تحقیقات علوم زراعی در مناطق خشک/ جلد چهارم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۴۰۱، ص ۱۹۵-۱۸۳

مقاله پژوهشی

بررسی تنوع ژنتیکی برای صفات شیمیایی در جمعیت لاین‌های خالص نوترکیب توتون شرقی

پرویز گودرزی مکری[۱]، رضا درویش‌زاده[۲*]، بهرام ملکی زنجانی[۳]، مرجان جنت‌دوست[۴]

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲- گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۴- دانشجوی دکتری ژنتیک و بهنژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

* مسئول مکاتبه: R.darvishzadeh@urmia.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۹ **DOI: 10.22034/CSRAR.2022.310590.1143**

چکیده

تخمین تنوع ژنتیکی و آگاهی از روابط خویشاوندی ژنوتیپ‌ها یک عامل مهم در پیشبرد و اجرای برنامه‌های به‌نژادی است و بدون آن اصلاح ژنتیکی مؤثر و مطلوب قابل دستیابی نمی‌باشد. به منظور تخمین تنوع ژنتیکی انواع مختلفی از سیستم‌های نشانگری توسط اصلاح‌گران گیاهی استفاده می‌شوند که ازجمله آن‌ها می‌توان به نشانگرهای ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و مولکولی اشاره کرد. در این مطالعه، تنوع ژنتیکی ویژگی‌های شیمیایی در ۵۵ لاین خویش آمیخته نوترکیب حاصل از تلاقی ژنوتیپ‌های SPT406 (والد پدری) و Basma Seres 31 (والد مادری) بررسی شد. از برگ‌های میانی (کمر برگ) هر لاین در هر تکرار تعداد ۲۰ برگ بطور تصادفی انتخاب و درصد عناصر شیمیایی از قبیل کلر، محتوای قند، نیکوتین و محتوای خاکستر به روش پیشنهادی CORESTA تعیین گردید. تجزیه واریانس نشان داد که بین لاین‌های مورد بررسی در رابطه با تجمع کلر در برگ و مقدار نیکوتین اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد. تجزیه همبستگی نشان داد همبستگی منفی و معنی‌دار بین صفات قند و نیکوتین و همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات قند و خاکستر وجود دارد. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی نشان داد که تعداد سه مؤلفه از چهار مؤلفه اصلی بیشترین نقش را در تبیین تنوع موجود در بین افراد دارند. همه صفات بغیر از صفت تجمع کلر در برگ همبستگی منفی با مؤلفه اول نشان دادند. در تجزیه خوشه‌ای به روش وارد، جمعیت مورد مطالعه در چهار گروه مجزا گروه‌بندی شدند. نتایج مقایسه میانگین صفات در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای با استفاده از آزمون SNK در سطح احتمال یک درصد نشان داد که افرادی که در گروه یک قرار دارند از نظر اکثر صفات مورد مطالعه دارای مقادیر بیشتر هستند. بر اساس پژوهش اخیر، تنوع ژنتیکی گسترده‌ای برای صفات محتوای نیکوتین و کلر در جمعیت مورد بررسی مشاهده شد که می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی توتون شرقی مورد استفاده قرار گیرد. تولید واریته‌های مطلوب با کاهش متوسط هزینه‌های تولید درآمد کشاورزان را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: تجزیه خوشه‌ای، تجزیه همبستگی، محتوای نیکوتین و کلر

مقدمه

توتون با نام علمی *Nicotiana tabacum* L. گیاهی یک‌ساله و آلوتتراپلوئید (2n=4x=48) از خانواده سولاناسه[۱] (Goodarzi Mokri *et al.*, 2016) بوده و به طور گسترده به عنوان یک گیاه مدل در زیست‌شناسی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Xie *et al.*, 2016). جنس *Nicotiana* از آمریکای جنوبی سرچشمه گرفته و شامل ۷۶ گونه دیپلوئید و پلی‌پلوئید است (Edrisi Maryan *et al.*, 2012; Knapp *et al.*, 2004). *N. tabacum* از طریق هیبریداسیون بین‌گونه‌ای[۲] بین *N. sylvestris* (2n =24) به عنوان والد مادری[۳] و *N. tomentosiformis* (2n =24) به عنوان والد پدری[۴] بدست آمده است (Leitch *et al.*, 2008; Yaldiz *et al.*, 2018). توتون شرقی مستعد کشت در آب و هوای خشک بوده و به مدت دو تا سه ماه پس از کاشت تا رسیدن و برداشت برگ، به شرایط آب و

1. *Solanaceae*

2. Interspecific hybridization

3. Maternal line

4. Paternal line

هوای خشک نیاز دارد (Nurhidayati *et al.*, 2017). این گیاه بواسطه داشتن نیکوتین در ساخت آفت‌کش‌های آلی و نیز در ساخت برخی داروها بکار می‌رود، اما مصرف عمدهٔ آن در صنعت دخانیات است. توتون هم‌چنین یکی از مهم‌ترین گیاهان برای زراعت مولکولی است و برای تولید مواد مهم تجاری از جمله داروها و واکسن‌ها بسیار امیدوارکننده است (Gadani *et al.*, 1995; Brandle and Bai, 1999; Davalieva *et al.*, 2010).

تنوع ژنتیکی که در حال حاضر در *N. tabacum* وجود دارد به احتمال زیاد توسط چندین تنگنای ژنتیکی[1] تحت تأثیر قرار گرفته است (Lewis and Nicholson, 2007). محصول‌دهی، عملکرد سیگارت[2] و همگنی[3] عناصر در برگِ توتون صفات دارای اهمیت اقتصادی بوده و بر اساس نتایج تجزیه‌های ژنتیکی متأثر از تعداد زیادی ژن هستند (Masheva, 2014). ژنوتیپ نقش مهمی در بیان صفات اقتصادی در توتون‌های بارلی[4] و شرقی ایفا می‌کند (Taskova *et al.*, 2005; Dyulgerski and Kirkova, 2013; Masheva, 2014). برخی از ژن‌های کنترل‌کنندهٔ صفات با توجه به بیان فنوتیپی آن‌ها پایدار هستند، درحالی‌که برخی دیگر میزان زیادی تنوع نشان می‌دهند (Masheva, 2014). از آنجایی‌که بیشتر صفات توتون ماهیت کمّی دارند، تخمین نحوهٔ وراثت به درک و دستکاری بهتر آن‌ها کمک می‌کند (Butorac *et al.*, 2004; Masheva, 2014).

