مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌فناوری گیاهان زراعی
سال اول، شماره اول، پاییز و زمستان ۱۳۹۰ (۸۳-۷۷)

بررسی نرعقیمی در برخی ارقام تجاری چغندرقند با استفاده از نشانگرهای مولکولی میتوکندری و کلروپلاست

عاطفه نصیری[۱]، اصغر میرزایی‌اصل[۲]*، محسن آقایی‌زاده[۳]، علی دلجو[۴] و سیدباقر محمودی[۵]
۱، ۲، ۴، دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار، مربی پژوهش و استادیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی دانشگاه بوعلی سینا، همدان، میدان مدرس، بلوار آزادگان
۳، ۵، مربی پژوهش و استادیار مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، کرج، جاده ماهدشت، روبروی ترمینال شهید کلانتری
(تاریخ دریافت: ۹۰/۷/۹- تاریخ تصویب: ۹۰/۹/۲۸)

چکیده

در چغندر چندین نوع نرعقیمی سیتوپلاسمی معرفی و تاکنون از نرعقیمی سیتوپلاسمی آون در تولید ارقام دورگه تجاری استفاده شده است. کشف این نرعقیمی در یک رقم زراعی چغندرقند توسط آون، در توسعه ارقام دورگه نقش به‌سزایی داشته و روند اصلاح این گیاه صنعتی را تغییر داده است. ارقام هیبرید تولید شده با نرعقیمی آون، نیمه‌بارور هستند. هدف از این تحقیق بررسی تنوع سیتوپلاسمی و نوع نرعقیمی به‌کار رفته در اصلاح ارقام تجاری جدید چغندرقند می‌باشد که بدین منظور از نشانگرهای مولکولی ماهوارکی میتوکندریایی و یک نشانگر نرعقیمی CAPS کلروپلاستی استفاده شد. الگوهای نواری چهار رقم تجاری و دو لاین نرعقیم و نربارور، حضور سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی آون در اصلاح این ارقام تجاری را نشان دادند. تنوع سیتوپلاسمی در بین ارقام تجاری مورد مطالعه مشاهده نشد، اما تلاقی بین گیاهان رقم تجاری کاملاً نرعقیم با رگه گرده‌افشان SHR01-P12 و بررسی باروری نتاج حاصل از تلاقی نشان داد که بیش از نیمی از نتاج، عقیم هستند. به این ترتیب به‌نظر می‌رسد که ژن یا ژن‌هایی در هسته علاوه بر نرعقیمی سیتوپلاسمی آون، در تولید برخی ارقام تجاری جدید نقش دارند.

واژه‌های کلیدی: تنوع سیتوپلاسمی، نشانگر ماهوارک، نشانگر نرعقیمی میتوکندریایی و کلروپلاستی، چغندرقند

