**مجله علوم کشاورزی ایران**
جلد ۳۶، شماره ۱، سال ۱۳۸۴ (۴۹-۴۳)

# تعیین روابط ژنتیکی در اینبردلاین‌های ذرت با استفاده از نشانگرریزماهواره

**فاطمه دهقان نیری[۱]، سیروس عبدمیشانی[۲]، علی محمد شکیب[۳]، سید بدرالدین‌ابراهیم سیدطباطبایی[۴] و احمد بانکه‌ساز[۵]**

**۱، ۲، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران**

**۳، عضو هیات علمی مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی ٤، استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان**

**۵، عضو هیات علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر**

**تاریخ پذیرش مقاله ۸۳/۲/۹**

## خلاصه

**ریزماهواره‌ها یا توالی‌های تکراری ساده از نشانگرهای مولکولی دی‌ان‌ا بوده و دارای واحدهای تکراری۶-۲ جفت بازی می‌باشند. حفظ تنوع ژنتیکی به منظور اصلاح گیاهان زراعی و ارتقاء سطح مدیریت منابع ژنتیکی از اهمیت زیادی در برنامه‌های اصلاحی ذرت برخوردار است. در این مطالعه شباهت ژنتیکی۴۶ اینبردلاین مورد استفاده در برنامه‌های اصلاحی ذرت با استفاده از نشانگرهای ریزماهواره مورد بررسی قرار گرفت. استخراج دی‌ان‌ا از برگ‌های جوان ذرت با روش دلاپورتا و همکاران انجام شد و سپس تکثیر با ده جفت آغازگر ریزماهواره صورت گرفت. محصولات تکثیر شده با استفاده از ژل پلی‌آکریلامید۶٪ دارای اوره ۷ مولار و تحت شرایط واسرشتگی تفکیک شده و با رنگ‌آمیزی نیترات‌نقره قابل رویت گردید. الگوی باندی براساس حضور باند (یک) یا عدم حضور باند(صفر) نمره‌دهی شده و محتوای اطلاعات چندشکلی برای هر جفت نشانگر محاسبه گردید و میانگین چندشکلی۰/۷۳ برآورد شد. تعداد آلل‌ها در جایگاه از ۱۴-۳ متغیر بوده و در مجموع ۶۹ آلل شناسایی شد. با استفاده از نرم‌افزارNTSYS فاصله ژنتیکی ژنوتیپ‌ها براساس ضریب تشابه جاکارد محاسبه و روش تجزیه خوشه‌ای دورترین همسایه برای گروه‌بندی استفاده شد. بر اساس دندروگرام حاصله،۴۶ لاین مورد مطالعه در سه گروه قرار گرفتند. وجود دو اینبردلاین تجاریB73 وMO17 از دو گروه هتروتیکی مخالف و همچنین تیپ آندوسپرمی اینبردلاین‌ها به تفسیر دندروگرام بدست آمده کمک نمود. نتایج حاصل نشان داد که نشانگرهای ریزماهواره قادرند چندشکلی بالایی را بین لاین ها نشان دهند و از اینرو ابزار مفیدی برای انگشت‌نگاری ژنوتیپ‌ها ودسته‌بندی آنها در گروه‌های مختلف بشمار می روند. از این ویژگی می‌توان در تعیین گروه‌های هتروتیک و پیش‌بینی هتروزیس در تولید هیبرید ذرت استفاده نمود.**

**واژه‌های کلیدی:** ریزماهواره، ذرت، تنوع ژنتیکی

## مقدمه

ذرت از گیاهان زراعی مهم است که سطح وسیعی از اراضی زراعی قابل کشت را به خود اختصاص داده است. سطح زیرکشت، میزان تولید و عملکرد در واحد سطح ذرت در جهان پس از گندم و برنج مقام سوم را دارا می‌باشد. افزایش تولید با استفاده بهینه از منابع ژنتیکی و تنوع موجود در آنها میسر می‌گردد. در این راستا و به منظور رسیدن به این هدف روش‌های کلاسیک به تنهایی کافی نبوده و به نشانگرهای مولکولی به عنوان مکمل نیاز دارند. کاربرد نشانگرها موجب تسریع پروژه‌های اصلاحی شده و در افزایش تولید محصولات زراعی و دامی سهم اساسی خواهد داشت (۱۷).

