



## تجزیه و تحلیل الگوی تظاهر ژنی جهت شناخت ساختار مولکولی تحمل به تنش خشکی در برنج

توسط:

علی مومنی<sup>۱</sup>، شوشی کیکوچی<sup>۲</sup>، هی لیونگ<sup>۳</sup>

### چکیده

خشکی و کم آبی در مناطق مختلف جهان از عوامل محیطی بسیار موثر در کاهش سطح کشت و همچنین تولید محصولات زراعی در اراضی در معرض تنش می باشد. از میان محصولات زراعی، برنج در رتبه اول از لحاظ میزان تولید در جهان قرار دارد. این محصول همچنین بعد از گندم نقش مهمی در تامین غذای مردم ایران دارد. معهذ، تنش خشکی و کم آبی، به ویژه در سال های اخیر، نقش بسزایی در میزان محصول تولیدی برنج از لحاظ سطح و میزان عملکرد داشته است و پیش بینی می شود تا این مسئله در آینده به صورت بسیار جدی بروز نماید. از اینرو اصلاح برنج جهت تحمل به تنش خشکی یکی از محورهای اصلی در برنامه های اصلاحی برنج در مناطقی که تحت تنش خشکی و یا در معرض خشکی هستند، از جمله ایران می باشد. تحمل به خشکی صفتی کمی و پیچیده ای می باشد که ژن های متعددی از مسیرهای مختلفی را در بر می گیرد. از اینرو شناخت دقیق مکانیسم های تحمل به شوری و ژن های مرتبط در ایجاد تحمل به تنش خشکی می تواند به محققان در یافتن راهی جهت غلبه بر مشکل تنش خشکی و کم آبی کمک شایانی نماید. از اینرو استفاده از فناوری علمی و دقیق به همراه مواد ژنتیکی مناسب می تواند در رسیدن به این شناخت بسیار مفید واقع شوند. امروزه استفاده از تجزیه و تحلیل الگوی تظاهر ژنی مقایسه ای ( comparative gene expression analysis) براساس میکروآرای (microarray) با استفاده از ژنوتیپ های برنج با زمینه ژنتیکی تقریباً یکسان مانند لاین های تقریباً ایزوژن (near-isogenic line, NILs) ولی با درجه تحمل متفاوت در مقابل خشکی و تحت شرایط تنش طولانی به شناخت ژن ها و مکانیسم های مسئول تحمل به تنش خشکی کمک خواهد نمود. نتایج مطالعات بر روی تجزیه و تحلیل الگوی تظاهر ژنی با استفاده از لاین های تقریباً ایزوژن به همراه والد حساس آنها (IR64) ساختار بروز متفاوتی از عملکرد ژن ها را در لاین های متحمل و حساس تحت تیمارهای مختلف تنش خشکی نشان دادند. به عنوان مثال، تجزیه و تحلیل این الگوها براساس Gene ontology (GO) نشان داد که تحمل به خشکی در لاین بسیار متحمل منحصراً به افزایش تظاهر (up-regulation) ژن های مسئول در ترانسکریپشن مبتنی بر یون کلسیم (calcium ion binding)، فعالیت ترانسفرازها (transferase activity)، هیدرولازها (hydrolase activity)،

<sup>۱</sup> استادیار، موسسه تحقیقات برنج در مازندران، آمل، مازندران پست الکترونیکی: amoumeni@areo.ir

<sup>۲</sup> استاد، موسسه تحقیقات علوم آگروبیولوژیک، تسوکوبا، ژاپن

<sup>۳</sup> استاد، موسسه تحقیقات بین المللی برنج، لوس بانوس، فیلیپین



عوامل رونویسی (transcription factor activity) مرتبط بود در حالی که در لاین نیمه متحمل ژن هایی که مسئول فعالیت انتقال (transporter activity)، کاتالیتیک (catalytic activity) و مولکول های ساختمانی ( structural molecules) بودند در تحمل به خشکی در این ژنوتیپ نقش داشته اند.  
لغات کلیدی: تنش خشکی، میکرواری، الگوی تظاهر ژنی، لاین های تقریباً ایزوژن، برنج

