

“GOSSYPIMUM HIRSUTUM L. NING TURLI NAV VA TIZMALARDA HSP70-26 GENINI MOLEKULYAR GENETIK TADQIQ QILISH”

Narimanov A.A.¹, Namazov SH. E², Sherimbetov A.G¹, Adilov B.SH¹, Ruzmetov D.R¹,
Primqulov.SH.X.¹, Xoldorov.J.X¹

Genetika va o'simliklar eksperimental biologiyasi instituti¹

Paxta seleksiyasi, urug'chiligi va yetishtirish agrotekhnologiyalari ilmiy-tadqiqot instituti²

E-mail: ruzmetov.1993@inbox.ru, +998909065651

Annotatsiya. Issiqlik stressi butun dunyo bo'ylab ekinlar hosildorligiga sezilarli ta'sir qiladi. Yuqori haroratli ob-havo qurg'oqchilik va boshqa noqulay sharoitlar bilan bog'liq bo'lib, ular g'o'za (*Gossypium* spp.) o'sishi va rivojlanishiga, tola hosildorligiga va sifatiga jiddiy ta'sir ko'rsatib, paxtachilikning rivojlanishini cheklaydi. Issiqlik shok oqsillari(hsp) strukturaviy hamda funktsional genlarni nazorat qiladi va issiqlik stressi sharoitida ko'plab hujayra oqsillarning normal ishlashini ta'minlaydi.

Tadqiqotimizning maqsadi *Gossypium hirsutum* L. dagi Hsp70-26 genining molekulyar genetik tavsiflash edi. Respublikamizning turli viloyatlaridagi fermer xo'jaliklariga ilmiy ekspeditsiyalar o'tkazildi. G'o'za genofondining turli nav va liniyalari, hamda respublikamizga xorijdan keltirilgan navlardan barg namunalari yig'ildi.

Yig'ilgan barg namunalaridan GeneJET Plant Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher, AQSH) to'plami bilan DNK ajratildi. Ajratilgan DNK namunalarning konsentratsiyasi va tozaligi NanoDrop Eight spektrofotometri yordamida o'lchandi. *Gossypium hirsutum* L. ning turli navlarining Hsp70-26 to'liq geni (shu jumladan promoter regioni ham) nucleotid ketma-ketliklari (4500 ж. н.) GeneBank NCBI ma'lumotlar bazasidan olindi va ular “MUSCLE” onlayin bioinformatik dastur yordamida (https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_musclean.html) elayment qilindi.

Elayment naitajalairiga ko'ra konservativ uchastkalar aniqlanib ushbu uchastkalarga Forward va Revers praymerlar (Gh_Hsp70-26_F1: GGTCTCTGAGTTCCATCATGAGTT va Gh_Hsp70-26_R1: GCCCATCGTTTACCAGATTG) dizayin qilindi. Ushbu praymerlarning odjig xaroratlari Janubiy Koreyaning “Bioneer” biotexnologik kompaniyasining oligo kalkulyator bioinformatik dasturi (<https://zendto.bioneer.co.kr/e-calculateTm.html>) yordamida hisoblandi. Hsp70-26 geniga go'za navlari va liniyalarining 10 ta namunalarida PZR o'tkazildi, va 1,5% agarozda gelida PZR maxsulotlarning elektroforez o'tkazildi. Hsp70-26 genini amplifikatsiya maxsulotlarning elektroferogrammalarini tahlil qilish natijasida 10 ta namunada PZR mahsulotlari mavjudligi aniqlandi, PZR mahsulotlarining uzunligi 4500 j. n. tashkil kildi. Shunday qilib, Hsp70-26 genida va uning promoter regionida insertsiya-deletsiya polimorfizmlar aniqlanmadi.

Hsp70-26 genida SNP polimorfizmlarini aniqlash uchun keyingi bosqichda PCR mahsulotlarining sekvenslash amalga oshirish zarur.

Калит сўзлар: *Gossypium hirsutum* L., DNK, PZR, Heat-shock geni, promoter regioni, gel elektroforez.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕНА HSP70-26 У РАЗЛИЧНЫХ СОРТОВ И ЛИНИЙ GOSSYPIMUM HIRSUTUM L.

