"نشریه علوم زراعی ایران"
جلد بیست و یکم، شماره ٤، زمستان ۱۳۹۸

مقاله پژوهشی

اثر تنش کمبود روی بر الگوی بیان ژن‌های رمزکننده فاکتورهای رونویسی *bZIP4*، *bZIP79* و *bZIP97* در ارقام گندم نان (*Triticum aestivum* L.)

Effect of Zn deficiency stress on expression pattern of genes encoding *bZIP4*, *bZIP79* and *bZIP97* transcription factors in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars

مینا اختیاری[۱] و بابک عبدالهی مندولکانی[۲]

چکیده

اختیاری، م. و ب. عبدالهی مندولکانی. ۱۳۹۸. اثر تنش کمبود روی بر الگوی بیان ژن‌های رمزکننده فاکتورهای رونویسی *bZIP4*، *bZIP79* و *bZIP97* در ارقام گندم نان (*Triticum aestivum* L.). **نشریه علوم زراعی ایران. ۲۱(٤): ۳۵۳-۳٤٤.**

به منظور بررسی اثر تنش کمبود روی (Zn) بر بیان ژن‌های رمزکننده فاکتورهای رونویسی *bZIP4*، *bZIP79* و *bZIP97* در ارقام روی-کارا و روی-ناکارا گندم نان، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۵ در دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه اجرا شد. ارقام گندم بیات (روی-کارا) و هیرمند (روی-ناکارا) در شرایط کمبود روی خاک و کفایت آن کشت و بیان ژن‌های رمز کننده این سه فاکتور رونویسی در برگ و ریشه ارقام در دو مرحله؛ آغاز رشد طولی ساقه اصلی (رویشی) و ۳۰ درصد ظهور سنبله (زایشی) با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی (Real time PCR) اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که برهمکنش رقم در اندام در مرحله نمونه‌برداری بر بیان هر سه ژن معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان افزایش بیان ژن *bZIP4* (بیش از ٦٥ برابر شاهد) در شرایط کمبود روی، در برگ رقم بیات (روی-کارا) در مرحله زایشی مشاهده شد. بیشترین میزان افزایش بیان ژن‌های *bZIP79* و *bZIP97* (به ترتیب بیش از ۳۱ و ٦۰ برابر شاهد) در شرایط کمبود روی، در ریشه رقم بیات (روی-کارا) در مرحله زایشی مشاهده شد. در مرحله رویشی تفاوت معنی‌داری بین ارقام روی-کارا و روی-ناکارا از لحاظ میزان بیان ژن‌ها مشاهده نشد. با توجه به افزایش بیان معنی‌دار ژن‌های رمزکننده هر سه فاکتور رونویسی در شرایط کمبود روی در مرحله زایشی نسبت به مرحله رویشی، به نظر می‌رسد که رونوشت برداری ژن‌های رمزکننده ناقل‌های دخیل در جذب و انتقال روی (ژن‌های *ZIP*) در گندم نان، در انتهای دوره رشد گیاه فعال می‌شوند. همچنین با توجه به افزایش بیان معنی‌دار ژن *bZIP4* در برگ و ژن‌های *bZIP79* و *bZIP97* در ریشه، احتمالا وظیفه اصلی ژن *bZIP4* فعال‌سازی ناقل‌های دخیل در انتقال روی در داخل گیاه و ژن‌های *bZIP79* و *bZIP97* فعال‌سازی ناقل‌های دخیل در جذب روی از خاک در شرایط کمبود روی می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بیان ژن، فاکتور رونویسی *bZIP*، کمبود روی، گندم نان و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۰۳ این مقاله مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می باشد.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
۲- دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه (مکاتبه کننده) (پست الکترونیک: b.abdollahi@urmia.ac.ir)

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]
[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]

[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]

مقدمه

گندم نان (*Triticum aestivum* L.) مهم‌ترین محصول زراعی در بین غلات به شمار می‌رود (Kasirajan *et al*., 2013). گندم بیش از ۲۰ درصد کالری مورد نیاز جمعیت جهان را تامین می‌کند و در ایران منبع اصلی کربوهیدرات به شمار می‌رود. سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد (فائو) میزان تولیدات جهانی گندم در سال ۲۰۱۷ را ۵۰۴ میلیون تن برآورد کرد. در سال ۲۰۱۷ در ایران بالغ بر ۱۳/۵ میلیون تن گندم تولید شد. سازمان فائو گزارش نموده است که تقاضای جهان برای گندم از ۵۵۲ میلیون در ۱۹۹۳ به ۷۷۵ میلیون تن در سال ۲۰۲۰ افزایش خواهد یافت، در حالی است که تغییرات آب و هوایی منجر به کاهش عملکرد گندم خواهد شد. ایران یک درصد جمعیت جهان را دارد، ولی ۲/۵ درصد گندم جهان را مصرف می‌کند (Ahmadi-Niari *et al*., 2013; Bahari *et al*., 2013).

