ژنتیک نوین
دوره نوزدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳
صفحه ۱۰۲- ۹۱

بررسی نقش حافظه تنش گرمایی در پاسخ رونویسی برخی ژن‌های مؤثر در انتقال نیترات در ریشه گیاهچه‌های کلزا با استفاده از qRT-PCR

Investigating the role of heat stress memory in the transcriptional response of some nitrate transporter genes in canola seedling roots using qRT-PCR

مریم طهماسبی[۱]، هنگامه طاهری*[۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

۲- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

Tahmasebi M[1], Taheri H*[2]

1- MSc Student, in Agricultural biotechnology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

2- Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی:Taheri@asnrukh.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۳/۰۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۱)

چکیده

نیتروژن (N) یک درشت مغذی ضروری برای رشد و نمو گیاهان می‌باشد که میزان جذب آن توسط گیاه به شدت تحت تاثیر تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد. از این رو افزایش کارایی مصرف نیتروژن (NUE) به‌منظور کاهش مصرف کودهای ازته، کاهش آلاینده‌های محیطی، تقویت رشد گیاه و بهبود سیستم‌های مدیریت زراعی به‌خصوص در مواجهه با تغییرات تنش‌زای محیطی بسیار حائز اهمیت است. گیاهان قادرند با ایجاد حافظه تنش گرمایی، مقاومت بالایی به سطوح کشنده گرما نشان دهند. با این حال ارتباط بین جذب نیتروژن و تحمل اکتسابی گیاه به دماهای بالا هنوز به‌خوبی شناخته نشده است. از این رو در این مطالعه، ابتدا پروتئین‌های کلیدی (هاب) مؤثر در جذب نیتروژن در گیاه کلزا از طریق بیشترین برهم‌کنش بین تمام گره‌ها در شبکه پروتئینی با استفاده از چهار روش موجود در افزونه CytoHubba نرم‌افزار Cytoscape شناسایی شدند. سپس با توجه به نقش منفی تنش گرمایی در جذب نیتروژن توسط گیاه، رابطه بین حافظه تنش گرمایی و بیان برخی ژن‌های کلیدی مؤثر در جذب نیتروژن با استفاده از تکنیک qRT-PCR مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش گرما و حافظه تنش گرمایی بر میزان بیان *BnNRT1* (ناقل نیترات با میل ترکیبی کم) و *BnNRT2* (ناقل نیترات با میل ترکیبی بالا) تاثیر گذاشت. بدین‌ترتیب که با اعمال پیش تیمار دمایی، سطح بیان این ژن‌ها در ساعات زمانی خاصی پس از قرار گرفتن در معرض دمای بالا، نسبت به گیاهان پیش تیمار نشده افزایش یافت. از این رو به نظر می‌رسد اثرات مثبت حافظه تنش گرمایی بر بیان ژن‌های مؤثر در انتقال و جذب نیتروژن می‌تواند به‌عنوان یک استراتژی کارآمد برای کاهش آستانه حساسیت گیاه کلزا به تنش‌های مکرر دمای بالا به‌کار گرفته شود.

واژه‌های کلیدی

پیش تیمار دمایی
حافظه تنش گرما
شبکه برهم‌کنش پروتئین/پروتئین
کلزا
ناقلین نیتروژن

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

مقدمه

کلزا (*Brassica napus* L.) یک محصول روغنی مهم جهانی است که به‌طور گسترده برای تولید روغن نباتی، سوخت‌های زیستی و محصولات صنعتی کشت می‌شود (Allender and King 2010; Blackshaw et al. 2011). این گیاه برخلاف غلات، جهت تقویت عملکرد بذر، نیاز به مقادیر نسبتاً بالایی از نیتروژن دارد و نسبت به تغییرات میزان نیتروژن خاک بسیار حساس است (Rathke et al. 2005). کلزا علی‌رغم اینکه توانایی بالایی برای جذب نیترات (NO_3^-) دارد اما در مقایسه با سایر محصولات کارایی مصرف نیتروژن[1] (NUE) پایینی دارد (Clément et al. 2018). NUE به کل زیست توده یا عملکرد دانه در واحد کاربرد نیتروژن اشاره دارد و از راندمان جذب نیتروژن[2] (NUpE) و راندمان اسیمیلاسیون (بهره‌وری) نیتروژن[3] (NUtE) تشکیل شده است (Xu et al. 2012). امروزه مشخص شده است که اعضای خانواده ناقلینی[4] که جذب و انتقال نیترات را در کلزا در پاسخ به تنش‌های متعدد تنظیم می‌کنند، می‌توانند به‌عنوان یکی از منابع ژنتیکی مهم در تقویت NUE به‌کار گرفته شوند. بهبود عملکرد این اعضا نقش مهمی در کاهش استفاده از کودهای نیتروژنه و افزایش تولید محصول بخصوص در شرایط نامطلوب محیطی دارد (Tong et al. 2020). از این رو با توجه به محدودیت میزان نیتروژن (N) در اکثر سیستم‌های کشاورزی، درک سازوکارهایی که رشد گیاه را در پاسخ به کمبود N در کنار عوامل تنش‌زای غیرزیستی دیگر کنترل کند، بسیار حائز اهمیت است (Ye et al. 2022).

نیتروژن یک درشت مغذی ضروری برای رشد و نمو گیاهان است که نه تنها به‌عنوان یک ماده تشکیل‌دهنده بسیاری از ماکرومولکول‌های حیاتی از جمله پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و اسیدهای نوکلئیک عمل می‌کند، بلکه به‌عنوان یک پیام‌رسان برای تنظیم بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی به کار گرفته می‌شود (Tang et al. 2019). علیرغم اهمیت کودهای نیتروژن در افزایش محصولات کشاورزی، تنها نیمی از کودهای N استفاده شده، جذب گیاهان زراعی می‌شود و بیشتر آن از طریق آلودگی آب و هوا سبب تخریب محیط زیست می‌شوند (Erisman et al. 2007). از این رو کاهش مصرف کودهای نیتروژن بدون اینکه میزان محصول کاهش یابد با هدف بهبود کارایی مصرف نیتروژن در گیاهان ضروری است (He et al. 2021). به‌جز عوامل محیطی مانند شرایط خاک و دما، یکی از محدودیت‌های اصلی در بهبود کارایی مصرف نیتروژن، توانایی جذب، اسیمیلاسیون و انتقال نیتروژن در گیاه است که به‌واسطه شبکه‌های پیچیده ژنی تنظیم می‌شوند (Xu et al. 2012; Weih et al. 2018). آمونیوم (NH_4^+) و نیترات (NO_3^-) دو شکل معدنی نیتروژن هستند که توسط گیاه جذب می‌شوند. جذب و انتقال کارآمد NH_4^+ و NO_3^- به‌واسطه ناقلین آمونیوم و نیترات تا حدود زیادی به تقویت NUpE محصولات کمک می‌کند و در نهایت NUE را افزایش می‌دهد (Xu et al. 2012). میزان نیتروژن خاک تحت تأثیر عوامل زیادی از جمله رطوبت، دما، باد، نوع خاک و pH قرار می‌گیرد که منجر به تغییرات زیادی در محتوای نیترات خاک می‌شود (Hirel et al. 2007). گیاهان در پاسخ به تغییرات سطوح نیترات در خاک، دو سیستم جذب NO_3^- یعنی یک سیستم انتقال با میل ترکیبی پایین[5] (LATS) و یک سیستم انتقال با میل ترکیبی بالا[6] (HATS) را تکامل داده‌اند که به‌ترتیب توسط ناقل نیترات ۱ (NRT1) و ناقل نیترات ۲ (NRT2) صورت می‌گیرد (Wang et al. 2012).

NRT1.1 در *Arabidopsis* به‌عنوان یک ناقل نیترات با میل ترکیبی دوگانه شناخته شده است که علاوه بر عملکرد آن در جذب نیترات توسط ریشه، در انتقال نیترات از ریشه به ساقه نیز نقش دارد (Léran et al. 2013). این ناقل به‌عنوان یک حس‌گر اصلی نیترات، بسیاری از پاسخ‌های فیزیولوژیکی و رشدی از جمله تنظیم سطوح بیان ژن‌های مرتبط با نیترات، تنظیم معماری سیستم ریشه و کاهش خواب بذر را تنظیم می‌کند (Bouguyon et al. 2015). همچنین مشخص شده است که NRT1.1 در انتقال اکسین نیز دخیل است که این امر تا حد زیادی به میزان در دسترس بودن نیترات خارجی در *Arabidopsis* متکی است (Maghiaoui et al. 2020). در سال‌های اخیر، عملکرد این ناقل در مقاومت گیاه به

[1] Nitrogen use efficiency
[2] N uptake efficiency
[3] N utilization efficiency
[4] Transporters
[5] Low-affinity transport system
[6] High-affinity transport system

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

تنش‌های غیرزیستی و همبستگی بین انتقال/پیام‌رسانی نیترات به‌واسطه NRT1.1 و تنش‌های محیطی مختلف مورد بررسی قرار گرفته است (Fang et al. 2021). مطالعات نشان داده است که در شرایط محدود شدن میزان منابع نیتروژنی قابل دسترس خاک، فعالیت NRT2 جایگزین فعالیتNRT1 می‌شود. با توجه به میل ترکیبی بالای NRT2 در جذب نیتروژن، از این رو این ناقل از اهداف کلیدی افزایش NUE در شرایط پائین بودن میزان نیتروژن قابل دسترس خاک می‌باشد (Tong et al. 2005; Huang et al. 1999). تاکنون هفت ناقل با میل ترکیبی بالا (NRT2.1-NRT2.7) در آرابیدوپسیس شناسایی شده است (Forde 2000; Wang et al. 2012) که مشخص شده است AtNRT2.1، AtNRT2.2 و AtNRT2.4 در جذب نیترات ریشه نقش دارند (Filleur et al. 2001; Kiba et al. 2012). مشخص شده است که تنش‌های محیطی با تأثیر بر عدم تعادل مواد غذایی و متابولیسم نیتروژن، رشد و عملکرد کلزا را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Zhang et al. 2014; Wang et al. 2019). گیاهان قادرند با ایجاد شبکه‌های پیچیده‌ای از گیرنده‌ها و اجزای پیام‌رسانی، اطلاعات ژنتیکی را در پاسخ به تنش‌های محیطی نامطلوب تنظیم نمایند و بدین ترتیب با شرایط مختلف محیطی سازگار شوند. یکی از سازوکارهای افزایش تحمل به تنش که در سال‌های اخیر بیشتر مورد توجه قرار گرفته است پیش تیمار دمایی[1] است که برای افزایش ظرفیت تاب‌آوری گیاه تحت وقوع مجدد تنش گرمایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بدین ترتیب که گیاه با قرار گرفتن در معرض تنش‌های ملایم‌تر گرما و با تغییر پارامترهای سلولی و ملکولی، آمادگی لازم را برای تحمل بهتر تنش‌های بعدی پیدا می‌کند (Pazzaglia et al. 2022; Khan et al. 2022). در حقیقت گیاهان با به خاطر سپردن رویدادهای تنش قبلی، پاسخ‌های دفاعی نظیر بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده کلیدی، سازوکارهای اپی‌ژنتیکی و مسیرهای پیام‌رسانی را سریع‌تر و قوی‌تر نشان می‌دهند (Bruce et al. 2007; Friedrich et al. 2019). از این رو در مطالعه اخیر ابتدا به شناسایی عوامل کلیدی مؤثر در جذب نیتروژن خاک با استفاده از ابزارهای بیوانفورماتیکی پرداخته شد و در مرحله بعد با توجه به اهمیت حافظه تنش گرمایی در تحمل اکتسابی گیاه، الگوهای بیانی دو تا از مهم‌ترین ناقلین کلیدی مؤثر در جذب نیترات پس از تنش گرمایی در گیاهچه‌های پیش تیمار شده گرمایی کلزا نسبت به گیاهچه‌های پیش تیمار نشده مورد بررسی قرار گرفت تا بتوان درک دقیق‌تری از پاسخ این گیاه به پیش تیمار دمایی و فعل و انفعالات بین انتقال نیتروژن و تنش گرما ارائه داد. انتظار بر این است که شناسایی سازوکارهای ملکولی پیش تیمار دمایی، فرصت جدیدی را برای استفاده بهینه از کودهای نیتروژن و بهبود شیوه‌های کشاورزی پایدار با توجه به روند تغییرات دمایی آتی فراهم آورد.

مواد و روش‌ها

شبکه‌های برهم‌کنش پروتئین-پروتئین[2] (PPI) و شناسایی ژن‌های کلیدی[3] مؤثر در انتقال نیتروژن

در مرحله اول بر اساس مطالعات قبلی، ژن‌هایی که در انتقال نیتروژن دخیل هستند، انتخاب شدند (Liao et al. 2018; Tang et al. 2019; Tong et al. 2020). سپس برای ارزیابی برهم‌کنش بین ژن‌های انتخاب شده از برنامه مبتنی بر وب STRING به آدرس http://string-db.org با حداقل امتیاز تعامل ۰/۱۵ (اعتماد پایین) برای شناسایی برهم‌کنش‌های پروتئین‌های پیش‌بینی شده و شناخته‌شده استفاده شد. سپس این لیست برهم‌کنش پروتئینی (PPI) به Cytoscape (نسخه ۳/۱۰/۱) که یک پلت‌فرم منبع باز برای تجسم‌سازی شبکه تعامل ملکولی و یکپارچه‌سازی داده‌ها است، وارد شد. نرم‌افزار CytoHubba یک برنامه افزودنی در Cytoscape است که برای شناسایی ژن‌های کلیدی (هاب) استفاده می‌شود (Chin et al. 2014). چهار روش محاسباتی از CytoHubba از جمله MCC، DEGREE، DMNC و MNC برای شناسایی و رتبه‌بندی ژن‌های کلیدی (هاب) استفاده شد. در نهایت ژن‌های هاب و برهم‌کنش‌های آن‌ها در یک زیرشبکه نشان داده شد.

کشت بذور و اعمال تیمارها

در این پژوهش بذور کلزا (هیبرید هایولا۵۰) پس از استریل سطحی، در سینی کشت حاوی ترکیب خاک مزرعه و پیت ماس

[1] Thermopriming

[2] Protein/Protein Interaction (PPI)

[3] Hub

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

به نسبت ۱ به ۱ کشت شدند. پس از گذشت حدود دو هفته و ظاهر شدن برگ‌های اولیه، نشاها به گلدان‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۰ سانتی‌متر ارتفاع و قطر ۲۰سانتی‌متر منتقل شدند. در تمام مراحل رشدی شرایط کنترل شده دمایی و رطوبتی شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با میزان رطوبت نسبی ۷۰٪ اعمال و آبیاری به‌صورت مرتب انجام شد. پس از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله ٤-٥ برگی، تیمارهای آزمایشی بر روی گیاهچه‌هایی با اندازه‌های یکنواخت اعمال شد. بدین ترتیب که در تیمار اول، گیاهچه‌ها به‌منظور پیش تیمار دمایی (پرایمینگ دمایی) به مدت سه ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و بعد از سپری شدن ۳ روز دوره‌ی بازیابی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۳۰ دقیقه تحت تنش دمایی ٤٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (تیمار P+T). در تیمار دوم، گیاهچه‌ها بدون اعمال پیش تیمار دمایی، فقط به مدت ۳۰ دقیقه در معرض تنش دمایی ٤٤ درجه قرار گرفتند (تیمار T). در تیمار بعدی گیاهچه‌ها بدون اعمال تنش دمایی دوم، فقط به‌منظور پیش تیمار دمایی، به مدت سه ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند (تیمار P) و در تیمار آخر گیاهچه‌ها بدون اعمال پیش تیمار دمایی و تنش دوم، در تمام مدت آزمایش در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد رشد کردند (تیمار شاهد C). در تمامی تیمارها، نمونه‌برداری از بافت ریشه این گیاهان در بازه‌های زمانی ۱، ٢٤، ٤٨ و ۷۲ ساعت بعد از اعمال تیمار انجام شد. برای هر تیمار زمانی سه تکرار بیولوژیک معادل سه گلدان (سه گیاه در هر گلدان) در نظر گرفته شد. نمونه‌ها بلافاصله پس از نمونه‌گیری، در فویل آلومینیومی قرار داده شدند و پس از قرار گرفتن در ازت مایع در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج RNA، سنتز cDNA و طراحی پرایمر جهت انجام qRT-PCR

RNA کل از بافت ریشه با روش ترایزول (شرکت سیناکلون) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج شد. برای مشخص شدن کیفیت RNA استخراجی، الکتروفورز ژل آگارز ۱٪ انجام شد. کمیت RNA استخراج شده و جذب نوری آن با استفاده از دستگاه نانودراپ مدل Spectrophotometer 2000c شرکتThermo Scientific ساخت ایالات متحده‌ی آمریکا تعیین گردید. همچنین با بررسی نسبت جذب نور ۲٦۰ به ۲۸۰ (جهت بررسی آلودگی‌های پروتئینی) و ۲٦۰ به ۲۳۰ نانومتر (جهت بررسی میزان آلودگی‌های مواد معلق و قندها در محلول RNA استخراج‌شده)، کیفیت RNA نیز مشخص شد. cDNA با استفاده از کیت First Strand cDNA Synthesis (شرکت سیناکلون) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده و با استفاده از پرایمر Oligo (dt) سنتز شد. به‌منظور بررسی اثر پیش تیمار دمایی بر میزان جذب نیترات توسط ناقل‌هایی با میل ترکیبی بالا و پایین، آغازگرهای اختصاصی (*BnNRT1* و *BnNRT2*) با استفاده از برنامه Primer quest موجود در سایت IDT به آدرس اینترنتی www.IDTdna.com طراحی و جهت سنتز به شرکت شرکت سیناکلون ارسال گردید. ژن اکتین نیز به‌عنوان ژن مرجع جهت نرمال‌سازی داده‌های بیانی مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۱). از دستگاه Step one Real-Time PCR System (شرکت ABI آمریکا) جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی جهت بررسی میزان بیان ژن‌ها و مقایسه الگوهای بیانی در تیمارهای مختلف استفاده شد. واکنش qRT-PCR با استفاده از مخلوط Master Mix SYBR green (High ROX) و آغازگرهای اختصاصی مرتبط با ژن‌ها برروی این دستگاه انجام شد.

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده شده در واکنش qRT-PCR

ژن	شماره دسترسی		توالی آغازگرها (٣′-٥′)	طول قطعه تکثیر شده (bp)
Actin	NM_001316010	F	TCTGGTGATGGTGTGTCTC	۱۰۷
		R	ATCAGGGAATCAGTGAGGTC	
NRT1	AJ278966	F	TGATTGGTAGCCCGATGAC	۱۲۷
		R	GAACCTTCAGCCGCAATAAC	
NRT2	AJ293028	F	CAACCGAACAAGGGCTAAC	۱۷۴
		R	TCTCCTTCTCCTGCTCATTC	

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

برای هر ژن دو تکرار تکنیکی (دو تکرار برای هر cDNA) و سه تکرار بیولوژیک در نظر گرفته شد. داده‌های به‌دست آمده با استفاده از روش اختلاف در تغییرات درجه آستانه ($\Delta\Delta C_T$) برای نمونه‌های مختلف با استفاده از ژن مرجع نرمال‌سازی شدند. سپس میزان بیان ژن‌های ذکر شده در تیمارهای مختلف نسبت به شرایط شاهد با استفاده از نرم‌افزار REST محاسبه شد (Pfaffl et al. 2002).

نتایج و بحث

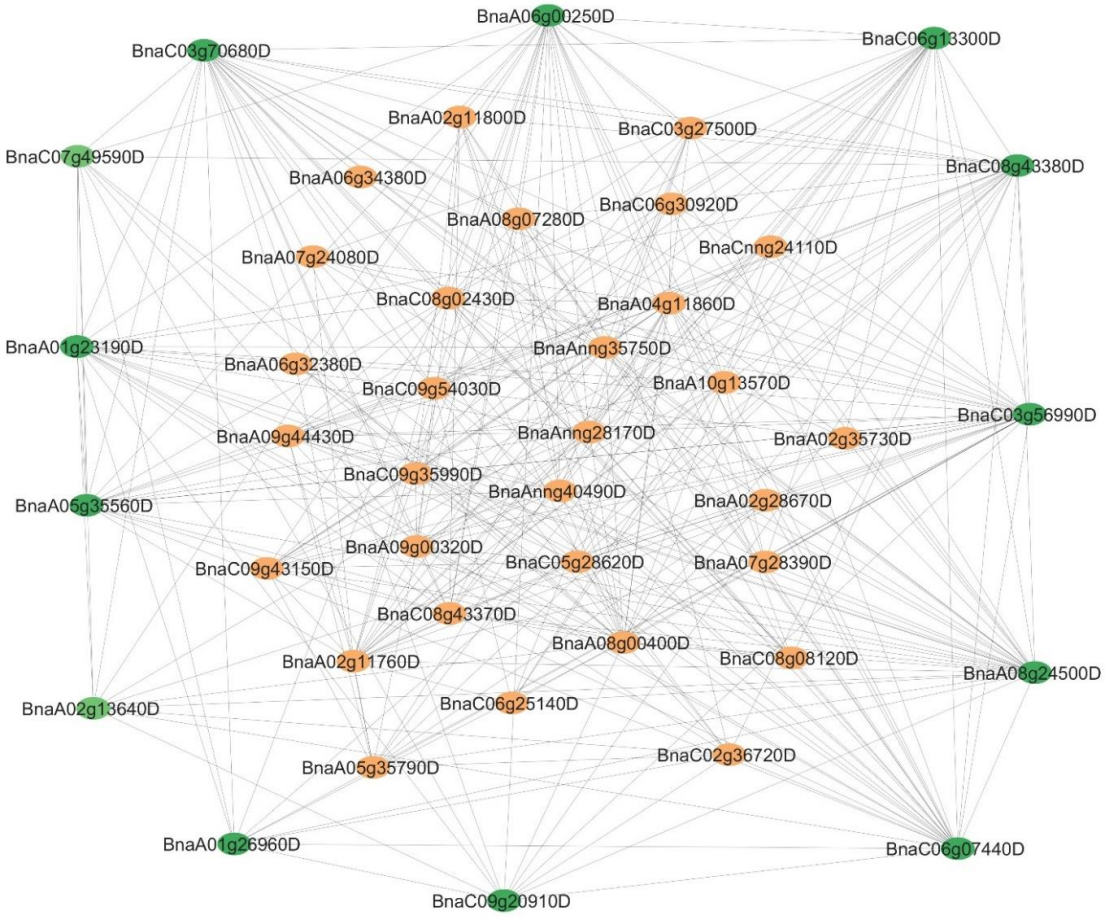
شناسایی ژن‌های کلیدی موثر بر انتقال نیتروژن در کلزا

از آنجا که استفاده از الگوریتم‌هایی با رویکردهای مختلف می‌تواند به درک جامع‌تری از پروتئین‌های هاب منجر شود (Chin et al. 2014)، از این رو در مطالعه اخیر برای شناسایی پروتئین‌های هاب از الگوریتم‌های متعدد در تجزیه و تحلیل شبکه استفاده شد. بدین ترتیب که چهار روش آنالیز شامل MCC، Degree، DMNC و MNC برای ارزیابی اهمیت گره‌ها در شبکه بیولوژیکی استفاده شد و در نهایت تجزیه و تحلیل هاب منجر به شناسایی ۱۳ ژن با بیشترین تعامل شد که جزئیات آن‌ها در جدول ۲ نشان داده شده است. شکل ۱ برهم‌کنش بین گره‌های هاب با سایر اجزای مؤثر در جذب نیتروژن را نشان می‌دهد. یکی از ژن‌های کاندید بالقوه معرفی شده *BnaA01g23190D*; *AtAMT1;3* می‌باشد که به‌عنوان یک ناقل آمونیوم، رشد ریشه‌های اولیه و جانبی را در پاسخ به نیترات افزایش می‌دهد (Vega et al. 2021). همچنین *BnaC03g56990D* و *BnaA08g24500D* از اعضای خانواده ژنی *NRT2* یکی از بیشترین برهم‌کنش‌ها را در بین گره‌های زیرشبکه نشان دادند (جدول ۲). این ژن‌ها که به‌ترتیب ناقلین *BnNRT2.5a* و *BnNRT2.5b* معرفی شده‌اند، به‌عنوان ناقلین نیترات با میل ترکیبی بالا تحت شرایط کمبود N در هر دو بافت اندام هوایی و ریشه گیاهان بالغ بیان می‌شوند (Lezhneva et al. 2014). مطالعه دیگری نشان داد که بیان این ژن‌ها در گیاهان بالغ عمدتا در اندام هوایی صورت می‌گیرد. حال آنکه در مرحله گیاهچه و کشت هیدروپونیک عمدتاً در ریشه انجام می‌شود. به‌عبارت دیگر بیان ژن در ریشه با بالغ شدن گیاه تغییر می‌کند (Tong et al. 2020).

جدول۲- رتبه‌بندی ژن‌های هاب مؤثر در انتقال نیتروژن در گیاه کلزا با استفاده از الگوریتم‌های محاسباتی در نرم‌افزار CytoHubba

رتبه	شناسه ژن	الگوریتم رتبه‌بندی	خانواده ژنی و نام ژن
1,4	*BnaC03g56990D*	MNC, Degree, MCC	NRT2 gene Family (*BnNRT2.5a*)
1,3	*BnaC09g20910D*	DMNC, MCC	NRT1/ PTR Family 8.3-like (Peptide transporter)
1	*BnaA01g23190D*	MCC	AMT1 gene family (*ATM1;3*)
1,4	*BnaA08g24500D*	Degree, MNC, MCC	NRT2 gene Family (*BnNRT2.5b*)
2	*BnaA02g13640D*	DMNC	NPF gene Family (*BnNRT1*)
2	*BnaA01g26960D*	DMNC	NPF gene Family (*BnNRT1*)
2,3	*BnaC08g43380D*	MCC, MNC	NRT2 gene Family (*BnNRT2.1a*)
3	*BnaC06g07440D*	Degree, MNC	BnaCLC family (*BnaC6.CLCf-1*)
3	*BnaA06g00250D*	Degree	BnaCLC family (*BnaA6.CLCf-4*)
3	*BnaC03g70680D*	Degree	BnaCLC family (*BnaC3.CLCf-2*)
3	*BnaC06g13300D*	MNC	BnaCLC family (*BnaC6.CLCa-1*)
4	*BnaC07g49590D*	DMNC	BnaCLC family (*BnaC7.CLCd-1*)
5	*BnaA05g35560D*	DMNC	AMT family (*BnaAMT1;1c*)

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]



شکل ۱- ژن‌های هاب و زیر شبکه برهم کنش آن‌ها با سایر ژن‌های مؤثر در انتقال نیتروژن در کلزا بر اساس داده‌های مطالعات قبلی با استفاده از افزونه CytoHubba. سبز: ژن هاب، نارنجی: همسایگان شناخته شده. تعداد گره‌ها: ٤٣، تعداد یال‌ها: ٣٣٧، میانگین تعداد همسایه‌ها:١٥٦٧٤، طول مسیر مشخصه: ١/٦٩١، ضریب خوشه‌بندی:٠/٤٦٠، چگالی شبکه: ٠/٣٧٣.

در مطالعه‌ای الگوی بیانی ژن *BnNRT2.5* در پاسخ به کمبود نیتروژن در گیاهچه‌های کلزا در بافت ریشه و اندام هوایی تایید شد (Li et al. 2019). مکان‌یابی این ژن‌ها و سایر اعضای خانواده *NRT2* نشان داد که این ژن‌ها به‌طور یکنواختی بر روی ژنوم‌های A وC توزیع شده‌اند. همچنین مشخص شد که تعداد اعضای خانواده ژنی *NRT2* در کلزا نسبت به آرابیدوپسیس بیشتر است که به‌دلیل تکثیر ژنوم در هیبریداسیون بین *B.oleracea* (ژنوم CoCo) و *B. rapa* (ژنوم ArAr) اتفاق افتاده است (Tong et al. 2020). *BnaC08g43380D*، یکی دیگر از ژن‌های هاب معرفی شده (جدول ۲)، تحت عنوان *BnaC8.NRT2.1a* شناخته شده است که به‌عنوان یکی از اعضای کلیدی ژن‌های خانواده *NRT2.1* در تنظیم NUE در کلزا معرفی شده است که در شرایط کمبود نیتروژن خاک در بافت ریشه بیان می‌شود (Hua et al. 2018). همچنین مشخص شد که در شرایط کمبود نیترات خاک، میزان بیان این ژن در ژنوتیپی با کارآیی NUE بالاتر در بافت ریشه بسیار بیشتر از ژنوتیپی با سطح کارآمدی پائین‌تر NUE بوده است.

BnaA02g13640D و *BnaA01g26960D*، از اعضای خانواده *BnNRT1*، از دیگر ژن‌های کاندید بالقوه کلیدی معرفی شده در انتقال نیتروژن (جدول ۲)، مسئول جذب کارآمد نیترات می‌باشند. مطالعات نشان داده است که سطح بیان این ژن‌ها تحت تیمار نیترات در ریشه‌های ژنوتیپی با کارایی بالاتر NUE نسبت به ژنوتیپی با کارایی پائین‌تر، بیشتر بوده است (Tang et al. 2019). این یافته‌ها نشان می‌دهد که تفاوت در کارایی مصرف نیتروژن بین دو ژنوتیپ کلزای مورد استفاده عمدتاً به توانایی‌های متمایز جذب و انتقال نیترات در این ژنوتیپ‌ها مربوط می‌شود (Hua et al. 2018). در مجموع می‌توان نتیجه گرفت که سازوکارهای

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

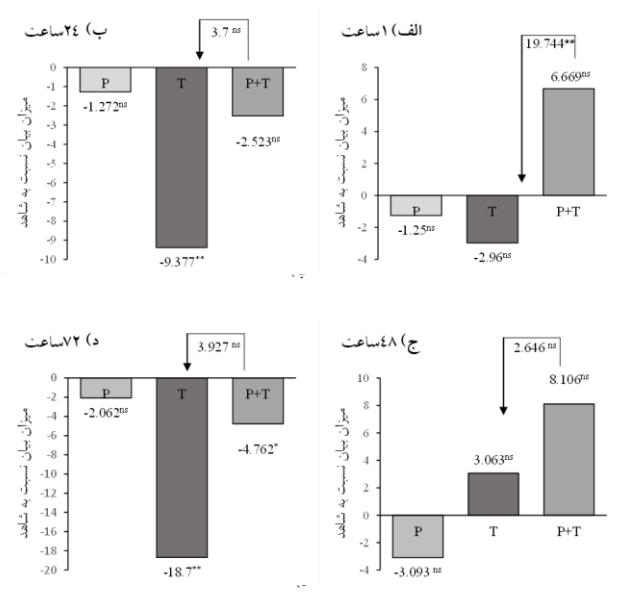
ملکولی مؤثر در تنظیم NUE توسط مجموعه‌ای از ژن‌های مسئول جذب و انتقال نیترات که عمدتاً از اعضای خانواده NRT1 و NRT2 می‌باشند، تنظیم می‌شوند و شناخت عملکردی این اجزای کلیدی می‌تواند نقش موثری در بهبود کارایی جذب نیتروژن در کلزا داشته باشد.

بررسی اثر پیش تیمار دمایی بر بیان ژن‌های مؤثر در جذب نیترات با استفاده از qRT-PCR

فرآیند سازگاری به تغییرات آب و هوایی جهت حفظ عملکرد گیاه (Liu et al. 2022; Villagómez -Aranda et al. 2022)، متکی بر حافظه تنش است؛ بدین ترتیب که توانایی به خاطر سپردن اطلاعات تولید شده توسط اولین تنش و امکان بازیابی آن برای تنش‌های بعدی، منجر به پاسخ‌های متفاوت به تنش‌های بعدی می‌شود (Liu et al. 2022). عملکرد پیش تیمار دمایی علاوه بر تأثیر بر قسمت‌های هوایی گیاه (Serrano et al. 2019; de Almeida et al. 2021)، بر رشد و عملکرد ریشه نیز تأثیر می‌گذارند و می‌توانند منجر به تغییر تخصیص منابع غذایی و تعادل منبع و مخزن در گیاهان شوند (Delamare et al. 2023). از این رو در این مطالعه جهت ارزیابی نقش تنش گرمایی و پیش تیمار دمایی در الگوی بیانی ژن‌های مؤثر در انتقال نیترات در ریشه گیاهچه‌های کلزا، اندازه‌گیری بیان ژن‌های *NRT1* و *NRT2* در فواصل زمانی متفاوت پس از اعمال تنش دوم بر اساس روش qRT-PCR در سه تیمار مختلف T، P و P+T نسبت به تیمار شاهد (C) انجام شد. گیاهان در تیمار T بدون اعمال پیش تیمار دمایی، تنها تحت تنش گرمایی واقع شده بودند، در حالی‌که در تیمار P گیاهان بدون اعمال تنش دوم فقط تحت پیش تیمار دمایی قرار گرفته بودند. در تیمار P+T نیز گیاهان پس از پیش تیمار دمایی، تحت تنش دوم قرار گرفته بودند. تغییرات بیانی ژن *NRT1* یک ساعت پس از فراغت از تنش گرمایی دوم در مقایسه تیماری P+T/T به میزان قابل توجه‌ای (۱۹/۷ برابر) افزایش یافته بود (شکل ۲، الف). ۲٤ ساعت پس از فراغت از تنش دوم، بیان این ژن در گیاهان پرایم نشده (تیمار T) به میزان قابل توجهی نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت (در سطح معنی‌داری یک درصد) حال آن‌که در تیمارهای P و P+T نسبت به گیاهان شاهد تغییر قابل ملاحظه‌ای مشاهده نشد. در مقایسه تیماری P+T/T نیز تغییرات بیان معنی‌دار گزارش نشد (شکل۲، ب). ٤۸ ساعت پس از فراغت از تنش دوم، سطح بیان این ژن در تمامی تیمارهای مورد مطالعه غیرمعنی‌دار گزارش شد (شکل ۲، ج). ۷۲ ساعت پس از فراغت از تنش دوم، میزان رونوشت‌های این ژن در گیاهان پرایم نشده‌ای که تحت تنش گرمایی قرار گرفته بودند (تیمار T) به شدت کاهش یافت. در تیمار P+T نیز میزان تغییرات بیانی این ژن نسبت به گیاهان شاهد منفی گزارش شد. با این حال تغییرات بیانی در مقایسه تیماری P+T/T معنی‌دار گزارش نشد (شکل۲، د). میزان بیان ژن *NRT2* یک ساعت پس از فراغت از تنش گرمایی دوم در تیمار P+T نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری را نشان داد، درحالی‌که در تیمارهای P و T تغییر معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد مشاهده نشد. مقایسه الگوی بیان این ژن در گیاهان پرایم شده (تیمار P+T) نسبت به گیاهان پرایم نشده (تیمار T) افزایش معنی‌داری (۳۵ برابری) را نشان داد (شکل ۳، الف)، حال‌آن‌که ۲٤ ساعت پس از فراغت از تنش گرمایی دوم، در هر دو تیمار P و P+T میزان بیان ژن نسبت به تیمار شاهد در سطح معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۳، ب). ٤۸ ساعت پس از فراغت از تنش دوم، بیان این ژن در تیمارهای P و P+T نسبت به شاهد افزایش یافت. همچنین میزان رونویسی این ژن در گیاهان پیش تیمار شده (تیمار P+T) ۸/۸ برابر نسبت به گیاهان پیش تیمار نشده (تیمار T) افزایش یافت (شکل ۳، ج). ۷۲ ساعت پس از فراغت از تنش گرمایی دوم، تغییرات میزان بیان این ژن در تمام تیمارهای مورد مطالعه نسبت به شاهد معنی‌دار نبود، در حالی‌که سطح رونویسی این ژن در تیمار P+T ۸/٤ برابر نسبت به تیمار T افزایش یافت (شکل۳، د).

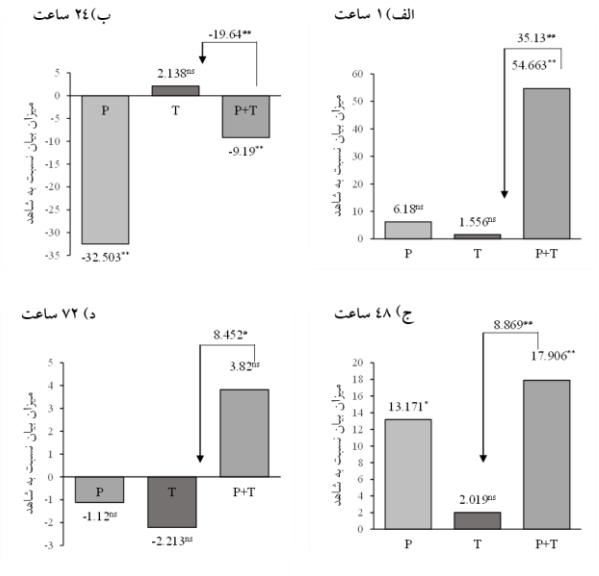
مطالعات متعددی از اثرات منفی تنش‌های غیرزنده بر میزان جذب و اسیمیلاسیون نیتروژن در گیاهان مختلف گزارش شده است. در مطالعه‌ای که بر روی پروفایل بیانی ژن‌های کدکننده ناقلین نیترات و آمونیوم و همچنین ژن‌های مؤثر در اسیمیلاسیون نیتروژن، ۱ و ۲٤ ساعت پس از اعمال تنش‌های شوری، خشکی، سرما و گرما در *Brassica juncea* صورت گرفت، مشخص شد که بیان اکثر ژن‌ها تحت تنش‌های غیرزنده کاهش یافت که این امر می‌تواند یکی از علت‌های کاهش رشد گیاه تحت تنش‌های غیرزنده باشد (Goel and Singh 2015).

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]



شکل۲- میزان بیان ژن *NRT1* نسبت به تیمار شاهد (C) در بازه‌های زمانی ۱ ساعت (الف)، ۲۴ ساعت (ب)، ۴۸ ساعت (ج) و ۷۲ ساعت (د) پس از اعمال تیمارهای مختلف (P- پیش تیمار دمایی، T- تنش دوم (بدون پیش تیمار دمایی) و P+T- پیش تیمار دمایی+تنش دوم). پیکان به‌کار رفته در نمودار، تغییرات بیان ژن در مقایسه‌ی تیماری P+T/T را نشان می‌دهد.

(**معنی‌داری در سطح یک درصد، *معنی‌داری درسطح پنج درصد، ns عدم معنی‌دار بودن)



شکل۳- میزان بیان ژن *NRT2* نسبت به تیمار شاهد (C) در بازه‌های زمانی ۱ ساعت (الف)، ۲۴ ساعت (ب)، ۴۸ ساعت (ج) و ۷۲ ساعت (د) پس از اعمال تیمارهای مختلف (P- پیش تیمار دمایی، T- تنش دوم (بدون پیش تیمار دمایی) و P+T- پیش تیمار دمایی +تنش دوم). پیکان به کار رفته در نمودار تغییرات بیان ژن در مقایسه‌ی تیماری P+T/T را نشان می‌دهد.

(**معنی‌داری در سطح یک درصد، *معنی‌داری درسطح پنج درصد، ns عدم معنی‌دار بودن)

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

در مطالعه دیگری اثر تنش گرما در متابولیسم نیتروژن دو واریته حساس و مقاوم *Brassica campestris* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که محتوای نیترات و آمونیوم در هر دو واریته کاهش یافت (Yuan et al. 2017). در مطالعه دیگری اثر تنش گرما در جذب مواد غذایی، میزان و فعالیت ناقلین مؤثر در جذب نیتروژن، فسفر، پتاسیم و آهن در ریشه گیاه گوجه فرنگی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش گرما سرعت جذب هر ٤ ماده غذایی را کاهش داده بود که علت آن کاهش در رشد ریشه و آسیب غشاء ریشه و در نتیجه کاهش غلظت پروتئین‌های مؤثر در جذب یا کاهش فعالیت آن‌ها بوده است (Giri et al. 2017). در مطالعه ما، مقایسه الگوهای بیانی این دو ژن در زمان‌های متفاوت پس از فراغت از تنش گرما نیز نشان داد که اعمال تنش گرما بدون پیش تیمار دمایی (تیمار T) سبب کاهش قابل توجه میزان رونویسی *NRT1* ٢٤ و ٧٢ ساعت پس از اعمال تنش گرما شد که با نتایج تحقیقات قبلی مطابقت دارد، با این‌حال تنش گرما نتوانست بیان ژن *NRT2* در ساعات زمانی متفاوت پس از اعمال تنش گرما را تحت تاثیر قرار دهد. از این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که ناقل NRT2 با توجه به عدم تأثیرپذیری تغییرات بیانش تحت تنش گرما می‌تواند کاندیدای مناسبی برای بهبود NUE در واریته‌هایی به‌کار گرفته شود که در خاک‌هایی با منابع محدود نیتروژن در شرایط تنش گرما رشد می‌کنند.

از آن‌جایی که تنش گرمایی به طور کلی جذب نیتروژن و رشد گیاه را کاهش می‌دهد، از این رو مهم است بدانیم آیا پیش تیمار دمایی می‌تواند به تقویت جذب منابع نیتروژن تحت شرایط تنش گرمایی در گیاه کلزا کمک کند یا خیر. هر چند که تا پیش از مطالعه کنونی، مطالعه‌ای در خصوص نقش پیش‌تیمار دمایی در القاء بیان ژن‌های مؤثر در انتقال نیترات در کلزا صورت نگرفته بود، اما اخیرا اهمیت سازوکار پیش تیمار دمایی در بروز تحمل اکتسابی به گرما بسیار مورد توجه جوامع علمی قرار گرفته است. تحمل القاء شده به‌واسطه پرایمینگ[1] از این جهت که تغییراتی در شبکه تنظیمی ملکولی گیاه القاء می‌کند، نسبت به تحمل پایه گیاه بسیار کارآمدتر عمل می‌کند (Samantaray and Allu 2024). از این رو در این آزمایش اثرات حافظه تنش گرمایی بر بیان ژن‌های مورد مطالعه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش بیان ژن *NRT1* در گیاهانی که تحت پیش تیمار گرمایی قرار گرفته بودند تنها تا ١ ساعت پس از تنش دوم دوام یافت. حال آنکه در ارتباط با ژن *NRT2*، به استثنای نوسان بیانی نامعمول ٢٤ ساعت پس از تنش دوم، بیان افزایشی تا ٧٢ ساعت بعد از تنش همچنان حفظ شده بود. مطالعات قبلی نشان داده است که در گیاهانی که تحت پیش تیمار گرمایی قرار گرفته‌اند، الگوی رونویسی ژن‌هایی که ماهیت حافظه‌ای دارند به محض وقوع مجدد تنش گرمایی، تقویت می‌شود. با این حال این الگوی بیان تقویت شده تنها می‌تواند حداکثر تا چند روز پس از وقوع تنش دوام داشته باشد. هنوز به‌طور دقیق معلوم نیست چه سازوکارهایی مدت زمان حافظه رونویسی را محدود می‌کنند (Liu et al. 2018; Oberkofler et al. 2021)، اما از آن‌جا که پس از وقوع هر تنش، حافظه رونویسی، بیان تقویت شده ژن‌های پاسخ دهنده به تنش را بدنبال دارد، این استراتژی می‌تواند نقش مهمی در تحمل اکتسابی به تنش به‌خصوص در گیاهانی که در طول دوره رشدی مرتباً در معرض عوامل تنش‌زای محیطی قرار می‌گیرند، داشته باشد. در آزمایش اخیر، مدت زمان حافظه رونویسی در دو ژن مورد مطالعه به دنبال پیش تیمار گرمایی متفاوت بود از این رو آزمایشات تکمیلی‌تر دیگری لازم است تا عوامل مؤثر بر دوام حافظه رونویسی مورد بررسی قرار گیرد. اما با توجه به محدودیت منابع نیتروژن در خاک مورد مطالعه، تقویت بیشتر سطح رونویسی ناقل *NRT2* در مقایسه با *NRT1* با توجه به میل ترکیبی بالای آن در جذب نیترات در خاک‌هایی با منابع محدود نیتروژن قابل انتظار بود. به‌نظر می‌رسد که پیش تیمار دمایی با تقویت جذب نیتروژن در دماهای بالا، می‌تواند ظرفیت تحمل به تنش گرما را در این گیاه افزایش دهد. گزارشات قبلی نشان دادند که افزایش تدریجی دما پیش از مواجهه با تنش بعدی (پیش تیمار گرمایی)، اثر تنش شدید گرمایی را در کلزا با محدود کردن اتلاف منابع کربن و نیتروژن از طریق ترشحات ریشه کاهش داد (Delamare et al. 2023). در مطالعه قبلی نیز نشان داده شد که گیاهچه‌های کلزایی که تحت پیش تیمار گرمایی قرار گرفته بودند، نسبت به گیاهانی که تحت پیش تیمار گرمایی نبودند، در مواجهه با تنش دمایی بعدی شاخص‌های رشدی و بیان ژن‌های مؤثر در حافظه تنش

[1] Priming-induced stress tolerance

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

گرما در آن‌ها تقویت شده بود (Taherifar and Taheri 2024). در مطالعه دیگری کاهش اثرات منفی تنش گرما در *B. juncea* به‌واسطه عملکرد پیش‌تیمار گرمایی در القاء سریع مکانیزم حذف ROS و بیان فاکتورهای شوک گرمایی، افزایش تحمل به تنش و بهبود بهره‌وری در این گیاه را به دنبال داشته است (Samantaray et al. 2023). اثرات پیش‌تیمار گرمایی در پاسخ به تنش دمایی در مراحل اولیه فاز زایشی در گندم زمستانه با افزایش میزان ساکارز، افزایش هدایت روزنه‌ای، محتوای کلروفیل، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کاهش محتوای مالون‌دی‌آلدهید و گونه‌های فعال اکسیژن همراه بوده است. از این رو این سازوکار تا حد زیادی کاهش عملکرد دانه ناشی از تنش گرما را در مقایسه با گیاهان پیش تیمار نشده جبران کرد (Fan et al. 2018). در مطالعه مشابه دیگری مشاهده شد پیش تیمار گرما به‌طور مؤثری تحمل اکتسابی گرمایی را در گیاهچه‌های گندم زمستانه با افزایش بهره‌وری استفاده از نور، حفظ توازن وضعیت اکسیداسیون/احیاء و افزایش توان آنتی‌اکسیدانی تقویت کرده است (Wang et al. 2014). همچنین پیش تیمار گرمایی، تحمل به تنش گرمایی در گیاهچه‌های گندم زمستانه را با افزایش سطح بیان ژن‌های پاسخ‌دهنده به گرما و همچنین ژن‌های پاسخ‌دهنده به آنتی‌اکسیدان‌ها در مقایسه با گیاهچه‌های غیرپرایم‌شده افزایش داد (Khanzada et al. 2024). با بررسی ترکیب متابولوم گیاه آرابیدوپسیس تحت پیش‌تیمار گرمایی، نقش عواملی چون اسیدهای آمینه شاخه‌دار، الیگوساکاریدهای خانواده رافینوز، متابولیت‌های لیپیدی و تولید بتائین گلیسین و سایر توکوفرول‌های ضروری در بهبود تحمل اکتسابی و افزایش ظرفیت عملکردی گیاه مشخص شد (Serrano et al. 2019). در حقیقت این ترکیبات به‌عنوان اسمولیت‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و پیش‌سازهای رشد، به بازیابی گیاه در مقابله با آثار سوء تنش گرما کمک می‌کنند. در گیاه گوجه‌فرنگی نیز پیش تیمار گرمایی، سازگاری گیاه برای مقابله با تنش‌های مکرر گرما را با کاهش دمای برگ و افزایش تبخیر تقویت کرد (Zhou et al. 2020).

در مجموع یافته‌های این آزمایش اهمیت نقش پیش تیمار دمایی و استقرار حافظه رونویسی در تقویت بیان ژن‌های مؤثر در جذب نیترات تحت تنش گرما را تایید کرد. از این رو به‌نظر می‌رسد این سازوکار بتواند به‌عنوان یک استراتژی کارآمد برای کاهش آستانه حساسیت گیاه کلزا به تنش‌های مکرر دمای بالا به‌کار گرفته شود.

منابع

Allender CJ, King GJ (2010) Origins of the amphiploid species *Brassica napus* L. investigated by chloroplast and nuclear molecular markers. BMC Plant Biology 10:1-9.

Blackshaw R, Johnson E, Gan Y, May W, McAndrew D, Barthet V, McDonald T, Wispinski D (2011) Alternative oilseed crops for biodiesel feedstock on the Canadian prairies. Canadian Journal of Plant Science 91:889-896.

Bouguyon E, Brun F, Meynard D, Kubeš M, Pervent M, Leran S, Lacombe B, Krouk G, Guiderdoni E, Zažímalová E, Hoyerová K (2015) Multiple mechanisms of nitrate sensing by *Arabidopsis* nitrate transceptor NRT1. 1. Nature Plants 1:1-8.

Bruce TJ, Matthes MC, Napier JA, Pickett JA (2007) Stressful “memories” of plants: evidence and possible mechanisms. Plant Science 173:603-608.

Chin CH, Chen SH, Wu HH, Ho CW, Ko MT, Lin CY (2014) cytoHubba: identifying hub objects and sub-networks from complex interactome. BMC Systems Biology 8:1-7.

Clément G, Moison M, Soulay F, Reisdorf-Cren M, Masclaux-Daubresse C (2018) Metabolomics of laminae and midvein during leaf senescence and source–sink metabolite management in *Brassica napus* L. leaves. Journal of Experimental Botany 69:891-903.

de Almeida LM, Avice JC, Morvan-Bertrand A, Wagner MH, González-Centeno MR, Teissedre PL, Bessoule JJ, Le Guédard M, Kim TH, Mollier A, Brunel-Muguet S (2021) High temperature patterns at the onset of seed maturation determine seed yield and quality in oilseed rape (*Brassica napus* L.) in relation to sulphur nutrition. Environmental and Experimental Botany 185:104400.

Delamare J, Brunel-Muguet S, Morvan-Bertrand A, Cantat O, Firmin S, Trinsoutrot-Gattin I, Le Franc L, Personeni E (2023) Thermopriming effects on root morphological traits and root exudation during the reproductive phase in two species with contrasting strategies: *Brassica napus* (L.) and *Camelina sativa* (L.) Crantz. Environmental and Experimental Botany 210:105318.

Erisman JW, Bleeker A, Galloway J, Sutton MS (2007) Reduced nitrogen in ecology and the environment. Environmental Pollution 150:140-149.

Fan Y, Ma C, Huang Z, Abid M, Jiang S, Dai T, Zhang W, Ma S, Jiang D, Han X (2018) Heat priming during early reproductive stages enhances thermo-tolerance to post-anthesis heat stress via improving photosynthesis and plant

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

productivity in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Frontiers in Plant Science 9:805.
Fang XZ, Fang SQ, Ye ZQ, Liu D, Zhao KL, Jin CW (2021) NRT1. 1 dual-affinity nitrate transport/signalling and its roles in plant abiotic stress resistance. Frontiers in Plant Science 12:715694.
Filleur S, Dorbe MF, Cerezo M, Orsel M, Granier F, Gojon A, Daniel-Vedele F (2001) An *Arabidopsis* T-DNA mutant affected in *Nrt2* genes is impaired in nitrate uptake. FEBS Letters 489:220-224.
Forde BG (2000) Nitrate transporters in plants: structure, function and regulation. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes 1465:219-235.
Friedrich T, Faivre L, Bäurle I, Schubert D (2019) Chromatin-based mechanisms of temperature memory in plants. Plant, Cell & Environment 42:762-770.
Giri A, Heckathorn S, Mishra S, Krause C (2017) Heat stress decreases levels of nutrient-uptake and-assimilation proteins in tomato roots. Plants 6:6.
Goel P, Singh AK (2015) Abiotic stresses downregulate key genes involved in nitrogen uptake and assimilation in *Brassica juncea* L. Plos One 10: e0143645.
He X, Zhang H, Ye X, Hong J, Ding G (2021) Nitrogen assimilation related genes in *Brassica napus*: Systematic characterization and expression analysis identified hub genes in multiple nutrient stress responses. Plants 10: 2160.
Hirel B, Le Gouis J, Ney B, Gallais A (2007) The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. Journal of Experimental Botany 58:2369-2387.
Hua YP, Zhou T, Liao Q, Song HX, Guan CY, Zhang ZH (2018) Genomics-assisted identification and characterization of the genetic variants underlying differential nitrogen use efficiencies in allotetraploid rapeseed genotypes. G3: Genes, Genomes, Genetics 8:2757-2771.
Huang NC, Liu KH, Lo HJ, Tsay YF (1999) Cloning and functional characterization of an *Arabidopsis* nitrate transporter gene that encodes a constitutive component of low-affinity uptake. The Plant Cell 11:1381-1392
Khan A, Khan V, Pandey K, Sopory SK, Sanan-Mishra N (2022) Thermo-priming mediated cellular networks for abiotic stress management in plants. Frontiers in Plant Science 13:866409.
Khanzada A, Wang X, Malko MM, Wu Y, Samo A, Dong J (2024) Response of the persistence of heat stress tolerance in winter wheat seedling to heat priming at early growth stages. Plant Stress 11:100323.
Kiba T, Feria-Bourrellier AB, Lafouge F, Lezhneva L, Boutet-Mercey S, Orsel M, Bréhaut V, Miller A, Daniel-Vedele F, Sakakibara H, Krapp A (2012) The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT2. 4 plays a double role in roots and shoots of nitrogen-starved plants. The Plant Cell 24:245-258.
Léran S, Muños S, Brachet C, Tillard P, Gojon A, Lacombe B (2013) *Arabidopsis* NRT1. 1 is a bidirectional transporter involved in root-to-shoot nitrate translocation. Molecular Plant 6:1984-1987.
Lezhneva L, Kiba T, Feria-Bourrellier AB, Lafouge F, Boutet-Mercey S, Zoufan P, Sakakibara H, Daniel-Vedele F, Krapp A (2014) The *Arabidopsis* nitrate transporter NRT 2.5 plays a role in nitrate acquisition and remobilization in nitrogen-starved plants. The Plant Journal 80:230-241.
Li Y, Wang X, Zhang H, Wang S, Ye X, Shi L, Xu F, Ding G (2019) Molecular identification of the phosphate transporter family 1 (PHT1) genes and their expression profiles in response to phosphorus deprivation and other abiotic stresses in *Brassica napus*. PLoS One 14:e0220374.
Liao Q, Zhou T, Yao JY, Han QF, Song HX, Guan CY, Hua YP, Zhang ZH (2018) Genome-scale characterization of the vacuole nitrate transporter Chloride Channel (CLC) genes and their transcriptional responses to diverse nutrient stresses in allotetraploid rapeseed. PLoS One 13: e0208648.
Liu HC, Lämke J, Lin SY, Hung MJ, Liu KM, Charng YY, Bäurle I (2018) Distinct heat shock factors and chromatin modifications mediate the organ-autonomous transcriptional memory of heat stress. The Plant Journal 95:401-413.
Liu H, Able AJ, Able JA (2022) Priming crops for the future: rewiring stress memory. Trends in Plant Science 27:699-716.
Maghiaoui A, Bouguyon E, Cuesta C, Perrine-Walker F, Alcon C, Krouk G, Benková E, Nacry P, Gojon A, Bach L (2020) The *Arabidopsis* NRT1. 1 transceptor coordinately controls auxin biosynthesis and transport to regulate root branching in response to nitrate. Journal of Experimental Botany 71:4480-4494.
Oberkofler V, Pratx L, Bäurle I (2021) Epigenetic regulation of abiotic stress memory: maintaining the good things while they last. Current Opinion in Plant Biology 61:102007.
Pazzaglia J, Badalamenti F, Bernardeau-Esteller J, Ruiz JM, Giacalone VM, Procaccini G, Marín-Guirao L (2022) Thermo-priming increases heat-stress tolerance in seedlings of the Mediterranean seagrass *P. oceanica*. Marine Pollution Bulletin 174:113164.
Pfaffl MW, Horgan GW, Dempfle L (2002) Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. Nucleic Acids Research 30(9):e36.
Rathke GW, Christen O, Diepenbrock W (2005) Effects of nitrogen source and rate on productivity and quality of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) grown in different crop rotations. Field Crops Research 94:103-113.
Samantaray D, Vankanavath AB, Kadumuri RV, Ramadurai D, Chavali S, Allu AD (2023) Thermopriming mitigates the effects of heat stress by modulating the expression of Heat shock factors in *Brassica juncea* (Indian mustard). Environmental and Experimental Botany 211:105371.
Samantaray D, Allu AD (2024) Studying Thermopriming-Mediated Short- and Long-Term Acquired Thermotolerance in *Arabidopsis thaliana*. In: Sunkar R

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]

(Ed.) Plant Stress Tolerance: Methods in Molecular Biology, Humana, New York, NY, 223-231.
Serrano N, Ling Y, Bahieldin A, Mahfouz MM (2019) Thermopriming reprograms metabolic homeostasis to confer heat tolerance. Scientific Reports 9:181.
Taherifar N, Taheri H (2024) The effect of thermopriming on transcriptional response of heat stress memory in rapeseed. Crop Biotechnology 13: 1-14. (In Farsi).
Tang W, He X, Qian L, Wang F, Zhang Z, Sun C, Lin L, Guan C (2019) Comparative transcriptome analysis in oilseed rape (*Brassica napus*) reveals distinct gene expression details between nitrate and ammonium nutrition. Genes 10:391.
Tong Y, Zhou JJ, Li Z, Miller AJ (2005) A two-component high-affinity nitrate uptake system in barley. The Plant Journal 41:442-450.
Tong J, Walk TC, Han P, Chen L, Shen X, Li Y, Gu C, Xie L, Hu X, Liao X, Qin L (2020) Genome-wide identification and analysis of high-affinity nitrate transporter 2 (NRT2) family genes in rapeseed (*Brassica napus* L.) and their responses to various stresses. BMC Plant Biology 20:1-6.
Vega A, Fredes I, O'Brien J, Shen Z, Ötvös K, Abualia R, Benkova E, Briggs SP, Gutiérrez RA (2021) Nitrate triggered phosphoproteome changes and a PIN2 phosphosite modulating root system architecture. EMBO Reports 22:e51813.
Villagómez-Aranda AL, Feregrino-Pérez AA, García-Ortega LF, González-Chavira MM, Torres-Pacheco I, Guevara-González RG (2022) Activating stress memory: eustressors as potential tools for plant breeding. Plant Cell Reports 41:1481-1498.
Wang YY, Hsu PK, Tsay YF (2012) Uptake, allocation and signaling of nitrate. Trends in Plant Science 17:458-467.
Wang X, Cai J, Liu F, Dai T, Cao W, Wollenweber B, Jiang D (2014) Multiple heat priming enhances thermo-tolerance to a later high temperature stress via improving subcellular antioxidant activities in wheat seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 74:185-192.
Wang J, Jiao J, Zhou M, Jin Z, Yu Y, Liang M (2019) Physiological and transcriptional responses of industrial rapeseed (*Brassica napus*) seedlings to drought and salinity stress. International Journal of Molecular Sciences 20:5604.
Weih M, Hamnér K, Pourazari F (2018) Analyzing plant nutrient uptake and utilization efficiencies: comparison between crops and approaches. Plant and Soil 430:7-21.
Xu G, Fan X, Miller AJ (2012) Plant nitrogen assimilation and use efficiency. Annual Review of Plant Biology 63:153-182.
Ye JY, Tian WH, Jin CW (2022) Nitrogen in plants: From nutrition to the modulation of abiotic stress adaptation. Stress Biology 2:4.
Yuan L, Tang L, Zhu S, Hou J, Chen G, Liu F, Liu S, Wang C (2017) Influence of heat stress on leaf morphology and nitrogen–carbohydrate metabolisms in two wucai (*Brassica campestris* L.) genotypes. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 86.
Zhang X, Lu G, Long W, Zou X, Li F, Nishio T (2014) Recent progress in drought and salt tolerance studies in Brassica crops. Breeding Science 64:60-73.
Zhou R, Yu X, Li X, Dos Santos TM, Rosenqvist E, Ottosen CO (2020) Combined high light and heat stress induced complex response in tomato with better leaf cooling after heat priming. Plant Physiology and Biochemistry 151:1-9.

[Downloaded from mg.genetics.ir on 2026-02-06]