

«مقاله پژوهشی»

آنالیز خانواده ژنی کالمادولین (CAMTA) در ذرت و بیان ژن‌های پاسخگو به تنش گرما و جوانه‌زنی

عباس سعیدی^{۱*}، زهره حاجی‌برات^۱^۱. گروه علوم و زیست‌فناوری گیاهی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۳ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۳/۲۹

CAMTA gene family analysis in maize and expression of genes responsive to heat stress and germination

Abbas Saidi^{1*}, Zohreh Hajjibrat¹

Department of Plant Sciences and Biotechnology, Faculty of Life Sciences and Biotechnology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

(Received: Feb. 2, 2022 - Accepted: Jun. 19, 2022)

Abstract

Calmodulin is a regulated protein of calcium and is a small intracellular protein that binds to calcium ions and mediates many of its intracellular actions. Calmodulin-binding transcription factors (CAMTAs) are recognized as one of the stress-responsive proteins. In this study, CAMTA genes were selected in maize. In this study, CAMTA family genes in maize were selected and chromosomal distribution, gene structure, domain patterns, and phylogenetic tree of CAMTA genes in maize were analyzed to further evaluate. To identify expression levels in different plant tissues, CAMTA gene expression analysis in response to heat stress and germination was studied. ZmCAMTA1 and ZmCAMTA2 genes were expressed in heat stress. Gene structure was similar in most proteins in each group, confirming the phylogenetic classification of CAMTA. Prediction of cis-elements in the promoter region of genes showed that bZIP and AP2/ERF had the highest cis-elements in the promoter region of ZmCAMTA genes. In leaf tissue, ZmCAMTA1 gene was up-regulated expression in response to heat stress. ZmCAMTA2 gene was up-regulated in stem tissue in response to heat stress. The ZmCAMTA2 gene in response to increased expression germination showed that this study could be considered as a useful resource for future comparative studies of ZmCAMTA in different plant species and provide useful information for finding candidate genes in response to stress.

Keywords: Calmodulin-binding transcription factors, gene expression, heat stress

چکیده

کالمودولین به معنای پروتئین تنظیم‌شده کلسیم است و به پروتئین داخل سلولی کوچکی گفته می‌شود که خاصیت اتصال به یون کلسیم و ایجاد واسطه در بسیاری از اقدامات داخل سلولی آن را دارد. فاکتورهای فعال کننده‌های رونویسی متصل‌شونده به کالمودولین (CAMTA) به‌عنوان یکی از پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به استرس شناخته شده‌اند. در این مطالعه ژن‌های خانواده CAMTA در گیاه ذرت انتخاب شدند و توزیع کروموزومی، ساختار ژن، الگوهای دمین، درخت فیلوژنتیکی ژن‌های CAMTA در ذرت برای بررسی بیشتر عملکرد آنها مورد آنالیز قرار گرفت. همچنین برای شناسایی الگوی بیان در بافت‌های مختلف گیاه ذرت، آنالیز بیان ژن‌های ZmCAMTA در پاسخ به تنش گرما و جوانه‌زنی مشخص شد. ژن‌های ZmCAMTA1 و ZmCAMTA2 در تمام مراحل رشدی گیاه بیان نشان دادند. ساختار ژن در اکثر پروتئین‌ها مشابه بود و طبقه‌بندی فیلوژنتیکی CAMTA را تأیید می‌کند. پیش‌بینی سیس المنت‌ها در ناحیه پروموتری ژن‌ها نشان داد که bZIP و AP2/ERF بالاترین سیس المنت در ناحیه پروموتری ژن‌های ZmCAMTA را به خود اختصاص دادند. در بافت برگ در پاسخ به تنش گرمایی ژن ZmCAMTA1 افزایش بیان نشان داد. در صورتی که ژن ZmCAMTA2 در بافت ساقه در پاسخ به تنش گرمایی افزایش بیان نشان داد. ژن ZmCAMTA2 در پاسخ به جوانه‌زنی افزایش بیان نشان داد. این مطالعه می‌تواند به‌عنوان یک منبع مفید برای مطالعات بیشتر ZmCAMTA در آینده در گونه‌های مختلف گیاهی در نظر گرفته شود و اطلاعات مفیدی برای یافتن ژن کاندیدا در پاسخ به تنش فراهم کند.

کلیدواژه‌ها: عوامل رونویسی، کالمادولین، بیان ژن، تنش گرمایی

مقدمه

ذرت یک محصول کشاورزی با ارزش اقتصادی مهم است. این گیاه یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی بوده که برای سوخت زیستی را برای جمعیت بزرگ تأمین می‌کند. رشد و بهره‌وری گیاهان ذرت از تنش‌های غیرزیستی و زیستی مختلف رنج می‌برند و مکانیسم‌های تنظیمی ضروری برای بقا در این شرایط محیطی مهم هستند (Verslues *et al.*, 2006).

کلسیم یک تنظیم‌کننده سلولی بوده که در طیف وسیعی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و در پاسخ به تنش‌های زیستی (پاتوژن‌ها) و تنش‌های غیرزیستی (دمای پایین، گرما و خشکی) نقش دارد (Heil & Bostock, 2002). در سلول‌های گیاهی، کلسیم توسط دمین EF-hand حاوی خانواده‌های پروتئینی، از جمله پروتئین‌های کالمودولین (CaM)/CaM مانند، پروتئین کیناز وابسته به کلسیم (CDPK) دریافت می‌کند (Ranty *et al.*, 2016). در میان این پروتئین‌ها، CaM یک پروتئین متصل‌شونده به کلسیم است و به‌عنوان تعدیل‌کننده در متابولیسم، انتقال یون، تنظیم رونویسی، فسفوریلاسیون پروتئین و سایر عملکردهای حیاتی عمل می‌کند. فاکتورهای فعال‌کننده‌های رونویسی متصل‌شونده به کالمودولین (CAMTA) خاصی را تنظیم می‌کند، که پس از اتصال به کلسیم، پاسخ‌های فیزیولوژیکی به محرک‌های مختلف ایجاد می‌کند (Leng *et al.*, 2015). برای شناسایی ژن‌های پاسخ‌دهنده و فاکتورهای رونویسی دخیل در سازگاری با تنش محیطی، برهمکنش فاکتور رونویسی با سیس‌المنت مورد بررسی قرار گرفت (Singh *et al.*, 2015). با توجه به اهمیت فاکتورهای رونویسی در تنظیم ژن‌های مرتبط با استرس، تعداد زیادی از مطالعات با تمرکز بر عملکرد آنها در حال انجام است. چندین مطالعه نشان داده‌اند که فاکتورهای رونویسی مؤثر بر چرخه زندگی ارگانیسم‌ها نقش مهمی در سیگنال‌دهی گیاه و سلول دارند (Sahoo *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2005).

(*al.*, 2013).

به‌طور کلی، بیش از ۹۰ فاکتور رونویسی به‌عنوان پروتئین‌های برندنینگ (CBPs) CaM، از جمله WRKY، MYBs، CAMTAs، NACs و پروتئین‌های جعبه MADS شناخته شده‌اند (Reddy *et al.*, 2011). یکی از مهم‌ترین فاکتورهای مهم در پاسخ به تنش زیستی و غیرزیستی، فعال‌کننده‌های رونویسی متصل‌شونده به کالمودولین (CAMTA) است که شامل چهار دمین عملکردی شناخته‌شده به نام‌های IPT/TIG (ایمونوگلوبولین فاکتور رونویسی)، تعداد متفاوتی از موتیف‌های IQ (بایدینگ کالمودولین)، CG-1 (یک دمین اتصال به DNA خاص برای توالی) و ankyrin (ANK) موجود می‌باشد. فاکتورهای فعال‌کننده‌های رونویسی متصل‌شونده به کالمودولین (CAMTAs) در حیوانات، قارچ‌ها و گیاهان یافت می‌شوند (Rubtsov & Lopina, 2000). محل اتصال CAMTA‌ها در پروموتور پایین‌دست ژن‌ها بوده و به‌عنوان (A/C)CGTGT یا (A/C/G)CGCG(T/C/G) متصل می‌شود که به تنظیم بیان آنها نیز کمک می‌کند (Ali *et al.*, 2020). اخیراً، خانواده ژن CAMTA در طیف گسترده‌ای از گونه‌های گیاهی از جمله آرابیدوپسیس با شش ژن و گوجه‌فرنگی با هفت ژن و در برنج ۷ ژن، همچنین در سویا ۱۵ ژن شناسایی شده است (Bouche *et al.*, 2002; Choi *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2015).