تنش‌های محیطی مهم‌ترین عوامل کاهش دهنده عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان محسوب می‌شوند (Nakabayashi and Saito, 2015). از جمله تنش‌های محیطی که امروزه مورد توجه قرار گرفته، تنش ناشی از کمبود ریزمغذی‌ها (عناصر کم‌مصرف) است. عناصر کم‌مصرف سوخت و ساز مواد غذایی را در بدن انسان تنظیم می‌کنند و کمبود آنها، سلامت انسان را به خطر می‌اندازد. حدود ۳۰ سال قبل سوءتغذیه فقط مفهومی معادل کمبود دریافت پروتئین و انرژی داشت، اما امروزه نگرش جهانی به مفهوم سوءتغذیه تغییر کرده و علاوه بر پروتئین و انرژی، گستره وسیعی از عناصر کم‌مصرف را شامل می‌شود. بعلاوه، ریزمغذی‌ها از عناصر ضروری مورد نیاز گیاهان هستند که در فرایندهای مربوط به فتوسنتز و رشد و نمو گیاه مشارکت می‌کنند و کمبود آنها تأثیر بسزایی در کاهش کمیّت و کیفیّت محصولات کشاورزی دارد (Cole *et al*., 2010). در بین عناصر کم مصرف، روی (Zn) به دلیل نقش آن در سنتز هورمون‌های گیاهی اهمیّت بسزایی دارد. روی تنها فلزی است که در تمامی شش گروه آنزیم‌ها (اکسیدوردوکتازها، ترانسفرازها، هیدرولیزها، لیازها، ایزومرازها، و لیگازها) وجود دارد (Coleman, 1998). در تغذیه انسان، کمبود روی یکی از پنج کمبود بزرگ ریزمغذی‌ها همراه با آهن، ید، ویتامین A و سلنیوم شناخته شده است (Welch and Graham, 1999). این کمبودها باعث اختلال در باروری و سلامت انسان‌ها، خصوصا در زنان و نوزادان و در خانواده‌های کم درآمد می‌شود (Mason and Garcia, 1993). کمبود روی در گیاهان، به عنوان عامل کاهش زیست توده، نکروزه شدن و بد شکل شدن برگ‌ها محسوب شده و باعث کاهش عملکرد نیز می‌شود (Marschner, 1995). ساکال و همکاران (Sakal *et al*., 1988) گزارش کردند که هرچه حاصلخیزی خاک بیشتر باشد، میزان تخلیه روی بیشتر خواهد بود، به عبارت دیگر با افزایش محتوای روی خاک، مقدار جذب کل روی توسط گیاه گندم افزایش می‌یابد.

گیاهان از طریق فعال‌سازی ژن‌های القا کننده تغییرات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی و متابولیکی در اندام‌های خود با تنش‌های محیطی مقابله می‌کنند. فاکتورهای رونویسی نقش موثری در القای رونوشت‌برداری این ژن‌ها دارند. این فاکتورها معمولا بر اساس دومین‌های متصل شونده به DNA طبقه‌بندی می‌شوند. از جمله این فاکتورهای رونویسی، خانواده bZIP است که به عنوان یک عامل پیام‌رسان وابسته به هورمون آبسزیک اسید برای اولین بار در گیاه آرابیدوپسیس شناسایی شده است (Alves *et al*., 2013). این فاکتورهای رونویسی دارای ناحیه‌ای است که به DNA و موتیف Leucin zipper متصل می‌شود (Jakoby *et al*., 2002). گروه F از فاکتورهای رونویسی bZIP باعث القای بیان ژن‌های *ZIP* در شرایط کمبود روی می‌شوند. ژن‌های رمزکننده پروتئین‌های

