نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و دوم، شماره یکم، ۱۳۹٤
http://jopp.gau.ac.ir

ارزیابی تنوع ژنتیکی و شناسایی QTLهای کنترل‌کننده صفات زراعی- ریخت‌شناسی در جمعیت $F_{2:3}$ توتون شرقی

فرامرز هوشیاردل[۱]، *رضا درویش‌زاده[۲] و حمید حاتمی ملکی[۳]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، [۲]دانشیار گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، [۳]استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۱ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۱۲

چکیده

به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی و شناسایی QTLهای کنترل‌کننده صفات طول‌برگ، عرض‌برگ، تعدادبرگ، فاصله میانگره، عملکرد برگ خشک در کرت، ارتفاع گیاه و قطرساقه، تعداد ۲۲۵ خانواده $F_{2:3}$ حاصل از تلاقی دو ژنوتیپ توتون شرقی SPT 406 (والد پدری) و Basma seres 31 (والد مادری) در قالب طرح لاتیس ساده در شرایط مزرعه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند. تجزیه‌های آماری نشان داد که بین خانواده‌های $F_{2:3}$ در تمامی صفات مورد مطالعه به غیر از صفت فاصله میانگره اختلاف معنی‌دار وجود دارد. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی از روش‌های آماری چند متغیره از قبیل تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی استفاده گردید. با استفاده از تجزیه به مولفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای به روش وارد، جمعیت مورد مطالعه در ٤ گروه مجزا گروه‌بندی شد. نتایج مکان‌یابی ژنی با استفاده از نقشه پیوستگی شامل ۵۲ نشانگر (۲۳ نشانگر SSR و ۱۹ نشانگر ISSR) نشان داد که تعداد ۱۸ QTL در کنترل ژنتیکی صفات مورد مطالعه در جمعیت $F_{2:3}$ نقش دارند و بیشترین تعداد QTL شناسایی شده متعلق به صفت تعداد برگ است.

واژه‌های کلیدی: مکان‌یابی ژنی، توتون، صفات کمی، نشانگرهای SSR

*نویسنده مسئول: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

توتون (*Nicotiana tabacum* L.) از خانواده سیب‌زمینی و از محصولات با ارزش زراعی و صنعتی می‌باشد. این گیاه در بسیاری از کشورها کشت شده و در اقتصاد بیشتر آنها اهمیت به سزایی دارد (آنانیوموس، ۲۰۰۲). در میان گونه‌های جنس *Nicotiana*، گونه *N. tabacum* یک گونه آلوپلی پلوئید (۲n=٤x=٤٨) است که از هیبریداسیون بین گونه‌های *N. sylvestris* و *N. tomentosiformis* و دو برابر شدن تعداد کروموزوم‌های هیبرید حاصل از آنها بوجود آمده است (قاناپاتی و سوپراسانا، ۲۰۰٤؛ لیتچ و همکاران، ۲۰۰۸). این گیاه بزرگترین ژنوم را در گیاهان خانواده سولاناسه دارد (نارایان، ۱۹۸۷). سطح زیر کشت توتون در دنیا ٤/۷۷ میلیون هکتار، تولید سالانه آن ۷/۱ میلیون تن، عملکرد آن در کشورهای در حال توسعه حدود ۱/٦ تن در هکتار و در کشورهای توسعه یافته حدود ۲/۲ تن در هکتار می‌باشد (نگاراجان و پراسادرا، ۲۰۰٤). علاوه بر اهمیت اقتصادی، توتون به عنوان یک گیاه مدل در تحقیقات علمی مورد استفاده قرار می‌گیرد و نقش مهمی در مطالعات مربوط به تنوع فنوتیپی، هیبریداسیون، کشت بافت، تغییر شکل گیاهی و زراعت مولکولی دارد (لوئیس، ۲۰۱۱). در میان تیپ‌های مختلف رشدی توتون، توتون‌های شرقی به علت داشتن دود ملایم، عطر نافذ و بافت ظریف از اجزای اصلی تشکیل دهنده خرمن سیگارت در صنعت می‌باشند (درویش‌زاده و همکاران، ۲۰۰۹).

برآورد تنوع ژنتیکی و آگاهی از خویشاوندی ژنتیکی ژنوتیپ‌ها یک عامل اساسی در پیشبرد برنامه‌های به نژادی جمعیت‌ها می‌باشد (نیکولیک و همکاران، ۲۰۱۰). مقدار تنوع ژنتیکی در میان لاین‌های توتون به علت رانش ژنتیکی و استفاده از روش‌های اصلاح سنتی محدود شده است (تریپ و وندرهید، ۱۹۹٦؛ مون و همکاران، ۲۰۰۹a). علاوه براین، به‌نژادگران توتون بر تلاقی بهترین لاین‌ها با هم تاکید دارند و این عمل، عامل مهمی در کاهش تنوع محسوب می‌شود (گپتس، ۲۰۰٦؛ راوف و همکاران، ۲۰۱۰). کاهش تنوع باعث کاهش پتانسیل لازم برای ارزیابی آلل‌ها شده و این امر موجب می‌شود که برنامه‌های اصلاحی موفقیت بالایی نداشته باشند (یوپاهیا، ۲۰۱۰؛ کلمنتس و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین، تعیین تنوع ژنتیکی یک پیش نیاز جهت جلوگیری از فرسایش ژنتیکی می‌باشد (کومار و همکاران، ۲۰۰۹). روش‌های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی وجود دارد که از جمله مهم‌ترین آن‌ها، روش‌های آماری چند متغیره می‌باشد که به‌طور هم‌زمان از اطلاعات چندین صفت در کلیه افراد استفاده نموده و به‌طور وسیعی در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی بر پایه داده‌های زیست‌شناسی، بیوشیمیایی و مولکولی کاربرد دارند (محمدی و پراسانا، ۲۰۰۳). همچنین از تجزیه و تحلیل‌های چند

Archive of SID

www.SID.ir

متغیره به منظور توصیف و ارزیابی مواد ژنتیکی جهت بهره‌گیری بهینه و همچنین مطالعه روابط داخلی بین صفات استفاده می‌شود (جانسون، ۱۹۹۸). از بین روش‌های آماری چند متغیره روش‌های تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی در بیان و تشریح تنوع ژنتیکی کاربرد وسیعی دارند (حاتمی‌ملکی و همکاران، ۲۰۱۲).

شناخت ویژگی‌های ژنتیکی صفات مهم، روابط خاص بین آنها و نحوه تاثیرگزاری صفات بر همدیگر، یکی از مبانی تصمیم‌گیری در مورد طراحی و اجرای روش‌های مختلف به نژادی گیاهی می‌باشد و با شناسایی این ویژگی‌ها می‌توان بهترین روش‌ها را برگزید و نتایج اصلاحی را تا حدودی پیش‌بینی نمود (باقری و همکاران، ۲۰۰۲). از روش‌های جدید برای اصلاح گیاهان، شناسایی مکان‌های ژنی دخیل در کنترل صفات کمی با استفاده از نشانگرهای مبتنی بر DNA است. مطالعه و اصلاح صفات کمی به خاطر ژنتیک پیچیده این صفات و تاثیرپذیری زیاد از عوامل محیطی، دشوار می‌باشد (موافق و همکاران، ۲۰۰۹). روش‌های تجزیه QTL می‌تواند راهکاری مناسب برای مطالعه این گونه صفات باشد و از نتایج آن به خوبی می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمود (موافق و همکاران، ۲۰۰۹).

