re-BUS

You have downloaded a document from
RE-BUŚ
repository of the University of Silesia in Katowice

Title: Analiza roli genu HvABI5 w odpowiedzi na stres suszy u jęczmienia (*Hordeum vulgare L.*)

Author: Anna Collin

Citation style: Collin Anna. (2021). Analiza roli genu HvABI5 w odpowiedzi na stres suszy u jęczmienia (Hordeum vulgare L.). Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.

UNIWERSYTET ŚLĄSKI W KATOWICACH
Biblioteka Uniwersytetu Śląskiego
Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

Uniwersytet Śląski w Katowicach

Wydział Nauk Przyrodniczych

ANNA COLLIN

PRACA DOKTORSKA

Analiza roli genu *HvABI5* w odpowiedzi na stres suszy u jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.)

Praca doktorska wykonana
w Instytucie Biologii, Biotechnologii i Ochrony Środowiska
Wydziału Nauk Przyrodniczych
Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach

Promotor:
Prof. dr hab. Iwona Szarejko

Promotor pomocniczy:
Dr hab. Agata Daszkowska-Golec

Katowice, 2021

Badania finansowane przez Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego w ramach Programu Operacyjnego Innowacyjna Gospodarka 2007-2013, projekt WND-POIG.01.03.01-00-101/08 POLAPGEN-BD „Narzędzia biotechnologiczne służące do otrzymywania odmian zbóż o zwiększonej odporności na suszę”, Zad. 22 "Analiza funkcjonalna genów-kandydatów związanych z odpowiedzią jęczmienia na suszę z wykorzystaniem strategii TILLING”

oraz

przez Narodowe Centrum Nauki w ramach projektu PRELUDIUM 2017/25/N/NZ9/01941 „Rola czynnika transkrypcyjnego HvABI5 w odpowiedzi na stres suszy u jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.)”.

Pragnę podziękować
Pani Profesor Iwonie Szarejko
za cenne wskazówki, celne uwagi
oraz korektę pracy.

Podziękowania składam także
Pani Doktor habilitowanej Agacie Daszkowskiej-Golec
za głębokie zaangażowanie w wykonanie tej pracy
oraz wsparcie naukowe w trakcie prowadzonych badań i analizy wyników.

Szczególne podziękowania składam mężowi François
oraz Rodzicom i Dziadkowi za nieocenione wsparcie,
wyrozumiałość oraz wiarę w realizację tej pracy.

Spis treści

Wykaz skrótów 4

1. Wstęp i cel pracy 7

2. Przegląd literatury 9

2.1. Stres suszy i konsekwencje jego występowania 9

2.2. Mechanizmy adaptacji roślin do warunków stresu suszy 9

2.3. Metabolizm i sygnalizacja kwasu abscysynowego (ABA) 14

2.4. Czynniki transkrypcyjne bZIP działające zależnie od ABA 17

2.5. Rola *ABI5* jako regulatora odpowiedzi na stres podczas kiełkowania i wczesnego rozwoju siewki 17

2.6. Regulacja dalszych stadiów rozwojowych przez *ABI5* 19

2.7. Regulacja ekspresji *ABI5* 20

2.8. Regulacja aktywności ABI5 na poziomie białkowym 22

2.9. Rola czynników transkrypcyjnych z grupy ABF/AREB w odpowiedzi na stres podczas wegetatywnego wzrostu rośliny 24

2.10. Homologi genów Arabidopsis kodujących czynniki transkrypcyjne ABI5 oraz ABF/AREB u roślin jednoliściennych 26

2.11. Znaczenie badań nad ABA-zależnymi czynnikami transkrypcyjnymi z domeną bZIP w kontekście otrzymywania odmian zbóż wykazujących tolerancję na suszę 34

3. Materiały i metody 37

3.1. Materiał badań oraz identyfikacja mutanta *hvabi5.d* za pomocą metody TILLING 37

3.2. Przewidywanie wpływu mutacji na funkcjonowanie białka HvABI5 przy pomocy narzędzi bioinformatycznych 38

3.3. Kiełkowanie w obecności ABA 38

3.4. Analiza rozwoju siewek w obecności ABA 38

3.4.1. Pomiar fluorescencji chlorofilu *a* 39

3.4.2. Oznaczenie zawartości proliny 39

3.5. Stres suszy 40

3.5.1. Pomiar względnej zawartości wody (Relative Water Content, RWC) 42

3.5.2. Analiza względnego wypływu elektrolitów (Electrolyte Leakage, EL) 42

3.5.3. Pomiar zawartości flawonoli, antocyjanów oraz chlorofilu 43

3.5.4. Pomiar przewodnictwa szparkowego 43

3.5.5. Pomiar endogennej zawartości ABA 43

3.6. Oprysk ABA 44

3.7. Izolacja RNA 44

3.8. Synteza cDNA i ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy (RT-qPCR) 45
3.9. Globalna analiza transkryptomu 48
3.9.1. Analiza danych mikromacierzowych 48
3.9.2. Analiza ontologii genów 48
3.10. Analiza sekwencji promotorowych pod względem obecności miejsc rozpoznawanych przez ABI5 49
4. Wyniki 50
4.1. Analiza filogenetyczna HvABI5 oraz jego homologów 50
4.2. Identyfikacja mutanta *hvabi5.d* 51
4.3. Kiełkowanie mutanta *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w obecności ABA 52
4.4. Analiza rozwoju siewek oraz przebiegu fotosyntezy u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w obecności ABA 53
4.5. Analiza odpowiedzi siewek *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' na stres suszy 55
4.5.1. Względna zawartość wody w liściu (RWC), względny wypływ elektrolitów (EL), zawartość flawonoidów oraz przewodnictwo szparkowe w obecności suszy .. 55
4.5.2. Wydajność fotosyntezy oraz zawartość chlorofilu po suszy 60
4.5.3. Ekspresja *HvABI5* oraz genów bezpośrednio regulowanych przez HvABI5 w obecności suszy 62
4.6. Analiza ekspresji genów szlaku sygnalizacji i metabolizmu ABA u *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian' po traktowaniu stresem suszy 64
4.7. Pomiar endogennej zawartości ABA u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' po traktowaniu stresem suszy 67
4.8. Analiza bioinformatyczna promotorów wybranych genów szlaku ABA pod względem obecności elementów rozpoznawanych przez ABI5 67
4.9. Pomiar przewodnictwa szparkowego oraz analiza ekspresji genów szlaku ABA po traktowaniu ABA u *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian' 68
4.10. Globalna analiza transkryptomu *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS) 70
4.11. Poszukiwanie genów docelowych dla HvABI5 81
4.12. Analiza ekspresji genów potencjalnie docelowych dla ABI5 po traktowaniu suszą oraz ABA u mutanta *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian' 90
5. Dyskusja 115
5.1. Mechanizm tolerancji *hvabi5.d* wobec stresu suszy 116
5.2. ABA-zależna odpowiedź *hvabi5.d* na suszę 119
5.3. Rola *HvABI5* w regulacji innych ścieżek fitohormonalnych podczas suszy 122
5.4. Identyfikacja genów potencjalnie docelowych dla HvABI5 123
5.5. Potencjalny wpływ mutacji tła powstałych w wyniku mutagenezy chemicznej na fenotyp *hvabi5.d* 126

6. Wnioski 128
7. Streszczenie 130
8. Summary 133
9. Literatura 136
10. Aneksy 161
11. The Role and Regulation of ABI5 (ABA-Insensitive 5) in Plant Development, Abiotic Stress Responses and Phytohormone Crosstalk 249
12. Barley *ABI5* (*Abscisic Acid INSENSITIVE 5*) Is Involved in Abscisic Acid-Dependent Drought Response 266

Wykaz skrótów

ABA	Abscisic acid, kwas abscysynowy
ABA-GE	Abscisic acid glucose ester, estry ABA z glukozą
ABF/AREB	ABRE BINDING FACTOR/ABRE-BINDING PROTEIN
ABI5	ABA INSENSITIVE 5
ABL1	ABI5-Like 1
ABP	ABA RESPONSIVE ELEMENT BINDING PROTEIN
ABR	ABA RESPONSIVE PROTEIN
ABRE	ABA RESPONSIVE ELEMENT
ANOVA	Analysis of variance, analiza wariancji
Ao5b	ABSCISIC ALDEHYDE OXIDASE 5b
APX	ASCORBATE PEROXIDASE
BAG3	BAG family molecular chaperone regulator 3
BAN	Anthocyanidin reductase
BG	β-GLUCOSIDASE
bHLH	Basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
bZIP	BASIC LEUCINE ZIPPER, domena zamka leucynowego
CAT	CATALASE, katalaza
CCD1	Carotenoid cleavage dioxygenase 1
CHY	CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein
COR	COLD-RESPONSIVE
CYB5	Cytochrome b5
CYC4	Cyclin p4
DAS	Day After Sowing
DEGs	Differentially Expressed Genes
DGAT1	DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE 1
DIR	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein
DREB2	DRE-BINDING PROTEIN 2
DRF1	DEHYDRATION-RESPONSIVE FACTOR 1
EL	Electrolyte Leakage, wypływ elektrolitów
EM	EARLY METHIONINE-LABELED

FDR	False Discovery Rate
GA3ox	GIBBERELLIN 3-OXIDASE
GA4	Terpene synthase 04
GO	Gene ontology, ontologia genów
GPX	GLUTATHIONE PEROXIDASE
g_s	Przewodnictwo szparkowe
HMT	Homocysteine S-methyltransferase family protein
HSP	HEAT SHOCK PROTEIN
HY5	ELONGATED HYPOCOTYL 5
IQ22	IQ-domain 22
JAZ	JASMONATE-ZIM-DOMAIN PROTEIN
KAT	POTASSIUM CHANNEL IN ARABIDOPSIS THALIANA
KIN	COLD INDUCIBLE
LEA	LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANT
LRPK	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
LTP	Non-specific lipid-transfer protein-like protein
MYB	MYELOBLASTOSIS
NAC1	NAC domain containing protein 1
NCED	9-*CIS*-EPOXYCAROTENOID DIOXYGENASE
NYC1	NON-YELLOW COLORING 1
OJIP	Chlorophyll *a* fluorescence rise, krzywa indukcji fluorescencji chlorofilu *a*
PAPT2	Polyamine aminopropyltransferase 2
PI_{ABS}	Performance index, wskaźnik funkcjonowania fotosystemu II
PIF	PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR
POD	PEROXIDASE, peroksydaza
PP2C	PHOSPHATASE 2C
PR	Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein
PSI, PSII	Photosystem I, photosystem II, fotosystem I, fotosystem II
PUM2	Pumilio 2

PYR/PYL/RCAR	PYRABACTIN RESISTANCE PROTEIN/PYR-LIKE PROTEIN/REGULATORY COMPONENTS OF ABA RECEPTOR
RAB18	RESPONSIVE TO ABA 18
RD	RESPONSIVE TO DESSCICATION
ROS	Reactive Oxygen Species, reaktywne formy tlenu
RWC	Relative Water Content, względna zawartość wody
SGR1	STAYGREEN 1
SLAC1	SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1
SnRK2	SNF1-RELATED PROTEIN KINASE 2
SOD	SUPEROXIDE DISMUTASE, dysmutaza ponadtlenkowa
TILLING	Targeting Induced Local Lesions IN Genomes
TLC	TRAM, LAG1 and CLN8 (TLC) lipid-sensing domain containing protein
TRAB1	TRANSCRIPTION FACTOR RESPONSIBLE FOR ABA REGULATION 1
UKL4	Uridine kinase-like 4
Unknown	Undescribed protein
VP1	VIVIPAROUS 1
vwc	Volumetric water content, objętościowa zawartość wody
φP_0	Maximum quantum yield of primary photochemistry, maksymalna wydajność fotochemiczna PSII

1. Wstęp i cel pracy

Spośród stresów abiotycznych susza powoduje każdego roku najwyższe straty w plonach roślin uprawnych na świecie. Z tego względu konieczne jest wyprowadzanie nowych odmian roślin uprawnych o wyższej tolerancji na ten stres. Istotnym etapem tego procesu jest identyfikacja i analiza funkcjonalna genów związanych z odpowiedzią rośliny na suszę.

Głównym fitohormonem uczestniczącym w odpowiedzi rośliny na suszę jest kwas abscysynowy (ABA), którego stężenie wzrasta w komórkach w momencie wystąpienia stresu w środowisku. ABA reguluje odpowiedź rośliny na stres na poziomie fizjologicznym oraz molekularnym. Reakcja fizjologiczna obejmuje zamykanie aparatów szparkowych, gromadzenie się osmolitów oraz hamowanie fotosyntezy. Na poziomie molekularnym natomiast dochodzi do ABA-zależnej regulacji ekspresji genów. Za percepcję i przekaz sygnału ABA odpowiada szereg białek takich jak receptory, fosfatazy, kinazy oraz czynniki transkrypcyjne z domeną zamka leucynowego (BASIC LEUCINE ZIPPER, bZIP), w tym ABA INSENSITIVE 5 (ABI5). U Arabidopsis, ABI5 jest aktywny głównie w kiełkujących nasionach oraz w siewkach na wczesnym etapie rozwoju w warunkach stresu abiotycznego. ABI5 promuje lub hamuje ekspresję genów odpowiedzi na stres, co zapewnia adaptację rośliny do niekorzystnych warunków środowiska. Jednakże rola ABI5 w regulacji odpowiedzi na stres abiotyczny, w tym stres suszy, w późniejszych stadiach rozwojowych nie jest poznana u Arabidopsis.

Jęczmień (*Hordeum vulgare*) jest czwartym w kolejności gatunkiem zbóż pod względem światowego areału i produkcji. Wśród roślin jednoliściennych jęczmień odznacza się bardzo wysokim poziomem tolerancji na stres suszy. Tym samym identyfikacja genów jęczmiennych regulujących odpowiedź na suszę i poznanie roli, jaką pełnią w procesach warunkujących tolerancję może być istotne dla wyprowadzania bardziej tolerancyjnych odmian także innych gatunków zbóż. U jęczmienia dotychczas opisano działanie kilku komponentów zaangażowanych w sygnalizację ABA, w tym receptorów, kinaz, fosfataz oraz czynników transkrypcyjnych z grupy bZIP. Jednym z genów jęczmienia, który bierze udział w ABA-zależnej regulacji ekspresji genów jest *HvABI5*, homolog *AtABI5*, kodujący czynnik transkrypcyjny z rodziny bZIP. Działanie *HvABI5* w trakcie odpowiedzi jęczmienia na suszę nie zostało jednak dotychczas poznane.

Celem niniejszej pracy była analiza funkcjonalna genu *HvABI5* w odpowiedzi na stres suszy, a także identyfikacja genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, które uczestniczą w ABA-zależnej odpowiedzi jęczmienia na suszę. Aby zrealizować założony cel

zidentyfikowano mutanta *hvabi5.d* niosącego mutację w genie *HvABI5* wykorzystując wyprowadzoną w Katedrze Genetyki UŚ populację TILLING jęczmienia jarego. W ramach pracy doktorskiej postawiono następujące pytania:

(1) Czy *HvABI5* reguluje odpowiedź jęczmienia na suszę i czy odbywa się to na drodze zależnej od ABA?

(2) Które geny uczestniczące w odpowiedzi na suszę są regulowane przez HvABI5?

Aby odpowiedzieć na powyższe pytania wykonano szereg analiz fizjologicznych oraz molekularnych dla badanego mutanta oraz jego odmiany rodzicielskiej ‘Sebastian’ w obecności suszy oraz ABA. Ponadto, aby wskazać geny, które uczestniczą w ABA-zależnej odpowiedzi na suszę u jęczmienia i mogą być regulowane bezpośrednio przez HvABI5, przeprowadzono globalną analizę transkryptomu i wyłoniono geny ulegające zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* i odmiany ‘Sebastian’ po suszy. Następnie zidentyfikowano w tej grupie geny, których promotory wykazywały obecność miejsc potencjalnie wiązanych przez ABI5 i prześledzono ich wzory ekspresji podczas stresu suszy i po traktowaniu ABA u *hvabi5.d* oraz jego odmiany wyjściowej.

2. Przegląd literatury

2.1. Stres suszy i konsekwencje jego występowania

Stres abiotyczny obejmuje występowanie w środowisku czynników fizycznych, które wywierają negatywny wpływ na wzrost i rozwój rośliny. Do grupy stresów abiotycznych zalicza się niedobór wody (suszę), zasolenie, chłód, stres wysokiej temperatury, stres oksydacyjny oraz promieniowanie ultrafioletowe (UV). Stres suszy wynika z niedoboru wody w środowisku wzrostu rośliny, co w konsekwencji prowadzi do zaburzenia równowagi pomiędzy transpiracją, czyli ilością wody utraconej na skutek parowania z nadziemnych części rośliny i ilością wody pobieranej z gleby przez roślinę (Martínez-Vilalta i Garcia-Forner, 2017; Lamaoui i inni, 2018; Sallam i inni, 2019). Ze względu na postępujące globalne ocieplenie klimatu występowanie suszy w środowisku stanowi coraz bardziej powszechny i znaczący problem (Kollist i inni, 2019). Stres suszy jest jedną z głównych przyczyn strat w plonowaniu roślin uprawnych. Szacuje się, że występowanie stresu suszy zmniejsza średnio globalne plonowanie roślin uprawnych o 10-20% każdego roku (Lesk i inni, 2016). Tym samym susza stanowi istotny problem dla ekonomii oraz produkcji żywności, a ze względu na postępujące zmiany klimatu przewiduje się dalszy spadek w produkcji roślin uprawnych (Lamaoui i inni, 2018). Biorąc to pod uwagę, tworzenie nowych odmian roślin uprawnych wykazujących lepszą tolerancję na stres suszy jest obecnie jednym z głównych celów biotechnologii i hodowli roślin (Nowicka i inni, 2018). Dla uzyskania odmian tolerancyjnych na suszę niezbędne jest szczegółowe poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za odpowiedź roślin na stres i następnie ich adaptację do warunków stresowych (Zhang i inni, 2018).

2.2. Mechanizmy adaptacji roślin do warunków stresu suszy

Rośliny są narażone na wystąpienie stresu suszy w ciągu całego cyklu życia, od stadium kiełkowania do wytwarzania organów generatywnych. Stres suszy prowadzi do zaburzenia stosunków wodnych w roślinie i w konsekwencji do utraty turgoru komórek. Ponadto dochodzi do niekontrolowanej produkcji reaktywnych form tlenu (ROS, Reactive Oxygen Species), w tym nadtlenku wodoru (H_2O_2), anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\bullet -}$), rodnika hydroksylowego ($OH^{\bullet}$) oraz tlenu singletowego ($^1O_2$), które uszkadzają komponenty komórkowe, szczególnie błony komórkowe i są przyczyną zaburzeń przebiegu reakcji komórkowych (Khan i inni, 2015; Laxa i inni, 2019). Zachodzące zmiany w funkcjonowaniu komórek na skutek występowania suszy wpływają negatywnie na metabolizm, wzrost i plonowanie roślin.

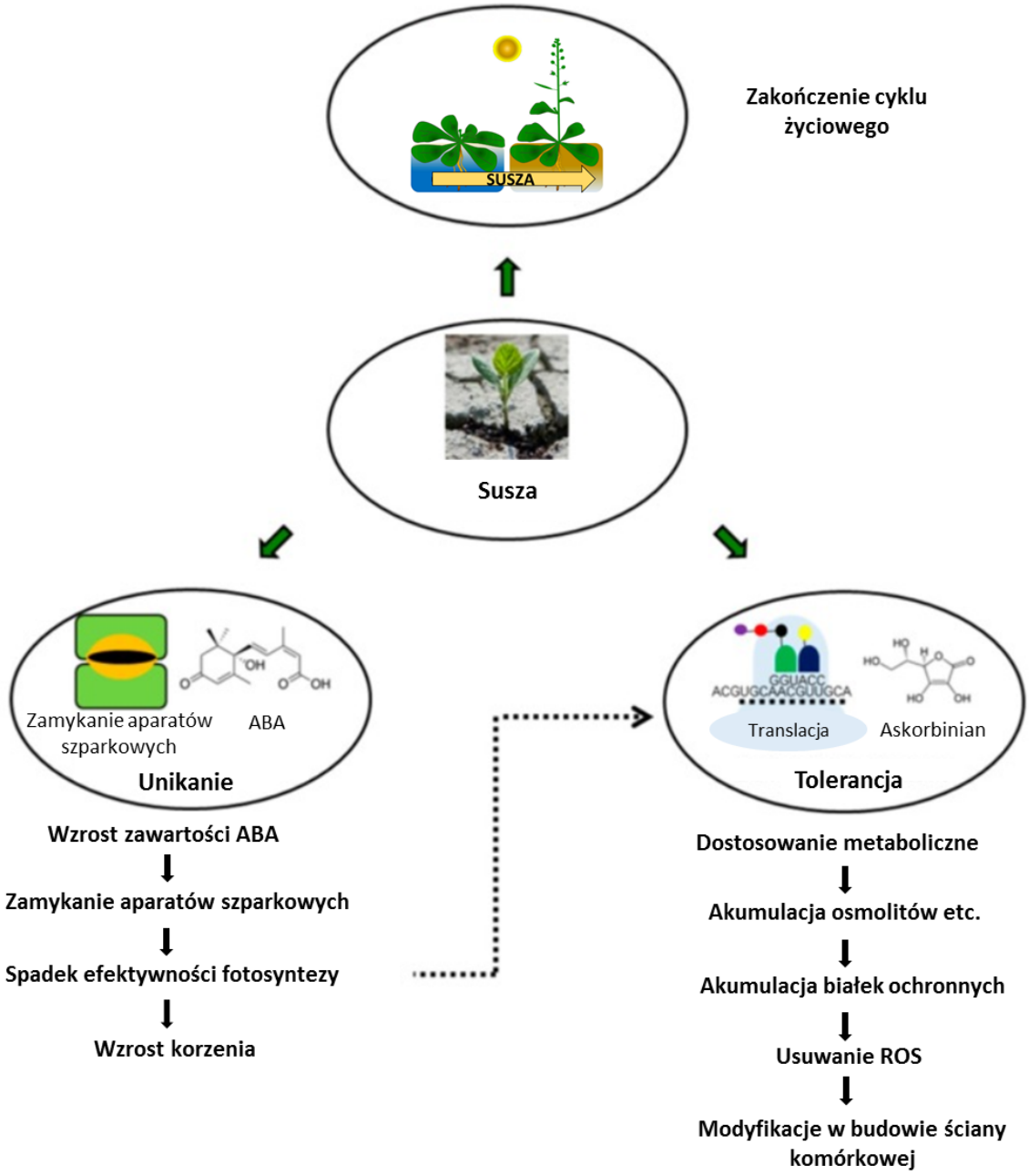
W toku ewolucji doszło do wykształcenia wielu mechanizmów, które umożliwiają adaptację roślin do niekorzystnych warunków środowiska. W momencie wystąpienia stresu w środowisku, w ramach odpowiedzi na stres, w roślinie dochodzi do szeregu zmian na poziomie fizjologicznym oraz molekularnym. Wszystkie te procesy mają na celu wykształcenie adaptacji, czyli zdolności rośliny do przetrwania w obecności stresu (Farooq i inni, 2012; Gupta i inni, 2020) Jedną z pierwszych odpowiedzi roślin na suszę jest zamykanie aparatów szparkowych w celu ograniczenia utraty turgoru przez komórki roślinne. Proces ten jest głównie zależny od kwasu abscysynowego (ABA), którego obecność reguluje działanie kanałów jonowych obecnych w błonach komórkowych komórek szparkowych (Sirichandra i inni, 2009; Daszkowska-Golec i Szarejko, 2013). U Arabidopsis (*Arabidopsis thaliana*) dochodzi wtedy m. in. do aktywacji białka SLOW ANION CHANNEL-ASSOCIATED 1 (SLAC1) będącego kanałem wypływu anionów oraz inhibicji białka POTASSIUM CHANNEL IN ARABIDOPSIS THALIANA 1 (KAT1) pełniącego funkcję kanału napływu kationów potasu, co w rezultacie prowadzi do obniżenia stężenia jonów, utraty turgoru przez komórki szparkowe i ostatecznie powoduje zamykanie aparatów szparkowych (Pilot i inni, 2001; Vahisalu i inni, 2008). Zamykanie aparatów szparkowych chroni przed nadmierną utratą wody, ale ogranicza także roślinie dostęp do dwutlenku węgla (CO_2), co wpływa negatywnie na przebieg fotosyntezy. Niedobór CO_2 zaburza równowagę pomiędzy ilością zaabsorbowanej energii świetlnej przez roślinę oraz możliwością wykorzystania tej energii w fazie ciemnej fotosyntezy, co prowadzi do nadmiernej produkcji ROS i w następstwie do uszkodzenia aparatu fotosyntetycznego i inhibicji kluczowych enzymów fotosyntetycznych takich jak RuBisCO (Flexas i Medrano, 2002; Lamaoui i inni, 2018; Hasanuzzaman i inni, 2020). Nadmiar zaabsorbowanej energii jest szczególnym zagrożeniem dla działania fotosystemu II (PSII), będącego kompleksem białek D1 i D2, które tworzą heterodimer wiążący chlorofil oraz cząsteczek chlorofilu. PSII absorbuje energię świetlną i rozpoczyna fotosyntetyczny łańcuch transportu elektronów, co zapewnia zachodzenie reakcji fazy ciemnej fotosyntezy. Uszkodzenie lub inaktywacja centrów reakcji PSII na skutek absorbcji nadmiernej ilości energii świetlnej jest określane jako fotoinhibicja (Ashraf i Harris, 2013; Gururani i inni, 2015; Vanlerberghe i inni, 2016). W warunkach niedoboru CO_2 zachodzi także fotooddychanie, czyli wykorzystywanie przez RuBisCO tlenu (O_2) jako substratu zamiast CO_2, co może przeciwdziałać uszkodzeniom aparatu fotosyntetycznego, które powstają na skutek fotoinhibicji (Zivcak i inni, 2013; Zhang i inni, 2016). Spowodowane przez obecność suszy zmiany zachodzące w przebiegu reakcji fotosyntezy wpływają negatywnie na efektywność tego

procesu, co ostatecznie prowadzi do redukcji wzrostu oraz zahamowania rozwoju rośliny (Sreenivasulu i inni, 2012; Sallam i inni, 2019).

W obecności suszy można zaobserwować gromadzenie się osmolitów, proliny, glicynobetainy oraz cukrów rozpuszczalnych w wodzie, warunkujących dostosowanie osmotyczne, które zapobiega utracie wody z komórek i zapewnia roślinie kontynowanie pobierania wody w warunkach niskiego uwodnienia gleby (Sperdouli i Moustakas, 2012; Sharma i inni, 2019; Ozturk i inni, 2021). Ponadto osmolity przeciwdziałają produkcji ROS, a także pomagają zachować integralność błon komórkowych oraz stabilność makromolekuł (Sallam i inni, 2019; Ozturk i inni, 2021). W odpowiedzi na suszę rośliny akumulują także poliaminy: putrescynę, spermidynę i sperminę, które pełnią podobną funkcje do osmolitów (Yamaguchi i inni, 2007; Minocha i inni, 2014; Alcazar i inni 2020). Jednocześnie na poziomie molekularnym dochodzi do aktywacji lub represji ekspresji genów kodujących białka regulatorowe oraz białka funkcjonalne zaangażowane w odpowiedź na stres (Khan i inni, 2017). Wśród białek funkcjonalnych, które przeciwdziałają negatywnym skutkom utraty wody w komórkach na szczególną uwagę zasługują LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANTs (LEAs) chroniące strukturę innych białek oraz błon komórkowych. Innymi białkami funkcjonalnymi chroniącymi komórki przed niedoborem wody są HEAT SHOCK PROTEINs (HSPs), które uczestniczą w fałdowaniu oraz ochronie białek i w stabilizacji membran (Welin i inni, 1994; Vinocur i Altman, 2005; Graether i Boddington, 2014; Ohama i inni, 2017; Kumar i inni, 2018). Istotną rolę pełnią także enzymy detoksykacyjne: dysmutaza ponadtlenkowa (SUPEROXIDE DISMUTASE, SOD) usuwająca $O_2^{\bullet-}$, a także katalaza (CATALASE, CAT) oraz peroksydazy (PEROXIDASEs, PODs), w tym peroksydaza askorbinianowa (ASCORBATE PEROXIDASE, APX) i peroksydaza glutationowa (GLUTATHIONE PEROXIDASE, GPX), które rozkładają H_2O_2 (Ozgur i inni, 2013; Laxa i inni, 2019). Należy podkreślić, że w proces ochrony komórek przed uszkodzeniami oksydacyjnymi zaangażowane są też antyoksydanty nieenzymatyczne: askorbinian, glutation oraz flawonoidy (w tym flawonole i antocyjany), które usuwają pozostałe formy ROS, a także karotenoidy i α-tokoferol chroniące szczególnie aparat fotosyntezy przed działaniem ROS (Ozgur i inni, 2013; Davies i inni, 2018; Hasanuzzaman i inni, 2020).

Rośliny wykształciły różne strategie adaptacji, czyli zdolności dostosowania się do warunków stresu. W przypadku stresu suszy u roślin można wyróżnić trzy typy strategii adaptacji: unikanie, tolerancja lub ucieczka przed steresem (**Rycina 1**) (Osmolovskaya i inni, 2018; Martignago i inni, 2020). Unikanie polega na ABA-zależnym zamykaniu aparatów szparkowych, skręcaniu liści, tworzeniu warstwy wosków na powierzchni liści oraz

intensyfikacji wzrostu korzenia w celu dotarcia do zasobów wodnych gleby. Ta strategia zapewnia zazwyczaj przetrwanie stresu suszy, jednak ostatecznie powoduje zahamowanie fotosyntezy i tym samym wpływa negatywnie na wzrost roślin (**Rycina 1**). Tolerancja na stres obejmuje wystąpienie szeregu cech, takich jak: przeprogramowanie metabolizmu i następnie dostosowanie osmotyczne, synteza molekuł chroniących strukturę białek, modyfikacje w budowie ściany komórkowej oraz aktywacja systemu antyoksydacyjnego. Tolerancja umożliwia roślinie funkcjonowanie w warunkach stresowych. Należy podkreślić, że zdolność do przeprowadzenia wyżej wymienionych procesów i tym samym do wykształcenia tolerancji jest uwarunkowana genetycznie (**Rycina 1**). Ucieczka przed stresem polega na przyspieszonym procesie starzenia liści, szybkim wykształceniu nasion i zakończeniu cyklu życiowego w momencie wystąpienia stresu (Kooyers, 2015; Osmolovskaya i inni, 2018; Laxa i inni, 2019, Martignago i inni 2020) (**Rycina 1**). Występowanie wymienionych strategii adaptacji przypisuje się do poszczególnych gatunków roślin. Unikanie obserwowano u roślin rosnących w suchych środowiskach np. u *Boechera holboellii*, natomiast ucieczka jest strategią charakterystyczną dla gatunków jednorocznych np. Arabidopsis, czy słonecznika zachodniego (*Helianthus anomalus*) (Knight i inni, 2006; Brouillette i inni, 2014; Wolfe i Tonsor, 2014; Kooyers, 2015; Conti, 2019). Tolerancja występuje u roślin, które potrafią przetrwać w warunkach ekstremalnej suszy np. *Craterostigma plantagineum* (Ingram i Bartels, 1996). Należy jednak podkreślić, że ostatecznie adaptacja rośliny do warunków suszowych zależy od szybkości oraz efektywności percepcji zmian zachodzących w otoczeniu i od odpowiedniego połączenia wyżej wymienionych strategii (Martignago i inni, 2020). W związku z tym dokładne poznanie funkcjonowania procesów fizjologicznych zaangażowanych w proces adaptacji do stresu suszy oraz opisanie działania genów kontrolujących te procesy jest niezbędne dla otrzymania odmian roślin o lepszej tolerancji na suszę (Sallam i inni, 2019).



Rycina 1. Główne strategie adaptacji do suszy, przeciwdziałające skutkom niedoboru wody u roślin. Strategia ucieczki polega na szybkim zakończeniu cyklu życiowego w momencie wystąpienia suszy. Unikanie obejmuje biosyntezę kwasu abscysynowego (ABA) i w następstwie zamykanie aparatów szparkowych, spadek efektywności fotosyntezy oraz intensyfikację wzrostu korzenia. Tolerancja rośliny wobec suszy wynika z aktywacji procesów metabolicznych, które zapewniają dostosowanie komórek do warunków suszy. Tolerancja na suszę obejmuje akumulację osmolitów i białek ochronnych, a także efektywne usuwanie reaktywnych form tlenu (Reactive Oxygen Species, ROS) za pomocą antyoksydantów np. askorbinianu oraz modyfikacje w budowie ściany komórkowej (Osmolovskaya i inni, 2018; Conti, 2019; zmodyfikowano).

2.3. Metabolizm i sygnalizacja kwasu abscysynowego (ABA)

Kwas abscysynowy (ABA) jest uważany za główny fitohormon zaangażowany w percepcję sygnału stresu abiotycznego. Jego obecność stymuluje szybką odpowiedź na stres np. zamykanie aparatów szparkowych, a także wpływa długoterminowo na wzrost i rozwój rośliny poprzez regulację ekspresji genów związanych z odpowiedzią na stres (Verma i inni, 2016). Jego rola jest dobrze opisana w hamowaniu kiełkowania oraz wzrostu rośliny, a także w inhibicji procesu fotosyntezy i promowaniu starzenia liści (Sade i inni, 2018; Asad i inni, 2019; Chen i inni, 2020). ABA jest klasyfikowany jako seskwiterpen (Vishwakarma i inni, 2017). W momencie wystąpienie stresu w środowisku dochodzi do rozpoczęcia biosyntezy ABA głównie w plastydach oraz cytoplazmie komórek tkanki przewodzącej w korzeniach (Kuromori i inni, 2018). Przedstawiony opis biosyntezy oraz dalszego metabolizmu ABA dotyczy Arabidopsis, jednak należy podkreślić, że u innych gatunków roślin omawiane procesy przebiegają w podobny sposób. ABA powstaje na skutek cięcia jego prekursora, β-karotenu, przy udziale kilku enzymów. W plastydach β-karoten jest przekształcany w zeaksantynę, która tworzy wiolaksantynę, przez produkt pośredni anteraksantynę, przy udziale enzymu epoksydazy zeaksantyny (ZEAXANTHIN EPOXIDASE, ZEP). Następnie z wiolaksantyny powstaje 9-*cis*-neoksantyna lub 9-*cis*-wiolaksantyna. Zarówno 9-*cis*-neoksantyna jak i 9-*cis*-wiolaksantyna są cięte do ksantoksyny przez kluczowy enzym w biosyntezie ABA, dioksygenazę 9-cis-epoksykarotenoidową (9-*CIS*-EPOXYCAROTENOID DIOXYGENASE, NCED). Następnie w cytoplazmie ksantoksyna ulega przekształceniu do aldehydu abscysynowego przez dehydrogenazę alkoholową (ABA DEFICIENT 2, ABA2). Ostatni etap biosyntezy ABA obejmuje utlenienie powstałego aldehydu do finalnego produktu za pomocą oksydazy aldehydu abscysynowego (ABSCISIC-ALDEHYDE OXIDASE 3, AAO3) (Audran i inni, 2001, Iuchi i inni, 2001; Seo i inni, 2004; Vishwakarma i inni, 2017; Dejonghe i inni, 2018; Chen i inni, 2020).

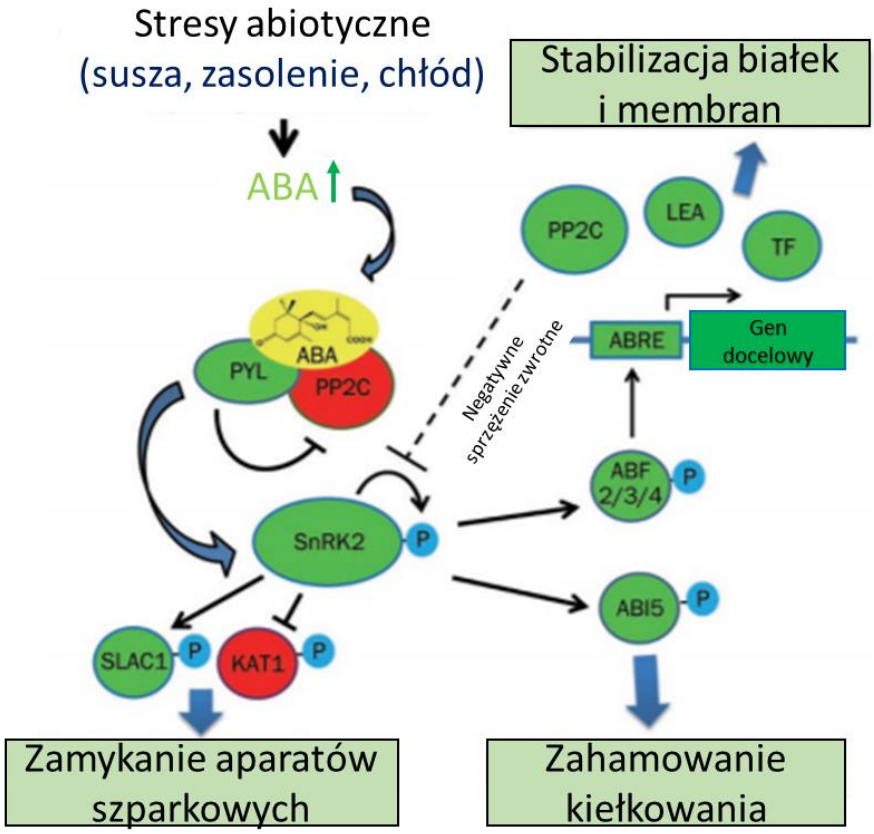
Należy podkreślić, że szlak biosyntezy ABA nie jest jedynym źródłem ABA w komórkach. ABA może tworzyć estry z glukozą (ABA-GE) dzięki działaniu UDP-glukozylotransferaz (UGT) kodowanych przez geny *UGT71B6/7/8* oraz *UGT71C5* (Priest i inni, 2006; Liu i inni, 2015; Ma i inni, 2018). ABA-GE jest nieaktywną formą ABA, magazynowaną w wakuolach oraz retikulum endoplazmatycznym lub przeznaczoną do długodystansowego transportu (Nambara i Marion-Poll, 2005; Seo i Koshiba, 2011, Ma i inni, 2018). W momencie pojawienia się stresu w środowisku, β-glukozydazy kodowane przez *β-GLUCOSIDASE 1* (*BG1*) oraz *BG2* uwalniają ABA z ABA-GE (Lee i inni, 2006; Xu i inni, 2012). Wiązanie ABA w koniugaty

glukozowe oraz uwalnianie ABA do formy niezwiązanej zapewnia szybkie dostosowanie poziomu ABA do warunków otoczenia rośliny (Chen i inni, 2020).

W momencie ustąpienia stresu w środowisku, ABA jest katabolizowany do kwasu fazeinowego (PA) za pomocą 8'-hydroksylaz ABA kodowanych przez geny z grupy *CYP707A* (*CYTOCHROME P450, FAMILY 707, SUBFAMILY A*) (Kushiro i inni, 2004). Następnie kwas fazeinowy (phaseic acid, PA) jest konwertowany przez reduktazę PA (PA REDUCTASE/ABA HYPERSENSITIVE 2, PAR/ABH2) do kwasu dihydrofazeinowego (dihydrophaseic acid, DPA), który jest biologicznie nieaktywny (Weng i inni, 2016). Umożliwia to roślinie podjęcie dalszego wzrostu i rozwoju.

Obecność ABA w komórce aktywuje sygnalizację zależną od ABA, która u Arabidopsis i innych gatunków roślin przebiega w podobny sposób. W zasadniczą część ścieżki sygnałowej ABA są zaangażowane receptory, kinazy, fosfatazy oraz czynniki transkrypcyjne. W momencie pojawienia się ABA w komórce, jest on rozpoznawany i wiązany przez receptory ABA, PYRABACTIN RESISTANCE PROTEINS/PYR-LIKE PROTEINS/REGULATORY COMPONENTS OF ABA RECEPTOR (PYR/PYL/RCAR) (Fujii i inni, 2009). W konsekwencji dochodzi do utworzenia kompleksu zbudowanego z ABA, receptora PYR/PYL/RCAR oraz fosfatazy z grupy PHOSPHATASE 2C (PP2C), negatywnego regulatora sygnalizacji zależnej od ABA (Fujii i inni, 2009) (**Rycina 2**). Tym samym kinazy z grupy SNF1-RELATED PROTEIN KINASE2, SnRK2.2, SnRK2.3 i SnRK2.6, nie ulegają defosforylacji zależnej od fosfataz PP2C, co pozwala na przeprowadzenie przez nie fosforylacji białek docelowych, w tym głównie ABA-zależnych czynników transkrypcyjnych z domeną zamka leucynowego (BASIC LEUCINE ZIPPER, bZIP), ABRE BINDING FACTOR/ABRE-BINDING PROTEIN (ABF/AREB) oraz ABA INSENSITIVE 5 (ABI5), a także innych białek takich jak SLAC1, czy KAT1 (Fujita i inni, 2009; Umezawa i inni, 2009; Sah i inni, 2016; Dejonghe i inni, 2018; Saito i Uozumi; 2019; Yoshida i inni, 2019) (**Rycina 2**). Ufosforylowane białka ABF/AREB oraz ABI5 rozpoznają i przyłączają się do *cis*-elementów ABA RESPONSIVE ELEMENT (ABRE) zawierających motywy (C/T)ACGTGGC, które znajdują się w promotorach ABA-zależnych genów odpowiedzi na stres. Powoduje to aktywację lub inhibicję ekspresji tych genów i w rezultacie zapewnia adaptację rośliny do stresu. Wśród genów docelowych dla ABI5 oraz ABF/AREB są geny *LEA*, a także geny regulatorowe kodujące inne czynniki transkrypcyjne oraz fosfatazy PP2C (Yoshida et al. 2010; Banerjee i Roychoudhury 2017; Qian i inni, 2019; Wang i inni, 2019) (**Rycina 2**). Należy podkreślić, że czynniki transkrypcyjne z rodzin MYELOBLASTOSIS (MYB), MYELOCYTOMATOSIS (MYC), oraz NAM/ATAF1/2/CUC2 (NAC) również są zaangażowane w sygnalizację zależną

od ABA (Abe i inni, 2003; Fujita i inni, 2004). Co więcej, białka ABF/AREB są zdolne do regulacji na poziomie genetycznym oraz białkowym czynników transkrypcyjnych z grupy DRE-BINDING PROTEIN 2 (DREB2), które także uczestniczą w odpowiedzi na stres abiotyczny, ale na drodze niezależnej od ABA (Lee i inni, 2010a; Kim i inni, 2011).



Rycina 2. Schemat działania zasadniczej części sygnalizacji ABA. Stres abiotyczny, w tym susza, aktywuje biosyntezę ABA, który jest rozpoznawany i wiązany przez receptory ABA, PYL. Hamuje to aktywność fosfataz PP2C i tym samym zapewnia autofosforylację kinaz z grupy SnRK2, które następnie fosforylują czynniki transkrypcyjne, ABI5 i ABF/AREB, a także kanały jonowe SLAC1 i KAT1. Prowadzi to do hamowania kiełkowania, zamykania aparatów szparkowych oraz stabilizacji białek i membran dzięki aktywacji genów docelowych dla czynników ABF/AREB, które łączą się z elementami ABRE obecnymi w promotorach tych genów. Ponadto czynniki transkrypcyjne ABF/AREB aktywują ekspresję genów *PP2C*, co prowadzi do regulacji ścieżki ABA na zasadzie negatywnego sprzężenia zwrotnego. TF (ang. Transcription Factor) – czynnik transkrypcyjny (Ng i inni, 2014; zmodyfikowano).

2.4. Czynniki transkrypcyjne bZIP działające zależnie od ABA

Czynniki transkrypcyjne bZIP stanowią najliczniejszą rodzinę białek, która bierze udział w ABA-zależnej regulacji ekspresji genów. Czynniki transkrypcyjne z tej grupy posiadają domenę zamka leucynowego, która odpowiada za ich wiązanie do DNA. Należy podkreślić, że podczas regulacji ekspresji genów domena bZIP pozwala działać tym czynnikom transkrypcyjnym jako dimery, w tym homo- oraz hetero-dimery (Finkelstein i inni, 2005; Lynch i inni, 2012; Banerjee i Roychoudhury, 2017). U Arabidopsis, spośród 75 białek rodziny bZIP wyróżnia się 9, które tworzą podrodzinę A obejmującą czynniki ABF/AREB oraz ABI5. Podrodzina A jest zaangażowana w regulację ekspresji genów odpowiedzi na stres, których promotory posiadają *cis*-elementy ABRE (Jakoby inni, 2002; Furihata i inni, 2006; Yoshida i inni, 2010; Fernando i inni, 2018). Białka z tej podrodziny oprócz domeny bZIP posiadają w części N-terminalnej trzy wysoce konserwowane domeny: C1, C2 oraz C3, w których znajdują się reszty serynowe lub treoninowe ulegające fosforylacji (Nakamura i inni, 2001; Furihata i inni, 2006; Kim, 2006).

2.5. Rola *ABI5* jako regulatora odpowiedzi na stres podczas kiełkowania i wczesnego rozwoju siewki

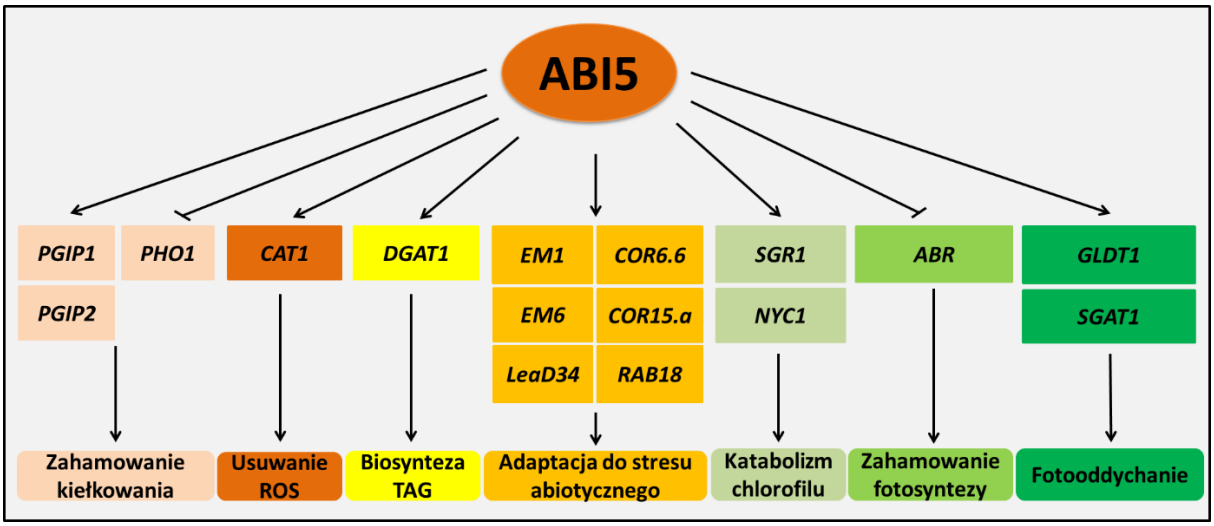
U Arabidopsis *ABI5* wykazuje główną aktywność podczas kiełkowania nasion oraz wczesnego rozwoju siewki w obecności ABA oraz stresów abiotycznych takich jak zasolenie, czy stres osmotyczny. W 1994 roku, w wyniku mutagenezy insercyjnej zidentyfikowano pierwszego mutanta w genie ABI5 u Arabidopsis, *abi5-1,* który odznaczał się kiełkowaniem niewrażliwym na ABA w porównaniu do ekotypu Wassilewskija o fenotypie dzikim (wild-type, WT) (Finkelstein, 1994). Dalsze badania wykazały również niewrażliwość tego mutanta na zasolenie oraz stres osmotyczny podczas kiełkowania i na etapie wczesnej siewki (Finkelstein i inni, 2005; Yuan i inni, 2011). Co więcej, fenotyp *abi5-1* został opisany jako „nie więdnący" (not-wilty), jednak dokładna analiza odpowiedzi tego mutanta na stres suszy nie została udokumentowana (Finkelstein i Lynch, 2000; http://www.arabidopsis.org, AT2G36270). Analiza ekspresji metodą hybrydyzacji northern (northern blot) w nasionach wykazała u tego mutanta obniżoną ekspresję genów związanych z odpowiedzią na stres abiotyczny (Finkelstein i Lynch, 2000). Należy jednak podkreślić, że pomimo niewrażliwości *abi5-1* na ABA oraz stresy abiotyczne podczas kiełkowania oraz wczesnego rozwoju siewki, nie zaobserwowano różnic u tego mutanta w procesach zależnych od ABA, takich jak zamykanie aparatów szparkowych, w ciągu dalszego wzrostu wegetatywnego (Finkelstein, 1994; Finkelstein i Lynch, 2000). Zastosowanie mutagenezy insercyjnej oraz fizycznej pozwoliło na

zidentyfikowanie kolejnych mutantów w genie *ABI5: abi5-2, abi5-4, abi5-5, abi5-7, abi5-8,* oraz *abi5-9,* które również wykazywały fenotyp niewrażliwy na obecność ABA i stresów abiotycznych we wczesnych stadiach rozwojowych (Lopez-Molina i Chua, 2000; Carles i inni, 2002; Nambara i inni 2002; Zheng i inni, 2012; Tezuka i inni, 2013). Warto podkreślić, że mutant *abi5-9* posiada substytucję alaniny do glicyny w pozycji 214 (A214G) w obrębie domeny C3, co skutkuje osłabieniem oddziaływania ABI5 z innym czynnikiem transkrypcyjnym, ABI3 (Tezuka i inni, 2013).

Główną rolą *ABI5* jest zahamowanie kiełkowania oraz wczesnego wzrostu siewki w momencie wystąpienia niesprzyjających warunków środowiska. Szczegółowe analizy profilu ekspresji *ABI5* u Arabidopsis wykazały jego aktywność w wąskim przedziale rozwojowym, pomiędzy 48. oraz 60. godziną po imbibicji nasion w obecności stresu. Ustąpienie niekorzystnych uwarunkowań środowiska prowadziło do zahamowania ekspresji *ABI5*, co umożliwiło kontynuację wzrostu rośliny (Lopez-Molina i inni, 2001; Maia i inni, 2014). ABI5 reguluje odpowiedź na stres poprzez regulację ekspresji genów, które następnie uczestniczą w adaptacji rośliny do stresu. Pierwszymi zidentyfikowanymi genami docelowymi ABI5 w nasionach były *EARLY METHIONINE-LABELED 1* (*EM1), EM6* oraz *LeaD34,* które kodują białka LEA odpowiedzialne za dostosowanie komórek do warunków stresu, co obejmuje ochronę struktury innych białek oraz stabilizację błon komórkowych (Finkelstein i Lynch, 2000; Carles i inni, 2002; Lopez-Molina i inni, 2002) (**Rycina 3**). Dodatkowo, wykazano, że ABI5 indukuje ekspresję innych genów z grupy *LEA*: *COLD-RESPONSIVE 6.6*/*COLD INDUCIBLE 2* (*COR6.6*/*KIN2*), *COR15a* oraz *RESPONSIVE TO ABA 18* (*RAB18*) w trakcie rozwoju siewek (Brocard i inni, 2002; Finkelstein i inni, 2005) (**Rycina 3**). Ponadto ABI5 wpływa również pozytywnie na ekspresję genów *POLYGALACTURONASE INHIBITING PROTEIN 1* (*PGIP1*) oraz *PGIP2*, których produkty hamują poligalakturonazy, enzymy zaangażowane w pękanie okrywy nasiennej podczas kiełkowania (Kanai i inni, 2010). W ostatnim czasie wykazano też bezpośredni wpływ ABI5 na represję ekspresji genu *PHOSPHATE1* (*PHO1*), który związany jest z transportem fosforanów z liścieni do korzeni zarodkowych. ABI5 może więc również wpływać na proces kiełkowania nasion poprzez regulację transportu fosforu (Huang i inni, 2017) (**Rycina 3**). Co więcej, ABI5 bierze udział w modulowaniu poziomu ROS w nasionach poprzez promowanie ekspresji *CATALASE 1* (*CAT1*), genu kodującego katalazę, która rozkłada H_2O_2 (Bi i inni, 2017) (**Rycina 3**). Powyższe badania wskazują, że ABI5 reguluje proces kiełkowania poprzez udział w różnych procesach biologicznych.

2.6. Regulacja dalszych stadiów rozwojowych przez *ABI5*

Chociaż *ABI5* jest opisywany głównie jako gen regulujący proces kiełkowania i wczesnego rozwoju siewki, jego aktywność jest obserwowana podczas późniejszych stadiów rozwojowych. Wraz z innymi czynnikami z grupy bZIP, ABI5 jest zaangażowany w odpowiedź rośliny na stres podczas wzrostu wegetatywnego. Jedną z funkcji ABI5 w trakcie dalszego rozwoju wegetatywnego jest regulacja metabolizmu lipidów u roślin narażonych na stres. *DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE 1* (*DGAT1*) koduje enzym zaangażowany w biosyntezę triacylglicerolu (TAG), który jest gromadzony przez rośliny w czasie stresu. ABI5 aktywuje ekspresję tego genu w 7-dniowych siewkach traktowanych zasoleniem oraz stresem osmotycznym (Kong i inni, 2013) (**Rycina 3**). Ponadto, ABI5 wpływa negatywnie na proces fotosyntezy, gdyż w ciemności hamuje ekspresję genu *ABA RESPONSIVE PROTEIN* (*ABR*) kodującego białko LEA, które chroni białka fotosyntetyczne i przeciwdziała starzeniu się liści (Su i inni, 2016) (**Rycina 3**). Co więcej, ABI5 wraz z innym czynnikiem transkrypcyjnym, ENHANCED EM LEVEL (EEL), pozytywnie reguluje działanie genów odpowiedzialnych za katabolizm chlorofilu, *STAYGREEN1* (*SGR1*) oraz *NON-YELLOW COLORING 1* (*NYC1*) (Sakuraba i inni, 2014) (**Rycina 3**). ABI5 jest również zaangażowany w proces adaptacji wzrostu rośliny do niskiego stężenia CO_2. Wykazano, że ekspresja genów *SERINE:GLYOXYLATE AMINOTRANSFERASE 1* (*SGAT1*) i *GDC T-PROTEIN 1* (*GLDT1*), które kodują enzymy związane procesem fotooddychania, jest bezpośrednio aktywowana przez ABI5 (You i inni, 2020) (**Rycina 3**). Stwierdzono także, że ABI5 wpływa na tolerancje siewek rosnących w obecności aluminium poprzez regulację ekspresji genów związanych z modyfikacją ściany komórkowej oraz z osmoregulacją (Fan i inni, 2019). Co więcej, udział ABI5 opisano w akumulacji antocyjanów u 9-dniowych siewek Arabidopsis traktowanych glukozą, a także podczas ABA-zależnego hamowania rozwoju korzeni bocznych w obecności stresu oraz w trakcie procesu fotomorfogenezy, czyli rozwoju rośliny zależnego od światła (Signora i inni, 2001; Brocard i inni, 2002; Xu i inni, 2014a). ABI5 pełni również funkcje podczas późniejszych stadiów rozwojowych, opisano jego rolę podczas ABA-zależnej regulacji kwitnienia. ABI5 wiąże się z promotorem genu kodującego negatywny regulator kwitnienia, *FLOWERING LOCUS C* (*FLC*), i aktywuje jego ekspresję (Wang i inni, 2013). ABI5 wpływa więc negatywnie na inicjację kwitnienia.



Rycina 3. Geny regulowane przez ABI5 podczas kiełkowania i w dalszych stadiach rozwojowych rośliny. ABI5 aktywuje ekspresję genów *PGIP* oraz hamuje *PHO1*. Geny te kodują odpowiednio inhibitory poligalakturonaz oraz białko związane z transportem fosforu, co ostatecznie prowadzi do zahamowania kiełkowania nasion. ABI5 aktywuje też w nasionach gen *CAT1*, który odpowiada za usuwanie nadtlenku wodoru. W siewkach genem docelowym ABI5 jest *DGAT1*, kodujący enzym uczestniczący w biosyntezie TAG. Ponadto ABI5 promuje ekspresję genów z grupy *LEA*: *EM1*, *EM6*, *LeaD34*, *COR6.6*, *COR15a* oraz *RAB18*. ABI5 reguluje też proces fotosyntezy poprzez aktywację genów związanych z katabolizmem chlorofilu (*SGR1*, *NYC1*) i fotooddychaniem (*GLDT1*, *SGAT1*) oraz przez hamowanie *ABR* (Skubacz i inni, 2016; zmodyfikowano).

2.7. Regulacja ekspresji *ABI5*

ABI5 koduje jeden z kluczowych czynników transkrypcyjnych działających w ścieżce ABA, dlatego jego ekspresja jest pod ścisłą kontrolą różnych czynników transkrypcyjnych. Co więcej, ABI5 jest zdolny do wiązania się z promotorem genu *ABI5* i tym samym do auto-aktywacji swojej własnej ekspresji (Finkelstein i Lynch, 2000; Söderman i inni, 2000). Podczas kiełkowania oraz wczesnego rozwoju siewki, ekspresja *ABI5* jest pozytywnie regulowana przez inne geny opisywane jako ABA INSENSITIVE, *ABI3* oraz *ABI4*, które kodują, odpowiednio, czynniki transkrypcyjne z domeną B3 oraz APETALA 2 (AP2) (Söderman i inni, 2000). Co ciekawe, ABI5 oraz ABI4 regulują synergistycznie ekspresję wiele genów związanych z odpowiedzią na stres np. *DGAT1*, a także wspólnie wpływają na wzrost korzeni bocznych oraz odpowiedź rośliny na glukozę (Signora i inni, 2001; Brocard i inni; 2002; Reeves i inni, 2011; Kong i inni, 2013). W stadium kiełkowania nasion, ekspresja *ABI5* jest również pozytywnie regulowana przez białko DELAY OF GERMINATION 1 (DOG1), którego funkcja jest związana z uśpieniem nasion (Dekkers i inni, 2016). Innym aktywatorem *ABI5* w nasionach

traktowanych ABA jest AGAMOUS-LIKE 21 (AGL21), czynnik transkrypcyjny z grupy MCM1/AGAMOUS/DEFICIENS/SRF (MADS) (Yu i inni, 2017).

Regulacja *ABI5* jest także zależna od obecności światła. ELONGATED HYPOCOTYL 5 (HY5) jest czynnikiem transkrypcyjnym bZIP związanym z promowaniem fotomorfogenezy. HY5 wiąże się z promotorem *ABI5* i aktywuje jego ekspresję na drodze ABA-zależnej podczas kiełkowania oraz rozwoju siewki (Chen i inni, 2008). Z drugiej strony, podczas wzrostu siewki w ciemności i w obecności ABA, pozytywnie na ekspresję *ABI5* wpływają czynniki transkrypcyjne PHYTOCHROME-INTERACTING FACTOR 1 (PIF1), PIF3, PIF4 and PIF5 będące negatywnymi regulatorami fotomorfogenezy (Qi i inni, 2020). Natomiast podczas hamowania wzrostu korzeni bocznych w obecności stresu suszy oraz zasolenia, *ABI5* jest aktywowany przez czynnik transkrypcyjny MYB96 (Seo i inni, 2009). Z kolei MYB33, który jest czynnikiem transkrypcyjnym pozytywnie regulującym odpowiedź na ABA (Reyes i Chua, 2007), może bezpośrednio aktywować ekspresję *ABI5*, co wpływa na opóźnienie wzrostu wegetatywnego rośliny. Świadczy to o roli *ABI5* w ABA-zależnym hamowaniu rozwoju wegetatywnego rośliny w momencie wystąpienia stresu abiotycznego (Guo i inni, 2021).

Działanie *ABI5* jest również pod kontrolą wielu negatywnych regulatorów. MYB7 inhibuje ekspresję *ABI5* podczas kiełkowania nasion w warunkach stresowych (Kim i inni, 2015). W nasionach, PEROXISOME DEFECTIVE 3 (PED3), transporter ABC związany z β-oksydacją kwasów tłuszczowych, wpływa negatywnie na ekspresję *ABI5* i promuje proces kiełkowania (Kanai i inni, 2010). RELATED TO ABI3/VP1 (RAV1), czynnik transkrypcyjny z domeną AP2/B3, hamuje ekspresję *ABI5*, a także *ABI3* oraz *ABI4*, w nasionach oraz podczas wczesnego rozwoju siewki w obecności ABA (Feng i inni, 2014). Podobnie wpływa na *ABI5* oraz *ABI4* w tych stadiach rozwoju SENSITIVITY TO ABA DURING GERMINATION (SAG), białko z domeną MIDASIN HOMOLOGUE 1 (MDN1) (Chen i inni, 2014). We wczesnym rozwoju siewki, ABI5 znajduje się pod kontrolą czynników transkrypcyjnych z grupy WRKY. WRKY18, WRKY40 oraz WRKY60 negatywnie regulują ekspresję *ABI5*. Jednakże należy podkreślić, że jednocześnie WRKY60 hamuje wiązanie WRKY18 oraz WRKY40 do promotora *ABI5*, co sugeruje złożony mechanizm tej regulacji w obrębie sygnalizacji ABA (Liu i inni, 2012). Co więcej, WRKY40 rekrutuje do obszaru genu *ABI5* demetylazę lizyny 4 histonu 3 (H3K4), JUMONJI DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 17 (JMJ17), która usuwa znaczniki aktywnej transkrypcyjnie chromatyny (H3K4me3), co również hamuje ekspresję *ABI5* (Wang i inni, 2021). Podczas rozwoju siewki w obecności glukozy, aktywność *ABI5* jest negatywnie regulowana przez czynnik transkrypcyjny z grupy NAC, ANAC060. Warto zwrócić uwagę, że ekspresja *ANAC060* jest promowana przez ABI4, co

świadczy o występowaniu regulacji na zasadzie negatywnego sprzężenia zwrotnego pomiędzy ABI5 oraz ABI4 (Yu i inni, 2020). Podczas wzrostu siewek w obecności światła, B-BOX DOMAIN PROTEIN 21 (BBX21), pozytywny regulator fotomorfogenezy, negatywnie wpływa na ekspresję *ABI5* poprzez zaburzenie wspomnianej powyżej interakcji HY5 z promotorem *ABI5* (Xu i inni, 2014a). Co więcej, BBX21 rekrutuje do promotora *ABI5* modyfikator chromatyny, HYPERSENSITIVE TO RED AND BLUE 2/PICKLE (HRB2/PKL), który uniemożliwia działanie tego promotora poprzez wzrost poziomu metylacji lizyn K9 i K27 w histonie H3 (H3K9 oraz H3K27) (Perruc i inni, 2007; Kang i inni, 2018). Skomplikowany mechanizm regulacji *ABI5* podczas fotomorfogenezy świadczy o jego istotnej roli w integrowaniu sygnalizacji zależnej od ABA oraz od światła.

2.8. Regulacja aktywności ABI5 na poziomie białkowym

Aktywność ABI5 podlega również regulacji przez wiele czynników na poziomie białkowym. Przede wszystkim stabilność i działanie białka ABI5 zależy od stopnia jego ufosforylowania, co zapewniają kinazy SnRK2.2, SnRK2.3 oraz SnRK2.6 (Nakashima i inni, 2009). Co więcej, w tym procesie mogą również uczestniczyć inne kinazy. Do tej pory rolę w fosforylacji ABI5 opisano dla kinaz zależnych od Ca^{2+}, CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASE 6 (CPK6), CPK11 oraz PROTEIN KINASE SOS2-LIKE 5 (PKS5), a także dla kinazy z grupy Raf-like, RAF-LIKE KINASE 10 (Raf10) (Lynch i inni, 2012; Zhou i inni, 2015; Nguyen i inni 2019; Zhang i inni, 2020). W ostatnim czasie wykazano również, że ABI5 oddziałuje z RIBOSOMAL S6 KINASE2 (S6K2), kinazą aktywną w obrębie sygnalizacji TARGET OF RAPAMYCIN (TOR), która odpowiada za regulowanie metabolizmu komórkowego w zależności od warunków środowiska (Li i inni, 2021).

Na stabilność ABI5 wpływają również inne białka. XPO1-INTERACTING WD40 PROTEIN 1 (XIW1), białko z rodziny WD40, w obecności stresu przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie oddziałuje z ABI5, zapewniając jego stabilność i udział w odpowiedzi zależnej od ABA podczas kiełkowania nasion oraz rozwoju siewki (Xu i inni, 2019). Podobny wpływ na aktywność ABI5 mają białka 2A PHOSPHATASE ASSOCIATED PROTEIN OF 46 KD (TAP46) oraz NEIGHBOUR OF BREAST CANCER 1 (NBR1) (Hu i inni, 2014; Tarnowski et al. 2020). Interakcja ABI5 z innym białkami może wpływać także na jego działanie podczas regulacji ekspresji genów. Pierwszym takim zidentyfikowanym białkiem jest ABI3, który zapewnia ABI5 pełną aktywność jako czynnika transkrypcyjnego (Nakamura i inni, 2001; Bensmihen i inni, 2004, Finkelstein i inni, 2005). Co więcej ABI5 tworzy homodimery oraz heterodimery z białkami z grupy ABF, co sugeruje ich wspólne działanie,

a także pewną redundancję funkcji (Nakamura i inni, 2001; Lynch i inni, 2012). ABI5 oddziałuje również z podjednostką kompleksu Mediator, MEDIATOR COMPLEX SUBUNIT 19 a (MED19a), co wzmacnia jego wiązanie do promotorów genów *EM1* oraz *EM6* podczas rozwoju siewki w obecności ABA (Li i inni, 2018). Warto podkreślić, że ABI5 poprzez interakcje może także aktywować działanie innych czynników transkrypcyjnych, tak jak to obserwowano w przypadku PIF1 (Kim i inni, 2016).

W momencie ustąpienia stresu w środowisku, działanie ABI5 ulega wyciszeniu. Główny wpływ na utratę aktywności ABI5 wywierają fosfatazy, które odłączają od ABI5 reszty fosforanowe. Udział w tym procesie stwierdzono dla fosfataz z grupy PP2C, ABA-HYPERSENSITIVE GERMINATION 1 (AHG1) oraz AHG3, a także dla fosfataz takich jak PROTEIN PHOSPHATASE 2A (PP2A), czy PROTEIN PHOSPHATASE 6 (PP6) (Lynch i inni, 2012, Dai i inni, 2013; Hu i inni, 2014). Inną modyfikacją potranslacyjną obniżającą aktywność ABI5 jest sumoilacja lizyny K391, która zależy od SAP AND MIZ1 DOMAIN-CONTAINING LIGASE 1 (SIZ1). Przyłączenie grupy SMALL UBIQUITIN-RELATED MODIFIER (SUMO) prowadzi do umiejscowienia ABI5 w ciałach jądrowych, strukturach pozbawionych błon obecnych w jądrach komórkowych, co uniemożliwia jego funkcjonowanie jako czynnika transkrypcyjnego, ale równocześnie chroni ABI5 przez degradacją (Miura i inni, 2009). Działanie ABI5 jest negatywnie regulowane również przez interakcję z innymi białkami. Podczas kiełkowania, oddziaływanie ABI5 z białkami z rodziny VQ, VQ18 oraz VQ26, których transkrypcja jest indukowana przez ABA, hamuje aktywność ABI5 i zapewnia dostosowywanie poziomu odpowiedzi zależnej od ABA do warunków otoczenia (Pan i inni, 2018). Podobną zależność opisano dla interakcji ABI5 z ABI5 BINDING PROTEIN 2 (AFP2) w nasionach (Chang i inni 2018). Szczególnym przypadkiem negatywnego wpływu na aktywność ABI5 jest funkcjonowanie SENSITIVE TO ABA 1 (SAB1) z rodziny REGULATOR OF CHROMATIN CONDENSATION 1 (RCC1) podczas wczesnego wzrostu siewki. SAB1 wiąże się do seryny ABI5 w pozycji 145 (S145) i tym samym blokuje miejsce docelowe dla fosforylacji przeprowadzanej przez kinazy z grupy SnRK2, co prowadzi do degradacji ABI5. Co więcej, SAB1 wiąże się z promotorem *ABI5* i uniemożliwia zachodzenie procesu autoregulacji ekspresji *ABI5*, a także zwiększa w tym promotorze poziom zmetylowanych histonów H3K27me2, co wycisza ekspresję *ABI5* na poziomie epigenetycznym (Ji i inni, 2019).

Ustąpienie stresu w środowisku i w konsekwencji niski poziom ufosforylowania ABI5 powoduje jego ubikwitynację, czyli przyłączenie małocząsteczkowego białka ubikwityny i następnie degradację z udziałem proteasomu 26S (Lopez-Molina i inni, 2001). Ten proces zależy od oddziaływania ABI5 z KEEP ON GOING (KEG) lub z CULLIN 4 (CUL4), ligazami

E3, które uczestniczą w przyłączeniu grupy ubikwitynowej do ABI5 (Stone i inni, 2006; Lee i inni, 2010b). Ponadto, w procesie kierowania ABI5 na drogę proteolityczną zależną od ubikwitynacji stwierdzono również rolę białek AFP (AFP1 oraz AFP2), DWD HYPERSENSITIVE TO ABA (DWA1, DWA2) oraz CROWDED NUCLEI 1 (CRWN1, CRWN3) (Garcia i inni, 2008; Lee i inni, 2010b; Zhao i inni, 2016). Dodatkowo, S-nitrozylacja ABI5 poprzez dołączenie tlenku azotu (NO) do cysteiny w pozycji 153 (C153) również prowadzi do degradacji ABI5 z udziałem KEG oraz CUL4 (Albertos i inni, 2015). Ostatecznie proteoliza ABI5 zapewnia roślinie ponowne podjęcie kiełkowania lub wzrostu siewki w warunkach sprzyjającego środowiska.

2.9. Rola czynników transkrypcyjnych z grupy ABF/AREB w odpowiedzi na stres podczas wegetatywnego wzrostu rośliny

U Arabidopsis białka z grupy ABF/AREB: ABF2/AREB1, ABF4/AREB2, ABF3 oraz ABF1, to czynniki transkrypcyjne z domeną bZIP, które funkcjonują w ścieżce sygnałowej ABA podczas wegetatywnego wzrostu rośliny w warunkach stresu abiotycznego: suszy, zasolenia, stresu wysokiej temperatury, chłodu oraz stresu oksydacyjnego (Choi i inni, 2000; Fujita i inni, 2005; Abdeen i inni, 2010; Sharma i inni, 2011; Yoshida i inni, 2015). Działanie czynników ABF/AREB umożliwia adaptację do niekorzystnych warunków środowiska. Mutanty *abf4*/*areb2* oraz *abf3* wykazywały większą wrażliwość na stres suszy niż WT, podczas gdy nadekspresja *ABF2*/*AREB1* wiązała się z tolerancją roślin wobec suszy (Fujita i inni, 2005; Yoshida i inni, 2010). ABF/AREB regulują ekspresję genów z grupy *LEA*: *RESPONSIVE TO DESSCICATION 29B* (*RD29B*), *RAB18, COR6.6/KIN2*, a także genów regulatorowych takich jak *DREB2A* (Fujita i inni, 2005; Yoshida i inni, 2010; Kim i inni, 2011). Należy podkreślić, że białka z grupy ABF/AREB bardzo często działają wspólnie, a ich funkcjonowanie jest redundantne podczas regulacji odpowiedzi na stres suszy. Poczwórny mutant *abf2*/*areb1 abf4*/*areb2 abf3 abf1* odznaczał się przeżywalnością na poziomie 2,2% po suszy, podczas gdy u pojedynczych mutantów w genach *ABF*/*AREB* ten parametr wynosił 38,6-57,1% (Yoshida i inni, 2010; Yoshida i inni, 2015). Prawdopodobnie wynika to ze zdolności tych czynników do oddziaływania między sobą podczas regulacji ekspresji genów (Yoshida i inni, 2010; Lynch i inni, 2012). Jednakże, działanie białek ABF/AREB może być też specyficzne. Wzór ekspresji genów *RD29B* oraz *RAB18* u mutantów *abf2/areb1, abf4/areb2* oraz *abf3* nie był identyczny. Co więcej, ABF3 pełni indywidualną rolę podczas regulacji rozwoju korzenia siewki w obecności ABA (Yoshida i inni, 2010; Finkelstein i inni, 2005).

Czynniki ABF/AREB wspólnie regulują zamykanie aparatów szparkowych, co zapewnia szybką odpowiedź rośliny na stres. Jednym z genów będących pod kontrolą ABF/AREB jest *ACTIN-DEPOLYMERIZING FACTOR 5* (*ADF5*), który koduje białko remodelujące cytoszkielet aktynowy podczas ABA-zależnego zamykania aparatów szparkowych. ABF1, ABF2/AREB1, ABF4/AREB2 oraz ABF3 wiążą się z promotorem *ADF5* i aktywują jego ekspresję, co powoduje zamykanie się aparatów szparkowych w obecności suszy (Qian i inni, 2019). Zamykanie aparatów szparkowych zależy również od gromadzenia się disacharydu, trehalozy. ABF1, ABF2/AREB1 oraz ABF4/AREB2 regulują pozytywnie ekspresję genu *TREHALOSE-6-PHOSPHATE PHOSPHATASE I* (*TPPI*) kodującego enzym zaangażowany w biosyntezę trehalozy (Lin i inni, 2020). Co więcej, ABF2/AREB1 promuje również aktywność innego genu zaangażowanego w ten proces, *TPPE* (Wang i inni, 2020). Należy podkreślić, że działanie zarówno *TPPI,* jak i *TPPE* jest również ważne dla regulowania wzrostu korzenia (Lin i inni, 2020; Wang i inni, 2020). Podobnie do ABI5, białka ABF/AREB są zaangażowane w regulację katabolizmu chlorofilu oraz starzenia liści. Ekspresja genów związanych z rozkładem chlorofilu, *SGR1, NYC1*, *PHEOPHORBIDE A OXYGENASE* (*PAO*), oraz ze starzeniem liści, *SENESCENCE-ASSOCIATED GENE 29* (*SAG29*), jest aktywowana przez ABF2/AREB1, ABF4/AREB2 oraz ABF3 (Gao i inni, 2016). Powyższe obserwacje mogą sugerować wspólne działanie białek AREB/ABF oraz ABI5 w regulowaniu niektórych ABA-zależnych procesów.

ABI5 jest głównym czynnikiem transkrypcyjnym bZIP regulującym odpowiedź na ABA podczas kiełkowania oraz wczesnego rozwoju siewki, jednakże aktywność *ABF*/*AREB* została również opisana podczas tych stadiów. Mutanty *abf1, abf4/areb2* oraz *abf3* kiełkowały szybciej w warunkach kontrolnych. Ponadto, *abf4*/*areb2* i *abf3* wykazywały wyższy poziom skiełkowanych nasion w obecności ABA (Kim i inni, 2004, Finkelstein i inni, 2005; Sharma i inni, 2011). Co więcej, ABF3 działa redundantnie z ABI5 w nasionach oraz siewkach w obecności stresu (Finkelstein i inni, 2005). Wykazano, że ABF3 bezpośrednio promuje ekspresję *ABI5* w siewkach traktowanych stresem zasolenia (Chang i inni, 2019). Oprócz ABI5, ABF3 współdziała z ABF1 podczas regulacji odpowiedzi na stres we wczesnych etapach rozwojowych rośliny. W obecności stresu wysokiej temperatury, ABF3 oraz ABF1 aktywują ekspresję *CYSTEINE PROTEINASE INHIBITOR 5* (*CYS5*), genu kodującego inhibitor proteazy cysteinowej. Wpływa to pozytywnie na tolerancję stresu wysokiej temperatury i promuje kiełkowanie oraz wzrost korzenia (Song i inni, 2017).

Białka ABF/AREB są również zaangażowane w regulację odpowiedzi zależnej od ABA podczas inicjacji kwitnienia. ABF4/AREB2 wraz z ABF3 oddziałują z podjednostkami C3/4/9

NUCLEAR FACTOR Y (NF-Y) w promotorze genu *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1* (*SOC1*), co prowadzi do aktywacji jego ekspresji. *SOC1* koduje czynnik transkrypcyjny będący pozytywnym regulatorem kwitnienia. W ten sposób ABF/AREB przyspieszają zachodzenie procesu kwitnienia w obecności stresu i promują adaptację rośliny do niekorzystnych warunków środowiska na zasadzie ucieczki przed stresem (Hwang i inni, 2019).

2.10. Homologi genów Arabidopsis kodujących czynniki transkrypcyjne ABI5 oraz ABF/AREB u roślin jednoliściennych

Homologi genów kodujących AtABI5 oraz białka AtABF/AREB zostały zidentyfikowane u roślin jednoliściennych, jednakże ich funkcjonowanie nie jest w pełni opisane. Co więcej, bardzo często działanie tych homologów nie jest przypisane do określonych stadiów rozwojowych rośliny. Poszczególne geny kodujące odpowiedniki ABA-zależnych czynników transkrypcyjnych z domeną bZIP u roślin jednoliściennych mogą być aktywne zarówno w nasionach, jak i podczas wegetatywnego wzrostu (Casaretto i Ho, 2003; Zou i inni, 2008; Kobayashi i inni 2008; Yan i inni, 2012). Dodatkowo, geny kodujące czynniki transkrypcyjne z tej grupy występują u roślin jednoliściennych w dużej liczbie, co bardzo często utrudnia wskazanie konkretnego ortologa u Arabidopsis.

HvABI5 jest czynnikiem transkrypcyjnym z domeną bZIP, który działa w ścieżce ABA-zależnej u jęczmienia (*Hordeum vulgare*). Jego rola po raz pierwszy została opisana w warstwie aleuronowej ziarniaków podczas regulacji ekspresji genów zawierających w promotorach *cis*-element ABA RESPONSE PROMOTER COMPLEX (ABRC) obejmujący motyw ABRE (Shen i Ho, 1997; Casaretto i Ho, 2003). Wykazano, że HvABI5 reguluje bezpośrednio geny *HVA1* oraz *HVA22*, które kodują, odpowiednio, białko LEA z grupy 3 oraz białko LEA związane z transportem pęcherzyków prawdopodobnie z retikulum endoplazmatycznego do aparatu Golgiego (Casaretto i Ho, 2003) (**Tabela 1**). Zarówno *HVA1*, jak i *HVA22* chronią roślinę przed utratą wody. Należy podkreślić, że ekspresja *HVA1* oraz *HVA22* była również zależna od VIVIPAROUS 1 (VP1), białka kodowanego przez gen będący ortologiem *AtABI3*. Może to świadczyć o istnieniu interakcji pomiędzy HvABI5 oraz HvVP1, która wzmacnia aktywność HvABI5 jako czynnika transkrypcyjnego, podobnie do oddziaływania pomiędzy AtABI5 i AtABI3 u Arabidopsis (Casaretto i Ho, 2003; Bensmihen i inni, 2004). Aktywność HvABI5 zależy również od fosforylacji seryny w pozycji 106 (S106), która jest prawdopodobnie przeprowadzana przez kinazę HvSnRK2.1 (PROTEIN KINASE ABA 1, HvPKABA1). Co więcej, ekspresja *HvABI5* jest autoregulowana przez HvABI5, tak jak

obserwuje się to u Arabidopsis (Finkelstein i Lynch, 2000; Casaretto i Ho, 2005). Ishibashi i inni (2017) opisali rolę HvABI5 podczas bezpośredniej aktywacji ekspresji genu *HvCAT2*, który koduję katalazę rozkładającą H_2O_2 w zarodkach. Niski poziom H_2O_2 sprzyjał uśpieniu ziarniaków, czyli utrzymywaniu ich w niezdolności do kiełkowania ze względu na niekorzystne warunki środowiska. Aktywność *HvABI5* została także zaobserwowana w liściach poddanym stresowi suszy (de Mezer i inni, 2014) (**Tabela 1**). Wykazano że ekspresja *HvABI5* w liściach podczas suszy jest negatywnie regulowana przez HvMYB1 (Alexander i inni, 2019). U jęczmienia zidentyfikowano także inne ABA-zależne czynniki transkrypcyjne z domeną bZIP. Jednymi z nich są HvABF1 oraz HvABF2, których działanie jest obserwowana w warstwie aleuronowej ziarniaków, gdzie hamują ekspresję genu *α-AMYLASE 32b* (*AMY32b*), aktywowanego giberelinami. Świadczy to o ich zaangażowaniu w regulację kiełkowania poprzez wywieranie wpływu na interakcję pomiędzy szlakami zależnymi od ABA oraz od giberelin (Schoonheim i inni, 2009) (**Tabela 1**). Działanie HvABF1, HvABF2, a także HvABI5 jest pozytywnie regulowane poprzez interakcje z białkami 14-3-3, które są regulatorami wielu procesów biologicznych (Schoonheim i inni, 2007).

Tabela 1. Homologi genów Arabidopsis kodujących czynniki transkrypcyjne ABI5 oraz ABF/AREB u roślin jednoliściennych oraz charakterystyka ich aktywności.

Nazwa	**Gatunek**	**Identyfikator w GenBank/ identyfikator w Ensembl Plants**	**Ekspresja w obecności ABA oraz stresów abiotycznych**	**Efekt mutacji lub ekspresji konstytutywnej**	**Referencja**
HvABF1	*Hordeum vulgare*	DQ786408/ HORVU3Hr1G084360	Ekspresja indukowana ABA w warstwie aleuronowej ziarniaków	-	Schoonheim i inni, 2009
HvABF2	*Hordeum vulgare*	DQ786409/ HORVU7Hr1G035500	Ekspresja indukowana ABA w warstwie aleuronowej ziarniaków	-	Schoonheim i inni, 2009
HvABI5	*Hordeum vulgare*	AY150676/ HORVU5Hr1G068230	Ekspresja indukowana ABA w warstwie aleuronowej ziarniaków oraz suszą w liściach	-	Casaretto i Ho, 2003; de Mezer i inni, 2014
OsABF1/ OsbZIP12	*Oryza sativa*	GQ904238/ Os01t0867300	Aktywność indukowana ABA, suszą, zasoleniem, chłodem oraz stresem oksydacyjnym w siewkach	Wyższa wrażliwość na suszę oraz zasolenie u mutantów insercyjnych *osabf1-1* i *osabf1-2* oraz tolerancja na suszę i podwyższona wrażliwość wzrostu siewek w obecności ABA z powodu nadekspresji u ryżu	Hossain i inni, 2010b, Joo i inni, 2014
OsABF2/ OsABL1/ OsbZIP46	*Oryza sativa*	GU552783, XM_015785510/ Os06t0211200	Aktywność indukowana ABA, suszą, zasoleniem, chłodem oraz stresem oksydacyjnym w siewkach	Wyższa wrażliwość na suszę oraz zasolenie oraz szybsze kiełkowanie i mniejsza inhibicja wzrostu korzenia głównego w obecności ABA u mutanta insercyjnego *osabf2* oraz tolerancja na suszę i podwyższona wrażliwość wzrostu siewek w obecności ABA z powodu nadekspresji u ryżu	Hossain i inni, 2010a, Tang i inni, 2012

OsABF4/ OsbZIP72	*Oryza sativa*	AK065873, XM_015757064/ Os09g0456200	Ekspresja aktywowana ABA, suszą, zasoleniem oraz chłodem w siewkach	Tolerancja na suszę oraz większa wrażliwość kiełkowania i wzrostu korzenia na ABA z powodu nadekspresji u ryżu	Lu i inni, 2009
OsABI5	*Oryza sativa*	EF199631/ Os01t0859300	Ekspresja indukowana ABA i zasoleniem oraz hamowana suszą i chłodem w siewkach	Tolerancja na suszę i zasolenie spowodowana wyciszeniem ekspresji	Zou i inni, 2008
OsTRAB1	*Oryza sativa*	AB023288/ Os08t0472000	Ekspresja indukowana ABA, suszą i zasoleniem w liściach siewek	-	Kagaya i inni, 2002; Paul i Roychoudhury, 2019
TaABF1	*Triticum aestivum*	AF519804/ TraesCS3A02G371800	Ekspresja aktywowana ABA w warstwie aleuronowej ziarniaków	-	Johnson i inni, 2008
TaABP1	*Triticum aestivum*	HQ166718/ TraesCS3B02G404300	Ekspresja indukowana ABA, suszą, zasoleniem oraz chłodem w siewkach	Tolerancja na suszę warunkowana konstytutywną ekspresją u tytoniu	Cao i inni, 2012
TaABI5	*Triticum aestivum*	AB238932/ TraesCS3D02G364900	Ekspresja aktywowana ABA w warstwie aleuronowej ziarniaków	Większa wrażliwość kiełkowania w obecności ABA z powodu konstytutywnej ekspresji u Arabidopsis	Utsugi i inni, 2020
TaABL1	*Triticum aestivum*	BJ267580/ TraesCS6A02G333600	Ekspresja aktywowana ABA, suszą, zasoleniem oraz chłodem w siewkach	Tolerancja na suszę, zasolenie, zamarzanie oraz stres oksydacyjny oraz większa wrażliwość kiełkowania i wzrostu korzenia w obecności ABA z powodu konstytutywnej ekspresji u Arabidopsis	Xu i inni, 2014b
TaAREB3	*Triticum aestivum*	-	Ekspresja indukowana ABA oraz stresem chłodu w siewkach	Tolerancja na suszę i zamarzanie oraz opóźniony rozwój liścieni w obecności ABA z powodu konstytutywnej ekspresji u Arabidopsis	Wang i inni, 2016a

wABI5	*Triticum aestivum*	AB193553/ TraesCS5A02G237200	Ekspresja indukowana ABA, suszą i stresem chłodu w siewkach	Tolerancja na suszę, zasolenie i zamarzanie oraz większa inhibicja wzrostu korzenia w obecności ABA z powodu konstytutywnej ekspresji u tytoniu	Kobayashi i inni, 2008
ZmABP9	*Zea mays*	GU237073/ Zm00001eb147240	Ekspresja indukowana ABA, suszą, zasoleniem oraz stresem oksydacyjnym w siewkach	Tolerancja na suszę, zasolenie, zamarzanie i stres oksydacyjny, a także większa wrażliwość kiełkowania oraz wzrostu korzenia siewki w obecności ABA z powodu konstytutywnej ekspresji u Arabidopsis	Zhang i inni, 2011
ZmABI5	*Zea mays*	EU968937/ Zm00001d018178	Ekspresja aktywowana ABA w ziarniakach i w liściach siewek, a także zasoleniem, chłodem oraz stresem wysokiej temperatury w liściach siewek oraz hamowana przez suszę w liściach siewek	Wrażliwość wobec suszy, zasolenia, chłodu oraz stresu wysokiej temperatury z powodu konstytutywnej ekspresji u tytoniu	Yan i inni, 2012; Zhang i inni, 2019

U ryżu (*Oryza sativa*) opisano działanie kilku homologów genów kodujących AtABI5 oraz AtABF/AREB. Jednym z nich jest *TRANSCRIPTION FACTOR RESPONSIBLE FOR ABA REGULATION 1* (*OsTRAB1, OsbZIP66*), który reguluje aktywność genów odpowiedzi na stres zależnie od ABA (Kagaya i inni, 2002). Jego podwyższona ekspresja w obecności suszy oraz zasolenia została opisana u odmiany ryżu charakteryzującej się wyższą tolerancją na stres zasolenia (Paul i Roychoudhury, 2019) (**Tabela 1**). *OsABI5* (*OsbZIP10*) jest homologiem *AtABI5*, który negatywnie reguluje odpowiedź na stres suszy i zasolenia u ryżu. Ekspresja *OsABI5* jest indukowana ABA oraz stresem zasolenia, a ulega obniżeniu w obecności suszy i chłodu w 7-dniowych siewkach. Wyciszenie ekspresji *OsABI5* powodowało wolniejsze więdnięcie liści oraz lepszy wzrost w obecności stresu suszy i zasolenia. Podobnie do AtABI5 oraz HvABI5, OsABI5 wykazuje interakcję z OsVP1, czynnikiem kodowanym przez gen będący ortologiem *AtABI3*. Co ciekawe, działanie *OsABI5* może być również istotne dla procesu dojrzewania ziaren pyłku (Zou i inni, 2008) (**Tabela 1**). W przeciwieństwie do *OsABI5*, *OsABF1* (znany także pod nazwą *OsbZIP12*), homolog *AtAREB3*, oraz *OsABF2* (znany także pod nazwami: *ABI5-Like 1, OsABL1, OsbZIP46*), homolog *AtABF1, AtABF2/AREB1*, *AtABF4/AREB2* oraz *AtABF3*, pełnią pozytywną rolę podczas odpowiedzi na stres abiotyczny. Ich aktywność jest indukowana obecnością ABA, suszy, zasolenia, chłodu oraz stresu oksydacyjnego w siewkach ryżu. Mutanty insercyjne *osabf1-1, osabf1-2* oraz *osabf2* odznaczały się wyższą wrażliwością na stres suszy oraz zasolenia. U *osabf1-1* oraz *osabf1-2* zaobserwowano również niższą ekspresję genów regulowanych stresem, *OsLEA3, OsNAC* i *OsABA45*, po traktowaniu ABA. Wykazano, że OsABF1 oraz OsABF2 regulują ekspresję genów odpowiedzi na stres poprzez wiązanie się do elementów ABRE w ich promotorach. Dodatkowo, w obecności ABA, mutant *osabf2* kiełkował szybciej oraz odznaczał się mniejszą inhibicją wzrostu korzenia głównego. Tym samym zaburzenie percepcji ABA u *osabf2* wpływało negatywnie na odpowiedź tego mutanta na stres abiotyczny (Hossain i inni, 2010a; Hossain i inni, 2010b) (**Tabela 1**). Co więcej, nadekspresja *OsABF1* oraz *OsABF2* powodowała tolerancję linii transgenicznych na suszę oraz podwyższoną wrażliwość wzrostu siewek w obecności ABA. Tolerancja na suszę linii z konstytutywną ekspresją *OsABF1* była związana z lepszą wydajnością przeprowadzania procesu fotosyntezy (Tang i inni, 2012; Joo i inni, 2014) (**Tabela 1**). Inny czynnik z grupy OsABF, OsABF4 (OsbZIP72) kodowany przez gen będący homologiem *AtABF1, AtABF2/AREB1, AtABF4/AREB2* oraz *AtABF3*, także pozytywnie reguluje odpowiedź ryżu na suszę. Nadekspresja *OsABF4* powodowała wyższą ekspresję genów związanych z odpowiedzią na stres, *OsLEA3* oraz *OsRAB16*, po traktowaniu ABA. Dla linii z konstytutywną ekspresją *OsABF4* zaobserwowano również podwyższoną wrażliwość

kiełkowania oraz wzrostu korzenia siewek w obecności ABA (Lu i inni, 2009) (**Tabela 1**). Co więcej, tak jak w przypadku AtABI5 oraz czynników AtABF/AREB, OsABF4 uczestniczy w rozkładzie chlorofilu oraz w procesie starzenia się liści. Ekspresja *OsSGR1* oraz *OsNYC1* , homologów *AtSGR1* oraz *AtNYC1*, jest bezpośrednio aktywowana przez wiązanie się OsABF4 do ich promotorów (Piao i inni, 2019).

W przypadku pszenicy (*Triticum aestivum*) również zidentyfikowano kilka czynników transkrypcyjnych z domeną bZIP działających w sposób ABA-zależny. Czynnik wABI5 pełni rolę pozytywnego regulatora odpowiedzi na stres abiotyczny. Wykazano, że ekspresja *wABI5,* homologa *AtABF2/AREB1, AtABF4/AREB2* oraz *AtABF3,* jest indukowana w 7-dniowych siewkach po traktowaniu ABA, a także po stresie suszy i chłodu. Linie z konstytutywną ekspresją *wABI5* u tytoniu (*Nicotiana tabacum*) odznaczały się tolerancją na stres suszy, zasolenia oraz zamarzania, a także charakteryzowały się większą inhibicją wzrostu korzenia w obecności ABA. Zaobserwowano również, że wABI5 aktywował działanie genów z grupy *LEA*: *DEHYDRIN 13* (*TaDHN13*), *TaRAB18* oraz *TaRAB19* (Kobayashi i inni, 2008) (**Tabela 1**). Podobnie do *wABI5, TaAREB3,* homolog genu *AtAREB3*, reguluje pozytywnie odpowiedź na stres abiotyczny. Wykazano, że działanie *TaAREB3* jest indukowane u pszenicy przez ABA oraz stres chłodu w stadium 2-tygodniowej siewki (Wang i inni, 2016a). Konstytutywna ekspresja *TaAREB3* u Arabidopsis zapewniała tolerancję na stres suszy oraz zamarzania, a także powodowała opóźniony rozwój liścieni w obecności ABA. Tolerancja na stres linii transgenicznych wynikała z bezpośredniej aktywacji przez TaAREB3 genów *AtRD29A, AtRD29B, AtCOR15A* oraz *AtCOR47,* które uczestniczą w adaptacji rośliny do warunków stresu abiotycznego (Wang i inni, 2016a) (**Tabela 1**). Pozytywną rolę podczas odpowiedzi na stres pełni również gen *ABI5-Like1* (*TaABL1*), który koduje czynnik transkrypcyjny bZIP i jest homologiem genów *AtABF1, AtABF2/AREB1, AtABF4/AREB2, AtABF3* oraz *AtABI5*. Aktywność *TaABL1* stwierdzono w obecności ABA, suszy, zasolenia oraz chłodu w 2-tygodniowych siewkach. Konstytutywna ekspresja *TaABL1* u Arabidopsis spowodowała nadwrażliwość kiełkowania oraz wzrostu korzenia w obecności ABA, a także tolerancję roślin na suszę, zasolenie, zamarzanie oraz stres oksydacyjny. Było to związane z wyższą aktywacją *AtRD29B* oraz *AtRAB18* oraz z zahamowaniem ekspresji *AtKAT1* i *AtKAT2* kodujących kanały jonowe transportujące potas do wnętrza komórek szparkowych (Xu i inni, 2014b) (**Tabela 1**). Kolejnym pozytywnym regulatorem odpowiedzi na stres u pszenicy jest gen *ABA RESPONSIVE ELEMENT BINDING PROTEIN 1* (*TaABP1*), homolog genów *AtABF1, AtABF2/AREB1, AtABF4/AREB2* oraz *AtABF3,* który koduje czynnik transkrypcyjny z grupy bZIP. Stwierdzono, że aktywność *TaABP1* wzrasta w obecności ABA, suszy, zasolenia oraz

chłodu w 10-dniowych siewkach pszenicy. Konstytutywna ekspresja *TaABP1* u tytoniu zapewniała transgenicznym roślinom tolerancję na suszę (Cao i inni, 2012) (**Tabela 1**). W przeciwieństwie do opisanych powyżej genów kodujących ABA-zależne czynniki transkrypcyjne bZIP u pszenicy, *TaABI5*, homolog *AtABI5*, reguluje ABA-zależną odpowiedź wyłącznie w ziarniakach. Wykazano, że TaABI5 wiąże się z promotorem i aktywuje ekspresję genu *EM* kodującego białko LEA. Ponadto działanie *TaABI5* utrzymuje ziarniaki w stadium uśpienia. Ekspresja *TaABI5* u Arabidopsis powodowała większą wrażliwość kiełkujących nasion wobec ABA (Zhou i inni, 2017; Utsugi i inni, 2020) (**Tabela 1**). Zaobserwowano również, że tak jak w przypadku AtABI5, TaABI5 oddziałuje z negatywnym regulatorem sygnalizacji jasmonianów, JASMONATE-ZIM-DOMAIN PROTEIN 1 (TaJAZ1), co hamuje działanie TaABI5 i umożliwia ziarniakom podjęcie kiełkowania (Ju i inni, 2009). Rola *TaABF1*, homologa *AtABI5*, również została opisana tylko w nasionach. Tak jak w przypadku HvABF1 oraz HvABF2, TaABF1 bierze udział w hamowaniu zależnej od giberelin ekspresji *AMY32b*, genu kodującego α-amylazę, która rozkłada skrobię w ziarniakach. Wykazano również, że mechanizm tej regulacji obejmuje inhibicję genu *GAMYB* kodującego czynnik transkrypcyjny, który zależnie od giberelin aktywuje *AMY32b* (Johnson i inni, 2008; Harris i inni, 2013) (**Tabela 1**).

ZmABI5 jest homologiem *AtABI5* i koduje czynnik transkrypcyjny zidentyfikowany u kukurydzy (*Zea mays*). Ekspresja *ZmABI5* jest aktywowana ABA, zasoleniem, chłodem oraz stresem wysokiej temperatury. Z drugiej strony, susza negatywnie wpływa na ekspresję *ZmABI5*. Ekspresja *ZmABI5* u tytoniu powodowała ich wrażliwość wobec suszy, zasolenia, chłodu oraz stresu wysokiej temperatury. Linie transgeniczne odznaczały się mniejszą zawartością chlorofilu i proliny oraz słabszą aktywnością enzymów detoksykacyjnych, POD i SOD, w obecności stresu abiotycznego. Ekspresja *ZmABI5* powodowała również podwyższoną akumulację dialdehydu malonowego (malondialdehyde, MDA), którego obecność świadczy o powstaniu uszkodzeń komórkowych na skutek stresu oksydacyjnego. Co więcej, ekspresja genów związanych z odpowiedzią na stres, takich jak *NtCAT1*, czy *NtAPX* oraz genów *EARLY RESPONSE TO DEHYDRATIONA-D* (*NtERD10A-D*) kodujących białka LEA, była obniżona u linii transgenicznych traktowanych zasoleniem oraz ciepłem. Powyższe badania świadczą, że *ZmABI5* negatywnie reguluje odpowiedź rośliny na stres (Yan i inni, 2012) (**Tabela 1**). *ZmABI5* reguluje również odpowiedź zależną od ABA w ziarniakach. Gen *GALACTINOL SYNTHASE 2* (*ZmGOLS2*) koduje enzym zaangażowany w biosyntezę rafinozy, cukru wpływającego na żywotność ziarniaków. ZmABI5 wiąże się z promotorem genu

ZmGOLS2 i promuje jego ekspresję. Podczas regulacji *ZmGOLS2* ZmABI5 oddziałuje z ZmVP1, który wzmacnia działanie ZmABI5 (Zhang i inni, 2019) (**Tabela 1**).

Innym genem kodującym czynnik transkrypcyjny bZIP regulujący odpowiedź na ABA u kukurydzy jest *ZmABP9* homolog *AtABF1*, *AtABF2/AREB1*, *AtABF4/AREB2*, *AtABF3* oraz *AtAREB3*. ZmABP9 wiąże się bezpośrednio z elementem ABRE2 w promotorze *ZmCAT1* i aktywuje jego ekspresję. Co więcej ekspresja *ZmABP9* u Arabidopsis wpływała pozytywnie na przebieg fotosyntezy oraz zawartość endogennego ABA w obecności suszy oraz stresu wysokiej temperatury. Linie transgeniczne z konstytutywną ekspresją *ZmABP9* odznaczały się też tolerancją na suszę, zasolenie, zamarzanie oraz stres oksydacyjny. Było to związane z podwyższoną ekspresją genów związanych z adaptacją rośliny do warunków stresowych np. *AtCAT3, AtCOR15A, AtKIN1*, czy *AtRD29B*. Z drugiej strony, rośliny transgeniczne odznaczały się wyższą wrażliwością na ABA w stadium kiełkowania oraz podczas wzrostu korzenia siewki. U linii Arabidopsis z ekspresją *ZmABP9* obserwowano również szybsze zamykanie aparatów szparkowych oraz niższą zawartość ROS w obecności ABA (Zhang i inni, 2008; Zhang i inni, 2011) (**Tabela 1**).

2.11. Znaczenie badań nad ABA-zależnymi czynnikami transkrypcyjnymi z domeną bZIP w kontekście otrzymywania odmian zbóż wykazujących tolerancję na suszę

W dobie intensywnych zmian klimatycznych producenci zbóż każdego roku muszą zmagać się z problemem stresu suszy. Występowanie suszy w środowisku oraz stosowanie odmian o niskiej tolerancji na stres ma negatywne konsekwencje ekonomiczne oraz zmniejsza produkcję żywności na całym świecie. Tym samym wyprowadzanie odmian roślin uprawnych o wyższej tolerancji na stres suszy jest obecnie koniecznością. Tolerancja na suszę zależy jednak od wielu czynników, gdyż jest wypadkową aktywności wielu genów, na które dodatkowo wpływa środowisko. Otrzymywanie odmian zbóż o lepszej tolerancji na stres jest więc skomplikowane i wymaga wielu długoletnich badań (Gilliham i inni, 2017; Nuccio i inni, 2018). W procesie wyprowadzania odmian o lepszej tolerancji na suszę bardzo istotna jest identyfikacja oraz odpowiednia charakterystyka genów związanych z odpowiedzią na stres (Nuccio i inni, 2018; Baillo i inni, 2019; Rosero i inni, 2020). Należy też podkreślić, że wiedza na temat działania mechanizmów odpowiedzi na stres u Arabidopsis nie zawsze może być wykorzystana u innych gatunków, gdyż bardzo często adaptacja do stresu suszy jest cechą specyficzną gatunkowo i może być regulowana w inny sposób. Tym samym w procesie otrzymywania nowych odmian bardzo istotne jest dokładne opisanie roli poszczególnych

genów związanych z odpowiedzią na stres w funkcjonowaniu procesów molekularnych oraz fizjologicznych u konkretnego gatunku uprawnego.

Geny kodujące ABA-zależne czynniki transkrypcyjne z domeną bZIP pełnią ważną funkcję podczas adaptacji do stresu abiotycznego. ABI5 oraz ABF/AREB regulują ekspresję wielu genów związanych z odpowiedzią na stres, co wpływa jednocześnie na przebieg szeregu procesów molekularnych, biochemicznych oraz fizjologicznych. Konstytutywna ekspresja genów kodujących czynniki z grupy ABI5 oraz ABF/AREB została wykorzystana do otrzymania roślin modelowych i uprawnych tolerancyjnych na stres suszy. Nadekspresja genów *AtABF2*/*AREB1*, *AtABF4*/*AREB2* oraz *AtABF3* zapewniała tolerancję na suszę transgenicznym liniom Arabidopsis (Kang i inni, 2002; Kim i inni, 2004; Fujita i inni, 2005). Co więcej, transfer tych genów do gatunków uprawnych również skutkował lepszą odpowiedzią na suszę otrzymanych roślin transgenicznych. Ten typ zależności zaobserwowano w przypadku nadekspresji *AtABF2/AREB1* u soi (*Glycine max*), *AtABF3* u ryżu i lucerny (*Medicago sativa*), *AtABI5* oraz *AtABF3* u bawełny (*Gossypium hirsutum*) oraz *AtABF4/AREB2* u ziemniaka (*Solanum tuberosum*), pomidora (*Solanum lycopersicum*) i tytoniu. Tolerancja na suszę tych linii transgenicznych wynikała zazwyczaj z szybszego zamykania aparatów szparkowych, wyższej zawartości chlorofilu, efektywniejszego przebiegu fotosyntezy, podwyższonej akumulacji proliny oraz obniżonego poziomu ROS (Oh i inni, 2005; Barbosa i inni, 2013, Mittal i inni, 2014; Wang i inni, 2016b; Na i Metzger, 2017; Garcia i inni, 2018; Kerr i inni, 2018). Należy jednak podkreślić, że często nadekspresja genów *AtABF/AREB* wiązała się z negatywnym wpływem na wzrost i rozwój roślin transgenicznych, choć zastosowanie promotorów działających specyficznie w stresie lub w określonych tkankach redukowało ten problem (Kim i inni, 2004; Na i Metzger, 2017; Kerr i inni, 2018). Geny będące homologami *AtABI5* oraz *AtABF/AREB* u roślin jednoliściennych także mogą służyć do wyprowadzania roślin tolerancyjnych na suszę. Nadekpsresja *OsABF1*, *OsABF2* i *OsABF4* u ryżu, konstytutywna ekspresja *TaAREB3*, *TaABL1* i *ZmABP9* u Arabidopsis, *wABI5* i *TaABP1* u tytoniu oraz *ZmABP9* u bawełny powodowała tolerancję na suszę tych linii transgenicznych (Kobayashi i inni, 2008; Lu i inni, 2009, Zhang i inni, 2011; Cao i inni, 2012; Tang i inni, 2012; Joo i inni, 2014; Xu i inni, 2014b; Wang i inni, 2016a; Wang i inni, 2017). Należy podkreślić, że wykorzystanie konkretnych homologów *AtABI5* oraz *AtABF/AREB* pochodzących z roślin jednoliściennych w celu wyprowadzania odmian tolerancyjnych na suszę wymaga najpierw opisania ich indywidualnej roli, gdyż funkcjonowanie tych genów podczas regulacji odpowiedzi na stres może być zróżnicowane.

Jęczmień jest zbożem o stosunkowo wysokiej tolerancji na stres abiotyczny. Wykazuje też lepszą tolerancję na suszę w porównaniu do innych zbóż, takich jak ryż czy pszenica. Tym samym jęczmień może być źródłem genów, które zapewnią tolerancję na suszę bardziej wrażliwym gatunkom (Gürel i inni, 2016; Landi i inni, 2017). Te cechy jęczmienia spowodowały, że został on zaproponowany jako zboże modelowe do badań mechanizmów adaptacji do warunków stresowych (Dawson i inni, 2015). Jęczmień jest też bardzo powszechnie uprawianym gatunkiem na całym świecie. Zgodnie z raportem Organizacji Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa (Food and Agriculture Organization, FAO), jęczmień zajmuje czwarte miejsce wśród zbóż na świecie po względem powierzchni zbiorów (FAO, 2019). Co więcej, genom jęczmienia został zsekwencjonowany i opublikowany w publicznie dostępnych bazach danych (wersja IBSC v2, Ensembl Plants version 45). Powyższa charakterystyka jęczmienia sprawia, że jest on odpowiednim gatunkiem do badania odpowiedzi fizjologicznych oraz molekularnych warunkujących tolerancję na stres suszy u zbóż.

Rola genu *HvABI5* w ABA-zależnej odpowiedzi jęczmienia na stres suszy nie została dotąd poznana. *HvABI5* koduje czynnik transkrypcyjny bZIP wykazujący wysokie podobieństwo do AtABI5 oraz do białek AtABF/AREB u Arabidopsis. Można więc przypuszczać, że podobnie do ABA-zależnych czynników transkrypcyjnych bZIP u Arabidopsis, HvABI5 pełni bardzo ważną rolę w odpowiedzi jęczmienia na suszę. Możliwe również, że tak jak w przypadku innych genów kodujących ABA-zależne czynniki transkrypcyjne bZIP, *HvABI5* może stanowić narzędzie biotechnologiczne do wyprowadzania odmian roślin gatunków uprawnych tolerancyjnych na stres suszy. Należy podkreślić, że konstytutywna ekspresja genu *HVA1*, będącego pod bezpośrednią regulacją HvABI5, została wykorzystana w celu zwiększenia poziomu tolerancji na suszę u ryżu oraz u pszenicy (Babu i inni, 2004; Bahieldin i inni, 2005). Tym samym opisanie funkcjonowania genu *HvABI5* w obecności suszy u jęczmienia jest istotne nie tylko dla poznania mechanizmu odpowiedzi na stres u tego gatunku, ale także dla wyprowadzania nowych odmian roślin uprawnych o wyższej tolerancji na suszę.

3. Materiały i metody

3.1. Materiał badań oraz identyfikacja mutanta *hvabi5.d* za pomocą metody TILLING

Materiał badań stanowił mutant jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare*) niosący mutację w genie *HvABI5* oraz jego odmiana wyjściowa 'Sebastian'. Mutant *hvabi5.d*. został zidentyfikowany z wykorzystaniem strategii TILLING w populacji zwanej *Hor*TILLUS, którą wyprowadzono w Katedrze Genetyki Uniwersytetu Śląskiego w wyniku mutagenicznego traktowania odmiany 'Sebastian' azydkiem sodu (NaN3) oraz N-metylo-N-nitrozmocznikiem (MNU) (Szarejko i inni, 2017; Szurman-Zubrzycka i inni, 2018). Mutanty w genie *HvABI5* wyizolowano we wcześniejszych pracach Katedry (Collin i inni, 2020). W celu znalezienia mutacji w obrębie genu *HvABI5* przeanalizowano DNA z 6144 roślin pokolenia M_2. Podczas analizy TILLING, wykorzystano sekwencję genu *HvABI5* dla jęczmienia odmiany 'Sebastian', która jest zdeponowana w bazie GenBank (GenBank, numer akcesyjny: HQ456390.1). Regiony konserwowane genu *HvABI5* wyznaczono za pomocą narzędzi CODDLE (Codons Optimised to Discover Deleterious Lesions; http://www.proweb.org/coddle/) oraz CLUSTAL OMEGA (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/). Analizowany fragment genu *HvABI5* obejmował 1072 pary zasad, w tym egzony kodujące domeny konserwowane C1, C2, C3 oraz bZIP, które odpowiadają za zasadnicze działanie białka HvABI5 (Collin i inni, 2020).

Mutanty z mutacjami punktowymi w stanie homozygotycznym zostały zidentyfikowane w pokoleniach M_2 lub M_3. Dla większości roślin niosących mutację typu zmiany sensu rozmnożono ziarniaki w pokoleniach M_4 oraz M_5. Typ oraz stan mutacji (homo-/heterozygota) został oceniony za pomocą oprogramowania CodonCode Aligner. Mutanta *hvabi5.d* zidentyfikowano w stanie heterozygotycznym, dlatego rośliny niosące odpowiedzialną mutację w stanie homozygotycznym zostały wyselekcjonowanie w segregującym pokoleniu M_3, a następnie rozmnożono je, aby uzyskać nasiona (M_4/M_5) do badań.

Mutant *hvabi5.d* został wybrany do badań przedstawionych w niniejszej pracy na podstawie wstępnej analizy względnej zawartości wody w liściu (Relative Water Content, RWC) po działaniu suszy, którą przeprowadzono wcześniej dla siedmiu mutantów niosących mutacje zmiany sensu w genie *HvABI5*. Następnie, wyselekcjonowany, homozygotyczny mutant *hvabi5.d* został skrzyżowany dwukrotnie z formą wyjściową 'Sebastian' w celu zredukowania wpływu mutacji tła powstałych w wyniku mutagenezy chemicznej. Otrzymana linia homozygotyczna *hvabi5.d* BC_2F_4 była następnie wykorzystana do przeprowadzenia analiz fizjologicznych po traktowaniu suszą oraz do analizy ekspresji wybranych genów.

3.2. Przewidywanie wpływu mutacji na funkcjonowanie białka HvABI5 przy pomocy narzędzi bioinformatycznych

Stopień konserwatywności w obrębie białka HvABI5 wyznaczono na podstawie analizy dopasowania wielu sekwencji białkowych ABI5 oraz ABF/AREB pochodzących z gatunków dwuliściennych oraz jednoliściennych. Analizę wykonano za pomocą oprogramowania Clustal Omega (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/). Powiązania filogenetyczne pomiędzy analizowanymi sekwencjami wygenerowano przy użyciu oprogramowania Phylogeny.fr (http://www.phylogeny.fr/).

3.3. Kiełkowanie w obecności ABA

Ziarniaki jęczmienia odmiany ‘Sebastian’ oraz *hvabi5.d* przez wysianiem sterylizowano przez 20 minut w 1% podchlorynie sodu, a następnie płukano w wodzie autoklawowanej 3 razy przez 5 minut. Ziarniaki wysiewano do szalek Petriego o średnicy 90 mm, w ilości 30 na szalkę. Szalki zawierały 5 ml wody w przypadku kontroli lub 5 ml roztworu ABA o stężeniu 75 lub 300 µM, a także dwie warstwy filtrów papierowych Whatman. W celu synchronizacji kiełkowania ziarniaków, przez 4 dni przeprowadzano stratyfikację w temperaturze oraz 4°C, w ciemności. Następnie szalki umieszczano w pokoju hodowlanym o następujących warunkach: 22°C, 16 godzin światła/8 godzin ciemności, 200 µmol m^{-2} s^{-1} naświetlenia. Postępowanie procesu kiełkowania oceniano na podstawie widocznego pojawienia się korzenia w dniu 1, 2, 3 oraz 4 po stratyfikacji (Day After Stratification, DAS). Kiełkowanie testowano w trzech powtórzeniach biologicznych, gdzie każda szalka Petriego zawierająca 30 ziarniaków stanowiła jedno powtórzenie biologiczne, a doświadczenie wykonano trzykrotnie.

3.4. Analiza rozwoju siewek w obecności ABA

Ziarniaki jęczmienia odmiany ‘Sebastian’ oraz *hvabi5.d* poddano sterylizacji w sposób opisany w punkcie 3.3. Następnie umieszczano po dwa ziarniaki w warunkach aeroponiki (Chmielewska i inni, 2014) w celu skiełkowania w warunkach pokoju hodowlanego (22°C, 16 godzin światła/8 godzin ciemności, 200 µmol m^{-2} s^{-1} naświetlenia). Po upływie 4 dni, siewki były przenoszone do warunków hydroponicznych tj. próbówki o objętości 35 ml zawierającej 30 ml pożywki MS (Murashige & Skoog, kontrola) lub 50 µM roztworu ABA w MS, korka z waty na którym umieszczano dwie siewki oraz próbówki zamykającej ten układ od góry. Tak przygotowany układ umieszczano ponownie w warunkach pokoju hodowlanego na okres 6 dni. Długość pierwszego liścia oraz najdłuższego korzenia pierwotnego mierzono przed oraz po zakończeniu traktowania. Po upływie 6 dni traktowania wykonywano również pomiar

fluorescencji chlorofilu *a* oraz zbierano tkankę liściową o masie 0,02-0,05 g i zamrażano w -80ºC w celu ekstrakcji proliny. Doświadczenie stanowiły trzy powtórzenia biologiczne, z których każde zawierało dwie siewki. Doświadczenie oraz zbiór tkanki powtórzono trzykrotnie.

3.4.1. Pomiar fluorescencji chlorofilu *a*

Fluorescencję chlorofilu *a* mierzono za pomocą fluorymetru PocketPea (Hansatech Instruments Ltd., Wielka Brytania). Przed wykonaniem pomiaru, liście były adaptowane do ciemności przez 30 minut. Następnie liście były poddawane impulsowi świetlnemu (3500 $\mu mol/m^{-2}\ s^{-1}$) przez 1 sekundę. Fluorescencja chlorofilu *a* była analizowana przy pomocy testu JIP (Strasser i inni, 2004; Kalaji i inni, 2016). Otrzymana krzywa indukcji fluorescencji OJIP składała się z następujących faz: początkowego poziomu fluorescencji – O, fluorescencji w momencie 2 ms – J, fluorescencji w momencie 30 ms oraz maksymalnego poziomu fluorescencji – P. Na podstawie krzywej indukcji fluorescencji zostały obliczone parametry świadczące o efektywności przebiegu fotosyntezy, w tym wskaźnik funkcjonowania fotosystemu II (PSII) (performance index, PI_{ABS}) oraz maksymalna wydajność fotochemiczna PSII (maximum quantum yield of primary photochemistry, φP_0) (Strasser i inni, 2000).

3.4.2. Oznaczenie zawartości proliny

Zawartość proliny ($\mu mol\ g^{-1}$ świeżej masy) w liściach została oznaczona na podstawie metody kolorymetrycznej opisanej przez Carillo i Gibbon (2011).

1. Liście (0,02-0,05 g) zhomogenizowano w 70% roztworze etanolu.
2. Przygotowane próbki zostały umieszczone w 4°C na noc.
3. Próbki wirowano (14 000 g, 5 minut).
4. Zmieszano 500 µL otrzymanego ekstraktu z 1 ml ninhydryny (1%) rozpuszczonej w roztworze zawierającym lodowy kwas octowy (60%) i etanol (20%).
5. Próbki poddano inkubacji w 95°C przez 20 minut.
6. Próbki wirowano (11 000 g, 1 minuta).
7. Absorbancję, przy długości fali 520 nm, zmierzono przy pomocy urządzenia Victor X5 Multilabel Reader (PerkinElmer).

Koncentrację proliny obliczono korzystając z poniższego wzoru:

$$\text{Stężenie proliny} = \frac{\text{Abs}_{\text{extract}} - \text{blank}}{\text{slope}} \text{x} \frac{\text{Vol}_{\text{extract}}}{\text{Vol}_{\text{aliquot}}} \text{x} \frac{1}{\text{F}_{\text{w}}}$$

gdzie: $Abs_{extract}$ to absorbancja próbki, blank to absorbancja czystego roztworu ekstrakcyjnego, slope to współczynnik otrzymany na podstawie regresji liniowej krzywej kalibracyjnej, $Vol_{extract}$ to całkowita objętość ekstraktu roślinnego otrzymanego po roztarciu liści w 70% etanolu, $Vol_{aliquot}$ to objętość ekstraktu roślinnego, która została pobrana do analizy, F_w to świeża masa liścia.

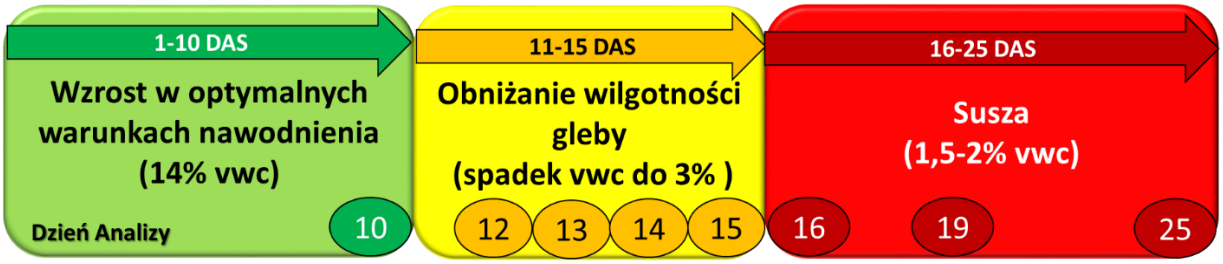
Krzywa kalibracyjna została sporządzona na podstawie absorbancji roztworów proliny o stężeniu 0,2 mM, 0,5 mM, 1 mM, 2 mM oraz 5 mM, dla których przeprowadzono powyżej opisaną procedurę.

3.5. Stres suszy

Ziarniaki jęczmienia odmiany ‘Sebastian’ oraz *hvabi5.d* zostały wyłożone na szalki Petriego o średnicy 90 mm, zawierające wilgotny wermikulit. W celu stratyfikacji szalki umieszczono w ciemności, w 4°C na 3 dni. Następnie szalki przeniesiono do szklarni (20/18°C dzień/noc, 16 godzin światła/8 godzin ciemności, 420 μE m^{-2} s^{-1} naświetlenia) na 4 dni w celu skiełkowania. Doświadczenie suszowe zostało przeprowadzone w skrzynkach balkonowych (400 x 140 x 175 mm) wypełnionych ziemią będącą mieszaniną piaszczystej gliny oraz piasku (7:2). Ziemia ta pochodziła z Instytutu Uprawy, Nawożenia i Gleboznawstwa (IUNG) w Puławach i odznaczała się wysoką zwartością fosforu i potasu, umiarkowaną ilością magnezu i niskim poziomem siarki. Chemiczna analiza wykazała, że stosowana mieszanka glebowa była wystarczająco zasobna we wszystkie składniki odżywcze. Przed rozpoczęciem eksperymentu ziemia była nawożona pożywką (**Aneks 1**). Do przygotowanych skrzynek z ziemią zostały przeniesione skiełkowane ziarniaki (15 na skrzynkę). Wilgotność gleby utrzymywano na poziomie 14% objętościowej zawartości wody (volumetric water content, vwc) w warunkach kontrolnych oraz na poziomie 1,5% w przypadku stresu suszy. Wilgotność gleby była codziennie monitorowana przy pomocy miernika wilgotności gleby metodą reflektometrii czasowej (time-domain reflectometer (TDR) EasyTest, Instytut Agrofizyki PAN, Polska). Rośliny odmiany wyjściowej ‘Sebastian’ oraz mutanta *hvabi5.d* wzrastały w szklarni przez 10 dni od wysiewu (Day After Sowing, DAS) w warunkach optymalnego uwodnienia gleby (14% vwc). Wilgotność gleby zaczęto obniżać w 11 DAS poprzez zaprzestanie podlewania, kontrolując zawartość wody w glebie przez pomiary przy użyciu miernika wilgotności. W 15 DAS, kiedy wilgotność gleby wynosiła 3%, a u roślin wyłaniał się drugi liść, doświadczenie przeniesiono do pokoju hodowlanego o warunkach 25/20°C dzień/noc, 16 godzin światła/8 godzin ciemności, 420 μmol m^{-2} s^{-1} naświetlenia. Stres suszy (1,5% vwc) trwał 10 dni (15-25

DAS). Równolegle do przeprowadzanego traktowania suszą, prowadzono również wzrost roślin kontrolnych w warunkach optymalnego nawodnienia (14% vwc), z zachowaniem tych samych warunków temperatury i oświetlenia. W 25 DAS wykonano pomiar parametru RWC zgodnie z procedurą opisaną poniżej (punkt 3.5.1).

W celu izolacji RNA zbierano tkankę z drugiego liścia z odmiany wyjściowej 'Sebastian' oraz *hvabi5.d* w warunkach optymalnego nawodnienia przed rozpoczęciem suszy (10 DAS), w trakcie obniżania wilgotności gleby (12, 13, 14, 15 DAS) oraz po suszy (16, 19, 25 DAS) i zamrażano w -80ºC. Zawartość antocyjanów, flawonoli, fluorescencja chlorofilu *a* oraz zawartość chlorofilu były mierzone w warunkach optymalnego nawodnienia przed rozpoczęciem suszy (10 DAS) oraz po suszy (25 DAS). Pomiar przewodnictwa szparkowego wykonano w warunkach optymalnego nawodnienia przed rozpoczęciem traktowania suszą (10 DAS), podczas obniżania wilgotności w glebie (13 i 15 DAS) oraz po suszy (25 DAS). W 25 DAS oznaczono RWC, wypływ elektrolitów (Electrolyte Leakage, EL) oraz endogenną zawartość ABA u roślin kontrolnych wzrastających w warunkach optymalnego nawodnienia równolegle do traktowania suszą oraz u roślin traktowanych suszą. Tkankę przeznaczoną do analizy endogennej zawartości ABA mrożono w -80ºC. Dokładny schemat doświadczenia suszowego wraz z wykonanymi pomiarami i zbiorem materiału w dniach analizy przedstawiono na **Rycinie 4**. Doświadczenie suszowe wykonano dla każdego genotypu w trzech powtórzeniach biologicznych. Jedno powtórzenie biologiczne stanowiła skrzynka zawierająca 15 roślin.



Rycina 4. Schemat przebiegu doświadczenia suszowego. Analizę zawartości antocyjanów, flawonoli, chlorofilu oraz pomiar fluorescencji chlorofilu *a* wykonano w warunkach optymalnego nawodnienia przed rozpoczęciem suszy (10 DAS) oraz po suszy (25 DAS). Parametr RWC, EL oraz endogenną zawartość ABA zmierzono w 25 DAS, u roślin kontrolnych wzrastających w warunkach optymalnego nawodnienia równolegle do traktowania suszą oraz u roślin traktowanych suszą. Pomiar przewodnictwa szparkowego przeprowadzono w warunkach optymalnego nawodnienia przed rozpoczęciem suszy (10 DAS), podczas obniżania wilgotności w glebie (13 i 15 DAS) oraz po suszy (25 DAS). We wszystkich

wskazanych punktach zbierano tkankę do izolacji RNA z siewek odmiany ‘Sebastian’ i mutanta *hvabi5.d*. Globalną analizę transkryptomu wykonano w 10, 15 oraz 25 DAS.

3.5.1. Pomiar względnej zawartości wody (Relative Water Content, RWC)

Parametr RWC zmierzono przy użyciu drugiego liścia pobranego w ostatnim dniu doświadczenia suszowego (25 DAS). Parametr RWC został obliczony zgodnie z poniższym równaniem:

$$\mathrm{RWC} = \frac{\mathrm{F_w} - \mathrm{D_w}}{\mathrm{T_w} - \mathrm{D_w}} \mathrm{x}\ 100\%$$

gdzie: F_w oznacza świeżą masę zebranego liścia, T_w oznacza masę liścia w pełnym turgorze, tj. po rehydratacji liścia przeprowadzonej poprzez zanurzenie go w wodzie destylowanej w ciemności przez 24 godziny, D_w oznacza suchą masę liścia po wysuszeniu go w 60°C przez 48 godzin.

Pomiar RWC wykonano w trzech powtórzeniach biologicznych, z których każde składało się z trzech liści pochodzących z trzech niezależnych roślin.

3.5.2. Analiza względnego wypływu elektrolitów (Electrolyte Leakage, EL)

Parametr EL oznaczono dla roślin rosnących w warunkach suszowych oraz optymalnego nawodnienia w 25 DAS, na podstawie procedury opisanej przez Bandurską i Gniazdowską-Skoczek (1995). Część środkową drugiego liścia pocięto na kawałki o długości ok. 1 cm, które trzy razy przepłukano w wodzie dejonizowanej i umieszczono w 10°C na 24 godziny. Po upływie tego czasu próbki umieszczono w temperaturze pokojowej i wykonano pomiar przewodności za pomocą konduktometru (CPC-505, Elmetron, Polska). Następnie próbki poddano autoklawowaniu (121ºC, 15 minut) w celu całkowitego zniszczenia struktur komórkowych i ponownie zmierzono ich przewodność po ochłodzeniu do temperatury pokojowej. Parametr EL obliczono na podstawie poniższego równania:

$$\mathrm{EL\ (\%\ wstępnego\ pomiaru)} = \left[1 - \frac{(1-\frac{\mathrm{D1}}{\mathrm{D2}})}{(1-\frac{\mathrm{C1}}{\mathrm{C2}})}\right] \mathrm{x}\ 100\%$$

gdzie: D1 oraz C1 to wstępne pomiary przewodności dla liści zebranych odpowiednio, po traktowaniu suszą oraz po wzroście w warunkach optymalnego nawodnienia, a D2 oraz C2 to pomiary przewodności wykonane po autoklawowaniu tych próbek.

Pomiar EL wykonano w trzech powtórzeniach biologicznych, każde z nich obejmowało trzy liście pochodzące z trzech, niezależnych siewek.

3.5.3. Pomiar zawartości flawonoli, antocyjanów oraz chlorofilu

Zawartość flawonoli, antocyjanów oraz chlorofilu oznaczono za pomocą urządzenia Dualex Scientific+TM (Force-A, Francja). Pomiary przeprowadzono na drugim liściu w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS) oraz po suszy (25 DAS). Dla każdego genotypu zawartość flawonoli, antocyjanów oraz chlorofilu zmierzono w trzech powtórzeniach biologicznych, z których każde obejmowało cztery, niezależne siewki.

3.5.4. Pomiar przewodnictwa szparkowego

Przewodnictwo szparkowe (mmol m^{-2} s^{-1}) zostało zmierzone przy pomocy porometru AP4 (DELTA-T Devices, Burwell, Wielka Brytania). Pomiary zostały wykonane w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), podczas obniżania wilgotności w glebie (13 i 15 DAS) oraz po suszy (25 DAS), z wykorzystaniem centralnej części drugiego liścia w godzinach okołopołudniowych, w momencie najwyższego otwarcia aparatów szparkowych. Dla każdego genotypu analizowano trzy powtórzenia biologiczne, a każde powtórzenie biologiczne składało się z pomiarów dla trzech liści pochodzących z trzech, niezależnych roślin.

3.5.5. Pomiar endogennej zawartości ABA

Endogenną zwartość ABA (µg g^{-1} świeżej masy) oznaczono w 25 DAS dla drugiego liścia pochodzącego z roślin wzrastających w warunkach optymalnego nawodnienia oraz w obecności suszy, za pomocą metody opisanej przez Nakurte i innych (2012):

1. Tkankę liścia (0,2-0,3 g) roztarto w 1 ml metanolu.
2. Otrzymany ekstrakt zwirowano (4 000 g, 10 minut).
3. Odparowano supernatant do objętości mniejszej niż 1/10 początkowej objętości.
4. Pozostałość rozpuszczono w roztworze 1% kwasu octowego (2,5 ml/g świeżej masy) i przefiltrowano z wykorzystaniem filtra o rozmiarze pora 0,2 µm.
5. Ekstrakt frakcjonowano z wykorzystaniem kolumienek Supelco Supelclean™ LC-18 SPE przedtraktowanych 2,5 ml metanolu oraz 2,5 ml 1M kwasu octowego.
6. Próbki załadowano na kartridże do chromatografii, kolumny przemyto 2,5 ml 1M kwasu octowego oraz 2,5 ml metanolu.
7. Frakcję metanolu odparowano do suchości i rozpuszczono próbki w 200 µL fazy ruchomej (metanol:1% kwas octowy, 60:40 v/v).

Tak przygotowane próbki poddano chromatografii cieczowej. Do wykonania chromatografii cieczowej wykorzystano modułowy chromatograf do wysokosprawnej

chromatografii cieczowej (HPLC system, Shimadzu, Japonia) z detektorem z matrycą fotodiodową SPD-M20A oraz kolumny Kinetex™ C18 (4.6 × 250 mm, 5 µm) (Phenomenex). Objętość nastrzyku wynosiła 20 µL. Chromatografia cieczowa została przeprowadzona w trybie elucji izokratycznej przy przepływie 1 ml min^{-1}. Do oceny wyników zastosowano oprogramowanie LabSolutions (Shimadzu, Japonia). Endogenną zwartość ABA oznaczono w trzech powtórzeniach biologicznych, z których każde obejmowało liście z trzech, niezależnych siewek.

3.6. Oprysk ABA

Doświadczenie zostało przeprowadzone na podstawie metody zaproponowanej przez Al-Momany i Abu Roman (2014). Ziarniaki odmiany 'Sebastian' oraz mutanta *hvabi5.d* wysiano pojedynczo do doniczek (85 x 85 mm) wypełnionych ziemią. Wzrost siewek prowadzono w pokoju hodowlanym o warunkach 20°C, 16 godzin światła/8 godzin ciemności, 200 µmol m^{-2} s^{-1} naświetlenia. 10-dniowe siewki, które wzrastały w warunkach optymalnego nawodnienia, poddano opryskowi. Każda doniczka została opryskana 25 ml wody destylowanej (kontrola) lub roztworem 200 µM ABA sporządzonym w wodzie destylowanej. Przewodnictwo szparkowe (mmol m^{-2} s^{-1}) zmierzono po 30 minutach, 3 godzinach oraz 6 godzinach od oprysku, przy pomocy porometru AP4 (DELTA-T Devices, Burwell, Wielka Brytania). We wskazanych punktach czasowych zebrano również tkankę z drugiego liścia odmiany wyjściowej oraz *hvabi5.d* i zamrożano w -80ºC w celu izolacji RNA. Doświadczenie wykonano w pięciu powtórzeniach biologicznych, każde powtórzenie stanowił liść niezależnej siewki.

3.7. Izolacja RNA

RNA izolowano z drugiego liścia (50-100 mg) odmiany wyjściowej 'Sebastian' oraz *hvabi5d*. Analizowany materiał pochodził z doświadczenia suszowego (10, 12, 13, 14, 15, 16, 19 oraz 25 DAS), a także z doświadczenia oprysku ABA (0 min, 30 min, 3h oraz 6 h). W celu globalnej analizy ekspresji genów oraz analizy ekspresji genów związanych z *HvABI5* i szlakiem ABA, RNA izolowano przy pomocy odczynnika TriPure (Roche) na podstawie metody Chomczyńskiego (Chomczyński i Sacchi, 1987):

1. Tkankę rozcierano w 1 ml odczynnika TriPure.
2. Próbki poddano inkubacji w temperaturze pokojowej przez 5 minut.
3. Do próbek dodano 0,2 ml chloroformu, zworteksowano je i poddano inkubacji w temperaturze pokojowej przez 2-3 minuty.
4. Próbki wirowano przy 11500 g w 4˚C przez 15 minut.

5. Otrzymana faza wodna została przeniesiona do nowych próbówek.
6. Do próbek dodano 0,5 ml izopropanolu w celu strącenia RNA, a następnie poddano je inkubacji w temperaturze pokojowej przez 10 minut.
7. Próbki wirowano przy 11500 g w 4˚C przez 10 minut.
8. Usunięto supernatant i przepłukano osad w 1 ml 75% etanolu.
9. Próbki worteksowano i wirowano przy 7000 g w 4˚C przez 5 minut.
10. Usunięto supernatant i wysuszono próbki poprzez inkubację w 37˚C przez 25-30 minut.
11. Osad zawieszono w 50 µL wody z DEPC i inkubowano próbki w 55ºC przez 10 minut.
12. Próbki przechowywano w -80ºC.

RNA przeznaczone do analizy mikromacierzowej było dodatkowo oczyszczane poprzez strącanie 1 M chlorkiem litu i zawieszane ponownie w 15 µL wody wolnej od nukleaz.

W celu analizy ekspresji genów potencjalnie regulowanych przez HvABI5, RNA izolowano za pomocą komercyjnego kitu mirVana™ miRNA Isolation Kit (ThermoFisher Scientific) według protokołu producenta.

Próbki przechowywano w -80ºC. Koncentrację oraz czystość wyizolowanego RNA zmierzono za pomocą spektrofotometru NanoDrop ND-1000 (NanoDrop Technologies, Wilmington, USA) przy długości fali 260 nm. RNA było uznawane za odpowiedniej jakości, gdy stosunek absorbancji 260/280 wynosił 1,8–2,2. Dodatkowo, integralność RNA przeznaczonego do analizy mikromacierzowej oznaczano za pomocą Bioanalizatora 2100 (Agilent Technologies, Santa Clara, USA) wyposażonego w Nano chip RNA 6000. RNA izolowano w trzech powtórzeniach biologicznych, przy czym każde powtórzenie biologiczne stanowił liść pochodzący z jednej rośliny.

3.8. Synteza cDNA i ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy (RT-qPCR)

Syntezę cDNA przeprowadzono za pomocą komercyjnego kitu ReverseAid First Strand cDNA Synthesis Kit (ThermoFisher Scientific) oraz termocyklera T-Gradient (Biometra) według protokołu:

1. Do 1 µg RNA dodano 1 µL DN-azy (Promega), 1 µL buforu dla DN-azy oraz wodę wolną od nukleaz w ilości dopełniającej mieszaninę reakcyjną do 10 µL.
2. Próbki poddano inkubacji w 37°C przez 30 minut.
3. Do próbek dodano 1 µL buforu STOP (Promega).
4. Próbki poddano inkubacji w 65°C przez 10 minut.

