دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی ژنتیکی تجمع کلر در برگ توتون شرقی (*Nicotiana tabacum* L.)

رضا درویش‌زاده[۱]، میر جواد موسوی اندزقی[۲] و امیر فیاض مقدم[۳]

۱- استاد، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
۲ و ۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، دانشگاه ارومیه
تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۲

چکیده

کلر به‌عنوان یک ریز مغذی، اثرات مثبتی در کیفیت برگ توتون دارد. بااین‌حال مقدار بیشتر کلر دارای اثرات سوء بر کیفیت توتون است. به‌منظور بررسی ژنتیکی تجمع کلر در برگ توتون شرقی (*Nicotiana tabacum* L.)، هر یک از دو لاین 'Basma 16-10' و 'SPT 406' با میزان تجمع کم کلر با رقم 'Basma S.31' با میزان تجمع بیشتر کلر تلاقی یافتند. والدین هر تلاقی به همراه نسل‌های F_1، F_2، BC_1 و BC_2 مربوطه در شرایط مزرعه در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار برای تجمع کلر در برگ ارزیابی شدند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین نسل‌های موردبررسی برای تجمع کلر در برگ در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد. تجزیه میانگین نسل‌ها به‌منظور برآورد آثار ژن با استفاده از آزمون مقیاس وزنی و کای اسکور انجام گرفت. کای اسکور مدل ساده سه پارامتری افزایشی- غالبیت برای تلاقی‌ها معنی‌دار شد که حاکی از حضور اثرات متقابل غیراللی در توارث صفت تجمع کلر در برگ است. برای تلاقی Basma S. 31 × Basma 16-10 بهترین مدل برای توجیه توارث صفت تجمع کلر در برگ مدل ۵ پارامتری با اجزای [m]، [h]، [i]، [j] و [l] می‌باشد. مقدار بالا و معنی‌دار [h] در مقایسه با [d] حاکی از نقش مهم مؤلفه غالبیت در کنترل صفت در این ترکیب تلاقی است. در ترکیب تلاقی Basma S. 31 × SPT 406 مدل ٤ پارامتری با اجزاء [m]، [d]، [i] و [l] بهترین مدل می‌باشد. حضور [d] و [i] در غیاب [h] بر اهمیت بیشتر اثرات ژنتیکی افزایشی در این ترکیب تلاقی در کنترل صفت تجمع کلر در برگ دلالت دارد. بنابراین می‌توان گفت مکانیسم درگیر در تجمع کلر در ژنوتیپ‌های فوق فرق می‌کند. بنابراین استراتژی‌های اصلاحی متفاوتی برای گزینش و اصلاح واریته‌های با تجمع کم کلر از جمعیت‌های در حال تفرق هریک از تلاقی‌ها لازم است.

واژه‌های کلیدی: تجزیه میانگین نسل‌ها، تجمع کلر، تنوع ژنتیکی، توتون شرقی

مقدمه

توتون (*Nicotiana tabacum* L.) یکی از محصولات با ارزش کشاورزی و صنعتی است و در اقتصاد کشورهای تولیدکننده‌ی آن نقش مهمی را ایفاء می‌کند و درآمد حاصل از فرآورده‌های مختلف این گیاه رقم قابل‌توجهی از درآمد ملی کشورهای تولیدکننده را تشکیل می‌دهد (۱۹). انواع مختلفی از توتون بر اساس معیارهایی از قبیل ناحیه تولید، نوع مصرف، روش عمل‌آوری (گرمخانه‌ای، هوا خشک و آفتاب خشک) و ویژگی‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی تعریف شده است (۴۲). توتون شرقی یک گروه از واریته‌های آفتاب خشک را تشکیل می‌دهد که ازنظر مورفولوژی، سازگاری، عملیات کشت، دسته‌بندی و کیفیت برگ خشک‌شده از دیگر گروه‌های توتون متفاوت است. مشخصات اصلی واریته‌های این گروه، داشتن برگ‌هایی کوچک به رنگ زرد شعله‌ای یا نارنجی با بافت ظریف و عطر نافذ می‌باشد.

اصلاح توتون به‌منظور ایجاد واریته هایی با سازگاری بالا، عملکرد بیشتر و کیفیت شیمیایی مناسب انجام می‌گیرد (۴۸). برگ توتون از آب (۹۰-۸۵ درصد)، مواد معدنی و ترکیبات آلی که به اسیدهای آلی، کربوهیدرات‌ها و آلکالوئیدها تقسیم می‌شوند، تشکیل یافته است (۳۹). یکی از مهم‌ترین عواملی که قابل‌استفاده بودن برگ توتون در صنعت را تعیین می‌نماید، قابلیت سوزش آن است. این عامل متأثر از خصوصیات مورفولوژی، شیمیایی و نحوه عمل‌آوری برگ توتون می‌باشد. در میان عوامل شیمیایی، کلر به‌عنوان یک ریزمغذی، اثرات مثبتی در کیفیت برگ توتون دارد. مقدار کم آن باعث بهبود عملکرد و فاکتورهای کیفی از قبیل رنگ، الاستیسیته و سوزش و حفظ کیفیت برگ توتون می‌شود (۳۳). با این‌حال مقدار بیشتر کلر دارای اثرات سوء بر کیفیت توتون است تا آنجایی که محتوای کلر در برگ عامل اصلی تعیین کیفیت توتون در نظر گرفته می‌شود. مقدار آستانه کلر در برگ خوب و قابل‌قبول برای صنعت معمولاً زیر ۱/۵٪ می‌باشد (۴). مقادیر بیش از ۲٪ باعث جلوگیری از سوزش توتون در سیگارت می‌شود (۲۶،۲۰،۱،۱۵). تجمع کلر در برگ عمدتاً تحت تأثیر pH خاک (۴۱)، تراکم بوته (۲۷)، ژنوتیپ (۴۷،۳۷،۲۹،۸) قرار می‌گیرد. درویش‌زاده و همکاران (۸) میزان تجمع کلر در برگ ۱۰۰ لاین توتون شرقی و نیمه شرقی را ارزیابی کرده و گزارش کردند که تنوع گسترده‌ای بین ژنوتیپ‌ها برای تجمع کلر در برگ وجود دارد. درویش‌زاده و علوی (۹) با تجزیه و تحلیل دی‌آلل بین هشت ژنوتیپ توتون شرقی نشان دادند که ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی برای تجمع کلر در برگ معنی‌دار می‌باشد، باوجوداین سهم اثرات غالبیت در توارث تجمع کلر بیشتر از سهم اثر افزایشی ژن‌ها بود (۹). لمپریچ و بتا (۲۸) با تجزیه و تحلیل دی‌آلل بین ۸ ژنوتیپ توتون تیپ غربی نشان دادند که میزان تجمع کلر طبیعت پلی ژنیک دارد و سهم اثرات افزایشی در کنترل صفت بیشتر از اثرات غالبیت است.

