

مطالعه ژنتیکی صفات زراعی در توتون (*Nicotiana tabacum* L.) با استفاده از تجزیه گرافیکی

دای آل به روش هیمن

سمیه داداشی^۱، رضا درویش‌زاده^۲، مجتبی نورآئین^۳ و حمید حاتمی ملکی^{۴*}

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه

۲- استاد، گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه

۳- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه

۴- دانشیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۶/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۳۰)

چکیده

به‌منظور تجزیه و تحلیل گرافیکی و برآورد پارامترهای ژنتیکی مربوط به عملکرد و اجزای آن، از تلاقی‌های دای آل یک‌طرفه شش رقم توتون استفاده شد. در این بررسی نتاج F_2 به همراه والد‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها برای صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن خشک برگ و وزن تر برگ بود. برای تجزیه‌ی داده‌ها از روش گرافیکی هیمن استفاده گردید. تجزیه دای آل نشان دهنده‌ی وجود عمل افزایشی و غالبیت در وراثت همه صفات مورد مطالعه بود. البته در صفات ارتفاع بوته، تعداد برگ، طول و عرض برگ، قطر ساقه، فاصله میانگره و وزن خشک برگ میزان اثرات افزایشی بیش از اثرات غالبیت و در صفت وزن تر برگ میزان اثر غالبیت بیش از اثر افزایشی بود. دخالت عمل افزایشی ژن در وراثت وزن خشک برگ (عملکرد) نشان دهنده‌ی تأثیر انتخاب برای اصلاح این صفت بود. با توجه به اینکه وزن تر برگ توسط عمل غالبیت کنترل شد، بنابراین روش‌های مبتنی بر دورگ‌گیری برای اصلاح این صفت مؤثر هستند. همچنین عمل افزایشی و غالبیت ژن در وراثت صفات عملکرد، ارتفاع بوته و تعداد برگ دخالت داشتند. با توجه به برآوردهای میانگین درجه غالبیت و نتایج تجزیه و تحلیل گرافیکی، عمل ژن برای وزن تر برگ از نوع فوق‌غالبیت بود، بنابراین برای افزایش و بهبود این صفت می‌توان از پدیده‌ی هتروزیس بهره برد. برای ارتفاع بوته، تعداد برگ و عملکرد، عمل ژن از نوع غالبیت نسبی بود.

واژگان کلیدی: پارامترهای ژنتیکی، توتون، دای آل، عمل ژن، عملکرد

* نویسنده مسئول، آدرس پست الکترونیکی: hatamimaleki@maragheh.ac.ir

مقدمه

توتون یکی از گیاهان زراعی مهم صنعتی در ایران و جهان است. توتون دارای ژرمپلاسم نسبتاً بزرگی متشکل از تعداد زیادی رقم و لاین می‌باشد. بدیهی است شناسایی و ردیابی هر ژنوتیپ در بانک بذر و برنامه‌های اصلاحی کمک شایانی به پیشرفت امور مربوط به ژنوتیپ‌ها و به‌کارگیری آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی خواهد کرد (Godwin et al., 1997).

بهبود ژنتیکی هر موجود وابسته به وجود و وسعت تنوع ژنتیکی آن است. تنوع ژنتیکی نقش بسیار مهمی را در اصلاح نباتات ایفا می‌کند، زیرا دورگ‌های حاصل از لاین‌های دارای تنوع ژنتیکی بیشتر، هتروزیس بیشتری را نسبت به نژادهای نزدیک به هم نشان می‌دهند (Bagheri et al., 2001). در اصلاح نباتات برای دستیابی به ارقامی با صفات مطلوب زراعی، اطلاع از ساختار ژنتیکی والدین مورد تلاقی، جهت انتخاب روش اصلاحی مناسب توسط پژوهشگر بسیار حائز اهمیت است. اطلاع از نحوه‌ی توارث و نوع عمل ژن‌های کنترل‌کننده‌ی صفات هدف مبنای طراحی یک روش اصلاحی مناسب برای دستیابی به اهداف اصلاح ژنتیکی می‌باشد (Mohammadi et al., 2010). یکی از روش‌هایی که توسط آن می‌توان به‌راحتی و در زمان نسبتاً کوتاه به اطلاعات ژنتیکی دست یافت، روش تلاقی‌های دای‌آل است که اصول و مبانی آن توسط جینکز و هیمن (Jinks and Hayman, 1953) و گریفینگ (Griffing, 1956a,b) در دهه‌ی ۱۹۵۰ میلادی ارائه شد.

از جمله پارامترهای مهمی که با این روش برآورد می‌شود مقدار هتروزیس، نوع عمل ژن‌ها و ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی لاین‌های اصلاحی است (Baker, 1987; Griffing, 1956b; Hayman, 1954a; Johnson, 1973). در تجزیه دای‌آل به روش هیمن دو مرحله وجود دارد: تجزیه واریانس و برآورد اجزای واریانس. این اجزا شامل واریانس افزایشی (a) و واریانس غیر افزایشی (b)

می‌باشد (Singh and Chaudhary, 1995). مطالعه روی واریته‌های توتون گلخانه‌ای حاکی از توارث‌پذیری عمومی بالا برای صفات آلکالوئید کل و درصد ازت است (به ترتیب ۹۴/۲ و ۷۳/۸ درصد) لذا گزینش برای این صفات با تکیه بر اثرات افزایشی ژن‌ها می‌تواند موفقیت‌آمیز باشد.

گزارش‌های مورتی و همکاران (Murthy et al., 1998) در مورد نتایج بررسی عملکرد و اجزاء آن و همچنین مقدار آلکالوئید واریته‌های توتون و نسل F₁ آن‌ها حاکی از واریانس معنی‌دار ترکیب‌پذیری عمومی برای کلیه صفات مورد ارزیابی و ترکیب‌پذیری خصوصی معنی‌دار برای عملکرد، تعداد برگ‌های قابل استفاده و زمان گلدهی بوده و برای صفاتی مانند عملکرد، آلکالوئید کل و ارتفاع بوته اثرات افزایشی ژن‌ها تعیین کننده بوده‌اند.

