

مقاله پژوهشی

اثر سطوح مختلف آبیاری بر عملکرد چین اول و کیفیت الیاف پنبه (*Gossypium hirsutum*) رقم گلستان و بررسی بیوانفورماتیک ژن های *CesA* و *XET1* در گیر در کیفیت الیاف پنبه

مریم کلاهی^۱، الهام فغانی^۲، مینا کاظمیان^۳، صدیقه دودانگی^۲، محمد حبیبی^۲ و ام البنین چکانی^۲

^۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

^۲ گروه زراعت، مؤسسه تحقیقات پنبه کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران.

^۳ گروه گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات: m.kolahi@scu.ac.ir

تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: آبان ۱۴۰۰

چکیده

بررسی گیاهان زراعی در شرایط تنش می تواند منجر به بهبود صفات مرتبط با تحمل و افزایش رشد و عملکرد آنها در شرایط کم آبی شود. بنابراین نحوه و نوع روش آبیاری بر گیاهان اهمیت دارد. به منظور بررسی تأثیر مقادیر مختلف آبیاری بر کیفیت الیاف و عملکرد پنبه رقم گلستان با هدف تکثیر بذر برای مزارع دیم، آزمایشی بر اساس تامین نیاز رطوبتی خاک در ۴ سطح (دیم (بدون آبیاری)، ۳۳، ۶۶ و ۱۰۰ درصد) به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار طی سال های زراعی ۹۸-۱۳۹۵ اجرا شد. پس از رسیدگی فیزیولوژیکی، عملکرد و صفات کیفی الیاف ارزیابی شدند. در این پژوهش ویژگی های پروتئینی و فیلوژنتیکی آنزیم *CesA* cellulose synthase A و *XET1* endotransglucosylase توسط ابزارهای بیوانفورماتیک مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین عملکرد چین اول، در تیمار آبیاری ۶۶ درصد مشاهده شد. بیشترین مقدار وزن الیاف چین اول در تیمار آبی ۶۶ درصد و کمترین مقدار در شرایط دیم مشاهده شد. بذرهایی که در شرایط ۶۶ درصد آبیاری رشد کردند، باعث تولید بذر بالقوه با الیاف باکیفیت شدند. همچنین آنالیز بیوانفورماتیکی مشخص کرد که محل درون سلولی آنزیم های *CesA* و *XET1* به ترتیب غشای پلاسمایی و دیواره سلولی می باشند. آنزیم *CesA* و *XET1* به ترتیب از خانواده ی پروتئینی ترنسفرآزها و هیدرولازها پیشبینی شد. در بررسی درخت فیلوژنتیکی مشخص شد که توالی هر دو آنزیم در گیاه پنبه به همراه گیاهان هم خانواده، در شاخه های یک کلاد قرار گرفتند. به طور کلی، تکثیر بذر با تامین ۶۶ درصد نیاز آبی، ضمن دستیابی به عملکرد مطلوب می تواند با القا مکانیسم های تحمل نسبت به تنش کم آبی پایدارتر باشد.

کلیدواژه ها: آبیاری، ترنسفرآز، سلولز سنتاز، صفات کیفی الیاف، وزن الیاف.

مقدمه

مرحله نمودی تشکیل می‌گردد: شکل‌گیری دیواره اولیه، بیوسنتز سلولز (دیواره ثانویه) و مرحله بلوغ [۹]. دیواره سلولی گیاهان دارای یک ساختار پیچیده است که نقش مهمی در کنترل شکل سلول و مورفولوژی الیاف گیاه پنبه ایفا می‌کند [۱۰]. سلولز و همی سلولز دو نوع پلیمرهای طبیعی هستند که عمدتاً در دیواره‌های سلول گیاهی یافت می‌شوند. سلولز از پیوندهای $\beta(1\rightarrow4)$ میان D-گلوکزها ساخته می‌شود. استفاده‌ی اصلی سلولز در صنعت به تولید کاغذ مرتبط است [۱۱]. همچنین از فیبرهای سلولزی در صنعت پارچه‌بافی نیز استفاده می‌شود. همی سلولز تقریباً یک سوم از دیواره سلولی را تشکیل می‌دهد [۱۱]. همی سلولز، ساختار بی‌شکل و استحکام کمی دارد که به راحتی توسط آنزیم‌های بی‌شماری هیدرولیز می‌شود. همچنین همی سلولز بر خلاف سلولز دارای زنجیره‌های کوتاه‌تری است [۱۰]. مشخص شده است که آنزیم cellulose synthase A (CesA)، در شکل‌گیری سلولز الیاف پنبه عملکرد برجسته‌ای دارد [۱۰]. زایلوگلوکان‌ها، همی سلولز اصلی در دیواره سلولی به شمار می‌روند [۱۲]. آنزیم Xyloglucan endotransglucosylase (XET) شکستن زایلوگلوکان‌ها می‌باشد و می‌تواند زایلوگلوکان‌های جدید را در دیواره‌های سلولی ایجاد کنند [۱۲]. این آنزیم دو فعالیت endohydrolase (XEH) و endotransglucosylase (XET) دارد. XET با سازماندهی مجدد دیواره سلولی در فرآیندهای تمایز و رسیدن میوه، مرتبط هستند [۱۳]. به نظر می‌رسد محصولات این ژن‌ها، موجب افزایش تحمل نسبت به تنش و تنظیم بیان ژن از طریق مسیرهای سیگنالی می‌گردند [۱۳]. بیان ژن XET در شروع سنتز دیواره ثانویه الیاف پنبه گزارش شده است [۹]. جهش‌یافته‌های ژن XET، ۲۰٪ تغییر طول الیاف را در پنبه نشان دادند [۹]. بروز خشکسالی و بدنبال آن کمبود منابع آبی در کشور اهمیت تعیین نیاز آبی گیاه پنبه را بیش از پیش روشن ساخته است. بنابراین تکثیر بذور پنبه برای اراضی تحت دیم و کم باران از مسائل بسیار مهمی است که اصلاح‌گران می‌بایست به آن توجه داشته باشند. لذا به نظر می‌رسد گیاه پنبه با القای مکانیسم های فیزیولوژیک متحمل به تنش بتواند خود را

امروزه عمده‌ترین مشکل ایران کمبود آب آبیاری و توزیع زمانی و مکانی نامناسب بارش‌های جوی است [۱]. دوسوم کشور ایران را مناطق خشک و نیمه خشک تشکیل می‌دهند که میانگین بارندگی در آنها کمتر از ۱۵۰ میلی‌متر در سال بوده که توزیع آن نامنظم و پراکنده است [۱]. بنابراین یکی از مسائل مهم که بایستی مورد توجه قرار گیرد تنش خشکی در طی فصل رشد، به ویژه دوره گلدهی گیاه است [۲]. تنش خشکی هنگامی رخ می‌دهد که میزان آب قابل دسترس گیاه کمتر از آب دور از دسترس و آب مصرفی در گیاه باشد و با توجه به مرحله رشد و نمو و شدت تنش خشکی موجب کاهش تولید زیست توده و عملکرد گیاه می‌شود [۲]. پنبه (*Gossypium hirsutum*) به دلیل محتوی روغن و پروتئین کافی، یکی از مهمترین گیاهان صنعتی است که در اقلیم‌های متفاوتی قابلیت تولید محصول را دارا می‌باشد [۳]. از گذشته تاکنون از الیاف پنبه بسته به کاربرد برای تولید نخ و پارچه استفاده می‌شود. این الیاف به دلیل جذب رطوبت مناسب، راحتی پوشش و در دسترس بودن به‌طور گسترده و در بخش‌های مختلف و به شکل‌های گوناگون مورد استفاده قرار می‌گیرند [۴]. در ایران بر اساس اطلاعات آمارنامه کشاورزی، در سال زراعی ۱۳۹۸-۱۳۹۷ سطح زیر کشت پنبه در مزارع آبی به ۱۳۳۸۶ هکتار و در مزارع دیم به ۴۲۱۴ هکتار بود که نسبت به سال زراعی ۱۳۹۷-۱۳۹۶ افزایش داشت [۵]. همان‌طور که تحقیقات پیشین نشان داده بین مقدار آب مصرفی و درصد ریزش بار گیاه پنبه رابطه مستقیم معنی‌دار وجود دارد. به طوری‌که با افزایش مقدار آب آبیاری و دور آبیاری، ریزش گل و غوزه کاهش می‌یابد [۶]. لذا، شدت، زمان و مدت تنش آبی در پنبه تأثیرات متفاوتی بر رشد و عملکرد آن دارد. در شرایط تنش رطوبتی کاهش عملکرد عمدتاً به دلیل کاهش تعداد غوزه ایجاد می‌شود که این کاهش به کم شدن تعداد گل و سقط غوزه‌های تشکیل شده، به ویژه در تنش‌های شدید طی رشد زایشی مربوط می‌شود [۷]. از طرفی عوامل محیطی مانند دما و رطوبت کیفیت الیاف پنبه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد [۸]. کیفیت الیاف پنبه با ویژگی‌هایی نظیر طول، استحکام و رنگ ارزیابی می‌شود [۸]. الیاف پنبه طی چند

یکنواختی و کشش الیاف با دستگاه High Volume Instrument (Premier Art₂) مورد مقایسه قرار گرفت.