اولین ژن CAMTA، NtER1، در تنباکو در حین بررسی پروتئین‌های متصل‌شونده به CaM شناسایی شد (Du *et al.*, 2011). در آرابیدوپسیس، شش فاکتور رونویسی CAMTA، با نام AtCAMTA1 به AtCAMTA6، شناسایی شده‌است. این AtCAMTAها در تنش‌های زیستی، غیرزیستی و هورمونی و مراحل رشدی نقش دارند (Bouche *et al.*, 2002). برای مثال، ژن‌های AtCAMTA1 و

مطالعه، TaCAMTA4 ممکن است به عنوان یک تنظیم کننده منفی در پاسخ به *Puccinia triticina* عمل کند، زیرا ناک داون مبتنی بر خاموش کردن ژن TaCAMTA4 منجر به افزایش مقاومت در برابر بیماری *P. triticina* شد (Shkolnik *et al.*, 2019). بنابراین، این مطالعه بر آنالیز سیستماتیک بیوانفورماتیک و آنالیز الگوی بیان عوامل رونویسی CAMTA در گونه ذرت متمرکز است. هدف از انجام این مطالعه، بررسی و آنالیز خانواده ژن CAMTA در ذرت بود. به طور خاص، اطلاعات جامعی در مورد، روابط فیلوژنتیکی، دمن‌های عملکردی و برای تایید نتایج بیوانفورماتیک بیان ژن‌ها در مرحله‌ی جوانه‌زنی و پروفایل بیانی این ژن‌ها در پاسخ به شرایط نرمال و تنش گرمایی صورت گرفت و همچنین شناسایی سیس‌منت‌ها در ناحیه پروموتری ژن‌های CAMTA در ذرت بود.

مواد و روش‌ها

داده‌های مورد استفاده در تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک و

دمن‌های عملکردی پروتئین‌های CAMTA

توالی‌های پروتئینی CAMTA از پایگاه داده

EnsemblPlants

(<https://plants.ensembl.org/index.html>)

دانلود شد. هم‌ردیفی توالی‌های پروتئین با استفاده از

روش ClustalW انجام شد. ترسیم درخت فیلوژنتیکی

با استفاده از نرم‌افزار MEGA 7.0 و با الگوریتم NJ

صورت گرفت. صحت درخت فیلوژنتیکی با بود استرپ

۱۰۰۰ انجام شد (Shkolnik *et al.*, 2019).

برای شناسایی دمن‌های CAMTA از نرم‌افزار

Gendoc استفاده شد. توالی‌ها فاکتورهای رونویسی

CAMTA مانند حضور دمن‌های IQ

(PF00612)، (PF12796) ANK، TIG

(PF01833) و (PF03859) CG-1 ارزیابی شدند.

توالی‌های ژنی نامطلوب به صورت دستی حذف

AtCAMTA3 نقش مهمی در پاسخ به تنش سرما و خشکی و تنظیم اکسین و اسید سالیسیلیک در گیاهان دارند. ژن‌های AtCAMTA6 در گیاهان در پاسخ به تنش شوری بیان می‌شوند، در حالی که AtCAMTA4 نقش محوری در پاسخ‌های دفاعی گیاهان در برابر پاتوژن‌ها و در پاسخ به اتیلن، اسید جاسمونات (JA) و اسید آبسزیک (ABA) دارد (Liu *et al.*, 2015). با این حال، آنالیز جامع پروتئین‌های CAMTA بین گونه‌های گیاهی با روابط فیلوژنتیکی هنوز وجود ندارد.

از دست‌دادن عملکرد موتانت CAMTA3/AtSR1 باعث کلروز و مقاومت بالا در برابر پاتوژن‌ها می‌شود. به طور مشابه، جهش ژن OsCBT عضو CAMTA در برنج باعث ایجاد مقاومت قابل توجهی در برابر پاتوژن‌ها نشان داد، که نشان‌دهنده این است که ممکن است به عنوان یک تنظیم کننده منفی در دفاع گیاه نیز عمل کند. ژن CAMTA3 همچنین نقش مهمی در دفاع گیاه در برابر حشرات، تنظیم متابولیسم گلوکز و پیری ناشی از اتیلن در آرابیدوپسیس ایفا می‌کند (Yang & Poovaiah, 2002). اخیراً گزارش شده است که CAMTA1، CAMTA2 و CAMTA3 با هم در سرکوب بیوستز سالیسیلیک اسید عمل می‌کنند و در تحمل سرما / انجماد توسط القای رونویسی CBF نقش دارند (Galon *et al.*, 2010).

CAMTAها از گوجه‌فرنگی به عنوان ژن‌هایی با بیان متفاوت (DEGs) در طول مراحل رشد و رسیدن میوه شناخته شدند، که نشان می‌دهد سیگنال‌دهی کلسیم در تنظیم رشد و رسیدن میوه از طریق برهمکنش کلسیم/کالمودولین/CAMTA نقش دارد (Kim *et al.*, 2017). اخیراً، ۱۵ ژن CAMTA در سویا شناسایی شد و بیان ژن‌ها نشان داد که به تنش‌ها و سیگنال‌های هورمونی مختلف پاسخ می‌دهند (Saidi & Hajibarat, 2020). بر اساس یک

۸ ساعت تاریکی به مدت دو هفته. ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌های جوان نهال‌های ۲ هفته‌ای برای تجزیه و تحلیل بیان خاص بافت تحت تنش گرما و شرایط نرمال به مدت ۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد تحت تیمار قرار گرفتند و نمونه‌ها برداشت شدند.

برای تهیه RNA اختصاصی بافت، نمونه‌های ریشه، ساقه و برگ به‌طور جداگانه از گیاهچه‌های ۲ هفته‌ای ذرت تحت تنش گرما و شرایط نرمال جمع‌آوری شدند. نمونه‌برداری ۴ ساعت پس از اعمال تیمار گرما انجام شد. RNA کل از ریشه، ساقه و برگ در شرایط تنش گرمایی و نرمال و همچنین در مرحله جوانه‌زنی با استفاده از کیت RNA-Plus (Sinaclo) بر اساس دستورالعمل سازنده استخراج شد. برای حذف آلودگی DNA ژنومی باقیمانده در نمونه‌های RNA، از DNase I (شرکت فرمنتاز) استفاده شد. خلوص و غلظت RNA توسط نانو دراپ تعیین شد و کیفیت آن با استفاده از آنالیز ژل آگارز ۱٪ تایید شد. سپس سنتز cDNA طبق دستورالعمل کیت سنتز cDNA انجام شد. سه تکرار برای آنالیز هر ژن انجام شد. از ژن گلیسرآلدئید دهیدروژناز به‌عنوان ژن مرجع استفاده شد. تمام آغازگرهای مورد استفاده در تجزیه و تحلیل بیان ژن در جدول ۲ فهرست شده‌اند. پرایمرهای با استفاده از برنامه الگو طراحی شدند. بیان ژن‌ها با دستگاه ریل‌تایم با استفاده از سایبرگرین همان‌طور که در دستورالعمل‌های سازنده توضیح داده شده‌است، انجام شد. برای بیان نسبی ژن‌ها از طریق $2^{-\Delta\Delta Ct}$ پس از نرمال‌سازی مقدار Ct برای ژن‌های CAMTA در مقابل گلیسرآلدئید دهیدروژناز به‌عنوان ژن مرجع تعیین شد. آنالیز RT-qPCR برای تعیین پروفایل بیان برای دو ژن ZmCAMTA1 و ZmCAMTA2 با استفاده از بافت‌های مختلف تحت تنش گرما و نرمال انجام شد. همچنین بیان این ژن‌ها در مرحله جوانه‌زنی ذرت مورد بررسی قرار گرفت.

