Cereal Biotechnology and Biochemistry

Online ISSN: 2783-5170

Razi University

Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

Evaluating the expression of *osHTAS* and HSP70 genes in local cultivars and promising heat-tolerant lines of rice in Khuzestan

Karim Sorkheh [1]✉, Abdolali Gilani [2] & Sami Jalali [3]

[1] Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

[2] Department of Crop and Horticultural Science Research, Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ahwaz, Iran.

[3] Master of sciences in Agronomy, Crop and Horticultural Science Research Department, Khuzestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Ahwaz, Iran.

✉Corresponding author. E-mail: k.sorkheh@scu.ac.ir

ABSTRACT

Introduction: Heat and its effects are considered one of the serious threats and damages to the production of agricultural and horticultural crops in many regions of the world. Therefore, it has led to pervasive changes in terms of morphological, physiological, anatomical, and molecular, which causes a sharp decrease in the economic performance of agricultural products. Nowadays, in order to reduce these inhibitory effects, in addition to classical and conventional breeding methods, modern and molecular methods can be used to identify heat-tolerant genes and use them in breeding programs to improve plant tolerance to environmental stresses.

Materials and methods: The selection for heat tolerance among four local cultivars Hovyzeh, Hamar, Red-Anbori, Champa and three promising heat tolerant lines V1, V2 and V3 obtained from the international breeding programs of Khuzestan Agricultural Research and Training Center and Natural Resources were evaluated by osHATS and HSP70 genes qPCR on two experimental cultivation dates: May 20 (unfavorable) and June 20 (favorable) 2022 in Ahvaz.

Results: The results obtained from the analysis of gene expression by qPCR on the date of the first cultivation confirmed the presence of the osHTAS gene in rice varieties and lines so that the local variety Champa, Hovyzeh, and line V2 has a high relative gene expression compared to other varieties and lines studied and they were significantly different from each other. The analysis of the osHTAS gene expression on the second planting date (June) in Ahvaz also shows the presence of the high-temperature tolerance gene in Hovyzeh, Hamar and V2 lines; therefore, the mentioned varieties could be used as parental lines for transfer heat tolerance gene to be used in multi-breeding programs and terms of the relative expression level of the gene, they showed a statistically significant difference with each other. The results of the relative gene expression of the HSP70 gene in the cultivation date of May showed that the local cultivars Champa, Red-Anbori and Hovyzeh had a remarkable superiority over the others. Examining the HSP70 gene expression pattern of rice cultivars and lines on the second planting date also revealed that the local cultivars Red-Anbori, Champa, Hovyzeh, and Hamar showed superiority. The tolerance of local cultivars to heat stress is due to their rapid growth and the creation of a large green cover in the early stages of growth, and their great adaptation to the region's environmental conditions.

Conclusion: Local cultivars can withstand heat stress well with rapid growth and creating much vegetation due to their high adaptability to environmental conditions and the presence of heat stress tolerance genes. They could be used as parental lines in breeding programs.

Keywords: Heat stress, selection for heat tolerance, rice, qPCR.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 04 Feb 2023, **Revised:** 23 Feb 2023, **Accepted:** 12 Mar 2023, **Published online:** 28 Mar 2023

Cite this article: Sorkheh, K., Gilani, A. & Jalali, S. (2023). Evaluating the expression of *osHTAS* and HSP70 genes in local cultivars and promising heat-tolerant lines of rice in Khuzestan. Cereal Biotechnology and Biochemistry, 2 (1), 1-21. DOI: 10.22126/cbb.2023.8771.1035

© The Author(s).

10.22126/cbb.2023.8771.1035

Publisher: Razi University

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات
شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳
Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

بررسی بیان ژن‌های *osHTAS* و HSP70 در ارقام رایج برنج و لاین‌های امیدبخش متحمل به گرما در خورستان

کریم سرخه [۱]✉، عبدالعلی گیلانی [۲] و سامی جلالی [۳]

[۱] استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
[۲] استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.
[۳] کارشناس ارشد، بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران.
✉نویسنده مسئول. رایانامه: k.sorkheh@scu.ac.ir

چکیده

مقدمه: گرما و اثرات ناشی از آن یکی از تهدیدها و خسارت‌های جدی در مسیر تولید محصولات زراعی و باغی در بسیاری از مناطق جهان محسوب می‌شود. تنش حرارتی، تغییرات بسیار گسترده موروفولوژیکی، فیزیولوژیکی، آناتومی و مولکولی را منجر شده که سبب کاهش شدید عملکرد اقتصادی محصولات کشاورزی می‌شود. امروزه جهت کاهش این اثرات بازدارنده علاوه بر روش‌های اصلاحی کلاسیک و مرسوم می‌توان از شیوه‌های نوین و مولکولی، جهت شناسایی ژن‌های متحمل به گرما بهره جسته و از آن‌ها در برنامه‌های به نژادی به منظور بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی استفاده نمود.

مواد و روش‌ها: به منظور ارزیابی مقاومت به گرما چهار رقم محلی هویزه، حمر، عنبوری قرمز، چمپا و سه لاین امیدبخش متحمل به گرما V1، V2 و V3 که از برنامه‌های به‌نژادی بین‌المللی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بدست آمده بود با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در زمان واقعی در دو تاریخ کشت آزمایشی ۲۰ اردیبهشت ماه (نامطلوب) و ۲۰ خرداد ماه (مطلوب) ۱۴۰۱ توسط ژن‌های *osHTAS* و *HSP70* در اهواز مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج بدست آمده از آنالیز بیان ژن توسط qPCR در تاریخ کشت اول حضور ژن *osHTAS* در ارقام و لاین‌های برنج را تائید نمود به طوری که رقم محلی چمپا، هویزه و لاین V2 بیان نسبی بالایی را نسبت به سایر ارقام و لاین‌های مورد مطالعه داشت و به‌طور معنی‌داری با یکدیگر اختلاف داشتند. آنالیز بیان ژن *osHTAS* در تاریخ کاشت دوم (خرداد ماه) در اهواز نیز حضور ژن تحمل به درجه حرارت بالا در رقم هویزه، حمر و لاین V2 به خوبی نشان از این دارد که ارقام مذکور می‌توانند به عنوان لاین‌های والدی جهت انتقال ژن تحمل به گرما در برنامه‌های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند و از نظر میزان بیان نسبی ژن با یکدیگر از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. نتایج بیان نسبی ژن *HSP70* در تاریخ کشت اردیبهشت ماه نشان داد که ارقام محلی چمپا، عنبوری قرمز و هویزه نسبت به بقیه برتری ویژه‌ای داشتند. نتایج حاصل از بررسی الگوی بیان ژن *HSP70* ارقام و لاین‌های برنج در تاریخ کاشت دوّم نیز مشخص نمود که ارقام محلی عنبوری قرمز، چمپا، هویزه و حمر برتری را نشان دادند. تحمل ارقام محلی به تنش گرمایی به دلیل رشد سریع و ایجاد پوشش سبزینگی زیاد در مراحل اولیه رشد و سازگاری زیادی که نسبت به شرایط محیطی منطقه داشته‌اند، می‌باشد.