аннотация. Тепловой стресс оказывает значительное влияние на урожайность сельскохозяйственных культур во всем мире. Высокие температуры связаны с засухой и другими неблагоприятными условиями, которые оказывают существенное влияние на рост и развитие хлопчатника (*Gossypium* spp.), урожайность и качество волокна, а также ограничивают развитие хлопководства. Белки теплового шока (HSP) в первую очередь

контролируют фолдинг структурных и функциональных белков, обеспечивая нормальное функционирование многих клеточных белков в условиях теплового стресса.

Целью нашего исследования было проведение молекулярно-генетической характеристики гена Hsp70-26 у различных сортов и линий *Gossypium hirsutum* L.

Были проведены научные экспедиции в фермерские хозяйства различных регионов нашей республики. Были собраны образцы листьев из различных сортов и линий генофонда хлопчатника, а также сортов, завезенных в нашу республику из-за рубежа. Образцы ДНК были выделены из образцов листьев с использованием набора GeneJET Plant Genomic DNA Kit (Thermo Fisher, США). Концентрацию и чистоту выделенных образцов ДНК измеряли с помощью спектрофотометра NanoDrop Eight.

Полные нуклеотидные последовательности (4500 п.н.) гена Hsp70-26 (включая промоторную область) различных сортов *Gossypium hirsutum* L. были взяты из базы данных GeneBank NCBI и был проведён их элаймент с помощью биоинформатической онлайн-программы «MUSCLE»

(https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_musclean.html). В результате элаймента были выявлены консервативные регионы и для них были разработаны прямые и обратные праймеры (Gh_Hsp70-26_F1: GGTCTCTGAGTTCCATCATGAGTT и Gh_Hsp70-26_R1: GCCCATCGTTTACCAGATTG). Температуры отжига данных праймеров были рассчитаны с помощью биоинформатического программного обеспечения Oligo Calculator (<https://zendto.bioneer.co.kr/e-calculateTm.html>) южнокорейской биотехнологической компании Bioneer. Была проведена ПЦР на ген Hsp70-26 на 10 образцов сортов и линий хлопчатника, с дальнейшей постановкой электрофореза продуктов амплификации в 1,5% агарозном геле. Анализ электрофореграмм продуктов амплификации гена Hsp70-26 выявил наличие ПЦР продуктов во всех 10 образцах, при этом их длина составила 4500 п.н.. Таким образом, в гене Hsp70-26 и его промоторной области не были обнаружены инсерционно-делеционные полиморфизмы. Для выявления SNP полиморфизмов в гене Hsp70-26 следующим этапом необходимо проведение секвенирования продуктов ПЦР.

Ключевые слова: *Gossypium hirsutum* L., ДНК, ПЦР, Heat-shock ген, промоторный регион, гель электрофорез.

MOLECULAR GENETIC STUDY OF THE HSP70-26 GENE IN DIFFERENT VARIETIES AND LINES OF *GOSSYPIUM HIRSUTUM* L.

Abstract. Heat stress has a significant impact on crop yields worldwide. High temperatures associated with drought and other adverse conditions have a significant impact on the growth and development of cotton (*Gossypium* spp.), yield and fiber quality, and limit the development of cotton production. Heat shock proteins (HSPs) primarily control the folding of structural and functional proteins, providing the normal functioning of many cellular proteins under heat stress. The aim of our study was to conduct molecular genetic characterization of the Hsp70-26 gene in *Gossypium hirsutum* L.

Scientific expeditions were conducted to farms in various regions of our republic. Leaf samples were collected from various varieties and lines of the cotton germplasm, as well as varieties imported to our republic from abroad. DNA samples were isolated from leaf samples using the GeneJET Plant Genomic DNA Kit (Thermo Fisher, USA). The concentration and purity of the isolated DNA samples were measured using NanoDrop Eight spectrophotometer.

