

«مقاله پژوهشی»

بررسی بیوانفورماتیکی اعضای خانواده ژنی CBL در گیاه کنجد (*Sesamum indicum*) تحت تنش خشکی

مژده عرب^۱، سید کمال کاظمی تبار^{۲*}، سید حمیدرضا هاشمی بطرودی^۳

۱. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری، تهران، ایران.

۲. دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

۳. استادیار گروه مهندسی ژنتیک و بیولوژی، پژوهشگاه ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۲۳)

Bioinformatics analysis of CBL gene family members in *Sesamum indicum* under drought stress

Mozhdeh Arab¹, Seyed Kamal Kazemitabar^{2*}, Seyed Hamidreza Hashemipetroudi³

1. Ph.D. Student in Plant Biotechnology, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Tehran, Iran.

2. Associate Professor, Department of Biotechnology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Iran.

3. Assistant Professors, Department of Genetic Engineering and Biology, Genetics and Agricultural Biotechnology Institute of Tabarestan (GABIT), Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, Iran.

(Received: Dec. 25, 2020 - Accepted: Mar. 14, 2022)

Abstract

Calceurin B-like proteins (CBLs) are a subfamily of calcium sensors that play a role in various plant cell processes and molecular functions. In sesame (*Sesamum indicum*), in silico analysis of the CBL gene family was performed to identify CBL proteins involved in calcium signaling. Using their orthologic relationships with Arabidopsis homolog genes, the nine SiCBL genes were identified and subdivided into six groups: SiCBL1, SiCBL2, SiCBL3, SiCBL4, SiCBL8, SiCBL10. The molecular weight of SiCBL proteins ranged from 24.4 to 37.9 kDa, the Isoelectric acid pH range, the instability index ranged from 33.99 to 47.46 percent, the aliphatic index ranged from 80.29 to 10.89, and the GRAVY ranged from -0.420 to 0.061. Prediction of post-translational modifications revealed that palmitoylation motif was observed in all siCBL, however majority of them did not have myristoylation motif. In term of gene structure, 11% of SiCBL genes had nine exons, 11% had eight exons and 77% had seven exons. The RNA-seq pattern of the SiCBL subfamily under PEG treatment revealed that, whereas members of this gene family had generally similar expression patterns in both susceptible and tolerant cultivars, due to functional Convergence, each member of this gene family had a distinct expression pattern. Future research on the expression of SiCBL and SiCIPK gene family genes under various abiotic conditions could aid in understanding the mechanism of expression control of SOS-related genes.

Keywords: Calcium sensor, CBL, Gene family, PEG, Sesame.

چکیده

یکی از زیرخانواده‌های ژنی حسگرهای کلسیم، پروتئین‌های شبه‌کالسی‌نورین B (CBLs) بوده که به‌عنوان یک مولکول پیام‌رسان ثانویه در بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی و عملکردهای مولکولی سلول‌های گیاهی نقش ایفا می‌کنند. در این تحقیق، بررسی گستره ژنومی زیرخانواده ژنی CBL در گیاه کنجد مورد بررسی قرار گرفت. تعداد نه ژن SiCBL در ژنوم کنجد شناسایی گردید که بر پایه روابط اورتولوژی با ژن‌های گیاه مدل آرابیدوپسیس، در قالب شش گروه پروتئینی SiCBL1، SiCBL2، SiCBL3، SiCBL4، SiCBL8، SiCBL10 طبقه‌بندی شدند. وزن مولکولی پروتئین‌های SiCBL در محدوده ۲۴/۴ الی ۳۷/۹ کیلو دالتون، محدوده pH ایزوالکتریک اسیدی، شاخص ناپایداری ۳۳/۹۹ الی ۴۷/۴۶ درصد و شاخص آلفاتیکی ۸۰/۲۹ الی ۱۰۶/۸۹ و GRAVY در محدوده -۰/۴۲۰ الی ۰/۰۶۱ متغیر بود. پیش‌بینی تغییرات پس از ترجمه توالی پروتئینی CBL نشان داد موتیف پالمیتوئیل‌اسیون در همه پروتئین‌های CBL گیاه کنجد مشاهده شد، در حالی که اکثر آنها فاقد موتیف میریستوئیل‌اسیون بودند. در بررسی ساختار ژنی، ۱۱ درصد ژن‌های SiCBL دارای نه اگزون، ۱۱ درصد دارای هشت اگزون و ۷۷ درصد دارای هفت اگزون بودند. تجزیه و تحلیل الگوی RNA-seq زیرخانواده SiCBL تحت تیمار PEG نشان داد اگرچه اعضای این خانواده در دو رقم حساس و متحمل، الگوی بیان به نسبت مشابه‌ای داشتند ولی هر یک از اعضای این خانواده ژنی به‌دلیل انشقاق عملکردی، از الگوی بیان منحصر‌بفردی برخوردار بودند. مطالعات تکمیلی بیان ژن‌های خانواده ژنی SiCBL و SiCIPK تحت تنش‌های غیر زیستی مختلف در تحقیقات آتی می‌تواند در درک مکانیسم تنظیمات بیان ژن‌های مرتبط با مسیر SOS مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: حسگر کلسیم، خانواده ژنی، کنجد، CBL، PEG.

مقدمه

کنجد با نام علمی *Sesamum indicum* از خانواده Pedaliacea یکی از مهمترین دانه‌های روغنی در کشورهای توسعه یافته محسوب می‌شود و یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دانه‌های روغنی است که توسط بشر شناخته شده که تاریخچه آن به ۵۰۰۰ سال پیش در هندوستان می‌رسد (Rahimi et al., 2020). کنجد گیاهی علفی یکساله می‌باشد که با مناطق خشک و نیمه‌خشک سازگار شده و به‌عنوان ملکه گیاهان روغنی شناخته شده است (Roul et al., 2017). دانه‌های روغنی از جمله کنجد پس از غلات دومین ذخیره غذایی جهان را تشکیل می‌دهند. مقدار روغن موجود در دانه این گیاه بسته به رقم، در حدود ۵۰ درصد وزن دانه می‌باشد (Rahimi et al., 2020). یکی از مشکلات اساسی بر سر راه کشاورزی، کمبود منابع آب شیرین و با کیفیت جهت آبیاری است (Esfandiari, 2001) که این امر در سال‌های اخیر با توجه به تغییرات اقلیمی بیش از پیش نمود یافته است. بررسی‌ها نشان می‌دهد که این گیاه تحمل قابل قبولی به شرایط کم‌آبی از خود نشان می‌دهد (Silva et al., 2016) که خود دلالت بر وجود و تکامل مکانیسم‌های تنظیمی خاص، در مواجهه با تنش‌های شوری و خشکی می‌باشد.

تحقیقات چند دهه اخیر نشان داده است که سیگنالینگ کلسیم به‌عنوان یک فرآیند حیاتی، گیاهان را قادر ساخته تا به محرک‌های خارجی متعدد پاسخ داده و فرایندهای اساسی سلول نظیر فعال‌سازی کانال‌ها، پمپ‌ها و انتقال‌دهنده‌های خاص که در غشاهای مختلف سلولی قرار دارند را هماهنگ و تنظیم نمایند (Dodd et al., 2010). شبکه‌های ژنی تنظیم‌کننده کلسیم، پروتئین‌های متصل به کلسیم به‌عنوان مولکول‌های حسگر عمل نموده و به‌طور خاص پیام‌های کلسیم سلولی را دریافت می‌نمایند و این پیام‌ها را به مسیرهای پایین‌دست منتقل می‌کنند (Li et al., 2016; Yin

et al., 2017). پیام کلسیم می‌تواند توسط دمین EF-hand پروتئین‌های CBL دریافت شود. از دید ساختاری جهت اتصال یون کلسیم، CBLها حداکثر دارای چهار دمین EF-hand بوده که می‌توانند حداکثر به چهار یون کلسیم متصل شوند (Nagae et al., 2003; Sánchez-Barrena et al., 2005).