نتیجه‌گیری: به دلیل حضور ژن‌های تحمل به تنش حرارتی و سازگاری بالا نسبت به شرایط محیطی در ارقام محلی به دمای بالا و همچنین رشد سریع، پنجه‌زنی بالا و ایجاد پوشش گیاهی زیاد می‌توانند در انتقال ژن تحمل به گرما در برنامه‌های به‌نژادی به عنوان لاین والدی در تلاقی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: تنش گرمایی، انتخاب برای تحمل به گرما، برنج، qPCR.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۱/۱۱/۱۵ **اصلاح:** ۱۴۰۱/۱۲/۰۴ **پذیرش:** ۱۴۰۱/۱۲/۲۱، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۲/۰۱/۰۸

استناد: سرخه ، ک.، گیلانی ، ع. و جلالی ، س. (۱۴۰۲). بررسی بیان ژن‌های *osHTAS* و HSP70 در ارقام رایج برنج و لاین‌های امیدبخش متحمل به گرما در خورستان. بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات. ۲ (۱)، ۱-۲۱. DOI: 10.22126/cbb.2023.8771.1035

ناشر: دانشگاه رازی
© نویسندگان.
CC BY NC

مقدمه

برنج (*Oryza sativa* L.) یکی از محصولات مهم و استراتژیک کشور ایران محسوب می‌شود و جایگاه مهمی در تغذیه و شکل‌گیری اقتصاد خانواده کشاورزان برنج‌کار به خصوص مناطق شمالی کشور را دارد. در حال حاضر بسیاری از نقاط کشور به جز نواحی نیمه بیابانی کوهپایه‌های جنوب البرز، اصفهان، سیرجان و شرق کرمان، برنج کشت می‌شود که نزدیک به ۷۵ درصد از آن در استان‌های شمالی و دارای آب و هوای معتدل می‌باشند (Gilani, 2008). با توجه به محدودیت توسعه سطح زیر کشت در استان‌های شمالی کشور، جهت افزایش تولید برنج کشور بهره‌گیری از پتانسیل سایر مناطق برنج خیز بسیار ضروری می‌باشد. از این رو، استان خوزستان می‌تواند به عنوان یکی از نقاط مستعد، نقش بسزایی را در جهت افزایش تولید برنج و نیل به خودکفایی ایفا نماید. مقادیر بیش از حد درجه حرارت و تنوع میکروکلیمایی از جمله عواملی هستند که زمینه را برای دامنه طولانی‌تر فصل رشد و کشت ارقام مختلف را در استان خوزستان فراهم می‌سازند. به نظر می‌رسد استان خوزستان از نظر اقلیمی از پتانسیل بالقوه بیشتری نسبت به سایر مناطق برنج خیز کشور برخوردار باشد. امّا، تابستان‌های گرم و خشک و طولانی و زمستان کوتاه و وزش بادهای گرم نه تنها از عوامل محدود کننده تولید برنج در استان خوزستان به حساب می‌آید بلکه اثرات نامطلوبی بر روی مراحل رشد و نمو برنج دارد. معرفی ارقام متحمل و تلفیق آنها با ژرم‌پلاسم‌های داخلی و خارجی می‌تواند به همراه بهبود در مدیریت مزرعه و مصرف نهاده‌های کشاورزی، زمینه را برای تلاقی‌های مناسب جهت دستیابی به ارقام سازگار منطقه و متحمل به تنش گرمایی را فراهم سازد (Gilani, 2008; Moradi, 2015).

گرما و اثرات تنش گرمایی حاصل از آن یکی از تهدیدها و خسارت‌های جدی در مسیر تولید محصولات زراعی و باغی در بسیاری از مناطق جهان می‌باشد (Gilani, 2008). تنش گرما در فصول کاشت محصولات زراعی می‌تواند به صورت زودگذر یا پایدار و برای چندین روز متوالی اتفاق بیفتاد. از این رو، تغییرات بسیار گسترده‌ای از لحاظ موروفولوژیکی، فیزیولوژیکی، آناتومی و مولکولی را منجر شده که در نهایت همه این تغییرات سبب کاهش شدید عملکرد اقتصادی محصولات کشاورزی می‌شود (Peet *et al*., 1998; Willits et al., 1998). گیاهان در برخورد با تنش گرمایی مکانیسم‌های مختلفی را از خود نشان می‌دهند به طوری که هریک از این مکانیسم‌ها در گونه‌های مختلف گیاهی می‌تواند منحصر به فرد یا ترکیبی از قبیل تجمع و تنظیم محلول‌های سازگار، تولید آنتی اکسیدان‌ها و غیره مشاهده شود (Yazdansepas, 2014). با احاطه کافی بر این مکانیسم‌ها می‌توان روش‌های اصلاحی برای تنش گرما را استفاده نمود. در کنار روش‌های اصلاحی مرسوم می‌توان از روش‌های نوین و مولکولی در جهت شناسایی ژن‌های متحمل به گرما بهره جست و از آنها در

برنامه‌های به‌نژادی به منظور بهبود تحمل گیاهان به شرایط محیطی استفاده نمود.

آنچه که از پژوهش‌های انجام شده دریافت می‌شود این است که استفاده از روش‌های مختلف اصلاحی مرسوم و ژنتیک مولکولی در جهت افزایش تحمل گیاهان به گرما بیش از بیش در حال توسعه و گسترش می‌باشد. چون علاوه بر افزایش درجه حرارت و تغییرات جوی و پدیده گازهای گلخانه‌ای، جمعیت رو به افزایش بشر، اهمیت این موضوع را دو چندان می‌کند (Wahid *et al.*, 2007).

از جمله رویکردهای مهم تنش گرمایی توجه به خصوصیات رشدی و اکوفیزیولوژیک و در نهایت عملکرد برنج می‌باشد. چون برنج یکی از محصولات کشاورزی است که نقش مهمی در تغذیه بشر دارد. به طوری که در قاره آسیا از برنج به عنوان واژه زندگی یاد شده است (Arentzen, 2000). کاهش عملکرد و تولید برنج در اثر تنش گرمایی یکی از دغدغه‌های اصلی و مهم محققان می‌باشد. از این رو شناسایی مکانیسم‌های تحمل به گرما و همچنین توسعه ارقام با سازگاری مناسب نسبت به تنش گرمایی می‌تواند نقش مؤثری در کاهش آسیب ناشی از گرما در مناطقی که کشت برنج در مواجه با تنش حرارتی هستند، باشد (Gilani, 2008). شناسایی ارقام متحمل به تنش گرمایی از طریق روش‌های مرسوم مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی به تنهای خود نمی‌تواند یک شاخص و معیار اصلی و نهایی در انتخاب ارقام متحمل و سازگار به تنش گرما بوده باشد. چون این صفات در طول سال پایدار نبوده و تحت شرایط محیطی مختلف متغیر می‌باشند. بنابراین، استفاده از تکنیک‌های نوین و غربال مولکولی در کنار روش‌های کلاسیک، مکمل هم بوده و انتخاب سریع‌تری را از میان ارقام یک ژرم‌پلاسم جهت کشت در مناطق گرم و خشک فراهم خواهند نمود. چون روش‌های مولکولی مستقل از شرایط محیطی بوده و شرایط مناسب‌تری را جهت انتخاب صحیح فراهم می‌آورند (Rezazadeh *et al.*, 2016).

به محض این که سلول‌ها در معرض شرایط تنش گرمایی قرار می‌گیرند، فاکتورهای شوک حرارتی (HSFs) که در سیتوزول قرار دارند از پروتئین‌های شوک حرارتی جدا و فعال شده و تحت یکسان‌سازی قرار می‌گیرند. این تریمرهای فاکتورهای شوک حرارتی با فسفر واکنش داده و سپس به هسته منتقل می‌شوند و در آنجا به عناصر شوک حرارتی واقع در ناحیه پروموتر پروتئین شوک حرارتی متصل می‌شوند. سپس mRNA Hsp رونویسی و ترجمه می‌شود که منجر به افزایش سطح پروتئین‌های شوک حرارتی در جزء آبی سیتوپلاسم می‌گردد. از این رو، این عوامل به عنوان چاپرون عمل کرده و به حرکت یا تخریب پروتئین‌های آسیب دیده کمک می‌کنند (Young, 2010).

هر درجه‌ای از تنش گرمایی که باشد، همه موجودات بیان پروتئین شوک حرارتی را نشان می‌دهند که مهمترین آنها متعلق به خانواده پروتین شوک حرارتی HSP70 است و وزن مولکولی این خانواده بین ۶۸ تا ۷۸ کیلو دالتون می‌-

باشد (Lindquist 1986). پروتین شوک حرارتی HSP70 یک پروتئین القایی مرتبط با تنش بوده که در موجودات زنده در سراسر فرایند تکامل وجود دارد و به شدت حفاظت شده می‌باشد. این دسته از پروتئین‌های حرارتی به‌عنوان یک چاپرون عمل کرده و برای مقابله سلول‌ها با تنش‌های حاد، به‌ویژه آن‌هایی که بر روی پروتئین‌ها تأثیر می‌گذارند، نقش مهمی دارند. پروتئین‌های شوک حرارتی از سلول‌ها در برابر تنش گرمایی محافظت می‌کنند. صرف نظر از عملکرد آنها در جلوگیری از تجمع پروتئین‌ها و تا شدن مجدد پروتئین‌ها[1] در شرایط تنش محیطی، نقش مهمی به عنوان فعالیت‌های خانه‌داری[2] تحت شرایط مطلوب را ایفا می‌کنند (Usman *et al.*, 2017; Tompa and Kovacs, 2010).