تجزیه و تحلیل اوگیلوی و کوزومپلیک (Ogilvie and Kozumplik, 1983) بر روی صفات کمی توتون سیگار و پیپ نشانگر وجود ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی برای این صفات بود. بررسی‌های لگ و کالینز (Legg and Collins, 1971) روی جمعیت‌های توتون تیپ بارلی و ویرجینیا حاکی از وجود هتروزیس برای ارتفاع بوته، طول برگ و عملکرد بود و واریانس افزایشی برای صفات مذکور و همچنین برای تعداد و عرض برگ‌ها معنی‌دار گردید؛ درحالی‌که زمان گلدهی واریانس غالبیت قابل‌توجهی را نشان داد. با توجه به توارث‌پذیری صفات فوق‌الذکر، شانس قابل‌قبولی برای موفقیت انتخاب آن‌ها وجود خواهد داشت. در این بررسی‌ها بسیاری از صفات مورفولوژیکی همبستگی ژنتیکی مثبت با یکدیگر نشان دادند، درحالی‌که همبستگی بین مقدار عملکرد و آلکالوئید کل منفی و به‌میزان ۰/۳۳- برآورد گردیده است.

ترکیب‌پذیری تراکم روزنه‌های برگ توتون که توسط آمانات (Amanath, 1991) ارزیابی گردیده، حاکی از وجود تفاوت‌های معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها و اثرات افزایشی و غیرافزایشی ژن‌ها در شکل‌گیری این صفت می‌باشد.

زمین اصلی، زمین محل آزمایش شخم و دیسک زده شد تا خاک آن کاملاً نرم شود. گیاهچه‌ها بعد از رسیدن به ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر، به زمین اصلی انتقال یافتند. با در نظر گرفتن ۱۵ هیبرید و شش والد آن‌ها ۲۱ کرت برای هر بلوک و با توجه به سه تکرار در مجموع ۶۳ کرت برای آزمایش در نظر گرفته شد. کلیه‌ی عملیات زراعی مطابق با توصیه‌های مرکز تحقیقات توتون ارومیه در رابطه با کشت و عمل‌آوری توتون‌های شرقی انجام گرفت. زمانی که ۸۰ درصد رطوبت خاک تخلیه شد، آبیاری مزرعه صورت می‌گرفت (Salehzadeh et al., 2009). برخلاف اکثر توتون‌ها که در آن‌ها عمل سرزنی رایج است، در این توتون‌ها این عمل انجام نگرفت. چیدن برگ‌ها در سه نوبت بعد از رسیدگی صنعتی انجام و سپس در مقابل آفتاب (ویژه توتون‌های شرقی) خشک گردیدند.

صفات مختلف زراعی شامل ارتفاع بوته (برحسب سانتی‌متر از سطح خاک تا ابتدای گل‌آذین)، قطر ساقه (میلی‌متر)، تعداد برگ (شامل تعداد برگ‌های قابل برداشت هر گیاه در مجموع چین‌ها)، فاصله میانگره، طول برگ (از نوک برگ تا انتهای برگ بر حسب سانتی‌متر در بزرگ‌ترین برگ چین دوم) و عرض برگ (پهن‌ترین قسمت برگ بر حسب سانتی‌متر در بزرگ‌ترین برگ چین دوم) از طریق انتخاب ۵ بوته تصادفی در هر واحد آزمایشی یادداشت‌برداری شدند (Kara and Esendal, 1995). صفات وزن‌تر برگ و وزن خشک برگ به‌وسیله کل بوته‌های هر واحد آزمایشی با حذف اثر حاشیه اندازه‌گیری شدند.

تجزیه واریانس داده‌ها بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تجزیه و تحلیل تلافی‌ها به روش تجزیه واریانس هیمن (Mather and Jinks, 1982) اطلاعات بیشتری را در رابطه با ماهیت ژنتیکی صفات مورد بررسی قرار می‌دهد؛ البته قبل از آغاز تجزیه دای‌آلل اطمینان از کفایت مدل افزایشی-غالبیت ضروری است که در این راستا می‌بایست مقدار t^2 مورد آزمون قرار

بررسی‌های چن (Chen, 1972) در تایوان نشان دهنده وجود اثرات افزایشی، غالبیت و اپیستاتیک ژن‌ها در رابطه با توارث عملکرد برگ توتون می‌باشد، درحالی‌که برای توارث مقدار نیکوتین فقط اثرات افزایشی ژن‌ها معنی‌دار بوده و توارث‌پذیری عملکرد برگ کمتر از مقدار نیکوتین آن می‌باشد. این بررسی‌ها نشان می‌دهند که کنترل عملکرد برگ توسط یک‌جفت ژن، ولی کنترل ژنتیکی مقدار نیکوتین برگ‌ها توسط دو جفت ژن انجام می‌پذیرد.

گرچه در سال‌های اخیر در ایران نیز تلاقی‌های دای‌آلل برای بررسی ترکیب‌پذیری صفات مختلف گیاهان زراعی انجام گرفته است (Dehghani et al., 2005; Hemati et al., 2010; Mohammadi and Khodambashi Emami, 2008; Rahimi and Rabiei, 2009; Sharifi et al., 2010; Motamedi and Safari, 2018)؛ اما در مورد گیاه توتون و به‌خصوص نحوه توارث صفات کمی آن در قالب تلاقی‌های دای‌آلل پژوهش‌های کمی صورت پذیرفته است. هدف از این مطالعه ارزیابی ژنوتیپ‌های توتون شرقی، مطالعه وضعیت وراثتی عملکرد و صفات مهم گیاه و محاسبه پارامترهای ژنتیکی از طریق تجزیه دای‌آلل به روش گرافیکی هیمن است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور مطالعه صفات زراعی و بررسی تنوع ژنتیکی توتون‌های شرقی (*Nicotiana tabacum* L.)، تعداد شش واریته توتون تیپ شرقی شامل B104, OR205, OR209, SPT406, PD328 و IZMIR در یک تلاقی دای‌آلل یک‌طرفه با یکدیگر تلاقی داده شدند. کلیه تلاقی‌های مستقیم بین والدین به‌صورت دای‌آلل 6×6 در سال زراعی ۱۳۹۲ انجام شد. بذور دورگ حاصل از این تلاقی‌ها به همراه والدین مربوطه در سال زراعی ۱۳۹۳ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات توتون ارومیه کشت گردید. بدین منظور بذور در خزانه با تراکم ۵ گرم بر مترمربع کشت و سپس سطح خزانه با لایه‌ی نازکی از کود حیوانی پوسیده پوشیده شد. قبل از انتقال گیاهچه‌ها به

