



بررسی تنوع ژنتیکی ارقام مختلف مختلف توتون (*Nicotiana tabacum* L.) تیپ شرقی با استفاده از روش‌های آماری چندمتغیره

نقی حسین‌زاده فشالمی^۱، زین‌العابدین شهادتی مقدم^۱، غفار کیانی^۲، محمدرضا صلواتی^۱، پیمان زمانی^۳، عبدالرحیم مهدوی^۱ و رضا علی‌نژاد^۱

۱- محقق مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش

۲- استادیار، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، (نویسنده مسوول: ghkiani@gmail.com)

۳- کارشناس ارشد، اداره کل امور پژوهشی شرکت دخانیات ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۴

چکیده

تنوع ژنتیکی اساس و پایه کار اصلاح نباتات بوده و بدون آن اصلاح ژنتیکی دایمی گیاهان امکان‌پذیر نمی‌باشد. این بررسی به منظور مطالعه تنوع ژنتیکی و طبقه‌بندی ارقام مختلف توتون تیپ شرقی به اجرا در آمد. در این بررسی تعداد ۳۶ رقم موجود در بانک بذر مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش در قالب طرح لاتیس ساده ۶×۶ از نظر ۱۹ صفت مورفولوژیکی و شیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر کلیه صفات اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. بیشترین و کمترین مقدار ضرایب تغییرات ژنوتیپی به ترتیب مربوط به درصد قند و درصد نیکوتین و بیشترین و کمترین مقدار ضرایب تغییرات فنوتیپی به ترتیب مربوط به عملکرد برگ خشک و درصد ازت پروتئینی بود. صفات درصد خاکستر کل دارای بیشترین وراثت‌پذیری عمومی و درصد ازت پروتئینی و درصد فسفر دارای کمترین وراثت‌پذیری عمومی بودند. در تجزیه به عامل‌ها، ۶ عامل اصلی و مستقل تحت عناوین عملکرد و صفات مرتبط با آن (عامل ۱)، صفات ذایقه‌ای (عامل ۲)، صفات وابسته به نیتروژن (عامل ۳)، ارتفاع بوته (عامل ۴)، تعداد برگ (عامل ۵) و رسیدگی برگ توتون (عامل ۶) بدست آمد که ۸۰ درصد تنوع کل بین ارقام را توجیه نمود. با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس وارد، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در ۷ گروه به ترتیب با ۵، ۳، ۸، ۲، ۴ و ۸ ژنوتیپ، طبقه‌بندی گردید.

واژه‌های کلیدی: توتون، تنوع ژنتیکی، تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به عامل‌ها

ژرم‌پلاسم گیاهی از مهم‌ترین منابع و ثروت زنده هر کشوری است. از نظر به‌نژادی، جمع‌آوری، نگهداری و مطالعه ژرم‌پلاسم گیاهی از اهمیت خاصی برخوردار است و توتون نیز از این امر مستثنی نیست. با توجه به اینکه احتمالاً تنوع بالایی برای این محصول از نظر صفات مرتبط با عملکرد، انواع مقاومت در مقابل تنش‌های زیستی و غیرزیستی و سایر صفات وجود دارد بنابراین نگهداری و بهره‌برداری از این منابع ژنی مهم بوده، مطالعه و بررسی این صفات اعم از صفات کمی و کیفی و تعیین روابط بین آنها، روشی ارزشمند خواهد بود و شانس موفقیت برنامه‌های اصلاحی را افزایش خواهد داد (۱).

جهت تعیین ماهیت روابط بین تعداد زیادی از متغیرها، استفاده از روش‌های آماری چندمتغیره از جمله تجزیه به عامل‌ها ضروری به نظر می‌رسد. با افزایش تعداد متغیرها و به تبع آن افزایش تعداد همبستگی‌ها، تفسیر نتایج مشکل خواهد بود که تجزیه به عامل‌ها با کاهش تعداد متغیرها به چند عامل اصلی که بیشترین واریانس موجود در داده‌ها را توجیه

مقدمه

جنس *Nicotiana* از خانواده Solanaceae شامل ۶۴ گونه است که برخی از آنها به‌عنوان گیاه دارویی یا زینتی کشت می‌شود (۱۰). توتون یکی از محصولات با ارزش کشاورزی و صنعتی است که در شرایط مختلف آب و هوایی در بیش از صد کشور جهان کشت می‌شود. سطح زیر کشت توتون در دنیا ۴/۸ میلیون هکتار با تولید سالانه ۷/۱ میلیون تن (وزن تر) و عملکرد آن از ۱/۶ تا ۲/۲ تن در هکتار است. توتون‌های شرقی یک گروه از ارقام آفتاب خشک می‌باشند که از نظر صفاتی از قبیل داشتن برگ‌های کوچک، بافت ظریف، دود ملایم و عطر نافذ از دیگر گروه‌ها متمایز می‌گردد (۶).

دورگ‌گیری متداول‌ترین روش ایجاد واریته‌های جدید است و انتخاب والدین مناسب مهم‌ترین مرحله محسوب می‌شود. انتخاب والدین مناسب نیز به تنوع ژنتیکی موجود در جمعیت و وراثت‌پذیری صفت یا صفات مورد مطالعه در آن بستگی دارد (۵).

درصد قند، درصد نیکوتین، ازت کل، بازهای فرار، عصاره اتر پترولیوم، خاکستر کل، کلر و pH از روش‌های آماری چندمتغیره تجزیه تابع تشخیص، تجزیه به مولفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای استفاده نمودند که روش تجزیه خوشه‌ای نسبت به سایر روش‌ها نتایج بهتری ارائه نمود.

سیناس و همکاران (۷) با مطالعه ۳۹۷۹ ژرم پلاسما توتون موجود در کشور چین، توانستند با استفاده از تجزیه خوشه‌ای، ۸۲۴ ژرم پلاسما را از لحاظ ۷ صفت کیفی با شدت انتخاب ۲۰ درصد از بین این ارقام انتخاب نمایند. آنگاه از بین این تعداد، ۴۱۲ ژرم پلاسما با شدت انتخاب ۵۰ درصد انتخاب گردید. مقایسه میانگین صفات و محاسبه انحراف معیار نشان داد که ژرم پلاسماهای انتخاب شده نهایی، از تنوع ژنتیکی خوبی برخوردار هستند.