مطالعه بیوانفورماتیکی

به منظور شناسایی آنزیم‌های cellulose synthase A (AAB37766.1) و Xyloglucan (ABU41232.1) endotransglucosylase در گیاه *Gossypium hirsutum*، توالی پروتئین‌ها از پایگاه NCBI استخراج شدند. سپس آنالیزهای فیلوژنتیکی و الاینمنت توالی‌ها، توسط نرم‌افزار Mega7 صورت گرفت [۱۴]. *Aspergillus niger* و *Scheffersomyces stipites* به ترتیب در بررسی آنزیم Cesa و XET1 به عنوان group out در نظر گرفته شد. ویژگی‌های پروتئینی توسط نرم‌افزار ProtParam بررسی شد. مکان احتمالی پروتئین‌ها با نرم‌افزار LOctree3 پیشبینی شدند [۱۴]. فایل PDB مربوط به سوبسترا و آنزیم به ترتیب به کمک پایگاه pubChem و I-TASSER گرفته شد. همچنین جایگاه اتصال لیگاند، تمایل سوبسترا با آنزیم، ساختار دوم و سه‌بعدی پروتئین‌ها به ترتیب با استفاده از نرم‌افزارهای COACH، Autodock Vina، Phyre2 و I-TASSER پیشبینی شدند [۱۵]. کد دسترسی گونه‌های مورد مطالعه در مبحث بیوانفورماتیکی به شرح زیر است:

(*Gossypium hirsutum*) AAB37766.1
 (*Gossypium trilobum*) AEN70842.1
 (*Corchorus capsularis*) OMP11385.1
 (*Gossypium hirsutum*) ABU41232.1
 (*Gossypium raimondii*) ABY86635.1
 (*Theobroma cacao*) EOX91796.1
 (*Gossypium hirsutum*) AAB37766.1
 (*Gossypium trilobum*) AEN70842.1
 (*Corchorus capsularis*) OMP11385.1
 (*Gossypium hirsutum*) ABU41232.1
 (*Gossypium raimondii*) ABY86635.1
 (*Theobroma cacao*) EOX91796.1

آنالیز آماری

تجهیز کرده و عملکرد محصول قابل قبولی را در این شرایط تولید کند [۴].

کیفیت مطلوب الیاف پنبه یکی از مهم‌ترین نیازهای صنایع نساجی امروز برای تولید محصولات منسوجات می‌باشد بنابراین لزوم توجه بیش‌تر به پژوهش‌های مرتبط با ژن-های کیفیت الیاف پنبه، در کنار توجه به عملکرد محصول این گیاه ضروری می‌باشد. این تحقیق با هدف ارزیابی عملکرد چین اول و کیفیت الیاف بذور تکثیرشده تحت تاثیر مقادیر مختلف آبیاری که مجدداً در معرض تیمارهای متفاوت کم آبیاری بودند، انجام شد.

مواد و روش‌ها

بررسی عملکرد گیاه پنبه و کیفیت الیاف

این تحقیق با هدف مقایسه عملکرد و کیفیت الیاف بذور تکثیری حاصل از تیمارهای مختلف آبیاری انجام شد. بذور پنبه رقم گلستان حاصل از آزمایشات مزرعه‌ای، پس از سه سال بذرگیری تحت تیمارهای مختلف آبی، بر اساس تامین نیاز رطوبتی خاک در ۴ سطح (دیم بدون آبیاری، ۳۳، ۶۶ و ۱۰۰ درصد) به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک کامل تصادفی، کشت شد. فاکتور اول شامل ۴ سطح آبیاری (دیم، ۳۳، ۶۶ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه) در کرت‌های اصلی و فاکتور دوم تیمار بذری در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. تیمار بذری شامل (شاهد) بذور تهیه شده از بازار] و ۴ سطح بذور تنش یافته (دیم یا بدون آبیاری (S₁))، ۳۳ درصد ظرفیت زراعی (S₂)، ۶۶ درصد (S₃)، ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه (S₄) بودند. این آزمایش در سه تکرار در کرت‌های ۶ متری و در ۴ خط در ایستگاه هاشم‌آباد گرگان در استان گلستان طی سال‌های زراعی ۹۸-۱۳۹۵ کشت شدند (قابل توجه است که کشت بذور طی سه سال ۹۸-۱۳۹۵ با هدف تکثیر بذور و تامین منابع بذری صورت گرفت. آزمایشات روی بذور استحصالی از سال سوم زراعی انجام شد). مراقبت‌های زراعی در طی سال‌های زراعی انجام شد. پس از رسیدگی فیزیولوژیکی، وضعیت زودرسی، عملکرد چین اول، وزن سی غوزه، وزن الیاف سی غوزه عملکرد کل ارزیابی شدند. صفات کیفی الیاف از جمله ظرافت الیاف، طول الیاف، استحکام الیاف، شاخص

در بذوری که با تیمار ۱۰۰ درصد پیش تیمار شده‌اند، وجود داشت. بر اساس نتایج در شرایط دیم (بدون آبیاری) بین بذور تکثیر شده در محیط دیم با بذور تکثیر شده در شرایط آبیاری ۳۳ درصد ظرفیت زراعی، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۱)، ولی با بذور شاهد و بذور تیمار شده با پیش تیمارهای ۶۶ درصد و ۱۰۰ درصد، اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول ۱).

وزن الیاف سی غوزه:

نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها کمترین مقدار وزن الیاف چین اول را در تیمار دیم که حدود ۶۶ درصد ظرفیت زراعی تکثیر شده بودند و کمترین وزن الیاف چین اول را در تیمار تکثیر بذری ۳۳ درصد ظرفیت زراعی که حدود ۶۶ درصد ظرفیت زراعی نشان داد.

بررسی کیفیت الیاف پنبه

کشش الیاف: با توجه به نتایج جدول ۲، الیاف حاصل از بذور رویش یافته تحت آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی در شرایط دیم با کشش ۶/۸ درصد و درجه کیفی زیاد بیشترین کشش و الیاف حاصل بذور استحصالی از محیط ۶۶ درصد ظرفیت زراعی با آبیاری ۳۳ و ۶۶ درصد ظرفیت زراعی با میزان کشش ۶/۳ درصد و درجه کیفی متوسط دارای کمترین میزان کشش الیاف بودند.

ظرافت: بیشترین ظرافت الیاف در بذور ۳۳ درصد ظرفیت زراعی تحت دیم با عدد میکرونری ۵/۹ بود که جزو الیاف خیلی خشن طبقه بندی شدند و الیاف حاصل از بذور استحصالی از محیط دیم تحت آبیاری ۶۶ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب با عدد میکرونری ۴/۳۷ و ۴/۳۸ دارای بیشترین ظرافت الیاف بودند که در گروه الیاف با ظرافت متوسط طبقه بندی شدند (جدول ۲).

طول الیاف: بیشترین طول الیاف مربوط به بذور استحصالی از تیمار آبیاری ۶۶ درصد ظرفیت زراعی که تحت تاثیر تیمار دیم با مقدار ۳۱/۸۱ میلی‌متر بوده که جزو الیاف خیلی بلند محسوب شدند و کمترین طول الیاف در تیمارهای بذور استحصالی از آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی تحت آبیاری ۶۶ درصد ظرفیت زراعی با مقدار ۱۹/۱۸ میلی‌متر بود که جزو الیاف کوتاه بودند.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 استفاده شد. در ضمن مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مورد بررسی و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

بررسی عملکرد پنبه

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین عملکرد چین اول، در تیمار آبیاری ۶۶ درصد مشاهده شد. این نتایج نشان داد که اگر چه تفاوت آماری معنی‌داری بین تیمار آبی ۶۶ درصد و ۱۰۰ درصد مشاهده نشد ولیکن بین عملکرد چین اول در تیمار آبی دیم و ۳۳ درصد با تیمار ۶۶ درصد و ۱۰۰ درصد تفاوت وجود داشته و کمترین عملکرد در تیمار دیم مشاهده شد (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار عملکرد چین اول در بذور شاهد (مبادی فروش) و کمترین مقدار آن در بذور تکثیری در شرایط آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه مشاهده شد. این نتایج نشان داد که بین بذور تکثیر شده در شرایط دیم و بذور تکثیری در ۳۳ درصد، ۶۶ درصد و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ولی بین بذور پیش تیمار شده در شرایط دیم و پیش تیمارهای بذری ۳۳ درصد و ۱۰۰ درصد با شاهد (بذور مبادی فروش) اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱).

وزن سی غوزه

نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد بین وزن سی غوزه با اثر تیمارهای آبیاری مشاهده می‌شود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین وزن سی غوزه در بذور تکثیری حاصل از شرایط ۳۳ درصد ظرفیت زراعی که میزان آبیاری آنها نیز مجدداً ۳۳ درصد ظرفیت زراعی بودند، مشاهده شد. در حالی که کمترین وزن سی غوزه، متعلق به بذور دیم بوده که حدود ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی آبیاری داشت. همچنین بین شرایط تیمار آبی ۱۰۰ درصد و شرایط دیم نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱).