$(H_2/4H_1)$ ، وراثت‌پذیری مربوط به والدین $D/(D+E)$ ، وراثت‌پذیری عمومی (h_b^2) و وراثت‌پذیری خصوصی (h_n^2) می‌باشند. تجزیه‌های آماری و نیز تجزیه‌ی گرافیکی داده‌ها توسط برنامه SASHAYDIALL با استفاده از نرم‌افزار SAS V9.4 انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مقدماتی حاکی از این بود که بین ژنوتیپ‌ها از نظر ۴ صفت ارتفاع بوته، تعداد برگ، وزن تر برگ (در سطح احتمال ۹۹ درصد) و وزن خشک برگ (در سطح احتمال ۹۵ درصد) اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۱).

کفایت مدل افزایشی-غالبیت: با توجه به این‌که انجام آزمون کفایت مدل افزایشی-غالبیت قبل از تجزیه دای‌آل ضروری می‌باشد، مقادیر مربوط به آزمون t^2 یا F و آزمون ضریب رگرسیون در جدول ۲ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود در مورد تمام صفات اندازه‌گیری شده آماره t^2 و ضریب رگرسیون غیرمعنی‌دار می‌باشند که نشان‌دهنده توزیع مستقل ژن‌ها در والدین و عدم وجود اپیستازی بین مکان‌های ژنی می‌باشد و در نتیجه فرضیات آزمون هیمن برقرار است.

گرفته و همچنین باید رگرسیون W_r بر V_r به صورت یک خط مستقیم با شیب یک باشد که برای برقراری این فرض، ضریب رگرسیون آزمون می‌شود.

در این روش اجزاء افزایشی (a) و غیرافزایشی (b) محاسبه می‌شوند که واریانس غیرافزایشی شامل سه جزء می‌باشد. جزء b_1 غالبیت یک‌جهت، جزء b_2 توزیع نامتقارن ژن‌ها و جزء b_3 واریانس غالبیت باقی‌مانده را که اجزاء b_1 و b_2 قابلیت توصیف آن را ندارند، آزمون می‌کند. اگر جزء b_3 معنی‌دار باشد، باید پارامتر ژنتیکی اثرات غیرافزایشی نیز معنی‌دار شود. اگر a و b هر دو معنی‌دار باشند، در این صورت واریانس افزایشی و غالبیت هر دو در کنترل صفت سهمیم هستند. در صورت معنی‌دار شدن جزء b امکان برآورد پارامترهای ژنتیکی وجود دارد. برای صفاتی که جزء b در آن‌ها معنی‌دار شد، تجزیه گرافیکی انجام گرفت. پارامترهای ژنتیکی محاسبه شده (Hayman, 1954a,b; Jinks and Hayman, 1953) شامل واریانس افزایشی (D)، واریانس غالبیت (H_1) و اثر متقابل اثرات افزایشی و غیر افزایشی (F)، متوسط جهت غالبیت (h^2)، واریانس محیطی (E)، میانگین درجه غالبیت ($\sqrt{H_1/D}$)، تعداد گروه‌های ژنی (h_2/H_2)، نسبت ژن‌های با اثرات مثبت و منفی در والدین

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مختلف در ژنوتیپ‌های توتون

Table 1. Analysis of variance of several traits in tobacco genotypes

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات Mean of squares							
		ارتفاع بوته Plant height	تعداد برگ Leaf number	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	قطر ساقه Stem diameter	فاصله میانگره Internodes distance	وزن تر برگ Fresh leaf weight	وزن خشک برگ Dry leaf weight
بلوک Block	2	191.97 ^{ns}	25.68 ^{ns}	41.30 ^{ns}	2.36 ^{ns}	19.52 ^{ns}	6.28 ^{**}	445585.28 ^{ns}	32138.24 ^{ns}
تیمار Treatment	20	902.54 ^{**}	41.92 ^{**}	22.06 ^{ns}	6.27 ^{ns}	60.39 ^{ns}	0.62 ^{ns}	4499963.37 ^{**}	125789.14 [*]
خطا Error	40	165.65	9.35	13.80	4.05	41.90	0.36	1443102.06	64907.40
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)		9.96	9.79	12.90	13.09	43.24	14.19	15.99	27.23

^{ns}, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

^{ns}, * and **: Non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ۲- مقادیر مربوط به آزمون کفایت مدل افزایشی-غالبیت

Table 2. Values for the testing of adequacy of additive-dominance model

آماره Statistic	ارتفاع بوته Plant height	تعداد برگ Leaf number	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	قطر ساقه Stem diameter	فاصله میانگره Internodes distance	وزن تر برگ Fresh leaf weight	وزن خشک برگ Dry leaf weight
آماره t^2 t^2	0.274 ^{ns}	0.768 ^{ns}	1.525 ^{ns}	0.552 ^{ns}	0.098 ^{ns}	0.937 ^{ns}	0.128 ^{ns}	0.719 ^{ns}
ضریب رگرسیون b	0.663	1.024	1.174	1.036	0.955	0.505	0.518	0.531
انحراف معیار ضریب b Se(b)	0.266	0.409	0.281	0.314	0.090	0.737	0.347	0.262
فرض برابری ضریب با صفر $H_0 b=0$	2.498 ^{ns}	2.503 ^{ns}	4.177*	3.300*	10.601**	0.685 ^{ns}	1.492 ^{ns}	2.02 ^{ns}
فرض برابری ضریب با صفر $H_0 b=1$	1.268 ^{ns}	0.058 ^{ns}	0.619 ^{ns}	0.113 ^{ns}	0.504 ^{ns}	0.672 ^{ns}	1.386 ^{ns}	1.792 ^{ns}