The complete nucleotide sequences (4500 bp) of the Hsp70-26 gene (including the promoter region) of different *Gossypium hirsutum* L. varieties were downloaded from the

GeneBank NCBI database and their alignment was performed using the online "MUSCLE" bioinformatics program (https://npsa.lyon.inserm.fr/cgi-bin/npsa_automat.pl?page=/NPSA/npsa_musclean.html).

As a result of the alignment, conserved regions were identified and forward and reverse primers were designed for them (Gh_Hsp70-26_F1: GGTCTCTGAGTTCCATCATGAGTT and Gh_Hsp70-26_R1: GCCCATCGTTTACCAGATTG). The annealing temperatures of these primers were calculated using the Oligo Calculator bioinformatics software (<https://zendto.bioneer.co.kr/e-calculateTm.html>) of the South Korean biotechnology company Bioneer. PCR was performed on the Hsp70-26 gene on 10 samples of cotton varieties and lines, with subsequent electrophoresis of the amplification products in 1.5% agarose gel. Analysis of the electropherograms of the Hsp70-26 gene amplification products revealed the presence of PCR products in all 10 samples, while their length was 4500 bp. Thus, no insertion-deletion polymorphisms were detected in the Hsp70-26 gene and in its promoter region. To identify SNP polymorphisms in the Hsp70-26 gene, as a next step it is necessary to perform sequencing of the PCR products.

Key words: *Gossypium hirsutum* L., DNA, PCR, Heat-shock gene, promoter region, gel electrophoresis.

Kirish. Dunyo bo'ylab aholining o'sib borayotgani paxta tolasiga bo'lgan talabni oshirmoqda, ammo iqlim sharoitining o'zgarishi natijasida haroratning oldindan aytib bo'lmaydigan ko'tarilishi ishlab chiqarishga to'sqinlik qilmoqda. Seleksiya va genomikaga asoslangan ko'plab tadqiqotlar yuqori va past haroratli stressli muhitda paxta hosilini ko'paytirish uchun olib borildi. Yuqori harorat (heat shok HT) global oqibatlariga olib keladigan asosiy ekologik stress omili bo'lib, g'o'za o'simliklari o'sishi va metabolizmining bir qancha jihatlariga ta'sir qiladi. Issiqlik stressidan kelib chiqqan fiziologik va biokimyoviy o'zgarishlar tadqiqot mavzusi bo'lib, g'o'za o'simliklarining issiqlikka chidamliligini oshirish uchun molekulyar usullardan foydalaniladi. Yuqori harorat (HT) global oqibatlariga olib keladigan asosiy ekologik stress omili bo'lib, g'o'za o'simliklari o'sishi va metabolizmining bir qancha jihatlariga ta'sir qiladi. Issiqlik stressidan kelib chiqqan fiziologik va biokimyoviy o'zgarishlar tadqiqot mavzusi bo'lib, g'o'za o'simliklarining issiqlikka chidamliligini oshirish uchun molekulyar usullardan foydalaniladi. Issiqlik stressidan kelib chiqadigan to'siqlarni bartaraf etish uchun issiqqa chidamli paxta navlarini ishlab chiqish va tanlash juda muhimdir. O'zbekiston paxta ishlab chiqarish bo'yicha dunyoda 5-o'rinda va paxta xom-ashyosi eksporti bo'yicha 4-o'rinda turadi, shuning uchun u dunyoda paxta yetishtiruvchi yirik davlatlar qatoriga kiradi. Mamlakatning paxta maydonlarining qariyb 93 foizida o'rta tolali g'o'za navlari ekiladi. G'o'za hosildorligining pasayishi dunyoda kuzatilayotgan global iqlim o'zgarishlari biosferada havo haroratining oshishini, yoz oylarida nisbiy namlikning keskin pasayishidan vujudga keladigan issiq shamollar esa atmosfera va tuproq qurg'oqchiligini keltirib chiqarmoqda. Ma'lumotlarga ko'ra, dunyo bo'yicha o'rtacha haroratning 2 °C dan 4 °C gacha ko'tarilishi ham, paxta yetishtirishda xosil miqdorining va sifatini cheklovchi omillar qatoriga kiradi.

