

کاوش ژن‌های پاکوتاهی در ارقام اصلاح شده گندم نان ایران

Detect of dwarf genes in commercial cultivars of bread wheat in Iran

میلاد حیدری^۱، علی اکبر شاه نجات بوشهری^{*}، سید علی پیغمبری^۱، ولی الله محمدی^۱

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادان، دانشیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

Heydari M¹, Shahnejat Bushehri AA^{*1}, Peyghambari SA¹, Mohammadi V¹

1. MSc Student, Professors, Associate Professor, College of Agriculture and Natural Resources,
University of Tehran, Karaj, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ashah@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱/۱۷ - تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۱۸)

چکیده

در دهه‌های گذشته ژن‌های پاکوتاهی مهم‌ترین نقش را در افزایش عملکرد گندم داشته‌اند. در این پژوهش ترکیب آللی سه ژن پاکوتاهی *Rht5* و *Rht8* و *Rht9* در ۱۵۰ رقم اصلاح شده گندم نان به کمک نشانگرهای اختصاصی بررسی شده و واکنش آنها به اسید جیبریلیک (GA₃) برای تشخیص آلل‌های *Rht1* و *Rht2* مطالعه شد. آلل پاکوتاهی *Rht9* با ۴۱/۵۶ درصد بیشترین و *Rht5* با ۲۲/۹۲ درصد کمترین فراوانی را در ارقام مورد مطالعه داشتند. حضور آلل‌های پاکوتاهی در ارقام با منشاء خارجی نسبت به ارقام ایرانی بیشتر بود. نتایج نشان داد که برنامه‌های بهنژادی ایران طی گذشت زمان به کاهش ارتفاع و افزایش تجمع آلل‌های پاکوتاهی منجر شده است. کاتالوگ ژنی تهیه شده در این پژوهش می‌تواند بهنژادگران را در شناخت و انتخاب والدین مناسب برای تلاقي یاری کند.

واژه‌های کلیدی

پاکوتاهی

گندم نان

هورمون جیبریلین

DNA

Rht

مقدمه

باعث فعال شدن ژن *GAMYB* شده که یک عامل رونویسی برای ژن آلفا آمیلاز می‌باشد. آلفا آمیلاز تولید شده بعد از خروج از سلول سبب تجزیه نشاسته و نهایتاً تولید انرژی برای رشد بیشتر Chebotar et al. 2012). برخی ژن‌های پاکوتاهی بر واکنش GA_3 اثر بازدارنده‌گی خواهد شد و گیاه ارتفاع بیشتری خواهد گرفت (Daronde et al. 2012). برخی ژن‌های پاکوتاهی بر واکنش GA_3 اثر بازدارنده‌گی دارند به طوری که تیمار گیاه با GA_3 موجب افزایش ارتفاع نمی‌شود. بنابراین می‌توان از آزمون GA_3 به عنوان یک روش تشخیص فیزیولوژیکی بهره برد. این روش به دلیل آسانی و عدم نیاز به تجهیزات پیچیده تا پیش از شناخت مطالعات ژنومیکسی به Youssefian et al. (1992; Borner et al. 1997; Tang et al. 2009 W7984 (2005) در مطالعه جمعیت RILهای حاصل از تلاقی Opata 85×(ITMI) در مطالعه جمعیت RILهای حاصل از تلاقی $Opata 85 \times (ITMI)$ ، با کمک ۵۴۰ جفت آغازگر SSR با تمرکز بر متیف_n [ATT/TAA] و افزودن کلاهک G-C به انتهای ۵' Dvojković et al. 2010) آغازگرها به نقشه‌یابی گندم پرداختند. (2010) در تنوع الی *Rht8* را به کمک نشانگر ریزماهواره Xwgm261 در ۱۲۲ رقم گندم کرواسی و اروپا بررسی کردند. هدف از انجام این مطالعه بررسی واکنش ارقام گندم اصلاح شده ایران به تیمار جیبریلیک و شناسایی ترکیب الی ژن‌های پاکوتاهی (*Rht*) در ارقام مذکور بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی شامل ۱۵۰ رقم اصلاح شده ایرانی و خارجی گندم نان بوده که از سال ۱۳۰۹ تا سال ۱۳۹۰ معرفی شده و بذر این ارقام از بانک ژن پردبیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج تهیه شد (جدول ۱). از این ژنتوتیپ‌ها ۱۷ *amv17* اترک، البرز، الجزیره، ۴۸۲۰، اینما ۶۶، آکوا، بزوستایا، پنجمامو ۶۲، تجن، تریکاله، توباریا، ۶۶، توس، چادر، چمران، داراب ۲، دز، دوروم سیمینه، دوروم کرخه، دوروم یاوروس، رسول، زرین، شیروندی، فلات، کاوه، گلستان، مغان ۱، مغان ۲، مهدوی، ناز، نوید و نیک نژاد دارای منشا خارجی بودند.