شدند. سرور ExpASY (<https://www.expasy.org/>) برای پیش‌بینی نقطه ایزوالکتریک (pI) و وزن مولکولی (Mw) هر پروتئین CAMTA استفاده شد.

توزیع کروموزومی و آنالیز ساختار ژن CAMTA
برای مکان‌یابی ژن‌های CAMTA روی کروموزوم‌های ذرت، ژن‌های CAMTA بر روی هر کروموزوم با توجه به موقعیت فیزیکی ژن بررسی شدند. ژن‌های CAMTA روی همه کروموزوم‌های ذرت ترسیم شدند و نقشه فیزیکی با MapChart ترسیم شد (Voorrips *et al.*, 2002). برای آنالیز ساختاری اگزون / اینترون، توالی‌های DNA ژنومی و CDS مربوط به هر ژن CAMTA ذرت از پایگاه داده NCBI دانلود شدند. سرور نمایش ساختار ژن نسخه ۲.۰ (GSDS، <http://gsds.cbi.pku.edu.cn>) برای به‌دست‌آوردن اطلاعات در مورد اگزون- اینترون پروتئین‌های ZmCAMTA استفاده شد (Chen *et al.*, 2007).

تجزیه و تحلیل مکان‌های اتصال فاکتور رونویسی در پروموتورهای CAMTA

۱۵۰۰ جفت باز در بالادست ناحیه پروموتور CAMTA از پایگاه داده NCBI بازیابی شد. توالی‌های به‌دست‌آمده با استفاده از پایگاه داده PlantPAN (<http://plantpan.itps.nku.edu.tw/>) با محدودیت‌های پیش‌فرض برای شناسایی سیس‌المنت‌ها با توجه به پاسخ تنش مورد آنالیز قرار گرفتند.

الگوهای بیان ژن‌های CAMTA در پاسخ به تنش گرمایی و جوانه‌زنی

این آزمایش بر روی ژنوتیپ K706 ذرت در سال ۱۴۰۰ انجام شد. رقم K706 جهت کشت در گلدان با نسبت خاک (کوکوپیت: پلیت: پیت ماس) در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و

جدول ۱. اطلاعات مربوط برای اعضای خانواده فاکتورهای رونویسی CAMTA در ذرت

Table 1. Information for CAMTA transcription factor family members in maize.

نام ژن Gene name	موقعیت کروموزومی Chromosomal location	طول آمینواسید Amino acids Length	MW وزن مولکولی	PI نقطه ایزوالکتریک
ZmCAMTA1	2:72639997-72647881	996	112.21	6.52
ZmCAMTA2	7:156055930-156074400	913	101.84	8.43
ZmCAMTA5	10:111957170-111965806	865	97.52	7.70
ZmCAMTA4	1:19954934-19979584	1025	114.42	6.38
ZmCAMTA3	3:161089094-161094398	842	94.65	6.93

جدول ۲. نام و توالی پرایمر مورد استفاده در این مطالعه

Table 2. The name and primer sequence used in this study.

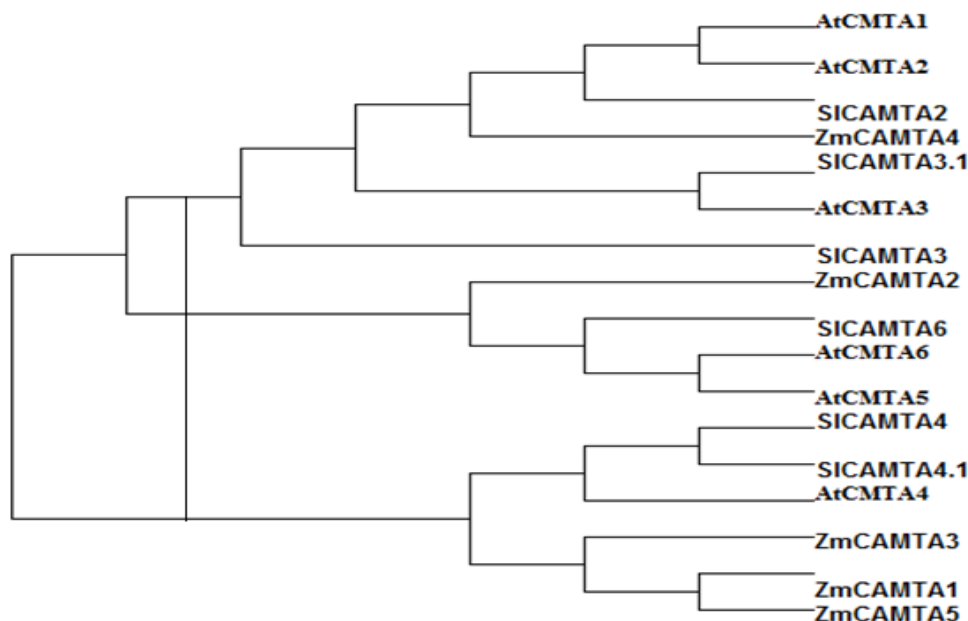
پرایمر (Primer)	توالی پرایمر (Primer sequence)
ZmCAMTA1 F	GAGGAAGATGATGAGGAAGACGACG
ZmCAMTA1 R	ACTTCTTACAGTTGCTGGCGA
ZmCAMTA2 F	GTGATCTGGCTGCTGGACAAG
ZmCAMTA2 R	TCAGCAGCATTGCGGTAGGCT
GAPHD F	CCATCACTGCCACACAGAAAAC
GAPHD R	AGGAACACGGAAGGACATACCAG

مختلف CAMTA در آراییدوپسیس، گوجه‌فرنگی و ذرت، آنالیز فیلوژنتیکی بر اساس ۱۷ توالی مختلف پروتئین CAMTA انجام شد. همان‌طور که در شکل ۱ نشان داده شده است، درخت فیلوژنتیک به‌روشنی نزدیک همسایه ۱۷ پروتئین CAMTA را به سه گروه تقسیم‌بندی کرد. در کلاستر اول، هفت پروتئین AtCAMTA1، AtCAMTA2، AtCAMTA3، AtCAMTA3، SICAMTA3.1 و پروتئین SICAMTA3، ZmCAMTA4 گروه‌بندی شدند. در کلاستر دوم، فاکتور CAMTA گوجه‌فرنگی (SICAMTA6) با پروتئین‌های AtCAMTA5، AtCAMTA6، ZmCAMTA2 کلاستر بندی شدند. در کلاستر سوم، دو پروتئین CAMTA گوجه‌فرنگی (SICAMTA4.1، SICAMTA4) با چهار پروتئین دیگر AtCAMTA4، ZmCAMTA1، ZmCAMTA3 و ZmCAMTA5 گروه‌بندی شدند. در مقابل، پروتئین‌های CAMTA به هفت زیر خانواده در آراییدوپسیس و برنج تقسیم شده‌اند (Bork et al., 1999).

نتایج و بحث

در مطالعه حاضر، خانواده ژن CAMTA را در ذرت بررسی و موقعیت ژن‌ها روی کروموزوم‌ها نشان دادیم (جدول ۱). آنالیزهای بیوانفورماتیکی مانند روابط فیلوژنتیکی، دمین‌های عملکردی، ساختارهای ژنی، مکان‌های کروموزومی و بیان ژن‌های CAMTA در شرایط تنش گرمایی و نرمال و همچنین در مرحله جوانه‌زنی ذرت انجام شد. پروفایل بیان در مراحل مختلف مورد آنالیز قرار گرفت. همه ژن‌های ZmCAMTA به‌همراه نام‌گذاری ژن، جزئیات ژن‌ها، طول اسید آمینه، وزن مولکولی و نقطه ایزوالکتریک پروتئین‌ها در جدول ۱ فهرست شده‌اند. فاکتورهای رونویسی ZmCAMTA در طول اسید آمینه از ۸۴۲ تا ۱۰۲۵ با نقطه ایزوالکتریک پیش‌بینی شده (pI) در محدوده ۶.۳۸ تا ۸.۴۳ و وزن مولکولی از ۹۴.۶۵ تا ۱۱۴.۴۲ کیلو دالتون متفاوت است.