* نویسنده مسئول: اصغر میرزایی اصل
E-mail: a.mirzaie@basu.ac.ir

مقدمه

چغندرقند با نام علمی *Beta vulgaris spp. vulgaris* گیاهی دو ساله از تیره آمارانتاسه است (Grimmer *et al*. 2007) و از مهم‌ترین منابع تامین‌کننده قند مصرفی در جهان امروز محسوب می‌شود. دورگه‌های[1] تجاری ارقام چغندرقند توسط شرکت‌های متعددی تولید و در اختیار کشاورزان در سرتاسر دنیا قرار می‌گیرد. این شرکت‌ها سالیانه ارقام جدیدی با صفات زراعی مطلوب‌تر به زارعین معرفی می‌کنند. رقابت در تولید بذر این گیاه صنعتی موجب شده که شرکت‌های تولیدکننده بذر، بسیاری از اطلاعات مربوطه در زمینه توسعه روش‌های اصلاحی و اطلاعات ژنومی در این خصوص را منتشر نکنند. کشف سیستم نرعقیم[2] ژنتیکی- سیتوپلاسمی در جمعیت‌های زراعی چغندرقند توسط آون، در توسعه ارقام دورگه نقش به‌سزایی داشته و روند اصلاحی چغندرقند را تغییر داده است (Owen 1942, 1945). نرعقیمی ژنتیکی- سیتوپلاسمی کنترل کاملی بر روی گرده‌افشانی و نقش مهمی در تولید بذر تجاری دورگه چغندرقند دارد (Biancardi *et al*. 2005). این نوع نرعقیمی توسط ژن‌های سیتوپلاسم و هسته کنترل می‌شود. ژن نرعقیمی در میتوکندری قرار داشته و سیتوپلاسم‌های دارای ژن نرعقیمی در میتوکندری را، سیتوپلاسم نرعقیم (S) و سلول‌های فاقد این ژن را سیتوپلاسم طبیعی[3] (N) می‌نامند. سیتوپلاسم نرعقیم از والد مادری به نتاج منتقل شده و مستقل از ویژگی‌های والد پدری است. دو عامل ژنتیکی (X و Z) موجود در هسته به عنوان ژن‌های بازگرداننده باروری عمل می‌کنند. سیتوپلاسم نرعقیم تحت تاثیر این ژن‌ها قرار دارد. چنانچه گیاهی که دارای سیتوپلاسم نرعقیم است، فاقد ژن‌های بازگرداننده باروری (xxzz) باشد (هموزیگوت مغلوب) نرعقیم خواهد بود و دانه گرده تولید نخواهد کرد. اما سایر ترکیبات این دو ژن، گیاهان بارور یا نسبتاً بارور ایجاد می‌کند. نوع سیتوپلاسم N همیشه نتاج بارور تولید می‌کند. در چغندر لاین نگه‌دارنده گیاهان نرعقیم، اوتایپ[4] با ژنوتیپ N(xxzz) شناخته می‌شود (Maletskaya *et al*. 2002). ارقام دورگه چغندرقند از تلاقی یک والد مادری نرعقیم با ژنوتیپ S(xxzz) و والد پدری گرده‌افشان N(XXZZ) تولید شده و ارقام تجاری نیمه بارور S(XxZz) می‌باشند. در تولید ارقام تجاری دورگه با سیستم نرعقیمی آون، اصلاح والد مادری فاقد ژن‌های بازگرداننده باروری در هر دو مکان کاری مشکل و وقت‌گیر است. علاوه بر سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی آون، سیستم‌های دیگر نرعقیمی سیتوپلاسمی در جمعیت‌های وحشی چغندر به نام‌های F، E، G و H شناسایی شده است (Mikami *et al*. 1985; Hallden *et al*. 1988; Laporte *et al*. 1998) و ممکن است در آینده از این سیستم‌ها که دارای یک مکان برای ژن‌های بازگرداننده باروری هستند، در تولید ارقام تجاری چغندرقند استفاده شود.

از نشانگرهای مولکولی می‌توان برای شناسایی گیاهان با سیتوپلاسم نرعقیم آون در اصلاح چغندرقند استفاده نمود (Ran and Michaelis, 1995). نشانگر CAPS با آنزیم محدودگر *Hind*III برای سیتوپلاسم نرعقیم آون معرفی شده است که با آن می‌توان ژنوتیپ‌های دارای سیتوپلاسم نرعقیم آون را از ژنوتیپ‌های طبیعی شناسایی کرد. این

1. Hybrid
2. Male sterility
3. Normal
4. O-Type

نشانگر به چندشکلی[1] روی قطعه‌ژنی petG-psbE موجود در کلروپلاست وابسته بوده و با ژن‌های عامل نرعقیمی در میتوکندری همبستگی دارد.

در میتوکندری چغندر چهار مکان ماهواره‌ای به نام‌های TR1، TR2، TR3 و TR4 به ترتیب با واحدهای تکراری ۳۲، ۳۳، ۶۶ و۳۰ جفت باز شناسایی شده است (Fénart *et al*. 2008). تعداد تکرار هر کدام از این واحدهای تکراری می‌تواند عامل چندشکلی باشند. در بین این چهار مکان تکراری TR1 بیشترین چندشکلی را نشان می‌دهد. با استفاده از ماهوارک‌های TR و همچنین به کمک نشانگر CAPS تنوع سیتوپلاسمی چغندرهای وحشی، علف هرز و زراعی اروپا بررسی شده است که جمعیت‌های چغندر در مجموع در ۱۲ سیتوتایپ قرار داده شدند (Fénart *et al*. 2008).

