



مقاله پژوهشی

تاثیر کمبود آهن بر بیان ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی bZIP56، WRKY1 و NAM-B1 در گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

نسیم اشرف‌زاده تپه^۱ و بابک عبدالهی مندولکانی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲- استاد گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، (نویسنده مسؤول: b.abdollahi@urmia.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۹ صفحه: ۱۹۴ تا ۲۰۴

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: گندم نان (*Triticum aestivum* L.) یکی از مهم‌ترین محصولات تغذیه‌ای در سراسر جهان می‌باشد. گندم نیز مانند سایر گیاهان زراعی در طول دوره رشد با محدودیت‌های محیطی زیادی مواجه است که از جمله این محدودیت‌ها می‌توان به کمبود آهن در خاک اشاره کرد. آهن یکی از عناصر کم مصرف ضروری در گیاهان است که به‌عنوان کوفاکتور کاتالیزوری در چندین فرایند کلیدی از جمله فتوسنتز و تنفس نقش دارد.

مواد و روش‌ها: به‌منظور مطالعه الگوی بیان ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی bZIP56، WRKY1 و NAM-B1 تحت شرایط کمبود آهن در گندم نان، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه اجرا شد. ارقام پیش‌تاز (آهن-کارا) و فلات (آهن-ناکارا) گندم نان در شرایط کمبود و کفایت آهن (به‌ترتیب کمتر از ۱/۵ و پنج میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک) کشت و نمونه برداری از برگ و ریشه گیاهان در دو مرحله رویشی (یک ماه پس از جوانه‌زنی) و زایشی (۳۰ درصد سنبله‌دهی) انجام گرفت. بیان نسبی ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی مذکور تحت شرایط کمبود آهن نسبت به شرایط کفایت آن با استفاده از روش Real time PCR اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج حاصل از تحقیق، بیان نسبی ژن کدکننده عامل رونویسی WRKY1 در ریشه هر دو رقم آهن-کارا (پیش‌تاز) و آهن-ناکارا (فلات) در مرحله رویشی به میزان قابل توجهی افزایش یافت. بیشترین میزان افزایش بیان نسبی ژن‌های کدکننده عوامل رونویسی bZIP56 و NAM-B1 به ترتیب در برگ و ریشه رقم آهن-کارا پیش‌تاز در مراحل رویشی و زایشی مشاهده شد. همچنین میزان بیان ژن bZIP56 در ریشه رقم آهن-ناکارا در هر دو مرحله رشدی بطور قابل توجهی افزایش یافت.

نتیجه‌گیری: با توجه به افزایش بیان نسبی ژن WRKY1 در برگ و ریشه هر دو رقم در مرحله رویشی، احتمالاً این ژن در فعال‌سازی و القای بیان ژن‌های دخیل در جذب و انتقال آهن در اوایل مراحل رشدی گندم نان مشارکت دارد. همچنین افزایش بیان نسبی ژن bZIP56 در ریشه هر دو رقم در مرحله زایشی نشان می‌دهد احتمالاً این ژن در فعال‌سازی رونوشت برداری ژن‌های دخیل در جذب آهن از خاک در انتهای مراحل رشدی گیاه (مرحله پر شدن دانه) دخالت دارد.

واژه‌های کلیدی: عوامل رونویسی، کمبود آهن، گندم نان، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در زمان واقعی

مقدمه

غلات جایگاه ویژه‌ای در تامین امنیت غذایی جهان دارد (۱۶) بطوریکه تقریباً نیمی از نیازهای غذایی انسان از غلات تامین می‌شود (۲). در میان غلات، گندم از مهم‌ترین محصولات مورد کشت می‌باشد (۱۸). در حال حاضر، گندم در ۱۷٪ از زمین‌های زراعی جهان کشت شده و ۳۵٪ از انرژی و پروتئین مصرفی انسان را تشکیل می‌دهد (۲۵). عناصر کم مصرف از عناصر ضروری مورد نیاز گیاهان می‌باشند و در رشد و نمو گیاه، همچنین در فرایندهای مربوط به فتوسنتز مشارکت می‌کنند و در صورت کمبود، کمیت و کیفیت محصولات کشاورزی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (۹). علی‌رغم اینکه گیاهان به عناصر کم مصرف نیاز اندکی دارند ولی این عناصر نقش بسیار مهمی در تغذیه، واکنش‌های آنزیمی، فرایندهای متابولیسمی و مقاومت گیاهان در برابر بیماری‌ها و شرایط نامساعد محیطی ایفا می‌نمایند. این عناصر سبب بهبود شرایط عمومی گیاه می‌شوند و به‌عنوان کاتالیزور در واکنش‌های بیوشیمیایی شرکت می‌کنند (۲۰). آهن، روی، منگنز و مس از جمله عناصر کم مصرف ضروری مورد نیاز گیاهان هستند که کمبود هر یک از آن‌ها سبب کاهش عملکرد گیاه شده و حتی ممکن است سبب مرگ گیاه شوند (۶، ۲۴، ۴۲). در این بین آهن، نقش مهمی در تثبیت نیتروژن و فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم اکسیداز دارد. نقش آهن در ساخت کلروفیل، تولید

کربوهیدرات‌ها، احیای شیمیایی نیترات و سولفات، تنفس، تبدیل نیتروژن نیترا به اسیدهای آمینه، بسیار حائز اهمیت است (۳۴) بنابراین کمبود آهن در گیاه سبب تشدید کلروز و کاهش کلروفیل شده و همچنین از دلایل اصلی رنگ پریدگی گیاهان نیز می‌باشد (۳۰). آهن عنصری است کمیاب، که در صورت کمبود آن در بدن ممکن است عواقب نامطلوبی بر سلامت انسان مانند کم‌خونی و عدم رشد جسمی و ذهنی در کودکان داشته باشد. کمبود این عناصر در برگ و دانه سبب کاهش غلظت آن‌ها در گیاهان زراعی می‌شود که این امر هم به نوبه‌ی خود منجر به کمبود این عناصر در دام و انسان می‌گردد (۲۳، ۳۵). تنش‌های محیطی به محرک‌های بیرونی اطلاق می‌گردد که طی بروز آن‌ها، روند رشدی و تکاملی گیاهان دچار تغییر شده و شرایط طبیعی و فیزیولوژیکی گیاه تغییر می‌یابد (۵). این تنش‌ها شامل تنش‌های زیستی و غیر زیستی هستند.