ZIP در جذب روی از محیط رشد به سیتوپلاسم سلول‌های ریشه‌ای و انتقال آن در داخل گیاه دخالت دارند. در شرایط طبیعی یون‌های Zn^{2+} به ناحیه غنی از سیستئین-هیستیدین این فاکتورها متصل و آنها را غیر فعال می‌سازند. به محض کاهش غلظت Zn^{2+} در محیط سلول، این یون‌ها از فاکتورهای رونویسی جدا شده و این فاکتورها به توالی‌های پاسخ دهنده به روی در ژن‌های ZIP متصل و باعث رونویسی آنها می‌شوند (Maser *et al.*, 2001). ایونس و همکاران (Evens *et al.*, 2017) اهمیت گروه F از فاکتورهای رونویسی bZIP و ژن‌های *ZIP* را در پاسخ به کمبود روی در گیاه گندم نان بررسی کردند. در این تحقیق بیان چهار ژن *bZIPF1-7DL*، *bZIPF4-7DL*، *bZIPF4-7AL* و *bZIPF3b-7BL* مطالعه شد. این ژن‌ها تحت شرایط کمبود روی در ریشه و اندام‌های هوایی گیاه بیان شدند، اما میزان بیان آنها متفاوت بود. ژن‌های *bZIPF3b-7BL*، *bZIPF4-7AL* و *bZIPF4-7DL* بیشترین تغییر در الگوی بیان را (در ریشه و شاخه) در شرایط کمبود روی نشان دادند، اما ژن *bZIPF1-7DL* در پاسخ به کمبود روی بیان کندتری داشت. این گزارشات نشان می‌دهند که ژن‌های رمزکننده فاکتورهای رونویسی bZIP در تنش کمبود روی در گیاهان نیز همانند سایر تنش‌های زنده و غیر زنده نقش اساسی دارند. با توجه اهمیت گروه F فاکتورهای رونویسی bZIP واینکه تاکنون الگوی بیان ژن‌های رمزکننده سه فاکتور رونویسی *bZIP4*، *bZIP79* و *bZIP97* در گندم نان در شرایط کمبود روی مطالعه نشده است، این تحقیق با هدف بررسی بیان ژن‌های رمزکننده این سه فاکتور رونویسی در برگ و ریشه ارقام روی-کارا و روی- ناکارا گندم نان در مراحل مختلف رشد در شرایط کمبود روی اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه اجرا شد. بذور ارقام گندم بیات (روی-کارا) و هیرمند (روی- ناکارا) (Baghban-Tabiat and Rasouli-Sadaghiani, 2012) در دو سطح روی صفر (کمبود روی) و ۵ (کفایت روی) میلی‌گرم روی در کیلوگرم خاک کشت شدند. خاک تهیه شده از یک بستر شنی در منطقه شبستر تبریز (دارای کمترین محتوای روی) بعد از غربال با الک دو میلی‌متری، پنج بار با آب معمولی و سپس یک بار با آب دوبار تقطیر شسته شد تا میزان روی خاک به کمترین حد ممکن برسد. قبل از کشت، آزمایش تجزیه خاک انجام شد تا از کمبود روی آن اطمینان حاصل شود (جدول ۱). سپس مواد غذایی مورد نیاز (جدول ۲) با خاک مخلوط شد. در هریک از گلدان‌های پلی‌اتیلنی به قطر ۱۱ و ارتفاع ۳۴ سانتیمتر، چهار کیلوگرم خاک ریخته و بذور ضدعفونی شده (با الکل ۷۰ درصد) در آن کاشته شدند. علاوه بر مواد غذایی، به خاک نیمی از گلدان‌ها پنج میلی گرم در کیلوگرم خاک عنصر روی (تیمار کفایت روی) از منبع سولفات روی ($ZnSO_4.7H_2O$) افزوده شد. در طول فصل به منظور جلوگیری از آلودگی روی، از آب دو بار تقطیر برای آبیاری گلدان‌ها در حد ظرفیت زراعی استفاده شد.

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

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

شن Sand (%)	سیلت Silt (%)	رس Clay (%)	روی Zn ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم K ($mg.kg^{-1}$)	فسفر P ($mg.kg^{-1}$)	نیتروژن N (%)	ماده آلی Organic matter (%)	آهک CaCO3 (%)	اسیدیته pH	شوری Ec ($mmohs.cm^{-1}$)
96	1	3	0.15	9.4	2.5	0.61	0.69	9	7.8	1.19

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]

[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]

جدول ۲- ترکیب محلول غذایی مورد استفاده در آزمایش

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

ترکیبات Ingredients	مقدار Amount (ml.kg^{-1})	غلظت Concentration (g.l^{-1})
K_2SO_4 / KH_2PO_4	3	48.407 / 30.242
NH_4NO_3 / $CaCl_2.2H_2O$	1	93 / 147.016
$MgSO_4.7H_2O$	1	20.5
$MnSO_4.H_2O$ / $Na_2MoO_4.2H_2O$ /$CuSO_4.5H_2O$ / H_3BO_3	2	7.5 / 0.083 / 1.05 / 0.33
$ZnSO_4.7H_2O$	1.67	13.14

برای جلوگیری از کمبود نیتروژن، محلول نیترات آمونیوم هر دو هفته یک بار به گلدان‌ها اضافه شد. جهت مطالعه بیان ژن، نمونه‌برداری در دو مرحله؛ آغاز رشد طولی ساقه اصلی (رویشی) و ۳۰ درصد سنبله‌دهی (زایشی) از برگ‌ها و ریشه گیاهان انجام و نمونه‌ها در داخل نیتروژن مایع به فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد منتقل شدند.

