ژنتیک نوین
دوره دهم، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۴
صفحه ۲۷۸-۲۶۷

تنوع ژنتیکی لاین‌های تیپ–O والدینی با عملکرد و ریزماهواره و ارتباط آن با هتروزیس در چغندرقند

Genetic diversity O-type lines by yield and satellites and its correlation with heterosis in sugar beet (*Beta vulgaris* L.)

زهرا عباسی[۱*]، احمد ارزانی[۲]، محمدمهدی مجیدی[۲]، محمدرضا فتحی[۳]، مستانه شریفی[۴]

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه صنعتی اصفهان و محقق مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان
۲- به ترتیب استاد، دانشیار، دانشگاه صنعتی اصفهان
۳- کارشناس‌ارشد، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند، کرج
۴- کارشناس‌ارشد، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی زرقان شیراز

Abbasi Z[1*], Arzani A[2], Majidi MM[2], fathi MR[3], Sharifi M[4]

1. PhD student, Isfahan University of Technology (IUT), Isfahan-Iran
2. Professor, Associate Professor, College of Agriculture, Isfahan University of Technology (IUT), Isfahan-Iran
3. Instructor, Plant Breeding, Sugar Beet Seed Institute (SBSI), Karaj
4. Instructor, Zarghan Research Center for Agriculture and Natural Resources, Shiraz

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: abasi@sbsi.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱۸- تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۳)

چکیده

مطالعه حاضر به منظور ارزیابی تنوع ژنتیکی بین لاین‌های والدینی چغندرقند از لحاظ صفات عملکردی و مولکولی و بررسی ارتباط بین فاصله ژنتیکی با استفاده از نشانگرهای مولکولی و هتروزیس نتاج انجام گرفت. تعداد ۹ لاین والدینی O- تیپ چغندرقند در قالب طرح دای‌آلل ۹×۹ تلاقی و ۳۶ نتاج سینگل کراس حاصل به همراه والدین در قالب طرح لاتیس ۷×۷ در سه تکرار از نظر صفات عملکری مورد ارزیابی قرار گرفتند. ارزیابی مولکولی بر روی ۷۲ ژنوتیپ والدینی (۸ بوته از هر والد) و با استفاده از ۱۸ نشانگر ریزماهواره (SSR و EST-SSR) انجام شد. تجزیه خوشه‌ای مورفولوژیکی لاین‌های والدینی را در دو گروه با پتانسیل عملکرد بالا و پایین قرار داد. نتایج تجزیه خوشه-ای براساس داده‌های مولکولی و مورفولوژیک حاکی از هماهنگی بالای بین دو گروه‌بندی ژنوتیپ‌های والدینی داشت. مقادیر اطلاعات چند شکلی (PIC) برای جایگاه‌های ریزماهواره‌ای (۰/۱۵۶-۰/۸۵۸) نشان دهنده کارآمد بودن نشانگرهای SSR و EST-SSR در تشخیص چند شکلی میان لاین‌ها بوده است. با وجود کارآمد بودن نشانگر-ها، میان فاصله ژنتیکی برآورد شده توسط نشانگرهای مولکولی ریزماهواره با میزان هتروزیس در ۳۶ هیبرید بررسی شده از نظر صفات عملکردی رابطه معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج تجزیه رگرسیون ساده خطی نیز بیانگر وجود رابطه خطی ضعیف بین فاصله ژنتیکی بر اساس نشانگرهای مولکولی و عملکرد هیبریدها بود. برای دستیابی به نشانگرهای با ارزش پیش‌گویی کننده در برآورد پتانسیل هیبرید و هتروزیس، مناسب‌ترین راه‌کار استفاده از نشانگرهای دارای پیوستگی بالا با صفات مربوط به عملکرد می‌باشد.

واژه‌های کلیدی

تنوع ژنتیکی
چغندرقند
نشانگرهای ریزماهواره
DNA

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

مقدمه

چغندرقند تنها محصول ذخیره کننده ساکارز در نواحی مدیترانه است که حدود ۲۵ درصد کل تولید شکر جهان را به خود اختصاص داده‌است و بنابراین از اهمیت اقتصادی بالایی برخوردار است. این گیاه خود ناسازگار[1] و دگرگشن بوده و همه ارقام تجاری کشت شده در کشورهای توسعه یافته عمدتا هیبرید می-باشند (McGrath et al. 2007). موفقیت در برنامه‌های اصلاحی ایجاد ارقام هیبرید وابسته به توانایی اصلاح کننده در شناخت لاین‌های والدینی است که کارایی بالا در تولید هیبرید داشته باشند. روش‌های مختلفی برای پیش‌بینی عملکرد هیبریدها استفاده شده که شامل الف) عملکرد لاین‌های والدینی که به دلیل پوشش دادن اثرات غالبیت قوی برای صفت عملکرد، به طور معتبر پیش-بینی‌کننده ظهور هیبرید نمی‌باشد؛ ب) تلاقی‌های دای آلل والدین، آزمون تلاقی و بررسی قابلیت ترکیب پذیری عمومی و خصوصی؛ ج) فاصله ژنتیکی والدین که از طریق اطلاعات جغرافیایی، خصوصیات مورفولوژیکی، داده‌های شجره‌ای و نشانگرهای مولکولی حاصل می‌شود (Virmani 1994). ارزیابی لاین‌ها با استفاده از روش‌های مرسوم تلاقی و بررسی قابلیت ترکیب‌پذیری، پرهزینه، وقت‌گیر و نیازمند ارزیابی‌های مزرعه‌ای وسیع می‌باشد، ضمن اینکه با افزایش تعداد اینبردها، تعداد تلاقی‌ها به سرعت افزایش می‌یابد و در بسیاری مواقع ارزیابی تمام ترکیبات ممکن مقدور نمی‌باشد (Hallauer and Miranda 1988).