#### مقدمه

گیاه برنج در ۹۵ کشور در جهان مورد کشت و کار قرار می گیرد و غذای اصلی بیش از نیمی از جمعیت مردم دنیا را تشکیل می دهد (فرخ و همکاران، ۲۰۰۹). برنج در محدوده وسیعی از محیط ها از جمله مناطقی که تولید محصولات دیگر ممکن نمی باشد، کشت و کار می شود. بواسطه افزایش جمعیت، برآورد شده است که میزان تقاضا برای مصرف برنج تا سال ۲۰۳۰ به حدود ۱۰۰۰ میلیون تن برسد ( فائو، ۲۰۰۲). جهت دستیابی به افزایش ۳۵ درصدی در تقاضای برنج، افزایش و بهبود معنی دار در تولید برنج، علیرغم تغییرات اقلیم و کم آبی مورد نیاز می باشد (بومن و همکاران، ۲۰۰۷). برنج در ایران نیز به عنوان محصول غذایی اصلی مردم پس از گندم می باشد و با توجه به میزان رشد جمعیت و در نتیجه افزایش تقاضا لزوم افزایش تولید برنج اجتناب ناپذیر می باشد. برنج در بیش از ۱۶ استان کشور تولید می شود (آمارنامه جهاد کشاورزی، ۱۳۸۸). خشکی یکی از مهمترین چالش ها و عوامل بازدارنده در تولید محصول برنج (*Oryza sativa* L.) در دنیا می باشد و عملکرد دانه برنج تحت تنش خشکی بشدت کاهش می یابد (سراج و همکاران، ۲۰۰۹). از اینرو " تولید محصول بیشتر به ازای هر قطره آب" در تولید پایدار محصول برنج بسیار مورد توجه می باشد (ویتکومب و همکاران، ۲۰۰۸). گیاه برنج، از جمله واریته های سازگار با سیستم آبیاری غرقابی از محصولات زراعی خانواده غلات می باشد که به تنش خشکی و کمبود آب در خاک بسیار حساس می باشد (پرنت و همکاران، ۲۰۱۰). بنابراین اصلاح زمینه ژنتیکی ژنوتیپ های برنج برای تحمل به تنش خشکی به ویژه در مرحله زایشی از روش های ایده آل جهت تولید پایدار این محصول در مناطق در معرض خشکی و خشکسالی است (سراج و همکاران، ۲۰۱۱). محققین بسیاری از رشته های مختلف در جهت فهم و تشخیص مکانیسم های تحمل به تنش خشکی با استفاده از روش های مختلف تلاش نمودند، ولی توفیق آنها قابل توجه نبوده است. انتظار می رود که با استفاده از روش های ژنومی و ژنتیکی مدرن به همراه ابزارهای دقیق ارزیابی فنوتیپی و اصلاحی در شناخت مسیرهای ژنی و متابولیسی (genes and metabolic pathways) کمک موثری نماید (میر و همکاران، ۲۰۱۲). در گذشته اصلاح برای تحمل به خشکی منحصر به مطالعه نحوه توارث صفات کمی مرتبط با تحمل به همراه شناخت ضعیف از ساختار فیزیولوژیکی عملکرد در شرایط کم آبی بوده است (سینکلر، ۲۰۱۱). در طی سال های گذشته ابزارها و نشانگرهای مختلف پروتئینی و مولکولی از قبیل نشانگرهای مبتنی بر آیزوزایمها (isozymes)، پروتئین های ذخیره ای (storage proteins)، مبتنی بر واکنش زنجیره ای پلیمرز (Polymerase Chain Reaction) از قبیل RAPD، و یا غیر مبتنی بر



PCR جهت شناسایی ژن ها و مکان های کمی پیوسته با صفات (quantitative trait loci) مختلف از جمله تحمل به تنش های زنده و غیر زنده مانند تنش خشکی در گیاهان مختلف و از جمله برنج توسعه داده شدند (کاتو و همکاران، ۲۰۰۸؛ سراج و همکاران، ۲۰۰۹). ولی هنوز اطلاعات ژنتیکی در زمینه شناسایی ساختار ژنتیکی و مولکولی صفات یاد شده ناکافی می باشد. در طی سال های اخیر فنآوری میکروآرای (microarray technology) مبتنی بر cDNA و یا الیگونوکلئوتید به عنوان ابزار قدرتمند جهت تجزیه و تحلیل الگوی تظاهر ژنی (gene expression profile) بویژه در گیاهان در معرض انواع تنش ها اهم از زنده و یا غیر زنده از جمله تنش خشکی توسعه داده شدند (شینوزاکی و شینوزاکی، ۲۰۰۷). در این روش تظاهر تعداد زیادی از ژن بطور همزمان مورد تجزیه و تحلیل قرار می گیرند و یا نواحی مختلف ژنوم با هم مقایسه می شوند.