منطقه شمال غرب به لحاظ موقعیت جغرافیایی و آب و هوایی خود یکی از بهترین مناطق تولید توتون‌های شرقی و نیمه شرقی است. تجمع کلر در برگ توتون شرقی عامل اصلی بازدارنده برای کشت گسترده آن در منطقه شمال غرب کشور می‌باشد (۸).

بهبود خاک و آب آبیاری به‌منظور کنترل سطح تجمع کلر در برگ، دشوار است، ولی می‌توان نسبت به انتخاب و اصلاح ارقام با تجمع کم کلر اقدام نمود. انتخاب بهترین روش اصلاحی و موفقیت آن بستگی به میزان اطلاع از کنترل ژنتیکی صفت موردنظر و نحوه توارث آن دارد (۱۰). برای حالتی که عمل افزایشی ژن نقش مهم‌تری در کنترل صفت دارد، تولید لاین‌های خالص و برای حالتی که عمل غیرافزایشی ژن‌ها مهم است، تولید ارقام هیبرید پیشنهاد می‌شود (۱۱). روش‌های مختلف برای ارزیابی جمعیت‌ها و تعیین اساس کنترل ژنتیکی صفات موردمطالعه وجود دارد. یکی از بهترین روش‌ها، تجزیه میانگین نسل‌ها است (۴۴،۲۴). در این روش نسل‌های مختلف از تلاقی بین ژنوتیپ‌های موردمطالعه بدست می‌آیند و سپس از ارتباط میانگین نسل‌ها با اثرات ژنتیکی تشکیل‌دهنده هر نسل، بهترین مدل که بتواند تنوع بین میانگین‌ها را توجیه نماید، برآورد می‌شود (۱۱). در اغلب روش‌ها ازجمله روش دی‌آلل، ارزیابی واریانس ژنتیکی بر مبنای بررسی یک نسل صورت می‌گیرد (۱۶). با استفاده از تجزیه میانگین نسل‌ها علاوه بر اثرات افزایشی[1] و غالبیت[2]، اثرات اپیستاژی[3] ژن‌ها و درجه غالبیت بر مبنای میانگین‌ها برآورد می‌شود (۲۴). هنرنژاد و همکاران (۱۸) از تجزیه میانگین نسل‌ها به‌منظور مطالعه ژنتیک پایداری واریته‌های توتون به بیماری سفیدک دروغی استفاده کردند. با تلاقی دی‌آلل یک‌طرفه چهار واریته توتون بل ۶۱–۱۰، برجراک سی، سامسون و ترامف پایدار و حساس به بیماری سفیدک دروغی و خودگشنی F_1ها و همچنین تلاقی برگشتی آن‌ها با والدین مربوطه، نسل‌های F_2 و BC_1 و BC_2 تولید شدند. تجزیه میانگین نسل‌ها نشان داد پایداری ژنتیکی در مقابل بیماری در خانواده‌های برجراک سی × بل ۶۱–۱۰ و ترامف × بل ۶۱–۱۰ از مدل ساده افزایشی–غالبیت پیروی می‌کند. درحالی‌که در سایر خانواده‌ها آثار متقابل غیرآللی (اپیستاتیک) پدیدار گشته و بدین ترتیب برای توجیه آثار متقابل دو ژنی مدل شش پارامتری متر و جینکز (۳۲) برازش یافت.

در این پژوهش با استفاده از مقادیر تجمع کلر در برگ نسل‌های مختلف توتون، تنوع ژنتیکی، نحوه توارث و نوع عمل ژن برای تجمع کلر برآورد شده است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و طرح آزمایشات

۳ ژنوتیپ توتون شرقی (Basma 16-10، SPT 406 و Basma S. 31) با میزان تجمع کلر متفاوت در برگ از میان ۱۰۰ ژنوتیپ موجود در بانک ژن مرکز تحقیقات توتون ارومیه بر اساس نتایج آزمایش‌های قبلی (۸) انتخاب شدند. دو ژنوتیپ Basma 16-10 و SPT 406 به‌عنوان ژنوتیپ‌های با تجمع کم کلر در برگ و Basma S. 31 به‌عنوان ژنوتیپ با میزان تجمع بیشتر کلر در برگ شناسایی‌شده بودند. SPT 406، یک اینبرد لاین انتخاب شده از توده محلی چپق به روش انتخاب تک بوته است. Basma S.31 رقم توتون شرقی است که در منطقه در سطح وسیع کشت می‌شود.

ژنوتیپ‌های Basma 16-10 و SPT 406 هر کدام با ژنوتیپ Basma S.31 در مرکز تحقیقات توتون ارومیه در تابستان ۱۳۸۸ تلاقی یافتند و نسل‌های F_2، BC_1 و BC_2 آن‌ها در تابستان ۱۳۸۹ تهیه گردید. نشاهای توتون به‌صورت خزانه آزاد در مرکز تحقیقات توتون ارومیه تهیه شدند. کشت اصلی در مزرعه تحقیقاتی هنرستان کشاورزی شهید بهشتی ارومیه واقع در ۱۴ کیلومتری جاده ارومیه– مهاباد در سال زراعی ۱۳۹۰ انجام گرفت. این منطقه ازنظر اقلیم نیمه‌خشک می‌باشد و در عرض جغرافیایی "۳۴ °۳۷ شمالی و طول جغرافیایی "۵۸ °۴۴ شرقی قرارگرفته است. ارتفاع آن از سطح دریا ۱۳۲۷ متر می‌باشد. بر اساس آمار چندساله ایستگاه هواشناسی ارومیه، متوسط، حداقل و حداکثر دمای سالانه به ترتیب ۱۲/۷، ۴/۵– و ۳۷ درجه سانتی گراد و بارندگی سالیانه ۳۰۹/۴ میلی‌متر گزارش‌شده است.

نشاءها در مرحله ۷–۵ برگی با ارتفاع بوته ۱۲ سانتی‌متر به مزرعه منتقل شدند. شش نسل هر تلاقی شامل والدین و نسل‌های F_1، F_2، BC_1 و BC_2 در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار کشت شدند. در حقیقت هر خانواده (والدین و نسل‌های F_1، F_2، BC_1 و BC_2 هر تلاقی) یک سری (Set) در نظر گرفته شد. شش تیمار هر سری در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار ارزیابی شدند. در هر تکرار ۱۲ خط به طول۳ متر و بافاصله ۶۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. نشاء نسل‌های بدون تفرق صفات (والدین و F_1 آن‌ها) در یک خط و نسل‌های در حال تفکیک (F_2، BC_1 و BC_2) هرکدام در سه خط به فاصله ۱۵سانتی‌متر روی خطوط به‌وسیله چوب نشاء کاشته شدند. ۲ روز بعد از نشاءکاری اولین آبیاری (آب زندگانی) و نیز ۱۰ روز پس‌ازآن دومین آبیاری صورت گرفت. در طی مراحل رشد بوته‌های توتون، عملیات وجین و سله شکنی و خاک‌دهی پایه بوته به‌صورت دستی انجام گرفت. به‌منظور مبارزه با شته سبز هلو[4] تمام بوته‌ها به‌وسیله سم کنفیدور[5] با نسبت ۲۵۰ سی‌سی در هزار لیتر سم‌پاشی شدند. برای مبارزه علیه کرم طوقه بر یا آگروتیس[6] از سم آمبوش[7] با غلظت ۰/۵ در هزار در هنگام غروب و برعلیه بیماری سفیدک داخلی توتون[8]، سم ریدومیل مانکوزب[9] به نسبت ۳ در هزار استفاده شد.