نشانگرهای ریزماهواره (SSR) به‌دلیل چند شکلی بالا، توارث پذیری و همبارز بودن، نشانگرهای مطلوبی برای دامنه وسیعی از کاربردها از جمله تهیه نقشه ژنتیکی، گزینش به کمک نشانگر، مطالعات ژنتیک جمعیت و مشخص کردن تغییرات ژنتیکی در ژرم پلاسم هستند (Kalia et al. 2011). نشانگرهای ریزماهواره عموما سطح بالاتری از چند شکلی را نشان می‌دهند و با توجه به فراوانی تعداد آلل در هر جایگاه حتی قادر به تمایز بین رگه‌های مشابه نیز هستند (Nachit et al. 2001; Hajmansur et al. 2010). در چغندرقند انواع مختلف از نشانگرهای بیوشیمیایی و مولکولی تولید و مورد استفاده قرارگرفته‌اند که در میان انواع نشانگرهای مولکولی، نشانگرهای SSR با توجه به ویژگی‌های بسیار مطلوب، کاربرد گسترده‌ای در زمینه ژنتیک و اصلاح این گیاه داشته است. ماهیت همبارزی نشانگرهای SSR اجازه می‌دهد تا روابط آللی در میان ارقام به خوبی تخمین زده شود. این ویژگی به خصوص برای برنامه اصلاحی چغندرقند به‌عنوان محصول خود ناسازگار و دگرگرده‌افشان مناسب است (Rae et al. 2000). در چغندر قند، چند صد نشانگر SSR تهیه شده و نقشه‌های ژنتیکی بر اساس این نشانگرها موجود می‌باشد (Laurent et al. 2007; McGrath et al. 2007). نشانگرهای SSR به عنوان ابزاری قدرتمند برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در چغندر قند و همچنین ارقام وحشی یافت شده است (Richards et al. 2004). این نشانگرها به طور گسترده‌ای برای تجزیه و تحلیل ژنتیکی جمعیت در گونه‌های مختلف چغندر استفاده شده‌اند (Arnaud et al. 2003; Viard et al. 2004) که در این راستا، موضوعاتی از قبیل: جریان ژن و اینترگرسیون از گیاه چغندر قند به خویشاوندان وحشی آنها (Viard et al. 2002)، تنوع ژنتیکی و بررسی ساختار جمعیت چغندر وحشی Arnaud et al. 2003) و بررسی روابط فیلوژنتیکی (Viard et al. 2002; Arnaud et al. 2003; Fénart et al. 2008; Arnaud et al. 2009) مورد بررسی قرار گرفته‌است. با این حال، گزارش‌ها در زمینه تنوع ژنتیکی ژرم پلاسم چغندرقند با استفاده از نشانگرهای SSR اندک هستند (Li et al. 2010).

Chougan (2005) به منظور گروه‌بندی لاین‌های ذرت ایرانی و تعیین گروه‌های هتروتیک، تعداد ۵۲ اینبرد لاین متوسطرس تا دیررس ذرت ایرانی در مزرعه ارزیابی و با استفاده از ۴۶ نشانگر SSR رابطه بین اینبردها مشخص شد. براساس فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگرهای ریزماهواره، لاین‌ها به چهار گروه مجزا طبقه بندی شدند که تا حد زیادی منطبق با اطلاعات شجره‌ای موجود آنها بود. دو گروه از این چهار گروه بیشترین فاصله ژنتیکی را با هم داشتند. این در حالی است که هیبریدهای بین این دو گروه بیشترین عملکرد را در ایران دارند. Melchinger (1999) معتقد است زمانی‌که لاین‌ها از زمینه ژنتیکی نزدیکی برخوردار باشند و شواهد فنوتیپی کافی برای تعیین شجره آن‌ها وجود نداشته باشد نشانگرهای SSR ابزار مفیدی جهت انتساب لاین‌های اینبرد به گروه‌های هتروتیک شناخته شده می‌باشند.

[1] Incompatible

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

با توجه به اهمیت لاین‌های تیپ-o چغندرقند، تحقیق حاضر به بررسی تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های تیپ-o والدینی با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره و صفات عملکردی و بررسی ارتباط بین فاصله ژنتیکی و هتروزیس نتاج پرداخته است.

مواد و روش‌ها

مواد ژنتیکی

در این مطالعه از ۹ لاین تیپ-Oوالدی (جدول ۱) استفاده شد. در حال حاضر در موسسه تحقیقات چغندرقند کرج سینگل کراس این لاین‌ها به‌عنوان والدین مادری هیبریدهای تجاری مورد استفاده قرار می‌گیرند. برای مثال 7112×436 والد مادری رقم جلگه و 419×474 والد مادری رقم شریف می‌باشند (Sadeghian 2005).

ارزیابی مورفولوژیکی

تلاقی دای‌آلل ۹×۹ بین والدین انجام گرفت و ۳۶ نتاج سینگل-کراس حاصل از تلاقی به همراه ۹ والد و ۴ شاهد در قالب طرح لاتیس ۷×۷ با ۳ تکرار در اردیبهشت ماه ۱۳۹۰ در مزرعه کمال آباد کرج مورد ارزیابی قرارگرفتند. هر کرت شامل ۳ ردیف ۸ متری با فاصله ردیف ۵۰ سانتی‌متر بود. کاشت بذور با دستگاه بذر کار انجام گرفت. عملیات آماده‌سازی زمین برای کشت، کنترل علف‌های هرز و آفات و آبیاری طبق روال معمول انجام گرفت. محصول در آبان ماه ۱۳۹۰ برداشت شد. ریشه‌های هر کرت پس از برداشت با دستگاه چغندرکن، سرزنی، شمارش و توزین شدند که به عنوان عملکرد ریشه (RY) در نظر گرفته شد. نمونه‌ها پس از شستشو، جهت تهیه خمیر به آزمایشگاه کارخانه قند اصفهان ارسال شد. در آزمایشگاه از هر ژنوتیپ یک نمونه خمیر تهیه و پس از انجماد فوری نمونه‌ها، جهت تجزیه کیفی به آزمایشگاه تکنولوژی قند موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند منتقل شد. در آزمایشگاه با استفاده از دستگاه بتالایزر محتوی قند ناخالص و خالص ریشه اندازه‌گیری شد. عملکرد قند ناخالص (SY) از حاصلضرب عملکرد ریشه در محتوی قند ناخالص حاصل شد (Biancardi et al. 2010).

ارزیابی مولکولی

از گیاهچه‌های سه هفته‌ای جهت استخراج DNA استفاده شد. بدین ترتیب که برگ‌های ۸ بوته از هر والد به صورت تصادفی انتخاب و DNA به صورت تک بوته از ۷۲ ژنوتیپ با استفاده از روش Murray and Thompson (1998) استخراج شد. سپس نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفوتومتری (NANODROP 9600) مورد ارزیابی کمی و کیفی قرار گرفتند. در این مطالعه تعداد ۲۲ جفت آغازگر SSR و EST-SSR با میزان اطلاعات چند شکلی بالا[1](PIC) از منابع مختلف طوری انتخاب شدند که در هر گروه لینکاژی حداقل دو نشانگر قرار گرفت (جدول ۲). محلول PCR برای نمونه‌ها در حجم ۱۰ میکرولیتری حاوی ۳۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۰/۱ میلی‌مول مخلوط نوکلئوتیدها (dNTPs)، ۰/۳ پیکومول از آغازگر برگشت، ۰/۰۸ پیکومول از آغازگر رفت دنباله‌دارشده با M13 (´5-tgtaaaacgacggccagt-3´) در انتهای ´5 (Schuelke, 2000)، ۰/۰۵ پیکومول M13 (IRD700/800) نشاندارشده با فلورسنت، ۱/۵ میلی‌مول کلرید منیزیم، ۰/۵ واحد آنزیم *Taq* DNA polymerase تهیه شد. با توجه به اینکه در الکتروفورز امکان تفکیک همزمان دو آغازگر وجود داشت، از آغازگرهای دنباله‌دار استفاده شد. نمونه‌ها در ترموسایکر PTC 200 (Bio-Rad Laboratories Inc.) قرار گرفتند که در آن واکنش PCR به صورت یک چرخه واسرشت‌سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و ۳۵ چرخه شامل ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه‌سانتی‌گراد (واسرشت‌سازی)، ۴۵ ثانیه در دمای اتصال آغازگرها، ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه‌سانتی‌گراد (بسط قطعات) و یک مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه‌سانتی‌گراد و به مدت ۱۰ دقیقه برنامه‌ریزی شد. محصولات حاصل از PCR نشاندار شده با IRD700 و IRD800 به نسبت مساوی با هم مخلوط شدند و در الکتروفورز عمودی ژل پلی‌اکریل‌آمید ۶/۵ درصد با کمک دستگاه DNA Analyser 4300 (LI-COR Inc., Lincoln, NE, USA.) تفکیک و ارزیابی شدند. نشانگرهای حاصل برحسب حضور یا عدم حضور باندها و به صورت جفت باز با استفاده از نرم‌افزار Saga امتیاز دهی شده و ماتریس دو تایی از داده‌ها را تشکیل دادند. این ماتریس به‌عنوان ورودی برای تجزیه‌های آماری مورد استفاده قرار گرفت.