در طی سال های اخیر مطالعات متعددی در برنج جهت مطالعه تحمل به تنش خشکی و یا سایر تنش ها و بر روی ارقام و ژرم پلاسما هتروژن انجام شده اند ( ژو و همکاران، ۲۰۰۹؛ دیچنکولبه و همکاران، ۲۰۰۹) و یا اینکه مطالعات تحت تنش های آبی و سریع خشکی در شرایط آزمایشگاهی انجام شده اند. جهت موفقیت در مطالعات همچنین تفکیک اثرات زمینه ژنتیکی در مطالعات تغییرات الگوی تظاهر ژنی با استفاده از میکروآرای، بکارگیری مواد ژنتیکی با زمینه ژنتیکی مشابه مانند جمعیت های حاصل از تلاقی برگشتی، لاین خویش آمیخته نو ترکیب و نظایر آن از قابلیت بالایی در این خصوص برخوردار می باشند (مومنی و همکاران، ۲۰۱۱). از اینرو مطالعه الگوی تظاهر ژنی با استفاده از لاین های تقریباً ایزوژن که دارای زمینه ژنتیکی یکسانی بودند (تشابه ژنومی حدود ۹۷ تا ۹۸ درصد، شکل ۲) و تحت تیمارهای تنش طولانی مدت شبیه آنچه که در مزرعه حادث می شود و در مرحله مهم و بحرانی زایشی با استفاده از فنآوری تازه توسعه داده شده  $\times 44K$  اطلاعات ذیقیمی را در اختیار محققان قرار می دهد تا به درک مناسبی از ساختار و مکانیسم تغییرات در گیاه برنج در نتیجه تنش برسند و نسبت به اتخاذ استراتژی مناسب جهت اصلاح برای تحمل به تنش خشکی در برنج های تحت سیستم آبیاری اقدام نمایند.

### استراتژی های مورد استفاده در مطالعه

مواد گیاهی که در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند شامل دو جفت لاین خواهری تقریباً ایزوژن برنج بودند که حاصل از تلاقی برگشتی رقم IR64، که در سطح وسیع در آسیا کشت می شود ولی حساسیت بالایی به تنش خشکی دارد، با رقم Aday Selection، که اساساً دارای مقاومت به بیماری های ویروسی و همچنین تحمل به تنش خشکی می باشد، بوده اند که در موسسه تحقیقات بین المللی برنج (ایری) توسعه داده شده اند (ونوپراساد و همکاران، ۲۰۱۱) به همراه رقم IR64 بوده اند (جمعاً ۵ ژنوتیپ). هر جفت لاین خواهری دارای واکنش متفاوتی در مقابل تنش



خشکی در مزرعه و همچنین شرایط گلخانه ای بوده اند. تیمارهای تنش خشکی در سه سطح نرمال (FTSW<sup>4</sup> ۱/۰)، تنش خشکی ملایم (FTSW ۰/۵) و تنش خشکی شدید (FTSW ۰/۲) بر روی ژنوتیپ ها در مرحله زایشی و به روش شرح داده شده توسط سینکлер و لودلو (۱۹۸۶) انجام شد. جهت آزمایش مولکولی و میکروآرای استخراج RNA کل از برگ، ریشه و خوشه‌های گیاهان تحت تیمار در مراحل که تیمار تنش اعمال شده اند با استفاده از RNeasy Maxi Kit (Qiagen) انجام شد. تجزیه و تحلیل الگوی پاسخ ژن ها در مقابل خشکی با استفاده از روش دو رنگ فنآوری آجیلنت ۴×۴۴K (Agilent Technologies) با ۴۳۴۹۴ ژن بر روی هر اسلاید انجام شده اند. اسکن شدت رنگ ها (signal intensity) با استفاده از نرم افزار Feature Extraction version 9.5 انجام شد. سپس تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزارهای متناسب انجام شد و تجزیه و تحلیل تغییرات در الگوی ژنی از طریق استخراج ژن هایی که در مسیرهای مختلف مشارکت داشتند و از پایگاه های اطلاعاتی (databases) مانند KEGG, RiceCyc و سایر موارد مشابه انجام شده اند و دسته بندی ژن های مسئول براساس عملکرد آنها براساس روش دو و همکاران (۲۰۱۰) انجام شد و دسته هایی از ژن ها که مسئول تحمل به خشکی در لاین های بسیار متحمل و نیمه متحمل بودند مشخص شدند. نتایج تجزیه و تحلیل الگوی تظاهر ژنی نیز با استفاده از روش quantitative Real Time-PCR تأیید شدند.