شبکه دریافت و انتقال پیام CBL-CIPK برای نخستین بار در گیاه آراییدوپسیس تالیانا و به‌واسطه کشف مسیر SOS شناسایی شد که خود شامل سه ژن *AtCBL4 (SOS3)*، *AtCIPK24 (SOS2)* و در نهایت آنتی‌پورتر *(SOS1)* Na^+/H^+ می‌باشد (Kim et al., 2007; Monihan et al., 2016). این شبکه همچنین نقش مهمی در تنظیم اکسین، سیگنالینگ ABA و باز و بسته شدن روزنه ایفا می‌کند. تنش‌های غیرزنده مانند تنش یونی، تنش اسمزی و دمای شدید منجر به فعال‌شدن مسیر سیگنالی فوق حساسیت به شوری^۲ (*SOS*) و گونه‌های اکسیژن فعال^۳ (*ROS*) می‌شود که خود، فعال‌شدن فاکتورهای رونویسی پاسخگو به تنش‌های غیرزنده را در پی دارد (Kim et al., 2007; Monihan et al., 2016). در القای تحمل به تنش شوری، ژن *AtCIPK24* در تعامل با *CBL*ها عمل کرده، در حالی که *SOS1* در مسیر ژنی مستقر در تونوپلاست توسط *CBL10-CIPK24* فعال می‌شود (Kim et al., 2007; Monihan et al., 2016). در تحقیقات گذشته به کمک آنالیز ژنومیکس مقایسه‌ای ژن‌های *CBL/ CIPK*، اطلاعات زیادی درباره عملکرد، پیچیدگی و محافظت‌شدگی توالی خانواده *CBL/ CIPK* خصوصاً تکامل شبکه سیگنالینگ *CBL-CIPK* در گیاهان مختلف، از جلبک تا گیاهان چوبی ارائه شده (Yu et al.,

1. Elongation factor (EF) hand domains
2. Salt Overly Sensitive (SOS)
3. Reactive oxygen species

پایگاه Expasy-Prosites، ساختار دمین شناسایی و ترسیم شد (Sigrist *et al.*, 2012). در برنامه MEME (<http://meme-suite.org/tools/meme/>) موتیف‌های حفاظت شده، با پارامترهای تعیین شده، شناسایی شد (Bailey *et al.*, 2009). پیش‌بینی جایگاه‌های مرتبط با تغییرات پس از ترجمه palmitoylation و Myristoylation و به ترتیب با به‌کارگیری نرم افزار CSS-Palm 3.0 و PlantsP (<http://mendel.imp.ac.at/myristate/>) (SUPLpredictor.htm) صورت گرفت.

شناسایی ساختار ژنی و روابط فیلوژنتیکی *SiCBL* در گیاه زراعی کنجد با استفاده از برنامه GSDS (<http://gsds.cbi.pku.edu.cn/>) انجام گرفت (Hu *et al.*, 2014). از نرم افزار ClustalW به منظور هم‌ردیفی توالی‌های پروتئینی CBL استفاده گردید و درخت فیلوژنتیک آن‌ها بر اساس روش اتصال همسایه و با انجام آزمون بوت‌استرپ (Felsenstein, 1985) با ۱۰۰۰ تکرار توسط نرم‌افزار فیلوژنتیکی MEGA 6.0 ترسیم شد (Tamura *et al.*, 2013).

بررسی الگوی بیان *SiCBL*

مطالعه پروفایل بیانی خانواده ژنی می‌تواند اطلاعات مهمی برای درک کارکرد آن‌ها فراهم آورد (Mao *et al.*, 2012). بدین منظور پروفایل بیانی خانواده ژنی *SiCBL* در دو رقم کنجد متحمل به خشکی TEX-1 و حساس به خشکی VEN-1 تحت تیمار PEG مورد بررسی قرار گرفت (Song *et al.*, 2020). بدین ترتیب که گیاهچه‌های چهار هفته‌ای هر دو ژنوتیپ به محلول حاوی ۲۰٪ پلی اتیلن گلیکول 6000 (PEG) منتقل، و در نهایت جمع‌آوری نمونه‌های ریشه با سه تکرار بیولوژیکی مستقل پس از ۱۲ ساعت صورت گرفت. لازم به ذکر است تغذیه گیاهچه‌ها در محیط گلخانه با محلول استاندارد Hoagland و در شرایط نوری 60

(2014) که موید نقش کمپلکس‌های CBL-CIPK در تنظیمات پاسخ به تنش‌های مختلف غیر زنده و آبشارهای سیگنالینگ مواد مغذی بود. در این تحقیق، به‌منظور شناسایی و بررسی این سیلیکو خانواده ژنی CBL، اعضای ژنی این خانواده در گیاه کنجد در سطح گستره ژنومی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شناسایی اعضای خانواده ژنی CBL خانواده ژنی CBL گیاه کنجد

نخست توالی‌های ژنومی، پروتئینی و CDS¹ ژن‌های حسگر کلسیم در کنجد، از پایگاه ژنوم NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) دریافت شد. برای شناسایی ژن‌های همولوگ CBL در گیاه کنجد (*SiCBL*)، ابتدا توالی‌های پروتئینی خانواده ژنی CBL گیاه آراییدوپسیس تالیانا (*AtCBL*) به‌عنوان گیاه مدل از سایت Tair دریافت و در ادامه با استفاده از این توالی به‌عنوان Query، جستجوی با ابزار BLASTp Local در توالی پروتئین گیاه کنجد صورت گرفت. دمین‌های این خانواده ژنی به‌ترتیب در پایگاه‌های اختصاصی بررسی دمین‌های پروتئینی یعنی Pfam، Hmmscan، InterProScan، Prosites و SMART بررسی و مورد تایید قرار گرفت (Hulo *et al.*, 2006; Jones *et al.*, 2014; Letunic *et al.*, 2019; El-Gebali *et al.*, 2018). وزن مولکولی (kDa) و نقطه ایزوالکتریک (Ip)² پروتئین‌های CBL با به‌کارگیری نرم افزار ProtParam موجود در پایگاه اطلاعاتی Expasy (<https://web.expasy.org/protparam/>) محاسبه شد (Gasteiger *et al.*, 2005). مکان‌یابی درون سلولی پروتئین‌ها با به‌کارگیری برنامه WoLF PSORT (<https://wolfpsort.hgc.jp/>) پیش‌بینی شد (Horton *et al.*, 2007). در

4 Transcription factor

2 Isoelectric point

۸۲٪ دارای شباهت، ژن‌های *SiCBL4.1* و *SiCBL4.2* به ژن *AtCBL4* با کد دسترسی AT5G24270 به ترتیب با همسانی ۷۵ و ۵۳ درصد مشابه، ژن *SiCBL8* به ژن *AtCBL8* با کد دسترسی AT1G64480 با درجه همسانی ۶۲/۶ درصد و ژن‌های *SiCBL10.1* و *SiCBL10.2* به ژن *AtCBL10* با کد دسترسی AT4G33000 به ترتیب با همسانی ۶۹ و ۶۰/۷ درصد دارای شباهت می‌باشند. مطالعات پیشین حاکی از این مطلب است که ژن‌های شناسایی‌شده *CBL* در بادمجان (Li *et al.*, 2016) پنج عدد، کلزا (Zhang *et al.*, 2014) شش عدد، برنج (Jiang *et al.*, 2020) و آراییدوپسیس (Kolukisaoglu *et al.*, 2004) ده عدد می‌باشد.

شناسایی دامین‌های پروتئینی SiCBL به همراه پایش خواص فیزیکی‌شیمیایی آنها

بررسی در پایگاه‌های اختصاصی دامین اعم از Hmmscan، Pfam، InterProScan، Prosite و SMART، نشان داد همه ژن‌های مورد بررسی به خانواده ژنی CBL تعلق داشت. همه ژن‌های مورد بررسی دارای دامین EF-hand به ترتیب به شماره دسترسی PF13499 و IPR002048 در دو پایگاه Pfam و InterProScan بودند ولی به لحاظ تعداد دامین EF-hand شناسایی شده بین پایگاه‌های مختلف نتایج متفاوتی مشاهده گردید (جدول ۱). هر چند این تفاوت تا حدودی با توجه به تنوع داده‌های متفاوت مورد استفاده در پایگاه‌های تخصصی بررسی دامین توجیه می‌گردد ولی مقایسه با مطالعات پیشین بر روی آراییدوپسیس نشان می‌دهد که هیچ‌کدام از پایگاه‌ها مورد اشاره از قدرت لازم جهت برآورد تعداد دامین‌های دقیق خصوصاً دامین EF-hand1 برخوردار نبودند (Arab *et al.*, 2021).