[1] Polymorphism information content

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

جدول۱- فهرست لاین‌های والدینی چغندرقند مورد استفاده در ارزیابی مورفولوژیکی و مولکولی

ردیف	نام*	خصوصیت	ردیف	نام	خصوصیت
1	452	مونوژرم دیپلوئید	6	7112	مونوژرم دیپلوئید- مقاوم به بولتینگ
2	231	مونوژرم دیپلوئید	7	419	مونوژرم دیپلوئید
3	436	مونوژرم دیپلوئید	8	SB36	مونوژرم دیپلوئید
4	474	مونوژرم دیپلوئید	9	261	مونوژرم دیپلوئید
5	428	مونوژرم دیپلوئید			

* این شماره‌ها، نام لاین‌های تیپ-O هستند که در موسسه تحقیقات چغندرقند کرج نیز با همین شماره‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند و نام دیگری ندارند.

جدول ۲- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

نام نشانگر	نوع نشانگر	مکان کروموزومی	منبع	توالی رفت و برگشت ('3-'5)
2KWS	SSR	2	KWS institute	F: ACTTCAACCACTATCACAAAGTGAG R: ATCTTATGCTGCCATGACCA
Bmb3	SSR	-	Cureton et al. 2002	F: CATTGARCAACAGAGCCCWG R: GATGGGTTGAGGTGGAAGAT
cmo	SSR	6	Schneider et al. 1999	F: TTCTTGCTTGTGGAAGTGGC R: AGGATCAAAAGCATGGGCCT
badh	SSR	5	Schneider et al. 1999	F: TGGCAGCAAAGTGATGGCTT R: TTCAAATGCTCAGGACGGGA
Bvm3	SSR	9	Laurent et al. 2007	F: ACCAAATGACTTCCCTCTTCTT R: ATGGTGGTCAACAATGGGAT
FDSB1007	SSR	8	Laurent et al. 2007	F: ATTAGAATAGCATCAATTGTGG R: CCTTATAGTTGGAATTGAGAAA
FDSB1027	SSR	3	Laurent et al., 2007	F:CAGGCATGAGTAGCATGAACTAAAG R:GCTGGATGCTGACAACTATGAAAC
FDSB1250	EST_SSR	7	Laurent et al. 2007	F: TTCACCGCCTGAATCTTTTC R: CGACGAAGAATCGGGTAAAA
FDSB1300	EST_SSR	2	Laurent et al. 2007	F: AATTTAAACGCGAGAGCAGC R: TCAGCTTCTGGGCTTTTTGT
FDSB1427	EST_SSR	9	Laurent et al., 2007	F: TTGAAGGCTCACCTCAAACAAA R: CTGTTGCTGTTGCTGTTGCT
FDSB502	EST_SSR	7	Laurent et al. 2007	F: GCAAAAACCCAAAACCCTTT R: TTTCTCTCTCCTCCTCTTCCTC
FDSB568	EST_SSR	6	Laurent et al. 2007	F: TTCTGGGGATGATTTCTTCG R: CCGGGACAGAGAGAACAGAG
FDSB957	EST_SSR	3	Laurent et al. 2007	F: TCAATCCATCTCTATTCTCTCCG R: GTCATGGTTGGTCGATCCTT
SB04	SSR	5	Richards et al. 2004	F: ACCGATCACCAATTCACCAT' R: GTTTTGTTTTGGGCGAAATG
SB06	SSR	4	Richards et al. 2004	F: AAATTTTCGCCACCACTGTC R: ACCAAAGATCGAGCGAAGAA
SB07	SSR	4	Richards et al. 2004	F: TGTGGATGCGCTTTCTTTTC R: ACTCCACCCATCCACATCAT
SB13	SSR	3	Richards et al. 2004	F-ACAGCAAGATCAGAGCCGTT' R-TGGACCCACCATTTACATCA
SB15	SSR	5	Richards et al. 2004	F: CACCCAGCCTATCTCTCGAC R: GTGGTGGGCAGTTTTAGGAA
USDA29	SSR	8	McGrath et al. 2007	F: ACACACTTTCTGTCTCCTCTA R: CTCAGTACTCTCCATCTCCAT
GTT1	SSR	6	McGrath et al. 2007	F: CAAAAGCTCCCTAGGCTT R: ACTAGCTCGCAGAGTAATCG
BQ583448	SSR	1	McGrath et al. 2007	F: AAGACTACGTGGATCCACCA R: ATAGGCACATGAGAGTCACG
BQ588629	SSR	1	McGrath et al. 2007	F: TGTCTACACCGTCTTCTCTG/ R: TGCTAGTGCTGCTCCAATGA

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه خوشه‌ای داده‌های مورفولوژیک بین لاین‌های والدی براساس صفات عملکردی و به روش وارد انجام گرفت. هتروزیس نسبت به میانگین والدین (MPH) برای عملکرد ریشه و عملکرد قند نیز از رابطه زیر بدست آمد (Makumbi et al. 2011):

$$MPH= (F_1-MP) /MP\times100 \quad \text{(رابطه ۱)}$$

که در این رابطه F_1 میانگین عملکرد هیبرید و MP میانگین عملکرد دو والد می‌باشد.

روابط همبستگی بین فاصله ژنتیکی (GD) لاین‌های والدی چغندرقند با استفاده از نشانگرهای مولکولی و عملکرد سینگل-کراس‌ها و هتروزیس نسبت به میانگین والدین با همبستگی ساده پیرسون و رگرسیون خطی ساده در (SASInstitute) (SAS9.1 2001 انجام گرفت.

داده‌های مولکولی با استفاده از ماتریس ۷۲×۱۸ اطلاعات توصیفی نشانگرها از جمله تعداد آلل، فراوانی آلل اصلی، اطلاعات چند شکلی (PIC) و هتروزیگوسیتی مشاهده شده و مورد انتظار با استفاده از نرم افزار Powermarker v3.25 (Liu 2002) حاصل شد. میزان اطلاعات چند شکلی معادل تنوع ژنتیکی بوده و قدرت تفکیک یک نشانگر را به واسطه تعداد آلل‌های مکان ژنی نشانگر و فراوانی نسبی این آلل‌ها در جمعیت تحت مطالعه نشان می‌دهد (Senior et al. 1998). PIC برای هر جایگاه SSR با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^{k} P_i^2 \quad \text{(رابطه ۲)}$$

که در این رابطه P_i فراوانی آلل i ام و k تعداد آلل‌ها در آن جایگاه ژنی می‌باشد.