استخراج RNA از برگ و ریشه گیاهان با استفاده از محلول RNX-plus™ (سیناکلون، ایران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده با کمی تغییرات انجام شد. کمیت و کیفیت RNA با استفاده از دستگاه نانودراپ (Thermo, USA) و الکتروفورز ژل آگارز یک درصد تعیین شد. جهت سنتز cDNA از کیت RevertAid First Strand cDNA Synthesis (Fermentas, Germany) استفاده شد. همچنین قبل از سنتز cDNA، تیمار DNase (بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده) جهت حذف آلودگی DNA ژنومی انجام گرفت. برای اطمینان از عدم وجود آلودگی DNA ژنومی و اجزای واکنش و صحت سنتز cDNA، واکنش‌های کنترل شامل RT- (عدم استفاده از آنزیم Reverse transcriptase در مرحله سنتز) و NTC (عدم استفاده از RNA در مرحله سنتز) و همچنین واکنش کنترل مثبت (سنتز cDNA با استفاده از RNA ژن Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase موش موجود در کیت) طبق دستورالعمل شرکت سازنده در نظر گرفته شد. برای مطالعه میزان بیان ژن‌های رمزکننده فاکتورهای رونویسی *bZIP4*، *bZIP79* و *bZIP97* (Li *et al*., 2015; Evens *et al*., 2017)، توالی نواحی رمزکننده آنها از پایگاه اطلاعاتی Ensemble گندم استخراج و آغازگرهای اختصاصی (جدول ۳) با استفاده از نرم‌افزارهای FastPCR و Gene Runner طراحی شدند.

واکنش‌های Real time PCR با در نظر گرفتن سه تکرار زیستی در حجم ۱۲/۵ میکرولیتر طبق دستورالعمل کیت qPCR SYBR Green/ROX

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

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

نام ژن Gene	شماره دسترسی Accession number	توالی آغازگر Primer sequence	دمای اتصال Annealing temperature (°C)	طول محصول Amplicon length (bp)
bzip97	TRIAE_CS42_5BS_TGACv1_423566_AA1379610	F: agaacgtcgatttggtttctgg R: cgatagttctcatctgcattcctg	60	126
bzip4	TRIAE_CS42_1AL_TGACv1_001373_AA0029470	F: ctgcttcaacaatggcaactc R: tcatcgaacctgtaatccgcag	60	129
bzip79	TRIAE_CS42_3B_TGACv1_221777_AA0749730	F: gaggagaatctagcttgttggcac R: tacacgctaggaactcatcgaagc	60	87
Actin3	KX533928	F: gacgcacaacaggtatcgtgttg R: agcgaggtcaagacgaaggatg	60	107

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]

[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]

Maser Mix (Fermentas, Germany) در دستگاه Rotor-Gene Q (Rotor-Gene 6000, Qiagene, USA) انجام شد. از ژن اکتین به عنوان ژن مرجع در واکنش‌ها استفاده شد. چرخه‌های زمانی تکثیر ژن‌ها، با توجه به توالی آغازگرها و اندازه محصول تکثیری شامل فعال‌سازی آغازین آنزیم در دمای ۹۵ درجه به مدت ۱۰ دقیقه در چرخه اول و سپس ۴۰ چرخه شامل مراحل واسرشت‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و متصل شدن آغازگرها در دماهای اتصال ویژه هر ژن (جدول ۲) به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله بسط در دمای ۷۲ درجه به مدت ۴۰ ثانیه انجام شد. 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 تایید شد. کمیت نسبی به وسیله اندازه‌گیری افزایش نور فلورسنت در نتیجه اتصال رنگ با نرم افزار Rotor-Gene Q تعیین شد. پس از پایان واکنش‌ها، مقدار حد آستانه به گونه‌ای در نظر گرفته شد که علائم فلورسنت را در فاز نمایی قطع کند. بعد از محاسبه حد آستانه با این نرم‌افزار، مقدار بیان نسبی ژن‌های مورد نظر در گیاهان تیمار شده نسبت به شاهد با استفاده از روش $\Delta\Delta CT$ محاسبه شد. به منظور بررسی نرمال بودن داده‌ها و اشتباهات آزمایشی از روش کلموگراف-اسمیرنوف در نرم‌افزار MINITAB (نسخه ۱۹) و برای تجزیه واریانس از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۱) استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش SNK در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که برهمکنش بافت در رقم در مرحله نمونه‌برداری بر بیان نسبی هر سه ژن *bZIP4*، *bZIP79* و *bZIP97* معنی‌دار بود، بنابراین مقایسه میانگین این برهمکنش انجام گرفت.

