



УДК: 575.113; 575.116.4

Дарманов М.М., Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси Геномика ва биоинформатика маркази кичик илмий ходими. (PhD).

E-mail: muhtor.darmanov@mail.ru

Тураев О.С., Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси Геномика ва биоинформатика маркази кичик илмий ходими. (PhD).

E-mail: ozodturaev@gmail.com.

Туланов А.А., Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси Геномика ва биоинформатика маркази кичик илмий ходими.

E-mail: akmal.abrorovich_07@mail.ru

Макамов А.Х., Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси Геномика ва биоинформатика маркази кичик илмий ходими. (PhD).

E-mail: amakamov@gmail.com.

Хусенов Н.Н. Ўзбекистон Республикаси Фанлар Академияси Геномика ва биоинформатика маркази кичик илмий ходими.

E-mail: naimhusenov@mail.ru.

QTL LOCI GENETICALLY CONNECTED WITH OF FIBER STRENGTH AND LENGTH IN COTTON Abstract

In this article, using bioinformatics programs, the results of identification of candidate genes that control the development of fiber located in the marked areas are summarized. For this, a complete genome of the species *G. hirsutum* and the sequence of the BNL1604 DNA marker genetically associated with the length and strength of the cotton fiber were used. Thus, with the help of *in silico* PCR, AUGUSTUS and BLAST analysis, the suspected genes responsible for the development of fiber in cotton were identified.

Key words: cotton, *BLAST*, markers, QTL loci, protein, gen, genome, allele, MAS, *in silico*.

ЛОКУСОВ, ГЕНЕТИЧЕСКИ СЦЕПЛЕННЫХ С ПРИЗНАКОМ ПРОЧНОСТИ И ДЛИНЫ ВОЛОКНА В ХЛОПЧАТНИКЕ

Аннотация

В данной статье, с использованием биоинформатических программ обобщены результаты идентификации кандидатные генов, которые контролируют процессов развития волокна расположенных в маркированных участках. Для этого были использованы полный геном вида *G. hirsutum* и последовательности BNL1604 ДНК маркера, генетически связанного с длиной и прочност волокна хлопчатника. Таким образом, с помощью *in silico* ПЦР, AUGUSTUS и BLAST анализа были определены предполагаемые гены, ответственные за развитие волокна в хлопчатнике.

Ключевые слова: хлопчатник, *BLAST*, маркеры, QTL локусы, белок, ген, геном, аллель, MAS, *in silico*.

ЎЎЗАНИНГ ТОЛА УЗУНЛИГИ ВА ПИШИҚЛИГИ БЕЛГИЛАРИГА ГЕНЕТИК БИРИККАН QTL ЛОКУСИ ҲУДУДИДАН НОМЗОД ГЕН ВА ОҚСИЛЛАРНИ АНИҚЛАШ

Аннотация

Мақолада биоинформатик дастурлардан фойдаланиб ўзанинг тола узунлиги ва пишиқлиги белгиларига генетик бириккан BNL1604 ДНК маркери жойлашган геном ҳудудидан толанинг ривожланишида иштирок этувчи номзод ген ва оқсилларни аниқлаш бўйича олинган натижалар ёритилган. Тадқиқотларимизда номзод ген ва оқсилларни аниқлашда *In silico* ПЗР, AUGUSTUS ва BLAST веб-иловаларидан фойдаланилди. Биоинформатик таҳлиллар натижасида толанинг шаклланишида иштирок этиши мумкин бўлган бир нечта номзод ген ва оқсиллар аниқланди.

Калит сўзлар: ўза, MAS, маркер, QTL локулари, оқсил, ген, геном, аллель, BLAST, *In silico*.

Ҳозирда, кўплаб олимлар томонидан аниқланган QTL/генларни маркерлаш учун *In silico* (виртуал) ПЗР усулидан фойдаланиш таклиф қилинган. Шу сабабдан, ўза геном маълумотлари асосида функционал

генларни излаб топишда қимматли хўжалик белгилари локусларини *In silico* ПЗР таҳлили асосида тадқиқ этиш ривожланиб бормоқда.