اولین QTL که از برنج کشت شده آفریقایی همسانه‌سازی شد *OsTT1* است. این ژن از طریق حذف مؤثر پروتئین-های دناتوره شده و حفظ مؤثر فرآیندهای پاسخ حرارتی نسبت به *OsTT1* از سلول‌ها در برابر تنش گرمایی محافظت می‌کند (Li *et al.*, 2015). ژن *OsHTAS* تحمل به گرما را در مرحله گیاهچه کنترل می‌کند این ژن تحمل گرما را از طریق تعدیل بیوسنتز اسید آبسیزیک (ABA) و هیدروژن پراکسید ناشی از بسته شدن روزنه را افزایش می‌دهد (Liu *et al.*, 2016).

طیف وسیعی از تغییرات فنوتیپی و مولکولی در برنج تحت تنش دمای بالا در مراحل مختلف رشد در پژوهش‌های مختلفی گزارش شده است (Chen *et al.*, 2008; Lei *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016). افزایش دمای بالا ناشی از گرم شدن کره زمین در حال تبدیل شدن به یک محدودیت جدی برای تولید برنج شده است (Driedonks *et al.*, 2016; Lesk *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2017). ثابت شده است که غربالگری و شناسایی منابع ژنتیکی، شناسایی ژن‌های بالقوه و پرورش گونه‌های جدید با تحمل دمای بالا یکی از مؤثرترین راه‌ها برای مقابله با گرم شدن مداوم آب و هوا است (Driedonks *et al.*, 2016).

درجه حرارت بالا منجر به افزایش عقیمی زیاد در گلچه های برنج، زیاد شدن تنفس گیاه، کوتاه نمودن دوره رسیدگی دانه، تخریب برگ و در نتیجه کاهش فتوسنتز می‌شود. این اثرات نه تنها منجر به کاهش عملکرد اقتصادی دانه برنج می‌گردد بلکه با تولید دانه‌های چروکیده و لاغر باعث کاهش راندمان تولید برنج می‌شود. از طرفی، فرایند تدریجی گرم شدن زمین منجر به تغییر الگوی کشت و دامنه حرارتی کشت برنج خواهد شد. از این رو با معرفی ارقام و لاین های امیدبخش برنج متحمل به گرما می‌توان در مقابل تهدیدهای جدی تولید برنج براثر افزایش گرما، مقابله نمود. هدف از این پژوهش، بررسی بیان ژن های HSP70 و *OsHTAS* در ارقام رایج و لاین‌های امیدبخش برنج می‌باشد. شناسایی

[1] Folding proteins
[2]- Housekeeping activities

ارقام متحمل می‌تواند در انتخاب لاین‌های والدی به منظور مدیریت تلاقی‌ها در برنامه‌های به‌نژادی و توسعه لاین های متحمل به گرما سودمند باشد.

مواد و روش‌ها

مکان و زمان اجرای آزمایش

این پژوهش در سال ۱۴۰۱ در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان انجام گرفت. زمان کشت آزمایش اردیبهشت (مطلوب) و خرداد ماه (نامطلوب)۱۴۰۱ بوده است. جزئیات آمار هواشناسی ماهانه در طول دوره رشد برنج در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول۱- آمار هواشناسی ماهانه در ایستگاه تحقیقاتی اهواز در طول دوره رشد برنج [a]

Table 1. Monthly meteorological statistics at Ahvaz research station during the rice growing season

تاریخ کشت Date of sowing	20 اردیبهشت1401 20 May 2022	20 خرداد1401 20 June 2022
حداقل دما (درجه سانتی گراد) Minimum temperature (°C)	26	29
حداکثر دما (درجه سانتی گراد) Maximum temperature (°C)	45	51
متوسط درجه حرارت(درجه سانتی گراد) Average of temperature (°C)	35.5	40
حداقل رطوبت نسبی (درصد) Minimum relative humidity (%)	12	8
حداکثر رطوبت نسبی (درصد) Maximum relative humidity (%)	57	36
متوسط رطوبت نسبی (درصد) Average relative humidity (%)	34.5	22
مجموع میزان بارندگی (میلی‌متر) Total amount of rainfall (mm)	0.0	0.0
مجموع ساعات آفتابی Total sunny hours	318.2	361.4
جمع تبخیر (میلی‌متر) Total evaporation (mm)	357.0	665.4

[a]: منبع سایت هواشناسی استان خوزستان و آمارنامه کلانشهر اهواز سال ۱۴۰۰ آب و هوا

مشخصات خاک مورد استفاده آزمایش

خاک مورد استفاده در این پژوهش از ایستگاه تحقیقاتی شاوور تهیه شد (جدول ۲). در ابتدا خاک تهیه شده بر روی زمین پهن و توسط بیل به طور کامل مخلوط گردید. کود شیمیایی مورد استفاده نیز براساس اطلاعات تجزیه آزمایشگاه خاکشناسی نیازهای کودی خاک مورد آزمایش محاسبه گردید. میزان کود اوره مورد استفاده برای ارقام محلی و لاین های امید بخش برنج به ترتیب ۱۵۰ و ۲۵۰ کیلوگرم در هکتار بوده که براساس سطح گلدان‌های مورد استفاده (۱۰ کیلویی) به ترتیب ۱۵ و ۲۵ گرم در واحد سطح مورد استفاده قرار گرفت که مقدار یک سوم آن را به صورت سرک در ابتدای رشد گیاهچه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. کود فسفر مورد استفاده به صورت فسفات تریپل بوده (۱۵۰ کیلوگرم در هکتار) بوده که برحسب سطح گلدان در حدود ۱۵ گرم در واحد سطح مورد استفاده قرار گرفت. میزان کود سولفات پتاس (۱۰۰ کیلوگرم در هکتار) حسب سطح گلدانهای مورد استفاده در آزمایش میزان ۱۰ گرم در واحد سطح مورد استفاده قرار گرفت.

جدول ۲- خصوصیات شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش[a]

Table 2. Chemical properties of soil used in the experiment

خصوصیات خاک Soil properties	
اسیدیته خاک (pH) Soil acidity (pH)	7.1
کربن آلی (mg/kg) Organic carbon (mg/kg)	10.4
نیتروژن (درصد) Nitrogen (%)	0.08
فسفر قابل جذب(mg/kg) Absorbable phosphorous (mg/kg)	7.5
پتاسیم قابل جذب(mg/kg) Absorbable potassium (mg/kg)	208

a براساس آزمون خاک ایستگاه تحقیقاتی شاوور

مشخصات ارقام و لاین‌های برنج مورد استفاده در آزمایش

ارقام مورد استفاده در این تحقیق شامل رقم محلی چمپا، رقم محلی عنبوری قرمز، رقم هویزه، رقم حمر و سه لاین متحمل به گرما V1، V2 و V3 از برنامه‌های به‌نژادی بین-المللی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بود (جدول ۳).

رقم هویزه: نام دیگر آن بازوری یا شاووری می‌باشد. از میان ارقام محلی از بهترین رقم محلی خوزستان بوده که نسبت به گرما بسیار متحمل بوده و به عنوان شاهد در آزمایش‌های

تنش گرمایی استفاده می‌شود. این رقم محلی دارای پنجه-زنی و پوشش گیاهی بسیار خوبی بوده و شاخ و برگ آن سبز، دانه‌های آن گرد و بی‌عطر می‌باشند. به طور عمده از آن جهت آرد برنج و کمتر به عنوان غذای پلویی استفاده می‌شود (Gilani, 2008).