ژنوتیپ‌های توتون بر اساس تیپ رشدی، به سه گروه شرقی، نیمه‌شرقی و غربی تقسیم می‌شوند. مشخصات بارز توتون‌های شرقی که آن‌ها را از گروه‌های دیگر مجزا می‌نماید، عطر نافذ، برگ‌های ظریف و دود ملایم است (Goodarzi Mokri *et al.*, 2016; Darvishzadeh *et al.*, 2017). توتون‌های شرقی عموماً در مقابل کم‌آبی تحمل داشته و روی تپه‌ها و زمین‌های شیب‌دار به خوبی رشد می‌کنند. از نظر نحوهٔ عمل‌آوری، آفتاب‌خشک بوده ولی در شرایطی که ساعات آفتابی در طول روز کافی نباشد (شمال کشور)، از روش گرم‌خانه‌ای استفاده می‌شود (Chaplin, 1975). شمال‌غرب ایران به دلیل موقعیت جغرافیایی خاص، یکی از مناطق مطلوب برای کشت توتون‌های شرقی است. از عوامل مؤثر در قابلیت سوزش و ایجاد طعم ذائقه‌پسند و مطبوع توتون درصد تجمع عناصری مانند کلر و هم‌چنین موادی مانند نیکوتین و قند می‌باشد (Tso, 1990). مقدار آستانهٔ کلرید در برگِ توتونِ خوب و قابل قبول معمولاً زیر ۱/۵ درصد است (Chari, 1995; Darvishzadeh *et al.*, 2011)، مقادیر بیش از دو درصد خاصیت سوزش توتون را مهار می‌کند (Akehurst, 1981; Juan and del Castillo, 1986; Guardiola *et al.*, 1987; King, 1990; Darvishzadeh *et al.*, 2011).

هدف بسیاری از مطالعات، تعیین شباهت‌ها و تفاوت‌های موجود و تشخیص تنوع موجود در بین افراد یک جمعیت مورد بررسی می‌باشد. تنوع موجود در جمعیت را می‌توان به دو نوع تنوع محیطی و تنوع ژنتیکی تقسیم نمود که در این میان فقط تنوع ژنتیکی قابلیت انتقال به نسل‌های بعدی را دارد و برای به‌نژادگران قابل توجه می‌باشد. تنوع ژنتیکی در برنامه‌های به‌نژادی برای انتخاب والدین مناسب جهت بدست آوردن هیبریدهای قوی مهم است (Ahmadikhah *et al.*, 2007; Edrisi Maryan *et al.*, 2012). از طرفی آگاهی در زمینه وراثت‌پذیری صفت مورد مطالعه، برای برنامه‌های به‌نژادی مهم می‌باشد (Pirkhezri *et al.*, 2008; Darvishzadeh *et al.*, 2017). بدلیل استفاده از سیستم‌های کشاورزی مدرن که به واریته‌های با عملکرد بالا و یکسان از نظر ژنتیکی توجه دارد، تنوع ژنی گیاهان زراعی به طور کلی نسبت به اجداد وحشی آن‌ها کاهش یافته است. از طرف دیگر، تنوع ژنتیکی برای بدست آوردن ارقام جدید با عملکرد بالاتر، کیفیت بهتر و سازگاری کارآمدتر با تنش‌های زیستی و غیرزیستی ضروری است (Laurentin, 2009; Basirnia *et al.*, 2016).

تخمین تنوع ژنتیکی و آگاهی از روابط خویشاوندی ژنوتیپ‌ها یک عامل مهم در پیشبرد و اجرای برنامه‌های به‌نژادی است و بدون آن اصلاح ژنتیکی مؤثر و مطلوب قابل دستیابی نمی‌باشد. به منظور تخمین تنوع ژنتیکی انواع مختلفی از سیستم‌های نشانگری توسط اصلاح‌گران گیاهی استفاده می‌شوند که ازجمله آن‌ها می‌توان به نشانگرهای ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و مولکولی اشاره کرد. در مورد استفاده از نشانگرهای ریختی به خصوص صفات شیمیایی در ارزیابی تنوع ژنتیکی در جنس *Nicotiana* گزارش‌های کمی وجود دارد؛ حال آن‌که مطالعات فراوانی جهت بررسی تنوع ژنتیکی با استفاده از

1. Genetic bottleneck
2. Cigarette yield
3. Homogeneity
4. Burley

نشانگرهای مولکولی انجام گرفته است. در تعیین و بررسی تنوع ژنتیکی، روش‌های آماری چند متغیره ابزاری مفید در اختیار به‌نژادگران می‌باشند. در مطالعه‌ای تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم توتون شرقی موجود در بانک ژن مرکز تحقیقات توتون ارومیه با استفاده از صفات مورفولوژیک مورد ارزیابی قرار گرفت (Hatami Maleki *et al.*, 2012). در این مطالعه بر اساس اندازه‌گیری هشت صفت مورفولوژیک، ژنوتیپ‌های توتون مورد مطالعه در چهار گروه مجزا قرار گرفتند. در مطالعه‌ای میزان تجمع کلر در برگ ۱۰۰ ژنوتیپ توتون شرقی و نیمه‌شرقی مورد ارزیابی قرار گرفت (Darvishzadeh *et al.*, 2011). در این مطالعه تنوع گسترده‌ای بین ژنوتیپ‌ها برای جذب و تجمع کلر در برگ مشاهده شد. در مطالعه‌ای ژنتیک تجمع کلرید در برگ توتون‌های شرقی با استفاده از تجزیه‌های دی‌آلل بررسی شد (Darvishzadeh and Alavi, 2011). نتایج مطالعه نشان داد که قابلیت ترکیب‌پذیری عمومی[1] و خصوصی[2] برای تجمع کلرید در برگ توتون معنی‌دار می‌باشند که حاکی از نقش هر دو اثر افزایشی[3] و غالبیت[4] ژن‌ها در کنترل صفت می‌باشد. با توجه به این توضیحات، هدف از این مطالعه، بررسی تنوع ژنتیکی در جمعیت لاین‌های خالص نوترکیب برای ویژگی‌های شیمیایی از قبیل درصد تجمع کلر در برگ، نیکوتین، قند و خاکستر می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