In silico ПЗР - бу полимераза занжир реакцияси таҳлилни компютер дастурлари орқали, виртуал тарзда амалга ошириш ҳисобланади. Бунда, праймер жуфтлиги нуклеотидлар кетма-кетлиги маълумотларини компютер дастурлари орқали таҳлил қилинади. Бу орқали, тадқиқ қилинаётган геном кетма-кетликларининг исталган ҳудудида *In silico* таҳлили ёрдамида номзод ген ва оксилларни башорат қилиш ва аниқлаш мумкин бўлади.

Бугунги кунга келиб, ДНК маркерлари ёрдамида гўзада қимматли хўжалик белгиларига генетик бириккан кўплаб QTL локуслари ва уларнинг генетик хариталардаги жойлашган ўрни аниқланган. Гўза геноми тўлиқ ўқиб чиқилганлигига қарамадан миқдорий белгилар локуслари ханузгача кам ўрганилган. Номзод генларни аниқлаш, ўрганилаётган белгиларнинг молекуляр асосини очиб бериш учун имкон беради. Бундан ташқари, номзод генлар яъни маълум бир QTL ҳудуди ичидаги ёки атрофидаги функцияси аниқланган ДНК кетма-кетликлари янги ва информатив ДНК маркерларини яратишда муҳим манба бўлиб хизмат қилади.

Целлюлоза синтезини бошқарувчи генлар гўзада жуда муҳим ҳисобланади, чунки улар тола ривожланиши ва ўсимлик структурасига алоқадордир. Ҳозирда, гўза генетикаси ва селекциясида ушбу генлардан фойдаланиш учун *In silico* усулида SNP (ягона нуклеотид полиморфизми)ларни аниқлаш ва BLAST ёрдамида генетик специфик маркерлар панелини тузиш орқали функционал маркерлар яратилган [1]. SNP ларни аниқлаш одатда тақдим этилган ДНК кетма-кетлиги маълумотлари ва танланган номзод генларни *In silico* таҳлил қилиш ёрдамида амалга оширилади [2].

Биз, ўз тақиқотимизда маркерларга асосланган селекция (MAC) дастурида фойдаланилган, гўзанинг тола пишиқлиги ва узунлиги белгиларига генетик бириккан BNL1604 ДНК маркери ҳудудидан *In silico* таҳлили орқали толанинг ривожланишида иштирок этувчи номзод ген ва оксилларни излаб топишни мақсад қилдик.

Тадқиқот усуллари

In silico ПЗР таҳлили UGENE 1.21.0 генларни аннотациялаш дастурий пакети ҳамда , BNL1604 ДНК маркери праймер жуфтликлари, шунингдек, *G.hirsutum* L. гўза турининг тўлиқ геном кетма-кетликларидан фойдаланилган ҳолда амалга оширилди. Олинган виртуал ампликонлар кейинги жарёнларда яъни, генлар фоолиятини индентификация қилишда AUGUSTUS ва BLAST веб-иловаларида батафсил таҳлил қилиш учун фойдаланилди. Номзод генлар кетма-кетлигини аниқлаш AUGUSTUS веб-иловасидан фойдаланиб, ДНК маркерининг ҳар икки ён томонида жойлашган 50 минг жуфт асосга эга геном ҳудуди ёрдамида амалга оширилди. NCBI маълумотлар базасидан номзод ген ва оксилларни қидириш BLAST дастурини қўллаган ҳолда амалга оширилди.

Олинган натижалар

In silico ПЗР таҳлиллари натижасида гўзанинг тола пишиқлиги ва узунлиги белгиларига генетик бириккан BNL1604 ДНК маркери локусида жойлашган нуклеотид кетма-кетликлари аниқланди. Номзод генларини аниқлаш учун BNL1604 ДНК маркери ҳамда ушбу локусга ёндош бўлган 100 минг жуфт нуклеотидлар кетма-кетликгидан фойдаланилди.

