

## اثر مصرف کود فسفر و نیتروژن بر بیان ژن‌های *Ta-PHO2* و *Ta-PHR1*، عملکرد دانه و صفات وابسته در گندم نان

### The Effect of Nitrogen and Phosphor Fertilizer Usage on *Ta-PHR1*, *Ta-PHO2* Gene Expression, Yield and Related Traits in Bread Wheat

سعید نواب‌پور<sup>۱\*</sup>، آمنه قاسمی مصرمی<sup>۲</sup> و ابوالفضل مازندرانی<sup>۳</sup>

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۷/۲۹

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۸/۲۱

#### چکیده

فسفر یکی از مهم‌ترین عناصر مورد نیاز گیاهان می‌باشد و نقش آن در فرایند تولید و انتقال انرژی است، در نتیجه حفظ و نگهداری فسفر و پاسخ به کمبود مقدار آن در گیاه به منظور حفظ و افزایش عملکرد ضروری می‌باشد. به منظور بررسی تأثیر مصرف کود فسفر و نیتروژن بر بیان ژن‌های *Ta-PHO2* و *Ta-PHR1* و افزایش عملکرد دانه در برخی از ژنوتیپ‌های گندم، آزمایشی به صورت فاکتوریل-اسپلیت پلات در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل دو سطح کود نیتروژن شاهد (۰) و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار و دو سطح کود فسفر شاهد (۰) و ۱۰۰ کیلوگرم در هکتار به عنوان عامل اصلی و چهار ژنوتیپ گندم (رقم مروارید و لاین‌های امید بخش N80-19، T-67-60 و T-65-7-1) به عنوان عامل فرعی بودند. به منظور اندازه‌گیری عملکرد دانه و اجزای آن در مرحله رسیدگی نمونه‌برداری صورت گرفت و برای ارزیابی میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه نمونه‌برداری در مرحله پرشدن دانه‌ها صورت گرفت. نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان عملکرد دانه در شرایط مصرف توأم کود نیتروژن و فسفر حاصل گردید و سایر اجزای عملکرد (فاصله میان‌گره، طول سنبله، طول ساقه، تعداد پنجه بارور، تعداد کل پنجه، تعداد دانه، قطر دانه، طول دانه، وزن هزاردانه) نیز در این تیمار بالاترین مقدار را داشتند. هم‌چنین در بین ژنوتیپ‌ها رقم مروارید و لاین N80-19 عملکرد بهتری در هر دو شرایط مصرف و عدم مصرف کود داشتند. بیش‌ترین بیان ژن *Ta-PHR1* در رقم مروارید و لاین T-65-7-1 بود. هم‌چنین مصرف کود فسفر و نیتروژن بر روی تمام صفات مورد بررسی به جز قطر دانه تأثیر مثبت و معنی‌داری داشت.

واژه‌های کلیدی: اجزای عملکرد، بیان ژن، پرشدن دانه، تیمار کودی

۱ و ۲. به ترتیب دانشیار و دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران  
۳. دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

Email: s.navabpour@yahoo.com

\* نویسنده مسوول

کارایی جذب فسفر بیش‌تر حائز اهمیت زیادی است. نتایج برخی تحقیقات نشان‌دهنده بهبود کارایی جذب فسفر، از طریق درک و شناخت شبکه سیگنال‌دهی و ارزیابی بیان ژن‌های درگیر در تثبیت و انتقال فسفر است لیانگ و همکاران؛ رن و همکاران (Liang et al., 2010; Ren et al., 2012). در شبکه سیگنال‌دهی در تشخیص فسفر قابل دسترس، فاکتور رونویسی *PHR* نقش اصلی را بازی می‌کند شیو و لین (Chiu and Lin, 2011). نتایج پژوهش وانگ و همکاران (Wang et al., 2013) نشان داد، ژن *Ta-PHR1* به‌عنوان یک فاکتور رونویسی، عامل تنظیم ژن‌های القایی در گرسنگی فسفر می‌باشد. بیان بالای *Ta-PHR1* در گندم افزایش بیان *Ta-PHT1.2* و سایر ژن‌های القایی در گرسنگی فسفر شامل *Ta-IPSI.1* و *Ta-PHT1.6* را سبب شده که تأییدی بر نقش *Ta-PHR1* در سیگنال‌دهی فسفر در گندم است. در برخی منابع گزارش شده است که بیان بیش از حد *PHR1* و همولوگ‌های آن در برنج و کلزا موجب محدود شدن رشد گردید که این تضعیف رشد ناشی از تجمع فسفر در لاین‌های ترا ریخته می‌باشد زو و همکاران؛ رن و همکاران (Zhou et al., 2008; Ren et al., 2012). نقش حیاتی ژن *PHO2* در تنظیم سیگنال‌دهی فسفر به‌صورت دقیق در آرآیدوپسیس و برنج مشخص شده است و از ژن *PHO2* موجود در این گونه گیاهان دیپلوئید هیو و همکاران (Hu et al., 2011) یک نسخه تک وجود دارد. گندم معمولی یک آلو هگزاپلوئید است که حاوی سه ژنوم همولوگ پیترسون و همکاران (Petersen et al., 2006) می‌باشد، به‌طور نظری ممکن است سه ژن همولوگ *PHO2* داشته باشد. در گیاهان موتانت ژن *PHO2* موجب افزایش انتقال فسفر از ریشه به ساقه و افزایش غلظت در برگ شد و هم‌چنین ثابت شده است که در سطح پس از ترجمه، تنظیم‌کننده انتقال‌دهنده‌های *PHO1* و *PHT1* می‌باشد. هیو و همکاران (2011) گزارش کرده‌اند، در گیاهان دیپلوئید مانند آرآیدوپسیس و برنج از دست دادن عملکرد ژن *PHO2* موجب توقف رشد گیاه می‌شود که این نتایج نشان می‌دهد ژن *PHO2* در هم‌نوستازی فسفر و رشد گیاه ضروری است. بر اساس آنچه ذکر گردید این مطالعه به‌منظور ارزیابی بیان ژن‌های درگیر در تثبیت و انتقال فسفر و صفات مهم زراعی تحت تأثیر رژیم کودی ازت و فسفر در ژنوتیپ‌های گندم انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال زراعی ۹۳-۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به‌صورت فاکتوریل-اسپلیت