تعداد ۵۵ لاین خالص نوترکیب (جمعیت F_6) حاصل از تلاقی دو ژنوتیپ والدی Basma Seres 31 (والد مادری) و SPT 406 (والد پدری) (Darvishzadeh *et al.*, 2017) در مزرعه تحقیقاتی مرکز تحقیقات توتون ارومیه با طول جغرافیایی ۴۴/۵۸ درجه و عرض ۳۷/۳۴ درجه با ارتفاع ۱۲۰۰ متر از سطح دریا در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار کشت شدند. هر کرت شامل سه خط به طول پنج متر و فاصله خطها از هم ۶۵ سانتی‌متر و فاصله بوته‌ها روی ردیف ۲۰ سانتی‌متر (تراکم حدود ۷۷۰۰۰ بوته در هکتار) در نظر گرفته شد. میزان بارندگی سالیانه محل اجرای آزمایش بر مبنای میانگین ده‌ساله ۳۳۶ میلی‌لیتر، درجه حرارت سالانه ۱۲ درجه سلسیوس و متوسط دمای تابستانه و زمستانه به ترتیب ۲۲/۱ و ۰/۵- درجه سلسیوس می‌باشد. Basma Seres 31 از واریته‌های گروه باسما توتون‌های شرقی است. این واریته در سطح وسیعی در استان آذربایجان‌غربی کشت می‌شد. به دلیل تجمع دادن کلرید به میزان زیاد در برگ اخیراً کشت نمی‌شود. SPT 406 از واریته‌های گروه چُپُق توتون‌های شرقی است. این واریته از جمعیت‌های چپق بومی استان آذربایجان‌غربی به روش گزینش لاین‌های خالص توسعه یافته است. در بررسی تنوع ژنتیکی برای تجمع کلرید در برگ مشخص گردید میزان تجمع کلرید پایینی دارد (Darvishzadeh *et al.*, 2011). در مقایسه با واریته‌های تیپ باسما قد کوتاه بوده و عملکرد پایینی دارد (Hatami Maleki *et al.*, 2012). ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل انجام آزمایش در جدول ۱ ارائه شده است.

عملیات تهیه زمین زراعی شامل شخم عمیق پاییزه و شخم نسبتاً عمیق عمود بر شخم پاییزه در بهار بود. سپس دو بار دیسک عمود بر هم زده شد. نشاءها بعد از رسیدن گیاهچه‌ها به ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر به زمین اصلی منتقل شدند. مبارزه با علف‌های هرز و خاک دادن پای بوته‌ها و سله‌شکنی با دست صورت گرفت. آبیاری مزرعه پس از تخلیه ۸۰ درصد آب قابل دسترس خاک انجام می‌گرفت (Salehzadeh *et al.*, 2009). برخلاف توتون‌های ویرجینیا و بارلی که عملیات سرزنی رایج است این عمل در توتون‌های شرقی انجام نگرفت. چیدن برگ‌ها بعد از رسیدگی صنعتی در سه مرحله (پابرگ، کمر برگ و لچه برگ) انجام گرفت و سپس برگ‌های چیده شده در مقابل آفتاب (که ویژه توتون‌های شرقی است) خشک شدند. از برگ‌های میانی (کمر برگ) هر لاین در هر تکرار تعداد ۲۰ برگ بطور تصادفی انتخاب و درصد عناصر شیمیایی از قبیل کلر، محتوای قند، نیکوتین و محتوای خاکستر به روش پیشنهادی CORESTA[5] (CORESTA, 1994) تعیین گردید.

1. General combining ability (GCA)
2. Specific combining ability (SCA)
3. Additive
4. Dominant
5. Cooperation Center for Scientific Research Relative to Tobacco

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش (مرکز تحقیقات توتون ارومیه)

Table 1- Physical and chemical characteristics of the soil at the experiment place (Urmia Tobacco Research Center)

ویژگی خاک Soil properties	مقدار Amount	ویژگی خاک Soil properties	مقدار Amount
pH	7.6	کربن ارگانیک Organic carbon (٪)	0.73
هدایت الکتریکی Electrical conductivity EC×10^{-3} (ds m^{-1})	0.6	درصد اشباع Saturation percentage (٪)	49.9
فسفر Phosphorus (mg Kg^{-1})	39.3	کربنات کلسیم Calcium carbonate (٪)	11.84
پتاسیم Potassium (mg Kg^{-1})	565	بی‌کربنات Bicarbonate (٪)	3.57
نیتروژن کل Total nitrogen (٪)	0.11	شن Sand (٪)	16
منگنز Manganese (milimol of charge per liter)	1.87	لوم Loam (٪)	44
کلسیم Calcium (milimol of charge per liter)	1.89	رس Clay (٪)	40
کلر Chlorine (milimol of charge per liter)	0.8		

تجزیه‌های آماری

شناسایی داده‌های پرت و آزمون نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی مطابق روش شاپیرو و ویلک (Shapiro and Wilk, 1965) در نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام گرفت. تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات شیمیایی مطابق با مدل آماری طرح بلوک‌های کامل تصادفی در نرم‌افزار SAS انجام شد. آزمون نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی نشان داد که در رابطه با صفت تجمع کلر در برگ توزیع اشتباهات آزمایشی نرمال نیست. به منظور نرمال نمودن توزیع اشتباهات از گزینه Normal score در نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۸ استفاده شد. آماره‌های توصیفی و نمودارهای توزیع فراوانی صفات مورد مطالعه با نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۴ محاسبه و رسم شدند. گروه‌بندی لاین‌های توتون بر اساس روش‌های آماری چند متغییره از قبیل تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در نرم‌افزار Minitab انجام گرفت. تجزیه خوشه‌ای پس از استاندارد کردن داده‌ها به روش حداقل واریانس وارد[1] و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی ماتریس ضرایب همبستگی صفات انجام گرفت. مقایسه میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ به روش SNK انجام گرفت.

نتایج و بحث

آماره‌های توصیفی و همبستگی صفات

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین لاین‌های خالص نوترکیب توتون از لحاظ میزان تجمع کلر در برگ و نیکوتین اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد (جدول ۲). توزیع فراوانی و آماره‌های توصیفی برای صفات مورد مطالعه شامل مقادیر حداقل و حداکثر، میانگین و انحراف معیار به همراه ضریب تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی و وراثت‌پذیری هر یک از صفات در شکل ۱ و جدول ۳ ارائه شده است. بیشترین تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی در صفت نیکوتین و کمترین تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی در صفت خاکستر مشاهده شد. بیشترین و کمترین وراثت‌پذیری به ترتیب در صفات نیکوتین و خاکستر مشاهده شد (جدول ۲). در مطالعه‌ای، تفاوت معنی‌داری در بین ژنوتیپ‌های توتون شرقی برای تجمع کلرید در برگ مشاهده شد که نشان می‌دهد تجمع کلرید در برگ ژنتیکی کنترل می‌شود (Darvishzadeh *et al.*, 2011). هم‌چنین تنوع ژنتیکی برای صفات تجمع کلرید و نیکوتین در توتون توسط محققان دیگر (Chaplin, 1975) نیز گزارش شده است. در میان مواد مغذی معدنی، کلر به عنوان یک ریزمغذیِ اساسی در کشت توتون شناخته می‌شود. با این‌حال، مقدارِ بیشترِ کلرید تأثیرات منفی بر کیفیت توتون دارد؛ به‌طوری‌که میزان کلرید موجود در برگ‌های توتون به عنوان یک

1. Ward's method

عامل اصلی در تعیین کیفیت توتون در نظر گرفته می‌شود (Darvishzadeh *et al.*, 2011). در پژوهش دیگری، در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام مختلف توتون با استفاده از روش‌های آماری چندمتغیره، بیشترین و کمترین ضریب تغییرات ژنوتیپی به ترتیب در درصد قند و درصد نیکوتین مشاهده شد (Hosseinzadeh Fashalami *et al.*, 2015). هم‌چنین در بررسی ایشان بیشترین مقدار وراثت‌پذیری در صفت درصد خاکستر کل و کمترین مقدار در صفات درصد ازت پروتئینی و درصد فسفر مشاهده گردید.