رقم حمر: نام دیگر آن سرخ یا سرخه رقمی متحمل نسبت به گرما و برگ‌های روشن و بلند، ساقه‌های باریک‌تر وبلندتر از هویزه تا حدود زیادی حساس به خوابیدگی با کاریوپسیس قرمز رنگ می‌باشد. دانه‌های این رقم نیز بیشتر جهت تهیه آرد برنج مصرف می‌شود. در سالیان دور ارقام هویزه و حمر تحت عنوان کشت نورزوی از اوایل فروردین در مناطق جنوبی استان کشت می‌شدند (Gilani, 2008).

رقم عنبوری قرمز: نام دیگر این رقم نجفی است که از کشور عراق وارد ایران شده و سالیان متمادی در بخش جنوبی استان خوزستان کشت و کار می‌شود.

رقم چمپا: این رقم از توده محلی چمپای رامهرمز انتخاب شده است. دارای شاخ و برگ باریک و سبز و نسبتاً روشن می‌باشد.

رقم دانیال: این رقم به نام LD183 از سری‌های لاین‌های ارسالی توسط مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج ایری بوده است که در سال ۱۳۷۵ توسط مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان معرفی گردید (Gilani, 2008).

لاین‌های V2،V1 و V3: این لاین‌ها از برنامه‌های به نژادی مؤسسه بین‌المللی تحقیقات برنج (IRRI) و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان بدست آمده است. در ارزیابی اولیه در این پژوهش در مقایسه با ارقام محلی سازگار با شرایط آب و هوایی اهواز نسبت به شرایط گرمای استان و به خصوص دمای بالای در ماه‌های اردیبهشت و خرداد ۱۴۰۱ اهواز نسبتاً متحمل نبوده و حساسیت زیادی از خود نشان دادند. که این مورد می‌تواند به دلیل افزایش ناگهانی دما در تاریخ کشت‌های انتخابی بوده باشد.

جدول ۳- خصوصیات مورفولوژیکی ارقام محلی و لاین های امید بخش برنج مورد مطالعه

Table 3. Morphological characteristics of studied rice local cultivars and promising lines

رقم Cultivar	خاستگاه Origin	ویژگی Characteristic	عملکرد (تن در هکتار) Yield (t/ha)	ارتفاع بوته (سانتی متر) Plant high (cm)	طول دوره رشد (روز) Length of growth period (day)
هویزه Hovyzeh	بومی Local	مقاوم به گرما Heat tolerant	4.5-5.5	115-125	130-135
حمر Hamar	بومی Local	مقاوم به گرما Heat tolerant	4.5-5.5	130-140	135-140
عنبوری قرمز Red-Anbori	بومی Local	نسبتا مقاوم Relative tolerant	4.5-5.5	140-145	140-145
چمپا Champa	بومی Local	نسبتا مقاوم Relative tolerant	4.5-5.5	145-150	130-140
IR64197-3B-15-2[V1]	موسسه ایری IRRI	لاین متحمل به گرما Heat tolerant line	4-4.5	85-95	120-130
N22(ACC4819)+RAJBHOG[V2]	پنجاب هند Panjab-India	شاهد بین المللی International control	3.5-4	95-100	120-125
GHARIB(ACC32307)+HARIB [V3]	ایران+ هیبرید Iran-Hybrid	هیبرید با رقم خارجی Hybrid with foreign cultivar	4-4.5	90-95	125-130

نحوه اجرای آزمایش

آزمایش مربوط به غربال ارقام نسبت به تنش گرمایی به صورت گلدانی و در گلدان‌های بزرگ ۱۰ کیلویی در دو تاریخ کشت (۲۰ اردیبهشت و ۲۰ خرداد ۱۴۰۱) انجام شد. جهت قرار دادن ارقام در معرض درجه حرارت‌های متفاوت در طی فصل رشد از تاریخ ۲۰ اردیبهشت و ۲۰ خرداد و ارقام محلی چمپا، عنبوری قرمز، هویزه، دانیال، حمر، و سه لاین متحمل V1، V2 و V3 در قالب دو آزمایش جداگانه در تاریخ کشت‌های مورد نظر به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام گردید.

کشت ارقام و لاین‌های مورد آزمایش

پس از آماده‌سازی خاک و تعیین نیاز کودی، گلدان‌های تهیه شده از قبل توسط دریل جهت تهیه زهکش سوراخ گردیده و نهایتاً گلدان‌های مورد نظر توسط خاک تهیه شده

پر گردیدند. کشت گلدان‌ها در تاریخ‌های انتخابی صورت گرفت و در هر گلدان برحسب نیاز و قوه نامیه بذور مورد مطالعه، اضافه گردید. سپس توسط یک آبیاری سبک اقدام به آبیاری گلدان‌ها گردید تا بذور در بستر خاک مستقر شوند و در پایان آبیاری اولیه صورت گرفت. جهت جلوگیری از حملات گنجشک‌ها و همچنین تبخیر سریع آب از خاک در روزهای اولیه و ایجاد یک میکروکلیمای مناسب، سطح گلدان‌های کشت شده توسط کاه و کلش گندم پوشانیده شد. پس از جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های ارقام برنج، کاه وکلش از سطح گلدان‌ها برداشته و تا زمان رشد لازم برحسب نیاز گیاهچه‌ها طی سرکشی‌های روزانه اقدام به آبیاری گلدان‌ها گردید.

در ماه‌های اردیبهشت و خرداد ماه ۱۴۰۱ با افزایش بی‌سابقه دمای بالای ۴۵ درجه سانتی‌گراد مواجه بوده که این خود همراه با یک‌سری مزایا و معایب بوده است. یکی از معایب آن این بود که برخی از ارقام کشت شده در تاریخ کشت اردیبهشت به دلیل دمای بالا از بین رفته‌اند؛ از طرفی این خود باعث شده که ارقام به نحو بهتری از یکدیگر براساس تحمل گرمایی شناسایی نموده و آنهایی که تحمل بالایی داشته‌اند را جهت ادامه کار استفاده نمائیم.

پس از رشد و استقرار خوب گیاهچه‌های برنج (ظهور برگ پنجم) نمونه‌برداری از برگ ها (۵ برگ) در شرایط نگهداری بر روی یخ صورت گرفت. سپس نمونه‌های برگ، بلافاصله به فریزر ۲۰- و نهایتاً در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گرداد تا زمان استخراج RNA و انجام مراحل بعدی غربالگری نسبت به تنش گرمایی توسط ژن‌های پروتئین شوک حرارتی HSP70 و *OsHTAS* ، نگهداری گردیدند.

استخراج RNA و تعیین کمی و کیفی نمونه‌های استخراج شده

RNA نمونه‌های برگی برنج با استفاده از کیت ستونی استخراج RNA محصول شرکت دنا زیست مشهد (به شماره دسترسیS1020) طبق دستورالعمل ارایه شده توسط سازنده انجام گردید. جهت تعیین کمی و کیفی نمونه‌های RNAهای استخراج شده از گیاهچه‌های هر دو تاریخ کاشت برنج از ژل آگارز و اسپکتروفتومتر اپندورف (اپندورف، آلمان) انجام شد.

تیمار با DNase I جهت حذف DNA ژنومی

جهت حذف DNA از نمونه‌های RNA استخراج شده از تیمار DNase I محصول شرکت سیناکلون (شماره دسترسی MO5401، سیناکلون، ایران) طبق دستورالعمل کیت شرکت سازنده انجام گردید.

سنتز cDNA

نمونه‌های RNA استخراج شده توسط کیت سنتز cDNA (شماره دسترسی RT5201 شرکت سیناکلون ایران) طبق دستور العمل کیت سازنده و طبق برنامه دمایی ارایه شده در دستور العمل کیت انجام گردید.