تنش‌های غیر زیستی مانند تنش خشکی، تنش شوری، دمای بالا، عناصر غذایی و ... جز مهم‌ترین تنش‌های محیطی هستند که نقش مهمی در تغییر پتانسیل تولید گیاهان داشته و همچنین بر فرایندهای بیوشیمیایی، مولکولی و فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی تاثیر مستقیم دارند (۳۹). در گیاهان بدلیل عدم تحرک، روش‌های بخصوصی جهت سازش با تنش‌های محیطی تکامل یافته است (۳۷). از جمله‌ی این سازش‌ها می‌توان به دو استراتژی جذب آهن در گیاهان تک لپه‌ای و دو

گزارش شده است (۱۵). با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای در رابطه با بیان ژن‌های کد کننده سه فاکتور رونویسی WRKY، bZIP56 و NAM-B1 در گندم نان تحت شرایط کمبود آهن انجام نگرفته است. بنابراین در این تحقیق بیان نسبی ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی WRKY1، bZIP56 و NAM-B1 در برگ و ریشه ارقام آهن- کارا و آهن- ناکارا گندم نان در دو مرحله رشدی رویشی (یک ماه بعد از جوانه زنی) و زایشی (۳۰٪ گلدهی) در شرایط کمبود آهن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه اجرا شد. فاکتورها شامل ارقام آهن کارا (پیش‌تاز) و آهن ناکارا (فلات) (۳۲)، دو سطح آهن (کمبود و کفایت آهن) و دو مرحله رشدی (رویشی و زایشی) بود. ابتدا نمونه‌های مختلف خاک (ترکیبی از خاک و ماسه به نسبت ۲:۱) از نواحی دارای کمبود آهن در اطراف ارومیه تهیه گردید. پس از انجام آزمایش تجزیه خاک (جدول ۱) و اطمینان از کمبود آهن، دو محلول استوک آهن و محلول استوک شامل ترکیب سولفات پتاسیم، سولفات روی و سولفات مس تهیه گردید (جدول ۲). پس از تهیه محلول استوک‌ها، ۷/۴ سی‌سی از محلول استوک آهن و ۷ سی‌سی از محلول نمک‌ها با ۲۰۰ سی‌سی آب مخلوط و بر روی خاک بصورت یکنواخت محلول پاشی شد. محلول آهن فقط برای تیمار کفایت آهن مورد استفاده قرار گرفت. سپس ارقام در دو شرایط کمبود و کفایت آهن (به‌ترتیب کمتر از ۲ و پنج میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک) کشت شد. در ابتدا داخل گلدان‌ها به اندازه ۵ سانتی‌متر زیر بذور، کود فسفات تریپل ریخته و نهایتاً به میزان ۳/۷ کیلوگرم خاک در هر گلدان ریخته شد. جهت ضدعفونی، بذور به مدت یک دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۲/۵٪ قرار داده شد و پس از شستشو با آب معمولی، سه بار نیز با آب مقطر شسته شد. سپس بذور در عمق ۲ سانتی‌متری زیر خاک کشت گردید. جهت افزودن محلول، به نصف گلدان‌ها محلول نمکی و نصف دیگر گلدان‌ها (تیمار کفایت آهن) محلول نمکی و محلول آهن اضافه گردید. همچنین آبیاری با استفاده از آب دوبار تقطیر در طول دوره داشت، در حد ظرفیت زراعی صورت گرفت. سپس نمونه برداری از ریشه و برگ گیاهان در دو مرحله یک ماه بعد از جوانه زنی (رویشی) و ۳۰٪ سنبله دهی (زایشی) انجام گرفت و نمونه‌ها با استفاده از ازت مایع به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام مطالعات بیان ژن انتقال یافت.

لپه‌ای در شرایط کمبود آهن اشاره کرد. روند جذب آهن در این دسته از گیاهان بدین گونه است که ریشه این گیاهان در شرایط کمبود آهن، مواد کلات کننده در محیط تولید می‌کنند. این کلاتورها نیز می‌توانند Fe^{2+} و Fe^{3+} را کلات کرده و در اختیار گیاه قرار دهند. همچنین این گیاهان برای تبدیل Fe^{3+} به Fe^{2+} که قابلیت جذب بیشتری دارد، در داخل ریشه خود پروتون (احیا کننده) تولید کرده و به محیط ریشه پمپ می‌کنند (۱۵).

فاکتورهای رونویسی^۱ به پروتئین‌هایی اطلاق می‌شود که در تمامی موجودات زنده وجود دارند و به توالی‌های خاصی از DNA متصل می‌شوند. این پروتئین‌ها در تنظیم تمامی فرایندهای زیستی یک گیاه نقش قابل توجهی داشته و می‌توانند فرایند رونویسی ژن‌ها را فعال و یا خاموش نمایند (۴). اکثر این فاکتورهای رونویسی در پاسخ به تنش‌های محیطی نقش دارند. هر کدام از این عوامل رونویسی مکانیسم متفاوتی برای تنظیم بیان ژن دارند از این رو پس از اتصال عامل رونویسی به نواحی مرتبط در ژن بسته به نوع این فاکتور رونویسی، بیان ژن کم و یا زیاد می‌شود (۳۱). فاکتور رونویسی WRKY یکی از ۱۰ خانواده بزرگ ژنی در گیاهان عالی بوده و در تنظیم بیان ژن در بسیاری از فرایندهای زیستی و نیز در مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی و در جوانه‌زنی و رشد و نمو بذور نقش دارد (۱۲). فاکتور رونویسی WRKY انتقال آهن از ریشه به ساقه را تقویت می‌نماید. همچنین در تنظیم فعالیت‌های پیری برگ دخیل می‌باشد (۱۰). از جمله فاکتورهای رونویسی دیگری که در بیشتر تنش‌ها دخیل هستند و یکی از متنوع‌ترین و بزرگ‌ترین خانواده‌های ژنی در بین یوکاریوت‌ها می‌باشند bZIP^۲ هستند (۲۷). این ژن‌ها با آبسزیک اسید فعال شده و موجب بسته شدن روزنه‌ها می‌شود (۳). این خانواده ژنی در فرایندهای مختلفی همچون ازدیاد طول سلول (۱۳)، مقابله با عوامل بیماری‌زا (۱۷)، تمایز بین بافت و اندام (۱)، پاسخ به نور (۴۰)، بلوغ بذور و جنین‌زایی دخالت دارند. نقش این فاکتور رونویسی در پاسخ به تنش کمبود عناصر کم مصرف در برنج (۱۹) و گندم (۱۱) گزارش شده است. فاکتور NAC^۳ مختص گیاهان بوده و همولوگ آن در سایر یوکاریوت‌ها مشاهده نگردیده است (۳۳). این فاکتورهای رونویسی قادرند رونویسی ژن‌های مورد هدفشان را خاموش و یا فعال نمایند (۲۶). این خانواده ژنی در تنش‌های زنده و غیر زنده، در رشد و نمو گیاه، کنترل پیری (۴۰)، پیام‌رسانی (۱۴)، تقسیم سلولی، نمو جنین و بذور، تشکیل ریشه‌های جانبی، انتقال پیام اکسین و رشد فیبر نقش دارد (۳۶). نقش مستقیم فاکتورهای رونویسی خانواده WRKY و NAM-B1 (از خانواده NAC) در پاسخ به تنش کمبود عناصر کم مصرف در گیاهان آرابیدوپسیس و برنج