جدول ۲- تجزیه واریانس برای ویژگی‌های شیمیایی در لاین‌های خالص نوترکیب توتون شرقی

Table 2- Analysis of variance for chemical traits in recombinant inbred lines of oriental tobacco

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean squares			درجه آزادی Degree of freedom	میانگین مربعات Mean squares
		نیکوتین Nicotine	قند Sugar	خاکستر Ash		کلر Chlorine
تکرار Replication	2	2.01**	23.04**	2.28*	2	0.0003ns
لاین Line	54	0.48**	1.55ns	0.34ns	54	0.012**
خطا Error	89	0.11	1.68	0.30	104	0.005
ضریب تغییرات Coefficient of variation	-	21.46	25	2.89	-	10.55

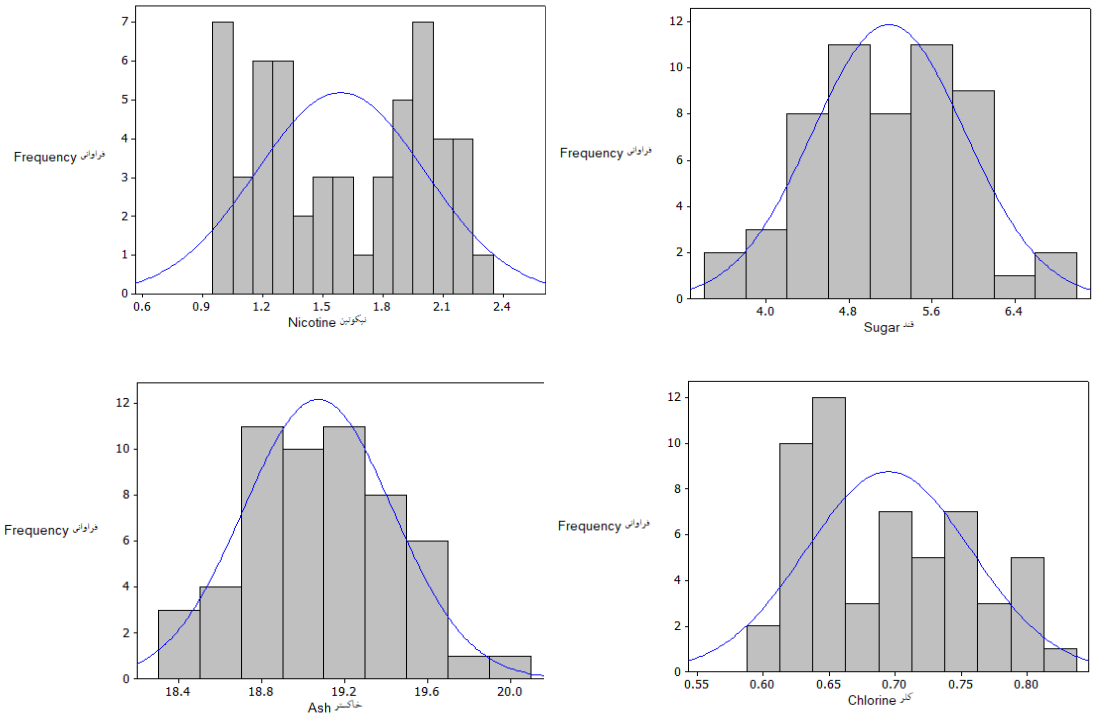
جدول ۳- آماره‌های توصیفی برای ویژگی‌های شیمیایی در لاین‌های خالص نوترکیب توتون شرقی

Table 3- Descriptive statistics for chemical characteristics in recombinant inbred lines of oriental tobacco

صفات Traits	میانگین Mean	مقدار کمینه Minimum value	مقدار بیشینه Maximum value	انحراف معیار Standard deviation	چارک اول The first quartile	چارک سوم The third quartile	ضریب تغییرات ژنوتیپی Coefficient of genotypic variation	ضریب تغییرات فنوتیپی Coefficient of phenotypic variation	وراثت‌پذیری عمومی Broad sense heritability
نیکوتین Nicotine	1.59	0.95	2.32	0.42	1.18	2.01	22.14	30.42	0.53
قند Sugar	5.23	3.48	6.79	0.68	4.67	5.74	_	_	_
خاکستر Ash	19.07	18.4	19.95	0.36	18.80	19.33	0.60	2.93	0.04
کلر Chlorine	0.87	0.38	1.93	0.47	0.47	1.33	5.14	9.62	0.29

همبستگی صفات در جدول ۴ ارائه شده است. همبستگی منفی و معنی‌دار بین صفات میزان قند و نیکوتین و همبستگی مثبت و معنی‌دار بین صفات میزان قند و خاکستر مشاهده شد. همبستگی معنی‌دار می‌تواند به دلیل وجود رابطه نزدیک بین ژن‌های کنترل‌کننده صفات یا به علت اثرات پلیوتروپی ژن‌ها باشد (Hooshyardel *et al.*, 2015). البته در استفاده از نتایج همبستگی باید جانب احتیاط را در نظر گرفت چرا که همبستگی به‌تنهایی نمی‌تواند رابطه بین دو متغیر را توجیه نماید چون ممکن است دو متغیر تحت تأثیر متغیرهای دیگری نیز قرار گرفته باشند (Singh *et al.*, 1988). از نتایج همبستگی بین صفات می‌توان جهت اصلاح صفات همبسته بطور هم‌زمان استفاده نمود. همبستگی بین صفات شیمیایی در توتون در

مطالعات قبلی نیز گزارش شده است (Chaplin, 1975; Hosseinzadeh Fashalami *et al.*, 2008). در بررسی دیگری در توتون، بین وزن سبز با صفات ضریب سطح برگ، طول و عرض برگ و عملکرد، بین روزهای تا گل‌دهی و ضریب سطح برگ همبستگی معنی‌دار مثبت بسیار قوی و بین درصد قند و خاکستر کل همبستگی معنی‌دار منفی بسیار قوی مشاهده گردید (Hosseinzadeh Fashalami *et al.*, 2008). در مطالعه روابط میان عملکرد و اجزای عملکرد در ژنوتیپ‌های توتون، همبستگی مثبت و معنی‌دار بین عملکرد برگ خشک با صفاتی از قبیل ارتفاع بوته، قطر ساقه، طول برگ، عرض برگ و ضریب سطح برگ و همبستگی منفی و معنی‌دار بین عملکرد برگ خشک با صفاتی از قبیل شاخص شکل برگ، دوره گل‌دهی گزارش گردید (Mansour Ghanaei *et al.*, 2010).