### نتایج و تفسیر

بخشی از نتایج مقایسه ای حاصل از بررسی تغییرات در الگوی تظاهر ژنی در بافت های مختلف، در لاین های مورد استفاده و همچنین تیمارهای مختلف تنش آبی در مرحله برگی نشان داد که تحت تنش خشکی تظاهر مربوط به حدود ۴۳ درصد از ژنها تغییر پیدا کرد. در لاین بسیار متحمل به تنش خشکی بیشترین میزان تغییر در الگوی تظاهر ژن ها (۲ تا ۳ برابر لاین های حساس) و تحت تنش های ملایم و شدید حاصل شده اند (جدول ۲).

جدول ۱. برآورد سطح، تولید و عملکرد در هکتار شلتوک به تفکیک استان ها در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸

<sup>4</sup> Fraction of transpirable soil water (FTSW)



برآورد سطح، تولید و عملکرد در هکتار محصول شلتوک به تفکیک استان								سال زراعی: ۸۹ - ۸۸	
نام استان	سطح (هکتار)		تولید (تن)		عملکرد (کیلوگرم/هکتار)		آبی	دیم	
	آبی	دیم	آبی	دیم	آبی	دیم			
آذربایجان شرقی	۲۱۱۷	۰	۸۹۲۷	۰	۴۲۱۶.۹۷	۸۹۲۷	۰	۰	
آذربایجان غربی	۷۰	۰	۲۸۰	۰	۴۰۰۰	۲۸۰	۰	۰	
اردبیل	۳۲۲	۰	۱۰۷۳	۰	۳۳۳۰.۷۵	۱۰۷۳	۰	۰	
اصفهان	۱۰۶۵۱	۰	۵۹۹۹۳	۰	۵۶۳۲.۵۸	۵۹۹۹۳	۰	۰	
ایلام	۱۶۱۲	۰	۷۵۹۹	۰	۴۷۱۴.۳۱	۷۵۹۹	۰	۰	
چهارمحال و بختیاری	۳۱۹۰	۰	۱۵۷۹۳	۰	۴۹۵۰.۹۱	۱۵۷۹۳	۰	۰	
خراسان رضوی	۲۰۳۲	۰	۸۶۳۵	۰	۴۲۴۹.۷۳	۸۶۳۵	۰	۰	
خراسان شمالی	۲۴۶۱	۰	۱۰۲۱۷	۰	۴۱۵۱.۷۲	۱۰۲۱۷	۰	۰	
خوزستان	۵۱۷۲۳	۰	۳۰۶۸۴۵	۰	۵۹۳۲.۴۷	۳۰۶۸۴۵	۰	۰	
زنجان	۴۰۸۱	۰	۱۵۶۴۴	۰	۳۸۳۳.۳۷	۱۵۶۴۴	۰	۰	
سیستان و بلوچستان	۳۳۶۰	۰	۱۳۴۶۸	۰	۴۰۰۸.۴۱	۱۳۴۶۸	۰	۰	
فارس	۲۱۷۴۱	۰	۱۴۲۱۷۹	۰	۶۵۳۹.۶۹	۱۴۲۱۷۹	۰	۰	
قزوین	۲۵۶۹	۰	۱۱۰۹۰	۰	۴۳۱۶.۷۶	۱۱۰۹۰	۰	۰	
کرمانشاه	۲۶	۰	۷۲	۰	۲۷۷۰.۰۸	۷۲	۰	۰	
کهگیلویه و بویراحمد	۳۲۷۴	۰	۱۷۰۴۲	۰	۵۲۰۵.۱۲	۱۷۰۴۲	۰	۰	
گلستان	۵۵۵۴۵	۰	۲۹۱۲۴۷	۰	۵۲۴۳.۴۴	۲۹۱۲۴۷	۰	۰	
گیلان	۱۷۹۵۷۰	۰	۸۳۷۱۹۴	۰	۴۶۶۲.۲۲	۸۳۷۱۹۴	۰	۰	
لرستان	۲۵۱۱	۰	۸۴۵۰	۰	۳۳۶۵.۲۳	۸۴۵۰	۰	۰	
مازندران	۲۱۶۶۵۲	۰	۱۲۵۶۹۵۸	۰	۵۸۰۱.۷۴	۱۲۵۶۹۵۸	۰	۰	
یزد	۱۰	۰	۳۱	۰	۳۱۳۹.۵	۳۱	۰	۰	
کل کشور	۵۶۳۵۱۷	۰	۳۰۱۲۷۳۹	۰	۵۳۴۶.۳۱	۳۰۱۲۷۳۹	۰	۰	