Adabiyotlar tahlili. Inson faoliyati va iqlim o'zgarishi ob-havoning tez-tez va shiddatli o'zgarishiga olib keldi, bu esa ekinlarga turli xil abiotik stresslarni keltirib chiqardi, ularning metabolik faoliyatini ma'lum darajada to'xtatishi mumkin. Keng tarqalgan abiotik omil bo'lgan issiqlik stressi g'o'zaning biologik faolligiga sezilarli ta'sir ko'rsatadi, natijada hosil kamayadi.

Dunyoning 84 ta mamlakatida g'o'za o'simligi yetishtirib kelinmoqda. Dunyo miqyosida *Gossypium* turkumi 5 qit'ada keng tarqalgan. bo'lib Dunyodagi eng yirik paxta yetishtiruvchi davlat sifatida Xitoyning 2020-yilda jami paxta ishlab chiqarish hajmi 5,89 million tonnani

tashkil etdi, bu jahon umumiy hajmining 22,5 foizini tashkil etdi, Shinjonning umumiy paxta ishlab chiqarishi 5,02 million tonnani tashkil etdi, bu Xitoyning umumiy paxtaning ishlab chiqarish hajmi 84,9 foizini tashkil etdi[1,2,3,4].

Garchi jahonda g'oz yetishtirish so'nggi o'n yillikda barqaror sur'atda saqlanib qolgan bo'lsada, turli mintaqalar o'rtasida g'oz yetishtirishda hali ham sezilarli farqlar mavjud[5]. Atrof-muhit sharoitlarining o'zgarishi ekinlarning unumdorligi va barqarorligini pasaytirdi. Tuproq sho'rlanishi, cho'llanish, aholining ko'payishi, urbanizatsiya natijasida qishloq xo'jaligi yerlarining doimiy yo'qolishi iqlim o'zgarishi oqibatlarini yanada kuchaytirdi[6].

Issiqlik, qurg'oqchilik, yog'ingarchilik, namlik va quyosh nuriga ta'sir qilish kabi turli xil ekologik omillar ekinlarning mahsuldorligiga ta'sir qiladi[7]. Biroq, bu ekologik omillar orasida yuqori haroratli stress (heat shock HT) bir nechta ekinlarning, shu jumladan g'ozaning o'sishi va rivojlanishiga katta ta'sir ko'rsatadi[8]. Agar harorat optimal o'sish oralig'idan 1 °C ga oshsa, g'oz hosildorligi 110 kg/ga gacha kamayishi mumkin[9]. G'ozaning gullash davri HT ga sezilarli darajada sezgir bo'lib, gulning sezilarli darajada so'lishiga, o'simliklarning o'sishini sekinlashishiga, ko'saklarning og'irligi va sonining kamayishiga olib keladi[10]. 32 ° C dan 40 ° C gacha bo'lgan harorat ildiz rivojlanishiga va stomaning o'tkazuvchanligiga salbiy ta'sir qiladi. 29 ° C dan yuqori harorat ko'sakning og'irligini ham kamaytirishi mumkin[11]. 37 ° C dan yuqori harorat urug'ning unib chiqish tezligiga sezilarli ta'sir ko'rsatadi, bu ham o'tkazuvchi to'qima naychasining cho'zilishiga olib keladi[12].

G'oz hosildorligining kamayishi bilan bir qatorda, HT ham tola uzunligini kamaytiradi va kalta tolalar soni ortib tola sifati pasayadi[13]. HT to'g'ridan-to'g'ri ya'ni bevosita va bilvosita zararli ta'sir etib, o'simliklarning o'sishi va rivojlanishining barcha bosqichlariga ta'sir ko'rsatishi mumkin[14].

O'simliklar o'zlarini oksidlovchi stressdan himoya qilish uchun ikki tomonlama himoya mexanizmini ishlab chiqadi. Himoya tizimi askorbat peroksidaza va superoksid dismutaza (SOD) kabi turli fermentlarni va fenolik kislotalar va flavonoidlar kabi fermentativ bo'lmagan elementlarni faollashtirish orqali harakatga keladi. Enzimatik bo'lmagan va fermentativ tizimlar erkin radikallarni yo'q qilish yoki ularni parchalash orqali reaksiyalarini to'xtatish uchun mos ravishta ishlaydi [15].