شکل ۱- هیستوگرام توزیع فراوانی برای ویژگی‌های شیمیایی در لاین‌های خالص نوترکیب توتون شرقی

Figure 1- Frequency distribution of chemical traits in recombinant inbred lines of oriental tobacco

جدول ۴- همبستگی بین ویژگی‌های شیمیایی مورد مطالعه و فاصله خوشه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای در لاین‌های خالص نوترکیب توتون شرقی

Table 4- Correlation between chemical traits studied and the distance of clusters resulting from cluster analysis in recombinant inbred lines of oriental tobacco

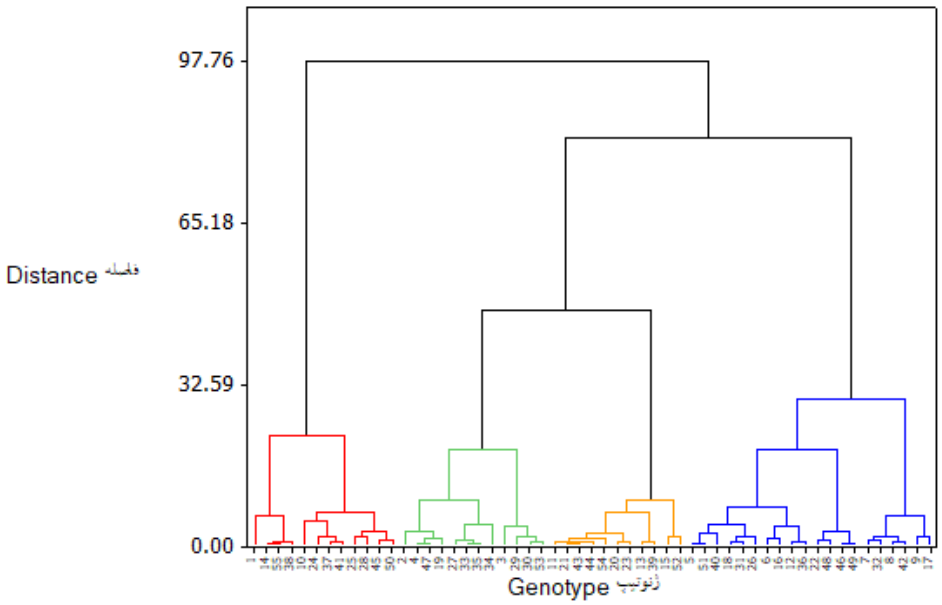
تجزیه همبستگی صفات مورد مطالعه Correlation analysis of the studied traits					فاصله خوشه های حاصل از تجزیه خوشه‌ای Distance between clusters resulting from cluster analysis	
					گروه‌ها Groups	فاصله Distance
	نیکوتین Nicotine	قند Sugar	خاکستر Ash	کلر Chlorine	Cluster 1 : Cluster 2	2.64
نیکوتین Nicotine	1				Cluster 1 : Cluster 3	2.52
قند Sugar	-0.332*	1			Cluster 1 : Cluster 4	2.65
خاکستر Ash	0.246 ns	0.271*	1		Cluster 2 : Cluster 3	1.82
کلر Chlorine	-0.219 ns	-0.074 ns	-0.194 ns	1	Cluster 2 : Cluster 4	2.04
					Cluster 3 : Cluster 4	2.57

تجزیه خوشه‌ای

در تجزیه خوشه‌ای به روش حداقل واریانس وارد جمعیت لاین‌های مورد بررسی از لحاظ صفات شیمیایی به چهار گروه مجزا تقسیم شدند. تعداد ۱۲ لاین در خوشه اول، ۱۲ لاین در خوشه دوم، ۲۰ لاین در خوشه سوم و ۱۱ لاین در خوشه چهارم قرار گرفتند (شکل ۲). کمترین فاصله بین خوشه‌های ۲ و ۳ برابر ۱/۸۲ مشاهده شد (جدول ۴).

در مطالعه‌ای در بررسی تنوع ژنتیکی ارقام مختلف توتون با استفاده از روش‌های آماری چندمتغیره، با روش حداقل واریانس وارد، ارقام مورد مطالعه در هفت گروه مختلف طبقه‌بندی گردیدند (Hosseinzadeh Fashalami *et al.*, 2015). در پژوهش دیگری، در ارزیابی تنوع ژنتیکی انواع مختلف توتون با نشانگرهای مولکولی IRAP و REMAP، ۴۵ ژنوتیپ مورد مطالعه با تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA، در پنج گروه تقسیم‌بندی گردیدند (Hassani Tesie *et al.*, 2015).

تجزیه خوشه‌ای از روش‌های آماری چند متغیره می‌باشد که برای اندازه‌گیری و تعیین فواصل ژنتیکی افراد استفاده می‌شود. در اصلاح‌نباتات در مواردی مانند تولید بذور هیبرید که بر پایه پدیده هتروزیس می‌باشد (Stuber, 1994; Singh *et al.*, 1988) و یا در مطالعات مکان‌یابی ژن‌های کنترل‌کننده صفات کمّی که نیاز به ایجاد جمعیتی با حداکثر تفرق هست؛ انتخاب والدین دور نقش مهمی در موفقیت پروژه‌ها دارد. مشخص شده است که هیبریدهای حاصل از تلاقی‌های بین والدین با روابط ژنتیکی کمتر و فاصله ژنتیکی بیشتر، معمولاً قدرت بیشتری نسبت به هیبریدهای حاصل از والدین با روابط ژنتیکی نزدیک‌تر از خود نشان می‌دهند (Hallaur and Miranda, 1988; Stuber, 1994). معمولاً به علت وجود تعداد زیادی ژنوتیپ در بانک‌های ژن گیاهی، ایجاد تلاقی و بررسی نتاج آن‌ها پرهزینه و زمان‌بر می‌باشد، ولی با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای می‌توان بدون صرف زمان و هزینهٔ بالا آن‌ها را طبقه‌بندی نموده و از بهترین لاین‌های موجود در گروه‌های با فاصله دور حاصل از تجزیه خوشه‌ای جهت انتخاب والدین مناسب استفاده کرد.



