Sari Agriculture Sciences and Natural Resources University

Journal of Crop Breeding Vol. 16, Issue 3, 2024 p: 52-63

OPEN ACCESS

Research Paper

The Effect of Iron Deficiency Stress on the Relative Expression of *ZIP3*, *ZIP6,* and *ZIP7* Genes in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars

Saeed Rezaei Musa Dargh[1], Babak Abdollahi Mandoulakani[2] and Raheleh Ghasemzadeh[3]

1- MSc student of Agricultural Biotechnology, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2- Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, (Corresponding author: b.abdollahi@urmia.ac.ir)
3- Assistant Professor, Department of Plant Production and Genetics, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

Received: 25 November, 2023 Accepted: 10 March, 2024

Extended abstract

Background: Bread Wheat is the most extensively cultivated wheat and one of the four major crops in the world that constitutes the principal food of more than 30% of the world population. Biotic and abiotic environmental stressors are major factors limiting plant growth and productivity, which play a significant role in determining the yield and production potential of plants by affecting morphological, physiological, biochemical, and molecular processes. Among the abiotic stresses, the deficiency of micronutrients in the soil is important. Micronutrients regulate food metabolism in humans, and their deficiency endangers human health. Iron and zinc are essential micronutrients for human health and cofactors of many vital enzymes involved in many human metabolic processes. In plants, iron is the most required element among all micronutrients. It is a part of the catalytic group of many oxidation and reduction enzymes and is required for chlorophyll synthesis. To facilitate the adequate uptake and prevent excessive absorption of iron, plants have developed a balanced network to regulate the uptake, use, and storage of ions. In fact, such adjustment processes depend on genes that regulate ion homeostasis in plants. Due to the existence of a large allohexaploid genome and technical challenges in wheat transformation, few genes involved in iron and zinc uptake, transfer, and storage have been characterized functionally. Considering the important role of ZIP proteins in iron uptake efficiency, investigating the expression of the *ZIP* genes in Fe-efficient and -inefficient bread wheat cultivars can be effective in improving Fe-efficient cultivars in this valuable crop. Therefore, this research aimed to evaluate the expression of *ZIP3*, *ZIP6*, and *ZIP7* genes in the leaves and roots of two Fe-efficient and -inefficient bread wheat cultivars at different growth stages under iron deficiency stress.

Methods: This research was carried out in a completely randomized design (CRD) based on a factorial experiment with three replications in the research greenhouse of the Faculty of Agriculture, Urmia University. The first factor was two Fe-efficient (Pishtaz) and -inefficient (Flat) bread wheat cultivars, the second factor was two soil iron levels (iron deficiency and sufficiency, respectively, 1.4 and 10 mg/kg of soil), and the third factor was two sampling stages (vegetative and reproductive, respectively, one month after planting and 30% heading). To evaluate the expression of genes, the roots and leaves of the plants were sampled at each growth stage. The seeds were obtained from the Iranian Seed and Plant Improvement Institute, disinfected with 1% hydrogen peroxide, and planted at a depth of 4 cm in the soil. The plants were irrigated using distilled water to the extent of field capacity during the growing period.

Results: The results of variance analysis of the relative expression of all three studied genes showed that the interaction effect of cultivar × organ × sampling stage was significant at the probability level of 1%. The comparison of the means for the cultivar × organ × sampling stage interaction effect revealed the highest ZIP3 expression in the roots of the Fe-efficient cultivar (Pishtaz) in the vegetative and reproductive stages. The relative expression of this gene was higher in the roots of the Fe-inefficient cultivar (Falat) than that of the Fe-efficient cultivar (Pishtaz). However, the Fe-inefficient cultivar (Falat) showed the highest relative expression increase in the leaf in both reproductive and vegetative stages, but the difference in the gene

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]

Copyright ©2024 Rezaei Musa Dargh et al. Published by Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License which allows users to read, copy, distribute and make derivative works for non-commercial purposes from the material, as long as the author of the original work is cited properly.

expression level in the leaf between the two growth stages was not statistically significant. The lowest gene expression level in the leaf belonged to the Pishtaz cultivar. The comparison of the means of cultivar × organ × sampling stage for the *ZIP6* gene indicated an increase in the relative expression of this gene in the roots of the Fe-efficient (Pishtaz) and -inefficient (Falat) varieties in the vegetative and reproductive stages, respectively. The comparison of the means of cultivar × organ × sampling stage for the *ZIP7* gene indicated the highest relative expression of this gene in the roots of the Fe-efficient cultivar (Pishtaz) at the vegetative stage. The relative expression level of this gene in the root of the Fe-efficient variety in the vegetative stage was significantly higher than that in the reproductive stage. In both vegetative and reproductive stages in the leaf, the increase in gene expression was higher in the Fe-inefficient cultivar.
Conclusion: The increased *ZIP3* expression in iron deficiency conditions in the roots of the Fe-efficient cultivar at the vegetative stage demonstrates the possible role of this gene in Fe uptake from the soil and its transfer to the aerial parts of the plant in the early growth phase. The *ZIP6* gene `was expressed in both roots and leaves throughout the entire growth period of the plant. However, the expression level of this gene increased with the age of the plant. Therefore, the *ZIP6* gene is probably responsible for Fe uptake and transport to different organs throughout the entire growth period of the plant and plays an important role in preserving iron in iron deficiency conditions. The *ZIP7* gene is expressed in both leaves and roots in iron deficiency conditions, but the level of expression is higher in the roots of the Fe-efficient variety during the vegetative stage. This gene may be involved in iron uptake from the soil and its transfer to aerial organs.

Keywords: Bread wheat, Iron deficiency, Micronutrients, Real-time PCR

How to Cite This Article: Rezaei Musa Dargh, S., Abdollahi Mandoulakani, B., & Ghasemzadeh, R. (2024). The Effect of Iron Deficiency Stress on the Relative Expression of *ZIP3, ZIP6*, and *ZIP7* Genes in Bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars. *J Crop Breed,* 16(3), 52-63. DOI: 10.61186/jcb.16.3.52

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

مقاله پژوهشی

تاثیر تنش کمبود آهن بر بیان نسبی ژن‌های *ZIP3* ، *ZIP6* و *ZIP7* در گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

سعید رضائی موسی‌درق[۱]، بابک عبدالهی مندولکانی[۲] و راحله قاسم‌زاده[۳]

۱- دانش‌آموخته رشته بیوتکنولوژی کشاورزی، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۲- استاد، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، (نویسنده مسوول: b.abdollahi@urmia.ac.ir)
۳- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰
صفحه: ۵۲ تا ۶۳

چکیده مبسوط

مقدمه و هدف: گندم نان (*Triticum aestivum* L.) گسترده‌ترین گونه‌ی گندم و یکی از چهار محصول عمده در جهان است که غذای اصلی بیش از ۳۰ درصد مردم جهان را تشکیل می‌دهد. تنش‌های غیرزیستی مهم‌ترین عوامل محیطی محدودکننده تولید محصول و کاهش عملکرد می‌باشند که با تأثیر روی فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی نقش قابل‌توجهی در تعیین پتانسیل عملکرد و تولید گیاهان دارند. از تنش‌های غیرزیستی می‌توان به کمبود عناصر کم‌مصرف در خاک اشاره کرد. عناصر کم‌مصرف متابولیسم موادغذایی در بدن انسان را تنظیم می‌کنند و کمبودشان سلامت انسان را به‌خطر می‌اندازد. آهن و روی از جمله عناصر کم مصرف ضروری برای سلامت انسان هستند و به‌عنوان عوامل کمکی بسیاری از آنزیم‌های حیاتی، در بسیاری از فرآیندهای متابولیک انسان نقش دارند. در گیاهان نیز عنصر آهن بیشترین عنصر موردنیاز در بین تمام عناصر کم‌مصرف می‌باشد. آهن بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیا بوده و برای سنتز کلروفیل موردنیاز می‌باشد. برای تسهیل در جذب کافی آهن و برای جلوگیری از جذب بیش از حد، گیاهان یک شبکه متعادلی برای تنظیم جذب، استفاده و ذخیره یون‌ها ایجاد کرده‌اند. در واقع چنین تنظیماتی به ژن‌هایی بستگی دارد که هموستازی یون‌ها را در گیاهان تنظیم می‌کنند. در گندم به‌دلیل وجود ژنوم بزرگ آلوهگزاپلوئید و چالش‌های فنی در ترانسفورماسیون، تعداد کمی از ژن‌های دخیل در جذب، جابجایی و ذخیره‌سازی آهن و روی از نظر عملکردی مشخص شده‌اند. با توجه به نقش مهم پروتئین‌های ZIP در کارایی ارقام نسبت به جذب آهن، مطالعه بیان ژن‌های مذکور در ارقام گندم نان آهن-کارا و آهن-ناکارا می‌تواند در اصلاح ارقام آهن-کارا در این محصول مؤثر باشد. بنابراین هدف از این تحقیق، مطالعه بیان ژن‌های *ZIP3*، *ZIP6* و *ZIP7* در برگ و ریشه دو رقم گندم نان آهن-کارا و آهن-ناکارا در مراحل مختلف رشدی تحت تنش کمبود آهن بود.