آزمون جیبریلیک اسید (GA_3)

به منظور اعمال تیمار جیبریلیک اسید، بذر ارقام گندم در

پاکوتاهی مهم‌ترین عامل افزایش عملکرد گندم در انقلاب سبز بوده است. پاکوتاهی در "انقلاب سبز" به خاطر شخم پذیری همراه با افزایش عملکرد، افزایش مقاومت به بیماری و کود پذیری صفت زراعی مطلوب بود (Li et al. 2010). از نظر واکنش به اسید جیبریلیک (GA_3) ژن‌های پاکوتاهی به دو دسته تقسیم می‌شوند: ژن‌های غیر حساس به اسید جیبریلیک مانند *Rht3*, *Rht10*, *Rht16*, *Rht1* و *Rht2* و ژن‌های حساس به اسید جیبریلیک مانند *Rht5*, *Rht7*, *Rht8*, *Rht4*, *Rht5* و *Rht9* (Rht7, Rht8, Rht4, Rht5, Rht1 و Rht2) (Borner et al. 1987). آلل‌های مورد استفاده در انقلاب سبز غیر حساس به GA_3 (*Rht1*) و *Rht2* و دارای معایبی مثل قوه نامیه پایین و سرعت رشد اولیه کم بودند (Chen et al. 2013) (*Rht1* و *Rht2*). (Chen et al. 2013) که اخیراً به ترتیب *RhtDI-b* و *RhtBI-b* نامیده می‌شوند) باعث کاهش ارتفاع و افزایش تعداد دانه و عملکرد از طریق کاهش طول غلاف، طول برگ، سرعت توسعه سطح برگ و تجمع بیomas در شرایط مناسب رشدی می‌شوند (به خصوص در کشت عمیق بذر) (Rebetzke et al. 2012). ژن‌های *Rht13* بدون آنکه تاثیری روی قوه نامیه بذر داشته باشند، ارتفاع را کاهش می‌دهند. ژن‌های کاهنده ارتفاع *Rht1* و *Rht2* عامل کلیدی در انقلاب سبز بوده و امروزه نیز این ژن‌ها جزء منابع اولیه پاکوتاهی در گندم محاسبه می‌شوند (Edward et al. 2013).

Rht-I فاکتور رونویسی DELLA را کد می‌کند و تاثیر آن بر رشد گیاه و تحمل به تنش است (Edward et al. 2013). در گندم نان، *Rht-B1b* و *Rht-D1b* موجب مقاومت به بیماری فوزازاریوم سبله^۱ می‌شود (Edward et al. 2013). مطالعات منسجم در زمینه پروتئومیکس، فیزیولوژی مولکولی و ژنتیک نشان می‌دهد که تجمع شبه پروتئین Cyclophilin ۲ و TaCYP20-2 منجر به افزایش (GAID) GA_3 پروتئین *Rht* و پاکوتاهی در جهش غیرحساس به *GA_3* در گندم می‌شود (Li A. et al. 2010). جیبرلین‌های زیست فعال^۲ *GA*، هورمون دیترپین^۳ گیاهی است که در مسیرهای پیچیده زیستی ساخته می‌شود و شبیه رشد و نمو را کنترل می‌کنند *GAMYB* (Yamaguchi 2008). با اتصال به بازدارنده ژن *GA_3* با اتصال به بازدارنده ژن *GAMYB* (Yamaguchi 2008).

¹ Fusarium head blight

² Bioactive

³ Deterpen

جدول ۱- اسامی ارقام گندم نان تجاری ایران مورد استفاده در این مطالعه

اسامی ارقام گندم نان تجاری ایران							
مغان ۳	کرج ۲	شیراز	زاگرس	پیشاستار	ایینیا ۶۶	DN11	
مکزپیک	کرج ۳	شیرودی	زرندی	پیشگام	آذر	mv17	
مهدوی	کرخه	طبسی	زرین	تعجن	آذر ۲	آتیلا	
میلان	کلات محلی	عدل	ساسا	تریته	آرتا	سومایی	
میهن	کلک افغانی	عدل جدید	سايسون	توباری	آرژانتین	ورکینگ	
ناز	کوس	عطایی	سبزواری	توس	آزادی	اترک	
نوید	کوله	فروتنا	سبلان	چمران	آکوا	ارگ	
پیشاور	کویر	فلات	سپاهان	چناب	آندا ۱	اروم	
نیک‌ثزاد	گازرسنگ	فونگ	سرخ تخم	خرز ۱	باز	اروند	
ورنر	گامبارد	قادس	سفیدک	خلیج	بزوستایا	اروند موتابت	
وری ناک	گاسکوئن	قرمزک ورامین	سومالی ۳	داراب	بک کراس روشن	اروند ۱	
هامون	گلستان	فققاز	سیستان	داراب ۲	بک کراس روشن بهاره	استار	
۱	گندم منطقه سرد	کارون	سیمینه	دریا	بک کراس روشن زمستانه	استارک	
۲	هشتدرخانی A	کاوه	سیوند	دز	بلویوی	استورک	
	هشتدرخانی ۲	مارکوت	کراس ارونده	شانگهای	بم	افلاک	
	هیرمند	مارون	کراس البرز	شاهپسند	بولانی	البرز	
	یازلق	ماهوتی یزد	کراس امید	شاهی	بهار	الموت	
		مرمره	کراس آزادی	دیهم	بیات	الموت ۱	
		مروارید	کراس بیات	شعله	بیستون	الموت ۲	
		مرودشت	کراس شادی	رشید	پارسی	الوند	
۱	مغان ۱	کراس فلات هامون	شوامله	روشن	پنجامو	امید	
۲	مغان ۲	کرج ۱	شهریار	ریحانی	پیتیک	ایینیا	
		شهریار	زارع				