Генларни таҳминий аниқлашда гўза геномига нисбатан ўхшаш бўлган какао ўсимлиги (*Theobroma cacao* L.) геном маълумотлари асосида амалга оширилди. Таҳлиллар натижасида BNL1604 маркер ҳудудида 9 та номзод ген борлиги аниқланди. Ушбу 9 та ген кодлайдиган аминокислоталар изчиллиги гомиологлари оксил кетма-кетликлари базаси асосида BLAST веб-иловасининг BLASTP алгоритмидан фойдаланиб қидирилди. Виртуал аминокислоталар кетма-кетлигини маълум оксиллар базаси билан қиёсий таҳлил қилиш асосида 97 та янги, тавсифланмаган оксиллар ва 9 та тавсифланган оксилларни аниқлашга муваффақ бўлинди. Ушбу оксиллар ўсимликнинг ўсиши, ривожланиши ва пахта толасининг шаклланишида иштирок этиши маълум бўлди (1-жадвал).

1-жадвал. BNL1604 Маркер ҳудудидан аниқланган генлар/оксиллар

№	Аниқланган оксиллар	Оксилларни кодловчи генлар жойлашган хромосомалар	Виртуал ампликонларнинг геномдаги бошланиш позицияси	Виртуал ампликоннинг геномдаги тугаш позицияси
1	STERILE APETALA-ўхшаш транскрипцион фактор	At_chr16	6282176	6288496
2	“F-box” оксиллари	At_chr16	8244594	8246168
3	“Триггер” омил оксиллари	At_chr16	17173613	17174080

4	Терпенлар синтезида иштирок этувчи оксиллар	At_chr16	38828990	38831500
5	Сентромерага бириккан оксиллар	At_chr7	40017429	40018526
6	Ядро поралари комплекси оксиллари	At_chr16	44814590	44824203
7	Серин/треонин-оксил киназа	At_chr16	72187539	72188951
8	“Zinc finger” доменини ташкил этувчи оксиллар	At_chr16	84781877	84783650
9	Лейцинга бой оксил киназа	At_chr7	91473055	91481820

MAC технологияси дастурида фойдаланилган BNL1604 маркери жойлашган QTL худудидан “F-box” оксилларини кодловчи ДНК кетма-кетликлари аниқланди. Ушбу оксиллар хужайрадаги турли биокимёвий жараёнларда оксилларнинг бошқа бир тур оксиллар билан ўзаро таъсирлашишида воситачилик қилиш, шунингдек, полибиквитинация, транскрипциянинг давомийлиги, сентромеранинг бирикиши ва трансляциянинг репрессияланишида муҳим рол ўйнайди. “F-box” оксиллари гўзада фитогармон сигнал компонентлари яъни “DELLA” оксиллари билан ўзаро таъсирлашади [3]. Ушбу оксиллар пахта толасининг дастлабки ривожланиш босқичи ва узайишида ижобий таъсир кўрсатувчи ауксин ва гибериллин сингари фитогармонлар фолиятини тартибга солувчи оксиллар ҳисобланади [4].

Хужайра ядроси қобигидаги тешиқчалар (поралар) комплекси оксиллари ўсимликларнинг кўпайишидаги физиологик жараёнларда хусусан, гуллаш ва гул чангининг этилишида, шунингдек, илдизнинг узайишида иштирок этади. Арабидопсис (*Arabidopsis thaliana*) модел ўсимлигида ядро поралар комплекси оксилларини кодловчи “Nucleoporins proteins (Nup)” гени мутация қилинганда эрта гуллаш ва илдизнинг узайиши кузатиладиган [5].

Бундан тақари, тадқиқотларимиз натижасида BNL1604 ДНК маркери жойлашган геном худудидан серин/треонин протеинкиназа оксилларини кодловчи кетма-кетликлари аниқланди. Серин/треонин - протеинкиназа оксиди хужайранинг бир неча сигнал йўлларида қатнашади. Шулардан, хужайранинг ўсиш омили рецепторларини фаоллаштирувчи фосфатидилинозитол 3-киназа оксиди функцияларини бошқаришда ҳам иштирок этади. Фосфатидилинозитол 3-киназа ўсимликларда илдизнинг ўсиши ва илдиз капиляр тукчаларининг узайишида, шунингдек, ситосклет ва эндосомал фаолиятларга таъсир этувчи жараёнларда қатнашади [6]. Кўпгина адабиётларда гўза илдизи ва илдиз тукчаларининг узайиши билан тола узайиши ўртасида ижобий корреляция кузатиладиганлиги келтирилган [6]. Хориж олимлари томонидан серин/треонин протеинкиназалар гўзада тола ривожланишида қатнашиши аниқланган [7], бу эса ўз навбатида юқорида таъкидланган фикрни тасдиқлайди.