5. Z próbek pobrano 6 µL i dodano do mieszaniny zawierającej 2 µL oligo(dT) i 16 µL ddH_2O. Próbki pomieszano i krótko zwirowano.
6. Próbki poddano inkubacji w 70°C przez 5 minut, a następnie schłodzono je bezpośrednio na lodzie, krótko zwirowano i znów umieszczono na lodzie.
7. Do próbek dodano 8 µL buforu reakcyjnego 5x (Thermo Scientific), 4 µL dNTPs, 2 µL Ribolock (inhibitor RN-az) oraz 2 µL odwrotnej transkryptazy.
8. Próbki krótko zwirowano i inkubowano w 42°C przez 1 godzinę, a następnie w 72°C przez 10 minut.
9. Próbki przechowywano w -20ºC.

Otrzymane cDNA rozcieńczono wodą pozbawioną nukleaz w stosunku 1:5 w celu przygotowania matrycy do przeprowadzenia reakcji RT-qPCR. Startery do reakcji RT-qPCR projektowano z użyciem oprogramowań Quant-Prime (http://www.quantprime.de/) oraz Primer3 (https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/), a ich sekwencje umieszczono w **Aneksie 2**.

Mieszanina reakcyjna była złożona z:

- 5 µL LightCycler® 480 SYBR Green I Master, 2x concentrated
- 1 µL mieszaniny starterów Forward oraz Reverse w stosunku 1:1 o stężeniu 10 pmol/µL.
- 1,5 µL wody wolnej od nukleaz
- 2,5 µL cDNA

Mieszaninę reakcyjną składano w płytce 96-dołkowej (LightCycler® 480 Multiwell Plate 96, white), którą następnie zaklejano folią i wirowano przy 700 g przez 2 minuty. Reakcje RT-qPCR wykonano z użyciem urządzenia LightCycler 480 Real-Time PCR Instrument (Roche). Profil temperaturowy reakcji był następujący:

1. Wstępna denaturacja: 95°C – 5 minut
2. Denaturacja: 95°C – 10 sekund
3. Asocjacja: 60°C – 20 sekund
4. Elongacja: 72°C – 10 sekund

Kroki 2-4 były powtórzone w 45 cyklach.

Otrzymane wyniki analizowano za pomocą oprogramowania LinReq (Ramakers i inni, 2003). Ekspresja każdej próbki była znormalizowana względem aktywności genów

referencyjnych *ELONGATION FACTOR 1-α* (*EF1*) oraz *GLYCERALDEHYDE-3-PHOSPHATE DEHYDROGENASE* (*GAPDH*) (Rapacz i inni, 2012). Relatywny poziom ekspresji został obliczony zgodnie z metodą delta-delta C_t (Livak i Schmittgen, 2001). W przypadku analiz ekspresji przedstawionych w rozdziałach 4.5.3., 4.6. oraz 4.9. do normalizacji wyników wykorzystano poziom ekspresji dla genu referencyjnego oraz genu zainteresowania u odmiany wyjściowej 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS) lub w warunkach kontrolnych. Wyniki badań ekspresji, które przedstawiono w rozdziale 4.12., normalizowano względem poziomu ekspresji dla genu referencyjnego oraz genu zainteresowania u odmiany wyjściowej 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS) lub w warunkach kontrolnych w przypadku analiz odmiany rodzicielskiej lub względem poziomu ekspresji dla genu referencyjnego oraz genu zainteresowania u *hvabi5.d* w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS) lub w warunkach kontrolnych w przypadku analiz mutanta. Wartość C_t (treshold cycle) odpowiada cyklowi reakcji, w którym zaobserwowano pierwszy, istotny przyrost produktu podczas RT-qPCR. Cykl C_t jest wyznaczany na podstawie emitowanego poziomu fluorescencji. Na podstawie otrzymanych wartości C_t obliczono wartość $\Delta\Delta C_t$, a następnie relatywny poziom ekspresji zgodnie z równaniami:

$$\Delta\Delta C_t = (C_{t\,\text{Target}} - C_{t\,\text{Referencja}})_{\text{Analizowany wariant}} - (C_{t\,\text{Target}} - C_{t\,\text{Referencja}})_{\text{Kontrola}}$$

$$\text{Relatywny poziom ekspresji} = 2^{-\Delta\Delta C_t}$$

gdzie $C_{t\,\text{Target}}$ oznacza wartość C_t dla genu zainteresowania, $C_{t\,\text{Referencja}}$ oznacza wartość C_t dla genu referencyjnego. Tym samym w przypadku badań opisanych w rozdziałach 4.5.3., 4.6. oraz 4.9. kontrolę stanowiły wartości C_t dla genu referencyjnego oraz genu zainteresowania u odmiany wyjściowej 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia/warunkach kontrolnych. Dla badań przedstawionych w rozdziale 4.12. kontrolę stanowiły wartości C_t dla genu referencyjnego oraz genu zainteresowania u odmiany wyjściowej 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia/warunkach kontrolnych w przypadku analiz odmiany rodzicielskiej lub wartości C_t dla genu referencyjnego oraz genu zainteresowania u *hvabi5.d* w warunkach optymalnego nawodnienia/warunkach kontrolnych w przypadku badań mutanta

Analizę RT-qPCR wykonano w trzech powtórzeniach biologicznych, każda próbka była analizowana w dwóch powtórzeniach technicznych.

3.9. Globalna analiza transkryptomu

3.9.1. Analiza danych mikromacierzowych

Synteza, znakowanie oraz hybrydyzacja cDNA i cRNA została wykonana w Genomics Core Facility, European, Molecular Biology Laboratory (EMBL), (Heidelberg, Niemcy) z wykorzystaniem mikromacierzy Agilent dla jęczmienia (Barley Gene Expression Microarray) zawierających 44000 sond. Otrzymane dane zostały przeanalizowane za pomocą oprogramowania GeneSpring GX 13.0 (Agilent Technologies). Istotność statystyczną otrzymanych wyników sprawdzono za pomocą testu t-Studenta w przypadku genów ulegających zróżnicowanej ekspresji w 10 DAS lub za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) z zastosowaniem poprawki Benjamini-Hochberga (False Discovery Rate, FDR) dla testowania wielokrotnych porównań w przypadku genów ulegających zróżnicowanej ekspresji w 15 oraz 25 DAS . Gen wykazywał zróżnicowaną ekspresję po zastosowanym stresie suszy, jeśli poziom ekspresji różnił się przynajmniej dwa razy pomiędzy 10 DAS i 15 DAS (po 5-dniowej adaptacji do suszy) lub pomiędzy 10 DAS i 25 DAS (po 5-dniowej adaptacji i 10-dniowym traktowaniu suszą) (fold change, FC $\geq$ 2; P $\leq$ 0,05 po poprawce FDR). Adnotację zidentyfikowanych sond przeprowadzono z wykorzystaniem genomu jęczmienia IBSC_v2 dostępnego w bazie danych Ensembl Plants (wersja 45). Funkcjonalną adnotację zidentyfikowanych genów wykonano przy pomocy danych dostępnych na platformie Ensembl Plants (https://plants.ensembl.org/index.html) oraz przy pomocy serwera IPK Barley BLAST (https://webblast.ipk-gatersleben.de/barley_ibsc/). Globalną analizę transkryptomu wykonano w trzech powtórzeniach biologicznych, z których każde stanowiło liść jednej siewki.

3.9.2. Analiza ontologii genów

Analizę ontologii genów (GO, Gene Ontology) wykonano za pomocą oprogramowania AgriGO 2.0 (http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/) w celu identyfikacji funkcjonalnych ontologii dla genów zidentyfikowanych jako wykazujące zróżnicowaną ekspresję (Differentially Expressed Genes, DEGs) oraz w celu wyodrębnienia biologicznych procesów, które były nadreprezentowane w analizowanych grupach DEGs. Oprogramowanie AgriGO 2.0 wskazuje istotnie statystyczne terminy GO występujące w grupie analizowanych genów w porównaniu do częstotliwości występowania tych GO w genomie referencyjnym. Istotność statystyczną zidentyfikowanych terminów GO oceniono na podstawie rozkładu hipergeometrycznego z zastosowaniem poprawki Bonferroniego dla testowania wielokrotnych porównań (P $\leq$ 0,01).

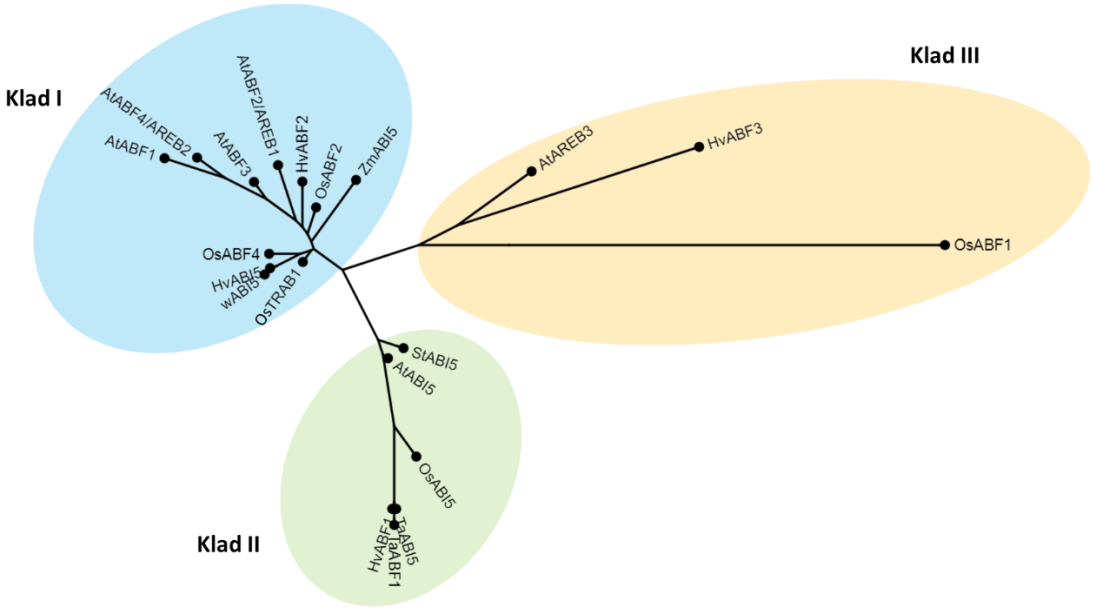
3.10. Analiza sekwencji promotorowych pod względem obecności miejsc rozpoznawanych przez ABI5

Analizę promotorów genów związanych ze szlakiem ABA oraz zidentyfikowanych podczas analizy mikromacierzy wykonano za pomocą programów PlantPan 3.0 (http://plantpan.itps.ncku.edu.tw/promoter.php) oraz PlantRegMap (http://plantregmap.gao-lab.org/). Analizowane sekwencje promotorowe obejmowały 1000 par zasad znajdujących się przed kodonem START.

4. Wyniki

4.1. Analiza filogenetyczna HvABI5 oraz jego homologów

W celu predykcji funkcji czynnika transkrypcyjnego HvABI5 oraz scharakteryzowania jego podobieństwa z innymi, ABA-zależnymi czynnikami transkrypcyjnymi z grupy bZIP, przeprowadzono analizę filogenetyczną sekwencji białkowej HvABI5 (HORVU5Hr1G068230) oraz wybranych homologów, które zostały zidentyfikowane u Arabidopsis, ziemniaka, ryżu, pszenicy oraz kukurydzy. Na podstawie przeprowadzonych analiz za pomocą oprogramowania Phylogeny.fr (http://www.phylogeny.fr/) wyodrębniono trzy klady (**Rycina 5**). HvABI5 grupował się w jednym kladzie z innym jęczmiennym czynnikiem transkrypcyjnym, HvABF2 (HORVU7Hr1G035500), z większością białek AtABF/AREB Arabidopsis oraz z homologami zidentyfikowanymi u ryżu OsTRAB1 (Os08t0472000), OsABF2 (Os06t0211200) i OsABF4 (Os09g0456200), wABI5 (TraesCS5A02G237200) u pszenicy i ZmABI5 (Zm00001d018178) u kukurydzy. W obrębie tego kladu HvABI5 grupował się najbliżej z białkiem pszenicy wABI5 oraz dwoma białkami ryżu OsABF4 i OsTRAB1. Zwraca uwagę fakt, że AtABI5 zidentyfikowany u Arabidopsis tworzył inną grupę wraz z HvABF1 (HORVU3Hr1G084360) u jęczmienia, OsABI5 (Os01t0859300) u ryżu, TaABI5 (TraesCS3D02G364900) i TaABF1 (TraesCS3A02G371800) u pszenicy oraz StABI5 (PGSC0003DMG400002660) u ziemniaka.

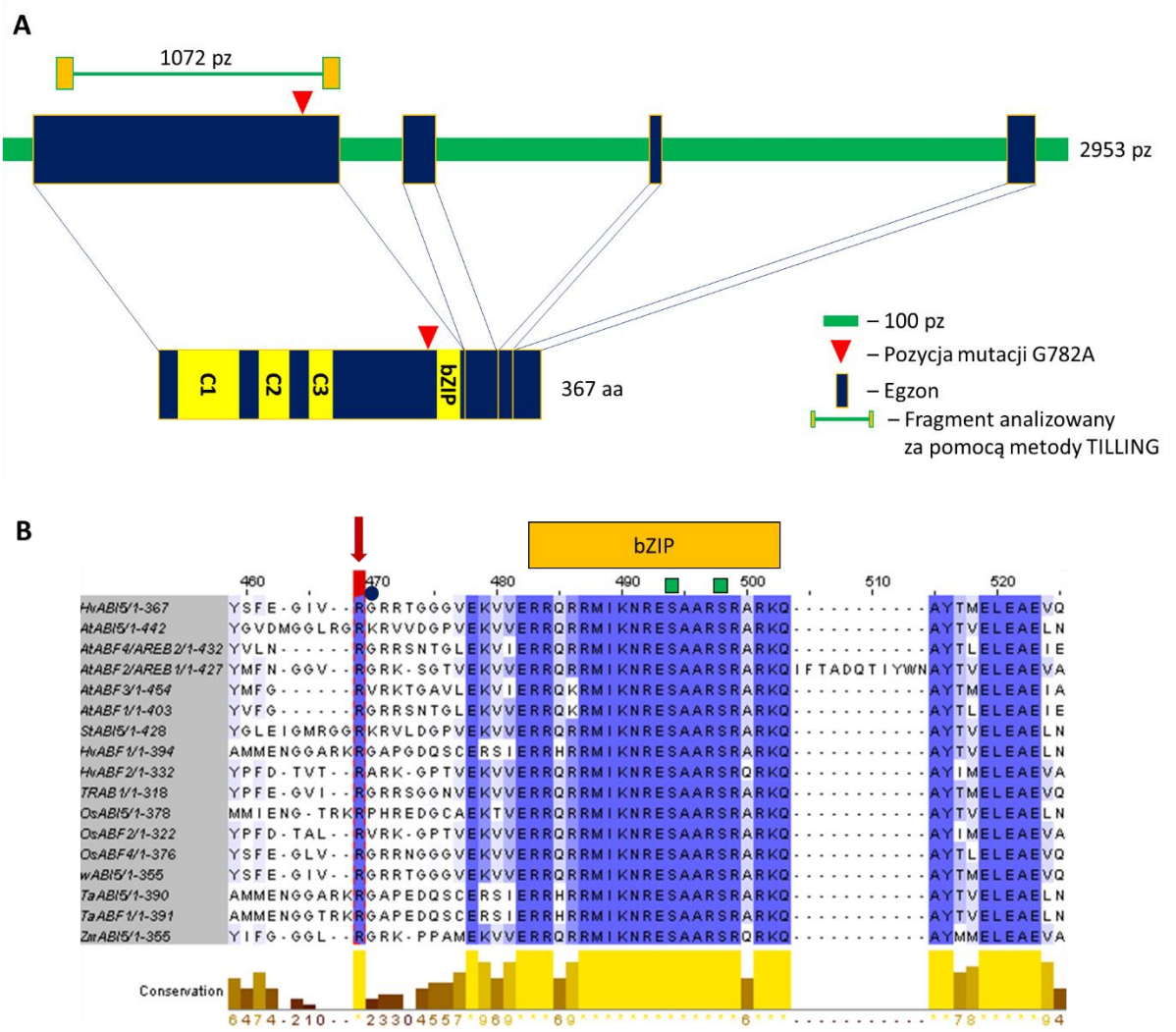


Rycina 5. Drzewo filogenetyczne przedstawiające zależności pomiędzy HvABI5 oraz jego homologami u roślin jedno- oraz dwuliściennych. Analiza filogenetyczna została przeprowadzona przy pomocy oprogramowania Phylogeny.fr (http://www.phylogeny.fr/).

Ponadto, przeprowadzono analizę podobieństwa sekwencji HvABI5 oraz badanych homologów z wykorzystaniem programu Clustal Omega (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) (**Aneks 3**). HvABI5 wykazywał najwyższe podobieństwo do sekwencji białkowych wABI5 (94,3%), OsABF4 (73,2%), OsTRAB1 (62,4%), OsABF2 (56,7%) oraz ZmABI5 (56,4%) u roślin jednoliściennych. Jednocześnie u Arabidopsis, najbardziej podobne do HvABI5 były sekwencje AtABF4/ABRE2 (52,7%), ABF2/AREB4 (51,3%) i AtABF3 (50,2%). Należy jednak podkreślić, że AtABI5 wykazywał również wysoki stopień podobieństwa (41,6%) do HvABI5. Otrzymane wyniki nie pozwoliły na wskazanie konkretnego ortologa HvABI5 u Arabidopsis. Niemniej, prezentowane poniżej wyniki analiz fizjologicznych, otrzymane dla mutanta *hvabi5.d* w toku prac w ramach niniejszej pracy badawczej, świadczą o jego fenotypie związanym z odpowiedzią na ABA oraz z tolerancją na suszę, czego nie obserwowano w większości przypadków u pojedynczych mutantów *atabf*/*areb* u Arabidopsis. Pomimo wyższego podobieństwa HvABI5 do białek z grupy AtABF/AREB w porównaniu do AtABI5 u Arabidopsis, zdecydowano o zachowaniu nazwy HvABI5 dla białka kodowanego przez gen HORVU5Hr1G068230 (Ensembl Plants) również ze względu na przyjętą we wcześniejszych badaniach nomenklaturę (Casaretto i Ho, 2003; Casaretto i Ho, 2005; Seiler i inni, 2014; Ishibashi i inni, 2017). Biorąc pod uwagę powyższe dane dla opisywanego ABA-zależnego regulatora odpowiedzi na suszę u jęczmienia będącego przedmiotem analiz w niniejszej rozprawie doktorskiej, zachowano nazwę HvABI5.

4.2. Identyfikacja mutanta *hvabi5.d*

Mutant *hvabi5.d* został zidentyfikowany w ramach wcześniejszych badań Katedry Genetyki w obrębie populacji *Hor*TILLUS za pomocą metody TILLING. Podczas wstępnych analiz RWC po suszy mutant *hvabi5.d* odznaczał się wyższą wartością tego parametru niż jego odmiana wyjściowa ‘Sebastian’. U mutanta *hvabi5.d* zidentyfikowano mutację typu tranzycja G1751A (pozycja dla sekwencji genu *HvABI5*, HORVU5Hr1G068230, zdeponowanej w Ensembl Plants), która powoduje substytucję argininy do lizyny w pozycji 274 (R274K). Aminokwas, który uległ substytucji w wyniku mutacji znajduje się w bezpośrednim sąsiedztwie domeny bZIP (**Rycina 6A**) i odznacza się wysokim stopniem konserwowania zarówno u gatunków jedno- oraz dwuliściennych (**Rycina 6B,** kompletną analizę przyrównania wielu sekwencji przedstawiono w **Aneksie 4**). Ponadto, analizowana mutacja jest w bezpośrednim sąsiedztwie lizyny, która podlega ubikwitynacji (K344) u AtABI5 (Liu i Stone, 2013).

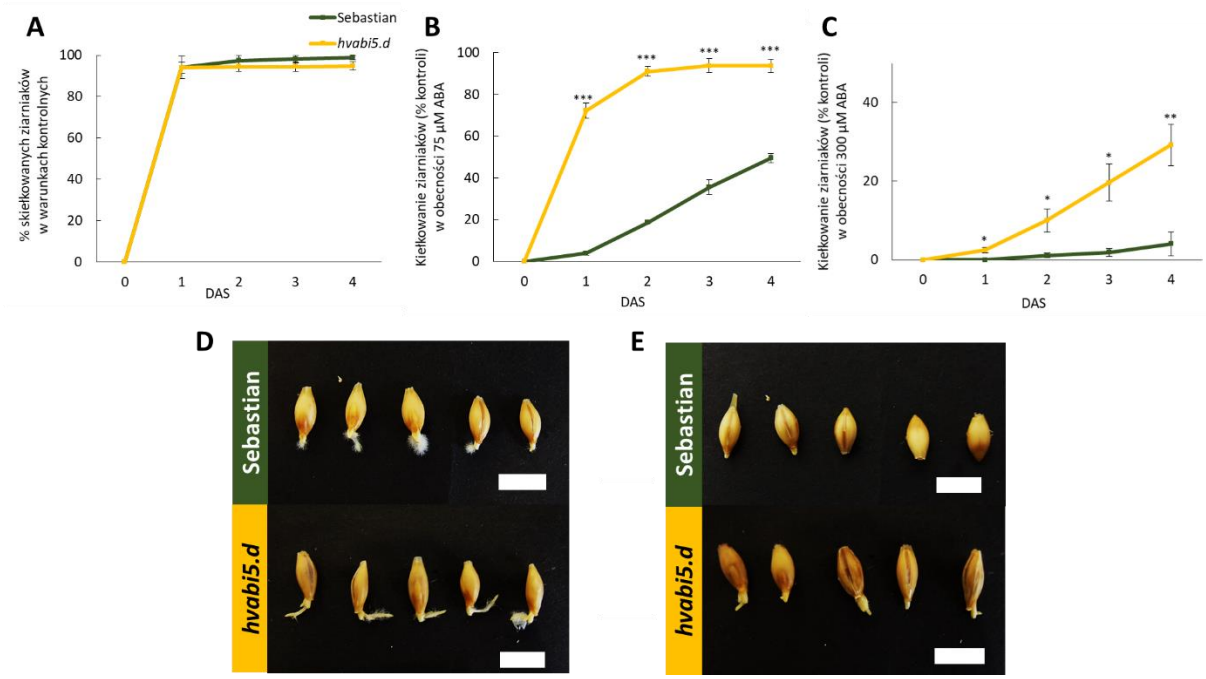


Rycina 6. Pozycja mutacji zidentyfikowanej u mutanta *hvabi5.d*. **(A)** Lokalizacja pozycji mutacji zidentyfikowanej u mutanta *hvabi5.d* w obrębie genu *HvABI5* oraz białka HvABI5. C1, C2, C3 – domeny konserwowane, bZIP – domena zamka leucynowego, pz – pary zasad, aa (amino acids) – aminokwasy. (**B**) Fragment analizy dopasowania wielu sekwencji dla białek z grupy ABI5 oraz ABF/AREB, który obejmuje pozycję mutacji niesionej przez mutanta *hvabi5.d* (czerwona strzałka). Kółko oraz kwadraty oznaczają odpowiednio, miejsca podlegające ubikwitynacji oraz fosforylacji. Niebieski kolor wskazuje na konserwowanie pozycji zgodnie z analizą dopasowania wielu sekwencji, natomiast żółte słupki wskazują na poziom tego konserwowania. Numeracja zmieszczona powyżej przedstawionej ryciny odnosi się analizy dopasowania 17 sekwencji białkowych z grupy ABI5 i ABF/AREB. Tym samym nie wskazuje ona zmutowanej pozycji u mutanta *hvabi5.d.*

4.3. Kiełkowanie mutanta *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ w obecności ABA

Biorąc pod uwagę, że mutanty *Atabi5* są niewrażliwe na ABA, sprawdzono, czy mutant jęczmienia *hvabi5.d* również wykazuje podobny fenotyp. W warunkach kontrolnych, proces kiełkowania zarówno u mutanta *hvabi5.d*, jak i odmiany wyjściowej ‘Sebastian’ przebiegał

w podobnym tempie (**Rycina 7A**). W obecności ABA dla badanego mutanta obserwowano znacznie wyższy stopień skiełkowanych ziarniaków w porównaniu do odmiany ‘Sebastian’. W przypadku 75 µM ABA, w 4 dniu po stratyfikacji ziarniaki odmiany ‘Sebastian’ kiełkowały w 50% w odniesieniu do kontroli, podczas gdy u *hvabi5.d* nie obserwowano zahamowania kiełkowania (**Rycina 7B, D**). Zastosowanie 300 µM ABA spowodowało prawie całkowite zatrzymanie kiełkowania u odmiany wyjściowej, podczas gdy ziarniaki *hvabi5.d* kiełkowały w 30% (% kontroli) w 4 dniu po stratyfikacji (**Rycina 7C, E**).



Rycina 7. Kinetyka kiełkowania ziarniaków *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ w warunkach kontrolnych **(A)** oraz w obecności 75 µM ABA **(B)** i 300 µM ABA **(C)** przedstawiona jako procent (%) obliczony w stosunku do ziarniaków kiełkujących w warunkach kontrolnych. DAS (Day After Stratification) - dzień po stratyfikacji. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy badanymi genotypami w obecności ABA zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$. **(D)** Ziarniaki odmiany ‘Sebastian’ oraz *hvabi5.d* skiełkowane w obecności 75 µM ABA oraz **(E)** 300 µM ABA w ostatnim dniu analizy, skala - 1 cm.

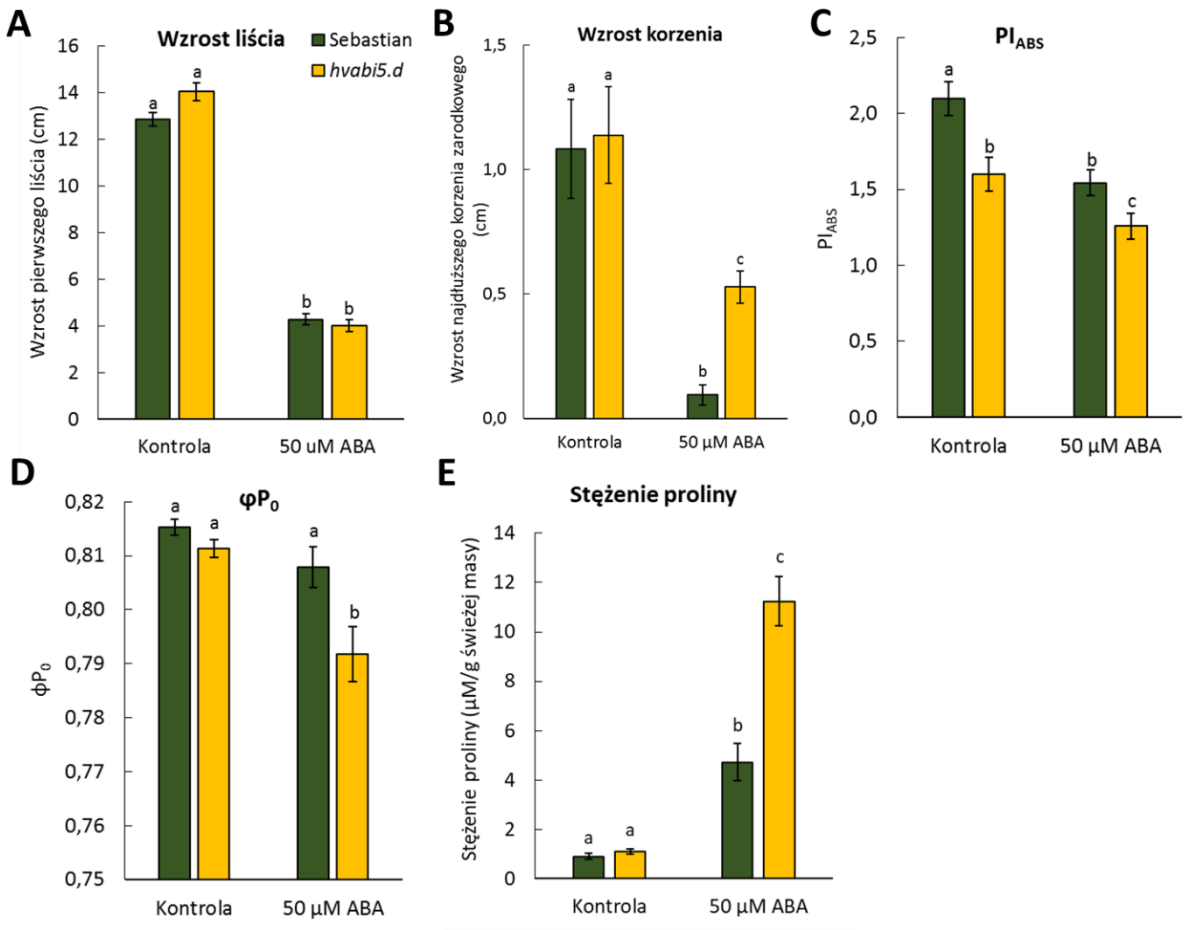
4.4. Analiza rozwoju siewek oraz przebiegu fotosyntezy u *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ w obecności ABA

Niewrażliwość mutanta *hvabi5.d* na ABA w stadium kiełkowania pozwoliła przypuszczać, że odpowiedź *hvabi5.d* na ABA jest również zmieniona podczas wczesnego rozwoju siewki. Aby zweryfikować tę hipotezę 4-dniowe siewki poddano traktowaniu ABA o stężeniu 50 µM przez 6 dni w warunkach hydroponicznych (opis metody został przedstawiony w rozdziale

3.4.). W obecności ABA wzrost pierwszego liścia był zahamowany u obu testowanych genotypów, ale nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy nimi zarówno w warunkach kontrolnych, jak i po traktowaniu (**Rycina 8A**). W warunkach kontrolnych mutant oraz odmiana ‘Sebastian’ nie różniły się pod względem długości najdłuższego korzenia zarodkowego. Traktowanie ABA hamowało wzrost korzenia u obu genotypów, jednak w przypadku *hvabi5.d* obserwowano zdecydowanie słabszą inhibicję wzrostu korzenia niż w przypadku odmiany ‘Sebastian’ (**Rycina 8B**).

ABA negatywnie wpływa na przebieg fotosyntezy (Asad i inni, 2019) więc postanowiono przeanalizować efektywność przebiegu tego procesu u siewek *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ pochodzących z opisanego wyżej eksperymentu. W tym celu zmierzono fluorescencję chlorofilu *a* i zastosowano test JIP w celu analizy otrzymanych wyników (Strasser i inni, 2004). Otrzymane krzywe indukcji fluorescencji OJIP wykorzystano do obliczenia parametrów świadczących o przebiegu fotosyntezy. Skupiono się na analizie parametrów PI_{ABS} oraz φP_0 oznaczających odpowiednio, wskaźnik funkcjonowania fotosystemu II (PSII) (performance index, PI_{ABS}) oraz maksymalną wydajność fotochemiczną PSII (maximum quantum yield of primary photochemistry, φP_0). W warunkach kontrolnych, dla *hvabi5.d* stwierdzono niższą wartość parametru PI_{ABS} w porównaniu do odmiany ‘Sebastian’, natomiast nie zaobserwowano różnic pomiędzy badanymi genotypami w przypadku φP_0. Traktowanie ABA spowodowało dalsze obniżenie wartości parametru PI_{ABS} oraz niższą wartość parametru φP_0 u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany wyjściowej (**Rycina 8C, D**). Otrzymane wyniki świadczą o obniżonej efektywności przebiegu fotosyntezy u badanego mutanta w warunkach prowadzonego doświadczenia.

W siewkach wzrastających w obecności ABA sprawdzono również poziom proliny będącej osmoprotektantem, który zapewnia dostosowanie osmotyczne roślinom rosnącym w obecności stresu. W warunkach kontrolnych nie stwierdzono istotnych różnic w zawartości proliny pomiędzy analizowanymi genotypami. Obecność ABA indukowała gromadzenie się proliny u obu badanych genotypów, jednak jej poziom był dwukrotnie wyższy u badanego mutanta (**Rycina 8E**).



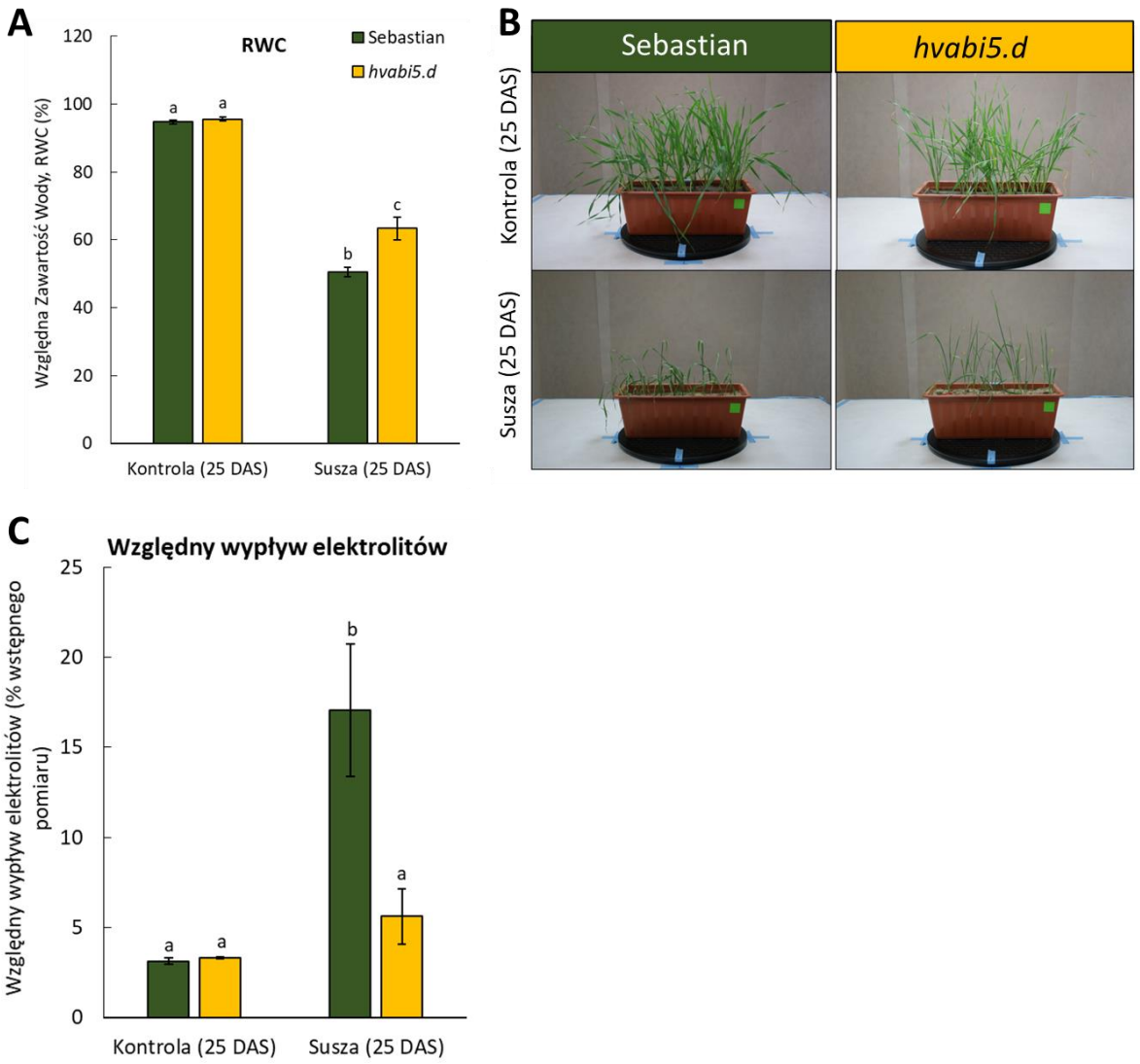
Rycina 8. Odpowiedź *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' na obecność ABA w stadium wczesnego rozwoju siewki. **(A)** Wzrost pierwszego liścia, **(B)** Wzrost najdłuższego korzenia zarodkowego, **(C)** wskaźnik funkcjonowania PSII (PI_{ABS}), **(D)** maksymalna wydajność fotochemiczna PSII (φP_0) i **(E)** stężenie proliny siewek *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' rosnących w warunkach kontrolnych oraz w obecności ABA (50 µM). Analizę statystyczną wykonano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) oraz testu HSD Tukeya (Tukey honest significant difference (HSD) test). Istotne statystycznie różnice pomiędzy różnymi warunkami wzrostu oraz pomiędzy analizowanymi genotypami zaznaczono za pomocą różnych liter ($P \leq 0,05$).

4.5. Analiza odpowiedzi siewek *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' na stres suszy

4.5.1. Względna zawartość wody w liściu (RWC), względny wypływ elektrolitów (EL), zawartość flawonoidów oraz przewodnictwo szparkowe w obecności suszy

Ze względu na obniżoną wrażliwość *hvabi5.d* na ABA w stadium kiełkowania oraz wczesnego rozwoju siewki postawiono pytanie, czy *HvABI5* reguluje odpowiedź na suszę u jęczmienia. W tym celu sprawdzono fenotyp *hvabi5.d* w odpowiedzi na stres suszy za pomocą takich parametrów jak: względna zawartość wody w liściu (RWC), względny wypływ

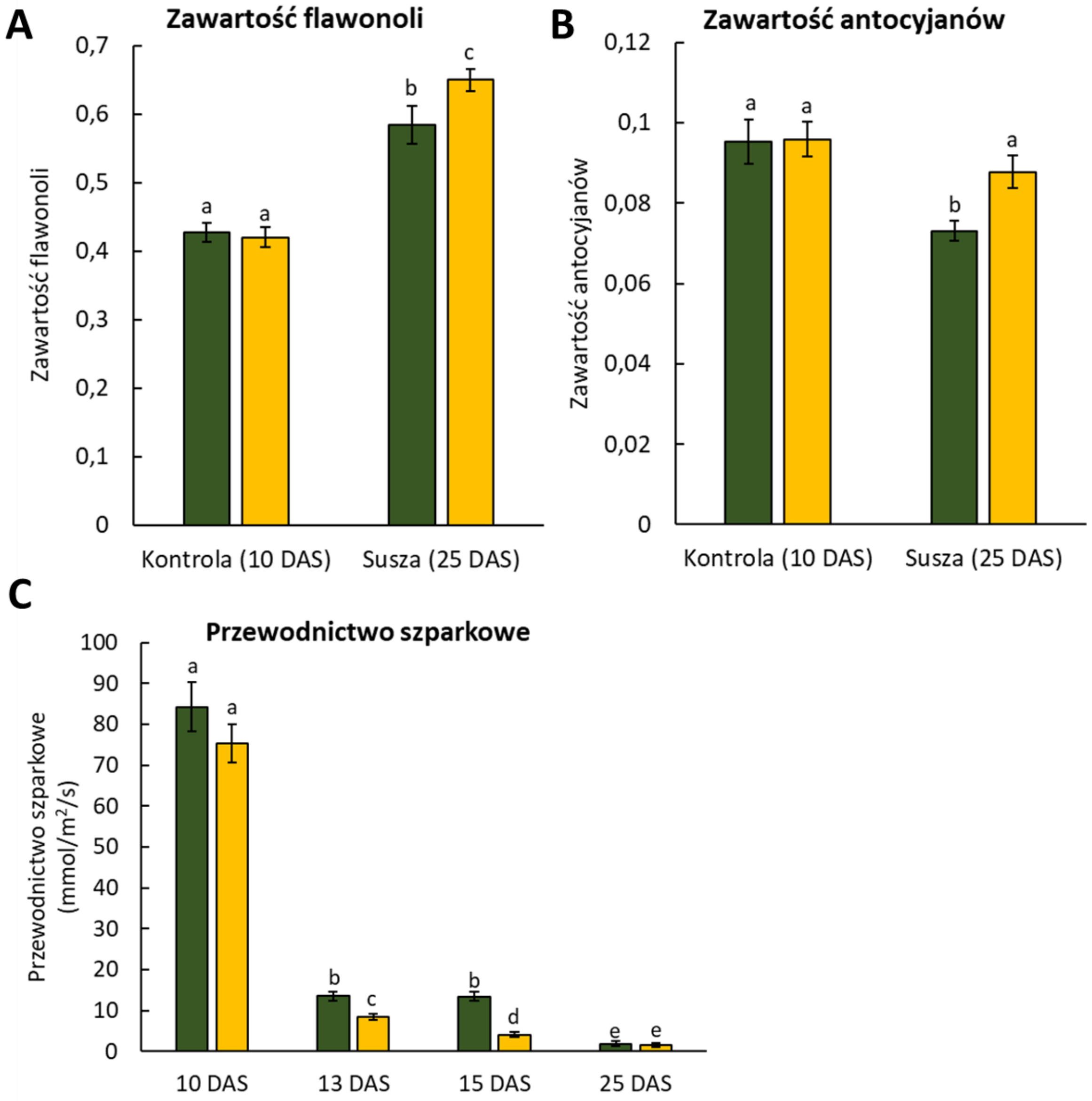
elektrolitów (EL), zawartość flawonoidów oraz przewodnictwo szparkowe. Doświadczenie suszowe obejmowało wzrost roślin w warunkach optymalnego nawodnienia gleby wynoszącego 14% vwc przez 10 dni (1-10 DAS), a następnie podczas obniżania wilgotności w glebie z 14 do 3% vwc (11-15 DAS) oraz w trakcie 10-dniowej suszy (16-25 DAS) zadanej przy wilgotności gleby 1,5% vwc. W warunkach optymalnego nawodnienia, w 25 DAS, nie wykazano różnic dla wartości RWC u obu genotypów (**Rycina 9A**). Traktowanie 10-dniowym stresem suszy spowodowało redukcję RWC u *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian', jednak wartość tego parametru była o 13% wyższa u analizowanego mutanta w porównaniu do odmiany wyjściowej w 25 DAS (**Rycina 9A**). Utrata turgoru spowodowana suszą była również mniej widoczna u *hvabi5.d* niż u odmiany 'Sebastian' (**Rycina 9B**). Powyższe wyniki świadczą więc o lepszej tolerancji *hvabi5.d* wobec suszy. Co więcej, w 25 DAS nie zaobserwowano istotnych różnic dla wartości względnego wypływu elektrolitów u roślin *hvabi5.d* rosnących w warunkach kontrolnych oraz suszowych, podczas gdy ten parametr wzrastał 5,4-krotnie u odmiany 'Sebastian' w wyniku traktowania suszą (**Rycina 9C**). Może to dowodzić, że tolerancja na suszę badanego mutanta jest związana z niższym stopniem uszkodzenia błon komórkowych na skutek obecności reaktywnych form tlenu (ROS).



Rycina 9. Odpowiedź *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' na suszę. **(A)** Względna zwartość wody w liściu (RWC, Relative Water Content) *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w 25 DAS, w warunkach kontrolnych oraz suszowych. **(B)** Rośliny *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach kontrolnych oraz suszowych w 25 DAS. **(C)** Względny wypływ elektrolitów (EL) *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w 25 DAS, w warunkach kontrolnych oraz suszowych. Analizę statystyczną wykonano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) oraz testu HSD Tukeya (Tukey honest significant difference (HSD) test). Istotne statystycznie różnice pomiędzy różnymi warunkami wzrostu oraz pomiędzy analizowanymi genotypami zaznaczono za pomocą różnych liter ($P \leq 0{,}05$).

Flawonoidy, w tym flawonole oraz antocyjany, mają właściwości antyoksydacyjne, co oznacza, że są one zdolne do usuwania ROS, które powstają w wyniku ekspozycji rośliny na stres. Obecność flawonoidów wpływa więc pozytywnie na ochronę komórek przez szkodliwym działaniem tych związków (Di Ferdinando i inni, 2012). W warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) poziom flawonoidów był porównywalny u obu badanych genotypów.

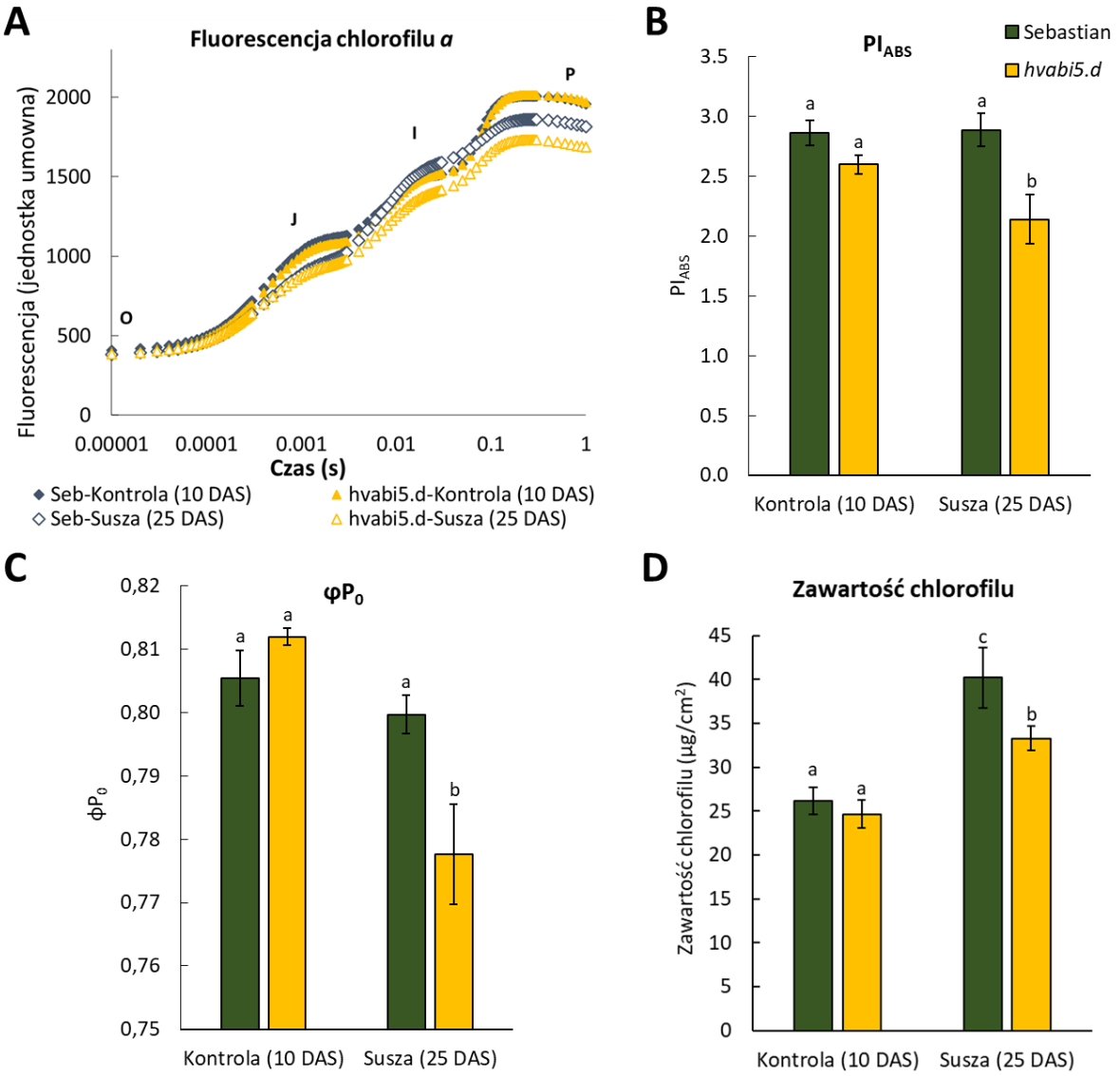
Traktowanie suszą indukowało wzrost zawartości flawonoidów u *hvabi5.d* oraz odmiany wyjściowej, jednak wzrost ten był istotnie wyższy u testowanego mutanta (**Rycina 10A, B**). Szybkie zamykanie aparatów szparkowych również może wpływać na tolerancję rośliny wobec suszy. W celu analizy odpowiedzi aparatów szparkowych badanych genotypów na suszę zmierzono przewodnictwo szparkowe (g_s), które wyraża stosunek wymiany gazowej oraz transpiracji pomiędzy powierzchnią liścia i otoczeniem. W warunkach optymalnego nawodnienia przed rozpoczęciem obniżania wody w glebie (10 DAS) oba genotypy wykazywały porównywalne wartości przewodnictwa szparkowego. Niedobór wody (13, 15 oraz 25 DAS) wpłynął na znaczną redukcję przewodnictwa szparkowego, jednak różnice pomiędzy *hvabi5.d* oraz odmianą 'Sebastian' zauważono jedynie podczas obniżania wilgotności w glebie (13 i 15 DAS). Dla *hvabi5.d* stwierdzono 1,5- oraz 3-krotnie niższe przewodnictwo szparkowe odpowiednio w 13 oraz 15 DAS w porównaniu do odmiany wyjściowej (**Rycina 10C**). Tolerancja na suszę mutanta *hvabi5.d* może więc także wynikać z szybkiego zamykania aparatów szparkowych przy zmniejszającej się zawartości wody w glebie, co zapobiega nadmiernej utracie wody przez mutanta.



Rycina 10. Odpowiedź *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' na suszę. **(A)** Zawartość flawonoli oraz **(B)** antocyjanów u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (Kontrola 10 DAS) oraz po suszy (Susza 25 DAS). **(C)** Przewodnictwo szparkowe (g_s) *hvabi5.d* oraz odmiany wyjściowej zmierzone w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), podczas obniżania wilgotności w glebie (13 i 15 DAS) oraz po suszy (25 DAS). Analizę statystyczną wykonano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) oraz testu HSD Tukeya (Tukey honest significant difference (HSD) test). Istotne statystycznie różnice pomiędzy różnymi warunkami wzrostu oraz pomiędzy analizowanymi genotypami zaznaczono za pomocą różnych liter ($P \leq 0,05$).

4.5.2. Wydajność fotosyntezy oraz zawartość chlorofilu po suszy

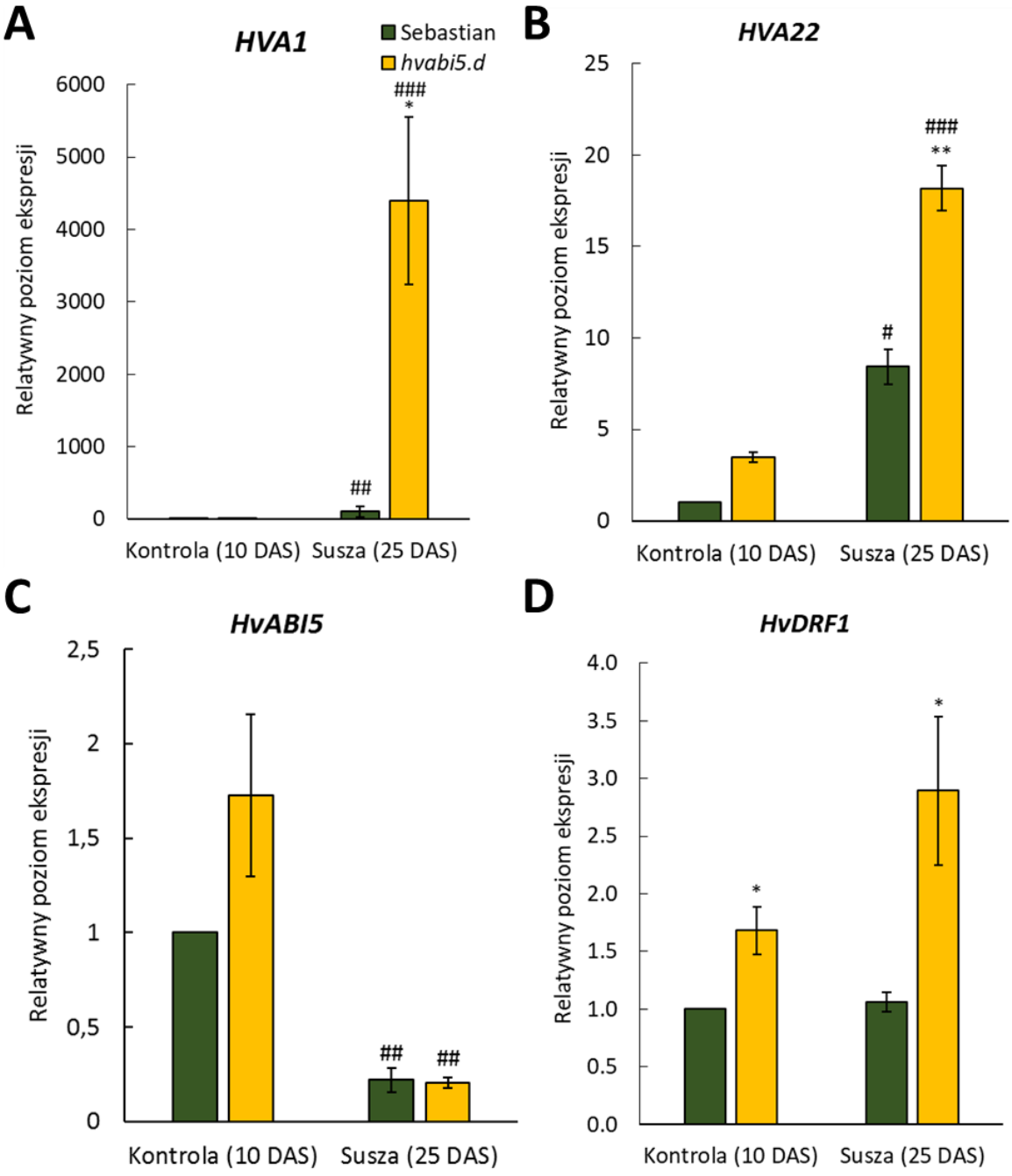
Przebieg procesu fotosyntezy był zaburzony u siewek mutanta *hvabi5.d* po traktowaniu ABA, dlatego zbadano również efektywność tego procesu u testowanych genotypów w odpowiedzi na suszę. Na początku prześledzono przebieg krzywych indukcji fluorescencji OJIP, dla których można wyróżnić trzy fazy (**Rycina 11A**). Faza O-J odnosi się do zamykania części centrów aktywnych PSII, faza J-I jest związana z redukcją plastochinonu (PQ) oraz cytochromu (Cyt b_6f), natomiast faza I-P odpowiada redukcji miejsca akceptorowego elektronów w obrębie fotosystemu I (PSI) (Kalaji i inni, 2016). W przypadku odmiany wyjściowej, negatywny wpływ suszy na przebieg krzywej indukcji fluorescencji obserwowano jedynie w fazie I-P. U *hvabi5.d* spadek przebiegu krzywej po suszy był już zauważalny w fazie J-I, a następnie postępował on w fazie I-P (**Rycina 11A**). Otrzymane wyniki świadczą o zaburzonym przebiegu fotosyntezy u *hvabi5.d* w obecności suszy. Niektóre parametry otrzymane na podstawie krzywej indukcji fluorescencji, w tym PI_{ABS} oraz φP_0, również wskazywały na obniżoną efektywność fotosyntezy u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany 'Sebastian' po traktowaniu suszą (25 DAS) (**Rycina 11B, C, Aneks 5**). PI_{ABS} odnosi się do ilości energii zaabsorbowanej przez akceptory elektronów. Tym samym obniżona wartość tego parametru świadczy o niższej wydajności procesu fotosyntezy. Zaburzenie procesu fotosyntezy u *hvabi5.d* prawdopodobnie wynika częściowo z szybszego zamykania aparatów szparkowych, które było obserwowane u tego mutanta podczas obniżania wilgotności w glebie (**Rycina 10C**). Co istotne, w warunkach optymalnego nawodnienia przed rozpoczęciem suszy (10 DAS) nie zauważono obniżonej wartości parametru PI_{ABS} u *hvabi5.d* w stosunku do odmiany wyjściowej. Różnice wydajności fotosyntezy zaobserwowane w warunkach optymalnego nawodnienia dla siewek mutanta *hvabi5.d* w dwóch przeprowadzonych doświadczeniach (traktowanie ABA – **Rycina 8C** oraz traktowanie suszą – **Rycina 11B**) mogą wynikać z odmiennych stadiów rozwojowych siewek oraz z różnych warunków oświetleniowych oraz temperaturowych, w których te doświadczenia były wykonywane. Ze względu na zaburzony przebieg fotosyntezy u *hvabi5.d*, oznaczono również zawartość chlorofilu u badanych genotypów. W warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS) nie zaobserwowano istotnych różnic w poziomie chlorofilu pomiędzy odmianą 'Sebastian' oraz *hvabi5.d*. Niższą zawartość chlorofilu u mutanta w porównaniu do odmiany wyjściowej odnotowano jednak po suszy (25 DAS) (**Rycina 11D**). Obniżony poziom chlorofilu może także wpływać negatywnie na proces fotosyntezy u *hvabi5.d* w obecności suszy.



Rycina 11. Wpływ suszy na przebieg fotosyntezy u *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian'. **(A)** Krzywe obrazujące fluorescencję chlorofilu *a* w momencie wzbudzenia impulsem światła, **(B)** wskaźnik funkcjonowania PSII (PI_{ABS}), **(C)** maksymalna wydajność fotochemiczna PSII (φP_0) i **(D)** zawartość chlorofilu u analizowanych genotypów w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (Kontrola 10 DAS) oraz po suszy (Susza 25 DAS). Analizę statystyczną wykonano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) oraz testu HSD Tukeya (Tukey honest significant difference (HSD) test). Istotne statystycznie różnice pomiędzy różnymi warunkami wzrostu oraz pomiędzy analizowanymi genotypami zaznaczono za pomocą różnych liter ($P \leq 0,05$).

4.5.3. Ekspresja *HvABI5* oraz genów bezpośrednio regulowanych przez HvABI5 w obecności suszy

Mutant *hvabi5.d* charakteryzuje się obniżoną wrażliwością na ABA w stadium kiełkowania oraz podczas wczesnego rozwoju siewki, a także tolerancją na suszę. W celu sprawdzenia, czy obserwowany fenotyp *hvabi5.d* jest związany z regulacją ekspresji genów opisanych w literaturze jako docelowe dla HvABI5, sprawdzono aktywność transkrypcyjną *HVA1* oraz *HVA22*, kodujących białka LEA (Casaretto i Ho, 2003). W warunkach optymalnego nawodnienia przed rozpoczęciem obniżania zawartości wody w glebie (10 DAS) nie zaobserwowano różnic w ekspresji *HVA1* oraz *HVA22* pomiędzy odmianą 'Sebastian' oraz *hvabi5.d*. Działanie *HVA1* oraz *HVA22* było aktywowane w obecności suszy (25 DAS) u obu genotypów, jednak w przypadku *hvabi5.d* wzrost ten był odpowiednio, 43- oraz 2-razy większy niż u odmiany 'Sebastian' (**Rycina 12A, B**). Z drugiej strony, traktowanie suszą wpływało negatywnie na ekspresję *HvABI5* u obu genotypów i nie wykazano istotnych różnic dla ekspresji tego genu pomiędzy nimi (**Rycina 12C**). Biorąc pod uwagę otrzymane wyniki postanowiono zbadać ekspresję *DEHYDRATION-RESPONSIVE FACTOR 1* (*HvDRF1*), genu kodującego czynnik transkrypcyjny z domeną APETALA 2 (AP2), który wraz z HvABI5 pozytywnie reguluje działanie *HVA1* (Xue i Loverdige, 2004). Wyższą ekspresję *HvDRF1* u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany 'Sebastian' zaobserwowano już w warunkach optymalnego nawodnienia przed rozpoczęciem suszy. Po traktowaniu suszą aktywność *HvDRF1* wzrosła prawie dwukrotnie u *hvabi5.d*, natomiast w przypadku odmiany wyjściowej nie zaobserwowano zmian (**Rycina 12D**).



Rycina 12. Względny poziom ekspresji genów: **(A)** *HVA1*, **(B)** *HVA22*, **(C)** *HvABI5* i **(D)** *HvDRF1* u odmiany ‘Sebastian’ i mutanta *hvabi5.d*, w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (Kontrola 10 DAS) oraz po suszy (Susza 25 DAS), znormalizowany do poziomu ich ekspresji u odmiany ‘Sebastian’ w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS). Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

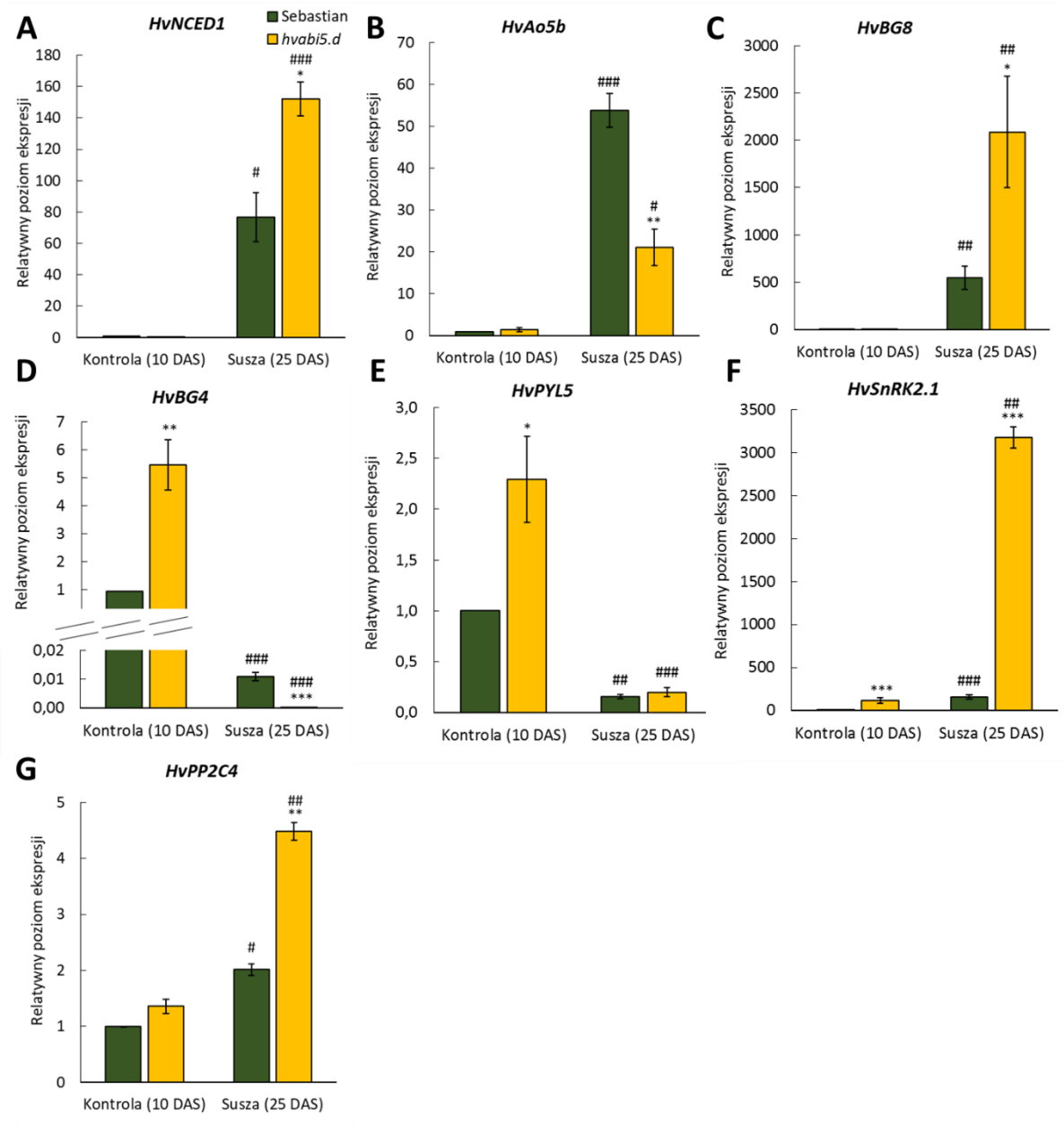
4.6. Analiza ekspresji genów szlaku sygnalizacji i metabolizmu ABA u *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian' po traktowaniu stresem suszy

Dla *hvabi5.d* stwierdzono obniżoną wrażliwość na ABA w stadium kiełkowania oraz na etapie wczesnej siewki, a także tolerancję na suszę w stadium siewki/krzewienia. Postawiono więc hipotezę, że *HvABI5* reguluje odpowiedź na suszę na drodze ABA-zależnej. W celu jej potwierdzenia zbadano wzór ekspresji genów związanych z metabolizmem oraz sygnalizacją ABA u *hvabi5.d* oraz odmiany wyjściowej w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS) oraz po suszy (25 DAS).

Endogenna zawartość ABA jest wypadkową biosyntezy oraz katabolizmu tego fitohormonu. Przebieg tych procesów zależy od warunków otoczenia i wpływa na odpowiedź rośliny na stres (Ma i inni, 2018). *9-CIS-EPOXYCAROTENOID DIOXYGENASE-LIKE* (*HvNCED1*) oraz *ABSCISIC ALDEHYDE OXIDASE 5b* (*HvAo5b*) kodują enzymy zaangażowane w biosyntezę ABA u jęczmienia, przy czym *HvNCED1* odpowiada za kluczowy etap dla zachodzenia tego procesu. W warunkach optymalnego nawodnienia nie zaobserwowano istotnych różnic w poziomie ekspresji *HvNCED1* i *HvAo5b* u obu badanych genotypów (**Rycina 13A, B**). Obecność suszy indukowała ekspresję *HvNCED1* oraz *HvAo5b* zarówno u odmiany 'Sebastian', jak i mutanta, jednak po traktowaniu tym stresem aktywność *HvNCED1* była 2 razy wyższa u *hvabi5.d* niż u odmiany 'Sebastian'. Z drugiej strony ekspresja genu *HvAo5b*, który warunkuje zachodzenie ostatniego etapu biosyntezy ABA, wzrosła w mniejszym stopniu u *hvabi5.d* (20-krotny wzrost) w porównaniu do odmiany wyjściowej (55-krotny wzrost) po suszy.

ABA może być przechowywany w formie nieaktywnych estrów z glukozą (ABA-GE), a następnie uwalniany z nich do aktywnej formy w warunkach stresowych (Ma i inni, 2018). *β-GLUCOSIDASE 8* (*HvBG8*) oraz *HvBG4* kodują enzymy odpowiedzialne odpowiednio, za uwalnianie ABA z ABA-GE oraz wiązanie ABA do ABA-GE. W warunkach optymalnego uwodnienia obserwowano porównywalny poziom ekspresji *HvBG8* u obu genotypów (**Rycina 13C**). Traktowanie suszą spowodowało wzrost aktywności tego genu zarówno u odmiany 'Sebastian' oraz u *hvabi5.d*, jednak u mutanta zaobserwowano 5-krotnie wyższy poziom ekspresji *HvBG8* niż u jego odmiany wyjściowej. W przypadku *HvBG4* obserwowano 5,5-krotnie wyższą ekspresję u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia (**Rycina 13D**). Stres suszy spowodował obniżenie ekspresji *HvBG4* u obu genotypów, jednakże ponownie silniejsza reakcja obserwowana była u mutanta *hvabi5.d* (3,300-krotny spadek) niż u odmiany 'Sebastian' (91-krotny spadek).

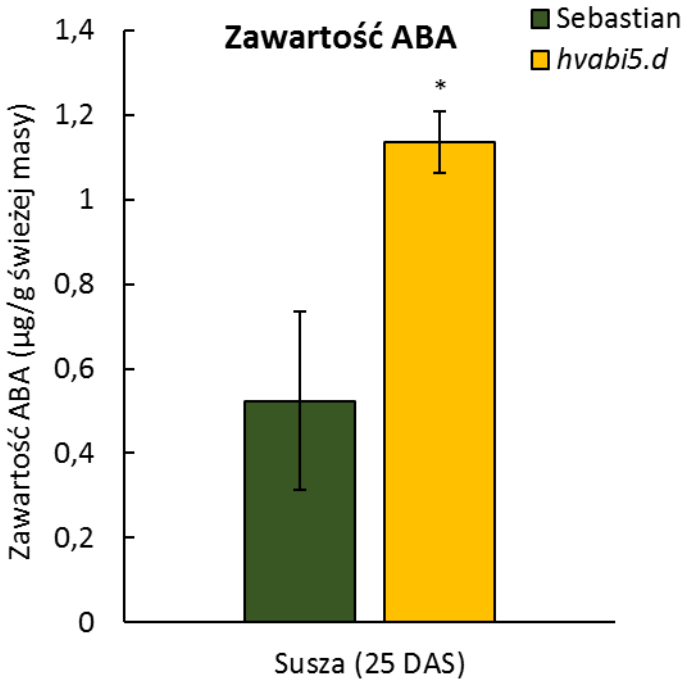
Ze względu na obserwowane zmiany w poziomie ekspresji genów związanych z metabolizmem ABA u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany rodzicielskiej, postanowiono sprawdzić również aktywność genów odpowiedzialnych za przebieg zasadniczej części sygnalizacji ABA u obu genotypów po traktowaniu suszą. Zbadano ekspresję *PYRABACTIN RESISTANCE 1-LIKE 5* (*PYL5*), *SNF1-RELATED PROTEIN KINASE 2.1* (*SnRK2.1*) oraz *PROTEIN PHOSPATASE 2C4* (*PP2C4*), które kodują odpowiednio, receptor ABA, kinazę z grupy SnRK2 oraz fosfatazę PP2C. Ekspresja *HvPYL5* oraz *HvSnRK2.1* była podwyższona u *hvabi5.d* już w warunkach optymalnego nawodnienia porównując do odmiany 'Sebastian' (**Rycina 13E, F**). W odpowiedzi na stres suszy aktywność *HvPYL5* obniżyła się u obu genotypów. Z drugiej strony ekspresja *HvSnRK2.1* oraz *HvPP2C4* była aktywowana w odpowiedzi na suszę u odmiany 'Sebastian' i *hvabi5.d* (**Rycina 13E-G**). Należy jednak podkreślić, że ekspresja *HvSnRK2.1* oraz *HvPP2C4* była odpowiednio, 20 oraz 2 razy wyższa u mutanta niż u odmiany wyjściowej po suszy. Zróżnicowany wzór ekspresji genów metabolizmu oraz sygnalizacji ABA u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany wyjściowej może dowodzić roli *HvABI5* w modulowaniu aktywności szlaku ABA.



Rycina 13. Względny poziom ekspresji genów: **(A)** *HvNCED1*, **(B)** *HvAO5b*, **(C)** *HvBG8*, **(D)** *HvBG4*, **(E)** *HvPYL5*, **(F)** *HvSnRK2.1* i **(G)** *HvPP2C4* u odmiany 'Sebastian' i mutanta *hvabi5.d*, w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (Kontrola 10 DAS) oraz po suszy (Susza 25 DAS), znormalizowany do poziomu ich ekspresji u odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS). Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

4.7. Pomiar endogennej zawartości ABA u *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ po traktowaniu stresem suszy

Przeprowadzona analiza ekspresji genów związanych z metabolizmem oraz sygnalizacją ABA wykazała w większości ich wyższą indukcję u mutanta *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany ‘Sebastian’ po traktowaniu suszą. Otrzymane wyniki mogą więc wskazywać, że również endogenna zawartość ABA u *hvabi5.d* jest inna niż u odmiany ‘Sebastian’. W celu sprawdzenia tej hipotezy zmierzono zawartość endogennego ABA w 25 DAS, u roślin obu genotypów traktowanych suszą, jak i roślin rosnących równolegle w warunkach optymalnego nawodnienia (kontrola). Stężenie ABA w warunkach kontrolnych było poniżej progu detekcji u *hvabi5.d* i u odmiany ‘Sebastian’. Traktowanie suszą spowodowało wzrost zawartości ABA u testowanych genotypów, jednak w przypadku mutanta poziom ABA był dwukrotnie wyższy niż u odmiany wyjściowej (**Rycina 14**).



Rycina 14. Endogenna zawartość ABA u *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ po suszy (Susza 25 DAS). Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotną statystycznie różnicę pomiędzy analizowanymi genotypami zaznaczono za pomocą gwiazdki - $^{*}P \leq 0,05$.

4.8. Analiza bioinformatyczna promotorów wybranych genów szlaku ABA pod względem obecności elementów rozpoznawanych przez ABI5

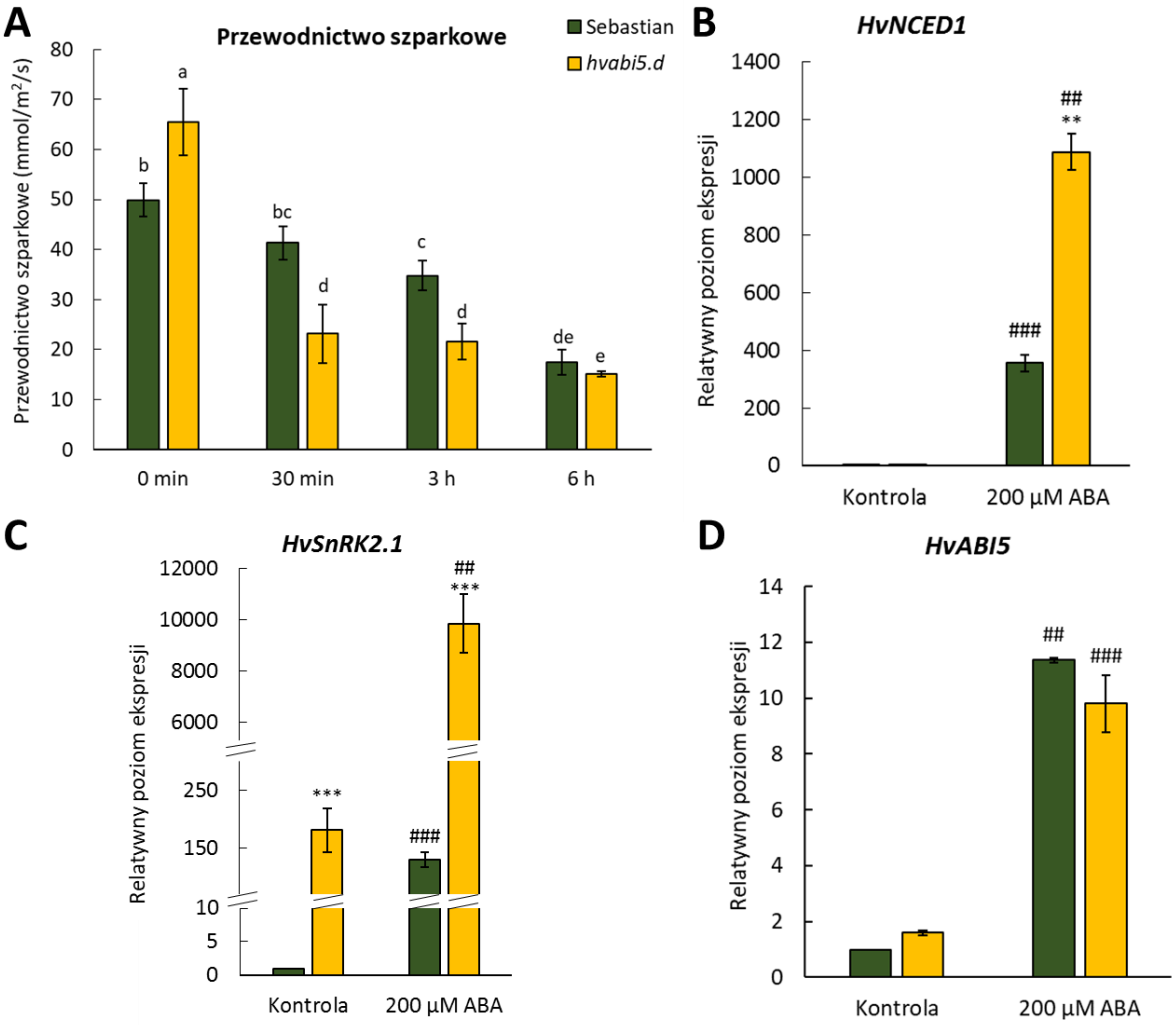
AtABI5 wiąże się z promotorami genów biosyntezy oraz sygnalizacji ABA i reguluje ich ekspresję (Lee i inni, 2012; Wang i inni, 2019; Zhao i inni, 2020). W ten sposób AtABI5 jest

zaangażowany w modulowanie działania ścieżki ABA na zasadzie sprzężenia zwrotnego. *hvabi5.d* wykazywał wyższą zawartość endogennego ABA oraz wzmożoną ekspresję genów związanych ze szlakiem ABA w porównaniu do odmiany 'Sebastian' po suszy. Biorąc pod uwagę powyższe informacje, sprawdzono regiony promotorowe genów związanych z biosyntezą oraz sygnalizacją ABA pod względem obecności elementów *cis* ABA RESPONSIVE ELEMENT (ABRE) rozpoznawanych przez ABI5. W promotorach *HvNCED1, HvSnRK2.1* oraz *HvPP2C4* zidentyfikowano miejsca potencjalnie wiązane przez ABI5 (**Aneks 6**). Otrzymane wyniki mogą świadczyć o roli *HvABI5* w bezpośredniej aktywacji ekspresji genów biosyntezy oraz sygnalizacji ABA, co w rezultacie może pozytywnie wpływać na poziom endogennej zawartości ABA i na działanie ścieżki sygnałowej ABA.

4.9. Pomiar przewodnictwa szparkowego oraz analiza ekspresji genów szlaku ABA po traktowaniu ABA u *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian'

Otrzymane wyniki dla ekspresji genów szlaku ABA, a także dla endogennej zawartości ABA u *hvabi5.d* po suszy sugerują, że *HvABI5* reguluje odpowiedź na suszę na drodze ABA-zależnej. W celu potwierdzenia tej hipotezy, zmierzono przewodnictwo szparkowe oraz sprawdzono wzór ekspresji genów związanych ze szlakiem ABA u obu analizowanych genotypów po traktowaniu ABA poprzez oprysk roztworem 200 µM ABA 10-dniowych siewek rosnących w ziemi. Pomiary przewodnictwa szparkowego wykonano po 30 minutach, 3 oraz 6 godzinach od aplikacji ABA (**Rycina 15A**). Zamykanie aparatów szparkowych zaobserwowano już po 30 minutach od traktowania ABA u *hvabi5.d.* Po 3 oraz 6 godzinach od oprysku kwasem abscysynowym obserwowano obniżenie przewodnictwa szparkowego również u odmiany 'Sebastian', jednak wartość tego parametru po 3 godzinach była 2 razy niższa u badanego mutanta w porównaniu z odmianą wyjściową. Świadczy to o szybszym zamykaniu aparatów szparkowych mutanta również w obecności ABA. W celu dalszego sprawdzenia odpowiedzi zależnej od ABA u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian', po 3 godzinach od oprysku ABA prześledzono wzór ekspresji genów *HvNCED1* oraz *HvSnRK2.1,* które są związane odpowiednio z biosyntezą ABA oraz z sygnalizacją ABA. Ponadto, z literatury wiadomo, że ekspresja homologów zidentyfikowanych u Arabidopsis jest indukowana w odpowiedzi na kwas abscysynowy. Podobnie jak obserwowano w przypadku eksperymentu suszowego, ekspresja *HvSnRK2.1* była podwyższona u mutanta *hvabi5.d* już w warunkach kontrolnych w porównaniu do odmiany 'Sebastian. Traktowanie ABA spowodowało wzrost ekspresji *HvNCED1* oraz *HvSnRK2.1* u obu genotypów, jednak w przypadku *hvabi5.d* był on odpowiednio 3 oraz 76 razy wyższy porównując do odmiany

wyjściowej (**Rycina 15B, C**). Należy podkreślić, że ekspresja tych genów była także wyższa u *hvabi5.d* niż u odmiany 'Sebastian' po suszy. Traktowanie kwasem abscysynowym indukowało również ekspresję *HvABI5*, jednak nie zaobserwowano istotnych różnic pomiędzy testowanymi genotypami (**Rycina 15D**).

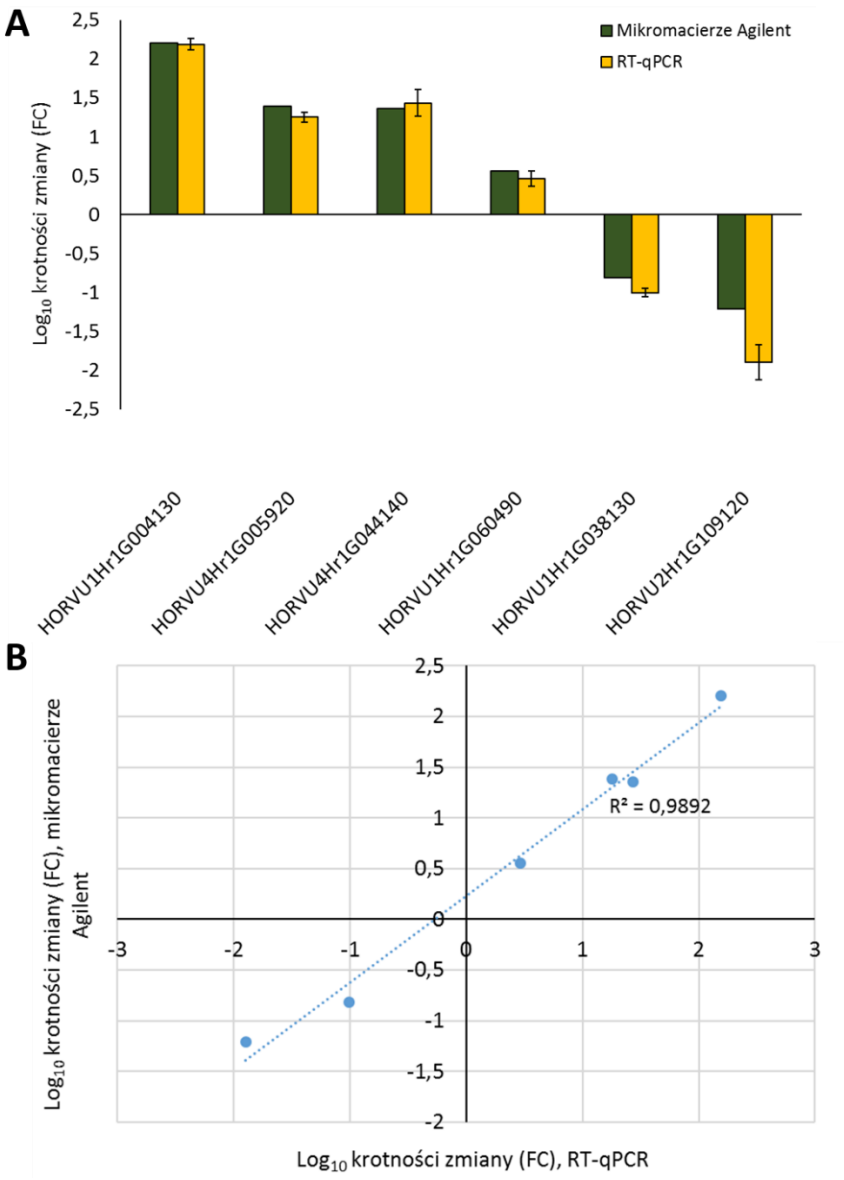


Rycina 15. Odpowiedź *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' na oprysk ABA (200 µM). **(A)** Przewodnictwo szparkowe *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' po traktowaniu ABA. Analizę statystyczną wykonano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) oraz testu HSD Tukeya (Tukey honest significant difference (HSD) test). Istotnie statystycznie różnice pomiędzy różnymi warunkami wzrostu oraz pomiędzy analizowanymi genotypami zaznaczono za pomocą różnych liter ($P \leq 0,05$). Relatywny poziom ekspresji: **(B)** *HvNCED1*, **(C)** *HvSnRK2.1* oraz **(D)** *HvABI5* u *hvabi5.d* i odmiany 'Sebastian' po 3 godzinach od oprysku ABA, normalizowany do ekspresji tych genów w kontroli odmiany 'Sebastian'. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym

zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

4.10. Globalna analiza transkryptomu *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS)

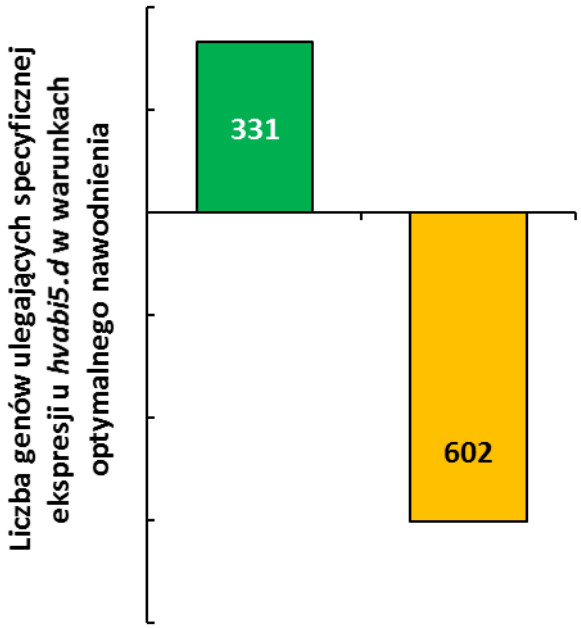
Mutant *hvabi5.d* odznaczał się fenotypem tolerancyjnym wobec suszy oraz wykazywał odmienny wzór ekspresji genów związanych z działaniem *HvABI5* oraz ze szlakiem ABA po suszy. W celu poznania molekularnych mechanizmów warunkujących lepszą odpowiedź *hvabi5.d* na stres suszy przeprowadzono globalną analizę transkryptomu tego mutanta w porównaniu do odmiany 'Sebastian' z wykorzystaniem mikromacierzy Agilent. Globalną analizę ekspresji wykonano dla roślin obu genotypów rosnących w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie do 3% vwc (15 DAS) oraz po 10-dniowym traktowaniu stresem suszy, z zawartością wody 1,5%-2% vwc (25 DAS). Wyniki otrzymane na podstawie mikromacierzy zostały potwierdzone poprzez wykonanie reakcji RT-qPCR dla wybranych genów, które wykazywały zróżnicowany poziom ekspresji u *hvabi5.d* po suszy (25 DAS) (**Rycina 16A, B**).



Rycina 16. Walidacja wyników otrzymanych na podstawie mikromacierzy Agilent za pomocą reakcji RT-qPCR dla wybranych genów ulegających specyficznej ekspresji u *hvabi5.d*. **(A)** Log_{10} krotności zmiany ekspresji (FC) analizowanych genów u *hvabi5.d* oraz **(B)** korelacja pomiędzy wynikami otrzymanymi na podstawie mikromacierzy Agilent oraz reakcji RT-qPCR.

Różnice w ekspresji genów pomiędzy *hvabi5.d* oraz odmianą ‘Sebastian’ zaobserwowano już w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS). Porównanie transkryptomu *hvabi5.d* oraz jego odmiany wyjściowej wykazało, że 933 geny ulegają zróżnicowanej ekspresji u mutanta. W tej grupie wyróżniono 331 geny o specyficznie podwyższonej ekspresji oraz 602 geny o specyficznie obniżonej ekspresji (krotność zmiany (FC) ≥ 2; $P \leq 0,05$ po poprawce FDR) (**Rycina 17**). Wysoka liczba zidentyfikowanych genów o zróżnicowanej ekspresji wynika prawdopodobnie z zastosowania niskiego punktu odcięcia dla otrzymanych danych podczas

analizy transkryptomu. Przyjęcie takiego kryterium pozwoliło na identyfikację większej liczby genów, które mogą znajdować się pod kontrolą czynnika transkrypcyjną HvABI5.



Rycina 17. Liczba genów ulegających zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany rodzicielskiej 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) (krotność zmiany (FC) ≥ 2; P ≤ 0,05 po poprawce FDR).

W celu wskazania procesów biologicznych, które są nadreprezentowane w grupie genów ulegających specyficznej ekspresji u *hvabi5.d* w warunkach optymalnego nawodnienia, wykonano analizę ontologii genów (GO, Gene Ontology) za pomocą oprogramowania AgriGO 2.0 (http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/). Analiza GO grup genów o specyficznie podwyższonej oraz obniżonej ekspresji u mutanta wykazała nadreprezentację procesów biologicznych związanych z metabolizmem podstawowym. W grupie genów o specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d* zidentyfikowano takie procesy jak biosynteza związków azotoorganicznych, translacja i fałdowanie białek (**Tabela 2**). W przypadku analizy GO dla genów o specyficznie obniżonej ekspresji u *hvabi5.d* wykryto m. in. procesy związane z metabolizmem trifosforanów rybonukleozydów, metabolizmem trifosoranów nukleozydów, metabolizmem ATP oraz metabolizmem związków glikozylowych (**Tabela 2**). Zidentyfikowane procesy biologiczne były uznawane za istotne statystycznie, gdy wartość P była mniejsza od 0,01 (oceniono na podstawie rozkładu hipergeometrycznego z zastosowaniem poprawki Bonferroniego dla testowania wielokrotnych porównań).

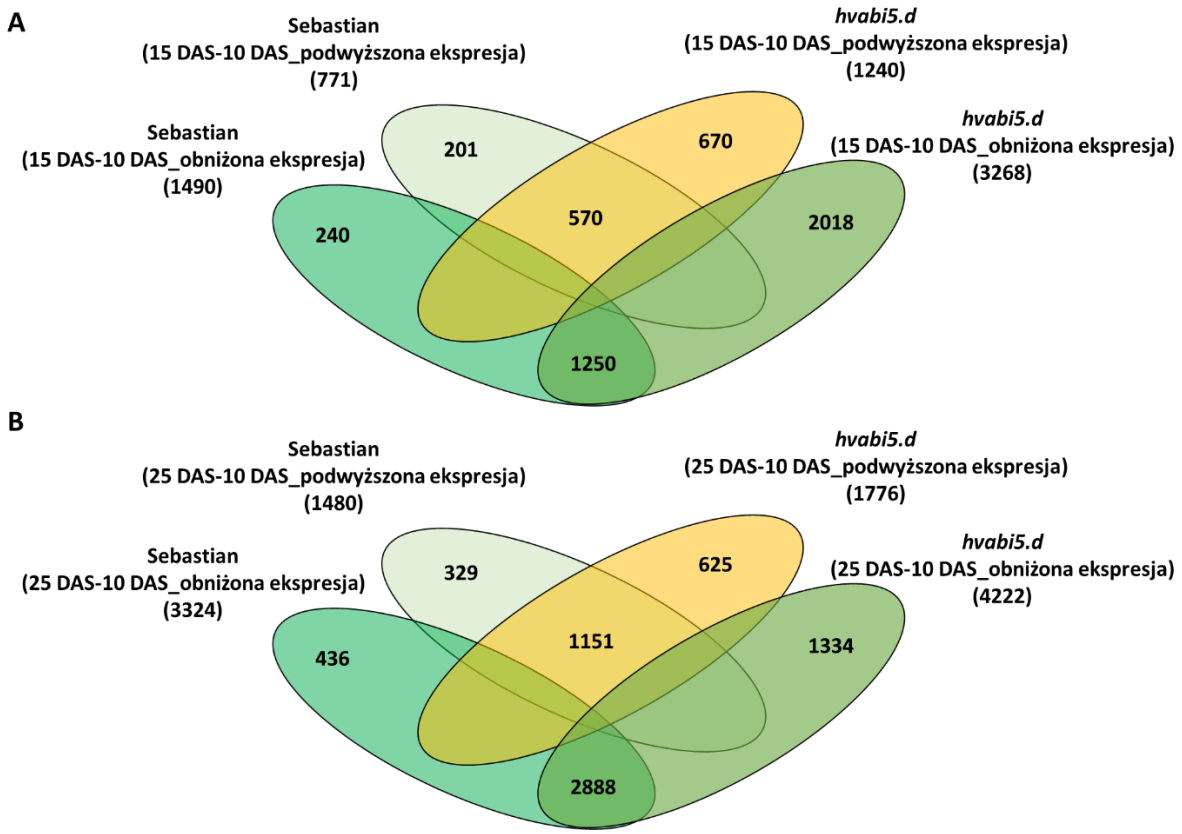
Tabela 2. Procesy biologiczne, zidentyfikowane za pomocą analizy ontologii genów (GO), które były nadreprezentowane wśród genów ulegającej specyficznej ekspresji u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS).

Termin GO	**Opis**	**Liczba genów w liście analizowanej**	**Liczba genów w liście referencyjnej genomu jęczmienia***	**Wartość P**
Grupa genów o specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d*				
GO:1901566	biosynteza związków azotoorganicznych	42	1231	4,60E-10
GO:0006412	translacja	34	849	5,30E-10
GO:0043043	biosynteza peptydów	34	856	6,50E-10
GO:0043604	biosynteza amidów	34	856	6,50E-10
GO:0006518	metabolizm peptydów	34	869	9,50E-10
GO:0043603	komórkowe procesy metabolizmu amidów	34	878	1,20E-09
GO:1901564	metabolizm związków azotoorganicznych	45	1564	1,70E-08
GO:0006457	fałdowanie białek	12	146	2,80E-07
GO:0044249	komórkowe procesy biosyntetyczne	59	2926	1,20E-05
GO:1901576	biosynteza substancji organicznych	57	2929	5,00E-05
GO:0034645	komórkowe procesy biosyntezy makromolekuł	47	2248	5,00E-05
GO:0009059	procesy biosyntezy makromolekuł	47	2248	5,00E-05
GO:0009058	procesy biosyntezy	59	3072	5,10E-05
GO:0009987	procesy komórkowe	114	7318	6,90E-05
Grupa genów o specyficznie obniżonej ekspresji u *hvabi5.d*				
GO:0009199	metabolizm trifosforanów rybonukleozydów	16	198	1,00E-06
GO:0009205	metabolizm trifosforanów rybonukleozydów purynowych	16	198	1,00E-06
GO:0009144	metabolizm trifosforanów nukleozydów purynowych	16	198	1,00E-06
GO:0009141	metabolizm trifosoranów nukleozydów	16	207	1,80E-06
GO:0046128	metabolizm rybonukleozydów purynowych	16	214	2,70E-06
GO:0042278	metabolizm nukleozydów purynowych	16	214	2,70E-06
GO:0046034	metabolizm ATP	15	192	3,30E-06
GO:0009150	metabolizm rybonukleotydów purynowych	16	223	4,40E-06
GO:0009259	metabolizm rybonukleotydów	16	225	4,90E-06
GO:0009119	metabolizm rybonukleozydów	16	226	5,20E-06
GO:0009167	metabolizm monofosforanów rybonukleozydów purynowych	15	204	6,60E-06
GO:0009126	metabolizm monofosforanów nukleozydów purynowych	15	204	6,60E-06
GO:0006163	metabolizm nukleotydów purynowych	16	231	6,70E-06
GO:0009161	metabolizm monofosforanów rybonukleozydów	15	206	7,40E-06
GO:0009116	metobolizm nukleozydów	16	234	7,80E-06
GO:1901657	metabolizm związków glikozylowych	16	234	7,80E-06

GO:0009123	metabolizm monofosforanów nukleozydów	15	207	7,80E-06
GO:0019693	metabolizm fosforanów rybozy	16	236	8,60E-06
GO:0072521	metabolizm związków purunowych	16	239	1,00E-05
GO:0019637	metabolizm związków fosforoorganicznych	21	397	1,40E-05
GO:0009117	metabolizm nukleotydów	17	280	1,80E-05
GO:0006753	metabolizm fosforanów nukleozydów	17	281	1,80E-05
GO:0015985	transport protonów sprzężony z energią	8	66	4,10E-05
GO:0015986	transport protonów sprzężony z syntezą ATP	8	66	4,10E-05
GO:0055086	metabolizm drobnocząsteczkowych związków zawierających zasadę nukleotydową	17	310	5,90E-05

**wersja IBSC v2, Ensembl Plants version 45*

W celu sprawdzenia na poziomie transkryptomu odpowiedzi *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ na suszę, oceniono poziom ekspresji genów po obniżaniu wilgotności w glebie do 3% vwc (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy o zawartości wody w glebie 1,5-2% vwc (25 DAS) w porównaniu do warunków optymalnego nawodnienia 14% vwc (10 DAS) dla obu genotypów. Następnie, otrzymane listy genów o zróżnicowanej ekspresji zostały przefiltrowane w celu otrzymania zbiorów ulegających specyficznemu działaniu u *hvabi5.d* oraz u odmiany ‘Sebastian’. Po obniżaniu wilgotności w glebie zidentyfikowano 670 genów o specyficznie podwyższonej ekspresji oraz 2018 genów o specyficznie obniżonej ekspresji u *hvabi5.d,* podczas gdy 201 i 240 genów wykazywało odpowiednio specyficznie podwyższoną oraz obniżoną ekspresję u odmiany ‘Sebastian’ (krotność zmiany (FC) ≥ 2; $P \leq 0,05$ po poprawce FDR) (**Rycina 18A**). W przypadku stresu suszy zaobserwowano specyficznie podwyższoną ekspresję dla 625 genów oraz specyficznie obniżoną ekspresję dla 1334 genów u *hvabi5.d,* natomiast u odmiany ‘Sebastian’ było to 329 genów o wyższej ekspresji oraz 436 genów o niższej ekspresji (krotność zmiany (FC) ≥ 2; $P \leq 0,05$ po poprawce FDR) (**Rycina 18B**). Geny ulegające zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* w 15 DAS przedstawiono w **Aneksach 7** oraz **8**, natomiast geny wykazujące specyficznie zróżnicowaną ekspresję u mutanta w 25 DAS zawarto w **Aneksach 9** oraz **10**.



Rycina 18. Analiza porównawcza liczby genów ulegających zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) **(A)** oraz po suszy (25 DAS) **(B)**. Na wykresach Venna przedstawiono grupy genów ulegających specyficznie podwyższonej oraz obniżonej ekspresji u analizowanych genotypów po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po suszy (25 DAS) w porównaniu do warunków optymalnego nawodnienia (10 DAS) (krotność zmiany (FC) ≥ 2; P ≤ 0,05 po poprawce FDR).

Aby zidentyfikować procesy biologiczne związane z genami o zróżnicowanej ekspresji, wykonano analizę ontologii genów dla zbiorów genów ulegających specyficznej ekspresji u *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’. Po obniżaniu wilgotności w glebie analiza GO dla genów o specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d* wykazała nadreprezentację procesów związanych z biosyntezą oraz metabolizmem S-adenozylometioniny (**Tabela 3**). W przypadku genów ulegających specyficznie niższej ekspresji u *hvabi5.d* po obniżaniu wilgotności w glebie analiza GO wyłoniła nadreprezentację procesów związanych z fotosyntetycznym transportem elektronów oraz przebiegiem reakcji świetlnych fotosyntezy (**Tabela 3**). Po 10-dniowym stresie suszy, analiza GO grupy genów o specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d* wykazała nadreprezentację procesów takich jak komórkowe procesy metabolizmu amidów, translacja czy ekspresja genów (**Tabela 4**), natomiast w grupie genów o specyficznie niższej ekspresji u *hvabi5.d* po 10-dniowej suszy były to procesy związane z metabolizmem

podstawowym, takie jak translacja, metabolizm peptydów, biosynteza związków azotoorganicznych, komórkowe procesy metaboliczne białek i ekspresja genów (**Tabela 4**).

Tabela 3. Procesy biologiczne, zidentyfikowane za pomocą analizy ontologii genów (GO), które były nadreprezentowane wśród genów ulegającej specyficznej ekspresji u *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian' po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS).

Termin GO	Opis	Liczba genów w liście analizowanej	Liczba genów w liście referencyjnej genomu jęczmienia*	Wartość P
Grupa genów o specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d*				
GO:0046500	metabolizm S-adenozylometioniny	4	5	2,30E-05
GO:0006556	biosynteza S-adenozylometioniny	4	5	2,30E-05
Grupa genów o specyficznie obniżonej ekspresji u *hvabi5.d*				
GO:0009773	fotosyntetyczny transport elektronów w fotosystemie I	10	11	7,80E-08
GO:0009767	fotosyntetyczny łańcuch transportu elektronów	18	57	1,80E-07
GO:0019684	fotosynteza, reakcje świetlne	18	87	3,00E-05
Grupa genów o specyficznie podwyższonej ekspresji u odmiany 'Sebastian'				
GO:0009451	modyfikacje RNA	5	66	0,00011
Grupa genów o specyficznie obniżonej ekspresji u odmiany 'Sebastian'				
GO:0005975	metabolizm węglowodanów	20	841	1,30E-05

**wersja IBSC v2, Ensembl Plants version 45*

Tabela 4. Procesy biologiczne, zidentyfikowane za pomocą analizy ontologii genów (GO), które były nadreprezentowane wśród genów ulegającej specyficznej ekspresji u *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian' po suszy (25 DAS).

Termin GO	Opis	Liczba genów w liście analizowanej	Liczba genów w liście referencyjnej genomu jęczmienia*	Wartość P
Grupa genów o specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d*				
GO:0043603	komórkowe procesy metabolizmu amidów	65	878	1,8E-17
GO:0006518	metabolizm peptydów	64	869	4,1E-17
GO:0043043	biosynteza peptydów	63	856	7,7E-17
GO:0043604	biosynteza amidów	63	856	7,7E-17
GO:0006412	translacja	62	849	2E-16
GO:1901564	metabolizm związków azotoorganicznych	80	1564	8E-13
GO:1901566	biosynteza związków azotoorganicznych	68	1231	2,1E-12

GO:0010467	ekspresja genów	93	2276	1,2E-09
GO:0034645	komórkowe procesy biosyntezy makromolekuł	91	2248	3E-09
GO:0009059	procesy biosyntezy makromolekuł	91	2248	3E-09
GO:1901576	biosynteza substancji organicznych	105	2929	7,3E-08
GO:0044249	komórkowe procesy biosyntetyczne	104	2926	1,3E-07
GO:0044271	komórkowe procesy biosyntezy związków azotu	86	2275	1,8E-07
GO:0009058	procesy biosyntezy	105	3072	7,1E-07
GO:0006807	metabolizm związków azotu	112	3360	9E-07
GO:0034641	komórkowe procesy metabolizmu związków azotu	102	3076	4,1E-06
GO:0016192	transport z udziałem pęcherzyków	14	166	2,7E-05
GO:0044267	komórkowe procesy metaboliczne	91	2855	6,8E-05
Grupa genów o specyficznie obniżonej ekspresji u *hvabi5.d*				
GO:0006412	translacja	94	849	1,6E-17
GO:0043043	biosynteza peptydów	94	856	2,6E-17
GO:0043604	biosynteza amidów	94	856	2,6E-17
GO:0043603	komórkowe procesy metabolizmu amidów	95	878	4,1E-17
GO:0006518	metabolizm peptydów	94	869	6,2E-17
GO:1901566	biosynteza związków azotoorganicznych	112	1231	4,6E-15
GO:1901564	metabolizm związków azotoorganicznych	127	1564	1,3E-13
GO:0006413	inicjacja translacji	21	54	4,3E-13
GO:0044267	komórkowe procesy metaboliczne białek	179	2855	1,3E-09
GO:0044271	komórkowe procesy biosyntezy związków azotu	146	2275	1,6E-08
GO:0019538	białkowe procesy metaboliczne	197	3341	1,6E-08
GO:0034641	komórkowe procesy metabolizmu związków azotu	179	3076	2,2E-07
GO:0010467	ekspresja genów	141	2276	2,2E-07
GO:0034645	komórkowe procesy biosyntezy makromolekuł	139	2248	3E-07
GO:0009059	procesy biosyntezy makromolekuł	139	2248	3E-07
GO:0006807	metabolizm związków azotu	188	3360	1,3E-06
GO:0044249	komórkowe procesy biosyntetyczne	168	2926	1,3E-06
GO:1901576	biosynteza substancji organicznych	165	2929	4,8E-06
GO:0009058	procesy biosyntezy	169	3072	1,3E-05
GO:0046488	metabolizm fosfatydyloinozytolu	12	62	2,3E-05
GO:0006650	metabolizm glicerofosfolipidów	12	65	3,5E-05
Grupa genów o specyficznie podwyższonej ekspresji u odmiany 'Sebastian'				
GO:0046700	katabolizm związków heterocyklicznych	5	32	3,5E-05
GO:0044270	komórkowe procesy katabolizmu związków azotu	5	32	3,5E-05
GO:0006807	metabolizm związków azotu	57	3360	0,00008

Grupa genów o specyficznie obniżonej ekspresji u odmiany 'Sebastian'				
GO:0007017	procesy związane z mikrotubulami	14	120	5,7E-09
GO:0044763	komórkowe procesy organizmu	59	2289	4,6E-06
GO:0044272	biosynteza związków siarki	5	21	2,6E-05

**wersja IBSC v2, Ensembl Plants version 45*

Analiza GO nie wskazała jednoznacznie procesów, które mogłyby być bezpośrednio powiązane z reakcją fizjologiczną *hvabi5.d* na suszę. Nadreprezentowane procesy często były nadrzędne wobec procesów kluczowych dla obserwowanego fenotypu u *hvabi5.d*, toteż postanowiono wykonać bardziej szczegółową analizę genów ulegających specyficznie podwyższonej ekspresji u mutanta po okresie obniżania wilgotności w glebie (670) oraz po suszy (625) pod względem przypisanej im charakterystyki funkcji i wskazać te, które mogą warunkować lepszą tolerancję na suszę mutanta. Przeprowadzona analiza wykazała obecność genów kodujących białka z grupy LEA, białka szoku cieplnego (Heat Shock Protein, HSP) oraz inne białka związane z adaptacją do warunków stresu (**Tabela 5**). Zidentyfikowano również geny bezpośrednio związane z działaniem *HvABI5*: *HVA22 homolog A* (pisownia zgodna z przypisaną adnotacją funkcjonalną dostępną na stronie internetowej IPK Barley BLAST, https://webblast.ipk-gatersleben.de/barley_ibsc/, nie potwierdza funkcji tego genu) oraz *Ethylene-responsive transcription factor 4* (*DEHYDRATION-RESPONSIVE FACTOR 1*, *HvDRF1*) (**Tabela 5**). Oba geny są związane z odpowiedzią jęczmienia na suszę, a podwyższoną ekspresję *HvDRF1* wykazano również już w poprzednich analizach (**Rycina 12D**). Wykryto również obecność genów związanych z usuwaniem związków ROS, w tym geny kodujące enzymy detoksykacyjne, a także geny związane z biosyntezą flawonoidów np. *Anthocyanidin reductase* (**Tabela 5**). Ponadto, w zbiorze genów ulegających specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d* po obniżaniu wilgotności w glebie były obecne geny powiązane z funkcjonowaniem ścieżek auksyn, brasinosteroidów oraz jasmonianów, natomiast w grupie genów o specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d* po suszy znajdowały się geny zaangażowane w odpowiedź na brasinosteroidy, gibereliny oraz jasmoniany (**Tabela 5**).

Tabela 5. Procesy biologiczne oraz wybrane, powiązane z nimi geny ulegające specyficznej ekspresji u *hvabi5.d* po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po suszy (25 DAS), które mogły tłumaczyć fizjologiczną odpowiedź *hvabi5.d* na stres suszy. Krotność zmiany oznacza rzeczywistą krotność zmiany ekspresji genu (ang. fold change).

Proces biologiczny	**Identyfikator genu**	**Krotność zmiany**		**Charakterystyka funkcji białka**
		15 DAS	**25 DAS**	
Adaptacja do stresu abiotycznego	HORVU7Hr1G012300	5,56	8,61	LEA
	HORVU6Hr1G081460	2,89	5,31	Heat shock 70 kDa protein 3
	HORVU7Hr1G088920	7,1	2,98	Heat stress transcription factor C-2b
	HORVU5Hr1G120230	4,12	2,9	Late embryogenesis abundant protein
	HORVU1Hr1G059950	9,75	-	Late embryogenesis abundant protein D-19
	HORVU3Hr1G030650	8,93	-	Late embryogenesis abundant protein
	HORVU1Hr1G090250	6,85	-	Ethylene-responsive transcription factor 1
	HORVU7Hr1G056820	5,33	-	Heat stress transcription factor B-2b
	HORVU7Hr1G009800	4,18	-	LEA
	HORVU6Hr1G061010	3,4	-	Hsp70-Hsp90 organizing protein
	HORVU3Hr1G006940	3,31	-	16.9 kDa class I heat shock protein 2
	HORVU7Hr1G038040	-	3,92	HVA22 homologue A
	HORVU1Hr1G060490	-	3,59	Ethylene-responsive transcription factor 4
Biosynteza flawonoidów	HORVU2Hr1G108250	22,71	33,04	Anthocyanidin reductase
	HORVU2Hr1G116390	7,1	-	Chalcone synthase 1
	HORVU7Hr1G034350	4,74	-	Chalcone-flavonone isomerase family protein
	HORVU2Hr1G110130	-	6,19	Flavanone 3-hydroxylase
	HORVU5Hr1G046480	-	3,29	Chalcone-flavonone isomerase
Detoksykacja	HORVU4Hr1G057210	2,5	2,84	Peroxidase superfamily protein
	HORVU4Hr1G057170	2,5	2,84	Peroxidase superfamily protein
	HORVU6Hr1G008640	5,2	-	Catalase 1
	HORVU1Hr1G016980	4,4	-	Peroxidase superfamily protein
Fotosynteza	HORVU7Hr1G096250	-2,35	-8,18	High chlorophyll fluorescence phenotype 173
	HORVU6Hr1G033160	-2,83	-3,53	Chlorophyll A/B binding protein 3
	HORVU3Hr1G021910	-2,27	-3,35	Tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein
	HORVU3Hr1G076300	-3,01	-	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
	HORVU6Hr1G046790	-3,01	-	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2, chloroplastic
	HORVU5Hr1G109940	-	-2,22	Chaperonin-like RbcX protein
	HORVU5Hr1G093930	-	-2,22	Chaperonin-like RbcX protein
Ścieżka zależna od auksyn	HORVU7Hr1G084940	2,44	-2,53	Auxin-responsive protein IAA23
	HORVU5Hr1G017220	8,87	-	SAUR-like auxin-responsive protein family

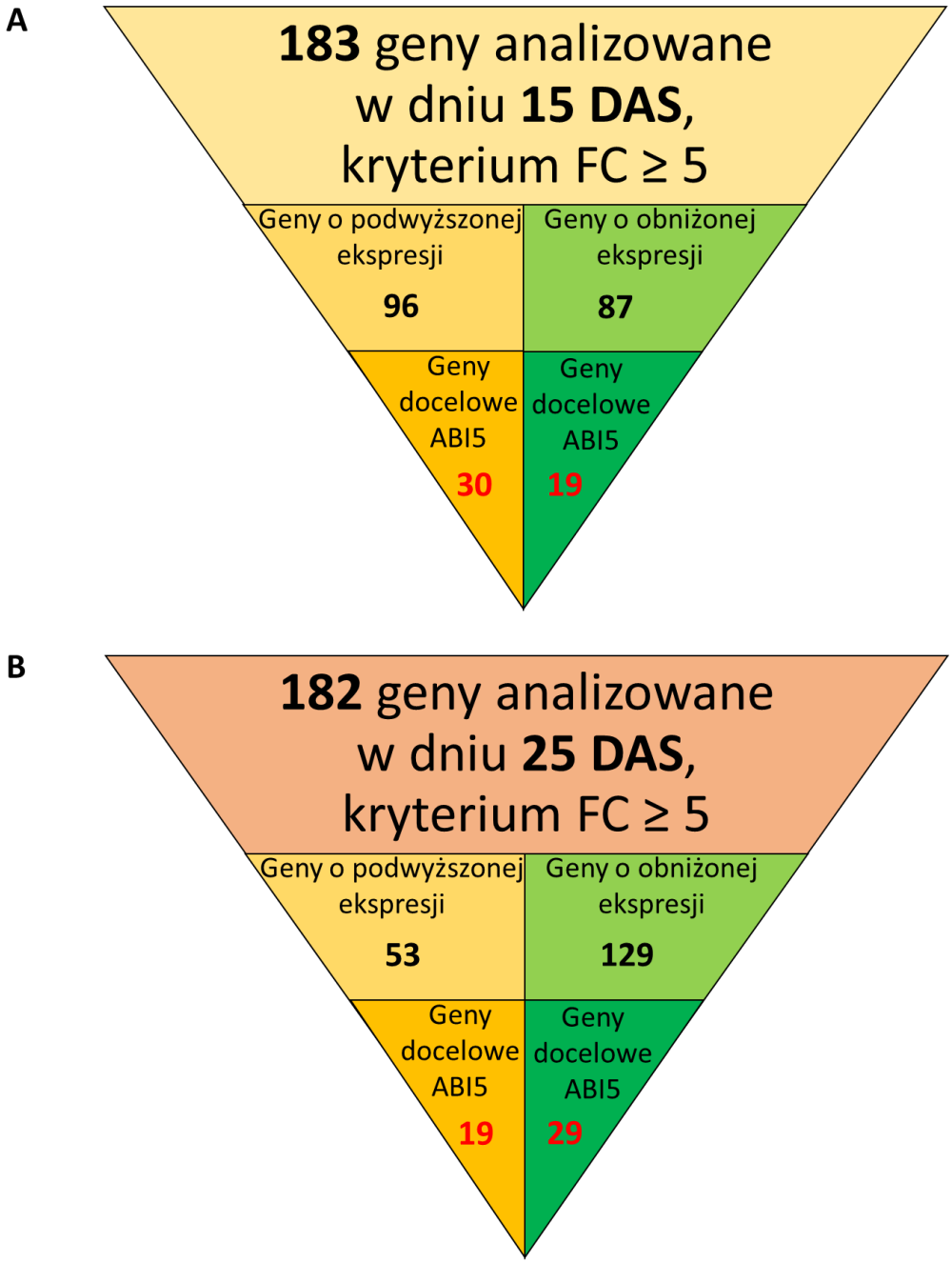
Ścieżka zależna od auksyn	HORVU5Hr1G125560	2,79	-	Flavin-containing monooxygenase family protein
	HORVU6Hr1G021040	-3,34	-	Auxin signaling F-box 3
	HORVU1Hr1G041770	-3,13	-	Auxin response factor 22
	HORVU1Hr1G016700	-	-2,59	Auxin transporter-like protein 3
Ścieżka zależna od giberelin	HORVU4Hr1G062730	-	13,1	Gibberellin receptor GID1
	HORVU2Hr1G099540	-6,65	-	Terpene synthase 04
	HORVU5Hr1G065670	-5,16	-	Gibberellin-regulated family protein
	HORVU2Hr1G118350	-2,75	-	Gibberellin 3-oxidase 1
	HORVU2Hr1G099440	-	-2,07	Terpene synthase 04
Ścieżka zależna od cytokinin	HORVU3Hr1G027460	-2,48	-2,53	Cytokinin dehydrogenase 2
Ścieżka zależna od brasinosteroidów	HORVU7Hr1G120030	5,72	4,18	Delta(24)-sterol reductase
	HORVU3Hr1G026020	-3,14	-	Protein kinase superfamily protein
	HORVU5Hr1G114850	-	-2,27	Protein kinase superfamily protein
Ścieżka zależna od jasmonianów	HORVU1Hr1G050560	2,87	2,71	Transcription factor MYC2

Dokładna analiza funkcji przypisanej genom ulegającym specyficznie niższej ekspresji u *hvabi5.d* po obniżaniu wilgotności w glebie (2018 genów) oraz po suszy (1334 genów) pozwoliła na wyłonienie tych, które mogą tłumaczyć fizjologiczną reakcję mutanta na suszę. W obu grupach znajdowały się geny powiązane z przebiegiem i ochroną fotosyntezy oraz z funkcjonowaniem chlorofilu, które wpływają na efektywność fotosyntezy, w tym *High chlorophyll fluorescence phenotype 173* (**Tabela 5**). Ponadto, w analizowanych grupach znajdowały się też geny zaangażowane w szlak auksyn, giberelin, cytokinin oraz brasinosteroidów (**Tabela 5**).

Na podstawie globalnej analizy transkryptomu *hvabi5.d* przeprowadzonej w obecności suszy stwierdzono, że lepsza odpowiedź mutanta na stres jest uwarunkowana podwyższoną aktywnością genów, których funkcjonowanie może być powiązane bezpośrednio z *HvABI5* (*HVA22 homolog A, Ethylene-responsive transcription factor 4*/*HvDRF1*) oraz genów zaangażowanych w procesy umożliwiające adaptację do warunków suszy. Ponadto, tolerancja na suszę *hvabi5.d* może wynikać ze zmienionych interakcji pomiędzy ścieżkami różnych fitohormonów. Należy podkreślić, że zarówno podczas obniżania wilgotności w glebie, jak ipo suszy obserwowano podwyższoną ekspresję *LEA*, *HSP*, a także genów powiązanych z biosyntezą flawonoidów oraz detoksykacją ROS, co sugeruje, że tolerancja na stres u mutanta zależy od funkcjonowania podobnych mechanizmów podczas redukcji wilgotności w glebie oraz 10-dniowej suszy. Co również istotne, nie stwierdzono porównywalnej reakcji na suszę u odmiany ‘Sebastian’ (**Tabela 3** i **4**).

4.11. Poszukiwanie genów docelowych dla HvABI5

Globalna analiza transkryptomu pozwoliła na identyfikację genów ulegających zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* po suszy. Otrzymane wyniki posłużyły do analizy regionów promotorowych pod względem obecności elementów *cis* ABRE wiązanych przez ABI5, w celu wyłonienia genów, które mogą być pod bezpośrednią kontrolą HvABI5. Analizie poddano promotory genów, których krotność ekspresji była większa lub równa 5 (FC ≥ 5). Tym samym, pod kątem obecności motywu rozpoznawanego przez ABI5 sprawdzono promotory 183 genów ulegających zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* po okresie obniżania wilgotności gleby (15 DAS) (**Rycina 19A**) oraz promotory 182 genów zidentyfikowanych u mutanta po 10-dniowej suszy (25 DAS) (**Rycina 19B**). Występowanie elementów *cis* ABRE wiązanych przez ABI5 stwierdzono w promotorach 49 genów o zróżnicowanej ekspresji w 15 DAS oraz w promotorach 48 genów o zróżnicowanej ekspresji w 25 DAS (**Rycina 19A, B**). Należy także podkreślić, że wśród zidentyfikowanych genów potencjalnie docelowych dla ABI5, 8 genów ulegało zróżnicowanej ekspresji zarówno w 15, jak i w 25 DAS (7 genów o podwyższonej ekspresji oraz 1 gen o obniżonej ekspresji) (**Tabela 6**). Tym samym genów potencjalnie docelowych dla ABI5 zidentyfikowanych wyłącznie w 15 oraz 25 DAS było odpowiednio 41 oraz 40 (**Tabela 6**).



Rycina 19. Schemat analiz promotorów genów wykazujących specyficznie podwyższoną oraz obniżoną ekspresję u *hvabi5.d* **(A)** po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz **(B)** po suszy (25 DAS) pod względem obecności motywu rozpoznawanego przez ABI5.

W celu identyfikacji procesów biologicznych, w które zaangażowane są geny potencjalnie docelowe dla HvABI5, a także pogrupowania ich pod względem pełnionej funkcji, przeprowadzono analizę ontologii dla 49 genów zidentyfikowanych w 15 DAS oraz dla 48 genów zidentyfikowanych w 25 DAS. Analiza GO umożliwiła przypisanie procesów biologicznych jedynie dla 44 genów adnotowanych w genomie jęczmienia IBSC_v2 dostępnego w bazie danych Ensembl Plants (**Tabela 6**). Wśród zidentyfikowanych terminów

GO najliczniej reprezentowane były procesy związane z reakcjami utleniania i redukcji, z regulacją transkrypcji oraz z transkrypcją (**Tabela 6**). Ponadto wśród zidentyfikowanych terminów ontologii można było wyróżnić procesy biologiczne bezpośrednio powiązane z reakcją *hvabi5.d* na suszę, takie jak: odpowiedź na niedobór wody, regulacja otwierania aparatów szparkowych oraz odpowiedź na ABA (**Tabela 6**).

Tabela 6. Geny potencjalnie docelowe dla HvABI5, zidentyfikowane na podstawie globalnej analizy transkryptomu u *hvabi5.d* po obniżaniu wilgotności gleby (15 DAS) i po suszy (25 DAS) przy zastosowaniu kryterium FC ≥ 5 oraz przypisane do nich procesy biologiczne. Geny opisane pogrubioną czcionką wybrano do analizy ekspresji za pomocą RT-qPCR. Skróty genów nadano na podstawie ich adnotacji funkcjonalnych.

Termin GO	**Opis terminu GO**	**Identyfikator genu**	**Charakterystyka funkcji białka**	**Krotność zmiany**		**Skrót**
				15 DAS	**25 DAS**	
GO:0055114	procesy utleniania i redukcji	HORVU0Hr1G013900	L-lactate dehydrogenase	-	-5,06	
		HORVU2Hr1G085570	Cytochrome b561 and DOMON domain-containing protein	7,49	-	
		HORVU2Hr1G110130	Flavanone 3-hydroxylase	-	6,19	
		HORVU4Hr1G005920	Lipoxygenase 1	-	24,33	
		HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
		HORVU5Hr1G055740	**Carotenoid cleavage dioxygenase 1**	**5,44**	**-**	***CCD1***
		HORVU6Hr1G008640	Catalase 1	5,20	-	
GO:0006355	regulacja transkrypcji	HORVU1Hr1G090250	Ethylene-responsive transcription factor 1	6,85	-	
		HORVU2Hr1G126040	NAC domain containing protein 76	-5,22	-	
		HORVU3Hr1G010190	B3 domain-containing transcription factor NGA2	-5,03	-	
		HORVU7Hr1G054220	MADS-box transcription factor 7	-7,03	-	
		HORVU7Hr1G056820	Heat stress transcription factor B-2b	5,33	-	
		HORVU7Hr1G106480	**NAC domain containing protein 1**	**-6,53**	**-**	***NAC1***
GO:0006351	transkrypcja	HORVU1Hr1G090250	Ethylene-responsive transcription factor 1	6,85	-	
		HORVU3Hr1G010190	B3 domain-containing transcription factor NGA2	-5,03	-	
		HORVU7Hr1G054220	MADS-box transcription factor 7	-7,03	-	
GO:0005975	metabolizm węglowodanów	HORVU2Hr1G043890	Xylanase inhibitor protein 1	6,27	-	
		HORVU4Hr1G063240	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 11	-	-6,04	
GO:0006412	translacja	HORVU7Hr1G114170	50S ribosomal protein L35	-	-5,82	
		HORVU7Hr1G115040	30S ribosomal protein S17	-	-5,61	
GO:0006468	fosforylacja białek	HORVU5Hr1G008980	Receptor kinase 3	-	-5,32	
		HORVU7Hr1G010740	Protein kinase family protein	-	-5,66	
GO:0006508	proteoliza	HORVU1Hr1G092150	Carboxypeptidase Y homolog A	-	5,39	

GO:0006508	proteoliza	HORVU2Hr1G095170	RHOMBOID-like protein 6	5,87	-	
GO:0006979	odpowiedź na stres oksydacyjny	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
		HORVU6Hr1G008640	Catalase 1	5,20	-	
GO:0009737	odpowiedź na kwas abscysynowy	HORVU1Hr1G059950	Late embryogenesis abundant protein D-19	9,75	-	
		HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0032544	translacja w plastydach	HORVU7Hr1G079190	PSRP4	-	-5,23	
		HORVU7Hr1G115040	30S ribosomal protein S17	-	-5,61	
GO:0042744	katabolizm nadtlenku wodoru	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
		HORVU6Hr1G008640	Catalase 1	5,20	-	
GO:0050832	odpowiedź obronna wobec grzybów	HORVU3Hr1G113120	Wound-induced protein	-	18,48	
		HORVU4Hr1G005690	Undescribed protein	-	12,40	
GO:0055085	transport przez błony	HORVU1Hr1G039720	Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.2	-	-5,82	
		HORVU3Hr1G024210	ABC transporter C family member 3	-	7,24	
GO:0000079	regulacja aktywności kinaz serynowo-treoninowych zależna od cyklin	**HORVU6Hr1G014420**	**Cyclin p4**	**10,78**	**10,37**	***CYC4***
GO:0006414	elongacja translacji	HORVU6Hr1G053680	Elongation factor Tu	-	-6,26	
GO:0006417	regulacja translacji	**HORVU2Hr1G008250**	**Pumilio 2**	**-7,03**	**-**	***PUM2***
GO:0006457	fałdowanie białek	HORVU7Hr1G117000	Chaperone protein htpG family protein	-	5,70	
GO:0006470	defosforylacja białek	HORVU1Hr1G016630	RNA polymerase II subunit B1 CTD phosphatase Rpap2	-	-6,52	
GO:0006511	procesy kataboliczne białek zależne od ubikwityny	**HORVU1Hr1G038130**	**CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein**	**-5,03**	**-6,52**	***CHY***
GO:0006595	metabolizm poliamin	**HORVU7Hr1G079430**	**Polyamine aminopropyltransferase 2**	**9,47**	**9,15**	***PAPT2***
GO:0006596	biosynteza poliamin	**HORVU7Hr1G079430**	**Polyamine aminopropyltransferase 2**	**9,47**	**9,15**	***PAPT2***
GO:0006633	biosynteza kwasów tłuszczowych	HORVU6Hr1G036950	3-ketoacyl-CoA synthase 11	5,54	-	
GO:0006816	transport jonów wapnia	HORVU4Hr1G010200	Calcium-transporting ATPase	-	-6,08	
GO:0006839	transport mitochondrialny	HORVU5Hr1G078950	Mitochondrial dicarboxylate carrier	-	6,92	

GO:0006886	wewnątrzkomórkowy transport białek	HORVU4Hr1G011180	Syntaxin-124	-	-6,74	
GO:0007186	szlak sygnałowy receptora sprzężonego z białkiem G	HORVU5Hr1G010420	Glutamate receptor 2.7	-	-7,37	
GO:0007623	rytm dobowy	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0009086	biosynteza metioniny	**HORVU4Hr1G067280**	**Homocysteine S-methyltransferase family protein**	**7,17**	**-**	***HMT***
GO:0009414	odpowiedź na niedobór wody	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0009416	odpowiedź na impuls świetlny	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0009617	odpowiedź wobec bakterii	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0009793	rozwój zarodkowy zakończony spoczynkiem nasion	**HORVU7Hr1G012300**	**LEA**	**5,56**	**8,61**	***LEA***
GO:0009834	biogeneza wtórnej ściany komórkowej roślin	HORVU1Hr1G087570	FASCICLIN-like arabinogalactan 6	5,96	-	
GO:0009853	fotooddychanie	HORVU0Hr1G013900	L-lactate dehydrogenase	-	-5,06	
GO:0009854	oksydacyjne procesy fotosyntetycznego cyklu węgla	HORVU0Hr1G013900	L-lactate dehydrogenase	-	-5,06	
GO:0010109	regulacja fotosyntezy	HORVU0Hr1G013900	L-lactate dehydrogenase	-	-5,06	
GO:0010200	odpowiedź na chitynę	HORVU1Hr1G090250	Ethylene-responsive transcription factor 1	6,85	-	
GO:0010608	potranskrypcyjna regulacja ekspresji genów	**HORVU2Hr1G008250**	**Pumilio 2**	**-7,03**	**-**	***PUM2***
GO:0016032	procesy wirusowe	HORVU0Hr1G013900	L-lactate dehydrogenase	-	-5,06	
GO:0016192	transport z udziałem pęcherzyków	HORVU4Hr1G011180	Syntaxin-124	-	-6,74	
GO:0016567	ubikwitynacja białek	**HORVU1Hr1G038130**	**CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein**	**-5,03**	**-6,52**	***CHY***
GO:0017014	nitrozylacja białek	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0019048	modulacja procesów organizmu gospodarza przez wirusy	HORVU0Hr1G013900	L-lactate dehydrogenase	-	-5,06	
GO:0030244	biosynteza celulozy	HORVU5Hr1G071140	Cellulose synthase like E1	-	-6,19	

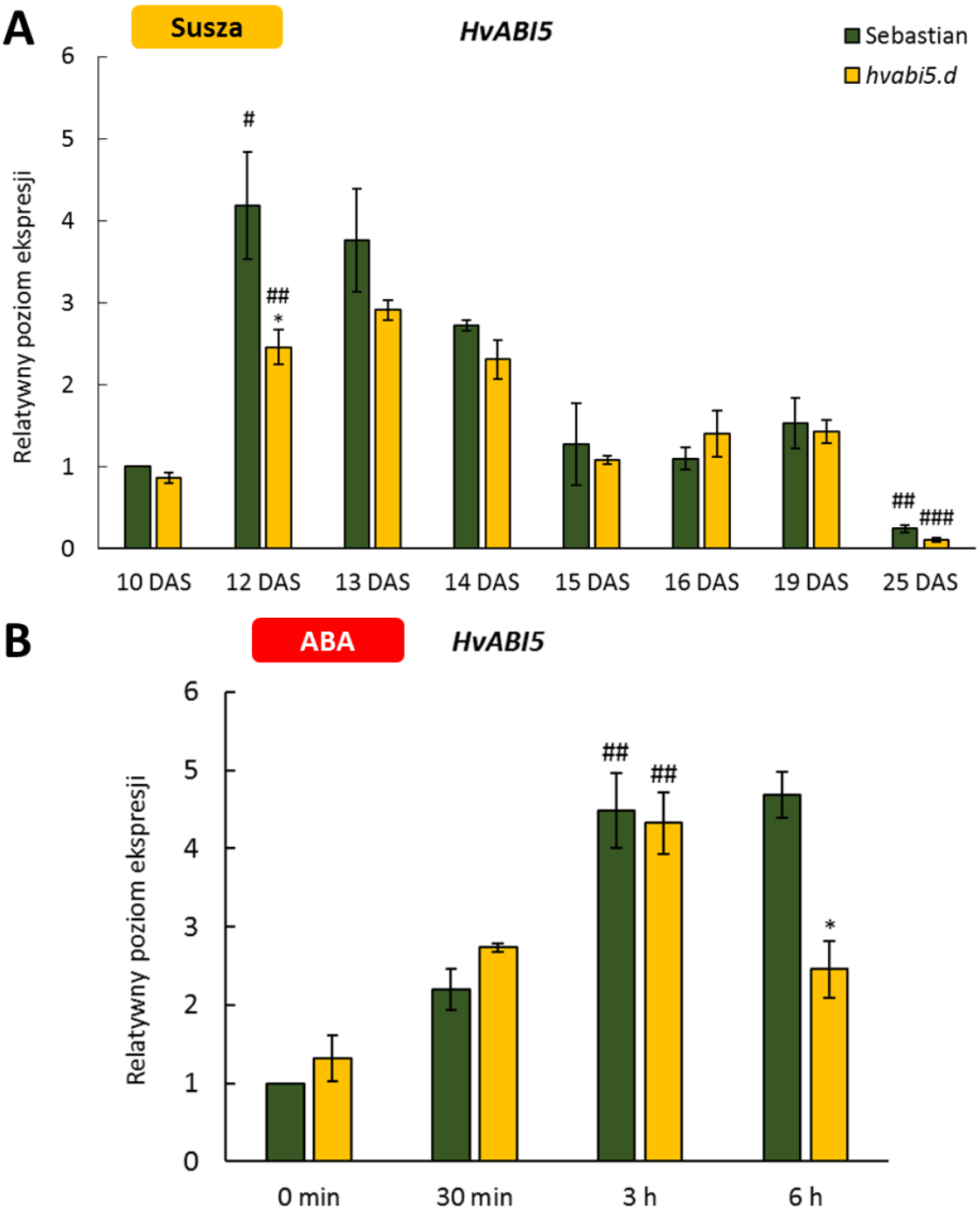
GO:0031408	biosynteza oksylipin	HORVU4Hr1G005920	Lipoxygenase 1	-	24,33	
GO:0032259	metylacja	HORVU5Hr1G008980	Receptor kinase 3	-	-5,32	
GO:0033484	homeostaza tlenku azotu	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0042542	odpowiedź na nadtlenek wodoru	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0042742	odpowiedź obronna wobec bakterii	HORVU3Hr1G113120	Wound-induced protein	-	18,48	
GO:0045944	pozytywna regulacja transkrypcji zależnej od polimerazy RNA II	HORVU7Hr1G054220	MADS-box transcription factor 7	-7,03	-	
GO:0046686	odpowiedź na jony kadmu	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0046856	defosforylacja fosfatydyloinozytolu	HORVU1Hr1G080460	Type IV inositol polyphosphate 5-phosphatase 3	-	-5,18	
GO:0050665	biosynteza nadtlenku wodoru	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:0070940	defosforylacja domeny C-końcowej polimerazy RNA II	HORVU1Hr1G016630	RNA polymerase II subunit B1 CTD phosphatase Rpap2	-	-6,52	
GO:0071555	organizacja ściany komórkowej	HORVU5Hr1G071140	Cellulose synthase like E1	-	-6,19	
GO:1902074	odpowiedź na zasolenie	HORVU4Hr1G082040	Catalase 2	-	-5,54	
GO:1902456	regulacja otwierania aparatów szparkowych	**HORVU1Hr1G038130**	**CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein**	**-5,03**	**-6,52**	***CHY***
Brak terminu GO	-	**HORVU2Hr1G108250**	**Anthocyanidin reductase**	**22,71**	**33,05**	***BAN***
		HORVU5Hr1G080500	**BAG family molecular chaperone regulator 3**	**14,7**	**8,53**	***BAG3***
		HORVU3Hr1G079800	**Non-specific lipid-transfer protein-like protein**	**62,28**	**5,8**	***LTP***
		HORVU3Hr1G036600	**TRAM, LAG1 and CLN8 (TLC) lipid-sensing domain containing protein**	**13,96**	**5,51**	***TLC***
		HORVU1Hr1G065150	**Undescribed protein**	**46,36**	**-**	***Unknown***
		HORVU7Hr1G025180	**Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein**	**25,76**	**-**	***DIR***
		HORVU6Hr1G061420	**Cytochrome b5**	**25,36**	**-**	***CYB5***
		HORVU0Hr1G005320	**IQ-domain 22**	**11,04**	**-**	***IQ22***
		HORVU5Hr1G005180	**Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein**	**10,8**	**-**	***PR***

Brak terminu GO	-	HORVU3Hr1G054780	Alpha/beta-Hydrolases superfamily protein	8,27	-	
		HORVU4Hr1G073230	Unknown protein	7,5	-	
		HORVU5Hr1G051950	Thaumatin-like protein 3	6,71	-	
		HORVU2Hr1G112600	Peptidyl-tRNA hydrolase	5,57	-	
		HORVU1Hr1G066930	Undescribed protein	5,31	-	
		HORVU0Hr1G009470	Germin-like protein 2	5,16	-	
		HORVU6Hr1G064820	**Basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein**	**5,14**	**-**	***bHLH***
		HORVU7Hr1G116940	F-box family protein	-	9,93	
		HORVU4Hr1G022950	Vacuolar sorting receptor homolog 1	-	9,56	
		HORVU4Hr1G078690	Ras-related protein Rab-6A	-	8,49	
		HORVU2Hr1G109910	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein	-	6,4	
		HORVU1Hr1G071430	Unknown function	-13,51	-	
		HORVU1Hr1G059540	Metallothionein 2A	-7,42	-	
		HORVU2Hr1G099540	**Terpene synthase 04**	**-6,65**	**-**	***GA4***
		HORVU6Hr1G069280	**Uridine kinase-like 4**	**-6,56**	**-**	***UKL4***
		HORVU3Hr1G104940	**Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein**	**-6,15**	**-**	***LRPK1***
		HORVU2Hr1G096070	CYCLIN B2	-6,13	-	
		HORVU6Hr1G072160	FASCICLIN-like arabinogalactan 1	-5,72	-	
		HORVU4Hr1G083590	Protein kinase superfamily protein	-5,67	-	
		HORVU1Hr1G087010	Purple acid phosphatase 27	-5,63	-	
		HORVU7Hr1G099370	**Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein**	**-5,42**	**-**	***LRPK2***
		HORVU5Hr1G021130	Unknown function	-5,21	-	
		HORVU5Hr1G073740	Dihydroflavonol 4-reductase-like1	-5,16	-	
		HORVU7Hr1G039800	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein	-5,03	-	
		HORVU2Hr1G017310	Thioredoxin F2	-	-13,49	
		HORVU4Hr1G074980	HNH endonuclease	-	-9,09	
		HORVU7Hr1G096250	High chlorophyll fluorescence phenotype 173	-	-8,18	

Brak terminu GO	-	HORVU5Hr1G016910	Unknown function	-	-7,56	
		HORVU3Hr1G078860	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein	-	-6,74	
		HORVU1Hr1G054930	SBP (S-ribonuclease-binding protein) family protein	-	-6,24	
		HORVU3Hr1G023220	Chloride channel C	-	-6,14	
		HORVU1Hr1G025250	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	-	-6	
		HORVU7Hr1G024350	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1	-	-5,96	
		HORVU7Hr1G023250	Unknown protein	-	-5,77	
		HORVU3Hr1G059610	Phosphoglycerate mutase family protein	-	-5,28	
		HORVU7Hr1G098400	Chlororespiratory reduction 42	-	-5,11	

4.12. Analiza ekspresji genów potencjalnie docelowych dla ABI5 po traktowaniu suszą oraz ABA u mutanta *hvabi5.d* oraz u odmiany ‘Sebastian’

W celu szczegółowej analizy wzoru ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, a także w celu uzyskania odpowiedzi na pytanie czy ich regulacja związana jest ze stresem suszy na drodze ABA-zależnej, przeanalizowano ekspresję tych genów za pomocą reakcji RT-qPCR po suszy oraz po traktowaniu ABA. Punktem wstępnym tych analiz było prześledzenie wzoru ekspresji *HvABI5* w odpowiedzi na suszę w różnych punktach czasowych eksperymentu oraz na traktowanie ABA. Pozwoliło to na sprawdzenie, kiedy zmienia się ekspresja *HvABI5* w odpowiedzi na badane traktowania, a zatem na umiejscowienie w czasie jego potencjalnego wpływu regulatorowego na geny docelowe. Analiza aktywności *HvABI5* wykazała wzrost ekspresji tego genu u obu genotypów już na etapie wczesnej suszy, tj. w początkowej fazie obniżania wilgotności w glebie (12 DAS), jednakże wzrost ten był prawie dwukrotnie niższy u mutanta *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany ‘Sebastian’. Podwyższoną ekspresję *HvABI5* można było również zaobserwować w trakcie kontynuacji obniżania wilgotności w glebie (13-14 DAS) u obu genotypów. Następnie aktywność *HvABI5* uległa obniżeniu, a po 10-dniowej suszy (25 DAS) obserwowano zahamowanie aktywności *HvABI5* zarówno u mutanta, jak i odmiany wyjściowej (**Rycina 20A**). Z kolei, traktowanie ABA (200 μM) indukowało ekspresję *HvABI5* u obu analizowanych genotypów na podobnym poziomie po 3 godzinach od oprysku kwasem abscysynowym, lecz po 6 godzinach od traktowania aktywność *HvABI5* była prawie dwukrotnie niższa u mutanta w porównaniu do odmiany ‘Sebastian’ (**Rycina 20B**).