جدول ۱- مشخصات خاک استفاده شده در آزمایش

Table 1. Characteristics of the soil used in the study

کلسیم کربنات کوالانس CCE %	کربن ارگانیک OC %	فسفر قابل استفاده P-Olsen (mg/kg)	پتاسیم K (mg/kg)	آهن Fe (mg/kg)	هدایت الکتریکی EC (ds/m)	قدرت یونی pH	بافت Texture	شن sand %	سیلت silt %	رس Clay %
22	0.65	3.4	160	1.4	0.89	7.98	لومی-سیلتی	38	53	9

جدول ۲- ترکیب محلول غذایی مورد استفاده در آزمایش

Table 2. Composition of the nutrient solution used in the experiment

غلظت (mg/kg) Density (mg/kg)	کود Fertilizer	مقدار (mg) Measure (mg)	عنصر Element
65.22	اوره (Urea)	30	N
249	سوپرفسفات تریپل (Triple superphosphate)	50	P
223	سولفات پتاسیم (Potassium sulfate)	100	K
22.1	سولفات روی (Zinc sulfate)	5	Zn
19.6	سولفات مس (Copper sulfate)	5	Cu
182	آهن سکوسترین (Sequestrene Fe)	10	Fe

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA از برگ و ریشه گیاهان با استفاده از محلول استخراج RNX-plusTM (سیناکلون، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. کمیت و کیفیت RNA استخراجی با استفاده از نانودراپ و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد بررسی شد. برای سنتز cDNA از کیت RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis (Thermo Fisher Scientific، آمریکا) مطابق دستورالعمل پیشنهادی شرکت سازنده استفاده شد. همچنین قبل از سنتز

cDNA، تیمار DNase برای حذف آلودگی DNA ژنومی انجام گرفت.

واکنش‌های Real time PCR و طراحی آغازگر

برای بررسی بیان نسبی ژن‌های WRKY1، bZIP56 و NAM-B1 با روش Real time PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی (جدول ۳) در شرایط کمبود آهن از دستگاه Rotor gene Q-Pure Detection-Qiagen مدل ۶۰۰۰ (Qiagen، آمریکا) استفاده شد.

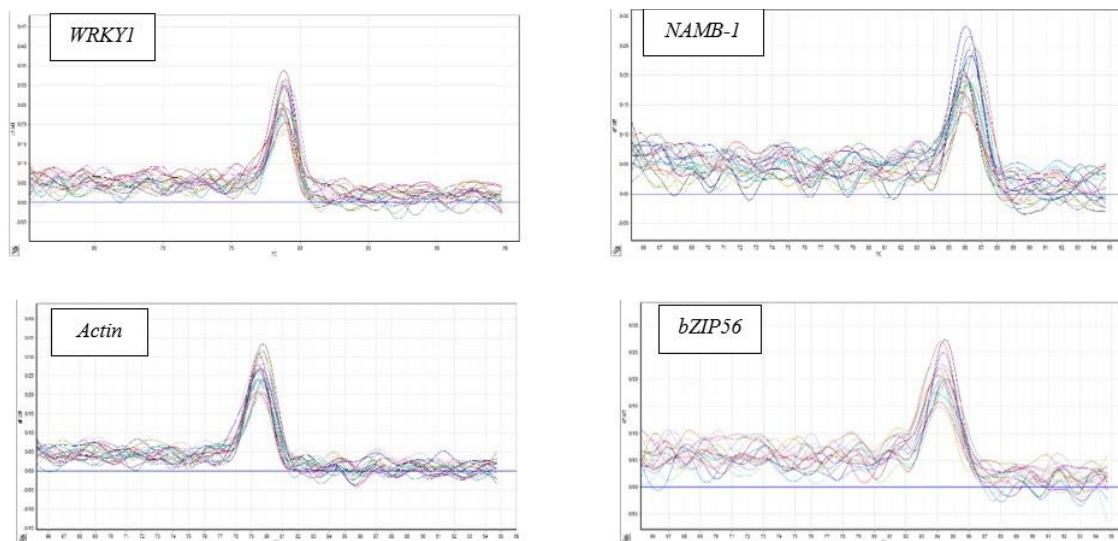
جدول ۳- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در واکنش‌های Real time PCR

Table 3. Characteristics of the primers used in real time PCR reactions

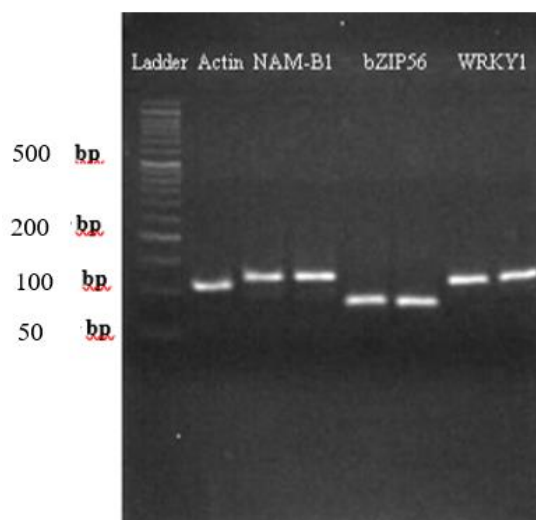
ژن Gene	شماره دسترسی Access Number	توالی، آغازگرها Primers sequence	دمای اتصال Annealing Temperature	اندازه محصول (جفت باز) Product size (Base pair)
Actin3	TC234027	رفت: gacgcacaacaggtatcggttg برگشت: agcgaggtcaagacgaaggatg	58	107
bZIP56	HQ389795.1	رفت: gctcgtcaagaagctccagagtc برگشت: ccctctgatgtcaacaagcaggc	59	82
WRKY1	EU665424.1	رفت: gagcctcgtgtgtggttcagac برگشت: gttagctcttggtttgggtttcc	60	114
NAM-B1	MF155945.1	رفت: cgatcagcagaggaacacggagtg برگشت: ggtgaagcgtagttgctgccat	60	120