کیفیت آن بر روی ژل آگارز یک درصد بررسی شد. برای تکثیر آلل‌های مختلف مکان‌های ژنی پاکوتاهی، از آغازگرهای توصیف شده توسط Korzun et al. (1998) و Ellis et al. (2005) استفاده شد (جدول ۲).

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز تکثیر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل یک میکرولیتر DNA با غلظت ۷۵ نانوگرم در هر میکرولیتر و یک واحد آنزیم Taq DNA Polymerase و غلظت نهایی ۳ ۰.۵ pmol/ μ M و ۰.۵ mM/ μ M dNTP برای ۰.۵ mM/ μ M MgCl₂ و ۰.۵ mM/ μ M Bio-Rad انجام شد. شرایط دمایی واکنش برای نمونه‌های تکثیریافته شامل یک چرخه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۳۷ چرخه به ترتیب در دمای ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، در دمای ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه و سپس ۷۲ درجه به مدت ۵۰ ثانیه و یک چرخه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۲۰ ثانیه بود. فراورده PCR در ژل آگارز دو درصد الکتروفورز شد.

گلدان کشت شده و سپس برای شکست خواب احتمالی و ایجاد همزمانی رشد بوته‌ها، گلدان‌ها به مدت ۴ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و پس از آن به مدت سه هفته به اتاقک رشد با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت ۷۵ درصد منتقل شدند. آبیاری به طور منظم و هر چهار روز یکبار با آب مقطر انجام شد. هر رقم در چهار گلدان کشت شد که دو گلدان با هورمون جیرلین ۵۰ ppm تیمار و دو گلدان دیگر با آب مقطر (شاهد) اسپورپاشی شد. اسپری جیرلیک اسید (و آب مقطر برای گلدان-های شاهد) از زمان انتقال گلدان‌ها به اتاقک رشد تا پایان هفته سوم بطور منظم و هر دو روز یکبار انجام شد. برای اندازه‌گیری ارتفاع بوته و طول غلاف از هر گلدان سه نمونه برداشت شده و با خط کش اندازه‌گیری شد.

استخراج DNA و واکنش PCR بذر ارقام در گلدان کشت شدند سپس در مرحله سه برگی، DNA آنها مطابق با روش (Saghai-Marof et al. 1984) استخراج و

جدول ۲- نام و توالی آغازگرها بر پایه SSR استفاده شده در این مطالعه (Korzun et al. 1998; Ellis et al. 2005)

نام آغازگر	توالی (۳'-۵')
BARC102F	GGAGAGGACCTGCTAAATCGAAGACA
BARC102R	GCGTTACGGATCAGTGTGGAGA
Xgwm261F	CTCCCTGTACGCCCTAACGC
Xgwm261R	CTCGCGCTACTAGCCATTG
BARC151F	TGAGGAAAATGTCTATAGCATCC
BARC151R	CGCATAAACACCTTCGCTTCCACTC

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس رقم و هورمون GA₃ و اثر متقابل آنها

متغیر	درجه آزادی	ارتفاع گیاهچه	طول غلاف	میانگین مربیات
رقم	۸۷**	۱۳۹		۲،۸۳**
هورمون	۱۴۶۵،۱۱**	۱		۱۰،۳۸**
رقم در هورمون	۲۳،۵۴ ^{ns}	۱۳۹		۰،۵۲ ^{ns}
خطا	۲۶،۰۸	۲۸۰		۰،۶

به نظر می‌رسد ارقام پاکوتاهی که به هورمون واکنش ندادند، دارای ال‌ل‌های پاکوتاهی غیرحساس به هورمون بوده و ارقام پاکوتاهی که به هورمون واکنش دادند، احتمالاً دارای ال‌ل‌های پاکوتاهی حساس به هورمون می‌باشند. در بررسی مولکولی فقط از ال‌ل‌های *Rht5*, *Rht8*, *Rht9* به خاطر اهمیت بالاتر استفاده شد. (Korzun et al. 1998; Ellis et al. 2005; Tang et al. 2009)