^{ns}, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

^{ns}, * and **: Non-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

تفسیر پارامترهای ژنتیکی

ارتفاع بوته: معنی‌دار شدن اجزای a و b (به ترتیب تخمینی از ترکیب‌پذیری عمومی و خصوصی هستند)، نشان می‌دهد که اثرات افزایشی و غالبیت هر دو در کنترل این صفت سهمیم هستند (جدول ۳). با معنی‌دار شدن جزء a انتظار می‌رود که این صفت دارای وراثت‌پذیری بالایی باشد. به دلیل معنی‌دار نشدن جزء b_1 ، توزیع ژن‌ها به صورت متقارن می‌باشد. اجزاء b_2 و b_3 در مورد این صفت معنی‌دار شده‌اند که می‌توان نتیجه گرفت فراوانی آلل‌های غالب و مغلوب در والدین یکسان نبوده، SCA معنی‌دار شده و اثرات غیرافزایشی در کنترل این صفت سهمیم هستند، بنابراین در اصلاح این صفت می‌توان از هتروزیس بهره برد. برآورد پارامترهای ژنتیکی در جدول ۴ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود پارامتر D برای این صفت بزرگ‌تر از پارامترهای H_1 و H_2 می‌باشد که نشان دهنده‌ی مهم‌تر بودن جزء واریانس افزایشی نسبت به واریانس غالبیت در کنترل این صفت می‌باشد. شاخص F برای این صفت مثبت می‌باشد که بیانگر بیشتر بودن نسبت آلل‌های غالب به مغلوب می‌اشد.

متوسط جهت غالبیت (h^2) نیز برای صفت ارتفاع بوته مثبت بود و نشان داد که آلل‌های غالب افزایش دهنده‌ی صفت می‌باشند. برآورد میانگین درجه غالبیت ($\sqrt{H_1/D}$) برای این صفت کمتر از یک به دست آمد و مبین وجود غالبیت نسبی می‌باشد که این نتایج به وسیله‌ی تجزیه‌ی گرافیکی هم تأیید شد. تعادل بین آلل‌های مثبت و منفی ($H_2/4H_1$) در والدین کمتر از ۰/۲۵ بود که نشان دهنده‌ی عدم توزیع متقارن آلل‌های با اثر مثبت و منفی در والدین است. با توجه به وراثت‌پذیری بالا و سهم بیشتر واریانس افزایشی ژن‌ها در کنترل میزان این صفت، بازدهی گزینش برای این صفت بالا خواهد بود. به دلیل معنی‌دار شدن جزء b در این صفت، تجزیه‌ی گرافیکی انجام شد. رگرسیون کوواریانس ردیف‌ها (W_r) روی واریانس ردیف‌ها (V_r) ایجاد خطی با شیب یک می‌کند. به عبارتی تفاوت بین کواریانس و واریانس هر ردیف ثابت است و زمانی به دست می‌آید که اثر متقابل غیرآلی وجود نداشته باشد. قطع محور W_r توسط خط رگرسیون در بخش مثبت حاکی از وجود آثار غالبیت نسبی ژن‌ها در کنترل این صفت می‌باشد (شکل ۱) و با

درصد) می‌باشد. بنابراین، تلاقی بین این دو نوع والد می‌تواند منجر به تولید هیبریدهای مناسبی گردد. **تعداد برگ:** در مورد این صفت نیز معنی دار شدن اجزاء a و b نشان می‌دهد که اثرات افزایشی و غالبیت هر دو در کنترل این صفت سهم هستند (جدول ۳). اجزاء b_2 و b_3 در مورد این صفت نیز معنی دار شده‌اند که بیانگر یکسان نبودن فراوانی آلل‌های غالب و مغلوب در والدین و تأثیر اثرات غیرافزایشی در کنترل این صفت هستند. با توجه به جدول ۴ پارامتر D برای این صفت از مجموع پارامترهای H_1 و H_2 بیشتر می‌باشد که بیانگر مهم‌تر بودن جزء واریانس افزایشی نسبت به واریانس غالبیت در کنترل این صفت می‌باشد. شاخص F برای این صفت مثبت می‌باشد که حاکی از بیشتر بودن نسبت آلل‌های غالب به مغلوب است.

نتایج لگ و کالینز (Legg and Collins, 1971) و مورتی و همکاران (Murthy et al., 1988) که حاکی از اثرات افزایشی ژن‌ها و در نتیجه توارث‌پذیری بالای این صفت می‌باشد، مطابقت دارد؛ ولی با نتایج هنرنژاد و شعاعی دیلمی (Honarnejad and Shoai Deylami, 1997) که حاکی از وجود اثر فوق‌غالبیت ژن‌ها و وراثت‌پذیری پایین این صفت است، مطابقت ندارد. پراکنش والدین در اطراف خط رگرسیون بیانگر فراوانی ژن‌های غالب و مغلوب است. هرچه والدین به محل تقاطع خط رگرسیون با محور W_r نزدیک‌تر باشد، دارای ژن‌های غالب بیشتری بوده و اگر دورتر باشد، دارای درصد بیشتری از ژن‌های مغلوب است. والد شماره ۲ به دلیل نزدیک بودن به محور مختصات دارای کوچکترین V_r و W_r و یا حداکثر ژن‌های غالب می‌باشد در حالیکه والد شماره ۴ به دلیل دوری از محور مختصات دارای حداقل ژن‌های غالب (کمتر از ۲۵

جدول ۳- تجزیه واریانس دای آلل برای صفات بررسی شده در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه توتون به روش همین

Table 3. Diallel analysis of variance for traits in tobacco genotypes with Hayman method
میانگین مربعات (MS)