حسین‌زاده و همکاران (۱۲) با بررسی ۵۶ ژنوتیپ توتون هواخشک گزارش دادند که بیشترین و کمترین مقدار ضریب تغییرات ژنوتیپی در صفات شیمیایی به ترتیب مربوط به صفات درصد قند و ازت پروتئینی و در صفات مورفولوژیکی مربوط به ارتفاع گیاه و طول برگ بوده است. ارتفاع گیاه دارای بیشترین وراثت‌پذیری عمومی (۸۹ درصد) و درصد پروتئین (۱۱ درصد) دارای کمترین مقدار وراثت‌پذیری عمومی بودند. در تجزیه به عامل‌ها، ۶ عامل اصلی و مستقل به ترتیب تحت عناوین عملکرد و اجزای آن، صفات ذایقه‌ای، خصوصیات شیمیایی برگ توتون، طول برگ، شاخص شکل برگ و خصوصیات کیفی و اقتصادی توتون بدست آمد که ۷۴ درصد تغییرات داده‌های کل بین ارقام را توجیه نمود. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از روش حداقل واریانس وارد، ژنوتیپ‌ها را در ۵ گروه به ترتیب با ۲۱، ۱۲، ۱۰، ۲ و ۱۱ ژنوتیپ طبقه‌بندی نمود.

مورو و دنیس (۱۴) از روش تجزیه خوشه‌ای جهت انتخاب ژنوتیپ‌های توتون بر اساس صفات کیفی استفاده نمودند و اظهار داشتند که این روش راه‌حل بهتر و ساده‌تری را از نظر انتخاب ژنوتیپ‌ها فراهم نموده و به‌عنوان یک روش پیش‌انتخابگر برای انتخاب ژنوتیپ‌ها کاربرد دارد.

مورفی و همکاران (۱۵) با مطالعه روی ۱۳۱ رقم توتون گرمخانه‌ای، این ارقام را به روش تحلیل شجره در ۱۰ گروه مجزا طبقه‌بندی نمودند، به طوری که تعداد ارقام داخل گروه‌ها از ۴ تا ۲۹ رقم متفاوت بودند.

این تحقیق به‌منظور بررسی تنوع ژنتیکی موجود در ارقام مورد بررسی توتون تیپ شرقی از نظر خصوصیات مهم شیمیایی و مورفولوژیک، گروه‌بندی ارقام از نظر کلیه صفات مورد بررسی و انتخاب والد برتر به‌عنوان مواد اصلاحی جهت استفاده در برنامه‌های به‌نژادی توتون به اجرا درآمد.

می‌کند، قادر است وجود همبستگی درونی بین تعداد زیادی متغیر قابل مشاهده را از طریق عواملی که قابل مشاهده نیستند، تفسیر نماید. همچنین تجزیه به عامل‌ها قابلیت تمایز بین متغیرهای کمی و کیفی را داراست (۹).

در اصلاح نباتات از روش تجزیه خوشه‌ای مراتبی^۱ جهت طبقه‌بندی ارقام از لحاظ صفات مورد بررسی و تعیین درجه شباهت بین آنها و به عبارت دیگر فاصله ژنتیکی بین ارقام استفاده می‌گردد (۹). با استفاده از این روش، ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در گروه‌های مختلفی قرار می‌گیرند. ژنوتیپ‌های موجود در یک گروه نسبت به ژنوتیپ‌های موجود در گروه‌های دیگر دارای قرابت ژنتیکی بیشتری هستند. استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای به‌علت تعداد زیاد ژنوتیپ‌هایی که در بانک بذر موجود است، بسیار مفید خواهد بود. زیرا به جای آنکه وقت و انرژی زیادی صرف تلاقی‌های متعدد گردد، می‌توان از برترین ژنوتیپ‌ها در گروه‌های دور حاصل از تجزیه خوشه‌ای با توجه به صفات مورد نظر در دورگ‌گیری سود جست و به نتایج هدفمند و دقیق‌تر دست یافت. هرچه فاصله ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های والدینی بیشتر باشد، در نسل‌های در حال تفکیک تنوع بیشتری ایجاد شده و در مقایسه با ژنوتیپ‌های یک گروه، هتروزیس و تفکیک متجاوز بیشتری رخ خواهد داد و امکان تجمع ژن‌های مطلوب در نتاج نیز بیشتر خواهد بود (۱۷، ۱۳).

روش تجزیه خوشه‌ای مراتبی در سال ۱۹۹۰ ارائه گردیده است (۹). از این روش در بسیاری از محصولات زراعی از جمله توتون جهت طبقه‌بندی ارقام استفاده شده است.

آن و کیم (۲) با بررسی تنوع ژنتیکی و انجام تجزیه خوشه‌ای روی ۳۶ رقم توتون موجود در بانک بذر کشور کره از لحاظ ۵ صفت مهم (روزهای تا گلدهی، تعداد برگ، طول برگ، قطر ساقه و ضخامت دمار)، ارقام را به ۳ گروه طبقه‌بندی نمودند. ارقام گروه ۱ دارای تعداد برگ زیاد، دیررس و برگ پهن بودند. ارقام گروه ۲ دارای تعداد برگ در حد متوسط، دیررس و باریک برگ بودند. بالاخره گروه سوم دارای تعداد برگ کم، زودرس و برگ متوسط از لحاظ اندازه بودند.

عیوضی و خردنام (۴) با بررسی تنوع ژنتیکی در ۲۴ رقم توتون و ۲۰ رقم تنباکو در ۲ آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه گزارش نمودند که اختلاف بسیار معنی‌داری بین ارقام از نظر ۱۳ صفت مورد بررسی وجود دارد. تجزیه خوشه‌ای بر مبنای میانگین داده‌های استاندارد شده و مولفه‌های اصلی، ارقام توتون و تنباکو را در ۲ گروه عمده طبقه‌بندی نمود.