با افزایش روزافزون جمعیت، تأمین غذا یکی از مهم‌ترین چالش‌های پیش‌رو است خان و همکاران (Khan et al., 2009). گندم (*Triticum aestivum* L.) مهم‌ترین گیاه زراعی در سطح دنیا است فائو (FAO, 2006). فسفر یکی از عناصر ضروری است که نقش مهمی را در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و سیستم انتقال انرژی در گیاهان دارد. فسفر و فسفو لیپیدها جزئی از ساختمان ATP، RNA و DNA می‌باشد و کمبود آن می‌تواند منجر به کاهش سطح بسیاری از فرایندهای متابولیک مانند تقسیم و توسعه سلولی، تنفس و فتوسنتز شود. سیمز و شارپلی (Sims and Sharpley, 2005). فسفر پس از نیتروژن مهم‌ترین عنصر مورد نیاز گیاهان و ریزجاندانان می‌باشد و مهم‌ترین نقش آن در فرایند تولید و انتقال انرژی است. شکل‌های مختلف فسفر مقدار ماده آلی خاک، نوع و pH در خاک به‌وسیله ویژگی‌هایی از قبیل سطح ذرات خاک کنترل می‌شود. فسفر مورد یاز گیاه عموماً از طریق استفاده از کودهای شیمیایی تأمین می‌شود. با این وجود مقدار زیادی از فسفر موجود در کودهای شیمیایی بعد از ورود به خاک نامحلول شده و در خاک‌های آهکی به ترکیبات نامحلول کلسیم‌دار و منیزیم‌دار تبدیل و از دسترس گیاه خارج می‌شود ویگر و همکاران (Wagar et al., 2004). بهبود کارایی استفاده از فسفر با کشت گیاهان ترا ریخت در برخی از گیاهان زراعی گزارش شده است راماکرز و همکاران؛ تیان و همکاران (Ramaekers et al., 2010; Tian et al., 2012). تفاوت‌های ژنتیکی در کارایی استفاده از فسفر میان گونه‌های مختلف گیاهان و حتی ژنوتیپ‌های متفاوت در یک گونه به‌خوبی مشخص شده است و نشان می‌دهد تولید گیاهان ترا ریخته به شکل کارآمدی استفاده از فسفر را بهبود بخشید. روش‌های انتخاب مرسوم، به شکل موفقیت‌آمیزی در کارایی استفاده از فسفر مورد استفاده قرار گرفته است. برای مثال، برنامه گندم سیمیت (مرکز بهبود وضعیت ذرت و گندم به صورت بین‌المللی، CIMMYT) ژنوتیپ گندمی را معرفی نموده که می‌تواند فسفر را در شرایط فسفر محدود به شکل کارآمد جذب نماید و هم‌چنین به کاربرد فسفر پاسخ گوید مانسک و همکاران (Manske et al., 2000). از آنجاکه ریشه جهت پاسخ به جذب فسفر، قابلیت جابه‌جایی محدود و تثبیت بالایی در خاک دارد. شاتمن و شین (Schachtman and Shin, 2007)، انتخاب ویژگی‌های ریشه و افزایش سطح تماس خاک-ریشه و افزایش قابلیت جابه‌جایی به‌منظور استفاده از فسفر قابل دسترس اهمیت زیادی در بهبود کارایی کاربرد فسفر دارد (مانسک و همکاران، 2000). بر این اساس انتخاب ژنوتیپ‌های واجد

خانه‌دار *GAPDH* که دارای بیان یکسانی در تمام تیمارها می‌باشد استفاده شد. آغازگرهای مورد نیاز بر اساس اطلاعات موجود در سایت NCBI و با استفاده از نرم‌افزار پرایمر ۳ و در نظر گرفتن خصوصیات مطلوب برای استفاده در روش QRT-PCR طراحی گردیدند. اطلاعات مربوط به آغازگرها در جدول شماره ۱ آورده شده است. در پایان واکنش و پس از دریافت نمودارها، اطلاعات به نرم‌افزار REST منتقل شده و تجزیه داده‌ها انجام گرفت. تجزیه واریانس داده‌های حاصل بیان ژن‌ها و داده‌های صفات مورفولوژیک به وسیله نرم‌افزار آماری SAS 9.1 انجام گرفت.

## نتایج و بحث

### بیان ژن‌ها

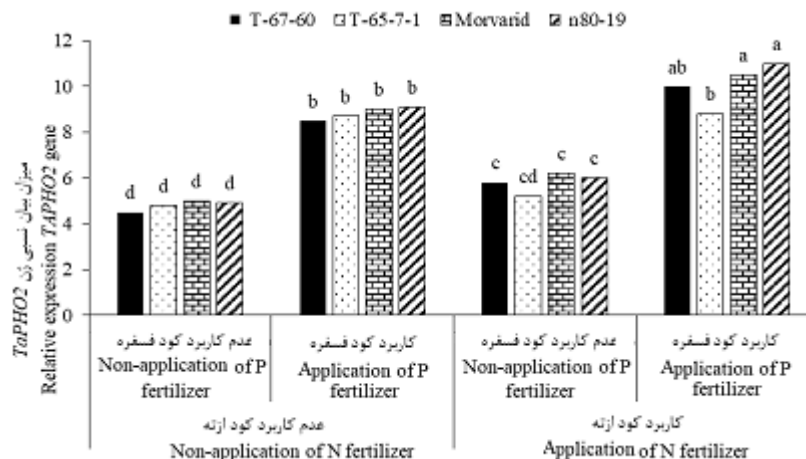
نتایج بررسی میزان بیان ژن *Ta-PHO2* نشان داد که کم‌ترین میزان بیان این ژن در شرایط عدم کاربرد کود مشاهده شد و بین ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون کود اختلاف معنی‌داری در بیان این ژن وجود نداشت (شکل ۱). بیش‌ترین مقدار بیان ژن *Ta-PHO2* در شرایط کاربرد توأم کود فسفر و نیتروژن در ژنوتیپ مروارید و N80-19 مشاهده شد. یکی از راهبردهای افزایش بهره‌وری فسفر خاک وجود سیستم ریشه‌ای قوی و گسترده می‌باشد که نقش نیتروژن در افزایش رشد رویشی ثابت شده است (فائو، ۲۰۰۶) و علت افزایش بیان ژن *Ta-PHO2* را در شرایط کاربرد توأم نیتروژن و فسفر را می‌توان همین مسئله به‌شمار آورد. در شرایط کاربرد فسفر بدون استفاده از نیتروژن، بیان این ژن در تمام ژنوتیپ‌ها افزایش نشان داد. این نتایج با نتایج *اوینگ* و همکاران (Ouyang et al., 2016) که حاکی از افزایش میزان بیان این ژن در شرایط افزایش میزان فسفر بود مطابقت داشت. آن‌ها بیان داشتند ژن *Ta-PHO2* در حفظ مقدار و پایداری فسفر در سلول نقش داشته، در شرایطی که بیان این ژن کاهش یافته و یا متوقف شود سبب کاهش و توقف رشد در گندم می‌گردد. نقش ژن *PHO2* در حفظ مقدار و پایداری فسفر در سلول در آرابیدوپسیس توسط کیم و همکاران (Kim et al., 2011) نیز بیان شده است. تحقیقات بر روی عملکرد ژن *PHO2* نقش این ژن را در تنظیم ژن‌های انتقال‌دهنده *PHO1* و *PHT1* در سطح پس از ترجمه به اثبات رسانده است به‌طوری‌که در موتانت‌هایی که ژن *PHO2* حذف شده بود میزان فسفر در برگ نسبت به ریشه افزایش قابل ملاحظه‌ای یافت *لیو* و همکاران؛ *هوانگ* و همکاران (Liu et al., 2012; Huang et al., 2013).