نشانگرهای ریزماهواره از جمله نشانگرهای دی‌ان‌ا هستند که اختلاف ژنتیکی بین ژنوتیپ‌ها را در سطح مولکول دی‌ان‌ا نشان می دهند و بدلیل چندشکلی بالا، ابزار مناسبی برای

مکاتبه کننده: فاطمه دهقان‌نیری

www.SID.ir
Archive of SID

ارزیابی تنوع ژنتیکی در گیاهان مختلف از جمله ذرت می باشند (۴). ریزماهواره‌ها، توالی‌های تکراری کوتاه ۶-۲ جفت بازی هستند که بخش‌هایی به طول ۱۰۰-۲۰ جفت باز را تشکیل می‌دهند (۲، ۹). توالی‌های احاطه کننده جایگاه های ریزماهواره ای، در داخل یک گونه یا در گونه‌های داخل یک جنس و ندرتا"در جنس‌های خویشاوند حفاظت شده می‌باشند و از آنها می‌توان برای طراحی آغازگر به منظور تکثیر جایگاه های ریزماهواره ای استفاده نمود (۵، ۶).

فراوانی ریزماهواره ها در ژنوم، سطح بالای تنوع آللی در جایگاه های ریزماهواره ای و سهولت بکارگیری این نشانگرها، آنها را از نشانگرهای ژنتیکی مشهور ساخته است. ویژگی دیگر ریزماهواره ها، هم‌بارز بودن آنها و امکان تشخیص افراد هتروزیگوت از هموزیگوت می‌باشد (۱۳، ۱۴). سنیور و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که نشانگرهای ریزماهواره سطح بالایی از چندشکلی را در ذرت نشان می دهند و از آنها می‌توان برای بررسی تنوع ژنتیکی در این گیاه استفاده نمود. ماتسوکا و همکاران (۲۰۰۲) از نشانگر ریزماهواره برای مطالعه روابط تکاملی در ذرت استفاده کردند. با تعیین توالی آلل‌های بدست آمده مشخص گردید که الگوی پیچیده‌ای از موتاسیون در مناطق مجاور تکرارهای ریزماهواره وجود دارد. تنوع ژنتیکی در اینبردها کمتر از ۰/۰۱ بوده و این طبیعت خودباروری آنها را نشان می‌دهد. همچنین مشخص گردید که در ذرت در مقایسه با خویشاوندان وحشی نزدیک آن تنوع ژنتیکی کم شده که در اثر اهلی شدن ذرت می باشد. لو و همکاران (۲۰۰۱) با استفاده از نشانگر ریزماهواره، تنوع ژنتیکی در اینبردلاین‌های ذرت را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که تنوع ژنتیکی در اینبردلاین‌های ذرت کاهش یافته و اصلاح شجره‌ای سبب تولید اینبردلاین‌های برگزیده‌ای گردیده است که پایه ژنتیکی در آنها بسیار باریک شده است. چین و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند که در بین ترتیب های دو و سه نوکلئوتیدی ریزماهواره ها، ترتیب های سه نوکلئوتیدی دارای بیشترین فراوانی در ژنوم ذرت می باشند. همچنین در مطالعهٔ دیگری که بوسیله کانتتی و همکاران (۱۹۹۵)روی ذرت انجام شد بیشترین چندشکلی به ترتیب در تکرارهای دو و سه نوکلئوتیدی بدست آمد.