در طی مراحل رشد توتون برگ‌های رسیده ازنظر صنعتی، در ۳ چین در هنگام صبح برداشت شدند و جهت عمل‌آوری به مرکز تحقیقات توتون ارومیه منتقل شدند. برگ‌ها با سوزن‌های مخصوصی از قسمت رگبرگ اصلی (دمار) و بافاصله ۳–۲ سانتی‌متر از قسمت دم برگ سوزن زنی شدند، سپس جلوی آفتاب خشک شدند. پس از خشکاندن برگ‌های توتون، از برگ‌های قسمت کمر برگ بوته که در چین دوم برداشت‌شده بود، نمونه‌برداری انجام گرفت و درصد کلر هر نمونه با استفاده از روش تیتراسیون در آزمایشگاه گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشگاه ارومیه اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه، یک گرم از نمونه پودر شده توتون در ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته شد و به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. پس از مخلوط کردن، در بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. سپس محلول از

1- Additive effects 2- Dominance 3- Epistasis 4- Greenfly aphid 5- Confidor (Imidacloprid)
6- Agrotis 7- Ambosh 8-Tobacco blue mold 9- Ridomil mancozeb

کاغذ صافی عبور داده شد. ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه فیلتر شده برداشته شد و به آن ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. در بشر دیگری ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. به هر دو نمونه چند قطره از محلول کرومات پتاسیم (۵ گرم از K_2CrO_4 در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به‌عنوان معرف اضافه شد. سپس هر یک از نمونه‌ها به‌وسیله نیترات نقره N/40 (۴/۴۷ گرم از $AgNO_3$ در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) تیتراسیون شد بطوریکه رنگ نمونه از زرد به نارنجی سوخته تبدیل شود و درصد کلر با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\%Chlorine = \frac{(A-B)\times f \times 35.5}{W\,\frac{(100-M)}{100}}$$

A: مقدار $AgNO_3$ استفاده‌شده برای هر نمونه توتون، B: مقدار $AgNO_3$ استفاده‌شده برای نمونه شاهد،W: وزن توتون، M: درصد رطوبت برگ، f: نرمالیته $AgNO_3$.

تجزیه‌های آماری

آزمون نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی مطابق روش شاپیرو و ویلک (۴۳) و تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس مدل آماری طرح پایه با رویه مدل خطی عمومی (GLM) انجام گرفت. تجزیه میانگین نسل‌ها بر اساس مدل زیر انجام گرفت.

$$Y=m+\alpha d+\beta h+\alpha^2 i+2\alpha\beta j+\beta^2 l$$

در این رابطه Y میانگین نسل، m میانگین همه نسل‌ها در یک تلاقی، [d] مجموع اثرات افزایشی، [h] مجموع اثرات غالبیت، [i] مجموع اثر متقابل بین اثرات افزایشی، [j] مجموع اثر متقابل بین اثرات افزایشی و غالبیت، [l] مجموع اثر متقابل بین اثرات غالبیت، α، β، α^2، $2\beta\alpha$ و β^2 ضرایب پارامترهای ژنتیکی می‌باشند. ضرایب اجزای ژنتیکی از متر و جینکز (۳۲) گرفته شد. برآوردهای شش پارامتری یا کمتر با استفاده از حداقل مربعات وزنی[1] انجام گرفت. معنی‌دار بودن پارامترها با استفاده از آزمون t بررسی شد. شش نسل هر ترکیب تلاقی با دو، سه، چهار، پنج و شش پارامتر امتحان شدند، تا مشاهده شود که کدام مدل به‌عنوان بهترین مدل می‌تواند میانگین‌ها را توجیه نماید. برازش تمام مدل‌ها به‌وسیله آزمون نیکویی برازش بر مبنای توزیع کای اسکور[2] (آزمون مقیاس وزنی) ارزیابی شد (۳۲،۱۳). اجزای تنوع[3] از اطلاعات ۶ نسل با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند (۳۲).

$$E_w=\frac{1}{4}(V_{P1}+V_{P2}+2V_{F1})$$

$$D=4V_{F2}-2(V_{BC1}+V_{BC2}-E_w)$$

$$H=4(V_{BC1}+V_{BC2}-V_{F2}-E_w)$$

$$F=V_{BC1}-V_{BC2}$$

در روابط بالا E_W جزء غیرژنتیکی تنوع، D جزء افزایشی تنوع، H جزء غالبیت تنوع و F همبستگی h و d روی تمام مکان‌های ژنی می‌باشند. وراثت‌پذیری عمومی با استفاده از روابط زیر محاسبه شد.

$$h^2_{bs}=\frac{\frac{1}{2}[V_{F2}-(V_{P1}\times V_{P1})]}{V_{F2}} \quad (۳۱)$$

$$h^2_{bs}=\frac{\frac{1}{3}[V_{F2}-(V_{P1}\times V_{P1}\times V_{F1})]}{V_{F2}} \quad (۴۶)$$

$$h^2_{bs}=\frac{\frac{1}{3}[V_{F2}-(V_{P1}+V_{P1}+V_{F1})]}{V_{F2}} \quad (۲)$$

$$h^2_{bs}=\frac{\frac{1}{2}[V_{F2}-(V_{P1}+V_{P1})]}{V_{F2}} \quad (۲)$$

$$h^2_{bs}=\frac{\frac{1}{4}[V_{F2}-(V_{P1}+V_{P1}+2V_{F1})]}{V_{F2}} \quad (۳۲)$$

وراثت‌پذیری خصوصی با استفاده از روش وارنر (۴۶) با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$h^2_{ns}=\frac{[2V_{F2}-(V_{BC1}+VBC2)]}{V_{F2}}$$

برای محاسبه حداقل تعداد ژن های کنترل‌کننده صفت از روابط زیر استفاده شد (۳۰،۷).

$$n=\frac{0.5(\alpha_{P2}-\alpha_{P1})}{8(\phi^2_{F2}-\phi^2_{F1})}$$

$$n=\frac{0.5(\alpha_{P2}-\alpha_{P1})}{8[\phi^2_{F2}-(0.5\phi^2_{F1}+0.25\phi^2_{P1}+0.25\phi^2_{P2})]}$$

$$n=\frac{0.5(\alpha_{P2}-\alpha_{P1})}{8[(\phi^2_{BC1}+\phi^2_{BC2})-(\phi^2_{F1}+0.5\phi^2_{P1}+0.5\phi^2_{P2})]}$$

$$n=\frac{0.5(\alpha_{F1}-\alpha_{P1})}{4[\phi^2_{BC1}-0.5(\phi^2_{F1}+\phi^2_{P1})]}$$

$$n=\frac{0.5(\alpha_{P2}-\alpha_{F1})}{4[\phi^2_{BC2}-0.5(\phi^2_{F1}+\phi^2_{P2})]}$$