مطالعات مکان‌یابی QTL در گیاهان مختلف خانواده سیب‌زمینی از جمله بادمجان (فراری و همکاران، ۲۰۰۳)، گوجه فرنگی (تانکسلی و همکاران، ۱۹۹۲؛ دیویسنت و تانکسلی، ۱۹۹۳؛ لیندهاوت و همکاران، ۱۹۹٤؛ قراندیلو و تانکسلی، ۱۹۹٦؛ دوقانلار و همکاران، ۲۰۰۲؛ جیمس و همکاران، ۲۰۰۷؛ کاگاس و همکاران، ۲۰۰۸؛ سوموقات و همکاران، ۲۰۱۰) و سیب‌زمینی (تانکسلی و همکاران، ۱۹۹۲) انجام شده است. در توتون مطالعات مکان‌یابی QTL به خاطر پلی‌مورفیسم پایین در ارقام توتون نسبت به سایر گیاهان محدود می‌باشد (دلپیانو و همکاران، ۲۰۰۰؛ رن و تیمکو، ۲۰۰۱؛ آرسلان و اوکونس، ۲۰۰٦؛ جلیو و همکاران، ۲۰۰٦b؛ راجو و همکاران، ۲۰۰۸؛ مون و همکاران، ۲۰۰۸؛ مون و همکاران، ۲۰۰۹a؛ مون و همکاران، ۲۰۰۹b) با این حال چندین تحقیق و مطالعه توسط افراد مختلف انجام گرفته است (زایو و همکاران، ۲۰۰۸؛ کای و همکاران، ۲۰۰۹؛ چن و همکاران، ۲۰۰۹؛ لی و همکاران، ۲۰۱۱؛ تان، ۲۰۱۲؛ تونگ و همکاران، ۲۰۱۲؛ حاتمی‌ملکی، ۲۰۱۳). مطالعه حاضر با هدف ارزیابی تنوع ژنتیکی و شناسایی QTLهای کنترل کننده صفات زراعی-مورفولوژیک در جمعیت $F_{2,3}$ توتون‌های شرقی انجام گرفت.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ارزیابی صفات زراعی- ریخت‌شناسی: در این تحقیق، از تعداد ۲۲۵ خانواده $F_{2:3}$ حاصل از تلاقی دو ژنوتیپ Basma seres 31 (والد مادری) و SPT 406 (والد پدری) که بر اساس تحقیقات قبلی حاتمی‌ملکی و همکاران (۲۰۱۲) از نظر صفات مختلف از قبیل فاصله میانگره، طول و عرض برگ، تعداد برگ، ارتفاع گیاه و قطر ساقه با هم متفاوت بودند، استفاده شد. ارزیابی فنوتیپی خانواده‌های $F_{2:3}$ در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات توتون ارومیه با طول جغرافیایی ٤٤/٥٨ درجه و عرض جغرافیایی ۳۷/۳٤ درجه با ارتفاع ۱۳۰۰ متر از سطح دریای آزاد در قالب طرح لاتیس ساده ۱۵×۱۵ با ۲ تکرار انجام گرفت. هر تکرار شامل ۱۵ بلوک ناقص بود. هر بلوک ناقص به ۱۵ کرت زراعی تقسیم و در هر کرت سه ردیف به طول ۵ متر با فاصله ردیف ٦٥ سانتی‌متر و فاصله بین بوته‌ها ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. میزان بارندگی سالانه محل آزمایش بر مبنای میانگین ۱۰ ساله برابر میلی‌متر ۳۳٦ و متوسط درجه حرارت سالانه آن ۱۲ درجه سانتی‌گراد و متوسط دمای زمستانه و تابستانه آن به‌ترتیب ۰/۵°C- و ۲۲/۱°C بود. عملیات تهیه زمین زراعی شامل شخم عمیق پائیزه و شخم نسبتا عمیق عمود بر جهت شخم پاییزه در بهار انجام گرفت. سپس دوبار دیسک عمود بر هم زده شد. پس از آماده سازی زمین اصلی و قبل از کاشت نشاءها، علفکش ارادیکان به میزان ٤ لیتر در هکتار و نیتروژن خالص از منبع نیترات آمونیوم به میزان ۵۲ کیلوگرم در هکتار، فسفر از منبع سوپر فسفات تریپل به میزان ۹٦ کیلوگرم در هکتار و پتاس از منبع سولفات دو پتاس به میزان ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار در زمین زراعی پخش و توسط دیسک با خاک مخلوط گردید. نشاها بعد از رسیدن به مرحله ٤ الی ٦ برگی که طولی برابر با ۱۲ الی ۱۵ سانتی‌متر داشتند، به زمین اصلی انتقال داده شدند. مبارزه با علف‌های هرز، سله شکنی و خاک دادن پای بوته به‌صورت دستی انجام گرفت. آبیاری مزرعه زمانی انجام می‌شد که ۸۰ درصد رطوبت خاک تخلیه می‌گشت. بر خلاف اکثر توتون‌ها (ویرجینیا و بارلی) که عمل سرزنی رایج است، در توتون‌های شرقی مورد مطالعه، این عمل انجام نگرفت. چیدن برگ‌ها در سه نوبت بعد از رسیدگی صنعتی انجام شد و سپس در مقابل آفتاب که ویژه توتون‌های شرقی است خشک شدند. ارزیابی فنوتیپی صفات در خانواده‌های $F_{2:3}$ پس از گلدهی انجام شد. یادداشت‌برداری صفات با انتخاب پنج بوته تصادفی از هر خانواده در تکرار صورت گرفت و میانگین ۵ بوته برای تجزیه صفات مورد مطالعه در نظر گرفته شد. در این آزمایش در مجموع ۷ صفت شامل تعداد برگ، طول و عرض برگ، ارتفاع گیاه، قطر ساقه، روز تا ۵۰ درصد گلدهی و عملکرد برگ

Archive of SID

www.SID.ir

خشک در کرت مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تجزیه داده‌های فنوتیپی جمعیت $F_{2:3}$: شناسایی داده‌های پرت و آزمون نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی مطابق روش شاپیرو و ویلک (۱۹٦۵) در نرم افزار SAS نسخه ۹/۲ (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) انجام گرفت. تجزیه واریانس داده‌های $F_{2:3}$ با مدل طرح لاتیس ساده انجام شد. محاسبه آماره‌های توصیفی و رسم نمودار توزیع فنوتیپی خانواده‌های مورد مطالعه، بوسیله نرم‌افزار Minitab14 انجام گرفت. برای ارزیابی و گروه‌بندی خانواده‌ها با استفاده از روش‌های تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مولفه‌های اصلی از میانگین داده‌های اصلی استفاده گردید و بدین منظور از نرم افزار Minitab14 استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای پس از استاندارد کردن داده‌ها با محاسبه فواصل مربع اقلیدسی و روش وارد و تجزیه به مولفه‌های اصلی از طریق ماتریس ضرایب همبستگی صفات انجام گرفت.

شناسایی QTLهای کنترل کننده صفات زراعی- مورفولوژیک در جمعیت $F_{2:3}$: در این مطالعه، از نقشه پیوستگی تهیه شده توسط حاتمی ملکی و همکاران (۲۰۱۳) برای شناسایی QTLهای کنترل کننده صفات مختلف مورد مطالعه در خانواده‌های $F_{2:3}$ استفاده شد. نقشه با ۵۲ نشانگر (۲۳ نشانگر ISSR و ۱۹ نشانگر SSR) و با استفاده از نرم افزار CarthaGene 1.0 (دو گیوری و همکاران، ۲۰۰۵) با مقدار LOD ۳ و حداکثر فاصله برابر با ۵۰ سانتی‌مورگان تهیه شده است. با استفاده از نرم‌افزار GGT 2.0 (ون برلو، ۲۰۰۸) نقشه ژنتیکی به صورت گرافیکی تهیه گردید. مکان یابی QTLها به روش مکان یابی فاصله‌ای مرکب (باستن و همکاران، ۲۰۰۱; زنگ، ۱۹۹۳) و با استفاده از نرم افزار Win QTL Cartographer (زنگ، ۱۹۹٤) انجام گرفت. برای تعیین مقدار LOD آستانه برای شناسایی QTLهای معنی‌دار از آزمون جایگشت (n=1000) استفاده شد. از نرم‌افزار Mapchart[1] جهت نشان دادن موقعیت QTLها روی نقشه پیوستگی استفاده شد.

نتایج و بحث

آماره‌های توصیفی: تجزیه واریانس براساس مدل طرح لاتیس ساده نشان داد که در همه صفات مورد مطالعه بغیر از صفت فاصله میانگره بین خانواده‌های $F_{2:3}$ تفاوت معنی‌دار وجود دارد که نشان دهنده وجود

1. http://www.wageningenur.nl/en/show/Mapchart.htm

Archive of SID

www.SID.ir

تنوع ژنتیکی است (جدول ۱). بالاترین و پایین‌ترین ضریب تغییرات در جدول تجزیه واریانس به‌ترتیب در صفات عملکرد برگ خشک در کرت (۲٤/۲٤) و ارتفاع گیاه (۸/۵۹) مشاهده شد (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه با مدل طرح لاتیس ساده در جمعیت $F_{2:3}$ توتون شرقی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		عملکرد برگ خشک در کرت	فاصله میانگره	طول برگ	عرض برگ	تعداد برگ	قطر ساقه	ارتفاع گیاه
تیمار	۲۲٤	۰/۰۵۳**	۰/۳۵^{ns}	۹/۷۲**	۸/۵۱**	۱۳/۱٦**	۰/۰٤**	۲۰۷/٦۹**
تکرار	۱	۰/۰۰۲^{ns}	۵/۲۸**	۳۱۰/۲٦**	۱۱۳/۲۳**	۱۳۰۳/٤٦**	۲/۳۳**	۲۰٦۹۲**
بلوک داخل تکرار	۲۸	۰/۰۰٤^{ns}	۰/٤۳^{ns}	۹/۵٤**	٦/۱۲**	۱۵/٤٤*	۰/۰۳^{ns}	۱٦۵/۲۲^{ns}
خطا	۲۲۱	۰/۰۱	۰/٤۷	٤/٤۹	۱/۳۷	۸/٦٤	۰/۰۲	۱۱۷/۵۹
ضریب‌تغییرات	-	۲٤/۲٤	۱۵/۰٦	۸/۹۱	۹/۹۷	۱۱/۱۲	۱۰/۰۱	۸/۵۹