طراحی ژن‌های مورد استفاده جهت غربالگری

ژن‌های زیادی در ارزیابی تنش گرمایی در منابع ارایه شده است. در این پژوهش از پروتئین شوک حرارتی HSP70 و ژن *osHATS* مربوط به تحمل به گرما انتخاب شد. جهت نرمال‌سازی داده‌های بیانی ژن‌های مورد نظر از ژن اکتین به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. ژن‌های مربوطه از پایگاه اطلاعاتی NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) دانلود و برای ژن‌های مورد نظر توسط پایگاه آنلاین Primer3 (https://bioinfo.ut.ee/primer3) آغازگر طراحی گردیدند.

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی Real time PCR

از کیت سایبرگرین(High ROX شرکت آمپلیکون،دانمارک) و دستگاه Step one (شرکت ABI، آمریکا) جهت انجام واکنش qPCR استفاده گردید. جهت نرمال‌سازی داده‌های بیان ژن از ژن *Actin* به عنوان کنترل داخلی استفاده شد. تمامی مراحل انجام واکنش بر روی یخ صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌های آماری

تجزیه و تحلیل داده های مربوط به الگوی بیان ژن با استفاده از روش مقایسه‌ای $2^{-\Delta\Delta CT}$ انجام گردید (Schmittgen and Livak, 2008). در نهایت آنالیزهای آماری توسط نرم افزار GraphPad Prism8 انجام گردید.

نتایج

در این آزمایش با هدف بررسی بیان ژن‌های ژن‌های HSP70 و *OsHTAS* در ارقام رایج و لاین‌های امیدبخش برنج نسبت به شرایط تنش گرمایی در دو تاریخ کشت اردیبهشت (مطلوب) و خرداد ماه (نامطلوب) ۱۴۰۱ در اهواز انجام گردید. در اردیبهشت ماه در مراحل اولیه رشد گیاهچه‌ها همه ارقام و لاین‌های مورد بررسی در این آزمایش با توجه به مساعد بودن شرایط استقرار و رشد مناسبی داشتند. ولی با ادامه رشد و زمانی که گیاهچه‌های برنج رشد بیشتری نمودند، مصادف با بالا رفتن دمای هوا و وزش بادهای گرم و افزایش ناگهانی درجه حرارت باعث شد برخی از ارقام تحمل خوبی در برابر شرایط مذکور نداشته و در اثر گرمای بیش از حد و به خصوص وزش بادهای گرم از بین رفته و برخی نیز در همان مراحل اولیه رشد گیاهچه در اثر تنش گرمایی متوقف و از بین بروند.

از میان ارقام و لاین‌های مورد بررسی سه لاین امیدبخش حاصل از برنامه‌های اولیه به‌نژادی در تاریخ کشت اردیبهشت ماه تحمل بالایی نداشته‌اند. ولی از آنجایی که تنش وارد به گیاه علاوه بر از بین بردن گیاه می‌تواند یک‌سری از ژن‌های مربوط به تحمل گرمایی را فعال نماید، برای این منظور اقدام به نمونه‌برداری از گیاهچه‌هایی گردید که سبزینه‌ای خود را حفظ و از نمونه‌های برگ ارقام و لاین‌های مورد مطالعه با حفظ زنجیره سرمایی به یخچال ۲۰°C- انتقال داده شد.

شکل ۱. نمایی از رشد مناسب و سبزینه‌ای گیاهچه‌های ارقام محلی عنبوری قرمز، هویزه و چمپا در تاریخ کاشت اول (الف)، مواجهه ارقام برنج با گرمای بی‌سابقه زیاد در تاریخ کاشت اول (ب)، رشد سبزینه‌ای مناسب در تاریخ کاشت دوم (برای نمونه رقم هویزه (ج) و لاین V2 (د).

Figure 1. A view of the appropriate growth and vegetative growth of seedlings of the local cultivars Anbori Red, Hovyzh and Champa on the first planting date (a), exposure of rice cultivars to unprecedented high heat on the first planting date (b), appropriate vegetative growth on the date The second planting (for the example of Hovyzh variety (c) and V2 line (d).

در مقایسه با این لاین‌ها ارقام محلی از قبیل هویزه، چمپا و عنبوری قرمز به دلیل سازگاری زیاد به شرایط آب و هوایی اهواز به دلیل سرعت رشد بالایی که داشته پوشش گیاهی سبزینه‌ای خوبی را تولید کرده و از این طریق توانسته‌اند گرمای زیاد را در دوره رشد خود تحمل نمایند.

در تاریخ کشت دوم (خرداد ماه) نیز در زمان مناسب اقدام به تهیه خاک و کشت ارقام مورد آزمایش گردید. در این تاریخ کشت به دلیل مساعد بودن شرایط آب و هوایی تقریباً اکثر ارقام و لاین‌های متحمل مورد آزمایش، رشد مناسبی داشته و در نهایت از نمونه‌های برگ ارقام مورد مطالعه بر

روی یخ نمونه‌برداری و به یخچال فریزر ۲۰- درجه سانتی- گرداد تا زمان انجام مرحله بعدی نگهداری شدند.

نمونه‌های استخراج شده RNA از نظر کمی و کیفی مورد ارزیابی قرار گرفتند و پس از تایید این مرحله جهت حذف DNA ژنومی توسط تیمار DNase I محصول شرکت سیناکلون و طبق دستورالعمل سازنده انجام شد تا در هنگام انجام واکنش زنجیره‌ای PCR مشکلی در ارزیابی بیان ژن- های هدف مورد مطالعه ایجاد نگردد و آنچه مشاهده می‌شود محصول نهایی بیان ژن در شرایط تنش گرمایی در تاریخ کشت مورد مطالعه بوده باشد.

سنتز ژن‌های HSP70 و *OsHTAS*

جهت ارزیابی و شناسایی ارقام و لاین‌های متحمل و حساس در تاریخ کاشت‌های مور نظر از دو ژن HSP70 و *OsHTAS* استفاده گردید. برای این منظور توالی ژن‌های مربوطه همراه با ژن اکتین به عنوان کنترل داخلی از پایگاه اطلاعاتی NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) دانلود گردیدند. اطلاعات مربوط به آغازگرهای مورد استفاده و طراحی شده در جدول ۴ آورده شده است.

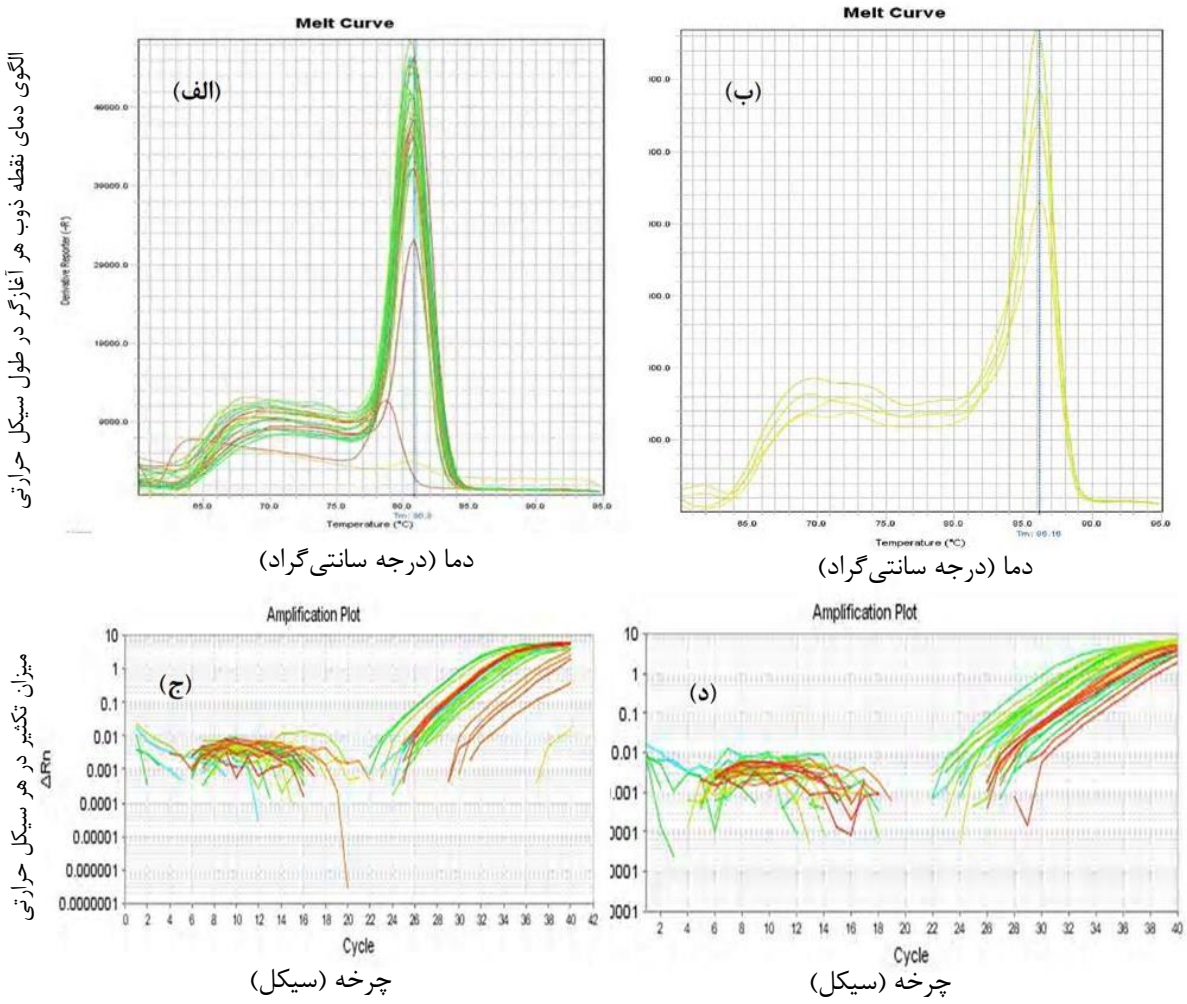
جدول ۴- مشخصات و توالی ژن‌های مورد استفاده در این آزمایش