در بررسی‌های اولیه این تحقیق مشخص شد که بوته‌های برخی ارقام خارجی جدید نرعقیم کامل هستند، در حالی که انتظار می‌رود در سیستم نرعقیمی آون بوته‌ها نیمه‌بارور باشند. در این تحقیق به‌منظور بررسی نوع سیستم نرعقیمی به‌کار رفته در اصلاح برخی ارقام خارجی با ویژگی نرعقیمی کامل گیاهان F_1، تنوع سیتوپلاسمی آن‌ها با استفاده از نشانگرهای مولکولی CAPS و ماهوارک‌ها بررسی شد. هم‌چنین از تلاقی ارقام تجاری نرعقیم کامل با یک لاین گرده‌افشان دارای ژن‌های بازگرداننده باروری سیستم آون، برای بررسی موضوع نیز استفاده شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق از ۴ رقم تجاری اروپایی به نام‌های Brigita، Laetitia، Pershia و Tous و لاین‌های اوتایپ و نرعقیم (CMS) والدین ارقام تجاری جلگه و گدوک از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند به عنوان شاهد استفاده شد. استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش CTAB (Cai *et al*. 1997) انجام پذیرفت. بدین منظور از ده بوته کشت‌شده در گلخانه، برگ‌های جوان گیاهان ۳ الی ۴ هفته‌ای، به صورت توده[2] جمع‌آوری شدند و از مخلوط ده بوته استخراج DNA انجام گردید. کمیت و کیفیت DNA توسط دستگاه اسپکتروفتومتر و ژل آگارز یک درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

بررسی تنوع سیتوپلاسمی با نشانگرهای مولکولی

برای بررسی حضور ژن مربوط به سیستم نرعقیمی آون در سیتوپلاسم ارقام، از نشانگر تشخیصی CAPS کلروپلاستی که وابسته به چندشکلی سایت برشی آنزیم *Hind*III است، استفاده شد. هم‌چنین تنوع سیتوپلاسمی نمونه‌ها با چهار مکان دارای توالی‌های تکراری TR1، TR2، TR3 و TR4 مورد بررسی قرار گرفت. توالی آغازگرهای مورد نیاز برای تکثیر ماهوارک‌ها (Nishizawa *et al*. 2000) و نشانگر CAPS (Ran *et al*. 1995) تهیه گردید (بایونیر[3]، کره). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای هرکدام از آغازگرها به‌طور جداگانه در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام پذیرفت. این واکنش حاوی ۱۰ میکرولیتر DNA الگو (۱۰۰ نانوگرم)، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR با ده برابر غلظت، یک میکرولیتر dNTPs با غلظت نهایی ۰/۴ میلی‌مولار، ۲ میلی مولار از کلرید منیزیم، ۰/۴ پیکومول از هر آغازگر و یک واحد آنزیم Taq پلیمراز است. چرخه‌ی

1. Polymorphism

2. Bulk
3. Bioneer

حرارتی شامل واسرشته‌سازی اولیه DNA الگو در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد یک دقیقه، اتصال آغازگرها ۳۰ ثانیه (دمای اتصال CAPS، ۴۳ درجه سانتی‌گراد و برای ماهوارک‌ها ۵۵ درجه سانتی‌گراد)، گسترش رشته در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت دو دقیقه و در آخر چرخه حرارتی با گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ده دقیقه اعمال گردید. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای آغازگر CAPS مورد هضم آنزیمی با آنزیم *Hind*III ساخت شرکت فرمنتاز قرار گرفت. محصول واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز روی ژل آگارز (ژل ۲٪ برای محصول ناشی از هضم آنزیمی مربوط به آغازگر CAPS و ژل ۲/۵٪ برای آغازگرهای ماهوارک) با بافر TBE و در ولتاژ ۸۰ الکتروفورز شد. رنگ‌آمیزی با استفاده از اتیدیوم بروماید انجام گرفت.