روابط فیلوژنتیکی و دمین‌های عملکردی ژن‌های فاکتور رونویسی CAMTA در ذرت برای تعیین روابط فیلوژنتیکی بین پروتئین‌های



شکل ۱. درخت فیلوژنتیک ژن‌های CAMTA ایجاد شده با روش همسایگی (NJ) در نرم‌افزار MEGA7.0
 Figure 1. Phylogenetic tree of CAMTA genes created by the neighbor-joining (NJ) method in MEGA7.0 software.

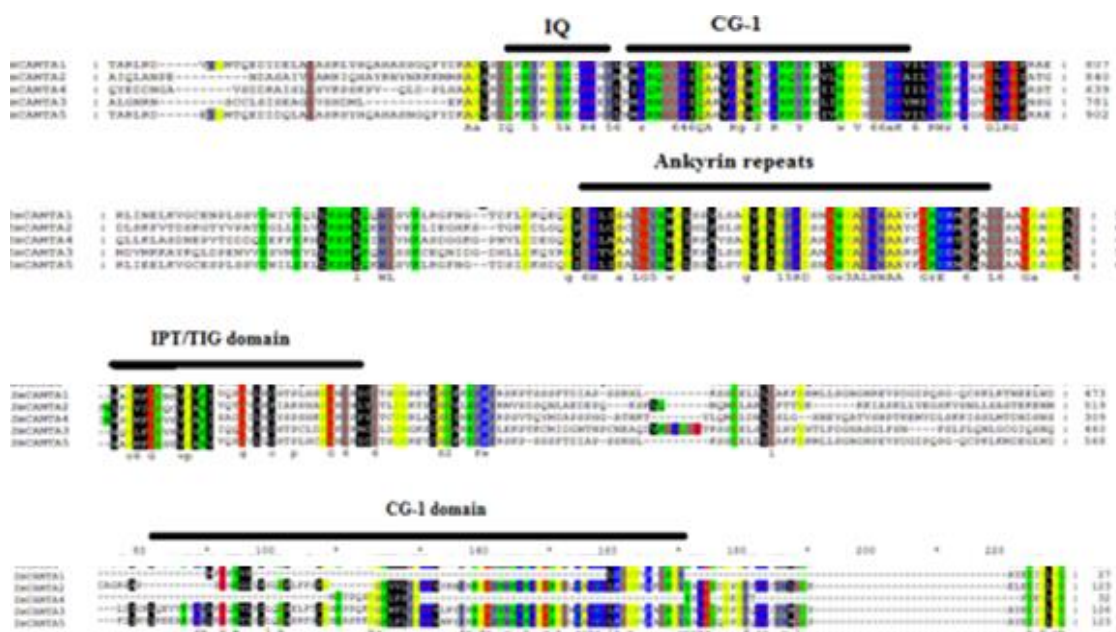
در مطالعه‌ای نشان داده شد که زیرخانواده‌های اول، دوم و سوم ژن‌های CAMTA به‌طور همزمان در هر دو لپه‌ای و تک لپه‌ای وجود دارند، اما ژن‌های زیر خانواده چهارم در تک لپه‌ای‌ها وجود نداشت (Wang *et al.*, 2015). مطالعه دیگری نشان داد که ژن‌های CAMTA به چهار زیر خانواده (اول، دوم و سوم و چهارم) در سویا تقسیم می‌شوند (Wang *et al.*, 2015). ژن‌های درون هر کلاستر ساختارهای آگزون/ اینترون مشابه و موتیف محافظت‌شده را نشان دادند. در این مطالعه، نتایج تجزیه و تحلیل گروه‌بندی ما از عوامل CAMTA در دولپه‌ها و تک لپه‌ها، سه زیرخانواده را در درخت فیلوژنتیک نشان داد که نتایج مشابهی با سویا به‌دست آمد (Wang *et al.*, 2015). مطالعه ساختار پروتئین برای درک نحوه عملکرد آن مهم است. پروتئین‌های کدگذاری شده با CAMTA گیاهی با حضور چهار دمین عملکردی، شناخته‌شده به‌عنوان CG-1 (یک دمین اتصال به DNA اختصاصی توالی ANK (تکرارات آنکیرین)، (Yang *et al.*, 2020).

مکان کروموزومی و ساختار ژنی ژن‌های CAMTA
 آنالیز توزیع کروموزومی در ذرت نشان داد که ژن‌های

(ایمونوگلوبولین فاکتور رونویسی)، و موتیف IQ مشخص شدند. (کالمودولین باند) که در بین گونه‌های مختلف گیاهی بسیار حفاظت شده‌است. هر چهار دمین CG-1، ANK، IPT/TIG و IQ در هر یک از پروتئین‌های ZmCAMTA شناسایی شدند (شکل ۲). برای تایید دمین‌های عملکردی هر پروتئین از پایگاه SMART و Pfam استفاده گردید. در مطالعه‌ای بر روی گندم نشان داده شد که ۱۰ پروتئین TaCAMTA دمین محافظت‌شده شامل CG-1 (یک دمین اتصال به DNA اختصاصی توالی با Pfam03859)، ANK (آنکیرین با Pfam12796)، یک دمین بایندینگ کالمادولین و موتیف IQ با Pfam00612 بودند. پروتئین‌ها دمین TIG را نداشتند که با مطالعات ما مطابقت نداشت (Yang *et al.*, 2020).

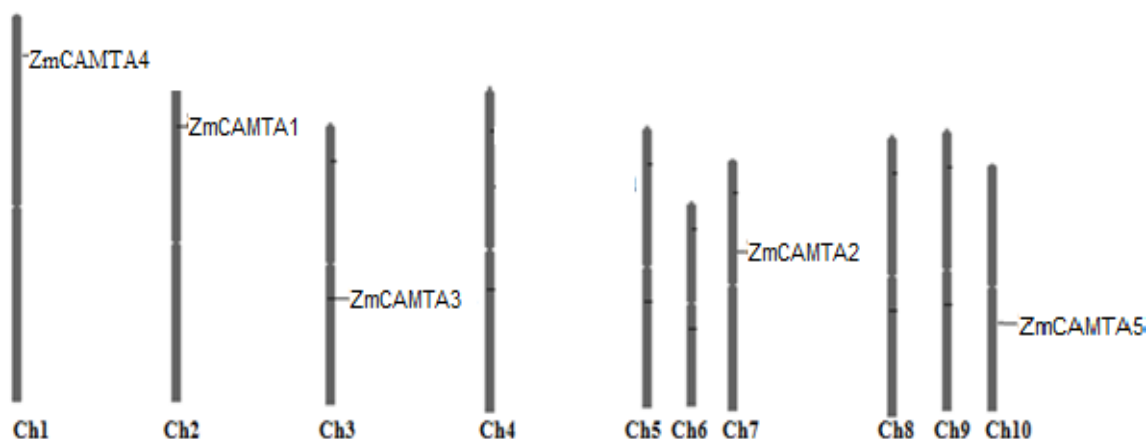
ژنهای CAMTA گروه دوم با بیشترین تعداد اینترون یعنی ۹-۱۲ داشتند، در حالی که گروه اول و گروه سوم توسط ۱-۱۲ اینترون داشتند (شکل ۴). تعداد ثابت اینترونها و افزونهای یک ویژگی حفاظت شده CAMTA در میان ژنهای ذرت است (Rahman et al., 2016).