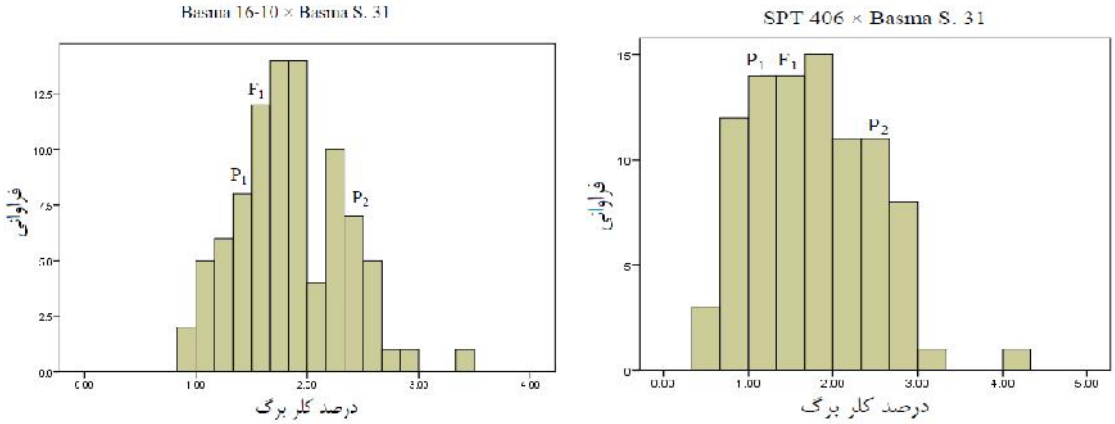
در روابط بالا μ و ϕ^2 به ترتیب میانگین و واریانس نسل را نشان می‌دهد.

تجزیه و تحلیل‌های ژنتیکی و آماری با استفاده از نرم‌افزارهای کامپیوتری Excel و SAS 9.1 انجام گرفت. برای ترسیم نمودار توزیع فراوانی صفت در نسل F_2 از نرم‌افزار SPSS 20 استفاده شد.

1- Weighted least square 2- Chi-square 3- Variation

نتایج و بحث

نمودارهای توزیع فراوانی تنوع گسترده‌ای برای تجمع کلر در برگ افراد نسل F_2 در هر دو ترکیب تلاقی نشان می‌دهد (شکل ۱). جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که تفاوت بین نسل‌های موردبررسی برای تجمع کلر در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱). با توجه به مشاهده اختلاف معنی‌دار برای تجمع کلر در برگ نسل‌های مورد مطالعه، تجزیه میانگین نسل‌ها به‌منظور بررسی ساختار ژنتیک صفت انجام گرفت. با تجزیه میانگین نسل‌ها اثر افزایشی، غالبیت و حضور اپیستازی تعیین می‌شود و در این زمینه آزمون مقیاس وزنی قوی‌ترین آزمون می‌باشد. برآورد اثرات ژنی همراه با آزمون مقیاس وزنی و کای اسکور در جدول ۲ آمده است. معنی‌دار شدن X^2 برای مدل سه پارامتری در هر ۲ ترکیب تلاقی نشان می‌دهد که مدل افزایشی- غالبیت با ۳ پارامتر m، [d]، [h]، برای توجیه ژنتیک تجمع کلر در برگ مناسب نبوده و مدل‌های کامل‌تری که آثار متقابل غیر آللی را در نظر می‌گیرند نیاز هست. برای تلاقی Basma 16-10 × Basma S. 31 بهترین مدل برای توجیه توارث صفت تجمع کلر در برگ مدل ۵ پارامتری با اجزای [m]، مجموع اثرات غالبیت [h]، مجموع اثر متقابل بین اثرات افزایشی × افزایشی [i]، مجموع اثر متقابل بین اثرات افزایشی × غالبیت [j] و مجموع اثر متقابل بین اثرات غالبیت × غالبیت [l] می‌باشد. آزمون t برای تمام این اجزاء معنی‌دار است که نشان‌دهنده اهمیت این اجزاء در کنترل صفت می‌باشد. مقدار بالا و معنی‌دار اثر غالبیت [h] در مقایسه با اثر افزایشی [d] حاکی از نقش مهم مؤلفه غالبیت در کنترل صفت در این ترکیب تلاقی است. علامت مثبت اثر غالبیت [h] نشان می‌دهد که جهت غالبیت به سمت تجمع بیشتر کلر در برگ می‌باشد (۳). معنی‌دار بودن اثرات متقابل افزایشی × افزایشی [i]، افزایشی × غالبیت [j]، غالبیت × غالبیت [l] همگی بر وجود اثرات اپیستازی در توارث این صفت دلالت دارند. این امر با توجه به پلی ژنیک بودن صفت قابل توجیه است. همچنین در تفسیر علامت پارامترهای موجود در مدل برازش یافته، علامت مثبت اثر متقابل افزایشی × افزایشی [i] حاکی از مشارکت این اثر در تجمع بیشتر کلر در برگ می‌باشد (۳۴). علامت منفی اثرات متقابل افزایشی × غالبیت [j] و غالبیت × غالبیت [l] حاکی از مشارکت این اثرات در تجمع کمتر کلر در برگ می‌باشد (۳۴). علامت مخالف [h] و [l] نشان‌دهنده اپیستازی دوگانه یا مضاعف است (۳۸). اپیستازی مضاعف به دو صورت مغلوب مضاعف و غالب مضاعف بروز می‌کند. زمانی که ژن اول به‌صورت مغلوب از اظهار ژن دوم جلوگیری نماید و ژن دوم به‌صورت مغلوب از بروز ژن اول جلوگیری نماید اپیستازی از نوع مغلوب مضاعف است. زمانی که حضور حداقل یک ژن به‌صورت غالب اثر ژن دیگر را بپوشاند اپیستازی از نوع غالب مضاعف است. اپیستازی دوگانه یا مضاعف با کاهش تنوع در نسل F_2 و دیگر نسل‌های در حال تفرق، سبب اختلال در پروسه انتخاب می‌گردد (۲۲).



شکل ۱- توزیع فراوانی تجمع کلر در برگ افراد نسل F_2 تلاقی‌های Basma 16-10 × Basma S. 31 و SPT 406 × Basma S. 31

Figure 1. Frequency distribution of chlorine accumulation in the leaf of F_2 individuals of crosses Basma 16-10 × Basma S. 31 and SPT 406 × Basma S. 31.