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی D.F	ارتفاع	تعداد	طول	عرض	قطر	فاصله	وزن تر	وزن خشک
		بوته Plant height	برگ Leaf number	برگ Leaf length	برگ Leaf width	ساقه Stem diameter	میانگره Internodes distance	برگ Fresh leaf weight	برگ Dry leaf weight
بلوک Block	2	191.970 ^{ns}	25.680 ^{ns}	41.300 ^{ns}	2.360 ^{ns}	19.520 ^{ns}	6.280 ^{**}	445585.28 ^{ns}	32138.240 ^{ns}
جزء افزایشی a	5	2462.278 ^{**}	32.606 [*]	27.708 ^{ns}	1.406 ^{ns}	29.915 ^{ns}	0.407 ^{ns}	6656479.95 ^{ns}	248133.460 [*]
جزء غیرافزایشی b	15	382.622 ^{**}	45.025 ^{**}	20.171 [*]	7.893 ^{**}	70.554 ^{ns}	0.686 [*]	3781124.52 ^{**}	85007.706 ^{ns}
غالبیت یک جهت b ₁	1	54.531 ^{ns}	36.432 ^{ns}	0.987 ^{ns}	16.499 [*]	2.388 ^{ns}	0.161 ^{ns}	3005366.93 ^{ns}	365043.214 ^{ns}
توزیع نامتقارن ژن‌ها b ₂	5	380.578 [*]	65.678 ^{**}	11.659 ^{ns}	1.223 ^{ns}	43.559 ^{ns}	0.209 ^{ns}	2115196.06 ^{ns}	17233.158 ^{ns}
واریانس غالبیت باقی مانده b ₃	9	420.212 [*]	34.507 ^{**}	27.032 ^{**}	10.643 ^{**}	93.1256 ^{ns}	1.009 [*]	4792835.61 ^{**}	91545.175 ^{ns}
خطا Error	40	165.650	9.350	13.800	4.050	41.900	0.360	1443102.06	64907.400

^{ns}, * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

^{ns}, * and **: Non-significant and significant at the 5% and 1% probability level, respectively

جدول ۴- برآورد پارامترهای ژنتیکی و آماری صفات به روش هیمن در ژنوتیپ‌های توتون

Table 4. Estimation of genetic and statistic parameters for traits in tobacco genotypes with Hayman method

پارامتر Parameter	ارتفاع بوته Plant height	تعداد برگ Leaf number	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	قطر ساقه Stem diameter	فاصله میانگره Internodes distance	وزن تر برگ Fresh leaf weight	وزن خشک برگ Dry leaf weight
واریانس افزایشی D	588.192	26.964	10.832	3.422	50.192	0.153	2382744.690	39710.645
واریانس غالبیت H ₁	271.668	17.705	6.418	1.457	37.125	0.000	4917554.980	19871.945
واریانس غالبیت H ₂	250.983	12.813	6.873	0.255	16.293	0.000	3428960.160	22953.808
اثر متقابل اثرات افزایشی و غیرافزایشی F	236.940	16.741	6.427	2.523	68.438	0.073	3757009.700	0.000
متوسط جهت غالبیت h ²	156.199	11.293	0.000	0.000	33.676	0.000	6759933.700	110276.983
واریانس محیطی E	55.634	3.375	5.036	1.322	13.612	0.364	465200.423	21115.655
میانگین درجه غالبیت $\sqrt{H_1/D}$	0.680	0.810	0.770	0.653	0.860	0.000	1.437	0.707
تعداد گروه‌های ژنی h ₂ /H ₂	0.622	0.881	0.000	0.000	2.067	0.000	1.971	4.804
نسبت ژن‌های دارای اثرات مثبت و منفی H ₂ /4H ₁	0.231	0.181	0.268	0.044	0.110	0.000	0.174	0.289
وراثت‌پذیری مربوط به والدین D/(D+E)	0.914	0.889	0.683	0.721	0.787	0.295	0.837	0.653
وراثت‌پذیری عمومی h _b ²	0.817	0.761	0.423	0.457	0.283	0.098	0.663	0.533
وراثت‌پذیری خصوصی h _n ²	0.611	0.535	0.226	0.431	0.068	0.098	0.041	0.405

بررسی لگ و کالینز (Legg and Collins, 1971) و هم‌چنین هنرنژاد و شعاعی‌دیلمی (Honarnejad and Shoai Deylami, 1997) به وجود اثر افزایشی در کنترل ژنتیکی تعداد برگ اشاره شده است، درحالی‌که مورتی و همکاران (Murthy et al., 1988) اثرات GCA و SCA را در کنترل ژنتیکی تعداد برگ‌های قابل استفاده مؤثر می‌دانند.

با توجه به معنی‌داری جزء b تجزیه گرافیکی برای تعداد برگ انجام شد. قطع محور W_r توسط خط رگرسیون در بخش مثبت حاکی از وجود آثار غالبیت نسبی ژن‌ها در کنترل این صفت می‌باشد (شکل ۲). پراکنش والدین در اطراف خط رگرسیون نشان می‌دهد که والد شماره ۲ به دلیل نزدیک بودن به محور مختصات دارای کوچک‌ترین مقادیر V_r و W_r و یا حداکثر ژن‌های غالب است (۷۵ درصد) درحالی‌که والد شماره ۳ به دلیل دوری از محور

متوسط جهت غالبیت (h²) نیز برای صفت تعداد برگ مثبت بود و نشان داد که آل‌های غالب افزایش دهنده‌ی این صفت می‌باشند. برآورد میانگین درجه غالبیت ($\sqrt{H_1/D}$) برای این صفت کمتر از یک به‌دست آمد و مبین وجود غالبیت نسبی می‌باشد که این نتایج به‌وسیله‌ی تجزیه‌ی گرافیکی هم تأیید شد. تعادل بین آل‌های مثبت و منفی (H₂/4H₁) در والدین کمتر از ۰/۲۵ بود که بیانگر عدم توزیع متقارن آل‌های با اثر مثبت و منفی در والدین می‌باشد. وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی تعداد برگ به‌ترتیب ۸۱ و ۵۵ درصد بود که نشان دهنده‌ی وراثت‌پذیری بالا برای این صفت می‌باشد. با توجه به سهم قابل‌توجه اثرات افزایشی ژن‌ها در کل تنوع مشاهده شده و با در نظر گرفتن توارث‌پذیری برآورد شده، این امر می‌تواند منجر به پیشرفت ژنتیکی قابل‌توجهی هنگام گزینش نتاج با برگ‌های بیشتر به ازاء هر بوته گردد. در

مختصات دارای کمتر از ۲۵ درصد ژن‌های غالب می‌باشد و تلاقی این دو والد در تولید هیبریدهایی با تعداد برگ بیشتر می‌تواند مؤثر باشد.