واکنش Real time PCR در حجم ۱۲/۵ میکرولیتر طبق دستورالعمل کیت SYBER Green/Flourescence qPCR Master Mix (2x) (Thermo Fisher Scientific، آمریکا) انجام شد. دوره‌های زمانی جهت تکثیر ژن‌های مورد نظر، با توجه به توالی آغازگر و اندازه محصول حاصل از تکثیر تعیین شد. بدین صورت که دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در یک چرخه جهت فعال‌سازی ابتدایی آنزیم استفاده شد. سپس ۴۰ چرخه شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به

مدت ۱۵ ثانیه جهت واسرشت سازی، ۳۰ ثانیه در دمای اتصال مربوط به هر آغازگر (جدول ۳) جهت اتصال آغازگر به رشته الگو و ۴۰ ثانیه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد جهت تکثیر محصول انجام گردید. همچنین صحت تکثیر ژن‌های مورد نظر با استفاده منحنی ذوب مربوط به هر ژن (شکل ۱) و آنالیز ژل (شکل ۲) مورد بررسی قرار گرفت. از ژن اکتین به‌عنوان ژن مرجع استفاده شد (۳۸).



شکل ۱- منحنی ذوب ژن‌های WRKY1، NAM-B1، Actin و bZIP56 گندم نان
Figure 1. Melting curve of WRKY1, NAM-B1, Actin and bZIP56 genes in bread wheat



شکل ۲- باندهای حاصل از تکثیر cDNA با آغازگرهای ژن‌های WRKY1، bZIP56، NAM-B1 و ژن Actin
Figure 2. cDNA amplifications using primers WRKY1, bZIP56, NAM-b1 and Actin3 genes

19 استفاده شد. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها به روش SNK (Student Newman Keuls) با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس (جدول ۳) داده‌های حاصل از بیان نسبی ژن‌های *WRKY1*، *bZIP56* و *NAM-B1* در دو رقم پشیزاز و فلات در شرایط کمبود آهن نشان می‌دهد که اثرات متقابل سه جانبه رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. بنابراین مقایسه میانگین براساس آزمون SNK برای اثرات متقابل سه جانبه انجام گرفت.

جهت بدست آوردن کمیت نسبی از نرم‌افزار Rotor-Gene Q استفاده شد. بدین صورت که از طریق اندازه‌گیری میزان تشعشع فلوئورسنس ساطع شده در نتیجه اتصال رنگ به رشته DNA، کمیت نسبی بدست آمد و پس از به پایان رسیدن واکنش، میزان Threshold به‌گونه‌ای درنظر گرفته شد تا سیگنال‌های حاصل از تشعشع فلوئورسنت را در فاز نمایی قطع نماید و بدین ترتیب CT استخراج شد. سپس از طریق روش $\Delta\Delta Ct$ (۲۱) میزان بیان ژن‌ها بصورت نسبی در شرایط کمبود آهن نسبت به کفایت آن محاسبه گردید. همچنین جهت بررسی نرمال بودن توزیع داده‌های حاصل و خطاهای آزمایشی از روش کلموگراف-اسمیرنوف در نرم‌افزار Minitab

تأثیر کمبود آهن بر بیان ژن‌های کدکننده فاکتورهای رونویسی *WRKY1*, *bZIP56* و *NAM-B1* در گندم نان ۱۹۸

جدول ۴- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از بیان نسبی ژن‌های *WRKY1*, *bZIP56* و *NAM-B1* در ریشه و برگ ارقام پیشتاز (آهن-کارا) و فلات (آهن-ناکارا) گندم نان در مراحل رویشی و زایشی در شرایط کمبود آهن

Table 4. Analysis of variance for relative expression of *bZIP56*, *WRKY1* and *NAM-B1* genes in root and leaf of Pishtaz (Fe-efficient) and Falat (Fe-inefficient) bread wheat cultivars at vegetative and reproductive stages under Fe deficiency conditions

میانگین مربعات Mean squared			منابع تغییرات Source of variation	
<i>WRKY1</i>	<i>bZIP56</i>	<i>NAM-B1</i>	درجه آزادی Degree of freedom	
3.258 *	0.015 ^{ns}	24.950**	1	رقم Cultivar
0.950 ^{ns}	3.487**	3.920*	1	بافت Tissue
32.947**	0.718 ^{ns}	0.220 ^{ns}	1	مرحله Stage
9.302**	8.337**	1.729 ^{ns}	1	رقم × بافت Cultivar × Tissue
1.030 ^{ns}	0.008 ^{ns}	12.006**	1	رقم × مرحله Cultivar × Stage
2.480*	8.985**	8.008*	1	بافت × مرحله Tissue × Stage
8.820**	4.050**	37.761**	1	رقم × بافت × مرحله Cultivar × Tissue × Stage
0.399	0.136	0.725	16	خطا Error
24.922	21.456	33.244		ضریب تغییرات (%) Coefficient of Variation

* و **: به ترتیب معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می‌باشد.