کاسانو و همکاران (۵) به‌منظور ارزیابی تیپ‌ها، درجات و واریته‌های مختلف توتون از نظر صفات شیمیایی از قبیل

مواد و روش‌ها

در این بررسی تعداد ۳۶ رقم توتون تیپ شرقی موجود در بانک بذر مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش (جدول ۱) در قالب طرح لاتیس ساده ۶×۶ با ۲ تکرار در مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش مورد بررسی قرار گرفت. مساحت موثر هر کرت ۱۵/۶ مترمربع و فواصل کاشت بوته‌ها ۲۰×۵۰ سانتیمتر و فاصله بین کرت‌ها ۲/۵ متر در نظر گرفته شد. صفات مورد مطالعه در این تحقیق عبارت بودند از: تعداد برگ، طول برگ (سانتی‌متر)، عرض برگ (سانتیمتر)، ارتفاع گیاه (سانتی‌متر)، روزهای تا گلدهی، وزن برگ (گرم)، ضریب سطح برگ، عملکرد برگ سبز (کیلوگرم در هکتار)، عملکرد برگ خشک (کیلوگرم در هکتار)، درصد قند، درصد نیکوتین، درصد پتاسیم، درصد ازت کل، درصد ازت پروتئینی، درصد خاکستر کل، سوزش (ثابته)، عدد اسیدی، درصد رزین و درصد فسفر برای اندازه‌گیری صفات مزرعه‌ای، پس از حذف حاشیه و بوته‌های خارج از تیپ، تعداد ۱۰ بوته به طور تصادفی انتخاب و صفات مورد نظر روی آنها اندازه‌گیری شدند.

برای اندازه‌گیری صفات شیمیایی، نمونه‌های برگ عمل‌آوری شده توتون به بخش شیمی ارسال و صفات شیمیایی روی آنها اندازه‌گیری شد. سپس از میانگین مشاهدات برای محاسبه میانگین، انحراف معیار، دامنه و تجزیه واریانس استفاده گردید و با استفاده از امید ریاضی میانگین مربعات، ضریب تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی و وراثت‌پذیری عمومی (نسبت واریانس ژنوتیپی به واریانس فنوتیپی) محاسبه گردید. برای درک روابط علت معلولی بین صفات، شناخت صفاتی که بیشترین نقش را در عملکرد دارند و شناخت عوامل پنهانی موثر بر عملکرد، از تجزیه به عامل‌ها استفاده شد. عوامل به‌دست آمده به روش وریماکس چرخش داده شدند به‌منظور تعیین فاصله ژنتیکی بین ارقام و طبقه‌بندی بین آنها براساس صفات مورد مطالعه، پس از استاندارد کردن داده‌ها، از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از مربع فاصله اقلیدسی و روش مینیمم وارد^۱ استفاده گردید. کلیه محاسبات و تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد.

جدول ۱- فهرست ۳۶ رقم توتون تیپ شرقی موجود در بانک بذر مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش

ردیف	رقم	ردیف	رقم	ردیف	رقم	ردیف	رقم
۱	Basma mahalades	۱۰	Harmanli 11	۱۹	Kromovgrad 944	۲۸	PD. 324
۲	Basma seres 31	۱۱	Imine	۲۰	Orumieh 209	۲۹	PD.325
۳	Basma 104-1	۱۲	Immuni 3000	۲۱	Orumieh 354	۳۰	PD. 329
۴	Basma 12-2	۱۳	Izmir (Tirtash)	۲۲	Orumieh 379	۳۱	PD. 345
۵	Basma 178-2	۱۴	K. B	۲۳	P.Z.17	۳۲	PD.365
۶	Basma 181-8	۱۵	K.P. 14 a	۲۴	Plovdiv 58	۳۳	PD. 381
۷	Erzeogovina	۱۶	Kokubo	۲۵	Plovdiv 7	۳۴	Rilla 544
۸	G.D.165	۱۷	Kromovgrad N.H.H 659	۲۶	pobeda 2	۳۵	S. 5
۹	H. 169	۱۸	Kromovgrad 42	۲۷	pobeda 3	۳۶	Izmir (orumieh)

نتایج و بحث

تجزیه واریانس و پارامترهای آماری و ژنتیکی

تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد وجود داشت. به‌عبارت دیگر بین ارقام از نظر کلیه صفات مورد بررسی تنوع زیادی وجود دارد. اختلاف بین داده‌های حداقل و حداکثر صفات نیز تنوع بین ارقام را تایید می‌نماید. بررسی ضرایب تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی نشان داد که بیشترین و کمترین مقدار ضرایب تغییرات ژنوتیپی به‌ترتیب مربوط به درصد قند و درصد نیکوتین و بیشترین و کمترین مقدار ضرایب تغییرات فنوتیپی به‌ترتیب مربوط به عملکرد برگ خشک و درصد ازت پروتئینی می‌باشد (جدول ۲). حسین‌زاده و همکاران (۱۲) با بررسی ۵۶ ژنوتیپ توتون هواخشک گزارش دادند که بیشترین و کمترین مقدار ضرایب تغییرات ژنوتیپی در صفات شیمیایی

به‌ترتیب مربوط به صفات درصد قند و ازت پروتئینی و در صفات مورفولوژیکی مربوط به ارتفاع گیاه و طول برگ بوده است. صفت درصد خاکستر کل دارای بیشترین وراثت‌پذیری عمومی و درصد ازت پروتئینی و درصد فسفر دارای کمترین وراثت‌پذیری عمومی بودند. وراثت‌پذیری پایین درصد پتاسیم (۲۳/۲)، ازت کل (۲۰/۹)، ازت پروتئینی (۱۳/۹) و درصد فسفر برگ (۲۲/۲) نشان می‌دهد که این صفات در توتون به شدت تحت‌تاثیر محیط بوده و با تغییر مقادیر سه نوع کود، صفات مذکور چه به‌صورت معدنی و چه به صورت ترکیب در مواد آلی، در برگ تغییر می‌یابند. حسین‌زاده و همکاران (۱۲) با بررسی ۵۶ ژنوتیپ توتون هواخشک گزارش دادند که ارتفاع گیاه دارای بیشترین وراثت‌پذیری عمومی (۸۹ درصد) و درصد پروتئین (۱۱ درصد) دارای کمترین مقدار وراثت‌پذیری عمومی بودند. استفاده از روش‌های آماری تک‌متغیره برای

1- Ward's minimum method

ارزیابی تنوع ژنتیکی ارقام توتون توسط محققین مختلفی گزارش شده است (۸، ۱۶، ۱۸).