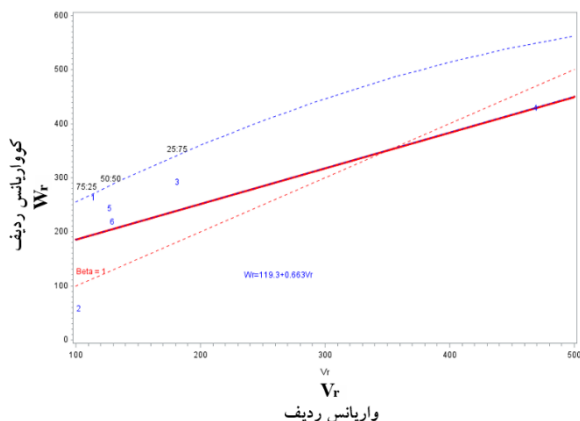
وزن تر برگ: در مورد این صفت معنی‌دار شدن جزء b نشان می‌دهد که اثرات غالبیت در کنترل این صفت نقش دارد (جدول ۳) که معنی‌داری جزء b_3 نیز مؤید این مطلب است. واریانس افزایشی (D) کمتر از مقادیر واریانس‌های غالبیت (H_1 و H_2) است که نشان می‌دهد اثرات غالبیت یا فوق‌غالبیت در کنترل این صفت نقش دارند (جدول ۴). هم‌چنین تفاوت بین اجزاء غالبیت (H_1 و H_2) نیز مثبت می‌باشد که نشان می‌دهد فراوانی آلل‌های غالب و مغلوب کنترل‌کننده صفت در کلیه‌ی لوکوس‌ها برابر نمی‌باشد. پارامتر ژنتیکی F مثبت است بنابراین، توزیع آلل‌ها در والدین متقارن نبوده و تعداد آلل‌های غالب بیشتر از آلل‌های مغلوب است. متوسط جهت غالبیت (h^2) برای این صفت مثبت است و نشان داد که والدین دارای ژن‌های افزایشی کمتری بوده و آلل‌های غالب در افزایش این صفت مؤثر می‌باشند. برای وزن تر برگ، برآورد میانگین درجه غالبیت ($\sqrt{H_1/D}$) نیز بیشتر از یک به‌دست آمد که بیانگر وجود فوق‌غالبیت برای ژن‌های کنترل‌کننده این صفت است. تعادل بین آلل‌های مثبت و منفی ($H_2/4H_1$) در والدین کمتر از ۰/۲۵ است که نشان‌دهنده‌ی عدم توزیع متقارن آلل‌ها با اثر مثبت و منفی در والدین می‌باشد.

به‌دلیل معنی‌دار شدن جزء b در این صفت تجزیه‌ی گرافیکی انجام شد (شکل ۳). قطع محور W_F توسط خط رگرسیون در بخش منفی حاکی از وجود آثار فوق‌غالبیت ژن‌ها در کنترل این صفت می‌باشد. پراکنش والدین در اطراف خط رگرسیون نشان می‌دهد که والد شماره ۲، به‌دلیل نزدیک بودن به محور مختصات دارای کوچک‌ترین مقادیر V_F و W_F و یا حداکثر ژن‌های غالب است (۷۵ درصد). درحالی‌که والد شماره ۴ به دلیل دوری از محور مختصات، دارای کمتر از ۲۵ درصد ژن‌های غالب می‌باشد. وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی نیز به‌ترتیب

۶۴ و ۲ درصد بود که نشان‌دهنده‌ی وراثت‌پذیری عمومی بالا برای این صفت می‌باشد. با توجه به مثبت بودن اثر آلل‌های غالب در این صفت و نتایج فوق‌غالبیت مشاهده شده برای آن، می‌توان این صفت را از طریق انتخاب مناسب والدین در ترکیبات هیبریدی افزایش داد.

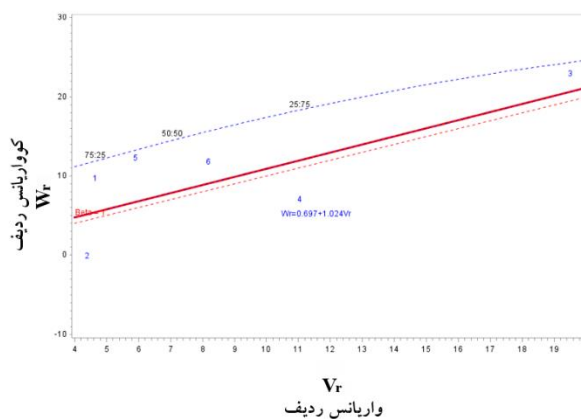
وزن خشک برگ (عملکرد): در مورد صفت وزن خشک تنها جزء a معنی‌دار شده است که نشان‌دهنده‌ی وجود اثرات افزایشی در کنترل این صفت می‌باشد (جدول ۳) و از طرفی مبین وراثت‌پذیری بالای این صفت است. بیشتر بودن واریانس افزایشی (D) نسبت به واریانس غالبیت (H_1 و H_2) حاکی از وجود سهم بیشتر اثرات افزایشی ژن‌ها در کنترل این صفت است (جدول ۴). تفاوت بین اجزاء غالبیت مثبت بود که نشان‌دهنده‌ی این است که فراوانی آلل‌های غالب و مغلوب در کلیه‌ی لوکوس‌ها برابر نمی‌باشد.

پارامتر ژنتیکی F صفر می‌باشد و هم‌چنین $H_2/4H_1$ نیز در والدین بیشتر از ۰/۲۵ می‌باشد که نشان‌دهنده‌ی این است که توزیع آلل‌ها در والدین متقارن است. با توجه به میانگین درجه غالبیت $\sqrt{H_1/D}$ که کمتر از یک می‌باشد، می‌توان حالت غالبیت نسبی را برای این صفت در نظر گرفت. متوسط جهت غالبیت (h^2) نیز برای صفت ارتفاع بوته مثبت بود و نشان داد که آلل‌های غالب افزایش‌دهنده‌ی صفت می‌باشند. نسبت h_2/H_2 یا تعداد گروه‌های ژنی کنترل‌کننده‌ی این صفت بین چهار تا پنج عامل است که نشان می‌دهد فراوانی آلل‌های غالب در والدین بیشتر است یعنی ژن‌های بزرگ‌اثر و غالب فعالیت بیشتری از خود نشان داده و بهتر تظاهر می‌یابند. در مورد این صفت بایستی از طریق اصلاح والدین در نسل‌های اولیه و استفاده از والدین با مقادیر زیاد این صفت اقدام نمود. به‌دلیل اهمیت صفت وزن خشک برگ (با توجه به عدم معنی‌داری جزء b)، تجزیه‌ی گرافیکی برای این صفت هم انجام شد. قطع محور W_F توسط خط رگرسیون در بخش مثبت حاکی از وجود غالبیت نسبی در کنترل این صفت می‌باشد (شکل ۴).



