دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

بررسی بیان ژن نیترات ردوکتاز در ریشه گندم تحت شرایط کود اوره طی مراحل رشد و نمو

سعید نواب‌پور[۱]، احد یامچی[۲] و عاطفه رحمانی کمرودی[۳]

۱- دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، (نویسنده مسوول: s.navabpour@gau.ac.ir)
۲ و ۳- استادیار و دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۸
صفحه: ۱۵۲ تا ۱۵۹

چکیده

به‌منظور بررسی تاثیر کود اوره بر روی بیان ژن نیترات ردوکتاز و صفات مورفولوژیک دو ژنوتیپ گندم، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سال زراعی ۹۱-۹۰ با چهار تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو ژنوتیپ گندم، رقم مروارید و لاین N 8019، دو رژیم متفاوت کود اوره شامل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار با تقسیط ۵۰ کیلوگرم در زمان کاشت و ۱۰۰ کیلوگرم در مرحله ساقه‌دهی و شاهد (بدون تیمار کود) بودند. نمونه‌گیری از بافت ریشه در مراحل یک روز پس از کود سرک، هفت روز پس از کود سرک و زمان رسیدگی فیزیولوژیک انجام شد. نتایج حاصل از الگوی بیان ژن نیترات ردوکتاز با کاربرد روش Real Time PCR نشان داد بیان ژن نیترات ردوکتاز تحت تاثیر کود اوره تغییر یافت و اختلاف معنی‌داری در بیان ژن نیترات ردوکتاز بین دو ژنوتیپ گندم وجود داشت. مصرف کود اوره به‌طور معنی‌داری باعث بهبود تمام صفات مهم زراعی اندازه‌گیری شده به جز وزن هزار دانه شد. مصرف کود اوره عمدتا از طریق افزایش تعداد دانه در سنبله باعث افزایش عملکرد دانه گردید. همبستگی مثبت بین میزان بیان ژن نیترات ردوکتاز و صفات طول ریشه، وزن خشک ریشه، طول سنبله، وزن هزاردانه و وزن خشک اندام هوایی ملاحظه شد. این مسئله از جنبه اصلاحی امکان معرفی یک شاخص همبسته را در پروژه‌های انتخاب میسر می‌نماید.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، ژن نیترات ردوکتاز، صفات مورفولوژیک، کود اوره، گندم

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یکی از محصولات استراتژیک است که از نظر سطح و ارزش غذایی دارای اهمیت بسزائی است (۲۷). نقش عناصر غذائی خاک در افزایش عملکرد در واحد سطح بسیار مهم است. به نحوی که عملکرد کم محصولات زراعی ازجمله گندم در بسیاری از نقاط دنیا در درجه اول مربوط به کمبود عناصر غذائی در خاک است (۳۱). نیتروژن مهم‌ترین عنصر غذایی مورد نیاز گندم است و به عنوان عنصر تعیین‌کننده در تغذیه، رشد و میزان عملکرد گندم محسوب می‌شود. میزان نیتروژن قابل دسترس برای گیاه می‌تواند میزان پروتئین دانه، محتوای کلروفیل برگ، اندازه و حجم پروتوپلاسم سلولی را افزایش دهد و همچنین سطح برگ و فعالیت فتوسنتزی را تحت‌تأثیر قرار دهد (۱۱). در مطالعه شهسواری و صفاری (۳۳) بر روی ارقام گندم نان با افزایش مصرف نیتروژن، وزن هزاردانه، تعداد سنبله در متر مربع، تعداد سنبلچه در سنبله، درصد پروتئین دانه، عملکرد بیولوژیک، وزن خشک درمرحله گرده‌افشانی و عملکرد دانه به طور معنی‌داری افزایش یافتند. بنابر گزارش مصدق و اسمیت (۲۷) مصرف نیتروژن در آغاز مرحله ساقه‌دهی، تحریک توسعه سطح برگ و ظرفیت فتوسنتزی را به دنبال خواهد داشت، در عین حال افزایش سطوح فتوسنتزی در اثر مصرف نیتروژن در مراحل اولیه رشد از عوامل موثر افزایش عملکرد به شمار می‌رود. پومر و فینک (۸۲) نیز افزایش تعداد ساقه‌های بارور را با تقسیط نیتروژن گزارش کردند به‌طوری‌که بیشترین آن در زمان ظهور اولین گره ساقه بدست آمد. نیترات‌ردوکتاز آنزیم کلیدی در چرخه متابولیسم نیتروژن می‌باشد و آنزیمی بسیار قابل تنظیم و قابل تحریک است. فعالیت نیترات‌ردوکتاز بوسیله نیترات، نور و پروتئین‌های ۳-۳-۱۴ تنظیم می‌شود (۶). ایلریچ و هاجمن (۱۲) گزارش کردند که مصرف نیتروژن در چند نوبت در فصل بهار در گندم زمستانه فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و مقدار پروتئین را افزایش می‌دهد. هوبر و همکاران (۱۸) مشاهده کردند فعالیت نیترات ردوکتاز درعصاره برگ اسفناج در اثر اضافه کردن نمک‌های آلی و معدنی افزایش یافت. ردا و همکاران (۲۹) در بررسی بیان ژن نیترات ردوکتاز در ریشه گیاه خیار تیمار شده با ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده نمودند که بیان ژن نیترات ردوکتاز افزایش یافت.