جدول ۲- برآورد نهایی پارامترهای آماری و ژنتیکی ۱۹ صفت در ۳۶ ژنوتیپ توتون

ردیف	صفت	میانگین	حداکثر	حداقل	میانگین مربعات	ضریب تغییرات		وراثت پذیری عمومی
						ژنوتیپی	فنوتیپی	
۱	تعداد برگ	۳۰/۲۷±۰/۸۸	۴۶/۷۵	۲۰/۱۵	۱۱۲/۲**	۱۷/۷	۱۶/۸	۹۱/۱۳
۲	عرض برگ (cm)	۱۳/۴۴±۰/۳۷	۱۸/۹۸	۹/۹۰	۱۹/۳**	۱۸/۶	۱۵/۴	۶۹/۱۸
۳	طول برگ (cm)	۲۴/۴۸±۰/۸۷	۴۳/۲	۱۶/۸۶	۱۰۸/۹**	۲۲/۴	۲۰/۹	۸۶/۹
۴	روزهای تا گلدهی	۷۶/۱۹±۱/۴۷	۹۵/۲۵	۶۰/۲۵	۳۱۱/۸**	۱۰/۲	۹/۷	۹۱/۶
۵	ارتفاع گیاه (cm)	۱۵۲/۲۸±۳/۸۱	۱۹۵/۱۸	۱۰۱/۴۰	۲۰۹۲/۹**	۱۴/۷	۱۳/۸	۸۷/۹۹
۶	وزن برگ (gr)	۱/۲۱±۰/۰۵	۱/۹۶	۰/۷۰۵	۰/۳۱**	۲۴/۴	۱۸/۷	۵۸/۶۲
۷	ضریب سطح برگ	۵/۵۱±۰/۲۳	۸/۵۸	۲/۴۲	۷/۸**	۲۶/۲	۲۰	۶۰/۵۸
۸	عملکرد برگ سبز (gr)	۱۲۴۴۶/۵±۵۱۹/۹	۲۰۹۹۵	۶۳۹۶	۳۸۹۲۴۲۳**	۲۴/۶	۲۱/۸	۷۸/۵۹
۹	عملکرد برگ خشک (gr)	۱۸۳۴/۵±۸۴/۶	۲۹۹۳/۵	۱۰۹۸/۲۵	۱۰۳۱۵۴۴**	۲۶/۹	۲۴/۵	۸۳/۵۲
۱۰	درصد قند	۱۰/۲۵±۰/۵۲	۱۶/۸۳	۴/۸۸	۳۹/۵**	۳۰/۹	۲۴/۳	۶۱/۵۸
۱۱	درصد نیکوتین	۱/۴۳±۰/۰۹	۲/۴	۰/۳۳	۱/۵**	۴/۵	۳/۷	۶۷/۷۴
۱۲	درصد پتاسیم	۲/۱۸±۰/۰۶	۳/۰۳	۱/۴۲	۰/۵۰۳**	۱۹/۳	۹/۳	۲۳/۱۶
۱۳	درصد ازت کل	۱/۸۲±۰/۰۵	۲/۸۸	۱/۴۳	۰/۳۶۱**	۱۴/۳	۶/۵	۲۰/۸۹
۱۴	درصد ازت پروتئینی	۵/۳۴±۰/۰۶	۶/۳۳	۴/۸	۰/۴۹۶**	۹/۱	۳/۴	۱۳/۹۲
۱۵	درصد خاکستر کل	۱۸/۰۲±۰/۲۹	۲۰/۸	۱۴/۳۸	۱۱/۹**	۸/۲	۷/۹	۹۲/۷۳
۱۶	سوزش	۹/۶۱±۰/۴۹	۱۵/۳۵	۳/۷۹	۳۴/۹**	۳۰	۱۸/۴	۳۷/۸۸
۱۷	عدد اسپیدی	۱۴/۳۳±۰/۲۳	۱۸/۳	۱۱/۳۵	۷/۹**	۸/۶	۸/۱	۸۸/۱۶
۱۸	درصد رزین	۵/۵۹±۰/۱۷	۸	۳/۹	۴/۳**	۲۲/۰۳	۱۸/۲۶	۶۸/۷۳
۱۹	درصد فسفر	۱/۶۶±۰/۰۳	۲/۱۶	۱/۳	۰/۱۵۹**	۱۸/۱۱	۸/۵۳	۲۲/۲۲

همبستگی و تجزیه به عامل‌ها

در بررسی ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه، صفات طول و عرض برگ، روز تا گلدهی، وزن سبز، ضریب سطح برگ و وزن سبز همبستگی مثبت و بسیار معنی‌دار و درصد رزین همبستگی منفی و بسیار معنی‌دار با عملکرد نشان دادند. بین وزن سبز با صفات ضریب سطح برگ، طول و عرض برگ و عملکرد، بین روزهای تا گلدهی و ضریب سطح برگ همبستگی معنی‌دار مثبت بسیار قوی و بین درصد قند و خاکستر کل همبستگی معنی‌دار منفی بسیار قوی مشاهده گردید (جدول ۳).

در تجزیه به عامل‌ها بر اساس مؤلفه‌های اصلی با چرخش وریماکس روی میانگین ۱۹ صفت مورد مطالعه، ۶ عامل با ریشه مشخصه بیشتر از ۱ بدست آمد که ۸۰ درصد تنوع موجود بین ارقام را توجیه نمود. حسین‌زاده و همکاران (۱۲) با انجام تجزیه به عامل‌ها در ۵۶ رقم توتون هواخشک، ۶ عامل اصلی و مستقل به ترتیب تحت عناوین عملکرد و اجزای آن، صفات ذایقه‌ای، خصوصیات شیمیایی برگ توتون، طول برگ، شاخص شکل برگ و خصوصیات کیفی و اقتصادی توتون را تعیین نمودند که ۷۴ درصد تغییرات داده‌های کل بین ارقام را توجیه نمود. همچنین حاتمی ملکی و همکاران (۱۱) نیز در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام توتون شرقی با استفاده از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی متغیرهای مورد مطالعه را به ۵ مؤلفه با واریانس تجمعی

۹۶ درصد کاهش داد. در مطالعه حاضر، عامل اول با سهم ۲۹/۴ درصد از واریانس کل، صفاتی از قبیل طول و عرض برگ، ضریب سطح برگ، وزن سبز، عملکرد و روزهای تا گلدهی با ضرایب عاملی مثبت و معنی‌دار قرار گرفت که به‌عنوان عملکرد و صفات مرتبط با آن نام‌گذاری گردید. در عامل دوم که ۱۳/۶۶ درصد از واریانس کل را توجیه نمود صفاتی از قبیل ازت درصد نیکوتین و خاکستر کل با ضرایب عاملی منفی و معنی‌دار و درصد قند با ضریب عاملی مثبت و معنی‌دار قرار گرفت که به نام صفات ذایقه‌ای نام‌گذاری گردید.

