بررسی تنوع و گروه‌بندی کلون‌های چای (*Camellia sinensis* L.) با تجزیه خوشه‌ای

مهدی رحیمی[1*]، صنم صفائی چائی‌کار[2] و کوروش فلک‌رو[2]

[1]گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان

[2]پژوهشکده چای، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان،

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۱/۱۷، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۰۵/۱۵)

چکیده

تنوع ۱۸ کلون چای در قالب یک طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با دو تکرار در ایستگاه تحقیقات چای فشالم (رشت) در سال ۱۳۹۶ مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و زراعی مانند غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، قندهای احیاء، مقدار پروتئین کل، پرولین، عملکرد برگ چای و تعداد شاخساره اندازه‌گیری شدند. نتایج تجزیه واریانس تفاوت معنی‌داری در سطح یک درصد بین کلون‌های چای برای همه صفات نشان داد. مقایسه میانگین کلون‌ها نشان داد که کلون‌های ۱۰۰ و ۳۹۹ بیشترین مقدار عملکرد برگ سبز و تعداد شاخساره را به خود اختصاص دادند و از لحاظ صفات پرولین و کلروفیل a در رتبه دوم بودند. کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی مربوط به صفات پروتئین کل (۲/۹۷ و ۲/۵۸) و بیشترین آن مربوط به پرولین (۸۵/۸۸ و ۸۵/۸٤) بود و بقیه صفات در این بین قرار داشتند. تجزیه خوشه‌ای به روش وارد توانست ۱۸ کلون مورد مطالعه را در سه گروه قرار دهد و درصد صحت گروه‌بندی کلون‌ها با تجزیه تابع تشخیص صددرصد بود. میانگین صفات عملکرد برگ سبز و انواع کلروفیل در کلون‌های کلاستر اول و صفات پرولین و پروتئین در کلون‌های کلاستر سوم ارزش بالایی نشان دادند. کلون‌های این دو گروه می‌توانند در برنامه‌ریزی پروژه‌های اصلاحی و تصمیم‌گیری برای انتخاب والدین مناسب در دورگه‌گیری برای افزایش عملکرد برگ چای و افزایش پرولین (که در تحمل به تنش‌ها نقش دارد) مورد استفاده قرار گیرند. همچنین کلون‌های ۱۰۰ و ۳۹۹ میانگین بالایی برای صفت عملکرد برگ سبز و رتبه دوم را برای صفت پرولین نشان دادند و بنابراین به‌عنوان کلون‌های امیدبخش معرفی شدند.

کلمات کلیدی: بیوشیمیای، تجزیه تابع تشخیص، زراعی، فیزیولوژیکی

مقدمه

چای (*Camellia sinensis* L.) جزو گیاهان مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری است. در حال حاضر نقاط چای‌خیز در حد فاصل بین ٤۲ درجه عرض شمالی و ۲۰ درجه عرض جنوبی قرار دارند که حداقل بارندگی مورد نیاز برای رشد و نمو آن حدود ۱۰٤۰ میلی‌متر می‌باشد. از مهم‌ترین عوامل محیطی که در رشد و نمو و میزان محصول گیاه چای می‌تواند نقش مؤثری داشته باشد می‌توان به درجه حرارت، نور، موقعیت محل، خاک و آب و غیره اشاره کرد (De Costa *et al.*, 2007). باغ‌های چای در شمال کشور در محدوده‌ای به طول ۲۰۳ کیلومتر و به عرض ۹۰ کیلومتر در بین دریای خزر و کوهستان‌های البرز در دو استان گیلان و مازندران به‌طور

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: mehdi83ra@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]

پراکنده گسترده شده‌اند. در حاشیه دریای خزر به‌علت رطوبت نسبی بالا و پوشش مداوم ابر و ارتفاع کم، دمای هوای معتدل و دامنه گرمای آن محدود می‌باشد. این ناحیه تابستان‌های گرم و مرطوب و شرجی و زمستان‌های معتدل دارد و یخبندان طولانی به‌ندرت اتفاق می‌افتد (Azadi Gonbad *et al.*, 2015). تنوع فنوتیپی (ناشی از تنوع ژنتیکی ارثی) یک پیش‌نیاز اساسی برای تکامل توسط انتخاب طبیعی می‌باشد. این موجود زنده است که به‌عنوان یک کل در تولیدنسل بعدی کمک می‌کند (یا نمی‌کند)، بنابراین انتخاب طبیعی به‌طور غیرمستقیم از طریق فنوتیپ‌ها بر ساختار ژنتیکی یک جمعیت تأثیر می‌گذارد (Coleman *et al.*, 1994). اولین قدم برای شروع هر برنامه به‌نژادی، آگاهی از میزان و وضعیت تنوع گیاه مورد نظر است و این تنوع ممکن است طبیعی یا مصنوعی باشد (Richards, 2011). روش‌های مختلفی برای برآورد تنوع ژنتیکی در گونه‌های گیاهی وجود دارد از آنجایی که روش‌های آماری چند متغیره به‌طور همزمان چندین اندازه‌گیری را مدنظر قرار می‌دهند؛ لذا در تجزیه و تحلیل تنوع ژنتیکی بر پایه داده‌های مورفولوژیک، بیوشیمیایی و ملکولی کاربرده وسیعی دارند. استفاده از روش‌های تجزیه و تحلیل چند متغیره برای طبقه‌بندی ژرم پلاسم و تجزیه و تحلیل روابط ژنتیکی موجود بین مواد اصلاحی امری الزامی می‌باشد. در بین روش‌های مختلف آنالیز چند متغیره تجزیه خوشه‌ای، تجزیه به مولفه‌های اصلی و تجزیه مختصات اصلی مهم‌ترین روش‌ها هستند (Mohammadi and Prasanna, 2003).