$\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ sec}^{-1}$ داده‌های بیانی RNAseq این آزمایش، از پایگاه GEO DataSets با کد دسترسی GSE148340 اخذ و پس از تشکیل ماتریس بیان ژن که حاوی ژن‌ها و سطح بیان آن‌ها بود، بیان ژن‌های کاندید، مورد بررسی قرار گرفت (Song *et al.*, 2020). در نهایت آنالیز تفاوت بیان ژن‌های *SiCBL* به صورت Log2FC در نمودار ارائه گردید.

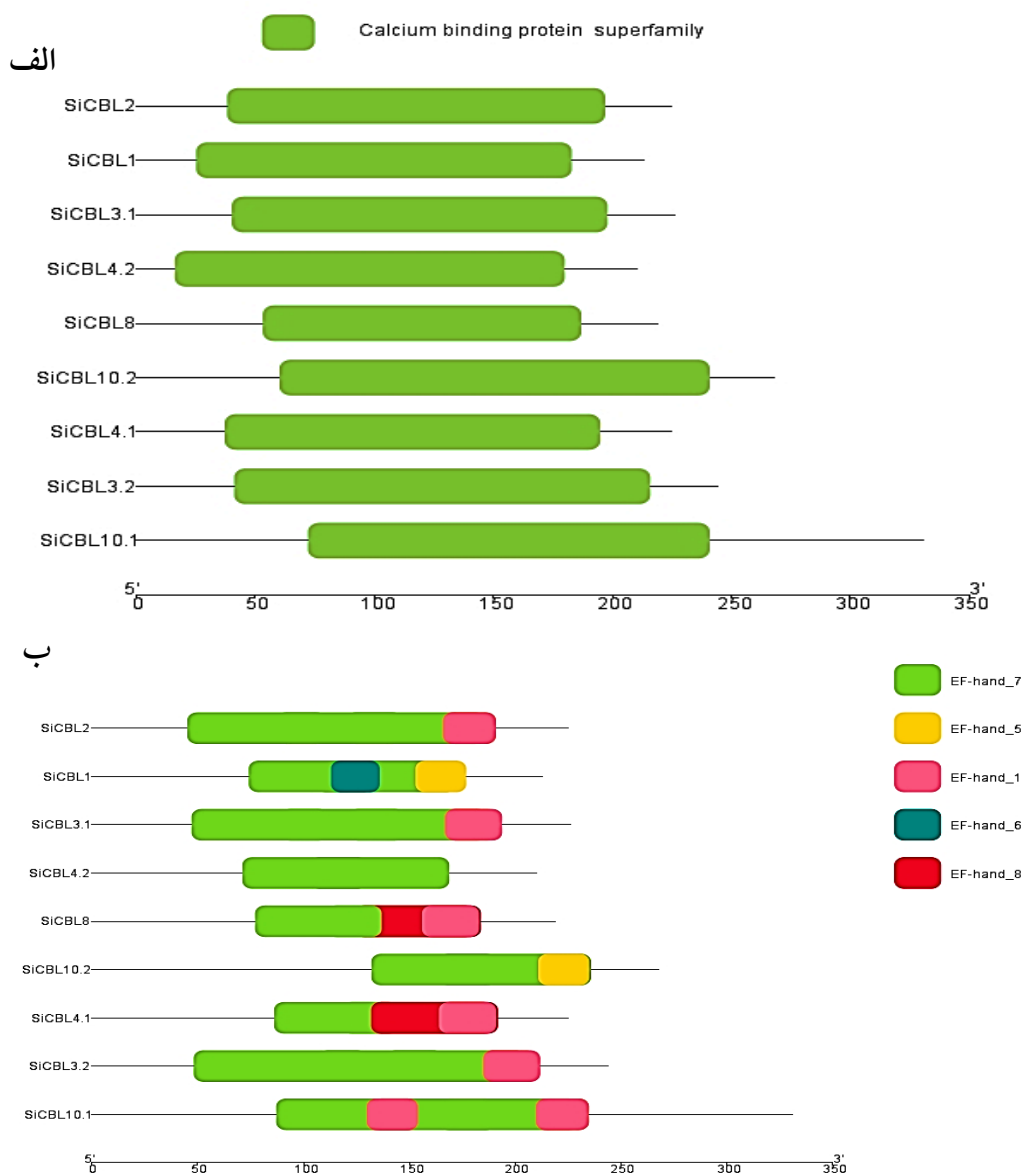
نتایج و بحث

شناسایی خانواده ژنی SiCBL

به‌منظور شناسایی اعضای خانواده ژنی *CBL* در ژنوم کنجد، از الگوریتم بلاست P و توالی‌های پروتئینی خانواده *CBL* آراییدوپسیس، استفاده شد (Kolukisaoglu *et al.*, 2004). پس از ارزیابی توالی‌های پروتئینی شناسایی‌شده خانواده *CBL* از طریق پایگاه‌های Hmmscan، SMART، Pfam و InterProScan و حذف توالی‌های تکراری و اطمینان از وجود دامین EF-hand، با بررسی همولوژی این توالی‌ها با ژن‌های آراییدوپسیس، نه ژن به‌عنوان اعضای خانواده *CBL* در گیاه کنجد شناسایی شد. شماره‌گذاری اعضای خانواده ژنی *CBL*، بر پایه همولوژی با پروتئوم آراییدوپسیس صورت گرفت؛ بدین نحو که، با اضافه نمودن پیشوند *Si* به ابتدای هر ژن، شماره‌گذاری بر اساس شماره ژن همولوگ در آراییدوپسیس و میزان همسانی ژن‌ها بود. بر اساس نتایج همولوژی، ژن *SiCBL1* به ژن *AtCBL1* با کد دسترسی AT4G17615 با درجه همسانی ۱۰۰ درصد، ژن *SiCBL2* به ژن *AtCBL2* با کد دسترسی AT5G55990 با درجه همسانی ۹۰/۷ درصد، ژن‌های *SiCBL3.1* و *SiCBL3.2* به ژن *AtCBL3* با کد دسترسی AT4G26570 به ترتیب با همسانی ۸۵٪ و

جدول ۱. خصوصیات دمین‌های شناسایی شده در خانواده ژنی CBL در گیاه کنجد.

ScanPro Domain EF- hand	همولوژی با آرابیدوپسیس Homology with arabidopsis		کد دسترسی در NCBI Accession no. in NCBI			نام ژن Gene Name
	% همسانی Identity%	ATg no.	XP	XM	GeneID:	
	100%	AT4G17615	XP_011070295.1	XM_011071993.2	LOC105155990	<i>SiCBL1</i>
	90.7%	AT5G55990	XP_011097725.1	XM_011099423.2	LOC105176573	<i>SiCBL2</i>
	85%	AT4G26570	XP_011086290.1	XM_011087988.2	LOC105168067	<i>SiCBL3.1</i>
	82%	AT4G26570	XP_011095876.1	XM_011097574.2	LOC105175214	<i>SiCBL3.2</i>
	75%	AT5G24270	XP_011075992.1	XM_011077690.2	LOC105160359	<i>SiCBL4.1</i>
	53%	AT5G24270	XP_011082286.1	XM_011083984.2	LOC105165108	<i>SiCBL4.2</i>
	62.6%	AT1G64480	XP_011082293.1	XM_011083991.2	LOC105165110	<i>SiCBL8</i>
	69%	AT4G33000	XP_020550565.1	XM_020694906.1	LOC105164672	<i>SiCBL10.1</i>
	60.7%	AT4G33000	XP_020548281.1	XM_020692622.1	LOC105176211	<i>SiCBL10.2</i>



شکل ۱. (الف) نمایش دمین ابر خانواده حسگرهای کلسیم. (ب) نمایش دمین‌های EF-hand در خانواده ژنی CBL در کنجد.