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین مقدار وزن سی غوزه چین اول در بذور شاهد و کمترین مقدار آن

جدول ۱. اثر تیمارهای مختلف تکثیر بذری در شرایط آبی مختلف بر عملکرد پنبه.

| وزن لیاف سی غوزه (گرم) | وزن سی غوزه (گرم) | عملکرد چین اول (گرم/مترمربع) | عملکرد کل (گرم/مترمربع) | تیمارها |
|------------------------|--------------------|------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| ۳۸/۹۰ ± ۷/۶۰ g-i | ۱۲۱/۰۰ ± ۱۷/۰۵ c-h | ۹/۳۰ ± ۱/۰۰ h | ۹۷/۰۰ ± ۱۲/۱۴ h-j | W ₀ S ₀ |
| ۴۲/۸۰ ± ۱/۹۴ d-i | ۱۳۴/۳۳ ± ۵/۷۸ a-f | ۷/۰۰ ± ۲/۳۵ h | ۷۳/۷۰ ± ۱۱/۳۷ ij | W ₀ S ₁ |
| ۴۶/۳۳ ± ۰/۸۸ c-h | ۱۳۶/۳۳ ± ۱/۸۵ a-e | ۳۶/۳۰ ± ۱۳/۲۸ gh | ۱۶۱/۰۰ ± ۱۳/۷۱ g-i | W ₀ S ₂ |
| ۳۳/۵۳ ± ۸/۱۳ i | ۱۰۴/۱۰ ± ۲۶/۷۰ f-h | ۲۱/۰۰ ± ۱۱/۷۴ gh | ۹۶/۰۰ ± ۱/۸۲ ij | W ₀ S ₃ |
| ۳۹/۷۳ ± ۶/۳۶ f-i | ۱۲۲/۰۰ ± ۲۲/۳۲ c-h | ۳۳/۳۰ ± ۱۵/۹۸ gh | ۱۸۷/۰۰ ± ۲۹/۸۷ gh | W ₀ S ₄ |
| ۴۹/۷۰ ± ۲/۴۰ b-f | ۱۴۴/۴۷ ± ۷/۲۹ a-d | ۸۷/۰۰ ± ۱۴/۵۳ d-g | ۳۶۷/۰۰ ± ۱۲/۶۹ b | W ₁ S ₀ |
| ۵۰/۸۳ ± ۱/۷۵ b-e | ۱۵۱/۰۰ ± ۴/۰۴ a-c | ۴۳/۳۰ ± ۲۸/۳۴ gh | ۴۷۶/۵۰ ± ۳۲/۱۱ a | W ₁ S ₁ |
| ۵۸/۸۶ ± ۲/۲۵ ab | ۱۶۴/۰۰ ± ۶/۲۵ a | ۲۱۶/۳۰ ± ۵/۹۴ ab | ۳۵۳/۷۰ ± ۹۴/۹۸ bc | W ₁ S ₂ |
| ۴۷/۱۳ ± ۸/۲۳ c-h | ۱۳۱/۳۳ ± ۱۹/۰۰ b-g | ۱۱۹/۰۰ ± ۱۹/۶۵ d-f | ۳۷۰/۰۰ ± ۵۹/۰۰ b | W ₁ S ₃ |
| ۵۶/۱۳ ± ۱/۲۷ a-c | ۱۵۴/۷۷ ± ۲/۴۲ ab | ۱۴/۷۰ ± ۱۷/۱۸ de | ۲۶۰/۷۰ ± ۳۴ df | W ₁ S ₄ |
| ۵۵/۸۰ ± ۱/۷۴ a-c | ۱۴۳/۳۳ ± ۴/۰۵ a-d | ۲۰۳/۳۰ ± ۳۲/۰۴ ac | ۳۳۳/۳۰ ± ۱/۹ b-d | W ₂ S ₀ |
| ۵۱/۶۶ ± ۱/۷۶ a-d | ۱۲۹/۰۰ ± ۲/۰۰ b-h | ۲۱۸/۷۰ ± ۱۳/۷۱ ab | ۲۱۷/۳۰ ± ۱۸/۵۲ e-g | W ₂ S ₁ |
| ۶۱/۶۶ ± ۱/۲۰ a | ۱۴۹/۶۷ ± ۳/۲۸ a-c | ۲۶۳/۳۰ ± ۱۵/۶۹ a | ۳۷۳/۰۰ ± ۳۲/۱۳ b | W ₂ S ₂ |
| ۵۱/۰۰ ± ۲/۰۰ a-d | ۱۲۶/۶۷ ± ۵/۸۴ b-h | ۱۵۲/۷۰ ± ۱۳/۸۲ b-d | ۹۷/۷۰ ± ۱/۴ h-j | W ₂ S ₃ |
| ۵۳/۷۳ ± 3.41 a-c | ۱۲۷/۸۰ ± ۵/۷۷ b-h | ۲۴۹/۰۰ ± ۱۲/۵۳ a | ۶۰/۰۰ ± ۳/۶۵ j | W ₂ S ₄ |
| ۴۷/۰۰ ± ۱/۵۲ c-h | ۱۱۵/۴۳ ± ۰/۹۴ d-h | ۱۴۴/۰۰ ± ۲۲ cd | ۲۰۰/۳۰ ± ۴/۹ e-g | W ₃ S ₀ |
| ۳۶/۸۳ ± ۰/۸۴ hi | ۹۹/۷۷ ± ۲/۴۷ h | ۶۶/۳۰ ± ۶/۹۵ d-h | ۲۱۵/۰۰ ± ۴/۶۵ e-g | W ₃ S ₁ |
| ۴۶/۰۶ ± ۰/۹۶ e-i | ۱۰۱/۱۳ ± ۴/۱۶ gh | ۴۸/۰۰ ± ۵/۷۲ f-h | ۹۷/۳۰ ± ۱۲/۱۴ hj | W ₃ S ₂ |
| ۴۷/۷۳ ± ۱/۸۲ c-g | ۱۱۷/۶۷ ± ۲/۶۰ d-h | ۱۱۶/۷۰ ± ۱۸/۰۹ d-f | ۷۳/۰۰ ± ۱۱/۳۷ ij | W ₃ S ₃ |
| ۴۷/۳۳ ± ۱/۲۰ c-h | ۱۱۲/۷۷ ± ۱۰/۶۳ e-h | ۱۴۵/۷۰ ± ۱۷/۶۳ cd | ۱۶۱/۰۰ ± ۱۳/۷۱ gi | W ₃ S ₄ |

۴ سطح آبیاری (دیم W₀، ۳۳ درصد W₁، ۶۶ درصد W₂ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مزرعه W₃)، بذری بازاری (S₀)، دیم (S₁)، ۳۳ درصد ظرفیت زراعی (S₂)، ۶۶ درصد (S₃)، ۱۰۰ درصد (S₄).

درصد و درجه کیفی متوسط دارای کمترین استحکام لیاف بودند (جدول ۲).

مطالعه بیوانفورماتیکی پروتئین‌های Cesa و XET1

مطالعه توالی Cesa (AAB37766.1) در NCBI مشخص کرد که یک mRNA، ایزوفورم cellulose synthase A (Cesa) را در پنبه (۹۷۴ اسیدآمین) کد می‌کند (شکل ۱). همترازی توالی پروتئین Cesa در گیاهان هم‌خانواده در شکل ۱ نشان داده شده است. آنزیم Cesa از خانواده‌ی پروتئینی transferases پیش‌بینی شده است. Aliphatic Instability index، Theoretical pI و Grand average of hydropathicity (GRAVY) به ترتیب ۶/۱۷، ۴۰/۳، ۸۶/۴ و ۰/۰۹ - تعیین شدند. بیشترین اسیدآمین‌های موجود در توالی

شاخص یکنواختی: طبق نتایج حاصل از تحقیق بیشترین شاخص یکنواختی مربوط به بذور استحصالی از دیم تحت آبیاری ۶۶ درصد ظرفیت زراعی با شاخص یکنواختی ۸۶/۴۰ درصد و خیلی زیاد بوده، در حالی که کمترین آن مربوط به تیمار بذور استحصالی از آبیاری ۶۶ درصد ظرفیت زراعی و تحت تاثیر آبیاری ۳۳ درصد ظرفیت زراعی مزرعه با شاخص یکنواختی ۸۱/۲۶ درصد و درجه کیفی متوسط بود (جدول ۲). استحکام: لیاف حاصل از تیمار بذور شاهد منطقه تحت آبیاری ۳۳ درصد ظرفیت زراعی با درصد استحکام ۳۸ درصد و درجه کیفی خیلی قوی دارای بیشترین استحکام و لیاف حاصل از بذور آبیاری با ۶۶ درصد ظرفیت زراعی تحت آبیاری ۳۳ و ۶۶ درصد ظرفیت زراعی با استحکام ۲۶/۸۰ و ۲۶/۵۳

آنزیم XET توانایی اتصال به Xyloglucan (XyG) را دارد. جایگاه اتصال در زیر واحد کوچک ۱ آنزیم شامل اسید آمینه‌ها در موقعیت‌های ۱۹۴، ۱۲۶، ۱۹۲، ۱۰۷، ۱۰۵، ۱۰۳، ۹۴، ۹۲ و ۹۰ می‌باشد (جدول ۳). نتایج بیانگر این است که آنزیم XET در دیواره سلولی قرار گرفته است (جدول ۳).