Table 1. Characteristics and sequence of genes used in this experiment

ردیف Number	نام اغازگر Primer Name	توالی Sequence 5'→ 3'	طول (نوکلئوتید) Length (nucleotide)	منبع Reference
1	*qOsHTAS-F*	GATTCTCAGGAAGCTCCCAAT	21	Jan et al. 2021
2	*qOsHTAS-R*	TTAAGCATGGAAAGCAGCAG	20	Jan et al. 2021
3	*Actin1F*	AGCAACTGGGATGACATGGA	20	AY212324.1
4	*Actin1R*	GACACCATCACCAGAGTCCA	20	AY212324.1
5	*HSP70-F*	CATCTGCAACCCCATCATCG	20	X67711.2 O
6	*HSP70-R*	CGCGGATCACCTAACCAAAG	20	X67711.2 O

نتایج آنالیز ژن‌های مورد مطالعه با استفاده از qPCR

به منظور ارزیابی بیان ژن‌های HSP70 و *osHATS* در پاسخ به تنش گرمایی در تاریخ کاشت‌های مختلف از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در زمان واقعی Real time PCR استفاده شد. در ذیل نمونه‌هایی از نتایج حاصل از مطالعه واکنش qPCR برای توالی ژن‌های مذکور را نشان می‌دهد.



شکل ۲- الگوی دمای نقطه ذوب آغازگرهای مورد استفاده (الف و ب) و تکثیر ژن‌های مورد مطالعه (ج و د) جهت ارزیابی ارقام برنج نسبت به تنش گرمایی

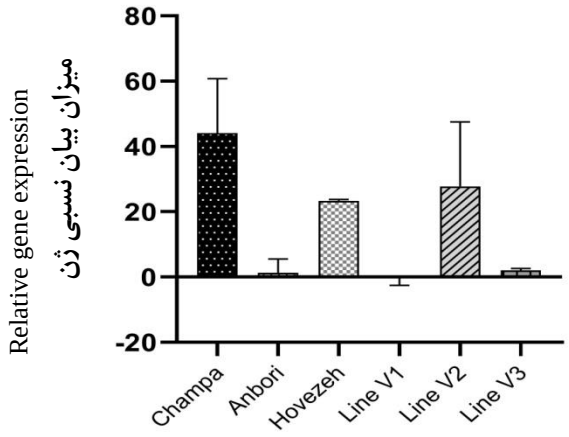
Figure 2. The temperature pattern of the melting point of the primers used (a, b) and the amplification of the studied genes (c, d) to evaluate rice cultivars with respect to heat stress.

نتایج بدست آمده از شکل ۲ نشان دهنده اختصاصی بودن تکثیر آغازگرهای مربوط به ژن‌های HSP70 و *OsHTAS* مورد نظر را دارد.

آنالیز نتایج بیان افتراقی ژن *OsHTAS* ارقام و لاین‌های برنج در تاریخ کاشت مختلف

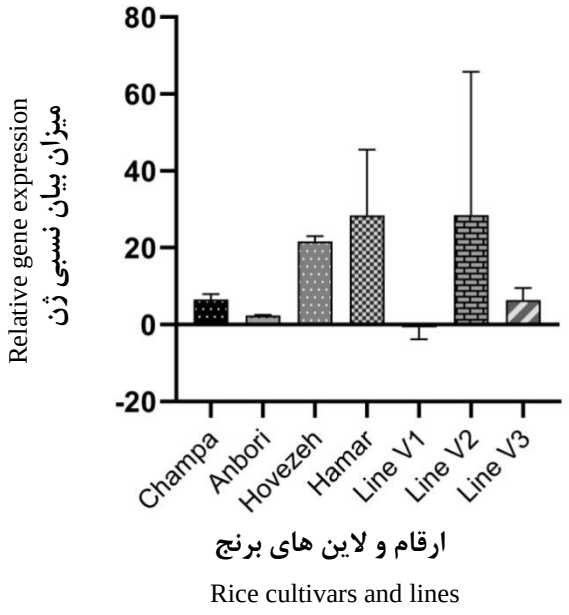
نتایج بدست آمده از آنالیز بیان ژن توسط qPCR حضور ژن *OsHTAS* در ارقام و لاین‌های برنج را نشان داده به

طوری که رقم محلی برنج چمپا، هویزه و لاین V2 بیان نسبی بالایی را نسبت به سایر ارقام و لاین‌های مورد مطالعه دارد (شکل ۳). این افزایش بیان در تاریخ کاشت اردیبهشت ماه بین ارقام و لاین‌های برنج به طور معنی‌داری با یکدیگر اختلاف داشته و تائیدکنندهٔ حضور ژن تحمل به درجه حرارت بالا را در ارقام و لاین‌های مزبور را نشان داد. Jan *et al.* (2021) در مطالعه‌ای حضور ژن *osHTAS* در دمای بالای ۴۸ درجه سانتی گراد برای مدت ۶ ساعت را در لاین HT13 برنج، تحت شرایط تنش حرارتی تائید نمودند.



شکل ۳- الگوی بیان نسبی ژن *osHTAS* در ارقام و لاین برنج در تارخ کاشت اول

Figure 3. Relative expression pattern of *osHTAS* gene in rice cultivars and lines on the first planting date



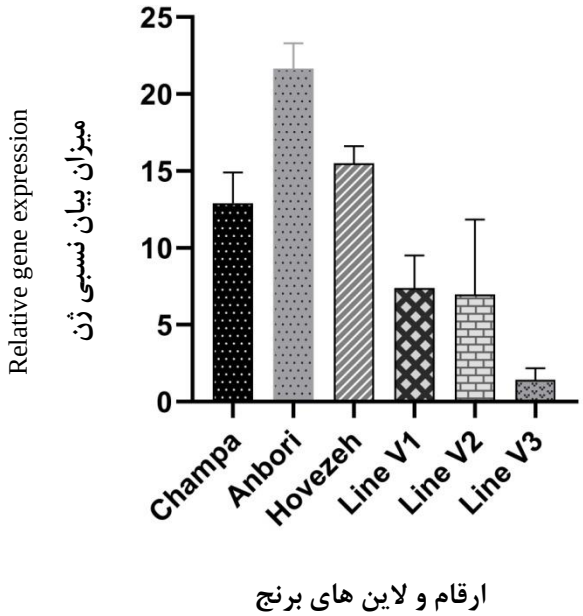
شکل ۴- الگوی بیان نسبی ژن *osHTAS* در ارقام و لاین های برنج در تارخ کاشت دوم