SiCBL10.1 و SiCBL4.2 و بیشترین و کمترین شاخص ناپایداری به ترتیب به 8 SiCBL و SiCBL10.2 تعلق دارند. طول پروتئین‌های این خانواده از ۲۱۰ (SiCBL4.2) الی ۳۳۱ اسیدآمین (SiCBL10.1) کیلو دالتون متغیر بود. دامنه نقطه ایزوالکتریک این پروتئین‌ها از ۴/۵۵ در SiCBL8 تا ۵/۱۹ در SiCBL10.1 متغیر بود. بدیهی است خصوصیات فیزیکی و شیمیایی پروتئین‌ها در تعیین کارکردهای بیولوژیکی، مولکولی و مکان‌نمایی^۱ آن‌ها در سلول تاثیرگذار می‌باشد. بررسی مقایسه‌ای خانواده ژنی CBL در گونه‌های مختلف غلات، حاکی از تنوع بالای این پروتئین‌ها در شاخص وزن مولکولی بود که از ۱۲/۳ کیلو دالتون در SiCBL7 (ارزن دم‌روباهی) الی ۸۰/۱۱۵ کیلو دالتون در PeCBL1-4 (بامبو) متغیر بود. در شاخص ایزوالکتریک نیز، از PI اسیدی ۴/۲۶ در SiCBL7 تا PI ۱۰/۱۳ در SiCBL1 متغیر بود (Jiang *et al.*, 2020). در بررسی گونه‌های مختلف پنبه نیز شباهت بسیار بالایی در خصوصیات این پروتئین‌ها مشاهده شد که به حفاظت‌شدگی بالایی عملکرد این ژن‌ها تفسیر گردید (Lu *et al.*, 2017).

شناسایی موتیف‌ها و وقایع پس از ترجمه در پروتئین‌های SiCBL

برای شناسایی موتیف‌های حفاظت‌شده و تعیین موقعیت این موتیف‌ها در دامین‌های EF-hand، تمام پروتئین‌های CBL گیاه کنجد با استفاده از نرم‌افزار MEME مورد آنالیز قرار گرفتند. که اطلاعات توالی ۱۰ موتیف شناسایی شده و پراکنش آنها در شکل ۲ نشان داده شده است که به صورت Motif-1 تا Motif-10 نامگذاری شده‌اند. توزیع مکانی موتیف‌ها، در پروتئین‌های SiCBL، تقریباً یکسان بود (شکل ۲- الف).

مرور تحقیقات پیشین نیز حاکی از وجود چهار موتیف EF-hand در گیاهان آراییدوپسیس (Kim *et al.*, 2000)، برنج (Kolukisaoglu *et al.*, 2004)، کلزا (Zhang *et al.*, 2014) و فلفل (Ma *et al.*, 2019) جهت اتصال یون کلسیم بوده است. به عبارت دیگر این پروتئین‌ها متشکل از ساختارهای دو دامین بوده، که هر دامین آن نیز خود دربردارنده یک جفت EF-hand می‌باشد (Kolukisaoglu *et al.*, 2004). در بررسی دامین‌های EF-hand اعضای خانواده ژنی CBL در گیاه کنجد (شکل ۱)، همه پروتئین‌های SiCBL دارای دامین EF-hand7 بودند. دامین EF-hand1 در اکثر پروتئین‌های SiCBL به جز SiCBL10.2، SiCBL4.2، SiCBL1 در صورتی که پروتئین SiCBL10.1 دارای دو دامین EF-hand1 می‌باشد. پروتئین‌های SiCBL10.2 دارای دامین EF-hand5 بوده و پروتئین‌های SiCBL4.1 و SiCBL8 دارای دامین EF-hand8 می‌باشند. پروتئین SiCBL1 دارای دامین EF-hand6 هم می‌باشد. لازم به ذکر است که پروتئین SiCBL4.2 تنها دارای دامین EF-hand7 می‌باشد.

خصوصیات فیزیکی‌وشیمیایی پروتئین‌های CBL کنجد شامل طول توالی پروتئینی (PL)، وزن مولکولی برحسب کیلو دالتون (MW)، نقطه ایزوالکتریک (pI)، بار خالص (NC)، متوسط آب‌گرایی (HP)، شاخص ناپایداری (II) مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق، وزن مولکولی پروتئین‌های SiCBL در محدوده ۲۴/۴ الی ۳۷/۹ کیلو دالتون، محدوده pH ایزوالکتریک اسیدی، شاخص ناپایداری ۳۳/۹۹ تا ۴۷/۴۶ درصد و شاخص آلفاتیک ۸۰/۲۹ تا ۱۰۶/۸۹ و GRAVY در محدوده ۰/۴۲۰- الی ۰/۰۶۱ متغیر بود (جدول ۲). همان‌طور که در جدول ۲ دیده می‌شود پروتئین SiCBL10.1 بیشترین وزن مولکولی را داشته، منفی‌ترین بار الکتریکی به SiCBL8 و تنها پروتئین با بار الکتریکی مثبت به SiCBL10.1 اختصاص داشت. بیشترین و کمترین شاخص آلفاتیک به ترتیب

جدول ۲. خصوصیات خانواده ژنی CBL در گیاه کنجد

palmitoylation	N-Myristoylation	GRAVY	قطعه ایزوالکتریک Isoelectric point	شاخص آلفایک Aliphatic index	شاخص ناپایداری instability index	وزن مولکولی Molecular weight (kDa)	تعداد اینترون Intron no.	تعداد اگزون Exon no.	طول پروتئین (aa) Protein length	نام ژن Name Gene
3 MGCFHSTSR	2 MGCFHSTSR	-0.185	4.94	91.97	41.52	24.439	7	8	213	SiCBL1
4 MVQCLEGIKHL 12 LEGIKHLCAA VLQCC 18 LCAA VLQCC ELDRQS 19 CAA VLQCC ELDRQSR	—————	-0.245	4.84	92.71	45.10	25.874	7	8	225	SiCBL2
4 MVQC LDG VKHL 18 LLSTVINCCESDINK 19 LSTVINCCESDINKQ	7 MVQC LDG VKHLLST	-0.263	4.73	90.13	39.90	25.954	7	8	226	SiCBL3.1
5 MMVQC LDG VKHL 19 LLSSVVNCCSDINK 20 LSSVVNCCSDINKQ	8 MMVQC LDG VKHLLSS	-0.297	4.90	88.69	35.91	27.858	7	8	244	SiCBL3.2
15 AFPIPMGCFHKSRR	—————	-0.120	4.96	94.80	42.90	25.931	7	8	225	SiCBL4.1
3 MGCLCTKERR 5 MGCLCTKERRIF	2 MGCLCTKER	-0.420	4.58	80.29	47.10	24.796	7	8	210	SiCBL4.2
7 MRSIANCFCLSKAK 9 RSIANCFCLSKAKNP	—————	-0.113	4.55	97.53	47.46	24.977	6	7	219	SiCBL8
2 MCVVESIDS 56 AVSGCFDCRKLNSK	—————	0.061	5.19	106.89	44.99	37.959	7	8	331	SiCBL10.1
21 LKFAEKLC AAVFPII 44 AFSGCFECRKLRSRGT 98 DGLIHKGCMKV VAGD	—————	-0.021	5.06	98.21	33.99	30.651	8	9	268	SiCBL10.2

و الگوهای محافظت شده در یک خانواده ژنی، می تواند دلیلی بر نقش و کارکرد آنها در مسیرها و شبکه های ژنی مشابه باشد.

میرستویلاسیون^۱ و پالمیتوئلاسیون^۲ به عنوان دو فرآیند پس از ترجمه، در انتقال پیام، جابجایی، مکان نمایی، تنظیم پروتئین ها و متابولیسم ها مشارکت دارند (Mohanta et al., 2017). بررسی منابع نشان می دهد توالی آمینی میرستویلاسیون در کارکرد مسیرهای SOS3 دارای اهمیت هستند (Wang et al., 2007). با بررسی توالی پروتئینی CBL، موتیف پالمیتوئلاسیون در همه پروتئین های CBL گیاه کنجد مشاهده شد. در حالی که اکثر پروتئین های CBL فاقد موتیف میرستویلاسیون بودند.