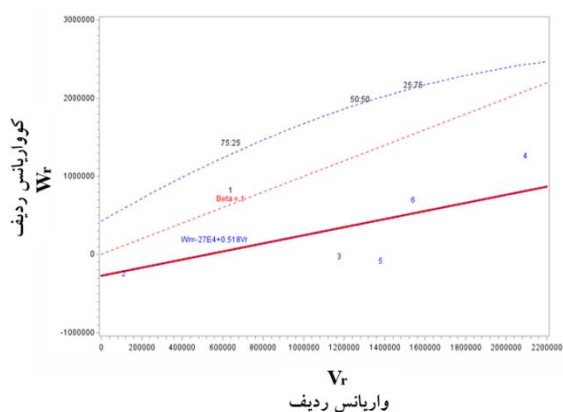
شکل ۱- خط رگرسیون W_r روی V_r و سهمی محدودکننده همراه با پراکنش والدین برای صفت ارتفاع بوته

Figure 1. Regression of W_r with V_r and limited sagittal accompanied with parental distribution for plant height



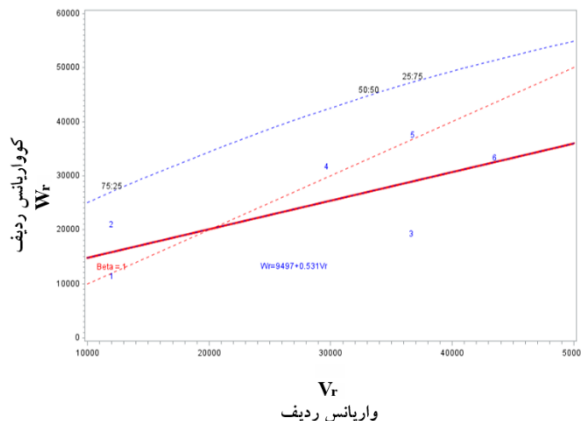
شکل ۲- خط رگرسیون W_r روی V_r و سهمی محدودکننده همراه با پراکنش والدین برای صفت تعداد برگ

Figure 2. Regression of W_r with V_r and limited sagittal accompanied with parental distribution for leaf number



شکل ۴- خط رگرسیون W_r روی V_r و سهمی محدودکننده همراه با پراکنش والدین برای صفت وزن خشک برگ

Figure 4. Regression of W_r with V_r and limited sagittal accompanied with parental distribution for leaf dry weight



شکل ۳- خط رگرسیون W_r روی V_r و سهمی محدودکننده همراه با پراکنش والدین برای صفت وزن تر برگ

Figure 3. Regression of W_r with V_r and limited sagittal accompanied with parental distribution for leaf fresh weight

به دلیل دوری از محور مختصات، دارای کمتر از ۲۵ درصد ژن‌های غالب می‌باشند. وراثت‌پذیری عمومی و خصوصی این صفت به ترتیب ۵۳ و ۴۱ درصد می‌باشد که نشان‌دهنده وراثت‌پذیری بالا برای این صفت است. چون قسمت عمده‌ای از واریانس ژنتیکی مربوط به واریانس افزایشی است، بنابراین کارایی انتخاب برای این صفت زیاد می‌باشد. برتری واریانس ژنتیکی افزایشی برای صفات به این معنی است که علاوه بر هیبریدها و واریته‌های مصنوعی، فرصت‌هایی برای بهبود ژنتیکی از طریق تجمع آلل‌های مطلوب از طریق انتخاب وجود دارد.

آزمایش‌های رائو (Rao, 1989) نیز نشان دهنده اثرات افزایشی ژن‌ها در کنترل ژنتیکی صفت عملکرد می‌باشد، درحالی‌که چن (Chen, 1972) و هنرنژاد و شعاعی‌دیلمی (Honarnejad and Shoai Deylami, 1997) به توارث‌پذیری کم صفت عملکرد به دلیل سهم عمده واریانس غالبیت ژن‌ها اشاره دارند. پراکنش والدین در اطراف خط رگرسیون نشان می‌دهد که والد شماره ۱ به دلیل نزدیک بودن به محور مختصات دارای کوچک‌ترین مقادیر V_r و W_r و یا حداکثر ژن‌های غالب است (۷۵ درصد) درحالی‌که والدین شماره ۵ و ۶

افزایش پتانسیل ارقام هیبرید برای صفات بررسی شده
مورد توجه قرار گیرد.

به‌طورکلی با توجه به معنی‌دار بودن انواعی از غالبیت برای
هر کدام از صفات، تولید هیبریدهایی با مقدار متوسطی از
این صفات و استفاده از پدیده هتروزیس می‌تواند در