مطالعه تنوع ژنتیکی در ذرت به چند دلیل دارای اهمیت می باشد: ۱- مطالعه تنوع ژنتیکی جهت حفظ و گسترش تنوع در منابع ژرم‌پلاسم. ۲- با توجه به سطح زیر کشت وسیعی که ذرت به خود اختصاص داده است، ارزیابی لاین‌ها و شناسایی ترکیب‌های برتر بسیار با اهمیت می‌باشد. ۳- تهیه و استخراج لاین از منابع ژنتیکی موجود یکی از مهم‌ترین و اساسی‌ترین پایه‌های تحقیقاتی مؤسسات تولید کننده بذر بوده و به تعیین تنوع ژنتیکی نیاز دارد. ۴- بررسی تنوع نه تنها برای بهبود ژنتیکی ذرت بلکه جهت کاهش حساسیت به تنش‌های زنده و غیرزنده محیطی اهمیت دارد. ریزماهواره‌ها از جمله نشانگرهای ژنتیکی هستند که به علت ویژگی‌های منحصر بفرد مورد استقبال فراوان محققین قرارگرفته‌اند (۳، ۶). در این مطالعه تنوع ژنتیکی در اینبردلاین‌های ذرت مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی این بررسی شامل۴۴ اینبرد لاین ذرت از دو تیپ آندوسپرمی دندان اسبی و سخت به همراه دو اینبرد تجارتیMO17 وB73 (که به عنوان پایه پدری و مادری در تهیه بذر هیبرید به کار می‌روند) بود. بذور از بخش ذرت و گیاهان علوفه‌ای مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه گردید. نمونه های بذر درگلدان هایی به قطر ۲۰cm در گلخانه مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی کاشته شد. نمونه‌گیری از برگ های جوان ذرت در مرحله ۵-۴ برگی انجام شد و بلافاصله به فریزر۸۰- انتقال یافت و در طی چند روز استخراج دی‌ان‌ا با روش دلاپورتا و همکاران (۱۹۸۳) صورت گرفت. با بررسی مطالعات انجام شده در ارتباط با تعیین تنوع ژنتیکی در ذرت و همچنین با جستجو در بانک اطلاعاتی www.agron.missouri.edu تعداد۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره ای از ده کروموزوم ذرت انتخاب شد. آغازگرهای دو نوکلئوتیدی به دلیل چندشکلی بالا و آغازگرهای چهار نوکلئوتیدی جهت مشاهده مقدار تنوع آللی در مقایسه با دو نوکلئوتیدیها انتخاب گردیدند. تکثیر با ده جفت آغازگر ریزماهواره و با استفاده از برنامه touchdown صورت گرفت. این برنامه جهت اختصاصی کردن محصولات پی‌سی‌آر بوده و دارای دو چرخه دمایی مختلف می‌باشد. چرخه اول شامل یک دقیقه دمای $^{o}C$ ۹۵، یک دقیقه $^{o}C$ ۶۵ و دو دقیقه $^{o}C$ ۷۲ بود

Archive of SID

www.SID.ir

و در چرخه دوم به ازای هر دو چرخهٔ دمایی، دما یک درجه سانتیگراد کاهش یافت و به $^{o}C$ ۵۵ رسید. پس از تکثیر دی‌ان‌ا هدف، از دستگاه الکتروفورز عمودی و ژل ۶٪ پلی‌آکریلامید واسرشته‌ساز دارای اوره ۷ مولار برای جداسازی محصولات پی‌سی‌آر استفاده گردید. در نهایت پس از پایان الکتروفورز، رنگ‌آمیزی ژل با روش نیترات نقره انجام شد (۷). الگوهای باندی بر اساس وجود (یک) یا عدم وجود (صفر) باندها نمره‌دهی شدند (۱۵). داده‌های حاصل به صورت یک ماتریس ۶۹ × ۴۶ وارد نرم‌افزار Excel شد که در آن ۴۶ تعداد اینبردلاین‌ها و ۶۹ تعداد باندهای مشاهده شده بود. گروه‌بندی اینبردلاین‌ها با استفاده از نرم‌افزار NTSYS و به کمک روش‌های تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای براساس الگوریتم دورترین همسایه و ضریب تشابه جاکارد انجام شد.

## نتایج و بحث

در این تحقیق از نشانگرهای ریزماهواره جهت بررسی تنوع ژنتیکی ۴۶ اینبردلاین تقریبا" خالص ذرت استفاده گردید. به این منظور۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره که در بررسی منابع موجود دارای چندشکلی نسبتا"بالایی بودند بکار رفت. این آغازگرها از ۱۰ کروموزوم ذرت انتخاب شدند بطوریکه هر آغازگر نماینده یک کروموزوم بود. با استفاده از جفت آغازگرها دی‌ان‌ا ژنومی تکثیر و چندشکلی بین ژنوتیپ ها مشاهده شد (شکل۱ و۲).