شکل ۲- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های خالص نوترکیب توتون شرقی بر اساس ویژگی‌های شیمیایی به روش وارد

Figure 2- Dendrogram obtained from clusters analysis in recombinant inbred lines of oriental tobacco based on chemical traits by Ward method

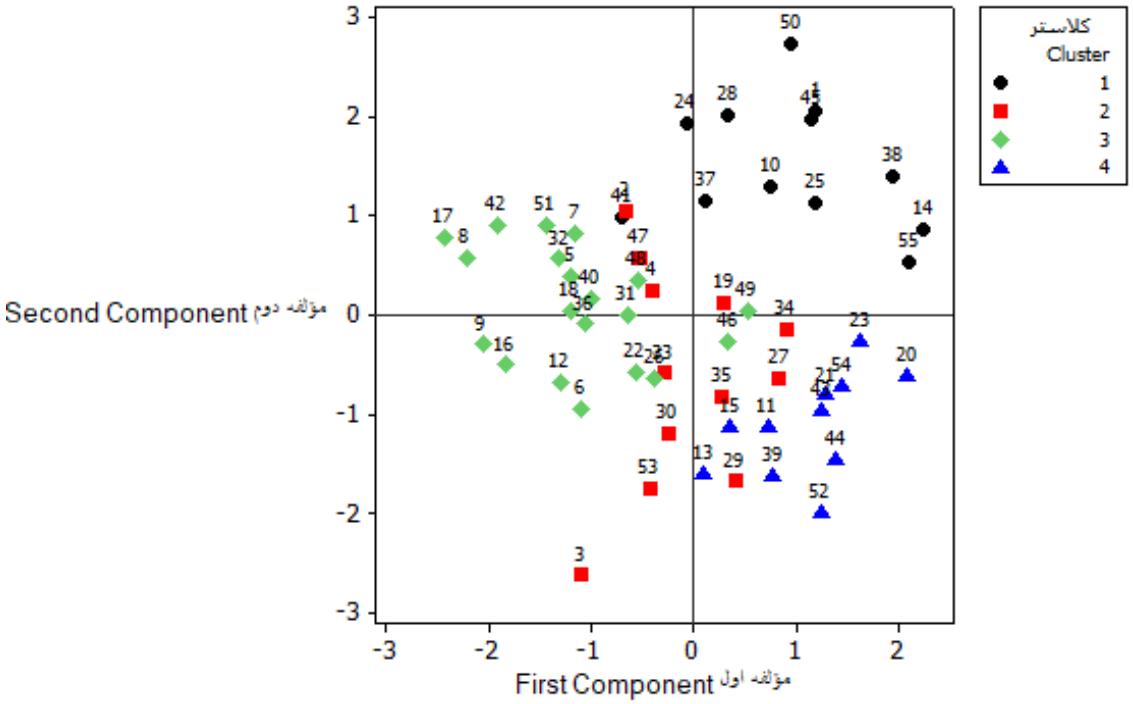
نتایج مقایسه میانگین صفات در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌ها با آزمون SNK در سطح احتمال یک درصد نشان داد که افرادی که در گروه اول قرار دارند از نظر اکثر صفات مورد مطالعه دارای مقادیر بیشتر هستند (جدول ۵). افراد گروه سوم تجمع نیکوتین و خاکستر کمتر و قند بالا داشتند. افراد گروه اول و چهارم تجمع کلر کمتر نشان دادند. در مطالعات

مشابه، به منظور ارزیابی واریته‌های مختلف توتون از نظر صفات شیمیایی از قبیل درصد قند، نیکوتین، ازت، بازهای فرار، عصاره اتر پترولیوم، خاکستر، کلر و pH از روش‌های آماری چند متغیره؛ تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده نمودند (Castano *et al.*, 1990).

جدول ۵- مقایسه میانگین گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای لاین‌های خالص نوترکیب توتون شرقی

Table 5- Comparison of the mean groups obtained from the cluster analysis of in recombinant inbred lines of oriental tobacco

گروه Group	تعداد ژنوتیپ Number of genotypes	نیکوتین Nicotine	قند Sugar	خاکستر Ash	کلر Chlorine
1	12	1.46^{b}	6.03^{a}	19.47^{a}	0.65^{c}
2	12	1.82^{a}	4.85^{c}	19.16^{b}	0.76^{a}
3	20	1.30^{b}	5.26^{b}	18.77^{c}	0.72^{b}
4	11	2.01^{a}	4.50^{c}	19.09^{b}	0.63^{c}



شکل ۳- پلات دو بعدی بر اساس دو مؤلفه حاصل از تجزیه مؤلفه‌های اصلی بر اساس ویژگی‌های شیمیایی در لاین‌های خالص نوترکیب توتون شرقی

Figure 3- Two-dimensional plot based on two components resulting from principal component analysis based on chemical traits in recombinant inbred lines of oriental tobacco

در مطالعه دیگر، به منظور ارزیابی ۶۴ رقم توتون از نظر مقاومت به بیماری فیتوفترا از تجزیه خوشه‌ای استفاده کرده و آن‌ها را طبقه‌بندی کردند (Csinos *et al.*, 1984). در مطالعه‌ای، ژنوتیپ‌های توتون بر اساس صفات مورفولوژیکی مورد بررسی با تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA به پنج گروه تقسیم شدند (Edrisi Maryan *et al.*, 2012). نتایج تجزیه تابع تشخیص کانونیک[1] با استفاده از تابع خطی فیشر نشان داد که روش UPGMA ژنوتیپ‌ها را با دقت ۱۰۰ درصد از هم جدا کرده است.

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی تعداد سه مؤلفه از چهار مؤلفه اصلی بیش از ۹۰ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه می‌کنند و این سه مؤلفه بیشترین نقش را در تبیین تنوع بین افراد دارند. همه صفات به جز صفت کلر همبستگی منفی با اولین مؤلفه اصلی که به تنهایی ۳۶ درصد تغییرات را توجیه می‌کند نشان دادند. مؤلفه دوم ۳۴ درصد و

1. Canonical discriminate function analysis

مؤلفه سوم ۲۰ درصد از تغییرات را توجیه می‌نمایند. برای نشان دادن قابلیت تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در متمایز نمودن ژنوتیپ‌ها از یکدیگر، پلات دو بعدی بر اساس دو مؤلفه اول رسم گردید (شکل ۳) که در آن ۴ گروه متمایز قابل تشخیص بودند. گروه‌بندی بر اساس پلات دوبعدی با گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای مطابقت نشان داد.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس پژوهش اخیر، تنوع ژنتیکی گسترده‌ای برای صفات نیکوتین و کلر در جمعیت مورد بررسی مشاهده شد که می‌تواند در برنامه‌های به‌نژادی توتون شرقی مورد استفاده قرار گیرد. همبستگی منفی بین صفات نیکوتین و قند و مثبت بین قند و خاکستر مشاهده شد. از این می‌توان برای اصلاح صفات همبسته استفاده نمود؛ زیرا افزایش یا کاهش ارزش یک صفت موجب افزایش یا کاهش صفات همبسته با آن صفت می‌شود. بر اساس نتایج تجزیه خوشه‌ای افراد جمعیت مورد مطالعه در ۴ گروه مجزا قرار گرفتند که می‌تواند در انتخاب والدین به محققین کمک نماید، چرا که نتاج حاصل از تلاقی والدین دور؛ هتروزیس و تنوع بیشتری نشان می‌دهند.