مواد و روش‌ها: این تحقیق به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه اجرا شد. فاکتور اول شامل دو رقم گندم آهن-کارا (پیشتاز) و آهن-ناکارا (فلات)، فاکتور دوم شامل دو سطح آهن خاک (کمبود و کفایت آهن به‌ترتیب ۱/۴ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و فاکتور سوم شامل دو مرحله نمونه‌برداری (رویشی و زایشی به‌ترتیب یک ماه بعد از کشت و ۳۰ درصد خوشه‌دهی) بود. برای ارزیابی بیان ژن‌ها، نمونه‌برداری در هر مرحله رشدی از ریشه و برگ گیاهان انجام شد. بذور از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر ایران تهیه و بعد از ضدعفونی با آب اکسیژنه یک درصد، در عمق ۴ سانتی‌متری خاک کاشته شد. آبیاری در طول فصل رشد، با استفاده از آب مقطر در حد ظرفیت زراعی انجام شد.

یافته‌ها: نتایج تجزیه واریانس بیان نسبی هر سه ژن مورد مطالعه نشان داد که اثر متقابل رقم × اندام × مرحله نمونه‌برداری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. براساس نتایج مقایسه میانگین برهمکنش رقم × اندام × مرحله نمونه‌برداری برای ژن *ZIP3* بیشترین افزایش بیان نسبی ژن در ریشه رقم آهن-کارای پیشتاز در مرحله رویشی مشاهده شد و در مرحله زایشی میزان بیان نسبی این ژن در ریشه رقم آهن-ناکارای فلات بیشتر از رقم آهن-کارای پیشتاز بود. ولی در برگ، رقم آهن- ناکارای فلات بیشترین افزایش بیان نسبی در هر دو مرحله زایشی و رویشی را به‌خود اختصاص داد ولی اختلاف میزان بیان ژن در برگ بین دو مرحله نمونه‌برداری از نظر آماری معنی‌دار نبود و کمترین میزان بیان ژن در برگ مربوط به رقم پیشتاز بود. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × اندام × مرحله نمونه‌برداری برای ژن *ZIP6* حاکی از افزایش میزان بیان نسبی ژن *ZIP6* در ریشه رقم آهن-کارای پیشتاز در مرحله رویشی و رقم آهن-ناکارای فلات در مرحله زایشی بود. بیشترین میزان افزایش بیان نسبی این ژن در ریشه رقم پیشتاز در مرحله رویشی و ریشه رقم فلات در مرحله زایشی مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × اندام × مرحله نمونه‌برداری برای ژن *ZIP7* نشان داد که بیشترین میزان بیان نسبی این ژن در ریشه رقم آهن- کارای پیشتاز در مرحله رویشی مشاهده شد. همچنین میزان بیان نسبی این ژن در ریشه رقم آهن- کارا در مرحله رویشی به‌طور معنی‌داری بیشتر از مرحله زایشی می‌باشد. در هر دو مرحله رویشی و زایشی در برگ میزان افزایش بیان ژن در رقم آهن- ناکارای فلات بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: با افزایش بیان ژن *ZIP3* در شرایط کمبود آهن در مرحله رویشی در ریشه رقم آهن- کارا نسبت به برگ احتمال می‌رود نقش اصلی این ژن، در جذب آهن از خاک و انتقال آن به اندام هوایی در اوایل دوره رشدی در شرایط کمبود آهن باشد. ژن *ZIP6* در هر دو اندام ریشه و برگ در کل دوران رشدی گیاه بیان می‌شود با این تفاوت که با افزایش سن گیاه، میزان بیان هم بیشتر می‌شود. بنابراین ژن *ZIP6* احتمالاً وظیفه جذب و انتقال آهن در اندام‌های مختلف، در کل دوره رشدی گیاه را برعهده دارد و نقش مهمی را در حفظ آهن در شرایط کمبود آن ایفا می‌کند. ژن *ZIP7* تحت شرایط کمبود آهن در هر دو اندام برگ و ریشه بیان می‌شود ولی در ریشه در مرحله رویشی در رقم آهن- کارا این میزان بیان بیشتر می‌باشد و احتمال می‌رود این ژن در جذب آهن از خاک و انتقال آن به اندام‌های هوایی شرکت دارد.

واژه‌های کلیدی: عناصر کم مصرف، کمبود آهن، گندم نان، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی

مقدمه

غلات نقش مهمی در تأمین غذای جهان برعهده دارند که در این بین گندم مهم‌ترین محصول مورد کشت به‌شمار می‌رود (Kasirajan *et al.*, 2013). گندم نان (*Triticum aestivum* L.) گسترده‌ترین گونه‌ی گندم و یکی از چهار محصول عمده در جهان است که غذای اصلی بیش از ۳۰ درصد مردم جهان را تشکیل می‌دهد و در ۱۷ درصد از زمین‌های زراعی جهان کشت شده و ۳۵ درصد از انرژی و پروتئین جیره غذایی انسان را تشکیل می‌دهد (FAO, 2017; Khavarinejad and Babajanov, 2011). گندم گیاهی است خودگرده‌افشان که در عرض‌های جغرافیایی ۶۰-۳۰

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]

درجه شمالی و ۴۰-۲۷ درجه جنوبی کشت می‌شود (Khan, 2013). سازمان خواربار کشاورزی ملل متحد (فائو) با انتشار گزارشی در خصوص میزان تولید جهانی غلات اعلام داشت که در سال ۲۰۲۱ تولید گندم در جهان ۷۷۸ میلیون تن بوده‌است که در سال ۲۰۲۲ این میزان تولید افزایش داشته و ۷۹۴ میلیون تن بوده است. فائو با اعلام گزارشی مبنی بر رشد ۲۸ درصدی تولید گندم در ایران در سال ۲۰۲۲ خبر داد که ایران رتبه ۱۳ را از نظر تولید گندم در جهان به‌خود اختصاص داده است (FAO, 2017).

عوامل محرک بیرونی شامل مجموعه پیچیده‌ای از تنش‌های محیطی زیستی و غیرزیستی هستند که تنش‌های غیرزیستی مهم‌ترین عوامل محیطی محدودکننده تولید محصول و کاهش عملکرد می‌باشند که با تأثیر روی فرآیندهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی نقش قابل‌توجهی در تعیین پتانسیل عملکرد و تولید گیاهان دارند (Tuteja and Gill, 2012). از تنش‌های غیرزیستی می‌توان به کمبود عناصر کم‌مصرف (ریزمغذی‌ها) در خاک اشاره کرد. عناصر کم‌مصرف متابولیسم مواد غذایی در بدن انسان را تنظیم می‌کنند و کمبودشان سلامت انسان را به‌خطر می‌اندازد. این عناصر در تشکیل ساختارهای آلی گیاهان، فعالیت‌های آنزیمی، کارکرد ناقل‌ها، تنظیمات اسمزی، متابولیسم‌های ثانویه و کارکرد هورمون‌های گیاهی دخالت دارند (Taiz and Zeiger, 2002). آهن و روی از جمله عناصر کم مصرف ضروری برای سلامت انسان هستند و به‌عنوان عوامل کمکی بسیاری از آنزیم‌های حیاتی، در بسیاری از فرآیندهای متابولیک انسان نقش دارند. به‌عنوان مثال، آنزیم‌های حاوی آهن در متابولیسم اکسیداتیو، سنتز هورمون استروئیدی و انتقال الکترون شرکت می‌کنند، در حالی‌که آنزیم‌های حاوی روی نقش مهمی در بیوسنتز و تخریب کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ایفا می‌کنند (Kim *et al*., 2020). بیش از دو میلیارد نفر در سراسر جهان تحت‌تاثیر سوء تغذیه عناصر کم‌مصرف مخصوصا آهن و روی هستند که یک‌سوم آن‌ها را کودکان زیر ۵ سال تشکیل می‌دهند (Verma *et al*., 2016; Von Grebmer *et al*., 2014). آهن علاوه بر اینکه عامل بسیاری از آنزیم‌ها است، جزء اصلی هموگلوبین حامل اکسیژن است. اثرات کمبود آهن شامل کم‌خونی، اختلال در رشد حرکتی و شناختی، افزایش خطر مرگ‌ومیر مادران و زایمان زودرس است. کودکان خردسال و زنان باردار آسیب‌پذیر هستند و به‌شدت تحت‌تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرند (Aggett, 2020; Blancquaert *et al*., 2017). کمبود آهن شایع‌ترین اختلال تغذیه‌ای در جهان است و تنها عنصر کم‌مصرف است که کمبود آن در کشورهای توسعه‌یافته نیز به‌طور چشمگیری رخ می‌دهد. تخمین زده شده است که تقریباً یک‌سوم جمعیت جهان از کم‌خونی رنج می‌برند که بیشتر کودکان و زنان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Blancquaert *et al*., 2017).