تلاقی و بررسی گرده‌افشانی گیاهان

رقم تجاری کاملاً نرعقیم Laetitia به عنوان والد مادری با گرده‌افشان SHR01-P12 دارای ژن‌های بازگرداننده باروری آون در مزرعه عبدالرسول مطهری، مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند تلاقی داده شد. به‌این منظور، ریشه‌های تهیه‌شده از بذور چغندرقند، در اسفند ماه به یک واحد ایزوله در داخل مزرعه چاودار منتقل گردیدند. ریشه‌های رقم تجاری Laetitia در دو ردیف وسط و در دو طرف آن‌ها، دو ردیف از ریشه‌های گرده‌افشان SHR01-P12 کشت شدند. تعداد ۶ بوته در هر ردیف کشت شد. پس از گلدهی و تولید بذر گیاهان، بذور حاصل از تلاقی، از بوته‌های رقم تجاری جمع‌آوری شدند. به‌منظور بررسی توانایی تولید گرده در گیاهان حاصل از تلاقی، تعداد ۱۰ بوته در گلخانه مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند در اوایل مهرماه سال ۱۳۸۹ کشت شدند. پس از جوانه‌زنی و استقرار گیاهان، در ماه‌های دی و بهمن دمای گلخانه در دمای ۸-۴ درجه سانتی‌گراد تنظیم و کنترل شد. تا نیاز سرمایی گیاهان برای گلدهی تامین شود. در فروردین ماه با گرم‌شدن هوا به‌تدریج ساقه‌های گل‌دهنده در گیاهان ظاهر گردیدند. پس از تشکیل گل‌آذین و ظهور گل‌ها، کنترل وضعیت نرعقیمی یا باروری هر بوته با بررسی فنوتیپی گل‌ها صورت گرفت. برای هر بوته، گل‌های یک گل‌آذین مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

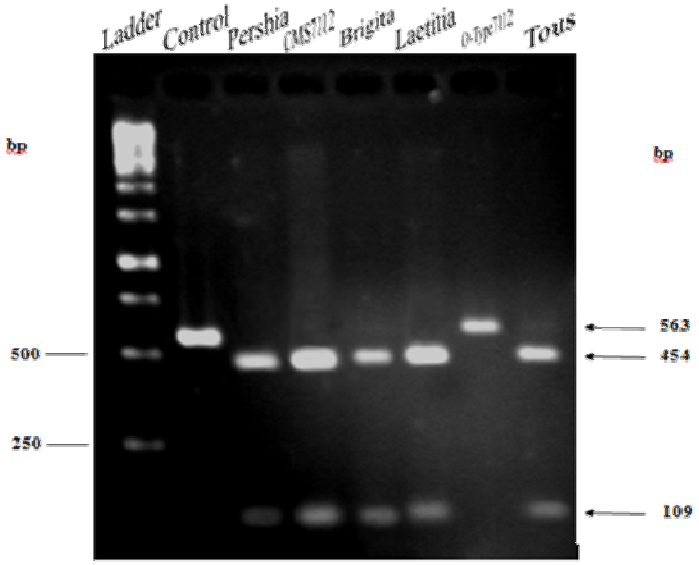
به‌منظور بررسی حضور ژن نرعقیمی مربوط به سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی آون در ارقام ذکر شده، از نشانگر CAPS استفاده شد. الکتروفورز واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای آغازگر CAPS، نوار[1] مربوطه ۵۶۳ جفت باز در همه نمونه‌ها را نشان داد. پس از هضم آنزیمی محصول واکنش پلیمراز، ارقام تجاری مانند لاین شاهد نرعقیم ۷۱۱۲ دارای یک جایگاه آنزیم *Hind*III بودند و دو نوار ۴۵۴ و ۱۰۹ جفت بازی را نشان دادند در حالی که لاین اوتایپ ۷۱۱۲ که دارای سیتوپلاسم طبیعی است فاقد جایگاه برش آنزیمی بود (شکل ۱).