Figure 4. Relative expression pattern of *osHTAS* gene in rice cultivars and lines on the second planting date

نتایج آنالیز بیان ژن *osHTAS* (شکل ۴) در شرایط آب و هوایی تاریخ کاشت دوم (خرداد ماه) نیز حضور ژن تحمل به درجه حرارت بالا در رقم هویزه، حمر و لاین V2 به خوبی نیز نشان از این دارد که ارقام مذکور می‌توانند به عنوان لاین‌های والدی جهت انتقال ژن تحمل به گرما در برنامه-های به‌نژادی مورد استفاده قرار گیرند و از نظر میزان بیان نسبی ژن با یکدیگر از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. در تاریخ کاشت اردیبهشت ماه به دلیل بالا بودن درجه حرارت هوا (بیش از ۴۵ درجه سانتی‌گراد) ارقام دانیال و گرده رامهرمز براثر تنش حرارتی وارده در همان مرحله سبزینه‌ای زرد و خشک شدند. ارقام محلی چمپا، عنبوری قرمز، هویزه و حمر به دلیل سازگاری بالایی نسبت به شرایط محیطی استان خوزستان به خوبی دمای بالای درجه حرارت را با رشد سریع و پنجه‌زنی و ایجاد پوشش گیاهی زیاد به خوبی تحمل نموده و از این رو از آنها می‌توان در برنامه‌های به‌نژادی استفاده نمود.

آنالیز نتایج بیان افتراقی ژن osHSP70 ارقام و لاین‌های برنج در تاریخ کاشت های مختلف

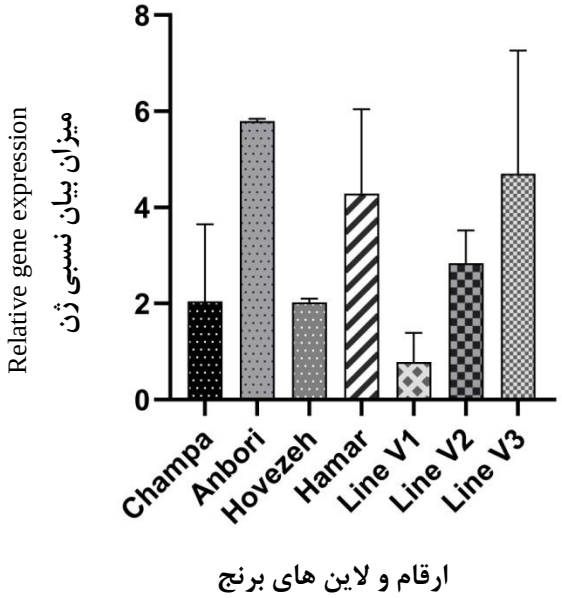
نتایج بدست آمده از الگوی بیان افتراقی ژن مربوط به پروتئین شوک حرارتی HSP70 در ارقام و لاین‌های مورد مطالعه برنج در تاریخ کاشت‌های مختلف در شکل‌های ۵ و ۶ نشان داده شده است.



شکل ۵- الگوی بیان نسبی ژن HSP70 در ارقام و لاین برنج در تاریخ کاشت اول

Figure 5. Relative expression pattern of HSP70 gene in rice cultivars and lines on the first planting date

شکل ۵ نتایج بیان نسبی ژن HSP70 در تاریخ کشت اردیبهشت ماه را نشان می‌دهد. ارقام محلی چمپا، عنبوری قرمز و هویزه نسبت به بقیه برتری ویژه‌ای داشته به طوری که در تاریخ مذکور علاوه بر گرمای بی‌سابقه بیش از ۴۵ درجه سانتی‌گراد توانستند با رشد سریع و ایجاد پوشش سبزینگی زیاد در مراحل اولیه رشد و همچنین سازگاری زیادی که نسبت به شرایط محیطی منطقه داشته‌اند، تحمل بالایی نسبت به گرمای فصل کشت داشته باشند. این تحمل بالا نسبت به تنش گرمایی را می‌توان به حضور و بیان ژن-های پروتیین شوک حرارتی داشته باشند. به طوری که ارقام محلی چمپا، هویزه و عنبوری به ترتیب ۱۳، ۱۵ و ۲۰ برابر (Fold change) بوده و از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری نشان دادند. این امر می‌تواند در انتخاب این ارقام برای برنامه‌های به‌نژادی در آینده حایز اهمیت باشد.



شکل ۶- الگوی بیان نسبی ژن HSP70 در ارقام و لاین برنج در تاریخ کاشت دوم

Figure 6. Relative expression pattern of HSP70 gene in rice cultivars and lines on the second planting date

بررسی الگوی بیان پروتئین شوک حرارتی HSP70 در ارقام و لاین محلی برنج مورد مطالعه در تاریخ کاشت دوم (۲۰ خرداد ماده) در شکل ۶ نشان داد که ارقام و لاین‌های برنج در در تاریخ کاشت دوم نشان می‌دهد که ارقام محلی نیز نسبت به سایر ارقام دیگر برتری را نشان می‌دهند. به طوری که رقم عنبوری قرمز، حمر و لاین V3 در شرایط تاریخ کاشت دوم این برتری را نشان دادند. چون در این تاریخ کاشت نسبت به تاریخ کاشت اردیبهشت ماه درجه حرارت نسبتاً مناسب بوده و و ارقام توانستند تا حدود مناسبی رشد و پوشش سبزینگی خود را حفظ نمایند.

مطالعه بیان افتراقی ژن نشان می‌دهد که در گیاهان سازگاری نسبت به شرایط محیطی زمانی به نحو بهتری ایجاد می‌شود که این تغییرات دمایی بتدریج تغییر کنند بدون این که به صورت ناگهانی تغییر یابد (Nazari *et al.*, 2010, Mande and Maali, 2017؛ Timperio *et al.*, 2007). بنابراین، پروتیین‌های شوک حرارتی نه تنها در پاسخ به تنش‌های کوتاه مدت محیطی القاء می‌شوند بلکه به عنوان یک مرحله مهم و ضروری در سازگاری گیاهان نسبت به تغییرات محیطی نیز می‌باشند (Heidarvand and Maali, 2010).

در زمان تنش گرما یک سری از چاپرون‌های عملکردی که پتانسیل اتصال به پروتیین‌های هدف را دارند افزایش می‌یابند. مسیرهایی که منجر به بیان HSP می‌شوند ناشی از تغییر دما و مسیرهای انتقال پیام چندگانه (Multiple

signal transduction) است که سبب تحریک و فعالیت فاکتورهای شوک حرارتی می‌شوند و بدین ترتیب بیان ژن-های HSP را از طریق اتصال به این قبیل از اجزای شوک حراراتی را القاء می‌کنند (Hu *et al.*, 2009). Montero-Barrientos *et al.*, (2010) نشان دادند که بیان ژن‌های HSP70 تریکودرما منجر به افزایش تحمل به تنش گرما و سایر تنش‌های غیرزنده در آرابیدوپسیس می-گردد. همچنین، پیش تیمار گیاهان با گرما سبب گردید. جوانه‌های تراریخته تحمل بیشتری به تنش‌های غیرزیستی از قبیل شوری و تنش اکسیداتیو از خود نشان دادند.