پروتئین های SiCBL1، SiCBL3.1، SiCBL3.2 و SiCBL4.2 دارای یک موتیف

در گیاه کنجد، همه پروتئین های CBL دارای موتیف های یک، دو، سه و چهار می باشند که به ترتیب دارای توالی های زیر می باشند:

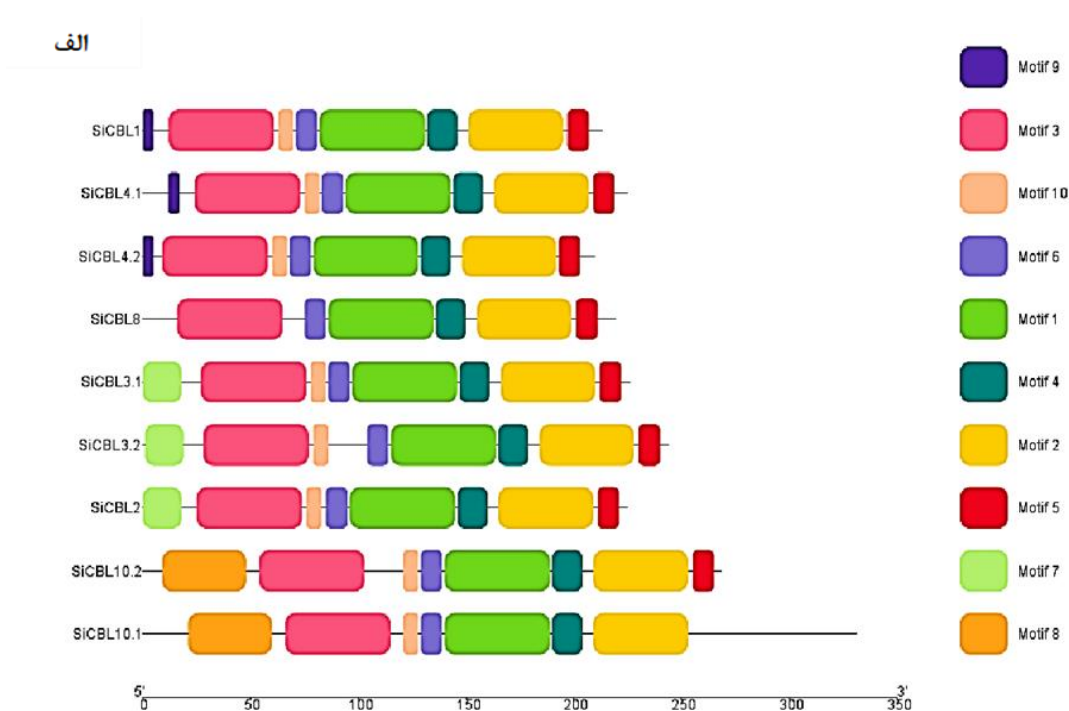
HNGVIDFEEFVRSLSVFHPNAPLEDKI
DFSFKLYDLRQTGFIERZEVKQM;
IIDKTFEEADTKKDGKIDKEEWKSLV
VRHPSLLKNM TLPY LK DIT;
PGFEEPEVLARZTVFSVSEVEALYELF
KKJSSSIIDDGLINKEEFQLALF;
VVATLAESDMNLSDD.

پروتئین های SiCBL3.1، SiCBL3.2 و SiCBL2 دارای همه موتیف ها بجز موتیف های ۸ و ۹، پروتئین های SiCBL1، SiCBL4.1 و SiCBL4.2 فاقد موتیف های ۸ و ۷ می باشند. پروتئین SiCBL10.1 فاقد موتیف های ۷ و ۹ و پروتئین SiCBL10.2 فاقد موتیف های ۵، ۷ و ۹ می باشند و پروتئین SiCBL8 هم فاقد موتیف های ۷، ۸، ۹ و ۱۰ می باشد. تحقیقات پیشین نشان می دهد پپتیدهایی که از خصوصیات موتیفی مشابهی برخوردارند، احتمال دارد از کارکردهای مولکولی و بیولوژیکی مشابهی نیز برخوردارند (El-Gebali et al., 2019). به عبارت دیگر وجود موتیف ها

1. N-myristoylation
2. Palmitoylation

موتیف پالمیتوئیل‌اسیون می‌باشد. نتایج نشان داد موتیف پالمیتوئیل‌اسیون در پروتئین‌های *SiCBL* با فراوانی بالا مشاهده می‌شود که می‌تواند احتمالاً دلالت بر نقش تغییرات پس از ترجمه در تنظیمات بیان این ژن‌ها باشد (Zhang *et al.*, 2014).

میرستول‌اسیون می‌باشند. پروتئین *SiCBL2* دارای ۴ موتیف پالمیتوئیل‌اسیون، پروتئین‌های *SiCBL3.1*، *SiCBL3.2* و *SiCBL10.2* دارای سه موتیف پالمیتوئیل‌اسیون، پروتئین‌های *SiCBL4.2*، *SiCBL8* و *SiCBL10.1* دارای دو موتیف پالمیتوئیل‌اسیون و پروتئین‌های *SiCBL4.1* و *SiCBL1* دارای یک



ب



شکل ۲. آنالیز موتیف و جستجوی دمین در توالی‌های پروتئینی CBL. (الف) موتیف‌های شناسایی شده در توالی پروتئینی. (ب) نمایش

موتیف لوگو توالی پروتئین‌های SiCBL در برنامه MEME. اندازه هر اسیدآمینه، بیانگر فراوانی آن در دمن مربوطه می‌باشد.

MEGA 6.0 به روش اتصال همسایه، اکثر CBLها به دو خوشه بزرگ تقسیم شده به نحوی که اکثر SiCBLها در مجاورت با ارتولوگ‌های خود، AtCBL و OsCBL طبقه‌بندی شدند (شکل ۳). بررسی رابطه هومولوژی درخت فیلوژنتیکی سه گیاه کنجد، آرآیدوپسیس و برنج نشان داد که برخی از ژن‌های CBL از جمله ژن‌های SiCBL10.1، SiCBL10.2، OsCBL10، AtCPK10 و SiCBL3.1، OsCBL3.2، AtCPK3 و OsCBL3.1 ژن‌های SiCBL1، OsCBL1 و AtCPK1 در کنار یکدیگر و ژن‌های SiCBL8، OsCBL8، AtCPK8 و OsCBL4.2، SiCBL4.1، OsCBL4.1 و AtCPK4 نزدیک به هم قرار گرفتند. همانگونه که در شکل (۴) نشان داده شده، این دسته‌بندی با رابطه اورتولوژی آنها همخوانی دارد.

در شکل ۳ آرایش ساختار اگزون-اینترون و ترتیب فازهای اینترون ژن‌های AtCBL، OsCBL و SiCBL نشان داده شده است. همه ژن‌های AtCBL، OsCBL و SiCBL دارای اینترون فاز یک و صفر می‌باشند (اولین اینترون معیار بررسی است). به جز SiCBL10.2 که دارای اینترون فاز صفر می‌باشد، باقی ژن‌های CBL گیاه کنجد دارای اینترون فاز یک می‌باشند. به‌طور معمول، طبقه‌بندی اینترون‌ها در بررسی فاز اسپلایسینگ در سه فاز: فاز 0 (بین دو کدون متوالی)، فاز 1 (بین نوکلئوتید اول و دوم یک کدون) و فاز 2 (بین نوکلئوتید دوم و سوم یک کدون) صورت می‌گیرد (Kaur et al., 2016). در بررسی نتایج مقایسه‌ای ژنومیکس می‌توان عملکرد ژن‌های کنجد را بر اساس عملکرد ژن‌های همولوگ آنها در برنج و آرآیدوپسیس پیش‌بینی کرد (Ladan Moghdam,

انتهای آمینی MGCXXS / T در واقع تغییرات لیپیدی را با استفاده از میریستولاسیون و پالمیتوئیل‌اسیون (S-acylation) واسطه‌گری نموده که امکان مکان‌نمایی کمپلکس‌های CBL/CIPK را در سلول ممکن می‌سازد (Zhang et al., 2014). نتیجه تحقیقات پیشین نشان می‌دهد موتیف میریستولاسیون پروتئین SOS3 در هموستازی یونی و تحمل بهینه تنش شوری در گیاهان از نقش کلیدی برخوردار است. بدین صورت که فسفریلاسیون سرین ۱۱۳۸ در SOS1، موجب فعال‌سازی کمپلکس AtCBL4-AtCIPK24 در مجاورت غشای پلاسمایی شده که به نوبه خود سبب افزایش تحمل به شوری می‌شود (Ma et al., 2020).