در گیاهان نیز عنصر آهن بیشترین عنصر موردنیاز در بین تمام عناصر کم‌مصرف می‌باشد. آهن بخشی از گروه کاتالیزوری بسیاری از آنزیم‌های اکسیداسیون و احیا بوده و برای سنتز کلروفیل مورد نیاز می‌باشد (Taiz and Zeiger, 2002). طبق تحقیقات انجام‌شده توسط مؤسسه تحقیقات خاک و آب در ایران کمبود عناصر کم‌مصرف، خصوصاً آهن در مزارع و باغ‌ها شیوع دارد. زیر کشت بودن توام و پی‌درپی اراضی، کشت ارقام پرمحصول و پرتوقع، مصرف بیش از حد و نامتعادل کودهای شیمیایی خصوصا کود نیتروژن و فسفر از عواملی هستند که باعث شدند علائمی نظیر کمبود عناصر کم‌مصرف و کاهش عملکرد در گیاهان بروز کند (Rahemi *et al*., 2014). از طرف دیگر در طول چند دهه گذشته، افزایش بازده محصولات برای تغذیه جمعیت روبه‌رشد انسان، کانون توجه اصلاح نباتات بوده است که ارقام زراعی مدرن با عملکرد بالا تولید کرده است ولی یک عارضه جانبی ناگوار، محتوای کم عناصر کم‌مصرف در این محصولات است. علاوه بر این، آسیاب کردن، لایه آلورون را که حاوی مقدار زیادی آهن و روی است، از بین می‌برد. بنابراین، آهن و روی برنج صیقل داده‌شده و آرد سفید بسیار کمتر است (Brier *et al*., 2015; Hensawang *et al*., 2020). برنج و گندم غذاهای اصلی غالب هستند که بیش از نیمی از جمعیت انسانی جهان را تغذیه می‌کنند (Fitzgerald *et al*., 2009). اتفاقاً این دو محصول، غذاهای اصلی اکثر افرادی هستند که کمبود آهن و روی دارند (Kiely, 2021; Satyavathi *et al*., 2021).

برای تسهیل در جذب کافی آهن و برای جلوگیری از جذب بیش از حد، گیاهان یک شبکه متعادلی برای تنظیم جذب، استفاده و ذخیره یون‌ها ایجاد کرده‌اند. در واقع چنین تنظیماتی به ژن‌هایی بستگی دارد که هموستازی یون‌ها را در گیاهان تنظیم می‌کنند (Grotz and Guerinot, 2006). یکی از دلایل تفاوت در توانایی گیاهان مختلف در جذب آهن، ممکن است مربوط به اختلاف آنها در تعداد و نوع پروتئین‌های ناقل آهن در ریشه باشد (Ashrafzadeh and Abdollahi Mandoulakani, 2023; Teymouri Rad *et al*., 2022). در سال‌های اخیر، تعدادی از ناقل‌های عناصر فلزی که در جذب و توزیع آهن در گیاهان دخالت دارند شناسایی شده‌اند. بیشتر خاک‌های قابل‌کشت در سراسر جهان از نظر میزان آهن، کمبود دارند که این کمبود در اصل ناشی از حضور آن در فرم‌های غیرقابل استفاده برای گیاه می‌باشد. به‌دلیل کمبود این عناصر در خاک‌های زراعی، توجه به نقش عناصر کم‌مصرف طی دهه‌های گذشته افزایش یافته است. برای حل مشکل کمبود آهن از استراتژی‌های متفاوتی استفاده شده است (Vert *et al*., 2002).

گیاهان از دو استراتژی متمایز برای عبور آهن از عرض غشای پلاسمایی در ریشه بهره می‌برند، استراتژی اول در گیاهان دولپه و تک‌لپه‌ای غیرگرامینه و استراتژی دوم در گیاهان تک‌لپه‌ای گرامینه استفاده می‌شود (Vert *et al*., 2002). استراتژی اول شامل احیا Fe^{3+} به Fe^{2+} در سطح ریشه و جذب Fe^{2+} به سلول‌های ریشه توسط ناقلین Fe^{2+} مثل ZIPها (Zrt/Irt-like proteins) می‌باشد (Sinclair and Krämer, 2012). استراتژی دوم که در گیاهانی مانند برنج و ذرت مورد استفاده قرارمی‌گیرد شامل سنتز و ترشح فیتوسیدروفورها برای تسهیل در جذب آهن است. سپس آهن

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]

Fe^{3+} کلاته شده توسط پروتئین‌های YS به سلول‌های ریشه منتقل می‌شود. انتقال آهن در گیاهان دانه‌دار توسط پروتئین‌های NA و YSL[1] (Yellow stripe-like protein) انجام می‌شود. این نتایج بیان می‌دارد که ZIPها نقش اساسی در جذب و جابجایی روی و آهن در گیاهان غیرگرامینه ایفا می‌کنند درحالی‌که عملکرد آن‌ها در گیاهان دانه‌دار کمتر شناخته شده‌است. از طرفی ZIPها در هموستازی یونی نقش دارند زیرا می‌توانند کاتیون‌ها را به سیتوپلاسم انتقال دهند (Colangelo and Guerinot, 2006).

توانایی ژنوتیپ‌های مختلف گیاهی در جذب و مصرف عناصر غذایی توسط دانشمندان بسیاری، موردتوجه قرار گرفته‌است که تفاوت کارایی آنها در استفاده از عناصر غذایی، یا به‌دلیل جذب بیشتر به‌وسیله ریشه‌ها، یا مصرف بهتر توسط گیاه می‌باشد، که اهمیت نسبی این استراتژی‌ها بسته به نوع عنصر و نوع گونه گیاهی می‌تواند متفاوت باشد (Marschner, 1998). همچنین با در نظر گرفتن توانایی‌های متفاوت گیاهان در استفاده از آهن خاک، استفاده از گونه‌های کارا در خاک‌هایی با آهن قابل‌استفاده کم به‌ویژه در خاک‌های آهکی می‌تواند تا حدی مشکلات کمبود آهن را بدون نیاز به مصرف بیش از حد کود برطرف کند (Marschner, 1998).

در مطالعه‌ای که وانگ و همکاران (Wang *et al*., 2020) انجام دادند تفاوت‌های مشاهده شده و تغییرات بیانی بالا در فاکتورهای رونویسی، نقش تنظیمی آن‌ها را در کنترل پاسخ به کمبود آهن در گندم نان نشان می‌دهد. به‌ویژه مشترک بودن فاکتورهای رونویسی در ریشه و برگ پرچم، نشان‌دهنده پاسخ سیستمیک به تنش کمبود آهن می‌باشد. با توجه به نقش کلیدی پروتئین‌های ZIP در جذب آهن، پیشرفت‌های چشم‌گیری در همسانه‌سازی و توصیف عملکرد آنها در گیاهان زراعی چون ذرت (Li *et al*., 2013)، جو (Tiong *et al*., 2015) و گندم تتراپلوئید (Durmaz *et al*., 2011) به‌دست آمده است (Wang *et al*., 2020). با توجه به اهمیت زیاد گندم نان در تأمین انرژی روزانه انسان‌ها، به‌نظر می‌رسد که مطالعه جامعی در مورد نقش ژن‌های مذکور در جذب و جابجایی آهن در گندم نان انجام نگرفته است. در گندم، تعداد کمی از ژن‌های دخیل در جذب، جابجایی و ذخیره‌سازی آهن و روی، به‌دلیل وجود ژنوم بزرگ آلوهگزاپلویید و چالش‌های فنی در ترانسفورماسیون گندم، از نظر عملکردی مشخص شده‌اند (Connorton *et al*., 2017). با توجه به نقش مهم پروتئین‌های ZIP در کارایی ارقام نسبت به جذب آهن، مطالعه بیان ژن‌های مذکور در ارقام گندم نان آهن- کارا و آهن- ناکارا می‌تواند در اصلاح ارقام آهن- کارا در این محصول مؤثر باشد. بنابراین هدف از این تحقیق، مطالعه بیان ژن‌های *ZIP3*، *ZIP6* و *ZIP7* در برگ و ریشه دو رقم گندم نان آهن- کارا و آهن- ناکارا در مراحل مختلف رشدی تحت تنش کمبود آهن بود.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه اجرا شد. فاکتور اول شامل دو رقم گندم آهن- کارا (پیشتاز) و آهن- ناکارا (فلات)، فاکتور دوم شامل دو سطح آهن خاک (کمبود و کفایت آهن به‌ترتیب ۱/۴ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) و فاکتور سوم شامل دو مرحله نمونه‌برداری (رویشی و زایشی به‌ترتیب یک ماه بعد از کشت و ۳۰ درصد خوشه‌دهی) بود. برای ارزیابی بیان ژن‌ها، نمونه‌برداری در هر مرحله رشدی از ریشه و برگ گیاهان انجام شد. خاک مورد استفاده (جدول ۱) از نواحی دارای کمبود آهن از اطراف ارومیه تهیه و پس از انجام آزمایش و اطمینان از کمبود آهن، در گلدان‌های پلی‌اتیلن به قطر ۱۱ و ارتفاع ۳۴ سانتی‌متر، ۳ کیلوگرم خاک ریخته و تیمار آهن براساس حد بحرانی آهن در خاک در دو سطح کمبود آهن (۱/۴ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک) و شاهد (۱۰ میلی‌گرم آهن در کیلوگرم خاک) اعمال شد. لازم به توضیح است که مقدار اولیه غلظت آهن خاک، ۱/۴ میلی‌گرم بود که برای تیمار کمبود استفاده شد. سپس آهن همین خاک با Fe-EDDHA به ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک رسانده شد و به‌عنوان تیمار کفایت آهن استفاده شد. بذور از مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر ایران تهیه و بعد از ضدعفونی شدن با آب اکسیژنه یک درصد، در عمق ۴ سانتی‌متری خاک کاشته شد. ترکیب محلول غذایی که در طول آزمایش به گلدان‌ها داده شد در جدول ۲ آورده شده است. آبیاری در طول فصل رشد، با استفاده از آب مقطر در حد ظرفیت زراعی انجام شد.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Physical and chemical properties of the soil used in the experiment