جدول ۲- تعداد ژن هایی با تظاهر افزایش یافته یا کاهش یافته معنی دار در ژنوتیپ های برنج تحت تیمارهای تنش آبی مختلف

water deficit (FTSW)	DEG	Genotypes								
		IR77298-14-1-2-B			IR77298-5-6-B			SDEG		CDEG
		IR64	10	13	11	18	10vs(13&IR64)	18vs(11&IR64)		
0.2	Up	6088	5961	5709	5377	4981	495	431	276	
	Down	6284	5907	6099	4970	5148	286	381	323	
	total	12,372	11,868	11,808	10,347	10,129	781	812	600	
0.5	Up	1776	2774	2729	2243	1421	649	274	61	
	Down	1793	2991	3003	2093	1849	688	558	44	
	total	3569	5765	5732	4336	3270	1337	832	105	
	Up					504				
	CDEG_overall Down					350				
	total					854				

DEG:differentially expressed genes; SDEG:specifically differentially expressed gene, CDEG:commonly differentially expressed gene, CDEG\_overall:commonly differentially expressed genes overall genotypes and water deficit treatments, Up: Up-regulated; and Down: down-regulated, 10: IR77298-14-1-2-B tolerant NIL i.e. IR77298-14-1-2-B-10; 13: IR77298-14-1-2-B susceptible NIL i.e. IR77298-14-1-2-B-13, 18: IR77298-5-6-B tolerant NIL i.e. IR77298-5-6-B-18; 11: IR77298-5-6-B susceptible NIL i.e. IR77298-5-6-B-11.