از مهم‌ترین روش‌های اندازه‌گیری میزان فعالیت ژن‌ها می‌توان به نوردرن بلاتینگ[۱] سنجش حفاظتی ریبونوکلئازی[۲] اندازه‌گیری در زمان واقعی[۳] اشاره نمود (۲۱). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی روشی آزمایشگاهی برای تکثیر RNA رونویسی شده به cDNA توسط آغازگرهای اختصاصی ژن هدف است. این روش بیشترین حساسیت و انعطاف‌پذیری را بین روش‌های کمی ارزیابی RNA دارا می‌باشد (۷).

در تحقیق حاضر، به بررسی الگوی بیان ژن نیترات ردوکتاز در ریشه گندم نان در مراحل مختلف رشد و نمو، تحت تاثیر کود اوره پرداخته شده است. همچنین روند تغییرات صفات مورفولوژیک و همبستگی آن با میزان بیان ژن نیترات ردوکتاز مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سال زراعی ۹۱-۹۰ با چهار تکرار در مزرعه

1- Northern Blotting 2- RNase protection assa 3- Real Time PCR

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: 10.29252/jcb.11.30.152]

تحقیقاتی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دو ژنوتیپ گندم نان، رقم مروارید و لاین N8019 و دو رژیم متفاوت کود اوره شامل ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، با تقسیط ۵۰ کیلوگرم در زمان کاشت و ۱۰۰ کیلوگرم در مرحله ساقه‌دهی، و شاهد (بدون تیمار کود) بودند. انتخاب ژنوتیپ‌ها بر اساس گستردگی کشت بویژه در مناطق شمالی کشور صورت پذیرفت. پس از رسیدن گیاهان به مرحله رسیدگی کامل دانه برای اندازه‌گیری صفات طول ساقه، طول سنبله، تعداد سنبلچه، تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه، وزن خشک اندام هوایی، وزن خشک ریشه و طول ریشه، از هر واحد آزمایشی با حذف حاشیه به طور تصادفی از هر کرت ۱۰ بوته برداشت گردید. نمونه‌گیری از بافت ریشه برای استخراج RNA در سه مرحله شامل: یک روز پس از کود سرک درمرحله ساقه‌دهی، هفت روز پس از کود سرک در مرحله ساقه‌دهی و زمان رسیدگی فیزیولوژیک انجام شد.

استخراج RNA

بلافاصله پس از نمونه‌برداری، بافت ریشه در نیتروژن مایع منجمد و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به‌منظور استخراج RNA، یک گرم بافت ریشه در نیتروژن مایع پودر گردید. RNA با استفاده از کیت ترایزول (Invitrogen) استخراج شد. کیفیت RNA روی ژل آگارز ۱/۵ درصد توسط الکتروفورز و کمیت آن با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر BRITE-Technologies مدل BT 600 بررسی شد.

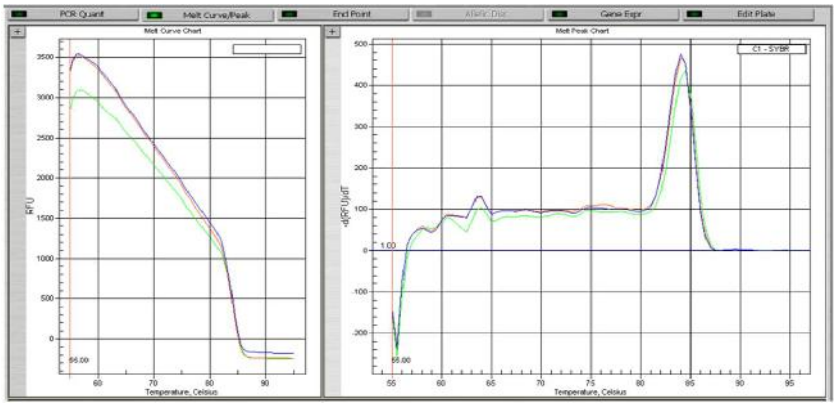
ساخت cDNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی

ساخت cDNA طبق پروتکل پیشنهادی شرکت فرمنتاز انجام شد. در مرحله بعد cDNA ساخته شده به نسبت ۱۰ درصد رقیق‌سازی شد و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (Q-PCR) با استفاده از رنگ SYBR Green I و کیت سایبربیوپارس در دستگاه iQ5 (شرکت بیورد، آمریکا) انجام شد. آغازگرهای مرتبط به ژن نیترات‌ردوکتاز به عنوان ژن مورد بررسی و آغازگرهای مربوط به ژن GAPDH به عنوان ژن مرجع با استفاده از نرم‌افزار ALLEL ID طراحی شد (جدول ۱). هر واکنش PCR شامل ۱۰ میکرولیتر مخلوط سایبرگرین (بیوپارس)، یک میکرولیتر آغازگرهای رفت و برگشت با غلظت ۱۰ میکرومول، یک میکرولیتر DMSO، شش میکرولیتر آب مقطر اتوکلاو شده و یک میکرولیتر cDNA الگو بود. شرایط دمایی برای PCR، شامل ۳۰ ثانیه دمای ۹۵ درجه، سپس ۴۰ چرخه شامل ۱۰ ثانیه دمای ۹۵ درجه، ۱۰ ثانیه دمای ۶۲ درجه، ۲۰ ثانیه دمای ۷۲ درجه، ۲۰ ثانیه دمای ۷۸ درجه بود. نهایتا، ارزیابی میزان بیان ژن نیترات‌ردوکتاز با استفاده از روش C_t مقایسه‌ای روش باستین (۷) (Comparative CT ($2^{-\Delta\Delta CT}$) method) محاسبه گردید.

جدول ۱- توالی آغازگرهای ژن‌های نیترات ردوکتاز و GAPDH مورد استفاده در آزمایش Q-PCR

Table 1. Primer sequences of nitrate reductase and GAPDH genes used in Q-PCR test

نام آغازگر	نوکلئوتید شروع	نوکلئوتید پایان	توالی آغازگر (3'- 5')	دمای ذوب (°C)	طول محصول واکنش	شماره دسترسی در پایگاه NCBI
NR For	۴۸	۶۶	CAAGGAGTCGGCGTGGAT	۶۶	۱۰۱bp	AAA۹۶۲۴۹/۱
NR Rev	۱۴۸	۱۷۰	CGGCGTTAATAAGGATGCTGTC	۶۵/۸		
GAPDH For	۱۱۳	۱۳۲	TCACCACCGACTACATGACC	۶۰	۱۲۱bp	EF۵۹۲۸۱۰
GAPDH Rev	۲۳۳	۲۱۴	ACAGCAACCTCCTTCTCACC	۶۰		



شکل ۱- منحنی ذوب بدست آمده برای ژن نیترات ردوکتاز تحت تیمار با کوداوره

Figure 1. Melting curve obtained for Nitrate reductase gene under urea fertilizer

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.152]

رسم نمودار منحنی ذوب (Melting curve)

قبل از تجزیه و تحلیل داده‌ها منحنی های ذوب به‌منظور بررسی واکنش اختصاصی PCR رسم گردید. با بررسی این منحنی‌ها صحت پیک مربوط به ژن مورد نظر و فقدان پرایمر دایمرها تایید گردید.

تجزیه داده‌ها

داده‌های بدست آمده از صفات مورفولوژیک، توسط نرم‌افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel رسم گردید. در تمامی مراحل، مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD انجام شد. ارزیابی میزان بیان ژن توسط نرم‌افزار REST و نمودارها توسط نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح کود اوره برای صفات طول ساقه، طول سنبله، تعداد سنبلچه، تعداد دانه در سنبله، وزن سنبله، وزن خشک اندام هوایی، طول ریشه، وزن خشک ریشه اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۲). همچنین ارقام نیز از نظر آماری برای صفات طول ساقه، طول سنبله، تعداد سنبلچه و وزن هزار دانه اختلاف معنی‌داری نشان دادند. اثر متقابل کود اوره × رقم برای صفت وزن هزار دانه و طول ریشه معنی‌دار بود. این بدین معنی است که روند تغییرات صفات مزبور در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه عکس‌العمل متفاوتی را تحت‌تاثیر سطوح کود اوره نشان دادند.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی

Table 2. Variance analysis of studied traits in factorial arrangement in the format of randomized complete block design

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات								
		طول ساقه	طول سنبله	تعداد سنبلچه	تعداد دانه در سنبله	وزن هزار دانه	وزن سنبله	وزن خشک اندام هوایی	طول ریشه	وزن خشک ریشه
بلوک	۳	۹۷/۴^{ns}	۱/۱۷^{ns}	۰/۵۹۱^{ns}	۲۸/۱۱^{ns}	۷/۳۱^{ns}	۳۹/۱^{ns}	۰/۵۱۵**	۱۹/۴**	۰/۰۸۲^{ns}
کود اوره	۱	۴۶۵/۱*	۲۲/۷**	۵۱/۱۲**	۹۰۶/۱**	۱۶۵/۱*	۲۳۲/۱**	۷/۳۳**	۲۱/۱۶**	۰/۲۰۹*
رقم	۱	۵۴۴/۷*	۶۳/۱**	۳۴/۲۲*	۰/۰۶۲^{ns}	۱۷۸/۲**	۲۸^{ns}	۰/۰۷۹^{ns}	۰/۲۱^{ns}	۰/۰۱۶^{ns}
کود اوره × رقم	۱	۱۳۰^{ns}	۱/۶^{ns}	۰/۲۰۲^{ns}	۲/۸۹^{ns}	۱۲۵/۴*	۶/۸۲^{ns}	۰/۰۶۳^{ns}	۳/۶۱*	۰/۰۱۶۲^{ns}
خطا	۹	۸۲/۹	۱/۵۳	۳/۶۵	۵۱/۶	۱۶/۴۳	۱۳/۷۹	۰/۰۶۹	۰/۶۸۱	۰/۰۳۴
ضریب تغییرات ٪	–	۱۱/۱	۱۷/۳	۱۳/۹	۲۴/۲۰	۹/۹۶	۲۲/۷	۱۳/۰۴	۸/۰۴	۱۱/۱