Molekulyar signalizatsiya yangi sintezlangan oqsillar ribosomadan chiqarilganda ishga tushiriladi va heat shock oqsilining (HSP70) substrat bog'lovchi domenlari gidrofobik aminokislota qoldiqlari ketma-ketligini aniqlash va bog'lashga yordam beradi[16].

Heat shock oqsili geni o'simliklarda muhim ahamiyatga ega, chunki u o'simlikning hujayra mexanizmlarini issiqlik kabi turli xil abiotik stresslardan himoya qilishga yordam beradi. Shuningdek, u protein peptidlarining kengaytirilgan bo'limlari va spiral oqsillar bilan o'zaro ta'sir qilish orqali qo'shimcha rol o'ynaydi.

Tadqiqot ob'ekti va ushblari molekulyar-genetik PZR tahlili, spektrofotometr, gel elektrofarez usullardan foydalanildi.

G'oz o'simligidan DNK ajratish GeneJET Plant Genomik kit to'plami

G'oz o'simlik namunlaridan olingan biomaterial suyuq azotda gomogenzatsiya qilindi, 200 mkl biomassa olindi.

200 mkl biomassa ustiga 250 mkl Desspersion buffer (R2) solinadi vortex qilindi

15 mkl 20% SDS 15 mkl R-aza solinadi 55°C termoblokda inkubatsiya qilindi.

Aralashma 15 minut sentrafuga qilindi.

100 mkl Pereption buffer 5 minut muz ustida xona haroratda turdi.

375 mkl Binding buffer (B4) qo'shiladi keyin 10x100g 30 sekund sentrafuga qilindi

Maxsus kolonkaga olinadi ustiga Wash buffer (W4) 500 mkl solib 10x100g 30 sekund sentrafuga qilindi

Wash buffer (W4) 500 mkl solib 10x100g 30 sekund sentrafuga qilindi

Wash buffer (W5) 500 mkl solib 10x100g 30 sekund sentrafuga qilindi

Elution buffer 100 mkl solib 2 minut xona haroratda qo'yib maksimumda 1 minut aylatiramiz toza DNK namunalarni Nanodro Night aparatida konsentrativalari tekshirildi.

Tadqiqotning natijalari va muhokamasi Toshkent viloyatining Toshkent va Oqqo'rg'on tumanlarida go'za o'simligi ekilgan dalalarga ilmiy ekspeditsiya amalga oshirildi. Ekspeditsiya davomida dalalarda ekilgan go'za o'simliklarning o'sish va rivojlanish bosqichlarida Xitoy davlatidan olib kelingan Fian, Chuntay-8, hamda mahalliy Sulton, Porloq-4 kabi g'za navlaridan yuqori harorat (heat shock)ga bardoshlilikini genetik o'rganish asosida biologik materiallar olindi(1-2 rasmlar).



1-rasm. G'o'zaning Sulton navi



2-rasm. G'o'zaning Fian (Xitoy) navi

G'ozaning har xil navlaridan tanlab olingan barglaridan laboratoriya sharoitida tanlab barglarni havonchalarda gomoginzatsiya qilib DNK namunlarini ajratildi. GeneJET Plant Genomik DNK (Thermo Fisher AQSH). Ajratilgan DNK namunalarning konsentratsiyasi va tozaligi NanoDrop Eight spektrofotometri yordamida o'lchandi. Izolyatsiya qilingan DNKning tozaligini baholash uchun 260 va 280 nm ($A_{260/280}$) to'lqin uzunliklarida yutilish nisbati tekshirildi(1-jadval).