با استفاده از نرم‌افزار PopGene32 فاصله ژنتیکی والدین به روش Nie (1972) محاسبه و دندروگرام والدین با استفاده از ضریب نی و روش UPGMA ترسیم شد.

نتایج و بحث

در این تحقیق از بین ۲۲ جفت آغازگر SSR و EST-SSR مورد بررسی، آغازگر *badh* چند شکلی نشان نداد و در سه آغازگر *BQ583448*، *cmo* و *FDSB1427* باندی تکثیر نشد. نتایج نشان داد که تعداد ۸۹ آلل (با متوسط ۴/۷ آلل در هر جایگاه) از ۱۸ جفت نشانگر ریزماهواره در ۷۲ ژنوتیپ مورد مطالعه تکثیر شدند. تعداد آلل‌ها در هر جایگاه از دو تا ۱۳ آلل (به‌ترتیب مربوط به نشانگر *GTT1* و*KWS 2*) و طول قطعات آلل‌ها در دامنه ۱۲۳ تا ۲۹۴ جفت‌باز قرار داشتند (جدول۳). نمونه‌ای از الگوی نواری نشانگر *FDSB502* در تعدادی از لاین‌های تیپ-O والدی در شکل ۱ نشان داده شده است. میزان اطلاعات چند شکل (PIC) برای جایگاه‌های ریزماهواره‌ای در فاصله ۰/۱۵۶ تا ۰/۸۵۸ متغیر بوده و میانگینی برابر ۰/۵۰ داشت (جدول ۳). در این آزمایش، میانگین هتروزیگوسیتی مورد انتظار (He) برابر ۰/۵۷۵ و میانگین هتروزیگوسیتی مشاهده شده (Ho) برابر ۰/۳۵ محاسبه شد (جدول ۳). بنابراین نشانگرهای *2KWS* و *FDSB502* با تعداد آلل زیاد و دارا بودن مقادیر اطلاعات چند شکلی بالا (به ترتیب مقادیر PIC برابر با ۰/۸۵۸ و ۰/۷۹۸)، بیشترین کارائی را در جهت شناسایی مولکولی لاین‌های چغندرقند داشتند. تنوع آللی حاصل در این مطالعه قابل مقایسه با تنوع ۱۱-۲ آللی بدست آمده توسط Richards et al. (2004) است که در مجموعه‌ای از ژنوتیپ‌های چغندرقند با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره حاصل شد. Smulders et al. (2010) نیز گزارش کردند که بر اساس نشانگر-های مولکولی بین ۲۱-۳ هاپلوتایپ در ۴۰ رقم دیپلوئید و تریپلوئید تکثیر شد.

در این مطالعه سطح بالای چندشکلی بدست آمده از ۱۸ جفت نشانگر بر روی ۷۲ ژنوتیپ (PIC بین ۰/۱۵۶ تا ۰/۸۵۸ و میانگین ۰/۵) در واقع بیانگر وجود ریزماهواره‌های حاوی اطلاعات مفید می‌باشد. در واقع میزان چندشکلی در یک گونه به طور زیاد وابسته به نوع ژرم‌پلاسم، تعداد لاین‌های انتخابی و نوع نشانگر مولکولی دارد (Richards et al. 2004).

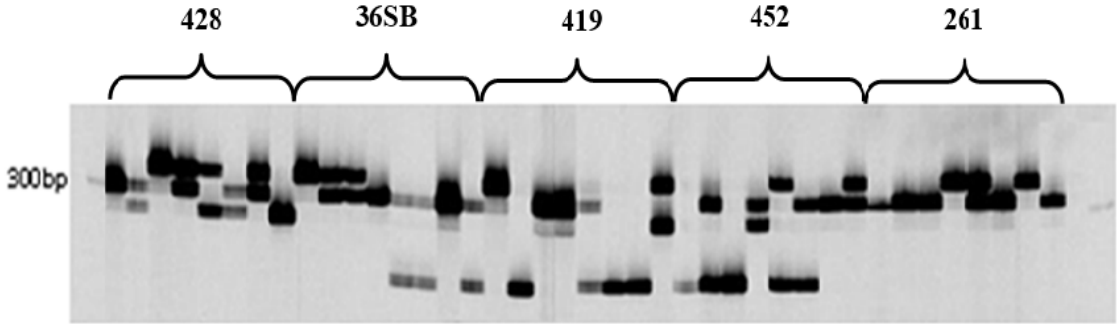
نتایج تجزیه خوشه‌ای با استفاده از الگوریتم UPGMA و ضریب نی ژنوتیپ‌های والدی را در دو گروه مجزا قرار داد (شکل ۲). این نتیجه در تطابق با نتایج Li et al. (2010) بود که با استفاده از ۲۳ نشانگر ریزماهواره، والدین بذری چغندرقند به‌خوبی از والدین گرده افشان پدری متمایز شدند. در روش گروه‌بندی، ژنوتیپ‌های داخل یک کلاستر حداقل فاصله ژنتیکی را داشته و

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

جدول ۳- اطلاعات مربوط به جایگاه‌های ریزماهواره‌ای مورد استفاده در ۷۲ ژنوتیپ از ۹ لاین والدی چغندرقند

نام نشانگر	دامنه باند (bp)	فراوانی آلل اصلی	تعداد آلل	He	Ho	PIC
2KWS	228-262	0.207	13	0.871	0.345	0.858
Bmb3	262-282	0.533	6	0.66	0.317	0.534
BQ588629	162-192	0.672	4	0.509	0.437	0.473
Bvm3	123-188	0.464	7	0.686	0.470	0.639
FDSB1007	278-294	0.804	4	0.330	0.127	0.299
FDSB1027	207-235	0.506	7	0.670	0.610	0.630
FDSB1250	176-184	0.517	3	0.545	0.151	0.444
FDSB1300	130-146	0.724	3	0.432	0.230	0.386
FDSB502	272-320	0.300	10	0.819	0.424	0.798
FDSB568	222-248	0.441	4	0.683	0.337	0.431
FDSB957	138-142	0.674	2	0.440	0.217	0.343
SB04	192-208	0.543	6	0.791	0.51	0.721
SB06	175-181	0.622	2	0.475	0.209	0.367
SB07	274-294	0.911	3	0.164	0.076	0.156
SB13	139-151	0.482	3	0.595	0.386	0.510
SB15	153-185	0.613	5	0.557	0.452	0.504
USDA29	145-157	0.557	3	0.534	0.506	0.436
GTT1	122-138	0.555	4	0.592	0.488	0.528
badh$^{€}$	800	1	1	-	-	-
*BQ583448**	-	-	-	-	-	-
*cmo**	-	-	-	-	-	-
*FDSB1427**	-	-	-	-	-	-
Mean		0.923	4.737	0.575	0.350	0.503

*این نشانگرها قابل تکثیر نبودند.$^{€}$ این نشانگر مونومورف بود



شکل ۱- الگوی نواری نشانگر *FDSB502* در ۸ بوته (ژنوتیپ) از لاین‌های تیپ-o والدینی چغندرقند به نام‌های 428، 36SB، 419، 452 و 261

*این شماره‌ها، نام لاین‌های تیپ-O هستند که در موسسه تحقیقات چغندرقند کرج نیز با همین شماره‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند و نام دیگری ندارند.