جدول ۲- مقادیر آماره‌های توصیفی صفات مورد مطالعه در جمعیت $F_{2:3}$ توتون شرقی

	عملکرد برگ خشک در کرت	فاصله میانگره	طول برگ	عرض برگ	تعداد برگ	قطر ساقه	ارتفاع گیاه
	(کیلوگرم در کرت)	(سانتی‌متر)					
Basma seres 31 (P1)	-	-	۲٦/۳	۱۳/٤	۳۲	۱/۸۱	۱۳٦/۷
SPT 406 (P2)	-	-	۳٦/۵	۲۱/۷	۱٦/۸	۱/۵٦	۸۸/٦
P1-P2	-	-	-۱۰/۱	-۸/۳	۱۵/۱	۰/۷	٤۸/۱
$\overline{X}_{P}$	-	-	۳۱/٤	۱۷/۵	۲٤/٤	۱/٦۸	۱۱۲/٦
$Max_{F2:3}$	۱/۳	٦/۰۲	۲۹/۲۲	۱۷/۷۳	۳۳/۲	۲/۰۳	۱۵۰/۸
$Min_{F2:3}$	۰/۳٤	٤/٦	۲۳/۹۳	۱۱/٤۹	۲٦/٦	۱/۱٤	۱۲۵/۹
$\overline{X}_{F2:3}$	۰/۷٤	٤/۵۹	۲۳/۸	۱۱/۷۳	۲٦/٤٤	۱/٤۲	۱۲٦/۳۱
$\overline{X}_{F2:3}-\overline{X}_{P}$	-	-	-۰/۵	۰/٤۳	-۵/٦٦	-۰/۲٦	۱۰/٤۱
$\overline{X}_{10\%best\ F2:3}$	-	-	۲۸/۸	۱۵/۹	۳۲/٦۵	۱/۸	۱۵۲/۹۳
$GG10\%=\overline{X}_{10\%best\ F_{2:3}}-\overline{X}_{P}$	-	-	-۲/٦	-۲/۱	۸/۲۵	۰/۱۲	٤۰/۳۳
$STDEV_{F2:3}$	۰/۱۹	۰/٤	۲/۲٦	۲/۱۳	۲/٦٤	۰/۱٤	۰/۵۲

$\overline{X}_{P}$: میانگین والدین، $\overline{X}_{F2:3}$: میانگین خانواده‌های $F_{2:3}$، $\overline{X}_{10\%best\ F2:3}$: میانگین۱۰درصد از بهترین خانواده‌های $F_{2:3}$ انتخابی برای صفات مورد مطالعه، GG10%: بازده ژنتیکی زمانی که ۱۰درصد از بهترین خانواده‌های $F_{2:3}$ انتخابی با میانگین والدین مقایسه شوند، STDEV: انحراف معیار استاندارد.

Archive of SID

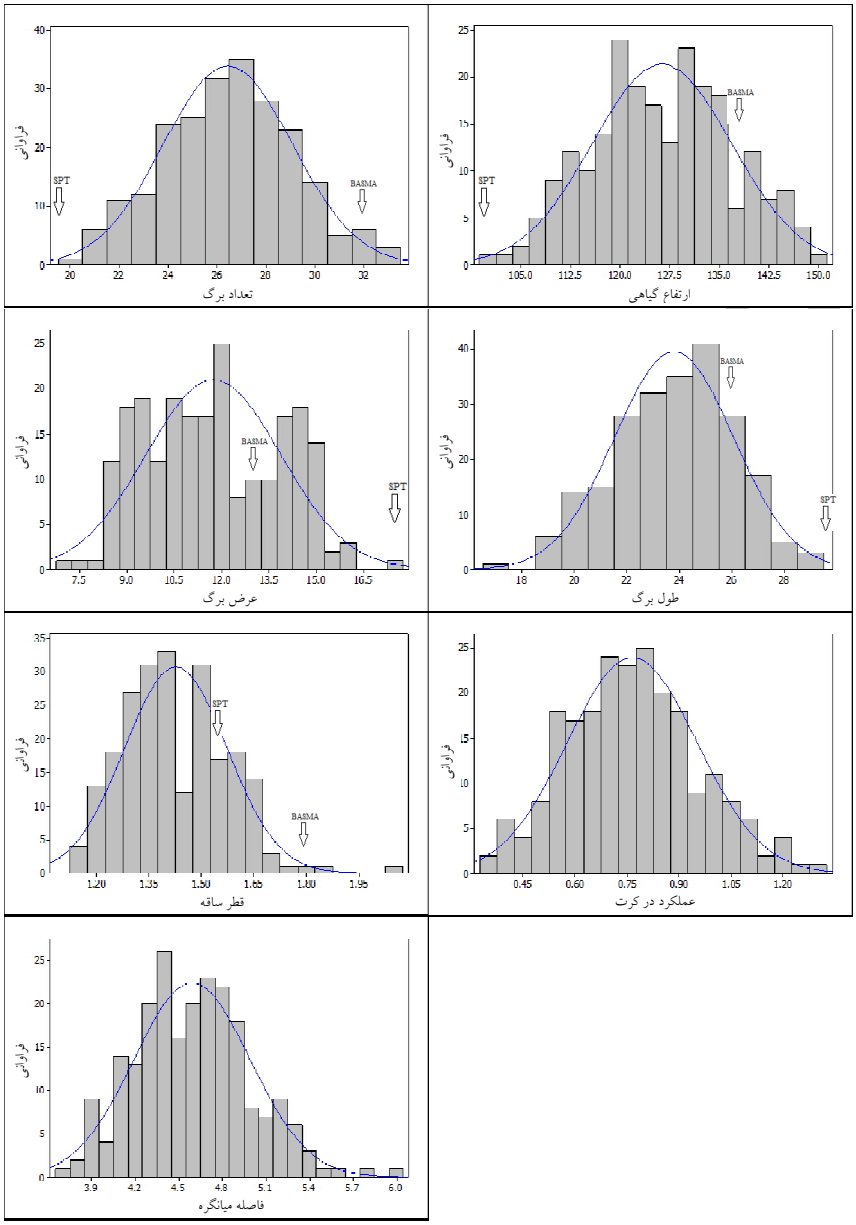
www.SID.ir

مقادیر حداقل، حداکثر، میانگین، انحراف معیار و سود ژنتیکی برای جمعیت $F_{2:3}$ در جدول ۲ آورده شده است. سود ژنتیکی یعنی اختلاف بین میانگین ۱۰ درصد از بهترین $F_{2:3}$ها با میانگین والدین برای صفاتی همچون قطر ساقه، تعداد برگ و ارتفاع گیاه معنی‌دار بود که نشان‌دهنده امکان تغییر ارزش این صفات طی نسل‌های در حال تفرق می‌باشد. نمودار مربوط به صفات مورد مطالعه در جمعیت $F_{2:3}$ در شکل ۱ آورده شده است و همان‌طور که مشاهده می‌گردد توزیع افراد به صورت پیوسته می‌باشد که نشان‌دهنده کمی بودن صفات می‌باشد. همچنین در برخی از صفات مورد مطالعه حداکثر و حداقل ارزش خانواده‌ها به‌ترتیب بالاتر و پایین‌تر از ارزش والدین بود که مبین وجود تفکیک متجاوز در میان نتاج $F_{2:3}$ می‌باشد (شکل ۱). تفکیک متجاوز در صفات کمی نشان دهنده تاثیر آلل‌های هر دو والد در تعیین ارزش نتاج می‌باشد. وجود تفکیک متجاوز برای صفت مقدار تجمع کلر در برگ توتون‌های شرقی نیز گزارش شده است (حاتمی ملکی و همکاران، ۲۰۱۳).