ZmCAMTA روی کروموزومهای ۱، ۲، ۳، ۴، ۷ و ۱۰ قرار داشتند اما هیچ ژن ZmCAMTA بر روی کروموزومهای ۵/۸/۶/۹ قرار نداشتند (شکل ۳). در مطالعه ایی بر روی گیاه *V. vinifera* انجام شد که ژنهای *VvCAMTA1*، *VvCAMTA3*، *VvCAMTA4* و *VvCAMTA5* به ترتیب بر روی کروموزومهای ۷، ۱ و ۵ فرار گرفتند (Shangguan



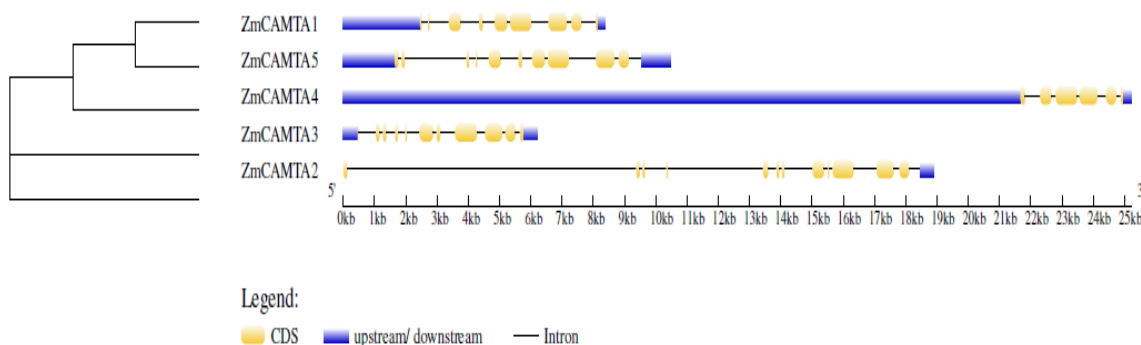
شکل ۲. همردیفی چندگانه پروتئینهای خانواده CAMTA ذرت. همردیفی از طریق Clustal W انجام شد و باقی مانده چای با استفاده از نرم افزار Genedoc رنگ آمیزی شدند.

Figure 2. Multiple alignment of maize CAMTA family proteins. Multiple alignment was performed via Clustal W and the residues were colored using Genedoc software.



شکل ۳. توزیع کروموزومی و الگوهای گسترش ژنهای CAMTA در ذرت

Figure 3. Chromosomal distribution and expansion patterns of *CAMTA* genes in maize.



شکل ۴. ساختار ژنی ژن‌های *CAMTA* ذرت با توجه به روابط فیلوژنتیکی آنها. رنگ‌های زرد و آبی به ترتیب نشان‌دهنده اگزون و اینترون ژن هستند.

Figure 4. The gene structure of maize *CAMTA* genes according to their phylogenetic relationships. Yellow and blue colors represent gene exon and intron, respectively.

بررسی، ژن *ZmCAMTA* دارای حداکثر عناصر سیس‌المنت در ناحیه پروموتور خود بود. ژن‌های *ZmCAMTA2*، *ZmCAMTA4* و *ZmCAMTA5* بیشترین تعداد سیس‌المنت را در نواحی محرک خود داشتند. توالی‌های پروموتوری ژن‌های *CAMTA* حاوی تقریباً ۲۰ نوع سیس‌المنت بودند (شکل ۵). با افزایش ژن‌های *CAMTA* در کروموزوم‌های مختلف می‌توان نتیجه‌گیری کرد که گیاه در طول رشد خود با افزایش بیان ژن‌های پاسخگو به تنش‌های محیطی مختلف سازگار شوند (Saidi *et al.*, 2020b).

مطالعات قبلی نشان داده‌اند که *CAMTA*‌ها به استرس‌ها و محرک‌های مختلف در آرابیدوپسیس، گوجه‌فرنگی و سویا پاسخ می‌دهند (Galon *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2012). وجود عناصر سیس‌المنت درگیر در پاسخ به تنش‌ها/محرک‌ها در پروموتورهای *CAMTA* نشان می‌دهد که آنها به احتمال به تنش‌ها و سیگنال‌های محرک مختلف پاسخ مختلفی نشان می‌دهند. در آرابیدوپسیس، *CAMTA1* و *CAMTA2* همراه با *CAMTA3* به‌طور مستقیم به پروموتور *CBF2* متصل شده که منجر به القای بیان افزایش تحمل سرما گیاه می‌شود (Doherty *et al.*, 2009). ژن *AtCAMTA3*

پیش‌بینی سیس‌المنت‌ها در ژن‌های *ZmCAMTA*
برای درک عناصر سیس‌المنت تنظیمی با هورمون و تکاملی در پاسخ به استرس، پایگاه داده PlantPAN برای پیش‌بینی مکان‌های اتصال فاکتور رونویسی در ناحیه پیش‌رونده بالادست ۱۰۰۰ جفت باز *CAMTA* مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ۲۰ سیس‌المنت‌های از پایگاه داده PlantPAN به‌دست آمد که نشان‌دهنده این است داد که در نواحی پروموتور ژن‌های *CAMTA* در ذرت سیس‌المنت‌های مختلفی وجود دارد (شکل ۵). پروموتورهای *CAMTA* دارای عناصر تنظیم‌کننده سیس‌المنت مختلفی هستند که اعتقاد بر این است که در پاسخ به تنظیم شرایط تنش غیرزیستی، رشدی و هورمونی نقش دارند. همچنین بیشتر سیس‌المنت‌ها موجود در ناحیه بالادست ژن‌ها مربوط به سیس‌المنت‌های پاسخگو به تنش زیر زیستی می‌باشد. در این مطالعه، عناصر شناسایی شده در پاسخ به تنش‌های مختلف شامل *bZIP*، *MYB*، *bHLH*، *WRKY*، *NF-Ys* و *AP2/ERF* بودند. تجزیه و تحلیل پروموتورها نشان داد که عناصر سیس‌المنت *bZIP* در پاسخ به *ABA* بیان شدند عناصر سیس‌المنت *WRKY* در پاسخ به هورمون اکسین تنظیم می‌شوند. نتایج ما *EIL/EIN3* و *AT-hook* را در مناطق پروموتور *CAMTA* شناسایی کرد. در بین *CAMTA* مورد

ZmCAMTA2 بود. به دلیل وجود دهیدرین، گیاهان به تنش‌های خشکی بهتر پاسخ می‌دهند. وجود دهیدرین در نواحی پروموتور اکثر ژن‌های خانواده ZmCAMTA، تنظیم رونویسی کامل توسط خود CAMTAها را پیشنهاد می‌کند و نشان‌دهنده یک شبکه تنظیم پیچیده بین آنها است. از نظر فیزیولوژیکی، اتصال فاکتورهای WRKY به W-boxها، فعالیت‌های مختلف رشدی (کنترل پیری) و پاتوژن و سایر استرس‌های غیر زیستی را تنظیم می‌کنند (Van Aken *et al.*, 2013; Saidi *et al.*, 2015; Singh *et al.*, 2020b). بیشترین سیس المنت پاسخگو به هورمون در CAMTAها bZIP برای تشخیص سیگنال ABA است که در پروموتورهای ژن‌های CAMTA شناسایی شده است.