Rycina 20. Względny poziom ekspresji *HvABI5* u *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), podczas obniżania wilgotności w glebie (12, 13, 14, 15 DAS) oraz po suszy (16, 19, 25 DAS) **(A)**, a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM) **(B)**. Względny poziom ekspresji badanego genu po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu jego ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej ‘Sebastian’. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym

zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

Biorąc pod uwagę fakt, że działanie genu *HvABI5* obserwowano głównie podczas obniżania wilgotności w glebie, do analizy ekspresji postanowiono wybrać 14 genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, które wykazywały zróżnicowaną ekspresję u *hvabi5.d* jedynie w 15 DAS. Wybrano geny, które odznaczały się wysoką krotnością zmiany ekspresji i/lub mogły być powiązane z odpowiedzią na stres (**Tabela 6, Aneks 11**). Ze względu na ABA-zależne działanie *HvABI5*, badano ekspresję tych genów u *hvabi5.d* oraz u odmiany 'Sebastian' nie tylko w warunkach deficytu wody (15 i 25 DAS), lecz także po traktowaniu ABA w celu sprawdzenia, czy badane geny działają w ścieżce zależnej od ABA. Potencjalne motywy rozpoznawane przez ABI5 w obrębie promotorów badanych genów oraz funkcje tych genów przedstawiono w **Aneksie 12** oraz **Tabeli 7**. Co istotne, zidentyfikowane geny potencjalnie docelowe dla HvABI5 nie są dotychczas scharakteryzowane funkcjonalnie w dostępnej literaturze. Funkcje tym genom przypisano wyłącznie bioinformatycznie, na podstawie terminów GO oraz adntotacji funkcjonalnych znajdujących się w bazach danych dla sekwencji odpowiadającym identyfikatorom HORVU tych genów, a także na podstawie potencjalnych ortologów Arabidopsis. Konkretna funkcja tych genów nie była jednak potwierdzona za pomocą badań molekularnych mutantów bądź linii z nadekspresją. Ponadto, dla większości przypuszczalnych ortologów tych genów u Arabidopsis nie stwierdono dotąd roli w odpowiedzi na stres suszy. Skróty dla potencjalnych genów docelowych HvABI5 przyjęto na potrzeby nieniejszej pracy na podstawie dostępnych adnotacji funkcjonalnych.

Tabela 7. Geny potencjalnie docelowe dla HvABI5, zidentyfikowane na podstawie globalnej analizy transkryptomu u *hvabi5.d* po obniżaniu wilgotności gleby (15 DAS) i po suszy (25 DAS) i wybrane do analizy ekspresji za pomocą RT-qPCR oraz potencjalne ortologi tych genów u Arabidopsis wraz z pełnionymi funkcjami.

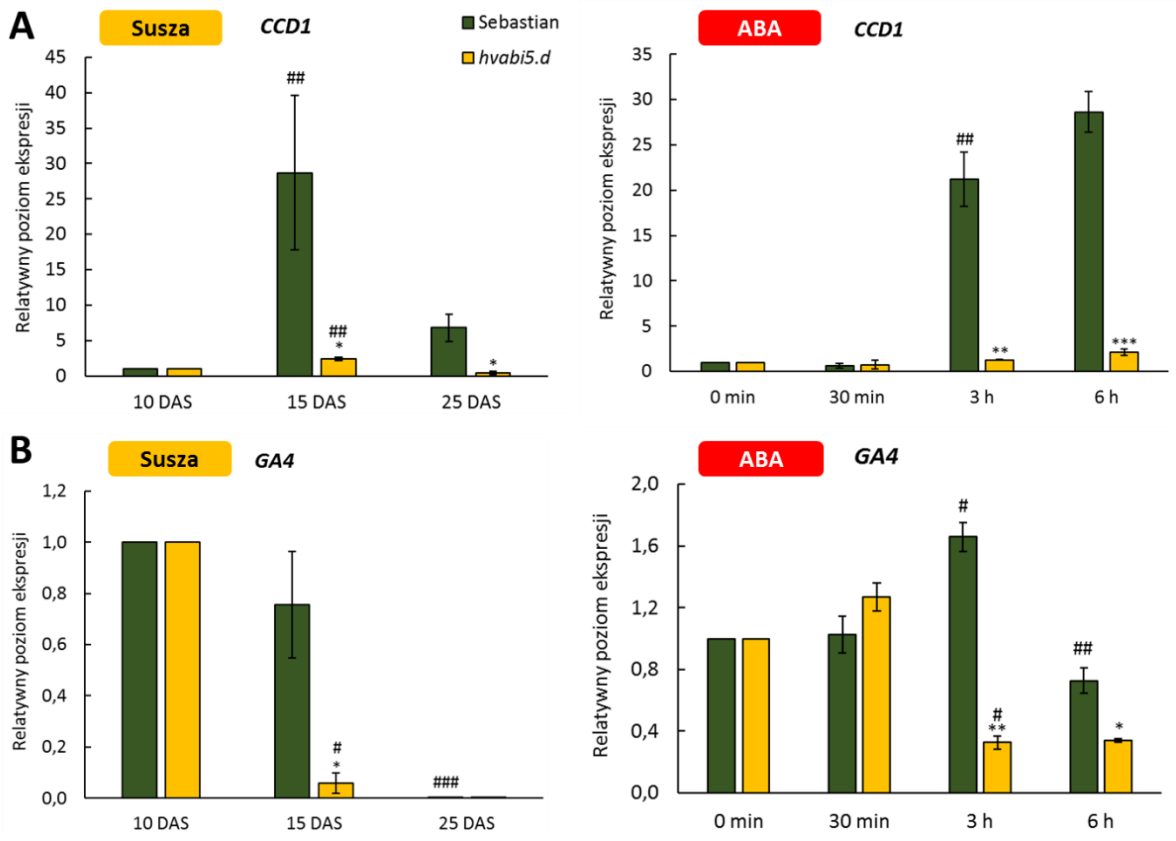
Identyfikator genu	**Charakterystyka funkcji białka**	**Skrót**	**Identyfikator potencjalnego ortologa Arabidopsis**	**Nazwa potencjalnego ortologa Arabidopsis**	**Skrót nazwy potencjalnego ortologa Arabidopsis**	**Funkcja potencjalnego ortologa Arabidopsis**
Geny ulegające specyficznie zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* w 15 DAS						
HORVU1Hr1G065150	Undescribed protein	*Unknown*	-	-	-	-
HORVU7Hr1G025180	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein	*DIR*	AT5G42510	DIRIGENT PROTEIN 1	DIR1	Zaangażowanie w biosyntezę lignanów, flawonolignanów i alkaloidów w odpowiedzi na patogeny
HORVU6Hr1G061420	Cytochrome b5	*CYB5*	AT2G32720	CYTOCHROME B5 ISOFORM B	CYTB5B	Zaangażowanie w biosyntezę bardzo długołańcuchowych kwasów tłuszczowych
HORVU5Hr1G005180	Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein	*PR*	AT4G11650	OSMOTIN 34	OSM34	Obrona przed patogenami
HORVU0Hr1G005320	IQ-domain 22	*IQ22*	AT4G23060	IQ-DOMAIN 22	IQD22	Regulacja odpowiedzi zależnej od giberelin
HORVU4Hr1G067280	Homocysteine S-methyltransferase family protein	*HMT*	AT3G25900	HOMOCYSTEINE S-METHYLTRANSFERASE 1	HMT1	Zaangażowanie w biosyntezę metioniny
HORVU5Hr1G055740	Carotenoid cleavage dioxygenase 1	*CCD1*	AT3G63520	CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE 1	CCD1	Zaangażowanie w metabolizm karotenoidów oraz prawdopodobnie w biosyntezę ABA, a także rola w odpowiedzi na niedobór wody

HORVU6Hr1G064820	Basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein	*bHLH*	AT1G31050	BASIC HELIX-LOOP-HELIX 111	BHLH111	Regulacja ekspresji genów
HORVU2Hr1G008250	Pumilio 2	*PUM2*	AT3G10360	PUMILIO 4	PUM4	Regulacja stabilności mRNA oraz translacji
HORVU2Hr1G099540	Terpene synthase 04	*GA4*	AT1G79460	GA REQUIRING 2	GA2	Zaangażowanie w biosyntezę giberelin
HORVU6Hr1G069280	Uridine kinase-like 4	*UKL4*	AT1G73980	TRIPHOSPHATE TUNNEL METALLOENZYME 1	TTM1	Regulacja procesu starzenia liści
HORVU7Hr1G106480	NAC domain containing protein 1	*NAC1*	AT1G56010	NAC DOMAIN-CONTAINING PROTEIN 21/22	ANAC021	Regulacja ekspresji genów zaangażowanych w sygnalizację auksyny podczas aktywacji rozwoju korzeni bocznych
HORVU3Hr1G104940	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	*LRPK1*	AT1G71830	SOMATIC EMBRYOGENESIS RECEPTOR-LIKE KINASE 1	SERK1	Regulacja odpowiedzi zależnej od brasinosteroidów
HORVU7Hr1G099370	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	*LRPK2*	AT5G16000	NSP-INTERACTING KINASE 1	NIK1	Ochrona przed patogenami
Geny ulegające specyficznie zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* w 15 oraz 25 DAS						
HORVU2Hr1G108250	Anthocyanidin reductase	*BAN*	AT1G61720	BANYLUS	BAN	Zaangażowanie w biosyntezę flawonoidów
HORVU6Hr1G014420	Cyclin p4	*CYC4*	AT2G44740	CYCLIN P4;1	CYCP4;1	Regulacja cyklu komórkowego i podziałów komórkowych
HORVU7Hr1G079430	Polyamine aminopropyltransferase 2	*PAPT2*	AT5G53120	SPERMIDINE SYNTHASE 3	SPDS3	Udział w biosyntezie poliamin
HORVU7Hr1G012300	LEA	*LEA*	AT2G35300	LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANT 18	LEA18	Dostosowanie komórek do niskiej zawartości wody w środowisku

HORVU5Hr1G080500	BAG family molecular chaperone regulator 3	*BAG3*	AT5G52060	BCL-2-ASSOCIATED ATHANOGENE 1	BAG1	Wspomaganie działania innych białek związanych z odpowiedzią na stres
HORVU3Hr1G079800	Non-specific lipid-transfer protein-like protein	*LTP*	AT2G27130	GLYCOSYLPHOSPHATIDYLINOSITOL-ANCHORED LIPID PROTEIN TRANSFER 12	LTPG12	Zaangażowanie w transport lipidów
HORVU3Hr1G036600	TRAM, LAG1 and CLN8 (TLC) lipid-sensing domain containing protein	*TLC*	AT1G45010	TRAM, LAG1 AND CLN8 (TLC) LIPID-SENSING DOMAIN CONTAINING PROTEIN	TLC	Zaangażowanie w sygnalizację lipidów
HORVU1Hr1G038130	CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein	*CHY*	AT5G22920	CHY ZINC-FINGER AND RING PROTEIN 1	CHYR1	Zaangażowanie w proces ubikwitynacji, regulacja otwierania aparatów szparkowych

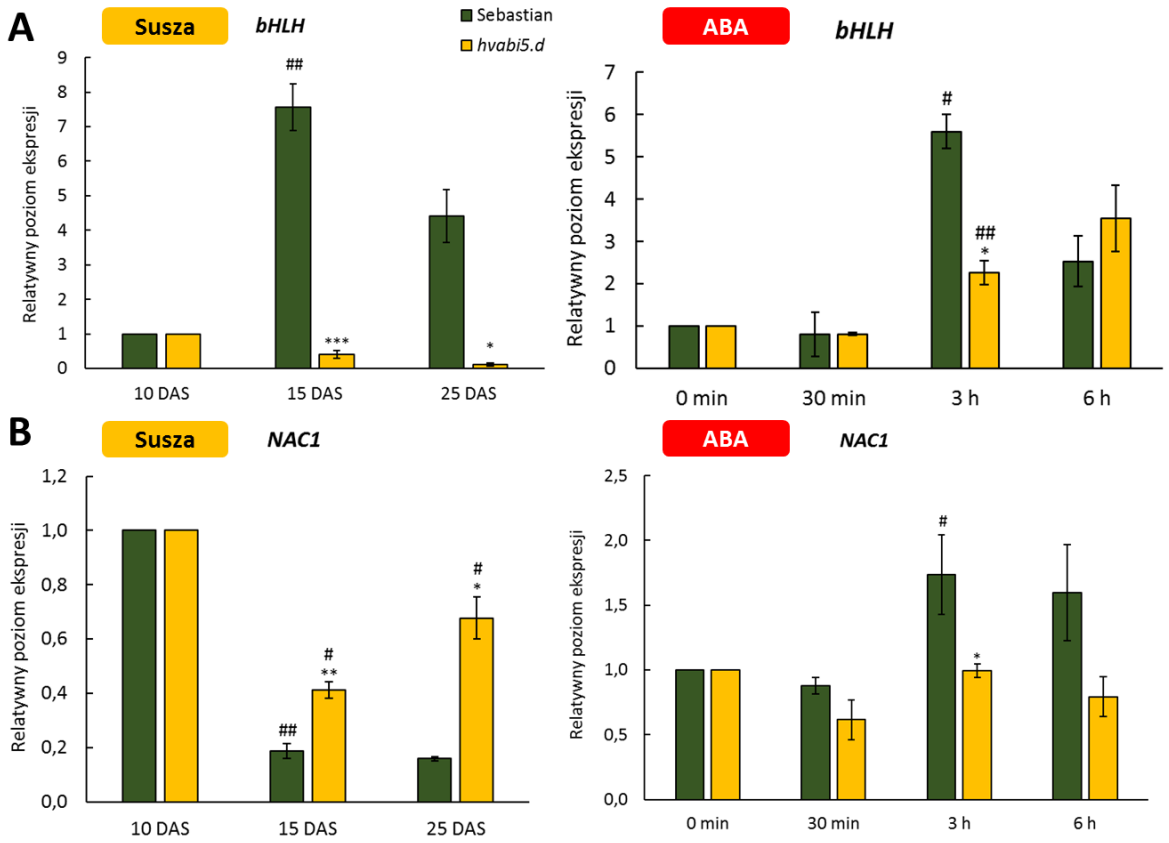
Przeprowadzone analizy wykazały, że ekspresja 9 genów jest regulowanych zarówno przez suszę, jak i przez ABA (**Rycina 21-25**), natomiast 4 geny odpowiadają jedynie na suszę (**Rycina 26-28**). Dla jednego z 14 badanych genów nie udało się uzyskać amplifikacji.

W grupie genów regulowanych zarówno przez suszę, jak i przez ABA znajdowało się 9 genów: *CCD1*, *GA4*, *bHLH*, *NAC1*, *LRPK1*, *UKL4*, *CYB5*, *HMT* oraz *Unknown* (**Tabela 6**, **7**). Działanie *CCD1* oraz *GA4* jest prawdopodobnie powiązane z biosyntezą fitohormonów, ABA oraz giberelin. W początkowej fazie suszy (15 DAS) ekspresja *CCD1* była aktywowana u obu genotypów, a po 10-dniowej suszy (25 DAS) jedynie u odmiany 'Sebastian'. W przypadku *GA4* spadek ekspresji obserwowano już w 15 DAS u mutanta oraz u obu genotypów w 25 DAS. Aktywność *CCD1* była istotnie niższa u mutanta w porównaniu do odmiany wyjściowej w 15 oraz 25 DAS, natomiast ekspresja *GA4* jedynie w 15 DAS (**Rycina 21A, B**). Traktowanie ABA aktywowało *CCD1* u odmiany rodzicielskiej, natomiast dla *GA4* obserwowano wzrost oraz spadek ekspresji, u odmiany 'Sebastian' oraz u *hvabi5.d*., odpowiednio. Poziom ekspresji obu genów był istotnie niższy u *hvabi5.d* porównując do odmiany 'Sebastian' (**Rycina 21A, B**). Poziom ekspresji *CCD1* u mutanta po obniżaniu poziomu wody w glebie do 3% vwc (15 DAS) był 12 razy niższy niż u odmiany 'Sebastian' i 17 – 14 razy niższy po traktowaniu ABA, 3 i 6 godzin, odpowiednio (**Rycina 21A**).



Rycina 21. Względny poziom ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 DAS i działających zależnie od ABA, które zaangażowane są w syntezę fitohormonów, **(A)** *CCD1* oraz **(B)** *GA4*, u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian', w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 μM). Względny poziom ekspresji badanych genów po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu ich ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej 'Sebastian' lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

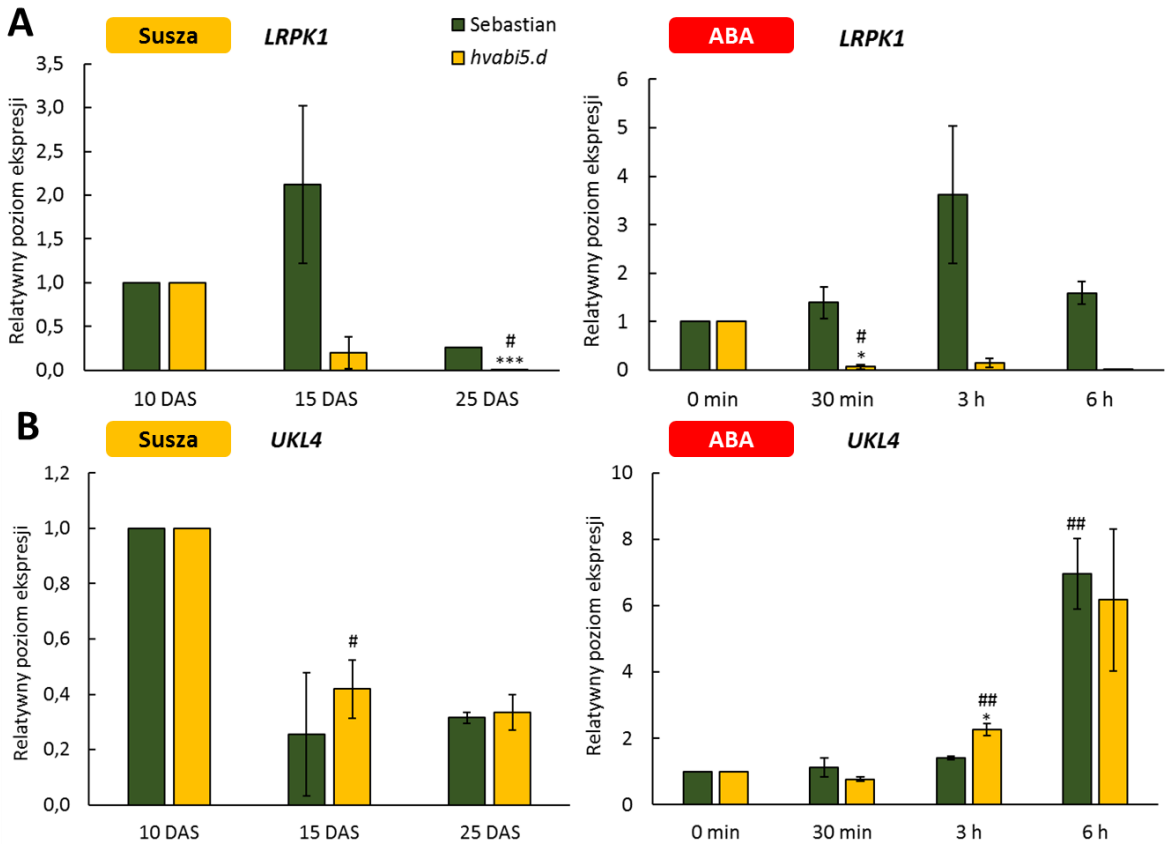
Geny *bHLH* oraz *NAC1* kodują czynniki transkrypcyjne (**Tabela 7**). W początkowej fazie suszy (15 DAS) oraz po 10-dniowym stresie suszy (25 DAS) aktywność *bHLH* wzrosła jedynie u odmiany 'Sebastian', natomiast ekspresja *NAC1* uległa obniżeniu u obu genotypów. Traktowanie ABA aktywowało *bHLH* u obu badanych genotypów oraz *NAC1* jedynie u odmiany 'Sebastian' (**Rycina 22A, B**). Dla *bHLH* obserwowano istotnie niższą ekspresję u *hvabi5.d* względem odmiany 'Sebastian', zarówno w 15 oraz 25 DAS. Po traktowaniu ABA ekspresja *bHLH* również była niższa u *hvabi5.d*, porównując do odmiany wyjściowej. Natomiast *NAC1*, który 3 godziny po oprysku ABA, podobnie jak *bHLH*, charakteryzował się niższym poziomem ekspresji u mutanta niż u odmiany 'Sebastian', w stresie suszy wykazywał reakcję odwrotną, tzn. wyższą aktywność transkrypcyjną (**Rycina 22A, B)**. Zróżnicowana aktywność *NAC1* u *hvabi5.d* po obu traktowaniach może świadczyć o odmiennym typie regulacji *NAC1* przez HvABI5 w obecności suszy oraz ABA.



Rycina 22. Względny poziom ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 DAS i działających zależnie od ABA, które kodują czynniki transkrypcyjne, **(A)** *bHLH* oraz **(B)** *NAC1*, u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanych genów po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu ich ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej 'Sebastian' lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

LRPK1 oraz *UKL4* kodują białka z grupy kinaz (**Tabela 7**). Traktowanie suszą (25 DAS) wpływało negatywnie na aktywność *LRPK1* oraz *UKL4* u mutanta oraz odmiany 'Sebastian', natomiast ABA hamował działanie *LRPK1* u *hvabi5.d* oraz indukował *UKL4* u obu genotypów (**Rycina 23A, B**). Ekspresja *LRPK1* była obniżona po suszy, a także w obecności ABA u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany wyjściowej. Dla genu *UKL4* nie obserwowano różnic w ekspresji w 15 oraz 25 DAS mimo jego wcześniejszej identyfikacji na podstawie danych

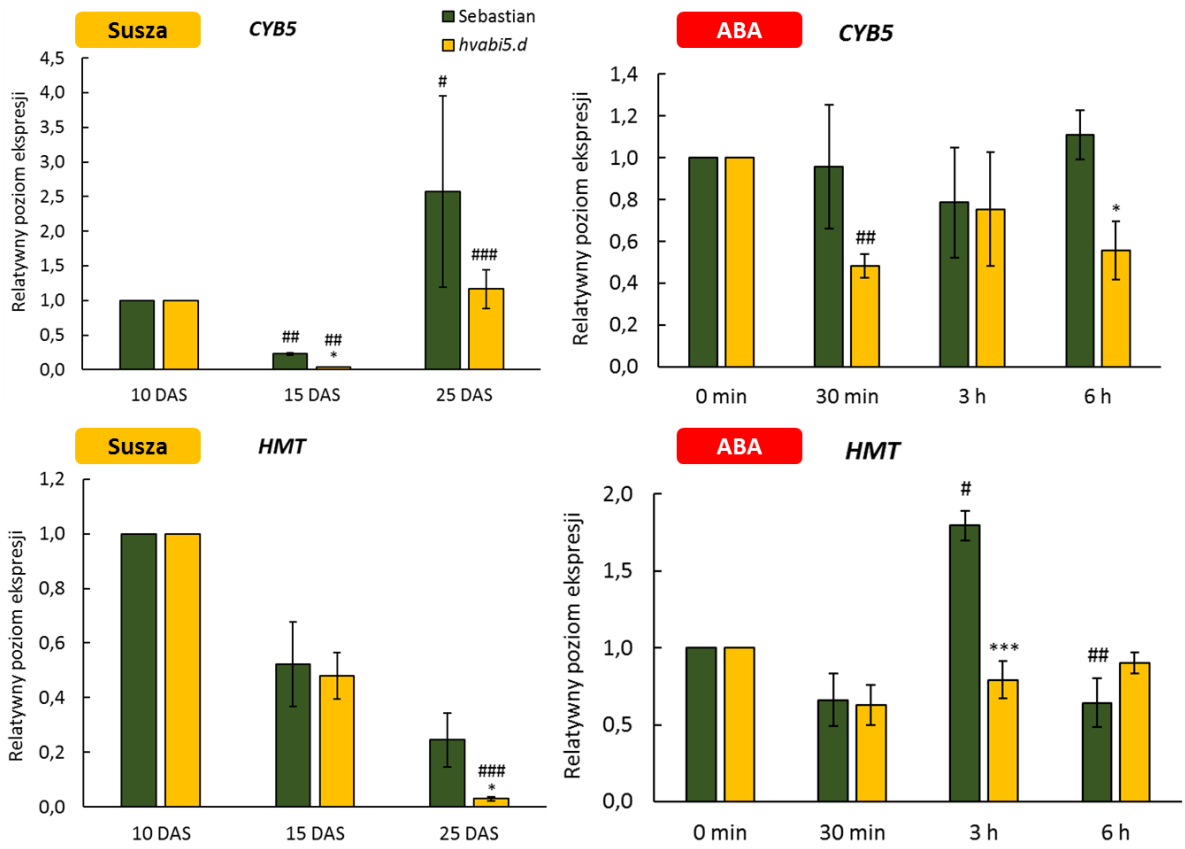
z globalnej analizy ekspresji. Jednakże aktywność tego genu była wyższa u *hvabi5.d* względem odmiany ‘Sebastian’ po traktowaniu ABA (**Rycina 23A, B**).



Rycina 23. Względny poziom ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 DAS i działających zależnie od ABA, które kodują kinazy, **(A)** *LRPK1* oraz **(B)** *UKL4*, u *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanych genów po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu ich ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej ‘Sebastian’ lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

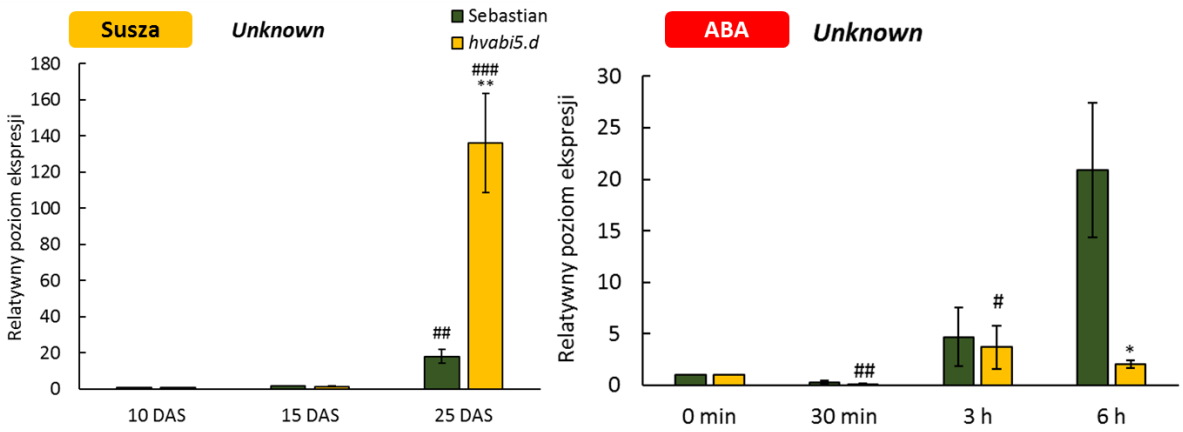
Geny *CYB5* oraz *HMT* są zaangażowane odpowiednio, w biosyntezę bardzo długołańcuchowych kwasów tłuszczowych i metioniny (**Tabela 7**). Ekspresja *CYB5* oraz *HMT* ulegała zahamowaniu po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po suszy (25 DAS), odpowiednio, u obu genotypów, a obserwowany spadek był wyraźniejszy u *hvabi5.d*

w porównaniu do odmiany ‘Sebastian’ (**Rycina 24A**, **B**). W obecności ABA aktywność *CYB5* była obniżona jedynie u mutanta, natomiast wzrost ekspresji *HMT* obserwowano tylko u odmiany ‘Sebastian’. U *hvabi5.d* ekspresja obu genów była niższa we wskazanych punktach czasowych porównując do odmiany wyjściowej (**Rycina 24A**, **B**).



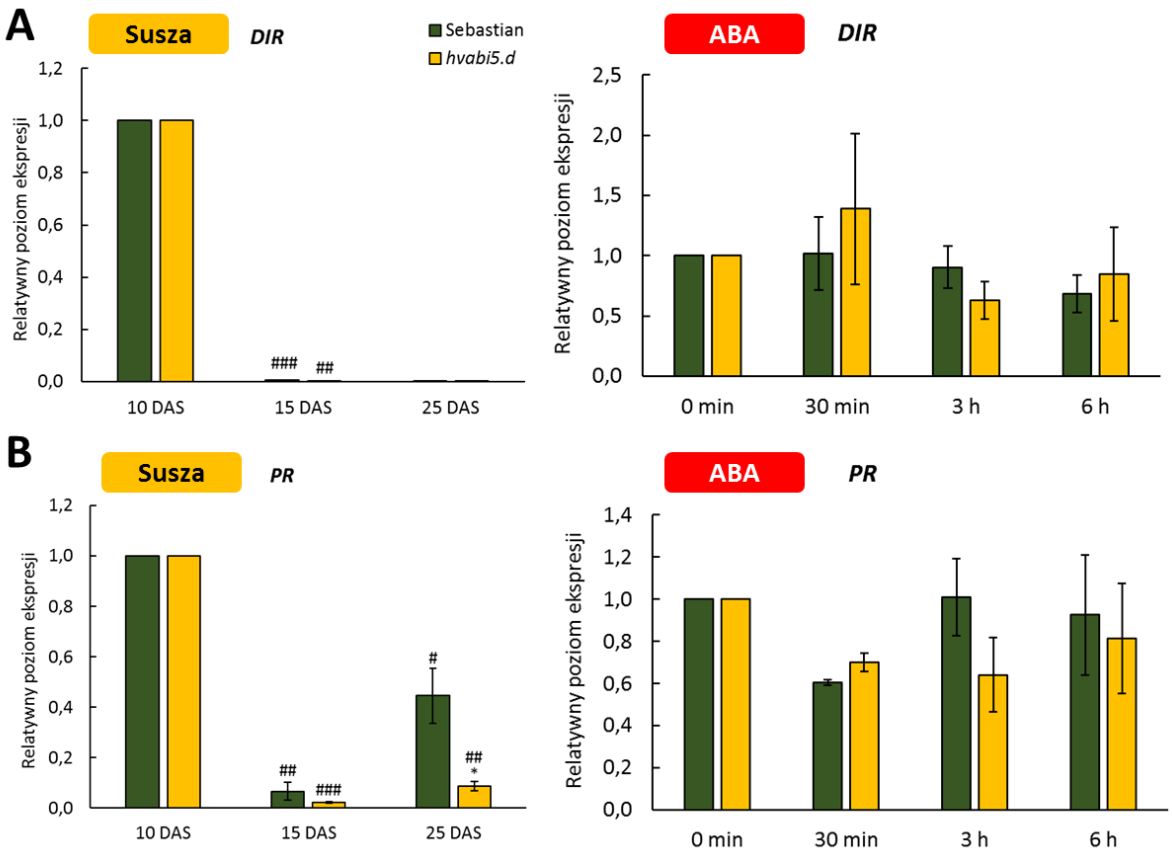
Rycina 24. Względny poziom ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 DAS i działających zależnie od ABA, które zaangażowane są w biosyntezę bardzo długołańcuchowych kwasów tłuszczowych i metioniny, **(A)** *CYB5* oraz **(B)** *HMT*, u *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanych genów po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu ich ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej ‘Sebastian’ lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

Funkcja genu *Unknown* nie jest dotychczas opisana. Ekspresja tego genu była aktywowana u obu genotypów dopiero po 10-dniowym traktowaniu suszą (25 DAS) oraz po traktowaniu ABA. Aktywność *Unknown* była 8 razy wyższa u *hvabi5.d* względem odmiany wyjściowej po suszy, natomiast po traktowaniu ABA obserwowano 10 razy niższą ekspresję tego genu u mutanta w porównaniu do odmiany 'Sebastian' (**Rycina 25**).



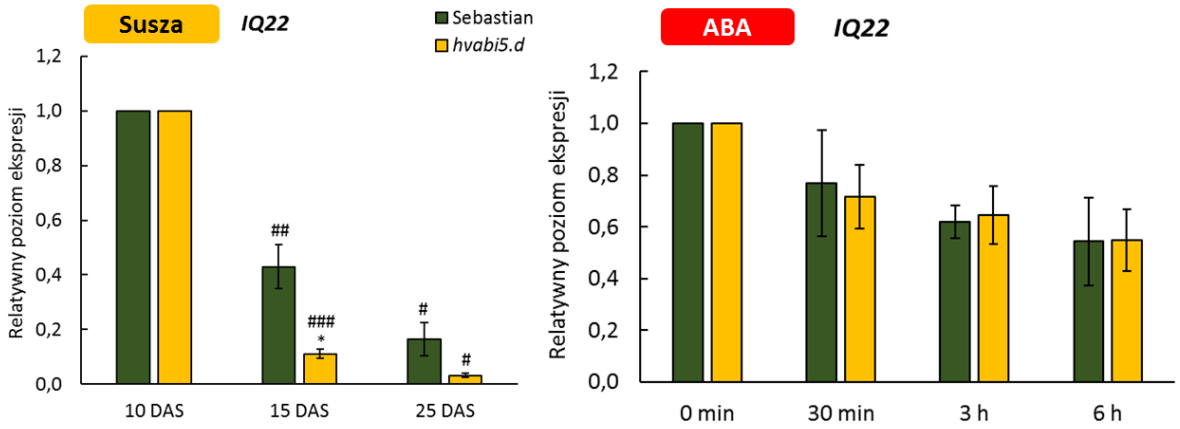
Rycina 25. Względny poziom ekspresji genu potencjalnie docelowego dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 DAS i działającego zależnie od ABA, którego funkcja nie jest poznana, *Unknown*, u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanego genu po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu jego ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej 'Sebastian' lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

Spośród analizowanych genów cztery z nich (*DIR*, *PR*, *IQ22* oraz *PUM2*) odpowiadały na suszę, ale w ramach innych ścieżek sygnałowych, gdyż poziom ich ekspresji nie zmieniał się po oprysku ABA (**Tabela 6**, **7**). Działanie *DIR* oraz *PR* jest powiązane z odpowiedzią na patogeny (**Tabela 7**). Dla obu genów wykazano bardzo znaczące obniżenie ekspresji u obu genotypów, zarówno po obniżaniu zawartości wody (15 DAS), jak i po traktowaniu suszą (25 DAS). Nie zaobserwowano jednak różnic w poziomie ekspresji genu *DIR* pomiędzy badanymi genotypami. Aktywność genu *PR* była 5-krotnie niższa u mutanta względem odmiany wyjściowej po suszy (**Rycina 26A, B**).



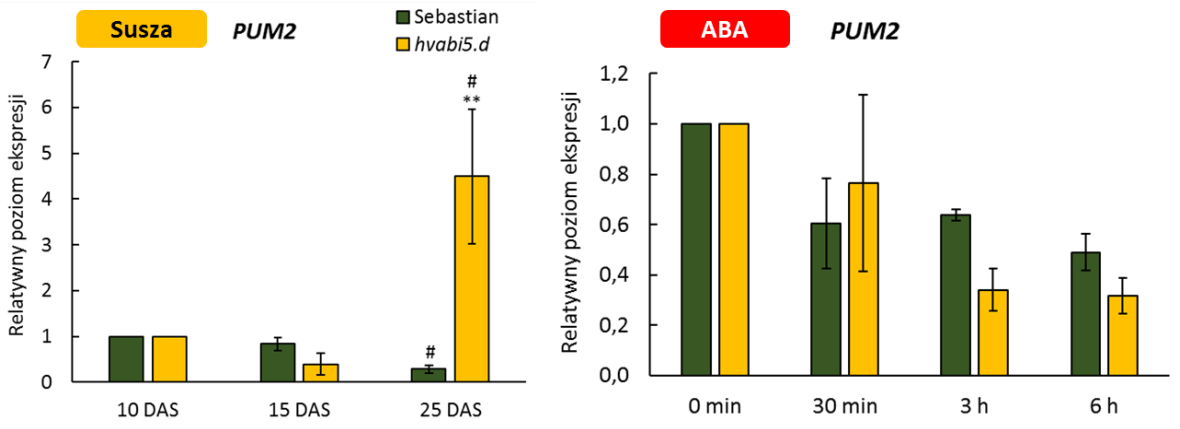
Rycina 26. Względny poziom ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 DAS i działających w innej w ścieżce sygnalizacyjnej niż ABA-zależna, które są powiązane z odpowiedzią na patogeny, **(A)** *DIR* oraz **(B)** *PR*, u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanych genów po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu ich ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej 'Sebastian' lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

Gen *IQ22* wg dostępnych adnotacji funkcjonalnych może uczestniczyć w regulacji odpowiedzi na gibereliny (**Tabela 7**). Działanie tego genu było hamowane po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po suszy (25 DAS) u obu genotypów. Ekspresja *IQ22* była istotnie niższa u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany 'Sebastian w 15 DAS (**Rycina 27**).



Rycina 27. Względny poziom ekspresji genu potencjalnie docelowego dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 DAS i działającego w innej ścieżce sygnalizacyjnej niż ABA-zależna, który może uczestniczyć w odpowiedzi na gibereliny, *IQ22*, u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanego genu po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu jego ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej 'Sebastian' lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

Gen *PUM2* jest zaangażowany w regulację translacji oraz stabilności mRNA (**Tabela 7**). Susza wpływała negatywnie na *PUM2* jedynie u odmiany 'Sebastian', natomiast u *hvabi5.d* obserwowano wzrost aktywności *PUM2*. Ekspresja *PUM2* była istotnie wyższa u mutanta względem odmiany wyjściowej po suszy (**Rycina 28**).

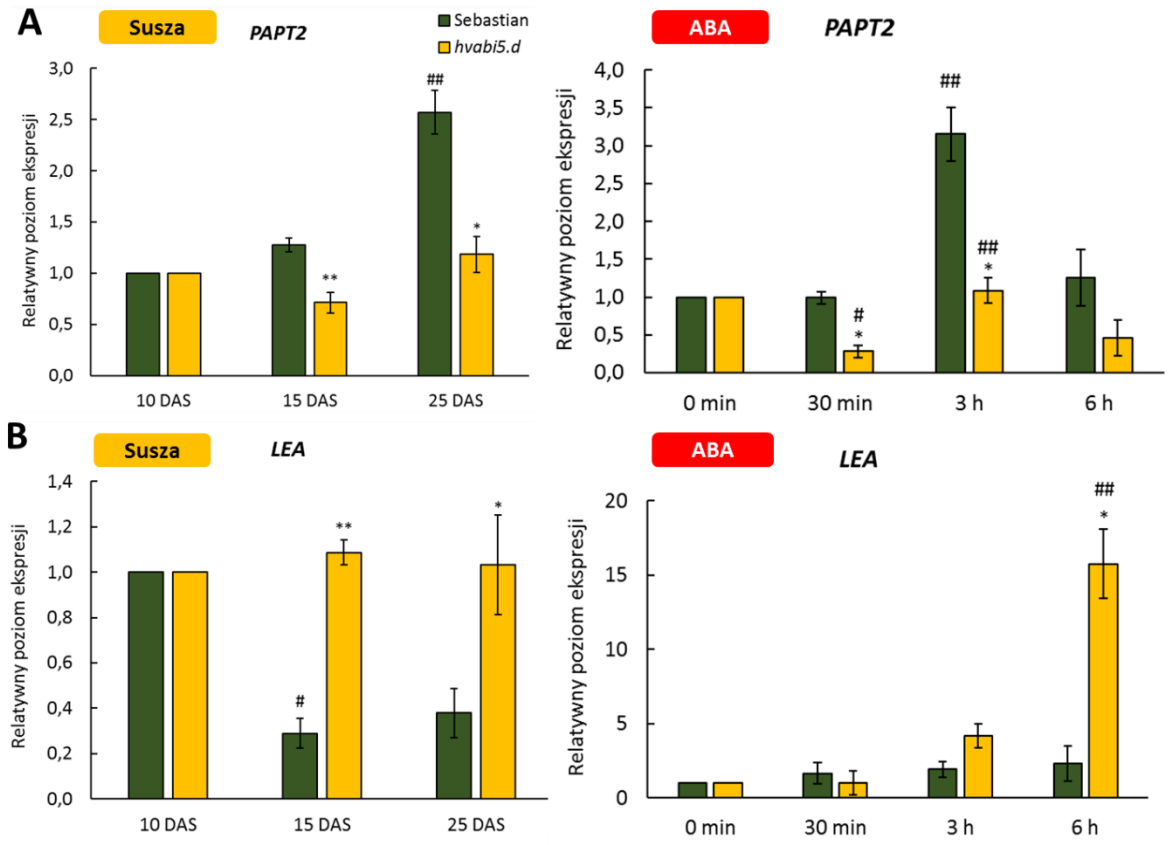


Rycina 28. Względny poziom ekspresji genu potencjalnie docelowego dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 DAS i działającego w innej ścieżce sygnalizacyjnej niż ABA-zależna, który jest zaangażowany w regulację translacji, *PUM2*, u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 μM). Względny poziom ekspresji badanego genu po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu jego ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej 'Sebastian' lub u *hvabi5.d,* zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

Kolejną grupą genów, które poddano szczegółowym analizom ekspresji po traktowaniu suszą oraz ABA stanowił zestaw 8 genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, które odznaczały się specyficznie zróżnicowaną aktywnością u *hvabi5.d* po okresie obniżania wilgotności w glebie (15 DAS), a także dodatkowo utrzymywały odmienną ekspresję u mutanta po 10-dniowej suszy (25 DAS) (**Tabela 6, Aneks 11**). W **Aneksie 12** oraz w **Tabeli 7** zebrano potencjalne motywy rozpoznawane przez ABI5 w obrębie promotorów tych genów oraz pełnione przez nie funkcje. Pięć spośród 8 badanych genów było regulowanych jednocześnie przez suszę oraz przez ABA (**Rycina 29-31**), natomiast 3 odpowiadały na suszę zależnie od innych ścieżek sygnalizacyjnych (**Rycina 32**).

Pięć genów, *PAPT2*, *LEA*, *LTP*, *TLC* oraz *CYC4*, reagowało na suszę oraz na ABA (**Tabela 6**, **7**). *PAPT2* oraz *LEA* są powiązane z adaptacją komórek do niedoboru wody. *PAPT2* koduje enzym zaangażowany w biosyntezę poliamin, natomiast *LEA* odpowiada za powstawanie białka z grupy LEA, które zapewnia ochronę innych białek oraz błon komórkowych w warunkach stresu (**Tabela 7**). Aktywność obu genów nie była indukowana suszą u mutanta *hvabi5.d,* w przeciwieństwie do odmiany wyjściowej, u której po działaniu suszy (25 DAS) ekspresja genu *PAPT2* istotnie wzrosła, a genu *LEA* zmalała (już w 15 DAS) (**Rycina 29A, B**). W rezultacie, aktywność transkrypcyjna *PAPT2* była istotnie niższa u mutanta w porównaniu do odmiany wyjściowej w obu analizowanych punktach doświadczenia suszowego. Ponadto, w obecności ABA aktywność *PAPT2* była indukowana jedynie u odmiany 'Sebastian', natomiast u mutanta obserwowano spadek, a następnie powrót do poziomu kontrolnego i tym samym istotnie niższą aktywność tego genu względem odmiany wyjściowej (**Rycina 29A**).

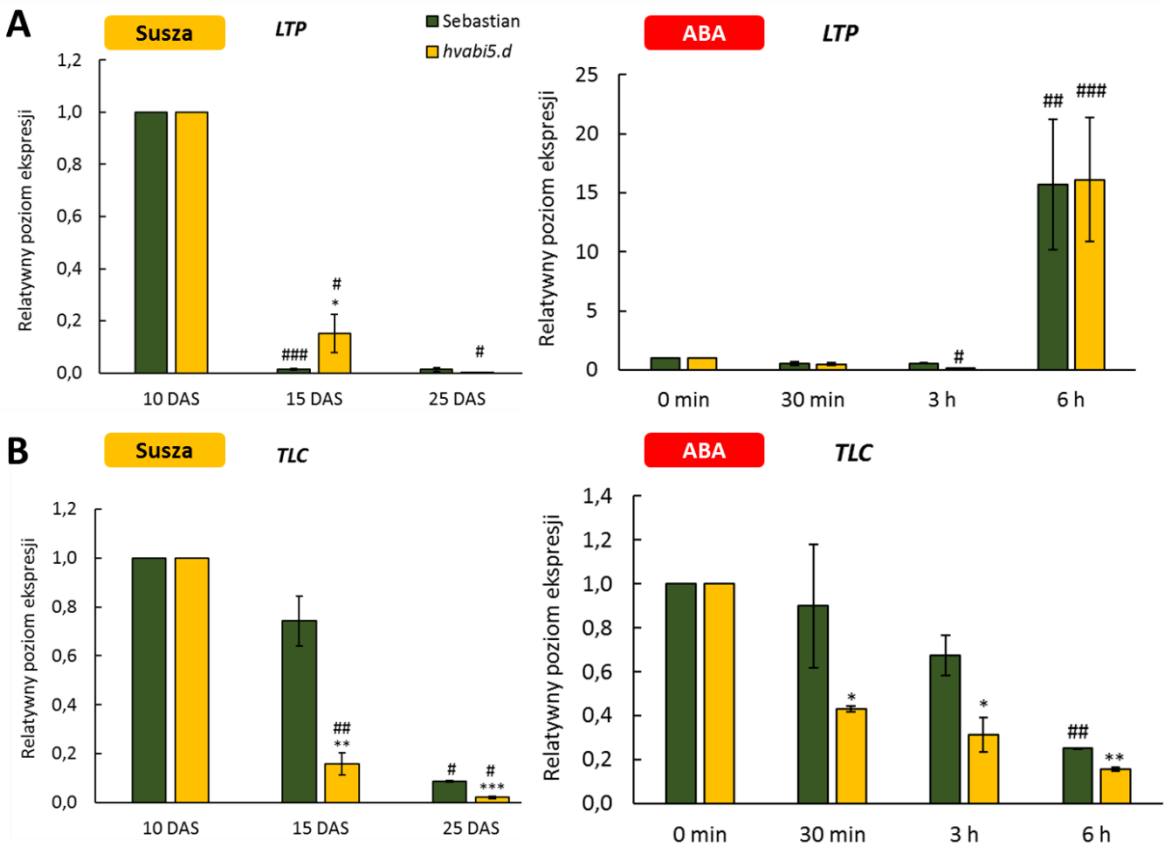
Z kolei gen *LEA*, którego aktywność transkrypcyjna po suszy znacząco zmalała u odmiany ‘Sebastian’, u mutanta wykazywał ten sam poziom ekspresji we wszystkich punktach czasowych eksperymentu suszowego. Co interesujące, jedynie u mutanta obserwowano wzrost (16-krotny) ekspresji *LEA* po traktowaniu ABA, co skutkowało istotnie wyższą ekspresję tego genu u *hvabi5.d* względem odmiany ‘Sebastian’ (**Rycina 29B**). Odmienna aktywność *LEA* oraz *PAPT2* u *hvabi5.d* po suszy może świadczyć, że reakcja fizjologiczna mutanta na suszę wynika z aktywacji mechanizmów ochronnych zależnych od białek LEA i jest niezwiązana z akumulacją poliamin.



Rycina 29. Względny poziom ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 oraz 25 DAS i działających zależnie od ABA, które są powiązane z adaptacją komórek do niedoboru wody, **(A)** *PAPT2* oraz **(B)** *LEA*, u *hvabi5.d* oraz odmiany ‘Sebastian’ w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanych genów po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu ich ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej ‘Sebastian’ lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie

czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

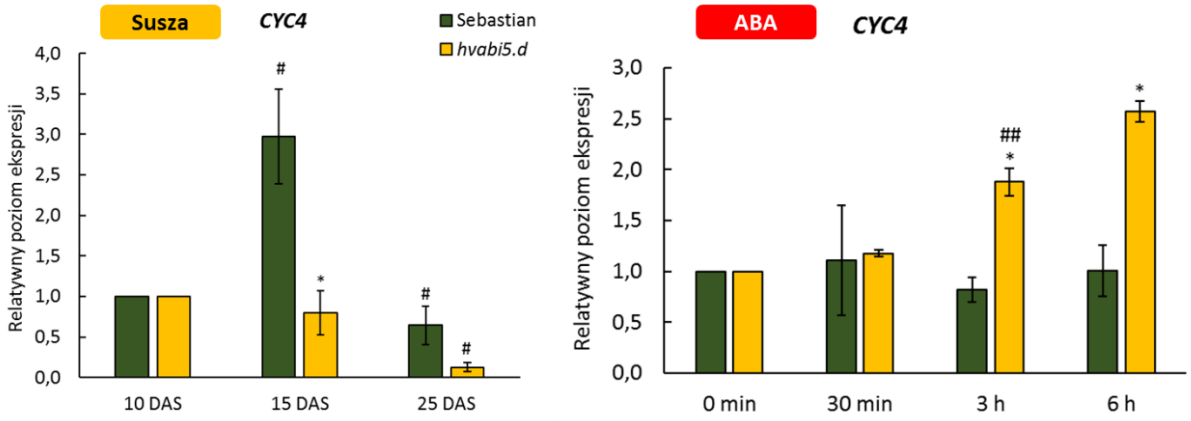
LTP oraz *TLC* są zaangażowane w funkcjonowanie lipidów. *LTP* uczestniczy w transporcie lipidów, natomiast *TLC* może być powiązany z sygnalizacją lipidów (**Tabela 7**). Aktywność *LTP* była drastycznie zahamowana po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po traktowaniu suszą (25 DAS) u obu genotypów, lecz statystycznie wyższa u mutanta w porównaniu do odmiany wyjściowej w 15 DAS. Po traktowaniu ABA obserwowano znaczący wzrost ekspresji tego genu u obu genotypów, jednak nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy nimi (**Rycina 30A**). Aktywność *TLC* była istotnie niższa u mutanta względem odmiany wyjściowej w 15 oraz 25 DAS, a także po traktowaniu ABA (**Rycina 30B**). Należy jednak zaznaczyć, że po działaniu stresu suszy w 25 DAS oraz po traktowaniu ABA obserwowano zmniejszoną aktywność genu *TLC* u obu genotypów.



Rycina 30. Względny poziom ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 oraz 25 DAS i działających zależnie od ABA, które są zaangażowane w funkcjonowanie lipidów, **(A)** *LTP* oraz **(B)** *TLC*, u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej

suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanych genów po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu ich ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej 'Sebastian' lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

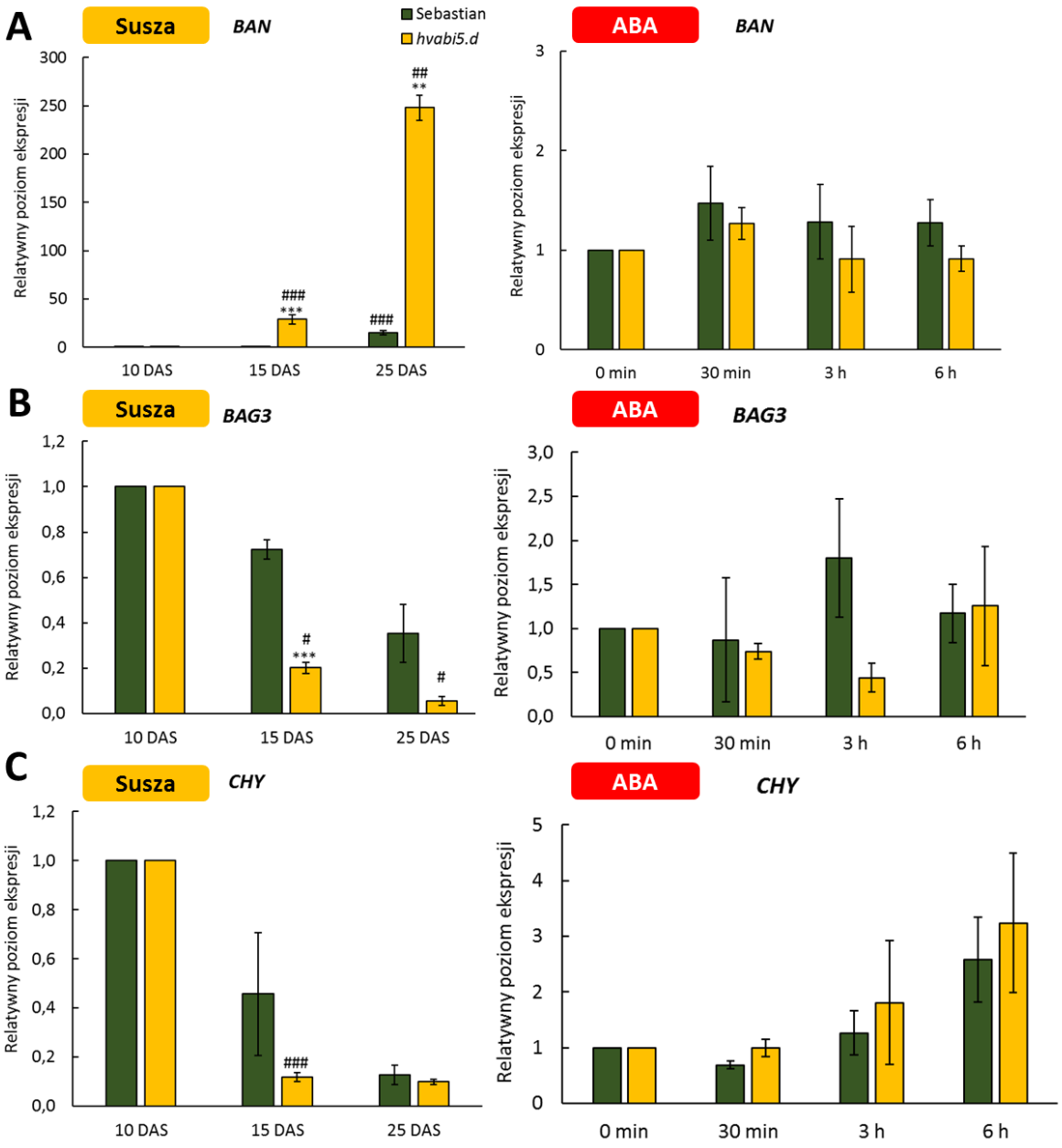
Gen *CYC4* jest zaangażowany w regulację cyklu komórkowego. Jego rola może polegać na aktywacji kinaz, które promują postęp cyklu komórkowego i tym samym zachodzenie podziałów komórkowych (**Tabela 7**). Ekspresja *CYC4* uległa obniżeniu po stresie suszy dopiero w 25 DAS, lecz była istotnie niższa u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany 'Sebastian' już w 15 DAS, ze względu na podwyższony poziom transkrypcji u odmiany wyjściowej w tym punkcie czasowym. Natomiast w obecności ABA aktywność tego genu była istotnie wyższa u mutanta względem odmiany wyjściowej (**Rycina 31**).



Rycina 31. Względny poziom ekspresji genu potencjalnie docelowego dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 oraz 25 DAS i działającego zależnie od ABA, który jest zaangażowany w regulację cyklu komórkowego, *CYC4*, u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanego genu po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu jego ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej 'Sebastian' lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym

zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

Trzy z 8 genów o zróżnicowanej ekspresji u mutanta względem odmiany wyjściowej jednocześnie w 15 i 25 DAS, *BAN, BAG3* oraz *CHY*, były regulowane tylko przez suszę, w obrębie innych ścieżek sygnalizacyjnych (**Tabela 6**, **7**). *BAN*, *BAG3* oraz *CHY* są powiązane z odpowiedzią na stres. *BAN* jest zaangażowany w biosyntezę flawonoidów, *BAG3* wspomaga funkcjonowanie białek uczestniczących w odpowiedzi na stres, natomiast *CHY* reguluje otwieranie aparatów szparkowych **(Tabela 7**). Dla genu *BAN* obserwowano indukcję ekspresji u *hvabi5.d* już po okresie obniżania wilgotności w glebie (15 DAS), natomiast po suszy (25 DAS) aktywność tego genu była 17 razy wyższa u mutanta w porównaniu do odmiany 'Sebastian' (**Rycina 32A**). Traktowanie suszą (25 DAS) spowodowało zahamowanie ekspresji *BAG3* u obu genotypów, jednakże w początkowej fazie suszy (15 DAS) spadek ten był widoczny jedynie u *hvabi5.d* (**Rycina 32B**). Dla genu *CHY* również zaobserwowano obniżenie ekspresji w odpowiedzi na suszę u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian', jednak nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy badanymi genotypami (**Rycina 32C**).



Rycina 32. Względny poziom ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, o zróżnicowanej ekspresji w 15 oraz 25 DAS, działających w innej ścieżce sygnalizacyjnej niż ABA-zależna, które są powiązane z odpowiedzią na stres, **(A)** *BAN* **(B)** *BAG3* oraz **(C)** *CHY*, u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po 10-dniowej suszy (25 DAS), a także w warunkach kontrolnych (0 min) oraz po 30 minutach, 3 i 6 godzinach od traktowania ABA (200 µM). Względny poziom ekspresji badanych genów po traktowaniu suszą oraz ABA był normalizowany do poziomu ich ekspresji odpowiednio w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) oraz w warunkach kontrolnych (0 min), u odmiany wyjściowej 'Sebastian' lub u *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$,

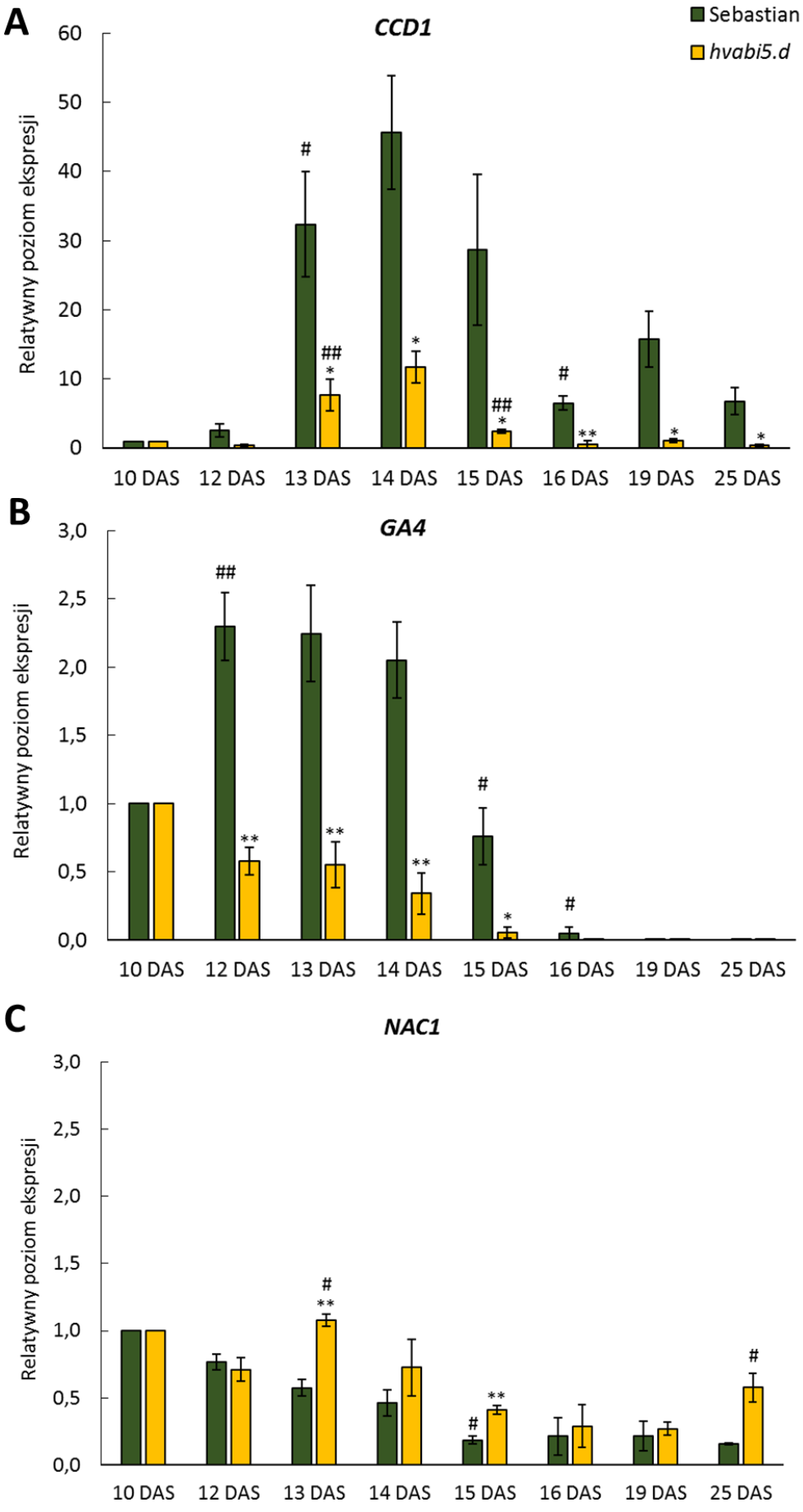
$^{***}P \leq 0{,}001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0{,}05$, $^{\#\#}P \leq 0{,}01$, $^{\#\#\#}P \leq 0{,}001$.

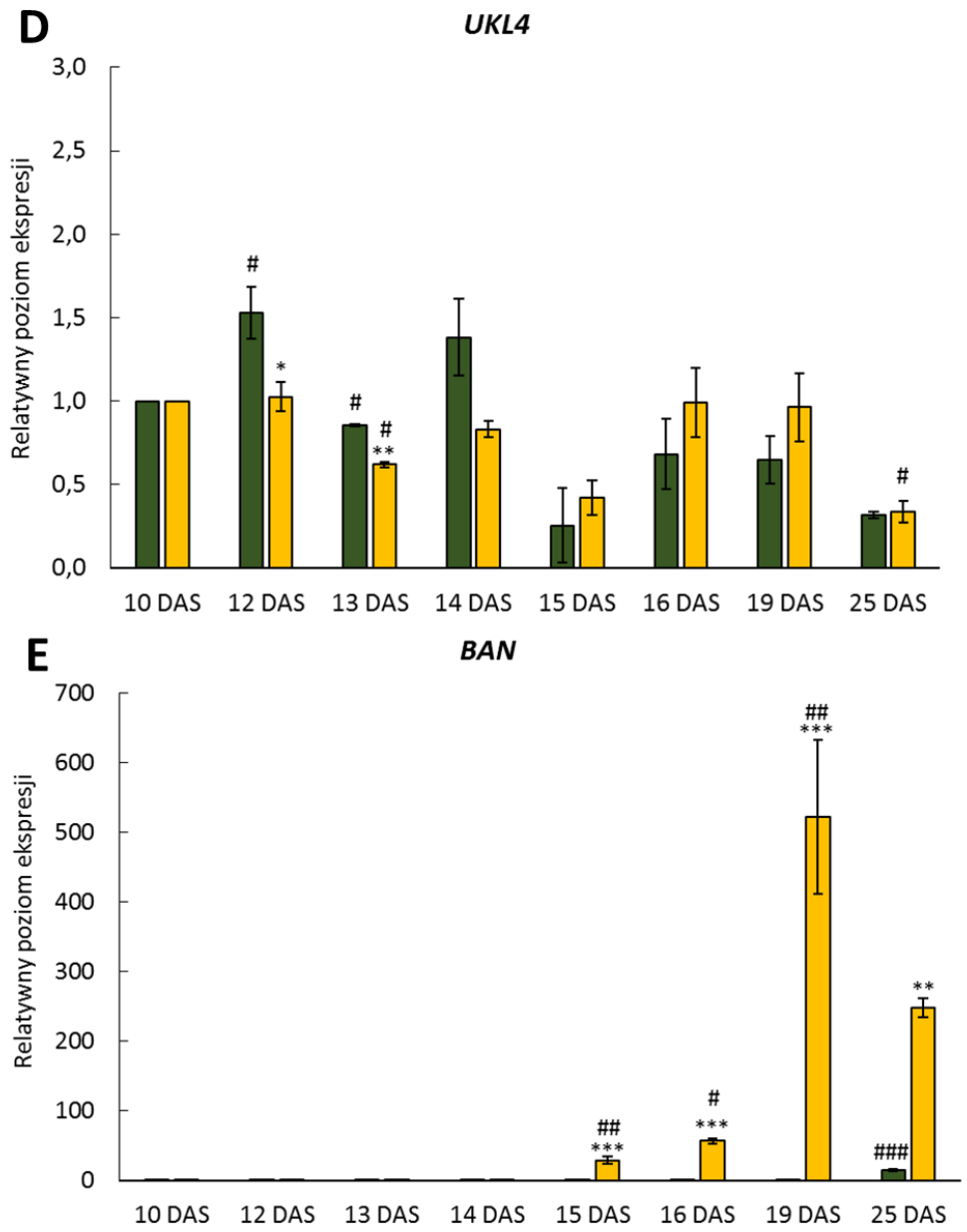
Biorąc pod uwagę wyniki analizy ekspresji dla badanych 22 genów potencjalnie docelowych dla HvABI5 można stwierdzić, że zróżnicowana aktywność transkrypcyjna *CCD1*, *GA4*, *bHLH*, *NAC1*, *LRPK1*, *CYB5*, *HMT*, *Unknown*, *PAPT2*, *LEA*, *TLC* oraz *CYC4* pomiędzy *hvabi5.d* oraz odmianą 'Sebastian w obecności suszy oraz ABA może świadczyć o prawdopodobnej regulacji tych genów przez HvABI5 w odpowiedzi na suszę, na drodze zależnej od ABA. Z drugiej strony, zróżnicowana ekspresja *PR*, *IQ22*, *PUM2*, *BAN* oraz *BAG3* pomiędzy *hvabi5.d* oraz odmianą 'Sebastian' obserwowana jedynie po stresie suszy może dowodzić regulacji tych genów przez HvABI5 w odpowiedzi na suszę w ramach innych ścieżek sygnalizacyjnych. Te wyniki stawiają HvABI5 w nowym świetle – jako czynnika transkrypcyjnego działającego w innych typach regulacji odpowiedzi rośliny na stres suszy.

Globalna analiza transkryptomu po suszy została przeprowadzona w dwóch punktach czasowych eksperymentu: w 15 DAS, a więc w początkowej fazie stresu oraz 25 DAS, po 10-dniowym traktowaniu stresem suszy. Aby prześledzić wzór ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5 w trakcie całego doświadczenia suszowego wybrano dodatkowe punkty analizy aktywności genów podczas obniżania wilgotności w glebie (12, 13, 14 DAS) oraz po w początkowym okresie suszy (16, 19 DAS). Należy podkreślić, że ekspresja *HvABI5* była aktywowana podczas obniżania wilgotności w glebie (12-14 DAS), a następnie aktywność tego genu ulegała obniżeniu, aż do zahamowania po 10-dniowej suszy (25 DAS). Ponadto, ekspresja *HvABI5* była niższa u *hvabi5.d* względem odmiany wyjściowej w 12 DAS (**Rycina 20A**). W sumie zbadano więc ekspresję genów potencjalnie docelowych dla HvABI5 w 8 punktach czasowych w trakcie doświadczenia suszowego. Z grupy genów reagujących na suszę i na ABA, a zatem uczestniczących w ABA-zależnej odpowiedzi na suszę, do szczegółowej analizy ekspresji wybrano cztery z nich: *CCD1*, *GA4*, *NAC1* oraz *UKL4*. Geny te kodują odpowiednio enzym zaangażowany w metabolizm karotenoidów i prawdopodobnie w biosyntezę ABA, enzym odpowiedzialny za biosyntezę giberelin, czynnik transkrypcyjny z grupy NAC oraz kinazę urydynową. Geny te wytypowano na podstawie wzoru ekspresji zbieżnego z danymi otrzymanymi w wyniku globalnej analizy transkryptomu dla badanego mutanta po suszy, ale także na podstawie charakterystyki funkcji białka mogącej tłumaczyć obserwowaną reakcję *hvabi5.d* na ten stres. Dodatkowo, z grupy genów regulowanych jedynie przez suszę wybrano gen *BAN* kodujący enzym związany z biosyntezą flawonoidów, ze

względu na wysoki poziom jego aktywacji u badanego mutanta po suszy oraz charakterystykę funkcji białka.

W przypadku *CCD1* obserwowano wzrost ekspresji indukowany suszą u obu analizowanych genotypów, jednakże był on 4 - 17 razy niższy u *hvabi5.d* niż u odmiany 'Sebastian'. Niższą ekspresję *CCD1* u *hvabi5.d* odnotowano podczas obniżania wilgotności gleby oraz po rozpoczęciu i zakończeniu 10-dniowego okresu suszy (**Rycina 33A).** Indukcja *CCD1* była podobna do czasu aktywacji transkrypcyjnej *HvABI5* w trakcie obniżania wilgotności w glebie i w przypadku obu genów obserwowano ich obniżoną ekspresję u mutanta *hvabi5.d* (**Rycina 20A, 33A**). Gen *GA4* był aktywowany w czasie obniżania wilgotności w glebie jedynie u odmiany 'Sebastian', a po rozpoczęciu traktowania suszą jego aktywność transkrypcyjna spadła blisko do zera u obu genotypów (**Rycina 33B**). Czas aktywacji *GA4* oraz *HvABI5* był zbieżny u odmiany 'Sebastian' podczas obniżania wilgotności w glebie, a ekspresja obu genów była istotnie niższa u mutanta (**Rycina 20A, 33B**). Ekspresja genu *NAC1* ulegała stopniowemu obniżeniu u odmiany 'Sebastian' w trakcie całego doświadczenia suszowego, natomiast poziom aktywności tego genu u *hvabi5.d* zaczął spadać dopiero po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS), a następnie powrócił do poziomu kontrolnego po suszy (25 DAS) (**Rycina 33C**). W początkowej fazie doświadczenia suszowego u mutanta ekspresja *NAC1* oraz *HvABI5* była odpowiednio wyższa oraz niższa w porównaniu do odmiany wyjściowej, co może wskazywać na odrębny mechanizm regulacji obu genów w odpowiedzi na suszę (**Rycina 20A, 33C**). Aktywność *UKL4,* kodującego kinazę urydynową, była indukowana podczas obniżania wilgotności gleby jedynie u odmiany 'Sebastian', a następnie obserwowano spadek ekspresji tego genu u obu genotypów. Mutant *hvabi5.d* wykazywał istotnie niższą, w porównaniu do odmiany 'Sebastian', ekspresję *UKL4* tylko w początkowym okresie obniżania wilgotności w glebie (**Rycina 33D**). *UKL4* oraz *HvABI5* były indukowane w podobnym czasie w trakcie trwania doświadczenia suszowego u odmiany wyjściowej. Oba geny odznaczały się niższą ekspresją u *hvabi5.d* (**Rycina 20A, 33D**). Z kolei ekspresja genu *BAN,* kodującego enzym zaangażowany w biosyntezę flawonoidów, była aktywowana po suszy zarówno u odmiany 'Sebastian' jak i u *hvabi5.d,* jednakże wzrost ekspresji tego genu u mutanta był już obserwowany po okresie obniżania wilgotności gleby (15 DAS), podczas gdy u odmiany 'Sebastian' dopiero po suszy (25 DAS). Ekspresja *BAN* była 17-500 razy wyższa u *hvabi5.d* względem odmiany wyjściowej (**Rycina 33E**). Czas aktywacji *BAN* oraz *HvABI5* był odmienny w trakcie trwania doświadczenia suszowego (**Rycina 20A, 33E**).


A
CCD1
Sebastian
hvabi5.d
Relatywny poziom ekspresji
60
50
40
30
20
10
0
10 DAS
12 DAS
13 DAS
14 DAS
15 DAS
16 DAS
19 DAS
25 DAS
B
GA4
Relatywny poziom ekspresji
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
10 DAS
12 DAS
13 DAS
14 DAS
15 DAS
16 DAS
19 DAS
25 DAS
C
NAC1
Relatywny poziom ekspresji
3,0
2,5
2,0
1,5
1,0
0,5
0,0
10 DAS
12 DAS
13 DAS
14 DAS
15 DAS
16 DAS
19 DAS
25 DAS



Rycina 33. Względny poziom ekspresji genów potencjalnie docelowych dla HvABI5: **(A)** *CCD1*, **(B)** *GA4*, **(C)** *NAC1*, **(D)** *UKL4* oraz **(E)** *BAN* u *hvabi5.d* oraz odmiany 'Sebastian' w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), podczas obniżania wilgotności w glebie (12, 13, 14, 15 DAS) oraz po suszy (16, 19, 25 DAS), znormalizowany do poziomu ich ekspresji w warunkach optymalnego nawodnienia (10 DAS) u odmiany 'Sebastian' lub *hvabi5.d*, zależnie od analizowanego genotypu. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $^{*}P \leq 0,05$, $^{**}P \leq 0,01$, $^{***}P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $^{\#}P \leq 0,05$, $^{\#\#}P \leq 0,01$, $^{\#\#\#}P \leq 0,001$.

Podsumowując, spośród 89 genów potencjalnie docelowych dla HvABI5 i ulegających zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* względem odmiany wyjściowej po okresie obniżania wilgotności gleby i/lub po suszy, sprawdzono ekspresję 22 genów po traktowaniu suszą oraz po ABA. Geny te wybrano ze względu na zbliżony do *HvABI5* czas aktywacji transkrypcyjnej oraz na wysokie krotności zmiany ekspresji po obniżaniu wilgotności w glebie lub jednocześnie po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS) oraz po suszy (25 DAS), a także biorąc pod uwagę charakterystykę funkcji białka powiązaną z odpowiedzią na stres. Na podstawie otrzymanych wzorów ekspresji stwierdzono, że geny *CCD1*, *GA4*, *bHLH*, *NAC1*, *LRPK1*, *CYB5*, *HMT*, *Unknown*, *PAPT2*, *LEA*, *TLC* oraz *CYC4* mogą być regulowane przez HvABI5 w odpowiedzi na suszę na drodze zależnej od ABA. Z drugiej strony, HvABI5 może uczestniczyć w regulacji genów *PR*, *IQ22*, *PUM2*, *BAN* oraz *BAG3* jako komponent innych ścieżek sygnałowych, które również wpływają na reakcję rośliny wobec suszy. Ponadto, spośród 22 badanych genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, do szczegółowej analizy ekspresji w trakcie doświadczenia suszowego wybrano pięć genów wykazujących wzór ekspresji zbieżny z danymi otrzymanymi na podstawie globalnej analizy transkryptomu mutanta oraz charakterystykę funkcji kodowanego białka powiązaną z fizjologiczną reakcją *hvabi5.d* na stres suszy. Badanie wykazało, że czas aktywacji transkrypcyjnej *CCD1*, *GA4*, oraz *UKL4* był zbieżny z aktywacją *HvABI5* w czasie trwania suszy. Co więcej, ekspresja *CCD1*, *GA4*, *UKL4* oraz *HvABI5* była obniżona u badanego mutanta w odpowiedzi na suszę.

5. Dyskusja

HvABI5 (HORVU5Hr1G068230) przynależy do grupy ABA-zależnych czynników transkrypcyjnych z domeną zamka leucynowego (bZIP), które w odpowiedzi na stres abiotyczny regulują ekspresję genów posiadających elementy ABRE w regionach promotorowych (Vishwakarma i inni, 2017; Collin i inni 2021). U Arabidopsis do tej grupy należą białka ABF/AREB oraz ABI5. AtABI5 reguluje odpowiedź na stres podczas kiełkowania i wczesnego rozwoju siewki (Finkelstein i Lynch, 2000; Carles i inni, 2002; Bi i inni, 2017), podczas gdy białka z grupy AtABF/AREB działają głównie podczas wzrostu wegetatywnego rośliny (Fujita i inni, 2005; Yoshida i inni, 2010; Yoshida i inni, 2015). Na podstawie analiz filogenetycznych przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy wykazano, że HvABI5 odznacza się wyższym podobieństwem do białek AtABF/AREB niż do AtABI5, jednak stopień podobieństwa pomiędzy HvABI5 i czynnikami AtABF/AREB oraz pomiędzy HvABI5 i AtABI5 jest na podobnym poziomie. Należy także podkreślić, że HvABI5 odznacza się wysokim podobieństwem w stosunku do ABA-zależnych czynników transkrypcyjnych z grupy bZIP u innych roślin jednoliściennych, w tym do wABI5 u pszenicy, OsTRAB1, OsABF4 i OsABF2 u ryżu oraz ZmABI5 u kukurydzy. wABI5, OsTRAB1 oraz OsABF2 pozytywnie regulują odpowiedź na różne stresy abiotyczne, w tym na suszę, w stadium wzrostu wegetatywnego u pszenicy i ryżu (Kagaya i inni, 2002; Kobayashi i inni, 2008; Hossain i inni, 2010a). Bliskie pokrewieństwo filogenetyczne pomiędzy HvABI5 oraz wABI5, OsTRAB1, OsABF4 i OsABF2 wspiera przypuszczenie, że HvABI5 może regulować na drodze zależnej od ABA odpowiedź jęczmienia na suszę w stadium wegetatywnego wzrostu.

Wpływ mutacji w genach *AtABI5* oraz *AtABF*/*AREB* na funkcjonowanie sygnalizacji ABA był badany od lat 90. (Finkelstein, 1994, Yoshida i inni, 2010, Yoshida i inni, 2015). W ramach prezentowanych badań po raz pierwszy opisano mutanta jęczmienia, który odznaczał się obecnością mutacji zmiany sensu w genie *HvABI5*. U Arabidopsis, aktywność oraz stabilność białka AtABI5 jest regulowana przez liczne modyfikacje potranslacyjne, takie jak fosforylacja, sumoilacja, nitrozylacja oraz ubikwitynacja (Nakamura i inni, 2001; Miura i inni, 2009; Liu i Stone, 2013 Albertos i inni, 2015). Analizy *in silico* oraz analizy dopasowania sekwencji białkowych HvABI5 i AtABI5 wykazały, że substytucja argininy do lizyny w pozycji 274 (R274K) obecna w zmutowanym białku HvABI5 u mutanta *hvabi5.d* znajduje się w pobliżu domeny bZIP i sąsiaduje z miejscem podlegającym ubikwitynacji w białku AtABI5. Tym samym obecność zidentyfikowanej mutacji może powodować powstanie lub utracenie miejsca

podlegającego modyfikacjom potranslacyjnym w białku HvABI5, co w rezultacie zmienia jego aktywność.

W ramach niniejszej pracy wykazano, że podobnie do mutantów w genach *AtABI5* oraz *AtABF/AREB,* mutant *hvabi5.d* wykazywał zredukowaną wrażliwość na ABA w stadium kiełkowania oraz podczas wzrostu siewki. Ponadto, badany mutant odznaczał się wyższą, niż odmiana wyjściowa, tolerancją na suszę w stadium siewki/krzewienia, co wynikało z bardziej efektywnej ochrony membran, podwyższonej akumulacji flawonoidów oraz szybszego zamykania aparatów szparkowych u mutanta. Zaburzona aktywność genów związanych z metabolizmem oraz sygnalizacją ABA oraz obniżone przewodnictwo szparkowe po traktowaniu ABA u *hvabi5.d* świadczy, że *HvABI5* reguluje odpowiedź na suszę zależnie od ABA. Ponadto dowodzi to również roli *HvABI5* w modulowaniu biosyntezy, sygnalizacji oraz zawartości ABA w odpowiedzi na stres. Co więcej, na podstawie globalnej analizy transkryptomu *hvabi5.d* po suszy, analizy sekwencji promotorowych i badaniu ekspresji po traktowaniu suszą oraz ABA wskazano geny potencjalnie regulowane przez HvABI5, które mogły być powiązane z odpowiedzią badanego mutanta na suszę. Z przeprowadzonych badań wynika że, HvABI5, w odpowiedzi na suszę, reguluje geny potencjalnie docelowe zarówno na ścieżce ABA-zależnej, jak również w ramach innych ścieżek sygnalizacyjnych. Dokładny mechanizm regulacji przez *HvABI5* przedstawionych tu procesów opisano w dalszej części dyskusji.

5.1. Mechanizm tolerancji *hvabi5.d* wobec stresu suszy

Mutant *hvabi5.d* wykazuje tolerancję na stres suszy dzięki lepszej zdolności zatrzymywania wody w porównaniu do odmiany wyjściowej. Analizy mutanta wykazały, że wyższa, niż u odmiany wyjściowej, wartość parametru RWC po suszy może wynikać z lepszej ochrony błon komórkowych oraz szybszego zamykania aparatów szparkowych. Pomiar względnego wypływu elektrolitów pozwala na ocenę kondycji błon komórkowych i służy jako wskaźnik poziomu tolerancji na stres u roślin (Bajii i inni, 2002). Analizy mutanta *hvabi5.d* po stresie suszy jasno wskazują, że błony komórkowe *hvabi5.d* były uszkodzone w mniejszym stopniu niż u odmiany ‘Sebastian’.

Globalna analiza transkryptomu wskazała u mutanta podwyższoną aktywność genów kodujących białka LEA oraz HSP po 5-dniowym okresie obniżania wilgotności w glebie i po 10-dniowej suszy. Białka LEA oraz HSP zapewniają adaptację do warunków stresu poprzez ochronę struktury białek oraz błon komórkowych (Vinocur i Altman, 2005; Shinozaki i Yamaguchi-Shinozaki, 2007; Bhatnagar-Mathur i inni, 2008). Wiadomo, że AtABI5, czynniki

AtABF/AREB oraz ich homologi u roślin jednoliściennych regulują ekspresję genów *LEA* (Kobayashi i inni, 2008; Yoshida i inni, 2010; Yan i inni, 2012; Su i inni, 2016). Jednym z genów docelowych z grupy *LEA* dla AtABI5 jest *EM1* (Finkelstein i Lynch, 2000; Carles i inni, 2002). Co ciekawe, wśród genów ulegających specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d* po redukcji wilgotności w glebie zidentyfikowano *Late embryogenesis abundant protein D-19* (nazwa na podstawie przypisanej adnotacji funkcjonalnej dostępnej na stronie internetowej IPK Barley BLAST, https://webblast.ipk-gatersleben.de/barley_ibsc/), będący ortologiem *EM1* u Arabidopsis. Wykazano, że u jęczmienia, HvABI5 aktywuje bezpośrednio ekspresję *HVA1* oraz *HVA22*, które kodują białka LEA odpowiedzialne za tolerancję na niski stopień dostępności wody (Hong i inni, 1992; Shen i inni, 2001). Ponadto *HVA1* znajduje się pod kontrolą innego czynnika transkrypcyjnego, HvDRF1 (Xue i Loveridge, 2004). W przypadku *hvabi5.d* obserwowano podwyższoną ekspresję *HVA1*, *HVA22* oraz *HvDRF1* po suszy. Co więcej, globalna analiza transkryptomu wykazała podwyższoną aktywność *HVA22 homolog A* oraz *Ethylene-responsive transcription factor 4*/*HvDRF1* u mutanta traktowanego suszą. Podwyższona aktywacja *HVA1* oraz *HVA22* u *hvabi5.d* może więc wynikać jednocześnie ze zmienionej aktywności HvABI5 oraz z wyższej, niż u odmiany wyjściowej, ekspresji *HvDRF1*. Ponadto, wzmożona aktywność genów *LEA* oraz *HSP* prawdopodobnie skutkuje wyższą zawartością wody oraz lepszą stabilnością błon komórkowych u mutanta w porównaniu do odmiany ‘Sebastian’ po traktowaniu suszą.

Flawonoidy chronią komórki roślinne przed działaniem szkodliwych związków ROS w obecności stresu abiotycznego (Di Ferdinando i inni, 2012; Davies i inni, 2018). Poza lepszą stabilnością membran, tolerancja *hvabi5.d* na suszę może wynikać z wyższej zawartości flawonoidów, w tym flawonoli i antocyjanów. Co więcej, mutant *hvabi5.d* odznaczał się podwyższoną ekspresją genów kodujących enzymy związane z biosyntezą flawonoidów, w tym *Anthocyanidin reductase*, po obniżaniu wilgotności w glebie i/lub po suszy, co zgodne jest z obserwowaną wyższą zawartością tych związków po działaniu stresu. Należy podkreślić, że u Arabidopsis zaobserwowano zależność pomiędzy aktywnością *AtABI5* i biosyntezą antocyjanów (Brocard i inni, 2002). W procesie usuwania związków ROS biorą również udział enzymy detoksykacyjne (Anjum i inni, 2016; Mishra i Sharma, 2019). Poprzednie badania u Arabidopsis oraz jęczmienia wykazały, że ABI5 reguluje bezpośrednio działanie genów kodujących enzymy detoksykacyjne z grupy katalaz (Bi i inni, 2017; Ishibashi i inni, 2017). Ponadto, ekspresja konstytutywna *ZmABI5*, homologa *HvABI5*, powodowała wyższą ekspresję *APX* w obecności suszy u tytoniu (Yan i inni, 2012). Tolerancja *hvabi5.d* na suszę może być zatem również związana z działaniem enzymów detoksykacyjnych. Warto podkreślić, że

u *hvabi5.d* wykazano wyższą ekspresję genów kodujących katalazę oraz peroksydazy po obniżaniu wilgotności w glebie i/lub po suszy.

Zamykanie aparatów szparkowych jest jedną z pierwszych fizjologicznych odpowiedzi obserwowanych u roślin poddanych suszy. U Arabidopsis, czynniki transkrypcyjne AtABF/AREB pozytywnie regulują ten proces, co zapewnia adaptację rośliny do warunków suszowych (Yoshida i inni, 2010; Qian i inni, 2019; Lin i inni, 2020; Wang i inni, 2020). Mutant *hvabi5.d* odznaczał się niższym przewodnictwem szparkowym względem odmiany wyjściowej podczas obniżania wilgotności w glebie (13 i 15 DAS), natomiast nie zaobserwowano podobnej reakcji po 10-dniowej suszy (25 DAS). Szybsze zamykanie aparatów szparkowych już na wczesnym etapie niedoboru wody w glebie może być jednym z mechanizmów zapewniających tolerancję na suszę *hvabi5.d*. Wpływ ABA na mechanizm zamykania aparatów szparkowych u *hvabi5.d* poruszono w dalszej części dyskusji.

ABA oraz regulatory białkowe działające zależnie od ABA uczestniczą w katabolizmie chlorofilu (Yang i inni, 2014; Gao i inni, 2016). Zmieniona aktywność HvABI5 u *hvabi5.d* negatywnie wpływała na wydajność fotosyntezy oraz zawartość chlorofilu po suszy. Zaburzony przebieg fotosyntezy mutanta mógł wynikać zarówno z szybszego zamykania aparatów szparkowych, jak i z niższego poziomu chlorofilu. Analiza GO u *hvabi5.d* wykazała nadreprezentację procesów powiązanych z fotosyntetycznym łańcuchem transportu elektronów oraz z reakcjami świetlnymi fotosyntezy w zbiorze genów o specyficznie obniżonej ekspresji po redukcji wilgotności w glebie. Ponadto, aktywność genów związanych z przebiegiem i ochroną fotosyntezy, a także z funkcjonowaniem chlorofilu była niższa po zmniejszaniu wilgotności w glebie i/lub po suszy u mutanta. U Arabidopsis, AtABI5 wpływa negatywnie na ekspresję *ABR*, genu odpowiedzialnego za ochronę białek fotosyntetycznych, co świadczy o jego roli w regulacji procesu fotosyntezy (Su i inni, 2016). Co więcej, AtABI5 aktywuje bezpośrednio ekspresję genów warunkujących katabolizm chlorofilu, *SGR1* oraz *NYC1* (Sakuraba i inni, 2014). AtABF/AREB również bezpośrednio promują działanie genów z tej grupy (Gao i inni, 2016). Co więcej, u ryżu OsABF4 pozytywnie reguluje *OsSGR1* i *OsNYC1* (Piao i inni, 2019).

Należy podkreślić, że *hvabi5.d* jest pierwszym mutantem z grupy *abi5*, którego odpowiedź na suszę scharakteryzowano szczegółowo. W przypadku Arabidopsis, mutant *Atabi5-1* został opisany jedynie jako „nie-więdnący" w publicznie dostępnych bazach danych (Finkelstein i Lynch, 2000; http://www.arabidopsis.org, AT2G36270). Odpowiedź na suszę mutantów *abi5* u *M. truncatula* oraz *P. sativum* również nie została opisana (Zinsmeister i inni, 2016). Pod tym kątem scharakteryzowano jedynie mutanty *Atabf4*/*Atareb2*, *Atabf3*, *Osabf1* i *Osabf2*, które po

suszy odznaczały się słabszą przeżywalnością niż ich formy wyjściowe (Hossain i inni, 2010a; Hossain i inni, 2010b; Yoshida i inni, 2010). Aktywacja *AtABI5* w obecności suszy (Brocard i inni, 2002), wyższa tolerancja na suszę roślin z ekspresją konstytutywną *wABI5* oraz z nadekspresją genów *AtABF/AREB* (Kang i inni, 2002; Fujita i inni, 2005; Kobayashi i inni, 2008), a także wrażliwość na suszę linii z ekspresją konstytutywną *ZmABI5* (Yan i inni, 2012) potwierdzają rolę *HvABI5* u jęczmienia w regulacji odpowiedzi na suszę, przedstawioną w ramach prezentowanych badań.

5.2. ABA-zależna odpowiedź *hvabi5.d* na suszę

Biorąc pod uwagę reakcję mutanta *hvabi5.d* na ABA w stadium wczesnej siewki oraz jego tolerancję na suszę założono, że *HvABI5* reguluje odpowiedź na suszę na drodze zależnej od ABA. Aby potwierdzić to założenie, przeanalizowano wzór ekspresji genów związanych ze ścieżką ABA w obecności suszy oraz ABA. Spośród dwóch badanych genów zaangażowanych w biosyntezę ABA (*HvNCED1* oraz *HvAo5b*), jedynie *HvNCED1*, który koduje kluczowy enzym dla przebiegu tego procesu, wykazywał zdecydowanie wyższą ekspresję u *hvabi5.d* w porównaniu do formy dzikiej, zarówno po traktowaniu suszą, jak i ABA. Aktywność *HvAo5b*, genu kodującego enzym odpowiedzialny za ostatni etap biosyntezy ABA, wzrosła po suszy u obu genotypów, jednak w mniejszym stopniu u *hvabi5.d* niż u odmiany wyjściowej. Niższa aktywność *HvAo5b* mogła równoważyć efekt wywołany przez wysoką ekspresję *HvNCED1* u mutanta, ponieważ HvNCED1 katalizuje wcześniejszy etap biosyntezy ABA względem enzymu HvAo5b. Z kolei *HvBG8* odpowiada za uwalnianie ABA z estrów z glukozą (ABA-GE), natomiast *HvBG4* uczestniczy w tworzeniu koniugatów ABA z glukozą. *hvabi5.d* odznaczał się odpowiednio, wyższym oraz niższym poziomem ekspresji *HvBG8* oraz *HvBG4* po suszy, w porównaniu z odmianą wyjściową. Tym samym ABA mógł być efektywniej uwalniany z nieaktywnej formy ABA-GE u *hvabi5.d* po suszy, co prawdopodobnie jest składową mechanizmu warunkującego tolerancję tego mutanta na suszę.

ABA obecny w komórkach jest wiązany przez białka receptorowe z grupy PYR/PYL/RCAR, które jednocześnie wiążą się z fosfatazami PP2C i hamują ich aktywność defosforylacyjną. Tym samym dochodzi do aktywacji kinaz SnRK2, które fosforylują białka docelowe, w tym ABI5. Prześledzono więc wzory ekspresji genów *HvPYL5*, *HvPP2C4* oraz *HvSnRK2.1*, które kodują białka tworzące zasadniczą część sygnalizacji ABA u jęczmienia (Seiler i inni, 2014). U obu badanych genotypów zaobserwowano spadek ekspresji *HvPYL5* oraz wzrost ekspresji *HvPP2C4* po suszy, jednak aktywność *HvPPC4* była 2 razy wyższa u *hvabi5.d* niż u odmiany wyjściowej. Ponadto, aktywacja *HvSnRK2.1* była znacznie większa

u *hvabi5.d* w porównaniu do odmiany rodzicielskiej zarówno po suszy, jak i po traktowaniu ABA. Należy podkreślić, że podwyższoną aktywność *HvSnRK2.1* obserwowano także u linii jęczmienia o wysokiej tolerancji na suszę (Seiler i inni, 2014). Prawdopodobnie, podwyższona aktywność *HvSnRK2.1* u *hvabi5.d* zapewnia wzmocnienie sygnału ABA, co prowadzi do aktywacji genów działających zależnie od ABA.

Aktywacja biosyntezy ABA w momencie wystąpienia suszy w środowisku jest jednym z głównych mechanizmów warunkujących adaptację rośliny do warunków stresowych (Yoshida i inni, 2019). Podwyższona ekspresja genów związanych z metabolizmem ABA u *hvabi5.d* skutkowała wyższą zawartością ABA u mutanta w porównaniu do odmiany wyjściowej. Powyższe obserwacje wskazują, że *HvABI5* pozytywnie reguluje akumulację ABA i w konsekwencji sygnalizację ABA, co zapewnia aktywację procesów związanych z odpowiedzią na suszę, w tym zamykanie aparatów szparkowych.

ABI5 oraz czynniki ABF/AREB biorą udział w regulacji biosyntezy oraz sygnalizacji ABA na zasadzie sprzężenia zwrotnego. U Arabidopsis, AtABI5 wiąże się z promotorami genów *NCED9*, *PYL11* i *PYL12* i aktywuje ich ekspresję (Lee i inni, 2012; Zhao i inni, 2020). AtABI5 promuje więc biosyntezę oraz sygnalizację ABA. Ponadto u ziemniaka (*Solanum tuberosum*) obserwowano podwyższoną ekspresję genów z grupy *SnRK2* u linii z nadekspresją *StABI5* (Zhu i inni, 2020). Z drugiej strony, AtABF1, AtABF2/AREB1, AtABF3, AtABF4/AREB2 oraz AtABI5 są zdolne do bezpośredniej aktywacji ekspresji genów *AtABI1* oraz *AtABI2*, które kodują fosfatazy z grupy PP2C. W ten sposób dochodzi do negatywnego sprzężenia zwrotnego w obrębie szlaku ABA (Wang i inni, 2019). Wyniki otrzymane w ramach prezentowanych badań także świadczą o udziale *HvABI5* w regulacji komponentów biosyntezy oraz sygnalizacji ABA w obecności suszy na zasadzie sprzężenia zwrotnego. Prawdopodobnie *HvABI5* uczestniczy w promowaniu biosyntezy ABA, poprzez regulację *HvNCED1*, co zapewnia wzmocnienie sygnału ABA w obecności stresu. Jednocześnie, zależna od *HvABI5* aktywacja *PP2C4* może być jednym z mechanizmów przeciwdziałających nadmiernej aktywacji ścieżki ABA, aby zapewnić zrównoważoną reakcję rośliny na stres. Podobnie, podwyższony poziom ekspresji *HvSnRK2.1* u *hvabi5.d* wskazuje na zaangażowanie *HvABI5* w regulację aktywności, na zasadzie sprzężenia zwrotnego, kluczowej kinazy dla działania zasadniczej sygnalizacji ABA u jęczmienia. Należy również podkreślić, że promotory *HvNCED1*, *HvPP2C4* oraz *HvSnRK2.1* posiadają elementy ABRE potencjalnie wiązane przez ABI5. Jest więc możliwe, że HvABI5 bezpośrednio reguluje ekspresję tych genów. Jednoczesna aktywacja biosyntezy ABA, poprzez intensyfikację ekspresji *HvNCED1*, oraz sygnalizacji ABA, poprzez indukcję

HvPP2C4 oraz *HvSnRK2.1*, u *hvabi5.d* w odpowiedzi na suszę świadczy o istnieniu precyzyjnego mechanizmu warunkującego właściwe propagowanie sygnału ABA.

Podsumowując, otrzymane wyniki potwierdzają założenie, że odpowiedź *hvabi5.d* na suszę jest zależna od ABA. Należy jednak podkreślić, że *hvabi5.d* odznaczał się zredukowaną wrażliwością wobec ABA w stadium kiełkowania. Może to dowodzić, że działanie *HvABI5* w ścieżce ABA podczas kiełkowania ziarniaków różni się od jego roli podczas odpowiedzi rośliny na suszę. W przeciwieństwie do Arabidopsis, ekspresja *HvABI5* nie jest ograniczona do krótkiego okna rozwojowego (Maia i inni, 2014). Udowodniono, że geny związane z adaptacją roślin do warunków otoczenia ewoluują szybciej niż geny metabolizmu podstawowego (Nelissen i inni, 2014). Istnieje więc możliwość, że w toku ewolucji *HvABI5* uzyskał nowe zdolności funkcjonalne w porównaniu do *AtABI5*. Ponadto, mechanizmy warunkujące tolerancję na stres abiotyczny u roślin jednoliściennych mogą być odmienne od tych, które są obserwowane u Arabidopsis (Tester i Bacic, 2005). U Arabidopsis, ABA-zależna odpowiedź na stres abiotyczny jest zazwyczaj regulowana przez AtABI5 w nasionach oraz przez białka AtABF/AREB w liściach i korzeniach podczas wzrostu wegetatywnego rośliny. Należy jednak podkreślić, że działanie czynników AtABF/AREB w ścieżce ABA odznacza się wysoką redundancją.

Na podstawie prezentowanych badań można przypuszczać, że w wyniku zdarzeń ewolucyjnych *HvABI5* u jęczmienia funkcjonuje w podobny sposób zarówno do *AtABI5* jak i do *AtABF*/*AREB*, jednocześnie regulując odpowiedź na ABA podczas kiełkowania ziarniaków oraz podczas odpowiedzi rośliny na suszę w stadium siewki/krzewienia. U Arabidopsis, istotnie obniżoną przeżywalność po suszy stwierdzono dla potrójnego mutanta *Atabf2*/*areb1 Atabf4*/*areb2 Atabf3*, natomiast nie obserwowano statystycznie istotnych różnic w przeżywalności pojedynczych mutantów *Atabf*/*areb* w warunkach suszowych, co świadczy o wysokiej redundancji *AtABF*/*AREB* podczas regulacji odpowiedzi na suszę (Yoshida i inni, 2010). W przeciwieństwie do tych obserwacji, rola *HvABI5* w odpowiedzi na suszę jest indywidualna. Świadczy o tym fakt, że pojedynczy mutant *hvabi5.d* odznaczał się tolerancją na ten stres. Z drugiej strony, *HvABI5*, na drodze ABA-zależnej, reguluje ekspresję *LEA*, zawartość chlorofilu, zamykanie aparatów szparkowych, a także uczestniczy w modulacji szlaku ABA na zasadzie sprzężenie zwrotnego, co również jest opisywane dla białek AtABF/AREB. Czynniki transkrypcyjne z grupy ABI5 oraz ABF/AREB zidentyfikowane u roślin jednoliściennych i wykazujące wysokie podobieństwo do HvABI5, tj. wABI5, OsABF2, OsABF4, OsTRAB1 oraz ZmABI5, regulują ABA-zależną odpowiedź na suszę poprzez aktywację ekspresji genów związanych z odpowiedzią na stres podczas

wegetatywnego wzrostu siewek (Kagaya i inni, 2002; Lu i inni, 2009; Kobayashi i inni, 2008; Hossain i inni, 2010a; Yan i inni, 2012). Dodatkowo, OsABF2 oraz ZmABI5 uczestniczą w regulacji kiełkowania ziarniaków (Hossain i inni, 2010a; Zhang i inni, 2019). Prezentowane analizy świadczą, że HvABI5 funkcjonuje jako ABA-zależny regulator odpowiedzi na suszę u jęczmienia w sposób podobny do swoich blisko spokrewnionych homologów z innych gatunków roślin jednoliściennych.

5.3. Rola *HvABI5* w regulacji innych ścieżek fitohormonalnych podczas suszy

Odpowiedź na stres suszy jest regulowana nie tylko przez ABA. Inne fitohormony, w tym auksyny, gibereliny, cytokininy, brasinosteroidy oraz jasmoniany, również uczestniczą w modulacji odpowiedzi na stres poprzez interakcję ze ścieżką ABA (Kohli i inni, 2013; Wani i inni, 2016; Ullah i inni, 2018). W ramach prezentowanych badań zidentyfikowano specyficznie zróżnicowaną ekspresję genów zaangażowanych w metabolizm oraz ścieżki sygnałowe innych fitohormonów u *hvabi5.d* po obniżaniu wilgotności w glebie oraz po suszy. Były to geny odpowiedzialne za biosyntezę auksyn, sygnalizację auksyn, transport auksyn, biosyntezę giberelin, sygnalizację giberelin, degradację cytokinin, biosyntezę brasinosteroidów, sygnalizację brasinosteroidów oraz sygnalizację jasmonianów. Zaburzona równowaga fitohormonalna może być kolejną składową mechanizmu tolerancji na suszę *hvabi5.d*. Zróżnicowana ekspresja genów zaangażowanych w działanie szlaków innych fitohormonów u *hvabi5.d* może świadczyć o roli *HvABI5* w interakcji pomiędzy sygnalizacją ABA i ścieżkami innych fitohormonów. Należy podkreślić, że AtABI5 jest istotnym łącznikiem pomiędzy sygnalizacją ABA oraz ścieżkami innych fitohormonów, szczególnie giberelin, cytokinin, brasinosteroidów oraz jasmonianów, co skutkuje właściwym poziomem ABA-zależnej adaptacji rośliny do warunków środowiskowych (Wang i inni, 2011; Yuan i inni, 2011; Hu i Yu, 2014; Skubacz i inni, 2016; Ju i inni, 2019). Wykazano, że AtABI5 reguluje negatywnie ekspresję genów uczestniczących w biosyntezie giberelin, *GIBBERELLIN 3-OXIDASE 1* (*GA3ox1*) oraz (*GA3ox2*), oraz stymuluje aktywność, negatywnego regulatora sygnalizacji giberelin z grupy DELLA, RGA-LIKE2 (RGL2) (Yuan i inni, 2011; Lee i inni 2012). Jednakże działanie *AtABI5* jest hamowane przez: działające zależnie od cytokinin represory transkrypcyjne z grupy ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATOR (ARR), czynnik transkrypcyjny regulujący ekspresję genów zależnie od brasinosteroidów, BRASSINAZOLE RESISTANT 1 (BZR1), oraz negatywne regulatory sygnalizacji jasmonianów, JAZ (Wang i inni, 2011; Yang i inni, 2016; Pan i inni, 2020). Aktywność AtABI5 jest również regulowana na poziomie białkowym przez interakcję z negatywnym regulatorem sygnalizacji

brasinosteroidów, BRASSINOSTEROID INSENSITIVE 2 (BIN2), co stymuluje działanie AtABI5 (Hu i Yu, 2014). Z drugiej strony działanie AtABI5 jest hamowane poprzez oddziaływanie z czynnikiem transkrypcyjnym związanym ze szlakiem brasinostreroidów, BR INSENSITIVE 1 (BRI1)-EMS-SUPPRESSOR1 (BES1) oraz z negatywnym regulatorem jasmonianów, JAZ3 (Zhao i inni, 2019; Ju i inni, 2019).

5.4. Identyfikacja genów potencjalnie docelowych dla HvABI5

W prezentowanej pracy wykazano, że *HvABI5* reguluje ABA-zależną odpowiedź na suszę. Gen *HvABI5* koduje czynnik transkrypcyjny z grupy bZIP, toteż postanowiono zidentyfikować geny potencjalnie związane z tolerancją na suszę *hvabi5.d,* które mogły być bezpośrednio regulowane przez HvABI5. U Arabidopsis, AtABI5 oraz białka AtABF/AREB wiążą się z elementami *cis* ABRE obecnymi w promotorach genów docelowych tych czynników. W rezultacie dochodzi do aktywacji lub zahamowania ekspresji genów związanych z odpowiedzią na stres, co zapewnia adaptację rośliny do niekorzystnych warunków środowiska (Finkelstein i Lynch, 2000; Carles i inni, 2002; Lopez-Molina i inni, 2002; Yoshida i inni, 2010). W podobny sposób funkcjonuje także HvABI5 oraz jego homologi zidentyfikowane u innych roślin jednoliściennych (Casaretto i Ho, 2003; Kagaya i inni, 2002; Kobayashi i inni, 2008; Hossain i inni, 2010a; Yan i inni, 2012; Piao i inni, 2019). Aby wyłonić geny potencjalnie docelowe dla HvABI5 przeprowadzono analizę promotorów genów ulegających specyficznie zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* po okresie obniżania wilgotności w glebie oraz po suszy, co umożliwiło w sumie identyfikację 89 genów, które odznaczały się obecnością w promotorach elementu ABRE wiązanego przez ABI5. Analiza GO wykazała, że zidentyfikowane geny, potencjalnie docelowe dla HvABI5, były zaangażowane m.in. w procesy związane z reakcjami utleniania i redukcji, regulację transkrypcji, odpowiedź na niedobór wody, regulację otwierania aparatów szparkowych oraz odpowiedź na ABA.

Prześledzono wzór ekspresji *HvABI5* w różnych punktach czasowych eksperymentu suszowego oraz po traktowaniu ABA. Aktywację *HvABI5* zaobserwowano już w pierwszych dniach obniżania wilgotności w glebie, a także po traktowaniu ABA, co wskazuje na istotną rolę HvABI5 w regulacji ekspresji potencjalnych genów docelowych podczas początkowej fazy ABA-zależnej odpowiedzi rośliny na suszę. Ponadto, wykazano również, że *HvABI5* był aktywowany w mniejszym stopniu u *hvabi5.d* względem odmiany wyjściowej podczas obniżania wilgotności w glebie oraz po traktowaniu ABA. Do badań ekspresji po traktowaniu suszą oraz ABA wybrano 14 genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, które wykazywały zróżnicowaną ekspresję w stosunku do odmiany wyjściowej po 5-dniowym okresie obniżania

wilgotności gleby, tj. w 15 DAS. Geny te wyselekcjonowano na podstawie wysokiej krotności zmiany ekspresji i/lub powiązania pełnionej funkcji z reakcją na stres. Dodatkowo, sprawdzono również odpowiedź 8 genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, które odznaczały się zróżnicowaną ekspresją u mutanta po obniżaniu wilgotności w glebie (15 DAS), a także utrzymywały ten efekt po 10-dniowej suszy (25 DAS).

Dwanaście z 22 badanych genów potencjalnie docelowych dla HvABI5 odznaczało się zróżnicowaną ekspresją u mutanta po stresie suszy oraz po traktowaniu ABA, co świadczy o ich regulacji przez HvABI5 ma drodze ABA-zależnej w odpowiedzi na suszę. Odmienna, niż u odmiany wyjściowej, ekspresja tych genów wynikała prawdopodobnie ze zmienionej aktywności białka HvABI5 spowodowanej mutacją niesioną przez *hvabi5.d*. U Arabidopsis, AtABI5 oraz AtABF/AREBs, jako komponenty sygnalizacji zależnej od ABA, regulują bezpośrednio geny zaangażowane m. in. w adaptację do warunków stresu abiotycznego (*LEAs*), metabolizm lipidów (*DGAT1*), biosyntezę ABA i giberelin (*NCED9, GA3ox1, GA3ox2*), oraz regulację transkrypcji (*DREB2A*) (Finkelstein i Lynch, 2000; Carles i inni, 2002; Lopez-Molina i inni, 2002; Yoshida i inni, 2010; Kim i inni, 2011; Lee i inni, 2012; Kong i inni, 2013). Należy znacząco podkreślić, że zidentyfikowane w niniejszej pracy geny potencjalnie docelowe dla HvABI5 są nowymi, nie opisanymi dotąd w literaturze, genami. Funkcja tym genom została przypisana bioinformatycznie jedynie na podstawie terminów GO oraz adntotacji funkcjonalnych dostępnych w bazach danych dla sekwencji odpowiadającym identyfikatorom HORVU tych genów. Jednakże konkretna funkcja poszczególnych genów nie była potwierdzona badaniami molekularnymi mutantów bądź linii z nadekspresją. Ponadto, dla większości ortologów tych genów u Arabidopsis nie opisywano dotąd zaangażowania w odpowiedź na stres suszy. Skróty potencjalnych genów docelowych HvABI5, którymi posłużono się w niniejszej pracy, przyjęto na podstawie adnotacji funkcjonalnych. Geny potencjalnie docelowe dla HvABI5, działające zależnie od ABA w odpowiedzi na suszę, są powiązane z adaptacją rośliny do warunków stresu (*PAPT2*, *LEA*), biosyntezą fitohormonów (*CCD1*, *GA4*), regulacją ekspresji genów *(bHLH*, *NAC1*), fosforylacją białek (*LRPK1*), funkcjonowaniem lipidów (*CYB5*, *TLC*) oraz podstawowym funkcjonowaniem komórek (*HMT, CYC4*). Dla jednego z tych genów nie opisano dotychczas pełnionej funkcji (*Unknown*). Odmienna ekspresja niektórych z tych genów w odpowiedzi na suszę u *hvabi5.d* mogła bezpośrednio wpływać na tolerancję mutanta na ten stres. Podwyższona aktywność genu uczestniczącego w adaptacji komórek do niedoboru wody w środowisku, *LEA*, prawdopodobnie zapewniała lepszą stabilność błon *hvabi5.d,* co potwierdza obserwowany u mutanta niski wskaźnik względnego wypływu elektrolitów po suszy, a także wyniki

otrzymane podczas globalnej analizy transkryptomu dla *hvabi5.d* po suszy. Ponadto, obniżona ekspresja genów, powiązanych odpowiednio, z biosyntezą bardzo długołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz z sygnalizacją lipidową, *CYB5* oraz *TLC,* mogła wpływać na skład lipidowy błon komórkowych i tym samym na ich niższy stopień uszkodzenia obserwowany u mutanta w odpowiedzi na suszę.

Niższa ekspresja genu *CCD1* zaangażowanego w metabolizm karotenoidów oraz prawdopodobnie w biosyntezę ABA, a także genu odpowiedzialnego za biosyntezę giberelin, *GA4,* prawdopodobnie wpływała na poziom tych fitohormonów, co mogło wiązać się z podwyższoną ekspresją genów ścieżki ABA oraz zawartością ABA obserwowaną u mutanta po suszy. Niższa ekspresja *CCD1* u *hvabi5.d* mogła przeciwdziałać podwyższonej aktywacji szlaku ABA, zapewniając zbalansowaną, ABA-zależną odpowiedź mutanta na suszę. Z kolei zahamowanie ekspresji *GA4* u mutanta mogło wpływać negatywnie na zawartość giberelin, co wzmacniało ABA-zależną odpowiedź *hvabi5.d* warunkującą jego tolerancję na stres. Dodatkowo, obniżona aktywność *CCD1* mogła wpływać negatywnie na zwartość karotenoidów i skutkować zaburzonym przebiegiem fotosyntezy obserwowanym u mutanta po suszy, co było również potwierdzone globalną analizą ekspresji *hvabi5.d* i jego odmiany rodzicielskiej po suszy. Należy podkreślić, że szczegółowa analiza ekspresji podczas przebiegu doświadczenia suszowego wykazała, że czas działania *CCD1* oraz *GA4* pokrywał się z aktywnością *HvABI5*.

Tak jak w przypadku *CCD1* oraz *GA4*, niższa ekspresja genu kodującego kinazę, która prawdopodobnie reguluje sygnalizację zależną od brasinosteroidów, *LRPK1,* mogła zaburzać percepcję tego fitohormonu i wzmacniać ABA-zależną odpowiedź na stres *hvabi5d*. Tolerancja mutanta mogła również wynikać z wyższej aktywności transkrypcyjnej genu *NAC1* kodującego czynnik transkrypcyjny z grupy NAC, który jest zaangażowany w regulację odpowiedzi na stres abiotyczny. Ponadto, obniżona ekspresja genu *bHLH* kodującego czynnik transkrypcyjny z grupy bHLH, również mogła wpływać na regulację ekspresji genów i odpowiedź mutanta na suszę. Należy także podkreślić, że u *hvabi5.d* zaobserwowano niższą ekspresję genu regulującego podziały komórkowe, *CYC4*, oraz, genu zaangażowanego w biosyntezę metioniny, *HMT,* co mogło jednocześnie spowalniać procesy rozwojowe i stymulować działanie mechanizmów warunkujących tolerancję na suszę u mutanta.

Pięć z badanych genów potencjalnie docelowych dla HvABI5 wykazywało odmienną ekspresję u *hvabi5.d* jedynie po traktowaniu suszą, co świadczy o funkcjonowaniu HvABI5 w odpowiedzi na suszę również w obrębie innych ścieżek sygnalizacyjnych. Możliwe, że ten mechanizm działania HvABI5 obejmuje współudział innych regulatorów zaangażowanych

w odpowiedź na suszę. Geny potencjalnie docelowe dla HvABI5, regulowane zależnie od innych ścieżek sygnalizacyjnych, są powiązane z odpowiedzią na stres (*BAN, BAG3*), z regulacją sygnalizacji komórkowej w odpowiedzi na gibereliny (*IQ22*) oraz z reakcją obronną rośliny na patogeny (*PR*), a także z regulacją translacji (*PUM2*). Zróżnicowana ekspresja niektórych genów z tej grupy u *hvabi5.d* również mogła wpływać na tolerancję mutanta na suszę. Znacznie wyższa ekspresja genu zaangażowanego w biosyntezę flawonoidów, *BAN,* mogła przyczyniać się do wzmożonej akumulacji flawonoli i antocyjanów obserwowanej u mutanta po suszy, co potwierdzono także poprzez globalną analizę transkryptomu u mutanta po tym stresie, i tym samym zapewniać lepszą odpowiedź mutanta na stres. Tolerancja mutanta na suszę mogła też być związana z niższą aktywacją genu zaangażowanego w sygnalizację komórkową stymulowaną giberelinami, *IQ22,* co prawdopodobnie hamowało w pewnym stopniu działanie szlaku tego fitohormonu i stymulowało aktywację ekspresji genów zaangażowanych w ścieżkę ABA, promując podwyższoną akumulację ABA u mutanta po suszy. Ponadto, podwyższona ekspresja genu regulującego stabilność mRNA, *PUM2,* mogła pozytywnie wpływać na efektywność translacji białek warunkujących tolerancję na suszę u *hvabi5.d*.

Uzyskane wyniki wskazały nowe, nie opisane dotąd, geny potencjalnie docelowe dla HvABI5, które można potwierdzić stosując metodę ChiP-seq (Chromatin immunoprecipitation-sequencing) umożliwiającą detekcję interakcji pomiędzy czynnikiem transkrypcyjnym i promotorami genów docelowych. Metoda ta polega na izolacji chromatyny z komórek, immunoprecypitacji kompleksów białka zainteresowania z DNA wykorzystując specyficzne przeciwciało, a następnie na analizie oczyszczonego DNA za pomocą sekwencjonowania wysokoprzepustowego (Mundade i inni, 2014; Muhammad i inni, 2020).

5.5. Potencjalny wpływ mutacji tła powstałych w wyniku mutagenezy chemicznej na fenotyp *hvabi5.d*

Biorąc pod uwagę, że mutant *hvabi5.d* został zidentyfikowany w obrębie populacji TILLING, wyprowadzonej w wyniku mutagenezy chemicznej, należy rozważyć możliwy wpływ mutacji tła na fenotyp *hvabi5.d*. Komplementacja mutacji dzikim allelem za pomocą transformacji genetycznej jest najbardziej bezpośrednią metodą, która pozwala na potwierdzenie obserwowanego fenotypu mutanta. Efektywna transformacja genetyczna u jęczmienia jest jednak ograniczona do jednej odmiany, ‘Golden Promise’ (Hensel i inni, 2008; Harwood, 2012). Wstępne badania przeprowadzone w Katedrze Genetyki wykazały, że odmiana ‘Sebastian’, będąca odmianą wyjściową dla *hvabi5.d*, jest oporna na transformację

genetyczną z wykorzystaniem *Agrobacterium*. Należy jednak podkreślić, że *hvabi5.d* został zidentyfikowany jako jeden z czterech mutantów niosących mutację w genie *HvABI5*, które odznaczały się lepszą odpowiedzią na suszę niż odmiana 'Sebastian' podczas wstępnych analiz (Collin i inni, 2020). W ramach wstępnych badań odpowiedź na suszę przeanalizowano dla siedmiu, niezależnych mutantów zidentyfikowanych za pomocą metody TILLING, które wykazywały obecność różnych alleli w obrębie genu *HvABI5*. Cztery z nich, w tym *hvabi5.d,* zatrzymywały wodę w liściach w wyższym stopniu niż 'Sebastian', co oceniono za pomocą parametru RWC. Trzy pozostałe, testowane mutanty nie wykazywały istotnych różnic w wartości parametru RWC względem odmiany wyjściowej. Oznacza to, że mutacje zmiany sensu obecne w tych mutantach nie powodowały znaczących zmian w działaniu białka HvABI5 (Collin i inni, 2020).

Ponadto, w celu usunięcia potencjalnych mutacji tła, dwukrotnie skrzyżowano wstecznie mutanta *hvabi5.d* z odmianą wyjściową 'Sebastian'. Otrzymane w ten sposób linie *hvabi5.d* F_4BC_2 poddano traktowaniu stresem suszy i przeanalizowano podstawowe cechy fizjologiczne związane z odpowiedzią na stres (RWC, zawartość flawonoli i antocyjanów, przewodnictwo szparkowe). Dodatkowo, prześledzono wzór ekspresji genów związanych z działaniem *HvABI5* (*HVA1*, *HVA22*, *HvDRF1*) oraz genów zaangażowanych w biosyntezę, metabolizm oraz sygnalizację ABA (*HvNCED1*, *HvBG8*, *HvSnRK2.1* i *HvPP2C4*) u tych linii. Wszystkie analizowane parametry fizjologiczne oraz wzory ekspresji badanych genów u *hvabi5.d* F_4BC_2 były zbliżone do tych, które opisano u *hvabi5.d* po suszy w ramach prezentowanych badań (**Aneks 13**). Biorąc to pod uwagę, można stwierdzić, że analizy wykonane dla *hvabi5.d* F_4BC_2 potwierdziły związek pomiędzy funkcjonowaniem *HvABI5* oraz regulacją odpowiedzi na suszę u jęczmienia. Należy także podkreślić, że inna metoda, która pozwala na potwierdzenie związku pomiędzy mutacją i obserwowanym fenotypem, tj. analiza ich kosegregacji w segregującym pokoleniu F_2 nie może zostać przeprowadzona dla cechy ilościowej jaką jest tolerancja na suszę. W przypadku *hvabi5.d* rozpoznanie fenotypu mutanta oraz formy wyjściowej nie jest możliwe w jednoznacznych kategoriach na pojedynczych roślinach. Wszystkie testy przeprowadzone w ramach prezentowanych badań wymagają wykonywania powtórzeń biologicznych. Tym samym analiza segregacji w pokoleniu F_2 na podstawie fenotypowania pojedynczych roślin nie jest możliwa.

6. Wnioski

1. Gen *HvABI5*, kodujący czynnik transkrypcyjny z rodziny bZIP, jest zaangażowany w ABA-zależną odpowiedź na suszę u jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.).

2. Analiza filogenetyczna wskazuje na bliskie podobieństwo białka HvABI5 do czynników transkrypcyjnych wABI5, OsABF4 i OsTRAB1 zidentyfikowanych u gatunków jednoliściennych, a także AtABF/AREB Arabidopsis.

3. Mutant *hvabi5.d* niesie mutację G1751A w sekwencji genu HORVU5Hr1G068230 powodującą zmianę argininy do lizyny w pozycji 274., która może wpływać na aktywność HvABI5 jako białka regulatorowego.

4. Zwiększona tolerancja mutanta *hvabi5.d* na suszę jest rezultatem efektywnego mechanizmu zapobiegającego utracie wody, który wynika z lepszej ochrony i stabilizacji membran, wyższej zawartości flawonoidów i szybszego zamykania aparatów szparkowych. Dowodzi to udziału *HvABI5* w regulacji procesów fizjologicznych związanych z tolerancją na suszę u jęczmienia, opartego o aktywację genów odpowiedzi na stres i adaptacji do niekorzystnych warunków środowiska.

5. Podwyższona ekspresja genów biosyntezy oraz sygnalizacji ABA u *hvabi5.d* po suszy oraz po traktowaniu ABA, a także szybsze zamykanie aparatów szparkowych w obecności ABA u mutanta potwierdza, że *HvABI5* reguluje odpowiedź na suszę w sposób ABA-zależny.

6. Wyższa zawartość endogennego ABA u *hvabi5.d* po suszy wynika z podwyższonej aktywacji genów biosyntezy i metabolizmu ABA i wpływa pozytywnie na sygnalizację ABA. Obecność potencjalnych motywów wiązania ABI5 w promotorach *HvNCED1*, *HvSnRK2.1* oraz *HvPP2C4* może świadczyć, że *HvABI5* moduluje biosyntezę oraz sygnalizację ABA na zasadzie sprzężenia zwrotnego, co zapewnia odpowiedni poziom ABA-zależnej reakcji na suszę.

7. Obniżona efektywność procesu fotosyntezy u *hvabi5.d* w warunkach stresu wynika z niższej zawartości chlorofilu oraz z szybszego zamykania aparatów szparkowych. Świadczy to o udziale *HvABI5* w regulacji biosyntezy i/lub katabolizmu chlorofilu oraz przebiegu fotosyntezy, potwierdzonym przez globalną analizę transkrypcji mutanta i odmiany wyjściowej po działaniu stresu.

8. Niewrażliwość na ABA podczas kiełkowania oraz podwyższona aktywacja ścieżki ABA po suszy u mutanta *hvabi5.d* wskazują, że ABA-zależne mechanizmy działania *HvABI5* w trakcie kiełkowania nasion i odpowiedzi na suszę w stadium wegetatywnym są odmienne.

9. Obecność *cis* elementów ABRE, wiązanych przez ABI5, w promotorach genów wykazujących zróżnicowaną ekspresję u *hvabi5.d* w stosunku do odmiany 'Sebastian', zarówno po suszy, jak i po traktowaniu ABA, wskazuje, że geny te mogą być bezpośrednio regulowane przez HvABI5, a więc mogą być genami docelowymi dla HvABI5 jako czynnika transkrypcyjnego.

10. Geny potencjalnie docelowe dla HvABI5, działające zależnie od ABA w odpowiedzi na suszę, są powiązane z adaptacją rośliny do warunków stresu, biosyntezą fitohormonów, regulacją ekspresji genów, fosforylacją białek, funkcjonowaniem lipidów oraz podstawowym funkcjonowaniem komórek. Odmienna ekspresja tych genów w odpowiedzi na suszę u *hvabi5.d* może bezpośrednio wpływać na tolerancję mutanta na ten stres.

11. Brak zmian ekspresji po traktowaniu ABA pięciu innych genów potencjalnie docelowych dla HvABI5, kodujących między innymi białka zaangażowane w odpowiedź na stres, regulację sygnalizacji komórkowej w odpowiedzi na gibereliny, reakcję obronną na patogeny oraz regulację translacji, wskazuje, że HvABI5 może kontrolować aktywność genów zaangażowanych w reakcję na suszę również jako komponent innych ścieżek sygnalizacyjnych.

12. Ostateczne potwierdzenie udziału HvABI5 w regulacji zidentyfikowanych genów będzie możliwe po zastosowaniu metody ChIP-Seq, która umożliwia detekcję wiązania się czynników transkrypcyjnych do promotorów genów docelowych.

7. Streszczenie

W wyniku postępujących zmian klimatycznych stres suszy coraz częściej redukuje plonowanie roślin uprawnych. W celu otrzymywania nowych odmian tolerancyjnych na suszę konieczne jest dokładne zrozumienie mechanizmów umożliwiających adaptację roślin do tego stresu. Kwas abscysynowy (ABA) jest głównym fitohormonem regulującym odpowiedź rośliny na stresy abiotyczne, w tym na suszę. Na poziomie fizjologicznym ABA powoduje zamykanie aparatów szparkowych i hamowanie fotosyntezy, natomiast na poziomie molekularnym wpływa na regulację ekspresji genów odpowiedzi na stres. U Arabidopsis, ABA INSENSITIVE 5 (ABI5) oraz białka ABRE BINDING FACTOR/ABRE-BINDING PROTEIN (ABF/AREB) pełnią funkcję ABA-zależnych czynników transkrypcyjnych z domeną zamka leucynowego (BASIC LEUCINE ZIPPER, bZIP), które regulują ekspresję genów związanych z procesami warunkującymi adaptację do niekorzystnych warunków środowiska.

Przedstawiona praca miała na celu opisanie roli *HvABI5,* jęczmiennego homologa *AtABI5* oraz *AtABF/AREB*, w odpowiedzi na suszę u jęczmienia (*Hordeum vulgare*), a także identyfikację genów potencjalnie docelowych dla HvABI5. Wykorzystanie populacji TILLING jęczmienia, wyprowadzonej w Katedrze Genetyki Uniwersytetu Śląskiego, pozwoliło na identyfikację mutanta *hvabi5.d* niosącego mutację punktową G1751A w obrębie genu *HvABI5*. Zidentyfikowana mutacja skutkowała substytucją argininy na lizynę 274, która znajduje się w pobliżu domeny bZIP białka HvABI5. Mutant *hvabi5.d* odznaczał się niższą wrażliwością na ABA w stadium kiełkowania ziarniaków w porównaniu z odmianą wyjściową ‘Sebastian’ oraz wykazywał niższą wartość parametrów fotosyntetycznych, wskaźnika funkcjonowania PSII (PI_{ABS}) oraz maksymalnej wydajności fotochemiczna PSII (φP_0), a także wyższy poziom osmolitu proliny po traktowaniu ABA w stadium wczesnej siewki. Reakcja analizowanego mutanta na ABA pozwoliła przypuszczać, że *HvABI5* może regulować odpowiedź na stres suszy u jęczmienia. Po traktowaniu suszą *hvabi5.d* wykazywał wyższą o 13% wartość parametru względnej zawartości wody w liściu (Relative Water Content, RWC) względem odmiany ‘Sebastian’. Zwiększona tolerancja na suszę *hvabi5.d* była związana z niższym stopniem uszkodzenia błon komórkowych, wyższą zawartością flawonoidów (flawonoli oraz antocyjanów) oraz szybszym zamykaniem aparatów szparkowych niż obserwowano to u odmiany rodzicielskiej. Co więcej, w porównaniu do odmiany wyjściowej mutant odznaczał się po suszy wyższą ekspresją znanych genów docelowych czynnika HvABI5: *HVA1* oraz *HVA22*, a także genu kodującego ABA-zależny czynnik transkrypcyjny *DEHYDRATION-RESPONSIVE FACTOR 1* (*HvDRF1*). Z drugiej strony zawartość chlorofilu oraz wartości

parametrów fotosyntetycznych PI_{ABS} oraz φP_0 były obniżone u *hvabi5.d* po suszy. W celu sprawdzenia, czy *HvABI5* funkcjonuje zależnie od ABA, przeanalizowano ekspresję genów związanych z metabolizmem oraz sygnalizacją ABA po suszy u obu analizowanych genotypów. Ekspresja kluczowych genów związanych ze ścieżką ABA była zróżnicowana pomiędzy mutantem i odmianą ‘Sebastian’ w obecności stresu. U *hvabi5.d* obserwowano po suszy 2-20-krotnie wyższą ekspresję genów *HvNCED1* i *HvBG8,* zaangażowanych w biosyntezę i metabolizm ABA oraz *HvSnRK2.1* i *HvPP2C4,* głównych komponentów sygnalizacji ABA. Ponadto *hvabi5.d* wykazywał ponad 2-krotnie wyższą endogenną zawartość ABA niż odmiana ‘Sebastian’ po suszy, a w promotorach *HvNCED1, HvSnRK2.1* oraz *HvPP2C4* zidentyfikowano potencjalne miejsca wiązania ABI5. Wyższą ekspresję *HvNCED1* i *HvSnRK2.1* oraz szybsze zamykanie aparatów szparkowych stwierdzono również u *hvabi5.d* po traktowaniu 200 µM ABA, co potwierdza ABA-zależne działanie *HvABI5* w odpowiedzi na stres suszy u jęczmienia.

Globalna analiza transkryptomu przeprowadzona z wykorzystaniem mikromacierzy Agilent wykazała 2688 genów po 5-dniowym okresie obniżania wilgotności gleby oraz 1959 genów po 10-dniowej suszy, które ulegały specyficznie zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d*. Wśród nich zidentyfikowano geny, które mogły odpowiadać za mechanizmy warunkujące tolerancję na stres mutanta. W celu wskazania genów potencjalnie docelowych dla HvABI5 przeprowadzono analizę promotorów genów ulegających zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* po okresie obniżania wilgotności gleby oraz po suszy pod względem obecności *cis*-elementów ABA RESPONSIVE ELEMENT (ABRE) wiązanych przez ABI5. Występowanie elementów *cis* ABRE stwierdzono w promotorach 49 genów o zróżnicowanej ekspresji po okresie obniżania wilgotności gleb oraz w promotorach 48 genów wykazujących zróżnicowaną ekspresję po suszy. Przeprowadzono analizę wzorów ekspresji wybranych 22 genów, potencjalnie docelowych dla HvABI5, po działaniu suszy i po traktowaniu ABA. Odmienną aktywność transkrypcyjną u *hvabi5.d* i odmiany ‘Sebastian’ po obu traktowaniach wykazano dla 12 genów, co wskazuje na regulację tych genów przez HvABI5 w odpowiedzi na suszę na drodze ABA-zależnej. Funkcja tych genów jest powiązana z adaptacją rośliny do warunków stresu, biosyntezą fitohormonów, regulacją ekspresji genów, fosforylacją białek, funkcjonowaniem lipidów oraz podstawowym działaniem komórek. Jedynie 5 z 22 badanych genów, których funkcja była powiązana z odpowiedzią na stres, regulacją sygnalizacji komórkowej w odpowiedzi na gibereliny, reakcją obronną na patogeny oraz regulacją translacji, odznaczało się zróżnicowaną ekspresją u mutanta jedynie po suszy, co wskazuje, że HvABI5 może także działać jako komponent innych szlaków sygnalizacyjnych. Należy

podkreślić, że zidentyfikowane w niniejszej pracy geny potencjalnie docelowe dla HvABI5 nie były dotąd opisane w literaturze, a funkcja tym genom została przypisana bioinformatycznie, na podstawie terminów GO oraz adntotacji funkcjonalnych dostępnych w bazach danych dla sekwencji odpowiadającym ich identyfikatorom HORVU.

Podsumowując, otrzymane wyniki świadczą, że *HvABI5* reguluje odpowiedź na suszę u jęczmienia na drodze zależnej od ABA. Rola *HvABI5* polega na regulacji ekspresji genów, które są powiązane z mechanizmami warunkującymi adaptację rośliny do suszy. Ponadto *HvABI5* może modulować biosyntezę oraz sygnalizację ABA na zasadzie sprzężenia zwrotnego w obecności suszy. Należy także podkreślić, że ABA-zależne mechanizmy działania *HvABI5* w trakcie kiełkowania nasion i odpowiedzi na suszę są odmienne.