همبستگی: نتایج همبستگی بین صفات در جمعیت $F_{2:3}$ در جدول ۳ آورده شده است. طبق نتایج این تحقیق، بین اکثر صفات همبستگی بسیار معنی‌داری وجود داشت. در جمعیت $F_{2:3}$ بیش‌ترین و کم‌ترین همبستگی معنی‌دار به ترتیب بین صفت ارتفاع گیاه با صفت تعداد برگ (۰/۸٤) و صفت طول برگ با صفت فاصله میانگره (۰/۱۸) مشاهده شد. همچنین بین صفات فاصله میانگره و تعداد برگ همبستگی منفی (۰/۰۰٤-) دیده شد. بین صفت عملکرد برگ خشک در کرت با صفات عرض برگ و فاصله میانگره همبستگی معنی‌داری دیده نشد، اما صفات قطر ساقه، ارتفاع گیاه، تعدادبرگ و طول برگ همبستگی بالایی با این صفت نشان دادند. بنابراین انتظار می‌رود با افزایش ارزش صفات همبسته از طریق روش‌های اصلاحی، مقدار عملکرد در واحد کرت افزایش یابد (جدول ۳). طی مطالعات حاتمی ملکی و همکاران (۲۰۱۲) میان صفت تعداد برگ با صفات عرض برگ و طول برگ همبستگی منفی وجود داشت. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات می‌تواند به علت وجود رابطه نزدیک بین ژن‌های کنترل‌کننده این صفات یا به علت اثرات پلیوتروپی ژن‌ها باشد. انتظار می‌رود صفاتی که با هم همبستگی دارند، QTLهای کنترل‌کننده آنها روی گروه‌های پیوستگی هم مکان باشند البته همبستگی به تنهایی نمی‌تواند روابط بین دو متغیر را توجیه نماید به خاطر اینکه ممکن است این دو متغیر تحت تاثیر متغیرهای دیگر قرار گرفته باشند (سینگ و همکاران، ۱۹۸۸).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه در جمعیت $F_{2:3}$ توتون شرقی

www.SID.ir

جدول ۳- همبستگی بین صفات مورد مطالعه در جمعیت $F_{2:3}$ توتون شرقی

	فاصله میانگره	قطر ساقه	طول برگ	عرض برگ	ارتفاع گیاه	تعداد برگ
قطر ساقه	۰/۲۷**					
طول برگ	۰/۱۸**	۰/٤٦**				
عرض برگ	۰/۳٥**	۰/٦۸**	۰/٤۳**			
ارتفاع گیاه	۰/۲۲**	۰/٥۳**	۰/٤٤**	۰/۳۹**		
تعداد برگ	-۰/۰۰٤	۰/٥۳**	۰/٤۱**	۰/۳۲**	۰/۸٤**	
عملکرد برگ خشک در کرت	۰/۱۲	۰/۲۷**	۰/۲۹**	۰/۰٤	۰/٤۳**	۰/٤۱**

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

تجزیه خوشه‌ای: به منظور اندازه‌گیری و تعیین فواصل ژنتیکی خانواده‌های مورد بررسی از روش تجزیه خوشه‌ای استفاده گردید. در اصلاح نباتات معمولاً تلاقی بین ژنوتیپ‌های دور، نتاج مطلوب‌تری تولید نموده و نتاج حاصله، هتروزیس بیشتری نسبت به والدها نشان می‌دهند (سینگ و همکاران، ۱۹۸۸; استوبر و همکاران، ۱۹۹٤). علاوه بر این در مطالعات مکان‌یابی QTL، والدهایی جهت تلاقی برای تهیه جمعیت نقشه استفاده می‌گردند که بیشترین تفاوت را از نظر فنوتیپی و ژنوتیپی داشته باشند. این امر مهم می‌تواند از طریق بررسی فاصله بین ژنوتیپ‌ها براساس صفات ریخت‌شناسی با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای به دست آید. دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش وارد و براساس مربع فاصله اقلیدسی خانواده‌های $F_{2:3}$ را در چهار گروه مجزا قرار داد (شکل ۲). با شمارش تعداد افراد در چهار گروه در شکل ۳ مشاهده شد که ۷۲ خانواده در گروه اول، ٤۷ خانواده در گروه دوم، ۷۷ خانواده در گروه سوم و ۲۹ خانواده در گروه چهارم قرار گرفتند (شکل ۲). فواصل بین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای در جدول ٤ آورده شده است. در جمعیت $F_{2:3}$ گروه‌های ۱ و ۳ بیشترین فاصله را از هم دارند (۳/۷) و نزدیک‌ترین فاصله بین گروه‌های ۲ و ٤ می‌باشد (۲/۳۱). از آنجایی که برای تهیه نقشه‌های ژنتیکی و نهایتا مطالعات مکان‌یابی ژن وجود تنوع در والدین تلاقی و جمعیت نقشه مهم می‌باشد بنابراین مطالعات آماری چند متغییره یکی از روش‌های مهم برای پی بردن به وجود تنوع در جمعیت نقشه می‌باشد. استفاده از تجزیه خوشه‌ایی برای گروه‌بندی افراد و ژنوتیپ‌های مختلف قبلاً توسط محققین دیگر انجام گرفته است. درویش زاده و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای، ۷۰ ژنوتیپ توتون شرقی را در گروه‌های مختلف دسته‌بندی نمودند. در

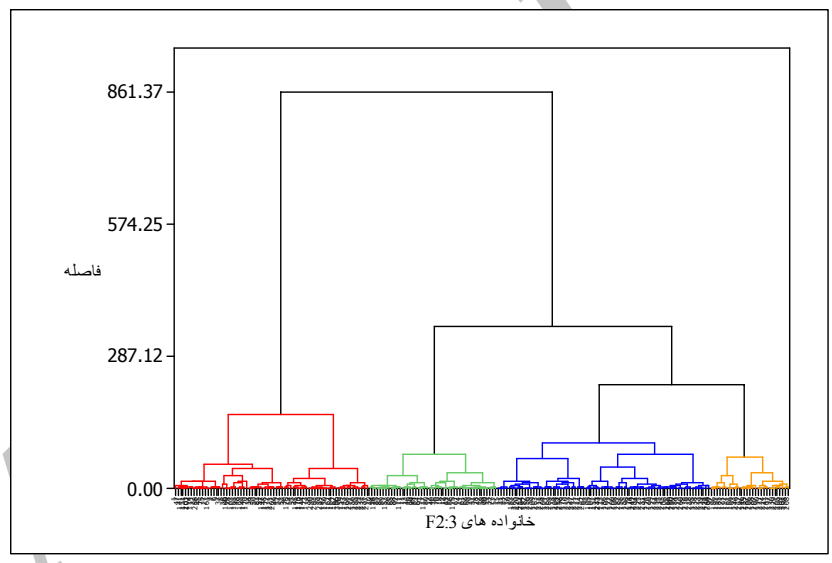
Archive of SID

www.SID.ir

مطالعه‌ای دیگر، موادزنجنی و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از تجزیه خوشه‌ای ۲۸ رقم توتون گرم‌خانه‌ایی را در چهار گروه بزرگ و شش گروه کوچک طبقه‌بندی نمودند.

جدول ٤- فواصل بین گروه‌ها در جمعیت $F_{2:3}$ توتون شرقی

گروه‌ها	فاصله
خوشه ۱: خوشه ۲	۲/۸۳
خوشه ۱: خوشه ۳	۷/۳
خوشه ۱: خوشه ٤	۲/٦٦
خوشه ۲: خوشه ۳	۲/٤۸
خوشه ۲: خوشه ٤	۲/٦٦
خوشه ۳: خوشه ٤	۲/۳۱



شکل ۲- دندروگرام حاصل از گروه‌بندی خانواده‌های $F_{2:3}$ توتون شرقی بر اساس صفات مورد مطالعه به روش وارد