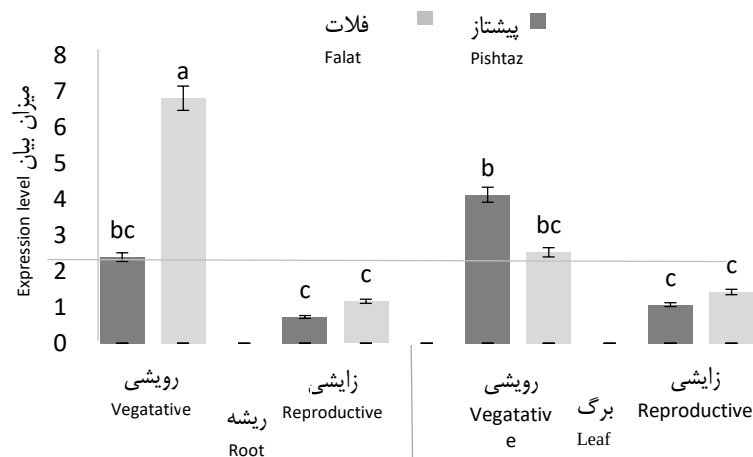
* and **: Significant at 5% and 1% probability level, respectively

فعالسازی رونویسی ژن‌های دخیل در جذب و همچنین انتقال عناصر مذکور دارند (۱۲). ریچمن و همکاران (۳۳) از طریق تجزیه و تحلیل جهش ژن‌های دخیل در جذب و انتقال آهن در آراییدوپسیس گزارش کردند که فاکتور رونویسی *WRKY46* انتقال آهن از ریشه به ساقه را تقویت می‌کند. همچنین یان و همکاران (۴۴) نشان دادند که بیان عامل رونویسی *WRKY46* در شرایط کمبود آهن در ریشه آراییدوپسیس افزایش یافته و انتقال آهن از ریشه به ساقه را کنترل نموده و بر میزان رونوشت ژن *VITL1* تأثیر مستقیم دارد. بواين و همکاران (۷) نیز گزارش کردند که بیان فاکتورهای رونویسی *WRKY46* و *WRKY28* در شرایط تیمارهای کمبود روی و آهن در ریشه و برگ آراییدوپسیس افزایش می‌یابد.

بیان نسبی ژن *WRKY1*

بر اساس نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه جانبه رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری تحت شرایط کمبود آهن، بیشترین افزایش بیان نسبی ژن کدکننده عامل رونویسی *WRKY1* (۶/۸۲ برابر کنترل) در ریشه رقم فلات در مرحله رویشی مشاهده شد. البته میزان بیان این ژن در ریشه رقم پیشتاز نیز در مرحله رویشی به میزان قابل توجهی (۲/۴ برابر کنترل) افزایش یافت اما میزان بیان در رقم فلات حدود ۳ برابر رقم پیشتاز بود. همچنین اختلاف معنی‌داری به لحاظ میزان بیان این ژن در مرحله رویشی در برگ، بین دو رقم کارا و ناکارا مشاهده نشد (شکل ۳).

تحقیقات مختلف در برخی غلات و آراییدوپسیس نشان داده که در شرایط کمبود عناصر کم مصرف مانند آهن و روی در گیاهان، فاکتورهای رونویسی *WRKY* نقش مهمی در



شکل ۳- مقایسه میانگین (براساس آزمون SNK) اثر متقابل بافت × رقم × مرحله‌ی نمونه‌برداری بر بیان نسبی ژن کدکننده فاکتور رونویسی WRKY1 در ریشه و برگ ارقام آهن کارا (پیش‌تاز) و آهن ناکارا (فلات) گندم نان در مراحل رویشی و زایشی در شرایط کمبود آهن (ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی دار ندارند)

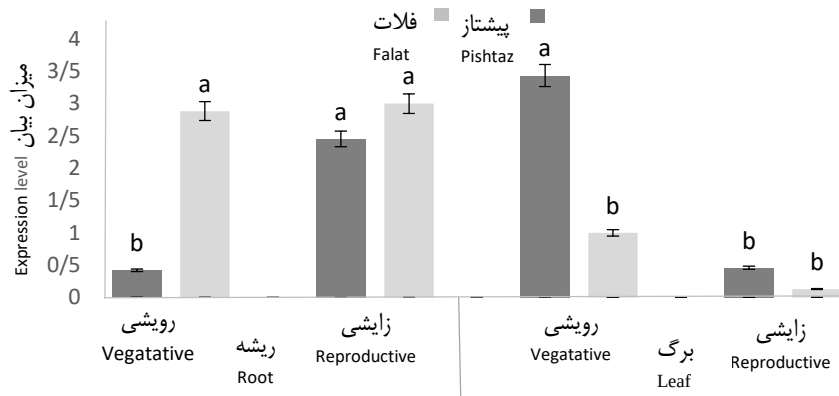
Figure 3. Mean comparison (based on SNK test) for cultivar × tissue × sampling stage interaction on the relative expression of gene WRKY1 in Fe-efficient (Pishtaz) and -inefficient (Falat) bread wheat cultivars under Fe deficiency conditions (Columns with common letters do not have significant differences)

دو رقم نشان می‌دهد احتمالاً این ژن در فعال‌سازی رونویسی برداری ژن‌های دخیل در جذب آهن از خاک در ریشه در انتهای مراحل رشدی گیاه (در مرحله پر شدن دانه) دخالت دارد. البته بیان این ژن در ریشه رقم فلات در مرحله رویشی افزایش ولی در رقم پیش‌تاز کاهش یافت، بنابراین احتمالاً رقم آهن-کارا پیش‌تاز در مرحله رویشی در ریشه از فاکتورهای رونویسی دیگری از خانواده bZIP و یا خانواده‌های دیگر برای افزایش رونویسی ژن‌های دخیل در جذب آهن استفاده می‌کند. نقش فاکتورهای رونویسی خانواده bZIP در پاسخ به تنش کمبود عناصر کم مصرف مانند آهن و روی در برنج گزارش شده است (۱۹). تحقیقات لویز و همکاران (۲۲) در قارچ *Verticillium dahliae* نشان داد که فاکتورهای رونویسی bZIP و VdHapX به‌عنوان تنظیم‌کننده هموستازی آهن برای سازگاری با شرایط کمبود آهن و کفایت آهن عمل می‌کند. تیموری راد و عبدالمهدی مندولکانی (۳۸) نیز گزارش دادند که بیشترین میزان افزایش بیان ژن bZIP4 در شرایط کمبود روی، در مرحله زایشی در برگ رقم روی-کارا مشاهده می‌شود. در این مطالعه بیشترین میزان بیان نسبی ژن bZIP56 در ریشه رقم هامون در مرحله زایشی مشاهده شد.

بیان نسبی ژن bZIP56

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه جانبه رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری در شرایط کمبود آهن نشان داد که بیشترین میزان افزایش بیان نسبی ژن کدکننده عامل رونویسی bZIP56 در برگ رقم آهن-کارا پیش‌تاز (۳/۵ برابر بیان این ژن در رقم فلات) در مرحله رویشی مشاهده شد. همچنین در ریشه رقم آهن-ناکارا فلات در مرحله رویشی و در مرحله زایشی در ریشه هر دو رقم بیان این ژن بطور قابل توجهی افزایش یافت ولی اختلاف معنی‌داری بین این دو رقم در این مرحله به لحاظ میزان بیان این ژن مشاهده نگردید. در مرحله زایشی در برگ هر دو رقم بیان این ژن کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری بین این دو رقم در این مرحله به لحاظ میزان بیان این ژن مشاهده نشد (شکل ۴).