در مطالعه‌ای تنوع مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و آلوزایمی ۸۷ رقم چای مطالعه شد و تنوع بین ارقام به خوبی مشخص بود (Chen *et al.*, 2005). همچنین تنوع ۵۱ رقم چای توسط صفات بیوشیمیای، زراعی و کیفی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد که این ارقام توانستند در سه گروه قرار بگیرند و تنوع خوبی را نشان دهند. همچنین ۱۸ رقم که تفاوت خوبی را نشان دادند انتخاب شده و در برنامه‌های آینده به‌نژادی مورد استفاده قرار گرفتند (Hui-Bing *et al.*, 2013). در مطالعه دیگر برای بررسی تنوع ۱۰۲ فرد از ۲۷ جمعیت مختلف چای از صفات مورفولوژیکی و نشانگر DNA استفاده شد. نتایج نشان داد که تجزیه خوشه‌ای توانسته این افراد را در سه گروه تقسیم نماید که شباهت افراد درون گروه‌ها زیاد و بین گروه‌ها اختلاف زیادی داشتند (Bhau *et al.*, 2014). در ایران مطالعه چندانی بر روی ارقام و کلون‌های چای انجام نشده است. اجاقی و نماینده (۱۳۹۳) تنوع ژنتیکی ۵۰ کلون چای را با ۷ نشانگر ISSR مورد مطالعه قرار دادند و با تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های مولکولی، ژنوتیپ‌ها را در ۱۳ گروه جداگانه قرار دادند. نتایج نشان داد که قرارگرفتن کلون‌ها در گروه‌های مختلف نشان‌دهنده تنوع بین آنها می‌باشد که می‌توان از نتایج این تحقیق جهت تولید نتاج با هتروزیستی بالا استفاده کرد. در مطالعه‌ای دیگر روابط ژنتیکی ۲۰ ژنوتیپ چای منطقه لاهیجان با ۱۰ نشانگر RAPD مورد بررسی قرار گرفت. براساس تجزیه کلاستر نمونه‌ها در سه گروه قرار گرفتند و نمونه‌های منطقه ایستگاه شهید اسلامی لاهیجان بالاترین شباهت به یکدیگر را نشان دادند (جهانگیرزاده خیاوی و همکاران، ۱۳۹۵).

با توجه به اهمیت گیاه چای در مصارف غذایی و پزشکی و همچنین مطالعات اندک تنوع ژنتیکی در ایران، بررسی تنوع ژنتیکی این گیاه به کمک نشانگرهای مولکولی و همچنین صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیای و زراعی گامی مهم در این امر به حساب می‌آید تا بتوان از طریق دو رگه‌گیری و اصلاح کلاسیک و مولکولی این گیاه گامی مؤثر در بهبود و اصلاح آن برداشت. در این مطالعه تنوع کلون‌های چای براساس صفات فیزیولوژیک، بیوشیمیای و زراعی براساس روش‌های آماری چند متغیره بررسی می‌شود.

مواد و روش ها

در این مطالعه ۱۸ کلون چای (جدول ۱) در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با دو تکرار در ایستگاه تحقیقاتی چای فشالم (رشت) در سال ۱۳۹۶ مورد بررسی قرار گرفتند. این کلون‌ها در سال ۱۳۸۵ از باغ‌های مختلف مناطق گیلان تهیه شده بودند و در کرت‌هایی به طول ٤ متر و عرض ۱ متر (در هر کرت ٤ بوته می‌باشد) در قالب طرح بلوک‌های کاملاً

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]

جدول ۱- اسامی و مشخصات کلون‌های چای مورد مطالعه در ایستگاه فشالم

ردیف	نام کلون	نوع	منشاء	عملکرد برگ	کیفیت
۱	۱۰۰	چینی	غرب گیلان	بالا	کیفیت خوب
۲	۲۷۷	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۳	۲۷۰	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
٤	۷٤	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
٥	۲٦۹	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
٦	۲۷٦	چینی	غرب گیلان	بالا	کیفیت خوب
۷	۳۹۹	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۸	۲۷۲	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۹	۲۸٥	چینی	غرب گیلان	بالا	کیفیت خوب
۱۰	۲۷۸	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۱۱	۲٥۲	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۱۲	۲٦۱	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۱۳	۲۸۰	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۱٤	بذری	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۱٥	۲۰٥	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۱٦	٤۹۹	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۱۷	۲٥۰	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط
۱۸	۲٥٦	چینی	غرب گیلان	متوسط	کیفیت متوسط

تصادفی با دو تکرار کاشته شده بودند تا در آزمایشات بعدی مورد استفاده قرار گیرند. آبیاری به صورت معمول (هر سه روز) انجام شد. مراقبت‌های معمول زراعی همچون آبیاری، وجین و مبارزه با آفات انجام گرفت. مقداری از برگ سبز کلون‌های چای در آخر مرداد ماه همزمان با برداشت برگ سبز چای برداشته شده و به فریزر ۸۰- منتقل شد تا صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی نظیر غلظت کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید، قندهای احیاء، مقدار پروتئین کل و پرولین در آزمایشگاه اندازه‌گیری شوند. همچنین عملکرد برگ سبز چای (عملکرد برگ سبز از سطح یک متر مربع از هر کرت برداشت شده و با ترازو به گرم اندازه‌گیری می‌کنیم) و تعداد شاخساره (برای تعداد شاخساره‌ها، یک کادر ۲۵ در ۲۵ سانتی‌متری را به‌طور تصادفی در سه مکان در هر کرت انداخته و شاخساره‌هایی که یک غنچه و دو تا سه برگ داشته را شمارش کرده و میانگین آنها در نظر گرفته شد) در هنگام برداشت، برگ سبز چای براساس دستعورالعمل اندازه‌گیری صفات چای (IPGRI, 1997) اندازه‌گیری شدند.

به‌دلیل نقش فیزیولوژی کاروتنوئیدها در ارتباط با ویتامین A و همچنین نقش حفاظتی برای کلروفیل، و نقش کلروفیل‌ها در فتوسنتز و همچنین نقش پروتئین‌ها، پرولین و قندهای احیاکننده در تنش‌ها با توجه به خشکسالی‌های اخیر مناطق چایی‌کاری این صفات اندازه‌گیری شدند.

برای سنجش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ گیاهان کلون‌های چای که شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها است، ۰/۲ گرم از برگ تازه در هر گیاه با ۱۵ میلی‌لیتر استون به خوبی سائیده شد تا بافت برگ به خوبی با استن مخلوط گردد. پس از صاف‌کردن و سانتریفیوژ مخلوط حاصل، جذب محلول بدست‌آمده بلافاصله با دستگاه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]

اسپکتروفتومتر Carry 50 در طول‌موج‌های ٦٤٥، ٦٦٣و ٤٧٠ نانومتر خوانده شد و غلظت رنگیزه‌ها برحسب میکروگرم بر گرم وزن تر با استفاده از معادله‌های زیر بدست آمد (Sudhakar *et al.*, 2016).