References

- Amanath, S.** (1991). Combining ability analysis for stomatal density in chewing tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Tobacco Research. Central Tobacco Research Institute. Bihar India*, **17**: 127-128.
- Bagheri, A., Yazdi-Samadi, B., Taeb, M. and Ahmadi, M.R.** (2001). A study on genetic diversity in landraces of sunflower in Iran. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, **32**: 447-456 (In Persian).
- Baker, R.J.** (1987). Issues in diallel analysis. *Crop Science*, **18**: 533-536.
- Chen, S.Y.** (1972). Genetic studies of leaf yield and nicotine content in *Nicotiana tabacum* L. *Taiwan Agriculture Quarterly*, **8**: 124-132.
- Dehghani, H., Torabi, M., Moghadam, M. and Ghanadha, M.R.** (2005). Biplot analysis of cross data for infection type of wheat stripe rust. *Seed and Plant Improvement Journal*, **21**: 123-138 (In Persian).
- Godwin, I.D., Aitken, E.A.B. and Smith, L.W.** (1997). Application of inter-simple sequence repeat (ISSR) markers to plant genetics. *Electrophoresis* **18**: 1524-1528.
- Griffing, B.** (1956a). A generalized treatment of the use of diallel crosses in quantitative inheritance. *Heredity*, **10**: 31-51.
- Griffing, B.** (1956b). Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Australian Journal of Biological Science*, **9**: 463-493.
- Hayman, B.I.** (1954a). The analysis of variance of diallel crosses. *Biometrics*, **10**: 235-244.
- Hayman, B.I.** (1954b). The theory and analysis of diallel crosses. *Genetics*, **39**: 789-809.
- Hemati, I., Sabaghpour, S.H., Taeb, M. and Choukan, R.** (2010). Study on genetic parameters for different agronomic traits in chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes using diallel analysis. *Seed and Plant Improvement Journal*, **26**: 205-218 (In Persian).
- Honarnejad, R. and Shoai Deylami, M.** (1997). Gene effects and combining ability of some quantitative and qualitative characteristics of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, **28**: 121-145 (In Persian).
- Jinks, J.L. and Hayman, B.I.** (1953). The analysis of diallel crosses. *Maize Genetic Crop News*, **27**: 48-54.
- Johnson, G.R.** (1973). Diallel analysis of leaf area heterosis and relationships to yield in maize. *Crop Science*, **13**: 178-180.
- Kara, S.M. and Esendal, E.** (1995). Heterosis and combining ability analysis of some quantitative characters in Turkish tobacco. *Tobacco Research*, **21**: 16-22.
- Legg, P.D. and Collins, B.** (1971). Genetic parameters in Burley populations of *Nicotiana tabacum* L. I. 'Ky 10' × 'Burley 21'. *Crop Science*, **11**: 365-367.
- Mather, K. and Jinks, J.L.** (1982). *Biometrical Genetics*, 3rd. Chapman and Hall, London, UK.
- Mohammadi, A.A., Saeidi, G. and Arzani, A.** (2010). Genetic analysis of some agronomic traits in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Australian Journal of Crop Science*, **4**: 343-352.
- Mohammadi, S.H. and Khodambashi Emami, M.** (2008). Graphical analysis for grain yield of wheat and its components using diallel crosses. *Seed and Plant*, **24**: 475-486 (In Persian).
- Motamedi, M. and Safari, P.** (2018). Biplot analysis of diallel data for water deficit stress tolerance in wheat. *Plant Genetic Researches*, **4**: 61-74 (In Persian).
- Murthy, A.S.K., Gopalachari, N.C., Rao, C.V. and Rao, V.V.R.** (1998). Combining ability in crosses involving flue-cured and non-flue-cured tobacco varieties. *Tobacco Research*, **14**: 7-15.
- Ogilvie, L.S. and Kozumplik, V.** (1983). Genetic analysis of quantitative of quantitative characters in cigar and pipe tobacco, *Nicotiana tabacum*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, **25**: 185-189.
- Rahimi, M. and Rabiei, B.** (2009). Estimation of gene action and heritability of important agronomic traits in rice (*Oryza sativa* L.). *Iranian Journal of Crop Science*, **10**: 362-376 (In Persian).
- Rao, G.S.B.** (1989). Heterosis and combining ability studies in inter-varietal crosses of chewing tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Madras Agricultural Journal*, **76**: 616-620.

- Salehzadeh, H., Fayyaz Mogaddam, A., Bernosi, I., Ghiyasi, M. and Amini, P.** (2009). The effect of irrigation regimes on yield and chemical quality of oriental tobacco in West Azerbaijan. *Research Journal of Biological Science*, **4**: 632-636.
- Sharifi, P., Deghani, H., Momeni, A. and Moghadam, M.** (2010). Determination of gene action and estimation of genetic parameters of some traits related to rice cook quality using diallel analysis method. *Iranian Journal of Crop Sciences*, **12**: 159-162 (In Persian).
- Singh, R.K. and Chaudhary, B.D.** (1995). *Biometrical Methods in Quantitative Genetic Analysis*. Kalayani Publisher, NewDelhi, Ludhiana, IND.

Genetic Study of Agronomic Traits in Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Using Hayman's Graphical Analysis of Diallel

Somayeh Dadashi¹, Reza Darvishzadeh², Mojtaba Nouraein³
and Hamid Hatami Maleki^{4,*}

- 1- Former M.Sc. Student, Department of Plant Genetics and Production, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
- 2- Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
- 3- Assistant Professor, Department of Plant Genetics and Production, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
- 4- Associate Professor, Department of Plant Genetics and Production, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

(Received: September 4, 2018 – Accepted: January 3, 2019)

Abstract

For the purpose of graphical analysis and estimation of genetic parameters related to yield and its components, six tobacco genotypes were crossed in half-diallel mating design. In this study, the F₂ progenies and their parents were evaluated in a randomized complete block design with three replications. The results of analysis of variance indicated a significant difference between genotypes for plant height, leaf number, leaf dry weight and leaf fresh weight. Hayman graphical method was utilized for analysis of data. Diallel analysis indicated existence of an additive and dominant actions in inheritance of all studied traits. Traits including plant height, leaf number, leaf length and width, stem diameter, internode distance and leaf dry weight possessed greater additive effects meanwhile in the leaf weight the dominance effect was greater. The additive gene action detected for leaf dry weight (yield) manifested the influence of selection methods in breeding of this trait. Due to the fact that the fresh weight of the leaf was controlled by dominance effects, so hybrid-based methods are effective in modifying this trait. Also, additive and dominance gene action were contributed in heritability of yield, plant height and number of leaves. Regarding the mean values of dominance degree and results of graphical analysis, the gene action for leaf fresh weight was over-dominance and so, the heterosis phenomenon could be used to increase and improve this trait. For the traits including plant height, leaf number and yield, the gene action type was relative dominance.

Keywords: Genetic parameters, Tobacco, Diallel, Gene action, Yield

* Corresponding Author, E-mail: hatamimaleki@maragheh.ac.ir