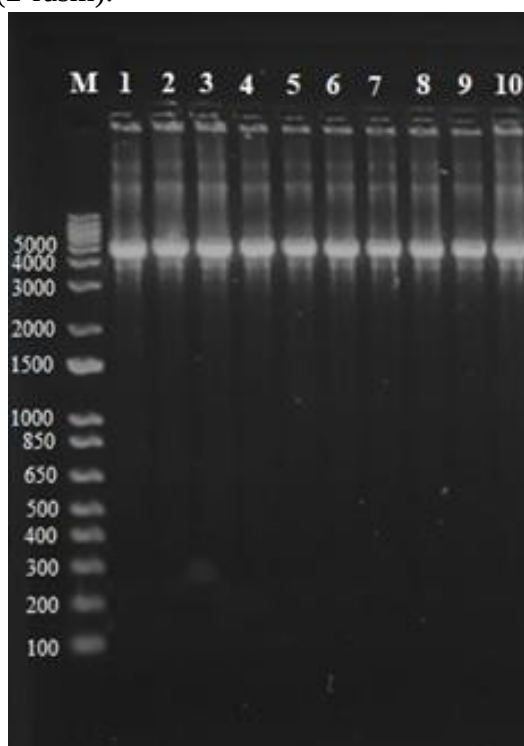
1-jadval

DNK namunalar miqdori

No	Hamunalar	ng\ul	A260A280	A260A280	A260	A280
1.	Fian Xitoy	26.1	1.42	0.32	0.52	0.37
2.	52	24.5	1.37	0.26	0.49	0.36
3.	Porloq 4	26.3	1.58	0.35	0.53	0.33
4.	Sulton	17.4	1.67	0.46	0.35	0.21
5.	NAM-77	20.5	1.56	0.32	0.41	0.26

6.	C-65 24	5.7	1.57	0.37	0.11	0.07
7.	Ravnoq-1	6.3	1.64	0.24	0.13	0.08
8.	Chuntay-8	21.9	1.37	0.27	0.44	0.32
9.	Oqqo'rg'on-22	26.4	1.78	0.67	0.53	0.30
10.	Bux-10	11.5	1.61	0.42	0.23	0.14

DNK tahlili asosida go'za o'simliklardan ajratilgan DNK namunalarini g'o'za o'simligining nav namunalarida garmisel yuqori harorat (heat shok)ga bardoshlilikini genetik o'rganish asosida PZR diagnostikasi amalga oshirildi. PZR diagnostika davomida g'o'za o'simligida (heat shok)ga geniga maxsus spetsifik praymer Gh_Hsp70-26_F1 (GGTCTCTGAGTTCCATCATGAGTT) va Gh_Hsp70-26_R1 (GCCCCATCGTTTACCAGATTG) dizayn qilindi. Reaksiya denaturatsiya 94C° 2 min, 94C° 30 sek, otjig 53C° 30 sek, elongatsiya-1 72C° 4 min elongatsiya-2 72C° 5 min. PZR protokoli asosida amplifikatsiya qilindi. PZR yakunidan keyin maxsulotlarni 1.5% agarozda gelida deteksiyasi amalga oshirildi(2-rasm).



3- rasm. Go'zaning (heat shok) geniga spetsifik bo'lgan Gh_Hsp70-26_F1 va Gh_Hsp70-26_R1 praymerlari bilan o'tkazilgan amplifikatsiya mahsulotlarining elektroforegrammasi

Natijada biologik materiallar olingan go'za navlarida (heat shok) geni borligi aniqlandi. Hozirgi kunda ushbu gen, go'za o'simliklarda gen ekspressiyasi tekshirilmoqda.

Xulosa sifatida Respublikamizning turli viloyatlaridagi fermer xo'jaliklariga ilmiy ekspeditsiyalar o'tkazildi. G'o'za genofondining turli navlari va liniyalari, yangi g'o'za navlari, shuningdek, respublikamizga xorijdan olib kirilgan navlar namunalaridan biologik materiallar yig'ish ishlari olib borildi. Biologik materiallardan DNK namunalari ajratildi. Polimeraza zanjir

