳۳۴۲/۱۴۰	۱۳/۷۴	۱۹۹/۶۲	۲/۵۲	۴	اشتباه ۱
۲۱۶/۳۶**	۳۰۴۲/۷۶**	۵۸/۳۷**	۵۰۷/۲۴**	۲۹۳/۲۵**	۲۷۶۰/۵۵**	۲۹۵۵۶۱۸/۳۰**	۲۳۵/۵۱**	۱۴۷۷/۰۷**	۲۵۰/۷۶**	۹۱	ژنوتیپ
۷۱/۴۰**	۸۰۰/۲۰**	۱۶/۸۳	۶۳/۱۳	۱۵۹/۱۰**	۱۲۶۱/۰۱**	۳۸۴۴۹۱/۱۰	۱۶/۵۸	۱۸۰/۶۹*	۱۷/۵۲**	۷۶	ژنوتیپ × سال
۳۶/۳۰	۳۹۱/۸۰	۱۴/۶۴	۶۴/۳۵	۳۶/۷۹	۴۵۶/۹۷	۵۶۱۶۸۲/۵۰	۱۹/۲۱	۱۲۲/۵۲	۶/۴۳	۳۳۴	اشتباه ۲

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد. تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک ریشه (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr)، وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr).

و معنی‌دار را با عملکرد توتون داشتند (جدول ۶ و ۷). سطح برگ عامل موثر در جذب نور و انرژی در گیاه می‌باشد. با افزایش سطح برگ میزان دریافت تشعشع خورشیدی نیز بیشتر می‌شود. بدین سبب افزایش در سطح برگ موجب افزایش سطح فتوسنتزی گیاه و افزایش وزن تر (0.59^{**}) و به تبع آن عملکرد برگ خشک می‌گردد (۴۵). در توافق با این گزارش در پژوهش ما نیز سطح برگ همبستگی مثبت با وزن تر برگ نشان داد اما برخلاف این گزارش همبستگی معنی‌داری بین صفت سطح برگ و عملکرد وزن خشک برگ مشاهده نشد. بر اساس جمع بندی نتایج، در هر دو شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز انتظار می‌رود با افزایش وزن تر بوته و وزن تر برگ عملکرد برگ خشک توتون افزایش یابد. لذا می‌توان از این صفات به‌عنوان صفات مطلوب در جهت گزینش ژنوتیپ‌های پرمحصول توتون استفاده نمود. تورسیلا و همکاران (۵۰) بین عملکرد برگ با صفات طول برگ و ارتفاع بوته همبستگی مثبت و معنی‌دار گزارش نمودند. جیائو و همکاران (۲۱) در توتون‌های گرمخانه‌ای بین ارتفاع گیاه و عملکرد برگ همبستگی مثبتی را گزارش نمودند.

تجزیه همبستگی

در برنامه‌های به‌نژادی، موقع گزینش ژنوتیپ‌های برتر توجه به همبستگی صفات مهم و ضروری است (۳۲). وجود همبستگی به پژوهشگر این امکان را می‌دهد که بتواند به‌طور غیر مستقیم نسبت به به‌نژادی صفات پیچیده اقدام نماید. بنابراین از همبستگی برای دستیابی به اطلاعات در مورد رابطه بین صفات و ارتباط آن‌ها با عملکرد استفاده شد. نتایج محاسبه همبستگی ژنتیکی بین صفات در شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز نشان داد که عملکرد برگ خشک همبستگی مثبت و معنی‌داری با تمامی صفات مورد مطالعه به جز سطح برگ دارد (جدول ۶ و ۷). لذا هر گونه گزینش در جهت بهبود اجزای عملکرد باعث افزایش عملکرد توتون می‌گردد. صفت سطح برگ در شرایط نرمال با صفات وزن تر برگ و وزن تر اندام هوایی و در شرایط تنش گل‌جالیز علاوه بر این دو صفت با صفت وزن خشک ریشه همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد. از بین صفات مورد مطالعه، در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) صفات وزن تر بوته (0.63^{**}) و وزن تر برگ (0.82^{**}) و در شرایط تنش گل‌جالیز صفات وزن تر بوته (0.60^{**}) و وزن تر برگ (0.81^{**}) بیشترین همبستگی مثبت

جدول ۶- همبستگی ژنوتیپی بین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز)
Table 6. Genotypic correlation among studied traits in oriental and water pipe's tobacco genotypes under normal (without Orobanche stress) conditions

APDW	APFW	DWR	FWR	DLYP	FWL	LAI	NL	PH	FD	صفات
									۱	FD
								۱	0.56^{**}	PH
							۱	0.68^{**}	0.43^{**}	NL
						۱	0.01	0.01	0.01	LAI
					۱	0.55^{**}	0.51^{**}	0.40^{**}	0.29^{**}	FWL
				۱	0.81^{**}	0.01	0.49^{**}	0.33^{**}	0.26^*	DLYP
			۱	0.55^{**}	0.63^{**}	0.01	0.61^{**}	0.56^{**}	0.33^{**}	FWR
		۱	0.78^{**}	0.49^{**}	0.50^{**}	0.01	0.52^{**}	0.49^{**}	0.30^{**}	DWR
	۱	0.56^{**}	0.69^{**}	0.63^{**}	0.70^{**}	0.51^{**}	0.62^{**}	0.56^{**}	0.25^*	APFW
۱	0.87^{**}	0.51^{**}	0.61^{**}	0.61^{**}	0.63^{**}	0.01	0.65^{**}	0.54^{**}	0.26^*	APDW

همبستگی‌های بزرگتر از 0.21 و 0.27 به ترتیب در سطوح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار می‌باشند. تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک ریشه (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr) و وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr).

جدول ۷- همبستگی ژنوتیپی بین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت تنش گل‌جالیز
Table 7. Genotypic correlation among studied traits in oriental and water pipe's tobacco genotypes under Orobanche stress conditions

APDW	APFW	DWR	FWR	DLYP	FWL	LAI	NL	PH	FD	صفات
									۱	FD
								۱	۰/۴۸**	PH
							۱	۰/۷۶**	۰/۵۱**	NL
						۱	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۰۱	LAI
					۱	۰/۵۸**	۰/۵۶**	۰/۴۵**	۰/۳۳**	FWL
				۱	۰/۸۱**	۰/۰۲	۰/۴۴**	۰/۳۰**	۰/۲۵*	DLYP
			۱	۰/۴۰**	۰/۵۲**	۰/۰۲	۰/۴۸**	۰/۴۹**	۰/۲۱*	FWR
		۱	۰/۶۳**	۰/۳۲**	۰/۴۳**	۰/۳۶**	۰/۳۷**	۰/۴۱**	۰/۲۲*	DWR
	۱	۰/۵۲**	۰/۶۱**	۰/۶۰**	۰/۷۱**	۰/۵۵**	۰/۶۵**	۰/۶۰**	۰/۲۷**	APFW
۱	۰/۷۹**	۰/۴۵**	۰/۵۰**	۰/۵۵**	۰/۶۰**	۰/۰۲	۰/۵۸**	۰/۴۹**	۰/۲۴*	APDW

همبستگی‌های بزرگتر از ۰/۲۱ و ۰/۲۷ به ترتیب در سطوح احتمال پنج و یک درصد معنی‌دار می‌باشند. تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک ریشه (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr) و وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr).