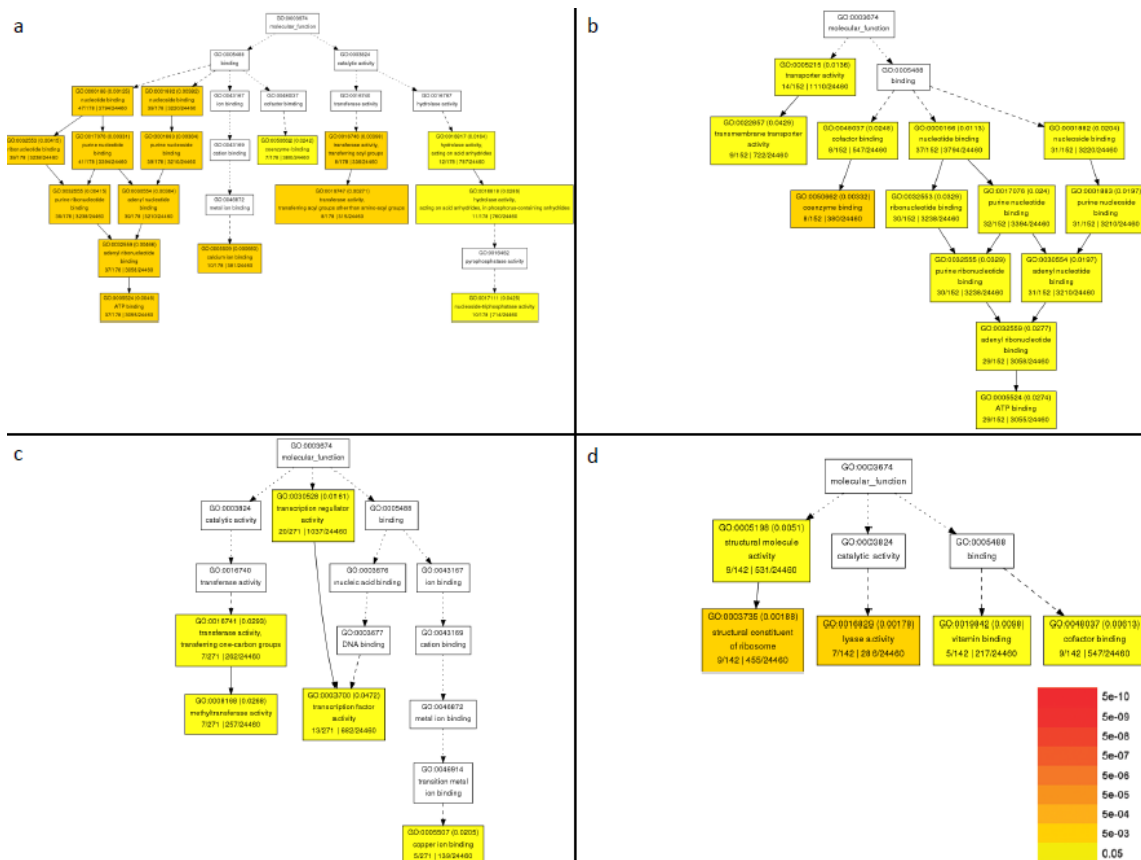


تجزیه و تحلیل الگوی تظاهر ژنی به روش Gene Ontology enrichment نشان داد که ژنهایی که بطور یکسان در همه ژنوتیپ ها در واکنش به تنش خشکی تغییر یافته اند و در مقابل تنش خشکی پاسخ آنها به صورت افزایش و یا کاهش در بروز آنها بوده است (drought-responsive genes) شامل افزایش در تظاهر (up-regulation) ژن هایی بوده است که مسئول در فعالیت هیدرولازها (hydrolase activity) و عوامل رونویسی (transcription factor activity) بودند. در حالی که کاهش فعالیت و تظاهر ژن هایی که عملکرد مرتبط به فعل و انفعالات یونی (Ion binding) و فعالیت های مرتبط به انتقال الکترون (electron carrier activity)، رشد و همچنین فتوسنتز بوده اند. در عین حال با استفاده از روش های مورد استفاده، دو ژنوتیپ بسیار متحمل IR77298-14-1-2-B-10 و نیمه متحمل IR77298-5-6-B-18 نیز تفاوت متمایز کننده ای از حیث عملکرد ژن هایی که به طور اختصاصی در این دو لاین در مقایسه با لاین های خواهری و والد دوره ای حساس تظاهر آنها تغییر کرده اند وجود داشت (شکل ۳). براین اساس در لاین بسیار متحمل، تحمل بالا می تواند به ژن های با عملکرد مسئول در ترانسسانی مبتنی بر کلسیم (calcium signaling) و هیدرولازها باشد در حالی که در لاین نیمه متحمل ژن های مسئول در انتقال مواد و یون ها در غشای سلولی (transmembrane transports) و تنظیم فشار اسمزی سلول متمایز کننده آن بوده است.

### جمع بندی

از آنجا که تحمل به تنش ها به ویژه تنش های محیطی که توسط تعداد زیادی از ژن و مسیرهای ژنی کنترل می شود استفاده از تجزیه و تحلیل الگوی تظاهر ژنی به همراه مواد گیاهی مناسب و روش ارزیابی مشابه شرایط طبیعت و فناوری های کارآ، کلیه تغییرات در سطح ژنوم برنج که مشتمل بر تقریباً تمامی ژن ها در ژنوم برنج می باشد می تواند اطلاعات کاملی به محققان ژنتیک و اصلاح نباتات قرار دهد تا نسبت به کنترل ژنتیکی مولکولی آن اطلاعات جامعی کسب نموده و نسبت به انتقال و اصلاح تحمل در زمینه ژنتیکی حساس اقدام نماید.





شکل ۳- وضعیت عملکرد ژن هایی که بطور اختصاصی در لاین های متحمل به خشکی در مقایسه با لاین های حساس و مادری در تنش های مختلف بروز کرده اند

منابع

Bouman, B. A. M., Humphreys, E., Tuong, T. P., and R. Barker. 2007. Rice and water. *Adv. Agron.* 92: 187–237.

Degenkolbe, T., Do, P.T., Zuther, E., Repsilber, D., Walther, D., Hincha, D.K. and K.I. Köhl. 2009. Expression profiling of rice cultivars differing in their tolerance to long-term drought stress. *Plant Mol. Biol.*, **69**, 133–153.