8. Summary

Every year drought causes serious loss of crop yield due to the progressive climate changes. Therefore, there is an urgent demand for development of new cultivars with better tolerance to stress. The part of this process is identification and description of mechanisms which ensure plant adaptation to drought. Abscisic acid (ABA) is a main phytohormone regulating plant response to abiotic stresses, including drought. At the physiological level, ABA causes stomata closure and photosynthesis inhibition, whereas at the molecular level it regulates expression of stress-responsive genes. In Arabidopsis, ABA INSENSITIVE 5 (ABI5) and ABRE BINDING FACTORs/ABRE-BINDING PROTEINs (ABFs/AREBs) act as ABA-dependent transcription factors with BASIC LEUCINE ZIPPER (bZIP) domain. They regulate expression of genes associated with plant adaptation to unfavorable environmental conditions.

The aim of the presented PhD thesis was to describe the function of *HvABI5*, a barley (*Hordeum vulagre*) homolog of *AtABI5* and *AtABF/AREB,* in response to drought and to identify putative target genes of HvABI5. The application of barley TILLING population developed at the Department of Genetics, University of Silesia in Katowice, enabled identification of *hvabi5.d* mutant carrying a G1751A point mutation in *HvABI5* gene. The identified mutation caused arginine to lysine substitution at the 274 amino acid position which is close to the bZIP domain of HvABI5 protein. *hvabi5.d* showed a much lower sensitivity to ABA during seed germination than its parent variety 'Sebastian'. It also exhibited decreased values of photosynthetic parameters: the performance index for the photochemical activity (PI_{ABS}) and the maximum quantum yield of primary photochemistry (φP_0), together with increased level of osmolyte proline after ABA treatment at the early seedling stage. Based on *hvabi5.d* reaction to ABA, it was assumed that *HvABI5* may be involved in regulation of barley response to the drought stress. After 5 days of water withdrawal and 10-day drought treatment, *hvabi5.d* showed a 13% higher value of Relative Water Content (RWC) parameter than 'Sebastian'. Increased drought tolerance of *hvabi5.d* was related to the better membrane protection, higher flavonoid content (flavonols and anthocyanins) and faster stomatal closure than observed in the parent variety. Moreover, the known HvABI5 target genes: *HVA1* and *HVA22*, as well as *DEHYDRATION-RESPONSIVE FACTOR 1* (*HvDRF1*), encoding ABA-dependent transcription factor, showed the higher expression in mutant when compared to 'Sebastian' under drought. On the other side, *hvabi5.d* showed decreased chlorophyll content and lower values of photosynthetic parameters, PI_{ABS} and φP_0, under drought. To verify if *HvABI5* regulates response to drought in the ABA-dependent way, the expression of genes

related to the ABA metabolism and signaling was analyzed under drought in both genotypes. Expression of key ABA-pathway genes differed between mutant and 'Sebastian' under stress. In response to drought *hvabi5.d* showed 2-20 times higher expression of genes involved in ABA biosynthesis and metabolism, *HvNCED1* and *HvBG8*, and gene encoding main components of ABA signaling, *HvSnRK2.1* and *HvPP2C4*. Moreover, the mutant showed 2-times higher endogenous content of ABA than its parent variety after drought treatment. Furthermore, in the promoters of *HvNCED1*, *HvSnRK2.1* and *HvPP2C4* putative binding sites for ABI5 were identified. The increased expression of *HvNCED1* and *HvSnRK2.1* and the faster stomatal closure was also observed in *hvabi5.d* after ABA treatment which confirms the ABA-dependent HvABI5 activity in barley response to drought.

Global transcriptome analysis using Agilent microarrays revealed differentially expressed genes (DEGs) between *hvabi5.d* mutant and its parent variety after application of stress. More genes (2688) were specifically up- or down-regulated in the mutant after 5- day decrease of soil moisture (drought onset) than after 10-day drought treatment (1959 genes). Among them were genes which could be related to the mechanisms responsible for increased drought tolerance of *hvabi5.d*. In order to identify putative HvABI5 target genes, the promoters of DEGs were analyzed for the presence of *cis*-elements ABA RESPONSIVE ELEMENT (ABRE) recognized by ABI5. ABRE elements were found in the promoters of 49 genes showing differentiated expression at drought onset and in the promoters of 48 genes showing differentiated expression after drought. Twenty-two selected HvABI5 putative target genes were selected and their expression after drought and ABA treatments was analyzed. It showed a different transcription activity of 12 genes between *hvabi5.d* and its parent variety under both treatments, which indicates that they may be regulated by HvABI5 in response to drought in the ABA-dependent way. Function of these putative HvABI5 target genes is associated with response to stress, phytohormone biosynthesis, transcription regulation, phosphorylation, lipid function and cell function. Only 5 of 22 analyzed genes, which are related to stress response, gibberellin response, pathogen defense and translation regulation, showed a different expression in the mutant only under drought treatment. This indicates that HvABI5 can also act in the scope of other signaling pathways. It has to be underlined that the identified potential HvABI5 target genes were not described in literature, and function of these genes was assigned based on GO terms and functional annotation available in the databases for sequences corresponding to their HORVU ID.

Taken together, the presented results indicate that *HvABI5* regulates barley drought response in the ABA-dependent way. The role of *HvABI5* is to regulate stress-responsive genes

which are related to mechanisms ensuring plant adaptation to drought. Moreover, *HvABI5* can participate in the regulation of ABA biosynthesis and signaling *via* a feedback loop in response to drought. It should be underlined that the mode of ABA-dependent *HvABI5* action during regulation of seed germination and drought response is different.

9. Literatura

Abdeen, A., Schnell, J., Miki, B. 2010. Transcriptome analysis reveals absence of unintended effects in drought-tolerant transgenic plants overexpressing the transcription factor ABF3. Bmc Genomics 11, 1-21.

Abe, H., Urao, T., Ito, T., Seki, M., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2003. Arabidopsis AtMYC2 (bHLH) and AtMYB2 (MYB) function as transcriptional activators in abscisic acid signaling. The Plant Cell 15, 63-78.

Albertos, P., Romero-Puertas, M. C., Tatematsu, K., Mateos, I., Sánchez-Vicente, I., Nambara, E., Lorenzo, O. 2015. S-nitrosylation triggers ABI5 degradation to promote seed germination and seedling growth. Nature Communications 6, 1-10.

Alcazar, R., Bueno, M., Tiburcio, A. F. 2020. Polyamines: Small Amines with Large Effects on Plant Abiotic Stress Tolerance. Cells 9, 2373.

Alexander, R. D., Wendelboe-Nelson, C., Morris, P. C. 2019. The barley transcription factor HvMYB1 is a positive regulator of drought tolerance. Plant Physiology and Biochemistry 142, 246-253.

Al-Momany, B., Abu-Romman, S. 2014. Cloning and molecular characterization of a flavin-dependent oxidoreductase gene from barley. Journal of Applied Genetics 55, 457-468.

Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K., i inni. 2016. Catalase and ascorbate peroxidase—representative H_2O_2-detoxifying heme enzymes in plants. Environmental Science and Pollution Research 23, 19002-19029.

Asad, M. A. U., Zakari, S. A., Zhao, Q., Zhou, L., Ye, Y., Cheng, F. 2019. Abiotic stresses intervene with ABA signaling to induce destructive metabolic pathways leading to death: premature leaf senescence in plants. International Journal of Molecular Sciences 20, 256.

Ashraf, M. H. P. J. C., Harris, P. J. 2013. Photosynthesis under stressful environments: an overview. Photosynthetica 51, 163-190.

Audran, C., Liotenberg, S., Gonneau, M., North, H., Frey, A., Tap-Waksman, K., i inni. 2001. Localisation and expression of zeaxanthin epoxidase mRNA in Arabidopsis in response to drought stress and during seed development. Functional Plant Biology 28, 1161-1173.

Babu, R. C., Zhang, J., Blum, A., Ho, T. H. D., Wu, R., Nguyen, H. T. 2004. *HVA1,* a LEA gene from barley confers dehydration tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) via cell membrane protection. Plant Science 166, 855-862.

Bahieldin, A., Mahfouz, H. T., Eissa, H. F., Saleh, O. M., Ramadan, A. M., Ahmed, I. A., i inni. 2005. Field evaluation of transgenic wheat plants stably expressing the *HVA1* gene for drought tolerance. Physiologia Plantarum 123, 421-427.

Baillo, E. H., Kimotho, R. N., Zhang, Z., Xu, P. 2019. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement. Genes 10, 771.

Bajji, M., Kinet, J. M., Lutts, S. 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. Plant Growth Regulation 36, 61-70.

Bandurska, H., Gniazdowska-Skoczek, H. 1995. Cell membrane stability in two barley genotypes under water stress conditions. Acta Societatis Botanicorum Poloniae 64, 29-32.

Banerjee, A. i Roychoudhury, A. 2017. Abscisic-acid-dependent basic leucine zipper (bZIP) transcription factors in plant abiotic stress. Protoplasma 254, 3-16.

Barbosa, E. G. G., Leite, J. P., Marin, S. R. R., Marinho, J. P., Carvalho, J. D. F. C., Fuganti-Pagliarini, R., i inni. 2013. Overexpression of the ABA-dependent AREB1 transcription factor from *Arabidopsis thaliana* improves soybean tolerance to water deficit. Plant Molecular Biology Reporter 31, 719-730.

Bensmihen, S., To, A., Lambert, G., Kroj, T., Giraudat, J., Parcy, F. 2004. Analysis of an activated *ABI5* allele using a new selection method for transgenic Arabidopsis seeds. FEBS Letters 561, 127-131.

Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V., Sharma, K. K. 2008. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. Plant Cell Reports 27, 411-424.

Bi, C., Ma, Y., Wu, Z., Yu, Y. T., Liang, S., Lu, K., Wang, X. F. 2017. Arabidopsis ABI5 plays a role in regulating ROS homeostasis by activating *CATALASE 1* transcription in seed germination. Plant Molecular Biology 94, 197-213.

Brocard, I. M., Lynch, T. J., Finkelstein, R. R. 2002. Regulation and role of the Arabidopsis abscisic acid-insensitive 5 gene in abscisic acid, sugar, and stress response. Plant Physiology, 129, 1533-1543.

Brouillette, L. C., Mason, C. M., Shirk, R. Y., Donovan, L. A. 2014. Adaptive differentiation of traits related to resource use in a desert annual along a resource gradient. New Phytologist 201, 1316-1327.

Cao, X. Y., Ming, C., Xu, Z. S., Chen, Y. F., Li, L. C., Yu, Y. H., Liu, Y. N. 2012. Isolation and functional analysis of the bZIP transcription factor gene TaABP1 from a Chinese wheat landrace. Journal of Integrative Agriculture 11, 1580-1591.

Carillo, P., Gibon, Y. 2011. Protocol: extraction and determination of proline. PrometheusWiki 2011, 1–4.

Carles, C., Bies-Etheve, N., Aspart, L., Léon-Kloosterziel, K. M., Koornneef, M., Echeverria, M., Delseny, M. 2002. Regulation of Arabidopsis thaliana *Em* genes: role of ABI5. The Plant Journal 30, 373-383.

Casaretto, J., Ho, T. H. D. 2003. The transcription factors HvABI5 and HvVP1 are required for the abscisic acid induction of gene expression in barley aleurone cells. The Plant Cell 15, 271-284.

Casaretto, J., Ho, T. H. D. 2005. Transcriptional regulation by abscisic acid in barley (*Hordeum vulgare* L.) seeds involves autoregulation of the transcription factor HvABI5. Plant Molecular Biology 57, 21-34.

Chang, G., Wang, C., Kong, X., Chen, Q., Yang, Y., Hu, X. 2018. AFP2 as the novel regulator breaks high-temperature-induced seeds secondary dormancy through ABI5 and SOM in *Arabidopsis thaliana*. Biochemical and Biophysical Research Communications 501, 232-238.

Chang, H. C., Tsai, M. C., Wu, S. S., Chang, F. 2019. Regulation of ABI5 expression by ABF3 during salt stress responses in *Arabidopsis thaliana*. Botanical Studies 60, 1-14.

Chen, C., Wu, C., Miao, J., Lei, Y., Zhao, D., Sun, D., i inni. 2014. Arabidopsis SAG protein containing the MDN1 domain participates in seed germination and seedling development by negatively regulating ABI3 and ABI5. Journal of Experimental Botany 65, 35-45.

Chen, H., Zhang, J., Neff, M. M., Hong, S. W., Zhang, H., Deng, X. W., Xiong, L. 2008. Integration of light and abscisic acid signaling during seed germination and early seedling development. Proceedings of the National Academy of Sciences 105, 4495-4500.

Chen, K., Li, G. J., Bressan, R. A., Song, C. P., Zhu, J. K., Zhao, Y. 2020. Abscisic acid dynamics, signaling, and functions in plants. Journal of Integrative Plant Biology 62, 25-54.

Chmielewska, B., Janiak, A., Karcz, J., Guzy-Wrobelska, J., Forster, B. P., Nawrot, M., Rusek, A., Smyda, P., Kedziorski, P., Maluszynski, M., Szarejko, I. 2014. Morphological, genetic and molecular characteristics of barley root hair mutants. Journal of Applied Genetics 55, 433-447.

Choi, H. I., Hong, J. H., Ha, J. O., Kang, J. Y., Kim, S. Y. 2000. ABFs, a family of ABA-responsive element binding factors. Journal of Biological Chemistry 275, 1723-1730.

Chomczynski, P., Sacchi, N. 1987. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. Analytical Biochemistry 162, 156-159.

Collin, A., Daszkowska-Golec, A., Kurowska, M., Szarejko, I. 2020. Barley ABI5 (Abscisic Acid INSENSITIVE 5) is involved in abscisic acid-dependent drought response. Frontiers in Plant Science 11, 1138.

Collin, A., Daszkowska-Golec, A., Szarejko, I. 2021. Updates on the Role of ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 (ABI5) and ABSCISIC ACID-RESPONSIVE ELEMENT BINDING FACTORs (ABFs) in ABA Signaling in Different Developmental Stages in Plants. Cells, 10, 1996.

Conti, L. 2019. The ABA of floral transition: the to do list for perfect escape. Molecular Plant, 12, 289-291.

Dai, M., Xue, Q., Mccray, T., Margavage, K., Chen, F., Lee, J. H., i inni. 2013. The PP6 phosphatase regulates ABI5 phosphorylation and abscisic acid signaling in Arabidopsis. The Plant Cell 25, 517-534.

Daszkowska-Golec, A., Szarejko, I. 2013. Open or close the gate–stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. Frontiers in Plant Science 4, 138.

Davies, K. M., Albert, N. W., Zhou, Y., Schwinn, K. E. 2018. Functions of flavonoid and betalain pigments in abiotic stress tolerance in plants. Annual Plant Reviews online 1, 21-62.

Dawson, I. K., Russell, J., Powell, W., Steffenson, B., Thomas, W. T., Waugh, R. 2015. Barley: a translational model for adaptation to climate change. New Phytologist 206, 913-931.

Dejonghe, W., Okamoto, M., Cutler, S. R. 2018. Small molecule probes of ABA biosynthesis and signaling. Plant and Cell Physiology 59, 1490-1499.

Dekkers, B. J., He, H., Hanson, J., Willems, L. A., Jamar, D. C., Cueff, G., i inni. 2016. The Arabidopsis DELAY OF GERMINATION 1 gene affects ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 (ABI5) expression and genetically interacts with ABI 3 during Arabidopsis seed development. The Plant Journal 85, 451-465.

de Mezer, M., Turska-Taraska, A., Kaczmarek, Z., Glowacka, K., Swarcewicz, B., Rorat, T. 2014. Differential physiological and molecular response of barley genotypes to water deficit. Plant Physiology and Biochemistry 80, 234-248.

Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Fini, A., Tattini, M. 2012. Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses. In: Abiotic Stress Responses in Plants. Ahmad, P., Prasad, M. N. V. (Eds.). Springer, New York. pp. 159-179.

Fan, W., Xu, J. M., Wu, P., Yang, Z. X., Lou, H. Q., Chen, W. W., i inni. 2019. Alleviation by abscisic acid of Al toxicity in rice bean is not associated with citrate efflux but depends on ABI5-mediated signal transduction pathways. Journal of Integrative Plant Biology 61, 140-154.

FAO. 2019. FAOSTAT Database Collections. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at: http://faostat3.fao.org/ (Accessed February 16, 2021).

Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A., Siddique, K. H. M. 2012. Drought stress in plants: an overview. In: Plant responses to drought stress. Aroca, R. (Ed.). Springer, Berlin. pp. 1-33.

Feng, C. Z., Chen, Y., Wang, C., Kong, Y. H., Wu, W. H., Chen, Y. F. 2014. Arabidopsis RAV 1 transcription factor, phosphorylated by SnRK2 kinases, regulates the expression of ABI3, ABI4, and ABI5 during seed germination and early seedling development. The Plant Journal 80, 654-668.

Fernando, V. D., Al Khateeb, W., Belmonte, M. F., Schroeder, D. F. 2018. Role of Arabidopsis ABF1/3/4 during det1 germination in salt and osmotic stress conditions. Plant Molecular Biology 97, 149-163.

Finkelstein, R. R. 1994. Mutations at two new Arabidopsis ABA response loci are similar to the *abi3* mutations. The Plant Journal 5, 765-771.

Finkelstein, R., Gampala, S. S., Lynch, T. J., Thomas, T. L., Rock, C. D. 2005. Redundant and distinct functions of the ABA response loci ABA-INSENSITIVE (ABI) 5 and ABRE-BINDING FACTOR (ABF) 3. Plant Molecular Biology 59, 253-267.

Finkelstein, R. R., Lynch, T. J. 2000. The Arabidopsis abscisic acid response gene ABI5 encodes a basic leucine zipper transcription factor. The Plant Cell 12, 599-609.

Flexas, J., Medrano, H. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C3 plants: stomatal and non-stomatal limitations revisited. Annals of Botany 89, 183-189.

Fujii, H., Chinnusamy, V., Rodrigues, A., Rubio, S., Antoni, R., Park, S. Y., i inni. 2009. *In vitro* reconstitution of an abscisic acid signalling pathway. Nature 462, 660-664.

Fujita, M., Fujita, Y., Maruyama, K., Seki, M., Hiratsu, K., Ohme-Takagi, M. i inni. 2004. A dehydration-induced NAC protein, RD26, is involved in a novel ABA-dependent stress-signaling pathway. The Plant Journal 39, 863-876.

Fujita, Y., Fujita, M., Satoh, R., Maruyama, K., Parvez, M. M., Seki, M., i inni. 2005. AREB1 is a transcription activator of novel ABRE-dependent ABA signaling that enhances drought stress tolerance in Arabidopsis. The Plant Cell 17, 3470-3488.

Fujita, Y., Nakashima, K., Yoshida, T., Katagiri, T., Kidokoro, S., Kanamori, N., i inni. 2009. Three SnRK2 protein kinases are the main positive regulators of abscisic acid signaling in response to water stress in Arabidopsis. Plant and Cell Physiology 50, 2123-2132.

Furihata, T., Maruyama, K., Fujita, Y., Umezawa, T., Yoshida, R., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2006. Abscisic acid-dependent multisite phosphorylation regulates the activity of a transcription activator AREB1. Proceedings of the National Academy of Sciences 103, 1988-1993.

Gao, S., Gao, J., Zhu, X., Song, Y., Li, Z., Ren, G. i inni. 2016. ABF2, ABF3, and ABF4 promote ABA-mediated chlorophyll degradation and leaf senescence by transcriptional activation of chlorophyll catabolic genes and senescence-associated genes in Arabidopsis. Molecular Plant 9, 1272-1285.

Garcia, M. E., Lynch, T., Peeters, J., Snowden, C., Finkelstein, R. 2008. A small plant-specific protein family of ABI five binding proteins (AFPs) regulates stress response in germinating Arabidopsis seeds and seedlings. Plant Molecular Biology 67, 643-658.

García, M. N. M., Cortelezzi, J. I., Fumagalli, M., Capiati, D. A. 2018. Expression of the Arabidopsis ABF4 gene in potato increases tuber yield, improves tuber quality and enhances salt and drought tolerance. Plant Molecular Biology 98, 137-152.

Gilliham, M., Able, J. A., Roy, S. J. 2017. Translating knowledge about abiotic stress tolerance to breeding programmes. The Plant Journal 90, 898-917.

Graether, S. P., Boddington, K. F. 2014. Disorder and function: a review of the dehydrin protein family. Frontiers in Plant Science 5, 576.

Guo, C., Jiang, Y., Shi, M., Wu, X., Wu, G. 2021. ABI5 acts downstream of miR159 to delay vegetative phase change in Arabidopsis. New Phytologist 231, 339-350.

Gupta, A., Rico-Medina, A., Caño-Delgado, A. I. 2020. The physiology of plant responses to drought. Science 368, 266-269.

Gururani, M. A., Venkatesh, J., Tran, L. S. P. 2015. Regulation of photosynthesis during abiotic stress-induced photoinhibition. Molecular Plant 8, 1304-1320.

Gürel, F., Öztürk, Z. N., Uçarlı, C., Rosellini, D. 2016. Barley genes as tools to confer abiotic stress tolerance in crops. Frontiers in Plant Science 7, 1137.

Harris, L. J., Martinez, S. A., Keyser, B. R., Dyer, W. E., Johnson, R. R. 2013. Functional analysis of TaABF1 during abscisic acid and gibberellin signalling in aleurone cells of cereal grains. Seed Science Research 23, 89.

Harwood, W. A. 2012. Advances and remaining challenges in the transformation of barley and wheat. Journal of Experimental Botany 63, 1791-1798.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. H. M., Zulfiqar, F., Raza, A., Mohsin, S. M., Mahmud, J. A., i inni. 2020. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator. Antioxidants 9, 681.

Hensel, G., Valkov, V., Middlefell-Williams, J., Kumlehn, J. 2008. Efficient generation of transgenic barley: the way forward to modulate plant–microbe interactions. Journal of Plant Physiology 165, 71-82.

Hong, B., Barg, R., Ho, T. H. D. 1992. Developmental and organ-specific expression of an ABA-and stress-induced protein in barley. Plant Molecular Biology 18, 663-674.

Hossain, M. A., Cho, J. I., Han, M., Ahn, C. H., Jeon, J. S., An, G., Park, P. B. 2010a. The ABRE-binding bZIP transcription factor OsABF2 is a positive regulator of abiotic stress and ABA signaling in rice. Journal of Plant Physiology 167, 1512-1520.

Hossain, M. A., Lee, Y., Cho, J. I., Ahn, C. H., Lee, S. K., Jeon, J. S., i inni. 2010b. The bZIP transcription factor OsABF1 is an ABA responsive element binding factor that enhances abiotic stress signaling in rice. Plant Molecular Biology 72, 557-566.

Hu, R., Zhu, Y., Shen, G., Zhang, H. 2014. TAP46 plays a positive role in the ABSCISIC ACID INSENSITIVE5-regulated gene expression in Arabidopsis. Plant Physiology 164, 721-734.

Hu, Y., Yu, D. 2014. BRASSINOSTEROID INSENSITIVE2 interacts with ABSCISIC ACID INSENSITIVE5 to mediate the antagonism of brassinosteroids to abscisic acid during seed germination in Arabidopsis. The Plant Cell 26, 4394-4408.

Huang, Y., Sun, M. M., Ye, Q., Wu, X. Q., Wu, W. H., Chen, Y. F. 2017. Abscisic acid modulates seed germination via ABA INSENSITIVE5-mediated PHOSPHATE1. Plant Physiology 175, 1661-1668.

Hwang, K., Susila, H., Nasim, Z., Jung, J. Y., Ahn, J. H. 2019. Arabidopsis ABF3 and ABF4 transcription factors act with the NF-YC complex to regulate SOC1 expression and mediate drought-accelerated flowering. Molecular Plant 12, 489-505.

Ingram, J., Bartels, D. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annual Review of Plant Biology 47, 377-403.

Ishibashi, Y., Aoki, N., Kasa, S., Sakamoto, M., Kai, K., Tomokiyo, R. i inni. 2017. The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. Frontiers in Plant Science 8, 275.

Iuchi, S., Kobayashi, M., Taji, T., Naramoto, M., Seki, M., Kato, T., i inni. 2001. Regulation of drought tolerance by gene manipulation of 9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase, a key enzyme in abscisic acid biosynthesis in Arabidopsis. The Plant Journal 27, 325-333.

Jakoby, M., Weisshaar, B., Dröge-Laser, W., Vicente-Carbajosa, J., Tiedemann, J., Kroj, T., Parcy, F. 2002. bZIP transcription factors in Arabidopsis. Trends in Plant Science 7, 106-111.

Ji, H., Wang, S., Cheng, C., Li, R., Wang, Z., Jenkins, G. I., i inni. 2019. The RCC 1 family protein SAB1 negatively regulates ABI5 through multidimensional mechanisms during postgermination in Arabidopsis. New Phytologist 222, 907-922.

Johnson, R., Shin, M., Shen, J. Q. 2008. The wheat PKABA1-interacting factor TaABF1 mediates both abscisic acid-suppressed and abscisic acid-induced gene expression in bombarded aleurone cells. Plant Molecular Biology 68, 93-103.

Ju, L., Jing, Y., Shi, P., Liu, J., Chen, J., Yan, J., i inni. 2019. JAZ proteins modulate seed germination through interaction with ABI5 in bread wheat and Arabidopsis. New Phytologist 223, 246-260.

Joo, J., Lee, Y. H., Song, S. I. 2014. Overexpression of the rice basic leucine zipper transcription factor OsbZIP12 confers drought tolerance to rice and makes seedlings hypersensitive to ABA. Plant Biotechnology Reports 8, 431-441.

Kagaya, Y., Hobo, T., Murata, M., Ban, A., Hattori, T. 2002. Abscisic acid–induced transcription is mediated by phosphorylation of an abscisic acid response element binding factor, TRAB1. The Plant Cell 14, 3177-3189.

Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., i inni. 2016. Chlorophyll *a* fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. Acta Physiologiae Plantarum 38, 102.

Kang, J. Y., Choi, H. I., Im, M. Y., Kim, S. Y. 2002. Arabidopsis basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling. The Plant Cell 14, 343-357.

Kang, X., Xu, G., Lee, B., Chen, C., Zhang, H., Kuang, R., Ni, M. 2018. HRB2 and BBX21 interaction modulates Arabidopsis ABI5 locus and stomatal aperture. Plant, Cell & Environment 41, 1912-1925.

Kanai, M., Nishimura, M., Hayashi, M. 2010. A peroxisomal ABC transporter promotes seed germination by inducing pectin degradation under the control of ABI5. The Plant Journal 62, 936-947.

Kerr, T. C., Abdel-Mageed, H., Aleman, L., Lee, J., Payton, P., Cryer, D., Allen, R. D. 2018. Ectopic expression of two *AREB/ABF* orthologs increases drought tolerance in cotton (*Gossypium hirsutum*). Plant, Cell & Environment 41, 898-907.

Khan, M. I. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N. A., Khan, N. A. 2015. Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. Frontiers in Plant Science 6, 462.

Khan, Z., Kumar, B., Dhatterwal, P., Mehrotra, S., Mehrotra, R. 2017. Transcriptional regulatory network of cis-regulatory elements (Cres) and transcription factors (TFs) in plants during abiotic stress. International Journal of Plant Biology & Research 5, 1064.

Kim, J. H., Hyun, W. Y., Nguyen, H. N., Jeong, C. Y., Xiong, L., Hong, S. W., Lee, H. 2015. AtMyb7, a subgroup 4R2R3 Myb, negatively regulates ABA-induced inhibition of seed germination by blocking the expression of the bZIP transcription factor ABI5. Plant, Cell & Environment 38, 559-571.

Kim, J., Kang, H., Park, J., Kim, W., Yoo, J., Lee, N., i inni. 2016. PIF1-interacting transcription factors and their binding sequence elements determine the in vivo targeting sites of PIF1. The Plant Cell 28, 1388-1405.

Kim, J. S., Mizoi, J., Yoshida, T., Fujita, Y., Nakajima, J., Ohori, T., i inni. 2011. An ABRE promoter sequence is involved in osmotic stress-responsive expression of the DREB2A gene, which encodes a transcription factor regulating drought-inducible genes in Arabidopsis. Plant and Cell Physiology 52, 2136-2146.

Kim, S. 2006. The role of ABF family bZIP class transcription factors in stress response. Physiologia Plantarum 126, 519-527.

Kim, S., Kang, J. Y., Cho, D. I., Park, J. H., and Kim, S. Y. 2004. ABF2, an ABRE-binding bZIP factor, is an essential component of glucose signaling and its overexpression affects multiple stress tolerance. The Plant Journal 40, 75-87.

Knight, C. A., Vogel, H., Kroymann, J., Shumate, A., Witsenboer, H., Mitchell-Olds, T. 2006. Expression profiling and local adaptation of Boechera holboellii populations for water use efficiency across a naturally occurring water stress gradient. Molecular Ecology 15, 1229-1237.

Kobayashi, F., Maeta, E., Terashima, A., Takumi, S. 2008. Positive role of a wheat HvABI5 ortholog in abiotic stress response of seedlings. Physiologia Plantarum 134, 74-86.

Kohli, A., Sreenivasulu, N., Lakshmanan, P., Kumar, P. P. 2013. The phytohormone crosstalk paradigm takes center stage in understanding how plants respond to abiotic stresses. Plant Cell Reports 32, 945-957.

Kollist, H., Zandalinas, S. I., Sengupta, S., Nuhkat, M., Kangasjärvi, J., Mittler, R. 2019. Rapid responses to abiotic stress: priming the landscape for the signal transduction network. Trends in Plant Science 24, 25-37.

Kong, Y., Chen, S., Yang, Y., An, C. 2013. ABA-insensitive (ABI) 4 and ABI5 synergistically regulate *DGAT1* expression in Arabidopsis seedlings under stress. FEBS Letters 587, 3076-3082.

Kooyers, N. J. 2015. The evolution of drought escape and avoidance in natural herbaceous populations. Plant Science 234, 155-162.

Kumar, S., Sachdeva, S., Bhat, K. V., Vats, S. 2018. Plant responses to drought stress: physiological, biochemical and molecular basis. In: Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants. Vats, S. (Ed.). Springer, Singapore. pp. 1-25.

Kuromori, T., Seo, M. i Shinozaki, K. 2018. ABA transport and plant water stress responses. Trends in Plant Science 23, 513-522.

Kushiro, T., Okamoto, M., Nakabayashi, K., Yamagishi, K., Kitamura, S., Asami, T., i inni. 2004. The Arabidopsis cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8′-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism. The EMBO Journal 23, 1647-1656.

Lamaoui, M., Jemo, M., Datla, R., Bekkaoui, F. 2018. Heat and drought stresses in crops and approaches for their mitigation. Frontiers in Chemistry 6, 26.

Landi, S., Hausman, J. F., Guerriero, G., Esposito, S. 2017. Poaceae vs. abiotic stress: focus on drought and salt stress, recent insights and perspectives. Frontiers in Plant Science 8, 1214.

Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., Dietz, K. J. 2019. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. Antioxidants 8, 94.

Lee, J. H., Yoon, H. J., Terzaghi, W., Martinez, C., Dai, M., Li, J., i inni. W. 2010b. DWA1 and DWA2, two Arabidopsis DWD protein components of CUL4-based E3 ligases, act together as negative regulators in ABA signal transduction. The Plant Cell 22, 1716-1732.

Lee, K. H., Piao, H. L., Kim, H. Y., Choi, S. M., Jiang, F., Hartung, W. I. i inni. 2006. Activation of glucosidase via stress-induced polymerization rapidly increases active pools of abscisic acid. Cell 126, 1109-1120.

Lee, K. P., Piskurewicz, U., Turečková, V., Carat, S., Chappuis, R., Strnad, M., i inni. 2012. Spatially and genetically distinct control of seed germination by phytochromes A and B. Genes & Development 26, 1984-1996.

Lee, S. J., Kang, J. Y., Park, H. J., Kim, M. D., Bae, M. S., Choi, H. I., Kim, S. Y. 2010a. DREB2C interacts with ABF2, a bZIP protein regulating abscisic acid-responsive gene expression, and its overexpression affects abscisic acid sensitivity. Plant Physiology 153, 716-727.

Lesk, C., Rowhani, P., Ramankutty, N. 2016. Influence of extreme weather disasters on global crop production. Nature 529, 84-87.

Li, L., Zhu, T., Song, Y., Feng, L., Farag, E. A. H., Ren, M. 2021. ABSCISIC ACID INSENSITIVE5 Interacts with RIBOSOMAL S6 KINASE2 to Mediate ABA Responses During Seedling Growth in Arabidopsis. Frontiers in Plant Science 11, 2328.

Li, X., Yang, R., Gong, Y., and Chen, H. 2018. The Arabidopsis Mediator complex subunit MED19a is involved in ABI5-mediated ABA responses. Journal of Plant Biology 61, 97-110.

Lin, Q., Wang, S., Dao, Y., Wang, J., Wang, K. 2020. Arabidopsis thaliana trehalose-6-phosphate phosphatase gene TPPI enhances drought tolerance by regulating stomatal apertures. Journal of Experimental Botany 71, 4285-4297.

Liu, H., Stone, S. L. 2013. Cytoplasmic degradation of the Arabidopsis transcription factor abscisic acid insensitive 5 is mediated by the RING-type E3 ligase KEEP ON GOING. Journal of Biological Chemistry 288, 20267-20279.

Liu, Z., Yan, J. P., Li, D. K., Luo, Q., Yan, Q., Liu, Z. B., i inni. 2015. UDP-glucosyltransferase71c5, a major glucosyltransferase, mediates abscisic acid homeostasis in Arabidopsis. Plant Physiology 167, 1659-1670.

Liu, Z. Q., Yan, L., Wu, Z., Mei, C., Lu, K., Yu, Y. T., i inni. 2012. Cooperation of three WRKY-domain transcription factors WRKY18, WRKY40, and WRKY60 in repressing two ABA-responsive genes ABI4 and ABI5 in Arabidopsis. Journal of Experimental Botany 63, 6371-6392.

Livak, K. J., Schmittgen, T. D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods 25, 402-408.

Lopez-Molina, L., Chua, N. H. 2000. A null mutation in a bZIP factor confers ABA-insensitivity in *Arabidopsis thaliana*. Plant and Cell Physiology 41, 541-547.

Lopez-Molina, L., Mongrand, S., Chua, N. H. 2001. A postgermination developmental arrest checkpoint is mediated by abscisic acid and requires the ABI5 transcription factor in Arabidopsis. Proceedings of the National Academy of Sciences 98, 4782-4787.

Lopez-Molina, L., Mongrand, S., McLachlin, D. T., Chait, B. T., Chua, N. H. 2002. ABI5 acts downstream of ABI3 to execute an ABA-dependent growth arrest during germination. The Plant Journal 32, 317-328.

Lu, G., Gao, C., Zheng, X., Han, B. 2009. Identification of OsbZIP72 as a positive regulator of ABA response and drought tolerance in rice. Planta 229, 605-615.

Lynch, T., Erickson, B. J., Finkelstein, R. R. 2012. Direct interactions of ABA-insensitive (ABI)-clade protein phosphatase (PP) 2Cs with calcium-dependent protein kinases and ABA response element-binding bZIPs may contribute to turning off ABA response. Plant Molecular Biology 80, 647-658.

Ma, Y., Cao, J., He, J., Chen, Q., Li, X., Yang, Y. 2018. Molecular mechanism for the regulation of ABA homeostasis during plant development and stress responses. International Journal of Molecular Sciences 19, 3643.

Maia, J., Dekkers, B. J., Dolle, M. J., Ligterink, W., Hilhorst, H. W. 2014. Abscisic acid (ABA) sensitivity regulates desiccation tolerance in germinated Arabidopsis seeds. New Phytologist 203, 81-93.

Martignago, D., Rico-Medina, A., Blasco-Escaméz, D., Fontanet-Manzaneque, J. B., Caño-Delgado, A. I. 2020. Drought resistance by engineering plant tissue-specific responses. Frontiers in Plant Science 10, 1676.

Martínez-Vilalta, J., Garcia-Forner, N. 2017. Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. Plant, Cell & Environment 40, 962-976.

Minocha, R., Majumdar, R., Minocha, S. C. 2014. Polyamines and abiotic stress in plants: a complex relationship1. Frontiers in Plant Science 5, 175.

Mishra, P., Sharma, P. 2019. Superoxide Dismutases (SODs) and Their Role in Regulating Abiotic Stress induced Oxidative Stress in Plants. In: Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants. Hasanuzzaman, M., Fotopoulos, V., Nahar, K., Fujita, M. (Eds.). John Wiley & Sons Ltd, Hoboken. pp. 53-88.

Mittal, A., Gampala, S. S., Ritchie, G. L., Payton, P., Burke, J. J., Rock, C. D. 2014. Related to ABA-Insensitive3 (ABI 3)/Viviparous1 and AtABI5 transcription factor coexpression in cotton enhances drought stress adaptation. Plant Biotechnology Journal 12, 578-589.

Miura, K., Lee, J., Jin, J. B., Yoo, C. Y., Miura, T., Hasegawa, P. M. 2009. Sumoylation of ABI5 by the Arabidopsis SUMO E3 ligase SIZ1 negatively regulates abscisic acid signaling. Proceedings of the National Academy of Sciences 106, 5418-5423.

Muhammad, I. I., Kong, S. L., Akmar Abdullah, S. N., Munusamy, U. 2020. RNA-seq and ChIP-seq as complementary approaches for comprehension of plant transcriptional regulatory mechanism. International Journal of Molecular Sciences 21, 167.

Mundade, R., Ozer, H. G., Wei, H., Prabhu, L., Lu, T. 2014. Role of ChIP-seq in the discovery of transcription factor binding sites, differential gene regulation mechanism, epigenetic marks and beyond. Cell Cycle 13, 2847-2852.

Na, J. K., Metzger, J. D. 2017. Guard-cell-specific expression of Arabidopsis *ABF4* improves drought tolerance of tomato and tobacco. Molecular Breeding 37, 1-11.

Nakamura, S., Lynch, T. J., Finkelstein, R. R. 2001. Physical interactions between ABA response loci of Arabidopsis. The Plant Journal 26, 627-635.

Nakashima, K., Fujita, Y., Kanamori, N., Katagiri, T., Umezawa, T., Kidokoro, S., i inni. 2009. Three Arabidopsis SnRK2 protein kinases, SRK2D/SnRK2. 2, SRK2E/SnRK2. 6/OST1 and SRK2I/SnRK2. 3, involved in ABA signaling are essential for the control of seed development and dormancy. Plant and Cell Physiology 50, 1345-1363.

Nakurte, I., Keisa, A., Rostoks, N. 2012. Development and validation of a reversed-phase liquid chromatography method for the simultaneous determination of indole-3-acetic acid, indole-3-pyruvic acid, and abscisic acid in barley (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Analytical Methods in Chemistry 2012, 103575.

Nambara, E., Marion-Poll, A. 2005. Abscisic acid biosynthesis and catabolism. Annual Review of Plant Biology 56, 165-185.

Nambara, E., Suzuki, M., Abrams, S., McCarty, D. R., Kamiya, Y., McCourt, P. 2002. A screen for genes that function in abscisic acid signaling in *Arabidopsis thaliana*. Genetics 161, 1247-1255.

Nelissen, H., Moloney, M., Inzé, D. 2014. Translational research: from pot to plot. Plant Biotechnology Journal 12, 277-285.

Ng, L. M., Melcher, K., Teh, B. T., Xu, H. E. 2014. Abscisic acid perception and signaling: structural mechanisms and applications. Acta Pharmacologica Sinica 35, 567-584.

Nguyen, Q. T. C., Lee, S. J., Choi, S. W., Na, Y. J., Song, M. R., Hoang, Q. T. N., i inni. 2019. Arabidopsis raf-like kinase Raf10 is a regulatory component of core ABA signaling. Molecules and Cells 42, 646.

Nowicka, B., Ciura, J., Szymańska, R., Kruk, J. 2018. Improving photosynthesis, plant productivity and abiotic stress tolerance–current trends and future perspectives. Journal of Plant Physiology 231, 415-433.

Nuccio, M. L., Paul, M., Bate, N. J., Cohn, J., Cutler, S. R. 2018. Where are the drought tolerant crops? An assessment of more than two decades of plant biotechnology effort in crop improvement. Plant Science 273, 110-119.

Oh, S. J., Song, S. I., Kim, Y. S., Jang, H. J., Kim, S. Y., Kim, M., i inni. 2005. Arabidopsis CBF3/DREB1A and ABF3 in transgenic rice increased tolerance to abiotic stress without stunting growth. Plant Physiology 138, 341-351.

Ohama, N., Sato, H., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2017. Transcriptional regulatory network of plant heat stress response. Trends in Plant Science 22, 53-65.

Osmolovskaya, N., Shumilina, J., Kim, A., Didio, A., Grishina, T., Bilova, T. i inni. 2018. Methodology of drought stress research: Experimental setup and physiological characterization. International Journal of Molecular Sciences 19, 4089.

Ozgur, R., Uzilday, B., Sekmen, A. H., Turkan, I. 2013. Reactive oxygen species regulation and antioxidant defence in halophytes. Functional Plant Biology 40, 832-847.

Ozturk, M., Turkyilmaz Unal, B., García-Caparrós, P., Khursheed, A., Gul, A., Hasanuzzaman, M. 2021. Osmoregulation and its actions during the drought stress in plants. Physiologia Plantarum 172, 1321-1335.

Pan, J., Hu, Y., Wang, H., Guo, Q., Chen, Y., Howe, G. A., Yu, D. 2020. Molecular Mechanism Underlying the Synergetic Effect of Jasmonate on Abscisic Acid Signaling during Seed Germination in Arabidopsis. The Plant Cell 32, 3846-3865.

Pan, J., Wang, H., Hu, Y., Yu, D. 2018. Arabidopsis VQ 18 and VQ 26 proteins interact with ABI 5 transcription factor to negatively modulate ABA response during seed germination. The Plant Journal 95, 529-544.

Paul, S., Roychoudhury, A. 2019. Transcript analysis of abscisic acid-inducible genes in response to different abiotic disturbances in two indica rice varieties. Theoretical and Experimental Plant Physiology 31, 249-272.

Perruc, E., Kinoshita, N., Lopez-Molina, L. 2007. The role of chromatin-remodeling factor PKL in balancing osmotic stress responses during Arabidopsis seed germination. The Plant Journal 52, 927-936.

Piao, W., Kim, S. H., Lee, B. D., An, G., Sakuraba, Y., Paek, N. C. 2019. Rice transcription factor OsMYB102 delays leaf senescence by down-regulating abscisic acid accumulation and signaling. Journal of Experimental Botany 70, 2699-2715.

Pilot, G., Lacombe, B., Gaymard, F., Chérel, I., Boucherez, J., Thibaud, J. B., Sentenac, H. 2001. Guard cell inward K+ channel activity inarabidopsis involves expression of the twin channel subunits KAT1 and KAT2. Journal of Biological Chemistry 276, 3215-3221.

Priest, D. M., Ambrose, S. J., Vaistij, F. E., Elias, L., Higgins, G. S., Ross, A. R. i inni. 2006. Use of the glucosyltransferase UGT71B6 to disturb abscisic acid homeostasis in Arabidopsis thaliana. The Plant Journal 46, 492-502.

Qi, L., Liu, S., Li, C., Fu, J., Jing, Y., Cheng, J., i inni. 2020. PHYTOCHROME-INTERACTING FACTORS interact with the ABA receptors PYL8 and PYL9 to orchestrate ABA signaling in darkness. Molecular Plant 13, 414-430.

Qian, D., Zhang, Z., He, J., Zhang, P., Ou, X., Li, T., i inni. 2019. Arabidopsis ADF5 promotes stomatal closure by regulating actin cytoskeleton remodeling in response to ABA and drought stress. Journal of Experimental Botany 70, 435-446.

Ramakers, C., Ruijter, J. M., Deprez, R. H. L., Moorman, A. F. 2003. Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data. Neuroscience Letters 339, 62-66.

Rapacz, M., Stępień, A., Skorupa, K. 2012. Internal standards for quantitative RT-PCR studies of gene expression under drought treatment in barley (*Hordeum vulgare* L.): the effects of developmental stage and leaf age. Acta Physiologiae Plantarum 34, 1723-1733.

Reeves, W. M., Lynch, T. J., Mobin, R., Finkelstein, R. R. 2011. Direct targets of the transcription factors ABA-Insensitive (ABI) 4 and ABI5 reveal synergistic action by ABI4 and several bZIP ABA response factors. Plant Molecular Biology 75, 347-363.

Reyes, J. L., Chua, N. H. 2007. ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during Arabidopsis seed germination. The Plant Journal 49, 592-606.

Rosero, A., Berdugo-Cely, J. A., Šamajová, O., Šamaj, J., Cerkal, R. 2020. A Dual Strategy of Breeding for Drought Tolerance and Introducing Drought-Tolerant, Underutilized Crops into Production Systems to Enhance Their Resilience to Water Deficiency. Plants 9, 1263.

Sade, N., del Mar Rubio-Wilhelmi, M., Umnajkitikorn, K., Blumwald, E. 2018. Stress-induced senescence and plant tolerance to abiotic stress. Journal of Experimental Botany 69, 845-853.

Sah, S. K., Reddy, K. R., Li, J. 2016. Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. Frontiers in Plant Science 7, 571.

Saito, S., Uozumi, N. 2019. Guard cell membrane anion transport systems and their regulatory components: an elaborate mechanism controlling stress-induced stomatal closure. Plants 8, 9.

Sakuraba, Y., Jeong, J., Kang, M. Y., Kim, J., Paek, N. C., Choi, G. 2014. Phytochrome-interacting transcription factors PIF4 and PIF5 induce leaf senescence in Arabidopsis. Nature Communications 5, 1-13.

Sallam, A., Alqudah, A. M., Dawood, M. F., Baenziger, P. S., Börner, A. 2019. Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research. International Journal of Molecular Sciences 20, 3137.

Schoonheim, P. J., Costa Pereira, D. D., De Boer, A. H. 2009. Dual role for 14-3-3 proteins and ABF transcription factors in gibberellic acid and abscisic acid signalling in barley (*Hordeum vulgare*) aleurone cells. Plant, Cell & Environment 32, 439-447.

Schoonheim, P. J., Sinnige, M. P., Casaretto, J. A., Veiga, H., Bunney, T. D., Quatrano, R. S., de Boer, A. H. 2007. 14-3-3 adaptor proteins are intermediates in ABA signal transduction during barley seed germination. The Plant Journal 49, 289-301.

Seiler, C., Harshavardhan, V. T., Reddy, P. S., Hensel, G., Kumlehn, J., Eschen-Lippold, L., i inni. 2014. Abscisic acid flux alterations result in differential abscisic acid signaling responses and impact assimilation efficiency in barley under terminal drought stress. Plant Physiology 164, 1677-1696.

Seo, M., Aoki, H., Koiwai, H., Kamiya, Y., Nambara, E., Koshiba, T. 2004. Comparative studies on the Arabidopsis aldehyde oxidase (AAO) gene family revealed a major role of AAO3 in ABA biosynthesis in seeds. Plant and Cell Pysiology 45, 1694-1703.

Seo, M., Koshiba, T. 2011. Transport of ABA from the site of biosynthesis to the site of action. Journal of Plant Research 124, 501-507.

Seo, P. J., Xiang, F., Qiao, M., Park, J. Y., Lee, Y. N., Kim, S. G., i inni. 2009. The MYB96 transcription factor mediates abscisic acid signaling during drought stress response in Arabidopsis. Plant Physiology 151, 275-289.

Sharma, A., Shahzad, B., Kumar, V., Kohli, S. K., Sidhu, G. P. S., Bali, A. S., i inni. 2019. Phytohormones regulate accumulation of osmolytes under abiotic stress. Biomolecules 9, 285.

Sharma, P. D., Singh, N., Ahuja, P. S., Reddy, T. V. 2011. Abscisic acid response element binding factor 1 is required for establishment of Arabidopsis seedlings during winter. Molecular Biology Reports 38, 5147-5159.

Shen, Q., Chen, C. N., Brands, A., Pan, S. M., Tuan-Hua, D. H. 2001. The stress-and abscisic acid-induced barley gene *HVA22*: developmental regulation and homologues in diverse organisms. Plant Molecular Biology 45, 327-340.

Shen, Q., Ho, T. H. D. 1997. Promoter switches specific for abscisic acid (ABA)-induced gene expression in cereals. Physiologia Plantarum 101, 653-664.

Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2007. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. Journal of Experimental Botany 58, 221-227.

Signora, L., De Smet, I., Foyer, C. H., Zhang, H. 2001. ABA plays a central role in mediating the regulatory effects of nitrate on root branching in Arabidopsis. The Plant Journal 28, 655-662.

Sirichandra, C., Wasilewska, A., Vlad, F., Valon, C., Leung, J. 2009. The guard cell as a single-cell model towards understanding drought tolerance and abscisic acid action. Journal of Experimental Botany 60, 1439-1463.

Skubacz, A., Daszkowska-Golec, A., Szarejko, I. 2016. The role and regulation of ABI5 (ABA-Insensitive 5) in plant development, abiotic stress responses and phytohormone crosstalk. Frontiers in Plant Science 7, 1884.

Song, C., Kim, T., Chung, W. S., Lim, C. O. 2017. The Arabidopsis Phytocystatin AtCYS5 enhances seed germination and seedling growth under heat stress conditions. Molecules and Cells 40, 577.

Söderman, E. M., Brocard, I. M., Lynch, T. J., Finkelstein, R. R. 2000. Regulation and function of the Arabidopsis *ABA-insensitive4* gene in seed and abscisic acid response signaling networks. Plant Physiology 124, 1752-1765.

Sperdouli, I., Moustakas, M. 2012. Interaction of proline, sugars, and anthocyanins during photosynthetic acclimation of Arabidopsis thaliana to drought stress. Journal of Plant Physiology 169, 577-585.

Sreenivasulu, N., Harshavardhan, V. T., Govind, G., Seiler, C., Kohli, A. 2012. Contrapuntal role of ABA: does it mediate stress tolerance or plant growth retardation under long-term drought stress? Gene 506, 265-273.

Stone, S. L., Williams, L. A., Farmer, L. M., Vierstra, R. D., Callis, J. 2006. KEEP ON GOING, a RING E3 ligase essential for Arabidopsis growth and development, is involved in abscisic acid signaling. The Plant Cell 18, 3415-3428.

Strasser, R. J., Srivastava, A., Tsimilli-Michael, M. 2000. The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples. In: Probing Photosynthesis: Mechanisms, Regulation and Adaptation. Yunus, M., Pathre, U., Mohanty, P. (Eds.). Taylor and Francis, London. pp. 445-483.

Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., Srivastava, A. 2004. Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Chlorophyll a Fluorescence. Papageorgiou, G. C., Govindjee (Eds.). Springer Netherlands, Dordrecht. pp. 321-362.

Su, M., Huang, G., Zhang, Q., Wang, X., Li, C., Tao, Y., i inni. 2016. The LEA protein, ABR, is regulated by ABI5 and involved in dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. Plant Science 247, 93-103.

Szarejko, I., Szurman-Zubrzycka, M., Nawrot, M., Marzec, M., Gruszka, D.,Kurowska, M., i inni. 2017. Creation of a TILLING Population in Barley After Chemical Mutagenesis with Sodium Azide and MNU. In: Biotechnologies for Plant Mutation Breeding. Jankowicz-Cieslak, J., Tai, T. H., Kumlehn, J., Till, B. J. (Eds.). Springer International Publishing, Switzerland. pp. 91-111.

Szurman-Zubrzycka, M. E., Zbieszczyk, J., Marzec, M., Jelonek, J., Chmielewska, B., Kurowska, M. M., i inni. 2018. *Hor*TILLUS - a rich and renewable source of induced mutations for forward/reverse genetics and pre-breeding programs in barley (*Hordeum vulgare* L.). Frontiers in Plant Science 9, 216.

Tang, N., Zhang, H., Li, X., Xiao, J., Xiong, L. 2012. Constitutive activation of transcription factor OsbZIP46 improves drought tolerance in rice. Plant Physiology 158, 1755-1768.

Tarnowski, L., Rodriguez, M. C., Brzywczy, J., Piecho-Kabacik, M., Krčkova, Z., Martinec, J., i inni. 2020. A selective autophagy cargo receptor NBR1 modulates abscisic acid signalling in *Arabidopsis thaliana*. Scientific Reports 10, 1-15.

Tester, M., Bacic, A. 2005. Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. Plant Physiology 137, 791-793.

Tezuka, K., Taji, T., Hayashi, T., Sakata, Y. 2013. A novel *abi5* allele reveals the importance of the conserved Ala in the C3 domain for regulation of downstream genes and salt tolerance during germination in Arabidopsis. Plant Signaling & Behavior 8, e23455.

Ullah, A., Manghwar, H., Shaban, M., Khan, A. H., Akbar, A., Ali, U., i inni. 2018. Phytohormones enhanced drought tolerance in plants: a coping strategy. Environmental Science and Pollution Research 25, 33103-33118.

Umezawa, T., Sugiyama, N., Mizoguchi, M., Hayashi, S., Myouga, F., Yamaguchi-Shinozaki, K., i inni. 2009. Type 2C protein phosphatases directly regulate abscisic acid-activated protein kinases in Arabidopsis. Proceedings of the National Academy of sciences 106, 17588-17593.

Utsugi, S., Ashikawa, I., Nakamura, S., Shibasaka, M. 2020. TaABI5, a wheat homolog of *Arabidopsis thaliana* ABA insensitive 5, controls seed germination. Journal of Plant Research 133, 245-256.

Vahisalu, T., Kollist, H., Wang, Y. F., Nishimura, N., Chan, W. Y., Valerio, G., i inni. 2008. SLAC1 is required for plant guard cell S-type anion channel function in stomatal signalling. Nature 452, 487-491.

Vanlerberghe, G. C., Martyn, G. D., Dahal, K. 2016. Alternative oxidase: a respiratory electron transport chain pathway essential for maintaining photosynthetic performance during drought stress. Physiologia Plantarum 157, 322-337.

Verma, V., Ravindran, P., Kumar, P. P. 2016. Plant hormone-mediated regulation of stress responses. BMC Plant Biology 16, 86.

Vinocur, B., Altman, A. 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. Current Opinion in Biotechnology 16, 123-132.

Vishwakarma, K., Upadhyay, N., Kumar, N., Yadav, G., Singh, J., Mishra, R. K., i inni. 2017. Abscisic acid signaling and abiotic stress tolerance in plants: a review on current knowledge and future prospects. Frontiers in Plant Science 8, 161.

Wang, C., Lu, G., Hao, Y., Guo, H., Guo, Y., Zhao, J., Cheng, H. 2017. ABP9, a maize bZIP transcription factor, enhances tolerance to salt and drought in transgenic cotton. Planta 246, 453-469.

Wang, J., Li, Q., Mao, X., Li, A., Jing, R. 2016a. Wheat transcription factor TaAREB3 participates in drought and freezing tolerances in Arabidopsis. International Journal of Biological Sciences 12, 257.

Wang, T. J., Huang, S., Zhang, A., Guo, P., Liu, Y., Xu, C., i inni. 2021. JMJ17–WRKY40 and HY5–ABI5 modules regulate the expression of ABA-responsive genes in Arabidopsis. New Phytologist 230, 567-584.

Wang, W., Chen, Q., Xu, S., Liu, W. C., Zhu, X., Song, C. P. 2020. Trehalose-6-phosphate phosphatase E modulates ABA-controlled root growth and stomatal movement in Arabidopsis. Journal of Integrative Plant Biology 62, 1518-1534.

Wang, X., Guo, C., Peng, J., Li, C., Wan, F., Zhang, S., i inni. 2019. ABRE-BINDING FACTORS play a role in the feedback regulation of ABA signaling by mediating rapid ABA induction of ABA co-receptor genes. New Phytologist 221, 341-355.

Wang, Y., Li, L., Ye, T., Lu, Y., Chen, X., Wu, Y. 2013. The inhibitory effect of ABA on floral transition is mediated by ABI5 in Arabidopsis. Journal of Experimental Botany 64, 675-684.

Wang, Y., Li, L., Ye, T., Zhao, S., Liu, Z., Feng, Y. Q., Wu, Y. 2011. Cytokinin antagonizes ABA suppression to seed germination of Arabidopsis by downregulating ABI5 expression. The Plant Journal 68, 249-261.

Wang, Z., Su, G., Li, M., Ke, Q., Kim, S. Y., Li, H., i inni. 2016b. Overexpressing Arabidopsis ABF3 increases tolerance to multiple abiotic stresses and reduces leaf size in alfalfa. Plant Physiology and Biochemistry 109, 199-208.

Wani, S. H., Kumar, V., Shriram, V., Sah, S. K. 2016. Phytohormones and their metabolic engineering for abiotic stress tolerance in crop plants. The Crop Journal 4, 162-176.

Welin, B. V., Olson, Å., Nylander, M., Palva, E. T. 1994. Characterization and differential expression of dhn/lea/rab-like genes during cold acclimation and drought stress in Arabidopsis thaliana. Plant Molecular Biology 26, 131-144.

Weng, J. K., Ye, M., Li, B., Noel, J. P. 2016. Co-evolution of hormone metabolism and signaling networks expands plant adaptive plasticity. Cell 166, 881-893.

Wolfe, M. D., Tonsor, S. J. 2014. Adaptation to spring heat and drought in northeastern Spanish Arabidopsis thaliana. New Phytologist 201, 323-334.

Xu, D., Gao, S., Ma, Y., Xu, Z., Zhao, C., Tang, Y., i inni. 2014b. ABI-like transcription factor gene TaABL1 from wheat improves multiple abiotic stress tolerances in transgenic plants. Functional & Integrative Genomics 14, 717-730.

Xu, D., Li, J., Gangappa, S. N., Hettiarachchi, C., Lin, F., Andersson, M. X., i inni. 2014a. Convergence of light and ABA signaling on the ABI5 promoter. PLoS Genet 10, e1004197.

Xu, X., Wan, W., Jiang, G., Xi, Y., Huang, H., Cai, J., i inni. 2019. Nucleocytoplasmic trafficking of the Arabidopsis WD40 repeat protein XIW1 regulates ABI5 stability and abscisic acid responses. Molecular Plant 12, 1598-1611.

Xu, Z. Y., Lee, K. H., Dong, T., Jeong, J. C., Jin, J. B., Kanno, Y., i inni. 2012. A vacuolar β-glucosidase homolog that possesses glucose-conjugated abscisic acid hydrolyzing activity plays an important role in osmotic stress responses in Arabidopsis. The Plant Cell 24, 2184-2199.

Xue, G. P., Loveridge, C. W. 2004. HvDRF1 is involved in abscisic acid-mediated gene regulation in barley and produces two forms of AP2 transcriptional activators, interacting preferably with a CT-rich element. The Plant Journal 37, 326-339.

Yamaguchi, K., Takahashi, Y., Berberich, T., Imai, A., Takahashi, T., Michael, A. J., Kusano, T. 2007. A protective role for the polyamine spermine against drought stress in Arabidopsis. Biochemical and Biophysical Research Communications 352, 486-490.

Yan, F., Deng, W., Wang, X., Yang, C., Li, Z. 2012. Maize (*Zea mays* L.) homologue of ABA-insensitive (ABI) 5 gene plays a negative regulatory role in abiotic stresses response. Plant Growth Regulation 68, 383-393.

Yang, J., Worley, E., Udvardi, M. 2014. A NAP-AAO3 regulatory module promotes chlorophyll degradation via ABA biosynthesis in Arabidopsis leaves. The Plant Cell 26, 4862-4874.

Yang, X., Bai, Y., Shang, J., Xin, R., Tang, W. 2016. The antagonistic regulation of abscisic acid-inhibited root growth by brassinosteroids is partially mediated via direct suppression of ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 expression by BRASSINAZOLE RESISTANT 1. Plant, Cell & Environment 39, 1994-2003.

Yoshida, T., Christmann, A., Yamaguchi-Shinozaki, K., Grill, E., Fernie, A. R. 2019. Revisiting the basal role of ABA–roles outside of stress. Trends in Plant Science 24, 625-635.

Yoshida, T., Fujita, Y., Maruyama, K., Mogami, J., Todaka, D., Shinozaki, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. 2015. Four Arabidopsis AREB/ABF transcription factors function predominantly in gene expression downstream of SnRK2 kinases in abscisic acid signalling in response to osmotic stress. Plant, Cell & Environment 38, 35-49.

Yoshida, T., Fujita, Y., Sayama, H., Kidokoro, S., Maruyama, K., Mizoi, J., i inni. 2010. AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation. The Plant Journal 61, 672-685.

You, L., Zhang, J., Li, L., Xiao, C., Feng, X., Chen, S., i inni. 2020. Involvement of abscisic acid, ABI5, and PPC2 in plant acclimation to low CO2. Journal of Experimental Botany 71, 4093-4108.

Yu, B., Wang, Y., Zhou, H., Li, P., Liu, C., Chen, S., i inni. 2020. Genome-wide binding analysis reveals that ANAC060 directly represses sugar-induced transcription of ABI5 in Arabidopsis. The Plant Journal 103, 965-979.

Yu, L. H., Wu, J., Zhang, Z. S., Miao, Z. Q., Zhao, P. X., Wang, Z., and Xiang, C. B. 2017. Arabidopsis MADS-box transcription factor AGL21 acts as environmental surveillance of seed germination by regulating ABI5 expression. Molecular Plant 10, 834-845.

Yuan, K., Rashotte, A. M., Wysocka-Diller, J. W. 2011. ABA and GA signaling pathways interact and regulate seed germination and seedling development under salt stress. Acta Physiologiae Plantarum 33, 261-271.

Zhang, C., Zhan, D. X., Luo, H. H., Zhang, Y. L., Zhang, W. F. 2016. Photorespiration and photoinhibition in the bracts of cotton under water stress. Photosynthetica 54, 12-18.

Zhang, H., Liu, D., Yang, B., Liu, W. Z., Mu, B., Song, H., i inni. 2020. Arabidopsis CPK6 positively regulates ABA signaling and drought tolerance through phosphorylating ABA-responsive element-binding factors. Journal of Experimental Botany 71, 188-203.

Zhang, X., Wang, L., Meng, H., Wen, H., Fan, Y., Zhao, J. 2011. Maize ABP9 enhances tolerance to multiple stresses in transgenic Arabidopsis by modulating ABA signaling and cellular levels of reactive oxygen species. Plant Molecular Biology 75, 365-378.

Zhang, X., Wollenweber, B., Jiang, D., Liu, F., Zhao, J. 2008. Water deficits and heat shock effects on photosynthesis of a transgenic Arabidopsis thaliana constitutively expressing ABP9, a bZIP transcription factor. Journal of Experimental Botany 59, 839-848.

Zhang, Y., Lv, Y., Jahan, N., Chen, G., Ren, D., Guo, L. 2018. Sensing of abiotic stress and ionic stress responses in plants. International Journal of Molecular Sciences 19, 3298.

Zhang, Y., Sun, Q., Zhang, C., Hao, G., Wang, C., Dirk, L. M., i inni. 2019. Maize VIVIPAROUS1 interacts with ABA INSENSITIVE5 to regulate GALACTINOL SYNTHASE2 expression controlling seed raffinose accumulation. Journal of Agricultural and Food Chemistry 67, 4214-4223.

Zhao, X., Dou, L., Gong, Z., Wang, X., Mao, T. 2019. BES1 hinders ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 and promotes seed germination in Arabidopsis. New Phytologist 221, 908-918.

Zhao, H., Nie, K., Zhou, H., Yan, X., Zhan, Q., Zheng, Y., and Song, C. P. 2020. ABI5 modulates seed germination via feedback regulation of the expression of the PYR/PYL/RCAR ABA receptor genes. New Phytologist 228, 596-608.

Zhao, W., Guan, C., Feng, J., Liang, Y., Zhan, N., Zuo, J., Ren, B. 2016. The Arabidopsis CROWDED NUCLEI genes regulate seed germination by modulating degradation of ABI5 protein. Journal of Integrative Plant Biology 58, 669-678.

Zheng, Y., Schumaker, K. S., Guo, Y. 2012. Sumoylation of transcription factor MYB30 by the small ubiquitin-like modifier E3 ligase SIZ1 mediates abscisic acid response in *Arabidopsis thaliana*. Proceedings of the National Academy of Sciences 109, 12822-12827.

Zhou, K., Yang, J., Wang, Z. X., Wang, J. R. 2017. Sequence analysis and expression profiles of TaABI5, a pre-harvest sprouting resistance gene in wheat. Genes & Genomics, 39, 161-171.

Zhou, X., Hao, H., Zhang, Y., Bai, Y., Zhu, W., Qin, Y., i inni. 2015. SOS2-LIKE PROTEIN KINASE5, an SNF1-RELATED PROTEIN KINASE3-type protein kinase, is important for abscisic acid responses in Arabidopsis through phosphorylation of ABSCISIC ACID-INSENSITIVE5. Plant Physiology 168, 659-676.

Zhu, T., Li, L., Feng, L., Ren, M. 2020. *StABI5* involved in the regulation of chloroplast development and photosynthesis in potato. International Journal of Molecular Sciences 21, 1068.

Zinsmeister, J., Lalanne, D., Terrasson, E., Chatelain, E., Vandecasteele, C., Vu, B. L., i inni. 2016. ABI5 is a regulator of seed maturation and longevity in legumes. The Plant Cell 28, 2735-2754.

Zivcak, M., Brestic, M., Balatova, Z., Drevenakova, P., Olsovska, K., Kalaji, H. M., i inni. 2013. Photosynthetic electron transport and specific photoprotective responses in wheat leaves under drought stress. Photosynthesis Research 117, 529-546.

Zou, M., Guan, Y., Ren, H., Zhang, F., Chen, F. 2008. A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance. Plant Molecular Biology 66, 675-683.

10. Aneksy

Aneks 1. Skład pożywki użytej do doświadczenia suszowego. Do każdej skrzynki dodano 90 ml pożywki oraz 10 ml dodatkowego roztworu azotanu amonu.

Skład pożywki	
Związek	**Masa na 1 L (g)**
NH_4NO_3	34,3
KH_2PO_4	40,8
K_2SO_4	10
$MgSO_4 \times 7H_2O$	61,5
H_3BO_3	0,05
$CuSO_4$	0,02
$MnSO_4 \times H_2O$	0,01
$Fe(C_6H_5O_7) \times 3H_2O$	0,5

Dodatkowy roztwór azotanu amonu:

3,43 g NH_4NO_3 rozpuszczono w 10 ml wody.

Aneks 2. Sekwencje starterów użytych do reakcji RT-qPCR podczas analizy ekspresji genów związanych z *HvABI5* oraz ze szlakiem ABA, a także podczas analizy ekspresji genów potencjalnie docelowych HvABI5.

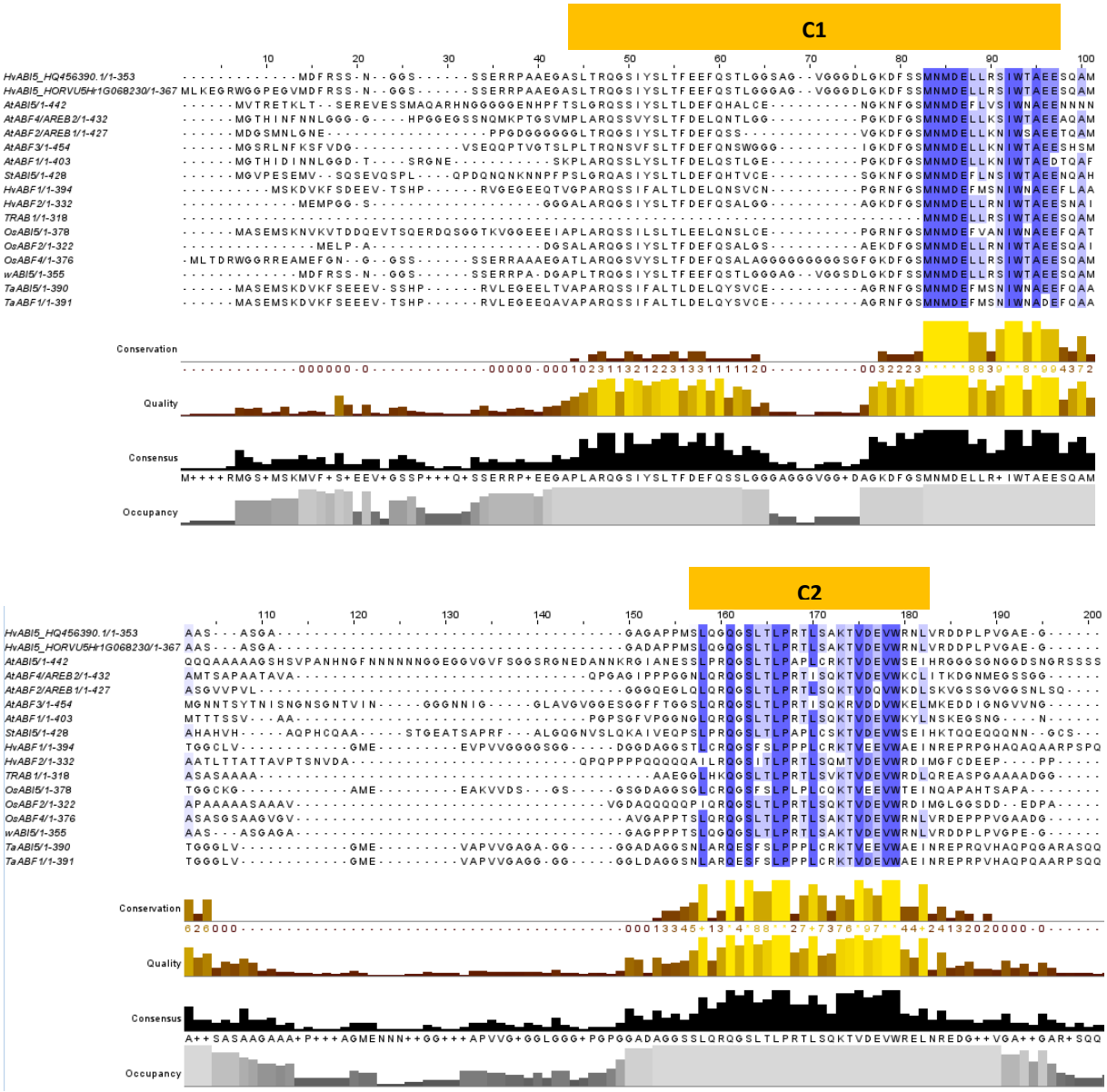
Gen	Starter forward	Starter reverse
HvGAPDH	TGCTGCCAAGGCTGTTGGTAAG	AGTGGGAACCCGGAAAGACATAC
HvEF1	CCCTCCTCTTGGTCGTTTTG	ATGACACCAACAGCCACAGTTT
HvABI5	CCGGTCCCTGTTGCCCCTAAAG	CGCCGCCCATACCGAG
HVA1	GGCGAGACGGTGGTGAAC	AGTGATTCCTGGTGGTGGTG
HVA22	TGTGGTACCCAGTGAAGCTG	CCTGAGCTGCTCCCTGAC
HvDRF1	GTGGCAACCGAAGGTGTAGT	AGCAAATCTGACCGAGAGGA
HvNCED1	CCAGCACTAATCGATTCC	GAGAGTGGTGATGAGTAA
HvAO5b	TTGGCGTTGTGATTGCTGAGAC	AAAACGGGGGAGGATGGAAGTA
HvBG4	CCCGCCGGAGTTCGTCTTC	TCCTCAGCCACAGCACCCTCAT
HvBG8	CCCCGGCCAGGCGTATTCC	TCCCAGGCTTATTCGTCATCCA
HvPYL5	CCGCCGGCAGAATAACGAC	CCCTCCCGAGAAAAAGCAAAGA
HvSnRK2.1	GCAGAAACCGGGCGATAACG	GCTCCCCAGGCAGGCAACC
HvPP2C4	TGGCCTCTGGGATGTATTGTCG	GAGCCGCTGGATCTGGGGAGTC
Unknown	GGCGATTCTGATCCTCCAG	GGAGAAGGACCTGCAGTTGT
DIR	CAGTTCAGGATGGCCACAG	GGTTGACGAAGACGTCGAG
CYB5	GAGGGAGGAGGGAAGGTGT	TACACCTTGCCGGAGATGAT
PR	CCACCATAACCGTGGTGAAC	ATATTGAGCTGCCACGACTG
IQ22	ATGAGCAGGGAGAGGTCAGA	CGAGAATCTTGGCGTTCTTC
HMT	AAGTCGAAGCCCGTCTACAA	GTCTCCGTACGACCCACTGT
CCD1	ATCTGAGGTTTGGCAAGGTG	CTGCAACAGCGTACACCCTA
bHLH	GTGCCCGCAAGGAGTAGTAG	TGCCTCTTGCTTGGACTTCT
PUM2	CCCAAGGATGAATCACCATC	TGCATCACGGAGATAGTTGG
GA4	CGAGCATCCCATCCTACAAT	TGGTTCAGCCTGCTCTCTTT
UKL4	GAAGACAGCGCACATACGAA	GACCGTGGTGACTTCAGGAT
NAC1	CACAGGGAGCAGCTACAACA	TCCAGGATGATCAAATGCAA
LRPK1	GGTTCCTGAATTGGGACAAA	GTTGCTGGTATCGGTCCACT
LRPK2	GGGGAGATACCCTCCACAAT	TGCATCCAACCAATCTCTGA

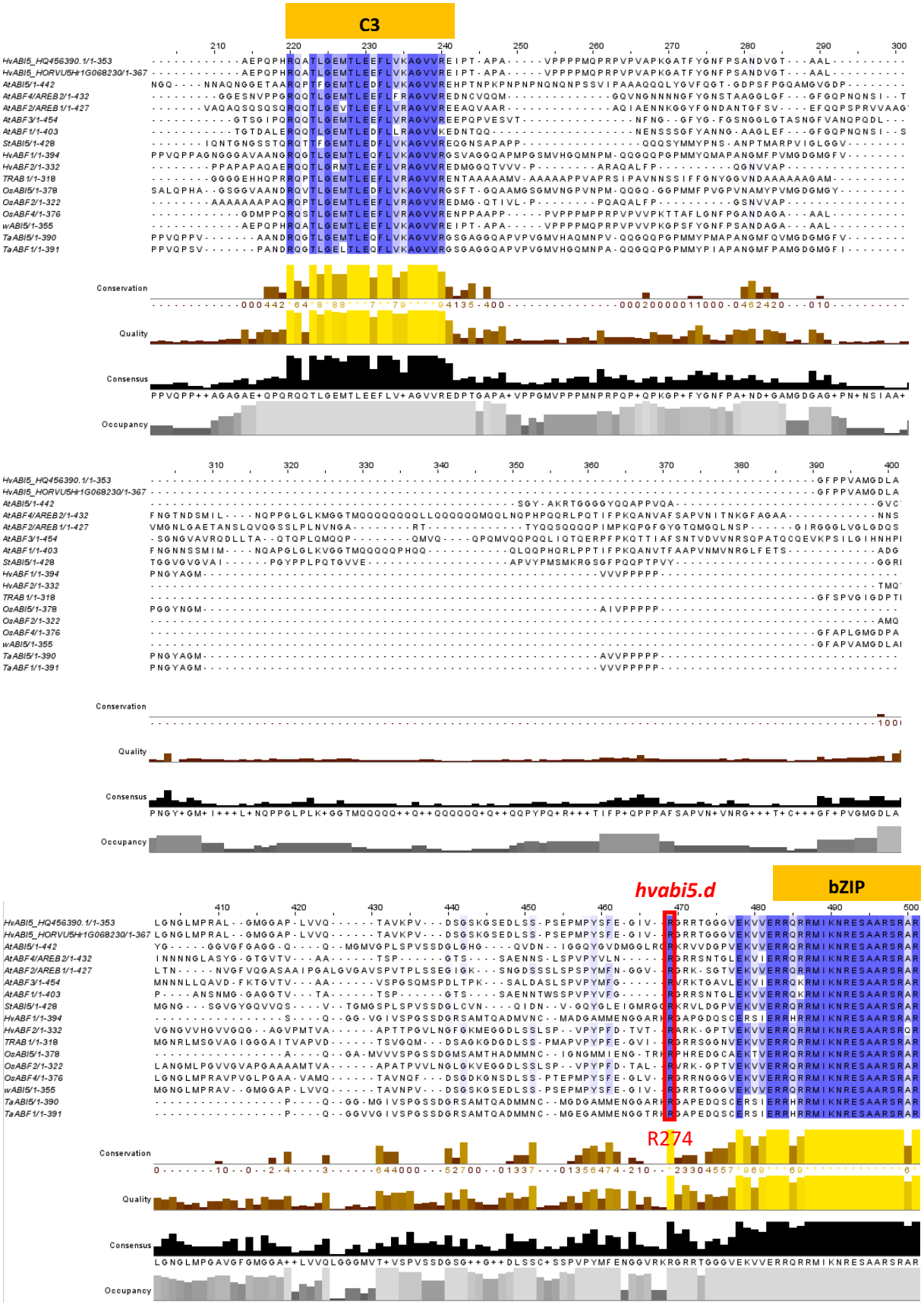
BAN	TACCCACGGTACAACGTGAA	CCCCAATGAGCTTCTGAGAC
CYC4	GAGGAGGAGGAGGAAGAGGA	CTGGTGATCTCGGTCATCG
PAPT2	TGTGGCTGCACACACATCTA	AGCAAAAATCCGATGACACC
LEA	ATGAATCACGCCAAGGAGAA	GGTCTTCTCGGCCACCTT
BAG3	GAGACGTTCGACCTGCTGTC	GCGAGGTGTTGTTGTTGTTG
LTP	CTGCCGTACGTGGAGAGC	CTTGTAGTCGACGCTGATGC
TLC	AGATGATGGCGTGCATGTT	TTGAGGTCCGTGTCCTTGAT
CHY	CCATGGACATCAGCGTACTG	GCACGAGAAGTGGTGATGAA

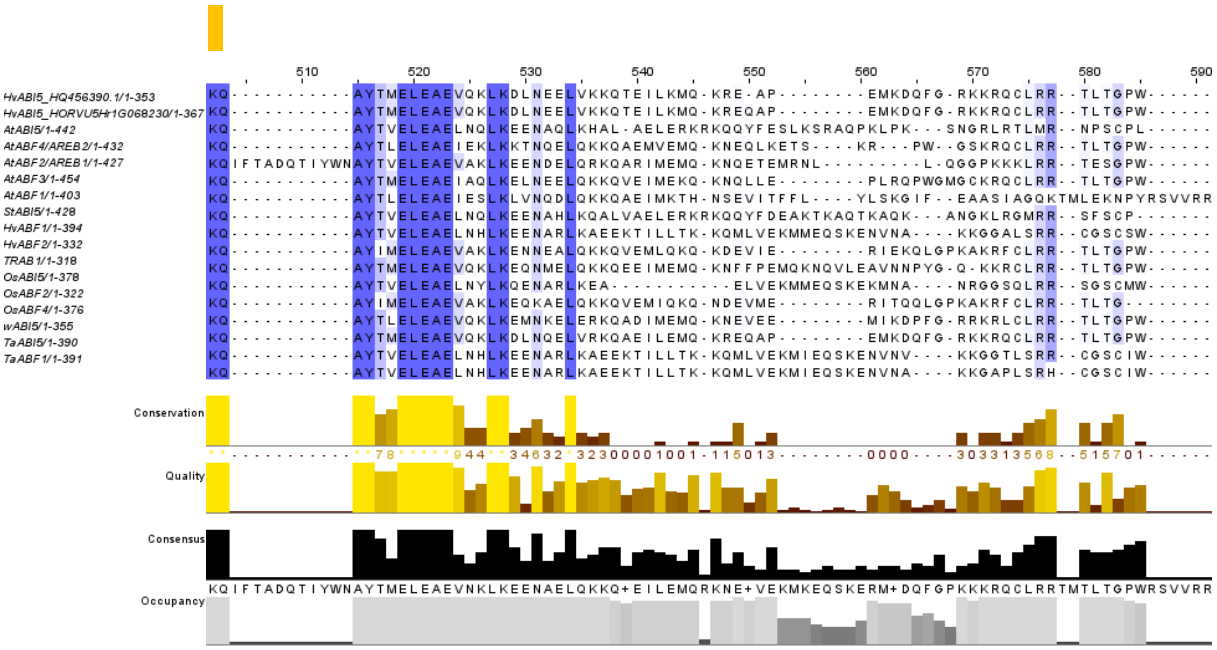
Aneks 3. Macierz procentowego podobieństwa (Percentage identity matrix) pomiędzy HvABI5 oraz jego homologami. Macierz procentowego podobieństwa uzyskano przy użyciu oprogramowania Clustal Omega (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/).

	HvABI5	HvABF1	HvABF2	HvABF3	AtABI5	AtABF4	AtABF2	AtABF3	AtABF1	AtAREB3	StABI5	TRAB1	OsABI5	wABI5	ZmABI5	TaABI5	TaABF1	OsABF1	OsABF2	OsABF4
HvABI5	100,0	37,2	55,9	34,8	41,6	52,7	51,3	50,2	47,6	43,6	45,1	62,4	40,2	94,3	56,4	37,6	36,7	31,0	56,7	73,2
HvABF1	37,2	100,0	36,9	29,8	42,7	37,2	39,1	35,1	35,9	36,1	42,3	38,5	68,1	37,4	32,9	88,3	87,8	34,1	36,6	36,1
HvABF2	55,9	36,9	100,0	35,8	40,8	51,9	54,5	48,9	47,7	43,0	42,8	53,5	39,9	54,8	64,2	38,1	37,0	35,0	76,4	53,6
HvABF3	34,8	29,8	35,8	100,0	32,6	31,0	36,1	31,2	32,4	32,2	38,5	34,1	34,6	33,6	29,3	28,9	29,8	36,8	36,6	
AtABI5	41,6	42,7	40,8	32,6	100,0	35,8	42,8	35,0	37,9	42,8	56,1	41,7	42,8	42,1	40,2	41,5	41,1	31,8	44,8	41,8
AtABF4	52,7	37,2	51,9	31,0	35,8	100,0	49,2	53,9	64,2	40,4	37,7	55,0	38,1	55,0	52,7	36,7	35,8	33,2	51,4	53,1
AtABF2	51,3	39,1	54,5	36,1	42,8	49,2	100,0	48,4	45,6	42,6	42,1	53,9	41,5	53,6	52,5	38,5	38,4	32,9	56,8	53,6
AtABF3	50,2	35,1	48,9	31,2	35,0	53,9	48,4	100,0	46,2	40,7	36,3	53,4	36,3	50,8	52,0	34,2	33,5	32,1	50,2	49,4
AtABF1	47,6	35,9	47,7	32,4	37,9	64,2	45,6	46,2	100,0	42,2	36,6	46,9	41,2	49,1	48,8	35,8	35,4	32,0	48,6	48,0
AtAREB3	43,6	36,1	43,0	47,9	42,8	40,4	42,6	40,7	42,2	100,0	41,7	48,0	41,9	41,8	42,0	36,2	35,5	32,6	44,9	42,2
StABI5	45,1	42,3	42,8	47,9	42,8	40,4	42,1	36,3	36,6	41,7	100,0	43,5	44,0	46,2	40,7	44,5	42,7	30,0	43,9	42,6
TRAB1	62,4	38,5	53,5	38,5	41,7	55,0	53,9	53,4	46,9	48,0	43,5	100,0	41,0	63,1	53,5	37,9	37,5	34,6	55,2	66,0
OsABI5	40,2	68,1	39,9	34,1	42,8	38,1	41,5	36,3	41,2	41,9	44,0	41,0	100,0	41,3	37,1	67,2	66,1	34,8	40,3	
wABI5	94,3	37,4	54,8	34,6	42,1	55,0	53,6	50,8	49,1	41,8	46,2	63,1	41,3	100,0	56,8	38,3	37,6	28,9	56,0	76,6
ZmABI5	56,4	32,9	64,2	33,6	40,2	52,7	52,5	52,0	48,8	42,0	40,7	53,5	37,1	56,8	100,0	33,9	33,6	31,8	64,7	56,5
TaABI5	37,6	88,3	38,1	29,3	41,5	36,7	38,5	34,2	35,8	36,2	44,5	37,9	67,2	38,3	33,9	100,0	93,1	32,8	38,5	35,6
TaABF1	36,7	87,8	37,0	28,9	41,1	35,8	38,4	33,5	35,4	35,5	42,7	37,5	66,1	37,6	33,6	93,1	100,0	32,4	37,1	35,2
OsABF1	31,0	34,1	35,0	29,8	31,8	33,2	32,9	32,1	32,0	32,6	30,0	34,6	34,8	28,9	31,8	32,8	32,4	100,0	35,3	29,3
OsABF2	56,7	36,6	76,4	36,8	44,8	51,4	56,8	50,2	48,6	44,9	43,9	55,2	41,4	56,0	64,7	38,5	37,1	35,3	100,0	56,4
OsABF4	73,2	36,1	53,6	36,6	41,8	53,1	53,6	49,4	48,0	42,2	42,6	66,0	40,3	76,6	56,5	35,6	35,2	29,3	56,4	100,0

Aneks 4. Analiza dopasowania wielu sekwencji dla białek z grupy ABI5 oraz ABF/AREB, wykonana za pomocą ClustalOmega (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) oraz Jalview 2.11.0. Pozycję mutacji obecnej u *hvabi5.d* (R274) zaznaczono czerwoną ramką. C1, C2, C3 – domeny konserwowane, bZIP – domena zamka leucynowego, niebieski kolor - konserwowanie pozycji zgodnie z analizą dopasowania wielu sekwencji, żółte słupki - poziom konserwacji analizowanej pozycji, szare słupki – liczba analizowanych aminokwasów w danej pozycji. Numeracja zmieszczona powyżej przedstawionej ryciny odnosi się analizy dopasowania 17 sekwencji białkowych z grupy ABI5 i ABF/AREB. Tym samym nie wskazuje ona zmutowanej pozycji u mutanta *hvabi5.d*.




C3
bZIP
hvabi5.d
R274
Conservation
Quality
Consensus
Occupancy


510
520
530
540
550
560
570
580
590
HvABI5_HQ456390.1/1-353
HvABI5_HORVU5Hr1G068230/1-367
AtABI5/1-442
AtABF4/AREB2/1-432
AtABF2/AREB1/1-427
AtABF3/1-454
AtABF1/1-403
StABI5/1-428
HvABF1/1-394
HvABF2/1-332
TRAB1/1-318
OsABI5/1-378
OsABF2/1-322
OsABF4/1-376
wABI5/1-355
TaABI5/1-390
TaABF1/1-391
Conservation
Quality
Consensus
Occupancy
KQIFTADQTIYWNAYTMELEAEVNKLKEENAELQKKQ+EILEMQRKNE+VEKMKEQSKERM+DQFGPKKKRQCLRRTMTLTGPWRSVVRR

Aneks 5. Parametry fotosyntetyczne otrzymane na podstawie analizy fluorescencji chlorofilu *a* u odmiany ‘Sebastian’ oraz *hvabi5.d* w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (Kontrola 10 DAS) oraz po suszy (Susza 25 DAS). Analizę statystyczną wykonano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) oraz testu HSD Tukeya (Tukey honest significant difference (HSD) test). Istotnie statystycznie różnice pomiędzy różnymi warunkami wzrostu oraz pomiędzy analizowanymi genotypami zaznaczono za pomocą różnych liter ($P \leq 0,05$). ABS/RC - przepływ strumienia fotonów zaabsorbowany przez anteny PSII w przeliczeniu na RC, TR_0/RC – przepływ fotonów zatrzymanych w PSII w przeliczeniu na RC, ET_0/RC – przepływ elektronów w przeliczeniu na RC, DI_0/RC – energia rozproszona w przeliczeniu na RC, RC/CS_0 – zagęszczenie aktywnych centrów reakcji w PSII w przeliczeniu na analizowany przekrój liścia, φP_0 - maksymalna wydajność fotochemiczna PSII, PI_{ABS} - wskaźnik funkcjonowania PSII.

Parametr	**Sebastian**		***hvabi5.d***	
	Kontrola 10 DAS	**Susza 25 DAS**	**Kontrola 10 DAS**	**Susza 25 DAS**
ABS/RC	2.10 ± 0.05^{a}	2.03 ± 0.04^{a}	2.07 ± 0.04^{a}	2.25 ± 0.11^{a}
TR_0/RC	1.63 ± 0.03^{a}	1.57 ± 0.03^{a}	1.62 ± 0.03^{a}	1.69 ± 0.06^{a}
ET_0/RC	0.93 ± 0.02^{a}	0.96 ± 0.02^{ab}	0.96 ± 0.02^{ab}	1.01 ± 0.03^{b}
DI_0/RC	0.47 ± 0.02^{ab}	0.46 ± 0.02^{ab}	0.45 ± 0.01^{a}	0.56 ± 0.05^{b}
RC/CS_0	213.3 ± 3.8^{a}	206.4 ± 5.7^{ab}	209.7 ± 4.4^{a}	188.9 ± 6.1^{b}
φP_0	0.81 ± 0.004^{a}	0.80 ± 0.003^{a}	0.81 ± 0.001^{a}	0.78 ± 0.008^{b}
PI_{ABS}	2.86 ± 0.10^{a}	2.89 ± 0.14^{a}	2.60 ± 0.08^{a}	2.14 ± 0.21^{b}

Aneks 6. Potencjalne motywy rozpoznawane przez ABI5 w obrębie promotorów *HvNCED1*, *HvSnRK2.1* oraz *HvPP2C4* (-1000 pz od kodonu START).

Gen potencjalnie docelowy	**Pozycja**	**Nić**	**Motyw rozpoznawany przez ABI5**
HvNCED1 (HORVU5Hr1G008050)	-479 do -461	+	5'TGAACC**ACGTG**GTCTCCT3'
	-461 do -479	-	5'AGGAGACC**ACGTG**GTTCA3'
HvPP2C4 (HORVU3Hr1G050340)	-954 do -936	+	5'GGCTGATG**ACATGGC**ATA3'
	-843 do -823	+	5'GGAGGGAC**ACGTG**TGTGA3'
	-823 do 843	-	5'TCACAC**ACGTG**TCCCTCC3'
	-567 do -585	-	5'CCGGGGACG**CGTGTC**GAG3'
HvSnRK2.1 (HORVU2Hr1G110230)	-194 do -212	-	5'CGTCGGCC**ATGTGTC**GCC3'

Aneks 7. Geny o specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d* po redukcji wilgotności w glebie (15 DAS) (krotność zmiany (FC) ≥ 2; P ≤ 0,05 po poprawce FDR).

Identyfikator genu	Krotność zmiany	Charakterystyka funkcji białka
HORVU3Hr1G079800	62,28	Non-specific lipid-transfer protein-like protein
HORVU1Hr1G002100	46,69	Defensin-like protein
HORVU1Hr1G065150	46,36	undescribed protein
HORVU7Hr1G025180	25,76	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein
HORVU6Hr1G061420	25,36	Cytochrome b5
HORVU6Hr1G076760	24,89	ARM repeat superfamily protein
HORVU2Hr1G108250	22,71	Anthocyanidin reductase
HORVU2Hr1G109430	19,78	HXXXD-type acyl-transferase family protein
HORVU2Hr1G109590	19,78	HXXXD-type acyl-transferase family protein
HORVU0Hr1G010080	19,29	Bidirectional sugar transporter N3
HORVU3Hr1G065640	18,53	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G073190	16,02	ferredoxin-related
HORVU7Hr1G113270	15,61	Chitinase family protein
HORVU5Hr1G080500	14,70	BAG family molecular chaperone regulator 3
HORVU4Hr1G086380	14,43	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein
HORVU3Hr1G036600	13,96	TRAM, LAG1 and CLN8 (TLC) lipid-sensing domain containing protein
HORVU5Hr1G089230	12,79	Fatty acyl-CoA reductase 1
HORVU4Hr1G063790	12,71	Endo-1,4-beta-xylanase Z
HORVU4Hr1G063420	12,04	3-ketoacyl-CoA synthase 1
HORVU4Hr1G030810	11,39	3-ketoacyl-CoA synthase 20
HORVU3Hr1G086160	11,18	laccase 17
HORVU0Hr1G005320	11,04	IQ-domain 22
HORVU5Hr1G042230	10,97	Protein TERMINAL FLOWER 1
HORVU5Hr1G005180	10,80	Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein
HORVU5Hr1G005310	10,80	Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein
HORVU6Hr1G014420	10,78	cyclin p4
HORVU3Hr1G019320	10,73	unknown protein
HORVU1Hr1G057170	10,39	annexin 4
HORVU3Hr1G028780	10,34	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU1Hr1G026520	10,25	HXXXD-type acyl-transferase family protein
HORVU2Hr1G102180	9,95	COBW domain-containing protein 1
HORVU1Hr1G059950	9,75	Late embryogenesis abundant protein D-19
HORVU0Hr1G022610	9,58	Terpene cyclase/mutase family member
HORVU7Hr1G079430	9,47	Polyamine aminopropyltransferase 2
HORVU4Hr1G089230	9,46	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU3Hr1G030650	8,93	Late embryogenesis abundant protein
HORVU5Hr1G017220	8,87	SAUR-like auxin-responsive protein family
HORVU2Hr1G042370	8,65	cellulose-synthase like D2
HORVU2Hr1G095880	8,63	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
HORVU7Hr1G095080	8,59	Plant invertase/pectin methylesterase inhibitor superfamily protein
HORVU3Hr1G032400	8,56	D-alanine aminotransferase
HORVU3Hr1G054780	8,27	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU2Hr1G101770	8,10	Growth-regulating factor 3
HORVU7Hr1G002850	8,05	26S protease regulatory subunit 6A homolog
HORVU5Hr1G028460	7,69	Plant calmodulin-binding protein-related
HORVU4Hr1G073230	7,50	unknown protein
HORVU2Hr1G085570	7,49	Cytochrome b561 and DOMON domain-containing protein
HORVU1Hr1G017700	7,44	Hydrophobic protein LTI6B
HORVU5Hr1G099180	7,28	unknown protein
HORVU4Hr1G052140	7,20	unknown function
HORVU4Hr1G067280	7,17	Homocysteine S-methyltransferase family protein
HORVU7Hr1G031850	7,17	60S ribosomal protein L35a-3
HORVU6Hr1G012290	7,17	Glutamine synthetase
HORVU1Hr1G057180	7,12	annexin 3
HORVU7Hr1G088920	7,10	Heat stress transcription factor C-2b
HORVU2Hr1G116390	7,10	Chalcone synthase 1
HORVU4Hr1G000950	7,08	HXXXD-type acyl-transferase family protein
HORVU1Hr1G090250	6,85	Ethylene-responsive transcription factor 1
HORVU5Hr1G005510	6,71	Thaumatin-like protein TLP5
HORVU5Hr1G051950	6,71	thaumatin-like protein 3

HORVU4Hr1G018650	6,65	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein
HORVU5Hr1G101480	6,61	2-hydroxy-6-oxononadienedioate/2-hydroxy-6- oxononatrienedioate hydrolase
HORVU7Hr1G070010	6,53	cellulose synthase-like D3
HORVU1Hr1G047010	6,51	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G073010	6,47	Nucleolar protein gar2-related isoform 5
HORVU1Hr1G023520	6,45	GDSL esterase/lipase
HORVU3Hr1G000720	6,36	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G064130	6,32	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G064200	6,32	receptor-like protein kinase 4
HORVU2Hr1G043890	6,27	Xylanase inhibitor protein 1
HORVU1Hr1G087570	5,96	FASCICLIN-like arabinogalactan 6
HORVU2Hr1G095170	5,87	RHOMBOID-like protein 6
HORVU1Hr1G067230	5,84	metacaspase 4
HORVU7Hr1G058810	5,81	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU6Hr1G030390	5,74	4-coumarate:CoA ligase 1
HORVU7Hr1G028290	5,73	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU2Hr1G065330	5,72	CASP-like protein 6
HORVU7Hr1G120030	5,72	Delta(24)-sterol reductase
HORVU2Hr1G091910	5,70	Acid beta-fructofuranosidase
HORVU6Hr1G076730	5,61	GDSL esterase/lipase
HORVU7Hr1G088430	5,59	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU2Hr1G112600	5,57	Peptidyl-tRNA hydrolase
HORVU7Hr1G012300	5,56	LEA
HORVU6Hr1G036950	5,54	3-ketoacyl-CoA synthase 11
HORVU5Hr1G002090	5,47	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
HORVU7Hr1G033370	5,45	Magnesium transporter protein 1
HORVU4Hr1G066900	5,44	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G055740	5,44	carotenoid cleavage dioxygenase 1
HORVU4Hr1G003400	5,43	Coffea canephora DH200=94 genomic scaffold, scaffold_6
HORVU4Hr1G010250	5,36	serine carboxypeptidase-like 19
HORVU7Hr1G056820	5,33	Heat stress transcription factor B-2b
HORVU0Hr1G000890	5,31	undescribed protein
HORVU1Hr1G066930	5,31	undescribed protein
HORVU6Hr1G008640	5,20	catalase 1
HORVU0Hr1G009470	5,16	germin-like protein 2
HORVU6Hr1G064820	5,14	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
HORVU1Hr1G067910	5,00	Nucleotide-sugar transporter family protein
HORVU0Hr1G017160	4,99	Glutaredoxin family protein
HORVU4Hr1G086360	4,97	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein
HORVU4Hr1G086460	4,97	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein
HORVU7Hr1G061070	4,91	Ubiquitin-specific protease family C19-related protein
HORVU6Hr1G069090	4,90	zinc finger homeodomain 1
HORVU5Hr1G016400	4,86	Peroxisomal membrane 22 kDa (Mpv17/PMP22) family protein
HORVU5Hr1G095080	4,78	Beta-glucosidase C
HORVU7Hr1G034350	4,74	Chalcone-flavonone isomerase family protein
HORVU1Hr1G045220	4,74	Calcium uniporter protein 2, mitochondrial
HORVU7Hr1G092710	4,65	glutamine dumper 4
HORVU7Hr1G025330	4,63	Histone superfamily protein
HORVU2Hr1G099640	4,62	VACUOLAR SORTING RECEPTOR 5
HORVU1Hr1G052730	4,62	T-complex protein 1 alpha subunit
HORVU4Hr1G063270	4,62	Filament-like plant protein 4
HORVU2Hr1G120470	4,59	uracil dna glycosylase
HORVU5Hr1G109610	4,54	unknown function
HORVU5Hr1G046050	4,52	unknown protein
HORVU3Hr1G002920	4,49	Glycosyltransferase
HORVU6Hr1G084770	4,46	Carboxypeptidase Y
HORVU4Hr1G072480	4,46	Blue copper protein
HORVU0Hr1G017080	4,45	microtubule-associated proteins 70-2
HORVU2Hr1G038040	4,43	unknown function
HORVU3Hr1G001040	4,41	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
HORVU1Hr1G016980	4,40	Peroxidase superfamily protein
HORVU1Hr1G071360	4,40	TBC1 domain family member 2A
HORVU0Hr1G002930	4,39	unknown function
HORVU2Hr1G029350	4,38	adenylate kinase family protein
HORVU1Hr1G029460	4,37	GDSL esterase/lipase
HORVU6Hr1G063540	4,32	S-adenosylmethionine synthase 1
HORVU4Hr1G010770	4,31	unknown protein

HORVU2Hr1G109910	4,28	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein
HORVU0Hr1G040310	4,24	Remorin family protein
HORVU7Hr1G079810	4,22	GDSL esterase/lipase
HORVU6Hr1G078650	4,21	fucosyltransferase 1
HORVU7Hr1G009800	4,18	LEA
HORVU5Hr1G106690	4,15	Protein of unknown function, DUF593
HORVU7Hr1G117800	4,13	BURP domain-containing protein 11
HORVU7Hr1G108780	4,12	rRNA/tRNA 2'-O-methyltransferase fibrillarin-like protein 1
HORVU5Hr1G120230	4,12	Late embryogenesis abundant protein
HORVU7Hr1G014410	4,10	EXORDIUM like 3
HORVU7Hr1G014710	4,10	EXORDIUM like 3
HORVU7Hr1G002820	4,10	alpha dioxygenase
HORVU5Hr1G010860	4,10	pectinesterase family protein
HORVU7Hr1G056700	4,07	BAG family molecular chaperone regulator 3
HORVU6Hr1G070540	4,06	fatty acid desaturase 2
HORVU6Hr1G063490	4,05	S-adenosylmethionine synthase 3
HORVU1Hr1G016200	4,05	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 5
HORVU4Hr1G076940	4,02	3-ketoacyl-CoA synthase 10
HORVU2Hr1G126730	4,01	C2 calcium/lipid-binding plant phosphoribosyltransferase family protein
HORVU5Hr1G059600	4,01	nucleobase-ascorbate transporter 7
HORVU3Hr1G025920	4,00	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU7Hr1G110630	3,99	Disease resistance protein
HORVU6Hr1G085870	3,98	Transmembrane 9 superfamily member 11
HORVU2Hr1G078730	3,97	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU2Hr1G078790	3,97	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU5Hr1G076340	3,94	HORMA domain-containing protein 1
HORVU5Hr1G098410	3,94	E3 ubiquitin-protein ligase MARCH6
HORVU7Hr1G102150	3,93	Solute carrier family 35 member F5
HORVU6Hr1G019510	3,92	calmodulin-binding family protein
HORVU7Hr1G115600	3,88	heptahelical transmembrane protein1
HORVU4Hr1G006480	3,88	beta glucosidase 43
HORVU4Hr1G006490	3,88	undescribed protein
HORVU1Hr1G046690	3,84	Monocopper oxidase-like protein SKU5
HORVU7Hr1G072610	3,83	Chaperone protein dnaJ 10
HORVU7Hr1G001830	3,81	myb-like transcription factor family protein
HORVU7Hr1G044210	3,80	Embryogenesis transmembrane protein-like
HORVU1Hr1G049000	3,78	Subtilisin-like protease
HORVU4Hr1G084680	3,74	Homeobox protein knotted-1-like 3
HORVU2Hr1G079780	3,73	unknown protein
HORVU1Hr1G061780	3,72	oxidoreductase, 2OG-Fe(II) oxygenase family protein
HORVU4Hr1G086270	3,71	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU5Hr1G036400	3,71	Chaperone protein DnaJ
HORVU4Hr1G064790	3,71	glutamate decarboxylase
HORVU5Hr1G018240	3,69	unknown protein
HORVU3Hr1G086080	3,68	S-acyltransferase
HORVU3Hr1G105630	3,66	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase GI
HORVU2Hr1G114900	3,66	Coffea canephora DH200=94 genomic scaffold, scaffold_45
HORVU3Hr1G091350	3,64	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 7
HORVU3Hr1G080830	3,63	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU5Hr1G007770	3,63	tropinone reductase
HORVU3Hr1G078260	3,62	DNA-3-methyladenine glycosylase 1
HORVU4Hr1G024380	3,62	receptor kinase 1
HORVU4Hr1G078690	3,59	Ras-related protein Rab-6A
HORVU1Hr1G039250	3,58	cellulose synthase A4
HORVU4Hr1G068890	3,57	Plant calmodulin-binding protein-related
HORVU6Hr1G070180	3,56	diacylglycerol acyltransferase family
HORVU6Hr1G035420	3,55	cinnamyl alcohol dehydrogenase 5
HORVU6Hr1G075970	3,55	expansin A1
HORVU2Hr1G121070	3,54	Adenylate kinase
HORVU1Hr1G090730	3,53	3-ketoacyl-CoA synthase 11
HORVU2Hr1G094690	3,53	SPX domain-containing membrane protein
HORVU3Hr1G108120	3,53	Protein of unknown function (DUF579)
HORVU6Hr1G029640	3,51	heptahelical transmembrane protein2
HORVU1Hr1G062690	3,51	Glycogen debranching enzyme
HORVU1Hr1G090330	3,49	Disease resistance protein
HORVU1Hr1G068170	3,47	tubulin beta chain 2
HORVU4Hr1G054790	3,46	Hexosyltransferase

HORVU4Hr1G071000	3,42	Polyol transporter 5
HORVU7Hr1G088630	3,42	ABC transporter G family member 42
HORVU0Hr1G009280	3,42	unknown protein
HORVU6Hr1G061010	3,40	Hsp70-Hsp90 organizing protein
HORVU1Hr1G015500	3,39	Zinc transporter 2
HORVU6Hr1G070550	3,36	fatty acid desaturase 2
HORVU5Hr1G054180	3,36	Phosphoenolpyruvate/phosphate translocator 1, chloroplastic
HORVU5Hr1G016790	3,35	EXS (ERD1/XPR1/SYG1) family protein
HORVU5Hr1G013990	3,33	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU6Hr1G037000	3,33	Protein of unknown function, DUF642
HORVU1Hr1G067550	3,31	calcium-transporting ATPase, putative
HORVU3Hr1G006940	3,31	16.9 kDa class I heat shock protein 2
HORVU5Hr1G052010	3,31	C2 domain-containing protein 5
HORVU5Hr1G052030	3,31	C2 domain-containing protein 5
HORVU1Hr1G057630	3,31	Early-responsive to dehydration stress protein (ERD4)
HORVU2Hr1G060390	3,31	Early-responsive to dehydration stress protein (ERD4)
HORVU2Hr1G042270	3,29	QR1
HORVU4Hr1G022950	3,29	vacuolar sorting receptor homolog 1
HORVU3Hr1G078940	3,29	tubulin beta chain 2
HORVU0Hr1G016330	3,28	phenylalanine ammonia-lyase 2
HORVU7Hr1G005270	3,28	cellulose synthase-like D3
HORVU6Hr1G053910	3,28	Actin-related protein 3
HORVU5Hr1G077110	3,28	UDP-glucose 4-epimerase 4
HORVU3Hr1G085420	3,26	alpha-glucan phosphorylase 2
HORVU6Hr1G085990	3,26	alpha-glucan phosphorylase 2
HORVU7Hr1G002300	3,26	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU6Hr1G025980	3,25	Zinc finger CCCH domain-containing protein 13
HORVU3Hr1G000120	3,24	Subtilisin-like protease
HORVU4Hr1G009190	3,23	Sec14p-like phosphatidylinositol transfer family protein
HORVU4Hr1G005780	3,21	Alkaline ceramidase 3
HORVU5Hr1G113630	3,20	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU7Hr1G117000	3,20	Chaperone protein htpG family protein
HORVU3Hr1G088570	3,20	fructose-bisphosphate aldolase 2
HORVU4Hr1G075830	3,18	Nuclear transcription factor Y subunit A-3
HORVU1Hr1G071490	3,18	GPN-loop GTPase 3
HORVU4Hr1G084110	3,18	Cysteine-rich repeat secretory protein 11
HORVU4Hr1G038960	3,18	Alpha-1,4-glucan-protein synthase [UDP-forming]
HORVU4Hr1G072620	3,17	ABC transporter G family member 22
HORVU0Hr1G020750	3,17	beta glucosidase 17
HORVU5Hr1G095260	3,16	strictosidine synthase-like 3
HORVU5Hr1G114720	3,16	strictosidine synthase-like 3
HORVU4Hr1G090550	3,16	E3 ubiquitin-protein ligase RFWD3
HORVU1Hr1G073210	3,15	phosphate transporter 4
HORVU1Hr1G092950	3,12	Transducin family protein / WD-40 repeat family protein
HORVU7Hr1G096990	3,11	60S acidic ribosomal protein family
HORVU6Hr1G037760	3,11	Transcription factor HY5
HORVU6Hr1G018370	3,11	calnexin 1
HORVU3Hr1G057320	3,10	Exportin-2
HORVU3Hr1G001360	3,10	unknown function
HORVU5Hr1G001920	3,10	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU1Hr1G027770	3,07	Protein kinase family protein
HORVU3Hr1G063840	3,07	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU0Hr1G016720	3,06	3-ketodihydrosphingosine reductase
HORVU6Hr1G068450	3,06	3-ketodihydrosphingosine reductase
HORVU1Hr1G046940	3,05	Trihelix transcription factor GT-2
HORVU0Hr1G006170	3,04	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU3Hr1G011850	3,04	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU3Hr1G011860	3,04	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU3Hr1G090580	3,04	Protein root UVB sensitive 6
HORVU1Hr1G060530	3,03	Pyrimidine-specific ribonucleoside hydrolase RihA
HORVU3Hr1G086040	3,03	Major facilitator superfamily protein
HORVU5Hr1G062260	3,03	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU0Hr1G021230	3,03	Tyrosine--tRNA ligase
HORVU1Hr1G059090	3,03	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU7Hr1G098440	3,02	Xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase family protein
HORVU7Hr1G097760	3,02	purple acid phosphatase 28
HORVU1Hr1G071810	3,02	Lung seven transmembrane receptor family protein

HORVU5Hr1G103850	3,02	Fasciclin-like arabinogalactan protein 16
HORVU3Hr1G074040	3,02	Glutathione S-transferase 1
ENSRNA049486791	3,01	-
HORVU5Hr1G113880	3,00	Alpha-mannosidase
HORVU2Hr1G110110	2,99	serine hydroxymethyltransferase 4
HORVU5Hr1G055410	2,98	Plant cysteine oxidase 5
HORVU7Hr1G092080	2,98	TBC1 domain family member 13
HORVU7Hr1G080310	2,98	T-complex protein 1 subunit gamma
HORVU3Hr1G020340	2,98	FACT complex subunit SSRP1-A
HORVU4Hr1G060990	2,97	Mitochondrial substrate carrier family protein
HORVU3Hr1G105880	2,97	acetyl-CoA carboxylase 1
HORVU3Hr1G107690	2,96	RNA-dependent RNA polymerase 6
HORVU0Hr1G015820	2,96	Apoptosis inhibitor 5
HORVU5Hr1G099350	2,96	long-chain acyl-CoA synthetase 2
HORVU4Hr1G051120	2,96	protein kinase family protein
HORVU1Hr1G074060	2,95	serine/threonine protein kinase 2
HORVU1Hr1G022810	2,95	Protein disulfide isomerase-like 2-1
HORVU3Hr1G066430	2,94	60S ribosomal protein L28-1
HORVU4Hr1G010080	2,93	Growth-regulating factor 6
HORVU2Hr1G043860	2,92	histone H2A 2
HORVU1Hr1G063250	2,91	Phospholipase A1-II 1
HORVU2Hr1G013440	2,90	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G106380	2,90	Geranylgeranyl transferase type-2 subunit alpha
HORVU2Hr1G068270	2,89	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase 4
ENSRNA049485637	2,89	-
HORVU6Hr1G081460	2,89	Heat shock 70 kDa protein 3
HORVU2Hr1G100660	2,88	Ubiquitin-specific protease family C19-related protein
HORVU2Hr1G072580	2,87	Protein kinase superfamily protein
HORVU6Hr1G029780	2,87	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G050560	2,87	Transcription factor MYC2
HORVU3Hr1G092390	2,87	histone deacetylase 2C
HORVU5Hr1G052280	2,85	60S ribosomal protein L17-1
HORVU7Hr1G003870	2,85	Vacuolar iron transporter (VIT) family protein
HORVU1Hr1G014570	2,85	Phosphoinositide phospholipase C 2
HORVU4Hr1G052090	2,84	Guanylate kinase
HORVU4Hr1G018980	2,83	undescribed protein
HORVU3Hr1G007250	2,83	Ankyrin repeat family protein
HORVU3Hr1G035650	2,83	rapid alkalinization factor 23
HORVU7Hr1G074460	2,83	Actin-related protein 3
HORVU7Hr1G048470	2,82	Glycosyltransferase family 61 protein
HORVU2Hr1G001320	2,82	Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.5
HORVU7Hr1G089120	2,82	Ras-related protein Rab-25
HORVU2Hr1G019930	2,81	Uveal autoantigen with coiled-coil domains and ankyrin repeats isoform 4
HORVU4Hr1G076040	2,81	Dirigent protein 1
HORVU2Hr1G065750	2,80	WRKY family transcription factor
HORVU2Hr1G120850	2,80	unknown protein
HORVU6Hr1G010960	2,80	AT1G76250-like protein
HORVU6Hr1G064720	2,79	high mobility group B3
HORVU5Hr1G125560	2,79	Flavin-containing monooxygenase family protein
HORVU2Hr1G110120	2,79	Adenosylhomocysteinase
HORVU7Hr1G036380	2,79	RING/U-box superfamily protein
HORVU1Hr1G049900	2,78	Leucine-rich repeat family protein
HORVU4Hr1G056320	2,77	RING/FYVE/PHD-type zinc finger family protein
HORVU7Hr1G052750	2,77	Cytochrome b561 and DOMON domain-containing protein
HORVU3Hr1G088020	2,76	dihydroflavonol 4-reductase-like1
HORVU6Hr1G009090	2,76	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G046900	2,75	Peroxidase superfamily protein
HORVU4Hr1G066310	2,75	Wall-associated receptor kinase-like 14
HORVU4Hr1G019980	2,74	ribosomal protein 1
HORVU1Hr1G051740	2,73	Peroxidase superfamily protein
HORVU5Hr1G070740	2,73	Phosphatidylinositol 3- and 4-kinase family protein
HORVU7Hr1G048970	2,72	caffeoyl-CoA 3-O-methyltransferase
HORVU0Hr1G021950	2,72	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 14
HORVU4Hr1G050710	2,72	Ribosome biogenesis protein BMS1 homolog
HORVU5Hr1G070390	2,71	Ribosomal RNA small subunit methyltransferase F
HORVU6Hr1G062260	2,71	Fatty acid oxidation complex subunit alpha
HORVU2Hr1G062910	2,71	unknown function

HORVU5Hr1G084140	2,70	SKP1-like 4
HORVU4Hr1G077420	2,70	receptor kinase 2
HORVU7Hr1G090360	2,70	undescribed protein
HORVU1Hr1G062900	2,69	Argininosuccinate synthase
HORVU1Hr1G017710	2,69	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily B member 1-A
HORVU7Hr1G044070	2,68	T-complex protein 1 alpha subunit
HORVU6Hr1G031480	2,68	Aldehyde dehydrogenase family 2 member C4
HORVU6Hr1G050720	2,68	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5
HORVU4Hr1G073130	2,68	Histone H2B.1
HORVU4Hr1G044610	2,67	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU6Hr1G019520	2,66	chaperone binding
HORVU2Hr1G079230	2,65	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 4
HORVU4Hr1G046720	2,65	PETER PAN-like protein
HORVU5Hr1G108990	2,65	60S ribosomal protein L7-4
HORVU2Hr1G073830	2,65	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
HORVU2Hr1G068670	2,65	Acyl-[acyl-carrier-protein] 6-desaturase
HORVU3Hr1G032480	2,63	Chaperone protein DnaJ
HORVU6Hr1G091690	2,63	T-complex protein 1 subunit zeta 1
HORVU4Hr1G027740	2,62	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase
HORVU1Hr1G038890	2,62	60S ribosomal protein L21-1
HORVU4Hr1G079600	2,62	undescribed protein
HORVU2Hr1G105800	2,61	AT-hook motif nuclear-localized protein 1
HORVU3Hr1G062590	2,61	60S ribosomal protein L37a
HORVU5Hr1G054970	2,61	nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 9
HORVU5Hr1G092850	2,61	nine-cis-epoxycarotenoid dioxygenase 9
HORVU7Hr1G052530	2,60	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU3Hr1G049730	2,60	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G007980	2,60	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase
HORVU5Hr1G051220	2,60	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G066300	2,60	Conserved oligomeric Golgi complex subunit 6
HORVU4Hr1G054890	2,59	Programmed cell death protein 2
HORVU3Hr1G060310	2,58	receptor kinase 1
HORVU4Hr1G008120	2,57	RNA-binding (RRM/RBD/RNP motifs) family protein
HORVU4Hr1G056660	2,57	Dolichyldiphosphatase 1
HORVU7Hr1G090710	2,57	Elongation factor 2
HORVU7Hr1G050980	2,56	unknown protein
HORVU5Hr1G125350	2,56	Disease resistance protein
HORVU2Hr1G097800	2,56	Cysteine and histidine-rich domain-containing protein RAR1
HORVU7Hr1G051630	2,56	RanBP2-type zinc finger protein
HORVU4Hr1G072880	2,56	phosphoserine aminotransferase
HORVU4Hr1G072910	2,56	phosphoserine aminotransferase
HORVU1Hr1G083420	2,55	Heat stress transcription factor A-2c
HORVU3Hr1G083370	2,55	actin 7
HORVU3Hr1G083380	2,55	actin 7
HORVU1Hr1G093480	2,54	tryptophan synthase alpha chain
HORVU6Hr1G088570	2,54	Clathrin interactor EPSIN 2
HORVU2Hr1G086830	2,54	Trafficking protein particle complex subunit 9
HORVU2Hr1G086840	2,54	Trafficking protein particle complex subunit 9
HORVU4Hr1G068770	2,53	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU1Hr1G081130	2,53	receptor-like serine/threonine kinase 2
HORVU6Hr1G090780	2,53	Protein kinase superfamily protein
HORVU6Hr1G076380	2,53	N-terminal protein myristoylation
HORVU4Hr1G057310	2,52	DNA topoisomerase 6 subunit A3
HORVU5Hr1G092630	2,51	60S ribosomal protein L5-1
HORVU5Hr1G123880	2,51	myb domain protein 30
HORVU5Hr1G103720	2,51	Phosphatidylglycerol/phosphatidylinositol transfer protein
HORVU6Hr1G093960	2,51	TCP family transcription factor
HORVU6Hr1G093970	2,51	TCP family transcription factor
HORVU5Hr1G093160	2,50	ATP-dependent RNA helicase DeaD
HORVU4Hr1G057170	2,50	Peroxidase superfamily protein
HORVU4Hr1G057210	2,50	Peroxidase superfamily protein
HORVU2Hr1G080340	2,50	60S ribosomal protein L34
HORVU2Hr1G075910	2,50	tRNA-2-methylthio-N(6)-dimethylallyladenosine synthase
HORVU3Hr1G034100	2,49	germin-like protein 10
HORVU1Hr1G051570	2,49	N-alpha-acetyltransferase 25, NatB auxiliary subunit
HORVU2Hr1G037550	2,49	tubulin alpha-4 chain

HORVU2Hr1G037570	2,49	tubulin alpha-4 chain
HORVU2Hr1G058940	2,48	Small RNA 2'-O-methyltransferase
HORVU3Hr1G036290	2,48	RING/U-box superfamily protein
HORVU6Hr1G069940	2,47	Domain of unknown function (DUF23)
HORVU7Hr1G050170	2,47	60S ribosomal protein L31
HORVU4Hr1G060760	2,47	17.9 kDa class I heat shock protein
HORVU2Hr1G119960	2,47	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit STT3A
HORVU2Hr1G119980	2,47	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit STT3A
HORVU3Hr1G054640	2,47	NAD(P)-linked oxidoreductase superfamily protein
HORVU7Hr1G086570	2,47	Cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase
HORVU3Hr1G058910	2,47	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
HORVU5Hr1G117970	2,46	Acyl-CoA-binding domain-containing protein 4
HORVU2Hr1G006000	2,46	Galactosylgalactosylxylosylprotein 3-beta-glucuronosyltransferase 1
HORVU6Hr1G063560	2,45	S-adenosylmethionine synthase 2
HORVU6Hr1G063570	2,45	S-adenosylmethionine synthase 2
HORVU4Hr1G003090	2,45	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 7
HORVU6Hr1G090270	2,45	Diphthamide biosynthesis protein 1
HORVU2Hr1G094660	2,45	Subtilisin-like protease
HORVU1Hr1G017240	2,45	serine/threonine protein kinase 1
HORVU3Hr1G042600	2,44	callose synthase 1
HORVU1Hr1G085730	2,44	Ribosomal L1 domain-containing protein 1
HORVU3Hr1G055920	2,44	Protein SGT1 homolog
HORVU7Hr1G084940	2,44	Auxin-responsive protein IAA23
HORVU7Hr1G054510	2,43	Peroxidase superfamily protein
HORVU1Hr1G009900	2,43	Nuclear pore complex protein NUP107
HORVU6Hr1G078060	2,43	RNA-binding protein 1
HORVU1Hr1G062650	2,43	Coatomer subunit delta-1
HORVU3Hr1G081230	2,43	expansin A1
HORVU2Hr1G091130	2,43	Thioredoxin superfamily protein
HORVU2Hr1G091200	2,43	Thioredoxin superfamily protein
HORVU3Hr1G035170	2,41	TOPLESS-related 2
HORVU3Hr1G036180	2,41	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G060570	2,41	Integrator complex subunit 11 homolog
HORVU7Hr1G045770	2,40	microtubule-associated protein 65-2
HORVU7Hr1G090290	2,40	TPX2 (targeting protein for Xklp2) protein family
HORVU5Hr1G115230	2,40	non-specific phospholipase C1
HORVU3Hr1G079290	2,40	U3 small nucleolar RNA-associated protein 11
HORVU5Hr1G011850	2,40	Transducin family protein / WD-40 repeat family protein
HORVU3Hr1G045150	2,39	ADP-ribosylation factor 3
HORVU2Hr1G124530	2,39	Protein kinase superfamily protein
HORVU2Hr1G005520	2,39	Stress responsive A/B Barrel Domain
HORVU2Hr1G005590	2,39	Stress responsive A/B Barrel Domain
HORVU4Hr1G027600	2,39	Trafficking protein particle complex subunit 1
HORVU7Hr1G111120	2,38	small nuclear ribonucleoprotein F
HORVU3Hr1G045480	2,37	dehydroquinate dehydratase, putative / shikimate dehydrogenase, putative
HORVU1Hr1G055320	2,37	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU6Hr1G058560	2,37	60S ribosomal protein L14-1
HORVU4Hr1G055230	2,37	40S ribosomal protein S7
HORVU7Hr1G117550	2,36	U3 small nucleolar RNA-associated protein 15 homolog
HORVU2Hr1G084120	2,36	Acid phosphatase/vanadium-dependent haloperoxidase-related protein
HORVU0Hr1G002720	2,36	4-coumarate:CoA ligase 1
HORVU5Hr1G069040	2,36	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU2Hr1G006030	2,36	Transmembrane protein 115
HORVU2Hr1G018820	2,35	60S ribosomal protein L18-2
HORVU4Hr1G089590	2,35	Small nuclear ribonucleoprotein family protein
HORVU5Hr1G064010	2,34	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
HORVU2Hr1G019960	2,34	40S ribosomal protein S21
HORVU4Hr1G078470	2,34	alcohol dehydrogenase 1
HORVU2Hr1G043840	2,34	histone H2A 2
HORVU5Hr1G078090	2,33	SnRK1-interacting protein 1
HORVU3Hr1G012650	2,33	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU5Hr1G112300	2,33	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 33
HORVU3Hr1G052500	2,33	unknown function
HORVU1Hr1G025670	2,33	Auxin-responsive protein IAA15
HORVU7Hr1G095810	2,33	mitogen-activated protein kinase 16
HORVU7Hr1G041570	2,33	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU1Hr1G047610	2,33	unknown protein

HORVU1Hr1G084700	2,33	RuvB-like helicase 1
HORVU6Hr1G070670	2,32	60S ribosomal protein L31
HORVU4Hr1G073730	2,32	Protein of unknown function (DUF506)
HORVU6Hr1G044840	2,32	40S ribosomal protein S24-2
HORVU4Hr1G062970	2,31	unknown protein
HORVU6Hr1G006480	2,31	RNA-binding protein 12
HORVU3Hr1G069410	2,31	Pathogen-related protein
HORVU4Hr1G057080	2,30	DDB1- and CUL4-associated factor 8
HORVU4Hr1G009210	2,30	Sec14p-like phosphatidylinositol transfer family protein
HORVU4Hr1G058010	2,30	Ribosomal protein S24e family protein
HORVU2Hr1G068360	2,30	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit H
HORVU1Hr1G072640	2,29	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein
HORVU7Hr1G101410	2,29	rRNA N-glycosidase
ENSRNA049445085	2,29	-
HORVU4Hr1G086790	2,29	Small nuclear ribonucleoprotein family protein
HORVU4Hr1G043680	2,29	amino acid permease 3
HORVU0Hr1G008740	2,28	Chorismate synthase
HORVU6Hr1G083120	2,28	60S ribosomal protein L35a-3
HORVU5Hr1G093230	2,28	Histone-binding protein RBBP7
HORVU2Hr1G096370	2,28	Phosphatidylinositol N-acetyglucosaminlytransferase subunit P-related
HORVU4Hr1G056070	2,28	Chaperone protein DnaJ
HORVU4Hr1G033280	2,28	Auxilin-related protein 2
HORVU0Hr1G009870	2,28	Nucleolar complex protein 2 homolog
HORVU0Hr1G014050	2,28	Nucleolar complex protein 2 homolog
HORVU4Hr1G002160	2,28	C2 calcium/lipid-binding plant phosphoribosyltransferase family protein
HORVU3Hr1G079010	2,27	transcription factor-related
HORVU4Hr1G059750	2,27	protein kinase 1B
HORVU5Hr1G050510	2,27	kinesin 4
HORVU1Hr1G087530	2,27	FASCICLIN-like arabinogalactan-protein 11
HORVU1Hr1G090770	2,27	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A
HORVU7Hr1G041090	2,27	Adenylyltransferase and sulfurtransferase MOCS3
HORVU1Hr1G069100	2,27	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G078480	2,27	Histone H2B.2
HORVU7Hr1G049470	2,26	Ubiquitin and WLM domain-containing protein
HORVU2Hr1G051180	2,25	receptor kinase 2
HORVU4Hr1G015930	2,25	receptor kinase 2
HORVU4Hr1G015940	2,25	receptor kinase 2
HORVU7Hr1G058080	2,25	O-fucosyltransferase family protein
HORVU5Hr1G113180	2,25	Heat shock 70 kDa protein 3
HORVU4Hr1G003600	2,24	RING finger protein 5
HORVU2Hr1G031130	2,24	Argonaute family protein
HORVU2Hr1G112360	2,24	jasmonate-zim-domain protein 12
HORVU4Hr1G076970	2,24	Cyanate hydratase
HORVU0Hr1G038990	2,24	Protein of unknown function (DUF3511)
HORVU1Hr1G004960	2,24	WD-40 repeat family protein
HORVU0Hr1G004700	2,24	40S ribosomal protein S10
HORVU3Hr1G010550	2,24	EKC/KEOPS complex subunit cgi121
HORVU4Hr1G027150	2,24	Mitochondrial uncoupling protein 1
HORVU1Hr1G011400	2,23	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU0Hr1G013070	2,23	cinnamoyl coa reductase
HORVU5Hr1G065330	2,23	cinnamoyl coa reductase 1
HORVU6Hr1G069920	2,23	Pro-apoptotic serine protease NMA111
HORVU5Hr1G006780	2,23	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine methyltransferase 1
HORVU5Hr1G062090	2,23	Aldehyde dehydrogenase family 7 member A1
HORVU4Hr1G043910	2,23	Protein disulfide-isomerase
HORVU7Hr1G083370	2,23	Alpha/beta hydrolase
HORVU3Hr1G050600	2,22	unknown function
HORVU4Hr1G088670	2,22	unknown function
HORVU5Hr1G093150	2,22	Homeobox-leucine zipper protein HOX32
HORVU2Hr1G036780	2,22	Nucleotide-sugar transporter family protein
HORVU5Hr1G068280	2,22	unknown protein
HORVU5Hr1G088570	2,22	unknown function
HORVU3Hr1G014050	2,22	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU5Hr1G034770	2,21	Ribosomal protein S3 family protein
HORVU1Hr1G064700	2,21	beta-hexosaminidase 3
HORVU6Hr1G082350	2,21	Chaperone protein DnaJ
HORVU2Hr1G013210	2,21	Pectate lyase family protein

HORVU2Hr1G028260	2,21	DNAJ heat shock N-terminal domain-containing protein
HORVU5Hr1G093400	2,21	kinase interacting (KIP1-like) family protein
HORVU2Hr1G086920	2,21	Major facilitator superfamily protein
HORVU4Hr1G068760	2,20	Hexosyltransferase
HORVU5Hr1G061870	2,20	Ribosome production factor 2 homolog
HORVU0Hr1G004150	2,20	undescribed protein
HORVU7Hr1G009610	2,20	oligopeptide transporter 7
HORVU4Hr1G054880	2,20	WD repeat-containing protein 43
HORVU1Hr1G048760	2,20	ARM repeat superfamily protein
HORVU2Hr1G058260	2,20	Polyketide cyclase/dehydrase and lipid transport superfamily protein
HORVU5Hr1G059070	2,19	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G112280	2,19	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 32
HORVU6Hr1G087000	2,19	Heparanase-like protein 3
HORVU4Hr1G018640	2,19	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein
HORVU4Hr1G018660	2,19	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein
HORVU2Hr1G100620	2,18	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G068200	2,18	Remorin family protein
HORVU6Hr1G074540	2,18	Phospholipid--sterol O-acyltransferase
HORVU1Hr1G081320	2,17	WD repeat-containing protein 55
HORVU6Hr1G057770	2,17	Protein ROOT HAIR DEFECTIVE 3 homolog 2
HORVU2Hr1G078350	2,17	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase
HORVU2Hr1G014580	2,17	eukaryotic translation initiation factor 2 alpha subunit
HORVU6Hr1G067300	2,16	GCN5-related N-acetyltransferase-like
HORVU3Hr1G099680	2,16	CASP-like protein 16
HORVU4Hr1G054500	2,16	Protein of unknown function (DUF3511)
HORVU2Hr1G081740	2,16	Small nuclear ribonucleoprotein family protein
HORVU5Hr1G018660	2,16	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3
HORVU4Hr1G077850	2,16	MADS-box transcription factor 47
HORVU1Hr1G065250	2,15	Potassium channel AKT2
HORVU6Hr1G050750	2,15	Cellulose synthase family protein
HORVU2Hr1G010870	2,15	40S ribosomal protein S6
HORVU4Hr1G064230	2,14	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
HORVU4Hr1G057100	2,14	Nucleotide-sugar transporter family protein
HORVU5Hr1G113810	2,14	Hsp70 nucleotide exchange factor fes1
HORVU4Hr1G050700	2,14	Receptor-like protein kinase
HORVU7Hr1G084500	2,14	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU7Hr1G106150	2,13	Elongation factor 2
HORVU6Hr1G025280	2,13	Arabinose 5-phosphate isomerase GutQ
HORVU7Hr1G082910	2,13	Elongation factor G 1
HORVU4Hr1G063180	2,13	Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 2
HORVU4Hr1G058360	2,13	60S ribosomal protein L15
HORVU6Hr1G041650	2,13	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 7
HORVU6Hr1G052600	2,13	60S ribosomal protein L6
HORVU6Hr1G027620	2,13	tubulin beta chain 2
HORVU7Hr1G028050	2,12	30S ribosomal protein S10
HORVU6Hr1G052500	2,12	serine/threonine protein kinase 2
HORVU5Hr1G060070	2,11	unknown function
HORVU3Hr1G018880	2,11	Ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase family member 1
HORVU3Hr1G015190	2,11	30S ribosomal protein S7
HORVU2Hr1G022350	2,11	UDP-N-acetylglucosamine--dolichyl-phosphate N-acetylglucosaminephosphotransferase
HORVU5Hr1G082890	2,10	MATE efflux family protein
HORVU3Hr1G080660	2,10	WUSCHEL related homeobox 13
HORVU1Hr1G074960	2,10	G-box binding factor 4
HORVU3Hr1G090050	2,10	Zinc-binding dehydrogenase family protein
HORVU4Hr1G014100	2,09	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B
HORVU2Hr1G025780	2,09	Trafficking protein particle complex subunit 3
HORVU5Hr1G104720	2,09	30S ribosomal protein S13
HORVU2Hr1G082940	2,09	Surfeit locus protein 2 (SURF2)
HORVU6Hr1G031340	2,09	Protein of unknown function (DUF581)
HORVU4Hr1G079310	2,09	Cyclin-dependent kinases regulatory subunit 1
HORVU3Hr1G081180	2,09	expansin A1
HORVU4Hr1G009040	2,09	Histone H2B.1
HORVU6Hr1G087190	2,09	Histone H2B.2
HORVU0Hr1G038620	2,08	ATP-dependent DNA helicase 2 subunit KU80
HORVU7Hr1G109180	2,08	VACUOLAR SORTING RECEPTOR 6
HORVU6Hr1G070900	2,08	microtubule-associated protein 65-2

HORVU7Hr1G119590	2,08	Clathrin light chain protein
HORVU2Hr1G023710	2,08	SNARE associated Golgi protein family
HORVU5Hr1G123490	2,08	Protein BCCIP homolog
HORVU1Hr1G028330	2,08	tRNA N6-adenosine threonylcarbamoyltransferase
HORVU6Hr1G082880	2,07	Ethylene-responsive transcription factor 1
HORVU4Hr1G014130	2,07	40S ribosomal protein S27
HORVU1Hr1G047560	2,07	MADS-box transcription factor 14
HORVU5Hr1G095630	2,07	MADS-box transcription factor 14
HORVU0Hr1G006240	2,07	unknown function
HORVU3Hr1G014120	2,07	unknown function
HORVU5Hr1G106460	2,07	Diphosphomevalonate decarboxylase
HORVU7Hr1G045090	2,07	Protein transport protein SFT2
HORVU2Hr1G030640	2,07	calmodulin 5
HORVU4Hr1G083840	2,07	50S ribosomal protein L14
HORVU4Hr1G008740	2,06	Plant protein of unknown function (DUF946)
HORVU6Hr1G090070	2,06	60S ribosomal protein L37-2
HORVU2Hr1G064080	2,06	receptor-like protein kinase 2
HORVU1Hr1G083390	2,06	Coffea canephora DH200=94 genomic scaffold, scaffold_24
HORVU6Hr1G061270	2,06	Aldehyde dehydrogenase family 3 member F1
HORVU5Hr1G051790	2,06	Trafficking protein particle complex subunit 6B
HORVU4Hr1G002240	2,06	Outward rectifying potassium channel protein
HORVU5Hr1G053560	2,06	serine/threonine protein phosphatase 2A
HORVU6Hr1G022380	2,06	Apoptosis-inducing factor homolog A
HORVU4Hr1G078610	2,06	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim17/Tim22/Tim23 family protein
HORVU3Hr1G071550	2,06	Heat stress transcription factor A-4b
HORVU4Hr1G062080	2,05	Cytochrome c oxidase biogenesis protein Cmc1-like
HORVU1Hr1G073840	2,05	ferredoxin 3
HORVU4Hr1G062630	2,05	Phosphomevalonate kinase
HORVU2Hr1G086990	2,05	Transmembrane protein 184C
HORVU7Hr1G077900	2,05	Transmembrane protein 18
HORVU7Hr1G077910	2,05	Transmembrane protein 18
HORVU1Hr1G014950	2,05	Trihelix transcription factor GT-3a
HORVU2Hr1G085730	2,05	HIV Tat-specific factor 1 homolog
HORVU2Hr1G110740	2,05	Protein UXT homolog
HORVU6Hr1G009400	2,04	60S ribosomal protein L13-1
HORVU0Hr1G003110	2,04	unknown function
HORVU1Hr1G075550	2,04	ATP-dependent 6-phosphofructokinase 3
HORVU7Hr1G027710	2,04	Protein ecdysoneless homolog
HORVU1Hr1G045160	2,04	unknown function
HORVU7Hr1G000480	2,04	Nucleic acid-binding, OB-fold-like protein
HORVU3Hr1G029160	2,04	Alpha-1,2-mannosyltransferase ALG9
HORVU7Hr1G079310	2,04	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU2Hr1G080350	2,04	Transmembrane amino acid transporter family protein
HORVU2Hr1G038740	2,03	Aquaporin-like superfamily protein
HORVU2Hr1G005180	2,03	unknown function
HORVU2Hr1G115630	2,03	Programmed cell death protein 2-like
HORVU3Hr1G019440	2,03	Pollen-specific protein SF21
HORVU3Hr1G093350	2,03	selenium-binding protein 1
HORVU2Hr1G010440	2,03	acetyl-CoA carboxylase 2
HORVU4Hr1G014110	2,03	endonuclease III 2
HORVU2Hr1G099230	2,03	40S ribosomal protein S11
HORVU2Hr1G025020	2,03	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU6Hr1G031590	2,03	Choline-phosphate cytidylyltransferase 1
HORVU5Hr1G054250	2,03	THO complex subunit 3
HORVU5Hr1G071280	2,02	RING/U-box superfamily protein
HORVU2Hr1G041800	2,02	Protein of unknown function (DUF810)
HORVU5Hr1G072490	2,02	lipid-binding serum glycoprotein family protein
HORVU1Hr1G055300	2,02	calcineurin B-like protein 1
HORVU4Hr1G020000	2,02	receptor-like protein kinase 4
HORVU0Hr1G023290	2,02	60S ribosomal protein L30
HORVU1Hr1G068640	2,02	60S ribosomal protein L30
HORVU3Hr1G080130	2,02	60S ribosomal protein L24
HORVU3Hr1G111650	2,01	Progesterone 5 beta reductase
HORVU6Hr1G012570	2,01	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase
HORVU2Hr1G089310	2,01	myb domain protein 15
HORVU4Hr1G064720	2,01	Deoxymugineic acid synthase1

HORVU4Hr1G055880	2,01	ubiquitin activating enzyme 2
HORVU3Hr1G089480	2,01	sister chromatid cohesion 1 protein 4
HORVU4Hr1G010650	2,01	Endoplasmic oxidoreductin-1
HORVU1Hr1G048000	2,01	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein
HORVU6Hr1G060700	2,01	Remorin family protein
HORVU1Hr1G053050	2,00	undescribed protein
HORVU6Hr1G065360	2,00	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU1Hr1G031370	2,00	tRNA pseudouridine synthase A 1
HORVU7Hr1G041300	2,00	Protein TIFY 11e
HORVU2Hr1G085000	2,00	B-box zinc finger family protein

Aneks 8. Geny o specyficznie obniżonej ekspresji u *hvabi5.d* po redukcji wilgotności w glebie (15 DAS) (krotność zmiany (FC) ≥ 2; P ≤ 0,05 po poprawce FDR).