پلات در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. فاکتور اصلی در این آزمایش شامل ترکیب فاکتوریل دو سطح کود نیتروژن صفر (۰) و ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار اوره مقدم و همکاران (Moghaddam et al., 2005) و دو سطح کود فسفر با صفر و ۱۰۰ کیلوگرم سوپر فسفات تریپل ونگ و همکاران (Weng et al., 2013) و فاکتور فرعی شامل چهار ژنوتیپ گندم (مروارید، N80-19، T-67-60 و T-65-7-1) بود. رقم مروارید بیش‌ترین سطح کشت را در منطقه دارد و سه لاین دیگر از لاین‌های امیدبخش می‌باشند که داری عملکرد بالا بوده و نسبت به تنش‌های خشکی و شوری محتمل می‌باشند. یک دوم کود نیتروژن و تمام کود فسفر به‌صورت پایه بعد از دیسک اول در مزرعه توزیع و توسط دیسک دوم با خاک مخلوط گردید. بقیه کود نیتروژن در هر تیمار کودی در مرحله ساقه رفتن (یک دوم) به‌صورت سرک مصرف شد. به‌منظور تعیین میزان عملکرد دانه و اجزای آن، برداشت در مرحله رسیدگی نهایی و پس از حذف نیم متر از ابتدا و انتهای هر کرت از خطوط سوم و چهارم، در سطحی معادل ۱/۲ مترمربع صورت گرفت. نمونه‌برداری از برگ جهت استخراج RNA نیز در مرحله پر شدن دانه (ونگ و همکاران، ۲۰۱۳) صورت گرفت و مقدار ۰/۵ گرم نمونه برگ در سطوح مختلف کود برای اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌های *Ta-PHO2* و *Ta-PHR1* تهیه گردید و در ازت مایع منجمد و تا مرحله استخراج RNA جهت نگهداری به فریزر ۸۰- منتقل گردید. این نمونه‌ها درون نیتروژن مایع کوبیده شد و از آن‌ها برای استخراج RNA استفاده گردید. استخراج RNA با استفاده از کیت پی بایوزول (بیوفولکس ژاپن) صورت گرفت. کیفیت RNA استخراج شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین گردید. تشکیل دو باند RNA ریبوزومی 28S و 18S در روی ژل نشان‌دهنده کیفیت بالای RNA تخلیص شده بود. سپس سنتز cDNA با روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز صورت گرفت و به‌وسیله آغازگرهای ژن خانه‌دار با استفاده از PCR، cDNA سنتز شده تست گردید. عملکرد اختصاصی آغازگرهای مورد استفاده به‌وسیله cDNA‌های ساخته شده در یک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز استاندارد مورد ارزیابی قرار گرفت. محصول حاصل روی ژل ۱/۵ درصد آگارز الکتروفورز گردید. جهت ارزیابی الگوی تظاهر ژن‌های مزبور از دستگاه IQ5 شرکت Bio Rad و کیت سایبر بیوپارس (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان) که قادر است ارزیابی را در زمان واقعی انجام دهد استفاده شد. این دستگاه در هر چرخه از فعالیت می‌تواند مقدار محصول واکنش پلی‌مرز را نشان دهد. به‌منظور نرمال‌سازی داده‌ها از ژن

جدول ۱: مشخصات آغازگرهای مورد استفاده

Table 1: Primers used and details

نام آغازگر Primer name	توالی آغازگر Primer sequence	طول محصول واکنش (تعداد باز) Product length (bp)	دمای ذوب (سانتی‌گراد) Melting temperature (C°)	منبع یا شماره دسترسی در پایگاه NCBI Reference or Access number at NCBI database
<i>Ta-PHO2</i> , FOR	5'-CTCGGCGGTGATCTCATTG-3'	181	59	(Oyang <i>et al.</i> , 2016)
<i>Ta-PHO2</i> , REV	5'-AGGCGATCCAGCTTCGC-3'		59	
<i>Ta-PHR1</i> , FOR	5'-GGTCCTGCTGTGACATCTGA-3'	154	59	KC 218925
<i>Ta-PHR1</i> , REV	5'-AGCTGCCACGATGACTCTTT-3'		60	
<i>GAPDH</i> , FOR	5'-TCACCACCGACTACATGACC-3'	121	60	EF592180
<i>GAPDH</i> , REV	5'-ACAGCAACCTCCTTTCACC-3'		60	

شکل ۱: اثر متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر میزان بیان ژن *Ta-PHO2* در ژنوتیپ‌های مورد مطالعهFig. 1: Interaction of phosphorus (P) and nitrogen (N) fertilizers on the expression of *Ta-PHO2* gene in studied genotypes

شرایط عدم کاربرد کود فسفر مقدار بیان این ژن بیش‌تر از بیان آن در شرایط کاربرد کود فسفر باشد ولی نتایج عکس این موضوع بود و با نتایج وانگ و همکاران (2013) نیز مطابقت داشت که دلیل این موضوع را افزایش وزن خشک ریشه بیان کردند. گئورگ و همکاران (Georg *et al.*, 2011) گزارش کردند توسعه ریشه توانایی ریشه را در استفاده از فسفر خاک افزایش می‌دهد. از آنجایی که کاربرد کود نیتروژن موجب توسعه ریشه می‌گردد و در این آزمایش کاربرد کود نیتروژن به تنهایی و توأم با کود فسفر نیز موجب افزایش بیان ژن *Ta-PHR1* گردید می‌توان نتیجه گرفت کود نیتروژن نیز موجب استفاده بهینه از فسفر خاک می‌شود.

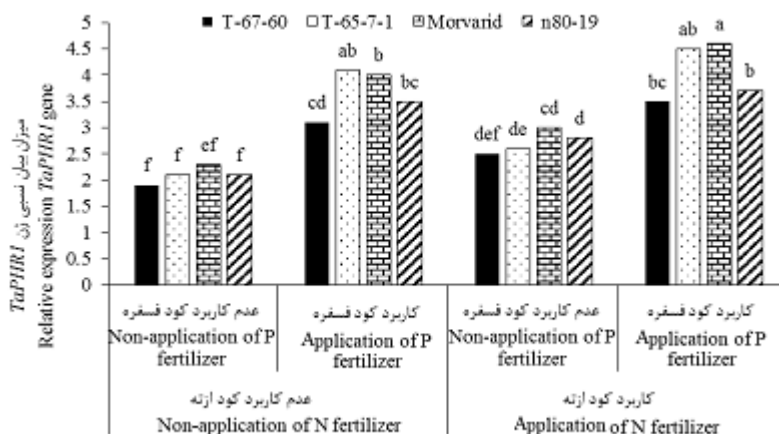
#### عملکرد دانه و صفات وابسته

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد اثر کود نیتروژن و فسفر به تنهایی بر روی تمام صفات اندازه‌گیری شده به جز قطر دانه در سطح احتمال یک درصد معنی‌داری شد. ولی اثر متقابل نیتروژن و فسفر به جز در رابطه با صفات فاصله میان‌گره و طول ساقه که در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار

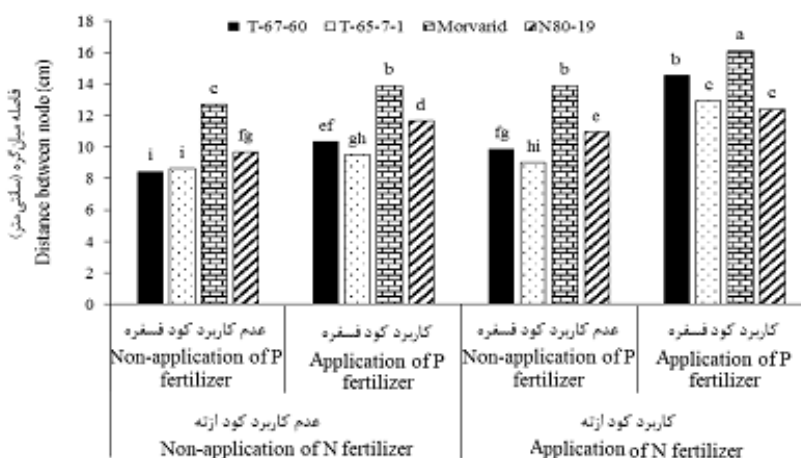
الگوی بیان ژن *Ta-PHR1* در برگ به گونه‌ای بود که در شرایط کاربرد کود فسفر عموماً نسخه‌برداری به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافت. چنین به نظر می‌رسد که این ژن در روند فرآیند جذب فسفر نقش دارد (شکل ۱). تحقیقات گذشته نشان داده ژن *Ta-PHR1* و همولوگ‌های آن نقش کلیدی در پاسخ به کمبود فسفر بازی می‌کنند نیلسون و همکاران (Nielsson *et al.*, 2007). در همین راستا نتایج وانگ و همکاران (2013) نشان داد میزان بیان ژن *Ta-PHR1* در زمان پرشدن دانه در اندام هوایی بیش‌تر از ریشه بود و با افزایش میزان فسفر نیز هم در ریشه و هم در اندام هوایی مقدار بیان آن افزایش یافت. همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود بیش‌ترین میزان بیان این ژن در شرایط کاربرد توأم کود نیتروژن و فسفر و در رقم مروارید مشاهده گردید که این مقدار با میزان بیان این ژن در لاین T-657-1 در هردو شرایط کاربرد توأم کود نیتروژن و فسفر و کاربرد کود فسفر به‌تنهایی معنی‌دار نگردید. کم‌ترین میزان بیان این ژن مربوط به شرایط عدم کاربرد کود بود که اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نگردید. با توجه به نقش ژن *Ta-PHR1* در سیگنال‌دهی کاهش فسفر، انتظار بر این بود در

نتایج مقایسه میانگین اثر تیمار کودی (نیترژن-فسفر) بر فاصله میان‌گره (شکل ۳) نشان داد در تمامی ژنوتیپ‌ها با کاربرد کود (فسفر یا نیترژن و یا کاربرد توأم آن‌ها) فاصله میان‌گره افزایش یافت و در تیمار کاربرد کود فسفر به‌تنهایی این افزایش بیش‌تر از کاربرد کود نیترژن به‌تنهایی بود. با این وجود کاربرد توأم کود فسفر و نیترژن بیش‌ترین تأثیر را در افزایش میزان فاصله میان‌گره داشت. در تمامی تیمارها بیش‌ترین فاصله میان‌گره مربوط به رقم مروارید بود و اختلاف معنی‌داری با سایر ژنوتیپ‌ها داشت. بیش‌ترین مقدار افزایش فاصله میان‌گره مربوط به لاین T-67-60 بود که در شرایط کاربرد توأم کود فسفر و نیترژن مشاهده شد که ۴/۵ سانتی‌متر نسبت به کاربرد کود فسفر به‌تنهایی افزایش یافت.

شد، برای سایر صفات معنی‌دار نگردید. اثر ژنوتیپ برای قطر دانه و طول دانه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید، اما برای سایر صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل نیترژن و ژنوتیپ برای صفات طول سنبله، تعداد پنجه بارور، قطر و طول دانه معنی‌دار نگردید ولی برای سایر صفات معنی‌دار شد. اثر متقابل فسفر و ژنوتیپ برای صفات طول سنبله، قطر دانه، طول دانه و عملکرد دانه غیرمعنی‌دار و برای سایر صفات در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید. همان‌طور که در جدول ۲ نیز مشاهده می‌شود اثر متقابل سه جانبه نیترژن، فسفر و ژنوتیپ برای صفات طول سنبله، تعداد پنجه بارور، تعداد کل پنجه، قطر دانه و طول دانه غیرمعنی‌دار و برای سایر صفات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید.



شکل ۲: اثر متقابل کودهای فسفره و نیترژن بر میزان بیان ژن *Ta-PHR1* در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه  
 Fig. 2: Interaction of phosphorus (P) and nitrogen (N) fertilizers on the expression of *Ta-PHR1* gene in studied genotypes



شکل ۳: مقایسه میانگین‌های سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیترژن بر فاصله میان‌گره  
 Fig. 3: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on distance between node

جدول ۲: تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف فسفر و نیتروژن بر صفات موردبررسی در ژنوتیپ‌ها گندم مورد مطالعه

Table 2: Variance analysis of different phosphorus and nitrogen levels on wheat genotypes traits