ns، * و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح آماری ۵ و ۱ درصد

طول ساقه در هر دو ژنوتیپ، با مصرف کود اوره افزایش یافت. فردیک و همکاران (۱۳) بیان کردند که با افزایش میزان نیتروژن عملکرد بیولوژیک افزایش یافت این افزایش در عملکرد بیولوژیک، منتسب به برآیند رشد قسمت‌های مختلف رویشی و زایشی گیاه در اثر مصرف کود اوره است (۳۳). طول سنبله هم مانند طول ساقه در هر دو ژنوتیپ، با مصرف کود اوره افزایش یافت. فزونی عملکرد دانه گندم عمدتا به‌دلیل افزایش تعداد دانه بوده و این افزایش با توجه به تاثیر مثبت کود اوره بر طول سنبله دور از انتظار نیست (۴).

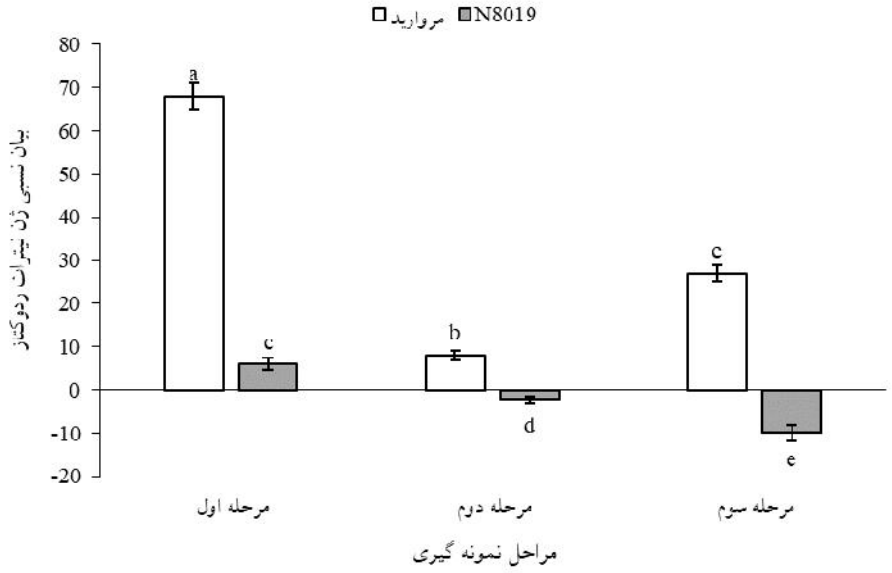
در این تحقیق، با مصرف کود اوره تعداد سنبلچه و تعداد دانه در سنبله در هر دو ژنوتیپ افزایش و وزن هزار دانه کاهش یافت. شهسواری و صفاری (۳۳) همبستگی مستقیم مصرف نیتروژن و افزایش تعداد سنبلچه را گزارش نمودند. تاثیر مثبت مصرف کود اوره تا یک حد معین، بر عملکرد دانه در بسیاری از آزمایش‌ها گزارش شده است. افزایش عملکرد دانه ناشی از سطوح بالای اوره، عمدتا مربوط به افزایش عملکرد بیولوژیک و تعداد دانه در مترمربع (تعداد سنبله در متر مربع، تعداد دانه در سنبله) است (۳۳،۸،۳). سیمونز (۳۴) بیان نمود که با افزایش مقادیر کود اوره وزن هزار دانه گیاه کاهش یافت. کاهش در وزن هزار دانه به علت افزایش تعداد پنجه‌ها و افزایش رشد رویشی می‌باشد. شهسواری و صفاری (۳۳) و عباس دخت و مروی (۱) نیز در مطالعات خود کاهش وزن هزاردانه در اثر مصرف کود اوره را گزارش نمودند. تجزیه واریانس برای صفت وزن خشک اندام هوایی از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در سطوح مختلف کود اوره نشان داد (جدول ۲). روند افزایش در وزن خشک اندام هوایی در هر دو ژنوتیپ افزایشی بود. مصرف کود اوره موجب افزایش سطح برگ، تشکیل و بقای پنجه و دوام سایه‌اند از (شاخص سطح برگ و دوام سطح برگ) می‌شود و این افزایش به نوبه خود منجر به تولید مقادیر بیشتر ماده خشک و عملکرد بالا می‌گردد (۵). نتایج این آزمایش نشان داد طول ریشه گندم در قسمتی از خاک که کود اوره اضافه شده بود افزایش یافت. کارو و مارونویل (۲۲) پاسخ واریته‌های گندم به ازت و رژیم‌های رطوبتی مختلف خاک را بررسی و به این نتیجه رسیدند که اثر نیتروژن بر رشد ریشه ممکن است مثبت یا منفی باشد که این بستگی به غلظت آن در سطح ریشه دارد. اگر مقدار کافی به کار رود رشد ریشه تحریک خواهد شد و هر چه سطح نیتروژن زیادتر از حد متعادل باشد رشد ریشه کاهش می‌یابد. آنها همچنین دریافتند که کمبود نیتروژن موجب کاهش اندام‌های هوایی نیز می‌گردد. گردریدنباخ و ورست (۱۶) گزارش کردند که کاربرد کودهای ازت باعث افزایش طول ریشه و تراکم آن شده و همچنین ریشه‌های فراوان‌تری در اوایل فصل رشد تشکیل می‌شود. این افزایش طول ریشه و تعداد ریشه شاید از طریق افزایش شاخص سطح برگ و انتقال مواد فتوسنتزی بیشتر برای رشد ریشه‌ها در اوایل فصل رشد گیاه باشد. با توجه به نتایج به دست آمده مصرف کود اوره در مرحله ساقه‌دهی می‌تواند تاثیر بسزایی در افزایش عملکرد گندم داشته باشد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.152]