تجزیه به مولفه‌های اصلی: براساس نتایج حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی برای صفات مورد مطالعه، تعداد ۷ مولفه بیشترین نقش را در تبین تنوع بین خانواده‌ها نشان دادند (جدول ۵). نتایج

www.SID.ir

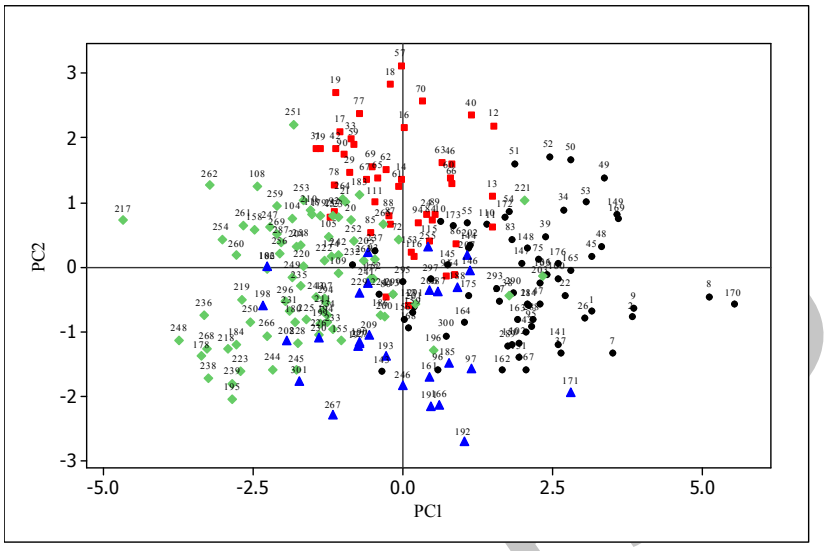
تجزیه به مولفه‌های اصلی در جمعیت $F_{2:3}$ نشان داد کـه مولفـه اول ٤٧ درصـد از تغییـرات را توجیـه می‌نماید (جدول ٥) و همه صفات همبستگی مثبت با این مولفه نشان می دهند. این بدان معنـی اسـت که انتخاب براساس مولفه اول تاثیر مثبتی روی صفات خواهد داشت. مولفه دوم ١٨ درصد از تغییرات را توجیه می‌کند و صفات ارتفاع گیاه، تعداد برگ و عملکرد برگ خشک در کرت همبستگی مثبت بـا این مولفه نشان می‌دهند. از آنجا که دو مولفه اول و دوم بیشترین تغییرات فنـوتیپی را توجیـه نمودنـد، پلات دو بعدی براساس این دو مولفه رسم گردید (شکل ٣) کـه در آن چهـار گـروه قابـل تشـخیص بودند. مطالعات ارزیابی تنوع ژنتیکی در توتون قبلا توسط محققین دیگری نیـز انجـام گردیـده اسـت (دلپیانو و همکاران، ٢٠٠٠؛ سارالا و همکاران، ٢٠٠٨؛ درویش زاده و همکاران، ٢٠٠٩ و ٢٠١٣؛ محسن زاده و همکاران، ٢٠١٢؛ حاتمی ملکی و همکاران، ٢٠١٢؛ موادزنجی و همکاران، ٢٠١٣). نتایج تحقیق حاضر نشان داده است که گروه‌بندی براساس پلات دوبعدی تجزیه به مولفه‌های اصلی، با گروه‌بنـدی حاصل از تجزیه خوشه‌ای مطابقت دارد که با گزارش‌های قبلی در توتون‌های شرقی (حاتمی ملکـی و همکاران، ٢٠١٢) و جو زمستانه (هومز و همکاران، ٢٠٠٤) هم راستا می‌باشد.

جدول ٥- نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی بر روی صفات مورد مطالعه در جمعیت $F_{2:3}$ توتون شرقی

متغیر	مولفه						
	اول	دوم	سوم	چهار	پنج	شش	هفت
فاصله میانگره	٠/٢٠	-٠/٥٥	٠/٦٨	٠/٢٣	٠/٢٩	٠/١٣	-٠/١٨
قطر ساقه	٠/٤٤	-٠/٢١	-٠/٢٠	٠/٠٤	-٠/٤٩	٠/٦٨	٠/١٣
طول برگ	٠/٣٨	-٠/٠٥	-٠/٠٨	-٠/٨٠	٠/٤٥	٠/٠٧	٠/٠٠٢
عرض برگ	٠/٣٧	-٠/٥٠	-٠/٢٨	٠/٠٢	-٠/٢٨	-٠/٦٧	-٠/٠٨
ارتفاع گیاه	٠/٤٦	٠/٢٥	٠/٠١	٠/٣٧	٠/٣٣	-٠/١٤	٠/٦٨
تعداد برگ	٠/٤٤	٠/٣٩	-٠/١٩	٠/٣١	٠/٢٠	٠/٠٤	-٠/٦٩
عملکرد برگ خشک در کرت	٠/٢٨	٠/٤٣	٠/٦١	-٠/٢٦	-٠/٥١	-٠/٢١	-٠/٠٢
مقادیر ویژه	٣/٣١	١/٢٤	٠/٨٧	٠/٦٥	٠/٥٢	٠/٢٧	٠/١٣
واریانس نسبی	٠/٤٧	٠/١٨	٠/١٢	٠/٠٩	٠/٠٧	٠/٠٤	٠/٠٢
واریانس تجمعی	٠/٤٧	٠/٦٥	٠/٧٧	٠/٨٧	٠/٩٤	٠/٩٨	١

Archive of SID

www.SID.ir

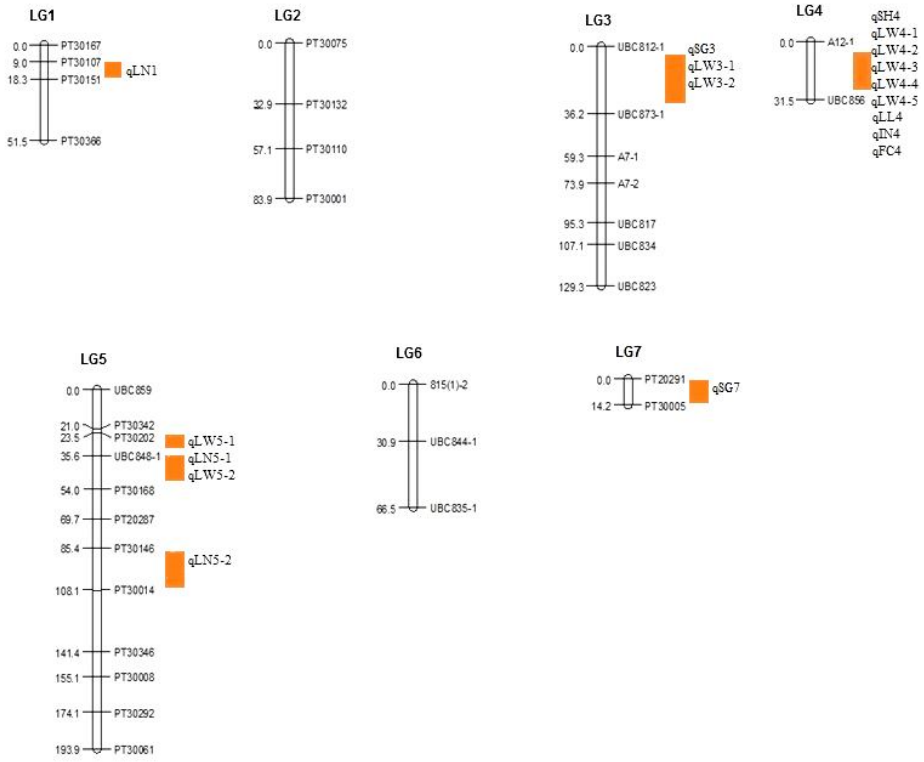


شکل ۳- گروه‌بندی خانواده‌های $F_{2:3}$ توتون شرقی براساس مولفه اول و دوم حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی روی صفات مورد مطالعه

شناسایی QTLهای کنترل کننده صفات زراعی- ریخت‌شناسی: به منظور شناسایی QTLهای کنترل‌کننده صفات مورد مطالعه از روش مکان‌یابی فاصله‌ایی مرکب استفاده گردید. در مجموع برای ۷ صفت مورد مطالعه تعداد ۱۸ QTL در جمعیت $F_{2:3}$ شناسایی شد (جدول ٦، شکل ٤). دامنه LOD آستانه برای QTLها از ۲/۲۸ تا ۱۷/۳۱ متغیر بود (جدول ٦). برای صفت قطر ساقه دو QTL در گروه پیوستگی سه و هفت شناسایی گردید. یکی از QTLها ١٦ درصد و دیگری ۳ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه می نمود. علامت مثبت و منفی اثرات افزایشی نشان می دهد که آلل‌های مطلوب از هر ۲ والد مادری و پدری مشارکت داشته اند. برای صفت ارتفاع گیاه یک QTL در گروه پیوستگی چهار شناسایی گردید. واریانس فنوتیپی توجیه شده توسط این QTL، ٤١/٦ درصد بود. علامت منفی اثرات افزایشی نشان می‌دهد آلل مطلوب از والد مادری مشارکت داشته است. برای صفت عرض برگ ۹ QTL در گروه‌های پیوستگی ۳، ٤ و ٥ شناسایی شد. تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط این QTLها بین ۲۷,۲ تا ۳٥,۹ درصد متغییر بود. علامت مثبت و منفی اثرات افزایشی نشان می‌دهد که آلل‌های مطلوب از هر ۲ والد مادری و پدری مشارکت داشته اند. برای طول برگ، یک QTL در گروه پیوستگی چهار شناسایی گردید که ۹/٦ درصد از تغییرات صفت را توجیه می‌نماید (جدول ٦).