افزایش بیان ژن کدکننده این فاکتور رونویسی در برگ رقم پیش‌تاز گندم نان در مرحله رویشی تحت شرایط کمبود آهن خاک، احتمالاً نشانگر دخالت این فاکتور رونویسی در فعال‌سازی رونویسی ژن‌های دخیل در انتقال آهن از برگ به دانه و سایر بافت‌های مصرف‌کننده آهن در شرایط کمبود آهن می‌باشد. همچنین افزایش بیان این ژن در ریشه هر دو رقم در مرحله زایشی و کاهش همزمان بیان آن در برگ هر



شکل ۴- مقایسه میانگین (براساس آزمون SNK) اثر متقابل بافت × رقم × مرحله‌ی نمونه‌برداری بر بیان نسبی ژن کدکننده فاکتور رونویسی bZIP56 در ارقام آهن کارا (پیش‌تاز) و آهن ناکارا (فلات) گندم نان در مراحل رویشی و زایشی در شرایط کمبود آهن (ستون‌های دارای حروف مشترک اختلاف معنی دار ندارند)

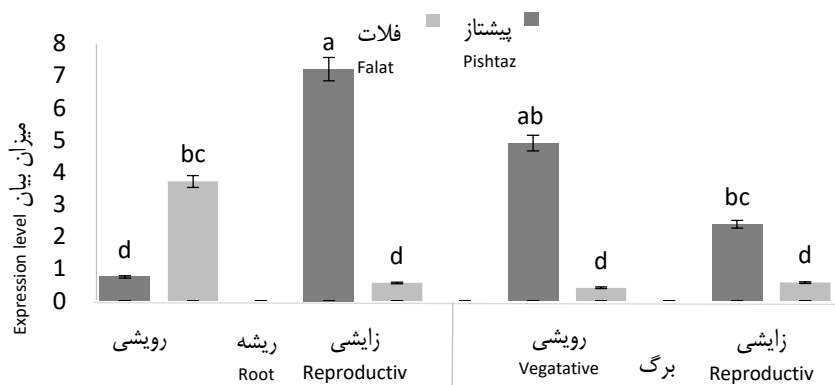
Figure 4. Mean comparison (based on SNK test) for cultivar × tissue × sampling stage interaction on the relative expression of gene bZIP56 in Fe-efficient (Pishtaz) and -inefficient (Falat) bread wheat cultivars under Fe deficiency conditions (Columns with common letters do not have significant differences)

همچنین افزایش قابل توجه بیان این ژن در مرحله زایشی (در اواخر دوره رشدی گیاه) در برگ و ریشه رقم آهن-کارا پیش‌تاز در شرایط کمبود آهن نشان می‌دهد که بیان این ژن با افزایش سن گیاه افزایش می‌یابد. این مورد احتمالاً به دلیل نقش بسزای فاکتورهای رونویسی NAC در فرایند پیری گیاه می‌باشد (شکل ۵).

نقش مستقیم فاکتورهای رونویسی خانواده WRKY و NAM-B1 در پاسخ به تنش کمبود عناصر کم مصرف در گیاهان آرابیدوپسیس و برنج گزارش شده است. نتایج تحقیق حاضر نیز بیانگر نقش و فعالیت ژن کدکننده عامل رونویسی NAM-B1 در رقم آهن-کارا تحت شرایط تنش آهن می‌باشد. واترز و همکاران (۴۳) گزارش کردند که افزایش بیان فاکتورهای رونویسی NAM-B1 تأثیر بسزایی در تنظیم پیری و افزایش پروتئین، آهن و روی دانه گندم دارند. همچنین پاروین و همکاران (۲۸) نشان دادند که در صورت بروز کمبود آهن و نیتروژن در گندم‌های نان و دوروم بیان ژن NAM-B1 افزایش می‌یابد. چن و همکاران (۸) نیز گزارش کردند که در صورت افزایش بیان ژن‌های فاکتورهای رونویسی NAM-B1 در گندم، مقدار عناصر کم مصرفی مانند آهن در دانه افزایش می‌یابد. تیموری‌راد و عبدالمی مندولکائی (۳۸) گزارش کردند که بیان نسبی ژن کدکننده فاکتور رونویسی NAM-B1 در ریشه و برگ رقم روی-کارا گندم نان به ترتیب در مرحله زایشی و رویشی در شرایط کمبود روی افزایش می‌یابد.

بیان نسبی ژن NAM-B1

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سه جانبه رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری در شرایط کمبود آهن نشان داد که بیشترین میزان افزایش بیان نسبی ژن کدکننده عامل رونویسی NAM-B1 مربوط به ریشه رقم پیش‌تاز در مرحله زایشی می‌باشد (میزان بیان در رقم پیش‌تاز حدود ۱۳ برابر رقم فلان بود) که احتمالاً نشانگر دخالت این فاکتور رونویسی در افزایش میزان بیان ژن‌هایی است که وظیفه جذب آهن از خاک و انتقال آن به اندام‌های هوایی را دارند. همچنین میزان بیان این ژن در برگ رقم پیش‌تاز در مرحله رویشی و زایشی نیز بطور قابل توجهی افزایش یافت اما در رقم فلان کاهش یافت. افزایش میزان بیان این ژن در برگ رقم آهن-کارا گندم نان تحت شرایط تنش آهن خاک، احتمالاً نشانگر دخالت این فاکتور رونویسی در فعال‌سازی رونویسی ژن‌های دخیل در انتقال آهن از برگ به سایر بافت‌های مصرف کننده آهن می‌باشد. در ریشه رقم آهن-ناکارا فلان در مرحله رویشی نیز میزان بیان این ژن بطور قابل توجهی افزایش یافت که بیان کمتر آن در رقم آهن-کارا احتمالاً نشان‌دهنده این امر باشد که این رقم از فاکتورهای رونویسی NAM-B1 دیگری که در فعال‌سازی ژن‌های دخیل در جذب آهن نقش دارند، برای افزایش بیان این ژن‌ها استفاده می‌کند. بنابراین به نظر می‌رسد این فاکتور رونویسی دارای نقش‌های متنوع و متفاوتی در رابطه با فعال‌سازی رونویسی ژن‌های دخیل در جذب و انتقال آهن در ارقام با آهن-کارایی مختلف می‌باشد.