Identyfikator genu	Krotność zmiany	Charakterystyka funkcji białka
HORVU4Hr1G081330	-24,76	Boron transporter 4
HORVU3Hr1G088850	-19,46	Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.2
HORVU2Hr1G107250	-19,41	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU3Hr1G095070	-17,40	unknown protein
HORVU5Hr1G098920	-15,61	Pectin acetylesterase 9
HORVU2Hr1G122920	-14,27	Polyadenylate-binding protein 8
HORVU1Hr1G071430	-13,51	unknown function
HORVU2Hr1G109120	-13,19	Beta-fructofuranosidase, insoluble isoenzyme 7
HORVU2Hr1G118570	-9,25	Aluminium induced protein with YGL and LRDR motifs
HORVU2Hr1G093670	-9,05	PH01B001I13.17 protein
HORVU2Hr1G118740	-8,74	allantoinase
HORVU1Hr1G075570	-8,71	profilin 5
HORVU1Hr1G075600	-8,71	profilin 5
HORVU1Hr1G043820	-8,54	alpha-galactosidase 2
HORVU1Hr1G090070	-8,06	early nodulin-like protein 14
HORVU5Hr1G092620	-7,99	undescribed protein
HORVU4Hr1G031590	-7,96	Receptor like protein kinase S.2
HORVU2Hr1G102110	-7,93	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
HORVU7Hr1G008050	-7,59	Receptor-like protein kinase
HORVU7Hr1G021630	-7,56	GDSL esterase/lipase
HORVU1Hr1G059540	-7,42	metallothionein 2A
HORVU7Hr1G044740	-7,06	undescribed protein
HORVU7Hr1G054220	-7,03	MADS-box transcription factor 7
HORVU2Hr1G008250	-7,03	pumilio 2
HORVU7Hr1G077680	-6,98	BnaA08g21000D protein
HORVU3Hr1G007380	-6,74	16.9 kDa class I heat shock protein 2
HORVU2Hr1G099540	-6,65	terpene synthase 04
HORVU3Hr1G111150	-6,64	Glutathione S-transferase family protein
HORVU6Hr1G069280	-6,56	uridine kinase-like 4
HORVU7Hr1G106480	-6,53	NAC domain containing protein 1
HORVU7Hr1G010740	-6,46	Protein kinase family protein
HORVU7Hr1G111930	-6,42	GDSL esterase/lipase
HORVU1Hr1G013870	-6,39	Peptide-N4-(N-acetyl-beta-glucosaminyl)asparagine amidase A protein
HORVU6Hr1G000230	-6,35	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
HORVU3Hr1G083330	-6,34	NAC domain containing protein 75
HORVU3Hr1G069280	-6,25	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU4Hr1G087050	-6,24	Pollen allergen Phl p 2
HORVU3Hr1G104940	-6,15	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU2Hr1G096070	-6,13	CYCLIN B2
HORVU4Hr1G088140	-6,06	expansin B2
HORVU3Hr1G060930	-6,02	Peroxidase superfamily protein
HORVU3Hr1G065950	-6,02	Peroxidase superfamily protein
HORVU7Hr1G100450	-5,94	Histone superfamily protein
HORVU2Hr1G049570	-5,88	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase
HORVU1Hr1G073010	-5,77	unknown function
HORVU6Hr1G087520	-5,75	Two-component response regulator-like APRR2
HORVU6Hr1G072160	-5,72	FASCICLIN-like arabinogalactan 1
HORVU2Hr1G120200	-5,68	BTB/POZ domain-containing protein
HORVU1Hr1G035080	-5,68	Protein of unknown function, DUF593
HORVU4Hr1G083590	-5,67	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G052270	-5,66	Protein of unknown function (DUF1666)
HORVU2Hr1G113460	-5,66	Cysteine proteinases superfamily protein
HORVU1Hr1G073820	-5,63	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 14
HORVU1Hr1G087010	-5,63	purple acid phosphatase 27
HORVU4Hr1G064770	-5,62	Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.3
HORVU2Hr1G114590	-5,50	Synaptotagmin-5
HORVU5Hr1G027710	-5,50	IAA-amino acid hydrolase ILR1-like 7
HORVU3Hr1G110440	-5,47	Serine/threonine-protein kinase

HORVU6Hr1G008970	-5,46	YELLOW STRIPE like 7
HORVU5Hr1G080860	-5,43	UDP-glucose 4-epimerase 3
HORVU7Hr1G099370	-5,42	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU7Hr1G001700	-5,37	Rp1-like protein
HORVU1Hr1G091890	-5,35	mitogen-activated protein kinase 16
HORVU4Hr1G026640	-5,33	calcium-dependent protein kinase 17
HORVU2Hr1G093230	-5,31	GATA transcription factor 27
HORVU0Hr1G010890	-5,30	Coatomer, alpha subunit
HORVU3Hr1G010980	-5,28	rRNA N-glycosidase
HORVU7Hr1G002600	-5,26	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
HORVU3Hr1G068560	-5,26	unknown function
HORVU7Hr1G114030	-5,26	Protein HASTY 1
HORVU2Hr1G126040	-5,22	NAC domain containing protein 76
HORVU5Hr1G021130	-5,21	unknown function
HORVU1Hr1G049070	-5,21	Glutathione S-transferase family protein
HORVU1Hr1G049090	-5,21	Glutathione S-transferase family protein
HORVU6Hr1G006840	-5,20	unknown function
HORVU5Hr1G079500	-5,20	sister chromatid cohesion 1 protein 4
HORVU3Hr1G028240	-5,17	Transcription factor TCP4
HORVU5Hr1G073740	-5,16	dihydroflavonol 4-reductase-like1
HORVU5Hr1G065670	-5,16	Gibberellin-regulated family protein
HORVU1Hr1G072430	-5,11	myb domain protein 3r-5
HORVU2Hr1G104660	-5,10	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU6Hr1G000040	-5,09	Caffeic acid 3-O-methyltransferase
HORVU7Hr1G039800	-5,03	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein
HORVU1Hr1G038130	-5,03	CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein
HORVU3Hr1G010190	-5,03	B3 domain-containing transcription factor NGA2
HORVU4Hr1G020070	-5,03	Putative serine esterase family protein
HORVU7Hr1G018290	-5,02	undescribed protein
HORVU4Hr1G023260	-5,01	BTB/POZ domain-containing protein
HORVU5Hr1G085700	-4,99	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
HORVU1Hr1G064110	-4,99	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G066650	-4,99	Glutenin, high molecular weight subunit 12
HORVU5Hr1G067650	-4,99	LysM domain-containing GPI-anchored protein 1
HORVU1Hr1G068550	-4,98	unknown function
HORVU1Hr1G000660	-4,96	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G075510	-4,95	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 13
HORVU4Hr1G080350	-4,94	phosphate transporter 1
HORVU3Hr1G112270	-4,92	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G101710	-4,91	unknown function
HORVU1Hr1G056010	-4,90	sugar transporter 1
HORVU6Hr1G010550	-4,89	undescribed protein
HORVU2Hr1G107180	-4,88	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU6Hr1G044170	-4,88	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU4Hr1G053850	-4,88	Nicotianamine synthase 8
HORVU1Hr1G003370	-4,87	Caffeic acid 3-O-methyltransferase
HORVU3Hr1G111080	-4,87	Alpha-amylase/subtilisin inhibitor
HORVU3Hr1G033560	-4,84	Carboxypeptidase Y homolog A
HORVU0Hr1G020350	-4,84	Nucleotide/sugar transporter family protein
HORVU6Hr1G067580	-4,83	Two-component response regulator ORR21
HORVU7Hr1G109140	-4,80	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
HORVU1Hr1G016630	-4,80	RNA polymerase II subunit B1 CTD phosphatase Rpap2
HORVU1Hr1G090210	-4,80	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G055180	-4,78	Transcription factor bHLH137
HORVU7Hr1G090350	-4,78	ABC transporter G family member 26
HORVU0Hr1G031070	-4,77	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU0Hr1G032250	-4,77	Disease resistance protein
HORVU1Hr1G068200	-4,77	disease resistance family protein / LRR family protein
HORVU7Hr1G091450	-4,76	DNA repair (Rad51) family protein
HORVU1Hr1G064020	-4,76	GDSL esterase/lipase
HORVU3Hr1G096990	-4,75	zinc finger homeodomain 1
HORVU4Hr1G049830	-4,71	ATP-dependent DNA helicase MER3 homolog
HORVU5Hr1G009110	-4,68	BTB/POZ domain-containing protein
HORVU1Hr1G038120	-4,68	CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein
HORVU7Hr1G012680	-4,67	caffeoyl-CoA 3-O-methyltransferase

HORVU4Hr1G069320	-4,66	Divalent metal cation transporter MntH
HORVU5Hr1G050270	-4,63	Cyclin-D3-2
HORVU3Hr1G054870	-4,63	E3 ubiquitin-protein ligase Arkadia
HORVU6Hr1G022370	-4,63	RING/U-box superfamily protein
HORVU4Hr1G010740	-4,62	undescribed protein
HORVU5Hr1G016910	-4,60	unknown function
HORVU3Hr1G092690	-4,60	B3 domain-containing transcription factor ABI3
HORVU4Hr1G082770	-4,59	polyol/monosaccharide transporter 5
HORVU7Hr1G057760	-4,59	Protein of unknown function (DUF630 and DUF632)
HORVU5Hr1G053220	-4,59	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM22
HORVU1Hr1G040670	-4,58	Phosphoribosylformylglycinamidine synthase
HORVU1Hr1G080070	-4,58	Phosphoribosylformylglycinamidine synthase
HORVU5Hr1G075330	-4,58	Type I inositol polyphosphate 5-phosphatase 12
HORVU5Hr1G016350	-4,57	DA1
HORVU3Hr1G023160	-4,57	tRNA (guanine(10)-N2)-methyltransferase homolog
HORVU1Hr1G072470	-4,56	laccase 17
HORVU4Hr1G010200	-4,56	Calcium-transporting ATPase
HORVU3Hr1G022000	-4,55	embryo defective 2410
HORVU4Hr1G020580	-4,54	unknown function
HORVU2Hr1G098680	-4,52	APO protein 1, chloroplastic
HORVU2Hr1G098720	-4,52	APO protein 1, chloroplastic
HORVU5Hr1G106370	-4,52	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G076400	-4,48	MADS-box transcription factor 8
HORVU6Hr1G030600	-4,48	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein
HORVU3Hr1G069210	-4,47	NifS-like protein
HORVU7Hr1G043320	-4,46	FASCICLIN-like arabinogalactan 1
HORVU1Hr1G045790	-4,45	unknown function
HORVU2Hr1G096810	-4,43	Myc-like anthocyanin regulatory protein
HORVU3Hr1G077740	-4,41	DNA replication complex GINS protein PSF3
HORVU4Hr1G062940	-4,41	Calcium-binding EF-hand family protein
HORVU1Hr1G065120	-4,41	histidine kinase 5
HORVU2Hr1G099870	-4,40	Late embryogenesis abundant protein (LEA) family protein
HORVU5Hr1G067810	-4,40	Prolyl oligopeptidase family protein
HORVU2Hr1G091360	-4,39	receptor kinase 2
HORVU6Hr1G089180	-4,38	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
HORVU5Hr1G103900	-4,38	Glutamate carboxypeptidase 2
HORVU1Hr1G080460	-4,37	Type IV inositol polyphosphate 5-phosphatase 3
HORVU6Hr1G078330	-4,36	alpha-amylase-like
HORVU6Hr1G078420	-4,36	alpha-amylase-like
HORVU1Hr1G091210	-4,34	N-terminal protein myristoylation
HORVU1Hr1G072100	-4,34	zinc-finger protein 3
HORVU5Hr1G081360	-4,34	Undecaprenyl-phosphate 4-deoxy-4-formamido-L-arabinose transferase
HORVU4Hr1G054120	-4,34	xyloglucan xylosyltransferase 5
HORVU3Hr1G088590	-4,32	synaptosomal-associated protein SNAP25-like 29
HORVU2Hr1G045680	-4,32	unknown function
HORVU5Hr1G095120	-4,31	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU7Hr1G002940	-4,31	Mitochondrial transcription termination factor-like
HORVU1Hr1G087800	-4,30	Beta purothionin
HORVU4Hr1G026960	-4,29	methyl esterase 3
HORVU2Hr1G080490	-4,28	MADS-box transcription factor 27
HORVU7Hr1G089930	-4,27	Ethylene-responsive transcription factor 1
HORVU7Hr1G081260	-4,27	Cysteine proteinase inhibitor 8
HORVU6Hr1G023210	-4,27	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU2Hr1G094200	-4,23	undescribed protein
HORVU2Hr1G018430	-4,22	Peroxidase superfamily protein
HORVU2Hr1G068010	-4,21	Alcohol dehydrogenase
HORVU5Hr1G008950	-4,21	Metallo-hydrolase/oxidoreductase superfamily protein
HORVU2Hr1G085520	-4,21	Protein of unknown function, DUF642
HORVU7Hr1G049390	-4,21	Nuclear factor related to kappa-B-binding protein
HORVU1Hr1G073670	-4,21	Histone superfamily protein
HORVU2Hr1G116910	-4,18	diacylglycerol kinase 5
HORVU3Hr1G072850	-4,17	Potassium channel KAT3
HORVU2Hr1G116880	-4,17	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G021590	-4,16	Glycogen synthase
HORVU4Hr1G060440	-4,16	Digalactosyldiacylglycerol synthase 2, chloroplastic
HORVU4Hr1G001680	-4,16	Histidine-containing phosphotransfer protein 2
HORVU4Hr1G013660	-4,16	calcium-transporting ATPase, putative

HORVU7Hr1G040740	-4,15	Cysteine-rich venom protein
HORVU4Hr1G088020	-4,14	Protein NRT1/ PTR FAMILY 6.3
HORVU5Hr1G047470	-4,14	Kelch-like protein 1
HORVU2Hr1G091880	-4,14	Vacuolar-processing enzyme
HORVU2Hr1G000280	-4,14	cysteine synthase C1
HORVU2Hr1G108420	-4,14	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 9
HORVU2Hr1G008980	-4,14	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein
HORVU7Hr1G010310	-4,14	F-box family protein
HORVU7Hr1G080040	-4,14	F-box family protein
HORVU5Hr1G094140	-4,12	BTB/POZ domain-containing protein
HORVU2Hr1G093490	-4,11	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase family protein
HORVU5Hr1G067530	-4,11	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase 1
HORVU1Hr1G004120	-4,11	Chymotrypsin inhibitor
HORVU1Hr1G012170	-4,11	Chymotrypsin inhibitor
HORVU5Hr1G059720	-4,11	BTB/POZ domain-containing protein 9
HORVU7Hr1G017620	-4,10	Flavin-containing monooxygenase family protein
HORVU2Hr1G088390	-4,08	unknown function
HORVU4Hr1G021790	-4,08	BED zinc finger family protein, expressed
HORVU5Hr1G039590	-4,08	BED zinc finger family protein, expressed
HORVU7Hr1G071870	-4,07	Lipid A export ATP-binding/permease protein MsbA
HORVU7Hr1G095310	-4,07	undescribed protein
HORVU3Hr1G075330	-4,06	General transcription factor IIF subunit 2
HORVU5Hr1G056870	-4,06	3-ketoacyl-CoA synthase 17
HORVU5Hr1G044550	-4,06	calcium-dependent protein kinase 17
HORVU4Hr1G003610	-4,06	MADS-box transcription factor family protein
HORVU2Hr1G033730	-4,06	Proteasome maturation factor UMP1 family protein
HORVU7Hr1G023610	-4,06	F-box protein MAX2
HORVU2Hr1G092980	-4,05	cationic amino acid transporter 6
HORVU4Hr1G012170	-4,05	B3 domain-containing protein
HORVU0Hr1G018910	-4,03	undescribed protein
HORVU0Hr1G034480	-4,03	Translation initiation factor IF-1, chloroplastic
HORVU0Hr1G037630	-4,03	Translation initiation factor IF-1, chloroplastic
HORVU5Hr1G064980	-4,03	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU5Hr1G064990	-4,03	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU7Hr1G065920	-4,03	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU5Hr1G089270	-4,02	Receptor-like protein kinase
HORVU6Hr1G091770	-4,02	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 8
HORVU1Hr1G092550	-4,02	LRR receptor-like serine/threonine-protein kinase GSO2
HORVU2Hr1G084600	-4,02	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU4Hr1G070120	-4,01	unknown function
HORVU2Hr1G093100	-4,00	Protein kinase superfamily protein
HORVU6Hr1G060420	-4,00	Pentatricopeptide repeat (PPR) superfamily protein
HORVU3Hr1G025810	-4,00	serine/threonine protein kinase 1
HORVU3Hr1G038700	-3,99	myb domain protein 56
HORVU5Hr1G036360	-3,99	trehalose phosphate synthase
HORVU2Hr1G017300	-3,98	thioredoxin F2
HORVU2Hr1G017310	-3,98	thioredoxin F2
HORVU5Hr1G038840	-3,97	pumilio 7
HORVU3Hr1G021460	-3,97	undescribed protein
HORVU2Hr1G092810	-3,95	YELLOW STRIPE like 3
HORVU4Hr1G062120	-3,94	Rho GTPase-activating protein 6
HORVU3Hr1G115650	-3,93	pectinesterase 11
HORVU6Hr1G060580	-3,93	LIM domain-containing protein 2
HORVU3Hr1G093030	-3,93	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G093040	-3,93	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G018340	-3,93	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G110480	-3,92	MutL-like protein 1
HORVU6Hr1G037950	-3,92	Mitochondrial substrate carrier family protein
HORVU2Hr1G117790	-3,92	Protein kinase superfamily protein
HORVU2Hr1G117870	-3,92	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G011660	-3,91	receptor kinase 2
HORVU6Hr1G023100	-3,91	receptor-like protein kinase 1
HORVU7Hr1G040840	-3,91	undescribed protein
HORVU4Hr1G011420	-3,91	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU1Hr1G004200	-3,90	pumilio 3
HORVU5Hr1G114090	-3,90	Urease subunit alpha
HORVU2Hr1G071710	-3,90	tyrosyl-DNA phosphodiesterase-related

HORVU2Hr1G111790	-3,89	receptor-like protein kinase 4
HORVU2Hr1G030190	-3,89	receptor kinase 2
HORVU7Hr1G007000	-3,89	Argonaute family protein
HORVU3Hr1G062030	-3,89	ROP guanine nucleotide exchange factor 5
HORVU3Hr1G062520	-3,88	Metal ion binding protein, putative, expressed
HORVU0Hr1G023910	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU0Hr1G023990	-3,87	Protein TAR1
HORVU0Hr1G033370	-3,87	Protein TAR1
HORVU1Hr1G023650	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU2Hr1G039190	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU2Hr1G039320	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU2Hr1G039390	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU2Hr1G123580	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU3Hr1G056130	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU4Hr1G025450	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU4Hr1G025540	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU5Hr1G012990	-3,87	Protein TAR1
HORVU5Hr1G015700	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU5Hr1G043920	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU5Hr1G043930	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU5Hr1G076970	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU6Hr1G024050	-3,87	Protein TAR1
HORVU6Hr1G055770	-3,87	Senescence-associated protein
HORVU7Hr1G053570	-3,87	Protein TAR1
HORVU4Hr1G058650	-3,87	kinesin-like protein 1
HORVU5Hr1G098980	-3,86	HAD-superfamily hydrolase, subfamily IG, 5'-nucleotidase
HORVU4Hr1G067840	-3,86	GDP-mannose transporter GONST3
HORVU3Hr1G083090	-3,86	polypyrimidine tract-binding protein 3
HORVU3Hr1G084800	-3,86	cell division control 6
HORVU1Hr1G035360	-3,84	sugar transporter 6
HORVU1Hr1G094610	-3,84	undescribed protein
HORVU3Hr1G085660	-3,84	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily protein
HORVU1Hr1G038950	-3,83	beta-amylase 1
HORVU3Hr1G008430	-3,83	lipid phosphate phosphatase 3
HORVU3Hr1G011800	-3,81	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G058090	-3,81	Rhamnogalacturonate lyase family protein
HORVU1Hr1G065030	-3,81	F-box family protein
HORVU5Hr1G089840	-3,81	receptor kinase 3
HORVU5Hr1G075670	-3,80	Chymotrypsin inhibitor
HORVU4Hr1G087750	-3,80	AT-hook motif nuclear-localized protein 1
HORVU2Hr1G023390	-3,79	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] synthase 2
HORVU6Hr1G079630	-3,78	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 10
HORVU1Hr1G053990	-3,78	Protein NRT1/ PTR FAMILY 6.3
HORVU7Hr1G001540	-3,78	Rp1-like protein
HORVU7Hr1G075720	-3,78	IQ-domain 17
HORVU3Hr1G026010	-3,78	Peroxidase superfamily protein
HORVU4Hr1G051610	-3,77	RING/U-box superfamily protein
HORVU6Hr1G095190	-3,76	Glycosyltransferase family 61 protein
HORVU1Hr1G050760	-3,76	Inositol-tetrakisphosphate 1-kinase 1
HORVU3Hr1G079260	-3,76	Ribonuclease 3
HORVU3Hr1G110200	-3,75	PLATZ transcription factor family protein
HORVU5Hr1G045690	-3,75	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein
HORVU6Hr1G060440	-3,75	E3 ubiquitin-protein ligase RMA1H1
HORVU6Hr1G005140	-3,74	undescribed protein
HORVU2Hr1G006470	-3,73	disease resistance family protein / LRR family protein
HORVU5Hr1G062200	-3,73	exocyst subunit exo70 family protein D1
HORVU5Hr1G092910	-3,72	expansin B4
HORVU1Hr1G035990	-3,72	Protein FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1
HORVU1Hr1G053780	-3,72	FAR1-related sequence 5
HORVU1Hr1G069150	-3,72	FAR1-related sequence 5
HORVU2Hr1G015900	-3,72	Protein FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1
HORVU2Hr1G048210	-3,72	unknown function
HORVU2Hr1G049590	-3,72	Protein FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1
HORVU2Hr1G058770	-3,72	unknown function
HORVU4Hr1G018910	-3,72	Protein FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1
HORVU5Hr1G007640	-3,72	unknown function
HORVU5Hr1G061380	-3,72	unknown function

HORVU5Hr1G096590	-3,72	Protein FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1
HORVU5Hr1G096740	-3,72	Protein FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1
HORVU6Hr1G009740	-3,72	Protein FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1
HORVU7Hr1G012510	-3,72	unknown function
HORVU7Hr1G109150	-3,72	Protein FAR-RED IMPAIRED RESPONSE 1
HORVU1Hr1G031230	-3,72	ferrochelatase 2
HORVU2Hr1G013170	-3,72	2-oxoglutarate dehydrogenase, E1 component
HORVU7Hr1G051000	-3,72	Leucine-rich repeat (LRR) family protein
HORVU7Hr1G054660	-3,71	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G094190	-3,71	BTB/POZ domain-containing protein
HORVU4Hr1G022680	-3,71	PAP/OAS1 substrate-binding domain superfamily
HORVU7Hr1G000820	-3,70	WD repeat-containing protein 89 homolog
HORVU2Hr1G041080	-3,70	sugar transporter 1
HORVU5Hr1G020350	-3,70	Coatomer subunit delta-3
HORVU4Hr1G062460	-3,70	FAR1-related sequence 5
HORVU1Hr1G080900	-3,69	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU4Hr1G075410	-3,69	unknown function
HORVU3Hr1G015620	-3,69	Ypt/Rab-GAP domain of gyp1p superfamily protein
HORVU7Hr1G074520	-3,69	Protein of unknown function (DUF3537)
HORVU6Hr1G001160	-3,69	receptor-like protein kinase 4
HORVU0Hr1G010910	-3,68	NifU-like protein 4, mitochondrial
HORVU5Hr1G036930	-3,68	NifU-like protein 4, mitochondrial
HORVU2Hr1G024550	-3,68	Mitochondrial ubiquitin ligase activator of NFKB 1
HORVU7Hr1G042960	-3,68	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 21
HORVU3Hr1G105110	-3,67	undescribed protein
HORVU4Hr1G067620	-3,67	Vacuolar ATPase assembly integral membrane protein VMA21-like domain
HORVU7Hr1G101550	-3,67	unknown function
HORVU6Hr1G024700	-3,66	undescribed protein
HORVU4Hr1G007420	-3,66	Zinc finger protein CONSTANS-LIKE 16
HORVU3Hr1G017490	-3,65	P0028E10.10 protein
HORVU6Hr1G038500	-3,65	Sterol 3-beta-glucosyltransferase
HORVU7Hr1G026400	-3,65	serine/threonine protein phosphatase 2A
HORVU0Hr1G039310	-3,65	Protein of Unknown Function (DUF239)
HORVU7Hr1G040080	-3,65	NAD(P)-linked oxidoreductase superfamily protein
HORVU6Hr1G065210	-3,65	transcription factor-related
HORVU3Hr1G115170	-3,65	WD-40 repeat family protein
HORVU5Hr1G020960	-3,65	RNA-binding protein 1
HORVU2Hr1G007170	-3,65	Disease resistance protein
HORVU5Hr1G057080	-3,64	HAD-superfamily hydrolase, subfamily IG, 5'-nucleotidase
HORVU3Hr1G078780	-3,64	Ribosomal protein L34
HORVU5Hr1G120480	-3,64	Zinc finger MYND domain-containing protein 15
HORVU5Hr1G075200	-3,63	unknown protein
HORVU2Hr1G029110	-3,63	B3 domain-containing protein
HORVU3Hr1G052400	-3,63	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G015110	-3,63	replication factor C subunit 3
HORVU5Hr1G068440	-3,63	Protein WEAK CHLOROPLAST MOVEMENT UNDER BLUE LIGHT 1
HORVU6Hr1G010200	-3,62	receptor-like protein kinase 4
HORVU6Hr1G084740	-3,61	Cytochrome c oxidase copper chaperone 2
HORVU5Hr1G095710	-3,61	MADS-box transcription factor 34
AGP50789	-3,61	-
AGP50790	-3,61	-
AGP50791	-3,61	-
HORVU2Hr1G062240	-3,61	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU6Hr1G073020	-3,61	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU5Hr1G092840	-3,60	DNA-directed RNA polymerase family protein
HORVU2Hr1G119250	-3,60	Lipase/lipooxygenase, PLAT/LH2 family protein
HORVU2Hr1G082700	-3,60	NAD(P)-linked oxidoreductase superfamily protein
HORVU7Hr1G012380	-3,60	Starch synthase 2, chloroplastic/amyloplastic
HORVU5Hr1G114630	-3,60	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU4Hr1G078710	-3,60	pumilio 7
HORVU3Hr1G073470	-3,59	Protein tesmin/TSO1-like CXC 5
HORVU3Hr1G031690	-3,59	Ribonuclease Z 1
HORVU1Hr1G020240	-3,59	NBS-LRR disease resistance protein homologue
HORVU5Hr1G089620	-3,59	receptor kinase 2
HORVU6Hr1G020380	-3,59	Galactokinase
HORVU6Hr1G037630	-3,59	AT-hook motif nuclear-localized protein 22
HORVU6Hr1G037640	-3,59	AT-hook motif nuclear-localized protein 22

HORVU2Hr1G105650	-3,59	undescribed protein
HORVU6Hr1G011790	-3,58	serine/threonine protein kinase 2
HORVU6Hr1G057490	-3,58	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU1Hr1G054620	-3,58	SH2 domain protein B
HORVU4Hr1G013680	-3,58	Y-family DNA polymerase H
HORVU2Hr1G091220	-3,57	E3 ubiquitin-protein ligase RMA1H1
HORVU2Hr1G037590	-3,57	DNA helicase INO80
HORVU3Hr1G070090	-3,57	unknown function
HORVU7Hr1G111140	-3,57	CASP-like protein 2C1
HORVU5Hr1G005030	-3,57	undescribed protein
HORVU5Hr1G087670	-3,56	RAD3-like DNA-binding helicase protein
HORVU1Hr1G003750	-3,56	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G030120	-3,55	histone H2A 6
HORVU4Hr1G060450	-3,55	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G033390	-3,55	Protein glycosylationmyb-like TTH transcriptional regulator
HORVU7Hr1G091390	-3,54	Peroxidase superfamily protein
HORVU2Hr1G068450	-3,54	Transmembrane amino acid transporter family protein
HORVU2Hr1G068460	-3,54	Transmembrane amino acid transporter family protein
HORVU1Hr1G063700	-3,54	DNA helicase MCM8
HORVU4Hr1G077940	-3,53	BnaA06g08630D protein
HORVU2Hr1G003720	-3,53	GDSL esterase/lipase
HORVU5Hr1G088430	-3,53	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein
HORVU3Hr1G007680	-3,52	receptor-like protein kinase 4
HORVU1Hr1G043380	-3,52	Cotton fiber expressed protein-like protein
HORVU2Hr1G105960	-3,52	Transcription factor bHLH96
HORVU5Hr1G047480	-3,52	laccase 12
HORVU5Hr1G051390	-3,52	D-aminoacyl-tRNA deacylase
HORVU2Hr1G045560	-3,52	protodermal factor 1
HORVU3Hr1G016340	-3,52	Late embryogenesis abundant protein
HORVU6Hr1G042840	-3,51	Monosaccharide-sensing protein 2
HORVU7Hr1G095850	-3,51	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G069620	-3,51	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 17
HORVU5Hr1G043640	-3,51	calcium-transporting ATPase, putative
HORVU2Hr1G116180	-3,51	soluble epoxide hydrolase
HORVU2Hr1G116250	-3,51	Epoxide hydrolase 4
HORVU5Hr1G047590	-3,51	unknown protein
HORVU4Hr1G077710	-3,51	Actinidain
HORVU6Hr1G005030	-3,50	P-loop NTPase domain-containing protein LPA1
HORVU4Hr1G061060	-3,50	Replication factor C large subunit
HORVU2Hr1G024120	-3,49	terpenoid synthase 13
HORVU1Hr1G064880	-3,49	Mitochondrial transcription termination factor family protein
HORVU2Hr1G043020	-3,49	Proteasome inhibitor-like protein
HORVU6Hr1G039270	-3,49	protein kinase family protein
HORVU5Hr1G119480	-3,49	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU1Hr1G066540	-3,49	Peroxidase superfamily protein
HORVU2Hr1G018480	-3,49	Peroxidase superfamily protein
HORVU2Hr1G044340	-3,49	Peroxidase superfamily protein
HORVU2Hr1G114410	-3,48	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G037990	-3,48	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU7Hr1G110330	-3,48	Histone H2B.10
HORVU3Hr1G004820	-3,48	ADP,ATP carrier protein 3, mitochondrial
HORVU3Hr1G028030	-3,48	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G096020	-3,47	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G012110	-3,47	Cathepsin B-like cysteine proteinase
HORVU0Hr1G023300	-3,47	Acetyltransferase NSI
HORVU1Hr1G069430	-3,47	Acetyltransferase NSI
HORVU1Hr1G069440	-3,47	Acetyltransferase NSI
HORVU3Hr1G111130	-3,47	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim16
HORVU5Hr1G104660	-3,47	Ripening related protein family
HORVU6Hr1G085430	-3,47	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU2Hr1G091030	-3,47	RNA polymerase II C-terminal domain phosphatase-like 1
HORVU3Hr1G092870	-3,46	Protein NRT1/ PTR FAMILY 2.13
HORVU2Hr1G066630	-3,46	4-coumarate--CoA ligase-like 9
HORVU5Hr1G045540	-3,46	myb domain protein 60
HORVU5Hr1G045550	-3,46	myb domain protein 60
HORVU5Hr1G004830	-3,45	ATP synthase subunit epsilon, mitochondrial
HORVU7Hr1G089230	-3,45	FAD-binding Berberine family protein

HORVU1Hr1G069060	-3,45	CCR4-NOT transcription complex subunit 2
HORVU3Hr1G035420	-3,45	ATP-dependent RNA helicase, putative
HORVU5Hr1G006880	-3,44	2-aminoethanethiol dioxygenase
HORVU4Hr1G005440	-3,44	germin-like protein 4
HORVU2Hr1G084440	-3,44	Cyclin-dependent kinase G-2
HORVU7Hr1G081420	-3,44	Ufm1-specific protease 2
HORVU2Hr1G007530	-3,44	unknown function
HORVU2Hr1G072890	-3,44	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 14
HORVU2Hr1G110680	-3,44	Molybdenum cofactor biosynthesis protein B
HORVU6Hr1G000640	-3,44	SKP1-like 4
HORVU2Hr1G127700	-3,43	Histone-lysine N-methyltransferase 2A
HORVU2Hr1G127770	-3,43	Histone-lysine N-methyltransferase 2A
HORVU1Hr1G002500	-3,43	V-type proton ATPase 16 kDa proteolipid subunit
HORVU7Hr1G045290	-3,43	aluminum-activated malate transporter 9
HORVU7Hr1G010870	-3,42	L-tyrosine decarboxylase
HORVU4Hr1G065230	-3,42	Replication protein A 32 kDa subunit B
HORVU5Hr1G056780	-3,42	Syntaxin-71
HORVU2Hr1G089210	-3,41	NAC domain protein,
HORVU7Hr1G000230	-3,40	Disease resistance protein
HORVU5Hr1G103830	-3,40	calcium dependent protein kinase 1
HORVU3Hr1G073950	-3,39	Protein of unknown function (DUF620)
HORVU2Hr1G099350	-3,39	alcohol dehydrogenase 1
HORVU5Hr1G078430	-3,39	calcium-dependent protein kinase 32
HORVU0Hr1G031750	-3,39	Cortical cell-delineating protein
HORVU7Hr1G109020	-3,39	Cortical cell-delineating protein
HORVU7Hr1G109080	-3,39	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
HORVU1Hr1G020050	-3,39	Histone superfamily protein
HORVU1Hr1G020070	-3,39	Histone superfamily protein
HORVU3Hr1G106150	-3,38	BTB/POZ domain-containing protein
HORVU6Hr1G058930	-3,38	Aquaporin PIP2-4
HORVU2Hr1G028540	-3,38	Lipase/lipooxygenase, putative isoform 3
HORVU2Hr1G022850	-3,38	Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase family protein
HORVU1Hr1G066510	-3,38	Domain of unknown function (DUF1995)
HORVU2Hr1G011510	-3,38	Proline-rich protein, putative, expressed
HORVU0Hr1G037830	-3,38	Peroxidase family protein
HORVU1Hr1G023750	-3,38	Peroxidase superfamily protein
HORVU7Hr1G086580	-3,37	protein kinase family protein
HORVU4Hr1G070240	-3,37	Histone H2B.2
HORVU2Hr1G077000	-3,37	Two-component response regulator ORR1
HORVU5Hr1G116310	-3,36	GATA transcription factor 15
HORVU7Hr1G058940	-3,36	RNA-binding protein 1
HORVU4Hr1G073610	-3,35	pectinesterase 11
HORVU4Hr1G081290	-3,34	4-coumarate:CoA ligase 5
HORVU7Hr1G114660	-3,34	Indole-3-glycerol phosphate synthase
HORVU2Hr1G102010	-3,34	Glucan endo-1,3-beta-D-glucosidase
HORVU3Hr1G090430	-3,34	undescribed protein
AGP50747	-3,34	-
HORVU1Hr1G046880	-3,34	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU6Hr1G021040	-3,34	auxin signaling F-box 3
HORVU5Hr1G047420	-3,33	F-box/LRR-repeat protein 3
HORVU2Hr1G047010	-3,33	DNA/RNA helicase protein
HORVU7Hr1G008110	-3,33	Ozone-responsive stress related protein
HORVU3Hr1G019900	-3,33	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU5Hr1G027240	-3,33	Aquaporin-like superfamily protein
HORVU7Hr1G038390	-3,32	Myb-like protein J
HORVU2Hr1G011910	-3,32	Protein of Unknown Function (DUF239)
HORVU2Hr1G018600	-3,32	transcription regulators
HORVU5Hr1G051230	-3,31	CONSTANS-like 2
HORVU6Hr1G012920	-3,31	Chloroplastic group IIA intron splicing facilitator CRS1, chloroplastic
HORVU3Hr1G012970	-3,31	Trypsin inhibitor CMe
HORVU3Hr1G013060	-3,31	Trypsin inhibitor CMe
HORVU3Hr1G033450	-3,31	kinesin 4
HORVU1Hr1G019640	-3,31	BRCT domain-containing DNA repair protein
HORVU2Hr1G113070	-3,30	Peroxidase superfamily protein
HORVU3Hr1G018110	-3,30	Protein phosphatase PTC7 homolog
HORVU4Hr1G012720	-3,30	undescribed protein

HORVU7Hr1G030080	-3,29	exocyst subunit exo70 family protein F1
HORVU0Hr1G000250	-3,29	transducin family protein / WD-40 repeat family protein
HORVU6Hr1G008320	-3,29	Histone H2B.3
HORVU4Hr1G080390	-3,29	purple acid phosphatase 10
HORVU7Hr1G116680	-3,29	translocon at inner membrane of chloroplasts 21
HORVU5Hr1G114400	-3,29	DNA-directed RNA polymerase II subunit 1
HORVU5Hr1G075770	-3,29	unknown protein
HORVU3Hr1G093140	-3,28	protein kinase family protein
HORVU1Hr1G022450	-3,27	Fatty acid oxidation complex subunit alpha
HORVU7Hr1G081740	-3,27	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 26
HORVU3Hr1G055740	-3,27	S-type anion channel SLAH2
HORVU4Hr1G027920	-3,27	GRAS family transcription factor
HORVU5Hr1G066490	-3,27	NADH dehydrogenase-like complex L
HORVU5Hr1G093260	-3,27	Charged multivesicular body protein 2a
HORVU3Hr1G030250	-3,26	unknown function
HORVU2Hr1G120620	-3,26	Peroxisome biogenesis protein 22
HORVU1Hr1G012210	-3,26	Protein of Unknown Function (DUF239)
HORVU3Hr1G092890	-3,26	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase C2
HORVU1Hr1G017800	-3,25	Histone superfamily protein
HORVU6Hr1G076600	-3,25	undescribed protein
HORVU6Hr1G077270	-3,24	LLA-115
HORVU4Hr1G088530	-3,24	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU5Hr1G083310	-3,24	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase 7
HORVU5Hr1G026770	-3,23	Dipeptidyl peptidase 9
HORVU7Hr1G101580	-3,23	Wound-responsive family protein
HORVU5Hr1G067380	-3,23	potassium transporter 1
HORVU0Hr1G025520	-3,23	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU1Hr1G068300	-3,23	Somatic embryogenesis receptor kinase 1
HORVU5Hr1G105390	-3,23	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G005490	-3,23	unknown protein
HORVU5Hr1G050890	-3,22	Octicosapeptide/Phox/Bem1p (PB1) domain-containing protein / tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein
HORVU3Hr1G068900	-3,22	MADS-box transcription factor 32
HORVU3Hr1G093400	-3,22	RNA-binding protein 1
HORVU2Hr1G025680	-3,21	Cold shock protein
HORVU7Hr1G008090	-3,21	unknown protein
HORVU7Hr1G024240	-3,20	GDSL esterase/lipase
HORVU4Hr1G051980	-3,20	unknown protein
HORVU5Hr1G077680	-3,20	High affinity cationic amino acid transporter 1
HORVU4Hr1G002800	-3,20	Globulin-2
HORVU3Hr1G076910	-3,20	Rp1-like protein
HORVU3Hr1G104070	-3,19	BRCT domain-containing DNA repair protein
HORVU4Hr1G011060	-3,19	zinc induced facilitator-like 1
HORVU5Hr1G010420	-3,19	glutamate receptor 2.7
HORVU6Hr1G056860	-3,19	Trafficking protein particle complex subunit 2
HORVU7Hr1G114340	-3,19	H(+)-ATPase 8
HORVU3Hr1G073100	-3,19	serine/threonine protein kinase 1
HORVU0Hr1G028550	-3,18	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU0Hr1G032720	-3,18	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU0Hr1G033890	-3,18	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU0Hr1G034370	-3,18	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU0Hr1G036780	-3,18	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU4Hr1G045370	-3,18	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU6Hr1G049130	-3,18	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU0Hr1G007690	-3,18	unknown protein
HORVU7Hr1G091720	-3,18	Translocon-associated protein subunit alpha
HORVU3Hr1G087550	-3,18	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G000520	-3,18	E3 ubiquitin-protein ligase ORTHRUS 2
HORVU5Hr1G006320	-3,17	Cathepsin B-like cysteine proteinase 1
HORVU7Hr1G040250	-3,17	Zinc-finger domain of monoamine-oxidase A repressor R1 protein
HORVU1Hr1G042560	-3,17	Thioredoxin fold, putative isoform 1
HORVU1Hr1G052560	-3,17	DDB1- and CUL4-associated factor 8
HORVU3Hr1G031620	-3,17	Aquaporin-like superfamily protein
HORVU5Hr1G114360	-3,17	nucleobase-ascorbate transporter 7
HORVU5Hr1G114470	-3,17	nucleobase-ascorbate transporter 7
HORVU6Hr1G005540	-3,17	Peroxidase family protein
HORVU7Hr1G089510	-3,17	serine/threonine protein kinase 1

HORVU3Hr1G000050	-3,16	receptor kinase 2
HORVU3Hr1G108670	-3,16	Transcription factor ORG2
HORVU3Hr1G088530	-3,16	Nucleotide-diphospho-sugar transferase superfamily protein
HORVU6Hr1G078880	-3,16	UPF0392 protein
HORVU6Hr1G040130	-3,16	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU4Hr1G074970	-3,16	PATATIN-like protein 5
HORVU4Hr1G081550	-3,15	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
HORVU4Hr1G075140	-3,15	3-dehydroquinate synthase
HORVU2Hr1G086460	-3,15	DNA-3-methyladenine glycosylase 1
HORVU7Hr1G070140	-3,15	Secretory carrier-associated membrane protein 6
HORVU2Hr1G056510	-3,15	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU2Hr1G057760	-3,15	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU2Hr1G080480	-3,15	30S ribosomal protein 3, chloroplastic
HORVU3Hr1G026560	-3,15	early nodulin-related
HORVU5Hr1G068960	-3,15	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU5Hr1G106110	-3,15	TD and POZ domain-containing protein 3
HORVU2Hr1G007640	-3,14	unknown function
HORVU3Hr1G029760	-3,14	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G089590	-3,14	unknown protein
HORVU3Hr1G089640	-3,14	unknown protein
HORVU6Hr1G004100	-3,14	40S ribosomal protein S20
HORVU3Hr1G026020	-3,14	Protein kinase superfamily protein
HORVU6Hr1G076440	-3,14	alpha-mannosidase 1
HORVU1Hr1G000720	-3,13	Protein of unknown function (DUF 3339)
HORVU7Hr1G024350	-3,13	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1
HORVU7Hr1G026740	-3,13	F-box protein
HORVU1Hr1G041770	-3,13	Auxin response factor 22
HORVU6Hr1G091850	-3,13	MATE efflux family protein
HORVU3Hr1G027580	-3,12	ABC transporter family protein
HORVU7Hr1G096430	-3,12	myb-like transcription factor family protein
HORVU5Hr1G104410	-3,12	unknown function
HORVU7Hr1G006280	-3,12	Avenin-like b5
HORVU4Hr1G079400	-3,12	(RAP Annotation release2) Galactose-binding like domain containing protein
HORVU5Hr1G105930	-3,11	CASP-like protein 1U3
HORVU2Hr1G042350	-3,11	cellulose-synthase like D2
HORVU5Hr1G117190	-3,11	Squamosa promoter-binding-like protein 6
HORVU5Hr1G017180	-3,11	SAUR-like auxin-responsive protein family
HORVU5Hr1G026990	-3,11	SAUR-like auxin-responsive protein family
HORVU5Hr1G086100	-3,11	SAUR-like auxin-responsive protein family
HORVU3Hr1G072920	-3,11	Y-family DNA polymerase H
HORVU2Hr1G106760	-3,10	histidine kinase 5
HORVU6Hr1G026840	-3,10	Embryonic stem cell-specific 5-hydroxymethylcytosine-binding protein
HORVU5Hr1G089000	-3,10	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU6Hr1G080260	-3,10	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
HORVU4Hr1G074460	-3,10	undescribed protein
HORVU6Hr1G053540	-3,09	NAC domain protein,
HORVU3Hr1G065390	-3,09	Lipid A export ATP-binding/permease protein MsbA
HORVU5Hr1G022050	-3,09	unknown function
HORVU2Hr1G105730	-3,09	Alpha-1,3/1,6-mannosyltransferase ALG2
HORVU2Hr1G029330	-3,09	origin recognition complex subunit 3
HORVU5Hr1G020410	-3,09	unknown protein
HORVU7Hr1G040730	-3,09	Cysteine-rich venom protein
HORVU5Hr1G025500	-3,09	Leaf-specific thionin
HORVU1Hr1G012090	-3,09	Subtilisin-chymotrypsin inhibitor CI-1B
HORVU1Hr1G025250	-3,08	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G110960	-3,08	Transcription initiation factor IIE subunit beta
HORVU6Hr1G078780	-3,08	Phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit
HORVU3Hr1G113210	-3,08	thioredoxin 3
HORVU3Hr1G043840	-3,07	Isopenicillin N epimerase
HORVU3Hr1G072460	-3,07	Nucleic acid-binding, OB-fold-like protein
HORVU6Hr1G073530	-3,07	GDSL esterase/lipase
HORVU1Hr1G078050	-3,07	Agglutinin isolectin 3
HORVU4Hr1G065310	-3,07	undescribed protein
HORVU6Hr1G057570	-3,06	polyribonucleotide nucleotidyltransferase, putative
HORVU4Hr1G085300	-3,06	ALA-interacting subunit 5
HORVU1Hr1G071280	-3,06	Kinase interacting (KIP1-like) family protein
HORVU3Hr1G042540	-3,05	callose synthase 1

HORVU4Hr1G016260	-3,05	ATP-dependent protease La (LON) domain protein
HORVU7Hr1G098950	-3,05	Serine/threonine-protein kinase
HORVU2Hr1G010860	-3,05	Rho GTPase-activating protein 2
HORVU4Hr1G047000	-3,05	unknown function
HORVU5Hr1G053710	-3,05	Family of unknown function (DUF566)
HORVU4Hr1G011440	-3,04	Telomerase Cajal body protein 1
HORVU3Hr1G087070	-3,04	BnaC04g06180D protein
HORVU5Hr1G080470	-3,04	MATE efflux family protein
HORVU4Hr1G005890	-3,03	Adenylosuccinate synthetase
HORVU2Hr1G088840	-3,03	Protein BREAST CANCER SUSCEPTIBILITY 1 homolog
HORVU3Hr1G034440	-3,03	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G006910	-3,03	zinc-finger protein 3
HORVU6Hr1G072540	-3,03	signal peptide peptidase
HORVU0Hr1G018390	-3,03	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU7Hr1G101800	-3,02	beta glucosidase 41
HORVU6Hr1G053850	-3,02	undescribed protein
HORVU6Hr1G093600	-3,02	sucrose transporter 2
HORVU7Hr1G115040	-3,02	30S ribosomal protein S17
HORVU1Hr1G047690	-3,02	Tubulin-specific chaperone D
HORVU7Hr1G066420	-3,02	PENTATRICOPEPTIDE REPEAT 596
HORVU7Hr1G117180	-3,01	Cathepsin B-like cysteine proteinase 2
HORVU2Hr1G062310	-3,01	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU3Hr1G076300	-3,01	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU6Hr1G046790	-3,01	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2, chloroplastic
HORVU2Hr1G096890	-3,01	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein
HORVU6Hr1G090370	-3,01	GDSL esterase/lipase
HORVU6Hr1G090390	-3,01	GDSL esterase/lipase
HORVU6Hr1G073040	-3,01	MADS-box transcription factor 57
HORVU7Hr1G018870	-3,01	O-methyltransferase family protein
HORVU2Hr1G041290	-3,01	laccase 17
HORVU4Hr1G013310	-3,00	unknown protein
HORVU1Hr1G050840	-3,00	WEB family protein At4g27595, chloroplastic
HORVU1Hr1G074340	-3,00	Histone superfamily protein
HORVU4Hr1G059010	-3,00	Acyl-CoA N-acyltransferase with RING/FYVE/PHD-type zinc finger domain
HORVU2Hr1G102930	-3,00	High mobility group B protein 6
HORVU3Hr1G017580	-3,00	Proactivator polypeptide-like 1
HORVU3Hr1G089550	-3,00	ribonuclease 2
HORVU7Hr1G096920	-2,99	high-affinity K+ transporter 1
ENSRNA049450901	-2,99	-
EPlHVUG00000039839	-2,99	-
HORVU3Hr1G090270	-2,99	thylakoid rhodanese-like
HORVU4Hr1G001590	-2,99	Histidine-containing phosphotransfer protein 2
HORVU3Hr1G076920	-2,99	External alternative NAD(P)H-ubiquinone oxidoreductase B3, mitochondrial
HORVU4Hr1G084020	-2,98	CCT motif family protein
HORVU6Hr1G081400	-2,98	Protein LURP-one-related 11
HORVU2Hr1G114260	-2,98	Glycerol kinase
HORVU3Hr1G072380	-2,98	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU4Hr1G077640	-2,98	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU4Hr1G008610	-2,98	phytochrome A
HORVU5Hr1G007790	-2,98	phytochrome B
HORVU5Hr1G007810	-2,98	Glutamate carboxypeptidase
HORVU2Hr1G003110	-2,97	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5
HORVU1Hr1G025910	-2,97	pentatricopeptide repeat 336
HORVU0Hr1G027070	-2,97	undescribed protein
HORVU6Hr1G062880	-2,97	undescribed protein
HORVU5Hr1G085770	-2,97	undescribed protein
HORVU7Hr1G037040	-2,97	B3 domain-containing protein
HORVU4Hr1G067970	-2,97	Histone superfamily protein
HORVU3Hr1G012510	-2,97	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU6Hr1G028190	-2,97	ARM repeat superfamily protein
HORVU6Hr1G081270	-2,97	Cation exchanger-like protein
HORVU7Hr1G056790	-2,96	TraB family protein
HORVU4Hr1G023850	-2,96	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G064070	-2,96	receptor-like protein kinase 2
HORVU7Hr1G104660	-2,96	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU1Hr1G011930	-2,96	O-methyltransferase 1
HORVU2Hr1G007130	-2,96	sugar transporter 6

HORVU3Hr1G077540	-2,96	Breast carcinoma-amplified sequence 3 homolog
HORVU4Hr1G055910	-2,96	Importin subunit beta-1
HORVU2Hr1G089050	-2,96	beta glucosidase 46
HORVU2Hr1G018380	-2,96	Protein WEAK CHLOROPLAST MOVEMENT UNDER BLUE LIGHT 1
HORVU0Hr1G022570	-2,94	Ubiquitin system component Cue protein
HORVU1Hr1G042180	-2,94	Flotillin-like protein 2
HORVU5Hr1G062620	-2,94	Jasmonate-induced protein, putative
HORVU1Hr1G058850	-2,94	unknown function
HORVU2Hr1G026520	-2,94	Peroxidase superfamily protein
HORVU2Hr1G026570	-2,94	Peroxidase superfamily protein
HORVU4Hr1G083020	-2,94	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
HORVU4Hr1G057550	-2,94	pseudo-response regulator 7
HORVU5Hr1G058810	-2,94	F-box domain containing protein, expressed
HORVU1Hr1G051260	-2,94	WRKY DNA-binding protein 35
HORVU5Hr1G045860	-2,94	Zinc finger CCCH domain-containing protein 53
HORVU7Hr1G095370	-2,94	unknown function
HORVU1Hr1G036670	-2,94	F-box domain containing protein-like
HORVU5Hr1G062410	-2,93	Hypersensitive-induced response protein 1
HORVU3Hr1G055410	-2,93	Nucleoporin seh1-B
HORVU1Hr1G063410	-2,93	Protein O-linked-mannose beta-1,4-N-acetylglucosaminyltransferase 2
HORVU1Hr1G008650	-2,93	AT-hook motif nuclear-localized protein 20
HORVU7Hr1G035020	-2,93	Alpha-amylase/trypsin inhibitor
HORVU4Hr1G088540	-2,93	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 1-like
HORVU3Hr1G056330	-2,93	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU6Hr1G024920	-2,93	HXXXD-type acyl-transferase family protein
HORVU7Hr1G042490	-2,93	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU6Hr1G025520	-2,93	sugar transporter 1
HORVU2Hr1G077600	-2,93	pentatricopeptide repeat 336
HORVU3Hr1G039790	-2,93	50S ribosomal protein L40
HORVU3Hr1G112440	-2,93	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G114330	-2,93	homogentisate phytyltransferase 1
HORVU3Hr1G066090	-2,93	high affinity nitrate transporter 2.6
HORVU3Hr1G006320	-2,92	Glycosyltransferase family 61 protein
HORVU4Hr1G009970	-2,92	Transcription factor bHLH74
HORVU6Hr1G074860	-2,92	unknown function
HORVU7Hr1G073580	-2,92	undescribed protein
HORVU5Hr1G009040	-2,92	jacalin-related lectin 31
HORVU5Hr1G119370	-2,92	jacalin-related lectin 31
HORVU2Hr1G063680	-2,92	DDB1- and CUL4-associated factor 4
HORVU4Hr1G064950	-2,92	peroxidase 2
HORVU5Hr1G078410	-2,92	Putative methyltransferase family protein
HORVU7Hr1G033320	-2,92	SAUR-like auxin-responsive protein family
HORVU4Hr1G000100	-2,92	phosphate transporter 4
HORVU3Hr1G002350	-2,92	receptor-like protein kinase 4
HORVU6Hr1G067450	-2,92	FACT complex subunit SSRP1-B
HORVU2Hr1G033520	-2,92	dihydroflavonol 4-reductase
HORVU2Hr1G103010	-2,92	AUTOPHAGY 8E
HORVU0Hr1G012990	-2,92	Flavin-containing monooxygenase family protein
HORVU1Hr1G052360	-2,92	Tyrosine-sulfated glycopeptide receptor 1
HORVU1Hr1G079890	-2,92	embryo defective 2752
HORVU4Hr1G027660	-2,92	metallothionein 2A
HORVU7Hr1G103020	-2,91	Homeobox-leucine zipper protein family
HORVU3Hr1G036780	-2,91	Peroxidase superfamily protein
HORVU7Hr1G121370	-2,91	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU0Hr1G026530	-2,91	CAP (Cysteine-rich secretory proteins, Antigen 5, and Pathogenesis-related 1 protein) superfamily protein
HORVU1Hr1G077730	-2,91	FAR1-related sequence 5
HORVU1Hr1G051950	-2,91	unknown function
HORVU3Hr1G100410	-2,91	Xylanase inhibitor
HORVU2Hr1G102740	-2,91	WRKY DNA-binding protein 35
HORVU5Hr1G110710	-2,91	early nodulin-like protein 15
HORVU4Hr1G088090	-2,91	receptor kinase 2
HORVU3Hr1G095830	-2,91	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU6Hr1G009910	-2,91	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G079800	-2,91	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
HORVU0Hr1G025810	-2,91	V-type proton ATPase subunit E

HORVU1Hr1G069480	-2,91	V-type proton ATPase subunit E
HORVU6Hr1G093300	-2,91	receptor kinase 1
HORVU3Hr1G032660	-2,90	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G026350	-2,90	Beta-1,3-N-Acetylglucosaminyltransferase family protein
HORVU2Hr1G033970	-2,90	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU3Hr1G034630	-2,90	Zinc knuckle (CCHC-type) family protein
HORVU1Hr1G087820	-2,90	Beta purothionin
HORVU3Hr1G113440	-2,90	late embryogenesis abundant protein-related / LEA protein-related
HORVU2Hr1G077140	-2,90	Transmembrane protein, putative
HORVU2Hr1G085940	-2,90	DNA mismatch repair protein MutS
HORVU4Hr1G010390	-2,90	Cysteine proteinases superfamily protein
HORVU0Hr1G001270	-2,90	calmodulin 7
HORVU1Hr1G068440	-2,90	calmodulin 5
HORVU6Hr1G094440	-2,90	undescribed protein
HORVU2Hr1G084640	-2,90	Sn1-specific diacylglycerol lipase beta
HORVU4Hr1G041570	-2,90	Aldehyde dehydrogenase family 3 member F1
HORVU2Hr1G047230	-2,90	Rab3 GTPase-activating protein catalytic subunit
HORVU1Hr1G079800	-2,90	Histone-lysine N-methyltransferase 2A
HORVU6Hr1G015100	-2,89	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU1Hr1G019650	-2,89	Nucleolar MIF4G domain-containing protein 1
HORVU3Hr1G086610	-2,89	Histone H2B.6
HORVU2Hr1G044590	-2,89	receptor kinase 1
HORVU0Hr1G014620	-2,89	undescribed protein
HORVU0Hr1G033160	-2,89	unknown function
HORVU0Hr1G034130	-2,89	unknown function
HORVU2Hr1G054890	-2,89	unknown function
HORVU5Hr1G017660	-2,89	unknown function
HORVU5Hr1G038330	-2,89	Ribosomal RNA apurinic site specific lyase-like
HORVU2Hr1G035870	-2,89	Zinc finger protein Sdr4
HORVU3Hr1G029150	-2,89	O-methyltransferase family protein
HORVU5Hr1G066150	-2,89	O-methyltransferase family protein
HORVU3Hr1G071400	-2,89	GDSL esterase/lipase
HORVU7Hr1G116690	-2,89	mRNA 3'-end-processing protein YTH1
HORVU1Hr1G088560	-2,89	GDP-D-mannose 3',5'-epimerase
HORVU6Hr1G079730	-2,89	Separin
HORVU3Hr1G041640	-2,89	lipase class 3 family protein
HORVU3Hr1G071000	-2,89	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G123550	-2,89	receptor kinase 2
HORVU5Hr1G122250	-2,89	unknown function
HORVU3Hr1G088270	-2,89	Cathepsin B-like cysteine proteinase
HORVU4Hr1G000230	-2,89	PsbP-like protein 1
HORVU4Hr1G000240	-2,89	PsbP-like protein 1
HORVU2Hr1G007680	-2,89	Defensin-like protein
HORVU2Hr1G011550	-2,89	Endo-1,4-beta-xylanase Z
HORVU7Hr1G114170	-2,89	50S ribosomal protein L35
HORVU7Hr1G116640	-2,89	UPF0047 protein YjbQ
HORVU7Hr1G106790	-2,89	unknown function
HORVU3Hr1G090970	-2,88	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU3Hr1G115520	-2,88	Ankyrin repeat family protein
HORVU2Hr1G097200	-2,88	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
HORVU7Hr1G121470	-2,88	Disease resistance protein
HORVU7Hr1G090390	-2,88	C2 and GRAM domain-containing protein
HORVU6Hr1G059640	-2,88	unknown function
HORVU5Hr1G112030	-2,88	TSA: Wollemia nobilis Ref_Wollemi_Transcript_8676_899 transcribed RNA sequence
HORVU3Hr1G065810	-2,88	Subtilisin-like protease
HORVU6Hr1G088440	-2,88	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
HORVU2Hr1G063740	-2,88	alanine aminotransferase 2
HORVU3Hr1G033800	-2,88	S-type anion channel SLAH1
HORVU3Hr1G074190	-2,88	Holliday junction DNA helicase
HORVU7Hr1G017700	-2,88	AT-hook motif nuclear-localized protein 22
ENSRNA049476442	-2,88	-
ENSRNA049476456	-2,88	-
ENSRNA049476463	-2,88	-
HORVU5Hr1G101500	-2,88	undescribed protein
HORVU7Hr1G046660	-2,88	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1

HORVU3Hr1G078660	-2,88	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU5Hr1G002970	-2,88	Ras-related protein Rab-5A
HORVU3Hr1G117890	-2,88	Receptor-like protein kinase
HORVU5Hr1G116630	-2,88	ralf-like 33
HORVU7Hr1G121050	-2,88	Disease resistance protein
HORVU7Hr1G121150	-2,88	Disease resistance protein
HORVU1Hr1G029220	-2,88	MADS-box transcription factor 58
HORVU7Hr1G119010	-2,87	heme oxygenase 3
HORVU3Hr1G084880	-2,87	myb domain protein 118
HORVU4Hr1G086250	-2,87	shikimate kinase like 1
HORVU7Hr1G038120	-2,87	shikimate kinase like 1
HORVU1Hr1G056890	-2,87	ABC transporter G family member 23
HORVU2Hr1G053450	-2,87	DNA mismatch repair protein MutL
HORVU5Hr1G000970	-2,87	Cox19-like CHCH family protein
HORVU3Hr1G104500	-2,87	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU5Hr1G050130	-2,87	Octicosapeptide/Phox/Bem1p (PB1) domain-containing protein / tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein
HORVU3Hr1G000980	-2,87	Protein kinase family protein
HORVU5Hr1G064040	-2,87	S-adenosylmethionine decarboxylase proenzyme
HORVU5Hr1G104630	-2,87	Vicilin
HORVU3Hr1G064230	-2,87	Nucleotidylyl transferase superfamily protein
HORVU3Hr1G062320	-2,87	unknown function
HORVU5Hr1G106500	-2,87	expansin 11
HORVU3Hr1G079040	-2,87	calcium-dependent protein kinase 34
HORVU3Hr1G098950	-2,87	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G028050	-2,87	GDSL esterase/lipase
HORVU7Hr1G021840	-2,87	Histone superfamily protein
HORVU7Hr1G036710	-2,87	EXORDIUM like 2
HORVU0Hr1G004630	-2,87	Protein LITTLE ZIPPER 4
HORVU3Hr1G006430	-2,87	Disease resistance protein
HORVU7Hr1G038210	-2,87	FACT complex subunit SPT16
HORVU2Hr1G070360	-2,86	hydroxysteroid dehydrogenase 1
HORVU7Hr1G028670	-2,86	Beta-1,3-galactosyltransferase 7
HORVU3Hr1G066340	-2,86	Late embryogenesis abundant protein 76
HORVU1Hr1G082790	-2,86	Subtilisin-like protease
HORVU3Hr1G089210	-2,86	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU6Hr1G076320	-2,86	nucleobase-ascorbate transporter 7
HORVU3Hr1G014780	-2,86	shikimate kinase like 1
HORVU1Hr1G017470	-2,86	Reticulon family protein
HORVU7Hr1G095960	-2,86	oxophytodienoate-reductase 3
HORVU0Hr1G022310	-2,86	Haloacid dehalogenase-like hydrolase domain-containing protein 3
HORVU4Hr1G024270	-2,86	THO complex subunit 4B
HORVU4Hr1G007190	-2,86	Basic blue protein
HORVU7Hr1G074330	-2,86	Protein CHUP1, chloroplastic
HORVU6Hr1G075000	-2,86	Polymerase/histidinol phosphatase-like
HORVU6Hr1G063700	-2,86	BEACH domain-containing protein C2
HORVU2Hr1G117810	-2,86	2-oxoglutarate (2OG) and Fe(II)-dependent oxygenase superfamily protein
HORVU6Hr1G032560	-2,86	C2 and GRAM domain-containing protein
HORVU1Hr1G013840	-2,86	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G078980	-2,86	flowering promoting factor 1
HORVU6Hr1G014510	-2,86	Poly(rC)-binding protein 4
HORVU1Hr1G012660	-2,85	unknown function
HORVU5Hr1G067910	-2,85	RHOMBOID-like protein 10
HORVU0Hr1G036340	-2,85	tapetum determinant 1
HORVU4Hr1G016460	-2,85	tapetum determinant 1
HORVU1Hr1G091730	-2,85	Kinase-related protein of unknown function (DUF1296)
HORVU6Hr1G074030	-2,85	glutamine synthetase 1
HORVU5Hr1G095930	-2,85	cytochrome B5-like protein
HORVU2Hr1G066970	-2,85	dCTP pyrophosphatase 1
HORVU2Hr1G092510	-2,85	COBRA-like protein 7
HORVU3Hr1G034950	-2,85	Family of unknown function (DUF716)
HORVU3Hr1G073450	-2,85	Oligopeptidase A
HORVU0Hr1G011860	-2,85	Peroxisomal membrane 22 kDa (Mpv17/PMP22) family protein
HORVU1Hr1G080190	-2,85	Histone superfamily protein
HORVU3Hr1G066840	-2,85	IQ-domain 6
HORVU1Hr1G084690	-2,85	60S ribosomal protein L35a-1
HORVU2Hr1G069710	-2,85	unknown protein

HORVU5Hr1G099330	-2,85	unknown function
HORVU1Hr1G003320	-2,85	unknown function
HORVU3Hr1G063270	-2,85	Histone superfamily protein
HORVU7Hr1G029930	-2,85	callose synthase 5
HORVU3Hr1G031070	-2,85	undescribed protein
HORVU5Hr1G075870	-2,85	SKP1-like 14
HORVU5Hr1G107260	-2,85	YELLOW STRIPE like 7
HORVU7Hr1G058630	-2,85	protein arginine methyltransferase 10
HORVU2Hr1G009480	-2,84	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G009520	-2,84	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G109030	-2,84	SWIB/MDM2 domain superfamily protein
HORVU5Hr1G046950	-2,84	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1
HORVU0Hr1G015380	-2,84	serine/threonine protein kinase 1
HORVU7Hr1G054710	-2,84	Sugar transporter SWEET
HORVU6Hr1G065800	-2,84	Rho GTPase-activating protein 3
HORVU7Hr1G110130	-2,84	Histone H2B.2
HORVU5Hr1G103080	-2,84	Arv1-like protein
HORVU3Hr1G064040	-2,84	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU0Hr1G000080	-2,84	Ubiquitin-conjugating enzyme family protein
HORVU2Hr1G100960	-2,84	unknown protein
HORVU4Hr1G012700	-2,84	Cathepsin B-like cysteine proteinase 1
HORVU1Hr1G060770	-2,84	Squamosa promoter-binding-like protein 9
HORVU5Hr1G013590	-2,84	unknown function
HORVU5Hr1G013600	-2,84	unknown function
HORVU6Hr1G090150	-2,83	unknown protein
HORVU5Hr1G011650	-2,83	NAC domain containing protein 1
HORVU4Hr1G023520	-2,83	Cell division control protein 45 homolog
HORVU4Hr1G081420	-2,83	4-coumarate:CoA ligase 2
HORVU4Hr1G080560	-2,83	TSA: Wollemia nobilis Ref_Wollemi_Transcript_11984_1529 transcribed RNA sequence
HORVU7Hr1G118470	-2,83	Disease resistance protein
HORVU3Hr1G015510	-2,83	Monocopper oxidase-like protein SKU5
HORVU4Hr1G021830	-2,83	Rho GTPase-activating protein 1
HORVU5Hr1G039560	-2,83	Rho GTPase-activating protein 1
HORVU0Hr1G022140	-2,83	germin-like protein 2
HORVU6Hr1G064500	-2,83	Ganglioside-induced differentiation-associated protein 2
HORVU6Hr1G033160	-2,83	chlorophyll A/B binding protein 3
HORVU3Hr1G047180	-2,83	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G047030	-2,83	Ferredoxin-thioredoxin reductase, catalytic chain
HORVU1Hr1G043470	-2,83	unknown function
HORVU1Hr1G092630	-2,83	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G086050	-2,83	NifS-like protein
HORVU5Hr1G109300	-2,83	squalene synthase 1
HORVU7Hr1G011570	-2,83	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU6Hr1G001480	-2,82	Transmembrane amino acid transporter family protein
HORVU4Hr1G089350	-2,82	WD repeat-containing protein 6
HORVU4Hr1G025330	-2,82	2,3-bisphosphoglycerate-dependent phosphoglycerate mutase
HORVU7Hr1G073750	-2,82	Eukaryotic initiation factor 4A
HORVU6Hr1G067180	-2,82	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 21
HORVU2Hr1G089180	-2,81	Casparian strip membrane protein 1
HORVU1Hr1G085970	-2,81	unknown function
HORVU1Hr1G044890	-2,81	Microtubule-associated protein RP/EB family member 1C
HORVU7Hr1G055890	-2,81	50S ribosomal protein 6, chloroplastic
HORVU7Hr1G051650	-2,81	Protein of unknown function, DUF599
HORVU1Hr1G007660	-2,81	undescribed protein
HORVU7Hr1G020840	-2,81	early nodulin-related
HORVU5Hr1G019370	-2,81	rapid alkalinization factor 23
HORVU7Hr1G014130	-2,81	lipid phosphate phosphatase 2
HORVU2Hr1G124660	-2,81	Cysteine proteinase inhibitor 8
HORVU7Hr1G025200	-2,81	Histone superfamily protein
HORVU3Hr1G043730	-2,81	unknown protein
HORVU5Hr1G012090	-2,80	ATP-dependent DNA helicase 2 subunit KU70
HORVU5Hr1G012100	-2,80	ATP-dependent DNA helicase 2 subunit KU70
HORVU6Hr1G000520	-2,80	Wali2 protein
HORVU2Hr1G103570	-2,80	Remorin family protein
HORVU5Hr1G091970	-2,80	Protein kinase superfamily protein

HORVU1Hr1G053740	-2,80	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein
HORVU4Hr1G020060	-2,80	Endonuclease or glycosyl hydrolase
HORVU3Hr1G079450	-2,80	Exostosin family protein
HORVU7Hr1G105490	-2,80	unknown protein
HORVU6Hr1G016240	-2,80	Transcription factor HBP-1a
HORVU5Hr1G059540	-2,80	unknown function
HORVU7Hr1G071790	-2,80	Factor of DNA methylation 1
HORVU0Hr1G022750	-2,80	unknown function
HORVU1Hr1G010910	-2,80	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 10
HORVU3Hr1G085080	-2,79	undescribed protein
HORVU3Hr1G057020	-2,79	Dual-specificity RNA methyltransferase RlmN
HORVU7Hr1G010320	-2,79	Protein MID1-COMPLEMENTING ACTIVITY 2
HORVU2Hr1G080150	-2,79	unknown protein
HORVU2Hr1G080180	-2,79	unknown protein
HORVU4Hr1G027070	-2,79	Protein prenyltransferase alpha subunit repeat-containing protein 1
HORVU4Hr1G090660	-2,79	BAG family molecular chaperone regulator 6
HORVU4Hr1G087390	-2,79	nicotianamine synthase 3
HORVU3Hr1G116300	-2,79	undescribed protein
HORVU7Hr1G046030	-2,79	Na+/H+ (sodium hydrogen) exchanger 3
HORVU3Hr1G112690	-2,78	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein
HORVU2Hr1G088560	-2,78	Caleosin-related family protein
HORVU3Hr1G033160	-2,78	pectinesterase family protein
HORVU4Hr1G073970	-2,78	Dihydrodipicolinate reductase, bacterial/plant
HORVU5Hr1G039850	-2,78	actin 7
HORVU1Hr1G079960	-2,78	26S protease regulatory subunit 6B
HORVU3Hr1G037270	-2,78	26S protease regulatory subunit 6B
HORVU5Hr1G109880	-2,78	Protein of unknown function, DUF642
HORVU3Hr1G114350	-2,78	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase [NAD(+)]
HORVU3Hr1G019920	-2,78	glycine-rich protein
HORVU5Hr1G064580	-2,77	Kinesin-like protein
HORVU4Hr1G041430	-2,77	unknown function
HORVU7Hr1G077320	-2,77	Chromatin assembly factor 1 subunit B
HORVU2Hr1G061320	-2,77	Homeobox protein knotted-1-like 12
HORVU2Hr1G022720	-2,77	Condensin complex subunit 1
HORVU5Hr1G075720	-2,77	Cyclin family protein
HORVU0Hr1G018730	-2,76	MOB kinase activator-like 1A
HORVU6Hr1G009410	-2,76	MOB kinase activator-like 1A
HORVU5Hr1G111860	-2,76	Serpin-Z7
HORVU6Hr1G027780	-2,76	E3 ubiquitin-protein ligase LIN-like protein, putative
HORVU2Hr1G090210	-2,76	Histone superfamily protein
HORVU1Hr1G016870	-2,76	Peroxidase superfamily protein
HORVU7Hr1G078480	-2,76	unknown function
HORVU7Hr1G034990	-2,76	Kinesin-related protein 11
HORVU3Hr1G110460	-2,76	MATE efflux family protein
HORVU5Hr1G058760	-2,76	RING/U-box superfamily protein
HORVU3Hr1G073240	-2,76	Protein ABIL1
HORVU3Hr1G088660	-2,75	Protein kinase superfamily protein
HORVU2Hr1G118350	-2,75	gibberellin 3-oxidase 1
HORVU2Hr1G036240	-2,75	Protein yippee-like
HORVU6Hr1G023290	-2,74	receptor-like protein kinase 1
HORVU5Hr1G027250	-2,74	phosphoglucosamine mutase family protein
HORVU3Hr1G007980	-2,74	D-Ala-D/L-Ala epimerase
HORVU1Hr1G017220	-2,74	zinc ion binding
HORVU3Hr1G053600	-2,74	zinc ion binding
HORVU5Hr1G009530	-2,74	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 19a
HORVU1Hr1G085540	-2,74	Histone H2B.3
HORVU7Hr1G026540	-2,74	Serine/threonine-protein kinase
HORVU3Hr1G024900	-2,73	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 3
HORVU2Hr1G114610	-2,73	Autophagy-related protein 101
HORVU6Hr1G066640	-2,73	SBP (S-ribonuclease binding protein) family protein
HORVU1Hr1G083860	-2,73	Rp1-like protein
HORVU1Hr1G083870	-2,73	Rp1-like protein
HORVU1Hr1G084020	-2,73	Rust resistance Rp1-D-like protein
HORVU2Hr1G019250	-2,72	Hypoxia-responsive family protein
HORVU4Hr1G002760	-2,72	Bifunctional inhibitor/lipid-transfer protein/seed storage 2S albumin superfamily protein

HORVU1Hr1G094990	-2,72	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G045400	-2,72	BURP domain-containing protein 11
HORVU5Hr1G025570	-2,72	tRNA uridine 5-carboxymethylaminomethyl modification enzyme MnmG
HORVU4Hr1G041460	-2,72	AAA ATPase containing von Willebrand factor type A
HORVU4Hr1G041470	-2,72	AAA ATPase containing von Willebrand factor type A
ENSRNA049485904	-2,72	-
ENSRNA049488737	-2,72	-
HORVU0Hr1G038030	-2,72	30S ribosomal protein S15, chloroplastic
HORVU3Hr1G088120	-2,72	GDSL esterase/lipase
HORVU1Hr1G047770	-2,71	undescribed protein
HORVU3Hr1G027550	-2,71	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G124550	-2,71	unknown protein
HORVU2Hr1G091520	-2,71	LIM domain-containing protein 2
HORVU7Hr1G044860	-2,71	Protein translocase subunit SecA 1
HORVU2Hr1G106110	-2,71	Transducin family protein / WD-40 repeat family protein
HORVU7Hr1G001450	-2,71	receptor kinase 3
HORVU3Hr1G027070	-2,71	Phosphoribosylglycinamide formyltransferase 2
HORVU6Hr1G032270	-2,71	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU5Hr1G094080	-2,71	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU4Hr1G011790	-2,70	WD repeat-containing protein 46
HORVU7Hr1G008160	-2,70	Disease resistance protein RPM1
HORVU4Hr1G061130	-2,70	receptor kinase 1
HORVU1Hr1G052310	-2,70	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU3Hr1G023220	-2,69	chloride channel C
HORVU1Hr1G089310	-2,69	B12D protein
HORVU7Hr1G116000	-2,69	Disease resistance protein
HORVU1Hr1G090780	-2,69	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU5Hr1G086560	-2,69	O-fucosyltransferase family protein
HORVU2Hr1G045770	-2,69	MYB transcription factor
HORVU0Hr1G018040	-2,69	Gibberellin-regulated family protein
HORVU6Hr1G094130	-2,69	Gibberellin-regulated family protein
HORVU1Hr1G021760	-2,69	BTB-POZ and MATH domain 2
HORVU2Hr1G100080	-2,69	Protein strawberry notch homolog 1
HORVU2Hr1G112090	-2,69	Serine/threonine-protein kinase
HORVU1Hr1G086590	-2,69	ROP guanine nucleotide exchange factor 5
HORVU1Hr1G050340	-2,68	Nuclear control of ATPase protein 2
HORVU3Hr1G051740	-2,68	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G100930	-2,68	O-fucosyltransferase family protein
HORVU6Hr1G080430	-2,68	Cyclin-L1-1
HORVU2Hr1G090950	-2,68	unknown function
HORVU2Hr1G028380	-2,68	cellulose synthase-like A3
HORVU4Hr1G003050	-2,68	Zinc transporter 7
HORVU3Hr1G014950	-2,68	RNA recognition motif (RRM)-containing protein
HORVU2Hr1G021280	-2,68	Phage shock protein A homolog
HORVU5Hr1G009350	-2,68	kinesin 4
HORVU3Hr1G013770	-2,68	GTPase Der
HORVU2Hr1G018230	-2,67	Queuine tRNA-ribosyltransferase
HORVU5Hr1G070240	-2,67	Queuine tRNA-ribosyltransferase
HORVU2Hr1G036950	-2,67	Succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha
ENSRNA049480848	-2,67	-
HORVU0Hr1G034780	-2,67	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU5Hr1G004530	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU2Hr1G027040	-2,67	pyruvate dehydrogenase kinase
HORVU6Hr1G030110	-2,67	undescribed protein
HORVU6Hr1G014230	-2,67	undescribed protein
HORVU3Hr1G021730	-2,67	BTB/POZ/Kelch-associated protein
HORVU6Hr1G056950	-2,67	Nucleotide/sugar transporter family protein
HORVU6Hr1G018770	-2,67	Plant protein 1589 of unknown function
HORVU1Hr1G067880	-2,66	Nuclear transcription factor Y subunit C-9
HORVU1Hr1G067990	-2,66	Nuclear transcription factor Y subunit C-3
HORVU2Hr1G114870	-2,66	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU0Hr1G031210	-2,66	Jacalin-like lectin domain containing protein, expressed
HORVU2Hr1G092650	-2,66	Trihelix transcription factor GT-2
HORVU2Hr1G109990	-2,66	V-type proton ATPase subunit a3
HORVU4Hr1G016810	-2,66	alcohol dehydrogenase 1
HORVU6Hr1G031580	-2,66	Histone superfamily protein
HORVU2Hr1G097490	-2,66	expansin B4

HORVU2Hr1G101160	-2,66	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 16
HORVU6Hr1G081500	-2,66	Endoglucanase 8
HORVU2Hr1G032710	-2,66	unknown function
AGP50798	-2,65	-
AGP50799	-2,65	-
ENSRNA049460726	-2,65	-
ENSRNA049460737	-2,65	-
ENSRNA049469273	-2,65	-
ENSRNA049469281	-2,65	-
ENSRNA049471771	-2,65	-
ENSRNA049471780	-2,65	-
ENSRNA049472925	-2,65	-
ENSRNA049473460	-2,65	-
ENSRNA049477530	-2,65	-
ENSRNA049482216	-2,65	-
ENSRNA049482220	-2,65	-
ENSRNA049482814	-2,65	-
ENSRNA049483181	-2,65	-
ENSRNA049485930	-2,65	-
ENSRNA049485931	-2,65	-
ENSRNA049485932	-2,65	-
ENSRNA049486181	-2,65	-
ENSRNA049486763	-2,65	-
ENSRNA049487128	-2,65	-
ENSRNA049489034	-2,65	-
ENSRNA049489290	-2,65	-
ENSRNA049489415	-2,65	-
HORVU0Hr1G031420	-2,65	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU0Hr1G034720	-2,65	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU0Hr1G034730	-2,65	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU0Hr1G034770	-2,65	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU0Hr1G034830	-2,65	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU0Hr1G034860	-2,65	30S ribosomal protein S15, chloroplastic
HORVU2Hr1G070520	-2,65	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU2Hr1G121420	-2,65	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU2Hr1G121660	-2,65	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU2Hr1G121880	-2,65	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU5Hr1G064870	-2,65	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU5Hr1G064880	-2,65	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU6Hr1G049510	-2,65	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU6Hr1G049520	-2,65	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU7Hr1G076960	-2,65	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU7Hr1G107890	-2,65	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU4Hr1G070180	-2,65	cyclin-related
HORVU1Hr1G055250	-2,65	casein kinase II beta subunit 4
HORVU6Hr1G076810	-2,65	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha
HORVU6Hr1G029370	-2,65	Glyoxylate/succinic semialdehyde reductase 1
HORVU3Hr1G037510	-2,65	undescribed protein
HORVU5Hr1G106010	-2,65	Cysteine-rich secretory protein 3
HORVU3Hr1G006540	-2,64	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim17/Tim22/Tim23 family protein
HORVU3Hr1G029880	-2,64	V-type proton ATPase subunit E
HORVU1Hr1G015660	-2,64	bZIP transcription factor 53
HORVU7Hr1G034840	-2,64	Nitrilase/cyanide hydratase and apolipoprotein N-acyltransferase family protein
HORVU5Hr1G076170	-2,64	Glyoxysomal fatty acid beta-oxidation multifunctional protein MFP-a
HORVU3Hr1G039900	-2,64	Protein S-acyltransferase 8
HORVU1Hr1G070620	-2,64	Zinc finger (C3HC4-type RING finger) family protein
HORVU5Hr1G079190	-2,64	RNA binding
HORVU2Hr1G014550	-2,63	undescribed protein
HORVU2Hr1G020560	-2,63	unknown function
HORVU2Hr1G020640	-2,63	unknown function
HORVU2Hr1G096290	-2,63	Thioredoxin superfamily protein
HORVU3Hr1G067350	-2,63	AP2/B3 transcription factor family protein
HORVU7Hr1G116300	-2,63	undescribed protein
HORVU0Hr1G009350	-2,63	Pollen allergen Lol p 3
HORVU4Hr1G086840	-2,63	Pollen allergen Lol p 3
HORVU7Hr1G108010	-2,63	F-box family protein

HORVU3Hr1G026080	-2,63	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G045470	-2,63	Aconitate hydratase
HORVU5Hr1G092410	-2,63	unknown function
HORVU4Hr1G012780	-2,62	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU6Hr1G062440	-2,62	3-isopropylmalate dehydratase small subunit 3
HORVU6Hr1G087960	-2,62	Ribonucleoside-diphosphate reductase
HORVU2Hr1G115690	-2,62	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G000010	-2,62	sucrose transporter 4
HORVU7Hr1G094870	-2,62	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU2Hr1G066950	-2,61	Prolyl 4-hydroxylase subunit alpha-1
HORVU3Hr1G107290	-2,61	UPF0001 protein YBL036C
HORVU2Hr1G017450	-2,61	unknown function
HORVU6Hr1G010220	-2,61	Disease resistance protein
HORVU6Hr1G028020	-2,61	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase
HORVU4Hr1G083230	-2,61	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU0Hr1G000990	-2,61	undescribed protein
HORVU1Hr1G067660	-2,61	undescribed protein
HORVU5Hr1G104450	-2,61	casein kinase 1
HORVU6Hr1G077100	-2,61	casein kinase 1
HORVU7Hr1G105510	-2,61	Beta-1,3-galactosyltransferase 7
HORVU0Hr1G015810	-2,61	kinesin-like protein 1
HORVU3Hr1G082850	-2,61	Sister chromatid cohesion protein PDS5 homolog A-B
HORVU5Hr1G064130	-2,61	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU7Hr1G047760	-2,60	sequence-specific DNA binding transcription factors
HORVU7Hr1G038440	-2,60	cellulose synthase-like A3
HORVU3Hr1G039210	-2,60	RING/U-box superfamily protein
HORVU3Hr1G039220	-2,60	RING/U-box superfamily protein
HORVU5Hr1G124090	-2,60	F-box protein PP2-B1
HORVU7Hr1G114960	-2,60	Demethylmenaquinone methyltransferase
HORVU2Hr1G003540	-2,60	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU6Hr1G054070	-2,60	Telomere length regulation protein TEL2 homolog
HORVU7Hr1G098470	-2,60	RING/U-box superfamily protein
HORVU1Hr1G000640	-2,59	Gamma-gliadin
HORVU5Hr1G027290	-2,59	Far upstream element-binding protein 2
HORVU1Hr1G033850	-2,59	MOB kinase activator-like 1A
HORVU4Hr1G050230	-2,59	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU6Hr1G005350	-2,59	GPI mannosyltransferase 3
HORVU4Hr1G032550	-2,59	Acyl-CoA-binding domain-containing protein 4
HORVU7Hr1G086640	-2,59	unknown function
HORVU1Hr1G040800	-2,59	Polyubiquitin 10
HORVU3Hr1G072080	-2,59	polyubiquitin 3
HORVU4Hr1G014850	-2,59	Hemolysin A
HORVU0Hr1G024960	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU0Hr1G033570	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU0Hr1G034010	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU0Hr1G035250	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU0Hr1G037420	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU0Hr1G037510	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU1Hr1G048130	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU5Hr1G005480	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU6Hr1G037340	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU6Hr1G087890	-2,58	Photosystem I iron-sulfur center
HORVU6Hr1G087900	-2,58	NAD(P)H-quinone oxidoreductase chain 4, chloroplastic
HORVU5Hr1G022070	-2,58	modifier of snc1
HORVU4Hr1G021130	-2,58	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU3Hr1G076940	-2,58	cyclic nucleotide-gated channel 15
HORVU1Hr1G089680	-2,58	sugar transporter 1
HORVU3Hr1G067740	-2,58	Neuroguidin
HORVU2Hr1G005320	-2,58	arginase
HORVU4Hr1G062010	-2,58	Basic blue protein
HORVU5Hr1G045440	-2,58	ADP-ribosylation factor 1
HORVU3Hr1G039200	-2,58	Pyruvate kinase family protein
HORVU3Hr1G039230	-2,58	Pyruvate kinase family protein
HORVU5Hr1G074200	-2,58	serine/threonine protein phosphatase 2A
HORVU2Hr1G121020	-2,58	Zinc finger CCCH domain-containing protein 32
HORVU4Hr1G023580	-2,58	Zeaxanthin epoxidase, chloroplastic
HORVU6Hr1G005250	-2,57	allene oxide synthase

HORVU5Hr1G017530	-2,57	Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein
HORVU1Hr1G040700	-2,57	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G085980	-2,57	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G039210	-2,57	Chaperone DnaJ-domain superfamily protein
HORVU5Hr1G022550	-2,57	Protein of unknown function, DUF538
HORVU3Hr1G010290	-2,57	Lactation elevated protein 1
HORVU3Hr1G080810	-2,57	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU3Hr1G116710	-2,57	RNA-binding protein 1
HORVU4Hr1G010470	-2,57	sugar transporter 9
HORVU4Hr1G019140	-2,56	AP-4 complex subunit sigma
HORVU6Hr1G000210	-2,56	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU4Hr1G063240	-2,56	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 11
HORVU4Hr1G011500	-2,56	serine hydroxymethyltransferase 2
HORVU4Hr1G020790	-2,56	Apoptosis-inducing factor homolog A
HORVU3Hr1G066440	-2,55	Anoctamin-like protein
HORVU5Hr1G049980	-2,55	Protein translocase subunit SecY
HORVU0Hr1G038470	-2,55	E2F transcription factor 1
HORVU6Hr1G083320	-2,55	Telomeric repeat-binding factor 1
HORVU6Hr1G083380	-2,55	Telomeric repeat-binding factor 1
HORVU1Hr1G046270	-2,55	cytochrome B561-1
HORVU4Hr1G047610	-2,55	unknown protein
AGP50741	-2,55	-
HORVU0Hr1G024740	-2,55	Photosystem II D2 protein
HORVU2Hr1G062030	-2,55	Photosystem II CP43 reaction center protein
HORVU2Hr1G121580	-2,55	Photosystem II D2 protein
HORVU2Hr1G121590	-2,55	Photosystem II CP43 reaction center protein
HORVU2Hr1G121740	-2,55	Photosystem II D2 protein
HORVU2Hr1G063690	-2,55	MATE efflux family protein
HORVU4Hr1G083270	-2,55	C-terminal binding protein AN
HORVU5Hr1G123420	-2,55	GC-rich sequence DNA-binding factor-like protein
HORVU7Hr1G011310	-2,54	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU0Hr1G029180	-2,54	LAG1 longevity assurance homolog 3
HORVU2Hr1G022290	-2,54	LAG1 longevity assurance homolog 3
HORVU5Hr1G057320	-2,54	LAG1 longevity assurance homolog 3
HORVU3Hr1G055940	-2,54	Kinesin-related protein 6
HORVU3Hr1G109760	-2,54	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU3Hr1G105720	-2,54	B3 domain-containing protein
HORVU7Hr1G071680	-2,54	Oxysterol-binding protein-related protein 2A
HORVU3Hr1G016210	-2,54	ankyrin repeat family protein
HORVU3Hr1G016230	-2,54	ankyrin repeat family protein
HORVU5Hr1G008980	-2,54	receptor kinase 3
HORVU2Hr1G110860	-2,54	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G110880	-2,54	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G098300	-2,54	BTB/POZ domain-containing protein
HORVU2Hr1G032920	-2,54	Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.3
HORVU1Hr1G058020	-2,54	RNA binding
HORVU6Hr1G039740	-2,54	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G054580	-2,54	PHD and RING finger domain-containing protein 1
HORVU5Hr1G009840	-2,54	RAB GDP dissociation inhibitor 2
HORVU4Hr1G057730	-2,54	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU0Hr1G021670	-2,53	unknown function
HORVU2Hr1G069610	-2,53	unknown function
HORVU4Hr1G063900	-2,53	Ras-related protein Rab-14
HORVU1Hr1G080890	-2,53	Mitochondrial ATP synthase subunit G protein
HORVU1Hr1G065270	-2,53	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily protein
HORVU6Hr1G073000	-2,53	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU0Hr1G039760	-2,53	Mucin-4
HORVU1Hr1G054230	-2,53	expansin B2
HORVU7Hr1G059230	-2,53	Late embryogenesis abundant (LEA) hydroxyproline-rich glycoprotein family
HORVU5Hr1G087420	-2,53	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G084820	-2,53	HXXXD-type acyl-transferase family protein
HORVU2Hr1G077200	-2,53	Cytochrome c oxidase biogenesis protein Cmc1-like
HORVU3Hr1G006740	-2,53	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU2Hr1G089630	-2,52	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU3Hr1G085230	-2,52	unknown function
HORVU1Hr1G049140	-2,52	unknown function
HORVU3Hr1G064590	-2,52	auxin response factor 20

HORVU3Hr1G064640	-2,52	AP2/B3 transcription factor family protein
HORVU1Hr1G045670	-2,52	Folylpolyglutamate synthase
HORVU7Hr1G002130	-2,52	receptor-like protein kinase 2
HORVU1Hr1G076610	-2,52	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3
HORVU2Hr1G064930	-2,52	histidine kinase 5
HORVU2Hr1G064940	-2,52	histidine kinase 5
HORVU2Hr1G039960	-2,52	Receptor-like protein kinase 5
HORVU4Hr1G041810	-2,52	Nucleolar protein 58
HORVU4Hr1G084890	-2,52	Endoribonuclease Dicer homolog 1
HORVU2Hr1G030820	-2,52	alanine aminotransferase 2
HORVU5Hr1G067750	-2,52	Beta-1,3-galactosyltransferase 7
HORVU2Hr1G045440	-2,52	TBC1 domain family member 15
HORVU2Hr1G041380	-2,52	receptor kinase 1
HORVU2Hr1G125250	-2,52	receptor kinase 2
HORVU1Hr1G044590	-2,51	WAPL protein, putative isoform 4
HORVU7Hr1G060500	-2,51	FUG1
HORVU6Hr1G015430	-2,51	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU2Hr1G115160	-2,51	Microtubule-associated protein RP/EB family member 1A
HORVU1Hr1G057240	-2,51	Plant calmodulin-binding protein-related
HORVU4Hr1G003220	-2,51	Endo-1,4-beta-xylanase C
HORVU0Hr1G002690	-2,51	PWWP domain containing protein, expressed
HORVU7Hr1G055290	-2,51	O-fucosyltransferase family protein
HORVU6Hr1G019080	-2,50	ABC transporter G family member 36
HORVU3Hr1G063620	-2,50	microtubule-associated protein 65-4
HORVU3Hr1G021750	-2,50	Serine incorporator 1
HORVU7Hr1G060530	-2,50	Translation initiation factor IF-2
HORVU2Hr1G019120	-2,50	unknown function
HORVU2Hr1G090010	-2,50	Defensin-2
HORVU5Hr1G019170	-2,50	Trimethylguanosine synthase
HORVU2Hr1G070570	-2,49	Photosystem II protein D1
HORVU3Hr1G004790	-2,49	Photosystem II protein D1
HORVU5Hr1G004630	-2,49	Photosystem II protein D1
HORVU4Hr1G067060	-2,49	Hsp70 nucleotide exchange factor fes1
HORVU0Hr1G014150	-2,49	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase family protein
HORVU3Hr1G112040	-2,49	Peroxidase superfamily protein
HORVU3Hr1G025060	-2,49	gamma response gene 1
HORVU1Hr1G072680	-2,49	Aldose reductase
HORVU7Hr1G025730	-2,49	Ribosomal protein L11 methyltransferase
HORVU2Hr1G101150	-2,49	xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase 13
HORVU5Hr1G124630	-2,49	Glutathione S-transferase T1
HORVU3Hr1G108530	-2,48	FAD-dependent oxidoreductase
HORVU3Hr1G027460	-2,48	Cytokinin dehydrogenase 2
HORVU3Hr1G061410	-2,48	Serine/threonine-protein kinase
HORVU6Hr1G022570	-2,48	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G076600	-2,48	Protein LURP-one-related 6
HORVU4Hr1G003550	-2,48	unknown function
HORVU5Hr1G033640	-2,48	Protein SUPPRESSOR OF GENE SILENCING 3 homolog
HORVU7Hr1G060790	-2,48	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU7Hr1G000530	-2,48	receptor kinase 2
HORVU6Hr1G092560	-2,47	Oligoribonuclease
HORVU3Hr1G065510	-2,47	SWAP (Suppressor-of-White-APricot)/surp domain-containing protein
HORVU5Hr1G049270	-2,47	UDP-galactose transporter 1
HORVU7Hr1G031350	-2,47	UDP-N-acetylglucosamine (UAA) transporter family
HORVU2Hr1G106960	-2,47	AP-5 complex subunit zeta-1
HORVU6Hr1G088610	-2,47	terpene synthase 14
HORVU1Hr1G062340	-2,47	Protein translocase subunit SecY
HORVU7Hr1G063910	-2,47	Ras-related protein Rab-25
HORVU1Hr1G046990	-2,47	electron-transfer flavoprotein:ubiquinone oxidoreductase
HORVU4Hr1G087570	-2,47	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU7Hr1G092680	-2,46	Phytosulfokines 1
HORVU3Hr1G016360	-2,46	D111/G-patch domain-containing protein
HORVU0Hr1G016150	-2,46	RNA-binding protein 39
HORVU4Hr1G019530	-2,46	calcium-dependent protein kinase 2
HORVU4Hr1G031120	-2,46	unknown function
HORVU3Hr1G074210	-2,46	UvrB/uvrC motif-containing protein isoform 1
HORVU5Hr1G111310	-2,46	magnesium chelatase i2
HORVU5Hr1G121310	-2,46	CTD small phosphatase-like protein 2

HORVU4Hr1G061040	-2,46	D-inositol 3-phosphate glycosyltransferase
HORVU0Hr1G012410	-2,46	Dehydrogenase/reductase SDR family member 4
HORVU7Hr1G032080	-2,46	ATP-dependent RNA helicase, putative
HORVU6Hr1G074440	-2,46	annexin 7
HORVU4Hr1G012680	-2,45	4-coumarate--CoA ligase-like 7
HORVU3Hr1G084470	-2,45	DNA excision repair protein ERCC-8
HORVU0Hr1G023150	-2,45	Protein of unknown function (DUF1218)
HORVU7Hr1G046890	-2,45	Thioredoxin reductase 2
HORVU2Hr1G083560	-2,45	replication factor C subunit 3
HORVU5Hr1G103380	-2,45	Mitochondrial transcription termination factor family protein
HORVU3Hr1G092530	-2,45	General transcription factor IIH subunit 1
HORVU3Hr1G064450	-2,45	lipid phosphate phosphatase 2
HORVU1Hr1G046670	-2,45	Chaperone protein dnaJ 13
HORVU3Hr1G091850	-2,45	GPI transamidase component PIG-S-related
HORVU2Hr1G029260	-2,45	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM44-2
HORVU2Hr1G080710	-2,44	prohibitin 3
HORVU3Hr1G026690	-2,44	Meiosis 5
HORVU2Hr1G053570	-2,44	actin depolymerizing factor 8
HORVU2Hr1G053580	-2,44	actin depolymerizing factor 8
HORVU6Hr1G037610	-2,44	zinc finger (Ran-binding) family protein
HORVU5Hr1G063400	-2,44	Transcription initiation factor TFIID subunit 10
HORVU2Hr1G090340	-2,44	Patatin
HORVU1Hr1G071470	-2,44	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 8
HORVU7Hr1G087810	-2,44	cysteine synthase D1
HORVU6Hr1G075010	-2,44	beta-D-xylosidase 4
HORVU3Hr1G073670	-2,43	Clustered mitochondria protein
HORVU3Hr1G072140	-2,43	Glucosidase 2 subunit beta
HORVU1Hr1G033470	-2,43	RING finger protein 145
HORVU5Hr1G067880	-2,43	aspartate aminotransferase
HORVU3Hr1G023790	-2,43	O-fucosyltransferase family protein
HORVU2Hr1G088910	-2,43	Protein BREAST CANCER SUSCEPTIBILITY 1 homolog
HORVU2Hr1G108990	-2,43	Plastid-lipid associated protein PAP / fibrillin family protein
HORVU2Hr1G073060	-2,43	Coffea canephora DH200=94 genomic scaffold, scaffold_24
HORVU1Hr1G003250	-2,43	Protein of unknown function (DUF594)
HORVU7Hr1G035720	-2,43	Protein of unknown function DUF829, transmembrane 53
HORVU1Hr1G088620	-2,43	Xylanase inhibitor
HORVU4Hr1G007370	-2,42	14-3-3-like protein GF14-F
HORVU5Hr1G093100	-2,42	Single myb histone 6
HORVU3Hr1G041820	-2,42	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G061600	-2,42	Katanin p80 WD40 repeat-containing subunit B1 homolog
HORVU6Hr1G051110	-2,42	bZIP protein
HORVU3Hr1G034210	-2,42	HAD-superfamily hydrolase, subfamily IG, 5'-nucleotidase
HORVU1Hr1G078110	-2,42	SAM-dependent methyltransferase
HORVU5Hr1G111430	-2,42	Mitochondrial transcription termination factor-like
HORVU4Hr1G083970	-2,42	ATP-dependent RNA helicase DeaD
HORVU2Hr1G021860	-2,41	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU2Hr1G119180	-2,41	ETO1-like 1
HORVU7Hr1G079510	-2,41	Acid phosphatase/vanadium-dependent haloperoxidase-related protein
HORVU3Hr1G031880	-2,41	Cyclin A1
HORVU1Hr1G088550	-2,41	undescribed protein
HORVU1Hr1G043150	-2,41	pfkB-like carbohydrate kinase family protein
HORVU7Hr1G001340	-2,41	protein arginine methyltransferase 7
HORVU6Hr1G093680	-2,41	Protein of unknown function (DUF789)
HORVU2Hr1G007070	-2,41	Cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase
HORVU6Hr1G032220	-2,41	MADS-box transcription factor 29
HORVU5Hr1G041390	-2,41	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G085140	-2,41	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G087090	-2,41	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G088120	-2,40	Protein ACCUMULATION AND REPLICATION OF CHLOROPLASTS 3
HORVU2Hr1G127220	-2,40	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU3Hr1G110970	-2,40	polyubiquitin 3
HORVU5Hr1G093280	-2,40	Protein LSD1
HORVU2Hr1G099810	-2,40	Potassium transporter family protein
HORVU2Hr1G091230	-2,40	Syntaxin-81
HORVU5Hr1G012660	-2,40	unknown function
HORVU0Hr1G016930	-2,39	Coffea canephora DH200=94 genomic scaffold, scaffold_5
HORVU5Hr1G027810	-2,39	1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase 2

HORVU5Hr1G053480	-2,39	Protein FLUORESCENT IN BLUE LIGHT, chloroplastic
HORVU3Hr1G027340	-2,39	RNA-dependent RNA polymerase family protein
HORVU7Hr1G114840	-2,39	unknown function
HORVU7Hr1G038500	-2,39	myosin 1
HORVU2Hr1G068610	-2,39	violaxanthin de-epoxidase-related
HORVU4Hr1G014660	-2,39	Plant regulator RWP-RK family protein
HORVU4Hr1G050080	-2,38	undescribed protein
HORVU2Hr1G060460	-2,38	Outer arm dynein light chain 1 protein
HORVU5Hr1G104090	-2,38	ubiquitin-conjugating enzyme 3
HORVU1Hr1G050850	-2,38	VQ motif-containing protein
HORVU7Hr1G118900	-2,38	Serine/threonine-protein kinase
HORVU7Hr1G118990	-2,38	Serine/threonine-protein kinase
HORVU7Hr1G090760	-2,38	Charged multivesicular body protein 5
HORVU2Hr1G088060	-2,38	calmodulin like 23
HORVU5Hr1G057500	-2,38	WD-40 repeat family protein
HORVU6Hr1G005920	-2,38	NADPH:quinone oxidoreductase
HORVU1Hr1G052620	-2,37	sterol methyltransferase 2
HORVU5Hr1G063170	-2,37	undescribed protein
HORVU1Hr1G049550	-2,37	Non-lysosomal glucosylceramidase
HORVU2Hr1G077010	-2,37	unknown function
HORVU3Hr1G074730	-2,37	Transmembrane protein 56
HORVU2Hr1G049700	-2,37	zeta-carotene desaturase
HORVU6Hr1G051560	-2,36	3,4-dihydroxy-2-butanone 4-phosphate synthase
HORVU7Hr1G049870	-2,36	alanine:glyoxylate aminotransferase
HORVU2Hr1G123490	-2,36	Transcription initiation factor TFIID subunit 2
HORVU3Hr1G023590	-2,36	Transcription initiation factor TFIID subunit 2
HORVU5Hr1G061200	-2,36	Transcription initiation factor TFIID subunit 2
HORVU5Hr1G058940	-2,36	strictosidine synthase-like 3
HORVU4Hr1G006500	-2,36	Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1-3
HORVU6Hr1G033630	-2,36	Glucose-1-phosphate adenylyltransferase family protein
HORVU0Hr1G017620	-2,36	Actin-related protein 2/3 complex subunit 1B
HORVU5Hr1G054000	-2,36	Chlorophyll a-b binding protein C, chloroplastic
HORVU3Hr1G062700	-2,36	Polyketide cyclase/dehydrase and lipid transport superfamily protein
HORVU4Hr1G075110	-2,36	unknown function
HORVU7Hr1G066590	-2,36	Histone-lysine N-methyltransferase ATXR3
HORVU3Hr1G097680	-2,36	Nuclear transcription factor Y subunit B-1
HORVU5Hr1G008250	-2,35	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B
HORVU3Hr1G037040	-2,35	unknown protein
HORVU3Hr1G036720	-2,35	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU4Hr1G023100	-2,35	Cysteine desulfurase
HORVU3Hr1G116220	-2,35	DOF zinc finger protein 1
HORVU5Hr1G119500	-2,35	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G093390	-2,35	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU1Hr1G072370	-2,35	kinesin 4
HORVU7Hr1G059870	-2,35	mammalian cell entry protein
HORVU7Hr1G056570	-2,35	Membrane-associated protein Hem
HORVU7Hr1G096250	-2,35	high chlorophyll fluorescence phenotype 173
ENSRNA049445574	-2,35	-
HORVU5Hr1G098890	-2,35	malate dehydrogenase
HORVU5Hr1G094890	-2,34	NDH-dependent cyclic electron flow 5
HORVU1Hr1G078910	-2,34	Chaperone protein dnaJ 10
HORVU2Hr1G125210	-2,34	receptor kinase 1
HORVU4Hr1G073140	-2,34	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU2Hr1G023660	-2,34	YTH domain-containing family protein 2
HORVU1Hr1G005140	-2,34	Pectin acetylesterase 5
HORVU2Hr1G017270	-2,34	WUSCHEL related homeobox 12
HORVU7Hr1G091490	-2,34	Ras-related protein Rab-25
HORVU1Hr1G074550	-2,34	Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.10
HORVU7Hr1G019540	-2,33	carboxypeptidase D, putative
HORVU6Hr1G073010	-2,33	HXXXD-type acyl-transferase family protein
HORVU2Hr1G105560	-2,33	Acidic endochitinase
HORVU5Hr1G119520	-2,33	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU4Hr1G009550	-2,33	Early-responsive to dehydration stress protein (ERD4)
HORVU6Hr1G073690	-2,33	Caleosin-related family protein
HORVU5Hr1G007750	-2,33	FAR1-related sequence 3
HORVU1Hr1G095400	-2,33	Pleckstrin homology (PH) domain-containing protein
HORVU2Hr1G026870	-2,33	novel plant snare 13

HORVU3Hr1G074120	-2,33	Sporulation RMD1
HORVU5Hr1G060250	-2,32	annexin 5
HORVU7Hr1G080210	-2,32	protein serine/threonine kinases
HORVU7Hr1G097570	-2,32	anthranilate synthase 2
HORVU0Hr1G012520	-2,32	DNA binding protein
HORVU2Hr1G045230	-2,32	Oral cancer-overexpressed protein 1
HORVU6Hr1G018060	-2,32	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G018350	-2,32	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU2Hr1G037990	-2,32	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G051900	-2,32	receptor kinase 2
HORVU2Hr1G099030	-2,32	F-box family protein
HORVU6Hr1G087380	-2,32	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU5Hr1G118480	-2,32	cyclase/dehydrase family protein
HORVU7Hr1G110290	-2,32	Histone H2B.2
HORVU7Hr1G028160	-2,31	receptor kinase 2
HORVU3Hr1G090820	-2,31	Transmembrane protein, putative
HORVU4Hr1G005500	-2,31	50S ribosomal protein L18
HORVU0Hr1G027160	-2,31	undescribed protein
HORVU0Hr1G027230	-2,31	undescribed protein
HORVU6Hr1G063240	-2,31	undescribed protein
HORVU5Hr1G030970	-2,31	Defective in cullin neddylation protein 1
HORVU4Hr1G051080	-2,31	myb-like transcription factor family protein
HORVU7Hr1G052560	-2,31	calcium-transporting ATPase, putative
HORVU4Hr1G058180	-2,31	ARM repeat superfamily protein
HORVU6Hr1G033380	-2,30	Copper-transporting ATPase 1
HORVU5Hr1G036120	-2,30	Alpha-(1,4)-fucosyltransferase
HORVU2Hr1G071540	-2,30	5'-AMP-activated protein kinase subunit gamma-1
HORVU1Hr1G012130	-2,30	Chymotrypsin inhibitor
HORVU5Hr1G060210	-2,30	sugar transporter 2
HORVU5Hr1G060220	-2,30	sugar transporter 2
HORVU7Hr1G002930	-2,30	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU1Hr1G083730	-2,30	Sulfhydryl oxidase 1
HORVU6Hr1G031370	-2,30	Calcineurin-like metallo-phosphoesterase superfamily protein
HORVU7Hr1G046280	-2,30	Thioredoxin domain-containing protein 17
HORVU5Hr1G053360	-2,30	SURP and G-patch domain-containing protein 1-like protein
HORVU2Hr1G068660	-2,30	MLO-like protein 1
HORVU3Hr1G006100	-2,29	GDSL esterase/lipase
HORVU3Hr1G006140	-2,29	GDSL esterase/lipase
HORVU1Hr1G081570	-2,29	WRKY DNA-binding protein 24
HORVU7Hr1G036690	-2,29	Serine/threonine-protein phosphatase 2A activator
AGP50797	-2,29	-
HORVU0Hr1G027660	-2,29	unknown function
HORVU0Hr1G030810	-2,29	unknown function
HORVU5Hr1G096790	-2,29	unknown function
HORVU2Hr1G031230	-2,29	bromo-adjacent homology (BAH) domain-containing protein
HORVU0Hr1G017380	-2,29	Serine-rich protein
HORVU6Hr1G086910	-2,29	Serine-rich protein
HORVU2Hr1G003600	-2,29	Disease resistance protein
HORVU5Hr1G122810	-2,29	transducin family protein / WD-40 repeat family protein
HORVU5Hr1G117690	-2,29	Translocase of chloroplast 159, chloroplastic
HORVU3Hr1G113740	-2,28	receptor kinase 3
HORVU1Hr1G077510	-2,28	Protein PAT1 homolog 1
HORVU2Hr1G092230	-2,28	Autophagy-related protein 13
HORVU5Hr1G040090	-2,28	BHLH transcription factor-like protein
HORVU4Hr1G007240	-2,28	actin related protein 2
HORVU7Hr1G117540	-2,28	Pseudouridine synthase family protein
HORVU3Hr1G041160	-2,28	Protein translocase subunit SecA
HORVU5Hr1G039740	-2,28	D-inositol 3-phosphate glycosyltransferase
HORVU7Hr1G053310	-2,28	D-inositol 3-phosphate glycosyltransferase
HORVU6Hr1G009520	-2,28	glutamate receptor 3.3
HORVU5Hr1G052510	-2,28	GPI inositol-deacylase
HORVU3Hr1G113910	-2,28	U-box domain-containing protein 4
HORVU7Hr1G093060	-2,28	Insulinase (Peptidase family M16) family protein
HORVU2Hr1G082470	-2,28	FAR1-related sequence 6
HORVU7Hr1G094980	-2,27	Lipid transfer-like protein VAS
HORVU5Hr1G103040	-2,27	FAD/NAD(P)-binding oxidoreductase family protein
HORVU6Hr1G083790	-2,27	cyclic nucleotide-gated channel 17

HORVU1Hr1G012110	-2,27	xylulose kinase-1
HORVU1Hr1G012150	-2,27	xylulose kinase-1
HORVU6Hr1G052140	-2,27	Beta-1,3-galactosyltransferase 7
HORVU5Hr1G011570	-2,27	Stomatal closure-related actin-binding protein 1
HORVU3Hr1G021910	-2,27	tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein
HORVU7Hr1G034080	-2,27	SMR domain-containing protein
HORVU3Hr1G064850	-2,27	HEAT repeat-containing protein
HORVU6Hr1G067890	-2,27	Guanosine-3',5'-bis(diphosphate) 3'-pyrophosphohydrolase
HORVU2Hr1G065180	-2,26	tRNA-dihydrouridine(20/20a) synthase
HORVU3Hr1G095700	-2,26	metacaspase 1
HORVU3Hr1G013530	-2,26	Histone H2B.10
HORVU5Hr1G125270	-2,26	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G125290	-2,26	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G068990	-2,26	receptor-like protein kinase 4
HORVU3Hr1G096250	-2,26	Histone-lysine N-methyltransferase 2B
HORVU6Hr1G080290	-2,26	Transcription factor TFIIIB component B"
HORVU7Hr1G086420	-2,26	RNA polymerase II-associated protein 1
HORVU4Hr1G015040	-2,26	Polyketide cyclase/dehydrase and lipid transport superfamily protein
HORVU7Hr1G114650	-2,26	Homeobox protein knotted-1-like 11
HORVU6Hr1G032800	-2,26	DNA damage-inducible protein 1
HORVU5Hr1G093720	-2,26	E3 ubiquitin protein ligase DRIP2
HORVU2Hr1G111440	-2,26	Ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase activase, chloroplastic
HORVU0Hr1G013260	-2,25	Myosin-J heavy chain
HORVU5Hr1G049630	-2,25	CAX interacting protein 4
HORVU5Hr1G077430	-2,25	receptor kinase 2
HORVU2Hr1G025190	-2,25	Sulfotransferase
HORVU0Hr1G015830	-2,25	Ribonuclease J
HORVU6Hr1G046420	-2,25	Trihelix transcription factor GT-3b
HORVU2Hr1G064170	-2,25	Outer arm dynein light chain 1 protein
HORVU5Hr1G055190	-2,24	Ethylene-responsive transcription factor 10
HORVU1Hr1G009050	-2,24	Epoxide hydrolase 2
HORVU1Hr1G060850	-2,24	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein
HORVU4Hr1G066870	-2,24	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU3Hr1G015870	-2,24	Aspartate--tRNA(Asp/Asn) ligase
HORVU6Hr1G092150	-2,24	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G001090	-2,24	BEL1-like homeodomain 6
HORVU7Hr1G095010	-2,24	Lysophosphatidylcholine acyltransferase 2
HORVU3Hr1G040360	-2,24	ATP-citrate synthase subunit 1
HORVU1Hr1G046260	-2,24	WD and tetratricopeptide repeat protein, putative isoform 5
HORVU3Hr1G030490	-2,24	SNF7 family protein
HORVU7Hr1G022970	-2,24	Proteasome subunit beta type-5-A
HORVU1Hr1G004480	-2,24	Kinetochore protein spc25
HORVU6Hr1G051760	-2,24	GPI ethanolamine phosphate transferase 1
HORVU6Hr1G053680	-2,23	Elongation factor Tu
HORVU1Hr1G019590	-2,23	SAD1/UNC-84 domain protein 2
HORVU3Hr1G098230	-2,23	Homeobox protein LUMINIDEPENDENS
HORVU7Hr1G104710	-2,23	Homeobox protein LUMINIDEPENDENS
HORVU3Hr1G070790	-2,23	N-acetylated-alpha-linked acidic dipeptidase 2
HORVU3Hr1G089260	-2,23	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G095330	-2,23	50S ribosomal protein L27
HORVU2Hr1G035970	-2,23	Amino-acid acetyltransferase
HORVU5Hr1G044360	-2,23	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU5Hr1G062040	-2,23	Protein SCAI
HORVU3Hr1G110360	-2,23	CRS1 / YhbY (CRM) domain-containing protein
HORVU6Hr1G041020	-2,23	50S ribosomal protein L21
HORVU7Hr1G115510	-2,22	purple acid phosphatase 26
HORVU4Hr1G011260	-2,22	E3 ubiquitin-protein ligase HOS1
HORVU3Hr1G061620	-2,22	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU3Hr1G020300	-2,22	FACT complex subunit SSRP1-A
HORVU2Hr1G123310	-2,22	Ozone-responsive stress related protein
HORVU0Hr1G002340	-2,22	NADH-cytochrome b5 reductase 2
HORVU6Hr1G050740	-2,22	FAD/NAD(P)-binding oxidoreductase
HORVU5Hr1G069380	-2,22	Heavy metal transport/detoxification superfamily protein
HORVU7Hr1G041520	-2,22	THO complex subunit 4D
HORVU4Hr1G070970	-2,22	Vicilin-like antimicrobial peptides 2-2
HORVU5Hr1G031470	-2,22	Chaperone protein ClpB
HORVU1Hr1G008490	-2,22	unknown function

HORVU6Hr1G070750	-2,22	E3 ubiquitin-protein ligase makorin
HORVU3Hr1G099130	-2,22	Lipase
HORVU1Hr1G045960	-2,22	Carboxypeptidase Y homolog A
HORVU3Hr1G096940	-2,22	beta glucosidase 11
HORVU6Hr1G064450	-2,22	Protein RMD5 homolog A
HORVU2Hr1G004540	-2,22	KS protein
HORVU3Hr1G058470	-2,22	glucan synthase-like 7
HORVU6Hr1G054010	-2,22	unknown function
HORVU6Hr1G075600	-2,21	RINT-1 / TIP-1 family
HORVU7Hr1G082830	-2,21	1,4-alpha-glucan branching enzyme GlgB
HORVU4Hr1G063140	-2,21	BnaC08g31010D protein
HORVU6Hr1G043690	-2,21	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 15
HORVU2Hr1G035400	-2,21	Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1-3
HORVU7Hr1G113110	-2,21	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU6Hr1G018840	-2,21	cellulose synthase-like A3
HORVU2Hr1G104190	-2,21	GPI mannosyltransferase 2
HORVU7Hr1G109810	-2,21	Core-2/I-branching beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase family protein
HORVU3Hr1G088050	-2,21	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU1Hr1G090410	-2,21	unknown function
HORVU1Hr1G079510	-2,21	Galactosyltransferase family protein
HORVU4Hr1G075720	-2,21	Galactosyltransferase family protein
HORVU1Hr1G000710	-2,21	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B
HORVU1Hr1G092270	-2,21	Phox-associated domain
HORVU4Hr1G009620	-2,21	GDP-mannose transporter
HORVU7Hr1G054060	-2,20	Nitrate reductase [NADH]
HORVU0Hr1G015770	-2,20	Protein S-acyltransferase 24
HORVU1Hr1G040660	-2,20	Long-chain-alcohol oxidase FAO1
HORVU4Hr1G032980	-2,20	Ankyrin repeat family protein
HORVU4Hr1G073880	-2,20	Ankyrin repeat family protein
HORVU5Hr1G061130	-2,20	Heavy metal transport/detoxification superfamily protein
HORVU3Hr1G027270	-2,20	casein kinase 1-like protein 2
HORVU1Hr1G071710	-2,20	Serine/threonine-protein kinase ATM
HORVU2Hr1G020330	-2,20	Lipase
ENSRNA049443512	-2,20	-
HORVU5Hr1G111640	-2,20	50S ribosomal protein L17
HORVU7Hr1G094310	-2,20	protein N-terminal asparagine amidohydrolase family protein
HORVU2Hr1G086950	-2,20	Calcium-binding mitochondrial carrier protein
HORVU2Hr1G079960	-2,20	Gamma-glutamyltranspeptidase 1
HORVU5Hr1G046250	-2,20	RING/U-box superfamily protein
HORVU6Hr1G000410	-2,19	Two-component response regulator ORR24
HORVU6Hr1G045310	-2,19	Protein kinase superfamily protein
HORVU0Hr1G011480	-2,19	Serine/threonine-protein kinase
HORVU1Hr1G080600	-2,19	Serine/threonine-protein kinase
HORVU2Hr1G103180	-2,19	L-lactate dehydrogenase
HORVU5Hr1G100770	-2,19	actin depolymerizing factor 6
HORVU5Hr1G013880	-2,19	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU7Hr1G070270	-2,19	unknown protein
HORVU2Hr1G070040	-2,19	Chaperone protein DnaJ
HORVU6Hr1G094650	-2,19	Zinc finger CCCH domain-containing protein 19
HORVU3Hr1G022360	-2,19	RING/U-box superfamily protein
HORVU6Hr1G047240	-2,19	RING/U-box superfamily protein
HORVU4Hr1G019600	-2,19	Glutamyl-tRNA(Gln) amidotransferase subunit A
HORVU2Hr1G096640	-2,19	unknown function
HORVU0Hr1G040200	-2,19	coenzyme F420 hydrogenase family / dehydrogenase, beta subunit family
HORVU3Hr1G031200	-2,18	Glyoxylate/hydroxypyruvate reductase B
HORVU2Hr1G050640	-2,18	Rho GTPase-activating protein 24
HORVU7Hr1G021720	-2,18	Protein with potential galactosyl transferase activity
HORVU3Hr1G069000	-2,18	NADH:ubiquinone oxidoreductase intermediate-associated protein 30
HORVU6Hr1G019190	-2,18	Histone acetyltransferase HAC12
HORVU7Hr1G094110	-2,18	Methionine--tRNA ligase
HORVU1Hr1G022840	-2,18	Peroxisomal membrane protein 2
HORVU1Hr1G034980	-2,18	tobamovirus multiplication 2A
HORVU2Hr1G109740	-2,18	Zinc finger CCCH domain-containing protein 30
HORVU2Hr1G109820	-2,18	Zinc finger CCCH domain-containing protein 30
HORVU5Hr1G021050	-2,18	XH/XS domain-containing protein
HORVU2Hr1G098380	-2,18	SMR domain-containing protein
HORVU2Hr1G071330	-2,18	Glycine--tRNA ligase

HORVU2Hr1G082540	-2,18	Leucine-rich repeat (LRR) family protein
HORVU7Hr1G066320	-2,18	Leucine-rich repeat (LRR) family protein
HORVU2Hr1G113830	-2,18	Filament-like plant protein 7
HORVU2Hr1G076910	-2,18	Cleft lip and palate transmembrane protein 1 homolog
HORVU5Hr1G077200	-2,18	Pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta
HORVU5Hr1G055270	-2,18	GDP-mannose transporter
HORVU4Hr1G027180	-2,18	proline transporter 1
HORVU6Hr1G084280	-2,18	Stigma-specific Stig1 family protein
HORVU5Hr1G124920	-2,17	DUF1499 family protein
HORVU2Hr1G114640	-2,17	thymidylate synthase 1
HORVU2Hr1G020270	-2,17	xylose isomerase family protein
HORVU7Hr1G076900	-2,17	Survival of motor neuron-related-splicing factor 30
HORVU6Hr1G003500	-2,17	COPII coat assembly protein SEC16
HORVU5Hr1G011100	-2,17	Protoporphyrinogen oxidase
HORVU6Hr1G040480	-2,17	Peroxisomal membrane protein PMP22
HORVU7Hr1G065420	-2,17	Bifunctional nuclease 2
HORVU3Hr1G069360	-2,17	ARM repeat superfamily protein
HORVU4Hr1G079420	-2,17	Maestro heat-like repeat-containing protein family member 1
HORVU2Hr1G105510	-2,17	ABC transporter C family member 9
HORVU2Hr1G020220	-2,17	Potassium transporter family protein
HORVU4Hr1G048120	-2,17	Phosphoglycerate mutase family protein
HORVU7Hr1G043800	-2,17	U-box domain-containing protein
HORVU3Hr1G044640	-2,17	Light-mediated development protein DET1
HORVU2Hr1G112860	-2,17	Nuclease S1
HORVU2Hr1G050450	-2,17	ureidoglycine aminohydrolase
HORVU3Hr1G079050	-2,17	Tryptophan--tRNA ligase
HORVU0Hr1G038790	-2,16	DNA (cytosine-5)-methyltransferase DRM2
HORVU6Hr1G032260	-2,16	DNA (cytosine-5)-methyltransferase DRM2
HORVU5Hr1G024400	-2,16	Calmodulin-binding protein
HORVU3Hr1G086480	-2,16	HSP20-like chaperones superfamily protein
HORVU3Hr1G087190	-2,16	Protein RMD5 homolog A
HORVU5Hr1G054880	-2,16	Histone-lysine N-methyltransferase 2A
HORVU5Hr1G121900	-2,16	RNA-binding KH domain-containing protein
HORVU2Hr1G097300	-2,16	trehalose-6-phosphate phosphatase
HORVU6Hr1G086560	-2,16	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU6Hr1G044600	-2,16	P-loop NTPase domain-containing protein LPA1
HORVU6Hr1G035550	-2,16	Glycerophosphodiester phosphodiesterase GDPDL7
HORVU7Hr1G021310	-2,16	GDSL esterase/lipase
HORVU7Hr1G096240	-2,16	Histone acetyltransferase HAC12
HORVU6Hr1G052230	-2,16	undescribed protein
HORVU6Hr1G004320	-2,16	Protein kinase domain containing protein, expressed
HORVU6Hr1G004340	-2,16	receptor-like protein kinase 2
HORVU6Hr1G004420	-2,16	receptor kinase 3
HORVU6Hr1G004440	-2,16	Protein kinase family protein
HORVU6Hr1G004770	-2,16	unknown function
HORVU6Hr1G023530	-2,16	Protein kinase domain containing protein, expressed
HORVU6Hr1G044640	-2,15	myb domain protein 3r-4
HORVU7Hr1G013170	-2,15	Flavin-containing monooxygenase family protein
HORVU6Hr1G050960	-2,15	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
HORVU7Hr1G095750	-2,15	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
HORVU1Hr1G061160	-2,15	Pyruvate, phosphate dikinase 2
HORVU6Hr1G060150	-2,15	WD repeat-containing protein 44
HORVU6Hr1G036640	-2,15	ARF-GAP domain 5
HORVU1Hr1G059810	-2,15	AMP deaminase
HORVU3Hr1G117840	-2,15	E3 SUMO-protein ligase SIZ1
HORVU7Hr1G078770	-2,15	B3 domain-containing transcription factor ABI3
HORVU7Hr1G095570	-2,15	Inactive poly [ADP-ribose] polymerase RCD1
HORVU3Hr1G085710	-2,15	Ras-related protein Rab-25
HORVU3Hr1G042770	-2,15	phosphate transporter 4
HORVU7Hr1G033620	-2,15	Cysteine-rich venom protein
HORVU6Hr1G038550	-2,15	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU0Hr1G013900	-2,14	L-lactate dehydrogenase
HORVU1Hr1G046620	-2,14	Tetratricopeptide repeat protein 12
HORVU1Hr1G013450	-2,14	Alpha,alpha-trehalose-phosphate synthase [UDP-forming] 1
HORVU4Hr1G088470	-2,14	phosphatidylserine decarboxylase 1
HORVU7Hr1G054690	-2,14	ARM repeat superfamily protein
HORVU6Hr1G000090	-2,14	sulfurtransferase protein 16

HORVU3Hr1G082260	-2,14	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G031870	-2,14	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 3
HORVU7Hr1G093000	-2,14	unknown protein
HORVU0Hr1G007860	-2,14	ATP-dependent RNA helicase, putative
HORVU6Hr1G082120	-2,13	Zinc finger CCCH domain-containing protein 55
HORVU2Hr1G000770	-2,13	Disease resistance protein
HORVU1Hr1G046350	-2,13	unknown function
HORVU7Hr1G064170	-2,13	unknown function
HORVU2Hr1G101190	-2,13	villin 4
HORVU6Hr1G068370	-2,13	Growth-regulating factor 4
HORVU7Hr1G028460	-2,13	BSD domain-containing protein
HORVU7Hr1G047720	-2,13	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G095270	-2,13	Zinc finger CCCH domain-containing protein 37
HORVU0Hr1G017140	-2,13	Methyltransferase-like protein 7A
HORVU7Hr1G051520	-2,13	dihydroflavonol 4-reductase-like1
HORVU7Hr1G000370	-2,12	MEI2-like protein 5
HORVU3Hr1G091150	-2,12	Protein of unknown function (DUF803)
HORVU1Hr1G030630	-2,12	unknown protein
HORVU2Hr1G058170	-2,12	ARID/BRIGHT DNA-binding domain-containing protein
HORVU3Hr1G032200	-2,12	ABL interactor-like protein 2
HORVU2Hr1G119350	-2,12	Beta-glucosidase C
HORVU5Hr1G056470	-2,12	Ras-related protein Rab-25
HORVU7Hr1G026910	-2,12	Histone-lysine N-methyltransferase E(z)
HORVU6Hr1G088330	-2,12	Acyl-CoA N-acyltransferases (NAT) superfamily protein
HORVU6Hr1G069350	-2,12	Histone-lysine N-methyltransferase SUVR5
HORVU6Hr1G034150	-2,12	unknown function
HORVU3Hr1G107320	-2,12	cofactor assembly of complex C
HORVU5Hr1G028060	-2,12	sugar transporter 9
HORVU1Hr1G059990	-2,12	DnaJ-like protein 1
HORVU4Hr1G061260	-2,12	Mitochondrial phosphate carrier protein 3, mitochondrial
HORVU2Hr1G061620	-2,12	Protein PHLOEM PROTEIN 2-LIKE A10
HORVU7Hr1G076030	-2,11	Beta-carotene isomerase D27, chloroplastic
HORVU2Hr1G101640	-2,11	Pectin acetylesterase 7
HORVU3Hr1G033350	-2,11	Optic atrophy 3 protein (OPA3)
HORVU4Hr1G080000	-2,11	Phosphoribosylamine--glycine ligase
HORVU1Hr1G043680	-2,11	RNA-binding KH domain-containing protein
HORVU4Hr1G008500	-2,11	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
HORVU5Hr1G077190	-2,11	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
HORVU2Hr1G036050	-2,11	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family protein
HORVU5Hr1G047930	-2,11	Sorting and assembly machinery component 50 homolog B
HORVU5Hr1G033380	-2,11	Pectin acetylesterase 12
HORVU6Hr1G011160	-2,11	Carboxypeptidase B2
HORVU3Hr1G030520	-2,11	Sodium/bile acid cotransporter 7
HORVU4Hr1G050290	-2,11	Sodium/bile acid cotransporter 7
HORVU4Hr1G034300	-2,11	Inositol monophosphatase family protein
HORVU0Hr1G008550	-2,11	ABC transporter ATP-binding protein uup
HORVU5Hr1G042080	-2,10	Hippocampus abundant transcript-like protein 1
HORVU5Hr1G068230	-2,10	bZIP transcription factor 27
HORVU5Hr1G062120	-2,10	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU2Hr1G099770	-2,10	Oxygen-dependent coproporphyrinogen-III oxidase
HORVU3Hr1G000230	-2,10	Protein EXECUTER 2, chloroplastic
HORVU1Hr1G051460	-2,10	unknown function
HORVU3Hr1G071290	-2,10	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU7Hr1G028240	-2,10	sulfiredoxin
HORVU3Hr1G072350	-2,10	Nuclear transport factor 2 (NTF2) family protein
HORVU6Hr1G014790	-2,10	Phosphatidate cytidylyltransferase
HORVU0Hr1G021640	-2,10	hemoglobin 3
HORVU6Hr1G093260	-2,10	M-1
HORVU5Hr1G008160	-2,10	Serine protease Do-like HtrA
HORVU3Hr1G070490	-2,10	profilin 5
HORVU3Hr1G070510	-2,10	profilin 4
HORVU1Hr1G073760	-2,10	Solute carrier family 35 member F2
HORVU4Hr1G055850	-2,10	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 8-A
HORVU3Hr1G050920	-2,10	SIT4 phosphatase-associated family protein
HORVU6Hr1G032570	-2,10	26S protease regulatory subunit 8
HORVU1Hr1G077340	-2,10	Translation initiation factor IF-2
HORVU2Hr1G064750	-2,10	Translation initiation factor IF-2

HORVU2Hr1G051970	-2,10	Zn-dependent exopeptidases superfamily protein
HORVU3Hr1G104770	-2,10	Disease resistance protein
HORVU4Hr1G018270	-2,09	MLO-like protein 4
HORVU5Hr1G022850	-2,09	Major facilitator superfamily protein
HORVU5Hr1G110500	-2,09	Major facilitator superfamily protein
HORVU1Hr1G090990	-2,09	Protein CHUP1, chloroplastic
HORVU4Hr1G002130	-2,09	Dehydrogenase/reductase SDR family member 11
HORVU2Hr1G111640	-2,09	Plasma membrane ATPase
HORVU2Hr1G063950	-2,09	RNA polymerase-associated protein LEO1
HORVU2Hr1G118240	-2,09	ubiquitin-conjugating enzyme 28
HORVU4Hr1G052470	-2,09	30S ribosomal protein S1 homolog A
HORVU7Hr1G050240	-2,09	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G109640	-2,09	unknown function
HORVU1Hr1G018700	-2,09	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein, putative isoform 1
HORVU1Hr1G067470	-2,09	Cellulose-synthase-like C5
HORVU7Hr1G121870	-2,09	ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH 3
HORVU5Hr1G036330	-2,09	GATA transcription factor 9
HORVU3Hr1G062600	-2,09	UPF0678 fatty acid-binding protein-like protein
HORVU3Hr1G080040	-2,09	RING/U-box superfamily protein
HORVU5Hr1G106740	-2,09	Protein kinase family protein
HORVU3Hr1G062740	-2,09	Protein of unknown function (DUF1639)
HORVU3Hr1G078920	-2,09	DNA-directed RNA polymerase subunit 5-like protein 1
HORVU3Hr1G078930	-2,09	DNA-directed RNA polymerase subunit 5-like protein 1
HORVU1Hr1G038410	-2,08	Transmembrane 45B-like protein
HORVU1Hr1G069250	-2,08	unknown function
HORVU5Hr1G031380	-2,08	Translocase of chloroplast 90, chloroplastic
HORVU5Hr1G091820	-2,08	MATE efflux family protein
HORVU1Hr1G024640	-2,08	Kinase interacting (KIP1-like) family protein
HORVU5Hr1G097560	-2,08	Two-component response regulator ARR2
HORVU2Hr1G115070	-2,08	cullin 3
HORVU6Hr1G072620	-2,08	receptor kinase 3
HORVU6Hr1G035260	-2,08	30S ribosomal protein S21
HORVU1Hr1G030740	-2,08	Lysine-specific demethylase 5A
HORVU7Hr1G096630	-2,08	Protein FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL 3
HORVU2Hr1G092180	-2,08	Elongation factor G
HORVU3Hr1G010570	-2,08	Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.2
HORVU3Hr1G013380	-2,08	Leucine-rich repeat protein kinase family protein
HORVU6Hr1G040220	-2,08	RNA-binding protein Musashi homolog 2
HORVU3Hr1G071540	-2,08	Protein of unknown function (DUF616)
HORVU6Hr1G049910	-2,08	UDP-galactose transporter
HORVU6Hr1G020670	-2,07	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU0Hr1G001390	-2,07	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU1Hr1G045280	-2,07	BnaC08g35780D protein
HORVU2Hr1G043310	-2,07	Peptide chain release factor 2
HORVU5Hr1G094010	-2,07	CWF19-like protein 2
HORVU7Hr1G071060	-2,07	DNA topoisomerase 6 subunit A3
HORVU2Hr1G123070	-2,07	Isoaspartyl peptidase/L-asparaginase
HORVU5Hr1G039770	-2,07	Pectate lyase
HORVU2Hr1G098070	-2,07	undescribed protein
HORVU4Hr1G073740	-2,07	undescribed protein
HORVU7Hr1G019960	-2,07	undescribed protein
HORVU7Hr1G032720	-2,07	undescribed protein
HORVU0Hr1G021940	-2,07	Loricrin-like
HORVU5Hr1G056030	-2,07	oleosin 1
HORVU3Hr1G049480	-2,07	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G079190	-2,07	PSRP4
HORVU3Hr1G088500	-2,07	fructose-bisphosphate aldolase 2
HORVU3Hr1G088540	-2,07	fructose-bisphosphate aldolase 2
HORVU3Hr1G083780	-2,07	sorting nexin 1
HORVU4Hr1G056200	-2,07	Vacuolar protein-sorting-associated protein 37 homolog 2
HORVU2Hr1G066860	-2,07	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU2Hr1G104530	-2,07	ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH
HORVU5Hr1G038960	-2,07	Peroxisomal biogenesis factor 6
HORVU4Hr1G019910	-2,07	Sec1 family domain-containing protein MIP3
HORVU2Hr1G086400	-2,06	Magnesium transporter MRS2-C
HORVU2Hr1G113300	-2,06	unknown function

HORVU4Hr1G028610	-2,06	unknown function
HORVU1Hr1G004080	-2,06	Disease resistance protein
HORVU7Hr1G115760	-2,06	Actin-related protein 2/3 complex subunit 3
HORVU5Hr1G044990	-2,06	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G054230	-2,06	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G033550	-2,06	Carboxypeptidase Y homolog A
HORVU5Hr1G104860	-2,06	5'-3' exoribonuclease 4
HORVU7Hr1G109340	-2,06	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G006180	-2,06	Guanine nucleotide-binding protein alpha-2 subunit
HORVU5Hr1G105050	-2,06	unknown function
HORVU1Hr1G072650	-2,06	Protein YIPF
HORVU7Hr1G021510	-2,06	Aminopeptidase N
HORVU0Hr1G001510	-2,06	Peroxisomal membrane protein PEX14
HORVU2Hr1G102130	-2,05	Hypoxia-responsive family protein
HORVU1Hr1G067000	-2,05	Glyoxysomal processing protease, glyoxysomal
HORVU0Hr1G017200	-2,05	nuclear pore anchor
HORVU7Hr1G077230	-2,05	Class E vacuolar protein-sorting machinery protein hse1
HORVU2Hr1G068090	-2,05	MATE efflux family protein
HORVU3Hr1G020470	-2,05	ubiquitin-conjugating enzyme 3
HORVU4Hr1G067960	-2,05	Purple acid phosphatase
HORVU4Hr1G059120	-2,05	UDP-glucose 4-epimerase
HORVU5Hr1G116360	-2,05	Phosphoribosylformylglycinamidine cyclo-ligase
HORVU4Hr1G002100	-2,05	CCR4-NOT transcription complex subunit 3
HORVU3Hr1G097200	-2,05	auxin response factor 2
HORVU5Hr1G007680	-2,04	unknown protein
HORVU6Hr1G068760	-2,04	Inorganic pyrophosphatase
HORVU7Hr1G019990	-2,04	DNA-repair protein XRCC1
HORVU4Hr1G047140	-2,04	CDT1-like protein b
HORVU3Hr1G013280	-2,04	Mitochondrial transcription termination factor family protein
HORVU6Hr1G054520	-2,04	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase C2
HORVU4Hr1G040950	-2,04	50S ribosomal protein L6
HORVU3Hr1G058350	-2,04	UDP-sugar pyrophosphorylase
HORVU3Hr1G081530	-2,04	Clathrin assembly protein
HORVU5Hr1G068010	-2,04	F-box protein
HORVU6Hr1G093240	-2,04	High-light-induced protein, chloroplastic
HORVU7Hr1G001300	-2,04	GRAS family transcription factor
HORVU3Hr1G017970	-2,04	Golgi to ER traffic protein 4 homolog
HORVU0Hr1G008780	-2,04	beta-galactosidase 8
HORVU4Hr1G080640	-2,04	Aconitate hydratase 1
HORVU1Hr1G077820	-2,04	Poly [ADP-ribose] polymerase 3
HORVU7Hr1G073610	-2,04	Beta-1,3-galactosyltransferase 15
HORVU2Hr1G036380	-2,04	phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase family protein
HORVU3Hr1G016350	-2,03	Zinc finger FYVE domain-containing protein 16
HORVU3Hr1G041250	-2,03	Protein translocase subunit SecA
HORVU2Hr1G082800	-2,03	isocitrate dehydrogenase 1
HORVU3Hr1G095930	-2,03	EamA-like transporter family protein
HORVU4Hr1G088210	-2,03	CCR4-NOT transcription complex subunit 1
HORVU6Hr1G057240	-2,03	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G125120	-2,03	Transcription cofactor, putative
HORVU2Hr1G077560	-2,03	Calmodulin-binding protein
HORVU6Hr1G093210	-2,03	titan9
HORVU6Hr1G058210	-2,03	Succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit beta
HORVU0Hr1G008940	-2,03	heat shock factor 3
HORVU3Hr1G096650	-2,03	NAD(P)H dehydrogenase 18
HORVU5Hr1G045730	-2,03	Programmed cell death protein 2
HORVU7Hr1G046270	-2,03	CDK5 regulatory subunit-associated protein 3
HORVU7Hr1G045550	-2,03	CRS1 / YhbY (CRM) domain-containing protein
HORVU7Hr1G070150	-2,03	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 6, mitochondrial
HORVU4Hr1G045500	-2,02	pentatricopeptide repeat 336
HORVU6Hr1G003300	-2,02	nitrate reductase 1
HORVU2Hr1G042180	-2,02	Mitochondrial pyruvate carrier 4
HORVU6Hr1G012840	-2,02	Putative methyltransferase family protein
HORVU3Hr1G005480	-2,02	Alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase alkB
HORVU2Hr1G058930	-2,02	acyl carrier protein 1
HORVU6Hr1G082160	-2,02	unknown protein
HORVU5Hr1G016840	-2,02	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G058490	-2,02	NADH-ubiquinone oxidoreductase-related

HORVU5Hr1G040460	-2,02	decapping 1
HORVU5Hr1G018840	-2,02	unknown protein
HORVU2Hr1G001350	-2,02	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase C
HORVU2Hr1G057880	-2,02	Proline--tRNA ligase
HORVU1Hr1G023630	-2,02	Dihydrolipoyl dehydrogenase
HORVU2Hr1G116680	-2,02	Histidine--tRNA ligase
HORVU0Hr1G021460	-2,02	Elicitor inducible beta-1,3-glucanase-like
HORVU3Hr1G051340	-2,01	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G071470	-2,01	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family protein
HORVU3Hr1G075100	-2,01	Energy-coupling factor transporter ATP-binding protein EcfA1
HORVU1Hr1G002240	-2,01	E3 ubiquitin-protein ligase CHIP
HORVU2Hr1G085590	-2,01	Plant regulator RWP-RK family protein
HORVU7Hr1G110260	-2,01	ubiquitin-conjugating enzyme 22
HORVU3Hr1G032930	-2,01	ERI1 exoribonuclease 2
HORVU7Hr1G046080	-2,01	E3 ubiquitin-protein ligase makorin
HORVU2Hr1G111540	-2,01	Farnesyl pyrophosphate synthase 2
HORVU3Hr1G051220	-2,01	Holocarboxylase synthetase
HORVU1Hr1G070740	-2,01	UDP-glucose pyrophosphorylase 3
HORVU5Hr1G007410	-2,01	unknown function
HORVU4Hr1G047070	-2,01	GTP pyrophosphokinase
HORVU7Hr1G091220	-2,01	UPF0183 protein
HORVU4Hr1G070400	-2,01	Surfeit locus protein 1
HORVU7Hr1G117020	-2,00	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein
HORVU7Hr1G001910	-2,00	Grain length protein
HORVU3Hr1G067860	-2,00	choline kinase 1
HORVU6Hr1G056510	-2,00	Choline/ethanolamine kinase
HORVU5Hr1G093300	-2,00	Ribosomal silencing factor RsfS
HORVU2Hr1G086140	-2,00	S-adenosylmethionine decarboxylase proenzyme
HORVU2Hr1G023490	-2,00	Proteasome subunit beta type-6
HORVU6Hr1G005240	-2,00	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU6Hr1G071790	-2,00	Transmembrane 9 superfamily member 12
HORVU3Hr1G065000	-2,00	Core-2/I-branching beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase family protein

Aneks 9. Geny o specyficznie podwyższonej ekspresji u *hvabi5.d* po suszy (25 DAS) (krotność zmiany (FC) ≥ 2; P ≤ 0,05 po poprawce FDR).