تمایل میان سوبسترا و آنزیم با کمک نرم‌افزار Autodock Vina ارزیابی شده است (جدول ۴). برای آنزیم XET، سوبسترای XyG انتخاب شد و مقایسه تمایل زیرواحدهای مختلف آنزیم در گیاه پنبه با *Arabidopsis thaliana* صورت گرفت. در پنبه، کمترین و بیشترین تمایل میان سوبسترا و آنزیم، به ترتیب حدوداً $-۵/۶$ و $-۶/۸$ Kcal/mol می‌باشد. مقایسه زیرواحدهای آنزیم پنبه با گیاه *Arabidopsis thaliana* نشان داد که تمایل در پنبه کمتر از *Arabidopsis thaliana* می‌باشد.

مطالعه فیلوژنتیکی پروتئین‌های CesaA و XET1

مطالعه فیلوژنتیکی آنزیم CesaA مشخص کرد که گونه‌های مربوط به هر کدام از خانواده‌های Malvaceae، Brassicaceae و Rosaceae در یک شاخه‌ی مجزا جای گرفتند که این امر بخش‌های حفاظت‌شده‌ی توالی پروتئین CesaA در این خانواده‌ها را نشان می‌دهد (شکل ۳). درخت فیلوژنی نشان داد که توالی آنزیم CesaA در گیاه پنبه به همراه گیاهان هم‌خانواده در شاخه‌ای قرار گرفتند که متعلق به خانواده Malvaceae بوده است (شکل ۳). خانواده‌های Orobanchaceae، Bignoniaceae و Lamiaceae در شاخه نزدیک به Malvaceae قرار گرفته‌اند. همچنین مطالعه فیلوژنتیکی XET مشخص کرد که گونه‌های مربوط به هر کدام از خانواده‌های Brassicaceae، Malvaceae، Fabaceae، Solanaceae در یک شاخه‌ی مجزا جای گرفتند (شکل ۳). توالی زیرواحدهای XET1 پنبه در خانواده Malvaceae تفکیک شدند (شکل ۳). نتایج نشان داد که این پروتئین حفاظت‌شدگی بالایی در خانواده Malvaceae دارد. *Gossypium raimondii* بعنوان نزدیک‌ترین گونه به پنبه می‌توان معرفی کرد. خانواده‌ی Brassicaceae در شاخه نزدیک به Malvaceae قرار گرفته‌اند.

جهت پیش‌بینی موقعیت درون سلولی آنزیم CesaA، نرم‌افزار LOctree3 مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بیانگر این است که آنزیم CesaA در غشای سلولی قرار گرفته است (جدول ۳). تمایل میان سوبسترا و آنزیم با کمک نرم‌افزار Autodock Vina ارزیابی شده است (جدول ۴). برای آنزیم CesaA سوبسترای UDP-Glc انتخاب شدند. مقایسه تمایل آنزیم و سوبسترا در آنزیم CesaA پنبه نسبت به آرآیدوپسیس انجام شد. کمترین و بیشترین تمایل میان سوبسترا و آنزیم در پنبه به ترتیب $-۴/۸$ و $-۵/۷$ Kcal/mol می‌باشد. در حالیکه تمایل میان سوبسترای و آنزیم آرآیدوپسیس، در محدوده $-۵/۸$ تا $-۴/۷$ Kcal/mol است. نتایج نشان‌دهنده‌ی تمایل تقریباً برابر میان آنزیم با سوبسترا در هر دو گیاه است (جدول ۴).

مطالعه آنزیم XET1 پنبه در پایگاه NCBI مشخص کرد که آنزیم با ۲۸۹ اسید آمینه کد می‌شود. نرم‌افزار ProtParam نشان داد که وزن مولکولی آنزیم ۳۳۰۶۵ دالتون می‌باشد. همترازی توالی آنزیم XET1 در گیاه پنبه با گیاهان هم‌خانواده در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که حفاظت‌شدگی بالایی وجود دارد (شکل ۱). آنزیم XET1 از خانواده‌ی پروتئینی hydrolases پیش‌بینی شده است. Theoretical pI، Instability index، Grand average of Aliphatic index و Grand average of hydrophobicity (GRAVY) پروتئین به ترتیب $۶/۳$ ، $۴۰/۶$ ، $۷۶/۹$ و $-۰/۳$ تعیین شدند. بیشترین اسید آمینه‌های موجود در توالی پروتئین مربوط به لوسین و کمترین مربوط به سیستئین می‌باشند. تعداد اسید آمینه‌های بار مثبت و منفی در آنزیم به ترتیب ۲۹ و ۳۱ است. نیمه‌عمر آنزیم در باکتری ۱۰ ساعت و مخمر (*in vivo*) حدود ۲۰ ساعت ارزیابی شد.

ساختار دوم آنزیم XET به ترتیب شامل ۱۰ درصد آلفاهلیکس، ۴۱ درصد صفحات بتا، ۶ درصد TM helix می‌باشد. این پیش‌بینی با دقت ۸۰ درصد در نرم‌افزار Phyre2 انجام گرفت. ساختار سه بعدی پیش‌بینی شده برای آنزیم XET توسط نرم‌افزار I-TASSER در شکل ۲ مشخص است. محتمل‌ترین الگو از *Vitis vinifera* گرفته شده است. نتایج نرم‌افزار COACH مشخص کرد که

b

| | | |
|------------|---|-----|
| EOX91796.1 | MTMALRNASLLLFSCILAIISLSVSGRPATFLEDFRITWSDSHIRQIDGGRAIQLLLDQNS | |
| ABY86635.1 | MGMGLRNGFLLILSCVVTLSLSVLGRPATFLEDFRITWSDSHIRQIDGGRAIQLVLDQNS | |
| ABU41232.1 | MGMGLRNGFLLILSCVVTLSLSVLGRPATFLEDFRITWSDSHIRQIDGGRAIQVLVDQNS | 60 |
| | * * .***. **:***:::**** *****:***** | |
| EOX91796.1 | GCGFASKGQYLFGRVSMKIKLIPGDSAGTVTAFYMNSDTDNVRDELDFEFLGNRSGQPYT | |
| ABY86635.1 | GCGFASKRQYLFGRVSMKIKLIPGDSAGTVTAFYMNSDTDAVRDELDFEFLGNRTGQPYT | |
| ABU41232.1 | GCGFASKRQHLFGRVSMKIKLIPGDSAGTVTAFYMNSVDAVRDELDFEFLGNRTGQPYT | 120 |
| | ***** *:***** ** *****:***** | |
| EOX91796.1 | VQTNIAHGKGDREQRVNLWFDPAADFHTYTIMWNHHHIVYVDDVPIRVYKNNEARNIP | |
| ABY86635.1 | VQTNIAHGKGDREQRVNLWFDPAADFHTYSIMWNHHQIVFYIDEVPIRVYKNNEARNIP | |
| ABU41232.1 | VQTNIAHGKGDREQRVNLWFDPAADFHTYSIMWNHHQIVFYIDEVPIRVYKNNEARNIP | 180 |
| | *****:*****:***:*.**:***** | |
| EOX91796.1 | YPKFQPMGVYSTLWEADDWATRGGLEKIDWSKAPFLAYYKDFDIEGCPVPGPANCASSPR | |
| ABY86635.1 | YPKLQPMGVYSTLWEADDWATRGGLEKIDWTKAPFLAYYKDFDIEGCPVGPVNCATNSR | |
| ABU41232.1 | YPKLQPMGVYSTLWEADDWATRGGLEKIDWTKAPFLAYYKDFDIEGCPVGPVNCATNSR | 240 |
| | ***:*****:*****:*****:***:.* | |
| EOX91796.1 | NWMEGTAYQALSAMEARRYRWRMNHVIYDYCTDKSRYPVTPPECMAGI | |
| ABY86635.1 | NWMEGTAYQALNAMEAKRYRWRMNHVIYDYCTDKSRYPVTPPECMSII | |
| ABU41232.1 | NWMEGTAYQALNAMEAKRYSWRMNHVIYDYCTDKSRYPVTPPECMSII | 289 |
| | *****:***:.* *****:*****:*****:*****:*****:* | |

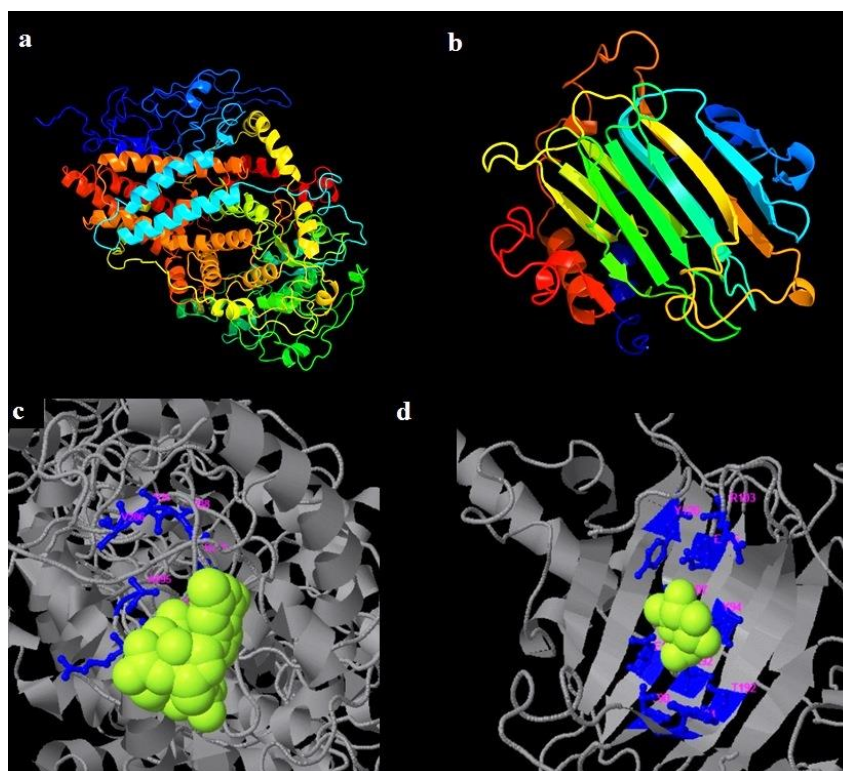
شکل ۱. همترازی توالی آنزیم Cesa (a) و XET (b) در گیاهان هم خانواده. (*): نقاط حفاظت شده، (:): شباهت بالا، (.) : شباهت ضعیف.