pH	(ds/m) EC	Sand	Silt	Clay	K (mg/kg)	Fe (mg/kg)	P-O1sen	OC (%)	CCE (%)
7.98	0.89	38	53	9	16	1.4	3.4	0.65	22

EC: electrical conductivity, OC: organic carbon, CCE: calcium carbonate equivalent

جدول ۲- ترکیب محلول غذایی مورد استفاده در آزمایش

Table 2. The composition of nutrient solution used in the experiment

Mg Kg^{-1}	Fertilizer	Mg Kg^{-1}	Elements
65.22	Urea	30	N
249	Triple superphosphate	50	P
223	Potassium sulfate	100	K
22.1	Zinc sulfate	5	Zn
19.6	Copper sulfate	5	Cu
182	Fe-EDDHA	10	Fe

1-Yellow stripe-like protein

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]

استخراج RNA و سنتز cDNA

استخراج RNA از برگ و ریشه گیاهان، با استفاده از محلول استخراج RNX-plus™ (سینا کلون- ایران) مطابق دستورالعمل پیشنهادی شرکت سازنده، با کمی تغییرات انجام گرفت. قبل از سنتز cDNA، برای حذف DNAی ژنومی، RNAهای استخراجی با DNAase تیمار شدند. سپس با استفاده از کیت Easy cDNA reverse transcription kit (پارس طوس، ایران) مطابق دستورالعمل پیشنهادی شرکت سازنده، سنتز cDNA انجام شد. 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 کمیت 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.

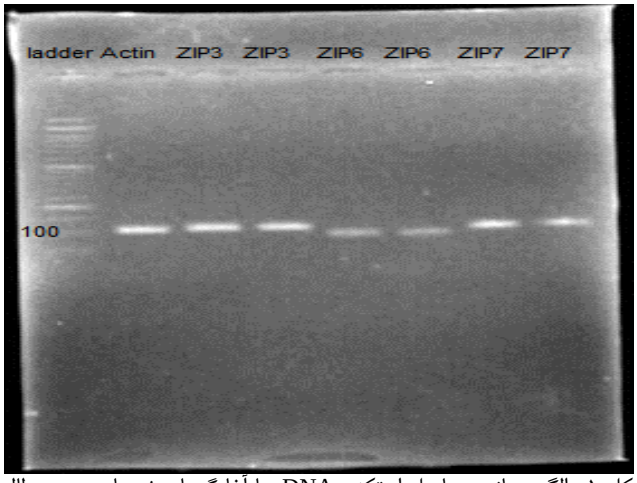
واکنش Real time PCR

واکنش Real time PCR در حجم ۱۲/۵ میکرولیتر در سه تکرار طبق دستورالعمل کیت Sina Green HS-qPCRMIX100T (سیناکلون، ایران) در دستگاه Rotor- Gene Q (مدل ۶۰۰۰ ، کیاژن آمریکا) انجام گرفت. در این فرآیند ژن اکتین به‌عنوان ژن مرجع جهت نرمال‌سازی داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. الگوی دمایی واکنش‌ها طبق اندازه محصول و دمای اتصال آغازگرها به‌صورت فعال‌سازی ابتدایی آنزیم در دمای ۹۵°C به‌مدت ۱۰ دقیقه در یک چرخه، سپس ۴۰ چرخه شامل مراحل واسرشته‌سازی در دمای ۹۵°C به‌مدت ۱۵ ثانیه جهت واسرشت‌سازی cDNA، اتصال آغازگرها در دمای‌های اتصال مربوط به هر ژن (جدول ۳) به‌مدت ۳۰ ثانیه و بسط در دمای ۷۲°C به‌مدت ۴۰ ثانیه انجام شد. بعد از اتمام واکنش، منحنی ذوب هرکدام از ژن‌ها رسم و صحت تکثیر محصول مربوط به هر ژن با استفاده منحنی ذوب همان ژن و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد (شکل ۱) تأیید شد و محاسبه چرخه آستانه[1] با نرم‌افزار Rotor- Gene Q انجام گرفت و میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از فرمول‌های روش ΔΔCT محاسبه شد (Pfaffl, 2001). آزمون نرمال بودن داده‌ها و اشتباهات مدل به‌روش کلموگروف- اسمیرنوف[2] با استفاده از نرم‌افزار MINITAB (نسخه ۱۹) بررسی شد. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین تیمارها (به‌روش SNK در سطح یک درصد) توسط نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱)، انجام گرفت.

جدول ۳- مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در Real time PCR (Niazkhani *et al*., 2021; Niazkhani *et al*., 2018)

Table 3. Characteristics of the primers used in real time PCR reactions (Niazkhani *et al*., 2021; Niazkhani *et al*., 2018)

نام ژن Gene name	شماره دسترسی Accession number	توالی آغازگر Primer sequence	دمای اتصال (C ◦) annealing temperature (◦ C)	اندازه محصول (bp) Product size (bp)
Actin	KX533928	F: 5′- gacgcacaacaggtatcgtgttg R: 5′- cagcgaggtcaagacgaaggatg	60	108
ZIP3	DQ490131	F: 5′- ggtgtgtcattaggagcatctgtg R: 5′- agcctgtacaatgcaaccacccaa	55.8	114
ZIP6	AK333945	F: 5′- cccaatccccaccaccaagaa R: 5′- ggtcactctcgtccaggaaagc	55.2	89
ZIP7	DQ490134	F: 5′- ttacaacgccaatagccccag R: 5′- atcggctacgattagatccaccag	55.4	106



شکل ۱- الگوی باندی حاصل از تکثیر cDNA با آغازگرهای ژن‌های مورد مطالعه

Figure 1. Banding profile obtained from cDNA amplification with primers of studied genes

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه در دو رقم گندم نان تحت شرایط کمبود آهن نشان می‌دهد که اثر متقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری، اثرات متقابل دوجانبه و اثر ساده رقم (برای ژن *ZIP3*) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. همچنین نتایج تجزیه

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]

واریانس بیان نسبی ژن *ZIP6* نشان داد که به غیر از اثرات ساده رقم، مرحله نمونه‌برداری و اثر دوجانبه اندام× مرحله نمونه‌برداری که معنی‌دار نیستند سایر اثرات در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شده است. در نهایت، نتایج برای بیان نسبی ژن *ZIP7* بیانگر معنی‌داری تمامی اثرات اصلی و متقابل در سطح احتمال یک درصد بود.