رابطه (۱)

$$\text{Chl a mg/g} = [12.7(A663) - 2.69(A645)]\times v\times w/1000$$

رابطه (۲)

$$\text{Chl b mg/g} = [22.9(A645) - 4.68(A663)]\times v\times w/1000$$

رابطه (۳)

$$\text{T Chl mg/g} = [20.2(A645) - 8.02(A663)]\times v\times w/1000$$

رابطه (٤)

$$\text{Car mg/g} = [A480 + (0.114 \times A663) - (0.638 \times A645)] \times v\times w/1000$$

A: جذب در طول‌موج موردنظر، V: حجم نهایی محلول استخراج کلروفیل و W: وزن تازه بافت استخراج شده است.

قند احیا: قند احیا با روش سوموگی اندازه‌گیری شد (Somogyi, 1952). به این صورت که در این روش ۰/۰۲گرم از اندام هوایی با ۱۰میلی لیتر آب‌مقطر در هاون چینی سائیده شده و سپس محتوای هاون به بشر کوچکی منتقل و روی هیتر قرار داده شد تا حرارت ببیند. به محض اینکه به نقطه جوش رسید، حرارت قطع گردید و محتوای بشر به کمک کاغذ صافی، صاف شد و عصاره گیاهی حاصل گردید. مقدار ۲ میلی لیتر از هر یک از عصاره‌های تهیه شده به لوله آزمایش منتقل و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر محلول سولفات مس به آنها، به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از سردشدن لوله‌ها ۲ میلی لیتر محلول فسفومولیبدیک اسید به آنها اضافه شد و با دستگاه ورتکس به شدت تکان داده شدند. شدت جذب محلول‌ها در طول‌موج ٦۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومترUV-VIS مدل (Cary-50) خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت قندهای احیاکننده محاسبه گردید. نتایج بدست‌آمده از اندازه‌گیری مقدار قندهای احیاکننده بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

سنجش مقدار پروتئین کل: برای سنجش غلظت پروتئین، به لوله‌های آزمایش شامل ۱۰۰میکرولیتر عصاره پروتئینی، ۵ میلی‌لیتر معرف بیوره افزوده شد و سریعاً ورتکس گردید. پس از ۲۵ دقیقه جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید (Bradford, 1976).

اندازه گیری پرولین: برای اندازه‌گیری میزان پرولین ۲ میلی‌لیتر از مایع رویی بدست‌آمده از سانتریفوژ عصاره با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط گردید و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آبگرم قرار گرفت سپس بلافاصله لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد گردید. سپس ٤ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شد و لوله‌ها به خوبی ورتکس شدند. با ثابت نگه‌داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵–۲۰ دقیقه، دو لایه مجزا در آنها تشکیل شد. از فاز رنگی فوقانی که شامل تولوئن و پرولین بود، برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده گردید. جذب این ماده رنگی در طول‌موج ۵۱۸ نانومتر تعیین و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد محاسبه گردید. نتایج بدست‌آمده از اندازه‌گیری مقدار پرولین بر حسب گرم وزن خشک محاسبه و ارائه گردید (Bates *et al.*, 1973).

قبل از تجزیه واریانس داده‌ها صحت مفروضات تجزیه واریانس (توزیع نرمال اشتباهات آزمایشی، مستقل‌بودن اشتباهات آزمایشی، یکنواختی واریانس‌های درون تیماری و عدم‌وجود اثر متقابل بین تیمار و بلوک) بررسی شد و پس از برقراری این مفروضات، تجزیه واریانس داده‌ها بر پایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی صورت پذیرفت و برای مقایسه میانگین از آزمون دانکن استفاده گردید. پس از انجام تجزیه ساده، برآورد اجزاء واریانس فنوتیپی، ژنوتیپی و محیطی و ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی براساس امید ریاضی میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس طرح بلوک کاملاً تصادفی به شکل زیر صورت گرفت.

رابطه (۵)

$$MS_e = \sigma_e^2$$

رابطه (٦)

$$\sigma_g^2 = MS_g - MS_e/r$$

رابطه (۷)

$$\sigma_p^2 = \sigma_g^2 + \sigma_e^2$$

رابطه (۸)

$$CV_g = \left(\sqrt{\sigma_g^2}/\bar{x}\right) \times 100$$

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]

$$CV_p = \left(\sqrt{\sigma_p^2}/\bar{x}\right) \times 100$$ رابطه (۹)

در این معادلات، MS_e، MS_g، σ_e^2، σ_g^2، σ_p^2، CV_g و CV_p به ترتیب میانگین مربعات خطای طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی، میانگین مربعات ژنوتیپ طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی، واریانس محیطی، واریانس ژنوتیپی، واریانس فنوتیپی، ضریب تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی می‌باشند.