References

Ahmadikhah, A., Karlov, G.I., Nematzadeh, G. and Ghasemi Bezdi, K. 2007. Inheritance of the fertility restoration and genotyping of rice lines at the restoring fertility (RF) loci using molecular markers. *International Journal of Plant Production*, 1(1): 13-21.

Akehurst, B.C. 1981. Tobacco. 2nd ed. Tropical Agricultural Series. New York: Longman Inc.p. 164.

Basirnia, A., Darvishzadeh, R. and Abdollahi Mandoulakani, B. 2016. Retrotransposon insertional polymorphism in sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines revealed by IRAP and REMAP markers. *Plant Biosystems*, 150(4): 641-652.

Butorac, J., Beljo, J. and Gunjača, J. 2004. Study of inheritance of some agronomic and morphological traits in burley tobacco by graphic analysis of diallel cross. *Plant, Soil and Environment*, 50(4): 162-167.

Brandle, J. and Bai, D. 1999. Biotechnology: uses and applications in tobacco improvement. In Tobacco: Production, Chemistry and Technology; Davis, N., Ed.; Wiley-Blackwell: Oxford, UK, 49-65.

Castano, J.I., Vargas, L.R. and Palacio, F.J. 1990. Evaluation of tobacco grading systems by multivariate analysis of their chemical quality parameters. *Bul. Spes. Coresta. Symposium kallithea*.98.

Chaplin, J.F. 1975. Genetic influence on chemical constituents of tobacco leaf and smoke. *Beiträge zur Tabakforschung International/Contributions to Tobacco Research*, 8(4): 233-240.

Chari, M.S. 1995. Role of research in the improvement of productivity and quality of Indian flue-cured Virginia tobacco. Rajahmundry, India: Central Tobacco Research Institute. 26 pp.

Cooperation Center for Scientific Research Relative to Tobacco (CORESTA). 1994. CORESTA recommended method no 35. Determining of total alkaloid (as nicotine) in tobacco by continuous flow analysis. Accessed from the website: http://www.coresta.org/Recommended Method/CRM 35.

Csinos, A.S., Fortnum, B.A., Powell, N.T., Reilly, J.J. and Shew, H.D. 1984. Resistance of and candidate cultivars to Phytophtora parasitica var. *nicotiana*. *Tobacco Science*, 28: 153-155.

Darvishzadeh, R. and Alavi, R. 2011. Genetic analysis of chlooride concentration in oriental tobacco genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, 34: 1070-1078.

Darvishzadeh, R., Alavi, S.R. and Sarrafi A. 2011. Genetic Variability for chlorine concentration in oriental tobacco genotypes. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 57(2): 167-177.

Darvishzadeh, R., Mousavi Andazghi, M.J., Fayyaz Moghaddam, A., Abbassi Holasou, H. and Alavi, S.R. 2017. Genetic analysis of morphological traits in oriental tobacco (*Nicotina tabacum* L.) by using generation mean analysis. *Plant Genetic Researches*, 3(2): 11-24.

Davalieva, K., Maleva, I., Filiposki, K., Spiroski, O. and Efremov, G.D. 2010. Genetic variability of macedonian tobacco varieties determined by microsatellite marker analysis. *Diversity*, 2: 439-449.

Dyulgerski, Y. and Kirkova, S. 2013. Impact of weather conditions on economical and quality indices of burley tobacco varieties. *Journal of Balkan Ecology*, 16(3): 281-287.

Edrisi Maryan, K., Samizadeh Lahiji, H. and Shoaei Deylami, M. 2012. Assessing the genetic diversity of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) varieties. *Crop Breeding Journal*, 2(2): 125-132.

Gadani, F., Ayers, D. and Hempfling, W. 1995. Tobacco: a tool for plant genetic engineering research and molecular farming. Part I. *Agro Food Industry Hi-tech*, 6: 19-24.

Goodarzi mokri, P., Darvishzadeh, R., Maleki zanjani, B., Alavi, S.R. and Hoshyardel, F. 2016. Identification of quantitative trait loci for chemical characteristics in an oriental tobacco recombinant inbred line population. *Modares Journal of Biotechnology*, 7(3): 20-30. (In Persian).

Guardiola, J.M., Perez, O. and Diaz, L. 1987. Effect of chlorine and potassium on combustibility from fine plantations. *Tabaco*, 10: 29-43.

Hallaur, A.R. and Miranda, J.B. 1988. Quantitative genetics in maize breeding. Lowa State University Press, Ames. 458pp.

Hassani Tesie, S.F., Samizadeh Lahiji, H. and Shoaei Deilami, M. 2015. Assessment of genetic diversity among and within different types of tobacco (*Nicotianatabacum* L.) using IRAP and REMAP markers. *Journal of Crop Breeding*, 7(16): 1-9.

Hatami Maleki, H., Karimzadeh, J., Darvishzadeh, R. and Alavi, R. 2012. Genetic diversity in oriental tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) by using Multivariate statistical techniques. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 10(1): 100-106. (In Persian).

Hooshyardel, F., Darvishzadeh, R. and Hatami Maleki, H. 2015. Identification of QTLs associated with some morphological traits in oriental tobacco. *Agricultural Biotechnology*, 6(1): 11-19.

Hosseinzadeh Fashalami, N., Mahdavi, A.R., Moarrefzadeh, N., Sajadi, S.A. and Alinejad, R. 2008. Investigation of genetic diversity and classification of different air-cured tobacco varieties. Research Report Card of Tirtash Research and Education Center, 105-126. (In Persian).

Hosseinzadeh Fashalami, N., Shahadati moghaddam, Z., Kiani, Gh., Salavati, M., Zamani, P., Mahdavi, A. and Alinejad, R. 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).

Juan, R. and del Castillo, N. 1986. Irrigation water management and chemical and physical characteristics of covered dark tobacco. *Riego y Drenaje*, 9: 71-83.

Laurentin, H. 2009. Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56: 277-292.

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). *Annals of Botany London*, 101: 805-814.

Lewis, R.S. and Nicholson, J.S. 2007. Aspects of the evolution of *Nicotiana tabacum* L. and the status of the United States Nicotiana Germplasm Collection. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54: 727-740.

King, M.J. 1990. Tobacco. In: Stewart BA, Nielsen DR, editors. Irrigation of agricultural crops. Agronomy Series, vol. 30. Madison (WI): American Society of Agronomy Inc.p. 811-833.