جدول۴- تجزیه واریانس بیان نسبی ژن‌های *ZIP3*، *ZIP6* و *ZIP7* تحت تنش کمبود آهن در ریشه و برگ ارقام آهن-کارا (پیشتاز) و آهن- ناکارا (فلات) گندم نان در مراحل رویشی وزایشی

Table 4. Variance analysis of relative expression of *ZIP6*, *ZIP3* and *ZIP7* genes under iron deficiency stress in roots and leaves of Fe-efficient (]Pishtaz) and -inefficient (Falat) bread wheat cultivars in vegetative and reproductive stages

منابع تغییرات Source of variance	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS		
		ژنZIP3	ژن ZIP6	ژن ZIP7
رقم Cultivar	1	0.92^{ns}	0.43 ^{ns}	23.64**
اندام Organ	1	12.76**	313.38**	79.79**
مرحله نمونه‌برداری Sampling stage	1	1.57**	1.37^{ns}	52.82**
رقم × اندام Cultivsr×Organ	1	9.29**	10.19**	66.14**
رقم × مرحله Varity×Stage	1	13.16**	285.36**	71.70**
اندام × مرحله Organ×Stage	1	2.38**	2.68^{ns}	24.97**
رقم × اندام × مرحله Variety×Organ×Stage	1	9.11**	307.74**	95.99**
خطا Error	16	0.02	0.15	0.05
ضریب تغییرات CV (٪)		7.19	6.29	5.86

* و ** و ^{ns} به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱ و غیرمعنی‌دار از نظر آماری را نشان می‌دهند

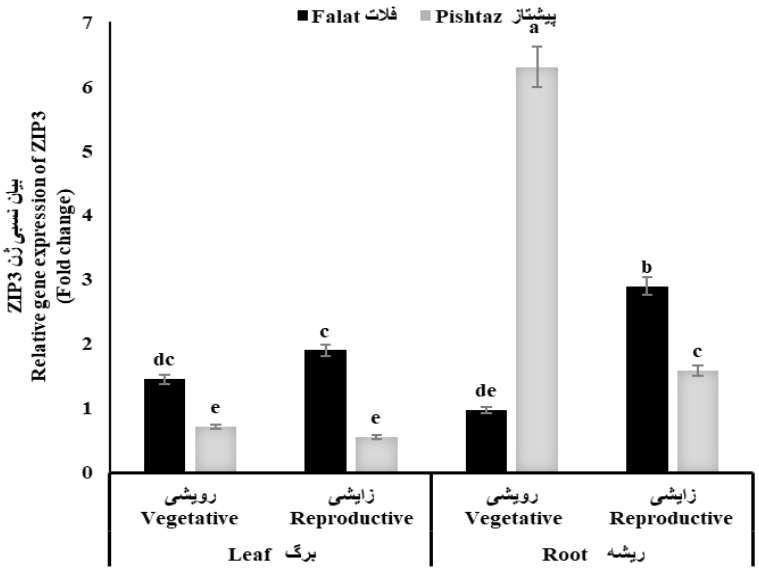
*, ** and ^{ns} indicate significant at 0.05 and 0.01 probability levels and nonsignificant, respectively

بیان نسبی ژن *ZIP3*

نتایج حاصل از تجزیه واریانس بیان نسبی ژن‌های مورد مطالعه در دو رقم گندم نان تحت شرایط کمبود آهن در جدول ۴ ارائه شده است. براین اساس اثر متقابل رقم × بافت × مرحله نمونه‌برداری برای ژن *ZIP3* در سطح احتمال یک‌درصد معنی‌دار بود. براساس نتایج مقایسه میانگین برهمکنش رقم × اندام × مرحله نمونه‌برداری (شکل ۲)، بیشترین افزایش بیان نسبی ژن *ZIP3* در ریشه رقم آهن–کارای پیشتاز در مرحله رویشی مشاهده شد و در مرحله زایشی میزان بیان نسبی این ژن در ریشه رقم آهن–ناکارای فلات بیشتر از رقم آهن–کارای پیشتاز بود. ولی در برگ، رقم آهن–ناکارای فلات بیشترین افزایش بیان نسبی در هر دو مرحله زایشی و رویشی را به‌خود اختصاص داد ولی اختلاف میزان بیان ژن در برگ بین دو مرحله نمونه‌برداری از نظر آماری معنی‌داری نبود و کمترین میزان بیان ژن در برگ مربوط به رقم پیشتاز بود. ژن *TaZIP3* روی بازوی بلند کروموزم شماره ۲ ژنوم‌های گندم نان قرار دارد (Evens *et al*., 2017) و محصولی با ۳۶۰ اسید آمینه را کد می‌کند (Tiong *et al*., 2015). براساس تجزیه فیلوژنتیکی ژن‌های خانواده *ZIP* در گیاهان مختلف چنین می‌توان برداشت نمود که ژن *TaZIP3* بیشترین شباهت را به ژن‌های *HvZIP3*، *OsZIP3* و *AtZIP3* دارد. ژن *HvZIP3* در شرایط کمبود آهن در ریشه جو بیان می‌شود لذا بر این اساس می‌توان گفت که این ژن از عوامل درگیر در هومئوستازی آهن در ریشه جو بوده و یکی از ژن‌های مهم در جذب عنصر آهن در شرایط تنش کمبود آهن می‌باشد. اخیراً تجزیه و تحلیل عملکردی نشان داده است که برخی از ژن‌های *ZIP* در آرابیدوپسیس و برنج نقش مهمی در انتقال روی یا آهن دارند (Li *et al*., 2013). در مطالعه‌ای که توسط تیونگ و همکاران انجام گرفت چنین گزارش گردید که با توجه به افزایش بیان سه برابری ژن *HvZIP3* تحت شرایط کمبود آهن در ریشه و شاخساره، احتمالاً این ژن در جذب و انتقال آهن از ریشه به شاخساره به‌طور فعال شرکت دارد (Tiong *et al*., 2015). افزایش بیان این ژن تحت شرایط کمبود آهن در جو، نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر مبنی بر افزایش بیان ژن *TaZIP3* در شرایط کمبود آهن را در هر دو اندام تأیید می‌کند. لی و همکاران (Li *et al*., 2015) با تجزیه فیلوژنتیکی نشان دادند که دو ژن *HvZIP3* (همولوگ *TaZIP3*) و *ZmZIP3* مشابهت زیادی باهم دارند. ژن *ZmZIP3* روی کرموزوم دو ذرت قراردارد و دارای ناحیه کد کننده به‌طول ۱۱۰۴ جفت باز می‌باشد. پروتئینی که توسط این ژن کد می‌شود، دارای ۳۶۷ اسید آمینه با ۶ دمین غشاگذر است. براساس نتایج تحقیقات، بیان ژن *ZmZIP3* در پاسخ به کاهش آهن در محیط برخلاف دیگر ژن‌های خانواده *ZmZIP3* به‌سرعت در هر دو اندام ریشه و برگ زیاد می‌شود. براساس این تحقیق لی و همکاران چنین گزارش نمودند که افزایش بیان ژن *ZmZIP3* در آرابیدوپسیس تراریخته باعث افزایش میزان آهن در ریشه و کاهش آن در شاخساره می‌شود (Li *et al*., 2015).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]



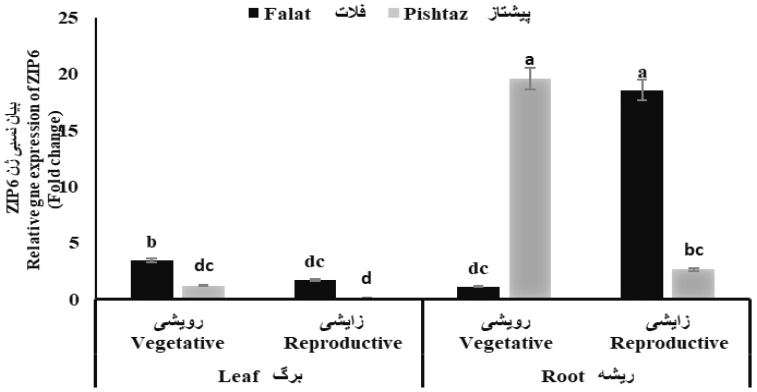
شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل اندام × رقم × مرحله نمونه‌برداری بر بیان نسبی ژن *ZIP3* در گندم نان
(ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند.)
Figure 2. Mean comparison of the interaction effect of organ × cultivar × sampling stage on the relative expression of *ZIP3* gene in bread wheat cultivars (columns with the common letters (SNK test) don't have a significant difference at the 1% probability level)