در۴۶ اینبردلاین مورد مطالعه ۶۹ باند با استفاده از ۱۰ جفت آغازگر ریزماهواره تکثیر شد. تعداد آلل‌ها بین ۱۴-۳ متغیر بوده و بیشترین تعداد آلل مربوط به آغازگرهای Phi026 وPhi001 به ترتیب با ۱۴و۱۳ آلل بود (جدول۱).

PIC [1]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 می دهد (۱، ۱۵). این پارامترتنوع آللی در هر مکان ژنی را اندازه‌گیری کرده و معادل: $1-\Sigma f_i^2$ می‌باشد. در این فرمول $f_i$ فراوانی آلل i ام در یک‌مکان ژنی است. در این مطالعهPIC برای جایگاه‌های ریزماهواره‌ای بین۰/۹۱-۰/۵۴ متغیر بوده و میانگینی برابر ۰/۷۳ داشت. در میان سه نوع ردیف تکرار بکار رفته، بالاترین میانگین PIC مربوط به تکرارهای دو نوکلئوتیدی با مقدار۰/۸۷ بود

(جدول۱ و شکل۳).

۱۳ اینبردلاین برای جایگاه دارای تکرارهای CT هتروزیگوستی نشان دادند که احتمالا" بدلیل تکثیر توالی‌های مشابه در دو ناحیه ژنومی جداگانه و یا آلودگی پی‌سی‌آر است. تمام اینبردلاین‌ها الگوی باندی هموزیگوس برای نشانگرهای Phi036, Phi034, Phi063 نشان دادند. در۴۶ اینبردلاین ۶۹/۵٪ از مجموع ۶۹ آلل فراوانی ۰/۰۲ و یا کمتر داشتند که نشان‌دهنده تنوع آللی بالا در این مجموعه از آغازگرها می‌باشد. تنها ۸/۶٪ آلل‌ها فراوانی بالاتر از ۰/۱ داشتند و حدود ۲۰٪ آلل‌ها فراوانی کمتر از ۰/۰۰۱ نشان دادند.

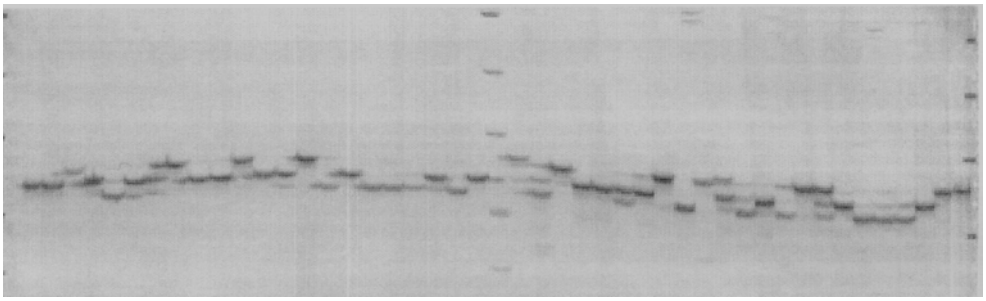
1 . Polymorphism Information Content

جدول۱- مشخصات و اطلاعات آغازگرهای مورد استفاده در تحقیق

| نام پرایمر | نوع موتیف | شماره کروموزوم | تعداد آلل | PIC | اندازه قطعات(bp) | Tm($^{o}$ C) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Phi001 | AG | ۱ | ۱۳ | ۰/۹۱ | ۶۶-۱۵۴ | ۶۷ |
| Phi083 | AGCT | ۲ | ۳ | ۰/۵۴ | ۱۲۲-۱۳۸ | ۶۷ |
| Phi036 | AG | ۳ | ۱۰ | ۰/۸۵ | ۶۳-۱۱۹ | ۶۷ |
| Phi026 | CT | ۴ | ۱۴ | ۰/۸۶ | ۷۶-۱۲۶ | ۶۹ |
| Phi024 | CCT | ۵ | ۵ | ۰/۷۸ | ۱۵۹-۱۶۵ | ۶۶ |
| Nc013 | AG | ۶ | ۸ | ۰/۸۴ | ۱۰۲-۱۲۲ | ۶۶ |
| Phi034 | CCT | ۷ | ۶ | ۰/۷۶ | ۱۱۰-۱۴۱ | ۶۶ |
| Phi015 | AAAC | ۸ | ۴ | ۰/۵۸ | ۷۸-۱۰۲ | ۶۶ |
| Phi028 | GAA | ۹ | ۳ | ۰/۵۶ | ۶۳-۷۸ | ۶۹ |
| Phi063 | TATC | ۱۰ | ۳ | ۰/۶۶ | ۱۵۲-۱۷۹ | ۶۶ |