گزارش‌ها حاکی از آن است که اثر هورمون علاوه بر افزایش ارتفاع باعث شدت بیماری پوسیدگی فوزاریومی طوفه می‌شود (Liu et al. 2010). از بین ژن‌های پاکوتاهی، ژن‌های SSR (*Rht5*, *Rht8* و *Rht9*) مورد بررسی قرار گرفتند. این نشانگرها بر پایه تقریباً یکسان بوده‌است. ارقام از نظر ارتفاع گیاهچه و طول غلاف اختلاف معنی‌داری (در سطح یک درصد) داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن نشان داد که ارقام آتلاد، آکوا، اروم، استورک، بهار، دوروم یاواریس، دیهیم، رشید، شاهپست، شاهی، شواماله، طبسی، فروتنا، کراس بیات، گازرسنگ، مصنوعی و مهدوی بیشترین افزایش ارتفاع گیاهچه نسبت به شاهد (بدون هورمون) داشتند. از نظر طول غلاف نیز ارقام آتلاد، آذر، آزادی، اروم، استورک، افلاک، اکبری، بهار، پارسی، تجن، دیهیم، سفیدک، شانگ‌های، عدل، قدس، کویر، گاسکوئن، نوید و نیک-نژاد بیشترین تغییر نسبت به شاهد را (در سطح یک درصد) نشان دادند.

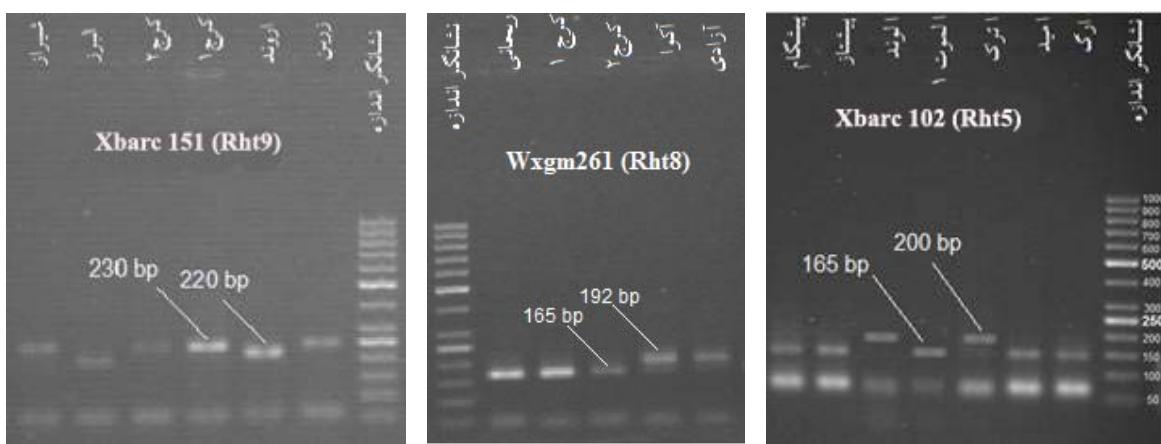
در این مطالعه مکان ژنی *Rht5* (با طول تکثیری ۲۰۰ جفت باز) توسط نشانگر Xbrac102 کاوش شد که ال‌ل پاکوتاهی *Rht5* از ال‌ل *rht5* با طول ۱۶۵ جفت باز قابل تفکیک بود. ال‌ل *Rht5* با فراوانی ۲۷،۹۲ درصد در ارقام زیر مشاهده شد: اترک، ارونده، الوند، اینیا، آذر، بروستایا، بک، کراس روشن بهاره، بولانی، بیات، پنجماء، چمران، چنان، داراب، داراب، سایسون، سبزواری، شواماله، عدل، عدل جدید، کارون، کراس شادی،

تجزیه واریانس داده‌های آزمون جیبرلیک اسید بر اساس طرح فاکتوریل با دو عامل هورمون و رقم در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. برای به دست آوردن درصد فراوانی ارقام و آلل‌ها تعداد هر کدام به تعداد کل ارقام تقسیم و درصد ضرب شد. به منظور بررسی روند تغییر ارتفاع و حضور آلل طی زمان از رابطه رگرسیون خطی بین زمان (سال معرفی ارقام) و ارتفاع و همچنین زمان و تعداد آلل استفاده شد. سال معرفی ارقام و ارتفاع آنها از منبع Saidi et al. (2005) استخراج شد. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SAS 9.2 و Excel 2013 صورت گرفت.