الگوی بیان ژن

بیان ژن نیترات ردوکتاز نسبت به شاهد (بدون کود اوره) در رقم مروارید (شکل ۲) در هر سه مرحله نمونه‌گیری افزایش یافت و اختلاف معنی‌داری در بین سه مرحله وجود داشت. به‌طوری که در اولین مرحله نمونه‌گیری (یک روز بعد از کود سرک) بیشترین افزایش را داشت. اما در لاین N8019 (شکل ۲) بیان ژن نیترات ردوکتاز در اولین مرحله نمونه‌گیری افزایش و در مراحل بعدی کاهش نشان داد. این نتایج بیانگر این مطلب است که در مرحله اول نمونه‌گیری مقدار نیترات در داخل گیاه کم بوده است و عرضه نیترات باعث شده است پروتئین ۳-۳-۱۴ از پروتئین نیترات ردوکتاز جدا شده دفسفوریلاسیون رخ دهد و پروتئین نیترات ردوکتاز فعال گردد. با گذشت زمان در مراحل بعدی نمونه‌گیری، مقدار نیترات در داخل گیاه افزایش می‌یابد، وقتی نیترات داخل گیاه بالا است در سطح مولکولی نیترات ردوکتاز می‌تواند در قسمت سرین باقی‌مانده فسفریله شود و یک محل اتصال با پروتئین ۳-۳-۱۴ ایجاد کند. با اتصال پروتئین ۳-۳-۱۴ به آنزیم نیترات‌ردوکتاز فسفوریلاسیون رخ می‌دهد و فعالیت نیترات ردوکتاز کاهش می‌یابد (۲۴). بیان ژن نیترات ردوکتاز در هر دو ژنوتیپ عکس العمل متفاوتی به کود اوره نشان داد. این موضوع بیانگر این است که فعالیت نیترات ردوکتاز در بین ژنوتیپ‌های گندم طی مراحل نمونه‌گیری متفاوت است (۹).



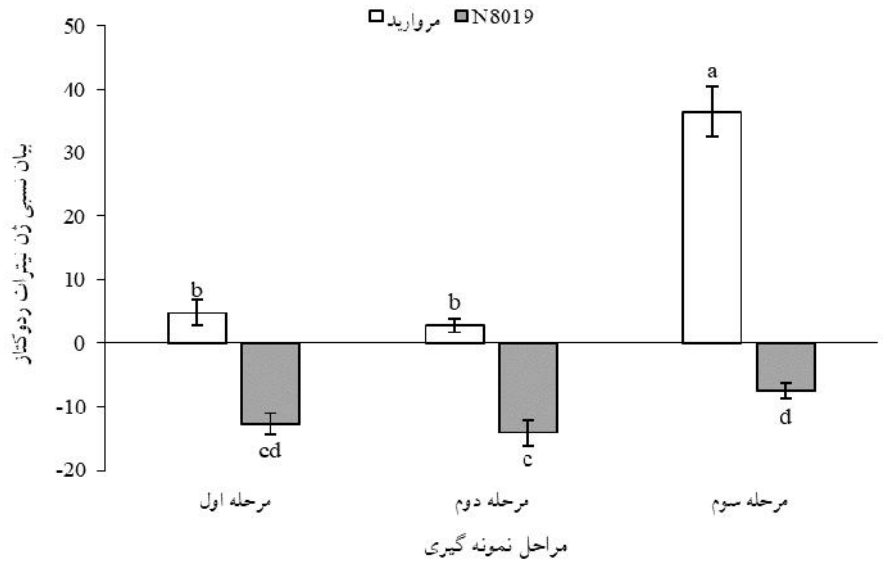
شکل ۲- روند تغییرات بیان ژن نیترات ردوکتاز در رقم مروارید تیمار شده با ۱۵۰ کیلوگرم کود اوره در مقایسه با رقم مروارید بدون کود اوره (شاهد) مرحله اول: یک روز پس از کود سرک، مرحله دوم: هفت روز پس از کود سرک، مرحله سوم: رسیدگی فیزیولوژیک