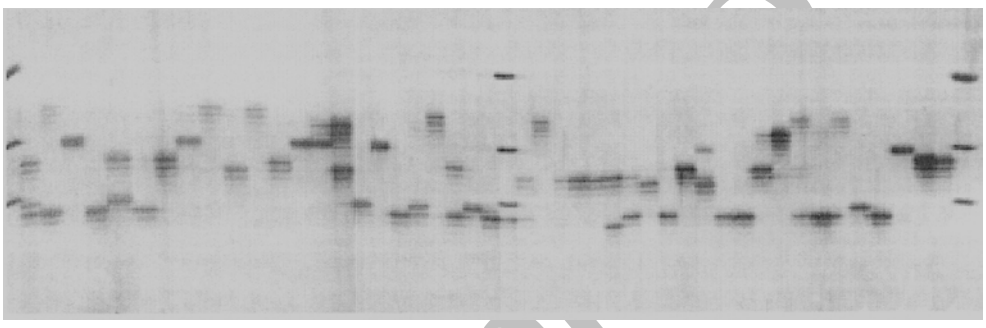
Archive of SID

www.SID.ir



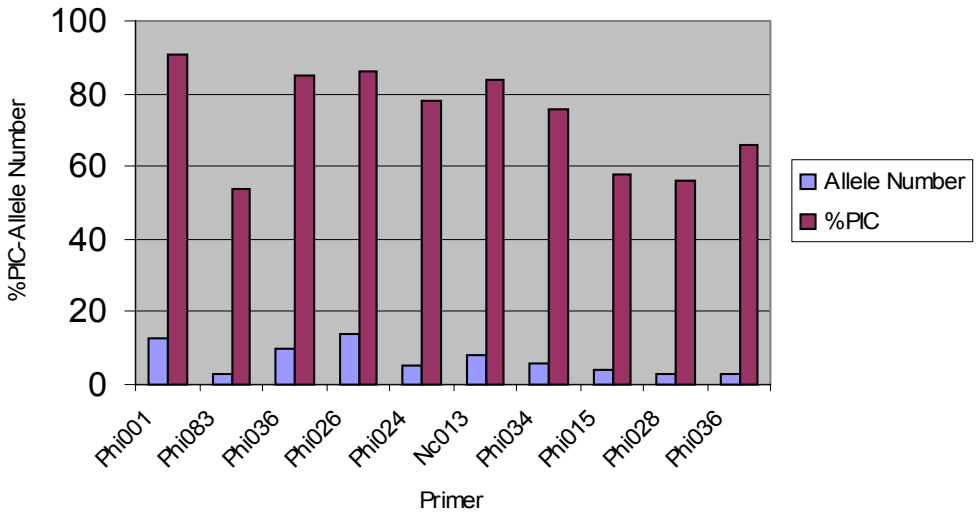
شکل۱- الگوی باندی اینبردلاین های مورد مطالعه با استفاده از آغازگر Phi063

از سمت چپ به راست به ترتیب نمونه‌های ۱ تا ۴۶ قرار دارند. سه چاهک اول، وسط و آخر متعلق به مارکر وزن مولکولی می‌باشد. تعداد کم آلل و چندشکلی پایین از خصوصیات ریزماهواره هایی است که دارای واحدهای تکرارشونده چهار نوکلئوتیدی(TATC) هستند.



شکل۲- الگوی باندی اینبردلاین های مورد مطالعه با استفاده از آغازگر Phi034

از سمت چپ به راست به ترتیب نمونه‌های ۱ تا ۴۶ قرار دارند. سه چاهک اول، وسط و آخر متعلق به مارکر وزن مولکولی می‌باشد. باندهای پهن و متعددی که در شکل مشاهده می‌شود مربوط به فعالیت آنزیم *Taq* پلیمراز است که یک باز اضافی به انتهای ′۳ محصولات پی‌سی‌آر اضافه می‌کند.