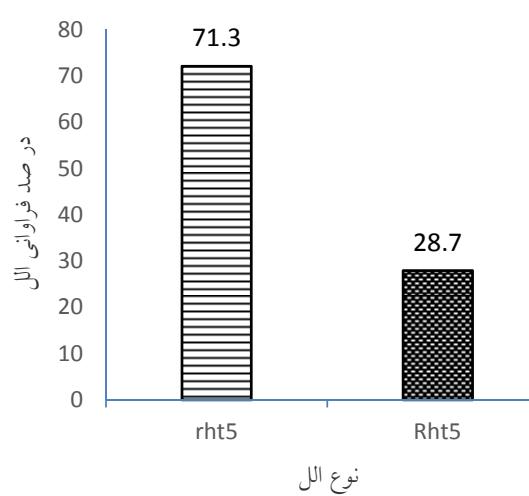
نتایج و بحث

ارقام از نظر تیمار هورمون اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد نشان دادند (جدول ۳). عدم وجود اثر متقابل معنی‌دار بین رقم و هورمون بیانگر این مطلب بوده که تاثیر هورمون روی ارقام تقریباً یکسان بوده‌است. ارقام از نظر ارتفاع گیاهچه و طول غلاف اختلاف معنی‌داری (در سطح یک درصد) داشتند (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن نشان داد که ارقام آتلاد، آکوا، اروم، استورک، بهار، دوروم یاواریس، دیهیم، رشید، شاهپست، شاهی، شواماله، طبسی، فروتنا، کراس بیات، گازرسنگ، مصنوعی و مهدوی بیشترین افزایش ارتفاع گیاهچه نسبت به شاهد (بدون هورمون) داشتند. از نظر طول غلاف نیز ارقام آتلاد، آذر، آزادی، اروم، استورک، افلاک، اکبری، بهار، پارسی، تجن، دیهیم، سفیدک، شانگ‌های، عدل، قدس، کویر، گاسکوئن، نوید و نیک-نژاد بیشترین تغییر نسبت به شاهد را (در سطح یک درصد) نشان دادند.

¹ Marker assistant selection



شکل ۱- تصویر سمت راست نمونه‌ای از محصول آغازگر Xbare102 می‌باشد که باند 200 bp نشان‌دهنده حالت طبیعی و غالب Rht5 و نشان‌دهنده آلل پاکوتاهی است که از rht5 با اندازه 165 bp قابل تفکیک است. تصویر وسط محصول تکثیر آغازگر Wxgm261 می‌باشد که باند پاکوتاه غالب Rht8 به طول 192 bp را از حالت rht8 به طول 165 bp تفکیک می‌کند. تصویر سمت چپ محصول تکثیر آغازگر Xbare151 می‌باشد که باند پاکوتاه غالب Rht9 به طول 220 bp را از حالت rht8 به طول 230 bp تفکیک می‌کند. این محصول با نشانگر اندازه Fermentas SM0372 برای شناسایی باندها مقایسه شد. رنگ آمیزی به کمک اتیدیوم بر ماید صورت پذیرفت (Ellis et al. 2005).



شکل ۲- درصد حضور آلل Rht5 در ارقام گندم نان ایرانی

با وجود تنوع در آلل Rht8، این آلل مستقل از ارتفاع بوده و با طول سلول هم اثر معنی‌داری نداشت (Botwright et al. 2005). در مطالعه Zhang et al. (2006) در ۲۲۰ ژنتیپ پاییزه در چین فراوانی آلل Rht8 حدود ۴۶/۸ درصد گزارش شد که نشان می‌دهد فراوانی این آلل در نمونه‌های مورد بررسی ما و کشور چین مشابه بوده است.

کراس فلات هامون، کرج ۱، کرج ۳، کرخه، کلات محلی، کلک افغانی، کوله، گاسپارد، مارون، مرمره، مروارید، مغان ۳، مکزیک، میلان، ناز، نوید، ورنر، وری ناک، هشتدرخانی ۲، هشتودی (که فراوانی آن در شکل ۲ مشاهده می‌شود). (Rebetzke et al. 2012) با مطالعه بر روی Rht5 گزارش دادند که آلل مذکور باعث کاهش ارتفاع بدون تاثیر بر روی قوه نامیه می‌شود.