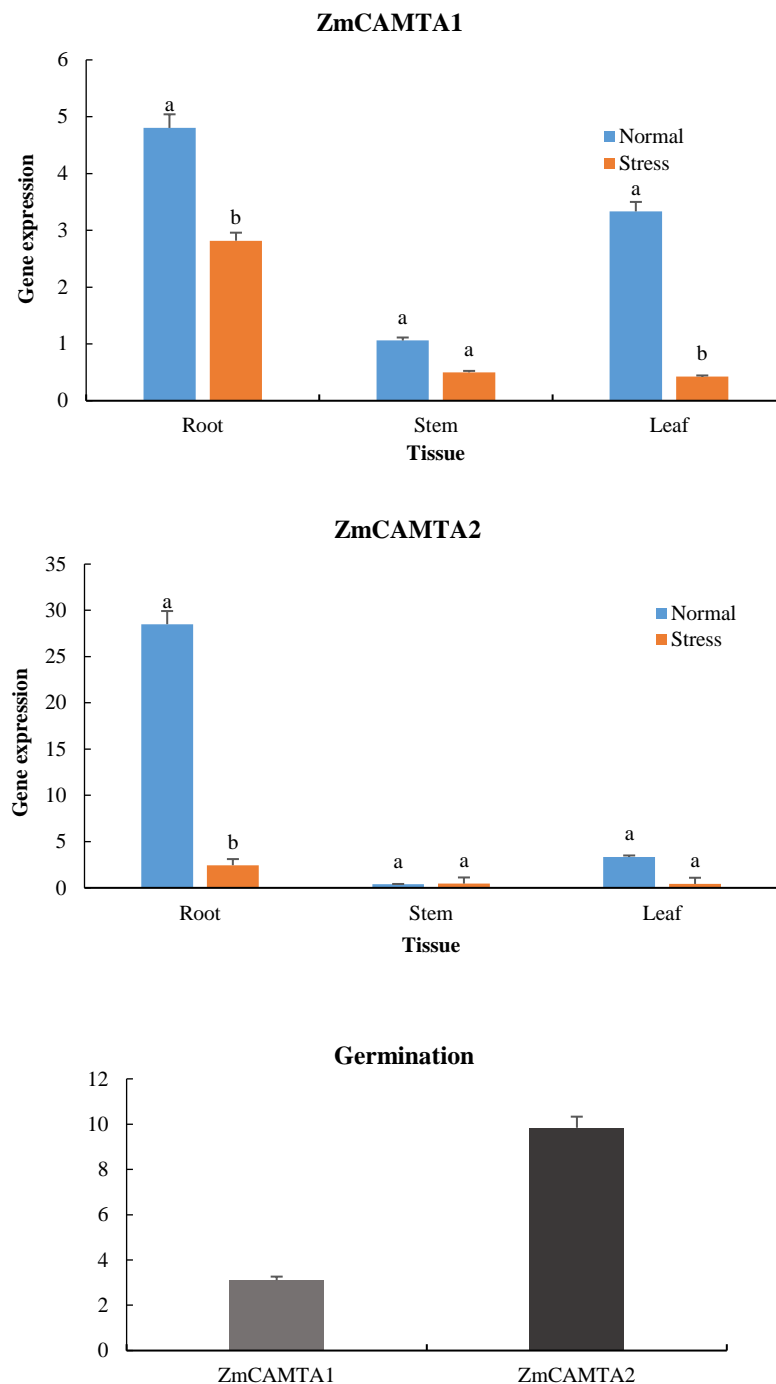
می‌تواند به عنوان تنظیم‌کننده منفی ایمنی گیاه برای پاسخ به دفاع پاتوژن با فعال کردن سیگنال‌های حد واسط در سالیسیک اسید می‌شود (Du *et al.*, 2009). MYB و bZIP تحت تنش محیطی و در ریشه بیان می‌شوند (Xie *et al.*, 2019). سیس المنت WRKY نقش مهمی در بافت‌های برگ داشته و همچنین در پاسخ به تنش‌هایی مانند خشکی، شوری و تهاجم ویروس بیان می‌شوند (Huang & Liu, 2013). سیس المنت Dof یکی از مهم‌ترین فاکتور رونویسی است که در ریشه، شاخساره و برگ بیان می‌شوند. در براسیکا، AP2/ERF به طور خاص بیان بالایی در ریشه داشت، اگرچه تعداد کمی از فاکتور رونویسی در ریشه و برگ بیان می‌شوند (Zhang *et al.*, 2017).

در میان سیس المنت‌های مورد بررسی، دهیدرین بیشترین سیس المنت یافت شده مربوط به ژن

		ZmCAMTA1	ZmCAMTA2	ZmCAMTA5	ZmCAMTA4	ZmCAMTA3
Abiotic stress	MYB;ARR-B	70	356	98	192	49
Abiotic stress	Myb/SANT	208	359	308	598	123
Abiotic stress	C2H2	70	135	106	164	45
Abiotic stress	Homeodomain	160	329	222	445	165
Abiotic stress	HD-ZIP	73	192	112	239	116
Abiotic stress	MYB-related	29	72	55	95	22
Abiotic stress	NAC	26	77	46	124	30
Abiotic stress	NF-YB;NF-Y	50	621	382	872	234
Abiotic stress	AP2;ERF	356	1008	584	1460	322
Abiotic stress	Dehydrin	316	464	136	704	83
Abiotic stress	MYB	264	495	388	732	130
Abiotic stress	GATA	406	899	588	1079	352
Abiotic stress	bHLH	31	716	246	955	456
Abiotic stress	Trihelix	6	465	315	621	185
ABA	bZIP	121	1096	455	1100	368
Ethylene	EIN3;EIL	27	48	29	37	23
Auxin	WRKY	151	287	293	330	65
Development	AT-Hook	118	180	175	204	61
Development	SBP	115	330	151	423	116
Development	Dof	235	447	313	571	172
Development	TCP	42	147	52	215	17

شکل ۵. پیش‌بینی ۲۰ سیس المنت در نواحی پروموتور ژن‌های CAMTA در ذرت.

Figure 5. Prediction of TFBS in the promoter regions of CAMTA genes in maize.



شکل ۶ بیان افتراقی ژن‌های ZmCAMTA در رقم K706 ذرت برای تنش گرما و جوانه‌زنی. میله‌هایی با حروف کوچک در $p < 0.05$ تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهند.

Figure 6. Differential gene expression of ZmCAMTA genes in K706 cultivar for heat stress and germination. Bars with different lowercase letters are significantly different at $p < 0.05$.

بیماری‌زا دارد. خانواده پروتئین‌های اتیلین حساس به EIL/EIN3 می‌تواند به‌عنوان یک عامل حیاتی برای رشد و نمو گیاه تحت شرایط مختلف محیطی عمل کند. پروتئین EIL/EIN3 شکلی از پروتئین

حداکثر تعداد عناصر WRKY مربوط به ZmCAMTA1 و ZmCAMTA2 بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که WRKY در نواحی پروموتور ژن‌ها نقش مهمی در پاسخ به عوامل

شوری و سیگنال دهی هورمونی دخالت داشت (Yue *et al.*, 2015). در مطالعه‌ای نشان داده شده که ژن FaCAMTA در توت‌فرنگی در گرما، سرما، شوری و تنش اتیلن نقش دارند (Leng *et al.*, 2015). ژن‌های TaCAMTAs در تنش‌های سرما، شوری، گرما و تنش خشکی افزایش بیان نشان می‌دهند (Yang *et al.*, 2020). ژن ZmCAMTA2 در پاسخ به جوانه‌زنی افزایش بیان نشان داد. در مطالعه‌ای نشان داده شد که برخی از ژن‌های ZmCAMTA در بافت‌های مختلف بیان شده‌اند. ژن‌های CAMTA که در اندام‌های گیاهان بیان بالایی نشان داد که برای عملکرد یا رشد یک اندام خاص حیاتی هستند. با توجه به اینکه ژن‌های CAMTA در مراحل مختلف رشدی و در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی فعال می‌شوند. در نتیجه این ژن‌ها در مرحله جوانه‌زنی افزایش بیان نشان دادند که نشان‌دهنده فعالیت این ژن‌ها در پاسخ به مراحل مختلف رشد و نمو است. در مطالعه‌ای نشان داده شد که یون کلسیم در مراحل اولیه رشد گیاهچه بسیاری از گونه‌های گیاهی و تحمل به شوری را در طول جوانه‌زنی در بسیاری از گونه‌های گیاهی افزایش پیدا می‌کند. بنابراین، سیگنال دهی کلسیم در حفظ هموستاز سدیم در طول جوانه‌زنی نقش دارد. یون کلسیم باعث فعال کردن فاکتورهای رونویسی وابسته به کلسیم از جمله فاکتور رونویسی CAMTA می‌باشد (Shkolnik *et al.*, 2019). مراحل اولیه جوانه‌زنی برای ایجاد گیاهچه در حال رشد حیاتی است. بنابراین، شرایط رشد در مرحله جوانه‌زنی بذری می‌تواند نقش مهمی در استقرار گیاهچه‌ها و عملکرد در مورد محصولات زراعی داشته‌باشد. در مطالعه‌ای نشان داده شد که ژن CAMTA6 در مرحله جوانه‌زنی اولیه آرآیدوپسیس نقش مهمی دارد. CAMTA6 مانند دیگر CAMTAها، حاوی یک دامنه اتصال CaM وابسته به کلسیم است و بنابراین

هسته‌ای حاوی فعالیت اتصال به DNA است که به شبکه پیچیده مسیرهای متابولیک اولیه و ثانویه گیاهان کمک می‌کند (Saidi *et al.*, 2021). یافته‌های ما نشان داد که WRKY، YABBY و GATA در پاسخ به مراحل رشد و استرس‌های غیرزنده نقش دارند. فاکتورهای رونویسی NAC و YABBY در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی نقش دارند (Yoon *et al.*, 2008). گروه دیگری از عوامل رونویسی YABBY هستند که نقش مهمی در تعیین قطبیت اندام دارند. در ایجاد قطبیت در اندام‌های جانبی نقش دارد (Yoon *et al.*, 2008). فاکتورهای رونویسی خانواده YABBY شامل یک دمین انگشت روی در ناحیه ان ترمینال و یک دمین YABBY در ناحیه کربوکسیل پایانی است.