این نتایج حضور سیتوپلاسم نرعقیم آون را در ارقام تجاری مورد مطالعه را تایید می‌کند و به‌نظر می‌رسد که در اصلاح این ارقام از سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی آون استفاده شده است. برای مقایسه بیشتر سیتوپلاسم ارقام مورد بررسی با سیتوپلاسم نرعقیم آون، از نشانگرهای ماهوارک TR1، TR2، TR3 و TR4 بهره گرفته‌شد. نوارهای با طول یکسان با اندازه در حدود ۵۰۰ جفت باز برای نشانگر

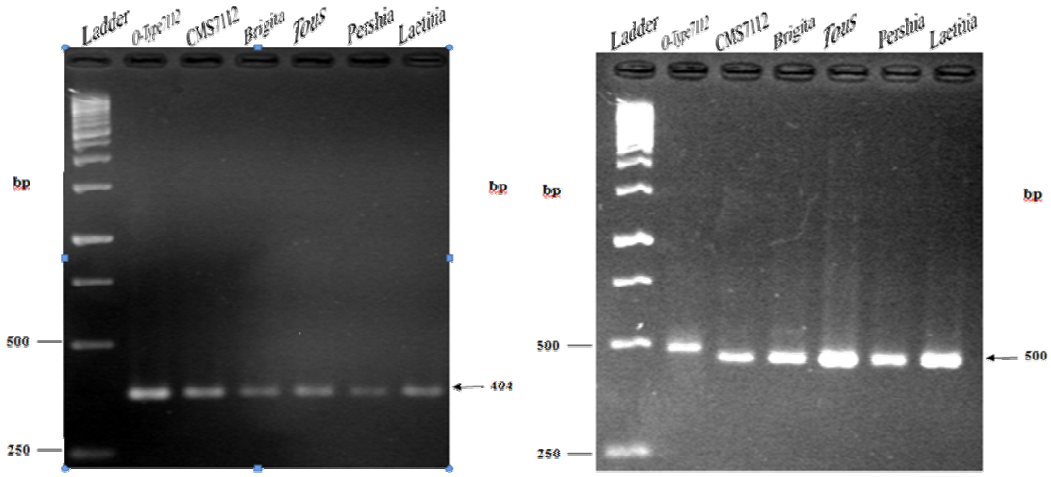
1. Band

TR1 مشاهده شد (شکل۲) و ارقام دارای سیتوپلاسم نرعقیم برای این نشانگر، تنوع نواری نشان ندادند.