ژن *AtZIP1* نزدیکترین عضو خانواده *ZIP* در آرابیدوپسیس به *ZIP3* در گندم (Tiong *et al*., 2015)، اولین بار در آرابیدوسیس تالیانا گزارش شد که این ژن کدکننده یک ترانسپورتر آهن است که در ریشه بیشتر از برگ بیان می‌شود (Grotz *et al*., 1998). طبق نتایج، *AtIRT1* واسطه انتقال آهن و نیکل در آرابیدوپسیس است. براین‌اساس، بیان بیش از حد *AtIRT3* منجر به افزایش تجمع روی در اندام هوایی و آهن در ریشه می‌شود. علاوه براین *AtIRT3* می‌تواند جهش مخمر دوگانه جذب روی و آهن را تکمیل کند، که نشان می‌دهد *AtIRT3* در انتقال روی و آهن نقش دارد. در مطالعه‌ای که توسط میلنر و همکاران (Milner *et al*., 2013) انجام گرفت مشاهده شد کمبود آهن سبب افزایش معنی‌دار رونوشت‌های ژن *ZIP1* در ریشه آرابیدوپسیس می‌شود، درحالی‌که افزایش در مقدار رونوشت این ژن در اندام هوایی در شرایط کمبود منگنز مشاهده می‌گردد (Milner *et al*., 2013). در این مطالعه هم‌چنین بیان شد که میزان بیان ژن *AtZIP1* در ریشه بیشتر از برگ بوده و با افزایش سن گیاه میزان بیان نسبی این ژن افزایش می‌یابد. هم‌چنین افزایش محتوای آهن و روی دانه جو تراریخته در اثر بیان بیش از حد ژن *AtZIP1* در جو گزارش شده‌است (Ramesh *et al*., 2004). به‌طور کلی شواهد براین قرار است که این ژن در آرابیدوپسیس علاوه بر جذب و انتقال آهن، در جذب و انتقال روی و منگنز هم دخالت دارد. گروتز گروتز و همکاران (Grotz *et al*., 1998) نشان دادند که ژن‌های AtZIP1 و AtZIP3 در گیاه آرابیدوپسیس در پاسخ به شرایط کمبود آهن به‌شدت در ریشه بیان شدند (Grotz *et al*., 1998). هم‌چنین چن و همکاران (Chen *et al*., 2008) با مطالعه روی گیاه آرابیدوپسیس و ترسیم درخت فیلوژنتیکی چنین گزارش کردند که ژن OsZIP3 با ژن‌های TaZIP3 و HvZIP3 ارتباط تکاملی نزدیکی دارد و به‌عنوان انتقال‌دهنده با میل ترکیبی کم در پاسخ به کمبود آهن در ریشه بیان شده‌اند. بنابراین میتوان چنین برداشت نمود که ژن ZIP3 در جذب آهن از خاک نقش دارد. با توجه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر و سایر تحقیقات انجام گرفته در گیاهان نزدیک به گندم نان (به لحاظ تکاملی) می‌توان چنین بیان کرد که بیان ژن *ZIP3* در شرایط کمبود آهن در مرحله رویشی رقم آهن-کارا در ریشه نسبت به برگ به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌یابد که این افزایش بیان در مرحله رویشی در ریشه بیشتر از مرحله زایشی در ریشه می‌باشد. بنابراین احتمال می‌رود نقش اصلی این ژن، در جذب آهن از خاک و انتقال آن به اندام هوایی در اوایل دوره رشدی گندم نان در شرایط کمبود آهن باشد.

بیان ژن *ZIP6*

تجزیه واریانس بیان ژن *ZIP6* (جدول ۴) نشان می‌دهد که اثر متقابل رقم × اندام × مرحله نمونه‌برداری بر بیان ژن *ZIP6* در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × اندام × مرحله نمونه‌برداری حاکی از افزایش میزان بیان نسبی ژن *ZIP6* در ریشه رقم آهن-کارای پیشتاز در مرحله رویشی و رقم آهن- ناکارای فلات در مرحله زایشی بود. بیشترین میزان افزایش بیان نسبی این ژن در ریشه رقم پیشتاز در مرحله رویشی و ریشه رقم فلات در مرحله زایشی مشاهده شد (شکل ۶).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل اندام × رقم × مرحله نمونه‌برداری بر بیان نسبی ژن *ZIP6* در گندم نان
(ستون‌هایی که دارای حروف می‌باشند براساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد ندارند)
Figure 3. Mean comparison of the interaction effect of organ × cultivar × sampling stage on the relative expression of *ZIP6* gene in bread wheat cultivars (columns with common letters (SNK test) do not have a significant difference at the 1% probability level)

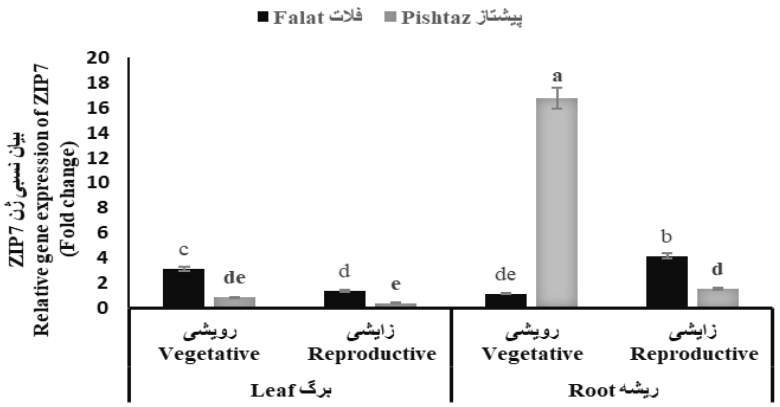
ژن *TaZIP6* روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره یک هر سه ژنوم گندم نان قراردارد (Evens *et al*., 2017) و پروتئینی با ۳۹۵ اسیدآمینه را کد می‌کند (Tiong *et al*., 2015). تجزیه ژن‌های *ZIP* نشان می‌دهد این ژن به‌ترتیب با ژن‌های *HvZIP6*، *OsZIP6* و *AtZIP6* بیشترین شباهت را دارد. *OsIRT1* عمدتاً در ریشه در شرایط کمبود آهن و مس بیان می‌شود. این نشان می‌دهد که *OsIRT1* یک انتقال دهنده فلزی کاربردی برای آهن می‌باشد که به‌طور فعال در جذب آهن از خاک درگیر می‌باشد. برنج یک گیاه تک‌لپه‌ای گرامینه می‌باشد که در اثر کمبود آهن، فیتوسیدروفورها را آزاد می‌کند. در واقع برنج اولین گیاهی است که ترشح شده فیتوسیدروفور در ریشه آن مشاهده شد (Eide *et al*., 1996). در تحقیقی که روی ارقام آهن-کارا و آهن-ناکارای برنج انجام گرفت مشاهده شد که تحت شرایط کمبود آهن، رونوشت‌های ژن *OsZIP6* در ریشه و شاخساره افزایش پیدا کرد که این میزان افزایش در ریشه بیشتر از شاخساره بود (Chen *et al*., 2008; Eide *et al*., 1996) با این‌حال نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که ژن *OsZIP6* همانند ژن‌های *OsIRT1*، *OsIRT2* و *OsZIP7* در انتقال آهن بیشتر از انتقال روی دخالت دارد (Bughio *et al*., 2002; Kavitha *et al*., 2015). تیونگ و همکاران (Toing *et al*., 2015) در مطالعه‌ای که برای شناسایی ترانسپورترهای خانواده *ZIP* در گیاه جو انجام دادند، ترانسپورتر *HvZIP* با ۴۰۲ اسید آمینه، یکی از ۱۳ ترانسپورتری بود که شناسایی گردید. در این مطالعه چنین گزارش شد که ژن *HvZIP* تحت شرایط کمبود آهن در ریشه بیان می‌شود و این افزایش بیان با افزایش سن گیاه بیشتر می‌شود. در مطالعه حاضر نیز بیان این ژن در شرایط کمبود آهن در ریشه ارقام آهن-کارا و آهن-ناکارا در مراحل رویشی و زایشی افزایش یافت. ژن *AtZIP6*، ترانسپورتری با ۳۴۱ اسیدآمینه را کد می‌کند و در آرابیدوپسیس در شرایط کمبود منگنز بیان می‌شود. تحقیقات نشان می‌دهد که ژن *AtZIP6* در هر دو اندام ریشه و برگ بیان می‌شود که این بیان در ریشه بیشتر می‌باشد (Milner *et al*., 2013). ایده و همکاران (Eide *et al*., 1996) با انجام آزمایشاتی برای پی‌بردن به نقش ژن *ZIP6* در پاسخ به کمبود آهن در گیاه برنج چنین نتیجه گرفتند که تحت شرایط کمبود آهن، رونوشت‌های ژن *OsZIP6* در هر دو اندام ریشه و شاخساره افزایش پیدا می‌کند که این میزان افزایش در ریشه بیشتر از شاخساره می‌باشد که ثابت می‌کند ژن *ZIP6* در جذب آهن از خاک و انتقال آن به سایر اندام‌های هوایی نقش دارد. با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق نیز می‌توان چنین برداشت نمود که ژن *ZIP6* در هر دو اندام ریشه و برگ گندم در کل دوران رشدی گیاه بیان می‌شود با این تفاوت که با افزایش سن گیاه، میزان بیان هم بیشتر می‌شود. بنابراین ژن *ZIP6* احتمالاً وظیفه جذب و انتقال آهن را در اندام‌های مختلف، در کل دوره رشدی گیاه بر عهده دارد و نقش مهمی را با افزایش بیان در حفظ آهن در شرایط کمبود آهن ایفا می‌کند.