تجزیه خوشه‌ای

ارزش بیشتر این خوشه از نظر صفات مهم نظیر تعداد برگ، عملکرد وزن خشک و تر برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه، برای کشت در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) مناسب هستند.

در شرایط تنش گل‌جالیز خوشه اول و دوم به ترتیب با ۳۲ و ۱۵ ژنوتیپ از نظر میانگین کلیه صفات بالاتر از میانگین کل بودند (جدول ۸ و ۹). خوشه سوم و چهارم به ترتیب با ۲۵ و ۲۰ ژنوتیپ، برای کلیه صفات میانگین پایین‌تر از میانگین کل داشتند.

در بین چهار خوشه، خوشه دوم از نظر کلیه صفات به غیر از صفات ارتفاع بوته، تاریخ گلدهی و تعداد برگ برتر از سه خوشه دیگر بود و خوشه اول از نظر صفات ارتفاع بوته، تاریخ گلدهی و تعداد برگ از سه خوشه دیگر برتر بود و از نظر سایر صفات بررسی شده بعد از خوشه دوم قرار داشت (جدول ۸ و ۹). بنابراین، ژنوتیپ‌های خوشه دوم، بوته‌های کوتاه‌تر، دیررس‌تر و با تعداد برگ کمتر اما در عین حال دارای عملکرد وزن خشک و تر برگ، سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه بیشتری نسبت به خوشه اول می‌باشند.

ژنوتیپ‌های خوشه دوم با توجه به ارزش بیشتر این خوشه از نظر صفات مهم نظیر عملکرد وزن خشک و تر برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی، شاخص سطح برگ، وزن تر و خشک ریشه، در برنامه‌های به نژادی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار خواهند بود.

حاتمی ملکی و همکاران (۱۵)، ۱۰۰ ژنوتیپ توتون شرقی موجود در بانک ژن مرکز تحقیقات توتون ارومیه را با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش متوسط گروه‌ها به ۴ گروه طبقه‌بندی نمودند. در پژوهشی مشابه حسین‌زاده فشالمی و همکاران (۱۸)، ۵۶ ژنوتیپ توتون هواخشک را با انجام تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش حداقل واریانس وارد، به ۵ گروه به ترتیب با ۲۱، ۱۲، ۱۰، ۲ و ۱۱ ژنوتیپ طبقه‌بندی نمودند.

برای استفاده بهینه از پروژدهای دورگ‌گیری در اصلاح نباتات باید والدین را با توجه به صفات مورد نظر در فاصله مناسبی از هم انتخاب نمود، در همین راستا برن و همکاران (۳) اظهار داشتند که هر چه فاصله والدین بیشتر باشد شانس بدست آوردن تنوع افزایش می‌یابد. بررسی تنوع بین

ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو بر اساس صفات مورد مطالعه تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) و تنش گل‌جالیز با الگوریتم WARD گروه‌بندی شدند (شکل‌های ۱ و ۲). برای تعیین محل برش دندروگرام، تجزیه‌ی تابع تشخیص انجام شد. بر اساس نتایج این تجزیه و همچنین به لحاظ فواصل ادغام، بهترین محل برش دندروگرام در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) در فاصله ۵ و در شرایط تنش گل‌جالیز در فاصله‌ی ۴ تعیین گردید و بدین ترتیب در هر دو شرایط مورد بررسی چهار گروه حاصل شد. در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) خوشه‌های اول تا چهارم به ترتیب شامل ۸، ۲۰، ۴۱ و ۲۳ ژنوتیپ بودند. در شرایط تنش گل‌جالیز خوشه اول شامل ۳۲ ژنوتیپ، خوشه دوم شامل ۱۵ ژنوتیپ، خوشه سوم شامل ۲۵ ژنوتیپ و خوشه چهارم شامل ۲۰ ژنوتیپ بود (جدول ۸). برای مشخص کردن اهمیت گروه‌ها از نظر صفات مورد بررسی، میانگین خوشه‌ها و انحراف استاندارد برای هر کدام از صفات برآورد گردید (جدول ۹). این انحرافات تا حدودی می‌تواند نشان دهنده وجود تنوع در بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه باشد. از آنجایی که ژنوتیپ‌های موجود در هر یک از گروه‌ها دارای قرابت ژنتیکی بیشتری نسبت به ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های متفاوت هستند، بنابراین در صورت نیاز به دورگ‌گیری و بهره‌وری بیشتر از پدیده‌هایی همچون هتروزیس و تفکیک متجاوز، می‌توان با توجه به ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های مختلف و ارزش میانگین صفات برای هر گروه اقدام به انتخاب نمود.

در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) خوشه سوم با ۴۱ ژنوتیپ از نظر میانگین کلیه صفات بالاتر از میانگین کل بود. خوشه اول و چهارم به ترتیب با ۸ و ۲۳ ژنوتیپ برای کلیه صفات میانگین پایین‌تر از میانگین کل داشتند. خوشه دوم با ۲۰ ژنوتیپ، از نظر صفت تاریخ گلدهی برتر از سه خوشه دیگر بود و از نظر سایر صفات بررسی شده بعد از خوشه سوم قرار داشت (جدول ۸ و ۹). بنابراین، ژنوتیپ‌های خوشه سوم، بوته‌های پابلند، دیررس‌تر و در عین حال دارای عملکرد وزن تر و خشک برگ، تعداد برگ، سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و وزن تر و خشک ریشه بیشتری نسبت به سه خوشه دیگر می‌باشند. ژنوتیپ‌های خوشه سوم با توجه به

در شرایط تنش گل‌جالیز (شکل ۲ و جدول ۸) ژنوتیپ‌های موجود در خوشه ۲ با ژنوتیپ‌های موجود در خوشه ۴ بیشترین فاصله ژنتیکی و یا کمترین قرابت ژنتیکی و با ژنوتیپ‌های موجود در خوشه ۱ کمترین فاصله ژنتیکی را دارند. بنابراین، با توجه به هدف، در برنامه‌های دورگ‌گیری می‌توان ژنوتیپ‌های خوشه‌های ۲ و ۴ را به منزله والدین که نسبت به تنش گل‌جالیز به ترتیب مقاوم و حساس می‌باشند، برای حصول بیشترین تنوع ژنتیکی انتخاب کرد و به نظر می‌رسد با توجه به فاصله ژنتیکی بیشتر بین آن‌ها، با انجام تلاقی هتروزیس بیشتری برای صفات می‌توان مشاهده نمود. بنابراین می‌توان از آن‌ها به منزله مواد اولیه برای اصلاح ارقام جدید استفاده کرد (شکل ۲ و جدول ۸).