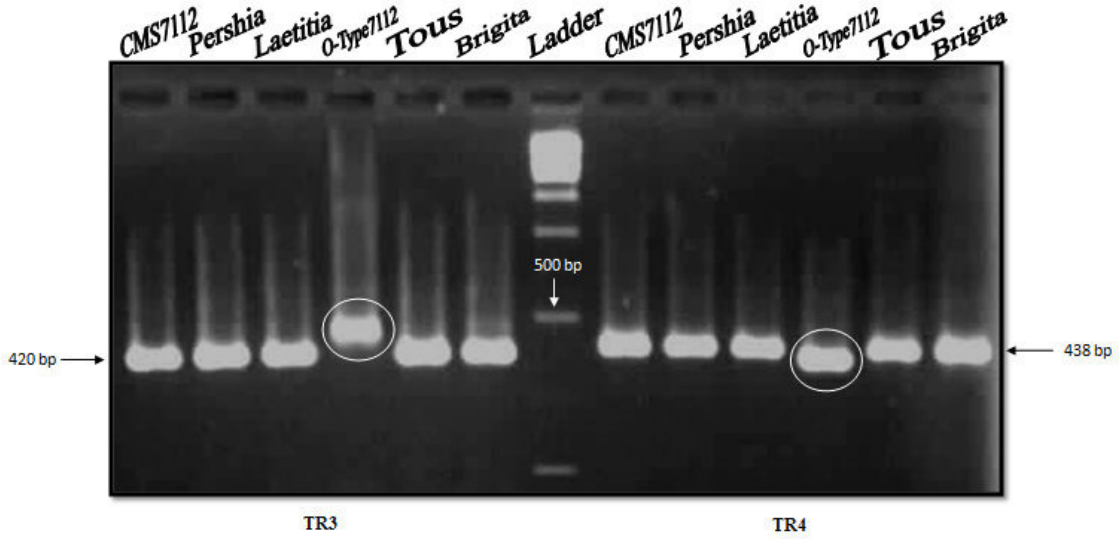
اندازه نوارهای مورد انتظار برای نشانگرهای TR2، TR3 و TR4 در سیتوپلاسم نرعقیم آون به ترتیب برابر با ۴۰۴، ۴۲۰ و ۴۳۸ جفت باز است (Fénart *et al*. 2008). در همه ارقام مورد بررسی، قطعه تکثیرشده برای این نشانگرها یکسان و مانند لاین نرعقیم ۷۱۱۲ بود (شکل‌های ۲ و ۳) و احتمالاً دارای منشاء سیتوپلاسمی یکسانی هستند. درحالی که در لاین اوتایپ ۷۱۱۲ که دارای سیتوپلاسم طبیعی است، طول نوارهای مربوطه متفاوت بود. نشانگرهای ماهوارک و نشانگر CAPS مشابه‌بودن سیتوپلاسم ارقام اصلاح‌شده تجاری را با سیتوپلاسم نرعقیم آون را نشان دادند. با توجه به مطابقت نتایج به‌دست آمده از نشانگرها با گزارش‌های موجود در این زمینه (Arnaud *et al*. 2003, 2004; Fievet *et al*. 2007) به نظر می‌رسد در اصلاح این ارقام، سیستم نرعقیمی آون استفاده شده است و در حال حاضر شرکت‌های تولید بذر چغندرقند، سیستم نرعقیمی دیگری جایگزین سیستم آون ننموده‌اند. همچنین الگوی نواری به‌دست‌آمده برای نمونه اوتایپ به‌وسیله نشانگرهای TR3 و TR4 سیتوپلاسم متفاوتی از سیتوپلاسم نرعقیم آون برای این نمونه نشان دادند. با فرض اینکه ارقام مورد بررسی دارای سیتوپلاسم نرعقیم هستند، شاید دلیل نرعقیمی کامل گیاهان در برخی از ارقام تجاری، عدم حضور ژن‌های بازگرداننده باروری باشد. در



شکل ۱- الگوی الکتروفورزی قطعات DNA ناشی از هضم محصول PCR آغازگر CAPS با آنزیم *Hind*III بر روی ارقام چغندرقند (در ژل دو درصد آگارز با نشانگر اندازه 1kb ساخت شرکت Fermentas) چاهک شاهد، رقم Pershia بدون هضم آنزیمی است.



شکل ۲- مقایسه الگوی الکتروفورزی DNA های تکثیر شده از ۶ ژنوتیپ چغندرقند تجاری توسط آغازگر TR1 (شکل سمت راست) و TR2 (شکل سمت چپ) در ژل ۲/۵ درصد آگارز (نشانگر مولکولی 1kb ساخت شرکت Fermentas)



شکل ۳- مقایسه الگوی الکتروفورزی DNA های تکثیر شده از ۶ ژنوتیپ چغندرقند تجاری توسط آغازگرهای TR3 و TR4 (در ژل دو و نیم درصد آگارز با نشانگر مولکولی اندازه 1kb ساخت شرکت Fermentas)