شکل ۵- مقایسه میانگین (براساس آزمون SNK) اثر متقابل بافت × رقم × مرحله‌ی نمونه‌برداری بر بیان نسبی ژن کدکننده فاکتور رونویسی NAM-B1 در ارقام آهن کارا (پیش‌تاز) و آهن ناکارا (فلات) گندم نان در مراحل رویشی و زایشی در شرایط کمبود آهن (ستونهای دارای حروف مشترک اختلاف معنی دار ندارند)

Figure 5. Mean comparison (based on SNK test) for cultivar × tissue × sampling stage interaction on the relative expression of NAM-B1 in Fe-efficient (Pishtaz) and -inefficient (Falat) bread wheat cultivars under Fe deficiency conditions (Columns with common letters do not have significant differences)

در ریشه رقم فلات در مرحله رویشی، نیز میزان بیان این ژن بطور قابل توجهی افزایش نشان داد. در ادامه تحقیق پیشنهاد می‌شود میزان بیان سایر فاکتورهای رونویسی این سه خانواده در شرایط کمبود آهن و سایر عناصر کم مصرف و همچنین همبستگی آن‌ها با میزان آهن دانه در مراحل مختلف رشدی در گندم نان تحت شرایط کمبود آهن مطالعه شود.

تشکر و قدردانی

از گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، بدلیل فراهم نمودن هزینه و امکانات لازم برای انجام تحقیق حاضر نهایت تشکر و قدردانی می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج حاصل از این تحقیق، بیشترین افزایش بیان نسبی ژن کدکننده عامل رونویسی WRKY1 مربوط به ریشه رقم فلات در مرحله رویشی بود. همچنین بیشترین میزان افزایش بیان نسبی ژن کدکننده عامل رونویسی ZIP56 در برگ رقم پیش‌تاز در مرحله رویشی مشاهده شد. البته در ریشه رقم فلات در مرحله رویشی و در مرحله زایشی در ریشه هر دو رقم نیز بیان این ژن بطور قابل توجهی افزایش یافت. بیشترین افزایش بیان نسبی ژن کدکننده عامل رونویسی NAM-B1 در ریشه رقم پیش‌تاز در مرحله زایشی مشاهده شد. همچنین میزان بیان این ژن در برگ رقم پیش‌تاز در مرحله رویشی و زایشی نیز بطور قابل توجهی افزایش یافت.

منابع

1. Abe, M., Y. Kobayashi, S. Yamamoto, Y. Daimon, A. Yamaguchi, Y. Ikeda and T. Araki. 2005. FD, a bZIP protein mediating signals from the floral pathway integrator FT at the shoot apex. *Science*, 309(5737): 1052-1056.
2. Academic Center for Education, Culture and Research. 2018. *Agricultural Statistics*.
3. Alves, M.S., S.P. Dadalto, A.B. Gonçalves, G.B. De Souza, V.A. Barros and L.G. Fietto. 2013. Plant bZIP transcription factors responsive to pathogens: a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(4): 7815-7828.
4. Arab, K., R. Ravash and B. Shiran. 2020. Evaluation of MYB93 and MAD8 genes in transgenic and non-transgenic rice. *Plant Genetic Researches*, 6(2): 33-42.
5. Ayini, M., G. Khodakaramian, H. Mirzayi and A. Esmailzadeh. 2014. Biological and abiotic stresses in plants. *National Conference on Climate Change and Sustainable Development Engineering of Agriculture and Natural Resources*, COI: CCASD-027
6. Blasco, B., E. Navarro-León and J.M. Ruiz. 2018. Oxidative stress in relation with micronutrient deficiency or toxicity. In *Plant Micronutrient Use Efficiency* (pp. 181-194). Academic Press.
7. 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.
8. Chen, X.Y., G.Q. Song, S.J. Zhang, Y.L. LI, G.A.O. Jie, I. Shahidul and W.Q. Ji. 2017. The allelic distribution and variation analysis of the NAM-B1 gene in Chinese wheat cultivars. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(6): 1294-1303.
9. 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. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(4): 1027-1034.