Identyfikator genu	Krotność zmiany	Charakterystyka funkcji białka
HORVU1Hr1G004130	158,94	Chymotrypsin inhibitor
HORVU6Hr1G009090	129,24	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU4Hr1G016770	60,99	alcohol dehydrogenase 1
HORVU1Hr1G002100	56,44	Defensin-like protein
HORVU3Hr1G105630	51,96	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase GI
HORVU2Hr1G108250	33,05	Anthocyanidin reductase
HORVU0Hr1G010080	26,38	Bidirectional sugar transporter N3
HORVU4Hr1G005920	24,33	lipoxygenase 1
HORVU4Hr1G044140	22,90	Processive diacylglycerol beta-glucosyltransferase
HORVU3Hr1G113120	18,48	Wound-induced protein
HORVU4Hr1G062730	13,10	Gibberellin receptor GID1
HORVU6Hr1G085870	12,85	Transmembrane 9 superfamily member 11
HORVU4Hr1G005690	12,40	undescribed protein
HORVU1Hr1G030740	11,33	Lysine-specific demethylase 5A
HORVU7Hr1G044210	10,68	Embryogenesis transmembrane protein-like
HORVU3Hr1G083990	10,41	unknown function
HORVU6Hr1G014420	10,37	cyclin p4
HORVU3Hr1G089030	10,02	GDP-L-galactose phosphorylase 2
ENSRNA049435259	10,02	-
HORVU7Hr1G116940	9,93	F-box family protein
HORVU4Hr1G022950	9,56	vacuolar sorting receptor homolog 1
HORVU7Hr1G079430	9,15	Polyamine aminopropyltransferase 2
HORVU7Hr1G012300	8,61	LEA
HORVU5Hr1G080500	8,53	BAG family molecular chaperone regulator 3
HORVU4Hr1G078690	8,49	Ras-related protein Rab-6A
HORVU7Hr1G090410	7,93	polyamine oxidase 1
HORVU3Hr1G028780	7,79	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU4Hr1G072480	7,51	Blue copper protein
HORVU1Hr1G067230	7,29	metacaspase 4
HORVU3Hr1G024210	7,24	ABC transporter C family member 3
HORVU5Hr1G078950	6,92	Mitochondrial dicarboxylate carrier
HORVU5Hr1G113630	6,82	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G053560	6,68	serine/threonine protein phosphatase 2A
HORVU2Hr1G109910	6,40	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein
HORVU1Hr1G057180	6,35	annexin 3
HORVU2Hr1G110130	6,19	flavanone 3-hydroxylase
HORVU3Hr1G079800	5,80	Non-specific lipid-transfer protein-like protein
HORVU5Hr1G036630	5,79	ribosomal protein 1
HORVU7Hr1G003870	5,78	Vacuolar iron transporter (VIT) family protein
HORVU1Hr1G066630	5,77	DCD (Development and Cell Death) domain protein
HORVU7Hr1G117000	5,70	Chaperone protein htpG family protein
HORVU2Hr1G096370	5,68	Phosphatidylinositol N-acetyglucosaminlytransferase subunit P-related
HORVU5Hr1G016400	5,60	Peroxisomal membrane 22 kDa (Mpv17/PMP22) family protein
HORVU3Hr1G036600	5,51	TRAM, LAG1 and CLN8 (TLC) lipid-sensing domain containing protein
HORVU3Hr1G032400	5,43	D-alanine aminotransferase
HORVU1Hr1G092150	5,39	Carboxypeptidase Y homolog A
HORVU6Hr1G053910	5,36	Actin-related protein 3
HORVU6Hr1G081460	5,31	Heat shock 70 kDa protein 3
HORVU2Hr1G080340	5,18	60S ribosomal protein L34
HORVU5Hr1G084510	5,15	Alba DNA/RNA-binding protein
HORVU4Hr1G063270	5,07	Filament-like plant protein 4
HORVU7Hr1G058810	5,04	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU1Hr1G023520	5,03	GDSL esterase/lipase
HORVU1Hr1G029460	4,98	GDSL esterase/lipase
HORVU7Hr1G025330	4,96	Histone superfamily protein
HORVU6Hr1G044840	4,95	40S ribosomal protein S24-2
HORVU2Hr1G023940	4,94	Lipase
HORVU0Hr1G016920	4,93	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU7Hr1G106380	4,92	Geranylgeranyl transferase type-2 subunit alpha

HORVU1Hr1G017710	4,83	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily B member 1-A
HORVU7Hr1G074460	4,76	Actin-related protein 3
HORVU1Hr1G071490	4,73	GPN-loop GTPase 3
HORVU7Hr1G087210	4,72	Transmembrane 9 superfamily member 7
HORVU3Hr1G019320	4,69	unknown protein
ENSRNA049485637	4,68	-
HORVU2Hr1G025780	4,65	Trafficking protein particle complex subunit 3
HORVU6Hr1G018370	4,64	calnexin 1
HORVU3Hr1G069970	4,61	Reticulon family protein
HORVU4Hr1G043910	4,61	Protein disulfide-isomerase
HORVU5Hr1G076340	4,60	HORMA domain-containing protein 1
HORVU6Hr1G026280	4,58	Ubiquitin family protein
HORVU4Hr1G054970	4,57	Wound-induced protein 1
HORVU3Hr1G001260	4,48	terpene synthase 21
HORVU1Hr1G082010	4,47	Reticulon family protein
HORVU1Hr1G049980	4,45	AT-hook motif nuclear-localized protein 1
HORVU4Hr1G076720	4,45	CTC-interacting domain 7
HORVU6Hr1G087190	4,27	Histone H2B.2
HORVU4Hr1G009040	4,27	Histone H2B.1
HORVU2Hr1G086840	4,26	Trafficking protein particle complex subunit 9
HORVU2Hr1G086830	4,26	Trafficking protein particle complex subunit 9
HORVU2Hr1G105140	4,25	Protein of unknown function (DUF581)
HORVU1Hr1G068170	4,21	tubulin beta chain 2
HORVU7Hr1G093370	4,18	dihydroflavonol 4-reductase-like1
HORVU7Hr1G120030	4,18	Delta(24)-sterol reductase
HORVU7Hr1G073190	4,17	ferredoxin-related
HORVU4Hr1G075830	4,17	Nuclear transcription factor Y subunit A-3
HORVU5Hr1G005310	4,17	Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein
HORVU6Hr1G050720	4,17	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5
HORVU5Hr1G045850	4,16	Glutathione S-transferase family protein
HORVU1Hr1G042280	4,15	undescribed protein
HORVU3Hr1G063840	4,13	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU3Hr1G115820	4,13	40S ribosomal protein S28
HORVU4Hr1G010770	4,13	unknown protein
HORVU2Hr1G068120	4,13	60S ribosomal protein L35-4
HORVU2Hr1G028600	4,12	Developmentally-regulated GTP-binding protein 1 homolog
HORVU6Hr1G058560	4,08	60S ribosomal protein L14-1
HORVU4Hr1G038960	4,08	Alpha-1,4-glucan-protein synthase [UDP-forming]
HORVU2Hr1G085570	4,06	Cytochrome b561 and DOMON domain-containing protein
HORVU5Hr1G099350	4,03	long-chain acyl-CoA synthetase 2
HORVU4Hr1G063420	4,03	3-ketoacyl-CoA synthase 1
HORVU5Hr1G054180	3,97	Phosphoenolpyruvate/phosphate translocator 1, chloroplastic
HORVU3Hr1G096250	3,93	Histone-lysine N-methyltransferase 2B
HORVU3Hr1G051530	3,93	50S ribosomal protein L25
HORVU7Hr1G038040	3,92	HVA22 homologue A
HORVU0Hr1G017080	3,90	microtubule-associated proteins 70-2
HORVU7Hr1G102150	3,89	Solute carrier family 35 member F5
HORVU2Hr1G031470	3,88	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain-related
HORVU0Hr1G021230	3,86	Tyrosine--tRNA ligase
HORVU4Hr1G076970	3,85	Cyanate hydratase
HORVU5Hr1G088920	3,84	NADPH--cytochrome P450 reductase 2
HORVU4Hr1G049670	3,82	60S ribosomal protein L19-1
HORVU4Hr1G086790	3,81	Small nuclear ribonucleoprotein family protein
ENSRNA049445085	3,81	-
HORVU3Hr1G057320	3,80	Exportin-2
HORVU5Hr1G117970	3,77	Acyl-CoA-binding domain-containing protein 4
HORVU5Hr1G123490	3,75	Protein BCCIP homolog
HORVU2Hr1G099230	3,73	40S ribosomal protein S11
HORVU2Hr1G110740	3,73	Protein UXT homolog
HORVU7Hr1G053940	3,73	uridine kinase-like 2
HORVU5Hr1G110680	3,71	histone H2A 7
HORVU5Hr1G078050	3,69	CCR4-NOT transcription complex subunit 2
HORVU5Hr1G116580	3,67	Elongation factor 2
HORVU6Hr1G069920	3,67	Pro-apoptotic serine protease NMA111
HORVU3Hr1G086080	3,67	S-acyltransferase
HORVU4Hr1G006480	3,65	beta glucosidase 43

HORVU4Hr1G006490	3,65	undescribed protein
HORVU1Hr1G051570	3,65	N-alpha-acetyltransferase 25, NatB auxiliary subunit
HORVU4Hr1G060990	3,65	Mitochondrial substrate carrier family protein
HORVU5Hr1G101480	3,64	2-hydroxy-6-oxononadienedioate/2-hydroxy-6- oxononatrienedioate hydrolase
HORVU4Hr1G058210	3,64	Calcium-transporting ATPase
HORVU7Hr1G090710	3,62	Elongation factor 2
HORVU2Hr1G125490	3,62	CsAtPR5
HORVU7Hr1G085500	3,61	WD repeat-containing protein 18
HORVU1Hr1G060490	3,59	Ethylene-responsive transcription factor 4
HORVU3Hr1G090890	3,59	DNA replication complex GINS protein SLD5
HORVU3Hr1G079290	3,58	U3 small nucleolar RNA-associated protein 11
HORVU6Hr1G025980	3,54	Zinc finger CCCH domain-containing protein 13
HORVU3Hr1G015190	3,53	30S ribosomal protein S7
HORVU5Hr1G018660	3,53	Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit 3
HORVU5Hr1G088570	3,52	unknown function
HORVU6Hr1G087780	3,51	Methyltransferase WBSCR22
HORVU7Hr1G093580	3,51	BZIP transcription factor 60
HORVU2Hr1G089540	3,50	phenylalanine ammonia-lyase 2
HORVU2Hr1G089440	3,50	phenylalanine ammonia-lyase 2
HORVU3Hr1G080130	3,50	60S ribosomal protein L24
HORVU4Hr1G084420	3,49	60S ribosomal protein L21-2
HORVU4Hr1G025620	3,47	DNA binding
HORVU6Hr1G032610	3,45	actin-related protein 4
HORVU3Hr1G084310	3,43	60S ribosomal protein L1-A
HORVU3Hr1G038010	3,40	calmodulin 5
HORVU1Hr1G032310	3,40	Phospholipid-transporting ATPase 3
HORVU1Hr1G016490	3,40	Protein kinase superfamily protein
HORVU2Hr1G088560	3,40	Caleosin-related family protein
HORVU2Hr1G084120	3,40	Acid phosphatase/vanadium-dependent haloperoxidase-related protein
HORVU4Hr1G067280	3,39	Homocysteine S-methyltransferase family protein
HORVU7Hr1G106150	3,38	Elongation factor 2
HORVU6Hr1G022380	3,38	Apoptosis-inducing factor homolog A
HORVU2Hr1G120850	3,37	unknown protein
HORVU7Hr1G005720	3,36	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit DAD1
HORVU5Hr1G106460	3,35	Diphosphomevalonate decarboxylase
HORVU5Hr1G061970	3,34	Phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit
HORVU7Hr1G028050	3,34	30S ribosomal protein S10
HORVU3Hr1G088570	3,34	fructose-bisphosphate aldolase 2
HORVU3Hr1G058910	3,34	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
HORVU4Hr1G003400	3,34	Coffea canephora DH200=94 genomic scaffold, scaffold_6
HORVU7Hr1G063280	3,33	60S ribosomal protein L27-3
HORVU2Hr1G096640	3,33	unknown function
HORVU0Hr1G004700	3,33	40S ribosomal protein S10
HORVU1Hr1G085730	3,33	Ribosomal L1 domain-containing protein 1
HORVU6Hr1G012050	3,32	Histone deacetylase complex subunit SAP18
HORVU4Hr1G068770	3,32	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU1Hr1G071360	3,31	TBC1 domain family member 2A
HORVU7Hr1G020620	3,30	protein arginine methyltransferase 10
HORVU6Hr1G052140	3,30	Beta-1,3-galactosyltransferase 7
HORVU5Hr1G046480	3,29	Chalcone--flavonone isomerase
HORVU2Hr1G079780	3,29	unknown protein
HORVU5Hr1G061870	3,29	Ribosome production factor 2 homolog
HORVU7Hr1G052530	3,29	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU4Hr1G057100	3,29	Nucleotide-sugar transporter family protein
HORVU6Hr1G067840	3,28	ADP-ribosylation factor 1
HORVU6Hr1G090070	3,27	60S ribosomal protein L37-2
HORVU7Hr1G088080	3,26	T-complex protein 1 subunit epsilon
HORVU6Hr1G041750	3,26	60S ribosomal protein L6
HORVU7Hr1G054010	3,25	60S ribosomal protein L17-2
HORVU3Hr1G001360	3,24	unknown function
HORVU2Hr1G098690	3,24	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC9
HORVU2Hr1G086990	3,24	Transmembrane protein 184C
HORVU2Hr1G100620	3,23	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G081380	3,23	U-box domain-containing protein 4
HORVU4Hr1G058010	3,21	Ribosomal protein S24e family protein
HORVU7Hr1G097760	3,21	purple acid phosphatase 28
HORVU1Hr1G061780	3,20	oxidoreductase, 2OG-Fe(II) oxygenase family protein

ENSRNA049459525	3,20	-
HORVU4Hr1G008870	3,18	DNA helicase INO80
HORVU1Hr1G084700	3,18	RuvB-like helicase 1
HORVU4Hr1G054890	3,18	Programmed cell death protein 2
HORVU2Hr1G022350	3,18	UDP-N-acetylglucosamine--dolichyl-phosphate N-acetylglucosaminephosphotransferase
HORVU1Hr1G062900	3,16	Argininosuccinate synthase
HORVU5Hr1G016790	3,15	EXS (ERD1/XPR1/SYG1) family protein
ENSRNA049489139	3,13	-
HORVU7Hr1G031100	3,13	Nucleoporin NUP188 homolog
HORVU7Hr1G050170	3,13	60S ribosomal protein L31
HORVU4Hr1G046720	3,13	PETER PAN-like protein
HORVU2Hr1G030200	3,12	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 4A
HORVU5Hr1G027730	3,12	Phenylalanine--tRNA ligase beta subunit
HORVU2Hr1G076180	3,12	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein
HORVU3Hr1G078990	3,09	Disease resistance protein
HORVU7Hr1G007580	3,09	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU0Hr1G005320	3,08	IQ-domain 22
HORVU0Hr1G014050	3,07	Nucleolar complex protein 2 homolog
HORVU0Hr1G009870	3,07	Nucleolar complex protein 2 homolog
HORVU2Hr1G075910	3,06	tRNA-2-methylthio-N(6)-dimethylallyladenosine synthase
HORVU2Hr1G095880	3,05	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
HORVU2Hr1G078290	3,05	Microsomal signal peptidase 25 kDa subunit (SPC25)
HORVU6Hr1G082880	3,04	Ethylene-responsive transcription factor 1
HORVU4Hr1G064790	3,02	glutamate decarboxylase
HORVU2Hr1G005180	3,02	unknown function
HORVU7Hr1G075250	3,01	40S ribosomal protein S13-1
HORVU1Hr1G028820	3,00	50S ribosomal protein L5
HORVU1Hr1G030790	2,99	Chaperone protein dnaK
HORVU0Hr1G018520	2,99	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 4A
HORVU7Hr1G093100	2,99	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 4A
HORVU7Hr1G088920	2,98	Heat stress transcription factor C-2b
HORVU4Hr1G064230	2,98	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
HORVU4Hr1G052140	2,98	unknown function
HORVU3Hr1G078940	2,98	tubulin beta chain 2
HORVU4Hr1G085750	2,97	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase
HORVU4Hr1G027600	2,97	Trafficking protein particle complex subunit 1
HORVU1Hr1G073210	2,97	phosphate transporter 4
HORVU4Hr1G056320	2,97	RING/FYVE/PHD-type zinc finger family protein
HORVU7Hr1G082910	2,97	Elongation factor G 1
HORVU3Hr1G014730	2,96	Translocon-associated protein subunit beta
HORVU7Hr1G080630	2,96	60S ribosomal protein L22-2
HORVU1Hr1G089440	2,96	AdoMet-dependent rRNA methyltransferase spb1
HORVU7Hr1G087050	2,95	Elongation factor 1-gamma 2
HORVU5Hr1G020280	2,95	diacylglycerol kinase 2
HORVU5Hr1G103330	2,95	40S ribosomal protein S12
HORVU3Hr1G018940	2,94	PRA1 (Prenylated rab acceptor) family protein
HORVU2Hr1G028510	2,94	Ribosomal protein S4
HORVU0Hr1G021950	2,93	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 14
HORVU4Hr1G000950	2,93	HXXXD-type acyl-transferase family protein
HORVU5Hr1G116710	2,93	Elongation factor 2
HORVU5Hr1G104720	2,93	30S ribosomal protein S13
HORVU5Hr1G052010	2,92	C2 domain-containing protein 5
HORVU5Hr1G052030	2,92	C2 domain-containing protein 5
HORVU1Hr1G027420	2,92	Heat shock 70 kDa protein 15
HORVU3Hr1G092390	2,92	histone deacetylase 2C
HORVU4Hr1G063180	2,92	Brefeldin A-inhibited guanine nucleotide-exchange protein 2
HORVU7Hr1G034140	2,92	T-complex protein 1 subunit delta
HORVU3Hr1G062090	2,90	undescribed protein
HORVU4Hr1G057200	2,90	mitogen-activated protein kinase 3
HORVU5Hr1G120230	2,90	Late embryogenesis abundant protein
HORVU2Hr1G098750	2,89	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC9
HORVU3Hr1G086040	2,88	Major facilitator superfamily protein
HORVU2Hr1G048220	2,88	Transmembrane protein 184A
HORVU2Hr1G068670	2,88	Acyl-[acyl-carrier-protein] 6-desaturase
HORVU7Hr1G017190	2,87	Hypersensitive-induced response protein 4
HORVU6Hr1G076210	2,86	GTP-binding RHO-like protein

HORVU4Hr1G066300	2,86	Conserved oligomeric Golgi complex subunit 6
HORVU6Hr1G070540	2,86	fatty acid desaturase 2
HORVU2Hr1G043860	2,86	histone H2A 2
HORVU7Hr1G111120	2,85	small nuclear ribonucleoprotein F
HORVU1Hr1G018060	2,84	RNA-binding protein 8A
HORVU4Hr1G057210	2,84	Peroxidase superfamily protein
HORVU4Hr1G057170	2,84	Peroxidase superfamily protein
HORVU6Hr1G070810	2,83	fimbrin-like protein 2
HORVU1Hr1G058540	2,81	unknown protein
HORVU7Hr1G045770	2,81	microtubule-associated protein 65-2
HORVU4Hr1G031480	2,80	Cohesin subunit SA-1
HORVU2Hr1G071110	2,79	unknown function
HORVU4Hr1G052090	2,78	Guanylate kinase
HORVU3Hr1G113000	2,78	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G061800	2,78	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 2
HORVU4Hr1G074270	2,78	40S ribosomal protein S27
HORVU1Hr1G028330	2,77	tRNA N6-adenosine threonylcarbamoyltransferase
HORVU6Hr1G073440	2,76	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 23
HORVU7Hr1G100500	2,76	EH domain-containing protein 1
HORVU2Hr1G012860	2,76	Elongation factor 1-alpha
HORVU7Hr1G036070	2,76	12-oxophytodienoate reductase 2
HORVU7Hr1G048470	2,76	Glycosyltransferase family 61 protein
HORVU7Hr1G089410	2,75	SUMO-activating enzyme subunit 1B-1
HORVU5Hr1G051950	2,75	thaumatin-like protein 3
HORVU5Hr1G005510	2,75	Thaumatin-like protein TLP5
HORVU5Hr1G009610	2,75	60S ribosomal protein L36-3
HORVU1Hr1G042220	2,75	40S ribosomal protein S17-4
HORVU2Hr1G110870	2,75	unknown function
HORVU1Hr1G022750	2,74	Importin subunit alpha-1b
HORVU5Hr1G103430	2,73	Glutathione S-transferase family protein
HORVU5Hr1G007770	2,73	tropinone reductase
HORVU2Hr1G022250	2,72	transducin family protein / WD-40 repeat family protein
HORVU6Hr1G012290	2,72	Glutamine synthetase
HORVU7Hr1G061070	2,72	Ubiquitin-specific protease family C19-related protein
HORVU4Hr1G027150	2,72	Mitochondrial uncoupling protein 1
HORVU2Hr1G124530	2,71	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G050560	2,71	Transcription factor MYC2
HORVU3Hr1G030350	2,71	CHCH domain containing protein
HORVU2Hr1G006030	2,70	Transmembrane protein 115
HORVU3Hr1G031330	2,70	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit L
HORVU2Hr1G093030	2,69	glutamate dehydrogenase 2
HORVU3Hr1G087360	2,69	Zinc finger CCCH domain-containing protein 11
HORVU4Hr1G084110	2,68	Cysteine-rich repeat secretory protein 11
HORVU1Hr1G016200	2,67	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 5
HORVU5Hr1G093150	2,67	Homeobox-leucine zipper protein HOX32
HORVU7Hr1G098440	2,66	Xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase family protein
HORVU5Hr1G103720	2,65	Phosphatidylglycerol/phosphatidylinositol transfer protein
HORVU6Hr1G069090	2,65	zinc finger homeodomain 1
HORVU4Hr1G083840	2,65	50S ribosomal protein L14
HORVU2Hr1G068360	2,64	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit H
HORVU1Hr1G048000	2,64	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein
HORVU5Hr1G077110	2,64	UDP-glucose 4-epimerase 4
HORVU5Hr1G023880	2,63	Trafficking protein particle complex subunit 10
HORVU0Hr1G001270	2,63	calmodulin 7
HORVU1Hr1G068440	2,63	calmodulin 5
HORVU7Hr1G090290	2,63	TPX2 (targeting protein for Xklp2) protein family
HORVU0Hr1G040310	2,62	Remorin family protein
HORVU7Hr1G104300	2,62	60S ribosomal protein L44
HORVU4Hr1G086330	2,62	Membrane protein insertase YidC
HORVU6Hr1G006880	2,62	Carboxypeptidase Y homolog A
HORVU4Hr1G018650	2,61	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein
HORVU1Hr1G071810	2,61	Lung seven transmembrane receptor family protein
HORVU1Hr1G040560	2,60	UDP-glucose:glycoprotein glucosyltransferase
HORVU4Hr1G005780	2,60	Alkaline ceramidase 3
HORVU5Hr1G009600	2,60	60S ribosomal protein L36-3
HORVU4Hr1G084340	2,59	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1
HORVU4Hr1G012770	2,59	mitochondrial import receptor subunit TOM5 homolog

HORVU4Hr1G012440	2,59	Cycloeucalenol cycloisomerase
HORVU1Hr1G021700	2,59	Histidine--tRNA ligase
HORVU0Hr1G008740	2,59	Chorismate synthase
HORVU6Hr1G064720	2,58	high mobility group B3
HORVU1Hr1G093480	2,58	tryptophan synthase alpha chain
HORVU7Hr1G029860	2,58	60S ribosomal protein L39-1
HORVU7Hr1G052800	2,57	60S ribosomal protein L32-1
HORVU6Hr1G022170	2,57	Diaminopimelate decarboxylase
HORVU5Hr1G125350	2,57	Disease resistance protein
HORVU7Hr1G009230	2,57	Chaperone protein DnaJ
HORVU5Hr1G048010	2,57	Clathrin, heavy chain
HORVU7Hr1G037870	2,56	ATPase family gene 2 protein
HORVU5Hr1G041720	2,55	Histone acetyltransferase type B catalytic subunit
HORVU6Hr1G095120	2,55	callose synthase 1
HORVU0Hr1G016720	2,55	3-ketodihydrosphingosine reductase
HORVU6Hr1G068450	2,55	3-ketodihydrosphingosine reductase
HORVU1Hr1G048760	2,55	ARM repeat superfamily protein
HORVU2Hr1G051740	2,55	NADH-quinone oxidoreductase subunit F 1
HORVU2Hr1G089070	2,54	60S ribosomal protein L14-1
HORVU2Hr1G089090	2,54	60S ribosomal protein L14-1
HORVU5Hr1G054250	2,54	THO complex subunit 3
HORVU6Hr1G037760	2,54	Transcription factor HY5
HORVU0Hr1G007150	2,54	Nuclear transport factor 2 (NTF2) family protein with RNA binding (RRM-RBD-RNP motifs) domain
HORVU3Hr1G089630	2,54	nuclear transport factor 2B
HORVU6Hr1G037000	2,53	Protein of unknown function, DUF642
HORVU1Hr1G004960	2,53	WD-40 repeat family protein
HORVU4Hr1G078580	2,53	rRNA-processing protein EBP2
HORVU5Hr1G107510	2,52	vesicle-associated membrane protein 721
HORVU2Hr1G037940	2,52	40S ribosomal protein S13-1
HORVU5Hr1G084010	2,52	synaptotagmin A
HORVU7Hr1G107080	2,51	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit DAD1
HORVU2Hr1G029760	2,51	Multifunctional methyltransferase subunit TRM112-like protein
HORVU5Hr1G051220	2,51	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G040040	2,51	calmodulin 7
HORVU2Hr1G098740	2,50	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC9
HORVU6Hr1G064820	2,50	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
HORVU2Hr1G025140	2,50	Transformation/transcription domain-associated protein
HORVU2Hr1G098580	2,50	unknown function
HORVU5Hr1G057610	2,50	Zinc finger CCCH domain-containing protein 59
HORVU6Hr1G088570	2,49	Clathrin interactor EPSIN 2
HORVU2Hr1G077540	2,49	26S proteasome non-ATPase regulatory subunit 11 homolog
HORVU7Hr1G077900	2,49	Transmembrane protein 18
HORVU7Hr1G077910	2,49	Transmembrane protein 18
HORVU2Hr1G010440	2,49	acetyl-CoA carboxylase 2
HORVU4Hr1G005100	2,49	Tudor domain-containing protein 1
HORVU6Hr1G075590	2,48	Kelch repeat-containing protein
HORVU2Hr1G094690	2,48	SPX domain-containing membrane protein
HORVU3Hr1G085490	2,48	O-fucosyltransferase family protein
HORVU1Hr1G059870	2,47	Late embryogenesis abundant protein D-19
HORVU2Hr1G048110	2,47	WD repeat-containing protein 74
HORVU7Hr1G029420	2,47	Sugar phosphate exchanger 2
HORVU6Hr1G053250	2,46	Next to BRCA1 gene 1 protein
HORVU4Hr1G090370	2,46	C2 domain-containing protein
HORVU1Hr1G062650	2,46	Coatomer subunit delta-1
HORVU5Hr1G067790	2,45	Nuclear pore complex protein NUP58
HORVU4Hr1G072620	2,45	ABC transporter G family member 22
HORVU2Hr1G041800	2,45	Protein of unknown function (DUF810)
HORVU1Hr1G072270	2,45	60S ribosomal protein L36-2
HORVU4Hr1G089230	2,44	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU3Hr1G086410	2,44	60S ribosomal protein L36-3
HORVU2Hr1G029890	2,44	40S ribosomal protein S6
HORVU2Hr1G014580	2,43	eukaryotic translation initiation factor 2 alpha subunit
HORVU5Hr1G027290	2,43	Far upstream element-binding protein 2
HORVU7Hr1G116400	2,43	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family protein
HORVU7Hr1G116460	2,43	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family protein
HORVU1Hr1G025360	2,43	mRNA cap guanine-N7 methyltransferase 1

HORVU5Hr1G106440	2,43	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B
HORVU5Hr1G030970	2,43	Defective in cullin neddylation protein 1
HORVU4Hr1G009210	2,42	Sec14p-like phosphatidylinositol transfer family protein
HORVU3Hr1G096050	2,41	Transaldolase 1
HORVU1Hr1G017240	2,40	serine/threonine protein kinase 1
HORVU4Hr1G083410	2,40	WD repeat-containing protein 3
HORVU3Hr1G090460	2,40	Serine/threonine-protein kinase rio2
HORVU4Hr1G056050	2,40	pyruvate decarboxylase-2
HORVU3Hr1G049730	2,39	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU6Hr1G013720	2,39	Nucleolar protein 9
HORVU7Hr1G086320	2,39	Histone-lysine N-methyltransferase ASHR2
HORVU6Hr1G080340	2,39	Ethylene-responsive transcription factor 5
HORVU2Hr1G081740	2,38	Small nuclear ribonucleoprotein family protein
HORVU4Hr1G088390	2,38	Coatomer, alpha subunit
HORVU6Hr1G027620	2,38	tubulin beta chain 2
HORVU7Hr1G034850	2,37	Hydroxyproline-rich glycoprotein-like
HORVU5Hr1G109480	2,37	elongation factor P (EF-P) family protein
HORVU6Hr1G074220	2,37	RNA-dependent RNA polymerase 1
HORVU4Hr1G000250	2,37	C2H2-like zinc finger protein
HORVU4Hr1G000220	2,37	C2H2-like zinc finger protein
HORVU2Hr1G062400	2,36	TPR domain containing protein
HORVU0Hr1G005330	2,35	RING/U-box superfamily protein
HORVU2Hr1G093640	2,35	undescribed protein
HORVU5Hr1G120520	2,35	undescribed protein
HORVU1Hr1G078370	2,35	Glutamine--tRNA ligase
HORVU3Hr1G038360	2,35	Glutamine--tRNA ligase
HORVU1Hr1G078480	2,35	Histone H2B.2
HORVU4Hr1G005670	2,34	Nuclear transcription factor Y subunit A-9
HORVU4Hr1G034200	2,34	unknown function
HORVU2Hr1G075810	2,34	Protein disulfide isomerase-like 5-2
HORVU4Hr1G008750	2,34	Translational activator GCN1
HORVU5Hr1G045070	2,34	Aladin
HORVU3Hr1G084110	2,34	unknown protein
HORVU1Hr1G077510	2,34	Protein PAT1 homolog 1
HORVU3Hr1G113060	2,34	ABC transporter D family member 1
HORVU5Hr1G118870	2,34	Disease resistance protein
HORVU4Hr1G079310	2,33	Cyclin-dependent kinases regulatory subunit 1
HORVU4Hr1G054060	2,33	Argininosuccinate lyase
HORVU6Hr1G056280	2,32	Protein GrpE
HORVU4Hr1G065800	2,32	Inactive poly [ADP-ribose] polymerase RCD1
HORVU5Hr1G072140	2,31	FAS-associated factor 2-B
HORVU2Hr1G006000	2,31	Galactosylgalactosylxylosylprotein 3-beta-glucuronosyltransferase 1
HORVU2Hr1G036780	2,31	Nucleotide-sugar transporter family protein
HORVU4Hr1G054130	2,31	Peptide chain release factor 2
HORVU5Hr1G107170	2,30	thioredoxin 2
HORVU5Hr1G107210	2,30	thioredoxin 2
HORVU7Hr1G111430	2,30	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 19
HORVU2Hr1G070000	2,30	U6 snRNA-associated Sm-like protein LSm6
HORVU3Hr1G083350	2,30	Fructose-1,6-bisphosphatase class 1
HORVU5Hr1G060700	2,30	thioredoxin 2
HORVU4Hr1G024710	2,30	Clathrin, heavy chain
HORVU2Hr1G110590	2,30	RP non-ATPase subunit 8A
HORVU2Hr1G068270	2,30	3-oxoacyl-[acyl-carrier-protein] reductase 4
HORVU6Hr1G085890	2,30	ABC transporter ATP-binding protein ARB1
HORVU6Hr1G072230	2,29	BSD domain-containing protein
HORVU1Hr1G026520	2,29	HXXXD-type acyl-transferase family protein
HORVU2Hr1G025020	2,29	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU6Hr1G004440	2,29	Protein kinase family protein
HORVU6Hr1G004450	2,29	unknown function
HORVU6Hr1G004340	2,29	receptor-like protein kinase 2
HORVU3Hr1G045480	2,29	dehydroquinate dehydratase, putative / shikimate dehydrogenase, putative
HORVU1Hr1G075530	2,28	Cathepsin B-like cysteine proteinase
HORVU1Hr1G042350	2,28	Nascent polypeptide-associated complex subunit beta
HORVU1Hr1G073840	2,28	ferredoxin 3
HORVU3Hr1G058170	2,28	ADP,ATP carrier protein 1
HORVU5Hr1G076110	2,28	Nucleolar protein 14
HORVU5Hr1G111820	2,28	40S ribosomal protein S26

HORVU4Hr1G077850	2,28	MADS-box transcription factor 47
HORVU7Hr1G032420	2,27	Transcription factor bHLH82
HORVU3Hr1G079700	2,27	ADP-ribosylation factor 1
HORVU4Hr1G014230	2,27	ATP-dependent (S)-NAD(P)H-hydrate dehydratase
HORVU4Hr1G058360	2,26	60S ribosomal protein L15
HORVU6Hr1G068990	2,26	Adenine nucleotide alpha hydrolases-like superfamily protein
HORVU5Hr1G020840	2,26	unknown function
HORVU4Hr1G072010	2,26	cell division cycle 48
HORVU4Hr1G082730	2,26	Dolichyl-diphosphooligosaccharide--protein glycosyltransferase subunit 1A
HORVU7Hr1G045090	2,26	Protein transport protein SFT2
HORVU5Hr1G025320	2,25	Tryptophan--tRNA ligase
HORVU6Hr1G043390	2,25	SNARE-interacting protein KEULE
HORVU7Hr1G119590	2,25	Clathrin light chain protein
HORVU1Hr1G095140	2,25	histone deacetylase 2B
HORVU1Hr1G015040	2,24	Chaperone protein dnaJ 2
HORVU3Hr1G085420	2,24	alpha-glucan phosphorylase 2
HORVU6Hr1G085990	2,24	alpha-glucan phosphorylase 2
HORVU5Hr1G075420	2,24	60S ribosomal protein L32-1
HORVU3Hr1G068500	2,24	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G051180	2,24	receptor kinase 2
HORVU4Hr1G015930	2,24	receptor kinase 2
HORVU4Hr1G015940	2,24	receptor kinase 2
HORVU0Hr1G008870	2,24	alcohol dehydrogenase 1
HORVU7Hr1G058160	2,24	alcohol dehydrogenase 1
HORVU5Hr1G051820	2,24	alcohol dehydrogenase 1
HORVU2Hr1G020900	2,24	alcohol dehydrogenase 1
HORVU4Hr1G016810	2,24	alcohol dehydrogenase 1
HORVU5Hr1G010490	2,24	alcohol dehydrogenase 1
HORVU3Hr1G034820	2,24	alcohol dehydrogenase 1
HORVU0Hr1G016700	2,24	PENTATRICOPEPTIDE REPEAT 596
HORVU6Hr1G068550	2,24	PENTATRICOPEPTIDE REPEAT 596
HORVU6Hr1G068490	2,24	PENTATRICOPEPTIDE REPEAT 596
HORVU1Hr1G022720	2,24	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC4
HORVU1Hr1G039050	2,23	Pre-mRNA-processing factor 19
HORVU3Hr1G019440	2,23	Pollen-specific protein SF21
HORVU2Hr1G080630	2,23	14-3-3-like protein GF14-B
HORVU1Hr1G039260	2,23	eukaryotic translation initiation factor 4E
HORVU5Hr1G001320	2,23	BnaC08g38870D protein
HORVU1Hr1G035600	2,23	TATA-box-binding protein 1
HORVU6Hr1G071890	2,23	RNA-binding KH domain-containing protein
HORVU5Hr1G089230	2,22	Fatty acyl-CoA reductase 1
HORVU3Hr1G030340	2,22	Mitochondrial substrate carrier family protein
HORVU4Hr1G077420	2,21	receptor kinase 2
HORVU3Hr1G026230	2,20	DNA polymerase delta subunit 3
HORVU1Hr1G056490	2,20	U6 snRNA-associated Sm-like protein LSm5
HORVU7Hr1G068630	2,20	RNA-binding protein SGN1
HORVU2Hr1G063840	2,20	NLI interacting factor-like phosphatase
HORVU2Hr1G021110	2,20	Superoxide dismutase [Cu-Zn] 2
HORVU0Hr1G002680	2,19	Transmembrane protein 115
HORVU7Hr1G001080	2,19	Superkiller viralicidic activity 2-like 2
HORVU3Hr1G034750	2,19	Importin subunit alpha-1a
HORVU1Hr1G075550	2,19	ATP-dependent 6-phosphofructokinase 3
HORVU4Hr1G016880	2,19	receptor kinase 2
HORVU3Hr1G059850	2,19	receptor kinase 2
HORVU5Hr1G011280	2,18	Cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1
HORVU2Hr1G082590	2,18	Next to BRCA1 gene 1 protein
HORVU6Hr1G050750	2,18	Cellulose synthase family protein
HORVU3Hr1G063670	2,17	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein A
HORVU0Hr1G027680	2,17	Metal-dependent protein hydrolase
HORVU6Hr1G066550	2,17	Metal-dependent protein hydrolase
HORVU1Hr1G089710	2,17	3-ketoacyl-CoA synthase 4
HORVU5Hr1G123880	2,17	myb domain protein 30
HORVU4Hr1G008920	2,17	unknown function
HORVU3Hr1G001140	2,17	Ribosomal protein L6 family
HORVU4Hr1G051720	2,16	Mitochondrial import receptor subunit TOM40-1
HORVU6Hr1G068770	2,16	unknown protein
HORVU6Hr1G019320	2,16	pentatricopeptide repeat 336

HORVU2Hr1G021080	2,16	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein
HORVU5Hr1G023000	2,16	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein
HORVU3Hr1G074820	2,16	Subtilisin-like protease
HORVU1Hr1G084370	2,16	Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing] 2
HORVU2Hr1G053290	2,15	40S ribosomal protein S12
HORVU1Hr1G063720	2,15	WD repeat-containing protein 86
HORVU5Hr1G078820	2,15	BnaC08g29700D protein
HORVU5Hr1G072440	2,14	sodium hydrogen exchanger 5
HORVU2Hr1G104900	2,14	Nucleolar complex protein 4 homolog
HORVU1Hr1G047010	2,14	Protein kinase superfamily protein
HORVU2Hr1G080970	2,14	Betaine aldehyde dehydrogenase
HORVU3Hr1G050320	2,14	Cell growth-regulating nucleolar protein
HORVU7Hr1G100370	2,14	RNA polymerase I specific transcription initiation factor RRN3 protein
HORVU4Hr1G078470	2,14	alcohol dehydrogenase 1
HORVU5Hr1G099090	2,14	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein
HORVU7Hr1G058060	2,14	Transducin family protein / WD-40 repeat family protein
HORVU3Hr1G113940	2,13	eukaryotic translation initiation factor 4E
HORVU6Hr1G032710	2,13	50S ribosomal protein L7/L12
HORVU2Hr1G021950	2,13	Homeodomain-like transcriptional regulator isoform 2
HORVU6Hr1G087460	2,13	Betaine aldehyde dehydrogenase 2
HORVU6Hr1G090170	2,12	50S ribosomal protein L14
HORVU1Hr1G095300	2,12	Argonaute family protein
HORVU2Hr1G019360	2,12	GTPase IMAP family member 4
HORVU3Hr1G074040	2,12	Glutathione S-transferase 1
HORVU6Hr1G086690	2,11	Cytochrome b5 reductase 4
HORVU0Hr1G004130	2,11	30S ribosomal protein S11
HORVU2Hr1G073150	2,11	30S ribosomal protein S11
HORVU2Hr1G043840	2,11	histone H2A 2
HORVU2Hr1G018700	2,11	60S ribosomal protein L19-2
HORVU6Hr1G090560	2,11	Glutathione S-transferase family protein
HORVU7Hr1G071700	2,11	U6 snRNA-associated Sm-like protein LSm2
HORVU1Hr1G059300	2,11	Receptor-like protein kinase
HORVU4Hr1G086270	2,11	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU5Hr1G050320	2,11	DNA-directed RNA polymerase V subunit 1
HORVU5Hr1G073610	2,11	DNA-directed RNA polymerase subunit L
HORVU3Hr1G042600	2,11	callose synthase 1
HORVU5Hr1G049630	2,10	CAX interacting protein 4
HORVU4Hr1G039810	2,10	Erlin-2
HORVU3Hr1G087090	2,10	Microsomal signal peptidase 12 kDa subunit (SPC12)
HORVU6Hr1G045820	2,10	lipase class 3 family protein
HORVU4Hr1G033280	2,09	Auxilin-related protein 2
HORVU3Hr1G087400	2,09	V-type proton ATPase subunit a1
HORVU1Hr1G047560	2,09	MADS-box transcription factor 14
HORVU7Hr1G074580	2,09	Chloroplast J-like domain 1
HORVU4Hr1G050130	2,09	O-acetyl-ADP-ribose deacetylase
HORVU4Hr1G025830	2,08	RED family protein
HORVU2Hr1G038040	2,08	unknown function
HORVU4Hr1G039020	2,08	CLK4-associating serine/arginine rich protein
HORVU7Hr1G025800	2,08	serine carboxypeptidase-like 19
HORVU2Hr1G087970	2,08	Isocitrate dehydrogenase [NADP]
HORVU6Hr1G093050	2,08	NAC domain containing protein 2
HORVU3Hr1G042920	2,08	Protein of unknown function (DUF630 and DUF632)
HORVU3Hr1G017950	2,08	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 5
HORVU4Hr1G016640	2,07	Protein transport protein Sec24-like
HORVU2Hr1G066910	2,07	Importin-7
HORVU6Hr1G030390	2,06	4-coumarate:CoA ligase 1
HORVU6Hr1G020910	2,06	ATP-dependent RNA helicase eIF4A
HORVU4Hr1G064710	2,05	Transmembrane 9 superfamily member 3
HORVU6Hr1G059040	2,05	Protein lunapark
HORVU6Hr1G033750	2,05	Non-structural maintenance of chromosomes element 4 homolog A
HORVU0Hr1G012370	2,05	SWIB/MDM2 domain superfamily protein
HORVU4Hr1G059130	2,05	UDP-glucuronic acid decarboxylase 3
HORVU2Hr1G063350	2,05	Coffea canephora DH200=94 genomic scaffold, scaffold_8
HORVU3Hr1G079620	2,05	Protein RETICULATA-RELATED 3, chloroplastic
HORVU4Hr1G025090	2,05	Protein transport protein Sec61 subunit beta
HORVU4Hr1G035890	2,05	Intron-binding protein aquarius
HORVU3Hr1G087490	2,05	Coatomer subunit delta-3

HORVU1Hr1G094060	2,05	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU6Hr1G085490	2,05	ATP-dependent RNA helicase DeaD
HORVU5Hr1G112300	2,05	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 33
HORVU5Hr1G082670	2,04	unknown protein
HORVU6Hr1G038710	2,04	histone deacetylase 1
HORVU1Hr1G013780	2,04	DNA-directed RNA polymerase subunit 10-like protein
HORVU4Hr1G068820	2,04	T-complex protein 1 subunit beta
HORVU0Hr1G022460	2,04	Transducin family protein / WD-40 repeat family protein
HORVU7Hr1G113760	2,04	Transcription initiation factor TFIID subunit 5
HORVU5Hr1G027080	2,04	AP-5 complex subunit mu
HORVU5Hr1G041730	2,04	Protein transport protein Sec61 subunit alpha
HORVU2Hr1G086240	2,04	eukaryotic translation initiation factor 4G
HORVU2Hr1G010380	2,03	FACT complex subunit SPT16
HORVU7Hr1G104590	2,03	Pre-mRNA-splicing factor CWC26
HORVU3Hr1G031800	2,03	elongation defective 1 protein / ELD1 protein
HORVU6Hr1G019510	2,03	calmodulin-binding family protein
HORVU2Hr1G066560	2,03	DNAJ homologue 3
HORVU6Hr1G082230	2,02	F-box/RNI-like superfamily protein
HORVU4Hr1G014970	2,02	Kelch-like protein 23
HORVU3Hr1G114360	2,02	Cytochrome b5
HORVU4Hr1G033170	2,02	WD repeat-containing protein 61
HORVU1Hr1G017570	2,02	Aspartic protease 3
HORVU5Hr1G085530	2,02	T-complex protein 1 subunit beta
HORVU7Hr1G088630	2,01	ABC transporter G family member 42
HORVU1Hr1G076880	2,01	GTP-binding RHO-like protein
HORVU1Hr1G042520	2,01	pentatricopeptide repeat 336
HORVU7Hr1G051630	2,01	RanBP2-type zinc finger protein
HORVU3Hr1G102520	2,01	nascent polypeptide-associated complex subunit alpha-like protein 3
HORVU3Hr1G071350	2,01	Homeobox protein HOX1A
HORVU4Hr1G083470	2,00	GCN5-related N-acetyltransferase, putative, expressed
HORVU6Hr1G031830	2,00	phosphoglycerate kinase
HORVU1Hr1G080090	2,00	beta-galactosidase 17
HORVU3Hr1G021050	2,00	unknown protein

Aneks 10. Geny o specyficznie obniżonej ekspresji u *hvabi5.d* po suszy (25 DAS) (krotność zmiany (FC) ≥ 2; P ≤ 0,05 po poprawce FDR).

Identyfikator genu	Krotność zmiany	Charakterystyka funkcji białka
HORVU2Hr1G107250	-46,34	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU2Hr1G109120	-15,82	Beta-fructofuranosidase, insoluble isoenzyme 7
HORVU2Hr1G017300	-13,49	thioredoxin F2
HORVU2Hr1G017310	-13,49	thioredoxin F2
HORVU1Hr1G045790	-12,87	unknown function
HORVU2Hr1G093670	-9,96	PH01B001I13.17 protein
HORVU6Hr1G068370	-9,95	Growth-regulating factor 4
HORVU5Hr1G038840	-9,69	pumilio 7
HORVU6Hr1G060440	-9,46	E3 ubiquitin-protein ligase RMA1H1
HORVU2Hr1G007070	-9,32	Cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase
HORVU4Hr1G074980	-9,09	HNH endonuclease
HORVU6Hr1G065210	-9,07	transcription factor-related
HORVU1Hr1G052360	-8,91	Tyrosine-sulfated glycopeptide receptor 1
HORVU5Hr1G080990	-8,75	Ras-related protein Rab-25
HORVU4Hr1G080350	-8,60	phosphate transporter 1
HORVU3Hr1G026990	-8,32	Homeobox-leucine zipper protein family
HORVU7Hr1G096250	-8,18	high chlorophyll fluorescence phenotype 173
HORVU7Hr1G022940	-8,18	unknown function
HORVU3Hr1G095070	-7,78	unknown protein
HORVU5Hr1G016910	-7,56	unknown function
HORVU5Hr1G063420	-7,53	glutamate receptor 2.8
HORVU2Hr1G084640	-7,50	Sn1-specific diacylglycerol lipase beta
HORVU5Hr1G114090	-7,47	Urease subunit alpha
HORVU2Hr1G096890	-7,41	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein
HORVU1Hr1G088560	-7,38	GDP-D-mannose 3',5'-epimerase
HORVU5Hr1G010420	-7,37	glutamate receptor 2.7
HORVU2Hr1G080480	-7,28	30S ribosomal protein 3, chloroplastic
HORVU1Hr1G091210	-7,08	N-terminal protein myristoylation
HORVU4Hr1G020480	-7,07	RNI-like superfamily protein
HORVU1Hr1G001120	-6,85	Low molecular weight glutenin subunit
HORVU4Hr1G011180	-6,74	Syntaxin-124
HORVU3Hr1G078860	-6,74	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein
HORVU5Hr1G093100	-6,73	Single myb histone 6
HORVU4Hr1G082770	-6,60	polyol/monosaccharide transporter 5
HORVU1Hr1G016630	-6,52	RNA polymerase II subunit B1 CTD phosphatase Rpap2
HORVU1Hr1G038120	-6,52	CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein
HORVU1Hr1G038130	-6,52	CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein
HORVU6Hr1G051500	-6,48	undescribed protein
HORVU6Hr1G006840	-6,40	unknown function
HORVU4Hr1G077940	-6,32	BnaA06g08630D protein
HORVU3Hr1G015870	-6,29	Aspartate--tRNA(Asp/Asn) ligase
HORVU0Hr1G015810	-6,27	kinesin-like protein 1
HORVU6Hr1G053680	-6,26	Elongation factor Tu
HORVU1Hr1G054930	-6,24	SBP (S-ribonuclease-binding protein) family protein
HORVU2Hr1G065170	-6,21	Protein YABBY 5
HORVU4Hr1G067780	-6,21	Protein CRABS CLAW
HORVU5Hr1G071140	-6,19	cellulose synthase like E1
HORVU0Hr1G029180	-6,18	LAG1 longevity assurance homolog 3
HORVU5Hr1G057320	-6,18	LAG1 longevity assurance homolog 3
HORVU2Hr1G022290	-6,18	LAG1 longevity assurance homolog 3
HORVU3Hr1G023220	-6,14	chloride channel C
HORVU4Hr1G088020	-6,14	Protein NRT1/ PTR FAMILY 6.3
HORVU6Hr1G005540	-6,12	Peroxidase family protein
HORVU0Hr1G017380	-6,09	Serine-rich protein
HORVU6Hr1G086910	-6,09	Serine-rich protein
HORVU4Hr1G010200	-6,08	Calcium-transporting ATPase
HORVU4Hr1G053850	-6,05	Nicotianamine synthase 8
HORVU4Hr1G087050	-6,05	Pollen allergen Phl p 2
HORVU4Hr1G063240	-6,04	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 11
HORVU3Hr1G014780	-6,02	shikimate kinase like 1

HORVU5Hr1G111640	-6,01	50S ribosomal protein L17
ENSRNA049443512	-6,01	-
HORVU1Hr1G025250	-6,00	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU1Hr1G065120	-5,98	histidine kinase 5
HORVU7Hr1G024350	-5,96	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1
HORVU4Hr1G067840	-5,95	GDP-mannose transporter GONST3
HORVU1Hr1G074450	-5,91	Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.10
HORVU7Hr1G001670	-5,90	Rp1-like protein
HORVU3Hr1G105110	-5,89	undescribed protein
HORVU3Hr1G103630	-5,89	tRNA (guanine(26)-N(2))-dimethyltransferase
HORVU1Hr1G060770	-5,83	Squamosa promoter-binding-like protein 9
HORVU1Hr1G039720	-5,82	Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.2
HORVU7Hr1G114170	-5,82	50S ribosomal protein L35
HORVU2Hr1G113460	-5,80	Cysteine proteinases superfamily protein
HORVU1Hr1G022840	-5,79	Peroxisomal membrane protein 2
HORVU7Hr1G070140	-5,78	Secretory carrier-associated membrane protein 6
HORVU6Hr1G008320	-5,78	Histone H2B.3
HORVU7Hr1G023250	-5,77	unknown protein
HORVU7Hr1G086640	-5,76	unknown function
HORVU7Hr1G028160	-5,75	receptor kinase 2
HORVU5Hr1G009530	-5,70	Mediator of RNA polymerase II transcription subunit 19a
HORVU0Hr1G035930	-5,67	poly(A) polymerase 3
HORVU0Hr1G029140	-5,67	poly(A) polymerase 3
HORVU2Hr1G016100	-5,67	poly(A) polymerase 3
HORVU5Hr1G047590	-5,67	unknown protein
HORVU7Hr1G010740	-5,66	Protein kinase family protein
HORVU7Hr1G037040	-5,66	B3 domain-containing protein
HORVU0Hr1G016150	-5,62	RNA-binding protein 39
HORVU1Hr1G056010	-5,61	sugar transporter 1
HORVU7Hr1G115040	-5,61	30S ribosomal protein S17
HORVU4Hr1G011420	-5,58	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU0Hr1G002340	-5,56	NADH-cytochrome b5 reductase 2
HORVU6Hr1G050740	-5,56	FAD/NAD(P)-binding oxidoreductase
HORVU4Hr1G082040	-5,54	catalase 2
HORVU3Hr1G006430	-5,51	Disease resistance protein
HORVU7Hr1G001700	-5,50	Rp1-like protein
HORVU2Hr1G007640	-5,48	unknown function
HORVU6Hr1G023100	-5,47	receptor-like protein kinase 1
HORVU3Hr1G034640	-5,47	unknown function
HORVU7Hr1G052270	-5,46	Protein of unknown function (DUF1666)
HORVU1Hr1G017800	-5,46	Histone superfamily protein
HORVU2Hr1G105730	-5,44	Alpha-1,3/1,6-mannosyltransferase ALG2
HORVU3Hr1G043840	-5,42	Isopenicillin N epimerase
HORVU3Hr1G066340	-5,42	Late embryogenesis abundant protein 76
HORVU4Hr1G006730	-5,40	Plastid-lipid associated protein PAP / fibrillin family protein
HORVU3Hr1G087190	-5,38	Protein RMD5 homolog A
HORVU2Hr1G091360	-5,32	receptor kinase 2
HORVU7Hr1G081260	-5,32	Cysteine proteinase inhibitor 8
HORVU5Hr1G008980	-5,32	receptor kinase 3
HORVU0Hr1G025900	-5,31	ubiquitin-conjugating enzyme 13
HORVU4Hr1G007560	-5,31	ubiquitin-conjugating enzyme 13
HORVU7Hr1G055890	-5,31	50S ribosomal protein 6, chloroplastic
HORVU3Hr1G000050	-5,29	receptor kinase 2
HORVU3Hr1G059610	-5,28	Phosphoglycerate mutase family protein
HORVU7Hr1G079190	-5,23	PSRP4
HORVU0Hr1G023150	-5,18	Protein of unknown function (DUF1218)
HORVU1Hr1G080460	-5,18	Type IV inositol polyphosphate 5-phosphatase 3
HORVU5Hr1G067480	-5,17	65-kDa microtubule-associated protein 7
HORVU3Hr1G035470	-5,14	drought-induced 21
HORVU3Hr1G070540	-5,13	Transferrin receptor protein 2
HORVU7Hr1G098400	-5,11	Chlororespiratory reduction 42
HORVU3Hr1G001920	-5,08	expansin B2
HORVU6Hr1G057170	-5,08	SPla/RYanodine receptor (SPRY) domain-containing protein
HORVU4Hr1G083970	-5,07	ATP-dependent RNA helicase DeaD
HORVU6Hr1G044600	-5,07	P-loop NTPase domain-containing protein LPA1
HORVU0Hr1G013900	-5,06	L-lactate dehydrogenase
HORVU3Hr1G069210	-5,05	NifS-like protein

HORVU7Hr1G066420	-5,02	PENTATRICOPEPTIDE REPEAT 596
HORVU3Hr1G057240	-5,00	Glutaredoxin family protein
HORVU5Hr1G103080	-4,99	Arv1-like protein
HORVU5Hr1G075200	-4,99	unknown protein
HORVU5Hr1G111310	-4,98	magnesium chelatase i2
HORVU1Hr1G094610	-4,98	undescribed protein
HORVU6Hr1G057240	-4,98	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU2Hr1G089050	-4,97	beta glucosidase 46
HORVU1Hr1G070620	-4,97	Zinc finger (C3HC4-type RING finger) family protein
HORVU3Hr1G064040	-4,94	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G095370	-4,89	unknown function
HORVU0Hr1G025520	-4,89	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU1Hr1G068300	-4,89	Somatic embryogenesis receptor kinase 1
HORVU0Hr1G028710	-4,85	Formimidoyltransferase-cyclodeaminase
HORVU0Hr1G031730	-4,85	Formimidoyltransferase-cyclodeaminase
HORVU2Hr1G111540	-4,84	Farnesyl pyrophosphate synthase 2
HORVU6Hr1G044170	-4,84	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU2Hr1G107180	-4,84	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU6Hr1G079630	-4,83	Glucan endo-1,3-beta-glucosidase 10
HORVU6Hr1G035260	-4,83	30S ribosomal protein S21
HORVU3Hr1G075100	-4,83	Energy-coupling factor transporter ATP-binding protein EcfA1
HORVU7Hr1G011310	-4,81	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU2Hr1G006470	-4,78	disease resistance family protein / LRR family protein
HORVU5Hr1G017530	-4,78	Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein
HORVU3Hr1G062490	-4,78	30S ribosomal protein S20
HORVU4Hr1G000510	-4,78	haloacid dehalogenase-like hydrolase family protein
HORVU2Hr1G118570	-4,76	Aluminium induced protein with YGL and LRDR motifs
HORVU2Hr1G116910	-4,73	diacylglycerol kinase 5
HORVU2Hr1G061620	-4,70	Protein PHLOEM PROTEIN 2-LIKE A10
HORVU1Hr1G049070	-4,70	Glutathione S-transferase family protein
HORVU1Hr1G049090	-4,70	Glutathione S-transferase family protein
HORVU7Hr1G100450	-4,70	Histone superfamily protein
HORVU5Hr1G008160	-4,70	Serine protease Do-like HtrA
HORVU3Hr1G047030	-4,69	Ferredoxin-thioredoxin reductase, catalytic chain
HORVU5Hr1G056780	-4,67	Syntaxin-71
HORVU3Hr1G042770	-4,67	phosphate transporter 4
HORVU2Hr1G104660	-4,65	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU2Hr1G021280	-4,64	Phage shock protein A homolog
HORVU7Hr1G118440	-4,63	Disease resistance protein
HORVU5Hr1G063170	-4,63	undescribed protein
HORVU3Hr1G065390	-4,62	Lipid A export ATP-binding/permease protein MsbA
HORVU4Hr1G061130	-4,61	receptor kinase 1
HORVU2Hr1G096810	-4,60	Myc-like anthocyanin regulatory protein
HORVU2Hr1G060650	-4,59	Cadmium-induced protein AS8
HORVU2Hr1G060630	-4,59	Cadmium-induced protein AS8
HORVU3Hr1G010290	-4,59	Lactation elevated protein 1
HORVU1Hr1G085660	-4,58	Trans-1,2-dihydrobenzene-1,2-diol dehydrogenase
HORVU5Hr1G039560	-4,57	Rho GTPase-activating protein 1
HORVU4Hr1G021830	-4,57	Rho GTPase-activating protein 1
HORVU6Hr1G088610	-4,57	terpene synthase 14
HORVU3Hr1G092870	-4,57	Protein NRT1/ PTR FAMILY 2.13
HORVU1Hr1G080190	-4,56	Histone superfamily protein
HORVU4Hr1G013480	-4,56	Serpin-Z4
HORVU3Hr1G010570	-4,55	Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.2
HORVU6Hr1G009280	-4,54	copper ion transmembrane transporters
HORVU7Hr1G067110	-4,54	rubredoxin family protein
HORVU2Hr1G035970	-4,53	Amino-acid acetyltransferase
HORVU4Hr1G012170	-4,50	B3 domain-containing protein
HORVU3Hr1G035730	-4,50	Oxygen-dependent choline dehydrogenase
HORVU4Hr1G057330	-4,50	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU7Hr1G021310	-4,49	GDSL esterase/lipase
HORVU1Hr1G078050	-4,49	Agglutinin isolectin 3
HORVU1Hr1G064880	-4,48	Mitochondrial transcription termination factor family protein
HORVU7Hr1G090830	-4,46	Copine family protein 2
HORVU1Hr1G042560	-4,44	Thioredoxin fold, putative isoform 1
HORVU5Hr1G077920	-4,44	beta glucosidase 11
HORVU0Hr1G032250	-4,43	Disease resistance protein

HORVU0Hr1G031070	-4,43	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU1Hr1G068200	-4,43	disease resistance family protein / LRR family protein
HORVU1Hr1G000990	-4,43	Low molecular weight glutenin subunit
HORVU1Hr1G001420	-4,43	Low molecular weight glutenin subunit
HORVU3Hr1G093550	-4,43	receptor kinase 2
HORVU3Hr1G095330	-4,41	50S ribosomal protein L27
HORVU1Hr1G084200	-4,37	Disease resistance protein
HORVU6Hr1G023290	-4,37	receptor-like protein kinase 1
HORVU5Hr1G061770	-4,36	Cathepsin B-like cysteine proteinase
HORVU3Hr1G076190	-4,33	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU3Hr1G007590	-4,33	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G046670	-4,32	Chaperone protein dnaJ 13
HORVU5Hr1G125150	-4,32	OTU domain-containing protein 5
HORVU6Hr1G029910	-4,32	RING/U-box superfamily protein
HORVU6Hr1G074440	-4,31	annexin 7
HORVU4Hr1G007370	-4,31	14-3-3-like protein GF14-F
HORVU4Hr1G083590	-4,30	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G013770	-4,29	GTPase Der
HORVU6Hr1G072540	-4,29	signal peptide peptidase
HORVU7Hr1G006280	-4,29	Avenin-like b5
HORVU5Hr1G076170	-4,28	Glyoxysomal fatty acid beta-oxidation multifunctional protein MFP-a
HORVU1Hr1G040160	-4,28	PPPDE putative thiol peptidase family protein
HORVU1Hr1G040170	-4,28	Tyrosine--tRNA ligase
HORVU2Hr1G116660	-4,26	BnaC07g36720D protein
HORVU4Hr1G073970	-4,26	Dihydrodipicolinate reductase, bacterial/plant
HORVU6Hr1G015430	-4,26	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU0Hr1G026930	-4,24	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU0Hr1G034650	-4,24	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU0Hr1G026790	-4,24	50S ribosomal protein L16, chloroplastic
HORVU0Hr1G026250	-4,24	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU0Hr1G026870	-4,24	50S ribosomal protein L16, chloroplastic
HORVU0Hr1G033420	-4,24	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU2Hr1G048380	-4,24	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU2Hr1G051380	-4,24	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU2Hr1G051390	-4,24	50S ribosomal protein L16, chloroplastic
HORVU6Hr1G085430	-4,24	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU3Hr1G107290	-4,23	UPF0001 protein YBL036C
HORVU5Hr1G124380	-4,21	Light-repressed protein A
HORVU5Hr1G124430	-4,21	Light-repressed protein A
HORVU7Hr1G097000	-4,21	undescribed protein
HORVU6Hr1G041020	-4,21	50S ribosomal protein L21
HORVU1Hr1G070290	-4,19	proline-rich family protein
HORVU1Hr1G070200	-4,19	proline-rich family protein
HORVU1Hr1G020070	-4,19	Histone superfamily protein
HORVU1Hr1G020050	-4,19	Histone superfamily protein
HORVU7Hr1G088720	-4,18	Stomatin-1
HORVU7Hr1G088710	-4,18	Protein kinase superfamily protein
HORVU6Hr1G047240	-4,18	RING/U-box superfamily protein
HORVU3Hr1G022360	-4,18	RING/U-box superfamily protein
HORVU6Hr1G014790	-4,17	Phosphatidate cytidylyltransferase
HORVU7Hr1G109340	-4,17	Protein kinase superfamily protein
HORVU2Hr1G000770	-4,17	Disease resistance protein
HORVU7Hr1G106480	-4,15	NAC domain containing protein 1
HORVU2Hr1G095470	-4,14	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM23-3
HORVU0Hr1G033890	-4,13	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU0Hr1G036780	-4,13	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU0Hr1G028550	-4,13	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU4Hr1G045380	-4,13	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU3Hr1G087450	-4,13	unknown function
HORVU3Hr1G019360	-4,08	F-box/LRR-repeat protein
HORVU6Hr1G090160	-4,08	unknown function
HORVU6Hr1G019080	-4,08	ABC transporter G family member 36
HORVU5Hr1G089000	-4,06	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU7Hr1G114660	-4,05	Indole-3-glycerol phosphate synthase
HORVU2Hr1G090340	-4,05	Patatin
HORVU2Hr1G099770	-4,04	Oxygen-dependent coproporphyrinogen-III oxidase
HORVU2Hr1G041430	-4,02	Protein kinase superfamily protein

HORVU1Hr1G040700	-4,02	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G085980	-4,02	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G121870	-4,01	ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH 3
HORVU4Hr1G066290	-4,01	Nucleoporin, Nup133/Nup155-like
HORVU6Hr1G018830	-4,01	50S ribosomal protein L3
HORVU3Hr1G013530	-4,00	Histone H2B.10
HORVU6Hr1G000280	-3,99	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G053480	-3,99	Protein FLUORESCENT IN BLUE LIGHT, chloroplastic
HORVU5Hr1G094890	-3,98	NDH-dependent cyclic electron flow 5
HORVU1Hr1G002500	-3,96	V-type proton ATPase 16 kDa proteolipid subunit
HORVU5Hr1G088430	-3,95	Tetratricopeptide repeat (TPR)-like superfamily protein
HORVU4Hr1G066370	-3,95	Mitochondrial substrate carrier family protein
HORVU6Hr1G062040	-3,94	50S ribosomal protein L19
HORVU4Hr1G016260	-3,94	ATP-dependent protease La (LON) domain protein
HORVU3Hr1G063620	-3,94	microtubule-associated protein 65-4
HORVU3Hr1G047180	-3,94	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G024590	-3,94	Phosphoenolpyruvate/phosphate translocator 3, chloroplastic
HORVU7Hr1G066590	-3,93	Histone-lysine N-methyltransferase ATXR3
HORVU1Hr1G070330	-3,93	Protein RETICULATA-RELATED 6, chloroplastic
HORVU3Hr1G006540	-3,93	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit Tim17/Tim22/Tim23 family protein
HORVU2Hr1G118520	-3,92	exocyst subunit exo70 family protein H6
HORVU4Hr1G077140	-3,92	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU4Hr1G031590	-3,91	Receptor like protein kinase S.2
HORVU2Hr1G102930	-3,90	High mobility group B protein 6
HORVU1Hr1G050340	-3,89	Nuclear control of ATPase protein 2
HORVU3Hr1G029760	-3,87	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G117690	-3,87	Translocase of chloroplast 159, chloroplastic
HORVU4Hr1G027180	-3,86	proline transporter 1
HORVU6Hr1G008970	-3,86	YELLOW STRIPE like 7
HORVU1Hr1G011300	-3,86	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU7Hr1G114610	-3,86	receptor kinase 2
HORVU3Hr1G070550	-3,84	Transferrin receptor protein 2
HORVU3Hr1G041820	-3,83	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G047570	-3,83	undescribed protein
HORVU2Hr1G071330	-3,82	Glycine--tRNA ligase
HORVU6Hr1G010550	-3,81	undescribed protein
HORVU3Hr1G090920	-3,79	NAC domain protein,
HORVU5Hr1G062120	-3,79	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU5Hr1G049980	-3,79	Protein translocase subunit SecY
HORVU3Hr1G027220	-3,77	Polyketide cyclase/dehydrase and lipid transport superfamily protein
HORVU2Hr1G014920	-3,76	Uncharacterised conserved protein (UCP012943)
HORVU2Hr1G015020	-3,76	Uncharacterised conserved protein (UCP012943)
HORVU4Hr1G047610	-3,76	unknown protein
HORVU0Hr1G031210	-3,75	Jacalin-like lectin domain containing protein, expressed
HORVU7Hr1G089510	-3,74	serine/threonine protein kinase 1
HORVU5Hr1G105390	-3,74	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G080820	-3,73	B1358B12.17 protein
HORVU5Hr1G022760	-3,73	Solute carrier family 40 member 1
HORVU6Hr1G061380	-3,73	Abhydrolase domain-containing protein 1
HORVU1Hr1G049140	-3,73	unknown function
HORVU6Hr1G082160	-3,72	unknown protein
HORVU7Hr1G060790	-3,71	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU5Hr1G059720	-3,71	BTB/POZ domain-containing protein 9
HORVU2Hr1G088110	-3,70	inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain-related
HORVU3Hr1G027550	-3,70	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU6Hr1G070180	-3,70	diacylglycerol acyltransferase family
HORVU6Hr1G015790	-3,69	Histone H2B.2
HORVU7Hr1G117540	-3,68	Pseudouridine synthase family protein
HORVU5Hr1G003910	-3,68	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily protein
HORVU3Hr1G087550	-3,68	Protein kinase superfamily protein
HORVU2Hr1G077010	-3,67	unknown function
HORVU4Hr1G013310	-3,67	unknown protein
HORVU7Hr1G110330	-3,67	Histone H2B.10
HORVU7Hr1G095750	-3,66	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
HORVU6Hr1G050960	-3,66	nodulin MtN21 /EamA-like transporter family protein
HORVU6Hr1G058790	-3,66	undescribed protein

HORVU4Hr1G040950	-3,66	50S ribosomal protein L6
HORVU3Hr1G058350	-3,66	UDP-sugar pyrophosphorylase
HORVU3Hr1G081530	-3,66	Clathrin assembly protein
HORVU4Hr1G084710	-3,65	WD-40 repeat family protein
HORVU5Hr1G025570	-3,65	tRNA uridine 5-carboxymethylaminomethyl modification enzyme MnmG
HORVU3Hr1G113720	-3,65	BTB/POZ domain-containing protein FBL11
HORVU2Hr1G100080	-3,63	Protein strawberry notch homolog 1
HORVU3Hr1G003150	-3,63	Sodium/hydrogen exchanger 7
HORVU2Hr1G077620	-3,62	Poly(A) polymerase-like protein
HORVU6Hr1G065760	-3,62	membrin 11
HORVU2Hr1G110680	-3,61	Molybdenum cofactor biosynthesis protein B
HORVU3Hr1G081540	-3,61	Transcription initiation factor TFIID subunit 9
HORVU1Hr1G027840	-3,61	Lactoylglutathione lyase / glyoxalase I family protein
HORVU2Hr1G116680	-3,61	Histidine--tRNA ligase
HORVU6Hr1G019190	-3,61	Histone acetyltransferase HAC12
HORVU4Hr1G062940	-3,60	Calcium-binding EF-hand family protein
HORVU3Hr1G030010	-3,59	GDT1-like protein 1, chloroplastic
HORVU5Hr1G080860	-3,59	UDP-glucose 4-epimerase 3
HORVU2Hr1G086050	-3,59	NifS-like protein
HORVU5Hr1G104080	-3,58	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G074190	-3,58	Holliday junction DNA helicase
HORVU2Hr1G062240	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU6Hr1G073020	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
AGP50789	-3,58	-
AGP50791	-3,58	-
AGP50790	-3,58	-
HORVU0Hr1G026200	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU0Hr1G026260	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU0Hr1G026270	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU0Hr1G026800	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU0Hr1G026810	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU0Hr1G028360	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU0Hr1G028370	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU0Hr1G032920	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU0Hr1G032930	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU0Hr1G033440	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU0Hr1G033690	-3,58	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU0Hr1G033700	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU0Hr1G033710	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU0Hr1G034480	-3,58	Translation initiation factor IF-1, chloroplastic
HORVU0Hr1G035280	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU0Hr1G035290	-3,58	Translation initiation factor IF-1, chloroplastic
HORVU0Hr1G036980	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU0Hr1G037370	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU0Hr1G037630	-3,58	Translation initiation factor IF-1, chloroplastic
HORVU0Hr1G037950	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU5Hr1G064720	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU5Hr1G064730	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU5Hr1G064980	-3,58	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU5Hr1G064990	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU6Hr1G037250	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU6Hr1G037260	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU6Hr1G049440	-3,58	Translation initiation factor IF-1
HORVU6Hr1G049450	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU6Hr1G049460	-3,58	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU7Hr1G065920	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU7Hr1G107910	-3,58	30S ribosomal protein S8, chloroplastic
HORVU7Hr1G107920	-3,58	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU2Hr1G096080	-3,58	Transmembrane protein 184C
HORVU5Hr1G019170	-3,58	Trimethylguanosine synthase
HORVU3Hr1G096650	-3,58	NAD(P)H dehydrogenase 18
HORVU4Hr1G074930	-3,57	F-box domain containing protein
HORVU3Hr1G019900	-3,57	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU3Hr1G074120	-3,56	Sporulation RMD1
HORVU7Hr1G115510	-3,56	purple acid phosphatase 26
HORVU1Hr1G046880	-3,56	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"

AGP50747	-3,56	-
HORVU0Hr1G032720	-3,56	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU0Hr1G034370	-3,56	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU4Hr1G045370	-3,56	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU6Hr1G049130	-3,56	DNA-directed RNA polymerase subunit beta"
HORVU7Hr1G060530	-3,56	Translation initiation factor IF-2
HORVU3Hr1G113070	-3,55	integral membrane protein
HORVU5Hr1G093650	-3,55	Single-stranded DNA-binding protein
HORVU6Hr1G001690	-3,55	RING/U-box superfamily protein
HORVU2Hr1G107760	-3,54	Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase family protein
HORVU6Hr1G033160	-3,53	chlorophyll A/B binding protein 3
HORVU2Hr1G009520	-3,53	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G009480	-3,53	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU4Hr1G002130	-3,53	Dehydrogenase/reductase SDR family member 11
HORVU7Hr1G021280	-3,53	Iron-sulfur cluster insertion protein ErpA
HORVU4Hr1G025850	-3,51	Structure-specific endonuclease subunit slx1
HORVU4Hr1G085100	-3,51	dihydroflavonol 4-reductase-like1
HORVU2Hr1G063250	-3,50	Aspartyl/glutamyl-tRNA(Asn/Gln) amidotransferase subunit B
HORVU5Hr1G030460	-3,50	Methyltransferase-like protein 13
HORVU3Hr1G029020	-3,50	tRNA N6-adenosine threonylcarbamoyltransferase
HORVU0Hr1G038790	-3,50	DNA (cytosine-5)-methyltransferase DRM2
HORVU0Hr1G018360	-3,50	DNA (cytosine-5)-methyltransferase DRM2
HORVU6Hr1G032260	-3,50	DNA (cytosine-5)-methyltransferase DRM2
HORVU1Hr1G018720	-3,49	unknown protein
HORVU5Hr1G027250	-3,48	phosphoglucosamine mutase family protein
HORVU1Hr1G025690	-3,48	Serine/threonine protein phosphatase 2A 57 kDa regulatory subunit B' iota isoform
HORVU2Hr1G106200	-3,48	S-norcoclaurine synthase
HORVU2Hr1G106120	-3,48	S-norcoclaurine synthase
HORVU4Hr1G014850	-3,47	Hemolysin A
HORVU1Hr1G038410	-3,47	Transmembrane 45B-like protein
HORVU2Hr1G041590	-3,45	equilibrative nucleoside transporter 6
HORVU3Hr1G093140	-3,45	protein kinase family protein
HORVU5Hr1G124630	-3,45	Glutathione S-transferase T1
HORVU5Hr1G034810	-3,44	3'(2'),5'-bisphosphate nucleotidase
HORVU2Hr1G026820	-3,44	DPP6 N-terminal domain-like protein
HORVU4Hr1G052470	-3,44	30S ribosomal protein S1 homolog A
HORVU1Hr1G008350	-3,44	UDP-galactose transporter 5
HORVU5Hr1G086560	-3,43	O-fucosyltransferase family protein
HORVU3Hr1G088110	-3,43	exocyst subunit exo70 family protein B2
HORVU4Hr1G002270	-3,42	5-methyltetrahydropteroyltriglutamate--homocysteine methyltransferase 2
HORVU1Hr1G039230	-3,41	Peroxisome assembly protein 12
HORVU4Hr1G073880	-3,41	Ankyrin repeat family protein
HORVU1Hr1G040660	-3,41	Long-chain-alcohol oxidase FAO1
HORVU2Hr1G120090	-3,41	unknown function
HORVU2Hr1G114590	-3,41	Synaptotagmin-5
HORVU1Hr1G074550	-3,41	Protein NRT1/ PTR FAMILY 5.10
HORVU2Hr1G049700	-3,40	zeta-carotene desaturase
HORVU3Hr1G083090	-3,39	polypyrimidine tract-binding protein 3
HORVU7Hr1G014130	-3,39	lipid phosphate phosphatase 2
HORVU7Hr1G034840	-3,38	Nitrilase/cyanide hydratase and apolipoprotein N-acyltransferase family protein
HORVU1Hr1G002240	-3,37	E3 ubiquitin-protein ligase CHIP
HORVU6Hr1G070750	-3,37	E3 ubiquitin-protein ligase makorin
HORVU4Hr1G047770	-3,35	Mitochondrial Rho GTPase
HORVU7Hr1G046890	-3,35	Thioredoxin reductase 2
HORVU6Hr1G083380	-3,35	Telomeric repeat-binding factor 1
HORVU6Hr1G083320	-3,35	Telomeric repeat-binding factor 1
HORVU3Hr1G021910	-3,35	tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein
HORVU3Hr1G087800	-3,33	Sorting and assembly machinery component 50 homolog A
HORVU5Hr1G093280	-3,33	Protein LSD1
HORVU2Hr1G031200	-3,33	serine/threonine protein kinase 1
HORVU3Hr1G019920	-3,33	glycine-rich protein
HORVU5Hr1G114630	-3,32	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU6Hr1G093260	-3,32	M-1
HORVU7Hr1G079510	-3,31	Acid phosphatase/vanadium-dependent haloperoxidase-related protein

HORVU2Hr1G045770	-3,31	MYB transcription factor
HORVU1Hr1G068320	-3,31	myb-like transcription factor family protein
HORVU4Hr1G032980	-3,30	Ankyrin repeat family protein
HORVU5Hr1G007680	-3,30	unknown protein
HORVU7Hr1G114960	-3,30	Demethylmenaquinone methyltransferase
HORVU5Hr1G103380	-3,30	Mitochondrial transcription termination factor family protein
HORVU3Hr1G079260	-3,29	Ribonuclease 3
HORVU6Hr1G086940	-3,28	Bifunctional nuclease
HORVU4Hr1G022680	-3,27	PAP/OAS1 substrate-binding domain superfamily
HORVU5Hr1G033180	-3,27	Histone-lysine N-methyltransferase setd3
HORVU0Hr1G017440	-3,26	Homoserine O-acetyltransferase
HORVU6Hr1G092920	-3,26	RING/U-box superfamily protein
HORVU2Hr1G029220	-3,26	DNA-directed RNA polymerase II protein
HORVU3Hr1G031200	-3,26	Glyoxylate/hydroxypyruvate reductase B
HORVU0Hr1G000280	-3,25	pfkB-like carbohydrate kinase family protein
HORVU5Hr1G068750	-3,24	Chaperone DnaJ-domain superfamily protein
HORVU4Hr1G060450	-3,24	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G023100	-3,24	Cysteine desulfurase
HORVU1Hr1G078110	-3,24	SAM-dependent methyltransferase
HORVU3Hr1G006270	-3,23	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G041520	-3,23	THO complex subunit 4D
HORVU1Hr1G079890	-3,23	embryo defective 2752
HORVU1Hr1G065960	-3,23	Acylamino-acid-releasing enzyme
HORVU1Hr1G026430	-3,23	undescribed protein
HORVU5Hr1G110960	-3,22	Transcription initiation factor IIE subunit beta
HORVU5Hr1G040460	-3,21	decapping 1
HORVU1Hr1G072430	-3,21	myb domain protein 3r-5
HORVU6Hr1G089180	-3,20	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
HORVU0Hr1G039070	-3,20	unknown protein
HORVU0Hr1G038980	-3,20	unknown protein
HORVU5Hr1G034530	-3,20	Regulator of chromosome condensation (RCC1) family protein
HORVU7Hr1G002940	-3,20	Mitochondrial transcription termination factor-like
HORVU7Hr1G105860	-3,20	unknown function
HORVU6Hr1G031370	-3,19	Calcineurin-like metallo-phosphoesterase superfamily protein
HORVU1Hr1G043680	-3,19	RNA-binding KH domain-containing protein
HORVU5Hr1G111460	-3,19	ABC transporter C family member 14
HORVU4Hr1G033670	-3,18	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
HORVU5Hr1G095530	-3,18	phytochrome C
HORVU1Hr1G065250	-3,18	Potassium channel AKT2
HORVU7Hr1G036690	-3,18	Serine/threonine-protein phosphatase 2A activator
HORVU5Hr1G053750	-3,18	Ycf20-like protein
HORVU3Hr1G110480	-3,18	MutL-like protein 1
HORVU2Hr1G032920	-3,17	Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.3
HORVU2Hr1G043020	-3,17	Proteasome inhibitor-like protein
HORVU3Hr1G026500	-3,16	B-box zinc finger family protein
HORVU2Hr1G022680	-3,16	NADH:ubiquinone oxidoreductase intermediate-associated protein 30
HORVU7Hr1G091220	-3,16	UPF0183 protein
HORVU3Hr1G087860	-3,16	FeS cluster assembly protein SufB
HORVU3Hr1G016360	-3,16	D111/G-patch domain-containing protein
HORVU3Hr1G068970	-3,15	Hexosyltransferase
HORVU2Hr1G057880	-3,15	Proline--tRNA ligase
HORVU2Hr1G045440	-3,15	TBC1 domain family member 15
HORVU1Hr1G004480	-3,14	Kinetochore protein spc25
HORVU2Hr1G092180	-3,14	Elongation factor G
HORVU2Hr1G027040	-3,14	pyruvate dehydrogenase kinase
HORVU4Hr1G083530	-3,13	O-acetyl-ADP-ribose deacetylase
HORVU7Hr1G108010	-3,13	F-box family protein
HORVU4Hr1G011440	-3,13	Telomerase Cajal body protein 1
HORVU1Hr1G049550	-3,13	Non-lysosomal glucosylceramidase
HORVU2Hr1G017270	-3,13	WUSCHEL related homeobox 12
HORVU3Hr1G070090	-3,12	unknown function
HORVU1Hr1G093880	-3,12	Phosphoglucan phosphatase LSF1, chloroplastic
ENSRNA049447747	-3,12	-
HORVU0Hr1G026860	-3,12	50S ribosomal protein L14, chloroplastic
HORVU6Hr1G037270	-3,12	50S ribosomal protein L16, chloroplastic
HORVU5Hr1G032370	-3,12	BEST Arabidopsis thaliana protein match is: nucleolar protein gar2-related .

HORVU7Hr1G028240	-3,11	sulfiredoxin
HORVU5Hr1G125290	-3,11	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G125270	-3,11	Protein kinase superfamily protein
HORVU6Hr1G084740	-3,10	Cytochrome c oxidase copper chaperone 2
HORVU3Hr1G026080	-3,10	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU4Hr1G069320	-3,09	Divalent metal cation transporter MntH
HORVU4Hr1G070150	-3,09	Mitochondrial outer membrane protein porin 5
HORVU2Hr1G104190	-3,09	GPI mannosyltransferase 2
HORVU1Hr1G003750	-3,08	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G053310	-3,08	D-inositol 3-phosphate glycosyltransferase
HORVU5Hr1G039740	-3,08	D-inositol 3-phosphate glycosyltransferase
HORVU7Hr1G080530	-3,08	Two-component response regulator ORR21
HORVU5Hr1G018790	-3,08	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU7Hr1G055100	-3,08	unknown function
HORVU6Hr1G084690	-3,07	Translation initiation factor 3 protein
HORVU6Hr1G032560	-3,07	C2 and GRAM domain-containing protein
HORVU5Hr1G069620	-3,07	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 17
HORVU2Hr1G117970	-3,07	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase
HORVU6Hr1G065710	-3,06	SPX domain-containing membrane protein
HORVU3Hr1G062130	-3,06	Galactosylgalactosylxylosylprotein 3-beta-glucuronosyltransferase 2
HORVU7Hr1G095860	-3,06	undescribed protein
HORVU6Hr1G090090	-3,06	Glutathione S-transferase family protein
HORVU5Hr1G104450	-3,06	casein kinase 1
HORVU0Hr1G024990	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
HORVU0Hr1G033090	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
HORVU0Hr1G034510	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
HORVU0Hr1G025100	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
HORVU0Hr1G036490	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
HORVU0Hr1G036320	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
HORVU0Hr1G033300	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
HORVU0Hr1G035230	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
HORVU1Hr1G048160	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
HORVU1Hr1G064900	-3,06	50S ribosomal protein L32, chloroplastic
AGP50803	-3,06	-
HORVU4Hr1G057410	-3,06	Prostamide/prostaglandin F synthase
HORVU3Hr1G023790	-3,05	O-fucosyltransferase family protein
HORVU2Hr1G116180	-3,05	soluble epoxide hydrolase
HORVU2Hr1G116250	-3,05	Epoxide hydrolase 4
HORVU1Hr1G060090	-3,04	Tocopherol cyclase, chloroplastic
HORVU1Hr1G005140	-3,04	Pectin acetylesterase 5
HORVU7Hr1G025390	-3,04	Glycogen synthase
HORVU4Hr1G050290	-3,04	Sodium/bile acid cotransporter 7
HORVU3Hr1G030520	-3,04	Sodium/bile acid cotransporter 7
HORVU1Hr1G059990	-3,03	DnaJ-like protein 1
HORVU5Hr1G039620	-3,03	Putative serine esterase family protein
HORVU2Hr1G069610	-3,03	unknown function
HORVU4Hr1G030610	-3,03	glycine-tRNA ligases
HORVU7Hr1G072050	-3,02	Protein of unknown function (DUF1336)
HORVU3Hr1G037040	-3,02	unknown protein
HORVU6Hr1G068910	-3,02	alpha/beta hydrolase
HORVU1Hr1G043150	-3,02	pfkB-like carbohydrate kinase family protein
HORVU4Hr1G049770	-3,01	villin 2
HORVU4Hr1G031120	-3,00	unknown function
HORVU4Hr1G006100	-2,99	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily protein
HORVU5Hr1G022050	-2,99	unknown function
HORVU6Hr1G003500	-2,99	COPII coat assembly protein SEC16
HORVU2Hr1G092230	-2,98	Autophagy-related protein 13
HORVU5Hr1G064970	-2,98	50S ribosomal protein L16, chloroplastic
AGP50792	-2,98	-
HORVU6Hr1G049470	-2,98	50S ribosomal protein L16, chloroplastic
HORVU7Hr1G107930	-2,98	50S ribosomal protein L16, chloroplastic
HORVU7Hr1G105490	-2,98	unknown protein
HORVU3Hr1G047160	-2,98	protein kinase family protein / protein phosphatase 2C (PP2C) family protein
HORVU7Hr1G051400	-2,98	Squamosa promoter-binding-like protein 15
HORVU6Hr1G035610	-2,98	Kynurenine formamidase
HORVU3Hr1G037510	-2,98	undescribed protein

HORVU1Hr1G082540	-2,97	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU6Hr1G054010	-2,97	unknown function
HORVU2Hr1G114260	-2,97	Glycerol kinase
HORVU4Hr1G007020	-2,96	Transmembrane Fragile-X-F-associated protein
HORVU4Hr1G088210	-2,96	CCR4-NOT transcription complex subunit 1
HORVU2Hr1G064170	-2,96	Outer arm dynein light chain 1 protein
HORVU7Hr1G048900	-2,96	WD-40 repeat family protein
HORVU1Hr1G021390	-2,96	Disease resistance protein
HORVU4Hr1G020060	-2,96	Endonuclease or glycosyl hydrolase
HORVU1Hr1G047730	-2,95	Sphingoid long-chain bases kinase 1
HORVU6Hr1G088330	-2,95	Acyl-CoA N-acyltransferases (NAT) superfamily protein
HORVU4Hr1G063140	-2,95	BnaC08g31010D protein
HORVU7Hr1G080770	-2,95	BTB/POZ domain-containing protein
HORVU6Hr1G047770	-2,95	chaperone protein dnaJ-related
HORVU4Hr1G086360	-2,95	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein
HORVU4Hr1G086460	-2,95	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein
HORVU1Hr1G067990	-2,95	Nuclear transcription factor Y subunit C-3
HORVU1Hr1G067880	-2,95	Nuclear transcription factor Y subunit C-9
HORVU7Hr1G022210	-2,95	Adenylate cyclase
HORVU4Hr1G050080	-2,94	undescribed protein
HORVU5Hr1G079570	-2,94	C2 domain-containing protein / GRAM domain-containing protein
HORVU2Hr1G036050	-2,94	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family protein
HORVU7Hr1G117020	-2,94	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein
HORVU6Hr1G088000	-2,94	F-box/kelch-repeat protein
HORVU2Hr1G043680	-2,94	Isopentenyl-diphosphate Delta-isomerase II
HORVU5Hr1G121310	-2,93	CTD small phosphatase-like protein 2
HORVU4Hr1G007260	-2,93	unknown function
HORVU1Hr1G025940	-2,93	unknown protein
HORVU2Hr1G113050	-2,92	sulfate transporter 91
HORVU7Hr1G118430	-2,92	Disease resistance RPP13-like protein 4
HORVU2Hr1G023770	-2,92	GDSL esterase/lipase
HORVU6Hr1G053540	-2,92	NAC domain protein,
HORVU6Hr1G090190	-2,91	RNA-binding protein 1
HORVU1Hr1G044590	-2,90	WAPL protein, putative isoform 4
HORVU2Hr1G112450	-2,90	purple acid phosphatase 21
HORVU7Hr1G047760	-2,90	sequence-specific DNA binding transcription factors
HORVU7Hr1G049070	-2,89	caffeoyl-CoA 3-O-methyltransferase
HORVU5Hr1G116400	-2,88	unknown function
HORVU3Hr1G065000	-2,88	Core-2/I-branching beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase family protein
HORVU3Hr1G030490	-2,88	SNF7 family protein
HORVU7Hr1G078770	-2,87	B3 domain-containing transcription factor ABI3
HORVU2Hr1G077560	-2,87	Calmodulin-binding protein
HORVU5Hr1G104090	-2,87	ubiquitin-conjugating enzyme 3
HORVU1Hr1G056510	-2,87	50S ribosomal protein L1
HORVU3Hr1G110360	-2,86	CRS1 / YhbY (CRM) domain-containing protein
HORVU3Hr1G084470	-2,86	DNA excision repair protein ERCC-8
HORVU5Hr1G007410	-2,86	unknown function
HORVU0Hr1G034780	-2,86	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
AGP50799	-2,86	-
ENSRNA049460737	-2,86	-
ENSRNA049469273	-2,86	-
ENSRNA049469281	-2,86	-
ENSRNA049471771	-2,86	-
ENSRNA049471780	-2,86	-
ENSRNA049472925	-2,86	-
ENSRNA049473460	-2,86	-
ENSRNA049477530	-2,86	-
ENSRNA049480848	-2,86	-
ENSRNA049482220	-2,86	-
ENSRNA049482814	-2,86	-
ENSRNA049483181	-2,86	-
ENSRNA049485930	-2,86	-
ENSRNA049485931	-2,86	-
ENSRNA049485932	-2,86	-
ENSRNA049486181	-2,86	-
ENSRNA049486763	-2,86	-

ENSRNA049487128	-2,86	-
ENSRNA049489034	-2,86	-
ENSRNA049489290	-2,86	-
ENSRNA049489415	-2,86	-
HORVU5Hr1G064870	-2,86	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU1Hr1G046620	-2,86	Tetratricopeptide repeat protein 12
HORVU3Hr1G007380	-2,86	16.9 kDa class I heat shock protein 2
HORVU4Hr1G067480	-2,86	Protein OBERON 4
HORVU6Hr1G018060	-2,85	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G075720	-2,84	Galactosyltransferase family protein
HORVU1Hr1G079510	-2,84	Galactosyltransferase family protein
HORVU4Hr1G061260	-2,84	Mitochondrial phosphate carrier protein 3, mitochondrial
HORVU4Hr1G071470	-2,84	Calcium-dependent lipid-binding (CaLB domain) family protein
HORVU6Hr1G080290	-2,84	Transcription factor TFIIIB component B"
HORVU3Hr1G071000	-2,84	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G049480	-2,84	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G045280	-2,84	BnaC08g35780D protein
HORVU6Hr1G083790	-2,84	cyclic nucleotide-gated channel 17
HORVU6Hr1G051110	-2,83	bZIP protein
HORVU2Hr1G077670	-2,82	PHD finger protein ALFIN-LIKE 4
HORVU4Hr1G009620	-2,82	GDP-mannose transporter
HORVU4Hr1G085860	-2,82	Post-GPI attachment to proteins factor 3
HORVU4Hr1G045500	-2,82	pentatricopeptide repeat 336
HORVU1Hr1G061090	-2,81	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU3Hr1G110970	-2,81	polyubiquitin 3
HORVU4Hr1G005500	-2,81	50S ribosomal protein L18
HORVU2Hr1G066320	-2,80	Methionine--tRNA ligase
HORVU1Hr1G094920	-2,80	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G032170	-2,80	Plant regulator RWP-RK family protein
HORVU1Hr1G022450	-2,80	Fatty acid oxidation complex subunit alpha
HORVU5Hr1G056120	-2,80	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU1Hr1G065950	-2,79	unknown protein
HORVU7Hr1G121630	-2,79	UPF0392 protein
HORVU3Hr1G072350	-2,79	Nuclear transport factor 2 (NTF2) family protein
HORVU4Hr1G046540	-2,79	Cell cycle checkpoint control protein RAD9A
HORVU7Hr1G059870	-2,79	mammalian cell entry protein
HORVU7Hr1G008690	-2,79	Protein kinase superfamily protein
HORVU2Hr1G005480	-2,78	adenylate kinase family protein
HORVU1Hr1G045070	-2,78	Maf-like protein
HORVU3Hr1G041160	-2,78	Protein translocase subunit SecA
HORVU1Hr1G080950	-2,78	Glycogen synthase
HORVU3Hr1G039880	-2,78	Chaperone protein dnaJ 3
HORVU5Hr1G124920	-2,77	DUF1499 family protein
HORVU1Hr1G048400	-2,77	Methyltransferase-like protein 17, mitochondrial
HORVU3Hr1G091150	-2,77	Protein of unknown function (DUF803)
HORVU1Hr1G024070	-2,77	Protein kinase superfamily protein
HORVU0Hr1G008940	-2,76	heat shock factor 3
HORVU2Hr1G080910	-2,76	CCR4-NOT transcription complex subunit 4
HORVU2Hr1G090470	-2,76	ATP-dependent Clp protease proteolytic subunit
HORVU5Hr1G009880	-2,76	Single myb histone 6
HORVU7Hr1G067620	-2,76	Fidgetin-like protein 1
HORVU7Hr1G008070	-2,75	Phosphoglucan, water dikinase, chloroplastic
HORVU6Hr1G086220	-2,75	RING finger protein 13
HORVU5Hr1G031470	-2,75	Chaperone protein ClpB
HORVU5Hr1G114020	-2,75	Facilitated glucose transporter protein 1
HORVU3Hr1G088500	-2,74	fructose-bisphosphate aldolase 2
HORVU3Hr1G088540	-2,74	fructose-bisphosphate aldolase 2
HORVU4Hr1G069660	-2,74	Sulfhydryl oxidase
HORVU2Hr1G081460	-2,74	Indole-3-glycerol phosphate synthase
HORVU1Hr1G016110	-2,73	Exostosin family protein
HORVU0Hr1G016820	-2,73	Protein kinase superfamily protein
HORVU6Hr1G077100	-2,73	casein kinase 1
HORVU1Hr1G000710	-2,73	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B
HORVU7Hr1G094310	-2,73	protein N-terminal asparagine amidohydrolase family protein
HORVU2Hr1G119280	-2,73	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit 2, mitochondrial
HORVU2Hr1G024120	-2,73	terpenoid synthase 13
HORVU4Hr1G052170	-2,72	alpha-L-arabinofuranosidase 1

ENSRNA049445574	-2,72	-
HORVU6Hr1G066040	-2,72	Mitochondrial transcription termination factor-like
HORVU6Hr1G066030	-2,72	Mitochondrial transcription termination factor-like
HORVU1Hr1G065550	-2,72	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 7
HORVU5Hr1G039660	-2,72	Protein of unknown function (DUF793)
HORVU2Hr1G121880	-2,72	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
ENSRNA049460726	-2,72	-
HORVU4Hr1G056740	-2,72	Elongation factor 1-alpha
HORVU2Hr1G066860	-2,71	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU7Hr1G110290	-2,71	Histone H2B.2
HORVU1Hr1G077730	-2,71	FAR1-related sequence 5
HORVU7Hr1G000370	-2,71	MEI2-like protein 5
HORVU3Hr1G091850	-2,71	GPI transamidase component PIG-S-related
HORVU4Hr1G067960	-2,71	Purple acid phosphatase
HORVU7Hr1G109810	-2,70	Core-2/I-branching beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase family protein
HORVU3Hr1G038850	-2,70	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU5Hr1G075720	-2,69	Cyclin family protein
HORVU5Hr1G039430	-2,69	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferase
HORVU2Hr1G031990	-2,69	PHD finger protein ALFIN-LIKE 9
HORVU4Hr1G035740	-2,69	DOMAIN OF UNKNOWN FUNCTION 724 7
HORVU4Hr1G031280	-2,69	ATP-dependent RNA helicase DED1
HORVU1Hr1G075150	-2,69	PATELLIN 2
HORVU5Hr1G052510	-2,69	GPI inositol-deacylase
HORVU1Hr1G085890	-2,69	UDP-sugar pyrophosphorylase
HORVU5Hr1G012660	-2,68	unknown function
HORVU2Hr1G064750	-2,68	Translation initiation factor IF-2
HORVU1Hr1G077340	-2,68	Translation initiation factor IF-2
HORVU3Hr1G064850	-2,68	HEAT repeat-containing protein
HORVU2Hr1G062310	-2,68	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU6Hr1G046790	-2,68	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2, chloroplastic
HORVU3Hr1G076300	-2,68	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
AGP50798	-2,68	-
HORVU0Hr1G034720	-2,68	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU2Hr1G070520	-2,68	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU5Hr1G064880	-2,68	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU6Hr1G049510	-2,68	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU7Hr1G076960	-2,68	NAD(P)H-quinone oxidoreductase subunit 2 A, chloroplastic
HORVU2Hr1G003540	-2,68	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU2Hr1G082470	-2,68	FAR1-related sequence 6
HORVU3Hr1G071540	-2,68	Protein of unknown function (DUF616)
HORVU1Hr1G061160	-2,68	Pyruvate, phosphate dikinase 2
HORVU3Hr1G015700	-2,67	Pyrimidine-specific ribonucleoside hydrolase RihA
HORVU5Hr1G009460	-2,67	Pentatricopeptide repeat (PPR) superfamily protein
HORVU2Hr1G093190	-2,67	1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase-like protein 1
HORVU4Hr1G080000	-2,67	Phosphoribosylamine--glycine ligase
HORVU4Hr1G021130	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
ENSRNA049482216	-2,67	-
HORVU0Hr1G031420	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU0Hr1G034730	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU0Hr1G034770	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU0Hr1G034830	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU0Hr1G034860	-2,67	30S ribosomal protein S15, chloroplastic
HORVU2Hr1G121420	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU2Hr1G121660	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU5Hr1G004530	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU6Hr1G049520	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU7Hr1G107890	-2,67	30S ribosomal protein S7, chloroplastic
HORVU7Hr1G077650	-2,67	PHD finger family protein
HORVU6Hr1G082260	-2,67	unknown function
HORVU2Hr1G020220	-2,66	Potassium transporter family protein
HORVU5Hr1G105430	-2,66	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 2
HORVU3Hr1G041250	-2,66	Protein translocase subunit SecA
HORVU5Hr1G116310	-2,66	GATA transcription factor 15
HORVU2Hr1G019120	-2,66	unknown function
HORVU3Hr1G099130	-2,66	Lipase
HORVU2Hr1G089630	-2,66	Pentatricopeptide repeat-containing protein

HORVU3Hr1G079860	-2,65	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU2Hr1G029260	-2,65	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM44-2
HORVU7Hr1G078020	-2,64	Pentatricopeptide repeat (PPR) superfamily protein
HORVU5Hr1G067630	-2,64	DNA-binding storekeeper protein-related transcriptional regulator
HORVU5Hr1G087810	-2,64	UTP--glucose-1-phosphate uridylyltransferase
HORVU7Hr1G071960	-2,64	Transmembrane protein 120 homolog
HORVU6Hr1G077440	-2,64	Threonine endopeptidase
HORVU6Hr1G069280	-2,64	uridine kinase-like 4
HORVU7Hr1G028460	-2,64	BSD domain-containing protein
HORVU5Hr1G026140	-2,64	Phenylalanine--tRNA ligase alpha subunit
HORVU6Hr1G095140	-2,64	disease resistance family protein / LRR family protein
HORVU2Hr1G050770	-2,63	FAR1-related sequence 5
HORVU6Hr1G094440	-2,63	undescribed protein
HORVU6Hr1G017370	-2,63	unknown function
HORVU2Hr1G114940	-2,63	cyclic nucleotide gated channel 8
HORVU6Hr1G039720	-2,63	GATA transcription factor 23
HORVU7Hr1G096630	-2,63	Protein FAR-RED ELONGATED HYPOCOTYL 3
HORVU2Hr1G083620	-2,62	unknown protein
HORVU2Hr1G043170	-2,62	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU5Hr1G005780	-2,62	Basic-leucine zipper (bZIP) transcription factor family protein
HORVU3Hr1G051340	-2,62	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G020110	-2,62	Tubby-like F-box protein 14
HORVU4Hr1G024270	-2,61	THO complex subunit 4B
HORVU7Hr1G094240	-2,61	Ribose-phosphate pyrophosphokinase 2, chloroplastic
HORVU2Hr1G060710	-2,61	unknown function
HORVU4Hr1G016190	-2,61	60S ribosomal protein L10-1
HORVU5Hr1G053010	-2,60	Enoyl-[acyl-carrier-protein] reductase [NADH] 1
HORVU5Hr1G068970	-2,60	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU5Hr1G058400	-2,60	Protein SCO1 homolog 2, mitochondrial
HORVU3Hr1G026870	-2,60	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G034080	-2,60	SMR domain-containing protein
HORVU5Hr1G093590	-2,60	F-box/LRR-repeat protein 17
HORVU1Hr1G016700	-2,59	Auxin transporter-like protein 3
HORVU1Hr1G090410	-2,59	unknown function
HORVU6Hr1G033380	-2,59	Copper-transporting ATPase 1
HORVU7Hr1G054230	-2,58	Protein kinase superfamily protein
HORVU2Hr1G056710	-2,58	polyribonucleotide nucleotidyltransferase, putative
HORVU5Hr1G051900	-2,58	receptor kinase 2
HORVU1Hr1G055900	-2,58	myb-like transcription factor family protein
HORVU5Hr1G088830	-2,58	cyclic nucleotide-gated channel 17
HORVU7Hr1G066170	-2,57	Galactose mutarotase-like superfamily protein
HORVU3Hr1G080100	-2,57	NAC domain containing protein 102
HORVU1Hr1G050850	-2,57	VQ motif-containing protein
HORVU5Hr1G047730	-2,57	ferritin 4
HORVU3Hr1G009980	-2,56	Eukaryotic aspartyl protease family protein
HORVU7Hr1G012810	-2,56	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein 1 homolog
HORVU3Hr1G081110	-2,56	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein 1 homolog
HORVU0Hr1G003200	-2,56	undescribed protein
HORVU2Hr1G042790	-2,56	undescribed protein
HORVU7Hr1G084900	-2,56	CAAX amino terminal protease family protein
HORVU6Hr1G046420	-2,56	Trihelix transcription factor GT-3b
HORVU3Hr1G022000	-2,55	embryo defective 2410
HORVU7Hr1G073750	-2,55	Eukaryotic initiation factor 4A
HORVU2Hr1G016800	-2,55	RINT-1 / TIP-1 family
HORVU1Hr1G046270	-2,55	cytochrome B561-1
HORVU5Hr1G055270	-2,55	GDP-mannose transporter
HORVU1Hr1G041910	-2,55	Far upstream element-binding protein 2
HORVU1Hr1G069510	-2,55	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein
HORVU2Hr1G029480	-2,55	Non-specific lipid transfer protein-like 1
HORVU1Hr1G090940	-2,54	mitogen-activated protein kinase 16
HORVU2Hr1G072590	-2,54	alkaline/neutral invertase
HORVU2Hr1G047050	-2,54	undescribed protein
HORVU2Hr1G088060	-2,54	calmodulin like 23
HORVU5Hr1G057500	-2,54	WD-40 repeat family protein
HORVU4Hr1G065610	-2,54	unknown protein
HORVU4Hr1G047070	-2,54	GTP pyrophosphokinase
HORVU5Hr1G008250	-2,54	Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit B

HORVU7Hr1G080040	-2,54	F-box family protein
HORVU7Hr1G010310	-2,54	F-box family protein
HORVU7Hr1G070270	-2,54	unknown protein
HORVU1Hr1G080960	-2,53	unknown function
HORVU3Hr1G004510	-2,53	WD repeat-containing protein 1
ENSRNA049437439	-2,53	-
HORVU6Hr1G076730	-2,53	GDSL esterase/lipase
HORVU1Hr1G053000	-2,53	UDP-Glycosyltransferase superfamily protein
HORVU0Hr1G014200	-2,53	Orphans transcription factor
HORVU2Hr1G025040	-2,53	SAC3/GANP/Nin1/mts3/eIF-3 p25 family
HORVU7Hr1G084940	-2,53	Auxin-responsive protein IAA23
HORVU3Hr1G027460	-2,53	Cytokinin dehydrogenase 2
HORVU1Hr1G010510	-2,53	unknown protein
HORVU4Hr1G062120	-2,52	Rho GTPase-activating protein 6
HORVU4Hr1G073140	-2,52	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU4Hr1G014660	-2,52	Plant regulator RWP-RK family protein
HORVU2Hr1G042180	-2,52	Mitochondrial pyruvate carrier 4
HORVU4Hr1G024360	-2,52	Pentatricopeptide repeat-containing protein
HORVU1Hr1G042060	-2,52	Xaa-Pro aminopeptidase 1
HORVU4Hr1G046420	-2,52	AAA-type ATPase family protein
HORVU4Hr1G051210	-2,51	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 5
HORVU7Hr1G093710	-2,51	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU5Hr1G009890	-2,51	Pentatricopeptide repeat (PPR) superfamily protein
HORVU2Hr1G121020	-2,51	Zinc finger CCCH domain-containing protein 32
HORVU7Hr1G040420	-2,51	E2F transcription factor 1
HORVU7Hr1G035720	-2,51	Protein of unknown function DUF829, transmembrane 53
HORVU2Hr1G062670	-2,51	myb-like transcription factor family protein
HORVU5Hr1G018340	-2,51	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G048620	-2,51	Copine family protein 2
HORVU7Hr1G051250	-2,51	unknown protein
HORVU5Hr1G033640	-2,50	Protein SUPPRESSOR OF GENE SILENCING 3 homolog
HORVU6Hr1G028680	-2,50	Two-component response regulator ARR12
HORVU6Hr1G033540	-2,49	Putative glycosyl hydrolase of unknown function (DUF1680)
HORVU4Hr1G016510	-2,49	Chaperone protein DnaJ
HORVU4Hr1G025760	-2,49	ABC transporter A family member 6
HORVU5Hr1G087670	-2,49	RAD3-like DNA-binding helicase protein
HORVU4Hr1G012850	-2,49	Presenilin-2
HORVU5Hr1G117830	-2,49	unknown function
HORVU3Hr1G076840	-2,49	unknown function
HORVU3Hr1G062600	-2,48	UPF0678 fatty acid-binding protein-like protein
HORVU4Hr1G027400	-2,48	UDP-D-xylose:L-fucose alpha-1,3-D-xylosyltransferase
HORVU3Hr1G052710	-2,48	myb-like transcription factor family protein
HORVU1Hr1G067470	-2,47	Cellulose-synthase-like C5
HORVU2Hr1G072020	-2,47	Chaperone protein ClpB
HORVU5Hr1G093300	-2,47	Ribosomal silencing factor RsfS
HORVU2Hr1G068380	-2,47	unknown function
HORVU5Hr1G081930	-2,47	lon protease 2
HORVU3Hr1G013280	-2,47	Mitochondrial transcription termination factor family protein
HORVU6Hr1G058740	-2,47	cryptochrome 2
HORVU0Hr1G017260	-2,46	Cytochrome b-c1 complex, subunit 8 protein
HORVU3Hr1G043300	-2,46	zinc induced facilitator-like 2
HORVU4Hr1G053900	-2,46	Prolyl oligopeptidase family protein
HORVU0Hr1G038470	-2,46	E2F transcription factor 1
HORVU2Hr1G036870	-2,45	Major facilitator superfamily domain-containing protein 12
HORVU0Hr1G015830	-2,45	Ribonuclease J
HORVU3Hr1G041640	-2,45	lipase class 3 family protein
HORVU3Hr1G090560	-2,45	2-C-methyl-D-erythritol 4-phosphate cytidylyltransferase
HORVU5Hr1G026770	-2,45	Dipeptidyl peptidase 9
HORVU7Hr1G042370	-2,45	Squamosa promoter-binding-like protein 1
HORVU4Hr1G004090	-2,44	ubiquitin-protein ligase 7
HORVU7Hr1G094980	-2,44	Lipid transfer-like protein VAS
HORVU2Hr1G052030	-2,44	Ankyrin repeat family protein
HORVU1Hr1G047820	-2,44	Aldo-keto reductase family 4 member C9
HORVU6Hr1G055460	-2,44	Eukaryotic translation initiation factor 2A
HORVU5Hr1G024060	-2,43	F-box/LRR-repeat protein 3
HORVU6Hr1G035000	-2,43	Lycopene beta cyclase

HORVU1Hr1G031180	-2,43	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein
HORVU6Hr1G079720	-2,43	Protein of unknown function (DUF1644)
HORVU5Hr1G082560	-2,42	Transcription initiation factor IIB
HORVU3Hr1G082260	-2,42	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G066320	-2,42	Leucine-rich repeat (LRR) family protein
HORVU2Hr1G082540	-2,42	Leucine-rich repeat (LRR) family protein
HORVU2Hr1G036840	-2,42	5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase
HORVU2Hr1G034400	-2,42	Eukaryotic translation initiation factor 5A
HORVU3Hr1G019980	-2,42	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G043800	-2,41	U-box domain-containing protein
HORVU6Hr1G057080	-2,41	unknown function
HORVU5Hr1G066960	-2,41	Formate--tetrahydrofolate ligase
HORVU1Hr1G075050	-2,41	C2 calcium/lipid-binding plant phosphoribosyltransferase family protein
HORVU3Hr1G073470	-2,41	Protein tesmin/TSO1-like CXC 5
HORVU1Hr1G071470	-2,41	Ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 8
HORVU5Hr1G041030	-2,41	TRICHOME BIREFRINGENCE-LIKE 11
HORVU7Hr1G090110	-2,41	unknown protein
HORVU2Hr1G096300	-2,41	Lysine-specific histone demethylase 1 homolog 3
HORVU7Hr1G089830	-2,40	Stress regulated protein
HORVU2Hr1G050640	-2,40	Rho GTPase-activating protein 24
HORVU3Hr1G014580	-2,40	Charged multivesicular body protein 5
HORVU3Hr1G077210	-2,40	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G070300	-2,40	YELLOW STRIPE like 6
HORVU1Hr1G055250	-2,40	casein kinase II beta subunit 4
HORVU5Hr1G076230	-2,40	5-dehydro-2-deoxygluconokinase
HORVU5Hr1G015220	-2,39	receptor kinase 1
HORVU5Hr1G082520	-2,39	Putative adipose-regulatory protein (Seipin)
HORVU5Hr1G082480	-2,39	Putative adipose-regulatory protein (Seipin)
HORVU3Hr1G013740	-2,39	N-glycosylase/DNA lyase
HORVU7Hr1G065420	-2,39	Bifunctional nuclease 2
HORVU6Hr1G085160	-2,39	unknown function
HORVU2Hr1G064030	-2,39	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein
HORVU4Hr1G052840	-2,39	poly(A) polymerase 3
HORVU1Hr1G053840	-2,39	Altered inheritance of mitochondria protein 32
HORVU3Hr1G059830	-2,39	Iron-sulfur cluster assembly protein 1
HORVU3Hr1G106650	-2,38	alpha-1,3-mannosyl-glycoprotein beta-1,2-N-acetylglucosaminyltransferase, putative
HORVU7Hr1G054760	-2,38	Protein S-acyltransferase 8
HORVU2Hr1G036950	-2,38	Succinyl-CoA ligase [ADP-forming] subunit alpha
HORVU4Hr1G060280	-2,38	AT-hook motif nuclear-localized protein 22
HORVU3Hr1G029880	-2,38	V-type proton ATPase subunit E
HORVU2Hr1G034630	-2,38	Protein S-acyltransferase 21
HORVU4Hr1G043650	-2,38	Rubredoxin-like superfamily protein
HORVU3Hr1G017120	-2,38	O-fucosyltransferase family protein
HORVU6Hr1G032800	-2,38	DNA damage-inducible protein 1
HORVU2Hr1G037590	-2,37	DNA helicase INO80
HORVU5Hr1G020180	-2,37	Formin-like protein 12
HORVU3Hr1G107320	-2,37	cofactor assembly of complex C
HORVU5Hr1G053360	-2,37	SURP and G-patch domain-containing protein 1-like protein
HORVU2Hr1G070800	-2,37	Transport inhibitor response 1-like protein
HORVU3Hr1G067740	-2,37	Neuroguidin
HORVU1Hr1G005120	-2,37	outer plastid envelope protein 16-1
ENSRNA049449260	-2,37	-
HORVU2Hr1G096970	-2,36	AT-hook motif nuclear-localized protein 1
HORVU1Hr1G069250	-2,36	unknown function
HORVU1Hr1G013040	-2,36	ubiquitin-conjugating enzyme 37
HORVU5Hr1G046510	-2,36	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G094270	-2,36	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G040360	-2,36	ATP-citrate synthase subunit 1
HORVU1Hr1G035960	-2,36	Starch synthase 2, chloroplastic/amyloplastic
HORVU2Hr1G077230	-2,36	glutathione S-transferase
HORVU0Hr1G017140	-2,35	Methyltransferase-like protein 7A
HORVU5Hr1G118480	-2,35	cyclase/dehydrase family protein
HORVU6Hr1G082120	-2,35	Zinc finger CCCH domain-containing protein 55
HORVU7Hr1G007950	-2,35	DNA damage-binding protein CMR1

HORVU4Hr1G027610	-2,35	GRAS family transcription factor
HORVU4Hr1G002010	-2,35	unknown function
HORVU5Hr1G018840	-2,35	unknown protein
HORVU3Hr1G058470	-2,35	glucan synthase-like 7
HORVU3Hr1G005640	-2,35	Peroxisomal membrane protein PEX14
HORVU1Hr1G015720	-2,34	Homeobox protein knotted-1-like 1
HORVU7Hr1G113230	-2,34	Red chlorophyll catabolite reductase
HORVU1Hr1G045960	-2,34	Carboxypeptidase Y homolog A
HORVU6Hr1G081890	-2,34	Sn1-specific diacylglycerol lipase alpha
HORVU5Hr1G058670	-2,34	CsAtPR5, putative, expressed
HORVU7Hr1G037600	-2,34	sodium/calcium exchanger family protein / calcium-binding EF hand family protein
HORVU5Hr1G116360	-2,34	Phosphoribosylformylglycinamidine cyclo-ligase
HORVU3Hr1G027770	-2,34	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G094890	-2,33	CBS domain-containing protein CBSCBSPB5
HORVU1Hr1G004430	-2,33	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein
HORVU5Hr1G057210	-2,33	diacylglycerol kinase 2
HORVU2Hr1G035860	-2,33	NADH dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur protein 4, mitochondrial
HORVU2Hr1G096850	-2,32	Haloacid dehalogenase-like hydrolase (HAD) superfamily protein
HORVU1Hr1G071710	-2,32	Serine/threonine-protein kinase ATM
HORVU2Hr1G036380	-2,32	phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase family protein
HORVU5Hr1G095990	-2,32	Lipid A export ATP-binding/permease protein MsbA
HORVU2Hr1G111520	-2,32	Galactose mutarotase-like superfamily protein
HORVU0Hr1G039330	-2,31	Poly(A) RNA polymerase GLD2-B
HORVU1Hr1G061600	-2,31	Katanin p80 WD40 repeat-containing subunit B1 homolog
HORVU1Hr1G075640	-2,31	ABC transporter ATP-binding protein NatA
HORVU3Hr1G093400	-2,31	RNA-binding protein 1
HORVU1Hr1G056020	-2,31	myb-like transcription factor family protein
HORVU5Hr1G111380	-2,31	50S ribosomal protein L36
HORVU6Hr1G025780	-2,31	unknown function
HORVU5Hr1G103790	-2,31	BnaC04g25990D protein
HORVU2Hr1G056850	-2,30	unknown function
HORVU2Hr1G056860	-2,30	Myosin-J heavy chain
HORVU4Hr1G043120	-2,30	Paladin
HORVU7Hr1G046050	-2,30	Carboxyl-terminal-processing protease
HORVU2Hr1G028230	-2,30	Protein kinase superfamily protein
HORVU4Hr1G055240	-2,30	Malonyl CoA-acyl carrier protein transacylase
HORVU1Hr1G011900	-2,30	unknown function
HORVU5Hr1G092840	-2,29	DNA-directed RNA polymerase family protein
HORVU2Hr1G036110	-2,29	NADP-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
HORVU3Hr1G088530	-2,29	Nucleotide-diphospho-sugar transferase superfamily protein
HORVU5Hr1G088620	-2,29	Cytochrome b561 and DOMON domain-containing protein
HORVU5Hr1G052250	-2,28	D6 protein kinase like 2
HORVU3Hr1G032230	-2,28	Auxin response factor 1
HORVU4Hr1G066180	-2,28	RING/U-box superfamily protein
HORVU6Hr1G072500	-2,28	Eukaryotic translation initiation factor 5
HORVU5Hr1G078120	-2,28	Ankyrin repeat domain-containing protein 2A
HORVU7Hr1G046080	-2,28	E3 ubiquitin-protein ligase makorin
HORVU7Hr1G035680	-2,28	Protein TIC 22, chloroplastic
HORVU1Hr1G072170	-2,28	Very-long-chain (3R)-3-hydroxyacyl-CoA dehydratase 2
HORVU5Hr1G057100	-2,27	BnaC03g66760D protein
HORVU2Hr1G079220	-2,27	cryptochrome 1
HORVU5Hr1G062040	-2,27	Protein SCAI
HORVU7Hr1G024670	-2,27	GDSL esterase/lipase
HORVU3Hr1G083620	-2,27	serine/threonine protein kinase 2
HORVU3Hr1G084680	-2,27	Pleckstrin homology (PH) domain superfamily protein
HORVU4Hr1G063020	-2,27	Peptidyl-tRNA hydrolase ICT1, mitochondrial
HORVU5Hr1G114850	-2,27	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G092810	-2,27	RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1
HORVU2Hr1G031230	-2,27	bromo-adjacent homology (BAH) domain-containing protein
HORVU7Hr1G093060	-2,27	Insulinase (Peptidase family M16) family protein
HORVU1Hr1G023630	-2,27	Dihydrolipoyl dehydrogenase
HORVU1Hr1G060850	-2,26	Guanine nucleotide-binding protein subunit beta-like protein
HORVU3Hr1G000230	-2,26	Protein EXECUTER 2, chloroplastic
HORVU2Hr1G069270	-2,26	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B
HORVU0Hr1G003890	-2,26	Phosphoadenosine phosphosulfate reductase
HORVU5Hr1G117470	-2,26	Pectin lyase-like superfamily protein

HORVU3Hr1G026830	-2,26	ralf-like 33
HORVU6Hr1G029110	-2,26	undescribed protein
HORVU2Hr1G111640	-2,26	Plasma membrane ATPase
HORVU7Hr1G074520	-2,25	Protein of unknown function (DUF3537)
HORVU5Hr1G081790	-2,25	pantothenate kinase 2
HORVU0Hr1G027660	-2,25	unknown function
HORVU0Hr1G030810	-2,25	unknown function
HORVU5Hr1G096790	-2,25	unknown function
HORVU7Hr1G037780	-2,25	unknown protein
HORVU2Hr1G018810	-2,25	F-box family protein
HORVU3Hr1G060080	-2,25	Kinase-related protein of unknown function (DUF1296)
HORVU2Hr1G060900	-2,25	Pleckstrin homology (PH) domain-containing protein
HORVU5Hr1G106140	-2,25	Guanylate-binding family protein
HORVU7Hr1G060690	-2,25	Transmembrane protein, putative
HORVU4Hr1G056200	-2,24	Vacuolar protein-sorting-associated protein 37 homolog 2
HORVU2Hr1G081370	-2,24	Agmatine deiminase
HORVU4Hr1G022540	-2,24	unknown function
HORVU7Hr1G082710	-2,24	Peptide methionine sulfoxide reductase MsrB
HORVU7Hr1G056570	-2,24	Membrane-associated protein Hem
HORVU3Hr1G040310	-2,24	AP-1 complex subunit gamma-2
HORVU5Hr1G019420	-2,24	AP-1 complex subunit gamma-1
HORVU5Hr1G059820	-2,24	Succinate dehydrogenase subunit 7, mitochondrial
HORVU1Hr1G054260	-2,24	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
HORVU4Hr1G052080	-2,23	Endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment protein 3
HORVU6Hr1G018500	-2,23	5'-AMP-activated protein kinase-related
HORVU6Hr1G008590	-2,23	30S ribosomal protein S1
HORVU0Hr1G015710	-2,23	transcription factor-related
HORVU3Hr1G017020	-2,23	receptor kinase 3
HORVU5Hr1G011170	-2,23	GDP-L-galactose phosphorylase 1
HORVU3Hr1G052400	-2,22	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G054690	-2,22	ARM repeat superfamily protein
HORVU1Hr1G030630	-2,22	unknown protein
HORVU0Hr1G017370	-2,22	aspartate aminotransferase 5
HORVU4Hr1G043970	-2,22	uridine kinase-like 3
HORVU1Hr1G004970	-2,22	F-box family protein
HORVU5Hr1G109940	-2,22	Chaperonin-like RbcX protein
HORVU5Hr1G093930	-2,22	Chaperonin-like RbcX protein
HORVU6Hr1G056950	-2,22	Nucleotide/sugar transporter family protein
HORVU5Hr1G076030	-2,21	Acyl-ACP thioesterase
HORVU6Hr1G030530	-2,21	Galactose mutarotase-like superfamily protein
HORVU1Hr1G031600	-2,21	ATP synthase gamma chain
HORVU3Hr1G057140	-2,21	unknown function
HORVU4Hr1G007620	-2,21	phosphoglucomutase
HORVU2Hr1G118240	-2,21	ubiquitin-conjugating enzyme 28
HORVU7Hr1G077560	-2,21	Pectin lyase-like superfamily protein
HORVU1Hr1G015940	-2,20	Beta-carotene isomerase D27, chloroplastic
HORVU2Hr1G071630	-2,20	Potassium transporter family protein
HORVU7Hr1G097890	-2,20	FAR1-related sequence 6
HORVU4Hr1G077070	-2,20	Plant protein of unknown function (DUF936)
HORVU1Hr1G071330	-2,20	basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein
HORVU6Hr1G053650	-2,20	isocitrate dehydrogenase 1
HORVU2Hr1G058930	-2,20	acyl carrier protein 1
HORVU2Hr1G099030	-2,20	F-box family protein
HORVU1Hr1G010940	-2,20	Transmembrane protein, putative
HORVU5Hr1G111120	-2,19	Remorin family protein
HORVU6Hr1G061800	-2,19	chaperone protein dnaJ-related
HORVU1Hr1G000520	-2,19	E3 ubiquitin-protein ligase ORTHRUS 2
HORVU6Hr1G032570	-2,19	26S protease regulatory subunit 8
HORVU3Hr1G043640	-2,19	LisH domain and HEAT repeat-containing protein KIAA1468 homolog
HORVU5Hr1G050970	-2,19	unknown protein
HORVU5Hr1G107380	-2,19	chloride channel C
HORVU7Hr1G051520	-2,18	dihydroflavonol 4-reductase-like1
HORVU7Hr1G105880	-2,18	Tetraspanin family protein
HORVU7Hr1G093000	-2,18	unknown protein
HORVU1Hr1G018700	-2,18	S-adenosyl-L-methionine-dependent methyltransferases superfamily protein, putative isoform 1
HORVU4Hr1G000580	-2,18	Stomatin-1

HORVU2Hr1G011040	-2,18	ubiquitin-protein ligase 4
HORVU7Hr1G083770	-2,18	RING/U-box superfamily protein
HORVU4Hr1G071870	-2,17	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 13-A
HORVU7Hr1G079210	-2,17	unknown protein
HORVU4Hr1G077640	-2,17	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU2Hr1G098880	-2,17	Succinylornithine transaminase/acetylornithine aminotransferase
HORVU3Hr1G070620	-2,17	Auxin-responsive protein IAA6
HORVU3Hr1G073960	-2,17	receptor-like protein kinase 4
HORVU5Hr1G030500	-2,17	quinolinate synthase
HORVU0Hr1G003260	-2,17	CMP-sialic acid transporter 2
HORVU0Hr1G003270	-2,17	Oxygen-evolving enhancer protein 3-1, chloroplastic
HORVU2Hr1G058170	-2,17	ARID/BRIGHT DNA-binding domain-containing protein
HORVU7Hr1G022910	-2,17	Nucleotide/sugar transporter family protein
HORVU6Hr1G054640	-2,17	Pre-mRNA-splicing factor ISY1 homolog
HORVU7Hr1G051670	-2,16	unknown function
HORVU4Hr1G023050	-2,16	Cytochrome c oxidase biogenesis protein Cmc1-like
HORVU1Hr1G056260	-2,16	unknown protein
HORVU4Hr1G037290	-2,16	Ferredoxin-thioredoxin reductase, catalytic chain
HORVU2Hr1G053670	-2,16	Zinc finger A20 and AN1 domain-containing stress-associated protein 9
HORVU6Hr1G051470	-2,16	Ras-related protein Rab-2-B
HORVU5Hr1G060090	-2,16	Lysine-specific demethylase 3B
HORVU5Hr1G060110	-2,16	malonyl-CoA decarboxylase family protein
HORVU2Hr1G085590	-2,16	Plant regulator RWP-RK family protein
HORVU7Hr1G085750	-2,16	Protein RMD5 homolog A
HORVU2Hr1G002720	-2,15	PLANT CADMIUM RESISTANCE 1
HORVU0Hr1G012520	-2,15	DNA binding protein
HORVU4Hr1G076910	-2,15	Chitobiosyldiphosphodolichol beta-mannosyltransferase
HORVU7Hr1G050510	-2,15	AP-1 complex subunit gamma-1
HORVU7Hr1G008090	-2,15	unknown protein
HORVU2Hr1G070040	-2,15	Chaperone protein DnaJ
HORVU3Hr1G050920	-2,15	SIT4 phosphatase-associated family protein
HORVU2Hr1G025190	-2,15	Sulfotransferase
HORVU2Hr1G065940	-2,15	Type 1 phosphatases regulator YPI1
HORVU4Hr1G051810	-2,15	unknown function
HORVU7Hr1G042220	-2,14	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase family protein
HORVU6Hr1G009820	-2,14	RING/U-box superfamily protein
HORVU4Hr1G029760	-2,14	GTPase HflX
HORVU3Hr1G053620	-2,14	Protein of unknown function (DUF1644)
HORVU3Hr1G061010	-2,14	RING/U-box superfamily protein
HORVU6Hr1G049910	-2,14	UDP-galactose transporter
HORVU7Hr1G095570	-2,14	Inactive poly [ADP-ribose] polymerase RCD1
HORVU4Hr1G034860	-2,14	Major facilitator superfamily protein
HORVU5Hr1G041400	-2,14	Phytosulfokines 2
HORVU7Hr1G057010	-2,14	Ypt/Rab-GAP domain of gyp1p superfamily protein
HORVU3Hr1G077450	-2,14	DNA-directed RNA polymerase III subunit RPC5
HORVU1Hr1G086380	-2,14	periodic tryptophan protein 2
HORVU2Hr1G047010	-2,13	DNA/RNA helicase protein
HORVU7Hr1G077320	-2,13	Chromatin assembly factor 1 subunit B
HORVU5Hr1G029950	-2,13	U-box domain-containing protein 43
HORVU7Hr1G021720	-2,13	Protein with potential galactosyl transferase activity
HORVU6Hr1G064150	-2,12	Protein kinase superfamily protein
HORVU3Hr1G014950	-2,12	RNA recognition motif (RRM)-containing protein
HORVU6Hr1G033980	-2,12	Citrate synthase family protein
HORVU5Hr1G068610	-2,12	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU4Hr1G010140	-2,11	BSD domain-containing protein
HORVU2Hr1G086140	-2,11	S-adenosylmethionine decarboxylase proenzyme
HORVU3Hr1G051220	-2,11	Holocarboxylase synthetase
HORVU2Hr1G086820	-2,11	Gamma-tubulin complex component 2
HORVU1Hr1G021590	-2,11	Glycogen synthase
HORVU6Hr1G018530	-2,11	unknown protein
HORVU5Hr1G016840	-2,11	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G068380	-2,11	Disease resistance protein
HORVU2Hr1G123070	-2,11	Isoaspartyl peptidase/L-asparaginase
HORVU4Hr1G061880	-2,11	Protein DENND6A
HORVU3Hr1G016340	-2,11	Late embryogenesis abundant protein
HORVU6Hr1G038500	-2,11	Sterol 3-beta-glucosyltransferase
HORVU7Hr1G018750	-2,10	protein kinase family protein

HORVU2Hr1G031870	-2,10	DNA mismatch repair protein MutS
HORVU4Hr1G027220	-2,10	sterol C4-methyl oxidase 1-2
HORVU3Hr1G017970	-2,10	Golgi to ER traffic protein 4 homolog
HORVU2Hr1G079240	-2,10	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU3Hr1G078760	-2,10	Cytochrome P450 superfamily protein
HORVU4Hr1G085930	-2,10	Protein kinase superfamily protein
HORVU1Hr1G083730	-2,10	Sulfhydryl oxidase 1
HORVU4Hr1G000090	-2,10	RING/U-box superfamily protein
HORVU3Hr1G044640	-2,10	Light-mediated development protein DET1
HORVU6Hr1G042080	-2,10	Mitochondrial substrate carrier family protein
HORVU3Hr1G064290	-2,09	serine/threonine protein phosphatase 2A
HORVU3Hr1G087530	-2,09	Mitochondrial import inner membrane translocase subunit TIM50
HORVU2Hr1G023490	-2,09	Proteasome subunit beta type-6
HORVU6Hr1G058230	-2,09	Protein kinase superfamily protein
HORVU5Hr1G097560	-2,09	Two-component response regulator ARR2
HORVU5Hr1G022350	-2,09	pentatricopeptide repeat 336
HORVU3Hr1G056400	-2,09	Transducin/WD40 repeat-like superfamily protein
HORVU2Hr1G080710	-2,09	prohibitin 3
HORVU0Hr1G013140	-2,09	Tuliposide A-converting enzyme b2, amyloplastic
HORVU0Hr1G013170	-2,09	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU5Hr1G069140	-2,09	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU5Hr1G069110	-2,09	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU7Hr1G071900	-2,09	HEAT repeat-containing protein 6
HORVU2Hr1G101580	-2,09	Protein kinase-like
HORVU5Hr1G073510	-2,09	Protein EMSY-LIKE 3
HORVU5Hr1G067890	-2,09	phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase 1
HORVU4Hr1G064660	-2,09	GAGA-binding transcriptional activator
HORVU1Hr1G094900	-2,09	ATP-dependent zinc metalloprotease FtsH
HORVU1Hr1G083330	-2,09	Quinolone resistance protein NorA
HORVU5Hr1G063000	-2,08	ARID/BRIGHT DNA-binding domain-containing protein
HORVU2Hr1G101190	-2,08	villin 4
HORVU4Hr1G038750	-2,08	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases superfamily protein
HORVU3Hr1G066890	-2,08	5'-nucleotidase SurE
HORVU6Hr1G053310	-2,08	Protein kinase superfamily protein
HORVU7Hr1G053780	-2,08	Telomeric repeat-binding factor 1
HORVU0Hr1G017200	-2,08	nuclear pore anchor
HORVU5Hr1G099200	-2,08	Erythronate-4-phosphate dehydrogenase family protein
HORVU2Hr1G002710	-2,08	Integral membrane protein hemolysin-III homolog
HORVU2Hr1G076920	-2,08	auxin response factor 1
HORVU6Hr1G054520	-2,07	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase C2
HORVU6Hr1G093060	-2,07	Phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase family protein
HORVU2Hr1G099440	-2,07	terpene synthase 04
HORVU2Hr1G000010	-2,07	Polycomb group protein EMBRYONIC FLOWER 2
HORVU6Hr1G081370	-2,07	Isoleucine--tRNA ligase
HORVU6Hr1G093190	-2,07	unknown function
HORVU5Hr1G023980	-2,07	unknown function
HORVU7Hr1G054060	-2,07	Nitrate reductase [NADH]
HORVU1Hr1G067530	-2,07	Protein NRT1/ PTR FAMILY 8.5
HORVU5Hr1G017570	-2,07	FAR1-related sequence 5
HORVU4Hr1G019910	-2,07	Sec1 family domain-containing protein MIP3
HORVU5Hr1G109520	-2,06	5'-adenylylsulfate reductase-like 5
HORVU6Hr1G022330	-2,06	Adagio-like protein 1
HORVU4Hr1G020160	-2,06	Cytochrome b-c1 complex subunit 6
HORVU4Hr1G019290	-2,06	Protein TPLATE
HORVU2Hr1G047870	-2,06	Pre-mRNA-splicing factor ATP-dependent RNA helicase PRP16
HORVU3Hr1G002570	-2,06	receptor-like protein kinase 4
HORVU4Hr1G064990	-2,06	unknown function
HORVU2Hr1G026040	-2,06	unknown protein
HORVU6Hr1G002230	-2,06	unknown protein
HORVU2Hr1G020190	-2,06	MORC family CW-type zinc finger protein 4
HORVU1Hr1G095270	-2,06	Zinc finger CCCH domain-containing protein 37
HORVU0Hr1G010840	-2,06	D-isomer specific 2-hydroxyacid dehydrogenase family protein
HORVU3Hr1G059280	-2,05	Vacuolar protein sorting-associated protein 25
HORVU4Hr1G076100	-2,05	Nitrilase/cyanide hydratase and apolipoprotein N-acyltransferase family protein
HORVU5Hr1G070930	-2,05	TMV-MP30 binding protein 2C

HORVU0Hr1G016250	-2,05	RNA binding
HORVU2Hr1G103010	-2,05	AUTOPHAGY 8E
HORVU6Hr1G066450	-2,05	At5g37260-like protein
HORVU7Hr1G086010	-2,05	Transmembrane protein, putative
HORVU4Hr1G056060	-2,05	APRATAXIN-like
HORVU2Hr1G102030	-2,05	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU3Hr1G059230	-2,05	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU7Hr1G077790	-2,05	RING/U-box superfamily protein
HORVU3Hr1G097200	-2,05	auxin response factor 2
HORVU4Hr1G049320	-2,05	potassium transporter 2
HORVU5Hr1G114640	-2,05	Mitotic-spindle organizing protein 1B
HORVU4Hr1G030640	-2,05	ELF4-like 4
HORVU5Hr1G040400	-2,05	TLD domain-containing protein 1
HORVU4Hr1G007240	-2,04	actin related protein 2
HORVU3Hr1G068000	-2,04	receptor-like protein kinase 2
HORVU3Hr1G068020	-2,04	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
HORVU3Hr1G117840	-2,04	E3 SUMO-protein ligase SIZ1
HORVU1Hr1G093770	-2,04	Lysine-specific demethylase 5B
HORVU4Hr1G063010	-2,04	UDP-glucose 4-epimerase
HORVU3Hr1G054470	-2,04	unknown function
HORVU6Hr1G088630	-2,04	unknown function
HORVU6Hr1G045030	-2,04	Bromodomain-containing factor 2
HORVU4Hr1G061040	-2,04	D-inositol 3-phosphate glycosyltransferase
HORVU4Hr1G081420	-2,04	4-coumarate:CoA ligase 2
HORVU2Hr1G050450	-2,04	ureidoglycine aminohydrolase
HORVU7Hr1G023760	-2,04	mitogen-activated protein kinase 3
HORVU4Hr1G062760	-2,04	receptor-like protein kinase 4
HORVU7Hr1G051570	-2,04	Peroxidase superfamily protein
HORVU3Hr1G068360	-2,04	NADH-quinone oxidoreductase subunit B
HORVU4Hr1G080050	-2,04	ubiquitin conjugating enzyme 4
HORVU2Hr1G115070	-2,04	cullin 3
HORVU4Hr1G080640	-2,03	Aconitate hydratase 1
HORVU6Hr1G043690	-2,03	Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 15
HORVU3Hr1G109680	-2,03	Disease resistance protein
HORVU1Hr1G071930	-2,03	Metal tolerance protein 5
HORVU5Hr1G077190	-2,03	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
HORVU4Hr1G008500	-2,03	hydroxyproline-rich glycoprotein family protein
HORVU7Hr1G049260	-2,03	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU4Hr1G027140	-2,03	Thioesterase superfamily protein
HORVU5Hr1G043530	-2,03	unknown protein
HORVU1Hr1G051380	-2,03	Cyclin-dependent kinase E-1
HORVU5Hr1G053300	-2,03	NAD(P)-binding Rossmann-fold superfamily protein
HORVU5Hr1G050180	-2,03	Na+/H+ antiporter 2
HORVU3Hr1G071910	-2,03	Plant/F17J16-140 protein
HORVU2Hr1G061100	-2,03	S-acyltransferase
HORVU4Hr1G059680	-2,03	Protein S-acyltransferase 11
HORVU1Hr1G040670	-2,03	Phosphoribosylformylglycinamidine synthase
HORVU1Hr1G080070	-2,03	Phosphoribosylformylglycinamidine synthase
HORVU4Hr1G082980	-2,02	Proteasome maturation factor UMP1
HORVU4Hr1G075110	-2,02	unknown function
HORVU2Hr1G085060	-2,02	IBR domain-containing protein
HORVU3Hr1G080790	-2,02	ubiquitin-conjugating enzyme 11
HORVU3Hr1G074330	-2,02	nucleic acid binding
HORVU6Hr1G047360	-2,02	Isocitrate dehydrogenase [NAD] subunit 2, mitochondrial
HORVU2Hr1G079200	-2,02	Protein phosphatase 2C family protein
HORVU7Hr1G046290	-2,02	UPF0061 protein YdiU
HORVU1Hr1G041770	-2,02	Auxin response factor 22
HORVU2Hr1G109820	-2,02	Zinc finger CCCH domain-containing protein 30
HORVU2Hr1G109740	-2,02	Zinc finger CCCH domain-containing protein 30
HORVU7Hr1G022570	-2,02	profilin 2
HORVU0Hr1G007760	-2,02	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU4Hr1G015800	-2,02	Disease resistance protein (CC-NBS-LRR class) family
HORVU3Hr1G065770	-2,02	Bidirectional sugar transporter N3
HORVU1Hr1G079380	-2,02	alpha/beta-Hydrolases superfamily protein
HORVU5Hr1G070270	-2,02	Protein SCAI
HORVU2Hr1G110860	-2,01	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring
HORVU2Hr1G110880	-2,01	Chromosome 3B, genomic scaffold, cultivar Chinese Spring

HORVU1Hr1G051220	-2,01	receptor-like kinase 1
HORVU4Hr1G033860	-2,01	Lipase
HORVU3Hr1G053250	-2,01	Transcriptional corepressor LEUNIG
HORVU2Hr1G082410	-2,01	F-box family protein
HORVU6Hr1G079120	-2,01	undescribed protein
HORVU5Hr1G091160	-2,01	DCD (Development and Cell Death) domain protein
HORVU7Hr1G058950	-2,01	protein-l-isoaspartate methyltransferase 2
HORVU7Hr1G058490	-2,01	NADH-ubiquinone oxidoreductase-related
HORVU5Hr1G034880	-2,01	CCR4-NOT transcription complex subunit 11
HORVU2Hr1G041080	-2,01	sugar transporter 1
HORVU4Hr1G052900	-2,01	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 5
HORVU4Hr1G052890	-2,01	NADH dehydrogenase [ubiquinone] 1 alpha subcomplex subunit 5
HORVU2Hr1G010480	-2,01	50S ribosomal protein L30
HORVU2Hr1G036320	-2,01	WRKY family transcription factor family protein
HORVU5Hr1G105410	-2,01	undescribed protein
HORVU3Hr1G061950	-2,00	pentatricopeptide repeat 336
HORVU4Hr1G014910	-2,00	Ankyrin repeat protein SKIP35
HORVU4Hr1G003080	-2,00	unknown protein

Aneks 11. Geny potencjalnie docelowe HvABI5, zidentyfikowane w wyniku globalnej analizy transkryptomu *hvabi5.d* po suszy, wybrane do analizy ekspresji za pomocą RT-qPCR.