این‌صورت این ارقام کاملاً نرعقیم خواهند بود و باید والد پدری ارقام فاقد ژن‌های بازگرداننده باروری باشند و روش اصلاحی والد پدری آن‌ها متفاوت با ارقام داخلی باشد. برای بررسی حضور یا عدم‌حضور ژن‌های بازگرداننده باروری در این نوع ارقام، رقم باشد، همه بوته‌ها نیمه‌باور شوند و در صورت داشتن ژن‌های بازگرداننده باروری هیچ بوته نرعقیمی در نتاج حاصل از تلاقی مشاهده نشود. نتایج حاصل از Laetitia با یک والد گرده‌افشان دارای ژن‌های بازگرداننده باروری تلاقی داده شد. تعداد ده بوته از نتاج حاصل از تلاقی از لحاظ گرده‌افشانی بررسی، که ۷ بوته کاملاً نرعقیم بودند. در حالی‌که انتظار می‌رفت چنانچه این رقم فاقد ژن‌های بازگرداننده باروری تلاقی گیاهان عدم حضور ژن‌های بازگرداننده باروری در والد پدری رقم تجاری Laetitia را تأیید نمی‌کند.

در جمعیت‌های چغندرقند فراوانی افراد با ژنوتیپ N(xxzz) فاقد ژن‌های بازگرداننده باروری بسیار پایین است (Arnaud *et al*. 2004) و احتمال استفاده از آن‌ها در اصلاح والد پدری این نوع ارقام کم است. تولید یک والد پدری با قدرت ترکیب‌پذیری خوب، فاقد ژن‌های بازگرداننده باروری در روش‌های اصلاحی کاری مشکل است. بررسی مزرعه‌ای رقم تجاری کاملاً نرعقیم Laetitia در این آزمایش نشان داد که میزان نرعقیمی بوته‌های حاصل از تلاقی با یک گرده‌افشان بیش از ۵۰٪ است. به‌نظر می‌رسد که در این ارقام تجاری، عامل یا عوامل ژنتیکی دیگر موجود در هسته، نرعقیمی را در این گیاهان کنترل می‌کنند. شاید بتوان استفاده از نرعقیمی دیگری علاوه بر سیستم نرعقیمی سیتوپلاسمی آون، را با هدف تسهیل در روند اصلاحی این نوع ارقام کارآمد دانست.

سپاسگزاری

از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند به خاطر در اختیار قرار دادن بذور ارقام چغندرقند مورد مطالعه و امکان انجام تلاقی در مزرعه این مؤسسه صمیمانه قدردانی می‌شود. همچنین از همکاری آقای مهندس واحدی در انجام تلاقی بوته‌های چغندرقند تشکر می‌گردد.

REFERENCES

Arnaud JF, Viard F, Delescluse M, Cuguen J (2003) Evidence for gene flow via seed dispersal from crop to wild relatives in *Beta vulgaris* (Chenopodiaceae): consequences for the release of genetically modified crop species with weedy lineages. Proc. R. Soc. Lond. B. 270: 1565-1571.

Arnaud JF, Viard F, Delescluse M, Cuguen J (2004) Tracing back seed and pollen flow within the crop–wild *Beta vulgaris* complex: genetic distinctiveness vs. hot spots of hybridization over a regional scale. Mol. Ecol. 13: 1357-1364.

Biancardi E, De Biaggi M, Campbell LG, Skaracis GN (2005) Genetics and breeding of sugar beet. Science Publishers, Inc.

Cai D, Kleine M, Kifle S, Horloff HJ, Sandal NN, Marcker KA, Lankhorst RMK, Salentijn EMJ, Lange W, Stiekema WJ, Wyss V, Grundler FMW, Jung C (1997) Positional cloning of a gene for nematode resistance in sugar beet. Sci. 275: 832-834.

Fénart S, Arnaud JF, De Cauwer I, Cuguen J (2008) Nuclear and cytoplasmic genetic diversity in weed beet and sugar beet accessions compared to wild relatives: new insights into the genetic relationships within the *Beta vulgaris* complex species. Theor. Appl. Genet. 116: 1063-1077.