تجزیه و تحلیل های آماری شامل تجزیه خوشه‌ای بر روی اطلاعات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و زراعی بدست‌آمده به منظور گروه‌بندی کلون‌ها انجام گرفت. گروه‌بندی کلون‌های چای براساس روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای (متوسط فاصله بین کلاسترها، دورترین همسایه‌ها، متوسط فاصله بین و درون کلاسترها، نزدیک‌ترین همسایه‌ها، مرکزی، میانه‌ای و حداقل واریانس وارد) و معیارهای فاصله متفاوت (معیارهای فاصله اقلیدسی، پیرسون، مینکوسکی، چبی‌چف، کوساین و سیتی بلوک برای تعیین فاصله بین ژنوتیپ‌ها استفاده شد) انجام شده و روش و معیار فاصله‌ای که بیشترین ضریب همبستگی کوفنتیک را داشت، انتخاب شده و گروه‌بندی بر-اساس آن انجام شد. از روش بیشترین گسیختگی و ریشه دوم تعداد افراد برای تعیین تعداد خوشه‌ها استفاده شد. در نهایت برای تشخیص صحیح‌ترین گروه‌بندی حاصل از روش‌های تعیین تعداد خوشه، از روش تجزیه تابع تشخیص به روش خطی فیشر استفاده شد. تجزیه‌ها با استفاده از نرم افزار SAS ورژن ۹/٤ (SAS-Institute-Inc, 2014) و PAST (Hammer *et al.*, 2001) انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس برای کلیه صفات مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری را در سطح ۰/۰۱ بین کلون‌های چای نشان داد (جدول ۲). ضریب تغییرات طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی بین ۰/۵۱ برای صفت قندهای احیاء تا ۱۸/۸۲ برای صفت کلروفیل b متغیر بود که نشان‌دهنده دقت مناسب آزمایش می‌باشد و خطای ناشی از اجرای آزمایش در حد قابل قبول است. جهت تعیین میزان تنوع موجود در صفات مختلف، اقدام به محاسبه ضریب تغییرات ژنوتیپی و فنوتیپی گردید. در کلیه صفات ضریب تغییرات فنوتیپی بزرگتر از ضریب تغییرات ژنوتیپی بود. نتایج نشان داد (جدول ۲) کمترین ضریب تغییرات فنوتیپی و ژنوتیپی مربوط به صفات پروتئین کل (۲/۹۷ و ۲/۵۸) و بیشترین آن مربوط به پرولین (۸۵/۸۸ و ۸۵/۸٤) بود و بقیه صفات در این بین قرار داشتند. چون کلون‌ها در معرض گرمای تابستان قرار داشتند و برای مقابله با تنش پرولین نقش مهمی دارد بنابراین دلیل تنوع زیاد این صفت می‌تواند شرایط محیطی و همچنین زمینه متفاوت ژنتیکی کلون‌ها باشد. میزان تنوع موجود در صفت پرولین و به‌دنبال آن صفات انواع کلروفیل و عملکرد برگ بیشتر از بقیه صفات بوده است و بنابراین این صفات می‌توانند مورد توجه به‌نژادگر قرار گیرند. انتخاب کلون‌ها براساس این صفات منجر به بهبود این صفات شده ولی صفات دیگر با ضریب تغییرات پایین از شانس کمتری جهت انتخاب برخوردار هستند (جدول ۲). به عنوان مثال پرولین می‌تواند در مقابله با تنش خشکی نقش مهمی داشته باشد. بنابراین با توجه به تنوع بالای آن در بین کلون‌ها می‌توان با انتخاب کلون‌هایی که پرولین بالایی دارند از آنها برای کاشت در مناطق کم آب بهره برد. یا با توجه به تنوع بالای عملکرد برگ با انتخاب کلون‌هایی که عملکرد بالایی دارند می‌توان در افزایش عملکرد گامی مؤثر برداشت. با توجه به نتایج مقایسه میانگین و تنوع موجود در کلون‌ها، کلون‌های ۱۰۰ و ۳۹۹ مقادیر بالای این صفات را داشتند و بنابراین به عنوان کلون‌های مطلوب جهت کاشت معرفی می‌شوند. ضریب تغییرات ژنوتیپی صفات نشان می‌دهند که تنوع موجود در صفات مختلف متفاوت است. در برخی از صفات تنوع زیاد و در بعضی صفات تنوع کمی وجود دارد. مسلماً هر چه تنوع موجود در صفات بیشتر باشد انتخاب در آنها منجر به پاسخ به گزینش بهتری خواهد شد (موسوی و همکاران، ۱۳۹۳).

مقایسه میانگین بین کلون‌های چای برای صفات مورد مطالعه به روش دانکن در سطح یک درصد انجام گرفت و نتایج مقایسات در جدول ۳ نشان داده شده است. همچنان که دیده می‌شود کلون‌های چای در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در کلون‌های چای

منابع تغییرات	df	پروتئین کل	پرولین	قندهای احیاکننده	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	تعداد شاخساره	عملکرد برگ سبز
تکرار	۱	$۲/۷۸\times۱۰^{-۱۰}$ ns	$۳/۴\times۱۰^{-۸}$ ns	$۶/۹\times۱۰^{-۷}$ ns	۰/۰۰۰۰۱ ns	۰/۲۵ ns	۰/۲۵ ns	۰/۰۹ ns	۲/۲۵ ns	۲۰۸۸/۰۳ ns
تیمار	۱۷	$۶/۹۶\times۱۰^{-۸}$ **	$۵/۶۲\times۱۰^{-۵}$ **	۰/۰۰۰۱۷ **	۱۵/۸۲ **	۶/۱۸ **	۳۹/۳۶ **	۲/۴۴ **	۲۹/۳۷ **	۵۶۶۸۳/۹۹ **
خطا	۱۷	$۹/۶۹\times۱۰^{-۹}$	$۲/۸۳\times۱۰^{-۸}$	۶×۱۰^{-۸}	۰/۰۸۸	۰/۲۳	۰/۰۴۱	۰/۰۳	۱/۲۵	۵۷۸/۸۱
ضریب تغیرات طرح بلوک		۱/۴۷	۲/۷۳	۰/۵۱	۴/۳۱	۱۸/۸۲	۶/۷۸	۵/۷۹	۸/۵۵	۷/۶۸
درصد ضریب تغیرات فنوتیپی		۲/۹۷	۸۵/۸۸	۱۹/۰۷۴	۴۱/۰۴	۶۹/۶۰	۴۷/۲۱	۳۶/۰۹	۲۹/۹۱	۵۴/۰۳
درصد ضریب تغیرات ژنوتیپی		۲/۵۸	۸۵/۸۴	۱۹/۰۶۸	۴۰/۸۱	۶۷/۰۱	۴۶/۷۲	۳۵/۶۲	۲۸/۶۶	۵۳/۴۸

ns و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۳- نتایج مقایسه میانگین صفات مختلف مطالعه‌شده برای ۱۸ کلون چای به روش دانکن