میانگین مربعات صفات Traits Mean square										درجه آزادی df	منابع تغییر Source of variation
عملکرد دانه Seed yield	وزن هزاردانه 1000 seed weight	طول دانه Seed length	قطر دانه Seed diameter	تعداد دانه Seed number	تعداد کل پنجه Total tiller number	تعداد پنجه بارور Fertile tiller number	طول ساقه Shoot length	طول سنبله Spike length	فاصله میان‌گره Distance between node		
38.14 <sup>ns</sup>	2.58 <sup>ns</sup>	0.011 <sup>ns</sup>	0.058 <sup>ns</sup>	4.52 <sup>ns</sup>	1.02 <sup>ns</sup>	3.08 <sup>ns</sup>	0.98 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	0.16 <sup>ns</sup>	2	بلوک Block
255208 <sup>**</sup>	168 <sup>**</sup>	1.435 <sup>**</sup>	0.200 <sup>ns</sup>	243 <sup>**</sup>	56.3 <sup>**</sup>	58.5 <sup>**</sup>	123 <sup>**</sup>	46.0 <sup>**</sup>	42.7 <sup>**</sup>	1	نیتروژن Nitrogen
366101 <sup>**</sup>	456 <sup>**</sup>	1.050 <sup>**</sup>	0.110 <sup>ns</sup>	884 <sup>**</sup>	108 <sup>**</sup>	196 <sup>**</sup>	282 <sup>**</sup>	117 <sup>**</sup>	64.6 <sup>**</sup>	1	فسفر Phosphorus
225 <sup>ns</sup>	1.33 <sup>ns</sup>	0.0002 <sup>ns</sup>	0.130 <sup>ns</sup>	14.0 <sup>ns</sup>	0.07 <sup>ns</sup>	1.68 <sup>ns</sup>	30.0 <sup>**</sup>	4.20 <sup>ns</sup>	8.58 <sup>**</sup>	1	نیتروژن × فسفر Nitrogen × phosphorus
241	1.30	0.693	0.055	3.07	0.74	2.13	0.61	0.80	0.25	6	خطا Error
4758 <sup>**</sup>	11.1 <sup>**</sup>	0.254 <sup>*</sup>	0.076 <sup>*</sup>	79.0 <sup>**</sup>	4.02 <sup>**</sup>	12.2 <sup>**</sup>	9.53 <sup>**</sup>	8.86 <sup>**</sup>	39.3 <sup>**</sup>	3	ژنوتیپ Genotype
2769 <sup>**</sup>	3.63 <sup>*</sup>	0.054 <sup>ns</sup>	0.032 <sup>ns</sup>	14.8 <sup>**</sup>	1.94 <sup>**</sup>	0.85 <sup>ns</sup>	6.54 <sup>**</sup>	0.76 <sup>ns</sup>	1.43 <sup>**</sup>	3	نیتروژن × ژنوتیپ Nitrogen × genotype
285 <sup>ns</sup>	10.3 <sup>**</sup>	0.052 <sup>ns</sup>	0.002 <sup>ns</sup>	13.0 <sup>**</sup>	2.05 <sup>**</sup>	2.46 <sup>**</sup>	12.9 <sup>**</sup>	0.68 <sup>ns</sup>	1.49 <sup>**</sup>	3	فسفر × ژنوتیپ Phosphorus × genotype
4751 <sup>**</sup>	7.55 <sup>**</sup>	0.025 <sup>ns</sup>	0.003 <sup>ns</sup>	11.5 <sup>**</sup>	0.91 <sup>ns</sup>	0.35 <sup>ns</sup>	5.84 <sup>**</sup>	0.08 <sup>ns</sup>	1.65 <sup>**</sup>	3	نیتروژن × فسفر × ژنوتیپ Nitrogen × phosphorus × genotype
69.5	0.93	0.0683	0.023	2.35	0.34	1.37	0.55	0.78	0.18	24	خطا Error
2.6	2.4	3.6	5.2	2.9	5.4	13.7	2.2	10.1	3.7	-	ضریب تغییرات (درصد) CV (%)

ns, \* و \*\*: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد

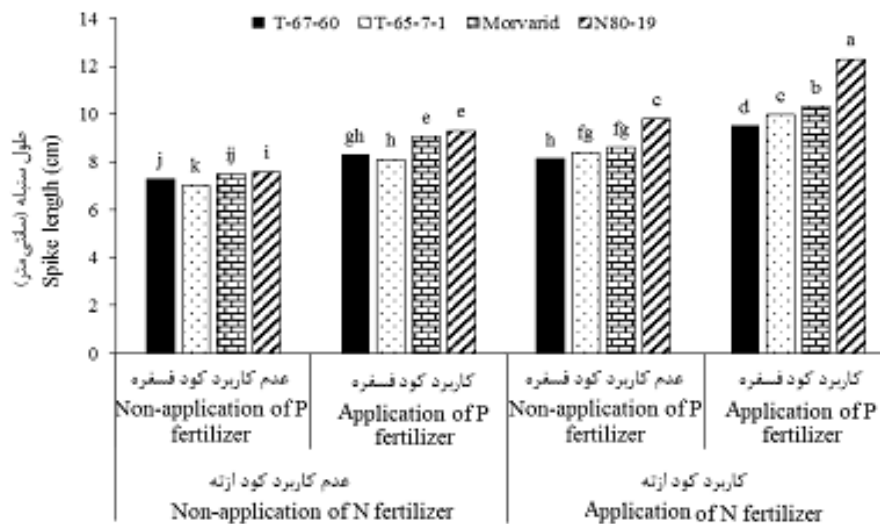
ns, \* and \*\*: Non-significant, significant at 5% and 1% critical levels, respectively

ژنوتیپها در این شرایط طول سنبله افزایش یافت. مقایسه میانگین ژنوتیپها در شرایط کاربرد کود فسفر و نیتروژن به تنهایی نشان داد به جز لاین N80-19 که در شرایط کاربرد کود نیتروژن طول سنبله بیش تر از شرایط کاربرد کود فسفر بود برای سایر ژنوتیپها عکس این مسئله صدق می کرد.

مقایسه میانگین اثر تیمار کودی (نیتروژن-فسفر) بر طول ساقه نشان داد، کاربرد کود فسفر فقط برای لاین T-65-7-1 باعث افزایش معنی دار طول ساقه نسبت به شرایط عدم کاربرد کود گردید (شکل ۵). کاربرد کود نیتروژن منجر به افزایش طول ساقه بیش تری شد که با تیمار عدم کاربرد کود و کاربرد کود فسفر به تنهایی برتری معنی داری داشت. کاربرد توأم نیتروژن و فسفر بیش ترین تأثیر را بر روی افزایش طول ساقه داشت. در این شرایط لاین T-65-7-1 با میانگین طول ساقه ۳۹/۷ سانتی متر بیش ترین مقدار طول ساقه را داشت که اختلاف آن با رقم مروارید و لاین T-67-60 معنی دار نگردید.

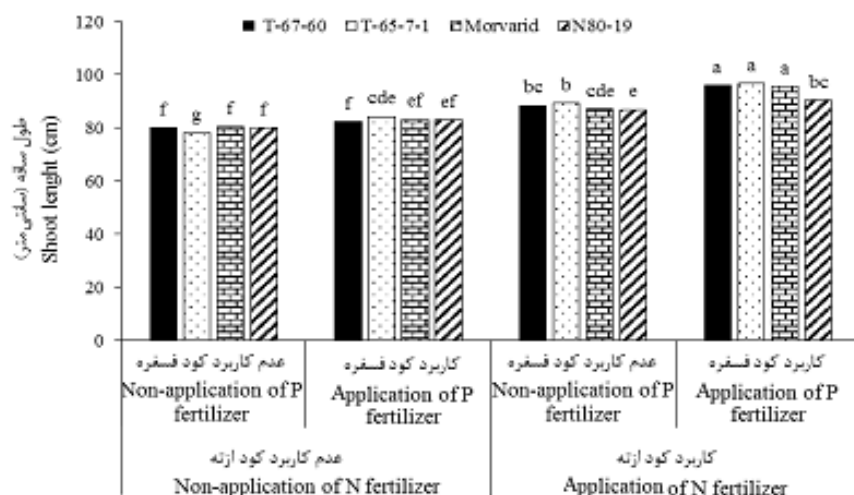
به طور معمول، ارتفاع بوته با کاربرد کود نیتروژن افزایش می یابد که این امر ممکن است به دلیل افزایش شاخ و برگ و طول میان گره در گیاه باشد (مقدم و همکاران، ۲۰۰۵). نتایج یک پژوهش مزرعه ای نشان داد که مصرف ۱۲۰ کیلوگرم در هکتار کود نیتروژن نسبت به تیمار شاهد ارتفاع گیاه تریپتیکاله را ۲۵ درصد افزایش داد. باسبگ و همکاران ( Basbag et al., ۲۰۰۶).