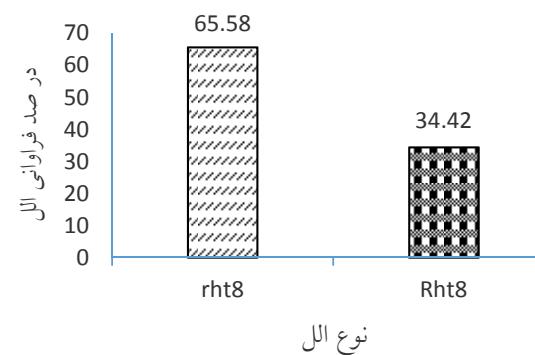
در این مطالعه مکان ژئی Rht8 (با طول تکثیری ۱۹۲ جفت باز) توسط نشانگر Xgwm261 کاوش شد که آلل پاکوتاهی Rht8 از آلل rht8 با طول ۱۶۵ و ۲۰۸ جفت باز تولید می‌کند قابل تفکیک بود. آلل Rht8 با فراوانی ۳۴/۴۲ درصد در ارقام زیر مشاهده شد: اروم، ارونده ۱، البرز، الموت، الموت ۱، آزادی، آکوا، باز، بککراس، روشن بهاره، بلوبوی، بهار، پنجامو، پیتیک، پیشگام، توباری، چاودار، دز، رسول، زارع، زاگرس، سبلان، سیوند، شانگهای، شاهپسند، شاهی، شواماله، شهریار، شیراز، شیرودی، طبسی، عدل جدید، فروتنا، قدس، قفقاز، کراس بیات، کراس شادی، کراس فلات هامون، کرج ۳، کرخه، کلک افغانی، کویر، گازرسنگ، گاسپارد، گندم منطقه سرد، ماهوتی یزد، مغان ۱، مغان ۲، میهن، ناز، نیک نژاد، هامون، هشتودی (که فراوانی آن در شکل ۳ مشاهده می‌شود).

هشتدرخانی ۲، هشت‌رودی (که فراوانی آن در شکل ۴ مشاهده می‌شود).

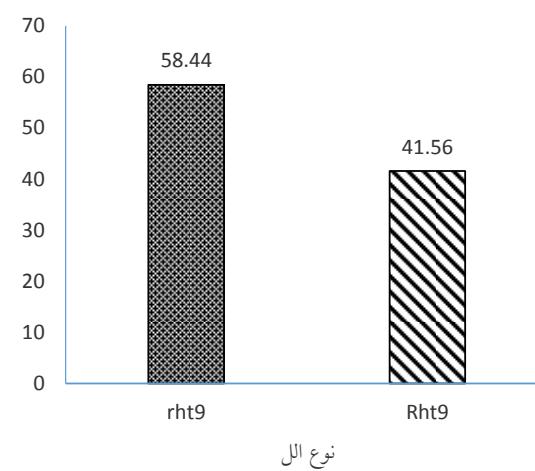
به طور کلی حضور ال‌های پاکوتاهی در ارقام خارجی بیشتر از ارقام داخلی بود. بیشترین درصد حضور ال پاکوتاهی در ارقام داخلی از نوع *Rht9* و کمترین مربوط به *Rht5* بود. در ارقام خارجی بیشترین و کمترین ال‌های پاکوتاهی به ترتیب مربوط به *Rht8* و *Rht5* بود (شکل ۵).

روند تغییر ارتفاع در بهنژادی گندم‌های تجاری نان ایران؛ با توجه به سال معرفی هر کدام از ارقام می‌توان روند تغییر و اصلاح ارقام تجاری گندم ایران را بررسی کرد (Saidi et al. 2005). نخستین ارقام اصلاح شده در ایران از میان ارقام بومی انتخاب شده بودند که ارتفاع بلندی داشتند اما به تدریج با ورود و معرفی ارقام جدید مخصوصاً از مرکز سیمیت و ایکاردا از ارتفاع گندم‌ها کاسته شد. همان‌طور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود ارتفاع ارقام گندم امروزی با گذشت زمان کاهش یافته به طوری که در سال‌های اولیه ارقام پاکوتاه کمتر مورد توجه قرار گرفته و ارقام متوسط نیز بسیار کم بوده‌اند. اما با گذشت زمان به تعداد ارقام پاکوتاه و متوسط افزوده شده‌است. در اکثر کشورها پس از معرفی ال‌های پاکوتاهی کاهش ارتفاع پس از گذشت زمان مشاهده می‌شود.

با توجه به روند تغییر فراوانی ال‌های پاکوتاهی در بهنژادی گندم‌های تجاری نان ایران و بر اساس ال‌های *Rht8* و *Rht5* پیش‌بینی می‌شود که حضور این ال‌ها در ارقام اولیه بسیار نادر بوده اما پس از گذشت زمان و با ورود ارقام پاکوتاه خارجی فراوانی این ال‌ها افزایش یافته‌است (شکل ۷). پاکوتاه‌ترین ارقام و بیشترین حضور ال‌ها در بین سال‌های ۱۳۴۰–۶۰ مشاهده می‌شود. اکثر ارقام جدید نیمه پاکوتاه بوده که دارای یکی از ژن‌های پاکوتاهی هستند اما برخی ارقام هیچ یک از ژن‌های پاکوتاهی مطالعه شده در این تحقیق را نداشتند که ممکن است حاوی سایر ژن‌های پاکوتاهی باشند. بررسی فراوانی ال‌های پاکوتاهی قبل و بعد از ۱۹۹۰ در ژنوتیپ‌های چینی نیز نشان داده که فراوانی *Rht8* طی مرور زمان تغییر نکرده ولی فراوانی *Rht1* و *Rht2* افزایش یافته‌است (Zhang et al. 2006).