جدول ۱- تجزیه واریانس برای تجمع کلر در برگ توتون شرقی

Table 1. Analysis of variance for chlorine accumulation in the leaf of oriental tobacco

مورد	منابع تغییرات				%CV
	تکرار	سری	سری/ نسل	اشتباه آزمایشی	
df	۲	۱	۱۰	۲۲	
MS	۰/۰۳	۰/۱۰	۰/۴۱	۰/۰۴	۱۰/۱۱
F	۰/۹۶^{ns}	۰/۲۶^{ns}	۱۱/۴۱**		

ns، * و ** به‌ترتیب اختلاف غیرمعنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ می‌باشند. CV: ضریب تغییرات. Df: درجه آزادی. MS: میانگین مربعات.

جدول ۲- تخمین اجزاء ژنتیکی میانگین برای تجمع کلر در تلاقی‌های Basma16-10 × Basma S. 31 و SPT406 × Basma S. 31 توتون شرقی

Table 2. Estimate of genetic components of mean for chlorine accumulation in the crosses Basma 16-10 × Basma S. 31 and SPT406 × Basma S. 31 of oriental tobacco

تلاقی	m	[d]	[h]	[i]	[j]	[l]	X^2
Basma 16-10 × Basma S. 31	۰/۷۸*±۰/۳۳	-	۲/۳۴**±۰/۸۱	۱/۱۲**±۰/۳۳	-۱/۰۴۳**±۰/۱۸۴	-۱/۱۸**±۰/۵۱	ns
SPT 406 × Basma S. 31	۲/۳۲**±۰/۱۳	-۰/۹۵**±۰/۰۸۳	-	-۰/۵۰**±۰/۱۸۱	-	-۱/۲۵**±۰/۲۸	ns

ns، * و ** به‌ترتیب اختلاف غیرمعنی‌دار، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ می‌باشند. M: میانگین تمام نسل‌ها در یک تلاقی، [d]: مجموع اثرات ژنتیکی افزایشی، [h]: مجموع اثرات ژنتیکی غالبیت، [i]: مجموع اثر متقابل اپیستاتیک افزایشی در افزایشی، [j]: مجموع اثر متقابل اپیستاتیک افزایشی در غالبیت، [l]: مجموع اثر متقابل اپیستاتیک غالبیت در غالبیت، X^2: آماره کای اسکور.

برآورد اجزای تنوع بر اساس واریانس شش نسل V_{P1}، V_{P2}، V_{F1}، V_{F2}، V_{BC1} و V_{BC2} در ترکیب تلاقی Basma16-10 × Basma S.31 نشان داد جزء غالبیت (H) بسیار بیشتر از جزء افزایشی (D) می‌باشد که نشان‌دهنده اهمیت بیشتر عمل غالبیت ژن‌ها نسبت به عمل افزایشی در کنترل صفت است. همچنین متوسط درجه غالبیت (√H/D) بیشتر از یک می‌باشد که نشان‌دهنده وجود عمل فوق غالبیت ژن‌ها در کنترل صفت است (۳۵). مقدار منفی پارامتر F حاکی از آن است که ژن‌های غالب اکثراً در والد با مقدار تجمع کمتر کلر در برگ هستند (جدول ۳). کوچک‌تر از یک بودن قدر مطلق پارامتر F/√H.D نشان می‌دهد که ژن‌های کنترل‌کننده از نظر علامت و بزرگی در مکان‌های مختلف با یکدیگر متفاوت می‌باشند. برآورد حداقل تعداد ژن‌های کنترل‌کننده صفت بر اساس فرمول‌های مختلف، در جدول ۴ ارائه‌شده است. متوسط تعداد ژن‌های کنترل‌کننده صفت در ترکیب تلاقیBasma 16-10 × Basma S.31 ۰/۶۴ برآورد گردید. ازآنجایی‌که روش‌های مختلف محاسبه حداقل تعداد ژن، نیاز به‌پیش فرض‌های خاصی همچون عدم وجود لینکاژ، اپیستازی، غالبیت یا اثرهای نامساوی در مکان‌های ژنی متفاوت دارند، وجود احتمالی هر یک از موارد فوق باعث برآورد کمتر از حد واقع ژن‌های کنترل‌کننده صفت شده است (۱۲).

جدول ۳- تخمین اجزاء واریانس، نسبت غالبیت، نسبت F/(D×H)1/2 برای تجمع کلر در تلاقی‌های Basma 16-10 × Basma S. 31 و SPT 406 × Basma S.31 توتون شرقی

Table 3. Estimates of the variation components, dominance ratio, F/(D×H)1/2 ratio for chlorine accumulation in the crosses Basma 16-10 × Basma S. 31 and SPT 406 × Basma S. 31 of oriental tobacco

تلاقی	E_W	F	H	D	√H/D	F/√H.D
Basma 16-10 × Basma S. 31	۰/۰۸	-۰/۰۲	۰/۴۱	۰/۰۵	۲/۸۳	-۰/۱۳
SPT 406 × Basma S. 31	۰/۲۵	۰/۲۹	۰/۵۹	۰/۳۷	۱/۲۶	۰/۶۳

D: جزء افزایشی واریانس ژنتیکی، H: جزء غالبیت واریانس، EW: جزء محیطی واریانس، F: همبستگی بین جزء غالبیت و افزایشی روی تمام مکان ها، √H/D: نسبت غالبیت، F/√D.H: انحراف از غالبیت.

جدول ۴- تخمین تعداد ژن‌های کنترل‌کننده تجمع کلر در تلاقی‌های Basma 16-10 × Basma S. 31 و SPT 406 × Basma S. 31 توتون شرقی

Table 4. Estimates of number of genes controlling chlorine accumulation trait in the crosses Basma 16-10 × Basma S. 31 and SPT 406 × Basma S. 31 of oriental tobacco

تلاقی	روش					میانگین
	I Cockerham (۷)	II Cockerham (۷)	III Lande (۳۰)	IV Lande (۳۰)	V Lande (۳۰)	
Basma 16-10 × Basma S. 31	۰/۸۱	۰/۹۰	۰/۵۰	۰/۴۷	۰/۵۴	۰/۶۴
SPT 406 × Basma S. 31	۱/۲۴	۱/۰۶	۰/۷۴	۰/۰۷	۵/۶۳	۱/۷۵

در ترکیب تلاقی Basma 16-10 × Basma S.31 که اثرات ژنتیکی غیر افزایشی نقش مهم‌تری در کنترل صفت ایفا می‌کنند، نمی‌توان به موفقیت انتخاب در نسل‌های اولیه بعد از تلاقی امیدوار بود. زیرا اثر اصلاحی (بخش افزایشی واریانس ژنتیکی) برای صفت در مقایسه با بخش غیر افزایشی بسیار کمتر و اندک است، لذا برای اصلاح صفت انتخاب در نسل‌های پیشرفته این ترکیب تلاقی نتایج خوبی به همراه خواهد داشت.