reaksiyasi amalga oshirildi. Tajriba yakunida g'o'za navlarida yuqori harorat (heat shok)ga bardoshli genlar borligi aniqlandi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Deng FJ, Chen GW, Yu Y (2010) The technological progress of the cotton industry over the past 30 ears in Xinjiang Production and Construction Corps. *Xinjiang Farm Res Sci Technol* 6:3–7
2. Hu, L., Pan, X., Wang, X., Hu, Q., Wang, X., Zhang, H., et al. (2021). Cotton photosynthetic productivity enhancement through uniform row-spacing with optimal plant density in Xinjiang, China. *Crop Sci.* 61, 2745–2758.
3. Iost Filho, F.H., Heldens, W., Kong, Z., & de Lange, E.S. (2019). Drones: Innovative Technology for Use in Precision Pest Management. *Journal of Economic Entomology*, 113, 1 - 25.
4. Li, N., Li, J., Tung, S., Shi, X., Hao, X., Shi, F., Wahid, M.A., Ali, B., Rashid, R., Wang, J., Luo, H. (2022). Optimal irrigation amount can increase cotton lint yield by improving canopy structure and microenvironment under non-film deep drip irrigation. *J. Clean. Prod.* 360, 132156.
5. Sheri V., Kumar M., Jaconis S., Zhang B. (2023a). Antioxidant defense in cotton under environmental stresses: unraveling the crucial role of a universal defense regulator for enhanced cotton sustainability. *Plant Physiology Biochem.* 204, 108141. 10.1016/j.plaphy.2023.108141
6. Raza A., Razzaq A., Mehmood S. S., Zou X., Zhang X., Lv Y., et al. (2019). Impact of climate change on crops adaptation and strategies to tackle its outcome: a review. *Plants* 8, 34. 10.3390/
7. Mukhtar T., Sultan T., Hussain Munis F., Chaudhary H. J. (2022). Induction of heat tolerance in tomato cultivar with heat tolerant bacteria under field condition. *Asian J. Agric. Biol.* 2022, 202103112.
8. Yousaf M. I., Hussain Q., Alwahibi M. S., Aslam M. Z., Khalid M. Z., Hussain S., et al. (2023). Impact of heat stress on agro-morphological, physio-chemical and fiber related paramters in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) genotypes. *J. King Saud University-Science* 35, 102379. 10.1016/j.jksus.2022.102379
9. Singh R. P., Prasad P. V., Sunita K., Giri S., Reddy K. R. (2007). Influence of high temperature and breeding for heat tolerance in cotton: a review. *Adv. Agron.* 93, 313–385. 10.1016/s0065-2113(06)93006-5
10. Zafar M. M., Jia X., Shakeel A., Sarfraz Z., Manan A., Imran A., et al. (2022). Unraveling heat tolerance in upland cotton (*Gossypium hirsutum* L.) using univariate and multivariate analysis. *Front. Plant Sci.* 12, 727835. 10.3389/fpls.2021.727835
11. Lokhande S., Reddy K. R. (2014). Quantifying temperature effects on cotton reproductive efficiency and fiber quality. *Agron. J.* 106, 1275–1282. 10.2134/agronj13.0531
12. Burke J. J., Velten J., Oliver M. J. (2004). In vitro analysis of cotton pollen germination. *Agron. J.* 96, 359–368. 10.2134/agronj2004.3590
13. Khan M. K. R., Liu F., Wang B., Hussain M., Ditta A., Anwar Z., et al. (2022b) Breeding cotton for heat tolerance. *Cotton breeding and biotechnology*. USA: CRC Press.
14. Ullah K., Khan N., Usman Z., Ullah R., Saleem F. Y., Shah S. A. I., et al. (2016). Impact of temperature on yield and related traits in cotton genotypes. *J. Integr. Agric.* 15, 678–683. 10.1016/s2095-3119(15)61088-7.
15. Poudel P. B., Poudel M. R. (2020). Heat stress effects and tolerance in wheat: a review. *J. Biol. Today's World* 9, 1–6.

16. Faust O., Abayev-Avraham M., Wentink A. S., Maurer M., Nillegoda N. B., London N., et al. (2020). HSP40 proteins use class-specific regulation to drive HSP70 functional diversity. *Nature* 587, 489–494. [10.1038/s41586-020-2906-4](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2906-4)