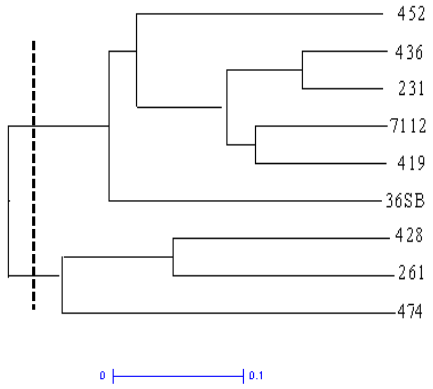
میزان تنوع بین آنها محدود می‌باشد (متشابه‌ترین) و از طرف دیگر ژنوتیپ‌های کلاسترهای مختلف حداکثر فاصله ژنتیکی را از یکدیگر داشته و دامنه تنوع بین آنها وسیع‌تر است (متنوع‌ترین). در این مطالعه با وجود تشابه مولکولی زیاد بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی (حداقل مقدار GD برابر ۰/۰۱۴ و حداکثر مقدار GD برابر ۰/۱۱۷) (جدول ۴)، نشانگرهای ریزماهواره قادر به گروه بندی شدند. مطالعات دیگر نیز نشان داده که نشانگرهای ریزماهواره در تخمین تنوع ژنتیکی و تعیین گروه‌های هتروتیک بین ارقام دارای وابستگی ژنتیکی زیاد، برای بسیار کارآمد بوده‌اند (Hajmansur et al. 2010). اختلاف ژنتیکی به دست آمده بین لاین‌های اصلاحی چغندرقند در این مطالعه به‌طور قابل توجهی کمتر از تنوع ژنی توصیف شده توسط Arnaud et al. (2003; 2009) بر روی جمعیت‌های وحشی چغندرقند می‌باشد که با استفاده از نشانگرهای SSR حاصل شده‌اند. این نتیجه که در اثر برنامه‌های اصلاحی و انتخاب‌های شدید برای منوژرمی در اینبرد لاین‌های منوژرم مورد مطالعه حاصل شده، قابل انتظار است.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

جدول ۴- فاصله ژنتیکی نی بین لاین‌های والدینی تیپ- O چغندرقند

والدین	452	436	231	419	SB36	7112	428	261	474
452	1								
436	0.046	1							
231	0.046	0.014	1						
419	0.055	0.029	0.038	1					
SB36	0.068	0.033	0.040	0.072	1				
7112	0.044	0.015	0.034	0.025	0.060	1			
428	0.054	0.050	0.075	0.057	0.078	0.042	1		
261	0.085	0.076	0.088	0.117	0.086	0.075	0.042	1	
474	0.058	0.058	0.074	0.102	0.065	0.044	0.043	0.088	1

گروه‌بندی مورفولوژیک نیز والدهای پرمحصول 452، 261، 231، 7112 و SB36 را در یک گروه و والدهای کم محصول 436، 474، 428 و 419 را در گروه دیگر قرار داد (شکل ۳). با وجود تشابه بالا بین ژنوتیپ‌ها (جدول ۴)، گروه‌بندی لاین ها بر اساس نشانگرهای مولکولی (شکل۲) تا حد زیادی با گروه‌بندی مورفولوژیکی لاین‌ها براساس صفات عملکردی (شکل۳) مطابقت داشت، به طوری که لاین‌های 428 و 474 که هر دو از نظر عملکرد ریشه و قند نسبت به بقیه والدها ضعیف‌تر بودند، براساس گروه‌بندی مولکولی نیز با هم در یک گروه و لاین‌های دارای عملکرد بالا یعنی 452، 231 و 7112 نیز در گروه‌بندی مولکولی در یک گروه قرار گرفتند.



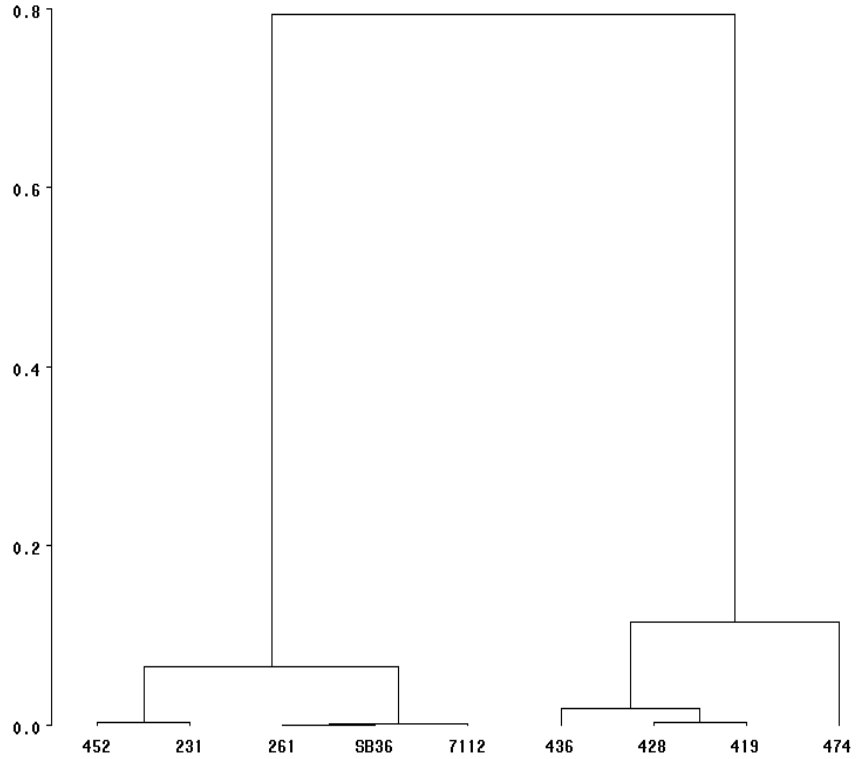
شکل ۲-گروه‌بندی ۹ لاین تیپ-o والدینی چغندرقند (جدول۱) بر اساس ۱۸ نشانگر مولکولی SSR با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای UPGMA و فاصله ژنتیکی نی.