Figure 2. Changes of the nitrate reductase gene expression in the morvarid cultivar treated with 150 kg of urea fertilizer compared to the morvarid cultivar without urea fertilizer (control)
First stage: One day after fertilization, Second stage: Seven days after fertilization, third stage: Physiological maturity

در مطالعه (۳۴) فعالیت نیترات ردوکتاز در ریشه‌ها و برگ‌های بوته گیاه کدو تیمار شده با ۱۴۰ میلی‌مولار نیترات در طول دوره رشد افزایش یافت. فعالیت نیترات‌ردوکتاز به مدت کوتاه تحت تاثیر تنش نیترات قرار گرفت. با گذشت زمان فعالیت نیترات ردوکتاز کاهش یافته و نیترات در دراز مدت اثر منفی بر روی فعالیت نیترات ردوکتاز دارد. این نتایج نشان می‌دهند که فعالیت نیترات ردوکتاز تنها بوسیله سطح mRNA نیترات ردوکتاز کنترل نمی‌شود بلکه به تغییرات محیطی هم پاسخ می‌دهد (۲۳). در الگوی بیان ژن نیترات ردوکتاز در رقم مروارید در مقایسه با لاین N8019 در شرایط تیمار با کود اوره بیان ژن در هر سه مرحله نمونه‌گیری افزایش یافت. بیشترین افزایش در مرحله رسیدگی فیزیولوژیک بود و اختلاف معنی‌داری در بیان ژن در این سه مرحله وجود داشت (شکل ۳). تظاهر ژن نیترات‌ردوکتاز در رقم مروارید بدون افزودن کود اوره در مقایسه با لاین N8019 کاهش معنی‌داری در هر سه مرحله نمونه‌گیری نشان داد (شکل ۳).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.152]



شکل ۳- روند تغییرات بیان ژن نیترات ردوکتاز در رقم مروارید در مقایسه با لاین N8019 در شرایط افزودن ۱۵۰ کیلوگرم کود اوره
Figure 3. Changes of nitrate reductase gene expression in the morvarid cultivar compared to N8019 line under conditions of 150 kg of urea fertilizer

تیمار گندم با اوره باعث افزایش قابل توجهی در فعالیت و بیان ژن نیترات‌ردوکتاز در ریشه گردید (۱۵). هوبر و همکاران (۱۸) مشاهده کردند فعالیت نیترات ردوکتاز در برگ اسفناج در اثر اضافه کردن نمک‌های آلی و معدنی به عصاره حاوی آنزیم افزایش یافت. آن‌ها فرض نمودند که تحریک نیترات ردوکتاز ناشی از اثر بالای یون‌ها ناشی از نمک‌های آلی و معدنی بوده است، به دلیل اینکه نمک‌ها اثر پروتئین فسفاتازها را مهار می‌کنند و نیترات ردوکتاز فسفوریله نمی‌شود بلکه دفسفوریلاسیون رخ می‌دهد پروتئین ۳-۳-۱۴ از نیترات ردوکتاز جدا می‌شود و در نهایت فعالیت ژن نیترات ردوکتاز افزایش می‌یابد. نتایج این تحقیق مبین همبستگی مثبت معنی‌دار بین میزان بیان ژن نیترات ردوکتاز با صفات طول ریشه و وزن خشک ریشه بود (جدول ۴). آنیون‌های نیترات به کلوئیدهای منفی خاک متصل نمی‌شوند بلکه آزادانه در محلول خاک حرکت می‌کنند. این ویژگی باعث می‌شود نیترات با غلظت متفاوت در اطراف سیستم ریشه گیاه قرار بگیرد. پاسخ گیاه به توزیع متغیر نیترات شامل گسترش و حجیم شدن ریشه است. بین میزان بیان ژن نیترات ردوکتاز و صفات طول ساقه، تعداد سنبلچه و تعداد دانه در سنبله همبستگی منفی مشاهده شد. مطالعات زیادی انجام شده است که رابطه معکوس بین عملکرد و پروتئین دانه گندم را نشان می‌دهد. این همبستگی منفی به‌دلیل انرژی بالای سنتز پروتئین در مقایسه با سنتز کربوهیدرات است (۱۰).