Тадқиқот давомида ДНК маркери худудидан сентромерага боглик оксилларни кодловчи кетма-кетликлар аниқланди. Кўплаб ўсимликларда сентромерага специфик бўлган транспозон ва ретротранспозонлар оиласи аниқланган [8]. Транспозон ва ретротранспозонлар одатда, ўсимлик геномининг қатта қисмини ташкил этади ва геном структурасининг энг ўзгарувчан қисми ҳисобланади. Ҳўзанинг диплоид турлари бўлган *Gossypium arboreum* (AA) ва *Gossypium raimondii* (DD) ҳамда уларнинг тетраплоид авлоди *Gossypium hirsutum* (AtAtDtDt)нинг геномларини секвенирлаш, *Gossypium* авлоди геномини ўзаро таққослаш, генларнинг функцияси ва эволюциясини ўрганишнинг имконини берди. Транспозон ва ретротранспозонлар *Gossypium hirsutum* геномида 67,2% ни ташкил этади. Улар гўзада тола хужайрасини ривожланишида қатнашиши аниқланган [9].

Олиб борилган биоинформатик таҳлиллар BNL1604 маркери худудидан “Zinc finger BED domain-containing protein” яъни “Рух бармоқли BED домени тутган оксиллар” аниқланди. “Рух бармоқ” оксиллари ўсимликнинг ўсиш ва ривожланиш жараёнларида иштирок этувчи оксиллар оиласига мансуб бўлиб, турли биотик ва биотик таъсирларда қаршилик механизмларини тартибга солиб туради [10].

Лейцинга бой такрорлар рецептор табиатли оксил киназа “Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase” (LRR-RLK) ўсимликларда кенг қўламли жараёнларда иштирок этади. Баъзи LRR-RLK лар ўсимликларнинг ўсиши ва ривожланишини назорат қилишда иштирок этиши аниқланган. Масалан, меристемани ривожланишида, иккиламчи ўсиш ва ривожланишда, микроспорогенез ва эмбриогенезда ҳамда брассиностероидлар (BR) сигнал жараёнларида иштирок этади [11].

Хитойлик олимлар *Gossypium hirsutum* туридан лейцинга бой такрорлар субоиласи бўлган рецептор табиатли киназа (receptor-like protein kinase-RLK) генини аниқлашган [7]. RLK гени серин/треонин ва тирозинлар колдикларини фосфориллашда муҳим рол ўйнайди. Yuan-Li ва бошқалар тадқиқотларида GhRLK гени экспрессияси толага специфик ва ривожланиш жараёнларни регуляциясини кўрсатди. Ушбу натижа RLK пахта толасини ривожланишини бошқарувчи сигнал йўлининг муҳим таркибий қисми бўлиши мумкин [7].

Брассиностероидлар полигидро-оксид стероид фитогармонлар гуруҳи бўлиб, ўсимликнинг ўсиши ва ривожланиши жумладан, уруғнинг униб чиқиши, вегетатив ва генератив ривожланиш, турли хил биотик ҳамда абиотик таъсирларга жавоб реакциялари жараёнларида муҳим рол ўйнайди. Брассиностероидлар тола ривожланишининг бошқарилишида асосий рол ўйнайди. Шу билан бирга уларнинг молекуляр механизмлари тола узайишини регуляция қилади. Брассиностероидларни катализловчи цитохром P450 оксид фаолиятини сусайтирувчи PAG1 генини мутацияга учратиш орқали пахта толасини узайтиришга эришилган [12]. АҚШ лик олимлар гўзанинг гулига брассиностероидларни томизиш орқали толанинг узайишини аниқлаган [13].