Fievet V, Touzet P, Arnaud JF, Cuguen J (2007) Spatial analysis of nuclear and cytoplasmic DNA diversity in wild sea beet (*Beta vulgaris ssp. maritima*) populations: do marine currents shape the genetic structure. Mol. Ecol. 16: 1847–1864.

Grimmer MK , Trybush S, Hanley S, Francis SA, Kar A, Asher p MJC (2007) An anchored linkage map for sugar beet based on AFLP, SNP and RAPD markers and QTL mapping of a new source of resistance to Beet necrotic yellow vein virus. Theor. Appl. Genet. 114: 1151-1160.

Hallden C, Bryngelsson T, Bosemark NO (1988) Two new types of cytoplasmic male sterility found in wild Beta beets. Theor. Appl. Genet. 75: 561-568.

Laporte V, Merdinoglu D, Saumitou-Laprade P, Butterlin G, Vernet P. J (1998) Cuguen Identification and mapping of RAPD and RFLP markers linked to a fertility restorer

gene for a new source of cytoplasmic male sterility in *Beta vulgaris ssp. Maritima*. Theor. Appl. Genet. 96: 989-996

Maletskaya EI, Yudanova SS, Maletskii SI (2002) Expression of CMS in zygotic and apozygotic progenies of sugar beet *Beta vulgaris*. Russ. J. Genet. 7: 647-654.

Mikami T, Kishima Y, Sugiura M, Kinoshita T (1985) Organelle genome diversity in sugar beet with normal and different sources of male sterile cytoplasms. Theor. Appl. Genet. 71: 166-171.

Nishizawa S, Kubo T, Mikami T (2000) Variable number of tandem repeat loci in the mitochondrial genomes of beets. Curr. Genet. 37: 34-38.

Owen FV (1942) Inheritance of cross- and self-sterility and self−fertility in *Beta vulgaris*. J Agric Res. 64: 679-698

Owen FV (1945) Cytoplasmically inherited male-sterility in sugar beet. J. Agric. Res. 71: 423-440.

Ran Z, Michaelis G (1995) Mapping of a chloroplast RFLP marker associated with the CMS cytoplasm of sugar beet (*Beta vulgaris*). Theor. Appl. Genet. 91: 836-840.

Crop Biotech. Vol. 1, No. 1, 2012

Assessment of Male Sterility in some Sugar Beet Varieties using Chloroplast and Mitochondrial Molecular Markers

A. NASIRI[1], A. MIRZAIE ASL[2]*, M. AGHAIE ZADEH[3], A. DELJOU[4], AND B. MAHMOUDI[5]

1, 2, 4, M. Sc. Student, Assistant Professor, Research Assistant, and Assistant Professor Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University of Hamedan, 3, 5, Research Assistant, and Assistant Professor, Sugar Beet Seed Institute, Karaj

(Received: Oct. 1, 2011- Accepted: Dec. 19, 2011)

ABSTRACT

Some different sources of cytoplasmic male sterility (CMS) have been described in beets. Up to now, hybrid seed production in the sugar beet has exclusively relied on Owen CMS. Discovery of Owen CMS in a sugar beet cultivar has played an important role in the development of hybrid cultivars and changed breeding methods in sugar beet. Hybrid plant cultivars carrying CMS Owen are semi fertile. The aims of this research were to evaluate cytoplasm variation and to determine cytoplasmic male sterility source used in production of new cultivars. Mitochondrial minisatellites and CAPS marker were used. Banding profiles of four cultivars and two male sterile and fertile lines demonstrated the presence of Owen CMS in breeding procedures of these cultivars. Cytoplasmic variation was not observed between cultivars, but more than half of progeny derived by crossing a cultivar plants with SHR01-P12 pollinator plants was sterile. It seems, other nucleus gene(s) besides Owen CMS have been used in producing some new hybrid cultivars.

Keywords: Cytoplasmic variation, Minisatellite markers, Mitochondrial and chloroplast male sterility marker, Sugar beet

* Corresponding author: A. Mirzaie Asl E-mail: a.mirzaie@basu.ac.ir