جدول ۴- بررسی همبستگی صفات مورد ارزیابی و ژن نیترات ردوکتاز
Table 4. Correlation between studied traits and nitrate reductase gene

	NR	طول ریشه	وزن خشک ریشه	طول ساقه	طول خوشه	تعداد سنبلچه	تعداد دانه در سنبله	وزن هزار دانه	وزن خشک اندام هوایی
NR	۱								
طول ریشه	۰/۸۸۷**	۱							
وزن خشک ریشه	۰/۸۴۱**	۰/۸۳۷**	۱						
طول ساقه	-۰/۶۲۷	۰/۹۴۱	۰/۸۹۳	۱					
طول خوشه	۰/۷۱۸	۰/۷۲۹	۰/۳۳۶	۰/۳۸۵	۱				
تعداد سنبلچه	-۰/۴۳۴	۰/۹۸۸**	۰/۹۴۱	۰/۹۹۳**	۰/۳۲۶	۱			
تعداد دانه در سنبله	-۰/۱۹۰	۰/۹۵۴**	۰/۷۸۱	۰/۷۹۲	۰/۷۳۸	۰/۸۷۹	۱		
وزن هزار دانه	۰/۴۷۷	-۰/۱۵	-۰/۲۳۱	-۰/۲۱۹	-۰/۲۶۶	-۰/۱۴۰	-۰/۳۶	۱	
وزن خشک اندام هوایی	۰/۱۱۱	۰/۹۹۳**	۰/۹۹۳**	۰/۷۷۶	۰/۷۲۸	۰/۹۳۸*	۰/۹۶۴**	۰/۹۷۳**	۱

*و **: به‌ترتیب نشان‌دهنده، معنی‌داری درسطح ۵٪ و ۱٪ می‌باشد.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-11]
[DOI: 10.29252/jcb.11.30.152]

منابع

1. Abbas-Dokht, H. and H. Marvei. 2005. Effect of Foliar application of nitrogen on yield and yield components. Iranian journal of agricultural sciences, 36: 1325-1331 (In Persian).
2. Ahmadi, A., P. Ehsanzade and F. Jabari. 2003. An introduction to the translation of plant physiology, William, J. hapkinz (Author). Publication Tehran university, 224 pp (In Persian).
3. Ayoub, M., B. Feil and P. Stamp. 1994. Competition between nitrogen accumulation and grain growth for carbohydrates during grain filling of wheat. Crop Science, 34: 440-446.
4. Bakhshandeh, M. 2000. Effect of drought on the growth and development of wheat. Ph.D. Thesis. Newcastle University, Newcastle upon Tyne, United Kingdom.
5. Banziger, M., B. Feil and P. Stamp. 2003. Competition between nitrogen accumulation and grain growth for carbohydrates during grain filling of wheat. Crop science, 34: 440-446.
6. Boswell, F.C., J.J. Meisinger and W.L. Case. 1995. Production, marketing and use of nitrogen fertilizers. In Fertilizer Technology and Use. 3rd ed. SSSA Madison, WI. 229-292.
7. Bustin, S.A. 2002. Quantitation of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. Journal of molecular Endocrinology, 29: 23-39.
8. Cassman, K.G. and D.C. Bryant. 1992. Nitrogen supply effects on partitioning of dry matter and nitrogen to grain of irrigated wheat. Crop science, 32: 251-255.
9. Clark, J.M., C.A. Campbell, H.W. Cutforth and R.M. Depauw. 1990. Nitrogen and Phosphorus uptake, trcultivar yield in relation to envirment and anslocation and utilization efficiency of wheat and protein levels. Canadian journal of plant science, 70: 965-977.
10. Crawford, N.M. and A.D.M. Glass. 1998. Molecular and physiological aspects of nitrate uptake in plants. Trends in plant science, 3: 389-395.
11. Delfin, S., R. Tognetti, E. Dsiderio and A. Alvino. 2005. Effect of foliar application of N and humic acids on growth and yield of durum wheat. Agronomy of sustainable development, 25: 183-191.
12. Eilrich, G.L. and R.H. Hageman. 1999. Nitrate reductase activity and its relationship to accumulation of vegetative and grain nitrogen in wheat. Crop science, 13: 59-66.
13. Frederick, J.R. and J.J. Camberato. 1995. Water and nitrogen effects on winter in southeastern Coastal Plain. Agronomy Journal, 87: 521-533.
14. Galeeva, E.I., T.V. Trifonova, A.A. Ponomareva, L.V. Viktorova and F.V. Minibayeva. 2011. Nitrate reductase from triticum aestivum leaves: regulation of activity and possible role in production of nitric oxideissn. Biochemistry (Moscow), 77(4): 404-410.
15. Garnica, M., H. Fabrice, M.Z. Angel and M. Jose. 2009. Nitrate modifies the assimilation pattern of ammonium and urea in wheat seedlings. Journal of the Science of food and agriculture, 90: 357-369.
16. Gerreidenbach, W.A. and W.J. Horst. 2002. Nitrate-uptake capacity of different root zone of *zea mays* (L.) in vitro and situ. Plant and Soil, 196: 295-300.
17. Glaab, J. and W.M. Kaiser. 1995. Inactivation of nitrate reductase involves NR-protein phosphorylation and subsequent binding of an inhibitor protein. Planta, 195: 514-518.
18. Huber, J.L., S.C. Huber, W.H. Campbell and M.G. Redinbaugh. 1992. Reversible light: dark modulation of spinach leaf nitrate reductase activity involves protein phosphorylation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 296: 58-65.
19. Kaiser, W.M. and D. Spill. 1991. Rapid modulation of spinach leaf nitrate reductase by photosynthesis. II. In vitro modulation by ATP and AMP. Plant Physiology, 96: 368-375.
20. Kaiser, W.M. and S.C. Huber. 2001. Post-transcriptional regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. Journal of experimental botany, 52: 1981-1989.
21. Karimy, M. and C. zeynaly. 2008. In principles and Applications of PCR in vitro translation. Makferson, M.G., S.G. Moler, (Author). Publication of thought, 359 pp (In Persian).
22. Karrou, M. and J.W. Maranville. 2000. Response of Wheat cultivar to different soil nitrogen and moisture regimese: I. Dry matter partitioning and root growth. Journal of plant nutrition, 17(5): 725-744.
23. Labrie, S.T. and N.M. Crawford. 1994. A glycine to aspartic acid change in the MoCo domain of nitrate reductase reduces both activity and phosphorylation levels in Arabidopsis. The journal of biological chemistry, 269: 14997-14501.
24. Lambeck, I., J.C. Chi, S. Krizowski, S. Mueller, N. Mehlmer, M. Teige, K. Fischer and G. Schwarz. 2010. Kinetic analysis of 14-3-3-inhibited Arabidopsis thaliana nitrate reductase. Biochemistry, 49: 8177-8186.
25. Leleu, O. and C. Vuylsteker. 2004. Unusual regulatory nitrate reductase activity in cotyledons of Brassica napus seedlings: enhancement of nitrate reductase activity by ammonium supply. Journal of Experimental Botany, 55: 815-823.
26. Moaveni, P., C.A. Valad Abadi and A. Ebrahimi. 2009. Wheat (volume 1). Islamic Azad University of Jerusalem, 300pp (In Persian).
27. Mosseddeq, F. and D.M. Smith. 1994. Timing of nitrogen application to enhance spring wheat yield in Mediterranean climate. Agronomy Journal, 86: 221-226.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.152]