نتیجه‌گیری

این مطالعه حضور مؤثر ژن‌های دخیل در تحمل به تنش حرارتی و سازگاری بالا نسبت به شرایط محیطی در ارقام محلی و برخی از لاین‌های امید بخش برنج را به اثبات می-رساند. نتایج این پژوهش نشان داد که در تاریخ کاشت اوّل (ارئیبهشت ماه) ارقام محلی چمپا، هویزه و لاین V2 و در تاریخ کاشت دوّم (خرداد ماه) ارقام محلی هویزه، حمر و لاین V2 بیان نسبی بالای از ژن *osHTAS* و ارقام محلی چمپا، عنبوری قرمز و حمر برای هر دو تاریخ کاشت مورد مطالعه بیان نسبی بالایی از ژن HSP70 را از خود نشان دادند. این موضوع نشان دهنده تحمل بالای ارقام محلی به تنش گرمایی و سازگاری بالای آنها نسبت به شرایط محیطی منطقه را به دلیل رشد سریع و ایجاد پوشش سبزینگی زیاد در مراحل اولیه رشد نشان داد. بنابراین، می‌توان از این ارقام در برنامه‌های به‌نژادی به عنوان لاین والدی در تلاقی و انتقال ژن‌های تحمل به گرما بهره‌مند شد

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در قالب فرصت مطالعاتی اعضای هیات علمی در ارتباط با صنعت به شماره ۱۴۰۰/۲/۰۲/۲۷۴۲۵ بوده است. از دانشگاه شهید چمران اهواز و مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان بابت حمایت و در به ثمر رساندن پژوهش، تشکر و قدردانی می-گردد.

References

Arentzen, H. G. 2000. Comprehensive encyclopedia of agricultural sciences. Translation. Alavi, A. The first volume, publications of the Ministry of Jihad and Agriculture. 725 p. [in Persian].

Chen, Q., Yu, S., Li, C., & Mou, T. 2008. Identification of QTLs for heat tolerance at flowering stage in rice. Scientia Agricultura Sinica, 41, 315-321. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CN2009000375 (accessed on 12 May 2009).

Driedonks, N., Rieu, I., & Vriezen, W. H. 2016. Breeding for plant heat tolerance at vegetative and reproductive stages. Plant Reproduction, 29, 67–79. https://doi.org/10.1007/s00497-016-0275-9.

Gilani, A. 2008. Determination of tolerance mechanisms and physiological effects of heat stress in Khuzestan rice cultivars. Doctoral thesis of the Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Agriculture, Ramin University of Agricultural Sciences and Natural Resources [in Persian].

Heidarvand, L., & Maali Amiri, R. 2010. What Happens in Plant Molecular Responses to Cold Stress? Acta Physiologiae Plantarum, 32(3), 419-431. http://dx.doi.org/10.1007/s11738-009-0451-8.

Hu, W., Hu, G., & Han, B. 2009. Genome-wide survey and expression profiling of heat shock proteins and heat shock factors revealed overlapped and stress specific response under abiotic stresses in rice. Plant Science, 176,583–590. doi: 10.1016/j.plantsci.2009.01.016.

Jan, M., Shah, G., Yuqing, H., Xuejiao, L., Peng, Z., Hao, D., Hao, C., & Jumin, T. 2021. Development of heat tolerant two-line hybrid rice restorer line carrying dominant locus of OsHTAS. Rice Science, 28(1), 99-108. https://doi.org/10.1016/j.rsci.2020.11.011.

Lei, D. Y., Tan, L. B., Liu, F. X., Chen, L. Y., & Sun, C. Q. 2013. Identification of heat-sensitive QTL derived from common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). Plant Science, (201) 202, 121–127. 10.1016/j.plantsci.2012.12.001

Lesk, C., Rowhani, P., & Ramankutty, N. 2016. Influence of extreme weather disasters on global crop production. Nature, 529, 84–87.

Li, X., Lawas, L. M. F., Malo, R., Glaubitz, U., Erban, A., Mauleon, R., Heuer, S., Zuther, E., Kopka, J., Hincha, D. K., & Jagadish, K. S. V. 2015. Metabolic and transcriptomic signatures of rice floral organs reveal sugar starvation as a factor in reproductive failure under heat and drought stress. Plant Cell Environmental 38: 2171–2192

Lindquist, S. 1986. The heat-shock response. Annual Review Biochemistry, 55, 1151–1191. doi: 10.1038/nature16467.

Liu, J., Zhang, C., Wei, C., Liu, X., Wang, M., Yu, F., Xie, Q., & Tu, J. 2016. The RING finger ubiquitin E3 ligase OsHTAS enhances heat tolerance by promoting H_2O_2-induced stomatal closure in rice. Plant Physiology, 170, 429–443. doi: 10.1104/pp.15.00879.

Mande, M. & Maali Amiri R. 2017. Heat shock proteins and their role in abiotic stress. Modern Genetics, (6) 1, 16-5 [in Persian].

Montero-Barrientos, M., Hermosa, R., Cardoza R.E., Gutiérrez, S., Nicolás, C., & Monte, E. 2010. Transgenic expression of the *Trichoderma harzianum* HSP70 gene increases Arabidopsis resistance to heat and other abiotic stresses. Journal of Plant Physiology, 167(8), 659-665. doi:10.1016/j.jplph.2009.11.012.

Moradi, F. 2015. Investigating the physiological effect of heat stress on 6 varieties of rice in Khuzestan. Master's thesis, Ramin Agricultural Research and Education Complex, Shahid Chamran University, Ahvaz. 138 p. [in Persian].

Nazari, M.R., Habibpour Mehraban, F., Maali Amiri, R., & Zeinali Khaneghah, H. 2010. A preliminary evaluation of response in desi chickpea genotypes for low temperature stress. Iranian Journal of Field Crop Science, 41 (4), 669-706. 20.1001.1.20084811.1389.41.4.6.1

Peet, M. M. , & Willits, D. H. 1998. The effect of night temperature on green house grown tomato yields in warm climate. Agricutural and Forestery Meteorology, 92, 191-202.

Rezazadeh, M., khodarahmpour, Z., & Gilani, A. 2016. Study of rice (*Oryza sativa* L.) lines tolerant to heat stress of IRRI by using multivariate statistical methods. Journal of Crop Production, 9(2): 35-55. doi: 10.22069/ejcp.2016.3115.

Schmittgen, T., Livak, D., & Kenneth, J. 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative (CT) method, Nature Protocols 3:1101–1108.

Timperio A.M., Egidi, M., & Zolla, L. 2008. Proteomics applied on plant abiotic stresses: Role of Heat shock proteins (HSPs). Journal of Proteomics.71, 391-411. doi: 10.1016/j.jprot.2008.07.005.

Tompa, P., & Kovacs, D. 2010. Intrinsically disordered chaperones in plants and animals. Biochemistry and Cell Biology, 88, 167–174. https://doi.org/10.1139/O09-163

Usman, M.G., Rafii, M.Y., Ismail, M.R., Martini, M.Y., Yusuff, O.A., & Miah, G. 2017. Molecular analysis of HSP70 mechanisms in plants and their function in response to stress. Biotechnology and Genetic Engineering Review. 33(1), 26-39. doi:10. 1080/02648725.2017.1340546.

Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., & Foolad, M. 2007. Heat tolerance in plants: an overview. Environmental and Experiment Botony, 61,199–223. http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2007.05.011.

Willits, D. H., & Peet, M. M. 1998. The effect of night temperature on green house grown tomato yields in warm climate. Agricultural Forestry Meteorology, 92, 191-202. https://doi.org/10.1016/S0168-1923(98)00089-6.

Yazdansepas, A. 2014. Breeding for resistance to abiotc stresses. Ministry of Jihad Agriculture, Organization of Research, Education and Promotion of Agriculture, Research Institute of Seed and Seedling Breeding.p.323 [in Persian].

Young, J.C. 2010. Mechanisms of the Hsp70 chaperone system. Biochemical and Cell Biology, 88, 291–300. doi: 10.1139/o09-175.

Zhao, C., Liu, B., Piao, S. L., Wang, X. H., Lobell, D. B., Huang, Y., Huang, M. T., Yao, Y. T., Bassu, S., Ciais, P., Durand, J. L., Elliott, J., Ewert, F., Janssens, I. A., Li, T., Lin, E., Liu, Q., Martre, P., Muller, C., Peng, S. S., Penuelas, J., Ruane, A. C., Wallach, D., Wang, T., Wu, D. H., Lium Z,, Zhu, Y., Zhu, Z. C., & Asseng, S. 2017. Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. Proceeding and Natural Academic Science USA, 114, 9326–9331. doi: 10.1073/pnas.1701762114