Du, Z., Zhou, X., Ling, Y., Zhang, Z. and Z. Su. 2010. agriGO: a GO analysis toolkit for the agricultural community. *Nucleic Acids Res.*, **38**, W64-W70.

FAO. 2002. World Agriculture: Towards 2015/2030. Summary Report. FAO, Rome, Italy.

Farooq, M., Wahid, A., Lee, D-J., Ito, O. and K. H. M. Siddique. 2009. Advances in drought resistance of rice. *Crit. Rev. in Plant Sci.*, 28:199–217.

Kato, Y., Hirotsu, S., Nemoto, K. and J. Yamagishi. 2008. Identification of QTLs controlling rice drought tolerance at seedling stage in hydroponic culture. *Euphytica*, **160**, 423-430.

Mir, R. R., Zaman-Allah, M., Sreenivasulu, N., Trethowan, R. and R. K. Varshney. 2012. Integrated genomics, physiology and breeding approaches for improving drought tolerance in crops. *Theor. Appl. Genet.* 125:625–645.

Moumeni, A., Satoh, K., Kondoh, H., Asano, T., Hosaka, A., Venuprasad, R., Serraj, R., Kumar, A., Leung, H. and S. Kikuchi. 2011. Comparative analysis of root transcriptome profiles of two pairs of drought-tolerant and susceptible rice near-isogenic lines under different drought stress. *BMC Plant Biol.* 11:174. (Highly accessed).





- Parent, B., Suard, B., Serraj, R. and F. Tardieu. 2010. Rice leaf growth and water potential are resilient to evaporative demand and soil water deficit once the effects of root system are neutralized. *Plant Cell Environ.*, **33**, 1256–1267.
- Serraj, R., Kumar, A., McNally, K.L., Slamet-Loedin, I., Bruskiewich, R., Mauleon, R., Cairns, J. and R.J. Hijmans. 2009. Improvement of drought resistance in rice. *Adv. Agron.*, **103**, 41–99.
- Serraj, R., McNally, K.L., Slamet-Loedin, I., Kohli, A., Haefele, S.M., Atlin, G. and A. Kumar. 2011. Drought resistance improvement in rice: An integrated genetic and resource management strategy. *Plant Prod. Sci.*, **14**, 1-14.
- Shinozaki, K. and K. Yamaguchi-Shinozaki. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Exp. Bot.* 58: 221–227.
- Sinclair, T. R. 2011. Challenges in breeding for yield increase for drought. *Trends Plant Sci.* 16:289–293.
- Sinclair, T.R. and M.M. Ludlow. 1986. Influence of soil water supply on the plant water balance of four tropical grain legumes. *Aust. J. Plant Physiol.*, **13**, 329–41.
- Venuprasad, R., Impa, S., Veeresh-Gowda, R.P., Atlin, G.N. and R. Serraj. 2011. Rice near-isogenic-lines (NILs) for grain yield under drought stress. *Field Crops Res.*, **123**, 38-46.
- Zhou, J., Wang, X., Jiao, Y., Qin, Y., Liu, X., He, K., Chen, C., Ma, L., Wang, J., Xiong, L., Zhang, Q., Fan, L. and X.W. Deng. 2007. Global genome expression analysis of rice in response to drought and high-salinity stresses in shoot, flag leaf, and panicle. *Plant Mol. Biol.*, **63**, 591–608.

### Summary

Drought tolerance is a quantitative and complex trait that involves many genes in different pathways. Thus, comparative analysis using rice genotypes with similar genetic backgrounds, such as near-isogenic lines (NILs), but contrasting drought tolerance in long-term stress conditions will uncover genes and mechanisms involved in drought tolerance in rice. The two pairs of rice NILs, which were developed at the International Rice Research Institute (IRRI), together with drought susceptible recurrent parent, IR64, showed a variety of gene expression profiles (GEPs) under different water-deficit treatments (WDTs). Gene function analysis revealed distinctive differences in the drought tolerance of two pairs of NILs. Accordingly, drought tolerance in the highly drought-tolerant NILs could be attributed to the up-regulation of 'calcium ion binding', 'transferase activity', 'hydrolase activity' and 'transcription factor activity' function, while in a medium DTN 'transporter activity', 'catalytic activity' and 'structural molecule activity' are different under WDTs.