28. Pommer, G. and K. Fink. 1993. Adjusting the second nitrogen application for winter wheat to the development of spike primordia on the main stem. Field crop abstracts, 46(8011): 10-14.
29. Reda, M., M. Migocka and G. Kłobus. 2011. Effect of short-term salinity on the nitrate reductase activity in cucumber roots, Plant Science, 180: 783-788.
30. Sarmadnia, Gh. and A. Kocheki. 1996. Crops physiology. Mashhad jahad Daneshgahi Press. Sixth Edition, 467p (In Persian).
31. Saroop, S., S. Chanda and Y. Singh. 2000. Effect of phytohormones and tungsten on light induced and nitrate-induced nitrate reductase activity of mustard cotyledons. Acta Physiologiae Plantarum, 22: 465-469.
32. Scarf, P.C. and M. Alley. 1993. Spring nitrogen on winter wheat II-.flexible multi component rate recommendation system. Agronomy Journal, 85: 1180-1192.
33. Shahsavari, N. and M. Saffari. 2005. Effect of amount of nitrogen on yield and yield components of three bread wheat cultivars in Kerman. Iranian. Journal of Agricultural Science, 18: 81-87.
34. Simons, R.G. 1994. Tiller and ear production of winter wheat. Field Crop Abstracts, 35: 857-870.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.152]

Analysis of Gene Expression Pattern in Wheat (*Triticum aestivum*) Roots Under Urea Fertilizer Regime During Growth Stages

Saeid Navabpuor[1], Ahad Yamchi[2] and Atefeh Rahmani Kamrodi[3]

1- Associate Professor, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran, (Corresponding author: s.navabpour@gau.ac.ir)
2 and 3- Assistant Professor and Master of Science of Plant Breeding, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
Received: May 17, 2016 Accepted: May 29, 2018

Abstract

In order to study the effects of urea fertilizer regime on the differential gene expression of nitrate reductase and agronomic traits in two wheat cultivars, the experiment was carried out in a factorial based on randomized complete block design with four replications in 2012 at research field of Gorgan University of agricultural sciences and natural resources. Experimental treatment included factorial combination of two wheat genotypes (Morvarid cultivar and N8019 line) and two different urea regime (150 kg/ha, by splitting 50 kg at sowing time, and 100 kg at stem elongation, and control (no fertilizer). Root tissue samples were collected at three times including one day and seven days after using fertilizer and at physiologic maturity stage. Nitrate reductase gene expression was measured using Q-PCR technique. Results showed there was significant difference on gene expression using urea in two genotypes. Urea usage has improved all agronomic traits except grain weight. Increases of grain yield were mostly due to more grain number per spike. There was positive significant correlation between gene expression and some traits, such as root length, root dry weight, spike length, grain weight and shoots dry weight. This could be important to introduce a selection index in breeding projects.

Keywords: Gene Expression, Morphologic Traits, Nitrate Reductase Gene, Urea Fertilizer, Wheat

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-11-11]

[DOI: 10.29252/jcb.11.30.152]