تجزیه و تحلیل الگوی بیان عوامل رونویسی CAMTA در طی تنش گرمایی و جوانه‌زنی

آنالیز الگوی بیان CAMTA در ذرت در پاسخ به تنش گرمایی و جوانه زنی انجام شد. در ذرت، بیان ژن‌های ZmCAMTA1 و ZmCAMTA2 در بافت‌های ریشه، ساقه برگ مورد بررسی قرار گرفت. در بافت برگ و ریشه در پاسخ به تنش گرمایی ژن ZmCAMTA1 افزایش بیان نشان داد. در صورتی که در شرایط تنش ژن ZmCAMTA1 تنها در قسمت ساقه افزایش در بیان ژن مشاهده شد. ژن ZmCAMTA2 در شرایط نرمال و تنش گرمایی در بافت‌های مختلف بیان بالایی نشان نداد. در صورتی که ژن ZmCAMTA2 در بافت ریشه در پاسخ به تنش گرما افزایش بیان نشان داد (شکل ۶). روش‌های مختلف بیوانفورماتیکی و روش‌های واکنش زنجیره‌ای رونویسی-پلیمر از معکوس کمی (qRT-PCR) برای ارزیابی دخالت CAMTAs در شرایط مختلف استرس غیرزیستی به کار گرفته شد. به‌عنوان مثال، ZmCAMTA در خشکی، سرما،

از اهمیت بالایی برخوردار است. تجزیه و تحلیل فعلی بینشی عمیق در مورد خانواده ژن ZmCAMTA برای افزایش مزایای زراعی و اکولوژیکی ذرت ارائه می‌دهد.

نتیجه‌گیری

ژن‌های CAMTA در گیاه ذرت در مطالعه حاضر بررسی شدند. آنالیز ساختار ژن و دمین پروتئین‌ها، خواص بیوشیمیایی و درخت فیلوژنتیک نشان داد که خانواده ژن CAMTA دارای دمین‌های محافظت‌شده هستند. آنالیز بیان ژن‌ها نشان داد که تمام ژن‌های CAMTA در چندین بافت با سطوح بیان متفاوت بیان می‌شوند، که نشان می‌دهد اعضای مختلف CAMTA عملکردهای متفاوتی را در رشد و توسعه حفظ می‌کنند. با استفاده از پیش‌بینی سیس‌المنت، وجود AP2/ERF در تمام ژن‌های CAMTA می‌تواند حداقل به یک تنش غیرزیستی یا تنش‌های متعدد پاسخ دهد، که بر عملکردهای تنظیمی مختلف ژن‌های CAMTA برای مقابله با تنش‌های غیرزیستی مختلف دلالت دارد. ژن‌های CAMTA در ژنوم ذرت به‌عنوان ژن‌های هدف بالقوه توسط CAMTA پیش‌بینی شد که نشان می‌دهد CAMTA می‌تواند به‌طور گسترده در رشد و نمو گیاهان و همچنین مقابله با تنش‌ها نقش داشته‌باشد.

یافته‌های این تحقیق بینش جدیدی در مورد خانواده ژن CAMTA در گونه ذرت و همچنین پایه‌ای برای مطالعات بیشتر در مورد نقش ژن‌های ZmCAMTA در رشد و پاسخ به استرس ذرت ارائه می‌باشد. این مطالعه برای برنامه‌های اصلاحی آینده برای ایجاد ارقام مقاوم در برابر استرس کمک می‌کند و راهی جدید برای روشن شدن بیشتر نقش‌های آنها در پاسخ به تنش‌های مختلف محیطی را فراهم می‌کند.

فرض می‌شود در پاسخ به سیگنال‌دهی کلسیم در داخل گیاه عمل می‌کند (Finkler et al., 2007). برخی فاکتورهای CAMTA در بسیاری از فرآیندهای رشد و نمو گیاه، به‌ویژه در طی فرآیندهای با واسطه نور مانند گل‌دهی، بلوغ، رشد جنین، و تمایز و گسترش تنظیم می‌شوند (Liu et al., 2010). در مطالعه‌ای گزارش‌شده که ژن‌های فاکتور CAMTA بیان کمتری در ریشه‌های سویا نسبت به برگ‌های سویا نشان داد (Mishra et al., 2019). همچنین در مطالعه‌ای نشان داده شد که CAMTAها به‌طور گسترده در رشد و تنظیم رشد گیاه و همچنین در تحمل تنش زیستی و غیرزیستی نقش دارند (Yang et al., 2020). ژن AtCAMTA3 می‌تواند به‌عنوان یک تنظیم‌کننده منفی ایمنی گیاه برای تعدیل پاسخ‌های دفاعی پاتوژن با فعال کردن سیگنال‌دهی سالیسیلیک اسید (SA) با واسطه EDS1 عمل کند. یک مطالعه اخیر نشان داد که TaCAMTA4 ممکن است به‌عنوان یک تنظیم‌کننده منفی پاسخ دفاعی در برابر *Puccinia triticina* داشته، زیرا حذف مبتنی بر خاموشی ژن ناشی از ویروس (VIGS) برای ژن TaCAMTA4 منجر به افزایش مقاومت در برابر *P. triticina* شد (Wang et al., 2015).

نتایج نشان می‌دهد که یک ژن CAMTA معمولاً در مسیرهای سیگنالینگ متعدد دخالت دارد، در حالی که چندین ژن CAMTA اغلب با هم کار می‌کنند تا در یک مسیر سیگنالینگ شرکت کنند. مطالعه حاضر تجزیه و تحلیل سیستماتیک ژن‌های CAMTA در ذرت را گزارش می‌دهد. اعضای خانواده ژن CAMTA در ذرت با رویکردهای بیوانفورماتیکی شناسایی و مشخص شدند. ژن‌های خانواده CAMTA در ژنوم ذرت شناسایی شدند. یافته‌های حاضر برای روشن کردن دخالت خانواده ژن CAMTA در فرآیندهای بیولوژیکی ذرت و شناسایی ژن‌های کلیدی در برنامه‌های اصلاحی آتی