در تحقیقی که بر روی مطابقت دندروگرام حاصل از صفات مورفولوژیک و مولکولی انجام شده است مشخص شد که هرگاه اطلاعات مولکولی بین دو ژنوتیپ شباهت ژنتیکی نشان می‌دهند این دو از نظر مورفولوزیکی نیز مشابه یکدیگر هستند همچنین ژنوتیپ‌هایی که از نظر صفات مورفولوژیک با هم اختلاف زیادی دارند از نظر تشابه ژنتیکی نیز کمترین تشابه را نشان دادند (Burstin and Charcosset 1997). در این تحقیق همبستگی معنی‌داری میان فاصله ژنتیکی محاسبه شده بر اساس نشانگرهای SSR و مقادیر هتروزیس مشاهده نشد (جدول ۵). نتایج تجزیه رگرسیون ساده خطی (شکل۴) نیز بیانگر وجود رابطه خطی ضعیف بین فاصله ژنتیکی بر اساس نشانگرهای مولکولی و عملکرد هیبریدها در دو صفت عملکرد ریشه و عملکرد قند بود. نتیجه به‌دست آمده در این مطالعه با نتایج دیگر محققین Xiao et al. (1996)، Dreisigacker et al. (2005) و Mohsenifard et al. (2011) که همگی از نشانگرهای ریزماهواره برای تعیین فاصله ژنتیکی استفاده کرده بودند و ارتباطی بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر این نشانگر مولکولی و کارایی هیبرید مشاهده نشده بود، مطابقت و همسویی دارد. همبستگی بین فاصله ژنتیکی والدین براساس نشانگر و کارایی هیبرید به میزان زیادی به ژرم پلاسم مورد مطالعه بستگی دارد، به‌طوری که Zhang et al. (1996) با مطالعه چهار سری داده از چهار جمعیت مختلف برنج، نتایج متفاوتی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

جدول۵- همبستگی فاصله ژنتیکی نی بر اساس نشانگرهای SSR در بین ژنوتیپ‌های والدی با عملکرد هیبرید و هتروزیس نسبت به میانگین والدین (MPH) برای دو صفت عملکرد ریشه (RY) و عملکرد قند (SY)

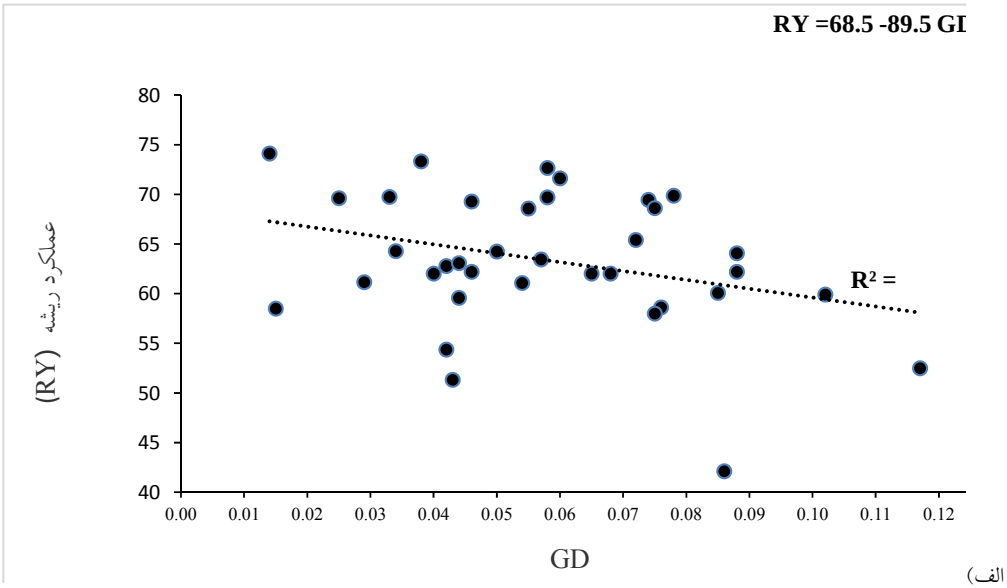
	عملکرد هیبرید		هتروزیس نسبت به میانگین والدین(MPH)	
صفات	عملکرد ریشه	عملکرد شکر	عملکرد ریشه	عملکرد شکر
فاصله ژنتیکی	-0.316	-0.318	-0.180	-0.226
سطح احتمال	0.041	0.048	0.315	0.205

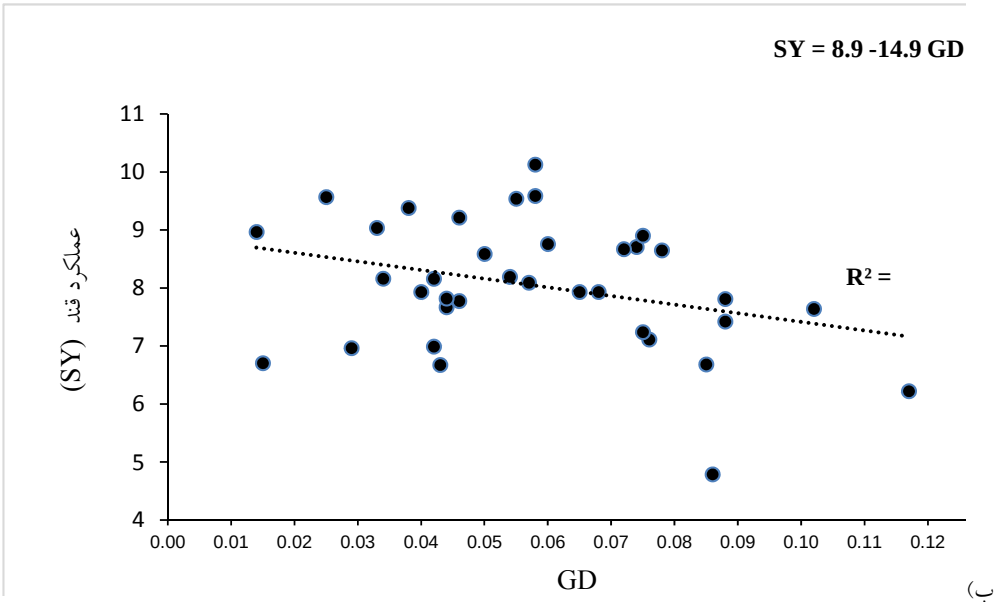


شکل ۳-گروه‌بندی ۹ لاین تیپ-o والدینی چغندرقند (جدول۱) بر اساس صفات کمی عملکرد ریشه و عملکرد شکر با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای وارد

از ارتباط فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر مولکولی و کارایی هیبرید براساس جمعیت مورد بررسی به دست آوردند. گزارش کردند که هتروزیس و همبستگی بدست آمده از یک سری داده به سری دیگر، تفاوت معنی‌داری دارد که این موضوع می‌تواند به‌دلیل پیچیدگی پایه ژنتیکی هتروزیس باشد. همچنین شبیه بودن لاین‌های مورد مطالعه در این تحقیق و عدم وجود فاصله ژنتیکی آشکار بین آنها می‌تواند یکی از دلایل عدم همبستگی معنی‌دار بین فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگر و کارایی هیبرید باشد که این موضوع در بررسی به‌عمل آمده توسط Kwon et al. (2002) نیز مورد تایید قرار گرفته است. علاوه براین، وراثت‌پذیری صفات و نوع عمل ژن می‌تواند در ایجاد عدم همبستگی موثر باشد، به‌طوری که هرچه ژن‌های کنترل کننده صفات مربوطه دارای اثر غالبیت بیشتری باشند، امکان دستیابی به همبستگی معنی‌دار افزایش می‌یابد. شاید یک دلیل عمده همبستگی ضعیف، پیوستگی کم مکان‌های ژنی نشانگرها با QTLهای مربوط به عملکرد می‌باشد. در واقع زمانی می‌توان از نشانگرهای مولکولی به عنوان یک ابزار مفید در پیش‌بینی کارایی هیبرید استفاده کرد که ژن‌های کنترل کننده صفات مهم روی نقشه‌های لینکاژی اشباع شده انتخاب شوند و نشانگرها پیوستگی قوی با QTLها داشته باشند. Bernardo (1992) همبسته بودن حداقل ۵۰- ۳۰ درصد