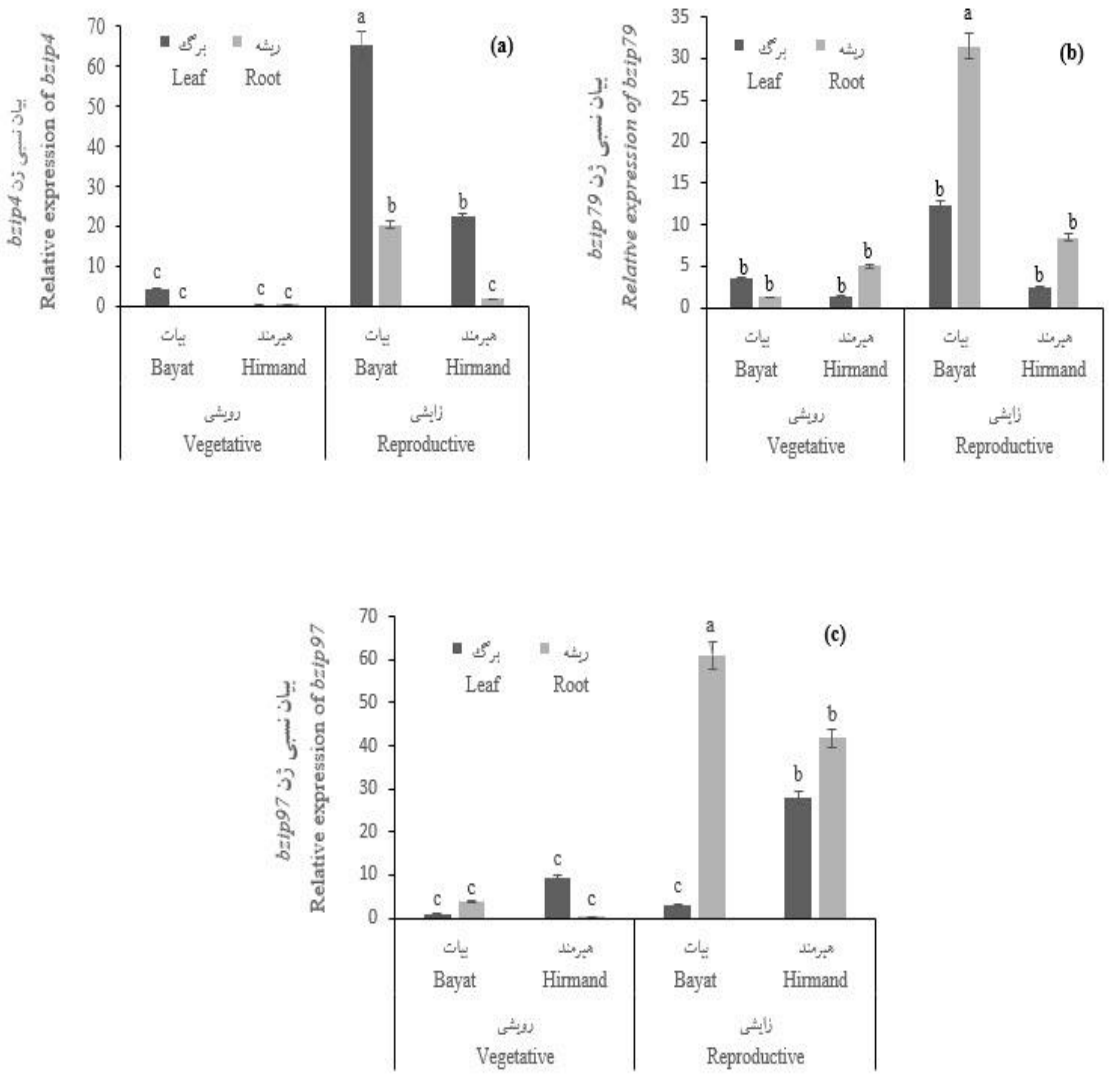
مقایسه میانگین برهمکنش بافت در رقم در مرحله نمونه‌برداری بر بیان ژن‌های مورد مطالعه نشان داد که در شرایط کمبود روی بیشترین میزان افزایش بیان ژن *bZIP4* (بیش از ۶۵ برابر نسبت به شاهد) در برگ رقم بیات (روی- کارا) در مرحله زایشی مشاهده شد. در ریشه همین رقم و در برگ رقم هیرمند (روی- ناکارا) نیز میزان بیان این ژن در مرحله زایشی در شرایط کمبود روی بیش از ۲۰ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱-a). بیشترین میزان افزایش بیان ژن *bZIP79* (بیش از ۳۱ برابر شاهد) در شرایط کمبود روی، در ریشه رقم بیات (روی-کارا) در مرحله زایشی مشاهده شد. البته در برگ همین رقم و در ریشه رقم هیرمند (روی- ناکارا) نیز در همین مرحله میزان بیان این ژن به ترتیب ۱۲/۲۵ و ۸/۴۱ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۱-b). بیشترین میزان افزایش بیان ژن *bZIP97* (بیش از ۶۰ برابر شاهد) در شرایط کمبود روی در ریشه رقم بیات (روی-کارا) در مرحله زایشی مشاهده شد. البته میزان بیان این ژن در مرحله زایشی در ریشه و برگ رقم هیرمند (روی- ناکارا) نیز بطور قابل توجهی افزایش یافت (شکل ۱-c). در مرحله رویشی تفاوت معنی‌داری بین ارقام روی-کارا و روی- ناکارا به لحاظ میزان بیان ژن‌های مورد مطالعه مشاهده نشد.

در گیاهان در شرایط تنش به محض درک و تشخیص تغییرات درون سلولی، مسیرهای پیام رسانی مختلفی جهت تبدیل تنش فیزیکی به یک پاسخ بیوشیمیایی مناسب شروع شده و هریک از آنها بیان یک دسته خاص از ژن‌های پاسخ دهنده به تنش را باعث می‌شوند. شناسایی این گونه ژن‌ها و تعیین الگوی بیان آنها در پاسخ به انواع تنش‌ها باعث می‌شود تا درک بهتری از عملکرد آنها در سازگار نمودن گیاهان به انواع تنش‌ها حاصل شود و راهکارهای مؤثری در اصلاح گیاهان جهت افزایش تحمل به تنش شناسایی شود (Khavarinejad and Babajanov 2011).