10. Du, L. and Z. Chen. 2000. Identification of genes encoding receptor-like protein kinases as possible targets of pathogen-and salicylic acid-induced WRKY DNA-binding proteins in Arabidopsis. *The Plant Journal*, 24(6): 837-847.
11. Ekhtiari, M. and B. Abdollahi Mandoulakani. 2020. The effect of zinc deficiency stress on the expression pattern of genes encoding transcription factors bZIP4, bZIP79 and bZIP97 in bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.). *Iranian Journal of Crop Sciences*, 21(4): 344-353 (In Persian).
12. Eulgem, T. and I.E. Somssich. 2007. Networks of WRKY transcription factors in defense signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 10(4): 366-371.
13. Fukazawakavitha, P., S. Kuruvilla and M. Mathew. 2015. Functional characterization of a transition metal ion transporter, OsZIP6 from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 97: 165-174.
14. Hernandez, Y. and N. Sanan-Mishra. 2017. miRNA mediated regulation of NAC transcription factors in plant development and environment stress response. *Plant Gene*, 11: 190-198.
15. Ivanov, R., T. Brumbarova and P. Bauer. 2012. Fitting into the harsh reality: regulation of iron-deficiency responses in dicotyledonous plants. *Molecular Plant*, 5(1): 27-42.
16. Kalhor, S. 2016. Investigating the short-term and long-term relationship between CO₂ emissions and food security in Iran. Master's thesis, Faculty of Agriculture. Urmia University.
17. Kaminaka, H., C. Näke, P. Eppe, J. Dittgen, K. Schütze, C. Chaban and J. Dangl. 2006. bZIP10-LSD1 antagonism modulates basal defense and cell death in Arabidopsis following infection. *The EMBO Journal*, 25(18): 4400-4411.
18. Kasirajan, L., K. Boomiraj and K. 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).
19. Kavitha, P., S. Kuruvilla and M. Mathew. 2015. Functional characterization of a transition metal ion transporter, OsZIP6 from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, 97: 165-174.
20. Khalili Mahalleh, J. and M. Roshdi. 2008. Effect of foliar application of micro nutrients on quantitative and qualitative characteristics of 704 silage corn in Khoy. *Seed and Plant Improvement Journal*, 24(2): 281- 293.
21. 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
22. López-Berges, M.S., M.T. Scheven, P. Hortschansky, M. Misslinger, C. Baldin, F. Gsaller and H. Haas. 2021. The bZIP transcription factor HapX Is post-translationally regulated to control iron homeostasis in *Aspergillus fumigatus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(14): 7739.
23. Malakouti, M.J. 2007. Zinc is a neglected element in the life cycle of plants. *Middle Eastern and Russian Journal of Plant Science and Biotechnology*, 1(1): 1-12.
24. Menkir, A. 2008. Genetic variation for grain mineral content in tropical-adapted maize inbred lines. *Food Chemistry*, 110(2): 454-464.
25. Mirzamasoumzadeh, B. and V. Mollasadeghi. 2013. Effects of osmotic stress on chlorophyll and proline in different wheat Cultivars. *UCT Journal of Research in Science Engineering and Technology*, 1(1): 12-13.
26. Nakashima, K., H. Takasaki, J. Mizoi, K. Shinozaki and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2012. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1819(2): 97-103.
27. Nijhawan, A., M. Jain, A.K. Tyagi and J.P. Khurana. 2008. Genomic survey and gene expression analysis of the basic leucine zipper transcription factor family in rice. *Plant Physiology*, 146(2): 333-350.
28. 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): 1-12.
29. Patil, B., R.M. Hosamani, P. Ajappalavara, B. Naik, R. Smitha and K. Ukkund. 2008. Effect of foliar application of micronutrients on growth and yield components of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 21(3): 428-430.
30. Pinto, A.P., A.D. Mota, A. De Varennes and F. Pinto. 2004. Influence of organic matter on the uptake of cadmium, zinc, copper and iron by sorghum plants. *Science of the Total Environment*, 326(1-3): 239-247.
31. Rahaie, M., M. Gomarian, H. Alizadeh, M.A. Malboobi and M.R. Naghavi. 2011. The expression analysis of transcription factors under long term salt stress in tolerant and susceptible wheat genotypes using reverse northern blot technique. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 13(3): 580-595 (In Persian).
32. Rahemi, S., R. Khorassani and A. Halajnia. 2014. Uptake efficiency of Iron in different wheat varieties. *Journal of Water and Soil*, 28 (3): 556-564.
33. Riechmann, J.L., J. Heard, G. Martin, L. Reuber, C.Z. Jiang, J. Keddie and G. Yu. 2000. Arabidopsis transcription factors: genome-wide comparative analysis among eukaryotes. *Science*, 290(5499): 2105-2110.

34. Ruiz, J., M. Baghour and L. Romero. 2000. Efficiency of the different genotypes of tomato in relation to foliar content of Fe and the response of some bioindicators. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 1777-1786.
35. Sadeghzadeh, B. 2013. A review of zinc nutrition and plant breeding. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(4): 905-927.
36. Shen, H., Y. Yin, F. Chen, Y. Xu and R. Dixon. 2009. A bioinformatic analysis of NAC genes for plant cell wall development in relation to lignocellulosic bioenergy production. *Bioenergy Research*. 2(4): 217-232.
37. Sreenivasulua, N., S. Sopory and P. B. KaviKishor. 2007. Deciphering the regulatory mechanisms of abiotic stress tolerance in plants by genomic approaches, *Gene* 388: 1-13.
38. TeymouriRad, L. and B. Abdollahi. 2022. Expression pattern of genes encoding bZIP56, WRKY1 and NAM-B1 transcription factors under Zn deficiency conditions in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Crop Breeding* (accepted) (In Persian).
39. Tuteja, N. and S.S. Gill. 2013. *Crop improvement under adverse conditions*. Springer: 4614-4633.
40. 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.
41. Ulm, R., A. Baumann, A. Oravecz, Z. Mate and E. Adam. 2004. Genome-wide analysis of gene expression reveals function of the bZIP transcription factor HY5 in the UV-B response of Arabidopsis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 1397-1402.
42. Wehbi E. and B. Abdollahi Mandoulakani. 2020. Expression Pattern of NAS1, NAS2 and NAS3 Genes under Zn Deficiency Conditions in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Crop Breeding*, 12(36): 171-179 (In Persian).
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. 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.

The Effect of Iron Deficiency on the Relative Expression of Genes Encoding Transcription Factors bZIP56, WRKY1 and NAM-B1 in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.)

Nasim Ashrafzadeh¹ and Babak Abdollahi Mandoulakani²

1- M.Sc. Student of plant biotechnology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University

2- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University,
(Corresponding author: b.abdollahi@urmia.ac.ir)

Received: 23 May, 2022 Accepted: 31 August, 2022

Extended Abstract

Introduction and Objective: Bread wheat is one of the most important nutritional products throughout the world. Wheat, like other crops, faces many environmental constraints during the growing season, such as iron deficiency in the soil. Iron is one of the essential micronutrients in plants that act as a catalytic cofactor in several key processes including photosynthesis and respiration.

Material and Methods: to investigate the expression pattern of genes encoding transcription factors WRKY1, bZIP56 and NAM-B1 under soil Fe deficiency, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design (CRD) with three replications. Pishtaz (Fe-efficient) and Falat (Fe-inefficient) bread wheat cultivars were planted under Fe deficiency (less than 1.5) and adequacy (5 mg Fe / kg soil) conditions and the relative expression of genes was measured in roots and leaves of the plants at vegetative (one month after germination) and reproductive (30% of heading) stages using real time PCR technique.

Results: the results revealed the considerable enhanced expression of WRKY1 in the roots of Fe-efficient (Pishtaz) and -inefficient (Falat) cultivars at vegetative stage. The highest increased expression of bZIP56 and NAM-B1 genes was observed in the leaves and roots of Fe-efficient cultivar (Pishtaz) at vegetative and reproductive stage, respectively. The bZIP56 expression was also considerably enhanced in the leaves of Fe-inefficient cultivar in both stages.

Conclusion: Due to the increased relative expression of WRKY1 gene in leaves and roots of both cultivars at vegetative stage, this gene is likely involved in activating and inducing the expression of genes participating in iron uptake and transport in the early stages of plant growth. Also, the increased relative expression of bZIP56 gene in the roots of both cultivars in the reproductive stage indicates that this gene might be participated in activating the transcription of genes involved in iron absorption from the soil at the end of plant growth stages.

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