AAB37766.1 (*Gossypium hirsutum*), AEN70842.1 (*Gossypium trilobum*), OMP11385.1 (*Corchorus capsularis*), ABU41232.1 (*Gossypium hirsutum*), ABY86635.1 (*Gossypium raimondii*), EOX91796.1 (*Theobroma cacao*).

جدول ۳. ویژگی پروتئین های Cesa و XET پیشبینی شده توسط نرم افزارهای LOCTree3 و COACH، I-TASSER.

| پروتئین | مکان سلولی | PDB Hit | ارگانیسم | لیگاند | C-score | Z-score | جایگاه فعال |
|--|--------------|---------|--------------------------------|--------|---------|---------|--|
| | | | | | | | ۴۳۰،۵۸۳،۶۲۳،۶۲۴،۶۲۶،۶۶۴ |
| | | 5JNP | <i>Oryza sativa</i> | GLC | ۰/۹ | ۲/۸ | ۰۶۶۵،۶۶۶،۶۶۷،۶۶۸،۶۶۹،۶۷۰ ۰۶۷۳،۷۰۶،۷۰۹ |
| cellulose synthase A | غشای سلولی | 5JNP | <i>Oryza sativa</i> | GLC | ۰/۸ | ۲/۶ | ۴۳۰،۵۸۳،۶۲۳،۶۲۴،۶۲۶،۶۶۴ ۰۶۶۵،۶۶۶،۶۶۷ |
| AAB37766.1 (<i>Gossypium hirsutum</i>) | | 5JNP | <i>Oryza sativa</i> | GLC | ۰/۷ | ۲/۴ | ۴۳۰،۵۸۳،۶۲۳،۶۲۴،۶۲۶،۶۶۴ ۰۶۶۵،۷۰۹ |
| | | 4HG6 | <i>Rhodobacter sphaeroides</i> | GLC | ۰/۵ | ۲/۳ | ۲۸۶،۲۸۷،۲۸۸،۲۹۱،۲۹۵ |
| | | 4HG6 | <i>Rhodobacter sphaeroides</i> | GLC | ۰/۵ | ۲/۱ | ۲۸۶،۲۸۷،۲۸۸،۲۹۱،۲۹۵،۴۴۴ ۴۴۷،۴۴۸ |
| | | 5SV8 | <i>Vitis vinifera</i> | XyG | ۰/۹ | ۲/۵ | ۰۱۰۵،۰۱۰۷،۰۱۹۲،۰۱۲۶،۰۱۹۴ ۰۹۲،۰۹۴،۰۱۰۳ |
| Xyloglucan endotransglucosylase1 | دیواره سلولی | 5SV8 | <i>Vitis vinifera</i> | XyG | ۰/۸ | ۲/۵ | ۰۱۰۵،۰۱۰۷،۰۱۹۲،۰۱۲۶،۰۱۹۴ ۰۹۰،۰۹۴،۰۱۰۳ |
| ABU41232.1 (<i>Gossypium hirsutum</i>) | | 5SV8 | <i>Vitis vinifera</i> | XyG | ۰/۸ | ۲/۳ | ۰۹۰،۰۱۰۷،۰۱۹۲،۰۱۲۶،۰۱۹۴ |
| | | 5SV8 | <i>Vitis vinifera</i> | XyG | ۰/۷ | ۲/۴ | ۱۲۶،۰۱۹۲،۰۱۰۷ |
| | | 5SV8 | <i>Vitis vinifera</i> | XyG | ۰/۷ | ۱/۸ | ۰۹۰،۰۹۲،۰۹۴،۰۱۰۷ |

GLC: گلوکز، Lig: لیگاند، POL: پلی ساکارید.



شکل ۲. ساختار سوم پروتئین. a: آنزیم CesaA. b: XET. c-d: اتصال لیگاند به ترتیب با پروتئین های CesaA و XET. لیگاند با رنگ زرد مشخص شده است.

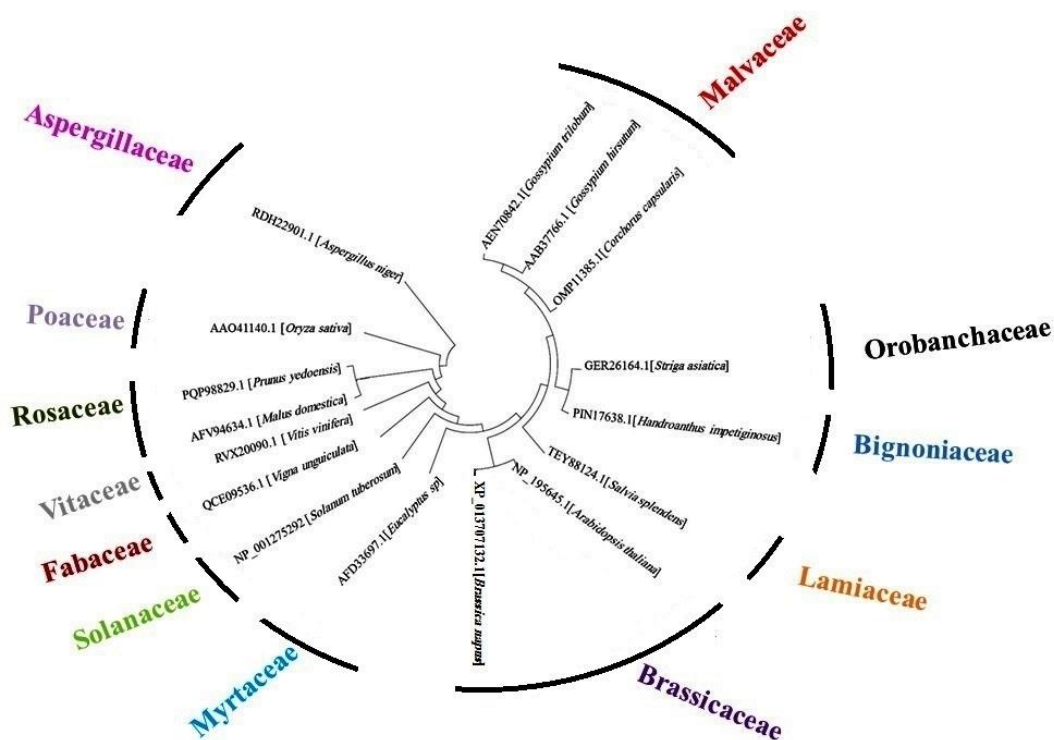
جدول ۴. پیشبینی میزان تمایل آنزیم و سوبسترا به کمک نرم افزار AutoDock Vina.