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ٤- گروه‌های پیوستگی ژنوم در جمعیت F_2 توتون شرقی و جایگاه ژن‌های کنترل‌کننده صفات مورد مطالعه. **qSG**: QTL قطر ساقه، **qLW**: QTL عرض برگ، **qSH**: QTL ارتفاع گیاه، **qLL**: QTL طول برگ، **qLN**: QTL تعداد برگ، **qFC**: QTL عملکرد برگ خشک در کرت.

www.SID.ir

جدول ٦- QTLهای کنترل‌کننده صفات مورد مطالعه در جمعیت $F_{2:3}$ توتون شرقی

صفت	QTL	گروه پیوستگی LG	نشانگر	موقعیت cM	LOD	اثر افزایشی	اثر غالبیت	R^2
قطر ساقه	qSG3	۳	۱	۲۱	۳/۰٦	-۰/۰۱	-۰/۰۸	۱٦
	qSG7	۷	۱	۰	٤/٥٤	۰/۰۷	۰/٥۱	۳
ارتفاع گیاه	qSH4	٤	۸	۱۱۷/۱	٥/٦۱	-۷/۷۳	-۰/٦	٤۱/٦
عرض برگ	qLW3-1	۳	۱	۲	۱۷/۳۱	-۲/۷٥	-۰/۸۲	۲۷/۹
	qLW3-2	۳	۲	۳٤/۹	۱٥/٦۱	-۲/۲۷	۲/٦۸	۳۰/۳
	qLW4-1	٤	۱	۱۹	۱٦/۷۷	۲/۷۷	-۰/۷۷	۳٤/۸
	qLW4-2	٤	۳	۳۳	۱۲/۰۱	-۲/۳۲	۲/۹	۳٥/۹
	qLW4-3	٤	٤	٤۰/٦	۱٥/٥۱	-۲/۳۳	۲/۸۹	۳٥/۷
	qLW4-4	٤	۸	۱۲۷/۱	۱۷/۰٥	-۲/۷٥	-۱/۰۷	۲۸
	qLW4-5	٤	۹	۱٤۲/٤	۱۲/۷۸	-۲/۳۱	۲/۹٦	۲۸/۳
	qLW5-1	٥	۱	۲٥	۷/۲٦	۲/۲٦	۲/۲	۲۷/۲
	qLW5-2	٥	۲	٤٥/۲	۱۰/۱	-۲/۳۲	۱/۹۱	۲۸/۹
طول برگ	qLL4	٤	۹	۱٤۱/٤	۲/۲۸	-۰/٤۲	۱/۸۸	۹/٦
تعداد برگ	qLN1	۱	۳	۱۸/۳	۲/۸٤	۰/۲۹	٥/۳٤	۲/٦
	qLN5-1	٥	۱	۲۸	۳/۰۲	-۱٦/۲	-۱/۳٥	٥/۳
	qLN5-2	٥	٥	۹۸/۳	۲/۸٦	-۰/۷۲	۳/۸٥	۱۱/۸
فاصله میانگره	qIN4	٤	۲	۲۱	۲/٥۱	۰/۱۰	-۰/٤٤	۹/۸
عملکرد برگ خشک در کرت	qFC4	٤	۹	۱٤۷/٤	۳/۰۸	۰/۰۷	-۰/۳۱	۱۸/۸

نکته: علامت منفی در اثرات افزایشی نشان دهنده نقش والد مادری (Basma seres 31) در افزایش صفت و علامت مثبت در اثرات افزایشی نشان‌دهنده نقش والد پدری (SPT 406) در افزایش صفت است.

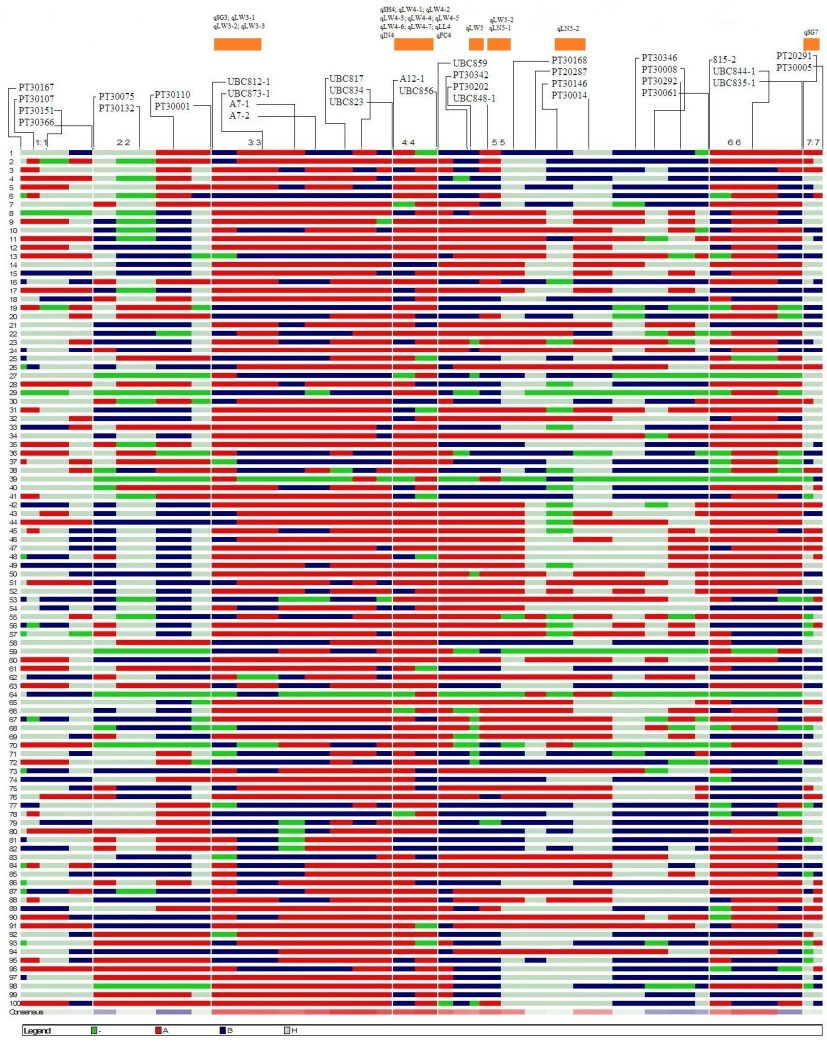
cM: centimorgan; LG: linkage group; LOD: $\log_{10}$ likelihood ratio (likelihood that the effect occurs by linkage/likelihood that the effect occurs by chance); QTL: quantitative trait loci; R^2: percentage of phenotypic variance explained by the individual QTLs

علامت منفی اثرات افزایشی نشان می‌دهد آلل مطلوب از والد مادری مشارکت داشته است. برای صفت تعداد برگ سه QTL در گروه‌های پیوستگی یک و پنج شناسایی گردید. تغییرات فنوتیپی توجیه شده توسط QTLها بین ۲,٦ تا ۱۱,۸درصد متغیر بود. علامت مثبت و منفی اثرات افزایشی نشان

Archive of SID

www.SID.ir

می‌دهد که آلل‌های مطلوب از هر ۲ والد مادری و پدری مشارکت داشته‌اند.



شکل ۵- ترکیب آلل‌های مختلف در نقشه ژنتیکی تهیه شده در جمعیت F_2 توتون‌های شرقی با استفاده از نشانگرهای SSR و ISSR. qSG: QTL قطر ساقه، qLW: QTL عرض برگ، qSH: QTL ارتفاع گیاه، qLL: QTL طول برگ، qLN: QTL تعداد برگ، qFC: QTL عملکرد برگ خشک در کرت. رنگ قرمز نشان‌دهنده آلل هموزیگوت A، رنگ آبی نشان‌دهنده آل هموزیگوت B، رنگ آبی روشن نشان دهنده هتروزیگوت و رنگ سبز نشان‌دهنده داده‌های گمشده.