در عامل سوم ۱۱/۰۵ درصد از واریانس کل توسط صفات درصد ازت کل و پروتئینی با ضرایب مثبت و معنی‌دار توجیه شد که عامل وابسته به ازت نامیده شد. عامل چهارم با توجیه ۱۰/۷۲ درصد از تنوع موجود بین ارقام شامل صفت ارتفاع بوته با ضریب عاملی مثبت و معنی‌دار بود. عامل پنجم با در برگ‌گرفتن تعداد برگ با ضرایب عاملی مثبت و معنی‌دار ۸/۳۱ درصد از تغییرات توجیه نمود.

عامل ششم با توجیه ۶/۷۷ درصد از تنوع موجود بین ارقام شامل درصد فسفر با ضرایب عاملی منفی و معنی‌دار بود و به نام عامل رسیدگی برگ توتون نامیده شد. ضریب $KMO=۰/۵۲۸$ بیانگر مزیت نسبی استفاده از تجزیه به عامل‌ها می‌باشد (جدول ۴).

جدول ۳- همبستگی ساده بین صفات مورد مطالعه در ۳۶ رقم توتون تیپ شرقی

صفت	تعداد برگ	عرض برگ	طول برگ	روزهای تا گلدهی	ارتفاع گیاه	وزن برگ	ضریب سطح برگ	وزن سبز	عملکرد	درصد قند	درصد نیکوتین	درصد پتاسیم	درصد ازت کل	درصد پروتئین	خاکستر کل	سوزش	عدد اسیدی	درصد رزین	درصد فسفر
تعداد برگ	۱																		
عرض برگ	۰/۳۳۴	۱																	
طول برگ	۰/۴۶۹**	۰/۱۷۰۲**	۱																
روزهای تا گلدهی	۰/۱۶۲	۰/۱۶۳۴**	۰/۱۵۷**	۱															
ارتفاع گیاه	۰/۱۶۸	۰/۳۷**	۰/۱۶۵۵**	۰/۴۰۱**	۱														
وزن برگ	۰/۴۳۸**	۰/۸۳۴**	۰/۱۶۵۵**	۰/۷۷۹**	۰/۳۳۶**	۱													
ضریب سطح برگ	۰/۲۲۴	۰/۱۷۵۴**	۰/۱۵۶۴**	۰/۵۷۶**	۰/۳۳۶**	۰/۶۸۹**	۱												
وزن سبز	۰/۱۱۵	۰/۱۶۱۲**	۰/۱۶۱۲**	۰/۷۶**	۰/۱۰۸۱	۰/۶۲۹**	۰/۷۱۱**	۱											
عملکرد	۰/۱۱۸	۰/۱۵۹۸**	۰/۱۶۲**	۰/۵۹۷**	۰/۰۳	۰/۶۴۸**	۰/۶۵۲**	۰/۹۱۶**	۱										
درصد قند	۰/۲۲۵	۰/۲۹۲	۰/۱۵۵	۰/۱۹۷	۰/۳۵۳	۰/۲۶۰	۰/۴۹۵**	۰/۲۳۶	۰/۳۳۶	۱									
درصد نیکوتین	۰/۵۶	۰/۲۵۱	۰/۳۹۹*	۰/۱۳۸	۰/۱۲۵	۰/۱۸۲	۰/۳۲۱	۰/۳۳۸**	۰/۱۹۵	۰/۳۳۶	۱								
درصد ازت کل	۰/۱۳۹	۰/۳۲۵	۰/۴۲۳*	۰/۲۶۰	۰/۱۸۶	۰/۲۱	۰/۲۳۲	۰/۲۹۶*	۰/۲۵۲	۰/۲۷۸	۰/۴۰۷	۱							
درصد پروتئین	۰/۲۷۹	۰/۱۷۲	۰/۱۰۰۴	۰/۱۲۷	۰/۲۷۴	۰/۰۸۴	۰/۳۵۶*	۰/۳۰۸	۰/۳۵	۰/۳۰۵	۰/۴۰۷	۰/۲۴۴	۱						
درصد پتاسیم	۰/۲۵۵	۰/۲۹۴	۰/۴۴۸**	۰/۱۵۱	۰/۲۰۲	۰/۲۰۹	۰/۱۴۶	۰/۲۵۲	۰/۲۸	۰/۲۶۹	۰/۱۰۶	۰/۲۶۶**	۰/۵۲**	۱					
خاکستر کل	۰/۳۶۸	۰/۴۱۷*	۰/۲۵۴	۰/۴۲۲*	۰/۲۶۹	۰/۳۴۳*	۰/۱۶۹	۰/۳۵۶*	۰/۳۸۷*	۰/۱۸۰۴**	۰/۴۶۶**	۰/۱۰۹	۰/۳۸۱**	۰/۰۱۴	۱				
سوزش	۰/۰۹	۰/۰۹	۰/۰۹۹	۰/۰۶۴	۰/۲۹۴	۰/۰۳۹	۰/۱۱۶	۰/۱۸۲	۰/۲۰۷	۰/۱۶	۰/۲۷۹	۰/۲	۰/۲۰۳	۰/۱۶۱	۰/۰۶۷	۱			
عدد اسیدی	۰/۱۴۵	۰/۱۸۶	۰/۰۸۲	۰/۲	۰/۴۰۳*	۰/۰۵۵	۰/۱۷۴	۰/۱۰۸	۰/۱۱۳	۰/۱۷۸	۰/۱۶۱	۰/۱۲۴	۰/۱۲۴	۰/۰۲۷	۰/۰۵۳	۰/۲۷۸	۱		
درصد رزین	۰/۱۵۹	۰/۴۹۸**	۰/۳۸۸*	۰/۳۹۵	۰/۰۲۱	۰/۵۷۷**	۰/۵۱۶**	۰/۵۷۴**	۰/۱۵	۰/۲۸۲	۰/۱۷۱	۰/۳۶۶*	۰/۱۰۴	۰/۱۶۵	۰/۱۳۶	۰/۱۲۶	۰/۰۳۵	۱	
درصد فسفر	۰/۰۱۴	۰/۲۷۸	۰/۱۷۴	۰/۳۱۲	۰/۰۱۵	۰/۳۶۸*	۰/۴۱*	۰/۲۵۳	۰/۲۸	۰/۳۳۲*	۰/۱۱۹	۰/۱۱۳	۰/۰۳	۰/۱۲۷	۰/۲۴۸	۰/۰۱۳	۰/۰۱۳	۰/۳۶۵*	۱