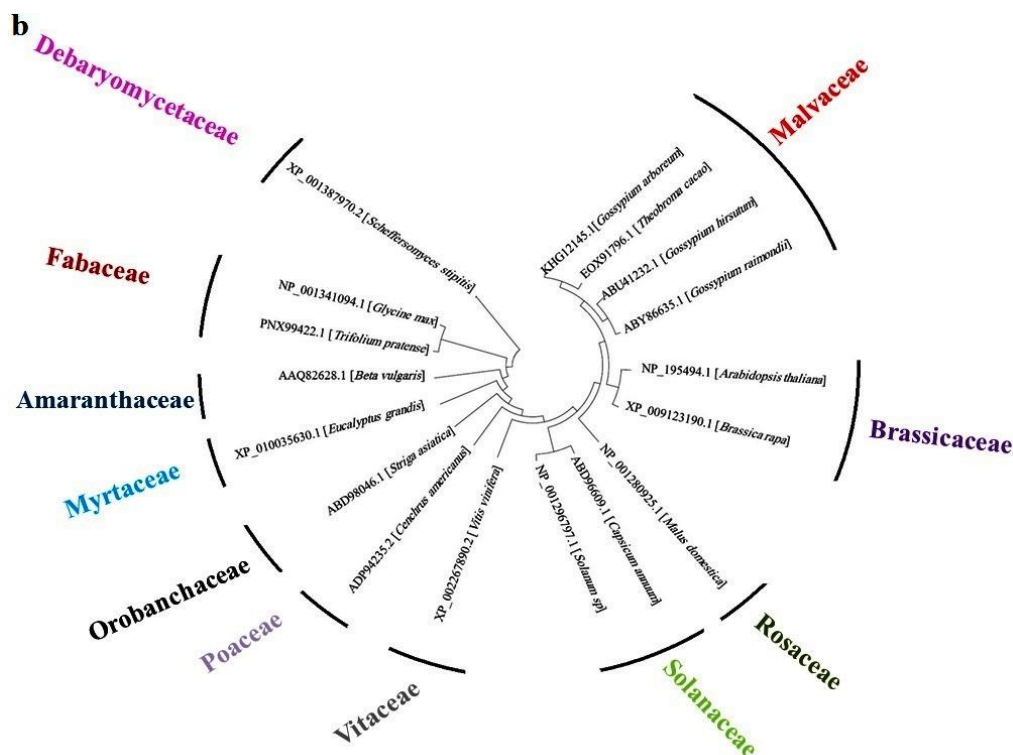
| آنزیم | سوبسترا | حالت | تمایل (Kcal/mol) |
|---|---------|------|------------------|
| cellulose synthase-A AAB37766.1 (<i>Gossypium hirsutum</i>) | GLC | ۱ | -۵/۷ |
| | | ۲ | -۵/۶ |
| | | ۳ | -۵/۱ |
| | | ۴ | -۵/۰ |
| | | ۵ | -۵/۰ |
| | | ۶ | -۴/۹ |
| | | ۷ | -۴/۸ |
| | | ۸ | -۴/۸ |
| | | ۹ | -۴/۸ |
| cellulose synthase A NP_195645.1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | GLC | ۱ | -۵/۸ |
| | | ۲ | -۵/۷ |
| | | ۳ | -۵/۱ |
| | | ۴ | -۵/۱ |
| | | ۵ | -۵/۰ |
| | | ۶ | -۴/۸ |
| | | ۷ | -۴/۷ |
| | | ۸ | -۴/۷ |
| | | ۹ | -۴/۷ |

| آنزیم | سوبسترا | حالت | تمایل (Kcal/mol) |
|---|---------|------|------------------|
| Xyloglucan endotransglucosylase ABU41232.1 (<i>Gossypium hirsutum</i>) | XyG | ۱ | -۶/۸ |
| | | ۲ | -۶/۵ |
| | | ۳ | -۶/۴ |
| | | ۴ | -۶/۳ |
| | | ۵ | -۵/۸ |
| | | ۶ | -۵/۸ |
| | | ۷ | -۵/۷ |
| | | ۸ | -۵/۶ |
| | | ۹ | -۵/۶ |
| Xyloglucan endotransglucosylase NP_195494.1 (<i>Arabidopsis thaliana</i>) | XyG | ۱ | -۷/۶ |
| | | ۲ | -۷/۶ |
| | | ۳ | -۷/۴ |
| | | ۴ | -۷/۳ |
| | | ۵ | -۶/۸ |
| | | ۶ | -۶/۸ |
| | | ۷ | -۶/۷ |
| | | ۸ | -۶/۶ |
| | | ۹ | -۶/۶ |

GLC: گلوکز، XyG: گزیلوگلوکان.

a





شکل ۳. بررسی فیلوژنتیکی روتین ها که به کمک نرم افزار Mega7 ترسیم شده است. a، Cesa و b، XET1.

بحث

همانطور که عدم آبیاری سبب کاهش عملکرد می شود، آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی ضمن تحریک رشد رویشی به دلیل رشد نامحدود بودن گیاه پنبه، باعث کاهش گل و غوزه و افزایش رشد رویشی شد. همچنین بیشترین مقدار وزن سی غوزه متعلق به تیمار آبی ۶۶ درصد و کمترین مقدار متعلق به شرایط دیم است که در تایید این یافته‌ها می‌باشد.

رژیم ناکافی آب، کیفیت الیاف را تحت تاثیر کمتری قرار می‌دهد اما طول الیاف کاهش پیدا می‌کند [۱۶]. بیشترین طول الیاف مربوط به بذور تکثیری با آبیاری ۶۶ درصد ظرفیت زراعی تحت تاثیر تیمار دیم و کمترین طول الیاف بذور تکثیری با آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی که ۶۶ درصد ظرفیت زراعی آبیاری، بودند که در راستای نتایج این آزمایش می‌باشد. همانطور که نتایج نشان داد هم دیم و هم آبیاری زیاد سبب شکنندگی الیاف شده لذا طول الیاف و استحکام الیاف را تحت الشعاع قرار می‌دهد. ولیکن آبیاری ۳۳ درصد ظرفیت زراعی، الیاف مستحکم‌تری را تولید کرد که می‌توان به نقش خشکی خاک در تغییر جزئی در کیفیت فیبر دانست در حالیکه شاخص‌های طول

با توجه به بحران شدید کم آبی در بخش کشاورزی تعیین سطحی از تنش آبی که کمبود آبیاری باعث کاهش معنی‌دار عملکرد و رشد گیاه پنبه نگردد، برای مدیریت منابع آبی ضروری به نظر می‌رسد. بنابراین می‌توان این حداقل میزان نیاز آبی بدون کاهش عملکرد را به کشاورزان در مناطق کم آب توصیه کرد. از این رو در این تحقیق به مطالعه پاسخ گیاه پنبه نسبت به رژیم آبیاری پرداخته شد و عملکرد محصول و کیفیت الیاف پنبه جهت مدیریت بهتر در شرایط دسترسی به منابع آب مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین مطالعه بیوانفورماتیکی ژن‌های موثر بر کیفیت فیبر از اهداف این پژوهش بوده است. در واقع این تحقیق درک بهتری در رابطه با مکانیسم‌هایی که گیاه قادر به تحمل و مقابله با شرایط تنش آبی به منظور کاهش مصرف آب است، فراهم می‌کند.

عملکرد و کیفیت گیاه پنبه

رشد و عملکرد محصول گیاه پنبه شدیداً تحت تاثیر آبیاری و خشکی قرار دارد [۱۶]. پژوهش‌ها نشان داد که

CesA پنبه گزارش شده است [۲۴]. ناحیه پروموتور CesA پنبه، غنی از نوکلئوتیدهای A و T می‌باشد [۲۴]. CesA شباهت بالایی با family 2 glycosyltransferases نشان داد که اسیدآمینه D نقش مهمی در اتصال سوبسترا UDP-Glc به آنزیم ایفا می‌کند. در N-ترمینال پروتئین، دو موتیف انگشت روی حفاظت شده وجود دارد [۲۵]. در ناحیه C-ترمینال پروتئین، موتیف مرتبط با غشای پلاسمایی گزارش شده است [۲۶]. پرولین حفاظت شده در C-ترمینال توالی CesA نقش مهمی در عملکرد آنزیم دارد. با جهش در این اسیدآمینه عملکرد آنزیم در آرآبیدوپسیس دچار اختلال شد [۲۷]. در هر آنزیم CesA، دو ناحیه شدیداً متغییر وجود دارد که حضور اسیدآمینه سیستئین از ویژگی‌های این نواحی به شمار می‌رود [۲۸]. در *thaliana Arabidopsis* گزارش شده که جایگاه فسفریلاسیون در توالی این پروتئین وجود دارد که شامل اسیدآمینه‌های سرین و تریئونین می‌باشد [۲۹].

آنالیز فیلوژنتیکی نشان داد که ارتولوگ این پروتئین شباهت بیشتری از پارالوگ آن دارند. [۲۳]. مطالعات تکاملی نشان داد که در گیاهان دانه‌دار ۶ کلاد اصلی مشاهده شده که طی فرآیند duplication ایجاد شده‌اند [۲۸]. در هر کلاد (گیاهان دانه‌دار)، شباهت ژن CesA در میان گیاهان تک‌لپه و دولپه‌ها بیشتر بود در حالیکه کلاد ششم نسبت به کلادهای قبلی، تفاوت‌هایی را در میان گیاهان دولپه‌ها نشان داده است به طوری که کلاد ششم دو زیرکلاد (۱. دولپه، ۲. تک‌لپه و دولپه) را تشکیل داده بود [۲۶]. در توالی ژن‌های هر کلاد یک ناحیه تخصصی حفاظت شده وجود دارد که موجب شباهت ژن‌های هر کلاد شده است. برای مثال L(V/D)AGSHNRNE در کلاد ۱ و ۶ مشاهده شد در حالیکه که کلاد ۳ و ۴ فاقد این موتیف هستند [۳۰]. آنالیز فیلوژنتیکی نشان داد که در گونه‌های مختلف پنبه، ۶ گروه از این آنزیم (ایزوفورم مختلف) وجود دارد. در توالی‌های ژن، single nucleotide polymorphisms (SNP) گزارش شده است [۲۲]. همچنین ژن CesA پنبه، در chromosome 7 واقع شده است در حالیکه در *G. barbadense* روی کروموزم ۸ واقع

الیاف و استحکام فیبر کاهش یافت [۱۷]. اگرچه برخی محققان کاهش کیفیت فیبر را تحت تاثیر شرایط خشکی و شوری خاک مشاهده کردند [۱۸]. در واقع خصوصیات کیفی الیاف به ویژگی بذر و شرایط محیطی وابسته است [۱۹]. Karademir و همکاران در (۲۰۱۵) بیان داشتند که هر تغییری در میزان آبیاری با تاثیر بر ترکیبات محلول در غشای پلاسمایی گیاه در طی سنتز سلولز دیواره سلولی ثانویه، استحکام، ظرافت و طول الیاف را تحت تاثیر قرار می‌دهد.