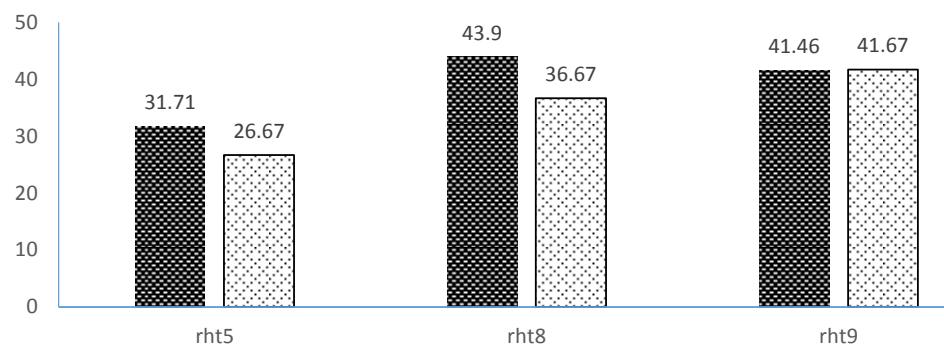


شکل ۳- درصد ال حضور ال *RHT8* در ارقام گندم نان ایرانی

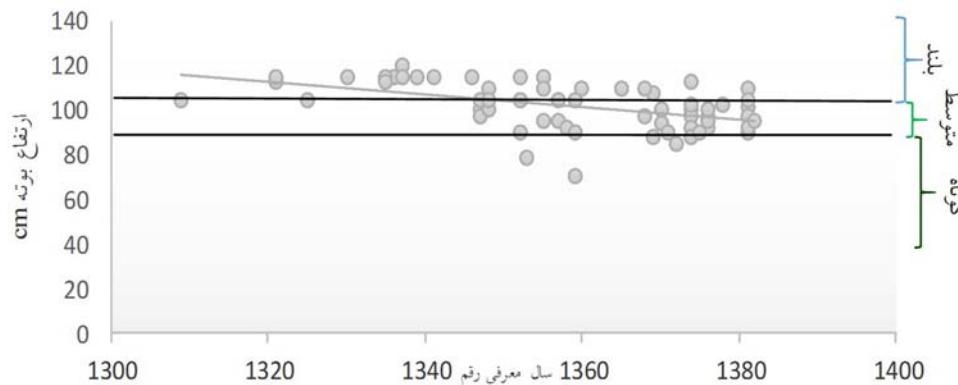


شکل ۴- درصد ال حضور ال *RHT9* در ارقام گندم نان ایرانی

در این مطالعه مکان ژن *Rht9* (با طول تکثیری ۲۲۰ جفت باز) توسط نشانگر *Xbrac151* کاوش شد. ال پاکوتاهی *Rht9* از ال *rht9* با طول ۲۳۰ جفت باز قابل تفکیک بود. ال *Rht9* با فراوانی ۴۱.۵۶ درصد در ارقام ذکر شده در زیر مشاهده شد: آتبیلا، سومایی، اترک، ارگ، اروم، ارون، موتانت استارک، استورک، البرز، الموت ۱، الموت ۲، الوند، اینیا ۶، آذر، آذر ۲، آزادی، آند ۱، بک کراس روشن، بک کراس روشن بهاره، بک کراس روشن زمستانه، بلوبوی، بولانی، بهار، بیستون، پارسی، پنجمام، پیتیک، پیشگام، تجن، تریته، چمنان، چناب، خزر ۱، داراب ۲، دریا، ریحانی، زاگرس، ساسا، سپاهان، سرخ تخم، سفیدک، سیمینه، شاهپسند، عدل، عدل جدید، عطایی، قرمزک ورامین، کاوه، کراس بیات، کراس فلات هامون، کلات محلی، گاسپارد، لاین A، مارون، ماهوتی یزد، مرمره، مرودشت، معان ۱، معان ۳، ناز، ورنر،



شکل ۵- درصد حضور ال‌های پاکوتاهی $RHT5$, $RHT8$, $RHT9$ می‌باشد که سمت چپ هر گروه درصد ال‌های مربوط در ارقام خارجی و سمت راست درصد ال‌های مربوط در ارقام داخلی است.



شکل ۶- رابطه بین ارتفاع و سال معرفی ارقام گندم در ۶۵ رقم اصلاح شده ایران (انطباق از Saidi et al. 2005)

روند حضور تعداد ال پاکوتاهی در ارقام گندم نان ایرانی



شکل ۷- روند حضور تعداد ال پاکوتاهی در ارقام گندم نان ایرانی در ۶۵ رقم اصلاح شده ایران (انطباق از Saidi et al. 2005)

در ایران طی گذشت زمان به کاهش ارتفاع و افزایش تجمع ال‌های پاکوتاهی منجر شده است.