در ترکیب تلاقی SPT 406 × Basma S. 31 مدل ۴ پارامتری با اجزاء [m]، مجموع اثرات افزایشی [d]، مجموع اثرات متقابل بین اثرات افزایشی × افزایشی [i] و مجموع اثر متقابل بین اثرات غالبیت × غالبیت [l] بهترین مدل برای توجیه توارث صفت تجمع کلر در برگ می‌باشد. آزمون t برای هر ۴ جزء این مدل معنی‌دار می‌باشد. اثر غالبیت [h] در این ترکیب تلاقی معنی‌دار نمی‌باشد. مشاهده اثر غالبیت غیر معنی‌دار ممکن است به‌واسطه حضور غالبیت دو جهته با اثرات ژنی نامتقارن باشد (۲۳،۲۱). معنی‌دار بودن اثرات متقابل افزایشی × افزایشی [i] و غالبیت × غالبیت [l] بر وجود اثرات اپیستازی در توارث این صفت دلالت دارند. معنی‌دار نشدن اثر متقابل افزایشی × غالبیت [j] ممکن است به علت خنثی کردن آثار مثبت و منفی در مکان‌های ژنی متفاوت باشد (۳۶). این نوع اثر اپیستازی نمی‌تواند به‌وسیله انتخاب (خصوصاً در نسل‌های اولیه در حال تفرق) تثبیت شود. حضور اثر افزایشی [d] و اثر متقابل افزایشی × افزایشی [i] در غیاب اثر غالبیت [h] بر اهمیت بیشتر اثرات ژنتیکی افزایشی در این ترکیب تلاقی در کنترل صفت تجمع کلر در برگ دلالت دارد. علامت منفی اثر افزایشی [d] نشان‌دهنده تمایل نتاج به سمت والد دارای اندازه صفت (تجمع کلر) کمتر است (۴۰). ازآنجاکه اثر افزایشی دارای علامت جبری منفی می‌باشد، احتمال می‌رود که بتوان در نتاج این ترکیب تلاقی، لاین‌های با تجمع کلر کم را در نسل‌های اولیه در حال تفکیک یافت. علامت منفی اثرات متقابل افزایشی × افزایشی [i] و غالبیت × غالبیت [l] حاکی از مشارکت این اثرات در تجمع کم کلر در برگ می‌باشد.

برآورد اجزای تنوع بر اساس واریانس شش نسل V_{P1}، V_{P2}، V_{F1}، V_{F2}، V_{BC1} و V_{BC2} نشان داد که در این ترکیب، تلاقی SPT 406 × Basma S.31 هم سهم واریانس افزایشی و هم واریانس غالبیت قابل‌توجه است که نشان می‌دهد برای بهبود صفت در جمعیت حاصل از این ترکیب تلاقی علاوه بر روش اصلاح جمعیت، روش تولید هیبرید نیز موفقیت‌آمیز خواهد بود. به‌عبارت‌دیگر ابتدا می‌توان با گزینش ژنوتیپ‌های با تجمع کم کلر سهم ژن‌های مطلوب را در جمعیت موردنظر افزایش داد و سپس با تلاقی بین ژنوتیپ‌های انتخابی هیبریدهای با تجمع کمتر کلر تولید نمود. اگرچه عملی ساختن این اندیشه فقط با تولید و توسعه لاین‌هایی با نرعقیمی ژنتیکی امکان‌پذیر خواهد (۲۲). مقدار مثبت F نشان می‌دهد که ژن‌های غالب عمدتاً در والدی قرار دارند که مقدار بیشتری از صفت موردمطالعه را نشان می‌دهد (۱۴). کوچک‌تر از یک بودن قدر مطلق پارامتر $F/\sqrt{H}.D$ نشان می‌دهد ژن‌های کنترل‌کننده ازنظر علامت و بزرگی در مکان‌های مختلف با یکدیگر متفاوت می‌باشند (۳۸). متوسط تعداد ژن‌های کنترل‌کننده صفت در این ترکیب تلاقی ۱/۷۵ برآورد گردید (جدول ۴). ازآنجایی‌که روش‌های مختلف محاسبه حداقل تعداد ژن، نیاز به‌پیش فرض‌های خاصی همچون عدم وجود لینکاژ، اپیستازی، غالبیت یا اثرهای نامساوی در مکان‌های ژنی متفاوت دارند وجود احتمالی هر یک از موارد فوق باعث برآورد کمتر از حد واقع ژن‌های کنترل‌کننده صفت شده است (۱۲).

وراثت‌پذیری عمومی صفت بر اساس روش‌های مختلف در ترکیب تلاقی اول (Basma 16-10 × Basma S.31) به‌طور متوسط ۰/۵۹ و در ترکیب تلاقی دوم (SPT 406 × Basma S. 31) ۰/۶۲ برآورد گردید. وراثت‌پذیری خصوصی یا واقعی در ترکیب تلاقی اول ۰/۱۳ و در ترکیب تلاقی دوم ۰/۳۲ برآورد گردید (جدول ۵). قابلیت توارث شاخص مناسبی برای بررسی انتقال صفات از والدین به نتاج است. دستیابی به پیشرفت ژنتیکی در اثر انتخاب شدیداً متأثر از وراثت‌پذیری صفت موردنظر است. وراثت‌پذیری در محدوده ۲۰ تا ۵۰ درصد توارث‌پذیری متوسط طبقه‌بندی می‌شود (۴۵). ازآنجایی‌که وجود اثرات متقابل اپیستازی برای صفتی فرضیات تجزیه جهت توزیع ژن‌ها در والدین را نقض می‌کند و درنتیجه به‌طورجدی هرگونه تلاش برای تجزیه واریانس ژنتیکی به اجزاء متناظر افزایشی و غالبیت را با مشکل مواجه می‌سازد و برآوردها را دچار اریب می‌نماید (۵،۶)، بنابراین در مطالعه فوق تنها برآوردهای وراثت‌پذیری عمومی از اعتبار لازم برخوردارند. متفاوت بودن برآورد وراثت‌پذیری در ترکیب تلاقی‌های مختلف در مطالعات مختلف گزارش‌شده است. مطالعات نشان داده‌اند وراثت‌پذیری نه‌تنها تحت تأثیر خصوصیات یک صفت، بلکه جمعیت و شرایط محیطی دربرگیرنده افراد تحت بررسی است. این شاخص معمولاً از جمعیتی به جمعیت دیگر متفاوت است.

جدول ۵- تخمین وراثت‌پذیری با روش‌های مختلف برای تجمع کلر در برگ تلاقی‌های Basma 16-10 × Basma S. 31 و SPT 406 × Basma S. 31 توتون شرقی

Table 5. Estimates of the heritability by different methods for chlorine accumulation trait in leaf of the crosses Basma 16-10 × Basma S. 31 and SPT406 × Basma S. 31 of oriental tobacco

تلاقی	h^2_{ns} Warnner (۴۶)	h^2_{bs}					
		I Mahmud & Kramer (۳۱)	II Warnner (۴۶)	III Allard (۲)	IV Allard (۲)	V Mather & Jinks (۳۲)	میانگین
Basma 16-10 × Basma S. 31	۰/۱۳	۰/۵۶	–	۰/۶۰	۰/۵۶	۰/۶۳	۰/۵۹
SPT 406 × Basma S. 31	۰/۳۲	۰/۶۶	–	۰/۶۰	۰/۶۶	۰/۵۷	۰/۶۲

h^2_{ns}: وراثت‌پذیری خصوصی. h^2_{bs}: وراثت‌پذیری عمومی.