پژوهش‌ها نشان داد که در تنش شدید، میکرورنری نیز کاهش یافت [۷]. Reddy و Lokhande در (۲۰۱۴) در گزارشات خود میکرورنری الیاف پنبه را ۴/۵ گزارش کرد [۲۱].

همچنین Karademir و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که تنش آبیاری بر کیفیت فیبر طی ۲ روش مختلف کاهش معنی‌داری بر ویژگی‌های استحکامی فیبر شده است. هرچند ویژگی یکنواختی فیبر تغییر نکرده است [۲۰]. از طرفی مطالعات Ashraf و Ahmad (۲۰۰۰) نشان داد که استحکام فیبر در شرایط خشکی و شوری افزایش یافت، در حالیکه طول و بلوغ فیبر کاهش پیدا کرد. همچنین مطالعات Yang و همکاران (۲۰۱۵) حاکی از اثر بی‌معنی تنش آبیاری بر شاخص یکنواختی و کاهش طول الیاف پنبه است. بدیهی است که تنش آبیاری می‌تواند به دلیل پاسخ متفاوت ارقام و لاین‌های مختلف بر کیفیت فیبر و عملکرد محصول اثرات متفاوتی داشته باشد [۴].

مطالعه بیوانفورماتیکی

آنزیم CesA دارای جایگاه‌های کاتالیتیکی برای بیوسنتز سلولز می‌باشد و این آنزیم در غشای سلول قرار گرفته است [۲۲]. Kim و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که ناحیه کدکننده ژن در *Gossypium hirsutum* شباهت بالایی با گونه‌های دیگر پنبه دارد. ناحیه کدکننده ژن در پنبه دارای ۱۲ اگزون و ۱۱ اینترون می‌باشد [۲۲]. در *Arabidopsis* ده ژن Ces شناسایی شده است [۲۳]. در گیاه ذرت این پروتئین دارای ۸۲۸ آمینواسید می‌باشد [۲۳]. وجود موتیف‌های مرتبط با اکسین، آبسازیک اسید و ژبیرلین، در

شده است [۲۲].

گروه II طبقه بندی شدند. اگرچه در تتباکو توالی این آنزیم در دو گروه II و III تفکیک شد [۳۵]. ۴۲ توالی در گروه اول و ۱۴ توالی در گروه دوم گروه بندی شدند [۳۲]. مطالعات فیلوژنی نشان داد که تعداد اینترون ها در برخی توالی ها کاهش یافته است [۳۲]. همچنین مقایسه توالی های تتباکو نشان داد که طول برخی اینترون ها بیشتر بوده است [۳۸]. در خانواده Malvaceae سه ژن XET1,2,3 گزارش شده است که پروتئین آنها در غشای سلولی قرار گرفته است. همچنین مطالعه توالی این ژن در گیاهان تک-لپه و دولپه حداقل شباهت ۵۰٪ را نشان دادند [۳۹]. بررسی فیلوژنی نشان داد که آنزیم در سیب به *Arabidopsis thaliana* و سیب زمینی شباهت بیشتری دارد [۳۹].

نتیجه گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که هرچه میزان تنش آبیاری افزایش یافت، استحکام الیاف کاهش پیدا کرد. علیرغم کاهش مصرف آب برای پنبه های کشت شده در مزارع دیم، طول فیبر و کشش الیاف بذره های تحت تیمار ۶۶٪ از کیفیت بالایی برخوردار بودند. شرایط آبیاری ۱۰۰٪ موجب کاهش کیفیت فیبر شد. از آنجایی که اغلب اراضی مرغوب در شرایط آب و هوایی مطلوب یا آبیاری کافی به منظور تکثیر بذر برای کشت کشاورزان گزینش می شود. نتایج این تحقیق نشان داد با مدیریت در تکثیر بذر می توان به عملکرد مطلوبتری رسید. قابل توجه است که خصوصیات الیاف آنها نیز از نظر استحکام و ظرافت در گروه الیاف قوی و خشن قرار گرفته است و نسبت به بذوری که در به طور کامل آبیاری شده اند، می توانند شرایط دیم و کم آبی را بیشتر تحمل کنند. همچنین آنالیز بیوانفورماتیک مشخص کرد که ساختار دوم آنزیم Cesa در گیاه پنبه شامل ۵۴٪ آلفا هلیکس و ۵٪ صفحات بتا و ۱۹٪ TM helix می باشد در حالیکه ساختار دوم آنزیم XET به ترتیب شامل ۱۰٪ آلفا هلیکس، ۴۱٪ صفحات بتا، ۶٪ TM helix می باشد. مقایسه زیر واحدهای آنزیم XET پنبه با گیاه *Arabidopsis thaliana* نشان داد که تمایل در پنبه کمتر از *Arabidopsis thaliana* می باشد. به طور کلی، با

به طور معمول XET، در دولپه ای ها توسط خانواده های بزرگ multigene، کدگذاری شده اند [۱۳]. لذا تعیین خصوصیات فردی ژن های XET درون یک گونه، برای درک نقش های خاص آنها ضروری است. در *Arabidopsis* و برنج به ترتیب ۳۳ و ۲۹ ژن XET شناسایی شده است [۳۰]. این آنزیم با تعداد اسید آمینه های متفاوت (۲۱۷-۳۶۵) کد می شود [۳۰]. محدوده pI نیز در گیاهان مختلف، بین ۹ تا ۶ گزارش شده است [۳۱]. مطالعه ۴۸ گونه نشان داد که این آنزیم در آپوپلاست دیواره سلولی و غشای سلولی قرار دارد [۳۲]. در توالی XET پنبه ۴ آگرون و ۳ اینترون گزارش شده است [۲۵]. همترازی توالی *Gossypium raimondii* و *Gossypium arboreum* نشان داد که آگرون ها حفاظت شدگی بالایی دارند [۳۳]. همترازی توالی آنزیم گیاهان مختلف، با آرکیدوپسیس حدود ۵۰ تا ۸۰٪ شباهت را نشان داد. بخش کاتالیتیکی آنزیم در آگرون ۳ پنبه گزارش شده است [۳۴].

موتیف DEIDFEFLG در توالی گیاهان متعدد حفاظت شدگی بالایی دارد و این موتیف در فعالیت کاتالیتیکی آنزیم موثر است [۲۹]. مطالعات نشان داد که تغییر اسید آمینه گلوتامات در جایگاه کاتالیتیکی منجر به غیرفعال شدن آنزیم می شود [۳۵]. مشخص شده است که موتیف DWATRGG در برهمکنش با سوبسترا نقش دارد [۲۹]. Michailidis و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که وجود موتیف هایی مرتبط با تنش خشکی و anaerobic induction در توالی پروموتور XET پنبه وجود دارد. موتیف مشترک GATA بین پروموتور پنبه و *Arabidopsis thaliana* نشان داده شد [۳۳]. دو اسید آمینه گلوتامیک اسید در بخش کاتالیتیکی آنزیم کیوی و سیب شناسایی شده است [۳۶]. همچنین سیگنال پپتید (۱۵-۳۰ اسید آمینه) مرتبط با دیواره سلولی در توالی این آنزیم یافت شده است [۳۷].

مطالعات فیلوژنتیکی ژن های XET را به سه دسته I, II, III گروه بندی کردند که ویژگی های گروه I, II بهم نزدیکترند [۷]. ژن XET در پنبه به همراه همولوگ خود در گیاه *Arabidopsis thaliana* و سایر گیاهان هم خانواده در

- [11] Doblin M., Kurek I., Jacob-Wilk D., Delmer D. Cellulose biosynthesis in plants: from genes to rosettes. *Plant and Cell Physiology* 2002; 43(1): 1407-1420.
- [12] Cosgrove D.J. Growth of the plant cell wall. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2005; 6(1):850-861.
- [13] Eklof JM., Brumer H. The XTH gene family: an update on enzyme structure, function, and phylogeny in xyloglucan remodeling. *Plant Physiology* 2010; 153(1):456-466.
- [14] Wang M, Xu Z, Ding A, Kong Y. Genome-Wide Identification and Expression Profiling Analysis of the Xyloglucan Endotransglucosylase/Hydrolase Gene Family in Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). *Genes* 2018; 9(1): 273-278.
- [15] Yang J., Yan R., Roy A., Xu D., Poisson J. The I-TASSER Suite: protein structure and function prediction. *Nature Methods* 2015, 12 (1): 7-15.
- [16] Zhang D., Luo Z., Liu S., Li W., WeiTang-Dong H. Effects of deficit irrigation and plant density on the growth, yield and fiber quality of irrigated cotton. *Field Crops Research* 2016; 197(1): 1-9.
- [17] Basal H., Dağdelen N., Ünay A. Yılmaz E. Effects of deficit drip irrigation ratios on cotton (*Gossypium hirsutum* L.) yield and fibre quality. *Journal of Agronomy and Crop Science* 2008; 195(1): 19-29.
- [18] Razzouk S, Whittington W.J. Effects of salinity on cotton yield and quality. *Field Crops Research* 1991; 26(3): 305-314.
- [19] Wiggins M.S., Leib B., Mueller T.C., Main C. Cotton growth, yield, and fiber quality response to irrigation and water deficit in soil of varying depth to a sand layer. *Journal of Cotton Science* 2014; 18(1): 145-152.
- [20] Karademir E., Karademir Ç., Ekinci R., Sevilmiş U. Determination of yield and fiber quality properties in advanced generation lines in cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi* 2015; 2(2): 100-107.
- [21] Lokhande S.B., Reddy R. Cotton reproductive and fiber quality responses to nitrogen nutrition. *International Journal of Plant Production* 2014; 9(1): 1-15.
- [22] Li A., Xia T., Xu W. An integrative analysis of four CESA isoforms specific for fiber cellulose production between *Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*. *Planta* 2013; 237(1):1585-1597.
- کشت بذرهای گیاهی که تحت تنش آبیاری قرار دارد، می توان میزان نیاز آبی را کاهش داد.