Хулоса

Шундай қилиб, тадқиқотлар давомида *In silico* ПЗР ва BLAST таҳлиллари ёрдамида гўзада толанинг ривожланишини таъминлашда бевосита ёки билвосита қатнашувчи ва умуман ўсимликни ривожланишида муҳим рол ўйнайдиган генлар ва оксиллар аниқланди.

АДАБИЁТЛАР

1. Zhongxu Lin, Ying Wang, Xianlong Zhang, Jinfa Zhang / Functional Markers for Cellulose Synthase and Their Comparison to SSRs in Cotton. *Plant Mol Biol Rep* (2012) 30:1270–1275
2. Kota R, Varshney RK, Prasad M, Zhang H, Stein N, Graner A (2008) EST-derived single nucleotide polymorphism markers for assembling genetic and physical maps of the barley genome. *Funct Integr Genomics* 8:223–233. doi:10.1007/s10142-007-0060-9
3. Wenbin Liao, Juan Zhang, Nanfei Xua, and Ming Penga / The Role of Phytohormones in Cotton Fiber Development. *Journal of Plant Physiology*, 2010, Vol. 57, No. 4, pp. 462–468.
4. Qing Miao, Peng Deng, Sukumar Saha, Johnnie N. Jenkins, Chuan-Yu Hsu, Ibromkhim Y. Abdurakhmonov⁵, Zabardast T. Buriev⁵, Alan Pepper⁶, Din-Pow Ma^{1*} / Transcriptome Analysis of Ten-DPA Fiber in an Upland Cotton (*Gossypium hirsutum*) Line with Improved Fiber Traits from Phytochrome A1 RNAi Plants. *American Journal of Plant Sciences*, 2017, 8, 2530-2553
5. Kentaro Tamura and Ikuko Hara-Nishimura / The molecular architecture of the plant nuclear pore complex. *Journal of Experimental Botany*, Vol. 64, No. 4, pp. 823-832, 2013
6. Yuree Lee, Gwangbae Bak, Yunjung Choi, Wen-I Chuang, Hyung-Taeg Cho, Youngsook Lee / Roles of Phosphatidylinositol 3-Kinase in Root Hair Growth. *Plant Physiology*, 2008, Vol. 147, pp. 624–635
7. Yuan-Li Li, Jie Sun, Gui-Xian Xia / Cloning and characterization of a gene for an LRR receptor-like protein kinase associated with cotton fiber development. *Mol Gen Genomics* (2005) 273: 217–224
8. Jiming Jiang, James A. Birchler, Wayne A. Parrott, R. Kelly Dawe / A molecular view of plant centromeres. *Trends in Plant Science*. December 2003, Pages 570-575
9. Kun Wang, Gai Huang & Yuxian Zhu / Transposable elements play an important role during cotton genome evolution and fiber cell development. *Science China Life Sciences*, 2016. Vol.59 No.2: 112–121
10. Santosh Kumar Gupta, Amit Kumar Rai, Shamsheer Singh Kanwar, and Tilak R. Sharma, / Comparative Analysis of Zinc Finger Proteins Involved in Plant Disease Resistance. *PLOS ONE*. 2012
11. Ping-Li Liu, Liang Du, Yuan Huang, Shu-Min Gao, and Meng Yu / Origin and diversification of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase (LRR-RLK) genes in plants. *BMC Evolutionary Biology* (2017) Page 2 of 16
12. Zuoren Yang, Chaojun Zhang, Xiaojie Yang, Kun Liu, Zhixia Wu, Xueyan Zhang, Wu Zheng, Qingqing Xun, Chuanliang Liu, Lili Lu, Zhaoen Yang, Yuyuan Qian, Zhenzhen Xu, Changfeng Li, Jia Li and Fuguang Li / PAG1, a cotton brassinosteroid catabolism gene, modulates fiber Elongation. *New Phytologist* (2014) 203: 437–448
13. Yan Sun, Suresh Veerabomma, Haggag A. Abdel-Mageed, Mohamed Fokar, Tadao Asami, Shigeo Yoshida and Randy D. Allen / Brassinosteroid Regulates Fiber Development on Cultured Cotton Ovules. *Plant Cell Physiol*. 46(8): 1384–1391 (2005)