ژنوتیپ‌های مختلف بر اساس صفات زراعی اهمیت ویژه‌ای دارد. در بررسی تنوع به طور معمول از تجزیه و تحلیل‌های چند متغیره به منظور توصیف و ارزیابی مواد ژنتیکی جهت بهره‌گیری بهینه و مطالعه روابط داخلی صفات استفاده می‌شود (۲۳).

با توجه نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای و رتبه‌بندی خوشه‌های حاصل براساس میانگین صفات مورد بررسی در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) (شکل ۱ و جدول ۸)، ژنوتیپ‌های موجود در خوشه ۳ با ژنوتیپ‌های موجود در خوشه ۱ بیشترین فاصله ژنتیکی و یا کمترین قرابت ژنتیکی و با ژنوتیپ‌های موجود در خوشه ۲ کمترین فاصله ژنتیکی را دارند.

جدول ۸- رتبه بندی گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای بر اساس میانگین صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) و تنش گل‌جالیز

Table 8. Ranking the groups identified by cluster analysis based on the mean of studied traits in oriental and water pipe's tobacco genotypes under normal (without Orobanche stress) and Orobanche stress conditions

شرایط	شماره خوشه	تعداد ژنوتیپ	FD	PH	NL	LAI	FWL	DLYP	FWR	DWR	APFW	APDW
نرمال	۱	۸	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴
(بدون تنش گل‌جالیز)	۲	۲۰	۱	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
	۳	۴۱	۲	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
	۴	۲۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳
تنش گل‌جالیز	۱	۳۲	۱	۱	۱	۲	۲	۲	۲	۲	۲	۲
	۲	۱۵	۲	۲	۲	۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
	۳	۲۵	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳	۳
	۴	۲۰	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴	۴

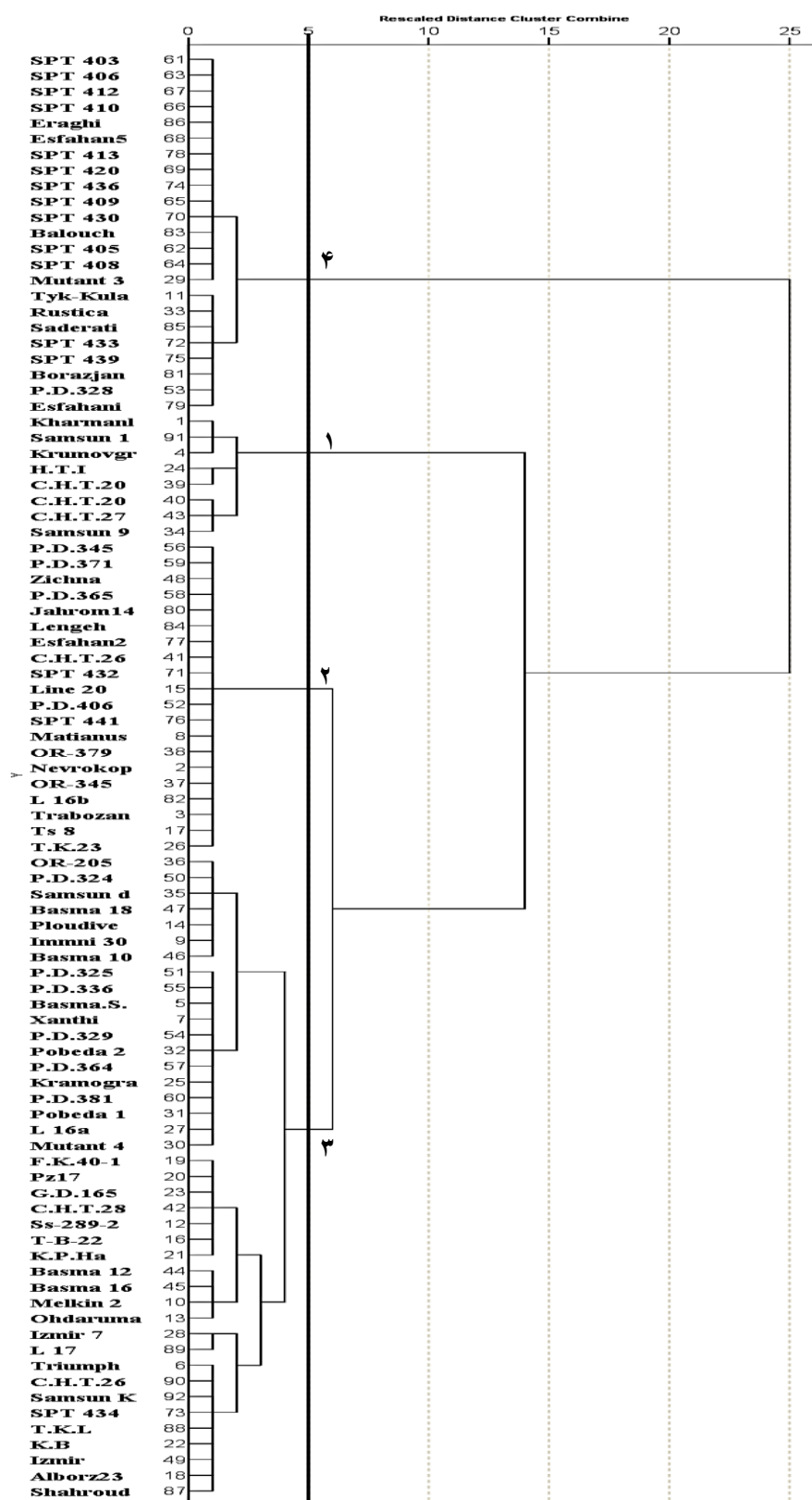
تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک ریشه (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr)، وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr).

جدول ۹- میانگین و انحراف استاندارد گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) و تنش گل‌جالیز بر اساس صفات مورد بررسی.