منابع

- [1] Egbuta M.A., McIntosh S., Waters D.L.E., Vancov T., Liu L. Biological importance of cotton by-products relative to chemical constituents of the cotton plant. *Molecules (Basel, Switzerland)* 2017; 22(1): 93.
- [2] Feike T., Khor L.Y., Mamitim Y., Ha N., Li L., Abdusalih N., Xiao H., Doluschitz R. Determinants of cotton farmers' irrigation water management in arid Northwestern China. *Agricultural Water Management* 2017; 187(1): 1-10.
- [3] Abdel Gadir A., Dougherty M. Effect of different deficit-irrigation capabilities on cotton yield in the Tennessee Valley. *Irrigation & Drainage Systems Engineering* 2012; 1(2): 20-28.
- [4] Ashraf M., Ahmad S. Influence of sodium chloride on ion accumulation, yield components and fibre characteristics in salt-tolerant and salt-sensitive lines of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Field Crops Research* 2000; 66 (1): 115-127.
- [5] Afzalinia S., Ziaee A. Cotton Yield and Water Productivity Affected by Conservation Tillage and Irrigation Methods in Cotton-Wheat Rotation. *Journal of Agricultural Machinery* 2020; 10(1): 103-114.
- [6] Ertek A., Kanber R.. Effect of different drip irrigation programs on the boll number and shedding percentage and yield of cotton. *Agriculture Water Management* 2003; 60(1):1-11.
- [7] Pettigrew W. Physiological consequences of moisture deficit stress in cotton. *Crop Science* 2004; 123(1):15-22.
- [8] Dagdelen N., Başal H., Yılmaz E., Gurbuz T. and Akca, S. Different drip irrigation regimes affect cotton yield, water use efficiency and fiber quality in western Turkey. *Agriculture Water Management journal* 2008; 96(1): 111-120.
- [9] Kim H.J., Triplett B.A. Cotton fiber growth in plant and in vitro: models for plant cell elongation and cell wall biogenesis. *Plant Physiology* 2001(1); 127: 1361-1366.
- [10] Richmond T.A., Somerville C.R. The cellulose synthase superfamily. *Plant Physiology* 2000; 124(1): 495-498.

- [23] Holland N., Holland D., Helentjaris T., Dhugga K.S., Xoconostle-Cazares B., Delmer D.P. A Comparative Analysis of the Plant Cellulose Synthase (CesA) Gene Family. *Plant Physiology* 2000; 123(4): 1313-1324.
- [24] Delaney S.K., Orford S.J., Martin-Harris M., Timmis J.N. The fiber specificity of the cotton FSltp4 gene promoter is regulated by an AT-rich promoter region and the AT-Hook transcription factor GhAT1. *Plant and Cell Physiology* 2007; 48(1): 1426-1437.
- [25] Goldberg T., Hecht M., Hamp T., Karl T., Yachdav G. LocTree3 prediction of localization. *Nucleic Acids Research* 2014; 42(1): 350-355.
- [26] Hovav R., Udall J.A., Chaudhary B., Hovav E., Flagel L. The evolution of spinnable cotton fiber entailed prolonged development and a novel metabolism. *PLoS Gene* 2008; 4(1): 25-29.
- [27] Wang L., Guo K., Li Y., Tu Y., Hu H., Wang B., Cui X., Peng L. Expression profiling and integrative analysis of the CESA/CSL superfamily in rice. *Plant Biology* 2010; 10(1): 282-290.
- [28] Singh Y., Rao S.S., Regar P. Deficit irrigation and nitrogen effects on seed cotton yield, water productivity and yield response factor in shallow soils of semi-arid environment. *Agricultural Water Management* 2010; 97(1): 965-970.
- [29] Carroll A., Specht C.D. Understanding plant cellulose synthases through a comprehensive investigation of the cellulose synthase family sequences. *Frontiers in plant science* 2011; 2(1):1-11.
- [30] Baumann M.J., Eklof J.M., Michel G., Kallas A.M., Teeri T.T., Czjzek M., Brumer H. Structural evidence for the evolution of xyloglucanase activity from xyloglucan endo-transglycosylases: biological implications for cell wall metabolism. *Plant Cell* 2007; 19(1): 1947-1963.
- [31] Atkinson R., Johnston S., Yauk Y., Sharma, N., Schroder R. Analysis of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH) gene families in kiwifruit and apple. *Postharvest Biology and Technology* 2009; 51(1): 149-157.
- [32] Yokoyama R., Rose J.K., Nishitani K. A. Surprising diversity and abundance of xyloglucan endotransglucosylase/hydrolases in rice. Classification and expression analysis. *Plant Physiology* 2004; 134(1):1088-1099.
- [33] Yokoyama R., Nishitani K. A comprehensive expression analysis of all members of a gene family encoding cell-wall enzymes allowed us to predict cis-regulatory regions involved in cell-wall construction in specific organs of Arabidopsis. *Plant Cell Physiology* 2001; 42(1): 1025-33.
- [34] Michailidis G., Argiriou A., Darzentas N., Tsiftaris A. Analysis of xyloglucan endotransglycosylase/ hydrolase (XTH) genes from allotetraploid (*Gossypium hirsutum*) cotton and its diploid progenitors expressed during fiber elongation. *Journal of Plant Physiology* 2009; 166(1): 403-416.
- [35] Kim H.J., Triplett B., Zhang H.B., Lee, M.K., Hinchliffe D.J., Li P., Fang D.D. Cloning and characterization of homeologous cellulose synthase catalytic subunit 2 genes from allotetraploid cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Gene* 2012; 494(1): 181-189.
- [36] Korkor S., Tayel M.Y., Anter F. The effect of salinity on cotton yield and quality. *Egyptian Journal Soil Science* 1974; 14(1): 137-148.
- [37] Atkinson N., Urwin P. The interaction of plant biotic and abiotic stresses: from genes to the field. *Journal of Experimental Botany* 2012; 63(1): 3523-3543.
- [38] Papastylianou P., Argyrokastritis I. Effect of limited drip irrigation regime on yield, yield components, and fiber quality of cotton under Mediterranean conditions. *Agricultural Water Management* 2014; 142(1): 127-134.
- [39] Onder D., Akiscan Y., Onder S., Mert M. Effect of different irrigation water level on cotton yield and yield components. *African Journal of Biotechnology* 2009; 8(1): 8-15.
- [40] Sierro N., Battey J.N., Ouadi S., Bovet L., Goepfert S., Bakaher N., Peitsch M.C., Ivanov N.V. Reference genomes and transcriptomes of *Nicotiana sylvestris* and *Nicotiana tomentosiformis*. *Genome Biology* 2013; 14(1): 60-68.

Effect of irrigation regime on cotton golestan genotype (*Gossypium hirsutum*) yield, fiber quality and *insilico* analysis of CesA and XET1 genes involved in fiber quality

Kolahi M.^{1*}, Faghani E.², Kazemian M.³, Dodangi S.², Habibi M.², Chekani O.²

¹ Biology Department, Science Faculty, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

² Agronomy Department, Cotton Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran.

³ Department of Plant Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

* (Corresponding author): m.kolahi@scu.ac.ir

Received: July 2021

Accepted: November 2021

Abstract

Study of water stress effect in traits of crops is related to stress tolerance, increasing their growth and yield in stress situation. Therefore, the manner and type of irrigation methods in plants is more important than ever. This research was performed to evaluate the impact of different irrigation regimes on cotton, Golestan genotype, yield, fiber quality. The experiments were conducted using a split-plot factorial design with four irrigation levels (rain-fed, 33%, 66% and 100%) as the main factor, during 2016-2019 crop season. After physiological maturation, fiber performance and quality traits were evaluated. In this study, protein and phylogenetic properties have been evaluated by bioinformatics tools. The results indicated that the highest yield with 1.2 kg was observed in 66% irrigation treatment. The highest fiber weight was observed in 66% treatment and the lowest in rain-fed conditions. Seeds grown under 66% irrigation saved more water and produced potential seeds with high quality fibers. Bioinformatics analysis also revealed that the intracellular locations of CesA and XET1 enzymes are plasma membrane and cell wall, respectively. The enzymes CesA and XET1 belong to the protein family of transferases and hydrolase, respectively. Phylogenetic analysis revealed that the sequences of both enzymes in the cotton plant along with the whole family plants were placed in the branches of a same clade. In general, seed reproduction with supplying 66% FC, optimum yield achieving can be more stable by inducing tolerant mechanisms against water shortage stress.

Keywords: Cellulose synthase, Fiber quality traits, Fiber weight, Irrigation, Transferase.