www.SID.ir

از بین QTLهای شناسایی شده qLN5-2، به‌دلیل داشتن بیشترین تغییرات فنوتیپی، مهمترین QTL کنترل کننده این صفت بود. برای صفت فاصله میانگره تعداد یک QTL در جمعیت $F_{2:3}$ شناسایی گردید. این QTL، (qLN4) نزدیک به ۱۰ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را کنترل می نمود (جدول ٦). علامت مثبت اثرات افزایشی نشان می دهد آلل مطلوب از والد پدری مشارکت داشته است. برای صفت عملکرد برگ خشک در کرت که از مهمترین صفات در توتون است، یک QTL در گروه پیوستگی چهار شناسایی شد. این QTL ۱۸/۸ درصد از تغییرات فنوتیپی صفت را توجیه می نمود. علامت مثبت اثر افزایشی نشان‌دهنده توارث آلل از والد پدری (SPT406) می‌باشد. با توجه به شکل ۵ ارتباط مشخصی بین نوع آلل و QTLهای شناسایی شده مشاهده نشد. تهیه نقشه پیوستگی در گیاه توتون و شناسایی QTL برای صفات مختلف، قبلا توسط محققین دیگر انجام شده است. در مطالعه‌ای، لی و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از ۱۲۷ فرد F_2 و $F_{2:3}$ و ۱۹۰ نشانگر RAPD، SRAP و ISSR نقشه پیوستگی توتون را ترسیم کردند که شامل ۲٦ گروه پیوستگی بود. این نقشه در مجموع ۳٤۸۳ سانتی‌مورگان از ژنوم توتون را پوشش می‌داد. لی و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از نقشه تهیه شده برای صفت طول برگ چهار QTL در گروه‌های پیوستگی ۱، ۱۱ و ۱۹ شناسایی نمودند. در تحقیقی دیگر زایو و همکاران (۲۰۰۷) برای صفات ارتفاع گیاه، فاصله میانگره، تعداد برگ، طول برگ و عرض برگ به‌ترتیب ۲، ٤، ۲، ۲ و ۳ QTL شناسایی نمودند. از میان QTLهای شناسایی شده توسط زایو و همکاران (۲۰۰۷) دو QTL مربوط به صفات ارتفاع گیاه و عرض برگ در گروه‌های پیوستگی دو و یک قرار داشتند که با نتایج حاصله در این تحقیق مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی بالایی بین خانواده‌ها در جمعیت مورد مطالعه مشاهده شد که این تنوع ژنتیکی می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی استفاده شده و همچنین مکان‌یابی QTL در جمعیت را امکان‌پذیر می‌نماید. الگوی پیوسته توزیع فراوانی خانواده‌های مورد مطالعه برای صفات مورد بررسی، نشان‌دهنده کنترل ژنتیکی صفات توسط یک سامانه چندژنی می‌باشد. بین اکثر صفات مورد مطالعه، همبستگی بالایی مشاهده شد که این همبستگی بالا در اصلاح هم‌زمان چندین صفت دارای اهمیت می‌باشد، به خاطر اینکه با افزایش ارزش یک صفت، ارزش صفات همبسته نیز افزایش خواهد یافت. در مطالعه حاضر برای همه صفات، حداقل یک QTL شناسایی گردید همچنین برای برخی از صفات مثل قطر ساقه، عرض برگ و تعداد برگ چندین QTL با اثرات کوچک شناسایی گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

منابع

1. Arslan, B. and Okunus, A. 2006. Genetic and geographic polymorphism of cultivated tobaccos (*Nicotiana tabacum*) in Turkey. Russian J. Gen. 42:667-671.
2. Bageri, A., Yazdi Samadi, B., Taaem, M. and Ahmadi, M.R. 2002. Correlation and relationships between yield and other quantitative and qualitative characteristics of safflower. J. Agri. Sci. 46: 273-284.
3. Basten, C.J., Weir, B.S. and Zeng, Z.B. 2001. QTL Cartographer: A Reference Manual and Tutorial for QTL Mapping. Department of Statistics, North Carolina State University, USA. 395 Pp.
4. Cagas, C.C., Lee, O.N., Nemoto, K. and Sugiyama, N. 2008. QTL analysis of flowering time and related traits in an interspecies cross of tomato (*Solanum lycopersicum* × *Solanum pimpinellifolium*). Sci. Hort. 116:144–151.
5. Chai, C.C., Chai, L.G., Cai, C.C., Lin, G.P., Wang, Y. and Xu, F.S. 2009. Construction of genetic linkage map of burley tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) and genetic dissection of partial traits. Acta Agron. Sinica, 35: 1646–1654.
6. Chen, D.W., Chai, L.G., Cai, C.C., Lin, G.P., Wang, Y. and Xu, F.S. 2009. Construction of genetic linkage map of burley tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) and the QTL analysis of black shank disease. Progress Nat. Sci. 19: 852–858.
7. Clements, R., Haggar, J., Quezada, A. and Torres, J. 2011. Technologies for climate change adaptation– agriculture sector. UNEP Risoe Centre, Roskilde.
8. Darvishzadeh, R., Alavi, S.R. and Sarafi, A. 2009. Genetic variability for chlorine concentration in oriental tobacco genotypes. Arch. Agron. Soil Sci. 57: 167-177.
9. Darvishzadeh, R., Mirzaei, L., Hatami Maleki, H., Laurentin, H. and Alavi, S.R. 2013. Genetic variation in oriental tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) by agromorphological traits and simple sequence repeat markers. Revista Ciência Agron. 44(2): 347-355.
10. Del Piano, L., Abet, M., Sorrentino, C., Acanfora, F., Cozzolino, E. and Dimuro, A. 2000. Genetic variability in *Nicotiana tabacum* and *Nicotiana* species as revealed by RAPD procedure. Inter. Tobacco Control Res. 19:1–15.
11. De Givry, S., Bouchez, M., Chabrier, P., Milan, D. and Schiex T. 2005. CART HAGENE: multi-population integrated genetic and radiation hybrid mapping. Bioinformatics, 21: 1703-1704.
12. De Vicente, M.C. and Tanksley, S.D. 1993. QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. Gen. 134: 585–596.
13. Doganlar, S., Frary, A., Ku, H.M. and Tanksley, S.D. 2002. Mapping quantitative trait loci in inbred backcross lines of *Lycopersicon pimpinellifolium* (LA1589). Gen. 45: 1189–1202.
14. Frary, A., Doganlar, S., Daunay, M.C. and Tanksley, S.D. 2003. QTL analysis of morphological traits in eggplant and implications for conservation of gene function during evolution of *Solanaceous* species. Theo. App. Gen. 107:359-370.
15. Ganapathi, T.R., Suprasanna, P., Rao, P.S. and Bapat V.A. 2004. Tobacco

Archive of SID

www.SID.ir

(*Nicotiana tabacum* L.)- a model system for tissue culture interventions and genetic engineering. Indian J. Biotech. 3: 171–184.
16. Gepts, P. 2006. Plant genetic resources conservation and utilization: The accomplishments and future of a societal insurance policy. Crop Sci. 46: 2278-2292.
17. Grandillo, S. and Tanksley, S.D. 1996. QTL analysis of horticultural traits differentiating the cultivated tomato from the closely related species *Lycopersicon pimpinellifolium*. Theo. Appl. Gen. 92: 935–951.
18. Hamza, S., Hamida, W.B., Rebai, A. and Harrabi, M. 2004. SSR-based genetic diversity assessment among Tunisian winter barley and relationship with morphological traits. Euphytica, 135: 107-118.
19. Hatami Maleki, H., Karimzadeh, G., Darvishzadeh, R. and Alavi, R. 2012. Genetic variability by using multivariate statistical methods in oriental tobacco. Iranian J. Field Crops Res. 10: 100–106. (In Persian)
20. Hatami Maleki, H., Karimzadeh, G., Darvishzadeh, R. Naghavi, M.R. and Sarrafi, A. 2013. Identification of QTLs associated with low chloride accumulation in oriental tobacco. Genetika, 45: 855-864.
21. Jimenez-Gomez, J.M., Alonso-Blanco, C., Borja, A., Anastasio, G., Angosto, T., Lozano, R. and Martinez-Zapater, J.M. 2007. Quantitative genetic analysis of flowering time in tomato. Genome, 50: 303–315.
22. Johnson, D.E. 1998. Applied Multivariate Methods for Data Analysis. Dunbury Press, New York, USA.
23. Julio, E., Verrier, J.L. and de Borne, F.D. 2006b. Development of SCAR markers linked to three disease resistances based on AFLP within *Nicotiana tabacum* L. Theo. Appl. Gen. 112: 335–346.
24. Kumar, P., Gupta, V.K., Misra, A.K., Modi, D.R. and Pandey, B.K. 2009. Potential of molecular markers in plant biotechnology. Plant Omics J. 2:141-162.
25. Leitch, I.J., Hanson, L., Lim, K.Y., Kovarik, A., Chase, M.W., Clarkson, J.J. and Leitch, A.R. 2008. The ups and downs of genome size evolution in polyploid species of *Nicotiana* (*Solanaceae*). Ann. Bot. 101(6): 805–814.
26. Lewis, R.S. 2011. Nicotiana. In: Kole C (ed) Wild crop relatives: genomic and breeding resources, plantation and ornamental crops. Springer, Berlin.
27. Li, H.L., Chen, M.X., Zhou, D.X., Chen, S.H., Tao, A.F., Li, Y.K., Ma, H.B., Qi, J.M. and Guo, Y.C. 2011. QTL analysis of six important traits in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Acta Agron. Sin. 37: 1577–1584.
28. Lindhout, P., van Heusden, S., Pet, G., van Ooijen, J.W., Sandbrink, H., Verkerk, R., Vrielink, R. and Zabel, P. 1994. Perspectives of molecular marker assisted breeding for earliness in tomato. Euphytica, 79: 279–286.
29. Mohammadi, S.A. and Prasanna, B.M. 2003. Analysis of genetic diversity in crop plants- salient statistical tools and considerations. Crop Sci. 43: 1235-1248.
30. Mohsen Zadeh Golfazani, M., Samieezadeh Lahijani, H., Alami, A., Shoaaii Dilami, M. and Talesh Sasani., S. 2012. Assessment of genetic diversity among