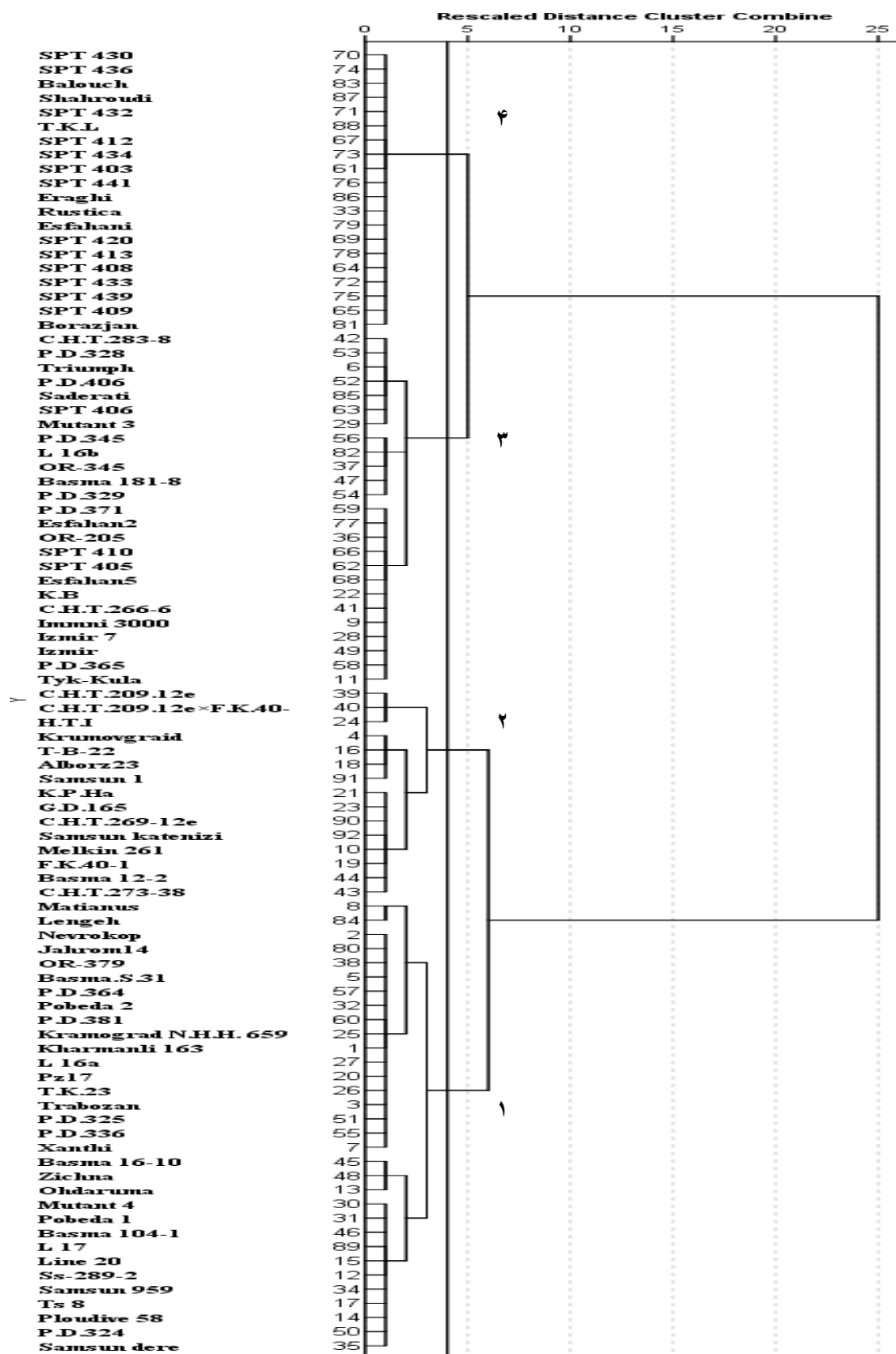
Table 9. Mean and standard deviation of groups resulted from cluster analysis of oriental and water pipe's tobacco genotypes under normal (without Orobanche stress) and Orobanche stress conditions based on the studied traits

شرایط	خوشه	FD	PH	NL	LAI	FWL	DLYP	FWR	DWR	APFW	APDW
نرمال (بدون تنش گل‌چالیز)	۱	۶۶/۶۳ ± ۲/۶۶	۸۳/۲۵ ± ۵/۱۱	۳۲/۶۳ ± ۱/۶۲	۳۱۱۶/۸۴ ± ۳۴۵/۳۴	± ۱۲/۷۶ ۱۲۵/۳۶	۳۴/۲۱ ± ۳/۵۹	۴۸/۱۳ ± ۲/۷۴	۱۷/۸۷ ± ۱/۵۰	۱۳۶/۵۸ ± ۲/۶۶	۳۳/۷۱ ± ۲/۶۶
	۲	± ۱/۱۲ ۶۴/۰۱	۶۶/۳۶ ± ۲/۶۱	۲۱/۶۹ ± ۰/۸۲	۱۴۰/۴۸ ± ۹۷/۹۱	۴۰/۵۵ ± ۳/۳۱	۹/۵۷ ± ۰/۶۶	۲۷/۲۴ ± ۱/۴۸	۸/۷۲ ± ۰/۴۷	۵۳/۴۶ ± ۲/۰۸	۱۴/۱۸ ± ۰/۷۴
	۳	۶۲/۹۶ ± ۱/۱۵	۷۱/۵۶ ± ۲/۴۴	۲۵/۷۳ ± ۰/۶۹	۲۲۲۲/۲۶ ± ۱۲۶/۵۷	۶۹/۷۰ ± ۴/۰۶	۱۷/۳۰ ± ۱/۰۷	۳۴/۹۰ ± ۱/۴۲	۱۱/۲۱ ± ۰/۵۷	۵۸/۰۰ ± ۲/۹۵	۲۰/۴۸ ± ۰/۷۱
	۴	۵۲/۸۵ ± ۱/۳۱	۴۲/۶۹ ± ۲/۱۰	۱۴/۵۱ ± ۰/۸۴	۱۰۰۹/۲۳ ± ۱۸/۸۴	۲۷/۹۲ ± ۲/۰۴	۶/۴۵ ± ۰/۵۷	۱۷/۰۴ ± ۱/۰۲	۵/۵۱ ± ۰/۶۰	۳۸/۲۱ ± ۲/۷۴	۹/۸۶ ± ۰/۵۷
کل	۶۰/۹۸ ± ۰/۸۵	۶۴/۲۳ ± ۱/۹۵	۲۲/۶۵ ± ۰/۷۱	۱۸۱۹/۱۰ ± ۹۹/۲۰	۵۷/۷۶ ± ۳/۶۵	۱۴/۳۸ ± ۱/۰۰	۲۹/۹۲ ± ۱/۲۳	۹/۸۲ ± ۰/۴۹	۷۰/۹۳ ± ۳/۴۱	۱۷/۶۱ ± ۰/۸۲	
تنش گل‌چالیز	۱	۶۵/۴۱	۷۱/۳۴	۲۵/۷۹	۱۶۱۶/۲۳	± ۵۲/۷۱ ± ۱۵/۳۲	± ۵/۱۰ ۱۲/۲۶	± ۶/۲۶ ۲۷/۶۰	± ۹/۰۶ ± ۲/۷۷	± ۱۲/۵۱ ۶۰/۵۳	± ۳/۴۶ ۱۵/۰۲
	۲	± ۴/۲۶ ۶۲/۸۸	± ۵/۳۵ ۲۵/۲۸	± ۴/۲۸ ۲۵/۲۸	± ۸۴۰/۹۸ ۲۴۱۱/۶۳	± ۷۶/۷۳ ± ۱۸/۵۵	± ۷/۴۲ ۲۲/۵۶	± ۶/۲۸ ۳۳/۵۷	± ۲/۳۵ ۱۰/۷۴	± ۲۵/۰۷ ۷۹/۸۲	± ۷/۶۲ ۲۰/۵۰
	۳	± ۵۸/۲۸	± ۵۴/۱۳	± ۱۹/۳۹	± ۳۵۷/۵۴ ۱۱۴۹/۶۱	± ۹۸/۳۶ ± ۱۰/۷۳	± ۳/۵۵ ۹/۳۷	± ۶/۸۹ ۲۴/۰۳	± ۱/۶۵ ۶/۴۴	± ۱۱/۴۴ ۴۰/۳۸	± ۲/۷۱ ۱۰/۰۶
	۴	± ۵۶/۰۲	± ۳۶/۹۷	± ۱۲/۵۵	± ۷۰۹/۱۲ ± ۳۵۴/۰۸	± ۲۳/۱۸ ± ۸/۳۶	± ۱/۶۵ ۵/۴۰	± ۴/۹۳ ۱۱/۷۴	± ۰/۹۱ ۳/۸۹	± ۲۵/۹۹ ± ۷/۰۳	± ۴/۴۳ ± ۱/۵۳
کل	۶۱/۰۲	۵۶/۹۳	۲۱/۰۹	۱۴۲۱/۹۲	۴۵/۹۳ ± ۲۲/۰۵	± ۷/۱۴ ۱۱/۶۶	± ۹/۴۷ ۲۴/۱۶	± ۷/۵۰ ± ۳/۱۸	± ۲۳/۰۷ ۵۰/۶۹	± ۶/۱۶ ۱۲/۷۰	

تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک ریشه (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr)، وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr).



شکل ۱- دندوگرام حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل جالیز) با استفاده از روش وارد
Figure 1. Dendrogram of grouping oriental and water pipe's tobacco genotypes under normal (without Orobanche stress) conditions using Ward's method

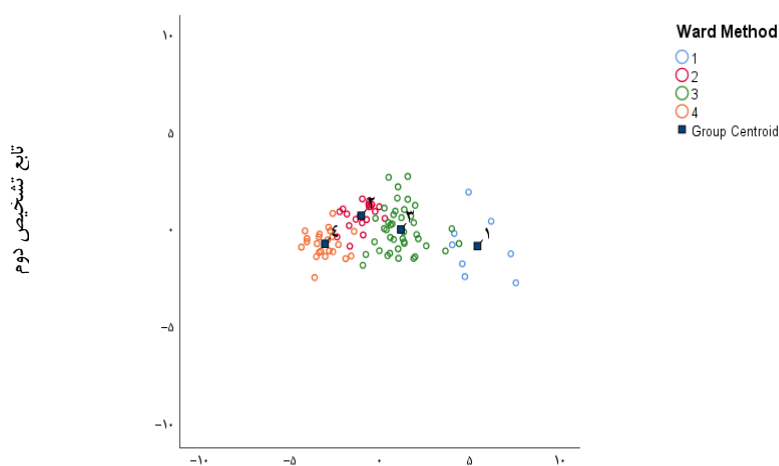


شکل ۲- دندوگرام حاصل از گروه‌بندی ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت تنش گل‌جالبز با استفاده از روش وارد
Figure 2. Dendrogram of grouping oriental and water pipe's tobacco genotypes under Orobanche stress conditions using Ward's method

تجزیه تابع تشخیص

داشته است (شکل ۳ و ۴). همان‌طور که مشاهده می‌گردد، در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) کمترین فاصله بین گروه‌های ۳ و ۲ مشاهده گردید (شکل ۳). همچنین ژنوتیپ‌های گروه اول از نظر متغیر کانونیکی اول و ژنوتیپ‌های گروه دوم از نظر متغیر کانونیکی دوم، بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند (شکل ۳). در شرایط تنش گل‌جالیز کمترین فاصله بین گروه‌های ۱ و ۳ مشاهده گردید (شکل ۴). همچنین ژنوتیپ‌های گروه دوم هم از نظر متغیر کانونیکی اول و هم از نظر متغیر کانونیکی دوم، بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند (شکل ۴).

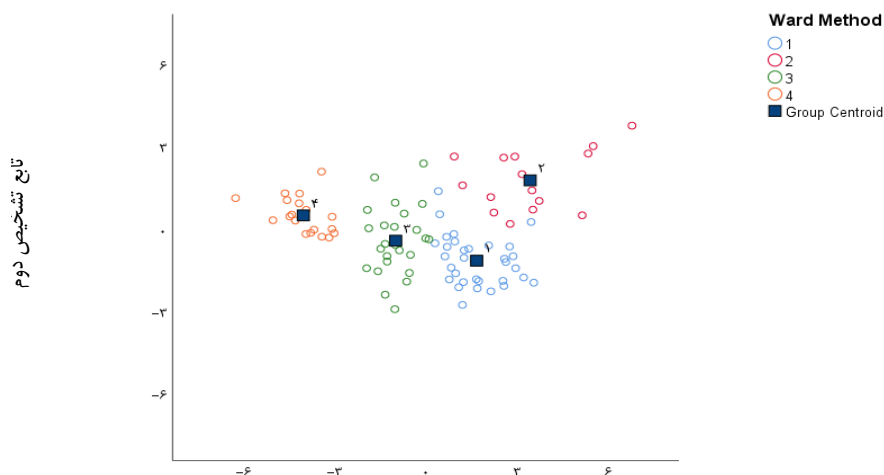
تابع تشخیص به بررسی نحوه تفکیک دو یا چند گروه از افراد از نظر اندازه‌گیری‌های انجام شده روی چند متغیر، می‌پردازد. هدف از این تجزیه، تشخیص افراد متعلق به دو یا چند جمعیت جمعیت متفاوت است که دارای مقداری تداخل هستند (۳۱). تجزیه تابع تشخیص برای آزمون درستی گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای توسط پژوهش‌گران نیز استفاده شده است (۲۰، ۳۴). بنا به نتایج تجزیه تابع تشخیص در شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) و تنش گل‌جالیز، این تابع در گروه‌بندی یا تشخیص بین گروه‌ها موفقیت زیادی



تابع تشخیص اول

شکل ۳- گروه‌بندی حاصل از تجزیه تابع تشخیص ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) با استفاده از صفات آگرومورفولوژیک

Figure 3. The results from discriminant function analysis for oriental and water pipe's tobacco genotypes under normal (without Orobanch stress) condition using agro-morphological traits