شکل۳- درصد چندشکلی مربوط به هر آغازگر

۷ آلل منحصرا" در یک اینبردلاین مشاهده گردید که حضور چنین آلل‌هایی نشان‌دهنده شدت بالای موتاسیون در جایگاه‌های ریزماهواره‌ای می‌باشد. این آلل‌ها ممکن است نمایانگر اینبردلاین خاص و یا قسمت هایی از ژنوم که در نوع خاصی از ذرت وجود دارد باشند (۱۵). گروه‌بندی اینبردلاین‌ها با استفاده از نرم‌افزار NTSYS و به کمک روش‌های تجزیه به مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشه‌ای براساس الگوریتم دورترین همسایه و ضریب تشابه جاکارد انجام شد. ضریب همبستگی

www.SID.ir

کوفنتیک بالای بدست آمده به کمک روش تجزیه خوشه ای براساس ضریب تشابه جاکارد (۰/۷۶) نشان دهنده کارآیی نسبی این روش برای گروه بندی ژنوتیپ ها بود (جدول۲). همچنین قرارگرفتن دو اینبردلاین km134 وB73 در یک گروه، در دندروگرام حاصل از این روش، دلیل دیگری برای کارآیی روش دورترین همسایه بود. براساس اطلاعات موجود این دو اینبردلاین دارای شباهت‌های ژنتیکی زیادی بوده و تنها در تعداد ردیف‌های دور بلال از یکدیگر متمایز می‌شوند.

اینبردلاین‌های مورد مطالعه در این تحقیق به سه گروه تقسیم شدند (شکل۴). در تفسیر دندروگرام بدست آمده از تیپ آندوسپرمی و رنگ چوب‌بلال اینبردلاین‌ها و همچنین از وجود دو اینبردلاین تجارتیMO17 و B73 استفاده گردید.

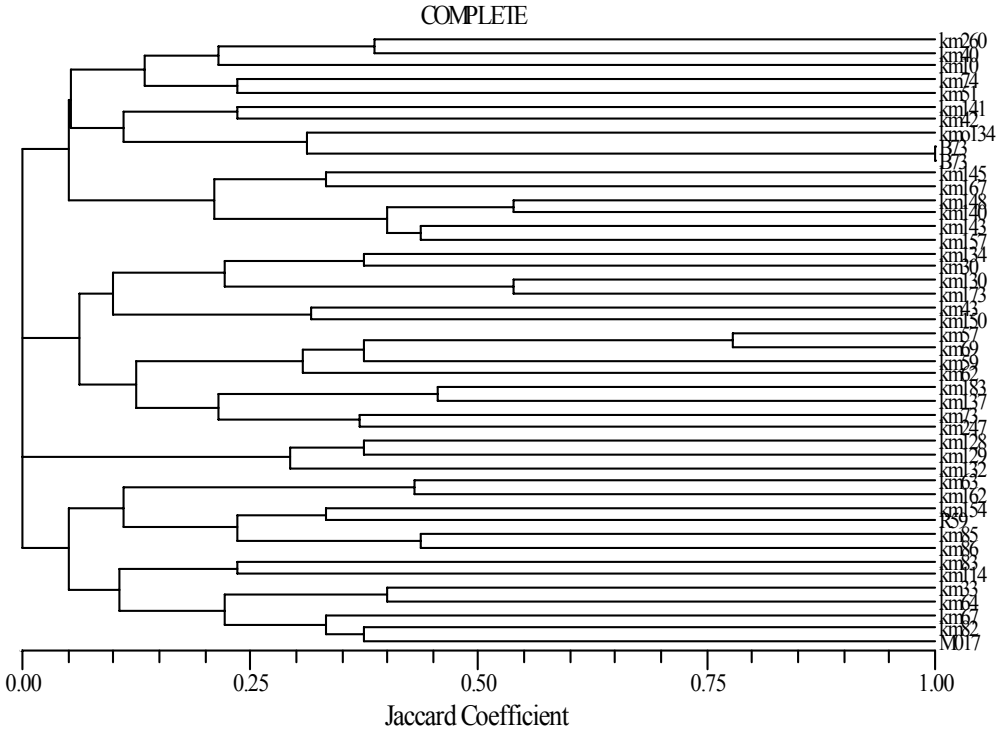
اینبردلاین‌های قرار گرفته در گروه اول از لحاظ خصوصیات مشترک باB73 گزینش شده‌اند و تنها در یک یا چند صفت با آن تفاوت دارند. اینبردلاین‌های موجود در گروه دوم از هیبریدهای ذرت کشور یوگسلاوی استخراج شده‌اند و احتمالاً در ترکیب آنها اینبردلاین تجارتی MO17 حضور داشته است. در گروه سوم اینبردلاین MO17 قرار گرفت، اینبردلاین‌های این گروه متوسطرس بوده و زمان رسیدن آنها سریع‌تر از گروه اول می باشد. اینبردلاین‌های گروه سوم فرم‌های انشعابی و یا لاین‌های خواهری MO17 می‌باشند و همراه با آن گروه‌بندی شدند.