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]





شکل ۴- الف) ارتباط بین عملکرد ریشه هیبرید (RY) با فاصله ژنتیکی (GD)، ب) ارتباط بین عملکرد قند هیبرید (SY) با فاصله ژنتیکی (GD) بر اساس ۱۸ نشانگر SSR محاسبه شده روی لاین‌های والدینی چغندرقند

مکان‌های ژنی صفات کمی و نشانگرهای مولکولی را از شرایط ضروری برای پیش بینی موثر هیبرید توسط نشانگر مولکولی دانسته است. اگرچه هتروزیس پدیده پیچیده‌ای است که پیش‌بینی آن از طریق فاصله ژنتیکی مشکل است (Melchinger 1999)، ولی با این وجود، انتخاب نشانگرهای دارای پیوستگی با مکان-های ژنی دخیل در عملکرد، استفاده از تعداد نشانگر بیشتر به منظور پوشش دادن کامل‌تر ژنوم و استفاده از این نشانگرها در تعامل با سایر نشانگرها نظیر AFLP و RAPD و در نهایت افزایش لاین‌های والدینی و بررسی تلاقی‌های بیشتر می‌تواند در ارزیابی کارایی نشانگرها در انتخاب والدین مناسب جهت تلاقی

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

های آتی سودمند باشد (Makumbi et al. 2011). به‌طور کلی شرایط ضروری برای پیش بینی عملکرد هیبرید بر اساس هتروزیگوسیتی نشانگرهای مولکولی شامل الف) اثرات غالبیت قوی برای صفات مورد نظر؛ ب) وجود همبستگی منفی بین فراوانی آلل‌ها در والدین؛ ج) وراثت‌پذیری بالای صفات مورد نظر؛ د) پایین بودن دامنه تغییرات در متوسط فراوانی‌های آللی والدین؛ ه) پیوستگی حداقل ۵۰-۳۰ درصد از QTL به نشانگر-های مولکولی؛ و) بیش از ۳۰-۲۰ درصد از نشانگرهای مولکولی غیرپیوسته به QTL نباشند (Bernardo 1992).

از آنجا که نشانگرهای EST–SSR با نواحی کدشونده ژنوم بستگی دارد (Kalia et al. 2011)، به نظر می‌رسد بهتر از سایر نشانگرهای متداول بتواند امکان ارزیابی مستقیم تفاوت های ژنتیکی را در بین جفت والدین فراهم کرده و اصلاح‌گر را در تصمیم‌گیری برای انتخاب والدین تلاقی برای ایجاد رقم جدید کمک کند. با توجه به اینکه در این مطالعه در درجه اول بررسی تنوع ژنتیکی لاین‌ها با نشانگرهای مولکولی موردنظر بود و از آنجا که نشانگرهای SSR نسبت به EST–SSR فراوانی آللی بیشتری دارند (Kalia et al. 2011)، بنابراین از نشانگرهای SSR و EST–SSR هر دو استفاده شد تا تفکیک و گروه‌بندی لاین‌ها به-خوبی صورت گیرد.

هرچند نشانگرهای مولکولی به‌طور موفقیت‌آمیزی برای پیش بینی هتروزیس در گونه‌هایی نظیر ذرت (Reif et al. 2003)، آفتابگردان (Cheres et al. 2000) و کلزا (Diers et al. 1996) استفاده شده، ولی گزارشات در زمینه این جنبه کاربردی نشانگرهای مولکولی یعنی تعیین گروه های هتروتیک و شناسایی ترکیبات والدی مناسب در چغندرقند موجود نمی‌باشد و بنابراین پژوهش حاضر از اهمیت خاصی در زمینه کاربرد نشانگرهای ریزماهواره در بررسی الگوهای هتروتیک در چغندرقند برخوردار می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج نشان داد که انتخاب یک مجموعه نسبتا کم اما دارای میزان PIC بالا از نشانگرهای ریز ماهواره به‌خوبی می‌تواند در گروه-بندی ژنتیکی و تمایز لاین‌های بسیار مشابه نتیجه‌بخش باشد. برای دستیابی به نشانگرهای با ارزش پیش‌گویی کننده در برآورد پتانسیل هیبرید و هتروزیس، مناسب‌ترین راه کار استفاده از نشانگرهای دارای پیوستگی بالا با صفات مربوط به عملکرد می-باشد. فاصله ژنتیکی مبتنی بر نشانگرهای دارای لینکاژ قوی با مکان‌های ژنی صفات کمی، پیش‌بینی مطمئن‌تری از برآورد هتروزیس ارائه خواهند داد.

تشکر و قدردانی

از آقای دکتر سید یعقوب صادقیان به دلیل تهیه مواد ژنتیکی این آزمایش تشکر می‌شود. همچنین بخش مولکولی این پروژه در موسسه تحقیقات JKI آلمان انجام گرفت که از آقای دکتر لوتار فرز قدردانی می‌شود.

منابع

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. Proceedings of the Royal Society London B: Biological Sciences 1524:1565-1571.

Arnaud JF, Fénart S, Gode C, Deledicque S, Touzet P, Cuguen J (2009) Fine-scale geographical structure of genetic diversity in inland wild beet populations. Molecular Ecology 18:3201-3215.

Bernardo R (1992) Relationship between single-cross performance and molecular marker heterozygosity. Theoretical and Applied Genetics 83:628-634.

Biancardi E, McGrath JM, Panella LW, Lewellen RT, Stevanato P (2010) Sugar Beet p. 173-221, *In* Bradshaw JE ed. Root and Tuber Crops. Handbook of plant breeding New York Dordrecht Heidelberg London.

Burstin J, Charcosset A (1997) Relationship between phenotypic and marker distances: Tropical and experimental investigation. Heredity 79:477-483.

Cheres MT, Miller JF, Grane JM, Kapp SJ (2000) Genetic distance as a predictor of heterosis and hybrid performance within and between heterotic groups in sunflower. Theoretical and Applied Genetics 100:889-894.

Chougan R (2005) Identifying heterotic groups and genetic diversity in Iranian lines of maize. PhD Thesis in plant breeding. Faculty of Agriculture, Tehran University (In Farsi).