REFERENCES

- Ali, E., Raza, M. A., Cai, M., Hussain, N., Shahzad, A. N., Hussain, M., ... & Sun, P. (2020). Calmodulin-binding transcription activator (CAMTA) genes family: Genome-wide survey and phylogenetic analysis in flax (*Linum usitatissimum*). *PLoS One*, 15(7), e0236454.
- Bork, P., Doerks, T., Springer, T. A., & Snel, B. (1999). Domains in plexins: links to integrins and transcription factors. *Trends in Biochemical Sciences*, 24(7), 261-263.
- Bouché, N., Scharlat, A., Snedden, W., Bouchez, D., & Fromm, H. (2002). A novel family of calmodulin-binding transcription activators in multicellular organisms. *Journal of Biological Chemistry*, 277(24), 21851-21861.
- Choi, M. S., Kim, M. C., Yoo, J. H., Moon, B. C., Koo, S. C., Park, B. O., ... & Cho, M. J. (2005). Isolation of a calmodulin-binding transcription factor from rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Biological Chemistry*, 280(49), 40820-40831.
- Chen, Z. J., Scheffler, B. E., Dennis, E., Triplett, B. A., Zhang, T., Guo, W., ... & Paterson, A. H. (2007). Toward sequencing cotton (*Gossypium*) genomes. *Plant Physiology*, 145(4), 1303-1310.
- Doherty, C. J., Van Buskirk, H. A., Myers, S. J., & Thomashow, M. F. (2009). Roles for Arabidopsis CAMTA transcription factors in cold-regulated gene expression and freezing tolerance. *The Plant Cell*, 21(3), 972-984.
- Du, L., Ali, G. S., Simons, K. A., Hou, J., Yang, T., Reddy, A. S. N., & Poovaiah, B. W. (2009). Ca²⁺/calmodulin regulates salicylic-acid-mediated plant immunity. *Nature*, 457(7233), 1154-1158.
- Du, L., Yang, T., Puthanveetil, S. V., & Poovaiah, B. W. (2011). Decoding of calcium signal through calmodulin: calmodulin-binding proteins in plants. In *Coding and decoding of calcium signals in plants* (pp. 177-233). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Finkler, A., Ashery-Padan, R., & Fromm, H. (2007). CAMTAs: calmodulin-binding transcription activators from plants to human. *FEBS Letters*, 581(21), 3893-3898.
- Galon, Y., Aloni, R., Nachmias, D., Snir, O., Feldmesser, E., Scrase-Field, S., ... & Fromm, H. (2010). Calmodulin-binding transcription activator 1 mediates auxin signaling and responds to stresses in Arabidopsis. *Plant*, 232(1), 165-178.
- Heil, M. & Bostock, R.M. (2002). Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences. *Annals of botany*. 89:503-512. doi: 10.1093/aob/mcf076.
- Huang, S., & Liu, Y. (2013). Genome-wide analysis of WRKY transcription factors in *Solanum tuberosum*. *Chin J Applied Environ Biol*, 19, 205-214.
- Lam, E., & Chua, N. H. (1989). ASF-2: a factor that binds to the cauliflower mosaic virus 35S promoter and a conserved GATA motif in Cab promoters. *The Plant Cell*, 1(12), 1147-1156.
- Leng, X., Han, J., Wang, X., Zhao, M., Sun, X., Wang, C., & Fang, J. (2015). Characterization of a Calmodulin-binding Transcription Factor from Strawberry (*Fragaria× ananassa*). *The Plant Genome*, 8(2), plantgenome2014-08.
- Liu, H. L., Wang, G. C., Feng, Z., & Zhu, J. (2010). Screening of genes associated with dedifferentiation and effect of LBD29 on pericycle cells in Arabidopsis thaliana. *Plant Growth Regulation*, 62(2), 127-136.
- Liu, J., Whalley, H. J., & Knight, M. R. (2015). Combining modelling and

- experimental approaches to explain how calcium signatures are decoded by calmodulin-binding transcription activators (CAMTAs) to produce specific gene expression responses. *New Phytologist*, 208(1), 174-187.
- Mishra, A. K., Choi, J., Rabbee, M. F., & Baek, K. H. (2019). In silico genome-wide analysis of the ATP-binding cassette transporter gene family in soybean (*Glycine max* L.) and their expression profiling. *BioMed Research International*, 2019.
- Rahman, H., Xu, Y. P., Zhang, X. R., & Cai, X. Z. (2016). Brassica napus genome possesses extraordinary high number of CAMTA genes and CAMTA3 contributes to PAMP triggered immunity and resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Frontiers in Plant Science*, 7, 581.
- Ranty, B., Aldon, D., Cotelle, V., Galaud, J. P., Thuleau, P., & Mazars, C. (2016). Calcium sensors as key hubs in plant responses to biotic and abiotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 7, 327.
- Reddy, A. S., Ali, G. S., Celesnik, H., & Day, I. S. (2011). Coping with stresses: roles of calcium-and calcium/calmodulin-regulated gene expression. *The Plant Cell*, 23(6), 2010-2032.
- Rubtsov, A. M., & Lopina, O. D. (2000). Ankyrins. *FEBS Letters*, 482(1-2), 1-5.
- Sahoo, K. K., Tripathi, A. K., Pareek, A., & Singla-Pareek, S. L. (2013). Taming drought stress in rice through genetic engineering of transcription factors and protein kinases. *Plant Stress*, 7(1), 60-72.
- Saidi, A., & Hajibarat, Z. (2020). In-silico analysis of eukaryotic translation initiation factors (eIFs) in response to environmental stresses in rice (*Oryza sativa*). *Biologia*, 75(10), 1731-1738.
- Saidi, A., Hajibarat, Z., & Hajibarat, Z. (2020). Transcriptome analysis of *Phytophthora infestans* and *Colletotrichum coccodes* in tomato to reveal resistance mechanisms. *Asia-Pacific Journal Molecular Biology and Biotechnology* <https://doi.org/10.35118/apjmbb.1>.
- Saidi, A., Hajibarat, Z., & Hajibarat, Z. (2021). Phylogeny, gene structure and GATA genes expression in different tissues of Solanaceae species. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102015.
- Shangguan, L., Wang, X., Leng, X., Liu, D., Ren, G., Tao, R., ... & Fang, J. (2014). Identification and bioinformatic analysis of signal responsive/calmodulin-binding transcription activators gene models in *Vitis vinifera*. *Molecular Biology Reports*, 41(5), 2937-2949.
- Shkolnik, D., Finkler, A., Pasmanik-Chor, M., & Fromm, H. (2019). Calmodulin-binding transcription activator 6: A key regulator of Na⁺ homeostasis during germination. *Plant Physiology*, 180(2), 1101-1118.
- Singh, B., Bohra, A., Mishra, S., Joshi, R., & Pandey, S. (2015). Embracing new-generation 'omics' tools to improve drought tolerance in cereal and food-legume crops. *Biologia Plantarum*, 59(3), 413-428.
- Van Aken, O., Zhang, B., Law, S., Narsai, R., & Whelan, J. (2013). AtWRKY40 and AtWRKY63 modulate the expression of stress-responsive nuclear genes encoding mitochondrial and chloroplast proteins. *Plant Physiology*, 162(1), 254-271.
- Verslues, P. E., Agarwal, M., Katiyar-Agarwal, S., Zhu, J., & Zhu, J. K. (2006). Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. *The Plant Journal*, 45(4), 523-539.
- Voorrips, R. (2002). MapChart: software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *Journal of*

- heredity*, 93(1), 77-78.
- Wang, G., Zeng, H., Hu, X., Zhu, Y., Chen, Y., Shen, C., ... & Du, L. (2015). Identification and expression analyses of calmodulin-binding transcription activator genes in soybean. *Plant and Soil*, 386(1), 205-221.
- Wasternack, C. (2007). Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Annals of Botany*, 100(4), 681-697.
- Xie, Z., Nolan, T. M., Jiang, H., & Yin, Y. (2019). AP2/ERF transcription factor regulatory networks in hormone and abiotic stress responses in Arabidopsis. *Frontiers in Plant Science*, 10, 228.
- Liu, Y., Chen, W., Liu, L., Su, Y., Li, Y., Jia, W., ... & Zhou, S. (2022). Genome-wide identification and expression analysis of calmodulin and calmodulin-like genes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant signaling & behavior*, 17(1), 2013646.
- Yang, T., & Poovaiah, B. W. (2002). A calmodulin-binding/CGCG box DNA-binding protein family involved in multiple signaling pathways in plants. *Journal of Biological Chemistry*, 277(47), 45049-45058.
- Yang, T., Peng, H., Whitaker, B. D., & Conway, W. S. (2012). Characterization of a calcium/calmodulin-regulated SR/CAMTA gene family during tomato fruit development and ripening. *BMC Plant Biology*, 12(1), 1-13.
- Yoon, H. K., Kim, S. G., Kim, S. Y., & Park, C. M. (2008). Regulation of leaf senescence by NTL9-mediated osmotic stress signaling in Arabidopsis. *Molecules & Cells (Springer Science & Business Media BV)*, 25(3).
- Yue, R., Lu, C., Sun, T., Peng, T., Han, X., Qi, J., ... & Tie, S. (2015). Identification and expression profiling analysis of calmodulin-binding transcription activator genes in maize (*Zea mays* L.) under abiotic and biotic stresses. *Frontiers in Plant Science*, 6, 576.
- Zhang, X., Abrahan, C., Colquhoun, T. A., & Liu, C. J. (2017). A proteolytic regulator controlling chalcone synthase stability and flavonoid biosynthesis in Arabidopsis. *The Plant Cell*, 29(5), 1157-1174.