در بررسی توارث صفت تجمع کلر در برگ مشخص شد که مدل‌های تبیین‌کننده‌ی ژنتیک تجمع کلر در برگ بسته به ترکیب تلاقی متفاوت است. می‌توان گفت مکانیسم درگیر در تجمع کلر در ژنوتیپ‌های فوق فرق می‌کند. بنابراین استراتژی‌های اصلاحی متفاوتی برای گزینش و اصلاح واریته‌های با تجمع کم کلر از جمعیت‌های در حال تفرق هر یک از تلاقی‌ها لازم است. در ترکیب تلاقی اول (Basma S. 31 × 16-10) ژنوتیپ‌های درگیر در تلاقی، هر دو از تیپ باسما بودند. ژنوتیپ‌های باسما، تیپیک توتون‌های شرقی می‌باشند. در ترکیب تلاقی دوم (SPT 406 × Basma S. 31) ژنوتیپ مادری از تیپ باسما و پدری از تیپ چپق بود. لاین‌های از تیپ چپق از توده‌های بومی منطقه شمال غرب کشور بوده و از طریق روش گزینش لاین خالص در مرکز تحقیقات توتون ارومیه انتخاب شده‌اند. نتایج تحقیقات قبلی (۱۷) نشان داده است دو ژنوتیپ Basma S.31 و SPT 406 علاوه بر تجمع کلر در برگ از نظر اکثر صفات زراعی نیز در نقطه مقابل همدیگر قرار دارند. والد SPT 406 دارای ارتفاع کوتاه، روز تا گلدهی کم، برگ‌های پهن با رنگ تیره و والد Basma S.31 دارای ارتفاع بلند، روز تا گلدهی بیشتر، برگ‌هایی با پهنای کمتر و رنگ روشن‌تر هستند. ازآنجایی‌که تنوع فنوتیپی کافی در بین والدین، تنوع ژنتیکی جمعیت حاصل از تلاقی را افزایش می‌دهد بنابراین جمعیت در حال تفرق حاصل از ترکیب تلاقی Basma S.31 و SPT 406، پتانسیل ایجاد لاین‌هایی با صفات زراعی مطلوب علاوه بر تجمع کم کلر را دارد و برای فعالیت اصلاحی آتی پیشنهاد می‌شود.

منابع

1. Akehurst, B.C. 1981. Tobacco 2nd edition Tropical Agricultural Series. New York: Longman Inc. 164 pp.
2. Allard, R.W. 1960. Principles of Plant Breeding, 2nd edition John Wily and Sons, Inc. New York. 254 pp.
3. Babaei, H.R., H. Zeinali Khanghah and A. Taleei. 2012. Genetic analysis of agronomic traits and seed shattering resistance in soybean (*Glycine max*). Seed and Plant Improvement Journal, 28(4): 593-609 (In Persian).
4. Chari, M.S. 1995. Role of research in the improvement of productivity and quality of Indian flue-cured Virginia tobacco. Central Tobacco Research Institute, Rajahmundry, India. 26-27 pp.
5. Choukan, R., H. Abtahi and E. Majidi Hervan. 2007. Genetic analysis of different traits in maize using diallel cross analysis. Iranian Journal of Crop Sciences, 8(4): 343-356 (In Persian).
6. Choukan, R. 2008. Methods of Genetical Analysis of Quantitative Traits in Plant Breeding. 1st edition. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran. 270 pp (In Persian).
7. Cokerham, C.C. 1988. Modification in estimating the number of genes for a quantitative character. Genetics, 114: 659-664.
8. Darvishzadeh, R., R. Alavi and A. Sarrafi. 2011. Genetic variability for chlorine concentration in oriental tobacco genotypes. Archive of Agronomy and Soil Science, 57(2): 167-177.
9. Darvishzadeh, R. and R. Alavi. 2011. Genetic analysis of chlorine concentration in oriental tobacco. Journal of Plant Nutrition, 34: 1070-1078.
10. Dixit, G.P. 1998. Gene action for yield and its components in grass pea. Indian Journal of Genetics, 58: 91-95.
11. Farshadfar, E. 2000. Application of Quantitative Genetics in Plant Breeding. Tagh-E- Bostan Press, Kermanshah, Iran. 726 pp (In Persian).
12. Ghannadha, M.R. 1998. Gene action for latent period of stripe rust in five cultivars of wheat. Iranian Journal of Crop Sciences, 1: 53-71 (In Persian).
13. Ghannadha, M.R. 2000. Gene functiona for resistance to yellow rust in wheat. Iranian Journal of Crop Sciences, 3: 397-407 (In Persian).
14. Golparvar, A.R., I. Majidi-Haravan, F. Darvish, A.M. Rezaie and A. Ghasemi Pirbalouti. 2004. Genetic assessment of some morpho-physiological traits in bread wheat under drought stress conditions. Pajouhesh & Sazandegi, 62: 90-95 (In Persian).
15. Guardiola, J.M., O. Perez and L. Diaz. 1987. Effect of chlorine and potassium on combustibity from fine plantations. Tobacco, 10: 29-43.
16. Hallauer, A.R. and J.B. Miranda. 1982. Quantitative Genetic in Maize Breeding. The Iowa State University Press. Ames, Iowa. 680 pp.
17. Hatami Maleki, H., Gh. 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).
18. Honarnejad, R., M. Shoai Deylami and M. Mesbah. 2001. Genetics of resistance to blue mould (*Peronospora tabacina* Adam) of tobacco. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, 5(2): 65-74 (In Persian).
19. Hosseinzadeh Fashalami, N., Z. Shahadati Moghaddam, Gh. Kiani, M.R. Salavati, P. Zamani, A.R. 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. Juan, R. and N. del Castillo. 1986. Irrigation water management and chemical and physical characteristics of covered dark tobacco. Riego y Drenaje, 9: 71-83.
21. Kamalizadeh, M., A.H. Hosseinzadeh and H. Zeinali Khaneghah. 2013. Evaluation of inheritance for some quantitative traits in bread wheat using generation means analysis under water deficit condition. Iranian Journal of Crop Sciences, 44(2): 317-326 (In Persian).