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]
[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]

خانواده bZIP یکی از مهم‌ترین گروه فاکتورهای رونویسی هستند که در رونوشت برداری تعداد زیادی از ژن‌های پاسخ دهنده به تنش‌ها دخالت دارند (Hwang *et al.*, 2014). گروه F از فاکتورهای رونویسی bZIP در القای بیان ژن‌های رمزکننده پروتئین‌های اقل دخیل در جذب روی از محیط رشد به سیتوپلاسم سلول‌های ریشه‌ای و انتقال آن در داخل گیاه (پروتئین‌های ZIP)، نقش موثری دارند. در شرایطی که میزان روی در محیط سلول کافی باشد، یون‌های Zn^{2+} به ناحیه غنی از سیستئین-هیستیدین این عوامل رونویسی متصل و از رونویسی آنها جلوگیری می‌کنند. به محض کاهش غلظت Zn^{2+} در محیط سلول، این یون‌ها از فاکتورهای رونویسی جدا شده و این پروتئین‌ها با اتصال به توالی‌های پاسخ دهنده به روی در ژن‌های ZIP باعث رونویسی آنها و در نتیجه جذب روی می‌شوند (Durmaz *et al.*, 2011; Maser *et al.*, 2001). افزایش بیان ژن‌های *bZIP* در آزمایش حاضر در شرایط کمبود روی، احتمالا به دلیل نقش آنها به عنوان فاکتورهای رونویسی در القای بیان ژن‌های *ZIP* است. در تحقیق مشابهی در گیاه آرابیدوپسیس بیان ژن‌های رمزکننده فاکتورهای رونویسی *AtbZIP19* و *AtbZIP23* در شرایط کمبود روی نسبت به شاهد، دو برابر شد، در حالیکه بیان ژن *AtbZIP24*، یکی دیگر از اعضای گروه F این فاکتورهای رونویسی تحت همین شرایط تغییری نداشت (Assunção *et al.*, 2010). نضری و همکاران (Nazri *et al.*, 2017) در آزمایشی که روی جو در شرایط کمبود روی خاک انجام دادند گزارش کردند که ژن‌های *HvbZIP1*، *HvbZIP10* و *HvbZIP58* به طور قابل توجهی در ریشه‌ها و اندام‌های هوایی بیان می‌شوند، در حالیکه ژن *HvbZIP57* فقط در ریشه به مقدار کمی بیان می‌شود. همچنین در بیان ژن‌های *HvbZIP56* و *HvbZIP62* در شرایط کمبود روی تغییری مشاهده نشد. ایونس و همکاران (Evens *et al.*, 2017) اهمیت گروه F از فاکتورهای رونویسی bZIP و ژن‌های *ZIP* را در پاسخ به کمبود روی در گندم نان بررسی کردند. در آزمایش آنها بیان چهار ژن *bZIPF1-7DL*، *bZIPF4-7DL*، *bZIPF4-7AL* و *bZIPF3b-7BL* مورد مطالعه قرار گرفت. این ژن‌ها در شرایط کمبود روی در ریشه و اندام‌های هوایی بیان شدند، اما میزان بیان آنها متفاوت بود. ژن‌های *bZIPF3b-7BL*، *bZIPF4-7AL* و *bZIPF4-7DL* بیشترین تغییر در الگوی بیان را (در ریشه و اندام‌های هوایی) در شرایط کمبود روی داشتند، اما ژن *bZIPF1-7DL* در پاسخ به کمبود روی بیان کندتری داشت. این گزارشات نشان می‌دهد که ژن‌های رمزکننده فاکتورهای رونویسی bZIP در تنش کمبود روی در گیاهان همانند سایر تنش‌های زنده و غیر زنده نقش اساسی دارند. در آزمایش حاضر بیان ژن‌های *bZIP4* و *bZIP97* در شرایط کمبود روی در رقم بیات (روی-کارا) بیش از *bZIP97* افزایش یافت، بنابراین به نظر می‌رسد که فاکتورهای رونویسی bZIP4 و bZIP97 در القای بیان ژن‌های *ZIP* در شرایط کمبود روی در گندم نان بیشتر از فاکتور رونویسی bZIP79 موثر هستند. بعلاوه با توجه به افزایش بیان معنی‌دار ژن‌های رمزکننده هر سه فاکتور رونویسی در مرحله زایشی نسبت به مرحله رویشی در آزمایش حاضر، به نظر می‌رسد که رونوشت‌برداری ژن‌های رمزکننده ناقل‌های دخیل در جذب و انتقال روی (ژن‌های *ZIP*) در گندم نان، در انتهای دوره رشد گیاه (در مرحله سنبله‌دهی) فعال می‌شوند و روی موجود را بعد از جذب به دانه انتقال می‌دهند. با توجه به افزایش بیان معنی‌دار ژن *bZIP4* در برگ و ژن‌های *bZIP79* و *bZIP97* در ریشه، احتمالا وظیفه اصلی ژن *bZIP4* فعال‌سازی رونویسی ناقل‌های دخیل در انتقال روی در داخل گیاه و ژن‌های *bZIP79* و *bZIP97* فعال‌سازی رونویسی ناقل‌های دخیل در جذب روی از خاک در شرایط کمبود روی می‌باشد.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]
[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]



شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش بافت × رقم × مرحله نمونه‌برداری بر بیان ژن‌های *bZIP4* (a)، *bZIP79* (b) و *bZIP97* (c) در ارقام گندم نان بیات (روی-کارا) و هیرمند (روی- ناکارا) در شرایط کمبود روی. ستون‌هایی که دارای حروف مشترک هستند، بر اساس آزمون چند دامنه‌ای SNK در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی‌داری ندارند

Fig. 1. Mean comparison for tissue × cultivar × sampling stage on the expression of *bZIP4*, *bZIP79* and *bZIP97* genes in Bayat (Zn-efficient) and Hirmand (Zb-inefficient) bread wheat cultivars under Zn deficiency conditions. Columns with similar letters are not significantly different at 1% probability level, using SNK multiple range test

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بیان ژن‌های کدکننده هر سه فاکتور رونویسی *bZIP4*، *bZIP79* و *bZIP97* در مرحله زایشی (۳۰ درصد سنبله‌دهی)، بطور معنی‌داری بیشتر از مراحل رویشی افزایش می‌یابد، بنابراین احتمالا رونوشت‌برداری این فاکتورهای رونویسی جهت القای بیان ناقل‌های دخیل در جذب و انتقال روی (ژن‌های *ZIP*) در گندم نان، در مراحل انتهایی دوره رشد گیاه (در مرحله سنبله‌دهی) فعال می‌شوند و روی موجود عمدتا در مرحله شروع

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]
[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]
[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]

سنبله‌دهی به دانه منتقل می‌شود. همچنین افزایش بیان ژن *bZIP4* در برگ بیشتر از ریشه بود، ولی بر خلاف این ژن، بیان ژن‌های *bZIP79* و *bZIP97* در ریشه بیشتر از برگ افزایش یافت. در ادامه تحقیق حاضر لازم است میزان بیان سایر ژن‌های *bZIP* و همچنین سایر ژن‌های رمزکننده فاکتورهای رونویسی در شرایط کمبود روی در گندم نان مورد ارزیابی قرار گرفته و همبستگی آنها با سطوح بیان ژن‌های *ZIP* در برگ و ریشه و همچنین با میزان تجمع روی در ریشه، اندام‌های هوایی و دانه بررسی شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه بخاطر فراهم کردن امکانات و هزینه انجام تحقیق قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

References

Ahmadi-Niari, A., A. Faramarzi, and D. Hassanpanah. 2013. Evaluation of drought tolerance indices for screening bread wheat genotypes in drought stress conditions. J. Curr. Eng. Allied Sci. 3(1): 23-27.

Alves, M. S., S. P. Dadalto, A. B. Gonçalves and G. B. De Souza. 2013. Plant bZIP transcription factors responsive to pathogens. Int. J. Mol. Sci. 14: 7815-7828.

Assunção, A. G., E. Herrero, Y. F. Lin, B. Huettel, S. Talukdar, C. Smaczniak and M. G. Aarts. 2010. *Arabidopsis thaliana* transcription factors bZIP19 and bZIP23 regulate the adaptation to zinc deficiency. PNAS, 107: 10296-10301.

Baghban-Tabiat, S. and M. H. Rasouli-Sadaghiani, M. 2012. Investigation of Zn utilization and acquisition efficiency in different wheat genotypes at greenhouse conditions. J. Sci. Tech. Greenhouse Cult. 3: 17-32. (In Persian with English abstract).

Bahari N., B. Bahari Bighdilu and L. Karpisheh. 2013. Evaluation of drought tolerance of bread wheat genotypes by stress and sensitivity tolerance indices. Ann. Biol. Res. 4(1): 43-47.

Cole, C. R., F. K. Grant, E. D. Swaby-Ellis, J. L. Smith, A. Jacques, C. A. Northrop-Clewes, K. L. Caldwell, C. M. Pfeiffer, and T. R. Ziegler, 2010. Zinc and iron deficiency and their interrelations in low-income African American and Hispanic children in Atlanta. Am. J. Clin. Nutr. 91(4): 1027-1034.

Coleman, J. E. 1998. Zinc enzymes. Curr. Opinion Chem. Biol. 2: 222-234.

Durmaz, E., C. Coruh, G. Dinler, M. A. Grusak, Z. Peleg, Y. Saranga, T. Fahima, A. Yazici, L. Ozturk, I. Cakmak and H. Budak. 2011. Expression and cellular localization of ZIP1 transporter under zinc deficiency in wild emmer wheat. Plant Mol. Biol. Rep. 29(3): 582-596.

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* L.). Plant J. 92: 291-304.