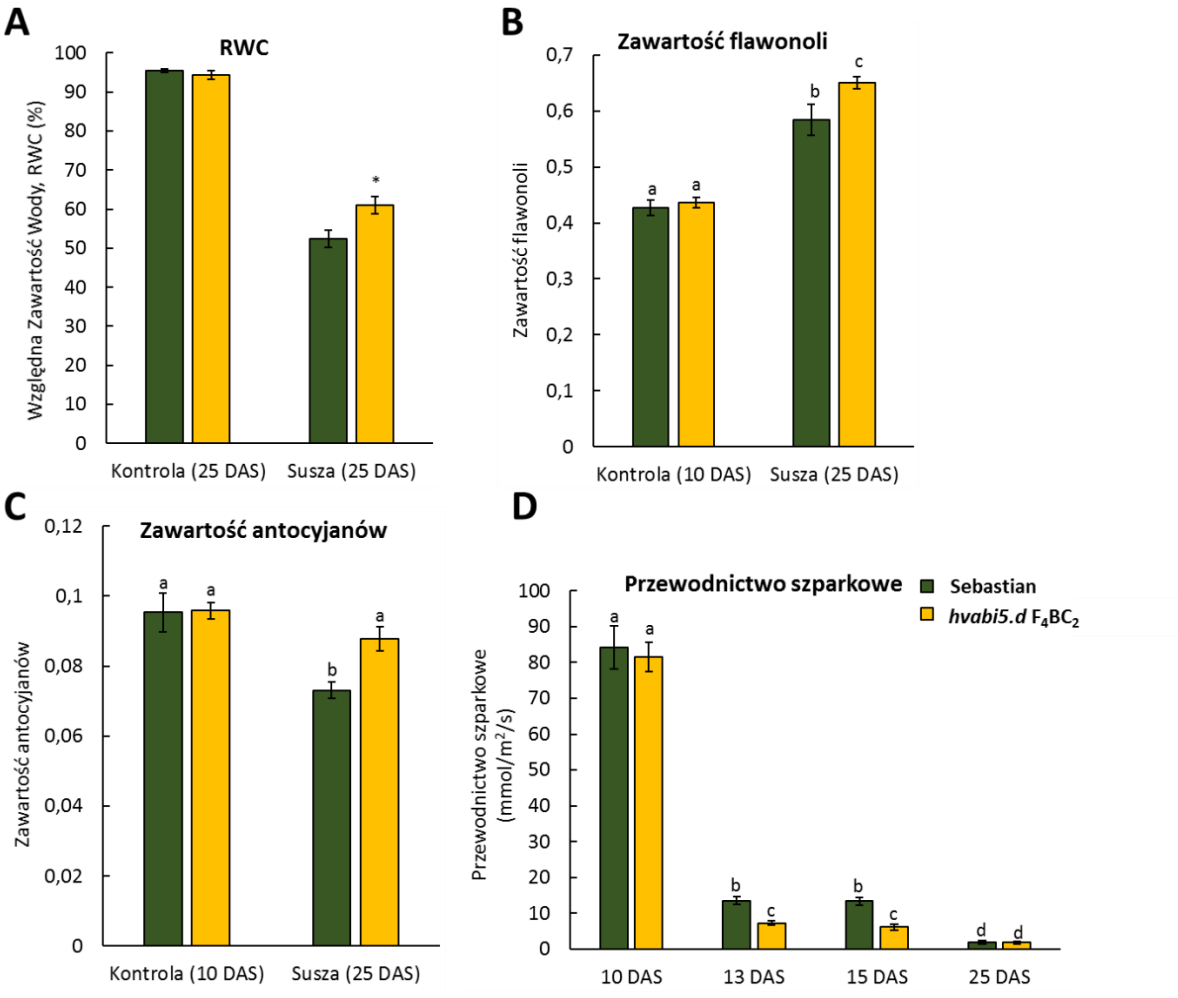
Identyfikator genu	**Charakterystyka funkcji białka**	**Krotność zmiany**		**Skrót**
		15 DAS	**25 DAS**	
Geny ulegające specyficznie zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* w 15 DAS				
HORVU1Hr1G065150	Undescribed protein	46,36	-	*Unknown*
HORVU7Hr1G025180	Disease resistance-responsive (dirigent-like protein) family protein	25,76	-	*DIR*
HORVU6Hr1G061420	Cytochrome b5	25,36	-	*CYB5*
HORVU5Hr1G005180	Pathogenesis-related thaumatin superfamily protein	10,80	-	*PR*
HORVU0Hr1G005320	IQ-domain 22	11,04	-	*IQ22*
HORVU4Hr1G067280	Homocysteine S-methyltransferase family protein	7,17	-	*HMT*
HORVU5Hr1G055740	Carotenoid cleavage dioxygenase 1	5,44	-	*CCD1*
HORVU6Hr1G064820	Basic helix-loop-helix (bHLH) DNA-binding superfamily protein	5,14	-	*bHLH*
HORVU2Hr1G008250	Pumilio 2	-7,03	-	*PUM2*
HORVU2Hr1G099540	Terpene synthase 04	-6,65	-	*GA4*
HORVU6Hr1G069280	Uridine kinase-like 4	-6,56	-	*UKL4*
HORVU7Hr1G106480	NAC domain containing protein 1	-6,53	-	*NAC1*
HORVU3Hr1G104940	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	-6,15	-	*LRPK1*
HORVU7Hr1G099370	Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase family protein	-5,42	-	*LRPK2*
Geny ulegające specyficznie zróżnicowanej ekspresji u *hvabi5.d* w 15 oraz 25 DAS				
HORVU2Hr1G108250	Anthocyanidin reductase	22,71	33,05	*BAN*
HORVU6Hr1G014420	Cyclin p4	10,78	10,37	*CYC4*
HORVU7Hr1G079430	Polyamine aminopropyltransferase 2	9,47	9,15	*PAPT2*
HORVU7Hr1G012300	LEA	5,56	8,61	*LEA*
HORVU5Hr1G080500	BAG family molecular chaperone regulator 3	14,70	8,53	*BAG3*
HORVU3Hr1G079800	Non-specific lipid-transfer protein-like protein	62,28	5,80	*LTP*
HORVU3Hr1G036600	TRAM, LAG1 and CLN8 (TLC) lipid-sensing domain containing protein	13,96	5,51	*TLC*
HORVU1Hr1G038130	CHY-type/CTCHY-type/RING-type Zinc finger protein	-5,03	-6,52	*CHY*

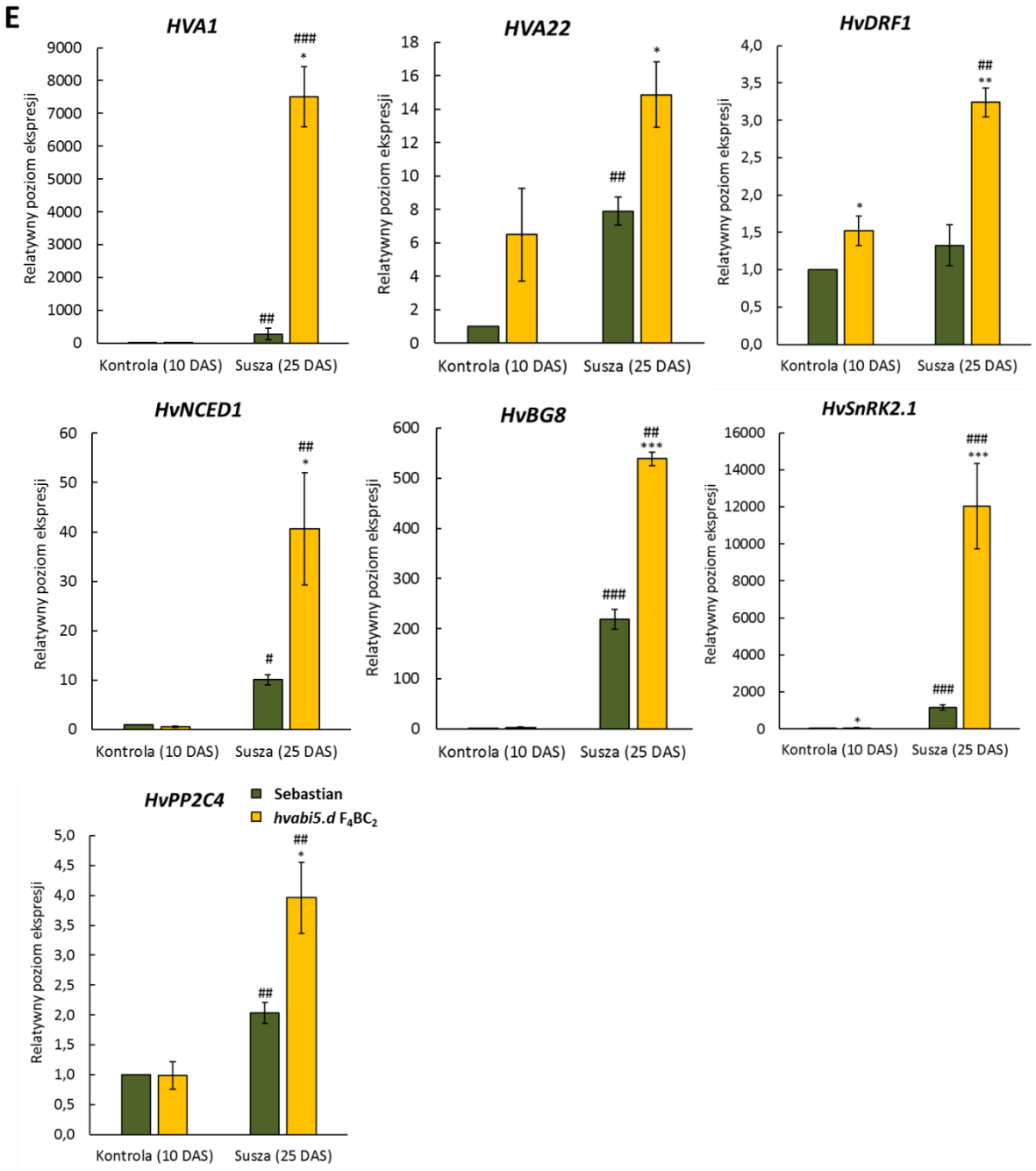
Aneks 12. Potencjalne motywy rozpoznawane przez ABI5 w obrębie promotorów genów wybranych do analiz ekspresji (-1000 pz od kodonu START).

Gen potencjalnie docelowy	Pozycja	Nić	Motyw rozpoznawany przez ABI5
Unknown (HORVU1Hr1G065150)	-243 do -226	+	5'GAAGGAAA**ACGTGTC**CAA3'
DIR (HORVU7Hr1G025180)	-1009 do -992	+	5'GTGCCGAA**ACGTGGC**TGC3'
CYB5 (HORVU6Hr1G061420)	-72 do -89	-	5'GGTTTATG**ACATGGC**ATG3'
PR (HORVU5Hr1G005180)	-509 do -492	+	5' CAGGTGTC**ACGTGTC**GCC3'
	-555 do -538	+	5' GCCTGGCG**CCGTGGC**GGC3'
	-490 do -507	-	5' CAGGCGAC**ACGTGAC**ACC3'
IQ22 (HORVU0Hr1G005320)	-809 do -792	+	5'AGATTAAC**ACGTGTT**GCT3'
	-790 do -807	-	5'GCAGCAAC**ACGTGTT**AAT3'
HMT (HORVU4Hr1G067280)	-444 do -428	+	5'ACGCCTA**ACGTGTC**CTG3'
CCD1 (HORVU5Hr1G055740)	-133 do -116	+	5'GTGTCGTC**ACGTGTC**CGG3'
	-114 do -131	-	5'ACCCGGAC**ACGTGAC**GAC3'
bHLH (HORVU6Hr1G064820)	-484 do -501	-	5'GGCTAGCT**ACGTGTA**GCT3'
PUM2 (HORVU2Hr1G008250)	-879 do -896	-	5'CAGATGCC**ACGTTGC**CCC3'
	-898 do -881	+	5'GTGGGGCA**ACGTGGC**ATC3'
GA4 (HORVU2Hr1G099540)	-705 do -722	-	5'GGGTTTGC**ACGTGTG**TCT3'
UKL4 (HORVU6Hr1G069280)	-917 do -934	-	5'TCTGTTAG**ACGTGGA**TCT3'
NAC1 (HORVU7Hr1G106480)	-531 do -514	+	5'ACCTCGCC**ACCTGGC**GCC3'
	-626 do -643	-	5'CGGCGGTG**ACGTGGG**CGG3'
	-839 do -856	-	5'GCATGGCG**ACGTGGC**ATG3'
LRPK1 (HORVU3Hr1G104940)	-736 do -719	+	5'TGCCCGTC**ACGTGTC**ACT3'
	-717 do -734	-	5'TAAGTGAC**ACGTGAC**GGG3'
LRPK2 (HORVU7Hr1G099370)	-825 do -842	-	5'TGTTCATC**ACGTGGA**CAA3'
BAN (HORVU2Hr1G108250)	-3 do -20	-	5'GGGCGGCG**ACGAGGA**AGG3'
CYC4 (HORVU6Hr1G014420)	-76 do -59	+	5'GCGGGCAC**CCGTGTC**CTC3'
PAPT2	-272 do -255	+	5'GAGAGAAC**ATGTGGC**TGC3'

(HORVU7Hr1G079430)	-926 do -943	-	5’GCGAGGCG**AGGTGTC**GAG3’
LEA (HORVU7Hr1G012300)	-83 do -100	-	5’TGTGGACG**ACGTCGC**GTG3’
	-127 do -144	-	5’GCCGAGTC**ACGTGCC**GAC3’
	-334 do -317	+	5’GAGTGGAC**ACGTGTG**TCA3’
	-315 do -332	-	5’ACTGACAC**ACGTGTC**CAC3’
BAG3 (HORVU5Hr1G080500)	-524 do -541	-	5’CCCGACGT**ACGTGTC**GCC3’
LTP (HORVU3Hr1G079800)	-921 do -937	-	5’CTGTAGC**ACGTGTG**GTA3’
TLC (HORVU3Hr1G036600)	-142 do -159	-	5’GGGGGCAG**ACGGGGC**AGG3’
	-955 do -938	+	5’CAGACATG**ACGTGTC**CGG3’
CHY (HORVU1Hr1G038130)	-757 do -774	-	5’GAACGGCG**CCGTGGC**TGG3’
	-812 do -795	+	5’CTACGTCT**ACGTGTA**ACC3’

Aneks 13. Odpowiedź *hvabi5.d* F_4BC_2 oraz odmiany ‘Sebastian’ na stres suszy. **(A)** Względna zwartość wody w liściu (RWC, Relative Water Content) *hvabi5.d* F_4BC_2 oraz odmiany ‘Sebastian’ w 25 DAS, w warunkach kontrolnych oraz suszowych. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotną statystycznie różnicę pomiędzy analizowanymi genotypami zaznaczono za pomocą gwiazdki - $^{*}P \leq 0,05$. **(B)** Zawartość flawonoli oraz **(C)** antocyjanów u *hvabi5.d* F_4BC_2 oraz odmiany ‘Sebastian’ w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (Kontrola 10 DAS) oraz po suszy (Susza 25 DAS). **(D)** Przewodnictwo szparkowe (g_s) *hvabi5.d* F_4BC_2 oraz odmiany wyjściowej zmierzone w warunkach optymalnego nawodnienia przed suszą (10 DAS), podczas obniżania wilgotności w glebie (13 i 15 DAS) oraz po suszy (25 DAS). Analizę statystyczną wykonano za pomocą dwuczynnikowej analizy wariancji (ANOVA) oraz testu HSD Tukeya (Tukey honest significant difference (HSD) test). Istotne statystycznie różnice pomiędzy różnymi warunkami wzrostu oraz pomiędzy analizowanymi genotypami zaznaczono za pomocą różnych liter ($P \leq 0,05$). Ekspresja genów związanych z *HvABI5* oraz genów związanych ze szlakiem ABA u *hvabi5.d* F_4BC_2 oraz odmiany ‘Sebastian’ w warunkach optymalnego nawodnienia (Kontrola 10 DAS) oraz po suszy (Susza 25 DAS). Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta. Istotne statystycznie różnice pomiędzy analizowanymi genotypami w tym samym punkcie czasowym zaznaczono za pomocą gwiazdek - $*P \leq 0,05$, $**P \leq 0,01$, $***P \leq 0,001$, a między analizowanymi traktowaniami w obrębie każdego genotypu za pomocą krzyżyków - $\#P \leq 0,05$, $\#\#P \leq 0,01$, $\#\#\#P \leq 0,001$.


A
RWC
Względna Zawartość Wody, RWC (%)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
*
Kontrola (25 DAS)
Susza (25 DAS)
B
Zawartość flawonoli
Zawartość flawonoli
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
a
a
b
c
Kontrola (10 DAS)
Susza (25 DAS)
C
Zawartość antocyjanów
Zawartość antocyjanów
0,12
0,1
0,08
0,06
0,04
0,02
0
a
a
b
a
Kontrola (10 DAS)
Susza (25 DAS)
D
Przewodnictwo szparkowe
Sebastian
hvabi5.d F4BC2
Przewodnictwo szparkowe (mmol/m2/s)
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
a
a
b
c
b
c
d
d
10 DAS
13 DAS
15 DAS
25 DAS


E
HVA1
HVA22
HvDRF1
HvNCED1
HvBG8
HvSnRK2.1
HvPP2C4
Relatywny poziom ekspresji
Kontrola (10 DAS)
Susza (25 DAS)
Sebastian
hvabi5.d F4BC2

11. The Role and Regulation of ABI5 (ABA-Insensitive 5) in Plant Development, Abiotic Stress Responses and Phytohormone Crosstalk

frontiers in Plant Science

REVIEW
published: 16 December 2016
doi: 10.3389/fpls.2016.01884

The Role and Regulation of ABI5 (ABA-Insensitive 5) in Plant Development, Abiotic Stress Responses and Phytohormone Crosstalk

Anna Skubacz, Agata Daszkowska-Golec and Iwona Szarejko*

Department of Genetics, Faculty of Biology and Environmental Protection, University of Silesia, Katowice, Poland

ABA Insensitive 5 (ABI5) is a basic leucine zipper transcription factor that plays a key role in the regulation of seed germination and early seedling growth in the presence of ABA and abiotic stresses. ABI5 functions in the core ABA signaling, which is composed of PYR/PYL/RCAR receptors, PP2C phosphatases and SnRK2 kinases, through the regulation of the expression of genes that contain the ABSCISIC ACID RESPONSE ELEMENT (ABRE) motif within their promoter region. The regulated targets include stress adaptation genes, e.g., LEA proteins. However, the expression and activation of *ABI5* is not only dependent on the core ABA signaling. Many transcription factors such as ABI3, ABI4, MYB7 and WRKYs play either a positive or a negative role in the regulation of *ABI5* expression. Additionally, the stability and activity of ABI5 are also regulated by other proteins through post-translational modifications such as phosphorylation, ubiquitination, sumoylation and *S*-nitrosylation. Moreover, ABI5 also acts as an ABA and other phytohormone signaling integrator. Components of auxin, cytokinin, gibberellic acid, jasmonate and brassinosteroid signaling and metabolism pathways were shown to take part in *ABI5* regulation and/or to be regulated by ABI5. Monocot orthologs of *AtABI5* have been identified. Although their roles in the molecular and physiological adaptations during abiotic stress have been elucidated, knowledge about their detailed action still remains elusive. Here, we describe the recent advances in understanding the action of ABI5 in early developmental processes and the adaptation of plants to unfavorable environmental conditions. We also focus on ABI5 relation to other phytohormones in the abiotic stress response of plants.

Keywords: ABI5, abiotic stress response, phytohormone crosstalk, abscisic acid, brassinosteroids, gibberellin acid, jasmonates, posttranslational modification

OPEN ACCESS

Edited by:
Maren Müller,
University of Barcelona, Spain

Reviewed by:
Woei-Jiun Guo,
National Cheng Kung University, Taiwan
Hao Peng,
Washington State University, USA

**Correspondence:*
Agata Daszkowska-Golec
agata.daszkowska@us.edu.pl

Specialty section:
This article was submitted to Plant Physiology, a section of the journal Frontiers in Plant Science

Received: 30 September 2016
Accepted: 29 November 2016
Published: 16 December 2016

Citation:
Skubacz A, Daszkowska-Golec A and Szarejko I (2016) The Role and Regulation of ABI5 (ABA-Insensitive 5) in Plant Development, Abiotic Stress Responses and Phytohormone Crosstalk. Front. Plant Sci. 7:1884. doi: 10.3389/fpls.2016.01884

INTRODUCTION

Abiotic stresses, such as drought, salinity or heat, have become a major threat for crop plant survival and yield. Full understanding of the mechanisms ensuring plant adaptation to stress can assist in obtaining tolerant varieties. ABA, which is the major stress phytohormone, takes part in a plant's adaptation to stress through regulation of physiological processes such as the

biosynthesis of osmolytes and the detoxification of ROS (Reactive Oxygen Species); (reviewed byRoychoudhury et al., 2013;Mehrotra et al.,2014;Yoshida et al.,2014;Munemasa et al.,2015;Jones,2016;Sah et al.,2016). Generally, ABA is considered to be a shoot and root growth inhibitor that acts to save water and energy under stress. However, in some cases ABA promotes root growth and enables the root system to access water in deeper soil layers (Sharp et al.,2004;Skirycz and Inzé,2010;Zhao et al.,2014). ABA also prevents turgor loss under conditions of reduced water availability. One of the earliest protective processes that are observed in stressed plants is stomatal closure. The endogenous ABA level is precisely controlled by biosynthesis and the catabolism pathways. ABA biosynthesis is a multistage process that is dependent on many enzymes including NCED (CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE). ABA catabolism requires ABA8^{r}hydroxylase activity and results in the creation of phaseic acid (reviewed byMehrotra et al.,2014;Sah et al.,2016). The perception of an ABA signal is mainly dependent on the core ABA signaling, which includes the action of PYR/PYL/RCAR (PYRABACTIN RESISTANCE PROTEINS/PYR-LIKE PROTEINS/REGULATORY COMPONENTS OF ABA RECEPTOR) receptors, PPC (PHOSPHATASE 2C) phosphatases and SnRK2 (SNF1-RELATED PROTEIN KINASE 2) kinases. Finally, AREB/ABF (ABSCISIC ACID RESPONSIVE ELEMENTS-BINDING FACTOR) transcription factors bind to ABRE (ABA RESPONSIVE ELEMENT) elements and regulate the expression of stress responsive genes (reviewed byNakashima and Yamaguchi-Shinozaki,2013;Yoshida et al.,2014;Daszkowska-Golec,2016). ABA-dependent transcription factors are primarily members of large families such as bZIP (BASIC LEUCINE ZIPPER) (Banerjee and Roychoudhury,2015), MYB (MYELOBLASTOSIS) (Golldack et al.,2011), WRKY (WRKY DNA-BINDING PROTEIN) (Chen L. et al.,2012) or AP2 (APETALA 2) (Golldack et al.,2011). ABI5 (ABA INSENSITIVE 5), which is a bZIP transcription factor, functions in the core ABA signaling.

The effect of mutation in *ABI5* gene was firstly described byFinkelstein's (1994)group. *Arabidopsis* insertional mutant *abi5* was characterized as ABA insensitive in comparison to the wild type during seed germination. The mutation was mapped on 2 chromosome (Finkelstein,1994). Transcriptomic analysis of *abi5* mutant indicated the lower level of expression of stress responsive genes. It suggested the role of *ABI5* in abiotic stress response (Finkelstein and Lynch,2000). Further *ABI5*-related expression analysis confirmed its role in drought and salt adaption during seedling development (Finkelstein and Lynch,2000;Lopez-Molina et al.,2001;Nakamura et al.,2001). The ABI5-regulated inhibition of seed germination and early seedling growth protects against plant development in adverse conditions. However, the ABI5 function is not only restricted to embryo tissues and its role was also described in the vegetative stage of development (Brocard et al.,2002;Kong et al.,2013). The target genes of ABI5 enable further adaptations to abiotic stresses.

In this review, we present the current understanding of the way ABI5 functions as (1) a regulator of abiotic stress responses and (2) an integrator of ABA crosstalk with other phytohormones. The results that are described primarily refer to research on *Arabidopsis thaliana* as the model plant.

SEED GERMINATION UNDER THE CONTROL OF ABA IN THE PRESENCE OF ABIOTIC STRESS

The process of seed germination is a critical stage in the plant life cycle and therefore plants have evolved precise mechanisms for its regulation (Debeaujon et al.,2000;Manz et al.,2005;Fait et al., 2006;Finch-Savage and Leubner-Metzger,2006;Nonogaki et al., 2010;Rajjou et al.,2012).

Gibberellic acid (GA) and ABA are the main phytohormones that participate in the regulation of the seed germination process (reviewed byJacobsen et al.,2002;Daszkowska-Golec,2011). GA is well known as a positive regulator of seed germination. An environment that is favorable for seed germination leads to the activation of the GA biosynthesis genes – *GA3OX1* (*GIBBERELLIN 3-OXIDASE 1*) and *GA3OX2*, which results in a higher content of the active GA pool (Ogawa et al.,2003; Mitchum et al.,2006). Next, GA responsive genes encoding key regulators and enzymes for germination are activated. The increase of GA during seed germination is associated with a decrease of ABA. The low ABA level is caused by the activity of *CYP707A2* (*CYTOCHROME P450*) encoding ABA8^{r}-hydroxylase and is responsible for ABA catabolism in seeds (Kushiro et al.,2004;Miransari and Smith,2014). On the contrary, seed dormancy, which prevents germination under unfavorable conditions, is connected with a high ABA and low GA content (Okamoto et al.,2006;Liu et al.,2014). To summarize, the complex ABA and GA interplay enables seed germination at the appropriate moment.

Sometimes, seeds start to germinate prior to the occurrence of abiotic stress. The inhibition of germination and prevention of germinating embryo from dryness is conducted through the ABA-dependent pathway described above. However, plants develop a special subtype of ABA action, which requires the action of seed specific, ABA-dependent transcription factors such as ABI3, ABI4, and ABI5. Mutations in these *ABI* loci lead to an ABA, salt and osmotic stress insensitivity during seed germination (Finkelstein,1994;Carles et al.,2002;Nambara et al.,2002). ABI3 has a B3 domain and activates genes via an Ry/Sph, seed-specific enhancer element that is present in the promoter sequences. Its function is mainly attributed to the maintenance of embryogenesis and seed dormancy. The loss of this function results in damaged seed development (Finkelstein and Somerville,1990). ABI3 induces the expression of *MIR159* encoding the negative regulator of *MYB33* and *MYB101*. Both of these act as positive components of ABA signaling. This indicates that ABI3 is responsible for the negative feedback regulation of the ABA cascade in germinating seeds that are under abiotic stress (Reyes and Chua,2007). ABI4, a transcription factor with an AP2 domain, also functions during seed germination under abiotic stress. The target genes of ABI4 have CE1 (COUPLING ELEMENT 1) in their promoter regions. ABI4 was shown to

play a significant role in the ABA-dependent inhibition of lateral root development (De Smet et al.,2003;Shkolnik-Inbar and Bar-Zvi,2010). Additionally, it has a negative influence on the expression of photosynthesis-related genes and mediates the plant response to glucose (Acevedo-Hernández et al.,2005; Bossi et al.,2009). ABI4 is also assumed to participate in the regulation of ABA signaling through the activation of the *MIR159b* expression and it also targets mature miR159 – *MYB33* and *MYB101* (Daszkowska-Golec et al.,2013). ABI3 and ABI4 were observed to act together with ABI5 in the regulation of abiotic stress responses (Nakamura et al.,2001;Reeves et al., 2011).

ABI5 – THE CRUCIAL REGULATOR OF SEED GERMINATION PROCESS

In germinating seeds and young seedlings, ABA signal perception is also governed by the ABI5 bZIP transcription factor. ABI5 shows a high homology to AREBs and also functions in a similar manner (Finkelstein and Lynch,2000;Kim,2006;Yoshida et al., 2010). Its expression is activated by drought and salt stress during seed germination within a short developmental window, which occurs between 48 and 60 h after stratification. Therefore, ABI5 activity causes the inhibition of seed germination or early seedling growth. A correlation was shown between ABA sensitivity, the expression of *ABI5* and the re-establishment of desiccation tolerance (Maia et al.,2014). Growth inhibition of the embryo and root at a later stage of development ensures more water retention and thus drought tolerance (Lopez-Molina et al.,2001; Brocard et al.,2002;Maia et al.,2014). Under stress, SnRK2.2, SnRK2.3 and SnRK2.6 phosphorylate the ABI5 trans-activation domain in vegetative tissues. The phosphorylation of ABI5 changes its conformation and enables its further interactions with other proteins (Nakamura et al.,2001). The first targets of ABI5 that were identified were the genes encoding LEA proteins, *EM1* (*EARLY METHIONINE-LABELED 1*), *EM6* and *LEAD34* (Finkelstein and Lynch,2000). Additionally, in a Yeast One-Hybrid assay, ABI5 was shown to bind directly with the ABRE sequence in the *EM6* promoter (Nakamura et al.,2001;Carles et al.,2002).

Many ABI5 target genes are associated with the germination process, e.g., *PGIP1* (*POLYGALACTURONASE INHIBITING PROTEIN 1*) and *PGIP2* genes (Kanai et al.,2010) (**Figure 1**). The induction of their ABI5-mediated expression leads to the inhibition of the activity of polygalacturanases, which results in the retardation of seed coat rupture and thus germination. In these processes, *ABI5* is under the negative regulation of *PED3* (*PEROXISOME DEFECTIVE 3*), which encodes the ATP-binding cassette transporter that is associated with fatty acid β oxidation. Thus, ABI5 acts as a crucial regulator of germination through its involvement in physiological and the biochemical aspects of this process (Kanai et al.,2010) (**Figure 1**).

FURTHER SEEDLING DEVELOPMENT IS NOT POSSIBLE WITHOUT ABI5 FUNCTIONING

Some reports indicate that the ABI5 function is not only restricted to germination and post-germinative growth, but also includes the vegetative tissues. *ABI5* expression has been observed in root tips, nodes and leaf veins at the seedling stage, while in older plants, its activity has been shown at the edges of leaves and in flowers. Additionally, many target genes are regulated by ABI5 at the later stages of plant development. ABA-induced

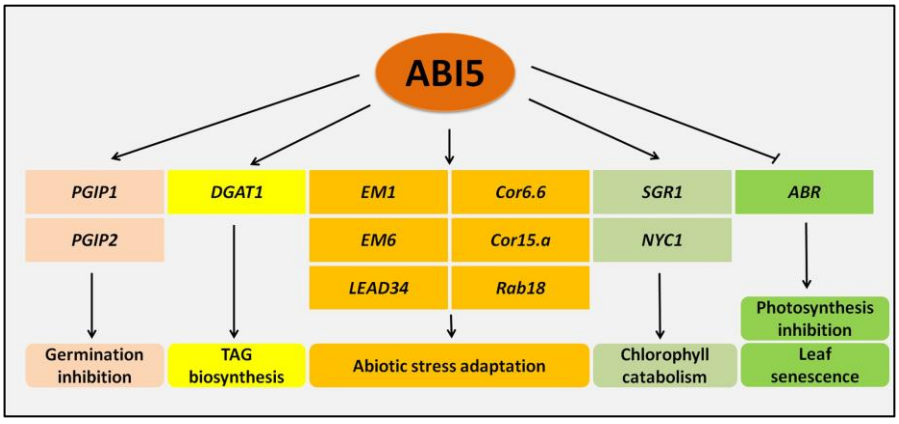


FIGURE 1 | Genes regulated by ABI5. ABI5 (ABA INSENSITIVE5) activates the expression of *PGIP* (*POLYGALACTURONASE INHIBITING PROTEIN*) genes encoding polygalacturonase inhibitors, which in turn inhibits seed germination. Another ABI5 target, *DGAT1* (*DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE 1*), participates in TAG (TRIACYLGLYCEROL) biosynthesis and ensures adaptation to stress in seedlings. A group of *LEA* (*LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANT*) genes is also positively regulated by ABI5 under abiotic stress. Additionally, ABI5 negatively influences the chlorophyll content, photosynthesis efficiency and leaf senescence via promotion of *SGR1* (*STAYGREEN1*), *NYC1* (*NON-YELLOW COLORING 1*) and repression of *ABR* (*ABA RESPONSIVE PROTEIN*).

expression of *EM1* was decreased in the vegetative tissues of an *abi5* mutant and *ABI5* overexpression in 2-week-old plants was observed to have some positive impact on the expression of the ABA-responsive genes *Cor6.6*, *Cor15a* and *Rab18* (Finkelstein and Lynch,2000;Brocard et al.,2002). In 7-day-old seedlings, ABI5 regulates the expression of *DGAT1* (*DIACYLGLYCEROL ACYLTRANSFERASE 1*) in the presence of salt and osmotic stress in an ABA-dependent way. *DGAT1* encodes a key enzyme in TAG (TRIACYLGLYCEROL) biosynthesis, which is accumulated in stressed plants (Kong et al.,2013). The involvement of ABI5 in the regulation photosynthesis is another example of its function in vegetative tissues. The genes that are responsible for chlorophyll catabolism, *SGR1* (*STAYGREEN1*) and *NYC1* (*NON- YELLOW COLORING 1*), contain an ABRE element in their promoters and are positively regulated by ABI5 together with another transcription factor, EEL (ENHANCED EM LEVEL) (Sakuraba et al.,2014) (**Figure 1**). These results indicate that ABI5 acts as a negative regulator of photosynthesis through the activation of chlorophyll degradation.

Lateral roots development is also regulated by ABI5. Similar to ABI4, ABI5 has an influence on the lateral root length. An *abi5* mutant showed a weakened response to ABA- and nitrate-mediated lateral root growth inhibition (Signora et al.,2001). Additionally, ABA induces *ABI5* expression in the lateral root tips. These results indicate that ABI5 acts as a negative regulator of lateral root development in the presence of stress (Brocard et al.,2002;De Smet et al.,2003;Shkolnik-Inbar and Bar-Zvi, 2010).

ABI5 and ABI4 not only act together during lateral root formation. The ABI5-regulated gene, *DGAT1* encoding the TAG (TRIACYLGLYCEROL) biosynthesis enzyme is also activated by ABI4 (Kong et al.,2013). Furthermore, many genes encoding LEA, dehydrins and oleosins were shown to be regulated by both ABI4 and ABI5. Additionally, ABA pathway-related transcription factors and regulators were identified in the group of genes/proteins that are commonly regulated by ABI4 and ABI5. Among them, negative ABA regulators such as AHG1 (ABA-HYPERSENSITIVE GERMINATION 1) were also detected. Thus, both ABI transcription factors are simultaneously a part of a positive and negative feedback loop in the ABA-signaling. Furthermore, ABI5-specific targets seem to demand other co-regulators compared to ABI4-regulated genes (Reeves et al.,2011).

THE ROLE OF ABI5 IN SENESCENCE PROCESS

Recently, ABI5 was shown to take a part in a dark-induced leaf senescence process. It negatively and directly regulates *ABR* (*ABA RESPONSIVE PROTEIN*) expression in the darkness. *ABR*, a gene encoding a LEA protein, is a stress responsive gene that is associated with leaf rescue from the senescence process. The probable mechanism was shown to be related to the photosynthesis proteins. Thus, ABI5 plays a positive role in leaf senescence through its negative impact on the photosynthesis process (Su et al.,2016) (**Figure 1**).

ABI5 IS REGULATED BY MULTIPLE TRANSCRIPTION FACTORS AND OTHER PROTEIN REGULATORS

Regulation of the *ABI5* expression is complex and is mediated through many regulators. *ABI5* expression is under the control of multiple transcription factors and proteins that belong to other functional groups (**Figure 2**).

Positive Regulators of ABI5

ABI3 and ABI4 transcription factors are positive regulators of the expression of *ABI5* in the ABA-dependent pathway during both seed germination and early seedling development (Finkelstein and Lynch,2000;Söderman et al.,2000;Lopez-Molina et al., 2002;Bossi et al.,2009). Furthermore, ABI5 activates its own expression by binding to the *ABI5* promoter (Brocard et al., 2002) (**Figure 2A**). However, in the presence of abiotic stress the negative feedback loop in ABA signaling ensures the balance in

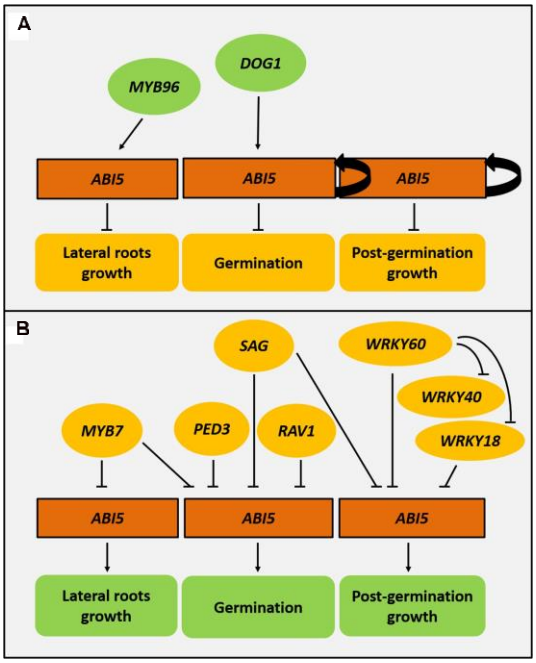


FIGURE 2 | Regulatory genes that control *ABI5* expression. *ABI5 (ABA INSENSITIVE5)* is positively regulated by the ABI5 protein thus ensuring a positive feedback loop in ABA signaling. *DOG1* (DELAY OF GERMINATION 1) and *MYB96* also exert a positive effect on ABI5 expression during germination and lateral root formation, respectively. A higher activity of *ABI5* leads to the inhibition of germination, post-germination growth and lateral root formation (A). A group of regulators such as *PED3* (PEROXISOME DEFECTIVE 3), *SAG* (SENSITIVITY TO ABA DURING GERMINATION), *RAV1* (RELATED TO ABI3/VP1), and *MYB7* downregulate *ABI5* expression during seed germination. MYB7 also negatively regulates lateral root formation. *WRKY18* (WRKY DNA-BINDING PROTEIN18), *WRKY40*, *WRKY60* and SAG repress *ABI5* and enable post-germination growth (B).

ABI5 mediated responses. Some ABA-dependent components, e.g., PYL8 act contrary to general ABA action (Zhao et al., 2014). Stress-activated transcription factors, like MYB7, can inhibit ABI5 expression (Kim et al.,2015). Additionally, ABI5 itself induces expression of *AHT1* (ABA-HYPERSENSITIVE BTB/POZ PROTEIN 1), its negative regulator (Kim et al.,2016). DOG1 (DELAY OF GERMINATION 1) also positively promotes *ABI5* activity. It encodes an unknown protein that is associated with seed dormancy and the repression of the germination-associated genes. It was also shown that DOG1 is another regulator of *ABI5* expression. Possibly, DOG1 acts as a positive regulator of *ABI5* and as a result, activates many *LEA* and *HSP* (*HEAT SHOCK PROTEIN*) genes. Additionally, DOG1 may function together with ABI3 in the regulation of seed maturation (Dekkers et al.,2016) (**Figure 2A**).

MYBs are another large group of transcription factors that are associated with abiotic stress responses (Reyes and Chua,2007; Dubos et al.,2010). MYB96 is a negative regulator of lateral root formation and participates part in the plant response to drought and salt stress. Since the expression of *ABI5* is activated by MYB96, it supports the role of ABI5 in the ABA-dependent inhibition of lateral root growth (Seo et al.,2009) (**Figure 2A**).

Negative Regulators of ABI5

Interestingly, the other MYB transcription factor from the R2R3 subgroup, MYB7, also participates in the ABA-mediated regulation of salt and osmotic stress via *ABI5*. MYB7 represses *ABI5* expression during seed germination. Additionally, MYB7 positively influences the content of anthocyanins, which are crucial pigments in the abiotic stress response. In the presence of salt, the *myb7* mutant produces shorter lateral roots. Thus, MYB7 is a positive regulator of lateral root growth under salt stress (Kim et al.,2015) (**Figure 2B**). These studies clearly suggest that the regulation of *ABI5* through MYB96 and MYB7 transcription factors may be essential for ABA-mediated regulation in the context of lateral root development under stress.

In the presence of ABA, SnRK2.2, SnRK2.3 and SnRK2.6 interact and phosphorylate RAV1 (RELATED TO ABI3/VP1), that is a common repressor of ABI3, ABI4, and ABI5. RAV1 activity decreases as the *ABI5* represses the expression of *EM1* and *EM6* encoding LEA proteins (Feng et al.,2014) (**Figure 2B**). Another example is the SAG (SENSITIVITY TO ABA DURING GERMINATION) with a MDN1 (MIDASIN HOMOLOGUE 1) domain. SAG, a negative regulator of ABA signaling, inhibits the expression of *ABI5* and *ABI3* during seed germination and seedling development (Chen et al.,2014) (**Figure 2B**). WRKYs, transcription factors that belong to a large family in plants, also influence the expression of *ABI* loci. They contain the WRKY motif in the N-terminal end and bind to W-box that is present in the regulated promoters. WRKYs are well known to be both positive and negative regulators of the stress response (Chen et al.,2010;Chen L. et al.,2012;Ding et al.,2015). Initially, WRKY40 was described as a negative regulator of ABA signaling through its negative impact on *ABI5* (Shang et al.,2010). Then, WRKY18 and WRKY60 were detected as *ABI5* regulators. WRKY18, WRKY40 and WRKY60 interact with the W-boxes motifs within the promoter regions of *ABI5* and in *ABI4*, and thus repress their expression. The mechanism of this regulation is complex and is restricted to post-germination growth. In the case of *ABI5* regulation, WRKY60 inhibits the binding of WRKY18 and WRKY40 to the *ABI5* promoter, while it simultaneously acts as an *ABI5* repressor. The authors suggest that *ABI5* may be the main target of WRKY action in ABA signaling (Liu et al.,2012) (**Figure 2B**).

AHT1 (ABA-HYPERSENSITIVE BTB/POZ PROTEIN 1), which is a potential substrate receptor of the CRL3 (CULLIN-RING E3 LIGASE3) complex, down-regulates *ABI5*. Interestingly, ABI5 induces *AHT1* in an ABA-dependent manner. Thus ABI5 is a part of the negative feedback regulation of ABA signaling. It can be assumed that this kind of regulation ensures a balanced response of germinating seeds to salt or osmotic stress (Kim et al.,2016).

The regulation of transcript level can be also performed by small RNAs. Interestingly, regulation of *ABI5* expression can be also performed at the post-transcriptional level via miRNA action. In strawberry (*Fragaria* x *ananassa* Duchesne), *FaABI5* is target for Fan-miR73 under control conditions. However, abiotic stresses (salinity, UV-B radiation) downregulate activity of *Fan-miR73* what in turn promotes *FaABI5* and ABA-dependent response. Similar regulation was observed during fruit ripening (Li et al.,2016).

EPIGENETIC REGULATION OF THE *ABI5* GENE

ABI5 also undergoes epigenetic regulation. Together with *ABI3*, *ABI5* is under the control of PKL (PICKLE), a SWI/SNF class chromatin-remodeling factor. PKL negatively regulates the expression of *ABI5* and *ABI3* because of the increase in the histone methylation (H3K9 and H3K27) of their promoters and chromatin repression in an ABA-dependent manner. PKL releases the germinating embryos from this inhibition and enables seedling growth under unfavorable conditions (Perruc et al.,2007). Another example of *ABI5* epigenetic regulation is the ABA-activated action of HLS1 (HOOKLESS 1), a putative histone acetyltransferase. HLS1 directly interacts with the *ABI5* sequence, mediates H3 acetylation and positively regulates *ABI5* expression. Furthermore, HLS1 acts cooperatively with MED18 (MEDIATOR 18), a subunit of MEDIATOR complex, to increase *ABI5* expression. HLS1 and MED18 interact physically and probably are the part of the same complex. Using transgenic *Arabidopsis* plants it was proved that HLS1 and MED18 are engaged in ABA signaling and are tightly related to ABI5 action (Liao et al., 2016).

An increased activity of TE (Transposable Elements) was observed under unfavorable environmental conditions (McCue et al.,2012;Le et al.,2014;Makarevitch et al.,2015). Recently, the mechanism of the modulation of *ABI5* expression via TE has been described. Heat stress-activated retrotransposon, ONESEN,

was integrated into *ABI5* and disrupted its expression, possibly through the incorrect progress of the transcription (Ito et al., 2016). Moreover, the ABA insensitivity, which was mediated through the insertion of ONESEN in the *ABI5* gene, was heritable. On the other hand, an ABA insensitive phenotype can be recovered by the IBM2 (INCREASE IN BONSAI METHYLATION 2) mediated epigenetic regulation of ONESEN. It is possible that ONESEN has an influence on ABA-related genes thus ensuring not only a short-term response to abiotic stress, but also an evolutionary plant adaptation to adverse environmental conditions (Ito et al.,2016).

ABI5 REGULATION AT THE PROTEIN LEVEL

ABI5 activity is regulated at the protein level via protein interaction and posttranslational modification (reviewed in Daszkowska-Golec,2016; **Table 1**).

Turning on ABI5 into Action

ABA-related phosphorylation that is mediated by SnRK2 kinases is required for ABI5 stability and activation as a transcription factor (Nakashima et al.,2009). Phosphorylation of ABI5 occurs in three conserved domains that are localized in the N-terminal end of the protein (Lopez-Molina et al.,2002). Three amino acids, Ser-42, Ser-145, and Thr-201, are considered to be the targets for the SnRK2-mediated phosphorylation of ABI5 (Wang Y. et al., 2013).

The stability of the ABI5 protein is regulated through its interaction with other proteins. ABI3 is well known as an interaction partner and enhancer of ABI5 activity at the protein level (Nakamura et al.,2001). It was shown that in the vegetative tissues, ABI5 was able to induce *EM1* and *EM6* expression only when accompanied by the activation domain from VP16 (VIRION PROTEIN 16) protein. These reports suggest that ABI5 acts in concert with another regulator in seedlings, such as ABI3 (Bensmihen et al.,2004). ABI5 is not only self-regulated during transcription. As a bZIP transcription factor, ABI5 is able to create homo- or heterodimers. The ABA-dependent autoregulation of ABI5 was observed at the protein level through the possibility of creating homodimers (Nakamura et al., 2001;Lynch et al.,2012). ABI5 and AREB/ABF transcription factors are considered to have a redundant function and similar binding properties. ABI5 was shown to interact with ABF3 (ABA RESPONSIVE ELEMENTS-BINDING FACTOR 3) and ABF1 (ABA RESPONSIVE ELEMENTS-BINDING FACTOR 1). Heterodimers composed of ABI5 and other AREB/ABFs regulate the expression of stress-responsive genes. Additionally, there is a negative reciprocal regulation between *ABI5* and *ABF3* (Kim et al.,2002;Finkelstein et al.,2005). ABI5 also interacts with other regulators of the ABA pathway such as SnRK2.2, SnRK2.3, AHG1 (ABA-HYPERSENSITIVE GERMINATION 1) and AHG3. This indicates that the core ABA-signaling components regulate the early stages of plant development through the phosphorylation and dephosphorylation of ABI5 (Lynch et al.,2012) (**Table 1**). Additionally, other kinases and phosphatases that regulate the ABI5 phosphorylation status were also identified. Ca^{2+} signaling-related kinases – CPK11 (CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASE 11) (Lynch et al.,2012) and PKS5, a member of CIPK/PKSs (CALCINEURIN B-LIKE PROTEIN-INTERACTING PROTEIN KINASEs/PROTEIN KINASEs SOS2-LIKE) (Zhou et al.,2015), mediate ABI5 phosphorylation (**Table 1**). ABI5 dephosphorylation events may be dependent on PP2A (PROTEIN PHOSPHATASE 2A) (Hu et al.,2014) and two catalytic subunits of PP6 (PROTEIN PHOSPHATASE 6), FyPP1 and FyPP3 (Dai et al.,2013) (**Table 1**). However, the interaction between ABI5 and TAP46 protects active and stable ABI5 from the removal of its phosphate groups by PP2A (PROTEIN PHOSPHATASE 2A). It was shown that TAP46 also binds to PP2A, which can prevent the formation of an ABI5-PP2A complex (Hu et al.,2014).

Turning Off ABI5 via Degradation Processes

ABI5 is dephosphorylated when there is no abiotic stress. ABI5 that has no phosphorylation groups is neither active nor stable and undergoes degradation that is mediated by the 26S proteasome pathway (Lopez-Molina et al.,2001). Ubiquitination and 26S proteasome-mediated protein degradation are processes that are directed by three enzymes – ubiquitin protein ligase (E3), ubiquitin-conjugating (E2) and ubiquitin activating

TABLE 1 | Posttranslational modifications of ABI5.

Posttranslational modification	Regulators	Result of posttranslational modification	Reference
Phosphorylation	SnRK2s CPK11 PKS5	Activation of ABI5 action	Nakashima et al., 2009; Lynch et al., 2012; Zhou et al., 2015
Dephosporylation	AHG1, AHG3 PP2A FyPP1, FyPP3	Deactivation of ABI5 action	Lynch et al., 2012; Hu et al., 2014; Dai et al., 2013
Ubiquitination	KEG DWA1, DWA2 (CUL4-based patway)	ABI5 proteasomal degradation	Stone et al., 2006; Lee et al., 2010
Sumoylation	SIZ1	Deactivation via ABI5 location in nuclear bodies	Miura et al., 2009
S-nitrosylation		ABI5 degradation mediated by KEG and CUL4 ligases	Albertos et al., 2015

E1) enzymes. RING E3 ligase, KEG (KEEP ON GOING), interacts with ABI5 and controls its accumulation (Stone et al.,2006) (**Table 1**). ABA counteracts KEG activity and leads to KEG autoubiquitination (Liu and Stone,2010). The phosphorylation status of ABI5 probably does not influence the interaction between ABI5 and KEG in the absence of ABA (Liu and Stone,2014). The AFP (ABI FIVE BINDING PROTEIN) family also participates in the control of ABI5 accumulation. Although AFP1 and AFP2 mediate the proteasomal degradation of ABI5, their activity is strictly associated with a precise developmental stage (Garcia et al., 2008). Additionally, ABI5 ubiquitination and degradation can be mediated by CUL4-based (CULLIN 4) E3 ligases. Two proteins, DWA1 (DWD HYPERSENSITIVE TO ABA 1) and DWA2, are involved in this regulation through the binding and marking of ABI5 for degradation (Lee et al.,2010) (**Table 1**).

The abundance ABI5 is not only controlled by ubiquitination. Sumoylation is the process of the attachment of the SUMO (SMALL UBIQUITIN-RELATED MODIFIER) group to a protein substrate and is regulated by an E1-activating enzyme, E2-conjugating enzyme and E3 ligase (Geiss-Friedlander and Melchior,2007). SIZ1, a SUMO E3 ligase, negatively regulates ABI5 activity by targeting its lysine K391. However, ABI5 sumoylation prevents its degradation through the ABI5 location in alternative nuclear bodies. This ensures a pool of inactive ABI5 that is not susceptible to degradation (Miura et al.,2009) (**Table 1**). CRWN1 (CROWDED NUCLEI 1) and CRWN3 proteins were also identified as negative regulators of ABI5 accumulation during seed germination. CRWN3 co-localizes with ABI5 in the nuclear bodies, where it probably mediates its degradation (Zhao et al., 2015).

Recently, ABI5 was shown to be *S*-nitrosylated at cysteine 153. This type of modification leads to the degradation of ABI5 mediated by the CUL4 (CULLIN4) and KEG (KEEP ON GOING) E3 ligases and finally ensures seed germination (Albertos et al., 2015) (**Table 1**). It should also be stressed that NO also acts as a negative regulator of ABA signaling during stomatal closure (Wang et al.,2015).

To summarize, ABI5 activity and stability is regulated by multiple posttranslational modifications through the actions of many regulators and enzymes.

ABI5 AS THE INTEGRATOR OF ABA AND OTHER PHYTOHORMONE SIGNALING DURING ABIOTIC STRESS

Although ABA is considered to be the main stress plant hormone, other phytohormones such as auxin, cytokinins (CKs), gibberellic acid (GA), brassinosteroids (BRs) and jasmonic acid (JA) also regulate plant adaptation to an adverse environment. Many of the components that are responsible for the biosynthesis and signaling of auxin, CKs, GA, BRs, and JA were identified as taking part in the plant response to drought and salt stress. The precise action of the regulators that belong to different phytohormone pathways ensures a balanced reaction of a plant to abiotic stress. The auxin, CKs, GA, BRs and JA regulation of drought and salt stress includes crosstalk with ABA. Many ABA-related genes are under the control of other phytohormones. This usually requires an interaction with the ABA signaling components. Among the many ABA-related regulators, ABI5, which integrates various phytohormone pathways and thus enables appropriate plant stress response, appears to be one of the most important (**Table 2**).

TABLE 2 | ABI5 function in crosstalk with other phytohormones.

Phytohormone pathway	Regulator	Function	Type of interaction with the *ABI5* gene or ABI5 protein	Reference
Auxin	PIN1	Auxin transporter	ABI5 negatively regulates PIN1 accumulation in roots	Yuan et al.,2014
Cytokinin	ARR4, ARR5, ARR6		Down-regulation of *ABI5* expression	Wang et al.,2011
	AHK4, AHP2, AHP3, AHP5, ARR12		Proteasomal degradation of ABI5 protein	Guan et al.,2014
Gibberellic Acid	RGL2	DELLA protein	Reciprocal positive regulation of *ABI5* and *RGL2* expression	Piskurewicz et al.,2008; Yuan et al.,2011
			ABI5 and RGL2 together regulate the expression of *MFT* and *GASA6*	Xi et al.,2010; Zhong et al.,2015
	RGA	DELLA protein	ABI5 and RGA together regulate the expression of *MFT* and *SOM*	Xi et al.,2010; Lim et al.,2013
Jasmonic Acid	MED25	Subunit of MEDIATOR complex	MED25 enhances MYC2 activity and competes with ABI5 to bind ABA-responsive gene promoters. Additionally, MED25 promotes ABI5 degradation.	Chen R. et al.,2012
	WRKY57	Transcription factor	WKRY57 negatively regulates JA signaling and interacts with the *ABI5* promoter	Jiang et al.,2014; Su et al.,2016
Brassinosteroids	BIN2	Kinase	BIN2 phosphorylates ABI5	Hu and Yu,2014;
	BZR1	Transcription factor	BZR1 negatively regulates the expression of ABI5	Yang et al.,2016

Role of ABI5 and ABA Signaling in Auxin Pathway Regulation

Auxin positively regulates plant growth and development via the control of cell division, elongation and differentiation. The role of auxin in abiotic stress adaptation is evident, although the precise mechanism of its action still remains unknown. It was shown that a water deficit negatively influences the auxin content (Du et al., 2013;Bao et al.,2014). The biosynthesis of auxin depends on *TAA1* (*L-TRYPTOPHAN PYRUVATE AMINOTRANSFERASE 1*) and the *YUC* (*YUCCA*) gene family (Won et al.,2011). Expression of genes from the *YUC* family is negatively regulated by drought (Du et al.,2013). However, a higher amount of endogenous auxin ensures a better tolerance to water deprivation (Shi et al.,2014).

The existence of an interaction between auxin and the ABA pathways is evident. Many processes that are significant for the regulation of abiotic stress responses such as stomata closure (Tanaka et al.,2006) and lateral root formation (Shkolnik-Inbar and Bar-Zvi,2010;Zhao et al.,2014) are under the control of ABA and auxin The link between ABI5 and auxins was established when *PIN1* (*PIN-FORMED 1*) action wasstudied.

PIN1, a gene encoding the auxin transporter, showed a decreased expression when osmotic stress was applied (Rowe et al.,2016). Salt stress disturbed the expression of the *PIN* genes and stabilized AXR3/IAA17, which in turn reduced the size of the root meristem because of the lower auxin level (Liu et al.,2015).Yuan et al.(2014)showed that ABI5 participated in the reduction of the root meristem size through a negative impact on the PIN1 content. A glucose-dependent restriction of the root apical meristem was related to a low auxin level and ABI5-mediated regulation. An enhanced expression of *ABI5* resulted in a reduced accumulation of the PIN1 protein, which in turn decreased the number and lengths of root apical meristem cells (Yuan et al.,2014) (**Table 2**). Therefore, ABI5 can be considered to be part of the interaction between auxin and ABA.

Negative Regulation of ABI5 and ABA Signaling by Cytokinins

Cytokinins belong to another group of plant hormones that regulate the growth and development of plants, mainly through the induction of cell divisions. CK balance is ensured by IPTs (ISOPENTENYLTRANSFERASEs) and CKXs (CK DEHYDROGENASEs), which are the enzymes that are responsible for the biosynthesis and catabolism of CKs, respectively. CKs generally have a negative impact on the adaptation to abiotic stresses. Application of drought or salt stress reduces the amount of CK in plants (reviewed byHa et al.,2012;Zwack and Rashotte,2015). ABA and CKs generally act in an opposite manner under stress conditions (Zwack and Rashotte,2015). ABA negatively regulates the CK biosynthesis genes such as *IPT3* (*ISOPENTENYLTRANSFERASE3*) and *IPT8* and ensures a low CK level under stress conditions (Wang et al.,2011). Interestingly, a CK biosynthesis mutant, *ipt1/ipt3/ipt5/ipt7*, had a decreased endogenous ABA level and showed an increased ABA sensitivity at the same time (Nishiyama et al.,2011). Possibly, there is a strong link between the ABA and CK pathways, whose disruption causes changes in the phytohormonal balance and other types of plant reactions under stress.

ARRs (ARABIDOPSIS RESPONSE REGULATORs) participate in the interaction between ABA and cytokinin under stress where the ABI5 function was highlighted. A triple mutant in the genes encoding the B-type of ARRs, *arr1/arr10/arr12* showed an ABA-hypersensitive reaction. Additionally, it was described as drought tolerant, because of the smaller stomatal aperture, a higher anthocyanin biosynthesis and better cell membrane integrity (Nguyen et al.,2016). The A-type negative regulators, ARR4, ARR5 and ARR6, were shown to down-regulate *ABI5* expression during seed germination. Furthermore, they have the ability to bind ABI5 at the protein level. This indicates that CKs exert a negative effect on ABI5 and ABA signaling integrally. On the other hand, ABA inhibits the expression of *ARR4*, *ARR5* and *ARR6*. Thus, ABI5 activity is regulated by ABA and CK through ARR4, ARR5 and ARR6 at the same time (Wang et al.,2011) (**Table 2**). CKs also influence ABI5 function during seedling development. However, it includes another part of CK signaling and acts at a different regulatory level compared to seed germination. CKs counteract the arrest of ABA seedling growth via the negative regulation of ABI5 at the protein level. It was shown that the action of the CK signaling components, AHK4, AHP2, AHP3, AHP5 and the B-type regulator, ARR12, promote ABI5 26S proteasomal degradation and stimulate the greening of cotyledons. In this way, CKs enable seedling growth under unfavorable conditions (Guan et al.,2014) (**Table 2**). Therefore, ABI5 is an important component of ABA and CK crosstalk during seed germination and seedling development.

ABI5 Interactions With Negative GA Regulators during Seed Germination under Abiotic Stress

Gibberellic acid (GA) positively regulates the growth and development of plants primarily during seed germination and the conversion between the vegetative and generative stages. Biosynthesis of GA is dependent on GA3ox (GA 3-OXIDASE) and GA20ox (Hisamatsu et al.,2005; reviewed byColebrook et al., 2014) activity, while GA catabolism is mediated by GA2ox (Rieu et al.,2008). The GA level is modulated by abiotic stress. In maize (*Zea mays*), the GA content was reduced in its response to drought (Wang et al.,2008). In *Arabidopsis*, *GA2ox6* and *GA2ox7* expression was up-regulated by osmotic and salt stress, respectively (Magome et al.,2008;Dubois et al.,2013). The GA signal is perceived by the GID1 (GA INSENSITIVE DWARF 1) receptor, which in turn deactivates the DELLA proteins, which are negative regulators of GA signaling (Griffiths et al.,2006). The regulation of GA signaling under abiotic stress through the action of DELLAs has been described in detail (Achard et al., 2008;Claeys et al.,2012).

ABA acts opposite to GA during abiotic stress conditions and DELLAs play a crucial role in this interaction. DELLA

proteins are activated when the GA level in cells is low (Tyler et al.,2004;Sun,2011). They generally exert a positive influence on ABA signaling. The RGL2 (RGA-LIKE 2) protein with a DELLA domain positively influences ABA biosynthesis, probably through a XERICO protein, which in turn stimulates *ABI5* expression during seed germination under conditions of a low GA content. Thus, ABI5 activity can be observed in the presence of a high ABA:GA ratio (Piskurewicz et al.,2008) (**Table 2**). Similar to *ABI5*, *RGL2* is also up-regulated by salt in seeds. Furthermore, RGL2 and ABI5 exert a positive effect on each other at the level of gene expression and together regulate seed germination and early seedling growth in the presence of salt (Yuan et al.,2011) (**Table 2**). Recently, the role of NF- YC (NUCLEAR FACTORY C) proteins was shown in RGL2- dependent *ABI5* expression activation. NF-YC3, NF-YC4 and NF-YC9 are able to form complex with RGL2 and bind to CCAAT elements present in *ABI5* promoter. As the result, the transcription of *ABI5* is promoted and seed germination is inhibited (Liu et al.,2016). ABI5 and DELLA proteins also regulate a set of the same target genes. *MFT* (*MOTHER OF FT AND TFL 1*) encoding a phosphatidylethanolamine-binding protein is expressed in the radical-hypocotyl transition zone and releases seed germination from an inhibitory ABA effect. The activity of *MFT* is up-regulated during seed germination by ABI5, RGL2 and another DELLA protein, RGA (REPRESSOR OF GA). Additionally, MFT down-regulates the expression of *ABI5*, thus providing the negative feedback loop in ABA signaling if the ABA content is too high during seed germination. *MFT* regulation by the ABI5 and DELLA proteins is part of the mechanism that ensures an appropriate seed germination potential according to the environmental conditions (Xi et al., 2010) (**Table 2**).

Another common ABI5 and RGA target gene, *SOM* (*SOMNUS*), regulates germination under heat stress. *SOM* expression is activated by ABA and inactivated by GA with the participation of ABI5 and RGA. They bind each other at specific motifs within the promoter region of *SOM* and activate its expression in the presence of a high temperature. The action of another DELLA protein, GAI (GA INSENSITIVE), is also possible in the regulation of *SOM* expression. The activity of SOM, a zinc finger protein, represses seed germination through the simultaneous promotion of ABA biosynthesis and the inhibition of GA biosynthesis. In this way, SOM can create a positive feedback loop with *ABI5* and *RGA* (Lim et al., 2013) (**Table 2**). ABI5 and the DELLA protein, RGL2, also regulate seed germination via the ABA-dependent inhibition of *GASA6* (*GIBBERELLIC ACID-STIMULATED ARABIDOPSIS 6*) expression. GASA6 acts as a positive regulator of seed germination under abiotic stress. Under a high GA level, GASA6 activates *EXPA1* (*EXPANSIN A1*) encoding cell wall loosening expansin, which in turn stimulates the elongation of the embryonic axis and seed germination. Regulation of *GASA6* indicates a direct link between ABI5, RGL2 and the inhibition of seed germination (Zhong et al.,2015) (**Table 2**). Thus, ABI5 plays the role of GA-signaling modulator, which leads to the repression of seed germination under unfavorable conditions.

Modulation of ABI5 and JA Signaling by Common Protein Regulators

Jasmonic acid plays a role that is similar to ABA during abiotic stress and ensures plant adaptation to limited water conditions (Riemann et al.,2015). JA positively regulates stress-adaptive processes such as stomatal closure and the activity of antioxidant enzymes (reviewed bySuhita et al., 2003;Qiu et al.,2014). JA signaling is mediated through JAZ (JASMONATE-ZIM-DOMAIN PROTEIN) repressors and MYC (MYELOCYTOMATOSIS) transcription factors. In the presence of JA, MYCs are released from the JAZ-MYC complexes and activate the expression of JA-responsive genes (Chini et al., 2007;Dombrecht et al.,2007). ABA and JA signaling show a strong link. During stomata closure, the increase of ROS and NO content is the result of the ABA and JA action (Munemasa et al.,2007). It was recently shown that the ABA receptor, PYR6, interacts with MYC2. This suggests a close interaction between the ABA and JA pathways (Aleman et al.,2016). ABI5 also seems to participate in the ABA-JA crosstalk. The activity of ABI5 and MYC2 is modulated at the protein level via the same subunit of the MEDIATOR complex – MED25. The expression of ABA-related genes such as *EM1*, *EM2* and *RAB18* and JA-responsive genes including *VSP1* (*VEGETATIVE STORAGE PROTEIN 1*), *LOX2* (*LIPOXYGENASE 2*), *JAZ6*, *JAZ8* is regulated in an opposite manner by MED25. In JA signaling, MED25 acts as a positive regulator through its interaction with MYC2 in the promoter region of the JA-responsive genes. On the other hand, the presence of MED25 in the promoter regions of ABA-responsive genes represses their expression through the prevention of ABI5 binding to the ABRE elements. Additionally, MED25 enhances ABI5 protein degradation (Chen R. et al.,2012) (**Table 2**). Thus, ABI5 and the component of JA signaling, MYC2, are under control of a common regulator, MED25. JA signaling can also modify the expression of *ABI5* through WRKY57 activity. The WRKY57 transcription factor acts as a negative regulator of JA-induced leaf senescence. The activity of JAZ proteins leads to the degradation of WRKY57 (Jiang et al.,2014). Recently, it was shown that WRKY57 interacts with the *ABI5* promoter. This suggests that WRKY57 influences the *ABI5* expression (Su et al.,2016) (**Table 2**). Possibly, WRKY57 can link JA and ABA signaling via *ABI5* regulation.

ABI5 As a Target of Negative Regulators of BR Signaling

Brassinosteroids are steroid hormones that regulate a wide range of physiological processes in plant life cycle. Two last decades have witnessed a significant advance in the deciphering the molecular mechanisms underlying BR signaling from perception to regulation of transcription factors influencing expression of target genes. It has been reported that some of the components of BR signaling pathway act as multifunctional proteins involved in other signaling networks, such as the signaling cascades of other hormones, regulating diverse physiological processes (reviewed in Gruszka,2013).

ABI5 was shown to be a target of important brassinosteroid signaling components such as BIN2 (Brassinosteroid-Insensitive2) and BZR1 (Brassinazole-Resistant1). BIN2 is a kinase functioning as a major negative regulator of BR signaling through BZR1 and BES1 inactivation. The BZR1 and BES1/BZR2 (BRI1-EMS-Supressor1/Brassinazole-Resistant2) transcription factors are key elements mediating BR-regulated gene expression in *A. thaliana*. It was reported that these factors bind to promoters of numerous genes involved in signaling and synthesis pathways of GAs, ABA, ethylene, cytokinins and jasmonate, suggesting that BR signaling impacts metabolism of several other plant hormones (Sun et al.,2010;Yu et al.,2011).

It was proved that BIN2 plays important role during seed germination and also in abiotic stress response in ABA-mediated pathway (Yang et al.,2012). BIN2 phosphorylates and stabilizes ABI5 in order to mediate ABA response during seed germination. Contrary, the exogenously applied BRs repress the BIN2-ABI5 interaction and thus antagonize ABA-mediated inhibition of seed germination (Hu and Yu,2014). Interestingly, it was also shown that BIN2 can interact and phosphorylate Snf-1-related kinase 2s (SnRK2s), SnRK2.2 and SnRK2.3, positive regulators of ABA signaling that act upstream the ABI5 (Cai et al.,2014).

Yang et al.(2016)showed that *bzr1-1D*, a dominant mutant with enhanced BR signaling, was less sensitive to ABA-inhibited primary root growth. ABA INSENSITIVE5 (ABI5) was found to be repressed not only by exogenously applied BR but also by BZR1 itself. BZR1 could bind strongly with several G-box *cis*-elements in the promoter of ABI5 suppressing its expression and further resulting in insensitivity to ABA. Taking these results together it was demonstrated that ABI5 is a direct target gene of BZR1, and modulating the expression of ABI5 by BZR1 plays important roles in regulating the crosstalk between the BR and ABA signaling pathways.

FUNCTION OF ABI5 ORTHOLOGS IN DICOT AND MONOCOT PLANTS DURING ABIOTIC STRESS

Arabidopsis ABI5 orthologs have been identified in other dicot plants and their sequences are available in bioinformatic databases. However, their precise function under abiotic stresses was described only for a few species. In *Brassica oleracea*, *BolABI5* was found as a close homolog of *At*ABI5. *BolABI5* is expressed mainly in flowers. *BolABI5* overexpression in *abi5* rescued ABA insensitive phenotype during seed germination. Additionally, application of ABA, drought, salt and osmotic stress activated *BolABI5* expression and indicated its role in abiotic stress adaptation. Similar to *AtABI5*, *BolABI5* activates expression of target genes through binding to ABRE elements present in their promoters (Zhou et al.,2013). BolABI5 possesses the ability to interact with BolOST1, a homolog of SnRK2.6/OST1. Probably, BolOST1 is responsible for its phosphorylation and activation as a transcription factor (Wang M. et al.,2013). Two *AtABI5* orthologs, *BrABI5a* and *BrABI5b*, were identified in *Brassica rapa*. Both are able to reverse *abi5* phenotype in the presence of ABA during seed germination. BrABI5a and BrABI5b show a high similarity to ABI5 including conservation of phosphorylation sites. Expression of *BrABI5* genes is activated by ABA treatment; however they act differently in the presence of abiotic stresses. Only *BrABI5b* is induced by drought and salt. Probably they play a different role in the adaption to unfavorable conditions (Bai et al.,2016).

The role of *ABI5* homologs in other dicots was also reported. The expression of *SlABI5* in tomato (*Solanum lycopersicum*) increased in seeds in reponse to ABA (Sun et al.,2015). The function of *Medicaco truncatula AtABI5* homolog, *MtABI5*, was described in more detail, using an insertional *mtabi5* mutant. Similarly to *atabi5*, *mtabi5* was ABA-insensitive during seed germination. Furthermore, the level of seed dormancy was decreased in *mtabi5*. Expression analysis showed reduced expression of *LEA*s, and *SIP1* (*SEED IMBIBITION1*) encoding raffinose synthase in *mtabi5* seeds, while photosynthesis-related genes, e.g., *LHCA1* (*PHOTOSYSTEM I LIGHT HARVESTING COMPLEX GENE 1*) and *PsaD-2* (*PHOTOSYSTEM I SUBUNIT D-2*) were up-regulated. MtABI5 acts as the seed development regulator through the control of RFO (RAFFINOSE FAMILY OLIGOSACCHARYDES) and LEA synthesis. Additionally, it serves as a repressor of photosynthesis and accumulation of chlorophyll and carotenoids (Zinsmeister et al.,2016). Recently, action of *FaABI5* in strawberry (*Fragaria* x *ananassa* Duchesne) has been also described. It regulates fruit ripening and responses to such as salinity and UV-B radiation (Li et al.,2016). The above results confirm the conserved role of ABI5 orthologs in dicot species. However, further studies are needed in order to reveal their accurate function.

Nowadays, the abiotic stress tolerance of monocot plants is a very important issue. An accurate understanding of the stress-related mechanisms in monocots can help to improve cereal growth and yield in adverse environments. One of the areas of interest is the ABA-dependent regulation of the stress response in cereals, which includes the action of ABI5.

Although AtABI5 orthologs have been identified in monocot plants, their precise function still remains elusive. HvABI5 is a barley bZIP transcription factor that has high similarity to AtAREB2 and AtABI5 (Casaretto and Ho,2003). The potential phosphorylation sites of HvABI5 are strongly conserved. The role of barley *HvABI5* in abiotic stress responses is very poorly understood. It is already known that HvABI5 directly, in ABA-dependent way, activates the *HVA1* and *HVA22* expression through binding to the ABRC (ABA RESPONSE PROMOTER COMPLEX) elements within their promoters. However, HvVP1 (VIVIPAROUS1), a homolog of AtABI3, is also required for the activation *of HVA1* and *HVA22* expression. *HVA1* and *HVA22* encode, respectively, a group 3 LEA protein and a protein that is involved in vesicular trafficking. Their activity was shown to ensure tolerance to low water availability during seed germination (Casaretto and Ho,2003). Induction of *HvABI5* expression has also been detected in leaves after drought treatment in different barley varieties (de Mezer et al.,2014). In rice, OsABI5 shows a high homology to ABI5 and HvABI5 and had the ability to bind the G-box element (Zou et al.,2008). Like ABI5, OsABI5 interacts with the AtABI3 ortholog OsVP1. Overexpression of *OsABI5* in an *abi5* Arabidopsis mutant rescued

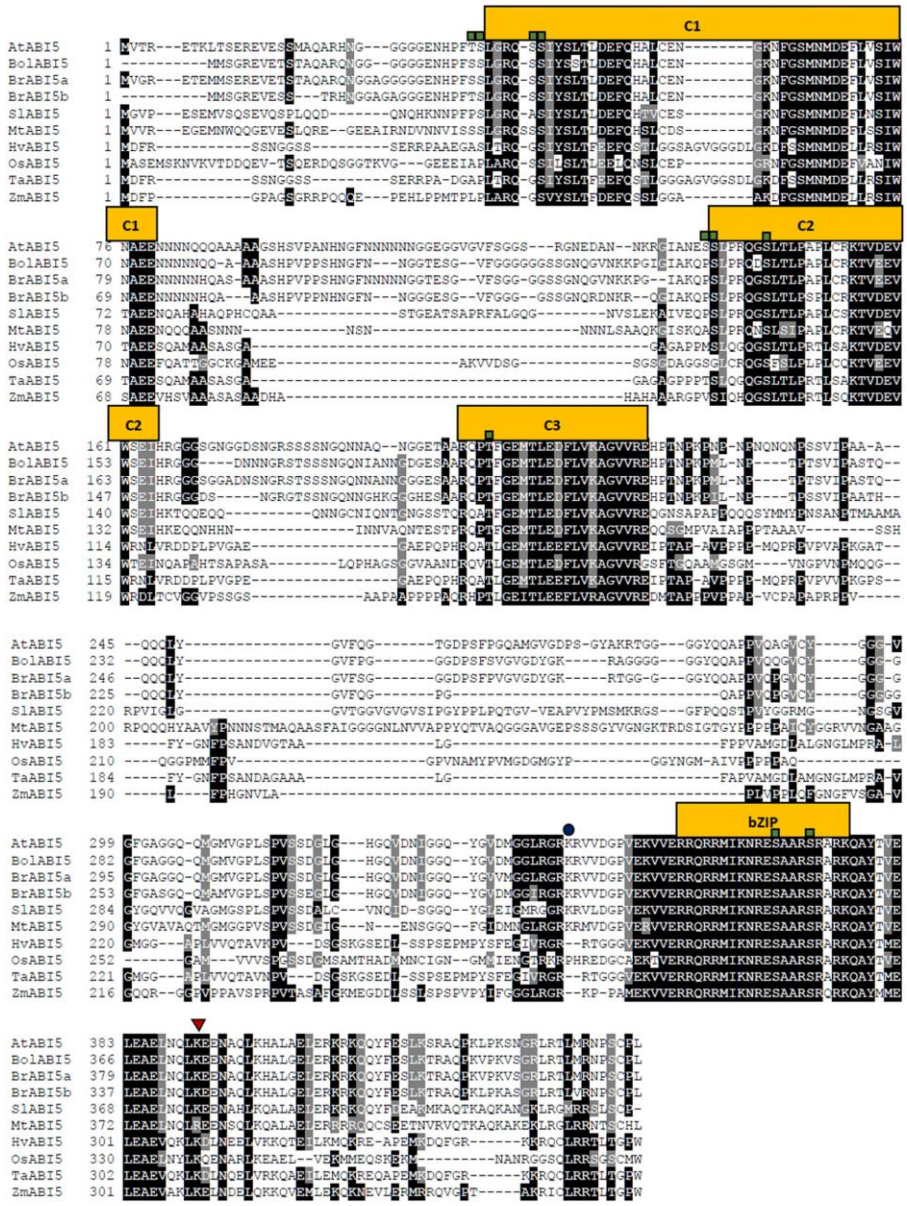


FIGURE 3 | Alignment of ABI5 proteins from 9 species including dicots and monocots orthologs. The square, triangle and circle mark phosphorylation, sumoylation and ubiquitination sites respectively. The alignment was generated using Clustal Omega (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) and Boxshade (http://www.ch.embnet.org/software/BOX_form.html) softwares. C1, C2, C3 – conserved regions, bZIP – basic leucine zipper domain.

ABA-insensitive phenotype. This could be proof that *AtABI5* and *OsABI5* share similar functions (Zou et al.,2007). *OsABI5* expression is induced by ABA and salt, but drought and cold stress represses its activity. Forty-five-day-old plants of *OsABI5*-overexpression lines showed a faster turgor loss, chlorosis and growth inhibition in the presence of salt. Conversely, *OsABI5*-antisense plants were described as being salt tolerant with a changed expression of *SalT*, a salt-responsive gene and *SKC1*, which is a QTL (Quantitative Trait Locus) encoding a sodium transporter. Possibly, *OsABI5* acts as an ABA-dependent negative

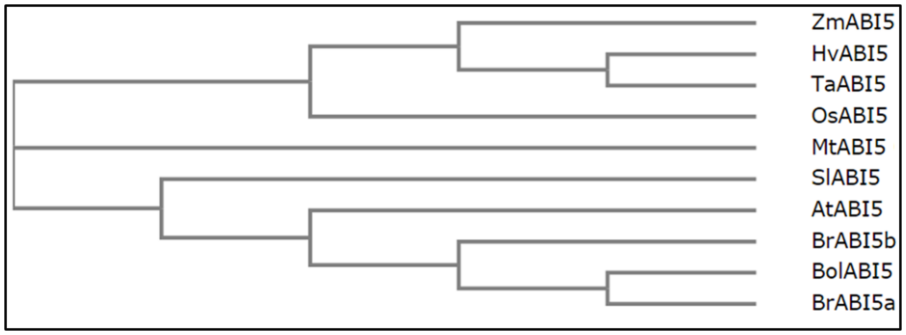


FIGURE 4 | Relationships between AtABI5 and its orthologs. Phylogenetic tree was generated using Clustal Omega software (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/).

regulator of stress tolerance in rice. Furthermore, the fertility of *OsABI5*-antisense lines was lower than in the wild type due to unsettled pollen formation. It is possible that *OsABI5* can also regulate pollen maturation (Zou et al.,2008).

In wheat, TaABI5 is closely related to HvABI5. Its expression is induced by ABA, drought and low temperature. Two-week-old seedlings of *TaABI5*-overexpression tobacco (*Nicotiana tabacum*) lines showed a better survival rate in freezing temperature (Kobayashi et al.,2008). Additionally, 7-day-old seedlings of transgenic lines were more tolerant to salt and osmotic stress and had a higher percentage of green cotyledons compared to the wild type. The opposite effect of the enhanced expression of *TaABI5* and *OsABI5* on abiotic stress tolerance may be the result of the different developmental stages of the analyzed plants. Furthermore, their function in ABA-activated signaling cannot be equivalent. The root growth of *TaABI5*-overexpresssion seedlings was ABA-hypersensitive (Kobayashi et al.,2008). Additionally, *TaABI5*-regulated stress-responsive genes, *TaDHN13*, *TaRAB18* and *TaRAB19*, were identified (Kobayashi et al.,2008).

ZmABI5 in maize shows a homology to AtABI5 and HvABI5. The expression of *ZmABI5* is activated by ABA, SA (salicylic acid) salt, cold and heat stress. On the other hand, *ZmABI5* was down-regulated by drought and wounding in the leaves. However, drought and wounding stress activated *ZmABI5* in roots, while ABA and salt treatments repressed its activity. Twenty-one- day-old seedlings of tobacco *ZmABI5*-transgenic lines showed a lower tolerance to drought, salt, heat and cold compared to the wild type. Chlorophyll content, proline accumulation and the activity of antioxidant enzymes, POD (PEROXIDASE) and SOD (SUPEROXIDE DISMUTASE) were decreased in transgenic lines under drought, salt, cold and heat stress (Yan et al.,2012). After stress application, *ZmABI5*-overexpressed plants also had a higher amount of MDA (MALONDIALDEHYDE), which is an indicator of oxidative damage. Furthermore, salt and heat caused a lower induction of stress-related genes such as *CAT1*, *APX*, *ERD10A-D* (*EARLY RESPONSE TO DEHYDRATION*) and *PR5* (*PATHOGENESIS-RELATED 5*) in plants with an overexpression of *ZmABI5* compared to the wild type, while under osmotic and cold stress, the expression of these genes was up- or down-regulated. The changed expression of stress-response genes in transgenic plants indicates the complex role of *ZmABI5* in responses to adverse conditions depending on the type of the stress that is applied. It can be assumed that *ZmABI5*, like *OsABI5*, acts as a negative regulator of the abiotic stress response (Yan et al.,2012). The results presented above indicate that monocot *AtABI5* orthologs may participate in abiotic stress responses in different ways. Possibly, their action is related to the stage of plant development. Additionally, the mechanism of action of particular orthologs may not be the same in different monocot species. Furthermore, *AtABI5* orthologs can also function in different ways depending on the type of stress.

The multiple sequence alignment presents the level of similarity between the described dicot and monocot orthologs (**Figure 3**). Across the species, the most conserved domain in AtABI5 is a bZIP domain. Conversely, C1 conserved region seems to be weakly preserved, especially in monocots. In other species, AtABI5 phosphorylation sites are mainly maintained in conserved domains. Interestingly, the site for the ubiquitination seems to be characteristic only for the dicots. Probably, another amino acid position is ubiquitinated in monocot plants. The sumoylation site is conserved across AtABI5 homologs. The analysis of ABI5 sequences in different species shows the divergence between dicot and monocot ABI5 forms what can result in its different action in grasses. The relationship between AtABI5 dicot and monocot orthologs is also included on the phylogenetic tree (**Figure 4**). AtABI5 seems not to show higher similarity to any from described dicot orthologs. The further distance between TaABI5 and OsABI5 may reflect their contrast function under abiotic stress.

CONCLUDING REMARKS

Plant abiotic stress responses require a complex and accurate regulation. This is achieved through the operation of many regulators that have a modulated activity depending on the water status in the environment. ABI5 seems to be an ABA signaling

regulator that integrates many different signals and influences the expression of stress-responsive genes. Many processes such as seed germination, seedling growth, photosynthesis and lateral root development were shown to be regulated by ABI5. The mode of the *ABI5* gene and ABI5 protein regulation is complex and requires many transcription factors, enzymes and protein regulators. *ABI5* expression is the outcome of the action of many transcription factors such as WRKY and MYB as well as epigenetic events. Additionally, multiple protein interactions and posttranslational modifications such as phosphorylation, ubiquitination, sumoylation and *S*-nitrosylation modulate ABI5 activity at the protein level. The action of ABI5 is also related to components of auxin, CK, GA, BR and JA signaling and metabolism pathways. The complicated network of ABI5 connections often results in a positive or negative ABA signaling feedback loop. Finally, the elaborate ABI5 functions ensure a balanced and adequate, respective to the intensity of stress response to adverse conditions. Further studies that are performed using monocot *ABI5* homologs and investigations of their precise actions in the presence of abiotic stress can be very helpful in obtaining cultivars that have a better stress tolerance.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

AS wrote the manuscript and prepared figures. AD-G and IS contributed to the writing of manuscript and revised it critically for important intellectual content.

FUNDING

This work was supported by the European Regional Development Fund through the Innovative Economy for Poland 2007– 2013, project WND-POIG.01.03.01-00-101/08 POLAPGEN-BD "Biotechnological tools for breeding cereals with increased resistance to drought," task 22.

REFERENCES

Acevedo-Hernández, G. J., León, P., and Herrera-Estrella, L. R. (2005). Sugar and ABA responsiveness of a minimal RBCS light-responsive unit is mediated by direct binding of ABI4. *Plant J.* 43, 506–519.doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02468.x

Achard, P., Renou, J. P., Berthomé, R., Harberd, N. P., and Genschik, P. (2008). Plant DELLAs restrain growth and promote survival of adversity by reducing the levels of reactive oxygen species. *Curr. Biol.* 18, 656–660.doi: 10.1016/j.cub.2008.04.034

Albertos, P., Romero-Puertas, M. C., Tatematsu, K., Mateos, I., Sánchez-Vicente, I., Nambara, E., et al. (2015). S-nitrosylation triggers ABI5 degradation to promote seed germination and seedling growth. *Nat. Commun.* 6, 8669.doi: 10.1038/ncomms9669

Aleman, F., Yazaki, J., Lee, M., Takahashi, Y., Kim, A. Y., Li, Z., et al. (2016). An ABA-increased interaction of the PYL6 ABA receptor with MYC2 transcription factor: a putative link of ABA and JA signaling. *Sci. Rep* 6, 28941.doi: 10.1038/srep28941

Bai, Y., Zhu, W., Hu, X., Sun, C., Li, Y., Wang, D., et al. (2016). Genome-Wide Analysis of the bZIP Gene Family Identifies Two ABI5-Like bZIP Transcription Factors, BrABI5a and BrABI5b, as Positive Modulators of ABA Signalling in Chinese Cabbage. *PLoS ONE* 11:e0158966.doi: 10.1371/journal.pone.0158966

Banerjee, A., and Roychoudhury, A. (2015). Abscisic-acid-dependent basic leucine zipper (bZIP) transcription factors in plant abiotic stress. *Protoplasma* doi: 10.1007/s00709-015-0920-4[Epub ahead of print].

Bao, Y., Aggarwal, P., Robbins, N. E., Sturrock, C. J., Thompson, M. C., Tan, H. Q., et al. (2014). Plant roots use a patterning mechanism to position lateral root branches toward available water. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 9319–9324. doi: 10.1073/pnas.1400966111

Bensmihen, S., To, A., Lambert, G., Kroj, T., Giraudat, J., and Parcy, F. (2004). Analysis of an activated ABI5 allele using a new selection method for transgenic *Arabidopsis* seeds. *FEBS Lett.* 561, 127–131.doi: 10.1016/S0014-5793(04)00148-6

Bossi, F., Cordoba, E., Dupré, P., Mendoza, M. S., Román, C. S., and León, P. (2009). The *Arabidopsis* ABA-INSENSITIVE (ABI) 4 factor acts as a central transcription activator of the expression of its own gene, and for the induction of ABI5 and SBE2.2 genes during sugar signaling. *Plant J.* 59, 359–374.doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.03877.x

Brocard, I. M., Lynch, T. J., and Finkelstein, R. R. (2002). Regulation and role of the *Arabidopsis* ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 5 gene in abscisic acid, sugar, and stress response. *Plant Physiol.* 129, 1533–1543.doi: 10.1104/pp.005793

Cai, Z., Liu, J., Wang, H., Yang, C., Chen, Y., Li, Y., et al. (2014). GSK3-like kinases positively modulate abscisic acid signaling through phosphorylating subgroup III SnRK2s in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 111, 9651–9656.doi: 10.1073/pnas.1316717111

Carles, C., Bies-Etheve, N., Aspart, L., Léon-Kloosterziel, K. M., Koornneef, M., Echeverria, M., et al. (2002). Regulation of *Arabidopsis thaliana* Em genes: role of ABI5. *Plant J.* 30, 373–383.doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01295.x

Casaretto, J., and Ho, T. H. D. (2003). The transcription factors HvABI5 and HvVP1 are required for the abscisic acid induction of gene expression in barley aleurone cells. *Plant Cell* 15, 271–284.doi: 10.1105/tpc.007096

Chen, C., Wu, C., Miao, J., Lei, Y., Zhao, D., Sun, D., et al. (2014). *Arabidopsis* SAG protein containing the MDN1 domain participates in seed germination and seedling development by negatively regulating ABI3 and ABI5. *J. Exp. Bot.* 65, 35–45.doi: 10.1093/jxb/ert343

Chen, H., Lai, Z., Shi, J., Xiao, Y., Chen, Z., and Xu, X. (2010). Roles of *Arabidopsis* WRKY18, WRKY40 and WRKY60 transcription factors in plant responses to abscisic acid and abiotic stress. *BMC Plant Biol.* 10:281.doi: 10.1186/1471-2229-10-281

Chen, L., Song, Y., Li, S., Zhang, L., Zou, C., and Yu, D. (2012). The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses. *Biochim. Biophys. Acta* 1819, 120–128.doi: 10.1016/j.bbagrm.2011.09.002

Chen, R., Jiang, H., Li, L., Zhai, Q., Qi, L., Zhou, W., et al. (2012). The *Arabidopsis* mediator subunit MED25 differentially regulates jasmonate and abscisic acid signaling through interacting with the MYC2 and ABI5 transcription factors. *Plant Cell* 24, 2898–2916.doi: 10.1105/tpc.112.098277

Chini, A., Fonseca, S., Fernandez, G., Adie, B., Chico, J. M., Lorenzo, O., et al. (2007). The JAZ family of repressors is the missing link in jasmonate signalling. *Nature* 448, 666–671.doi: 10.1038/nature06006

Claeys, H., Skirycz, A., Maleux, K., and Inzé, D. (2012). DELLA signaling mediates stress-induced cell differentiation in *Arabidopsis* leaves through modulation of anaphase-promoting complex/cyclosome activity. *Plant Physiol.* 159, 739–747. doi: 10.1104/pp.112.195032

Colebrook, E. H., Thomas, S. G., Phillips, A. L., and Hedden, P. (2014). The role of gibberellin signalling in plant responses to abiotic stress. *J. Exp. Biol.* 217, 67–75. doi: 10.1242/jeb.089938

Dai, M., Xue, Q., Mccray, T., Margavage, K., Chen, F., Lee, J. H., et al. (2013). The PP6 phosphatase regulates ABI5 phosphorylation and abscisic acid signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 25, 517–534.doi: 10.1105/tpc.112.105767

Daszkowska-Golec, A. (2011). *Arabidopsis* seed germination under abiotic stress as a concert of action of phytohormones. *OMICS* 15, 763–774.doi: 10.1089/omi.2011.0082

Daszkowska-Golec, A. (2016). "The role of abscisic acid in drought stress: how aba helps plants to cope with drought stress," in *Drought Stress Tolerance in Plants*, Vol. 2, eds M. A. Hossain, S. H. Wani, S. Bhattachajee, D. J. Burritt,

and L. S. P. Tran (Cham: Springer International Publishing), 123–151.doi: 10.1007/978-3-319-32423-4_5

Daszkowska-Golec, A., Wojnar, W., Rosikiewicz, M., Szarejko, I., Maluszynski, M., Szweykowska-Kulinska, Z., et al. (2013). *Arabidopsis* suppressor mutant of abh1 shows a new face of the already known players: ABH1 (CBP80) and ABI4 - in response to ABA and abiotic stresses during seed germination. *Plant Mol. Biol.* 81, 189–209.doi: 10.1007/s11103-012-9991-1

de Mezer, M., Turska-Taraska, A., Kaczmarek, Z., Glowacka, K., Swarcewicz, B., and Rorat, T. (2014). Differential physiological and molecular response of barley genotypes to water deficit. *Plant Physiol. Biochem.* 80, 234–248.doi: 10.1016/j.plaphy.2014.03.025

De Smet, I., Signora, L., Beeckman, T., Inzé, D., Foyer, C. H., and Zhang, H. (2003). An abscisic acid sensitive checkpoint in lateral root development of *Arabidopsis*. *Plant J.* 33, 543–555.doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01652.x

Debeaujon, I., Léon-Kloosterziel, K. M., and Koornneef, M. (2000). Influence of the testa on seed dormancy, germination, and longevity in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 122, 403–414.doi: 10.1104/pp.122.2.403

Dekkers, B. J., He, H., Hanson, J., Willems, L. A., Jamar, D. C., Cueff, G., et al. (2016). The *Arabidopsis* DELAY OF GERMINATION 1 gene affects ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 (ABI5) expression and genetically interacts with ABI3 during *Arabidopsis* seed development. *Plant J.* 85, 451–465.doi: 10.1111/tpj.13118

Ding, Z. J., Yan, J. Y., Li, C. X., Li, G. X., Wu, Y. R., and Zheng, S. J. (2015). Transcription factor WRKY46 modulates the development of *Arabidopsis* lateral roots in osmotic/salt stress conditions via regulation of ABA signaling and auxin homeostasis. *Plant J.* 84, 56–69.doi: 10.1111/tpj.12958

Dombrecht, B., Xue, G. P., Sprague, S. J., Kirkegaard, J. A., Ross, J. J., Reid, J. B., et al. (2007). MYC2 differentially modulates diverse jasmonate-dependent functions in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 19, 2225–2245.doi: 10.1105/tpc.106.048017

Du, H., Liu, H., and Xiong, L. (2013). Endogenous auxin and jasmonic acid levels are differentially modulated by abiotic stresses in rice. *Front. Plant Sci.* 4:397. doi: 10.3389/fpls.2013.00397

Dubois, M., Skirycz, A., Claeys, H., Maleux, K., Dhondt, S., De Bodt, S., et al. (2013). ETHYLENE RESPONSE FACTOR6 acts as a central regulator of leaf growth under water-limiting conditions in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 162, 319–332. doi: 10.1104/pp.113.216341

Dubos, C., Stracke, R., Grotewold, E., Weisshaar, B., Martin, C., and Lepiniec, L. (2010). MYB transcription factors in *Arabidopsis*. *Trends Plant Sci.* 15, 573–581. doi: 10.1016/j.tplants.2010.06.005

Fait, A., Angelovici, R., Less, H., Ohad, I., Urbanczyk-Wochniak, E., Fernie, A. R., et al. (2006). *Arabidopsis* seed development and germination is associated with temporally distinct metabolic switches. *Plant Physiol.* 142, 839–854.doi: 10.1104/pp.106.086694

Feng, C. Z., Chen, Y., Wang, C., Kong, Y. H., Wu, W. H., and Chen, Y. F. (2014). *Arabidopsis* RAV1 transcription factor, phosphorylated by SnRK2 kinases, regulates the expression of ABI3, ABI4, and ABI5 during seed germination and early seedling development. *Plant J.* 80, 654–668.doi: 10.1111/tpj.12670

Finch-Savage, W. E., and Leubner-Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol.* 171, 501–523.doi: 10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x

Finkelstein, R., Gampala, S. S., Lynch, T. J., Thomas, T. L., and Rock, C. D. (2005). Redundant and distinct functions of the ABA response loci ABA-INSENSITIVE (ABI) 5 and ABRE-BINDING FACTOR (ABF) 3. *Plant Mol. Biol.* 59, 253–267. doi: 10.1007/s11103-005-8767-2

Finkelstein, R. R. (1994). Mutations at two new *Arabidopsis* ABA response loci are similar to the abi3 mutations. *Plant J.* 5, 765–771.doi: 10.1046/j.1365-313X.1994.5060765.x

Finkelstein, R. R., and Lynch, T. J. (2000). The *Arabidopsis* abscisic acid response gene ABI5 encodes a basic leucine zipper transcription factor. *Plant Cell* 12, 599–609.doi: 10.1105/tpc.12.4.599

Finkelstein, R. R., and Somerville, C. R. (1990). Three classes of abscisic acid (ABA)-insensitive mutations of *Arabidopsis* define genes that control overlapping subsets of ABA responses. *Plant Physiol.* 94, 1172–1179.doi: 10.1104/pp.94.3.1172

Garcia, M. E., Lynch, T., Peeters, J., Snowden, C., and Finkelstein, R. (2008). A small plant-specific protein family of ABI five binding proteins (AFPs) regulates stress response in germinating *Arabidopsis* seeds and seedlings. *Plant Mol. Biol.* 67, 643–658.doi: 10.1007/s11103-008-9344-2

Geiss-Friedlander, R., and Melchior, F. (2007). Concepts in sumoylation: a decade on. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8, 947–956.doi: 10.1038/nrm2293

Golldack, D., Lüking, I., and Yang, O. (2011). Plant tolerance to drought and salinity: stress regulating transcription factors and their functional significance in the cellular transcriptional network. *Plant Cell Rep.* 30, 1383–1391.doi: 10.1007/s00299-011-1068-0

Griffiths, J., Murase, K., Rieu, I., Zentella, R., Zhang, Z. L., Powers, S. J., et al. (2006). Genetic characterization and functional analysis of the GID1 gibberellin receptors in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 18, 3399–3414.doi: 10.1105/tpc.106.047415

Gruszka, D. (2013). The brassinosteroid signaling pathway–new key players and interconnections with other signaling networks crucial for plant development and stress tolerance. *Int. J. Mol. Sci.* 14, 8740–8774.doi: 10.3390/ijms14058740

Guan, C., Wang, X., Feng, J., Hong, S., Liang, Y., Ren, B., et al. (2014). Cytokinin antagonizes abscisic acid-mediated inhibition of cotyledon greening by promoting the degradation of abscisic acid insensitive5 protein in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 164, 1515–1526.doi: 10.1104/pp.113.234740

Ha, S., Vankova, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., and Tran, L. S. P. (2012). Cytokinins: metabolism and function in plant adaptation to environmental stresses. *Trends Plant Sci.* 17, 172–179.doi: 10.1016/j.tplants.2011.12.005

Hisamatsu, T., King, R. W., Helliwell, C. A., and Koshioka, M. (2005). The involvement of GIBBERELLIN 20-OXIDASE genes in phytochrome-regulated petiole elongation of *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 138, 1106–1116.doi: 10.1104/pp.104.059055

Hu, R., Zhu, Y., Shen, G., and Zhang, H. (2014). TAP46 plays a positive role in the ABSCISIC ACID INSENSITIVE5-regulated gene expression in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 164, 721–734.doi: 10.1104/pp.113.233684

Hu, Y., and Yu, D. (2014). BRASSINOSTEROID INSENSITIVE2 interacts with ABSCISIC ACID INSENSITIVE5 to mediate the antagonism of brassinosteroids to abscisic acid during seed germination in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 26, 4394–4408.doi: 10.1105/tpc.114.130849

Ito, H., Kim, J. M., Matsunaga, W., Saze, H., Matsui, A., Endo, T. A., et al. (2016). A stress-activated transposon in *Arabidopsis* induces transgenerational abscisic acid insensitivity. *Sci. Rep.* 6, 23181.doi: 10.1038/srep23181

Jacobsen, J. V., Pearce, D. W., Poole, A. T., Pharis, R. P., and Mander, L. N. (2002). Abscisic acid, phaseic acid and gibberellin contents associated with dormancy and germination in barley. *Physiol. Plant.* 115, 428–441.doi: 10.1034/j.1399-3054.2002.1150313.x

Jiang, Y., Liang, G., Yang, S., and Yu, D. (2014). *Arabidopsis* WRKY57 functions as a node of convergence for jasmonic acid–and auxin-mediated signaling in jasmonic acid–induced leaf senescence. *Plant Cell* 26, 230–245.doi: 10.1105/tpc.113.117838

Jones, A. M. (2016). A new look at stress: abscisic acid patterns and dynamics at high–resolution. *New Phytol.* 210, 38–44.doi: 10.1111/nph.13552

Kanai, M., Nishimura, M., and Hayashi, M. (2010). A peroxisomal ABC transporter promotes seed germination by inducing pectin degradation under the control of ABI5. *Plant J.* 62, 936–947.doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04205.x

Kim, H., Kim, S. H., Seo, D. H., Chung, S., Kim, S. W., Lee, J. S., et al. (2016). ABA-HYPERSENSITIVE BTB/POZ PROTEIN 1 functions as a negative regulator in ABA-mediated inhibition of germination in *Arabidopsis*. *Plant Mol. Biol.* 90, 303–315.doi: 10.1007/s11103-015-0418-7

Kim, J. H., Hyun, W. Y., Nguyen, H. N., Jeong, C. Y., Xiong, L., Hong, S. W., et al. (2015). AtMyb7, a subgroup 4 R2R3 Myb, negatively regulates ABA-induced inhibition of seed germination by blocking the expression of the bZIP transcription factor ABI5. *Plant Cell Environ.* 38, 559–571.doi: 10.1111/pce.12415

Kim, S. Y. (2006). The role of ABF family bZIP class transcription factors in stress response. *Physiol. Plant.* 126, 519–527.

Kim, S. Y., Ma, J., Perret, P., Li, Z., and Thomas, T. L. (2002). *Arabidopsis* ABI5 subfamily members have distinct DNA-binding and transcriptional activities. *Plant Physiol.* 130, 688–697.doi: 10.1104/pp.003566

Kobayashi, F., Maeta, E., Terashima, A., and Takumi, S. (2008). Positive role of a wheat HvABI5 ortholog in abiotic stress response of seedlings. *Physiol. Plant.* 134, 74–86.doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01107.x

Kong, Y., Chen, S., Yang, Y., and An, C. (2013). ABA-insensitive (ABI) 4 and ABI5 synergistically regulate DGAT1 expression in *Arabidopsis* seedlings under stress. *FEBS Lett.* 587, 3076–3082.doi: 10.1016/j.febslet.2013.07.045

Kushiro, T., Okamoto, M., Nakabayashi, K., Yamagishi, K., Kitamura, S., Asami, T., et al. (2004). The *Arabidopsis* cytochrome P450 CYP707A encodes ABA 8′-hydroxylases: key enzymes in ABA catabolism. *The EMBO J.* 23, 1647–1656. doi: 10.1038/sj.emboj.7600121

Le, T. N., Schumann, U., Smith, N. A., Tiwari, S., Au, P., Zhu, Q. H., et al. (2014). DNA demethylases target promoter transposable elements to positively regulate stress responsive genes in *Arabidopsis*. *Genome Biol.* 15, 458.doi: 10.1186/s13059-014-0458-3

Lee, J. H., Yoon, H. J., Terzaghi, W., Martinez, C., Dai, M., Li, J., et al. (2010). DWA1 and DWA2, two *Arabidopsis* DWD protein components of CUL4-based E3 ligases, act together as negative regulators in ABA signal transduction. *Plant Cell* 22, 1716–1732.doi: 10.1105/tpc.109.073783

Li, D., Mou, W., Luo, Z., Li, L., Limwachiranon, J., Mao, L., et al. (2016). Developmental and stress regulation on expression of a novel miRNA, Fan-miR73, and its target ABI5 in strawberry. *Sci. Rep.* 6:28385.doi: 10.1038/srep28385

Liao, C. J., Lai, Z., Lee, S., Yun, D. J., and Mengiste, T. (2016). *Arabidopsis* HOOKLESS1 regulates responses to pathogens and abscisic acid through interaction with MED18 and acetylation of WRKY33 and ABI5 chromatin. *Plant Cell* 28, 1662–1681.doi: 10.1105/tpc.16.00105

Lim, S., Park, J., Lee, N., Jeong, J., Toh, S., Watanabe, A., et al. (2013). ABA-INSENSITIVE3, ABA-INSENSITIVE5, and DELLAs interact to activate the expression of SOMNUS and other high-temperature-inducible genes in imbibed seeds in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 25, 4863–4878.doi: 10.1105/tpc.113.118604

Liu, H., and Stone, S. L. (2010). Abscisic acid increases *Arabidopsis* ABI5 transcription factor levels by promoting KEG E3 ligase self-ubiquitination and proteasomal degradation. *Plant Cell* 22, 2630–2641.doi: 10.1105/tpc.110.076075

Liu, H., and Stone, S. L. (2014). Regulation of ABI5 turnover by reversible post-translational modifications. *Plant Signal. Behav.* 9:e27577.doi: 10.4161/psb.27577

Liu, W., Li, R. J., Han, T. T., Cai, W., Fu, Z. W., and Lu, Y. T. (2015). Salt stress reduces root meristem size by nitric oxide-mediated modulation of auxin accumulation and signaling in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 168, 343–356.doi: 10.1104/pp.15.00030

Liu, X., Hu, P., Huang, M., Tang, Y., Li, Y., Li, L., et al. (2016). The NF-YC-RGL2 module integrates GA and ABA signalling to regulate seed germination in *Arabidopsis*. *Nat. Commun* 7:12768.doi: 10.1038/ncomms12768

Liu, Y., Fang, J., Xu, F., Chu, J., Yan, C., Schläppi, M. R., et al. (2014). Expression patterns of ABA and GA metabolism genes and hormone levels during rice seed development and imbibition: a comparison of dormant and non- dormant rice cultivars. *J. Genet. Genomics* 41, 327–338.doi: 10.1016/j.jgg.2014. 04.004

Liu, Z. Q., Yan, L., Wu, Z., Mei, C., Lu, K., Yu, Y. T., et al. (2012). Cooperation of three WRKY-domain transcription factors WRKY18, WRKY40, and WRKY60 in repressing two ABA-responsive genes ABI4 and ABI5 in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 63, 6371–6392.doi: 10.1093/jxb/ers293

Lopez-Molina, L., Mongrand, S., and Chua, N. H. (2001). A postgermination developmental arrest checkpoint is mediated by abscisic acid and requires the ABI5 transcription factor in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 4782–4787.doi: 10.1073/pnas.081594298

Lopez-Molina, L., Mongrand, S., McLachlin, D. T., Chait, B. T., and Chua, N. H. (2002). ABI5 acts downstream of ABI3 to execute an ABA-dependent growth arrest during germination. *Plant J.* 32, 317–328.doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01430.x

Lynch, T., Erickson, B. J., and Finkelstein, R. R. (2012). Direct interactions of ABA-insensitive (ABI)-clade protein phosphatase (PP) 2Cs with calcium-dependent protein kinases and ABA response element-binding bZIPs may contribute to turning off ABA response. *Plant Mol. Biol.* 80, 647–658.doi: 10.1007/s11103-012-9973-3

Magome, H., Yamaguchi, S., Hanada, A., Kamiya, Y., and Oda, K. (2008). The DDF1 transcriptional activator upregulates expression of a gibberellin-deactivating gene, GA2ox7, under high-salinity stress in *Arabidopsis*. *Plant J.* 56, 613–626.doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03627.x

Maia, J., Dekkers, B. J., Dolle, M. J., Ligterink, W., and Hilhorst, H. W. (2014). Abscisic acid (ABA) sensitivity regulates desiccation tolerance in germinated *Arabidopsis* seeds. *New Phytol.* 203, 81–93.doi: 10.1111/nph.12785

Makarevitch, I., Waters, A. J., West, P. T., Stitzer, M., Hirsch, C. N., Ross-Ibarra, J., et al. (2015). Transposable elements contribute to activation of maize genes in response to abiotic stress. *PLoS Genet.* 11:e1004915.doi: 10.1371/journal.pgen.1004915

Manz, B., Müller, K., Kucera, B., Volke, F., and Leubner-Metzger, G. (2005). Water uptake and distribution in germinating tobacco seeds investigated in vivo by nuclear magnetic resonance imaging. *Plant Physiol.* 138, 1538–1551.doi: 10.1104/pp.105.061663

McCue, A. D., Nuthikattu, S., Reeder, S. H., and Slotkin, R. K. (2012). Gene expression and stress response mediated by the epigenetic regulation of a transposable element small RNA. *PLoS Genet.* 8:e1002474.doi: 10.1371/journal.pgen.1002474

Mehrotra, R., Bhalothia, P., Bansal, P., Basantani, M. K., Bharti, V., and Mehrotra, S. (2014). Abscisic acid and abiotic stress tolerance–Different tiers of regulation. *J. Plant Physiol.* 171, 486–496.doi: 10.1016/j.jplph.2013.12.007

Miransari, M., and Smith, D. L. (2014). Plant hormones and seed germination. *Environ. Exp. Bot.* 99, 110–121.doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.11.005

Mitchum, M. G., Yamaguchi, S., Hanada, A., Kuwahara, A., Yoshioka, Y., Kato, T., et al. (2006). Distinct and overlapping roles of two gibberellin 3-oxidases in *Arabidopsis* development. *Plant J.* 45, 804–818.doi: 10.1111/j.1365-313X.2005.02642.x

Miura, K., Lee, J., Jin, J. B., Yoo, C. Y., Miura, T., and Hasegawa, P. M. (2009). Sumoylation of ABI5 by the *Arabidopsis* SUMO E3 ligase SIZ1 negatively regulates abscisic acid signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106, 5418–5423. doi: 10.1073/pnas.0811088106

Munemasa, S., Hauser, F., Park, J., Waadt, R., Brandt, B., and Schroeder, J. I. (2015). Mechanisms of abscisic acid-mediated control of stomatal aperture. *Curr. Opin. Plant Biol.* 28, 154–162.doi: 10.1016/j.pbi.2015.10.010

Munemasa, S., Oda, K., Watanabe-Sugimoto, M., Nakamura, Y., Shimoishi, Y., and Murata, Y. (2007). The coronatine-insensitive 1 mutation reveals the hormonal signaling interaction between abscisic acid and methyl jasmonate in *Arabidopsis* guard cells. Specific impairment of ion channel activation and second messenger production. *Plant Physiol.* 143, 1398–1407.doi: 10.1104/pp.106.091298

Nakamura, S., Lynch, T. J., and Finkelstein, R. R. (2001). Physical interactions between ABA response loci of *Arabidopsis*. *Plant J.* 26, 627–635.doi: 10.1046/j.1365-313x.2001.01069.x

Nakashima, K., Fujita, Y., Kanamori, N., Katagiri, T., Umezawa, T., Kidokoro, S., et al. (2009). Three *Arabidopsis* SnRK2 protein kinases, SRK2D/SnRK2. 2, SRK2E/SnRK2. 6/OST1 and SRK2I/SnRK2. 3, involved in ABA signaling are essential for the control of seed development and dormancy. *Plant Cell Physiol.* 50, 1345–1363.doi: 10.1093/pcp/pcp083

Nakashima, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2013). ABA signaling in stress-response and seed development. *Plant Cell Rep.* 32, 959–970.doi: 10.1007/s00299-013-1418-1

Nambara, E., Suzuki, M., Abrams, S., McCarty, D. R., Kamiya, Y., and McCourt, P. (2002). A screen for genes that function in abscisic acid signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Genetics* 161, 1247–1255.

Nguyen, K. H., Van Ha, C., Nishiyama, R., Watanabe, Y., Leyva-González, M. A., Fujita, Y., et al. (2016). *Arabidopsis* type B cytokinin response regulators ARR1, ARR10, and ARR12 negatively regulate plant responses to drought. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 113, 3090–3095.doi: 10.1073/pnas.1600399113

Nishiyama, R., Watanabe, Y., Fujita, Y., Le, D. T., Kojima, M., Werner, T., et al. (2011). Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses, and abscisic acid biosynthesis. *Plant Cell* 23, 2169–2183. doi: 10.1105/tpc.111.087395

Nonogaki, H., Bassel, G. W., and Bewley, J. D. (2010). Germination–still a mystery. *Plant Sci.* 179, 574–581.doi: 10.4161/psb.25504

Ogawa, M., Hanada, A., Yamauchi, Y., Kuwahara, A., Kamiya, Y., and Yamaguchi, S. (2003). Gibberellin biosynthesis and response during *Arabidopsis* seed germination. *Plant Cell* 15, 1591–1604.doi: 10.1105/tpc.011650

Okamoto, M., Kuwahara, A., Seo, M., Kushiro, T., Asami, T., Hirai, N., et al. (2006). CYP707A1 and CYP707A2, which encode abscisic acid 8′-hydroxylases, are indispensable for proper control of seed dormancy and germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 141, 97–107.doi: 10.1104/pp.106.079475

Perruc, E., Kinoshita, N., and Lopez-Molina, L. (2007). The role of chromatin-remodeling factor PKL in balancing osmotic stress responses during

Arabidopsis seed germination. *Plant J.* 52, 927–936.doi: 10.1111/j.1365-313X.2007.03288.x

Piskurewicz, U., Jikumaru, Y., Kinoshita, N., Nambara, E., Kamiya, Y., and Lopez-Molina, L. (2008). The gibberellic acid signaling repressor RGL2 inhibits *Arabidopsis* seed germination by stimulating abscisic acid synthesis and ABI5 activity. *Plant Cell* 20, 2729–2745.doi: 10.1105/tpc.108.061515

Qiu, Z., Guo, J., Zhu, A., Zhang, L., and Zhang, M. (2014). Exogenous jasmonic acid can enhance tolerance of wheat seedlings to salt stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 104, 202–208.doi: 10.1016/j.ecoenv.2014.03.014

Rajjou, L., Duval, M., Gallardo, K., Catusse, J., Bally, J., Job, C., et al. (2012). Seed germination and vigor. *Annu. Rev. Plant Biol.* 63, 507–533.doi: 10.1146/annurev-arplant-042811-105550

Reeves, W. M., Lynch, T. J., Mobin, R., and Finkelstein, R. R. (2011). Direct targets of the transcription factors ABA-Insensitive (ABI) 4 and ABI5 reveal synergistic action by ABI4 and several bZIP ABA response factors. *Plant Mol. Biol.* 75, 347–363.doi: 10.1007/s11103-011-9733-9

Reyes, J. L., and Chua, N. H. (2007). ABA induction of miR159 controls transcript levels of two MYB factors during *Arabidopsis* seed germination. *Plant J.* 49, 592–606.doi: 10.1111/j.1365-313X.2006.02980.x

Riemann, M., Dhakarey, R., Hazman, M., Miro, B., Kohli, A., and Nick, P. (2015). Exploring jasmonates in the hormonal network of drought and salinity responses. *Front. Plant Sci.* 6:1077.doi: 10.3389/fpls.2015.01077

Rieu, I., Eriksson, S., Powers, S. J., Gong, F., Griffiths, J., Woolley, L., et al. (2008). Genetic analysis reveals that C19-GA 2-oxidation is a major gibberellin inactivation pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 20, 2420–2436.doi: 10.1105/tpc.108.058818

Rowe, J. H., Topping, J. F., Liu, J., and Lindsey, K. (2016). Abscisic acid regulates root growth under osmotic stress conditions via an interacting hormonal network with cytokinin, ethylene and auxin. *New Phytol.* 211, 225–239.doi: 10.1111/nph.13882

Roychoudhury, A., Paul, S., and Basu, S. (2013). Cross-talk between abscisic acid-dependent and abscisic acid-independent pathways during abiotic stress. *Plant Cell Rep.* 32, 985–1006.doi: 10.1007/s00299-013-1414-5

Sah, S. K., Reddy, K. R., and Li, J. (2016). Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Front. Plant Sci.* 7:571.doi: 10.3389/fpls.2016.00571

Sakuraba, Y., Jeong, J., Kang, M. Y., Kim, J., Paek, N. C., and Choi, G. (2014). Phytochrome-interacting transcription factors PIF4 and PIF5 induce leaf senescence in *Arabidopsis*. *Nat. Commun.* 5:4636.doi: 10.1038/ncomms5636

Seo, P. J., Xiang, F., Qiao, M., Park, J. Y., Lee, Y. N., Kim, S. G., et al. (2009). The MYB96 transcription factor mediates abscisic acid signaling during drought stress response in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 151, 275–289.doi: 10.1104/pp.109.144220

Shang, Y., Yan, L., Liu, Z. Q., Cao, Z., Mei, C., Xin, Q., et al. (2010). The Mg-chelatase H subunit of *Arabidopsis* antagonizes a group of WRKY transcription repressors to relieve ABA-responsive genes of inhibition. *Plant Cell* 22, 1909–1935.doi: 10.1105/tpc.110.073874

Sharp, R. E., Poroyko, V., Hejlek, L. G., Spollen, W. G., Springer, G. K., Bohnert, H. J., et al. (2004). Root growth maintenance during water deficits: physiology to functional genomics. *J. Exp. Bot.* 55, 2343–2351.doi: 10.1093/jxb/ erh276

Shi, H., Chen, L., Ye, T., Liu, X., Ding, K., and Chan, Z. (2014). Modulation of auxin content in *Arabidopsis* confers improved drought stress resistance. *Plant Physiol. Biochem.* 82, 209–217.doi: 10.1016/j.plaphy.2014.06.008

Shkolnik-Inbar, D., and Bar-Zvi, D. (2010). ABI4 mediates abscisic acid and cytokinin inhibition of lateral root formation by reducing polar auxin transport in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22, 3560–3573.doi: 10.1105/tpc.110.074641

Signora, L., De Smet, I., Foyer, C. H., and Zhang, H. (2001). ABA plays a central role in mediating the regulatory effects of nitrate on root branching in *Arabidopsis*. *Plant J.* 28, 655–662.doi: 10.1046/j.1365-313x.2001.01185.x

Skirycz, A., and Inzé, D. (2010). More from less: plant growth under limited water. *Curr. Opin. Biotechnol.* 21, 197–203.doi: 10.1016/j.copbio.2010.03.002

Söderman, E. M., Brocard, I. M., Lynch, T. J., and Finkelstein, R. R. (2000). Regulation and function of the *Arabidopsis* ABA-INSENSITIVE4 gene in seed and abscisic acid response signaling networks. *Plant Physiol.* 124, 1752–1765.doi: 10.1104/pp.124.4.1752

Stone, S. L., Williams, L. A., Farmer, L. M., Vierstra, R. D., and Callis, J. (2006). KEEP ON GOING, a RING E3 ligase essential for *Arabidopsis* growth and development, is involved in abscisic acid signaling. *Plant Cell* 18, 3415–3428.doi: 10.1105/tpc.106.046532

Su, M., Huang, G., Zhang, Q., Wang, X., Li, C., Tao, Y., et al. (2016). The LEA protein, ABR, is regulated by ABI5 and involved in dark-induced leaf senescence in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci.* 247, 93–103.doi: 10.1016/j.plantsci.2016.03.009

Suhita, D., Kolla, V. A., Vavasseur, A., and Raghavendra, A. S. (2003). Different signaling pathways involved during the suppression of stomatal opening by methyl jasmonate or abscisic acid. *Plant Sci.* 164, 481–488.doi: 10.1016/S0168-9452(02)00432-6

Sun, T. P. (2011). The molecular mechanism and evolution of the GA–GID1–DELLA signaling module in plants. *Curr. Biol.* 21, R338–R345.doi: 10.1016/j.cub.2011.02.036

Sun, X. C., Gao, Y. F., Zhang, N., Li, H. R., Yang, S. Z., and Liu, Y. S. (2015). SISOM inhibits seed germination by regulating the expression of ABA/GA metabolic genes and SIABI5 in *Solanum lycopersicum*. *J. Integr. Agr.* 14, 326–336.doi: 10.1016/S2095-3119(14)60859-5

Sun, Y., Fan, X. Y., Cao, D. M., Tang, W., He, K., Zhu, J. Y., et al. (2010). Integration of brassinosteroid signal transduction with the transcription network for plant growth regulation in *Arabidopsis*. *Dev. Cell* 19, 765–777.doi: 10.1016/j.devcel.2010.10.010

Tanaka, Y., Sano, T., Tamaoki, M., Nakajima, N., Kondo, N., and Hasezawa, S. (2006). Cytokinin and auxin inhibit abscisic acid-induced stomatal closure by enhancing ethylene production in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 57, 2259–2266. doi: 10.1093/jxb/erj193

Tyler, L., Thomas, S. G., Hu, J., Dill, A., Alonso, J. M., Ecker, J. R., et al. (2004). DELLA proteins and gibberellin-regulated seed germination and floral development in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 135, 1008–1019.doi: 10.1104/pp.104.039578

Wang, C., Yang, A., Yin, H., and Zhang, J. (2008). Influence of water stress on endogenous hormone contents and cell damage of maize seedlings. *J. Integr. Plant Biol.* 50, 427–434.doi: 10.1111/j.1774-7909.2008.00638.x

Wang, M., Yuan, F., Hao, H., Zhang, Y., Zhao, H., Guo, A., et al. (2013). BolOST1, an ortholog of open stomata 1 with alternative splicing products in *Brassica oleracea*, positively modulates drought responses in plants. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 442, 214–220.doi: 10.1016/j.bbrc.2013.11.032

Wang, P., Du, Y., Hou, Y. J., Zhao, Y., Hsu, C. C., Yuan, F., et al. (2015). Nitric oxide negatively regulates abscisic acid signaling in guard cells by S-nitrosylation of OST1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, 613–618.doi: 10.1073/pnas.1423481112

Wang, Y., Li, L., Ye, T., Lu, Y., Chen, X., and Wu, Y. (2013). The inhibitory effect of ABA on floral transition is mediated by ABI5 in *Arabidopsis*. *J. Exp. Bot.* 64, 675–684.doi: 10.1093/jxb/ers361

Wang, Y., Li, L., Ye, T., Zhao, S., Liu, Z., Feng, Y. Q., et al. (2011). Cytokinin antagonizes ABA suppression to seed germination of *Arabidopsis* by downregulating ABI5 expression. *Plant J.* 68, 249–261.doi: 10.1111/j.1365-313X.2011.04683.x

Won, C., Shen, X., Mashiguchi, K., Zheng, Z., Dai, X., Cheng, Y., et al. (2011). Conversion of tryptophan to indole-3-acetic acid by TRYPTOPHAN AMINOTRANSFERASES OF *ARABIDOPSIS* and YUCCAs in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 18518–18523.doi: 10.1073/pnas.1108436108

Xi, W., Liu, C., Hou, X., and Yu, H. (2010). MOTHER OF FT AND TFL1 regulates seed germination through a negative feedback loop modulating ABA signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 22, 1733–1748.doi: 10.1105/tpc.109.073072

Yan, F., Deng, W., Wang, X., Yang, C., and Li, Z. (2012). Maize (*Zea mays* L.) homologue of ABA-INSENSITIVE (ABI) 5 gene plays a negative regulatory role in abiotic stresses response. *Plant Growth Regul.* 68, 383–393.doi: 10.1007/s10725-012-9727-x

Yang, X., Bai, Y., Shang, J., Xin, R., and Tang, W. (2016). The antagonistic regulation of abscisic acid-inhibited root growth by brassinosteroids is partially mediated via direct suppression of ABSCISIC ACID INSENSITIVE 5 expression by BRASSINAZOLE RESISTANT 1. *Plant Cell Environ.* 39, 1994–2003.doi: 10.1111/pce.12763

Yang, X. G., Liang, W. H., Li, F., and Ma, W. S. (2012). OsGSK3 is a novel GSK3/shaggy-like gene from *Oryza sativa* L., involved in abiotic stress signaling. *Pak. J. Bot.* 44, 1491–1496.