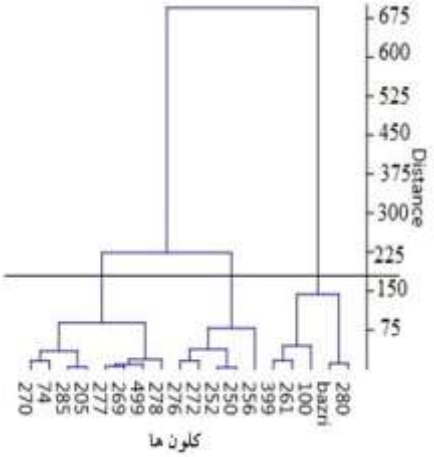
کلون‌ها	میانگین تیمارها برای صفات مورد مطالعه									
	پروتئین کل	پرولین	قندهای احیاکننده	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	تعداد شاخساره	عملکرد برگ سبز
74	۰/۰۰۶۸ a-e	۰/۰۰۶ d	۰/۰۵۷ c	۷/۲۱۵ ef	۲/۳۳۴ c-e	۹/۵۴۹ e-g	۴/۱۵۶ b	۱۶ b-d	۲۹۳/۳۴ cd
100	۰/۰۰۶۵ de	۰/۰۰۷۴ b	۰/۰۵۱ f	۱۰/۴۲۶ b	۳/۶ bc	۱۴/۰۲۶ b	۴/۸۱۳ a	۲۱/۵ a	۶۴۰ a
205	۰/۰۰۷۱ a	۰/۰۱۹۶ a	۰/۰۴۹ h	۷/۰۰۷ f	۱/۲۶۴ d-g	۸/۲۷۰ f-h	۲/۸۱۶ ef	۱۳ de	۲۷۵ cd
250	۰/۰۰۶۵ de	۰/۰۰۳۵ e	۰/۰۴۷ j	۵/۲۱۶ g	۲/۷۳۷ b-d	۷/۹۵۳ gh	۲/۳۶۵ f	۱۲/۵ de	۱۵۲/۵ gh
252	۰/۰۰۶۹ ab	۰/۰۰۲۷ g	۰/۰۵۰ fg	۷/۴۸۷ d-f	۲/۵۲۸ c-e	۱۰/۰۱۶ d-f	۳/۵۴۷ cd	۱۲/۵ de	۱۵۰ gh
256	۰/۰۰۶۶ c-e	۰/۰۰۳۲ ef	۰/۰۴۹ gh	۶/۸۵۹ f	۲/۷۲۹ b-d	۹/۵۸۸ e-g	۱/۵۴۷ g	۸ f	۹۱/۶۷ h
261	۰/۰۰۶۹ a-c	۰/۰۰۳۳ e	۰/۰۵۸ b	۱۳/۴۷۰ a	۷/۹۵۸ a	۲۱/۴۲۸ a	۴/۹۰۹ a	۱۳ de	۵۸۰ a
269	۰/۰۰۶۶ c-e	۰/۰۰۲۵ g	۰/۰۴۸ i	۴/۷۷۹ g	۲/۰۴۲ c-f	۶/۸۲۲ h	۳/۰۲۲ de	۱۴/۵ b-e	۲۲۵ d-g
270	۰/۰۰۶۸ a-d	۰/۰۰۶۸ c	۰/۰۵۹ a	۸/۶۱۵ c	۲/۸۱۹ b-d	۱۱/۴۳۵ c-e	۲/۸۹۱ ef	۱۳/۵ c-e	۳۱۵ c
272	۰/۰۰۶۷ b-e	۰/۰۰۶۹ c	۰/۰۵۵ d	۲/۶۸۱ i	۱/۰۵ e-g	۳/۷۳۱ i	۴/۰۸۸ b	۱۲ e	۱۷۳/۷۵ fg
276	۰/۰۰۶۷ b-e	۰/۰۰۲۳ g	۰/۰۳۳ k	۳/۲۴۱ hi	۰/۵۱۹ fg	۳/۷۵۹ i	۳/۱۶۵ de	۸/۵ f	۱۹۵/۸۴ e-g
277	۰/۰۰۶۶ c-e	۰/۰۰۲۸ fg	۰/۰۳۰ l	۳/۶۸۳ h	۱/۰۳۸ e-g	۴/۷۲۱ i	۲/۶۱۸ ef	۸/۵ f	۲۲۹/۱۷ d-f
278	۰/۰۰۶۷ b-e	۰/۰۰۲۳ g	۰/۰۲۹ m	۲/۹۰۸ hi	۰/۱۷۴ g	۳/۰۸۲ i	۲/۴۲۳ f	۵/۵ f	۲۴۵ c-f
280	۰/۰۰۶۶ c-e	۰/۰۰۲۳ g	۰/۰۴۷ j	۸/۱۷۴ cd	۴/۱۲۸ b	۱۲/۳۰۲ bc	۱/۷۵۲ g	۱۵/۵ b-e	۴۷۵ b
285	۰/۰۰۶۹ a-c	۰/۰۰۵۷ d	۰/۰۵۳ e	۷/۱۳۱ f	۱/۳۹۴ d-g	۸/۵۲۵ f-h	۱/۴۱۳ g	۱۷ bc	۲۷۲/۵ c-e
399	۰/۰۰۶۸ a-e	۰/۰۰۷۷ b	۰/۰۵۷ bc	۹/۶۵۰ b	۳/۴۲۸ bc	۱۳/۰۷۸ bc	۴/۲۵۵ b	۱۷/۵ b	۶۰۰ a
499	۰/۰۰۷۱ a	۰/۰۱۹۸ a	۰/۰۴۹ f-h	۷/۰۶۸ f	۳/۰۵۶ bc	۱۰/۱۲۴ d-f	۱/۷۵۷ g	۱۳/۵ c-e	۲۳۳/۳۴ d-f
bazri	۰/۰۰۶۵ e	۰/۰۰۶۷ c	۰/۰۵۷ c	۸/۰۹۸ c-e	۳/۵۲۶ bc	۱۱/۶۲۴ cd	۳/۹۲۵ bc	۱۳ de	۴۹۰ b

تیمارهایی که حروف مشابه دارند از لحاظ آماری در سطح یک درصد اختلافی با هم ندارند.

که بیانگر تنوع و افزایش شانس انتخاب برای به‌نژادگر است. طبق نتایج مقایسه میانگین برای صفات زراعی (عملکرد برگ،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]



شکل ١- دندروگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای مربوط به صفات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و زراعی در کلون‌های چای مورد مطالعه با روش وارد

تعداد بوته و تعداد شاخساره) نشان داد که اختلاف زیادی بین کلون‌ها وجود دارد و این وضعیت شانس انتخاب کلون‌های مطلوب‌تر چای را برای به‌نژادگر افزایش می‌دهد. در بین صفات بیوشیمیای هم برای صفات انواع کلروفیل و کارتنوئید اختلاف زیادی بین کلون‌های چای وجود دارد در حالیکه بین صفات پروتئین کل، پرولین و قندهای احیاکننده اختلاف کمتری وجود دارد و بنابراین شانس اصلاح گیاهان مطلوب‌تر براساس این صفاتی که اختلاف کمتری دارند کمتر می‌باشد. کلون‌های ١٠٠و ٣٩٩ برای صفات عملکرد برگ سبز، تعداد شاخساره، پرولین و کلروفیل مورد مطالعه بیشترین مقدار را داشتند در حالی‌که کلون‌های ٢٧٨ و ٢٧٦ کمترین مقدار را به خود اختصاص داده بودند (جدول ٣). بنابراین این کلون‌ها می‌توانند جهت کاشت در مناطق مختلف با توجه به عملکرد بالا و همچنین با توجه به مقدار پرولین که می‌تواند نقش محافظتی و تحمل در برابر تنش خشکی را داشته باشد برای کشت در مناطق کم آب توصیه شوند. در مطالعه‌ای نشان داده شد که عملکرد برگ چای برای کلون‌های مورد مطالعه بین ٠/٢ تا ١/٥ تن در هکتار متغییر بود و کلون‌های ١٤٥، ٣٥ و ٣١٨ بیشترین عملکرد را نشان دادند (Omolaja and Esan, 2005).