مقایسه میانگین اثر تیمار کودی (نیتروژن-فسفر) بر طول سنبله (شکل ۴) نشان داد بیش ترین طول سنبله مربوط به لاین N80-19 بود که به جز در تیمار عدم کاربرد کود و کاربرد کود فسفر که اختلاف آن با رقم مروارید معنی دار نشد در دو شرایط تیماری دیگر اختلاف آن با سایر تیمارها معنی دار بود. در شرایط عدم کاربرد کود کم ترین مقدار طول سنبله ۷/۰۳ سانتی متر بود که در لاین T-65-7-1 مشاهده گردید. در شرایط کاربرد توأم نیتروژن و فسفر بیش ترین مقدار طول سنبله ۱۲/۳ سانتی متر بود که در لاین N80-19 مشاهده شد و در تمامی



شکل ۴: مقایسه میانگین ها سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر طول سنبله

Fig 4: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on spike length



شکل ۵: مقایسه میانگین‌های سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر طول ساقه

Fig. 5: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on stem length

می‌برد و افزایش تعداد دانه در سنبله نقش کم‌تری در بالا بردن عملکرد دانه دارد. جیووانی و همکاران؛ فولر و برایان (Giovanni *et al.*, 2004; Fowler and Brydon, 2001).

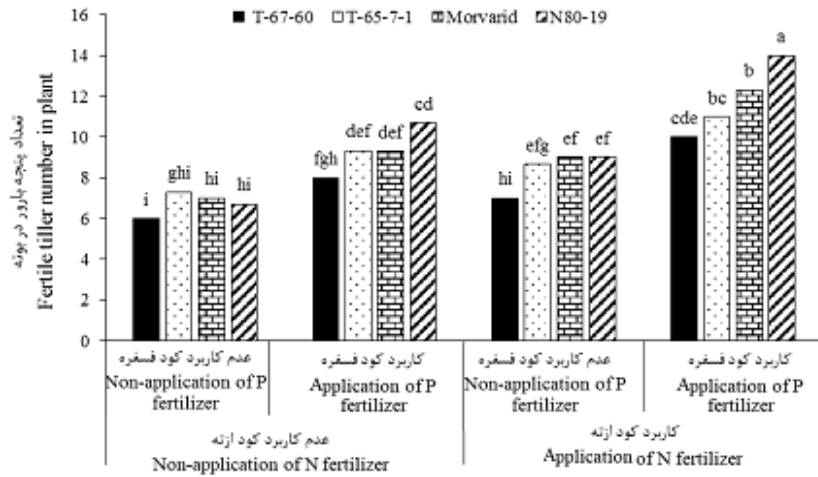
نتایج مقایسه میانگین (شکل‌های ۹ و ۱۰) نشان داد با افزایش سطوح کود قطر دانه و طول دانه نیز افزایش یافت. به طوری که کم‌ترین قطر دانه و طول دانه مربوط به عدم استفاده از کود و بیش‌ترین قطر دانه و طول دانه مربوط به استفاده از کود و بیش‌ترین قطر دانه و طول دانه مربوط به استفاده از کود بود. واکنش ژنوتیپ‌های مختلف به افزایش سطح کود فسفر و نیتروژن متفاوت بود، به طوری که قطر دانه در لاین T-67-60 و طول دانه در لاین T-65-7-1 بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها تحت تأثیر کوددهی بود (شکل‌های ۹ و ۱۰). طول و قطر دانه رقم مروارید و لاین N80-19 کم‌تر تحت تأثیر مصرف کود قرار گرفت و اختلاف این صفات در شرایط تیماری مختلف معنی‌دار نشد.

نتایج مقایسه میانگین تیمار کودی برای صفت وزن هزاردانه (شکل ۱۱) نشان داد بیش‌ترین وزن هزاردانه مربوط به مصرف هم‌زمان کود نیتروژن و فسفر بود. کم‌ترین میزان وزن هزاردانه در تیمار عدم استفاده از فسفر و نیتروژن مشاهده شد اما اختلاف بین ژنوتیپ‌ها در این شرایط معنی‌دار نبود. بین ژنوتیپ‌ها در پاسخ به کاربرد توأم کود نیتروژن و فسفر تفاوت معنی‌داری وجود داشت به طوری که لاین N80-19 بیش‌ترین میزان و T-67-60 کم‌ترین مقدار وزن هزاردانه را نشان دادند. کلیم و همکاران (Kaleem *et al.*, 2009) طی پژوهشی گزارش کردند با افزایش میزان کود فسفر وزن هزاردانه افزایش معنی‌داری یافت.

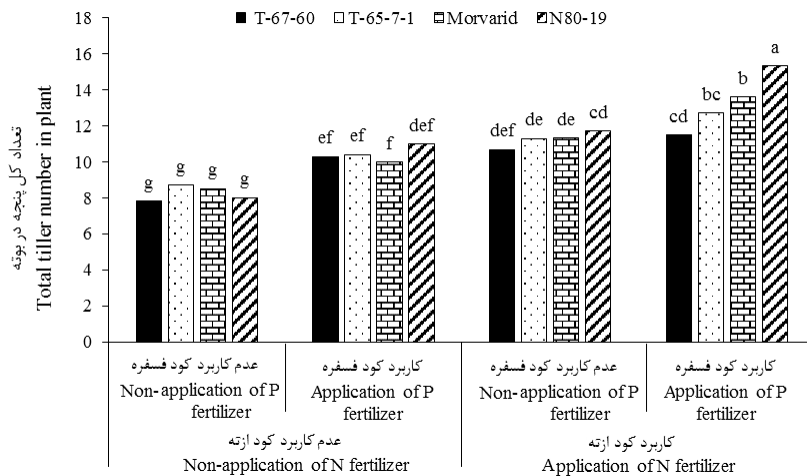
نتایج مقایسه میانگین تعداد پنجه بارور و کل پنجه (شکل‌های ۶ و ۷) روند معکوسی را در شرایط تیمار کود نیتروژن و فسفر به تنهایی نشان داد. لاین N80-19 در شرایط کاربرد توأم کود فسفر و نیتروژن بیش‌ترین تعداد پنجه بارور (۱۴ عدد) و تعداد کل پنجه (۱۵/۳ عدد) را داشت که اختلاف آن با سایر ژنوتیپ‌ها معنی‌دار بود. در شرایط عدم کاربرد کود هر دو صفت تعداد پنجه بارور و تعداد کل پنجه کم‌ترین مقدار را داشتند و اختلاف بین ژنوتیپ‌ها معنی‌دار نبود. با کاربرد فسفر به تنهایی تعداد پنجه بارور بیش‌تر از کاربرد نیتروژن به تنهایی بود. در حالی که برای صفت تعداد کل پنجه در بوته با کاربرد نیتروژن به تنهایی تعداد پنجه بیش‌تری مشاهده گردید. این موضوع مبین تأثیر مثبت فسفر در افزایش تعداد پنجه‌های بارور است.

نتایج مقایسه میانگین اثر مصرف کود بر روی صفت تعداد دانه (شکل ۸) نیز با افزایش سطوح کوددهی افزایش یافت به طوری که بیش‌ترین مقدار در زمانی که هر دو کود استفاده شد و کم‌ترین میزان در عدم استفاده از کودها مشاهده گردید (شکل ۸). در شرایط استفاده توأم کود نیتروژن و فسفر اختلاف بین لاین‌های T-67-60، T-65-7-1 و رقم مروارید معنی‌دار نبود ولی اختلاف آن‌ها با لاین N80-19 که تعداد دانه کم‌تری داشت معنی‌دار گردید. در سایر شرایط تیماری کم‌ترین تعداد دانه در بوته مربوط به لاین T-67-60 بود، که به جز در شرایط عدم استفاده از کود که اختلاف آن با رقم مروارید معنی‌دار نگردید در دو تیمار دیگر اختلاف آن با سایر ژنوتیپ‌ها معنی‌دار بود. مصرف صحیح و متناسب کودهای نیتروژن، عملکرد دانه گندم را به طور عمده از طریق افزایش تعداد سنبله در واحد سطح بالا

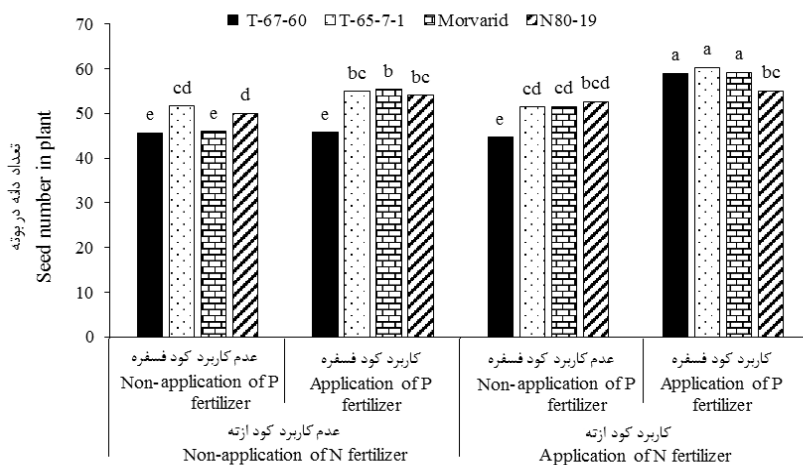




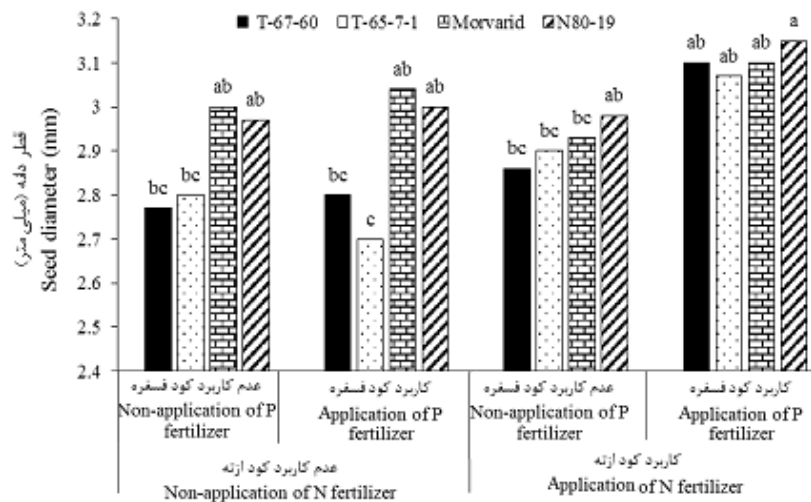
شکل ۶: مقایسه میانگین‌های سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر تعداد پنجه بارور در بوته  
 Fig. 6: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on fertile tiller number in plant



شکل ۷: مقایسه میانگین‌های سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر تعداد کل پنجه در بوته  
 Fig. 7: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on total tiller number in plant

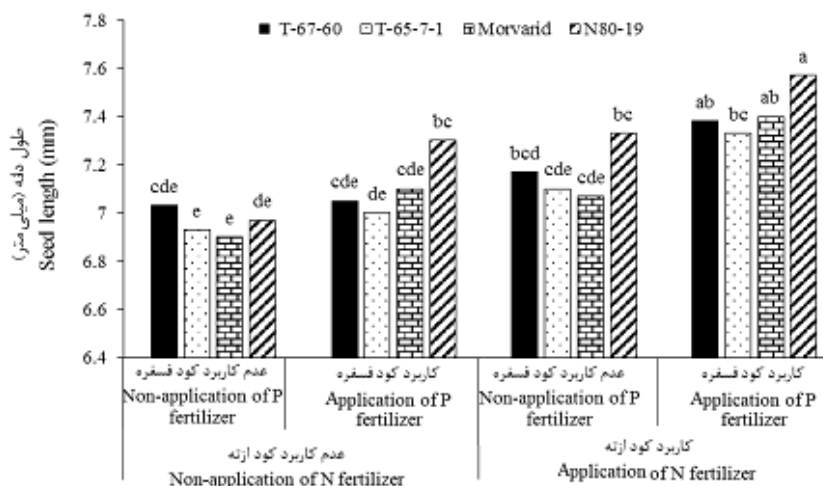


شکل ۸: مقایسه میانگین‌های سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر تعداد دانه بوته  
 Fig. 8: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on seed number in plant