جدول ۲- ضریب همبستگی کوفنتیک برای روش‌های مختلف تجزیه خوشه‌ای با استفاده از ضرایب تشابه مختلف

| روش تجزیه | ضریب تشابه | | |
|---|---|---|---|
| | انطباق ساده | جاکارد | دایس |
| UPGMA | ۰/۵۶ | ۰/۶۶ | ۰/۵۹ |
| COMPLETE | ۰/۵۱ | ۰/۷۶* | ۰/۶۶ |

* ضریب همبستگی کوفنتیک بین ضریب تشابه جاکارد و روش تجزیه خوشه‌ای Complete بالاترین مقدار است.

دو اینبردلاینB73 در یک جایگاه در دندروگرام قرار گرفتند. تفاوت این اینبرد لاین ها تنها در سیتوپلاسم آنها است، بطوریکه یکی از آنها نربارور بوده و دیگری نرعقیم می‌باشد. تفکیک این دو اینبردلاین احتمالاً با استفاده از ریزماهواره های کلروپلاست مقدور است.




شکل۴- گروه‌بندی اینبرد لاین‌های ذرت بر اساس داده‌های نشانگرهای ریزماهواره با استفاده از روش تجزیه خوشه‌ای دورترین همسایه و ضریب تشابه جاکارد

www.SID.ir

**سپاسگزاری**

این تحقیق در سال ۱۳۸۱ در مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی انجام شد و بجاست از آقای دکتر قره‌یاضی ریاست مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی و خانم دکتر خوش‌خلق‌سیما قائم مقام این مؤسسه جهت فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام این تحقیق سپاسگزاری نمایم. همچنین از آقای دکتر سید ابوالقاسم محمدی به پاس راهنمایی‌های همه جانبه تشکر و قدردانی می‌کنم.

**مراجع مورد استفاده** **REFERENCES**

۱. فرشادفر، ع. ۱۳۷۶. کاربرد ژنتیک کمی در اصلاح نباتات. دانشگاه رازی. انتشارات طاق بستان. ۵۲۸ صفحه.