Yoshida, T., Fujita, Y., Sayama, H., Kidokoro, S., Maruyama, K., Mizoi, J., et al. (2010). AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation. *Plant J.* 61, 672–685.doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04092.x

Yoshida, T., Mogami, J., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2014). ABA-dependent and ABA-independent signaling in response to osmotic stress in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 21, 133–139.doi: 10.1016/j.pbi.2014.07.009

Yu, X., Li, L., Zola, J., Aluru, M., Ye, H., Foudree, A., et al. (2011). A brassinosteroid transcriptional network revealed by genome-wide identification of BESI target genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.* 65, 634–646.doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04449.x

Yuan, K., Rashotte, A. M., and Wysocka-Diller, J. W. (2011). ABA and GA signaling pathways interact and regulate seed germination and seedling development under salt stress. *Acta Physiol. Plant.* 33, 261–271.doi: 10.1007/s11738-010-0542-6

Yuan, T. T., Xu, H. H., Zhang, K. X., Guo, T. T., and Lu, Y. T. (2014). Glucose inhibits root meristem growth via ABA INSENSITIVE 5, which represses PIN1 accumulation and auxin activity in *Arabidopsis*. *Plant Cell Environ.* 37, 1338–1350.doi: 10.1111/pce.12233

Zhao, W., Guan, C., Feng, J., Liang, Y., Zhan, N., Zuo, J., et al. (2015). The *Arabidopsis* CROWDED NUCLEI genes regulate seed germination by modulating degradation of ABI5 protein. *J. Integr. Plant Biol.* 58, 669–678. doi: 10.1111/jipb.12448

Zhao, Y., Xing, L., Wang, X., Hou, Y. J., Gao, J., Wang, P., et al. (2014). The ABA receptor PYL8 promotes lateral root growth by enhancing MYB77- dependent transcription of auxin-responsive genes. *Sci. Signal.* 7:ra53.doi: 10.1126/scisignal.2005051

Zhong, C., Xu, H., Ye, S., Wang, S., Li, L., Zhang, S., et al. (2015). AtGASA6 serves as an integrator of gibberellin-, abscisic acid-and glucose-signaling during seed germination in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* 169, 2288–2303.doi: 10.1104/pp.15.00858

Zhou, X., Hao, H., Zhang, Y., Bai, Y., Zhu, W., Qin, Y., et al. (2015). SOS2- like protein kinase5, an SNF1-related protein kinase3-type protein kinase, is important for abscisic acid responses in *Arabidopsis* through phosphorylation of ABSCISIC ACID-INSENSITIVE5. *Plant Physiol.* 168, 659–676.doi: 10.1104/pp.114.255455

Zhou, X., Yuan, F., Wang, M., Guo, A., Zhang, Y., and Xie, C. G. (2013). Molecular characterization of an ABA insensitive 5 orthologue in *Brassica oleracea*. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 430, 1140–1146.doi: 10.1016/j.bbrc.2012.12.023

Zinsmeister, J., Lalanne, D., Terrasson, E., Chatelain, E., Vandecasteele, C., Vu, B., et al. (2016). ABI5 is a regulator of seed maturation and longevity in legumes. *Plant Cell*. doi: 10.1105/tpc.16.00470

Zou, M., Guan, Y., Ren, H., Zhang, F., and Chen, F. (2007). Characterization of alternative splicing products of bZIP transcription factors OsABI5. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 360, 307–313.doi: 10.1016/j.bbrc.2007.05.226

Zou, M., Guan, Y., Ren, H., Zhang, F., and Chen, F. (2008). A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance. *Plant Mol. Biol.* 66, 675–683.doi: 10.1007/s11103-008-9298-4

Zwack, P. J., and Rashotte, A. M. (2015). Interactions between cytokinin signalling and abiotic stress responses. *J. Exp. Bot.* 66, 4863–4871.doi: 10.1093/jxb/erv172

Conflict of Interest Statement: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2016 Skubacz, Daszkowska-Golec and Szarejko. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) or licensor are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.

12. Barley *ABI5* (*Abscisic Acid INSENSITIVE 5*) Is Involved in Abscisic Acid-Dependent Drought Response

frontiers in Plant Science

ORIGINAL RESEARCH
published: 29 July 2020
doi: 10.3389/fpls.2020.01138

Barley *ABI5* (*Abscisic Acid INSENSITIVE 5*) Is Involved in Abscisic Acid-Dependent Drought Response

*Anna Collin, Agata Daszkowska-Golec, Marzena Kurowska and Iwona Szarejko**

Institute of Biology, Biotechnology and Environmental Protection, Faculty of Natural Sciences, University of Silesia in Katowice, Katowice, Poland

ABA INSENSITIVE 5 (ABI5) is a basic leucine zipper (bZIP) transcription factor which acts in the abscisic acid (ABA) network and is activated in response to abiotic stresses. However, the precise role of barley (*Hordeum vulgare*) ABI5 in ABA signaling and its function under stress remains elusive. Here, we show that *HvABI5* is involved in ABA-dependent regulation of barley response to drought stress. We identified barley TILLING mutants carrying different alleles in the *HvABI5* gene and we studied in detail the physiological and molecular response to drought and ABA for one of them. The *hvabi5.d* mutant, carrying G1751A transition, was insensitive to ABA during seed germination, yet it showed the ability to store more water than its parent cv. "Sebastian" (WT) in response to drought stress. The drought-tolerant phenotype of *hvabi5.d* was associated with better membrane protection, higher flavonoid content, and faster stomatal closure in the mutant under stress compared to the WT. The microarray transcriptome analysis revealed up-regulation of genes associated with cell protection mechanisms in the mutant. Furthermore, HvABI5 target genes: *HVA1* and *HVA22* showed higher activity after drought, which may imply better adaptation of *hvabi5.d* to stress. On the other hand, chlorophyll content in *hvabi5.d* was lower than in WT, which was associated with decreased photosynthesis efficiency observed in the mutant after drought treatment. To verify that *HvABI5* acts in the ABA-dependent manner we analyzed expression of selected genes related to ABA pathway in *hvabi5.d* and its WT parent after drought and ABA treatments. The expression of key genes involved in ABA metabolism and signaling differed in the mutant and the WT under stress. Drought-induced increase of expression of *HvNCED1, HvBG8, HvSnRK2.1*, and *HvPP2C4* genes was 2–20 times higher in *hvabi5.d* compared to "Sebastian". We also observed a faster stomatal closure in *hvabi5.d* and much higher induction of *HvNCED1* and *HvSnRK2.1* genes after ABA treatment. Together, these findings demonstrate that *HvABI5* plays a role in regulation of drought response in barley and suggest that HvABI5 might be engaged in the fine tuning of ABA signaling by a feedback regulation between biosynthetic and signaling events. In addition, they point to different mechanisms of *HvABI5* action in regulating drought response and seed germination in barley.

Keywords: abscisic acid, monocots, barley, *Hordeum vulgare*, water deficit, stress, transcriptomics, ABI5

OPEN ACCESS

Edited by:
Yoichi Sakata,
Tokyo University of Agriculture, Japan

Reviewed by:
Yong Hwa Cheong, Sunchon National University, South Korea
Jose A. Casaretto, University of Guelph, Canada

**Correspondence:*
Iwona Szarejko
iwona.szarejko@us.edu.pl

Specialty section:
This article was submitted to Plant Abiotic Stress, a section of the journal Frontiers in Plant Science

Received: 30 April 2020
Accepted: 14 July 2020
Published: 29 July 2020

Citation:
Collin A, Daszkowska-Golec A, Kurowska M and Szarejko I (2020) Barley ABI5 (Abscisic Acid INSENSITIVE 5) Is Involved in Abscisic Acid-Dependent Drought Response. Front. Plant Sci. 11:1138. doi: 10.3389/fpls.2020.01138

INTRODUCTION

Abscisic acid (ABA) is the crucial regulator of plant responses to abiotic stresses. In the presence of unfavorable conditions, the precise regulation and function of ABA-dependent signaling components ensure the appropriate activity of stress-responsive genes (reviewed by Yoshida et al., 2019), and thus the regulation of physiological processes, such as photosynthesis, stomatal closure (Song et al., 2016; Cai et al., 2017; Saito and Uozumi, 2019), and osmoprotectant biosynthesis (Jones, 2016; Sah et al., 2016; Martignago et al., 2020).

In *Arabidopsis thaliana*, *ABA INSENSITIVE 5* (*ABI5*) encodes the ABA-dependent, BASIC LEUCINE ZIPPER (bZIP) transcription factor, composed of C1, C2, C3, and bZIP conserved domains (Lopez-Molina et al., 2001; Nakamura et al., 2001). The bZIP domain is responsible for DNA binding, whereas C1, C2, and C3 domains are recognized and phosphorylated by protein kinases (Furihata et al., 2006). C3 is also crucial for ABI5 interaction with another transcription factor, ABI3 (Tezuka et al., 2013). AtABI5 plays a role during early ABA signaling and was shown to be activated shortly after the perception of a stress signal. The formation of ABA-PYRABACTIN RESISTANCE1/PYR LIKE/REGULATORY COMPONENT OF ABA RECEPTOR-PHOSPHATASE 2C complex (ABA-PYR1/PYL/RCAR-PP2C) promotes ABI5 phosphorylation mediated by the SNF1-RELATED PROTEIN KINASE2s (SnRK2s) and thus its activation. Then, AtABI5 binds ABA RESPONSIVE ELEMENTs (ABRE *cis*-elements) present in the promoters of regulated genes and activates or represses their transcription, often in the interaction with other regulatory proteins (reviewed by Daszkowska-Golec, 2016; Sah et al., 2016; Dejonghe et al., 2018; Yoshida et al., 2019).

ABI5 was described as a regulator of seed germination and early seedling development in the presence of ABA and abiotic stresses (Finkelstein, 1994; Lopez-Molina et al., 2001; reviewed by Skubacz et al., 2016). Several Arabidopsis *abi5* alleles have been identified using insertional or physical mutagenesis (*Atabi5-1*, *Atabi5-2*, *Atabi5-4*, *Atabi5-5*, *Atabi5-7*, *Atabi5-8*, and *Atabi5-9*) (Finkelstein, 1994; Lopez-Molina and Chua, 2000; Carles et al., 2002; Nambara et al., 2002; Zheng et al., 2012; Tezuka et al., 2013). It was demonstrated that *Atabi5-2* and *Atabi5-5* were insensitive also to salt and osmotic stresses during seed germination (Carles et al., 2002), while *Atabi5-1* showed ABA, salt, and osmotic insensitivity both at germination and early seedling stage (Finkelstein et al., 2005; Yuan et al., 2011). Interestingly, the *Atabi5-1* showed no differences in other ABA-regulated processes, such as stomata closure during vegetative growth (Finkelstein, 1994; Finkelstein and Lynch, 2000). Although *Atabi5-1* was described as "not-wilty" by Finkelstein and Lynch (2000; http://www.arabidopsis.org, AT2G36270) no detailed analysis of the mutant under drought stress has been reported.

AtABI5 expression was observed during a short developmental window, between 48 and 60 h after imbibition, in the presence of drought and salt stress. The increased activity of *AtABI5* was related to germination inhibition (Lopez-Molina et al., 2001; Maia et al., 2014). Additionally, *AtABI5* function was associated with the repression of primary and lateral root development (Lopez-Molina et al., 2001; Signora et al., 2001). It was proven that AtABI5 downstream target genes were responsible for the inhibition of germination, adaptation to reduced water availability, lower photosynthesis efficiency, and reactive oxygen species (ROS) scavenging (Finkelstein and Lynch, 2000; Kanai et al., 2010; Su et al., 2016; Bi et al., 2017).

Another level of abiotic stress response regulated by AtABI5 involves lipid metabolism where AtABI5 is able to activate the expression of gene encoding triacylglycerol biosynthesis enzyme (Kong et al., 2013). AtABI5 promotes chlorophyll catabolism and inhibits photosynthesis *via* transcriptional regulation of genes encoding a protein inducing destabilization of LIGHT-HARVESTING COMPLEX FOR PHOTOSYSTEM II (LHCPII) and chlorophyll *b* reductase (Sakuraba et al., 2014). AtABI5 also regulates expression of gene encoding detoxifying enzyme, *CATALASE1* (*CAT1*) (Bi et al., 2017). Recently, AtABI5 was described as a direct repressor of *PHOSPHATE1* (*PHO1*) gene associated with phosphate homeostasis (Huang et al., 2017).

AtABI5 undergoes complex regulation at the post-translational level by phosphorylation, ubiquitination, sumoylation, and nitrosylation. AtABI5 is phosphorylated by many kinases, such as SnRK2.2, SnRK2.3, CALCIUM-DEPENDENT PROTEIN KINASE 11 (CPK11), and SOS2-LIKE PROTEIN KINASE 5 (PKS5), which results in its activation (Lynch et al., 2012; Zhou et al., 2015). It is noteworthy that all types of AtABI5 modifications take place in the specific amino acid positions of the protein (Miura et al., 2009; Liu and Stone, 2013; Albertos et al., 2015; Yu et al., 2015).

In Arabidopsis AtABI5 is considered as the main regulator of ABA response only during seed germination and early seedling growth, whereas other bZIP transcription factors that recognize the ABRE *cis*-element, such as ABRE BINDING FACTOR2/ABRE-BINDING PROTEIN1 (AtABF2/AREB1), AtABF4/AREB2, AtABF3, and AtABF1 take part in ABA signaling in vegetative tissues under abiotic stresses (Fujita et al., 2005; Yoshida et al., 2015). It was shown that *Atabf4/areb2* and *Atabf3* mutants were more sensitive to drought than WT, whereas overexpression of *AtABF2/AREB1* ensured better drought tolerance due to increased expression of *LEA* genes (Fujita et al., 2005; Yoshida et al., 2010). AtABFs/AREBs promote stomatal closure and chlorophyll catabolism (Gao et al., 2016; Qian et al., 2019). Importantly, AtABF2/AREB1, AtABF4/AREB2, AtABF3, and AtABF1 show redundancy during regulation of ABA-mediated drought responses. *Atabf2/areb1 Atabf4/areb2 Atabf3 Atabf1* quadruple mutant showed 2.2% survival rate after drought treatment, whereas survival rate of single *Atabf/areb* mutants was 38.6–57.1% (Yoshida et al., 2010; Yoshida et al., 2015). However, sometimes *AtABF* genes can act autonomously, e.g. *AtABF3* regulates seedling root growth in the presence of ABA (Finkelstein et al., 2005; Yoshida et al., 2010). Moreover, the expression profile of *LEA* genes in the *Atabf2/areb1*, *Atabf4/areb2*, and *Atabf3* mutants is not always similar (Yoshida et al., 2010).

The function of barley (*Hordeum vulgare*) ABI5 homolog as an ABA-dependent transcription factor has been described first

in barley seeds, mainly in aleurone layer by Casaretto and Ho (2003). The authors demonstrated that in the presence of ABA, HvABI5 binds ABRE cis-element present in ABA RESPONSE PROMOTER COMPLEX (ABRC). *HVA1* and *HVA22* encoding LEA proteins have been identified as the HvABI5-activated genes in barley aleurone cells (Casaretto and Ho, 2003). Both proteins ensure the protection from water deprivation in barley seeds. The expression of *HVA1* and *HVA22* is also dependent on VIVIPAROUS1 (HvVP1), an ortholog of AtABI3 (Casaretto and Ho, 2003). Probably, HvABI5 interaction with HvVP1 is required for HvABI5 activity, similarly to the interaction between ABI5 and ABI3 described in Arabidopsis (Casaretto and Ho, 2003; Bensmihen et al., 2004). Interestingly, *HvABI5* expression is auto-activated by HvABI5 protein, as it is observed for *AtABI5* in Arabidopsis (Finkelstein and Lynch, 2000; Casaretto and Ho, 2005). It was also found that HvABI5 activity as transcription factor is dependent on serine in 106 position, which probably serves as a target of ABA-dependent phosphorylation by *HvSnRK2.1* (*HvPKABA1*) (Casaretto and Ho, 2005).

HvABI5 shows high similarity to wheat wABI5, rice TRANSCRIPTION FACTOR RESPONSIBLE FOR ABA REGULATION1 (TRAB1), and maize ZmABI5. wABI5, TRAB1, and ZmABI5 were described as ABA-dependent transcription factors regulating abiotic stress responses (Kagaya et al., 2002; Kobayashi et al., 2008; Yan et al., 2012). wABI5 acts as a positive regulator of drought response *via* expression activation of LEA encoding genes: *DEHYDRIN13* (*wDHN13*), *RESPONSIVE TO ABA18* (*wRAB18*), and *wRAB19* (Kobayashi et al., 2008). The increased expression of *TRAB1* was observed in rice stress-tolerant cultivar under various abiotic stresses (Paul and Roychoudhury, 2019). On the other side, ZmABI5 negatively regulates abiotic stress responses. *ZmABI5* overexpression promoted chlorophyll degradation and reduced activity of detoxifying enzymes, peroxidase (POD), and superoxide dismutase (SOD), under abiotic stresses (Yan et al., 2012). Furthermore, other AtABI5 homologs were identified in rice (OsABI5) and in wheat (TaABI5). Similarly, to ZmABI5, OsABI5 was also described as a negative regulator of stress tolerance (Zou et al., 2008). Wheat *TaABI5* was shown to be active only in seeds. *TaABI5* overexpression in Arabidopsis seeds caused ABA-hypersensitive germination (Utsugi et al., 2020).

Given the fact that drought stress is considered as the cause of the most severe yield losses worldwide there is a need for extensive development of drought-tolerant cultivars. However, drought tolerance is a very complex trait showing quantitative inheritance and large genotype x environment interactions, therefore developing cultivars better adopted to water deficiency conditions remains a challenge for crop breeding programs (Agarwal et al., 2013; Gilliham et al., 2017). Identification and functional characterization of stress-related genes can help in obtaining plants with a higher tolerance to drought (Joshi et al., 2016; Bailey-Serres et al., 2019). Barley has been suggested as a cereal model for studying mechanisms of abiotic stress adaptation (Dawson et al., 2015), due to its natural ability to cope better with drought stress than other cereals. According to the Food and Agriculture Organization report, barley is the fourth most important cereal crop regarding the harvested acreage (FAO, 2018). These characteristics, together with the assembled genome sequence (IBSC_v2, Ensembl Plants), enhanced the role of barley as a model species for studying genetic and molecular processes underlying drought tolerance in cereals.

In this study we focused on elucidating the role of *HvABI5* in ABA signaling during barley response to drought stress. First, we have identified a *hvabi5.d* mutant using barley TILLING (Targeted Induced Local Lesions IN Genomes) platform created in our laboratory (Szurman-Zubrzycka et al., 2018). The identified TILLING mutant made it possible to initiate studies on the role of *HvABI5* in regulation of ABA and drought responses in barley. Taking advantage from Arabidopsis research on *abi5* mutants, we analyzed seed germination and early seedling of *hvabi5.d* in the presence of ABA. Next, we applied drought stress to *hvabi5.d* seedlings and measured a range of physiological parameters in order to describe the response of *hvabi5.d* to drought. To gain insight into molecular basis of *hvabi5.d* drought tolerance we conducted a global transcriptome analysis of the mutant and parent cultivar "Sebastian" exposed to drought treatment. Then, to answer the question whether *HvABI5* regulates drought response in the ABA-dependent manner, we analyzed the expression of selected genes related to ABA pathway in *hvabi5.d* and its wild type parent under drought and ABA treatments. We also studied stomatal conductance of analyzed genotypes after ABA treatment. Our results clearly indicated the role of *HvABI5* as the ABA-dependent regulator of response to drought stress in barley. In addition, these findings clearly pointed to different mechanisms of *HvABI5* action in regulating drought response and seed germination.

MATERIAL AND METHODS

Plant Material

The *hvabi5.d* mutant was identified using a TILLING platform (*Hor*TILLUS) developed after chemical mutagenesis of spring barley cultivar "Sebastian" in our laboratory (Szarejko et al., 2017; Szurman-Zubrzycka et al., 2018). The DNA samples from 6,144 M_2 plants of the *Hor*TILLUS population were screened with the aim to identify mutations in *HvABI5* gene. TILLING of *HvABI5* gene was performed based on *HvABI5* sequence for "Sebastian" variety present in GenBank (GenBank acc. no. HQ456390.1). Conserved regions of *HvABI5* were mapped using CODDLE (Codons Optimised to Discover Deleterious Lesions; http://www.proweb.org/coddle/) and CLUSTAL OMEGA (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) tools. The analyzed TILLING fragment (1,072 bp) embraced exons encoding most of C1, C2, C3, and bZIP domains, highly conserved and crucial for *HvABI5* function. The mutational screening was performed according to the procedure described by Szurman-Zubrzycka et al. (2018). Mutants carrying nucleotide substitutions in homozygous state were identified in M_2 or M_3 generation and for most of missense mutants, seeds were increased in M_4-M_5 generation. The type and state of

mutation (homo/heterozygous) was analyzed using the CodonCode Aligner software. The *hvabi5.d* allele was identified in the heterozygous state, therefore homozygous plants were selected in the segregating M_3 progeny before using *hvabi5.d* mutant in the studies. Seven mutants carrying different alleles: alleles (*hvabi5.b*, *hvabi5.d*, *hvabi5.e*, *hvabi5.i*, *hvabi5.o*, *hvabi5.u*, *hvabi5.w*) were used for preliminary relative water content (RWC) screening after drought treatment in M_4- M_6 generation. Mutant carrying the *hvabi5.d* allele was selected for a detailed physiological and molecular studies presented below. Additionally, the homozygous line of *hvabi5.d* mutant was backcrossed twice with parent variety "Sebastian" to clean the mutant genome from the possible background mutations. The obtained homozygous F_4BC_2 lines with *hvabi5.d* allele were further used for basic physiological tests after drought treatment and expression analysis of selected genes.

Prediction of Mutation Significance Using Bioinformatics Software

The conservation of mutated position was checked at the protein level in Clustal Omega (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/) using multi sequence alignment of *ABI5* sequences in dicot and monocot species.

Germination Assay in the Presence of ABA

Thirty seeds of *hvabi5.d* and wild-type (WT) parent cultivar "Sebastian" were sown in a Petri dish (ϕ=90 mm) containing two layers of Whatman filters with 5 ml distilled water (control) or ABA solution (75 and 300 mM). Four-day stratification at 4°C in darkness was applied to synchronize seed response. Then, the seeds were germinated in a growth chamber (22°C, 16-h-light/8-h darkness, 200 mmol/m^{-2} s^{-1} illumination). Germination process was evaluated by a visible appearance of a root on the 1st, 2nd, 3rd, and 4th day after stratification. Germination assay was performed in three biological replications (each Petri dish containing 30 seeds was considered as one biological replicate) and the experiment was repeated three times.

Seedling Development Assay in the Presence of ABA

Four-day-old seedlings of *hvabi5.d* and WT were used in this experiment. Plants were placed in glass tubes containing 90 ml of Murashige-Skoog (MS) medium or MS supplemented with 50 μM ABA. The treatment was applied for 6 d in a growth chamber (22°C, 16/8 h photoperiod, 200 mmol/m^{-2} s^{-1} illumination). The length of the first leaf and the longest seminal root were measured before and after the treatment. At the end of the treatment, chlorophyll *a* fluorescence was measured and the leaf tissue (0.02–0.05 g) was collected to extract proline. All analyzes were performed in three biological replications, with two plants per replication. The experiment and material collection were repeated three times.

Chlorophyll a Fluorescence

Chlorophyll *a* fluorescence was measured with the PocketPea fluorimeter (Hansatech Instruments Ltd., England). Before measurement, the leaves were adapted for 30 min in darkness. Next, the leaves were exposed to a pulse of saturating light [3,500 mmol (photon) m^{-2} s^{-1}] for 1 sec. To analyze the chlorophyll *a* fluorescence, the JIP-test was applied (Strasser et al., 2004; Kalaji et al., 2016). The OJIP fluorescence transients consist of four phases: O-initial fluorescence level, J-fluorescence at 2 ms, I- fluorescence at 30 ms, and P-maximal fluorescence. The OJIP transients were used to calculate the following parameters: PI_{ABS} —performance index for the photochemical activity and jP_0— maximum quantum yield of primary photochemistry (Strasser et al., 2000).

Proline Content

Proline concentration (μmol g^{-1} fresh weight) was determined according to the colorimetric method of Carillo and Gibbon (2011). The absorbance was read at 520 nm using Victor X5 Multilabel Reader (PerkinElmer). The proline content was calculated according to the formula:

$$\text{Proline in mmol=g FW} = \frac{\text{Abs}_{extract} - \text{blank}}{\text{slope}} \times \frac{\text{Vol}_{extract}}{\text{Vol}_{aliquot}} \times \frac{1}{\text{FW}}$$

where: $Abs_{extract}$ is the absorbance of plant extract, blank is the absorbance of clear extraction solution, slope is determined by linear regression of a calibration curve, $Vol_{extract}$ is the total extract volume, $Vol_{aliquot}$ is the extract volume used for the assay, FW is the weight of the plant material.

Drought Stress Experiment

Drought Stress Treatment

Drought stress was applied as described earlier (Daszkowska-Golec et al., 2017). Briefly, the experiment was carried in boxes (400 x 140 x 175 mm) filled with soil containing a mixture of sandy loam and sand (7:2) with known physicochemical properties. The soil was supplied with nutrient medium (Supplementary Material S1). Based on performed calculations, the water was easily available for plants at 14% of volumetric water content (vwc) in the soil, whereas the severe drought stress was achieved at 1.5%. When plants were grown in 14% vwc, the RWC in leaves was approximately 100%. The soil moisture was measured every day using time-domain reflectometer (TDR) EasyTest (Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, Poland). The WT and mutant plants were grown in a greenhouse for 10 d after sowing (DAS) under optimal water conditions (14% vwc), 20/18°C day/night, with a 16/8 h photoperiod, and 420 mE m^{-2} s^{-1} light intensity which was provided by fluorescent lamps. Afterward, the soil moisture was decreased by withholding the irrigation under the control of TDR measurements. On 15 DAS, when the soil moisture decreased to 3%, the plants were moved into a growth chamber, where temperature regime was set to 25°C/20°C day/ night, with a 16/8 h photoperiod and 420 mEm^{-2} s^{-1} light intensity. The severe drought stress (1.5% vwc) lasted 10 d (16–25 DAS). The control plants were grown under the same conditions with optimal water supply (14% vwc) in parallel to the drought treated plants. On 25 DAS the RWC was evaluated for each genotype, according to the procedure described below.

The second leaves were collected from *hvabi5.d* and WT plants before water withdrawal (10 DAS) and after severe drought (25 DAS) and used for RNA extraction. The anthocyanins content index, flavonols content index, chlorophyll *a* fluorescence, and chlorophyll content index were analyzed before water withdrawal (10 DAS) and after drought stress (25 DAS). The stomatal conductance was measured under optimal water conditions (10 DAS), on the drought onset (13 and 15 DAS) and after severe drought (25 DAS). On the 25 DAS, RWC, electrolyte leakage (EL), and ABA content were analyzed using plants growing under optimal water supply and under drought stress. The schedule of drought experiment with indicated time-points of all assays are presented in Supplementary Material S2. We conducted all analyses using the second leaf since it was already present when plants entered drought treatment. Each genotype was tested in three biological replicates. One box containing 15 plants per genotype was considered as one replicate.

Relative Water Content

RWC was measured in the second leaf on the last day of drought stress (25 DAS). RWC parameter was calculated according to formula:

$$RWC = \frac{F_w - D_w}{T_w - D_w} \times 100\,\%$$

where: F_w (fresh weight) is the weight of detached leaf, T_w (turgid weight) is the weight of a leaf after 24 h rehydration in distilled water (leaves were submerged in distilled water in darkness), and D_w (dry weight) is the weight of a leaf dried at 60°C for 48 h. The measurement of RWC was performed in three biological replications (each biological replicate included leaves of three independent seedlings).

Electrolyte Leakage Analysis

The EL was analyzed in drought-treated and control seedlings on 25 DAS (according to the protocol of Bandurska and Gniazdowska-Skoczek, 1995). Briefly, the fragments of the middle part of the second leaf were washed three times in deionized water and kept at 10°C for 24 h. Afterward, the samples were transferred to the room temperature and EL was measured using pH/conductivity meter (CPC-505, Elmetron, Poland). Then, samples were autoclaved for 15 min to damage cells completely and conductivity was measured again at room temperature. Three replications were made for each treatment combination (each biological replicate included leaves of three seedlings). EL was calculated according to formula:

$$EL\ (\%\ \text{of initial measurement}) = [1 - (1 - D1/D2)/(1 - C1/C2)] \times 100$$

Where: D1 and C1 are the first conductivity measurements for respectively drought and control samples, whereas D2 and C2 are the second (after auctoclaving) conductivity measurements.

Flavonol, Anthocyanin, and Chlorophyll Content Indices Measurement

The measurements of flavonol, anthocyanin, and chlorophyll content indices were performed on the second leave on the 10 and 25 DAS using a Dualex Scientific+TM (Force-A, France). The measurements were performed in three biological replicates, with four seedlings per replicate.

Stomatal Conductance

Stomatal Conductance (mmol m^{-2} s^{-1}) was measured using AP4 porometer (DELTA-T Devices, Burwell, UK). Measurements were conducted in three biological replicates, each replicate contained three individual plants. The analysis was performed at the exposed, central part of the second leaf adaxial side on 10, 13, 15, and 25 DAS, in three biological replications (each biological replicate included leaves of three independent seedlings).

Endogenous ABA Content

ABA content was measured according to the protocol of Nakurte et al. (2012). A modular HPLC system (Shimadzu, Japan) with SPD-M20A photodiode array detector and a Kinetex™ C18 (4.6 × 250 mm, 5 μm) column (Phenomenex) were used to conduct chromatography. The injection volume was 20 μl and the analysis was performed in the isocratic mode at a flow rate of 1 ml min^{-1}. LabSolutions software was used to evaluate the results (Shimadzu, Japan).

RNA Isolation

RNA was extracted from the second leaves (50–100 mg) of *hvabi5.d* and WT plants collected on 10 and 25 DAS in three biological replications (each biological replicate represented leaf of one seedling). RNA isolation was conducted using TriPure reagent, according to the modified Chomczynski's method (Chomczyński and Sacchi, 1987). For the microarray analyses, RNA was additionally purified using precipitation in 1 M lithium chloride and each RNA precipitate was then dissolved in 15 ml of nuclease-free H_2O. NanoDrop (ND-1000) spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Wilmington, USA) was used for concentration quantification and quality check. RNA integrity was analyzed using Agilent 2100 Bioanalyzer with RNA 6000 Nano chip (Agilent Technologies, Santa Clara, USA).

Microarray Analysis

Microarray Data Analysis

The synthesis, labeling, and hybridization of cDNA and cRNA were performed by the Genomics Core Facility, European Molecular Biology Laboratory (EMBL), Heidelberg, Germany. The microarray data were analyzed using GeneSpring GX 13.0 software (Agilent Technologies) as described earlier (Daszkowska-Golec et al., 2017). A gene was considered to be differentially expressed when the level of its expression differed between the analyzed conditions by at least two times (fold change (FC) ≥ 2; $P \leq 0.05$ after FDR correction). The annotation of the Agilent Barley Gene Expression Microarray (Agilent Technologies) was performed against IBSC_v2 of barley

genome deposited in Ensembl Plants (v. 45). Functional annotation of differentially regulated genes was carried out using Ensembl Plants tools and the IPK Barley BLAST Server as references (https://plants.ensembl.org/index.html, https://webblast.ipk-gatersleben.de/barley_ibsc/). Three biological replications were used for microarray expression analysis (each biological replicate represented leaf of one seedling).

GO Enrichment Analysis

The GO enrichment analysis was performed using AgriGO 2.0 (http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/) to identify the functional ontologies for differentially expressed genes (DEGs) and to obtain the categories of biological functions which were overrepresented in the analyzed groups of DEGs. The AgriGO 2.0 enrichment tool reveals the GO terms in the analyzed set of genes in comparison to the GO frequency in the background genome. The statistical significance of identified GO terms was assessed by the hypergeometric distribution followed by the Bonferroni method for multiple testing correction (corrected $P \leq 0.01$).

RT-qPCR Analysis of ABA-Related Genes

cDNA was synthetized using 1 µg of total RNA and ReverseAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Scientific). The obtained volume of cDNA (20 µl) was diluted using water (1:5) in order to prepare template for RT-qPCR reaction. Primers were designed using Quant-Prime software (http://www.quantprime.de) and their sequences are given in Supplementary Material S3. The RT-qPCR was performed using SYBR GREEN I on LightCycler 480 Real-Time PCR Instrument (Roche). The program consisted of the initial denaturation step, followed by 45 cycles of 10 s at 95°C, 20 s at 60°C, and 10 s at 72°C. The LinReq software (Ramakers et al., 2003) was used for data analysis. Each sample was normalized using *ELONGATION FACTOR 1*-a (*EF1*) and *GLYCERALDEHYDE-3-PHOSPHATE DEHYDROGENASE* (*GAPDH*) reference genes (Rapacz et al., 2012). The relative expression level was calculated using expression of reference gene and gene of interest in WT under control conditions, according to delta-delta C_t method (Livak and Schmittgen, 2001). Three biological replications were used for gene expression analysis, each sample was analyzed in two technical replicates.

Prediction of Promoter Transcription Factor Binding Sites

Analysis of promoters of selected ABA pathway genes was conducted using PlanPan 3.0 (http://plantpan.itps.ncku.edu.tw/promoter.php) and PlantRegMap (http://plantregmap.cbi.pku.edu.cn/) platforms. Analyzed promoter sequences included 1,000 bp before the START codon.

ABA Spray Assay

Ten-day-old WT and *hvabi5.d* seedlings grown in growth chamber (20°C, 16/8 h photoperiod, 200 mmol/m^{-2} s^{-1} illumination) under optimal water conditions were sprayed with 25 ml distilled water or 200 mM ABA dissolved in distilled water according to the procedure proposed by Al-Momany and Abu-Romman (2014). The stomatal conductance (mmol m^{-2} s^{-1}) was measured after 30 min, 3, and 6 h using AP4 porometer (DELTA-T Devices, Burwell, UK). The second leaves were collected from *hvabi5.d* and WT plants at each time-point and used for RNA extraction. The experiment was performed in five biological replications (each biological replicate represented leaf of one seedling). The method of expression analysis of selected ABA-related genes is described in *RT-qPCR Analysis of ABA-Related Genes*.

RESULTS

Sequence Analysis of HvABI5 and Its Homologues

We analyzed the genetic distance between HvABI5 (HORVU5Hr1G068230) and its Arabidopsis, rice (*Oryza sativa*), wheat (*Triticum aestivum*), and maize (*Zea mays*) homologs. Based on phylogenetic analysis, bZIP transcription factors closely related to HvABI5 grouped in three clades (Figure 1). HvABI5 amino acid sequence formed a clade together with most of AtABFs/AtAREBs in Arabidopsis, HvABF2 (HORVU7Hr1G035500) in barley, OsABF2 (Os06t0211200), OsABF4 (Os09g0456200) and TRAB1 (Os08t0472000) in rice, wABI5 (TraesCS5A02G237200) in wheat, and ZmABI5 (Zm00001d018178) in maize. AtABI5 grouped in another clade, together with barley HvABF1 (HORVU3Hr1G084360). HvABI5 showed the highest level of amino acid sequence similarity to wABI5 (94.3%), OsABF4 (73.2%), TRAB1 (62.4%), OsABF2 (56.7%), and ZmABI5 (56.4%) (Supplementary Material S4). Among Arabidopsis genes, the most similar to HvABI5 were AtABF4/AREB2 (52.7%), AtABF2/AREB4 (51.3%), and AtABF3 (50.2%), however AtABI5 also showed a high percentage of similarity to HvABI5 (41.6%). Therefore, we could not clearly indicate the ortholog of HvABI5 in Arabidopsis. Despite the higher similarity of HvABI5 to AtABF/AtAREBs than to AtABI5, we decided not to change its name, since this gene (HORVU5Hr1G068230, Ensembl Plants) was described as HvABI5 in the previous studies of Casaretto and Ho (2003); Seiler et al. (2014) and Ishibashi et al. (2017). Furthermore, our results obtained during physiological analyses of barley *hvabi5.d* mutant pointed to its clear and obvious ABA-dependent and drought-tolerant phenotype, which was not the case of the single *abf* mutants in Arabidopsis. Taking these findings together, we decided to use the HvABI5 as a name of an ABA-dependent drought regulator described in this study.

Initial Screening of *hvabi5* Mutants for Drought Stress Response

We identified 14 missense mutations in *HvABI5* gene (Ensembl Plants, Gene ID HORVU5Hr1G068230; GenBank acc. no. HQ456390.1) after screening of 6,144 M_2 plants of *Hor*TILLUS population. All identified mutations were confirmed by sequencing and most of them were G/C to A/T transitions.

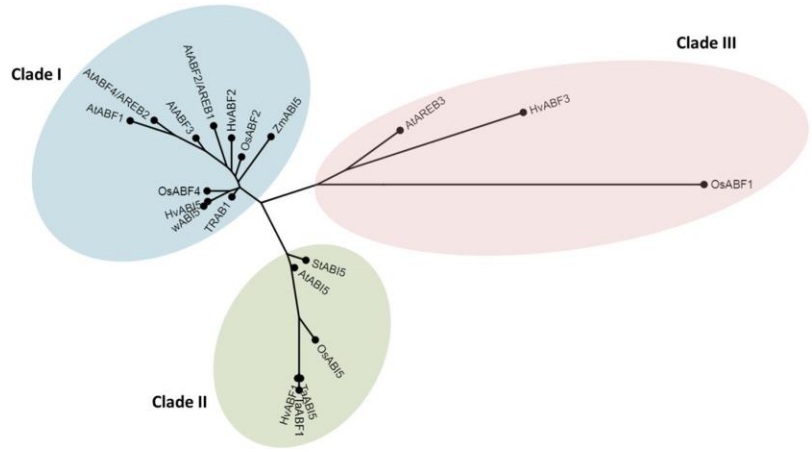


FIGURE 1 | Relationships between HvABI5 and its homologs. Phylogenetic tree was generated using Phylogeny.fr software (http://www.phylogeny.fr/).

TABLE 1 | Mutants carrying missense mutations in *HvABI5* gene (Ensembl Plants, Gene ID HORVU5Hr1G068230; GenBank acc. no. HQ456390.1) that were analyzed in initial drought stress experiment using Relative Water Content (RWC) test.

Allele	Mutation position in *HvABI5* gene	Position of amino acid substitution in HvABI5 protein	Region in HvABI5 protein	State of mutation in M_2 plant
hvabi5.b	G1621A	A231T	Non conserved	Homozygous
hvabi5.d	G1751A	R274K	Close to bZIP domain	Heterozygous
hvabi5.e	G1588A	D220N	Non conserved	Homozygous
hvabi5.i	G1229A	G100D	Close to C2 domain	Homozygous
hvabi5.o	T1135G	F69V	C1 domain	Homozygous
hvabi5.u	G1346A	G139E	Close to C2 domain	Homozygous
hvabi5.w	C1445T	P172L	Close to C3 domain	Homozygous

Seven of 14 identified mutants (Table 1, Supplementary Material S5), after seed increase in M_3/M_4 generation, were used for RWC screening after drought treatment. Four of the tested mutants (*hvabi5.d*, *hvabi5.e*, *hvabi5.o*, *hvabi5.u*) exhibited higher RWC than cv. "Sebastian" after exposure to 10-d of severe drought stress (1.5% vwc), while three other (*hvabi5.b*, *hvabi5.i*, *hvabi5.w*) showed no differences in RWC value compared to "Sebastian" (Figure 2). Based on RWC screening after drought treatment, conservation of positions of analyzed mutations in HvABI5 protein (Supplementary Material S5) and seed availability, we selected *hvabi5.d* mutant for further analysis.

hvabi5.d carries a G1751A transition (position according to Ensembl Plants, Gene ID HORVU5Hr1G068230) which results in the arginine to lysine substitution (R274K) located close to the bZIP domain (Figure 3A), at the highly conserved position across monocot and dicot species (Figure 3B; alignment of the entire ABI5 and ABF protein sequences is presented in Supplementary Material S5). Moreover, the *hvabi5.d* mutation is located nearby the ubiquitination site (K344) of AtABI5 described in Arabidopsis (Liu and Stone, 2013).

Study of *hvabi5.d* Sensitivity to ABA at Seed Germination and Seedling Development Stages

Taking advantage from *Atabi5* mutants, we addressed the question of *hvabi5. d* response to ABA during seed germination. The dynamics of germination of *hvabi5.d* and its WT "Sebastian" showed no difference under control conditions. However, after ABA treatment, *hvabi5.d* mutant turned out to be ABA-insensitive. The application of 75 μM ABA reduced germination of the WT to 50% of control, whereas no inhibition was observed in *hvabi5.d* (Figure 4A). Moreover, in the presence of 300 μM ABA, the rate of *hvabi5.d* germination reached approximately 30% of control, while germination of the WT seeds was almost completely inhibited (Figure 4B).

Given the fact that *hvabi5.d* displayed ABA-insensitivity at germination stage, we analyzed early seedling development of *hvabi5.d* mutant and the WT parent in the presence of ABA. Although ABA negatively impacted the first leaf growth in both, WT and *hvabi5.d*, no significant differences in leaf length were observed between these genotypes either in control or exposure to ABA (Supplementary Material S6). However, *hvabi5.d* showed a much lower ABA-dependent root inhibition, compared to the WT (Figure 5A).

Taking into account the regulatory role of ABA in photosynthesis, we analyzed the efficiency of photosynthesis process in *hvabi5.d* and WT seedlings after ABA treatment. To investigate the photosynthesis performance, we applied the JIP

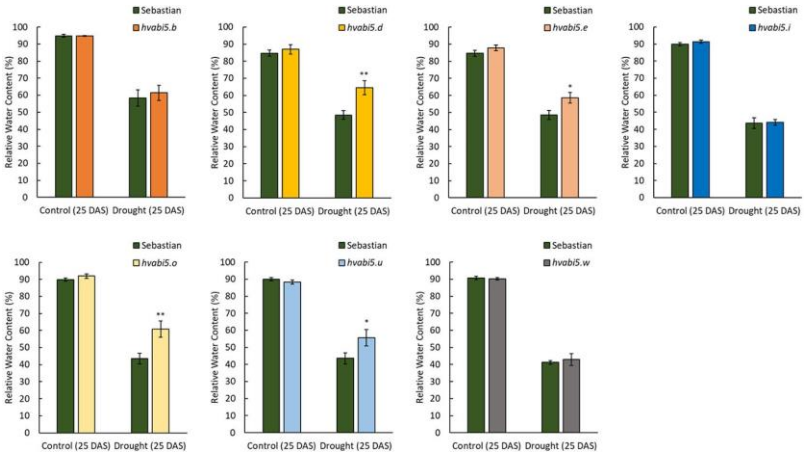


FIGURE 2 | The relative water content on 25 DAS under control conditions and 10-d drought treatment in *hvabi5.b*, *hvabi5.d*, *hvabi5.e*, *hvabi5.i*, *hvabi5.o*, *hvabi5.u*, *hvabi5.w* mutants and parent cv. "Sebastian". The statistical analysis was performed using the one-way ANOVA followed by Fisher's least significant difference test (LSD-test) to assess the differences between analyzed genotypes—*P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01.

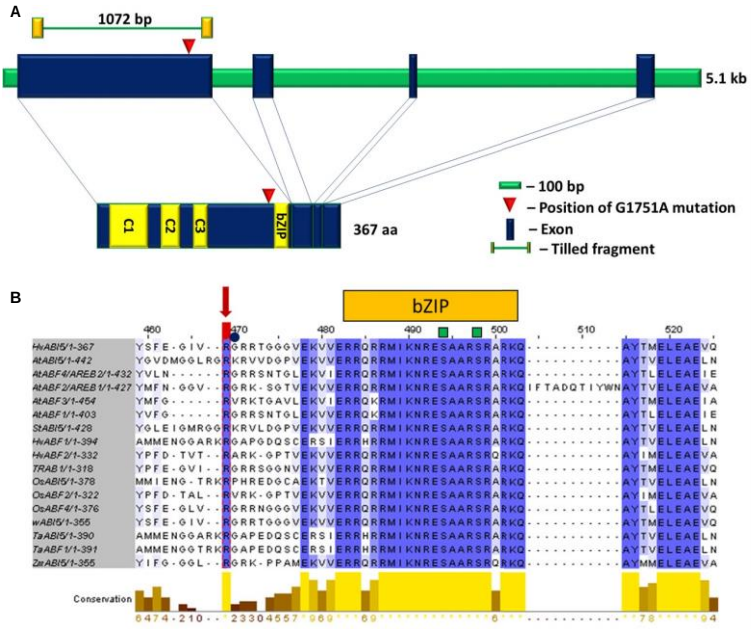


FIGURE 3 | (A) The structure of *HvABI5* gene and HvABI5 protein with the position of *hvabi5.d* mutation indicated. C1, C2, C3—conserved charged domains, bZIP—basic leucine zipper domain. (B) An alignment of ABI5 and ABF proteins fragment comprising *hvabi5.d* mutation position. The changed arginine (R274) in *hvabi5.d* is marked by a red arrow. The square and circle mark phosphorylation and ubiquitination sites, respectively. Blue color indicates conservation of aligned position, yellow bars mark level of conservation. The numbering visible in alignment visualization refers to multi sequence alignment of 17 ABI5 and ABF protein sequences in dicot and monocot species. It does not indicate the position of amino acids substituted in the *hvabi5.d* mutant given in Tab.1.

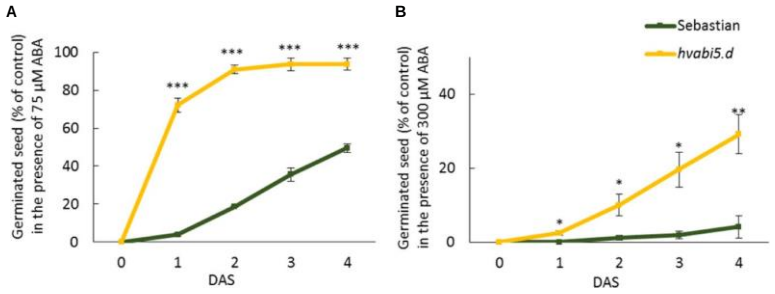


FIGURE 4 | Germination of *hvabi5.d* and WT "Sebastian" under 75 (A) and 300 µM ABA (B). DAS—day after stratification. The seed germination in the presence of ABA is presented as the percent of the control (untreated seeds) value. The statistical analysis was performed using the T-test to assess the differences between genotypes in the presence of ABA. Statistically significant differences are indicated by asterisks (*P ≤ 0.05. **P ≤ 0.01. ***P ≤ 0.001).

test (Strasser et al., 2004). The obtained OJIP transients were converted into the biophysical parameters. The *hvabi5.d* seedlings grown under control conditions already showed a lower PI_{ABS} value than the WT. ABA treatment decreased the value of PI_{ABS} in both genotypes studied, nonetheless, *hvabi5.d* displayed a significantly more diminished PI_{ABS} value, compared to "Sebastian" (Figure 5B). The other analyzed parameter, jP_0, was also lower in the mutant than in the parent cultivar after ABA treatment (Figure 5C). The values of jP_0 and PI_{ABS} indicated the significant decrease of photosynthesis efficiency in *hvabi5.d* compared to "Sebastian".

Apart from photosynthesis, we also measured the proline content in both genotypes. Proline is considered as an osmolyte that enables the osmotic adjustment during adaptation to abiotic stress. Although the proline content increased in response to ABA in both genotypes studied, the *hvabi5.d* accumulated twofold more proline than the WT (Figure 5D).

hvabi5.d Exhibited Drought Tolerance

Taking into consideration that *hvabi5.d* exhibited the ABA-insensitive phenotype at germination and early seedling stages, we investigated its reaction to drought stress in order to determine if *HvABI5* regulates drought response in barley. With the aim to characterize the physiological response of *hvabi5.d*, the leaf RWC, EL, and stomatal conductance were measured. No differences in leaf RWC between *hvabi5.d* and WT were observed under optimal water supply (control conditions) on 25 DAS. However, after 10-d exposure to drought stress, on the same 25 DAS, the mutant maintained 13% more water in leaf tissues than "Sebastian" according to the RWC value (Figure 6A). Moreover, drought stress induced more severe wilting in "Sebastian" compared to *hvabi5.d* (Figure 6B). Drought treatment induced a 5.4-fold increase of EL value in "Sebastian", whereas in *hvabi5.d* there was no significant difference between control and drought-treated plants on 25 DAS (Figure 6C). We also analyzed flavonol and anthocyanin content index before and after drought treatment in both genotypes. Flavonols and anthocyanins function as antioxidants which scavenge toxic reactive oxygen species (ROS), protecting cells from their negative impact and thus contributing to drought tolerance. Similar levels of both, flavonols and anthocyainins were observed in both genotypes under well-watered conditions (10 DAS), but their content was significantly higher in *hvabi5.d* than in "Sebastian" under drought (25 DAS) (Figures 6D, E). These results are consistent with leaf RWC measurements. In order to follow the stomata action during the drought stress, we measured the stomatal conductance (g_s) that describes the rate of gas exchange and transpiration between leaf and air. We analyzed this parameter before the drought treatment (10 DAS), at the drought onset (13 and 15 DAS), and after the severe drought stress (25 DAS) (Figure 6F). Both genotypes exhibited a vast reduction in stomatal conductance after severe drought. There were no significant differences between mutant and the WT when g_s was measured before stress application (10 DAS) and after prolonged drought treatment (25 DAS) (Figure 6F). However, at the drought onset, the *hvabi5.d* showed respectively 1.5 and threefold lower stomatal conductance on 13 and 15 DAS than the parent variety. The decreased stomatal conductance enables the reduced transpiration *via* stress-induced stomata closure. It can be assumed that the better response of *hvabi5.d* to drought may be associated with a faster stomata closure and therefore, the lower water loss.

Taking into account that *hvabi5.d* showed the impaired photosynthesis in response to ABA at early seedling growth, we analyzed photosynthesis performance of *hvabi5.d* and WT when exposed to drought. First, the fluorescence of chlorophyll *a* was analyzed as the OJIP transient fluorescence (Figure 7A), where the J-I phase is related to reduction of plastoquinone (PQ) and cytochrome (Cyt b_6f) and the I-P phase is associated with the reduction of the electron at the acceptor site of photosystem I (PSI) (Kalaji et al., 2016). The drought stress caused decrease of fluorescence only at the I-P phase in the WT, while in the *hvabi5.d* the decrease of the curve was observed already at the J-I phase and was even much more pronounced at the I-P phase (Figure 7A). These results indicate that photosynthesis is disturbed in *hvabi5.d* under drought. Moreover, some of the analyzed biophysical photosynthesis parameters were also

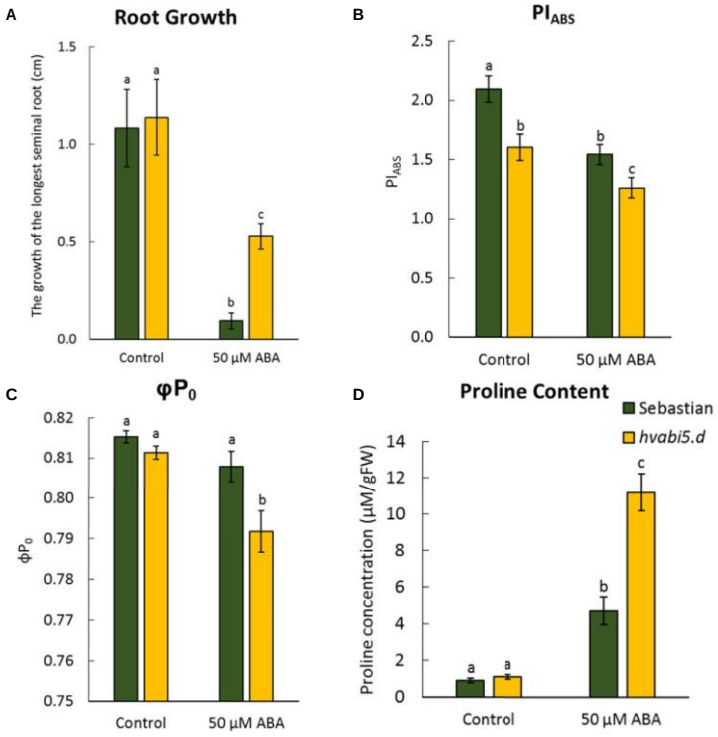


FIGURE 5 | *hvabi5.d* response to ABA at seedling stage. (A) The growth of the longest seminal root of seedlings of analyzed genotypes after 6 d of ABA treatment, (B) photosynthesis performance index (PI_{ABS}), (C) maximum quantum yield of primary photochemistry (jP_0), and (D) proline accumulation in seedlings of analyzed genotypes under control conditions and ABA (50 µM) treatment. The statistical analysis was performed using the two-way ANOVA ($P \leq 0.05$) followed by Tukey's honestly significant difference test (Tukey HSD-test) ($P \leq 0.05$) to assess the differences between different growth conditions and genotypes. Statistically significant differences ($P \leq 0.05$) are marked by different letters.

impaired in *hvabi5.d* in the presence of drought (25 DAS), among them PI_{ABS} and jP_0 (Figures 7B, C, Supplementary Material S7). PI_{ABS} indicates the amount of absorbed energy by electron acceptors, therefore its lower value denotes the impaired photosynthesis efficiency. The decreased photosynthesis efficiency in the mutant under drought might partially result from a more affected, compared to WT, stomatal conductance observed in the *hvabi5.d* at the onset of drought. It should be noted that under control conditions no differences in PI_{ABS} parameter were noted between the analyzed genotypes. The differences in PI_{ABS} value of the mutant observed under control conditions in two experiments (ABA and drought treatment) could arise from the developmental stage of analyzed plants and different experimental conditions, such as temperature and light intensity. Taking into account the impaired photosynthesis of *hvabi5.d*, we analyzed the content of chlorophyll in both genotypes. We detected no difference in chlorophyll content in genotypes analyzed under control conditions (10 DAS) (Figure 7D). However, we observed a decreased chlorophyll content in the mutant, compared to the WT under drought stress (25 DAS). It could be considered as another, besides the reduced stomatal conductance, cause of decreased photosynthesis efficiency in *hvabi5.d*.

The Expression of *HvABI5*-Related Genes Is Up-Regulated in *hvabi5.d* Under Drought Stress

hvabi5.d showed response to ABA and drought tolerant phenotype, therefore we analyzed expression of *HvABI5*-related genes: *HVA1* and *HVA22* that are described as HvABI5 target genes (Casaretto and Ho, 2003). *HVA1* and *HVA22* expression was induced by drought stress in both genotypes, however it was, respectively, 43-fold and 2-fold higher in *hvabi5.d* than in the WT (Figures 8A, B). On the other side, drought induced a significant reduction of *HvABI5* expression, but we did not observed differences between both genotypes analyzed (Figure 8C). Therefore, we investigated expression of the gene encoding another transcription factor, DEHYDRATION-RESPONSIVE FACTOR 1 (HvDRF1), which is known to act synergistically with HvABI5 in activating *HVA1* (Xue and Loveridge, 2004). *HvDRF1* showed a significantly higher expression in the *hvabi5.d* mutant already under

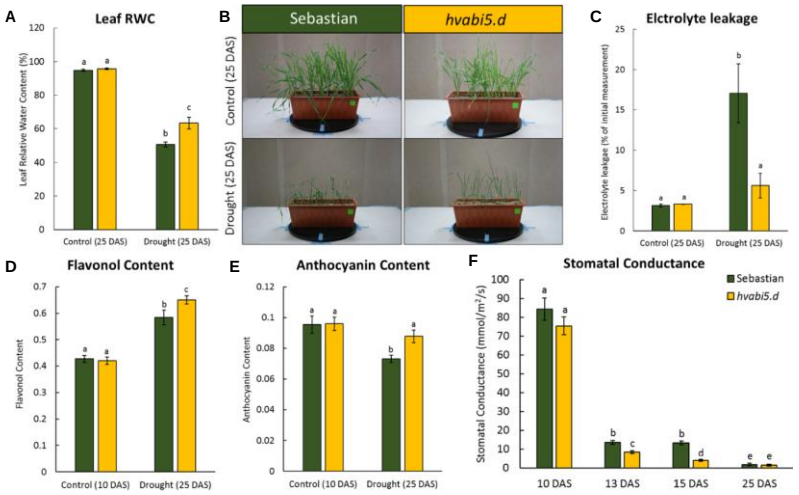


FIGURE 6 | *hvabi5.d* response to drought stress. (A) The relative water content on 25 DAS under control conditions and drought in *hvabi5.d* and "Sebastian". (B) The seedling of *hvabi5.d* and "Sebastian" on 25 DAS under control conditions and drought. (C) The EL on 25 DAS under control conditions and drought in *hvabi5.d* and "Sebastian" (D) The flavonol content (E) and anthocyanin content on the 10 and 25 DAS in *hvabi5.d* and "Sebastian". (F) The stomatal conductance (g_s) on the 10, 13, 15, and 25 DAS of analyzed genotypes. The statistical analysis was performed using the two-way ANOVA ($P \leq 0.05$) followed by Tukey's honestly significant difference test (Tukey HSD-test) ($P \leq 0.05$) to assess the differences between different growth conditions and genotypes. Statistically significant differences ($P \leq 0.05$) are marked by different letters.

optimal water conditions compared to its WT (Figure 8D). Drought caused even more pronounced increase of *HvDRF1* expression in *hvabi5.d*, whereas no differences were observed in the WT.

Transcriptome Analysis of *hvabi5.d* Under Drought Stress

Taking into account the drought tolerant phenotype of *hvabi5.d* and the higher expression of *HvABI5*-related genes, we anticipated that the global transcriptome analysis of this mutant under drought will help to shed light on the molecular mechanisms underlying its response to water deficit. For this purpose, we conducted the transcriptome analysis of *hvabi5.d* and its WT parent before drought treatment (10 DAS) and after 10-d drought stress application (25 DAS). The reliability of our microarray analysis was validated and confirmed using RT-qPCR analysis of genes which presented a wide range of expression levels in *hvabi5.d* under drought (Supplementary Material S8).

First, we addressed the question whether gene expression levels differed in *hvabi5.d* and "Sebastian" under optimal water supply, before the drought stress treatment. The comparison of *hvabi5.d* and WT transcriptomes revealed 933 DEGs (DEGs) in the mutant, among them 331 up- and 602 down-regulated genes ($FC \geq 2$; $P \leq 0.05$ after FDR correction) (Figure 9A). A relatively high number of DEGs could arise from the low cutoff criterion that was used in the analysis. Taking into account that *HvABI5* encodes a transcription factor, we decided to track expression level of a larger number of genes in order to avoid any oversight that might have happened if a stricter criterion was used for analysis. In order to get an insight into biological role of DEGs, the analysis of functional annotation was performed using AgriGO 2.0 (http://http://systemsbiology.cau.edu.cn/agriGOv2/).

Gene ontology (GO) analysis of the sets of genes specifically up- and down-regulated in the mutant indicated several over-represented biological processes (BP) associated with primary metabolism. In the set of up-regulated genes in *hvabi5.d* we identified processes such as: organonitrogen compound biosynthetic process, translation and protein folding (Supplementary Material S9). Furthermore, genes showing down-regulation specifically in *hvabi5.d* were categorized, among others, in BPs associated with ribonucleoside triphosphate and nucleoside triphosphate metabolic processes, ATP metabolic process and glycosyl compound metabolic process (Supplementary Material S9). The biological processes were considered as significant when P was less than 0.01 (assessed by the hypergeometric distribution followed by the Bonferroni method for multiple testing correction).

To investigate the transcriptome response to drought of *hvabi5.d* and its WT, we evaluated the gene expression level after drought stress (25 DAS) in relation to the conditions before drought treatment (10 DAS) for each genotype. Next, the DEGs were filtered out in order to obtain sets of genes specific for mutant and the WT. After drought treatment we found 625 up-regulated and 1,334 down-regulated genes specifically in *hvabi5.d*, whereas 329 and 436 genes were up- and down-regulated in "Sebastian", respectively ($FC \geq 2$; $P \leq 0.05$ after

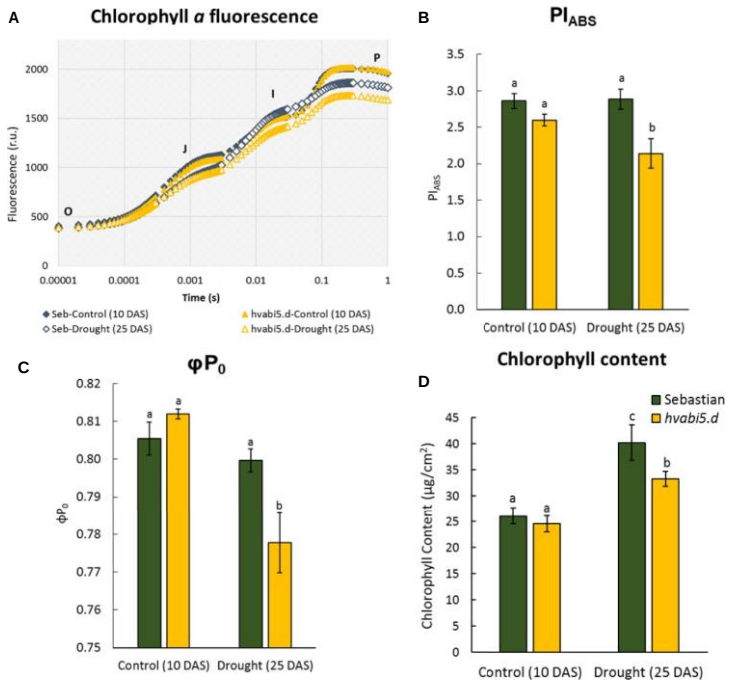


FIGURE 7 | The effect of drought stress on photosynthesis efficiency in *hvabi5.d* and cv. "Sebastian". (A) Chlorophyll *a* fluorescence curves during the pulse of light excitation, (B) performance index (PI_{ABS}), (C) maximum quantum yield of primary photochemistry (φP_0), and (D) chlorophyll content in analyzed genotypes under optimal water supply (10 DAS) and drought conditions (25 DAS). The statistical analysis was performed using the two-way ANOVA ($P \leq 0.05$) followed by Tukey's honestly significant difference test (Tukey HSD-test) ($P \leq 0.05$) to assess the differences between different growth conditions and between genotypes. Statistically significant differences ($P \leq 0.05$) are marked by different letters.

FDR correction) (Figure 9B). To get an insight into the biological relevance of differentially regulated genes, we performed GO enrichment analysis of mutant- and "Sebastian"-specific sets of DEGs (Supplementary Material S10). It indicated that processes, such as: cellular amide metabolic process, translation, and gene expression were overrepresented within the set of genes specifically up-regulated in *hvabi5.d* under drought (Supplementary Material S10). Therefore, we carried out a more detailed analysis of this set of genes to reveal those, which could be associated with the drought tolerant phenotype of the *hvabi5.d* mutant (Table 2). Among them were genes directly involved in HvABI5 pathway, such as *HVA22* homolog *A* and *Ethylene-responsive transcription factor 4/dehydration responsive element binding protein 3* (*ERF4/DREB3*). Both these genes are engaged in barley response to drought and showed a significant increase of expression in our experiments (Figure 8). Furthermore, we identified other genes up-regulated specifically in *hvabi5.d*, which encode proteins associated with abiotic stress tolerance, such as late embryogenesis abundant proteins (LEAs), heat shock proteins (HSPs: Heat shock 70 kDa protein 3, Heat shock 70 kDa protein 15), and heat stress transcription factor C2b (HSFC2B). Some of them were also shown to be involved in detoxification of cytotoxic metabolites, among them genes encoding detoxifying enzymes: PRXs (peroxidase superfamily proteins), SOD ([Cu-Zn]2), and genes associated with flavonoid biosynthesis (*Anthocyanidin reductase*, *Flavanone 3-hydroxylase*, *Chalcone-flavonone isomerase*, and *MYB domain protein 30*). A closer look at the set of up-regulated genes in *hvabi5.d* revealed the phytohormonal crosstalk, since genes related to brassinosteroid (*Delta(24)-sterol reductase*), gibberelin (*Gibberellin receptor GID1*), and jasmonate (*Transcription factor MYC2*) signaling were identified in this subset (Table 2).

Genes that were down-regulated specifically in *hvabi5.d* were found to be involved in biological processes related to primary metabolism e.g., translation, peptide metabolic process, organonitrogen compound biosynthetic process, cellular protein metabolic process, and gene expression (Supplementary Material S10). A detailed analysis of the down-regulated DEGs list in the mutant (Table 2) revealed genes associated with chlorophyll (*chlorophyll A/B binding protein 3* and *high chlorophyll fluorescence phenotype 173*), both related to photosynthesis efficiency. Other genes related to photosynthesis, such as genes encoding chaperones involved in RuBisCO assembly (chaperonin-like RbcX proteins) and chaperone associated with photosystem II assembly

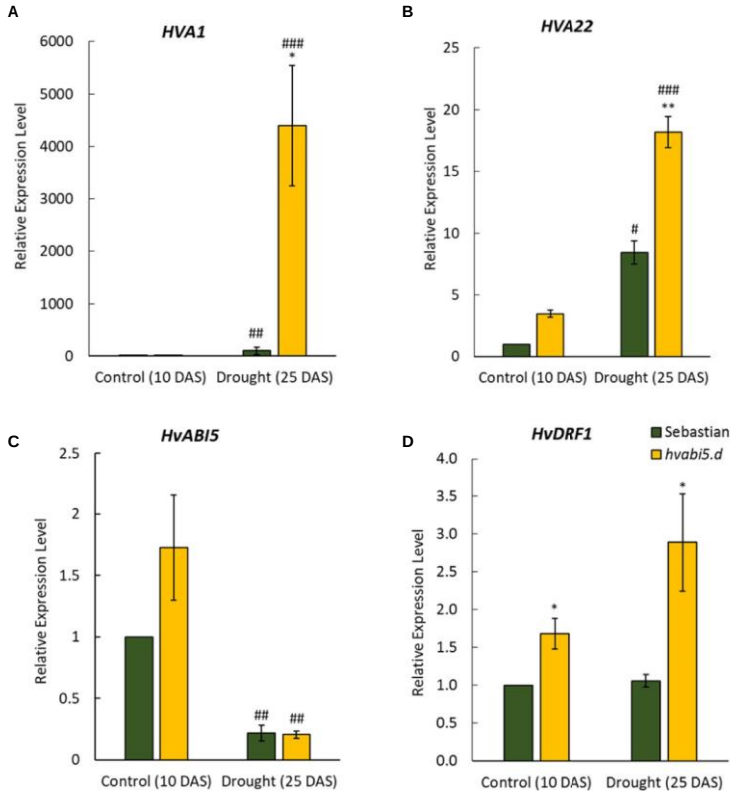


FIGURE 8 | The expression of *HvABI5*-related genes in *hvabi5.d* and WT "Sebastian" under optimal water supply (10 DAS) and drought stress (25 DAS). *HvDRF1*—*DEHYDRATION-RESPONSIVE FACTOR 1*. The statistical significance was estimated by T-test between analyzed genotypes—*P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01 and between analyzed points—$^{\#}$P ≤ 0.05, $^{\#\#}$P ≤ 0.01, $^{\#\#\#}$P ≤ 0.001.

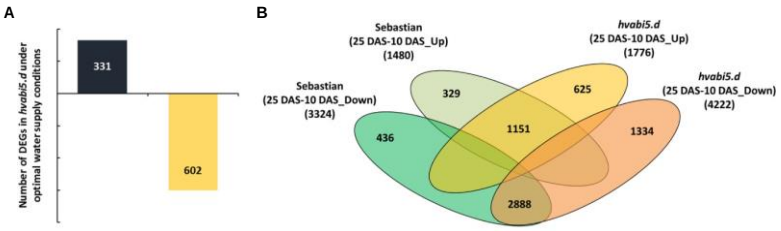


FIGURE 9 | Transcriptome analysis of *hvabi5.d* and its WT parent "Sebastian" under optimal water conditions (10 DAS) and drought stress (25 DAS). (A) The number of differentially expressed genes (DEGs) in *hvabi5.d* under optimal water supply (10 DAS) (P ≤ 0.05 after FDR correction; FC ≥ 2). (B) Comparative analysis of the numbers of DEGs after drought in,Sebastian' and the *hvabi5.d* mutant. In the Venn diagrams, the subsets of genes that were up-regulated or down-regulated specifically in "Sebastian" and in *hvabi5.d* after drought stress (25 DAS) compared to control conditions (10 DAS) are shown (P ≤ 0.05 after FDR correction; FC ≥ 2).

[tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein] were also identified in the down-regulated group (Table 2). Among the down-regulated set, several genes involved in auxin pathway (*auxin-responsive protein IAA6*, *auxin-responsive protein IAA23*, *auxin response factors 1*, *auxin response factor 2*, *auxin transporter-like protein 3*), brassinosteroid signaling (*leucine-rich receptor-like protein kinase family protein*, *Protein kinase superfamily protein*), gibberelin synthesis (*terpene synthase 04*), and cytokinin catabolism (*cytokinin dehydrogenase 2*) were identified (Table 2).

TABLE 2 | Differentially expressed genes (DEGs) identified in *hvabi5.d* after drought treatment associated with adaptation to abiotic stress, flavonoid biosynthesis, detoxification, photosynthesis, and phytohormonal pathways.

Category	Gene ID	Fold change	Annotation
Adaptation to abiotic stress	HORVU7Hr1G012300	8.61	LEA
	HORVU6Hr1G081460	5.31	Heat shock 70 kDa protein 3
	HORVU7Hr1G038040	3.92	HVA22 homolog A
	HORVU1Hr1G060490	3.59	Ethylene-responsive transcription factor 4
	HORVU7Hr1G088920	2.98	Heat stress transcription factor C-2b
	HORVU1Hr1G027420	2.92	Heat shock 70 kDa protein 15
	HORVU5Hr1G120230	2.90	Late embryogenesis abundant protein
	HORVU1Hr1G059870	2.47	Late embryogenesis abundant protein D-19
Flavonoid biosynthesis	HORVU2Hr1G108250	33.04	Anthocyanidin reductase
	HORVU2Hr1G110130	6.19	Flavanone 3-hydroxylase
	HORVU5Hr1G046480	3.29	Chalcone-flavonone isomerase
	HORVU5Hr1G123880	2.17	Myb domain protein 30
Detoxification	HORVU4Hr1G057210	2.84	Peroxidase superfamily protein
	HORVU4Hr1G057170	2.84	Peroxidase superfamily protein
	HORVU2Hr1G021110	2.20	Superoxide dismutase [Cu-Zn] 2
Photosynthesis	HORVU7Hr1G096250	−8.18	High chlorophyll fluorescence phenotype 173
	HORVU6Hr1G033160	−3.53	Chlorophyll A/B binding protein 3
	HORVU3Hr1G021910	−3.35	Tetratricopeptide repeat (TPR)-containing protein
	HORVU5Hr1G109940	−2.22	Chaperonin-like RbcX protein
	HORVU5Hr1G093930	−2.22	Chaperonin-like RbcX protein
Auxin pathway	HORVU1Hr1G016700	−2.59	Auxin transporter-like protein 3
	HORVU7Hr1G084940	−2.53	Auxin-responsive protein IAA23
	HORVU3Hr1G032230	−2.28	Auxin response factor 1
	HORVU3Hr1G070620	−2.17	Auxin-responsive protein IAA6
	HORVU2Hr1G076920	−2.08	Auxin response factor 1
	HORVU3Hr1G097200	−2.05	Auxin response factor 2
Gibberellin pathway	HORVU4Hr1G062730	13.10	Gibberellin receptor GID1
	HORVU2Hr1G099440	−2.07	Terpene synthase 04
Cytokinin pathway	HORVU3Hr1G027460	−2.53	Cytokinin dehydrogenase 2
Brassinosteroid pathway	HORVU7Hr1G120030	4.18	Delta(24)-sterol reductase
	HORVU5Hr1G114850	−2.27	Protein kinase superfamily protein
	HORVU3Hr1G068020	−2.04	Leucine-rich receptor-like protein kinase family protein
Jasmonic acid pathway	HORVU1Hr1G050560	2.71	Transcription factor MYC2

Based on transcriptome analysis of *hvabi5.d* response to drought, we assume that a better drought tolerance of the mutant results from of the higher activation of genes associated with the HvABI5 pathway and abiotic stress response mechanisms, together with the changed phytohormonal crosstalk. It should be underlined that we did not observe similar reactions to drought stress in the WT cv. "Sebastian" (Supplementary Material S11).

The Expression of ABA-Related Genes Is Changed in *hvabi5.d* Under Drought Stress

Having shown that *hvabi5.d* mutant displayed ABA insensitivity during seed germination/early root growth and drought-tolerant phenotype at seedling/tillering stage, we asked next whether *HvABI5* regulates barley drought response through the ABA-dependent way. To answer this question, we first analyzed the drought stress response of the genes encoding ABA metabolism and ABA signaling in *hvabi5.d* and WT. We compared plants grown under optimal water supply before drought (10 DAS) and after drought stress (25 DAS).

The balance between ABA biosynthesis and ABA catabolism is an important factor in activation of stress response (Chan, 2012). *9-cis-epoxycarotenoid dioxygenase-like* (*HvNCED1*) and *ABSCISIC ALDEHYDE OXIDASE 5b* (*HvAO5b*) encode key enzymes in ABA biosynthesis. Under optimal water supply (10 DAS) there were no significant differences between the expression level of *HvNCED1* and *HvAO5b* in WT and mutant (Figures 10A, B). Drought stress induced expression of *HvNCED1* in both genotypes, however the differences between *hvabi5.d* mutant and WT were prominent. Drought induced 160-fold increase of expression of *HvNCED1* in the mutant and 80-fold-increase in the WT. On the other hand, the expression of *HvAO5b* gene encoding the last step of ABA biosynthesis raised to the higher level in the WT than in mutant, 55-fold and 20-fold compared to control conditions, respectively.

ABA can be also pooled in ABA-glucose esters (Xu et al., 2014). We analyzed the expression of barley b-*GLUCOSIDASEs* genes, *HvBG8* and *HvBG4*, responsible respectively, for de- conjugation and conjugation of ABA-glucose esters (Figures 10C, D). Under optimal water conditions expression of *HvBG8* was very low and did not differ between *hvabi5.d* and WT. In response to drought stress, a 500-fold increase of *HvBG8* expression was observed in the WT and remarkably, a 2,000- fold increase in the mutant. The expression of *HvBG4* showed a different pattern of expression than *HvBG8*, as drought treatment drastically decreased its transcription level in both genotypes. Under optimal water conditions the *hvabi5.d* mutant showed a 5.5-fold higher expression of *HvBG4* compared to "Sebastian", while after drought

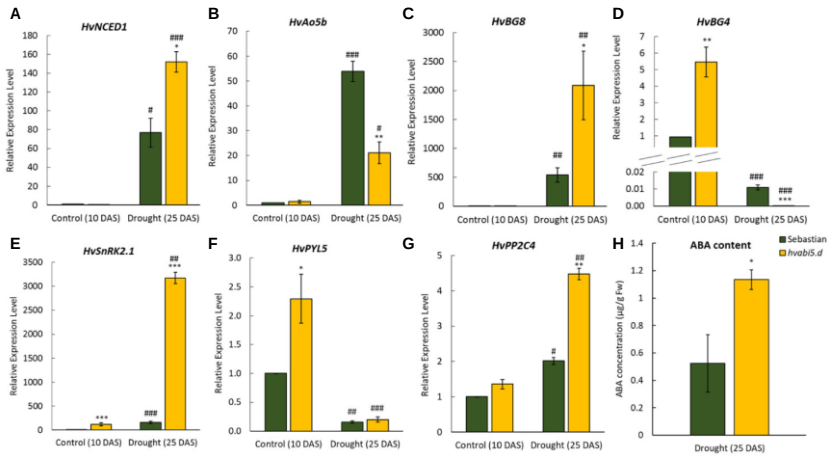


FIGURE 10 | The expression of ABA pathway-related genes in *hvabi5.d* and its WT parent "Sebastian" under optimal water supply (10 DAS) and drought stress (25 DAS). (A) *HvNCED1—CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE1*, (B) *HvAO5b—ABSCISIC ALDEHYDE OXIDASE5b*, (C) *HvBG8*—b-*GLUSIDASE8*, (D) *HvBG4*, (E) *HvSnRK2.1—SNF1-RELATED PROTEIN KINASE 2.1*, (F) *HvPYL5—PYRABACTIN RESISTANCE 1-LIKE 5*, and (G) *HvPP2C4—PROTEIN PHOSPATASE 2C 4*. The statistical significance was estimated by T-test between analyzed genotypes—*P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01, ***P ≤ 0.001 and between analyzed points—#P ≤ 0.05, ##P ≤ 0.01, ###P ≤ 0.001. (H) Endogenous ABA content on 25 DAS under drought in *hvabi5.d* and "Sebastian". The statistical significance was estimated by T-test between analyzed genotypes—*P ≤ 0.05, **P ≤ 0.01, ***P ≤ 0.001.

regulated to a greater extent in the mutant (−3,300-fold) than in the WT (−91-fold).

The expression analysis of ABA metabolism genes demonstrated that their regulation differed in *hvabi5.d* and its WT parent. It raised the possibility that HvABI5 might be engaged in the fine tuning of ABA signaling by a feedback regulation between biosynthetic and signaling events. To test this hypothesis the expression of core ABA signaling genes: *SNF1-RELATED PROTEIN KINASE2.1* (*HvSnRK2.1*), *PYRABACTIN RESISTANCE 1-LIKE 5* (*HvPYL5*), and *PROTEIN PHOSPATASE2C4* (*HvPP2C4*) was evaluated in the *hvabi5.d* and WT before and after drought treatment (Figures 10E–G). *HvSnRK2.1* and *HvPYL5* were up-regulated in the *hvabi5.d* compared to the WT already under optimal water conditions. After drought stress the down-regulation of *HvPYL5* was observed and no differences between both genotypes were noticed. Interestingly, in response to drought the level of *HvSnRK2.1* and *HvPP2C4* expression was significantly higher in *hvabi5.d* than in the WT and the exceptional 3000-fold change of *HvSnRK2.1* expression in the mutant, 20 times higher than in "Sebastian" was noted. We discuss these results in the further section of the paper.

Endogenous ABA Content Is Higher in *hvabi5.d* Than in WT Under Drought

Expression of the key ABA metabolism and signaling genes was induced to much higher level in *hvabi5.d* than in WT under drought. Therefore, we presumed that endogenous ABA level might differ in the mutant compared to its parent cultivar. To answer this question, we measured ABA content in plants of both genotypes grown under optimal water conditions and exposed to 10-d drought stress. ABA concentration was below detection level under optimal water supply in "Sebastian" and *hvabi5.d*, whereas in response to drought ABA accumulation increased in both genotypes. Interestingly, the drought stress caused the two-fold higher increase of endogenous ABA content in the *hvabi5.d* than in the WT (Figure 10H).

Promoters of ABA Biosynthesis and Signaling Genes Contain AtABI5 Binding Motifs

ABI transcription factors (AtABI4 and AtABI5) were shown to be involved in a feedback regulation of ABA biosynthesis and signaling genes through direct binding to their promoters and activating their expression (Shu et al., 2016; Wang et al., 2019). Taking into account the changed expression pattern of ABA biosynthesis and signaling genes in *hvabi5.d* under drought, we analyzed transcription factor binding sites in their promoters. We found that promoters of *HvNCED1*, *HvSnRK2.1*, and *HvPP2C4* are enriched in motifs recognized by AtABI5 (Supplementary Material S12). Therefore, *HvABI5* might be involved in a feedback regulation of the ABA pathway to ensure the proper amplification of ABA signal in the presence of drought.

hvabi5.d Showed Faster Stomata Closure and Changed Expression of ABA-Related Genes Under ABA Treatment

To confirm if *HvABI5* regulates barley response to drought in the ABA-dependent way, we analyzed stomatal conductance and

expression of the selected ABA-related genes in response to exogenously applied ABA. In order to test whether *hvabi5.d* stomata are sensitive to exogenously applied ABA, we measured stomatal conductance 30 min, 3, and 6 h after ABA spraying (Figure 11A). The reaction of *hvabi5.d* stomata to ABA was noticed faster than of the WT, already 30 min after treatment. Both genotypes showed the reduction of stomatal conductance 3 and 6 h after ABA treatment, however, 3 h after treatment the stomatal conductance was almost twofold lower in *hvabi5.d* than in WT. These results indicate that mutant stomata were more sensitive to ABA than stomata of its WT parent. Thus, to check the ABA-dependent response of *hvabi5.d* and the WT, we analyzed the expression of ABA biosynthesis gene, *HvNCED1*, and ABA signaling gene, *HvSnRK2.1*, in leaves of both genotypes 3 h after ABA treatment. It should be underlined that drought treatment activated transcription of both genes to the much higher levels in the *hvabi5.d* mutant than in "Sebastian". As previously described, the expression of *HvSnRK2.1* was higher in *hvabi5.d* than in the WT under control conditions. The ABA treatment highly induced *HvNCED1* and *HvSnRK2.1* expression in both genotypes, nevertheless the expression of *HvNCED1* and *HvSnRK2.1* was much higher in *hvabi5.d* compared to WT, 3 and 76 times, respectively (Figures 11B, C). ABA also activated *HvABI5* expression, however we observed no differences between *hvabi5.d* and "Sebastian" (Figure 11D).

DISCUSSION

Here, we report the first barley mutant (*hvabi5.d*) carrying a missense mutation in *HvABI5* gene (Ensembl Plants, Gene ID HORVU5Hr1G068230). HvABI5 belongs to the ABA-dependent bZIP transcription factors that in response to abiotic stresses regulate directly expression of genes containing ABRE motifs in their promoters (Kagaya et al., 2002; Kobayashi et al., 2008; Hossain et al., 2010a; Yan et al., 2012; Piao et al., 2019). Of the Arabidopsis bZIP genes with ABRE motifs, HvABI5 appears to be more related to AtABFs/AtAREBs than to AtABI5. Both, AtABI5 and AtABFs/AtAREBs regulate plant response to abiotic stresses including drought, although at different developmental stages. AtABI5 takes part in plant response to stress mostly at the germination and seedling stages (Finkelstein and Lynch, 2000; Carles et al., 2002; Bi et al., 2017), while AtABFs/AtAREBs act mostly during

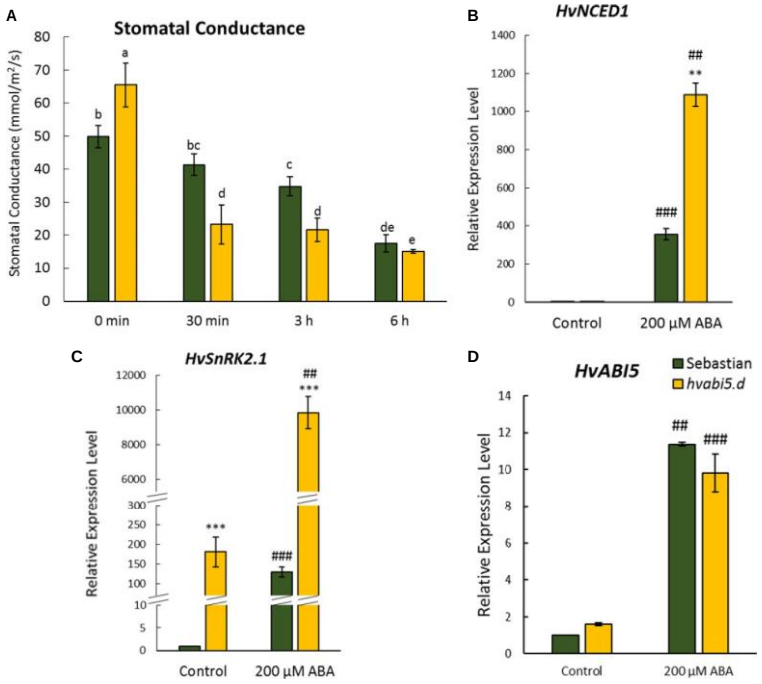


FIGURE 11 | Response of *hvabi5.d* to ABA spraying. (A) Stomatal conductance of *hvabi5.d* and its WT parent "Sebastian" after ABA treatment. The statistical analysis was performed using the two-way ANOVA ($P \leq 0.05$) followed by Tukey's honestly significant difference test (Tukey HSD-test) ($P \leq 0.05$) to assess the differences between different growth conditions and between genotypes. Statistically significant differences ($P \leq 0.05$) are marked by different letters. The expression of (B) *HvNCED1—CAROTENOID CLEAVAGE DIOXYGENASE1* (C) *HvSnRK2.1—SNF1-RELATED PROTEIN KINASE 2.1*, and (D) *HvABI5—ABA INSENSITIVE5* in *hvabi5.d* and its WT 3 h after ABA treatment. The statistical significance was estimated by T-test between analyzed genotypes—**$P \leq 0.01$, ***$P \leq 0.001$ and between analyzed points—$^{\#\#}P \leq 0.01$, $^{\#\#\#}P \leq 0.001$.

vegetative growth and their role seems to be highly redundant (Fujita et al., 2005; Yoshida et al., 2010; Yoshida et al., 2015). In our phylogenetic analysis HvABI5 grouped more closely to AtABFs/AtAREBs than to AtABI5, nevertheless the level of the sequence identity between HvABI5 and AtABFs/AtAREBs and between HvABI5 and AtABI5 were very similar. Although we cannot indicate the functional ortholog of HvABI5 in Arabidopsis, it is possible that barley HvABI5 might share common functions with both, AtABFs/AtAREBs and AtABI5. This presumption is supported by the fact that HvABI5 shows the highest level of similarity to monocot bZIPs such as wheat wABI5, rice TRAB1, OsABF4 and OsABF2, and maize ZmABI5, which act as ABA-dependent transcription factors. wABI5, TRAB1, and OsABF2 were described as positive regulators of response to abiotic stresses, including drought in vegetative tissues of these species (Kagaya et al., 2002; Kobayashi et al., 2008; Hossain et al., 2010a). Close phylogenetic relationship of HvABI5 with wABI5, TRAB1, and OsABF2 enhanced our hypothesis that HvABI5 may act as the ABA-dependent regulator of drought response in barley vegetative tissues.

According to the *in silico* analysis and alignment with AtABI5, R274K substitution caused by G1751A mutation in the *hvabi5.d* is located close to the ubiquitination site in the ABI5 protein. The analyzed mutation can generate or diminish the site of post-translational modification in HvABI5, which in turn may change its activity. In this study we confirmed that barley *ABI5* regulates ABA response at early developmental stages, as *hvabi5.d* mutant showed a significantly reduced ABA sensitivity during seed germination and root growth. Similar reaction was reported for Arabidopsis mutants in *AtABI5* and *AtABFs*/*AtAREBs* genes (Finkelstein, 1994; Carles et al., 2002; Yoshida et al., 2010) and rice mutant in *OsABF2* gene (Hossain et al., 2010a). During seedling development in hydroponic conditions in the presence of ABA, *hvabi5.d* was able to accumulate more proline than its parent cv. "Sebastian" and showed the reduced efficiency of photosynthesis. Moreover, we observed a faster stomatal closure in the mutant compared to WT after ABA spraying of 10-d old seedlings. The results obtained after ABA treatment gave us premises to presume that *HvABI5* is involved in the regulation of ABA signaling in barley.

hvabi5.d Showed a Water-Saving Mechanism in Response to Severe Drought Stress

hvabi5.d showed a drought-tolerant phenotype manifested mainly by the ability to store water more efficiently than its WT parent "Sebastian". Our experiment revealed that the higher RWC in *hvabi5.d* leaves after severe drought stress might result from a better membrane protection and a faster stomatal closure. The cell membrane stability expressed as percentage of EL is an indicator of the level of tolerance to water stress in plants (Bajji et al., 2002). Our results showed that the cellular membranes of the *hvabi5.d* were less damaged than the WT after drought treatment.

Better membrane performance in *hvabi5.d* under drought stress might result from the more efficient activation of protection mechanisms in the mutant, as revealed by transcriptomic analysis. In response to drought, the *hvabi5.d* showed increased expression of genes encoding late embryogenesis abundant proteins (LEAs) and HSPs (heat shock 70 kDa protein 3, Heat shock 70 kDa protein 15). The LEA and HSP proteins enable adaptation to abiotic stress through protection of proteins and membrane structure (Vinocur and Altman, 2005; Shinozaki and Yamaguchi- Shinozaki, 2007; Bhatnagar-Mathur et al., 2008). AtABI5, AtABFs/AtAREBs, and their monocot homologs were shown to regulate expression of *LEA* genes (Kobayashi et al., 2008; Yoshida et al., 2010; Yan et al., 2012; Su et al., 2016). In barley, HvABI5 was shown to directly activate *HVA1* and *HVA22* genes that encode LEA proteins that ensure tolerance to low water availability (Hong et al., 1992; Shen et al., 2001). It was also shown that *HVA1* is regulated by other transcription factor, HvDRF1 (Xue and Loveridge, 2004). We observed the increased expression of *HVA1*, *HVA22*, and *HvDRF1* in *hvabi5.d* under drought. Furthermore, the global transcriptome analysis also revealed a higher expression of *HVA22 homolog A* and *ethylene- responsive transcription factor 4/dehydration responsive element binding protein 3* (*HvDRF1*). Therefore, the increased activation of *HVA1* and *HVA22* in the mutant may result simultaneously from the changed activity of HvABI5 protein and the higher expression of *HvDRF1*. Taken together, the higher water content and better membrane stability of *hvabi5.d* under water stress, compared to the WT, can be associated with up-regulation of *LEA* and *HSP* genes.

In addition, better membrane stability of *hvabi5.d* and its drought tolerant phenotype might be related to a higher content of flavonoids: flavonols and anthocyanins. Flavonoids protect plants against ROS under abiotic stress (Di Ferdinando et al., 2012; Davies et al., 2018). The higher expression of genes encoding flavonoid biosynthesis enzymes (anthocyanidin reductase, flavanone 3-hydroxylase, chalcone-flavonone isomerase, and MYB domain protein 30) observed in our study could explain the higher flavonoid content in *hvabi5.d* under drought. The relationship between *AtABI5* and anthocyanins biosynthesis was previously observed in Arabidopsis by Brocard et al. (2002). Another mechanism contributing to increased drought tolerance of *hvabi5.d* could be related to detoxification enzymes, that similarly to flavonoids protect against ROS under abiotic stress (Anjum et al., 2016; Mishra and Sharma, 2019). The increased expression of genes encoding PRXs (peroxidase superfamily proteins) and SOD ([Cu-Zn] 2) could alleviate drought-induced damages in *hvabi5.d*. It was shown that ABI5 directly regulated expression of genes encoding detoxification enzymes in Arabidopsis and barley (Bi et al., 2017; Ishibashi et al., 2017). Moreover, over-expression of *ZmABI5*, a maize homolog of *HvABI5*, activated expression of *ASCORBATE PEROXIDASE (APX)* under drought (Yan et al., 2012).

Another physiological trait that ensures a low water loss is stomatal closure in response to water scarcity. We observed a lower stomatal conductance in *hvabi5.d* mutant than in WT at the onset of drought stress (13 and 15 DAS), but not after application of severe drought (25 DAS). The faster stomata

closure can also contribute to the increased drought tolerance of *havbi5.d.* We discuss the possible mechanism underlying this process in the further part of *Discussion*.

The altered HvABI5 function in *hvabi5.d* mutant negatively influenced the photosynthesis efficiency and chlorophyll content under drought stress. We presumed that impaired photosynthesis of *hvabi5.d* after drought treatment could be the effect of both, the lower stomatal conductance at the onset of drought stress and the lower chlorophyll content. The role of ABA and ABA signaling components in chlorophyll degradation has been well described (Yang et al., 2014; Gao et al., 2016). In Arabidopsis, the involvement of AtABI5 in regulation of photosynthesis was shown in terms of repression of *ABA-RESPONSE PROTEIN* (*ABR*) responsible for protection of photosynthesis proteins (Su et al., 2016). Furthermore, AtABI5 directly promoted expression of chlorophyll catabolism-related genes (*STAYGREEN 1—SGR1* and *NON-YELLOW COLORING 1—NYC1*) (Sakuraba et al., 2014). Similarly, AtABFs/AtAREBs were shown to regulate directly genes associated with chlorophyll degradation: *SGR1*, *NYC1* and *PHEOPHORBIDE A OXYGENASE* (PAO) (Gao et al., 2016). In rice OsABF4 activated directly expression of *OsSGR1* and *OsNYC1* (Piao et al., 2019). Our transcriptomic data revealed the lower expression level of both, photosynthesis-related genes (*chaperonin-like RbcX proteins*, *TPR-containing protein*) and genes associated with chlorophyll function (*chlorophyll A/B binding protein 3*, *high chlorophyll fluorescence phenotype 173*) in *hvabi5.d* under drought.

It should be noted that *hvabi5.d* is the first *ABI5* mutant evaluated in detail in terms of tolerance to drought stress. Arabidopsis *Atabi5-1* mutant has not been characterized in this respect, it was only described as "not-wilty" in databases (Finkelstein and Lynch, 2000; http://www.arabidopsis.org, AT2G36270). The same lack of data applies to *abi5* mutants of *Medicago truncatula* and *Pisum sativum* (Zinsmeister et al., 2016). The only mutants studied in this respect: *Atabf4*/*Atareb2*, *Atabf3*, *Osabf1*, and *Osabf2* showed a lower survival rate after drought application (Hossain et al., 2010a; Hossain et al., 2010b; Yoshida et al., 2010). The changed expression of *AtABI5* under drought stress (Brocard et al., 2002), a drought tolerant phenotype of plants over-expressing *wABI5* and *AtABFs*/*AtAREBs* genes (Kang et al., 2002; Fujita et al., 2005; Kobayashi et al., 2008) and drought sensitive phenotype of lines over-expressing *ZmABI5* (Yan et al., 2012) are in agreement with the role of barley ABI5 in drought response presented in this study.

Drought Response of *hvabi5.d* Is the ABA-Dependent Process

Regarding *hvabi5.d* response to ABA at early seedling stage and its drought tolerant phenotype we presumed that *HvABI5* regulated drought response in the ABA-dependent way. To verify this hypothesis, we analyzed expression of the ABA pathway genes under drought and ABA. Among two genes encoding key enzymes in ABA biosynthesis (*HvNCED1* and *HvAo5b*) analyzed in our study, only *HvNCED1*, which is a rate-limiting enzyme for ABA biosynthesis, showed a much higher expression in *hvabi5.d*, compared to WT, in response to drought and ABA. The expression of *HvAo5b* increased after drought stress in both genotypes. However, the much lower transcription level of *HvAo5b* in *hvabi5.d* than in the WT might level out the effect of the high *HvNCED1* expression in the mutant. Furthermore, *hvabi5.d* showed, respectively, higher and lower expression of *HvBG8* and *HvBG4* after drought. *HvBG8* is responsible for ABA de-conjugation, whereas *HvBG4* takes part in ABA conjugation. It suggests that ABA is more effectively released from ABA glucosyl esters in *hvabi5.d* in response to drought. This mechanism might be important for the higher drought tolerance of the mutant.

We investigated also the expression of genes encoding the core ABA signaling, such as *HvPYL5*, *HvPPC4*, and *HvSnRK2.1*. According to the basic model of ABA signal pathway, in the presence of endogenous ABA PYR/PYLs receptors interact with PP2Cs and inhibit phosphatase activity, allowing SnRK2 activation and phosphorylation of target proteins, among them ABI5. In our study, the down-regulation of *HvPYL5* and up-regulation of *HvPP2C4* was observed in both, *hvabi5.d* and WT, in response to drought. However, the increase of *HvPP2C4* expression was twofold higher in the mutant than in the WT. Moreover, we noticed substantially higher activation of *HvSnRK2.1* in *hvabi5.d* than in WT under drought and ABA. Increased induction of *HvSnRK2.1* expression was also observed by Seiler et al. (2014) in drought-tolerant line of barley. It can be presumed that the increased level of *HvSnRK2.1* expression in *hvabi5.d* enables the amplification of ABA signaling and activation of ABA-related genes.

Drought-induced ABA biosynthesis is one of the main processes of plant adaptation to stress (Yoshida et al., 2019). The increased expression of ABA metabolism genes in *havbi5.d* resulted in the higher ABA content in the mutant compared to the WT. It indicates that *HvABI5* takes part in triggering ABA accumulation and subsequent activation of ABA signaling, which in turn ensures response to drought through many mechanisms, among them stomatal closure.

Together, these findings demonstrated the role of *HvABI5* in the feedback regulation of components of ABA biosynthesis and signaling under drought stress. We showed a possibility of HvABI5 engagement in a feedback up-regulation of ABA synthesis (via *HvNCED1*) that may help to amplify the ABA signal under stress and simultaneous up-regulation of PP2C4 that might contribute to avoiding the over-amplification of the stress signal in order to maintain adaptation and performance under stress. Recently AtABF1, AtABF2, AtABF3, AtABF4, and AtABI5 were shown to bind directly to promoters of *ABI1* and *ABI2*, which encode PP2C type phosphatases. This mechanism ensures negative feedback loop in ABA signaling (Wang et al., 2019). Similarly, the up-regulation of *HvSnRK2.1* in the *hvabi5.d* mutant raises the possibility of *HvABI5* engagement in the feedback regulation of this kinase activity. It should be underlined that we found ABI5 binding elements in the promoters of *HvNCED1*, *HvPP2C4*, and *HvSnRK2.1*. Thus, it might be possible that HvABI5 directly regulates expression of these genes. Simultaneous upregulation of ABA synthesis *via*

induction of *HvNCED1*, and ABA signaling *via* induction of *HvPP2C4* and *HvSnRK2.1* in *hvabi5.d* mutant in response to drought stress indicate a fine-tuned control of the amplification of stress signaling and needs further investigations.

Our results strongly support the hypothesis that drought response of *hvabi5.d* is the ABA-dependent process. Yet, *hvabi5.d* showed reduced ABA sensitivity at germination stage. It indicates that ABA-dependent function of *HvABI5* at seed germination differs from its role in the regulatory pathway involving *HvABI5* under drought stress. *HvABI5* expression is not restricted to a short developmental window during seed germination and early seedling growth, as shown in Arabidopsis (Maia et al., 2014). It is possible that HvABI5 has acquired new functions during evolution in barley. It has been proved that genes responsible for plant fitness evolve faster than core metabolism genes (Nelissen et al., 2014). Furthermore, many abiotic stress tolerance mechanisms of monocots can differ from those in Arabidopsis (Tester and Bacic, 2005). In Arabidopsis, ABA-mediated response to abiotic stress is regulated by *AtABI5* in seeds and *AtABFs/AtAREBs* in leaves and roots at vegetative stage. However, function of *AtABFs/AtAREBs* in ABA signaling is highly redundant. Here, we indicate that due to evolution events *HvABI5* shares some function with *AtABI5* and *AtABFs/AtAREBs* and acts simultaneously as the ABA-dependent regulator at the seed germination stage and in response to drought in seedling vegetative tissues. Contrary to *AtABFs/AtAREBs*, the role of *HvABI5* under drought seems to be individual since *hvabi5.d* shows drought tolerant phenotype, while triple *Atabf2*/*areb1 Atabf4*/*areb2 Atabf3* mutant exhibited significantly disturbed phenotype under drought (Yoshida et al., 2010). On the other side, similarly to *AtABFs/AtAREBs*, *HvABI5* acts in the ABA signaling as a regulator of *LEAs* expression, chlorophyll catabolism and stomatal closure, and takes part in the feedback regulation of ABA pathway. In monocots, *wABI5*, *OsABF2*, *TRAB1*, and *ZmABI5* regulate ABA-mediated drought response by activation of stress responsive genes in seedling vegetative tissues (Kagaya et al., 2002; Kobayashi et al., 2008; Hossain et al., 2010a; Yan et al., 2012). Furthermore, *OsABF2* and *ZmABI5* were also shown to be active in seeds (Hossain et al., 2010a; Zhang et al., 2019). We revealed that function of HvABI5 as the ABA-dependent regulator of stress response is similar to its close monocot homologs.

Finally, we want to address the issue of the impact of possible background mutations on *hvabi5.d* phenotype. Taking into account that *hvabi5.d* was identified in the TILLING population derived from chemical mutagenesis, such a possibility cannot be ruled out. The best way to prove that the observed phenotypic change results from the identified mutation is to complement the mutated allele through genetic transformation with the WT gene. However, in barley the effective transformation is restricted merely to a single cultivar, "Golden Promise". Cultivar "Sebastian"—the parent of *hvabi5.d* mutant turn out to be recalcitrant to *Agrobacterium* transformation in our preliminary experiments (data not shown). However, it should be underlined that *hvabi5.d* was identified as one of four mutants with different *hvabi5* alleles that performed better than WT after drought treatment in our preliminary screening. We examined seven independent TILLING mutants carrying different alleles in the *HvABI5* gene for their response to drought stress. Four of these mutants, including *hvabi5.d*, showed increased water content after drought treatment in the RWC assay. Three other tested alleles showed no significant differences in RWC value compared to WT, which indicates that these missense mutations did not evoke any significant changes in function of HvABI5 protein.

Furthermore, we developed *hvabi5.d* lines after two back-crosses to the parent cultivar "Sebastian" to clean the mutant from the possible background mutations. The created F_4BC_2 lines with *hvabi5.d* allele were then analyzed for the basic physiological traits related to drought response (RWC, flavonol and anthocyanin content, stomatal conductance) after exposure to drought stress. We also examined expression of HvABI5- related genes (*HVA1*, *HVA22*, *HvDRF1*) and genes involved in ABA biosynthesis, metabolism, and signaling (*HvNCED1*, *HvBG8*, *HvSnRK2*, and *HvPP2C4*) in these lines. All analyzed physiological parameters, as well as expression of all analyzed genes in the *hvabi5.d* F_4BC_2 were similar to those observed in the mutant exposed to drought, described in this study (Supplementary Material S13). Taken together our analysis clearly confirmed the association between *HvABI5* function and regulation of drought stress response in barley. It should be noted that another approach to linking phenotype and a causative mutation i.e., analysis of their co-segregation in a segregating F_2 population cannot be performed for qualitative traits such as drought tolerance. In the case of *hvabi5.d* it was not possible to distinguish between mutant and WT phenotype in zero-one categories. All tests used in the presented study required biological replications, therefore the analysis of segregation in F_2 generation could not be performed on the basis of single plants phenotyping.

CONCLUSIONS

The presented results bring the set of new data regarding the function of *HvABI5* in the ABA signaling during drought response in barley. We found that *HvABI5* takes part in regulation of processes associated with drought stress tolerance, such as membrane protection, flavonoid accumulation, and stomatal closure. *HvABI5* activates expression of stress-responsive genes, which ensure plant adaptation to drought stress. We proved that *HvABI5* regulates drought response in the ABA-dependent way. Our data indicate that *HvABI5* can directly activate ABA biosynthesis and signaling genes and therefore it ensures the proper amplification of ABA signal under drought. We also found that the ABA-dependent regulatory role of *HvABI5* during drought response differs from its role at seed germination. Together, these findings increase our understanding of ABI5-dependent modulation of plant response to the abiotic stress. Further analysis is needed to confirm the interaction between HvABI5 and promoters of its putative target genes.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

The datasets presented in this study can be found in online repositories. The names of the repository/repositories and accession number(s) can be found below:

http://www.ebi.ac.uk/arrayexpress/experiments/E-MTAB-9072.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

IS conceived and supervised the project and contributed to the development of the TILLING platform, IS and AD-G designed the study and contributed to the analysis of results, AC and AD-G performed drought experiment, AC conducted physiological assays and gene expression analysis, and AD-G analyzed photosynthesis and microarray data. MK performed TILLING screen. AC, AD-G, and IS wrote and edited the manuscript.

FUNDING

This work was supported by the European Regional Development Fund through the Innovative Economy for Poland 2007-2013, project WND-POIG.01.03.01-00-101/08 POLAPGEN-BD "Biotechnological tools for breeding cereals with increased resistance to drought", task 22 and by the National Science Centre, Poland, project PRELUDIUM 2017/25/N/NZ9/01941 "The role of HvABI5 transcription factor in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) response to drought stress".

ACKNOWLEDGMENTS

Authors would like to thank Drs. Vladimir Benes and Paul Collier (Genomics Core Facility at EMBL, Heidelberg) for performing the probe synthesis and microarray hybridizations. Moreover, we would like to thank Dr. Tomasz Płociniczak (Institute of Biology, Biotechnology and Environmental Protection, Faculty of Natural Sciences, University of Silesia in Katowice, Poland) for detection of endogenous ABA content.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

The Supplementary Material for this article can be found online at: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.01138/full#supplementary-material

REFERENCES

Agarwal, P. K., Shukla, P. S., Gupta, K., and Jha, B. (2013). Bioengineering for salinity tolerance in plants: state of the art. *Mol. Biotechnol.* 54, 102–123. doi: 10.1007/s12033-012-9538-3

Albertos, P., Romero-Puertas, M. C., Tatematsu, K., Mateos, I., Sánchez-Vicente, I., Nambara, E., et al. (2015). S-nitrosylation triggers ABI5 degradation to promote seed germination and seedling growth. *Nat. Commun.* 6, 8669. doi: 10.1038/ncomms9669

Al-Momany, B., and Abu-Romman, S. (2014). Cloning and molecular characterization of a flavin-dependent oxidoreductase gene from barley. *J. Appl. Genet.* 55, 457–468. doi: 10.1007/s13353-014-0227-8

Anjum, N. A., Sharma, P., Gill, S. S., Hasanuzzaman, M., Khan, E. A., Kachhap, K., et al. (2016). Catalase and ascorbate peroxidase—representative H2O2-detoxifying heme enzymes in plants. *Environ. Sci. Pollut. R.* 23, 19002–19029. doi: 10.1007/s11356-016-7309-6

Bailey-Serres, J., Parker, J. E., Ainsworth, E. A., Oldroyd, G. E., and Schroeder, J.II (2019). Genetic strategies for improving crop yields. *Nature* 575, 109–118. doi: 10.1038/s41586-019-1679-0

Bajji, M., Kinet, J. M., and Lutts, S. (2002). The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regul.* 36, 61–70. doi: 10.1023/A:1014732714549

Bandurska, H., and Gniazdowska-Skoczek, H. (1995). Cell membrane stability in two barley genotypes under water stress conditions. *Acta Soc Bot. Pol.* 64, 29–32. doi: 10.5586/asbp.1995.005

Bensmihen, S., To, A., Lambert, G., Kroj, T., Giraudat, J., and Parcy, F. (2004). Analysis of an activated ABI5 allele using a new selection method for transgenic Arabidopsis seeds. *FEBS Lett.* 561, 127–131. doi: 10.1016/S0014-5793(04)00148-6

Bhatnagar-Mathur, P., Vadez, V., and Sharma, K. K. (2008). Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. *Plant Cell Rep.* 27, 411–424. doi: 10.1007/s00299-007-0474-9

Bi, C., Ma, Y., Wu, Z., Yu, Y. T., Liang, S., Lu, K., et al. (2017). Arabidopsis ABI5 plays a role in regulating ROS homeostasis by activating CATALASE 1 transcription in seed germination. *Plant Mol. Biol.* 94, 197–213. doi: 10.1007/s11103-017-0603-y

Brocard, I. M., Lynch, T. J., and Finkelstein, R. R. (2002). Regulation and role of the Arabidopsis *ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 5* gene in abscisic acid, sugar, and stress response. *Plant Physiol.* 129, 1533–1543. doi: 10.1104/pp.005793

Cai, S., Chen, G., Wang, Y., Huang, Y., Marchant, D. B., and Wang, Y. (2017). Evolutionary conservation of ABA signaling for stomatal closure. *Plant Physiol.* 174, 732–747. doi: 10.1104/pp.16.01848

Carillo, P. Y. Gibon and PrometheusWiki contributors (2017). Protocol: extraction and determination of proline. *PrometheusWiki* 2011, 1–4.

Carles, C., Bies-Etheve, N., Aspart, L., Léon-Kloosterziel, K. M., Koornneef, M., Echeverria, M., et al. (2002). Regulation of *Arabidopsis thaliana Em* genes: role of ABI5. *Plant J.* 30, 373–383. doi: 10.1046/j.1365-313X.2002.01295.x

Casaretto, J., and Ho, T. H. D. (2003). The transcription factors HvABI5 and HvVP1 are required for the abscisic acid induction of gene expression in barley aleurone cells. *Plant Cell* 15, 271–284. doi: 10.1105/tpc.007096

Casaretto, J. A., and Ho, T. H. D. (2005). Transcriptional regulation by abscisic acid in barley (Hordeum vulgare L.) seeds involves autoregulation of the transcription factor HvABI5. *Plant Mol. Biol.* 57, 21–34. doi: 10.1007/s11103-004-6520-x

Chan, Z. (2012). Expression profiling of ABA pathway transcripts indicates crosstalk between abiotic and biotic stress responses in Arabidopsis. *Genomics* 100, 110–115. doi: 10.1016/j.ygeno.2012.06.004

Chomczyński, P., and Sacchi, N. (1987). Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162, 156–159. doi: 10.1016/0003-2697(87)90021-2

Daszkowska-Golec, A., Skubacz, A., Marzec, M., Slota, M., Kurowska, M., Gajecka, M., et al. (2017). Mutation in HvCBP20 (Cap Binding Protein 20) Adapts Barley to Drought Stress at Phenotypic and Transcriptomic Levels. *Front. Plant Sci.* 8:942. doi: 10.3389/fpls.2017.00942

Daszkowska-Golec, A. (2016). "The role of abscisic acid in drought stress: how aba helps plants to cope with drought stress," in *Drought Stress Tolerance in Plants*, vol. 2 . Eds. M. A. Hossain, S. H. Wani, S. Bhattachajee, D. J. Burritt and L. S. P. Tran (Cham: Springer International Publishing), 123–151.

Davies, K. M., Albert, N. W., Zhou, Y., and Schwinn, K. E. (2018). Functions of flavonoid and betalain pigments in abiotic stress tolerance in plants. *Annu. Plant Rev. Online*, 1–41 (1), 21–62. doi: 10.1002/9781119312994.apr0604

Dawson, I. K., Russell, J., Powell, W., Steffenson, B., Thomas, W. T., and Waugh, R. (2015). Barley: a translational model for adaptation to climate change. *New Phytol.* 206, 913–931. doi: 10.1111/nph.13266

Dejonghe, W., Okamoto, M., and Cutler, S. R. (2018). Small molecule probes of ABA biosynthesis and signaling. *Plant Cell Physiol.* 59, 1490–1499. doi: 10.1093/pcp/pcy126

Di Ferdinando, M., Brunetti, C., Fini, A., and Tattini, M. (2012). "Flavonoids as antioxidants in plants under abiotic stresses," in *Abiotic Stress Responses in Plants*. Eds. P. Ahmad and M. N. V. Prasad (New York: Springer New York), 159–179.

FAO (2018). *FAOSTAT Database Collections. Food and Agriculture Organization of the United Nations*. Available at: http://faostat3.fao.org/ (Accessed March 19, 2020).

Finkelstein, R. R., and Lynch, T. J. (2000). The Arabidopsis abscisic acid response gene ABI5 encodes a basic leucine zipper transcription factor. *Plant Cell* 12, 599–609. doi: 10.1105/tpc.12.4.599

Finkelstein, R., Gampala, S. S., Lynch, T. J., Thomas, T. L., and Rock, C. D. (2005). Redundant and distinct functions of the ABA response loci ABA-INSENSITIVE (ABI) 5 and ABRE-BINDING FACTOR (ABF) 3. *Plant Mol. Biol.* 59, 253–267. doi: 10.1007/s11103-005-8767-2

Finkelstein, R. R. (1994). Mutations at two new Arabidopsis ABA response loci are similar to the *abi3* mutations. *Plant J.* 5, 765–771. doi: 10.1046/j.1365-313X.1994.5060765.x

Fujita, Y., Fujita, M., Satoh, R., Maruyama, K., Parvez, M. M., Seki, M., et al. (2005). AREB1 is a transcription activator of novel ABRE-dependent ABA signaling that enhances drought stress tolerance in Arabidopsis. *Plant Cell* 17, 3470–3488. doi: 10.1105/tpc.105.035659

Furihata, T., Maruyama, K., Fujita, Y., Umezawa, T., Yoshida, R., Shinozaki, K., et al. (2006). Abscisic acid-dependent multisite phosphorylation regulates the activity of a transcription activator AREB1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 1988–1993. doi: 10.1073/pnas.0505667103

Gao, S., Gao, J., Zhu, X., Song, Y., Li, Z., Ren, G., et al. (2016). ABF2, ABF3, and ABF4 promote ABA-mediated chlorophyll degradation and leaf senescence by transcriptional activation of chlorophyll catabolic genes and senescence-associated genes in Arabidopsis. *Mol. Plant* 9, 1272–1285. doi: 10.1016/j.molp.2016.06.006

Gilliham, M., Able, J. A., and Roy, S. J. (2017). Translating knowledge about abiotic stress tolerance to breeding programmes. *Plant J.* 90, 898–917. doi: 10.1111/tpj.13456

Hong, B., Barg, R., and Ho, T. H. D. (1992). Developmental and organ-specific expression of an ABA-and stress-induced protein in barley. *Plant Mol. Biol.* 18, 663–674. doi: 10.1007/BF00020009

Hossain, M. A., Cho, J.II, Han, M., Ahn, C. H., Jeon, J. S., An, G., et al. (2010a). The ABRE-binding bZIP transcription factor OsABF2 is a positive regulator of abiotic stress and ABA signaling in rice. *J. Plant Physiol.* 67, 1512–1520. doi: 10.1016/j.jplph.2010.05.008

Hossain, M. A., Lee, Y., Cho, J.II, Ahn, C. H., Lee, S. K., Jeon, J. S., et al. (2010b). The bZIP transcription factor OsABF1 is an ABA responsive element binding factor that enhances abiotic stress signaling in rice. *Plant Mol. Biol.* 72, 557–566. doi: 10.1007/s11103-009-9592-9

Huang, Y., Sun, M. M., Ye, Q., Wu, X. Q., Wu, W. H., and Chen, Y. F. (2017). Abscisic acid modulates seed germination via ABA INSENSITIVE5-mediated PHOSPHATE1. *Plant Physiol.* 175, 1661–1668. doi: 10.1104/pp.17.00164

Ishibashi, Y., Aoki, N., Kasa, S., Sakamoto, M., Kai, K., Tomokiyo, R., et al. (2017). The interrelationship between abscisic acid and reactive oxygen species plays a key role in barley seed dormancy and germination. *Front. Plant Sci.* 8:275. doi: 10.3389/fpls.2017.00275

Jones, A. M. (2016). A new look at stress: abscisic acid patterns and dynamics at high–resolution. *New Phytol.* 210, 38–44. doi: 10.1111/nph.13552

Joshi, R., Wani, S. H., Singh, B., Bohra, A., Dar, Z. A., Lone, A. A., et al. (2016). Transcription factors and plants response to drought stress: Current understanding and future directions. *Front. Plant Sci.* 7:1029. doi: 10.3389/fpls.2016.01029

Kagaya, Y., Hobo, T., Murata, M., Ban, A., and Hattori, T. (2002). Abscisic acid–induced transcription is mediated by phosphorylation of an abscisic acid response element binding factor, TRAB1. *Plant Cell* 14, 3177–3189. doi: 10.1105/tpc.005272

Kalaji, H. M., Jajoo, A., Oukarroum, A., Brestic, M., Zivcak, M., Samborska, I. A., et al. (2016). Chlorophyll *a* fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiol. Plant* 38, 102. doi: 10.1007/s11738-016-2113-y

Kanai, M., Nishimura, M., and Hayashi, M. (2010). A peroxisomal ABC transporter promotes seed germination by inducing pectin degradation under the control of ABI5. *Plant J.* 62, 936–947. doi: 10.1111/j.1365-313X.2010.04205.x

Kang, J. Y., Choi, H.II, Im, M. Y., and Kim, S. Y. (2002). Arabidopsis basic leucine zipper proteins that mediate stress-responsive abscisic acid signaling. *Plant Cell* 14, 343–357. doi: 10.1105/tpc.010362

Kobayashi, F., Maeta, E., Terashima, A., and Takumi, S. (2008). Positive role of a wheat HvABI5 ortholog in abiotic stress response of seedlings. *Physiol. Plant* 134, 74–86. doi: 10.1111/j.1399-3054.2008.01107.x

Kong, Y., Chen, S., Yang, Y., and An, C. (2013). ABA-insensitive (ABI) 948 4 and ABI5 synergistically regulate *DGAT1* expression in Arabidopsis seedlings under stress. *FEBS Lett.* 587, 3076–3082. doi: 10.1016/j.febslet.2013.07.045

Liu, H., and Stone, S. L. (2013). Cytoplasmic degradation of the Arabidopsis transcription factor abscisic acid insensitive 5 is mediated by the RING-type E3 ligase KEEP ON GOING. *J. Biol. Chem.* 288, 20267–20279. doi: 10.1074/jbc.M113.465369

Livak, K. J., and Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2– DDCT method. *Methods* 25, 402–408. doi: 10.1006/meth.2001.1262

Lopez-Molina, L., and Chua, N. H. (2000). A null mutation in a bZIP factor confers ABA-insensitivity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 41, 541–547. doi: 10.1093/pcp/41.5.541

Lopez-Molina, L., Mongrand, S., and Chua, N. H. (2001). A postgermination developmental arrest checkpoint is mediated by abscisic acid and requires the ABI5 transcription factor in Arabidopsis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 4782–4787. doi: 10.1073/pnas.081594298

Lynch, T., Erickson, B. J., and Finkelstein, R. R. (2012). Direct interactions of ABA-insensitive (ABI)-clade protein phosphatase (PP) 2Cs with calcium-dependent protein kinases and ABA response element-binding bZIPs may contribute to turning off ABA response. *Plant Mol. Biol.* 80, 647–658. doi: 10.1007/s11103-012-9973-3

Maia, J., Dekkers, B. J., Dolle, M. J., Ligterink, W., and Hilhorst, H. W. (2014). Abscisic acid (ABA) sensitivity regulates desiccation tolerance in germinated Arabidopsis seeds. *New Phytol.* 203, 81–93. doi: 10.1111/nph.12785

Martignago, D., Rico-Medina, A., Blasco-Escámez, D., Fontanet-Manzaneque, J. B., and Caño-Delgado, A.II (2020). Drought resistance by engineering plant tissue-specific responses. *Front. Plant Sci.* 10:1676. doi: 10.3389/fpls.2019.01676

Mishra, P., and Sharma, P. (2019). "Superoxide Dismutases (SODs) and Their Role in Regulating Abiotic Stress induced Oxidative Stress in Plants," in *Reactive Oxygen, Nitrogen and Sulfur Species in Plants*. Eds. M. Hasanuzzaman, V. Fotopoulos, K. Nahar and M. Fujita (Hoboken: John Wiley & Sons Ltd), 53–88.

Miura, K., Lee, J., Jin, J. B., Yoo, C. Y., Miura, T., and Hasegawa, P. M. (2009). Sumoylation of ABI5 by the Arabidopsis SUMO E3 ligase SIZ1 negatively regulates abscisic acid signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 106, 5418–5423. doi: 10.1073/pnas.0811088106

Nakamura, S., Lynch, T. J., and Finkelstein, R. R. (2001). Physical interactions between ABA response loci of Arabidopsis. *Plant J.* 26, 627–635. doi: 10.1046/j.1365-313x.2001.01069.x

Nakurte, I., Keisa, A., and Rostoks, N. (2012). Development and Validation of a Reversed-Phase Liquid Chromatography Method for the Simultaneous Determination of Indole-3-Acetic Acid, Indole-3-Pyruvic Acid, and Abscisic Acid in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *J. Anal. Methods Chem.* 2012, 103575. doi: 10.1155/2012/103575

Nambara, E., Suzuki, M., Abrams, S., McCarty, D. R., Kamiya, Y., and McCourt, P. (2002). A screen for genes that function in abscisic acid signaling in Arabidopsis thaliana. *Genetics* 161, 1247–1255.

Nelissen, H., Moloney, M., and Inzé, D. (2014). Translational research: from pot to plot. *Plant Biotechnol. J.* 12, 277–285. doi: 10.1111/pbi.12176

Paul, S., and Roychoudhury, A. (2019). Transcript analysis of abscisic acid-inducible genes in response to different abiotic disturbances in two indica rice varieties. *Theor. Exp. Plant Phys.* 31, 249–272. doi: 10.1007/s40626-018-0131-4

Piao, W., Kim, S. H., Lee, B. D., An, G., Sakuraba, Y., and Paek, N. C. (2019). Rice transcription factor OsMYB102 delays leaf senescence by down-regulating abscisic acid accumulation and signaling. *J. Exp. Bot.* 70, 2699–2715. doi: 10.1093/jxb/erz095

Qian, D., Zhang, Z., He, J., Zhang, P., Ou, X., Li, T., et al. (2019). Arabidopsis ADF5 promotes stomatal closure by regulating actin cytoskeleton remodeling in response to ABA and drought stress. *J. Exp. Bot.* 70, 435–446. doi: 10.1093/jxb/ery385

Ramakers, C., Ruijter, J. M., Deprez, R. H. L., and Moorman, A. F. (2003). Assumption-free analysis of quantitative real-time polymerase chain reaction (PCR) data. *Neurosci. Lett.* 339, 62–66. doi: 10.1016/S0304-3940(02)01423-4

Rapacz, M., Stępień, A., and Skorupa, K. (2012). Internal standards for quantitative RT-PCR studies of gene expression under drought treatment in barley (*Hordeum vulgare* L.): the effects of developmental stage and leaf age. *Acta Physiol. Plant* 34, 1723–1733. doi: 10.1007/s11738-012-0967-1

Sah, S. K., Reddy, K. R., and Li, J. (2016). Abscisic acid and abiotic stress tolerance in crop plants. *Front. Plant Sci.* 7:571. doi: 10.3389/fpls.2016.00571

Saito, S., and Uozumi, N. (2019). Guard cell membrane anion transport systems and their regulatory components: an elaborate mechanism controlling stress-induced stomatal closure. *Plants* 8, 9. doi: 10.3390/plants8010009

Sakuraba, Y., Jeong, J., Kang, M. Y., Kim, J., Paek, N. C., and Choi, G. (2014). Phytochrome interacting transcription factors PIF4 and PIF5 induce leaf senescence in Arabidopsis. *Nat. Commun.* 5, 4636. doi: 10.1038/ncomms5636

Seiler, C., Harshavardhan, V. T., Reddy, P. S., Hensel, G., Kumlehn, J., Eschen-Lippold, L., et al. (2014). Abscisic acid flux alterations result in differential abscisic acid signaling responses and impact assimilation efficiency in barley under terminal drought stress. *Plant Physiol.* 164, 1677–1696. doi: 10.1104/pp.113.229062

Shen, Q., Chen, C. N., Brands, A., Pan, S. M., and Tuan-Hua, D. H. (2001). The stress-and abscisic acid-induced barley gene *HVA22*: developmental regulation and homologues in diverse organisms. *Plant Mol. Biol.* 45, 327–340. doi: 10.1023/A:1006460231978

Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. (2007). Gene networks involved in drought stress response and tolerance. *J. Exp. Bot.* 58, 221–227. doi: 10.1093/jxb/erl164

Shu, K., Chen, Q., Wu, Y., Liu, R., Zhang, H., Wang, P., et al. (2016). ABI4 mediates antagonistic effects of abscisic acid and gibberellins at transcript and protein levels. *Plant J.* 85, 348–361. doi: 10.1111/tpj.13109

Signora, L., De Smet, I., Foyer, C. H., and Zhang, H. (2001). ABA plays a central role in mediating the regulatory effects of nitrate on root branching in Arabidopsis. *Plant J.* 28, 655–662. doi: 10.1046/j.1365-313x.2001.01185.x

Skubacz, A., Daszkowska-Golec, A., and Szarejko, I. (2016). The role and regulation of ABI5 (ABA-insensitive 5) in plant development, abiotic stress responses and phytohormone crosstalk. *Front. Plant Sci.* 7: 1884. doi: 10.3389/fpls.2016.01884

Song, Y., Xiang, F., Zhang, G., Miao, Y., Miao, C., and Song, C. P. (2016). Abscisic acid as an internal integrator of multiple physiological processes modulates leaf senescence onset in Arabidopsis thaliana. *Front. Plant Sci.* 7:181. doi: 10.3389/fpls.2016.00181

Strasser, R. J., Srivastava, A., and Tsimilli-Michael, M. (2000). "The fluorescence transient as a tool to characterize and screen photosynthetic samples," in *Probing photosynthesis: mechanisms, regulation and adaptation*. Eds. M. Yunus, U. Pathre and P. Mohanty (London: Taylor and Francis), 445–483.

Strasser, R. J., Tsimilli-Michael, M., and Srivastava, A. (2004). "Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient," in *Chlorophyll a Fluorescence*. Eds. G. C. Papageorgiou and Govindjee, (Dordrecht: Springer Netherlands), 321–362.

Su, M., Huang, G., Zhang, Q., Wang, X., Li, C., Tao, Y., et al. (2016). The LEA protein, ABR, is regulated by ABI5 and involved in dark-induced leaf senescence in Arabidopsis thaliana. *Plant Sci.* 247, 93–103. doi: 10.1016/j.plantsci.2016.03.009

Szarejko, I., Szurman-Zubrzycka, M., Nawrot, M., Marzec, M., Gruszka, D., Kurowska, M., et al. (2017). "Creation of a TILLING Population in Barley After Chemical Mutagenesis with Sodium Azide and MNU," in *Biotechnologies for Plant Mutation Breeding*. Eds. J. Jankowicz-Cieslak, T. H. Tai, J. Kumlehn and B. J. Till (Switzerland: Springer International Publishing), 91–111. doi: 10.1007/978-3-319-45021-6

Szurman-Zubrzycka, M. E., Zbieszczyk, J., Marzec, M., Jelonek, J., Chmielewska, B., Kurowska, M. M., et al. (2018). HorTILLUS—A Rich and Renewable Source of Induced Mutations for Forward/Reverse Genetics and Pre-breeding Programs in Barley (*Hordeum vulgare* L.). *Front. Plant Sci.* 9216. doi: 10.3389/fpls.2018.00216

Tester, M., and Bacic, A. (2005). Abiotic stress tolerance in grasses. From model plants to crop plants. *Plant Physiol.* 137, 791–793. doi: 10.1104/pp.104.900138

Tezuka, K., Taji, T., Hayashi, T., and Sakata, Y. (2013). A novel *abi5* allele reveals the importance of the conserved Ala in the C3 domain for regulation of downstream genes and salt tolerance during germination in Arabidopsis. *Plant Signac. Behav.* 8, e23455. doi: 10.4161/psb.23455

Utsugi, S., Ashikawa, I., Nakamura, S., and Shibasaka, M. (2020). TaABI5, a wheat homolog of Arabidopsis thaliana ABA insensitive 5, controls seed germination. *J. Plant Res.* 133, 245–256. doi: 10.1007/s10265-020-01166-3

Vinocur, B., and Altman, A. (2005). Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: achievements and limitations. *Curr. Opin. Biotechnol.* 16, 123–132. doi: 10.1016/j.copbio.2005.02.001

Wang, X., Guo, C., Peng, J., Li, C., Wan, F., Zhang, S., et al. (2019). ABRE-BINDING FACTORS play a role in the feedback regulation of ABA signaling by mediating rapid ABA induction of ABA co-receptor genes. *New Phytol.* 221, 341–355. doi: 10.1111/nph.15345

Xu, Z. Y., Yoo, Y. J., and Hwang, I. (2014). "ABA Conjugates and Their Physiological Roles in Plant Cells," in *Abscisic acid: Metabolism, Transport and Signaling*. Ed. D. Zhang (Dordrecht: Springer Netherlands), 77–87.

Xue, G. P., and Loveridge, C. W. (2004). HvDRF1 is involved in abscisic acid-mediated gene regulation in barley and produces two forms of AP2 transcriptional activators, interacting preferably with a CT-rich element. *Plant J.* 37, 326–339. doi: 10.1046/j.1365-313X.2003.01963.x

Yan, F., Deng, W., Wang, X., Yang, C., and Li, Z. (2012). Maize (*Zea mays* L.) homologue of ABA-insensitive (ABI) 5 gene plays a negative regulatory role in abiotic stresses response. *Plant Growth Regul.* 68, 383–393. doi: 10.1007/s10725-012-9727-x

Yang, J., Worley, E., and Udvardi, M. (2014). A NAP-AAO3 regulatory module promotes chlorophyll degradation via ABA biosynthesis in Arabidopsis leaves. *Plant Cell* 26, 4862–4874. doi: 10.1105/tpc.114.133769

Yoshida, T., Fujita, Y., Sayama, H., Kidokoro, S., Maruyama, K., Mizoi, J., et al. (2010). AREB1, AREB2, and ABF3 are master transcription factors that cooperatively regulate ABRE-dependent ABA signaling involved in drought stress tolerance and require ABA for full activation. *Plant J.* 61, 672–685. doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.04092.x

Yoshida, T., Fujita, Y., Maruyama, K., Mogami, J., Todaka, D., Shinozaki, K., et al. (2015). Four A rabidopsis AREB/ABF transcription factors function predominantly in gene expression downstream of SnRK2 kinases in abscisic acid signalling in response to osmotic stress. *Plant Cell Environ.* 38, 35–49. doi: 10.1111/pce.12351

Yoshida, T., Christmann, A., Yamaguchi-Shinozaki, K., Grill, E., and Fernie, A. R. (2019). Revisiting the Basal Role of ABA–Roles Outside of Stress. *Trends Plant Sci.* 24, 625–635. doi: 10.1016/j.tplants.2019.04.008

Yu, F., Wu, Y., and Xie, Q. (2015). Precise protein post-translational modifications modulate ABI5 activity. *Trends Plant Sci.* 20, 569–575. doi: 10.1016/j.tplants.2015.05.004

Yuan, K., Rashotte, A. M., and Wysocka-Diller, J. W. (2011). ABA and GA signaling pathways interact and regulate seed germination and seedling development under salt stress. *Acta Physiol. Plant* 33, 261–271. doi: 10.1007/s11738-010-0542-6

Zhang, Y., Sun, Q., Zhang, C., Hao, G., Wang, C., Dirk, L. M., et al. (2019). Maize VIVIPAROUS1 interacts with ABA INSENSITIVE5 to regulate GALACTINOL SYNTHASE2 expression controlling seed raffinose accumulation. *J. Agric. Food Chem.* 67, 4214–4223. doi: 10.1021/acs.jafc.9b00322

Zheng, Y., Schumaker, K. S., and Guo, Y. (2012). Sumoylation of transcription factor MYB30 by the small ubiquitin-like modifier E3 ligase SIZ1 mediates abscisic acid response in Arabidopsis thaliana. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 109, 12822–12827. doi: 10.1073/pnas.1202630109

Zhou, X., Hao, H., Zhang, Y., Bai, Y., Zhu, W., Qin, Y., et al. (2015). SOS2-LIKE PROTEIN KINASE5, an SNF1-RELATED PROTEIN KINASE3-type protein kinase, is important for abscisic acid responses in Arabidopsis through phosphorylation of ABSCISIC ACID-INSENSITIVE5. *Plant Physiol.* 168, 659–676. doi: 10.1104/pp.114.255455

Zinsmeister, J., Lalanne, D., Terrasson, E., Chatelain, E., Vandecasteele, C., Vu, B. L., et al. (2016). ABI5 is a regulator of seed maturation and longevity in legumes. *Plant Cell* 28, 2735–2754. doi: 10.1105/tpc.16.00470

Zou, M., Guan, Y., Ren, H., Zhang, F., and Chen, F. (2008). A bZIP transcription factor, OsABI5, is involved in rice fertility and stress tolerance. *Plant Mol. Biol.* 66, 675–683. doi: 10.1007/s11103-008-9298-4

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Copyright © 2020 Collin, Daszkowska-Golec, Kurowska and Szarejko. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.