22. Karami, E., S.H. Sabagh Pur, M.R. Naghavi and M. Taeeb. 2011. Genetic analysis of earliness in chickpea (*Cicer arietinum* L.) using generation mean analysis. Iranian Journal of Pulses Research, 2(2): 63-68 (In Persian).
23. Karami, E. 2011. Genetic analysis of drought tolerance in chickpea (*Cicer arietinum* L.) using generation mean analysis. Journal of Crop Sciences, 42(1): 165-182 (In Persian).
24. Kearsey, M. and H.S. Pooni. 1996. The Genetical Analysis of Quantitative Traits. London: Chapman and Hall, 381 pp.
25. Kiani, Sh., N. Babaeian Jelodar, Gh. Ranjbar, S. K. Kazemitabar and M. Nowrozi. 2015.The genetical evaluation of quantitative traits in rice (*Oryza sativa* L.) by generation mean analysis. Journal of Crop Breeding, 7(15): 105-114 (In Persian).
26. King, M.J. 1990. Tobacco. In: Stewart, B.A. and D.R. Nielsen, editors. Irrigation of Agricultural Crops. Agronomy Series, vol. 30. Madison (WI): American Society of Agronomy Inc. pp: 811-833.
27. Lamprecht, M.P., F.J. Shaw, C.J.H. Pretorius, A.H. Botha, M.C. Beer and J.G. Nel. 1979. The effect of spacing and topping on some quality components of low-profile flue-cured tobacco. Agroplanta, 11: 35-39.
28. Lamprecht, M.P. and A.H. Botha. 1975. Genetic basis of chlorine concentration in flue-cured tobacco. Agroplanta, 7: 25-30.
29. Lamprecht, M.P. and C.J. Steenkamp. 1972. Difference in chlorine content of flue-cured tobacco cultivars. Agroplanta, 4: 69-72.
30. Lande, R. 1981. The minimum number of genes contributing to quantitative variation between and within populations Genetics, 95: 541-553.
31. Mahmud, I. and H. Krammer. 1951. Segregation for yield, height and maturity following a soybean cross. Agronomy Journal, 43: 605-609.
32. Mather, K. and T.L. Jinks. 1982. Biometrical Genetics. 3nd edition. Chapman & Hall. London, 396 pp.
33. McEvoy, E.T. 1957. The growth and mineral content of flue-cured tobacco as influenced by reaction of nutrient solutions with ionic forms of nitrogen Canadian Journal of Soil Science, 37: 79-83.
34. Mohammadi, M., S.S. Ramzanpour, S. Navabpour, H. Soltanloo, M. Kalate Arabi and Sh. Kia. 2012. Study on inheritance of resistance to Septoria tritici Blotch of wheat by generation means analysis. Journal of Plant Production, 19(4): 1-18 (In Persian).
35. Mostafavi, K.H., A.H. Hosseinzadeh, H. Zeinali Khaneghah and M. Khalou Bagheri. 2005a. Genetics of resistance to Sunn pest (*Eurygaster integriceps* Put.) in bread wheat. Iranian Journal of Agricultural Sciences, 36(2): 341-351 (In Persian).
36. Mostafavi K.H., A.H. Hosseinzadeh and H. Zeinali Khaneghah. 2005b. Genetic analysis of yield and correlated traits in bread wheat (*Triticum aestivum*). Iranian Journal of Agricultural Sciences, 36(1): 187-197 (In Persian).
37. Myhre, D.L., O.J. Attoe and W.B. Ogden. 1956. Chlorine and other constituents in relation to tobacco leaf-burn. Soil Science, 20: 547-551.
38. Nakhjavan, S., M.R. Bihamta, F. Darvish, B. Sorkhi and M. Zahravi. 2012. Heritability of agronomic traits in the progenies of a cross between two drought tolerant and susceptible barley genotypes in terminal drought stress conditions. Iranian Journal of Crop Sciences, 14(2): 136-154 (In Persian).
39. Provost, A. 1959. Technique du Tabac. Lausanne: Holiographic S.A. 331 pp.
40. Rabiei, B. and A. Ghorbanipour. 2011. Assessment of gene action and heritability of important agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.) using generation mean analysis. Iranian Journal of Crop Sciences, 13(2): 408-423 (In Persian).
41. Reisenauer, H.M. and W.E. Colwell. 1950. Some factor affecting the absorption of chlorine by tobacco. Soil Science, 15: 222-229.
42. Ren, N. and M.P. Timko. 2001. ALFP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild *Nicotiana* species. Genome, 44: 559-571.
43. Shapiro, S.S. and M.B. Wilk. 1965. An analysis of variance test for normality. Biometrika, 52: 591-599.
44. Singh, R.P. and S. Singh. 1992. Estimation of genetic parameters through generation mean analysis in bread wheat. Indian Journal of Genetics, 52: 369-375.
45. Stansfield, W.D. 1991. Theory and Problems in Genetics. McGraw-Hill. 452 pp.
46. Warnner, J.N. 1952. A method for estimating heritability. Agronomy Journal, 44: 427-430.
47. Williamson, R.E. and J.F. Chaplin. 1981. Levels of chemical constituents in cured leaves of four burley tobacco cultivars according to stalk position. Tobacco Science, 25: 75-78.
48. Yang, B.C., B.G. Xiao, X.J. Chen and C.H. Shi. 2007. Assessing the genetic diversiy of tobacco germplasm using inter simple sequence repeat and inter-retrotransposon amplification polymorphism markers. Annals of Applied Biology, 50: 393-40.

Study on Genetic of Chlorine Accumulation in Leaves of Oriental Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.)

Reza Darvishzadeh[1], Mir Javad Mousavi Andazghi[2] and Amir Fayyaz Moghaddam[3]

1- Professor, Urmia University, (Corresponding author: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir)
2 and 3- Gratuated M.Sc. Student and Associate Professor, Urmia University
Received: December 4, 2015 Accepted: June 1, 2016

Abstract

Chlorine as a micronutrient has a positive effect on the quality of tobacco leaves. However, the more chlorine has adverse effects on tobacco quality. To study the genetic accumulation of chlorine in leaves of oriental tobacco, each of the two lines 'Basma 16-10' and 'SPT 406' with the low accumulation of chlorine were crossed separately with Basma S. 31 with the high accumulation of chlorine. Parents of each cross together with F_1, F_2, BC_1 and BC_2 generations were evaluated for chlorine accumulation in a randomized complete block design with 3 replications under filed condition. Analysis of variance showed a significant difference between generations for accumulation of chlorine in leaves. Therefore, generation mean analysis was performed to estimate gene actions using Chi-square and scaling tests. The Chi-square of simple three-parametric model (additive- dominance model) was significant for studied crosses that indicate the presence of non-allelic interaction in the inheritance of property of accumulation of chlorine in leaves. In 'Basma S. 31 × Basma 16-10' cross, the best model to explain the inheritance of chlorine accumulation is 5-parameters model with [m], [h], [i], [j] and [l] components. High and significant value of [h] compared to [d] show the importance of dominance effect in controlling trait. In 'SPT406 × Basma S. 31' cross, 4-parameters model with [m], [d], [i], and [l] components is the best model. The presence of [d] and [i] in the absence of [h] suggest the importance of additive genetic effects in control of chlorine. So we can say that the mechanisms involved in the accumulation of chlorine are different in studied genotypes. So, different breeding strategies are necessary to selection and modification of genotypes with low chlorine accumulation in segrigation populations.

Keywords: Chlorine accumulation, Generation mean analysis, Genetic diversity, Oriental tobacco