Archive of SID

www.SID.ir

different genotypes of flue-cured tobacco using ISSR markers and Retrotransposon. Iranian J. Field Crop Sci. 43(2): 371-380.
31. Moon, H.S., Nicholson, J.S., Heineman, A., Lion, K., der Hoeven, R.V., Hayes, A.J. and Lewis, R.S. 2009a. Changes in genetic diversity of US flue-cured tobacco germplasm over seven decades of cultivar development. Crop Sci. 49: 498-506.
32. Moon, H.S., Nifong, J.M., Nicholson, J.S., Heineman, A., Lion, K., der Hoeven, R.V., Hayes, A.J. and Lewis, R.S. 2009b. Microsatellite based analysis of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) genetic resources. Crop Sci. 49: 2149–2157.
33. Moon, H.S., Nicholson, J.S. and Lewis, R.S. 2008. Use of transferable *Nicotiana tabacum* L. microsatellite markers for investigating genetic diversity in the genus *Nicotiana*. Gen. 51: 547–559.
34. Movafegh, S., Rabiee, B., Zare-Feizabadi, A. and Taheri, G. 2009. Mapping QTLs controlling yield in two Iranian rice cultivars- F2 populations. Iranian J. Agri. Res. 7: 673–683. (In Persian)
35. Mwadzingeni, L., Kashangura, C., Gasura, E., Garwe, D. and Lewis, R. 2013. Genetic diversity of Zimbabwean and exotic flue-cured tobacco varieties based on phenotypic traits and simple sequence repeats. Afr. J. Agri. Res. 8(46):5845-5853.
36. Narayan, R.K. 1987. Nuclear DNA changes, genome differentiation and evolution in *Nicotiana* (*Solanaceae*). Plant System. Evol. 157: 161-180.
37. Nagarajan, K. and Prasadrao, J.A.V. 2004. Textbook of Field Crops Production. Published by Directorate of Information and Publication of Agriculture Indian Council of Agricultural Research Krishi Anusandh Bhavan. Pusa New Delhi, India. 769-812 Pp.
38. Nikolic, D., Rakonjac, V., Milatovic, D. and Fotiric, M. 2010. Multivariate analysis of vineyard peach (*Prunus persica* L. Batsch.) germplasm collection. Euphytica, 171: 227-234.
39. Raju, K.S., Madhav, M.S., Sharma, R.K., Murthy, T.G.K. and Mohapatra, T. 2008. Genetic polymorphism of Indian tobacco types as revealed by amplified fragment length polymorphism. Current Sci. 94: 633–638.
40. Rauf, S., Jaime, A., Silva, T., Khan, A.A. and Naveed, A. 2010. Consequences of plant breeding on genetic diversity. Inter. J. Plant Breed. 4:1-21.
41. Ren, N., and Timko, M.P. 2001. AFLP analysis of genetic polymorphism and evolutionary relationships among cultivated and wild *Nicotiana* species. Gen. 44: 559–571.
42. Sarala, K. and Rao, R.V.S. 2008. Genetic diversity in Indian FCV and burley tobacco cultivars. J. Gen. 2: 159-163.
43. Shapiro, S.S. and Wilk, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality. Biometrika, 52: 591–599.
44. Singh, M., Singh, H., Kumar, R., Tank, D.S., Singh, V.P, Singh, T. and Singh, S.M. 1988. Correlation and path coefficient analysis of some morphological and yield characters in sunflower. Crop Res., 16: 93-96.

Archive of SID

www.SID.ir

45. Stuber, C.W. 1994. Heterosis in plant breeding. Plant Breed. Rev. 12: 227-251.
46. Sumugat, M.R., Mayumi, M., Kyoko, A. and Sugiyama, N. 2010. Quantitative trait loci controlling flowerring properties in tomato. ISSAAS J. 16: 1-9.
47. Tan X., Xu X., Wang N., Zhang X., Ren J., Xiao B., Xu J., Wang W., Wang C., Hao X. and Zhang Z. 2012. QTLs related to the easy curing potential mapped in flue-cured tobacco. Plant Gene and Trait, 3: 28–33.
48. Tanksley, S.D., Ganal, M.W., Prince, J.P., Vicente, M.C., Bonierbale, M.W., Broun, P., Fulton, T.M., Giovannoni, J.J., Grandillo, S., Martin, G.B., Messeguer, R., Miller, J.C., Miller, L., Paterson, A.H., Pineda, O., Roder, M.S., Wing, R.A., Wu, W. and Young, N.D. 1992. High-density molecular linkage maps of the tomato and potato genomes. Gen. 132: 1141–1160.
49. Tong, Z., Jiao, T., Wang, F., Li, M., Leng, X., Gao, Y., Li, Y., Xiao, B. and Wu, W. 2012. Mapping of quantitative trait loci conferring resistance to brown spot in flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Plant Breed. 131: 335–339.
50. Tripp, R. and Van Der Heide, W. 1996. The erosion of crop genetic diversity: Challenges, strategies and uncertainties. Overseas Development Institute. *http://seedsoftimemovie.com/loss-of-diversity/ODI_erosionofcropdiversity-Mar 1996.pdf*
51. Upadhyaya, H.D., Yadav, D., Dronavalli, N., Gowda, C. and Singh, S. 2010. Mini core germplasm collections for infusing genetic diversity in plant breeding programs. Elec. J. Plant Breed. 1: 1294-1309.
52. Van Berloo, R. 2008. GGT software for the display of graphical genotypes. Heredity, 99(2): 232–236.
53. Xiao, B.G., Lu, X.P., Bai, Y.F., Li, Y.P., Sun, Y., Guo, Z., Jun, Z. 2007. A genetic linkage map of the flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) and QTL analysis of several agronomic traits using a doubled haploid population. CORESTA Meet. Agro-Phyto Groups, Krakow, Poland, Abstr. AP 10.
54. Xiao, B.G., Lu, X.P., Jiao, F.C., Li, Y.P., Sun, Y.H. and Guo, Z.K. 2008. Preliminary QTL analysis of several chemical components in flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). Acta Agron. Sinica, 34: 1762−1769.
55. Zeng, Z.B. 1993. Theoretical basis of separation of multiple linked gene effects on mapping quantitative trait loci. Proceedings of the National Academy of Sciences, 90: 10972–10976.
56. Zeng, Z.B. 1994. Precision mapping of quantitative trait loci. Gene. 136: 1457-1468.

Archive of SID

www.SID.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. Plant Prod. Res. Vol. 22 (1), 2015
http://jopp.gau.ac.ir

Evaluation of genetic variation and identification of QTLs controlling agro-morphological traits in $F_{2:3}$ population of oriental tobacco

F. Hoshyardel[1], *R. Darvishzadeh[2] and H. Hatami Maleki[3]
[1]MSc. Student, Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, [2]Associate Prof., Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, [3]Assistant Prof., Dept. of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran
Accepted: 22-5-2014 ; Received: 4-10-2014

Abstract

In order to evaluate the genetic diversity and identify quantitative trait loci (QTL) controlling agro-morphological triats such as leaf length, leaf width, leaf number, internode distance, dried leaf yield per plot, plant height and stem girth, the genetic population including 225 $F_{2:3}$ families from the cross between two oriental-type tobacco genotypes 'SPT 406 (paternal) × Basma seres 31 (maternal) were evaluated with sample lattice design under field conditions. Statistical analysis revealed a meaningful difference among $F_{2:3}$ families for studied traits except for internode distance. Genetic diversity was evaluated by using multivariate statistical methods such as cluster analysis and principal components analysis. By using principal components analysis and cluster analysis via Ward method, the studied $F_{2:3}$ families were classified into four different groups. QTLs were mapped using a linkage map comprising 23 SSR and 19 ISSR amrkers. 18 QTLs were detected for the studied traits in $F_{2:3}$ generation and maximum number of QTLs was identified for the leaf number trait.

Keywords: Gene mapping, tobacco, quantitative traits, SSR markers

*Corresponding author; r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir