دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

"مقاله پژوهشی"

الگوی بیان ژن‌های کد کننده عوامل رونویسی *bZIP56*، *WRKY1* و *NAM-B1* تحت شرایط کمبود روی در گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

لیلا تیموری‌راد[۱]، امیر فیاض‌مقدم[۲]، بابک عبدالهی مندولکانی[۳] و اسماعیل وهبی[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی ، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲- دانشیار گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۳- استاد گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسوول: b.abdollahi@urmia.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۵/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۲۳
صفحه: ۱۰۶ تا ۱۱۶

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات اصلی تغذیه‌ای در جهان است. با وجود تلاش‌ها در جهت بهبود کیفیت گندم، سطح ریزمغذی‌های آن هنوز پایین‌تر از حد مطلوب برای تغذیه انسان قرار دارد. به ویژه کمبود روی (Zn) یک مشکل گسترده تغذیه‌ای در کشورهایی است که به‌طور عمده به رژیم غذایی وابسته به غلات متکی می‌باشند. بنابراین تحقیق حاضر به منظور مطالعه و بررسی الگوی بیان ژن‌های کدکننده عوامل رونویسی *bZIP56*، *WRKY1* و *NAM-B1* تحت شرایط کمبود روی در گندم نان اجرا شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، دو رقم گندم هامون (روی-کارا) و هیرمند (روی-ناکارا) در شرایط کمبود و کفایت روی (به ترتیب صفر و پنج میلی‌گرم روی در کیلوگرم) خاک کشت و نمونه‌برداری از برگ و ریشه گیاهان در دو مرحله ۳۰ روز بعد از جوانه‌زنی (رویشی) و ۳۰ درصد گلدهی (زایشی) انجام گرفت و بیان نسبی ژن‌های کد کننده عوامل رونویسی فوق الذکر در شرایط کمبود روی نسبت به شرایط کفایت آن با استفاده از روش Real time PCR مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که بیش‌ترین میزان افزایش بیان نسبی ژن‌های *bZIP56* (بیش از ۷۷ برابر کنترل) و *WRKY1* (بیش از ۲۰ برابر کنترل)، در ریشه رقم روی-کارا (هامون) در مرحله زایشی مشاهده شد. همچنین میزان بیان هر دو ژن در برگ رقم هامون در مرحله رویشی نیز بطور قابل توجهی نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. بیشترین میزان بیان نسبی ژن کد کننده عامل رونویسی *NAM-B1* (بیش از ۵۴ برابر کنترل) در برگ رقم روی-ناکارای هیرمند در مرحله زایشی مشاهده شد. همچنین میزان بیان این ژن در ریشه و برگ رقم روی-کارای هامون به ترتیب در مراحل زایشی و رویشی بطور قابل توجهی نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: بطور کلی با توجه به افزایش بیان نسبی رونوشت‌های هر سه ژن کدکننده عوامل رونویسی مورد مطالعه در مرحله زایشی در ریشه رقم روی-کارا، احتمالا هر سه ژن در فعال سازی و القای رونوشت برداری ژن‌های دخیل در جذب روی در ریشه در شرایط کمبود روی در انتهای دوره رشدی مشارکت دارند. بنابراین می‌توان از این ژن‌ها در در برنامه‌های اصلاحی بهبود کیفیت دانه و غنی سازی زیستی گندم نان برای تولید ارقام روی-کارا استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: عوامل رونویسی، کمبود روی، گندم نان، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی

مقدمه

غلّات نقش مهمی در تأمین غذای جهان بر عهده دارند که در این بین، گندم مهم‌ترین محصول تحت کشت به شمار می‌رود (۲۱). در ایران نیز مانند بسیاری از کشورهای جهان، نان حاصل از گندم مهم‌ترین ماده غذائی روزانه مردم را تشکیل می‌دهد و نقش عمده‌ای در تأمین انرژی و پروتئین مورد نیاز بدن دارد (۴۷). این گیاه در حال حاضر در ۱۷ درصد از زمین‌های زراعی جهان کشت شده و ۳۵ درصد از انرژی و پروتئین جیره غذایی انسان را تشکیل می‌دهد (۲۶). گندم یک منبع غذایی پایدار برای جمعیت در حال رشد جهان به شمار می‌رود، با اینکه ایران یک درصد جمعیت جهان را دارد ولی ۲/۵ درصد گندم جهان را مصرف می‌کند (۱).

تنش‌های محیطی (زیستی و غیرزیستی) تهدید جدی برای تولیدات کشاورزی محسوب می‌شوند (۲۷). از جمله تنش‌های غیرزیستی می‌توان به کمبود عناصر کم مصرف در خاک اشاره نمود. کمبود عنصر روی (Zn) درخاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه‌خشک، یکی از عوامل محدود کننده رشد گیاهان می‌باشد (۱۷). در غلات کمبود روی و به دنبال آن آهن، وسیع‌ترین کمبود در بین عناصر کم مصرف است. این عارضه در خاک‌های آهکی به وفور دیده می‌شود، به‌طوری‌که در میان عناصر غذایی کم مصرف، روی اولین عنصری است که کمبود آن در خاک‌های آهکی به وضوح مشاهده می‌گردد. وسعت جهانی این خاک‌ها ۸۰۰ میلیون هکتار برآورد شده است (۲). ۵۶/۳ درصد از خاک‌های ایران کمتر از ۰/۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی قابل استفاده داشته و تنها ۳۱ درصد از خاک‌ها بیشتر از ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم روی قابل استفاده دارند (۳۸).

عناصر کم مصرف سوخت و ساز مواد غذایی را در بدن تنظیم می‌کنند و کمبود آن‌ها، باعث کاهش سطح سلامت و افزایش مرگ و میر بخصوص در کشورهای در حال توسعه شده، و سلامت جوامع را به خطر می‌اندازد. به‌علاوه، عناصر کم مصرف از عناصر ضروری مورد نیاز گیاهان می‌باشند که در فرآیندهای مختلف مربوط به فتوسنتز، رشد و نمو گیاه مشارکت می‌کنند و کمبود آن‌ها تأثیر بسزایی در کاهش کمیّت و کیفیت محصولات کشاورزی دارد (۱۱،۳۷). هر یک از هشت عنصر کم مصرف یا ریزمغذی نقش خاصی در گیاه ایفا می‌کنند. وجود این عناصر در حد کفایت برای کامل کردن چرخه زندگی و رشد گیاهان لازم است. نقش این عناصر از واکنش‌های بسیار ساده تا خیلی پیچیده را در بر می‌گیرد و نقش یک عنصر کم مصرف را عنصر دیگر نمی‌تواند جبران

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]
[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]

کند. عنصر روی در ترکیب آنزیم‌های مختلف تنظیم‌کننده فعالیت‌های متابولیکی نقش دارد و در ساخت اکسین و همچنین در متابولیسم کربوهیدرات دخیل است. همچنین این عنصر در فعالیت‌های آنزیمی گوناگونی مانند متابولیسم اکسین، دی‌هیدروژناز، فسفودی استراز و ساخت سیتوکروم C شرکت دارد (۳۵).

گمان می‌رود گیاهان در مقابل تنش‌های محیطی، از طریق تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیکی در تمام اندام‌های خود پاسخ می‌دهند. در سال‌های اخیر ثابت شده که گیاهان در جذب روی توانایی متفاوتی دارند. به ویژه زمانی‌که دسترسی ریشه به روی محدود می‌شود، پاسخ به کمبود روی و کوددهی آن، بین گونه‌های مختلف غلات و حتی ارقام یک گونه مشخص، متفاوت است (۱۹). بعضی از ژنوتیپ‌ها در خاک‌های فاقد روی، ظرفیت رشد و تولید محصول خوبی دارند (۳۱). ژنوتیپ‌هایی که مقاوم به خاک‌های بدون روی هستند، روی-کارا[1] نامیده می‌شوند. کارایی روی به‌عنوان توانایی گیاه در رشد و کسب عملکرد تحت شرایط کمبود روی تعریف شده که بین ارقام مختلف گندم متفاوت است (۱۵).

یکی از راه‌های مقابله با کمبود عناصر غذایی کم مصرف در خاک، کاشت ارقامی از گیاه مورد نظر است که کارایی مصرف بالایی در رابطه با آن عناصر داشته باشد. گیاهان با کارایی بالای مصرف یک عنصر غذایی، نیاز خود به آن عنصر غذایی را از دو طریق برطرف می‌کند؛ این گیاهان ممکن است ساز و کارهای قوی برای جذب عنصر از خاک داشته باشند (Uptake efficiency) و یا توانایی خوبی در انتقال و به کارگیری عنصر در داخل گیاه (Utilization efficiency) داشته باشند. یکی از دلایل تفاوت در توانایی گیاهان مختلف در جذب روی، ممکن است مربوط به اختلاف آن‌ها در تعداد و نوع پروتیئن‌های ناقل روی در ریشه باشد (۱۴). به همین جهت شناسایی و تعیین خصوصیات پروتئین‌های ناقل روی در گیاهان، می‌تواند در ایجاد ارقام متحمل به کمبود روی در گیاه گندم به عنوان پرمصرف‌ترین محصول گیاهی جهان یک راهکار اساسی باشد. از آنجایی‌که روی قادر به انتشار بین غشای سلولی نیست، ترانسپورترهای مخصوص برای انتقال روی به سیتوپلاسم مورد نیاز است (۲۳،۴۰). در سال‌های اخیر، تعدادی از ترانسپورترهای عناصر فلزی در گیاهان شناسایی شده‌اند که شامل HMA[2]، ZRT[3]، خانواده ZIP[4]، خانواده NRAMP[5] و خانواده CDF[6] می‌باشد که رونویسی این ژن‌ها توسط خانواده‌های مختلفی از عوامل رونویسی فعال می‌شود (۱۰). عوامل رونویسی نقش مهمی در تمامی فرآیندهای بیولوژیکی موجودات برعهده دارند. عوامل رونویسی معمولاً بر اساس دومین‌های متصل شونده به DNA طبقه‌بندی می‌شوند. عوامل رونویسی با اتصال به نواحی پروموتوری ژن‌های هدف باعث افزایش و یا کاهش بیان ژن‌های هدف بـر حسب نوع تنش می‌شوند. از مهم‌ترین عوامل رونویسی می‌توان به خانواده‌های ژنی *AP2*[7]، *NAC*، *WRKY* و *bZIP*[8] اشاره کرد (۹). خانواده‌ی *bZIP* یکی از مهم‌ترین عوامل رونویسی است که در اکثر تنش‌ها دخیل هستند و باعث کنترل بیان تعداد زیادی ژن در حین تنش می‌شوند. فاکتور رونویسی bZIP دارای ناحیه‌ای است که به DNA و موتیف Leucine zipper متصل می‌شود (۱۸). از جمله عوامل رونویسی دیگری که در فعال‌سازی ژن‌های دخیل در جذب و انتقال روی در گیاهان دخالت دارند خانواده WRKY می‌باشد. این خانواده جزء ۱۰ خانواده بزرگ ژنی در گیاهان عالی می‌باشند و مانند دیگر خانواده‌های ژنی گیاهی، طی تکامل گیاهان گسترش یافته‌اند. این خانواده‌ی ژنی در مقاومت به تنش‌های غیرزیستی و زیستی نقش گسترده‌ای دارد. پروتئین‌های NAC نیز یکی از بزرگ‌ترین خانواده فاکتورهای رونویسی هستند. عوامل رونویسی NAM، ATAF1، ATAF2 و CUC2 از اعضای این خانواده می‌باشند. ژن‌های *NAC* در فرآیندهای رشد، سیگنال‌دهی اکسین، در پاسخ به تنش زیستی و دفاعی و هچنین پیری گیاه نقش مهمی دارند (۱۶). در طی رسیدگی گندم اجزای برگ به طور هماهنگ تجزیه شده و اسیدهای آمینه و عناصر کم‌مصرف آزاد و به دانه‌های در حال توسعه منتقل می‌شوند. مهار همزمان عوامل رونویسی GPC1 و GPC2 (به‌ترتیب NAM1 و NAM2) تا حد زیادی باعث تأخیر در پیری و اختلال در بازسازی عناصر کم‌مصرف می‌شود. بنابراین این موضوع نقطه عطف با ارزشی برای شناسایی ژن‌های دخیل در انتقال عناصر کم‌مصرف به دانه گندم را فراهم می‌کند (۳۰). در این تحقیق بیان نسبی رونوشت‌های ژن‌های کد کننده عوامل رونویسی *bZIP56*، *WRKY1* و *NAM-B1* در شرایط کمبود روی در ریشه و برگ ارقام روی-کارا و روی-ناکارا گندم نان در دو مرحله رشدی یک ماه بعد از جوانه‌زنی (مرحله رویشی) و ۳۰ درصد گلدهی (مرحله زایشی) مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

کشت مواد گیاهی

در تحقیق حاضر، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۷ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه طراحی و اجرا گردید. بدین منظور از ارقام روی-کارا (هامون) و روی-ناکارا (هیرمند) گندم نان (۴۴) برای کشت در بستر خاک استفاده شد. خاک مورد استفاده در این پژوهش از بستر شنی منطقه شبستر تبریز (دارای میزان بسیار کم روی) تهیه گردید (جدول ۱). خاک مورد استفاده پس از غربال با الک ۲ میلی‌متری، ابتدا ۵ بار با آب معمولی و در نهایت با آب دوبار تقطیر شست و شو داده شد تا به طور کامل عاری از مواد غذایی گردد. سپس مواد غذایی مورد نیاز گیاه با خاک مخلوط شد. جهت جلوگیری از کمبود نیتروژن، محلول آمونیوم نیترات هر هفته یک‌بار به گلدان‌ها اضافه گردید. همچنین به نیمی از گلدان‌ها محلول ZnSO4.7H2O اضافه شد.

گلدان‌های پلی‌اتیلنی حاوی ۴ کیلوگرم خاک انتخاب شده و بذور ارقام مورد کشت پس از ضدعفونی با آب اکسیژنه در این گلدان‌ها کشت شدند. در طول فصل رشد، گیاهان با استفاده از آب دوبار تقطیر در حد ظرفیت زراعی آبیاری شدند. بذور ارقام هامون (روی-کارا) و هیرمند (روی-ناکارا) در شرایط تنش

1- Zn-efficient 2- Heavy metal ATPases 3- Zinc regulated transporter 4- Zrt/Irt-like proteins
5- Natural resistance associated macrophage protein 6- Cation diffusion factor 7- Apetala2
8- Basic leucine zipper domain

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]
[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]

روی خاک و کفایت آن (به‌ترتیب صفر و ۵ میلی‌گرم روی در کیلوگرم) کشت و از ریشه و برگ گیاهان در دو مرحله‌ی یک ماه بعد از جوانه‌زنی (رویشی) و ۳۰ درصد گلدهی (زایشی) نمونه‌برداری انجام گرفت و با استفاده از نیتروژن مایع به فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در این آزمایش
Table 1. Physical and chemical characteristics of the sandy soil used in the experiment

شوری (mmoh/Cm)	اسیدیته (%)	آهک (%)	مواد آلی (%)	نیتروژن (%)	فسفر (ppm)	پتاسیم (ppm)	روی (ppm)	رس (%)	سیلت (%)	شن (%)
۱/۱۹	۷/۸	۹	۰/۶۹	۰/۶۱	۲/۵	۹/۴	۰/۱۵	۳	۱	۹۶

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA از ریشه و برگ (۰/۲ میلی‌گرم) گیاهان با استفاده از محلول استخراج RNX-plus^{TM} (سیناکلون، ایران) مطابق دستورالعمل پیشنهادی شرکت سازنده انجام شد. سپس به منظور حذف آلودگی DNA ژنومی باقیمانده در نمونه‌های RNA استخراجی، تیمار DNase بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده کیت سنتز cDNA انجام گرفت. سنتز cDNA با استفاده از کیت RevertAid First Strand cDNA Synthesis (Thermo Scientific) صورت گرفت. جهت اطمینان از عدم وجود آلودگی DNA در RNA استخراجی و اجزای واکنش، واکنش‌های کنترل RT- (عدم استفاده از آنزیم Reverse transcriptase) و NTC (عدم استفاده از RNA) در حین سنتز cDNA طبق دستورالعمل کیت سنتز در نظر گرفته شد. بررسی کمّیت و کیفیت RNA استخراجی با استفاده از دستگاه نانودراپ انجام شد. همچنین برای ارزیابی کیفیت RNA استخراجی از الکتروفورز ژل آگارز یک درصد استفاده شد.

طراحی آغازگر و واکنش‌های Real time PCR

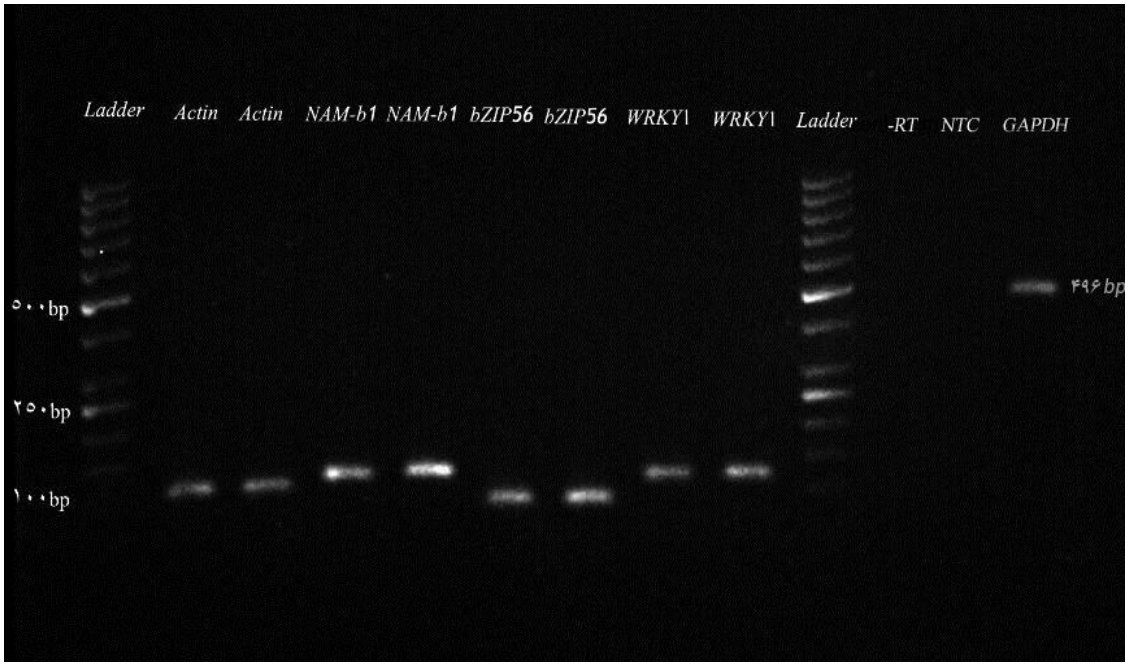
برای مطالعه بیان نسبی ژن‌های کدکننده عوامل رونویسی *bZIP56*، *WRKY1* و *NAM-B1*، توالی نواحی کدکننده این ژن‌ها جهت طراحی آغازگرها از بانک اطلاعاتی NCBI استخراج گردید. آغازگرها با نرم‌افزارهای Fast PCR و Gene Runner طراحی شدند (جدول ۲).

جدول ۲- خصوصیات آغازگرهای مورد استفاده در واکنش‌های Real Time PCR
Table 2. Characteristics of the primers used in real time PCR reactions

ژن	شماره دسترسی	توالی آغازگر (۵′ – ۳′)	دمای اتصال (C°)	طول محصول (bp) (جفت باز)
Actin3	TC234027	F: gacgcacaacaggtatcgtgttg R: cagcgaggtcaagacgaaggatg	۵۸	۱۰۷
bZIP56	HQ389795.1	F: gctcgtcaagaagctccagagtc R: ccctctgatgtcaacaagcaggc	۵۹	۸۲
WRKY1	EU665424.1	F: gagcctcgtgttgtggttcagac R: gtagctccttggatttgggtttcc	۶۰	۱۱۴
NAM-B1	MF155945.1	F: cgatcagcagaggaacacggagtg R: ggtgaagcgtagttgctgccat	۶۰	۱۲۰

واکنش‌های Real time PCR در حجم ۱۲/۵ میکرولیتر در سه تکرار زیستی طبق دستورالعمل کیت SYBR Green/ROX qPCR Maser Mix (Thermo scientific، آمریکا) در دستگاه Rotor-Gene Q مدل ۶۰۰۰ (کیاژن، آمریکا) انجام گرفت. ژن اکتین۳ به عنوان ژن مرجع در واکنش‌های Real time PCR مورد استفاده قرار گرفت (۴۴). الگوی دمایی واکنش‌ها طبق اندازه محصول و دمای اتصال آغازگرها بصورت: فعال‌سازی ابتدایی آنزیم در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه (یک چرخه) و سپس ۴۰ چرخه شامل ۹۵ درجه به مدت ۱۵ ثانیه جهت واسرشته سازی cDNA، اتصال آغازگرها در دمای ویژه هر ژن (جدول ۲) به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه به مدت ۴۰ ثانیه انجام گرفت. بعد از اتمام واکنش، منحنی ذوب هرکدام از ژن‌ها رسم و صحت تکثیر محصول مربوط به هر ژن با استفاده از منحنی ذوب همان ژن و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد (شکل ۱) تایید شد. همچنین بعد از محاسبه چرخه آستانه (Cycle of threshold: Ct) با نرم‌افزار Rotor-GeneQ، مقدار بیان نسبی ژن‌های مورد نظر در گیاهان تیمار شده (شرایط کمبود روی) نسبت به کنترل (شرایط کفایت روی) با استفاده از روش $\Delta\Delta CT$ محاسبه گردید (۲۴). به‌منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها و اشتباهات آزمایشی از روش کلموگراف-اسمیرنوف در نرم‌افزار MINITAB (نسخه ۱۹) استفاده شد. همچنین برای انجام تجزیه واریانس از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش SNK در سطح احتمال ۰/۰۱ با استفاده از همین نرم‌افزار انجام گردید.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]
[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]



شکل ۱- باندهای حاصل از تکثیر cDNA با آغازگرهای ژن‌های *NAM-B1*، *bZIP56* و *WRKY1* و ژن *Actin3* به همراه واکنش‌های کنترل منفی RT- (تکثیر cDNA بدون آنزیم Reverse transcriptase)، NTC (تکثیر cDNA بدون RNA استخراجی) و کنترل مثبت (GAPDH)

Figure 1. cDNA amplifications using primers *WRKY1*, *bZIP56*, *NAM-b1* and *Actin3* genes, with negative control reactions of -RT (cDNA synthesis without reverse transcriptase) and NTC (cDNA synthesis without extracted RNA) and positive control reaction (GAPDH).

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه در دو رقم گندم نان تحت شرایط کمبود روی (Zn) نشان می‌دهد که اثر متقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری، اثرات متقابل دو جانبه و اثرات ساده برای ژن کدکننده فاکتور رونویسی bZIP56 در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. همچنین نتایج تجزیه واریانس بیان نسبی ژن کدکننده فاکتور رونویسی WRKY1 نشان داد که به غیر از اثر ساده بافت و اثر متقابل بافت × رقم که در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند، سایر اثرات از جمله اثر متقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. در نهایت، نتایج برای بیان نسبی ژن کدکننده فاکتور رونویسی NAM-B1 نشان‌دهنده معنی‌داری تمامی اثرات اصلی و متقابل در سطح احتمال یک درصد بود.

جدول ۳- تجزیه واریانس بیان نسبی ژن‌های *bZIP56*، *WRKY1* و *NAM-B1* تحت تنش کمبود روی (Zn) در ریشه و برگ ارقام روی-کارا (هامون) و روی-ناکارا (هیرمند) گندم نان در مراحل رویشی و زایشی

Table 3. Analysis of variance for relative expression of *bZIP56*, *WRKY1* and *NAM-B1* genes in root and leaf of Zn-efficient (Hamoun) and –inefficient (Hirmand) bread wheat cultivars at vegetative and reproductive stages

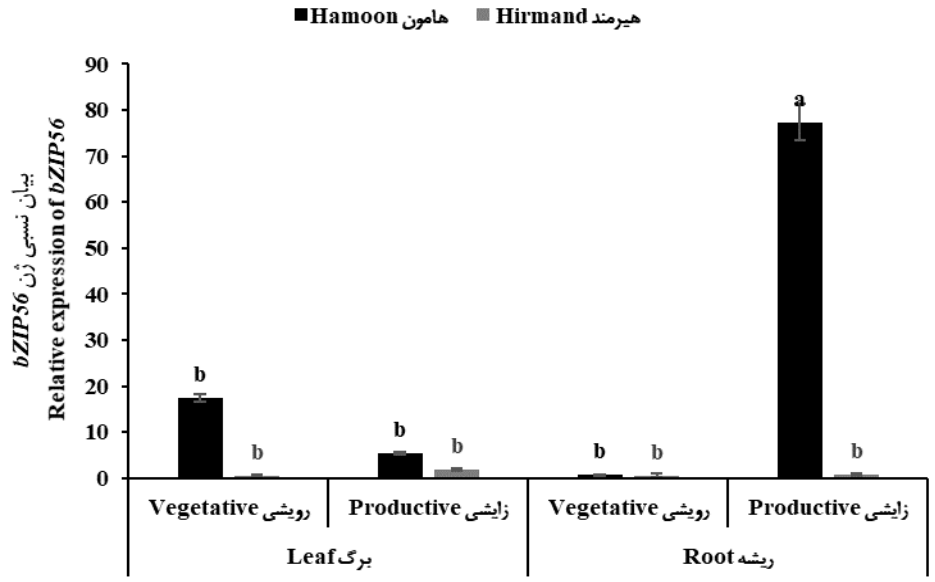
منابع تغییرات	درجه آزادی	*bZIP56*	*WRKY1*	*NAM-B1*
رقم	۱	۱۰۲۳۸۲/۲**	۲۱۰/۸۷**	۳۲۶/۱۳**
بافت	۱	۸۸۴۱۸/۹۶**	۲۰/۰۱*	۹۲۱/۵۲**
مرحله	۱	۹۲۷۷۰/۹۶**	۶۷/۳۶**	۲۵۵۷/۲۸**
بافت × رقم	۱	۸۹۴۰۱/۷۵**	۲۴/۵۲*	۲۶۵۶/۶۳**
مرحله × رقم	۱	۹۱۵۳۳/۶۳**	۳۱/۵۹**	۱۱۶۰/۵۶**
مرحله × بافت	۱	۹۹۰۳۸/۷۷**	۱۶۱/۵۶**	۴۲۰/۲۷**
رقم × بافت × مرحله	۱	۱۰۰۰۸۵/۱**	۲۰۴/۹۷**	۳۷۷۳/۴۶**
خطا	۱۶	۵۵۸/۴۶	۲/۸۱	۲۵/۰۳
ضریب تغییرات (٪)		۲۹/۳۴	۳۶/۳۴	۲۹/۷۹

* و **: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد

بیان نسبی ژن کدکننده فاکتور رونویسی bZIP56

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری نشان داد که بیش‌ترین میزان افزایش بیان نسبی ژن *bZIP56* (بیش از ۷۷ برابر) مربوط به ریشه رقم روی-کارای هامون در مرحله زایشی می‌باشد. در برگ رقم هامون در مرحله رویشی نیز میزان بیان ژن مذکور بیش از ۱۷ برابر افزایش یافت. همچنین در ریشه در مرحله رویشی و در برگ در مرحله زایشی تفاوت معنی‌داری بین ارقام روی-کارا و روی-ناکارا به لحاظ میزان بیان این ژن مشاهده نشد (شکل ۲).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]
[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری بر بیان ژن *bZIP56* در ریشه و برگ ارقام روی-کارا (هامون) و روی-ناکارا (هیرمند) گندم نان در دو مرحله رویشی و زایشی (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد ندارند).

Figure 2. Mean comparison for cultivar × tissue × sampling stage interaction on the relative expression of gene *bZIP56* in Zn-efficient (Hamoun) and –inefficient (Hirmand) bread wheat cultivars (Columns with the common letters show no significant difference based on SNK test at %1 probability level).

با توجه به افزایش بیان ژن کدکننده فاکتور رونویسی *bZIP56* در ریشه رقم روی-کارای گندم نان تحت شرایط تنش روی خاک، احتمال می‌رود این فاکتور رونویسی منجر به افزایش میزان بیان ژن‌هایی می‌شود که وظیفه جذب روی از خاک و انتقال آن به اندام‌های هوایی را برعهده دارند. همچنین افزایش ۱۷ برابری میزان بیان این ژن در برگ در مرحله رویشی احتمالا نشانگر دخالت این فاکتور رونویسی در فعال‌سازی رونویسی ژن‌های دخیل در انتقال روی از برگ به سایر بافت‌های مصرف کننده روی می‌باشد. افزایش بیان ژن‌های *bZIP* تحت شرایط کمبود روی در گندم نان گزارش شده (۱۳) و اهمیت گروه F فاکتورهای رونویسی *bZIP* در پاسخ به این تنش در این گیاه به اثبات رسیده است. تحت شرایط وجود روی در سلول، یون Zn^{2+} به موتیف‌های غنی از سیستئین- هیستیدین موجود در گروه F فاکتورهای رونویسی *bZIP* متصل شده و آن‌ها را غیرفعال می‌کند. در حالی‌که پس از کاهش غلظت روی در سلول، Zn^{2+} جدا شده و بدین ترتیب دیمر *bZIP* را فعال می‌کند که آن هم به نوبه خود به موتیف ZDRE[1] متصل شده و باعث افزایش رونویسی ژن‌های پاسخ به روی می‌شود (۴). ZDREها در مناطق پروموتوری ژن‌های پاسخ‌دهنده به کمبود روی و به ویژه در تعدادی از ژن‌های *ZIP* حضور دارند. در همین راستا Evens و همکاران (۱۳) نشان دادند که در شرایط سازگاری گندم به کمبود روی، مکانیسم‌های اضافه و پیچیده‌تری با تعداد زیادی از فاکتورهای رونویسی *bZIP* مشارکت دارند و به گیاه اجازه می‌دهند تا رشد خود را تحت شرایط کمبود روی به شکل مناسب‌تری تعدیل نماید. جهت تأیید نقش *bZIP*ها در تنش کمبود روی (*Zn*)، Assuncao و همکاران (۴) با ایجاد جهش در ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی *bZIP19* و *bZIP23* مشاهده کردند که پاسخ به کمبود روی (Zn) در گیاه آرابیدوپسیس ناقص بوده و علائم ناشی از کمبود تشدید می‌یابد.

در توافق با یافته‌های این پژوهش گزارش شده است که ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی *HvbZIP1*، *HvbZIP10* و *HvbZIP58* در جو به طور قابل توجهی در ریشه و شاخه بیان شده‌اند؛ ژن *HvbZIP57* تنها در ریشه مقداری بیان داشت، در حالی‌که برای ژن‌های *HvbZIP56* و *HvbZIP62* بیانی مشاهده نشد (۲۸). در پژوهشی دیگر، مشابه یافته‌های پژوهش حاضر نشان داده شد که فاکتور رونویسی *bZIP19/23* تحت شرایط کمبود روی به وضعیت روی در ریشه و ساقه پاسخ می‌دهند و در انتقال آن از ریشه به ساقه نقش دارند (۳۹).

با توجه به اثرات مختلفی که در خصوص *bZIP*ها در پاسخ به کمبود روی (*Zn*) مشاهده شده است، این احتمال وجود دارد که *bZIP*های خاصی به ویژه آن‌هایی که تحت تنش کمبود روی (*Zn*) بیان پایینی دارند، تنظیم کننده اصلی سایر *bZIP*ها باشند (۱۳). در نهایت می‌توان اظهار داشت که فاکتور رونویسی *bZIP56* احتمالاً با افزایش بیان *ZIP*ها و یا با تأثیر بر *bZIP*های دیگر در تحمل به تنش کمبود روی (*Zn*) ایفای نقش می‌کنند و بر اساس نتایج به نظر می‌رسد یکی از دلایل روی- کارایی گیاهان، مربوط به بیان ژن‌های کدکننده این فاکتور رونویسی در ریشه و در نتیجه انتقال روی از خاک به گیاه باشد. از طرفی دیگر با توجه به این‌که در

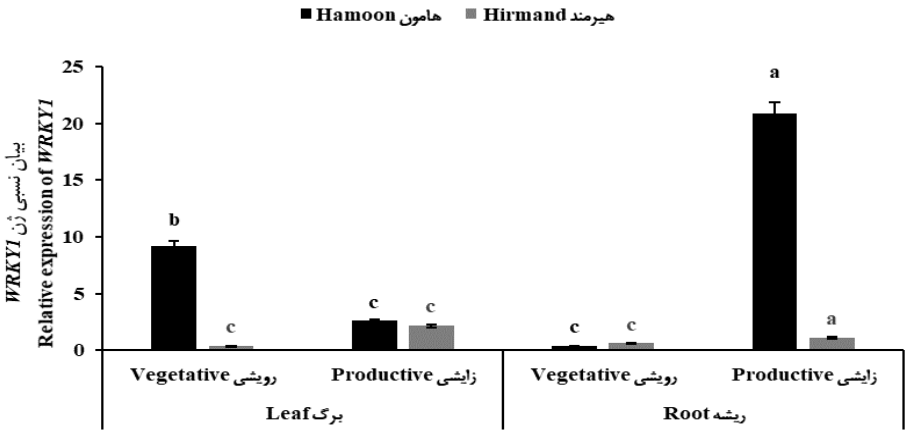
1- Zn deficiency responsive element

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]
[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]

شرایط کمبود روی، گیاهان روی- کارا با آزادسازی لیگاندهای آلی از ریشه باعث تشکیل کمپلکس‌های آلی روی می‌شوند، این احتمال وجود دارد که *bZIP*ها از طریق تأثیر بر روی ناقل‌های *ZIP* و ایجاد امکان جذب مستقیم کمپلکس‌های آلی روی توسط ریشه، باعث روی- کارایی شوند. زیرا توانایی گیاهان برای جذب و انتقال کمپلکس‌های آلی روی، یکی دیگر از دلایل تحمل گیاهان به کمبود روی است (۱۴). در این ارتباط، محمودی ملحم‌لو و عبدالهی مندولکانی (۲۵) افزایش بیان ژن کد کننده فاکتور رونویسی *bZIP33* را با نقش آن در القای بیان ژن‌های *ZIP* تحت شرایط تنش روی مرتبط دانستند.

بیان ژن کدکننده فاکتور رونویسی *WRKY1*

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری حاکی از افزایش ۲۰ برابری بیان نسبی ژن کدکننده فاکتور رونویسی *WRKY1* تحت شرایط کمبود روی در ریشه رقم روی- کارای هامون در مرحله زایشی نسبت به شاهد می‌باشد. همچنین این افزایش بطور معنی‌داری در رقم هامون بیشتر از هیرمند بود. در برگ این رقم نیز در مرحله رویشی میزان بیان این ژن در رقم کارا (بیش از ۹ برابر) بطور معنی‌داری بیشتر از رقم ناکارا افزایش یافت. همچنین در مرحله زایشی در برگ و در مرحله رویشی در ریشه اختلاف معنی‌داری بین دو رقم به لحاظ میزان بیان این ژن مشاهده نشد (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری بر بیان ژن *WRKY1* در ریشه و برگ ارقام روی-کارا (هامون) و روی-ناکارا (هیرمند) گندم نان در دو مرحله رویشی و زایشی (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد ندارند).

Figure 3. Mean comparison for cultivar × tissue × sampling stage interaction on the relative expression of *WRKY1* gene in Zn-efficient (Hamoon) and –inefficient (Hirmand) bread wheat cultivars (Columns with the common letters show no significant difference based on SNK test at %1 probability level)

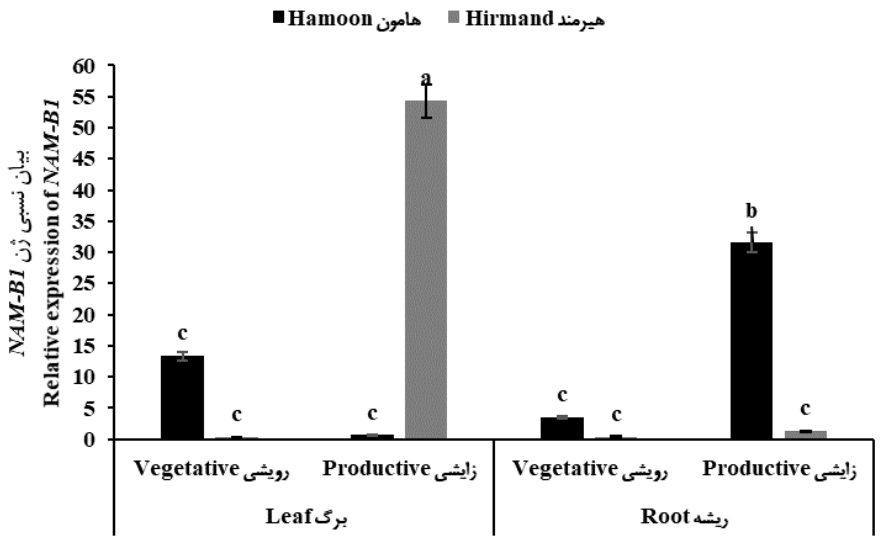
فاکتورهای رونویسی *WRKY* در مقاومت به تنش‌های غیرزیستی نقش دارند (۳۶). نتایج تحقیق حاضر نیز بیان‌گر نقش و فعالیت ژن کدکننده عامل رونویسی *WRKY1* در رقم روی-کارا تحت شرایط تنش روی می‌باشد. بیان بالای این ژن در ریشه رقم روی- کارا در مرحله زایشی احتمالاً دلیلی بر نقش این ژن در جذب Zn از خاک و انتقال آن به اندام‌های هوایی در مرحله زایشی است. از سوی دیگر بیان ژن *WRKY1* در برگ و ریشه می‌تواند یکی از دلایل روی- کارایی ارقام باشد. در توافق با این نتایج Van De Mortel و همکاران (۴۲)، ۴۸ ژن در گیاه Arabidopsis شناسایی کردند که در حمل و نقل روی و کادمیم در گیاه مشارکت داشتند که در بین آن‌ها، فاکتور رونویسی *WRKY59* در بافت ریشه دارای بیان قابل توجهی در شرایط کمبود روی بود. نتایج مشابهی توسط Bouain و همکاران (۶) روی فاکتورهای رونویسی *WRKY46* و *WRKY28* گزارش شد که طی آن ژن‌های مذکور تحت تیمارهای مختلفی از جمله تیمار فقر روی و فقر آزلائیک اسید نسبت به تیمار کنترل روی کافی و فقر آزلائیک اسید، بیان بالای را در ریشه و برگ آرابیدوپسیس نشان دادند. به طور کلی، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که ژن *WRKY1* در شرایط کمبود روی در رقم روی-کارا گندم نان در ریشه در مرحله زایشی و در برگ در مرحله رویشی بیشتر از رقم روی-ناکارا بیان می‌شود. بنابراین ممکن است وظیفه اصلی این فاکتور رونویسی افزایش بیان ژن‌هایی باشد که با جذب Zn از خاک و انتقال آن به اندام‌های هوایی (و احتمالاً دانه در اواخر دوره رشد گیاه) مرتبط می‌باشد. با توجه به این‌که در چندین مطالعه به اتصال فاکتورهای رونویسی *WRKY* به جعبه W ژن‌های هدف اشاره شده است (۳۶،۴۵). لذا می‌توان نتیجه‌گیری نمود که احتمالاً فاکتور رونویسی *WRKY1* نیز به این جعبه واقع در پروموتور ژن‌های دخیل در پاسخ به کمبود روی متصل می‌گردد.

بیان ژن کدکننده فاکتور رونویسی *NAM-B1*

مقایسه میانگین اثرمتقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری نشان داد که بیشترین میزان افزایش بیان نسبی ژن کدکننده

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]
[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]

عامل رونویسی *NAM-B1* (۵۴ برابر کنترل) مربوط به برگ رقم روی–ناکارای هیرمند می‌باشد. البته در ریشه در مرحله زایشی و در برگ در مرحله رویشی، بیان این ژن در رقم روی–کارا هامون بطور معنی‌داری بیش از رقم هیرمند افزایش یافت. همچنین در مرحله رویشی در ریشه بین ارقام روی–کارا و روی–ناکارا به لحاظ بیان این ژن اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲).



شکل ۴– مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری بر بیان ژن *NAM-B1* در ریشه و برگ ارقام روی–کارا (هامون) و روی–ناکارا (هیرمند) گندم نان در دو مرحله رویشی و زایشی (ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد ندارند).

Figure 4. Mean comparison for cultivar × tissue × sampling stage interaction on the relative expression of *NAM-B1* gene in Zn-efficient (Hamoun) and –inefficient (Hirmand) bread wheat cultivars (Columns with the common letters show no significant difference based on SNK test at %1 probability level)

نتایج این مطالعه نشان داد که بیان ژن *NAM-B1* برخلاف ژن‌های *WRKY1* و *bZIP56*، در برگ رقم روی– ناکارا در مرحله زایشی بطور قابل توجهی افزایش می‌یابد. افزایش بیان این ژن در برگ گیاهان روی– ناکارا نقش این فاکتور رونویسی در فعالسازی رونویسی ژن‌های دخیل در انتقال روی بین اندام‌های مختلف گیاه در شرایط کمبود روی را آشکار می‌سازد. در حالی‌که افزایش بیان آن در ریشه گیاهان روی–کارا احتمالاً بیانگر نقش این ژن در جذب روی از خاک به داخل سلول‌های ریشه می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد فاکتور رونویسی *NAM-B1* دارای نقش‌های متفاوت و متنوعی در رابطه با فعالسازی رونویسی ژن‌های دخیل در جذب و انتقال روی در ارقام با روی– کارایی مختلف می‌باشد. لازم به توضیح است که ارقام روی– کارا توانایی بیشتری برای رشد و تولید عملکرد بالا در خاک‌هایی که دچار کمبود روی می‌باشند، دارند. بنابراین روی– کارایی الزاماً به معنای تجمع بالای روی در دانه نیست (۱۴،۳۲).

همچنین افزایش قابل توجه بیان این ژن در مرحله زایشی (در اواخر دوری رشدی گیاه) به ترتیب در ریشه رقم روی–کارا و در برگ رقم روی–ناکارا در شرایط کمبود روی نشان می‌دهد که بیان این ژن با افزایش سن گیاه افزایش می‌یابد. این مورد حتمالا به دلیل نقش بسزای فاکتورهای رونویسی *NAC* در فرآیند پیری گیاه می‌باشد و بنابراین افزایش بیان آن‌ها در اواخر رشد گیاه قابل انتظار می‌باشد. در همین راستا، Waters و همکاران (۴۳) گزارش نمودند که خانواده فاکتور رونویسی *NAC* از جمله *NAM-B1* (*Gpc-B1*) در تنظیم پیری و افزایش پروتئین، آهن و روی دانه گندم نقش دارند. در مطالعه‌ای دیگر، دیستلفد و همکاران (۱۲) اظهار داشتند که یک شبکه پیچیده و بهم گره خورده‌ای بین شروع پیری برگ، انتقال مجدد ریزمغذی‌ها و راندمان استفاده از آن‌ها در گندم وجود دارد و فاکتور رونویسی *NAM-B1* به عنوان تنظیم کننده واکنش گیاه به تنش و انتقال ریزمغذی‌ها از منابع رویشی به دانه می‌تواند نقش کلیدی در این شبکه داشته باشد. این محققین گزارش کردند که در لاین‌هایی با ژن عملکردی *NAM-B1* گرچه کیفیت دانه گندم افزایش می‌یابد اما ممکن است با توجه به پیری زودرس عملکرد کلی گیاه بسته به شرایط رشدی کاهش یابد. پروین و همکاران (۲۹) مشاهده کردند که در شرایط کمبود آهن و نیتروژن، بیان ژن *NAM-B1* در گندم‌های نان و دوروم مورد مطالعه افزایش یافت. Uauy و همکاران (۴۱) طی یک پروسه‌ی انتقال ژن، نشان دادند که کاهش سطوح RNA ژن‌های *TaNAM* منجر به تأخیر در رسیدگی گیاه، کاهش پروتئین دانه، کاهش غلظت Zn و Fe دانه و افزایش Zn، Fe و نیتروژن باقی مانده در برگ پرچم می‌شود؛ این اثرات پلیوتروپیک متعدد، نقش ژن‌های *NAM* به‌عنوان عوامل رونویسی در فرآیندهای متعدد از جمله پیری برگ و بازسازی عناصر کم‌مصرف به دانه‌های در حال رشد را نشان می‌دهد. بریویز و همکاران (۷) نشان

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]
[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]

دادند که رسیدگی زودرس و کیفیت غذایی بالای گندم تحت تأثیر ژن *NAM-B1* قرار می‌گیرند.
آسپلوند و همکاران (۳) در پژوهشی بر روی ارقام بهاره گندم سوئد، تفاوتی در غلظت نیتروژن، آهن، روی و منگنز در واریته‌های دارای آلل *NAM-B1* و بدون این آلل مشاهده نکردند که بر خلاف گزارشات قبلی حاکی از عدم ارتباط بین آلل *NAM-B1* و کیفیت تغذیه‌ای گندم بود؛ با این حال، ارقام با آلل *NAM-B1* رشد سریع‌تر، دانه سبک‌تر و محتوای فسفر و منیزیم بالاتری داشتند. این گزارش نتایج حاصل از مطالعه حاضر در مورد بیان بالای این ژن در ارقام روی- ناکارا را به نوعی تأیید می‌نماید. همسو با نتایج دیگر محققین، در پژوهشی که توسط پوزیمیسکا و همکاران (۳۴) انجام گرفت از ژن‌های *NAM1* گندم به‌عنوان ژن‌هایی مرتبط با افزایش پیری و افزایش روی، آهن و پروتئین دانه یاد شد. Zhu و همکاران (۴۶) نیز فاکتور رونویسی *SmNAC1* را از گیاه *Salvia milriorrhiza* شناسایی کردند که با انتقال روی از ریشه به ساقه در ارتباط می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش، بیش‌ترین میزان افزایش بیان نسبی ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی *bZIP56* و *WRKY1* در ریشه رقم روی-کارا هامون در شرایط کمبود روی مشاهده شد. همچنین در این شرایط، در برگ رقم هامون در مرحله رویشی نیز میزان بیان این ژن‌ها بطور معنی‌داری بیشتز از رقم روی-ناکارا افزایش یافت. بنابراین احتمال می‌رود این فاکتورهای رونویسی منجر به افزایش میزان بیان ژن‌هایی می‌شود که وظیفه جذب روی از خاک و انتقال آن به اندام‌های هوایی و همچنین جابجایی روی از برگ به سایر اندام‌ها مانند دانه را برعهده دارند. بیشترین میزان افزایش بیان نسبی ژن کدکننده عامل رونویسی *NAM-B1* در برگ رقم روی-ناکارا هیرمند در مرحله زایشی مشاهده شد. همچنین افزایش بیان این ژن در ریشه رقم روی-کارا هامون در مرحله زایشی بطور معنی‌داری بیشتر از رقم روی-ناکارا بود. افزایش بیان این ژن در مرحله زایشی (اواخر دوره رشدی گیاه)، علاوه بر نقش این ژن در فعالسازی رونویسی ژن‌های دخیل در جذب و انتقال روی، نقش این فاکتور رونویسی در فرآیند پیری گیاه را نیز تایید می‌کند. بطور کلی با توجه به افزایش بیان نسبی رونوشت‌های هر سه ژن مورد مطالعه در مرحله زایشی در ریشه رقم روی-کارا، احتمالا این ژن‌ها در القای رونوشت‌برداری ژن‌های دخیل در جذب روی در ریشه در شرایط کمبود روی در انتهای دوره رشدی مشارکت دارند. بنابراین می‌توان از این ژن‌ها در برنامه‌های اصلاحی بهبود دانه و غنی‌سازی زیستی گندم نان برای تولید ارقام روی-کارا استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه بخاطر فراهم کردن امکانات و هزینه انجام تحقیق قدردانی می‌شود.

منابع

1. Ahmadi-Niari, A., A. Faramarzi and D. Hassanpanah. 2013. Evaluation of drought tolerance indices for screening bread wheat genotypes in drought stress conditions. Journal of Engineering and Alied Sciences, 3(1): 23-27 (In Persian).
2. Alloway, B.J. 2008. Micronutrients and Crop Production: An Introduction, in Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production. Springer Netherlands, 1-39 pp.
3. Asplund, L., G. Bergkvist, M.W. Leino, A. Westerbergh and M. Weih. 2013. Swedish spring wheat varieties with the rare high grain protein allele of NAM-B1 differ in leaf senescence and grain mineral content. PloS One, 8(3): e59704.
4. Assuncao, A.G., D.P. Persson, S. Husted, J.K. Schjørring, R.D. Alexander and M.G. Aarts. 2013. Model of how plants sense zinc deficiency. Metallomics, 5(9): 1110-1116.
5. Assuncao, A.G., E. Herrero, Y.F. Lin, B. Huettel, S. Talukdar, C. Smaczniak, R.G. Immink, M. Van Eldik, M. Fiers, H. Schat and M.G. Aarts. 2010. Arabidopsis thaliana transcription factors bZIP19 and bZIP23 regulate the adaptation to zinc deficiency. Proceedings of the National Academy of Sciences, 107(22): 10296-10301.
6. Bouain, N., S.B. Satbhai, A. Korte, C. Saenchai, G. Desbrosses, P. Berthomieu and H. Rouached. 2018. Natural allelic variation of the AZI1 gene controls root growth under zinc-limiting condition. Public Library of Science Genetics, 14(4): e1007304.
7. Brevis, J.C., C.F. Morris, F. Manthey and J. Dubcovsky. 2010. Effect of the grain protein content locus Gpc-B1 on bread and pasta quality. Journal of Cereal Science, 51(3): 357-365.
8. Bustin, S.A. 2000. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. Journal of Molecular Endocrinology, 25(2): 169-193.
9. Caffagni, A., N. Pecchioni, E. Francia, D. Pagani and J. Milc. 2014. Candidate gene expression profiling in two contrasting tomato cultivars under chilling stress. Biologia Plantarum, 58(2): 283-295.
10. Colangelo, E.P. and M.L. Guerinot. 2006. Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. Current Opinion in Plant Biology, 9(3): 322-330.
11. Cole, C.R., F.K. Grant, E.D. Swaby-Ellis, J.L. Smith, A. Jacques, C.A. Northrop-Clewes and T.R. Ziegler. 2010. Zinc and iron deficiency and their interrelations in low-income African American and Hispanic children in Atlanta. Journal of Clinical Nutrition, 91(4): 1027-1034.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]
[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]

12. Distelfeld, A., R. Avni and A.M. Fischer. 2014. Senescence, nutrient remobilization, and yield in wheat and barley. Journal of Experimental Botany, 65(14): 3783-3798.
13. Evens, N.P., P. Buchner, L.E. Williams and M.J. Hawkesford. 2017. The role of ZIP transporters and group F bZIP transcription factors in the Zn-deficiency response of wheat (*Triticum aestivum*). The Plant Journal, 92(2): 291-304.
14. Ghasemi, S., A.H. Khoshgoftarmanesh, B.E. Sayed-Tabatabaei and G. Khaksar. 2015. Expression level of ZIP1 and ZIP5 transporters in root and leaves of three different zinc-efficiency wheat cultivars. Journal of Plant Process and Function, 4(11): 23-32 (In Persian).
15. Graham, R.D. and Z. Rengel. 1993. Genotypic variation in Zn uptake and utilization by plants. In: Robson, A. D. (Ed). Zinc in soils and plants. Kluwer Academic Publishers, 107-114 p.
16. Guo, Y. and S. Gan. 2006. AtNAP, a NAC family transcription factor, has an important role in leaf senescence. The Plant Journal, 46(4): 601-612.
17. Hacisalihoglu, G., J.J. Hart, Y.H. Wang, I. Cakmak and L.V. Kochian. 2003. Zinc efficiency is correlated with enhanced expression and activity of zinc-requiring enzymes in wheat. Plant Physiology, 131(2): 595-602.
18. Hwang, I., H.J. Jung, J.I. Park, T.J. Yang and I.S. Nou. 2014. Transcriptome analysis of newly classified bZIP transcription factors of Brassica rapa in cold stress response. Genomics, 104(3): 194-202.
19. Kalayci, M., B. Torun, S. Eker, M. Aydin, L. Ozturk and I. Cakmak. 1999. Grain yield, zinc efficiency and zinc concentration of wheat genotypes grown in a zinc-deficient calcareous soil in field and greenhouse. Field Crops Research, 63(1): 87-98.
20. Kambe, T., Y. Yamaguchi-Iwai, R. Sasaki and M. Nagao. 2004. Overview of mammalian zinc transporters. Cellular and Molecular Life Sciences, 61(1): 49-68.
21. Kasirajan, L., K. Boomiraj and K.C. Bansal. 2013. Optimization of genetic transformation protocol mediated by biolistic method in some elite genotypes of wheat (*Triticum aestivum* L.). African Journal of Biotechnology, 12(6): 531-538.
22. Khezri, G., Z. Shobbar and A. Naji. 2016. In silico analysis of the WRKY transcription factors gene family in wheat. Agricultural biotechnology. Agricultural Research, 14(2): 39-44.
23. Khoshgoftarmanesh, A.H., H.R. Sharifi, D. Afiuni and R. Schulin. 2012. Classification of wheat genotypes by yield and densities of grain zinc and iron using cluster analysis. Journal of Geochemical Exploration, 121: 49-54 (In Persian).
24. Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods, 25(4): 402-408.
25. Mahmoudi Malhamlu, F. and B. Abdollahi Mandoulakani. 2019. Enhanced expression of superoxide dismutase, phenylalanine ammonia-lyase and bZIP33 transcription factor encoding genes under Zn deficiency conditions in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Cereal Research, 9(1): 17-26 (In Persian).
26. Mirzamasoumzadeh, B., S. Ghalichechi, M. Salami, M. Karimi and A. Baghal Mohseni. 2013. The study of wheat genotypes is planted in Ardabil using multivariate statistical methods. International Journal of Farming and Allied Sciences, 2(8): 188-189 (In Persian).
27. Nakabayashi, R. and K. Saito. 2015. Integrated metabolomics for abiotic stress responses in plants. Current Opinion in Plant Biology, 24: 10-16.
28. Nazri, A.Z., J.H. Griffin, K.A. Peaston, D.G. Alexander-Webber and L.E. Williams. 2017. F-group bZIPs in barley-a role in Zn deficiency. Plant, Cell and Environment, 40(11): 2754-2770.
29. Parveen, S., R.K. Ranjan, A. Anand and B. Singh. 2018. Combined deficiency of nitrogen and iron increases senescence induced remobilization of plant immobile iron in wheat. Acta Physiologiae Plantarum, 40(12): 211.
30. Pearce, S., F. Tabbita, D. Cantu, V. Buffalo, R. Avni, H. Vazquez-Gross and J. Dubcovksy. 2014. Regulation of Zn and Fe transporters by the GPC1 gene during early wheat monocarpic senescence. BioMed Central Plant Biology, 14(1): 368.
31. Pearson, J.N. and Z. Rengel. 1997. Mechanisms of plant resistance to nutrient deficiency stress. Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants, 213 pp.
32. Peleg, Z., Y. Saranga, A.M. Yazici, T. Fahima, L. Ozturk and I. Cakmak. 2008. Grain zinc, iron and protein concentrations and zinc-efficiency in wild emmer wheat under contrasting irrigation regimes. Plant and Soil, 306(1): 57-67.
33. Rahimi Jarihani, L. and B. Abdollahi Mandoulakani. 2021. Expression pattern of catalase, ascorbate peroxidase and polyphenol oxidase encoding genes under soil Zn deficiency in bread wheat. Cellular and Molecular Researches (Iranian Journal of Biology), 34(1): 105-116 (In Persian).
34. Podzimska-Sroka, D., C. O'Shea, P.L. Gregersen and K. Skriver. 2015. NAC transcription factors in senescence: from molecular structure to function in crops. Plants, 4(3): 412-448.
35. Rengel, Z. and R.D. Graham. 1995. Importance of seed Zn content for wheat growth on Zn-deficient soil. Plant and Soil, 173(2): 259-266.
36. Rushton, P.J., I.E. Somssich, P. Ringler and Q.J. Shen. 2010. WRKY transcription factors. Trends in Plant Science, 15(5): 247-258.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]

37. Sadeghzadeh, B., L. Ghodsizad, N. Sadeghzadeh, I. Sepehr and M. Feizi. 2021. Cereal breeding for zinc deficiency and its importance to alleviate drought stress. Journal of Crop Breeding, 13(37): 22-40 (In Persian).
38. Shahbazi, K. and H. Besharati. 2013. Overview of agricultural soil fertility status of Iran. Journal of Land Management, 1(1): 1-15 (In Persian).
39. Sinclair, S.A., T. Senger, I.N. Talke, C.S. Cobbett, M.J. Haydon and U. Kraemer. 2018. Systemic upregulation of MTP2-and HMA2-mediated Zn partitioning to the shoot supplements local Zn deficiency responses. The Plant Cell, 30(10): 2463-2479.
40. Taylor, K.M., H.E. Morgan, A. Johnson and R.I. Nicholson. 2004. Structure-function analysis of HKE4, a member of the new LIV-1 subfamily of zinc transporters. Biochemical Journal, 377(1): 131-139.
41. Uauy, C., A. Distelfeld, T. Fahima, A. Blechl and J. Dubcovsky. 2006. A NAC gene regulating senescence improves grain protein, zinc, and iron content in wheat. Science, 314(5803): 1298-1301.
42. Van De Mortel, J.E., H. Schat, P.D. Moerland, E.V.L. Van Themaat, S.J.O.E.R.D. Van Der Ent, H. Blankestijn, A. Ghandilyan and M.G. AARTS. 2008. Expression differences for genes involved in lignin, glutathione and sulphate metabolism in response to cadmium in Arabidopsis thaliana and the related Zn/Cd-hyperaccumulator Thlaspi caerulescens. Plant, Cell and Environment, 31(3): 301-324.
43. Waters, B.M., C. Uauy, J. Dubcovsky and M.A. Grusak. 2009. Wheat (*Triticum aestivum*) NAM proteins regulate the translocation of iron, zinc, and nitrogen compounds from vegetative tissues to grain. Journal of Experimental Botany, 60(15): 4263-4274.
44. Wehbi, E. and B. Abdollahi Mandoulakani. 2021. Expression pattern of *NAS1*, *NAS2* and *NAS3* genes under Zn deficiency conditions in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Crop Breeding, 12(36): 171-17 (In Persian).
45. Yan, J.Y., C.X. Li, L. Sun, J.Y. Ren, G.X. Li, Z.J. Ding and S.J. Zheng. 2016. A WRKY transcription factor regulates Fe translocation under Fe deficiency. Plant Physiology, 171(3): 2017-2027.
46. Zhu, B., D.A. Huo, X.X. Hong, J. Guo, T. Peng, J. Liu, X.L. Huang, H.Q. Yan, Q.B. Weng, X.C. Zhang and X.Y. Du. 2019. The Salvia miltiorrhiza NAC transcription factor SmNAC1 enhances zinc content in transgenic Arabidopsis. Gene, 688: 54-61.
47. Zohary, D. and M. Hopf. 2000. Domestication of plants in the Old World: The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and the Nile Valley. Oxford University Press, 33 pp.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]

Expression Pattern of Genes Encoding *bZIP56*, *WRKY1* and *NAM-B1* Transcription Factors under Zn Deficiency Conditions in Bread Wheat (*Triticum Aestivum* L.)

Leyla Teymouri Rad[1], Amir Fayaz Moghaddam[2], Babak Abdollahi Mandoulakani[3] and Esmaeil Wehbi[4]

1- M.Sc. Student of Plant Breeding, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University
2- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University
3- Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University,
(Corresponding author: b.abdollahi@urmia.ac.ir)
4- M.Sc. Student of Agricultural Biotechnology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University
Received: 2 August, 2021 Accepted: 14 December, 2021

Extended Abstract

Introduction and Objective: Bread wheat (*Triticum aestivum* L.) is one of the most important nutritional products in the world. Despite efforts to improve the quality of wheat, its micronutrient level is still below the optimal level for human nutrition. Zinc (Zn) deficiency in particular is a widespread problem of human nutrition in countries that rely heavily on cereal-based diets. Hence, the current investigation was performed to investigate the expression pattern of genes encoding transcription factors bZIP56, WRKY1 and NAM-B1 under Zn deficiency conditions in bread wheat.

Material and Methods: In this investigation, two Zn-efficient (Hamoon) and –inefficient (Hirmand) bread wheat cultivars were planted under Zn deficiency (0) and adequacy (5 mg Zn / kg soil) conditions and the relative expression of the above-mentioned genes was measured in root and leaf of the cultivars in Zn deficiency conditions at two growth stages: one month after germination (vegetative stage) and 30% of heading (reproductive stage) using real time PCR technique.

Results: The results reveled the highest expression of *bZIP56* (more than 77-fold) and *WRKY1* (more than 20-fold) in roots of Zn-efficient (Hamoon) cultivar at vegetative stage. Also, the expression of these genes in the leaves of Hamoon at vegetative stage was considerably increased compared to control plants. The highest expression of *NAM*-B1 (more than 54-fold) was observed in the leaves of Zn-inefficient (Hirmand) cultivar at reproductive stage. The expression of this gene in the roots and leaves of Zn-efficient (Hamoon) cultivar was also enhanced remarkably at both reproductive and vegetative stages, compared to control plants.

Conclusion: In conclusion, regarding the enhanced expression of the three studied genes at vegetative stage in the roots of Zn-efficient cultivar, they are probably involved in the activation of the transcription of the genes involved in Zn uptake in the roots under Zn deficiency conditions. Therefore, these genes could be used in the seed quality improvement and biofortification breeding programs of bread wheat for producing Zn-efficient cultivars.

Keywords: Bread wheat, Real time PCR, Transcription factors, Zn deficiency

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2025-07-16]

[DOI: 10.52547/jcb.14.42.106]