تابع تشخیص اول

شکل ۴- گروه‌بندی حاصل از تجزیه تابع تشخیص ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت تنش گل‌جالیز با استفاده از صفات آگرومورفولوژیک

Figure 4. The results from discriminant function analysis for oriental and water pipe's tobacco genotypes under Orobanch stress conditions using agro-morphological traits

تجزیه به مولفه‌های اصلی

هدف از تجزیه به مولفه‌های اصلی کاهش حجم داده‌هاست. در تجزیه به مولفه‌های اصلی، رابطه همبستگی بین تعداد زیادی متغیر وابسته به وسیله چند مولفه مستقل بیان شده و نقش هر یک از صفات در تنوع موجود مشخص می‌شود (۳۵). در تجزیه به مولفه‌های اصلی ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو در شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز دو مولفه اول با ریشه مشخصه بیشتر از ۱ به ترتیب ۷۵ درصد و در حدود ۷۳ درصد از تنوع کل صفات را توجیه می‌نمودند (جدول ۱۰). در شرایط نرمال مولفه اول ۶۴ درصد از تغییرات را و در شرایط تنش گل‌جالیز مولفه اول به تنهایی ۶۱ درصد از تغییرات را توجیه می‌نمودند. اندازه بزرگ مولفه اول به علت وجود روابط همبستگی نسبتاً بالا در میان صفات عملکرد وزن خشک برگ و وزن تر برگ با مولفه اول بود. در هر دو شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز در مولفه اول، اهمیت و سهم صفات در توجیه تنوع ژنتیکی که بزرگترین ضرایب را دارا بودند

مربوط به ویژگی‌های وزن تر و خشک برگ بود. بنابراین انتخاب بر اساس مولفه اول، باعث گزینش ژنوتیپ‌هایی می‌شود که عملکرد بالایی هم در شرایط نرمال و هم در شرایط تنش گل‌جالیز دارند. در شرایط نرمال در مولفه دوم، مهم‌ترین ویژگی‌ها تاریخ گلدهی و ارتفاع بوته بود. در شرایط تنش گل‌جالیز در مولفه دوم، مهم‌ترین ویژگی‌ها وزن تر و خشک اندام هوایی بود. با توجه به نتایج به دست آمده در شرایط نرمال می‌توان مولفه اول را مولفه عملکردی و مولفه دوم را مولفه تاریخ گلدهی و در شرایط تنش گل‌جالیز می‌توان مولفه اول را مولفه عملکرد و مولفه دوم را مولفه وزن خشک اندام هوایی تعریف نمود. سودمندی استفاده از مولفه‌های اصلی آن است که می‌توان رابطه بین ژنوتیپ‌ها را در یک فضای چند بعدی مشاهده نمود. با استفاده از این فضای مختصاتی می‌توان موقعیت ژنوتیپ‌ها را نسبت به یکدیگر شناسایی نمود.

جدول ۱۰- ضرایب تجزیه به مولفه‌های اصلی برای صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال (بدون تنش گل‌جالیز) و تنش گل‌جالیز

Table 10. Principal component coefficients of studied traits in oriental and water pipe's tobacco genotypes under normal (without Orobanch stress) and Orobanch stress conditions.

شرایط	مولفه	ضرایب مربوط به صفات موجود در داخل هر مولفه										واریانس تجمعی (%)
		APDW	APFW	DWR	FWR	DLYP	FWL	LAI	NL	PH	FD	
نرمال	۱	۰/۱۷	۰/۱۸	۰/۰۹	۰/۱۱	۰/۲۸	۰/۲۶	۰/۲۱	۰/۰۰	۰/۱۷	۰/۲۲	۰/۶۴
	۲	۰/۰۲	۰/۰۳	۰/۱۰	۰/۰۸	۰/۲۰	۰/۱۷	۰/۱۱	۰/۲۴	۰/۴۹	۰/۵۱	۰/۷۵
تنش گل‌جالیز	۱	۰/۳۲	۰/۳۵	۰/۱۸	۰/۳۳	۰/۹۱	۰/۶۹	۰/۳۴	۰/۲۶	۰/۰۶	۰/۱۴	۰/۶۱
	۲	۰/۸۶	۰/۷۰	۰/۱۹	۰/۲۳	۰/۲۷	۰/۳۶	۰/۲۸	۰/۳۸	۰/۲۲	۰/۱۱	۰/۷۳

تاریخ گلدهی (FD, day)، ارتفاع بوته (PH, cm)، تعداد برگ (NL)، شاخص سطح برگ (LAI)، وزن تر برگ (FWL, gr)، وزن تر ریشه (FWR, gr)، وزن خشک برگ (DWR, gr)، وزن تر اندام هوایی به جزء برگ (APFW, gr)، وزن خشک اندام هوایی به جزء برگ (APDW, gr)، وزن خشک برگ‌های بوته (DLYP, gr).

جمع‌بندی نتایج

در این تحقیق تنوع ژنتیکی برخی از ژنوتیپ‌های توتون شرقی و تنباکو تحت شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز بررسی گردید. تجزیه واریانس نشان داد بین ژنوتیپ‌ها در هر دو شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز از لحاظ کلیه صفات مورد بررسی اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد. بالاترین ضریب تغییرات ژنوتیپی در بین صفات مورد مطالعه در شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز برای صفات وزن تر و خشک برگ مشاهده شد. بیشترین وراثت‌پذیری در شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز در صفات تاریخ گلدهی، ارتفاع بوته و تعداد برگ مشاهده شد.

از بین صفات مورد مطالعه، در شرایط نرمال (بدون گل‌جالیز) صفات وزن تر بوته و وزن تر برگ و در شرایط تنش گل‌جالیز صفات وزن تر بوته، وزن تر برگ و شاخص سطح برگ بیشترین همبستگی مثبت و معنی‌دار را با وزن خشک برگ (عملکرد توتون) نشان دادند. با انجام تجزیه خوشه‌ای، تحت شرایط نرمال و تنش گل‌جالیز ژنوتیپ‌های توتون در چهار گروه قرار گرفتند. در شرایط تنش گل‌جالیز جدول رتبه‌بندی خوشه‌ها از نظر میانگین صفات نشان داد که گروه دوم و چهارم حاوی ژنوتیپ‌هایی هستند که براساس میانگین صفات نسبت به تنش گل‌جالیز به ترتیب مقاوم و حساس می‌باشند.