Cureton AN, Burns MJ, Ford-Lloyd BV, Newbury HJ (2002) Development of simple sequence repeat (SSR) markers for the assessment of gene flow between sea beet (*Beta vulgaris* ssp. *maritima*) populations. Molecular Ecology Notes 2:402-403.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

Diers BW, Mcretty PBE, Osbom TC (1996) Relationship between heterosis and genetic distance based on RFLP markers in oilseed rape (*Brassica napus* L.). Crop Science 36:79-83.

Dreisigacker1 S, Melchinger AE, Zhang P, Ammar K, Flachenecker C, Hoisington D, Warburton ML (2005). Hybrid performance and heterosis in spring bread wheat, and their relations to SSR-based genetic distances and coefficients of parentage. Euphytica 144: 51-59.

Fénart S, Arnaud J, Cauwer ID, 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. Theoretical and Applied Genetics 116:1063-1077.

Hajmansur S, Bihamta M, Nabipur A, Mohamadi A, Pirsayedi S, Nikkhah H (2010) Genetic diversity in barley genotypes: II. microsatellite markers and morphological traits. Seed and Plant Improvement Journal 26-1: 150-171 (In Farsi)

Hallauer AR, Miranda JB (1988) Quantitative Genetics in Maize Breeding, 2nd ed. Iowa State University Press, Ames.

Kalia RK, Rai MK, Kalia S, Singh R, Dhawan AK (2011) Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. Euphytica 177:309-334.

Kwon SJ, Ahn SN, Jeong EG, Jeonl YH, Hwang HG, Choi HC, Moon HP (2002) Relationship between genetic divergence and hybrid performance in japonica rice grown in a cold water-irrigated field. Euphytica 128: 389-396.

Laurent V, Devaus P, Thiel T, Viard F, Mielordt S, Touzet P, Quillet MC (2007) Comparative effectiveness of sugar beet microsatellite markers isolated from genomic libraries and GenBank ESTs to map the sugar beet genome. Theoretical and Applied Genetics 115:793-805.

Li J, Schulz B, Stich B (2010) Population structure and genetic diversity in elite sugar beet germplasm investigated with SSR markers. Euphytica 175:35-42.

Liu H, Wang Q, Yu M, Zhang Y, Wu Y, Zhang H (2008) Transgenic salt-tolerant sugar beet (*Beta vulgaris* L.) constitutively expressing an Arabidopsis thaliana vacuolar Na^+/H^+ antiporter gene, AtNHX3, accumulates more soluble sugar but less salt in storage roots. Plant Cell and Environment 31:1325-1334.

Liu J (2002) Power Marker V3.0 Manual. Retrieved June, 5, 2005 from http://www.powermarker.net.

Makumbi D, Betrán JF, Bänziger M, Ribaut JM (2011) Combining ability, heterosis and genetic diversity in tropical maize (*Zea mays* L.) under stress and non-stress conditions. Euphytica 180:143-162.

McGrath JM, Saccomani M, Stevanato P, Biancardi E (2007) Beet, p. 135-151, *In* Kole C ed. Genome mapping and molecular breeding in plants, Vol. 5. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

Melchinger AE (1999) Genetic diversity and heterosis p. 99-118, *In* Coors JG and Pandey S, eds. The genetics and exploitation of heterosis in crops. American Society of Agronomy/Crop Science Society of America Inc., Madison,Wisconsin.

Mohsenifard A, Farsi M, Nemati H, Malekzade KH (2011) An SSR-based assessment of genetic diversity in 16 tomato (Lycopersicon esculentum) lines and it's correlation with heterosis. Iranian Journal of Horticultural Science 42: 185-192 (In Farsi).

Murray MG, Thampson WF (1998) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. Nucleic Acids Research 8:4321-4325.

Nachit MM, Elouafi I, Pagnotta A, Saleh E, Iacono E, Labhilili M, Asabati A, Azarak M, Hazzam H, Benscher D, Khairallah M, Ribault JM, Tanzarella OA, Porceddu E, Sorrells ME (2001) Molecular linkage maps for an intraspecific recombinant inbred population of durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*). Theoretical and Applied Genetics 102:177-186.

Nie M (1972) Genetic distance between populations. The American Naturalist 106 283-293.

Rae SJ, Aldam C, Dominguez I, Hoebrechts M, Barnes SR, Edwards KJ (2000) Development and incorporation of microsatellite markers into the linkage map of sugar beet (*Beta vulgaris* spp.). Theoretical and Applied Genetics 100:1240-1248.

Reif JC, Melchinger AE, Xia XC, Warburton ML, Hoisington DA, Vasal SK, Srinivasan G, Bohn M, Frisch M (2003) Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical maize populations. Crop Science 43:1275-1282.

Richards CM, Brownson M, Mitchell SE, Kresovich S, Panella LE (2004) Polymorphic microsatellite markers for inferring diversity in wild and domesticated sugar beet *(Beta vulgaris)*. Molecular Ecology Notes 4:243-245.

Sadeghian SY (2005) Development of sugar beet resistant to bolting diploid hybrid varieties (monogerm and multigerm). Research final report .Sugar Beet Seed Institute. Education, Research and Agricultural organization. Iran.:33p (In Farsi).

SASInstitute (2001) SAS: STAT user's guide: Statistics. NC StateUniv. Press.Cary,NC. [8.02].Cary,NC, SAS Institute.

Schneider K, Borchardt DC, Schafer-Pregl R, Nagl N, Glass C, Jeppsson A, Gebhardt C, Salamini F (1999) PCR-based cloning and segregation analysis of functional gene homologues in *Beta vulgaris*. Molecular Genetics and Genomics 262:515-524.

Schuelke M (2000) An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments. Nature Biotechnology 18:233-234.

Senior ML, Mutphy JP, Goodman MM, Stuber CW (1998) Utility of SSRs for determinig genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. Crop Science 38:1088-1098.

Smulders MJM, Esselink GD, Everaert I, Riek JD, Vosman B (2010) Characterisation of sugar beet (*Beta vulgaris* L. ssp.*vulgaris*) varieties using microsatellite markers. BMC Genetics 11:41-52.

Viard F, Bernard J, Desplanque B (2002) Crop-weed interactions in the *Beta vulgaris* complex at a local scale: allelic diversity and gene flow within sugar beet fields. Theoretical and Applied Genetics 104:688-697.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]
[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]

Viard F, Arnaud JF, 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. Molecular Ecology 13:1357-1364.

Virmani SS (1994) Heterosis and hybrid rice breeding Springer-Verlag, Berlin.

Xiao J, Li J, Yuan L, McCouch SR, Tanksley SD (1996) Genetic diversity and its relationship to hybrid performance and heterosis in rice as revealed by PCR-based markers. Theoretical and Applied Genetics 92: 637-643.

Zhang, QF, Zhou ZQ, Yang GP, Xu CG, Liu KD, Saghai Maroof MA (1996) Molecular marker heterozygosity and hybrid performance in indica and japonica rice. Theoretical and Applied Genetics 93: 1218-1224.

[Downloaded from mail.mg.genetics.ir on 2026-11-20]

[DOR: 20.1001.1.20084439.1394.10.2.13.1]