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: 194-202.

Jakoby, M., B. Weisshaar, W. Droge-Laser, J. Vicente-Carbajosa, J. Tiedemann, T. Kroj and F. Parcy.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]

[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]

2002. bZIP transcription factors in Arabidopsis. Trend. Plant Sci. 7: 106-111.

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.). Afric. J. Biotech. 12(6): 531-538.

Khavarinejad M. S. and A. V. Babajanov. 2011. Identification of relationships of quantitative and morphological traits to spring wheat genotype yields in drought levels of Mazandaran (north of Iran). Int. J. Agric. Sci. 1(6): 329-339.

Li, X., S., Gao, Y., Tang, F., Zhang, B., Feng, Z., Fang, L., Ma and C. Zhao. 2015. Genome-wide identification and evolutionary analyses of bZIP transcription factors in wheat and its relatives and expression profiles of anther development related TabZIP genes. BMC Genomics. 16: 1-21.

Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London, UK.

Maser, P., S., Thomine and J. I. Schroeder. 2001. Phylogenetic relationships within cation transporter families of Arabidopsis. Plant Physiol. 126: 1646-1667.

Mason, J. B. and M. Garcia. 1993. Micronutrient deficiency-the global situation. SCN News. 9: 11-16.

Nakabayashi, R. and K., Saito. 2015. Integrated metabolomics for abiotic stress responses in plants. Curr. Opin. Plant Biol. 24: 10-16.

Nazri, A. Z., J. H. C., Griffin, K. A., Peaston, D. G. A., Alexander-Webber and L. E., Williams. 2017. F-group bZIPs in barley-a role in Zn deficiency. Plant Cell Environ. 40: 2754-2770.

Sakal, R., A. P., Singh and R. B. Sinha. 1988. Effect of different soil fertility levels on response of wheat to zinc application on calciorthent. J. Indian Soc. Soil Sci. 36: 125-127.

Welch, R. M., and R. D. Graham. 1999. A new paradigm for world agriculture: meeting human needs: productive, sustainable, nutritious. Field Crops Res. 60(1): 1-10.

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]

[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]

Effect of Zn deficiency stress on expression pattern of genes encoding *bZIP4, bZIP79* and *bZIP97* transcription factors in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars

Ekhtiyari, M.[1] and B. Abdollahi Mandoulakani[2]

ABSTRACT

Ekhtiyari, M. and B. Abdollahi Mandoulakani. 2020. Effect of Zn deficiency stress on expression pattern of genes encoding *bZIP4*, *bZIP79* and *bZIP97* transcription factors in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars**. Iranian Journal of Crop Sciences. 21(4): 344-353. (In Persian).**

A factorial experiment (based on completely randomized design) with three replications was conducted in faculty of agriculture of Urmia University, Iran in 2016 to investigate the effect of soil Zn deficiency on the expression of genes encoding *bZIP4*, *bZIP79* and *bZIP97* transcription factors in Zn-efficient and Zn-inefficient bread wheat cultivars. Cv. Bayat (Zn-efficient) and cv. Hirmand (Zn-inefficient) were grown under soil Zn deficient and Zn sufficent conditions. The expression levels of three above-mentioned transcription factors were measured using Real time PCR technique in leaf and root of the cultivars at two growth stages; beginning of stem elongation (vegetative) and 30% of heading (reproductive). Analysis of variance showed that the interaction effect of cultivar × tissue × sampling time was significant on the expression of three studied genes. The mean comparison revealed that the highest expression level of *bZIP4* (more than 65 fold change) in the leaf of Zn-efficient cultivar (Bayat) at vegetative stage under Zn deficiency conditions. The highest expression of *bZIP79* and bZIP97 genes (more than 31 and 60 fold change, respectively) observed in the root of Bayat cultivar at vegetative stage under Zn deficiency conditions. No significant difference was found between Zn-efficient and Zn-inefficient cultivars for the expression level of three studied genes at the vegetative stage. Considering the significant increase in expression of all studied genes at vegetative stages, it may be concluded that the mRNA transcription of the transporter genes involved in Zn uptake and translocation (*ZIP* genes), are activated at the heading stage of the two bread wheat cultivars. Moreover, according to the increased expression of *bZIP4* in leaf, and *bZIP79* and *bZIP97* in root, the possible role of *bZIP4* and *bZIP79*, and *bZIP97* might be the transcriptional activation of *ZIP* genes involved in Zn translocation within the plant and Zn uptake from soil, respectively, under soil Zn deficiency conditions.

Key words: Bread wheat, *bZIP* transcription factor, Gene expression, Real time PCR and Zn deficiency.

Received: February, 2019 Accepted: September, 2019

1. MSc Student, Urmia University, Urmia, Iran
2. Associate Prof., Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding author) (Email: b.abdollahi@urmia.ac.ir)

[Downloaded from agrobreedjournal.ir on 2025-07-13]

[DOR: 20.1001.1.15625540.1398.21.4.4.0]

[DOI: 10.29252/abj.21.4.344]