شناسایی ساختار ژنی و روابط فیلوژنتیکی

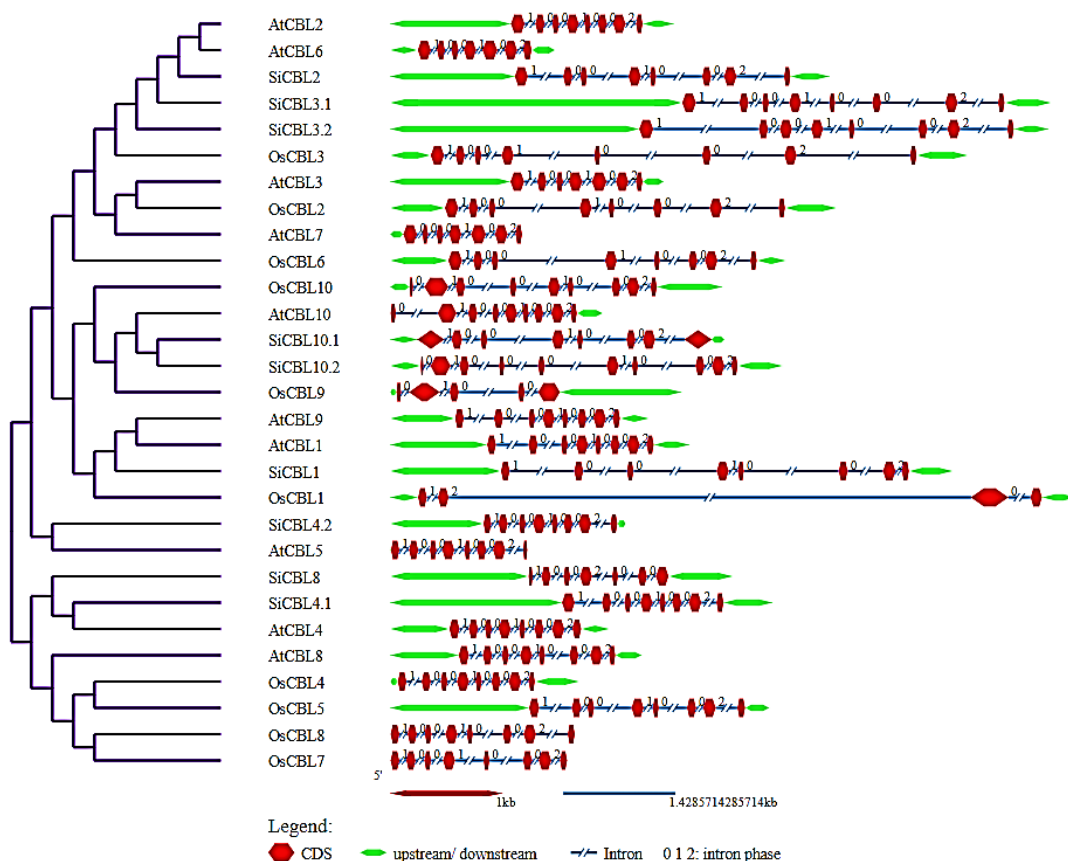
در تجزیه تحلیل ساختار اگزون-اینترون خانواده ژنی CBL گیاه کنجد مشاهده شد که ۷۷ درصد ژن‌های SiCBL دارای هشت اگزون و هفت اینترون، حدود ۱۱ درصد ژن‌های SiCBL دارای هفت اگزون و شش اینترون و ۱۱ درصد ژن‌های SiCBL دارای نه اگزون و هشت اینترون می‌باشند. لازم به ذکر است که ۶۰ درصد ژن‌های AtCBL دارای هفت اینترون، حدود ۳۰ درصد ژن‌های AtCBL دارای شش اینترون و ۱۰ درصد ژن‌های AtCBL دارای هشت اینترون می‌باشند. در بررسی مقایسه‌ای ساختار ژنی ۱۵ گیاه از خانواده گندمیان، ۵۵٪ ژن‌ها (از ۱۵۲ ژن) دارای هفت اینترون بوده که از دید تکاملی خود شاهی بر حفاظت‌شدگی این الگوی ساختاری در خانواده ژنی CBLها می‌باشد. هرچند که حضور CBLهایی با تعداد اینترون زیاد (*PeCBL1.4* با تعداد ۲۰ اینترون) یا فاقد اینترون (*HvCBL6.2*) نیز قابل توجه بود (Jiang et al., 2020). بر اساس ترسیم درخت فیلوژنتیکی کنجد در کنار دو گیاه برنج و آرآیدوپسیس با استفاده از برنامه

تحت تیمار PEG مورد بررسی قرار گرفت. مطالعه پروفایل بیانی خانواده ژنی *SiCBL* در دو رقم کنجد نشان داد که از ژن‌های *SiCBL3.2* و *SiCBL4.2* در هر دو رقم کنجد، بیانی مشاهده نشد در حالی که برای ژن‌های *SiCBL8* و *SiCBL10.1* بیان متفاوتی مشاهده گردید، در رقم کنجد متحمل به خشکی TEX-1، ژن‌های *SiCBL8* و *SiCBL10.1* کاهش بیان را نشان داده‌اند در حالی که در رقم VEN-1 افزایش بیان دیده می‌شود. ژن‌های *SiCBL1* و *SiCBL10.2* در رقم متحمل به خشکی TEX-1 با شدت بیشتری بیان شده، در حالی که در ژن‌های *SiCBL2*، *SiCBL3.1*، *SiCBL8*، و *SiCBL4.1* کاهش بیان بیشتری مشاهده گردید. به نظر می‌رسد کارکرد و عملکرد کاهش‌ی این ژن‌ها در شبکه ژنی CBL-CIPK را بتوان به نحوه تنظیمات بیان این ژن‌ها که احتمالاً به‌صورت کنترل منفی است مرتبط دانست (Lan et al., 2011).

(2020). مطالعات نشان می‌دهد برخی از مسیرهای سیگنالینگ CBL-CIPK در گونه‌های مختلف گیاهی حفظ شده است. به‌عنوان مثال، مسیر پیام‌رسانی SOS در برنج نیز حفاظت شده بوده و از عملکرد مشابه‌ای برخوردار است (Martínez-Atienza et al., 2007). ژن همسانه‌سازی شده *PeSOS1* از گیاه *Populus euphratica*، از عملکرد مشابه‌ای با ژن *AtSOS1* برخوردار بوده (Wu et al., 2007) و یا ژن همولوگ *AtCBL4* در ذرت، در تحمل به تنش شوری نقش دارد (Wang et al., 2007).

آنالیز بیان اعضای خانواده ژنی *SiCBL* در دو رقم حساس و متحمل

جهت بررسی الگوی بیانی خانواده ژنی *CBL* از داده‌های RNA-seq کنجد در دو رقم متحمل به خشکی TEX-1 و حساس به خشکی VEN-1



شکل ۳. آنالیز ساختار ژنی و درخت فیلوژنتیکی اعضای خانواده ژنی *CBL* در کنجد، آراییدوپسیس تالیانا و برنج.

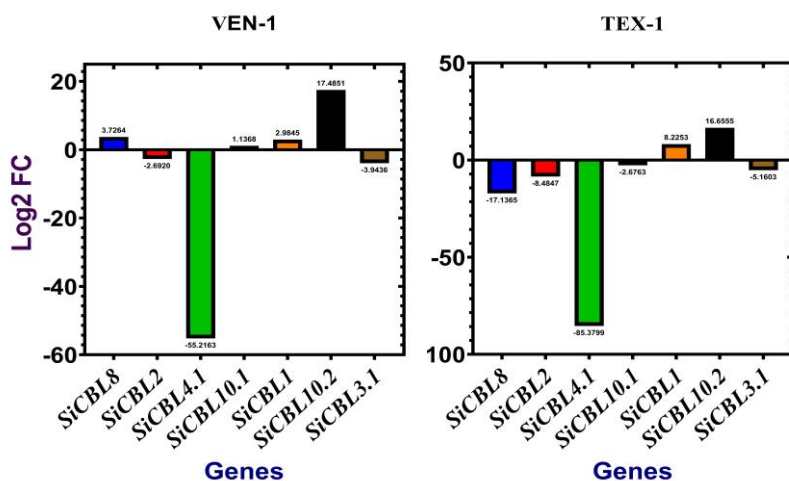
بررسی مطالعات پیشین نشان می‌دهد برخی از اعضای شبکه ژنی *CBL/CIPK* در پاسخ به تنش‌ها یا مراحل مختلف رشدی و نمو، از الگوهای بیان متمایزی برخوردارند (Li *et al.*, 2009). آنالیز بیان ژن در سطح کل ترانسکریپتوم نشان می‌دهد که سطوح بیان ژن‌های مختلف در مواجهه با واکنش‌های محیطی، افزایش و یا کاهش نشان می‌دهد (Rabbani *et al.*, 2003)، که در برخی موارد با تنظیم ژن و یا مسیر ژنی خاصی، سازگاری گیاه به شرایط تنش حاصل می‌گردد (Aglawe *et al.*, 2012). جهت حصول به موارد ذکر شده، مطالعه الگوی بیان رونوشت‌ها امری اجتناب‌ناپذیر می‌نماید. بنظر می‌رسد تنوع بیان مشاهده شده در خانواده ژنی *SiCBL* احتمالاً بدلیل وجود سازوکارهای تنظیمی متفاوت در تنظیمات بیان این ژن‌هاست.