بیان ژن *ZIP7*

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان می‌دهد که اثر متقابل رقم × اندام × مرحله نمونه‌برداری بر بیان ژن *ZIP7* در سطح احتمال یک‌درصد معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل رقم × اندام × مرحله نمونه‌برداری (شکل ۴) نشان می‌دهد که بیشترین میزان بیان نسبی این ژن در ریشه رقم آهن-کارای پیشتاز در مرحله رویشی مشاهده شد. همچنین میزان بیان نسبی این ژن در ریشه رقم آهن-کارا در مرحله رویشی به‌طور معنی‌داری بیشتر از مرحله زایشی می‌باشد همچنین در هر دو مرحله رویشی و زایشی در برگ میزان افزایش بیان ژن در رقم آهن-ناکارای فلات بیشتر می‌باشد.

ژن *TaZIP7* روی بازوی کوتاه کروموزوم یک، هر سه ژنوم گندم نان قرار دارد، این ژن، پروتئینی با ۳۸۶ اسید آمینه را کد می‌کند. با تجزیه فیلوژنتیکی ژن‌های خانواده *ZIP* چنین برداشت می‌شود که ژن *TaZIP7* با ژن‌های *ZIP7* گیاهان جو (*HvZIP7*) و برنج (*OsZIP7*) بیشترین شباهت را دارد (Evens *et al*., 2017).

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرمتقابل اندام × رقم × مرحله نمونه‌برداری بر بیان نسبی ژن *ZIP7* در گندم نان
(ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد ندارند)
Figure 4. Mean comparison of the interaction effect of tissue × variety × sampling stage on the relative expression of the coding gene *ZIP7* in bread wheat (columns with common letters based on multiple test SNK domains do not have a significant difference at the 1% level)

عملکرد برخی از ژن‌های *AtZIP* در جذب مواد معدنی مشخص شده است. حذف *AtIRT1* در آروبیدپسیس تالیانا منجر به کمبود آهن، همراه با نقش تمایز سلولی شد در حالی‌که بیان *AtIRT2* در مخمر رشد جهش یافته‌های مخمرهای انتقال آهن و روی را احیا کرد و افزایش داد. هم‌چنین بیان بیش از حد *AtIRT3* باعث افزایش تجمع روی در اندام هوایی و آهن در ریشه گیاهان تراریخته شد بیشتر مطالعات انجام گرفته چنین بیان می‌دارند که بیان بیشتر *ZIP*ها توسط کمبود روی، آهن یا منگز القا می‌شود و تنظیم بیان درون‌زای ZIPها برای حفظ هموستازی فلزات سلولی ضروری است زیرا این ژن‌ها در جذب فلز از ریشه و هم‌چنین انتقال و توزیع فلز در بین اندام‌های گیاهی نقش دارند (Henriques *et al*., 2002).

در مطالعه‌ای که توسط فو و همکاران (Fu *et al*., 2017) روی میوه پرتقال سه شاخه (*Poncirus trifoliate* L.) انجام شد چنین گزارش شد که تحت کمبود آهن تنها ژن‌های *PtIRT1* و *PtZIP7* عمدتاً در ریشه القا شدند. این دو ژن هم‌چنین جهش‌یافته fet4/fet3 را حتی در شرایط دسترسی بسیار محدود آهن به‌راحتی نیز تکمیل کردند. طبق این مطالعه به این نتیجه رسیدند که ژن‌های *PtIRT1* و*PtZIP7* مسئول جذب آهن بالا در پرتقال سه شاخه‌ای می‌باشند. نقش ژن *AtIRT1* در جذب آهن به‌خوبی نشان داده شده است (Fu *et al*., 2017). میلنر و همکاران (Milner *et al*., 2013) شواهدی ارائه کردند که نقش *AtZIP7* در جذب آهن را با استفاده از آزمایش مکمل fet4/fet3 نشان داده و تأیید می‌گردد. رامش و همکاران (Ramesh *et al*., 2003) با مطالعه در گیاه برنج تحت شرایط کمبود آهن چنین گزارش کردند که برخی از ژن‌های *OsZIP* از جمله *OsZIP3* و *OsZIP7* هم در ریشه و هم در اندام هوایی بیان می‌شوند که هرکدام مسئول جذب آهن از خاک، انتقال از ریشه به اندام هوایی و همچنین مسئول پر شدن دانه می‌باشند. تیونگ و همکاران (Tiong *et al*., 2015) با انجام آزمایش روی گیاه جو چنین نتیجه گرفتند که میزان بیان ژن‌های *HvZIP3* و *HvZIP7* تحت شرایط کمبود آهن در ریشه افزایش یافته است.

براساس مطالعات و تجزیه و تحلیل چنین نشان داده شده است که رونوشت‌های *IRT1* به‌طور چشم‌گیری در پاسخ به کمبود روی و آهن القا می‌شوند. همچنین الگوی بیان ژن *ZmZIP* در مراحل مختلف رشد جنین و آندروسپرم مشاهده شده‌است. طبق نتایج می‌توان چنین برداشت نمود که ژن‌های *ZmZIP* ناقل‌های کاربردی روی یا آهن دارند و ممکن است مسئول جذب، انتقال، سم‌زدایی و ذخیره‌سازی یون‌های فلزی دو ظرفیتی در سلول‌های گیاهی باشند. نتایج تجزیه فیلوژنتیکی که توسط لی و همکاران (Li *et al*., 2013) انجام گرفت نشان داد که بین ژن‌های *OsZIP7* (همولوگ*TaZIP7* در برنج) و *ZmZIP7* در ذرت تشابه زیادی وجود دارد. ژن *ZmZIP7* در ذرت روی کروموزوم شماره شش قرار دارد که پروتئینی با ۳۸۷ اسید آمینه را کد می‌کند. نتایج این مطالعه نشان داده که با افزایش روی، تجمع رونوشت‌های *ZIP* در ذرت کم می‌شود و بیان این ژن در ریشه، شاخساره، دانه و برگ مشاهده می‌شود. در آرابیدوپسیس تراریخته با افزایش بیان بیش از حد این ژن آهن بیشتری در دانه تجمع پیدا می‌کند و هم‌چنین این افزایش بیان باعث تنظیم بیان ژن‌های کلیدی در جهت حفظ هومئوستازی روی و آهن می‌شود. به‌طور کلی می‌توان چنین برداشت نمود که بیان ژن *ZIP7* گندم نان تحت شرایط کمبود آهن در ریشه رقم آهن-کارا پیشتاز به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. همچنین این ژن در هر دو اندام برگ و ریشه بیان می‌شود ولی در ریشه در مرحله رویشی در رقم آهن-کارا این میزان بیان بیشتر می‌باشد. با این وجود احتمالاً ژن *ZIP7* در گندم نان در جذب آهن از خاک و انتقال آن به اندام‌های هوایی شرکت دارد.

نتیجه‌گیری کلی

بیان نسبی هر سه ژن *ZIP3*، *ZIP6* و *ZIP7* تحت شرایط کمبود آهن خاک در اندام ریشه افزایش یافت. میزان

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]
[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]

بیان نسبی ژن *ZIP3* تحت شرایط کمبود آهن در ریشه رقم آهن-کارا پیشتاز به‌طور معنی‌داری بیشتر می‌باشد. سطح بیان نسبی ژن *ZIP6* در دو رقم آهن-کارا و آهن-ناکارا در ریشه افزایش یافت. بنابراین می‌توان گفت که این ژن علاوه بر جذب در انتقال آهن به ساقه هم نقش دارد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین میزان افزایش بیان ژن *ZIP7* مربوط به رقم آهن-کارا پیشتاز در ریشه در مرحله رویشی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه به‌خاطر فراهم کردن امکانات و هزینه انجام این تحقیق نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

References

Aggett, P. (2020). Chapter 22-Iron. *Present Knowledge in Nutrition, 11th ed.; Academic Press: Cambridge, MA, USA*, *1*, 375-392.

Ashrafzadeh N., Abdollahi Mandoulakani B. (2023). 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.). *Journal of Crop Breeding*, *15*(45), 194-204. [In Persian]

Blancquaert, D., De Steur, H., Gellynck, X., & Van Der Straeten, D. (2017). Metabolic engineering of micronutrients in crop plants. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1390*(1), 59-73.

Brier, N. D., Gomand, S. V., Donner, E., Paterson, D., Delcour, J. A., Lombi, E., & Smolders, E. (2015). Distribution of minerals in wheat grains (*Triticum aestivum* L.) and in roller milling fractions affected by pearling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(4), 1276-1285.

Bughio, N., Yamaguchi, H., Nishizawa, N. K., Nakanishi, H., & Mori, S. (2002). Cloning an iron-regulated metal transporter from rice. *Journal of Experimental Botany*, *53*(374), 1677-1682.