Knapp, S., Chase, M.W. and Clarkson J.J. 2004. Nomenclatural changes and a new sectional classification in *Nicotiana* (Solanaceae). *Taxon*, 53: 73-82.

Mansour Ghanaei, F., Samieezadeh Lahiji, H., Rabaie, B. and Shoaii Deilami, M. 2010. Study the relationship between yield and yield components in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) varieties. *Agronomy Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 103: 29-37. (In Persian).

Masheva, V. 2014. Analysis of gene effects and inheritance of some quantitative parameters in oriental tobacco varieties. Original Scientific paper. Тутун/Tobacco, 64(1-6): 12-18. UDC: 633.71-152.75:575.22 (497.2).

Nurhidayati, T., Wardhani, S.P., Purnobasuki, H., Hariyanto, S., Jadid, N. and Nurcahyani, D. D. 2017. Response morphology and anatomy of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plant on waterlogging. AIP Conference Proceedings 1908, 040009.

Pirkhezri, M., Hassani, M.E. and Fakhre Tabatabai, M. 2008. Evaluation of genetic diversity of some German chamomile populations (*Matricaria chamomilla* L.) using some morphological and agronomical characteristics. *Journal of Horticulture Science (Agricultural Sciences and Technology)*, 22(2): 87-99.

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 Sciences*, 4(5): 632-636.

Shapiro, S.S. and Wilk, M.B. 1965. An analysis of variance test for normality. *Biometrika*, 52: 591-599.

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 Research*, 16: 93-96.

Stuber, C.W. 1994. Heterosis in plant breeding. *Plant Breeding Reviews*, 12: 227-251.

Taskova, L., Kochev, Y. and Kasheva, M. 2005. Agroecological assessment of yield, quality and adaptability of oriental tobacco variety Kroumovgrad 988. Agricultural University, Plovdiv L, vol. 4, 115-119.

Tso, T.C. 1990. Production, Physiology and Biochemistry of Tobacco Plant. Ideals, Incorporated, Beltsville, MD 20705.

Xie, H., Yang, D.H., Yao, H., Bai, G., Zhang, Y.H. and Xiao, B.G. 2016. iTRAQ-based quantitative proteomic analysis reveals proteomic changes in leaves of cultivated tobacco (*Nicotiana tabacum*) in response to drought stress. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 469: 768-775.

Yaldiz, G., Çamlica, M., Nadeem, M.A., Nawaz, M.A. and Baloch, F.Sh. 2018. Genetic diversity assessment in *Nicotiana tabacum* L. with iPBS-retrotransposons. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42: ©TÜBİTAK.

Zeba, N. and Isbat, M. 2011. Multivariate analysis for yield and yield contributing traits in F0 and F1 generations in tobacco (*Nicotiana tabacum*). *Journal of Experimental Bioscience*, 2: 101-106.

Journal of Crop Science Research in Arid Regions/ Volume 4, Issue 1, Spring and Summer 2022, P. 183-195

Studying genetic variation in recombinant inbred lines of oriental tobacco based on chemical traits

Parviz Goodarzi Mokri[1], Reza Darvishzadeh[2*], Bahram Maleki Zanjani[3], Marjan Jannatdoust[4]

[1] Phd Student in Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran
[2] Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[3] Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Zanjan University, Zanjan, Iran
[4] Phd Student in Plant Genetic and Breeding, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

[*]Corresponding Author: R.darvishzadeh@urmia.ac.ir

Received: 15 October 2021 Accepted: 18 February 2021 **DOI: 10.22034/CSRAR.2022.310590.1143**

Abstract

Introduction: Tobacco, scientifically known as *Nicotiana tabacum* L. is an annual allotetraploid plant (2n=4x=48) in the Solanaceae family and is widely used as a model in plant biology. Oriental tobacco is a sun-cured, highly aromatic, small-leafed type which is mainly grown in Turkey, Iran, Greece, Bulgaria, Lebanon and the Republic of Macedonia. It is capable of growing in low fertile soils. To create an American Blend cigarette, it is necessary to mixed oriental tobacco with more robust tobacco such as Virginia and Burley tobaccos. Estimating genetic diversity and knowledge on genetic relationships among genotypes is a crucial aspect of promoting and implementing breeding programs; without it, effective and desirable genetic modification cannot be accomplished. Various types of marker including morphological, biochemical, and molecular ones are used by plant breeders to estimate genetic diversity. The purpose of this study is to investigate the genetic diversity in the population of recombinant inbred lines for chemical characteristics such as chlorine accumulation in leaves, nicotine, sugar and ash.

Materials and Methods: In the present study, genetic diversity of an oriental tobacco population consists of 55 recombinant inbred lines; coming from Basma seres 31 × SPT 406 cross, was assessed for chemical traits in randomized complete block design with three replications. From the middle leaves of each genotype, 20 leaves were randomly selected in each replication and the percentage of chemical elements such as chlorine, sugar content, nicotine contentand ash content was determined using the method proposed by CORESTA (Cooperation Center for Scientific Research Relative to Tobacco). The identification of outlier data and the test of normality of the distribution of experimental errors were performed according to Shapiro and Wilke's method in SAS software version 4.9. Analysis of variance of the chemical traits data was performed according to the statistical model of randomized complete block design in the SAS software. After standardizing the data, the cluster analysis was carried out using the minimum variance method. Principal components analysis was performed using the correlation coefficients matrix of traits. The average comparisons of the groups resulting from the cluster analysis was done in SPSS version 20 software using the SNK method.

Results and Discussion: Analysis of variance revealed significant difference among the studied lines for nicotine and chlorine concentration. There was significant negative correlation between nicotine and sugar and significant positive correlation was observed between sugar and ash. Principal component analysis revealed 3 of the 4 main components play the most important role in explaining the total diversity among individuals and all traits except chlorine concentration showed negative correlation with the first component. Using cluster analysis by Ward's method, the studied population was grouped into 4 separate subgroups. Groups mean comparisons using SNK test showed that individuals in group 1 have the higher values for most of the studied traits.

Conclusion: According to the present study, a wide genetic diversity was observed for nicotine and

chlorine traits in the studied population, which can be used in breeding programs for oriental tobacco. A negative correlation was observed between nicotine and sugar, and a positive correlation between sugar and ash. This can be used to modify correlated attributes, as increasing or decreasing the value of a trait increase or decrease the traits associated with that trait. Individuals of the studied population were divided into 4 separate groups, which can help researchers in choosing parents because offspring resulting from the crossing of distant parents; show more heterosis and diversity. Production of desirable varieties increases the farmers' incomes by reducing the average production costs.

Keywords: Cluster analysis, Correlation analysis, Nicotine and chlorine content