منابع

1. Beikzadeh, H., S.S. Alavi, M. Bayat and A. Ezady. 2015. Estimation of genetic parameters of effective agronomical traits on yield in some of Iranian rice cultivar. *Agronomy Journal* (Pajouhesh & Sazandegi), (104): 73-78 (In Persian).
2. Brandle, J. and D. Bai. 1999. *Biotechnology: uses and applications in tobacco improvement*. In *Tobacco: Production, Chemistry Technology*. Wiley-Blackwell: Oxford, UK. 49-65.
3. Brenner, D., D. Baltensperger, P. Kulakow, J. Lehmann, R. Myers, M. Slabbert and B. Sleugh. 2000. Genetic resources and breeding of *Amaranthus*. *Plant Breeding Reviews*, 19: 227-285.
4. Falconer, D.S. and T.F.C. Mackay. 1996. *Introduction to Quantitative Genetics*. 4th Edition, Addison Wesley Longman, Harlow.

5. Davaliev, K., I. Maleva, K. Filiposki, O. Spiroski and G.D.J.D. Efremov. 2010. Genetic variability of Macedonian tobacco varieties determined by microsatellite marker analysis. *Diversity*, 2(4): 439-449.
6. Echevarría-Zomeño, S., A. Pérez-de-Luque, J. Jorrín and A.M. Maldonado. 2006. Pre-haustorial resistance to broomrape (*Orobanche cumana*) in sunflower (*Helianthus annuus*): cytochemical studies. *Journal of Experimental Botany*, 57(15): 4189-4200.
7. Eid, M.H.J.I.J.o.G. 2009. Estimation of heritability and genetic advance of yield traits in wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought condition. *International Journal of Genetics and Molecular Biology*, 1(7): 115-120.
8. Eizenberg, H., J.B. Colquhoun and C.A. Mallory-Smith. 2003. Variation in clover response to small broomrape (*Orobanche minor*). *Weed Science*, 51(5): 759-763.
9. FAO. 2017. FAOSTAT. Projections of tobacco production, consumption and trade to the year. Online available at <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>.
10. Frankham, R., J.D. Ballou and D.A. Briscoe. 2004. A primer of conservation genetics. Cambridge University Press.
11. Giannelos, P., F. Zannikos, S. Stournas, E. Lois and G. Anastopoulos. 2002. Tobacco seed oil as an alternative diesel fuel: physical and chemical properties. *Industrial Crops and Products*, 16(1): 1-9.
12. Goldwasser, Y., H. Eizenberg, J. Hershenhorn, D. Plakhine, T. Blumenfeld, H. Buxbaum, S. Golan, and Y. Kleifeld. 2001. Control of *Orobanche aegyptiaca* and *O. ramosa* in potato. *Crop Protection*, 20(5): 403-410.
13. Goldwasser, Y. and Y. Kleifeld. 2004. Recent approaches to *Orobanche* management. *Weed Biology and Management*. Springer, pp: 439-466.
14. Habimana, S., K. Murthya, V. Hattia and A. Nduwumuremyib. 2013. Management of *Orobanche* in field crops—a review. *Crop Science*, 2(11): 144-158.
15. Hatami, M.H., G. Karimzadeh, R. Darvishzadeh and R. Alavi. 2012. Genetic variation of oriental tobaccos using multivariate analysis. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10(1): 100-106 (In Persian).
16. Holland, J., W. Nyquist and C. Cervantes. 2003. Estimating and interpreting heritability for plant breeding: An update. *Plant Breeding Reviews* Vol. 22.
17. Holland, J.B. 2006. Estimating genotypic correlations and their standard errors using multivariate restricted maximum likelihood estimation with SAS Proc MIXED. *Crop Science*, 46(2): 642-654.
18. Hosseinzadeh Fashalami, N., A.R. Mahdavi, N. Moarrefzadeh, S.A. Sajadi and R. Alinejad. 2008. Investigation of genetic diversity and classification of different air-cured tobacco varieties. *Research Research Workbook of Tirtash Research and Education Center*, 105-126 (In Persian).
19. Hosseinzadeh, F.N., M.Z. Shahadati, G. Kiani, M.R. Salavati, P. Zamani, A. Mahdavi and R. Alinejad. 2015. Investigation of genetic diversity among different oriental tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) varieties using multivariate methods. *Journal of Crop Breeding*, 7(15): 126-134. (In Persian).
20. Jaynes, D., T. Kaspar, T. Colvin and D. James. 2003. Cluster analysis of spatiotemporal corn yield patterns in an Iowa field. *Agronomy Journal*, 95(3): 574-586.
21. Jiao, F.C., B.G. Xiao, H.Q. Yu, Y.H. ZHANG and X.P.J.J.H.A.U. LU. 2007. Gray correlation analysis on the main agronomic characters and yield of the flue-cured tobacco. *Journal of Gansu Agricultural University*, 33(5): 564.
22. Joel, D.M. 2000. The long-term approach to parasitic weeds control: manipulation of specific developmental mechanisms of the parasite. *Crop Protection*, 19(8-10): 753-758.
23. Johnson, D.E. 1998. Applied multivariate methods for data analysts. Duxbury press Pacific Grove, California.
24. Johnson, H.W., H. Robinson and R. Comstock. 1955. Estimates of genetic and environmental variability in soybeans. *Agronomy Journal*, 47(7): 314-318.
25. Khalili, M.N. and Mohammad Reza 2018. Evaluation of Genetic Diversity of Spring Wheat Cultivars for Physiological and Agronomic Traits under Drought Stress. *Journal of Crop Breeding*, 10(25): 138-151 (In Persian).
26. Labrousse, P., M. Arnaud, H. Serieys, A. Bervillé and P. Thalouarn. 2001. Several mechanisms are involved in resistance of *Helianthus* to *Orobanche cumana* Wallr. *Annals of Botany*, 88(5): 859-868.
27. Laurentin, H. 2009. Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56(2): 277-292.
28. Lowe, A., S. Harris and P. Ashton. 2009. Ecological genetics: design, analysis, and application. John Wiley & Sons.
29. Lozano, M., M. Moreno, D. Rubiales and A. Perez-De-Luque. 2007. Medicago truncatula as a model for non-host resistance in legume-parasitic plants interactions. *Plant Physiology*, 145: 437-449.
30. Mariam, E.G. and R. Suwanketnikom. 2004. Screening of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) varieties for resistance to branched broomrape (*Orobanche ramosa* L.). *Kasetsart Journal*, 38: 434-439.
31. Moghaddam, M., A. Mohammadi-Shoti and M. Aghaei-Sarbarzeh. 1994. Introduction to multivariate statistical methods. J Sci. Vanguard Publishers, Tabriz. Iran (In Persian).