Chen, W., Feng, Y., & Chao, Y. (2008). Genomic analysis and expression pattern of *OsZIP1*, *OsZIP3*, and *OsZIP4* in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes with different zinc efficiency. *Russian Journal of Plant Physiology*, *55*, 400-409.

Colangelo, E. P., & Guerinot, M. L. (2006). Put the metal to the petal: metal uptake and transport throughout plants. *Current Opinion in Plant Biology*, *9*(3), 322-330.

Connorton, J. M., Jones, E. R., Rodríguez-Ramiro, I., Fairweather-Tait, S., Uauy, C., & Balk, J. (2017). Wheat vacuolar iron transporter TaVIT2 transports Fe and Mn and is effective for biofortification. *Plant Physiology*, *174*(4), 2434-2444.

Durmaz, E., Coruh, C., Dinler, G., Grusak, M. A., Peleg, Z., Saranga, Y., Fahima, T., Yazici, A., Ozturk, L., & Cakmak, I. (2011). Expression and cellular localization of ZIP1 transporter under zinc deficiency in wild emmer wheat. *Plant Molecular Biology Reporter*, *29*, 582-596.

Eide, D., Broderius, M., Fett, J., & Guerinot, M. L. (1996). A novel iron-regulated metal transporter from plants identified by functional expression in yeast. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *93*(11), 5624-5628.

Evens, N. P., Buchner, P., Williams, L. E., & Hawkesford, M. J. (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.

FAO. (2017). *FAOSTAT data-base. [cited 2017 Jan 14]. Available from: http://faostat.fao.org/beta/en/*. Retrieved 23 june from

Fitzgerald, M. A., Bergman, C. J., Resurreccion, A. P., Möller, J., Jimenez, R., Reinke, R. F., Martin, M., Blanco, P., Molina, F., & Chen, M. H. (2009). Addressing the dilemmas of measuring amylose in rice. *Cereal Chemistry*, *86*(5), 492-498.

Fu, X. Z., Zhou, X., Xing, F., Ling, L. L., Chun, C. P., Cao, L., ... & Peng, L. Z. (2017). Genome-wide identification, cloning and functional analysis of the zinc/iron-regulated transporter-like protein (ZIP) gene family in trifoliate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.). *Frontiers in Plant Science*, *8*, 588.

Ghasemi, S., Khoshgoftarmanesh, A. H., Sayed-Tabatabaei, B. E., & Khaksar, G. (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.

Grotz, N., Fox, T., Connolly, E., Park, W., Guerinot, M. L., & Eide, D. (1998). Identification of a family of zinc transporter genes from Arabidopsis that respond to zinc deficiency. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(12), 7220-7224.

Grotz, N., & Guerinot, M. L. (2006). Molecular aspects of Cu, Fe and Zn homeostasis in plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, *1763*(7), 595-608.

Henriques, R., Jásik, J., Klein, M., Martinoia, E., Feller, U., Schell, J., Pais, M. S., & Koncz, C. (2002). Knock-out of Arabidopsis metal transporter gene IRT1 results in iron deficiency accompanied by cell differentiation defects. *Plant Molecular Biology*, *50*, 587-597.

Hensawang, S., Lee, B. T., Kim, K. W., & Chanpiwat, P. (2020). Probabilistic assessment of the daily intake of microelements and toxic elements via the consumption of rice with different degrees of polishing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *100*(10), 4029-4039.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]

Kasirajan, L., Boomiraj, K., & Bansal, K. (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).

Kavitha, P., Kuruvilla, S., & Mathew, M. (2015). Functional characterization of a transition metal ion transporter, OsZIP6 from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Physiology and Biochemistry*, *97*, 165-174.

Khan, S. A. (2013). Genetic Variability and Heritability Estimates in F^ sub 2^ wheat Genotypes. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, *5*(9), 983.

Khavarinejad, M., & Babajanov, A. (2011). Identification of relationships of quantitative and morphological traits to spring wheat genotype yields in drought levels of Mazandaran (north of Iran). *International Journal of Agricultural Science*, *1*(6), 329-339.

Kiely, M. E. (2021). Risks and benefits of vegan and vegetarian diets in children. *Proceedings of the Nutrition Society*, *80*(2), 159-164.

Kim, J., Aydemir, T. B., Jimenez-Rondan, F. R., Ruggiero, C. H., Kim, M.-H., & Cousins, R. J. (2020). Deletion of metal transporter Zip14 (Slc39a14) produces skeletal muscle wasting, endotoxemia, Mef2c activation and induction of miR-675 and Hspb7. *Scientific Reports*, *10*(1), 4050.

Li, S., Zhou, X., Huang, Y., Zhu, L., Zhang, S., Zhao, Y., Guo, J., Chen, J., & Chen, R. (2013). Identification and characterization of the zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like protein (*ZIP*) gene family in maize. *BMC Plant Biology*, *13*(1), 1-14.

Li, S., Zhou, X., Li, H., Liu, Y., Zhu, L., Guo, J., Liu, X., Fan, Y., Chen, J., & Chen, R. (2015). Overexpression of ZmIRT1 and ZmZIP3 enhances iron and zinc accumulation in transgenic Arabidopsis. *PLoS One*, *10*(8), e0136647.

Marschner, H. (1998). Mineral nutrition of higher plants. Norlforlk. In: Londres. Academyc press Ltd.

Milner, M. J., Seamon, J., Craft, E., & Kochian, L. V. (2013). Transport properties of members of the ZIP family in plants and their role in Zn and Mn homeostasis. *Journal of Experimental Botany*, *64*(1), 369-381.

Niazkhani, M., Abdollahi Mandoulakani, B., Jafari, M., & Rasouli-Sadaghiani, M. (2021). Induced Expression of Six ZIP Genes by Zinc Deficiency is Associated with Increased Uptake and Root to Shoot Translocation of Zn in Zn-efficient Bread Wheat Cultivars. *Russian Journal of Plant Physiology*, *68*, S61-S71.

Niazkhani, S., Abdollahi Mandoulakani, B., Jafari, M., & Rasouli-Sadaghiani, M. (2018). Studying the expression of ZIP1, ZIP3 and ZIP6 genes in bread wheat under Zn deficiency conditions. *Cereal Research*, 8(3), 345-358. [In Persian]

Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR. *Nucleic acids research*, *29*(9), e45-e45.

Rahemi, S., Khorassani, R., & Halajnia, A. (2014). Uptake efficiency of Iron in different wheat varieties. *Water and Soil*, *28*(3), 556-564.

Ramesh, S. A., Choimes, S., & Schachtman, D. P. (2004). Over-expression of an Arabidopsis zinc transporter in Hordeum vulgare increases short-term zinc uptake after zinc deprivation and seed zinc content. *Plant Molecular Biology*, *54*, 373-385.

Satyavathi, C. T., Ambawat, S., Khandelwal, V., & Srivastava, R. K. (2021). Pearl millet: a climate-resilient nutricereal for mitigating hidden hunger and provide nutritional security. *Frontiers in Plant Science*, *12*, 659938.

Sinclair, S. A., & Krämer, U. (2012). The zinc homeostasis network of land plants. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, *1823*(9), 1553-1567.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). Photosynthesis: physiological and ecological considerations. *Plant Physiology*, *9*, 172-174.

Teymouri Rad L, Fayaz Moghaddam A, Abdollahi Mandoulakani B, Wehbi E. (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*, *14*(42), 106-116.

Tiong, J., McDonald, G., Genc, Y., Shirley, N., Langridge, P., & Huang, C. Y. (2015). Increased expression of six ZIP family genes by zinc (Zn) deficiency is associated with enhanced uptake and root-to-shoot translocation of Zn in barley (*Hordeum vulgare*). *New Phytologist*, *207*(4), 1097-1109.

Tuteja, N., & Gill, S. S. (2012). *Crop improvement under adverse conditions*. Springer.

Verma, V., Ravindran, P., & Kumar, P. P. (2016). Plant hormone-mediated regulation of stress responses. *BMC Plant Biology*, *16*, 1-10.

Vert, G., Grotz, N., Dédaldéchamp, F., Gaymard, F., Guerinot, M. L., Briat, J.-F., & Curie, C. (2002). IRT1, an Arabidopsis transporter essential for iron uptake from the soil and for plant growth. *The Plant Cell*, *14*(6), 1223-1233.

Von Grebmer, K., Saltzman, A., Birol, E., Wiesman, D., Prasai, N., Yin, S., Yohannes, Y., Menon, P., Thompson, J., & Sonntag, A. (2014). *Synopsis: 2014 global hunger index: The challenge of hidden hunger* (Vol. 83). Intl Food Policy Research Institute.

Wang, M., Gong, J., & Bhullar, N. K. (2020). Iron deficiency triggered transcriptome changes in bread wheat. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, *18*, 2709-2722.

[Downloaded from jcb.sanru.ac.ir on 2026-01-29]

[DOI: 10.61186/jcb.16.3.52]