برای دستیابی به حداکثر هتروزیس محققین جهت انتخاب بهترین والدین در هر تلاقی در پی ارقام یا ژنوتیپ‌هایی هستند که از نظر زنتیکی از هم دور باشند که این امر مهم می‌تواند از طریق بررسی فاصله ژنتیکی موجود بین ژنوتیپ‌ها براساس صفات فنوتیپی با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای یا گروه‌های غیرمشابه از طریق بای‌پلات حاصل از مؤلفه‌های تجزیه به مؤلفه‌های اصلی بدست آید. هنگام استفاده از صفات زراعی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک کلون‌هایی که درنتیجه گروه‌بندی در گروه‌های دور از هم قرار می‌گیرند در برنامه‌های اصلاحی و دورگ‌گیری به‌عنوان والدین در انجام تلاقی‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند تا تنوع ژنتیکی بیشتری حاصل شود. برای تعیین میزان تنوع بین کلون‌های چای مورد مطالعه از روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای با معیار مختلف فاصله استفاده شد و نتایج نشان داد که روش وارد بیشترین مقدار ضریب همبستگی کوفتنیک (٠/٨٩٨) را داشت و بنابراین تجزیه‌ی خوشه‌ای با این روش انجام شد. نتایج تجزیه خوشه‌ای داده‌های مربوط به صفات مورد ارزیابی نشان داد که کمترین فاصله ژنتیکی (٤/١٤) بین کلون‌های ٢٥٠ و ٢٥٢ و بیشترین فاصله ژنتیکی (٥٤٨/٥٤) بین کلون‌های ١٠٠ و ٢٥٦ بود. کلون‌های چای بر اساس بیشترین گسیختگی در فاصله ادغام آنها به سه گروه تقسیم شدند که درصد صحت گروه‌بندی کلون‌ها با تجزیه تابع تشخیص صد در صد بود. همانطور که در در شکل ١ دیده می‌شود کلون‌های چای در سه گروه اصلی قرار گرفتند. گروه اول شامل کلون‌های ٧٤، ٢٠٥، ٢٦٩، ٢٧٠، ٢٧٧، ٢٧٨، ٢٨٥ و ٤٩٩، گروه دوم شامل کلون‌های ٢٥٠، ٢٥٢، ٢٥٦، ٢٧٢ و ٢٧٦ و گروه سوم شامل کلون‌های ١٠٠، ٣٩٩، ٢٦١، ٢٨٠ و بذری بودند. همان طور که عنوان شد کلون‌ها به‌دلیل پایه‌های ژنتیکی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]

جدول ٤- میانگین و درصد انحراف از میانگین کل گروه‌ها برای صفات مختلف کلون‌های چای حاصل از تجزیه خوشه‌ای

صفات	میانگین کل	میانگین گروه اول	درصد انحراف میانگین گروه اول از میانگین کل	میانگین گروه دوم	درصد انحراف میانگین گروه دوم از میانگین کل	میانگین گروه سوم	درصد انحراف میانگین گروه سوم از میانگین کل
پروتئین کل	۰/۰۰٦٧١	۰/۰۰٦٧٩	۱/۱۸	۰/۰۰٦٦٧	-۰/٥٧	۰/۰۰٦٦٢	-۱/۳۲
پرولین	۰/۰۰٦۱۸	۰/۰۰۸۱٦	۳۲/۰۹	۰/۰۰۳۷	-٤۰/۰۸	۰/۰۰٥٤۸	-۱۱/۲٦
قندهای احیاکننده	۰/۰٤۸۸	۰/۰٤٦۸۸	-۳/۹٥	۰/۰٤٦۷۳	-٤/۲٥	۰/۰٥۳۹٥	۱۰/٥٥
کلروفیل a	٦/۸۷۲۷	٦/۰٥۰۸	-۱۱/۹٦	٥/۰۹۷	-۲٥/۸٤	۹/۹٦۳٦	٤٤/۹۷
کلروفیل b	۲/٥۷۳٦	۱/۷٦٥۲	-۳۱/٤۱	۱/۹۱۲٥	-۲٥/٦۹	٤/٥۲۸۱	۷٥/۹٥
کلروفیل کل	۹/٤٤٦۳	۷/۸۱٥۹	-۱۷/۲٦	۷/۰۰۹٥	-۲٥/۷۹	۱٤/٤۹۱۷	٥۳/٤۱
کارتنوئید	۳/۰۸۱۲	۲/٦۳۷۱	-۱٤/٤۱	۲/۹٤۲۳	-٤/٥۱	۳/۹۳۰۷	۲۷/٥۷
تعداد شاخساره	۱۳/۰۸۳۳	۱۲/٦۸۷٥	-۳/۰۳	۱۰/۷	-۱۸/۲۲	۱٦/۱	۲۳/۰٦
تعداد بوته	٤/۹۷۲۲	٥/۲٥	٥/٥۹	٤/۷	-٥/٤۸	٤/۸	-۳/٤٦
عملکرد برگ	۳۱۳/۱۷۲۸	۲٦۱/۰٤۳۸	-۱٦/٦٥	۱٥۲/۷٥۲	-٥۱/۲۲	٥٥۷	۷۷/۸٦