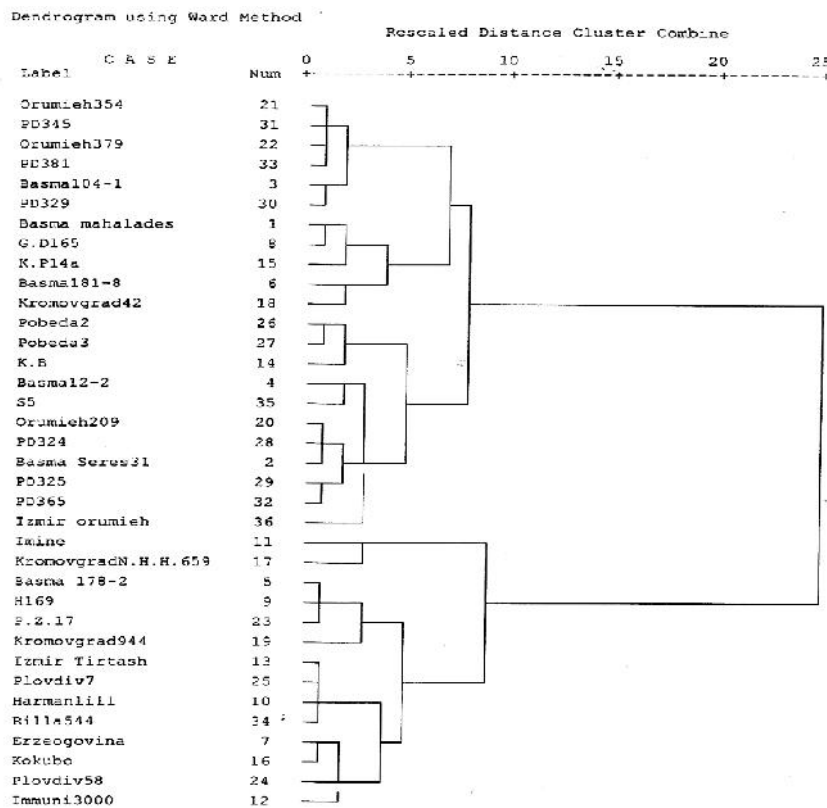
جدول ۴- تجزیه به عامل‌ها بر اساس مؤلفه‌های اصلی با چرخش وریماکس

عامل	صفت	ماتریس ضرایب عاملی					
		۱	۲	۳	۴	۵	۶
۱	عرض برگ	۰/۷۸*	۰/۲۷	۰/۱	۰/۲۹	-۰/۲۷	-۰/۰۲
	طول برگ	۰/۷۵*	۰/۲	۰/۳۱	۰/۰۲	-۰/۳۵	۰/۱۱
	روزهای تا گلدهی	۰/۷۳*	۰/۱۱	۰/۰۸	۰/۳۷	۰/۲۷	-۰/۱۳
	ضریب سطح برگ	۰/۷۶*	۰/۴۴	-۰/۰۲	-۰/۲۲	۰/۲۴	-۰/۱۹
	وزن سبزه	۰/۹*	۰/۱۷	-۰/۰۴	-۰/۱۳	۰/۰۱	۰/۰۳
	عملکرد	۰/۸۷*	۰/۱۱	-۰/۱۷	-۰/۰۴	-۰/۰۷	-۰/۰۳
۲	درصد قند	۰/۱۷	-۰/۷۷*	-۰/۳۴	-۰/۰۹	۰/۱۲	-۰/۲۸
	درصد نیکوتین	-۰/۱۹	-۰/۷۳*	-۰/۰۲	-۰/۳۴	۰/۱۷	-۰/۱۹
	خاکستر کل	-۰/۲۳	-۰/۸۵*	۰/۰۷	-۰/۱۸	-۰/۲	۰/۱۴
۳	درصد ازت کل	-۰/۲۳	-۰/۴۶	۰/۷۲*	۰/۰۴	-۰/۱۴	-۰/۱۵
	درصد پروتئین	۰/۱۹	۰/۰۴	۰/۹۱*	-۰/۰۱	-۰/۱۲	۰/۰۹
۴	ارتفاع بوته	-۰/۱۲	۰/۱۶	-۰/۲۶	۰/۸۳*	۰/۰۶	۰/۰۷
۵	تعداد برگ	-۰/۱۷	-۰/۱۷	-۰/۱۴	۰/۱۲	۰/۹۳*	-۰/۰۳
	درصد فسفر	-۰/۲۹	-۰/۱۱	۰/۰۹	۰/۰۶	-۰/۰۳	-۰/۸۴*
	مقدار ویژه	۵/۵۸۷	۲/۵۹۶	۲/۰۹۹	۲/۰۳۷	۱/۵۸	۱/۲۸۷
	واریانس (/)	۲۹/۴۰	۱۳/۶۶	۱۱/۰۵	۱۰/۷۲	۸/۳۱	۶/۷۷
	واریانس جمعی (/)	۲۹/۴۰	۴۲/۰۶	۵۴/۱۱	۶۴/۸۳	۷۳/۱۴	۸۰/۰۱

* ضریب عاملی معنی‌دار
KMO = ۰/۵۲۸

برش دندروگرام در مقیاس فاصله ۴/۵ توسط نرم‌افزار، موجب طبقه‌بندی ارقام در ۷ گروه مختلف گردید (شکل ۱).