برخی از ارقام مانند: آذر، مارون و عدل ۱ حاوی چند ژن پاکوتاهی بوده که این می‌تواند به شکل عکس عمل کرده و عملکرد را نیز کاهش دهد. علی‌رغم کاهش ارتفاع در دهه‌های اخیر تجمع ال‌های پاکوتاهی افزایش نیافته است. به شکل کلی گرایش به‌ثراوی

منابع

- Botwright TL, Rebetzke GJ, Condon AG, Richard AR (2005) Influence of the gibberellin-sensitive *rht8* dwarfing gene on leaf epidermal cell dimensions and early vigour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Annals of Botany* 95: 63-639.
- Chebotar GA, Chebotar SV, Sivolap YM (2012) Della mutations in plants with special emphasis on wheat. *Вавиловский журнал генетики и Селекции* 16:170-177.
- Chen L, Phillips AL, Condon AG, Martin AJP, Yin-Gang H (2013) GA-responsive dwarfing gene *Rht12* affects the developmental and agronomic traits in common bread wheat. *Public Library of Science* 8: e62285.
- Dvojković K, Šatović Z, Drezner G, Somers DJ, Lalić A, Novoselović D, Daniela H, Sonja M, Šarčević H (2010) Allelic variability of Croatian wheat cultivars at the microsatellite locus XGWM261. *Izvorni znanstveni radak*. 16: 32-37.
- Edward P, Wilhelm I, Mackay J, Robert J, Saville A, Korolev V, Balfourier F, Greenland AJ, Boulton MI, Powell W (2013) Haplotype dictionary for the *Rht-1* loci in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 126:1733-1747.
- Ellis MH, Rebetzke GJ, Azanza F, Richards RA, Spielmeyer W (2005) Molecular mapping of gibberellin-responsive dwarfing genes in bread Wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 111: 423-430.
- Korzun V, Roder MS, Ganal MW, Worland AJ, Law CN (1998) Genetic analysis of the dwarfing gene (*Rht8*) in wheat. Part I. Molecular mapping of *Rht8* on the short arm of chromosome 2D of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 96: 1104-1109.
- Li A, Wenlong Y, Shengjun L, Dongcheng L, Xiaoli G, Jiazhui S, Aimin Z (2013) Molecular characterization of three GIBBERELLIN- INSENSITIVE DWARF1 homologous genes in hexaploid wheat. *Journal of Plant Physiology* 170:432-443.
- Liu YX, Yang XM, Ma J, Wei YM, Zheng YL, Ma HX, Yao JB, Yan GJ, Wang YG, Manners JM, Liu CJ (2010) Plant Height Affects Fusarium Crown Rot Severity in Wheat. *American Phytopathological Society* 100:1276-81.
- Rebetzke GJ, Ellis MH, Bonnett DG, Mickelson B, Condon AG, Richards RA (2012) Height reduction and agronomic performance for selected gibberellin-responsive dwarfing genes in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crops Research* 126:87-96.
- Saghai-Maroof MA, Soliman KM, Jorgensen RA, Allard RW (1984) Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 81:8014-8018.
- Saidi A, Haghghi AA, Bakhtiar F, Mehravar MR, Nategh Z (2005) Characteristics of improved bread wheat, durum wheat, barley, triticale and rye cultivars released during 1930-2003. *Ministry of Jihad e Agriculture (In Farsi)*.
- Song QJ, Shi JR, Singh S, Fickus EW, Costa JM, Lewis J, Gill BS, Ward R, Cregan PB (2005) Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* (2005) 110: 550-560.
- Tang N, Jiang Y, He B, Hu Y (2009) The Effects of Dwarfing Genes (*Rht-B1b*, *Rht-D1b*, and *Rht8*) with Different Sensitivity to GA3 on the Coleoptile Length and Plant Height of Wheat. *Agricultural Sciences in China* 8: 1028-1038.
- Yamaguchi S (2008) Gibberellin metabolism and its regulation. *Annual Review of Plant Biology RIKEN Plant Science Center, Yokohama, Japan* 59:225-51.
- Youssefian S, Kirby EJM, GAle MD (1992) Pleiotropic effects of the GA-insensitive *Rht* dwarfing genes in wheat. 2. Effects on leaf, stem, ear and floret growth. *Field Crops Research* 28:191-210.
- Zhang X, Yang S, Zhou Y, He Z, Xia X (2006) Distribution of the *Rht-B1b*, *Rht-D1b* and *Rht8* reduced height genes in autumn-sown Chinese wheats detected by molecular markers. *Euphytica* 152:109-116.