متفاوت یا سایر عوامل محیطی در دسته‌های کاملاً جدا قرار گرفته و می‌تواند توجیه‌کننده این باشد که صفات مورفولوژیکی قادر به تعیین این تمایزند. نتایج حاصل از تجزیه خوشه‌ای نشان نشان‌دهنده تفاوت کلون‌های هر گروه با سایر کلون‌های گروه‌های دیگر و شباهت و قرابت کلون‌های داخل هر گروه می‌باشد. دلیل تفاوت کلون‌های گروه‌ها با هم می‌تواند به علت تفاوت در ساختار ژنتیکی یا تأثیر سایر عوامل محیطی بر روی صفات باشد. در مطالعه‌ای که بر روی ۱۵ کلون چای در ویتنام براساس ۲۱ صفت مورفولوژیکی انجام شد، کلون با تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA و فاصله اقلیدسی در دو گروه اصلی قرار گرفتند که در گروه اول ۱۲ کلون نوع آسامی و در گروه دوم سه کلون نوع چینی قرار گرفتند (Phong *et al.*, 2016). بررسی تنوع ۵۱ کلون چای براساس صفات زراعی و کیفی مورد مطالعه قرار گرفت. گروه‌بندی کلون‌ها با روش UPGMA کلون‌ها را در سه گروه قرار داد که گروه مناسب برای چای سیاه، گروه دوم مناسب برای چای سبز و گروه سوم ارقام مخصوصی برای بعضی خصوصیت‌های بیوشیمیایی داشت (Hui-Bing *et al.*, 2013). در مطالعه‌ای دیگر گروه‌بندی ۵ کلون کاتچین زیاد و ۵ کلون کاتچین کم براساس صفات مورفولوژیکی با روش UPGMA به دو گروه اصلی تفکیک شدند که دو کلون کاتچین زیاد در گروهی متفاوت قرار گرفتند (Kim *et al.*, 2012). گروه‌بندی ۳۱ کلون چای براساس ۱۲ صفت مورفولوژیک در سریلانکا با روش UPGMA مورد بررسی قرار گرفت و این ۳۱ کلون چای در دو گروه کاملاً مشخص قرار گرفتند که در یک گروه ١٤ کلون از ١٦ کلون موجود از کلون‌های TRI بودند و در گروه دیگر فقط ٤ کلون TRI قرار داشت (Gunasekare and Peiris, 2006). احمدی‌شاد و همکاران نیز ۳۰ کلون مختلف چای که از نقاط محتلف استان گیلان جمع‌آوری شده بودند را با تجزیه خوشه‌ای براساس صفات زراعی و بیوشیمیایی در سه گروه قرار دادند که تنوع بین گروه‌ها به خوبی مشخص بود. در گروه اول کلون‌های انتخابی داخلی و ارقام کلونی سریلانکایی (DN, KEN, 3020)، گروه دوم کلون‌های سریلانکایی ۳۰۱۳ و ۳۰۱۹، دارجلینگ ۲۷ و کلون امیدبخش ۱۰۰ و در گروه سوم ارقام کلونی آسام، دارجلینگ ۲۱، ۱۳ و ۱۸ و رقم کلونی یابوکیتا قرار داشتند (احمدی‌شاد و همکاران، ۱۳۸۸).

برای نشان‌دادن ارزش هر یک از کلاسترها (جدول ٤) از نظر ۱۰ صفت اندازه‌گیری شده، درصد انحراف از میانگین

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]

کلاسترها از میانگین کل محاسبه شد. از آن جایی‌که کلون‌های موجود در هر یک از کلاسترها دارای قرابت ژنتیکی بیشتری نسبت به کلون‌های موجود در کلاسترهای دیگر بودند کلاستر اول شامل ۸ کلون بود و ارزش صفات پروتئین کل و پرولین در این گروه بالاتر از میانگین کل برای این صفات بود و از نظر سایر صفات ارزشی پائین‌تر از میانگین کل داشتند. کلاستر دوم شامل پنج کلون بود و ارزش میانگین صفات (تمام صفات) کمتر از ارزش میانگین کل بود. در کلاستر سوم پنج کلون قرار گرفته بودند و صفات قندهای احیاکننده، انواع کلروفیل، کارتنوئید، تعداد شاخساره و عملکرد برگ سبز چای ارزشی بالاتر از میانگین کل داشتند و بقیه صفات ارزشی کمتر از میانگین کل به خود اختصاص دادند. با توجه به اینکه در گروه اول ارزش صفات پرولین و پروتئین کل بیشتر است و این صفات در تحمل به تنش‌ها نقش مؤثری دارند و همچنین کلون‌های گروه سوم دارای عملکرد برگ سبز بالایی بوده، بنابراین می‌توان از تلاقی کلون‌های گروه اول و سوم در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود و در نتاج به دنبال انتخاب کلون‌های با عملکرد بالا و پرولین بالا بود تا بتوان از آنها برای کاشت در مناطق کم آب و مقابله با تنش استفاده نمود تا عملکرد کاهش چندانی نداشته باشد.

نتیجه‌گیری

در جمع‌بندی نهایی بر این نکته تأکید می‌شود که تمایل به استفاده از والدین مشابه و عدم‌شناخت و استفاده از ارقام جدید در برنامه‌های اصلاحی منجر به کاهش تنوع ژنتیکی می‌شود. این در حالی است که ارقام دورتر با داشتن چند شکلی بیشتر، تفاوت بیشتری از نظر ژنتیکی نشان می‌دهند و از نظر دو رگه‌گیری، ارقام با تفاوت بیشتر، امکان ایجاد هتروزیس بیشتر و یا انتقال صفات نادر را به دنبال خواهد داشت. با توجه به اینکه عملکرد برگ سبز در چای اهمیت دارد و همچنین با توجه به روند خشکسالی‌های اخیر می‌توان کلون‌های ۱۰۰ و۳۹۹ که از نظر عملکرد برگ سبز میانگین بالاتری داشتند و همچنین مقدار بیشتری پرولین و صفات بیوشیمیایی دیگر را داشتند و این صفات می‌تواند در تحمل به تنش نقش داشته باشد به‌عنوان کلون‌های مناسب برای کاشت معرفی نمود. همچنین می‌توان با تلاقی کلون‌های گروه اول و سوم و انتخاب در نتاج آنها به کلون‌های مناسب دست یافت.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح پژوهشی شماره ۹۶/۲۹۱۴/ص/۷ با استفاده از اعتبارات پژوهشی – پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان انجام شده است

منابع

اجاقی، ا. و نماینده، آ. (۱۳۹۳) بررسی تنوع ژنتیکی کلونی‌های چای از نظر نشانگر مولکولی ISSR با استفاده از روش چندمتغیره تجزیه خوشه‌ای. اولین کنگره ملی زیست‌شناسی و علوم طبیعی ایران، مرکز راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار و انجمن حمایت از طبیعت ایران، تهران، ایران.