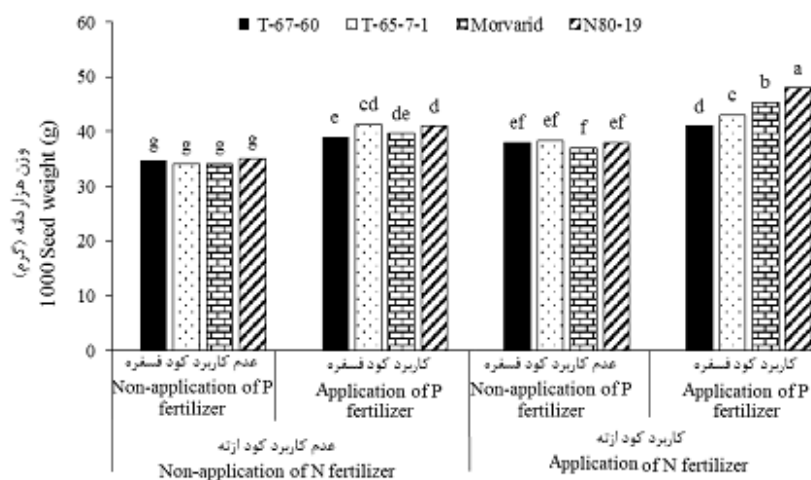
شکل ۹: مقایسه میانگین‌های سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر قطر دانه

Fig. 9: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on seed diameter



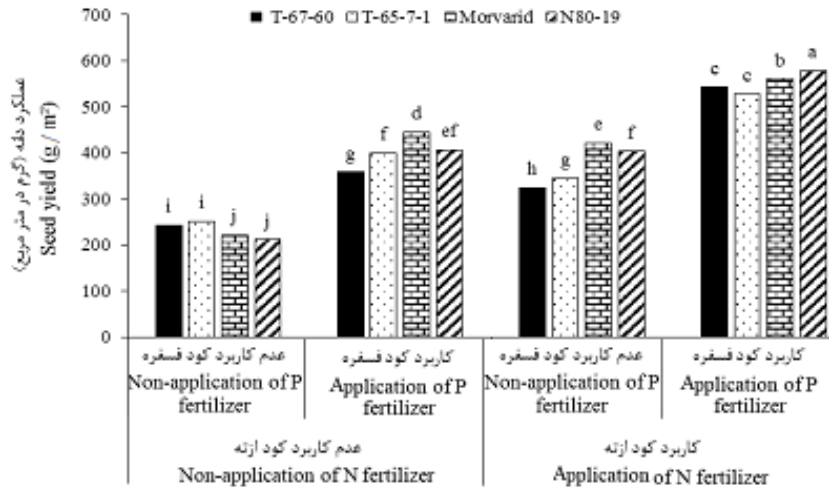
شکل ۱۰: مقایسه میانگین‌های سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر طول دانه

Fig. 10: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on seed length



شکل ۱۱: مقایسه میانگین‌های سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر وزن هزاردانه

Fig. 11: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on 1000 seed weight



شکل ۱۲: مقایسه میانگین‌های سطوح اثرات متقابل کودهای فسفره و نیتروژن بر عملکرد دانه

Fig. 12: Means comparison of interaction between different levels of phosphorus (P) and nitrogen (N) on seed yield

دریافت فسفر خاک دانست که به موجب آن سبب افزایش بیان ژن‌ها شده است. براساس نقش این ژن‌ها در انتقال و کاربرد فسفر در گیاه و با توجه به نقش فسفر در فرآیندهای حیاتی گیاه مانند فرآیندهای متابولیک و انتقال انرژی می‌توان بیان نمود ژنوتیپ‌هایی که بیان بالاتری برای این ژن‌ها دارند کارایی بالاتری در استفاده از کود فسفر خواهند داشت. مطابق با این نتایج، نتایج صفات مورفولوژیک نیز نشان داد، ژنوتیپ‌هایی که بیان بالاتری برای این ژن‌ها داشتند به‌طورکلی عملکرد دانه و صفات عملکردی بهتری نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها نشان دادند که دلالت بر نقش مؤثر این ژن‌ها در بالابردن کارایی مصرف کود فسفر و افزایش عملکرد دانه دارد. ژن *Ta-PHR1* سبب افزایش ریشه‌های موئین شده که باعث جذب و استفاده بهینه از فسفر خاک شده و ژن *Ta-PHO2* در انتقال فسفر از ریشه به اندام‌های هوایی نقش دارد و موجب افزایش متابولیسم سلول و درنهایت افزایش عملکرد و اجزای عملکرد می‌شود. همچنین با توجه به نقش کود نیتروژن در افزایش رشد رویشی گیاه، کاربرد توأم آن با کود فسفره موجب افزایش بهره‌وری گیاه از فسفر شده و همان‌طورکه در نتایج نیز مشاهده گردید در شرایط کاربرد توأم نیتروژن و فسفر تمامی ژنوتیپ‌ها بیش‌ترین عملکرد دانه و صفات وابسته را داشته که با افزایش میزان بیان ژن‌ها مطابقت داشت.

نتایج مقایسه میانگین عملکرد دانه (شکل ۱۲) نشان داد بیش‌ترین عملکرد دانه در ژنوتیپ‌ها مربوط به شرایط تیماری کاربرد توأم نیتروژن و فسفر بود. لاین N80-19 بالاترین عملکرد دانه را نشان داد و اختلاف آن با سایر ژنوتیپ‌ها نیز معنی‌دار گردید. این در شرایطی بود که در تیمار کاربرد نیتروژن و فسفر به‌تنهایی رقم مروارید بالاترین عملکرد دانه را داشت و اختلاف آن با سایر ژنوتیپ‌ها معنی‌دار شد.

نتایج تحقیقات عالم و همکاران (Alam *et al.*, 2002) در بررسی پاسخ سه واریته گندم به مصرف فسفر و نیز روش مصرف آن، در خاکی با میزان فسفر قابل استفاده ۳/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم، نشان داد که مصرف فسفر منجر به افزایش معنی‌دار عملکرد دانه و گاه نسبت به تیمار شاهد بدون مصرف فسفر شده است. نتایج مانسک و همکاران (Manske *et al.*, 2001) حاکی از آن است که مصرف ۳۵ کیلوگرم کود فسفر در هکتار نسبت به تیمار شاهد (بدون مصرف فسفر) در یک خاک آهکی عملکرد دانه را بیش از یک تن در هکتار افزایش داد. نمیکسین و همکاران (Nemeikšienė *et al.*, 2011) نتیجه گرفتند که به ازای هر یک کیلوگرم افزایش نیتروژن خاک در اثر مصرف کود سبز لگوم، میزان عملکرد دانه گندم ۱۰ کیلوگرم در هکتار افزایش یافت.

### نتیجه‌گیری کلی

بررسی بیان ژن‌های *Ta-PHR1* و *Ta-PHO2* نشان داد که میزان بیان این ژن‌ها با استفاده توأم کود فسفر و نیتروژن و کاربرد فسفر به‌تنهایی افزایش بیان داشتند. با توجه به این‌که کاربرد نیتروژن موجب گسترش و توسعه ریشه می‌گردد این افزایش بیان را می‌توان به دلیل افزایش توانایی ریشه در

### منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه‌های ۷-۸ متن انگلیسی مراجعه شود.