

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه زابل

دانشکده کشاورزی

گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

شناسایی مولکول‌های RNA حلقوی مرتبط با نمو خوشه در انگور یاقوتی سیستان و ایجاد روشی جدید برای پیش‌بینی آن‌ها

استادان راهنما:

دکتر عباسعلی امام‌جمعه

دکتر منصور ابراهیمی

استادان مشاور:

دکتر ابودر قربانی

دکتر اسماعیل ابراهیمی

دکتر یعثوب شیری

تهیه و تدوین:

شهلا رنجبر

دی ۱۴۰۲

چکیده

مولکول‌های circular RNA (circRNA) بعنوان یک گروه نسبتاً جدید از انواع مولکول‌های RNA، عملکردهای بیولوژیکی متعددی را کنترل می‌نمایند. از نظر عملکردی، circRNAs می‌توانند بیان ژن‌های والد خود را تنظیم کنند یا به عنوان اسپانچ‌های (miRNA) microRNA عمل کرده و از اتصال miRNAs به ژن‌های هدف خود جلوگیری نمایند. مولکول‌های circRNA بر اساس نوع بافت و مرحله رشد، پروفایل‌های ویژه بیان نشان می‌دهند. انگور یاقوتی سیستان یک رقم بی‌دانه با حبه‌های کوچک است. ویژگی برجسته دیگر تراکم بسیار بالای خوشه در انگور یاقوتی سیستان می‌باشد که بر بازارپسندی این رقم تاثیر نامطلوب به دنبال دارد. در این مطالعه، circRNAs فعال در فرایند تشکیل خوشه شناسایی شد و اثر محلول‌پاشی تیمار اسید جیبرلیک بر میزان بیان آن‌ها بررسی گردید. در مجموع ۳۷۱۵ عدد circRNA قابل اعتماد شناسایی گردید که از آن میان ۹۰۰ عدد circRNA دارای تغییرات بیانی در مراحل مختلف نمو خوشه تحت تاثیر تیمار اسید جیبرلیک بودند. بر اساس تعداد و میزان بیان circRNAs، از مجموع ۵۰۳ عدد miRNA هدف، تعداد ۱۲ عدد بعنوان miRNA شاخص انتخاب شدند. نتایج نشان داد miRNAs خانواده‌های vvi-miR156، vvi-miR164 و vvi-miR172 یک شبکه ژنی مرتبط با فرایند گلدهی در انگور یاقوتی را کنترل می‌کنند. هدف تنظیمی miR172 زیرخانواده‌ای از ژن‌های فاکتور رونویسی (AP2) APETALA2 (AP2) است. دو ژن هدف RAP2.7 و AP2 برای آغاز فرایند گل‌دهی ضروری هستند و miR172 با کاهش دادن فعالیت آن‌ها زمان گل‌دهی را تنظیم می‌کند. همچنین miRNAs خانواده miR164 با کنترل بیان ژن NAC1 و NAC100 فرایند تولید ریشه‌های جانبی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. از ۲۹ عدد circRNA در شبکه برهمکنشی circRNAs-miRNAs-mRNAs، ۱۲ عدد circRNA دارای حفاظت‌شدگی بالا می‌باشند که بر صحت پیش‌بینی مولکول‌های circRNA گزارش شده دلالت دارد. داده‌کاوی با ده روش مختلف وزن‌دهی، ۱۶ عدد circRNA کلیدی مراحل نمو خوشه را مشخص کرد. طبقه‌بند درخت تصمیم مبتنی بر یادگیری ماشین، با عملکرد بالا برای تمایز متغیر ورودی به گروه کنترل یا تیمار توسعه یافت. نتایج نشان داد circRNAs احتمالاً نقش کلیدی در فرایند نمو و تشکیل خوشه انگور یاقوتی و همچنین تحمل گیاه در برابر تنش کم‌آبی دارند.

کلمات کلیدی: circRNA، miRNA، شبکه برهمکنشی، داده‌کاوی، حفاظت‌شدگی

Abstract

Circular RNA molecules (circRNA) are a relatively new group of RNA molecules that control several biological functions. Functionally, circRNAs can regulate the expression of their parent genes or act as microRNA (miRNA) sponges by preventing miRNAs from binding to their target genes. CircRNAs exhibit tissue-specific expression profiles depending on tissue type and developmental stage. Yaghooti grape from Sistan is a seedless species with small berries. The compact clusters are another striking feature of this grape variety that negatively affects its marketability. In this study, circRNAs involved in cluster formation were identified and the effects of gibberellin treatment on their expression levels were investigated. Of the 3,715 circRNAs identified, 900 circRNAs are differentially expressed under gibberellin treatment at three stages of cluster development. Among the 503 miRNAs identified, 12 index miRNAs were selected. The results showed that miRNAs of vvi-miR156, vvi-miR164, and vvi-miR172 families control a gene network related to the flowering process of Yaghooti grape. The regulatory target of miR172 is a subfamily of APETALA2 (AP2) transcription factor genes. Two target genes, AP2 and RAP2.7, are required to initiate the flowering process, and miR172 regulates flowering timing by reducing their activity. In addition, miRNAs of the miR164 family affect lateral root production by controlling the expression of the NAC1 and NAC100 genes. Of the 29 circRNAs in the circRNAs-miRNAs-mRNAs interaction network, 12 circRNAs are highly conserved, indicating the accuracy of the predicted circRNA molecules. Data mining using ten different weighting methods identified 16 biomarker circRNAs in the stages of clustering. A decision tree classifier based on machine learning was developed with high performance to discriminate the input variable into the control or treatment group. Our results suggest that circRNAs may play a key role in the developmental and cluster formation processes of Yaghooti grape, as well as in the tolerance of the plant to drought stress.

Keywords: CircRNAs, Conservation, Data mining, Interaction network, miRNAs.



University of Zabol
Faculty of Agriculture
Department of Plant Breeding and Biotechnology (PBB)

**Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirement for the Degree of Ph.D in Agriculture
Biotechnology**

**Identification and prediction of circular
RNAs associated with cluster formation in
Yaghooti grapes of Sistan and a methodology
development to predict them**

Supervisor

Dr. A. Emamjomeh
Dr. M. Ebrahimi

Advisor

Dr. A. Ghorbani
Dr. E. Ebrahimie
Dr. Y. Shiri

By

Shahla Ranjbar

December 2023