مطالعات جامع ژنومیکس عملکردی نشان می‌دهد تعاملات متمایز و در عین حال گزینشی در میان این اعضای شبکه ژنی *CBL-CIPK* حاکم است (Evrard, 2013). آنالیز RNA-seq و بررسی روابط فیلوژنتیکی و ساختار ژنی نشان می‌دهد که این ژن‌ها با هم در قالب یک شبکه ژنی در پاسخ به تنش خشکی نقش ایفا می‌کنند. مشخصات و الگوی بیان ژن‌های *CBL-CIPK* آناناس نشان می‌دهد که پروتئین‌های

بررسی مطالعات پیشین نشان می‌دهد برخی از اعضای شبکه ژنی *CBL/CIPK* در پاسخ به تنش‌ها یا مراحل مختلف رشدی و نمو، از الگوهای بیان متمایزی برخوردارند (Li *et al.*, 2009). آنالیز بیان ژن در سطح کل ترانسکریپتوم نشان می‌دهد که سطوح بیان ژن‌های مختلف در مواجهه با واکنش‌های محیطی، افزایش و یا کاهش نشان می‌دهد (Rabbani *et al.*, 2003)، که در برخی موارد با تنظیم ژن و یا مسیر ژنی خاصی، سازگاری گیاه به شرایط تنش حاصل می‌گردد (Aglawe *et al.*, 2012). جهت حصول به موارد ذکر شده، مطالعه الگوی بیان رونوشت‌ها امری اجتناب‌ناپذیر می‌نماید. بنظر می‌رسد تنوع بیان مشاهده شده در خانواده ژنی *SiCBL* احتمالاً بدلیل وجود سازوکارهای تنظیمی متفاوت در تنظیمات بیان این ژن‌هاست.

مطالعات جامع ژنومیکس عملکردی نشان می‌دهد تعاملات متمایز و در عین حال گزینشی در میان این اعضای شبکه ژنی *CBL-CIPK* حاکم است (Evrard, 2013). آنالیز RNA-seq و بررسی روابط فیلوژنتیکی و ساختار ژنی نشان می‌دهد که این ژن‌ها با هم در قالب یک شبکه ژنی در پاسخ به تنش خشکی نقش ایفا می‌کنند. مشخصات و الگوی بیان ژن‌های *CBL-CIPK* آناناس نشان می‌دهد که پروتئین‌های

بررسی پژوهش‌های پیشین درباره شبکه *CBL-CIPK*، بیانگر تعامل اختصاصی و همپوشانی اعضای مختلف خانواده *CBL* و *CIPK* می‌باشد. این یافته‌ها از یک سو مبین اختصاصیت عملکردی بوده و از سوی دیگر وجود تکرار در ژن‌های *CBL* و *CIPK* را منعکس می‌نماید.



شکل ۴. الگوی بیان داده‌های RNA-seq خانواده ژنی *SiCBL* تحت تنش خشکی (PEG).

1. Redundancy

عملکردها و سازوکارهای پاسخ به تنش خصوصاً پاسخ‌های مرتبط با مسیر *CBL / CIPK* در گیاه روغنی / دارویی کنگد فراهم می‌آورد. مطالعات تکمیلی بیان ژن‌های خانواده ژنی *SiCIPK* و *SiCBL* تحت تنش‌های غیر زیستی مختلف در تحقیقات آتی می‌تواند در درک نحوه تعاملات اعضای این دو خانواده ژنی با یکدیگر خصوصاً تنظیمات بیان ژن‌های مرتبط با مسیر SOS مفید باشد.

سپاسگزاری

این مقاله با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در قالب قرار داد طرح پژوهشی به شماره ۰۷-۱۴۰۰-۰۱ اجرا و بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه سپاسگزاری و قدردانی می‌شود.

در کاساوا، تشابه الگوی بیان ژن *MeCIPK23* با ژن‌های *MeCBL1* و *MeCBL9* حکایت از میان‌کنش بین آنها دارد و بیان بیش از اندازه این ژن‌ها باعث افزایش پاسخ دفاعی در گیاهان تراریخته می‌شود. در تحقیق ژائو و همکاران مشاهده شد خاموش شدن ژن *MeCIPK23* یا *MeCBL1/9* یا هر دو ژن منجر به حساسیت به بیماری می‌شود (Zhao et al., 2019). علی‌رغم شناسایی دو ژن *SmCBL4* و *SmCIPK24* در بادمجان، در بررسی اثر متقابل پروتئین به روش Y2H، هیچ‌گونه تعاملی مشاهده نشد که بیانگر استاتیک نبودن عملکرد ژن‌ها در گونه‌های مختلف گیاهی است (Li et al., 2016). ژن‌های *SiCBL* گزارش شده در این تحقیق ضمن ارائه اطلاعات اولیه، زمینه‌ای را برای شناسایی

REFERENCES

- Arab, M., Najafi Zarrini, H., Nematzadeh, G., & Hashemi-petroudi, S. H. (2021). Comparative study of cis-regulatory elements in the promoter regions of calcineurin B-like genes (CBLs) of *Aeluropus*, *Arabidopsis* and rice plants. *Crop Biotechnology*, 10(34), 93-112.
- Aslam, M., Fakher, B., Jakada, B. H., Zhao, L., Cao, S., Cheng, Y., & Qin, Y. (2019). Genome-wide identification and expression profiling of CBL-CIPK gene family in pineapple (*Ananas comosus*) and the role of AcCBL1 in abiotic and biotic stress response. *Biomolecules*, 9(7), 293.
- Bailey, T. L., Boden, M., Buske, F. A., Frith, M., Grant, C. E., Clementi, L., ... & Noble, W. S. (2009). MEME SUITE: tools for motif discovery and searching. *Nucleic acids research*, 37(suppl_2), W202-W208.
- Dodd, A. N., Kudla, J., & Sanders, D. (2010). The language of calcium signaling. *Annual review of plant biology*, 61, 593-620.
- El-Gebali, S., Mistry, J., Bateman, A., Eddy, S. R., Luciani, A., Potter, S. C., ... & Finn, R. D. (2019). The Pfam protein families database in 2019. *Nucleic Acids research*, 47(D1), D427-D432.
- Esfandiari, G. (2001). Stress factors and their relation with general health in students of Kurdistan university of medical sciences in year 1999. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences*, 5(2), 17-21.
- Evrard, A. (2013). Cell type-specific transcriptional responses of plants to salinity. Ph.D. Thesis. Australian Center for plant functional genomics Adelaide. 405 pages.
- Felsenstein, J. (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39(4), 783-791.

- Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Wilkins, M. R., Appel, R. D., & Bairoch, A. (2005). Protein identification and analysis tools on the ExPASy server. *The Proteomics Protocols Handbook*, 571-607.
- Horton, P., Park, K. J., Obayashi, T., Fujita, N., Harada, H., Adams-Collier, C. J., & Nakai, K. (2007). WoLF PSORT: protein localization predictor. *Nucleic Acids Research*, 35(suppl_2), W585-W587.
- Hu, B., Jin, J., Guo, A. Y., Zhang, H., Luo, J., & Gao, G. (2015). GSDS 2.0: an upgraded gene feature visualization server. *Bioinformatics*, 31(8), 1296-1297.
- Hulo, N., Bairoch, A., Bulliard, V., Cerutti, L., De Castro, E., Langendijk-Genevaux, P. S., ... & Sigrist, C. J. (2006). The PROSITE database. *Nucleic Acids Research*, 34(suppl_1), D227-D230.
- Jiang, M., Zhao, C., Zhao, M., Li, Y., & Wen, G. (2020). Phylogeny and evolution of Calcineurin B-Like (CBL) gene family in grass and functional analyses of rice CBLs. *Journal of Plant Biology*, 63(2), 117-130.
- Jones, P., Binns, D., Chang, H. Y., Fraser, M., Li, W., McAnulla, C., ... & Hunter, S. (2014). InterProScan 5: genome-scale protein function classification. *Bioinformatics*, 30(9), 1236-1240.
- Kaur, A., Pati, P. K., Pati, A. M., & Nagpal, A. K. (2017). In-silico analysis of cis-acting regulatory elements of pathogenesis-related proteins of *Arabidopsis thaliana* and *Oryza sativa*. *PloS One*, 12(9), e0184523.
- Kaur, G., & Pati, P. K. (2016). Analysis of cis-acting regulatory elements of Respiratory burst oxidase homolog (Rboh) gene families in *Arabidopsis* and rice provides clues for their diverse functions. *Computational Biology and Chemistry*, 62, 104-118.
- Kim, B. G., Waadt, R., Cheong, Y. H., Pandey, G. K., Dominguez-Solis, J. R., Schültke, S., ... & Luan, S. (2007). The calcium sensor CBL10 mediates salt tolerance by regulating ion homeostasis in *Arabidopsis*. *The Plant Journal*, 52(3), 473-484.
- Kim, K. N., Cheong, Y. H., Gupta, R., & Luan, S. (2000). Interaction specificity of *Arabidopsis* calcineurin B-like calcium sensors and their target kinases. *Plant Physiology*, 124(4), 1844-1853.
- Kolukisaoglu, U., Weinl, S., Blazevic, D., Batistic, O., & Kudla, J. (2004). Calcium sensors and their interacting protein kinases: genomics of the *Arabidopsis* and rice CBL-CIPK signaling networks. *Plant Physiology*, 134(1), 43-58.
- Ladan Moghdam, A. (2020). Genome wide bioinformatics analysis BES1 gene family in *Vitis vinifera* L. *Crop Biotechnology*, 10(30), 71-86.
- Lan, W. Z., Lee, S. C., Che, Y. F., Jiang, Y. Q., & Luan, S. (2011). Mechanistic analysis of AKT1 regulation by the CBL-CIPK-PP2CA interactions. *Molecular Plant*, 4(3), 527-536.
- Letunic, I., & Bork, P. (2018). 20 years of the SMART protein domain annotation resource. *Nucleic Acids Research*, 46(D1), D493-D496.
- Li, J., Jiang, M. M., Ren, L., Liu, Y., & Chen, H. Y. (2016). Identification and characterization of CBL and CIPK gene families in eggplant (*Solanum melongena* L.). *Molecular Genetics and Genomics*, 291(4), 1769-1781.
- Li, R., Zhang, J., Wei, J., Wang, H., Wang, Y., & Ma, R. (2009). Functions and mechanisms of the CBL-CIPK signaling system in plant response to abiotic stress. *Progress in Natural Science*, 19(6), 667-676.
- Liu, H., Che, Z., Zeng, X., Zhou, X., Siteo, H. M., Wang, H., & Yu, D. (2016). Genome-wide analysis of calcium-dependent protein kinases and their expression patterns in response to herbivore and wounding stresses in soybean. *Functional & Integrative Genomics*, 16(5), 481-493.

- Lu, T., Zhang, G., Sun, L., Wang, J., & Hao, F. (2017). Genome-wide identification of CBL family and expression analysis of CBLs in response to potassium deficiency in cotton. *PeerJ*, 5, e3653.
- Ma, X., Gai, W. X., Qiao, Y. M., Ali, M., Wei, A. M., Luo, D. X., ... & Gong, Z. H. (2019). Identification of CBL and CIPK gene families and functional characterization of CaCIPK1 under *Phytophthora capsici* in pepper (*Capsicum annuum* L.). *BMC Genomics*, 20(1), 1-18.
- Ma, X., Li, Q. H., Yu, Y. N., Qiao, Y. M., Haq, S. U., & Gong, Z. H. (2020). The CBL-CIPK pathway in plant response to stress signals. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 5668.
- Mao, D., & Chen, C. (2012). Colinearity and similar expression pattern of rice DREB1s reveal their functional conservation in the cold-responsive pathway.
- Martínez-Atienza, J., Jiang, X., Garcíadeblas, B., Mendoza, I., Zhu, J. K., Pardo, J. M., & Quintero, F. J. (2007). Conservation of the salt overly sensitive pathway in rice. *Plant Physiology*, 143(2), 1001-1012.
- Mohanta, T. K., Kumar, P., & Bae, H. (2017). Genomics and evolutionary aspect of calcium signaling event in calmodulin and calmodulin-like proteins in plants. *BMC Plant Biology*, 17(1), 1-19.
- Monihan, S.M., Magness, C.A., Yadegari, R., Smith, S.E., & Schumaker, K. S. (2016). Arabidopsis CALCINEURIN B-LIKE10 functions independently of the SOS pathway during reproductive development in saline conditions. *Plant Physiology*, 171(1), 369-379.
- Nagae, M., Nozawa, A., Koizumi, N., Sano, H., Hashimoto, H., Sato, M., & Shimizu, T. (2003). The crystal structure of the novel calcium-binding protein AtCBL2 from Arabidopsis thaliana. *Journal of Biological Chemistry*, 278(43), 42240-42246.
- Rahimi, M., & Gharachorloo, M. (2020). Determination of Some Antinutritional Factors and Heavy Metals in Sesame Oil, Raw and Peeled Sesame (*Sesamum indicum* L.) Seed of two Varieties Cultivated in Iran. *Food Science and Technology*, 17(98), 169-181.
- Roul, B., Mishra, B. K., & Prusty, N. (2017). Natural effect of micronutrient on growth and growth parameter of sesame oilseed crop. *Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6, 1926-1928.
- Sánchez-Barrena, M. J., Martínez-Ripoll, M., Zhu, J. K., & Albert, A. (2005). The structure of the Arabidopsis thaliana SOS3: molecular mechanism of sensing calcium for salt stress response. *Journal of Molecular Biology*, 345(5), 1253-1264.
- Shu, B., Cai, D., Zhang, F., Zhang, D. J., Liu, C. Y., Wu, Q. S., & Luo, C. (2020). Identifying citrus CBL and CIPK gene families and their expressions in response to drought and arbuscular mycorrhizal fungi colonization. *Biol. Plant*, 64, 773-783.
- Sigrist, C. J., De Castro, E., Cerutti, L., Cuche, B. A., Hulo, N., Bridge, A., ... & Xenarios, I. (2012). New and continuing developments at PROSITE. *Nucleic Acids Research*, 41(D1), D344-D347.
- Silva, R. T. D., Oliveira, A. B. D., Lopes, M. D. F. D. Q., Guimarães, M. D. A., & Dutra, A. S. (2016). Physiological quality of sesame seeds produced from plants subjected to water stress. *Revista Ciência Agronômica*, 47, 643-648.
- Song, Q., Joshi, M., Wang, S., Johnson, C. D., & Joshi, V. (2021). Comparative analysis of root transcriptome profiles of sesame (*Sesamum indicum* L.) in response to osmotic stress. *Journal of Plant Growth Regulation*, 40(4), 1787-1801.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12), 2725-2729.

- Wang, M., Gu, D., Liu, T., Wang, Z., Guo, X., Hou, W., ... & Wang, G. (2007). Overexpression of a putative maize calcineurin B-like protein in Arabidopsis confers salt tolerance. *Plant Molecular Biology*, 65(6), 733-746.
- Wu, Y., Ding, N., Zhao, X., Zhao, M., Chang, Z., Liu, J., & Zhang, L. (2007). Molecular characterization of PeSOS1: the putative Na⁺/H⁺ antiporter of *Populus Euphratica*. *Plant molecular Biology*, 65(1), 1-11.
- Yin, X., Wang, Q., Chen, Q., Xiang, N., Yang, Y., & Yang, Y. (2017). Genome-wide identification and functional analysis of the calcineurin B-like protein and calcineurin B-like protein-interacting protein kinase gene families in turnip (*Brassica rapa* var. *rapa*). *Frontiers in plant science*, 8, 1191.
- Yu, Q., An, L., & Li, W. (2014). The CBL-CIPK network mediates different signaling pathways in plants. *Plant Cell Reports*, 33(2), 203-214.
- Zhang, H., Yang, B., Liu, W. Z., Li, H., Wang, L., Wang, B., ... & Jiang, Y. Q. (2014). Identification and characterization of CBL and CIPK gene families in canola (*Brassica napus* L.). *BMC Plant Biology*, 14(1), 1-24.
- Zhao, J., Yu, A., Du, Y., Wang, G., Li, Y., Zhao, G., ... & Wang, Y. (2019). Foxtail millet (*Setaria italica* (L.) P. Beauv) CIPKs are responsive to ABA and abiotic stresses. *PLoS One*, 14(11), e0225091.