تجزیه خوشه‌ای
تجزیه خوشه‌ای ۳۶ رقم توتون تیپ شرقی پس از استاندارد کردن داده‌ها با روش حداقل واریانس وارد با



شکل ۱- دندروگرام ۳۶ رقم توتون شرقی بر مبنای کلیه صفات به روش حداقل واریانس وارد

و آموزش تیرتاش و ۲ رقم وارداتی بوده، رقم باسما سرس ۳۱ رقم شاخص این گروه می‌باشد. ژنوتیپ‌های این گروه از نظر درصد قند، درصد نیکوتین، درصد ازت کل، درصد خاکستر کل، درصد رزین و درصد فسفر بالاتر از میانگین کل و از نظر بقیه صفات پایین‌تر از میانگین کل می‌باشد. ویژگی‌های بارز ژنوتیپ‌های این گروه، گلدهی زود هنگام، ضریب سطح برگ، عملکرد برگ سبز، درصد پتاسیم و ازت پروتئینی پایین و درصد رزین بالا نسبت به سایر کلاسترها می‌باشد. درصد رزین بالا نشان‌دهنده معطر بودن ژنوتیپ‌های این گروه بوده و از این نظر می‌تواند در تلاقی‌ها مورد استفاده قرار گیرد در کلاستر پنجم، ۲ رقم وارداتی همانند کلاستر سوم جای گرفتند که از نظر تعداد برگ، ارتفاع گیاه، درصد قند، درصد نیکوتین، درصد خاکستر کل و درصد رزین پایین‌تر از میانگین کل و از نظر بقیه صفات بالاتر از میانگین کل می‌باشد. کمترین تعداد برگ با بزرگترین ابعاد برگ و بیشترین عملکرد برگ سبز متعلق به ژنوتیپ‌های این گروه می‌باشد که نشان می‌دهد عملکرد برگ سبز بالا به خاطر بزرگی ابعاد برگ این ارقام می‌باشد. در ضمن ژنوتیپ‌های این گروه دارای کمترین درصد نیکوتین و درصد رزین و بیشترین درصد پتاسیم، ازت پروتئینی و عدد اسیدی نسبت به سایر کلاسترها می‌باشند. جهت برخورداری از هتروزیس و پدیده تفکیک متجاوز برای صفات تعداد برگ، طول و عرض برگ می‌توان از تلاقی ژنوتیپ‌های این گروه با ارقام کلاستر سوم سود جست. کلاستر ششم با ۴ ژنوتیپ شامل سه رقم خارجی و رقم شاخص زراعی باسما ۲-۱۷۸ بوده از نظر عرض برگ، طول برگ، ارتفاع بوته، وزن برگ، ضریب سطح برگ، عملکرد برگ سبز، درصد قند و عدد اسیدی بالاتر از میانگین کل و از نظر بقیه صفات پایین‌تر از میانگین کل می‌باشد. ویژگی خاصی در ژنوتیپ‌های این گروه مشاهده نشد و از نظر کلیه صفات در حد متوسط قرار داشتند. کلاستر هفتم با ۸ ژنوتیپ شامل ارقام وارداتی بوده از نظر صفات ازت پروتئینی، خاکستر کل، عدد اسیدی، درصد رزین و فسفر پایین‌تر از میانگین کل و از نظر سایر صفات بالاتر از میانگین کل می‌باشد. ویژگی‌های خاص ژنوتیپ‌های این گروه دیر گلدهی، وزین بودن برگ‌ها، ضریب سطح برگ و درصد قند بالا و درصد خاکستر کل و درصد فسفر پایین می‌باشد. ویژگی اصلی این گروه داشتن عملکرد بالا از طریق وزین بودن برگ‌ها می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات کارشناسان بخش شیمی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش به خاطر اندازه‌گیری صفات شیمیایی، آقای مهندس سراجی به خاطر خرید و ارزیابی توتون و بخش کشاورزی به جهت انجام مراحل برداشت و عمل‌آوری تشکر و قدردانی بعمل می‌آید.

در این تحقیق از روش حداقل واریانس وارد به دلیل ارائه دندروگرام مناسب از نظر محل برش و نیز ارائه گروه‌بندی مطلوب مورد استفاده قرار گرفت و به ترتیب در کلاسترهای اول تا هفتم ۶، ۵، ۳، ۸، ۲، ۴ و ۸ ژنوتیپ قرار گرفتند. حسین‌زاده و همکاران (۱۲)، 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. در پژوهشی مشابه، حاتمی‌ملکی و همکاران (۱۱) ۱۰۰ ژنوتیپ توتون شرقی خارجی و داخلی موجود در بانک ژن مرکز تحقیقات توتون ارومیه را با استفاده از تجزیه خوشه‌ای به روش متوسط گروه‌ها به ۴ گروه طبقه‌بندی نمودند. ونپینگ و همکاران (۱۶) و زیبا و اثبات (۱۸) نیز از تجزیه خوشه‌ای برای صفات مورفولوژیک استفاده نموده‌اند کلاستر اول با ۶ ژنوتیپ از نظر ارتفاع بوته، درصد نیکوتین، درصد پتاسیم، درصد ازت کل، درصد ازت پروتئینی، خاکستر کل، عدد اسیدی، درصد رزین و درصد فسفر بالاتر از میانگین کل و از نظر سایر صفات پایین‌تر از میانگین کل می‌باشد. ژنوتیپ‌های این گروه را ارقام اصلاح شده ارومیه و یک رقم اصلاح‌شده مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش تشکیل دادند. ژنوتیپ‌های این گروه نسبت به سایر کلاسترها دارای عملکرد برگ خشک و درصد قند کمتر و درصد نیکوتین، خاکستر کل و فسفر بالاتری بوده و از نظر ارتفاع جزء بلندترین ارقام و از نظر سوزش جزء تندسوزترین ژنوتیپ‌ها محسوب می‌شوند. برای برخورداری از تفکیک متجاوز و هتروزیس عملکرد برگ خشک در ارقام، می‌توان از تلاقی بین کلاستر اول و هفتم سود جست. کلاستر دوم با ۵ ژنوتیپ از نظر طول برگ، عملکرد برگ سبز، درصد نیکوتین، درصد پتاسیم، درصد ازت کل، درصد ازت پروتئینی، درصد خاکستر کل و سوزش بالاتر از میانگین کل و از نظر بقیه صفات پایین‌تر از میانگین کل می‌باشد. ارقام این گروه شامل ۳ رقم وارداتی و ۲ رقم اصلاح‌شده مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش می‌باشد. وجه مشخصه این کلاستر پاکوتاه بودن، عدد اسیدی کم و ازت کل بالا نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها می‌باشد. کلاستر سوم با ۳ ژنوتیپ شامل دو رقم وارداتی و یک رقم اصلاح‌شده مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش، از نظر تعداد برگ، روزهای تا گلدهی، ضریب سطح برگ، درصد قند، سوزش، عدد اسیدی و درصد رزین بالاتر از میانگین کل بوده از نظر بقیه صفات پایین‌تر از میانگین کل می‌باشد. ژنوتیپ‌های این گروه بیشترین تعداد برگ را با کمترین ابعاد، وزن برگ و ازت کل داشته و جزء کندسوزترین ژنوتیپ‌ها به شمار می‌آیند. برای تولید تعداد برگ بیشتر با ابعاد کوچکتر که برای ارقام تیپ باسما صفت مطلوبی می‌باشد، می‌توان از ژنوتیپ‌های این گروه جهت استفاده در تلاقی‌ها سود جست. کلاستر چهارم با ۸ ژنوتیپ شامل ۴ رقم اصلاح‌شده ارومیه، ۲ رقم اصلاح‌شده مرکز تحقیقات