2. Agrawal, D. C., Sukumar, Saha., & L. May. 1999. Use of cross-species simple sequence repeat (SSR) primers for developing polymorphic DNA markers. Journal of New Seeds 1:25-37
3. Andaya, V.C., D. Tabanao, G. Maramara, & L. S. Sebastian. 1996. Correlation of molecular diversity with heterosis in nine low land rice. Philippine Journal of Crop Science 21:4
4. Barbosa-Neto, J.F., M. E. Sorrells, & G. Cisar. 1996. Prediction of heterosis in wheat using coefficient of parentage and RFLP-based estimates of genetic relationship. Genome 39:1142-1149
5. Barriere, Y., C. Gibelin, O. Argillier, & V. Mechin. 2001. Genetic analysis in inbred lines of early dent forage maize. I-QTL mapping for yield, earliness, starch and crude protein contents from per se value and top cross experiments. Maydica 46:253-266
6. Bernardo, R. 2001. Breeding potential of intra- and inter heterotic group crosses in maize. Crop Sci 41:68-71
7. BIO-RAD , Sequi-Gen Nucleic Acid Electrophoresis Cell Instruction Manual, Catalogue No.165-3860-3.
8. Chin, E. C. L., Senior, M. L and J. S. C. Smith. 1996. Maize simple repetitive DNA sequences: abundance and allele variation. Genome 39:866-873
9. Goldstein, D. B., and C. Schlotterer. 1998. Microsatellite evolution and applications. 352 P
10. Kantety, R.V., X. Zeng, J. L. Bennetzen, & E. Zehr. Brent. 1995. Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. Molecular Breeding 1:365-373
11. Lu, H., & R. Bernardo. 2001. Molecular marker diversity among current and Historical maize inbreds.Theor. Appl. Genet. 103: 613-617
12. Matsuoka, Y., S. E. Mitchell, S. Kresovich, M. Goodman, & J. Doebley. 2002. Microsatellites in Zea-variability,patterns of mutations, and use for evolutionary studies. Theor. Appl. Genet. 104:436-450
13. Narvel, J.M., Chu, Wen-chy., Fehr, W.R., & Randy C. Shoemaker. 2000. Development of multiplex sets of simple sequence repeat DNA markers covering the soybean genome. Molecular Breeding 6:175-183
14. Ovesna, J., K. Polakova, & Leona Leisova. 2002. DNA analyses and their applications in plant breeding. Czech J. Genet. Plant Breed 38:29-40
15. Senior, M. L., J. P. Mutphy, M. M. Goodman, & C. W. Stuber. 1998. Utility of SSRs for determinig genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. Crop Sci 38:1088-1098
16. Vigouroux, Y., S. Jaqueth, J. Matsuoka, Y., & J. Doebley. 2002. Rate and pattern of mutation at microsatellite loci in maize. Mol Biol Evol 19:1251-1260
17. Vuylsteke, M., R. Mank, B. Brugmans, P. Stam, & M. Kuiper. 2000. Further characterization of AFLP data as a tool in genetic diversity assessments among maize (*Zea mays* L.) inbred lines. Molecular Breeding 6:256-276

Archive of SID

www.SID.ir

# Utilization of Microsatellite Markers for Determining Genetic Relationships in Maize Inbred Lines

**F. DEHGHAN NAIERI[1], S. ABD-MISHANI[2], A. M. SHAKIB[3], S. B. E. SEYEDE TABATABAII[4] AND A. BANKESAZ[5]**

**1, 2, Former Graduate Student and Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran, 3, Staff Member, Agricultural Biotechnology Resarch Institute, 4, Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology 5, Staff Member, Seed and Plant Improvement Institute**

**Accepted April. 28, 2004**

## SUMMARY

Simple sequence repeats (SSRs) are a relatively new class of DNA markers consisting of short runs of tandemly repeated sequence motifs, 2 to 6 base pair, evenly distributed throughout eukaryotic genomes. Among maize (*Zea mays* L.) breeders, there is a heightened awareness of the necessity for maintaining both genetic diversity for crop improvement as well as improving the quality of genetic resource management. In this study, genetic similarities and relationships among 46 maize inbred lines were estimated based on the allelic variability detected. DNA was extracted from young leaf tissues according to the procedure of Dellaporta et al. (1983). One SSR primer was chosen from each corn chromosome and totally ten primers were assayed using the sample of 46 inbreds. The amplified products were separated using 6% polyacrylamide gel with 7 M urea under denaturing conditions and visualized by staining with silver nitrate. Gels were then scored based on either the presence or absence of bands. Polymorphism information content (PIC) for each SSR marker was determined with $1-\sum f_i^2$ where $f_i$ is the frequency of the ith allele. The number of alleles per locus ranged from 3 to 14. The 69 alleles identified served as raw data for estimating genetic similarities among these lines using the NTSYS program. Ten primers revealed 73% polymorphism rate. The 46 inbreds were clustered based on the matrix of genetic similarity jaccard using the complete clustering algorithm. Cluster analysis placed the inbred lines in three clusters with elite inbreds B73 and MO17 from two opposite heterotic groups as well as endosperm types helping to interpret them. The results showed that the microsatellite marker has a high degree of polymorphism that allows efficient identification of maize genotypes which could be used in determining heterotic groups as well as in estimation of heterosis in hybrid production.

**Key words:** Microsatellite, Maize, Genetic diversity

Archive of SID

www.SID.ir