احمدی‌شاد، م.ع.، کاظمی‌تبار، س. ک.، بابائیان جلودار، ن.ع.، غلامی، م. و کاظمی پشت مساری، ح. (۱۳۸۸) ارزیابی تنوع ژنتیکی کلون‌های زراعی چای در ایران با استفاده از نشانگر مولکولی راپید. پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی ۱: ۷۶-۶۵.

جهانگیرزاده خیاوی، ش.، فلک‌رو، ک.، چایچی سیاهکلی، ح. و کشاورزی، ش. (۱۳۹۵) مطالعه تنوع موجود در بین ژنوتیپ‌های چای منطقه لاهیجان، سومین همایش بین‌المللی وششمین همایش ملی گیاهان دارویی و کشاورزی پایدار، مرکز همایش‌های بین‌المللی بنیاد همایش، همدان، ایران.

سید سعید موسوی، س. س.، جلالی فر، س.، عبدالهی، م. ر. و چایچی، م. (۱۳۹۳) ارزیابی میزان تنوع و قابلیت توارث برخی از صفات مرفولوژیکی گندم نان تحت شرایط تنش و مطلوب رطوبتی. مجله دانش زراعت ۵: ۵۴-۳۷.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]

AzadiGonbad, R., Afzan, A., Karimi, E., Sinniah, U. R. and Swamy, M. K. (2015) Phytoconstituents and antioxidant properties among commercial tea (*Camellia sinensis* L.) clones of Iran. Electronic Journal of Biotechnology 18: 433-438.

Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Bhau, B. S., Mech, J., Borthakur, S., Bhuyan, M. and Bhattacharyya, P. R. (2014) Morphological and genetic diversity studies among populations of tea mosquito bug, *Helopeltis theivora* from Assam, India. Molecular Biology Reports 41: 7845-7856.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Chen, J., Wang, P., Xia, Y., Xu, M. and Pei, S. (2005) Genetic diversity and differentiation of *Camellia sinensis* L.(cultivated tea) and its wild relatives in Yunnan province of China, revealed by morphology, biochemistry and allozyme studies. Genetic Resources and Crop Evolution 52: 41-52.

Coleman, J. S., Mc Connaughay, K. D. and Ackerly, D. D. (1994) Interpreting phenotypic variation in plants. Trends in Ecology and Evolution 9: 187-191.

De Costa, W., Mohotti, A. J. and Wijeratne, M. A. (2007) Ecophysiology of tea. Brazilian Journal of Plant Physiology 19: 299-332.

Gunasekare, M. and Peiris, T. (2006) Phenotypic variation in germplasm accessions of tea (*Camellia sinensis* L.) in Sri Lanka. Plant Genetic Resources Newsletter (IPGRI/FAO) 146: 39-42.

Hammer, O., Harper, D. and Ryan, P. (2001) PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. Palaeontologia Electronica 4: 9.

Hui-Bing, J., Yi-ping, T., Lin-bo, C. and Ming-zhi, l. (2013) Diversity of tea landraces based on agronomic and quality traits in Yunnan province. Journal of Plant Genetic Resources 14: 634-640.

IPGRI (1997) Descriptors for Tea (*Camellia sinensis*). International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.

Kim, Y. D., Jeong, M. J., Song, H. J., Kim, J. C. and Choi, M. S. (2012) Morphological characters and genetic relationship between catechins-rich and-poor tea tree (*Camellia sinensis* L.) lines. Forest Science and Technology 8: 28-33.

Mohammadi, S. and Prasanna, B. (2003) Analysis of genetic diversity in crop plants-salient statistical tools and considerations. Crop Science 43: 1235-1248.

Omolaja, S. and Esan, E. (2005) Yield evaluation of high altitude tea (*Camellia sinensis* (L) O. Kuntze) in lowland ecologies of Nigeria. Nigerian Journal of Horticultural Science 10: 87-93.

Phong, N. H., Pongnak, W., Soytong, K., Poeaim, S. and Poeaim, A. (2016) Diversity of Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) grown in vietnam based on morphological characteristics and inter primer binding sites (iPBS) marker. International Journal of Agriculture and Biology 18: 385-392.

Richards, E. J. (2011) Natural epigenetic variation in plant species: a view from the field. Current Opinion in Plant Biology 14: 204-209.

SAS-Institute-Inc (2014) Base SAS 9.4 Procedures Guide: Statistical Procedures, Third Edition. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Somogyi, M. (1952) Notes on sugar determination. Journal of Biological Chemistry 195: 19-23.

Sudhakar, P., Latha, P. and Reddy, P. (2016) Phenotyping Crop Plants for Physiological and Biochemical Traits. Academic Press.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]

Diversity investigation and grouping of tea (*Camellia sinensis* L.) clones using cluster analysis

Mehdi Rahimi[1*], Sanam Safaei-Chaeikar[2], Kourosh Falakroo[2]

[1]Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran
[2]Tea Research center, Horticultural Sciences Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Lahijan, Iran
(Received: 06/04/2018, Accepted: 06/08/2018)

Abstract

The diversity of 18 tea (*Camellia sinensis* L.) clones was evaluated in a randomized complete block design with two replications at Fashalam Tea Station (Rasht) in 2017. Physiological, biochemical and crop traits such as chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid, reducing sugar, total protein content, proline, tea leaf yield and number of shoots were measured. The results of variance analysis showed a significant difference in the level of one percent between tea clones for all studied traits. Mean comparison of clones showed that 100 and 399 clones had the highest amount of green leaf yield and number of shoots and in terms of proline and chlorophyll a were in second rank. The lowest coefficient phenotypic and genotypic variation related to total protein trait (2.97 and 2.58) and the most related to proline (85.88 and 85.84), and other traits were in this range. The cluster analysis by Ward method was able to place 18 clones of the study in three groups and the percentage grouping accuracy of clones by discriminant analysis was 100%. Average of green leaves yield and different types of chlorophyll traits in clones of the first cluster and proline and protein traits in clones of third cluster showed a high value. The clones of these two groups could be used in plan breeding projects and deciding to select suitable parents in crossing programs to increase the leaf yield and proline (which has a role in stress tolerance) in tea. Also, clones 100 and 399 showed a high average for green leaf yield and second rank for proline traits and therefore were introduced as promising clones.

Keywords: Agronomic, Biochemical, Discriminant analysis, Physiological

Corresponding author, Email: mehdi83ra@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1398.8.32.28.6]