منابع

1. Allahgholipour, M. 2002. Study of genetic diversity and classification of rice different varieties. In: Proceedings of 7th of Iranian Crop Sciences Congress, Karaj. 342 pp. (In Persian)
2. Ann, D.J. and Y.D. Kim. 1982. Varietal classification on the basis of cluster analysis in local tobacco. Tobacco Science, 4(1): 37-42.
3. Arzani, A. 2001. Breeding Field Crops, Isfahan University of Technology Press, 606 pp. (In Persian)
4. Ayvazi, A. and M. Khordnam. 1997. Determination and classification of *Nicotiana tabacum* using morphological characteristics. In: Proceedings of 5th of Iranian Crop Sciences Congress, Karaj, 93-94 pp.
5. Castano, J.I., L.R. Vargas and F.J. Palacio. 1990. Evaluation of tobacco grading systems by multivariate analysis of their chemical quality parameters Presentees Au Cours Du Symposium Kallithea, 98 pp.
6. Chaplin, J.F. 1975. Genetic influence on chemical constituents of tobacco leaf and smoke Beitr Tabakforsch, 8: 233-240.
7. Csinos, A.S., B.A. Fortnum, N.T. Powell, J.J. Reilly and H.D. Shew. 1984. Resistance of tobacco cultivars and candidate cultivars to *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae*. Tobacco Science, 28: 153-155.
8. Darvishzadeh, R., S.R. Alavi and A. Sarafi. 2011. Genetic variability for chlorine concentration in oriental tobacco genotypes. Archives of Agronomy and Soil Science, 57(2): 167-177.
9. Farshadfar, E. 1995. Plant breeding methodology Published by Razi University, 616 pp. (In Persian)
10. El-Morsy, Sh.I., M.D.M. Dorra, A.A.E. Elham, A.A.H. Atef and Y.M. Ahmed. 2009. Comparative studies on diploid and tetraploid levels of *Nicotiana glauca*. Academic Journal of Plant Sciences, 2: 182-188.
11. Hatami Maleki Karimzadeh, Gh., 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)
12. 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 Report Card of Tirtash Research and Education Center, 105-126 pp. (In Persian)
13. Moghadam, M., S.A. Mohamadi and M. Aghae Sarbarzeh. 1998. Multivariate statistical methods. Parivar Press, 280 pp. (In Persian)
14. Moro, J. and J.B. Denis. 1997. Selecting genotypes by clustering, for qualitative genotype by environment interaction using a non-symmetric inferiority score. Agronomie, 17(5): 283-289.
15. Murphy, J.P., T.S. Cox, R.C. Ruffy and D.M. Rodgers. 1987. A representation of the pedigree relationships among flue-cured tobacco cultivars. Tobacco Science, 31: 70-75.
16. Wenping, L.I., L. Zhu and S. Zhao. 2009. Correlation and path coefficient analysis and Euclidian distance clustering for several characters in tobacco germplasm resource. Chinese Tobacco Science, 30: 59-63.
17. Zali, A. 1994. Collection efficiency rate in plant breeding, In: Proceeding of the 3th of Iranian crop Sciences Congress, Tabriz University, 135-143 pp. (In Persian)
18. Ziba, N. and M. Isbat. 2011. Multivariate analysis for yield and yield contributing traits in F₀ and F₁ generations in tobacco (*Nicotiana tabacum*). Journal of Experimental Bioscience, 2(1): 101-106.

Investigation of Genetic Diversity Among Different Oriental Tobacco (*Nicotiana Tabacum* L.) Varieties Using Multivariate Methods

Naghi Hosseinzadeh Fashalami¹, Zeynolabedin Shahadati moghaddam¹, Ghafar Kiani²,
Mohamadreza Salavati¹, Peyman Zamani³, Abdolrahim Mahdavi¹ and Reza Alinejad¹

1- Researcher of Tirtash Education and Research Center

2- Assistant Professor, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (Corresponding author:
ghkiani@gmail.com)

3- M.Sc., Plant Breeding, Research Affairs Department of Iran Tobacco Company

Received: October 16, 2012 Accepted: April 24, 2013

Abstract

Genetic diversity is the base of plant breeding. In present study 19 chemical and morphological traits in 36 genotypes were investigated with a 6×6 simple lattice design in Tirtash Education and Research Center. Results showed significant differences among genotypes for all studied traits. The highest and the lowest genotypic variation coefficient were related to percentage of sugar and nicotine, respectively. The highest and the lowest phenotypic variation coefficient were attributed to cured leaf yield and percentage of protein nitrogen, respectively. Broad sense heritability was the highest for percentage of total ash (92.7) and the lowest for percentage of protein nitrogen (13.9) and percentage of Phosphorus (22.2). In factor analysis, six main and independent factors were identified; yield and related morphological characteristics (factor 1), tobacco taste characteristics (factor 2), nitrogen dependent characteristics (factor 3), plant height (factor 4), number of leaves (factor 5) and effective trait on tobacco leaf ripening (factor 6). These factors explained up to 80% of total variation among varieties. Cluster analysis based on Ward's minimum variance classified genotypes into seven clusters including 6, 5, 3, 8, 2, 4 and 8 genotypes, respectively.

Keywords: Tobacco, Genetic diversity, Cluster analysis, Factor analysis