32. Mohammadi, S., B. Prasanna and N. Singh. 2003. Sequential path model for determining interrelationships among grain yield and related characters in maize. *Crop Science*, 43(5): 1690-1697.
33. Mohammadi, S.A. and B. Prasanna. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants—salient statistical tools and considerations. *Crop Science*, 43(4): 1235-1248.
34. Moreda-Pineiro, A., A. Fisher and S.J. Hill. 2003. The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(2): 195-211.
35. Pearson, K. 1901. LIII. On lines and planes of closest fit to systems of points in space. *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 2(11): 559-572.
36. Pérez-de-Luque, A., C.I. González-Verdejo, M.D. Lozano, M.A. Dita, J.I. Cubero, P. González-Melendi, M.C. Risueño and D. Rubiales. 2006. Protein cross-linking, peroxidase and β -1, 3-endoglucanase involved in resistance of pea against *Orobanche crenata*. *Journal of Experimental Botany*, 57(6): 1461-1469.
37. Pérez-de-Luque, A., M.D. Lozano, J.I. Cubero, P. González-Melendi, M.C. Risueno and D. Rubiales. 2006. Mucilage production during the incompatible interaction between *Orobanche crenata* and *Vicia sativa*. *Journal of Experimental Botany*, 57(4): 931-942.
38. Perez-De-Luque, A., D. Rubiales, J.I. Cubero, M. Press, J. Scholes, K. Yoneyama, Y. Takeuchi, D. Plakhine and D. Joel. 2005. Interaction between *Orobanche crenata* and its host legumes: unsuccessful haustorial penetration and necrosis of the developing parasite. *Annals of Botany*, 95(6): 935-942.
39. Pérez-de-Luque, A., M.D. Lozano, M. Moreno, P. Testillano and D. Rubiales. 2007. Resistance to broomrape (*Orobanche crenata*) in faba bean (*Vicia faba*): cell wall changes associated with prehaustorial defensive mechanisms. *Annals of Applied Biology*, 151(1): 89-98.
40. Perez de Luque, A., J. Jorin, J. Sillero, J. Cubero, D. Rubiales, A. Fer, P. Thalouran, D. Joel, L. Musselman and C. Parker. 2001. Differences in resistance to *Orobanche crenata* in *Pisum* spp. Description at the different developmental stages of the parasite and correlation with host peroxidase. In: *Proceedings 7th International Parasitic Weed Symposium*. Nantes, 235 pp.
41. Petrova Bozhinova, R. 2006. Coefficients for determination of the leaf area in three Burley tobacco varieties. *Journal of Central European Agriculture*, 7(1): 7-12.
42. Rispaill, N., M.A. Dita, C. González-Verdejo, A. Pérez-de-Luque, M.A. Castillejo, E. Prats, B. Román, J. Jorin and D. Rubiales. 2007. Plant resistance to parasitic plants: molecular approaches to an old foe. *New Phytologist*, 173(4): 703-712.
43. Román, B., R. Hernández, A.J. Pujadas-Salvá, J.I. Cubero, D. Rubiales and Z. Satovic. 2007. Genetic diversity in two variants of *Orobanche gracilis* Sm.[var. *gracilis* and var. *deludens* (Beck) A. Pujadas](*Orobanchaceae*) from different regions of Spain. *Electronic Journal of Biotechnology*, 10(2): 221-229.
44. Rubiales, D., C. Alcántara and J. Sillero. 2004. Variation in resistance to *Orobanche crenata* in species of *Cicer*. *Weed Research*, 44(1): 27-32.
45. Salavati, M.R., H. Abbasi, N. Hossinzadeh and R. Alinejad. 2005. Depreciatory ability production seedling lateral of flue-cured Tobacco using linebreeding. *Research Workbook of Tirtash Research and Education Center*, 105-110 (In Persian).
46. Serghini, K., A.P. de Luque, M. Castejón-Muñoz, L. García-Torres and J.V. Jorin. 2001. Sunflower (*Helianthus annuus* L.) response to broomrape (*Orobanche cernua* Loefl.) parasitism: induced synthesis and excretion of 7-hydroxylated simple coumarins. *Journal of Experimental Botany* 52(364): 2227-2234.
47. Sillero, J., M. Moreno and D. Rubiales. 2005. Sources of resistance to crenate broomrape among species of *Vicia*. *Plant Disease*, 89(1): 23-27.
48. Singh, R. and B. Chaudhary. 1985. *Biometrical Methods in Quantitative Genetic Analysis*. Ludhiana. New Delhi: Kalyani Publishers.
49. Stansfield, W.D. 1991. *Theory and Problems in Genetics*. McGraw-Hill.
50. Torrecilla, G.G., C.L.B. Del and L.A. Pino. 2002. Correlation in quantitative variable of black type tobacco. *Cuba Tobacco*, 32: 29-36.
51. Troyer, A., S. Openshaw and K. Knittle. 1988. Measurement of genetic diversity among popular commercial corn hybrids. *Crop Science*, 28(3): 481-485.

Study on Genetic Diversity of Some Oriental and Water Pipe's Tobacco Genotypes (*Nicotiana Tabacum* L.) Under Orobanche Stress Conditions by Using Multivariate Statistical Methods

Maryam Tahmasbali¹, Amir Fayaz Moghaddam², Reza Darvishzadeh³ and Hossein Abbasi Holasou⁴

1- PhD Student in Plant Breeding, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

2- Associate Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran, (Corresponding author: a.fmoghaddam@urmia.ac.ir)

3- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran

4- Graduated PhD Student in Plant Breeding, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

Received: December 27, 2019

Accepted: April 6, 2020

Abstract

In this research, the genetic diversity of some oriental and water pipe's tobacco genotypes was investigated under normal (without Orobanche) and Orobanche stress conditions during 2007-2008 and 2008-2009 at Urmia Tobacco Research Centre with randomized complete block design with three replications. Combined analysis of variance revealed extent genetic variability among the genotypes for most of the studied traits. This suggests that there is high genetic variability among tobacco genotypes for resistance to Orobanche which can be effectively used in biotic resistance breeding programs. A high genotypic coefficient of variation was seen for studied traits especially for FWL and DLYP in normal and Orobanche stress conditions. The highest broad-sense heritability was estimated for FD, NL and PH in both normal and Orobanche stress conditions. The results of the genetic advance calculation showed that the highest genetic advance was related to LAI, APFW, PH and FWL traits. Based on the results of genetic correlation coefficients of traits, positive and significant genetic correlations were observed between DLYP with all studied traits in both normal and Orobanche stress conditions. Cluster analysis classified all tobacco genotypes into four clusters under normal and stress conditions. In Orobanche stress condition, ratings the clusters in view of traits average showed that the second and fourth clusters contain genotypes that are resistant and sensitive to Orobanche stress, respectively. Therefore, by selecting suitable parents from these groups and crossing them, it will be possible to produce segregated populations in Orobanche resistance breeding programs and to make desirable changes in tobacco yield. Results of cluster analysis were confirmed by results of canonical discriminant function results. The principal component analysis identified two components in each condition which explained more than 75 and 73 percent of the total variation in normal and stress conditions, respectively. Genotypes classified in the second cluster can be potentially used in the Orobanche infested areas.

Keywords: Biotic Stress, Breeding For Resistance, Heritability, Multivariate Analysis, Obligate Parasite, Tobacco